

**TOBB EKONOMİ VE TEKNOLOJİ ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MEME KANSERİ TEDAVİSİNDE DOKSORUBİSİN YÜKLÜ MELANİN  
NANOPARÇACIKLARIN KULLANIMI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Buşra ÖZLÜ**

**Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı**


**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet MUTLU**

**EKİM 2018**

Fen Bilimleri Enstitüsü Onayı

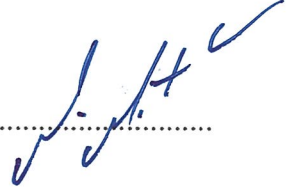
.....  
**Prof. Dr. Osman EROĞUL**  
Müdür

Bu tezin Yüksek Lisans derecesinin tüm gereksinimlerini sağladığını onaylarım.

  
.....  
**Prof. Dr. Osman EROĞUL**  
Anabilimdalı Başkanı

TOBB ETÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 161711037 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi **Buşra ÖZLÜ** 'nün ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “**MEME KANSERİ TEDAVİSİNDE DOKSORUBİSİN YÜKLÜ MELANİN NANOPARÇACIKLARIN KULLANIMI**” başlıklı tezi **15.10.2018** tarihinde aşağıda imzaları olan jüri tarafından kabul edilmiştir.

**Tez Danışmanı :** **Prof. Dr. Mehmet MUTLU**  
TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi



**Jüri Üyeleri :** **Prof. Dr. Ayşe Kevser ÖZDEN (Başkan)**  
Hacettepe Üniversitesi



**Prof. Dr. Osman EROĞUL**  
TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi



## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, alıntı yapılan kaynaklara eksiksiz atıf yapıldığını, referansların tam olarak belirtildiğini ve ayrıca bu tezin TOBB ETÜ Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlandığını bildiririm.

Buşra ÖZLÜ



## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

MEME KANSERİ TEDAVİSİNDE DOKSORUBİSİN YÜKLÜ MELANİN

NANOPARÇACIKLARIN KULLANIMI

Buşra ÖZLÜ

TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet MUTLU

Tarih: Ekim 2018

2014 yılı verilerine göre, Türkiye’de kadınlarda en sık görülen kanser türü meme kanseridir (43/100000). Tanı konulan her 4 kadın kanserinden 1’i meme kanseridir. Meme kanserinin tedavisi için klinikte kullanılan yöntemler; cerrahi tedavi, kemoterapi, radyoterapi, hormon tedavisi ve hedefe yönelik tedavidir. Doksorubisin, meme kanseri tedavisinde kullanılan en etkili kemoterapi ilaçlarından biridir. Doza bağlı toksisite, ilaca karşı direncin ortaya çıkması ve kanser hücrelerine karşı düşük seçiciliği, doksorubisinin klinikte kullanımını kısıtlamaktadır. Bu dezavantajları ortadan kaldırmaya yönelik yaklaşımların başında nanoteknoloji gelmektedir.

Nanoteknolojideki gelişmelerin ilaç taşıyıcı sistemlere önemli ölçüde etkisi vardır. Nano boyuttaki ilaç taşıyıcı sistemler ilacın kontrollü salınımı, kimyasal kararlılık, yüzeylerinin kolay modifikasyonu ve ilacı immün sistemden koruyabilme özelliklerinden dolayı ilacın yarı ömrünü uzatmakta, biyoyararlanımı arttırmakta, olası yan etkileri azaltmakta ve terapötik pencereyi genişletmektedir.

Nanoparçacıklar, birçok klinik uygulama ve araştırmada ilaç taşıyıcı sistem olarak önemli rol oynamaktadır. Nanoölçekte farklı geometrideki platformlara, lipozom,

misel, dendrimer, nanokabuk, albümin temelli ve polisakkarit temelli nanoparçacıklar, metalik, seramik ve polimerik nanoparçacıklar örnek verilebilir. Bu çalışma kapsamında kullanılan melanin; biyouyumlu, biyobozunur, metal iyonları ile şelat yapabilen, ilaçlara bağlanabilen ve doğal fotoakustik özellikleri bulunan bir polimerdir.

Bu tez çalışması sürecinde; i) melanin nanoparçacık (MNP) sentezlenmesi, ii) polietilen glikol (PEG) ile melanin nanoparçacıkların modifikasyonu, iii) PEG ile modifiye edilmiş melanin nanoparçacıklara doksorubisin (DOX) yüklenmesi iv) salım profilinin incelenmesi, v) in vitro deneyler ile önerilen ilaç taşıyıcı sistemin sağlıklı hücrelerde ve meme kanseri hücrelerinde hücre canlılığına etkisinin incelenmesine yönelik çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Sentezlenen nanoparçacıkların morfolojisi geçirimli elektron mikroskopu (TEM) ile, kimyasal yapısı Fourier dönüşümlü kızıl ötesi (FT-IR) spektrometre analizi ile, yüzey yükü zeta potansiyel analiz cihazı ile, ışığı absorblama özelliği ise ultraviyole ve görünür ışık (UV-Vis) absorpsiyon spektroskopisi kullanılarak incelenmiştir. Nanoparçacıkların ilaç yükleme kapasitesi ve ilacı salma profili UV-vis spektrofotometre cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Kolorimetrik bir metod olan 3-(4,5-dimetiltiyazol2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum-bromür (MTT) testi ile hücre canlılığı takip edilmiştir.

Yapılan testler sonucunda melanin nanoparçacıkların, PEG ile modifiye edilmiş melanin nanoparçacıkların ve PEG ile modifiye edilmiş doksorubisin yüklü melanin nanoparçacıkların sırasıyla 50, 30, ve 15 nm boyutlarında küresel şekilde oldukları ve yüzey yüklerinin -24, -22, ve -40 mV olduğu saptanmıştır. Önerilen sistemin kontrollü ilaç salımı yaptığı ve hücre testleri sonucunda sağlıklı hücrelere herhangi bir toksik etki göstermezken, konvansiyonel yöntemle karşılaştırıldığında meme kanseri hücrelerini etkili bir şekilde öldürdüğü görülmüştür.

Bu tez çalışmasında polietilen glikol (PEG) ile modifiye edilmiş doksorubisin yüklü melanin nanoparçacıkların, biyomedikal alanındaki araştırmalarda ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılması için önerilebileceği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Melanin, Doksorubisin, Nanoparçacık, İlaç taşıyıcı sistemler, Kontrollü ilaç salımı.

## **ABSTRACT**

Master of Science

**DOXORUBICIN LOADED MELANIN NANOPARTICLES FOR BREAST**

**CANCER THERAPY**

Buşra Özlü

TOBB University of Economics and Technology  
Institute of Natural and Applied Sciences  
Biomedical Engineering Science Programme

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet MUTLU

Date: October 2018

According to 2014 data, breast cancer is the most common cancer in women in Turkey. One out of every 4 women diagnosed with breast cancer. Currently available clinical procedures are surgery, chemotherapy, radiation therapy, hormone therapy and targeted therapy. Doxorubicin is an efficient chemotherapy drug usually used in breast cancer therapy. Dose dependent toxicity, drug resistance and low selectivity to cancer cells limit the use of doxorubicin in clinical practice. Nanotechnology is the leading approach to eliminate these disadvantages.

