

**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**NANOTEKNOLOJİNİN FARMASÖTİK UYGULAMALARDA  
KULLANIMININ VE NANOPARTİKÜLLERİN TOKSİK  
ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Kim. Müh. Ebru Hilal ACAR**

**Farmasötik Toksikoloji Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ANKARA  
2021**



**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**NANOTEKNOLOJİNİN FARMASÖTİK UYGULAMALARDA  
KULLANIMININ VE NANOPARTİKÜLLERİN TOKSİK  
ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Kim. Müh. Ebru Hilal ACAR**

**Farmasötik Toksikoloji Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Ülkü ÜNDEĞER BUCURGAT**

**ANKARA  
2021**

**ONAY SAYFASI**

**NANOTEKNOLOJİNİN FARMASÖTİK  
UYGULAMALARDA KULLANIMININ VE NANOPARTİKÜLLERİN  
TOKSİK ETKİLERİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ  
Öğrenci: Ebru Hilal ACAR**

**Danışman: Prof. Dr. Ülkü ÜNDEĞER BUCURGAT**

Bu tez çalışması 21.12.2021 tarihinde jürimiz tarafından “Farmasötik Toksikoloji Programı”nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

**Jüri Başkanı:** *Prof. Dr. Ülfet Pınar ERKEKOĞLU*  
*Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi*

**Tez Danışmanı:** *Prof. Dr. Ülkü ÜNDEĞER BUCURGAT*  
*Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi*

**Üye:** *Prof. Dr. Nurşen BAŞARAN*  
*Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi*

**Üye:** *Prof. Dr. Sevtap AYDIN DİLSİZ*  
*Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi*

**Üye:** *Prof. Dr. Aylin ÜSTÜNDAĞ*  
*Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi*

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Müge YEMİŞCİ ÖZKAN

**Enstitü Müdürü**

27 Aralık 2021

## YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan “*Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge*” kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. <sup>(1)</sup>
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren... ay ertelenmiştir. <sup>(2)</sup>
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmişti

...../...../.....

Ebru Hilal ACAR

<sup>1</sup> “*Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge*”

- (1) *Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.*
- (2) *Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internette paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile altı ay aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.*
- (3) *Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, tezin yapıldığı kurum tarafından verilir \*. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, ilgili kurum ve kuruluşun önerisi ile enstitü veya fakültenin uygun görüşü üzerine üniversite yönetim kurulu tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir. Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir.*

*\*Tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.*

## ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Prof. Dr. Ülkü ÜNDEĞER BUCURGAT danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

*Ebru Hilal ACAR*

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca yardım ve desteklerini esirgemeyen, bilgi ve tecrübeleri ile çalışmalarına yön veren danışman hocam sayın Prof. Dr. Ülkü ÜNDEĞER BUCURGAT'a,

Her zaman yanımda olup beni her koşulda destekleyen sevgili annem Refiye YURDAKUL ACAR'a ve sevgili babam Fayik ACAR'a,

Tez yazım sürecinde desteğini ve ilgisini esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Kübra Rabia CAN'a, Rana ÜLKER ÖZKAN'a, Filiz OZUL'a ve Bahar DAL KIVILCIM'a,

Çok teşekkür ederim.

## ÖZET

**ACAR, E. H., Nanoteknolojinin Farmasötik Uygulamalarda Kullanımının ve Nanopartiküllerin Toksik Etkilerinin Değerlendirilmesi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Toksikoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2021.** Nanoteknoloji nano ölçekteki yapıların elektronik, manyetik, mekanik vb. teknolojik alanlarda kullanımını ifade eden bir kavramdır. Nanoteknolojinin tıp ve farmasötik alanlarında kullanımıyla da nanotıp ve nanofarmasötik kavramları hayatımıza girmiştir. Nano yapıların özgün özelliklerinden yararlanmak üzere geliştirilen nanofarmasötikler teşhis, tedavi ve teranöstik uygulamalarda oldukça etkin sonuçlar vermektedir. Yapılan çalışmalarda farklı uygulama yolları, farklı dozaj şekilleri için farklı malzemelerden yapılmış nanofarmasötikler kullanılmaktadır. Çalışma sonuçları özellikle teşhis ve tedavi etkinliğinin artmasında; yan etkilerin azalmasında nanofarmasötiklerin umut verici olduğunu göstermektedir. Ancak nanofarmasötiklerin toksisitesi önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Nanoyapıların fizikokimyasal özellikleri toksik özellikleri üzerinde doğrudan etkilidir. Aynı malzemenin makro formunun toksik olmadığı durumlarda dahi nano formunun küçük partikül boyutu, yüksek yüzey alanı gibi özellikler sebebiyle toksik olabildiği; ayrıca toksik etkinin birçok değişkenden etkilendiği tespit edilmiştir. Dolayısı ile her bir uygulama için ilgili nanofarmasötüğün toksisitesini tayin etmek, yapının güvenilir şekilde karakterize edilmesini ve standart toksisite test yöntemlerinin uygulanmasını gerektirir. Ancak çalışmamız kapsamında belirlendiği üzere karakterizasyon ve toksisite testleri için ulusal veya uluslararası düzenleyici otoriteler tarafından nanofarmasötiklere özel standartlar tanımlanmamıştır. Bu durum literatürde yer alan çalışma sonuçları arasındaki varyasyonların nedenini açıklamaktadır ve nanofarmasötik türlerinin toksik etkileri ve nedenleri konusunda genelleme yapmayı olanaksız kılmaktadır. Ancak nanofarmasötiklerin toksik özelliklerinin çok sayıda parametreden etkilendiği göz önünde bulundurularak sağlam bir karakterizasyon yöntemi geliştirilmeli ve temsil edicilik açısından iyi tasarlanmış yöntemler ile toksisite değerlendirmeleri yapılmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** nanotıp, ilaç hedeflendirme, ilaç taşıma, toksisite.



## ABSTRACT

**ACAR, E. H., Evaluation of the Use of Nanotechnology in Pharmaceutical Applications and the Toxic Effects of Nanoparticles, Hacettepe University Graduate School Health Sciences Pharmacy Department of Pharmaceutical Toxicology Master of Science Thesis, Ankara, 2021.** Nanotechnology is a term that

refers to the use of nano-structures in technological fields such as electronic, magnetic, mechanical. With the use of nanotechnology in medicine and pharmaceuticals, the concepts of nanomedicine and nanopharmaceuticals have entered our lives. Nanopharmaceuticals have been developed to take advantage of the unique properties of nanostructures. Nanopharmaceuticals give very effective results in diagnosis, treatment and therapeutic applications. In the studies, nanopharmaceuticals made of different materials are used for different administration routes and different dosage forms. The results of the studies show that nanopharmaceuticals are promising in increasing the efficiency of diagnosis and treatment and reducing side effects. However, the toxicity of nanopharmaceuticals is an important problem. The physicochemical properties of nanostructures have a direct effect on their toxic properties. Even when the macro form of the same material is non toxic, the nano form can be toxic due to features such as small particle size and high surface area; in addition, it has been determined that the toxic effect is affected by many variables. Therefore, determining the toxicity of the respective nanopharmaceutical for each application requires reliable characterization of the structure and application of standard toxicity test methods. However, as determined within the scope of our study, nanopharmaceutical-specific standards have not been defined by national or international regulatory authorities for characterization and toxicity tests. This explains the reason for the variations among the study results in the literature and makes it impossible to generalize about the toxic effects and causes of nanopharmaceutical types. Since the toxic properties of nanopharmaceuticals are affected by many parameters, a robust characterization method should be developed and toxicity assessments should be made with well-designed methods.

**Key Words:** nanomedicine, drug targetting, drug delivery, toxicity.

## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
TABLolar	xv
<b>1. GİRİŞ</b>	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	3
2.1. Nanoteknoloji Nedir?	3
2.2. Nanotıp ve Nanofarmasötik Kavramlarının Gelişimi	4
2.3. Nanotıp Uygulamaları	5
2.3.1. İlaç Taşıyıcı Nanosistemler	6
2.3.2. Medikal Görüntüleme Amaçlı Nano-Sistemler	7
2.3.3. Nanoaygıtlar	7
2.4. Nanotıp/Nanofarmasötik Uygulamalarda Kullanılan Nanotaşıyıcı Yapılar	7
2.4.1. Organik Nanotaşıyıcılar	8
2.4.2. İnorganik Nanotaşıyıcılar/Nanopartiküller	12
2.4.3. Karbon-temelli Nanotaşıyıcılar	13
2.5. Nanotaşıyıcı Yapıların Uygulama Yolları ve Kullanım Alanları	14
2.5.1. Beyin Hedefli Nanotaşıyıcılar	14
2.5.2. Pulmoner Uygulanan Nanotaşıyıcılar	16
2.5.3. Oral Uygulanan Nanotaşıyıcılar	18
2.5.4. Oküler Uygulanan Nanotaşıyıcılar	19
2.5.5. Topikal Uygulanan Nanotaşıyıcılar	20
2.5.6. Aş1 Uygulamasında Kullanılan Nanotaşıyıcılar	21
2.5.7. Tümör Tedavisinde Kullanılan Nanotaşıyıcılar	22

2.5.8. Gen Tedavisinde Nanotaşıyıcı Kullanımı	26
2.5.9. Medikal Görüntülemeye Nanotaşıyıcı Kullanımı	27
2.6. Nanotaşıyıcı Yapıların Hazırlanma Yöntemleri	27
2.6.1. Polimerik Nanopartiküllerin Hazırlanması	27
2.6.2. Dendrimerlerin Hazırlanması	30
2.6.3. Lipozomların Hazırlanması	30
2.6.4. Niozomların Hazırlanması	31
2.6.5. Lipit Nanopartiküllerin Hazırlanması	32
2.6.6. Nanoemülsiyonların Hazırlanması	33
2.6.7. Misellerin Hazırlanması	33
2.6.8. Nanokristallerin Hazırlanması	34
2.6.9. Karbon-temelli Nano Yapıların Hazırlanması	34
2.6.10. Plimer-İlaç Konjugatlarının Hazırlanması	35
2.6.11. İnorganik Nanopartiküllerin Hazırlanması	35
2.7. Nanotaşıyıcı Yapıların Karakterizasyon Yöntemleri	35
2.7.1. Partikül Büyüklüğü ve Büyüklük Dağılımı	36
2.7.2. Morfoloji/Şekil	37
2.7.3. Yüzey Yüğü	37
2.7.4. İlaç Yükleme Verimliliğı	37
2.7.5. İlaç Salım Profili	38
2.8. Nanotaşıyıcı Yapıların Hedeflendirilmesi	40
2.8.1. Pasif Hedeflendirme	41
2.8.2. Aktif Hedeflendirme	42
2.9. Farmasötik / Tıp Alanında Nanoyapıların Kullanılmasına İlişkin Mevzuat	43
2.9.1. Nanofarmasötiklere İlişkin EMA Yaklaşımı	45
2.9.2. Nanofarmasötiklere İlişkin FDA Yaklaşımı	46
2.9.3. Nanofarmasötiklere İlişkin Diğer Ülkelerin Yaklaşımı	47
2.9.4. Nanofarmasötiklere İlişkin Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Yaklaşımı	48
2.10. EMA ve FDA Onaylı Nanofarmasötikler	48
2.11. Nanofarmasötikler ve Toksikite	51

2.11.1. Nanoyapıların Toksikitesini Etkileyen Faktörler	52
2.11.2. Nanotoksosite Mekanizmaları	57
2.11.3. Nanotoksosite Tayin Yöntemleri	58
<b>3. YÖNTEM</b>	63
<b>4. BULGULAR</b>	64
4.1. Organik Nanoyapıların Toksikitesi	64
4.2. İnorganik Nanoyapıların Toksikitesi	66
4.2.1. Metalik Nanopartiküllerin Toksikitesi	66
4.2.2. Silika (SiO <sub>2</sub> ) Nanopartiküllerin Toksikitesi	69
4.2.3. Kuantum Noktalarının (QD) Toksikitesi	70
4.3. Karbon-temelli Nanopartiküllerin Toksikitesi	70
4.3.1. Karbon Nanotüplerin (KNT) Toksikitesi	71
4.3.2. Fullerenlerin Toksikitesi	71
<b>5. TARTIŞMA</b>	72
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER</b>	74
<b>7. KAYNAKLAR</b>	77
<b>8. EKLER</b>	
EK-1: Orjinallik Raporu	
<b>9. ÖZGEÇMİŞ</b>	

**SİMGELER VE KISALTMALAR**

<b>AFM</b>	Atomik Güç Mikroskobu (Atomic Force Microscopy)
<b>BT</b>	Bilgisayarlı Tomografi
<b>CALNN</b>	Sistein-alanin-lösin-asparajin-asparajin (Cysteine-alanine-leucine-asparagine)
<b>DLS</b>	Dinamik Işık Saçılımı (DLS-Dynamic Light Scattering)
<b>DSÖ</b>	Dünya Sağlık Örgütü
<b>EMA</b>	Avrupa İlaç Ajansı (European Medicines Agency)
<b>EPR</b>	Artmış Geçirgenlik ve Alıkonma (Enhanced Permeability and Retention)
<b>FDA</b>	Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration)
<b>ICH</b>	Uluslararası Uyum Konseyi (The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use)
<b>IPRF</b>	Uluslararası Farmasötik Düzenleyiciler Forumu (IPRF- International Pharmaceutical Regulators Forum)
<b>IUPAC</b>	Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (International Union of Pure and Applied Chemistry)
<b>KNT</b>	Karbon Nanotüp
<b>KOAH</b>	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
<b>LLS</b>	Lazer Işık Saçılımı (Laser Light Scattering)
<b>MERS-CoV</b>	Orta Doğu Solunum Sendromu Korona Virüsü (Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus)
<b>MHLW</b>	Japonya Sağlık, Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı (Ministry of Health, Labour and Welfare)
<b>MRI</b>	Manyetik Rezonans Görüntüleme (Magnetic Resonance Image)

<b>NP</b>	Nanopartikül (Nanoparticle)
<b>OECD</b>	Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (Organisation for Economic Co-operation and Development)
<b>PALS</b>	Faz Analizi Işık Saçılımı (Phase Analysis Light Scattering)
<b>PAMAM</b>	Poli(amidoamin) (Poly(amidoamine))
<b>PCS</b>	Foton Korelasyon Spektroskopisi (Photon Correlation Spectroscopy)
<b>PEG</b>	Polietilen Glikol (Polyethylene Glycol)
<b>pI</b>	İzoelektrik nokta (Isoelectric point)
<b>PNP</b>	Polistiren Nanopartikül (Polystyrene Nanoparticle)
<b>PPI</b>	Poly(propylene imine)
<b>RES</b>	Retiküloendotelyal Sistem (Reticuloendothelial System)
<b>ROS</b>	Reaktif Oksijen Türleri (Reactive Oxygen Species)
<b>SANS</b>	Küçük-açılı Nötron Saçılımı (Small-angle Neutron Scattering)
<b>SARS-CoV</b>	Ağır Akut Solunum Yolu Yetersizliği Sendromu Korona Virüsü (Severe Acute Respiratory Syndrome-Corona Virus)
<b>SAXS</b>	Küçük-açılı X-ışını Saçılımı (Small-angle X-ray Scattering)
<b>SEC</b>	Boyut Eksklüzyon Kromatografisi (Size Exclusion Chromatography)
<b>SEM</b>	Taramalı Electron Mikroskobu (Scanning Electron Microscopy)
<b>S/Y</b>	Yağ/Su

<b>S/Y/S</b>	Su/Yağ/Su
<b>TEM</b>	Geçirimli Elektron Mikroskopu (Transmission Electron Microscopy)
<b>Y/S</b>	Su/Yağ
<b>Y/S/Y</b>	Yağ/Su/Yağ

**TABLolar**

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa</b>
<b>2.1.</b> Nanotaşıyıcı sistemlerin karakterizasyonu ve test yöntemleri	39
<b>2.2.</b> Nanoilaçlara İlişkin EMA Yayınları	46
<b>2.3.</b> Nanoilaçlara ilişkin FDA Yayınları	47
<b>2.4.</b> EPAR veritabanında yapılan tarama sonuçlarına göre, 24.06.2021 tarihi itibarıyla EMA onaylı nanofarmasötikler	49
<b>6.1.</b> Literatür verilerinin nanoyapılara göre dağılımı.	76



## 1. GİRİŞ

Nanomalzemeler en az bir boyutu 100 nanometreden küçük partikülleri içeren; büyüklüğüne, boyut sayısına (noktasal, düzlemsel, 3 boyutlu), yapı maddesine, bileşimine, şekline ve kaynağına göre sınıflandırılabilen yapılardır. Nanoteknoloji ise bu nano boyutlu yapıların direnç, iletkenlik, dayanıklılık, hafiflik, reaktivite, uzun ömür ve geniş yüzey alanı gibi kendilerine has özelliklerinden yararlanarak; yeni tasarımlar, uygulamalar, ürünler ortaya çıkarmak üzere işleyen multidisipliner bir alandır (1).

Nanoteknolojinin en popüler kullanım alanlarından biri olarak nanotıp/nanofarmasötik uygulamaları karşımıza çıkar. Bu kapsamda nanomalzemeler özellikle nanocihaz, nanogörüntüleme, doku mühendisliği, antibakteriyel ajan ve ilaç taşıyıcı sistem bileşenleri olarak kullanılmaktadır (2). Ancak en yoğun kullanım alanları özellikle teşhis, kontrollü ilaç taşıma, rejeneratif tıp ve teşhis ile tedavinin birlikte gerçekleştirildiği teranöstik uygulamalarıdır. Nanopartiküllerin küçük boyutları sayesinde moleküler düzeyde etkileşime girebilmeleri; yüksek yüzey alanları sayesinde yüksek reaktif özellik göstermeleri ve yine nanoyapılı olmalarından kaynaklı optik, manyetik, fotoduyarlı vb. özellikleri bu alanlarda kullanım konusunda onları cazip kılar (3). Öte yandan aynı özellikler nanoyapılara toksik özellik de kazandırabilmektedir. Aynı maddenin makro boyutu ile nano boyutunun fizikokimyasal özellikleri ciddi farklılık gösterir; buna bağlı olarak nano boyuta indirildiğinde maddenin toksik özellikleri de değişir ve bu durum nanotoksosite kavramını hayatımıza kazandırır (4).

Nanomalzemeler farmasötik alanda; teşhis amacı ile özellikle görüntüleme işlemlerinde; tedavi amacı ile özellikle ilaç taşıyıcı sistemler olarak kullanılırlar. Kendilerine has özellikleri sayesinde hedeflendirilebilir, dolayısı ile hedef bölgede yüksek konsantrasyona ulaşabilir, dolaşımında uzun süre kalabilirler. Sonuçta hedef bölgedeki etkinlikleri artar iken istenmeyen dokularda birikmeleri önlenmiş olur (5).

Bu özellikleri sayesinde tıp/farmasötik dünyası için son derece cazip görünen nanoyapılar birçok çalışmaya konu olmaktadır. Ancak bu alanda kullanılacak malzeme çeşitliliği oldukça fazladır. Ayrıca nano yapının partikül büyüklüğü, büyüklük dağılımı, yüzey alanı, yüzey yükü, yüzey kaplaması, yüzeye eklenebilecek ligand türü, partikül morfolojisi gibi fizikokimyasal özellikleri ile; uygulama yolu,

süresi ve dozu yapının farmakokinetiğini, farmakodinamiğini ve dolayısı ile toksisitesini ciddi oranda etkilemektedir (6).

Toksisiteye etki edebilen çok sayıda değişken bulunması ve bu değişkenlerin limitlerinin de belirsizliği nanotoksikolojik değerlendirmeyi kompleks bir işleme dönüştürür (7). Mevcut durumda ulusal ve uluslararası düzenleyici/denetleyici otoriteler tarafından nanofarmasötiklerin özellikli ihtiyaçlarına yönelik standart gerekliliklerin tanımlanmamış olması ise bir başka sorun olarak karşımıza çıkar (8). Dolayısı ile nanoyapıların doğru karakterize edilmesi ve ilgili özellikler ile toksik etkiler arasında tutarlı bir korelasyon kurulması esaslı ve titiz bir değerlendirme gerektirir (7).

Hazırlanan bu tez çalışmasında farmasötik / tıp alanında yaygın kullanılan nanoyapıların belirlenmesi, bu yapıların karakteristik özelliklerinin tanımlanması, kullanım amacı ve uygulama yollarının değerlendirilmesi ve toksik etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Böylece geniş bir çeşitlilik sunan nanofarmasötikler için en azından gruplama yaparak belli sınırlar çerçevesinde olası toksik etkilerin öngörülebilirliğinin sağlanması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Nanoteknoloji Nedir?

Nano eki Antik Yunancada “cüce” anlamına gelir. Günümüzde ise genellikle çapı 100 nm’den küçük parçacıkları ifade etmek için kullanılır (9). Nanoparçacıklar ilk olarak 1900’lerin başında Richard Adolf Zsigmondy tarafından gözlemlenerek tanımlanmıştır (5). “Nanoteknoloji” terimi ise nano boyuttaki parçacıklara atıfta bulunularak ilk kez 1974’te Norio Tanguichi tarafından kullanılmış ve tanımlanmıştır (10). Ancak bundan daha önce Fizikçi Richard Feynman Amerika Fizik Topluluğunun 29 Aralık 1959 tarihli toplantısında *Aşağıda Daha Çok Yer Var* başlıklı konuşmasında “nanoteknoloji” teriminin oluşumundan uzun süre önce bu konseptte değinmiştir. 1980’lerde görüntüleme yapabilen taramalı tünelleme mikroskopunun ve atomik kuvvet mikroskopunun geliştirilmesi ile nano-seviyede maddelerin görüntülenmesi ve bunlara müdahale edilebilmesi ile modern nanoteknolojinin temelleri atılmıştır. Bu icatlar nano dünyasına giden kapıları açmış ve araştırmacılara atomik seviyede çalışma imkânı vermiştir (11). Nanoteknoloji alanında “nanomalzeme” kavramı genelde en az bir boyutu 1-100 nm aralığında değişen malzemeler için kullanılır. Nanomalzemeleri özel kılan ve onları *bulk* formundaki yapılarından ayıran şey, parçacık boyutunun çok küçük olmasına bağlı olarak yüzey alanının artması ve bu durumun nanoboyuttaki parçacığın iletkenlik, elastisite, stabilite, mukavemet, biyokimyasal, optik, manyetik, elektiriksel vb. özelliklerini *bulk* formundakinden farklı hale getirmesidir (10, 12). Esasında uluslararası kabul görmüş bir nanomalzeme tanımı bulunmamakla birlikte Avrupa Birliği Uluslararası Standardsizasyon Komisyonu ve IUPAC (Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği) tavsiyeleri uyarınca bu ifadenin bir ya da daha fazla boyutunun 1-100 nm aralığında değişen nesnelere kastettiği kabul edilmektedir (13).

Yukarıda açıklanan benzersiz özellikleri dolayısı ile nanoparçacıklar üzerindeki bilimsel araştırmalar gün geçtikçe hız kazanmaktadır. Nanoteknoloji ürünleri elektronik, inşaat malzemeleri, enerji, gıda teknolojisi, mühendislik, elektronik cihazlar, havacılık, makine, su saflaştırma, tekstil, giyim, kozmetik ve tıp alanında kendini göstermektedir (11).

## 2.2. Nanotıp ve Nanofarmasötik Kavramlarının Gelişimi

Nanoteknoloji ile tıbbın yolu 20. yüzyılın başlarında kesişmiştir (5). Nano teknolojinin tıp alanında uygulanması “nanotıp” kavramını meydana getirmiştir ve bu kavram mikron-altı parçacıkların farklı hastalıkların önlenmesi, teşhisi, görüntülenmesi ve tedavisi amacıyla kullanılan taşıma sistemlerini kastetmektedir (10). Yine nanomalzemelerin farmasötik endüstrisinde kullanımı “nanofarmasötik” kavramını doğurmuştur ve bu alanda nanoteknoloji ilaç keşfi, ilaç hedeflendirme ve taşıma konularında çözüm üretmek üzere kullanılmaktadır (11).

Daha kapsamlı bir kavram olması açısından nanotıp kavramı ile konuya giriş yapılacak olursa nanotıp, ilgili birçok başka alanla birlikte paralel olarak gelişmiştir. Paul Ehrlich spesifik patojenleri hedeflediği ilaçların kullanımı ile kemoterapide ve “sihirli mermi” kavramında öncülük etmiştir. Nanotıp kavramı hayatımıza girdiği günden bu yana genel hatları ile ilaç hedeflendirme ve bu yolla tedavi etkinliğinin artırılması, mikroçip ve mikrosensör ile teşhis, nano parçacıkların dokularda dağılım verimliliği ve ıtrah süresinin yeterliliğinden faydalanarak görüntüleme, parçacıklara fotodinamik, fototermal özellikler kazandırılarak hedeflenen bölgeye enerji taşıma, parçacıkların boyutundan yararlanarak cerrahi uygulamalarda etkinliği artırma, doku rejenerasyonu, genomik ve proteomik uygulamalarla karşımıza çıkmakta ve her geçen gün uygulama alanları artmaktadır (5)

Nanoparçacıkların tıp ve farmasötik alanda yaygın olarak çalışılması/kullanılması nano boyuttaki özelliklerin büyük boyuta göre farklılık göstermesi ile ilgilidir. Nano düzeyde bireysel moleküllerle molekül grupları arasındaki etkileşimler *bulk* malzemenin makroskopik boyutta gösterdiği özelliklerden farklıdır. Nanomalzemelerin birim hacim başına yüzey alanlarının yüksek olması, onların konvansiyonel malzemelere kıyasla özgün özellik kazanmasına neden olur (2).

Nano-boyuttaki malzemeleri tanımlamak üzere farklı sınıflandırma yöntemleri kullanılmaktadır. Buna göre nanomalzemeler boyutlarına ve kompozisyonlarına göre sınıflandırılabilir. Bu maddeler için belirgin olarak üç boyutta tanımlama yapılmıştır. Bunlar; tek boyutlu (ince film, tabaka, yüzey vb.), iki boyutlu (nanokablo, nanotüp içine sarılabilecek grafin yapraklar vb.), üç boyutlu (nanoparçacıklar, fullerenler,

grafit yapraklar, dendrimerler ve kuantum noktaları) olarak tanımlanır. Bileşimine bağlı olarak nanoparçacıklar; tek fazlı katılar (kristal, amorf parçacıklar ve tabakalar), çok-fazlı katılar (matris kompozitler, kaplı parçacıklar) ve çokfazlı sistemler (kolloidler, aerogeller, ferroakışkanlar) olarak sınıflandırılır. Tüm tiplerdeki nano-boyutlu malzemeler ise; metaller, seramikler, polimerler ve kompozit malzemeler olarak sınıflandırılır (14).

### 2.3. Nanotıp Uygulamaları

Canlı hücre bileşenlerinin nano boyutta olması, bu nanomalzemeleri biyoloji ve tıp alanında kullanım için çekici kılmaktadır. Nanotıp; biyoloji, kimya ve mühendislik dallarını birleştiren multidisipliner bir alandır ve bu alanda yapılan çalışmalar hastalıkların önlenmesi, teşhisi, tedavisi, hastalık bulgularının görüntülenmesi gibi amaçlar taşır. Buna göre nanotıp uygulamaları; ilaç taşıma, ilaç hedeflendirme, gen taşıma, teşhis ve görüntüleme amacı ile nanosistemlerin kullanılmasını ve terapötik bir araç olarak nanoteknolojinin kullanılmasını içerir (14).

Söz konusu uygulamalarda nanoyapıların biyolojik ortama girebilme; modifiye edilerek istenen dokuya/hücreye/organelere hedeflendirilebilme; yüksek kapasitede ilaç taşıyabilme; modifikasyon ile kontrollü/uzatılmış salım yapabilme; kontrast madde taşınması ile yüksek çözünürlükte görüntü sağlama; birden fazla görev için şartlanabilme; antiseptik özellik kazandırılabilme; biyomühendislik, doku mühendisliği uygulamalarında (doku oluşumu sağlanmasında, transplantasyon sonrası doku reddinin önlenmesinde vb.) ve cerrahi uygulamalarda amaca yönelik tasarlanabilme gibi özelliklerinden yararlanılmaktadır (5).

Nanopartiküllerin en önemli avantajlarından biri parçacıkları yeniden tasarlayabilme ve modifiye etme kolaylığıdır. Ana nanopartikül yapısı korunarak partikülün taşıdığı ilaç ya da diğer ajanlar değiştirilerek ya da partikül kaplamasında minör değişiklik yapılarak sistemin etkinliğini artırmak veya hasta ihtiyacına göre uyarlama yapmak mümkündür. Bu özellikleri dolayısı ile nanotıbbın en yaygın uygulama alanının ilaç taşıma/hedeflendirme olduğu söylenebilir (15).

Geleneksel küçük moleküllü ilaçların özel bir seçiciliği yoktur. Bu sebeple uygulanması gereken doz miktarı ve doz sıklığı fazladır. Ayrıca hedef bölge dışında

ilaç birikimine bağlı ciddi yan etkiler görülebilmektedir. Bazı ilaçların ise zayıf çözünür olması, biyolojik engelleri aşamaması vb. özellikleri tedavi etkinliğini düşüren unsurlar olarak karşımıza çıkmaktadır. Buna karşılık hedeflendirilmiş nanoilaçlar ile istenen bölgede etkin konsantrasyona ulaşmak, ilacın yarılanma ömrünü artırmak, dolayısı ile doz miktarını ve uygulama sıklığını ve istenmeyen dokulardaki ilaç birikimini azaltmak mümkün olmaktadır (16).

Öte yandan nanomalzemelerin hedef bölgede istenen konsantrasyonda birikmesi için bağışıklık sistemi ve filtrasyon mekanizmaları tarafından temizlenmesini önlemek, aynı zamanda toksik etki göstermesini önleyecek düzeyi belirlemek nanomalzeme kullanımının zorlukları olarak sıralanabilir (5).

### **2.3.1. İlaç Taşıyıcı Nanosistemler**

Etkin tedavi sağlama konusunda, geleneksel tedavi yaklaşımlarının birtakım kısıtlamaları söz konusudur. Hastalıklara karşı terapötik etkinliği sağlamak için, tedavi süresince etkin maddenin plazma düzeyinin istenen konsantrasyonda olması gerekir. Metabolizmanın klirens mekanizmasına karşı konsantrasyonu sabit seviyede tutmak yüksek dozda ve sıklıkta ilaç uygulamasını gerektirir. Klirens karşı ilaç uygulamasının neden olduğu konsantrasyon dalgalanması ise terapötik etkide yetersizlik ya da toksik etki ile sonuçlanabilir (17).

Özellikle enfeksiyon tedavisinde geleneksel antimikrobiyal ilaç kullanımının çoklu ilaç direnci ve yüksek toksisite ile sonuçlandığı; geleneksel ilaç tedavilerinin seçici özellikte olmamasının bir dezavantajı olarak kemoterapi tedavisinde hedeflenmeyen sağlıklı dokuların zarar görebildiği; hidrofobik özellikteki ilaçların biyolojik ortamda düşük oranda çözünmesi sebebi ile biyoyararlanımın azaldığı; ayrıca yüksek dozda ve sık uygulama ihtiyacı sebebi ile hasta uyuncunun düşük olduğu bilinmektedir (17).

Hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemler ile uygulanacak doz miktarının dolayısıyla yan etkilerin azalması, ilacın istenen bölgeye yönlendirilmesi ile etkinliğin artırılması, konvansiyonel ilaçların aşamayacağı biyolojik engellerin aşılması, dayanıksız moleküllerin kanda korunması, düşük çözünürlükteki etkin

maddelerin çözünürlüğünün artırılması ile biyoyararlanımın artırılması mümkün hale gelmiştir (6).

### **2.3.2. Medikal Görüntüleme Amaçlı Nano-Sistemler**

Klinikte kullanılan görüntüleme yöntemlerinde; başarılı bir görüntü elde etmek için kontrast maddenin hedef dokuda belli bir yoğunlukta bulunması ve ayırt edici görüntü elde edebilmek için bu yoğunluğun çevre dokulardan fazla olması gerekir. Dolayısı ile hedeflendirilmiş nano taşıyıcı sistemler ile kontrast maddenin ilgili dokuya taşınması kaliteli görüntü elde etmek için uygun bir yöntemdir (6, 18)

Hasta dokunun teşhisini ve tedavisini aynı anda sağlamayı amaçlayan ve hem teşhis edici madde hem tedavi sağlayıcı ilaç taşıyan sistemlere ise “teranostik sistemler” adı verilir (6, 18).

### **2.3.3. Nanoaygıtlar**

Nanoaygıtlar, nano ölçeğinde üretilmiş cihazlardır. Nanoçip, nanorobot, nanosensör, nanoimplant ve nanoilaç kaplı stentler bu cihazlara örnek olarak sıralanabilir. Tıbbi alanda; ilaçların biyolojik engelleri aşabilmesine katkı sağlayan, hedeflendirilebilir ve kontrol edilebilir özellikleri ile kullanılırlar. İlaç taşıyıcı sistem olarak kullanılmalarının yanı sıra antimikrobiyal kaplama, doku iskelesi, doku ve damar doldurma malzemesi, tanı test aracı vb. olarak da tasarlanabilirler (6).

## **2.4. Nanotıp/Nanofarmasötik Uygulamalarda Kullanılan Nanotaşıyıcı Yapılar**

Nanotaşıyıcı yapılar için farklı kaynaklarda ortak bir sınıflandırma yaklaşımının bulunmadığı, bu yapıların farklı kaynaklarda kimyasal yapılarına, fiziksel yapılarına ya da yapı taşına göre sınıflandırıldığı görülmüştür. Bu yapıların malzeme açısından değerlendirilmesi ve organik nanotaşıyıcılar, inorganik nanopartiküller ve karbon temelli nanosistemler başlıkları altında incelenmesi tercih edilmiştir (13).

