

**ALTIN NANOPARTİKÜLLER İLE DEKORE EDİLMİŞ
METAL ORGANİK ÇERÇEVE/LİPİT HİBRİT
YAPILARININ HAZIRLANMASI VE
KARAKTERİZASYONU**

**PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF
METAL ORGANIC FRAMEWORK/LIPID HYBRID
STRUCTURE DECORATED WITH GOLD
NANOPARTICLES**

BÜŞRA TOPRAK

PROF. DR. NİHAL AYDOĞAN

Tez Danışmanı

DR. ÖĞR. ÜYESİ GÖKÇE DİCLE KALAYCIOĞLU

Tez Eş Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2024

Canım Babama...

ÖZET

ALTIN NANOPARTİKÜLLER İLE DEKORE EDİLMİŞ METAL ORGANİK ÇERÇEVE/LİPİT HİBRİT YAPILARININ HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONU

BÜŞRA TOPRAK

Yüksek Lisans, Kimya Mühendisliği Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nihal AYDOĞAN

Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi G. Dicle KALAYCIĞLU

Ocak 2024, 142 sayfa

İlaç salım sistemleri (DDS), istenen terapötik etkiyi güvenli bir şekilde elde etmek için aktif farmasötik molekülleri, vücutta iletilmesi hedeflenen bölgeye taşımak amacıyla kullanılmaktadır. Son yıllarda, ilaç salım sistemlerinin tasarımında üzerinde durulan konulardan biri de kombine tedavilere imkân sağlayan hibrit yapıların oluşturulmasıdır. Bu sayede, kemoterapi ve fototermal terapi gibi tedavilerin birlikte uygulanması sayesinde, kontrollü ve hedefli ilaç salımı sağlanmakta ve fonksiyonelleştirilmiş yapı ile vücuda alınacak olan kimyasalın dozu minimuma indirgenerek sinerjistik bir etki yaratılabilmektedir. DDS tercihi yapılırken göz önünde bulundurulması gereken en önemli özelliklerden biri de taşıyıcı sistemlerin gözenekli yapısıdır. Gözenekli malzemeler kategorisinde, metal organik çerçeveler (MOF) malzeme bilimi ve kimya mühendisliğinin birçok alanında kullanılan önemli yapılardan biridir. Bu çalışmada, toksik olmayan metal iyonu olarak potasyum ve biyouyumlu organik ligand olarak β -siklodekstrin seçilerek solvotermal/sonikasyon/buhar difüzyon yöntemi ile yüksek yüzey alanı ve gözenekliliğe sahip β -siklodekstrin-MOF (CD-MOF) yapısı sentezlenmiştir. CD-MOFların karakterizasyonu optik mikroskop, XRD, SEM, AFM ve FTIR ile gerçekleştirilmiştir. CDlerin dış yüzeyi hidrofilik, kavitesi ise hidrofobik bir yapıya sahiptir. Böylece elde edilen CD-MOFların gözeneklerine hidrofobik moleküllerin alınması sağlanabilmektedir. Ancak CD-MOF yapısının su içerisinde su içerisinde çözünmesinden dolayı sistemin stabilitesi oldukça düşüktür. Bu sebeple, CD-MOFların yüzeyi 1H,1H,2H,2H-Perfloro-1-dekanol ile kaplanmış ve sudaki stabilitesi

artırılabilmiştir. Böylece ilaç taşıyıcı sistemin temel parçası olan CD-MOF'ların sudaki dayanıklılığı artırılmış ve bundan sonra gerçekleştirilecek olan işlemler için uygun bir zemin hazırlanmıştır. CD-MOF'ların kavitesine yüklenmek üzere molekül yapısı ve sudaki çözünürlüğü farklı olan kurkumin ve orange OT molekülleri model olarak seçilmiştir. Model moleküllerin CD-MOF'lara enkapsülasyonu sentez esnası ve sentez sonrası olmak üzere iki farklı yöntemle sağlanmıştır. Sentez esnasında model moleküllerin enkapsülasyonu daha yüksek oranlarda gerçekleştirilebildiği için bu yöntemle devam edilmiş ve model moleküllerin salım performansı incelenmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalara bakıldığında MOF'lar lipit temelli taşıyıcı sistemler gibi biyomoleküllerin yapısına kolay bir şekilde entegre edilerek her iki sistemin de avantajlarını bünyesinde barındırabildikleri görülmüştür. Tez çalışması kapsamında, florokarbon kaplı CD-MOF'ların (FTOH@CD-MOF) yüzeyi lipit çift tabakası ile kaplanmıştır. Lipit@FTOH@CD-MOF (lipit kompozit yapısı ile kolloidal stabilitenin sağlanması ve hücrel etkileşimin artırılması hedeflenmiştir. Ardından, Lipit@FTOH@CD-MOF yüzeyi kombine bir tedavi sağlayabilmesi için fototermal terapi ajanı olan altın nanopartiküller ile kaplanmıştır. Bu işlem, partiküllerin yüzeyinde altınların oluşturulması ile sağlanmıştır. Lipit kaplamasının en dış katmanda olmasının avantajı ve fototermal terapi üzerindeki etkisinin incelenebilmesi için FTOH@CD-MOF yapısı tam tersi olarak önce altın sonra lipit ile kaplanmıştır. Bu Au@Lipit@FTOH@CD-MOF ve Lipit@Au@FTOH@CD-MOF yapılarının elde edilmesinden sonra 808 nm'ye dalga boyuna sahip bir lazer ile fototermal etkileri incelenmiştir. Her iki partikülün de lazer altında termal kamera ile sıcaklığı ölçülmüş ve sıcaklık artışının sağlanabildiği görülmüştür. Lipit@Au@FTOH@CD-MOF yapısında altın kaplamasının arada olması altınların partiküllerinin yüzeyden ayrılması engellenmiş ve aynı güçte ve aynı miktar altın ile daha yüksek sıcaklara çıkılmasını sağlamıştır. Au@Lipit@FTOH@CD-MOF ve Lipit@Au@FTOH@CD-MOF yapılarının karakterizasyonu optik mikroskop, floresan mikroskop, zeta potansiyeli, SEM-EDX ve AFM ile gerçekleştirilmiştir.

Son olarak, Au@Lipit@FTOH@CD-MOF yapılarının farklı uygulama alanlarında işlevselliğinin de gösterilebilmesi peroksidaz benzeri enzim etkisi gösterilmiştir. Çalışma sonucunda, Au@Lipit@FTOH@CD-MOF ve Lipit@Au@FTOH@CD-MOF ile kemoterapi ve fototermal terapinin tek bir ilaç taşınım sisteminde gerçekleştirilmesini sağlayan, farklı fizikokimyasal özelliklere sahip ilaç etken maddelerinin yapıya yüksek oranda yüklenebilmesine ve kontrollü salımının gerçekleştirilmesine; ayrıca enzim

benzeri etki göstermesiyle farklı uygulamalarda da kullanımı olan çok fonksiyonlu yapılar elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Siklodekstrin, Metal Organik Çerçevesel, Kontrollü İlaç Salımı, MOF/Lipit Hibrit Yapı, Fototermal Terapi Nanozim

ABSTRACT

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF METAL ORGANIC FRAMEWORK/LIPID HYBRID STRUCTURE DECORATED WITH GOLD NANOPARTICLES

BÜŞRA TOPRAK

Master of Science, Department of Chemical Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Nihal AYDOĞAN

Co-Supervisor: Asst. Prof. Gökçe Dicle KALAYCIOĞLU

January, 2024, 142 pages

Drug delivery systems (DDS) are being used to transport active pharmaceutical molecules to the target area in the body to safely achieve the desired therapeutic effect. In recent years, one of the issues emphasized in the design of drug delivery systems is the creation of hybrid structures that enable combined therapies. By combining treatments such as chemotherapy and photothermal therapy, a controlled and targeted drug release is achieved, and a synergistic effect is created by minimizing the dose of the chemical to be taken into the body with the functionalized structure. One of the most important features to consider when choosing DDS is the porous structure of the carrier systems. In the category of porous materials, metal organic frameworks (MOFs) are one of the important structures used in many areas of materials science and chemical engineering. In this study, β -cyclodextrin-MOF (CD-MOF) structure with high surface area and porosity was synthesized by solvothermal/sonication/vapor diffusion method by selecting potassium as the non-toxic metal ion and β -cyclodextrin as the biocompatible organic ligand. Characterization of CD-MOFs was carried out by optical microscopy, XRD, SEM, AFM and FTIR. The outer surface of CDs has a hydrophilic structure, while the cavity is hydrophobic. As a result, hydrophobic molecules can enter the pores of the resulting CD-MOFs. However, due to the dissolution of the CD-MOF structure in water, the system's stability is quite low. For this reason, the surface of CD-MOFs was coated with 1H,1H,2H,2H-Perfluoro-1-decanol and its stability in water could be increased. Thus, the water resistance of CD-MOFs, which are the basic part of the drug carrier system, was

increased and a suitable basis was prepared for the processes to be carried out from now on. Curcumin and orange OT molecules, which have different molecular structures and water solubility, were selected to be loaded into the cavity of CD-MOFs. Encapsulation of model molecules into CD-MOFs was achieved by two different methods: during synthesis and after synthesis. Since the encapsulation of model molecules can be achieved at higher rates during synthesis, this method was carried out and the release performance of the model molecules was examined. Considering the studies carried out in recent years, MOFs can be easily integrated into the structure of biomolecules such as lipid-based carrier systems and can incorporate the advantages of both systems. Within the scope of the thesis study, the surface of fluorocarbon-coated CD-MOFs (FTOH@CD-MOF) was covered with a lipid bilayer. Lipit@FTOH@CD-MOF with its lipid composite structure, it is aimed to ensure colloidal stability and increase cellular interaction. Then, the Lipit@FTOH@CD-MOF surface is coated with gold nanoparticles, which are photothermal therapy agents, to provide a combination therapy. This process is carried out on the surface of the particles. In order to examine the advantage of the lipid coating in the outermost layer and its effect on photothermal therapy, the FTOH@CD-MOF structure was first coated with gold and then with lipid. This is Au@Lipit@FTOH@CD-MOF and Lipit@Au@FTOH@CD-MOF. After obtaining the FTOH@CD-MOF structures, their photothermal effects were examined with a laser with a wavelength of 808 nm. The temperature of both particles was measured with a thermal camera under the laser and it was seen that the temperature increase could be achieved. In the Lipid@Au@FTOH@CD-MOF structure, the presence of gold coating prevented the gold particles from falling off the surface and enabled higher temperatures to be reached with the same power and the same amount of gold. Characterization of Au@Lipit@FTOH@CD-MOF and Lipit@Au@FTOH@CD-MOF structures was carried out by optical microscope, fluorescence microscope, zeta potential, SEM-EDX and AFM. Finally, the functionality of Au@Lipit@FTOH@CD-MOF structures in different application areas can be demonstrated and their peroxidase-like enzyme effect has been demonstrated. As a result, multifunctional structures have been obtained with the ability to carry out chemotherapy and photothermal therapy in a single drug delivery system using Au@Lipit@FTOH@CD-MOF and Lipid@Au@FTOH@CD-MOF. This allows for the high loading of drug active substances with different physicochemical properties into the structure and enables controlled release. Additionally, these structures exhibit enzyme-like effects, making them suitable for various applications.

Keywords: Cyclodextrin, Metal Organic Frameworks, Controlled Drug Release, MOF/Lipid Hybrid Structure, Photothermal Therapy, Nanozyme

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez süresince desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, ne zaman ihtiyacım olsa desteği, bilgisi ve tecrübesiyle yoluma ışık tutan, bu çalışmanın gerçekleşmesinde sonsuz katkısı bulunan, umutsuz olduğum anlarda beni yapabileceğim konusunda cesaretlendiren, araştırma grubunda çalışmaktan ve ortaya koyduğumuz çalışmamızdan gurur ve mutluluk duyduğum hem akademik hem bireysel gelişimimde üzerimde çok büyük emeği bulunan değerleri danışmanım ve hocam sayın Prof. Dr. Nihal Aydoğan'a, Fikirleri ve desteğiyle bu çalışmayı birlikte çok güzel bir noktaya ulaşmasını sağlayan, güler yüzü ve sonsuz anlayışı ile hep yanımda olan, en umutsuz olduğum anlarda yanımda olmasıyla birçok şeyi çok daha kolay hale gelmesini sağlayan, kendisiyle çalıştığım için kendimi çok şanslı ve mutlu hissettiğim, pozitif enerjisi, bilgi ve fikirleriyle yolumu aydınlatan kıymetli eş danışmanım ve hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Gökçe Dicle Kalaycıoğlu'na,

Hem lisans hayatım süresince hem de sonrasında her zaman yanımda olan, tez savunma jürimdeki varlığıyla beni çok mutlu eden, henüz bir lisans öğrencisiyken bana laboratuvarında çalışma imkânı sunan, bilgi ve tecrübesiyle her zaman ufkumu açan, öğrendiğim pek çok şeyi kendisine borçlu olduğum, bundan sonrasında da bu yolda birlikte yürümeye devam edeceğimiz için gurur ve mutluluk duyduğum çok kıymetli Hocam sayın Prof. Dr. Emine Yağmur'a,

Bu tez çalışmasını Hızlı Destek Projesi (Proje No: 20029) kapsamında destekleyen Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne

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

Bu süreç içerisinde benim için yalnızca çalışma arkadaşı olmaktan ziyade çok iyi dost olduğumuz, aynı çalışma ortamında bulunmaktan, birlikte çalışmaktan ve vakit geçirmekten çok büyük keyif aldığım, her ihtiyacım olduğunda yanımda olan Aydoğan Araştırma Grubu Üyeleri Naz, Hürmet, Burcu, Güşta, Emin, Emine, Gülce, Güliz ve Cansu'ya,

Her ne kadar yüksek lisansa başlamamız ile yollarımız kesişse de yıllardır birbirimizin hayatındaymışız gibi hissettiğim, her kararında yanımda olan, zaman fark etmeksizin hala her sorunumda verdiği güven ile benim için işleri kolaylaştıran, ne kadar teşekkür etsem az kalacağını düşündüğüm canım arkadaşım Guşta'ya,

Tüm hayatım boyunca hep yanımda olan, hayallerimi gerçekleştirmem için ellerinden geleni yapan, tüm imkanlarını hem eğitimim hem de iyi bir insan olmam için kullanan, beni her zaman yapabileceğime inandıran ve cesaretlendiren canım annem, babam ve kız kardeşlerim Esra ve Zehra'ya,

Kendimi bildim bileli hep yanı başımda olan, hem kardeşlik hem de arkadaşlık kavramını bana öğreten, bu hayatta karşımıza ne kadar zorluk çıkarsa çıksın birlikte üstesinden geleceğimizi bildiğim, ablası olmama rağmen bana gerektiği zaman ablalık yapan, kardeşim olduğu için kendimi çok şanslı hissettiğim, canım kardeşim Esra'ya,

Ve bu süreçte benim yanımda olup desteğini esirgemeyen kahrımı çekmiş herkese

sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Büşra TOPRAK

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER	viii
ÇİZELGELER	xi
ŞEKİLLER.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvii
1.GİRİŞ.....	1
1. GENEL BİLGİLER	6
2.1 İlaç Salım Sistemleri.....	6
2.2 Siklodekstrinler.....	8
2.3 Metal Organik Çerçevesel (MOF)	10
2.3.1 Siklodekstrin-Metal Organik Çerçevesel (CD-MOF).....	14
2.4 Lipit Temelli İlaç Salım Sistemleri.....	17
2.5 MOF-Lipit Hibrit Yapıları.....	20
2.6 Altın Nanopartiküller (AuNP) ve Fototermal Terapi	22
2.7 Nanozim.....	23
2.7.1 Altın Nanozimler.....	26
2.7.2 Peroksidaz Benzeri Etki Gösteren Nanozimler	27
2.7.3 Nanozimin Uygulama Alanları	28
2.8 Michaelis – Menten Kinetiği	29
2. DENEYSEL YÖNTEMLER	33
3.1 Kimyasal Maddeler.....	33
3.2 CD-MOF'ların Hazırlanması ve Karakterizasyonu.....	33

3.3 CD-MOF'un Florokarbonlu Ligand ile Kaplanması	38
3.4 CD-MOF Yapısının Stabilitésinin İncelenmesi	38
3.5 CD-MOF'lara Etken Madde Enkapsülasyonu	38
3.6 Au@Lipit@FTOH@CD-MOF ve Lipit@Au@FTOH@CD-MOF Yapılarının Hazırlanması	40
3.6.1 Tasarım Au@Lipit@FTOH@CD-MOF	40
3.6.2 Tasarım Lipit@Au@FTOH@CD-MOF	41
3.7 Hibrit Yapının Fototermal Terapi ve Etken Madde Alım/Salımı Amacıyla Kullanılabilirliğinin İncelenmesi	42
3.8 Au@DPPC@FTOH@CD-MOF Partiküllerinin Peroksidaz Aktivite Ölçümleri .	43
3.9 Sentezlenen CD-MOF'ların ve Hibrit Yapıların Karakterizasyonu	44
3.9.1 Optik Mikroskop.....	44
3.9.2 Floresan Mikroskop	45
3.9.3 Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM):.....	45
3.9.4 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	46
3.9.5 Ultraviyole ve Görünür Işık (UV-Vis) Absorpsiyon Spektroskopisi.....	47
3.9.6 X-Işınları Difraktometresi (XRD)	48
3.9.7 Dinamik Işık Saçınım Yöntemi (DLS)	48
3.9.8 Liyofilizatör	50
3.9.9 Sürekli Dalga Lazeri	50
3. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	51
4.1 CD-MOF'ların Hazırlanması ve Karakterizasyonu	51
4.1.2 Buhar Difüzyon Yöntemi ile CD-MOF Sentezi	51
4.1.2. K ₂ CO ₃ ile CD-MOF Sentezi	56
4.1.3 Sonikasyon Yöntemi ile CD-MOF Sentezi.....	57
4.1.4 Sonikasyon/Buhar Difüzyon Yöntemi ile CD-MOF Sentezi.....	61
4.1.5 Solvotermal/Sonikasyon Yöntemi ile CD-MOF Sentezi.....	63
4.1.6 Solvotermal/Sonikasyon/Buhar Difüzyon Yöntemi ile CD-MOF Sentezi	64

4.2 CD-MOF'ların Yüzeyinin Florokarbonlu Ligand ile Kaplanması	67
4.3 CD-MOF Yapısının Stabilitésinin İncelenmesi	71
4.4 CD-MOF'lara Etken Madde Enkapsülasyonu	75
4.4.1 Kurkumin Enkapsülasyonu	75
4.4.2 Orange OT Enkapsülasyonu	80
4.5 Au@Lipit@FTOH@CD-MOF ve Lipit@Au@FTOH@CD-MOF Yapılarının Hazırlanması	88
4.5.1 Au@Lipit@FTOH@CD-MOF Yapısının Oluşturulması ve Karakterizasyonu	89
4.5.2 Lipit@Au@FTOH@CD-MOF Yapısının Oluşturulması ve Karakterizasyonu	99
4.6 Hibrit Yapının Fototermal Terapi ve Etken Madde Alım/Salımı Amacıyla Kullanılabilirliğinin İncelenmesi	106
4.6.1 Au@lipit@FTOH@CD-MOF Yapısının Fototermal Özelliklerinin Araştırılması	106
4.6.2 Lipit@Au@FTOH@CD-MOF Yapısının Fototermal Özelliklerinin Araştırılması	112
4.7 Lipit@Au@FTOH@OT@CD-MOF ve Au@Lipit@FTOH@OT@CD-MOF Etken Madde Alım/Salımı Amacıyla Kullanılabilirliğinin İncelenmesi	116
4.8 Au@DPPC@FTOH@CD-MOF Partiküllerinin Peroksidaz Aktivite Ölçümleri	119
4. SONUÇLAR	125
KAYNAKLAR	131

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1. DDS olarak kullanımı bulunan MOF'lar ve kapsüllen etken maddeler	13
Çizelge 2.2. Farklı sentez yöntemlerinin avantajları ve dezavantajları [56].	16
Çizelge.2.3. Farklı CD-MOF'lara yüklenen etken maddelerin bilgisi	17
Çizelge 2.4 Nanozim, doğal enzim ve nanomalzeme bazlı katalizörlerin avantajları ve dezavantajları [99]	25
Çizelge 2.5. Nanozim aktivitesi değerlendirilen bazı AuNP ve türevleri	27
Çizelge 4.1. Çeşitli parametrelerin buhar difüzyon yöntemi ile elde edilen β -CD-MOF'lara etkisi.....	53
Çizelge 4.2. β -CD'nin FTIR Spekturumunda görülen karakteristik bağ türleri [142]. ..	55
Çizelge 4.3. Çeşitli parametrelerin sonikasyon yöntemi ile elde edilen β -CD-MOF'lara etkisi.....	59
Çizelge 4.4. CD-MOF'un farklı solventler içerisindeki belli zaman aralıklarında alınan optik mikroskop görüntüleri	74
Çizelge 4.5 Kurkuminin β -CD-MOF partiküllerine farklı kütlece yüzdelik oranlarda (1:1,2:3) yüklenmesi sonucu %EE ve %DL değişimleri	76
Çizelge 4.6. Kurkuminin β -CD-MOF partiküllerine kütlece farklı oranlarda (1:20,1:10) yüklenmesi sonucu %EE ve %DL değişimleri	79
Çizelge 4.7. Kurkumin ve Orange OT'nin fizikokimyasal özellikleri	80
Çizelge 4.8. Orange OT'nin β -CD-MOF partiküllerine kütlece farklı oranlarda (1:10,1:2, 1:1) yüklenmesi sonucu %EE ve %DL değişimleri.....	85
Çizelge 4.9. β -CD-MOF, OT@ β -CD-MOF, FTOH@OT@ β -CD-MOF ve Lipit@FTOH@OT@ β -CD-MOF'a ilişkin zeta potansiyel değerleri.....	92
Çizelge 4.10. β -CD-MOF, OT@ β -CD-MOF, FTOH@OT@ β -CD-MOF ve Au@FTOH@OT@ β -CD-MOF ve Lipit@Au@FTOH@OT@ β -CD-MOF a ilişkin zeta potansiyel değerleri.....	104
Çizelge 4.11. Farklı substrat derişimleri için hesaplanan V_0 değerleri.....	122
Çizelge 4.12. Mevcut çalışma ile literatürdeki Michelis-Menten sabiti (K_m) ve maksimum hız (V_{max}) değerlerinin karşılaştırılması.....	124

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Sıklıkla kullanılan ilaç salım sistemlerinin şematik gösterimi	7
Şekil 2.2. (a) CD monomer biriminin yapısı, (b) CD'nin genel şekil ve (c) α -, β - ve γ -CD'lerin yapılarının şematik gösterimi [28].	8
Şekil 2.3. Bir CD (konak) ve bir konuk molekülü arasındaki inklüzyon kompleksi oluşumunun şematik gösterimi [31].	9
Şekil 2.4. MOF yapısının oluşumunun ve biyoteknolojideki kullanım alanlarının şematik gösterimi [34].....	11
Şekil 2.5. CD-MOF'ların oluşumunun şematik gösterimi [52]......	15
Şekil 2.6. Floresan yüklü lipit kaplanmış MOF partiküllerinin sentezinin şematik gösterimi [75].....	21
Şekil 2.7. TMB ile peroksidaz benzeri etkinin gözlemlenmesinin şematik gösterimi....	28
Şekil 2.8. Michaelis-Menten kinetik modelinin şematize gösterimi	31
Şekil 3.1. Buhar difüzyon yöntemi ile sentezlenen β -CD-MOF sentezinin şematik gösterimi	34
Şekil 3.2. K_2CO_3 ile sentezlenen β -CD-MOF sentezinin şematik gösterimi.....	35
Şekil 3.3 Sonikasyon yöntemi ile β -CD-MOF sentezinin şematik gösterimi.....	35
Şekil 3.4. Sonikasyon/Buhar difüzyon yöntemi ile β -CD-MOF sentezinin şematik gösterimi	36
Şekil 3.5. Solvotermal/Sonikasyon yöntemi ile β -CD-MOF sentezinin şematik gösterimi	37
Şekil 3.6. Solvotermal/Sonikasyon/Buhar difüzyon yöntemi ile β -CD-MOF sentezinin şematik gösterimi	37
Şekil 3.7. Au@DPPC@FTOH@CD-MOF partiküllerinin peroksidaz aktivitesinin şematik gösterimi	43
Şekil 3.8. Optik mikroskop cihazının şematik gösterimi.....	44
Şekil 3.9. AFM cihazının şematik gösterimi.....	46
Şekil 3.10. LS cihazının şematik gösterimi	49
Şekil 4.1 A) β -CD-MOF ₁ 'in optik mikroskop görüntüsü, B) β -CD ve β -CD-MOF ₁ 'in FTIR spektrumu.....	54
Şekil 4.2. β -CD-MOF ₁ 'in XRD Spektrumu.....	56

Şekil 4.3. A) K_2CO_3 ile sentezlenen β -CD-MOF ₉ 'un, B) Aseton ilave edilmiş β -CD-MOF ₉ 'un C) Etanol ile yıkanan β -CD-MOF ₉ 'un optik mikroskop görüntüsü	57
Şekil 4.4. A) β -CD-MOF ₁₀ 'in (%40 güç ile PEG2000), B) β -CD-MOF ₁₀ 'un (%90 Güç ile PEG2000) C) β -CD-MOF ₁₁ 'in (%90 Güç ile CTAB) optik mikroskop görüntüsü	60
Şekil 4.5. A) β -CD-MOF ₁₉ 'un, B) β -CD-MOF ₂₀ 'in XRD Spektrumu	61
Şekil 4.6. Sonikasyon/ Buhar difüzyon yöntemi ile sentezlenen β -CD-MOF'lar A) CTAB ile sentezlenen β -CD-MOF ₂₁ 'un, B) CTAB ile sentezlenen β -CD-MOF ₂₁ 'un yıkama sonrası, C) PEG2000 ile sentezlenen β -CD-MOF ₂₂ 'un, D) PEG2000 ile sentezlenen β -CD-MOF ₂₂ 'un yıkama sonrası optik mikroskop görüntüsü	62
Şekil 4.7. A) Solvotermal/Sonikasyon yöntemi ile sentezlenen β -CD-MOF ₂₃ 'un, B) β -CD-MOF'un boyutunu gösteren optik mikroskop görüntüsü.....	63
Şekil 4.8. A) Sentez bitimindeki β -CD-MOF'un, B) Kurutulmaya bırakılan β -CD-MOF'un 10. dakikadaki, C) Bir gece vakum ile kurutulan β -CD-MOF'un optik mikroskop görüntüsü	65
Şekil 4.9 Solvotermal/Sonikasyon/Buhar difüzyon yöntemi ile sentezlenen CD-MOF'ların AFM görüntüleri.....	66
Şekil 4.10. Solvotermal/Sonikasyon/Buhar difüzyon yöntemi ile sentezlenen CD-MOF'ların SEM görüntüleri	67
Şekil 4.11. CD-MOF'ların suda çözünme anında alınmış optik görüntüleri, A) Su eklenmeden önceki, B) Su eklendikten sonra 1. Saniye, C) Su eklendikten sonraki 5. Saniyedeki CD-MOF'ların optik mikroskop görüntüsü	68
Şekil 4.12. FTOH@CD-MOF'un XRD spektrumu	69
Şekil 4.13. FTOH@CD-MOF'un FTIR spektrumu.....	70
Şekil 4.14. FTOH@CD-MOF'ların optik mikroskop görüntüsü.....	70
Şekil 4.15. FTOH@CD-MOF yapılarının AFM görüntüleri	71
Şekil 4.16. CD-MOFların A) kuru haldeki B) su içerisinde 1. saniyede, C) 10 saniyede, D) 30. saniyede alınan optik mikroskop görüntüsü	72
Şekil 4.17. FTOH@CD-MOFların su içerisindeki A) 1. saat B) 2. saat, C) 4. saat, D) 6. Saatinde alınan optik mikroskop görüntüsü.....	73
Şekil 4.18. A) Kurkumin yüklü β -CD-MOF'ların şematik gösterimi B) 1:20 oranında ilaç enkapsülasyonu yapılan β -CD-MOF'un, C) 1:20 oranında ilaç enkapsülasyonu yapılan β -CD-MOF'un optik mikroskop görüntüsü, D) 1:10 oranındaki β -CD-MOF'un, E) 1:20 oranındaki β -CD-MOF'un kamera görüntüsü	77

Şekil 4.19. A) Kurkumin yüklü β -CD-MOF'ların optik mikroskop görüntüsü B) Kurkumin yüklü β -CD-MOF'un floresan mikroskop görüntüsü.....	78
Şekil 4.20. β -CD-MOF'lardan (1:10,1:20, oranında) kurkumin salım profili (A. 1 gün süresince, B. kısa zamanlı) (salımlar %3 Tween 80 içeren pH 7.4 PBS çözeltisi içerisinde 37°C'de gerçekleştirilmiştir [n=3].).....	79
Şekil 4.21. 1:10 oranında Orange OT kapsüllenen OT@CD-MOFların optik mikroskop görüntüsü	81
Şekil 4.22. A), B) 1:2 oranında C), D) 1:1 oranında orange OT enkapsülasyonu sonucu oluşan CD-MOF'ların optik mikroskop görüntüsü	82
Şekil 4.23. FTOH@OT@CD-MOF'un XRD spektrumu.....	83
Şekil 4.24. OT@CD-MOF yapısının FTIR spektrumu	84
Şekil 4.25. OT@CD-MOF'ların AFM görüntüleri.....	84
Şekil 4.26. β -CD-MOF'lardan (1:10,1:2 ve 1:1 oranında) orange OT salım profili (A. 2 gün süresince, B. kısa zamanlı) (salımlar %3 Tween 80 içeren pH 7.4 PBS çözeltisi içerisinde 37°C'de gerçekleştirilmiştir [n=3].)	86
Şekil 4.27. Florokarbon kaplı (FTOH@CD-MOF) ve kaplı olmayan CD-MOF'lardan A) 2 gün boyunca, B) kısa süreli orange OT salım profili (salımlar %3 Tween 80 içeren pH 7.4 PBS çözeltisi içerisinde 37°C'de gerçekleştirilmiştir [n=3].).....	87
Şekil 4.28. A) β -CD-MOF'ların DPPC ile kaplanmasının şematik gösterimi, B) Lipit kaplı β -CD-MOF'ların kamera görüntüsü, C, D) Lipit kaplı β -CD-MOF'ların optik mikroskop görüntüsü	89
Şekil 4.29. A) DPPC kaplı FTOH@ β -CD-MOF'ların optik mikroskop görüntüsü B) DPPC kaplı FTOH@ β -CD-MOF'ların floresan mikroskop görüntüsü.....	90
Şekil 4.30. FTOH@OT@ β -CD-MOF ve Lipit@FTOH@OT@ β -CD-MOF'un karşılaştırılmalı FTIR spektrumu.....	91
Şekil 4.31. Lipit@FTOH@OT@CD-MOF, FTOH@OT@CD-MOF ve OT@CD-MOF'lardan A) 2 gün boyunca, B) kısa süreli orange OT salım profili (salımlar %3 Tween 80 içeren pH 7.4 PBS çözeltisi içerisinde 37°C'de gerçekleştirilmiştir [n=3].)	93
Şekil 4.32. A) Lipit@FTOH@OT@ β -CD-MOF'ların AA kullanılarak altın ile kaplanması sonucu gözlenen renk değişiminin kamera görüntüleri, Çözeltiye askorbik asit eklendikten B) 5 dakika, C) 15 dakika sonraki Au@Lipit@FTOH@OT@ β -CD-MOF'ların optik mikroskop görüntüleri	94
Şekil 4.33. A) Lipit@FTOH@OT@ β -CD-MOF'ların NaBH ₄ kullanılarak altın ile kaplanması sonucu gözlenen renk değişiminin kamera görüntüleri, NaBH ₄ eklendikten B)	

5 dakika, C) 15 dakika sonraki Au@Lipit@FTOH@OT@β-CD-MOF'ların optik mikroskop görüntüleri.....	95
Şekil 4.34 A) Lipit@FTOH@OT@β-CD-MOF'ların FeSO ₄ kullanılarak altın ile kaplanması sonucu gözlenen renk değişiminin kamera görüntüleri, FeSO ₄ eklendikten B) 5 dakika, C) 15 dakika sonraki Au@Lipit@FTOH@OT@β-CD-MOF'ların optik mikroskop görüntüleri.....	97
Şekil 4.35. A) Lipit@FTOH@OT@CD-MOF, B) Au@Lipit@FTOH@OT@CD-MOF yapılarının AFM görüntüleri.....	98
Şekil 4.36. Au@Lipit@FTOH@OT@β-CD-MOF'un A) SEM görüntüsü B) EDX analizi	99
Şekil 4.37. A) FTOH@OT@β-CD-MOF'ların FeSO ₄ kullanılarak altın ile kaplanması sonucu gözlenen renk değişiminin kamera görüntüleri, FeSO ₄ eklendikten B) 5 dakika, C) 15 dakika sonraki Au@FTOH@OT@β-CD-MOF'ların optik mikroskop görüntüleri	100
Şekil 4.38. A) Au@FTOH@OT@CD-MOF'un B) OT@CD-MOF, FTOH@OT@CD-MOF ve Au@FTOH@OT@CD-MOF'un XRD spektrumu	101
Şekil 4.39. Au@FTOH@OT@CD-MOF'ların A) optik mikroskop görüntüsü B) floresan mikroskop görüntüsü	102
Şekil 4.40. A) Au@FTOH@OT@CD-MOF B,C) Lipit@Au@FTOH@OT@CD-MOF'ların AFM görüntüleri.....	103
Şekil 4.41. Lipit@Au@FTOH@CD-MOF'un A) SEM görüntüsü B) EDX analizi	105
Şekil 4.42. Farklı indirgeyici ajanların kullanılmasıyla elde edilen Au@lipit@FTOH@CD-MOF partiküllerine uygulanan NIR ışınması altında alınan zamana karşı sıcaklık profilleri ve optik mikroskop görüntüleri A) AA, B) NaBH ₄ , C) FeSO ₄ (808 nm λ, 1.5 W/cm ²)	107
Şekil 4.43. Farklı indirgeyici ajanların kullanılmasıyla elde edilen Au@lipit@FTOH@CD-MOF'ların lazer uygulanma esnasında alınan termal kamera görüntüleri A) AA, B) NaBH ₄ , C) FeSO ₄ (808 nm λ, 1.5 W/cm ²).....	108
Şekil 4.44. Farklı oranlarda HAuCl ₄ 'ün NaBH ₄ ile yüzeye indirgenmesi sonucu elde edilen Au@Lipit@FTOH@CD-MOF partiküllerine uygulanan NIR ışınması ile elde edilen zamana karşı sıcaklık profilleri (808 nm λ, 1.5 W/cm ²)	109
Şekil 4.45. 0.50 mg/ml konsantrasyonda Au@lipit@FTOH@CD-MOF, Lipit@FTOH@CD-MOF, FTOH@CD-MOF ve OT@CD-MOF partiküllerine NIR ışınması altında elde edilen sıcaklık profilleri (808 nm λ, 1.5 W/cm ²)	110

Şekil 4.46. Au@Lipit@FTOH@CD-MOF yapılarının A) 3 döngü boyunca NIR ışınması altındaki açma-kapama döngüleri B) Fototermal Dönüşüm Verimliliği (808 nm λ , 1.5 W/cm ²).....	111
Şekil 4.47. Au@Lipit@FTOH@CD-MOF yapılarına 3 döngü boyunca uygulanan lazerin ardından alınan optik mikroskop görüntüsü	112
Şekil 4.48. 0.50 mg/ml konsantrasyonda Au@lipit@FTOH@CD-MOF, ve Lipit@Au@FTOH@CD-MOF, partiküllerinin NIR ışınması altında elde edilen sıcaklık profilleri (808 nm λ , 1.5 W/cm ²)	113
Şekil 4.49. 0.50 mg/ml konsantrasyonda Lipit@Au@FTOH@CD-MOF, yapısına uygulanan farklı güçlerde elde edilen sıcaklık profilleri (808 nm λ).....	114
Şekil 4.50. Lipit@Au@FTOH@CD-MOF yapılarının A) 3 döngü boyunca NIR ışınması altındaki açma-kapama döngüleri B) Fototermal Dönüşüm Verimliliği (808 nm λ , 1 W/cm ²).....	115
Şekil 4.51. Lipit@Au@FTOH@CD-MOF yapılarına 3 döngü boyunca uygulanan lazerin ardından alınan optik mikroskop görüntüsü	116
Şekil 4.52. Tetiklenmemiş ve tetiklenmiş Lipit@Au@FTOH@OT@CD-MOF ve Au@Lipit@FTOH@OT@CD-MOF'lardan A) 2 gün boyunca, B) kısa süreli orange OT salım profili (salımlar %3 Tween 80 içeren pH 7.4 PBS çözeltisi içerisinde 37°C'de gerçekleştirilmiştir [n=3].).....	118
Şekil 4.53. TMB'nin yükseltgenme reaksiyonu	119
Şekil 4.54. Peroksidaz aktivite ölçümleri için alınan zaman karşı absorbands değişimleri. (Absorbans= 652 nm)	120
Şekil 4.55 A) Farklı H ₂ O ₂ derişimine sahip reaksiyon ortamlarında Au@DPPC@FTOH@CD-MOF partiküllerinin TMB oksidasyonu sonucu zamanla alınan absorbands değerleri B) 50 mM H ₂ O ₂ konsantrasyonunda zamanla alınan kamera görüntüleri (Partikül derişimi: 250 μ g/ml, reaksiyon pH değeri: 4.0, reaksiyon sıcaklığı:34 °C, TMB konsantrasyonu: 800 μ M).....	121
Şekil 4.56. Au@DPPC@FTOH@CD-MOF partikülleri için A) Michelis-B) Lineweaver Burk grafikleri (Partikül derişimi: 250 μ g/ml, reaksiyon pH değeri: 4.0, reaksiyon sıcaklığı:34 °C, TMB konsantrasyonu: 800 μ M).....	123

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

η	Fototermal Dönüşüm Verimliliği
h	Isı Transfer Katsayısı
S	Kuvars Banyosunun Yüzey Alanı
T_{\max}	Maksimum Sabit Dağılım Sıcaklığı
T_{surr}	Ortam Sıcaklığı
I	Lazer Gücü
λ	Çözeltinin Absorbansı
θ	θ
K_m	Michaelis-Menten Sabiti
V_{\max}	Maksimum Hız
V_0	İlk Hız
$[S]$	Substrat Derişimi
$[E]$	Enzim Derişimi
$[ES]$	Enzim-Substrat Kompleks Derişimi
C	Derişim
ε	Molar Absorpsiyon Katsayısı
l	Optik Yol Uzunluğu
k_B	Boltzman Sabiti
R_h	Hidrodinamik Yarıçap
μ	Viskozite

Kısaltmalar

AA	Askorbik Asit
AFM	Atomik Kuvvet Mikroskobu
AuNP	Altın Nanopartikül
BET	Branauer-Emmett-Teller
CD	Siklodekstrin
CD-MOF	Siklodekstrin-Metal Organik Çerçeve

CTAB	Setiltrimetil Amonyum Bromür
DDS	İlaç Salım Sistemi
DPPC	Dipalmitolfosfatidilkolin
FTOH	1H,1H,2H,2H-Perfloro-1-Dekanol
HRP	HRP
KOH	Potasyum Hidroksit
LS	Dinamik Işık Saçınımı
MOF	Metal-Organik Çerçeve
NIR	Yakın-İnfrared
OT	Orange OT
PBS	Fosfat Tampon Çözeltisi
PEG	Polietilen Glikol
PTT	Fototermal Terapi
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
TMB	3,3',5,5'-Tetrametilbenzidin
Uv-Vis	Ultraviyole ve Görünür Işık Spektrofotometre
XRD	X-Işını Kırınımı

1.GİRİŞ

Akıllı ilaç taşıyıcı sistemlerin tasarımında terapötik etkinlik ile minimum yan etki arasındaki optimal dengenin kurulması süregelen problemlerin başında gelmektedir. İdeal bir taşıyıcı sistemin ilaç moleküllerinin hastalık bölgesinde seçici olarak birikmesi, terapötik yüklerini kontrollü bir şekilde serbest bırakması ve uzun süreli aktivite göstermesi beklenmektedir. Özetle ilaç taşıyıcı sistemler istenen terapötik sonuçları elde etmek için etken maddenin vücutta etkili ve güvenli bir şekilde taşınması için tasarlanmış formülasyonlardır. Geleneksel ilaç salım sistemleri (DDS) genellikle, ilaçların kontrolsüz bir şekilde salınması sebebiyle birçok yan etkiye sebep olmaktadır. Yeni nesil DDS'ler ise terapötik ajanların hedeflendiği konuma taşınmasını ve kontrollü bir şekilde etken maddenin salınmasını amaçlamaktadır [1-3].

Geleneksel DDS'lerin aksine, akıllı ve kontrollü DDS'ler, uzun süreler boyunca spesifik olarak organ veya dokularda etken madde konsantrasyonunu koruyarak, doz alım sıklığının azaltılmasını sağlamaktadır. Doz sıklığının azaltılması ile etken madde toksisitesinin azaltılması ve sonuç olarak terapötik etkinliğinin artırılabilirdiği potansiyeline sahip bir DDS geliştirilebilmektedir. Akıllı bir DDS sisteminin geliştirebilmesi için son zamanlarda farklı biyofonksiyonel özelliklere sahip yapıların bir araya getirilerek etkin bir tedavinin gerçekleştirilmesi hedeflenmektedir. Temel olarak, DDSlerin tasarımında biyoyumluluk, biyobozunur, stabilite ve ilaç kapsülleme verimliliği gibi parametreler dikkate alınmaktadır. Bu amaçla, lipitler, polimerler ve inorganik bileşikler gibi birçok malzeme DDS olarak kullanılmaktadır [4-6].

Son yıllarda, Metal-Organik Çerçevesel (MOF), dikkat çekici özellikleri ve farklı alanlardaki çeşitli uygulamaları nedeniyle büyük ilgi gören yapılardır. Koordinasyon polimerleri kategorisine ait olan MOF'lar, metal iyonları veya kümeleri ile organik bağlayıcıların sinerjik birleşiminden ortaya çıkmaktadır. Bu benzersiz kombinasyon, bir, iki veya üç boyuta yayılabilen, özelleştirilebilir gözenek boyutları, geniş yüzey alanları ve çok yönlü işlevler gibi olağanüstü nitelikler sergileyen yapılar sağlamaktadır. MOF sentezinde kullanılan metal iyonları, geçiş metalleri ve p-blok elementlerinden alkali ve toprak alkali metallerine kadar uzanmaktadır. Benzer şekilde, organik bağlayıcı olarak da karboksilatlar, fosfonatlar, sülfonatlar, piridiller, imidazolatlar ve azolatlar

kullanılmaktadır. Metal iyonları ve bağlayıcılardaki bu çeşitlilik, zeolitler ve aktif karbonlar gibi geleneksel gözenekli malzemelerinkini geride bırakarak 1000 ila 10.000 m²/g arasında değişen yüzey alanlarına sahip MOF'ların oluşturulmasına katkıda bulunmaktadır. Sonuç olarak MOF'lar, ilaç salımı ve taşınımındaki önemli rollerinin yanı sıra enerji depolama, kataliz, CO₂ adsorpsiyonu ve hatta kozmetik dahil olmak üzere bir dizi sektörde kullanım alanı bulmaktadır [7].

MOF'ların ayarlanabilir gözenek boyutları, yüksek yüzey alanları ve çok işlevli yetenekleri gibi olağanüstü özellikleri, onları çeşitli uygulamalarda paha biçilmez bileşenler haline getirmektedir. Özellikle biyouyumlulukları, biyolojik olarak parçalanabilirlikleri ve minimum sitotoksisiteyi MOF'ları özellikle biyomedikal uygulamalar için uygun hale getirmektedir. Bu bağlamda ilaç salımı ve terapötik müdahalelerdeki potansiyelleri nedeniyle dikkat çekmektedirler. MOF'lar, ilaç taşıyıcı sistemleri olarak heyecan verici bir potansiyel sunmaktadır. MOF'ların DDS olarak kullanımında ve vücutta etkili ilaç taşınmasına ilişkin mevcut zorluklara çözüm bulmak için çalışmalar sürdürülmektedir [8].

Metal tuzlarının ve organik bağlayıcıların bir çözücü içerisinde ısıtılmasını içeren solvotermal yöntemler, MOF sentezi için geleneksel yaklaşımı oluştururken, mikrodalga destekli, elektrokimyasal, mekanokimyasal ve sonokimyasal işlemler gibi alternatif sentez yöntemleri de araştırılmaktadır. Bununla birlikte, sıklıkla MOF'ların, bileşenlerinin potansiyel riskleri sebebiyle ilaç salım sistemlerindeki kullanımını kısıtlamaktadır. Bu sebeple, MOF sentezi için biyouyumluluğu yüksek olan bileşenlerin seçimine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu doğrultuda, siklodekstrinler (CD) mükemmel yapısıyla ilgileri üzerine çeken bir yapı haline gelmiştir [9].

Siklodekstrinler, α -1,4-glikosidik bağlantılarla bağlanan D-glukopiranoz birimlerinden oluşan siklik oligosakkaritlerdir. Nişastanın parçalanması sırasında enzimatik olarak üretilen bu bileşikler farklı özellikler sergilemektedir. Kristal bir yapıya sahip olan CD'ler kesik koni şeklinde görünmektedirler. Hidrofilik dış yüzeyi hidroksil gruplarıyla kaplıyken hidrofobik kavitesi glikozidik oksijenler ve C-H birimleri ile dekore edilmiştir. Şeker halkası boyutlarına göre α , β ve γ formlarında sınıflandırılan CD'ler sırasıyla 0,57, 0,78 ve 0,95 nm çapa sahiptir. Bu benzersiz yapı, hidrojen bağı ve van der Waals kuvvetleri gibi zayıf etkileşimler ile metal iyonlarıyla kompleksler oluşturabilmektedir. Üstelik CD'ler hidrofobik kavitesi ile kompleks oluşturan kararsız hidrofobik

moleküllerin fiziksel özelliklerini değiştirerek stabilize etme yeteneği göstermektedir [10, 11] .

Siklodekstrin-MOF'lar (CD-MOF) metal iyonu organik ligandın arasındaki koordinasyon bağı yoluyla oluşan MOF türlerinden biridir ve birçok alanda kullanıma sahiptir. CD-MOF'lar geniş gözenek boyut dağılımı ve yüksek yüzey alanı sayesinde yüksek oranda etken madde enkapsülasyonuna olanak sağlamaktadır. Bu sayede farmasötik alanda kullanım potansiyeli yüksek olan bir malzeme haline gelmektedir [12].

Ayrıca, lipit temelli ilaç salım sistemleri de özellikle çok fonksiyonlu yapılara sahip sistemlerin geliştirilmesinde dikkat çekmektedir. Lipit formülasyonları, biyolojik olarak parçalanabilirlik, düşük toksisite potansiyeli ve kontrollü ilaç salımı yetenekleri ile öne çıkmaktadır. Lipozomlar, katı lipit nanopartiküller (SLN) ve nanoyapılı lipit taşıyıcılar (NLC), bu alandaki temsilci örnekler olarak bilinmektedir. Bu yapılar, farklı boyut ve molekül ağırlığına sahip etken maddelerin taşınımını sağlamakla kalmayıp, çeşitli yüzey işlevleri ile de özelleştirilebilmektedir [13, 14].

Bu bağlamda, literatürdeki çalışmalar, farklı taşıyıcı sistemlerin birleştirilmesi ile daha etkili ve özelleştirilmiş ilaç taşıma sistemlerinin geliştirilebileceğini göstermektedir. Örneğin, siklodekstrinler (CD'ler) ve metal organik çerçevelerin (MOF'lar) özellikleri, ilaçların stabilitesini ve çözünürlüğünü artırma yetenekleri ile bilinmektedir. Bunun yanı sıra, lipit tabanlı ilaç taşıyıcıları da etken maddelerin biyoistatistiksel özelliklerini optimize ederek tedavi sonuçlarını artırabilmektedir. Bu çalışma kapsamında, literatürde önceden incelenmemiş olan CD-MOF-lipit yapısının, sinerjistik etki sağlayarak ilaç taşıma sistemlerindeki potansiyelini araştırılması amaçlanmıştır.

DDS'lerin etkinliğinin artırılabilmesi yönünde birden fazla tedavinin aynı taşıyıcı sistem bünyesinde sağlanabilmesi için farklı yapıların bir araya getirilmesi son zamanlarda ilgi gören alanlardan biridir. Kanser tedavisinde kemoterapinin yanında fototermal terapinin de gerçekleştirilebilmesi için taşıyıcı sistemlerin işlevselleştirilmesi yönünde çalışmalar devam etmektedir. Fototermal ajanlar arasında biyoyumluluğu ve özel yüzey plazmon özelliği gösteren altın nanopartikülleri (AuNP) büyük ilgi görmektedir. AuNP'ler, yonteme bağlı olarak tümörlere aktif veya pasif olarak verilebilmektedir. [15, 16]. Altın nanopartikülleri, düşük lazer güçlerinde yeterli ısı üreterek kanser hücrelerinde geri dönüşü olmayan hasara yol açabilen NIR lazer ışınıyla etkinleştirilebilmektedir.

Termal ablasyon adı verilen bu süreç, proteinleri denatüre edebilir ve tümör içindeki hücrelerin zarlarını kırabilir, aynı zamanda sağlıklı doku üzerindeki olumsuz etkileri azaltabilme yeteneğine sahiptir [17-19].

Son yıllarda yapay enzimler olan nanozimler, doğal enzimlerin katalitik aktivitesine benzer şekilde etki sergiledikleri için oldukça dikkat çekmektedir. Nanozimlerin biyoteknoloji alanındaki uygulamalarda kullanılması ise yeni bir araştırma alanı haline gelmiştir. Bu kapsamda, biyosensör, kanser tedavisi ve farklı hastalıkların tedavisinde kullanılabilmesi büyük önem taşımaktadır. Nanozimlerin tasarımında en önemli parametreler aktivite ve özgünlüktür. Enzimlerde olduğu gibi nanozimlerin de aktif bölgesi oldukça kritik bir parametredir. Enzimlere kıyasla nanozimler daha fazla aktif bölgeye sahip olabilir bu da nanozimin aktivitesini artırmasına olanak sağlamaktadır. Nanozim tasarımında yaygın olarak kullanılan partiküllerden biri de AuNP'lerdir. AuNP'ler tek başına kullanılabildiği gibi bir yüzeye tutturulması ile daha stabil bir etki de sağlanabilmektedir[20-22]. Bu çalışma kapsamında da AuNP kaplı hibrit partiküllerin peroksidaz benzeri aktivitesi değerlendirilmiştir.

Bu tez çalışmasında MOF'ların bir alt sınıfından olan β -siklodekstrin-MOF (CD-MOF) yapısının sentezlemesi ve farklı malzemeler ile işlevselleştirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla CD-MOF'ların sentezi sonikasyon/solvotermal/buhar difüzyon yöntemlerinin birbirine entegre edilerek gerçekleştirilmesi hedeflenmiştir. CD-MOF'un geniş yüzey alanı, gözenekliliği ve hidrofobik kavitesi sayesinde suda çözünmeyen molekülleri barındırma konusundaki ayırt edici yeteneği gibi kendine özgü özellikleriyle ön plana çıktığı bilinmektedir. Bununla birlikte, CD-MOF'ların yüzeyinin hidrofilik olması sebebiyle DDS'lerde kullanımını sınırlayabilmektedir. Bu sebeple CD-MOF'un etkili bir ilaç taşıyıcı sistem olabilmesi için yüzeyinin hidrofobik bir bileşen ile dekore edilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu sorunun üstesinden gelmek ve CD-MOF'ların potansiyelinin ortaya çıkarılabilmesi için stratejik ve çok yönlü bir yaklaşım benimsenmiştir. Bu kapsamda CD-MOF'ların 1H,1H,2H,2H-Perfloro-1-dekanol (FTOH) ile yüzey modifikasyonun gerçekleştirilmesi planlanmıştır. Bu sayede CD-MOF yapısının suya karşı direncinin artırılması yapısal bütünlüğünün sağlanması hedeflenmiştir. CD-MOF'ların yüksek oranda ilaç kapsülleme verimliliğine ulaşabildiğinin gösterilebilmesi için iki farklı model ilaçla çalışılması amaçlanmıştır. Burada farklı çözünürlük ve yapıya

sahip olan orange OT ve kurkumin molekülleri sentez esnasında ve sentez sonrasında yapıya dahil edilerek en avantajlı yöntemin belirlenmesi planlanmıştır.

Bundan sonraki çalışmaların ise iki farklı tasarımla yürütülmesi hedeflenmiştir. Tasarımlardan biri FTOH@CD-MOF'ların yüzeyinin önce lipit ardından AuNP'ler ile kaplanmasıdır. Bir diğer tasarım ise FTOH@CD-MOF yapısının önce AuNP'ler ardından lipit ile kaplanmasını içermektedir. Burada lipit katmanı ile koloidal stabilitenin artırılması, hücrel etkileşimi teşvik edilmesi ve platformun genel olarak biyouyumluluğunun artırılması hedeflenmektedir. AuNP'ler ile de hibrit yapının fototermal terapiye imkân sağlayarak kombine bir tedavinin yürütülmesi amaçlanmıştır. İki farklı şekilde elde edilen hibrit yapının hücrel alım veya fototermal etkinlikleri gibi birtakım özelliklerinin hangi yapıda ne gibi avantajlara sahip olabileceğinin değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

Tez çalışması kapsamında, kemoterapi ve fototermal terapinin birlikte gerçekleştirilebileceği çok yönlü bir ilaç taşıyıcı sistemin tasarlanması hedeflenmektedir. Platform, aktif terapötik ajanları fonksiyonelleştirilmiş MOF yapısı içerisine enkapsüle edilerek kontrollü, hedefli ilaç salınımının gerçekleştirilmesi hedeflenmiştir. Ayrıca, altın nanopartiküllerinin stratejik entegrasyonu ile birden fazla tedavinin gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır. Böylelikle, kemoterapi ve fototermal terapinin birlikte gerçekleştirilebilmesini sağlayan hedefli ve kontrollü ilaç salınımının sağlanabileceği CD-MOF, lipit ve AuNP'lerin birbirine entegrasyonu ile elde edilen bir ilaç taşıyıcı sistem ilk kez bu çalışmada elde edilmiştir.

1. GENEL BİLGİLER

2.1 İlaç Salım Sistemleri

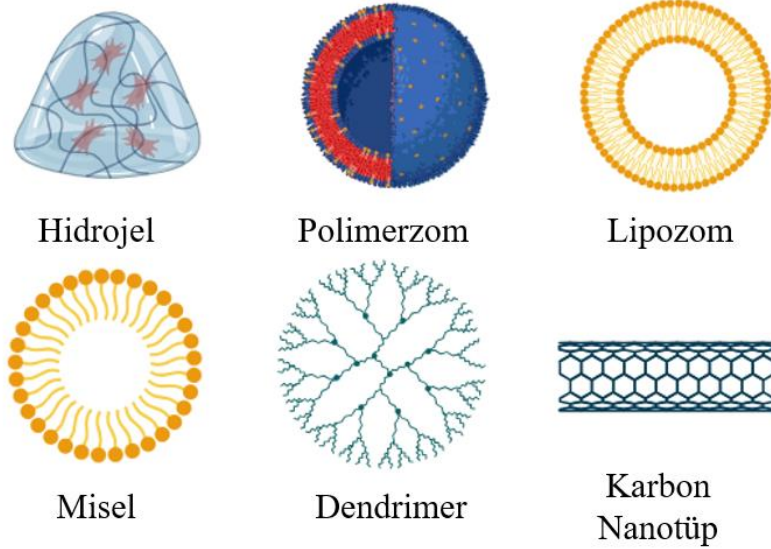
İlaç salım sistemleri (DDS), istenen terapötik etkiyi güvenli bir şekilde elde etmek için farmasötik molekülleri, vücutta iletilmesi hedeflenen bölgeye iletmek için tasarlanan yapılardır. Bu tür sistemler özellikle hidrofobik moleküllerin suda çözünürlüğünü ve ılımlı olmayan ortam koşullarındaki stabilitesini artırmak, farmakolojik etkisini iyileştirmek ve olumsuz etkilerinin en aza indirilebilmesi için tasarlanmaktadır. İlaç salım sistemlerinin önemli işlevlerinden biri, hedef biyolojik bölgede etken maddenin doğru konsantrasyonda olmasını sağlamak ve bu etkiyi sürdürmektir [23, 24]. DDS'lerin tedavi süresindeki verimliliğinin maksimum düzeye çıkarılabilmesi ve ilaç moleküllerinin olumsuz yan etkilerinin üstesinden gelinebilmesinin sağlanabilmesi için kontrollü bir salımın gerçekleştirilebilmesi gerekmektedir. Bu sayede, iletilmesi hedeflenen bölgede ilaç moleküllerinin birikiminin artması sağlanmaktadır. Hedef bölgedeki ilaç derişiminin de artması ile doz sıklığının azaltılmasının da önü açılmış olacaktır [1].

DDS geliştirilmesi üzerine yapılan çalışmalar, farmasötik alandaki birçok ilaç etken maddenin etkinliğini optimize etmeye odaklanmaktadır. İlaçların farmakolojik etkisi, vücuttan hızlı bir şekilde elimine edilmesi ve bölgeye özgü seçiciliğinin olmaması nedeniyle kısıtlanabilmektedir. Bu sebeple, etkin bir tedavi sağlayabilmek için ilaçların toksik etkisinin kabul edilebilir değerlerin çok üstündeki miktarlara ihtiyaç duyulmaktadır. Birçok ilacın yüksek reseptör bağlanma kapasitesi ve kandan doku içine geçişi suda çözünüp çözünmemesine göre değişiklik göstermektedir. Hidrofobik ilaçların fizyolojik koşullardaki düşük çözünürlüğü ise ilaçların taşınımını büyük ölçüde engellemektedir. DDS'ler ile ise bu gibi birçok sorunun üstesinden gelinebilmektedir. Sağladığı avantajlardan en önemlileri ilaç moleküllerinin vücut içerisinde kan dolaşımında kalma sürelerinin uzatılması, ihtiyaç duyulan bölgelere hedeflenebilecek şekilde tasarlanması ve hidrofobik özelliğe sahip ilaçların biyoyararlanımının artırılabilmesidir [25].

İdeal bir DDS sisteminde bulunması gereken özellikler özetle şu şekilde sıralanabilmektedir:

- Biyouyumlu olması
- Boyut ve şekil parametrelerinin ayarlanabilir olması
- Yüksek oranda ilaç molekülünün kapsüllenebilmesine imkân sağlaması
- İletilmesi hedeflenen bölgenin tanıyacağı özgüllükte olması
- Hedef hücrenin içerisinden geçişinin gerçekleştirilebilmesi
- Kolay sentezlenebilir olması
- Maliyet açısından karşılanabilir olması [25].

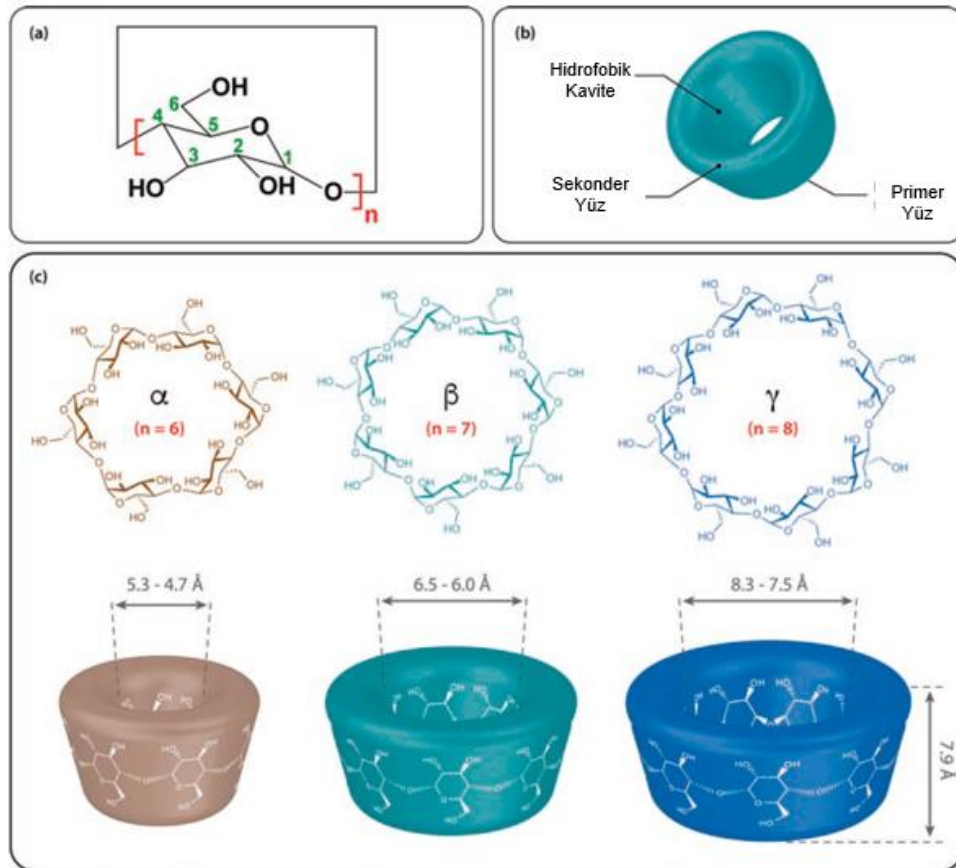
İlaç salım sistemlerinde sıklıkla polimerler, hidrojeller, lipozomlar, nanopartiküller ve miseller gibi taşıyıcı sistemler kullanılmaktadır (Şekil 2.1). Mevcut olan bu taşıyıcı sistemlerin yanı sıra siklodekstrin gibi akıllı DDS'ler de gelişmeye devam eden araştırma alanlarından biridir. İlaç salım sistemlerine CD'lerin dahil edilmesinin, literatürde sıklıkla tercih edilen polimerik taşıyıcı sistemler tarafından ortaya konulmuş olan birçok sınırlamanın üstesinden gelmeye yardımcı olduğu bilinmektedir [26].



