

**pH DUYARLI ÇOKLU İLAÇ SALIMI İÇİN METAL
ORGANİK ÇERÇEVE TEMELLİ MİKRO KAPSÜLLERİN
HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONU**

**PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF METAL
ORGANIC FRAMEWORK BASED MICROCAPSULES
FOR pH RESPONSIVE MULTI-DRUG RELEASE**

EMİN UYSAL

Prof. Dr. Nihal Aydoğan

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Halil Kalıpçılar

Tez Eş Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisanüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

Yüksek Lisans TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2023

ÖZET

pH DUYARLI ÇOKLU İLAÇ SALIMI İÇİN METAL ORGANİK ÇERÇEVE TEMELLİ MİKRO KAPSÜLLERİN HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONU

Emin UYSAL

Yüksek Lisans, Kimya Mühendisliği Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nihal Aydoğan

Eş Danışman: Prof Dr. Halil Kalıpçılar

Haziran 2023, 120 Sayfa

İlaç taşıyım sistemlerinin tasarımında ve hazırlanmasında üzerinde durulan en önemli noktalardan bir tanesi, tedaviye yönelik birden fazla etkinin sinerjistik olarak sağlanmasıdır. Özellikle kanser tedavisine yönelik çalışmalarda sinerjistik etkinin sağlanması son yıllarda hızla önem kazanan ve üzerinde durulan bir konudur. Bu sayede mono terapinin sınırlamalarını ortadan kaldırmak, tedaviyi etkin kılmak ve en az ilaç/kimyasal dozu ile maksimum etkiyi sağlamak amaçlanmaktadır. Veziküller bulundukları lipit ve sulu kompartmanlar, biyouyumlulukları ve makromolekülleri dahi kapsülleme ve taşıyabilme yetenekleri ile uzun yıllardır çalışılan yapılardır. İlaç taşıyıcı özelliklerinin yanı sıra veziküller içerdikleri hidrofilik ve hidrofobik bileşenleri ile sinerjistik etki sağlayabilecek şekilde tasarlanabilmektedir. Çalışmanın ilk kısmında bu amaç doğrusunda, kemodinamik terapi yöntemlerinin önemli bir çeşidi olan fenton reaksiyonlarını gerçekleştirebilecek, vezikülü oluşturan moleküllerden biri olarak kullanılarak vezikülün çift tabakasında yer alacak ve sulu çekirdeği potansiyel bir

rezervuar olarak bırakmamızı sağlayacak bir yüzey aktif madde olan N,N-dimetilferrosenilmetilundesil amonyum bromürün ($Fc(C_{11})$) kullanıldığı bir vezikül sentezlenmiştir. Vezikülün oluşturulması için katyonik $Fc(C_{11})$ ve anyonik sodyum dioktilsülfosüksinat (AOT) kullanılmış ve katanyonik bir vezikül elde edilmiştir. Veziküllerin karakterizasyonu dinamik (DLS) ve statik ışık saçınımı (SLS) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Monomer haldeki $Fc(C_{11})$ ve $Fc(C_{11})$ -AOT veziküllerin fenton reaksiyonu performansı metilen mavisinin giderimi yöntemiyle incelenmiş, veriler farklı kinetik modeller uygulanarak analiz edilmiştir. Yapılan deneyler sonucunda fenton reaksiyonlarını başarı ile gerçekleştiren, kemodinamik terapi ajanı veziküller elde edilmiştir. Çalışmanın ikinci adımında ilaç taşıyıcı sistemin diğer ana parçasını oluşturacak olan zeolitik imidazol çerçeve-8'in (ZIF-8) sentezi ve geliştirilmesi yer almaktadır. ZIF-8 yüksek gözeneklilik, kimyasal ve termal stabilite gibi avantajlarıyla keşfinden itibaren gaz ayırmadan kataliz süreçlerine kadar pek çok alanda çalışılmakta olan bir MOF çeşididir. Ancak son on yılda, pH duyarlı yapısı ile ilaç taşınımı çalışmalarında oldukça öne çıkan bir kristal yapıdır. Çalışma kapsamında ZIF-8 pH duyarlı kontrollü salımı gerçekleştirebilecek potansiyel bir kemoterapi ajanı taşıyıcı olarak sentezlenmiştir. Model molekül olarak rodamin-b'nin (Rhb) ZIF-8'e yüklenmesi için "tek kap" metodu kullanılmıştır. ZIF-8 sentezi metanol ve su gibi çözücü ortamlarda gerçekleştirilmiş, çinko, imidazol ve rodamin-b miktarı parametrik olarak çalışılmıştır. Rodamin-b'nin salımı farklı pH'a sahip fosfat tampon çözeltilerinde gerçekleştirilmiş ve ZIF-8 kristallerinin rodamin alım-salım performansı incelenmiştir. ZIF-8 kristallerinin model molekül olarak kullanılan rodamin-b'yi başarılı bir şekilde enkapsüle edip ($Rhb@ZIF-8$) pH'a duyarlı olarak salabilmesi ile potansiyel kemoterapi ajanı partiküller elde edildikten sonra sinerjistik etkinin artırılması için fototermal terapi etkisine sahip polidopaminin (PDA) ZIF-8 kristallerine kaplanması aşamasına geçilmiştir. PDA kaplaması dopamin hidroklorürün (DA-HCl) alkali ortamda doğrudan ZIF-8 üzerinde polimerleşmesi ile sağlanmıştır. Kaplamada tris tampon çözeltisi kullanılmış ve ağırlıkça 1:1 DA-HCl:ZIF-8 oranında çalışılmıştır. Elde edilen partiküllerin ($Rhb@ZIF-8/PDA$) fototermal etkisi 808 nm dalga boyunda bir lazer altında, termal kamera ile takip edilmiştir. Partiküllerin düşük konsantrasyonlarda dahi fototermal terapi için gerekli sıcaklık artışını sağladığı gözlemlenmiştir. ZIF-8, $Rhb@ZIF-8$ ve $Rhb@ZIF-8/PDA$ partikülleri DLS, AFM, TEM, XRD ve FTIR ve

zeta potansiyeli ölçümleri ile karakterize edilmiştir. Çalışmanın son aşamasında kemodinamik etkili veziküller ile, fotodinamik ve kemoterapötik etkiye sahip ZIF-8 kristalleri elektrostatik etkileşimlerden faydalanılarak birleştirilmiştir. Elde edilen ilaç taşıyıcı sistemin rodamin-b salımı, fenton reaksiyonu ve fototermal performansı yukarıda bahsedilen şekilde analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda Fc(C₁₁)-AOT veziküllerin dış yüzeyine kaplanan Rhb@ZIF-8/PDA ile, kemodinamik, fototermal ve kemoterapötik etkiye sahip çok fonksiyonlu bir ilaç taşıyıcı sistem elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Zeolitik imidazol çerçeve-8, ilaç taşıyıcı sistemleri, vezikül, fenton reaksiyonları, sinerjistik terapi

ABSTRACT

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF METAL ORGANIC FRAMEWORK BASED MICROCAPSULES FOR pH RESPONSIVE MULTI-DRUG RELEASE

Emin UYSAL

Master of Science, Department of Chemical Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Nihal AYDOĞAN

Co- Supervisor: Prof. Dr. Halil Kalıpçılar

June 2023, 120 pages

One of the most important points in the design and preparation of drug delivery systems is the synergistic provision of multiple therapeutic effects. Providing synergistic effects, especially in cancer treatment studies, is an issue that has gained importance and focused on in recent years. In this way, it is aimed to eliminate the limitations of monotherapy, to make the treatment effective and to provide maximum effect with the least drug/chemical dose. Vesicles are structures that have been studied for many years with their lipid and aqueous compartments, their biocompatibility and ability to encapsulate and transport even macromolecules. In addition to their drug carrier properties, vesicles can be designed to provide synergistic effects with their hydrophilic and hydrophobic components. In the first part of the study, a vesicle that can perform Fenton reactions, which is an important type of chemodynamic therapy methods, was synthesized. A surfactant, N,N-dimethylferrocenylmethylundecyl ammonium bromide (Fc(C11)) has been used as the fenton agent. This surfactant has been used as one of the vesicle forming molecules and is located in the bilayer of the vesicle, allowing us to leave the aqueous core as a potential reservoir. Cationic

Fc(C11) and anionic sodium dioctylsulfosuccinate (AOT) were used to obtain a catanionic vesicle. Characterization of vesicles was performed using dynamic light scattering (DLS) and static light scattering (SLS). Monomeric Fc(C11) and vesicle Fc(C11)-AOT were used to investigate the performance of AOT fenton reaction by methylene blue removal method. The data were analyzed by applying different kinetic models. As a result of the experiments, chemodynamic therapy agent vesicles were obtained that successfully carried out the fenton reactions. The second step of the study was the synthesis and development of zeolitic imidazolate framework-8 (ZIF-8). ZIF-8 is one of the main components of this drug delivery system. ZIF-8 is a type of MOF that has been studied in many areas from gas separation to catalysis processes since its discovery, with its advantages such as high porosity, chemical and thermal stability. However, in the last decade, it has become a prominent crystal structure in drug transport studies with its pH sensitive structure. Within the scope of the study, ZIF-8 was synthesized as a potential chemotherapy agent carrier that can make pH sensitive controlled release. The "one-pot" method was used to load rhodamine-b (Rhb) into ZIF-8 as the model molecule. ZIF-8 synthesis was carried out in solvent environments such as methanol and water, and the amount of zinc, imidazole and rhodamine-b was studied parametrically. The release of rhodamine-b was carried out in phosphate buffer solutions with different pH and the rhodamine uptake-release performance of ZIF-8 crystals was investigated. Potential chemotherapy agent particles were obtained with the ability of ZIF-8 crystals to successfully encapsulate and release (Rhb@ZIF-8) pH-sensitive rhodamine-b, which is used as a model molecule. Then, in order to increase the synergistic effect, polydopamine (PDA) with photothermal therapy effect was coated on ZIF-8 crystals. The PDA coating was provided by the polymerization of dopamine hydrochloride (DA-HCl) directly on the ZIF-8 surface in alkaline medium. Tris buffer solution was used in the coating and a ratio of 1:1 by weight of DA-HCl:ZIF-8 was used. The photothermal effect of the obtained particles (Rhb@ZIF-8/PDA) was followed by a thermal camera under a laser with a wavelength of 808 nm. It has been observed that the particles provide the necessary temperature increase for photothermal therapy even at low concentrations. ZIF-8, Rhb@ZIF-8 and Rhb@ZIF-8/PDA particles were characterized by DLS, AFM, TEM, XRD and FTIR and zeta potential measurements. In the final stage of the study, chemodynamically effective

vesicles and ZIF-8 crystals with photodynamic and chemotherapeutic effects were combined by utilizing electrostatic interactions. Rhodamine-b release and Fenton reaction performance of the obtained drug delivery system were performed as mentioned above. As a result of the study, a multifunctional drug delivery system with chemodynamic, photothermal and chemotherapeutic effects was obtained with Rhb@ZIF-8/PDA coated on the outer surface of Fc(C11)-AOT vesicles.

Keywords: Zeolitic imidazolate framework-8, drug delivery systems, vesicle, fenton reactions, synergistic therapy

TEŞEKKÜR

Tüm yüksek lisans ve tez süresince her zaman desteklerini sunan, bilgisi ve fikirleri ile bu çalışmanın gerçekleşmesinde sonsuz katkısı olan, çok zorlandığım anlarda dahi beni hayallerimi gerçekleştirebileceğim konusunda motive eden ve yoluma ışık tutan, fikirlerimi gerçekleştirmem için cesaretlendiren, araştırma grubunda çalışmaktan ve birlikte gerçekleştirdiklerimizden gurur ve mutluluk duyduğum, akademik, mesleki ve bireysel olarak gelişimimde çok şey borçlu olduğum değerli danışmanım ve hocam Sayın Prof. Dr. Nihal Aydoğan'a,

Önerileri, yardımları ve fikirleriyle bu tez çalışmasına büyük katkı sunan, çok kıymetli bilgisi ve tecrübesi ile her zaman dikkatimi gözümünden kaçırdığım noktalara odaklayarak pek çok şeyi fark etmemi ve öğrenmemi sağlayan, çalışmam için bana laboratuvarını ve imkanlarını sunan eş danışmanım ve hocam Sayın Prof. Dr. Halil Kalıpçılar'a.

Yanında çalışmaktan dolayı kendimi çok şanslı hissettiğim, her zaman fikir alışverişi yapmaktan mutluluk duyduğum, gösterdiği sonsuz anlayış ve yardımları ile pek çok şeyi daha kolay hale getiren, en umutsuz zamanlarda verdiği fikirleri, pozitifliği ve güler yüzüyle her zaman yanımda olan kıymetli hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi G. Dicle Kalaycıoğlu'na,

Tez jürimdeki varlığıyla da beni mutlu eden, bir lisans öğrencisiyken beni laboratuvarına kabul edip çalışma imkanı sunan, lisans hayatım boyunca her zaman bilgisinden ve tecrübesinden yaralandığım, öğrendiğim pek çok şeyi borçlu olduğum ve mühendisliği sevmemi sağlayan hocam Sayın. Doç. Dr. Berna Topuz'a,

Bu tez çalışmasını 2210-C Yurt İçi Öncelikli Alanlar Yüksek Lisans Burs Programı kapsamında destekleyen TÜBİTAK'a

Aynı çalışma ortamında bulunmaktan dolayı mutlu olduğum, birlikte geçirdiğimiz güzel zamanlar ve paylaştıklarımızla yalnızca bir çalışma arkadaşı değil aynı zamanda iyi arkadaşlar olduğumuzu düşündüğüm, ne zaman yardıma ihtiyacım olsa elinden geleni yapan Aydoğan Araştırma Grubu üyeleri Naz, Hürmet, Burcu Büşra, Güşta, Emine, Gülce, Güliz ve Cansu'ya

Tüm hayatım boyunca, aldığım her kararda arkamda duran ve isteklerimi gerçekleştirmem için elinden geleni yapan, tüm imkanlarını benim daha iyi bir insan ve kendisini yetiştirmiş bir birey olmam için kullanan aileme ve anneme,

sonsuz teşekkürlerimi sunarım

Emin UYSAL

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|------|
| ÖZET | i |
| ABSTRACT | iv |
| TEŞEKKÜR | vii |
| İÇİNDEKİLER | viii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | xi |
| ÇİZELGELER DİZİNİ | xiv |
| SİMGELER VE KISALTMALAR..... | xv |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 6 |
| 2.1. Nanobilim ve Nanoteknoloji | 6 |
| 2.2. Nano taşıyıcılar | 7 |
| 2.2.1. Veziküler Taşıyıcılar | 9 |
| 2.2.1.1. Veziküllerin Sentezi ve Yapısı | 10 |
| 2.2.1.2. Veziküllerin İlaç Taşınım Sistemlerinde Kullanılması..... | 13 |
| 2.3. Fenton Reaksiyonları | 15 |
| 2.3.1. Fenton Reaksiyonlarının Biyomedikal Uygulamaları | 16 |
| 2.4. Metal Organik Çerçeveseler | 18 |
| 2.4.1. Metal Organik Çerçeveselerin Yapısı..... | 19 |
| 2.5. Zeolitik İmidazol Çerçeveseler (ZIF'ler) | 21 |
| 2.5.1 Zeolitik İmidazol Çerçeve-8 (ZIF-8) | 21 |
| 2.5.1.1. ZIF-8'in İlaç Taşınım Sistemlerinde Kullanımı | 23 |
| 2.6. İlaç Taşınım Sistemlerinde Sinerjistik Etki | 28 |
| 3. DENEYSEL YÖNTEMLER | 31 |
| 3.1. Kimyasal Maddeler | 31 |
| 3.2. İlaç Taşıyıcı Zeolitik İmidazol Çerçeve-8 Sentezi | 31 |
| 3.2.1. Zeolitik İmidazol Çerçeve-8 Nanopartiküllerinin Sentezi | 31 |
| 3.2.2. Model İlaç Molekülü Yüklü Zeolitik İmidazol Çerçeve-8 Sentezi | 32 |
| 3.2.3. Rodamin-b Yüklü ZIF-8'e Polidopamin Kaplanması | 33 |
| 3.3. ZIF-8 Nanopartiküllerinden Model İlaç Salımının İncelenmesi | 34 |
| 3.4. Rhb@ZIF-8/PDA'nın Fototermal Özelliklerinin İncelenmesi | 35 |

| | |
|--|----|
| 3.5. Veziküllerin Hazırlanması..... | 36 |
| 3.5.1. Ferrosenli Yüzey Aktif Madde ve Veziküllerin Fenton Reaksiyonu Özelliklerinin İncelenmesi | 36 |
| 3.6. Vezikül/ZIF-8 İlaç Taşıyıcı Sisteminin Hazırlanması | 38 |
| 3.7. Sentezlenen ZIF-8 nanopartiküllerinin, Veziküllerin ve İlaç Taşıyıcı Sistemin Karakterizasyonu | 38 |
| 3.7.1. Işık Saçınım Yöntemi (LS)..... | 38 |
| 3.7.2. Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM)..... | 40 |
| 3.7.3. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) | 41 |
| 3.7.4. X-Işınları Difraktometresi (XRD) | 41 |
| 3.7.5. Zeta Potansiyeli | 42 |
| 3.7.6. Ultraviyole ve Görünür Işık (UV-Vis) Absorpsiyon Spektroskopisi..... | 43 |
| 3.7.7. Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) | 44 |
| 4. DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞILMASI..... | 46 |
| 4.1. Model Molekül Rhodamin-b Yüklenmiş ZIF-8 Kristallerinin Oluşturulması | 46 |
| 4.1.1. Yöntemin ve Parametrelerin Belirlenmesi..... | 46 |
| 4.1.2. Hazırlanan Model Molekül Yüklenmiş ZIF-8 Kristallerinin Boyutlarının İncelenmesi | 49 |
| 4.1.3. ZIF-8 Kristallerinin Rodamin-b Tutma Özelliklerinin İncelenmesi..... | 54 |
| 4.1.4. ZIF-8 Kristallerinden Rodamin-b Salım Özelliklerinin İncelenmesi .. | 57 |
| 4.2. Model Molekül Rhodamin-b Yüklenmiş, PDA Kaplı ZIF-8 Kristallerinin Oluşturulması | 61 |
| 4.2.1. Model Molekül Rhodamin-b Yüklenmiş, PDA Kaplı ZIF-8 Kristallerinin Fototermal Etkinliklerinin İncelenmesi | 62 |
| 4.2.2. PDA Kaplamasının Rodamin-b Salımına Etkisinin İncelenmesi | 67 |
| 4.3. ZIF-8, Rhb@ZIF-8 ve Rhb@ZIF-8/PDA Nanopartiküllerinin Karakterizasyonu ve Karşılaştırılması | 68 |
| 4.4. Ferrosenli Yüzey Aktif Madde'nin Fenton Reaksiyonu Performansının İncelenmesi..... | 72 |
| 4.4.1. Sıcaklık ve pH'ın Fenton Reaksiyonuna Etkisi..... | 74 |
| 4.4.2. Reaktif Konsantrasyonlarının Fenton Reaksiyonuna Etkisi | 75 |
| 4.4.3. Fenton Reaksiyonlarının Kinetik Özelliklerinin İncelenmesi | 80 |
| 4.5. Fc(C ₁₁)-AOT Veziküllerin Oluşturulması ve Karakterizasyonu | 83 |

| | |
|--|------------|
| 4.5.1. Fc(C ₁₁)-AOT Veziküllerinin Fenton Reaksiyonu Performansının İncelenmesi..... | 87 |
| 4.6. Fc(C ₁₁)-AOT Veziküllerinin Rhb@ZIF-8/PDA ile Kaplanması..... | 88 |
| 4.6.1. Fc(C ₁₁)-AOT/Rhb@ZIF-8/PDA Sinerjistik Etkili İlaç Taşıyıcı Sisteminin Fenton Reaksiyonu Performansının, Fototermal Etkisinin ve Rodamin-b Salımının İncelenmesi..... | 91 |
| 5. SONUÇLAR..... | 96 |
| KAYNAKLAR..... | 102 |
| EKLER..... | 116 |
| EK.1 Kalibrasyon Grafikleri..... | 116 |
| EK 2. Aktivasyon Enerjisinin Hesaplanması | 117 |
| EK 3. Fototermal Dönüşüm Verimliliklerinin Hesaplanması..... | 118 |
| EK 4. Vezikül Kaplaması İçin Gerekli ZIF-8 Miktarının Hesaplanması | 119 |
| ÖZGEÇMİŞ | 120 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Şekil 2.1. Vezikül, dendrimer, polimerik nanopartikül, misel ve karbon nanotüplerin şematik gösterimi [60-63] | 8 |
| Şekil 2.2. İlaç taşınım sistemlerinde kullanılan vezikül tipleri ve boyutları [71]. | 10 |
| Şekil 2.3. Vezikül Oluşumunun Şematik Gösterimi [82]..... | 13 |
| Şekil 2.4. N,N-dimetilferrosenilmetilundesil amonyum bromür yüzey aktif maddesi [93] | 15 |
| Şekil 2.5. Fenton reaksiyonunun mekanizması [102,103] | 17 |
| Şekil 2.6. Ferrosen/Ferrosenyum redoks çifti [112] | 18 |
| Şekil 2.7. Farklı metal ve ligand bileşenleriyle elde edilen MOF yapılarının şematik gösterimi [125] | 20 |
| Şekil 2.8. Tetrahedron metal merkezleri ve ona bağlı ligandlar ile ZIF-8 yapısı [142] | 22 |
| Şekil 2.9. ZIF-8'e yüklenen tedavi ajanları ve kullanım alanları [163-176]..... | 25 |
| Şekil 2.10. ZIF-8'in pH'a duyarlı parçalanmasının şematik gösterimi [158] | 26 |
| Şekil 3.1. Rodamin-b yüklü ZIF-8 sentezinin şematik gösterimi | 33 |
| Şekil 3.2. Rodamin-b yüklü ZIF-8'e polidopamin kaplamasının şematik gösterimi | 34 |
| Şekil 3.3. Fenton reaksiyonunun metilen mavisi giderimi yöntemiyle takibi | 37 |
| Şekil 3.4. LS yönteminin şematik gösterimi [210] | 40 |
| Şekil 3.5. AFM yönteminin şematik gösterimi | 41 |
| Şekil 3.6. Negatif yüklü bir partikülün etrafındaki iyon katmanlarının gösterimi [217] | 43 |
| Şekil 4.1. Su ortamındaki ZIF-8 sentezinde çinko hidroksit oluşum mekanizması [144] | 51 |
| Şekil 4.2. Rodamin-b yüklenmiş ZIF-8 kristallerinin AFM görüntüleri | 53 |
| Şekil 4.3. Rhb@ZIF-8.8 örneklerinden rodamin-b salımının zamanla değişimi | 58 |
| Şekil 4.4 Rhb@ZIF-8.8 örneklerinden pH 7.4'te farklı ortamlarda salınan rodamin-b miktarı | 59 |
| Şekil 4.5. Rhb@ZIF-8.8 örneklerinden adımlı rodamin-b salımı..... | 60 |

| | |
|--|----|
| Şekil 4.6. Farklı konsantrasyonlarda Rhb@ZIF-8/PDA partiküllerinin NIR ışınması altında zamana karşı sıcaklık değişimleri (808 nm λ , 1.5 W/cm ²)..... | 63 |
| Şekil 4.7. (A) 0.25 mg/ml ve (B) 0.1 mg/l konsantrasyonda Rhb@ZIF-8/PDA partiküllerinin NIR ışınması altında zamanla değişen termal kamera görüntüleri (808 nm λ , 1.5 W/cm ²)..... | 63 |
| Şekil 4.8. 0.25 mg/ml konsantrasyonda ZIF-8, Rhb@ZIF-8 ve Rhb@ZIF-8/PDA partiküllerinin NIR ışınması altında zamana karşı sıcaklık değişimleri (808 nm λ , 1.5 W/cm ²)..... | 65 |
| Şekil 4.9. 0.1 mg/ml konsantrasyonda Rhb@ZIF-8/PDA partiküllerinin (A) NIR ışınması altında fototermal stabiliteleri. (B) Fototermal dönüşüm verimliliği (808 nm λ , 1.5 W/cm ²)..... | 67 |
| Şekil 4.10. Rhb@ZIF-8 ve Rhb@ZIF-8/PDA'nın zamana karşı rodamin-b salım grafiği..... | 68 |
| Şekil 4.11. (A) ZIF-8 (B) Rhb@ZIF-8 ve (C) Rhb@ZIF-8/PDA'ya ait AFM (bar=200 nm) ve TEM görüntüleri | 69 |
| Şekil 4.12. ZIF-8, Rhb@ZIF-8 ve Rhb@ZIF-8/PDA nanopartiküllerinin XRD sonuçları | 70 |
| Şekil 4.13. ZIF-8, Rhb@ZIF-8 ve Rhb@ZIF-8/PDA nanopartiküllerinin FTIR spektrumları..... | 72 |
| Şekil 4.14. Fc(C ₁₁), H ₂ O ₂ ve Fc(C ₁₁) ⁺ H ₂ O ₂ 'nin metilen mavisi giderimi performansı (23.58 mM H ₂ O ₂ , 1 mM Fc(C ₁₁), 10 mg/L MB, ph 2.5, T=37°C).... | 73 |
| Şekil 4.15. (A) pH 2.5 değerinde sıcaklığın metilen mavisi giderimine etkisi, (B) 37°C sıcaklıkta pH'ın metilen mavisi giderimine etkisi (23.58 mM H ₂ O ₂ , 1 mM Fc(C ₁₁), 10 mg/L MB)..... | 74 |
| Şekil 4.16. Farklı konsantrasyonlarda ferrosenli yüzey aktif maddenin metilen mavisi giderimi (23.58 mM H ₂ O ₂ , 10 mg/L MB, ph 2.5, T=37 C)..... | 76 |
| Şekil 4.17. Farklı H ₂ O ₂ konsantrasyonlarında, 1 mM ferrosenli yüzey aktif maddenin metilen mavisi giderimi (10 mg/L MB, ph 2.5, T=37 C) | 77 |
| Şekil 4.18. 1 mM Fc(C ₁₁)'in döngüsel olarak fenton reaksiyonu performansı (10 mg/L MB, 23.58 mM H ₂ O ₂ ph 2.5, T=37 C)..... | 78 |
| Şekil 4.19. Ferrosen-ferrosenyum redoks çiftinin Uv-vis ile takibi..... | 79 |
| Şekil 4.20. NaN ₃ ve MeOH'un %MB giderimine etkisi (3 saat reaksiyon süresi, 1 mM Fc(C ₁₁), 23.58 mM H ₂ O ₂ , pH 2.5, T=37°C) | 80 |
| Şekil 4.21. Fc(C ₁₁)'in konsantrasyona karşı yüzey gerilimi grafiği | 84 |

| | |
|--|----|
| Şekil 4.22. (A) Fc(C ₁₁)-AOT Veziküllerinin DLS pikleri ve (B) 5 kat seyreltilmiş Fc(C ₁₁)-AOT Veziküllerinin DLS piki..... | 84 |
| Şekil 4.23. Farklı konsantrasyonlarda Fc(C ₁₁)-AOT veziküllere Guiner modeli uygulanması ve saçılım fonksiyonu eğrileri..... | 86 |
| Şekil 4.24. Fc(C ₁₁)-AOT veziküllerin Ce(SO ₄) ₂ ve Triton X-100 eklenmesi ile elde edilen Uv-vis spektrumları..... | 87 |
| Şekil 4.25. Veziküllerin fenton reaksiyonu performansının 1 mM Fc(C ₁₁) monomerleri ile kıyaslanması (23.58 mM H ₂ O ₂ , pH 2.5 ve T=37°C)..... | 88 |
| Şekil 4.26. Rhb@ZIF-8@PDA kaplı Fc(C ₁₁)-AOT veziküllerin 2 boyutlu ve 3 boyutlu topografik AFM görüntüleri..... | 91 |
| Şekil 4.27. 1 mM Fc(C ₁₁), Fc(C ₁₁)-AOT vezikül ve Fc(C ₁₁)-AOT/Rhb@ZIF-8/PDA ilaç taşıyıcı sistemin %MB giderimi performansı (23.58 mM H ₂ O ₂ , pH 2.5 ve T=37°C)..... | 92 |
| Şekil 4.28. Rhb@ZIF-8/PDA ve Fc(C ₁₁)-AOT/Rhb@ZIF-8/PDA'nın zamana karşı rodamin-b salım grafiği..... | 94 |
| Şekil 4.29. Rhb@ZIF-8/PDA ve Fc(C ₁₁)-AOT/Rhb@ZIF-8/PDA'nın NIR ışınması altında zamana karşı sıcaklık artışı grafiği (808 nm, 1.5 W/cm ²)..... | 94 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Çizelge 2.1. Vezikül Sentez Yöntemleri ve Elde Edilen Vezikül Tipleri | 11 |
| Çizelge 2.2. Farklı Bileşimlerde Veziküller ve Uygulamaları | 13 |
| Çizelge 2.3. ZIF-8 sentez yöntemleri, avantajları ve dezavantajları..... | 23 |
| Çizelge 2.4. ZIF-8 Temelli Sinerjistik Terapi Çalışmaları | 30 |
| Çizelge 4.1. Rodamin-b yüklü ZIF-8 kristallerinin eldesi için kullanılan yöntem ve parametreler | 49 |
| Çizelge 4.2 Rhb@ZIF-8 kristallerinin AFM ve LS ile elde edilmiş boyut bilgisi . | 50 |
| Çizelge 4.3. Rhb@ZIF-8 örneklerinin sentezinde kullanılan rodamin-b miktarları, enkapsülasyon verimlilikleri ve yükleme kapasiteleri. | 54 |
| Çizelge 4.4. ZIF-8, Rhb@ZIF-8 ve Rhb@ZIF-8/PDA partiküllerine ait zeta potansiyelleri..... | 62 |
| Çizelge 4.5. ZIF-8, Rhb@ZIF-8 ve Rhb@ZIF-8/PDA nanopartiküllerinin LS ve TEM ile elde edilmiş boyutları | 70 |
| Çizelge 4.6. Örneklerin Scherrer eşitliği ile hesaplanmış boyutları | 71 |
| Çizelge 4.7. Farklı reaktif konsantrasyonlarında elde edilen %MB giderimi (pH 2.5, T=37°C)..... | 78 |
| Çizelge 4.8. Farklı ferrosenli yüzey aktif madde konsantrasyonlarında birinci ve ikinci derece hız sabitleri..... | 81 |
| Çizelge 4.9. Fenton reaksiyonunun hız sabitinin sıcaklıkla değişimi..... | 82 |
| Çizelge 4.10. Veziküllerin DLS ve SLS'den elde edilen PDI, hidrodinamik yarıçap, eylemsizlik yarıçapı ve Rg/Rh değerleri..... | 85 |
| Çizelge 4.11. Fc(C ₁₁)-AOT Veziküllerin Farklı Sürelerde ve Oranlarda Rhb@ZIF-8/PDA ile kaplanması sonucu elde edilen zeta potansiyelleri | 89 |

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

| | |
|------------|--------------------------------|
| k_B | Boltzman sabiti |
| D | Difüzyon katsayısı |
| R_g | Eylemsizlik yarıçapı |
| η | Fototermal dönüşüm verimliliği |
| R_h | Hidrodinamik yarıçap |
| h | Isı transfer katsayısı |
| λ | Lazer dalga boyu |
| P_θ | Partikül saçınım fonksiyonu |
| k | Reaksiyon hız sabiti |
| μ | Viskozite |
| Q_{dis} | Yayılan ısı |
| S | Yüzey alanı |
| T_s | Zaman sabiti |

Kısaltmalar

| | |
|--------------|--|
| AFM | Atomik Kuvvet Mikroskobu |
| AOT | Sodyum dioktilsülfosüksinat |
| CDT | Kemodinamik terapi |
| DLS | Dinamik Işık Saçınımı |
| FA | Folik asit |
| $Fc(C_{11})$ | N,N-dimetilferrosenilmetilundesil amonyum bromür |

| | |
|--------|--|
| FTIR | Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi |
| Hmim | 2-metimidazol |
| MOF | Metal Organik Çerçeve |
| PAA | Poliakrilik asit |
| PDA | Polidopamin |
| PDT | Fotodinamik terapi |
| PEG | Polietilen glikol |
| PTT | Fototermal terapi |
| Rhb | Rodamin-b |
| SEM | Taramalı Elektron Mikroskobu |
| SLS | Statik Işık Saçınımı |
| TEA | Trietilamin |
| TEM | Geçirimli Elektron Mikroskobu |
| TME | Tümör mikro çevresi |
| Uv-vis | Ultraviyole ve Görünür Işık Absorpsiyon Spektroskopisi |
| ZIF | Zeolitik İmidazol Çerçeve |
| XRD | X Işınları Kırınımı |

1. GİRİŞ

Nanoteknoloji ve nanobilim her geçen gün önem kazanan ve çalışma alanlarını hızla genişleten bir uygulama ve araştırma alanıdır. En küçük fonksiyonel organizasyonu nanometre ölçeğinde olan malzemelerin ve cihazların tasarımı, sentezi, karakterizasyonu ve uygulanması ile ilgilenen ve günümüzde yalnızca bir araştırma alanı olmaktan çıkıp ticari ürünlerin de elde edilebildiği nanobilimin önemli miktarda talep gördüğü bir çalışma dalı ise tıptır [1]. Nanobilim ve nanoteknoloji tıp alanında patojenlerin biyo-tespiti, protein tespiti, DNA yapısının araştırılması, doku mühendisliği, tümör tespiti ve tedavisi, biyolojik moleküllerin ve hücrelerin ayrılması ve saflaştırılması, manyetik rezonans vb. görüntüleme tekniklerinin iyileştirilmesi gibi pek çok noktada ve özellikle nano taşıyıcılar olarak ilaç ve gen iletiminde kendisine önemli bir yer bulmuştur [2].

Nano taşıyıcılar ilaç molekülleri ve diğer tedavi edici ajanları vücuttaki belirli noktalara hedeflemek ve kontrollü salımını gerçekleştirmek için kullanılan nanomalzemelerdir [3]. Nano taşıyıcıların kullanıldığı modern ilaç taşıma sistemleri, geleneksel ilaç taşıma sistemlerinin beraberinde getirdiği sınırlamaların ve problemlerin ortadan kaldırılmasını sağladığı için oldukça önemlidir. Geleneksel ilaç taşıma sistemlerinde ilaçlar oral, nazal, mukozal vb. yöntemlerle verilmektedir ve bu ilaçlar vücut tarafından daha az emilmekte, rastgele dağılmakta, sağlıklı dokulara zarar verebilmekte ve vücuttan erken atılabilmektedir. Ayrıca geleneksel yöntemlerde ilaçlar enzimatik ve pH'a bağlı bozulmalara maruz kalabileceği gibi vücut içerisinde mukozal bariyerlere de takılabilmektedir [4-6].

Nanoteknolojideki gelişmelerden faydalanan kontrollü ilaç taşıma sistemleri bu sorunların üstesinden gelebilen ya da potansiyel taşıyan sistemler olarak karşımıza çıkmaktadır. Nano taşıyıcılar, yeni ilaç formülasyonlarında önemli bileşenler olarak biyoyararlanımı artırmakta, daha hassas ilaçları ve protein vb. yapıları korumakta ve stabilize etmektedirler [7]. Bazı önemli nano taşıyıcılar polimerik nanopartiküller, lipozomlar, katı lipid nanopartiküller vb. şeklinde sıralanabilmektedir [8].

Bu yapılar arasında lipozomlar klinik uygulamalara başarılı bir şekilde çevrilmiş olan ilk nano taşıyıcılardır [9]. Lipozomlar, lipit çift katmanlarından oluşan küresel veziküllerdir. Eşsiz yapıları nedeniyle lipozomlar, lipit çift katmanlarına hidrofobik, sulu çekirdek bölmelerine ise hidrofilik ilaçları alabilmektedirler [10]. Lipozomların biyolojik ortamlarda yüksek stabilite, kontrol edilebilir salım kinetiği ve biyouyumluluk gibi avantajları, lipozomlara klinik çalışmalarda sıklıkla kullanılma imkanı sağlamaktadır. Sonuç olarak, lipozomlar, çeşitli hastalıkların tespiti ve tedavisi için en başarılı ilaç taşıyım sistemlerinden biri haline gelmiştir [11-13].

Veziküler taşıyıcılar lipitlerden oluşabileceği gibi iyonik olmayan, katyonik, anyonik ve katanyonik yüzey aktif maddelerin birleşiminden de meydana gelebilmektedirler [14-17]. Bu nedenle veziküller geniş bir aralıkta pek çok farklı kimyasal madde kullanılarak sentezlenebilmektedirler ve sentezde kullanılan yüzey aktif maddelerin baş veya kuyruk gruplarının çeşitli modifikasyonları ile farklı fonksiyonlara sahip veziküller elde edilebilmektedir [18,19].

Bu tez çalışmasının bir kısmını baş grubunda ferrosen içeren bir yüzey aktif maddenin, vezikülü oluşturan yapı taşlarından bir tanesi haline getirilmesi ile fenton reaksiyonlarını gerçekleştirebilecek bir vezikül elde edilmesi oluşturmaktadır. Çalışma kapsamında çift tabakasında ferrosenli bir yüzey aktif madde bulunduran veziküllerin elde edilmesi için katyonik N,N-dimetilferrosenilmetilundesil amonyum bromür ($Fc(C_{11})$) ve anyonik sodyum dioktilsülfosüksinat (DOSS veya AOT) kullanılmıştır. Bu sayede çeşitli hastalıklar (özellikle tümörler üzerinde) üzerinde kemodinamik etkiye sahip reaktif radikalleri meydana getirebilecek bir veziküler taşıyıcı elde edilmesi amaçlanmıştır. Suda "kendiliğinden oluşma" yöntemiyle hazırlanan veziküllerin fenton reaksiyonu performansı açığa çıkan radikallerin metilen mavisi gideriminde kullanılması ile ölçülmüştür. Deneyler sonucunda fenton reaksiyonlarını başarı ile gerçekleştiren ve kemodinamik terapide kullanılabilecek veziküller elde edilmiştir. Veziküllerin boyutları ve yapısı statik ve dinamik ışık saçınımı yöntemleri (SLS ve DLS) ile analiz edilmiştir. Radikallerin oluşumu elektro-spin rezonans (ESR) yöntemi ile analiz edilmiştir.

Lipozomlar gibi iyi bilinen ve çalışılan veziküler taşıyıcıların yanında günümüzde yeni ve ilaç taşıyım konusunda yüksek potansiyelli malzemeler ortaya

çıkılmaktadır. Son yıllarda ilaç taşıyıcı sistem araştırmalarında sıklıkla kullanılan metal organik çerçeveler (MOF'lar) çok yüksek gözeneklilikleri, ayarlanabilir gözenek boyutları, yüksek yüzey alanları ve ayarlanabilir yüzey özellikleri ile öne çıkan, organik moleküller tarafından bağlanmış metal iyonlarından oluşan kristal katılardır [20-22]. MOF'lar gaz adsorpsiyonu/ayırma işlemlerinde, kimyasal sensör alanında, katalizör görevinde, çevre kirleticilerinin giderilmesinde, enerji depolanmasında vb. pek çok alanda kullanılmaktadır [23-28]. Bunların yanı sıra bazı MOF'ların ilaç taşınımı uygulamalarında kullanımı son on yılda hızla gelişen bir araştırma alanı olarak ortaya çıkmıştır [29]. Günümüzde MIL-53, MIL-101, UiO-66, MOF-74, ZIF-8 gibi birçok MOF temelli nano malzeme ilaç taşınım sistemleri araştırmalarında kullanılmaktadır [30-34].

Bu taşıyıcılar arasında gözenekliliği, yüksek yükleme kapasitesi, termal ve kimyasal stabilitesinin yanında pH'a duyarlı yapısıyla zeolitik imidazol çerçeve-8 (ZIF-8) ilaç taşınımı uygulamaları için yüksek potansiyeliyle öne çıkmaktadır [35]. Morfolojik olarak zeolitlere benzeyen ZIF'ler bir MOF alt sınıfıdır ve metal iyonları ile imidazol ligandların tetrahedral olarak koordine olmasından oluşmaktadırlar [35, 36]. ZIF-8 bu MOF sınıfının bir temsilcisi olarak ilaç taşınım sistemlerinde sıklıkla çalışılmaktadır. Bugüne dek doksorubisin (DOX), verapamil (VERA), florourasil (5-FU), siprofloksasin (CIPRO) vb. pek çok ilaç molekülünün ZIF-8'e yüklenmesi gerçekleştirilmiştir ve ZIF-8 pH'a duyarlı olarak bu ilaçların hedeflenmesini ve kontrollü salımını sağlamaktadır [37-40].

ZIF-8 ilaç moleküllerinin yanı sıra farklı hastalıklara karşı etkili pek çok farklı tedavi ajanını da yapısına dahil edebilmektedir. Metal nanopartikülleri, boyalar ve enzimler ZIF-8 kristaline yüklenerek biyomedikal uygulamalarda sıklıkla kullanılmaktadır [41-43]. ZIF-8 ayrıca yüzey modifikasyonları için de uygundur ve polidopamin (PDA), poliakrilik asit (PAA), polietilen glikol (PEG) vb. malzemelerin ZIF-8 yüzeyine kaplanması mümkündür. ZIF-8 yüzeyine kaplanan bu malzemeler ZIF-8'e biyouyumluluk, fototermal etki ve ilaç salımı üzerinde daha iyi kontrol gibi özellikler kazandırmaktadır [44-46].

Tez çalışmasının ZIF nano taşıyıcılar geliştirilmesi aşamasında hem sonraki aşamada yapılması planlanan çalışmalar hem de intravenöz hareket kabiliyeti göz önünde bulundurularak belirlenen uygun boyutlarda (100 nm ve civarında)

ZIF-8 nanopartiküllerinin sentezlenmesi hedeflenmiştir. Model molekül olarak belirlenen rodamin-b'nin suda çözünür olması nedeniyle ZIF-8 sentezinin suda gerçekleştirilmesine karar verilmiştir. Bu amaçla trietilamin (TEA) destekli ZIF-8 sentezi suda ve oda koşullarında gerçekleştirilmiştir. Model molekül olan rodamin-b, ZIF-8 kristallerine sentez esnasında "tek kap" yöntemiyle yüklenmiştir.

Çalışmanın bir sonraki aşamasında ZIF-8'e ilaç taşıyıcı özelliklerinin yanında farklı bir fonksiyonel özellik kazandırmak için PDA kaplaması gerçekleştirilmiştir. PDA kaplaması için dopamin hidroklorürün ZIF-8 yüzeyinde polimerleşmesi alkali Tris tampon çözeltisi kullanılarak sağlanmıştır. Rodamin-b yüklü ZIF-8 (Rhb@ZIF-8) ve bu nanopartikülün PDA kaplı hali olan Rhb@ZIF-8/PDA'nın model molekül salımı ve fototermal verimlilikleri incelenmiştir. Salım çalışmaları fosfat tampon çözeltisi içerisinde farklı pH'larda gerçekleştirilmiştir. Bu sayede özellikle normal vücut dokularından daha düşük pH'a sahip dokular üzerinde etkili olabilecek bir ilaç taşıyıcı elde edilmiştir. Aynı zamanda PDA kaplamasının etkinliği NIR lazer altında bir termal kamera ile takip edilmiş ve fototermal terapi gerçekleştirmek için gerekli sıcaklık artışı sağlanmıştır. Elde edilen ZIF-8, Rhb@ZIF-8 ve Rhb@ZIF-8/PDA nanopartiküllerinin yapısı ve boyutlarına ilişkin karakterizasyonu için Fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi (FTIR), X ışınları kırınımı (XRD), atomik kuvvet mikroskobu (AFM), ışık saçınımı yöntemi (LS), geçirimli elektron mikroskobu (TEM) ve zeta potansiyeli ölçümleri ile gerçekleştirilmiştir. Boyut analizi için AFM, LS ve TEM, kristal yapısı için FTIR ve XRD, PDA kaplaması için ise zeta potansiyeli ve TEM yöntemlerinden yararlanılmıştır.

Çalışmanın son aşaması, çalışmanın özgün kısmını da oluşturacak olan ferrosenli yüzey aktif madde içeren AOT veziküller ile (potansiyel bir ilaç taşıyıcı ve kemodinamik terapi ajanı) Rhb@ZIF-8/PDA (model ilaç taşıyıcı ve fototermal terapi ajanı) nanopartiküllerinin birleştirilmesi gerçekleştirilmiştir. Bu birleştirme için elektrostatik etkileşimlerden faydalanılmıştır. Zeta potansiyeli ölçümleri sonucunda zıt yüklere sahip olduğu belirlenen vezikül ve ZIF-8'in etkileşimi ile negatif yüklü Rhb@ZIF-8/PDA nanopartiküllerinin pozitif yüklü AOT-Fe(C₁₁) veziküllerinin üzerine kaplanması sağlanmıştır. Bu sayede hem üçlü etkiye sahip (kemoterapötik, fototermal ve fotodinamik) bir ilaç taşıyım sistemi elde edilmiştir

hem de fenton reaksiyonu gerçekleştirme fonksiyonuna sahip bir vezikül ile nano taşıyıcı ZIF-8'in elektrostatik etkileşimlerle birleştirilmesi ilk kez gerçekleştirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nanobilim ve Nanoteknoloji

Nanobilim, bir ile birkaç yüz nanometre boyut aralığında yer alan yapıların ve moleküllerin incelendiği bir alandır. Daha geniş bir tanımla nanobilim yapıların, cihazların ve sistemlerin nanometre ölçeğindeki düzenlemeler ile yeni özellik ve işlevlere sahip olması için çalışılan bir araştırma alanıdır [47]. Nanoteknoloji ise nanobilim çalışmalarından elde edilen sonuçları pratik uygulamalara dönüştüren bir teknolojik çalışmalar bütünüdür [48]. Nanobilimin gelişimi özellikle 2000'li yılların başında nanoteknolojinin yardımı ile ticari ürünler elde edilebilmesinin görülmesiyle hızlanmıştır. Ancak nanobilimin izleri beşinci yüzyıla kadar takip edilebilmektedir. Antik Yunanda maddenin sonsuza kadar bölünüp bölünemeyeceği fikrinin ve sonrasında maddenin bölünemez ve yok edilemez parçacıklardan oluşup oluşmadığının tartışılması, nanobilimin de başlangıç noktası olarak kabul edilebilmektedir [47].

Nanoteknoloji en az bir düzlemde nano boyutta olan malzeme ve cihazların tasarımı, sentezi, karakterizasyonu ve uygulamaları ile ilgilenmektedir [49]. Bu ölçeklerde tek tek moleküllerin veya etkileşim halindeki molekül gruplarının, tüm yapının makroskobik özellikleri üzerinde etkili olduğu düşünüldüğünde nanoteknolojik çalışmalar malzemelerin fiziksel ve kimyasal makroskobik özellikleri üzerinde kontrol sahibi olmamıza olanak tanımaktadır [50]. Nanoteknoloji, sağladığı bu fayda ile fizik, kimya, biyoloji gibi temel bilim dallarından elektronik, mühendislik, ilaç taşınımı gibi alanlara dek çok geniş bir aralıkta kendisine yer bulmaktadır [48].

Nanoteknolojinin yapılar üzerinde sağladığı kontrol imkanı ile birlikte, günümüzde pek çok alanda ihtiyaç duyulan bir malzeme sınıfı olarak nanomalzemeler ortaya çıkmıştır. Nanomalzemeler istenilen özelliklere uygun sentez koşulları uygulanarak farklı boyutlarda ve şekillerde elde edilebilmektedirler [51]. Bu farklılıklar sayesinde yığın hallerinden çok daha farklı elektrik, manyetik, optik ve katalitik özelliklere sahip şekilde üretilen nanomalzemeler bilimsel çalışmalara pek çok farklı şekilde katkı sağlamaktadır [52].

Nanomalzemeler kendilerini oluşturan malzemelere göre karbon temelli, metalik, seramik temelli, polimerik ve biyomoleküllerden türetilmiş nanomalzemeler olarak sınıflandırılabilirler. Nanomalzemelerin genel özellikleri arasında boyutları, şekilleri, yüzey alanları ve reaktiflikleri yer almaktadır ve bu özellikler nanomalzemelerin makroskobik özellikleri üzerinde oldukça etkili olmaktadır [51]. Örneğin, nanomalzeme alanında oldukça önemli bir yere sahip nanopartiküllerden olan altın nanopartiküllerinin optik özellikleri sahip oldukları boyut ve geometrinin değişmesi ile oldukça farklılık gösterebilmektedir [53, 54]. Benzer şekilde gümüş nanopartiküllerinin antimikrobiyal aktiviteleri de partikül boyutuna bağlıdır [55].