### 2.4.1. Organik Nanotaşıyıcılar

Organik nanotaşıyıcılar doğal, sentetik ya da yarısentetik kaynaklardan elde edilen yapılardır ve veziküler yapılar (lipozomlar, niozomlar ve polimerozomlar gibi), katı çekirdekli yapılar (polimerik ve lipit nanopartiküller, ilaç nanopresipitatları gibi), çözünebilir kolloidler (miseller, ilaç-polimer konjugatları gibi) olarak sınıflandırılabilirler (13).

**Lipozomlar;** fosfolipit yapı taşından oluşan çift tabakalı, küresel veziküler yapılardır (19, 20). Hidrofobik kuyruk ve hidrofilik baş kısmı sayesinde hem hidrofilik, hem hidrofobik özellikte ilaç taşıyabilen amfifilik sistemlerdir (6). Tekli çift tabaka ya da çoklu çift tabaka halinde bulunabilirler (19).

Lipozomların avantajlı yönleri; hem hidrofilik hem hidrofobik ilaç taşıyabilmeleri; non-lipozomal yapılara göre hedef bölgede yüksek birikim sağlayabilmeleri; biyogeçimli, biyoparçalanır, non-immünolojik ve düşük toksik özellikte olmaları; yüzeylerinin modifiye edilebilir olması olarak sıralanabilir (6, 19-21). Yüzey modifikasyonu ile bu yapıların retiküloendotelial sistem (RES) ve mononükleer fagositik sistem tarafından uzaklaştırılması önlenir, dolayısı ile sistemin dolaşımında kalım süresi artırılır ayrıca yine modifikasyon (protein, peptit, monoklonal antikor gibi ligand bağlama) ile hedeflendirme ve kontrollü salım sağlanır (21).

Öte yandan lipozomal sistemlerin bazı dezavantajları da söz konusudur. Bunlar; yapıda sızıntı oluşumu, fosfolipitlerin oksidasyonu ve hidroliz, kısa yarılanma ömrü ve toksisite olarak sıralanabilir (20).

Sınırlayıcı özelliklerine karşın avantajlı yönleri sayesinde lipozomlar, üzerinde en çok çalışma yapılan nanotaşıyıcılardır (6). İlk lipozomal nanofarmasötik olan (antikanser ilacı) *Doxorubicin* 1995'te Amerika Gıda ve İlaç Dairesi FDA tarafından onaylanmıştır.

Özellikle hidrofobik anti kanser ilaçların taşınmasında (6), kan beyin bariyerini geçme yetisi sayesinde beyin hedefli ilaçlarda (19), antiaritmik ilaçların taşınmasında (20) ve antimikrobiyal bileşiklerin, şelat yapıcı bileşiklerin, peptit-



proteinlerin, hormonların, enzimlerin, aşıların taşıyıcı sistemi olarak pek çok çalışmada kullanılmıştır (21).

**Polimerozomlar;** amfifilik sentetik blok kopolimerlerin kendiliğinden oluşturduğu, lipozom yapısına benzer veziküler çift tabakalı yapılardır (13).

**Niozomlar;** non-iyonik yüzey etkin maddelerinin oluşturduğu çift tabakalı, boyutu 10-100 nm arasında değişen, lipozoma benzer veziküler sistemlerdir (20). İki tabaka halindeki yüzey etkin maddelerin hidrofilik baş kısmı küresel yapının kabuğunda ve iç oyuk yüzeyinde yer alırken, hidrofobik kuyruk kısmı ise birbirine dönük olarak veziküler gövdeyi oluşturur. Lipozomların pahalı olması, kimyasal ve fiziksel stabilite problemlerinin bulunması, oral yolla uygulanamamaları, sızıntı yapabilmeleri bu yapılara alternatif olacak ve bu sınırlamaları ortadan kaldıracak niozomların tasarlanmasını gerekli kılmıştır (6). Bu yapılar da lipozomlar gibi hem hidrofobik, hem hidrofilik ilaç taşıyabilirler, non-immünojeniktirler, biyouyumludurlar (22). Ancak lipozomlardan farklı olarak daha stabil olmaları, özel saklama koşulu gerektirmemeleri, daha az toksik olmaları, daha ucuz olmaları lipozomlara karşı bu yapıları üstün kılmaktadır (22). İlk niozom formülasyonları 1975'te kozmetik amaçlı ürünlerde kullanılmış, sonrasında niozomlar ilaç taşıyıcı sistem olarak çalışmalara dâhil edilmiştir (6).

**Nanokapsüller;** polimerik dış çeper ile sıvı iç çekirdekten müteşekkil yapılardır (6). Bu yapılarda ilaç kapsül içine hapsedilebilir, absorpsiyon ya da konjugasyon ile dış yüzeyde taşınabilir (20, 23). Polimer, sentetik ya da doğal olabilir (20). Yaygın kullanılan sentetik polimerler poli-alkil-siyano-akrilat (PACA), poli-glikolik asit (PGA), poli-D,L-laktit-ko-glikolik asit (PLGA), poli- ε-kaprolakton, polilaktik asit (PLA), polianhidritler, poliamitler, akrilik polimerler, etil vinil asetat, polivinil pirolidon, poloksamin, poloksamer, selüloz türevleri, silikonlar; yaygın kullanılan doğal polimerler ise aljinat, karagen, selüloz, pektin, guar zımkı, dekstran, ksantan zımkı, kitozan, hiyaloranan, heparin ve kondroitin olarak listelenebilir (6).

Yüksek kapsülasyon yeteneğine sahip bu yapılar ile biyolojik ortamda stabil olmayan maddelerin (ilaç ya da biyolojik materyal) taşınması ve yüzey modifikasyonu ile kontrollü/uzatılmış salımı sağlanabilir (13).

Nanokapsül hazırlama yöntemine, yapılarda kullanılan polimer çeşitliliğine, yüzey yüküne, yüzey modifikasyonunun özelliklerine bağlı olarak nanokapsülün yükleme kapasitesi, salım rejimi, biyoparçalanma yetisi, toksik etkisi gibi özellikleri değişkenlik gösterir (6). Bununla birlikte, bu değişkenler hedeflenen nitelikte nano sistem oluşturma imkânı da sunduğundan polimerlerin nanofarmasötik çalışmalarda kullanımını her geçen gün artmaktadır (20).

**Nanoemülsiyonlar;** birbiri içinde karışmayan iki sıvıdan birinin nanoboyutta damlacıklar halinde diğerinin içinde dağıldığı ortamlardır, damlacık oluşumu bir amfifilik yüzey etkin maddesinin varlığında gerçekleşir (6, 23). Yağ içinde su veya su içinde yağ emülsiyonu olarak hazırlanabilirler hem hidrofilik, hem hidrofobik ilaç taşıyabilirler. Fiziksel özellikleri ve kinetik stabiliteleri nanoemülsiyonları diğer koloidal taşıyıcı sistemlere karşı üstün kılar; ayrıca oral, parenteral, nazal, transdermal, pulmoner ve oküler yoldan uygulamalarda etkin madde emilimini dolayısı ile biyoyararlanımını artırdığı raporlanmıştır (6).

Öte yandan 1970'lerden bu yana (FDA onaylı olarak) özellikle lipofilik ilaç taşımada kullanılan bu sistemlerin stabilitesinin pH, emülsifiye edici ajan, katkı maddesi, saklama koşulu gibi birçok faktörden etkilendiği ve kontrollü salım konusunda sınırlı özellikte olduğu bilinmektedir (13).

**İlaç nanokristalleri;** Zayıf çözünür ilaçların çözünürlüğünü ve dolayısıyla biyoyararlanımını artırmak üzere tasarlanmış bir diğer yapı da salt ilaç nanopartikülünden ibaret olan ilaç nanokristalleridir (19). Bir diğer ifade ile kristal yapıda ve partikül boyutu uygun yöntemler ile nano seviyeye indirgenmiş ilaç etkin maddeleridir (5). Nanokristaller genelde stabilize edici bir polimer ve/veya sürfaktan tabakası ile kaplanır (24). Diğer nano sistemlerden farklı olarak bu yapılarda ilaç dışı bir taşıyıcı sistem bulunmadığından yükleme kapasitesi yüksektir ve taşıyıcı sistemin kendisinden ya da hazırlanması sürecinden gelen toksik etki yaratacak maddeler bulunmamaktadır (5, 21). Ayrıca oral uygulama yolunun yanı sıra transdermal, intravenöz, oftalmik, pulmoner uygulama için de kullanılabilir (5, 19). Nanokristal ilaçlar tablet, kapsül, pellet formunda olabilir (21). Piyasada bulunan ilaç nanokristali içeren ticari ürünlerin yanı sıra klinik araştırma süreci devam eden ürünler de bulunmaktadır (5).

**Polimerik nanopartiküller;** boyutları 1-100 nm arasında değişen polimer partiküllerden ibaret, katı koloidal taşıyıcı sistemlerdir (5, 13, 19). Farklı kaynaklarda polimer malzemeden elde edilen nanokapsül, nanoküre, dendrimer, misel gibi polimer tabanlı tüm yapılar için genel olarak “polimerik nanopartikül” ifadesinin kullanıldığı görülmekle birlikte çalışmamız kapsamında tercih edilen sınıflandırma gereği bu başlık altında sadece nanokürelere yer verilecektir. Bu grupta yer alan nanokürelere, matriks yapıdadır ve ilaç matriks yapıya katılmış halde ya da küre yüzeyine absorbe olmuş veya konjuge halde bulunabilir (20). Polimerik nanokapsüllerde olduğu gibi nanokürelere de (protein/polisakkarit bazlı) doğal ya da sentetik polimerler kullanılabilir (24). Yüzey modifikasyonu, partikül büyüklüğü, yüzey yükü, kullanılan polimer değişikliği ile hedeflendirme yapmak, kontrollü salım sağlamak ve terapötik etkinlikle güvenliliği artırmak mümkündür (6, 20, 21, 24) Nanokürelerin ilaç yükleme kapasitesi nanokapsüllerden düşük, ilaç salım hızı ise nanokapsüllerden yüksektir (6).

**Lipit nanopartiküller;** Katı ve sıvı lipit partiküller olmak üzere iki türü bulunmaktadır.

Katı lipit nanopartiküller, çekirdeği oluşturan katı formdaki lipit yapıdan, bu yapının stabilize edilmesini sağlayan yüzey etkin maddeden ve su fazından oluşan sistemlerdir (6, 13, 20). Özellikle lipofilik etkin maddelerin hedeflendirilmesi ve kontrollü salımı için tasarlanmış olup bu yönleri ile lipozomlara ve nanoemülsiyonlara karşı üstündürler (13). Ayrıca biyoyumlu olmaları, çözücü kullanımı gerektirmemeleri ve düşük biyotoksik olmaları diğer üstünlükleridir (6). Yapılan çalışmalarda oral, parenteral, dermal ve oküler uygulamada başarılı sonuçlar elde edilmiştir (6, 13). Bu yapıların olası sakıncası taşıma ve saklama sürecinde lipit yapının stabil kalmamasıdır (13).

Nano-yapılı lipit taşıyıcılar, katı lipit nanopartikülden farklı olarak yapısında sıvı formda yağ bulundurur ve katı forma göre yükleme kapasitesi daha yüksektir (5).

**Konjugatlar;** polimer-ilâç ve polimer-protein konjugatları olmak üzere iki tür konjugat yapısı mevcuttur. Yapılar genelde suda çözünür polimerden bir iskelete sahiptir ve bu iskelet graft, çizgisel, dallanmış ya da dendrimer yapıda olabilir (6).

Polimer ilaç konjugatları; hedeflendirme ve kontrollü salım amacı ile tasarlanmış, ilaç ile polimerin elektrostatik etkileşimle ya da kovalent bağ ile

bağlandığı, polimer varlığı sayesinde toksik etkisi düşük ve terapötik etkisi yüksek yapılardır (6).

Polimer protein konjugatları; terapötik amaçlı proteinlerin biyoyumluluğunu ve dayanımını sağlamak üzere tasarlanmış, polimer ile proteinin farklı yöntemlerle birbirine bağlanması ile elde edilen yapılardır (25).

**Dendrimerler;** birbirini tekrarlayan monomerlerin oluşturduğu, çok dallı, üç boyutlu, küresel yapılardır (5, 19). Bu makromoleküller bir iç çekirdek ile çekirdekten uzanan dallardan oluşur (26). Modifiye edilebilir yüzey grupları, farklı bağ yapma yetisine sahip küre kavitesi ve yüksek yükleme kapasitesi sayesinde hedeflendirme ve terapötik etkinliği yüksektir (6, 26). Öte yandan değişken fizikokimyasal özellikleri, sitotoksik özellikleri ve hemolitik özellikleri bu yapıların kullanımını sınırlayan unsurlar olarak bilinmektedir (19). Yapıların oral, intravenöz, transdermal, oküler uygulama yolları ve tümör içine enjeksiyon uygulaması için çeşitli çalışmalara konu olduğu ve çalışmalarda serbest ilaca göre dendrimer yapı ile verilen ilacın biyoyararlanımının arttığı rapor edilmiştir (6).

**Miseller;** Sulu ortamda bulunan amfifilik molekül konsantrasyonunun, kritik misel konsantrasyonunun üstüne çıkması halinde, ortamdaki hidrofobik etkinin itici gücü ile kendiliğinden oluşan yapılardır (6, 13). Hidrofobik ve hidrofilik monomerler içeren amfifilik kopolimer yapılar polimerik miselleri oluşturur (6, 23). Miseller amfifilik özellikleri sayesinde hidrofilik ve hidrofobik ilaç taşıma yetisine, yüksek yükleme kapasitesine ve uzatılmış salım yapabilme özelliğine sahiptirler, ayrıca yüzey modifikasyonu ile RES alımından korunabilir ve hedeflendirilmeleri sağlanabilir (19, 21). Öte yandan ilacı hızlı salmaları, düşük stabilite göstermeleri ve kritik misel konsantrasyon değeri yüksek olan misellerin kanda çökmeleri ve istenmeyen bölgelerde birikmesi bu yapıların kısıtlamalarını oluşturur (5, 13). Dünya pazarında onaylı misel formülasyonları bulunmaktadır (21).

#### 2.4.2. İnorganik Nanotaşıyıcılar/Nanopartiküller

İnorganik partiküller, metal, metal oksit, karbon, silika, kalsiyum karbonat gibi inorganik yapılardan elde edilen partikülleri ifade eder (19, 21, 23). İnorganik partiküllerin kolay hazırlanabilmeleri ve partikül şekli, boyutu ve bileşiminin

ayarlanabilmesi bu yapıları avantajlı kılar (19, 21). *Bulk* halindeki inorganik malzeme özelliğinden farklı olarak aynı malzemenin nano boyuttaki elektron hareketlerinin belirli enerji seviyelerinde sınırlanması bu yapılara benzersiz elektriksel özelliklerini kazandırır (13). Bu özellikleri dolayısı ile inorganik nanopartiküller hem terapötik amaçlı, hem görüntüleme amaçlı kullanılırlar (13, 19, 21). Görüntüleme uygulamalarında inorganik nanopartiküller optik özellikleri sayesinde manyetik rezonans görüntüleme (MRI), bilgisayarlı tomografi (BT) gibi görüntüleme yöntemlerinde görüntüleme probu olarak kullanılırlar (21). Terapötik alanda; fototermal terapi, gen terapi, kemoterapi, radyoterapi, fotodinamik terapi amacıyla ya da hedeflendirme amacıyla taşıyıcı sistem olarak kullanılırlar (21).

Yaygın kullanılan inorganik nanopartiküller; altın, demir oksit, titanyum dioksit, çinko oksit, bakır oksit, silika, hafniyum oksit, platin, gümüş partikülleri ve kuantum noktaları olarak sıralanabilir (6, 13, 23). Altın nanopartiküller kanser tedavisinde ve görüntülemede kullanılırlar (13, 21). Demir oksit nanopartiküller, nano boyuttaki eşsiz manyetik, optik özellikleri, yüksek yüzey alanları ile dikkat çeker ve hem görüntülemek hem de bilhassa manyetik özellikleri sayesinde tümör hedeflendirme, manyetik hipertermi, radyasyon ve kemoterapide tedavi etkinliğini artırmak üzere tercih edilirler (27). Silika nanopartiküller mezogözenekli yapıları dolayısı ile yüksek yükleme kapasitesine sahip ilaç taşıyıcılar olarak gelecek vaat eder (28). Platin kanser tedavisinde, gümüş antimikrobiyal tedavilerde kullanım alanı bulur (23).

Benzersiz elektriksel, optik ve manyetik özelliklerine karşın inorganik partiküllerin toksik etkileri iyi değerlendirilmelidir (5, 13, 21).

### **2.4.3. Karbon-temelli Nanotaşıyıcılar**

Karbon temelli yapılar, sadece karbon atomlarının kendi aralarında elektron ortaklaşması ile bağ yapması sonucu ortaya çıkan moleküler yapılardır (5, 13). Moleküldeki bağ sayısı ve ortaklaşılan yörüngeler molekülün geometrisini belirler. Farklı geometrik forma sahip ve farmasötik alanda kullanımı bulunan karbon formları grafit, fulleren, karbon nanotüp ve elmadır (5).

Karbonun allotroplarından biri olan grafitin tek bir atom kalınlığındaki katmanlarına 'grafen' denir (29). Grafen altıgen şeklindeki karbon atomlarından oluşur ve diğer karbon temelli formların yapı taşı niteliğindedir (29, 30). Grafen ve türevlerini özel kılan şey bu yapıların çok geniş yüzey alanına sahip olması, termal iletkenliklerinin ve optik geçirgenliklerinin fazla olmasıdır. Stimüli yanıtı duyarlı kontrollü salım yapabilmeleri bir başka üstün özellikleridir (30). Grafenin silindirik yapıda katlanıp uzatılmış hali karbon nanotüpleri meydana getirir (29). Karbon nanotüpleri tek ya da çok katmanlı yapılar halinde bulunabilir (6). Fullerenler ise beşgen ve altıgen yapıda dizilmiş, 60 karbon atomundan müteşekkil küresel yapılardır (6).

Fullerenlerin ilaç taşıyıcı sistem olarak özellikle hedeflendirme ve fotodinamik kanser tedavisinde etkili sonuçlar verdiği bilinmektedir (6). Yüzey modifikasyonu sağlanarak ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılan nanoelmasların geçiş verimliliğinin yüksek olduğu ve düşük sitotoksikite gösterdiği bildirilmiştir (13). Karbon nanotüperin kendilerine özgü mekanik, elektriksel, ısı iletken özellikleri ve geniş yüzey alanları bu malzemeleri ilaç taşımada, görüntüleme, biyomoleküllerin tanınmasında, doku mühendisliği yapılarında kullanılma konusunda cazip kılar (13, 31). Ancak bu yapılar için toksisite sınırlayıcı bir özelliktir ve detaylı değerlendirilmesi gerekir (31).

## **2.5. Nanotaşıyıcı Yapıların Uygulama Yolları ve Kullanım Alanları**

### **2.5.1. Beyin Hedefli Nanotaşıyıcılar**

Merkezi sinir sisteminin ve sistemin bir bileşeni olan kan beyin bariyerinin kompleks yapısı, beyne ilaç erişimi üzerindeki çok önemli bir engel olarak karşımıza çıkar (6). İlaçların kan beyin bariyerini (KBB) geçme konusunda yetersiz kalması, beyin hedefli ilaç etkinliğinin düşük olmasına ve uygulanan dozun yüksekliğine bağlı istenmeyen etkilerin görülmesine neden olur (32, 33). Konvansiyonel ilaçların bu dezavantajlarını minimize etmek üzere merkezi sinir sistemine hedeflendirilen ve kan beyin bariyerinden ilaç/görüntüleme maddesi geçişini artıran nanotaşıyıcılar umut verici bir yöntem olarak araştırmalara konu olmaktadır (6, 33). Yapılan çalışmalarda polimerik nanopartiküller; katı lipit nanopartiküller, lipozom, nanoemülsiyon, dendrimer, misel gibi yapılar; demir oksit, altın, silika gibi inorganik nanopartiküller;

karbon nanotüp ve kuantum noktaları gibi diğer nano yapılar kullanılarak etkinlik artışı ve sistemik toksisitede azalma sağlandığı gösterilmiştir (6, 33). Nanotaşıyıcı aracılı çalışmalar başta beyin tümörü ve beyin damar hastalıklarına, Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıklara yoğunlaşmakla birlikte merkezi sinir sistemiyle ilgili tüm hastalıklar için potansiyel oluşturmaktadır (6, 33, 34).

Glioblastoma, hastaların yaşam süresinin ortalama 14.6 ay olduğu oldukça zorlayıcı bir tümör türüdür. Standart serbest ilaçlarla uygulanan kemoterapinin yetersizliği karşısında modifiye edilmiş ve beyin hedeflendirilmiş polimerik nanotaşıyıcılar ile uygulanan ilaçların glioblastoma hücre hatlarında daha çok birikerek terapötik etkinliği artırdığı ve hedef dışı bölgelerde toksik etkiyi azalttığı gösterilmiştir (32). Bir başka çalışmada kan beyin bariyerini aşmak üzere çok-işlevli parçacıklar tasarlanarak bu parçacıklara manyetik koşullar altında yüksek termal duyarlılığı, ayrıca radyo-duyarlılığı kazandırılmıştır. Böylece hem in vivo hem in vitro çalışmalarda yüksek ilaç hedeflendirmesi ve MR görüntülemeye yüksek kontrast sağlanmıştır (35). İnorganik partiküllerin çoklu yüzey modifikasyonu ve hedeflendirmesi ile yapılan çalışmalar ise; alaşım nanopartiküllerin kullanımının glioblastoma için nanoteranöstik olarak kullanılabileceğini göstermiştir (36).

Günümüzde bilişsel işlevleri bozan, geri dönüşsüz ve ölümcül bir hastalık olması ve 2050 yılına kadar 100 milyon kişiyi etkileyebileceği öngörülmesi sebebi ile alternatif tedavi yöntemlerinin odak noktalarından biri de Alzheimer hastalığıdır ve geliştirilecek nanofarmasötik uygulamaların, mevcut ilaçların etkinliğini artırması, hatta hastalığın mekanizmalarını durdurarak tedavi edici olması beklenmektedir (37).

Kan beyin bariyerini aşmak üzere nano taşıyıcıların tasarlanmasının yanı sıra, kan beyin bariyerini *by pass* ederek nazal yoldan beyne hedeflendirme yapmak da Alzheimer ve Parkinson hastalıkları gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde rağbet gören bir çalışma alanıdır. İntranazal uygulama ile beyin hedefli nanotaşıyıcıların kullanılması hem kan beyin bariyerini, hem de sistemik dolaşımın neden olduğu seyrelme ihtimalini saf dışı bırakması sebebi ile avantajlı olarak değerlendirilmiş öte yandan bu yolun beyne hızlı giriş sağlamanın güvenilirlik açısından ilave değerlendirme gerektirdiği bildirilmiştir (38). Bu yaklaşımla gerçekleştirilen bazı çalışmalarda intranazal (modifiye edilmiş) nanoemülsiyon

formülasyonlarının burun mukozasında artan sürelerde tutulduğu ve ilaçları doğrudan beyne iletmek için uygun bir yöntem olabileceği değerlendirilmiş ve hatta henüz piyasada bulunmamakla birlikte Alzheimer, Parkinson hastalıkları ve migren için farklı nanoemülsiyon patent başvuruları yapılmıştır (39).

Kan beyin bariyeri sebebi ile etkin tedavi sağlanamayan bir diğer hastalık ise migrendir (34). Yapılan bilgisayarlı modelleme çalışmalarında, migren tedavisinde oral olarak yaygın kullanılan ve biyoyararlanımı % 15'ten düşük olan *sumapriptan* etkin maddesinin modifiye edilmiş (oral) nanoformülasyonunun ilaç etkinliğini artırabileceği gösterilmiştir (40).

Beyin hedefli tedavi yaklaşımları arasında nano taşıyıcıların deneylerde başarılı sonuçlar verdiği ve kan beyin bariyerini geçerek etkin ve güvenli tedavi sağlama konusunda önemli bir potansiyel olduğu görülmektedir. Bununla birlikte nanopartiküllerin biyolojik sistemler ile etkileşiminin tam olarak bilinmemesi, bu yapıların uzun süreli uygulamalarda toksik etki gösterebilmesi, nanoformülasyonların büyük ölçekte üretilmesinin zorluğu, klinik uygulama için ticari üretimde standart bir yaklaşımın bulunmaması, hayvan modellerinden elde edilen veriler ile insan deneylerine ait verilerin farklılık göstermesi gibi etkenler başarılı sonuçlar elde etmek için çok sayıda çalışma yapılmasını gerektirir (34, 41).

### **2.5.2. Pulmoner Uygulanan Nanotaşıyıcılar**

Akciğerlere ilaç uygulaması, farklı hastalıkların tedavisinde, sistemik ya da lokal etki sağlamak üzere tercih edilen bir yöntemdir. Akciğerlerin yüksek perfüzyon alanına sahip olması, yapısı sebebi ile akciğer yüzeyinde ilaç absorpsiyonunun yüksek düzeyde ve hızlı gerçekleşmesi, karaciğerdeki ilk geçiş etkisinden kaçış sağlaması, gastrointestinal kanala kıyasla enzim seviyesinin ve yıkım düzeyinin düşük olması gibi nedenlerle pulmoner uygulama yolu birçok avantaja sahiptir (6). Bununla birlikte akciğerlerin fizyolojik yapısı, ilaçların solunum yolunda karşılaştığı fiziksel bariyerler ve solunum sisteminin koruyucu klirens mekanizması bu yolla uygulanan ilaç etkinliğini sınırlayıcı özelliktedir ve bu sınırlayıcı koşulları aşma yolundaki adımların başında nanotaşıyıcı sistemlerin tasarlanması gelmektedir (42).



Pulmoner hastalıklardan kaynaklı ölüm oranının 2030 yılına kadar dünya genelindeki tüm ölümlerin %20'si civarında olacağı öngörülmektedir. Yapılan çalışmalar, nanotıp uygulamalarının akciğer kanseri, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), kistik fibrozis, astım gibi hastalıkların yanı sıra Ağır Akut Solunum Yolu Yetersizliği Sendromu Korona Virüsü (SARS-CoV), Orta Doğu Solunum Sendromu Korona Virüsü (MERS-CoV), influenza A/H1N1 gibi bulaşıcı hastalıklar için görüntüleme, teşhis ve tedavi etkinliğinde artış, sistemik toksik etkide azalma sağlayacağı konusunda umut vericidir (43).

Bu alanda yapılan çok sayıdaki in vivo hayvan deneyinde; farklı şekilde modifiye edilmiş lipozom, nano-yapılı lipit taşıyıcı, katı lipit nanopartikül, misel, polimer-ilaç konjugatı, polimerik nanopartikül, dendrimer gibi nanotaşıyıcılar kullanılmış ve bu uygulamalar ile; ilaçların kalım süresinde artış, kontrollü salım, lokal yüksek konsantrasyon, artmış terapötik etkinlik, düşük sistemik toksisite, antitümör etkinliğinde artış, sistemik absorpsiyonda artış gibi avantajlar sağlandığı raporlanmıştır (44). Lipozomal yapılar özelinde yapılan çalışmalar, lipozomların pulmoner hastalıkların tedavisinde ciddi bir potansiyel olduğunu; ancak inhaler uygulamanın kişiye bağlı değişkenliği, solunum sisteminin fiziksel yapısı, nanotaşıyıcıların karakteristik özelliklerindeki farklılık gibi unsurların ilacı hedefleme ve akciğerde yeterli birikimi sağlama konularında tutarlılığı etkilediğini göstermiştir (45).

Yaygın akciğer hastalıklarından biri olan KOAH tedavisi için gerçekleştirilen çalışmalarda, nano polimer-ilaç konjugatı formülasyonunun hedeflendirmede ve terapötik etkide artış sağladığı gözlenmiş ve ilacın solunum sistemindeki yazgısının partikül boyutu, yüzey özellikleri, yoğunluğu gibi özelliklere bağlı olduğu, uygun formülasyonu elde etmek için birçok seçeneğin değerlendirilmesi gerektiği belirtilmiştir (43). Akciğer kanseri tedavisi için yapılan değerlendirmelerde ise lipozom, polimerik nanopartikül ve jelatin bazlı nanopartikül gibi nanotaşıyıcıların tasarlandığı ve bu yapıların sürekli salım sağlayarak olumlu etki gösterdiği, ancak pulmoner yolun kanser tedavisinde kullanılması için çok sayıda çalışmaya ihtiyaç duyulduğu, sürecin henüz emekleme aşamasında olduğu bildirilmiştir (46).

Sonuç olarak, solunum yoluyla alınan nanopartiküllerin sistemik ve lokal terapötik etkinliği artırdığı ve yan etkileri azalttığı belirlenmiştir, nanoterapötiklerin klinik uygulamalarda kendine yer bulması daha fazla çalışma ile mümkün görünmektedir (47, 48).

### **2.5.3. Oral Uygulanan Nanotaşıyıcılar**

Yüksek hasta uyuncu sağlaması, ilaçlarının düşük maliyetli olması, ev ortamında ilaç alımına izin veren basit bir yol olması gibi nedenlerle oral yol, ilaç uygulamasında en tercih edilen seçenektir (49). Ancak midenin asidik ortamı, ince bağırsaktaki yoğun enzimatik faaliyet ve safra tuzu varlığı, sistemin fizyolojik yapısı gibi etkenler gastrointestinal kanaldan ilaç absorpsiyonunu, dolayısıyla biyoyaralanımı sınırlayan unsurlardır (50). Bu koşullar da özellikle yaygın olarak kullanılan birçok terapötik ajanın biyoyaralanımını düşürmekte ve artan doz ihtiyacına bağlı olarak toksik etkilerini artırmaktadır (49). İlaç gastrointestinal kanalın çeşitli hücrelerine/dokularına veya hasta bölgelere hedeflendirmek ve ortam koşullarından koruyarak biyoyaralanımı artırmak için son yılların gözde yöntemi olan nanotaşıyıcılar kullanılmaya başlanmıştır (51). Bu çalışmalar kapsamında en çok; polimerik nanopartiküller, dendrimerler, lipozomlar, mezogözenekli silika nanopartiküller, miseller, nanokristaller, niozomlar, nanoemülsiyonlar katı lipit nanopartiküller, nanoyapılı lipit taşıyıcılar, ve kendiliğinden nanoemülsifiye edici yapılar kullanılmıştır (50). Düşük maliyet ve geniş uygulama imkânı sebebi ile aşuların; gastroinetestinal kanaldaki dayanıksızlıkları sebebi ile protein yapıların nanotaşıyıcılar ile oral uygulanmasına yönelik çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Deneyler olumlu sonuçlar vermiştir (52). Özellikle hücre hedefli nanosistemlerle oral insülin uygulamasının olumlu sonuç vermesi, diyabet tedavisinde hasta uyuncunu sağlamak adına umut verici niteliktedir (51). Kanser ve inflamatuvar hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçların nano formülasyonlarının terapötik etkinliği artırdığı bildirilmiştir (5). Kolon kanseri, inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi lokal patolojilerin etkin tedavisi için ise kolon hedefli, biyolojik aktif molekül taşıyıcı nanosistemler çalışılmış ve kullanılan sistemler ile kontrollü ve uzun süreli salım profili elde edilmiştir (53, 54). Çalışmalardan elde edilen olumlu sonuçların yanı sıra, formülasyonların çeşitliliği, nanosistemlerin fizikokimyasal özelliklerindeki

değişikliğin sonucu etkiler nitelikte olması, nanosistemlerin güvenilirliğinin kesin olarak bilinmemesi, deney ortamında elde edilen sonuçların klinik uygulamalar için tam anlamı ile temsil edici nitelikte olmaması, ölçek büyütmenin değişik sonuçlar verebilmesi ihtimali bu alanda uygulanabilir ve başarılı sonuçlara ulaşmak için uzun bir yol kat edilmesi gerektiğini göstermektedir (49-54).

#### **2.5.4. Oküler Uygulanan Nanotaşıyıcılar**

Gözün eşsiz anatomik yapısı ve fizyolojik özellikleri, göze ilaç uygulamalarında etkinliği oldukça düşüren, oküler ilaç tasarlanmasını kompleks hale getiren faktörlerdir (6). İnsan gözü iki ana bölümden oluşan küresel yapı bir organdır ve her iki kısımda da gözü koruma işlevini gören çeşitli biyolojik engeller bulunmaktadır (55) Ön segment kornea, konjonktiva, sulu oda, iris, siliyer cisim ve lensten; arka segment ise vitröz gövde, retina, koroid ve skleranın arkasından oluşur (55, 56). Göz hastalıkları tedavisinde yaygın kullanılan topikal göz damlası, süspansiyon, merhem gibi formlar gözün ön kısmına kolay ulaşır ancak kornea bariyeri ve gözyaşı temizlemesi nedeni ile ön yüzeyde penetrasyon ve ortamda kalım süreleri sınırlıdır, ayrıca göz içi bariyerler de ilacın arka kısma ulaşması konusunda engel teşkil eder (56). Gözü çevreleyen farklı sıkı dokular ve kan retina bariyerleri de sistemik uygulama önündeki en büyük engeldir (5). İntravitreal enjeksiyon, perioküler uygulama ve suprakoroidal uygulamalar ise topikal ve sistemik uygulamalara nazaran daha yüksek etkinliğe sahip olmakla birlikte riskleri ve düşük hasta uyuncu sebebi ile yaygın olarak kullanımı mümkün olmayan yöntemlerdir (56).