Şekil 1.1. Sıklıkla kullanılan ilaç salım sistemlerinin şematik gösterimi

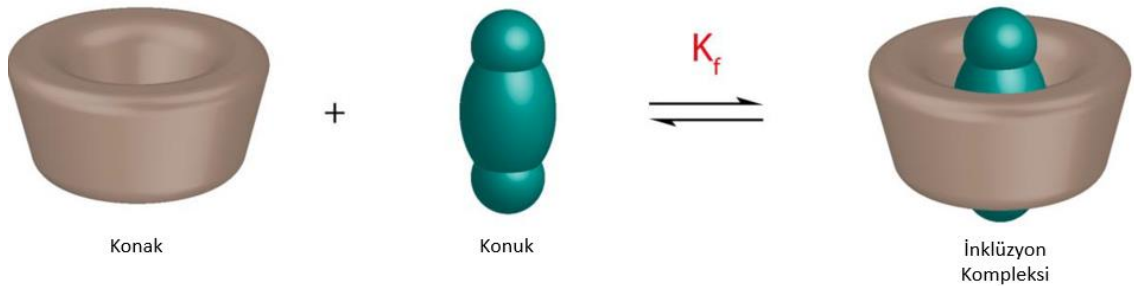
2.2 Siklodekstrinler

Siklodekstrinler (CD), nişastanın enzimatik bozunma reaksiyonu sonucu elde edilen toroidal bir şekle sahip oligasakkaritlerdir. CD'nin ilk eldesi 1891 yılına dayanmakta ancak ilk kez 1903 yılında Schardinger tarafından karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. α -, β - ve γ -siklodekstrin olarak 3 farklı çeşidi bulunan CD'nin sınıflandırılması sahip olduğu glukopiranoz birimlerinin sayısına göre yapılmaktadır (Şekil 2.2). CD'lerin çapı 60-120 nm arasında değişmektedir. Toroidal bir şekle sahip olduğu belirtilen CD'lerin huniye benzer bir şekle sahip olduğu görülmektedir. Bu eşsiz yapısının iç yapısı yani kavitesi lipofilik bir özelliğe sahip dış yapısı ise hidrofilik özellik göstermektedir. Yapının koni şeklinde olmasını C6 atomunun C2 ve C3 OH⁻ gruplarının rotasyonu sağlamaktadır. Ayrıca birincil yüzeyin dar ikincil yüzeyin daha geniş olduğu Şekil 2.1.b'de görülmektedir. Dar kısımda primer hidroksil grupları ve geni uç kısımda sekonder hidroksil grupları bulunmaktadır. İç yüzeyin hidrofobik olmasını karbon-hidrojen bağları ve glikozidik köprüleri sağlamaktadır [26, 27].



Şekil 1.2. (a) CD monomer biriminin yapısı, (b) CD'nin genel şekil ve (c) α -, β - ve γ -CD'lerin yapılarının şematik gösterimi [28].

CDler, özel yapısı dolayısıyla, hidrofobik bileşikler ile inklüzyon kompleksi oluşturabilmektedir (Şekil 2.3). Kısaca, uygun boyuta sahip olan hidrofobik moleküller, sulu bir siklodekstrin çözeltisine eklenip hidrofobik kaviteye dahil edilerek, suda çözünebilir bir yapı elde edilmektedir. Oluşturulan bu kompleks birçok avantaj sağlayabilmektedir. Bu avantajlardan en önemlisi suda çözünürlüğü düşük olan ilacın, yapısında bulunan fonksiyonel grupları yardımıyla çözünürlüğünün artırılmasıdır. CD'nin özel yapısı ile ilaç hidrofobik kaviteye dahil edilip çevre ile teması kesilerek hem çözünürlüğü hem de biyoyumluluğu artırılmaktadır. Ayrıca, siklodekstrinler ilaçların kimyasal, fiziksel ve termal stabilitelerini arttırmaktadır. Dahası, kavitesinde taşıdığı hidrofobik bileşiği oksijen dekompozisyonundan kimyasal enzimlerden, su, radyasyon ve ısıdan koruyarak bozulmasını engellemektedir. Bu bağlamda, α -siklodekstrin çok küçük molekül ağırlığına sahip olan bileşiklerle kompleks oluşturabildiğinden oldukça kısıtlı bir kullanım alanına sahiptir. β - ve γ -siklodekstrinin boyutları daha büyük olduğu için daha geniş bir aralıktaki moleküller ile kompleks oluşturabilmektedir. Literatüre bakıldığında, yapısı dolayısıyla daha kullanışlı ve yaygın olarak kullanılan β -siklodekstrindir fakat ikincil hidroksil grupları arasındaki molekül içi hidrojen bağı ve moleküller arası bağ nedeniyle suda çözünürlüğü oldukça düşüktür [29, 30].



Şekil 1.3. Bir CD (konak) ve bir konuk molekülü arasındaki inklüzyon kompleksi oluşumunun şematik gösterimi [31].

CD'lerin DDS olarak kullanımına canlılarda toksisite etkisinin olmaması sebebiyle literatürde sıklıkla rastlanmaktadır. Bunun yanı sıra, şu anda 30'un üzerinde farmasötik olarak ticarileştirilmiş ürünü bulunmaktadır. CD tek başına bir DDS olarak kullanılabilir gibi başka DDS'lerin yapısına dahil edilebilir veya DDS'nin bir parçası olabilme potansiyeline bir malzemedir. DDS olarak kullanımının sağladığı başlıca avantajlar şu şekilde verilebilir:

- Toksik olmaması

- Kapsüllenen ilacın kötü etkilerini kavitesine alarak engelleyebilmesi
- Kontrollü salımın sağlanabilmesi
- Canlı vücudunda farklı uygulama yollarına imkân sağlaması
- Hidrofobik ilaç moleküllerini kapsülleme verimliliğinin görece yüksek olması

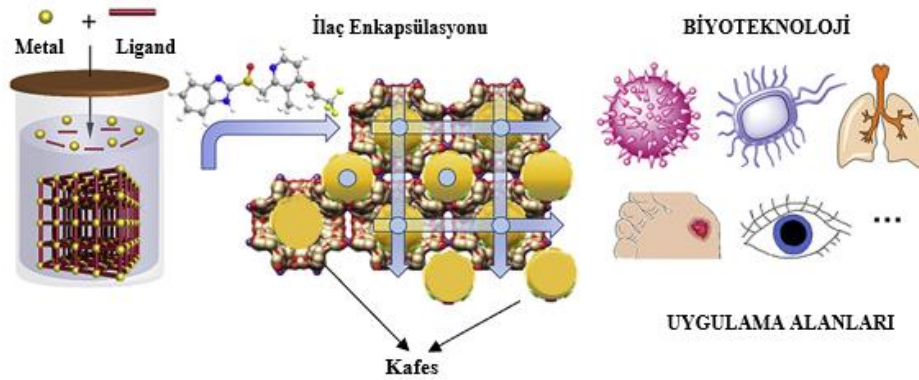
Hidrofobik moleküller ile konuk-konakçı kompleksi oluşturabildiği belirtilen CD'ler boyutça küçük molekülleri, proteinleri ve iyonlar gibi birçok maddeyi kavitesine dahil edebilme yeteneğine sahiptir. Oluşturulan bu inklüzyon kompleksi ile DDS'lerin vücuttaki kontrollü salımı ile ilacın doğru bölgede yüksek konsantrasyonda salınmasını sağlamaktadır [26].

CD'lerin dış yüzeyinin suda çözünür olduğu söylene de α -, β - ve γ -siklodekstrinin sırasıyla sudaki çözünürlükleri %13, %2 ve %26 olarak bulunmuştur. β -CD sekonder hidroksil gruplarındaki hidrojen bağlarının etkileşimi sebebiyle daha düşük çözünürlüğe sahiptir. Düşük çözünürlüğü ile tanımlanmış olsa da kavitesinin boyutu ve ilaç molekülleri kapsülleyebilme yeteneği sayesinde DDS uygulamalarında β -CD en çok kullanımı bulunan CD olarak karşımıza çıkmaktadır. β -CD'nin çözünürlüğünün artırılması için β -CD'nin türevleri sentezlenmiştir. Bu işlemi, metilasyon, propilasyon gibi hidrojen bağı ortadan kaldırarak yani β -CD'nin yüzeyinde modifikasyonlar gerçekleştirilmiştir. Bu prosesin ardından β -CD'nin çözünürlüğü yüz katın üstüne çıktığı ispatlanmıştır [10]. Bu sebeple, taşıyıcı sistemler olarak siklodekstrin türevleri veya siklodekstrin-metal organik çerçeve (MOF) yapıları kullanılmaktadır. Bu sistemlerle yapının çözünürlüğünün artırılmasının yanı sıra inklüzyon kompleksi oluşturma kapasitesinin artırılması ve biyolojik membranlardan geçiş yeteneğinin iyileştirilmesi gibi ek avantajlar da sağlamaktadır [27].

2.3 Metal Organik Çerçeveler (MOF)

Son yıllarda yapılan çalışmalara bakıldığında, ilaç salım sistemlerinde kullanılacak olan taşıyıcının gözenekli bir yapıya sahip olmasının oldukça önemli olduğu görülmektedir. Gözenekli malzemeler, geniş iç yüzey alanı, yüksek yüzey/hacim oranı, uyarlanabilir ve tek tip gözenek boyutu sağlayabilen organize bir yapıdadır. Gözenekli yapıların DDS olarak kullanımı ile terapötik aktivite üst seviyelere çıkabilmekte ve yan etkileri bulunan ilaçların gözeneklere hapsedilmesiyle olumsuz etkinlikler ortadan kaldırılmaktadır. Gözenekli malzemeler kategorisinde, metal organik çerçeveler (MOF) malzeme bilimi ve

kimya mühendisliğinin birçok alanında kullanılan önemli yapılardan biridir. MOF'lar, bir, iki veya üç boyutlu yapılar oluşturmak için organik bağlayıcılarla koordine edilmiş metal iyonlarından/kümelerinden oluşan koordinasyon polimerleridir. MOF'lar kısaca tanımlanmak istenirse oldukça kolay bir şekilde kontrol edilebilen gözenekli kristal malzemelerdir. İlk kez 1989 yılında Hoskins ve Robson tarafından sentezlenmiştir. Günümüzde 20000'den fazla MOF çeşidi bulunmaktadır ve yeni MOF yapıları da sentezlenmeye devam etmektedir. Geleneksel gözenekli malzemelerle karşılaştırıldığında, geniş yüzey alanına, ayarlanabilir gözenek boyutu ve şekline, kontrol edilebilir bileşime ve işlevselleştirilmiş gözenek yüzeyine sahiptirler. Yüksek gözenek oranı (>%50) ve yüzey alanına sahip (BET yüzey alanı: 1000-10000 m²/gr) olan MOF'lar, gözeneklerinin ayarlanabilir olması ayırma, katalizleme, gaz depolama ve ilaç salım sistemleri gibi farklı uygulama alanları için avantaj sağlamaktadır [32-34]. MOF yapısının oluşumu ve biyoteknolojideki kullanım alanları Şekil 2.4'te verilmiştir.



Şekil 1.4. MOF yapısının oluşumunun ve biyoteknolojideki kullanım alanlarının şematik gösterimi [34]

Farklı organik bağlayıcı ve metal kümelerinin seçimiyle çeşitli uygulama alanlarında kullanımı sağlanabilecek fizikokimyasal özellikleri birbirinden farklı MOF'ların elde edilmesi mümkündür. MOF'ların modülasyonu ile farklı boyut ve şekillerde partikül tasarımı gerçekleştirilebilmektedir. Böylece istenen gözenek boyutuna ve yüzey alanına sahip yapılar elde edilebilmektedir. Bu özellikleriyle de DDS'ler için uygun bir yapı haline gelmektedir. MOF'lar var olan DDS'lere göre birçok avantaj göstermektedir. Bunlar şu şekilde sıralanabilir:

- Yüksek ilaç enkapsülasyonu
- Stabil yapı
- Gözenekli yapısı
- Ayarlanabilir sentez
- Kolay üretim
- Düşük maliyet
- Yan etkilerin maskelenmesi

Yukarıda sıralanmış olan avantajların yanı sıra MOF'ların en önemli özelliği Branauer-Emmett-Teller (BET) yüzey alanının çok yüksek olmasıdır. Yüzey alanının ayarlanabilir olması da küçük ilaç moleküllerinin, peptitlerin, makromoleküllerin yani farklı fizikokimyasal özelliklere sahip kargoların kapsülasyon oranını maksimize edilmesine olanak sağlamaktadır. Bunun yanı sıra, doğadaki organik ligand ve metal çeşidinin doğru bir şekilde seçilmesi ile biyouyumlu hale getirilmesi stratejik olarak mümkündür. Bunun yanı sıra, MOF'ların yüzeylerinin modifikasyonun kolay bir şekilde yapılabilmesi de DDS olarak kullanımında büyük bir avantaj sağlamaktadır. Hali hazırda DDS olarak kullanılan lipitler ve polimerler MOF'ların yüzeyine immobilize edilebilir böylece yüksek stabiliteye sahip su içeren ortamlarda MOF'ların yüzeyi korunmaktadır. MOF'ların DDS olarak büyük bir avantaj sağlamasının bir diğer sebebi, metal ve organik ligand arasındaki bağın zayıf etkileşimler ile oluşmasıdır. Zayıf bağlar, biyolojik bir ortamda kolayca bozulabilmektedir. Böylece MOF'lar biyobozunur yapılar olarak da DDS sistemleri için oldukça umut vaat edici bir yapıdır. Bahsedilen bu avantajları sayesinde özellikle kanser tedavisinde kombine terapilerde kullanımı üzerine son yıllarda birçok araştırma yapılmaktadır. Bu bağlamda biyouyumlu metal ve organik bağlayıcının seçici büyük önem arz etmektedir [35, 36]. Çizelge 2.1'de DDS olarak kullanımı bulunan spesifik MOF'lar ve yüklenen ilaç molekülleri verilmiştir.

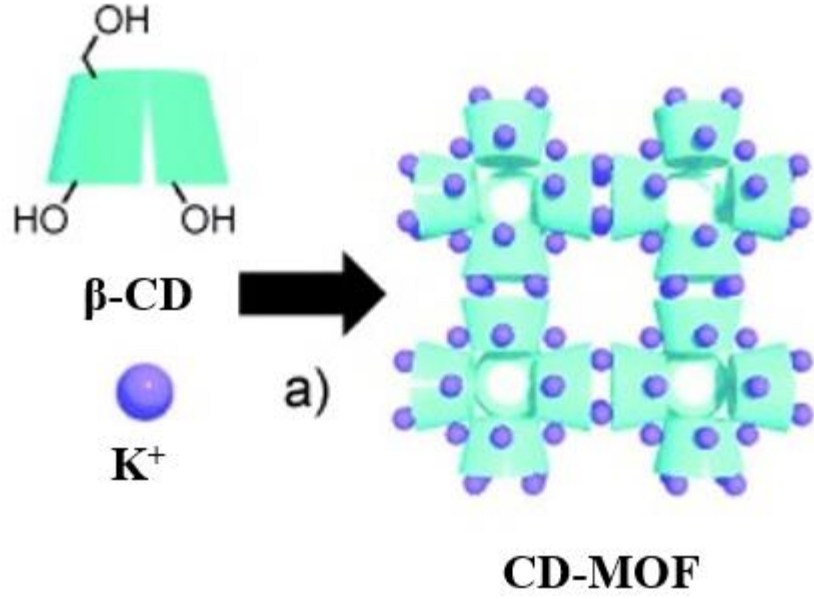
Çizelge 1.1. DDS olarak kullanımı bulunan MOF'lar ve kapsüllen etken maddeler

Adlandırma	Metal İyonu	Organik Ligand	Yüklenen İlaç Molekülü	Ref
MIL-89	Fe	Mukonik Asit	İbuprofen, azidotimidin trifosfat	[37]
MIL-100	Fe	1,3,5- Benzenetrikarboksilik asit	Gemsitabin- monofosfat, topotekan, izoniazid, doksisiklin, tetrasiklin,	[37-39]
ZnBDP_X	Zn	1,4-Bis(1H-pirazol-4- il)-2-X-benzen (H2BDP_X; X = H, NO ₂ , NH ₂ , OH)	Mitoksantron	[40]
ZIF-8	Zn	2-Metilimidazolat 5-Florourasil, Doksorubisin	5-Florourasil, doksorubisin	[41, 42]
UiO-66	Zr	1,4- Benzendikarboksilik asit	Kafein, dikloroasetat	[43, 44]
CD-MOF	K	Siklodekstrin	Lansoprazol, azilsartan, budesonid, valsartan 20,67,68,80	[45, 46]

2.3.1 Siklodekstrin-Metal Organik Çerçevesler (CD-MOF)

Genel olarak, organizmalardaki metal iyonlarının seviyeleri, MOF üretimi için seçilen metal bileşenlerinin biyoyumluluklarını belirlemek için bir kılavuz olarak kullanılabilir. Temel eser metaller, organizmalardaki nispeten yüksek konsantrasyonları nedeniyle MOF sistemleri oluşturmak için uygun adaylar olabileceği düşünülmektedir. Yapılan çalışmalara bakıldığında, çoğu MOF sentezi için toksik geçiş metalleri (Co, Ni, Cr, vb.) ve yenilenemeyen organik ligandlar kullanılmış ve MOF'ların potansiyel toksisitesi canlı organizmalardaki uygulamalarını kısıtlamaktadır. Bu nedenle, yüksek biyoyumluluğa sahip MOF sentezi üzerine olan araştırmalar son zamanlarda giderek artış göstermiştir [47]. Potasyum, kalsiyum ve titanyum gibi toksik olmayan metal iyonlarının yanı sıra peptitler, karbonhidratlar, amino asitler, siklodekstrinler ve bunların türevleri gibi doğal ve biyolojik olarak oluşan bileşikler kullanılarak biyoyumlu MOF'ların sentezlenmesi üzerine birçok çalışma yapılmıştır [48]. Bununla birlikte, doğal olarak oluşan bileşiklerden MOF sentezi, kristalleşmeye uygun olmayan yapı birimlerinin doğal asimetrisinden dolayı oldukça zordur. Bu kapsamda, 2010 yılında Smaldone ve çalışma arkadaşları tarafından buhar difüzyon yöntemi ile γ -CD ve potasyum hidroksit (KOH) çözeltisi kullanılarak yüksek biyoyumluluğa sahip siklodekstrin-MOF (CD-MOF) sentezlenmiştir [49].

CD-MOF'lar, metal-ligand koordinasyon bağları yoluyla potasyum iyonlarından ve siklodekstrin'den oluşan MOF'lardır. CD-MOF'ların oluşum mekanizması Şekil 2.5'te verilmiştir. CO₂ yakalama, insektisit adsorpsiyonu ve uzaklaştırılması, sensör ve gıda paketlenme gibi çeşitli alanlarda kendine kullanım alanı bulabilmiştir. Bu uygulamalarının yanı sıra, bu malzemelerin yüksek gözeneklilik ve geniş spesifik yüzey alanı gibi eşsiz özellikleri farmasötik uygulama alanları için de uygun hale getirmektedir. CD'lerin üstün özelliklerinin MOF'larda kullanılabilir hale getirilmesi sayesinde CD'lerin kavitesi ve MOF'ların koordineli gözenekli yapısı bir araya getirilerek ilaç salım sistemleri için yüksek oranda hidrofobik molekülün yapıya yüklenebilmesine olanak sağlamaktadır [50]. Ayrıca, CD'ler DDS sistemlerinde yaygın olarak kullanılan ve biyoyumlu bir taşıyıcı olduğu kanıtlanmış bir sistem olması dolayısıyla elde edilen CD-MOF yapısının biyoyumluluğu oldukça yüksektir. Yapılan çalışmalara göre, CD-MOF'ların 2000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyon seviyelerine kadar HepG2 (insan hepatomu) ve Caco-2 (insan epitelyal kolorektal adenokarsinom) hücrelerinde herhangi bir toksisiteyi indüklediği görülmüştür [51].



Şekil 1.5. CD-MOF'ların oluşumunun şematik gösterimi [52].

CD-MOF'ların sentez yöntemlerinin avantajları ve dezavantajları Çizelge 2.2'de verilmiştir. Ancak, literatürde daha iyi kristal eldesi için buhar difüzyon yöntemi ile sentezlenmesi tercih edilmektedir. Ayrıca, bu yöntem ile, gözenekli CD-MOF kristallerinin partikül boyutu, oldukça düzgün ve düzenli morfolojisinin kontrolü rahat bir şekilde sağlanabilmektedir [53]. Kritskiy ve arkadaşları, renksiz, kübik, CD-MOF kristallerini, sulu çözelti içinde KOH'in γ -CD'ye molar oranı 1:8 olan bir buhar difüzyon prosedürü metanol buharı serbest bırakılarak 2-7 gün içinde başarılı bir şekilde hazırlamışlardır. Ayrılan beyaz kristaller MeOH ile yıkanıp gece boyunca 50°C'de vakum altında kurutulduktan sonra 200–400 μm boyutunda kristaller elde etmişlerdir [54]. Han ve arkadaşlarının çalışmasında ise, 5-10 μm boyutunda daha küçük kristaller elde edebilmek için sentez aşamasında çözeltiye yüzey aktif madde olarak setiltrimetilamonyum bromür (CTAB) eklenmesiyle yenilikçi modifiye edilmiş bir buhar difüzyon yöntemi geliştirmişlerdir [55].

Çizelge 1.2. Farklı sentez yöntemlerinin avantajları ve dezavantajları [56].

Sentez Yöntemi	Avantajları	Dezavantajları
Buhar Difüzyon Yöntemi	<ul style="list-style-type: none"> • İlimli reaksiyon sıcaklığı ve basıncı • K, Rb ve Cs gibi metal iyonları ile CD-MOF sentezinin mümkün olması • Eş boyutlu kristal eldesi • Boyut ayarlamasının yapılabilmesi 	<ul style="list-style-type: none"> • Ligandların çözünür olmasının gerekmesi
Hidrotermal Yöntem	<ul style="list-style-type: none"> • Destek malzemelerinin eklenmesinin mümkün olması 	<ul style="list-style-type: none"> • Yüksek sıcaklıkta çalışılması gerekebilir
Mikrodalga Destekli Yöntem	<ul style="list-style-type: none"> • Basit ve hızlı olması • Çevreye zararsız • Yüksek verim 	<ul style="list-style-type: none"> • Reaksiyon parametrelerinin partiküllerin şeklini ve boyutunu değiştirmesi
Ultrasonik Yöntem	<ul style="list-style-type: none"> • Basit ve hızlı olması • Çevreye zararsız olması 	<ul style="list-style-type: none"> • -

Yapılan çalışmalara bakıldığında, CD-MOF'un homojen yapısı ve nano ölçekli gözenekliliği malzemenin DDS sistemlerindeki performansını etkili bir şekilde iyileştirdiği söylenmektedir. Karboksil veya hidroksil grupları içeren ve uygun büyüklükteki ilaç molekülleri, elektrostatik etkileşim ve hidrojen bağlarından yararlanarak CD-MOF'a yüklenebilmektedir. Böylece, CD-MOF, ilaç moleküllerini yüklemek için etkili bir şekilde kullanılma avantajı sunmaktadır [57-59]. Li ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, γ -CD ve KOH kullanılarak CD-MOF hazırlanıp, yapıya lansoprazol yüklenmiştir. Yükleme oranı yaklaşık ağırlıkça $\sim 23 \pm 2.1$ olduğu görülmüş ve ilaç yüklenmiş CD-MOF'ların iki yıldan fazla stabil kaldığını belirtmişlerdir. İlaç yüklü CD-MOF'un uzun süre stabil kalması DDS sistemlerinde fiilen uygulanmak üzere oldukça uygun sistemler olduğunu göstermektedir [60]. Li ve çalışma arkadaşlarının yapmış olduğu başka bir çalışmada, ibuprofen ve lansoprazol taşıyıcı olarak CD-MOF'ın performansını iyileştirmek için polimer matrisleri ile kompozit malzeme olarak yeni bir sistem tasarlamışlardır. Yağ içinde yağ (s/o/o) emülsifiye edici

solvent buharlaştırma tekniği ile elde edilen CD-MOF'ler ve poliakrilik asitten (PAA) oluşmaktadır. CD-MOF-1/PAA'nın ibuprofen yükleme kapasitesi ağırlıkça yaklaşık %12,7 iken, lansoprazol için ağırlıkça %4,5 olduğu belirtilmiştir. İbuprofen 48 saat boyunca yavaş bir salım profili sergilerken, lansoprazol 48 saat boyunca doğrusal bir salım profili göstermiştir. CD-MOF'larda bulunan yük dengeleyici OH- anyonlarının varlığı nedeniyle ibuprofen ve CD-MOF'lar arasında güçlü elektrostatik etkileşimlerinin mevcut olduğu görülmüştür. Dolayısıyla, adsorplayan ile adsorplanan arasındaki etkileşimi artırarak daha yavaş bir salıma neden olmuştur. Elde edilen sonuçlar, CD-MOF/PAA mikrokürelerinin bileşiminin hücre uyumluluğunu geliştirdiğini ve DDS'ler için güvenli olduğunu doğrulamıştır [61]. Literatürdeki bu çalışmalar ışığında, CD-MOF'ların yüksek oranda ilaç etken maddesini kapsülleyebileceği, hidrofobik moleküller ile etkileşimi sonucu stabil bir yapının elde edileceği, ayrıca suda çözünmeyen ilaçların oluşan kompleks sayesinde artırılacağı ve hibrit yapılar oluşturularak kullanılmasının birçok avantaj sağlayabileceği görülmektedir.

Çizelge.1.3. Farklı CD-MOF'lara yüklenen etken maddelerin bilgisi

CD-MOF	Etken Madde	Yükleme Kapasitesi, %	Ref.
CD-MOF-1	Lansoprazol	21.0-25.0	[62]
CD-MOF-1	Fenbufen	19.0-20.0	[63]
CD-MOF-1	İbuprofen	23.0-26.0	[55, 62, 64]
CD-MOF-1/PAA	İbuprofen	12.7	[61]
Chol/CD-MOF	Dox	6.0-8.0	[46]
CD-MOF/C-60	Dox	6.5	[65]
CD-MOF	Kurkumin	13.44	[66]

2.4 Lipit Temelli İlaç Salım Sistemleri

Lipit temelli ilaç salım sistemleri, biyouyumluk, biyolojik olarak parçalanabilirlik, düşük toksisite potansiyeli, kontrollü ilaç salımı olasılığı gibi birçok avantaja sahip sistemlerdir. Lipit formülasyonları; hastalık durumu, uygulama yolu, toksisite ve etken madde konsantrasyonuna göre çok çeşitli gereksinimleri karşılamak için, farklı modifikasyonlar ile hazırlanabilmektedir. Diğer ilaç salım sistemleri ile karşılaştırıldığında, lipit temelli ilaç salım sistemleri farklı boyut ve molekül ağırlığındaki etken maddelerin kontrollü salımının yanı sıra farklı doku veya organlara iletiminde önemli avantajlar sağladığı görülmektedir. Bu kapsamda, lipit temelli ilaç taşıyıcı sistemler olan lipozomlar, katı lipit

nanopartiküller (SLN) ve nanoyapılı lipit taşıyıcıların (NLC) literatürde büyük ilgi gördüğü bilinmektedir. Lipozomlar, ilk olarak 1963'te Alec Bangham tarafından keşfedilen, en yaygın olarak kullanılan ilaç taşıyıcı sistemlerden biridir. Lipozomlar, çeşitli etken maddelerin enkapsüle edilebildiği doğal veya sentetik fosfolipit lipit çift tabakasından oluşan küresel veziküllerdir. Hidrofilik molekülleri iç su fazı içinde, lipofilik ilaçları lipit membranında ve amfifilik olanları sulu-lipit ara yüzeyinde kapsüllenebilmektedir. Lipozomlar, etken maddenin çözünürlüğünü artırmak, membran boyunca taşıma yeteneği ve yüksek kapsülleme verimliliği gibi birçok avantaj sunmaktadır [67].

Literatürdeki çalışmalara bakıldığında, lipozomal ilaç taşıyıcı sistemler sağladığı avantajlar sebebiyle öne çıkan sistemler arasındadır. Lipozomlar, diğer salım sistemleriyle karşılaştırıldığında biyouyumluluk, kendi kendine birleşme yeteneği hem hidrofilik hem de hidrofobik molekülleri kapsülleyebilmesi, ilaç etken maddelerin çözünürlüklerini artırması, kapsüllenen molekülleri dış etkilerden koruması toksisitesini azaltabilmesi, bölgeye özgü hedefleme ve dokulara penetrasyonunu artırma yeteneği gibi birçok ayırt edici özellik sunmaktadır. Lipozomlar bir veya iki katmanlı zara sahip olabilmektedir. Lipozom boyutu ise, lipozomlara ilaç yükleme kapasitesinde belirleyici rol oynamaktadır. Lipozomun boyutu çok küçük veziküller (25 nm) ile oldukça büyük (25 µm) veziküller arasında farklılık gösterebilmektedir. Ek olarak, boyutlarına ve çift katman sayısına göre lipozomlar iki tipe ayrılmaktadır: (1) tek katmanlı veziküller ve (2) çok katmanlı veziküller (MLV). Tek katmanlı veziküller ayrıca üç alt gruba ayrılır: (1) Küçük tek katlı veziküller (SUV) ve (2) büyük tek katlı veziküller (LUV) ve dev tek katmanlı veziküller (GUV). Tek katmanlı lipozomlarda vezikül, sulu çözeltiyi çevreleyen tek bir fosfolipit çift katmanlı küreye sahiptir. Çok katmanlı lipozomlarda veziküller soğan benzeri bir yapıya sahiptir ve en dış katmandaki vezikülün içinde, su molekülleri ile ayrılmış eş merkezli fosfolipit küreler bulunmaktadır [68].

Fosfolipitler, lipozomların ana yapı taşını oluşturmaktadır. Lipitler aynı zamanda biyolojik zarları oluşturan ana bileşenlerdir. Kısaca, fosfolipitler, bir kutup başı (suda çözünür hidroksil grupları) ve suda çözünmeyen bir kuyruktan oluşan amfifilik moleküllerdir. Lipozomlar, zwitteriyonik, pozitif veya negatif yüklü veya yüksüz olabilmektedir ve bu fosfolipitin kutup başının yüküne bağlıdır. Lipozomal formülasyonlarda en çok kullanılan lipitler, fosfatidilkolin, fosfatidilgliserol, fosfatidik

asit, fosfatidiletanolamin ve fosfatidilserindir. Kolesterol ise lipozomların bir başka stratejik bileşenlerinden birini oluşturmaktadır. Lipozomların lipit çift tabakasının özellikleri üzerinde modülatör bir etkiye sahiptir. Ayrıca, lipozom yapısındaki dolgunluğu kontrol edebilme, fosfolipit molekülleri arasındaki paketlemeyi artırabilme, alifatik kuyruk bölgesinde daha düzenli bir konformasyon sağlayabilmek gibi avantajlar sunmaktadır. Bunun yanı sıra, lipozomların biyolojik ve fizyolojik engellerin üstesinden gelebilmek için çeşitli ajanlar ile lipozomların yüzeylerinin işlevselleştirilmesi de mümkündür. Lipozomlar, polietilen glikoller (PEG'ler), aptamerler, antikolar, proteinler, peptitler, ligandlar, karbonhidratlar veya küçük moleküller ile işlevselleştirilebilmektedir [69]. Literatürde, PEG ile modifiye edilmiş lipozomların, karaciğer ve dalak gibi retikuloendotelial sistem (RES) tarafından vücut dışına atılması engellenerek uzun dolaşım özelliklerine sahip olduğu bildirilmiştir. Geng ve arkadaşları PC/Chol/DSPE-PEG2000 (46:50:4) formülasyonuna sahip yaklaşık 150 nm boyuta sahip lipozomlar hazırlamış ve bileşenlerin yapıya etkilerini değerlendirmişlerdir. Elde edilen in vitro sonuçlara göre PEG ile modifiye edilmiş lipozomlar edilmeyenlere kıyasla önemli ölçüde stabilite sergilemiş ve enkapsüle edilmiş olan ilaç etken maddesinin yapıdan sızıntısının azaldığı görülmüştür. Ayrıca, yapıdaki kolesterolün sistemik dolaşımında lipozomların stabilitesini korumada önemli bir rol oynadığı görülmüştür [70].

Genellikle, hidrofobik ilacı lipit çift tabakasına kapsüllenme verimliliği ilaç: lipit oranına dayanmaktadır. Ancak lipit çift katmanının alanı sulu çekirdeğe göre küçük olduğu için yüksek kapsülleme verimliliği elde etmek oldukça zordur ve hidrofobik molekül lipit çift katmanının yapısının bozulmasına sebep olmaktadır. Ayrıca, bu bölgedeki ilaçlar daha hızlı salınmaya eğilimlidir. Bu bağlamda, suda düşük çözünürlüğe sahip bileşiğin uygun bir taşıyıcı yapının bünyesine dahil edilip ardından sulu çekirdeğe kapsüllemesi ile bu eksikliğin üstesinden gelinebilmektedir. Ayrıca ilaç yükünü maksimize etmek için, ilacı hem iki tabakalı hem de lipozomun çekirdeğinde kapsülleyerek, lipozomların çift yüklenmesi önerilmektedir. Bu tür bir çift yükleme yaklaşımı, hidrofobik ilaçların canlılığını kontrol etmek, vezikül stabilitesini artırmak ve salım profilini uzatmak için de önerilmektedir. Bu bağlamda, ilaç/CD inklüzyon kompleksleri hem lipozomların hem de CD inklüzyon komplekslerinin göreceli avantajlarını birleştiren yeni bir ilaç salım sistemi olarak lipozomların sulu çekirdeklerine yerleştirilmektedir. Azzi ve arkadaşları, lipozom içinde siklodekstrin içinde ilaç (DCL) sistemini Nerolidol için taşıyıcı sistem olarak incelemişlerdir. Nerolidol'ün yüksek enkapsülasyon verimiyle (~%97) DCL sistemine

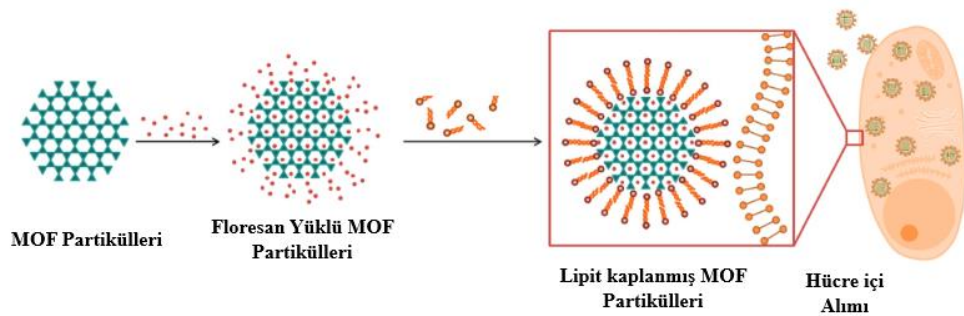
dahil edilebildiği görülmüştür. Ek olarak, DCL'nin ilaç etken madde salımını bir hafta boyunca uzattığını ve fotostabiliteyi boş lipozomlara göre çok daha iyi bir şekilde sağlayabildiğini göstermişlerdir. Son olarak ise hazırlanan bu formülasyonun 4°C'de 12 aylık saklama süresinin ardından lipozomların satabil şekilde kaldığı görülmüştür [45]. Bakşa bir çalışmada, Maestrelli ve arkadaşları, ketoprofenin etkili bir topikal formülasyonunu geliştirmek için DCL sistemine enkapsülasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Ketoprofen ve hidrokisipropil- β -siklodekstrin'in (HP- β CD) eş molar kompleksi, fosfatidilkolin ve kolesterolden (%60/%40, w/w) oluşan lipozomların sulu fazına ilave edilerek DCL'ler hazırlanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, CD-ilacın inklüzyon kompleksi, ilacın çözünmesini iyileştirmiş ve sulu lipozomal faza tutunmasında artış görülmüştür. Membran geçirgenlik çalışmalarında, ilaç-HP- β CD komplekslerinin beklenildiği gibi lipozomal formülasyonlardan salımının uzun süreli olduğu söylenmiştir. Bu nedenle DCL'lerin farmasötik alanındaki uygulamaları için potansiyel taşıyıcılar olduğu söylenebilmektedir [71, 72].

2.5 MOF-Lipit Hibrit Yapıları

MOF'ların sentetik süreçlerinin gelişimi ve son on yıldaki önemli potansiyel uygulamaları sayesinde, biyomoleküllerin MOF'lara entegre edilmesi son zamanlarda oldukça önemli bir alan haline gelmiştir. Lipitler, oligopeptitler, nükleik asitler ve proteinler dahil olmak üzere biyomoleküller, çeşitli yöntemler ile, MOF yapısına dahil edilebilmektedir. Bu yöntemlerden biri, biyomoleküllerin doğrudan MOF'ları elde etmek için yapı birimleri olarak kullanılmasıdır. Bunun yanı sıra, fiziksel etkileşimlerle biyomoleküller gözeneklere yayılabilmekte veya yüzeyine eklenebilmektedir. Fonksiyonel gruplar içeren bazı biyomoleküller, MOF'lar ile kovalent olarak konjuge edilebilir ve biyomoleküller ayrıca enkapsülasyon yoluyla doğrudan MOF matrisine immobilize edilebilmektedir. Oluşan biyomolekül-MOF hibrit yapıları, antitümör tedavisi, gen iletimi ve biyomoleküller algılama gibi çeşitli uygulama alanlarında kullanılmaktadır. MOF'lar, biyomolekülleri immobilize etmek için kullanılan diğer taşıyıcı sistemler ile karşılaştırıldığında (hidrojeller, mezogözenekli silika vb.) karşılaştırıldığında, farklı kompozisyona ve geniş yüzey alanına sahip olması gibi özellikleri ile ön plana çıkmıştır. Sonuç olarak hem biyomoleküllerin hem de MOF'ların avantajlarını bünyesinde barındıran bu sistem ile birçok sorunun aşılabileceği düşünülmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, kolloidal stabilitenin sağlanması ve

hücre ile etkileşimi artırmak için MOF-lipit hibrit yapısının ise kullanılmaya başlandığı görülmektedir [73].

Literatürdeki MOF ve lipit temelli ilaç taşıyıcı sistemlerinin bir arada kullanıldığı çalışmalara bakıldığında, Lin ve çalışma arkadaşlarının, 1,2-diöleoil-sn-glisero-3-fosfat sodyum tuzu (DOPA) varlığında cisplatin etken maddesiyle Zn(II) bisfosfonat MOF'larını ters mikroemülsiyon yöntemiyle hazırladığı görülmektedir. Ardından, MOF'ların yüzeyinde 1,2-diöleoil-sn-glisero-3-fosfokolin (DOPC), kolesterol ve 1,2-distearoyl-sn-glisero-3-fosfoetanolamin-N-[metoksi(poli-etilen glikol)-2000] (DSPE-PEG2000) 4:4:2 oranında, yüzeyde lipit çift tabakasının oluşması sağlanmıştır. Hazırlanan kompozit yapının uzun süreli dolaşım süresi ve tümör bölgelerinde artan ilaç birikimi sağladığı görülmüştür [74]. Benzer şekilde, Bein ve çalışma arkadaşları, MIL-100(Fe) ve MIL-101(Cr) nanopartiküllerini, çözücü değişimli biriktirme yöntemi yoluyla DOPC ile modifiye etmişlerdir. Sentezin şematik gösterimi Şekil 2.6'da verilmiştir. Lipit başlangıçta etanol/su karışımında monomer biçiminde bulunurken, su konsantrasyonu arttıkça nanoparçacık yüzeyinde yavaş yavaş lipit çift tabakası oluşturabilmiştir. Sonuçlara bakıldığında MOF-lipit sisteminin gözeneklerden boya salımını etkili bir şekilde engelleyebileceğini göstermiştir [48]. Literatürdeki çalışmalar ışığında hem DCL sisteminin hem de MOF-lipit entegrasyonunun önemli etkiler sağladığı görülmektedir ve bu tez çalışması kapsamında literatürde daha önce çalışılmamış olan CD-MOF-lipozom yapısının sinerjistik etki oluşturularak kullanılmasının birçok avantaj sağlayabileceği düşünülmektedir [75].



Şekil 1.6. Floresan yüklü lipit kaplanmış MOF partiküllerinin sentezinin şematik gösterimi [75].

2.6 Altın Nanopartiküller (AuNP) ve Fototermal Terapi

Kontrollü salım sistemlerine bakıldığında ilaç salım özelliği yanında farklı fonksiyonel özellikler kazandırılmış çok fonksiyonlu yapılara sıklıkla rastlanmaktadır. Bunlar arasında en çok kullanılanlardan biri altın nanopartiküllerdir (AuNP). AuNP'ler yüksek biyoyumluluk ve kolay biyokonjugasyonunun yanı sıra lokalize yüzey plazmon rezonansı sunan 1-100 nm çapa sahip nanopartiküllerdir. AuNP'ler yüksek yüzey-hacim oranına sahip sulu ortamda yüksek dağılılabirliği bulunan, boyut, şekil, yüzey kimyası veya kümelenme durumu değiştirilerek ayarlanabilen çeşitli özelliklere sahiptir. AuNP'ler tek başlarına kullanılabilirdiği gibi yüzey bağlayıcı özelliği ile çeşitli nano taşıyıcılar bünyesine dahil edilerek de kullanılabilir. Ayrıca, çok yönlü özellikleri ve çoklu yüzey işlevleri sebebiyle biyonanoteknolojide yaygın olarak kullanılmaktadır. Başlıca uygulamalarından biri ise fototermal terapi (PTT)'dir. PTT, vücudun farklı bölgelerindeki katı kanserleri veya tümörleri tedavi etmek için lokalize bir tedavi yöntemidir. PTT sırasında, elektromanyetik radyasyon ve yakın kızıl ötesi (NIR) radyasyonlar kullanılarak bir ışığa duyarlılaştırıcı uyarılmaktadır. Işığa duyarlılaştırıcının işlevi, ışığı veya enerjiyi emmek ve ayrıca lokal hipertermiyi indükleyen ve tümörün ablasyonuna izin veren ısıya dönüştürmektir. PTT ile tümör hücrelerinin yok edilmesinde altın nanopartiküller, kısa ışık salınımı ile yüksek sıcaklığa ulaşan ve bu sıcaklığı depolayabilen hedefe özgü yönlendirilebilen ve bu sayede etkili tedavi sağlayabilen nano boyuttaki yapılardır. NIR bölgesinde plazma rezonanslarına sahip AuNP'ler, tümör bölgesinde nanoparçacık alımının ardından kanserli tümörlerin fototermal ablasyonu için ışığı verimli bir şekilde ısıya dönüştürebilmektedir. Literatürde, AuNP'ler tarafından emilen ısı; tümörlü doku çevresindeki hücresel makro-moleküllere zarar vermeden; kanser hücrelerini ortadan kaldırmaktadır. AuNP'ler, dokuya özgü bir şekilde hücre yüzeyinde veya sitoplazmada bulunan hedeflere yönlendirilerek özgün bir şekilde tedavi sağlayıp tedavinin etkinliğini artırırken, yan etkilerini azalttığı bilinmektedir [76-83].

Sıcaklığa duyarlı sistemlerin, PTT'nin yanı sıra ilaç salınımını kontrol etmede etkili olduğu da bilinmektedir. [84]. Lipozomların belirli sıcaklıklarda tetiklenen ilaç salımı için çalışmalar yapılmaya devam edilmektedir. AuNP kaplı lipozomlar, hidrofobik ilaçlar için nanotaşıyıcılar olarak hizmet edebilmekte ve ayrıca fototermal tetikleme yoluyla NIR ışık ışıması üzerine hapsolmuş ilacın salınımını kolaylaştırabilmektedir. Ayrıca, NIR ışık ışınlaması sırasında üretilen ısı, hiperterminin neden olduğu hücre ölümünü önemli ölçüde sağlamaktadır [85]. Romanowski ve arkadaşları tarafında yapılan çalışmada,

DPPC ve AuNP içeren bir DDS sistemi tasarlanmıştır. Çalışmada DPPC'nin yüzeyine altın eklenerek bir çekirdek-kabuk etkisinin elde edildiği ve böylece NIR bölgesinde fototermal aracılı ilaç salımı için uygun bir absorbans oluşturulduğu gösterilmiştir. Ayrıca, bu tür DPPC bazlı lipozomların, absorbans dalga boylarına karşılık gelen NIR lazer dalga boylarına duyarlı ve spesifik olduklarını da göstermişlerdir [86]. Bir diğer çalışmada, Singh ve arkadaşları kurkumin salımı için biyolojik olarak parçalanabilen AuNP kaplı lipozom yapılarını hazırlayıp, 780 nm'de 650 mW güç uygulayarak fototermal terapi etkinliğini değerlendirmişlerdir. AuNP ile kaplanması, hazırlanan kompozit yapının yüzey plazmon rezonansı (SPR) sayesinde özel olarak NIR ışığını absorplamasını sağlamış ve bu ışık enerjisi ısıya dönüştürülmüştür. Üretilen ısı, kapsüllenmiş kurkumin salınımını artırarak lipozomal çekirdeğin dengesini bozmuştur. Kurkumin yüklenmiş AuNP kaplı lipozomların fototermal transdüksiyon etkinliği, lazer ışınlanması üzerine geri dönüşü olmayan hücresel hasara neden olan önemli bir sıcaklık artışı göstermiştir. Ayrıca yapının B16F10 (melanom) hücre hattında in vitro fototermal etkisi ve hücre içi alımı değerlendirilmiştir. Kurkumin yüklenmiş AuNP kaplı lipozom, serbest kurkumin ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde arttırılmış alım göstermiş ve 43°C'nin üzerindeki sıcaklık artışının hipertermi sağladığı görülmüştür.[77].

2.7 Nanozim

Yaşamsal faaliyetlerin sürdürebilmesi için gerekli olan enzimler, kimyasal reaksiyonların gerçekleşebilmesi için aktivasyon enerjisini düşüren ve reaksiyonu hızlandıran yüksek verimli biyokatalizörlerdir. İlk kez James B. Sumner 1926 yılında enzimlerin yapısının protein olduğunu ve kristalleşebildiğini bulmuştur. Her sistem için kendine özgü yapıda olan doğal enzimlerin biyolojik sistemler dışında klinik teşhis ve atık suların arıtılması gibi farklı alanlarda kullanımına da rastlanmaktadır [87-92]. Bu avantajlarının yanı sıra, enzimlerin büyük bir çoğunluğunun proteinlerin oluşturmasından dolayı çok kolay bir şekilde denatüre olmaktadır. Ayrıca, enzimlerin saflaştırılması oldukça zor ve maliyetlidir. Bu doğrultuda, enzimlerin taklit edebilen, biyolojik ve biyolojik olmayan ortamlara uyum sağlayan yeni yapılara ihtiyaç duyulmuştur. Bu ihtiyaç doğrultusunda araştırmacılar, endüstriyel uygulamalarda kullanılmak üzere enzimi taklit edebilen kimyasal malzemelerin sentezlenmesine yönelik girişimlerde bulunulmuştur [88, 93, 94].

Nanozimler, enzime benzer özellikler gösteren nano malzemeler olarak tanımlanmaktadır. Nanozim uygulamaları üzerine yapılan çalışmalar 2007 yılında manyetik Fe₃O₄ nanopartiküllerinin peroksidaz benzeri etki göstermesinin ardından hızlanmıştı. Nanozimlerin tasarımında biyolojik sistemlerden ilham alınmakta ve doğal enzimlere göre üretimi daha kolay ve düşük maliyetli stabil yapılar elde edilebilmektedir. Eşsiz fizikokimyasal özelliklere sahip malzemeler enzim benzeri aktiviteler göstermenin yanı sıra biyoteknolojinin kataliz bilimi ve nanoteknolojinin önümüzdeki yıllar içerisindeki gelişimine de çok büyük bir katkı sağlamaktadır [95-98].

Doğal enzimler yüksek katalitik etkisi, kendine özgü ve seçici yapıya sahip olmasına rağmen nanozimler daha düşük katalitik aktiviteye sahip ve az sayıdaki enzimi taklit edebilmektedir. Bu da nanozimlerin uygulama alanlarına büyük bir kısıtlama getirmektedir. Nanozimlerin doğal enzimlerin yerini tutabilmesi veya bir alternatif olabilmesi için substratına karşı seçici, katalitik aktivitesi yüksek, birden fazla enzim aktivitesi gösterebilmelidir [99]. Nanozimlerin, doğal enzimlerin ve nanomalzeme bazlı katalizörlerin avantaj ve dezavantajları Çizelge 2.4'te görüldüğü gibidir.

Çizelge 1.4 Nanozim, doğal enzim ve nanomalzeme bazlı katalizörlerin avantajları ve dezavantajları [99]

	Avantajları	Dezavantajları
Nanozim	<ul style="list-style-type: none"> • Yüksek katalitik aktivite • Ayarlanabilir • Çoklu enzim etkisi • Yüksek stabilite • Düşük maliyet • Kolay seri üretim • Dış uyarılarla kontrol edilebilmesi • Eşsiz fizikokimyasal özellikler 	<ul style="list-style-type: none"> • Kısıtlı nanozim çeşidi • Az sayıda enzim etkisinin gösterilmesi • Mekanizmanın anlaşılma zorluğu • Yapının boyut ve şekline bağlı olarak katalitik etkilerinin değişmesi
Doğal Enzim	<ul style="list-style-type: none"> • Substratın seçici olması • Biyouyumlu • Çok sayıda çeşidinin olması • Uygulama alanlarının çok çeşitli olması 	<ul style="list-style-type: none"> • Sınırlı stabilite • Yüksek maliyet • Ayırma ve saflaştırma proseslerinin zor olması • Seri üretiminin mümkün olmaması • Depolama süresinin kısa olması • Sadece ılımlı koşullarda kullanılabilir olması
Nanomalzeme bazlı katalizörler	<ul style="list-style-type: none"> • Düşük maliyet • Seri üretime uygun • Stabilitesi yüksek • Uzun süre depolanabilir olması • Zorlu ortamlara karşı dayanıklılık 	<ul style="list-style-type: none"> • Biyouyumlu olmaması • Seçisi olmaması • Özgül olmaması

2.7.1 Altın Nanozimler

Aminoasitlerin diziliminden protein çeşitliliğinin atmasından dolayı enzimlerin sayısı da oldukça fazladır. Bu çeşitlilik sayesinde de farklı katalitik etkilere sahip enzimlerin sayısı neredeyse sınırsız olarak belirtilebilmektedir. Enzimler en temel haliyle 7 farklı grup olarak sınırlandırılabilir. Bunlar, oksidoredüktazlar, hidrolazlar, liyazlar, transferazlar, izomerazlar, translokazlar ve ligazlardır. Nanozimlerin eldesi ile bu katalitik etkilerin birçoğunun görülebilmesi mümkündür. Bu etkinin sağlanabilmesi için Nanozim yapısının yüksek enerjili atomlardan oluşması gerekmektedir. Bu etki tek bir malzeme ile sağlanabildiği gibi farklı kompozit yapıların yüzeyine ligandların bağlanması ile katalitik aktivitenin görülebilmesinin sinerjistik terapinin de önünü açmaktadır [100-102].

Doğal enzimlerin kimyasal tepkimeler üzerindeki mekanizması katalizörün özgüllüğüne ve girenlerin geçiş durumuna bağlıdır. Burada öne sürülen mekanizmalar kovalent, asit-baz, elektrostatik ve kofaktör katalizdir. Enzimler bahsedilen bu özellikleri ile eşsiz olsa da farklı kullanım alanlarında da kullanımı aktif bölge sayısının sınırlı olmasıyla güçleşmektedir. Ancak nanozimler daha fazla aktif bölgeye sahip olma ve birden fazla katalitik etki gösterme yeteneğine sahip olabilir [100-102].

Daha önceki bölümde belirtildiği gibi, altın nanopartiküller (AuNP) çok geniş bir yelpazede hem tek başına hem de farklı fizikokimyasal özelliklere sahip malzemelerin yüzeyinin dekore edilmesinde kullanılmaktadır. Oldukça yeni bir araştırma alanı olan enzim benzeri etki gösteren malzemelerin ortaya çıkışının ardından AuNP'lerin de katalitik etkisinin olabileceği sonucuna varılmıştır. AuNP-nanozimler birçok farklı enzim benzeri katalitik etkisi gösterebilmektedir. Bunun yanı sıra enzimlerin yanı sıra sadece ılımlı çevre koşullarında değil farklı sıcaklık ve pH aralıklarında çalışılması mümkün olan eşsiz özelliklere sahip bir yapı elde edilebildiği literatürdeki çalışmalar incelendiğinde görülmektedir [103]. Bu konu üzerine yapılan çalışmalar Çizelge 2.5'te verilmiştir.

Çizelge 1.5. Nanozim aktivitesi değerlendirilen bazı AuNP ve türevleri

Nanozim	Katalitik Aktivite	Ref.
AuNP bazlı kiral nanozim	Transfosforilasyon katalizör etkisi	[104]
Pd-Au	Peroksidaz benzeri etki	[105]
β -CD-AuNP	Esteraz benzeri etki	[106]
AuNP	Peroksidaz benzeri etki	[107]
AuNP	Glukoz oksidaz benzeri etki	[108]
Silika NP destekli AuNP	Oksidaz ve peroksidaz benzeri etki	[109]

AuNP'lerin tek başına kullanımının yanı sıra birçok avantaj sunan MOF yapılarının yüzeyinin dekore edilmesiyle yeni hibrit malzemelerin eldesi oldukça umut verici çalışma alanlarından biri olup birçok uygulama alanının da önünü açmaktadır. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, AuNP'lerin MIL-101 adlı MOF yapısına dahil edilmesiyle enzimatik bir etki gösterebileceğini ilk kez kanıtlanmıştır. Yihui Hu ve arkadaşları bu hibrit yapının HRP enzimi gibi hücrelerde glikoz ve laktatı tespit etmek gerekli olan katalitik etkiyi sağlayabileceğini göstermişlerdir [110]. Son yıllarda ise AuNP@MOF yapılarının kullanımı biyoteknolojik alanlardaki uygulamaları için de değerlendirilmeye başlanmıştır. Hu ve arkadaşları tarafından oldukça ilgi çeken bir çalışma ortaya konmuştur. Bu çalışmada, Staphylococcus aureus ile savaşmak için OH⁻ radikallerinin sentezi için yine AuNP@MOF yapıları kullanılmış ve doğal enzim benzeri etki ile antibakteriyel tedavinin sağlanabildiği bildirilmiştir [111].

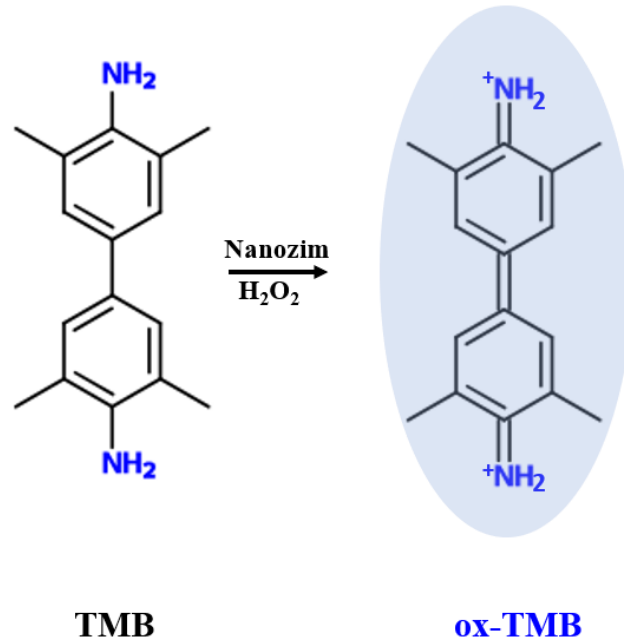
Özetle, biyoumlu hibrit yapıların özellikle bu tez çalışması kapsamında da etkisi değerlendirilmiş olan peroksidaz benzeri etkinin sağlanabileceği ve birçok uygulama alanında kullanımın mümkün olduğu görülmektedir.

2.7.2 Peroksidaz Benzeri Etki Gösteren Nanozimler

Peroksidaz birçok canlıdan bulunan doğal enzimlerden biridir. Peroksidazın ana görevi hidrojen peroksidi (H₂O₂) toksik olmayan bileşenlerine ayrıştırmaktır. H₂O₂) ise oksijenli solunumun sonucunda oluşan bir yan üründür. Peroksidaz ise toksik olan bu yan ürünün toksik olmayan bir forma dönüşmesine yardımcı olmaktadır. Reaksiyon mekanizması şu şekilde ifade edilmiştir:



Peroksidaz, biyolojik sistemlerdeki işlevinin yanı sıra, analitik ve klinik kimya alanlarında analitlerin renk değişimi ile belirlenmesinde kullanılmaktadır. İlk peroksidaz benzeri etki gösteren nanozim Fe_3O_4 nanopartikülleridir. Yapısında demir bulunduran malzemelerin doğal yaban turpu peroksidazına (HRP) benzer etki sergilediği de belirtilmiştir. Peroksidaz benzeri etkinin görülüp görülmediğinin kanıtlanabilmesi için en çok kullanılan yöntem 3,3',5,5'-Tetrametilbenzidin (TMB) ile yapılan analizdir [96, 112, 113]. TMB'nin peroksidaz etkisi varlığındaki mekanizması Şekil 2.7'de verilmiştir. Peroksidaz varlığında renksiz olan TMB molekülü oksitlenerek mavi renkli ox-TMB ürününe dönüşmektedir. Reaksiyonun varlığının kolorimetrik olarak kanıtlanmasının yanı sıra, enzim benzeri etkinin doğrulanmasının en güçlü kanıtı Michelis-Menten kinetiğine uygunluğunun değerlendirilmesidir [114]



Şekil 1.7. TMB ile peroksidaz benzeri etkinin gözlemlenmesinin şematik gösterimi

2.7.3 Nanozimin Uygulama Alanları

Nanozimleri enzim benzeri yapılar olduğu için enzimler gibi biyolojik sistemlerde kullanılabilir. Bunun yanı sıra, analitik, biyomedikal ve çevresel uygulamalarda kullanıma açıktır. En ilgi çeken uygulama alanlarından biri ise biosensörlerdir. Nanozimler, biyoanalitik analizlerde protein enzimleri yerine kullanılabilir, hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi substratların varlığını belirleyebilmektedir. Literatürdeki yapılan çalışmalar incelendiğinde, nanozimlerin inhibitör ve aktivatörlerinin tespiti için de

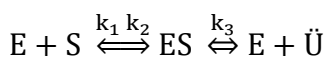
sensörler geliştirildiği görülmektedir [115]. Örneğin, Hg⁺²'nin AuNp'lerin katalizör olarak kullanıldığı tepkimelerde aktivatör etkisi gösterdiği görülmüştür [116].

Kanser, insanlarda en çok ölüme neden olan ve anormal hücrelerin kontrolsüz bir şekilde artması sonucu ortaya çıkan bir hastalık türüdür. Dokuların karmaşık bir yapıya sahip olması tedaviyi güçleştirmektedir. Kanserli hücrelerde redoks düzensizliği ortaya çıkmaktadır. Buradaki redoks düzensizliğinin önüne nanozimler ile geçilebileceği düşünülmektedir. Örneğin, kanserli hücrelere glikoz iletiminin önüne geçmek için glikoz oksidasyonu hızlandırılarak tümörün büyümesinin önüne geçilebileceği düşünülmektedir. Bir başka yaklaşım ise, reaktif oksijen türlerinin seviyesinin kontrolünün sağlanması ile bağışıklık sinyalleri tetiklenebilmektedir. Biyokatalizörler arasından peroksidaz ve oksidazlar olarak bilinen oksidoredüktazlar, redoks durumunu ve reaktif oksijen türlerinin düzenlenmesinde bir modülatör görevi görebileceği düşünülmektedir. Böylece tasarlanan nanozimlerin kanser tedavisinde de umut verici bir yaklaşım olabileceği düşünülmektedir [117]. Enzimlerin sahip olduğu dezavantajların da üstesinde gelmekte ve hastalık teşhisi için de bir aracı olarak kullanılabilirliği gösterilmiştir. Örneğin, kandaki glutatyon (GSH) ve kolesterol gibi bileşenlerinin varlığının tespitini yapabilen nanozimlerin geliştirilebileceği ve böylece teşhis ve tedavide kendine kullanım alanı açacağı düşünülmektedir [118].

Nanozimler yeni bir araştırma alanı olmasına rağmen şu ana kadar çevresel ve biyolojik sistemlerde yerini almaya başlayan özel yapılardan biridir. Önümüzdeki yıllarda, yapılan çalışmalar ve iyileştirmeler ile birden fazla fonksiyona sahip yapıların elde edilebileceği açıktır.

2.8 Michaelis – Menten Kinetiği

Michaelis-Menten reaksiyon kinetiği enzimlerin substratıyla olan ilişkisini irdeleyen modellerden biridir. Kinetik model oluşan ürünün oluşum hızını, reaksiyon koşullarını, enzim substrat arasındaki ilgiyi ifade etmektedir. Bu model 1913'te Michaelis ve Menten tarafından yapılan çalışmalar ile ortaya atılmış ve enzim varlığında gerçekleşen reaksiyonların açıklanabilmesi için oldukça önemli bulgu haline gelmiştir. Michaelis-Menten modeli bir substratın bulunduğu Eşitlik 2.1'deki verilen reaksiyonlar için geçerlidir.