Developments in nanotechnology have a significant impact on drug delivery systems. Nano-sized drug delivery systems provides controlled release of drug, chemical stability, surface modifications, therefore they protect the drug from the immune system and prolong the half-life of the drug, increase bioavailability, reduce possible side effects and broaden the therapeutic window.

Nanoparticles play an important role as a drug delivery system in many clinical applications and researches. Nanoparticle platforms include: liposomes, micelles, dendrimers, albumin based and polysaccharide based nanoparticles, metal, ceramic

and polymeric nanoparticles. Melanin is a biopolymer with good biocompatibility and biocompatibility, intrinsic photoacoustic properties and it can also bind to drugs and chelate with metal ions.

Within the scope of this thesis; i) synthesis of melanin nanoparticles, ii) modification of melanin nanoparticles with polyethylene glycol, iii) loading of doxorubicin drug to polyethylene glycol modified melanin nanoparticles and iv) examining the release profile, v) in vitro cytotoxicity assay for the proposed drug delivery system were performed.

Morphology, chemical structure, surface charge and light absorption properties of synthesized nanoparticles were investigated with transmission electron microscope (TEM), Fourier transformed infrared (FT-IR), zeta potential analyzer, ultraviolet and visible light (UV-Vis) absorption spectroscopy, respectively. The drug loading capacity and drug release profile of the nanoparticles were analyzed using the UV-vis spectrophotometer device. Cell viability was evaluated by employing the MTT viability assay.

Results showed that melanin nanoparticles (MNP), PEG modified melanin nanoparticles (PEG-MNP) and doxorubicin loaded melanin nanoparticles (DOX-PEG-MNP) have spherical shape with the size of 50, 30, and 15 nm and their surface charge were -24, -22 and -40 mV respectively. DOX-PEG-MNP system provides controlled release of drug. In vitro cytotoxicity assays showed that MNP and PEG-MNP did not show any toxic effect on healthy cells while DOX-PEG-MNP was able to kill breast cancer cells effectively.

In this thesis, it is suggested that doxorubicin loaded melanin nanoparticles can be effectively used as drug delivery systems in biomedical engineering approaches.

**Keywords:** Melanin, Doxorubicin, Nanoparticle, Drug delivery systems, Controlled drug release.

## TEŞEKKÜR

Her şeyden önce düşünmeyi, sorgulamayı öğreten, yol göstericim, sayın hocam Prof. Dr. Mehmet MUTLU' ya, her zaman yanımda olarak sağladığı sonsuz destek ve akademik hayatımın devamında da beni yönlendirerek sunduğu fırsatlar ve açtığı yeni kapılar için teşekkürü bir borç bilirim.

Lisans eğitimini de bu kurumda tamamlamış bir öğrenci olarak, sunduğu nitelikli eğitim sayesinde TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi öğrencisi olmanın ayrıcalığını her alanda yaşamamı sağlayan, bölüm hocalarım Prof. Dr. Osman EROĞUL, Doç. Dr. Ersin Emre ÖREN, Doç. Dr. Fatih BÜYÜKSERİN, Doç. Dr. Birsen Can DEMİRDÖĞEN' e ve yüksek lisans programım için burs sağlayan TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi' ne,

Tez sürecim boyunca değerli vaktinden ayırarak desteğini esirgemeyen, yanında çalışmaktan büyük bir onur duyduğum, sayın hocam Prof. Dr. Ayşe Kevser ÖZDEN' e,

Attığım her adımda yanımda olan, tüm sıkıntılarımı yüklenen sırtımı dayadığım koca çınarım, annem Rahime ÖZLÜ ve babam Özkan ÖZLÜ' ye,

Her zaman doğru yolda kalmamı öğütleyerek beni yetiştiren, sevgili anneannem Nurten ÖZKARDEŞLER' e,

Tez dönemimi benim için kolaylaştıran sevgili hocalarım Gözde ve Gizem' e, benimle birlikte sabahlayan ve tezimi yazmamda büyük emeği geçen sevgili arkadaşlarım İlyas ve Ali Osman' a,

Bir parçası olmaktan gurur duyduğum pabmed ailemin üyeleri, Enes, Merve, Ferda ve Ersin' e,

İlkokuldan beri yanımda olan ve her zaman desteklerini yanımda hissettiğim dostlarım Dilara, Nurkut, Kemal ve Öyküm' e,

Ankara'yı evim yapan sevgili dostlarım Beste, Büşra, İrem ve Çağatay'a tez dönemimdeki destekleri için teşekkür ederim.



## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vi</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>viii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>ix</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....	<b>xi</b>
<b>ÇİZELGE LİSTESİ</b> .....	<b>xii</b>
<b>KISALTMALAR</b> .....	<b>xiii</b>
<b>SEMBOL LİSTESİ</b> .....	<b>xiv</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1 Giriş ve Tezin Amacı .....	1
<b>2. LİTERATÜR</b> .....	<b>3</b>
2.1 Meme Kanseri .....	3
2.1.1 Meme kanserinin tedavisinde kullanılan yöntemler .....	4
2.2 İlaç Taşıyıcı Sistemler .....	5
2.3 İlaç Salım Sistemleri .....	6
2.3.1 Kontrollü ilaç salım mekanizmaları .....	8
2.4 Hedeflenmiş İlaç Taşınımı .....	12
2.5 Nanoparçacıkların İlaç Taşıyıcı Sistem Olarak Kullanılması .....	13
2.5.1 Teranostik nanoparçacıkların ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılması....	14
2.6 Nanoparçacık Sentezleme Yöntemleri .....	14
2.6.1 Ultrasonikasyon yöntemi ile nanoparçacık sentezi .....	15
2.7 Nanoparçacıkların Fonksiyonelleştirilmesi .....	16
2.7.1 Nanoparçacıkların polietilen gikol ile fonksiyonelleştirilmesi .....	17
2.8 Nanoparçacıklara İlaç Yüklenmesi .....	18
2.9 Melanin' in Yapısı ve Özellikleri .....	18
2.10 Doksorubisin'in Yapısı ve Özellikleri.....	20
2.11 Karakterizasyon Teknikleri .....	20
2.11.1 Geçirimli elektron mikroskopu .....	20
2.11.2 Fourier dönüşümlü kızıl ötesi spektrometre.....	21
2.11.3 Ultraviyole ve görünür ışık absorpsiyon spektroskopisi .....	21
2.11.4 Zeta potansiyel analizi .....	21
2.11.5 Hücre canlılığı belirleme testi 3-(4,5-dimetiltiyazol2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum-bromür testi .....	22
<b>3. DENEYSEL GEREÇLER VE YÖNTEM</b> .....	<b>23</b>
3.1 Deneysel Gereçler .....	23
3.2 Melanin Nanoparçacıkların Üretimi ve Karakterizasyonu.....	23
3.3 Polietilen Glikol ile Modifiye Edilmiş Melanin Nanoparçacıkların Üretimi ve Karakterizasyonu .....	24