Tüm bu unsurlar göz hastalıkları tedavisinin önünde ciddi bir engel teşkil etmektedir ve gözün koruyucu yapılarla donatılmış benzersiz yapısının, tedavi etkinliğini sınırlayıcı (% 5'ten düşük etkinlik) özelliğinin üstesinden gelmek üzere, güncel bilimsel çalışmalar nanoteknolojiden faydalanmaktadır (55, 57).

Bu kapsamda yapılan çalışmalarda görmeyi tehdit eden hastalıkların tedavisinde kullanılan düşük çözünürlükteki büyük moleküllerin topikal geçişin iyileştirilmesi, ciddi retina hastalıklarının tedavisi için gen transferinin sağlanması, farklı amaçlarla uygulanan ilaçların hedef dokuyla temas süresinin artırılması, belirli kanser türlerinin tedavisi için hedeflendirilmiş taşıyıcılar ile tümör dokusunda birikim

sağlanması, hatta nanofarmasötiklerin teşhis amacıyla da kullanılabilir hale gelmesi hedeflenmektedir (57).

Bu doğrultuda nanoküre, nanokapsül, lipozom, hidrojel, dendrimer, inorganik nanopartikül, nanomisel, nanopartikül yüklü kontakt lens gibi yapılar kullanılmıştır (55, 56, 58). Çalışma sonuçları amaca uygun olarak artmış etkinlik göstermekle birlikte kullanılan taşıyıcı sistemlerin malzemesine, boyutuna, yüküne vb. fizikokimyasal özelliklerine bağlı olarak partiküllerin güvenilirlik ve toksisite profillerinin değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir (58). Retina ve koroid tedavisi özelinde yapılan çalışmalarda geleneksel nanopartikül kullanımının yanı sıra foto duyarlı yapıların da teşhis ve tedavi için büyük bir potansiyel olduğu ifade edilmiştir (59).

Oküler uygulama alanında çok sayıda çalışma yapıldığı halde; çalışmaların birçoğunun in vitro koşullarda gerçekleştirilmesi, çalışmalarda kullanılan tavşan gözünün insan göz yapısından ayrılan özelliklerinin çalışma sonucunu farklı etkilemesi, göz hücre ve dokularının ilaç taşıyıcı sistemlerle etkileşiminin tam olarak bilinmemesi, nanopartiküllerin biyolojik ortamlarda (doku içinde birikme gibi) öngörülemeyen davranışlar sergilemesi gibi hususlar bu çalışmaların klinik uygulamalara yansıma oranını düşürmektedir (55).

Buna göre; her ne kadar çalışma sonuçları etkin hedeflendirme, uzatılmış salım ve artan biyoyaralanım ile sonuçlanmış ise de toksik olmayan, güvenli sistemlerin/formülasyonların tasarlanması ve klinik uygulamalara aktarılması hâlâ kapsamlı, koordineli ve standardize edilmiş çalışmalar gerektirmektedir (60).

### **2.5.5. Topikal Uygulanan Nanotaşıyıcılar**

İnsan derisi epidermis dıştaki ölü *stratum corneum* (SC) tabakası ile alt katmandaki canlı epidermis tabakasından oluşan, insan vücudunun yaklaşık % 10'unu oluşturan, mükemmel bir bariyer görevi gören, ayrıca yüksek yüzey alanına sahip ve kolay ulaşılabilir olmasına bağlı olarak lokal ya da sistemik ilaç uygulaması için cazip görülen bir yapıdır (6). Öte yandan derinin bariyer özelliği, uygulanan ilaçların hedef tabakalara ulaşması ve sistemik dolaşıma girmesi önünde engel teşkil etmektedir ve

nanofarmasötikler bu engeli aşmak üzere farklı şekilde tasarlanarak bu alandaki çalışmalara konu edilmektedir (61).

Topikal ve transdermal uygulanan nanoformülasyonlarla yapılan çalışmalarda *stratum corneumun* zorlayıcı koşullarının geçilmesi ve hedef tabakaya varılması amaçlanır iken olası toksik etkilerin ve istenmeyen dokularda birikimin asgari düzeyde tutulması için değerlendirmeler yapılmış ve metal, metal oksit, kuantum noktaları gibi yapıların ve karbon temelli katı nanopartiküllerin bu konuda riskli olduğu, ancak emülsiyonların ve lipit bazlı nano sistemlerin daha güvenli olabileceği değerlendirilmiştir (61).

Cilt kanserinin tedavisinde kullanılmak üzere tasarlanan nano ilaç taşıyıcı sistem deneyleri de partikül türüne, modifikasyonuna, tümör dokusuna ve çevre hücrelere/dokulara bağlı olarak ilacın *stratum corneumu* geçmesi ve istenen bölgeye hedeflendirilmesinde başarılı sonuçlar vermiş, ancak bahsedilen değişkenliklerin uygulama etkinliğinde farklılıklara sebep olduğunu göstermiştir (62).

Nanofarmasötiklerin potansiyelinin denendiği bir diğer uygulama da topikal vajinal tedavi yöntemidir, çünkü vajinal ortamın özellikleri konvansiyonel ilaçların etkinliğini sınırlar niteliktedir. Yapılan çalışmalar nanofarmasötiklerin topikal vajinal tedavide etkinliği artırabileceğini ve konvansiyonel yöntemin sorunlarını azalatabileceğini, ancak nano sistemin optimum koşulunu tanımlamak için de ileri çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu göstermiştir (63).

#### **2.5.6. Aşı Uygulamasında Kullanılan Nanotaşıyıcılar**

Aşı kullanımı yirminci yüzyılda birçok hastalığın önlenmesi, bazı hastalıkların yok edilmesi konusunda çığır açmıştır ancak bu konvansiyonel aşılarda güvenlilik, uygulama zorluğu, uygulama yoluna bağlı düşük immün yanıt gibi kısıtları da söz konusudur (6). Günümüzde klasik aşılarla alternatif olarak geliştirilen, daha güvenli bulunan yeni nesil aşılarda ise düşük immün yanıt oluşturmaktadır ve bu kısıtlamanın ortadan kaldırılması için; hem hücresel hem humoral yanıt oluşturmak, antijeni korumak ve sürekli salım sağlamak üzere (adjuvan olarak) nano sistemlerin kullanımı değerlendirilmektedir (5).

Nanoparçacıkların amaca uygun olarak tasarlanabilmesi nanoaşılar için; spesifik immünolojik hedeflendirme, gelişmiş antijen stabilitesi, sürekli salım, minimum immünotoksisite, artmış immünojenite sağlama potansiyeline sahiptir ve bu potansiyelin gerçeğe dönüşebileceği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Ancak nanoaşıların ticarileşebilmesi için hâlâ çok sayıda araştırmaya ihtiyaç duyulduğu da bildirilmiştir (64).

Parenteral yola kıyasla daha yüksek immün yanıt oluşturma potansiyeli bulunan mukozal uygulama yoluna ilişkin çalışmalar devam etmekte ve nanoaşılar ve nanoadjuvanlar da bu deneylerde yer almaktadır. Yapılan çalışmalarda polimerik nanopartiküller de kullanılmış ve bu partiküllerin mukozal immün mekanizmaları değerlendirilmiş, ancak bu aşamada hayvan deneylerinden elde edilen verilerin çeşitliliğine bağlı olarak söz konusu yapıların insanlar için yararlılığına ilişkin kesin bir çıkarım yapılamamıştır (65).

Yükleme ve ajanı koruma kapasitesi, biyouyumluluk, çok yönlü modifiye edilebilirlik gibi avantajları sebebi ile lipozomlar aşı adjuvan taşıyıcı olarak çalışılmış ve bu yapıların immün yanıtı artırdığı, bu alanda umut verici nitelikte olduğu raporlanmıştır (66).

Aşı adjuvanı çalışmalarına konu olan bir diğer yapı demir nanopartikülleridir. Preklinik denemeler demir nanopartiküllerin immün yanıtı artırdığını, ancak fizikokimyasal özelliklerdeki değişkenliğin bağışıklık yanıtını da büyük oranda değiştirdiğini, dolayısı ile sıkı bir tasarım profili çizmenin önemli olduğunu göstermiştir (67).

Grafen oksit yapıları da geniş yüzey alanı, kolay modifiye edilebilir iskeleti sayesinde antijen adsorbe edebilir. Dolayısı ile fonksiyonelize edilmiş grafen oksit yapılar immünoterapi için önemli yapılardır ancak bu aşamada biyouyumluluk ve toksisite ile ilgili kısıtlamaları değerlendirilmelidir (68).

### **2.5.7. Tümör Tedavisinde Kullanılan Nanotaşıyıcılar**

Kanser günümüzde insan sağlığını ve yaşamını tehdit eden, bulaşıcı olmayan ölümcül hastalıklar arasında başı çekmektedir ve son on yıllarda 7.1 milyondan fazla insanı etkilemiştir (69). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün 2020 yılı kanser raporunda,

2018 yılında 18.1 milyon vaka ve 9.6 milyon ölüm kaydedildiği bildirilmiştir ve bu sayının 2040 yılında iki katına çıkması beklenmektedir (70).

Kanser tedavisinde yaygın olarak cerrahi uygulamalar, radyoterapi ve kemoterapi seçenekleri tercih edilmektedir (71). Kanser tedavilerinde önemli ilerlemelerin sağlanmasına rağmen; çoklu ilaç direnci, yetersiz hedeflendirme, spesifik olmayan biyodağılım ve hedef dışı yan etkiler, terapötik ajanın zayıf çözünürlüğü, dar terapötik indeks, düşük oral biyoyararlanım ve benzeri birçok unsur tedavi etkinliğini olumsuz etkilemektedir (69, 72).

Her geçen gün hızla artan sayıda çalışmada nanoteknoloji, antikanser ajanların hedeflendirilmesi (seçici biyolojik dağılım), çözünürlüğünün artırılması, dolaşımda kalma süresinin artırılması, toksik yan etkilerinin azaltılması ve farmakodinamik/farmakokinetik özelliklerin geliştirilmesi amacıyla kullanılmaktadır (72, 73). Bu kapsamda ilaç taşıyıcı nanosistemler; tümör dokularının artmış geçirgenlik ve alıkonma (EPR-Enhanced Permeability and Retention) özelliğine bağlı pasif hedeflendirme ve nano taşıyıcıların modifikasyonuna dayanan aktif hedeflendirme yöntemleri ile belirlenen bölgeye hedeflendirilirler (72).

Antikanser ajan taşıyıcı sistemlerin modifikasyonu ve hedeflendirilmesinde tümör hücrelerinin kendilerine has yapısal ve fizikokimyasal özelliklerinden yararlanılarak tasarım yapılır (74). Bu aşamada nanotaşıyıcı sistemlerin-ilacın dolaşımda uzun süre kalması, ilacın stabilitesinin artırılması, tümör dokularında penetrasyonun artması ve tümör hücrelerine gerekli konsantrasyonda ilacın ulaştırılması hedeflenerek modifikasyon sağlanır (74, 75). Modifikasyonda belirgin fark sağlayan unsurların başında nanomalzemelerin boyutu, şekli, yüzey yükü gibi fizikokimyasal özellikleri gelmektedir (76). Nano taşıyıcı sistemler ayrıca hücre dışı (ışık, ısı) ve hücre içi (pH, oksidatif stres, indirgeme, enzim) uyarılara duyarlı olarak tasarlanır ve bu sayede ilacın hedeflenen bölgede, hızlı şekilde salımı sağlanır (77).

Kanser tedavisi çalışmalarında antikanser ajan taşıyıcı olarak polimerik nanopartikül, nanoemülsiyon, katı lipit nanopartikül, nano yapılı lipit taşıyıcı, kendi kendine miselleşen lipitler, dendrimerler, nanokapsüller gibi yapılar kullanılmıştır (78). Terapötik amaçlı nano taşıyıcı sistemlerden beklenen en önemli özellikler bu yapıların biyo-uyumlu, biyoparçalanır ve non-toksik yapıda olmasıdır (79).

Polimerik nanotaşıyıcılar, yükleme kapasitelerinin yüksek olması, biyoparçalanır olmaları ve uyarıcıya duyarlı olmaları sebebi ile önde gelen yapılardır ancak bu beklentileri karşılar nitelikte tasarlanabilmeleri için kapsamlı çalışmalar gerekmektedir (80). Özellikle kitosan bazlı nanosistemler hem biyoparçalanır polimer yapıda olmaları hem tümör dokusunda yanıt oluşturmak üzere uyarıya duyarlı olmaları nedeniyle önemli yapılardır (79).

Son yıllarda kolay sentezlenmeleri; işlevsel, kararlı, yüksek yükleme kapasiteli olmaları gibi avantajları sebebi ile altın nanopartiküller, mezogözenekli silika partiküller, fosfor ve grafenoksit gibi inorganik nano malzemeler de antikanser ajanların taşınmasında çalışılmış ve bu çalışmalardan umut verici sonuçlar elde edilmiştir (71).

Küresel nanopartiküllere nazaran çok daha yüksek yükleme kapasitesine sahip karbon nano tüpler de bu alanda çalışılmış ve toksik etkilerinin azaltılması, ilaç çözünürlüğünün artırılması, hedeflendirme gibi konularda işlevsellik kazandırmaya uygun bulunmuşlardır (69)

Hali hazırda meme kanseri ve lenfoma tedavisinde kullanılan ancak toksik etkileri dolayısı ile kullanımı sınırlı olan “doksorubisin” (74) modifiye edilmiş (polimerik) nanomisel taşıyıcılar ile uygulandığında; hidrofobik ilacın etkin taşınması sağlanmış, pH kontrolü ile artırılmış ilaç salımı elde edilmiş ve ürün biyogüvenliği uygun bulunmuştur (81). Klinik çalışmalara konu olan ilk antikanser nanofarmasötik ise “lipozomal doksorubisin”dir ve bu yapı ile ilacın sistemik dolaşımında yarılanma ömrünün artması ve kardiyotoksitesinin azalması sağlanmıştır (78). Bir diğer antikanser ilacı “paklitaksel”in albümine bağlanarak uygulanması sonucunda ise “paklitaksel”in düşük toksisite gösterdiği belirlenmiştir (78). Kanser tedavisinde yaygın kullanılan ancak düşük çözünürlük, toksik etki gibi özellikleri nedeniyle klinikte kullanımı sınırlanan platin bazlı “sisplatin”in nanotaşıyıcı sistemler ile uygulanmasında düşük yan etki, düşük sistemik toksisite ve artan terapötik etkinlik sağlandığı gösterilmiştir (82).

En yaygın görülen ve ölüm oranı en yüksek kanser türlerinden biri meme kanseridir ve nano ilaç dağıtım sistemleri meme kanseri tedavisi için de çalışmalara konu olmuştur ve sonuçlar nano ilaç taşıyıcı sistem kullanımının ilaç etkinliğini



artırdığını, yan etkileri azalttığını, kontrollü ilaç salımı sağladığını göstermiştir (83, 84). Yumurtalık kanseri için tanı ve tedavi amacı ile tasarlanan ilaç (paklitaksel) taşıyıcı nano problemlerin hem manyetik rezonans görüntüleme (MRI) hem tümör büyümesini inhibe etmede başarılı sonuçlar verdiği bildirilmiştir (85). Yine rahim ağzı kanseri cerrahi işlem, radyoterapi ve kemoterapiye rağmen nüksetme oranı %35 civarında olan yaygın bir kanser türüdür ve nano kemoterapötikler ile yapılan çalışmalar bu hastalıkta, hastaların yaşam süresini ve kalitesini artırmanın mümkün olduğunu göstermiştir (86).

Nanokemoterapötiklerin kanser tedavisinde tümör dokularıyla birlikte bir diğer hedefi de kanser kök hücreleridir; kanser kök hücreleri, kanser hücrelerinin kendi kendilerini yenileme ve farklılaşma özelliği olan alt gruplardır (87). Kanser tedavisinin bahsedilen zorluklarının yanı sıra kanser kök hücrelerinin varlığı da tümör oluşumunda, gelişmesinde; ilaç direnci gelişmesinde, kanserin nüks etmesinde ve metastazda çok önemli bir etkidir. Bu yapıların nanotaşıyıcı sistemler ile hedeflendirilmesi de kanser tedavisi etkinliğini artırma konusunda ciddi bir adım olarak değerlendirilmiştir (70).

Nanofarmasötiklerle yapılan çalışmalar, bu yapıların kanser tedavisinde devrim yaratacak potansiyelde olduğunu göstermektedir ancak nanotaşıyıcılardan kaynaklı toksisite ve bağışıklık tepkisi de iyi değerlendirilmesi gereken konulardır (72, 88, 89). Zira nanoboyuttaki yapıların biyolojik engelleri geçmesi, biyolojik sistemlere ulaşması bu yapıları aynı zamanda iyi değerlendirilmesi ve karakterize edilmesi gereken yapılar haline getirir; nitekim bu yapıların hücre zarına, hücre organellerine ve DNA'ya zarar verdiğine ilişkin bulgular mevcuttur (78, 90).

Ayrıca yapılan çalışmalarda klinik öncesi denemelerin başarılı sonuçlar verdiği görülmekle birlikte, çalışmaların çoklukla kemirgen hayvanlarda ve ksenograf tümör modelleri üzerinde yapıldığı, aynı yapıların insanda ve doğal oluşan tümör çevresinde farklı yanıt vermesinin kaçınılmaz olduğu ifade edilmektedir (91). Tümör mikro-ortamının özelliklerine bağlı olarak nanotaşıyıcının özelliğinin ve etkisinin değişmesine bağlı olarak bu konuda genel yöntemler belirlemenin uygun olmadığı sonucuna varılmıştır (92). Nano taşıyıcılar ile yapılan çalışmaların kanser tedavisinde hedeflenen sonuçları desteklediği görülmekle birlikte üretim prosesindeki kararlılık,

maliyet etkinliği, büyük ölçekli üretim zorluğu gibi teknik zorluklar ise bu yolda karşılaşılabilecek bir başka engel olarak değerlendirilmektedir (72, 89).

### **2.5.8. Gen Tedavisinde Nanotaşıyıcı Kullanımı**

Günümüzde kalıtsal ya da sonradan edinilmiş, genlerde meydana gelen değişikliklere bağlı hastalıklar hastalıklı bölgelere eksojen nükleik asit verilmesi ile tedavi edilebilmektedir. Gen transferinde taşıyıcı sistem olarak viral ya da viral olmayan yapılar kullanılabilir ve viral olmayan yapılar arasında nanoboyutta çeşitli malzemelerin kullanımı tercih edilir (6).

Nano taşıyıcılar ile hücreye gen taşıma sürecinde, taşıyıcıların dolaşımdaki stabilitesinin düşüklüğu, taşıyıcı sistemin büyüklüğüne bağlı olarak hızlı klirens, hücresel alım oranının düşüklüğu, hücre içinde endozomal/lizozomal yıkım gibi birçok mekanizma taşınan genin hedefe ulaşmasında ciddi engellerdir. Bahsedilen zorlukları aşmak üzere altın, demiroksit, silika, lantanit bazlı inorganik nano taşıyıcıların işlevselleştirilme potansiyelinden yararlanılmış ve sonuçlar bu yapıların uygun modifikasyon ile gen taşımada etkin olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur (93). Başka bir çalışmada, organik modifiye silika nanopartiküllerin merkezi sinir sistemine in vivo gen transferi için güvenli ve verimli bir sistem olduğu gösterilmiştir (94). Nano taşıyıcı sistemler arasında en çok çalışılan yapılardan biri olarak lipit temelli nanotaşıyıcılar da nükleik asit transferinde çalışılmış ve hatta kalıtsal transtiretin amiloidoz (hATTR) tedavisinde kullanılmak üzere geliştirilen lipit nanopartikül taşıyıcı temelli Onpattro® isimli ürün 2018 yılında ABD’de ve AB’de onaylanmıştır (95). Nükleik asit bazlı ilaçların karaciğerde bozuk gen kaynaklı hastalıkların tedavisinde de kullanılabilirdiği ve bu amaçla lipit nano taşıyıcıların siRNA, mRNA, DNA taşımada çok ciddi bir potansiyelinin olduğu belirlenmiştir (96). Kanseri tedavisinde de gen transferinin faydalarından yararlanmak üzere çalışmalar yapılmış, polimer nanopartiküllerin farklı boyutları ile yapılan denemelerde çıplak RNA’ya karşı polimer nanotaşıyıcı sistem ile taşınan RNA’nın tümörde daha yüksek birikim sağladığı gösterilmiştir (97).

Yapılan çalışmalar nanosistemler ile gen transferinin birçok hastalığın tedavisi için umut vadettiğini göstermektedir ancak nano sistemlerin nükleik asitlerle

etkileşimi, vücutta alerjik reaksiyonu tetiklemesi, toksik etkileri gibi birçok bilinmeyen unsur değerlendirilmeli, nanopartiküllerin farklı klinik uygulamalarda kullanıldığı göz önünde bulundurularak güvenilirlikleri incelenmelidir (6).

### **2.5.9. Medikal Görüntüleme Nanotaşıyıcı Kullanımı**

Medikal alanda görüntüleme işlemi hastalığın teşhisi ve tedavisi için ciddi önem arz eden bir işlemdir ve görüntüleme metotları MRI, BT, Radyonüklit Görüntüleme ve Ultrasonografi olarak dört ana başlık altında toplanır (6).

Kendilerine has optik ve elektronik özellikleri dolayısı ile inorganik nanopartiküller tedavi amaçlı taşıyıcı sistemler olarak kullanılmalarının yanı sıra görüntüleme amacıyla da yaygın olarak kullanılmaktadır ve klinik çalışmalarda kullanılmakta olan demir nanopartiküller ile silika nanopartiküllerin yanı sıra bakır oksit nanopartiküllerin de özellikle manyetik rezonans görüntüleme ve floresans görüntüleme yüksek kontrast yaratarak başarılı sonuçlar verdiği bildirilmiştir (98). Yapılan çalışmalar grafen oksit nanopartiküllerin de farklı görüntüleme yöntemlerinde kayda değer iyileşme sağladığını göstermiştir (99).

Öte yandan polimerik malzemelerin biyogeçimli, biyobozunur özelliklerinden yararlanmak ve aynı anda görüntüleme ve tedavi sağlayabilmek üzere inorganik-polimer kompozisyonları hazırlanmış ve bu sistemlerle de farklı görüntüleme yöntemleri ile istenen etkinlikte sonuçlar elde edilmiştir (100).

## **2.6. Nanotaşıyıcı Yapıların Hazırlanma Yöntemleri**

### **2.6.1. Polimerik Nanopartiküllerin Hazırlanması**

Polimerik nanopartiküller (nanoküreler ve nanokapsüller) için birçok hazırlama yöntemi bulunmakla birlikte, bu yöntemler genelde iki temel yaklaşım üzerinden şekillenir ve;

- 1- Monomer polimerizasyonu
  - 1.1- Emülsiyon polimerizasyonu,
  - 1.2- Dispersiyon polimerizasyonu,

## 2- Polimer dispersiyonu

- 2.1- Emülsiyon oluşturma/çözücü buharlaştırma,
- 2.2- Tuzla çöktürme,
- 2.3- Emülsiyon çapraz bağlama,
- 2.4- Nanoçöktürme,
- 2.5- Koaservasyon,
- 2.6- Püskürterek kurutma / dondurma,
- 2.7- Süperkritik sıvı teknolojisi,
- 2.8- İyonik jelleşme

Şeklinde alt yöntemlere ayrılır (6).

1- Monomer polimerizasyonu yönteminde monomer veya monomer karışımı ile etkin madde karışımı uygun koşullara getirilir ve polimerizasyon sağlanır, parçacık büyüklüğü ve parçacık büyüklüğü dağılımı tepkime koşullarına bağlı olarak ayarlanabilir (101). Bu yöntemin dezavantajı; yardımcı maddelerin toksik olabilmesi, ilgili katalizörlerin yüksek sıcaklığa ihtiyaç duyabilmesi olarak sıralanabilir (6).

2- Polimer dispersiyonu yönteminde ise uygun polimer malzeme kullanılarak çeşitli yöntemlerle nanopartiküller elde edilir (6).

### 2.1- Emülsiyon oluşturma / çözücü buharlaştırma:

Bu yöntemde öncelikle polimer (-ilaç karışımı), uçucu ve suyla karışmayan bir çözücüde çözülür, ardından bir sürfaktan varlığında su ile emülsifiye edilir ve çözücü buharlaştırılarak uzaklaştırılır. Bu yöntemle hidrofobik ilaçların enkapsülasyonu tek bir emülsiyon prosesi (su içinde yağ: Y/S) ile sağlanır iken hidrofilik ilaçların yüklenmesi için çift emülsiyon (su içinde yağ içinde su: S/Y/S) gerekir (102).

### 2.2- Tuzla çöktürme:

Bu yöntemde normal şartlarda su ile karışabilen ancak yüksek konsantrasyonda tuz varlığında su ile karışmayan bir çözücü kullanımı söz konusudur. Buna göre bu çözücüde polimer çözündürülür, ardından karışım elektrolit ve stabilizan içeren sulu faza aktarılır, emülsiyon oluşumu sağlanır ve son olarak ortamın tuz konsantrasyonunu düşürecek işlemler uygulanarak nanopartiküller elde edilir. Yöntemin dezavantajı

ortamdan elektrolitlerin giderilmesinin zorluğudur, yöntemin avantajı sıcaklık uygulamasına ihtiyaç duyulmamasıdır (6).

### 2.3- Emülsiyon çapraz bağlama:

Polimer ve ilaç emülsiyonuna çapraz bağlayıcı ajan eklenmesi sonucunda nanopartikül elde edilir. Yöntemin dezavantajı çapraz bağlayıcı ajanların toksik özellik gösterebilmesidir, yöntemin avantajı sıcaklık uygulamasına ihtiyaç duyulmamasıdır (6).

### 2.4- Nanoçöktürme:

Nanoçöktürme (nanopresipitasyon) yönteminde ilaç ve polimer, su ile karışmayan organik çözücüde çözündürülür, bu karışım daha sonra karıştırma altında stabilizör içeren sulu faza eklenir, ara yüzey geriliminin düşmesi ile organik faz sulu faza hızla difüzyonlanır ve bu aşamada damlacıklar halindeki polimer nanopartikülleri sulu fazda çöker (103).

### 2.5- Koaservasyon:

Koaservasyon yönteminde temel mekanizma ana malzemenin çözünürlüğünün düşürülmesi böylece faz ayrışmasının sağlanması ve etkin madde ile sulu ana madde yönünden zengin faz elde edilmesidir. Koaservat elde edilmesi sıcaklığın kritik seviyenin altına düşürülmesi; ortama non-solvan eklenmesi, elektrolit eklenmesi, geçimsiz polimer eklenmesi gibi yöntemlerle sağlanabilir (101).

### 2.6- Püskürterek kurutma / dondurma:

Püskürterek kurutma yönteminin mekanizması polimer-ilaç çözeltisi ya da emülsiyonunun atomizasyonu ve kurutulmasına dayanır. Kurutma işleminin çözücü uzaklaştırma ya da soğutma işlemine dayalı olmasına göre kurutma ya da dondurma adını alır (101).

### 2.7- Süperkritik sıvı teknolojisi:

Süperkritik sıvı teknolojisi ile nanopartikül hazırlamada; ya metanol gibi, süper kritik akışkan CO<sub>2</sub> ile tamamen karışan sıvı bir çözücü kullanılır ve bu süper kritik akışkan içerisinde polimer-ilaç solütü çözündürülür ya da solüt doğrudan (süperkritik metanol gibi) süper kritik sıvı içinde çözündürülür ve sonra çözelti nozzle yardımı ile

püskürtülür (24) ve çözeltinin çözücülüğü azaltılarak nanopartiküllerin çökmesi sağlanır (6).

### 2.8- İyonik jelleşme:

Özellikle kitosan ve aljinat gibi hidrojel nanopartikül üretiminde kullanılan polimerler için iyonotropik (iyonik) jelleşme yöntemi tercih edilir. Buna göre kitosan nanopartiküllerin hazırlanmasında alkali tripolifosfat ile asidik kitosan çözeltisi karıştırılır, moleküller arası ve molekül içi etkileşim sonucunda nanoküreler oluşur (24).

### 2.6.2. Dendrimerlerin Hazırlanması

Dendrimerler tanımlanmış tektip büyüklükte ve şekildeki, çok dallı polimerik yapılardır (104). Dendrimerler çekirdek, dal ve uç (terminal) gruplar olmak üzere üç bölümden müteşekkil yapılardır ve uç gruplar yapının biyolojik olarak aktif moleküllerle etkileşimini belirleyen en önemli birimdir (49).

Dendrimerler genelde iki yöntem ile sentezlenirler:

1-İraksak yöntem: Bu yöntemde proses çekirdekten başlar ve yapı tanımlanmış yeni bir kol ile radyal olarak dışarı doğru uzama gösterir (105).

2-Yakınsak yöntem: Hawk tarafından tasarlanmış bu yöntemde ise önce dıştaki dalların sentezi ve bağlanması gerçekleşir, prosesin son aşamasında ise tüm dalları birbirine bağlayan çekirdek yapıya katılır (105).

İlaç taşıyıcı sistem olarak kullanılan dendrimer yapılar arasında, çekirdeğinde etilendiamin bulunan ve metil akrilat ve etilendiamin dallardan oluşan poli(amidoamin) PAMAM dendrimerler başı çekmektedir (106).

### 2.6.3. Lipozomların Hazırlanması

Lipozom hazırlama yöntemlerinin hemen hepsi fosfolipitlerin (ve eğer var ise kolesterolün) organik çözücüde çözüldürülmesi ve ardından çözücünün uzaklaştırılması esasına dayanır (107). Lipozom üretim teknikleri arasında film yöntemi, ters faz buharlaştırma, deterjan-diyaliz, emülsiyon, dondurma-çözme sonikasyon, kurutma yeniden su ekleme, etanol/eter enjeksiyon, süper kritik çözelti,

yoğun gaz yöntemi (6) çözücü uzaklaştırma, çözücü dispersiyonu/anti çözücü eklenmesi, deterjan uzaklaştırma (107) gibi yöntemler kullanılır. Bu yöntemlerle elde edilen ve genelde mikron boyutunda olan lipozom ise ekstrüzyon veya sonikasyon yöntemi ile nano boyuta küçültülür (6).

1- Ekstrüzyon, lipozom süspansiyonunun belirlenen gözenek aralığında bir membran filtreden, belli bir basınç ile geçirilmesi tekniğidir (108).

2- Sonikasyon, farklı tipte olabilen sonikatörler ile veziküler yapılara ultrasonik ses dalgası uygulanması ve bu enerji transferi ile küçük boyutlu lipozomlar elde edilmesidir (6).

#### **2.6.4. Niozomların Hazırlanması**

Niozomlar lipozomların stabilite, sterilizasyon ve büyük hacimde üretimi konusundaki kısıtlamalarının üstesinden gelmek üzere tasarlanmıştır ve tek tabakalı ya da çok tabakalı olarak hazırlanabilirler (109). Niozom hazırlama yöntemleri;

- 1- İnce film hidrasyon,
- 2- Kabarcık,
- 3- Eter enjeksiyon,
- 4- Sonikasyon,
- 5- Ters faz evaporasyon,
- 6- Mikroakışkanlaştırma,
- 7- Transmembran pH gradyanı,
- 8- Tek geçiş tekniği,
- 9- Vila,
- 10- Isıtma,
- 11- Dondurma-eritme,
- 12- Mikroakışkan hidrodinamik odaklama,
- 13- Dehidrasyon-rehidrasyon,
- 14- Süper kritik karbondioksit yöntemi

Olarak sıralanabilir (110). Bu yöntemler arasında en yaygın kullanılan "ince film hidrasyon" yöntemidir.

İnce film hidrasyon yönteminde; yüzey aktif maddeler ve kolesterol gibi bazı katkı maddeleri, yuvarlak tabanlı bir şişede organik bir çözücü içerisinde çözündürülür. Ardından organik çözücü bir döner vakumlu buharlaştırıcı kullanılarak uzaklaştırılır ve şişenin iç duvarında ince bir film oluşturulur. Ardından içinde ilaç bulunan su veya fosfat tamponlu salin gibi bir çözücü eklenerek kuru film yüzey aktif maddenin geçiş sıcaklığının (Tc) üzerinde hidratlanır ve çok tabakalı vezikül yapılar elde edilir (111).

### **2.6.5. Lipit Nanopartiküllerin Hazırlanması**

Diğer lipit nano taşıyıcı sistemlerinden farklı olarak, nano yapılı lipit taşıyıcılar uygun bir yüzey aktif madde ile stabilize edilmiş katı ve sıvı lipit karışımından oluşur ve katı-sıvı lipitlerin oranı, kullanılan eksipiyanın türüne ve yapısına bağlıdır. Lipit nano taşıyıcı elde etme yöntemleri;

- 1- Yüksek basınçlı homojenizasyon,
- 2- Mikroemülsifikasyon,
- 3- Çözücü emülsifikasyonu-buharlaştırma,
- 4- Solvent difüzyonu,
- 5- Emülsifikasyon sonikasyon,
- 6- Çözücü deplasmanı veya çözücü enjeksiyonu,
- 7- Faz ters çevirme,
- 8- Eriyik dağılımı

Yöntemleri olarak sıralanabilir (41).