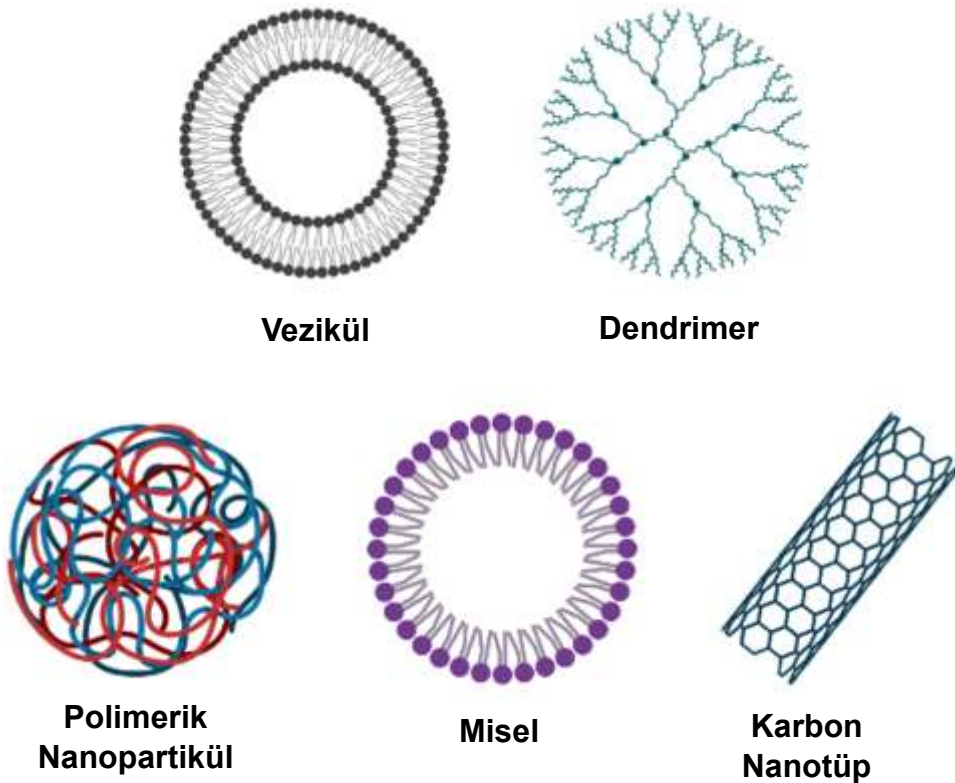
Nanomalzemeler günümüzde çevre uygulamalarından, elektronik sistemlere, tekstil endüstrisinden gıda endüstrisine dek pek çok farklı alanda kullanılmakta ve araştırılmaktadır [56]. Ancak nanoteknoloji ile üretilen malzemelere en çok ihtiyaç duyan alanlardan bir tanesi nanotıp ve ilaç taşıyım sistemleridir. Nanoteknoloji sayesinde üretilen nano boyutlu malzemeler insan vücudunda kolay hareket edebilecek ve istenilen bölgelere ulaşılacak yetenektedirler. Bazı nanoyapıların boyutlarının uygunluğu dışında çeşitli diğer nanopartikül ve ilaç moleküllerini enkapsüle edebilme yeteneği bu yapıları ilaç taşıyıcılar olarak ideal hale getirmektedir [57].

2.2. Nano taşıyıcılar

Antik çağlardan beri insanlar bitkisel kaynaklı ürünleri çeşitli hastalıklara karşı ilaç olarak kullanmışlardır. Günümüzde modern ilaçların %25 kadarı doğal kaynaklardan elde edilmektedir [58]. Bitkisel kaynaklı ilaçlar kimyasal yapılarında çeşitliliğe ve biyolojik olarak bazı üstün özelliklere sahiplerdir. Ancak avantajlarına rağmen biyoyumluluk ve toksisite konusundaki endişeler nedeniyle pek çok doğal kaynaklı ürün klinik çalışma aşamasına geçememektedir [59]. Ayrıca geleneksel yöntemlerle hazırlanmış büyük boyutta malzemelerin ilaç taşıyımında kullanılmaları stabilite sorunlarını, vücut tarafından zayıf adsorpsiyonu, düşük çözünürlüğü ve hedefleme mekanizmalarının sınırlılığını beraberinde getirmektedir. Bu nedenle günümüzde nanoteknolojiden yararlanılarak tasarlanmış, hedeflemeyi ve kontrollü ilaç salımını mümkün kılan yeni ilaç taşıyıcı sistemlere ihtiyaç vardır [57].

Nano taşıyıcılar ilaç etken maddeleri ve çeşitli tedavi ajanlarını vücuttaki spesifik bölgelere taşımak için kullanılan nanomalzemelerdir. Genellikle inaktif malzemelerdir ve biyouyumlulukları yüksektir. Nano taşıyıcılar uzatılmış ve kontrollü ilaç salımı sağlamaktadırlar. Bu nedenle tedavi amaçlı nano taşıyıcı kullanımı yaygın olarak araştırılmaktadır [3].

Nano taşıyıcıların en genel sınıflandırması organik, inorganik ve hibrit nano taşıyıcılar olarak yapılabilmektedir [3]. Sıklıkla kullanılan nano taşıyıcılar veziküller, katı lipid nanopartiküller, dendrimerler, miseller, polimerik nanopartiküller, karbon nanotüpler, manyetik nanopartiküller, kuantum noktalar ve mezogözenekli silika nanopartiküller olarak karşımıza çıkmaktadırlar (Şekil 2.1) [60-63].



Şekil 2.1. Vezikül, dendrimer, polimerik nanopartikül, misel ve karbon nanotüplerin şematik gösterimi [60-63]

Bu taşıyıcılardan bir kısmı hala araştırma ve geliştirme aşamasındayken bazıları klinik çalışmalarda uzun süredir kullanılmaktadırlar. Lipozomlar klinik

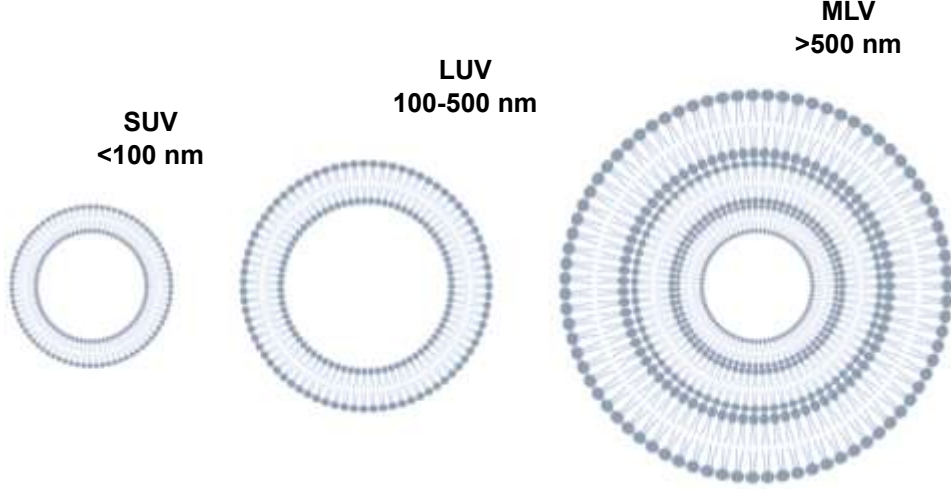
uygulamalarda en sık kullanılan nano taşıyıcılardır [64]. Ayrıca COVID-19 salgını boyunca veziküller özel bir ilgi alanı olmuştur. Son dönemde pek çok lipozom temelli aşı başarı ile geliştirilmiştir [65].

2.2.1. Veziküler Taşıyıcılar

Lipozomlar nano boyutta, merkezde sulu bir çekirdeğe sahip, çeper olarak ise bir veya daha fazla fosfolipit çift tabakasından meydana gelen küresel veziküllerdir. Kimyasal bileşimlerinin çeşitliliği, bu çeşitlilikten doğan biyouyumlulukları ve farklı yapısal özelliklere sahip olmalarıyla ilaç taşıma sistemlerinden doku mühendisliğine pek çok alanda kendilerine yer bulmaktadırlar [66].

Bir lipit çift tabakası içerisinde kalmış sulu çekirdekten oluşan veziküler nano taşıyıcılar bu sayede hidrofilik ve lipofilik ilaç moleküllerini spesifik vücut bölgelerine taşıyabilme yeteneğine sahiptirler [3]. İlaç moleküllerinin yanında veziküller karbohidratlar [67], DNA [68] ve görüntüleme ajanlarının [69] gibi biyomolekülleri de kapsülleyebilmektedir. Geleneksel ilaç taşıyıcı sistemlerle karşılaştırıldığında kontrollü salıma imkan sunmaları, ilaç moleküllerini dış ortamdan korumaları, düşük toksik etkileri, esneklikleri vb. özellikleriyle öne çıkmaktadırlar [70].

Veziküllerin yapısı ve fizikokimyasal özellikleri kullanılan lipitlerin türüne, boyutuna, konsantrasyonuna ve yüküne bağlı olduğu gibi çözelti özelliklerine (pH, sıcaklık, iyonik kuvvet) bağlıdır. Ayrıca vezikül hazırlarken kullanılan sentez metodu da yapı üzerinde etkili en önemli faktörlerden bir tanesidir [66]. İlaç taşımasını uygulamalarında kullanılan veziküller çok katmanlı (MLV), küçük tek katmanlı (SUV), büyük tek katmanlı (LUV) veziküller olarak (Şekil 2.2) sıralanabilmektedirler ve elde edilecek vezikül yapısı kullanılan hazırlama yöntemine bağlıdır [71].



Şekil 2.2. İlaç taşınım sistemlerinde kullanılan vezikül tipleri ve boyutları [71]

2.2.1.1. Veziküllerin Sentezi ve Yapısı

Vezikül hazırlarken en önemli amaçlar elde edilecek vezikülün monodispers olmasını, istenilen tabaka sayısına sahip olmasını ve uzun süreli koloidal stabiliteyi sağlamaktır. Geleneksel vezikül sentezinin adımları şu şekilde sıralanabilmektedir;

- Lipitleri organik bir çözücüde çözmek
- Organik çözeltinin ortamdaki uzaklaştırılması
- Lipitin su veya sulu bir tampon çözeltiyle hidratlanması (çalkalama ve karıştırma)
- Vezikül boyutlarının ya da katmanlılığının değiştirilmesi
- Safılaştırma/Sterilizasyon
- Karakterizasyon [66].

En sık kullanılan sentez yöntemlerinden bazıları film hidrasyonu yöntemi, ters faz buharlaştırma yöntemi ve çözücü enjeksiyon yöntemi olarak sayılabilmektedir. Boyut ve katmanlılığın değiştirilmesi için ise en sık başvurulan yöntemler sonikasyon, ekstrüzyon ve yüksek basınç homojenizasyon yöntemleridir [66]. Vezikül sentezinde sıklıkla kullanılan yöntemler, yöntemlerin uygulanma aşamaları ve bu yöntemler kullanılarak elde edilebilecek vezikül tipleri çizelge 2.1'de görülebilmektedir.

Çizelge 2.1. Vezikül Sentez Yöntemleri ve Elde Edilen Vezikül Tipleri

| Yöntem | Hazırlanış | Vezikül Tipi | Ref. |
|----------------------------------|---|---|------|
| Film hidrasyonu | Lipitler bir organik çözücüde çözülür. Çözücünün buharlaştırılmasıyla elde edilen film sulu bir tampon ile hidratlanır. | Çok tabakalı veziküller Küçük tek katmanlı veziküller Büyük tek katmanlı veziküller. (Boyutları ayarlamak için sonikasyon, ekstrüzyon vb.) | 72 |
| Ters faz buharlaştırma | Bir su/yağ emülsiyonu elde edilir. Organik fazın buharlaştırılması ile sulu vezikül süspansiyonu elde edilir. | Küçük tek katmanlı veziküller Büyük tek katmanlı veziküller | 73 |
| Çözücü enjeksiyonu (etanol/eter) | Lipitler çözücülerde çözüldükten sonra sulu faz ile karıştırılır. | Küçük tek katmanlı veziküller | 74 |

Lipozomlar ilk elde edilen veziküler sistemler olmalarına rağmen yüksek maliyetleri ve bazı pH değerlerinde yaşadıkları stabilite sorunları gibi dezavantajlara sahiptirler. Bu nedenle doğal ve sentetik lipidlerin yanı sıra yüzey aktif maddeler de laboratuvar ortamında veziküler yapılar elde etmek için sıklıkla kullanılmaktadır. Örneğin iyonik olmayan yüzey aktif maddelerden elde edilen niozomlar maliyet açısından çok daha avantajlı olarak öne çıkmaktadır [75]. İyonik olmayan yüzey aktif maddeler maliyetlerinin yanı sıra stabilite ve toksisite açısından da avantajlı bulunmaktadır [76].

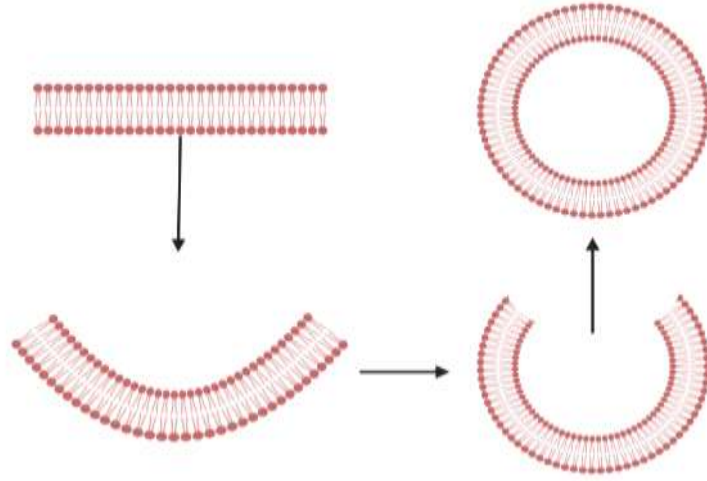
Veziküller iyonik olmayan yüzey aktif maddelerden elde edilebilecekleri gibi katyonik ve anyonik yüzey aktif maddelerden elde edilebilirler [15,77]. Ayrıca katyonik ve anyonik yüzey aktif maddeleri yapısında bir arada bulunduran katanyonik veziküller de sentezlemek mümkündür [78]. Bu da vezikül formülasyonu için farklı özelliklere sahip pek çok yüzey aktif maddenin bir arada kullanılabilmesine ve farklı fonksiyonlara sahip veziküllerin sentezlenebilmesine olanak tanımaktadır. Veziküllerin yapısında yüklü moleküllerin ve iyonik amfifillerin kullanılabilmesi vezikülü oluşturan her bir bileşenin avantajlarından faydalanılabilmesini sağlamaktadır. Örneğin disetil fosfat (DPC), fosfatidik asit gibi negatif yüklü ve sterailamin, setilpiridinyum klorür gibi pozitif yüklü moleküller veziküllerde ilaç yükleme kapasitesini, verimliliği ve stabiliteyi artırmak için kullanılabilir [79]. Veziküllerde yüklü moleküllerin kullanılması ayrıca bu

veziküllerin daha sonra elektrostatik etkileşimlere uygun olmasını sağlamaktadır [80].

Vezikülleri meydana getiren en önemli faktörler kullanılan moleküllerin hidrofilik/hidrofobik özellikleridir. Yük dağılımına ve simetrisine göre moleküller polar ve polar olmayan moleküller olarak ikiye ayrılabilirler ancak bazı moleküller (fosfolipitler, yüzey aktif maddeler, kopolimerler) polar ve polar olmayan grupları bir arada bulundurmaktadırlar. Bu moleküller amfifilik olarak isimlendirilmekte ve hem hidrofilik hem de hidrofobik özellik göstermektedirler. Bu nedenle bu moleküller sulu ortamlarda kendiliğinden bir araya gelebilmekte ve düzenli yapılar oluşturabilmektedir. Bu yapılar küresel veya silindirik miseller, veziküller ve düzlemsel çift tabakalar olarak oluşabilmektedir [81].

Küresel miseller ve veziküllerin oluşumu temelde iki etkileşime bağlıdır. Bu etkileşimler polar olmayan kuyrukların hidrofobik çekim etkileşimi ve hidrofilik baş grupların etkileşimleri (siterik etkiler, molekülün yüküne bağlı olarak elektrostatik etkileşim) olarak sıralanabilmektedir. Hidrofobik etki (kuyruk gruplarının bir araya gelerek suyla temas yüzeyini azaltmaya çalışması) vezikül oluşumunda genellikle diğer tüm etkilerden daha kuvvetli olmaktadır. Ancak bu esnada hidrofilik baş grupları da suyla temas halinde kalmaya çalışmaktadır [81]. Bu durumda amfifiller disk benzeri bir çift tabaka oluşturmaktadırlar.

Bu sonlu çift tabakalı yapı kenarlarında bulunan hidrofobik kısımlarının suyla teması nedeniyle tabakanın uzunluğuyla orantılı bir enerjiye sahiptir. Hidrofobik yan kısımlar kapandığında bu enerjinin minimize edilmesi mümkündür [82]. Bu çift tabakalı yapılar enerjilerini minimize etmek için genellikle dairesel bir konfigürasyon aramaktadır. Çünkü bir dairenin çevre uzunluğu herhangi bir yüzey alanı için oluşabilecek tüm konfigürasyonlar arasında en kısadır. Bu sayede yapı "toplam hat enerjisini" minimuma indirmektedir. Bu nedenle çift tabakalı yapı büyüdükçe eğrileşme eğilimindedir [73]. Lipit çift tabaka suyla temas eden hidrofobik kısımlarını tamamen kapatabilmek adına eğrileşerek sonunda küresel bir şekilde kendi üzerine kapanmakta ve çekirdeğinde sulu faz bulunduran bir yapı oluşturmaktadır (Şekil 2.3) [82].



Şekil 2.3. Vezikül Oluşumunun Şematik Gösterimi [82]

2.2.1.2. Veziküllerin İlaç Taşınım Sistemlerinde Kullanılması

Veziküllerin sentezinde kullanılabilecek yüzey aktif maddelerin ve lipidlerin özellikleri aynı zamanda veziküllere biyomedikal uygulamalarda ihtiyaç duyulan fonksiyonları da kazandırmaktadır. Çizelge 2.2’de farklı veziküler taşıyıcılar ve uygulamaları gösterilmiştir.

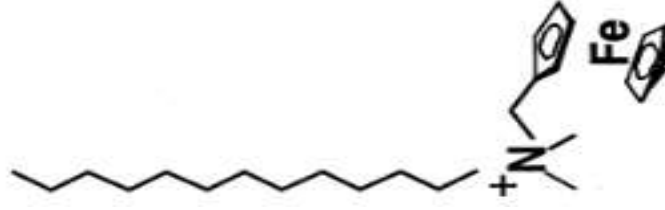
Çizelge 2.2. Farklı Bileşimlerde Veziküller ve Uygulamaları

| Vezikül Bileşenleri | Kargo | Uygulama | Ref. |
|--|---------------------------------------|--|------|
| Kolestrol, SPAN 60, PEG | Doksorubisin, kurkumin, tLyp-1 peptit | Beyin tümörü tedavisi | 83 |
| Kolestrol, DOTAP, PEG, Tween 60 | Doksorubisin, siRNA | Kombine kanser tedavisi | 84 |
| DPPC | Rutin | Karaciğer için antioksidan | 85 |
| CTAB, SDS | Kurkumin | Akciğer kanseri tedavisi | 86 |
| Bakır içeren katyonik yüzey aktif madde, SDS | Rose Bengal, Toluidin Mavisi | Antimikrobiyal fotodinamik terapi | 87 |
| Lesitin, DDAB | DNA | Gen taşınımı | 88 |
| CTAB, SDBS | Fluorourasil, Aeonium | Hidrofilik ve hidrofobik ilaç taşınımı | 89 |
| Polianilin, AOT | Doksorubisin | Fototermal-Kemodinamik kombine kanser terapisi | 90 |

Vezikül sentezinde kullanılan yüzey aktif maddelerin modifikasyonu ile veziküllere birtakım özellikler kazandırılması mümkündür. Örneğin metallerin yüzey aktif

maddelere bağlanması ile elde edilen metalosurfaktanlar veziküllere manyetik özellikler, redoks reaksiyonlarına elverişli olma ve katalitik aktivite gösterme gibi özellikler kazandırabilmektedir [87]. Örneğin Sakai vd. ferrosen ile modifiye edilmiş katyonik bir yüzey aktif madde olan FTMA ile anyonik sodyum dodesilbensülfonat kullanarak elektrokimyasal olarak oluşup parçalanabilen bir vezikül elde etmişlerdir [91]. Kaur vd. setrimonyum klorür ve bakır klorürden elde ettikleri metalosurfaktanı sodyum dodesil sülfat ile birlikte kullanarak bir metalo-katanyonik, fotodinamik özelliğe sahip boyar madde yüklenmiş veziküller elde etmişlerdir. Vezikül yapısındaki metal varlığının yalnızca sentezi kolaylaştırmadığını aynı zamanda boyar maddelerin yüklenmesini sağlayarak ilaca dirençli bakteriler üzerinde toksik etki sağladığını göstermişlerdir [87]. Bir diğer çalışmada Garg ve arkadaşları mangan içeren tek ve çift zincirli yüzey aktif maddeleri fotodinamik terapi ajanı floresin ile birleştirerek lazer ışını altında singlet oksijen üretimi sağlamışlardır. Çalışma ayrıca mangan içeren yüzey aktif maddelerin *Staphylococcus aureus* bakterisi üzerinde antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Fotodinamik ve antibakteriyel etkinin birleşmesi ile bakteriler üzerinde %100 öldürme oranına ulaşılmıştır [92].

Yüzey aktif maddelerin metallerle birleştirilmesi floresin gibi kimyasallara ilgili hale gelmesini sağlayıp etki gösterebileceği gibi doğrudan etkiyle de kullanılabilme potansiyeli taşımaktadır. Örneğin baş grubuna bir metal bağlanmış yüzey aktif maddenin vezikül yapısına entegre edilebilmesi durumunda fenton reaksiyonlarını gerçekleştirebilecek bir vezikül elde edilebilir. Aydoğan vd. baş grubunda önemli bir fenton reaksiyonu ajanı olan ferrosen bulunduran bir yüzey aktif madde olan N,N-dimetilferrosenilmetilundesil amonyum bromür'ü elde etmişlerdir (Şekil 2.4) [93]. Bu ve benzeri yüzey aktif maddelerin vezikül yapısına dahil edilmesi ile ilaç taşıyıcı bir sistemin yanı sıra tümör hücreleri üzerinde toksik etkiye sahip "ferroptoz"un gerçekleştirilebileceği çok fonksiyonlu bir sistem elde edilebilmektedir.



Şekil 2.4. N,N-dimetilferrosenilmetilundesil amonyum bromür yüzey aktif maddesi [93]

2.3. Fenton Reaksiyonları

Fenton prosesi ileri oksidasyon süreçlerinden biri olarak öne çıkmaktadır ve özellikle atık su arıtımı için önemli bir tekniktir [94]. Geleneksel fenton genellikle hidrojen peroksit ve ferröz iyonlardan meydana gelen, seçici olmayan ve kirleticilerin gideriminde kullanılan bir yöntem olarak öne çıkmaktadır. Reaksiyon sonucunda oksidatif potansiyeli H₂O₂'den (1.78 eV) çok daha yüksek hidroksil radikalleri (2.8 eV) açığa çıkmaktadır [95,96]. Bu radikaller kirleticilerin degradasyonunda kullanılabilir [97].

Fenton reaksiyonları ilk olarak 1876 yılında Henry John Horstman Fenton tarafından keşfedilmiştir. Fenton, bu keşifte tartarik asit, Fe⁺² ve H₂O₂ kullanmıştır. Fenton daha sonra yaptığı deneylerle Fe⁺²/H₂O₂ sisteminin tartarik asiti 2-,3-, dihidroksi maleik asite oksitlediğini göstermiştir [98]. Fenton reaksiyonu ilk olarak şu şekilde ifade edilmiştir;



Ancak OH[·] oluşumunun Fe²⁺ tarafından bir elektron indirgenmesi ile oluşumundan şüphe duyan araştırmacılar 1931 yılında radikal oluşumunu bir zincir reaksiyon mekanizmasına (Reaksiyon 2 ve 3) bağlamışlardır. Haber ve Wilstatter tarafından bu reaksiyonların enzimatik olduğu ve özellikle katalaz tarafından başlatıldığı gösterilmiştir [99-100].



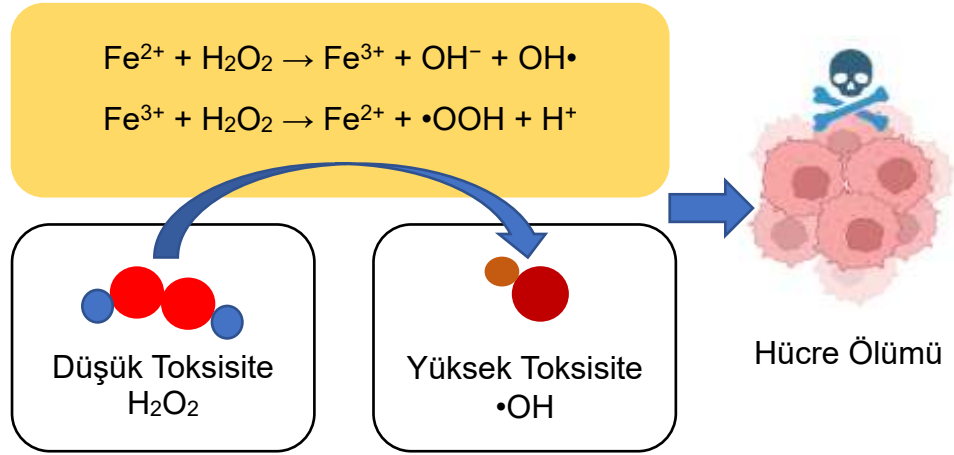
Daha sonra Haber ve Weiss H_2O_2 'nin demir (II) tarafından parçalanmasını reaksiyon 4 ve 6'yı kullanarak açıklamışlardır [101].



1937 yılında Weiss katalazın reaksiyon mekanizmasını açıklamıştır. Sonuç olarak reaksiyon hidrojen peroksitin demir (III)'ü demir (II)'ye indirgemektedir. Daha sonra ise demir (II) hidrojen peroksiti OH^\bullet ve suya indirgemektedir. Süreç sonraki adımda Haber-Weiss reaksiyonları olarak bilinen zincir reaksiyonlarını (5 ve 6) takip etmektedir [101].

2.3.1. Fenton Reaksiyonlarının Biyomedikal Uygulamaları

Demir, insan vücudunda en çok bulunan mineraldir ve oksijenin sistemik organlara taşınması gibi yaşamın sürdürülmesinde önemli roller oynamaktadır. Fenton reaksiyonu, canlı hücreler için oldukça reaktif ve oldukça toksik olan hidroksil radikali üreten demir ve hidrojen peroksit arasındaki reaksiyondur. Fenton reaksiyonunun yakından dahil olduğu programlanmış bir hücre ölümü olan "ferroptoz" son zamanlarda büyük ilgi görmektedir [99]. Ferroptozun ana amacı düşük toksisiteye sahip hidrojen peroksitten, hücreler üzerinde oldukça toksik etkiye sahip hidroksil radikallerinin yerinde eldesi ile hücre ölümünü sağlamaktır (Şekil 2.5) [102-103]. Bu nedenle ferroptoz özellikle kanserli hücrelerin tedavisi amacıyla kullanım potansiyeli taşımaktadır.



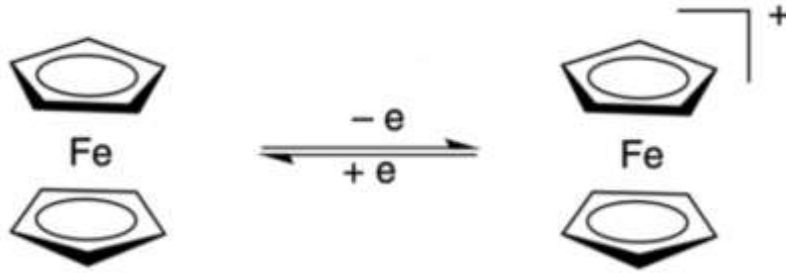
Şekil 2.5. Fenton reaksiyonunun mekanizması [102,103]

Klasik fenton reaksiyonu demir iyonları üzerinden gerçekleştirilse de Cu^+ , Mn^{2+} , Co^{2+} , V^{2+} , Ag^+ ve Cr^{3+} iyonlarının da fenton reaksiyonlarını biyolojik ortamlarda gerçekleştirilebildiği bilinmektedir [103]. Bu reaksiyonların özellikle tümör bölgelerinde kullanımı son dönemde oldukça yaygınlaşmıştır. Fenton reaksiyonunun düşük pH'larda gerçekleşen (pH 2-4) bir reaksiyon olması özellikle bulunduğu bölgede düşük pH'a neden olan kanser tedavisinde kullanımını oldukça önemli kılmaktadır [103-105].

Ma vd. kendiliğinden bir araya gelen bakır sistein merkaptid partikülleri sentezlemişlerdir. Bu sistem asidik koşullarda Cu^{+2} salımı gerçekleştirmektedir. Bakır önce Cu^+ 'ya indirgenmekte daha sonra ise fenton reaksiyonunu başlatmaktadır. Bakırın fenton reaksiyonunun tümörler üzerindeki etkisinin (%72.3) anti-kanser ilacı doksorubisinden (%17.1) çok daha yüksek olduğunu göstermişlerdir [106]. Lin vd. mezo gözenekli silika nanopartiküllerine MnO_2 kaplayarak hücre içi glutasyon ile reaksiyon vererek Mn^{+2} salımı gerçekleştiren bir anti-kanser sistem elde etmiştir. Mn^{+2} hücre içi hidrojen peroksiti kullanarak fenton reaksiyonlarını gerçekleştirmeyi başarmıştır [107].

Wang vd. demir iyonlarına bir alternatif olarak bir tür organik, geçiş metali bileşeni ferroseni fenton reaksiyonlarında kullanmayı başarmıştır [108]. Ferrosen ($\text{Fe}(\text{C}_5\text{H}_5)_2$) oldukça stabil, toksik olmayan, elektron alışverişine müsait yapısı ile redoks tersinir ve yüksek katalitik kapasiteye sahip bir moleküldür [109, 110]. Wang vd. ferrosenin atık su arıtımında kullanılmasını araştırmış ve ferrosenin geri kazanılabilir ve tekrar kullanılabilir olması nedeniyle oldukça ekonomik bir sistem

olduğunu tespit etmişlerdir [108]. Bir diğer çalışmada ise Wang vd. ferrosen içeren polimerozomları kemodinamik terapi ajanı olarak kullanmışlardır. Glikoz oksidaz yüklenmiş sistem hücre içi glikoz ve oksijeni kullanarak hidrojen peroksiti katalitik bir reaksiyon sonucu oluştururken hidrojen peroksit ve ferroseni ise fenton reaksiyonlarını gerçekleştirmek için kullanmaktadır. Bu sistemin karaciğer kanseri hücre dizisi HepG2 üzerinde toksik etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır [111]. Ferrosenin fenton reaksiyonlarında kullanılması ferrosen/ferrosenyum iyonu arasındaki tersinir redoks reaksiyonu ile mümkün olmaktadır (Şekil 2.6)



Şekil 2.6. Ferrosen/Ferrosenyum redoks çifti [112]

2.4. Metal Organik Çerçeveseler

Gözenekli malzemeler, yüksek yüzey alanı, gözenek hacmi, karakteristik gözenek boyutu ve ayarlanabilir yüzey kimyası gibi özel özelliklerinden dolayı bilimsel ve teknolojik açıdan ilgi çekicidir. Bu gözenekli malzemeler, moleküler ayırma, gaz depolama, sensörler, heterojen kataliz ve ilaç dağıtımı dahil olmak üzere çeşitli endüstriyel uygulamalarda büyük potansiyel göstermiştir [113]. Zeolitler, alüminyum, silika ve sodyum vb.'den oluşan alümina-silikalar bu gözenekli malzemelere örnek olarak verilebilmektedir [114].

Gözenekli malzemeler üzerinde yapılan uzun çalışmalara rağmen doğal ve sentezlenmiş gözenekli malzeme sayısının sınırlılığı, bu malzemelerin yapısını kontrol etmekteki zorluk ve işlevsel hale getirilmesi konusunda yaşanan sorunlar nedeniyle 1990'ların başına dek yeni gözenekli yapılara ihtiyaç duyulmuştur [113]. Zeolitlere benzer gözeneklilik özelliğine sahip ancak farklı yüzey kimyaları ve gözenek yapıları ile sınırsız çeşitlilikte sentezlenebilir MOF'lar organik ligandlarla birbirine bağlanan metal iyonlarından oluşan yeni bir gözenekli malzeme sınıfıdır [115,116]. MOF benzeri yapılar 1960'lı yıllardan itibaren rapor

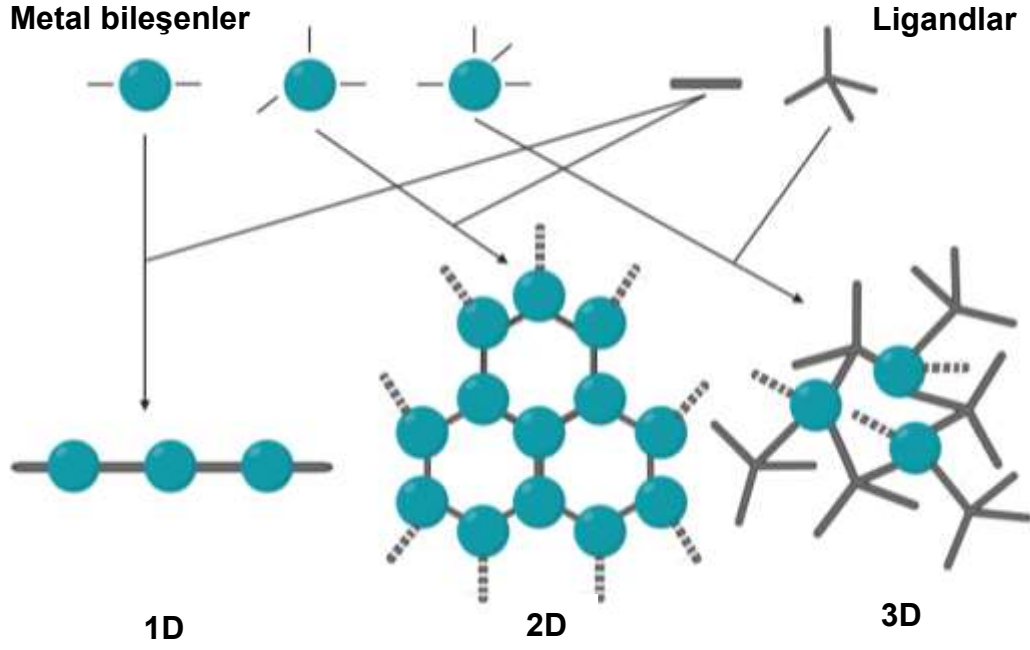
edilmeye başlansa da 1990'lı yıllarda Omar Yaghi'nin öncülüğünde yapılan çalışmalarla MOFlar gözenekli yapılara duyulan ihtiyaçla birlikte hızla büyüyen bir araştırma alanı haline gelmiştir [117,118].

Günümüzde MOF'lar çok yüksek gözenekliliğe sahip (%90'a varan serbest hacim) ve yüksek yüzey alanlarıyla (6000 m²/g'ı aşan) dikkat çeken kristal malzemelerdir [119]. Bu özellikleriyle birlikte organik ve inorganik bileşenlerinin yüksek çeşitliliği MOF'ları pek çok alanda uygulama potansiyeline sahip kılmaktadır. MOF'lar başlangıçta hidrojen ve metan gibi pek çok gaz için depolama ortamı ve çeşitli ayırma işlemleri için yüksek kapasiteli bir adsorbent olarak öne çıkmaktayken günümüzde biyomedikal uygulamalarda, katalitik uygulamalarda, sensör uygulamalarında, elektrokimya alanında ve membran uygulamalarında sıklıkla kullanılmaktadır [120-124].

2.4.1. Metal Organik Çerçevelerin Yapısı

Metal organik çerçeveler organik ligandlarla koordine edilmiş metal iyonlarından veya kümelerinden oluşan, bir veya daha fazla boyutlu, yüksek gözenekli ve yüksek yüzey alanına sahip kristal yapılardır [119,125]. Yapılarında hem organik hem inorganik bileşenler bulundurmaktadırlar. Organik bileşenleri (ligandlar) karboksilatlar, sülfonik asit tuzları, organofosfor bileşikleri ve heterosiklik bileşikler olabilmektedir. İnorganik bileşeni ise metal iyonları/kümeleridir [125,126]. MOF elde etmek için kullanılan en yaygın metaller arasında çinko, bakır, demir, zirkonyum sayılabilmektedir [127].

MOF'ların geometrileri ikincil yapı birimleri (SBU) olarak adlandırılan inorganik bileşenin analitik geometrisi ve organik fonksiyonel grubun karakteriyle ilgilidir [126]. İkincil yapı birimleri oktahedron, üçgen prizma, kare ve üçgenlerden oluşabilmektedir. Köprüleyici ligandlar genellikle metal iyonlarıyla birden çok noktada bağ kurmaktadır ve bu sayede MOF'un topolojisi ortaya çıkmaktadır (Şekil 2.7) [125,126]. Yapı birimlerinin çeşitliliği sayesinde MOF'lar farklı uygulamalar için ihtiyaç duyulan şekillerde sentezlenebilmektedir [128].



Şekil 2.7. Farklı metal ve ligand bileşenleriyle elde edilen MOF yapılarının şematik gösterimi [125]

MOF'u oluşturan organik ve inorganik yapı birimleri yüksek oranda ayarlanabilirliğe sahiptir. Bu birimleri farklı kombinasyonlarda birleştirmek MOF'ların farklı geometrilere ve işlevlere sahip şekilde sentezlenmesini sağlamaktadır. Ayrıca pek çok yapısal ve işlevsel özellik sentez esnasında yapılan değişikliklerle ya da sentez sonrası modifikasyonlara gerçekleştirilebilmektedir. MOF'ların özellikleri bu değişikliklerden dramatik şekilde etkilenmektedir. Matzger vd. Zn₄O temelli kübik MOF'ların sulu ortamlardaki stabilitesinin gözenek boyutlarıyla ve kullanılan ligandın hidrofobikliği ile ilgili olduğunu göstermişlerdir [129].

Yapısal çeşitliliğinin yanında MOF'lar pek çok fonksiyonel nanopartikül ile birlikte kullanılarak etkileyici özelliklere sahip nanokompozitler elde edilebilmektedir. Nanopartikülleri MOF'larla birlikte kullanmanın zayıf stabiliteye sahip nanopartiküllerin çeşitli uygulamalardaki verimliliğini artırdığı ve bazı durumlarda MOF-nanopartikül sinerjistik etkisinin sağlanabildiği bilinmektedir [130]. Örneğin altın nanopartiküller içeren MIL-101'in enzimatik etkinlik gösterebildiği bilinmektedir [131]. Başka bir çalışmada ise siklodekstrin-paladyum/ZIF-8 janus

partikülleri sentezlenerek sinerjistik etkiye sahip bir kanser terapi ajanı ortaya çıkarılmıştır [132].

MOF'lar birden fazla şekilde sınıflandırılabilirler. İkincil yapı birimlerine göre Titanyum, zirkonyum, mangan, alkali metal vb. temelli MOF'lar sıralanabilmektedir [133]. Ancak MOF'lar sınıflanırken genelde İzoretiküler MOF (IRMOF), Zeolitik İmidazol Çerçevesel (ZIF), Lavoisier Enstitü Malzemeleri (MIL), Gözenekli Koordinasyon Ağları (PCN), Gözenekli Koordinasyon Polimerleri (PCP) sınıfları kullanılmaktadır [134].

2.5. Zeolitik İmidazol Çerçevesel (ZIF'ler)

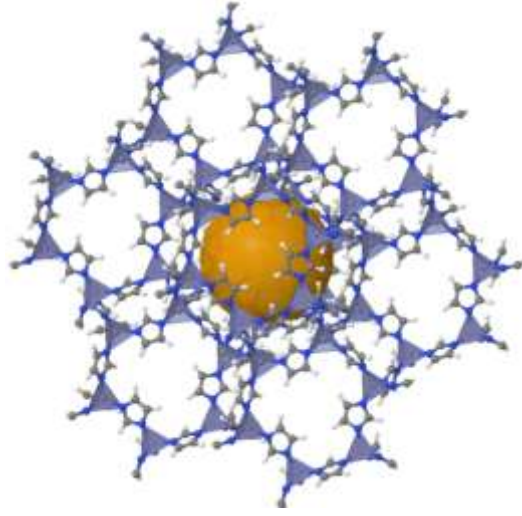
Zeolitik imidazol çerçevesel tetrahedral koordinasyondaki geçiş metali iyonları (Çinko veya Kobalt) ve imidazol ligandlardan meydana gelen bir MOF alt sınıfıdır. ZIF yapısındaki 145°'lik metal-imidazol-metal bağları zeolitlerdeki Si-O-Si bağları ile benzerdir. Bu nedenle ZIF'lerin kristal yapıları zeolitlerle aynı topolojiyi paylaşmaktadır. Ancak zeolitlere göre yüzey modifikasyonuna daha uygun olmaları gibi avantajlarıyla ön plana çıkmaktadır. ZIF'ler yüksek gözeneklilik, yüksek yüzey alanı, termal ve kimyasal stabiliteleri ile gaz adsorpsiyonu, gaz ayırma ve kataliz konularında dikkat çekmektedir [135].

ZIF'ler ligand olarak imidazol ve türevlerini (benzimidazol, metilimidazol, dikloroimidazol vb.) içermektedir. ZIF sentezi için temel iki yaklaşım çözücü temelli sentezler ve çözücü içermeyen sentezler olarak ikiye ayrılabilir. Çözücü temelli sentezlerde en sık kullanılanlar etanol, metanol, su, dimetilformamid vb. şeklinde sıralanabilmektedir [135]. ZIF sentezi ayrıca toz halde ZIF ve film/membran ZIF elde etmek için kullanılacak yöntemler olarak da ikiye ayrılabilir [125].

2.5.1 Zeolitik İmidazol Çerçeve-8 (ZIF-8)

Zeolitik imidazol çerçeve-8 (ZIF-8) çinko ve 2-metilimidazolden meydana gelen, sodalit topolojiye sahip, 1.16 nm kafeslerden ve bu kafeslere açılan 0.34 nm kanallardan meydana gelen bir ZIF'tir (Şekil 2.8). Günümüzde kendi sınıfı arasında en yaygın şekilde araştırılan yapı olan ZIF-8 pek çok potansiyel uygulama için incelenmektedir [136-138]. ZIF-8 kristalleri nanometre ölçeğinden birkaç yüz mikrona kadar çok çeşitli boyutlarda elde edilebilmektedir. Ayrıca

ZIF'ler kübik, rombik dodekahedron, kesik rombik dodekahedron olarak farklı morfolojilerde sentezlenebilmektedir. ZIF-8'in morfolojisinin kontrolü kristal büyümesinin kontrol edilmesi ile mümkündür [139]. Bu kontrol CTAB, TRIS vb. modölatörler kullanılarak gerçekleştirilebilmektedir [140]. ZIF-8 kristallerinin boyutları sıcaklık, metal-ligand mol oranı, kullanılan çözücü vb. parametreler üzerinde yapılan değişikliklerle kontrol edilebilmektedir [141]. ZIF-8 kristallerinin şekilleri sentez sonrası işlemlerle de değiştirilebilmektedir [139].



Şekil 2.8. Tetrahedron metal merkezleri ve ona bağlı ligandlar ile ZIF-8 yapısı [142]

ZIF-8'in sentez yöntemleri ve bu yöntemlerin uygulanma koşulları oldukça fazla çeşitliliğe sahiptir. ZIF-8 solvotermal, elektrokimyasal, mekanokimyasal, sonokimyasal, sol-jel, mikroakışkan vb. yöntemleriyle sentezlenebilmektedir [143]. Her bir yöntemin kendine has avantaj ve dezavantajlarıyla birlikte elde ZIF-8'in boyutları ve buna bağlı olarak özellikleri üzerinde etkisi vardır (Çizelge 2.3). Benzer şekilde aynı yöntem uygulanırken kullanılan çözücü, uygulanan sıcaklık vb. parametreler de sonucu etkilemektedir. Örneğin Askari vd. solvotermal sentez yönteminde aynı koşullar altında metanol, su ve DMF kullanmanın ZIF-8'in kristalinitesini, morfolojisini, partikül boyutunu ve yüzey alanını değiştirdiğini göstermiştir [144].

Çizelge 2.3. ZIF-8 sentez yöntemleri, avantajları ve dezavantajları

| Yöntem | Avantaj | Dezavantaj | Ref. |
|-----------------|---|--|-------|
| Solvotermal | Tek adımda sentez, yüksek sıcaklık gereksinimi yok | Fazla çözücü kullanımı, uzun reaksiyon süresi gereksinimi | [125] |
| Sonokimyasal | Hızlı ve çevre dostu, homojen çekirdeklenme elde edilebilir | Tek kristal oluşumu zor | [125] |
| Mikroakışkan | Monodispers partiküller elde edilir, yüksek tekrarlanabilirliğe sahip | Sistem maliyeti yüksek, kanal tıkanması vb. sorunlarla sık karşılaşılır, termal sınırlandırmalar | [145] |
| Mekanokimyasal | Çevre dostu, ortam sıcaklığında gerçekleştirilebilir | Düşük kristaliniteye ve gözenek hacminde azalmaya neden olur | [125] |
| Elektrokimyasal | Kısa zaman gereksinimi | Düşük verim, azot atmosferi gerektirebilir | [125] |

ZIF'lerin zeolitlerin ve MOF'ların özelliklerini bir arada barındırması avantajları da beraberinde getirmektedir. Metal merkezler ve ligandlar arasındaki uzun ve güçlü bağlar ZIF'leri kimyasal stabilite açısından diğer MOF'lardan üstün kılmaktadır [146]. Gözeneklerinin boyutu ise ZIF'leri zeolitlerden daha işlevsel hale getirmektedir [147]. Bu sayede ZIF'ler ve ZIF'lerin en önemli temsilcilerinden olan ZIF-8 pek çok potansiyel uygulama alanına sahiptir. ZIF-8 gaz adsorpsiyonu ve ayırmasında, kataliz süreçlerinde, elektrokimyasal sensör olarak, çevre uygulamalarında (örneğin ağır metal gideriminde) kullanılmakta ve araştırılmaktadır [148-153]. Ancak ZIF-8'in son dönemde oldukça önem kazanmış bir diğer uygulama alanı da gözenekliliği, yüksek yükleme kapasitesi, kimyasal ve termal stabilitesinin yanında çok önemli bir özellik olarak öne çıkan pH'a duyarlılığıyla ilaç taşınımı sistemleri ve biyomedikal uygulamaları olmuştur [154,155].

2.5.1.1. ZIF-8'in İlaç Taşınım Sistemlerinde Kullanımı

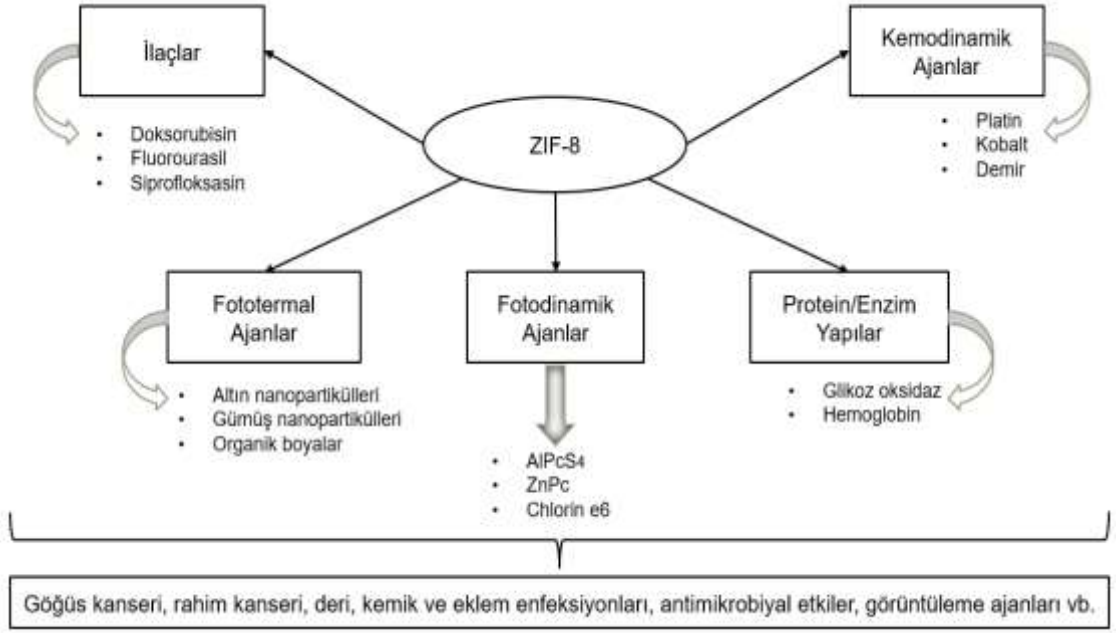
Günümüzde ilaç taşınım ve salım sistemlerinde nano taşıyıcıların kullanımı çok yaygındır. Nano taşıyıcıların sağladığı çok fonksiyonluluk tanı ve tedavi

noktalarında etkili ve verimli sistemler elde edilmesini sağlamaktadır [156]. ZIF-8 bu alanda diğer nano taşıyıcılardan, özellikle de diğer MOF'lardan şu özellikleriyle ayrılmaktadır;

- ZIF-8 fizyolojik sistemlerde bulunan komponentlerden meydana gelir. Çinko biyolojide en çok kullanılan ikinci geçiş metaliyken imidazol bir amino asit olan histidinin bir parçasıdır [157].
- ZIF-8 kimyasal ve termal stabilitesi ile fizyolojik koşullarda stabilken asidik koşullarda (pH 5-6) bozulmaktadır. Bu da pH kontrollü ilaç salımı için ZIF-8'i eşsiz bir taşıyıcı yapmaktadır [158].
- ZIF-8 pH'a duyarlı bozunabilirliği ve yüzey modifikasyonlarına elverişli oluşuyla ayarlanabilir boyutta boşluklara sahip içi boş partiküller elde etmek için kullanılabilir [159].
- ZIF-8 enzimler, DNA ve proteinler gibi biyomakromolekülleri kolayca yapısına alabilmektedir. Ayrıca ZIF-8 bu moleküllerin yalnızca salımını kontrol etmemekte, aynı zamanda biyoaktivitelerini kaybetmeden taşınmalarını sağlamaktadır [160,161].