3.4 Polietilen Glikol ile Modifiye Edilmiş Melanin Nanoparçacıklara Dokso rubisin Yükle nmesi ve Karakterizasyonu.....	24
3.5 Polietilen Glikol ile Modifiye Edilmiş Dokso rubisin Yüklü Melanin Nanoparçacıklardan İlaç Salımı.....	25
3.6 Hücre Canlılığı Testleri .....	25
<b>4. BULGULAR VE TARTIŞMALAR.....</b>	<b>27</b>
4.1 Nanoparçacıkların Karakterizasyonu .....	27
4.2 Polietilen Glikol İle Modifiye Edilmiş Dokso rubisin Yüklü Melanin Nanoparçacıklardan İlaç Salımı.....	30
4.3 Nanoparçacıkların Hücre Canlılığına Etkisinin İncelenmesi .....	31
<b>5. SONUÇ, ÖNERİLER VE GELECEK ÇALIŞMALAR.....</b>	<b>39</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>41</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>45</b>



## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

Şekil 2.1 : Memedeki lenf damarlarının lenf sıvısını taşıdıkları düğümler.....	4
Şekil 2.2 : Kandaki ilaç derişiminin zamanla değişiminin karşılaştırılması; (a) hemen salım, (b) klasik dozaj alım şekli, (c) enjeksiyon yöntemiyle alım, (d) kontrollü salım.....	7
Şekil 2.3 : Difüzyon kontrollü salım.....	9
Şekil 2.4 : Çözünme kontrollü salım.....	10
Şekil 2.5 : (a) Aktif hedefleme, (b) Pasif hedefleme.....	12
Şekil 2.6 : (a) Dendrimer, (b) Lipozom, (c) Misel.....	14
Şekil 2.7 : Multifonksiyonel nanoparçacık.....	16
Şekil 2.8 : (a) Melanin nanoparçacığın, (b) PEG ile modifiye edilmiş melanin nanoparçacığın kimyasal yapısı.....	18
Şekil 4.1 : Melanin nanoparçacıkların zeta potansiyeli.....	27
Şekil 4.2 : PEG ile modifiye edilmiş melanin nanoparçacıkların zeta potansiyeli.....	28
Şekil 4.3 : PEG ile modifiye edilmiş doksorubisin yüklü melanin nanoparçacıkların zeta potansiyeli.....	28
Şekil 4.4 : (a) MNP, (b) PEG-MNP, (c) DOX-PEG-MNP' ye ait TEM görüntüleri (ölçek çubuğu= 50nm).....	29
Şekil 4.5 : PEG-MNP (üstte) ve MNP' ye (altta) ait FTIR analizi.....	29
Şekil 4.6 : MNP ve PEG-MNP' ye ait UV-vis-spektrofotometre sonuçları.....	30
Şekil 4.7 : Farklı konsantrasyonlarda ilaç yüklü DOX-PEG-MNP' lerden zamana göre salınan kümülatif ilaç miktarı.....	31
Şekil 4.8 : 0,50 mg ilaç yüklü DOX-PEG-MNP' lerin 24, 48 ve 72. saatlerde meme kanseri hücrelerinin canlılığına etkisi ile ilaç salım profili.....	32
Şekil 4.9 : 0,25 mg ilaç yüklü DOX-PEG-MNP' lerin 24, 48 ve 72. saatlerde meme kanseri hücrelerinin canlılığına etkisi ile ilaç salım profili.....	33
Şekil 4.10 : 0,125 mg ilaç yüklü DOX-PEG-MNP' lerin 24, 48 ve 72. saatlerde meme kanseri hücrelerinin canlılığına etkisi ile ilaç salım profili.....	34
Şekil 4.11 : 0,50 mg serbest ilacın 24, 48 ve 72. saatlerde meme kanseri hücrelerinin canlılığına etkisi.....	35
Şekil 4.12 : 0,25 mg serbest ilacın 24, 48 ve 72. saatlerde meme kanseri hücrelerinin canlılığına etkisi.....	35
Şekil 4.13 : 0,125 mg serbest ilacın 24, 48 ve 72. saatlerde meme kanseri hücrelerinin canlılığına etkisi.....	36
Şekil 4.14 : MNP ve PEG-MNP' lerin sağlıklı hücrelerin canlılığına etkisi.....	36

## ÇİZELGE LİSTESİ

### Sayfa

Çizelge 2.1 : Multifonksiyonel nanoparçacıkların geliştirilmesinde kullanılan bazı yaklaşımlar.....	17
---	----



## KISALTMALAR

<b>DHI</b>	: 5,6-dihidroksindol
<b>DHICA</b>	: 5,6-dihidroksindol-2-karboksilikasit
<b>DMEM</b>	: Dulbecco's Modified Eagle's Medium
<b>DMSO</b>	: Dimetil sülfoksit
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleikasit
<b>DOX</b>	: Doksorubisin
<b>FDA</b>	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
<b>FIR</b>	: Uzak dalga boylu kızıl ötesi
<b>FTIR</b>	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopi
<b>HER2</b>	: İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
<b>MIR</b>	: Orta dalga boylu kızıl ötesi
<b>MRI</b>	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
<b>MNP</b>	: Melanin Nanoparçacık
<b>MTT</b>	: 3-(4,5-dimetiltiyazol2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum-bromür
<b>NIR</b>	: Yakın dalga boylu kızıl ötesi
<b>PBS</b>	: Fosfat Tampon Çözeltisi
<b>PEG</b>	: Polietilen Glikol
<b>TAT</b>	: Trans-transkripsiyon aktivatörü
<b>TEM</b>	: Geçirimli Elektron Mikroskopu
<b>UV-VIS</b>	: Ultraviyole ve görünür ışık

## SEMBOL LİSTESİ

Bu çalışmada kullanılmış olan simgeler açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

### Simgeler

### Açıklama

$M_t$

Belirli bir zamana kadar salınan ilaç miktarı

$t$

Zaman

$M_\infty$

Salınan tüm ilacın miktarı

$n$

İlaç salımın mekanizmasını işaret eden salım sembolü

$k$

Sistemi tanımlayan yapısal/geometrik bir sabit

# 1. GİRİŞ

## 1.1 Giriş ve Tezin Amacı

Kanser, dünya genelinde birçok ülkede temel sağlık sorunudur (Siegel, Ma, Zou, & Jemal, 2014; Torre ve ark., 2015). Amerika'da her dört ölümden birinin sebebi kanserdir (Siegel ve ark., 2014). 2014 yılı verilerine göre, Türkiye'de kadınlarda en sık görülen kanser türü meme kanseridir (43/100000). Tanı konulan her 4 kadın kanserinden 1'i meme kanseridir (Url-1). Günümüzde meme kanserinin tedavisinde cerrahi müdahale, kemoterapi, radyoterapi, hormon tedavisi ve hedefe yönelik tedavi olmak üzere 5 temel yöntem kullanılmaktadır.