Bunlar arasında en yaygın kullanılan yüksek basınçlı homojenizasyon yönteminde; etkin madde lipit içinde dağıtılır, bu karışımın yüksek basınç altında, yüzey etkin madde içeren su fazı ile homojenizasyonu sağlanır. Bu yöntemin etkin madde özelliğine göre sıcak ve soğuk koşulda gerçekleştirilebilmesi, kolay ölçek büyütme imkân vermesi, çalışmada organik çözücü kullanılmaması ve üretim süresinin kısa olması yöntemi diğerleri arasında avantajlı kılar (112).



### 2.6.6. Nanoemülsiyonların Hazırlanması

Nanoemülsiyonlar bifazik (Y/S veya S/Y), çoklu tür (S/Y/S veya Y/S/Y) olarak kategorize edilebilirler ve ‘yüksek enerjili’ veya ‘düşük enerjili’ olarak sınıflandırılan iki ana yöntem ile hazırlanırlar (113).

1-Yüksek enerjili emülsifikasyon teknikleri; dispers fazın boyutunu küçültmek için dispersiyon ortamına çok yüksek enerji indüklenmesini gerektirir (114). Bu teknik mikroakışkanlaştırıcı, piston boşluklu homojenizatör ve ultrasonikasyon yöntemlerini içerir (115).

2-Düşük enerjili emülsifikasyon teknikleri; yüksek enerjili yöntemlere kıyasla daha düşük yağ:süpfaktan oranı ile ultraince nanoemülsiyonlar üretilir (116). Bu teknik kendinden emülsifikasyon, faz dönüşüm sıcaklığı yöntemlerini içerir (113).

Söz konusu yöntemlerin her birinin kendi özelliğine göre olumlu ve olumsuz yönleri bulunmaktadır (113).

### 2.6.7. Misellerin Hazırlanması

Amfifilik yapıdaki blokkopolimerler sulu ortamda, kendiliğinden birleşerek miselleri oluşturur (117). İlaç taşımada kullanılan kopolimerler genelde diblok veya triblok kopolimerlerdir (118). Misellerin hazırlanmasında kullanılan yöntemler;

- 1- İnce film hidrasyonu,
- 2- Sonikasyon,
- 3- Diyaliz,
- 4- Su içinde yağ emülsiyonu (çözücü uzalaştırma),
- 5- Dondurarak kurutma ve
- 6- Süperkritik akışkan

Yöntemleridir ve bunlar arasında en yaygın kullanılanı ‘ince film hidrasyonu’dur (119).

Amfifilik misellere ilaç yüklemesi, fiziksel olarak hapsedme, kimyasal konjugasyon veya bu ikisinin kombinasyonu şeklinde gerçekleşir. Fiziksel hapsedmede ilacın hidrofobik etkileşimler ile doğrudan misel içine eklenmesi söz konusu iken suda zayıf çözünür ilaçlar için diyaliz yöntemi, su içinde yağ

emülsiyonunda solvent evaporasyon yöntemi veya katı dispersiyon yöntemi tercih edilir (118).

### **2.6.8. Nanokristallerin Hazırlanması**

İlaç nanokristalleri, etkin maddenin sulu dispersiyonları halinde hazırlanması nedeni ile nanosüspansiyonlar olarak da adlandırılır ve ‘aşağıdan yukarıya teknoloji’ ve ‘yukarıdan aşağıya teknoloji’ olmak üzere iki temel yaklaşım ile hazırlanırlar (6). Ancak ayrıca ‘kombinasyon’ ve ‘kimyasal sentez’ yaklaşımları da kullanılabilir (120).

‘Aşağıdan yukarıya teknoloji’ prosesleri genelde ‘çöktürme’ prosesi olarak da adlandırılır çünkü bu yöntemin esası; aşırı doymuş ilaç çözeltisinde ilaç partiküllerinin çöktürülmesi esasına dayanır ve (1) likit çözücü-anti çözücü ilavesi ile çöktürme yöntemi, (2) süperkritik akışkanda çöktürme yöntemi, (3) çözücü uzaklaştırma temelli yaklaşımlar ve (4) yüksek enerjili yöntemlerle eşleşmiş yöntemler (kombinasyon) ile çöktürme sağlanabilir (120).

‘Yukarıdan aşağıya teknoloji’ ise partiküllerin ezme ya da aşındırma ile daha küçük partiküllere dönüştürüldüğü fiziko-mekanik yöntemleri kasteder ve bu yaklaşımda temel olarak (1) bilyalı değirmen ile öğütme ve (2) yüksek basınçlı homojenizasyon yöntemleri kullanılır (121).

Her yöntemin kendine göre avantajı ve dezavantajı vardır; ihtiyaca göre farklı yaklaşımların bir arada kullanılması ile ‘kombinasyon’ yöntem oluşturulabilir (122).

### **2.6.9. Karbon-temelli Nano Yapıların Hazırlanması**

Karbon-temelli nano yapılar karbon atomunun oluşturduğu moleküler yapılardır; yapıların geometrisini ve özelliklerini molekülün bağ yapısı ve sayısı belirler (6).

Fullerenler endüstride yaygın uygulama alanı olan malzemelerdir ancak bu yapıların elde edilme yöntemlerinin yüksek maliyetli olması kullanım miktarını sınırlamaktadır. Her birinin kendine göre avantajı ve dezavantajı bulunan fulleren elde etme yöntemleri; (1) ark boşalması, (2) yanma, (3) lazer, (4) mikrodalga ile fulleren sentezi ve (5) kurum arıtma ile saflaştırma yöntemleri olarak sıralanabilir (123).

Karbon nano tüpler yapısal olarak tek, çift ve çok katlı olabilirler ve genel olarak (1) ark deşarj, (2) lazer ablasyon, (3) kimyasal buhar birikimi, (4) alev sentezi ve (5) silan çözelti yöntemleri ile elde edilirler (124).

#### **2.6.10. Plimer-İlaç Konjugatlarının Hazırlanması**

Polimer-ilaç konjugatları genelde; polimer iskelet, bağlayıcı, hedefleyici ligand ve ilaç varlığında elde edilir. İlaç-polimer konjugatı, birleştirme reaksiyonları yoluyla; doğrudan biyolojik bileşiklerin veya ilaçların polimere konjugasyonu ile elde edilir (125). Konjugasyon kovalent bağlanmayla veya elektrostatik etkileşim gibi etkileşimlerle gerçekleşebilir, dolayısı ile her iki bileşenin yapısal özellikleri ve konjugatın hedeflenen özellikleri konjugasyon özelliklerini de belirler (6).

#### **2.6.11. İnorganik Nanopartiküllerin Hazırlanması**

Metalik nano partiküller; ‘yukarıdan aşağıya’ ve ‘aşağıdan yukarıya’ tekniği ile iki ana yöntem ile üretilirler. Yukarıdan aşağıya üretim tekniği (1) mekanik öğütme, (2) lazer ablasyon, (3) iyon püskürtme yöntemlerini; aşağıdan yukarıya üretim tekniği ise (1) fiziksel buhar biriktirme, (2) kimyasal buhar biriktirme, (3) sol jel, (4) kimyasal indirgeme, (5) hidrotermal, (6) solvotermal, (7) sprey piroliz, (8) lazer pirolizi, (9) alev pirolizi yöntemleri, (10) biyolojik/biyomimetik/yeşil sentez yöntemlerini ve (11) diğer yöntemleri içerir (126).

#### **2.7. Nanotaşıyıcı Yapıların Karakterizasyon Yöntemleri**

Nanotaşıyıcı sistemlerin karakterizasyonu, yapıların amaca yönelik nitelikte olduğunu belirleme konusunda, özellikle in vivo davranışlarının tahmin edilmesi ve kalite özelliklerinin değerlendirilmesinde kritik önemdedir (6). Çünkü karakteristik özelliklerine bağlı olarak nanoyapıların in vivo biyolojik ortamlarla etkileşimleri farklılık göstermektedir, bu durum yapının (nanofarmasötigin) etkinliğini, güvenilirliğini belirleme konusunda da sağlam bir karakterizasyon tayinini gerekli kılar. Ayrıca ancak doğru bir karakterizasyon yöntemi ile serilerin tekrar üretilebilirliği, tutarlılığı sağlanabilir ve laboratuvar boyutundan ticari boyuta seri büyütme sorunları asgari seviyeye düşürülebilir (127).

Nano-boyutta olmayan maddeler için tanımlanan ve analiz edilen fizikokimyasal özelliklerin yanı sıra, nanoyapıların karakterizasyonu için büyüklük, yüzey özellikleri, şekil, bileşim, moleküler ağırlık, saflık, stabilite, çözünürlük gibi özellikler tanımlanmalı ve tayin edilmelidir. Bu özellikler nanoyapıları etkinlikte artış, yan etkilerde azalma vb. yönlerden tıbbi uygulamalarda üstün kılan fizyolojik etkileşimler üzerinde etkili özelliklerdir (128).

Standart farmasötiklere kıyasla daha kompleks bir doğaya sahip olmaları sebebi ile nanofarmasötikleri tam olarak karakterize etmek için sofistike test yöntemleri gerekebilir. Bu konuda düzenleyici otoritelerin standart kılavuzlarının bulunmaması, nanofarmasötiklerin özgün yapısı ve mevcut durumda ürün esası değerlendirme yapılıyor olması da araştırmacılara ve üreticilere daha fazla sorumluluk yüklemektedir (7).

Yapının türüne bağlı olarak farklılaşan özellikler de söz konusu olmakla birlikte farklı yapıların karakterizasyonu için ortak ve öncelikli kontrol edilen özellikler partikül büyüklüğü ve partikül büyüklüğü dağılımı, yüzey morfolojisi/şekli, yüz yükü, ilaç yükleme verimliliği ve ilaç salım profili olarak sıralanabilir (6). Bu fizikokimyasal özellikler kalite parametreleriyle ilgilidir (127). Her bir özelliği belirlemede ise spektroskopi, saçılma teknikleri, elektriksel teknikler gibi ana teknikler altında yer alan farklı analitik yöntemler kullanılabilir (129).

### **2.7.1. Partikül Büyüklüğü ve Büyüklük Dağılımı**

Partikül büyüklüğü, nano taşıyıcı sistemlerin kandaki dolaşımını, fizyolojik bariyerlerden penetrasyonunu, bölgeye ve hücreye özgü lokalizasyonunu, hücreye giriş yetisini, hücresel tepkilerin indüklenmesini, biyodağılımını, klirensini etkileyen en kritik özelliklerinden biridir (34, 128). Özellikle artırılmış geçirgenlik ve tutma etkisi ve biyolojik varlıklarla etkileşim üzerinde rol oynayarak, nanosistemin yazgısını belirleyen bir parametredir (127). Örneğin uygulamadan sonra, 20-30 nm'den küçük boyuttaki küçük nanopartiküller böbrek atılımıyla hızla temizlenirken, 200 nm veya daha büyük boyuttaki partiküller, karaciğer, dalak ve kemik iliğindeki hücrelerle mononükleer fagositik sistem tarafından daha verimli bir şekilde alınır (7). Genel olarak, küresel olmayan bir nanomalzemenin boyutu, seçilen fiziksel özellikleri aynı

ortamdaki nanomalzemelere eşdeğer olan küresel bir parçacığın eşdeğer çapı olarak tanımlanır (127).

### **2.7.2. Morfoloji/Şekil**

Partikül morfolojisi, naosistemlerin kan dolaşımında kalma süresini ve hücrelerle etkileşimini etkileyen bir özelliktir (127). Nanosistemlerin şekli bu yapıların; biyodağılımı, dolaşım stabilitesi, hücre alımı, partikül hızı, difüzyonu, kan damarı duvarlarına yapışması, hedeflendirme yetisi gibi biyolojik performanslarını etkileyen önemli bir parametresidir (34).

### **2.7.3. Yüzey Yükü**

Yüzey yükü, reseptöre bağlanmayı, proteinlerle etkileşimi, fizyolojik bariyer penetrasyonunu ve hücrelerle etkileşimi etkileyen bir faktördür (127, 128). Dolayısı ile nanosistemlerin dağılma stabilitesini ve agregasyonunu yönetir (128). Yapının bu özelliği, zeta potansiyelinin tayini ile belirlenir (127). Zeta potansiyeli, elektroforetik olarak hareketli parçacıkların etrafındaki elektrikli çift katman ile kayma düzlemindeki dağıtıcı katman arasındaki potansiyel farkı yansıtır (130).

Yapılan çalışmalar, pozitif yüklü nanopartiküllerin, negatif yüklü veya nötral nanopartiküllere kıyasla daha yüksek hücre alım oranına sahip olduğunu göstermiştir ki bu etkileşim hücre zarının negatif yüklü doğasıyla ilişkilidir ve yapıların hedeflenen bariyerlerden geçişini yönetmeyi mümkün kılar (34). Ayrıca yüzey yüküne bağlı etkileşim yetisi, nanosistemlerin toksisitesinin belirlenmesinde önemli bir etkendir (129).

### **2.7.4. İlaç Yükleme Verimliliği**

Nanoilaç taşıyıcı sistemlerin karakterizasyonundaki önemli bir bileşen de ilaç yükleme verimliliğidir (127). İlaç taşıyıcı sistemden kontrolsüz ilaç salımı, sisteme yetersiz ilaç yüklenmesi gibi istenmeyen özellikler nanofarmasötiklerin klinik uygulamalara transferindeki en büyük engellerden biridir (131). Düşük ilaç yükleme verimliliğine sahip nanosistemlerin klinik uygulamaya taşınması üretim maliyeti açısından avantajlı bulunmamaktadır, ayrıca yükleme kapasitesinin düşük olmasına bağlı olarak istenen terapötik etki için daha fazla nanoilaç taşıyıcı sistem kullanılması

özellikle intravenöz uygulamalarda sistemik toksisiteye neden olabilir, hastalar için metabolizma ve eliminasyon yükünü artırabilir (132). Buna karşılık yüksek yükleme kapasitesine sahip sistemler azami kullanımla bile yeterli terapötik etkiyi sağlayacağı için, taşıyıcı sistemden kaynaklanacak istenmeyen etkileri azaltmak mümkündür (131). Dolayısı ile uygun verimlilikte yükleme yapmak ve bunu doğru tespit etmek önemlidir.

### 2.7.5. İlaç Salım Profili

Nanotaşıyıcı sistemlerin etkinliğini ve güvenliliğini tayin etmek üzere değerlendirilen önemli parametrelerden biri ilaç salım profilidir. Diğer ürünlere kıyasla nanotaşıyıcıların ilacın biyodağılımı üzerindeki etkisi oldukça fazladır, ayrıca nanosistemlerin in vitro salım testi konusunda düzenleyici otoriteler tarafından net bir yöntem belirlenmemiştir. Bu hususlar da ilacın/sistemin in vivo performansını öngörmeyi kompleks hale getirir ve farklı yöntemlerin bir arada kullanılmasını gerektirir (133).

Nanosistemlerin karakterizasyonu için değerlendirilen özellikler ve bu özelliklerin tayininde kullanılan yaygın yöntemler Tablo 2.1.'de özetlenmiştir. Ortak özelliklerin yanı sıra, sistemlere has bazı özellikler de söz konusudur. Örneğin;

- 'Kritik misel konsantrasyonu' misellerin oluşumu için de stabilitesi için de önemli bir parametredir (6).

- Lipozomlar için lamel yapısı; niozomlar için membran tabaka sayısı ve kalınlığı ilaç yükleme kapasitesini, etkinliğini ve yapının stabilitesini etkileyen bir özelliktir (6).

- Katı lipit nanoyapıların kristallenme derecesi, yapıların termodinamik dayanımı ve ilaç yükleme etkinliği ile ilişkilidir.

**Tablo 2.1.** Nanotaşıyıcı sistemlerin karakterizasyonu ve test yöntemleri.

Özellik	Test Yöntemi
Partikül büyüklüğü ve Büyüklük Dağılımı	-Dinamik Işık Saçılımı (DLS) Yöntemi (6) -X-ışını Difraksiyonu (6) -Küçük-açılı X-ışını Saçılımı (SAXS) (128) -Küçük-açılı Nötron Saçılımı (SANS) (128) -Lazer Işık Saçılımı (LLS) (128) -Boyut eksklüzyon kromatografisi (SEC) (127) -Foton korelasyon spektroskopisi (PCS) (6) -Lazer ışık kırınımı (6)
Morfoloji/şekil	-Mikroskopi -Geçirimli elektron mikroskobu (TEM) (127) -Taramalı electron mikroskobu (SEM) (127) -Atomik Güç Mikroskobu (AFM) (127) -Zetasizer cihazı (127) -Işık saçılımı yöntemi faz analizi (PALS) (127)
Yüzey yükü/ Zeta potansiyeli	-Zetasizer cihazı (6) -DLS Yöntemi (6)
İlaç yükleme kapasitesi	-Doğrudan hesaplama: yükleme sonrası nanopartiküller ortamdaki uzaklaştırılır, parçalanır ve açığa çıkan ilaç miktarı belirlenir. -Dolaylı hesaplama: Yükleme sonrası ortamda kalan serbest ilaç miktarı belirlenir bu miktar toplam ilaç miktarından çıkartılır (6).
İlaç salım profili	-Tüp Yöntemi -Diyaliz Yöntemi -Sürekli akış yöntemi -Numuneleme ve Ayrıştırma yöntemi (6, 133)
Partikül büyüklüğü ve Büyüklük Dağılımı	-Dinamik Işık Saçılımı (DLS) Yöntemi (6) -X-ışını Difraksiyonu (6) -Küçük-açılı X-ışını Saçılımı (SAXS) (128) -Küçük-açılı Nötron Saçılımı (SANS) (128) -Lazer Işık Saçılımı (LLS) (128) -Boyut eksklüzyon kromatografisi (SEC) (127) -Foton korelasyon spektroskopisi (PCS) (6) -Lazer ışık kırınımı (6)
Morfoloji/şekil	-Mikroskopi -Geçirimli elektron mikroskobu (TEM) (127) -Taramalı electron mikroskobu (SEM) (127) -Atomik Güç Mikroskobu (AFM) (127) -Zetasizer cihazı (127) -Işık saçılımı yöntemi faz analizi (PALS) (127)

**Tablo 2.1. (Devam)** Nanotaşıyıcı sistemlerin karakterizasyonu ve test yöntemleri.

Özellik	Test Yöntemi
Yüzey yükü/ Zeta potansiyeli	-Zetasizer cihazı (6) -DLS Yöntemi (6)
İlaç yükleme kapasitesi	-Doğrudan hesaplama: yükleme sonrası nanopartiküller ortamdaki uzaklaştırılır, parçalanır ve açığa çıkan ilaç miktarı belirlenir. -Dolaylı hesaplama: Yükleme sonrası ortamda kalan serbest ilaç miktarı belirlenir bu miktar toplam ilaç miktarından çıkartılır (6).
İlaç salım profili	-Tüp Yöntemi -Diyaliz Yöntemi -Sürekli akış yöntemi -Numuneleme ve Ayrıştırma yöntemi (6, 133)

## 2.8. Nanotaşıyıcı Yapıların Hedeflendirilmesi

Nanofarmasötikleri/ilaç taşıyıcı nano sistemleri konvansiyonel ilaçlara kıyasla üstün kılan en önemli özellikleri, nano yapının düşük partikül büyüklüğüne bağlı olarak biyodağılımının fazla olması, yine partikül boyutuna ve ayarlanan uygulama yoluna bağlı olarak pasif hedeflendirilebilmeleri ve çeşitli modifikasyonlar ile aktif olarak hedeflendirilebilmeleridir (6).

Bir ilacın ya da ilaç taşıyıcı sistemin hedeflendirilmesinin amacı;

- İlaçların, terapötik etki yerine ulaşmasını sağlayarak daha düşük doz ile tedavi etkinliğini artırmak;

- Düşük doz kullanımı sayesinde toksikolojik, immünojenik etkileri azaltmak;

- İlacın hedef doku/organ/hücre dışındaki bölgelere ulaşan miktarının azalmasını dolayısı ile istenmeyen yan etkilerin azalmasını sağlamak;

- İlacın farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklerini değiştirmek; düşük çözünürlük, kısa yarılanma ömrü, geniş dağılım hacmi, düşük terapötik indeks gibi ilacın etkinliği ve güvenliliği ile ilgili sorunları bertaraf etmek;

- İlacın istenmeyen bölgelerde etkileşime girmesini önleyerek stabilitesini artırmak

Olarak sıralanabilir (134).



İlaçların/taşıyıcı sistemlerin hedeflendirilmesi ‘aktif hedeflendirme’ ve ‘pasif hedeflendirme’ olmak üzere iki şekilde sağlanır ve pasif hedeflendirmenin temelini ‘artırılmış geçirgenlik ve tutma etkisi’ aktif hedeflendirmenin temelini ise ‘ligand aracılı hedeflendirme’ ve ‘stimülasyona bağlı hedeflendirme’ oluşturmaktadır (135).

### **2.8.1. Pasif Hedeflendirme**

Pasif hedeflendirme ilacın/taşıyıcı sistemin fizikokimyasal özelliklerine bağlıdır ve hedeflendirme, taşıyıcı sistemin yüzey yükü, büyüklüğü, şekli gibi özelliklerinin uyarlanmasıyla sağlanır. Bu manipülasyonla taşıyıcı sistemin hedef dokulara ulaşması sağlanır iken istenmeyen dokulara alımı da sınırlandırılmış olur. Taşıyıcı sistemlerin bağışıklık sistemine karşı gizlenmesi amacıyla polietilen glikol (PEG) ile modifiye edilmesi (PEGilasyon) veya nanopartiküllerin ‘artırılmış geçirgenlik ve tutma etkisi’ ile tümör dokularında tutulması pasif hedeflendirme örnekleridir (136).

#### **PEG ile Kaplama (PEGilasyon):**

İlaç taşıyıcı sistemin yüzeyine protein bağlanmasını ve buna bağlı olarak RES tarafından alınmasını önlemek üzere, taşıyıcı sisteme PEG molekülü bağlanması işlemidir (135).

#### **Artırılmış Geçirgenlik ve Tutma Etkisi (EPR)**

Katı bir tümör belirli bir boyuta ulaştığında, çevresinde bulunan normal damar sistemi, tümör hücrelerinin çoğalması için gerekli tüm oksijen kaynağını sağlamada yetersiz kalır ve bu durumda yeni, ilave kan damarları oluşmaya başlar. ‘Anjiyogenez’ olarak adlandırılan bu süreçle oluşan yeni kan damarları bazal membrandan yoksun düzensiz yapılardır (137). Tümör dokusundaki bu düzensiz yapı ve tümör çevresinde lenfatik fonksiyonun da bozulmuş olması ilaç moleküllerinin tümör dokusuna girmesini ve burada birikmesini kolaylaştırır (135).

İlacın/nanotaşıyıcı sistemin hedef bölgede, hedef süre boyunca kalması halinde EPR etkisinin etkin tedavi konusundaki üstünlüğünden bahsedilebilir. Bu durum da ancak nanotaşıyıcı sistemin uygun büyüklükte olması, nötr veya anyonik yükte olması ve RES etkisinden korunmuş olması ile sağlanabilir (135).

### **2.8.2. Aktif Hedeflendirme**

Aktif hedeflendirme, ilacın/taşıyıcı sistemin modifikasyonu ile bu yapıların spesifik bölgeye (doku/organ/hücre) seçici olarak hedeflendirilmesi işlemidir. Modifikasyon ve hedeflendirme kimyasal, fiziksel faktörlerden yararlanılarak ya da hücreye spesifik özellikler değerlendirilerek gerçekleştirilir (6). İlaç taşıyıcı sisteme bağlanan ligandlar hedef hücre reseptörlerine veya uyarana duyarlı taşıyıcılara bağlanarak seçici hedeflendirme görevini yerine getirirler (138). Taşıyıcı partiküllerin yüzeylerinin fonksiyonelleştirilmesi ile aktif hedeflendirme yapmak, özellikle kanser tedavisinde bölgesel sitotoksik etkiyi artırmak ve çoklu ilaç direncinin üstesinden gelmek olanaklıdır (139).

Ligand yoğunluğu, nanopartikül büyüklüğü ve şekli, yüzey ve ligand yükü aktif hedeflendirme etkinliğini etkileyen faktörlerdir (135).

#### **Ligand Aracılı Hedeflendirme**

Ligandlar, hedef hücre, doku veya organlara özgü reseptörlere bağlanması amacıyla seçilen ve taşıyıcı sisteme bağlanan yapılardır (6). Böylece hedef bölge reseptörüne bağlanan taşıyıcı sistemler ligand-reseptör özelliğine bağlı olarak reseptör aracılı endositoz veya transitoz ile hücre içine alınırlar (134). Monoklonal antikolar, antikor fragmanları, peptitler ve büyüme faktörleri gibi farklı kısımların ilaç içeren nanotaşıyıcıların yüzeyine konjugasyonu ile aktif bir hedefleme elde etmek mümkündür (139).

#### **Stimülasyon ile Aktivasyona Bağlı Hedeflendirme**

Aktif hedeflendirmede, yapılara reseptör hedefli ligand bağlamanın yanı sıra, nanotaşıyıcı sistemin hedef bölge özelliklerinde aktif hale gelmesini sağlayacak farklı yöntemler de çalışılmaktadır (140). Buna göre stimülasyona duyarlı nanotaşıyıcılar, ultrason, ısı, manyetizma, ışık, pH ve iyonik güç gibi çeşitli dışsal faktörler kullanılarak uyarılabilir ve hem hedeflendirmede etkinliği artırmak, hem ilaç salım profilini kontrol etmek amacıyla kullanılabilirler (141).

Örneğin mikro tümör çevresinin sağlıklı dokuya nazaran asidik özellikte olmasından yararlanmak üzere, düşük pH ortamında (yapılan bazı çalışmalarda tümör çevresinin pH 5 civarında olduğu gösterilmiştir) aktif hale gelerek ilacı/sistemi aktif

hale getirecek yapıların tasarlanması ile başarılı sonuçlar elde edilmiştir (140). Farklı çalışmalarda manyetik özellikte nano taşıyıcıların önce ilgili bölgeye hedeflendirilmesi ve ardından dışarıdan manyetik alan uygulanması ile yapının aktif hale getirilmesi de sağlanmıştır (141).

Belirtilen hedeflendirme yöntemleri özellikle günümüzün en yaygın ve ölümcül hastalıkları arasında başı çeken kanser hastalığının teşhisi ve tedavisi amacı ile yoğun olarak çalışmalara konu olmaktadır (142). Çalışma sonuçlarından elde edilen verilere göre aktif hedeflendirme konusunda hâlâ birtakım öngörülemeyen durumlar söz konusudur; pasif ve aktif hedeflendirme yöntemlerinin tercihi hem ilacın kimyasal yapısına hem hedeflenen bölge özelliklerine dayalı olmalıdır (140).

## **2.9. Farmasötik / Tıp Alanında Nanoyapıların Kullanılmasına İlişkin Mevzuat**

Nanofarmasötik geliştirmeye yönelik her geçen gün artan sayıda çalışma yapılmaktadır. Mevcut durumda ticari üretimine başlanmış ruhsatlı ürün sayısı az olmakla birlikte, klinik çalışma safhasında değerlendirilen pek çok nanofarmasötik bulunmaktadır. Ancak hali hazırda söz konusu nano ilaçların üretimi, kalite kontrolü, güvenliliğinin ve etkinliğinin değerlendirilmesi konusunda ulusal veya uluslararası düzenlemeler bulunmamaktadır. Amerika Gıda ve İlaç Dairesi FDA ve Avrupa İlaç Ajansı EMA tarafından yayımlanmış dokümanlar gereklilik tanımlamaktan ziyade otoritelerin nanoteknoloji ürünleri konusunda değerlendirmesini bildirir niteliktedir (21).

Bazı nano yapıdaki farmasötik ürünler, iyi bilinen küçük moleküllü ilaçların nanoformülasyonu olarak ve kısmen jenerik yaklaşımına dayanarak onaylanmıştır. Ancak Pazar onayından sonra bu ürünlerle ilgili ciddi güvenlilik ve etkinlik sorunları yaşanmıştır. Bu tür vakalar EMA ve FDA'nın, bu konuda yayın yapmasını tetiklemiştir. Ancak EMA ve FDA'nın nanoteknoloji ürünü/nanomalzeme içeren ilaçların kalite, güvenlilik ve etkinlik değerlendirme yaklaşımlarında farklılıklar bulunmaktadır. Bu alandaki boşluklar ancak, farklı yerel ve uluslararası otoritelerin, akademinin ve endüstrinin de katılımı ile ortak gerçekleştirilecek kapsamlı çalışmalarla doldurulabilir (143).

Nitekim nanoteknolojinin tıbbi uygulamaları ve nanoilaç, nanotıbbi cihaz başvurularının değerlendirilmesi, bu ürünlerin onaylanması hakkında farklı düzenleyici otoritelerin yaklaşımını ve sorunlarını belirlemek üzere EMA'nın ev sahipliğinde bir çalışma düzenlenmiştir. Bu kapsamda Uluslararası Farmasötik Düzenleyiciler Forumu (IPRF- International Pharmaceutical Regulators Forum) Nanoilaç Çalışma Grubu tarafından birçok ulusal otorite çalışmaya davet edilmiştir. Ekim-Kasım 2015 tarihleri arasında gerçekleştirilen çalışma, hazırlanmış soruların yanıtlanması ve soru dışında kalan alanlarda otoritelerin yazılı yorumlarının alınması ile gerçekleştirilmiştir. Daveti kabul eden ülkelerin (Avrupa Birliği, ABD, Kanada, İsviçre, Brezilya, Tayvan, Japonya, Kore) düzenleyici otoritelerinden toplanan veriler; nano kavramının dâhil olduğu durumlarda ilaçlar ya da tıbbi cihazlar için yapılan değerlendirmelerde hem otorite hem ürün geliştirici tarafında bilgi eksikliğinin olduğunu; bu alanda otoritelerin de ilave değerlendirmeye ve standardizasyona ihtiyaç duyduğunu; nanofarmasötiklerin kritik kalite özelliklerinin tanımlanmasında, yapıların karakterize edilmesinde, bu amaçla kullanılan analiz yöntemlerinin uygunluk değerlendirilmesinde tanımlı ve güvenilir yöntemlerin bulunmadığını; ayrıca nano yapıların kendilerine özgü özellikleri dolayısı ile bu ürünler için ilave toksisite değerlendirmesine ihtiyaç duyulduğunu; mevcut durumda nano yapılmayan ürünler için kullanılan in vitro test yöntemlerinin nanoyapılar için yeterli bulunmadığını göstermiştir (144).

Nanomazlemelerin tıp (farmasötik, görüntüleme vb.) alanında kullanımı, ilaç etkinliğini artıma ve yan etkileri azaltma amacı taşımaktadır. Ancak bu yapıların kompleks olması, üretimin tekrarlanabilirliği ve ticari hacimde üretim konusunda zorluk yaratmaktadır. Aynı zamanda yapılan çalışmalar sonucunda bu tür yapıların etkinliği ve etki mekanizması konusunda detaylı ve güvenilir bilgi edinilmektedir. Ancak yine yapıların benzersiz özelliklerinden kaynaklı, olası güvenlilik sorunları (toksik etkiler ve yan etkiler) hâlâ net olarak tanımlanamamaktadır. Bu toksik etkinin, söz konusu malzemenin/ilacın makro boyutundan farklı olarak, nano boyutta biyolojik ortam bileşenleri ile etkileşmesinden kaynaklı olduğu düşünülmektedir ancak örneğin hücresel düzeyde toksik etki gösterebilen bazı nanopartiküllerle yapılan çalışmalara göre bu nanopartiküllerin hücresel toksisiteyi ne şekilde ve hangi derecede tetiklediği de tam olarak bilinmemektedir. Nanoilaçlar ayrıca nano boyuta özgü olarak

dokularda birikebilir ve tamamen yeni ve öngörülemeyen bir farmakokinetik profil de sergileyebilirler. Tüm bu belirsizlikler, nanofarmasötikler üzerinde, bilinen jenerik moleküllere nazaran çok daha spesifik ve sıkı bir değerlendirme gerektirir. Bu da düzenleyici otoritelerin göz önünde bulundurması gereken bir husustur (145).

### 2.9.1. Nanofarmasötiklere İlişkin EMA Yaklaşımı

Nanoteknolojinin farmasötik / tıp alanında uygulanmasının yararlı olacağı öngörüldüğünden, düzenleyici kurumlar bu alanda inovasyonu sınırlayıcı olmaktan kaçınmaktadır. Öte yandan bahsedilen nedenlerle nano ilaçların araştırma-geliştirme, klinik öncesi, klinik aşamalarını değerlendirme için nanoilaca özel gereklilikler de tanımlanmalıdır. Nanoilaçlar, biyolojik kaynaklardan elde edilen biyolojik ilaçlar olabileceği gibi biyolojik kaynaklı olmayan kompleks ilaçlar da olabilir. Biyolojik ürünlere ilişkin değerlendirme gerekleri hali hazırda EMA tarafından tanımlıdır. Ancak biyolojik olmayan kompleks ürünlere ilişkin düzenleyici çalışmalar devam etmektedir. Dolayısı ile bu tür ürünler için sektör sıklıkla bilimsel tavsiye talebinde bulunmaktadır ve bu talepler EMA tarafından her bir durum özelinde ayrı ayrı değerlendirilmektedir (3).