ZIF-8 pH duyarlı yapısı ile özellikle kanser türlerine karşı formülasyonlar geliştirmek adına sıklıkla kullanılmaktadır. ZIF-8'in kanser tedavisinde kullanılan terapi türleri olan fotodinamik, fototermal, kemodinamik vb. terapi yöntemleri için gereken ajanları da taşıyabildiği bilinmektedir (Şekil 2.9). Bunun yanında gerek kanser tedavisine yönelik gerekse antibakteriyel vb. etkilere sahip hidrofilik ve hidrofobik ilaçlar ZIF-8'e başarıyla yüklenebilmektedir [162]. Zheng vd. kanser tedavisinde sıklıkla kullanılan doksorubisini ZIF-8'e başarıyla yüklemiş ve pH'a duyarlı olarak salımını gerçekleştirmişlerdir [163].

Nabipour vd. antibakteriyel etkilere sahip siprofloksasini yüksek yükleme kapasiteleri ile (%21) ZIF-8'e yüklemiş ve bu taşıyıcı sistemin *S. aureus* ve *E. coli* bakterilerine karşı etkinliğini araştırmışlardır [164]. Tang vd. ZIF-8 yapısına polivinilpirolidon ile stabilize ettikleri altın nanopartiküllerini dahil etmiş ve fototermal özelliklerinden yararlanarak 40°C'ye varan sıcaklık artışları elde etmişlerdir [165]. Bir başka çalışmada Jiang vd. bir siyanin boyası olan indosiyenin yeşilini ZIF-8'e yükleyerek kanser hücrelerine karşı toksik etkiye sahip radikaller açığa çıkarmış ve tümör hücrelerinin ölümünü sağlamıştır [166].



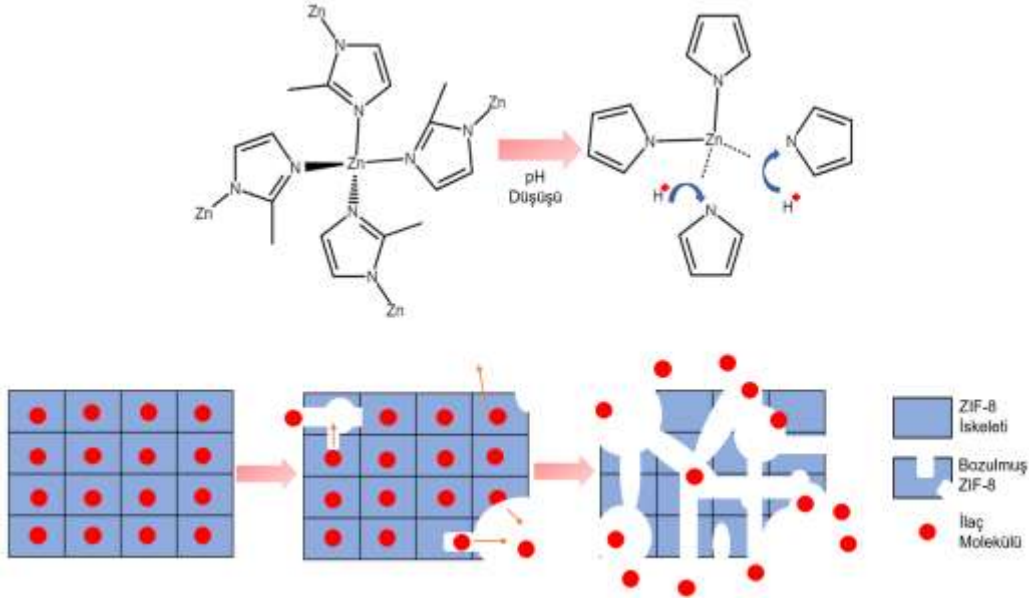
Şekil 2.9. ZIF-8'e yüklenen tedavi ajanları ve kullanım alanları [163-176]

ZIF-8'e ilaç yüklemesi genel olarak iki şekilde gerçekleştirilebilir. Bunlardan ilki ilacın ZIF-8'e sentezden sonra yüklendiği emdirme yöntemidir. Bu yöntemde kapiler olay, elektrostatik etkileşimler ya da koordinasyon bağları etkili olabilmektedir [177]. Soltani vd. antimikrobiyal etkili ilaç gentamisini emdirme yöntemi ile ZIF-8'e yüklemeyi başarmıştır. Bu yöntemde ilaç molekülleri bir çözücüde çözülüp daha sonra ZIF-8 eklenerek bir süre karıştırılmaktadır. Ancak emdirme süresi uzun olabilmektedir [178]. Diğer bir yöntem ise ilaçların veya nanopartiküllerin ZIF-8'e sentez sırasında dahil edildiği tek kap sentez metodudur. Bu yöntemle dokсорubisin, 6-merkaptopürin, kurkumin gibi moleküller ZIF-8'e kapsüllenebilmektedir [163,179,180]

Emdirme yönteminin aşamaları ZIF-8'in sentezini, sentezde kullanılan çözücünün gözeneklerden tamamen uzaklaştırılmasını ve yüklenecek molekülün ve ZIF-8'in tekrar bir çözücüde çözdürülmesini içermektedir. Bu yöntemde birden fazla aşamada çözücü kullanılmaktadır. Bu da hem maliyeti hem de atık miktarını artırmaktadır. Ayrıca bu yöntemde yüklenecek molekülün ZIF-8'in gözeneklerinden ve kanallarından (1.16 nm ve 0.34 nm) geçebilecek boyutta olması gerekmektedir. Bu da birtakım sınırlamaları beraberinde getirmektedir [163].

Diğer yöntemde yükleme işlemi ZIF-8 sentezi esnasında gerçekleştirilmektedir. Moleküller ZIF-8'in gözeneklerine kristal büyümesi esnasında hapsolarak ya da çinko merkezlerle koordine olarak yüklenebilmektedir. Bu yöntemle daha yüksek enkapsülasyon verimliliği sağlamak mümkündür [157,181]. Bu yöntemde hedef molekül çinko ile birlikte bir koordinasyon polimeri oluşturmaktadır. Daha sonra ortama ligand eklenmekte ve bu sayede metal iyonları hedef moleküllerden ayrılarak ligand ile birlikte ZIF yapısını oluşturmaktadır. Bu esnada yapı içerisinde kalan hedef molekül ZIF-8'e yüklenmiş olmakta ve hiyerarşik ZIF-8 yapısı elde edilmektedir [163].

ZIF-8 enkapsüle ettiği anti kanser ilaçlarını, anti bakteriyel ilaçları ve küçük nanopartikülleri pH'a duyarlı olarak salabilmektedir. Bu da ZIF-8'in ilaç taşıyıcı olarak kullanılmasında öne çıkan en önemli özelliktir. ZIF-8'in pH'a karşı hassas olmasının nedeni asidik koşullarda organik ligandların protonlanabilmesidir. Bu durumda çinko ile ligand arasındaki bağ kırılmakta ve böylelikle ilaç molekülleri serbest kalmaktadır. Bu sayede ZIF-8 hem kontrollü hem de hedeflenmiş ilaç salımı gerçekleştirebilmektedir. [155].



Şekil 2.10. ZIF-8'in pH'a duyarlı parçalanmasının şematik gösterimi [158]

ZIF-8 yapısına ilaç vb. molekül ve nanopartikülleri almanın yanı sıra ilaç taşınımı sistemlerinde sıklıkla kullanılan bazı maddeler ile farklı şekillerde de birleştirilebilmektedir. Ayrıca ZIF-8'in stabilitesini artırmak, ilaç salımı üzerindeki

kontrolü artırmak vb. gibi iyileştirmeler için de ZIF-8 üzerinde bir takım sentez sonrası işlemler yapmak mümkündür. Örneğin Tran vd. ZIF-8'den doksorubisin salımı üzerindeki kontrolü artırmak için ZIF-8 yüzeyine poliakrilik asit (PAA) kaplamışlardır [158]. Elektrostatik etkileşimden faydalanılarak kaplanan PAA tabakası ZIF-8'in gözenek kanallarını kapatarak doksorubisinin ani salımını engellemektedir. Nötral pH'ta ZIF-8'den doksorubisin salımı %20 olarak gerçekleşirken PAA kaplaması ile salım %3'e kadar düşmektedir [158].

Bir diğer çalışmada Zhang vd. doksorubisin ve verapamil yüklü ZIF-8'e metoksi poli(etilen glikol)-folat (PEG-FA) kaplayarak aktif ilaç hedefleme ve daha uzun süreli salım elde etmeyi başarmıştır. PEG-FA modifikasyonu ilaç yüklü ZIF-8'in yüzeyinde çinko ile kurulan koordinasyon bağları ile sağlanmıştır [38]. Zhang vd. bir kemodinamik terapi yöntemi olan fenton reaksiyonlarını ZIF-8 ile birlikte kullanabilmek için ZIF-8 yüzeyine bir metal polifenol katman eklemiştir. Yüzeyde bulunan demir iyonları ile ZIF-8'e kapsüllenmiş glikoz oksidaz hücrelerde bulunan hidrojen peroksiti kullanarak fenton reaksiyonlarına neden olmakta ve tümör hücreleri için ölümcül olan hidroksil radikallerinin açığa çıkmasını sağlamaktadır [102]. Shuai vd. ZIF-8'den çinko iyonlarının salımını kontrol etmek amacıyla ZIF-8'e polidopamin (PDA) ve hyalüronik asit (HA) kaplamışlardır. ZIF-8'in hızlı parçalanması ile istenilenden fazla çinko iyonu açığa çıkmaması için hyalüronik asit bir kalkan görevi görmektedir. PDA katmanı HA'nın yüzeyde büyümesine yardımcı olarak kullanılmıştır [44].

PDA kaplaması ilaç taşınımında kullanılacak ZIF-8'e önemli özellikler kazandırmaktadır. Biyouyumluluğu artırması, ani salımların önüne geçmesi vb. özelliklerin yanı sıra bir PDA katmanı ZIF-8'e fototermal özellikler de kazandırmaktadır. PDA, dopaminin oksidasyonu ve kendiliğinden polimerizasyonu ile ZIF-8 yüzeyine kolay ve etkili bir şekilde kaplanabilmektedir ve lazer ışını altında sıcaklık artışlarına neden olmaktadır. Bu da PDA'yı önemli bir fototermal etki ajanı yapmaktadır. Ancak sulu tampon çözeltilerde gerçekleştirilen PDA kaplaması esnasında ZIF'ler hidroliz nedeniyle bozunabilmektedir. Ayrıca PDA'nın metal iyonlarını şelatlama etkisi ZIF'lerin aşınmasına ve uzun süreler süren kaplama işlemlerinde tamamen bozularak geriye içi boş PDA kapsülleri bırakmasına neden olmaktadır [182]. Bu nedenle

PDA kaplamasında kullanılacak çözücü ortamın, kaplama süresinin ve dopamin:ZIF oranının göz önünde bulundurulması gerekmektedir.

Yin vd. bir kemoterapi ajanı olan metotreksat yüklenmiş ZIF-8'e polidopamin kaplayarak hem biyouyumluluğu artırmış hem de yakın infrared (NIR) ışını altında fototermal etki sağlamışlardır. Çalışmada 808 nm lazer ışını altında PDA kaplı ZIF-8 partikülleri kullanılarak 32 °C'lik bir sıcaklık artışı sağlanmıştır. PDA kaplaması 10 mM Tris tamponu içerisinde 2 saatlik kaplama süresinde gerçekleştirilmiştir ve yaklaşık 10 nm bir PDA katmanı elde edilmiştir. [183]. Shuai vd. ağırlıkça 1:1 dopamin ve ZIF-8 içeren 10 mM Tris tampon çözeltisinde gerçekleştirmiş ve 24 saate kadar süren kaplama süresince bir bozulma rapor etmemişlerdir [44]. Shu vd. Tris tampon çözeltisinde gerçekleştirdikleri PDA kaplaması için ağırlıkça 1:2 dopamin ve ZIF-8 kullanmış ve 4 saatte etkili bir PDA katmanı elde etmiştir [184]. Gao vd. ağırlıkça 1:1 ZIF-8 ve PDA kullanarak 2 saatlik kaplama süresinde 20 nm kalınlığında bir PDA katmanı elde etmiş ve artan nanopartikül konsantrasyonu ile (0.1 mg/ml-1 mg/ml) 15 °C'den 40 °C'ye kadar artan sıcaklık artışları sağlamışlardır [185]. ZIF-8 yüzeyinin PDA ile modifikasyonu ilaç taşıyım sistemlerinde ZIF-8'e üstün özellikler kazandırmaktadır.

2.6. İlaç Taşıyım Sistemlerinde Sinerjistik Etki

Modern ilaç taşıyım sistemlerinde özellikle kanser gibi hastalıklara karşı farklı tedavi yöntemleri geliştirilmiştir. Kompleks bir oluşum ve savunma mekanizmasına sahip olan bu tür hastalıklara karşı monoterapinin etkinliğinin oldukça düşük olması geliştirilen bu yeni tedavi yöntemlerinin birlikte kullanılmasını gerektirmektedir. Bu tedavi yöntemleri kemoterapi, fototermal terapi (PTT), fotodinamik terapi (PDT), kemodinamik terapi (CDT), immunoterapi vb. şeklinde sıralanabilmektedir [186-189].

Kemoterapi klinik olarak en sık kullanılan ve ilaçla tedavi anlamına gelen tedavi yöntemidir. Ancak kemoterapi ilaçlarının toksik yan etkileri ve uzun süreli kullanımda ilaca karşı direnç gelişmesi nedeniyle bu ilaçların doğrudan kullanımı yerine uygun nano taşıyıcılar içerisine yerleştirilmesi gerekmektedir. Uygun nano taşıyıcı kullanılması durumunda dahi kemoterapi ilaçlarının tek başına etkili olabilmesi için çok yüksek dozlarda kullanılması gerekmektedir [186]. Bu nedenle

kemoterapinin yukarıda bahsi geçen yöntemlerle birlikte kullanılması önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir.

Fototermal terapi genellikle yakın infrared (NIR) ışıktan gelen enerjinin fototermal ajanlar ile ısı enerjisine çevrildiği ve ortamın aşırı ısınması ile zararlı hücrelerin ölümünün sağlandığı yöntemdir [190,191]. Günümüzde sıklıkla kullanılan fototermal ajanlar metal nanopartikülleri, organik boyalar, karbon nanomateryalleri, polidopamin vb. olarak öne çıkmaktadır. Bu ajanların bazıları ZIF-8 ile birlikte sıklıkla kullanılmaktadır [190,41,192].

Kanser hastalığında ortaya çıkan tümör çevresi (TME) ve özelliklerinden yararlanılarak tedavi amacı taşıyan kemodinamik terapi ise bir diğer önemli yöntemdir. Zayıf asidik pH'ı, oksijen miktarının az olması ve sağlıklı dokuların aksine çokça hidrojen peroksit bulundurması özellikleriyle TME, kemodinamik terapinin gerçekleştirilmesi için uygun koşullar sağlamaktadır [193]. Bu yöntem sıklıkla fenton reaksiyonu gibi yöntemlerin kullanılması ile hidrojen peroksitin daha toksik radikallere dönüştürülmesini ve bu toksik etkiyle kanser hücrelerinin öldürülmesini içermektedir [193-196].

Bu yöntemlerin her birinin avantaj ve dezavantajlarına rağmen tek başına kullanılmaları durumunda verim problemleri ortaya çıkmaktadır. Bu noktada birden fazla ilacın/ajanın/yöntemin bir arada kullanılması durumunda sahip oldukları etkilerinin ayrı ayrı toplamından daha yüksek bir etki elde edilmesi anlamını taşıyan sinerjistik terapi yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır [197,198]. Literatürde kemo-fototermal terapi, kemo-fotodinamik terapi, kemo-immuno terapi vb. pek çok sinerjistik tedavi yöntemi ZIF-8'in nano taşıyıcı olarak kullanıldığı sistemlerle gerçekleştirilmiştir (Çizelge 2.3) [165,199-203].

Çizelge 2.4. ZIF-8 Temelli Sinerjistik Terapi Çalışmaları

| İlaç/terapi ajanı | Nanokompozit | Sinerjistik Terapi Türü | Ref. |
|---|---|--|------|
| DOX: Kemoterapi Altın Nanorod:PTT | Au NR@ZIF-8-DOX | Kemo-fototermal terapi | 165 |
| DOX: Kemoterapi Altın Nanorod:PTT NPs: Görüntüleme | NPs@ZIF-8@Au NR-DOX | Kemo-fototermal terapi | 199 |
| DOX/CPT: Kemoterapi CoFe ₂ O ₄ : Görüntüleme ve PTT | CoFe ₂ O ₄ @PDA@ZIF-8-DOX/CPT | Kemo-fototermal terapi | 200 |
| g-C ₃ N ₄ : PDT DOX: Kemoterapi | g-C ₃ N ₄ @ZIF-8-DOX | Kemo-fotodinamik terapi | 201 |
| Karbon nanopartikülleri: PTT ve PDT | C@ZIF-8 | Fototermal- fotodinamik terapi | 202 |
| CuS: PTT PpIX: PDT DOX: Kemoterapi CpG: İmmün sistem koruyucu | CuZPMn@PpIX/DOX/CpG | Kemo-fototermal- fotodinamik terapi | 203 |

Bu tez çalışması kapsamında ZIF-8'in dahil olduğu, sinerjistik etkiye sahip bir ilaç taşıyım sistemi ortaya konması amaçlanmaktadır. Model ilaç molekülü ile kemodinamik terapi potansiyeli taşıyan sisteme aynı zamanda polidopamin kaplaması ile fototermal ve çift tabakasında ferrosen içeren veziküller ile fotodinamik terapi etkisi kazandırılmaya çalışılmıştır.

3. DENEYSEL YÖNTEMLER

3.1. Kimyasal Maddeler

Bu yüksek lisans tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen deneylerde kullanılan çinko nitrat heksahidrat, 2-metilimidazol, monosodyum fosfat, dipotasyum fosfat, sodyum klorür, dopamin hidroklorür ve metilen mavisi Sigma Aldrich'ten; trietilamin Acros Organics'ten; potasyum klorür Merck'ten; rodamin-b Aromel Kimya'dan temin edilmiştir. Kimyasallar kullanılmadan önce herhangi bir saflaştırma işlemine tabi tutulmamıştır. Tüm çözeltiler ultra saf su kullanılarak hazırlanmıştır.

3.2. İlaç Taşıyıcı Zeolitik İmidazol Çerçeve-8 Sentezi

3.2.1. Zeolitik İmidazol Çerçeve-8 Nanopartiküllerinin Sentezi

ZIF-8 sentezi için literatürde mevcut pek çok farklı sentez yöntemi mevcuttur. Bu tez kapsamında ZIF-8 sentezi için çözücü olarak metanolün ve suyun kullanıldığı yöntemler kullanılmıştır. Ancak bu yöntemler arasından seçilecek yöntemin ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanılabilecek boyutta, özelliklerde ve kullanılacak model ilaç için de (yüklenecek model ilacın farklı çözücülerde çözünürlüğü, ilacın ZIF-8'e hangi aşamada yükleneceği vb.) uygun bir yöntem olması gerekmektedir.

Tez çalışması kapsamında ZIF-8 kristallerinin elde edilmesi için kullanılan yöntemlerden bir tanesi Keser Demir vd.'nin rapor ettiği ZIF-8 sentez yöntemidir [204]. Metanolde gerçekleştirilen sentezde Zn^{2+} :7.9Hmim:695 MeOH oranlarında çalışılmıştır. Çinko ve 2-metilimidazol ayrı kaplarda 90.4 g metanolde çözüldükten sonra elde edilen çözeltiler hızla karıştırılmış ve 1 saat boyunca karışmaları sağlanmıştır. Ancak bu yöntem ile elde edilen ZIF-8 kristalleri boyut olarak (DLS ve AFM ile 82.20 ve 84.46 nm) en uygun olmalarına karşın model molekül alım/salım konusunda yaşanan zorluklar nedeniyle model molekül yüklü ZIF-8 kristallerinin elde edilmesi için alternatif yöntemler denenmiştir.

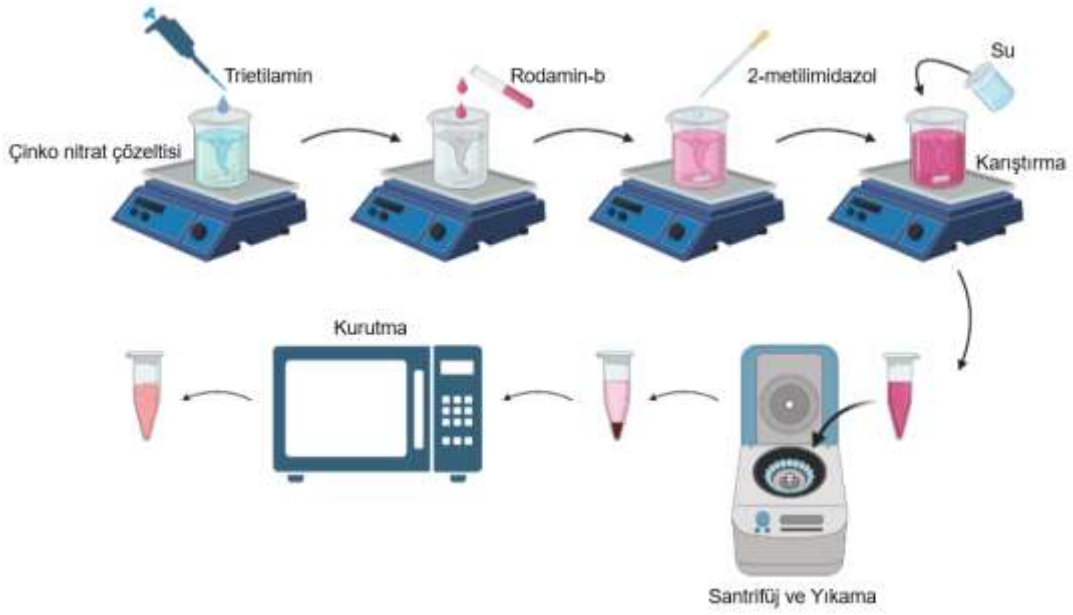
Bu doğrultuda ZIF-8 sentezinin su ortamında ve model ilaç yüklemesi esnasında "tek kap" yönteminin kullanılabileceği şekilde gerçekleştirilmesine karar verilmiştir [163]. Bu yöntemde ZIF-8'i oluşturan çinko nitrat heksahidrat ve 2-metilimidazol ayrı kaplarda suda çözülmüş ve belirli bir Zn/Hmim oranı verecek şekilde (1:10

ve 1:20) Hmim çözeltisi çinko çözeltisi üzerine eklenmiştir. Çinko ve Hmim çözeltilerinin birleştirilmesi işleminden önce çinko çözeltisinin üzerine pH ayarlamak amacıyla 0.2 ml trietilamin (TEA) eklenmiştir. Zn/Hmim/TEA çözeltisi belirli sürelerde (15 ve 30 dk.) manyetik karıştırıcı kullanılarak oda sıcaklığında karıştırılmıştır. ZIF-8 kristalleri santrifüjlenerek (13000 rpm, 20 dk) çözücünden ayrılmış ve 1:1 etanol:su karışımı kullanılarak üç kez yıkanmıştır. Tüm ürünler 80 °C'de 24 saat kurutulmuş ve kuru halde muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Model İlaç Molekülü Yüklü Zeolitik İmidazol Çerçeve-8 Sentezi

Bu tez çalışması kapsamında ZIF-8 kristallerine model ilaç molekülü olarak rodamin-b'nin enkapsüle edilmesi denenmiştir. Model moleküllerin ZIF-8'e yüklenebilmesi için sentez esnasında (tek kap enkapsülasyon) ve sentez sonrası (emdirme) gerçekleştirilen yükleme yöntemleri kullanılmıştır.

ZIF-8'e model ilaç yüklemesi için literatürde sıklıkla kullanılan "tek kap" sentez yöntemi istenilen boyutta ZIF-8 elde edilebilmesi için bazı değişiklikler yapılarak uygulanmıştır [163,180]. Bu yöntemde ZIF-8'e model ilaç yüklemesi sentez esnasında gerçekleştirilmektedir. Yöntemde ZIF-8 sentezine benzer şekilde çinko nitrat heksahidrat (0.8 ml, 0.67 mmol) ve 2-metilimidazolün (4.4 ml, 13.4 mmol) sulu çözeltileri hazırlanır ve pH ayarlaması için çinko nitrat çözeltisi üzerine 0.2 ml TEA eklenir. Zn/Hmim/TEA oranı 1:20:2'dir. Ayrı bir kaptaki yüklenilecek model molekül olan rodamin-b'nin sulu çözeltisi (4 ml, 8 µmol) hazırlanmıştır. Daha sonra rodamin-b çözeltisi çinko nitrat çözeltisine eklenmiş ve 1 dakika boyunca karıştırılmıştır. Bu çözeltinin üzerine 2-metilimidazol çözeltisi bir enjektör yardımı ile eklenmiştir. Çözeltinin final hacmi ultra saf su ile 24 ml'ye tamamlanmıştır. Çözelti oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı yardımı ile 15 dakika karıştırılmıştır. Ürünler santrifüj ile (13000 rpm, 20 dk) toplanmış ve 1:1 etanol:su karışımı ile beş kez yıkanmıştır. Elde edilen ürün 80 °C sıcaklıkta 24 saat kurutulmuş ve kuru olarak muhafaza edilmiştir. Sentez şematik olarak şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Rodamin-b yüklü ZIF-8 sentezinin şematik gösterimi

3.2.3. Rodamin-b Yüklü ZIF-8'e Polidopamin Kaplanması

Rodamin-b yüklü ZIF-8 (Rhb@ZIF-8) partiküllerine polidopamin (PDA) kaplanması için uygun bir çözücü ortam seçilmeli ve kaplama koşulları model ilaç molekülü yüklü ZIF-8'e zarar vermeyecek şekilde belirlenmelidir. Bu açıdan çeşitli çözücüler incelendiğinde metanol ve tris tampon çözeltisi öne çıkmaktadır. PDA kaplaması için gerekli alkali ortamı sağlaması ve ZIF-8 üzerindeki negatif etkisinin olmaması nedeniyle kaplama tris tampon çözeltisi içerisinde gerçekleştirilmiştir.

PDA kaplamasında kullanılmak üzere öncelikle 10 mM Tris tampon çözeltisi hazırlanmıştır (pH=8.5). Daha sonra Rhb@ZIF-8 partikülleri Tris çözeltisi içerisinde 1 mg/ml konsantrasyonda dağıtılmıştır. Üzerine Rhb@ZIF-8 ile ağırlıkça 1:1 olacak şekilde dopamin hidroklorürün Tris içerisindeki çözeltisi damlatılarak eklenmiş ve çözelti karanlıkta 1 saat boyunca 700 rpmde karıştırılmıştır. Çözelti 10000 rpm'de 6 dakika santrifüjlenmiş ve su ile iki kez yıkanmıştır. Ortaya çıkan ürün 50 °C sıcaklıkta 24 saat kurutulmuştur.



Şekil 3.2. Rodamin-b yüklü ZIF-8'e polidopamin kaplamasının şematik gösterimi

3.3. ZIF-8 Nanopartiküllerinden Model İlaç Salımının İncelenmesi

ZIF-8 tarafından kapsüllenen rodamin-b miktarı ve salımı Uv-vis spektrofotometresi kullanılarak incelenmiştir. ZIF-8'e yüklenen rodamin-b miktarının bulunması için sentezlenen Rhb@ZIF-8 nanopartikülleri seyreltik hidroklorik asit içerisinde dağıtılarak tamamen parçalanmaları sağlanmıştır. Daha sonra bu çözelti 13000 rpmde 10 dakika santrifüjlenerek ZIF-8'in bozunma ürünleri çöktürülmüş ve rodamin-b içeren çözelti ayrılarak 554 nm'de absorbans değeri ölçülmüştür. Bu absorbans değerinden hareketle bir kalibrasyon doğrusu kullanılarak ZIF-8'e yüklenmiş rodamin-b miktarı tayin edilmiştir.

Salım için ise 1 mg Rhb@ZIF-8 ve PDA kaplı Rhb@ZIF-8/PDA örnekleri 1.5 ml fosfat tampon çözeltisine (PBS) eklenmiştir. ZIF-8'in pH duyarlı salımının takip edilebilmesi için her bir örnek için pH 5 ve pH 7.4'te ikişer çözelti hazırlanmıştır. Örnekler belli zaman periyotlarında 10000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenerek Uv-vis spektrofotometresinde analiz edilmiştir. Absorbans değerleri okunduktan sonra örnekler üzerlerine aynı miktarda taze PBS eklenerek salım ortamına geri döndürülmüştür. Absorbans değerlerinden bir kalibrasyon doğrusu kullanılarak konsantrasyon değerlerine geçilmiş ve zamana karşı %Rodamin salımı grafikleri elde edilmiştir. Adımlı salım çalışmaları kapsamında ise salımlar pH 7.4'te başlatılıp 48 saat takip edildikten sonra seyreltik hidroklorik asit kullanılarak pH

önce 6'ya daha sonra ise 5'e düşürülmüştür. Bu sayede pH'ın salım üzerindeki etkisi incelenmiştir.

3.4. Rhb@ZIF-8/PDA'nın Fototermal Özelliklerinin İncelenmesi

Fototermal özelliklerin incelenmesi için ZIF-8, Rhb@ZIF-8 ve Rhb@ZIF-8/PDA örneklerinin farklı konsantrasyonlarda çözeltileri (0.1, 0.25, 0.5, 1 mg/ml) hazırlanmıştır. Örnekler bir santrifüj tüpüne alınarak yakın infrared (NIR) lazer kaynağının önüne yerleştirilmiştir. Lazer kaynağı 2.5 W (1.5 W/cm²) güçte çalıştırılmış ve örneğin orta noktasına gelecek şekilde ayarlanmıştır. Bu esnada bir termal kamera sıcaklık ölçümlerini gerçekleştirmek üzere sabit bir noktaya yerleştirilmiştir. Sıcaklık değerleri 15 dakika boyunca belli zaman aralıklarında okunarak zamana karşı grafiğe geçirilmiştir.

Rhb@ZIF-8/PDA örneklerinin fototermal dönüşüm verimliliklerinin incelenmesi için ise örnekler üzerine 15 dakika boyunca 1.5 W/cm² gücünde lazer uygulaması gerçekleştirildikten sonra lazerin örnekle teması kesilerek 15 dakika boyunca soğuması sağlanmıştır. Bu sürede örnekler başlangıç sıcaklıklarına yakın sıcaklıklara dönmüştür. Soğuma tamamlandıktan sonra lazer tekrar örneğin merkezine doğrultularak bu döngü 5 kez tekrarlanmıştır.

Fototermal dönüşüm verimliliklerinin hesaplanması için literatürde bulunan ve detayları aşağıda verilen yöntem ve eşitlikler kullanılmıştır;

$$\eta = \frac{hS(T_{\text{maks}} - T_{\text{çevre}}) - Q_{\text{dis}}}{I(1 - 10^{-\lambda})} \quad (\text{Eşitlik 3.1})$$

Bu eşitlikte h ısı transfer katsayısı, S yüzey alanı, T_{maks} ulaşılan maksimum sıcaklık, T_{çevre} deneyin gerçekleştirildiği ortam sıcaklığı, Q_{dis} hem santrifüj tüpü hem de Rhb@ZIF-8/PDA içermeyen su tarafından soğrulan ışıktan yayılan ısıyı, I lazer kaynağının gücünü, λ ise dispersiyonun 808 nm dalga boyunda absorbansını ifade etmektedir. hS değerinin doğrudan hesaplanması mümkün olmadığı için bu eşitliğin kullanılabilmesi adına boyutsuz bir değer olan θ tanımlanmaktadır.

$$\theta = \frac{T - T_{\text{çevre}}}{T_{\text{çevre}} - T_{\text{maks}}} \quad (\text{Eşitlik 3.2})$$

Bu değer hesaplanarak elde edilen değerler ile t 'ye karşı $-\ln(\theta)$ grafiği çizilerek zaman sabiti τ_s elde edilmektedir.

$$t = -\tau_s \ln(\theta) \quad (\text{Eşitlik 3.3})$$

hS değeri zaman sabiti kullanarak eşitlik 3.4'ten hesaplanabilmektedir;

$$hS = \frac{m_D C_D}{\tau_s} \quad (\text{Eşitlik 3.4})$$

Bu eşitlikte m_D örnek içerisindeki su miktarı, C_D ise suyun ısı kapasitesini ifade etmektedir. hS değeri elde edildikten sonra fototermal dđnüşüm verimliliği hesaplanabilmektedir [205].

3.5. Veziküllerin Hazırlanması

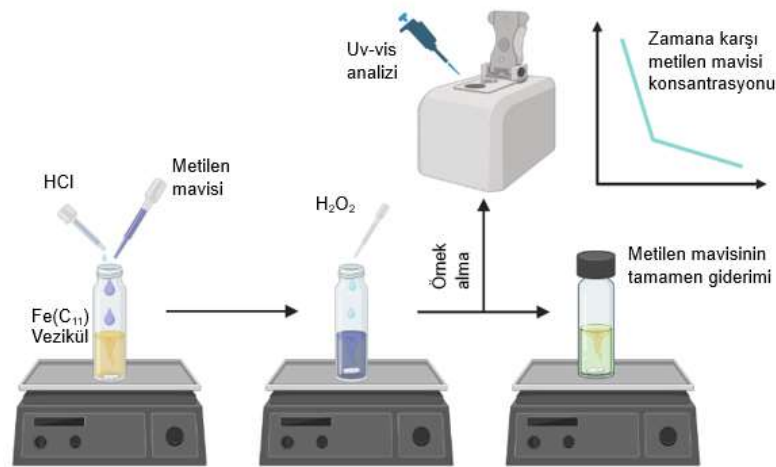
Veziküllerin sentezinde sodyum dioktilsülfosüksinat (DOSS veya AOT) ve N,N-dimetilferrosenilmetilundesil ammonyum bromür ($Fc(C_{11})$) kullanılmıştır. AOT ve ($Fc(C_{11})$)'in 5 mM'lık sulu çđzeltileri ayrı kaplarda hazırlanmış ve 1:1 ve 1:1.5 molar oranda 1 saat boyunca sonikasyon yardımı ile karıştırılmıştır.

Elde edilen çđzeltiler bir gece bekletildikten sonra yapıya dahil olmayan monomerlerin vezikül çđzeltisinden ayrılması için bir membran içerisine alınarak suya karşı diyaliz edilmiştir. Partiküllerin boyutları ve boyut dağılımları diyalizden önce ve sonra olacak şekilde ışık saçınım cihazı (LS) ile kontrol edilmiştir. Hazırlanan vezikül çđzeltileri bekletilmeden fenton reaksiyonlarında kullanılmıştır.

3.5.1. Ferrosenli Yüzey Aktif Madde ve Veziküllerin Fenton Reaksiyonu Özelliklerinin İncelenmesi

Ferrosenli yüzey aktif madde olan N,N-dimetilferrosenilmetilundesil ammonyum bromür'ün ($Br^- Fc(CH_2)N^+(CH_3)_2(CH_2)_{10}CH_3$) ($Fc(C_{11})$) vezikül yapısına dahil edilmeden önce fenton reaksiyonu performansının incelenmesi için çalışmalar geręekleřtirilmiřtir. Reaksiyon esnasında oluşması beklenen radikallerin yarı ömürlerinin çok kısa olması (Hidroksil radikali için 10^{-9} saniye) ve tespit edilmelerinin zor olması nedeniyle fenton reaksiyonunun takibi için metilen mavisi kullanılmıştır [97]. Metilen mavisi suda çđzünür, ucuz ve Uv-vis spektrometresi ile takibi kolay bir kimyasal olarak seğilmiştir. Fenton reaksiyonu sonucu ağığa çıkan

radikallerin metilen mavisinin giderimine neden olması, fenton reaksiyonunun takibini 664 nm dalga boyundaki absorbansın zamana karşı ölçülmesi ile mümkün kılmaktadır. Fenton reaksiyonunun takibi için sıcaklık (37-60°C) , pH (2.5-5.5), metilen mavisi konsantrasyonu (2.5-10 mg/ml), hidrojen peroksit konsantrasyonu (6.93 mM-23.58 mM) ve ferrosenli yüzey aktif madde konsantrasyonu (0-4 mM) birer parametre olarak seçilmiştir ve verilen aralıklarda çalışılmıştır. (Fc(C₁₁)) yüzey aktif maddesinin sulu stok çözeltisi hazırlandıktan sonra reaksiyon ortamında 0-4 mM aralığında yüzey aktif madde bulunacak şekilde metilen mavisi ile karıştırılmıştır. Seyreltik HCl ile pH'ı ayarlanan çözelti üzerine hidrojen peroksit eklenmiş ve hidrojen peroksit ekleme anı t=0 olarak alınmıştır. Deneyler 2.5 ml reaksiyon hacminde gerçekleştirilmiştir ve metilen mavisi absorbansı belli zaman aralıklarında Uv-vis spektrofotometresi ile ölçülerek %metilen mavisi giderimi hesaplanmıştır. Benzer şekilde yapısına ferrosen dahil edilmiş AOT-(Fc(C₁₁)) veziküllerinin fenton performansı da vezikül çözeltisinin karşılık geldiği yüzey aktif madde miktarı göz önünde bulundurularak takip edilmiştir.



Şekil 3.3. Fenton reaksiyonunun metilen mavisi giderimi yöntemiyle takibi

Metilen mavisi gideriminin fenton reaksiyonu sonucu gerçekleştiğinin gösterilmesi için radikal sönmüleyici deneyleri gerçekleştirilmiştir. Bu deneyler için yukarıda anlatıldığı gibi hazırlanan reaksiyon çözeltilerine hidrojen peroksit eklenmesinden önceki bir adım olarak farklı konsantrasyonlarda sodyum azotür veya metanol eklenmiştir.

3.6. Vezikül/ZIF-8 İlaç Taşıyıcı Sisteminin Hazırlanması

Ferrosenli yüzey aktif madde içeren AOT veziküllerin, rodamin-b yüklü ve PDA kaplı ZIF-8 nanopartikülleri ile birleştirilmesi için elektrostatik etkileşimlerden yararlanılmıştır. Bu amaçla sentezlenmiş Fe(C₁₁)-AOT ve Rhb@ZIF-8/PDA yapılarının farklı konsantrasyonlarda bileşimleri su ortamında farklı sürelerde inkübe edilmiştir. Daha sonra, kaplanmayan Rhb@ZIF-8/PDA'nın ayrılması için örnek 5000 rpm 6 dakika santrifüjlenmiştir. İdeal kaplama süresi örneklerin farklı sürelerde inkübe edilmesiyle deneysel olarak belirlenmiştir ve deneysel bulgular kısmında aktarılacaktır.

3.7. Sentezlenen ZIF-8 nanopartiküllerinin, Veziküllerin ve İlaç Taşıyıcı Sistemin Karakterizasyonu

3.7.1. Işık Saçınım Yöntemi (LS)

Bu tez kapsamında elde edilen ZIF-8 kristalleri ve veziküllerin boyutları ile veziküllerin yapısına ilişkin bazı analizler 632.8 nm dalga boyunda bir lazer kaynağına sahip olan Malvern CGS-3 ışık saçınım (LS) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Veziküller için SLS verileri 10 derece açı aralıklarıyla 30-150 derece arasında toplanmış ve eylemsizlik yarıçaplarının bulunması için veziküllerin DLS sonucu elde edilen boyutları dikkate alınarak Guiner modeli (50 nm'den büyük partiküller için ideal) kullanılmıştır.

LS yöntemi genel olarak dinamik ışık saçınımı (DLS) ve statik ışık saçınımı (SLS) olarak ikiye ayrılmaktadır. DLS bir süspansiyon içerisindeki partiküllerin ortalama boyutlarını ve boyut dağılımlarını öğrenmek için gerçekleştirilebilen hızlı ve numuneye zarar vermeyen bir analiz yöntemidir [206]. DLS temelde Brownian harekete sahip partiküllerin hızından yola çıkarak boyutlarının analiz edilmesine dayanmaktadır. Seyreltik bir çözelti içerisindeki partiküllerden saçılan ışığın şiddetinin ve şiddetindeki değişimin ölçülmesi ile parçacığın hareketi, diğer tüm parametrelerin bilindiği durumlarda ise partikülün boyutları elde edilebilmektedir. Partikülün boyutları ile hızı arasındaki ilişki Stokes-Einstein eşitliği ile ifade edilmektedir;

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta R_h} \quad (\text{Eşitlik 3.5})$$

Bu eşitlikte D difüzyon katsayısını, k boltzman sabitini, T sıcaklığı, η viskoziteyi, R_h ise hidrodinamik yarıçapı ifade etmektedir. Statik ışın saçınımı (SLS) yöntemi DLS yönteminden farklı olarak saçılan ışık şiddetindeki dalgalanmalardan ziyade ortalama şiddetin baz alındığı bir yöntemdir. Saçılan ışığın şiddeti analiz ortamında bulunan partiküllerin boyut dağılımlarına oldukça duyarlıdır ve bu sayede SLS agregatların araştırılmasında kullanılabilir. SLS ile yapılar üzerinde boyut analizinin yanı sıra şekilleri, partikül içerisindeki ağırlık dağılımları vb. özellikleri analiz edilebilmektedir. Ayrıca SLS ve DLS verisinin birlikte yorumlanması partiküllerin boyutları üzerinde daha keskin analizler yapmayı mümkün kılmaktadır [207,208].

Yapıların geometrisi hakkında bilgi sahibi olmak için DLS'ten elde edilen hidrodinamik yarıçap (R_h) ve SLS'ten elde edilen eylemsizlik yarıçapı (R_g) birlikte kullanılmaktadır. Bir partikülün şekli hakkında önemli bilgi veren bu eşitlik şu şekildedir ve farklı şekillere sahip yapılar için farklı değerler almaktadır;

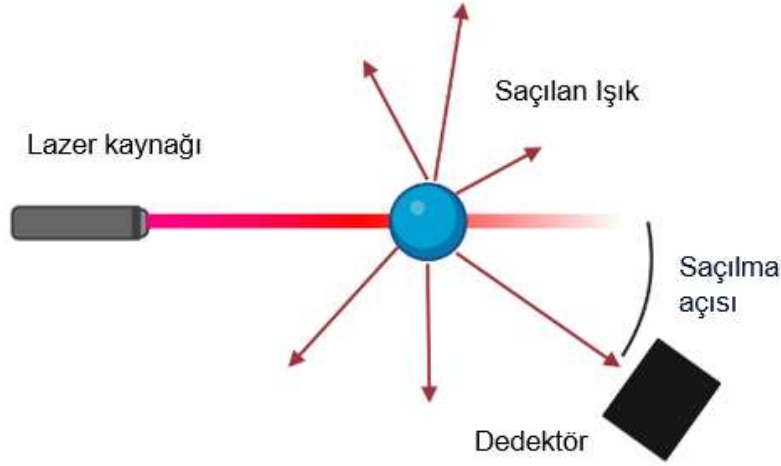
$$\rho = \frac{R_g}{R_h} \quad (\text{Eşitlik 3.6})$$

Eylemsizlik yarıçapının belirlenmesi için SLS verisi Guiner, Zimmer veya Berry gibi modellere fit edilmektedir. Ayrıca SLS verisinin ileri analizi yapıların şekli hakkında detaylı bilgiler sağlayabilmektedir. Farklı partikül şekilleri için karakteristik bir değer olan partikül saçılma fonksiyonu P_θ , SLS verisi kullanılarak hesaplanabilmektedir. Örneğin küresel yapılar için bu fonksiyon;

$$P_\theta(X) = \left(\frac{3}{X^3}\right) (\sin(X) - X\cos(X)) \quad (\text{Eşitlik 3.7})$$

$$X = q \sqrt{\frac{20}{12}} R_g \quad (\text{Eşitlik 3.8})$$

şeklinde verilmektedir. Teorik P_θ eğrileri çizilerek elde edilen eğriler deneysel veriler ile karşılaştırılarak partikülün şekli hakkında bilgi sahibi olunabilmektedir [209].

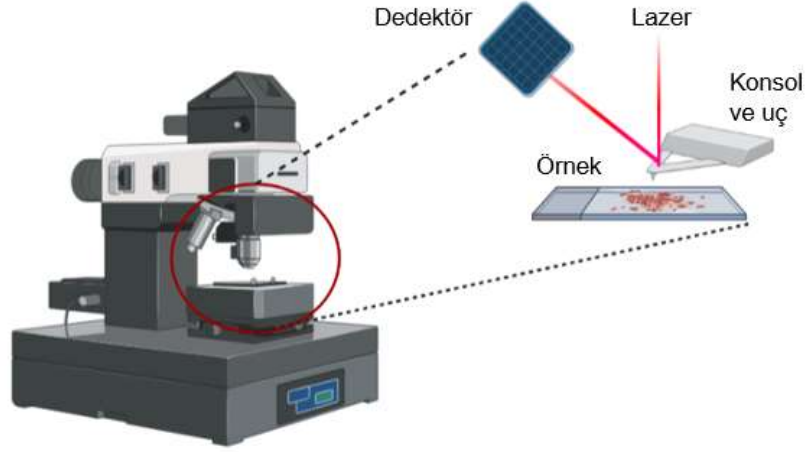


Şekil 3.4. LS yönteminin şematik gösterimi [210]

3.7.2. Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM)

Bu tez kapsamında özellikle ZIF-8 örneklerinin boyut analizleri PSIA Corporation, XE-100E markalı AFM cihazı ile temassız modda gerçekleştirilmiştir. Çok düşük konsantrasyonlarda hazırlanmış örnekler lam üzerinde kurutulmuş ve tarama hızı 0.30-0.45 Hz arasında taramalar gerçekleştirilmiştir.

Atomik kuvvet mikroskobu (AFM), seramikler, polimerler, kompozitler, cam ve biyolojik numuneler dahil neredeyse her tür yüzeyin görüntülenmesini sağlayan önemli bir tekniktir. AFM, manyetik kuvvetler ve mekanik özellikler dahil olmak üzere birçok farklı kuvveti ölçmek için kullanılabilir. Cihaz temelde bir konsola tutturulmuş, yaklaşık 10-20 nm boyutlara sahip sivri bir uçtan meydana gelmektedir. Bu uç, uç ile yüzeyin arasında oluşan etkileşimle hareket etmektedir ve bu hareket odaklanmış bir lazer ile takip edilmektedir. AFM, ucun örneğe temas ettiği ve etmediği şekillerde çalıştırılabilir. Temas modu sıklıkla özel durumlar için kullanılmaktadır. Ancak boyut analizi ve geometri ölçümleri için genellikle temassız mod tercih edilmektedir [211].



Şekil 3.5. AFM yönteminin şematik gösterimi

3.7.3. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)

FTIR basit, hızlı, örneğe zarar vermeyen ve analiz maliyeti düşük bir yöntem olarak öne çıkmaktadır. Bu yöntem ile organik ve inorganik bileşikler karakterize edilebilmektedir. IR radyasyonu bir numuneden geçirildiğinde radyasyonun bir miktarı örnek tarafından emilirken bir kısmı geçmektedir. Bu spektrumu önemli kılan şey bu olay sonucunda dedektörde ortaya çıkan sinyalin numunen bir “parmak izi” olmasıdır. Kızılötesi spektroskopide farklı moleküller farklı spektral parmak izleri üretirler ve bu sayede molekülün içeriği hakkında fikir sahibi olunabilmektedir [212,213].