Uygun miktarda ilacı terapötik derişimi sağlayacak şekilde istenilen sürede vücudun uygun bölgesine ileten sistemlere ilaç taşıyıcı sistemler denir. Günümüzde kullanılan konvansiyonel ilaç taşıyıcı sistemlerde; ilacın çözünürlüğünün ve biyodağılımının az olması, in vivo ortamda ilacın hızlı bozunması ve aktivitesini kısa sürede kaybetmesi, hücrelere toksik etki (sitotoksitate) göstermesi ve yan etkilere ek olarak doku hasarı oluşturması sebebiyle yeni ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Nanoteknolojideki gelişmelerin ilaç taşıyıcı sistemlere önemli ölçüde katkısı vardır ve nanoparçacıklar, birçok klinik uygulama ve araştırmada önemli rol oynamaktadır. İlaç taşıyıcı sistemlerde nanoparçacıkların kullanılmasının avantajları: ilacın suda çözünürlüğünü arttırmak, salım süresini uzatmak ve biyoyararlanımını arttırmak, hedeflenmiş taşınımını sağlamak, toksik yan etkilerini azaltmak, ilacı bozunmadan korumak, ilacın tüm alım yolları için uygun form sağlanması olarak sıralanabilir (Parveen, Misra, & Sahoo, 2012).

Bu tez çalışması kapsamında; biyoyumlu, biyobozunur, metal iyonları ile şelat yapabilen, ilaçlara bağlanabilen ve doğal fotoakustik özellikleri bulunan bir biyopolimer olan melaninden sentezlenen nanoparçacıkların bir ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılabilirliği gösterilmiştir. Bu doğrultuda, en etkili anti-kanser ilaçlarından biri olan doksorubisinin kanserli hücrelere karşı seçiciliğinin artırılarak

toksik yan etkilerinin azaltılması, kontrollü salımının sağlanması amaçlanmış, ve elde edilen sonuçlar ile bu hedeflere ulaşılabildiği gösterilmiştir.





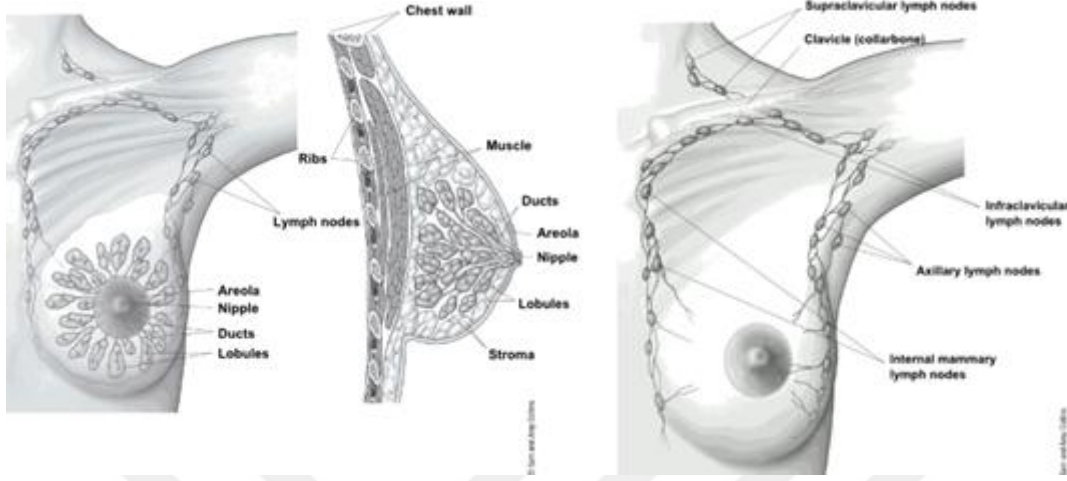
## 2. LİTERATÜR

### 2.1 Meme Kanseri

Kanser, dünya genelinde birçok ülkede temel sağlık sorunudur (Siegel, Ma, Zou, & Jemal, 2014; Torre ve ark., 2015). Amerika'da her dört ölümden birinin sebebi kanserdir (Siegel ve ark., 2014). 2012 yılında Dünya genelinde yaklaşık 14 milyon yeni vaka ve 8 milyon kanser bağlantılı ölüm olmuştur. Bunların arasında erkeklerde en yaygın olarak akciğer, prostat, kolorektal, mide ve karaciğer kanseri, kadınlarda ise meme, kolorektal, akciğer, serviks ve mide kanseri bulunmaktadır (Torre ve ark., 2015). 2014 yılı verilerine göre, Türkiye'de kadınlarda en sık görülen kanser türü meme kanseridir (43,0/100000). Tanı konulan her 4 kadın kanserinden 1'i meme kanseridir (Url-1). Kanser hastaları genellikle kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi müdahale seçeneklerinin biri veya kombinasyonları ile tedavi görürler. Cerrahi müdahale hastalığın erken evrelerinde tercih edilen bir seçenektir (DeSantis ve ark., 2014). Fakat kanserin tipi, yerleşimi ve evresi gibi sebeplerden dolayı cerrahi müdahale çoğu zaman gerçekleştirilememektedir (Luo ve ark., 2017). Meme hücrelerinin kontrolsüz çoğalması sonucu meme kanseri oluşur. Bu hücreler X-ışınları ile görüntülenebilen tümörleri oluşturur. Bu tümörler çevre dokulara doğru büyüyor veya vücudun uzak bölgelerine metastaz yapıyorsa malin tümör olarak adlandırılır. Meme kanseri memenin farklı yerlerinde başlayabilir. Kanser süt bezinden kaynaklanıyorsa lobuler karsinoma, süt kanalından kaynaklanıyorsa duktal karsinoma olarak adlandırılır.

Kanser hücrelerinin kan veya lenf dolaşımına girmesiyle birlikte vücudun diğer bölgelerine yayılır. Lenf sıvısı: doku yan ürünleri, atıkları ve bağışıklık sistemi hücrelerini içerir. Lenf damarları, memeden lenf sıvısını taşır. Meme kanserinde, kanser hücreleri bu lenf damarlarına girebilir ve lenf düğümlerinde büyümeye başlar. Meme lenf damarlarının çoğu aşağıdaki düğümlere lenf sıvısını taşır (Şekil 2.1):

Kolun altındaki lenf düğümleri, köprücük kemiği etrafındaki lenf düğümleri (supraklavikular [köprücük kemiği üstünde] ve infraklavikular [köprücük kemiğinin altında] lenf düğümleri), göğüs içindeki lenf düğümleri (iç meme lenf düğümleri).



Şekil 2.1 : Memedeki lenf damarlarının lenf sıvısını taşıdıkları düğümler.

Eğer kanser hücreleri, lenf düğümlerine sızarmış ise lenfatik sistem boyunca taşınıp metastaz yapma olasılığı yüksektir. Meme kanseri için risk faktörleri:

- Yaşam tarzına bağlı risk faktörleri : alkol kullanımı, obezite, fiziksel aktivitenin az oluşu, çocuk sahibi olmamak veya 30 yaşından sonra doğum yapmak, bebek emzirmemek, doğum kontrol yöntemleri, menapoz sonrası hormon tedavisi
- Değiştirilemeyecek risk faktörleri: yaşlanma, genetik miras, ailede meme kanseri hikayesi, kişisel meme kanseri hikayesi, ırk ve etnik köken, yoğun meme dokusuna sahip olmak, menstrüasyon döngüsünün erken başlaması, radyasyona maruz kalmak, olarak sıralanabilir.