Eşitlik 2.1

Eşitlik 2.1’de E enzimi, S substratı ES enzim substrat kompleksini ve Ü ürünü ifade etmektedir. k_1 , k_2 ve k_3 reaksiyon hız sabitleridir. Tersinir bir reaksiyon olan E ve S ilk olarak ES’nin oluşumu gözlenir. ES kompleksi ileri yönlü tepkime ile k_3 hızı ile ürüne; k_2 hızlı geri yönlü tepkime ile tekrar E ve S’ye dönüşmesi mümkündür. Kinetik modelde ES’nin ileri yönlü tepkimesi ile oluşun ürünün oluşma hızı V_0 olarak belirlenmiştir. V_0 tepkime başlangıç hızı olarak da ifade edilmektedir. V_0 Eşitlik 2.2’de verildiği şekilde gösterilmektedir.

$$V_0 = k_3 \times [ES] \quad \text{Eşitlik 2.2}$$

Burada V_0 , [ES]’nin ileri yönlü tepkimesi yani yıkım aşamasındaki hızına eşit olduğu belirtilmektedir.

$$[ES]_{\text{Oluşum hızı}} = k_1 \times [E] \times [S] \quad \text{Eşitlik 2.3}$$

$$[ES]_{\text{Yıkım hızı}} = k_2 \times [ES] \times k_3 \times [ES] = (k_2 + k_3) \times [ES] \quad \text{Eşitlik 2.4}$$

Tepkime dengeye geldiği anda Eşitlik 2.3’te ve Eşitlik 2.4’te verilen yapım ve yıkım hızlarının birbirine eşit olduğu varsayımı yapılmaktadır. Bu durumda Eşitlik 2.5 elde edilmiştir.

$$[ES] = \frac{[E] \times [S]}{\frac{k_2 \times k_3}{k_1}} \quad \text{Eşitlik 2.5}$$

$$\frac{k_2 \times k_3}{k_1} = K_m = \text{Michelis – Menten Sabiti} \quad \text{Eşitlik 2.6}$$

Eşitlik 2.5’te paydadaki ifade K_m olarak ifade edilmektedir ve Michaelis-Menten sabiti olarak adlandırılmıştır. Bu değer enzimin en yüksek hızının yarı değerine ulaştığı andaki substrat derişimine eşittir. [E] ifadesi ise serbest enzim miktarını ifade etmektedir. Bu ifade ise Eşitlik 2.7’de verildiği gibi formülize edilmiştir.

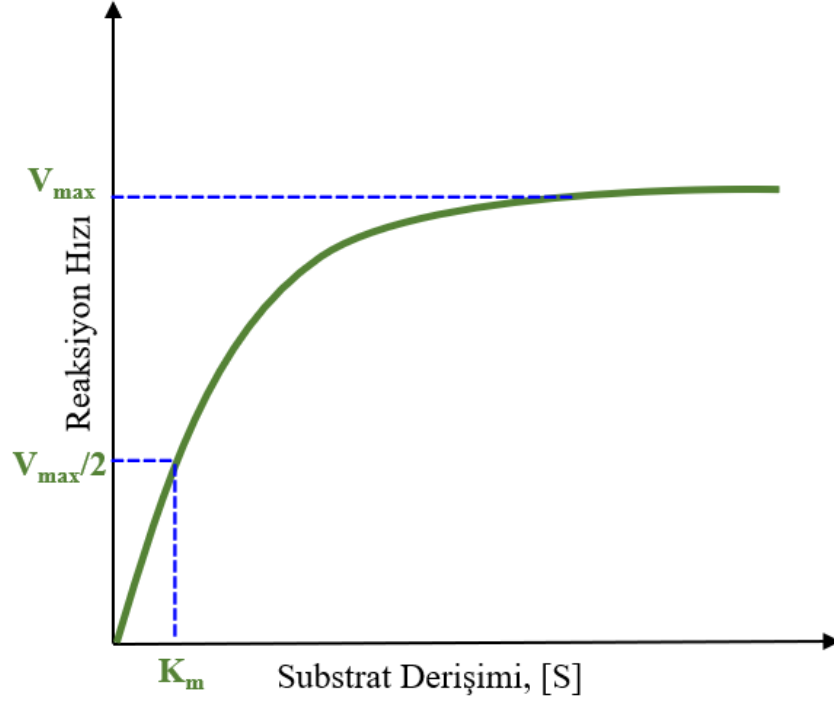
$$[E] = [E_T - ES] \quad \text{Eşitlik 2.7}$$

Burada E_T , toplam enzim konsantrasyonudur. Eşitlikler düzenlendiğinde, belirli bir andaki hızın hesaplanabilmesi için Eşitlik 2.8 türetilmiştir.

$$V_0 = \frac{V_{\max} \times [S]}{[S] + K_m}$$

Eşitlik 2.8

Eşitlik 2.8 Michaelis-Menten kinetik modelinin temel halidir ve kinetik verilerden elde edilen hiperbolik bir eğridir. Bu eğrinin şematize edilmiş hali Şekil 2.8'te verilmiştir.



Şekil 1.8. Michaelis-Menten kinetik modelinin şematize gösterimi

V_{\max} enzimin ulaşabileceği en yüksek hız değerine karşılık gelmektedir. Enzimin aktif bölgesi substratına doymun hale gelince bu değere ulaşmış olur. K_m ise maksimum hız değerinin yarsınındaki substrat miktarını ifade eder. Bu değer doğru bir şekilde hesaplanabilmesi için farklı substrat konsantrasyonlarında çalışılmalıdır. Her katalizörün kendine ve substratına özgü bir K_m değeri mevcuttur. Kısacası bu değer katalizörün substratına olan afinitesine karşılık gelmektedir.

Bu kinetik modellerin pratik bir şekilde değerlendirilebilmesi için adını bu eşitliği türeten araştırmacılardan alan Lineweaver-Burk grafiği sıklıkla kullanılmaktadır. Bu denklem Eşitlik 2.9'da verilmiştir.

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{\max}} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

Eşitlik 2.9

Basit bir doğru denklemi olarak düşünülürse $1/S$ 'e karşı $1/V_0$ grafiğe geçirilirse doğrunun kayması $1/V_{\max}$, doğrunun eğiminden ise V_{\max} değeri hesaplanabilmektedir [119].

Tez çalışması kapsamında, yüksek biyoyumluluğa sahip CD-MOF/lipit hibrit yapılarının ilaç etken madde tutma kapasitesi ve kontrollü ilaç salım potansiyelinin araştırılması hedeflenmektedir. Bu kapsamda, ilaç etken madde tutma kapasitesi ve kontrollü salımı model ilaç molekülleri kullanılarak araştırılacaktır. Model ilaç molekülü olarak, zerdeçalın polifenolik-hidrofobik bileşenlerine sahip biyoaktif pigmenti olan kurkumin kullanılacaktır. Kurkuminin yapılan çalışmalara göre, karaciğerde konjuge olup hızlı bir şekilde metabolize edildiği, zayıf stabilitesi ve düşük çözünürlüğe sahip hidrofobik özelliği nedeniyle sınırlı biyoyararlanıma sahip olduğu bilinmektedir [57]. Bu nedenle, kurkuminin kontrollü salım sistemi içerisine alınması gerekmektedir. Hazırlanan hibrit yapılarının model ilaç tutma kapasitesi belirlendikten sonra kontrollü salımının yapılması amaçlanmıştır. Literatürde, CD-MOF yapılarının ilaç taşıyıcı sistemler olarak kullanımı ile ilgili kısıtlı çalışmalar bulunsa da lipit moleküllerine entegrasyonu ile ilgili bilginiz dahilinde bir çalışma daha önce yapılmamıştır. Elde edilecek bu yapı ile, kemoterapi ve fototermal tedavinin birlikte uygulanmasının sinerjik bir etki yaratıp, tasarlanan taşıyıcı sistemin gözenekli yapısına yüksek oranda birden fazla ilaç etken maddesinin yüklenmesi ve lipit temelli bir ilaç salım sistemiyle daha stabil kompozit bir yapı haline getirilmesiyle daha etkin bir tedavinin sağlanabileceği görülmektedir. Ek olarak elde edilen bu yapının enzim benzeri bir katalitik etkisinin olduğu da konsept bir çalışma olarak tez çalışması kapsamında gösterilmiştir. Tez çalışması kapsamında tasarlanan, literatürde daha önce çalışılmamış olan; çok fonksiyonlu ve bu amaçla kullanımı bulunmayan AuNPler ile dekore edilmiş CD-MOF-lipit yapıları elde edilmiştir.

2. DENEYSEL YÖNTEMLER

3.1 Kimyasal Maddeler

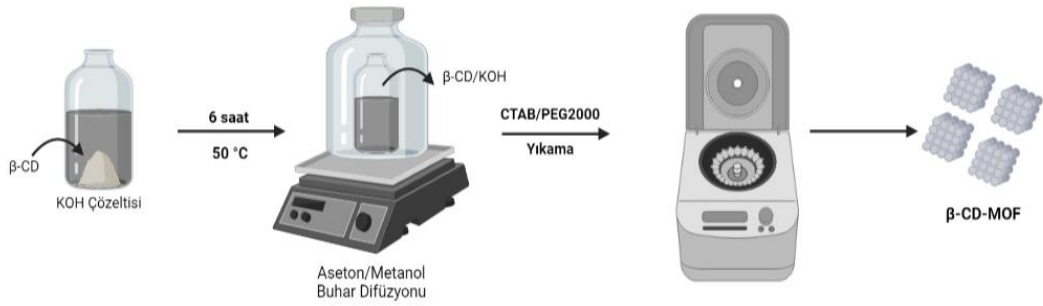
Gerçekleştirilen tez çalışması kapsamında, β -siklodekstrin, potasyum hidroksit, potasyum karbonat, setiltrimetil amonyum bromür, polietilen glikol 2000, kurkumin, Tween 80, orange OT, tetrakloroaurik (III) asit, askorbik asit sodyum borhidrür, 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin (TMB), hidrojen peroksit (H_2O_2), 1H,1H,2H,2H-Perfloro-1-dekanol (FTOH), sodyum fosfat dibazik, sodyum fosfat monobazik, demir (II) sülfat, sodyum klorür, potasyum klorür, Sigma Aldrich'ten; dipalmitoilfosfatidilkolin (DPPC), Avanti Polar Lipids'ten temin edilmiştir. Kullanılan kimyasallar herhangi bir saflaştırma işlemine tabi tutulmamıştır. Tüm çözeltiler ultra saf su kullanılarak hazırlanmıştır.

3.2 CD-MOF'ların Hazırlanması ve Karakterizasyonu

Bu tez çalışması, β -siklodekstrin-MOF (β -CD-MOF) yapısının ilaç taşınımı amacı ile kullanılabilmesi için buhar difüzyon ve sonikasyon sentez metotlarıyla taşıyıcı sistem hazırlanmıştır. β -CD-MOF taşıyıcı sisteminin istenilen boyut ve morfolojide elde edilebilmesi için birçok metot ve parametre denenmiş olup tez çalışmasının sonraki adımlarında kullanılması en uygun olan yapı elde edilmeye çalışılmıştır. Bu çalışma kapsamında ilk olarak buhar difüzyon yöntemi ile çalışmalara başlanmıştır.

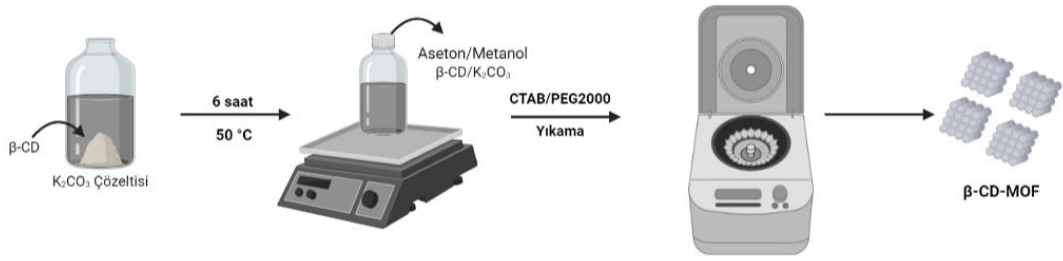
Çalışmanın ilk aşamasında CD-MOF'lar buhar difüzyon yöntemi ile hazırlanmıştır. Sentez yönteminin şematik gösterimi Şekil 3.1'de verilmiştir. CD-MOF sentezinde kullanılacak olan organik ligand farmasötik uygulamalar için daha uygun olan ve sıklıkla kullanılan β -Siklodekstrin (β -CD) ve metal iyonu olarak potasyum olarak seçilmiştir. CD-MOF kristallerinin elde edilmesinin ilk aşamasında, 141.875 mg β -CD (0.125 mmol), 5 ml KOH (mmol/L) sulu çözeltisi içerisine eklenmiştir. Ardından çözelti 0.45 μ m'lik membrandan geçirilerek içerisinde 5 ml metanol bulunan bir cam viyale süzülmüştür. CD-MOF sentezi için daha iyi kristallerin elde edilebilmesi için metanol buharının difüzyonu gerçekleştirilmiştir. Metanol buhar difüzyonu için yaklaşık 45 ml metanol büyük bir cam viyale konulup, içerisine çözeltinin bulunduğu cam viyal yerleştirilmiştir. Bu işlem 50 °C'de 6 saat boyunca gerçekleştirilmiştir. Monodispers CD-MOF kristallerinin eldesi için 6 saat sonunda yaklaşık 7 ml çözeltinin geri kazanılması hedeflenmiştir. Ardından, CD-MOF'ların boyutlarının küçültülmesi için geri kazanılan

çözelti yeni bir kaba alınıp üzerine 5 ml CTAB (8 mg/ml) ilave edilmiştir. 6 saatlik sentez süresinin ardından gece boyunca kristallerin oluşması beklenmiştir. Elde edilen beyaz blok kristaller üç kez izopropanol ile 6000 rpm’de 10 dakika boyunca yıkanmıştır. Elde edilen yapının gözeneklerine hapsolmuş solventin uzaklaştırılabilmesi için CD-MOF’ların aktivasyon işlemi diklorometan içerisinde 3 gün bekletilerek gerçekleştirilmiştir. Aktivasyon işleminin tamamlanması ile CD-MOF’lar 40 °C’de vakum altında kurutulması sağlanmıştır [120].



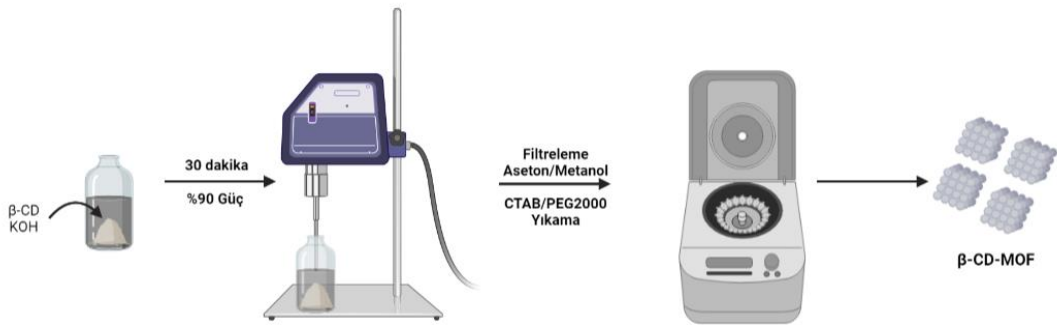
Şekil 2.1. Buhar difüzyon yöntemi ile sentezlenen β-CD-MOF sentezinin şematik gösterimi

Buhar difüzyon yöntemi ile elde edilen yapının istenen özellikleri tam olarak sağlayamaması sebebiyle sentez yönteminin geliştirilmesi gerekmiştir. Bu amaçla, ilk olarak potasyum kaynağının yapıya olan etkisi incelenmiştir. Literatürde yapılan çalışmalar ışığında potasyum kaynağı olarak K_2CO_3 seçilmiştir [121]. K_2CO_3 ile sentezlenen β-CD-MOF’un sentezinin şematik gösterimi Şekil 3.2’de verilmiştir. Bu yöntemde, buhar difüzyon yöntemi ile aynı olacak şekilde miktarlar ayarlanmış olup çözücü difüzyonu gerçekleştirilmeden sentez gerçekleştirilmiştir. 6 saat boyunca 50 °C’de gerçekleştirilen sentezin ardından çözelti üzerine 5 ml CTAB (8 mg/ml) ilave edilmiş ve gece boyunca kristallerin oluşması beklenmiştir. Elde edilen kristaller üç kez izopropanol ile 6000 rpm’de 10 dakika boyunca yıkanmıştır. Elde edilen yapının gözeneklerine hapsolmuş solventin uzaklaştırılabilmesi için CD-MOF’ların aktivasyon işlemi diklorometan içerisinde 3 gün bekletilerek gerçekleştirilmiştir. Aktivasyon işleminin tamamlanması ile CD-MOF’lar 40 °C’de vakum altında kurutulmuştur.



Şekil 2.2. K₂CO₃ ile sentezlenen beta-CD-MOF sentezinin şematik gösterimi

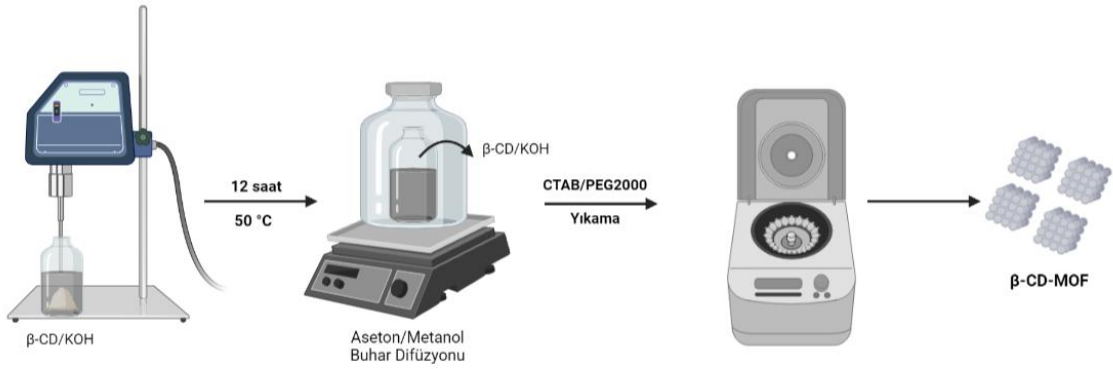
Tez çalışması kapsamında, CD-MOF'ların en uygun şekilde sentezlenebilmesi için ikinci aşamada sonikasyon yöntemine başvurulmuştur ve bu yöntem içinde belli parametreler ile çalışılmıştır. Bu parametrelere bulgular kısmında detaylı bir şekilde değinilecektir. Şekil 3.3'te şematik gösterimi verilen sentez yönteminden kısaca bahsedilecek olursa; beta-CD (0.284 g) ve KOH (0.112 g) 10 ml deiyonize su içerisinde çözündürülüp homojenizatör ile 55 W'da (%80 güç) 30 dakika boyunca ultrasonik güç yardımıyla karıştırılmıştır. Elde edilen çözelti 0.45 µm'lik membrandan süzülüp metanol ile karıştırılmış ve su banyosu yardımıyla oda sıcaklığında tutulmuştur. Elde edilen çözeltiye boyut küçültücü ajan olarak PEG-2000 veya CTAB çözeltisi eklenmiştir. Oda sıcaklığında bekletilerek çöken partiküller etanol ile yıkanmış ve vakumla kurutulmuştur [122].



Şekil 2.3 Sonikasyon yöntemi ile beta-CD-MOF sentezinin şematik gösterimi

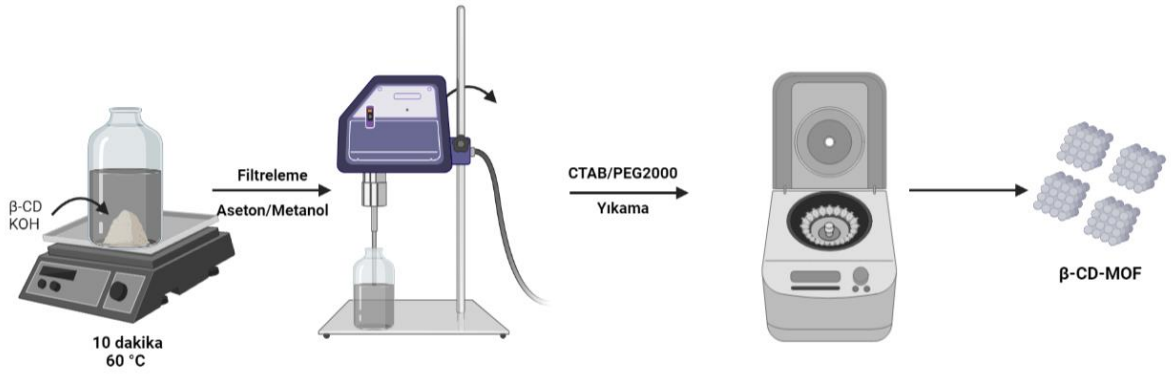
Tez çalışması kapsamında belirlenen hedefe ulaşılması amacıyla buhar difüzyon yöntemi ve sonikasyon yöntemi birbirine entegre edilmiş ve bu iki yöntemin parametre çalışmaları sonucunda elde edilen en uygun koşullarında sentez gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, beta-CD (0.284 g) ve KOH (0.112 g) 10 ml su içinde 30 dk boyunca %90 güçte ultrasonik prob

ile karıştırılmıştır. 30 dk sonunda 2 ml metanol/aseton bulunan cam viyal içerisine 0.45 μ m'lik bir organik membrandan süzülerek eklenmiştir. Ardından küçük cam viyal içerisinde yaklaşık 50 ml %25 Aseton/%75 Metanol bulunan büyük cam viyal içine konulmuştur. Metanol/aseton difüzyonun 50 derece 12 saatte gerçekleşmesi sağlanmıştır. 12 saatin sonunda sentez temiz bir kaba alınıp üzerine 5 ml su içerisinde çözüldürülen 0.08 g CTAB ya da PEG-2000 çözeltisi hızlı bir şekilde eklenmiştir. Ardından, MOF kristallerinin oluşması beklenmiştir. Elde edilen partiküller uygun çözücü ile yıkanmış ve vakum ile kurutulmuştur. Buhar difüzyon/sonikasyon yönteminin şematik gösterimi Şekil 3.4'te verilmiştir.



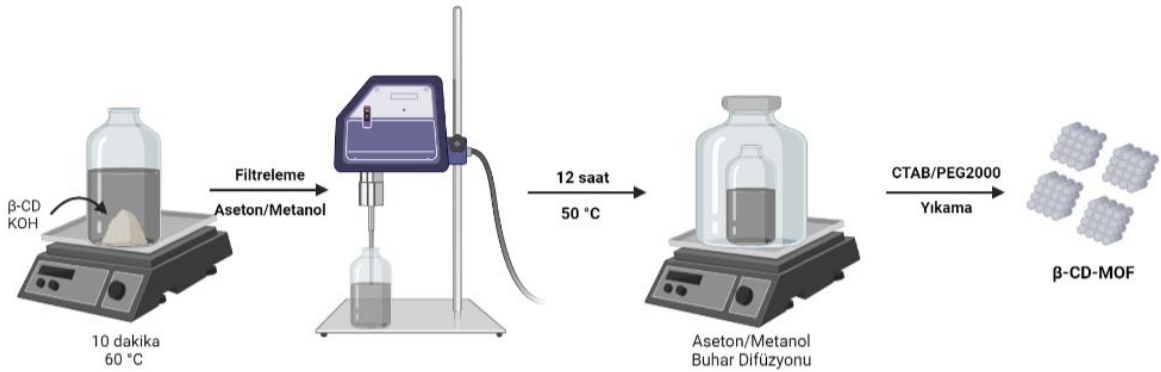
Şekil 2.4. Sonikasyon/Buhar difüzyon yöntemi ile β -CD-MOF sentezinin şematik gösterimi

Tez çalışması kapsamında, istenen boyutta β -CD-MOF elde edilebilmesi için sonikasyon yönteminin solvotermal yöntemle birlikte uygulanmasının boyuta olumlu yönde bir etkisinin olabileceği düşünülmüştür. Bu amaç doğrultusunda şekil 3.5'te de şematik gösterimi verilen, β -CD ve KOH sonikasyon işlemine tabi tutulmadan önce 10 ml deiyonize su içerisinde çözüldürülmüş ve filtrelenmiştir. Ardından çözeltiliye metanol/aseton eklenip 60 °C'ye ısıtılmıştır. Sonrasında, %90 güçte sonikasyon ile (2 saniye açık, 2 saniye kapalı modunda) 30 dakika boyunca karıştırılmıştır. Ardından boyut küçültücü ajan olarak PEG-2000 çözeltisi eklenmiştir. Sonrasında partiküller etanol ile 3 kez yıkanıp 40 °C'de vakumla kurutulmuştur [123].



Şekil 2.5. Solvotermal/Sonikasyon yöntemi ile β -CD-MOF sentezinin şematik gösterimi

Yapılması hedeflenen tez çalışması kapsamında, taşıyıcı sistemin tasarımında, koşulların optimize edilmesinin son aşamasında sonikasyon, solvotermal ve buhar difüzyon yöntemlerinin bir arada kullanılması ile istenen β -CD-MOF'ların elde edilebileceğine karar verilmiştir ve sentezin şematik gösterimi Şekil 3.6'da verilmiştir. Bu bağlamda, β -CD ve KOH sonikasyon işlemine tabi tutulmadan önce 10 ml deiyonize su içerisinde çözündürülmüş ve filtrelenmiştir. Ardından çözeltiliye metanol/aseton eklenip 60 °C'ye ısıtılmıştır. Sonrasında, %90 güçte sonikasyon ile (2 saniye açık, 2 saniye kapalı modunda) 30 dakika boyunca karıştırılıp 50 °C'de metanol/aseton (%50%50)'un 12 saat boyunca difüzenmesi sağlanmıştır. Sentez yönteminde sonraki adımlar aynı şekilde uygulanmıştır.



Şekil 2.6. Solvotermal/Sonikasyon/Buher difüzyon yöntemi ile β -CD-MOF sentezinin şematik gösterimi

CD-MOF'ların sentez aşaması tamamlandıktan sonra karakterizasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. MOF karakterizasyonunda kristal yapısının belirlenmesi için X-Işını Kırınımı (XRD), partikül boyutu ve morfolojisinin belirlenmesi için optik mikroskop ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılmıştır. Toz halindeki örneklerin XRD'leri

Zero Back Ground Holder ile alınmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda CD-MOF yapısının elde edildiği doğrulanmıştır.

3.3 CD-MOF'un Florokarbonlu Ligand ile Kaplanması

CD-MOF'ların suda çözünürlüğünün azaltılması amacıyla yüzeyin per floro 1- dekanol (FTOH) ile kaplaması gerçekleştirilmiştir. Bu işlem için sonikasyon/solvotermal/buhar difüzyon yöntemi ile elde edilen partiküller kullanılmıştır. 12 saatlik sentezin ardından çöken partiküllerin içerisine kütlece β -CD:FTOH olacak şekilde per floro 1- dekanol eklenip 15 dakika daha karıştırıldıktan sonra aynı adımlar takip edilerek suya karşı dayanıklı MOF kristalleri elde edilmiştir [124].

3.4 CD-MOF Yapısının Stabilitésinin İncelenmesi

Çalışma kapsamında elde edilecek olan CD-MOF yapılarının depolama ve farklı çözücüler içerisindeki stabilitelerinin incelenmesi planlanmıştır.

Farklı çözücüler içerisindeki stabilite çalışmalarının gerçekleştirilmesi için, 200 mg CD-MOF yapısı cam bir şişeye alınıp üzerine 10 mL diklorometan, metanol, etanol, isopropanol, aseton ve su ilave edilmiştir. Ardından, farklı zaman aralıklarında (2, 4, 6, 12, 24 saat) oda sıcaklığında bekletilen örneklerin yapısındaki değişimler incelenmiştir [120].

3.5 CD-MOF'lara Etken Madde Enkapsülasyonu

CD-MOF yapılarına model ilaç olarak kurkumin ve Orange OT enkapsülasyonunun yapılması hedeflenmiştir. Etken madde enkapsülasyonu, emdirme ve birlikte kristallendirme metotlarıyla sentez esnasında ve sentez sonrasında olmak üzere β -CD-MOF yapısına dahil edilmiştir.

Kurkumin enkapsülasyonu için yukarıda bahsedilen sonikasyon/solvotermal/buhar difüzyon yöntemi ile elde edilen β -CD-MOF'lar kullanılmıştır. Öncelikle sentez sonrasında ilaç enkapsülasyon yöntemi ile başlanmıştır. Literatürde daha önce yapılmış olan çalışmalardaki ilaç: β -CD-MOF oranları ile çalışmalara başlanmıştır. Kısaca, β -CD-MOF'lar ve kurkumin (1:1, 2:3) (ilaç: β -CD) aynı anda etanol içinde çözdürüldükten sonra karanlıkta 750 rpm'de 3 saat manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Ardından etanol ile yıkama yapıp vakum ile 40 °C'de kurutulmuştur [12, 125].

Elde edilen kurkumin yüklü partiküller HCl ile bozulup kapsüllenen ilaç derişiminin hesaplanabilmesi için UV-Vis spektroskopisi ile 424 nm'de analizlenmiştir. β -CD-MOF

yapısına dahil edilen etken madde miktarı (% enkapsülasyon verimi) Eşitlik 3.1 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{Enkapsülasyon Verimi} = \frac{\text{Eklenen toplam ilaç} - \text{serbest ilaç}}{\text{toplam ilaç}} \times 100 \quad \text{Eşitlik 3.1}$$

$$\% \text{İlaç Yükleme Kapasitesi} = \frac{\text{Eklenen toplam ilaç} - \text{serbest ilaç}}{\text{toplam ilaç miktarı} + \text{toplam MOF miktarı}} \times 100 \quad \text{Eşitlik 3.2}$$

Literatürde, genellikle emdirme yöntemi ile etken madde enkapsülasyonu gerçekleştirilmiş ve birlikte kristallendirme yöntemi ile yüksek verimde enkapsülasyon yapılamadığına değinilmiştir [12, 125]. Literatürde daha öncesinde sonikasyon/solvotermal/buhar difüzyon yöntemi ile CD-MOF sentezlenmediği göz önüne alınırsa ve elde edilen yapıların oldukça gözenekli bir yapıya sahip olduğu düşünülürse bu yöntem ile yüksek oranda enkapsülasyon verimi elde edilebileceği düşünülmüştür. Bu bağlamda, β -CD ve KOH 10 ml deiyonize su içerisinde çözüldürülmüş ve filtrelenmiştir. Ardından çözeltiye metanol/aseton eklenip 60 °C'ye ısıtılmıştır. Sonrasında, çözeltiye 1:20, 1:10, 1:2 ve 1:1 (ilaç: β -CD-MOF) oranında %90 güçte sonikasyon ile (2 saniye açık, 2 saniye kapalı modunda) 30 dakika boyunca karıştırılıp 50 °C'de metanol/aseton (%50%50)'un 12 saat boyunca difüzlenmesi sağlanmıştır. Ardından, çöken partiküller etanol ile yıkandıktan sonra liyofilize edilerek saklanmıştır. Ayrıca partiküllerin bir miktarı vakum ile kurutularak büyük boyutlu partiküller elde edilmiştir ve β -CD-MOF'ların morfolojinin incelenmesi için kullanılmıştır.

Başarılı bir şekilde kurkumin ve orange OT yüklenen β -CD-MOF'ların salım çalışmaları diyaliz membran kullanılarak pH 7.4 fosfat tampon (PBS) çözeltisi içerisinde etken madde salımı 37°C'de yapılmıştır. İlaç yüklü olan β -CD-MOF'lardan 6 mg/ml alınmış ve 10 ml PBS çözeltisi içerisinde dağıtılmıştır. Belirli zaman aralıklarında salım ortamından örnek alınarak, salım ortamındaki madde miktarı belirlenmiştir. Madde miktarının belirlenmesi UV-vis spektroskopisi kullanılarak 424 nm (kirkumin) ve orange OT (489 nm) dalga boyunda absorbans değerleri ölçülerek belirlenmiştir. Absorbans değerlerinden bir kalibrasyon doğrusu kullanılarak konsantrasyon değerlerine geçilmiş ve zamana karşı %model ilaç salımı grafikleri elde edilmiştir.

3.6 Au@Lipit@FTOH@CD-MOF ve Lipit@Au@FTOH@CD-MOF Yapılarının Hazırlanması

Tez çalışması kapsamında, β -CD-MOF yapısından etken madde salımının kontrollü bir şekilde sağlanabilmesi için iki farklı konseptte çalışılmıştır.

3.6.1 Tasarım Au@Lipit@FTOH@CD-MOF

Bu aşamada ilk olarak, FTOH@ β -CD-MOF'ların yüzeyinin model lipit olan DPPC ile kaplanması gerçekleştirilmiştir.

Öncelikle, lipit kaplamasının görüntülenebilmesi için DPPC, hidrofobik rodamin B (R18) ile etiketlenmiştir. Bu işlemde öncelikle, 2.5 mg DPPC ve 0.2 μ g rodamin B'nin kloroformda çözülmesiyle yapılmıştır. Buradaki molar oran %99.995 DPPC ve %0.005 rodamin B olacak şekilde ayarlanmıştır. Ardından kloroform azot gazı kullanılarak buharlaştırılmıştır. Elde edilen lipit çözeltisi bir gece vakum altında kurutulmuştur. Lipit daha sonra 1 ml %40 etanol %60 su (v/v) çözücüsünde çözülmüş ve son konsantrasyon 2.5 mg/ml olacak şekilde ayarlanmıştır [75].

FTOH@ β -CD-MOF'ların lipit ile kaplanması Wuttke vd. bildirdiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Lipit tabakasıyla β -CD-MOF'ların kaplanabilmesi için öncelikle, DPPC 60/40 (v/v) oranındaki 100 μ l H₂O/Etanol karışımı içerisinde çözülmüştür. Ardından, 1 mg β -CD-MOF, çözelti içerisine eklenip çok hızlı bir şekilde 900 μ l H₂O eklenerek karıştırılmaya devam edilmiştir. Ortamdaki su konsantrasyonunun artırılmasıyla, lipit moleküllerinin çökmesi ve β -CD-MOF'ların yüzeyinde bir lipit tabakası oluşturması beklenmiştir. Ardından 14000 rpm'de 5 dakika boyunca örnekler santrifüjlenmiştir ve 1 ml H₂O içinde yeniden dağıtılıp yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Santrifüjlenen örnekler 200 μ l H₂O içerisinde yeniden dağıtılarak saklanmıştır [75].

Elde edilen Lipit@FTOH@CD-MOF karakterizasyonunda lipitin kaplanıp kaplanmadığının belirlenebilmesi için floresan mikroskop ve yükünün belirlenebilmesi için zeta potansiyel cihazı kullanılmıştır. Hibrit yapının görüntülenebilmesi için SEM ve optik mikroskop kullanılmıştır.

İlaç taşıyıcı sistemlerin vücut içinde birikmesinin önlenmesi kadar biyolojik ortamlarda hızla bozunmasını hatta kontrolsüz bir şekilde patlama salımının önlenmesi de oldukça önemli bir noktadır. Bu nedenle, bu çalışmada hidrofobik lipit kaplamasının yapılması ile birlikte β -CD-MOF'un gözeneklerinden etken maddenin salımının kontrollü bir şekilde yapılabilmesi hedeflenmiştir. Bu sayede, salım ve bozunma mekanizmaları üzerinde

kontrol sağlanabilmesine olanak sağlayan bir ilaç taşıyıcı sistemin tasarlanması mümkün hale gelebileceği düşünülmüştür [126].

Bu kapsamda, β -CD-MOF'lar DPPC ile kaplanmıştır. DPPC kaplamasının ilaç salımına etkisinin değerlendirilebilmesi amacıyla diyaliz membran kullanılarak pH 7.4 fosfat tampon (PBS) çözeltisi içerisine etken madde salımı 37°C'de gerçekleştirilmiştir. İlaç yüklü olan β -CD-MOF'lardan 6 mg/ml alınarak ve 10 ml PBS çözeltisi içerisine bırakılmıştır. Belirli zaman aralıklarında salım ortamından örnek alınarak salım ortamındaki madde miktarı belirlenmiştir. Madde miktarının belirlenmesi UV-vis spektroskopisi kullanılıp absorbans değerleri ölçülerek belirlenmiştir. Absorbans değerlerinden bir kalibrasyon doğrusu kullanılarak konsantrasyon değerlerine geçilmiş ve zamana karşı %model ilaç salımı grafikleri elde edilmiştir

Lipit@FTOH@CD-MOF yapıları elde edildikten sonra yüzeyleri kombine bir tedavi sağlamak amacıyla AuNPlar ile kaplanmıştır. Bu doğrultuda, öncelikle lipit kaplı CD-MOF'ların yüzeyinde AuNPlar oluşturularak yüzeyin kaplanması planlanmıştır. Bu işlem için, öncelikle 100 μ l lipit/CD-MOF'lar alınıp üzerine 400 μ l HAuCl₄ eklenmiştir. Ardından karışıma 400 μ l 20 mM askorbik asit/NaBH₄/FeSO₄ ilave edilmiştir. Bu aşamada farklı indirgeyici ajanların yüzeyin altın ile kaplanması üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Lipitlerin yüzeyi AuNP'ler ile kaplandığında, reaksiyon karışımı ani renk değişimi göstermiştir. [127].

3.6.2 Tasarım Lipit@Au@FTOH@CD-MOF

Öncelikle FTOH@CD-MOF yüzeyinin altın ile kaplanabilmesi için yine aynı yöntem takip edilmiştir. FTOH@CD-MOF'ların yüzeyinin AuNPlar ile kaplanması için, öncelikle 100 μ l lipit/CD-MOF'lar alınıp üzerine 400 μ l HAuCl₄ eklenmiştir. Ardından karışıma 400 μ l 20 mM FeSO₄ ilave edilmiştir. FTOH@CD-MOF'ların yüzeyi AuNP'ler ile kaplandığında, reaksiyon karışımı ani renk değişimi göstermiştir [127].

Au@FTOH@ β -CD-MOF'ların lipit ile kaplaması Wuttke vd. bildirdiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Lipit tabakasıyla β -CD-MOF'ların kaplanabilmesi için öncelikle, DPPC 60/40 (v/v) oranındaki 100 μ l H₂O/Etanol karışımı içerisinde çözülmüştür. Ardından, 1 mg β -CD-MOF, çözelti içerisine eklenip çok hızlı bir şekilde 900 μ l H₂O eklenerek karıştırılmaya devam edilmiştir. Ortamdaki su konsantrasyonunun artırılmasıyla, lipit moleküllerinin çökmesi ve β -CD-MOF'larının yüzeyinde bir lipit

tabakası oluşturması beklenmiştir. Ardından 14000 rpm'de 5 dakika boyunca örnekler santrifüjlenmiştir. Ardından 1 ml H₂O içinde yeniden dağıtılıp tekrar santrifüjlenmiştir. Santrifüjlenen örnekler 200 µl H₂O içerisinde yeniden dağıtılarak saklanmıştır [75].

Elde edilen Lipit@Au@FTOH@CD-MOF karakterizasyonunda lipitin kaplanıp kaplanmadığının belirlenebilmesi için floresan mikroskop ve yükünün belirlenebilmesi için zeta potansiyel cihazı kullanılmıştır. Hibrit yapının görüntülenebilmesi için SEM ve optik mikroskop kullanılmıştır.

3.7 Hibrit Yapının Fototermal Terapi ve Etken Madde Alım/Salımı Amacıyla Kullanılabilirliğinin İncelenmesi

Çalışmanın son aşamasında elde edilen yapılar 808 nm de lazer uygulaması yapılarak fototermal terapi amaçlı kullanılabilirliği incelenmiştir. Örneklere 1-2.5 mW/cm² lazer 5-15 dk boyunca uygulanmış ve sıcaklık artışı takip edilmiştir. Sıcaklık artışının ölçümü termal kamera ile gerçekteştirilmiştir. Ardından fototermal dönüşüm verimliliği hesaplanmıştır. Fototermal terapinin dönüşüm verimliliği Eşitlik 3.3 ile hesaplanmıştır.

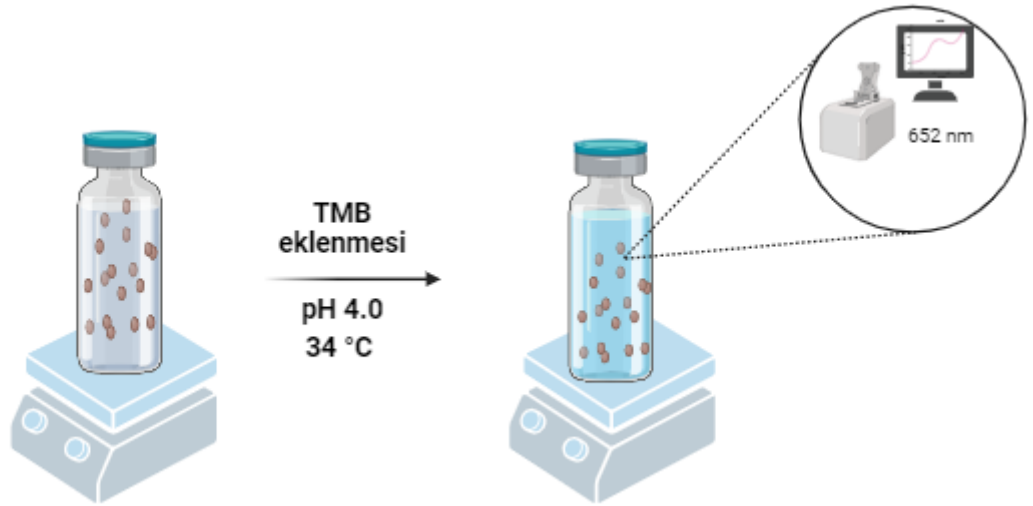
$$\eta = (hA\Delta T_{\max} - Q_s) / (I(1 - 10^{-A_\lambda})) \quad \text{Eşitlik 3.3}$$

Burada, h ısı transfer katsayısı, A kap yüzey alanını, ΔT_{\max} çözeltideki maksimum sıcaklık değişimini, A_λ 808 nm'deki absorbans değerini, I lazer güç yoğunluğunu ve Q_s ışık absorbans değerini ifade etmektedir.

Uygulanan lazer sonrasında hibrit yapının ilaç salım performansındaki değişim de incelenmiştir. Bu kapsamda, AuNP'ler ile dekore edilmiş yapıların santrifüjlenerek ayırma işlemi gerçekteştirilmiştir. İlaç salım performansının değerendirilebilmesi için, çökelti kısmına PBS eklenmesiyle, fototermal terapi varlığında belirli zaman aralıklarında, UV-vis spektroskopisi ile 489 nm dalga boyunda analizlenmesi planlanmıştır. Hazırlanan kalibrasyon doğrusu kullanılarak, etken maddenin salımına fototermal terapinin etkisi değerlendirilmiştir.

3.8 Au@DPPC@FTOH@CD-MOF Partiküllerinin Peroksidaz Aktivite Ölçümleri

Sentezlenen partiküller ile yapılan peroksidaz aktivite ölçümleri farklı H₂O₂ (5, 25, 50, 100, 150, 200 mM) konsantrasyonlarında çalışılarak incelenmiştir. Au@DPPC@FTOH@CD-MOF partikülleri burada katalizör, H₂O₂ ise substrat görevi görmektedir. Peroksidaz etkisi TMB'nin 20 mM pH 4'te PBS içerisinde partiküller ile H₂O₂ oksidasyonu sonucu 370 nm ve 652 nm'de absorbans değerlerinde görülen piklerin izlenmesiyle kinetik ölçümler gerçekleştirilmiştir. Yöntem kısaca özetlenirse, 250 µg/ml Au@DPPC@FTOH@CD-MOF çözeltisi üzerine farklı konsantrasyonlarda H₂O₂ (5, 25, 50, 100, 150, 200 mM) çözeltisi eklenmiştir. Ardından üzerine 800 µM TMB çözeltisi eklenmiştir. TMB'nin eklenmesinin ardından çözelti renginin Ox-TMB oluşumu ile maviye dönmesi beklenmektedir. Deneyin şematik gösterimi Şekil 3.7'de verilmiştir. Reaksiyonun gerçekleşmesi için sıcaklık 34°C olarak ayarlanmıştır. Çözelti içerisinde belli zaman aralıklarında örnek alınıp 652 nm'de kinetik modelin oluşturabilmesi için absorbans değerleri okunmuştur. Michelis-Menten sabitlerinin hesaplanabilmesi için Lineweaver-Burk grafiği kullanılmıştır. Elde edilen absorbans değerlerinden hız değerlerinin hesaplanabilmesi için Beer-Lambert eşitliğinden konsantrasyon değerine geçilmiştir. Buradaki yöntem zamana karşı absorbans değerlerinin doğrusal olduğu verilerin kullanılması esasına dayanmaktadır [128-130].

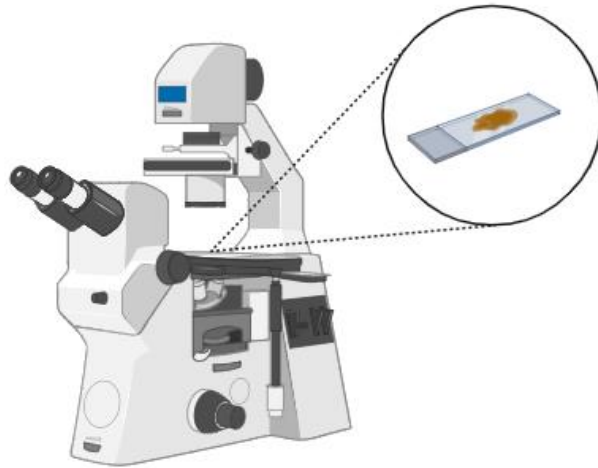


Şekil 2.7. Au@DPPC@FTOH@CD-MOF partiküllerinin peroksidaz aktivitesinin şematik gösterimi

3.9 Sentezlenen CD-MOF'ların ve Hibrit Yapıların Karakterizasyonu

3.9.1 Optik Mikroskop

Görünür ışıkla çalışan optik mikroskop, farklı boyutlardaki yapıların görüntülenmesi ve morfolojik olarak analizinin gerçekleştirilmesi için kullanılan cihazlardan biridir. Optik mikroskoplar 3 bölümden oluşmaktadır: mekanik, optik ve aydınlatma. Cihazın mekanik kısmı optik elemanlarının taşımakla ve asıl yapının oluşturmakla görevli olan bölümdür. Bu bölümün parçalarından bazıları mikroskop ayağı, gövde ve nesne tablasıdır. Optik kısmı görüntü elde edilmesini sağlamaktadır. Bu bölmede görüntüyü oluşturan parçalar, optik yol, ışık kaynağı, objektif lens, oküler lens ve yoğunlaştırıcıdır. Yoğunlaştırıcının görevi ışık kaynağının eşit dağılmasını sağlamaktır. Optik mikroskoptan alınan görüntünün kalitesini belirleyen objektif lensin kalitesidir. Tüpün üst kısmına konumlandırılan ve gözle görülen oküler mercek, objektif mercek tarafından üretilen nesne görüntüsündeki hataları büyütülmesini ve düzeltilmesini sağlamaktadır [131]. Optik mikroskop yoluyla partikül karakterizasyonu, 20X ve 100X objektifli Leica DMI 4000B ters ışık mikroskobu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bütün partiküller uygun solventler içerisinde dağıtılıp lam ve lamel arasında konulan partiküllerin görüntüleri alınmış olup partiküllerin morfolojik karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.8. Optik mikroskop cihazının şematik gösterimi

3.9.2 Floresan Mikroskop

Optik mikroskopla net bir şekilde karakterize edilemeyen partiküllerin bazı kısımlarının özellikle kaplama gibi işlemlerin varlığının kanıtlanabilmesi için floresan mikroskop kullanılmaktadır. Bunun için gerekli bölüm floresan boya ile etiketlenip floresan mikroskop yoluyla görüntüleme sağlanmaktadır.

Floresan mikroskoplarda, kaynaktan gelen ışık bir filtreden geçerek numuneyi uyarır ve belirli bir dalga boyu veya aralıkta ışık yaymaktadır. Partikül karakterizasyonu için optik-floresan mikroskobu hem optik mikroskop hem de floresan mikroskobu analizlerine olanak tanıyan Leica DMI 4000B kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Lam ve lamel arasındaki çözeltiyi veya partiküllerin üzerine küçük bir dalga boyu aralığına sahip ışık gönderilmekte ve partiküllerin yapısındaki floresan boya nedeniyle partiküllerin parladığı görülmektedir. Bu görüntünün alınabilmesi için analiz altındaki floresan boyanın dalga boyu aralığı ile floresan mikroskop cihazında kullanılan filtrelerin dalga boyu aralığında olması gerekmektedir [132].

Bu çalışmada floresan görüntüler yakalamak için, CD-MOF partiküllerine kurkumin etken maddesinin kapsüllenebildiği floresan mikroskop ile karakterize edilmiştir. CD-MOF'ların lipit kaplanabildiğinin kanıtlanması için ise DPPC hidrofobik Rhodamine B floresan boyası ile etiketlenmiştir ve ardından karakterizasyonları gerçekleştirilmiştir.

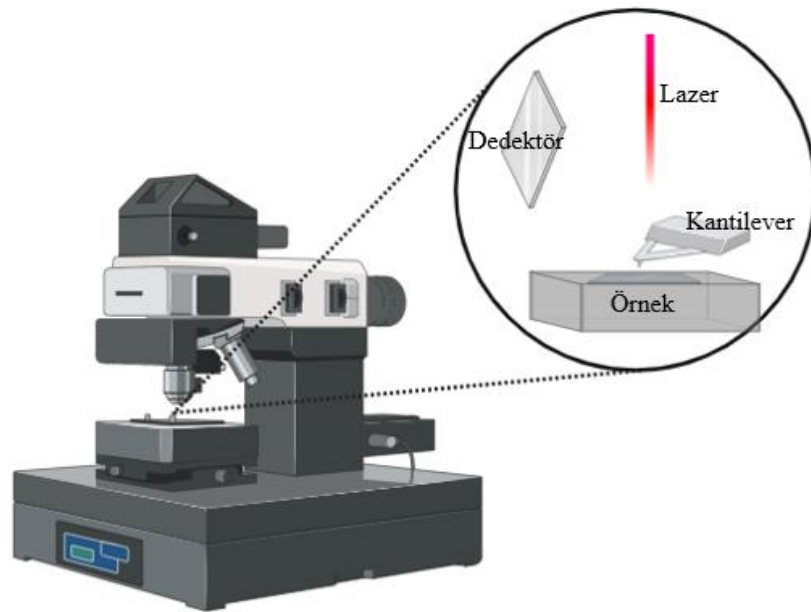
3.9.3 Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM):

Atomik Kuvvet Mikroskobu, nanometre boyutundaki partiküllerin boyutunu ve yüzey topografyasını belirlemek için sıklıkla kullanılan bir tekniktir. Yüzeyi taramak için kantilever olarak bilinen tipler kullanılmaktadır. AFM'den yüzey topografyasının alınabilmesi, numuneler ve tip arasındaki etkileşimlerden kaynaklanmaktadır. Baskın kuvvet, değişen kuvvet aralıkları nedeniyle numune ile tip arasındaki mesafeye bağlıdır. Yüzeyden yükseklikleri ölçmek için, fotodiyot aracılığıyla tipin üst yüzeyine bir lazer ışını yönlendirilmektedir. Tip-yüzey temasını önlemek için bir geri bildirim mekanizması mevcuttur. Bu sayede tip ile yüzey teması engellenmektedir.

x , y ve z eksenlerinde hareket edebilen piezoelektrik tüp üzerine konumlandırılan numune, x ve y eksenleri hareketleriyle iki boyutlu yüzeyin tamamı taramaktadır. Eş zamanlı olarak z eksenleri hareketi kuvvet sabit kalmasını sağlamaktadır. AFM cihazında 3 farklı mod ile çalışılmaktadır. Bunlar temaslı, temassız ve dokunma modlarıdır. Temas

modunda tip ile partikül yüzeyi mesafesi minimum düzeyde tutulmaktadır. ve bu da elektrostatik çekim kuvvetlerine yol açmaktadır. Temassız mod, temas moduna kıyasla tip ile örnek arasındaki mesafe daha fazladır. Bu sebepten ötürü bu modda zayıf kuvvetlerin daha etkin olduğu söylenebilmektedir [133].

Tez çalışmasında tüm numuneler için temassız mod analizi kullanılmıştır. Boyut analizi topografya modunda gerçekleştirilmiştir. PSIA Corporation'ın XE-100E modeli AFM, partiküllerin boyutunu ve geometrilerini araştırmak için kullanılmıştır. Tüm taramalarda temassız modda ACTA 10M tipi Cr-Au konsollar kullanılmıştır. Tarama hızları frekansa bağlı olarak 0,30 ila 0,45 Hz arasında değişmektedir. AFM analizleri, seyreltilmiş numunelerin temiz bir mikroskop lamı üzerine damlatılması ve ardından oda sıcaklığında kurutulması sonrasında gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.9. AFM cihazının şematik gösterimi

3.9.4 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Hazırlanan partiküllerin morfolojisinin daha ayrıntılı bir şekilde incelenebilmesi için, HITACHI SU5000 alan emisyon taramalı elektron mikroskobu (FE-SEM) kullanılarak SEM analizi yapılmıştır. Çözelti halindeki numuneler silikon bir yüzeyine gerekli miktarda seyreltilip damlatılmıştır. Oda sıcaklığında kurutulan örnekler SEM analizi için hazır hale getirilmiştir. SEM analizi öncesinde yüzeyin iletken hale getirilmesi için Leica

EM ACE 200 cihazı kullanılarak 0,02 mbar basınçta 12 saniyelik püskürtme işlemi ile kaplama gerçekleştirilmiştir.

SEM cihazı üç ana bileşenden oluşmaktadır: elektron tabancası, manyetik mercekle ve dedektörler. Elektron tabancasından yayılan ve manyetik merceklerle odaklanan elektronlar numuneye yönlendirilmektedir. Elektronlar ile numune arasındaki etkileşim sonucu saçılan elektronlar çeşitli dedektörler tarafından incelenmektedir.

SEM analizi, bir elektron ışınının bir numune boyunca sistematik olarak tarandığı ve ortaya çıkan saçılmış elektronların tespit edilerek görüntü oluşturulduğu bir topografik inceleme tekniğidir. Elektron ışınıyla uyarılan örnek atomlar tarafından yayılan ikincil elektronlar, SEM tarafından görüntü oluşturmak için kullanılmaktadır. Numunenin farklı bölgelerinden yayılan ikincil elektronların miktarı öncelikle ışının yüzeye keşiştiği açıya bağlıdır ve yüzeyin topografyasını yansıtmaktadır. İkincil elektronlara ek olarak, geri saçılan elektronlar, karakteristik X ışınları, katot ışınları ve aktarılan elektronlar gibi diğer sinyallerden de numunenin topografyası ve bileşimi hakkında çeşitli bilgiler elde etmek için yararlanılmaktadır [134].

3.9.5 Ultraviyole ve Görünür Işık (UV-Vis) Absorpsiyon Spektroskopisi

Görünür bölgedeki ışığın absorplanabilmesine dayanan nicel analiz tekniklerinden biri Ultraviyole-Görünür spektrofotometre (UV-Vis spektrofotometre)'dir. Cihaz kısaca, ışık kaynağı, monokromatör, örneklerin konulduğu kuvetlerin bulunduğu hücreler, ışık yoğunluğunu ölçen bir dedektör ve bir monitörden oluşmaktadır. Bu yöntemde istenen sonucun elde edilebilmesi için ilk olarak blank olarak da adlandırılan çözeltinin çözücüsünün analizi gerçekleştirilir. Buradaki çalışma prensibi hem çözeltinin hem çözücünün üzerine düşen ışık konsantrasyonunun ölçülmesidir. Numune tarafından iletilen ışığın yoğunluğunun (I) boş çözelti tarafından iletilen ışığın yoğunluğuna (I₀) oranı geçirgenlik olarak adlandırılır. Absorbans değerleri geçirgenlik değerine göre hesaplanmaktadır. Absorbans, ışık yolundaki absorplayıcı malzemenin miktarına bağlıdır, dolayısıyla konsantrasyon ve ışığa maruz kalma süresinden etkilenir. Bir maddenin absorbans değeri Beer-Lambert yasasıyla ölçülmektedir.

$$A = -\log(T) = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Eşitlik 3.4

A absorbansı, T geçirgenliğ, ϵ molar absorpsiyon katsayısını, b numune kabının kalınlığını (cm) ve c konsantrasyonu (mol/L) ifade etmektedir. Kısaca, Beer-Lambert yasası ile derişimi belli olmayan çözeltilerin derişiminin belirlenmesine olanak sağlar [135].

3.9.6 X-Işınları Difraktometresi (XRD)

XRD analizi, kristal yapıdaki malzemelerin karakterizasyonu için oldukça önemli bir rol oynamaktadır. Bu tez çalışmasında, CD-MOF yapısının doğru bir şekilde elde edilip elde edilemediği, model moleküllerin kapsüllenmesinin ve FTOH kaplamasının ardından CD-MOF yapısına etkisinin değerlendirilebilmesi için XRD kullanılmıştır. XRD analizleri, Rigaku Ultima-IV X-ışını Kırınım cihazı aracılığıyla 5°/dk tarama hızında yapılmıştır. X-ışını kırınım analizi (XRD), bir malzemenin kristalografik yapısı, kimyasal bileşimi ve fiziksel özellikleri hakkında ayrıntılı bilgi sağlayan, malzemenin yapısına zarar vermeyen bir karakterizasyon tekniğidir. [136]. Monokromatik X ışınlarının ve kristal partiküllerinin yapıcı girişimine dayanmaktadır. Daha kısa dalga boyuna sahip elektromanyetik radyasyon olan X-ışınları, elektrik yüklü ve bol enerjili parçacıkların yavaşlaması sonucu ortaya çıkmaktadır. XRD'de ortaya çıkan X ışınları dikkatli bir şekilde birleştirilip ve örneğe doğru yönlendirilmektedir. Gelen ışınlar ile örnek arasındaki etkileşim, daha sonra tespit edilen, işlenen ve ölçülen bir kırınımlı ışının üretilmesine yol açmaktadır. Malzemedен çeşitli açılarda saçılan bu kırılan ışınların yoğunluğu daha sonra bir kırınım modeli oluşturmak için grafiksel olarak ifade edilmektedir. Bu yöntemin avantajları arasında örneğe zarar vermemesi, az miktarda numunenin analiz edilebilmesi ve sağladığı bilgi miktarı yer almaktadır [137].

3.9.7 Dinamik Işık Saçınım Yöntemi (DLS)

Işık Saçılımı (LS), bir çözeltideki moleküllerin difüzyon davranışını araştırmak için kullanılan yöntemlerden biridir. Difüzyon katsayısı aracılığıyla hesaplanan hidrodinamik yarıçap, moleküllerin boyutuna ve geometrisine bağlıdır.

Partiküllerin boyutunun hesabı, bir çözelti içinde Brown hareketine sahip partiküllere yönlendirilen monokromatik ışığın dalga boyunun değiştirilmesiyle elde edilmektedir. Saçılan ışığın yoğunluğunu değerlendirerek difüzyon katsayısı hesaplanabilmekte ve çeşitli korelasyonlar yarıçap değerinin belirlenmesine olanak tanımaktadır.

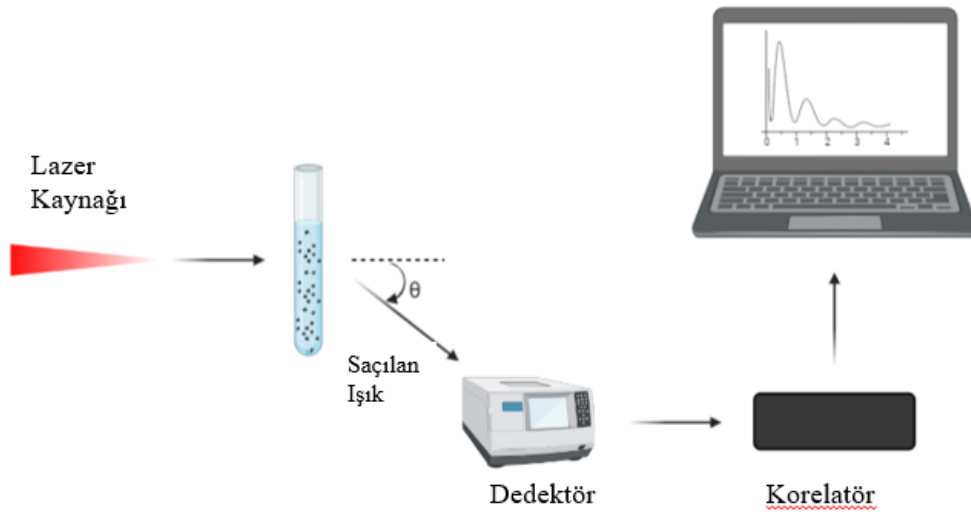
Partiküllerin hidrodinamik yarıçapı, dalgalanmalardan ve Stokes-Einstein eşitliği 3.5'ten elde edilen veriler kullanılarak hesaplanmaktadır. Burada hidrodinamik yarıçap, varsayılan küresel parçacıkla aynı hızda yayılan katı bir kürenin yarıçapını temsil etmektedir.

$$R_h = \frac{k_B T}{6\pi\eta D}$$

Eşitlik 3.5

Bu eşitlikte, D difüzyon katsayısını, k boltzman sabitini, T mutlak sıcaklığı, η viskoziteyi, R_h ise hidrodinamik yarıçapı belirtmektedir.

Küçük boyutta elde edilen CD-MOF'ların çap değerinin belirlenebilmesi için Işık Saçılımı (LS) cihazı kullanılarak karakterizasyon yapılmıştır. Çalışma kapsamında 632,8 nm lazer dalga boyuna sahip Malvern CGS-3 serisi DLS cihazı kullanılarak CD-MOF'ların boyut analizi yapılmıştır. ALV-korelatörü, 90° açıyla gerçekleştirilen ölçümlerle bu cihazdan elde edilen verilerin kullanımını kolaylaştırılmıştır [138, 139].



Şekil 2.10. LS cihazının şematik gösterimi

3.9.8 Liyofilizatör

Dondurarak kurutma yani liyofilizasyon tekniği, ısıya duyarlı numunelerin korunmasında, hasarın önlenmesinde ve aktivite kayıplarının en aza indirilmesinde oldukça etkili bir yöntem olarak hizmet vermektedir. Sulu numunelerin kurutulmasında en avantajlı yaklaşımlardan biri olarak öne çıkmakta ve kurutma işlemi sırasında numunenin dondurularak bilinen ısıtma yöntemleriyle ilişkilendirilen denatürasyon risklerini azaltmaktadır. Bu yöntem sayesinde, numunenin morfolojisi, çözünürlüğü ve kimyasal bütünlüğü korunarak su donmuş halde uzaklaştırılmaktadır.