Kızılötesi ışık bir molekülle etkileşime girdiğinde, numunede birtakım titreşimleri tetikleyebilmektedir. Bir moleküldeki bağlar bağ kuvvetine ve bağlı atomik kütlelere bağlı olarak farklı karakteristik titreşimlere sahiptir. IR ışığının enerjisi, moleküler titreşimlerden birini başlatmak için gereken enerjiyle eşleşirse, IR ışığı emilmektedir. Bu sayede bir numune içerisindeki bağlar ve moleküller tespit edilebilmektedir ve ortaya o numuneye ait bir spektrum çıkmaktadır [212,213]. Bu analiz yöntemi bu tez çalışmasında özellikle ZIF-8’in karakterizasyonunda önemli bir yer tutmaktadır.

3.7.4. X-Işınları Difraktometresi (XRD)

XRD bu çalışmada ZIF-8’in karakterizasyonu için çok önemli bir yer tutmaktadır. Ayrıca model ilaç yüklemesinin ve PDA kaplamasının ZIF-8’in kristal yapısına

etkisinin incelenmesi amacıyla kullanılmıştır. XRD analizleri Rigaku Ultima-IV X-ışını Kırınım cihazı ile 3°/dakika tarama hızında gerçekleştirilmiştir.

XRD kristal yapıda malzemelerin analizi için kullanılan en önemli tekniklerden biridir. Bu yöntem ile malzeme hakkında yapı, faz, kristal oryantasyonu, kristal kusurları, ortalama tane boyutu vb. bilgileri toplamak mümkündür. Yöntemin önemli avantajları arasında numuneye hasar vermemesi, çok az miktarda numunenin analizinin yapılabilmesi ve kristal yapısı üzerinde verdiği bilgi miktarı sayılabilmektedir.

X-ışınları kırınımı, monokromatik X-ışınlarının ve bir kristal numunenin dalga girişimine dayanmaktadır. Bu X-ışınları, bir katot ışını tüpü tarafından üretilmekte, monokromatik radyasyon üretmek için filtrelenmekte, odaklanmakta ve numuneye doğru yönlendirilmektedir. Gelen ışınların numune ile etkileşimi, koşullar Bragg yasasını (Eşitlik 3.2) karşıladığında bir girişim ve kırılan bir ışın üretmektedir.

$$n\lambda=2d\sin\theta \quad (\text{Eşitlik 3.9})$$

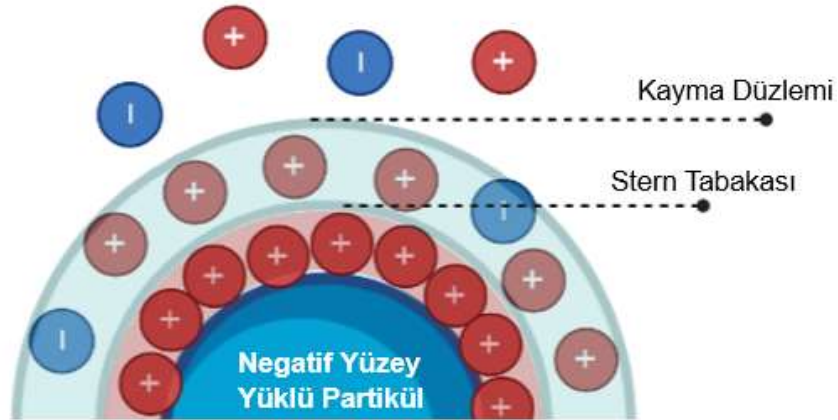
Eşitlikte λ X-ışınları dalga boyu, θ kırınım açısı, d ise kırınım üreten düzlemler arası boşlukları ifade etmektedir. Bu yasa, elektromanyetik radyasyonun dalga boyunu, kristal bir numunedeki kırınım açısı ve kafes aralığı ile ilişkilendirmektedir. XRD tepe noktaları bir numunedeki her bir kafes düzleminde belirli açılarda saçılan monokromatik X ışınları demetinden ortaya çıkmaktadır. Tepe noktalarının şiddeti kafes içerisinde yer alan atomların dağılımı ile belirlenmektedir. Sonuç olarak XRD sonucu ortaya çıkan model (pattern) bir malzemedeki atomik düzenin parmak izidir [214].

3.7.5. Zeta Potansiyeli

ZIF-8'in karakterizasyonu, ZIF-8'e PDA kaplanması, vezikülün karakterizasyonu ve veziküle gerçekleştirilen ZIF-8 kaplamasının karakterizasyonunda zeta potansiyeli önemli bir parametre olarak değerlendirilmiştir. Ölçümler Zeta Meter System 3.0 cihazı ile üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

Zeta potansiyeli ölçümleri özellikle elektrostatik etkileşimlerle gerçekleştirilen tabaka tabaka kaplama metodunun gerçekleştirilebilmesi için son derece önemli bir analiz yöntemidir. Zeta potansiyeli partiküllerin yüzey yüklerinin bir ölçüsüdür ve doğrudan malzemeyi oluşturan maddeler ile ilgilidir. Kaplama işlemleri için önemli olduğu gibi zeta potansiyeli kolloidal sistemlerin stabilitesinin de bir göstergesi olabilmektedir. Yüksek negatif veya pozitif zeta potansiyeline (+30 ve -30 mv) sahip partiküllerin agregasyona eğilimli olmadığı bilinmektedir [215].

İyonik bir çözeltide, yüklü nanopartiküller etrafında Stern katmanı denen ve yüzeyle güçlü bir şekilde etkileşim halinde zıt yüklü bir iyon tabakası bulunmaktadır. Daha dış yüzeyde ise daha gevşek halde bir iyon tabakası daha bulunmaktadır ve bu iki katman birlikte elektrik çift katman olarak tanımlanmaktadır. Parçacık hareket ettiğinde bu katman içerisindeki iyonlar partikülle birlikte hareket ederken “kayma düzlemi” adında bir sınır oluşmaktadır ve bu noktadaki potansiyele zeta potansiyeli denmektedir (Şekil 3.6) [216,217]. Bu ölçüm esnasında örneğe bir elektrik alan uygulanır ve partiküllerin hareketi (elektroforetik mobilite) bir lazer doppler cihazı ile izlenir ve zeta potansiyeli ölçümü gerçekleştirilir.



Şekil 3.6. Negatif yüklü bir partikülün etrafındaki iyon katmanlarının gösterimi [217]

3.7.6. Ultraviyole ve Görünür Işık (UV-Vis) Absorpsiyon Spektroskopi

Bu tez çalışmasında Uv-vis metodu model ilaç salımının takip edilmesi ve metilen mavisinin giderimi yöntemi ile belirlenen fenton reaksiyonu performansını takip etmek için kullanılmıştır. Model ilaç olarak kullanılan rodamin-b'nin absorpsiyonu

554 nm dalga boyunda, fenton reaksiyonlarının metilen mavisi giderimi performansı ise 664 nm dalga boyunda takip edilmiştir. Ayrıca veziküllerin Triton-X100 gibi bazı kimyasallarla etkileşimi ve parçalanmasının bir göstergesi olarak da Uv-vis spektrumundan yararlanılmıştır. Uv-vis spektrumlarını elde etmek için iki farklı cihaz kullanılmıştır. ZIF-8 ve model ilaç salımları Thermo Scientific Genesys 10S UV-Vis spektrofotometresi, fenton reaksiyonlarının takibi için ise Thermo Scientific Nanodrop 2000 spektrofotometresi kullanılmıştır.

UV-vis spektroskopisi, geniş bir organik bileşik sınıfı ve bazı inorganik türler için uygun, ucuz, basit, esnek, tahribatsız, analitik bir yöntemdir. UV-vis spektrofotometreler, dalga boyunun bir fonksiyonu olarak bir ortamdan geçen ışığın soğurulmasını veya iletilmesini ölçmektedirler [218].

UV dalga boyu 100-380 nm arasında değişmekte ve görünür bölge 800 nm'ye kadar uzanmaktadır. Ancak çoğu Uv-vis cihazı 200-1100 nm çalışma aralığına sahiptir. UV-Vis spektroskopisi, bir referans veya boş numuneye kıyasla bir numune tarafından emilen veya içinden iletilen UV veya görünür ışığın farklı dalga boylarının miktarını ölçen analitik bir tekniktir. Uv-vis ile elde edilecek sonuç, numune bileşiminden etkilenmekte ve potansiyel olarak numunede ne olduğu ve hangi konsantrasyonda olduğu hakkında bilgi sağlamaktadır [218]. Bu özelliği nedeniyle Uv-vis ilaç salımını takip etmek için kullanılan en önemli tekniklerden biri olarak öne çıkmaktadır.

3.7.7. Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM)

Elektron mikroskopları çok çeşitli materyallerin analizi için kullanılan güçlü analiz cihazları olarak öne çıkmaktadırlar. Çok yönlü olmaları ve son derece yüksek çözünürlükleri sayesinde birçok alanda değerli bir analiz cihazları haline gelen elektron mikroskopları taramalı ve geçirimli elektron mikroskopları olarak ikiye ayrılmaktadırlar.

SEM ve TEM arasındaki temel fark, SEM'in yansıyan veya örnekten koparılan elektronlar aracılığıyla bir görüntü oluşturması, TEM'in ise elektronları (örnek içinden geçen elektronlar) kullanmasıdır. Bu iki yöntemin de birbirine üstünlükleri ve dezavantajları bulunmaktadır. Örneğin TEM çok daha yüksek çözünürlükte ve büyütme faktörü ile görüntü sunabilirken SEM'in örnek hazırlama aşaması ise çok

daha kolaydır. Sonuç olarak TEM, kristal yapı, morfoloji vb. gibi örneğin iç yapısına ait bilgiler sunarken, SEM numunenin yüzeyi ve bileşimi hakkında bilgi sağlamaktadır ve hangi yöntemin kullanılacağı hangi bilgilerin alınmak istendiği ile ilişkilidir [219]. Bu tez çalışmasında ZIF-8, rodamin-b yüklü ZIF-8 ve PDA kaplı, rodamin yüklü ZIF-8 partiküllerinin görüntülenmesi için TEM kullanılmıştır. FEI 120kV CTEM cihazı ile ZIF-8, rodamin yüklü ZIF-8 ve rodamin yüklü, PDA kaplı ZIF-8'in analizleri gerçekleştirilmiştir.

4. DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞILMASI

Bu yüksek lisans tez çalışmasının amacı pH'a duyarlı bir ilaç taşıyıcı nanopartikül olarak yüksek potansiyel taşıyan ve yüzey modifikasyonları ile sinerjistik etki gösterebilen ZIF-8'in bir diğer önemli ilaç taşıyıcı olan ve yapısına dahil edilmiş ferrosenli yüzey aktif maddeler ile fenton reaksiyonlarının gerçekleştirilmesini sağlayan veziküller ile birlikte bir ilaç taşıyıcı sistem oluşturmasını sağlamaktır. Çalışmanın en önemli noktası hem ZIF-8'e hem de veziküllere ilaç taşıyıcı özelliklerinin yanında ek bir özellik kazandırılması ve bu iki yapının fototermal etkiye sahip ve fenton reaksiyonlarını gerçekleştirebilen çok fonksiyonlu bir ilaç taşıyıcı sistem oluşturulmasıdır. Bu nedenle çalışma en temelde ZIF-8'in ve veziküllerin ayrı ayrı oluşturulması ve birleştirilmesi olarak üç aşamaya ayrılabilir.

4.1. Model Molekül Rhodamin-b Yüklenmiş ZIF-8 Kristallerinin Oluşturulması

4.1.1. Yöntemin ve Parametrelerin Belirlenmesi

Deneysel çalışmaların ilk kısmında model ilaç taşıyıcı ZIF-8 kristallerinin hazırlanması amaçlanmıştır. Bu noktada önemli parametreler elde edilecek ZIF-8 kristallerinin boyutu ve model molekülünü tutma kapasitesi olarak belirlenmiştir.

Literatürde hem ZIF-8 sentezi için hem de ilaç ve çeşitli molekülleri ZIF-8 yapısına dahil edilmesi için farklı yöntemler mevcuttur. İlaç molekülleri vb. küçük molekülleri ZIF-8'e dahil etmek için kullanılan iki temel yöntem "emdirme" ve "tek kap" sentez yöntemleridir [155]. Emdirme yönteminde hedef moleküller ZIF-8 gözeneklerine elektrostatik etkileşimle, kılcal kuvvetlerle ya da koordinasyon reaksiyonu ile alınabilmektedir. Tek kap yönteminde ise hedef moleküller ZIF-8'e sentez aşamasında, kristal büyümesi esnasında yüklenmekte ve ilaç/ZIF-8 yapıları elde edilmektedir [155]. Bu bu iki sentez yönteminin de avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır.

Emdirme yönteminde hedef moleküller ZIF-8 kristallerine sonradan yüklendikleri için başlangıçta istenilen boyutta ve özelliklerde ZIF-8 sentezlenmesi için daha fazla yöntem kullanılabilir durumdadır. ZIF-8 sentezleme aşamasında model

molekülün farklı ortamlardaki çözünürlüğü vb. parametreler önemsiz hale geldiği için ZIF-8 sentezinde istenilen çözücünün kullanılabilmesi mümkündür. Bu da ZIF-8 kristalleri üzerindeki kontrolü kolaylaştırabilmektedir.

ZIF-8 sentezi üzerindeki en önemli parametreler sıcaklık, pH, reaksiyon süresi, çözücü, çinko ve 2-metilimidazolün konsantrasyonu ve kullanılan sentez yöntemi olarak sıralanabilmektedir. Bu parametreler elde edilecek ZIF-8 kristallerinin boyutları, yapısı ve morfolojisi üzerinde doğrudan etkilidir [220]. Bu çalışma kapsamında ilk incelenmesi gereken parametrenin çözücü ortam olması gerektiği düşünülmüştür. Bustamante vd. ZIF-8 sentezinde su, bazı alkoller, DMF ve asetonun çözücü olarak kullanılmasını incelemişler ve alkollerin (özellikle metanolün) ZIF-8 sentezi için kullanılabilir en iyi çözücü olduğunu rapor etmişlerdir [221]. Çalışmada çözücünün ZIF-8'in kristalleşme hızını ve elde edilen kristallerin boyutlarını etkilediği gözlemlenmiştir. Metanol dışındaki alkoller kullanıldığında morfolojide bazı istenmeyen ve tanımlanamayan değişiklikler olduğunu, aynı koşullarda su ya da DMF kullanıldığında ise ZIF-8 kristallerinin oluşmadığını belirten çalışmada çözücü seçiminin kristal boyutları ve kristalleşme süresi üzerinde kontrol sağlayabileceği sonucuna varılmıştır [221]. Çözücünün seçimi aynı zamanda kullanılacak olan metal ve ligand oranları üzerinde de etkilidir. Suda gerçekleştirilen sentezlerde Hmim/Zn oranını 10'un altındayken ZIF-8 elde etmek oldukça zorken ideal oran 35-70 arasındadır. Bu oran kullanılacak Zn kaynağına göre ($Zn(OAc)_2$, $ZnSO_4$, $Zn(NO_3)_2$, $ZnCl_2$, $ZnBr_2$, ZnI_2) değişmektedir [222].

Kullanılan çözücünün yanı sıra çinko, imidazol ve çözücünün birbirlerine olan oranları ve reaksiyon süresi de ZIF-8 kristallerinin boyutları üzerinde oldukça etkilidir. Cravillon vd. nano boyutta ZIF-8 kristalleri elde edebilmek için çinkoya oranla aşırı Hmim kullanımının gerektiğini bildirmişlerdir [223]. ZIF-8 boyutunun olabildiğince küçük tutulabilmesi için hızlı çekirdeklenme ve yavaş kristal büyümesi gerektiğini belirten çalışmada 1 Zn^{+2} :8 Hmim:700 MeOH oranlarında 50 nm'ye kadar küçük ZIF-8 kristalleri elde edilmiştir [223]. Keser Demir vd. ZIF-8 kristal boyutlarının artan MeOH: Zn^{+2} oranlarıyla azaldığını göstermiştir. 87 MeOH: Zn^{+2} oranında 600 nm olarak elde edilen ZIF-8 kristallerinin boyutları oran 1043'e yükseldiğinde 60 nm'ye kadar küçültülmüştür [204].

Tan vd. hem Zn^{2+} :Hmim oranının hem de reaksiyon süresinin ZIF-8 boyutları üzerindeki etkisini incelemiştir. Çalışmada yüksek oranda Hmim kullanmanın reaksiyonun erken safhalarında daha küçük ZIF-8 kristalleri elde etmek için önemli olduğu ancak reaksiyon süresi uzadıkça boyutların daha düşük Hmim oranları kullanıldığında elde edilen boyutlara yaklaştığı rapor edilmiştir. Bunun sebebi olarak reaksiyonun başlangıç aşamasında deprotonlanmış imidazolün çekirdeklenme için kullanılması ve artan Hmim oranının deprotonlanmayı hızlandırması gösterilmiştir. Ancak reaksiyon süresi uzadıkça yüksek oranlarda imidazol içeren ortamda her ne kadar çekirdeklenme aşaması daha hızlı olsa da kristal büyümesine de katılabilecek fazlaca imidazol bulunmaktadır [225]. Dolayısıyla sonradan ilaç yüklemesi gerçekleştirilecek bir ZIF-8 kristalinin oda koşullarında sentezi için yüksek oranda Hmim kullanılması, reaksiyon süresinin kısa tutulması ve çözücü olarak metanolün tercih edilmesi mantıklı görünmektedir.

Ancak bu yöntemin kullanılması durumunda ZIF-8 kristallerinin sentezlendikten sonra hedef molekül ile birlikte uzun süreler boyunca (5 güne kadar) bir çözücü içerisinde karıştırılması gerekmektedir [178, 224]. Bu aşamada iki farklı sorun ortaya çıkmaktadır. İlk problem yüklenmesi planlanan model molekülün bozulmasıdır [226]. Model molekül olarak kullanılan pek çok boyar madde ışığa duyarlıdır. Bu nedenle bu işlemin karanlık bir ortamda ve dikkatle gerçekleştirilmesi gerekmektedir. İkinci sorun ise ZIF-8 kristallerinin su vb. çözücü ortamlarında yaşadığı stabilite problemleridir [227,228]. Bu da sentez esnasında ortadan kalkan çözücü problemini ilaç yüklemesi esnasında yeniden gündeme getirmektedir. Yapılan literatür taramalarında ve daha sonra aktarılacak deneysel çalışma sonuçlarında emdirme yöntemi ile ulaşılabilen model molekül enkapsülasyon verimliliğinin çok düşük olduğu gözlemlenmiştir.

Tüm bu bilgiler göz önünde tutulduğunda model ilaç moleküllerinin ZIF-8'e yüklenmesi için seçilen nihai yöntem "tek kap" yöntemidir. Ancak emdirme yöntemi de tez kapsamında gerçekleştirilen denemeler arasında yer almıştır. Reaksiyon süresi, kimyasalların oranları, çözücü ortam vb. parametrelerin belirlenmesinde ise literatür bilgisi ile birlikte deneysel olarak elde edilen sonuçlar da göz önünde bulundurulmuştur. ZIF-8 kristallerinin sentezinde kullanılan

parametrelerin değiştirilmesi yönünde karar verilirken kullanılan en önemli veriler model molekül kapsülleme kabiliyeti ve boyutlarıdır. Bu veriler ve parametrelerin değiştirilmesi süreci sonraki kısımlarda açıklanmıştır. Sentezlenen model molekül (rodamin-b) yüklü ZIF-8 sentezlerine ilişkin parametreler çizelge 4.1'de görülebilmektedir.

Çizelge 4.1. Rodamin-b yüklü ZIF-8 kristallerinin eldesi için kullanılan yöntem ve parametreler

| ZIF-8 Kodu | Yöntem | Çözücü Ortam | Zn ⁺² :Hmim: Çözücü | Rxn Süresi | pH Düzenleyici |
|-------------|---------|--------------|--------------------------------|------------|----------------|
| Rhb@ZIF-8.1 | Tek kap | Su | 1:37:675 | 15 dk. | NaOH |
| Rhb@ZIF-8.2 | Tek kap | Su | 1:37:675 | 30 dk. | NaOH |
| Rhb@ZIF-8.3 | Tek kap | Su | 1:10:1990 | 15 dk. | NaOH |
| Rhb@ZIF-8.4 | Emdirme | Metanol | 1:7.9:695 | 60 dk | - |
| Rhb@ZIF-8.5 | Tek kap | Metanol-Su | 1:10:785 | 15 dk. | - |
| Rhb@ZIF-8.6 | Tek kap | Su | 1:10:1990 | 30 dk. | TEA |
| Rhb@ZIF-8.7 | Tek kap | Su | 1:20:1990 | 15 dk. | TEA |
| Rhb@ZIF-8.8 | Tek kap | Su | 1:20:1990 | 15 dk. | TEA |

4.1.2. Hazırlanan Model Molekül Yüklü ZIF-8 Kristallerinin Boyutlarının İncelenmesi

Önceki kısımda belirtildiği gibi model molekül taşıyıcı ZIF-8 kristallerinden beklenen en önemli özellikler daha sonra gerçekleştirilecek işlemler için uygun boyutlarda (200-300 nm) ve literatüre göre iyi seviyede ilaç tutma kapasitesine sahip olmasıdır. Deneysel çalışmaların akışı öncelikli olarak bu özelliklere sahip ZIF-8 partiküllerinin elde edilmesi daha sonra ise bu partiküllerin polidopamin ile kaplanması şeklindedir. Bu nedenle bu kısımda yalnızca ZIF-8 kristallerinin boyutları LS ve AFM verileri ile incelenecektir. ZIF-8'e ait XRD, FTIR, TEM vb. analizlerin sonuçları daha sonraki bir kısımda, ZIF-8, Rhb@ZIF-8 ve Rhb@ZIF-8/PDA'nın kıyaslanması şeklinde verilecektir.

Yapılan boyut analizlerin sonuçları çizelge 4.2'de verilmiştir. Rodamin yüklü ZIF-8 kristalleri incelendiğinde sentezi suda gerçekleştirilen ve Zn:Hmim:Çözücü oranının 1:37:675 olduğu örneklerin tamamında boyutların istenilenden çok daha yüksek olduğu, ayrıca partiküllerin geniş bir aralıkta boyutlara sahip olduğu görülmektedir. Rhb@ZIF-8.1 ve Rhb@ZIF-8.2 örnekleri arasında reaksiyon

süresini 15 dakikadan 30 dakikaya çıkarmanın ZIF-8 boyutlarını %70 civarında artırdığı (LS verisine göre 498 ± 192 ve 694 ± 224 nm) gözlemlenmiştir. Çinko ve imidazol oranlarının aynı tutulduğu ancak çözücü su oranının 2 katına çıkarıldığı Rhb@ZIF-8.3 örneğinde ise partiküllerin boyutları LS verisine göre 400 nm, AFM verisine göre ise 273 nm'ye düşmüştür.

Çizelge 4.2 Rhb@ZIF-8 kristallerinin AFM ve LS ile elde edilmiş boyut bilgisi

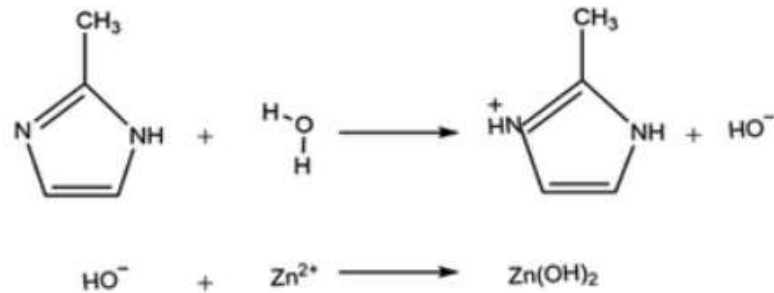
| Rhb@ZIF-8 | Çap (nm) | | PDI |
|-------------|---------------------|---------------------|-----------------|
| | AFM | LS | |
| Rhb@ZIF-8.1 | 402.28 ± 177.00 | 498.00 ± 192.33 | 0.40 ± 0.09 |
| Rhb@ZIF-8.2 | 650.5 ± 133.44 | 694.00 ± 224.60 | 0.45 ± 0.05 |
| Rhb@ZIF-8.3 | 273.00 ± 38.51 | 400.80 ± 272.01 | 0.46 ± 0.07 |
| Rhb@ZIF-8.4 | - | 82.20 ± 2.00 | 0.41 ± 0.06 |
| Rhb@ZIF-8.5 | - | 224.80 ± 32.32 | 0.24 ± 0.04 |
| Rhb@ZIF-8.6 | 131.40 ± 38.26 | 309.70 ± 230.00 | 0.37 ± 0.09 |
| Rhb@ZIF-8.7 | 118.6 ± 40.00 | 227.00 ± 42.88 | 0.43 ± 0.02 |
| Rhb@ZIF-8.8 | 149.37 ± 41.33 | 245.48 ± 160.45 | 0.43 ± 0.08 |

Ancak bu örnekler içerisinde istenilen ZIF-8 boyutlarına yakın herhangi bir örnek bulunmamaktadır. Bu durumda sentez koşullarının daha radikal şekilde değiştirilmesi gerekliliği ortaya çıkmıştır. İki boyutlar üzerinde en etkili olduğu düşünülen çözücü ortamı değiştirmektir. Bu amaçla metanol ve metanol su karışımları kullanılmıştır. Keser Demir vd.'nin [204] deneysel yöntemler kısmında aktarılan yöntemi ile boş ZIF-8 ve model molekül olarak kurkumin ve rodamin-b'nin kullanıldığı ZIF-8 sentezleri gerçekleştirilmiştir. Metanol kullanılarak gerçekleştirilen sentezde kristallerin boyutları 82.20 ± 2.00 nm olarak bulunmuştur ve XRD ile kristallerin ZIF-8 yapısı doğrulanmıştır. Ancak bu örneklerin kurkumin ve rodamin-b alım-salım mekanizmalarında birtakım sorunlar yaşanmıştır. İlk olarak örneklerin enkapsülasyon verimliliği çok düşüktür (%5). Ayrıca bu örneklerden pH'a duyarlı salım gerçekleştirilememiştir. Bu da model moleküllerin ZIF-8 kristallerinin içine alınmadığını, yüzeyine adsorplandığını düşündürmüştür ve bu örneklerle çalışılmaya devam edilmemiştir. Bu nedenle alternatif bir yöntem olarak bu yöntemle sentezlenmiş boş ZIF-8 kristallerine rodamin-b emdirilmesi denenmiştir. Metanol-su içeren sentez ise daha önce aktarılan sebeplerle ZIF-8 kristallerinin oluşumunu kolaylaştırmak üzere çözücünün bir kısmının metanol ile değiştirilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Sentezin doğrudan

metanol içerisinde yapılması durumunda enkapsülasyon gerçekleşmemektedir. Bu nedenle Metanol-su karışımı hem anlamlı seviyede enkapsülasyon hem de ZIF-8 kristallerinin daha kolay ve kontrollü eldesi için kullanılmıştır. Metanol-su karışımı ile elde edilen örneğin LS ile elde edilen boyutları 224.80 ± 32.32 nm olarak belirlenmiştir. Ancak bu örneklerle çalışılmaya da model molekül kapsülleme yetenekleri nedeniyle devam edilmemiştir. Bu durum bir sonraki kısımda detaylandırılacaktır.

Su ortamında gerçekleştirilen diğer sentezlerde iki parametre üzerinde durulmuştur. Bunlardan ilki pH ayarlamak için kullanılan sodyum hidroksit diğer ise kullanılan su miktarıdır. Sodyum hidroksit katısının doğrudan kullanılması durumunda pH'ın kontrolü oldukça zor ve pH değişimi sodyum hidroksitin çözünmesiyle değişirken katısından elde edilen çözeltinin kullanılması durumunda ise tartım ve ölçümden kaynaklı hatalar olabileceği düşünülmüştür. Rhb@ZIF-8.3 örneğinde kullanılan su miktarının artırılması ile elde edilen boyutların azalması nedeniyle ise su miktarının ilk iki örneğe göre artırılması ön görülmüştür. Bu amaçla kontrolü daha kolay olan trietilamin'in kullanılmasına ve Zn:Su oranının 1:1990'a getirilmesine karar verilmiştir. Bu yöntemle elde edilen ZIF-8 boyutlarının diğer örneklere göre azaldığı gözlemlenmiştir.

Trietilamin'in kullanılma amacı sentezin su ortamında gerçekleştirilebilmesidir. Sulu ortamda gerçekleştirilen ZIF-8 sentezlerinde ligand miktarının çinkoya göre 35-70 kat aralığında olması gerektiği daha önceki kısımda belirtilmiştir. Ancak bu şartlarda sentez ekonomik olmaktan çıkmaktadır. Suda gerçekleştirilen sentezlerde düşük Zn:Hmim oranlarında yan ürün olarak çinko hidroksit oluştuğu rapor edilmiştir (Şekil 4.1) [144,229].



Şekil 4.1. Su ortamındaki ZIF-8 sentezinde çinko hidroksit oluşum mekanizması [144]

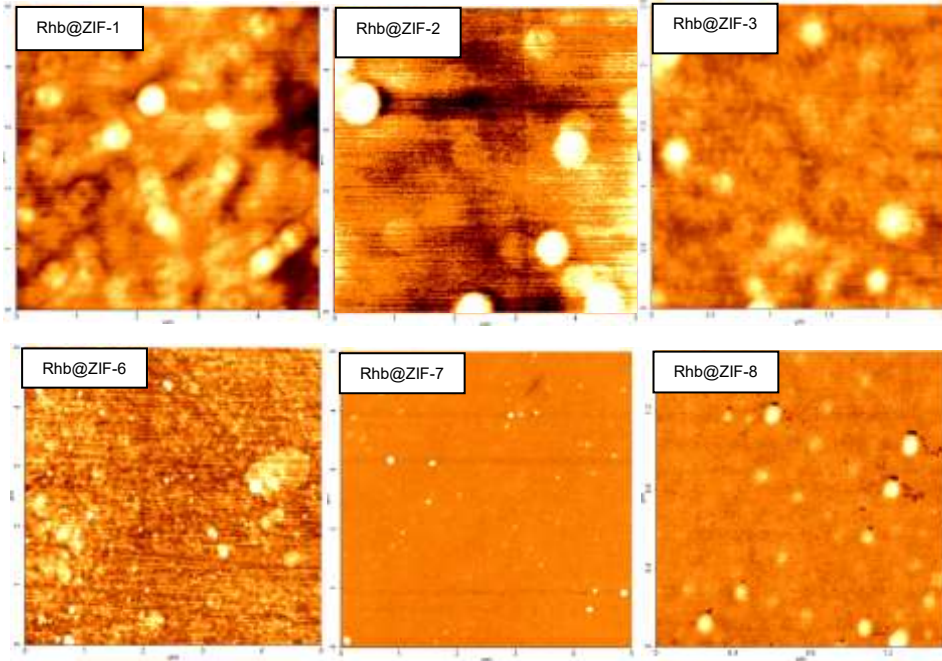
Suda ZIF-8 sentezi hidroliz, koordinasyon ve deprotonlama aşamalarından oluşmaktadır. Çinko hidroksit oluşumunun sebebi ligandın hidrolizidir. Hidrolizin yanı sıra çinko iyonları imidazol ile koordinasyon bağı yaparak $Zn(Hmim)_{n+2}$ ($1 \leq n \leq 4$) yapısını oluşturmaktadır. Bu esnada Hmim tüketimi nedeniyle çözeltinin pH'ı azalmaktadır. Düşük pH imidazolün deprotonlanmasını yavaşlatmakta ve Hmim'in dengeye gelmesine neden olmaktadır. Ancak ZIF-8 kristallerinin oluşumu ve büyümesi için deprotonlanmış liganda ihtiyaç vardır. Bu nedenle ZIF-8 sentezinde bazik Hmim'in aşırı kullanımı bir deprotonlama ajanı olarak kullanılabilir ve ZIF-8 kristallerinin oluşumunu ve büyümesini sağlamaktadır [222]. Organik ligand konsantrasyonunu azaltılması için bazik deprotonlama ajanları (poliamin, trietilamin, piridin, sodyum format vb.) kullanılabilir. ZIF-8'in sudaki sentezlerinde bir pH düzenleyici, dolayısıyla da bir deprotonlama ajanı kullanılması ZIF-8 oluşumunu kolaylaştırmaktadır [230,231].

Ancak bu durum genellikle bazik deprotonlama ajanının Hmim çözeltisine eklendiği durumda gerçekleşmektedir. Abdelhamid vd. bu ajanın çinko çözeltisine eklenmesinin hem reaksiyon esnasında ligandı deprotonladığını hem de ZnO oluşumunu sağladığını rapor etmiştir [180]. ZnO yüksek pH değerlerinde çözünmediği için ligandın eklenmesiyle gerçekleşen ZIF-8 oluşumu katı-katı dönüşümü ile gerçekleşmektedir. Çalışmada TEA kullanımının reaksiyon süresini 2 dakikaya kadar kısalttığını, ayrıca ZIF-8 oluşumu için gerekli Hmim/Zn oranını 10'un altına indirebildiği rapor edilmiştir [180]. Bu tez çalışmasında da trietilamin literatürde yer alan bu bilgiler ışığında ZIF-8 oluşumunu kontrol etmek için kullanılmıştır. TEA kullanımı reaksiyon süresi iki katı olmasına rağmen Rhb@ZIF-8.6 örneğinin boyutlarını Rhb@ZIF-8.3'e göre iki kata kadar küçülmüştür.

TEA kullanılarak gerçekleştirilen ve 30 dakikalık bir reaksiyon süresi ile elde edilen Rhb@ZIF-8.6 örneğinin boyutlarının AFM ve LS sonucunda 131.40 ± 38.26 nm ve 309.70 ± 230.00 nm olduğu tespit edilmiştir. Bu örnek üzerinden hareketle reaksiyon süresinin kısaltılması ile boyutların daha da azaltılabileceği düşünülmüştür. ZIF-8 kristallerinin oluşmasındaki iki ana aşama olan çekirdeklenme ve kristal büyümesi aşamalarından çekirdek büyümesi aşamasının uzamasının ZIF-8 kristallerinin boyutlarını artırdığı bilinmektedir.

Literatüre göre, benzer koşullarda gerçekleştirilen ZIF-8 sentezlerinde çekirdeklenme aşamasının gerçekleşmesi oldukça hızlıdır [163,225]. Reaksiyonun ZIF-8 kristalleri elde edildikten sonra devam ettirilmesinin bu tez çalışması kapsamındaki tek işlevi, model moleküllerin ZIF-8 yapısına tatmin edici seviyede yüklenmesinin sağlanmasıdır. Model moleküllerin kristal büyümesi esnasında da yüklenmeye devam ettiği düşünüldüğü için bu konuda sınırlayıcı olabilecek tek noktanın bu olduğu üzerinden hareket edilmiştir. Bu nedenle reaksiyon süresinin 15 dakikaya indirilmesi gerçekleştirilmiştir. Aynı zamanda ligand miktarı iki katına çıkarılmıştır. Bu sayede ZIF-8 boyutlarında AFM'ye göre yaklaşık 10 nm'lik bir azalma elde edilmiştir. Ancak enkapsülasyon verimliliğinde bir azalma yaşanmamıştır. Ayrıca ZIF-8 kristallerinin boyutlarını etkileyebilecek bir diğer değişken olan rodamin-b miktarı bir sonraki kısımda detaylandırılacaktır.

Rhb@ZIF-8 örneklerinin AFM görüntüleri şekil 4.2'de yer almaktadır. Rhb@ZIF-8.4 ve 8.5 örneklerinin rodamin-b tutma kapasitesi çok düşük olduğu için AFM analizlerinin gerçekleştirilmesine gerek görülmemiştir.



Şekil 4.2. Rodamin-b yüklenmiş ZIF-8 kristallerinin AFM görüntüleri

4.1.3. ZIF-8 Kristallerinin Rodamin-b Tutma Özelliklerinin İncelenmesi

Rodamin-b yüklü ZIF-8 kristallerinin istenilen boyutlarda elde edilebildiği bir önceki kısımda gösterilmiştir. Ancak bu kristallerinin boyutlarındaki azalmanın yüklenen model molekül miktarına etkisi ya da yüklenen ilaç miktarının boyutlar üzerindeki etkisi ayrıca incelenmelidir. Ayrıca ZIF-8 kristallerinin rodamin-b tutma miktarları ve bu miktarların diğer parametreler ile ilişkisi de bu kısımda incelenecektir. ZIF-8'e dahil edilmek üzere kullanılan rodamin-b miktarları, enkapsülasyon verimlilikleri ve ilaç yükleme kapasitesi değerleri çizelge 4.3'te görülebilmektedir.

Çizelge 4.3. Rhb@ZIF-8 örneklerinin sentezinde kullanılan rodamin-b miktarları, enkapsülasyon verimlilikleri ve yükleme kapasiteleri.

| ZIF-8 Kodu | Rhb Miktarı | %EE | %DLC |
|-------------|-------------|-------|-------|
| Rhb@ZIF-8.1 | 40 mg | 3.43 | 0.98 |
| Rhb@ZIF-8.2 | 20 mg | 7.75 | 1 |
| Rhb@ZIF-8.3 | 8 mg | 16.39 | 0.95 |
| Rhb@ZIF-8.4 | 8 mg | <0.05 | <0.01 |
| Rhb@ZIF-8.5 | 8 mg | <0.05 | <0.01 |
| Rhb@ZIF-8.6 | 3.8 mg | 37.63 | 0.82 |
| Rhb@ZIF-8.7 | 3.8 mg | 34.45 | 1.18 |
| Rhb@ZIF-8.8 | 3.8 mg | 35.73 | 1.27 |

ZIF-8'in rodamin-b enkapsülasyon verimliliğinin kullanılan rodamin-b miktarı azaldıkça arttığı, ancak rodamin-b yükleme kapasitesinin değişmediği gözlemlenmiştir. Bu durumda sentez esnasında yüksek miktarda rodamin-b kullanmanın ZIF-8 kristallerine dahil olan rodamin-b miktarı üzerinde etkisinin olmadığı söylenebilmektedir. %EE eşitlik 4.1'de verildiği şekilde hesaplandığı için ZIF-8 kristallerine dahil olan rodamin-b miktarının aynı olduğu örneklerde, sentez esnasında kullanılan rodamin-b miktarının azaltılması ile %EE değerinin artması beklendik bir sonuçtur.

$$\%EE = \frac{\text{Partiküle dahil edilmiş Rodamin miktarı}}{\text{Sentezde kullanılan Rodamin miktarı}} * 100 \quad (\text{Eşitlik 4.1})$$

Rodamin-b yükleme kapasitesi ise eşitlik 4.2'de gösterildiği gibi hesaplanmaktadır ve bu değer başlangıçta kullanılan rodamin-b miktarı ile ilgisi

yoktur. Dolayısıyla %DLC değerleri aynı olan örneklerin mg ZIF-8 başına içerdikleri mg Rhb miktarı aynıdır.

$$\%DLC = \frac{\text{Partiküle dahil edilmiş Rodamin miktarı}}{\text{Toplam Rodamin yüklenmiş partikül miktarı}} * 100 \quad (\text{Eşitlik 4.2})$$

Bu durumda Rhb@ZIF-8.1, 8.2 ve 8.3 örneklerinde ZIF-8 tarafından tutulan rodamin-b miktarlarının mg ZIF-8 başına neredeyse aynı olduğu söylenebilmektedir. Bu da rodamin-b yüklenme mekanizmasının bu örnekler için başlangıçta kullanılan rodamin-b miktarından bağımsız olduğunu göstermektedir. Rodamin-b'nin ZIF-8 kristallerine sentez sonrasında emdirilmesi ile elde edilen örneklerdeki rodamin-b miktarı Uv-vis ile tespit edilebilir değerlerin altındadır. Bu nedenle %EE ve %DLC, Çizelge 4.3'te tespit edilebilir minimum değerlerin altında olarak ifade edilmiştir. Emdirme deneyinin başarılı olmaması ZIF-8'in gözeneklerini birbirine bağlayan açıklıkların (3.4 angstrom) rodamin-b molekülünün boyutlarından daha küçüktür. Bu nedenle bu moleküllerin sentez sonrası ZIF-8 yapısına dahil olması beklenmemektedir. Literatürde metilen mavisi gibi, ZIF-8'in açıklıklarından çok daha az büyük olan moleküllerin ZIF-8 yapısına dahil olmasının ligandların esnekliği ile sağlanabileceği belirtilmiştir. Bu tip moleküllerin ZIF-8 kristallerine dahil olması için geçen süre moleküllerin boyutu arttıkça artmaktadır. Ancak bu esneklikten faydalanmak için dahi büyük olan moleküller ZIF-8 gözeneklerine değil, ZIF-8'in yüzeyine adsorplanmaktadır [232].

ZIF-8 kristallerinin oluşumunu metanol kullanarak daha kontrol edilebilir hale getirirken suda çözünür rodamin-b'nin enkapsülasyon verimliliğini de korumak için gerçekleştirilen Rhb@ZIF-8.5 örneğinde ise benzer şekilde rodamin-b'nin başarılı bir şekilde ZIF-8 kristallerine yüklenemediği gözlemlenmiştir. Literatürde, bilginiz dahilinde yalnızca metanol kullanılarak yüksek enkapsülasyon verimliliği elde edilmiş bir çalışma yoktur. Hedef moleküllerin ZIF-8 kristallerine enkapsülasyonu için su ya da su-metanol gibi karışımlar kullanılmaktadır. İlaç taşınım sistemlerinde kullanılan pek çok molekül ZIF-8'in gözenek boyutundan daha büyük boyutlara sahiptir. Bu nedenle bu moleküllerin ZIF-8 kristallerine dahil olması için gözenek hiyerarşisine sahip kristallerin oluşturulması gerekmektedir. MOF yapılarındaki hiyerarşik gözeneklilik, tek bir çerçevede çok ölçekli gözeneklilik (örneğin mikro-, mezo- ve makro gözeneklilik) varlığına verilen

isimdir. Bu hiyerarşik gözenekler sentez esnasında oluşabileceği gibi sentez sonrasında da elde edilebilmektedir [233]. Zheng vd. yaptığı çalışmada suda gerçekleştirdikleri sentezde DOX moleküllerinin ZIF-8 kristali içerisinde oluşan 5-20 nm aralığındaki mezoporlara yüklendiğini bildirmişlerdir [163].

Bu bilgiler ışığında metanol ile elde edilen ZIF-8'e emdirme yöntemi ile yükleme denemelerinde ya da metanol ve metanol-su ile "tek kap" yüklemenin neden başarısız olduğunun yorumlanması gerekmektedir. İlk sebep olarak metanolün ZIF-8 kristallerinin oluşumunu ve büyümesini etkileyen bir çözücü olması düşünülmüştür. Metanol, ZIF-8 oluşum aşamalarını etkileyerek daha düzenli ve hiyerarşik gözenekler içermeyen ZIF-8 kristalleri oluşumunu desteklemiş olabilir. Rhb@ZIF-8 kristallerindeki hiyerarşik gözeneklerin metal iyonları ile hedef moleküllerin bazik pH'ta koordinasyonu ile oluşan yapıya ligandın eklenmesi ile hedef molekülün ZIF-8 içerisinde hapsolmesiyle oluştuğu düşünülmektedir. Metanolün bu yapının oluşumuna izin vermemesi, hedef molekülün metanole afinitesinin bulunması vb. durumlarda da hiyerarşik gözeneklere sahip ZIF-8 kristallerinin elde edilemeyeceği düşünülmüştür.

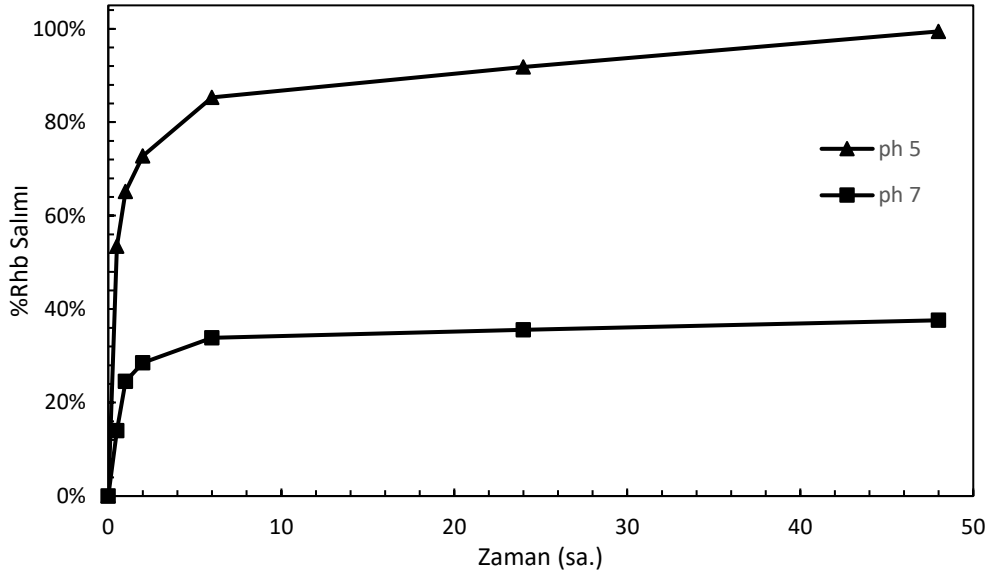
Rhb@ZIF-8.6, 8.7 ve 8.8 örneklerinde enkapsülasyon verimlilikleri dar bir aralıktadır (%34.45-%37.63). Ancak %DLC değerleri Rhb@ZIF-8.6 örneğinde %0.82, 8.7 ve 8.8 örneklerinde ise %1.18 ve %1.27'dir. Bu değişimin temel sebebinin reaksiyon süresi olduğu düşünülmektedir. 30 dakikada gerçekleştirilen Rhb@ZIF-8.6 sentezinde 135 mg malzeme elde edilirken reaksiyon süresinin 15 dakikaya düşürüldüğü diğer iki sentezde yaklaşık 100 mg malzeme elde edilmiştir. %DLC yüklenen model molekül miktarının elde edilen model molekül yüklü malzeme miktarına oranı ile ifade edildiği için değerdeki bu artış beklendiktir. Bu sonuçlardan yapılabilecek bir diğer çıkarım ise reaksiyon süresi ile yüklenen rodamin-b miktarı arasında güçlü bir ilişki bulunmadığıdır. İki kat daha uzun sürede elde edilen Rhb@ZIF-8.6 partiküllerinin enkapsülasyon verimliliği 15 dakikada elde edilen partiküllerden yalnızca %2 daha yüksektir.

Moore vd. rodamin-b'nin ZIF-8'e yüklenmesini başlangıç rodamin-b konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak çalışmışlardır. 0.1 g/L başlangıç konsantrasyonunda %DLC değerini yaklaşık olarak %0.8 ve 0.25 g/L başlangıç konsantrasyonunda ise %1.7 olarak hesaplamışlardır [234]. Bizim

deneylerimizde başlangıç rodamin konsantrasyonu 0.16 g/L'dir ve ulaşılan en yüksek %DLC değeri %1.27 olarak gerçekleşmiştir. Abdelhamid vd. artan rodamin-b miktarı ile (1-10 mg) ağırlıkça %17'ye kadar artan yükleme miktarları elde etmişlerdir [180]. Ayrıca bu yapıların yalnızca model molekül değil birer biyo sensör olabileceğini göstermişlerdir [172]. Zheng vd. benzer koşullarda, aynı miktarda çinko kullandıkları sentezlerinde 8 mg başlangıç konsantrasyonu ile ağırlıkça %4 doksorubisini ZIF-8 kristallerine yüklemeyi başarmışlardır. Doksorubisin miktarı 24 mg'a çıktığında ağırlıkça yükleme miktarı %14'e yükselmiştir [163]. ZIF-8 kristallerine yüklenen rodamin-b miktarı açısından bakıldığında bu tez çalışması literatüre göre benzer sonuçlara sahiptir. Reaksiyon süresinin rodamin-b yüklemesi üzerinde güçlü bir etkisinin olmadığı 8.6 ve 8.7 arasındaki örneklerden yola çıkarak gösterilmiştir. Bu etkinin 8.1 ve 8.2 örnekleri için de geçerli olduğu varsayılarak rodamin-b miktarının iki kat azaltılmasının da yüklenen rodamin-b miktarını ciddi biçimde etkilemediği söylenebilmektedir (%0.98 ve %1 DLC). Bu durum yüklenen rodamin-b miktarının başlangıçta çinko ile koordinasyon kuran rodamin-b miktarıyla doğrudan ilgili olduğu ve yeterli miktarda rodamin-b kullanılması durumunda aşırı rodamin-b kullanımı ya da reaksiyon süresi ile değişmediği şeklinde yorumlanmıştır.