EMA, nanoteknoloji ve nanoteknolojinin farmasötik alanda uygulanmasına ilişkin olarak 2006 yılından bu yana çeşitli çalışma grupları oluşturarak, konuya ilişkin değerlendirmeler yapmıştır (144, 145). Ancak mevcut durumda hala boşluklar söz konusudur ve spesifik bazı nanoyapılar için oluşturulmuş *Reflection Paper* isimli, kılavuz niteliğinde dokümanlar yayınlamıştır. Söz konusu yayımlar EMA web sayfasında ‘Bilimsel Kılavuzlar’ → ‘Multidisipliner Kılavuzlar’ → ‘Nanoilaçlar’ başlığı altında yayınlanmıştır. Dokümanlar parenteral uygulanan kaplı nanoilaç uygulamaları, misel ürünlerinin geliştirilmesi, intravenöz lipozomal ürünler için veri gereksinimi, intravenöz koloidal demir ürünleri için veri gereksinimi gibi spesifik başlıklar için düzenlenmiştir. (150, 151, 152, 153) (146-149) İlgili kılavuzlar Tablo 2.2’de sıralanmıştır.

**Tablo 2.2.** Nanoilaçlara İlişkin EMA Yayınları

<b>Kılavuz Başlığı (Türkçe)</b>	<b>Kılavuz Orijinal Başlığı</b>	<b>Doküman Tarihi</b>
‘Yüzey Kaplamaları Üzerine Düşünce Belgesi: Kaplı Nanotıp Ürünlerinin Parenteral Uygulamasına İlişkin Genel Hususlar’	Reflection Paper On Surface Coatings: General Issues For Consideration Regarding Parenteral Administration Of Coated Nanomedicine Products (146)	22 Mayıs 2013
MHLW/EMA Blok Kopolimer Misel Tıbbi Ürünlerin Geliştirilmesi Üzerine Değerlendirme Belgesi	Joint MHLW / EMA Reflection Paper On The Development Of Block Copolymer Micelle Medicinal Products (147)	19 Aralık 2013
Yenilikçi Bir Lipozomal Ürüne Referansla Geliştirilen İntravenöz Lipozomal Ürünler İçin Veri Gereksinimleri Üzerine Değerlendirme Belgesi	Reflection Paper On The Data Requirements For Intravenous Liposomal Products Developed With Reference To An Innovator Liposomal Product (148)	21 Şubat 2013
Bir İnovatöre Referansla Geliştirilen İntravenöz Demir Bazlı Nanokolloidal Ürünler İçin Veri Gereksinimleri Üzerine Değerlendirme Belgesi	Reflection Paper On The Data Requirements For Intravenous Iron-Based Nanocolloidal Products Developed With Reference To An Innovator (149)	26 Mart 2015

### 2.9.2. Nanofarmasötiklere İlişkin FDA Yaklaşımı

Diğer düzenleyici otoritelerde olduğu gibi Amerika Gıda ve İlaç Dairesi FDA’da da nanoteknoloji, nanotıp, nanoilaç kavramları uzun süre belirsizliğini korumuştur. Gelen eleştiriler üzerine FDA nanopartikül kavramıyla ilgili ilk taslak kılavuzunu 2011 yılında yayımlamıştır. O tarihten bu yana nanoyapıların kompleksliği; farmakokinetik, farmakodinamik ve toksik davranışının öngörülemezliği gibi konular üzerine değerlendirmeler yapılmış ve hem endüstriyi aydınlatmak, hem nanoilaçların onay öncesi-onay sonrası değerlendirme kriterlerini belirlemek üzere çeşitli kılavuzlar yayımlamıştır. Ancak mevcut durumda hâlâ genel geçer gereklilikler tanımlanmamakta ve FDA tarafından üreticilerin geliştirme ve klinik öncesi süreçte FDA’dan görüş alması, otorite ve üreticinin ortak çalışmasına dayalı olarak ürün özelinde değerlendirme yapılması gerektiği bildirilmektedir. Hatta

pazar onayı sonrasında da FDA'nın ürün özelinde incelemesinin devam edeceği ifade edilmektedir. Sonuç olarak, ilaçla ilgili olarak dünyanın önde gelen düzenleyici/denetleyici kurumlarından FDA'nın nanoilaçlar konusunda yayınları da bu aşamada belirsizlikleri tam anlamı ile gidermiş değildir (150). Nanoteknoloji ve nanoilaç özelinde hazırlanmış FDA kılavuzları Tablo 2.3'te listelenmiştir.

**Tablo 2.3.** Nanoilaçlara ilişkin FDA Yayınları

<b>Kılavuz Başlığı (Türkçe)</b>	<b>Kılavuz Orijinal Başlığı</b>	<b>Doküman Tarihi</b>
FDA Düzenlemeli Bir Ürünün Nanoteknoloji Uygulamasını İçerip İçermediğine Dair Endüstri Rehberi	Guidance for Industry Considering Whether an FDA-Regulated Product Involves the Application of Nanotechnology (151)	Haziran 2014
Lipozom İlaç Ürünleri Kimya, İmalat ve Kontroller; İnsan Farmakokinetiği ve Biyoyararlanımı; ve Etiketleme Belgelendirilmesi	Liposome Drug Products Chemistry, Manufacturing, and Controls; Human Pharmacokinetics and Bioavailability; and Labeling Documentation (152)	Nisan 2018
Biyolojik Ürünler Dahil Nanomalzeme İçeren İlaçlar Endüstri Rehberi – Taslak	Drug Products, Including Biological Products, that Contain Nanomaterials Guidance for Industry –Draft (153)	Aralık 2017

### 2.9.3. Nanofarmasötiklere İlişkin Diğer Ülkelerin Yaklaşımı

Bölgesel bir kurum olarak EMA ve Dünya genelinde önde gelen bir kurum olan FDA dışında yerel otoritelerin de nanoteknoloji kavramı ve kullanım alanlarını tanımlamak üzere çeşitli, sınırlı çalışmaları mevcuttur (144).

Kanada Sağlık Otoritesi Health Canada tarafından 'Genel Kılavuz: Nanoteknoloji Temelli Sağlık ve Beslenme Ürünleri' başlıklı bir genel kılavuz metni yayımlanmıştır. Bu kapsamda nanoteknoloji kavramı, nanoteknoloji uygulamaları, nanoyapı içeren gıda ve sağlık ürünleri ve bu ürünlere ilişkin bilimsel değerlendirmelere kısaca yer verilmiştir. Ancak farmasötik ve tıp alanında nanoteknoloji uygulamaları özelinde detaylı bir değerlendirme ve gereklilik tanımı yapılmamıştır (154).

İsviçre Sağlık Otoritesi Swissmedic ise nano kavramını, nanoilaç terimini, konvansiyonel ilaç-nano ilaç farkını tanımlamıştır. Benzer şekilde nanocihaz kavramına da değinmiştir. Ancak ilgili otorite yayınlarında, nanoilaçlar için özel bir gereklilik bulunmadığı, tüm ilaçların benzer prosedürleri izlemesi gerektiği ve nanoilacın da kalite, etkililik ve güvenlilik değerlendirmesinin ruhsat başvurusunu yapan firmaya ait olduğu; mevcut durumda Swissmedic onaylı nanoilaçların da bulunduğu bildirilmiştir (155).

Brezilya, Tayvan ve Güney Kore Sağlık Otoritelerinde de nanoteknoloji, nanomalzeme ve nanoteknolojinin terapötik alanda kullanımına ilişkin düzenlemelerin henüz erken dönemlerde olduğu belirlenmiştir (147). Japonya Sağlık Otoritesi MHLW (Ministry of Health, Labour and Welfare)'de de benzer düzenlemelerin olduğu, ayrıca MHLW'nin EMA ile işbirliği halinde olduğu bilinmektedir (144, 148).

#### **2.9.4. Nanofarmasötiklere İlişkin Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Yaklaşımı**

Türkiye'de ilgili mevzuat gereği Sağlık Bakanlığının politika ve hedeflerine uygun olarak ilaçlar, ilaç üretiminde kullanılan etken ve yardımcı maddeler, ulusal ve uluslararası kontrole tabi maddeler, tıbbî cihazlar, vücut dışı tıbbî tanı cihazları, geleneksel bitkisel tıbbî ürünler, kozmetik ürünler, homeopatik tıbbî ürünler, insan vücuduna doğrudan temas eden biyosidal ürünler ve özel amaçlı diyet gıdalar hakkında düzenleme yapmakla görevli, Bakanlığa bağlı, özel bütçeli, kamu tüzel kişiliğini haiz bir kurum olarak tanımlanan Türkiye İlaç ve Tıbbî Cihaz Kurumu'nun görev ve yetki alanına giren konularda güncel gelişmeleri takip ederek düzenlemeler yapmaktadır (156). Ancak mevcut durumda TİTCK tarafından nanoteknoloji, nanomalzeme içerikli ürünlerden sadece kozmetik ürünler için değerlendirme yapılmıştır ve Kurumun nanoteknoloji uygulamalarına, nanofarmasötiklere ya da nanocihazlara ilişkin herhangi bir düzenlemesi bulunmamaktadır (157).

#### **2.10. EMA ve FDA Onaylı Nanofarmasötikler**

Nanomalzemeler çok sayıda çalışmaya konu olmakla birlikte, klinik çalışmaları geçerek pazara ulaşan ürün sayısı, yapılan çalışma sayısına oranla oldukça sınırlıdır. EMA onaylı ürün bilgilerine ulaşmak üzere EMA-EPAR (European Public



Assesment Report) veritabanında farklı anahtar kelimeler ile yapılan tarama sonucunda ulaşılan, nanofarmasötikler Tablo 2.4'te listelenmiştir. Veritabanında nanofarmasötikler için özel bir başlık açılmamış olması verilere ulaşımı sınırlamaktadır. Ancak ulaşılan veriler kullanılan nanomalzeme dağılımı açısından fikir verir niteliktedir. Buna göre lipozomal formülasyonların diğer nano yapılarla oranla çoğunluk oluşturduğu görülmektedir.

**Tablo 2.4.** EPAR veritabanında yapılan tarama sonuçlarına göre, 24.06.2021 tarihi itibarıyla EMA onaylı nanofarmasötikler (158-160).

Ürün İsmi	Nanoyapı	Endikasyon (özet)	Ruhsat Tarihi
Exparel®	Lipozom	Yetişkinlerde ameliyat sonrası cerrahi yaraların neden olduğu ağrı için endikedir.	2020
Pazenir®	Nanopartikül (Albümin bağlı nanopartikül)	Metastatik meme kanseri tedavisine endikedir.	2019
Abraxane®	Nanopartikül (Albümin bağlı nanopartikül şeklinde formüle edilmiş paclitaxel)	Metastatik meme kanseri tedavisine endikedir.	2008 (Yenileme: 2013)
Spikevax® COVID-19 mRNA AŞISI	Lipid nanopartikül	Spikevax® SARS-CoV-2'nin neden olduğu COVID-19'u önlemek üzere immün sistemi aktive etmeye endikedir.	2021
Comirnaty® konsantresi COVID-19 mRNA AŞISI	Lipid nanopartikül	Comirnaty® SARS-CoV-2'nin neden olduğu COVID-19'u önlemek üzere immün sistemi aktive etmeye endikedir.	2020
Onpattro®	Lipid nanopartikül	Onpattro® kalıtsal transtiretin aracılı amiloidoz (hATTR amiloidoz) tedavisine endikedir.	2018
Shingrix® Herpes zoster aşısı	Lipozom	Shingrix® herpes zoster (HZ) ve herpetik sonrası nevraljinin önlenmesi için endikedir.	2018

**Tablo 2.4. (Devam)** EPAR veritabanında yapılan tarama sonuçlarına göre, 24.06.2021 tarihi itibarıyla EMA onaylı nanofarmasötikler (158-160).

Ürün İsmi	Nanoyapı	Endikasyon (özet)	Ruhsat Tarihi
Cholib®	Nanokristal	LDL-K düzeyleri ilgili simvastatin monoterapisi dozuyla yeterince kontrol edildiğinde, trigliseritleri azaltmak ve HDL-K düzeylerini yükseltmek için karma dislipidemisi olan yüksek kardiyovasküler riski olan yetişkin hastalarda diyet ve egzersize ek tedavi olarak endikedir.	2013
ARIKAYC®	Lipozom	Mycobacterium avium Complex'in (MAC) neden olduğu tüberküloz dışı mikobakteriyel (NTM) akciğer enfeksiyonlarının tedavisinde endikedir.	--
Myocet®	Lipozom	Metastatik meme kanseri tedavisine endikedir.	2000 (Yenileme: 2010)
Caelyx®	Lipozom	Metastatik meme kanseri, Yumurtalık kanseri, Multipil myeloma (kombinasyon tedavisinin parçası olarak) tedavilerinde endikedir.	1996 (Yenileme: 2006)
Vyxeos®	Lipozom	Vyxeos® lipozomal, yeni teşhis edilmiş, tedaviyle ilişkili akut miyeloid lösemili (t-AML) veya miyelodisplazi ile ilişkili değişiklikleri olan (AML-MRC) AML'li yetişkinlerin tedavisi için endikedir.	Date of first authorisation: 23 August 2018
Yondelis®	Lipozom	İlerlemiş yumuşak doku sarkomu olan yetişkin hastaların tedavisinde endikedir.	2007 (Yenileme: 2012)
Apealea®	Misel	Primer periton kanseri ve fallop tüpü kanserinde ilk nüksü olan yetişkin hastaların tedavisinde endikedir.	2018

FDA veritabanındaki farklılıklar benzer bir tarama yapmayı olanaksız kılmıştır. Ancak literatür taraması üzerinden elde edilen verilere göre; FDA onaylı nanoterapötikler arasında da lipozomal formülasyonların ve polimerik nanopartikül içeren formülasyonların çoğunlukta olduğu; ayrıca inorganik-metalik, misel (ilaca

bağlı), protein yapılı nanopartikül formülasyonlarının ve nanokristal yapılı formülasyonların da bulunduğu belirlenmiştir (141).

### 2.11. Nanofarmasötikler ve Toksikite

Nanofarmasötikler, konvansiyonel ilaçlara nazaran yüksek çözünürlük sağlama, hedeflendirme, hedef bölge dışındaki ilaç konsantrasyonunu düşürerek toksisiteyi azaltma, stabiliteyi artırma gibi imkânlar sunmaları sebebi ile tercih edilmektedir ve zaten bu amaçla tasarlanmaktadır. Ancak nanoyapılara bu üstünlükleri kazandıran özellikleri aynı zamanda bu yapıların kendinden kaynaklanan toksik etkileri de beraberinde getirir ve bu ilaçların güvenliliğini değerlendirmek özellikle önem kazanır (161).

Son yıllarda nanomalzemelerin birçok alanda hızla artan kullanımı, bu yapıların çevre ve canlı sistemler ile etkileşimini, özellikle de insan sağlığı üzerindeki etkisini araştırmayı ve anlamayı gerekli kılmıştır. Bu ihtiyaç nanoyapıların toksisitesini, zararlı etkilerini belirlemek ve değerlendirmek üzere gerekli yöntemleri tanımlayan nanotoksikoloji kavramını ortaya çıkarmıştır (162). Buna göre nanotoksikolojik değerlendirmeler biyolojik numunelerdeki nanomalzemeleri karakterize etmek; canlı sistemlerde ölçüm yapmak; nanoyapıların hücrelere ve dokulara nüfuz etme, biyolojik dağılım, metabolizma ve itraflarını tayin etmek; bu yapıların in vivo ve in vitro davranışlarını incelemek için metodoloji geliştirme işlemlerini kapsar (162, 163).

Nanoilaçlar üzerinde yapılan çalışmalar, nanoyapı-ilaç bileşimindeki minör değişikliklerin ve bitmiş üründeki küçük sapmaların bile nanoilacın toksisitesinde önemli değişikliklere neden olduğunu göstermiştir. Bu durum, nanoyapıların çok çeşitli fizikokimyasal özellikleri ile ilişkilidir ve nanofarmasötikler için yapılan toksisite çalışmalarına kritik bir önem yüklerken diğer yandan da çalışmaların standardizasyonunu zorlaştırmaktadır (164). Çünkü mevcut durumda nanomalzemelerin toksisitesini tayin etmekte kullanılan yöntemler, esasında makromalzemelerin/moleküllerin toksisitesini tayin etmek için geliştirilmiş yöntemlerdir ve bu yöntemler ile her bir nanopartikülün varyantının tüm toksikolojik özelliklerini belirlemek imkânsızdır (165). Nanopartiküllerin toksisitesi değerlendirilirken bu partiküllerin yüzeylerinin dokularla doğrudan temas halinde

olduğu, dolayısı ile yüzey özelliklerinin toksik yanıtı etkileyebileceği; ayrıca nanopartiküllerin mikron boyutlu partiküllere nazaran beklenmedik bir biyodağılım gösterebileceği ve bu durumun da istenmeyen etkiler ile sonuçlanabileceği göz önünde bulundurulmalıdır (166).

### **2.11.1. Nanoyapıların Toksisitesini Etkileyen Faktörler**

Nanoyapıların toksisitesi, bu yapıların biyolojik ortamlar ile etkileşimini belirleyen çeşitli fizikokimyasal özelliklerinden etkilenir. Dolayısı ile toksisite değerlendirmesi söz konusu olduğunda partikül büyüklüğü, partikül şekli, yüzey yükü, yüzey kaplaması, nanoyapının bileşimi gibi özellikler hesaba katılmalıdır (161).

#### **Partikül Büyüklüğü**

Partikül büyüklüğünün küçülmesi göreceli olarak hacim başına düşen yüzey alanını artırır. Artan yüzey alanı, yüzeyde daha çok fonksiyonel grup bulunması dolayısıyla biyolojik çevre ile etkileşimin de artması anlamına gelir. Biyolojik ortam ile etkileşim ise çeşitli mekanizmalar ile gerçekleşir ve toksik etki olarak nitelendirilebilecek sonuçlar doğurur. Partikül büyüklüğünün azalması ile yüzey alanı üstel olarak artar (161, 166). Partikül büyüklüğünün azalması ayrıca nanoyapının hücre içine girmesine ve organeller ile etkileşmesine de neden olabilir (166). Boyuta bağlı bir diğer etki ise klirens ile ilgilidir. İntra venöz enjeksiyon ile uygulanan 200 nm'den büyük partiküllerin mononükleer fagositik sistem ile kan dolaşımından hızla uzaklaştırıldığı, 5 nm'den küçük partiküllerin böbrek kapillerlerinden geçerek renal sistem ile ıtrah edildiği; 5-200 nm arası partiküllerin ise dolaşımda uzun süre kaldığı bildirilmiştir (167). Dahası partikül boyutunun küçük olması, nanopartiküllerin uygulama yerinden uzaktaki organlara, sistemlere ulaşmasına da neden olabilir, ki bu da istenmeyen etkilerin gözlenmesinde önemli bir faktördür (11).

Ancak partikül büyüklüğünün küçülmesi biyodağılım miktarı ile her zaman doğru orantılı değildir. Örneğin 20, 50, 70 ve 110 nm büyüklüğündeki altın nanopatiküller ile yapılan in vitro kan-beyin bariyeri modeli çalışmasında, 70 nm altın nanopartiküllerin beyin hücrelerinde en yüksek konsanstrasyonda biriktiği gözlenmiştir (168). Farklı hücre hatları kullanılarak yapılan bir başka çalışmada ise; MC3T3-E1 hücreleri üzerindeki incelemede 10 nm boyutundaki gümüş

nanopartiküllerin, daha büyük (50 ve 100 nm) gümüş NPlere kıyasla reaktif oksijen türleri oluşumunu indükleme yetisinin fazla olduğu; ancak 100 nm gümüş NPlerin, 10 ve 50 nm NPlere kıyasla daha yüksek oranda PC12 hücre apoptozuna neden olduğu belirlenmiştir. Dolayısı ile nanopartikül büyüklüğünün potansiyel toksik etkisi de durum esaslı değerlendirilmeli ve her bir koşul için optimum partikül boyutu belirlenmelidir (169).

### **Partikül Şekli**

Nanopartikül toksisitesini etkileyen bir diğer faktör, partikül şeklidir. Günümüzde çeşitli alanlarda kullanılmakta olan küresel, silindirik, düzlemsel, halka şeklinde nanoyapılar mevcuttur (161). Nanoyapının alımı, dağılımı, hücresel düzeyde etkileşimi, dolayısı ile fonksiyonu nanopartikülün şeklinden etkilenir (170). Hücresel düzeyde meydana gelen etki, şekle bağlı olarak nanoyapının hücre zarına tutunma yetisinin profilinin değişmesi ile ilintilidir ki bu durum endositozu ve fagositozu etkileyebilir (161). Ayrıca şekil ve en boy oranı endositoz mekanizmasının yanı sıra makrofaj aracılı klirensi de etkiler (169). Sonuç olarak hücresel alımın ve biyolojik aktivitenin etkilenmesi potansiyel toksisitenin etkilenmesi anlamını taşır (166).

Partikül şeklinin toksisite üzerine etkisinin değerlendirildiği çalışmalar çeşitli veriler sunmaktadır. Örneğin HeLa hücre hatlarında yapılan bir çalışmada nano-çubuk şeklindeki gümüş partiküllerin, küresel nanopartiküllere kıyasla daha az miktarda alındığı gösterilmiştir (166).

Altın nanopartiküller ile yapılan bir çalışmada da küresel nanopartiküllerin hücre içine alımının, nano-çubuk yapılara kıyasla daha fazla olduğu belirlenmiş ve bu durum çubuk şeklindeki yapıların hücre zarı tarafından sarılmasının daha uzun zaman alması ile ilişkilendirilmiştir (171).

Farklı hücre kültürlerinde yapılan çalışmalarda disk-benzeri hidrofilik nanopartiküllerin, nano-çubuklardan daha etkin şekilde hücre içine girdiği; öte yandan büyük nano-diskler ile nano-çubukların, daha küçük boyuttakilere göre daha yüksek oranda hücre içine alındığı gözlenmiş ve bu durum *hücre içine alım miktarının hem şekille hem de hücre türü ile ilişkili olduğu* şeklinde yorumlanmıştır (172).

Dört farklı şekle sahip altın nanopartikülleri kullanılarak gerçekleştirilen bir başka çalışmada; nano-kürelerin kan dolaşımında en uzun süre ile kaldığı; nano-disk,

nano-çubuk ve nano-kafes yapılarına kıyasla tümöre en yüksek oranda nüfuz ettiği ve mononükleer fagositik sistem kliresinin de en düşük olduğu; ancak nano-çubuk ve nano-kafes yapıları tümör merkezine ulaşır iken nano-küre ve nano-disk yapılarının ise tümör yüzeyinde biriktiği rapor edilmiştir (166).

Daha yakın zamanlarda, fagositik olmayan hücre tiplerini temsil eden insan servikal karsinom hücre dizisi HeLa ile sabit bir kimyasal bileşimde, değişen boyut ve şekillerde bir dizi katyonik poli(etilen glikol) bazlı nanopartikül kullanılarak yapılan bir çalışmada; çubuk şeklindeki nanoparçacıkların, hücre içine alım oranları söz konusu olduğunda kayda değer bir avantaja sahip olduğu tespit edilmiş ve bunun, hücreye çubuk şeklindeki birçok bakterinin davranışını anımsatmasıyla ilgili olduğu öne sürülmüştür (173).

Mezogözenekli silika nanopartiküller ile yapılan değerlendirmeler ise partikül şeklinin; hücre içine alım, hücre canlılığı, erken apoptoz, adhezyon, göç, protein ekspresyonu ve hücre iskeleti oluşumu gibi hücresel tepki üzerinde de etkisi olduğunu göstermiştir (174).

Çalışma verilerinden de anlaşıldığı üzere terapötik uygulamalar için tasarlanacak nanoyapıların şekli, diğer ilgili değişkenlerle birlikte hedeflenen bölge hücreleri özelinde de değerlendirilmelidir.

### **Yüzey Yükü**

Nanopartiküller biyolojik ortamlara girdiklerinde, proteinler tarafından sarılırlar ve proteinlerden oluşan bu katman nanopartikülün diğer proteinlerle ve hücrelerle etkileşim profilini belirler; bu prosesin denge kinetiği de nanopartikülün yüzey yükünden etkilenir. Dolayısı ile yüzey yükü, nanopartiküllerin biyolojik yazgısını ve bu bağlamda toksik etkisini belirleyen önemli bir özelliktir (175). Nanopartikül yükü ile hücre membranı arasındaki etkileşim, yüzey yükü ile doğrudan ilintilidir. Çünkü hücre zarı negatif yüklüdür ve partikülün negatif, pozitif yüklü veya nötral olması hücre zarı ile elektrostatik etkileşimin gerçekleşip gerçekleşmeyeceğini ve etkileşimin şiddetini belirler. Dolayısı ile pozitif yüklü partiküllerin, daha yüksek etkileşime girmesi ve hücre içine alınımının daha fazla olmasına bağlı olarak, negatif yüklü partiküllere kıyasla genelde daha toksik olduğu kabul edilir. Dahası negatif yüklü partiküllerin hücresel döngüye açıkça bir etkisi belirlenmemiştir ancak pozitif

yüklü partiküllerin DNA hasarını indüklediği gösterilmiştir (166). Yüzey yükü ayrıca nanopartikül dispersiyonunun koloidal stabilitesini belirleme ve agregasyon oluşumunu önlemede de önemlidir (171). Agregat oluşumu nanoyapının şeklini ve boyutunu değiştirdiğinden biyolojik tepkiyi belirleyen koloidal yapıyı da değiştirir (161). Pozitif yüzey yükünün neden olduğu toksik etki, hem protein agregasyonunu teşvik etme hem de membran geçirgenliğini artırma eğilimi ile ilişkilendirilir ancak bu durumun istisnaları da söz konusudur (176).

Yapılan çalışmalarda katyonik nanopartiküllerin hücre zarı ile etkileşime girerek çiftkatlı zar yapısına hasar verdiği; ortamın iyon, protein ve diğer makromoleküler denge durumunun bozulmasına bağlı olarak da zarda delikler oluştuğu (hücre sel toksisite) gözlenmiştir. Esasında anyonik ve nötral nanopartiküllerin de hücre zarına tutunduğu, ancak hücre içine alımın çok daha düşük seviyelerde kaldığı belirlenmiştir (167).

Polistiren nanopartiküller (PNP) ile yapılan bir çalışmada pozitif yüklü partiküllerin izoelektrik noktası (pI) 5.5'ten küçük olan albümin gibi proteinleri adsorpladığı; negatif yüklü partiküllerin ise izoelektrik noktası (pI) 5.5'ten büyük olan IgG gibi proteinleri adsorpladığı belirlenmiştir. Altın nanopartiküller ile yapılan bir başka çalışmada ise pozitif ve negatif yüklü partiküllerin yüzeylerine tutunan plazma proteinlerinin denatüre olduğu, nötral partiküllere tutunan proteinlerin ise doğal formunu koruduğu, dolayısı ile bazı hallerde etkileşimin yükün artı veya eksi olmasından bağımsız olarak partikülün yüklü, yüksüz olmasına bağlı olduğu gösterilmiştir (177). HaCaT hücre hattı ile yapılan bir çalışmada ise 1.5 nm boyutundaki altın NP'lerden pozitif yüklü olanların apoptoza, nötral olanların ise nekroza neden olduğu tespit edilmiştir (9).

Çalışma verilerinin çeşitliliğinden anlaşıldığı üzere, yüzey yükü ile toksisite arasında ilişki bulunmakla birlikte, sadece yük türüne bağlı olarak toksik etki konusunda çıkarım yapmak mümkün olmamaktadır.

### **Yüzey Kaplaması**

Nanopartiküllerin çeşitli klirens mekanizmaları ile uzaklaştırılmasını önlemek; dolaşımda kalma süresini, biyoyaralanımını artırmak; onları biyolojik ortamın yıkıcı etkilerinden korumak ve hedef bölgeye ulaşmasını kolaylaştırmak üzere

partikül yüzeyleri çeşitli malzemeler ile kaplanabilir (178). Yüzey kaplamaları ayrıca partiküllerin stabilite, aglomerasyon, dissolüsyon gibi özelliklerini modifiye etmek amacıyla da kullanılabilir. Yüzey kaplama materyali, zararlı parçacıkları toksik olmayan hale getirebilirken, daha az zararlı parçacıkları oldukça toksik hale de getirilebilir; nanopartikülün yüzeyinde oksijen, ozon, oksijen radikalleri ve geçiş metallere bulunması reaktif oksijen türlerinin oluşumuna ve enflamasyonun indüklenmesine yol açar (179). Dolayısı ile biyolojik ortamla doğrudan temas halinde olan kaplama materyali toksisite kaynağı da olabilir (161).

Biyodağılım süresini kısaltan en önemli mekanizma opsonizasyondur. Buna göre yalın halde bulunan nanopartiküller opsonin isimli protein tarafından sarılmak suretiyle immün sistem tarafından fark edilmeleri için işaretlenmiş olurlar. Bu işaretli partiküller RES hücrelerinin katılımı ile immün sistem makrofajlarınca uzaklaştırılır. Bu mekanizmadan nanopartikülü koruyarak dolaşım süresini uzatmak üzere kullanılan en yaygın yöntem ise partikülleri PEG ile kaplamaktır (167).

PEG özellikle polimerik nanopartiküllerin kaplanmasında kullanılır ve J774 hücre hattı ile yapılan çalışmalar PEG ile kaplanmış hekzadesil siyanoakrilat NPLerin toksik etkisinin azaldığını göstermiştir (166). Öte yandan nanopartikül-hücre etkileşimini etkileyerek hücreye alım konusunda istenmeyen etkilere de neden olabilir (167). PEG ve immünojenik olmayan diğer polisakkaritlerin çoğunlukla immünotoksisiteyi en aza indirdiği bilinmektedir ancak bu malzemelerin bile bağışıklık sistemi ile olumsuz etkileşim gösterme ihtimali vardır (176).

Organik yüzey kaplamasına sahip NPLerin yüksek toksik etki gösterdiği, karboksil kaplamaların ise hücre tarafından iyi tolere edildiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (171). Hücre kültürleri ile yapılan deneylerde pullulan ile kaplanan süperparamanyetik demir oksit NPLerin, yalın NPLere kıyasla toksik etki göstermediği ve hücre alımlarının ise arttığı belirlenmiştir (180).

### **Nanoyapının Bileşimi**

Nanoyapıları oluşturan alt bileşenler, her bir bileşenin kendine has özelliklerine bağlı olarak nanoyapının toksik özelliğini de etkiler. Örneğin metalik nanopartikül sınıfında yer almakla birlikte, yapıya katılabilecek birçok farklı metal elementi dolayısı ile her bir metalik nanopartikül bileşimi kendine has özellik kazanır. Nitekim



pozitif yüklü  $Al_2O_3$ ,  $TiO_2$ ,  $ZrO_2$ ,  $Gd_2O_3$ ,  $Dy_2O_3$ ,  $Ho_2O_3$ ,  $Sm_2O_3$  ve negatif yüklü  $Er_2O_3$  NP kompozisyonlarının aynı konsantrasyonları aynı süre boyunca embriyonik zebra balığına gruplar halinde uygulandığında, ölüm gözlenen süreler ve konsantrasyonların bu NPlar arasında farklılık gösterdiği belirlenmiştir (161). Benzer şekilde polimerik nanopartikül sınıfında yer almakla birlikte, yapılarındaki polimerin türüne göre partiküllerin toksik etkisinin farklı olduğu bildirilmiştir (169).

### 2.11.2. Nanotoksosite Mekanizmaları

Nanoyapıların toksik etkilerini değerlendirmek üzere yapılan çalışmalar, önde gelen nanotoksosite mekanizmasının oksidatif stres ile ilişkili olduğunu göstermiştir (181). Biyolojik sistemlerde metabolizma sırasında doğal olarak serbest radikaller oluşur, ancak aynı zamanda bu serbest radikalleri etkisiz hale getirecek antioksidanlar da bulunur. Antioksidanların farklı nedenlerle yetersiz kalması durumunda denge bozulur ve oksidatif stres oluşur. Oksidatif stres oluşması ortamda hidroksil radikali, süperoksit radikali ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışı anlamına gelir. Bu reaktif moleküller de ortamdaki lipit ve protein moleküllerin çift bağ içeren gruplarına ve DNA bazlarının çift bağlarına saldırır ve bir hidrojen atomu kopararak oksidasyon reaksiyonu başlatırlar (181). Ayrıca gen ekspresyonu, enflamatuvar yanıtın modülasyonu, hücre ölümü ve genotoksik etkilere de neden olabilirler (182). ROS oluşumuna neden olan faktörler mitokondriyal solunum, enflamatuvar yanıt, mikrozomlar ve peroksizomlar gibi endojen kaynaklar olabileceği gibi; mühendislik ürünü nanopartiküller ve çevresel kirlenmeler gibi eksojen ROS indükleyicileri de olabilir (183).

Naomalzemeler tarafından indüklenen ROS ve oksidatif stres oluşumu; DNA hasarı, hücre sinyalinin bozulması, hücre yaşamsallığında değişiklikler, apoptozis ve karsinogenez ile sonuçlanabilir (184). Nanopartiküllerin ROS indükleme özelliği bu yapıların geniş, reaktif yüzeylerindeki pro-oksidant fonksiyonel gruplarla ve nanopartikül-hücre etkileşimleri ile ilintilidir (185). Dolayısı ile malzemenin kimyasal özelliğine bağlı olarak ROS oluşturma kapasitesi de değişiklik gösterir (182).

Oksidatif stres kaynağı olarak bazı temel maddeler ve mekanizmalar tanımlanmıştır. Bunlar;

- Nanopartiküllerin yapıları sebebi ile oksidan üretme yetilerinin bulunması,
- Nanopartiküller tarafından uyarılan hücrel tepki sisteminin de doğal bir yanıt olarak ROS üretmesi,
- Nanopartikülün bileşiminde geçiş metali bulunması,
- Metalik olmayan nanopartiküllerin üretiminde katalizör olarak kullanılmış ve yapıda kirlilik olarak kalmış geçiş metali varlığı,
- Nanopartiküllerin reaktif yüzeylerinde serbest radikal ara maddelerinin bulunması,
- Nanopartiküllerin işlevselleştirilmesinden kaynaklanan redoks aktif gruplarının varlığı

Olarak sıralanabilir (186).