### 2.1.1 Meme kanserinin tedavisinde kullanılan yöntemler

Günümüzde meme kanserinin tedavisinde 5 temel yöntem kullanılmaktadır. Bunlar kısaca aşağıdaki şekilde sıralanmaktadır.

- Cerrahi müdahale: Sadece kanserli dokunun alınması veya mastektomi adı verilen memenin tamamının alındığı uygulamadır.
- Radyoterapi: X ışını, protonlar veya elektron demeti gibi radyasyon kaynakları kullanarak kanserli hücrelerin öldürülmesidir. Radyoterapinin bir türü olan brakiterapi uygulamasında radyoaktif kaynak direk olarak tümörün içerisine veya hemen yakınındaki boşluklara yerleştirilir.

- Hormon Tedavisi: Bazı kanser türleri östrojen ve progesteron pozitif olabilirler. Kanserin östrojen pozitif olması, kanser hücrelerinin östrojen hormonuna bağlanan reseptörleri bulunduğu ve bu şekilde hormona bağlanarak büyüdükleri anlamına gelir. Tamoksifen gibi bazı ilaçlar meme kanseri hücrelerindeki östrojen reseptörlerini bloke ederek kanserli hücrelerin çoğalmasını önler. Bazı hormon tedavilerinde ise direk kandaki östrojen hormon seviyesi düşürülerek kanserin büyümesi yavaşlatılır ve tekrar etmesi önlenir.
- Kemoterapi: Antikanser ilaçlar kullanılarak yapılan tedavidir. İlaçlar hastaya ağız veya damar yoluyla verilebilir.
- Hedefe Yönelik Tedavi: Tedavi edici ajanlar direkt olarak kanser hücrelerindeki proteinlere bağlanırlar.

## 2.2 İlaç Taşıyıcı Sistemler

Türkiye Tıbbi Cihaz ve İlaç Kurumu'na ait tanıma göre: hastalıkların teşhisi, tedavisi, profilaksisi (hastalıktan korunma) cerrahi girişimlerin kolaylaştırılması ve bazı fizyolojik olayların değiştirilmesi (doğum kontrolü gibi) amacıyla tıpta kullanılan ve biyolojik etkinliği olan saf kimyasal madde veya ona eşdeğer bitkisel veya hayvansal kaynaklı standart miktarda etkin madde ve yardımcı madde içeren kimyasal preparata ilaç denir. Dolgu maddeleri, seyrelticiler, çözücüler, koruyucular, aroma vericiler ve renklendiriciler ilaçta yardımcı madde olarak kullanılabilir.

Hastaya bir defada verilen ilaç miktarına doz, dozlar arasındaki zamana doz aralığı ve bir gün içerisinde verilmesi tavsiye edilen miktara da günlük doz denir.

İlaçların hastaya verilebilecek şekilde özel kalıplara sokulmuş hallerine ilaçların farmasötik şekli denir. Tablet, kapsül, draje, toz paket, pastil gibi ilaçlar katı farmasötik şekiller, krem, merhem, jel gibi ilaçlar yarı katı farmasötik şekiller, solüsyon (damlalar, gargara, inhaler çözeltiler vb), şurup, süspansiyon, emülsiyon, lavman, parenteral yolla kullanılan ampul, flakon ve serum şişelerindeki ilaçlar da sıvı farmasötik şekiller kategorisinde sınıflandırılabilirler.

Uygun miktarda ilacı terapötik derişimi sağlayacak şekilde istenilen sürede vücudun uygun bölgesine ileten sistemlere ilaç taşıyıcı sistemler denir. Fizikokimyasal özellikleri, molekül ağırlığı, yarı ömrü, kimyasal stabilitesi, sıvı

ortamda biyolojik aktivitesini koruması değerlendirilerek ilacın iletim yolu seçilir. İlaçlar ağız, rektal, lokal, parenteral, burun, göz ve kulak yollarıyla iletilebilir.

İlaç taşıyıcı sistemler tasarlanırken aşağıdaki unsurları sağlaması hedeflenir:

- İlacın etki yaratabilme kapasitesinin (efikası) en yüksek seviyede olması
- İlacın stabilitesinin ve ilaç salım süresinin uzatılması
- Herhangi bir değişime uğramadan sistemik dolaşıma katılabilen ilaç miktarının (biyoyararlanım) arttırılması
- Doz miktarını ve sıklığını azaltarak tedavi kalitesinin iyileştirilmesi
- Yan etkilerin azaltılması.

Terapinin başarısı, uygun miktarda etkin maddenin istenilen bölgeye ulaşmasına bağlı olduğundan ilaç salımı ve ilacın hedeflenmesi çok önemlidir.

### **2.3 İlaç Salım Sistemleri**

İlaç salım sistemleri, hemen salım ve modifiye edilmiş salım olmak üzere temelde 2 gruba ayrılır. Bir çok konvansiyonel yöntem genelde hemen salım sistemi ile çalışır. Hemen salımda; ilacın vücuda alınmasıyla eş zamanlı olarak salımı başladığından, terapötik olarak etkin bir derişime ulaşılabilmesi için ilacın günde bir kaç doz alınması gerekir. Bu durum da kandaki ilaç derişiminin, minimum etkin derişimin altına düşmesine veya minimum toksik derişimin üstüne çıkmasına sebep olarak istenmeyen yan etkiler yaratabilir.

Modifiye edilmiş salım sistemi kendi içerisinde; ertelenmiş salım, sürekli salım ve kontrollü salım olmak üzere 3 gruba ayrılır.

Ertelenmiş salımda ilaç vücuda alındıktan belirli bir zaman sonra aktif bileşenin salımı başlar. Bunu sağlayabilmek için genelde ilacın etrafı uygun bir polimer ile kaplanır. Bu polimer ortamın pH'sına bağlı çözünür. Ertelenmiş salıma verilebilecek en güzel örneklerden biri enterik aspirinlerdir. Enterik aspirinlerin midedeki düşük pHlarda çözünmeyip ince barsağa doğru yüksek pHlarda çözünmesi sağlanır.