Dondurarak kurutma döngüsü üç farklı aşamadan oluşmaktadır. Bunlar, donma, buzun süblimleşmesi ve son aşama kurutmadır [140]. Başlangıç aşaması olan dondurma aşaması, dondurarak kurutma işleminin genel performansının belirlenmesinde çok önemli bir rol oynamaktadır.

CD-MOF'ların yıkama işleminin ardından kurutma işlemi boyutlarının büyümesinin engellenmesi için liyofilizasyon ile yapılmıştır. Partiküller -20 °C'de birkaç saatlik bir donma süresinin ardından 24 saatlik bir kurutma işlemi uygulanmıştır. Toz halinde elde edilen sonuçtaki numuneler daha sonra oda sıcaklığında saklanmıştır. Bu titiz yaklaşım yalnızca numune özelliklerinin korunmasını sağlamakla kalmaz, aynı zamanda suyun hızlı ve etkili bir şekilde uzaklaştırılması bakteriyel veya diğer kontaminasyon türlerinin potansiyelini azalttığı için kontaminasyon riskini de en aza indirmektedir. Bu bağlamda dondurarak kurutmanın kullanılması, araştırma sürecinde hassas numunelerin kalitesinin ve stabilitesinin korunmasındaki önemini göstermektedir.

3.9.9 Sürekli Dalga Lazeri

Hibrit yapılar belirli bir konsantrasyon ve süre içerisinde lazer ışınlamasına maruz bırakılmıştır. Yapıların tetiklenmesi sonucu oluşan sıcaklık değişiminin araştırılması için PSU-H-LED ayarlanabilir çıkış güç modülüne sahip CNI, MDL-III-808 nm model lazer kullanılmıştır. Sıcaklık artışının kaydı için FLIR E54 model termal kamera kullanılmıştır. Sürekli dalga lazerleri belirli bir sürede kesintisiz bir ışık ışını yayabilir. Lazer ortamına sürekli bir enerji kaynağı tarafından sürekli olarak enerji sağlandığında, atomların devamlı olarak uyarılması ve bu süreç sonucunda foton emisyonunun meydana gelmesi gerçekleşir [141].

3. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Tez kapsamında, ilk aşamada β -siklodekstrin- metal organik çerçevelerin (CD-MOF) sentez yönteminin belirlenmesi ardından uygun çözücü oranı ve sentez süresi gibi parametrelerin belirlenmesi üzerine çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Ardından optimize edilen koşullar ile CD-MOF'ların karakterizasyonu, model ilaç moleküllerinin kapsülasyonu ve salım kapasitesinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmanın en önemli noktalarından biri de CD-MOF'ların sudaki stabilitesinin artırılmasıdır. Bu amaçla, CD-MOF'lara hidrofobik bir molekülün yüklenmesinin yanı sıra, CD-MOF'ların yüzeyi, florlu bir ligand olan 1H,1H,2H,2H-Perfloro-1-dekanol ile kaplanarak sudaki çözünürlüğünün düşürülmesi başarıyla gerçekleştirilmiştir. CD-MOF yapılarının en uygun şekilde hazırlanmasının ardından partiküllerin yüzeyi lipit ile kaplanarak partiküllerin karakterizasyonu ve ilaç alım-salım amacıyla kullanılabilirliği değerlendirilmiştir. Çalışmanın son aşamasında ise, tasarlanan taşıyıcı sistemin son katmanı olan altın nanopartiküller (AuNP) ile lipit/CD-MOF yapısının yüzeyi kaplanmış olup sistemin fototermal terapi için kullanılabilirliği incelenmiştir.

4.1 CD-MOF'ların Hazırlanması ve Karakterizasyonu

Bu tez çalışmasında, β -siklodekstrin-MOF (β -CD-MOF) yapısının ilaç taşınımı amacı ile kullanılabilmesi için buhar difüzyon ve sonikasyon sentez metotlarıyla taşıyıcı sistem hazırlanmıştır. β -CD-MOF taşıyıcı sisteminin istenilen boyut ve morfolojide elde edilebilmesi için birçok metot ve parametre denenmiş olup çalışmanın sonraki adımlarında kullanılması en uygun olan yapı elde edilmeye çalışılmıştır.

4.1.2 Buhar Difüzyon Yöntemi ile CD-MOF Sentezi

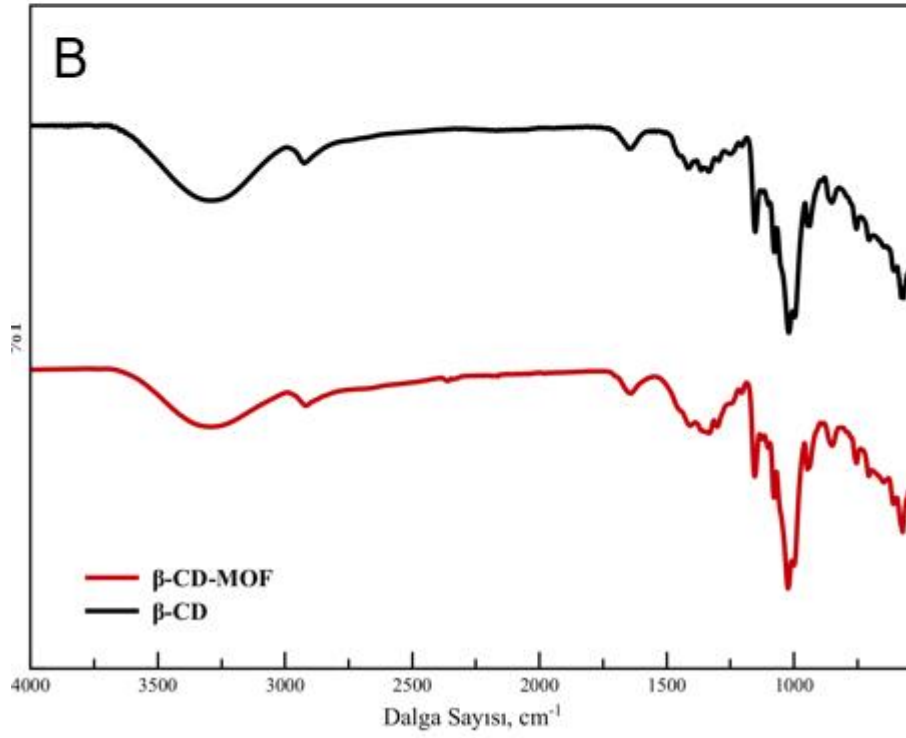
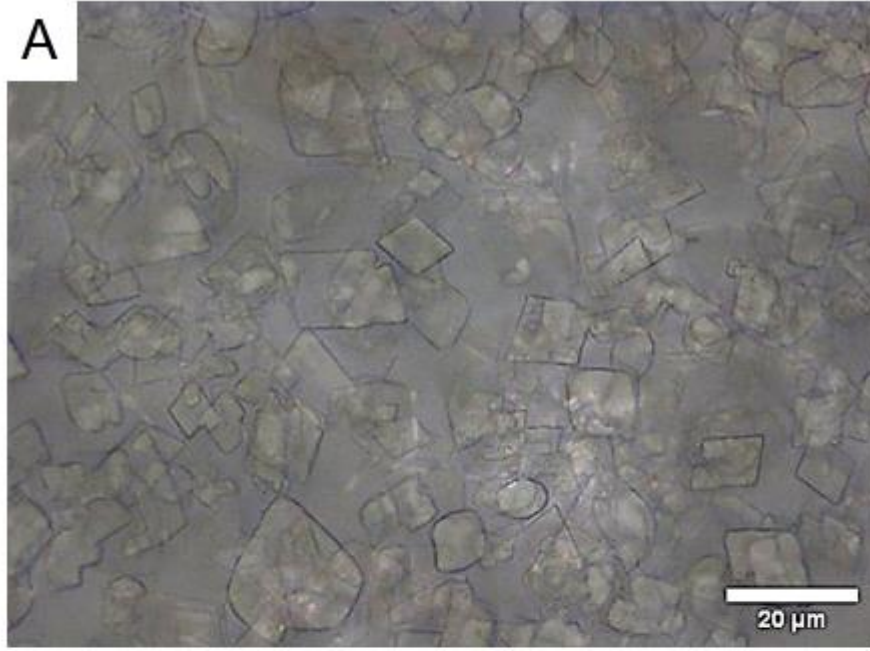
Bu çalışma kapsamında ilk olarak buhar difüzyon yöntemi ile çalışmalara başlanmıştır. Bu bağlamda, incelenen parametre ve koşullar aşağıda belirtilmiştir;

- A. Reaksiyon Sıcaklığı: 50 ve 60°C
- B. Reaksiyon Süresi: 6 ve 12 saat
- C. Çözücü Türü ve Oranı: Metanol ve Metanol/Aseton
- D. Boyut küçültücü ajan: CTAB ve PEG2000
- E. Partiküllerin çökme sıcaklığı: 25 ve 4°C.

Çizelge 4.1’de buhar difüzyon yöntemi ile hazırlanan β -CD-MOF’ların sentez parametreleri ve boyutları verilmiştir. Bu sentez yönteminde, literatürdeki optimum β -CD-MOF partiküllerinin elde edilebilmesi için kullanılan β -CD:KOH molar oranı (1:8) ile çalışılarak β -CD-MOF’lar hazırlanmıştır [120]. β -CD-MOF partiküllerinin boyutlarının küçülmesinde en etkili parametrenin Metanol/aseton çözücülerinin birlikte kullanılması olmuştur. Bu iki çözücünün birlikte kullanılması ile metanol ile kristal yapıların düzgün bir şekilde oluşması sağlanırken asetonun ortama daha hızlı difüze olmasıyla da MOF oluşumundaki çekirdeklenme ve kristal büyüme aşamalarının daha hızlı bir şekilde gerçekleşmesinin kontrolü sağlanmıştır [12]. Böylece elde edilen partiküllerin boyutlarının diğer β -CD-MOF’lara göre küçük olduğu görülmüştür. Reaksiyon sıcaklığının ve süresinin artırılması ile elde edilen partiküllerin boyutlarında azalma gerçekleşmiştir fakat elde edilen partiküllerin hala mikron boyutunda olması sebebiyle sentez yönteminin geliştirilmesi ve değiştirilmesinin uygun olacağı düşünülmüştür. Buhar difüzyon yöntemi ile elde edilen partiküllerin optik mikroskop ile alınan görüntüleri incelendiğinde, elde edilen yapının literatürdeki yapılar ile kıyaslandığında küp şeklinde olması beklenirken ince tabakalar halinde bir yapı elde edildiği görülmüştür. (Şekil 4.1.A). Elde edilen partiküllerin MOF olduğunun doğrulanabilmesi amacıyla FTIR spektrumu alınmış ve Şekil 4.1.B’de verilmiştir. FTIR spektrumu incelendiğinde, 3418 cm^{-1} , 2926 cm^{-1} , 1643 cm^{-1} , 1427 cm^{-1} , 1367 cm^{-1} , 1246 cm^{-1} , 1081 cm^{-1} , 1028 cm^{-1} ve 853 cm^{-1} ’deki β -CD’nin karakteristik pikleri görülmekte ve Çizelge 4.2’de detaylı açıklamaları ile birlikte verilmiştir [12]. Bu sonuçlar doğrultusunda, saf β -CD’nin ve β -CD-MOF₁’un FTIR spektrumları karşılaştırıldığında ana siklodekstrin iskelet yapısının korunduğu ve β -CD-MOF₁’de tutulduğu görülmüştür.

Çizelge 3.1. Çeşitli parametrelerin buhar difüzyon yöntemi ile elde edilen β -CD-MOF'lara etkisi

Örnek	Sıcaklık (°C)	Süre (saat)	Çözücü tür ve oranı	Boyut Küçültücü Ajan	Çökme Sıcaklığı (°C)	Boyut (μm)
β -CD-MOF ₁	50	6	Metanol	CTAB	25	5.8±2.3
β -CD-MOF ₂	60	6	Metanol	CTAB	25	4.2±1.8
β -CD-MOF ₃	50	12	Metanol	CTAB	25	4.5±1.2
β -CD-MOF ₄	50	6	Metanol/Aseton(25/%75)	CTAB	25	3.5±2.4
β -CD-MOF ₅	50	6	Metanol/Aseton(50/%50)	CTAB	25	3.0±0.9
β -CD-MOF ₆	50	6	Metanol	PEG-2000	25	4.8±1.6
β -CD-MOF ₇	50	6	Metanol	CTAB	4	10.1±2.2
β -CD-MOF ₈	50	6	Metanol/Aseton(50/%50)	PEG-2000	25	6.2±2.8



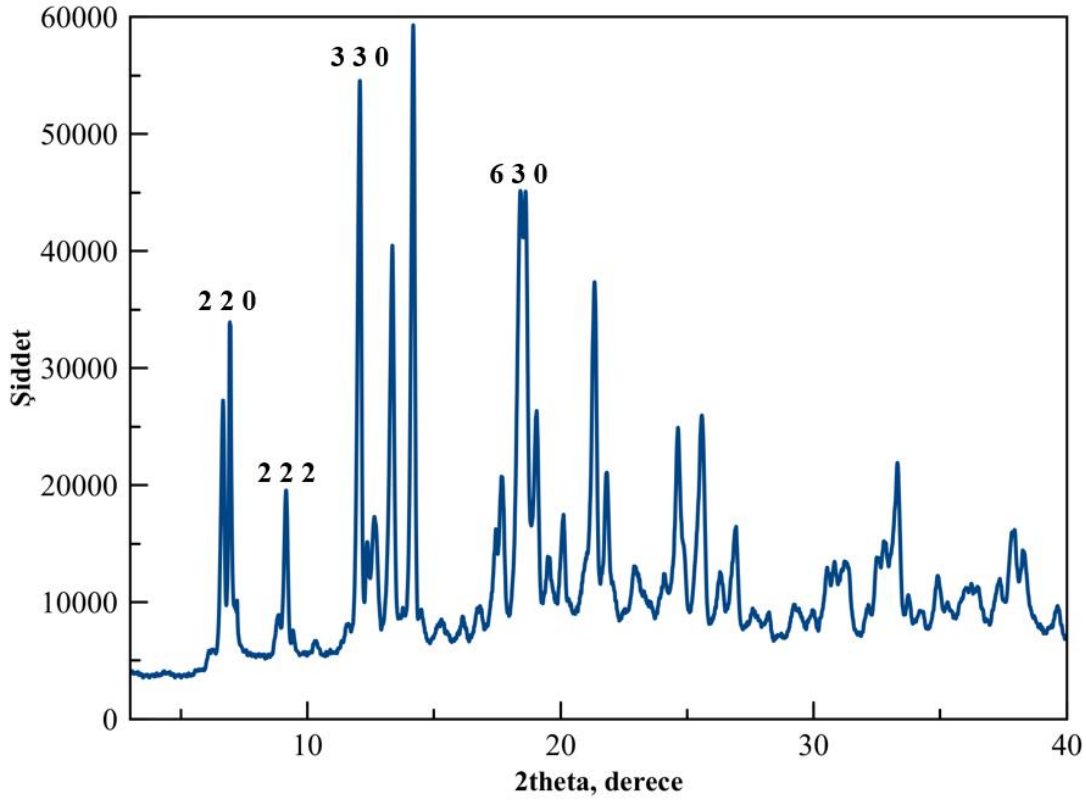
Şekil 3.1 A) β -CD-MOF₁'in optik mikroskop görüntüsü, B) β -CD ve β -CD-MOF₁'in FTIR spektrumu

Çizelge 3.2. β -CD'nin FTIR Spekturumunda görülen karakteristik bağ türleri [142].

Dalga Boyu, cm^{-1}	Bağ Türü
3277	• Hidroksil gruplarının simetrik gerilmesi
2926	• CH_2 bandının simetrik gerilmesi
1643	• Kavitesinde bulunan su molekülleri nedeniyle
1416,1366, 1245	• B-CD'nin birincil ve ikincil hidroksil gruplarıdaki CH bağlarının deformasyon titreşimleri
1079, 1023	• β -CD'nin eter ve hidroksil gruplarıdaki C-O bağlarının değerlik titreşimleri
861	• C-C germe titreşimleri

β -CD-MOF'un MOF yapısına sahip olmasının kesin bir şekilde belirlenebilmesi için XRD analizi gerçekleştirilmiş olup, elde edilen X-ray spektrumu Şekil 4.2'de sunulmuştur. Literatürdeki β -CD-MOF₁'in XRD spektrumlarında ana piklerin 4.5° , 6.3° , 10.4° , 12.4° ve 19.1° olduğu ve bunların sırasıyla (1 1 0), (2 0 0), (2 2 2), (3 3 0) ve (6 3 0) kristal düzlemlerine karşılık geldiği belirtilmiştir [143]. Şekil 4.2'deki XRD spektrumu incelendiğinde sentezlenen β -CD-MOF'ta da ana pikler görülmüştür ancak 4.5° derecedeki pikin görülmemesi ve optik mikroskoptaki görüntülerinin de tabaka benzeri yapılar olması ile elde edilen partiküllerin bir kalınlığının olmadığı sonucuna varılmıştır. Yapının daha iyi bir şekilde anlaşılabilmesi için literatürdeki β -CD-MOF'ların kristal verileri incelendiğinde, β -CD-MOF partiküllerinin bir β -CD molekülü, bir K^+ ve sekiz kafes sudan oluştuğu görülmüştür. Kristalografik olarak bağımsız sırasıyla bir CD molekülünün a-, b- ve d-glukopiranozilinden 2-, 3-OH, halka O atomu ve 6-OH grubu, 3-OH ve 2, 3-OH grupları aracılığıyla dört K^+ iyonu ile bağlanmaktadır. Buna karşılık, her bir K^+ iyonu, D(+)-glukopiranoz biriminden dört ikincil hidroksil grubu, bir halka oksijen atomu ve tek koordineli bir 6-OH grubu içeren, dört β -siklodekstrinin altı oksijen atomu ile koordine olmakta ve $\text{K}-\text{O}$ bağ mesafeleri 2.765 \AA - 2.982 \AA aralığındadır. β -CD-MOF yapısının öne çıkan özelliği her bir yapısının iki gözeneğe sahip olmasıdır. Spesifik olarak, iki bitişik β -CD, çanak benzeri bir yapıya sahip bir kavite oluşturmak için "T" tipi düzenleme yoluyla bir K^+ iyonu ile bağlanmaktadır. β -CD ve K^+ iyonları birbirine bağlanarak tek boyutlu bir zincir yapısı oluşturur, bu "T" yapı birimleri bir

düzlem boyunca “8” tipi çift kanal oluşturacak şekilde kendi kendine kümelenmektedir. Son olarak, çift kanallı birimlerin her biri, genel bir üç boyutlu β -CD-MOF yapısı oluşturmak için düzlem boyunca K-O etkileşimi yoluyla bağlanmaktadır [59].

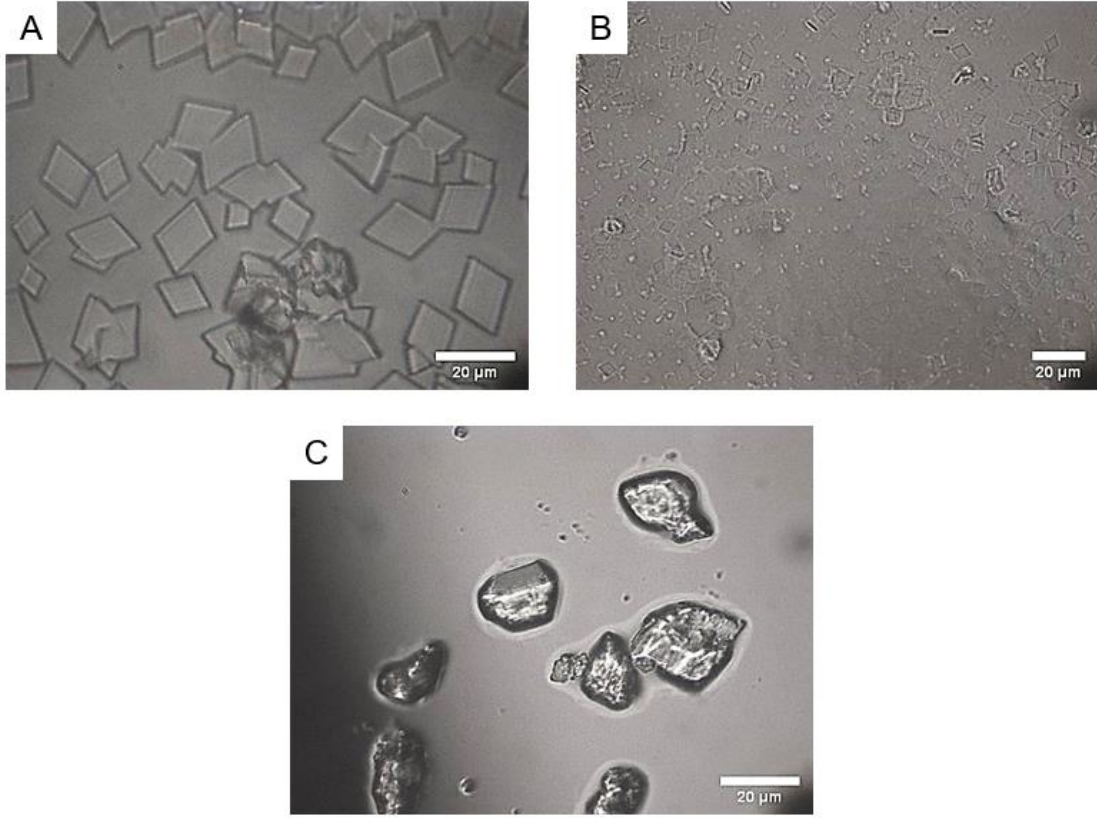


Şekil 3.2. β -CD-MOF₁'in XRD Spektrumu

4.1.2. K₂CO₃ ile CD-MOF Sentezi

Elde edilen yapının bir boyutunun olmaması ve mikron boyutunda olması çalışmanın önemli noktalarından biri olduğu için sentez yönteminin geliştirilmesi gerekmektedir. Bu amaçla, ilk olarak potasyum kaynağının yapıya olan etkisi incelenmiştir. Literatürde yapılan çalışmalar ışığında, yeni potasyum kaynağı olarak K₂CO₃ seçilmiştir [5]. K₂CO₃ ile sentezlenen β -CD-MOF₉'un sentezinin optik mikroskop görüntüleri şekil 4.3.te gösterilmiştir. Elde edilen partiküllerin KOH ile sentezlenen partiküllere benzer olarak ~5 μ m civarında olduğu ancak 3 boyutlu bir yapıya sahip oldukları görülmektedir (Şekil 4.3.A). Çözücü olarak aseton ilavesi ile boyutun yaklaşık olarak 1 μ m'ye kadar düştüğü sonucuna varılmıştır (Şekil 4.3.B). Çökme aşamasından sonra elde edilen partiküller etanol ile yıkandıktan sonra morfolojisinin bozulmasından dolayı potasyum kaynağı

olarak KOH kullanılmasının daha uygun olacağı görülmüştür (Şekil 4.3.C). Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde de farklı potasyum kaynakları arasından KOH'un CD-MOF'ların kendi kendine kümelenmesini sağlamak için daha ılımlı koşullar sağladığı ve daha düzgün kristallerin oluşmasını sağladığı görülmektedir [12].



Şekil 3.3. A) K_2CO_3 ile sentezlenen β -CD-MOF₉'un, B) Aseton ilave edilmiş β -CD-MOF₉'un C) Etanol ile yıkanan β -CD-MOF₉'un optik mikroskop görüntüsü

4.1.3 Sonikasyon Yöntemi ile CD-MOF Sentezi

Çalışma kapsamında, β -CD-MOF'un lipit temelli bir ilaç taşıyıcı sisteme entegre edilmesi ve ilaç taşınımı amacı ile kullanılabilmesi için daha yüksek yüzey alanı ve gözenek boyutuna sahip nano boyutta partiküllerin hazırlanması gerekmektedir. Elde edilen partiküllerin bu ihtiyaçları tam olarak karşılamadığına karar verilmiş olup sonikasyon yöntemi ile β -CD-MOF partiküllerinin sentezlenmesine karar verilmiştir. Sonikasyon yönteminin buhar difüzyon yönteminden ayrıldığı en önemli noktalardan biri reaksiyon süresinin oldukça kısa olmasıdır. Bunun en önemli sebebi, buhar difüzyon yönteminde karıştırma türü veya hızının bir parametre olmamasıdır. Sonikasyon yönteminde karıştırmanın CD-MOF partiküllerinin kendi kendilerine kümelenme sürecini hızlandırdığı çökme süresinin kısalması ile çok açık bir şekilde görülmüştür. Uygulanan

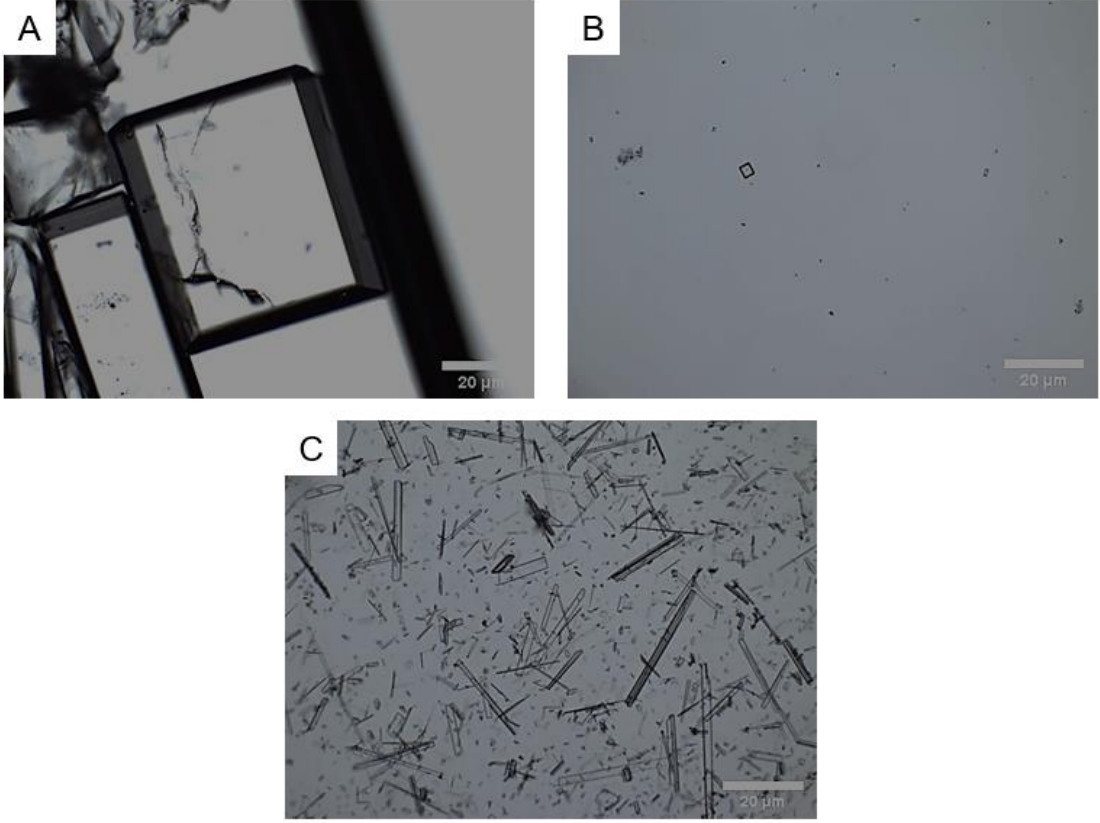
sonikasyon gücünün ayarlanabilmesi ile partikül boyutunun ayarlanabilir olması ise bu yöntemi oldukça avantajlı kılmaktadır. Sonikasyon gücünün yanı sıra buhar difüzyon yönteminde olduğu gibi çözücü türü/oranı, boyut küçültücü ajan türü ve çökme sıcaklığı gibi parametreler sistematik bir şekilde çalışılmış olup partikül boyutu ve morfolojisi üzerine etkisi incelenmiştir. İncelenen parametre ve koşullar aşağıdaki gibi belirlenmiştir;

- A. Sonikasyon Gücü: %40, %50, %60, %70, %80, %90
- B. Çözücü Türü ve Oranı: Metanol ve Metanol/Aseton
- C. Boyut küçültücü ajan: CTAB ve PEG2000
- D. Partiküllerin çökme sıcaklığı: 25 ve 4°C.

Çizelge 4.3’de sonikasyon yöntemi ile hazırlanan β -CD-MOF’ların sentez parametreleri ve boyutları verilmiştir. Sentez yönteminden kısaca bahsedilecek olursa; β -CD (0.284 g) ve KOH (0.112 g) 10 ml deiyonize su içerisinde çözündürülüp homojenizatör ile 55 W’ta (%80 güç) 30 dakika boyunca ultrasonik güç yardımıyla karıştırılmıştır. Elde edilen çözelti 0.45 μ m’lik membrandan süzülüp metanol ile karıştırılmış ve su banyosu yardımıyla oda sıcaklığında tutulmuştur. Elde edilen çözeltiye boyut küçültücü ajan olarak PEG-2000 veya CTAB çözeltisi eklenmiştir. Oda sıcaklığında bekletilerek çöken partiküller etanol ile yıkanmış ve vakumla kurutulmuştur [144]. Çalışılan parametreler incelendiğinde, sonikasyon gücünün %90’a çıkarılması partikül boyutunun azaltılmasında önemli bir etkiye sahip olduğu görülmüştür (Şekil 4.4.B). Bundan dolayı, bundan sonraki sentezler %90 güç uygulayarak gerçekleştirilmiştir. Bir diğer parametre olan boyut küçültücü ajan türünün sadece partikül boyutunu etkilemediği ayrıca partikül morfolojisi üzerine de bir etkisinin olduğu kanısına varılmıştır. Şekil 4.’teki verilen optik mikroskop görüntülerine bakıldığında, PEG-2000 kullanıldığında partiküllerin kübik yapıda (Şekil 4.4.B), CTAB kullanıldığında ise elde edilen partiküllerin iğne benzeri yapıya sahip olduğu görülmektedir (Şekil 4.4.C). Çökme sıcaklığının 25 °C’den 4 °C’ye düşürülmesi ise kristal büyüme süresinin uzamasına ve partiküllerin daha geç çökmesi sonucunda daha büyük kristallerin oluşmasına neden olmuştur.

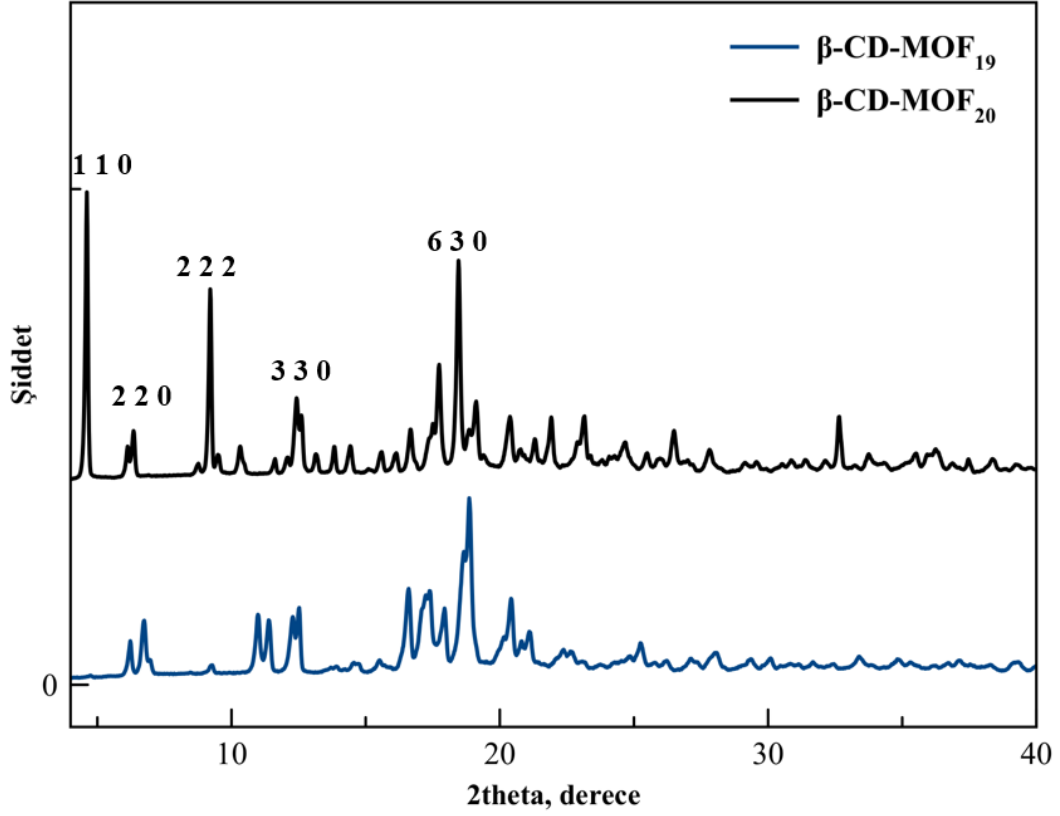
Çizelge 3.3. Çeşitli parametrelerin sonikasyon yöntemi ile elde edilen β -CD-MOF'lara etkisi

Örnek	Sonikasyon Gücü (%)	Çözücü türü ve oranı	Boyut Küçültücü Ajan	Çökme Sıcaklığı (°C)	Boyut (μ m)
β -CD-MOF ₁₀	40	Metanol	PEG-2000	25	42.1±2
β -CD-MOF ₁₁	50	Metanol	PEG-2000	25	30.8±4
β -CD-MOF ₁₂	60	Metanol	PEG-2000	25	28±8
β -CD-MOF ₁₃	70	Metanol	PEG-2000	25	20.5±9
β -CD-MOF ₁₄	80	Metanol	PEG-2000	25	15.9±3
β -CD-MOF ₁₅	90	Metanol	PEG-2000	25	10.4±8
β -CD-MOF ₁₆	90	Metanol	CTAB	25	En: 5±2.4 Boy: 40±7.6
β -CD-MOF ₁₇	50	Metanol	PEG-2000	4	58.5±9
β -CD-MOF ₁₈	90	Metanol/Aseton (%25/%75)	PEG-2000	25	9.8±1.2
β -CD-MOF ₁₉	90	Metanol/Aseton (%50/%50)	PEG-2000	25	5.3±1.8
β -CD-MOF ₂₀	90	Metanol/Aseton (%50/%50)	CTAB	25	En: 3.1±1.5 Boy: 24±6.3



Şekil 3.4. A) β -CD-MOF₁₀'in (%40 güç ile PEG2000), B) β -CD-MOF₁₀'un (%90 Güç ile PEG2000) C) β -CD-MOF₁₁'in (%90 Güç ile CTAB) optik mikroskop görüntüsü

Sentezlenen partiküllerin MOF olduğunun doğrulanabilmesi için β -CD-MOF₁₉ ve β -CD-MOF₂₀ partiküllerinin XRD spektrumları alınmış olup, Şekil 4.5'te verilmiştir. Alınan XRD spektrumları incelendiğinde, literatürdeki spektrumlarla (4.5°, 6.3°, 10.4°, 12.4° ve 19.1°) uyumlu olduğu görülmüştür [71]. β -CD-MOF₁₀'un 4.7°'de görülen pikin elde edilen partikülün bir boyutunun olduğunu doğrulamaktadır. β -CD-MOF₂₀ ise 4.7°'deki pikin yoğunluğunun düşük olması elde edilen partikülün boyutunun olmadığını göstermektedir. Bu sonuçlar doğrultusunda, tez çalışmasının hedefleri doğrultusunda boyut küçültücü ajan olarak CTAB'in toksik olması da göz önünde bulundurulursa PEG-2000'in kullanılmasının daha uygun olduğu açıkça görülmektedir [143].

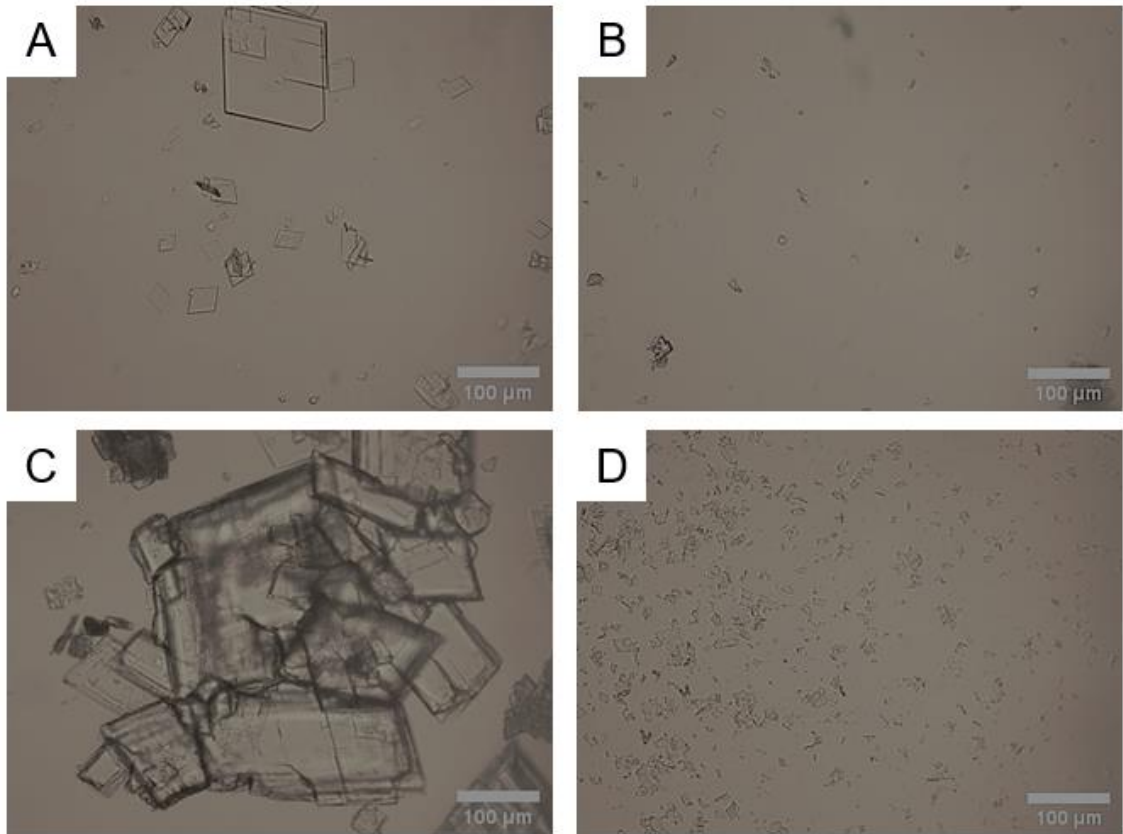


Şekil 3.5. A) β -CD-MOF₁₉'un, B) β -CD-MOF₂₀'in XRD Spektrumu

4.1.4 Sonikasyon/Buhar Difüzyon Yöntemi ile CD-MOF Sentezi

Hedeflenen partiküllerin elde edilebilmesi için buhar difüzyon yöntemi ile sonikasyon yönteminin birbirine entegre edilmesi düşünülmüştür. Bu amaçla, β -CD (0.284 g) ve KOH (0.112 g) 10 ml su içinde 30 dk boyunca %90 güçte ultrasonik prob ile karıştırılmıştır. 30 dk sonunda 2 ml metanol/aseton bulunan cam viyal içerisine 0.45 μ m'lik bir organik membrandan süzülerek eklenmiştir. Ardından küçük cam viyal içerisinde yaklaşık 50 ml %25 Aseton/%75 Metanol bulunan büyük cam viyal içine konulmuştur. Metanol/aseton difüzyonun 50 derece 6 saatte gerçekleşmesi sağlanmıştır. 6 saatin sonunda sentez temiz bir kaba alınıp üzerine 5 ml su içerisinde çözüldürülen 0.08 g CTAB ya da PEG-2000 çözeltisi hızlı bir şekilde eklenmiştir. Ardından çökme işleminin gerçekleşmesi beklenmiştir ancak partiküllerin çökmesi 2 hafta kadar uzun sürmüştür. Şekil 4.6'da buhar difüzyon/sonikasyon yöntemi ile elde edilen partiküllerin optik mikroskop görüntüleri verilmiştir. Boyut küçültücü ajan olarak CTAB (β -CD-MOF₂₁) kullanılmasının sonucunda daha önceki verileri destekler nitelikte bulgular elde edilmiştir. Elde edilen partiküllerin tabaka benzeri yapılar olduğu Şekil 4.6.A'de

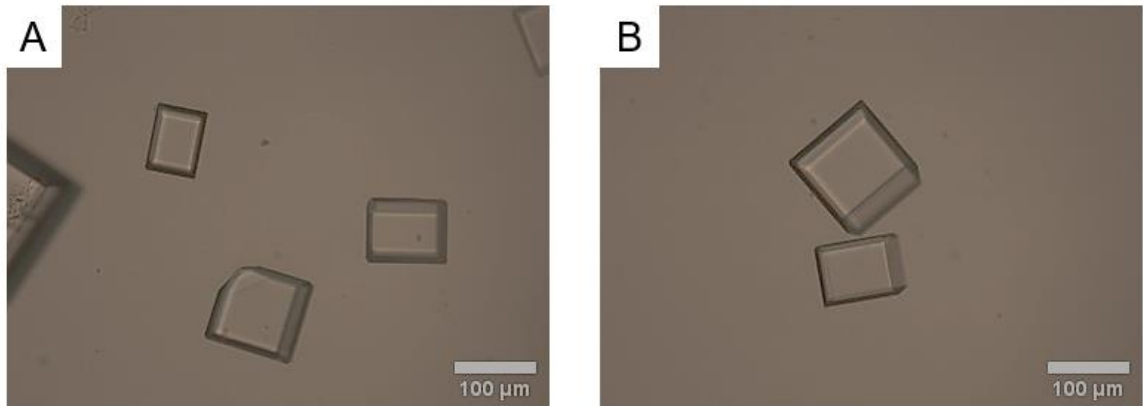
gösterilmiştir. Boyut küçültücü ajan olarak PEG-2000 kullanılan sentezlerin (β -CD-MOF₂₂) bulguları daha önceki sadece sonikasyon yöntemiyle elde edilen β -CD-MOF'lar ile karşılaştırıldığında elde edilen partiküllerin daha pürüzlü bir yapıya sahip olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar da gözenekli bir yapıya sahip partiküllerin elde edilebildiğini kanıtlar niteliktedir. (Şekil 4.6.C). Elde edilen bu yapı sayesinde hidrofobik moleküllerin enkapsülasyon verimliliğinin artırılacağı düşünülmüştür. Buhar difüzyon yöntemi ile tabaka halinde elde edilmiş olan partiküllerin bu sentez yönteminde tabakaların üst üste dizilerek boyutlu bir yapı elde edilebildiği görülmektedir. Sonuç olarak, sonikasyon yöntem ile tabakaların kendi kendilerine kümelenmelerini, ayrıca buhar difüzyon yöntemiyle de solventlerin yavaş bir şekilde difüzyon olması ile gözenekli bir yapının elde edilmesi sağlanmıştır. Ancak Şekil 4.6.B ve Şekil 4.6.D'de gösterildiği üzere kristallerin santrifüjleme aşamasında stabil kalamadığı fark edilmiştir. Bu nedenle sentez yönteminin optimize edilmeye devam edilmesi gerektiğine karar verilmiştir.



Şekil 3.6. Sonikasyon/ Buhar difüzyon yöntemi ile sentezlenen β -CD-MOF'lar A) CTAB ile sentezlenen β -CD-MOF₂₁'un, B) CTAB ile sentezlenen β -CD-MOF₂₁'un yıkama sonrası, C) PEG2000 ile sentezlenen β -CD-MOF₂₂'un, D) PEG2000 ile sentezlenen β -CD-MOF₂₂'un yıkama sonrası optik mikroskop görüntüsü

4.1.5 Solvotermal/Sonikasyon Yöntemi ile CD-MOF Sentezi

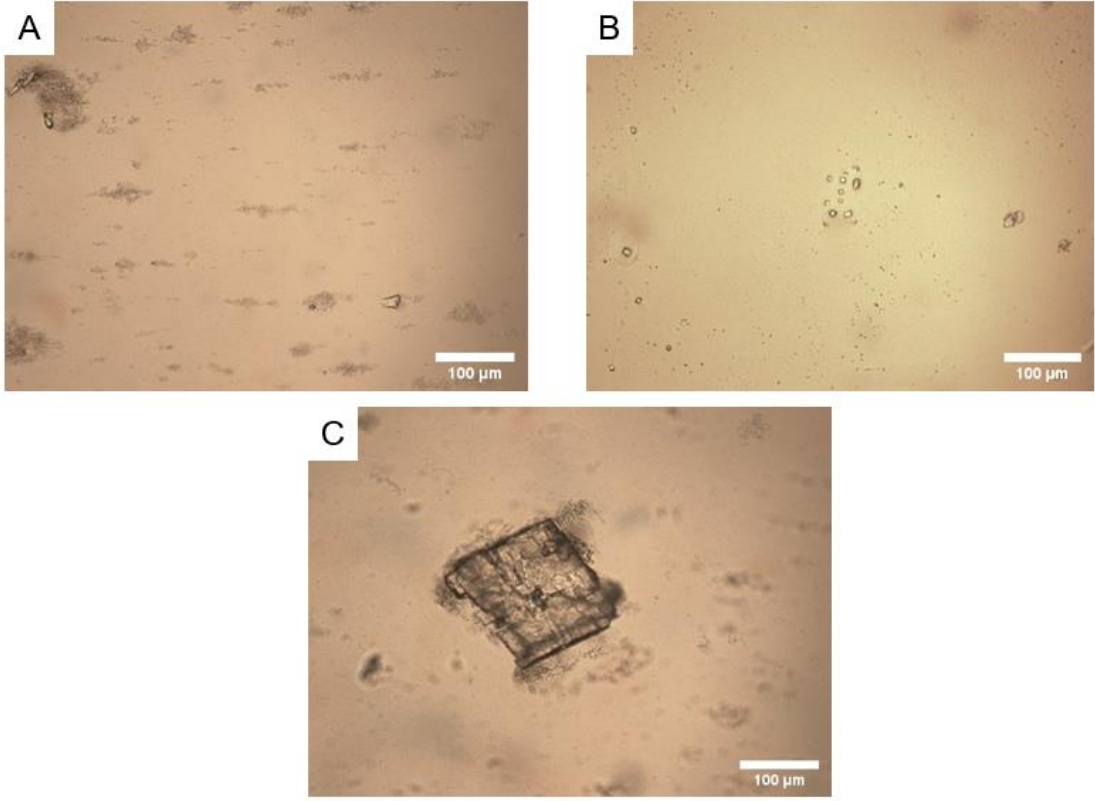
Tez çalışması kapsamında, istenen boyutta β -CD-MOF elde edilebilmesi için sonikasyon yönteminin solvotermal yöntemle birlikte uygulanmasının boyuta olumlu yönde bir etkisinin olabileceği düşünülmüştür. Bu amaç doğrultusunda β -CD ve KOH sonikasyon işlemine tabi tutulmadan önce 10 ml deiyonize su içerisinde çözündürülmüş ve filtrelenmiştir. Ardından çözeltiliye metanol/aseton eklenip 60 °C'ye ısıtılmıştır. Sonrasında, %90 güçte sonikasyon ile (2 saniye açık, 2 saniye kapalı modunda) 30 dakika boyunca karıştırılmıştır. 30 dakikanın sonunda partiküllerin oldukça hızlı bir şekilde çökmeye başladığı gözlemlenmiştir. Ardından boyut küçültücü ajan olarak PEG-2000 çözeltisi eklenmiştir. PEG-2000 aynı zamanda stabilizatör görevi de görmekte ve hızla çöken partiküllerin sürecini kontrol ederek doğru morfolojide partiküllerin oluşmasını da sağladığı düşünülmektedir. Sonrasında partiküller etanol ile 3 kez yıkanıp 40 °C'de vakumla kurutulmuştur [123]. Solvotermal yöntemin sonikasyon ile karıştırma işleminin öncesinde yapılması; çekirdeklenme ve kristal büyüme aşamasını hızlandırdığı için partiküllerin daha hızlı bir şekilde çökmesini sağladığı düşünülmektedir. Aynı zamanda çökmenin hızlı bir şekilde olması partiküllerin eş boyutlu olarak elde edilmesini de sağlamıştır. Şekil 4.7.A'de solvotermal/sonikasyon yöntemi ile elde edilen β -CD-MOF₂₃'ün optik mikroskop görüntüleri verilmiştir. Şekil 4.7.B'de verilen yapıların kalınlıklarının net bir şekilde görüldüğü ve optimum sentez yönteminin parametrelerinden birinin elde edildiği düşünülmektedir.



Şekil 3.7. A) Solvotermal/Sonikasyon yöntemi ile sentezlenen β -CD-MOF₂₃'ün, B) β -CD-MOF'un boyutunu gösteren optik mikroskop görüntüsü

4.1.6 Solvotermal/Sonikasyon/Buhar Difüzyon Yöntemi ile CD-MOF Sentezi

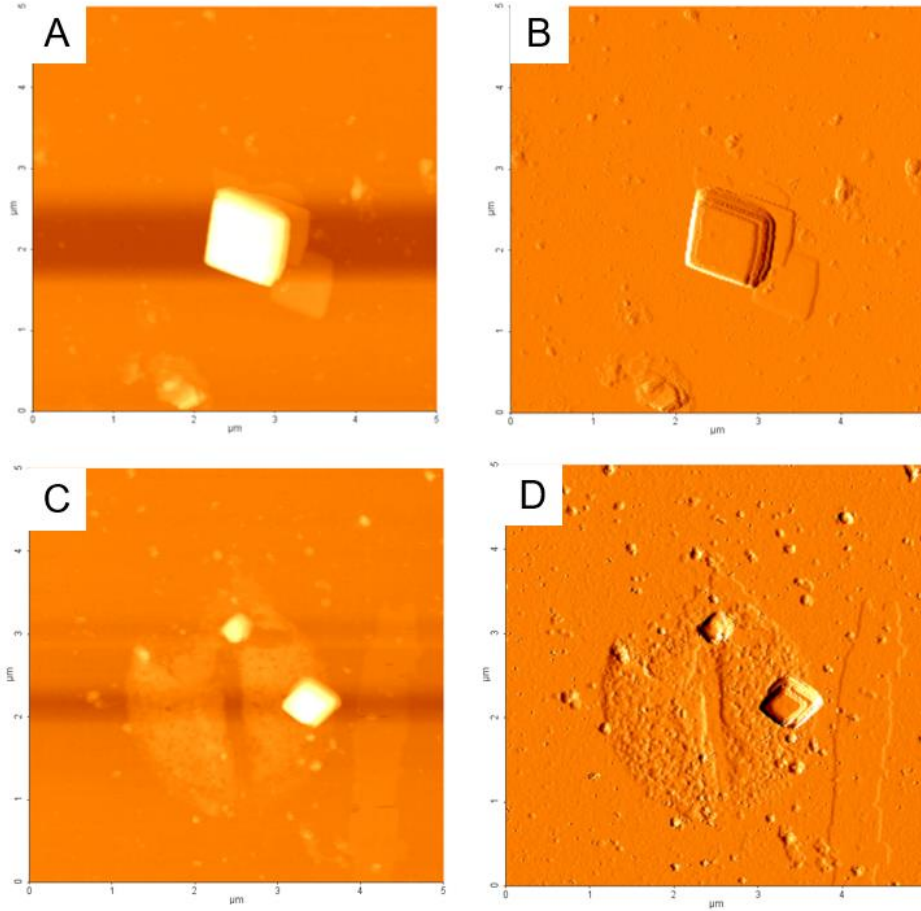
Yapılması hedeflenen çalışma kapsamında, taşıyıcı sistemin tasarımında, koşulların optimize edilmesinin son aşamasında sonikasyon, solvotermal ve buhar difüzyon yöntemlerinin bir arada kullanılması ile istenen β -CD-MOF'ların elde edilebileceğine karar verilmiştir. Bu bağlamda, β -CD ve KOH sonikasyon işlemine tabi tutulmadan önce 10 ml deiyonize su içerisinde çözündürülmüş ve filtrelenmiştir. Ardından çözeltiliye metanol/aseton eklenip 60 °C'ye ısıtılmıştır. Sonrasında, %90 güçte sonikasyon ile (2 saniye açık, 2 saniye kapalı modunda) 30 dakika boyunca karıştırılıp 50 °C'de metanol/aseton (%75 metanol/%25 aseton)'un 12 saat boyunca difüzyon sağlanması sağlanmıştır. Sentez yönteminde sonraki adımlar aynı şekilde uygulanmıştır. Şekil 16.A'da sentezin bitimindeki partiküllerin (β -CD-MOF₂₄) optik mikroskop görüntüleri verilmiş olup partiküllerin optik mikroskopta görülemeyecek kadar küçük boyutlara (~1 μ m) inebildiği görülmektedir. Şekil 4.8.B'de ise optik mikroskoptan görüntü alınmaya devam ederken 10 dakika içerisinde kuruyan partiküllerin görüntüsü görülmektedir. Görüntü incelendiğinde 10 dakika önce optik mikroskopla analiz edilemeyen partiküllerin morfolojilerinin anlaşılabilir kadar kristal büyümesi gerçekleştiği görülmektedir. Ardından Şekil 4.8.C'deki yıkanıp kurutulan partikül görüntülerine bakıldığında partiküllerin kendi kendilerine tekrar kümelenmesiyle daha büyük partiküllere dönüştüğü açıkça görülmektedir. Bu sebeple, kurutma hızının ve yönteminin β -CD-MOF'lar için oldukça önemli bir parametre olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın bundan sonraki aşamalarında daha hızlı bir şekilde kurutma yapabilmek için liyofilizasyon ile kurutma yapılmasına karar verilmiş olup yaklaşık ~1 μ m boyutunda β -CD-MOF'ların elde edilmesi sağlanmıştır. Bundan sonraki çalışmalarda en uygun yapı olan β -CD-MOF₂₄ kullanılmış olup kısaca CD-MOF olarak adlandırılmıştır.



Şekil 3.8. A) Sentez bitimindeki β -CD-MOF'un, B) Kurutulmaya bırakılan β -CD-MOF'un 10. dakikadaki, C) Bir gece vakum ile kurutulan β -CD-MOF'un optik mikroskop görüntüsü

CD-MOF'ların istenen morfolojide Solvotermal/Sonikasyon/Buhar difüzyon yöntemi ile sentezlenmesinin ardından daha küçük boyutlarda elde edilebilmesi sağlanmıştır. Seçilen yöntem ile çekirdek büyümesinin ardından kristal büyüme aşamasında çökmesinin daha hızlı olması ile küçük boyutlarda CD-MOF sentezi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen partiküllerin boyutlarının, AFM ve LS ile sırasıyla $1.5 \pm 0.54 \mu\text{m}$, $2.3 \pm 0.22 \mu\text{m}$ olduğu tespit edilmiştir.

Solvotermal/Sonikasyon/Buhar difüzyon yöntemi ile sentezlenen CD-MOF'ların AFM görüntüleri Şekil 4.9'da verilmiştir.

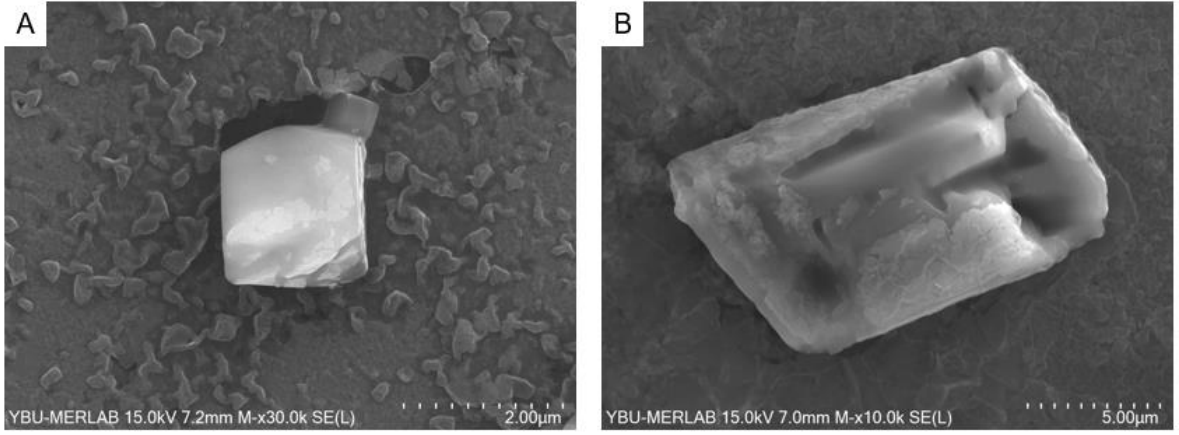


Şekil 3.9 Solvotermal/Sonikasyon/Buhar difüzyon yöntemi ile sentezlenen CD-MOF'ların AFM görüntüleri

Şekil 4.9'de verilen AFM ile alınan CD-MOF'ların topoğrafya görüntüleri incelendiğinde Şekil 4.9.B ve 4.9.C'de partiküllerin tabaka tabaka olduğu net bir şekilde görülmektedir. Ayrıca partiküllerin morfolojilerinin küçük boyutlarda da dörtgen şeklinde olduğu görülmektedir. Bu yöntemle sentezlenen partiküllerin bir boyuta sahip olduğu açıkça görülmektedir. Ayrıca DLS ile hesaplanan partikül boyutlarının AFM ile belirlenen boyutlara göre büyük olmasının sebebi, DLS tekniğinde partikülün kendi boyutuna ek olarak hidrasyon tabakasının da ölçülmesinden kaynaklıdır [145]. Bu sebeple DLS ile hesaplanan CD-MOF'ların boyutunun daha büyük olması diğer tekniklerle elde edilen boyutlara göre büyük olması normal bir durumdur.

CD-MOF'ların SEM görüntülerine bakıldığında ise küçük boyutta oluşan kristal yapıların morfolojileri de istenildiği şekilde olduğu görülmüştür (Şekil 4.10). SEM görüntülerine

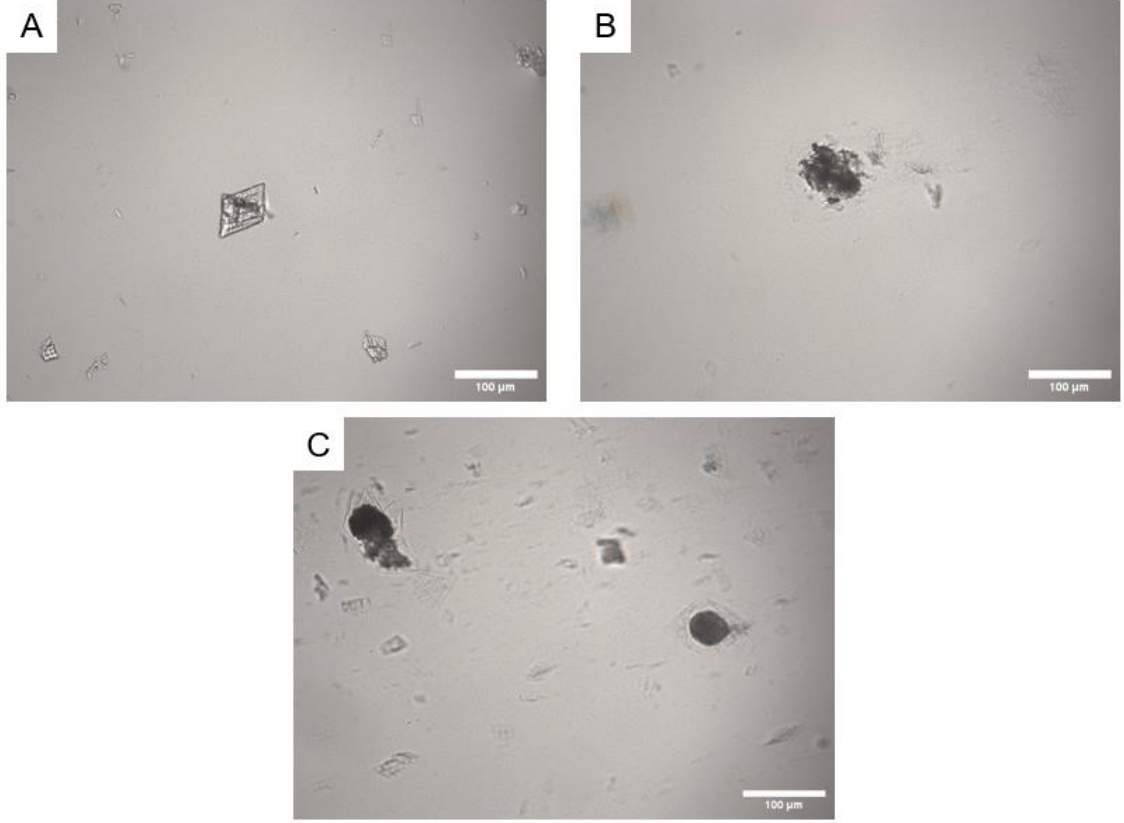
göre CD-MOF'ların boyutları $1.2 \pm 0.72 \mu\text{m}$ 'dir. Bu sonuçların da AFM ve DLS sonuçları ile uyumlu olduğu görülmektedir.