Nanopartiküllerin neden olduğu bir diğer toksisite mekanizması ise enflamasyon aracılı nanotoksisitedir. Oksidatif stresin aynı zamanda pro-inflamatuvar mediatörlerinin salımına neden olduğu belirlenmiştir (187). Hücreler arası ROS dengesinin bozulması kaçınılmaz olarak inflamatuvar reaksiyonlara ve DNA hasarına neden olmaktadır. İnfeksiyona ve yaralanmalara karşı inflamasyon önemli bir koruyucu mekanizmadır ancak nanopartiküllerin immünotoksik etkisinin inflamasyonların aktivasyonunu ve immün yanıtları tetikleyebileceği ortaya konulmuştur. İnfamasyon yanıtı bir kez aktive edildiğinde ise yüksek miktarda sitokin üretimine neden olur, bu da bir dizi immün reaksiyona öncülük eder (188). Nanopartiküller ayrıca boyutları ve reaktif doğaları sayesinde proteinlerle, lipitlerle doğrudan etkileşime girerek de organellerde, hücrede veya DNA'da yapısal hasarlara neden olmak suretiyle toksik etki gösterirler (189).

### **2.11.3. Nanotoksisite Tayin Yöntemleri**

Nanoyapıların çeşitli alanlarda, özellikle farmasötik uygulamalarda kullanımının hızla artmasına karşın nanomalzemelerin toksisitesine ilişkin değerlendirmeler henüz güven verir nitelikte değildir. Çünkü hem naomalzemelerin karakterizasyonu, hem de nanotoksikolojik değerlendirme yöntemleri için standart yöntemler tanımlı değildir (3). Nanotoksikoloji çalışmasının başlamasıyla birlikte nanomateryallerin etkin risk değerlendirmesinin, geleneksel, düşük verimli, son nokta

odaklı yöntemlere göre yapılmasının ve bu yöntemle belirlenecek toksikolojik mekanizmaların nanoyapılar için geçerli olmadığı fark edilmiştir (190).

Yeni ilaçların geliştirilmesinde klinik öncesi toksikolojik değerlendirmeler, geliştirme aşamasının önemli bir adımıdır ve ilaçların güvenliliğini tayin etmek üzere *in vivo* ve *in vitro* çalışma yöntemleri geliştirilmiştir. Bu analiz yöntemleri Uluslararası Uyum Konseyi (ICH), Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD) gibi çeşitli uluslararası kuruluşların kılavuzlarında ve yerel otorite kılavuzlarında tanımlanmıştır (166). Ancak nanotaşıyıcı yapı içeren farmasötikler için doğrudan uygulanabilecek bir düzenleme bulunmamaktadır. Çünkü farmasötik uygulamalarda kullanılabilen çok sayıda nanomalzeme mevcuttur ve her bir nanomalzemenin kendine özgü ve oldukça değişken birçok özelliği vardır. Dolayısı ile sınıflandırma yapmak ve her bir yapıyı değerlendirmek mümkün değildir (191). Hâli hazırda, nanoformülasyonların klinik öncesi ve klinik testleri için düzenleyici kurumların tanımladığı özel bir gereklilik bulunmamaktadır ve küçük moleküllü ilaçlar için klinik öncesi testlerin; nanopartikül ürünlerinin toksisitesini, etkinliğini ve farmakokinetiklerini değerlendirmek için yeterli olduğu kabul edilir (8).

Nanomalzeme veya nanofarmasötikler için risk değerlendirmesi yapılırken göz önünde bulundurulması gereken bileşenler; partikül büyüklüğü ve dağılımı, suda çözünürlüğü, şekli, foto-aktivasyonu, yüzey adsorpsiyon özellikleri, ROS üretme potansiyeli, kristal fazı, ilgili medyadaki stabilitesi olarak belirlenmiştir (167).

### **In Vitro Test Yöntemleri**

*In vitro* test yöntemleri nanoyapıların toksik etkilerini değerlendirme konusunda hızlı ve etkilidir. İnsan hücreleri ile nanomalzeme etkileşimini değerlendirmeye olanak sağlar (161). İnsan dokularından elde edilen çeşitli hücre hatları, 3 boyutlu hücre kültürleri veya ko-kültürler kullanılır. *In vitro* çalışmaların ilgili hedef organ için temsil edici hücre hatlarında veya yapay dokularda gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Hayvan hücre hatlarının kullanımı insan için temsil edici olmayacağından tavsiye edilmemektedir (166).

Nanomalzemelerin toksisite değerlendirmesinde yaygın kullanılan *in vitro* test yöntemleri arasında; canlılık, sitotoksisite, genotoksisite ve immünotoksisite tayin testleri yer alır. Canlılık testi ile hücrelerin çoğalma, klon oluşturma kapasitesi;

sitotoksiste testleri ile nanopartikülün hücre membran bütünlüğü, metabolik aktivite ve oksidatif durum üzerindeki etkisi; genotoksisite testleri ile nanopartikülün DNA üzerindeki etkisi ve immünotoksisite testleri ile nanopartikülün immün sistem üzerine etkisi değerlendirilir (166). Hücre membranı bütünlüğünü tayin etmek üzere Laktat dehidrojenaz (LDH) testi; mitokondriyal aktiviteyi belirlemek için MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid]; apoptoz ve nekroz tayini için immünokimya markerleri; immün sisteme etkisini tayin etmek için ELİSA ve sitometre-temelli tayin yöntemleri kullanılır. Kolorimetrik yöntemler de hücre canlılığı konusunda bilgi verir, ancak boyalarla nanoyapıların etkileşmesi ihtimali kolorimetrik yöntemlerin güvenilirliğini sarsar (161).

### **In Vitro Yöntemlerin Avantajları ve Dezavantajları**

In vitro yöntemler; enflamasyonun neden olduğu ikincil etkiler olmaksızın, hücrelerin primer etkiye maruz bırakılması ve yalın olarak doğrudan bu etkinin sonuçlarının gözlemlenebilmesi; hayvan çalışmalarının yorumlanmasını zorlaştıran fizyolojik ve telafi edici faktörlerin yokluğunda birincil toksisite mekanizmalarının tanımlanması; etkin, düşük maliyetli ve hızlı olması; sonraki pahalı hayvan deneylerinin tasarımı için fikir verici olması gibi birtakım avantajlara sahiptir (161).

Öte yandan in vitro yöntemlerin güvenilirliği hakkında endişeler oluşturan birtakım dezavantajlı özellikleri de söz konusudur. Bunlar; test süresince hücrelere uygulanan NP örneğinin konsantrasyonunun sabit tutulmasının zorluğu; NPlerin istenen konsantrasyonda ve formda hücrelere ulaşım ulaşımadığını belirlemenin güçlüğü; NP dispersiyonunun ve stabiltesinin hücre kültürü koşullarının özelliklerinden etkilenebilmesi; sulu ortamlarda NPlerin agragasyon ve aglomerasyon oluşturma eğiliminde olması (166); in vitro NP sitotoksisite testlerinde gerçekte in vivo koşullarda kullanılması muhtemel olmayan yüksek konsantrasyonlarda NP kullanılması; NP yapılarında safsızlık ve kontaminasyon bulunması ihtimali (171); nanoyapının fizikokimyasal özelliklerinin, dozun ve zamanın test koşullarına etkisi, hücre-matriks ve hücre-hücre etkileşimleri (161) olarak sıralanabilir. Bu olasılıklar ilgili medya özelliklerinin, uygun işlem koşullarının bilinmesi ve bu koşullardaki NPlerin karakterizasyonunu gerekli kılar (166).

Ayrıca *in vitro* toksisite testleri çoğunlukla tek katmanlı (2D) hücre kültürü modelleri kullanılarak gerçekleştirilir ancak nanoformülasyonların hücrelere ve dokulara alınma mekanizması, yapıların fizikokimyasal özelliklerinden etkilenir, dolayısı ile daha iyi temsil edici olacağı düşünülen 3 boyutlu (3D) hücre sistemlerinin daha iyi sonuçlar sağlayabileceği belirlenmiştir. Hatta son zamanlarda, mikroakışkan teknolojileri, *in vivo* koşulları taklit eden *in vitro* ortamlar oluşturmak için umut verici araçlar olarak ortaya çıkmıştır. Ancak yine de *in vivo* toksisiteyi etkin şekilde tahmin etme konusunda sınırlıdır (8).

Nanopartiküllerin toksisite tayininde bir genel sorun ise teste konu NPnin hangi birim ile ifade edileceğidir. Geleneksel yaklaşımlarda konsantrasyon mL, cm<sup>2</sup> veya hücre başına ağırlık cinsinden ifade edilir. Ancak NPlerde hücre başına NP ağırlığının, sayısının veya yüzey alanının ifade edilmesi aslında daha makuldür. Konsantrasyonu ifade ederken de sonuçların karşılaştırılabilmesi açısından NP toksisitesinde önemli etkisi olan yüzey özellikleri ve yüzey alanının kullanılması tavsiye edilmektedir (166).

Sonuç olarak; *in vitro* verilerin *in vivo* performans ile ilişkilendirilebilmesi için yeni biyo-ilişkili test yöntemleri geliştirilmelidir (192). Nanoyapıların biyolojik sistemlerdeki fizikokimyasal özellikleri ve güvenilirliği sistematik olarak araştırılmalıdır. Bu konuda düzenleyici kılavuzlar oluşturulmalıdır (8).

### **In Vivo Test Yöntemleri**

*In vitro* analiz sonuçları toksisite konusunda fikir verici olabilir. Ancak *in vitro* koşullar NPlerin insan vücudunda spesifik bir organla ya da sistemle ne şekilde etkileşimine dair veri sunmada yetersiz kalmaktadır. Bu sebeple hayvanlarda *in vivo* testler gerçekleştirilir (166). Bu çalışmalar, nanomalzemelerin başlangıçtaki birikimini çeşitli maruz kalma yollarıyla ilişkilendiren kanserojenik, pulmoner, dermal ve gastrointestinal bağlantılı toksisiteler hakkında bilgi sunabilir. Ayrıca, nanomalzemelerin kronik sistemik toksisitesini belirlemek için immünolojik, nörolojik, üreme, kardiyovasküler ve gelişimsel toksisite çalışmaları da *in vivo* yöntemlerle değerlendirilebilir (161). Ancak bu çalışmalar yapılırken nanofarmasötiklere özgü ve toksik özellikleri etikleyen karmaşık konular göz önünde bulundurulmalıdır (11).

### **In Vivo Yöntemlerin Avantajları ve Dezavantajları**

In vivo çalışmalarda türler, suş, diyet, yaşam koşulları, sirkadyen ritm, endojen mikrobiyaya farklılıklarına bağlı olarak sonuçlar da farklılık gösterir. Ayrıca maruziyet yolu, NP dozu, ilgilenilen spesifik organ/doku ve incelenmesi gereken protein/hücre türü tanımlanmalıdır (166). In vivo test yöntemlerinde hayvanların kullanılması pratik değildir, zaman alıcıdır üstelik de etik sorunları beraberinde getirir. Ayrıca in vivo sonuçların insan vücuduna korelasyonu her zaman mümkün değildir (193). Ancak, gerçek vücut biyolojik ortamında ve organlarda/dokulardaki toksik etkileri tahmin etmek için in vivo çalışmaların gerçekleştirilmesi kaçınılmazdır (194).

### 3. YÖNTEM

Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Yüksek Lisans Programı kapsamında yapılan “Nanoteknolojinin Farmasötik Uygulamalarda Kullanımının ve Nanopartiküllerin Toksik Etkilerinin Değerlendirilmesi” başlıklı tez için anabilim dalı akademik kurul kararının alınmasının ardından Hacettepe Üniversitesi Kütüphanelerinde gerekli taramalar yapılmış; öncelikli olarak kütüphanelere uzaktan erişime imkan veren internet sayfasından faydalanılmıştır.

Tezin ilk altı aylık sürecinde öncelikle “nanopharmaceutical”, “nanoparticle”, “nanomedicine”, “drug targeting”, “drug delivery”, “toxicity”, “nanotoxicity” anahtar kelimeleri farklı kombinasyonlarla taranarak, tezin amacına uygun şekilde eşleştirilmiştir. Bu anahtar kelimeler ile yapılan taramalarla elde edilen çok sayıda SCI ve SCI-Exp indeksli dergilerde ve Elsevier, PubMed, Google Academic gibi veritabanlarında araştırma veya derleme makalesi olduğu belirlenmiştir. Danışman öğretim üyesinin rehberliğinde, tezin Genel Bilgiler ve Sonuç kısmında yararlanılabilecek kaynaklar sınırlandırılmıştır. Ulusal mevzuat için Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumunun; uluslararası mevzuat için Avrupa İlaç Ajansı EMA’nın ve Amerika Gıda ve İlaç Dairesi FDA’nın resmi internet adresinde yer alan ve genel ulaşımına açık olan sayfalara başvurulmuştur.

Ulusal ve uluslararası makaleler ve incelenen yasal evraklar dahil olmak üzere 241 kaynaktan yararlanılmasına karar verilerek belirlenen bu kaynaklar okunmuştur. Öğrenci-Danışman görüşmeleri yapılarak tezin nihai yapısında bulunması gereken bilgilere ve derleme yöntemine karar verilmiştir.

Bu tez çalışmasında literatür incelemesi yapılarak sonuçlar değerlendirilmiştir. Tez çalışması istatistiksel anlamlılık içermediği için verilerin analiz edilmesinde bir istatistik programı kullanılmamıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Organik Nanoyapıların Toksisitesi

Organik nanotaşıyıcılar doğal, sentetik ya da yarısentetik kaynaklardan elde edilen yapılardır ve polimerik nanopartiküller ve nanokapsüller, dendrimerler, lipit nanopartiküller, lipozomlar, niozomlar, nanoemülsiyonlar, miseller gibi yapıları içerirler (13).

Farmasötik nanotaşıyıcı olarak kullanılan polimerik yapılar; kimyasal modifikasyon kolaylığı, büyüklük ve morfolojinin kontrol edilebilir olması, yüksek stabilite gibi avantajlara sahiptir (195). Öte yandan polimerik malzemedan elde edilen çok çeşitli nanoyapılar mevcuttur ve bu durum her bir tür için ayrı toksisite değerlendirmesi gerektirir (6). Örneğin;

Farmasötik uygulamalarda yaygın kullanılan bir polimer olarak kitosan, FDA tarafından yara örtüleri için kullanımda onaylanmıştır ve literatürde de ‘biyouyumlu ve toksik olmayan’ olarak sınıflandırılmıştır. Ancak köpek, tavşan, sıçan ve fare kullanılarak gerçekleştirilen farklı in vivo toksisite çalışmalarında; kitosan nanopartiküllerin uygulama yoluna, konsantrasyonuna ve partikül büyüklüğüne bağlı olarak toksik etki gösterebildiği belirlenmiş ve istenmeyen etkileri önlemek üzere sülfat ile modifikasyon ve PEGilasyon gibi alternatif yöntemler önerilmiştir (196). Ayrıca nörotoksik etki özelinde zebra balığı (*Danio rerio*) üzerinde gerçekleştirilen bir başka çalışmada kitosan NPLerin de Tween 80 ile modifiye edilmiş kitosan NPLerin de embriyonik gelişimi etkileyebileceği, zebra balığı larvalarının nörodavranışı ve kas ve nöron gelişimini etkilediği belirlenmiş ve bu yapıların dikkatle kullanılması tavsiye edilmiştir (197).

Kitosan kullanılarak hazırlanan farklı ilaç yüklü ve farklı partikül büyüklüğüne sahip taşıyıcı sistemeler için gerçekleştirilen in vitro çalışmalarda farklı toksik etkiler; poli(laktid-ko-glikolid) (PLGA) kullanılarak hazırlanan farklı ilaç yüklü ve farklı partikül büyüklüğüne sahip taşıyıcı sistemeler için gerçekleştirilen in vitro çalışmalarda farklı toksik etkiler belirlenmiştir (166). Literatür verilerindeki bu çeşitlilik çıkarım yapmayı olanaksız kılmaktadır.



Polimerik yapılar arasında ilaç taşıyıcı nanosistem olarak kullanılan bir başka yapı grubu ise dendrimerlerdir. Farklı zincir uzunluğuna sahip, katyonik ve anyonik dendrimer yapıları PAMAM ve polipropilenimin (PPI) kullanılarak gerçekleştirilen in vivo ve in vitro çalışmalarda; katyonik yapıların hem in vivo hem in vitro koşulda toksik etki gösterdiği, toksik etkinin zincir uzunluğuna bağlı olarak değiştiği; anyonik dendrimerler için toksik etki değerlendirmesinin yapılamadığı bildirilmiştir. Ayrıca in vitro test sistemlerinin seçiminin hayvanlarda ve insanlarda gerçek toksisiteyi tahmin etmek için uygun olup olmadığına dair endişeler olduğu ifade edilmiştir (198). PAMAM dendrimerlerin lipit çift katlı yapılarla etkileşimini tayin etmek üzere yapılan bir başka çalışmada ise dendrimer yapısal özelliklerinin etkileşim mekanizmasını ve şiddetini etkilediği belirlenmiştir (199).

Lipozomlar biyoparçalanır, non-toksik ve non-immünojenik yapılardır ve bu özellikleri onları sistemik dolaşıma doğrudan uygulama konusunda ideal bir aday haline getirir. Nitekim ilk lipozomal Doksorubisin: Doxil gibi nanoilaçlar erken bir dönemde (1995) FDA tarafından onay almıştır (200). Ancak yapılan çalışmalar lipozomların, yapılarına katılan lipitlerin kimyasal bileşimine ve kendi elektiriksel yüklerine bağlı olarak toksik etki kazanabileceklerini göstermiştir. Örneğin pozitif yüklü lipozomların DNA hasarına neden olduğu; kardiyolipin ve stearilamin gibi lipitlerin hücre ölümünü desteklediği; fosfatidilkolin veya dipalmitoilfosfatidilkolinin ise toksik olmadığı tespit edilmiştir (196).

Polimerik miseller için yapılan toksisite çalışmalarında ise yapıyı oluşturan malzemeye bağlı olarak toksik etki gözlenebileceği bildirilmiştir (201).

Yağ ve su fazı karışımından müteşekkil nanoemülsiyonlar, yapısında yüzey aktif madde ve yardımcı-yüzey aktif madde barındırır ve nanoemülsiyonların toksik özelliğini belirleyen bileşen de bileşimdeki yüzey aktif maddelerdir. İyonik yüzey aktif maddelerin non-iyoniklere nazaran daha toksik olduğu belirlenmiştir (196).

Son yıllarda katı lipit nanopartiküller ve lipit yapıları taşıyıcılar, biyoyumlu olmaları ve nanotoksikolojik sınıflandırmada düşük risk kategorisinde (sınıf I) yer almaları sebebi ile cazip yapılar arasındadır (202). Ancak yapılan çalışmalar lipit nanopartiküllerin toksisite profiline partikül büyüklüğü/dağılımı, konsantrasyonu ve

bileşimde kullanılan yüzey etkin madde ile ilişkili olduğunu ve farklı uygulama yolları için spesifik değerlendirmeye ihtiyaç duyulduğunu belirlemiştir (203).

## **4.2. İnorganik Nanoyapıların Toksisitesi**

İnorganik partiküller kendilerine has avantajlı özellikleri sebebi ile farmasötik alanda yaygın kullanılan yapılardır ancak aynı zamanda toksik etkileri de dikkatli değerlendirme gerektirir (21). Literatürde yer alan toksisite verilerinde dozaj miktarı, uygulama yolu, uygulama sıklığı gibi farklılıklar söz konusudur ve bu farklılıklar mevcut veriler üzerinden genel çıkarım yapmayı zorlaştırmaktadır. Ayrıca toksisiteyi etkileyen ortak özelliklerin yanı sıra malzemelerin toksik etki yaratabilen benzersiz özellikleri de söz konusu olabilir. İnorganik partiküller için ortak olduğu belirlenen inflamasyon ve oksidatif stresin yanı sıra yaygın kullanılan partiküle spesifik bulgular değerlendirilmiştir (204).

### **4.2.1. Metalik Nanopartiküllerin Toksisitesi**

Gümüş nanopartiküllerin bakteri türleri için toksik olduğu, insan hücrelerinde ise düşük toksik etki gösterdiği bildirilmiştir. Nitekim antimikrobiyal etkileri sebebi ile yara yamalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (205). Öte yandan in vitro çalışmalarda beyin mikrovasküler endotel hücre hattı (hCMEC/D3) üzerinde yapılan değerlendirmeler gümüş nanopartiküllerin farklı mekanizmalarla nörotoksisiteye neden olabildiğini, toksik etkinin uygulama süresine de bağlı olduğunu göstermiştir (206). Wistar sıçanları ile yapılan bir başka çalışma sonuçları ise gümüş nanopartiküllerin nörotoksik etkisi bulunduğunu ve hipokampusta apoptozu ve koyu nöron oluşumunu indüklediğini göstermiştir (207). Partikül boyutu etkisinin değerlendirildiği çalışmalarda fare beyin hücre kültürlerinin, büyüklere nazaran (100 nm) küçük boyutlu (20 nm) partiküllere karşı daha hassas olduğu; C57BL/6 ve A/J suşlarında benzer sitotoksik etkiler oluşmakla birlikte hücre içine alım mekanizmalarının ise farklı olduğu tespit edilmiştir (208). Zebra balığı embriyosunda aynı büyüklükteki (12 nm) gümüş partiküllerin yüzey yüküne bağlı olarak gelişimsel toksisiteyi tetiklediği; ayrıca farklı boyutlarda da (12 ve 42 nm) ölüm veya deformasyona neden olduğu belirlenmiştir (195).

Altın inert metal olarak zaten asırlardır kullanılmakta iken son yıllarda da altın nanopartiküller biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır, dolayısı ile toksisitesini değerlendirmek de önem kazanmıştır (205). Altın (Au) NPLerin partikül büyüklüğünün etkisini değerlendirmek üzere in vitro fare fibroblast Balb/3T3 hücre hattında yapılan çalışmada hem 5 nm hem 15 nm büyüklüğündeki partiküllerin hücre içi endozomal kompartmanlarda biriktiği; ancak küçük NPLerin (5 nm) hücre iskeletine daha belirgin ölçüde hasar verdiği belirlenmiştir (209). İnsan hepatoselüler karsinom hücreleri (HepG2) ve periferik kan mononükleer hücreleri (PBMC) ile yapılan in vitro deneyde, farklı malzemeler (sodyum sitrat veya PAMAM) ile kaplanmış Au NPLerin her iki hücre hattı için sitotoksik/genotoksik etki gösterdiği, etki şiddetinin hücre hattına göre değiştiği belirlenmiş ayrıca farklı yüzey kaplama malzemelerinin etkilerinin de değerlendirilmesi gerektiği tavsiye edilmiştir (210). Yüzey kimyasının etkilerini belirlemek üzere; 20 nm büyüklüğündeki sitrat ve pentapeptit sistein-alanin-lösin-asparajin-asparajin (CALNN) kaplı Au NPLer sıçanlara intravenöz olarak uygulanmış ve her iki kaplı partikül türü için karaciğerde maksimum akümülyasyon belirlenmekle birlikte CALNN-Au NP uygulanan sıçanlarda hafif anemi ile uyumlu dalak atrofisi ve hematolojik bulgular gözlenmiştir (211). Zebra balığı embriyosunda ise 1.3 nm büyüklüğündeki pozitif Au NPLerin göz hasarına, 50 nm büyüklüğündeki negatif Au NPLerin ise epidermal toksisiteye neden olduğu raporlanmıştır (195).

Metal bileşikleri arasında demir oksit güçlü manyetik özelliği dolayısıyla özellikle biyomedikal uygulamalarda görüntüleme işlemlerinde kullanılır. Demirin doğal olarak fizyolojik ortamlarda bulunması ve metabolik faaliyetlere katılması, başlarda bu yapının toksik olmadığı algısı oluşturmaktaydı. Ancak yapılan çalışmalar demir oksit NPLerin küçük boyutunun hücre içinde yüksek konsantrasyonlarda birikmeye neden olduğu ve vücuttan uzaklaştırılmasının da zor olduğunu göstererek bu yapının kullanımı konusunda endişe yaratmıştır (189). Demir oksit bileşikleri başta olmak üzere diğer manyetik özellik gösteren NPLerin toksik etki değerlendirmesi konusunda pek çok çalışma yapılmıştır (212). Örneğin kaplanmamış demiroksit NPLer ile yapılan çalışmalarda; 72 nm NPnin THP-1 hücre hattına ve CD(R) IGS dışı sıçanlara uygulaması sonucunda eritrositlerde sitotoksikite (213); 15 nm NPnin zebra balığına uygulanması sonucunda 1 ppm'de davranışsal ve biyokimyasal güvenilirlik

ancak 10 ppm'de nörodavranışsal toksisite belirlenmiş iken (214); 15 nm ve 225 nm NPnin A549 hücre hattına ve erkek Balb/c farelerine uygulanması sonucunda toksik etki gözlenmediği bildirilmiştir (215). Farklı malzemeler ile kaplanmış demir oksit ve diğer manyetik özellikteki NPler için yine farklı in vitro ve in vivo koşullarda farklı sonuçlar elde edilmiş ve benzer partiküllerin bile farklı sonuçlar vermesinin altında yatan nedenleri belirleyebilmek için daha çok inceleme yapılması ve metabolomik, proteomik ve genetik çalışmalar gibi yaklaşımların bir arada kullanılması tavsiye edilmiştir (212).

Non-toksik bir malzeme olarak bilinen ve özellikle kanser tedavisinde klinik kullanım alanı bulan platinin (Pt), bu alanda sınırlı toksisite verisi bulunması sebebi ile kardiyak elektrofizyolojik etkisi değerlendirilmiştir. 5 ve 70 nm platin NP kullanılarak gerçekleştirilen çalışmada her iki büyüklükteki partiküllerin, kardiyak elektrofizyoloji üzerinde benzer akut toksik etkilere sahip olduğu ve bu etkinin büyük olasılıkla, oksidatif hasar veya diğer daha yavaş biyolojik süreçlerden ziyade, hücre dışı taraftaki iyon kanalları üzerinde Pt NP'lerin nano ölçekli bir müdahalesinden kaynaklandığı belirlenmiştir (216). Platin toksisitesi tayini için yapılan farklı çalışmalarla; Pt NPlere intratrakeal olarak maruz kalan hayvanların akciğerinde inflamatuvar yanıt geliştiği; oral uygulama sonrası inflamatuvar yanıt geliştiği ve oksidatif stresin indüklendiği; intravenöz uygulama sonrası hepatotoksisite ve nefrotoksisitenin indüklendiği; belirgin bir sitotoksisite olmaksızın DNA hasarı ve selüler apoptoz gerçekleştiği; karsinojenite için çalışma bulunmadığı ancak bu çalışma verilerinin belirgin bir risk tanımlamak için yeterli olmadığı ve ilave kısa/uzun dönem deneysel verilere ihtiyaç bulunduğu bildirilmiştir (217).

Farmasötik uygulamalarda, özellikle kanser tedavisine konu çinko oksit (ZnO) nanopartiküllerinin sitotoksisite mekanizması tam olarak anlaşılmamakla birlikte reaktif oksijen türleri oluşumunun majör etken olduğu düşünülmektedir. Bakteri, maya, makroalg, protozoa, zebra balığı ve fareler üzerinde çeşitli düzeylerde yapılan toksisite çalışmalarının bazıları çinko toksisitesinin çözünen ZnO NPlerden açığa çıkan  $Zn^{+}$  iyonuyla ilişkili olduğunu; bazıları ise  $Zn^{+}$  iyonunun sitotoksite mekanizması ile ilişkili olmadığını bildirmiştir. Bu farklılığın nanopartikül sentez yöntemi ve koşulların farklılığı ile ilgili olabileceği ifade edilmiştir (218). Farklı birçok çalışma verisi birlikte değerlendirildiğinde çinko oksit NPlerin sistemik dağılımının,

konsantrasyona, uygulama yoluna, dozuna ve uygulama süresine bağlı olarak farklı organlarda toksik etki gösterdiği; karaciğer, dalak, böbrek, mide, pankreas, kalp, akciğer, nörolojik sistem, lenfatik sistem ve hematolojik göstergeleri; hatta seks hormonları seviyelerini ve fetal gelişimi de etkileyebilecekleri bildirilmiştir (219).

Titanyum dioksit ( $\text{TiO}_2$ ) düşük toksik etkili bir madde olarak bilinmesine bağlı olarak yaygın bir kullanım alanına sahiptir. Ancak yapılan çalışmalar nano partiküllerin, boyuta ve kristal forma bağlı olarak toksik etki gösterdiğini kanıtlamıştır. Buna göre uzun süre dermal maruziyet sonunda hem dermal hem sistemik toksisite geliştiği, UVA ışınmasına bağlı reaktif oksijen türleri oluşumu ile insan derisi için fototoksik olduğu, ayrıca inhalasyon yolu ile uzun süre  $\text{TiO}_2$  maruziyetinin de toksik etki yarattığı rapor edilmiştir (220).

#### **4.2.2. Silika ( $\text{SiO}_2$ ) Nanopartiküllerin Toksisitesi**

Silisyum dioksit ve gözenekli silika temelli silika nanopartiküller düşük toksisitesi ile bilinen, çok sayıda çalışmaya konu olmuş ve biyomedikal uygulamalarda da kullanılan inorganik NP türüdür; ancak doku ve organlarda birikmesi çeşitli istenmeyen etkileri de beraberinde getirir (195). Silika NPLerin partikül büyüklüğünün toksisteye etkisini değerlendirmek üzere Calu-3 hücreleri (insan akciğer epitel hücreleri) üzerinde yapılan in vitro çalışmalar 150 ve 500 nm NPLerin non-toksik olduğunu ve 10 nm amorf NPLerin ise sitotoksik etki gösterdiğini, bu etkinin de inflamasyon, reaktif oksijen türleri salımı ve buna bağlı apoptoz ile gerçekleştiğini göstermiştir (221). Öte yandan diğer olası değişkenlerin etkilerini tayin etmek üzere; 20-200 nm arasında değişen büyüklüklerdeki silika NPLer A549 ve HepG2 epitel hücreleri ile NIH/3T3 fibroblastlara uygulanmış ve kültürler hücre canlılığı, membran hasarı, oksidatif stres, hücre alım yönünden incelenmiştir. Silika NP sitotoksitesinin sadece büyüklük ve doza bağlı olmadığı aynı zamanda hücre türüne de bağlı olduğu; ayrıca beklenmedik şekilde hücre içine en çok alınan partiküllerin 60 nm büyüklüğündeki NPLer olduğu belirlenmiştir (222). A549 insan kanser hücrelerine farklı konsantrasyonlarda ve farklı süreler boyunca silika NP uygulanması neticesinde ise hücre canlılığının doza ve uygulama süresine bağlı olarak azaldığı, sitotoksite mekanizmasının ise oksidatif stres olduğu tespit edilmiştir (223).

### 4.2.3. Kuantum Noktalarının (QD) Toksisitesi

Kuantum noktaları nano boyutlu, floresans özellikte yarı iletken partiküllerdir ve ağır metalden ya da inorganik malzemeden elde edilirler. Kuantum noktası (Quantum Dot-QD) ifadesi partüküllerin kuantum sıkıştırması ve optik özelliklerine atıfta bulunur (224). QDler, bir metaloid çekirdek ile çekirdeği koruyan ve QDyi biyolojik olarak kullanılabilir hale getiren bir kabuktan oluşur. Biyoyoumlu kaplamaların veya fonksiyonel grupların daha fazla eklenmesi, QDye istenen biyoaktiviteyi verebilir. QD çekirdekleri, yarı iletkenler, soy metaller ve manyetik geçiş metalleri gibi çeşitli metal komplekslerinden oluşur. Örneğin, indiyum fosfat (InP), galyum arsenat (GaAs) çinko sülfür (ZnS), çinko-selenyum (ZnSe), kadmiyum-selenyum (CdSe) gibi (225). Kuantum noktalarının organik floroforlara kıyasla floresans emisyon intensitesi ve fotostabilitesi daha yüksektir; emisyon spektrumu dar ve uyarma spektrumu geniştir. Bu özellik de QDleri biyomedikal uygulamalarda cazip hale getirir (189). Ancak biyomedikal uygulamalarda kullanımlarını sınırlayan ciddi bir özellikleri vardır ki bu da QD'lerin toksisitesidir. QD'lerin büyüklüğü, dozu, uygulama yolu, hazırlanmasında kullanılan malzeme, kaplama malzemesi gibi özellikler QDlerin toksik etkisini belirler (224). Özellikle kaplanmamış kuantum noktalarının reaktif oksijen türlerini değiştirerek nükleusa, plazma membranına ve mitokondriye hasar verdiği belirlenmiştir (226). CdTe, CdTe/CdS çekirdek-kabuk yapıları ile CdTe/CdS/ZnS çekirdek-kabuk-kabuk yapıları QD'lerin toksik etkisini belirlemek üzere çeşitli hücre hatlarında yapılan çalışmalar; CdS kabuğundan yayılan Cd<sup>2+</sup> iyonlarının toksisiteye neden olduğunu; in vivo çalışmalar ise QD biyodağılımının partikül büyüklüğüne bağlı olduğunu göstermiştir (205). Ayrıca yine CdSe uygulanan sıçanlarda ve farelerde sırasıyla Cd<sup>2+</sup> iyonu ilişkili sitotoksisite ve beyin dokularında Cd iyonu birikimi saptanmıştır (9).