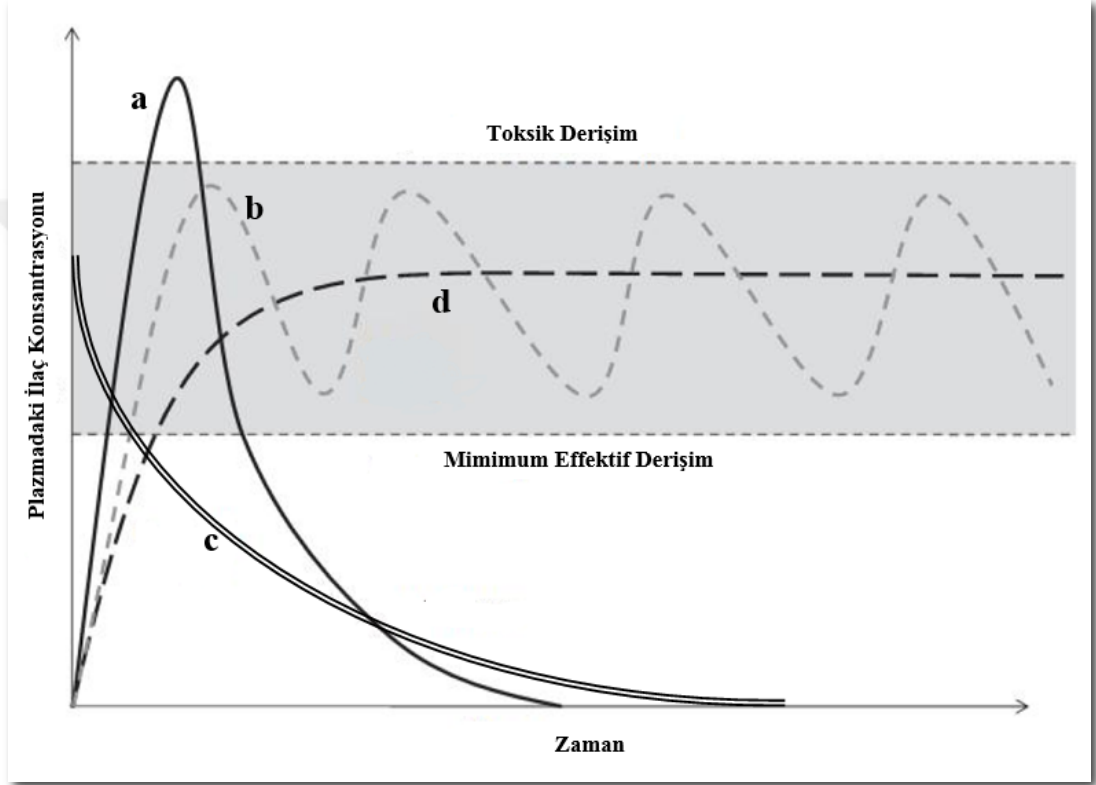
Sürekli salım ve kontrollü salım sistemleri ilacın daha uzun süre salımına olanak verir.

Sürekli salımda, hemen salım sisteminde olanın aksine, ilacı günde bir kaç doz almak yerine tek bir dozda alarak ilacın doz miktarı ve sıklığı azaltılabilir. Sürekli

salımın sağlanabilmesi için ilacın etrafı kaplanabilir veya ilaç bir matriks içerisinde çözündürülebilir.

Sürekli salımda ilacın farmasötik şeklinden salımı kontrol edilebilirken, kontrollü salımda vücuttaki ilaç derişimi kontrol edilebilir.

Detaylı açıklama için kandaki ilaç derişiminin zamana karşı değişimini gösteren aşağıdaki grafik (Şekil 2.2) incelendiğinde: Tek seferde yüksek dozda alınan ilacın plazmadaki seviyesi "a" eğrisi ile gösterilmektedir. İlaç alımını takiben, başlangıçta



Şekil 2.2 : Kandaki ilaç derişiminin zamanla değişiminin karşılaştırılması; (a) hemen salım, (b) klasik dozaj alım şekli, (c) enjeksiyon yöntemiyle alım, (d) kontrollü salım.

kandaki ilaç derişiminin zamanla artarak toksik seviyeye geçtiği görülmektedir. Daha sonra ise derişim zamanla azalmaya başlar. Alışılmış dozaj şekillerinde alınan ilacın plazmadaki durumu ise "b" eğrisinde gösterilmektedir. İlaç ilk alındığında plazmadaki oranı yavaş yavaş artar, daha sonra derişim düşmeye başlar. Yeni doz uygulamasıyla beraber oran tekrar artmaya başlar ve etkin madde-plazma düzeyi etkili alanda tutulmaya çalışılır, tedavi ancak bu işlemin birçok defa tekrarlanmasıyla sağlanabilir. Bu tip alımlarda toksik seviyeye geçilmesini

engellemek için bir sonraki dozun zamanlamasının çok iyi yapılması gerekmektedir. C eğrisi ise kana direkt verilen enjeksiyon ile alımı göstermektedir.

Derişimin düşme süresi, ilacın metabolize edilme, parçalanma ya da etki alanından uzaklaşma gibi nedenlerle vücuda yararsız hale gelme hızına bağlıdır, bu nedenlerden dolayı ilacın kan plazmasındaki derişimi etkin düzeyin altına düşebilir veya güvenilir düzeyin (toksik bölge) üzerine çıkabilir.

Minimum toksik derişiminin üstünde yer alan bölgeler kullanılmamış ilaç miktarını ifade etmektedir ki bu durum, hastada istenmeyen yan etkilere neden olur.

### **2.3.1 Kontrollü ilaç salım mekanizmaları**

Salım süreci bir takım mekanizmalar ile açıklanabilir. Etkili bir ilaç taşıma sisteminin tasarlanması için bu mekanizmaların ve bu mekanizmaları etkileyen parametrelerin tanımlanması ve anlamlandırılması gerekmektedir. İlacın salım sürecinde genellikle birden fazla mekanizma etkin rol alır. Salım sürecinin farklı periyotlarında, farklı mekanizmalar salımın karakteristiğinde baskın etki gösterebilir (Siegel, Rathbone, Siepmann, Siegel, & Rathbone, 2012). Bu mekanizmalar; difüzyon kontrollü, çözünme kontrollü, difüzyon ve çözünme kontrollü, kimyasal kontrollü ve şişme kontrollü olarak sıralanabilir (Lin & Metters, 2006).

#### **2.3.1.1 Difüzyon kontrollü salım**

Difüzyon, bir maddenin derişimi yüksek olan bölgeden derişimi düşük olan bölgeye hareketi olarak tanımlanabilir. Kontrollü salım sistemlerinde difüzyon çok önemli bir faktördür. Difüzyon kontrollü salım sistemlerinde, suda çözünmeyen inert polimerik membranların (rezervuar sistemleri) veya polimerik matrislerin (monolitik sistemler) içerisinde hapsolmuş ilaç difüzyon yoluyla salınır (Jantzen & Robinson, 2002; Uhrich, Cannizzaro, Langer, & Shakesheff, 1999). Difüzyon kontrollü salım sistemleri, sistemin yapısına ve ilaç yükleme mekanizmasına bağlı olarak 4 temel gruba ayrılabilir. Bunlar: sabit olmayan ilaç kaynağı rezervuarı, sabit ilaç kaynağı rezervuarı, monolitik solüsyon ve monolitik karışımlardır. Şekil 2.3' de kontrollü ilaç salım sistemlerinden zamana bağlı ilaç salımı şematize edilmiştir. Sabit olmayan ilaç kaynağı rezervuarlarında veya monolitik solüsyon sistemlerinde

yüklenen ilaç miktarı ilacın doygunluk seviyesinin altındadır (zaman(t)=0). İlaç salındığı zaman, rezervuar veya matristeki ilaç miktarı zamanla azalır, böylece t1 ve t2 zamanlarında salınan ilaç miktarı azalır. Sabit ilaç kaynağı rezervuarı veya monolitik karışım sistemlerinde, aşırı doymuş derişimde ilaç solüsyonu ile çözünmemiş ilaç agregatlarından oluşan bir karışım sisteme yüklenir. Sistemde yüklü çözünmüş haldeki ilaç salındığında derişimi doygunluk seviyesinin altına düşer. Bu durumda ilaç agregatları çözünerek salınan ilacın yerini alır. Böylelikle sistemden salınan ilaç miktarı t1 ve t2 zamanlarında sabit kalır. Sonuç olarak ilaç, sabit bir oranda sıfırncı derece kinetik ile kontrollü bir şekilde salınmış olur (Huynh & Lee, 2014).