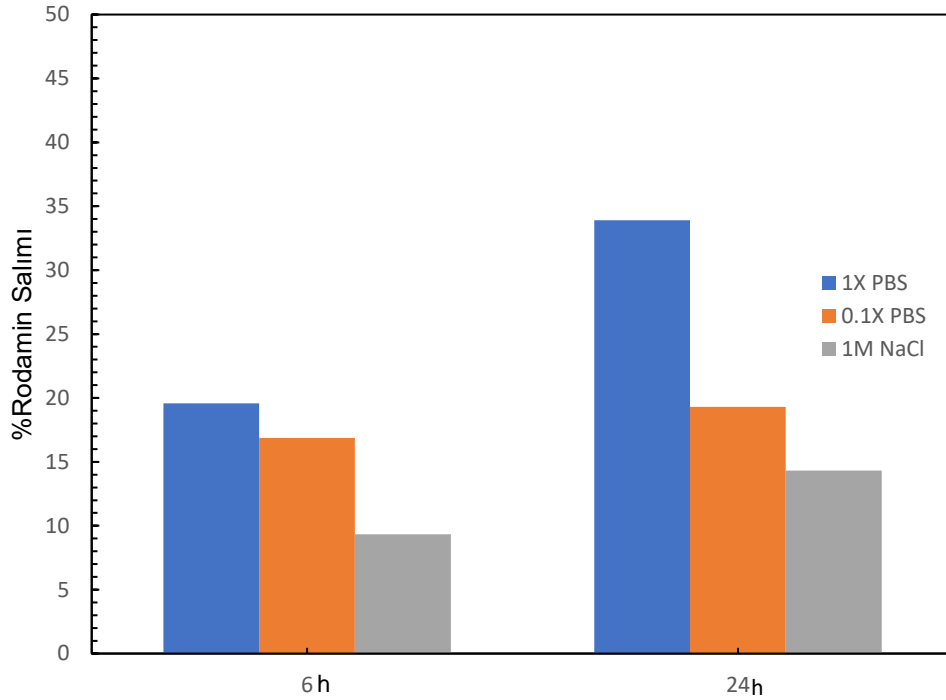
4.1.4. ZIF-8 Kristallerinden Rodamin-b Salım Özelliklerinin İncelenmesi

ZIF-8'in ilaç taşıyıcı olarak yüksek potansiyel taşımalarının en önemli nedeni pH'a duyarlı yapısı ile nötral pH değerlerinde enkapsüle ettiği ilacı tutabilirken düşük pH değerlerinde parçalanarak salıma sebep olmasıdır. Bu nedenle rodamin-b yüklenmiş ZIF-8 kristalleri farklı pH'larda salım ortamlarına yerleştirilerek salımı gerçekleştirilmiştir. Salım ortamı olarak 1 M PBS kullanılmıştır ve pH ayarlamaları seyreltik HCl kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Rhb@ZIF-8.8 örneklerine ait salım grafiği şekil 4.3'te verilmiştir. ZIF-8 pH 5'te enkapsüle ettiği rodamin-b'yi nötral koşullara göre çok daha hızlı ve çok daha yüksek miktarda salmıştır. İlk iki saatte rodamin-b salımının %73'ü tamamlanırken 6 saatin sonunda salım miktarı %85 olarak gerçekleşmiştir. Bu noktadan sonra salım bir platoya ulaşarak çok daha yavaş devam etmiş ve 48 saatte %99'a ulaşarak tamamlanmıştır. Nötral koşullarda ise salım 2 saatte %28, 6 saatte %34 ve 48 saatte %38 olarak gerçekleşmiştir.



Şekil 4.3. Rhb@ZIF-8.8 örneklerinden rodamin-b salımının zamanla değişimi

pH 7.4'te ZIF-8'den gerçekleşen rodamin-b salımının ilk olarak ZIF-8 kristallerine dahil olmayan, yüzeye adsorplanmış ya da sentezden sonraki yıkama esnasında ayrılamamış rodamin-b nedeniyle gerçekleştiği düşünülmüştür. Ancak durumun her sentezden elde edilen ZIF-8 için ortaya çıkması nedeniyle bu salımın yıkama vb. aşamalarda gerçekleşen sorunlar nedeniyle gerçekleşmediği düşünülmüştür. Literatürde ZIF-8'in suda stabilite sorunları yaşadığı ve ZIF-8'in hidrolizi bildirilmiştir [235,236]. Ancak bizim deneylerimizde bu sorunun yalnızca su ile ilgili olmadığı, ZIF-8'in PBS gibi tampon çözeltiler içerisinde bulunan tuzlar nedeniyle de stabilite sorunlarına sahip olduğu literatür araştırmaları sonucu fark edilmiştir. Velasquez-Hernandez vd. 0.25 µm ve 2 µm'lik ZIF-8 kristallerini 1X PBS içerisinde bekleterek ZIF-8'in stabilitesini çalışmışlardır [237]. Sonuçta fosfat gruplarının Zn^{+2} gibi polivalent katyonlara afinitesi nedeniyle ZIF-8'in parçalandığı ve çinko fosfat grupları oluştuğu rapor edilmiştir. ZIF-8 kristallerinin boyutları küçüldükçe bu etki artmaktadır. Başka bir çalışmada ise 5 mM HEPES VE PBS çözeltilerinde ZIF-8'in enkapsüle ettiği molekülleri %9 ve %24 oranında kaybettiği gözlemlenmiştir [238].

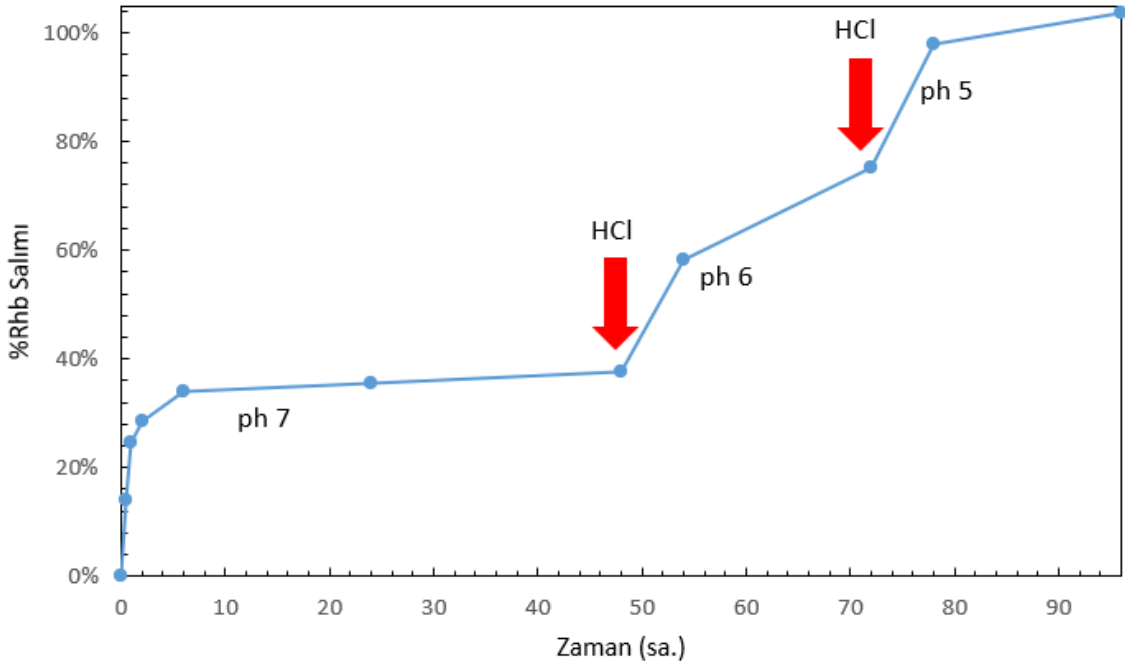


Şekil 4.4 Rhb@ZIF-8 örneklerinden pH 7.4'te farklı ortamlarda salınan rodamin-b miktarı

Bu bilgiler ışığında rodamin-b yüklü ZIF-8'in farklı ortamlarda rodamin-b salımı takip edilmiştir. Şekil 4.4'te görülebileceği gibi ZIF-8 1X PBS çözeltisinde enkapsüle ettiği rodamin-b'nin %34'ünü kaybetmektedir. Bu bozulmanın fosfat gruplarının çinkoya olan afinitesine bağlı olduğunun ispatı için 0.1X PBS çözeltisi hazırlanmıştır. Deneyde bu bilgileri destekleyici şekilde PBS konsantrasyonunun azaltılmasıyla salınan rodamin-b miktarı da azalmıştır. 0.1X PBS'te 24 saatin sonunda salınan rodamin-b %19'dur. 1M sodyum klorür çözeltisinde ise rodamin-b salımı 6 saate %9, 24 saatte ise %14 olarak gerçekleşmiştir. Moore vd. yaklaşık 700 nm boyutlara sahip ZIF-8'in 0.1X ve 1X PBS'te %10 ve %22 oranında kargo molekülü kaybettiğini bildirmişlerdir [234]. ZIF-8 kristallerinin boyutlarının azalması ile fosfata bağlı stabilitenin azaldığı bilgisi göz önüne alındığında deneylerimizde elde edilen nötral koşullardaki rodamin-b salım miktarı literatür ile uyumludur. 1X PBS'te 24 saatte elde edilen %34'lük salım şekil 4.3'teki salım grafiği ile de uyumludur. Salım grafiğinde 24 saatin sonunda ZIF-8'in içerdiği rodamin-b'nin %36'sını saldı ancak daha sonra bir platoya ulaştığı gözlemlenmiştir. Sun vd. ZIF-8'den 5-florourasil salımını gerçekleştirmiş ve asidik koşullarda ilacın neredeyse tamamının beş saat içerisinde salındığını

göstermişlerdir. Ancak pH 7.4'te te ilaç salımının beş saatte %40 iki günde ise %60 seviyesinde gerçekleştiği çalışmanın sonuçları arasında yer almaktadır [167]. Tan vd. ZIF-8 kristallerinden doksorubisin salımı gerçekleştirmişlerdir ve pH 7.4'te %15, pH 5'te ise %80 salıma 24 saatte ulaşmıştır [239]. ZIF-8'den ilaç salımı ZIF-8'in boyutlarına, salım ortamına ve salınan molekülün yapısına bağlı olarak değişebilmektedir.

pH etkisinin daha net görülebilmesi için Rhb@ZIF-8 partikülleri ile adımlı salım gerçekleştirilmiştir. Salım ortamının pH'ı belli aralıklarla düşürülmüş ve salınan rodamin miktarı Uv-vis spektroskopisi ile takip edilmiştir (Şekil 4.5). Grafikte rodamin-b salımının pH'ın düşmesiyle arttığı görülebilmektedir.



Şekil 4.5. Rhb@ZIF-8.8 örneklerinden adımlı rodamin-b salımı

Tez çalışmasında, uygun boyutlara sahip ve rodamin-b model molekülünü tutma ve pH'a duyarlı salma yeteneğine sahip ZIF-8 kristalleri sentezlendikten sonra bir diğer aşama olan ve ZIF-8 üzerinde gerçekleştirilecek son işlem olan PDA kaplamasına geçilmiştir.

4.2. Model Molekül Rhodamin-b Yüklü, PDA Kaplı ZIF-8 Kristallerinin Oluşturulması

Çalışmanın bir sonraki aşamasında rodamin-b yüklü ZIF-8 kristallerine fototermal özellikler kazandırmak için PDA kaplaması gerçekleştirilmiştir. PDA, dopaminin oksidasyonu ve kendiliğinden polimerleşmesi ile elde edilebilen biyoyumlu, stabil, biyobozunur ve etkili bir fototermal terapi ajanı olarak öne çıkmaktadır. Ayrıca PDA çok fazla tip yüzeye yapışabilme yeteneğine sahiptir [183]. Bu özellikleri ile PDA, ZIF-8'e bir fototermal etkili dış katman olarak kaplanmıştır.

Kaplama işlemi için ilk olarak ZIF-8'in stabilitesi de göz önünde bulundurularak Tu vd. tarafından ortaya konan metanolde kaplama yöntemi takip edilmiştir [182]. Kaplamanın yapılabilmesi için ağırlıkça 1:1 dopamin hidroklorür ve ZIF-8 metanolde dağıtılmıştır. 60 dereceye ısıtılan çözelti belli süreler karıştırılmıştır. PDA kaplamasının önemli bir indikatörü çözeltinin renginin polimerleşme sonrası siyah renk almasıdır. Ancak bu şartlar altında gerçekleştirilen kaplama işlemlerinde bu olay gözlemlenmemiştir. Çözelti renginin, partiküllerin PDA kaplaması sonrası salımının takip edilmesi için dağıtıldığı PBS içerisinde siyahlaştığı gözlemlenmiştir. Bu da kaplama işlemi sonrasında ortamda kalan dopamin HCl'nin salım ortamında polimerleştiğini göstermektedir.

PDA tabakasının oluşması için alkali bir ortama ihtiyaç duyulmaktadır. Literatürde PDA kaplaması için sıklıkla pH=8.5 bir Tris tampon çözeltisi kullanıldığı rapor edilmiştir [183-185]. Bu çalışmalarda Dopamin:ZIF-8 oranı ve kaplama süresi birer parametre olarak yer almaktadır. Bu iki parametre kaplama kalınlığı üzerinde doğrudan etkilidir. Ancak önceki kısımlarda bahsedildiği gibi PDA kaplaması için geçen sürenin artması ZIF-8'in yapısının bozulmasına ve içi boş PDA küreleri elde edilmesine neden olabilmektedir. Bu çalışmada PDA kaplamasının amacı yalnızca tatmin edici düzeyde bir fototermal etki sağlamaktır. Bu nedenle de PDA kaplamasının aynı zamanda salımı da kontrol etmek için gerçekleştirildiği çalışmalar gibi daha kalın olarak elde edilmesi gibi bir amaç bulunmamaktadır. Bu faktörler göz önünde bulundurulduğunda kaplamanın 1:1 dopamin HCl:ZIF-8 oranında ve 1 saat gerçekleştirilmesi uygun bulunmuştur. Kaplamanın gerçekleştiğine dair önemli bir gösterge olan siyah renk elde edilmesi sağlanmıştır.

Ayrıca kaplama ile ilgili bir diğer önemli gösterge partiküllerin sahip olduğu zeta potansiyelleridir. ZIF-8, Rhb@ZIF-8 ve Rhb@ZIF-8/PDA'ya ilişkin zeta potansiyelleri çizelge 4.4'te verilmiştir. Zeta potansiyelinin kaplama sonrası negatif bir değer alması PDA kaplamasının başarılı olduğunun güçlü bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Zeta potansiyelinin, kaplanmamış ancak ortamda var olan PDA'dan dolayı ortaya çıkmaması için PDA kaplanmış ZIF-8 partikülleri su ile 3 kez yıkanmıştır. Ayrıca PDA'nın ZIF-8 kristallerinin boyutlarına, kristal yapısına ve özelliklerine etkisi FTIR, XRD, TEM vb. yöntemlerle de incelenmiştir. Boyut analizleri ile kaplama kalınlığı hakkında bilgi sahibi olunmaya çalışılmıştır. Ancak bu veriler "4.3. ZIF-8, Rhb@ZIF-8 ve Rhb@ZIF-8/PDA partiküllerinin karakterizasyonu ve karşılaştırılması" kısmında değerlendirilmiştir.

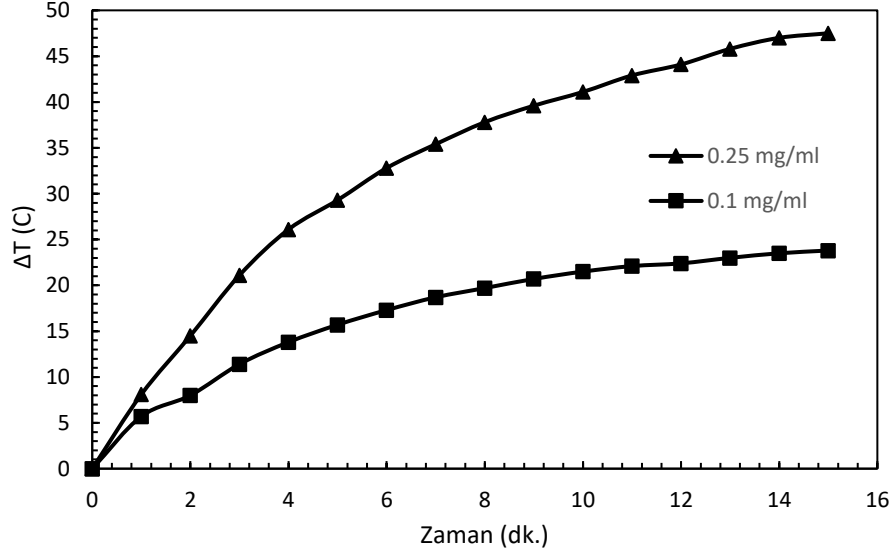
Çizelge 4.4. ZIF-8, Rhb@ZIF-8 ve Rhb@ZIF-8/PDA partiküllerine ait zeta potansiyelleri

| Partikül | Zeta Potansiyeli (mV) |
|---------------|-----------------------|
| ZIF-8 | +25.1 ±0.48 |
| Rhb@ZIF-8 | +10.26 ±0.56 |
| Rhb@ZIF-8/PDA | -19.86 ±0.56 |

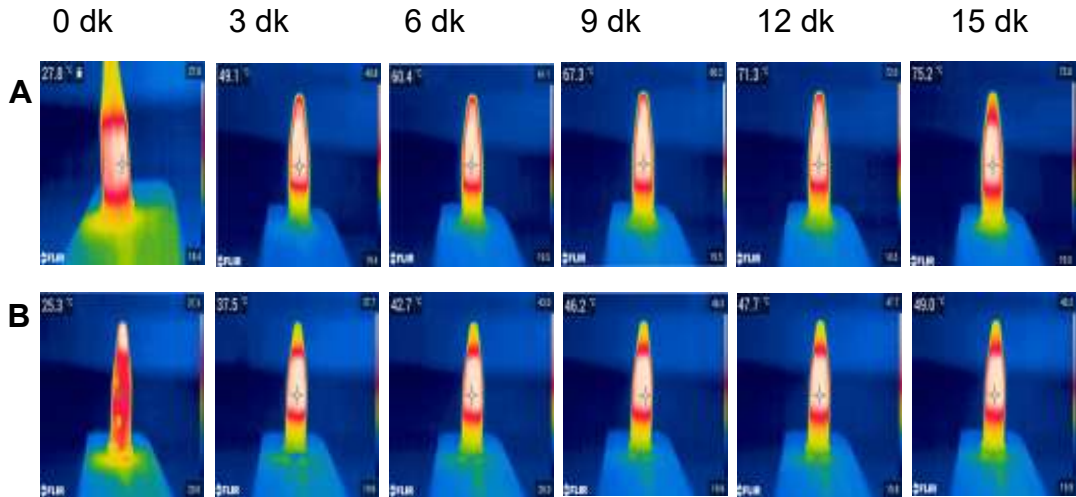
4.2.1. Model Molekül Rhodamin-b Yüklenmiş, PDA Kaplı ZIF-8 Kristallerinin Fototermal Etkinliklerinin İncelenmesi

PDA kaplamasının fototermal etkisinin incelenmesi için 808 nm dalga boyuna sahip bir lazer kaynağı kullanılmıştır. Fototermal terapi ajanlarının genellikle oda koşullarından +20 derecelik bir fark oluşturarak 45 derece sıcaklığa ulaşması beklenmektedir. Bu amaçla öncelikli olarak yeterli sıcaklığa ulaşabilen PDA kaplı ZIF-8 konsantrasyonu belirlenmeye çalışılmıştır. Bu noktadaki önemli olan konu minimum PDA kaplı ZIF-8 konsantrasyonunda maksimum etkinin ortaya konabilmesidir. İlk olarak 0.25 mg/ml konsantrasyonda Rhb@ZIF-8/PDA partikül çözeltisi 15 dakika boyunca 1.5 W/cm² gücünde lazere maruz bırakılmıştır. 15 dakikada 47.4 derece sıcaklık artışı gösteren örnek 27.8°C'den 75.2°C'ye ısınmıştır. Bu sıcaklık artışı fototermal terapide kullanılmak için çok yüksektir. Sıcaklık artışının lokal olarak gerçekleştirildiği ve lokal olarak hücre ölümünün gerçekleşmesi amaçlanan bu yöntemde sıcaklığın bu seviyede artması sağlıklı hücreler için de tehlikeli olmaktadır. Bu nedenle konsantrasyon 0.1 mg/ml'ye

düşürülmüştür. 0.1 mg/ml konsantrasyona sahip örnek 15 dakikada +23.7 °C'lik bir artış ile 49 °C sıcaklığa yükselmiştir. Farklı konsantrasyonlarda örneklerin zamana karşı sıcaklık artışı şekil 4.6'da görülebilmektedir. Ayrıca deneyler esnasında elde edilen termal kamera görüntüleri şekil 4.7'de verilmiştir.



Şekil 4.6. Farklı konsantrasyonlarda Rhb@ZIF-8/PDA partiküllerinin NIR ışınması altında zamana karşı sıcaklık değişimleri (808 nm λ , 1.5 W/cm²)



Şekil 4.7. (A) 0.25 mg/ml ve (B) 0.1 mg/l konsantrasyonda Rhb@ZIF-8/PDA partiküllerinin NIR ışınması altında zamanla değişen termal kamera görüntüleri (808 nm λ , 1.5 W/cm²)

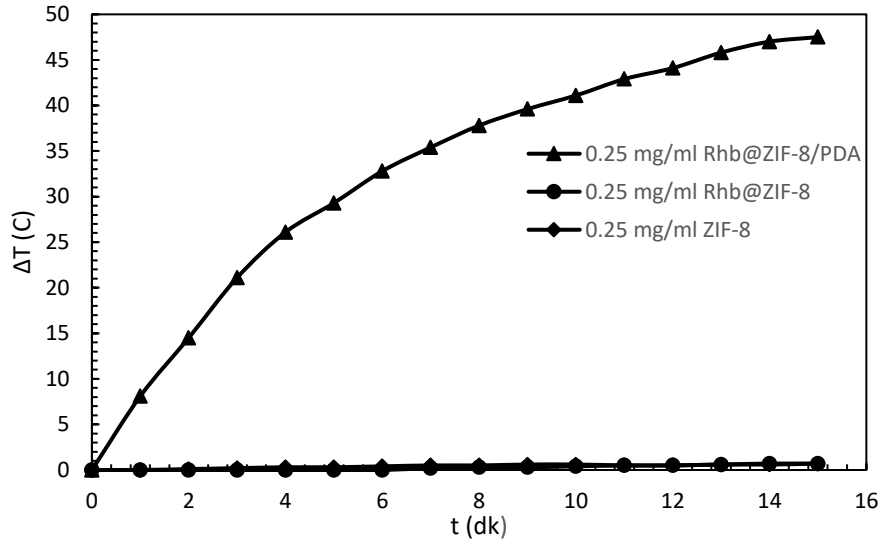
Sıcaklık artışı değerleri literatürde yer alan PDA kaplı ZIF-8 çalışmaları ile kıyaslanmıştır. Yin vd. 2 saatlik bir PDA kaplaması ile 80 µg/ml konsantrasyonda yaklaşık 35 derecelik bir sıcaklık artışı sağlamışlardır. Sıcaklık artışının sağlandığı PDA kaplamasının kalınlığı 10 nm olan çalışmada ZIF-8 partiküllerinin boyutları 38 nm'dir ve 1 W/cm² güçte bir lazer kaynağı kullanılmıştır [183]. Gao vd. 0.1 mg/ml konsantrasyonda ve 2 W/cm²'de yalnızca 15 °C'lik bir sıcaklık artışı elde etmişlerdir. Çalışmada kullanılan ZIF-8 kristalleri 176.9 nm, PDA kalınlığı ise yaklaşık 20 nm'dir [184]. Bu iki çalışma değerlendirildiğinde aradaki sıcaklık artışı farklı göze çarpmaktadır. Her iki çalışmada da ZIF-8'e PDA kaplaması Tris tampon çözeltisinde ve iki saatlik bir kaplama süresinde gerçekleştirilmiştir. Bu iki çalışma arasındaki sıcaklık artışı farkının partiküllerin boyutları ile ilgili olduğu düşünülmüştür.

Yin vd. daha düşük konsantrasyonda ve daha düşük bir lazer gücünde daha fazla sıcaklık artışı sağlarken kullandıkları partiküllerin boyut olarak üçte biri PDA'dan oluşmaktadır. Gao vd.'nin çalışmasında ise 218 nm'lik PDA kaplı ZIF-8 partiküllerindeki PDA kaplamasının partikül boyutuna oranı 1:5.5'tir. Ayrıca daha küçük boyutlarda partiküller kullanıldığında düşük konsantrasyonda dahi yüksek partikül sayılarına ulaşmak mümkündür.

Fototermal etkinliğin nanopartikül boyutlarıyla ilgisini inceleyen çalışmalarında Depciuch vd. altın nanopartiküllerinin boyutlarıyla fototermal etkinlikleri arasındaki ters ilişkiyi ortaya koymuşlardır. Çalışmada, partikül boyutlarının artması ile partikül tarafından absorplanıp ısı enerjisine çevrilen ışık miktarının azaldığı, ışığın saçılmaya başladığı rapor edilmiştir. Bu durum Mie saçılımı olarak bilinen ve elektromanyetik dalgaların küresel şekillerden saçılmasını inceleyen teori ile açıklanmaktadır. [240].

Bizim çalışmamızda ise PDA kaplamasının kalınlığı AFM'ye göre yaklaşık 5 nm'dir (Rhb@ZIF-8.8 92.33 nm ve Rhb@ZIF-8.8/PDA 103.30 nm). Literatürdeki partikül başına PDA kalınlığı açısından diğer çalışmalardan daha düşük bir orana sahip olması, kaplama süresinin daha kısa tutulması ile açıklanabilmektedir. Partiküllerimizin fototermal performansının partikül boyutlarının daha düşük olduğu çalışmalardan az, daha büyük olduğu çalışmalardan ise daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

PDA kaplamasının etkisinin daha net görülebilmesi ve sıcaklık artışının rodamin ya da ZIF-8'den kaynaklanmadığının gösterilmesi için ZIF-8, Rhb@ZIF-8 ve Rhb@ZIF-8/PDA partiküllerinin 0.25 mg/ml konsantrasyonda fototermal deneyleri gerçekleştirilmiştir. ZIF-8 ve Rhb@ZIF-8 partiküllerinin 15 dakikada yalnızca 0.7 °C sıcaklık artışı yaşadığı gözlemlenmiştir. Bu değer saf suyun bu süre içerisinde yaşadığı sıcaklık artışı ile neredeyse aynıdır. Dolayısıyla ZIF-8 ve Rhb@ZIF-8 partiküllerinin fototermal etkisinin bulunmadığı, sıcaklık artışına sebep olan tek bileşenin bu koşullarda 47.5 °C'lik bir ısınma sağlayan PDA kaplaması olduğu gösterilmiştir (Şekil 4.8). PDA kaplı partiküllerin yeterli miktarda sıcaklık artışı sağladığı konsantrasyonun 0.1 mg/ml olarak belirlenmiş olmasına rağmen bu deneylerin daha yüksek konsantrasyonda gerçekleştirilmesinin sebebi hem partiküller arasındaki farkın daha net görülebilmesini sağlamak hem de PDA kaplaması bulundurmeyen partiküllerin sıcaklık artışı miktarını saf suyun kendi kendine oluşturabildiği artıştan ayırmaktır.

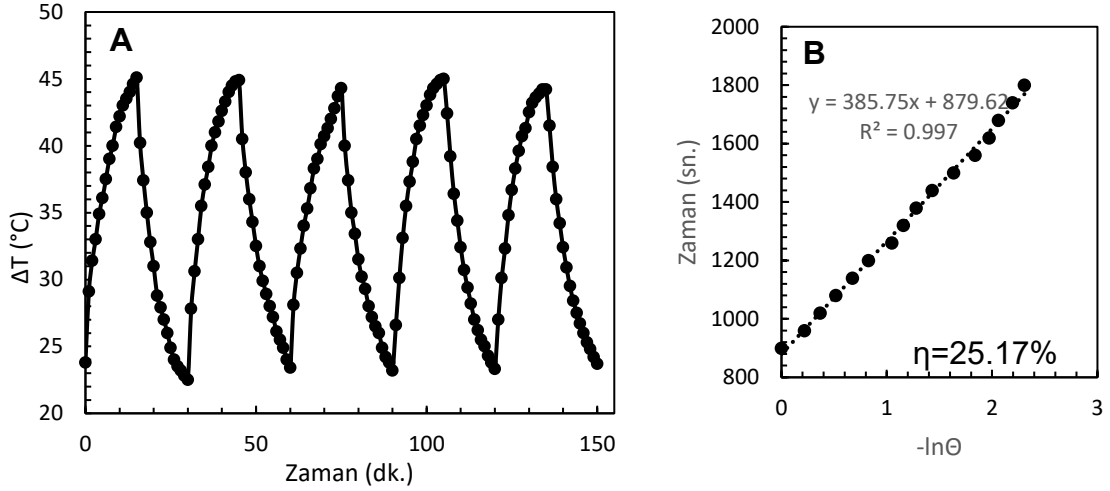


Şekil 4.8. 0.25 mg/ml konsantrasyonda ZIF-8, Rhb@ZIF-8 ve Rhb@ZIF-8/PDA partiküllerinin NIR ışınması altında zamana karşı sıcaklık değişimleri (808 nm λ , 1.5 W/cm²)

Fototermal terapi için yeterli ve ideal konsantrasyon belirlendikten sonra Rhb@ZIF-8/PDA partiküllerinin fototermal dönüşüm verimlilikleri hesaplanmıştır. Fototermal dönüşüm etkisi fototermal ajanların ışığı absorplayıp ısı enerjisine dönüştürebilme ve dış ortama yayabilme yeteneğinin bir ölçüsüdür. Polidopamin

gibi organik moleküllerin fototermal etkisi elektronların hareketi ile ilgilidir. Bir foton, molekül ile etkileştiğinde fotonun enerjisi moleküle aktarılmaktadır ve molekülün elektronları temel durumdan uyarılmış duruma geçmektedir. Uyarılmış elektronun temel duruma geri dönmesi ise temel olarak iki yolla gerçekleşebilmektedir. İlk yol, floresan emisyonu, ikinci yol ise ışınımsız (non-radiative) (örneğin ısı açığa çıkarma) geçiştir. Organik moleküllerin elektronları genellikle ikinci yol üzerinden temel duruma dönmektedir [241]. Fototermal dönüşüm verimliliği bu etkinin partikül tarafından sağlanabilmesinin bir ölçüsüdür. Şekil 4.9'da 0.1 mg/ml Rhb@ZIF-8@PDA partiküllerine ait ısınma-soğuma döngüleri görülebilmektedir. Bu döngüler, partiküllerin fototermal stabilitesini göstermektedir. Partiküllerin beş döngü boyunca stabil kaldığı ve fototermal etkiye sahip olduğu görülebilmektedir.

Ayrıca partiküllerin fototermal verimliliği de bu ısınma-soğuma döngülerinden faydalanılarak hesaplanmıştır (Şekil 4.9.B). Partiküllerin fototermal verimliliği %25.17 olarak belirlenmiştir. Hui vd. ZIF-8/PDA-Ag nanopartiküllerinin fototermal verimliliğini %34 olarak hesaplamışlardır. Ancak 22 nm PDA kaplamasına sahip 700 nm civarındaki partiküllerin fototermal dönüşüm verimliliklerine gümüşün de katkısı olduğu belirtilmiştir [242]. Wu vd. 70-110 nm aralığında boyutlara sahip PDA-PCM@ZIF-8/DOX ilaç taşıyıcı sisteminde polidopamin kaynaklı fototermal dönüşüm verimliliğinin %30.61 olduğunu rapor etmişlerdir [243]. Etkin bir fototermal terapi için fototermal dönüşüm verimliliğinin %20'nin üzerinde olması yeterlidir [244]. Bu nedenle partiküllerimizin etkin bir fototermal terapi ajanı görevi görebildiğini söylemek mümkündür.

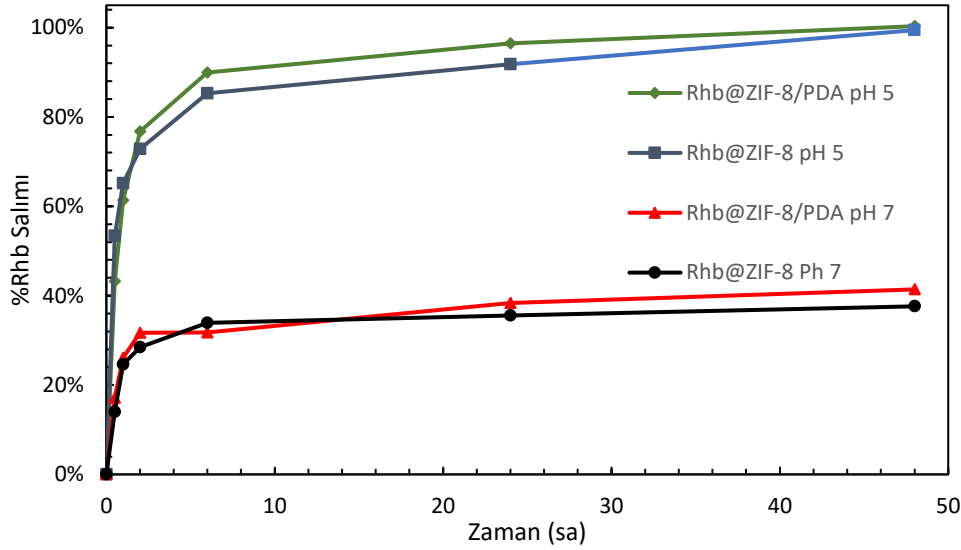


Şekil 4.9. 0.1 mg/ml konsantrasyonda Rhb@ZIF-8/PDA partiküllerinin (A) NIR ışınması altında fototermal stabiliteyi. (B) Fototermal dönüşüm verimliliği (808 nm λ , 1.5 W/cm²)

4.2.2. PDA Kaplamasının Rodamin-b Salımına Etkisinin İncelenmesi

Rodamin-b yüklü ZIF-8 nanopartiküllerine yapılan PDA kaplamasının, partikülün dış yüzeyindeki bir tabaka olarak salımın kontrolü üzerinde bir etkisi olup olmadığı incelenmelidir. Literatürde, ZIF-8 kristallerinden ilaç salımını kontrol etmek için poliakrilik asit (PAA) vb. kaplamalar yapıldığı bilinmektedir [158].

PDA kaplamasının rodamin-b salımına etkisinin incelenmesi için aynı koşullarda Rhb@ZIF-8 ve Rhb@ZIF-8/PDA partiküllerinden salım gerçekleştirilmiştir (şekil 4.10). PDA kaplamasının ZIF-8'in pH duyarlı salım mekanizmasına bir etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir. Bu durumda PDA katmanının, ZIF-8'in salım ortamı ile olan temasını, dolayısıyla da pH duyarlı bozulmasını engellemediği düşünülmüştür. Ayrıca PDA'nın kaplandığı/yapıştığı yüzeylerden güçlü bazik ya da asidik koşullarda (pH 13'ün üstü ve pH 3'ün altı) ayrılabilirdiği bilinmektedir. Ancak salım koşulları pH 5 ve pH 7.4'tür. Dolayısıyla PDA katmanının yüzeyden ayrılması beklenmemektedir. Bu nedenle PDA'nın salım üzerinde bir etkisi olmaması, PDA katmanının ZIF-8 kristalleri ile ortam arasında bir "tampon" görevi görmediği şeklinde yorumlanmıştır.



Şekil 4.10. Rhb@ZIF-8 ve Rhb@ZIF-8/PDA'nın zamana karşı rodamin-b salım grafiği

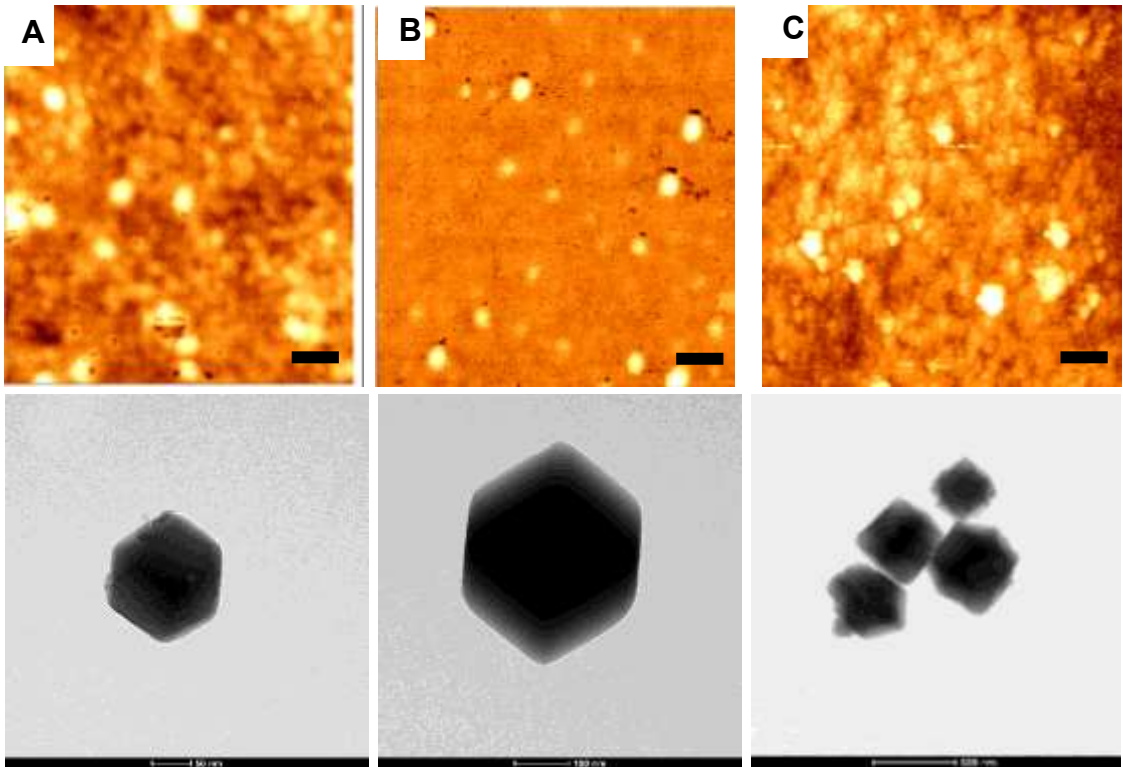
4.3. ZIF-8, Rhb@ZIF-8 ve Rhb@ZIF-8/PDA Nanopartiküllerinin Karakterizasyonu ve Karşılaştırılması

Bu kısımda ZIF-8 kristallerine rodamin-b yüklemesi ve PDA kaplaması aşamalarının kristal yapısına ve boyutlarına etkileri incelenmiştir. ZIF-8, Rhb@ZIF-8 ve Rhb@ZIF-8/PDA nanopartiküllerinin boyutları ve diğer özellikleri karşılaştırılmış, PDA kaplamasının kalınlığı vb. bilgilere yer verilmiştir. Bu amaçla AFM, LS, XRD, FTIR, TEM gibi analiz tekniklerinden yararlanılmıştır.

İlk olarak deneysel yöntem kısmında anlatıldığı gibi elde edilen partiküllerin boyutları karşılaştırılmıştır. Bu sayede rodamin-b yüklemesinin ve PDA kaplamasının ZIF-8 kristallerinin boyutları üzerindeki etkisi ve PDA kaplamasının kalınlığı gibi konularda bilgi sahibi olunmuştur. Boyut analizleri AFM, LS ve TEM kullanılarak gerçekleştirilmiştir. AFM ile gerçekleştirilen ölçümlerde ZIF-8'in boyutlarının hem rodamin-b yüklemesi hem de PDA kaplaması aşamalarında büyüdüğü gözlemlenmiştir (şekil 4.11). ZIF-8 kristallerinin 92.33 ± 30.50 nm'lik boyutları rodamin-b yüklemesinden sonra 149.37 ± 41.33 nm ve PDA kaplamasından sonra 205.00 ± 119.16 nm olarak ölçülmüştür. Rodamin-b yüklemesinin ZIF-8 boyutları üzerindeki etkisinin yaklaşık 50 nm olduğu gözlemlenmiştir. PDA kaplaması ise ZIF-8 kristallerinin boyutlarını yaklaşık 50 nm artırmıştır. Bu durumda PDA kaplamasının kalınlığının 20 nm'den yüksek olduğu

söylenmektedir. Partiküllerin LS analizlerinde hidrodinamik çaplar ölçüldüğü için çok daha yüksek değerler elde edilmiştir. Ayrıca partiküllerin polidispersite indeksi 0.4 ve civarındadır ve standart sapmaları görece yüksektir (Çizelge 4.5). Bu durumun nedeni ZIF-8 kristallerinin belirli bir boyut dağılımı içerisinde yer almalarıdır. ZIF-8 kristallerinin boyutları 80 ile 200 nm aralığındadır.

Ancak hem AFM, hem de DLS partiküller hakkında boyut haricinde bir bilgi sağlamaktadır. Dolayısıyla, hem partiküllerin daha net görülebilmesi hem de PDA kaplaması hakkında daha iyi bilgi edinebilmek adına TEM görüntüleri alınmıştır. TEM ile partikül boyutları ZIF-8, Rhb@ZIF-8 ve Rhb@ZIF-8/PDA örnekleri için 183, 273 ve 307 nm olarak elde edilmiştir. Ayrıca PDA kaplamasının ZIF-8 kristalleri üzerindeki bazı bölgelerde 50 nm'ye kadar çıkabildiği, bazı noktalarda ise 10 nm civarında gerçekleştiği gözlemlenmiştir.

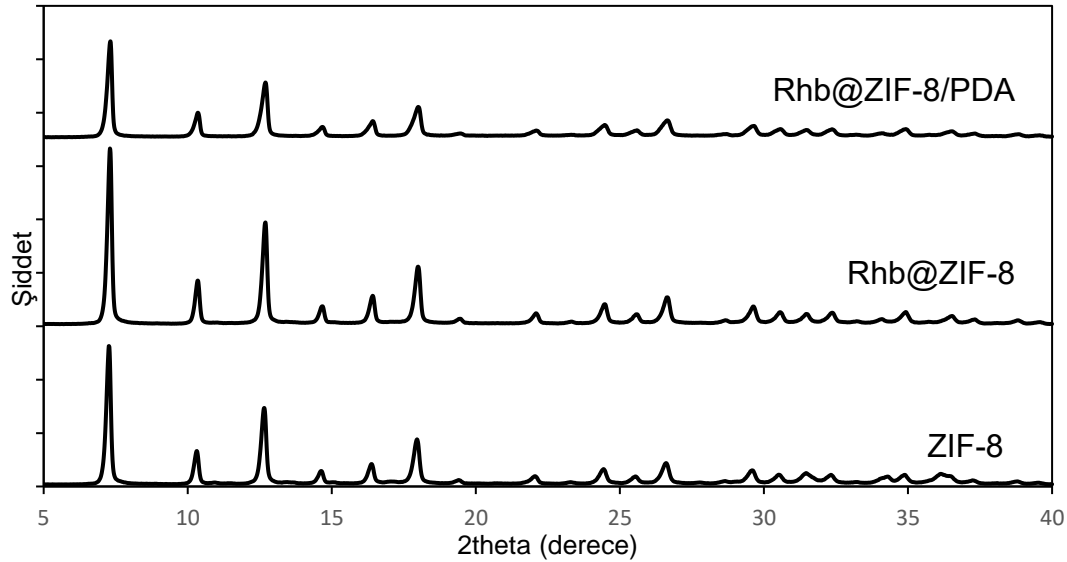


Şekil 4.11. (A) ZIF-8 (B) Rhb@ZIF-8 ve (C) Rhb@ZIF-8/PDA'ya ait AFM (bar=200 nm) ve TEM görüntüleri

Çizelge 4.5. ZIF-8, Rhb@ZIF-8 ve Rhb@ZIF-8/PDA nanopartiküllerinin LS ve TEM ile elde edilmiş boyutları

| Nanopartikül | PDI | LS, nm | AFM, nm | TEM, nm |
|---------------|------------|----------------|----------------|----------------|
| ZIF-8 | 0.43 ±0.08 | 226.32 ±49.52 | 92.33 ±30.50 | 183.33 ±126.00 |
| Rhb@ZIF-8 | 0.37 ±0.04 | 245.48 ±160.56 | 149.37 ±41.33 | 273.00 ±38.11 |
| Rhb@ZIF-8/PDA | 0.40 ±0.04 | 276.84 ±186.82 | 205.28 ±119.16 | 307.33 ±78.00 |

ZIF-8 kristalleri için gerçekleştirilebilecek en güçlü analiz tekniklerinden biri olan XRD, rodamin-b yüklemesi ve PDA kaplamasının kristale etkisinin incelenmesi için gerçekleştirilmiştir. $2\theta = 7.26, 10.32, 12.66, 14.64, 16.38$ ve 17.97° 'deki güçlü ve keskin pikler (110), (200), (211), (220), (310) ve (222) düzlemlerine aittir ve yüksek kristaliniteye sahip ZIF-8 elde edildiğini göstermektedir. Rodamin-b yüklemesi ile piklerin yerlerinde bir değişiklik yaşanmamıştır. Ayrıca pik şiddetlerinin birbirlerine göre oranlarında da bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Bu durumda rodamin-b yüklemesinin kristal yapısı üzerinde bir etkisi olmadığı söylenebilmektedir. PDA kaplaması ile piklerin şiddetlerinde bir miktar azalma olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.12. ZIF-8, Rhb@ZIF-8 ve Rhb@ZIF-8/PDA nanopartiküllerinin XRD sonuçları

Literatürde PDA kaplamasının XRD piklerinde ciddi bir azalmaya neden olabileceği ve ZIF-8'in kristalinitesini etkilediği ve PDA aşındırması ile bazı düzlemlere ait piklerin tamamen ortadan kalktığı rapor edilmiştir [182, 183]. Ancak

daha önceki kısımlarda da aktarıldığı gibi efektif bir fototermal etkinin oluşturulmasına imkan tanıyan miktarda PDA katmanı bu çalışma için yeterli olduğundan kısa tutulan kaplama süresi ile herhangi bir düzleme ait pikin ortadan kalkması söz konusu değildir. Piklerin birbirlerine oranla şiddetleri ve yerleri ZIF-8 örneğine göre aynı kalmıştır.

XRD verisi kullanılarak PDA kaplamasının ZIF-8 kristalinitesi üzerindeki etkisi anlaşılmaya çalışılmıştır. Rhb@ZIF-8/PDA'nın ZIF-8'e göre bağıl kristalinitesi Venna vd. tarafından tarif edilen yöntem kullanılarak hesaplanmıştır. Bu yöntemde XRD'de yer alan en belirgin piklerin altında kalan alan, taban çizgisi düzeltilmesinden sonra karşılaştırılmaktadır. ZIF-8'in kristalinitesi %100 olarak alındığında PDA kaplamasından sonra kristalinitenin %72.9'a düştüğü hesaplanmıştır. Ayrıca (001) düzlemine ait pik değerleri, Scherrer denklemi kullanılarak teorik kristal boyutları hesaplanmıştır. Scherrer denklemi şu şekilde verilmiştir;

$$D = \frac{K \cdot \lambda}{\beta \cdot \cos \Theta} \quad (\text{Eşitlik 4.3})$$

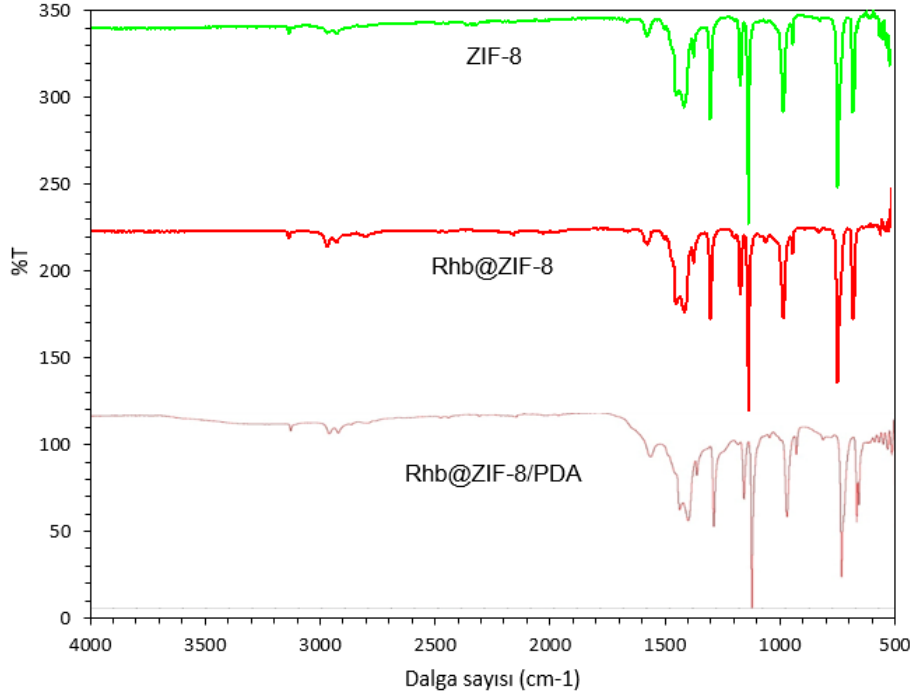
Eşitlikte D kristalit çapı, K Scherrer sabiti, λ X ışını dalga boyu, β yarı maksimumda tam genişlik değeri ve θ kırınım açısıdır. Bu yolla hesaplanmış çap değerleri çizelge 4.6'da verilmiştir. Ancak Scherrer eşitliği XRD verisini kullanarak kaba bir tahin yapılmasına olanak tanımaktadır ve pik genişliği gibi pek çok farklı faktör tarafından da etkilenebilecek verileri içermektedir. Birkaç on nm'den daha büyük kristallerin boyutlarını hesaplamada ciddi hatalar içermektedir.