### 4.3. Karbon-temelli Nanopartiküllerin Toksisitesi

Karbon temelli nanomalzemeler atomik konfigürasyonları, mükemmel mekanik özellikleri, kolay işlevselleştirilebilmeleri gibi özellikleri sayesinde çokça değerlendirilen ve yaygın kullanım alanı bulan malzemelerdir ancak farklı yapılarıdaki karbon temelli malzemelerin toksisitesi sınırlayıcı bir özellik olarak iyi değerlendirilmelidir (195).

### 4.3.1. Karbon Nanotüplerin (KNT) Toksisitesi

Birçok çekici özelliğine rağmen toksisite, karbon nanotüpler için birincil endişe kaynağı olmuştur. Bu yapıların toksisitesi lipofilik yapı, asbest liflerine benzerlik, yapılarındaki safsızlıklar, yüksek en boy oranı ve yüzey alanı, yüzey kusurları, işlevselleştirmeler gibi özelliklerin neden olduğu; dokularda birikme, oksidatif strese artış, mitokondriyal stres ve DNA hasarı ile ilişkilendirilmektedir (69). Farklı parametrelerin toksisite üzerine etkisini değerlendirmek üzere farklı in vitro çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma sonuçlarına göre; tek katlı ve çok katlı KNTlerin uzunluğunun proinflatuvar yanıt ve reaktif oksijen türleri oluşumunu etkilediği; yüzey yükü ve fonksiyonunun hücre yaşamsallığı ve sitotoksisiteyi etkilediği; yapıda metal bulunmasının sitotoksisiteyi etkilediği belirlenmiştir. Ancak çalışmaların ayrı ayrı yürütülmüş olması ve incelenen özellikler dışındaki diğer bileşenlerin de deneyler arasında farklılık göstermesi net bir korelasyon kurmaya izin vermemiştir (31). Çeşitli in vivo çalışmalar ise farelere abdominal boşluktan uygulanan KNTlerin asbest uygulanmasına benzer yanıt ile mezotelyomayı tetiklediği (205); intratrakeal yoldan yüksek dozda uygulanan karbon nanotüplerin, kemirgenlerde yabancı cisim granülom oluşumuna ve interstisyel fibrozise neden olduğu (226) belirlenmiştir. Bu alanda çok sayıda in vitro ve in vivo çalışma gerçekleştirilmekle birlikte hâlâ KNTlerin toksisitesi ve olası mekanizmaları net olarak tayin edilememiştir ve güvenli kullanım için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (227).

### 4.3.2. Fullerenlerin Toksisitesi

Bu küçük parçacıkların ışık varlığında yüzeyde uyarılması, genellikle tekli oksijen duyarlılaştırıcı durumu oluşturan toksisiteye neden olur. Zebra balığı çalışmasında, 48 saat boyunca 0.5 ppm konsantrasyonda C60 fullerenlere maruziyet sonrası beyin ve solungaçta glutasyon ve lipid peroksidasyonu gözlenmiştir (226). Esasında bu alanda çok çeşitli çalışmalar yapılmakla birlikte, hem toksisite hem de maruziyet için verilerin kalitesi ve temsil edilebilirliği ile ilgili birçok belirsizlik bulunduğundan, ayrıca bazı spesifik toksisite türleri için veri bulunmadığından mevcut veriler risk karakterizasyonu yapma konusunda yetersiz kalmaktadır (228).

## 5. TARTIŞMA

Hazırlanan bu tez çalışması kapsamında; nanoteknoloji uygulamalarının tıp / farmasötik dünyasındaki yansımaları incelenmiştir. Nanoyapıların farmasötik uygulamalarda kullanım amaçları, kullanım alanları, konvansiyonel yöntemlere göre üstünlükleri ve sakıncaları irdelenmiştir. Her geçen gün daha fazla çalışmaya konu olan nanofarmasötiklerin toksik etki gösterme potansiyelleri ve koşulları değerlendirilmiştir. Ayrıca bu yeni ve hızla gelişen alan için ulusal ve uluslararası düzenleyici otoritelerin yaklaşımları araştırılmıştır. Böylelikle yaygın olarak araştırmalara konu olan nanofarmasötiklerin/nanotaşıyıcı sistemlerin belirlenmesi, bu yapıların hangi alanlarda amaca yönelik sonuçlar verdiğinin ve özellikle toksik etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmanın, gelecek araştırmalar için ilgili teşhis ve tedavi yöntemlerine uygun nanofarmasötik/nanotaşıyıcı sistem belirleme ve bunların toksik etkilerini öngörme konusunda bir rehber niteliğinde olması hedeflenmiştir.

Bu doğrultuda hem literatür taraması hem mevzuat taraması yapılmıştır. İncelenen çok sayıda kaynaktan anlaşıldığı üzere;

Nanotıp/nanofarmasötik alanındaki araştırmalar her geçen gün artmaktadır. Nanoyapılar bu alanda özellikle tedavi, teşhis ve teranöstik uygulamalar için değerlendirilmektedir (9). Konvansiyonel yöntemlere kıyasla birçok üstünlük sağlayan nanofarmasötikler oral, intravenöz, topikal, oküler, inhaler gibi birçok uygulama yolu için denenmektedir. Ayrıca kanser ve nörodejeneratif hastalıklar gibi yaygın ve yüksek ölüm oranlarına neden olan hastalıklar için spesifik çalışmalar yapılmaktadır (6). Bu amaçla kullanılan nanoyapılar ise organik, inorganik ve karbon temelli gruplar altında toplanmakla birlikte çok geniş bir aralıkta çeşitlilik göstermektedir (13).

Nano yapıları makro yapılardan ve konvansiyonel yöntemlerden üstün kılan; partikül büyüklüğü, yüzey yükü, şekil, yapı malzemesi, yapının bileşimi vb. birçok fizikokimyasal özellik söz konusudur. Ancak aynı özellikler yapının toksik etki gösterme yetisini de etkilemektedir (7). Bu özelliklerdeki minör sayılabilecek değişiklikler, son durumda yapıların etkinliğini ve toksik etkisini dramatik ölçüde değiştirebilmektedir (9).



Değerlendirilen çalışmalarda; nanoyapı, uygulamaya yolu, uygulama dozu, hedef bölge gibi çok sayıda değişken olduğu belirlenmiştir (9). Dolayısı ile her bir çalışma özelinde belirtilen değişkenlerin, ancak o çalışmaya konu tek bir kombinasyonu için çıkarım yapılabilmektedir. Herhangi bir uygulama yolu, dozu vs. için ilgili nanoyapının kullanımının uygun ya da sakıncalı olduğuna ilişkin genelleme yapmak mümkün olmamıştır.

Ayrıca toksisite özelinde yapılan taramada; her bir çalışma kapsamında, ilgili nanoyapıların araştırmacıların uygun olarak değerlendirdiği yöntemler ve koşullar ile toksisite testlerine tabi tutulduğu ve araştırmanın odak noktası uyarınca farklı fizikokimyasal özelliklerin farklı toksisite türleri üzerine etkisinin değerlendirildiği; sonuçların genel çıkarıma izin vermeyecek çeşitlilikte olabildiği görülmüştür (226).

Mevzuat incelemesinde ise; nanomalzemelerin/nanofarmasötiklerin kalite, etkililik, güvenilirlik vb. yönlerden değerlendirilmesi için spesifik gerekliliklerin tanımlanmadığı; nanofarmasötiklerin de biyolojik ve konvasiyonel ilaçlar ile aynı gerekliliklere tabi olduğu, bu alanda standartlar belirlenmemiş olmasının da çalışma koşullarında ve sonuçlarında değişkenliğe neden olduğu tespit edilmiştir (8).

Sonuç olarak çalışmamız; nanofarmasötiklerin/nanoyapıların türlerini, özelliklerini, elde edilme yöntemlerini, farmasötik uygulamalarda kullanım alanlarını ve amacını, çalışmalar neticesinde tespit edilen üstünlüklerini ve olası toksik etkilerini, yapıların toksik etkisini belirleyen koşulları derler niteliktedir. Her ne kadar bahsedilen nedenlerle nanofarmasötiklerin toksik etkileri üzerine genellemeler yapmak mümkün olmamışsa da nanofarmasötiklerin toksisite değerlendirmesinin konvasiyonel ürünlere kıyasla çok daha kompleks bir çalışma gerektirdiği ve bu alanda güvenilir sonuçlar elde etmek için yapıların karakterizasyonunun, süreci etkileyen diğer bileşenlerin titiz şekilde değerlendirilmesinin kaçınılmaz olduğu; ayrıca nanofarmasötiklerin etkililik ve güvenilirlik değerlendirmesi için yetkili kurumlar tarafından standart koşullar tanımlanması gerektiği sonucuna varılmıştır.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Nanoteknoloji ile birlikte hayatımıza giren nanotıp/nanofarmasötik uygulamalar, konvansiyonel yöntemlere kıyasla birçok üstünlüğe sahiptir. Nanofarmasötiklerin teşhis, tedavi, teranöstik uygulamalarda üstünlük göstermesini sağlayan boyutları ve kendilerine has diğer fizikokimyasal özellikleri aynı zamanda toksik özelliklerini de etkilmektedir. Nanofarmasötik uygulamalarda kullanılan nanoyapıların çeşitliliği ve nanoyapıların toksik etkilerini belirleyen özelliklerin çeşitliliği ise bu yapıların toksisitesine ilişkin değerlendirme yapmayı oldukça zor ve kritik hale getirir. Ayrıca yetkili otoriteler tarafından nano yapıların toksisite değerlendirmesine ilişkin standart koşullar belirlenmemiştir. Bu belirsizlik, toksisite test yöntemlerinin araştırmacılar tarafından belirlenmesine neden olur. Dolayısı ile araştırma yöntemleri ve sonuçları arasında varyasyon kaçınılmazdır. Nitekim çalışmamız kapsamında yapılan literatür taramasında birçok toksisite çalışma sonucu incelenmiştir. Ancak çalışma koşullarının ve buna bağlı olarak sonuçların farklı olması genel çıkarımlar yapmayı olanaksız kılmıştır.

Bununla birlikte yapılan çalışma kapsamında;

- Nanoyapıların farmasötik uygulamalarda tedavi etkinliğini artırmak, hedef dışı bölgelerdeki toksik etkiyi azaltmak, daha düşük doz ile daha kısa sürede tedavi sağlamak, etkin teşhis sağlamak gibi birçok imkan sunduğu ve farmasötik alan için umut vaat ettiği,
- Ancak nanoyapıların (etkin maddeden bağımsız olarak) toksisite kaynağı olabileceği,
- Aynı yapının makro boyutuna kıyasla nano boyutunun kendine has farklı özellikler kazandığı, böylece toksik özelliğinin de değiştiği,
- Nanoyapılara özgü birçok fizikokimyasal özelliğin, yapının toksik özelliğini belirgin şekilde etkilediği,
- Toksisite test koşullarının standardize edilmemesi sebebi ile in vitro ve in vivo test sonuçlarının insana uyarlanma konusunda yetersiz kalabileceği; aynı nedenle literatür verilerinden yararlanmanın da olanaksız olduğu,

- Toksik etki mekanizmasını ve toksisteden sorumlu özelliği doğru tayin edebilmek için nanoyapının doğru karakterize edilmesi gerektiği,

Belirlenmiştir.

Ayrıca mevcut tez çalışması kapsamında yapılan literatür taramasında nanoyapıların toksik özelliklerine ilişkin veri sunan yayınların oranının inorganik, organik, karbon-temelli nanoyapılar için sırasıyla %82.96, %46,7 ve %20 olduğu; inorganik yapılar içerisinde en çok toksisite verisi sunulan malzemenin Altın nanopartiküller, organik yapılar içerisinde en çok toksisite verisi sunulan malzemenin lipozomlar, karbon-temelli yapılar içerisinde en çok toksisite verisi sunulan malzemenin karbon nanotüpler olduğu; her bir sınıf nanoyapı için en çok rapor edilen toksik etkinin ise sitotoksisite olduğu tespit edilmiştir. Detaylı dağılım Tablo 6.1’de verilmiştir.

Nanofarmasötiklerin toksisitesine ilişkin güvenilir değerlendirmelere yapabilmesi için;

- Ulusal ve uluslararası düzenleyici kurumlar tarafından nanomalzemeler ve nanofarmasötikler üzerinde araştırmalar yapılmalıdır. Bu yapıların toksisite değerlendirmesi için standart yöntemler ve koşullar tanımlanmalı, bu konuda kılavuzlar yayımlanmalıdır.
- In vitro test yöntemlerinde çoğunlukla kullanılan tek katmanlı (2D) hücre kültürü modelleri yerine, daha iyi temsil edici olacağı düşünülen 3 boyutlu (3D) hücre sistemlerinin kullanımı değerlendirilebilir.
- Nanofarmasötik sınıfına giren çok sayıda malzeme türü ve bu yapıların toksik etkisini belirleyen çok sayıda değişken bulunduğundan, hem toplam deney sayısını azaltmak hem çok sayıda veri elde etmek üzere; in vitro ve in vivo çalışmalardan elde edilecek güvenilir sonuçlardan yararlanılarak bilgisayarlı modelleme yapılabilir. Böylece çok sayıda parametrede değişiklik yapılarak, değişikliğe bağlı yanıtlar simüle edilebilir. Toksisite profiline ilişkin ön bilgi edinilebilir.

İşbu tez çalışmamızın nanofarmasötiklerin türleri, kullanım alanları, toksisite mekanizmaları ve olası toksik etkileri konusunda çerçeve niteliğinde bilgi sunduğu ve kendinden sonraki çalışmalar için fikir verici olacağı düşünülmektedir.

**Tablo 6.1.** Literatür verilerinin nanoyapılara göre dağılımı.

Literatür Taraması	Yayın Sayısı—Oranı	En Çok rapor Edilen Toksik Etkiler
Nanomalzeme konulu yayın sayısı	226	--
Nanoyapıların toksik etkilerine ilişkin değerlendirme içeren yayın sayısı	135	--
<b>Organik</b> nanoyapıların toksisitesine ilişkin değerlendirme içeren yayın sayısı—'toksikite' konulu yayın içerisindeki oranı	63--%46,7	--
Lipozomların toksisitesine ilişkin değerlendirme içeren yayın sayısı—'organik yapıların toksisitesi' konulu yayın içerisindeki oranı	29--%46	--
Dendrimerlerin toksisitesine ilişkin değerlendirme içeren yayın sayısı—'organik yapıların toksisitesi' konulu yayın içerisindeki oranı	14--%22	Sitotoksikite
<b>İnorganik</b> nanoyapıların toksisitesine ilişkin değerlendirme içeren yayın sayısı—toksikite konulu yayın içerisindeki oranı	112--%82,96	
Altın NPLerin toksisitesine ilişkin değerlendirme içeren yayın sayısı—'inorganik yapıların toksisitesi' konulu yayın içerisindeki oranı	20--%17,85	Sitotoksikite, nörotoksikite ve genotoksikite
Titanyum dioksit NPLerin toksisitesine ilişkin değerlendirme içeren yayın sayısı—'inorganik yapıların toksisitesi' konulu yayın içerisindeki oranı	15--%13,39	Sitotoksikite, genotoksikite ve dermal toksikite
Silika NPLerin toksisitesine ilişkin değerlendirme içeren yayın sayısı—'inorganik yapıların toksisitesi' konulu yayın içerisindeki oranı	13--%11,61	Sitotoksikite
Gümüş NPLerin toksisitesine ilişkin değerlendirme içeren yayın sayısı—'inorganik yapıların toksisitesi' konulu yayın içerisindeki oranı	13--%11,61	Sitotoksikite ve nörotoksikite
Kuantum noktaları toksisitesine ilişkin değerlendirme içeren yayın sayısı—'inorganik yapıların toksisitesi' konulu yayın içerisindeki oranı	12--%10,71	Sitotoksikite
<b>Karbon temelli</b> nanoyapıların toksisitesine ilişkin değerlendirme içeren yayın sayısı—'toksikite konulu' yayın içerisindeki oranı	27--%20	Sitotoksikite ve nörotoksikite

## 7. KAYNAKLAR

1. Akcan R, Aydogan HC, Yildirim MS, Tastekin B, Saglam N. Nanotoxicity: a challenge for future medicine. *Turk J Med Sci.* 2020;50(4):1180-96.
2. Damodharan J. Nanomaterials in medicine – An overview. *Materials Today: Proceedings.* 2021;37:383-5.
3. Soares S, Sousa J, Pais A, Vitorino C. Nanomedicine: Principles, Properties, and Regulatory Issues. *Front Chem.* 2018;6:360.
4. Bondarenko O, Mortimer M, Kahru A, Feliu N, Javed I, Kakinen A, et al. Nanotoxicology and nanomedicine: The Yin and Yang of nano-bio interactions for the new decade. *Nano Today.* 2021;39.
5. Ho JQ, Arabi L, Basu M, Khaled F, Gonzalez Y, Ghegeliu D, et al. Nanotechnology and nanomedicine. *Nanomedicine for Ischemic Cardiomyopathy2020.* p. 9-21.
6. Zırh-Gürsoy A, editor. *Nanofarmasötikler ve Uygulamaları: Kontrollü Salım Sistemleri Derneği;* 2014.
7. Desai N. Challenges in development of nanoparticle-based therapeutics. *AAPS J.* 2012;14(2):282-95.
8. Agrahari V, Agrahari V. Facilitating the translation of nanomedicines to a clinical product: challenges and opportunities. *Drug Discov Today.* 2018;23(5):974-91.
9. Zoroddu MA, Medici S, Ledda A, Nurchi VM, Lachowicz JI, Peana M. Toxicity of nanoparticles. *Curr Med Chem.* 2014;21(33):3837-53.
10. Çalış S, Öztürk Atar K, Arslan FB, Eroğlu H, Çapan Y. Nanopharmaceuticals as Drug-Delivery Systems. *Nanocarriers for Drug Delivery2019.* p. 133-54.
11. Erkekoglu P, Kocer-Gumusel B. Toxicity assessment of nanopharmaceuticals. *Inorganic Frameworks as Smart Nanomedicines2018.* p. 565-603.
12. Humes ST, Sabo-Attwood T. Nanotechnology. *Information Resources in Toxicology2020.* p. 425-36.
13. Bisso S, Leroux JC. Nanopharmaceuticals: A focus on their clinical translatability. *Int J Pharm.* 2020;578:119098.
14. Kargozar S, Mozafari M. Nanotechnology and Nanomedicine: Start small, think big. *Materials Today: Proceedings.* 2018;5(7):15492-500.
15. Germain M, Caputo F, Metcalfe S, Tosi G, Spring K, Aslund AKO, et al. Delivering the power of nanomedicine to patients today. *J Control Release.* 2020;326:164-71.
16. Lu W, Yao J, Zhu X, Qi Y. Nanomedicines: Redefining traditional medicine. *Biomed Pharmacother.* 2021;134:111103.
17. Aminu N, Bello I, Umar NM, Tanko N, Aminu A, Audu MM. The influence of nanoparticulate drug delivery systems in drug therapy. *Journal of Drug Delivery Science and Technology.* 2020;60.

18. Galetti M, Rossi S, Caffarra C, Gerboles AG, Miragoli M. Innovation in nanomedicine and engineered nanomaterials for therapeutic purposes. *Exposure to Engineered Nanomaterials in the Environment* 2019. p. 235-62.
19. Peng Y, Chen L, Ye S, Kang Y, Liu J, Zeng S, et al. Research and development of drug delivery systems based on drug transporter and nano-formulation. *Asian J Pharm Sci.* 2020;15(2):220-36.
20. Nadimi AE, Ebrahimipour SY, Afshar EG, Falahati-Pour SK, Ahmadi Z, Mohammadinejad R, et al. Nano-scale drug delivery systems for antiarrhythmic agents. *Eur J Med Chem.* 2018;157:1153-63.
21. Zhang C, Yan L, Wang X, Zhu S, Chen C, Gu Z, et al. Progress, challenges, and future of nanomedicine. *Nano Today.* 2020;35.
22. Sriram P, Singh M, Nayak P, Mishra V, Sutte A. Niosomes: Potential Nanocarriers for Drug Delivery. *International Journal of Pharmaceutical Quality Assurance.* 2020;11(03):389-94.
23. Wang T, Zhang D, Sun D, Gu J. Current status of in vivo bioanalysis of nano drug delivery systems. *J Pharm Anal.* 2020;10(3):221-32.
24. George A, Shah PA, Shrivastav PS. Natural biodegradable polymers based nano-formulations for drug delivery: A review. *Int J Pharm.* 2019;561:244-64.
25. Stevens CA, Kaur K, Klok HA. Self-assembly of protein-polymer conjugates for drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 2021;174:447-60.
26. Cloninger MJ, Biological applications of dendrimers. *Current Opinion in Chemical Biology* 2002; 6:742–748
27. Nedyalkova M, Donkova B, Romanova J, Tzvetkov G, Madurga S, Simeonov V. Iron oxide nanoparticles - In vivo/in vitro biomedical applications and in silico studies. *Adv Colloid Interface Sci.* 2017;249:192-212.
28. Fu PP. Introduction to the special issue: nanomaterials-- toxicology and medical applications. *J Food Drug Anal.* 2014;22(1):1-2.
29. Semerci İÖ, Karbon Nanotüpler [İnternet]. 2014 [Erişim tarihi: 21.01.2021]. Erişim adresi: <https://bilimgenc.tubitak.gov.tr/makale/karbon-nanotupler>
30. Bai RG, Hussein GA. Graphene-based drug delivery systems. *Biomimetic Nanoengineered Materials for Advanced Drug Delivery* 2019. p. 149-68.
31. Sharma S, Naskar S, Kuotsu K. A review on carbon nanotubes: Influencing toxicity and emerging carrier for platinum based cytotoxic drug application. *Journal of Drug Delivery Science and Technology.* 2019;51:708-20.
32. Hassanzadeganroudsari M, Soltani M, Heydarinasab A, Apostolopoulos V, Akbarzadehkhayavi A, Nurgali K. Targeted nano-drug delivery system for glioblastoma therapy: In vitro and in vivo study. *Journal of Drug Delivery Science and Technology.* 2020;60.
33. Asha Spandana KM, Bhaskaran M, Karri VVSNR, Natarajan J. A comprehensive review of nano drug delivery system in the treatment of CNS disorders. *Journal of Drug Delivery Science and Technology.* 2020;57.

34. Agrahari V, Burnouf PA, Burnouf T, Agrahari V. Nanoformulation properties, characterization, and behavior in complex biological matrices: Challenges and opportunities for brain-targeted drug delivery applications and enhanced translational potential. *Adv Drug Deliv Rev.* 2019;148:146-80.
35. Shirvalilou S, Khoei S, Khoei S, Raoufi NJ, Karimi MR, Shakeri-Zadeh A. Development of a magnetic nano-graphene oxide carrier for improved glioma-targeted drug delivery and imaging: In vitro and in vivo evaluations. *Chem Biol Interact.* 2018;295:97-108.
36. Pandey A, Singh K, Subramanian S, Korde A, Singh R, Sawant K. Heterogeneous surface architected pH responsive Metal-Drug Nano-conjugates for mitochondria targeted therapy of Glioblastomas: A multimodal intranasal approach. *Chemical Engineering Journal.* 2020;394.
37. Wilson B, Geetha KM. Neurotherapeutic applications of nanomedicine for treating Alzheimer's disease. *J Control Release.* 2020;325:25-37.
38. Md S, Bhattmisra SK, Zeeshan F, Shahzad N, Mujtaba MA, Srikanth Meka V, et al. Nano-carrier enabled drug delivery systems for nose to brain targeting for the treatment of neurodegenerative disorders. *Journal of Drug Delivery Science and Technology.* 2018;43:295-310.
39. Chatterjee B, Gorain B, Mohananaidu K, Sengupta P, Mandal UK, Choudhury H. Targeted drug delivery to the brain via intranasal nanoemulsion: Available proof of concept and existing challenges. *Int J Pharm.* 2019;565:258-68.
40. Mahdavian L. DFT studies of the drug carrier of anti-migraine (sumatriptan) on nano-graphene oxide (NGO) and graphene oxide/polyethylene glycol polymer nano-composite. *Diamond and Related Materials.* 2020;104.
41. Agrawal M, Saraf S, Saraf S, Dubey SK, Puri A, Patel RJ, et al. Recent strategies and advances in the fabrication of nano lipid carriers and their application towards brain targeting. *J Control Release.* 2020;321:372-415.
42. Vij N, Min T, Bodas M, Gorde A, Roy I. Neutrophil targeted nano-drug delivery system for chronic obstructive lung diseases. *Nanomedicine.* 2016;12(8):2415-27.
43. Doroudian M, A ON, Mac Loughlin R, Prina-Mello A, Volkov Y, Donnelly SC. Nanotechnology in pulmonary medicine. *Curr Opin Pharmacol.* 2021;56:85-92.
44. Liu Q, Guan J, Qin L, Zhang X, Mao S. Physicochemical properties affecting the fate of nanoparticles in pulmonary drug delivery. *Drug Discov Today.* 2020;25(1):150-9.
45. Mehta PP, Ghoshal D, Pawar AP, Kadam SS, Dhapte-Pawar VS. Recent advances in inhalable liposomes for treatment of pulmonary diseases: Concept to clinical stance. *Journal of Drug Delivery Science and Technology.* 2020;56.
46. Lee W-H, Loo C-Y, Traini D, Young PM. Inhalation of nanoparticle-based drug for lung cancer treatment: Advantages and challenges. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2015;10(6):481-9.

47. Gaul R, Ramsey JM, Heise A, Cryan S-A, Greene CM. Nanotechnology approaches to pulmonary drug delivery. *Design of Nanostructures for Versatile Therapeutic Applications* 2018. p. 221-53.
48. Praphawatvet T, Peters JI, Williams RO, 3rd. Inhaled nanoparticles-An updated review. *Int J Pharm.* 2020;587:119671.
49. Ahadian S, Finbloom JA, Mofidfar M, Diltemiz SE, Nasrollahi F, Davoodi E, et al. Micro and nanoscale technologies in oral drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 2020;157:37-62.
50. Babadi D, Dadashzadeh S, Osouli M, Daryabari MS, Haeri A. Nanoformulation strategies for improving intestinal permeability of drugs: A more precise look at permeability assessment methods and pharmacokinetic properties changes. *J Control Release.* 2020;321:669-709.
51. Xu Y, Shrestha N, Preat V, Beloqui A. Overcoming the intestinal barrier: A look into targeting approaches for improved oral drug delivery systems. *J Control Release.* 2020;322:486-508.
52. Ghosh S, Ghosh S, Sil PC. Role of nanostructures in improvising oral medicine. *Toxicol Rep.* 2019;6:358-68.
53. Arevalo-Perez R, Maderuelo C, Lanao JM. Recent advances in colon drug delivery systems. *J Control Release.* 2020;327:703-24.
54. Hua S, Marks E, Schneider JJ, Keely S. Advances in oral nano-delivery systems for colon targeted drug delivery in inflammatory bowel disease: selective targeting to diseased versus healthy tissue. *Nanomedicine.* 2015;11(5):1117-32.
55. Weng Y, Liu J, Jin S, Guo W, Liang X, Hu Z. Nanotechnology-based strategies for treatment of ocular disease. *Acta Pharm Sin B.* 2017;7(3):281-91.
56. Meng T, Kulkarni V, Simmers R, Brar V, Xu Q. Therapeutic implications of nanomedicine for ocular drug delivery. *Drug Discov Today.* 2019;24(8):1524-38.
57. Diebold Y, Calonge M. Applications of nanoparticles in ophthalmology. *Prog Retin Eye Res.* 2010;29(6):596-609.
58. Kamaledin MA. Nano-ophthalmology: Applications and considerations. *Nanomedicine.* 2017;13(4):1459-72.
59. Lyu Q, Peng L, Hong X, Fan T, Li J, Cui Y, et al. Smart nano-micro platforms for ophthalmological applications: The state-of-the-art and future perspectives. *Biomaterials.* 2021;270:120682.
60. Suri R, Beg S, Kohli K. Target strategies for drug delivery bypassing ocular barriers. *Journal of Drug Delivery Science and Technology.* 2020;55.
61. Roberts MS, Mohammed Y, Pastore MN, Namjoshi S, Yousef S, Alinaghi A, et al. Topical and cutaneous delivery using nanosystems. *J Control Release.* 2017;247:86-105.
62. Krishnan V, Mitragotri S. Nanoparticles for topical drug delivery: Potential for skin cancer treatment. *Adv Drug Deliv Rev.* 2020;153:87-108.



63. Vanic Z, Skalko-Basnet N. Nanopharmaceuticals for improved topical vaginal therapy: can they deliver? *Eur J Pharm Sci.* 2013;50(1):29-41.
64. Zaheer T, Pal K, Zaheer I. Topical review on nano-vaccinology: Biochemical promises and key challenges. *Process Biochem.* 2021;100:237-44.
65. Jin Z, Gao S, Cui X, Sun D, Zhao K. Adjuvants and delivery systems based on polymeric nanoparticles for mucosal vaccines. *Int J Pharm.* 2019;572:118731.
66. Wang N, Chen M, Wang T. Liposomes used as a vaccine adjuvant-delivery system: From basics to clinical immunization. *J Control Release.* 2019;303:130-50.
67. Behzadi M, Vakili B, Ebrahimezhad A, Nezafat N. Iron nanoparticles as novel vaccine adjuvants. *Eur J Pharm Sci.* 2021;159:105718.
68. Cao W, He L, Cao W, Huang X, Jia K, Dai J. Recent progress of graphene oxide as a potential vaccine carrier and adjuvant. *Acta Biomater.* 2020;112:14-28.
69. Ravi Kiran AVVV, Kusuma Kumari G, Krishnamurthy PT. Carbon nanotubes in drug delivery: Focus on anticancer therapies. *Journal of Drug Delivery Science and Technology.* 2020;59.
70. Duan H, Liu Y, Gao Z, Huang W. Recent advances in drug delivery systems for targeting cancer stem cells. *Acta Pharm Sin B.* 2021;11(1):55-70.
71. Shi Z, Zhou Y, Fan T, Lin Y, Zhang H, Mei L. Inorganic nano-carriers based smart drug delivery systems for tumor therapy. *Smart Materials in Medicine.* 2020;1:32-47.
72. Kurmi BD, Patel P, Paliwal R, Paliwal SR. Molecular approaches for targeted drug delivery towards cancer: A concise review with respect to nanotechnology. *Journal of Drug Delivery Science and Technology.* 2020;57.
73. Huda S, Alam MA, Sharma PK. Smart nanocarriers-based drug delivery for cancer therapy: An innovative and developing strategy. *Journal of Drug Delivery Science and Technology.* 2020;60.
74. Fang Z, Pan S, Gao P, Sheng H, Li L, Shi L, et al. Stimuli-responsive charge-reversal nano drug delivery system: The promising targeted carriers for tumor therapy. *Int J Pharm.* 2020;575:118841.
75. Fang X, Cao J, Shen A. Advances in anti-breast cancer drugs and the application of nano-drug delivery systems in breast cancer therapy. *Journal of Drug Delivery Science and Technology.* 2020;57.
76. Dong P, Rakesh KP, Manukumar HM, Mohammed YHE, Karthik CS, Sumathi S, et al. Innovative nano-carriers in anticancer drug delivery-a comprehensive review. *Bioorg Chem.* 2019;85:325-36.
77. Wang H, Huang Y. Combination therapy based on nano codelivery for overcoming cancer drug resistance. *Medicine in Drug Discovery.* 2020;6.
78. Ali ES, Sharkar SM, Islam MT, Khan IN, Shaw S, Rahman MA, et al. Targeting cancer cells with nanotherapeutics and nanodiagnostics: Current status and future perspectives. *Semin Cancer Biol.* 2021;69:52-68.

79. Rostami E. Progresses in targeted drug delivery systems using chitosan nanoparticles in cancer therapy: A mini-review. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2020;58.
80. Alsehli M. Polymeric nanocarriers as stimuli-responsive systems for targeted tumor (cancer) therapy: Recent advances in drug delivery. *Saudi Pharm J*. 2020;28(3):255-65.
81. Russo F, Boghi A, Gori F. Numerical simulation of magnetic nano drug targeting in patient-specific lower respiratory tract. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 2018;451:554-64.
82. Jia YY, Zhang JJ, Zhang YX, Wang W, Li C, Zhou SY, et al. Construction of redox-responsive tumor targeted cisplatin nano-delivery system for effective cancer chemotherapy. *Int J Pharm*. 2020;580:119190.
83. Moradi Kashkooli F, Soltani M, Souri M. Controlled anti-cancer drug release through advanced nano-drug delivery systems: Static and dynamic targeting strategies. *J Control Release*. 2020;327:316-49.
84. Mirza Z, Karim S. Nanoparticles-based drug delivery and gene therapy for breast cancer: Recent advancements and future challenges. *Semin Cancer Biol*. 2021;69:226-37.
85. Dong L, Zhang X, Cai L, Zuo F, Zhao M, Wang Q, et al. Targeted MRI and chemotherapy of ovarian cancer with clinic available nano-drug based nanoprobe. *Biomed Pharmacother*. 2020;130:110585.
86. Yadav N, Parveen S, Banerjee M. Potential of nano-phytochemicals in cervical cancer therapy. *Clin Chim Acta*. 2020;505:60-72.
87. Tuna M, Solid tümörlerde ve lösemilerde kanser kök hücreleri. *Türk Onkoloji Dergisi* 2009;24(1):42-47.
88. Gabizon AA, de Rosales RTM, La-Beck NM. Translational considerations in nanomedicine: The oncology perspective. *Adv Drug Deliv Rev*. 2020;158:140-57.
89. Fanciullino R, Ciccolini J, Milano G. Challenges, expectations and limits for nanoparticles-based therapeutics in cancer: a focus on nano-albumin-bound drugs. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2013;88(3):504-13.
90. Sharma P, Mehta M, Dhanjal DS, Kaur S, Gupta G, Singh H, et al. Emerging trends in the novel drug delivery approaches for the treatment of lung cancer. *Chem Biol Interact*. 2019;309:108720.
91. Youn YS, Bae YH. Perspectives on the past, present, and future of cancer nanomedicine. *Adv Drug Deliv Rev*. 2018;130:3-11.
92. Ding J, Chen J, Gao L, Jiang Z, Zhang Y, Li M, et al. Engineered nanomedicines with enhanced tumor penetration. *Nano Today*. 2019;29.
93. Luther DC, Huang R, Jeon T, Zhang X, Lee YW, Nagaraj H, et al. Delivery of drugs, proteins, and nucleic acids using inorganic nanoparticles. *Adv Drug Deliv Rev*. 2020;156:188-213.
94. <91-Organically modified silica nanoparticles.pdf>.