Eşitlik 2.1' de verilen Korsmeyer-Peppas denklemi, difüzyon kontrollü salımı açıklayan denklemlerden biridir (Dash, Murthy, Nath, & Chowdhury, 2010).

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k \cdot t^n \quad 2.1$$

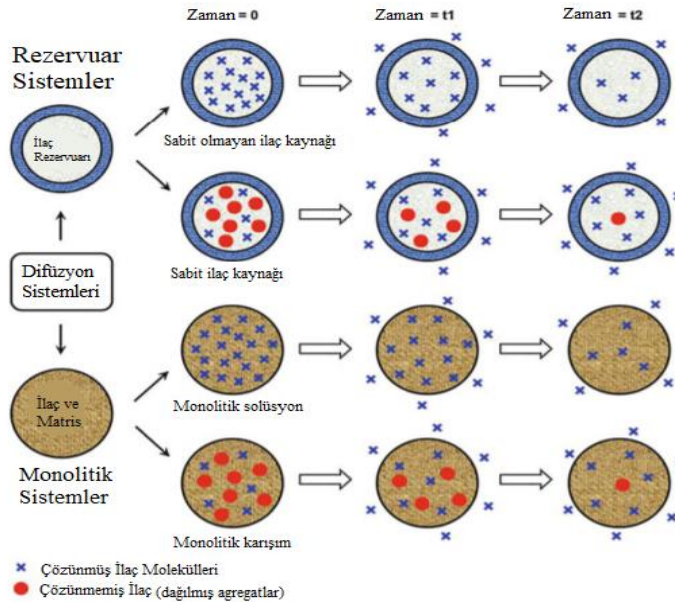
$M_t$ : Belirli bir zamana kadar salınan ilaç miktarı (mol/m<sup>3</sup>)

t: Zaman (s),

$M_\infty$ : Salınan tüm ilacın miktarı (mol/m<sup>3</sup>)

n: İlaç salımın mekanizmasını işaret eden salım sembolü

k: Sistemi tanımlayan yapısal/geometrik bir sabit (s<sup>-n</sup>)

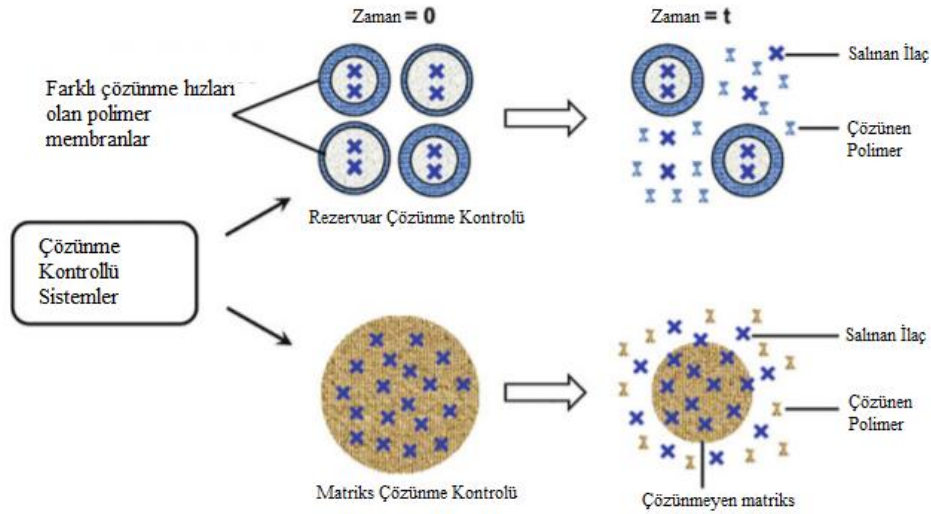


Şekil 2.3 : Difüzyon kontrollü salım.

İlaç salım matrisleri için farklı salım mekanizmalarına ve geometrilerine sahip çeşitli n değerleri mevcuttur (Lin & Metters, 2006). Korsmeyer-Peppas eşitliği için ilacın homojen olarak dağıldığı ve difüzyon akısının sabit olduğu varsayılmaktadır (Streubel, Siepmann, Peppas, & Bodmeier, 2000).

### 2.3.1.2 Çözünme kontrollü salım

Çözünme kontrollü sistemlerde, ilaç yavaş çözünen polimerik membranlar (rezervuar sistemleri) ile kaplanabilir veya matrislerin (monolitik sistemler) içerisine hapsedilebilir (Şekil 2.4). Rezervuar sistemlerinde, ilaç düşük çözünürlüğü olan bir polimerik membranın içerisinde korunur. Bu membran tam olarak çözüldüğü zaman ilaç salımı gerçekleşir. Monolitik sistemlerde ilaç agregatları polimerik matris boyunca dağılmıştır. Bu matris çözüldükçe ilaç agregatları çözünür ve çözünen ilacın salımı gerçekleşir. Çözünme kontrollü salım sistemlerinde ilacın kontrollü salımını etkileyen temel faktör polimerik taşıyıcının çözünürlüğüdür.



Şekil 2.4 : Çözünme kontrollü salım.

### 2.3.1.3 Çözünme ve difüzyon kontrollü salım

Çözünmenin ve difüzyonun birlikte kontrol ettiği salım sistemlerinde ilaç, kısmen çözünerek porlar oluşturan polimerik membran veya matrisler içerisinde hapsedilir. Porlar sayesinde sulu ortam sistemin merkezine ulaşarak hapsedilmiş ilacın



difüzenmesini sağlar. Salım sürecinde genelde tek bir mekanizma (çözünme veya difüzyon) veya ikisinin kombinasyonu gerçekleşir.

#### **2.3.1.4 Kimyasal kontrollü salım**

Kimyasal kontrollü salım, aşınma kontrollü ve polimer-ilaç çifti kontrollü sistemler olmak üzere iki gruba ayrılabilir.