Çizelge 4.6. Örneklerin Scherrer eşitliği ile hesaplanmış boyutları

| Nanopartikül | Kristalit Boyutu (nm) |
|---------------|-----------------------|
| ZIF-8 | 45.45 |
| Rhb@ZIF-8 | 45.94 |
| Rhb@ZIF-8/PDA | 42.55 |

Örneklerin FTIR spektrumları da önemli bir karakterizasyon tekniği olarak kullanılmıştır. Şekil 4.13'te verilen FTIR spektrumlarında 500–1350 cm^{-1} ve 1350–1500 cm^{-1} aralığındaki pikler imidazol halkasının eğilme ve gerilme

pikleridir. 3455 cm^{-1} 'de kalıntı imidazolün N-H gerilme titreşimine ait pik bu çalışma kapsamında sentezlenen örneklerde bulunmamaktadır. Bu da örneklerde serbest imidazol olmadığı anlamına gelmektedir. 3135 ve 2929 cm^{-1} pikleri aromatik ve alifatik C-H bağlarına aittir [246]. Rodamin-b yüklemesinin ve PDA kaplamasının spektrumda herhangi bir kaymaya ya da pik değişikliğine neden olmadığı görülmektedir.

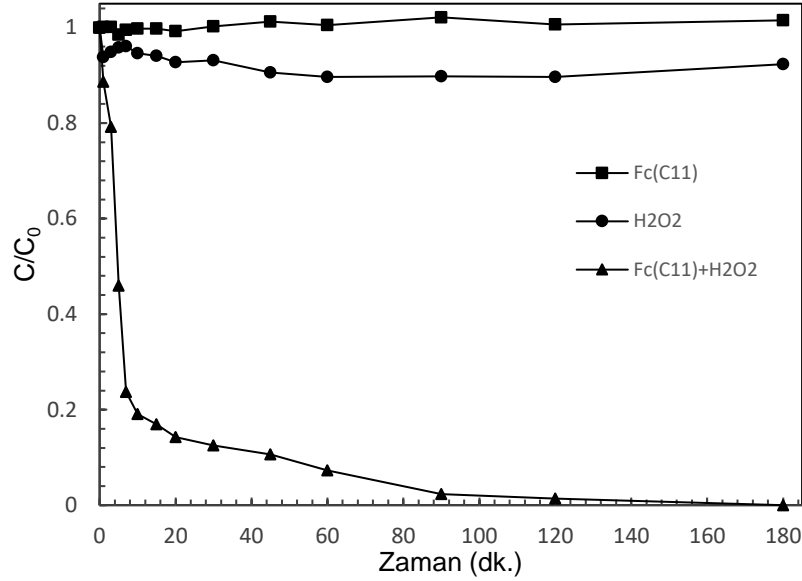


Şekil 4.13. ZIF-8, Rhb@ZIF-8 ve Rhb@ZIF-8/PDA nanopartiküllerinin FTIR spektrumları

4.4. Ferrosenli Yüzey Aktif Madde'nin Fenton Reaksiyonu Performansının İncelenmesi

Ferrosenli yüzey aktif madde olan N,N-dimetilferrosenilmetilundesil amonyum bromür'ün ($\text{Fc}(\text{C}_{11})$) fenton performansının gözlemlenebilmesi için Wang vd. tarafından rapor edilen yöntem kullanılmıştır [108]. Fenton reaksiyonunun gözlemlenebilmesi için, açığa çıkan radikallerin reaksiyona gireceği ve bu reaksiyonun kolayca analiz edilebileceği bu yöntemde metilen mavisi kullanılmıştır. Reaksiyon sonucunda oluşan radikallerin metilen mavisi ile reaksiyonunda, metilen mavisi parçalanarak renksiz hale gelmektedir. Bu da reaksiyonun 664 nm dalga boyundaki absorbansın ölçülmesi ile takip edilmesini mümkün kılmaktadır.

Ferrosenli yüzey aktif maddenin fenton reaksiyonu performansının incelenmesi için pH, sıcaklık, H₂O₂, Fe(C₁₁) ve metilen mavisi konsantrasyonu birer parametre olarak seçilmiş ve farklı değerlerde çalışılmıştır. Bu sayede hem fenton reaksiyonu için ideal koşullar belirlenmeye çalışılmış hem de fenton reaksiyonunun metilen mavisi giderimi kapasitesi tespit edilmiştir.



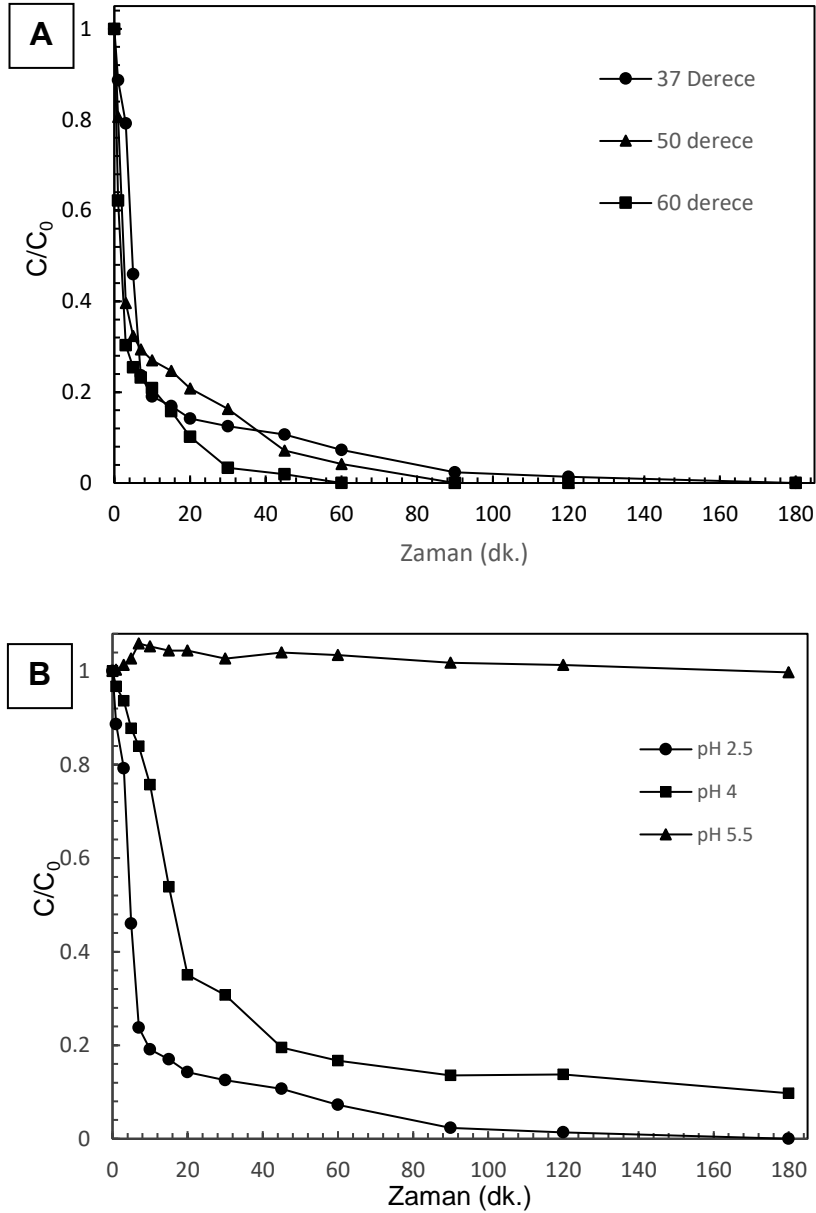
Şekil 4.14. Fc(C₁₁), H₂O₂ ve Fc(C₁₁)+ H₂O₂'nin metilen mavisi giderimi performansı (23.58 mM H₂O₂, 1 mM Fc(C₁₁), 10 mg/L MB, ph 2.5, T=37°C)

İlk olarak fenton reaksiyonlarının gerçekleştiği ve metilen mavisi gideriminin tek başına hidrojen peroksit ya da ferrosenli yüzey aktif maddeden kaynaklanmadığını göstermek için bu bileşenleri ayrı ayrı içeren deneyler yapılmıştır. Şekil 4.14'te görüldüğü gibi tek başına Fc(C₁₁)'in ya da H₂O₂'nin metilen mavisinin giderimi üzerinde bir etkisi yoktur. H₂O₂ kendi redoks potansiyeli nedeniyle çok kısa sürede gerçekleşen yaklaşık %10'luk bir giderime neden olmaktadır. Ancak bu iki reaktif ortama eklendiğinde zamanla metilen mavisi gideriminin %100 oranında gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Bu nedenle fenton reaksiyonunun Fc(C₁₁) ve H₂O₂ kullanılarak gerçekleştirilebildiği açıkça görülmektedir. Fenton reaksiyonunun bu iki reaktif ile gerçekleştirilebildiği görüldükten sonra ideal koşulların belirlenmesi için bir seri deney gerçekleştirilmiştir. Bu deneylerde amaç en çok metilen mavisi gideriminin en

ekonomik koşullarda gerçekleştirilmesini ve kullanılan reaktif miktarının ideal bir minimum değerde tutulmasını sağlamaktır.

4.4.1. Sıcaklık ve pH'ın Fenton Reaksiyonuna Etkisi

Reaktif miktarlarını değiştirmeden önce fenton reaksiyonu üzerinde büyük etkiye sahip olduğu bilinen pH değeri ve biyomedikal uygulamalar için önemli bir parametre olan sıcaklık üzerinde denemeler yapılmıştır.



Şekil 4.15. (A) pH 2.5 değerinde sıcaklığın metilen mavisi giderimine etkisi, (B) 37°C sıcaklıkta pH'ın metilen mavisi giderimine etkisi (23.58 mM H_2O_2 , 1 mM $Fc(C_{11})$, 10 mg/L MB)

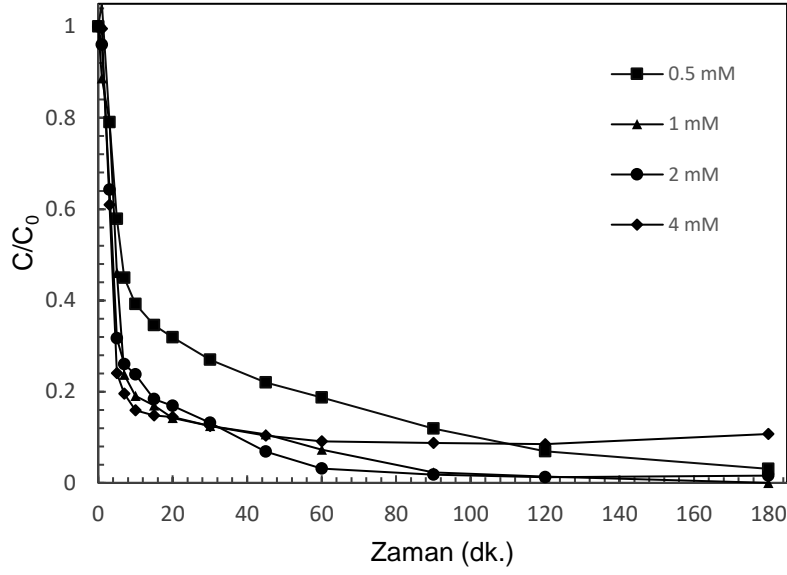
Şekil 4.15 A'da sıcaklığın fenton reaksiyonunun tamamı üzerinde ciddi bir faktör olmadığı görülebilmektedir. 120 dakikada tüm reaksiyonların neredeyse %100 metilen mavisi giderimine ulaştığı görülebilmektedir. Ancak reaksiyonun ilk 60 dakikasında artan sıcaklık ile metilen mavisi gideriminin arttığı belirlenmiştir. Bu fark 50 ve 60°C arasında daha belirgindir (3. dakikada %MB dönüşümü %60.4 ve %69.7, 60. Dakikada %MB dönüşümü %89.65 ve %100). Bu verilerden elde edilecek en önemli sonuç fenton reaksiyonu performansının vücut sıcaklığı olan 37°C'de ciddi miktarda performans kaybı olmadan gerçekleşebilmesidir.

Fenton reaksiyonu üzerindeki en önemli parametrelerden biri olan pH'ın etkisi ise Şekil 4.15 B'de verilmiştir. Fenton reaksiyonunun asidik koşullarda gerçekleştiği bilinmektedir. Metilen mavisi gideriminin 180 dakika sonunda pH 2.5'te %100, pH 4'te %90.3 olarak gerçekleştiği görülmüştür. pH 5.5'te ise reaksiyon gerçekleşmemektedir. Literatürde bu durum, asidik bir tamponun H₂O₂'nin ömrünün nötral koşullara göre uzattığı, bu sayede H₂O₂'nin reaktif kalabildiği ile aynı zamanda metallerin çökmesinin engellediği şeklinde açıklanmıştır [247]

4.4.2. Reaktif Konsantrasyonlarının Fenton Reaksiyonuna Etkisi

Sıcaklık ve pH denemelerinden sonra elde edilen verilerden yola çıkarak farklı ferrosenli yüzey aktif madde, hidrojen peroksit ve metilen mavisi konsantrasyonlarında deneyler yapılmıştır. Bu deneylerde sıcaklık 37°C'de tutulurken pH değeri fenton reaksiyonunun en etkili gerçekleştiği 2.5 değerine ayarlanarak deneyler arasındaki farkın daha net görülmesi amaçlanmıştır.

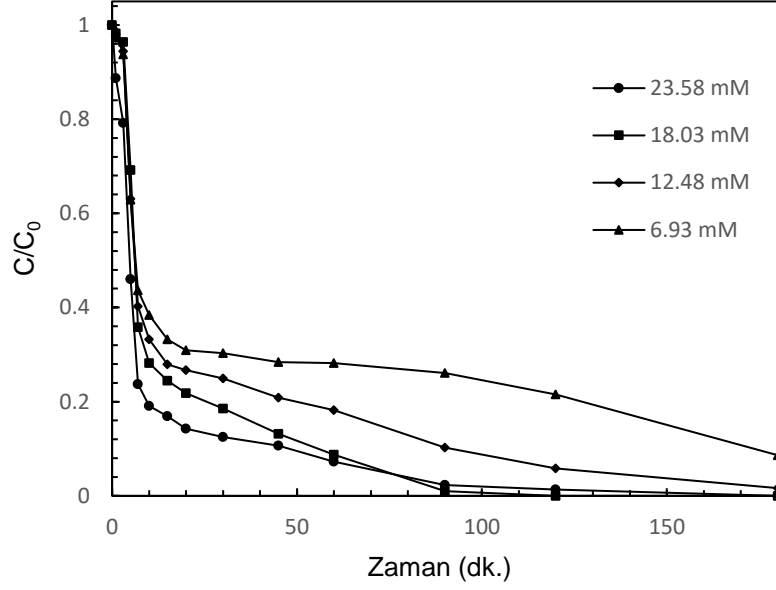
Fc(C₁₁) konsantrasyonunun etkisinin incelenebilmesi için 0.5 mM ile 4 mM aralığında Fc(C₁₁) içeren deneyler gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.16'da verilen grafikte görüldüğü metilen mavisi giderimi özellikle reaksiyonun ilk anlarında konsantrasyon arttıkça artmaktadır. Örneğin beşinci dakikada %MB giderimi 0.5, 1, 2 ve 4 mM Fc(C₁₁) için %42.2, %54.02, %68.4 ve %76.0 olarak gerçekleşmiştir. Ancak 180 dakikanın sonunda en düşük %MB giderimi 4 mM Fc(C₁₁) örneğine aittir (%90.3). Bu durumun ferrosenli yüzey aktif madde konsantrasyonunun çok yüksek olması ve ferrosenyum iyonunun da mavi renk vermesi ile ilgili olduğu düşünülmüştür. En yüksek metilen mavisi giderimi %100 ile 1 mM konsantrasyonda elde edilmiştir. 0.5 mM'da ise reaksiyon diğer tüm konsantrasyonlardan belirgin şekilde daha yavaş gerçekleşmektedir.



Şekil 4.16. Farklı konsantrasyonlarda ferrosenli yüzey aktif maddenin metilen mavisini giderimi (23.58 mM H₂O₂, 10 mg/L MB, pH 2.5, T=37 C)

Bu sonuçlarla birlikte fenton reaksiyonları için 1 mM Fc(C₁₁) kullanılmasına karar verilmiştir. 0.5 mM'da metilen mavisini gideriminin daha yavaş gerçekleşmesi, 2 mM'da ise ulaşılan %MB giderimi açısından 1 mM Fc(C₁₁)'den daha yüksek bir değer elde edilmemesi nedeniyle 1 mM ideal Fc(C₁₁) konsantrasyonu olarak seçilmiştir.

Daha sonra ise ideal hidrojen peroksit konsantrasyonunun belirlenmesi için çalışmalar gerçekleştirilmiştir. 6.93, 12.48, 18.03, 23.58 mM konsantrasyonlarında H₂O₂, 1 mM'lık Fc(C₁₁) varlığında fenton reaksiyonuna sokulmuştur. Şekil 4.17'de görülebileceği gibi H₂O₂ konsantrasyonu fenton reaksiyonunun performansı üzerinde ciddi bir etkidir. H₂O₂/Fc(C₁₁)'in düşük oranlarında metilen mavisini gideriminin reaksiyonun herhangi bir anında yüksek konsantrasyonlardan daha az olduğu açıkça görülebilmektedir. Örneğin ilk 10 dakikalık periyotta 6.93, 12.48, 18.03 ve 23.58 mM konsantrasyonlar için %MB giderimi %61.63, %66.76, %71.78 ve %80.93 olarak gerçekleşmiştir. 180. dakikada ise bu değerler düşük konsantrasyonlar için %91.4, %98.36 olurken 18.03 ve 23.58 mM'da %100 olarak gerçekleşmiştir.



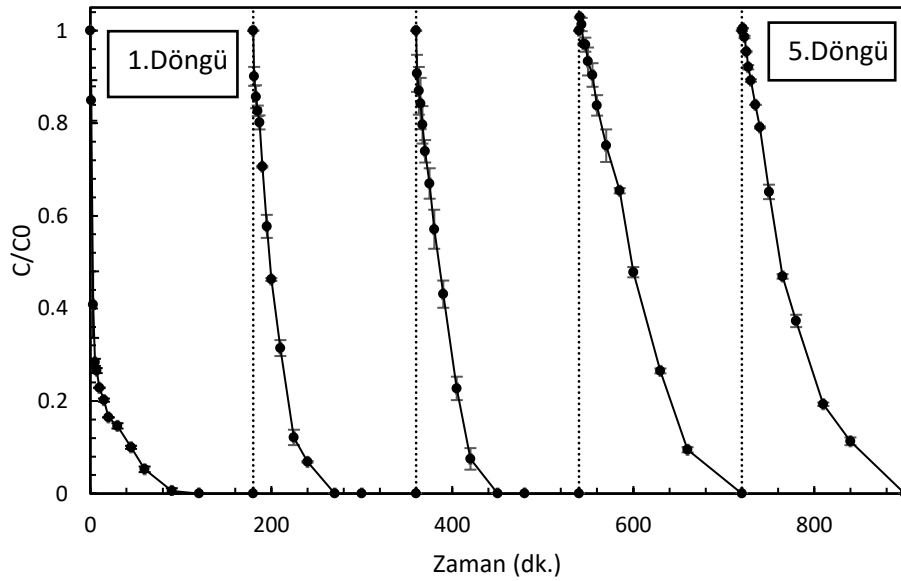
Şekil 4.17. Farklı H₂O₂ konsantrasyonlarında, 1 mM ferrosenli yüzey aktif maddenin metilen mavisi giderimi (10 mg/L MB, ph 2.5, T=37 C)

Çözeltide yer alan metilen mavisi başlangıç konsantrasyonunun değiştirilerek elde edildiği deneylerden ise, çalışılan aralıkta ciddi bir fark elde edilmemiştir. 23.58 mM H₂O₂, 1 mM Fe(C₁₁) kullanılan ve 37°C pH 2.5'te gerçekleştirilen deneylerde 2.5, 5 ve 10 mg/L MB konsantrasyonları için %MB giderimi %100 olarak gerçekleşmiştir. Her bir parametre için 10, 60 ve 180 dakika sonunda ulaşılan %MB giderimi çizelge 4.7'de verilmiştir. Verilere bakıldığında 180. dakikanın sonunda %100 dönüşüme ulaşılan koşullar pH 2.5, T=37°C, 1 mM Fc(C₁₁) ve 23.58 mM H₂O₂ olarak belirlenmiştir. Ayrıca metilen mavisi konsantrasyonunun reaksiyon hızına etkisinin çok az olduğu gözlemlenmiştir. Literatürde, bu tez çalışmasında kullanılan ferrosenli yüzey aktif maddenin fenton reaksiyonuna dair bir çalışma bizim bilgimiz dahilinde bulunmamaktadır. Bu nedenle fenton reaksiyonu performanları ferrosen gibi moleküller üzerinden yapılmıştır. Bu karşılaştırma bir sonraki bölümde kinetik veriler üzerinden gerçekleştirilecektir.

Çizelge 4.7. Farklı reaktif konsantrasyonlarında elde edilen %MB giderimi (pH 2.5, T=37°C)

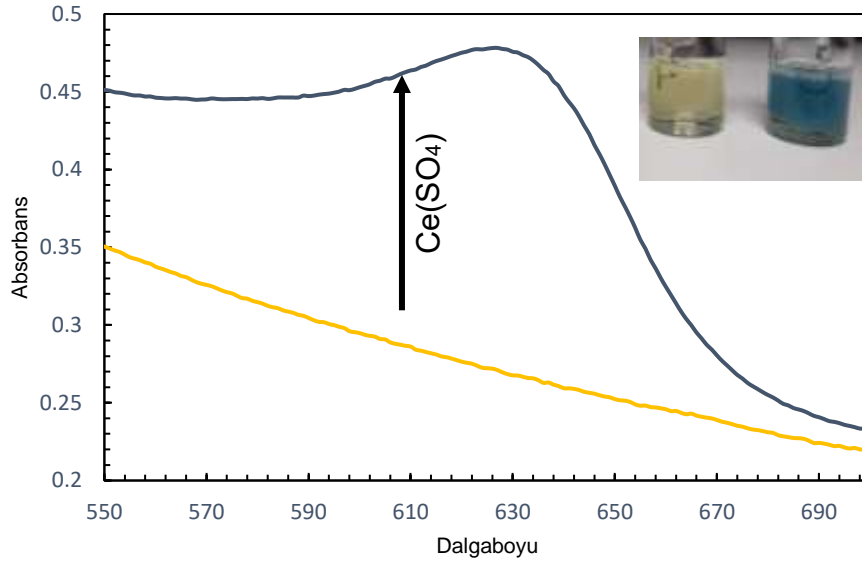
| Deney No. | Fc(C ₁₁), mM | H ₂ O ₂ , mM | MB, mg/L | %MB Giderimi | | |
|-----------|--------------------------|------------------------------------|----------|--------------|--------|---------|
| | | | | 10 dk. | 60 dk. | 180 dk. |
| 1 | 0.5 | 23.58 | 10 | 60.82 | 81.31 | 96.92 |
| 2 | 1 | 23.58 | 10 | 80.93 | 92.74 | 100.00 |
| 3 | 2 | 23.58 | 10 | 76.22 | 96.84 | 98.42 |
| 4 | 4 | 23.58 | 10 | 84.12 | 90.87 | 89.28 |
| 5 | 1 | 6.93 | 10 | 61.63 | 71.79 | 91.4 |
| 6 | 1 | 12.48 | 10 | 66.76 | 81.80 | 98.36 |
| 7 | 1 | 18.03 | 10 | 71.78 | 91.23 | 100.00 |
| 8 | 1 | 23.58 | 5 | 79.15 | 93.83 | 100.00 |
| 9 | 1 | 23.58 | 2.5 | 83.17 | 94.20 | 100.00 |

Ferrosenli yüzey aktif maddenin fenton reaksiyonu performansının incelenmesinde son olarak yüzey aktif maddenin yeniden kullanılabilirliği incelenmiştir (Şekil 4.18). 5. Döngüye kadar tüm reaksiyonların 180. dakika sonunda %100 MB giderimi sağladığı ancak reaksiyonların yavaşladığı görülmüştür. Örneğin %50'lik giderim oranına ilk reaksiyonda 3 dakikada, ikinci döngüde 10 dakikada, 3. döngüde 30 dakikada, 4. Ve 5. döngüde ise yaklaşık 45-60 dakikada ulaşılmıştır.



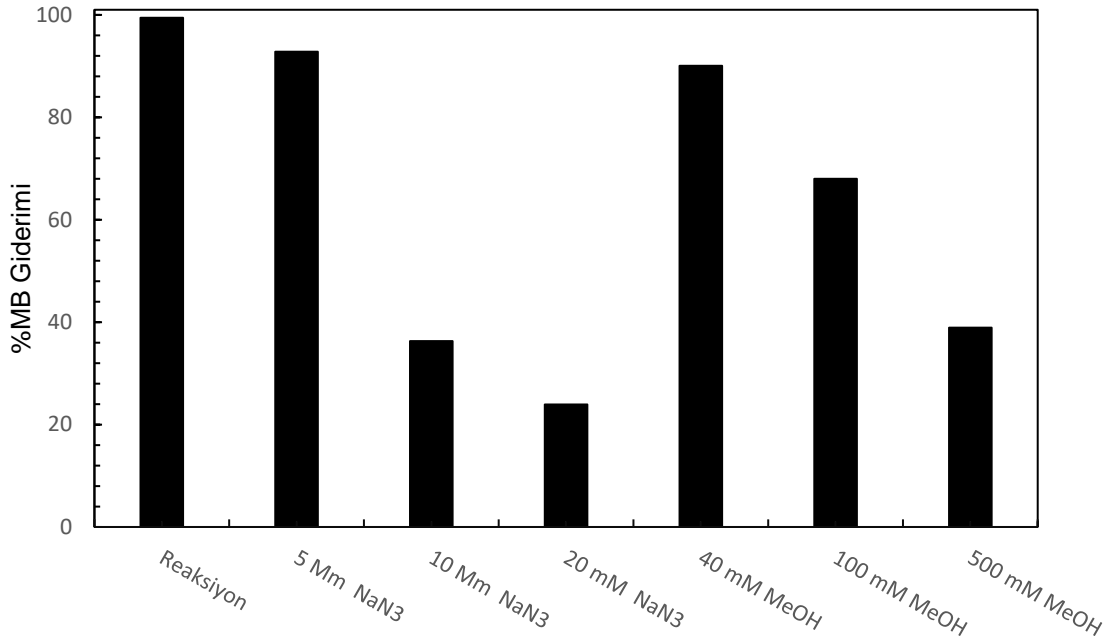
Şekil 4.18. 1 mM Fc(C₁₁)'in döngüsel olarak fenton reaksiyonu performansı (10 mg/L MB, 23.58 mM H₂O₂ pH 2.5, T=37 C)

Bu durum ferrosen-ferrosenyum arasındaki sürekli bir dönüşüme işaret etmektedir. Ferrosen ferrosenyuma yükseltgenirken hidrojen peroksitten açığa çıkardığı hidroksil radikalleri ile fenton reaksiyonlarını gerçekleştirirken ferrosenyum da ferrosene indirgenmektedir (1), (2) [97]. Bu durum deneysel olarak da çözeltilerin farklı renklere (ferrosen sarı, ferrosenyum mavi-yeşil) sahip olmasıyla da kolayca takip edilebilmektedir (şekil 4.19).



Şekil 4.19. Ferrosen-ferrosenyum redoks çiftinin Uv-vis ile takibi

Metilen mavisinin gideriminin, fenton reaksiyonu sonucu açığa çıkan radikaller aracılığıyla gerçekleştiğinin gösterilmesi için bir dizi radikal sönmleyici deneyi gerçekleştirilmiştir. Sodyum azotür (NaN_3) ve metanol ile gerçekleştirilen deneylerin, %MB giderimi üzerindeki etkisi şekil 4.20'de verilmiştir. Sodyum azotür seçici olmayan bir sönmleyici olarak hem hidroksil radikallerine hem de ortamda bulunan ya da açığa çıkan oksijen ve süperoksit gibi etkenlere karşı etkilidir [97]. Metanol ise hidroksil radikallerine karşı bir sönmleyici olarak kullanılmıştır.



Şekil 4.20. NaN₃ ve MeOH'un %MB giderimine etkisi (3 saat reaksiyon süresi, 1 mM Fc(C₁₁), 23.58 mM H₂O₂, pH 2.5, T=37°C)

Sodyum azotürün çok düşük konsantrasyonlarda dahi %MB giderimini oldukça azalttığı görülmüştür. 10 mM sodyum azotür %MB giderimini %60'tan fazla azaltarak %36.32'ye düşürmüştür. Aynı oranda azalmanın sağlanması için ise 500 mM metanol kullanılması gerekmektedir. Bu durum metanolün, azotüre göre çok daha düşük bir oksidatif potansiyele sahip olmasından (0.03 V ve 1.33 V) hem de azotürün birden fazla bileşene karşı sönmleyici görevi görmesinden kaynaklanmaktadır [248,249]. Bu sonuç metilen mavisinin fenton reaksiyonu sonucu oluşan radikaller ile gerçekleştiğini doğrulamaktadır.

4.4.3. Fenton Reaksiyonlarının Kinetik Özelliklerinin İncelenmesi

Fenton reaksiyonlarının performansının daha iyi değerlendirilebilmesi ve literatür ile karşılaştırmasının yapılabilmesi için verilerin kinetik değerlendirilmesi yapılmıştır. Literatürde fenton reaksiyonları için "pseudo first order" ve "pseudo second order" kinetik modellerinin uygulandığı ve reaksiyonların genellikle "pseudo first order" modeli takip ettiği görülmüştür [97, 250-252]. Bu tez çalışması kapsamında elde edilen veriler de bu iki model üzerinden değerlendirilmiştir. İlk olarak farklı ferrosenli yüzey aktif madde konsantrasyonlarında örnekler

incelenmiştir. Kinetik modellere ait denklemler birinci derece için eşitlik 4.4 ve ikinci derece için 4.5'te verilmiştir.

$$\ln \frac{A_0}{A} = k_1 t \quad (\text{Eşitlik 4.4})$$

$$\frac{1}{A} = k_2 t + \frac{1}{A_0} \quad (\text{Eşitlik 4.5})$$

Bu eşitliklerde A herhangi bir t anındaki metilen mavisi konsantrasyonu (mg/ml), t zaman (dakika), A₀ metilen mavisinin başlangıç konsantrasyonu, k₁ (dk⁻¹) ve k₂ (M⁻¹dk⁻¹) ise birinci ve ikinci dereceden hız sabitleridir. Farklı ferrosenli yüzey aktif madde konsantrasyonlarında bu iki model için hız sabitleri ve R² değerleri çizelge 4.8'de verilmiştir. Kinetik verilerin incelenmesinde 4 mM ferrosenli yüzey aktif madde içeren örnek, yüksek Fc(C₁₁) konsantrasyonunun sebep olduğu sorunlar nedeniyle kullanılmamıştır. Kinetik veriler 0.5-2 mM konsantrasyon aralığında incelenmiştir.

Çizelge 4.8. Farklı ferrosenli yüzey aktif madde konsantrasyonlarında birinci ve ikinci derece hız sabitleri

| Fc(C ₁₁) mM | k ₁ (dk ⁻¹) | R ² | k ₂ (M ⁻¹ dk ⁻¹) | R ² |
|-------------------------|------------------------------------|----------------|--|----------------|
| 0.5 | 22.3x10 ⁻³ | 0.952 | 11.0x10 ⁻³ | 0.922 |
| 1 | 36.3x10 ⁻³ | 0.948 | 72.2x10 ⁻³ | 0.830 |
| 2 | 37.3x10 ⁻³ | 0.917 | 48.9x10 ⁻³ | 0.970 |

Reaksiyonun 0.5 ve 1 mM'da birinci derece, 2 mM'da ise ikinci dereceden bir kinetiği takip ettiği gözlemlenmiştir. k değerinin artan Fc(C₁₁) konsantrasyonu ile artması ferrosenli yüzey aktif maddenin reaksiyon üzerindeki katalitik etkisini göstermektedir. Bu değerler, literatürde ferrosen ile gerçekleştirilen sonuçlarla karşılaştırıldığında ferrosenin bir yüzey aktif maddenin baş grubunda olmasının avantaj ve dezavantajları ile de yorum yapılabilmektedir. Wang vd. benzer koşullarda ferrosen ile gerçekleştirdikleri deneylerde k değerini 1 mM için 26.02x10⁻³, 1.5 mM için 34.03x10⁻³ ve 2 mM için 61.73x10⁻³ dk⁻¹ olarak hesaplamışlardır [97]. 1 mM'da bizim çalışmamızda elde ettiğimiz değer literatürde ferrosen için bulunan değer ile neredeyse aynıdır. 2 mM'da gözlemlenen artış bu çalışmada gözlemlenmemiştir ancak daha önce ifade

edildiği gibi 2 mM konsantrasyondaki reaksiyon ikinci dereceden bir reaksiyon olarak gerçekleştiği için bu iki değerin karşılaştırılması mümkün değildir.

1 mM'da k değerlerinin literatürle uyumlu ve bir miktar daha hızlı olması, ferroseni bir yüzey aktif maddenin baş grubu yapmanın performans açısından bir dezavantaj yaratmadığını göstermiştir. Bu durum bu tez çalışmasının ana parçalarından birini oluşturan ve sonraki kısımlarda aktarılacak olan, lipid çift tabakasında ferrosenli yüzey aktif madde içeren bir vezikül sentezlenmesini mümkün kılmaktadır.

1 mM'da bu çalışmadaki reaksiyon literatürde ferrosen için bulunandan daha hızlıdır ancak çalışma şartları arasında 7°C sıcaklık farkı bulunmaktadır. Wang vd. deneylerini 30°C sıcaklıkta gerçekleştirirken bu çalışmadaki deneyler 37°C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir [97]. Bu nedenle bir sonraki aşama olarak k değerlerinin sıcaklıktan etkilenip etkilenmediğinin gözlemlenmesi için farklı sıcaklıklarda gerçekleştirilen deneylerin de kinetik incelemesi gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma ayrıca reaksiyonun aktivasyon enerjisinin hesaplanmasını da mümkün kılmaktadır. 37, 50 ve 60°C'de gerçekleştirilen deneylere ait k değerleri çizelge 4.9'da görülebilmektedir.

Çizelge 4.9. Fenton reaksiyonunun hız sabitinin sıcaklıkla değişimi

| Sıcaklık (°C) | k ₁ (dk ⁻¹) | R ² |
|---------------|------------------------------------|----------------|
| 37 | 36.3x10 ⁻³ | 0.948 |
| 50 | 40.3x10 ⁻³ | 0.902 |
| 60 | 77.2x10 ⁻³ | 0.958 |

Sıcaklık ile k değerlerinin değişimine bakıldığında 50 ile 60°C arasında k değerinin neredeyse iki katına çıktığı görülmüştür. Ancak 37 ile 50 derece arasındaki fark görece çok daha azdır. Bu değerler literatür ile kıyaslandığında ise ferrosenin fenton reaksiyonunda k değerinin sıcaklıktan daha fazla etkilendiği gözlemlenmiştir. Wang vd. çalışmasında k değerinin 60°C sıcaklıkta neredeyse 10 katına çıktığını göstermiştir [97]. Raheb vd. fenton kaynağı olarak manyetik kullandıkları çalışmalarında 30-60°C aralığında k değerinin 48x10⁻³'ten 88x10⁻³'e çıktığını rapor etmişlerdir [251]. Giwa vd. demir (II) sülfatı bir fenton katalizörü olarak kullandıkları çalışmalarında sıcaklığın 25°C'den 45°C'ye çıkması ile birinci

derece k sabitinin yaklaşık iki kat arttığını göstermişlerdir (30.2×10^{-3} ve 67.4×10^{-3}) [253]. Bu nedenle reaksiyon hız sabitinin sıcaklığa bağlılığının kullanılan fenton kaynağı ile radikal şekilde değiştiği sonucuna varılmıştır.

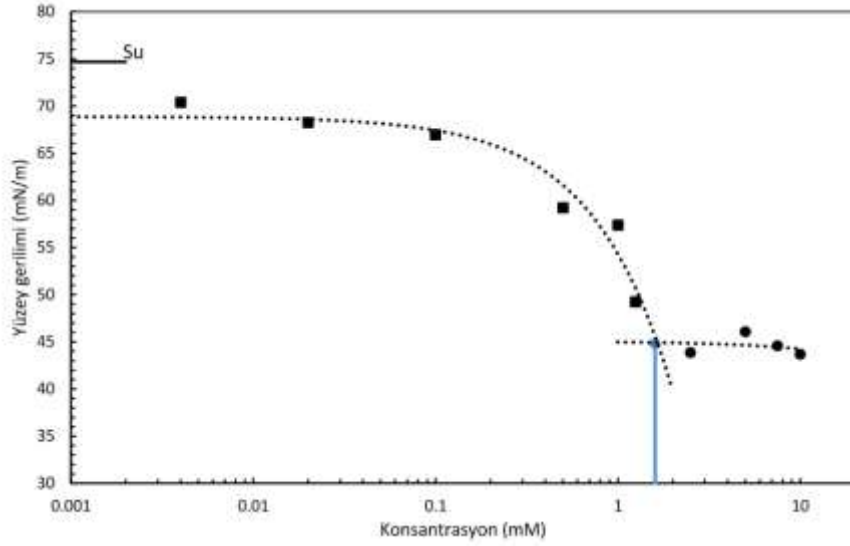
Reaksiyonun aktivasyon enerjisi Arrhenius eşitliği kullanılarak hesaplanmıştır [253] (eşitlik 4.6). 24.55 kJ/mol olarak elde edilen aktivasyon enerjisi daha sonra literatürde yer alan farklı fenton reaksiyonları ile kıyaslanmıştır. Literatürde farklı fenton katalizörleri için (manyetit, demir, ferrosen) 16.89 , 33.60 ve 82.71 kJ/mol gibi pek çok farklı değer bulunmaktadır [97,251,253]. Bu çalışmada elde edilen aktivasyon enerjisinin fenton reaksiyonları için ortalama bir değer olduğu söylenebilmektedir [253].

$$\ln k = -\frac{E_a}{R} \left(\frac{1}{T} \right) + \ln A \quad (\text{Eşitlik 4.6})$$

4.5. Fc(C₁₁)-AOT Veziküllerin Oluşturulması ve Karakterizasyonu

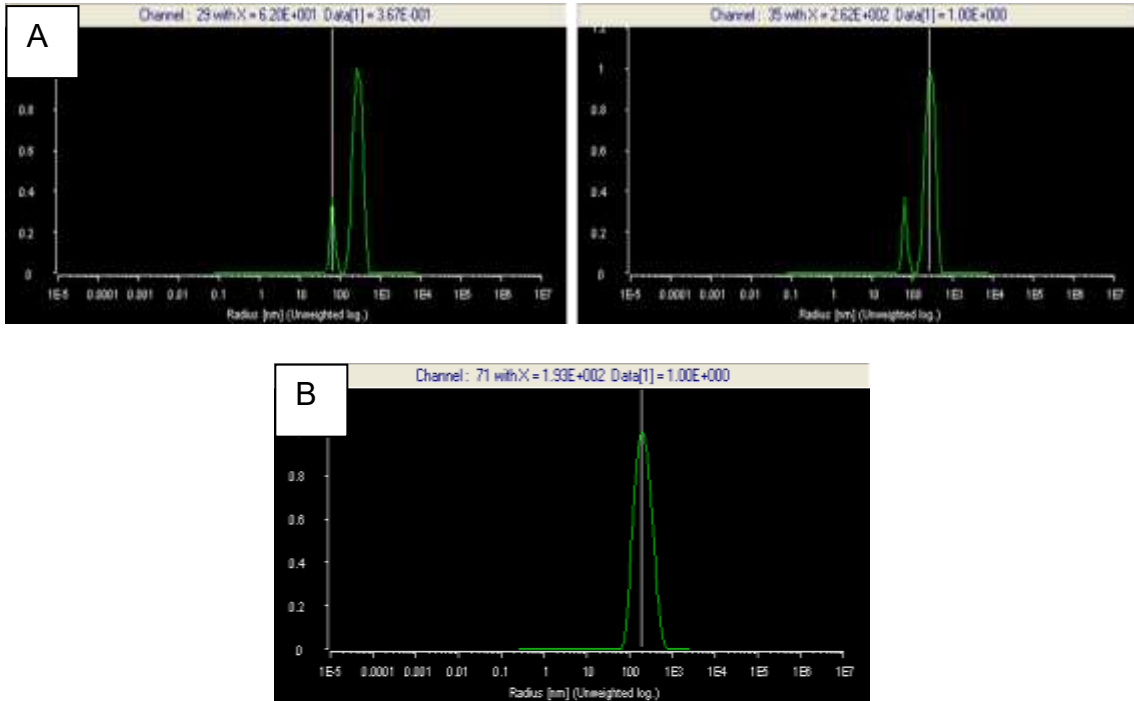
Ferrosenli yüzey aktif madde içeren veziküllerin elde edilmesi için Fc(C₁₁) ile AOT'nin elektrostatik etkileşiminden yararlanılmıştır. İlk olarak elde edilen veziküllerin DLS ve SLS ile boyut ve şekil analizleri gerçekleştirilmiştir.

Sentezlenen veziküller herhangi bir analize tabi tutulmadan önce vezikül yapısına dahil olmayan AOT ya da Fc(C₁₁)'in ayrılması için 24 saat boyunca suya diyaliz edilmiştir. Bu özellikle daha sonra aktarılacak olan veziküllerin fenton reaksiyonu performansının doğru analiz edilebilmesi için önemli bir adımdır. DLS sonucunda diyaliz edilen veziküllerin hidrodinamik yarıçapı 172.66 ± 55.93 nm olarak elde edilmiştir. Ancak, vezikül çözeltilerinde 20-50 nm aralığında yarıçaplara sahip yapılar da gözlemlenmiştir. Bu yapıların ferrosenli yüzey aktif maddenin oluşturduğu misellerden kaynaklandığı düşünülmüştür. Bu nedenle, vezikül çözeltisi ferrosenli yüzey aktif maddenin kritik misel konsantrasyonunun altındaki bir konsantrasyona seyreltilerek tekrar DLS analizi gerçekleştirilmiştir. Kritik misel konsantrasyonu yüzey aktif maddelerin kendiliğinden miseller oluşturmaya başladığı minimum konsantrasyondur ve Fc(C₁₁) için 1.6 mM olarak elde edilmiştir (Şekil 4.21). Seyreltilmiş veziküllerin yarıçapının 199.20 ± 63.01 nm olarak elde edildiği ve daha küçük boyutlarda elde edilen DLS piklerinin ortadan kaybolduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.22)



Şekil 4.21. Fc(C₁₁)'in konsantrasyona karşı yüzey gerilimi grafiği

Seyreltik veziküllerin boyutlarındaki artış küçük yapıların (misellerin) ortadan kalkması sonucu ortalamanın bir miktar yukarı çıkması ile açıklanmıştır. Veziküller misellerden farklı olarak konsantrasyondaki değişiklikler ile parçalanma eğilimi göstermemektedir.



Şekil 4.22. (A) Fc(C₁₁)-AOT Veziküllerinin DLS pikleri ve (B) 5 kat seyreltilmiş Fc(C₁₁)-AOT Veziküllerinin DLS piki.

Veziküllerin DLS verisi elde edildikten sonra, şekil analizinin yapılabilmesi ve elde edilen yarıçapların da desteklenmesi için SLS analizi gerçekleştirilmiştir. SLS, veziküllerin eylemsizlik yarıçapı (R_g , radius of gyration) bilgisinin elde edilmesini sağlamaktadır ve bu sayede şekil hakkında bilgi sahibi olmamıza olanak tanımaktadır. DLS ve SLS verileri çizelge 4.10'da verilmiştir.

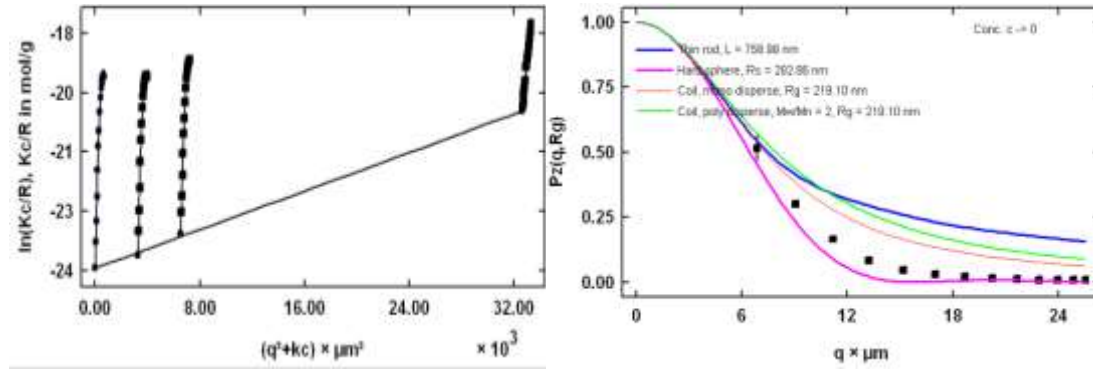
Çizelge 4.10. Veziküllerin DLS ve SLS'den elde edilen PDI, hidrodinamik yarıçap, eylemsizlik yarıçapı ve R_g/R_h değerleri

| Örnek | PDI | Rh (DLS) | Rh (SLS) | R_g | R_g/R_h |
|---|------------|---------------|----------|-------------|-----------|
| Fc(C ₁₁)-AOT Vezikül | 0.13±0.10 | 172.66±55.93 | 218.26 | 101.80±6.21 | 0.59 |
| Fc(C ₁₁)-AOT 5x Seyreltik | 0.17 ±0.09 | 198.20 ±42.01 | 205.98 | 197.09±1.12 | 0.99 |
| Fc(C ₁₁)-AOT 10x Seyreltik | 0.16 ±0.03 | 199.20±63.01 | 203.88 | 219.02±2.23 | 0.91 |

Veziküllerin 90 derece lazer açısında DLS ve SLS'ten elde edilen hidrodinamik yarıçap değerlerinin uyumlu olduğu gözlemlenmiştir. Ancak seyreltilmemiş vezikül çözeltisinin SLS sonucu elde edilen eylemsizlik yarıçapının yukarıda bahsedilen misellerin varlığı nedeniyle oldukça düşük olduğu, dolayısıyla da R_g/R_h değerinin 0.59 olarak elde edildiği gözlemlenmiştir. Ancak örnekler seyreltildiğinde DLS ve SLS'ten elde edilen hidrodinamik yarıçap ile SLS'ten elde edilen eylemsizlik yarıçapı değerlerinin birbirine yakın olduğu, R_g/R_h değerinin ise bire yaklaştığı görülmüştür. R_g/R_h değerinin bire yaklaşmasının ince bir tek lipid çift tabakasına sahip veziküllere işaret ettiği, lipid çift tabakanın kalınlığı arttıkça içi dolu kürelere benzer sonuçlar verdiği bilinmektedir [209].

Bu iddianın desteklenmesi için, SLS verisi üzerinden partikül saçılma fonksiyonu (P_θ) eğrileri, Guiner modelinden elde edilen eylemsizlik yarıçapları kullanılarak hesaplanmıştır. P_θ değerleri partiküllerin şekli ile doğrudan ilgilidir ve bu eğrilerin SLS yazılımı üzerinden P_θ eğrileri bilinen bir dizi yapı ile kıyaslanması sonucunda şekil hakkında fikir sahibi olunabilmektedir. Guiner metodu ile farklı konsantrasyonlardaki veziküllerin ayrı ayrı ve üç farklı konsantrasyonun aynı anda analizi gerçekleştirilmiştir. Üç farklı konsantrasyondaki veriye aynı anda uygulanan Guiner modeli ile eylemsizlik yarıçapı 219.1 nm olarak elde edilmiştir.