95. Samaridou E, Heyes J, Lutwyche P. Lipid nanoparticles for nucleic acid delivery: Current perspectives. *Adv Drug Deliv Rev.* 2020;154-155:37-63.
96. Witzigmann D, Kulkarni JA, Leung J, Chen S, Cullis PR, van der Meel R. Lipid nanoparticle technology for therapeutic gene regulation in the liver. *Adv Drug Deliv Rev.* 2020;159:344-63.
97. Ita K. Polyplexes for gene and nucleic acid delivery: Progress and bottlenecks. *Eur J Pharm Sci.* 2020;150:105358.
98. Nikam AN, Pandey A, Fernandes G, Kulkarni S, Mutalik SP, Padya BS, et al. Copper sulphide based heterogeneous nanoplatfoms for multimodal therapy and imaging of cancer: Recent advances and toxicological perspectives. *Coordination Chemistry Reviews.* 2020;419.
99. Lin J, Chen X, Huang P. Graphene-based nanomaterials for bioimaging. *Adv Drug Deliv Rev.* 2016;105(Pt B):242-54.
100. Yang K, Zhang S, He J, Nie Z. Polymers and inorganic nanoparticles: A winning combination towards assembled nanostructures for cancer imaging and therapy. *Nano Today.* 2021;36.
101. Molavi F, Barzegar-Jalali M, Hamishehkar H. Polyester based polymeric nano and microparticles for pharmaceutical purposes: A review on formulation approaches. *J Control Release.* 2020;320:265-82.
102. Roberts R, Smyth JW, Will J, Roberts P, Grek CL, Ghatnekar GS, et al. Development of PLGA nanoparticles for sustained release of a connexin43 mimetic peptide to target glioblastoma cells. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2020;108:110191.
103. Krishnamoorthy K, Mahalingam M. Selection of a suitable method for the preparation of polymeric nanoparticles: multi-criteria decision making approach. *Adv Pharm Bull.* 2015;5(1):57-67.
104. Yellepeddi VK, Joseph A, Nance E. Pharmacokinetics of nanotechnology-based formulations in pediatric populations. *Adv Drug Deliv Rev.* 2019;151-152:44-55.
105. Rabiee N, Ahmadvand S, Ahmadi S, Fatahi Y, Dinarvand R, Bagherzadeh M, et al. Carbosilane dendrimers: Drug and gene delivery applications. *Journal of Drug Delivery Science and Technology.* 2020;59.
106. Babadi D, Dadashzadeh S, Osouli M, Abbasian Z, Daryabari MS, Sadrai S, et al. Biopharmaceutical and pharmacokinetic aspects of nanocarrier-mediated oral delivery of poorly soluble drugs. *Journal of Drug Delivery Science and Technology.* 2021;62.
107. Shah S, Dhawan V, Holm R, Nagarsenker MS, Perrie Y. Liposomes: Advancements and innovation in the manufacturing process. *Adv Drug Deliv Rev.* 2020;154-155:102-22.
108. Ong SG, Chitneni M, Lee KS, Ming LC, Yuen KH. Evaluation of Extrusion Technique for Nanosizing Liposomes. *Pharmaceutics.* 2016;8(4).

109. Bartelds R, Nematollahi MH, Pols T, Stuart MCA, Pardakhty A, Asadikaram G, et al. Niosomes, an alternative for liposomal delivery. *PLoS One*. 2018;13(4):e0194179.
110. Bhardwaj P, Tripathi P, Gupta R, Pandey S. Niosomes: A review on niosomal research in the last decade. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2020;56.
111. Moghassemi S, Hadjizadeh A. Nano-niosomes as nanoscale drug delivery systems: an illustrated review. *J Control Release*. 2014;185:22-36.
112. Pardeike J, Hommoss A, Muller RH. Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products. *Int J Pharm*. 2009;366(1-2):170-84.
113. Rostamabadi H, Falsafi SR, Jafari SM. Nanoencapsulation of carotenoids within lipid-based nanocarriers. *J Control Release*. 2019;298:38-67.
114. Jafari SM, He Y, Bhandari B. Effectiveness of encapsulating biopolymers to produce sub-micron emulsions by high energy emulsification techniques. *Food Research International*. 2007;40(7):862-73.
115. Jafari SM, Paximada P, Mandala I, Assadpour E, Mehrnia MA. Encapsulation by nanoemulsions. *Nanoencapsulation Technologies for the Food and Nutraceutical Industries 2017*. p. 36-73.
116. Jafari SM, Katouzian I, Akhavan S. Safety and regulatory issues of nanocapsules. *Nanoencapsulation Technologies for the Food and Nutraceutical Industries 2017*. p. 545-90.
117. Nishiyama N, Kataoka K. Current state, achievements, and future prospects of polymeric micelles as nanocarriers for drug and gene delivery. *Pharmacol Ther*. 2006;112(3):630-48.
118. Deshmukh AS, Chauhan PN, Noolvi MN, Chaturvedi K, Ganguly K, Shukla SS, et al. Polymeric micelles: Basic research to clinical practice. *Int J Pharm*. 2017;532(1):249-68.
119. Hwang D, Ramsey JD, Kabanov AV. Polymeric micelles for the delivery of poorly soluble drugs: From nanoformulation to clinical approval. *Adv Drug Deliv Rev*. 2020;156:80-118.
120. Sinha B, Muller RH, Moschwitzer JP. Bottom-up approaches for preparing drug nanocrystals: formulations and factors affecting particle size. *Int J Pharm*. 2013;453(1):126-41.
121. Raghava Srivalli KM, Mishra B. Drug nanocrystals: A way toward scale-up. *Saudi Pharm J*. 2016;24(4):386-404.
122. Moschwitzer JP. Drug nanocrystals in the commercial pharmaceutical development process. *Int J Pharm*. 2013;453(1):142-56.
123. Ramazani A, Moghaddasi MA, Mashhadi Malekzadeh A, Rezayati S, Hanifehpour Y, Joo SW. Industrial oriented approach on fullerene preparation methods. *Inorganic Chemistry Communications*. 2021;125.

124. Jha R, Singh A, Sharma PK, Fuloria NK. Smart carbon nanotubes for drug delivery system: A comprehensive study. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2020;58.
125. Thakor P, Bhavana V, Sharma R, Srivastava S, Singh SB, Mehra NK. Polymer-drug conjugates: recent advances and future perspectives. *Drug Discov Today*. 2020;25(9):1718-26.
126. Jamkhande PG, Ghule NW, Bamer AH, Kalaskar MG. Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2019;53.
127. Coty JB, Vauthier C. Characterization of nanomedicines: A reflection on a field under construction needed for clinical translation success. *J Control Release*. 2018;275:254-68.
128. Lin PC, Lin S, Wang PC, Sridhar R. Techniques for physicochemical characterization of nanomaterials. *Biotechnol Adv*. 2014;32(4):711-26.
129. Caminade AM, Laurent R, Majoral JP. Characterization of dendrimers. *Adv Drug Deliv Rev*. 2005;57(15):2130-46.
130. Bhattacharjee S. DLS and zeta potential - What they are and what they are not? *J Control Release*. 2016;235:337-51.
131. Liu Y, Yang G, Jin S, Xu L, Zhao CX. Development of High-Drug-Loading Nanoparticles. *Chempluschem*. 2020;85(9):2143-57.
132. Shen S, Wu Y, Liu Y, Wu D. High drug-loading nanomedicines: progress, current status, and prospects. *Int J Nanomedicine*. 2017;12:4085-109.
133. Wacker MG. Challenges in the drug release testing of next-generation nanomedicines – What do we know? *Materials Today: Proceedings*. 2017;4:S214-S7.
134. Zırh-Gürsoy A, editor. *Kontrollü Salım Sistemleri: Kontrollü Salım Sistemleri Derneği*; 2002.
135. Özgün, ÇOMOĞLU S. Nanotaşıyıcı sistemlerde hedeflendirme. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*. 2016;40(3):62-79.
136. Stayton PS, Ghosn B, Wilson JT. Targeting. *Biomaterials Science* 2013. p. 1028-36.
137. Bertrand N, Wu J, Xu X, Kamaly N, Farokhzad OC. Cancer nanotechnology: the impact of passive and active targeting in the era of modern cancer biology. *Adv Drug Deliv Rev*. 2014;66:2-25.
138. Yetişgin AA, Cetinel S, Zuvın M, Kosar A, Kutlu O. Therapeutic Nanoparticles and Their Targeted Delivery Applications. *Molecules*. 2020;25(9).
139. Perez-Herrero E, Fernandez-Medarde A. Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy. *Eur J Pharm Biopharm*. 2015;93:52-79.

140. Attia MF, Anton N, Wallyn J, Omran Z, Vandamme TF. An overview of active and passive targeting strategies to improve the nanocarriers efficiency to tumour sites. *J Pharm Pharmacol*. 2019;71(8):1185-98.
141. Patra JK, Das G, Fraceto LF, Campos EVR, Rodriguez-Torres MDP, Acosta-Torres LS, et al. Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects. *J Nanobiotechnology*. 2018;16(1):71.
142. Krupa G, Jani RK. Active targeting of nanoparticles: An innovative technology for drug delivery in cancer therapeutics. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 2019;9(1-s):408-15.
143. Muhlebach S. Regulatory challenges of nanomedicines and their follow-on versions: A generic or similar approach? *Adv Drug Deliv Rev*. 2018;131:122-31.
144. Bremer-Hoffmann S, Halamoda-Kenzaoui B, Borgos SE. Identification of regulatory needs for nanomedicines. *Journal of Interdisciplinary Nanomedicine*. 2018;3(1):4-15.
145. Vencken SF, Greene CM. A review of the regulatory framework for nanomedicines in the European Union. *Inorganic Frameworks as Smart Nanomedicines* 2018. p. 641-79.
146. EMA/CHMP/13099/2013. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP)ema-reflection-paper-development-block-copolymer-micelle-medicinal-products\_en. [Internet]. 2013 [Erişim tarihi: 16.06.2021]. Erişim adresi: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/joint-mhlw/ema-reflection-paper-development-block-copolymer-micelle-medicinal-products\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/joint-mhlw/ema-reflection-paper-development-block-copolymer-micelle-medicinal-products_en.pdf)
147. EMA/CHMP/806058/2009/Rev. 02. Committee for Human Medicinal Products (CHMP)reflection-paper-data-requirements-intravenous-liposomal-products-developed-reference-innovator\_en. [Internet]. 2013 [Erişim tarihi: 16.06.2021]. Erişim adresi: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper-data-requirements-intravenous-liposomal-products-developed-reference-innovator\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper-data-requirements-intravenous-liposomal-products-developed-reference-innovator_en.pdf)
148. EMA/CHMP/SWP/620008/2012. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). reflection-paper-data-requirements-intravenous-iron-based-nano-colloidal-products-developed\_en [Internet]. 2015 [Erişim tarihi: 16.06.2021]. Erişim adresi: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper-data-requirements-intravenous-iron-based-nano-colloidal-products-developed\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper-data-requirements-intravenous-iron-based-nano-colloidal-products-developed_en.pdf)
149. EMA/325027/2013. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). reflection-paper-surface-coatings-general-issues-consideration-regarding-parenteral-administration\_en. [Internet]. 2013 [Erişim tarihi: 16.06.2021]. Erişim adresi: [https://etp-nanomedicine.eu/wp-content/uploads/2018/10/reflection-paper-surface-coatings-general-issues-consideration-regarding-parenteral-administration\\_en.pdf](https://etp-nanomedicine.eu/wp-content/uploads/2018/10/reflection-paper-surface-coatings-general-issues-consideration-regarding-parenteral-administration_en.pdf)
150. Foulkes R, Man E, Thind J, Yeung S, Joy A, Hoskins C. The regulation of nanomaterials and nanomedicines for clinical application: current and future perspectives. *Biomater Sci*. 2020;8(17):4653-64.

151. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Office of the Commissioner. Considering Whether an FDA Regulated Product Involves the Application of Nanotechnology Guidance for Industry. [Internet]. 2014 [Erişim tarihi: 19.06.2021]. Erişim adresi: <https://www.fda.gov/media/88423/download>
152. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Liposome-Drug-Products Chemistry Manufacturing and Controls Human Pharmacokinetics and Bioavailability and Labeling Docu [Internet]. 2018 [Erişim tarihi: 19.06.2021]. Erişim adresi: <https://www.fda.gov/media/70837/download>.
153. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER) Center for Biologics Evaluation and Research (CBER). Drug Products Including Biological Products that Contain Nanomaterials Guidance for Industry (Draft) [Internet]. 2017 [Erişim tarihi: 19.06.2021]. Erişim adresi: <https://www.fda.gov/media/109910/download>
154. Nanotechnology-Based Health Products and Food [Internet]. 2011 [Erişim tarihi: 19.07.2021]. Erişim adresi: <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/drugs-health-products/nanotechnology-based-health-products-food.html>
155. Swissmedic. Therapeutic products [Internet]. 2018 [Erişim tarihi: 21.06.2021]. Erişim adresi: [Swissmedic Therapeutic products.html](https://www.swissmedic.ch/swissmedic/en/therapeutic-products.html).
156. Mevzuat. 4 Nolu Cumhurbaşkanlığı Kararnamesi [Internet]. 2018 [Erişim tarihi: 26.06.2021]. Erişim adresi: <https://www.mevzuat.gov.tr/MevzuatMetin/19.5.4.pdf>
157. Mevzuat. Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu [Internet]. 2021 [Erişim tarihi: 26.06.2021]. <https://www.titck.gov.tr/searchGeneral?term=nano>
158. European Medicine Agency [Internet]. 2021 [Erişim tarihi: 26.06.2021]. Erişim adresi: [https://www.ema.europa.eu/en/medicines/field\\_ema\\_web\\_categories%253Aname\\_field/Human/ema\\_group\\_types/ema\\_medicine/field\\_ema\\_med\\_status/authorised-36?search\\_api\\_views\\_fulltext=nano](https://www.ema.europa.eu/en/medicines/field_ema_web_categories%253Aname_field/Human/ema_group_types/ema_medicine/field_ema_med_status/authorised-36?search_api_views_fulltext=nano)
159. European Medicine Agency [Internet]. 2021 [Erişim tarihi: 26.06.2021]. Erişim adresi: [https://www.ema.europa.eu/en/medicines/field\\_ema\\_web\\_categories%253Aname\\_field/Human/ema\\_group\\_types/ema\\_medicine/field\\_ema\\_med\\_status/authorised-36?search\\_api\\_views\\_fulltext=liposom&=Refine+results](https://www.ema.europa.eu/en/medicines/field_ema_web_categories%253Aname_field/Human/ema_group_types/ema_medicine/field_ema_med_status/authorised-36?search_api_views_fulltext=liposom&=Refine+results)
160. European Medicine Agency [Internet]. 2021 [Erişim tarihi: 26.06.2021]. Erişim adresi: [https://www.ema.europa.eu/en/medicines/field\\_ema\\_web\\_categories%253Aname\\_field/Human/ema\\_group\\_types/ema\\_medicine/field\\_ema\\_med\\_status/authorised-36?search\\_api\\_views\\_fulltext=micel&=Refine+results](https://www.ema.europa.eu/en/medicines/field_ema_web_categories%253Aname_field/Human/ema_group_types/ema_medicine/field_ema_med_status/authorised-36?search_api_views_fulltext=micel&=Refine+results)
161. Khare V, Saxena AK, Gupta PN. Toxicology Considerations in Nanomedicine. Nanotechnology Applications for Tissue Engineering 2015. p. 239-61.

162. Aguilar ZP. Conclusions. *Nanomaterials for Medical Applications* 2013. p. 409-51.
163. Jain S, Raza K, Agrawal AK, Vaidya A. Nanosystem: Regulatory aspects, clinical development, and market potential. *Nanotechnology Applications for Cancer Chemotherapy* 2021. p. 631-63.
164. Wu LP, Wang D, Li Z. Grand challenges in nanomedicine. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2020;106:110302.
165. Madhyastha H, Madhyastha R, Nakajima Y, Daima HK, Navya PN, Maruyama M. An opinion on nanomedicine and toxico-cellular crosstalk: Considerations and Caveats. *Materials Today: Proceedings.* 2019;10:100-5.
166. Ojer P, Iglesias T, Azqueta A, Irache JM, Lopez de Cerain A. Toxicity evaluation of nanocarriers for the oral delivery of macromolecular drugs. *Eur J Pharm Biopharm.* 2015;97(Pt A):206-17.
167. Zhao Y, Sultan D, Liu Y. Biodistribution, Excretion, and Toxicity of Nanoparticles. *Theranostic Bionanomaterials* 2019. p. 27-53.
168. Shilo M, Sharon A, Baranes K, Motiei M, Lellouche JP, Popovtzer R. The effect of nanoparticle size on the probability to cross the blood-brain barrier: an in-vitro endothelial cell model. *J Nanobiotechnology.* 2015;13:19.
169. Gao H, Jiang X. Perspective on Strategies to Reduce the Neurotoxicity of Nanomaterials and Nanomedicines. *Neurotoxicity of Nanomaterials and Nanomedicine* 2017. p. 331-6.
170. Augustine R, Hasan A, Primavera R, Wilson RJ, Thakor AS, Kevadiya BD. Cellular uptake and retention of nanoparticles: Insights on particle properties and interaction with cellular components. *Materials Today Communications.* 2020;25.
171. Du R, Niu W, Hong H, Huo S. Nanotoxicity and regulatory aspects in musculoskeletal regeneration. *Nanoengineering in Musculoskeletal Regeneration* 2020. p. 197-235.
172. Agarwal R, Singh V, Journey P, Shi L, Sreenivasan SV, Roy K. Mammalian cells preferentially internalize hydrogel nanodiscs over nanorods and use shape-specific uptake mechanisms. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110(43):17247-52.
173. Fadeel B, Garcia-Bennett AE. Better safe than sorry: Understanding the toxicological properties of inorganic nanoparticles manufactured for biomedical applications. *Adv Drug Deliv Rev.* 2010;62(3):362-74.
174. Huang X, Teng X, Chen D, Tang F, He J. The effect of the shape of mesoporous silica nanoparticles on cellular uptake and cell function. *Biomaterials.* 2010;31(3):438-48.
175. Cedervall T, Lynch I, Lindman S, Berggård T, Thulin E, Nilsson H ve ark. Understanding the nanoparticle–protein corona using. *PNAS.* 2007; 104(7): 2050–2055
176. Wei A, Mehtala JG, Patri AK. Challenges and opportunities in the advancement of nanomedicines. *J Control Release.* 2012;164(2):236-46.



177. Phogat N, Kohl M, Uddin I, Jahan A. Interaction of Nanoparticles With Biomolecules, Protein, Enzymes, and Its Applications. *Precision Medicine* 2018. p. 253-76.
178. Rewatkar P, Kumeria T, Popat A. Size, shape and surface charge considerations of orally delivered nanomedicines. *Nanotechnology for Oral Drug Delivery* 2020. p. 143-76.
179. Chatterjee S, Mankamna Kumari R, Nimesh S. Nanotoxicology. *Advances in Nanomedicine for the Delivery of Therapeutic Nucleic Acids* 2017. p. 187-201.
180. Gupta AK, Gupta M. Cytotoxicity suppression and cellular uptake enhancement of surface modified magnetic nanoparticles. *Biomaterials*. 2005;26(13):1565-73.
181. Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z. Oxidative stress and its impacts on intracellular lipids, proteins and DNA. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*. 2015;6(3).
182. Fu PP, Xia Q, Hwang HM, Ray PC, Yu H. Mechanisms of nanotoxicity: generation of reactive oxygen species. *J Food Drug Anal*. 2014;22(1):64-75.
183. Manke A, Wang L, Rojanasakul Y. Mechanisms of nanoparticle-induced oxidative stress and toxicity. *Biomed Res Int*. 2013;2013:942916.
184. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*. 2006;160(1):1-40.
185. Khanna P, Ong C, Bay BH, Baeg GH. Nanotoxicity: An Interplay of Oxidative Stress, Inflammation and Cell Death. *Nanomaterials (Basel)*. 2015;5(3):1163-80.
186. Khalili Fard J, Jafari S, Eghbal MA. A Review of Molecular Mechanisms Involved in Toxicity of Nanoparticles. *Adv Pharm Bull*. 2015;5(4):447-54.
187. Gupta AK, Gupta M. Molecular Mechanism of Nanotoxicity - A Critical Review. *Biomaterials* 26 (2005) 1565–1573.
188. Tiwari AP, Rohiwal SS. Current development in toxicity, clinical trials guidelines for regulatory aspects of breast cancer nanomedicines. *Nanomedicines for Breast Cancer Theranostics* 2020. p. 351-69.
189. Soenen SJ, Rivera-Gil P, Montenegro J-M, Parak WJ, De Smedt SC, Braeckmans K. Cellular toxicity of inorganic nanoparticles: Common aspects and guidelines for improved nanotoxicity evaluation. *Nano Today*. 2011;6(5):446-65.
190. Costa PM, Fadeel B. Emerging systems biology approaches in nanotoxicology: Towards a mechanism-based understanding of nanomaterial hazard and risk. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2016;299:101-11.
191. Rasmussen K, Rauscher H, Mech A, Riego Sintes J, Gilliland D, Gonzalez M, et al. Physico-chemical properties of manufactured nanomaterials - Characterisation and relevant methods. An outlook based on the OECD Testing Programme. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2018;92:8-28.
192. Marques MRC, Choo Q, Ashtikar M, Rocha TC, Bremer-Hoffmann S, Wacker MG. Nanomedicines - Tiny particles and big challenges. *Adv Drug Deliv Rev*. 2019;151-152:23-43.

193. Collins AR, Annangi B, Rubio L, Marcos R, Dorn M, Merker C, et al. High throughput toxicity screening and intracellular detection of nanomaterials. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol.* 2017;9(1).
194. Kumar V, Sharma N, Maitra SS. In vitro and in vivo toxicity assessment of nanoparticles. *International Nano Letters.* 2017;7(4):243-56.
195. Jia HR, Zhu YX, Duan QY, Chen Z, Wu FG. Nanomaterials meet zebrafish: Toxicity evaluation and drug delivery applications. *J Control Release.* 2019;311-312:301-18.
196. Tavakol S, Kiani V, Tavakol B, Derakhshan MA, Joghataei MT, Rezayat SM. Toxicity Concerns of Nanocarriers. *Nanotechnology-Based Approaches for Targeting and Delivery of Drugs and Genes* 2017. p. 453-84.
197. Yuan Z, Li Y, Hu Y, You J, Higashisaka K, Nagano K, et al. Chitosan nanoparticles and their Tween 80 modified counterparts disrupt the developmental profile of zebrafish embryos. *Int J Pharm.* 2016;515(1-2):644-56.
198. Bodewein L, Schmelter F, Di Fiore S, Hollert H, Fischer R, Fenske M. Differences in toxicity of anionic and cationic PAMAM and PPI dendrimers in zebrafish embryos and cancer cell lines. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2016;305:83-92.
199. Mecke A, Uppuluri S, Sassanella TM, Lee DK, Ramamoorthy A, Baker JR, Jr., et al. Direct observation of lipid bilayer disruption by poly(amidoamine) dendrimers. *Chem Phys Lipids.* 2004;132(1):3-14.
200. Makwana V, Karanjia J, Haselhorst T, Anoopkumar-Dukie S, Rudrawar S. Liposomal doxorubicin as targeted delivery platform: Current trends in surface functionalization. *Int J Pharm.* 2021;593:120117.
201. Shiraishi K, Yokoyama M. Toxicity and immunogenicity concerns related to PEGylated-micelle carrier systems: a review. *Sci Technol Adv Mater.* 2019;20(1):324-36.
202. Scioli Montoto S, Muraca G, Ruiz ME. Solid Lipid Nanoparticles for Drug Delivery: Pharmacological and Biopharmaceutical Aspects. *Front Mol Biosci.* 2020;7:587997.
203. Doktorovova S, Kovacevic AB, Garcia ML, Souto EB. Preclinical safety of solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers: Current evidence from in vitro and in vivo evaluation. *Eur J Pharm Biopharm.* 2016;108:235-52.
204. Mohammadpour R, Dobrovolskaia MA, Cheney DL, Greish KF, Ghandehari H. Subchronic and chronic toxicity evaluation of inorganic nanoparticles for delivery applications. *Adv Drug Deliv Rev.* 2019;144:112-32.
205. Aguilar ZP. Nanotoxicology and Remediation. *Nanomaterials for Medical Applications* 2013. p. 361-408.
206. Khan AM, Korzeniowska B, Gorshkov V, Tahir M, Schroder H, Skytte L, et al. Silver nanoparticle-induced expression of proteins related to oxidative stress and neurodegeneration in an in vitro human blood-brain barrier model. *Nanotoxicology.* 2019;13(2):221-39.

207. Bagheri-abassi F, Alavi H, Mohammadipour A, Motejaded F, Ebrahimzadeh-bideskan A. The effect of silver nanoparticles. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2015; 18(7): 644-648.
208. Weldon BA, Park JJ, Hong S, Workman T, Dills R, Lee JH, et al. Using primary organotypic mouse midbrain cultures to examine developmental neurotoxicity of silver nanoparticles across two genetic strains. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2018;354:215-24.
209. Coradeghini R, Gioria S, Garcia CP, Nativo P, Franchini F, Gilliland D, et al. Size-dependent toxicity and cell interaction mechanisms of gold nanoparticles on mouse fibroblasts. *Toxicol Lett*. 2013;217(3):205-16.
210. Paino IM, Marangoni VS, de Oliveira Rde C, Antunes LM, Zucolotto V. Cytotoxicity and genotoxicity of gold nanoparticles in human hepatocellular carcinoma and peripheral blood mononuclear cells. *Toxicol Lett*. 2012;215(2):119-25.
211. Fraga S, Brandao A, Soares ME, Morais T, Duarte JA, Pereira L, et al. Short- and long-term distribution and toxicity of gold nanoparticles in the rat after a single-dose intravenous administration. *Nanomedicine*. 2014;10(8):1757-66.
212. Malhotra N, Lee JS, Liman RAD, Ruallo JMS, Villaflores OB, Ger TR, et al. Potential Toxicity of Iron Oxide Magnetic Nanoparticles: A Review. *Molecules*. 2020;25(14).
213. Ran Q, Xiang Y, Liu Y, Xiang L, Li F, Deng X, et al. Eryptosis Indices as a Novel Predictive Parameter for Biocompatibility of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Magnetic Nanoparticles on Erythrocytes. *Sci Rep*. 2015;5:16209.
214. Malhotra N, Chen JR, Sarasamma S, Audira G, Siregar P, Liang ST, et al. Ecotoxicity Assessment of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Magnetic Nanoparticle Exposure in Adult Zebrafish at an Environmental Pertinent Concentration by Behavioral and Biochemical Testing. *Nanomaterials (Basel)*. 2019;9(6).
215. Shen S, Wang S, Zheng R, Zhu X, Jiang X, Fu D, et al. Magnetic nanoparticle clusters for photothermal therapy with near-infrared irradiation. *Biomaterials*. 2015;39:67-74.
216. Lin CX, Gu JL, Cao JM. The acute toxic effects of platinum nanoparticles on ion channels, transmembrane potentials of cardiomyocytes in vitro and heart rhythm in vivo in mice. *Int J Nanomedicine*. 2019;14:5595-609.
217. Czubacka E, Czerczak S. Are platinum nanoparticles safe to human health? *Med Pr*. 2019;70(4):487-95.
218. Rasmussen JW, Martinez E, Louka P, Wingett DG. Zinc oxide nanoparticles for selective destruction of tumor cells and potential for drug delivery applications. *Expert Opin Drug Deliv*. 2010;7(9):1063-77.
219. Elshama SS, Abdallah ME, Abdel-Karim RI. Zinc Oxide Nanoparticles: Therapeutic Benefits and Toxicological Hazards. *The Open Nanomedicine Journal*. 2018;5(1):16-22.
220. Ziental D, Czarzynska-Goslinska B, Mlynarczyk DT, Glowacka-Sobotta A, Stanisz B, Goslinski T, et al. Titanium Dioxide Nanoparticles: Prospects and Applications in Medicine. *Nanomaterials (Basel)*. 2020;10(2).

221. Tekade RK, Maheshwari R, Jain NK. Toxicity of nanostructured biomaterials. *Nanobiomaterials* 2018. p. 231-56.
222. Kim IY, Joachim E, Choi H, Kim K. Toxicity of silica nanoparticles depends on size, dose, and cell type. *Nanomedicine*. 2015;11(6):1407-16.
223. Lin W, Huang YW, Zhou XD, Ma Y. In vitro toxicity of silica nanoparticles in human lung cancer cells. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2006;217(3):252-9.
224. Gidwani B, Sahu V, Shukla SS, Pandey R, Joshi V, Jain VK, et al. Quantum dots: Prospectives, toxicity, advances and applications. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2021;61.
225. Hardman R. A toxicologic review of quantum dots: toxicity depends on physicochemical and environmental factors. *Environ Health Perspect*. 2006;114(2):165-72.
226. Awasthi R, Bhushan B, Kulkarni GT. Concepts of nanotechnology in nanomedicine: From discovery to applications. *Targeting Chronic Inflammatory Lung Diseases Using Advanced Drug Delivery Systems* 2020. p. 171-209.
227. Zhao X, Liu R. Recent progress and perspectives on the toxicity of carbon nanotubes at organism, organ, cell, and biomacromolecule levels. *Environ Int*. 2012;40:244-55.
228. Aschberger K, Johnston HJ, Stone V, Aitken RJ, Tran CL, Hankin SM, et al. Review of fullerene toxicity and exposure--appraisal of a human health risk assessment, based on open literature. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2010;58(3):455-73.

## 8. EKLER

### EK-1: Orjinallik Raporu



## Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Ebru Hilal Acar  
Ödev başlığı: NANOTEKNOLOJİNİN FARMASÖTİK UYGULAMALARDA KULLA...  
Gönderi Başlığı: NANOTEKNOLOJİNİN FARMASÖTİK UYGULAMALARDA KULLA...  
Dosya adı: Turnitin-EBRU\_H\_LAL\_ACAR\_TEZ\_22\_Aral\_k\_2021.docx  
Dosya boyutu: 516.21K  
Sayfa sayısı: 81  
Kelime sayısı: 18,589  
Karakter sayısı: 139,573  
Gönderim Tarihi: 22-Ara-2021 12:59ÖS (UTC+0300)  
Gönderim Numarası: 1734964963

T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

NANOTEKNOLOJİNİN FARMASÖTİK  
UYGULAMALARDA KULLANIMININ VE  
NANOPARTİKÜLLERİN TOKSİK ETKİLERİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ

Ebru Hilal ACAR

Farmasötik Toksikoloji Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA  
2021

# NANOTEKNOLOJİNİN FARMASÖTİK UYGULAMALARDA KULLANIMININ VE NANOPARTİKÜLLERİN TOKSİK ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

% <b>2</b>	% <b>2</b>	% <b>1</b>	% <b>1</b>
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

<b>1</b>	<a href="http://www.isgrehberim.com">www.isgrehberim.com</a> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>2</b>	<a href="http://publications.jrc.ec.europa.eu">publications.jrc.ec.europa.eu</a> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>3</b>	<a href="http://www.nihs.go.jp">www.nihs.go.jp</a> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>4</b>	<a href="http://studylib.net">studylib.net</a> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>5</b>	<a href="http://www.dovepress.com">www.dovepress.com</a> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>6</b>	Submitted to Canakkale Onsekiz Mart University Öğrenci Ödevi	<% <b>1</b>
<b>7</b>	Submitted to Anadolu University Öğrenci Ödevi	<% <b>1</b>
<b>8</b>	Submitted to Giresun Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% <b>1</b>



9	Selda Erensoy. "COVID-19 Pandemisinde SARS-CoV-2 ve Mikrobiyolojik Tanı Dinamikleri", Mikrobiyoloji Bulteni, 2020 Yayın	<% 1
10	www.inegolonline.com İnternet Kaynağı	<% 1
11	www.argentina.gob.ar İnternet Kaynağı	<% 1
12	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	<% 1
13	doktori.bibl.u-szeged.hu İnternet Kaynağı	<% 1
14	www.fizyoterapirehabilitasyon.com İnternet Kaynağı	<% 1
15	www.lexpera.com.tr İnternet Kaynağı	<% 1
16	www.saglikaktuel.com İnternet Kaynağı	<% 1
17	citeseerx.ist.psu.edu İnternet Kaynağı	<% 1
18	openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<% 1

## 9. ÖZGEÇMİŞ