Şekil 3.10. Solvotermal/Sonikasyon/Buhar difüzyon yöntemi ile sentezlenen CD-MOF'ların SEM görüntüleri

4.2 CD-MOF'ların Yüzeyinin Florokarbonlu Ligand ile Kaplanması

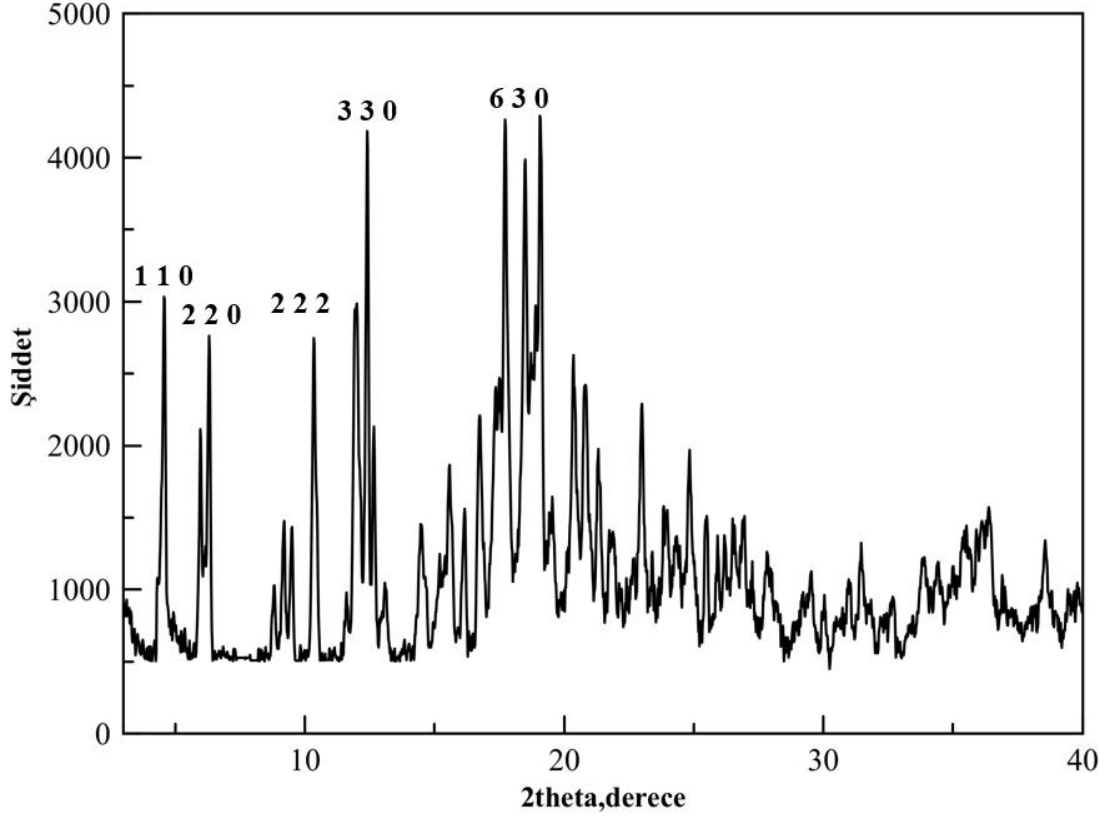
CD-MOF'ların sudaki stabilitesi oldukça düşüktür ve su içerisinde saniyeler içerisinde çözünmektedir. Şekil 4.11'de CD-MOF'ların saniyeler içinde suda çözünmesinin optik mikroskop görüntüsü verilmiştir.



Şekil 3.11. CD-MOF'ların suda çözünme anında alınmış optik görüntüleri, A) Su eklenmeden önceki, B) Su eklendikten sonra 1. Saniye, C) Su eklendikten sonraki 5. Saniyedeki CD-MOF'ların optik mikroskop görüntüsü

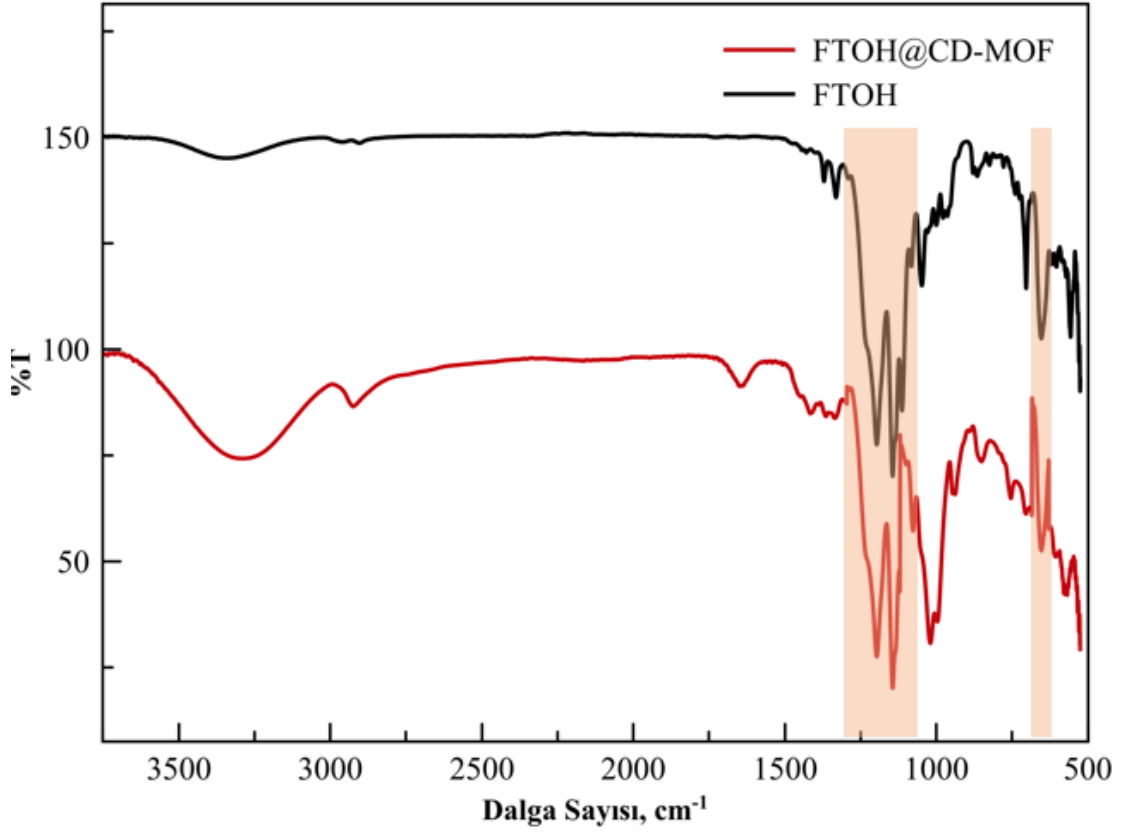
Literatürde, CD-MOF'ların yüzeyinin kolesterol [146] ve kitosan [147] gibi malzemelerle kaplandığı bilinmektedir. Ancak, yapılan çalışmalarda CD-MOF'ların sudaki stabilitesi yaklaşık olarak 24 saat artırılabilmiştir. CD-MOF'ların stabilitesinin artırılabilmesi için bu kapsamda yüzeyi 1H,1H,2H,2H-Perfloro-1-dekanol ile kaplanmıştır. Florokarbonlar, yüksek yüzey aktivitesi, kimyasal kararlılık, biyokimyasal inertlik ve hidrofobik özellik gösteren moleküllerdir. Son yıllarda ise birçok avantaja sahip olan florokarbonlar, çeşitli uygulamalar için yüzey kaplama gibi işlemler için tercih edilmeye başlanmıştır. Florokarbonların, fotodinamik terapide kullanılmak üzere yeni partiküllerin tasarlanması da oldukça ilgi çekmektedir. Bu çalışmada, CD-MOF'ların yüzeyinin florokarbonlu ligand ile kaplanması hidrofobik bir doğasının olması sebebi ile gerçekleştirilmiştir. Ancak, CD-MOF'ların fonksiyonelleştirilmesi için de kullanılabilir potansiyelde bir yapı elde edilmiştir. Florokarbonlu ligand kaplı MOF (FTOH@CD-MOF)'ların XRD spektrumu Şekil 4.12'de verilmiştir. FTOH@CD-MOF ve CD-MOF XRD spektrumu karşılaştırıldığında 4.5°, 6.3°, 10.4°, 12.4° ve 19.1°'deki karakteristik piklerin olduğu

görülmüştür. Sonuç olarak florokarbon kaplanması sonucu CD-MOF yapısının kristal yapısını koruduğu görülmektedir.



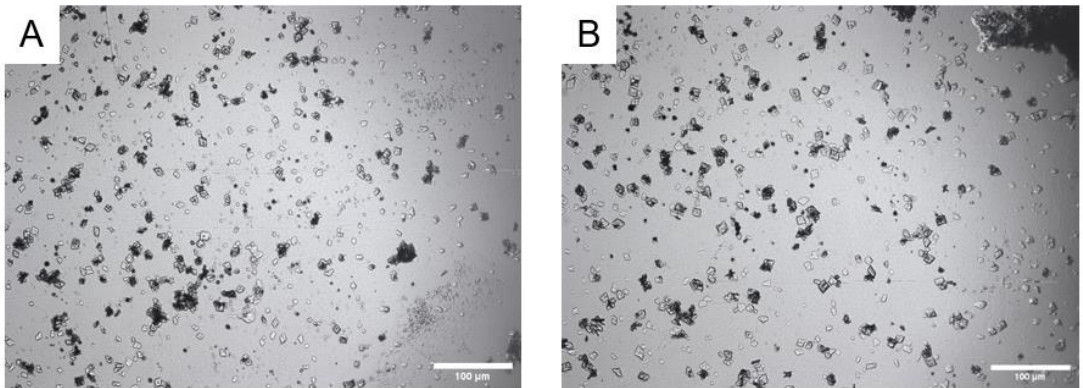
Şekil 3.12. FTOH@CD-MOF'un XRD spektrumu

FTOH@CD-MOF yapısının oluşturulabildiğinin kanıtlanabilmesi için FTIR analiz tekniği de kullanılmıştır (Şekil 4.13). Florokarbon'un karakteristik pikleri 1100 ile 1400 cm^{-1} arasında görünmektedir. CD-MOF'ların florokarbon ile kaplanmasının ardından alınan spektrumda da florokarbonun spesifik piklerinin korunduğu görülmektedir. Bu karakteristik pikler simetrik ve simetrik olmayan CF_2 gerilme bantlarını göstermektedir. Ayrıca 600 cm^{-1} civarındaki bant da CF gerilme bandını göstermektedir. Florokarbonun yüzeye zayıf etkileşimlerde tutunduğu ve CD-MOF yapısının da korunduğu FTIR analizi sonucu kanıtlanmıştır [148].



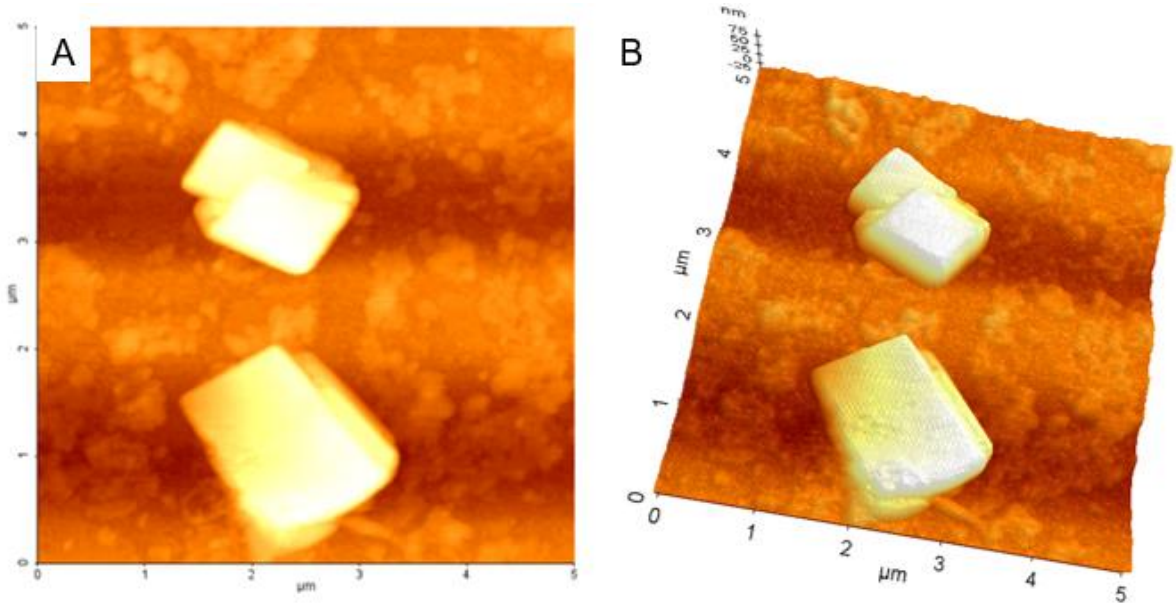
Şekil 3.13. FTOH@CD-MOF'un FTIR spektrumu

FTOH@CD-MOF'ların optik mikroskop görüntüleri Şekil 4.14'te verilmiştir. Optik mikroskop görüntüleri incelendiğinde, CD-MOF'ların florokarbonlu ligand ile kaplanması morfolojide bir değişikliğe yol açmadığı ve dörtgen şeklinde oldukları kanısına varılmıştır.



Şekil 3.14. FTOH@CD-MOF'ların optik mikroskop görüntüsü

Bunun yanı sıra, küçük boyutta sentezlenen CD-MOF'ların da florokarbon kaplaması sağlanmış ve AFM ve DLS analizleri gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.15'te verilen AFM görüntülerinde de küçük boyutta sentezlenen yapıların da morfolojisini koruduğu görülmektedir. AFM'de ölçülen boyutlar $1.53\pm 0.51 \mu\text{m}$ ve DLS'den alınan sonuçlara göre partiküllerin boyutları $2.02\pm 0.43 \mu\text{m}$ 'dir. İki analiz tekniğiyle ölçülen boyutların birbiriyle uyumlu olduğu görülmektedir.

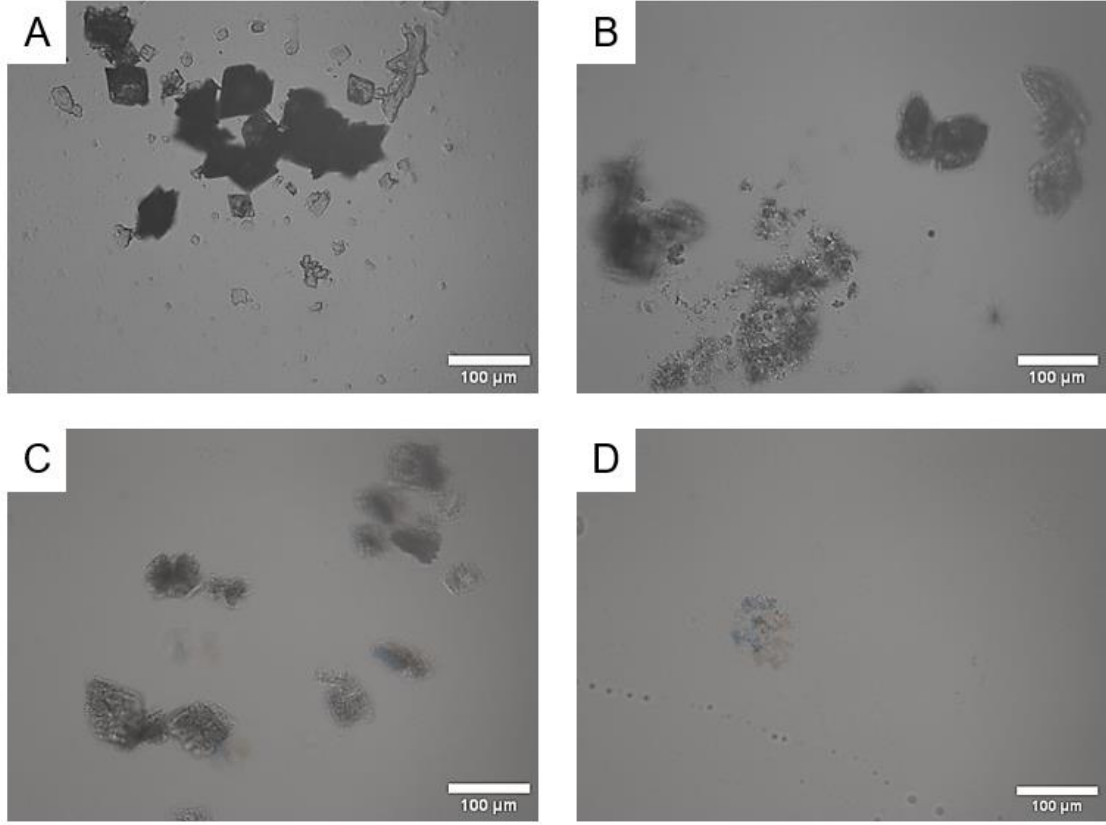


Şekil 3.15. FTOH@CD-MOF yapılarının AFM görüntüleri

4.3 CD-MOF Yapısının Stabilesinin İncelenmesi

Çalışma kapsamında solvotermal/Sonikasyon/Buhar difüzyon yöntemi ile sentezlenen CD-MOF yapısının depolama ve farklı çözücüler içerisindeki stabilesi değerlendirilmiştir.

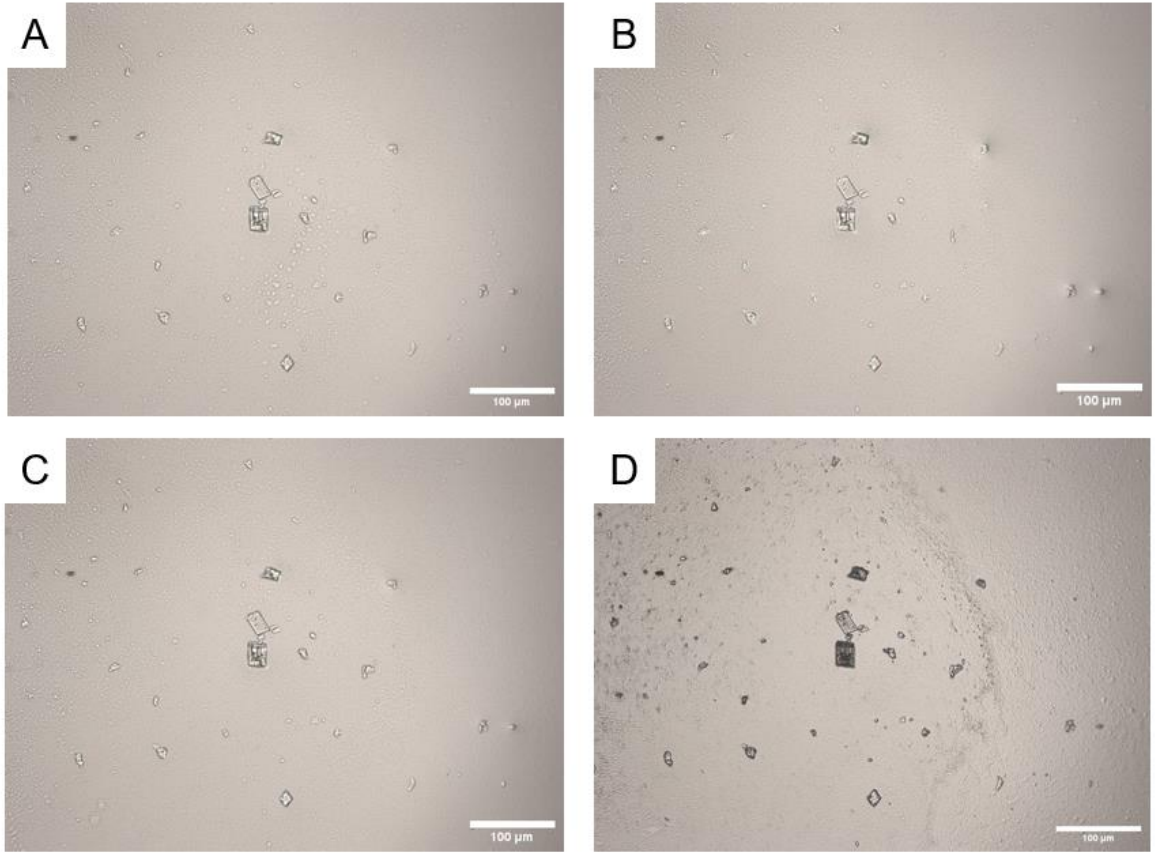
İlk olarak CD-MOF'ların sudaki stabilesi incelenmiştir. Şekil 4.16'da CD-MOFların su içerisinde alınan optik görüntüleri verilmiştir. Şekil 4.16 A'da görülen kuru olarak lamelin üzerine konulmuş CD-MOF'ların üzerine su eklendiğinde 30 saniye içerisinde yapının tamamen su içerisinde çözüldüğü görülmektedir.



Şekil 3.16. CD-MOFların A) kuru haldeki B) su içerisinde 1. saniyede, C) 10 saniyede, D) 30. saniyede alınan optik mikroskop görüntüsü

β -CD'lerin sudaki çözünürlüğü düşük olduğu için yapılan çalışmalarda β -CD'nin türevlerinin kullanıldığı görülmektedir. Hidrofobik bir ilaç etken maddesini kavitesinde taşıması ve biyoyumluluğundan ötürü β -CD birçok avantaja sahiptir. β -CD'nin burada MOF yapısının organik ligandı olarak kullanılmasıyla suda çözünür ve gözenekli bir yapı elde edilmektedir. Ancak istenen bölgeye iletimine kadar CD-MOF'ların yapısının bozulmaması ve içerisindeki kargoyu taşıyabilmesi de oldukça mühim bir konudur. Bu sebepten ötürü, CD-MOF'ların yüzeyi florokarbon ile kaplanarak sudaki stabilitesi iyileştirilmiştir. Şekil 4.17'de FTOH@CD-MOF'ların su içerisindeki optik mikroskop görüntüleri verilmiştir. Kaplı olan CD-MOF'ların ilk 24 saat boyunca aynı partikülün izlenmesiyle stabilitesi incelenmiş olup partiküllerin su içerisinde hala stabil olduğu görüntülenmiştir. Sonrasında, su içerisinde bulunan CD-MOF'ların takibi belirli zaman aralıklarında örnek şişesinden alınarak gerçekleştirilmiş olup 1 haftaya kadar stabil kaldıkları gözlemlenmiştir. Böylece, çalışmanın devamında da gerçekleştirilecek işlemler

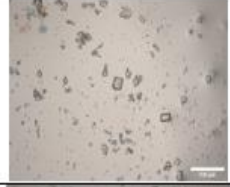
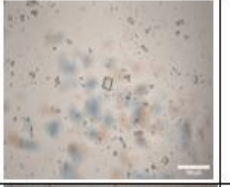
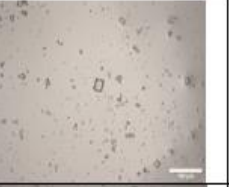
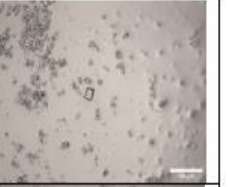
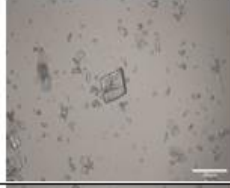
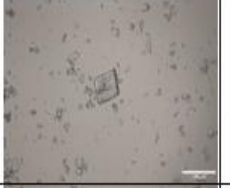
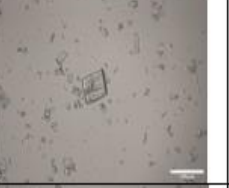
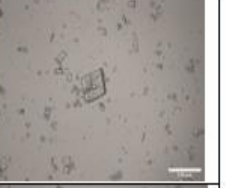
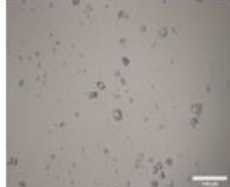
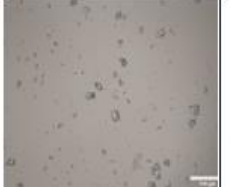
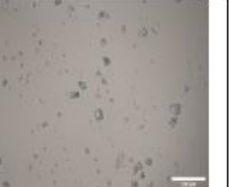
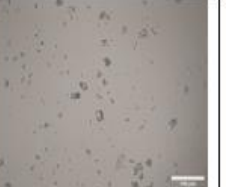






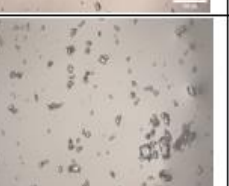

esnasında sentez ortamında su bulunmasının CD-MOF'lar için bir sorun çıkarmasının önüne geçilmiştir.



Şekil 3.17. FTOH@CD-MOFların su içerisindeki A) 1. saat B) 2. saat, C) 4. saat, D) 6. Saatinde alınan optik mikroskop görüntüsü

Ardından CD-MOF'ların farklı solventler içerisindeki stabilitesi değerlendirilmiştir. Bu işlem için CD-MOF'ların üzerine metanol, aseton, etanol, izopropanol ve dikoloro metan eklenmiştir. 6 saat boyunca optik mikroskop ile aynı partikülün takibi gerçekleştirilmeye çalışılmıştır. Elde edilen optik mikroskop görüntüleri Çizelge 4.4'te verilmiştir. Bütün solventler içerisinde CD-MOF yapısının çoğunlukla morfolojisini koruduğu görülmektedir. Ancak solventin polaritesi suya ne kadar yakınsa yapıların daha çabuk kristalinitesini kaybettiği yani bozulmaya uğradığı görülmüştür. Dikolorometan gibi apolar çözücülerde ise morfolojinin ve kristal yapının stabilitesinin daha yüksek olduğu görülmüştür [65].

Çizelge 3.4. CD-MOF'un farklı solventler içerisinde belli zaman aralıklarında alınan optik mikroskop görüntüleri

Zaman Solvent	1. saat	2. saat	4. saat	6. saat
Metanol				
Etanol				
İsopropanol				
Aseton				
Dikloro metan				

4.4 CD-MOF'lara Etken Madde Enkapsülasyonu

Yapılan tez çalışması kapsamında, hazırlanan taşıyıcı sistem etken madde enkapsülasyonu ve salımı bakımından değerlendirilmiştir. Bu amaçla model ilaç olarak kurkumin ve Orange OT kullanılmıştır. İki farklı model molekül ile çalışılmasının sebebi CD-MOF'ların farklı çözünürlükteki ve yapıdaki moleküllerin alım salım çalışmaları üzerindeki etkisini değerlendirebilmektir. Etken madde enkapsülasyonu, kurkumin molekülü için emdirme ve birlikte kristallendirme metotlarıyla sentez esnasında ve sentez sonrasında olmak üzere CD-MOF yapısına dahil edilmiştir. Orange OT molekülü ise sentez esnasında CD-MOF'a enkapsüle edilmiştir.

4.4.1 Kurkumin Enkapsülasyonu

β -CD hidrofilik bir dış yüzeye ve hidrofobik bir kaviteye sahip olan özel bir taşıyıcı sistemdir. Çalışma kapsamında, β -CD'nin özel kavitesinden yararlanılmasının yanı sıra MOF yapısının gözenekli yapısı ile suda çözünürlüğü düşük olan, ilaç etken maddelerinin yüksek oranda kapsüllenmesi hedeflenmektedir. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, β -CD-MOF'lar etken madde ile kompleks oluşturarak, hidrofobik maddenin hem çözünürlüğünü hem biyoyumluluğunun artırmaktadır. Ayrıca stabilitesi düşük olan etken maddelerin, daha uzun sürelerde saklanmasına da imkân sunabilmektedir [10]. Çalışma kapsamında, eşsiz bir yapıya sahip olan β -CD-MOF'lara suda çözünürlüğü oldukça düşük olan bununla birlikte, son derece zayıf fizikokimyasal stabilitesi ve düşük oral biyoyararlanımı olan kurkuminin enkapsüle edilmesi amaçlanmıştır. Literatürdeki çalışmalara bakıldığında, kurkuminin enkapsülasyon veriminin düşük olduğu görülmektedir. Bu bağlamda, kurkumin için etkili bir ilaç taşıyıcı sisteminin tasarlanması büyük önem arz etmektedir [149]. Bu çalışmada da β -CD-MOF'lar ile kurkuminin enkapsülasyonunun ve fizikokimyasal stabilitesinin iyileştirilmesi amaçlanmıştır.

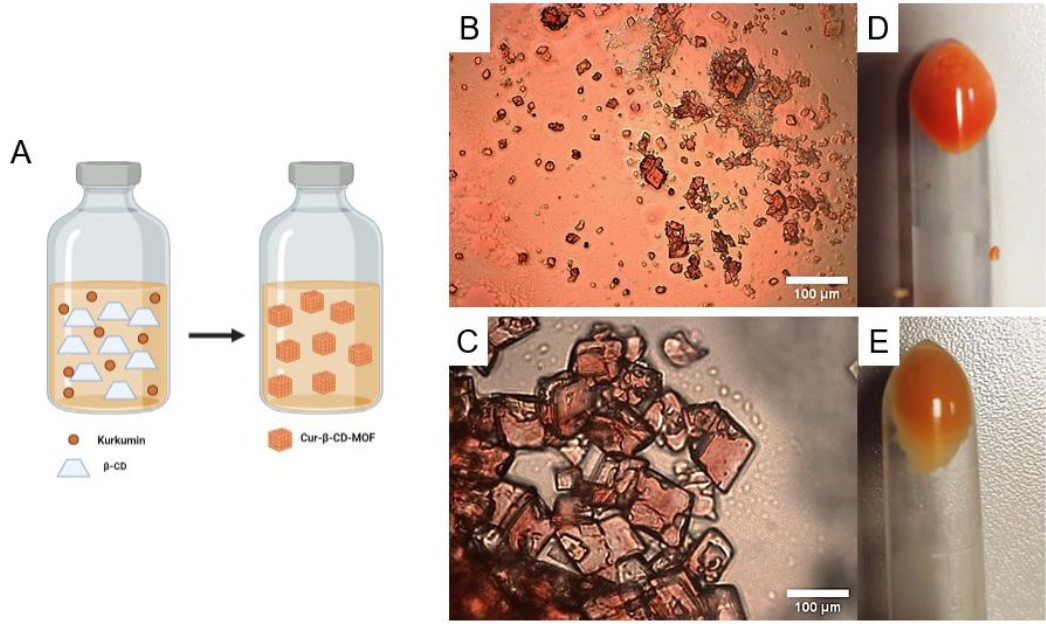
Çizelge 4.5'te β -CD-MOF'lara farklı oranlarda ilaç etken maddesi tutma çalışmalarının sonuçları listelenmiştir. Elde edilen sonuçlara bakıldığında, hazırlanan 1:1 oranındaki β -CD-MOF'ların kurkumin tutma kapasitesi ~%0 olarak bulunmuştur. 2:3 oranındaki β -CD-MOF'ların ilaç tutma kapasitesi ~5 olarak kaydedilmiştir. Enkapsülasyon değerinin düşük çıkmasının kurkuminin β -CD-MOF'ların gözeneklerine erişemediğinden dolayı olduğu düşünülmektedir. Bundan dolayı birlikte kristallendirme yöntemi ile ilaç etken madde enkapsülasyonunun yapılmasında karar verilmiştir.

Çizelge 3.5 Kurkuminin β -CD-MOF partiküllerine farklı kütlece yüzdelik oranlarda (1:1,2:3) yüklenmesi sonucu %EE ve %DL değişimleri

İlaç:β-CD-MOF Formülasyonu	EE (%)	DL (%)
1:1	~0	~0
2:3	5.51±2.37	0.32±0.17

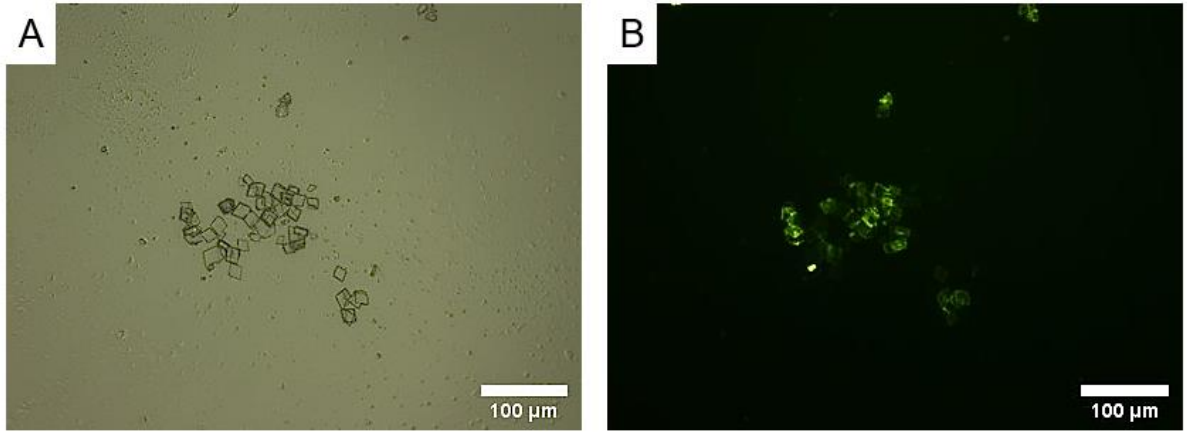
Literatürde, genellikle emdirme yöntemi ile etken madde enkapsülasyonu gerçekleştirilmiş ve birlikte kristallendirme yöntemi ile yüksek verimde enkapsülasyon yapılamadığına değinilmiştir [12]. Literatürde daha öncesinde sonikasyon/solvotermal/buhar difüzyon yöntemi ile CD-MOF sentezlenmediği göz önüne alınırsa ve elde edilen yapıların oldukça gözenekli bir yapıya sahip olduğu düşünülürse bu yöntem ile yüksek oranda enkapsülasyon verimi elde edilebileceği düşünülmüştür. Bu bağlamda, β -CD ve KOH 10 ml deiyonize su içerisinde çözündürülmüş ve filtrelenmiştir. Ardından çözeltiliye metanol/aseton eklenip 60 °C'ye ısıtılmıştır. Sonrasında, çözeltiliye 1:20 ve 1:10 (ilaç: β -CD-MOF) oranında %90 güçte sonikasyon ile (2 saniye açık, 2 saniye kapalı modunda) 30 dakika boyunca karıştırılıp 50 °C'de metanol/aseton (%50%50)'un 12 saat boyunca difüzlenmesi sağlanmıştır. Ardından, çöken partiküller etanol ile yıkandıktan sonra liyofilize edilerek saklanmıştır. Ayrıca partiküllerin bir miktarı vakum ile kurutularak büyük boyutlu partiküller elde edilmiştir ve β -CD-MOF'ların morfolojinin incelenmesi için kullanılmıştır.

Şekil 4.18'de kurkumin yüklü β -CD-MOF'ların şematik gösterimi ve optik mikroskop görüntüleri verilmiştir. Görüntüler incelendiğinde partiküllerin gözeneklerine kurkumin moleküllerinin enkapsüle edilebildiği görülmektedir. β -CD-MOF'un geliştirilen sentez yöntemi ile birlikte sentez esnasında enkapsülasyon için kullanılmasının uygun olduğunu nitel veriler ile destekleyen görüntüler elde edilmiştir. 1:10 oranında ilaç enkapsülasyonu ile elde edilen partiküllerin görüntülere bakıldığında Şekil 4.18.D'de görüldüğü gibi oldukça yoğun bir turuncu renge sahip olduğu görülmektedir. Ancak 1:20 oranında çalışıldığında ise açık renkte turuncu partiküllerin elde edildiği görülmektedir (Şekil 4.18.E). İlaç enkapsülasyon mekanizmasının, tabakalar halinde dizilen MOF yapısının gözeneklerine ve β -CD'nin kendi özel hidrofobik kavitesi ile kompleks oluşturması şeklinde olduğu düşünülmektedir [12].



Şekil 3.18. A) Kurkumin yüklü β -CD-MOF'ların şematik gösterimi B) 1:20 oranında ilaç enkapsülasyonu yapılan β -CD-MOF'un, C) 1:20 oranında ilaç enkapsülasyon yapılan β -CD-MOF'un optik mikroskop görüntüsü, D) 1:10 oranındaki β -CD-MOF'un, E) 1:20 oranındaki β -CD-MOF'un kamera görüntüsü

Ek olarak kurkuminin floresan özelliğine sahip olduğu bilindiğinden floresan mikroskop ile de kurkumin yüklü β -CD-MOF'ların görüntüleri alınmış olup Şekil 4.19'da verilmiştir. Şekil 4.19.B'deki görüntü incelenirse β -CD-MOF'ların floresan ışımaya yaptığı ve bu bulgu ile de partiküllere kurkumin kapsüllenebildiği doğrulanmıştır [150].



Şekil 3.19. A) Kurkumin yüklü β -CD-MOF'ların optik mikroskop görüntüsü B) Kurkumin yüklü β -CD-MOF'un floresan mikroskop görüntüsü

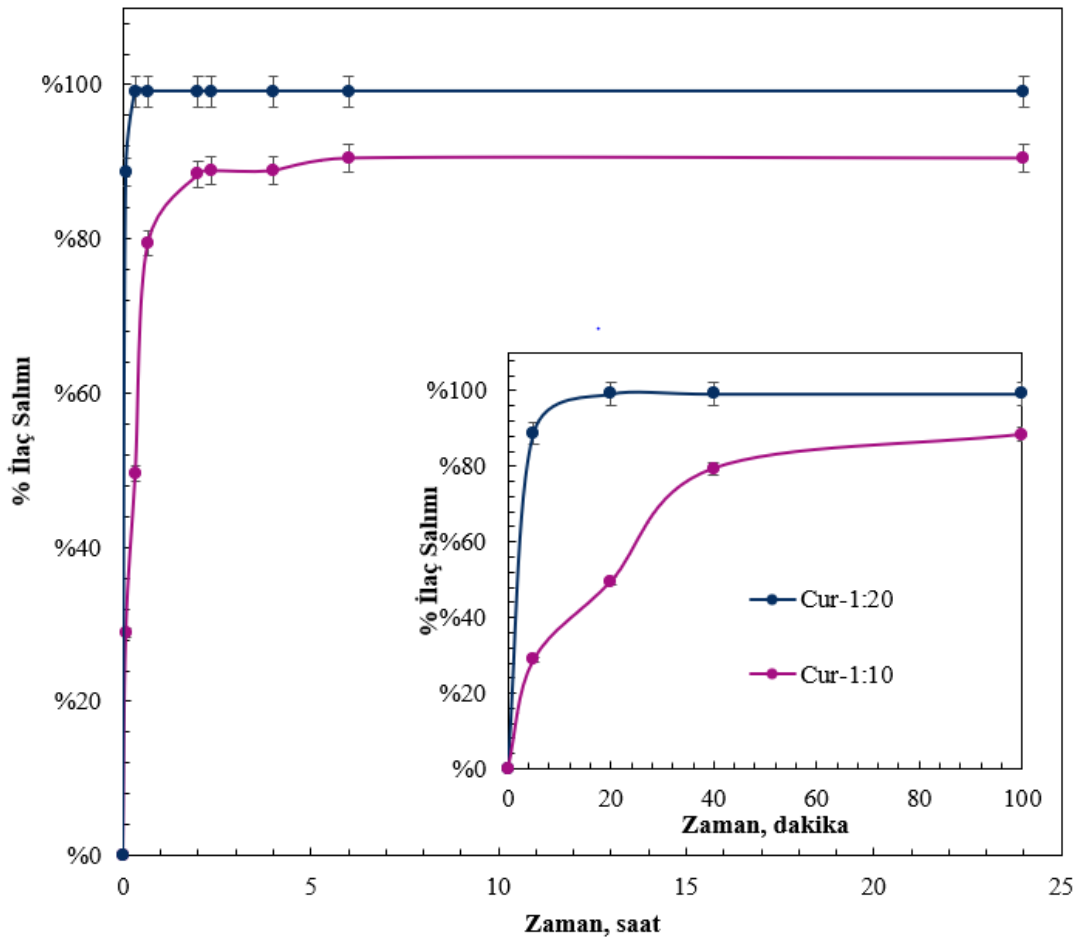
Elde edilen kurkumin yüklü partiküller HCl ile bozulup kapsüllenen ilaç derişiminin hesaplanabilmesi için UV-Vis spektroskopisi ile 424 nm'de analizlenmiştir. B-CD-MOF yapısına dahil edilen etken madde miktarı (% enkapsülasyon verimi) Eşitlik 3.1 kullanılarak hesaplanmıştır.

Kompleksler içindeki kurkuminin %EE ve DL değerleri Çizelge 4.5'te verilmiştir. Elde edilen sonuçlara bakıldığında, hazırlanan 1:20 oranındaki β -CD-MOF'ların kurkumin tutma kapasitesi ~%30 civarında kalırken, ilaç: β -CD oranı 1:10'a çıkarıldığında kurkumin tutma kapasitesi ~%95 civarındadır. İlaç konsantrasyonunun artması ile orantılı olarak enkapsülasyon veriminin önemli ölçüde artırılabilirdiği görülmüştür. Literatürdeki çalışmalar ile kıyaslandığında, bu çalışmada kurkuminin kapsülleme oranının artırılabilirdiği görülmektedir. Liu vd. yaptığı çalışmada kapsülleme verimliliği ~%20 civarındayken bu çalışmada 4-5 kat daha yüksek kapsülleme verimliliğine ulaşılabilmştir [125]. Kapsülleme verimliliğinin etkili bir şekilde artırılabilmiş olmasının sebebinin β -CD-MOF'ların sentez yönteminden kaynakladığı açık bir şekilde görülmektedir. Bir önceki bölümde bahsedilen sonikasyon/solvotermal/buhar difüzyon yöntemi β -CD-MOF'ların gözenekli yapısının başarılı bir şekilde oluştuğu ve β -CD'nin hidrofobik boşluğunun yanı sıra oluşturulan bu gözenekli yapıya da etken maddenin başarılı bir şekilde tutunabilirdiği anlaşılmaktadır. Elde edilen yapının, β -CD'ye göre kıyaslaması yapılırsa Arya vd. yapmış olduğu çalışmada β -CD'nin kurkumin tutma kapasitesi ~%30 olduğu görülmüştür [151]. Bu sonuçlar karşılaştırıldığında β -CD-MOF'ların gözenekli yapısına kurkuminin tutunabilirdiği doğrulanmıştır.

Çizelge 3.6. Kurkuminin β -CD-MOF partiküllerine kütlece farklı oranlarda (1:20,1:10) yüklenmesi sonucu %EE ve %DL değişimleri

İlaç: β -CD Formülasyonu	EE (%)	DL (%)
1:20	33 \pm 1.69	3.04
1:10	95	8.10

Başarılı bir şekilde kurkumin yüklenen β -CD-MOF'ların salım çalışmaları diyaliz membran kullanılarak pH 7.4 fosfat tampon (PBS) çözeltisi içerisinde etken madde salımı 37°C'de yapılmıştır.



Şekil 3.20. β -CD-MOF'lardan (1:10,1:20, oranında) kurkumin salım profili (A. 1 gün süresince, B. kısa zamanlı) (salımlar %3 Tween 80 içeren pH 7.4 PBS çözeltisi içerisinde 37°C'de gerçekleştirilmiştir [n=3].)

β -CD-MOF'lardan farklı oranlarda kurkumin salım grafikleri Şekil 4.20'de verilmiştir. 1:20 oranındaki salım incelendiğinde, β -CD-MOF'un suda saniyeler içerisinde çözünmesinden dolayı kurkuminin hızlı bir şekilde salındığı görülmüştür. Kısa zamanlı salım profili incelendiğinde daha net bir şekilde ayırt edilebileceği üzere ilk 5 dakika içerisinde, enkapsüle edilen kurkuminin %90'ı salınmıştır. 1:10 oranındaki salım trendi incelendiğinde ise ilk 5 dakika içerisinde kurkuminin ~%30'unun salındığı hesaplanmıştır. Bir günün sonunda ise kapsüllenen kurkuminin %90'ı salınmıştır. Bu bulgular ışığında, çözünürlüğü oldukça yüksek olan β -CD-MOF'ların hidrofobik bir madde ile kompleks oluşturarak partiküllerin su içerisindeki stabilitesinin artırılabilirdiği anlaşılmaktadır. 1:10 oranında enkapsülasyon çalışılan partiküllerin daha içte bulunan gözeneklere difüze olarak kapsülleme miktarının artırılabilirdiği düşünülmektedir. Bu sayede de salımın daha yavaş bir şekilde gerçekleşmesi sağlanmıştır. Enkapsülasyonun artırılabilmesi ile β -CD-MOF'ların çözünürlüğü düşürülmüş olsa da patlama salımının hala hızlı bir şekilde gerçekleşiyor olmasından dolayı yapının başka bir taşıyıcı sistem ile entegre edilerek ilaç salımının daha kontrollü bir şekilde gerçekleştirilmesinin sağlanabileceği düşünülmektedir.

4.4.2 Orange OT Enkapsülasyonu

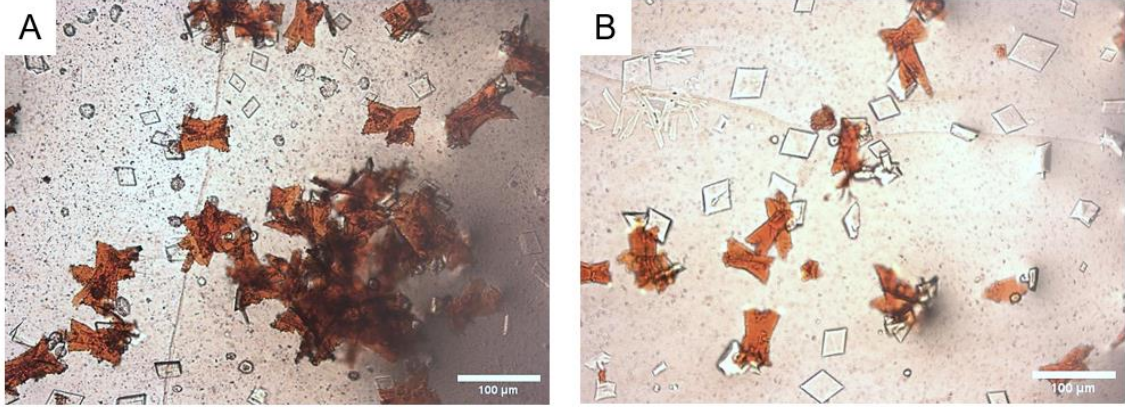
CD-MOF'lara farklı çözünürlük ve yapısal olarak farklı olan model moleküllerin alım salım davranışının incelenebilmesi için orange OT molekülünün kapsüllemesi de amaçlanmıştır. Çizelge 4.6'da kurkumin ve orange OT'nin fizikokimyasal özellikleri verilmiştir.

Çizelge 3.7. Kurkumin ve Orange OT'nin fizikokimyasal özellikleri

Özellikler	Kurkumin	Orange OT
Molekül Formülü	$C_{21}H_{20}O_6$	$C_{17}H_{14}N_2O$
Molekül Ağırlığı, g/mol	368.39	262.31
Suda çözünürlük	0.6 μ g/ml	26.23 μ g/l
Erime Sıcaklığı, °C	183	124-126
Kaynama Sıcaklığı	591.4	405.6

Orange OT'nin çözünürlüğü kurkumine kıyasla oldukça düşük ve moleküler yapısı açısından birbirlerinden oldukça farklıdır. Orange OT'nin enkapsülasyonu için elde edilen CD-MOF yapısının gözeneklerinin büyük bir çoğunluğunu aslında β -CD'nin kendi

hidrofobik kavitesinin oluşturduğu düşüncesiyle hareket edilmiştir. Bu doğrultuda ilk önce 1:10 (model molekül: β -CD) oranında çalışılmıştır. Şekil 4.21’de 1:10 oranında çalışılarak elde edilen OT@CD-MOF’un optik mikroskop görüntüleri verilmiştir.

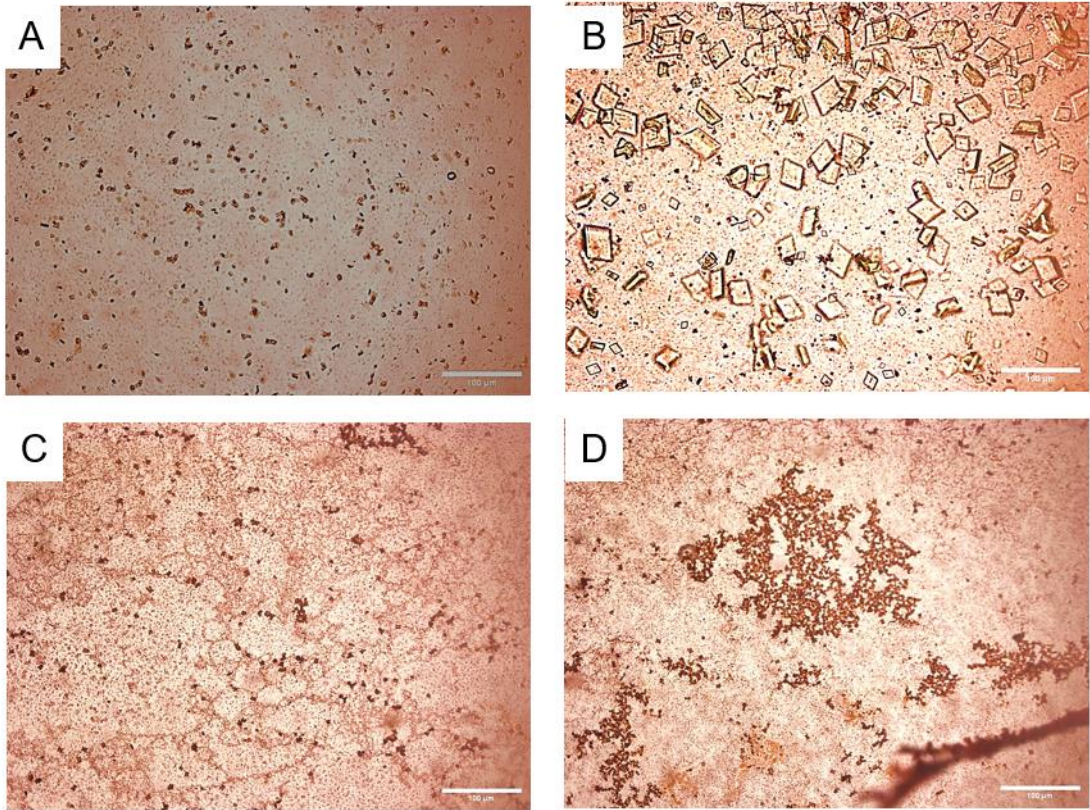


Şekil 3.21. 1:10 oranında Orange OT kapsüllenen OT@CD-MOFların optik mikroskop görüntüsü

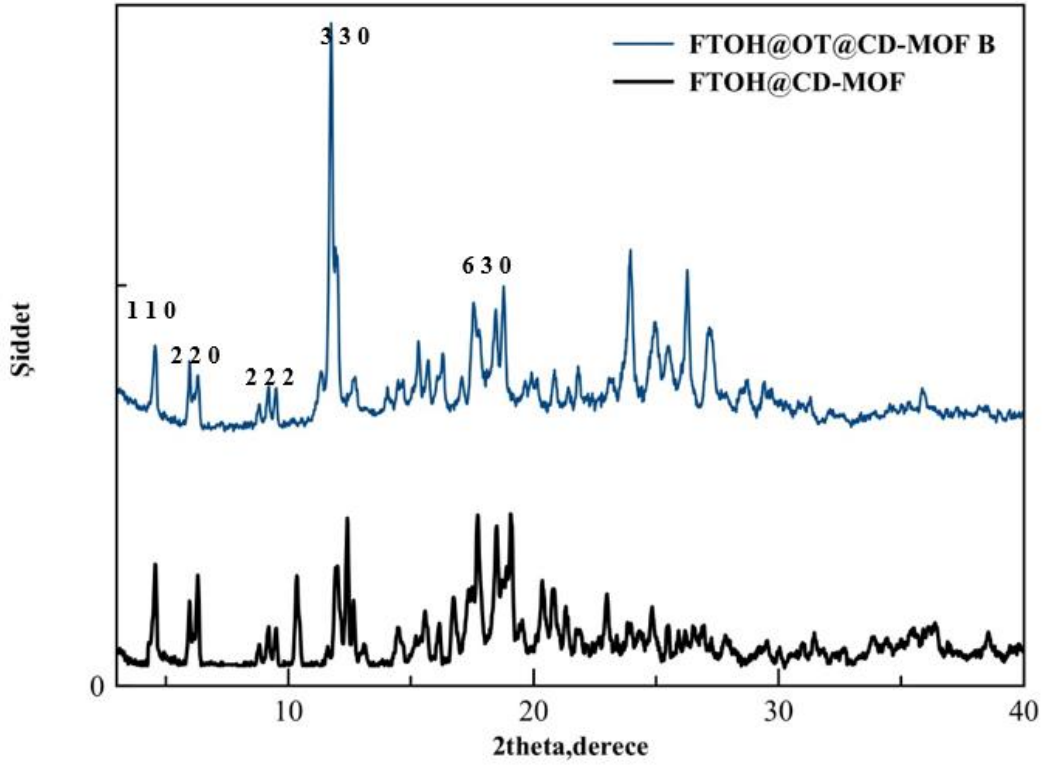
Şekil 4.21’de verilen optik mikroskop görüntüleri incelendiğinde 1:10 oranında orange OT enkapsülasyonu gerçekleştirilen CD-MOF’ların başarılı bir şekilde oluşturulabildiği ve model molekülün yüklemesinin yapılabildiği görülmektedir. Ancak boş MOF kristallerinin yüklü olan MOF’lara kıyasla daha çok oluşum gösterdiği anlaşılmıştır. Bunun sebebinin ise β -CD’nin kavitesine ve MOF yapısının elde edilmesiyle elde edilen gözeneklere enkapsüle edilebilecek miktarda yeterli orange OT molekülünün olmadığından kaynaklı olabileceği düşünülmüştür. Örneğin, Li vd. CD-MOF’lara narinjin enkapsüle edilme mekanizmasının narinjinin fenil grubunun β -CD’nin hidrofobik kavitesine yerleştiği ve glikozit kısmının ise β -CD’nin düzlemi boyunca uzandığını söylemişlerdir [143]. β -CD’nin kavitesine etken madde enkapsülasyonu için bir çok yaklaşım bulunmaktadır. Genel olarak bahsedilecek olursa ilaç: β -CD oranı 1:1 veya 1:2 gibi birçok oran olabilmektedir ve bu enkapsülasyonu yapılması hedeflenen molekülün yapısına bağlıdır. Wang vd. Orange G’yi β -CD’ye kapsüllemişlerdir ve burada inklüzyon kompleksi oluşturmak için gerekli olan orange G: β -CD oranını bulabilmek için Hildebrand–Benesi eşitliği kullanılmış ve buradan oranın 1:1 olması gerektiği yönünde bir sonuca varılmıştır [152]. Bu doğrultuda, çalışmanın devamında orange OT enkapsülasyonu için 1:2 ve 1:1 oranlarında da çalışılmış olup optik mikroskop görüntüleri Şekil 4.22’de verilmiştir. Şekil 4.22. B’deki optik mikroskop görüntüsü incelendiğinde

1:2 oranında çalışılması ile hala boş CD-MOF'ların oluşumunun gözlemlendiği görülmektedir. 1:1 oranında çalışıldığında ise şekil 4.22.C ve D'de görüldüğü gibi boş MOF kristallerinin oluşumunun yok denecek kadar az olduğu gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, β -CD'nin hidrofobik kavitesinin CD-MOF'lara etken madde enkapsülasyonu açısından oldukça önemli olduğu görülmektedir.

CD-MOF yapısına etken madde enkapsülasyonunun ardından kristal yapının korunup korunmadığının anlaşılabilmesi için 1:1 oranında model molekül yüklü olan partiküllerin XRD spektrumları alınmıştır (Şekil 4.23). FTOH@CD-MOF ve FTOH@OT@CD-MOF partiküllerinin XRD spektrumların kıyaslanacak olursa MOF yapısının karakteristik piklerinin korunduğu görülmektedir. Buradan, kristal yapının etken madde enkapsülasyon prosesinden etkilenmeyerek yapının başarılı bir şekilde oluştuğu söylenebilir. 12.5° 'deki pikin şiddetinin yüksek olmasının sebebinin gözeneklere giren moleküllerden kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

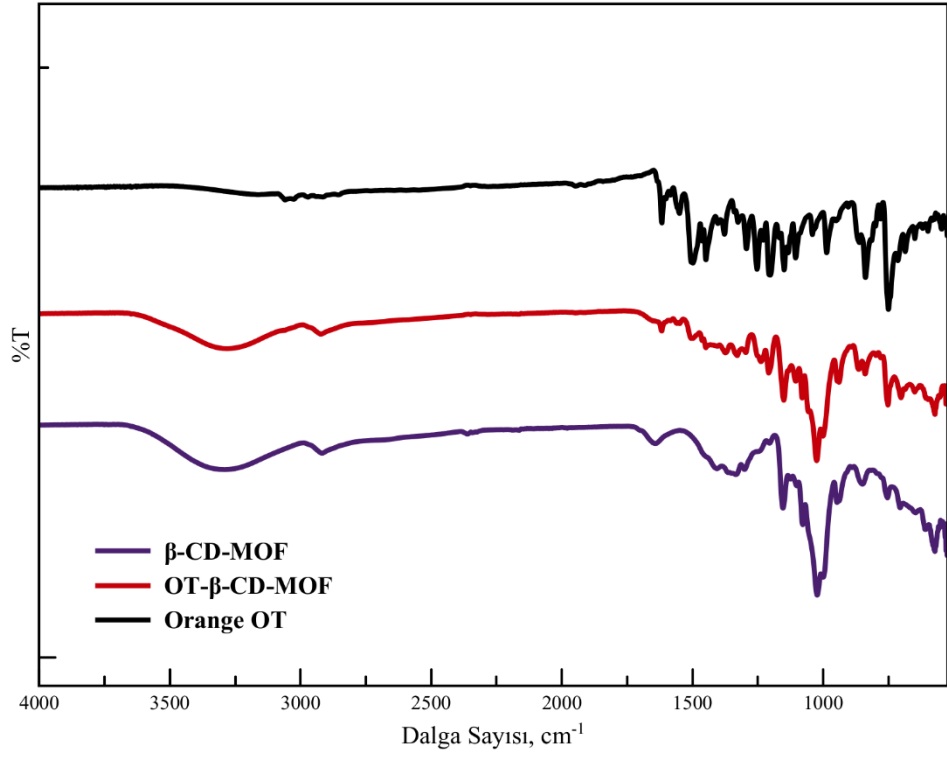


Şekil 3.22. A), B) 1:2 oranında C), D) 1:1 oranında orange OT enkapsülasyonu sonucu oluşan CD-MOF'ların optik mikroskop görüntüsü



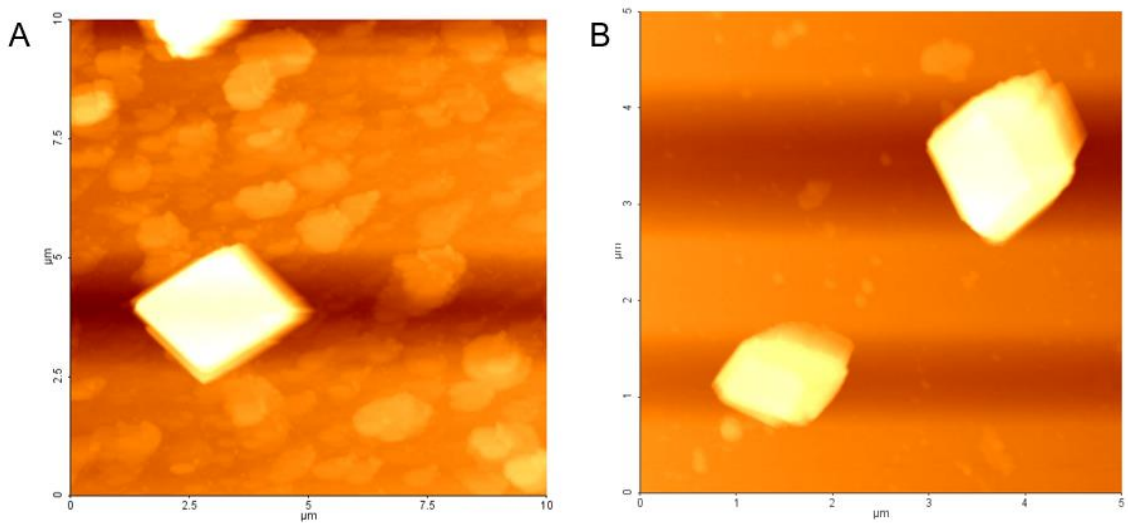
Şekil 3.23. FTOH@OT@CD-MOF'un XRD spektrumu

Bunun yanı sıra, kapsüllenen orange OT'nin CD-MOF yapısında bir değişime sebep olup olmadığı FTIR analizi ile de incelenmiştir (Şekil 4.24). OT@CD-MOF yapısının spektrumunun β -CD'ninkine benzer olduğu görülmektedir. Bunun sebebi kaviteye alınan molekülün absorpsiyon bantlarının maskelenmesidir. β -CD'nin özel yapısı sayesinde kapsüllenen Orange OT'nin karakteristik pikleri görünmemekte ve β -CD'nin yapısında bir bozulmaya sebep olmamıştır [143].



Şekil 3.24. OT@CD-MOF yapısının FTIR spektrumu

Küçük boyutta elde edilen yapıların morfolojileri AFM ile değerlendirilmiştir (Şekil 4.24). Boyutları ise AFM ve DLS ile belirlenmiş olup sırasıyla 1.58 ± 0.42 ve 2.17 ± 0.21 μm 'dir. Morfolojileri ise beklenildiği gibi dörtgen yapıda görünmektedir.