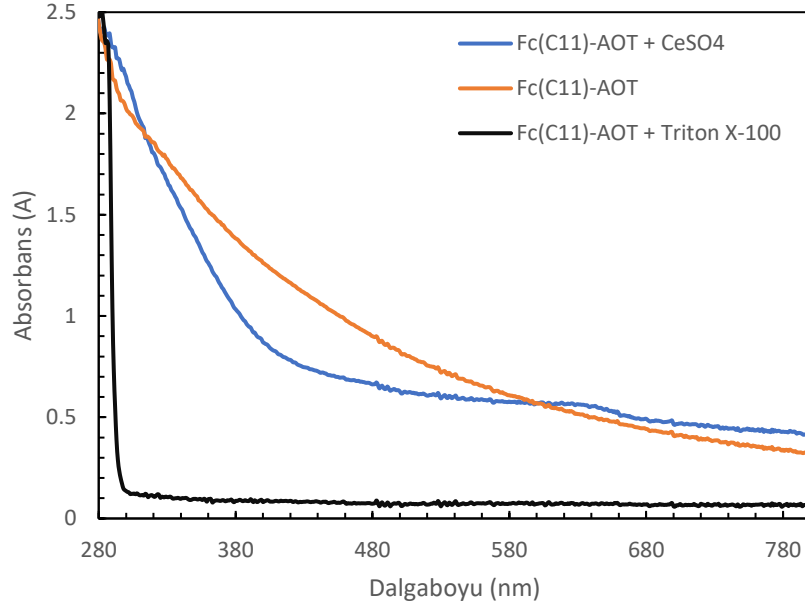
Sentez sonrası, 5 kat seyreltik ve 10 kat seyreltik veziküllere ilişkin Guiner modeli ve saçılım fonksiyonu eğrisi şekil 4.23'te verilmiştir.



Şekil 4.23. Farklı konsantrasyonlarda Fc(C₁₁)-AOT veziküllere Guiner modeli uygulanması ve saçılım fonksiyonu eğrileri

Şekil 4.23'de görüldüğü gibi veziküller yaklaşık olarak içi dolu kürelere ait eğriyi (mor) takip etmektedir. Sapmanın, vezikülün lipit çift tabakasının kalınlığı ile ilgili olduğu düşünülmüştür. Kullanılan yüzey aktif maddelerin zincir uzunluğundan yola çıkılarak yapılan hesaplama ile lipit çift tabakasının teorik olarak 3.5 nm olduğu ve vezikül boyutlarının yaklaşık olarak %1'ine karşılık geldiği bulunmuştur. Bu durumda veziküllerin hem Rg/Rh hem de saçılım fonksiyonlarının içi dolu kürelerden farklılık göstermesi olağandır. Ancak analiz sonucunda vezikül çözeltisinin Rg/Rh>0.9 değeri ve Guiner ile elde edilen saçılım faktörü eğrilerinden yola çıkarak küresel yapılardan oluştuğu ve yapıların seyreltme ile parçalanmaması da bu kürelerin misellerden değil veziküllerden oluştuğunu göstermiştir.

Elde edilen veziküllerin fenton reaksiyonları performansı incelenmeden önce redoks duyarlılığı ve parçalanma koşulları da incelenmiştir. Veziküllerin Triton X-100 gibi yüzey aktif maddeler ile parçalanabildiği bilinmektedir. Ferrosen gibi demirli bileşiklerin ise seryum sülfat (Ce(SO₄)₂) ile redoks reaksiyonu verdiği literatürde rapor edilmiştir [255]. Ferrosen-ferrosenyum arasındaki renk geçişi (sarıdan mavi-yeşile) çok belirgin olduğu için bu reaksiyonun Uv-vis ile takibi mümkündür.

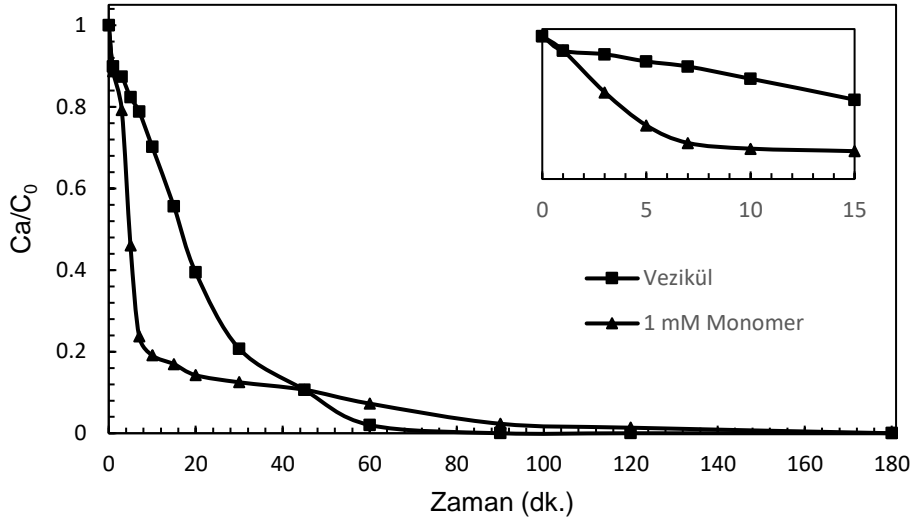


Şekil 4.24. Fc(C₁₁)-AOT veziküllerin Ce(SO₄)₂ ve Triton X-100 eklenmesi ile elde edilen Uv-vis spektrumları

Şekil 4.24'te görülebildiği gibi veziküllere seryum sülfat eklenmesi 640 nm dalga boyunda bir pike neden olmuştur. Bu durum ferrosenin, ferrosenyuma yükseltgenmesi ile ortaya çıkmaktadır. Triton X-100 ise vezikül çözeltisinin absorbansını neredeyse tamamen oradan kaldırmıştır. Bu durum vezikül çözeltisinin sahip olduğu bulanıklığın, veziküllerin parçalanması ile ortadan kalkması ile açıklanmaktadır. Bu olay ayrıca DLS kullanılarak da incelenmiştir. Vezikül boyutlarının ortama ferrosenli yüzey aktif madde ile 1:1 mol oranında Triton X-100 eklenmesiyle 172.66 ±55.93 nm'den 3.00±1.09 nm ve 28.43 ±6.88 nm'lik iki pik verecek şekilde parçalandığı gözlemlenmiştir.

4.5.1. Fc(C₁₁)-AOT Veziküllerinin Fenton Reaksiyonu Performansının İncelenmesi

Ferrosenli yüzey aktif madde içeren veziküllerin fenton reaksiyonu performansının incelenmesi, yüzey aktif maddenin vezikülün çift tabakasına yerleştiğinde bir performans kaybı yaşayıp yaşamayacağını tespiti için önemlidir. Bu nedenle veziküller, daha önceki kısımlarda belirtildiği şekilde elde edilen ideal reaksiyon koşullarında (1 mM Fc(C₁₁), 23.58 mM H₂O₂, pH 2.5 ve T=37°C) fenton reaksiyonunu gerçekleştirmek üzere kullanılmıştır. Veziküllerin metilen mavisi giderimi performansı şekil 4.25'te 1 mM monomer halde yüzey aktif madde ile kıyaslanmıştır.



Şekil 4.25. Veziküllerin fenton reaksiyonu performansının 1 mM Fc(C₁₁) monomerleri ile kıyaslanması (23.58 mM H₂O₂, pH 2.5 ve T=37°C)

Görüldüğü gibi veziküllerin özellikle reaksiyonun ilk 30 dakikasında monomerlere göre çok daha yavaş olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum kinetik modelin veziküllere de uygulanması ile desteklenmiştir. k değeri 1mM monomer halde Fc(C₁₁) için ilk 30 dakikada $62.9 \times 10^{-3} \text{ dk}^{-1}$ olarak hesaplanırken veziküller için bu değer aynı zaman periyodunda $50.7 \times 10^{-3} \text{ dk}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Ancak veziküllerin 45. dakikada %MB gideriminde monomer haldeki Fc(C₁₁)'i yakaladığı görülmektedir. Veziküllerin reaksiyonu daha yavaş gerçekleştirmesinin sebebi olarak ferrosenli yüzey aktif maddenin bir kısmının çift tabakanın içerisinde yer alması olarak gösterilmiştir. Ancak reaksiyon sonucunda ulaşılan %MB giderimi, monomerler ile aynıdır. Bu durumda veziküllerin davranışı 0.5 mM monomer ile kıyaslanmıştır. 0.5 mM Fc(C₁₁) veziküllerinin k değeri ilk 30 dakikalık periyotta $38.5 \times 10^{-3} \text{ dk}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Ayrıca 0.5 mM monomerlerin reaksiyonun ilk periyodunda daha yavaş olsa da belirli bir süre sonrasında %100'e yakın bir metilen mavisi giderimi sağladığı bilinmektedir. Bu durumda veziküllerin davranışını da açıklamaktadır.

4.6. Fc(C₁₁)-AOT Veziküllerinin Rhb@ZIF-8/PDA ile Kaplanması

Tez çalışmasının son kısmında daha önceki kısımlarda bahsedilen ferrosenli yüzey aktif madde içeren vezikül (Fc(C₁₁)-AOT ve rodamin-b yüklü, PDA kaplı ZIF-8 (Rh@ZIF-8/PDA)'nın, elektrostatik etkileşimlerle bir araya getirilmesi

sağlanmıştır. Bu nedenle öncelikle Rhb@ZIF-8/PDA ve Fc(C₁₁)-AOT'nin zeta potansiyeli ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Rhb@ZIF-8/PDA partikülleri PDA kaplamasının etkisi ile -19.86 ± 0.56 mV zeta potansiyeli sahiptir. Veziküller ise 1:1.5 AOT:Fc(C₁₁) oranında sentezlendiklerinde zeta potansiyellerinin ferrosen nedeniyle 28.76 ± 0.94 mV olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle, teorik olarak bu iki yapının elektrostatik etkileşimlerle bir araya gelmesi beklenmektedir.

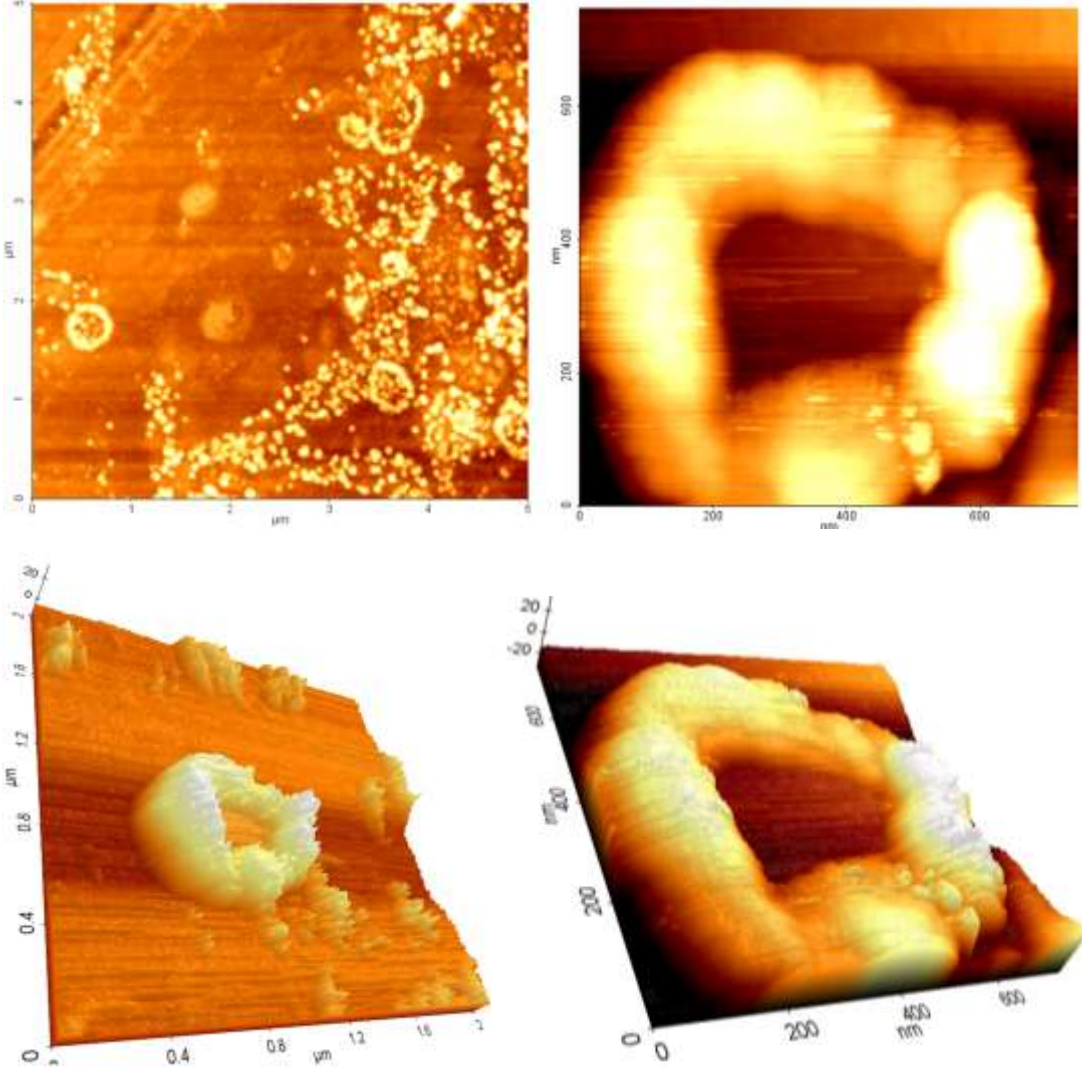
Kaplama işlemleri, veziküllerin sulu ortamda yer alması nedeniyle suda gerçekleştirilmiştir. ZIF-8'in sudaki stabilitesi bir problem yaratabileceği için kaplama süresi olabildiğince düşük tutulmaya çalışılmıştır. Kaplama için gerekli ZIF-8 miktarı hesaplandıktan sonra ZIF-8 partiküllerinin vezikül çözeltisine eklenmesi ve tamamen karışması sağlandıktan sonra çözeltiler bir süre bekletilmiştir. Daha sonra, tutunmayan ZIF-8 partiküllerinin ayrılması için çözeltiler santrifüjlenmiştir. Zeta ölçümleri santrifüjden hemen sonra gerçekleştirilmiş ve bu sayede yapının stabilitesinin korunması amaçlanmıştır. Kaplama sonrasında elde edilen zeta potansiyelleri çizelge 4.10'da verilmiştir. Görüldüğü gibi 30 dakikalık bir kaplama süresi ile veziküllerin sahip olduğu $+28.7$ mV'lık zeta potansiyeli Rhb@ZIF-8/PDA (-19.8 mV) kaplaması nedeniyle -15.9 mV'a düşmüştür. Kaplama süresinin ya da kaplamada kullanılan Rhb@ZIF-8/PDA miktarının artırılmasıyla ise zeta potansiyelinin -19.8 değerine daha çok yaklaştığı gözlemlenmiştir. Ancak gerek stabilite nedeniyle sürenin çok uzatılmak istenmemesi hem de kaplamada kullanılan Rhb@ZIF-8/PDA miktarının minimumda tutulmasının sağlanması için ideal kaplama süresi 1 saat, kullanılacak Vezikül:ZIF-8 oranı ise 1:1 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.11. Fc(C₁₁)-AOT Veziküllerin Farklı Sürelerde ve Oranlarda Rhb@ZIF-8/PDA ile kaplanması sonucu elde edilen zeta potansiyelleri

| Deney No. | Kaplama Oranı (Kat) | Kaplama Süresi (saat) | Zeta Potansiyeli (mV) |
|-----------|---------------------|-----------------------|-----------------------|
| 1 | 1 | 0.5 | -15.9 ± 0.8 |
| 2 | 1 | 1 | -17.8 ± 1.1 |
| 3 | 1 | 3 | -19.3 ± 0.5 |
| 4 | 1.5 | 1 | -19.7 ± 1.2 |

Elde edilen yapıların boyut analizleri ise AFM ve DLS kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Veziküllerin boyutlarının DLS yöntemine göre yaklaşık 400 nm olduğu bir önceki bölümde aktarılmıştır. Rhb@ZIF-8/PDA ile kaplanmış veziküllerin ise boyutları 626.4 ± 259.77 nm olarak belirlenmiştir. Ayrıca analizde 120-200 nm boyutlara sahip daha küçük yapılar da göze çarpmaktadır. Bu yapıların kaplanmamış serbest Rhb@ZIF-8/PDA nanopartiküllerine ait olduğu düşünülmektedir.

AFM analizinde ise, örneğin kurutulması esnasında çöken sulu vezikül çekirdeği ve etrafında bulunan ve kalınlığı 90 ile 200 nm aralığında değişen bir katman göze çarpmaktadır. Bu katmanın Rhb@ZIF-8/PDA partiküllerine ait olduğu ve tutundukları veziküllerin kurumasından sonra küresel bir formda kaldıkları düşünülmektedir. Merkezde yer alan ve sulu çekirdeğin kuruması ile oluşan alanın ise 300-400 nm boyutlarında olduğu gözlemlenmiştir. Böylelikle Rhb@ZIF-8/PDA kaplı Fc(C₁₁)-AOT veziküllerinin boyutlarının 541.75 ± 227.91 nm olduğu tespit edilmiştir. Bu boyutlar, daha önceki kısımlarda boyutlarının yaklaşık 100 nm olduğu rapor edilen Rhb@ZIF-8/PDA'nın bir çap doğrusu boyunca iki kez bulunması ve çekirdekte 400 nm'lik bir vezikül ile elde edilebilecek değerlerdir. Bu nedenle veziküllerin çoğunlukla tek bir katman halinde Rhb@ZIF-8/PDA ile kaplandığı tespit edilmiştir.



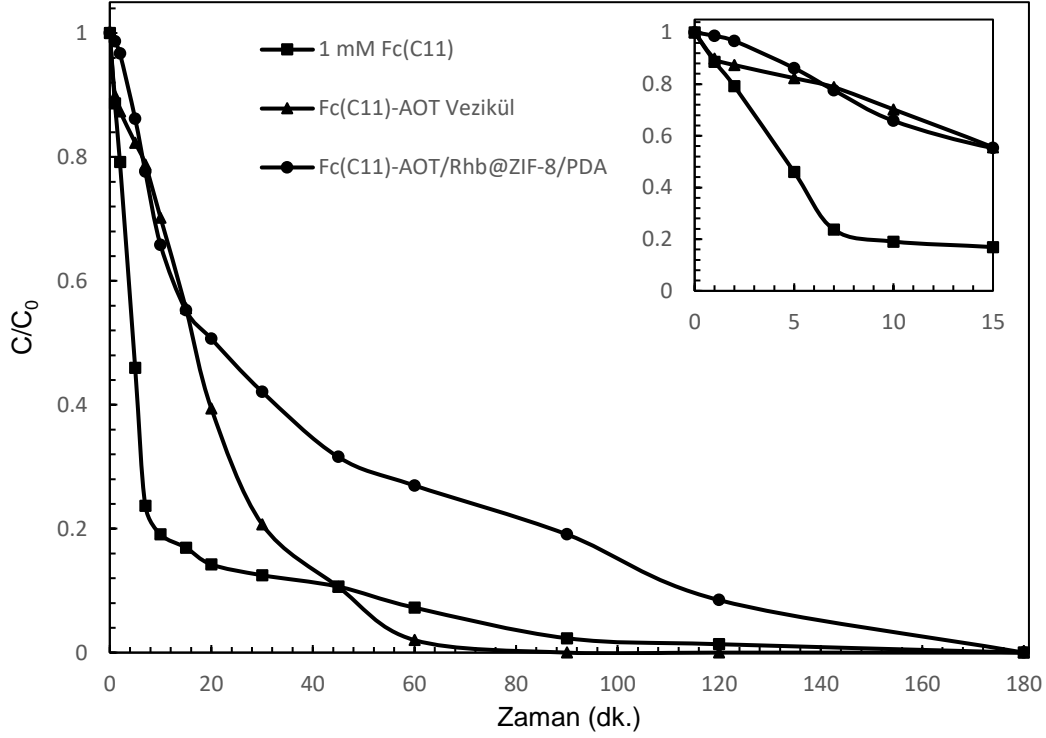
Şekil 4.26. Rhb@ZIF-8@PDA kaplı Fc(C₁₁)-AOT veziküllerin 2 boyutlu ve 3 boyutlu topografik AFM görüntüleri

4.6.1. Fc(C₁₁)-AOT/Rhb@ZIF-8/PDA Sinerjistik Etkili İlaç Taşıyıcı Sisteminin Fenton Reaksiyonu Performansının, Fototermal Etkisinin ve Rodamin-b Salımının İncelenmesi

Çalışmanın son kısmında, elde edilen ilaç taşıyıcı sistemin rodamin-b salımı, fototermal etksi ve fenton reaksiyonu performansı incelenmiştir. Ayrı ayrı kullanılmaları durumunda elde edilen performans ile kıyaslanarak sistemin sinerjistik etkisi ortaya konmaya çalışılmıştır. Deneyleerde kullanılan tüm Fc(C₁₁)-AOT/Rhb@ZIF-8/PDA yapıları taze olarak hazırlanmış ve kaplamadan hemen sonra kullanılmıştır.

İlk olarak partiküllerin fenton reaksiyonu performansı, reaksiyon ortamında 1 mM ferrosenli yüzey aktif madde içerecek miktarda vezikülün Rhb@ZIF-8/PDA ile

kaplanmasından sonra %MB gideriminin analizi ile ölçülmüştür. Bu ilaç taşıyıcı sistemin fenton reaksiyonu performansı aynı konsantrasyonda monomer haldeki yüzey aktif madde ve kaplanmamış veziküller ile kıyaslanmıştır (Şekil 4.27)



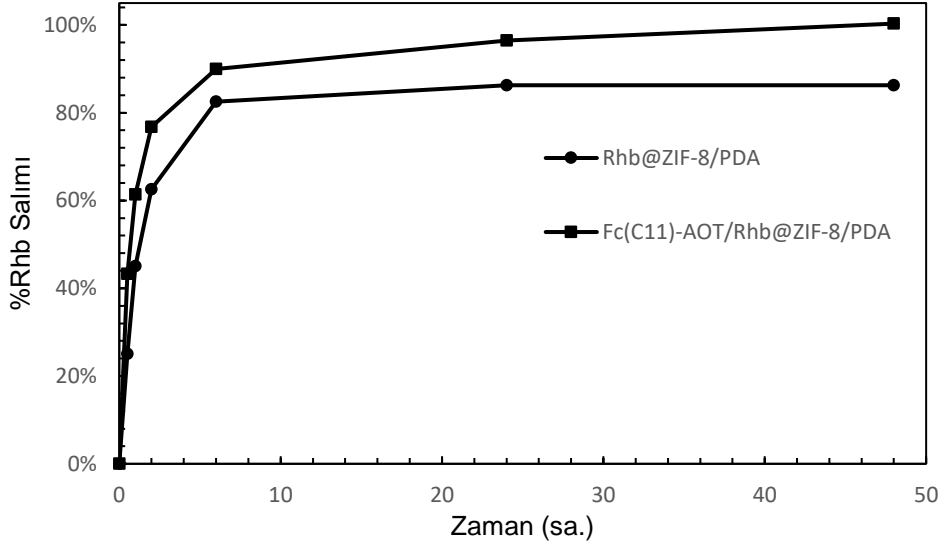
Şekil 4.27. 1 mM Fc(C₁₁), Fc(C₁₁)-AOT vezikül ve Fc(C₁₁)-AOT/Rhb@ZIF-8/PDA ilaç taşıyıcı sistemin %MB giderimi performansı (23.58 mM H₂O₂, pH 2.5 ve T=37°C)

Şekilde görüldüğü gibi ZIF-8 ile kaplanmış veziküllerin %MB giderimi performansı 15. dakikaya kadar kaplanmamış veziküller ile neredeyse aynı seyretmiştir. ZIF-8'in bu pH'larda stabilitesi oldukça zayıf olduğu için doğrudan parçalandığı ve yüzeyde fenton reaksiyonuna engel olacak herhangi bir katman kalmadığı düşünülmüştür. Reaksiyonun daha sonra daha yavaş gerçekleşiyor olmasının nedeninin ise birkaç nedene bağlı olabileceği düşünülmüştür. Hidroksil radikallerinin rodamin-b molekülünün merkez karbonuna saldırarak molekülü parçaladığı bilinmektedir [255]. Bu da hidroksil radikallerinin bir kısmının metilen mavisi ile birlikte rodamin-b moleküllerinin parçalanması için harcadığı anlamına gelmektedir. Ayrıca ZIF-8'in parçalanmasında sonra ortamda bulunan PDA, çinko ve imidazol kalıntılarının da etkili olabileceği düşünülmektedir. Kinetik inceleme

sonucunda elde edilen veriler monomer haldeki yüzey aktif madde ve kaplanmamış veziküllerle kıyaslandığında 30 dakikalık periyotta hız sabiti değerinin azaldığı gözlemlenmiştir. Hız sabiti k değeri monomer haldeki $Fc(C_{11})$ için $62.9 \times 10^{-3} \text{ dk}^{-1}$, 1 mM ferrosenli yüzey aktif madde içeren veziküller için $50.7 \times 10^{-3} \text{ dk}^{-1}$ olarak elde edilirken ZIF-8 kaplı veziküller için ise bu değer $30.9 \times 10^{-3} \text{ dk}^{-1}$ olarak elde edilmiştir.

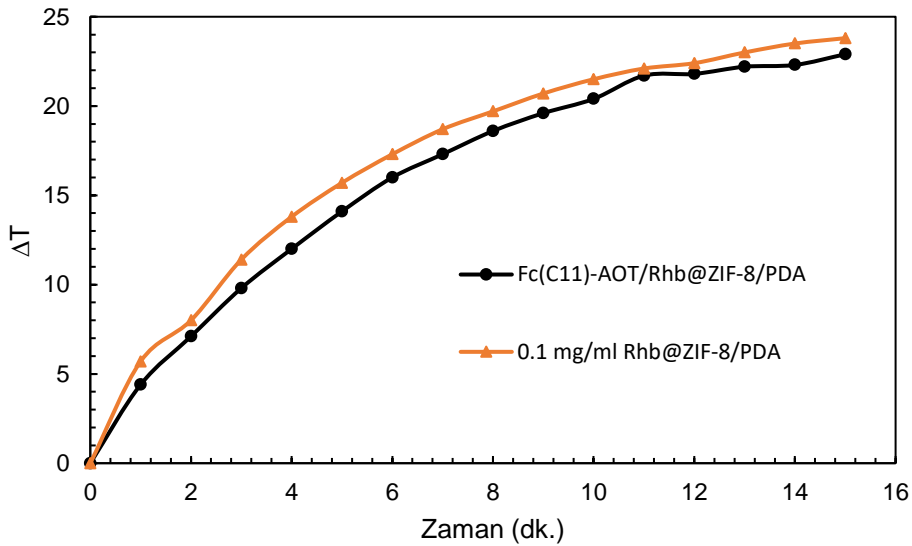
Rodamin-b salımının bu pH'taki davranışı çok anidir ve hızla tamamlanmaktadır. İlaç taşıyıcı sistemin rodamin-b salımında, yalnızca ZIF-8 kristallerinin kullanıldığı durumdan bir farklılık olup olmayacağına gözlemlenmesi için ayrıca pH 5'te salım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.28'de görülebileceği gibi kaplama işleminden sonra özellikle ilk 1 saatlik salım ciddi şekilde azalmıştır. Kaplama işlemine tabi tutulmamış ZIF-8 1 saatlik periyotta rodamin-b'nin %61'lik bir kısmını salarken veziküllerin üzerine kaplanmış ZIF-8 salımın yalnızca %45'lik bir kısmını gerçekleştirmiştir. Ayrıca 48 saat sonunda veziküller üzerindeki ZIF-8 kristalleri %86'lık bir salıma ulaşıp daha sonra herhangi bir absorbans okunamazken veziküllere kaplanmamış ZIF-8 ile %100'lük bir salım sağlanmıştır. Bu durumda iki ihtimal üzerinde durulmaktadır. Bunlardan ilki vezikül kaplaması esnasında ortama eklenen ZIF-8 kristallerinden kayıp olduğudur. Kaplama işlemi esnasında ZIF-8 kristallerinden rodamin-b salımı gerçekleşmesi ya da kaplanmamış bir miktar ZIF-8'in santrifüj esnasında kaybı ile bu durumun gerçekleşebileceği düşünülmüştür.

Salımın ilk periyotta daha yavaş gerçekleşmesinin nedenlerinden bir diğerinin ise vezikül tarafından, $Rhb@ZIF-8/PDA$ partiküllerine temas eden asidik salım ortamının bir miktar engellenmesi olabileceği üzerinde durulmuştur. $Rhb@ZIF-8/PDA$ partikül yüzeyinin bir kısmının veziküle tutunduğu düşünüldüğüne ZIF-8'in parçalanmasının azalabileceği sonucuna varılmıştır.



Şekil 4.28. Rhb@ZIF-8/PDA ve Fc(C₁₁)-AOT/Rhb@ZIF-8/PDA'nın zamana karşı rodamin-b salım grafiği

Son olarak sistemin fototermal etkinliği incelenmiştir. Şekil 4.29'da görülebileceği gibi kaplama sonrası sistemin fototermal etkinliğinde ciddi bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Rhb@ZIF-8/PDA ve Fc(C₁₁)-AOT/Rhb@ZIF-8/PDA'nın 15 dakikalık periyotta yarattıkları sıcaklık artışları sırasıyla 23.8 ve 22.9°C'dir. Bu durumda kaplama esnasında çok az ZIF-8 kaybı olduğu söylenebilmektedir.



Şekil 4.29. Rhb@ZIF-8/PDA ve Fc(C₁₁)-AOT/Rhb@ZIF-8/PDA'nın NIR ışıması altında zamana karşı sıcaklık artışı grafiği (808 nm, 1.5 W/cm²)

Çalışma sonucunda ferrosenli yüzey aktif madde içeren, fenton reaksiyonlarını başarı ile gerçekleştirerek özellikle tümör bölgelerindeki zararlı hücrelerin ölümünde rol üstlenebilecek hidroksil radikallerini açığa çıkaran, içerdiği sulu kompartman sayesinde potansiyel bir ilaç taşıyıcı rezervuara sahip bir vezikül elde edilmiştir. Bu vezikül, model molekül rodamin-b yüklemesini %37 verimle gerçekleştirebilen ve pH'a duyarlı salım mekanizması sayesinde kemoterapi için kullanılabilir, PDA kaplaması sayesinde ise fototermal terapi için ihtiyaç duyulan sıcaklık artışına yol açabilen bir ZIF-8 katmanı ile elektrostatik olarak kaplanmıştır. Böylelikle kemoterapi ajanlarını taşıyarak kemoterapiyi, ferrosenli yüzey aktif madde ile kemodinamik terapiyi ve son olarak da PDA ile fototermal terapiyi gerçekleştirebilen, ayrıca bu tez çalışması kapsamında kullanılmamış ancak potansiyel rezervuarlara sahip bir Fc(C₁₁)-AOT/Rhb@ZIF-8/PDA ilaç taşıyıcı sistemi oluşturulmuştur.

5. SONUÇLAR

İlaç taşıyım sistemlerinde en etkili sonucun elde edilebilmesi için birden fazla terapi yönteminin tek bir yapı üzerinden gerçekleştirilebilmesi hedeflerden biridir. Özellikle tümör tedavisinde kullanılan sistemlerin birkaç terapi yöntemini (kemodinamik, fotodinamik, fototermal, kemoterapi vb.) bir arada gerçekleştirmesi beklenmektedir. Bu tez çalışması kapsamında ise bu hedef doğrultusunda hareket edilerek fototermal, kemodinamik ve kemoterapi etkisine sahip, çok amaçlı bir ilaç taşıyıcı sistem geliştirilmiştir. Bu çalışmalar temelde üç ana basamağa ayrılabilir. Bunlar; potansiyel bir kemoterapi uygulaması ve fototermal terapi için için model molekül rodamin-b yüklü, polidopamin kaplı ZIF-8 nanopartiküllerinin oluşturulması, kemodinamik terapi ajanı ferrosenli yüzey aktif madde içeren veziküllerin sentezlenmesi ve bu iki yapının elektrostatik etkileşimlerle bir araya getirilmesinden oluşmaktadır. Çalışmada fototermal, kemodinamik ve kemoterapötik sinerjistik etkiye sahip ilaç taşıyıcı sistem başarı ile oluşturulmuştur. Çalışma literatürden, ferrosenli yüzey aktif maddeye sahip bir vezikülün fototermal etkili ve ilaç taşıyıcı ZIF-8 ile elektrostatik etkileştirilmesi ile ayrılmaktadır. İçerdiği vezikülün boş rezervuarı ve elektrostatik etkileşim ile ZIF-8 ile vezikülün arasına teorik olarak yerleştirilebilecek diğer katmanlar ile çalışma ayrıca gelişmeye açık ve yüksek potansiyelli olarak düşünülmüştür. Çalışmada elde edilen detaylı sonuçlar şu şekildedir;

- Tez çalışması kapsamında ilk olarak model molekül rodamin-b yüklü ZIF-8 kristalleri elde edilmiştir. “Tek kap” sentez metodu kullanılarak gerçekleştirilen sentezde reaksiyon süresi, model molekül miktarı, Zn:HmIM oranı parametrik olarak incelenmiştir.
- Yapılan denemeler sonucunda sentezin suda gerçekleştirilmesi, Zn:HmIM oranının 1:20, rodamin-b miktarının 4 mg, reaksiyon süresinin 15 dakika olmasına karar verilmiştir.
- Sentezlenen ZIF-8 kristallerinin boyut bilgisi AFM, TEM ve DLS kullanılarak elde edilmiştir. ZIF-8 kristallerinin boyutları TEM ile 183.22 nm ve DLS ile 226.32 nm olduğu tespit edilmiştir.
- ZIF-8 kristallerinin ilaç tutma yeteneklerinin incelenmesi için model molekül olarak rodamin-b kullanılmıştır. ZIF-8 model molekül rodamin-b’yi

%36'lık bir enkapsülasyon verimliliği ile tutmayı başarmıştır. Rodamin-b yüklemesinin ZIF-8 boyutlarını TEM'e göre 100 nm'ye kadar artırdığı gözlemlenmiştir. Ancak XRD ve FTIR analizleri ile rodamin-b'nin ZIF-8'in kristal yapısına herhangi bir etkisi olmadığı gösterilmiştir.

- XRD ile ZIF-8 kristallerinin (110), (200), (211), (220), (310) ve (222) düzlemlerine ait piklerin $2\Theta = 7.26, 10.32, 12.66, 14.64, 16.38$ ve 17.97 konumlarında güçlü ve keskin pikler olarak elde edildiği görülmüştür. Rodamin-b yüklemesinin pik konumlarını değiştirmedeği, herhangi bir pikin kaybolmasına neden olmadığı ve piklerin birbirlerine oranlarının korunduğu tespit edilmiştir.
- FTIR analizi sonucunda ise rodamin-b yüklemesinin spektrum üzerinde bir etkisinin olmadığı, rodamin-b'ye ait yeni bir pik elde edilmediği görülmüştür. Bu durum rodamin-b'nin ZIF-8'in içerisine başarılı bir şekilde yüklendiğini, ancak ZIF-8'in rodamin ile kimyasal bir bağ yapmadığını göstermiştir.
- pH'a duyarlı salım çalışmalarında ZIF-8'in rodamin-b'yi pH 5'te 48 saat sürede %100 oranında saldırdığı, pH 7.4'te ise %38 civarında kaldığı gözlemlenmiştir. Nötr koşullardaki salımın ZIF-8'in sulu ortamlarda, özellikle fosfat tampon çözeltisindeki stabilitesi nedeniyle gerçekleştiği kontrol deneyleri ile ortaya konmuştur.
- ZIF-8'e fototermal özellikler kazandırılması için dopamin hidroklorürün rodamin yüklü ZIF-8 kristalleri üzerinde polimerleşmesi sağlanmıştır. PDA kaplaması için metanol ve tris tampon çözeltileri kullanılmıştır.
- PDA kaplaması için bir dizi deneme yapıldıktan sonra deneyin metanolde gerçekleştirilemediği, kaplama için uygun ortamın tris tampon çözeltisi olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda ZIF-8 stabilitesi de göz önünde bulundurularak kaplama için 1:1 ZIF-8:Dopamin kullanılmasına ve kaplama süresinin 1 saat olarak tutulmasına karar verilmiştir.
- Kaplamanın gerçekleştiğine dair en önemli gösterge olarak zeta potansiyeli kullanılmıştır. Zeta potansiyeli ölçümleri ile rodamin yüklü ZIF-8'in zeta potansiyeli $+10.26 \pm 0.56$ mV olarak ölçülürken PDA

kaplamasından sonra zeta potansiyelinin $-19.86 \pm \text{mV}$ olduğu görülmüştür.

- PDA kaplamasının partikül boyutlarını DLS'e göre 30, AFM'ye göre 50 ve TEM'e göre 35 nm'ye kadar artırdığı görülmüştür. Rodamin-b yüklü ZIF-8 kristallerinin boyutları $273.00 \pm 38.11 \text{ nm}$ olarak elde edilirken PDA kaplanması ile boyutlar $307.33 \pm 78.00 \text{ nm}$ olarak elde edilmiştir.
- PDA katmanının fototermal özelliklerinin incelenmesi için farklı konsantrasyonlarda PDA kaplı ZIF-8 partikülü 1.5 W/cm^2 güçte 808 nm lazer ışığına maruz bırakılmıştır. PDA kaplı ZIF-8 partiküllerinin 0.25 mg/ml konsantrasyonda 47.4°C , 0.1 mg/ml konsantrasyonda ise 23.7°C artış sağladığı, bir termal kamera yardımı ile tespit edilmiştir.
- Sıcaklık artışının PDA kaplaması sayesinde elde edildiğinin gösterilmesi için ZIF-8 ve Rhb@ZIF-8 ile de deneyler yapılmıştır. Ancak bu örneklerin $0.7\text{-}0.9^\circ\text{C}$ 'lik bir artış sağladığı gösterilmiştir. Bu değer saf suyun bu koşullar altında gösterdiği sıcaklık artışı ile aynıdır. Dolayısıyla sıcaklık artışının yalnızca PDA ile gerçekleştiği gösterilmiştir.
- XRD ve FTIR sonuçları ise PDA tarafından ZIF-8 yapısının değiştirilmediği gösterilmiştir. Ancak XRD sonucunda PDA kaplı ZIF-8'in ZIF-8'e göre relatif kristalinitesinin $\%72.9$ 'a düştüğü hesaplanmıştır. Bu durumun PDA'nın çinko ile etkileşiminden gerçekleştiği düşünülmektedir.
- Rodamin-b yüklü, PDA kaplı ZIF-8 kristalleri elde edildikten sonra çalışmanın bir sonraki aşaması olan veziküllerin sentezine geçilmiştir. Veziküllerin, fenton reaksiyonlarını gerçekleştirme amacı bulunan ferrosenli bir yüzey aktif madde içerecek şekilde oluşturulması için katyonik N,N-dimetilferrosenilmetilundesil amonyum bromür ($\text{Fc}(\text{C}_{11})$) ve anyonik sodyum dioktilsülfosüksinat (DOSS veya AOT) kullanılmıştır.
- Elde edilen veziküllerin boyut ve şekil analizleri DLS ve SLS ile gerçekleştirilmiştir. Vezikül boyutlarının yaklaşık 400 nm olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca eylemsizlik yarıçapı 219.02 ± 2.23 ve hidrodinamik yarıçapı 203.88 nm olarak elde edilmiştir.
- SLS verisinin Guiner modeli ile analizi sonucunda veziküllerin şeklinin küresel olduğu sonucuna varılmıştır. R_g/R_h oranının $0.91\text{-}0.99$ elde edilmesi ile de bu sonuç desteklenmiştir.

- Ferrosenli yüzey aktif maddenin ve veziküllerin fenton reaksiyonu performansları metilen mavisinin giderimi yöntemi ile Uv-vis kullanılarak takip edilmiştir. Sıcaklık, pH, H₂O₂ konsantrasyonu ve ferrosenli yüzey aktif maddenin konsantrasyonu ana parametreler olarak çalışılmıştır.
- Deneyler sonucunda fenton reaksiyonlarının pH 2.5'te, 37°C sıcaklıkta, 1 mM ferrosenli yüzey aktif madde ve 23.58 mM hidrojen peroksit konsantrasyonunda gerçekleştirilmesine karar verilmiştir.
- Veziküllerin fenton reaksiyonları, monomerlerden elde edilen sonuçlardan yola çıkılarak yukarıdaki koşullarda gerçekleştirilmiştir. Veziküllerin performansının monomerler ile kıyaslanabilmesi için metilen mavisi gideriminin kinetik değerlendirilmesi yapılmıştır. Veriler pseudo birinci ve pseudo ikinci dereceden reaksiyon kinetiği kullanılarak değerlendirilmiştir.
- Verilerin birinci dereceden bir reaksiyon kinetiğini takip ettiği belirlenmiştir. 1 mM monomer haldeki yüzey aktif maddenin 30 dakikalık periyottaki k değeri $62.9 \times 10^{-3} \text{ dk}^{-1}$, 1 mM ferrosenli yüzey aktif madde içeren veziküllerin ise $50.7 \times 10^{-3} \text{ dk}^{-1}$ olduğu hesaplanmıştır. Ancak veziküllerin 180 dakika sonucunda ulaşılan %MB giderimi açısından monomerler ile aynı olduğu gözlemlenmiştir. Hız sabitinin daha düşük olmasının sebebi olarak ferrosenli yüzey aktif maddenin bir kısmının çift tabakanın içerisinde yer alması olarak gösterilmiştir. Ancak veziküllerin 180 dakikalık bir reaksiyon süresinde 10 mg/ml konsantrasyondaki metilen mavisi giderimini %100 olarak gerçekleştirdiği tespit edilmiştir.
- Çalışmanın son aşamasında ise elde edilen ferrosenli yüzey aktif madde içeren veziküllerin (Fc(C₁₁)-AOT) rodamin-b yüklü, PDA kaplı ZIF-8 ile (Rhb@ZIF-8/PDA) kaplanması gerçekleştirilmiştir. Kaplama işlemi elektrostatik etkileşime dayandırılmıştır.
- PDA kaplaması ile zeta potansiyeli $-19.86 \pm 0.56 \text{ mV}$ olan ZIF-8 kristalleri, zeta potansiyeli $28.86 \pm 0.94 \text{ mV}$ olarak elde edilen Fc(C₁₁)-AOT vezikülleri ile etkileşmeleri için farklı sürelerde inkübe edilmiştir. Kaplama süresi arttıkça elde edilen yapının (Fc(C₁₁)-AOT/Rhb@ZIF-8/PDA) zeta potansiyelinin Rhb@ZIF-8/PDA partiküllerinin zeta potansiyeline yaklaştığı gözlemlenmiştir. 1:1 oranda Vezikül:ZIF kullanıldığında zeta

potansiyelleri 30 dakikada -15.9, 1 saatte -17.8 ve üç saatte -19.3 mV olarak elde edilmiştir.

- Fc(C₁₁)-AOT/Rhb@ZIF-8/PDA ilaç taşıyıcı sisteminin boyutları AFM ve DLS kullanılarak analiz edilmiştir. ZIF-8 ile kaplanmış veziküllerin boyutlarının yaklaşık %50 oranında arttığı ve DLS boyutlarının 626.4 ±259.77 nm olarak elde edildiği görülmüştür. AFM ile ise çekirdeğinde 300-400 nm'lik bir boşluk bulunan 541.75 ±227.91 nm'lik yapılar görülmüştür. Merkezdeki boşluğun vezikülün sulu çekirdeğinin kuruması nedeniyle oluştuğu, etrafta bulunan yaklaşık 200 nm'lik katmanın ise ZIF-8'e ait olduğu düşünülmektedir.
- Elde edilen ilaç taşıyıcı sistemin fenton reaksiyonu ve ilaç salım performansı yukarıda bahsedilen şekilde gerçekleştirilmiştir. Rhb@ZIF-8/PDA ile kaplanmış veziküllerin metilen mavisi giderimini 180 dakikada %100 olarak gerçekleştirdiği görülmüştür. Ancak reaksiyon monomer haldeki Fc(C₁₁) ve Fc(C₁₁)-AOT veziküllere göre daha yavaş gerçekleştiği görülmüştür. İlk 30 dakikalık periyotta birinci dereceden bir reaksiyon kinetiği için hız sabiti değerleri monomer, vezikül ve kaplanmış vezikül için $62.9 \times 10^{-3} \text{ dk}^{-1}$, $50.7 \times 10^{-3} \text{ dk}^{-1}$ ve $30.9 \times 10^{-3} \text{ dk}^{-1}$ olarak elde edilmiştir. Ancak kaplı veziküllerin R² değerlerinden yola çıkarak ikinci dereceden bir reaksiyon kinetiğine sahip olduğu ve k değerinin $5.2 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ dk}^{-1}$ olarak elde edildiği belirtilmelidir.
- Rodamin-b salımı ise veziküllere kaplanmış ZIF-8'ler tarafından pH'a duyarlı şekilde başarıyla gerçekleştirilmiştir. pH 5'te rodamin-b salımı veziküllere kaplanmış Rhb@ZIF-8/PDA partiküllerinden 48 saatte %86 olarak gerçekleştirilmiştir.
- Sonuç olarak ZIF-8'in pH'a duyarlı model molekül rodamin-b salımı ile potansiyel kemoterapötik, PDA kaplaması ile fototermal ve ferrosenli yüzey aktif madde içeren veziküller ile kemodinamik terapi etkisine sahip, çok işlevli bir ilaç taşıyıcı sistem elde edilmiştir. Elde edilen sistem, kompartmanları ve veziküllerin sulu çekirdeği potansiyel ilaç taşıyıcı rezervuarları ile geliştirilebilir. Elde edilme şekli ve bir araya getirilen parçaları ile özgün bir değer taşımaktadır. Ferrosenli yüzey aktif madde içeren bir vezikülün model molekül yüklü ve PDA kaplı bir ZIF-8 ile

elektrostatik olarak etkileştirilmesi bilgimiz dahilinde ilk kez gerçekleştirilmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] R. Saini, S. Saini, S. Sharma, *J Cutan Aesthet Surg*, 3 (2010) 32-33.
- [2] O.V. Salata, *Journal of Nanobiotechnology*, 2 (2004).
- [3] A.K Jain, N. Gahlot, *Nanoparticles and Nanocarriers Based Pharmaceutical Formulations*, K.J. Akhlesh, K. Mishra (Eds.), Bentham Books, Singapur, Chapter 1, 2022.
- [4] M.W. Tibbitt, J.E. Dahlman, R. Langer, *J Am Chem Soc*, 138 (2016) 704-717.
- [5] P.F. Builders, M.I. Arhewoh, *Starch - Stärke*, 68 (2016) 864-873.
- [6] M.K. Alshammari, M.M. Alshehri, A.M. Alshehri, O.M. Alshlali, A.M. Mahzari, H.H. Almalki, O.Y. Kulaybi, M.K. Alghazwni, M. Kamal, M. Imran, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 79 (2023).
- [7] A. Karewicz, *Biomaterials for Bone Regeneration*, P. Dubruel, S.V. Vlierberghe (Eds.), Woodhead Publishing, Chapter 11, 2014.
- [8] Z. Edis, J. Wang, M.K. Waqas, M. Ijaz, M. Ijaz, *Int J Nanomedicine*, 16 (2021) 1313-1330.
- [9] U. Bulbake, S. Doppalapudi, N. Kommineni, W. Khan, *Pharmaceutics*, 9 (2017).
- [10] H. Xing, K. Hwang, Y. Lu, *Theranostics*, 6 (2016) 1336-1352.
- [11] D.W. Deamer, *FASEB J*, 24 (2010) 1308-1310.
- [12] T.M. Allen, P.R. Cullis, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65 (2013) 36-48
- [13] T. Aljamal, K. Kostarelou, *Accounts of Chemical Research*, 44 (2011) 1094–1104.
- [14] R.K. Sahoo, N. Biswas, A. Guha, N. Sahoo, K. Kuotsu, *BioMed Research International*, (2014).
- [15] L. Zhai, M. Zhao, D. Sun, J. Hao, L. Zhang, *The Journal of Physical Chemistry B*, 109 (2005) 5627-5630.
- [16] E. Feitosa, M. Lemos, R.D. Adati, *Journal of Surfactants and Detergents*, (2019).
- [17] E.F. Marques, *Langmuir*, 16 (2000) 4798-4807.
- [18] H. Sakai, A. Matsumura, S. Yokoyama, T. Saji, M. Abe, *The Journal of Physical Chemistry B*, 103 (1999) 10737-10740.
- [19] Y. Kakizawa, H. Sakai, A. Yamaguchi, Y. Kondo, N. Yoshino, M. Abe, *Langmuir*, 17 (2001) 8044-8048.