Şekil 3.25. OT@CD-MOF'ların AFM görüntüleri

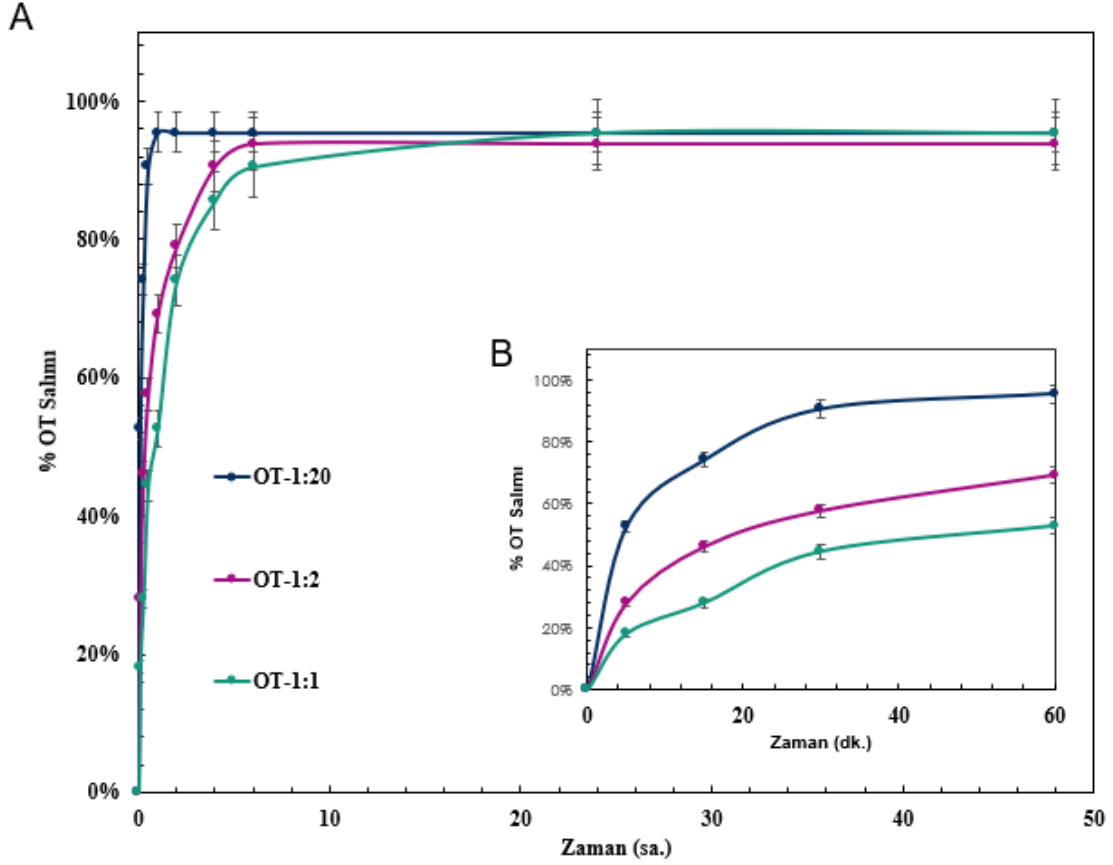
CD-MOF'un oluşumunda elde edilen g6zenekler de d6şun6ld6đinde etken madde miktarının artırılması ile daha y6ksek enkap6lasyon değerlerine ulaşılabileceği d6ř6n6lmektedir. Çizelge 4.7'de çalışılan farklı oranlar sonucunda elde edilen %EE ve %DL değerleri verilmiştir.

Orange OT 'nin CD-MOF'lara kaps6llenmesi aşamasında her bir β -CD molek6l6 için bir model molek6le gerek olduğu Li vd. β -CD etken maddeler ile 1:1 veya 1:2 olacak şekilde inkl6zyon kompleksleri oluşturabilmektedir [151]. Orange OT'de bulunan fenil grubu bir β -CD molek6l6n6n hidrofobik kavitesi ile hidrofobik etkileşimler ile tutunabilmekte ve kalan kısım d6zlem boyunca uzanmaktadır [143]. Orange OT'nin CD-MOF'lara enkap6lasyonu sentez esnasında gerçekleştirilmiştir. Burada, 6zeltiye 1:10, 1:2 ve 1:1 (ilaç: β -CD) oranlarında orange OT eklenmiştir. Orange OT molek6l6 için her bir β -CD'nin 1:1 oranında molek6l6 kaps6lleyebileceği denenen oranlar sonrasında anlaşılmıştır.

Çizelge 3.8. Orange OT'nin β -CD-MOF partik6llerine k6tlece farklı oranlarda (1:10,1:2, 1:1) y6klenmesi sonucu %EE ve %DL değişimleri

İlaç:β-CD Form6lasyonu	EE (%)	DL (%)
1:10	65.2 \pm 8.91	5.01
1:2	83.5 \pm 2.77	10.54
1:1	88.9 \pm 5.2	11.21

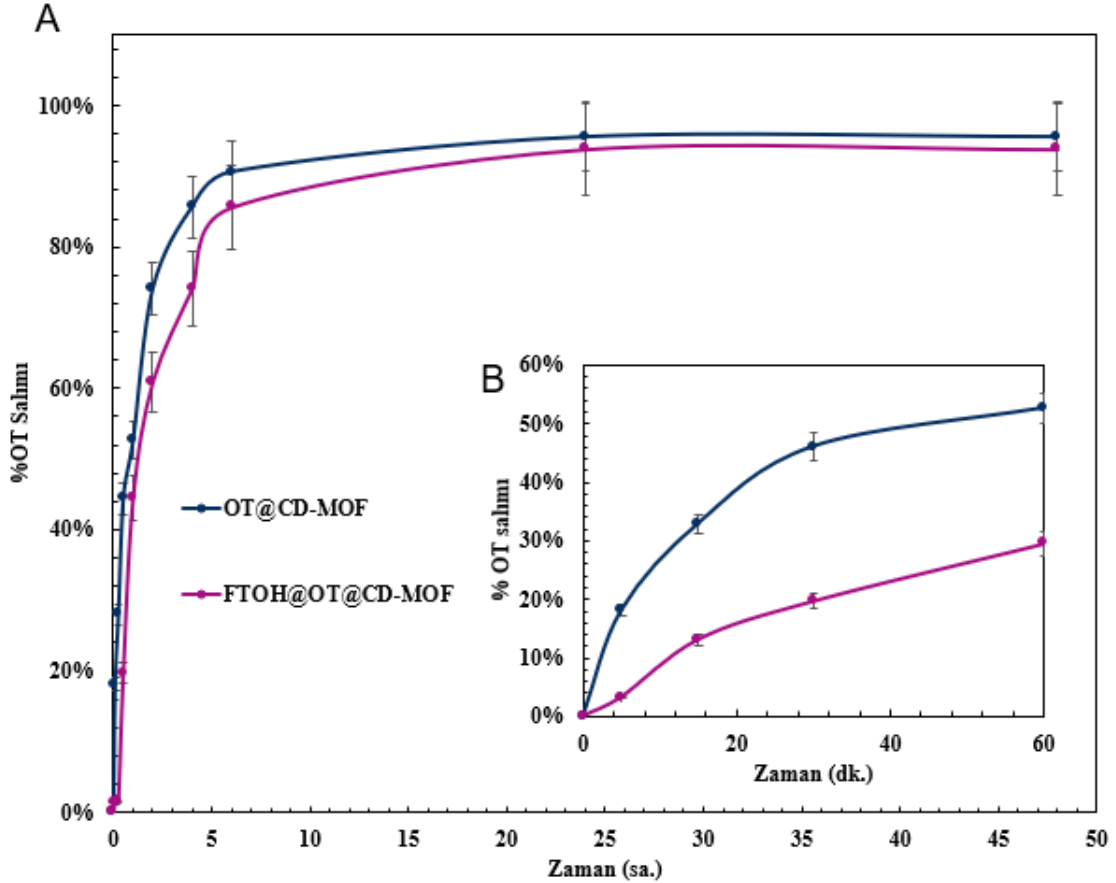
Orange OT'nin CD-MOF'lara enkap6lasyonunun ardından pH 7.4 PBS 6zeltisinde 37 C'de model molek6l y6kl6 partik6llerin salım potansiyelleri değerlendirilmiştir. Farklı oranlarda model molek6l y6kl6 olan CD-MOF'ların salım profilleri şekil 4.26'te verilmiştir.



Şekil 3.26. β -CD-MOF'lardan (1:10,1:2 ve 1:1 oranında) orange OT salım profili (A. 2 gün süresince, B. kısa zamanlı) (salımlar %3 Tween 80 içeren pH 7.4 PBS çözeltisi içerisinde 37°C'de gerçekleştirilmiştir [n=3].)

Bilindiği üzere CD-MOF'ların sudaki çözünürlüğü oldukça yüksektir. MOF kristallerinin gözeneklerine hidrofobik moleküllerin hapsedilmesi ile oluşan kompleksin sudaki stabilitesinin artırıldığı bilinmektedir [151]. Yapılan çalışmada da hidrofobik özellikteki bir maddenin MOF başına düşen miktarının artırılması ile hem stabilitenin artırılabilirdiği hem de daha kontrollü bir salım gerçekleştirilebileceği görülmüştür. Kurkumine kıyasla daha hidrofobik olan orange OT molekülü ile su içerisindeki stabilitesinin yaklaşık 2 katına çıkarılabildiği sonucuna varılmıştır. Şekil 4.26'da görüldüğü üzere ilk 1 saat içerisinde 1:10, 1:2, ve 1:1 yüklü CD-MOF'lardan salınan % orange OT miktarı sırasıyla 95.48, 69.14, 52.68'dir. 1:10 oranında yüklenen partiküllerin salımı 1 saat içerisinde biterken 1:1 oranında yüklenen partiküllerden salımı 6 saate kadar uzatılmış ve model molekülün %95'i salınmıştır. Buradan kapsüllenen madde miktarı arttıkça patlama salımının azaltılabileceği ve kontrollü bir ilaç salımı gerçekleştirilebileceği sonucuna varılmıştır.

Bir önceki bölümde boş CD-MOF'ların florokarbon ile kaplanması sonucu ile sudaki stabilitesinin artırıldığı ispatlanmış olup ilaç yüklü partiküllerin yüzeyinin kaplanması ile salım üzerindeki performansı da incelenmiştir. Şekil 4.27'de 1:1 oranında orange OT yüklü partiküllerin florokarbon kaplı ve kaplı olmayan halinin karşılaştırmalı olarak salım profilleri verilmiştir.



Şekil 3.27. Florokarbon kaplı (FTOH@CD-MOF) ve kaplı olmayan CD-MOF'lardan A) 2 gün boyunca, B) kısa süreli orange OT salım profili (salımlar %3 Tween 80 içeren pH 7.4 PBS çözeltisi içerisinde 37°C'de gerçekleştirilmiştir [n=3].)

Şekil 4.27'de verilen salım profili incelendiğinde ilk bir saatte sadece orange OT yüklü olan partikülden orange OT'nin yaklaşık %52'si; florokarbon kaplı olan partiküllerden ise 1 saat içerisinde orange OT'nin yaklaşık %31'i salınmıştır. Bu bulgular ışığında yüzeyin florokarbon kaplaması partiküllerin stabilitesini artırmakta ve gözeneklerden ilacın ortama difüze olmasının kontrolü sağlanabildiği görülmektedir. Böylece, florokarbon kaplamasının hedefli ve kontrollü bir ilaç salımına katkı sağlayabileceği sonucuna varılmıştır.

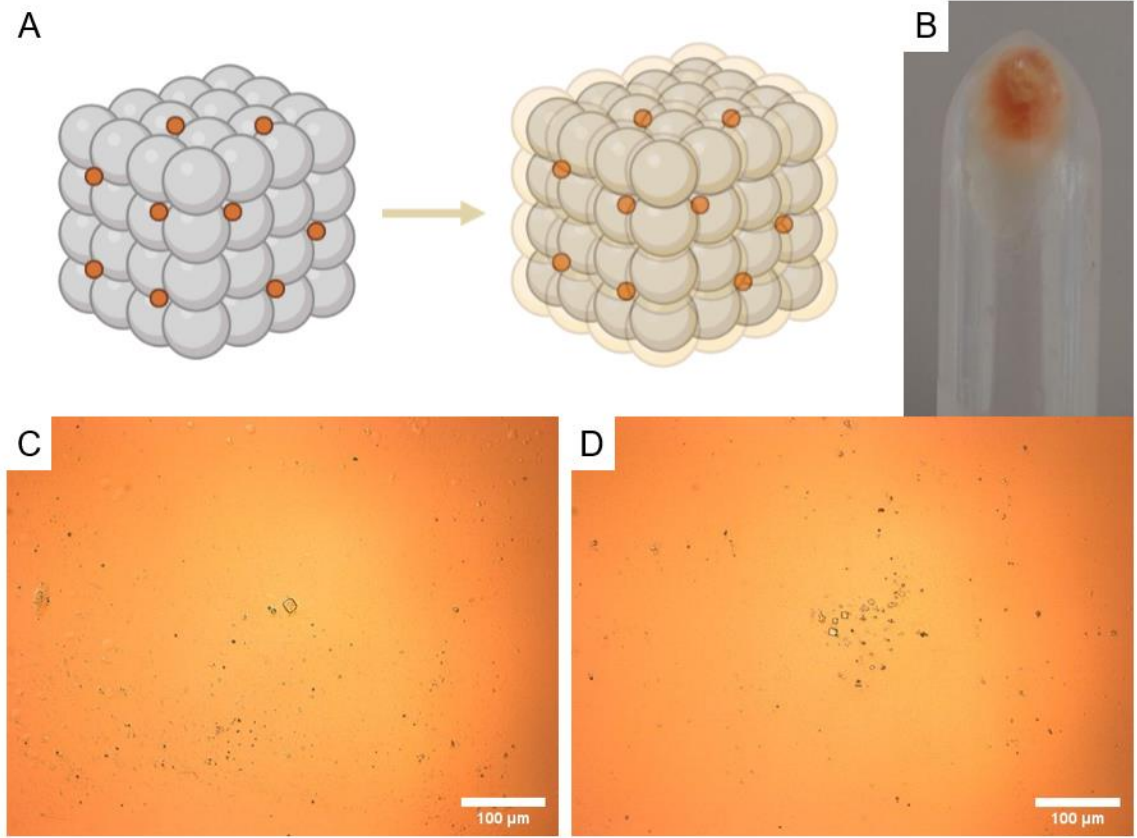
4.5 Au@Lipit@FTOH@CD-MOF ve Lipit@Au@FTOH@CD-MOF Yapılarının Hazırlanması

Yapılması hedeflenen çalışma kapsamında, elde edilen CD-MOF yapısının lipit temelli ilaç taşıyıcı sistem olan lipozomların sulu çekirdeğine alınması amaçlanmıştır. Ancak bu süreçte CD-MOF'ların sudaki stabilitesinin çok düşük olması ve lipozomun sulu çekirdeğine alınmasıyla istenen süreler boyunca partiküllerin stabil kalamayacağı düşünülmüştür. Ayrıca partiküllerin yüzeyinin florokarbon gibi hidrofobik bir molekül ile kaplanması ile sulu çekirdeğe alımı ile ilgili birtakım şüphelere yol açmıştır. Ayrıca daha önce de belirtildiği gibi, CD-MOF'lara hidrofobik bir madde yüklenmesi ile sudaki stabilitesi artırılrsa da sulu bir çekirdek içerisinde depolama ömrünün yeterince uzun olmayacağı düşünülmüştür. Yüzeyi florokarbon kaplı partiküllerin yüzeyinin lipit ile kaplanması ise hem hücre içi alımını hem de daha kontrollü bir ilaç salımının gerçekleştirilmesine hala olanak sağlayabilecek bunun yanı sıra elde edilen yapının daha stabil olabileceği sonucuna varılmış ve bu doğrultuda çalışmalara devam edilmiştir.

Bunun yanı sıra çalışma kapsamında, ilk önce lipit ardından altın ile kaplanacağı belirtilmiştir. En avantajlı sistemin oluşturabilmesi adına CD-MOF'ların yüzeyinin önce altın sonra lipit ile kaplanması yapılmıştır. Bu işlemin yapılmasının sebepleri sıralanacak olursa öncelikle en dış katmanının lipit olması yani bir diğer deyişle vücuda alımında biyouyumlu bir maddenin kullanılması büyük bir avantaj sağlayacaktır. Ayrıca altınların bir alt katmanda olması ile yüzey üzerinde daha sabit durması sağlanabilecektir. Bu kısımda öncelikle florokarbon kaplı olmayan CD-MOF'ların yüzeyinin lipit kaplanmasından bahsedilecektir. Ardından önce lipit sonra altın ile kaplanmış CD-MOF'lardan (Au@lipit@FTOH@CD-MOF) ve en son olarak da önce altın sonra lipit ile kaplanmış CD-MOF'lardan (Lipit@Au@FTOH@CD-MOF) bahsedilecektir.

Çalışmalara öncelikle florokarbon kaplı olmayan partiküllerin lipit ile kaplanmasıyla başlanmıştır. Burada, CD-MOF'ların sulu bir ortamda stabil kalması sadece hidrofobik madde olan kurkuminin yüklenmesi ile sağlanmıştır. Ayrıca çalışmalarda başlangıç olarak model lipit DPPC ile çalışılmıştır. Şekil 4.28'de DPPC kaplı β -CD-MOF'ların optik mikroskop görüntüleri verilmiştir. Görüntüler incelendiğinde yapıların hala kübik yapıda görünüyor olmaları sulu ortamda lipit tabakasının β -CD-MOF'ların yüzeyine yönelerek partiküllerin çözünmesini engellediği görülmektedir. Ayrıca, partiküllerin zeta potansiyel analizleri gerçekleştirilmiş ve DPPC ile kaplamanın partiküllerin zeta potansiyellerini

nasıl etkilediği incelenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, β -CD-MOF'un zeta potansiyeli ~ -35 mV olarak ölçülmüşken, DPPC ile kaplanıldığı düşünülen partiküllerin zeta potansiyeli $\sim +2.5$ mV olduğu görülmüştür. Partiküllerin yüzey yükünün değişmesi ise β -CD-MOF'ların yüzeyinin DPPC ile kaplandığını doğrulayıcı niteliktedir.

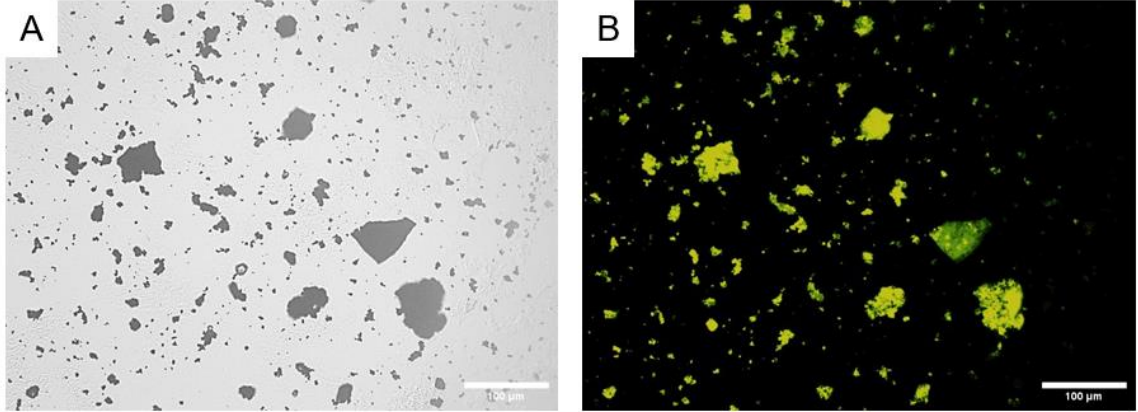


Şekil 3.28. A) β -CD-MOF'ların DPPC ile kaplanmasının şematik gösterimi, B) Lipit kaplı β -CD-MOF'ların kamera görüntüsü, C, D) Lipit kaplı β -CD-MOF'ların optik mikroskop görüntüsü

4.5.1 Au@Lipit@FTOH@CD-MOF Yapısının Oluşturulması ve Karakterizasyonu

Au@Lipit@FTOH@CD-MOF yapısının oluşturulabilmesi için çalışmalara öncelikle FTOH@CD-MOF yapısının model lipit DPPC ile kaplanması gerçekleştirilmiştir. CD-MOF yapısının lipit ile kaplanması burada kargonun kontrollü ve hedefli salınmasını sağlayabileceği ve CD-MOF'ların dış etkenlerden korunmasını da sağlayan bir bariyer görevi göreceği düşünülmüş hareket edilmiştir. Kaplama işlemi, Wuttke vd. tarafından belirlenmiş olan yöntemdeki gibi lipit kaplaması gerçekleştirilmiştir. Kısaca bahsedilecek olursa, 2.5 mg FTOH@CD-MOF partiküllerinin üzerine hacimce %40 ethanol/%60 su içerisinde çözüldürülmüş olan 2.5 mg/mL derişime sahip DPPC çözeltisinden 100 μ L

eklenmiştir. Ardından lipit çift tabakasının FTOH@CD-MOF yüzeyinde oluşumunu sağlayabilmek için hızlı bir şekilde su eklenmiştir [75]. Lipit kaplamasının anlaşılabilmesi için ise DPPC moleküllerinin rodamin-b ile etiketlenmesi sağlanmış olup böylece partiküllerin lipit ile kaplandığının tespiti floresan mikroskop ile gerçekleştirilebilecektir Şekil 4.29’da kaplanan partiküllerin optik ve floresan mikroskop görüntüleri verilmiştir.

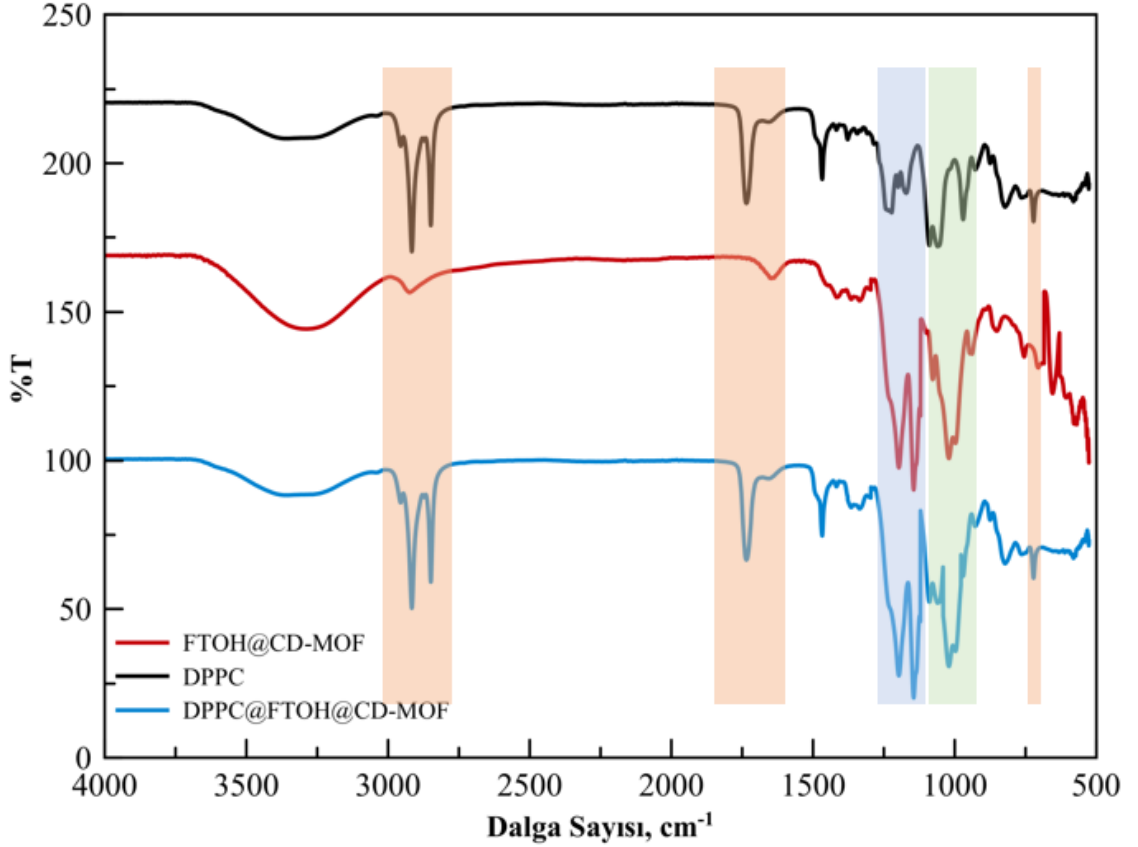


Şekil 3.29. A) DPPC kaplı FTOH@CD-MOF’ların optik mikroskop görüntüsü B) DPPC kaplı FTOH@CD-MOF’ların floresan mikroskop görüntüsü

Buradaki lipit kaplama prensibi FTOH@CD-MOF’ların yüzeyine çözücü değişimi ile birlikte lipitin yüzeye birikmesine dayanmaktadır [83]. Çözücü bileşiminin su yüzdesinin birden artırılması ile birlikte lipit çift tabakası partikül yüzeyine yönelerek başarılı bir şekilde kaplama işleminin gerçekleştirilmesi sağlanmaktadır. Şekil 29. A’daki optik mikroskop görüntüsü incelendiğinde CD-MOF’ların dörtgen yapısını koruduğu görülmektedir. Burada çok pürüzsüz bir kaplama da beklenmediği için bazı partiküllerin köşeleri de tam olarak görünmemektedir. Diğer bir ihtimal ise burada bazı partiküllerin bir kısmının su ile etkileşime girerek şeklini tam olarak koruyamayacağı da ifade edilmelidir çünkü florokarbon kaplamasının da her yerde eşit kalınlıkta olabilme ihtimalinin olmadığı da göz önünde bulundurulmalıdır. Buradaki kaplamanın doğrulama tekniklerinden birisi, lipitin etiketlenerek floresan mikroskop ile MOF yüzeyinde lipitin olup olmadığına bakılmasıdır. Şekil 29.B incelendiğinde etiketlenmiş olan DPPC molekülünün yüzeyde parlaması ile FTOH@CD-MOF’ların lipit ile başarılı bir şekilde kaplandığı sonucuna varılmıştır.

Ardından aradaki etkileşimin incelenebilmesi adına, Lipit@FTOH@OT@ β -CD-MOF’un FTIR spektrumu alınmıştır. Şekil 4.30’da verilen spektrum incelendiğinde,

2852.5 cm^{-1} civarındaki bant hidrokarbonun simetrik CH_2 gerilme bandı görülmektedir. Florokarbonlar ile ilişkili bantlar 1100 ile 1400 cm^{-1} arasında görünmektedir [153] Burada 1144 cm^{-1} deki bant yağ asidi ile florokarbon arasındaki simetrik CF_2 gerilme bandını gösterirken 1237 ve 1191 cm^{-1} deki bantlar simetrik olmayan CF_2 gerilmesini göstermektedir. Bu sonuçlar doğrultusunda da kaplamanın başarılı bir şekilde gerçekleştirilebildiği anlaşılmaktadır.



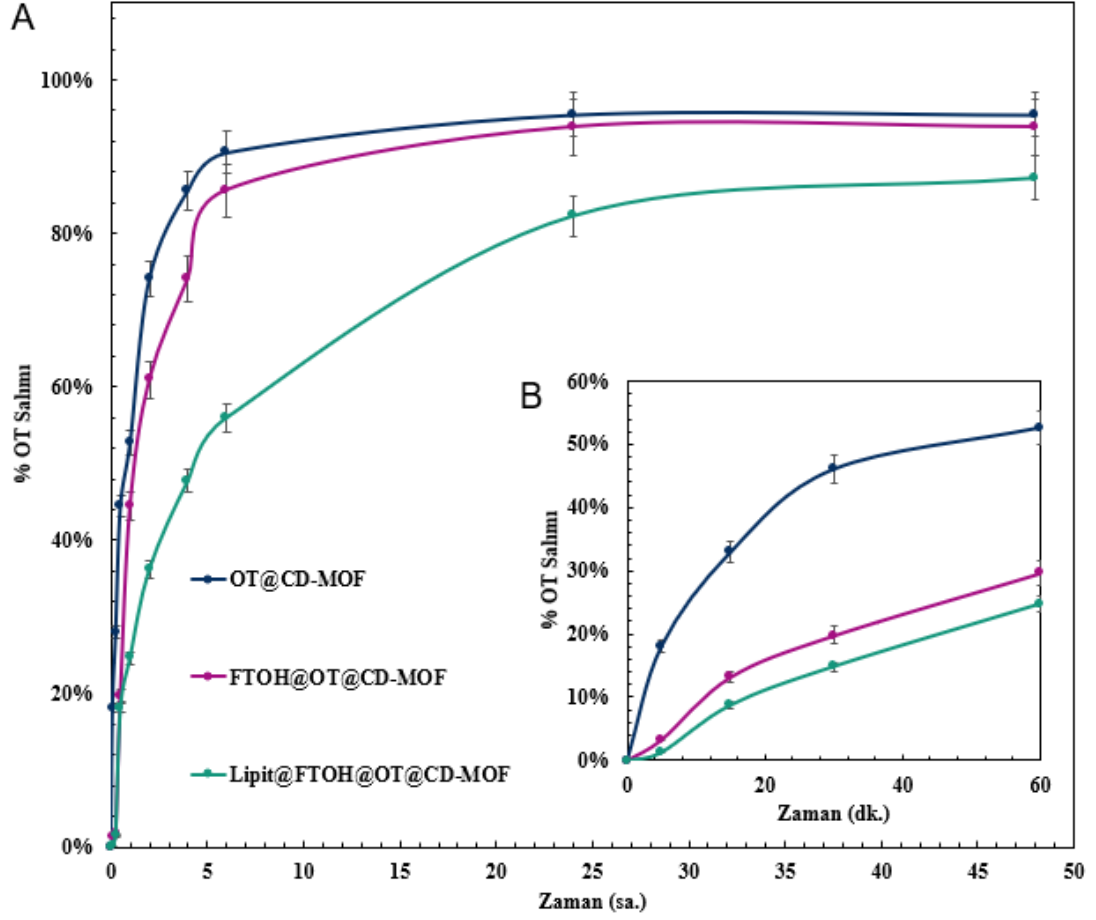
Şekil 3.30. FTOH@OT@CD-MOF ve Lipit@FTOH@OT@CD-MOF'un karşılaştırılmalı FTIR spektrumu

Kaplama işleminin başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiş olmasının bir diğer önemli göstergelerinden biri ise partikülün zeta potansiyelidir. Çizelge 4.8'de β -CD-MOF, OT@ β -CD-MOF, FTOH@OT@ β -CD-MOF ve Lipit@FTOH@OT@ β -CD-MOF'a ilişkin zeta potansiyel değerleri verilmiştir. Zeta potansiyel değerleri karşılaştırılacak olursa FTOH@OT@ β -CD-MOF'un zeta potansiyel değeri $+1.23 \pm 0.62$ mV iken lipit kaplandığı durumda zeta potansiyel değeri -7.12 ± 0.29 mV olarak değişmiştir. Zeta potansiyel değerinin burada artıdan eksiye dönmesi partiküllerin yüzeyinin lipit ile kaplandığını göstermektedir.

Çizelge 3.9. β -CD-MOF, OT@ β -CD-MOF, FTOH@OT@ β -CD-MOF ve Lipit@FTOH@OT@ β -CD-MOF'a ilişkin zeta potansiyel değerleri

Partikül	Zeta Potansiyeli (mV)
β -CD-MOF	-35.26±0.62
OT@ β -CD-MOF	-27.59±0.57
FTOH@OT@ β -CD-MOF	+1.23±0.62
Lipit@FTOH@OT@ β -CD-MOF	-7.12±0.29

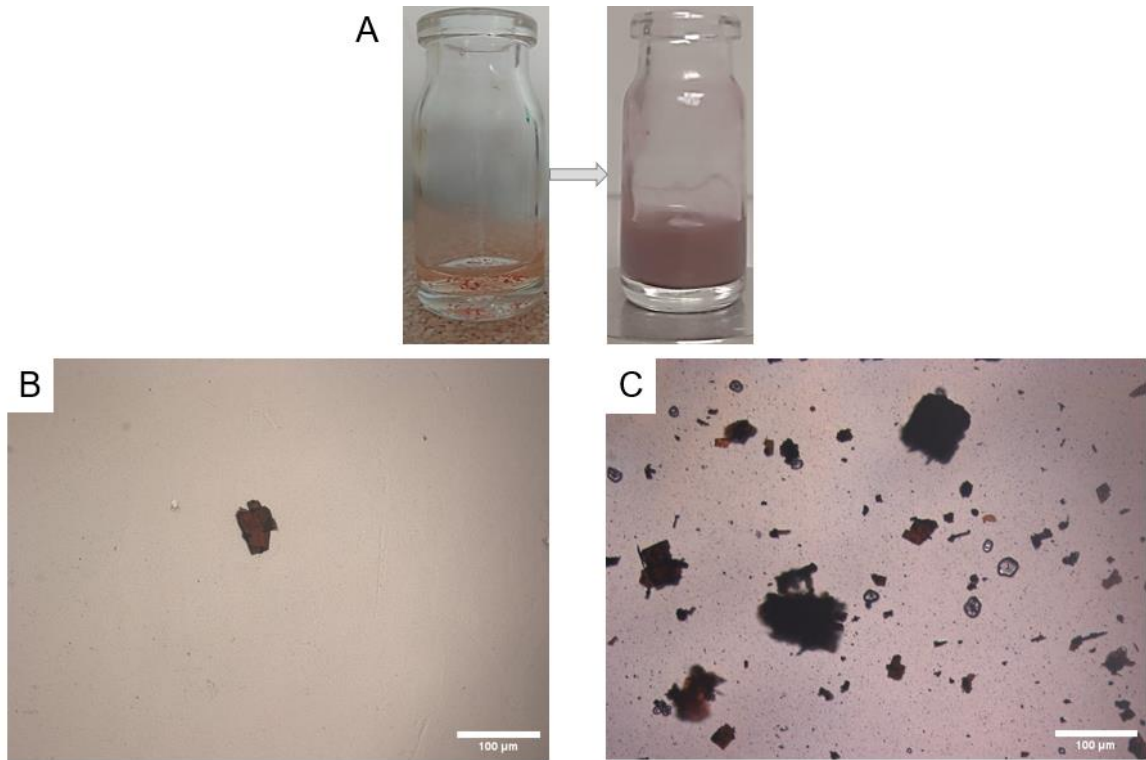
Lipit kaplanan partiküllerden orange OT salımı da gerçekleştirilmiş olup OT@ β -CD-MOF ve FTOH@OT@ β -CD-MOF partikülleri ile karşılaştırmalı olarak Şekil 4.31'de verilmiştir. Salım profili incelendiğinde lipit kaplı olan partiküllerin ilk 1 saatte orange OT'nin %24'ünü salmıştır. Bu salım yüzdesi florokarbon ile kaplanmış ve sadece orange OT yüklü olan partiküllere oranlara daha düşük bir yüzdendir. Buradan da partiküllerin aslında lipit ile kaplanabildiği ve bu kaplama sayesinde ilaç salımını yavaşlatılmasıyla daha kontrollü bir salım sağlanabildiği görülmektedir. Böylece partikülün vücuttaki dolaşım süresi azaltılarak istenen bölgede yani hedefli çalışabilmesine olanak sağlayabilecek hem de yüksek başlangıç ilaç konsantrasyonunun olumsuz etkileri ortadan kaldırılabilir.



Şekil 3.31. Lipit@FTOH@OT@CD-MOF, FTOH@OT@CD-MOF ve OT@CD-MOF’lerden A) 2 gün boyunca, B) kısa süreli orange OT salım profili (salımlar %3 Tween 80 içeren pH 7.4 PBS çözeltisi içerisinde 37°C’de gerçekleştirilmiştir [n=3].)

Lipit kaplamasının başarılı bir şekilde gerçekleştirilmesinin ardından Lipit@FTOH@OT@ β -CD-MOF’un yüzeyinin partiküllere fototermal özellik kazandırabilmek adına altın ile kaplanması kısmına geçilmiştir. Yüzeyin altın nanopartiküller ile kaplanması Singh vd. diğerleri tarafından belirtilen yöntem ile yüzeyde oluşturularak gerçekleştirilmiştir. Yüzeyde AuNP oluşturmak için öncelikle 2 mg/ml derişimindeki lipit kaplı CD-MOF’lardan 100 μ l alınıp üzerine 4 mM 100 μ l HAuCl₄ eklenmiştir. Ardından karışıma 400 μ l 20 mM askorbik asit (AA) eklenmiştir [127]. Bu işlemin ardından yüzeyin kaplandığının anlaşılabilmesi için ani bir renk değişiminin gözlemlenmesi gerekmektedir. Lipit@FTOH@OT@CD-MOF partiküllerinin yüzeyinin altın kaplandıktan sonraki optik mikroskop görüntüleri ve renk değişimi Şekil 4.32’de verilmiştir. Lipit@FTOH@OT@CD-MOF partikülleri altın ile

kaplanmadan önce turuncu görünmekte iken yüzeye indirgenmesiyle çözelti kahverengiye dönmüştür. Boş partiküller ile çalışıldığında çözeltideki renk değişiminin mor olduğu gözlemlenmiştir. Model molekülün turuncu olması mor ile karıştığında kahverengiye döndüğü bilinmekte ve altının indirgenmediği doğrulanabilmektedir. Şekil 4.32.B incelendiğinde altının indirgenmesindeki 5. dakikada OT yüklü MOF partikülünün bazı bölgelerinin kapandığı ve optik mikroskopta yüzeyi siyah olan bir partikül görünmeye başlamıştır. İndirgemenin ardından 15. Dakikasında ise partiküllerin yüzeyindeki altın miktarının arttığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.32.C). Bu sonuç doğrultusunda ideal bir kaplama için 15 dakika kadar beklenmesi gerektiğine karar verilmiştir.

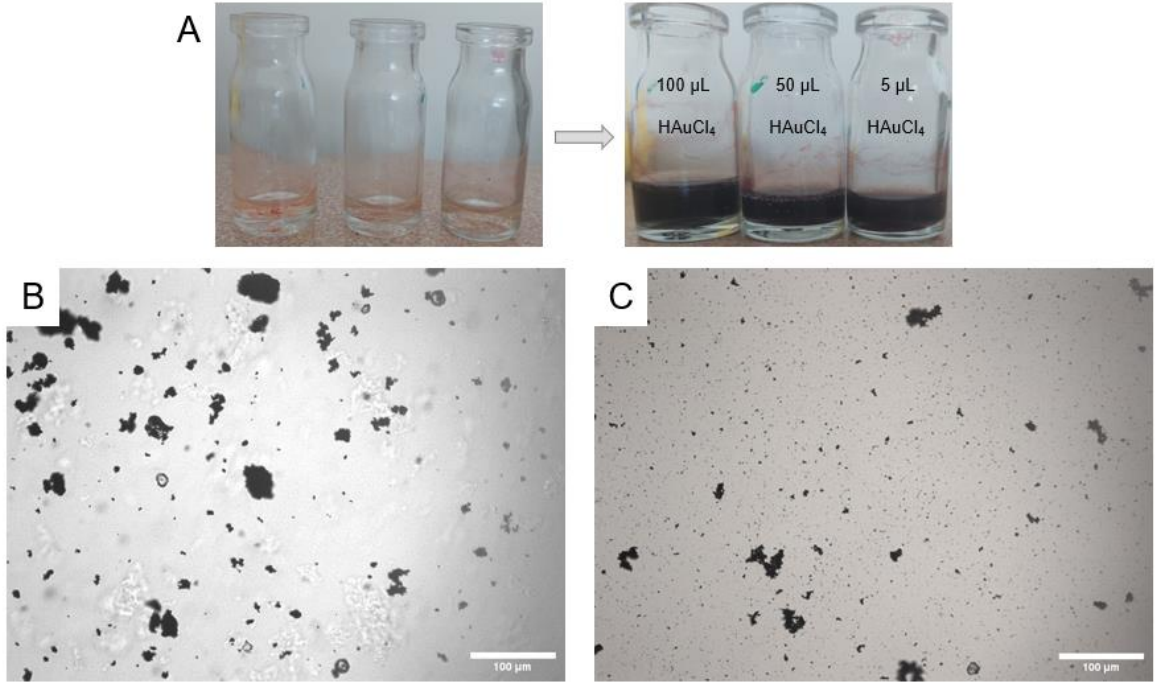


Şekil 3.32. A) Lipit@FTOH@OT@ β -CD-MOF'ların AA kullanılarak altın ile kaplanması sonucu gözlenen renk değişiminin kamera görüntüleri, Çözeltiye askorbik asit eklendikten B) 5 dakika, C) 15 dakika sonraki Au@Lipit@FTOH@OT@ β -CD-MOF'ların optik mikroskop görüntüleri

Partiküllerin altın ile kaplandığının doğrulanması konusunda başvurulan yöntemlerden biri ise zeta potansiyel değerinin ölçülmesidir. Au@Lipit@FTOH@OT@ β -CD-MOF'ların zeta potansiyel değeri $+19.12 \pm 1.86$ olarak ölçülmüştür. Altın nanopartiküllerin burada yüzeye indirgenebilmesi için indirgeyici ajan olarak askorbik asit kullanılmaktadır. Fakat askorbik asit zayıf bir indirgeyici ajandır. Altının yüzeye

kaplanabilmesi için Au^{+3} 'ten Au^0 'a indirgenmesi gerektiği belirtilmiştir. Singh ve diğerleri tarafından gerçekleştirilen çalışmada, lipozom yüzeyinin altın ile kaplanabilmesi için de askorbik asit kullanılmıştır. Burada, askorbik asidin potansiyelinin düşük olması sebebiyle Au^{+3} 'ten Au^{+1} 'e indirgendiği belirtilmiştir [127]. Elde edilen bu bilgi doğrultusunda ve bir sonraki bölümde bahsedilecek olan altın kaplı partiküllerin fototermal tedavide kullanılabilirliği açısından farklı indirgeyici ajanların da denenmesi gerektiğine karar verilmiştir. Bu kapsamda ilk olarak çok güçlü bir indirgeyici potansiyele sahip olan sodyum bor hidrür (NaBH_4) kullanılmıştır ve kaplama işlemi için aynı prosedür tekrarlanmıştır.

İndirgeyici ajan olarak NaBH_4 kullanılarak elde edilen $\text{Au}@Lipit@FTOH@OT@β\text{-CD-MOF}$ 'ların optik mikroskop görüntüleri ve renk değişimi Şekil 37'de verildiği gibidir.

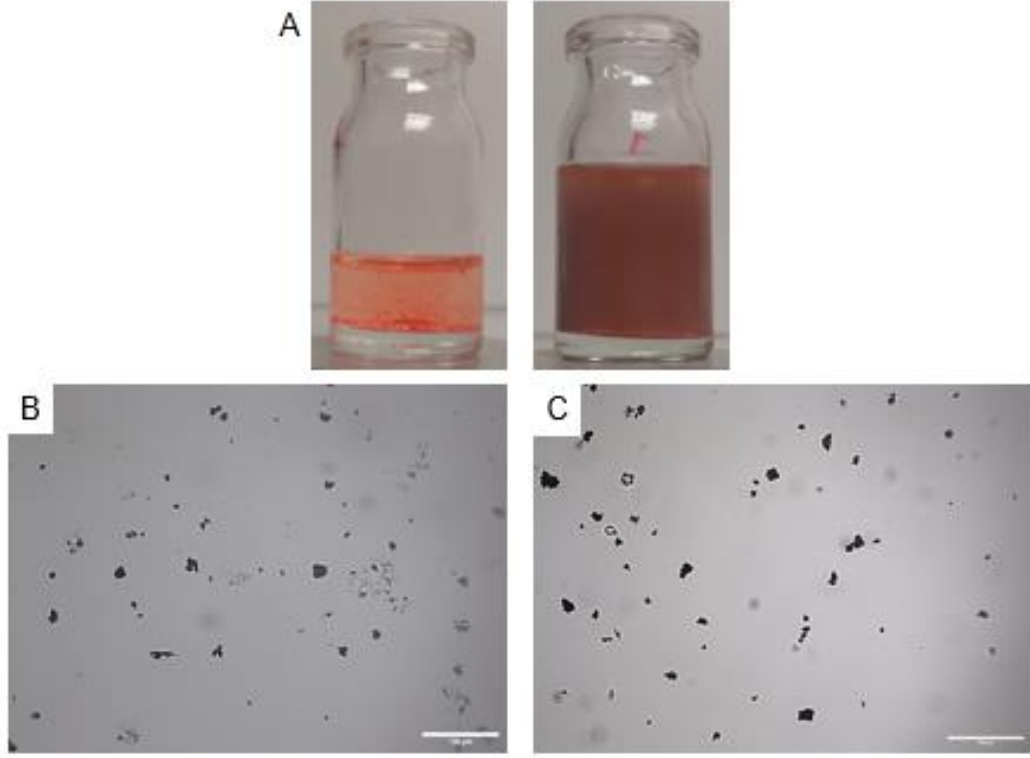


Şekil 3.33. A) Lipit@FTOH@OT@β-CD-MOF'ların NaBH_4 kullanılarak altın ile kaplanması sonucu gözlenen renk değişiminin kamera görüntüleri, NaBH_4 eklendikten B) 5 dakika, C) 15 dakika sonraki $\text{Au}@Lipit@FTOH@OT@β\text{-CD-MOF}$ 'ların optik mikroskop görüntüleri

NaBH_4 indirgeyici ajanlar arasında en yüksek potansiyele sahip olanlardan kimyasallardan biridir ve gerçekleşen reaksiyonun Au^{+3} 'ten Au^0 'a olması yönünde tam etki gösterebilecek etkiye sahiptir [154]. Beklenildiği üzere yüzeye oldukça çok güçlü bir

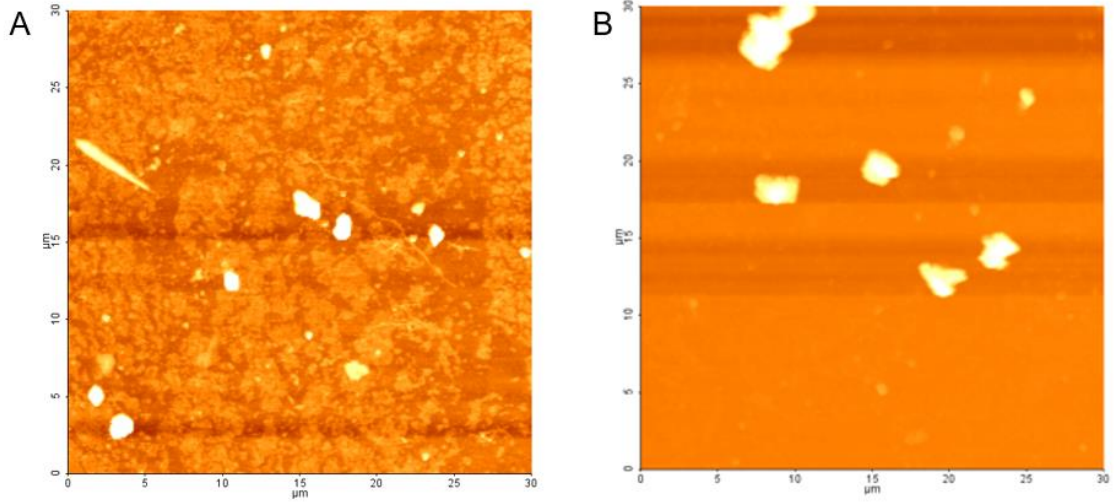
şekilde indirgenmiştir. Şekil 4.33.A'da görüldüğü gibi ani bir renk değişimi gözlemlenmiş ve yüzeye indirgenen altınlar sonucunda çözelti siyaha dönmüştür. Plazmonik yapıların elde edilmesinde partikülün boyutu şekli, kompozisyonu ve aradaki etkileşim önemli bir etkiye sahiptir. Bu etkiler sebebiyle de plazmonik yapının spektral penceresi kayabilmektedir. Buradaki etkileşimde ise NaBH_4 ile etkileşim sonucu altın partikülleri geniş banta sahip ışık Emilimi sayesinde güçlü bir plazmonik etki göstermiştir [155, 156]. Bundan dolayı çözelti siyah görünmektedir. Şekil 4.33.A'da da görüldüğü gibi $\text{Lipit@FTOH@OT@}\beta\text{-CD-MOF}$ 'ların yüzeyinin kaplanabildiği ve AA ile elde edilen sonuç gibi yüzeyi kaplı partiküller görünmektedir. Ancak buradaki NaBH_4 'ün güçlü indirgeme potansiyelinden ötürü yüzeye kaplanmayan ve ortamda serbest halde bulunan altınlarında bir araya geldiği ve yıkama işlemi ya da diyaliz ederek ortamdaki uzaklaştırmak mümkün olmamıştır. Serbest altınların ve partiküllerin bir araya gelme eğiliminden ötürü sentez ortamına farklı oranlarda HAuCl_4 eklenmiştir. Şekil 4.33. A'da görüleceği gibi farklı oranlarda çalışılsa da çözeltinin renginin siyaha kaydığı ve bir sonraki bölümde bahsi geçecek olan fototermal terapi gerçekleştirilmek üzere kullanılacak olan partiküller için uygun olmadığına karar verilmiştir. Çok güçlü bir potansiyelle indirgenen altınların bir arada durması fototermal etkiyi üst seviyelere çıkardığı fark edilmiş ve sağlıklı hücrelerin bu koşullar altında canlı kalamayacağı düşünüldükten farklı bir indirgeyici ajan seçimi yapılmıştır [157]. İndirgeyici ajan seçiminde bu sefer ne AA kadar zayıf ne de NaBH_4 kadar güçlü bir ajan olmamasına dikkat edilmiş olup bu doğrultuda demir (II) sülfat (FeSO_4) kullanılmasına karar verilmiştir [158].

Şekil 4.34'A'da görüleceği gibi FeSO_4 ile indirgeme işleminden sonra çözelti AA'da olduğu gibi kahverengi rengine dönmüştür. Şekil 4.34.B ve C'deki optik mikroskop görüntüleri incelendiğinde ise diğer indirgeyici ajanlarda olduğu gibi partikülün bir yüzey kaplamasına sahip olduğu görülmektedir. FeSO_4 'ün indirgeyici ajan olarak kullanılmasyla elde edilen yapının zeta potansiyeli ölçülmüştür. $\text{Au@Lipit@FTOH@OT@CD-MOF}$ 'ların zeta potansiyeli $+4.27\pm 2.5$ olarak ölçülmüştür. Buradaki zeta potansiyel değişiminde de yüzeyin kaplandığı anlaşılmaktadır.



Şekil 3.34 A) Lipit@FTOH@OT@β-CD-MOF'ların FeSO₄ kullanılarak altın ile kaplanması sonucu gözlenen renk değişiminin kamera görüntüleri, FeSO₄ eklendikten B) 5 dakika, C) 15 dakika sonraki Au@Lipit@FTOH@OT@β-CD-MOF'ların optik mikroskop görüntüleri

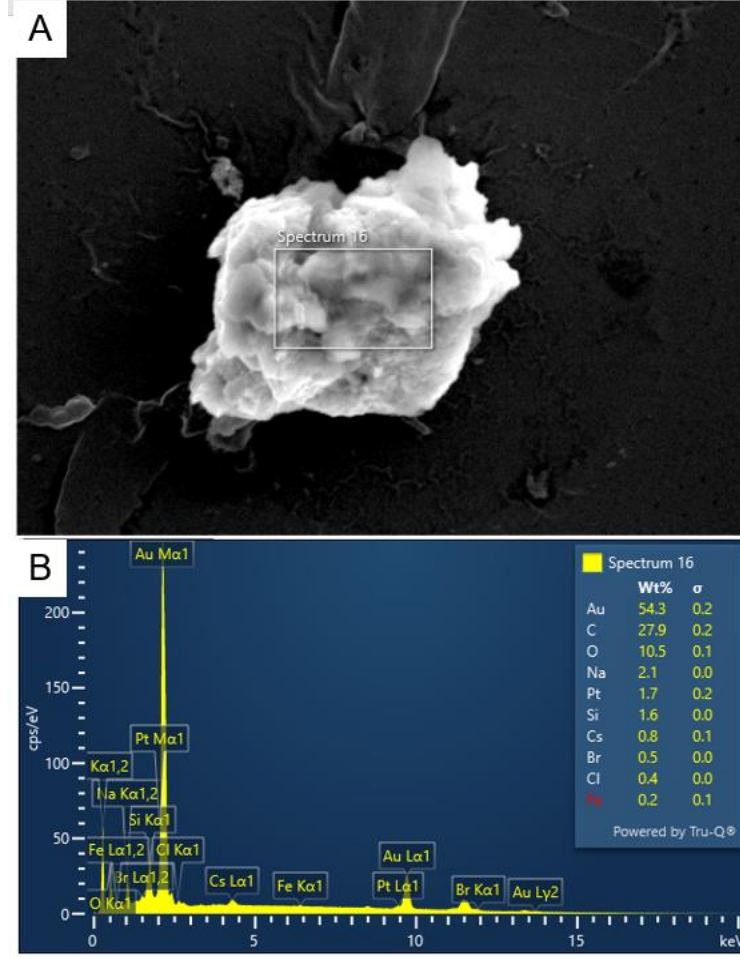
Büyük partiküllerle çalışıldıktan sonra küçük boyutlu partiküllerle de çalışılmış ve AFM ile partiküller görüntülenmiştir. (Şekil 4.35). Şekil 4.35.A'da Lipit@FTOH@OT@CD-MOF partiküllerinin dörtgene benzediği fakat CD-MOF yapısındaki gibi keskin köşelerinin olmadığı görülmektedir. Bunun sebebinin hem lipit kaplamasının çok pürüzsüz bir şekilde olamayacağı hem de kaplama ortamının su olmasıyla partiküllerin bazı kısımlarının suda çözünebileceğinden kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Au@lipit@FTOH@OT@CD-MOF partiküllerinin ise yine dörtgen benzeri bir morfolojiye sahip olduğu görülmektedir. Elde edilen bu sonuçlar büyük partiküllerin optik mikroskop görüntüleriyle doğru orantılı olduğu anlaşılmıştır. Lipit@FTOH@OT@CD-MOF ve Au@Lipit@FTOH@OT@CD-MOF yapılarının boyutları sırasıyla 1.65 µm ve 1.8 µm'dir.



Şekil 3.35. A) Lipit@FTOH@OT@CD-MOF, B) Au@Lipit@FTOH@OT@CD-MOF yapılarının AFM görüntüleri

Yüzeyin altın ile kaplandığının kanıtlanabilmesi ve yapının açıkça görülebilmesi için SEM-EDX analizi gerçekleştirilmiştir ve sonuçlar Şekil 4.36'ta görüldüğü gibidir. Şekil 4.36.A'da verilen Au@Lipit@FTOH@OT@ β -CD-MOF'un sem görüntüsü incelendiğinde ilk katman olan CD-MOF'un kübik yapısının korunduğu ve yüzeyinin CD-MOF'un katman katman oluşan yapısının etrafının kaplı olduğu kanısına varılmıştır. Şekil 4.36.B'de verilen EDX analizi sonucu yüzeydeki elementlerin tayini gerçekleştirilebilmiştir. Son katmanda bulunan Au oranının %54.3 olmasıyla Au@Lipit@FTOH@OT@ β -CD-MOF yapısının başarılı bir şekilde oluşturulabildiği açıkça görülmektedir.

Bu bölümde farklı potansiyele sahip indirgeyici ajanların kullanılmasıyla farklı plazmonik partiküller elde edilmiş olup Lipit@Au@FTOH@OT@ β -CD-MOF yapısının sonuçlarının değerlendirilmesinin ardından bir sonraki bölümde bu yapıların fototermal terapi için kullanılabilirliği değerlendirilmiştir.



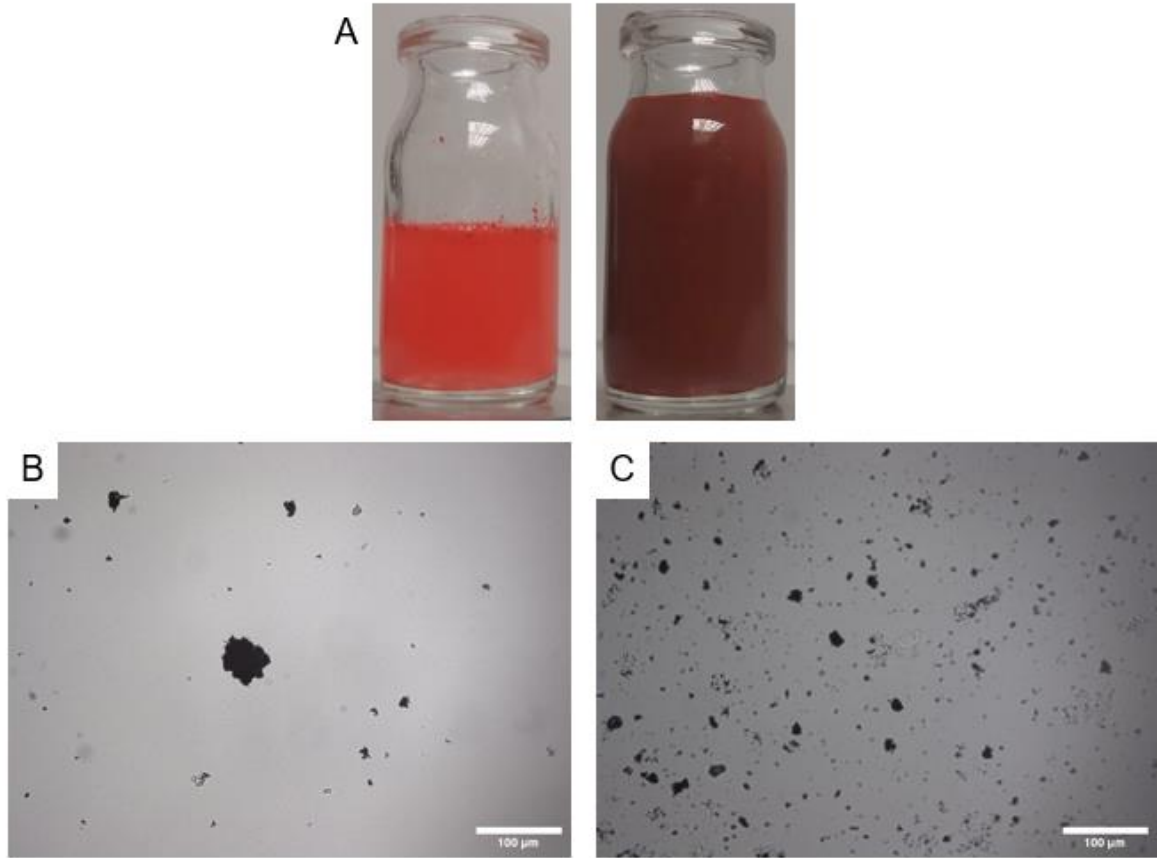
Şekil 3.36. Au@Lipit@FTOH@OT@β-CD-MOF'un A) SEM görüntüsü B) EDX analizi

4.5.2 Lipit@Au@FTOH@CD-MOF Yapısının Oluşturulması ve Karakterizasyonu

Çalışmanın ilerleme süresinde en üst katmanın lipit olması sayesinde, partikülün hücre içine alımı açısından, enzim ve pH gibi dış etkilerden partikülü koruyabilecek ve yan etkileri azaltabilecek bir formülasyon elde edilebileceği düşünülmüştür. Bu amaçla öncelikle FTOH@OT@β-CD-MOF'ların yüzeyi altın ardından lipit ile kaplanmıştır.

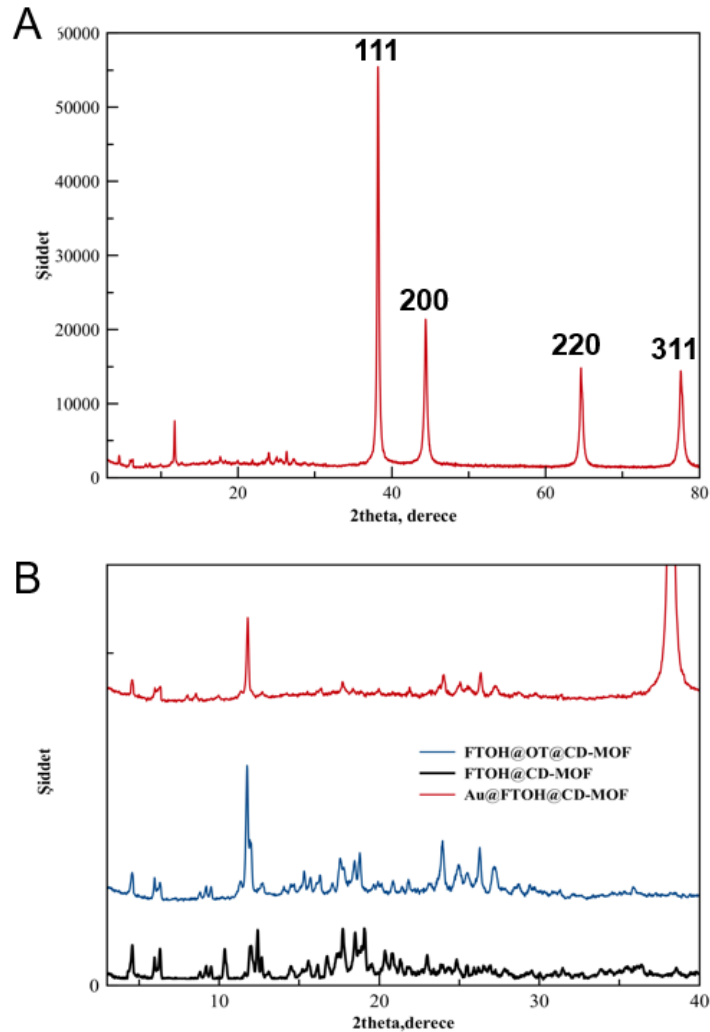
FTOH@OT@β-CD-MOF'ların yüzeyinin altın ile kaplanma prosedürü lipit@FTOH@OT@β-CD-MOF'ların yüzeyinin altın kaplanma prosedürü ile aynı şekilde gerçekleştirilmiştir. Burada indirgeyici olarak AA, NaBH₄ ve FeSO₄ kullanılmıştır. AA ile indirgeme işleminde indirgenemeyen fazla altının olduğu ve ortamda serbest halde altın nanopartiküllerinin bulunduğu ve yüzeye kaplanamadığı kararına verilmiştir. Yüzeyin yeterince altın ile kaplanamamasının, fototermal verimliliği etkileyeceği düşünülmüştür. Au@lipit@FTOH@OT@β-CD-MOF yapısında olduğu gibi indirgeyici olarak NaBH₄ kullanımı altın birikmesine yol açacağı düşünülmüştür. Bu sebeplerden dolayı bir sonraki

bölümde tartışılacak olan partiküllerin fototermal etkinliği açısından ve yapının en uygun biçimde kaplanmasının sağlanması açısından en uygun indirgeyici ajan olan FeSO_4 kullanılarak yüzeyin altın kaplanmasını karar verilmiştir. Altınların yüzeye indirgenmesiyle burada da çözelti ani bir şekilde kahverengine dönmüştür (Şekil 4.37. A). Ardından partiküllerin optik mikroskop görüntüleri alınmış ve Şekil 4.37'de verilmiştir. Görüntüler incelendiğinde partikülün yüzeyini kaplayan bir yapı olduğu gözlemlenmiştir. Bu prosedürde de yapının iskeleti olan CD-MOF yapısının şekline sahip olduğu da görülmektedir. Altın ile kaplanan yapının daha sonra zeta potansiyel değeri ölçülmüştür. Ölçülen zeta potansiyel değeri $+8.33 \pm 1.67$ 'dir. Sonuç olarak altın ile kaplanan FTOH@OT@ β -CD-MOF yapısının oluşturulabildiği kanısına varılmış olup bir sonraki adım olan lipit kaplama kısmına geçilmiştir.



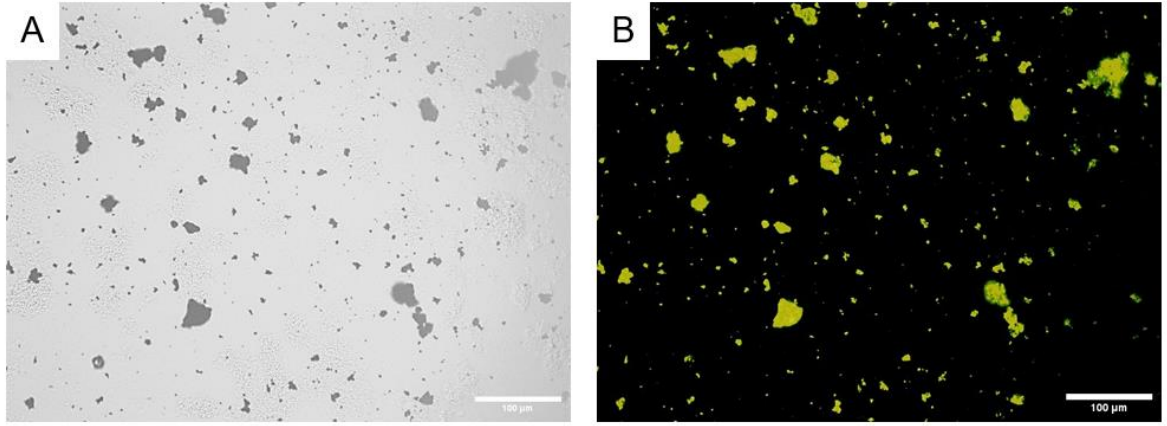
Şekil 3.37. A) FTOH@OT@ β -CD-MOF'ların FeSO_4 kullanılarak altın ile kaplanması sonucu gözlenen renk değişiminin kamera görüntüleri, FeSO_4 eklendikten B) 5 dakika, C) 15 dakika sonraki Au@FTOH@OT@ β -CD-MOF'ların optik mikroskop görüntüleri

FTOH@OT@CD-MOF'ların yüzeyinde AuNP'lerin olduğunun anlaşılabilmesi için partiküllerin XRD spektrumları alınmıştır (Şekil 4.38). Alınan spektrumda CD-MOFların karakteristik piklerinin FTOH@OT@CD-MOF'lara göre şiddetinin orantılı bir şekilde azaldığı görülmektedir. Literatürde altın ile kaplama prosesinde altın konsantrasyonunun arttıkça MOF'ların piklerinin kaybolabileceği veya piklerin şiddetinin azalabileceği belirtilmiştir [88]. Buradan hala yapının iskeletini oluşturan MOF yapısının korunduğu söylenebilmektedir. XRD spektrumunda MOF'ların piklerinin yanı sıra AuNP'lere ait olan 38.21° , 44.44° , 64.61° ve 77.63° 'deki 2θ değerlerindeki güçlü tepeler, AuNP'ler için (1 1 1), (2 0 0), (2 2 0) ve (3 1 1) düzlem setine karşılık gelmektedir [159]. Böylece partiküllerin yüzeyinin AuNP'ler ile kaplanabildiği söylenebilmektedir.



Şekil 3.38. A) Au@FTOH@OT@CD-MOF'un B) OT@CD-MOF, FTOH@OT@CD-MOF ve Au@FTOH@OT@CD-MOF'un XRD spektrumu

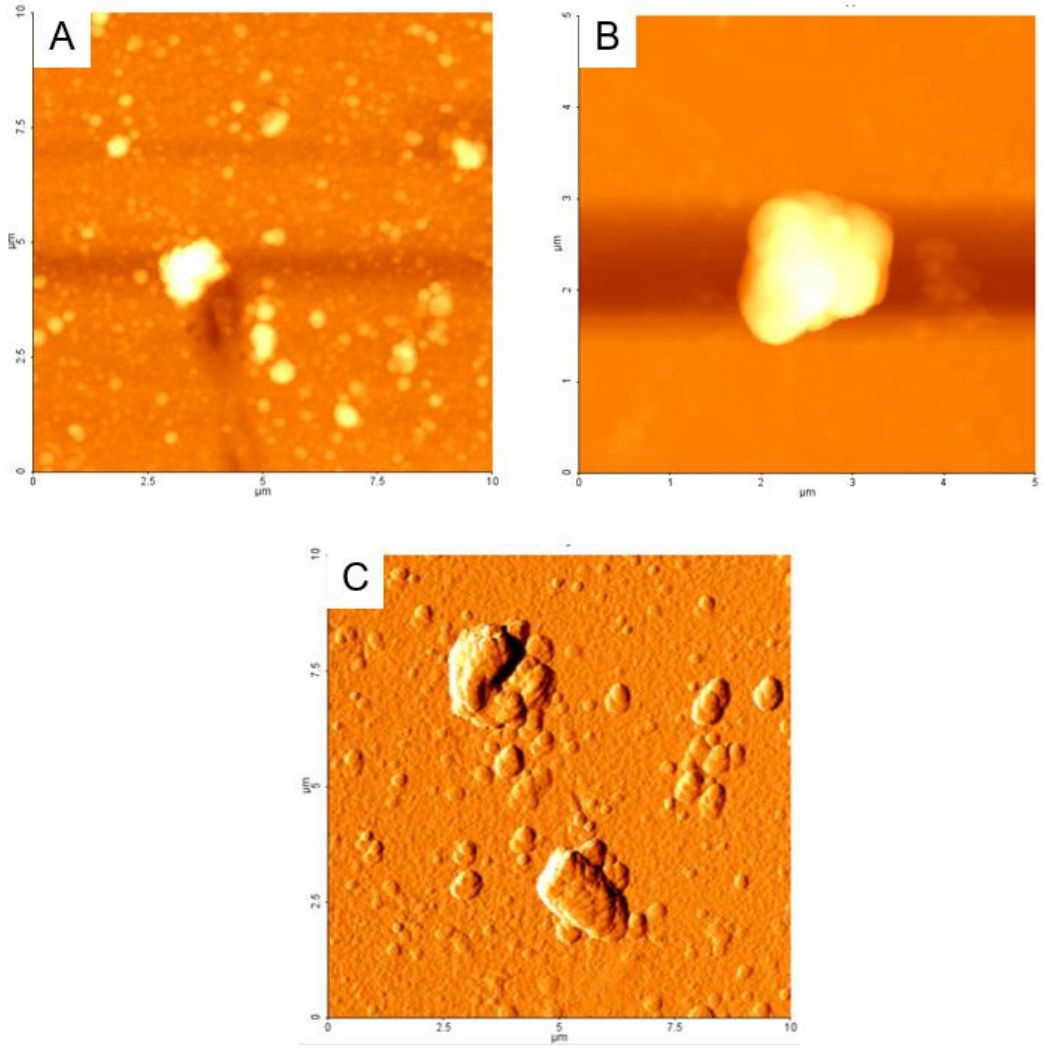
Au@FTOH@CD-MOF yapısının lipit ile kaplama prosedürü daha önceki kaplama yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Partiküllerin yüzeyinin lipit ile kaplandığının kanıtlanması için DPPC molekülleri floresan özellik gösteren rodamin-b molekülü ile etiketlenmiştir. Lipit@Au@FTOH@CD-MOF yapısının floresan mikroskop ve optik mikroskop görüntüleri Şekil 4.39’da verilmiştir.



Şekil 3.39. Au@FTOH@OT@CD-MOF’ların A) optik mikroskop görüntüsü B) floresan mikroskop görüntüsü

Floresan mikroskop görüntüleri değerlendirildiğinde, partiküllerin yüzeyinde rodamin-b ile etiketlenmiş olan lipitin bulunduğu karar verilmiştir. Lipit@Au@FTOH@CD-MOF yapısının başarıyla oluşturulabildiği rodamin-b’nin floresan özelliği sayesinde yüzeyin parlak görülmesiyle anlaşılmıştır.

Yapının başarıyla oluşturulmasının ardından küçük boyutlu Au@FTOH@OT@CD-MOF ve Lipit@Au@FTOH@OT@CD-MOF’ların AFM görüntüleri alınmıştır (Şekil 4.40). Yapılar incelendiğinde yapıların morfolojisini korumaya devam ettiği görülmektedir. Dörtgen yapının tam olarak görülememesi daha önce de söylendiği gibi yapının yüzeyinin her yerinin eşit bir şekilde kaplanamayacağından kaynaklandığı düşünülmektedir. Şekil 4.44.C’deki AuLipit@Au@FTOH@OT@CD-MOF’ların topoğrafya görüntüsü CD-MOF yapısının topoğrafyasıyla karşılaştırıldığında yüzeyin kaplanabildiği anlaşılmaktadır. Au@FTOH@OT@CD-MOF ve Lipit@Au@FTOH@OT@CD-MOF’ların AFM’den elde edilen boyutları sırasıyla 1.57 µm ve 1.73 µm’dir.



Şekil 3.40. A) Au@FTOH@OT@CD-MOF B,C) Lipit@Au@FTOH@OT@CD-MOF'ların AFM görüntüleri

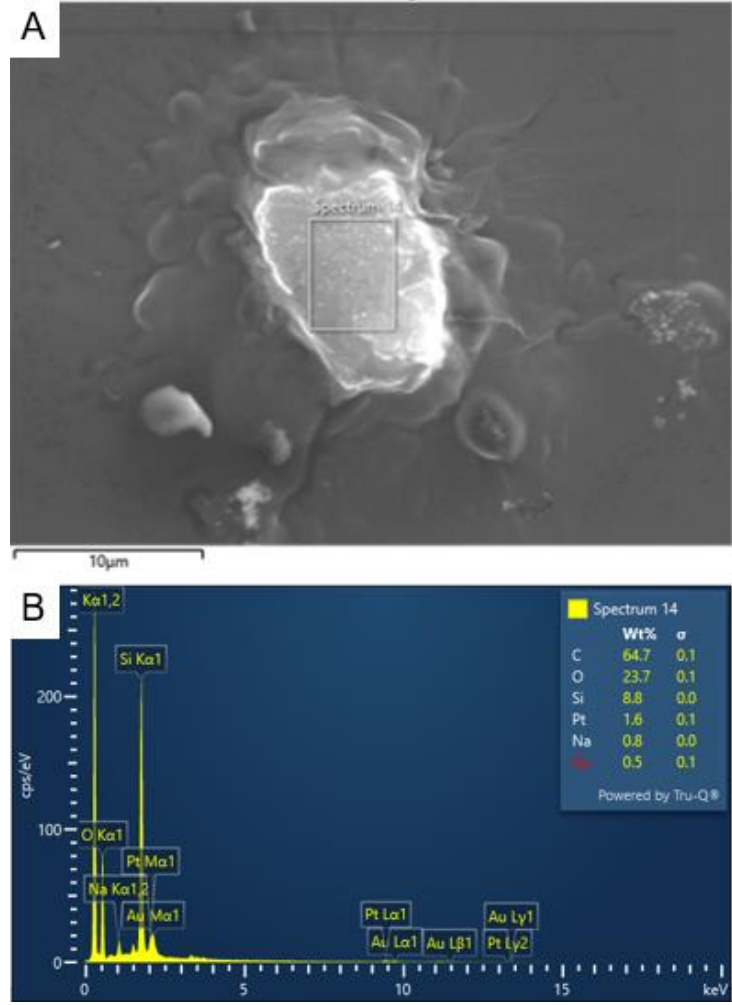
Yüzeyin lipit ile kaplanıp kaplanmadığının bir diğer kanıtı olan zeta potansiyel değeri ise $+2.5 \pm 1.55$ olarak ölçülmüştür. Bu değer $+8.33 \pm 1.67$ 'den $+2.5 \pm 1.55$ 'e değişimi ise partiküllerin yüzeyinin altın ile kaplandığını göstermektedir. Çizelge 'da β -CD-MOF, OT@ β -CD-MOF, FTOH@OT@ β -CD-MOF, Au@FTOH@OT@ β -CD-MOF ve Lipit@Au@FTOH@OT@ β -CD-MOF a ilişkin zeta potansiyel değerleri verilmiştir.

Çizelge 3.10. β -CD-MOF, OT@ β -CD-MOF, FTOH@OT@ β -CD-MOF ve Au@FTOH@OT@ β -CD-MOF ve Lipit@Au@FTOH@OT@ β -CD-MOF a ilişkin zeta potansiyel değerleri

Partikül	Zeta Potansiyeli (mV)
β -CD-MOF	-35.26±0.62
OT@ β -CD-MOF	-27.59±0.57
FTOH@OT@ β -CD-MOF	-1.5±3.52
Au@FTOH@OT@ β -CD-MOF	+8.33±1.67
Lipit@Au@FTOH@OT@CD-MOF	+2.5±1.55

Ardından partiküllerin yüzeyinde hangi elementlerin bulunduğu araştırılmıştır. Lipit@Au@FTOH@CD-MOF partikülünün SEM-EDX analiz sonucu Şekil 4.41’de görüleceği üzere yüzeydeki karbon oranının %64.7 olduğu görülmüştür.

Böylece, iki farklı konseptte CD-MOF’ların katman katman kaplaması ile daha önce literatürde benzeri olmayan yapılar elde edilmiştir. İhtiyaca yönelik olarak farklı partikül tasarımlarının kullanılmasının mümkün olabileceği görülmektedir. Ancak iki durumda da suda oldukça hızlı bir şekilde çözünen CD-MOF yapılarının stabilitesinin artırılabilirdiği oldukça açıktır. Her iki partikülün su içerisinde stabilitesi 1 ay boyunca takip edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre yapıların su içerisinde çözülmeden morfolojisi bozulmadan saklanabilmesi mümkün hale gelmiştir. Kavitesinde ve gözeneklerinde yüksek enkapsülasyon verimiyle etken madde yüklemesi gerçekleştirilen CD-MOF’ların kullanımının önünde büyük bir engel olan suda çözünme sorununun üstesinde gelinebilmiş ve hedefli ve kontrollü ilaç salımının gerçekleştirilmesi sağlanabilmiştir. Bunun yanı sıra yüzeyinde altın bulunan CD-MOF yapısının kombine tedavi sağlayabilen bir sistem geliştirilmiştir.



Şekil 3.41. Lipit@Au@FTOH@CD-MOF'un A) SEM görüntüsü B) EDX analizi

4.6 Hibrit Yapının Fototermal Terapi ve Etken Madde Alım/Salımı Amacıyla Kullanılabilirliğinin İncelenmesi

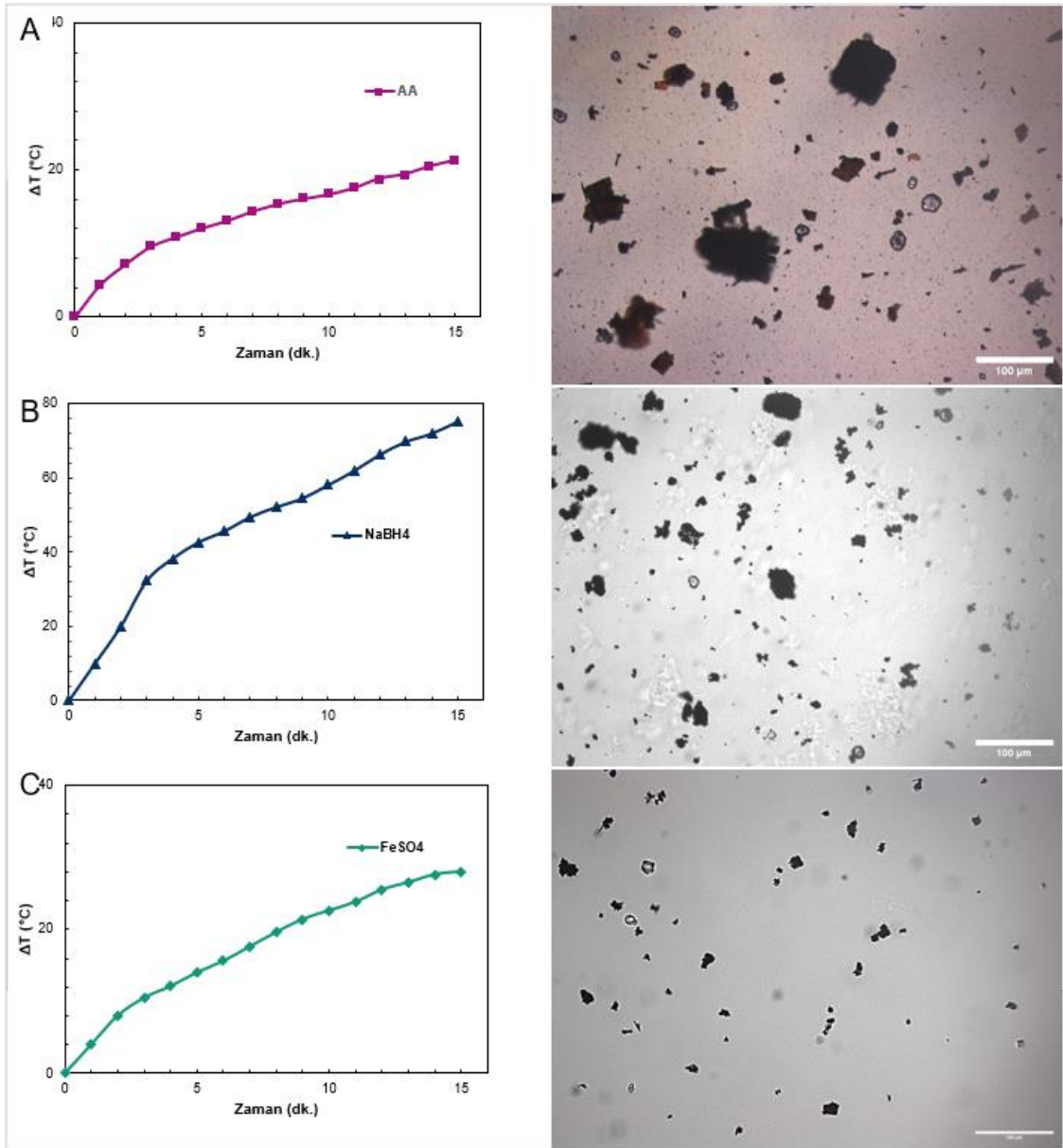
Bu bölümde Au@lipit@FTOH@CD-MOF ve Lipit@Au@FTOH@CD-MOF yapılarının fototermal özellikleri ayrı ayrı incelenecektir. Öncelikle tez kapsamında tasarlanması planlanmış olan Au@lipit@FTOH@CD-MOF yapısı değerlendirilecektir. Au@lipit@FTOH@CD-MOF yapısı incelenirken farklı indirgeyici ajanların kullanılmasının fototermal terapi üzerindeki etkileri değerlendirilip en uygun ajan ile ve Lipit@Au@FTOH@CD-MOF yapısının fototermal özellikleri irdelenecektir.

4.6.1 Au@lipit@FTOH@CD-MOF Yapısının Fototermal Özelliklerinin Araştırılması

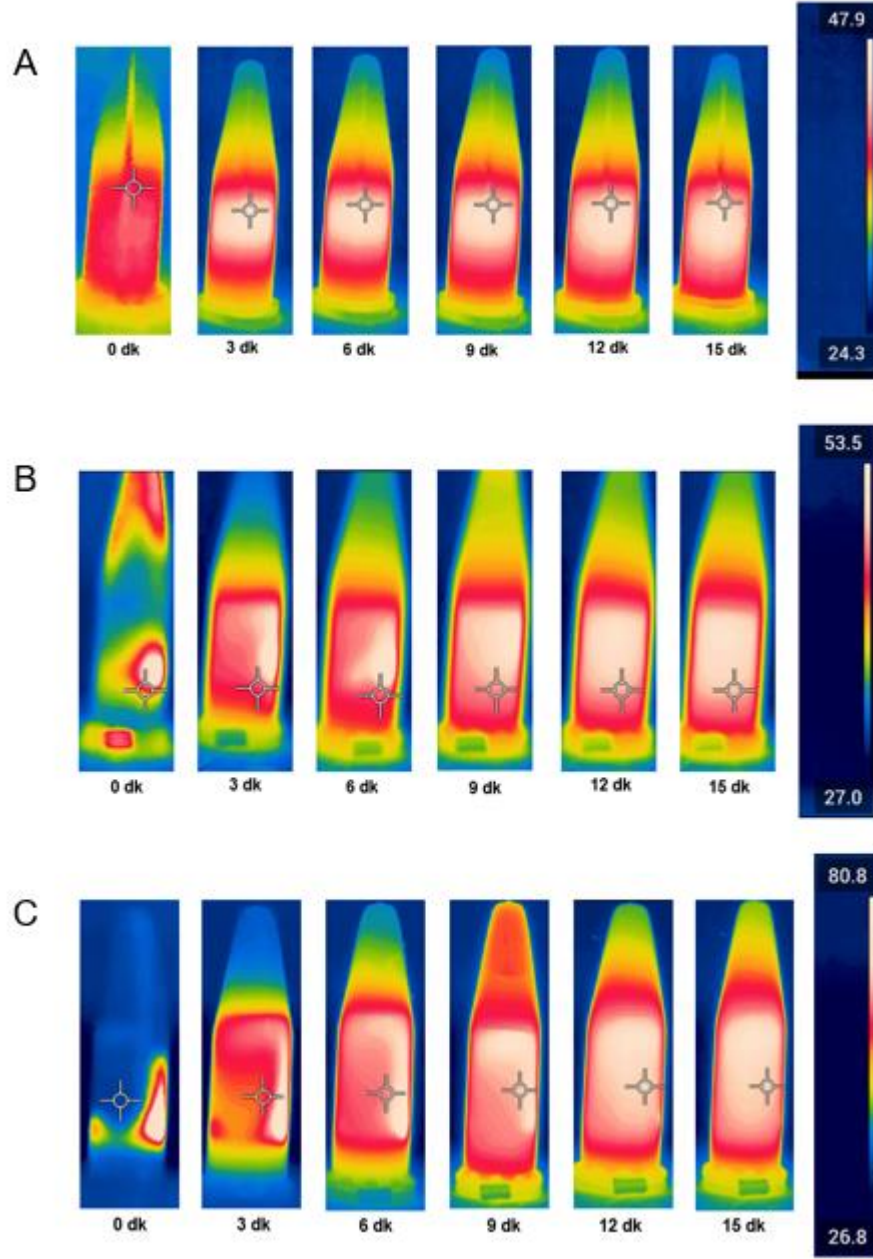
Fototermal terapi kemoterapi ile birlikte kullanılmasıyla kanser tedavisinde sinerjistik bir etki oluşturarak daha iyi sonuçlar elde edilmesini sağlar. Tümör çevresindeki sıcaklığın 41-45 °C'ye yükseltilmesi ile kanserli hücrelerin protein yapıları zarar görerek tümörlü hücrelerin ölümünün gerçekleşmesine neden olur. Tez çalışması kapsamında ise, AuNP'ler kullanılarak sıcaklığın artırılması amaçlanmaktadır. Burada, yüzeyi altın ile kaplanan partiküller absorpladığı enerjiyi çok hızlı bir şekilde ısı enerjisine çevirmektedir. Böylece, elde edilen partiküller kanser tedavisinde kullanılmak üzere mükemmel hipertermik ajanlar haline gelmektedir.

Bu bölümdeki çalışmalara öncelikle farklı indirgeyici ajanlar kullanılarak yüzeye AuNP'lerin, Au@lipit@FTOH@CD-MOF yapısı üzerindeki sıcaklık profilleri incelenmiştir. Altınların yüzeye indirgenmesi için AA, NaBH₄ ve FeSO₄ kullanılmasıyla elde edilen AuNP kaplı partiküllere 808 nm dalga boyunda bir lazer uygulanmıştır. Bu kapsamda, öncelikle Au@lipit@FTOH@CD-MOF partikülleri 0.50 mg/ml konsantrasyonda olacak şekilde ayarlanmış ve 15 dakika boyunca 1.5 W/cm² gücünde lazere maruz bırakılmış olup sıcaklık artışı termal kamera ile görüntülenmiştir. Şekil 4.42'de AA, NaBH₄ ve FeSO₄ 'nın indirgeyici ajan olarak kullanılmasıyla elde edilen Au@lipit@FTOH@CD-MOFların zamana karşı sıcaklık artışları ve yapıların optik mikroskop görüntüleri verilmiştir. Şekil 4.43'te ise lazer uygulanma esnasındaki termal kamera görüntüleri verilmiştir. İndirgeyici olarak AA kullanıldığında sıcaklık 26.9 °C'den 47.5°C'ye; NaBH₄ kullanıldığında sıcaklık 27.3 °C'den 102.5°C'ye; FeSO₄ kullanıldığında sıcaklık 26 °C'den 53.6°C'ye çıkmıştır. İndirgeyici olarak NaBH₄ kullanıldığında partiküllerinin gösterdiği 75.2 °C'lik sıcaklık artışı fototermal terapide kullanılması için çok yüksektir. Tümör çevresinde hedeflenmesiyle elde edilen bu

sıcaklık artışının sağlıklı hücrelerin ölümüne de sebep olabileceği düşünüldüğünden, uygun bir sıcaklık artışı olmadığı yargısına varılmıştır.



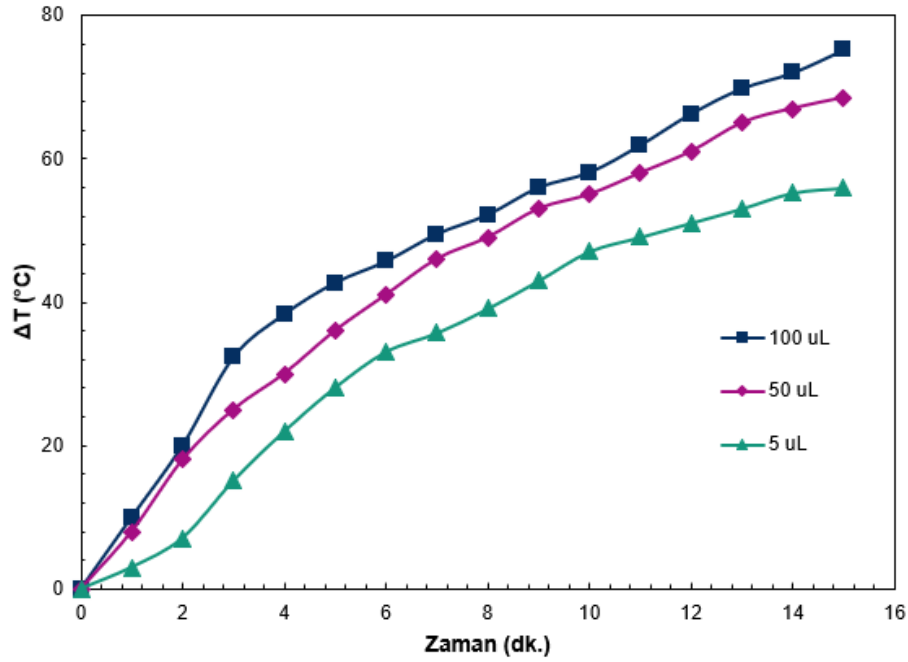
Şekil 3.42. Farklı indirgeyici ajanların kullanılmasıyla elde edilen Au@lipit@FTOH@CD-MOF partiküllerine uygulanan NIR ışınması altında alınan zamana karşı sıcaklık profilleri ve optik mikroskop görüntüleri A) AA, B) NaBH₄, C) FeSO₄ (808 nm λ , 1.5 W/cm²)



Şekil 3.43. Farklı indirgeyici ajanların kullanılmasıyla elde edilen Au@lipit@FTOH@CD-MOF'ların lazer uygulanma esnasında alınan termal kamera görüntüleri A) AA, B) NaBH₄, C) FeSO₄ (808 nm λ , 1.5 W/cm²)

Bu kapsamda, NaBH₄'ün indirgeyici olarak kullanılmasının mümkün olabirliğinin araştırılabilmesi için farklı oranlarda HAuCl₄ ile çalışılmıştır ve sıcaklık profilleri Şekil 4.43'te verilmiştir. NaBH₄ çok güçlü bir indirgeyici ajandır. Yüze indirgendikten sonra ortamda kalan serbest AuNP'ler bir araya gelerek kümeleşmektedir. Bu partiküllerin de

lazer uygulanması ile çok yüksek sıcaklık artışlarına neden olduğu düşünülmektedir. Bu sebeple bu sistem için NaBH_4 'ün uygun bir indirgeyici ajan olmadığına karar verilmiştir.

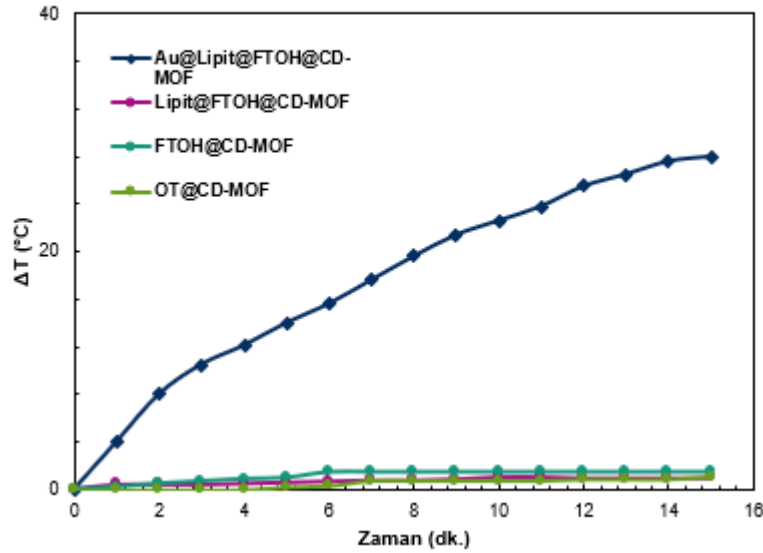


Şekil 3.44. Farklı oranlarda HAuCl_4 'ün NaBH_4 ile yüzeye indirgenmesi sonucu elde edilen $\text{Au@Lipit@FTOH@CD-MOF}$ partiküllerine uygulanan NIR ışınması ile elde edilen zamana karşı sıcaklık profilleri ($808 \text{ nm } \lambda$, 1.5 W/cm^2)

İndirgeyici ajanlardan AA en zayıf potansiyele sahiptir. Singh vd. AA'nın zayıf potansiyelinden dolayı Au^{+3} 'ten Au^{+1} 'e indirgenerek yüzeye tutunduğunu bildirmişlerdir [127]. Ancak bu sistemde indirgenemeyen serbest altın miktarının oldukça fazla olması sebebiyle AA'nın indirgeme potansiyelinin uygun olmadığı kanısına varılmıştır. Şekil 4.44.A' da AA' ile indirgenen altınların yeterli bir sıcaklık artışı sağladığı görülse de bu sıcaklık artışı birkaç döngü boyunca sağlanamamıştır. Sıralanan sebepler dikkate alınarak, indirgeme potansiyeli NaBH_4 ve AA arasında kalan FeSO_4 'ün indirgeyici ajan olarak kullanılmasına karar verilmiş olup lazer uygulandığında elde edilen sıcaklık artışı $28 \text{ }^\circ\text{C}$ olmuştur. İyi bir fototermal ajanın oda sıcaklığından itibaren $20 \text{ }^\circ\text{C}$ 'nin üstünde bir sıcaklık artışı göstermesi gerekmektedir. FeSO_4 ile de bu kriterler sağlanabilmektedir. Başka bir perspektiften bakıldığında ise dünyada en bol bulunan elementlerden biri olan demir düşük toksisite değerine sahiptir. Bunun yanında kolay elde edilebilirliği ve düşük maliyetiyle de bilinmektedir. Demirin birçok alanda kullanıma sahip olduğu bilinmektedir. Daha önce de altının indirgenmesinde kullanılmıştır fakat sıklıkla

rastlanmayan yöntemlerden biridir [158]. Diğer indirgeyici ajanlara kıyasla gösterdiği avantajlardan dolayı FeSO_4 'ün indirgeyici ajan olarak kullanımına karar verilmiştir.

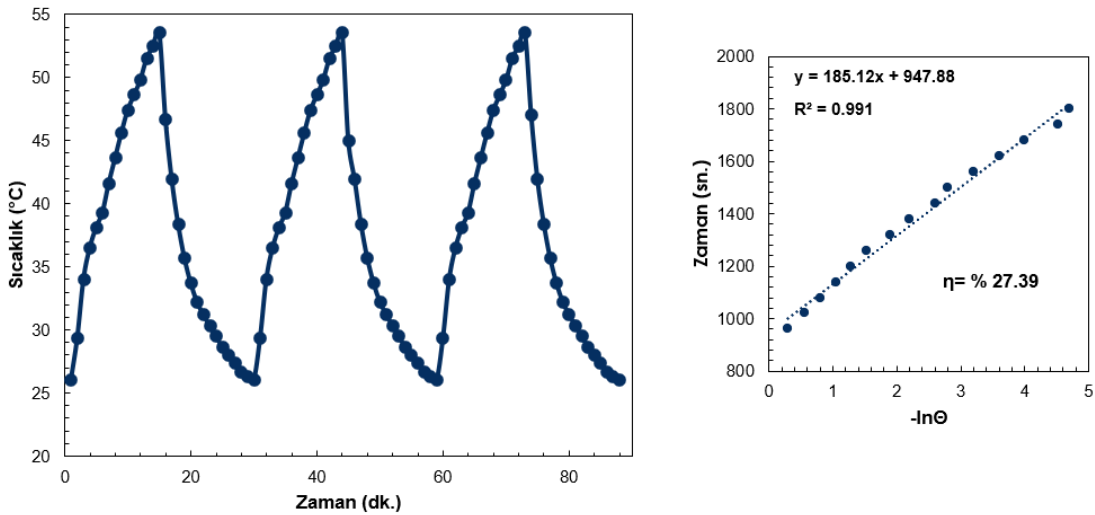
AuNP'ler ile kaplı olan Au@lipit@FTOH@CD-MOF yapısının sağlamış olduğu sıcaklık artışının altın ile kaplamasından sağlandığını kanıtlayabilmek için Lipit@FTOH@CD-MOF, FTOH@CD-MOF ve OT@CD-MOF partiküllerine 0.50 mg/mL konsantrasyonda 808 nm'de lazer uygulanmıştır. Şekil 4.45'te görülen sıcaklık profili incelendiğinde anlamlı bir sıcaklık artışının sadece altın kaplı partiküllerde görüldüğü açıktır. Diğer partiküllerde görülen yaklaşık 1 °C'lik sıcaklık artışı ise saf suyun sebep olduğu sıcaklık artışı ile neredeyse aynıdır. Buradan, diğer partiküllerin fototermal etki göstermediği anlaşılmaktadır.



Şekil 3.45. 0.50 mg/ml konsantrasyonda Au@lipit@FTOH@CD-MOF, Lipit@FTOH@CD-MOF, FTOH@CD-MOF ve OT@CD-MOF partiküllerine NIR ışınması altında elde edilen sıcaklık profilleri (808 nm λ , 1.5 W/cm²)

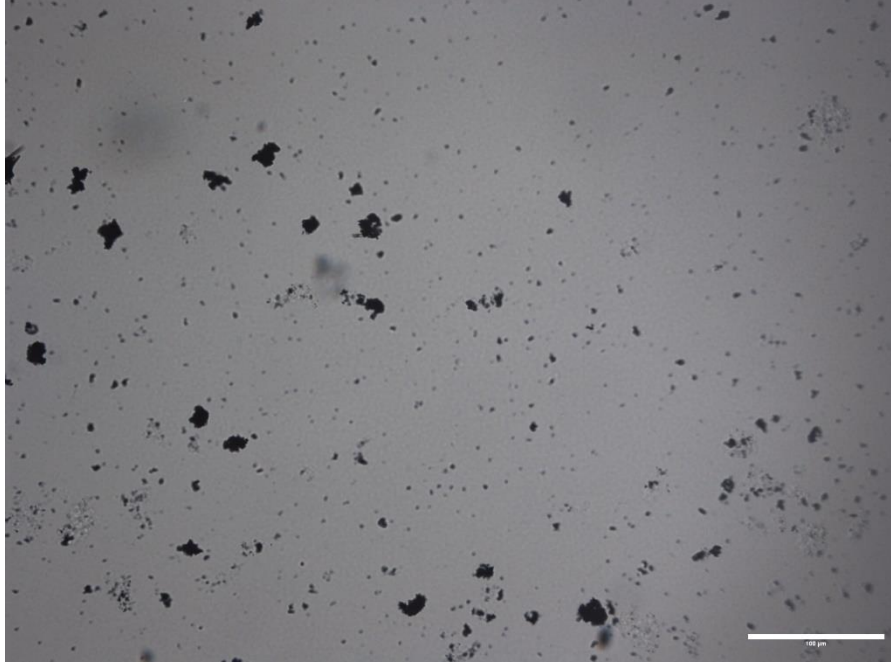
Altın kaplaması için ideal indirgeyici ajanın belirlenmesi ve fototermal terapide kullanılacak olan konsantrasyon değerinin de uygun olmasıyla bir diğer aşama olan Au@lipit@FTOH@CD-MOF partiküllerinin fototermal verimliliklerinin hesaplanmasına geçilmiştir.

Fototermal dönüşüm verimliliği, emilen ışık enerjisini verimli bir şekilde ısıya dönüştürme yeteneğini ifade eder. Altın kaplı partiküller veya altın nanopartiküller gibi inorganik malzemeler bağlamında fototermal dönüşüm verimliliği, yüzey plazmon rezonansı ile açıklanabilir. Altın nanopartiküller, belirli bir dalga boyundaki ışığa maruz bırakıldığında, metal yüzeyindeki iletken elektronların kolektif titreşimi, yüzey plazmon rezonansı olarak bilinen rezonant bir yanıt oluşturur. Bu fenomen, nanopartiküllerin ışığı daha etkin bir şekilde absorbe etmesine neden olur ve çevrelerindeki elektromanyetik alanı büyük ölçüde artırmaktadır [157]. Elde edilen bu sonuç da fototermal etkinin sağlanabildiğini göstermektedir. Şekil 4.46'da 0.50 mg/ml konsantrasyona sahip Au@lipit@FTOH@CD-MOF partiküllerinin ısınma-soğuma eğrileri verilmiştir. Buradaki döngüler partiküllerin fototermal etki boyunca stabil kalabildiğini göstermektedir. Au@lipit@FTOH@CD-MOF partiküllerinin 3 döngü boyunca stabil kalabildiği ve fototermal etkisini koruduğu gözlemlenmiştir. Isınma-soğuma eğrilerinden yola çıkılarak Au@lipit@FTOH@CD-MOF partiküllerinin fototermal dönüşüm verimliliği %27.39 olarak hesaplanmıştır. Verimli bir fototermal terapi için, fototermal dönüşüm verimliliğinin %20'nin üzerinde olması gerektiği belirtilmiştir [160]. Bu bağlamda, Au@lipit@FTOH@CD-MOF partiküllerinin etkili bir fototermal terapi ajanı olarak kullanılabileceği ifade edilebilir.



Şekil 3.46. Au@Lipit@FTOH@CD-MOF yapılarının A) 3 döngü boyunca NIR ışıması altındaki açma-kapama döngüleri B) Fototermal Dönüşüm Verimliliği (808 nm λ , 1.5 W/cm²)

NIR ışınına maruz bırakıldıktan sonra Au@lipit@FTOH@CD-MOF partiküllerinin optik mikroskop görüntüleri alınmıştır ve şekil 4.47’de verilmiştir. Şekiller incelendiğinde döngü boyunca NIR ışınına maruz bırakılan partiküllerin morfolojisini koruyabildiği görülmektedir.

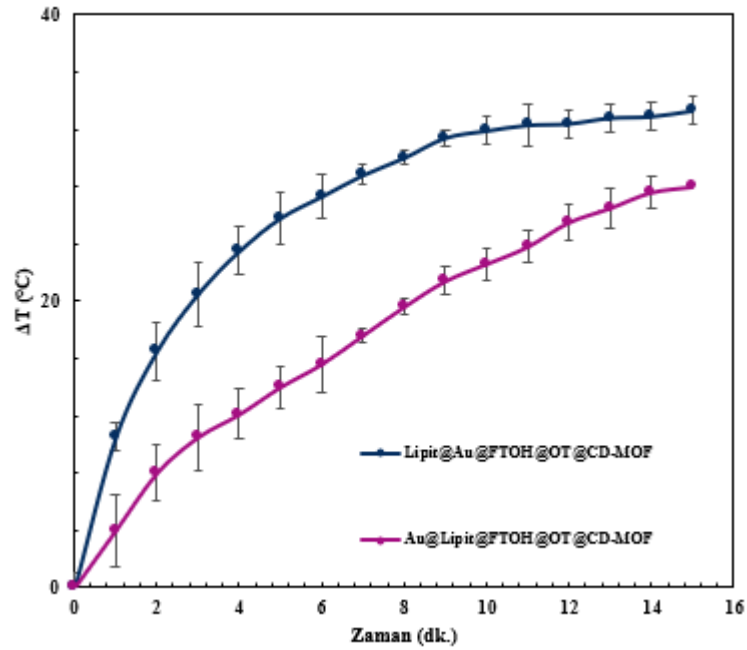


Şekil 3.47. Au@Lipit@FTOH@CD-MOF yapılarına 3 döngü boyunca uygulanan lazerin ardından alınan optik mikroskop görüntüsü

4.6.2 Lipit@Au@FTOH@CD-MOF Yapısının Fototermal Özelliklerinin Araştırılması

AuNP’ler fototermal dönüşüm verimliliğinin yüksek olması nedeniyle fototermal terapi için umut verici ajanlardan biridir [160]. AuNP’lerin göstermiş olduğu yüzey plazmon rezonansı sayesinde organik fototermal ajanlara göre daha verimli ve hızlı bir fototermal dönüşüm sağlayabilmektedir [161]. Bu avantajların yanı sıra, dolaşım süresinin kısa olması nedeniyle tümör hedeflemesinin düşük olması ve vücutta uzun süre kalmasının toksisite açısından risk oluşturması gibi problemleri de birlikte getirmektedir. Altın inert ve biyoyumlu bir malzeme olmasına rağmen vücutta uzun süre kalması farklı sorunlara yol açabilmektedir. Altının toksik hale gelmesi vücutta ne kadar kaldığı ve birikimine bağlıdır. AuNP’lerin dezavantajlarının ortadan kaldırılabilmesi için, AuNPlerin bir taşıyıcı sistemin gözeneklerine alınması veya yüzeye tutturulması daha hedefli çalışan bir fototermal ajan olmasına katkıda bulunabilmektedir [161].

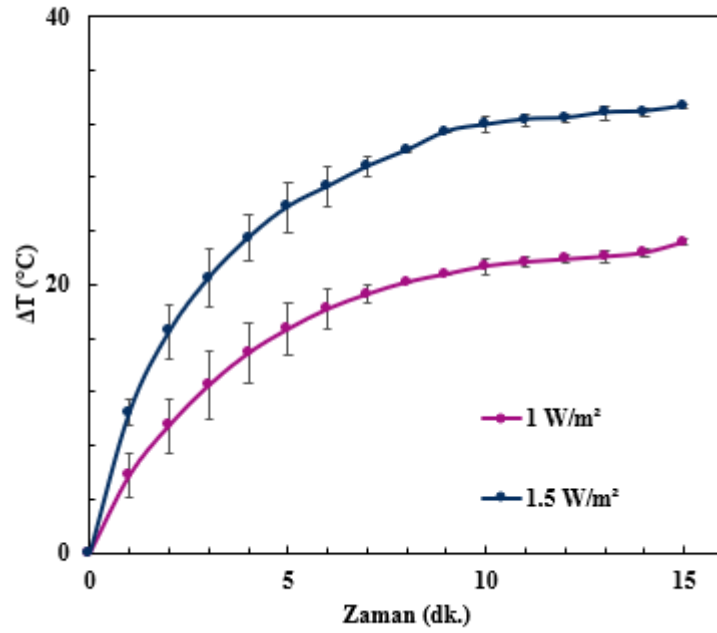
Bu çalışmada, CD-MOF'ların yüzeyinin başlangıçta lipit sonrasında AuNP'ler ile kaplanması hedeflenmiştir. Ancak CD-MOF'ların önce altın sonrasında lipit ile kaplanması ile daha stabil bir yapı elde edilebileceği düşünülmüştür. AuNP'lerin yüzeyinin kaplanması ile vücut içine alınımının kolaylaştırılması ve hedefli bir terapinin gerçekleştirilmesinin sağlanabileceği düşünülmüştür. Bu kapsamda, öncelikle Lipit@Au@FTOH@CD-MOF partikülleri 0.50 mg/ml konsantrasyonda olacak şekilde ayarlanmış ve 15 dakika boyunca 1.5 W/cm² gücünde lazere maruz bırakılmış olup sıcaklık artışı termal kamera ile görüntülenmiştir. NIR ışınması altındaki Lipit@Au@FTOH@CD-MOF yapılarının zamana bağlı sıcaklık artış profili Şekil 4.48'de verilmiştir. Lipit@Au@FTOH@CD-MOF partikülleri 15 dakikada 33.3 °C'lik sıcaklık artışı göstererek 59.1°C'ye ulaşmıştır. Elde edilen bu sonucun Au@Lipit@FTOH@CD-MOF yapısında elde edilen sıcaklık artışından +5.3 °C daha fazla olduğu görülmektedir. Bunun sebebinin AuNP'lerin ara katmanda olması ile yapıların yüzeye tutunarak daha stabil kalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.



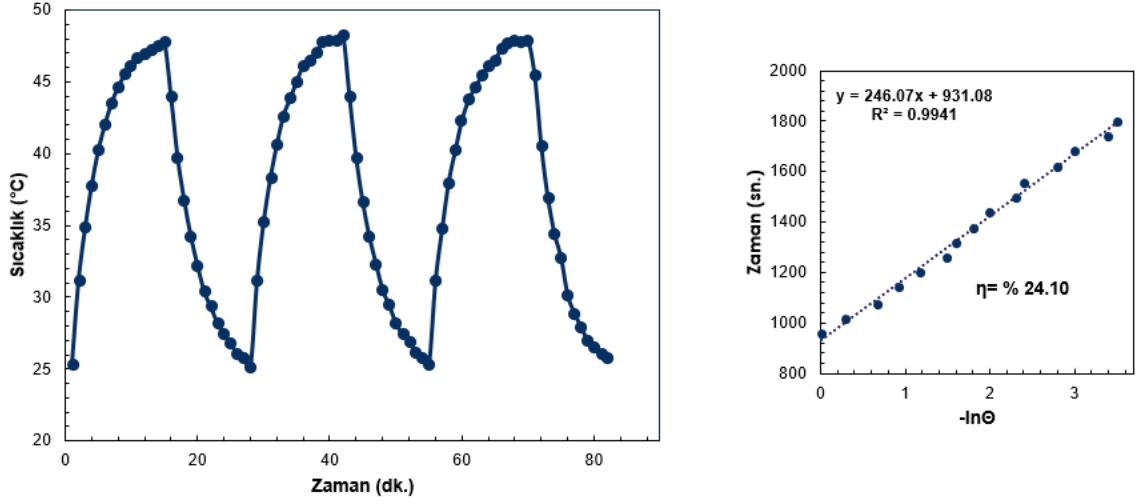
Şekil 3.48. 0.50 mg/ml konsantrasyonda Au@lipit@FTOH@CD-MOF, ve Lipit@Au@FTOH@CD-MOF, partiküllerinin NIR ışınması altında elde edilen sıcaklık profilleri (808 nm λ , 1.5 W/cm²)

Bir fototermal ajanın oda sıcaklığından başlayarak 20 °C'nin üzerinde bir sıcaklık artışı göstermesi yeterli olmaktadır. Ancak tümörlü hücrelere uygulanan NIR ışınması ile sağlıklı hücrelerin zarar görmemesi gerekmektedir. Elde edilen Lipit@Au@FTOH@CD-MOF

yapısının +33.3 °C'lik bir artış göstermesinden dolayı daha düşük bir güçte çalışarak da yeterli sıcaklık artışının sağlanabileceği düşünülmüş olup 1.5 W/cm² olan güç 1 W/cm²'ye düşürülüp partiküllerin aynı konsantrasyondaki sıcaklık artışı takip edilmiştir. 0.5 mg konsantrasyona sahip Lipit@Au@FTOH@CD-MOF yapısının 808 nm'deki lazer ışınması sonucu sıcaklık 25.3 °C'den 45.8 °C'ye ulaşmıştır (Şekil 4.49). Böyle daha düşük bir güç oranında çalışılıp +23.2 °C'lik bir sıcaklık artışı sağlanabilmiştir. Tasarlanan partiküller için uygun bir güç değeri de belirlendikten sonra partiküllerin stabilitesinin belirlenebilmesi için 3 döngü boyunca ısınma-soğuma deneyleri yapılmıştır. Ardından partiküllerin fototermal dönüşüm verimliliği hesaplanmıştır. Şekil 4.50.A'da görüleceği gibi partiküllerin 3 döngü boyunca stabil kalabildiği görülmektedir. Lipit@Au@FTOH@CD-MOF yapısının fototermal dönüşüm verimliliği %24.10 olarak hesaplanmıştır. Elde edilen bu sonuçlara göre Lipit@Au@FTOH@CD-MOF yapısının fototermal ajan olarak kullanılması birçok açıdan avantaja sahip olduğu görülmektedir.

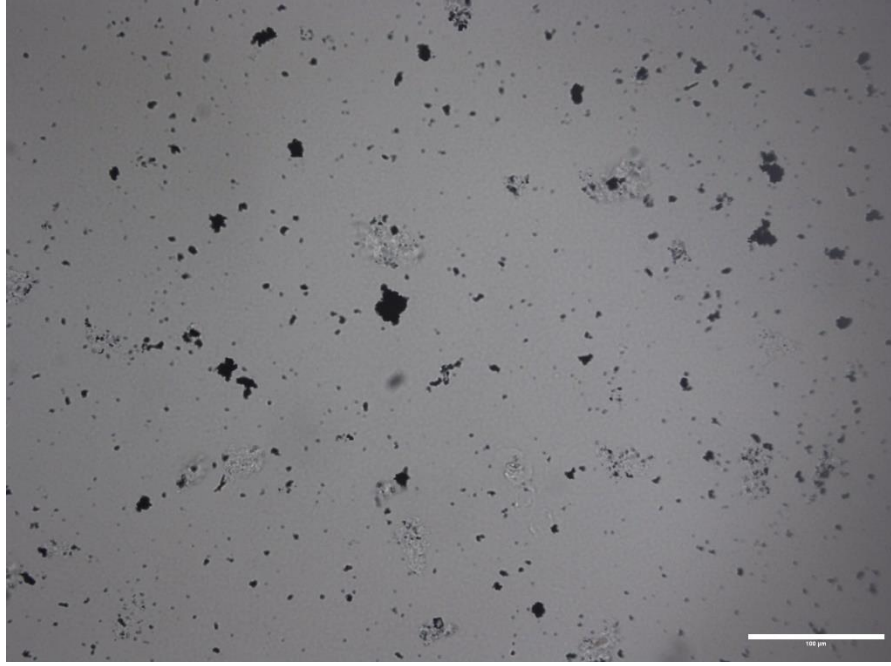


Şekil 3.49. 0.50 mg/ml konsantrasyonda Lipit@Au@FTOH@CD-MOF, yapısına uygulanan farklı güçlerde elde edilen sıcaklık profilleri (808 nm λ)



Şekil 3.50. Lipit@Au@FTOH@CD-MOF yapılarının A) 3 döngü boyunca NIR ışınması altındaki açma-kapama döngüleri B) Fototermal Dönüşüm Verimliliği (808 nm λ , 1 W/cm²)

Şekil 4.51’de 3 döngü boyunca NIR ışınması altında bırakılan Lipit@Au@FTOH@CD-MOF yapısının optik mikroskop görüntüleri verilmiştir. Görüntüler incelendiğinde ısınma-soğuma döngülerinin tamamlanmasının ardından partiküllerin morfolojilerini koruyabildiği görülmektedir. Bu sonuçlar doğrultusunda Lipit@Au@FTOH@CD-MOF yapısının başarıyla oluşturulabildiği görülmektedir.

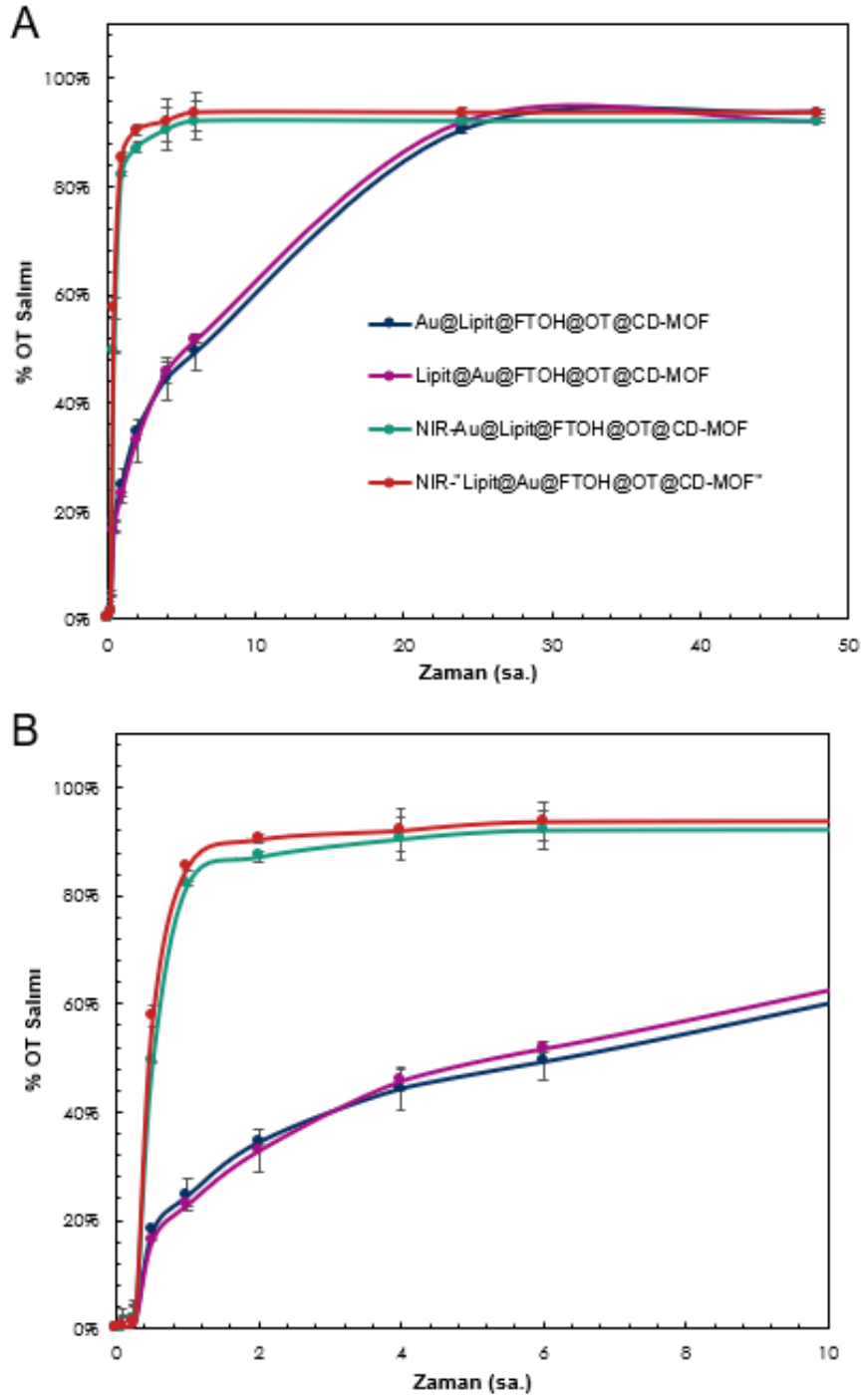


Şekil 3.51. Lipit@Au@FTOH@CD-MOF yapılarına 3 döngü boyunca uygulanan lazerin ardından alınan optik mikroskop görüntüsü

4.7 Lipit@Au@FTOH@OT@CD-MOF ve Au@Lipit@FTOH@OT@CD-MOF Etken Madde Alım/Salımı Amacıyla Kullanılabilirliğinin İncelenmesi

Bilindiği üzere CD-MOF'un suda çözünürlüğü oldukça yüksek ve stabil olmayan bir yapıya sahiptir. Ancak tasarlanan yapılar ile CD-MOF'un stabilitesi artırılabilmiş ve kontrollü ilaç salımının gerçekleştirilmesi sağlanmıştır. Buna ek olarak, salımın NIR ışını ile tetiklendiğinde hedefli bir salım gerçekleştirilebilmesinin mümkün olup olmadığı da irdelenmiştir. Lipit@Au@FTOH@OT@CD-MOF ve Au@Lipit@FTOH@OT@CD-MOF partiküllerinin tetiklenmemiş ve tetiklenmiş salım profilleri Şekil 4.52'de verilmiştir. Öncelikle Lipit@Au@FTOH@OT@CD-MOF ve Au@Lipit@FTOH@OT@CD-MOF partiküllerinin eldesi sonucu kontrollü salımın sağlanabildiği açıkça görülmektedir. Partiküllerin 1 saatteki OT salım yüzdeleri karşılaştırılırsa OT@CD-MOF (1:1) 1 saatte %44.48, FTOH@CD-MOF %43.94, Lipit@FTOH@CD-MOF %24.69, Lipit@Au@FTOH@OT@CD-MOF %18.91, Au@lipit@FTOH@OT@CD-MOF ise %17.42'sini salmıştır. Elde edilen bu sonuçlara göre oluşturulan hibrit yapının ilaç salımının kontrollü bir şekilde sağlandığı söylenebilmektedir. Bu kapsamda, kontrollü salımı sağlanabilen yapının hedefli bir şekilde salım gerçekleştirilebilme potansiyeli de değerlendirilmiştir. Bu amaçla 37 °C'de pH 7.4 PBS çözeltisinde hibrit yapılardan orange OT salımının 25. Dakikasından itibaren 5 dakika boyunca NIR ışınması altında bırakılmıştır [57]. Lipit@Au@FTOH@OT@CD-

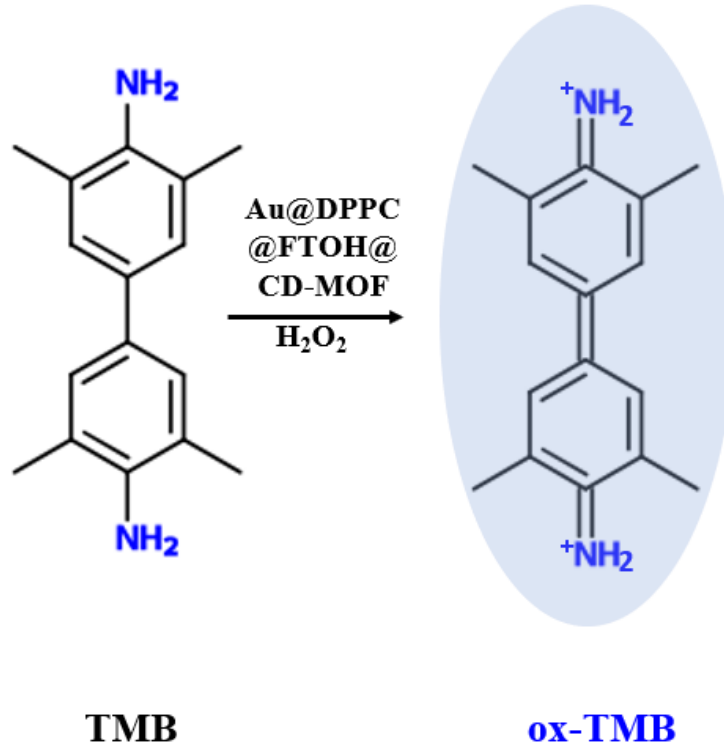
MOF yapısı 5 dakikada 37 °C'den 48 °C'ye; , Au@lipit@FTOH@OT@CD-MOF partikülleri ise 37 °C'den 45 °C'ye ısınmıştır. Ardından %salınan madde miktarı hesaplanmıştır. Şekil 56'da verilen salım profillerinde tetiklemenin ardından Lipit@Au@FTOH@OT@CD-MOF'dan %53.78, Au@lipit@FTOH@OT@CD-MOF'dan ise orange OT'nin %49.39'unun salındığı görülmektedir. 1 günün sonunda ise partiküllerden salınan ilaç miktarı yaklaşık %90 civarında olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar doğrultusunda Lipit@Au@FTOH@OT@CD-MOF ve Au@lipit@FTOH@OT@CD-MOF yapısından etken madde salımının kontrollü ve hedefli yani istenilen bölgede istenilen zamanda olacak şekilde gerçekleştirilebildiği söylenebilmekte ve iki yapının salım profillerinde bir fark olmadığı görülmektedir.



Şekil 3.52. Tetiklenmemiş ve tetiklenmiş Lipit@Au@FTOH@OT@CD-MOF ve Au@Lipit@FTOH@OT@CD-MOF'lardan A) 2 gün boyunca, B) kısa süreli orange OT salım profili (salımlar %3 Tween 80 içeren pH 7.4 PBS çözeltisi içerisinde 37°C'de gerçekleştirilmiştir [n=3].)