- [20] H. D. Lawson, S. P. Walton, C. Chan, *ACS Appl Mater Interfaces*, 13 **(2021)** 7004-7020.
- [21] Y. Sun, L. Zheng, Y. Yang, X. Qian, T. Fu, X. Li, *Nanomicro Letters*, 12 **(2020)** 103.
- [22] K. Leus, I. Muylaert, V. Van Speybroeck, G. B. Marin and P. Van Der Voort, In: *Scientific Bases for the Preparation of Heterogeneous Catalysts - Proceedings of the 10th International Symposium*, 11-15 Temmuz, Belçika, **2010**.
- [23] B. Li, H.M. Wen, Y. Cui, W. Zhou, G. Qian, B. Chen, *Adv Mater*, 28 **(2016)** 8819-8860.
- [24] L.E. Kreno, K. Leong, O.K. Farha, M. Allendorf, R.P. Van Duyne, J.T. Hupp, *Chem Rev*, 112 **(2012)** 1105-1125.
- [25] W. Xue, Q. Zhou, F. Li, B.S. Ondon, *Journal of Power Sources*, 423 **(2019)** 9-17.
- [26] P. Krokidas, S. Moncho, E.N. Brothers, M. Castier, I.G. Economou, *Phys Chem Chem Phys*, 20 **(2018)** 4879-4892.
- [27] H. Musarurwa, N.T. Tavengwa, *Materials Today Communications*, 33 **(2022)**.
- [28] G. Xu, P. Nie, H. Dou, B. Ding, L. Li, X. Zhang, *Materials Today*, 20 **(2017)** 191-209.
- [29] B. Maranescu, A. Visa, *Int J Mol Sci*, 23 **(2022)**.
- [30] P. Horcajada, C. Serre, G. Maurin, N.A. Ramsahye, F. Balas, M. Vallet-Regi, M. Sebban, F. Taulelle, G. Férey, *Journal of the American Chemical Society*, 130 **(2008)** 6774-6780.
- [31] P. Horcajada, C. Serre, M. Vallet-Regí, M. Sebban, F. Taulelle, G. Férey, *Angewandte Chemie*, 118 **(2006)** 6120-6124.
- [32] S. Tai, W. Zhang, J. Zhang, G. Luo, Y. Jia, M. Deng, Y. Ling, *Microporous and Mesoporous Materials*, 220 **(2016)** 148-154.
- [33] Q. Hu, J. Yu, M. Liu, A. Liu, Z. Dou, Y. Yang, *J Med Chem*, 57 **(2014)** 5679-5685.
- [34] S. Li, K. Wang, Y. Shi, Y. Cui, B. Chen, B. He, W. Dai, H. Zhang, X. Wang, C. Zhong, H. Wu, Q. Yang, Q. Zhang, *Advanced Functional Materials*, 26 **(2016)** 2715-2727.
- [35] S. Feng, X. Zhang, D. Shi, Z. Wang, *Frontiers of Chemical Science and Engineering*, 15 **(2020)** 221-237.
- [36] A. Deacon, L. Briquet, M. Malankowska, F. Massingberd-Mundy, S. Rudic, T.L. Hyde, H. Cavaye, J. Coronas, S. Poulston, T. Johnson, *Commun Chem*, 5 **(2022)** 18.

- [37] C. Zheng, Y. Wang, S.Z.F. Phua, W.Q. Lim, Y. Zhao, *ACS Biomater Sci Eng*, 3 (2017) 2223-2229.
- [38] H. Zhang, W. Jiang, R. Liu, J. Zhang, D. Zhang, Z. Li, Y. Luan, *ACS Appl Mater Interfaces*, 9 (2017) 19687-19697.
- [39] M. Gomar, S. Yeganegi, *Microporous and Mesoporous Materials*, 252 (2017) 167-172.
- [40] B.A. Costa, M.P. Abucafy, T.W.L. Barbosa, B.L. da Silva, R.B. Fulindi, G. Isquibola, P.I. da Costa, L.A. Chiavacci, *Pharmaceutics*, 15 (2023).
- [41] J. Huang, Z. Xu, Y. Jiang, W.C. Law, B. Dong, X. Zeng, M. Ma, G. Xu, J. Zou, C. Yang, *J Nanobiotechnology*, 19 (2021) 219.
- [42] Y. Li, N. Xu, J. Zhou, W. Zhu, L. Li, M. Dong, H. Yu, L. Wang, W. Liu, Z. Xie, *Biomater Sci*, 6 (2018) 2918-2924.
- [43] K. Liang, R. Ricco, C.M. Doherty, M.J. Styles, S. Bell, N. Kirby, S. Mudie, D. Haylock, A.J. Hill, C.J. Doonan, P. Falcaro, *Nat Commun*, 6 (2015) 7240.
- [44] C. Shuai, J. Zan, F. Deng, Y. Yang, S. Peng, Z. Zhao, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 9 (2021) 1814-1825.
- [45] H. Ren, L. Zhang, J. An, T. Wang, L. Li, X. Si, L. He, X. Wu, C. Wang, Z. Su, *Chem Commun (Camb)*, 50 (2014) 1000-1002.
- [46] H. Wang, T. Li, J. Li, W. Tong, C. Gao, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 568 (2019) 224-230.
- [47] S. Bayda, M. Adeel, T. Tuccinardi, M. Cordani, F. Rizzolio, *Molecules*, 25 (2019).
- [48] S.W. Dean, G.A. Mansoori, T.A. Fauzi Soelaiman, *Journal of ASTM International*, 2 (2005).
- [49] R. Saini, S. Saini, S. Sharma, *J Cutan Aesthet Surg*, 3 (2010) 32-33.
- [50] G.A. Silva, *Surg Neurol*, 61 (2004) 216-220.
- [51] M. Sajid, *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 25 (2022).
- [52] N. Baig, I. Kammakakam, W. Falath, *Materials Advances*, 2 (2021) 1821-1871.
- [53] X. Huang, M.A. El-Sayed, *Journal of Advanced Research*, 1 (2010) 13-28.
- [54] N. Elahi, M. Kamali, M.H. Baghersad, *Talanta*, 184 (2018) 537-556.
- [55] F.J. Osonga, A. Akgul, I. Yazgan, A. Akgul, G.B. Eshun, L. Sakhaee, O.A. Sadik, *Molecules*, 25 (2020).
- [56] S. Moeinzadeh, E. Jabbari, *Springer Handbook of Nanotechnology*, B. Bhushan (Ed.), Springer, Berlin, Chapter 11, 2017.

- [57] J.K. Patra, G. Das, L.F. Fraceto, E.V.R. Campos, M.D.P. Rodriguez-Torres, L.S. Acosta-Torres, L.A. Diaz-Torres, R. Grillo, M.K. Swamy, S. Sharma, S. Habtemariam, H.S. Shin, *J Nanobiotechnology*, 16 (2018) 71.
- [58] M.K. Swamy, U.R. Sinniah, *Industrial Crops and Products*, 87 (2016) 161-176.
- [59] B.V. Bonifacio, P.B. Silva, M.A. Ramos, K.M. Negri, T.M. Bauab, M. Chorilli, *Int J Nanomedicine*, 9 (2014) 1-15.
- [60] H. Mu, R. Holm, *Expert Opin Drug Deliv*, 15 (2018) 771-785.
- [61] F.H. Farah, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(8) (2019) 3487-3507.
- [62] T.M. Allen, P.R. Cullis, *Science*, 303 (2004) 1818-1822.
- [63] Y. Duan, A. Dhar, C. Patel, M. Khimani, S. Neogi, P. Sharma, N. Siva Kumar, R.L. Vekariya, *RSC Adv*, 10 (2020) 26777-26791.
- [64] N. Dini Fatini Mohammad Faizal, M. Cairul Iqbal Mohd Amin, *Int J Pharm*, 630 (2023) 122421.
- [65] M.A. Attia, E.A. Essa, T.T. Elebyary, A.M. Faheem, A.A. Elkordy, *Pharmaceuticals (Basel)*, 14 (2021).
- [66] D. Lombardo, M.A. Kiselev, *Pharmaceutics*, 14 (2022).
- [67] G. Boons, *Expert Rev. Vaccines*, 9(11) (2010) 1251–1256.
- [68] D. Blanken, D. Foschepoth, A.C. Serrao, C. Danelon, *Nat Commun*, 11 (2020) 4317.
- [69] Y. Xia, C. Xu, X. Zhang, P. Ning, Z. Wang, J. Tian, X. Chen, *Nanoscale*, 11 (2019) 5822-5838.
- [70] P. Liu, G. Chen, J. Zhang, *Molecules*, 27 (2022).
- [71] L. Sturm, N. Poklar Ulrich, *Int J Mol Sci*, 22 (2021).
- [72] K. Shashi, K. Satinder, P. Bharat, *International Research Journal of Pharmacy*, 3(7) (2012).
- [73] Y.P. Patil, S. Jadhav, *Chem Phys Lipids*, 177 (2014) 8-18.
- [74] E. Nogueira, A.C. Gomes, A. Preto, A. Cavaco-Paulo, *Colloids Surf B Biointerfaces*, 136 (2015) 514-526.
- [75] G.P. Kumar, P. Rajeshwarrao, *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 1 (2011) 208-219.
- [76] J. Jiao, *Adv Drug Deliv Rev*, 60 (2008) 1663-1673.
- [77] A. Pinazo, V. Petrizelli, M. Bustelo, R. Pons, M.P. Vinardell, M. Mitjans, A. Manresa, L. Perez, *Colloids Surf B Biointerfaces*, 141 (2016) 19-27.
- [78] A.T. Kuo, C.H. Chang, *J Oleo Sci*, 65 (2016) 377-384.

- [79] C. Marianecchi, L. Di Marzio, F. Rinaldi, C. Celia, D. Paolino, F. Alhaique, S. Esposito, M. Carafa, *Adv Colloid Interface Sci*, 205 **(2014)** 187-206.
- [80] G. Puras, M. Mashal, J. Zarate, M. Agirre, E. Ojeda, S. Grijalvo, R. Eritja, A. Diaz-Tahoces, G. Martinez Navarrete, M. Aviles-Trigueros, E. Fernandez, J.L. Pedraz, *J Control Release*, 174 **(2014)** 27-36.
- [81] C. Has, S. Pan, *J Liposome Res*, 31 **(2021)** 90-111.
- [82] C. Huang, D. Quinn, Y. Sadovsky, S. Suresh, K.J. Hsia, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 114 **(2017)** 2910-2915.
- [83] D.A. Seleci, M. Seleci, F. Stahl, T. Scheper, *RSC Advances*, 7 **(2017)** 33378-33384.
- [84] M. Hemati, F. Haghirsadat, F. Yazdian, F. Jafari, A. Moradi, Z. Malekpour-Dehkordi, *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 47 **(2019)** 1295-1311.
- [85] H.T.H. Vu, S.M. Hook, S.D. Siqueira, A. Mullertz, T. Rades, A. McDowell, *Int J Pharm*, 548 **(2018)** 82-91.
- [86] S. Li, C. Fang, J. Zhang, B. Liu, Z. Wei, X. Fan, Z. Sui, Q. Tan, *Nanomedicine*, 12 **(2016)** 1567-1579.
- [87] G. Kaur, K. Berwal, B. Sharma, G.R. Chaudhary, S.L. Gawali, P.A. Hassan, *Journal of Molecular Liquids*, 324 **(2021)**.
- [88] S.B. Shelar, A. Dey, S.L. Gawali, S. Dhinakaran, K.C. Barick, M. Basu, S. Uppal, P.A. Hassan, *ACS Appl Bio Mater*, 4 **(2021)** 6005-6015.
- [89] W. Li, T. Luo, Y. Yang, X. Tan, L. Liu, *Langmuir*, 31 **(2015)** 5141-5146.
- [90] Y. Zhang, Y. Wang, X. Yang, Q. Yang, J. Li, W. Tan, *Small*, 16 **(2020)**.
- [91] H. Sakai, H. Imamura, Y. Kondo, N. Yoshino, M. Abe, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 232 **(2004)** 221-228.
- [92] P. Garg, G. Kaur, B. Sharma, G.R. Chaudhary, *ACS Appl Bio Mater*, 3 **(2020)** 4674-4683.
- [93] N. Aydogan, C.A. Rosslee, N.L. Abbott, *Colloids and Surfaces A*, 201 **(2002)** 101-109.
- [94] Y.S. Ma, S.T. Huang, J.G. Lin, *Water Science and Technology*, 42 **(2000)** 155-160.
- [95] G.V. Buxton, C.L. Greenstock, W.P. Helman, A.B. Ross, *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 17 **(1988)** 513-886.
- [96] C. Adán, J. Carbajo, A. Bahamonde, A. Martínez-Arias, *Catalysis Today*, 143 **(2009)** 247-252.

- [97] Q. Wang, S. Tian, P. Ning, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **53** (2013) 643-649.
- [98] R. Ovalle, *A History of the Fenton Reactions (Fenton Chemistry for Beginners)*, IntechOpen, **2022**.
- [99] C. Abe, T. Miyazawa, T. Miyazawa, *Molecules*, **27** (2022).
- [100] F. Haber, R. Willstätter, *Reuktimmechanismus organischer und enzymatischer Vorgunge*, (1931) 2844.
- [101] F. Haber, J. Weiss, *Proc. R. Soc. Lond. A*, **147** (1934) 332–351.
- [102] L. Zhang, S.S. Wan, C.X. Li, L. Xu, H. Cheng, X.Z. Zhang, *Nano Lett*, **18** (2018) 7609-7618.
- [103] X. Meng, X. Zhang, M. Liu, B. Cai, N. He, Z. Wang, *Applied Materials Today*, **21** (2020).
- [104] B. Utset, J. Garcia, J. Casado, X. Domenech, J. Peral, *Chemosphere*, **41** (2000) 1187-1192
- [105] M. L. Rodriguez, V. I. Timokhin, S. Contreras, E. Chamarro, S. Espluga, *Advances in Environmental Research*, **7** (2003) 583–595
- [106] B. Ma, S. Wang, F. Liu, S. Zhang, J. Duan, Z. Li, Y. Kong, Y. Sang, H. Liu, W. Bu, L. Li, *J Am Chem Soc*, **141** (2019) 849-857.
- [107] L.S. Lin, J. Song, L. Song, K. Ke, Y. Liu, Z. Zhou, Z. Shen, J. Li, Z. Yang, W. Tang, G. Niu, H.H. Yang, X. Chen, *Angew Chem Int Ed Engl*, **57** (2018) 4902-4906.
- [108] Q. Wang, S. Tian, P. Ning, *Desalination and Water Treatment*, (2013) 1-10
- [109] B. Neppolian, J.S. Park, H. Choi, *Ultrason Sonochem*, **11** (2004) 273-279.
- [110] Y. Li, L. Xue, H. Li, Z. Li, B. Xu, S. Wen, W. Tian, *Macromolecules*, **42** (2009) 4491-4499.
- [111] Y. Wang, S. Zhang, J. Wang, Q. Zhou, J.F. Mukerabigwi, W. Ke, N. Lu, Z. Ge, *J Control Release*, **333** (2021) 500-510.
- [112] D. Astruc, *European Journal of Inorganic Chemistry*, (2016) 6-29.
- [113] M. A. Carreon, R. Surendar, *Metal-Organic Framework Membranes for Molecular Gas Separations*, World Scientific, Vol. 6, Chapter 6, **2020**
- [114] K. Moller, T. Bein, *Science*, **333** (2011) 297-298.
- [115] J.L.C. Rowsell, O.M. Yaghi, *Microporous and Mesoporous Materials*, **73** (2004) 3-14.
- [116] K. Sumida, D.L. Rogow, J.A. Mason, T.M. McDonald, E.D. Bloch, Z.R. Herm, T.H. Bae, J.R. Long, *Chem Rev*, **112** (2012) 724-781.

- [117] M. Peplow, *Nature*, 520 **(2015)** 148.
- [118] H. Li, M. Eddaoudi, M. O'Keeffe, O. M. Yaghi, *Nature*, 420 **(1999)** 276-279.
- [119] H.C. Zhou, J.R. Long, O.M. Yaghi, *Chem Rev*, 112 **(2012)** 673-674.
- [120] S. Keskin, S. Kızılel, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 50 **(2011)** 1799-1812.
- [121] J. Liu, L. Chen, H. Cui, J. Zhang, L. Zhang, C.Y. Su, *Chem Soc Rev*, 43 **(2014)** 6011-6061.
- [122] D. Zhao, Y. Cui, Y. Yang, G. Qian, *CrystEngComm*, 18 **(2016)** 3746-3759.
- [123] X. Li, F. Cheng, S. Zhang, J. Chen, *Journal of Power Sources*, 160 **(2006)** 542-547.
- [124] S. Qiu, M. Xue, G. Zhu, *Chem Soc Rev*, 43 **(2014)** 6116-6140.
- [125] V.F. Yusuf, N.I. Malek, S.K. Kailasa, *ACS Omega*, 7 **(2022)** 44507-44531.
- [126] E. Sharmin, F. Zafar, *Metal Organic Frameworks*, E. Sharmin, F. Zafar (Eds.) IntechOpen, Chapter 1, **2016**.
- [127] P. Rocío-Bautista, P. González-Hernández, V. Pino, J. Pasán, A.M. Afonso, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 90 **(2017)** 114-134.
- [128] W. Lu, Z. Wei, Z.Y. Gu, T.F. Liu, J. Park, J. Park, J. Tian, M. Zhang, Q. Zhang, T. Gentle, 3rd, M. Bosch, H.C. Zhou, *Chem Soc Rev*, 43 **(2014)** 5561-5593.
- [129] P. Guo, D. Dutta, A.G. Wong-Foy, D.W. Gidley, A.J. Matzger, *J Am Chem Soc*, 137 **(2015)** 2651-2657.
- [130] X. Ge, R. Wong, A. Anisa, S. Ma, *Biomaterials*, 281 **(2022)** 121322.
- [131] Y. Hu, H. Cheng, X. Zhao, J. Wu, F. Muhammad, S. Lin, J. He, L. Zhou, C. Zhang, Y. Deng, P. Wang, Z. Zhou, S. Nie, H. Wei, *ACS Nano*, 11 **(2017)** 5558-5566.
- [132] L. Zhang, S. Li, X. Chen, T. Wang, L. Li, Z. Su, C. Wang, *Advanced Functional Materials*, 28 **(2018)**.
- [133] S. Zarei-Shokat, F. Ganjali, *Physicochemical Aspects of Metal-Organic Frameworks: A New Class of Coordinative Materials*, A. Maleki, R. Tehari-Ledari (Eds.), Springer, **2021**.
- [134] P. Tong, J. Liang, X. Jiang, J. Li, *Crit Rev Anal Chem*, 50 **(2020)** 376-392.
- [135] S. Kouser, A. Hezam, M.J.N. Khadri, S.A. Khanum, *Journal of Porous Materials*, 29 **(2022)** 663-681.
- [136] S. Bhattacharjee, M.-S. Jang, H.-J. Kwon, W.-S. Ahn, *Catalysis Surveys from Asia*, 18 **(2014)** 101-127.

- [137] T. Zhang, X. Zhang, X. Yan, L. Lin, H. Liu, J. Qiu, K.L. Yeung, *Catalysis Today*, 236 (2014) 41-48.
- [138] L. Lin, T. Zhang, X. Zhang, H. Liu, K.L. Yeung, J. Qiu, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 53 (2014) 10906-10913.
- [139] F. Yang, H. Mu, C. Wang, L. Xiang, K.X. Yao, L. Liu, Y. Yang, Y. Han, Y. Li, Y. Pan, *Chemistry of Materials*, 30 (2018) 3467-3473.
- [140] G. Zheng, Z. Chen, K. Sentosun, I. Perez-Juste, S. Bals, L.M. Liz-Marzan, I. Pastoriza-Santos, J. Perez-Juste, M. Hong, *Nanoscale*, 9 (2017) 16645-16651.
- [141] O.M. Linder-Patton, T.J. de Prinse, S. Furukawa, S.G. Bell, K. Sumida, C.J. Doonan, C.J. Sumbly, *CrystEngComm*, 20 (2018) 4926-4934.
- [142] Crystallography Open Database, <https://www.chemtube3d.com/mof-zif8/> (Erişim Tarihi: 11 Mayıs 2023)
- [143] Y.R. Lee, M.-S. Jang, H.-Y. Cho, H.-J. Kwon, S. Kim, W.-S. Ahn, *Chemical Engineering Journal*, 271 (2015) 276-280.
- [144] A. Akhundzadeh Tezerjani, R. Halladj, S. Askari, *RSC Adv*, 11 (2021) 19914-19923.
- [145] O. Kolmykov, J.-M. Commenge, H. Alem, E. Girot, K. Mozet, G. Medjahdi, R. Schneider, *Materials & Design*, 122 (2017) 31-41.
- [146] K.S. Park, N. Zheng, A.P. Cote, J.Y. Choi, R. Huang, F.J. Romo, H.K. Chae, M. O'Keeffe, O.M. Yaghi, *PNAS*, 103 (2006) 10186-10191
- [147] D. Zou, D. Liu, J. Zhang, *Energy & Environmental Materials*, 1 (2018) 209-220.
- [148] C.L. Hobday, C.H. Woodall, M.J. Lennox, M. Frost, K. Kamenev, T. Duren, C.A. Morrison, S.A. Moggach, *Nat Commun*, 9 (2018) 1429.
- [149] Q. Song, S.K. Nataraj, M.V. Roussenova, J.C. Tan, D.J. Hughes, W. Li, P. Bourgoın, M.A. Alam, A.K. Cheetham, S.A. Al-Muhtaseb, E. Sivaniah, *Energy & Environmental Science*, 5 (2012).
- [150] B. Xi, Y.C. Tan, H.C. Zeng, *Chemistry of Materials*, 28 (2015) 326-336.
- [151] A. Paul, I.K. Banga, S. Muthukumar, S. Prasad, *ACS Omega*, 7 (2022) 26993-27003.
- [152] Y. Sun, N. Zhang, Y. Yue, J. Xiao, X. Huang, A. Ishag, *Environmental Science: Nano*, 9 (2022) 4069-4092.
- [153] K. Li, N. Miwornunyuie, L. Chen, H. Jingyu, P.S. Amaniampong, D. Ato Koomson, D. Ewusi-Mensah, W. Xue, G. Li, H. Lu, *Sustainability*, 13 (2021).

- [154] S. Feng, X. Zhang, D. Shi, Z. Wang, *Frontiers of Chemical Science and Engineering*, 15 (2020) 221-237.
- [155] Q. Wang, Y. Sun, S. Li, P. Zhang, Q. Yao, *RSC Adv*, 10 (2020) 37600-37620.
- [156] S. Wuttke, M. Lismont, A. Escudero, B. Rungtaweevoranit, W.J. Parak, *Biomaterials*, 123 (2017) 172-183.
- [157] J. Zhuang, C. Kuo, L.Y. Chou, D. Liu, E. Weerapana, C. Tsung, *ACS Nano*, 8(3) (2014) 2812-2819
- [158] V.A. Tran, S.W. Lee, *RSC Adv*, 11 (2021) 9222-9234.
- [159] Z. Zou, S. Li, D. He, X. He, K. Wang, L. Li, X. Yang, H. Li, *J Mater Chem B*, 5 (2017) 2126-2132.
- [160] K. Liang, R. Ricco, C.M. Doherty, M.J. Styles, S. Bell, N. Kirby, S. Mudie, D. Haylock, A.J. Hill, C.J. Doonan, P. Falcaro, *Nat Commun*, 6 (2015) 7240.
- [161] X. Wu, J. Ge, C. Yang, M. Hou, Z. Liu, *Chem Commun (Camb)*, 51 (2015) 13408-13411.
- [162] L. Gao, Q. Chen, T. Gong, J. Liu, C. Li, *Nanoscale*, 11 (2019) 21030-21045.
- [163] H. Zheng, Y. Zhang, L. Liu, W. Wan, P. Guo, A.M. Nystrom, X. Zou, *J Am Chem Soc*, 138 (2016) 962-968.
- [164] H. Nabipour, M.H. Sadr, G.R. Bardajee, *New Journal of Chemistry*, 41 (2017) 7364-7370.
- [165] Y. Li, J. Jin, D. Wang, J. Lv, K. Hou, Y. Liu, C. Chen, Z. Tang, *Nano Research*, 11 (2018) 3294-3305.
- [166] F. Jiang, Y. Zhao, C. Yang, Z. Cheng, M. Liu, B. Xing, B. Ding, P. Ma, J. Lin, *Dalton Trans*, 51 (2022) 2798-2804.
- [167] C.Y. Sun, C. Qin, X.L. Wang, G.S. Yang, K.Z. Shao, Y.Q. Lan, Z.M. Su, P. Huang, C.G. Wang, E.B. Wang, *Dalton Trans*, 41 (2012) 6906-6909.
- [168] X. Yin, F. Ai, L. Han, *Front Chem*, 10 (2022) 841316.
- [169] J.K. Wu, P. Tan, J. Lu, Y. Jiang, X.Q. Liu, L.B. Sun, *ACS Appl Mater Interfaces*, 11 (2019) 29298-29304.
- [170] X. Fu, Z. Yang, T. Deng, J. Chen, Y. Wen, X. Fu, L. Zhou, Z. Zhu, C. Yu, *J Mater Chem B*, 8 (2020) 1481-1488.
- [171] H. Cheng, J.-Y. Zhu, S.-Y. Li, J.-Y. Zeng, Q. Lei, K.-W. Chen, C. Zhang, X.-Z. Zhang, *Advanced Functional Materials*, 26 (2016) 7847-7860.
- [172] H.N. Abdelhamid, *Dalton Trans*, 52 (2023) 2506-2517.

- [173] D. Xu, Y. You, F. Zeng, Y. Wang, C. Liang, H. Feng, X. Ma, *ACS Appl Mater Interfaces*, 10 **(2018)** 15517-15523.
- [174] X. Gu, A.F. Palmer, *ACS Applied Nano Materials*, 5 **(2022)** 5670-5679.
- [175] J. Han, W. Huang, M. Zhao, J. Wu, Y. Li, Y. Mao, L. Wang, Y. Wang, *Colloids Surf B Biointerfaces*, 208 **(2021)** 112034.
- [176] H. Chu, J. Shen, C. Wang, Y. Wei, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 628 **(2021)**.
- [177] X. Chen, R. Tong, Z. Shi, B. Yang, H. Liu, S. Ding, X. Wang, Q. Lei, J. Wu, W. Fang, *ACS Appl Mater Interfaces*, 10 **(2018)** 2328-2337.
- [178] B. Soltani, H. Nabipour, N.A. Nasab, *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 28 **(2017)** 1090-1097.
- [179] H. Kaur, G.C. Mohanta, V. Gupta, D. Kukkar, S. Tyagi, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 41 **(2017)** 106-112.
- [180] H.N. Abdelhamid, Z. Huang, A.M. El-Zohry, H. Zheng, X. Zou, *Inorg Chem*, 56 **(2017)** 9139-9146.
- [181] T. Peng Chee, O. Boon Seng, A.L. Ahmad, L. Siew Chun, *Journal of Physical Science*, 28 **(2017)** 215-226.
- [182] Y. Tu, C. Lei, F. Deng, Y. Chen, Y. Wang, Z. Zhang, *New Journal of Chemistry*, 45 **(2021)** 8701-8713.
- [183] X. Yin, S. Ran, H. Cheng, M. Zhang, W. Sun, Y. Wan, C. Shao, Z. Zhu, *Colloids Surf B Biointerfaces*, 216 **(2022)** 112507.
- [184] F. Shu, D. Lv, X.L. Song, B. Huang, C. Wang, Y. Yu, S.C. Zhao, *RSC Adv*, 8 **(2018)** 6581-6589.
- [185] S. Gao, R. Lv, N. Hao, H. Wang, Y. Lv, Y. Li, Y. Ji, Y. Liu, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 668 **(2023)**.
- [186] L. Gao, Q. Chen, T. Gong, J. Liu, C. Li, *Nanoscale*, 11 **(2019)** 21030-21045.
- [187] Y.Y. Ju, X.X. Shi, S.Y. Xu, X.H. Ma, R.J. Wei, H. Hou, C.C. Chu, D. Sun, G. Liu, Y.Z. Tan, *Adv Sci (Weinh)*, 9 **(2022)**.
- [188] W. Sang, Z. Zhang, Y. Dai, X. Chen, *Chem Soc Rev*, 48 **(2019)** 3771-3810.
- [189] W. Fan, B. Yung, P. Huang, X. Chen, *Chem Rev*, 117 **(2017)** 13566-13638.
- [190] T. Wang, S. Li, Z. Zou, L. Hai, X. Yang, X. Jia, A. Zhang, D. He, X. He, K. Wang, *J Mater Chem B*, 6 **(2018)** 3914-3921.
- [191] H. Yan, H. Ni, J. Jia, C. Shan, T. Zhang, Y. Gong, X. Li, J. Cao, W. Wu, W. Liu, Y. Tang, *Anal Chem*, 91 **(2019)** 5225-5234.

- [192] J. Feng, W. Yu, Z. Xu, F. Wang, Chem Sci, 11 **(2020)** 1649-1656.
- [193] C. Cao, X. Wang, N. Yang, X. Song, X. Dong, Chem Sci, 13 **(2022)** 863-889.
- [194] M. Peng, E. Ju, Y. Xu, Y. Wang, S. Lv, D. Shao, H. Wang, Y. Tao, Y. Zheng, M. Li, NPG Asia Materials, 14 **(2022)**.
- [195] C. Jia, Y. Guo, F.G. Wu, Small, 18 **(2022)**.
- [196] Y. Wang, F. Gao, X. Li, G. Niu, Y. Yang, H. Li, Y. Jiang, J Nanobiotechnology, 20 **(2022)** 69.
- [197] K.R. Roell, D.M. Reif, A.A. Motsinger-Reif, Front Pharmacol, 8 **(2017)** 158.
- [198] R.J. Tallarida, Genes Cancer, 2 **(2011)** 1003-1008.
- [199] H. Zhang, C. Hao, A. Qu, M. Sun, L. Xu, C. Xu, H. Kuang, Advanced Functional Materials, 28 **(2018)**.
- [200] J.C. Yang, Y. Chen, Y.H. Li, X.B. Yin, ACS Appl Mater Interfaces, 9 **(2017)** 22278-22288.
- [201] R. Chen, J. Zhang, Y. Wang, X. Chen, J.A. Zapien, C.S. Lee, Nanoscale, 7 **(2015)** 17299-17305.
- [202] P. Yang, Y. Tian, Y. Men, R. Guo, H. Peng, Q. Jiang, W. Yang, ACS Appl Mater Interfaces, 10 **(2018)** 42039-42049.
- [203] J.C. Yang, Y. Shang, Y.H. Li, Y. Cui, X.B. Yin, Chem Sci, 9 **(2018)** 7210-7217.
- [204] N. Keser Demir, B. Topuz, L. Yilmaz, H. Kalipcilar, Microporous and Mesoporous Materials, 198 (2014) 291-300.
- [205] X. Liu, B. Li, F. Fu, K. Xu, R. Zou, Q. Wang, B. Zhang, Z. Chen, J. Hu, Dalton Trans, 43 **(2014)** 11709-11715.
- [206] F.R. Hallett, Food Research International 27 **(1994)** 195-198.
- [207] J. Stetefeld, S.A. McKenna, T.R. Patel, Biophys Rev, 8 **(2016)** 409-427.
- [208] K. Kogej, D. Bozic, B. Kobal, M. Herzog, K. Cerne, Int J Mol Sci, 22 **(2021)**.
- [209] N. Aydogan, N. Aldis, Langmuir, 22 **(2006)** 2028-2033
- [210] A.P. Minton, Anal Biochem, 501 **(2016)** 4-22.
- [211] S. Sinha Ray, Environmentally Friendly Polymer Nanocomposites, Woodhead Publishing, Chapter 4, **2013**.
- [212] J. Tao, Methods Enzymol, 532 **(2013)** 533-556.
- [213] T. Büyüksirt, H. Kuleaşan, Gıda, 39(4) **(2014)** 235-241.
- [214] A.A. Bunaciu, E.G. Udristioiu, H.Y. Aboul-Enein, Crit Rev Anal Chem, 45 **(2015)** 289-299.

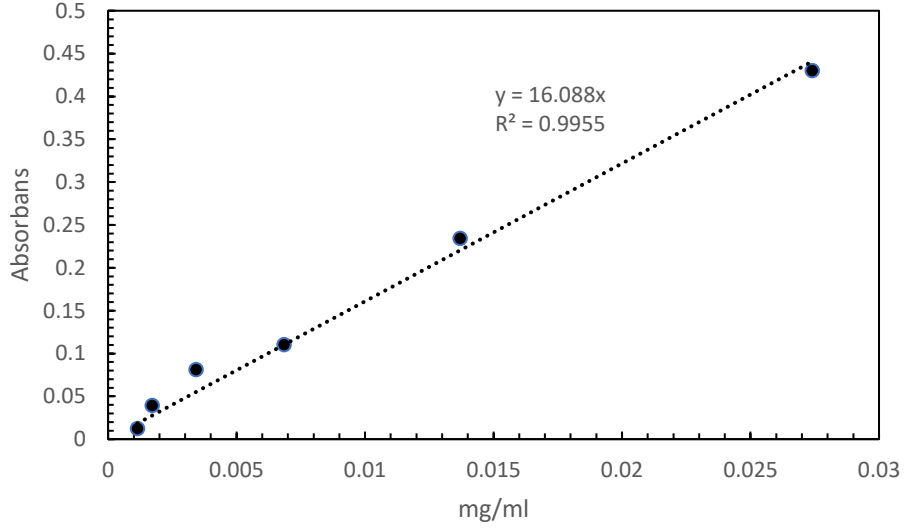
- [215] P. Das, M.K. Das, Nanocosmeceuticals: Innovation, Application, and Safety, M.K. Das (Ed.), Academic Press, Chapter 4, **2022**.
- [216] J.D. Clogston, A.K. Patri, Methods Mol Biol, 697 (**2011**) 63-70.
- [217] Malvern Instruments Limited Technical Notes, Zeta potential - An introduction in 30 minutes, <https://www.research.colostate.edu/wp-content/uploads/2018/11/ZetaPotential-Introduction-in-30min-Malvern.pdf> (Erişim Tarihi: **20 Mayıs 2023**)
- [218] F.S. Rocha, A.J. Gomes, C.N. Lunardi, S. Kaliaguine, G.S. Patience, The Canadian Journal of Chemical Engineering, 96 (**2018**) 2512-2517.
- [219] ThermoFisher Scientific, Transmission Electron Microscopy vs Scanning Electron Microscopy, <https://www.thermofisher.com/tr/en/home/materials-science/learning-center/applications/sem-tem-difference.html> (Erişim Tarihi: **11 Mayıs 2023**)
- [220] A. Akhundzadeh Tezerjani, R. Halladj, S. Askari, RSC Adv, 11 (**2021**) 19914-19923.
- [221] E.L. Bustamante, J.L. Fernandez, J.M. Zamaro, J Colloid Interface Sci, 424 (**2014**) 37-43.
- [222] M. Jian, B. Liu, R. Liu, J. Qu, H. Wang, X. Zhang, RSC Advances, 5 (**2015**) 48433-48441.
- [223] J. Cravillon, S. Münzer, S. Lohmeier, A. Feldhoff, K. Huber, M. Wiebcke, Chem. Mater., 21 (**2009**) 1410–1412.
- [224] M. Esfahanian, M.A. Ghasemzadeh, S.M.H. Razavian, ARTIFICIAL CELLS, NANOMEDICINE, AND BIOTECHNOLOGY, 47 (2019) 2024-2030
- [225] P.C. Tan, B.S. Ooi, A.L. Ahmad, S.C. Low, Journal of Physical Science, 28(1) (**2017**) 215–226.
- [226] P. O'Mara, A. Farrell, J. Bones, K. Twomey, Talanta, 176 (**2018**) 130-139.
- [227] H. Zhang, M. Zhao, Y.S. Lin, Microporous and Mesoporous Materials, 279 (**2019**) 201-210.
- [228] A.S. Spitsyna, A.S. Poryvaev, N.E. Sannikova, A.A. Yazikova, I.A. Kirilyuk, S.A. Dobrynin, O.A. Chinak, M.V. Fedin, O.A. Krumkacheva, Molecules, 27 (**2022**).
- [229] I.U. Khan, M.H.D Othman, A. Jilani, A.F Ismail, H. Hashim, J. Jaafar, M.A. Rahman, G.U. Rehman, Arabian Journal of Chemistry, 11 (**2018**) 1072-1083
- [230] K. Kida, M. Okita, K. Fujita, S. Tanaka, Y. Miyake, CrystEngComm, 15 (**2013**) 1794-1801

- [231] M. Garcia-Palacin, J.I. Martinez, L. Paseta, A. Deacon, T. Johnson, M. Malankowska, C. Tellez, J. Coronas, *ACS Sustainable Chem. Eng.*, **8** (2020) 2973–2980
- [232] B.L. Tran, H. Chin, B.K. Chang, A.S.T Chiang, *Microporous and Mesoporous Materials*, **277** (2019) 149–153
- [233] L. Feng, K.Y. Wang, J. Willman, H.C. Zhou, *ACS Central Science*, **6** (2020) 359-367.
- [234] E.W.P. Moore, F. Maya, *Nanomaterials*, **13** (2023) 842
- [235] H. Zhang, M. Zhao, Y.S. Lin, *Microporous and Mesoporous Materials*, **279** (2019) 201–210
- [236] H. Zhang, D. Liu, Y. Yao, B. Zhangs, Y.S. Lin, *Journal of Membrane Science* **485** (2015) 103–111
- [237] M.J. Velasquez-Hernandez, R. Ricco, F. Carraro, F.T. Limpoco, M. Linares-Moreau, E. Leitner vd., *CrystEngComm*, **21** (2019) 4538-4544
- [238] A.S. Spitsyna, A.S. Poryvaev, N.E. Sannikova, A.A. Yazikova, I.A. Kirilyuk, S.A. Dobrynin, vd., *Molecules*, **27** (2022) 3240
- [239] C. Tan, J. Wu, Z. Wen, *ACS Omega*, **6** (2021) 12977-12983
- [240] J. Depciuch, M. Stec, A. MaximNiienko, J. Baran, M. Parlinska-Wojtan, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, **39** (2022) 102979
- [241] J. Li, W. Zhang, W. Ji, J. Wang, N. Wang, W. Wu, Q. Wu, X. Hou, W. Hu, L. Li, *Journal of Materials Chemistry B*, **9** (2021) 7909-7926
- [242] S. Hui, Q. Liu, Y. Han, L. Zhang, J. Yang, S. Jiang, H. Qian, W. Yang, *Journal of Materials Chemistry B*, **9** (2021) 9961-9970
- [243] Q. Wu, M. Niu, X. Chen, L. Tan, C. Fu, X. Ren, J. Ren, L. Li, K. Xu, H.Zhong, X. Meng, *Biomaterials*, **162** (2018) 132-143
- [244] W. Wang, L. Wang, Y. Li, S. Liu, Z. Xie, X. Jing, *Advanced Materials*, **28** (2016) 9320-9325
- [245] S.R. Venna, J.B. Jasinski, M.A. Carreon, *Journal of the American Chemical Society*, **132**(51) (2010) 18030-18033
- [246] Y.Zhang, Y. Jia, M. Li, Li. Hou, *Scientific Reports*, **8** (2018)
- [247] J.S. Jung, W.T. Lim, J.Y. Park, Y.H. Kim, *Environmental Technology*, **30** (2009) 183-190
- [248] M. Li, K. Kuttiyiel, F. Lu, O. Gang, R.R. Adzic, *Journal of The Electrochemical Society*, **166** (2019)
- [249] K. Skotnicki, S. Ostrowski, J.C. Dobrowolski, J.R.D. Fuente, A. Canete, K. Bobrowski, *International Journal of Molecular Science*, **22**(2) (2021) 663
- [250] Y. Alegria, F. Liendo, O. Nunez, *ARKIVOC*, (2003) 538-549

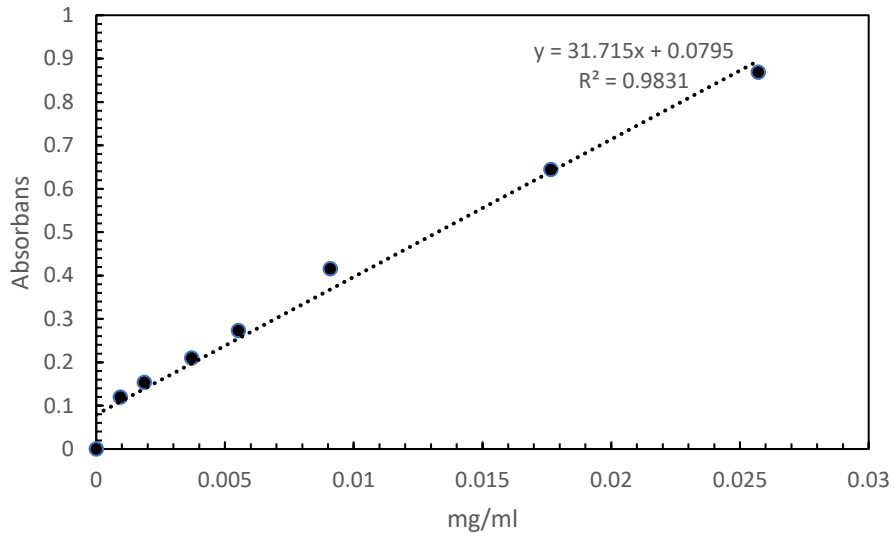
- [251] I. Raheb, M.S. Manlla, Heliyon, 7 **(2021)** e07427
- [252] K. Cui, H. Yi, Z. Zhou, Q. Zhou, Y. Bing, Q. Guo, Z. Xu, Environmental Engineering Science, 31(5) **(2014)** 217-224
- [253] A.A Giwa, I.A. Bello, A.B. Olabintan, O.S. Bello, T.A. Saleh, Heliyon, 6(8) **(2020)** e04454
- [254] O. Lopez, A. Mazza, L. Coderch, C. Lopez-Iglesias, E. Wehrli, J.L. Parra, FEBS Letters, 426(3) **(1998)** 314-318
- [255] L. Liang, L. Cheng, Y. Zhang, Q. Wang, Q. Wu, Y. Xue, X. Meng, RSC Advances, 10 **(2020)** 28509-28515

EKLER

EK.1 Kalibrasyon Grafikleri



Metilen mavisinin Nanodrop Uv-vis kalibrasyon grafiği



Rodamin-b'nin Uv-vis kalibrasyon grafiği

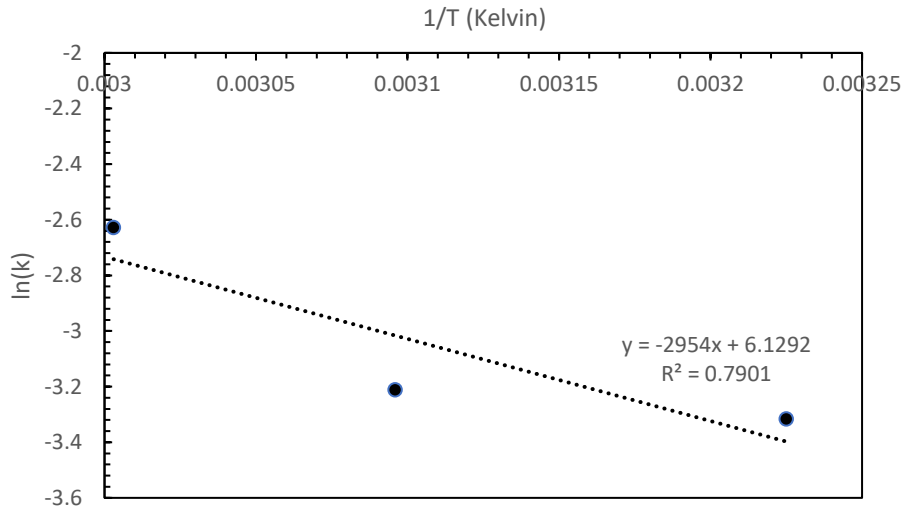
EK 2. Aktivasyon Enerjisinin Hesaplanması

Arrhenius Eşitliği;

$$k = Ae^{-Ea/RT}$$

$$\ln k = -\frac{Ea}{R} \cdot \frac{1}{T} + \ln A$$

Bu denklem $y=mx+n$ şeklinde düzenlendiğinde $\ln k$ 'ya karşı $1/T$ grafiğinin eğimi $-Ea/R$ değerini vermektedir.



$$m = -2954$$

$$-\frac{Ea}{R} = -2954$$

$$R = 8.314 \text{ j/molK}$$

$$E_a = 24559 \text{ kj/mol}$$

$$E_a = 24.55 \text{ kj/mol}$$

EK 3. Fototermal Dönüşüm Verimliliklerinin Hesaplanması

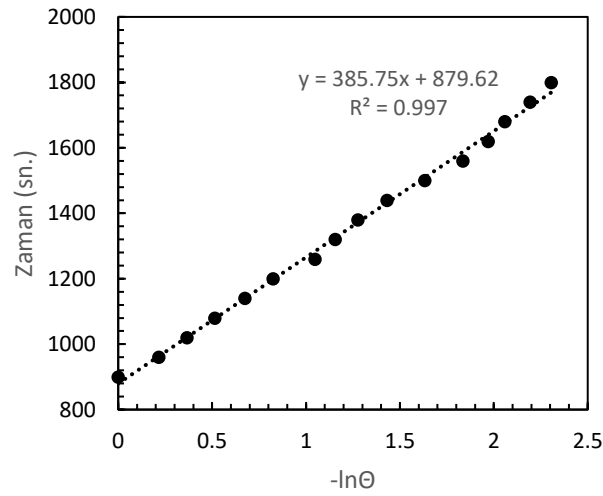
$$\eta = \frac{hS(T_{\text{maks}} - T_{\text{çevre}}) - Q_{\text{dis}}}{I(1 - 10^{-\lambda})}$$

$$\theta = \frac{T - T_{\text{çevre}}}{T_{\text{çevre}} - T_{\text{maks}}}$$

$$T_{\text{çevre}} = 20^\circ\text{C}$$

$$T_{\text{maks}} = 45.1^\circ\text{C}$$

$$t = -\tau_s \ln(\theta)$$



Grafiğin eğiminden $\tau_s = 385.75$

$$hS = \frac{m_D C_D}{\tau_s}$$

$$m_D = 1.5 \text{ g}$$

$$C_D = 4.18 \text{ j/g}^\circ\text{C}$$

Suyun bu koşullardaki sıcaklık artışı 0.9°C

$$A = 0.361$$

$$I = 2.5 \text{ W}$$

$$hS = \frac{1.5 \text{ g} \cdot 4.18 \text{ j/g}^\circ\text{C}}{385.75 \text{ s}} = 0.016 \text{ mW/}^\circ\text{C}$$

$$Q_{\text{dis}} = mC\Delta T = 1.5 \text{ g} \cdot 4.18 \frac{\text{j}}{\text{g}^\circ\text{C}} \cdot 0.9^\circ\text{C} = 5.64 \text{ j} = 0.00627 \text{ W (t = 900s)}$$

$$\eta = \frac{0.016 \text{ s} \cdot (45.1 - 20^\circ\text{C}) - 0.00627 \text{ W}}{2.5 \text{ W} \cdot (1 - 10^{-0.361})} \cdot 100 = \%25.71$$

EK 4. Vezikül Kaplaması İçin Gerekli ZIF-8 Miktarının Hesaplanması

$$N = \frac{((4\pi r^2) + 4\pi(r - h)^2)}{a}$$

$$r = 200 \text{ nm}$$

$$a = 0.65 \text{ nm}^2$$

C-C bağ uzunluğu 1.54 Å°

11 Karbon 16.94 Å°

2 katman;

$$h = 3.4 \text{ nm}$$

$$N = \frac{((4\pi 200^2) + 4\pi(200 - 3.4)^2)}{0.65} = 1520561 \text{ lipit/vezikül}$$

5 mM'lı bir çözeltide;

$$\frac{0.005 \text{ M} \cdot (6.02 \cdot 10^{23})}{1520561 \cdot 1000} = 1.96 \cdot 10^{12} \text{ vezikül/ml}$$

200 nm yarıçaplı bir vezikülün yüzey alanı;

$$4\pi r^2 = 502654 \text{ nm}^2$$

100 nm yarıçaplı bir ZIF-8 kristalinin kesit alanı

$$\pi r^2 = 31400 \text{ nm}^2$$

Bir vezikülün tamamen kaplanması için gerekli ZIF-8 sayısı;

$$\frac{502654}{31400} = 16$$

ZIF-8'in partikül sayısı için;

$$V = \frac{4}{3} \pi (100 \cdot 10^{-7} \text{ cm}^2)^3 = 6.97 \cdot 10^{-16} \text{ cm}^3 / \text{partikül}$$

Yoğunluk=0.95;

$$\frac{1}{\frac{6.97 \cdot 10^{-16} \text{ cm}^3}{\text{partikül}} \cdot 0.95 \frac{\text{g}}{\text{partikül}}} = 1.51 \cdot 10^{15} \text{ partikül/gram}$$