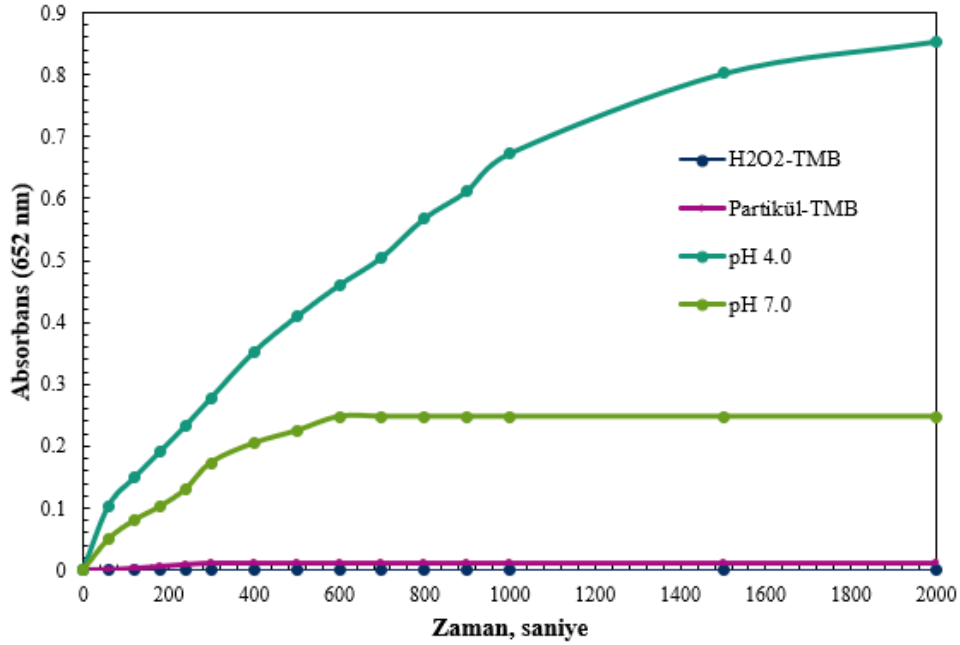
4.8 Au@DPPC@FTOH@CD-MOF Partiküllerinin Peroksidaz Aktivite Ölçümleri

Daha önceki bölümlerde iki farklı hibrit yapı tasarımının kombine tedaviye imkân sunabileceği açıkça gösterilmiştir. Elde edilen bu partiküllerin farklı kullanım alanının da olabileceğinin gösterilmesi için Au@DPPC@FTOH@CD-MOF partiküllerinin nanozim aktivitesi değerlendirilmiştir. Bu konsept çalışma ileride gerçekleştirilecek olarak çalışmalara ışık tutabilmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. Son yıllarda, enzim benzeri aktivite gösteren yapıların tasarımına büyük bir ilgi gösterilmektedir. Nanozim olarak adlandırılan bu yapılar bir katalizör etkisini gösterebilmektedir. Nanozimleri doğal enzimlerden ayıran en önemli noktası ise birden fazla enzimin etkisini bünyesinde taşıyabilecek şekilde tasarlanabilmektedir. Bu tez çalışmasında, başlangıç olarak Au@DPPC@FTOH@CD-MOF partiküllerinin peroksidaz benzeri aktivite gösterebileceği kanıtlanmıştır. Peroksidaz benzeri aktivite ölçümleri farklı substrat derişimlerde çalışılmıştır. Ölçümler için H₂O₂ substrat olarak belirlenmiştir. Ortama TMB ilavesi sonrası mavi renkli bir çözelti oluşturmuştur. Renk değişimi peroksidaz benzeri etki gösterdiğinin bir kanıtı olarak değerlendirilmiştir. Gerçekleşen reaksiyon Şekil 4.53'te verilmiştir.



Şekil 3.53. TMB'nin yükseltgenme reaksiyonu

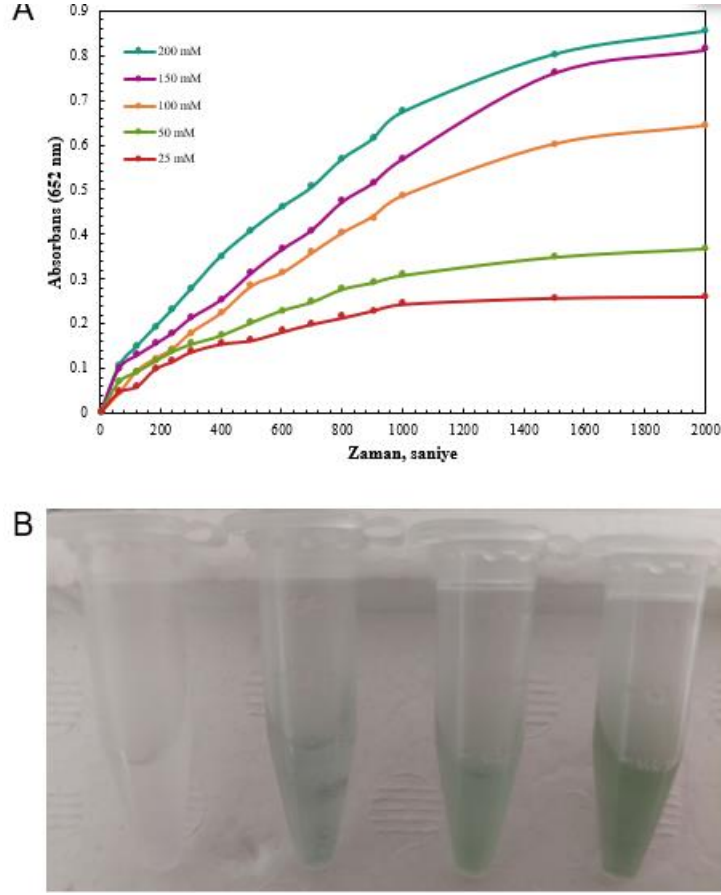
Tez çalışması kapsamında, ilk olarak peroksidaz etkisinin bu konsept ile sağlanabildiğinin gösterilmesi için kontrol deneyleri yapılmıştır. Bunun için, TMB'nin sadece H₂O₂ ya da sadece Au@DPPC@FTOH@CD-MOF partikülleri tarafından oksitlenemeyeceği kanıtlanması planlanmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.54'te verilmiştir.



Şekil 3.54. Peroksidaz aktivite ölçümleri için alınan zaman karşı absorbands değişimleri. (Absorbans= 652 nm)

Şekil 4.54'te görüleceği üzere katalitik aktivite TMB, H₂O₂ ve partiküllerin varlığında gözlemlenmiştir. TMB'nin sadece H₂O₂ ya da sadece partikül varlığında yükseltgenemediği gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra, peroksidaz benzeri etkinliğinin farklı pH'lardaki etkisi de gözlemlenmiştir. 250 µg/ml Au@DPPC@FTOH@CD-MOF konsantrasyonunun da 652 nm'deki zamanla absorbands değişimi pH 4.0 ve pH 7.4 incelenmiştir (Şekil 4.54) Artan pH değeriyle katalitik etkinin azaldığına karar verilmiş olup kinetik çalışmaları için pH 4.0'te çalışılmasına karar verilmiştir.

Katalitik etkinin varlığının ispatının ardından farklı substrat konsantrasyonlarında çalışılarak gerçekleşen reaksiyonun Michelis-Menten kinetiğine uygunluğu tartışılmıştır. Sabit TMB derişiminde farklı peroksit derişimlerinin kullanıldığı peroksidaz aktivitesi ölçümleri sonucunda elde edilen Au@DPPC@FTOH@CD-MOF partiküllerinin zamanla değişen absorbands değerleri Şekil 4.55'te verilmiştir.



Şekil 3.55 A) Farklı H₂O₂ derişimine sahip reaksiyon ortamlarında Au@DPPC@FTOH@CD-MOF partiküllerinin TMB oksidasyonu sonucu zamanla alınan absorbans değerleri B) 50 mM H₂O₂ konsantrasyonunda zamanla alınan kamera görüntüleri (Partikül derişimi: 250 µg/ml, reaksiyon pH değeri: 4.0, reaksiyon sıcaklığı:34 °C, TMB konsantrasyonu: 800 µM).

Zamanla okunan absorbans değerleri yaklaşık olarak 652 nm dalga boyunda okunmuştur [128]. Şekil 4.55'te görüldüğü üzere artan substrat derişimi ile reaksiyon hızı artmaktadır. Reaksiyon hızının artışı absorbans değerindeki artışla gözlemlenmiştir. Reaksiyon süresi 30 dakikaya ulaştığında absorbans değerinin platoya geldiği anlaşılmaktadır. 200 mM H₂O₂ konsantrasyonunda en yüksek absorbans değerine ulaştığı görülmüştür. Daha düşük H₂O₂ konsantrasyonlarında düşük absorbans değerlerinin okunması peroksidaz aktivitesinin düştüğünü göstermektedir.

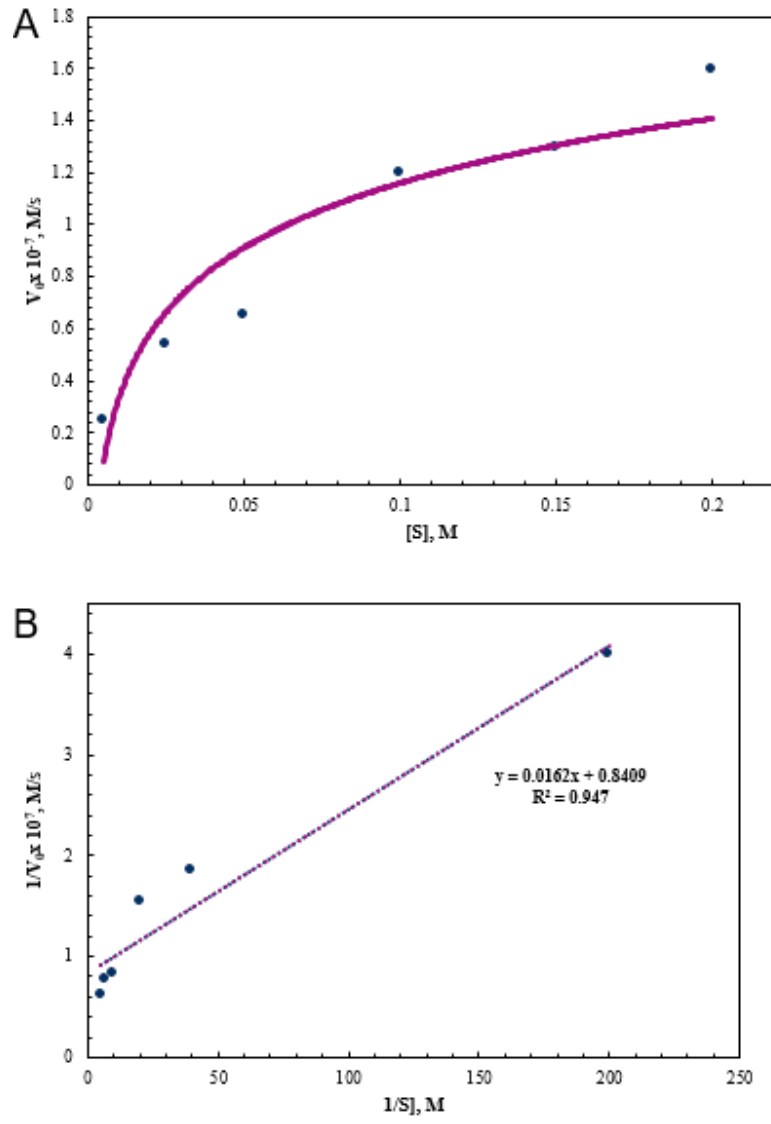
Elde edilen bu veriler yardımıyla öncelikle Au@DPPC@FTOH@CD-MOF partikülleri için TMB tüketim hızları hesaplanmıştır. Her substrat konsantrasyonu için tüketim hızları

Beer- Lambert yasası kullanılarak hesaplanmıştır. Hesaplanan TMB tüketim hızları V_0 olarak simgelenmiştir ve Çizelge 4.10’da verilmiştir.

Çizelge 3.11. Farklı substrat derişimleri için hesaplanan V_0 değerleri

[S], mM	V_0 , M/s
200	1.55×10^{-7}
150	1.28×10^{-7}
100	1.21×10^{-7}
50	6.55×10^{-8}
25	5.43×10^{-8}
5	2.51×10^{-8}

Partiküllerin peroksidaz aktivite mekanizmasının anlaşılabilmesi için yatışkın koşulda elde edilmiş olan hız değerlerine karşı substrat derişimi eğrisi çizilmiştir (Şekil 4.56.A). Eğrinin şeklin incelendiği zaman Michelis-Menten kinetik modelinin eğrisinin elde edilebildiği görülmüştür. Michelis-Menten ve Lineweaver Burk grafikleri yardımıyla K_m ve V_{max} sabitleri hesaplanmıştır. Grafiğin R^2 değeri 0.947 olduğu görülmekte ve bu da $1/[S]$ ile $1/V_0$ arasında doğrusal bir ilişkinin olduğu kanıtlanmaktadır. Elde edilen doğru denkleminde K_m ve V_{max} sabitleri sırasıyla 20.1632 μM ve 0.125 $\mu\text{M/s}$ olarak bulunmuştur. Literatürdeki veriler ile karşılaştırmalı olarak Çizelge 4.11’de verilmiştir. Doğal enzime kıyasla Au@DPPC@FTOH@CD-MOF partiküllerinin K_m değerinin daha düşük olduğu görülmektedir. Bu da maksimum aktiviteye ulaşabilmek için daha yüksek H_2O_2 konsantrasyonuna ihtiyaç duyulduğu anlamına gelmektedir. V_{max} değerinin doğal enzime kıyasla yüksek olması ise Au@DPPC@FTOH@CD-MOF partiküllerinin daha fazla aktif bölgesi olduğunu gösterir niteliktedir. Böylece Au@DPPC@FTOH@CD-MOF partikülleri doğal enzimden daha yüksek bir maksimum hız değerine ulaşabildiği söylenebilir. Literatürdeki diğer nanozimler ile kıyaslandığında ise elde edilen bu yapının umut vaat eden bir nanozim yapısına sahip olduğu açıkça görülebilmektedir.



Şekil 3.56. Au@DPPC@FTOH@CD-MOF partikülleri için A) Michelis- Menten B) Lineweaver Burk grafikleri (Partikül derişimi: 250 μ g/ml, reaksiyon pH değeri: 4.0, reaksiyon sıcaklığı:34 $^{\circ}$ C, TMB konsantrasyonu: 800 μ M).

Çizelge 3.12. Mevcut çalışma ile literatürdeki Michelis-Menten sabiti (K_m) ve maksimum hız (V_{max}) değerlerinin karşılaştırılması

Katalizör	$K_m(\mu M)$	$V_{max}(\mu M/s)$	Ref
Au@DPPC@FTOH@CD-MOF (Mevcut Çalışma)	20.1632	0.125	-
Fe ₃ O ₄	154	0.0978	[129]
EMSN-AuNP	119.2	0.05258	[128]
HRP (enzim)	3.7	0.0871	[129]
Hb-AuNP	7	0.2	[162]
Au-NCS	16.71	0.013	[163]
Co ₃ O ₄	173.51	0.187	[164]

4. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında, biyoyumlu, kemoterapi ve fototermal terapi ile birlikte kombine bir tedavinin gerçekleştirilmesine imkân tanıyan, kontrollü ve hedefli ilaç salımının da sağlanabildiği bir ilaç taşıyıcı sistem tasarımı gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda öncelikle, etken maddelerin yüksek oranda kapsüllenebileceği en uygun CD-MOF yapısının sentezi gerçekleştirilmiştir. Suda çözünür bir yapıya sahip olan CD-MOF'lardan maksimum verimin alınabilmesi için kristal yapının yeterince stabil bir ortam yaratamayacağı düşünülmüştür. Bu kapsamda çalışmanın bir sonraki adımlarında büyük bir fark yaratacak olan, CD-MOF yapısının sudaki stabilitesinin artırılabilmesi için yüzeyin florokarbon ile kaplanmasının taşıyıcı sisteminin stabilitesini büyük oranda artırabileceği düşünülmüştür. Yapının stabilitesinin florokarbon kaplaması ile artırılmasının ardından farklı çözünürlükteki ve moleküler yapıdaki model moleküllerin (kurkumin, orange OT) alım/salım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Tez çalışmasında, ardından yapının yüzeyinin lipit çift tabakası ile kaplanmasının uygun olacağı düşünülmüştür. Sonrasında, uygun boyutta sentezlenen FTOH@OT@CD-MOF yapılarının iki farklı şekilde tasarımı gerçekleştirilmiştir. Bu tasarımlardan ilki, FTOH@OT@CD-MOF yapısının önce DPPC, ardından AuNP'ler ile kaplanmasıdır. Bir diğeri ise AuNP'lerin önce FTOH@OT@CD-MOF yapısının yüzeyine tutturularak ardından lipit ile kaplanmasının gerçekleştirilmesidir. İkinci bir tasarımın yapılmasının nedeni ise lipitlerin en dış katmanda bulunarak, taşıyıcı sistemin hücre içine alımının kolaylaştırılabileceği düşünülmüştür. Bunun yanı sıra, AuNP'lerin ara katmanda bulunması ile PTT üzerindeki olumlu etkilerinden de faydalanılmıştır. Literatürdeki çalışmalarda AuNP'lerin biyoyumluluğunun yüksek olduğunu ancak vücutta birikmesi ile toksik bir etki yaratabileceği söylenmektedir. Bu sebeple, AuNP'lerin yüzeyinin DPPC ile kaplanmasıyla birlikte iletilmesi hedeflenen bölgeye AuNP'lerin kontrollü bir şekilde iletilmesi büyük önem taşımaktadır. Bu kapsamda, tez çalışmasının ilerleyişinde taşıyıcı sistemin en mükemmel formunda olabilmesi için iyileştirilmeler yapılmıştır. Aşağıda çalışmaya ilişkin sonuçlar detaylı bir şekilde verilmiştir:

- Çalışma kapsamında ilk olarak farklı sentez yöntemleri ve parametreleri ile CD-MOF yapısının sentezi gerçekleştirilmiştir. CD-MOF'lar için en uygun morfolojideki ve boyuttaki sentezin solvotermal/sonikasyon/buhar difüzyon yöntemlerinin birbirine entegrasyonu ile gerçekleştirilebildiğine karar verilmiştir.

En uygun yapının sentezlenebilmesi için parametrelerin solvotermal sentez aşamasında sürenin 10 dakika, sıcaklığın 60 °C olması; sonikasyon yönteminde sentezin %90 güçte (2 saniye açık 2 saniye kapalı) 30 dakika boyunca yapılması; buhar difüzyon yönteminde çözücü oranının %75 metanol %25 aseton ve sentez süresinin 12 saat olması gerektiği belirlenmiştir. CD-MOF'ların küçük boyutta sentezlenebilmesi için önemli parametrelerden birisi de partiküllerin vakumda 40 °C'de kurutulması yerine liyofilize edilerek kurutulmasıdır. Dondurularak kurutulmuş örneklerin bu süreçte kristal büyümesinin ve yapılarının bir araya gelmesinin engellenmesi sağlanmıştır. Yapının son halinde elde edilen yaklaşık boyutlar AFM, DLS ve SEM ile sırasıyla 1.5 ± 0.54 μm , 2.3 ± 0.22 μm ve 1.2 ± 0.72 μm olduğu tespit edilmiştir.

- Sentezlenen CD-MOF yapısının karakterizasyonu için XRD analizi yapılmıştır. CD-MOF kristallerinin (1 1 0), (2 0 0), (2 2 2), (3 3 0) ve (6 3 0) düzlemlerine ait pikler 4.5° , 6.3° , 10.4° , 12.4° ve 19.1° açılarında görülmüştür ve kristal yapının oluşturabildiği bu pikler sayesinde doğrulanmıştır. Sentezlenen CD-MOF'ların FTIR analizi sonucunda β -CD yapısının korunduğu tespit edilmiştir.
- CD-MOF'ların sudaki stabilitesinin artırılabilmesi için yapının florokarbon ile kaplanması sağlanmıştır. Böylelikle saniyeler içinde suda çözünen CD-MOF'ların florokarbon kaplaması ile sudaki stabilitesi 24 saatin üzerine çıkarılmıştır. Kaplama işleminin ardından, CD-MOF yapısının korunduğunun gösterilebilmesi için XRD analizi gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak florokarbon kaplamasının CD-MOF yapısına ait piklerin konumlarını değiştirmedeği görülmüştür. Florokarbon kaplı CD-MOF'ların AFM ve DLS ile ölçülen boyutları sırasıyla 1.53 ± 0.51 ve 2.02 ± 0.43 μm 'dir.
- CD-MOF yapısının farklı solventlerdeki bütünlüğünün korunabildiğinin gösterilebilmesi için metanol, etanol, izopropanol, aseton ve diklorometan içerisinde partiküllerin yapılarının nasıl etkilendiği irdelenmiştir. Partiküllerin stabilitesinin apolar çözücülerde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Solventin polaritesi suyun polaritesine yaklaştıkça partiküllerin bu solventler içerisinde uzun süre bekletilmesinin kristal yapısını etkileyebileceğine karar verilmiştir. Ancak kullanılan solventler içerisinde morfolojinin etkilenmediği ve sonra işlemler için sentez ortamında bu solventlerin bulunmasının bir sakıncası olmadığı tespit edilmiştir.

- CD-MOF yapısının başarıyla elde edilebilmesinin ardından farklı model moleküllerin yapıya dahil edilebildiğinin gösterilebilmesi için kurkumin ve orange OT ile çalışılmıştır. Hidrofobik moleküllerin sentez esnasında yapıya dahil edilmesinin en verimli yöntem olduğuna karar verilmiştir. Kurkumin CD-MOF yapısına %95 oranında kapsüllenebilmiştir. Farklı molekül yapısına ve çözünürlüğe sahip orange OT ise % 90 oranında yapıya dahil edilebilmiştir. Burada, yapıya eklenmesi gereken model molekül miktarının başlangıçta sentez ortamındaki β -CD miktarına bağlı olarak belirlenmesi gerektiğine karar verilmiştir. Her β -CD molekülünün bir hidrofobik molekülü kavitesine alabildiği ve bunun yanı sıra CD-MOF yapısının gözeneklerine de enkapsüle edilebileceği fark edilmiştir. Çalışmanın bu aşamasında 1:1 (β -CD-ilaç) oranında çalışılmasının yeterli olacağına karar verilmiştir. Yapıya hidrofobik bir molekülün dahil edilmesi ile yapının sudaki stabilitesinin artırılabilirdiği kanıtlanmıştır. Model molekülün CD-MOF yapısına dahil edilmesiyle AFM ve DLS sonuçlarına göre önemli bir artış göstermediği sonucuna varılmıştır.
- pH 7'de PBS çözeltisinde 37 °C'de orange OT'nin 1: 10 (ilaç: β -CD) oranda kapsüllendiği durumda salınan madde miktarı 1 saatte %95 civarında iken 1:1 oranında kapsüllenen yapıdan 1 saat içerisinde orange OT'nin %70'i salınmıştır. Böylece hidrofobik molekülün yapıya yüksek oranda kapsüllemesi yapının stabilitesini artırmış ve kontrollü bir salım gerçekleştirilmesini sağlamıştır. FTOH@OT@CD-MOF yapısından ise 1 saat içerisinde orange OT'nin yaklaşık %60'ı salınmıştır. Florokarbon kaplaması ile de salımın kontrolünün sağlanabildiği gösterilmiştir.
- FTOH@OT@CD-MOF yapısı başarıyla elde edildikten sonra hibrit yapının elde edilebilmesi için iki ayrı konseptte yapı eldesine geçilmiştir. İlk olarak FTOH@OT@CD-MOF yapısının yüzeyi DPPC ile kaplanmıştır. DPPC kaplamasının anlaşılabilmesi için lipit rodamin-B molekülü ile etiketlenmiştir. Floresan mikroskop ile lipitlerin yüzeyinde DPPC olduğu kanıtlanmıştır. Kaplama yapıldığının bir diğer kanıtı ise partiküllerin zeta potansiyelleridir. CD-MOF'ların zeta potansiyeli -35.26 ± 0.62 mV, OT@ β -CD-MOF'ların zeta potansiyeli 27.59 ± 0.57 mV, FTOH@OT@ β -CD-MOF'ların -1.5 ± 3.52 mV, Lipit@FTOH@OT@ β -CD-MOF'ların -4.12 ± 1.29 mV olarak ölçülmüştür. Buradaki zeta potansiyel değişiminden yüzeyin kaplandığı doğrulanmıştır.

- Lipit@FTOH@OT@ β -CD-MOF yapısının fototermal bir ajan olarak kullanılabilmesi için yüzey AuNP'ler ile kaplanmıştır. AuNP'lerin burada yüzeyde oluşturulması ile kaplama işlemi gerçekleştirilmiştir. AuNP'lerin yüzeye indirgenmesini sağlamak için 3 farklı indirgeyici ajan kullanılmıştır. Bunlar, AA, NaBH₄ ve FeSO₄'tür. Burada AA çok düşük bir indirgeme potansiyeline sahip olduğu için ortamda yüzeye indirgenemeyen AuNP sayısının çoğunlukta olması sebebiyle tercih edilmemiştir. NaBH₄ ise oldukça yüksek indirgeme potansiyeline sahip olduğu için güçlü bir plazmonik etki göstermiş ve çözelti rengi siyaha kaymıştır. Çok güçlü bir şekilde indirgenen AuNP'lerin yüzeye kaplandığı doğrulanmıştır ancak AuNP'lerin kümelenmesiyle ortamdan serbest altınlar alınamamıştır. Bu sebeplerden ötürü iki indirgeyici ajanın arasında bir potansiyele sahip bir ajan seçilmesi gerektiğine karar verilip FeSO₄ ile çalışılmıştır. Beklenildiği gibi FeSO₄ AuNP'lerin indirgenebilmesi için ılımlı bir ortam sağlamıştır. Yüzey kaplama işlemi tamamlandıktan sonra ortamda bulunan serbest AuNP'ler yıkanarak ortamdan uzaklaştırılmış ve yapı bütünlüğünün korunması sağlanmıştır. Au@Lipit@FTOH@OT@ β -CD-MOF yapısının zeta potansiyeli $+4.27 \pm 2.5$ olarak ölçülmüştür. Buradaki zeta potansiyel değişiminden yüzeyin kaplandığı anlaşılabilir. Yüzeyde AuNP'lerin olduğunun kanıtlanması için SEM-EDX analizi yapılmış olup yüzeyde yaklaşık %50 oranında Au elementinin bulunması kaplama işleminin başarıyla gerçekleştirilebildiğini doğrulamıştır. Son olarak elde edilen hibrit yapıların morfolojilerinin ise dörtgen benzeri yapılar olduğu yapının iskeletini oluşturan CD-MOF yapısının korunduğunu göstermektedir.
- Ardından hibrit yapının tasarımı katmanların yerinin değiştirilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Öncelikle, FTOH@OT@ β -CD-MOF kristalleri AuNP'ler ile kaplanmıştır. Au@FTOH@OT@ β -CD-MOF yapısının zeta potansiyeli $+8.33 \pm 1.67$ mV olarak ölçülmüştür. Değişen zeta potansiyeli ile partiküllerin yüzeyinin AuNP'ler ile kaplanabildiği anlaşılmaktadır. AuNP'ler ile kaplanan yapının hep CD-MOF yapısını koruduğu hem de yüzeyde AuNP'ler ile kaplandığının kanıtlanabilmesi için XRD analizi sonuçları incelenmiştir. Spektrum incelendiğinde düşük şiddette CD-MOF'ların piklerinin görüldüğü anlaşılmaktadır. Bunun yanı sıra AuNP'lerin sahip olduğu 38.21°, 44.44°, 64.61° ve 77.63°deki 2 θ değerlerinde güçlü tepeler görünmektedir. Bu pikler AuNP'ler için (1 1 1), (2 0 0), (2 2 0) ve (3 1 1) düzlem setine karşılık gelmektedir.

- Au@FTOH@OT@β-CD-MOF yapısının ardından lipit çift tabakası ile kaplaması yapılmıştır. Kaplama işleminin kanıtlanması için DPPC molekülleri rodamin-B molekülleri ile etiketlenmiş ve floresan mikroskop altında yapıların yüzeyinin parlaması ile lipit iPartiküllerin zeta potansiyeli ise 8.33 ± 1.67 mV iken $+2.5 \pm 1.55$ mV değerine ulaşmış ve buradaki değişimden yüzeyin lipit ile kaplandığı tespit edilmiştir. Elde edilen son yapının SEM-EDX analizi sonuçlarına göre yüzeyde yaklaşık %60 oranında karbon elementi içermesi partiküllerin yüzeyinin karbonca zengin olan DPPC ile kaplandığını ifade etmektedir.
- Au@Lipit@FTOH@OT@β-CD-MOF ve Lipit@Au@FTOH@OT@β-CD-MOF yapılarının eldesinden sonra fototermal özellikleri irdelenmiştir. Öncelikle farklı indirgeyici ajanlarla AuNP kaplanmasının fototermal terapi üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Au@Lipit@FTOH@OT@β-CD-MOF partiküllerinin 808 nm'deki 1.5 W/cm^2 güce sahip NIR ışık ışını altında AA, NaBH₄ ve FeSO₄ indirgeyici ajanlarıyla elde edilen sıcaklık değişimleri sırasıyla 21.4 °C, 75.2 °C, ve 28 °C'dir. Buradan en uygun indirgeyici ajanın FeSO₄ olduğu bir kez daha doğrulanmıştır. AA'nın sağladığı sıcaklık artışı da yeterli bulunmuştur fakat AuNP'lerin yüzeye verimli bir şekilde indirgenmemesinden dolayı partiküllerin yüzeyinde yeterince AuNP bulunmadığı anlaşılmıştır. Ardından, partiküllerin fototermal stabilitelerinin test edilmesi için 3 döngü boyunca partiküller lazer ışınına maruz bırakılmıştır. Partiküllerin 3 döngü boyunca stabil kalabildiği ve morfolojisini koruyabildiği görülmüştür. Yapının fototermal dönüşüm verimliliği %27.39 olarak hesaplanmıştır.
- Bir sonraki aşamada 0.5 mg/ml konsantrasyondaki Lipit@Au@FTOH@OT@β-CD-MOF yapısının 1.5 W/cm^2 güçte 808 nm dalga boyundaki lazer ışını altında 33.3 °C'lik bir sıcaklık artışı gösterdiği görülmüştür. Au@Lipit@FTOH@OT@β-CD-MOF ve Lipit@Au@FTOH@OT@β-CD-MOF yapılarının fototermal özellikleri kıyaslandığında Lipit@Au@FTOH@OT@β-CD-MOF yapısının aynı konsantrasyonda daha fazla sıcaklık artışı gösterdiği anlaşılmıştır. Bunun sebebinin AuNP'lerin yüzeyinde lipit katmanının bulunmasıyla AuNP'lerin yüzeyde daha stabil kalmasından dolayı olduğu düşünülmektedir. Böylelikle, Lipit@Au@FTOH@OT@β-CD-MOF partikülleri ile daha düşük güçte çalışma avantajı sunmuştur. Hibrit yapı 1 W/cm^2 güçte 23.2 °C'lik bir sıcaklık artışı göstermiştir. Yapının fototermal dönüşüm verimliliği %24.1 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar ışığında her iki yapının da fototermal terapi ajanı

olarak kullanılması uygun bulunmuştur. Ancak, Lipit@Au@FTOH@OT@β-CD-MOF yapısının hem lipit katmanın üstte bulunmasıyla hücresel etkileşimin artırılabilmesi açısından hem de fototermal ajan olarak kullanımını bakımında daha avantajlı olduğu görülmektedir.

- Son olarak, elde edilen son yapılar ile hedefli ve kontrollü bir ilaç salımının gerçekleştirilebilmesi için salım ortamı 25. Dakikadan itibaren 5 dakika boyunca lazer ışınına maruz bırakılmıştır. Tetiklenmemiş Au@Lipit@FTOH@OT@β-CD-MOF ve Lipit@Au@FTOH@OT@β-CD-MOF yapılarından orange OT salım profilleri arasında bir fark görülmemiştir. Ancak tetiklenmiş ve tetiklenmememiş salım profillerinin beklenildiği gibi farklı olduğu tespit edilmiştir. Au@Lipit@FTOH@OT@β-CD-MOF ve Lipit@Au@FTOH@OT@β-CD-MOF yapılarından 30 dakikada salınan orange OT yaklaşık %18 iken tetiklendikten sonra salınan madde miktarı yaklaşık %50 olduğu görülmüştür. Buradan, isteğe bağlı olarak tümör çevresinde hedefli bir ilaç salımı gerçekleştirilebileceği anlaşılmaktadır. Ek olarak başlangıçta sudaki çözünürlüğü oldukça yüksek olan CD-MOF yapısının içerisindeki kargoyu 1 saatte tamamen salmasının ardından elde edilen son yapılar ile salım süresi 48 saate kadar uzatılarak kontrollü bir salımın gerçekleştirilmesi mümkün hale gelmiştir.
- Sinerjistik terapi sağlamanın yanı sıra sonraki çalışmalara ışık tutabilmesi adına Au@Lipit@FTOH@OT@β-CD-MOF yapısının enzim benzeri bir aktivite gösterip gösteremeyeceği test edilmiştir. Bu çalışma kapsamında, Au@Lipit@FTOH@OT@β-CD-MOF partiküllerinin peroksidaz benzeri katalitik aktivite gösterebildiği kanıtlanmıştır. Bu aktivitenin varlığı TMB'nin yükseltgenerek ox-TMB'ye dönüşmesiyle kolorimetrik olarak kanıtlanmıştır. Bu reaksiyon esnasında ortam mavi renge dönüşmüştür. Enzim benzeri bir aktivite sergileyen yapının Michelis-Menten kinetik modeline uygunluğunun ve K_m ve V_{max} sabitlerinin bulunabilmesi için farklı substrat konsantrasyonlarında bir dizi deneyler yapılmıştır. Bu deneyler sonucunda Lineweaver- Burk grafiğinin R^2 değeri 0.947 olduğu bulunmuştur. Elde edilen doğru denkleminde K_m ve V_{max} sabitleri sırasıyla 20.1632 μM ve 0.125 $\mu M/s$ olarak bulunmuştur. Elde edilen bu
- Sonuç olarak, kombine tedavinin sunulabildiği; kontrollü ve hedefli ilaç salımının gerçekleştirilebildiği bir ilaç taşıyıcı sistem bilginiz dahilinde ilk kez ortaya konulmuştur. Bunun yanı sıra, hibrit yapıların nanozim olarak kullanılabileceği de gösterilmiştir

KAYNAKLAR

- [1] T.M. Allen, P.R. Cullis, *Advanced drug delivery reviews*, 65 (2013) 36-48.
- [2] C. Alvarez-Lorenzo, A. Concheiro, *Chemical communications*, 50 (2014) 7743-7765.
- [3] D. Liu, F. Yang, F. Xiong, N. Gu, *Theranostics*, 6 (2016) 1306.
- [4] P. Sanchez-Moreno, J.L. Ortega-Vinuesa, J.M. Peula-Garcia, J.A. Marchal, H. Boulaiz, *Current drug targets*, 19 (2018) 339-359.
- [5] S. Mura, J. Nicolas, P. Couvreur, *Nature materials*, 12 (2013) 991-1003.
- [6] M. Constantin, S. Bucatariu, P. Ascenzi, M. Butnaru, G. Fundueanu, *Materials Science and Engineering: C*, 108 (2020) 110466.
- [7] S. Mallakpour, E. Nikkhoo, C.M. Hussain, *Coordination Chemistry Reviews*, 451 (2022) 214262.
- [8] W. Zhang, T. Guo, C. Wang, Y. He, X. Zhang, G. Li, Y. Chen, J. Li, Y. Lin, X. Xu, *Pharmaceutical Research*, 36 (2019) 1-13.
- [9] K.Y. Zou, Z.X. Li, *Chemistry—A European Journal*, 24 (2018) 6506-6518.
- [10] T.M. Sheng, P.V. Kumar, *Current Drug Delivery*, 19 (2022) 266-300.
- [11] C. Liu, P. Wang, X. Liu, X. Yi, Z. Zhou, D. Liu, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 7 (2019) 14479-14489.
- [12] T. Volkova, A. Surov, I. Terekhova, *Journal of Materials Science*, 55 (2020) 13193-13205.
- [13] S. Haddadzadegan, F. Dorkoosh, A. Bernkop-Schnürch, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 182 (2022) 114097.
- [14] G. Wang, J. Wang, W. Wu, S.S. Tony To, H. Zhao, J. Wang, *Expert opinion on drug delivery*, 12 (2015) 1475-1499.

- [15] M.R. Ali, Y. Wu, M.A. El-Sayed, *The Journal of Physical Chemistry C*, 123 (2019) 15375-15393.
- [16] L.M. Ailioaie, C. Ailioaie, G. Litscher, *Pharmaceutics*, 15 (2023) 916.
- [17] K. Niikura, N. Iyo, T. Higuchi, T. Nishio, H. Jinnai, N. Fujitani, K. Ijiro, *Journal of the American Chemical Society*, 134 (2012) 7632-7635.
- [18] A.R. Guerrero, N. Hassan, C.A. Escobar, F. Albericio, M.J. Kogan, E. Araya, *Nanomedicine*, 9 (2014) 2023-2039.
- [19] S. Park, W.J. Lee, S. Park, D. Choi, S. Kim, N. Park, *Scientific reports*, 9 (2019) 20180.
- [20] Y. Yu, W. Zhao, X. Yuan, R. Li, *Frontiers in Chemistry*, 10 (2022) 1090795.
- [21] N. Xu, S. Jin, L. Wang, *Reviews in Analytical Chemistry*, 40 (2021) 1-11.
- [22] C. Cao, N. Yang, X. Wang, J. Shao, X. Song, C. Liang, W. Wang, X. Dong, *Coordination Chemistry Reviews*, 491 (2023) 215245.
- [23] J. Urquhart, *Journal of internal medicine*, 249 (2001) 75-94.
- [24] C. Li, J. Wang, Y. Wang, H. Gao, G. Wei, Y. Huang, H. Yu, Y. Gan, Y. Wang, L. Mei, *Acta pharmaceutica sinica B*, 9 (2019) 1145-1162.
- [25] K. Park, *Journal of Controlled Release*, 190 (2014) 3-8.
- [26] J. Zhang, P.X. Ma, *Advanced drug delivery reviews*, 65 (2013) 1215-1233.
- [27] S. Li, W.C. Purdy, *Chemical Reviews*, 92 (1992) 1457-1470.
- [28] J.-u. Lee, S.-S. Lee, S. Lee, H.B. Oh, *Molecules*, 25 (2020) 4048.
- [29] T. Loftsson, D. Duchene, *International journal of pharmaceutics*, 329 (2007) 1-11.
- [30] C. Fundamentals, *Inserious of Environmental Chemistry for a Sustainable World*, Lichtfouse, E., Fourmentin, S., and Crini, G., Eds., Springer, 262 (2018).
- [31] M. Kfoury, D. Landy, S. Fourmentin, *Molecules*, 23 (2018) 1204.

- [32] T. Simon-Yarza, T. Baati, F. Neffati, L. Njim, P. Couvreur, C. Serre, R. Gref, M.F. Najjar, A. Zakhama, P. Horcajada, *International Journal of Pharmaceutics*, 511 (2016) 1042-1047.
- [33] Z.D. Luo, S.R. Fan, C.Y. Gu, W.C. Liu, J.X. Chen, B.H. Li, J.A. Liu, *Current Medicinal Chemistry*, 26 (2019) 3341-3369.
- [34] S.Y. He, L. Wu, X. Li, H.Y. Sun, T. Xiong, J. Liu, C.X. Huang, H.P. Xu, H.M. Sun, W.D. Chen, R. Gref, J.W. Zhang, *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 11 (2021) 2362-2395.
- [35] M. Giménez-Marqués, E. Bellido, T. Berthelot, T. Simón-Yarza, T. Hidalgo, R. Simón-Vázquez, A. González-Fernández, J. Avila, M.C. Asensio, R. Gref, P. Couvreur, C. Serre, P. Horcajada, *Small*, 14 (2018).
- [36] H.-C.J. Zhou, S. Kitagawa, *Chemical Society Reviews*, 43 (2014) 5415-5418.
- [37] P. Horcajada, T. Chalati, C. Serre, B. Gillet, C. Sebrie, T. Baati, J.F. Eubank, D. Heurtaux, P. Clayette, C. Kreuz, J.S. Chang, Y.K. Hwang, V. Marsaud, P.N. Bories, L. Cynober, S. Gil, G. Férey, P. Couvreur, R. Gref, *Nature Materials*, 9 (2010) 172-178.
- [38] M.A. Simon, E. Anggraeni, F.E. Soetaredjo, S.P. Santoso, W. Irawaty, T.C. Thanh, S.B. Hartono, M. Yuliana, S. Ismadji, *Scientific Reports*, 9 (2019).
- [39] M.T. Marcos-Almaraz, R. Gref, V. Agostoni, C. Kreuz, P. Clayette, C. Serre, P. Couvreur, P. Horcajada, *Journal of Materials Chemistry B*, 5 (2017) 8563-8569.
- [40] S. Rojas, F.J. Carmona, C.R. Maldonado, P. Horcajada, T. Hidalgo, C. Serre, J.A.R. Navarro, E. Barea, *Inorganic Chemistry*, 55 (2016) 2650-2663.
- [41] 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 Transactions*, 41 (2012) 6906-6909.
- [42] H.Q. Gao, Y.Q. Zhang, B. Chi, C.X. Lin, F. Tian, M.Y. Xu, Y.X. Wang, Z.S. Xu, L. Li, J. Wang, *Nanotechnology*, 31 (2020).
- [43] I.A. Lázaro, S.A. Lázaro, R.S. Forgan, *Chemical Communications*, 54 (2018) 2792-2795.
- [44] D. Cunha, M. Ben Yahia, S. Hall, S.R. Miller, H. Chevreau, E. Elkaïm, G. Maurin, P. Horcajada, C. Serre, *Chemistry of Materials*, 25 (2013) 2767-2776.

- [45] Y.Z. He, W. Zhang, T. Guo, G.Q. Zhang, W. Qin, L. Zhang, C.F. Wang, W.F. Zhu, M. Yang, X.X. Hu, V. Singh, L. Wu, R. Gref, J.W. Zhang, *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 9 (2019) 97-106.
- [46] X.X. Hu, C.F. Wang, L.B. Wang, Z.X. Liu, L. Wu, G.Q. Zhang, L. Yu, X.H. Ren, P. York, L.X. Sun, J.W. Zhang, H.Y. Li, *International Journal of Pharmaceutics*, 564 (2019) 153-161.
- [47] J. Zhuang, A.P. Young, C.K. Tsung, *Small*, 13 (2017) 1700880.
- [48] Y. Shan, L. Chen, H. Pang, Q. Xu, *Small Structures*, 2 (2021) 2000078.
- [49] R.A. Smaldone, R.S. Forgan, H. Furukawa, J.J. Gassensmith, A.M.Z. Slawin, O.M. Yaghi, J.F. Stoddart, *Angewandte Chemie International Edition*, 49 (2010) 8630-8634.
- [50] Z. Li, M. Wang, F. Wang, Z. Gu, G. Du, J. Wu, J. Chen, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 77 (2007) 245-255.
- [51] M.P. Abuçafy, B.L. Caetano, B.G. Chiari-Andréo, B. Fonseca-Santos, A.M. Do Santos, M. Chorilli, L.A. Chiavacci, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 127 (2018) 112-119.
- [52] Y. Furukawa, T. Ishiwata, K. Sugikawa, K. Kokado, K. Sada, *Angewandte Chemie*, 124 (2012) 10718-10721.
- [53] I. Kritskiy, T. Volkova, A. Surov, I. Terekhova, *Carbohydrate Polymers*, 216 (2019) 224-230.
- [54] Z.M. Hu, S.N. Li, S.K. Wang, B. Zhang, Q. Huang, *Food Chemistry*, 338 (2021).
- [55] Y. Han, W. Liu, J. Huang, S. Qiu, H. Zhong, D. Liu, J. Liu, *Pharmaceutics*, 10 (2018) 271.
- [56] A. Hamed, A. Anceschi, A. Patrucco, M. Hasanzadeh, *Journal of Drug Targeting*, 30 (2022) 381-393.
- [57] Y.X. Zhou, Y.T. Zhao, B.Y. Niu, Q.R. Luo, Y. Zhang, G.L. Quan, X. Pan, C.B. Wu, *International Journal of Pharmaceutics*, 588 (2020).
- [58] Y.Y. Li, H.B. Huang, C.W. Ding, X.P. Zhou, H. Li, *Materials Letters*, 300 (2021).

- [59] K.J. Hartlieb, D.P. Ferris, J.M. Holcroft, I. Kandela, C.L. Stern, M.S. Nassar, Y.Y. Botros, J.F. Stoddart, *Molecular Pharmaceutics*, 14 (2017) 1831-1839.
- [60] X. Li, T. Guo, L. Lachmanski, F. Manoli, M. Menendez-Miranda, I. Manet, Z. Guo, L. Wu, J.W. Zhang, R. Gref, *International Journal of Pharmaceutics*, 531 (2017) 424-432.
- [61] H. Li, N. Lv, X. Li, B. Liu, J. Feng, X. Ren, T. Guo, D. Chen, J. Fraser Stoddart, R. Gref, J. Zhang, *Nanoscale*, 9 (2017) 7454-7463.
- [62] X. Li, T. Guo, L. Lachmanski, F. Manoli, M. Menendez-Miranda, I. Manet, Z. Guo, L. Wu, J. Zhang, R. Gref, *International Journal of Pharmaceutics*, 531 (2017) 424-432.
- [63] Y. Wei, C. Chen, S. Zhai, M. Tan, J. Zhao, X. Zhu, L. Wang, Q. Liu, T. Dai, *Drug Delivery*, 28 (2021) 372-379.
- [64] X. Xu, C. Wang, H. Li, X. Li, B. Liu, V. Singh, S. Wang, L. Sun, R. Gref, J. Zhang, *Journal of Chromatography A*, 1488 (2017) 37-44.
- [65] A. Nagai, S. Tsutsumi, W. Michida, M. Sakuragi, K. Mizuki, K. Kusakabe, *JOURNAL OF CHEMICAL ENGINEERING OF JAPAN*, 51 (2018) 615-619.
- [66] Q. Sun, J. Sheng, R. Yang, *Food & Function*, 12 (2021) 10795-10805.
- [67] G. Amoabediny, F. Haghirsadat, S. Naderinezhad, M.N. Helder, E. Akhondi Kharanaghi, J. Mohammadnejad Arough, B. Zandieh-Doulabi, *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 67 (2018) 383-400.
- [68] S.Z. Vahed, R. Salehi, S. Davaran, S. Sharifi, *Materials Science and Engineering C-Materials for Biological Applications*, 71 (2017) 1327-1341.
- [69] T. Olusanya, R. Haj Ahmad, D. Ibegbu, J. Smith, A. Elkordy, *Molecules*, 23 (2018) 907.
- [70] Y. Qin, H.L. Chen, W.M. Yuan, R. Kuai, Q.Y. Zhang, F.L. Xie, L. Zhang, Z.R. Zhang, J. Liu, Q. He, *International Journal of Pharmaceutics*, 419 (2011) 85-95.
- [71] J. Azzi, L. Auezova, P.E. Danjou, S. Fourmentin, H. Greige-Gerges, *Food Chemistry*, 255 (2018) 399-404.
- [72] S.Y. Geng, B. Yang, G.W. Wang, G. Qin, S. Wada, J.Y. Wang, *Nanotechnology*, 25 (2014).

- [73] J. Mu, L.C. He, P. Huang, X.Y. Chen, *Coordination Chemistry Reviews*, 399 (2019).
- [74] D. Liu, C. Poon, K. Lu, C. He, W. Lin, *Nature Communications*, 5 (2014).
- [75] S. Wuttke, S. Braig, T. Preiß, A. Zimpel, J. Sicklinger, C. Bellomo, J.O. Rädler, A.M. Vollmar, T. Bein, *Chemical Communications*, 51 (2015) 15752-15755.
- [76] N. Gupta, R. Malviya, *Biochimica Et Biophysica Acta-Reviews on Cancer*, 1875 (2021).
- [77] S.P. Singh, S.B. Alvi, D.B. Pemmaraju, A.D. Singh, S.V. Manda, R. Srivastava, A.K. Rengan, *International Journal of Biological Macromolecules*, 110 (2018) 375-382.
- [78] J.B. Vines, J.H. Yoon, N.E. Ryu, D.J. Lim, H. Park, *Frontiers in Chemistry*, 7 (2019).
- [79] X.H. Huang, P.K. Jain, I.H. El-Sayed, M.A. El-Sayed, *Lasers in Medical Science*, 23 (2008) 217-228.
- [80] X.H. Huang, M.A. El-Sayed, *Journal of Advanced Research*, 1 (2010) 13-28.
- [81] M. Devi, S. Awasthi, *International Conference on Advances in Basic Sciences (ICABS) Bahal, INDIA, 2019*.
- [82] A.K. Khan, R. Rashid, G. Murtaza, A. Zahra, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13 (2014) 1169-1177.
- [83] P. Ghosh, G. Han, M. De, C.K. Kim, V.M. Rotello, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60 (2008) 1307-1315.
- [84] X. Huang, P.K. Jain, I.H. El-Sayed, M.A. El-Sayed, *Lasers in Medical Science*, 23 (2008) 217-228.
- [85] T.K. Sau, A.S. Urban, S.K. Dondapati, M. Fedoruk, M.R. Horton, A.L. Rogach, F.D. Stefani, J.O. Rädler, J. Feldmann, *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*, 342 (2009) 92-96.
- [86] R. Ahmad, J. Fu, N.Y. He, S. Li, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 16 (2016) 67-80.
- [87] Y.C. Li, J. Sun, L.J. Huang, S.J. Liu, S.C. Wang, D.H. Zhang, M.Q. Zhu, J.L. Wang, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21 (2022) 5077-5108.

- [88] J. Han, J. Yoon, *Acs Applied Bio Materials*, 3 (2020) 7344-7351.
- [89] M. Ghorbani, Z. Izadi, S. Jafari, E. Casals, F. Rezaei, A. Aliabadi, A. Moore, A. Ansari, V. Puentes, M. Jaymand, H. Derakhshankhah, *Nanomedicine*, 16 (2021).
- [90] A. Robert, B. Meunier, *ACS Nano*, 16 (2022) 6956-6959.
- [91] R.S. Singh, T. Singh, A.K. Singh, in: R.S. Singh, R.R. Singhanian, A. Pandey, C. Larroche (Eds.) *Advances in Enzyme Technology*, Elsevier 2019, pp. 225-271.
- [92] C.Y. Hong, X.Q. Meng, J.Y. He, K.L. Fan, X.Y. Yan, *Particuology*, 71 (2022) 90-107.
- [93] L.Z. Gao, X.Y. Yan, *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 40 (2013) 892-902.
- [94] X.Q. Meng, K.L. Fan, X.Y. Yan, *Science China-Life Sciences*, 62 (2019) 1543-1546.
- [95] X.Y. Wang, W. Cao, L. Qin, T.S. Lin, W. Chen, S.C. Lin, J. Yao, X.Z. Zhao, M. Zhou, C. Hang, H. Wei, *Theranostics*, 7 (2017) 2277-2286.
- [96] L.Z. Gao, J. Zhuang, L. Nie, J.B. Zhang, Y. Zhang, N. Gu, T.H. Wang, J. Feng, D.L. Yang, S. Perrett, X. Yan, *Nature Nanotechnology*, 2 (2007) 577-583.
- [97] S.Y. Fu, S. Wang, X.D. Zhang, A.H. Qi, Z.R. Liu, X. Yu, C.F. Chen, L.L. Li, *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces*, 154 (2017) 239-245.
- [98] J.J.X. Wu, X.Y. Wang, Q. Wang, Z.P. Lou, S.R. Li, Y.Y. Zhu, L. Qin, H. Wei, *Chemical Society Reviews*, 48 (2019) 1004-1076.
- [99] M.M. Liang, X.Y. Yan, *Accounts of Chemical Research*, 52 (2019) 2190-2200.
- [100] Y.H. Lin, Z.H. Li, Z.W. Chen, J.S. Ren, X.G. Qu, *Biomaterials*, 34 (2013) 2600-2610.
- [101] S. Jimenez-Falcao, J.M. Méndez-Arriaga, V. García-Almodóvar, A.A. García-Valdivia, S. Gómez-Ruiz, *Catalysts*, 13 (2023).
- [102] A. Heine, G. DeSantis, J.G. Luz, M. Mitchell, C.H. Wong, I.A. Wilson, *Science*, 294 (2001) 369-374.
- [103] M. Sharifi, K. Faryabi, A.J. Talaie, M.S. Shekha, M. Ale-Ebrahim, A. Salihi, N.M.Q. Nanakali, F.M. Aziz, B. Rasti, A. Hasan, M. Falahati, *Journal of Molecular Liquids*, 297 (2020).

- [104] J.L.Y. Chen, C. Pezzato, P. Scrimin, L.J. Prins, *Chemistry – A European Journal*, 22 (2016) 7028-7032.
- [105] S. Singh, P. Tripathi, N. Kumar, S. Nara, *Biosensors & Bioelectronics*, 92 (2017) 280-286.
- [106] X. Li, Z. Qi, K. Liang, X. Bai, J. Xu, J. Liu, J. Shen, *Catalysis Letters*, 124 (2008) 413-417.
- [107] T.K. Sharma, R. Ramanathan, P. Weerathunge, M. Mohammadtaheri, H.K. Daima, R. Shukla, V. Bansal, *Chem. Commun.*, 50 (2014) 15856-15859.
- [108] M. Comotti, C. Della Pina, R. Matarrese, M. Rossi, *Angewandte Chemie International Edition*, 43 (2004) 5812-5815.
- [109] Y. Tao, E. Ju, J. Ren, X. Qu, *Advanced Materials*, 27 (2015) 1097-1104.
- [110] Y.H. Hu, H.J. Cheng, X.Z. Zhao, J.J. Wu, F. Muhammad, S.C. Lin, J. He, L.Q. Zhou, C.P. Zhang, Y. Deng, P. Wang, Z.Y. Zhou, S.M. Nie, H. Wei, *Acs Nano*, 11 (2017) 5558-5566.
- [111] W.C. Hu, M.R. Younis, Y. Zhou, C. Wang, X.H. Xia, *Small*, 16 (2020) 2000553.
- [112] S. Thangudu, M.T. Lee, S. Rtimi, *Catalysts*, 10 (2020).
- [113] S. Thangudu, C.H. Su, *Biomolecules*, 11 (2021).
- [114] B. Jiang, D.M. Duan, L.Z. Gao, M.J. Zhou, K.L. Fan, Y. Tang, J.Q. Xi, Y.H. Bi, Z. Tong, G.F. Gao, N. Xie, A. Tango, G.H. Nie, M.M. Liang, X.Y. Yan, *Nature Protocols*, 13 (2018) 1506-1520.
- [115] Y.B. Zhou, B.W. Liu, R.H. Yang, J.W. Liu, *Bioconjugate Chemistry*, 28 (2017) 2903-2909.
- [116] B.W. Liu, Z.C. Huang, J.W. Liu, *Nanoscale*, 8 (2016) 13562-13567.
- [117] X.L. Zhang, G.L. Li, D. Wu, X.L. Li, N. Hu, J. Chen, G. Chen, Y.N. Wu, *Biosensors & Bioelectronics*, 137 (2019) 178-198.
- [118] D. Li, L. Xia, G.K. Li, *Chemosensors*, 10 (2022).

- [119] R. Roskoski, Reference Module in Biomedical Sciences, Elsevier**2015**.
- [120] B. Liu, H. Li, X. Xu, X. Li, N. Lv, V. Singh, J.F. Stoddart, P. York, X. Xu, R. Gref, International journal of pharmaceutics, 514 (**2016**) 212-219.
- [121] X. Pan, S.A. Junejo, C.P. Tan, B. Zhang, X. Fu, Q. Huang, Journal of the Science of Food and Agriculture, 102 (**2022**) 6387-6396.
- [122] M. Shen, J. Zhou, M. Elhadidy, Y. Xianyu, J. Feng, D. Liu, T. Ding, Ultrasonics Sonochemistry, 86 (**2022**) 106003.
- [123] L. Jiang, F. Wang, M. Du, C. Xie, X. Xie, H. Zhang, X. Meng, A. Li, T. Deng, Food Chemistry, 394 (**2022**) 133553.
- [124] G. Alp, E. Alp, N. Aydogan, Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 585 (**2020**) 124051.
- [125] G. Shao, S. Wang, H. Zhao, G. Zhao, L. Yang, L. Zhu, H. Liu, Carbohydrate Polymers, 278 (**2022**) 118915.
- [126] X. Li, G. Salzano, J. Qiu, M. Menard, K. Berg, T. Theodossiou, C. Ladavière, R. Gref, Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 8 (**2020**) 1027.
- [127] S.P. Singh, S.B. Alvi, D.B. Pemmaraju, A.D. Singh, S.V. Manda, R. Srivastava, A.K. Rengan, International journal of biological macromolecules, 110 (**2018**) 375-382.
- [128] Y. Lin, Z. Li, Z. Chen, J. Ren, X. Qu, Biomaterials, 34 (**2013**) 2600-2610.
- [129] L. Gao, J. Zhuang, L. Nie, J. Zhang, Y. Zhang, N. Gu, T. Wang, J. Feng, D. Yang, S. Perrett, Nature nanotechnology, 2 (**2007**) 577-583.
- [130] Y. Song, K. Qu, C. Zhao, J. Ren, X. Qu, Advanced Materials, 22 (**2010**) 2206-2210.
- [131] S. Ebnesajjad, in: S. Ebnesajjad (Ed.) Surface Treatment of Materials for Adhesive Bonding (Second Edition), William Andrew Publishing, Oxford, **2014**, pp. 39-75.
- [132] F. Rost, in: J.C. Lindon, G.E. Tranter, D.W. Koppenaal (Eds.) Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry (Third Edition), Academic Press, Oxford, **2017**, pp. 627-631.
- [133] Y. Seo, W. Jhe, Reports on Progress in Physics, 71 (**2007**) 016101.

- [134] A. Mohammed, A. Abdullah, Proceedings of the 2018 International Conference on Hydraulics and Pneumatics—HERVEX, Băile Govora, Romania, **2018**, pp. 7-9.
- [135] F.S. Rocha, A.J. Gomes, C.N. Lunardi, S. Kaliaguine, G.S. Patience, The Canadian Journal of Chemical Engineering, 96 (**2018**) 2512-2517.
- [136] P.B. Raja, K.R. Munusamy, V. Perumal, M.N.M. Ibrahim, Nano-bioremediation: fundamentals and applications, Elsevier**2022**, pp. 57-83.
- [137] A.A. Bunaciu, E.G. UdriȘTioiu, H.Y. Aboul-Enein, Critical reviews in analytical chemistry, 45 (**2015**) 289-299.
- [138] J. Stetefeld, S.A. McKenna, T.R. Patel, Biophysical reviews, 8 (**2016**) 409-427.
- [139] H. Yuan, L.-L. Wang, Y.-Z. Du, J. You, F.-Q. Hu, S. Zeng, Colloids and surfaces B: Biointerfaces, 60 (**2007**) 174-179.
- [140] W. Abdelwahed, G. Degobert, S. Stainmesse, H. Fessi, Advanced drug delivery reviews, 58 (**2006**) 1688-1713.
- [141] E. Assuncao, S. Williams, Optics and lasers in Engineering, 51 (**2013**) 674-680.
- [142] A. Shahzaib, Shaily, I. Ahmad, P. Singh, F. Zafar, Y. Akhtar, A.A. Bukhari, N. Nishat, Catalysis Communications, 174 (**2023**) 106569.
- [143] Y. Li, H. Huang, C. Ding, X. Zhou, H. Li, Materials Letters, 300 (**2021**) 129766.
- [144] C. Qiu, D.J. McClements, Z. Jin, C. Wang, Y. Qin, X. Xu, J. Wang, Journal of colloid and interface science, 553 (**2019**) 549-556.
- [145] P. Latimer, Biophysical Journal, 27 (**1979**) 117-126.
- [146] V. Singh, T. Guo, H. Xu, L. Wu, J. Gu, C. Wu, R. Gref, J. Zhang, Chemical Communications, 53 (**2017**) 9246-9249.
- [147] H. Musarurwa, N.T. Tavengwa, Carbohydrate Polymers, 275 (**2022**) 118743.
- [148] L. Toniolo, T. Poli, V. Castelvetro, A. Manariti, O. Chiantore, M. Lazzari, Journal of Cultural Heritage, 3 (**2002**) 309-316.

- [149] Z. Moussa, M. Hmadeh, M.G. Abiad, O.H. Dib, D. Patra, *Food chemistry*, 212 (2016) 485-494.
- [150] A. Sahu, N. Kasoju, U. Bora, *Biomacromolecules*, 9 (2008) 2905-2912.
- [151] P. Arya, N. Raghav, *Journal of Molecular Structure*, 1228 (2021) 129774.
- [152] H.Y. Wang, J. Han, X.G. Feng, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 66 (2007) 578-585.
- [153] S. Schuy, S. Faiss, N.C. Yoder, V. Kalsani, K. Kumar, A. Janshoff, R. Vogel, *The Journal of Physical Chemistry B*, 112 (2008) 8250-8256.
- [154] A.O. Hohner, M.P.C. David, J.O. Rädler, *Biointerphases*, 5 (2010) 1-8.
- [155] R. Yu, J. Wang, M. Han, M. Zhang, P. Zeng, W. Dang, J. Liu, Z. Yang, J. Hu, Z. Tian, *ACS omega*, 5 (2020) 8293-8298.
- [156] M. Luty-Błoch, K. Fitzner, V. Hessel, P. Löb, M. Maskos, D. Metzke, K. Paclawski, M. Wojnicki, *Chemical engineering journal*, 171 (2011) 279-290.
- [157] D. Liu, F. Zhou, C. Li, T. Zhang, H. Zhang, W. Cai, Y. Li, *Angewandte Chemie International Edition*, 54 (2015) 9596-9600.
- [158] J. Djafari, A.n. Fernández-Lodeiro, D. García-Lojo, J. Fernández-Lodeiro, B. Rodríguez-González, I. Pastoriza-Santos, J. Pérez-Juste, J.L. Capelo, C. Lodeiro, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 7 (2019) 8295-8302.
- [159] Y. Zhang, Y. Hu, G. Li, R. Zhang, *Microchimica Acta*, 186 (2019) 1-10.
- [160] X. Huang, F. Xu, H. Hou, J. Hou, Y. Wang, S. Zhou, *Nano Research*, 12 (2019) 1361-1370.
- [161] M. Jeon, G. Kim, W. Lee, S. Baek, H.N. Jung, H.-J. Im, *Journal of Nanobiotechnology*, 19 (2021) 1-16.
- [162] A. Kanwal, B. Saif, A. Muhammad, W. Liu, J. Liu, H. Ren, P. Yang, Z. Lei, *ACS Applied Nano Materials*, 6 (2023) 4734-4746.
- [163] L. Hu, H. Liao, L. Feng, M. Wang, W. Fu, *Analytical Chemistry*, 90 (2018) 6247-6252.

[164] J. Dong, L. Song, J.-J. Yin, W. He, Y. Wu, N. Gu, Y. Zhang, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 6 (2014) 1959-1970.