Aşınma kontrollü sistemlerde ilaç aşınabilir bir polimer matris içerisine dağıtılarak veya moleküler bağlar (hidrofobik, iyonik vb.) ile yüklenir. Matris bozduğunda ve ilaçlar çözünüp difüzlendiğinde salım gerçekleşir. Bu sistemlerde, ilacın çözünürlüğü ve difüzyonu ve polimer matrisin aşınması salım profilini kontrol eder. Polimer-ilaç çifti kontrollü sistemlerde ilaç, hidrolitik veya enzimatik yollarla bozunabilen bağlaçlar ile polimer matrise kovalent bağlanır (Jantzen & Robinson, 2002; Neeraj Agrawal & Alok Mukerji, 2013; Uhrich ve ark., 1999). Bu sistemler, ilacın sistemik dolaşımında inaktif ve stabil olarak bulunduğu dağılım kontrollü salımda kullanılabilir. İlaç salım mekanizmasını, hedef bölgenin ortam koşulları kontrol eder. İlaç ve polimer arasındaki kovalent bağların hidrolitik veya enzimatik olarak yıkılması sonucu ilaç salınarak aktif hale geçer. Örneğin ilacın bağırsaklara iletilmesi için bu sistem kullanıldığında, gastrointestinal sistemde bulunan bakteriler ürettikleri enzimler sayesinde kovalent bağları yıkar (Uhrich ve ark., 1999).

#### **2.3.1.5 Şişme kontrollü salım**

Şişme kontrollü sistemelerde ilaç, kuru haldeki üç boyutlu şişebilir polimer ağına homojen bir şekilde dağıtılır. Bu sistemler su veya vücut sıvısı ile temas ettiğinde, üç boyutlu polimer ağına su girişi olur. Böylece sistemdeki sulu çözücü miktarının ve ağ büyüklüğünün artması sonucu polimer ağından ilacın çözünmesi ve difüzyonuyla birlikte ilaç salımı gerçekleşir. Sistemlerin şişebilme özellikleri, ilacın çözünürlüğü ve difüzyonu ilaç salımını kontrol eden temel parametrelerdir (Shaik, Korsapati, & Panati, 2012).

Eşitlik 2.2’ de verilen Korsmeyer-Peppas eşitliğinin bir uyarlaması, sistem hem difüzyon kontrollü hem de şişme kontrollü ise sistemi tanımlamak için kullanılabilir (Lin & Metters, 2006).

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_1 \cdot t^m + k_2 \cdot t^{2m}$$

2.2

$M_t$  : Belirli bir zamana kadar salınan ilaç miktarı (mol/m<sup>3</sup>)

$t$  : Zaman (s),

$M_\infty$  : Salınan tüm ilacın miktarı (mol/m<sup>3</sup>),

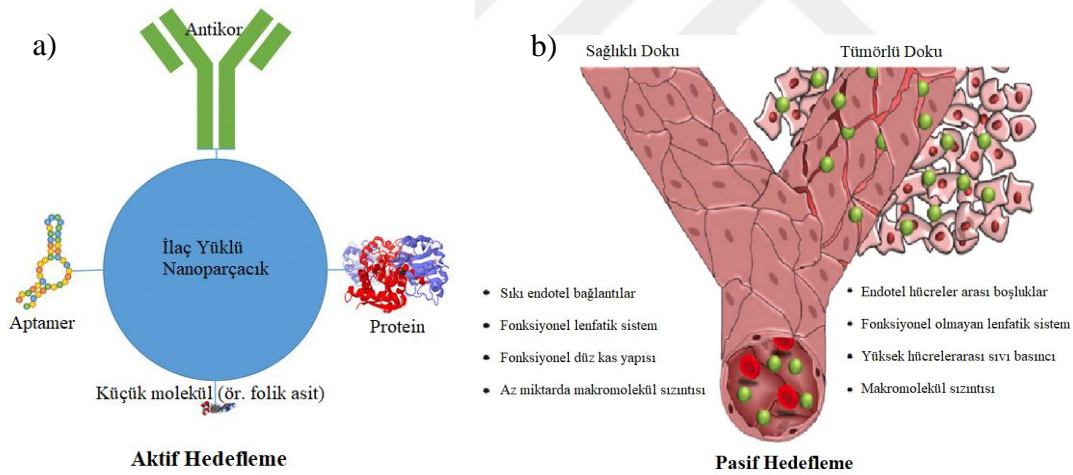
$k_1 \cdot t^m$  : İlaç salım mekanizmasına difüzyonun etkisi

$k_2 \cdot t^{2m}$  : İlaç salım mekanizmasına şişmenin etkisi

$k_1$  ve  $k_2$  : Sistemi tanımlayan yapısal/geometrik birer sabit (s<sup>-n</sup>).

## 2.4 Hedeflenmiş İlaç Taşınımı

İlacın idealde kontrollü salımının sağlanmış olması, ilacın vücutta istenilen bölgeye gittiğini garanti etmez. İlacın vücutta istenilen bölgeye seçici olarak gittiğinden emin olunması için hedeflenmesi gerekir. Hedeflenmiş taşınım, ilacın pasif veya aktif hedeflenmesi ile gerçekleşebilir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5 : (a) Aktif hedefleme, (b) Pasif hedefleme.

İlacın artmış geçirgenlik ve alıkonma etkisi kullanılarak hedeflenmesine pasif hedefleme denir. Artmış geçirgenlik ve alıkonma etkisi, tümörün kendine özgü anatomik ve patofizyolojik yapısından kaynaklanır. Sağlıklı doku ve organlardan farklı olarak çoğu tümör büyümek için fazla damarlanmış bir yapı oluşturur (hipervasküler) ve zarar görmüş kan damarlarına sahiptir, endotel hücreler arasında geniş boşluklar vardır, düz kas katmanları yoktur. Sağlıklı dokunun sıkı yapısının aksine tümörlü bölgedeki bu boşluklar ilacın seçici olarak tümöre

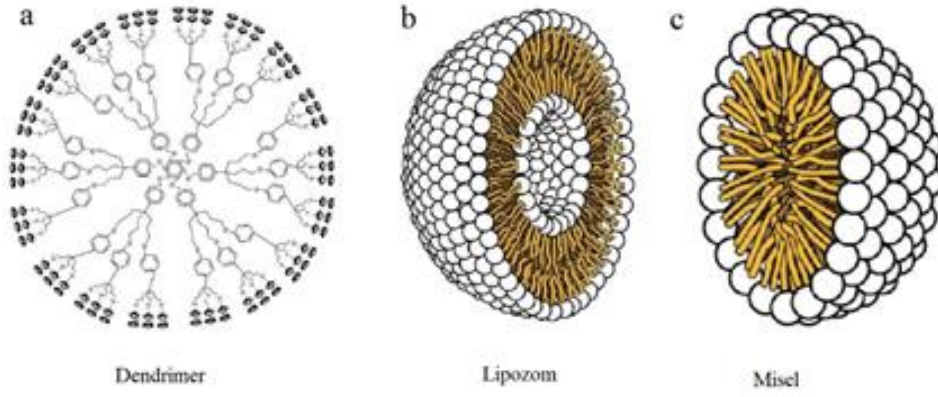
taşınmasını sağlar. Bunlara ek olarak tümörlü bölgede lenf sistemi zarar gördüğünden içeri giren moleküller hemen temizlenemez ve uzun süre orada kalır (Maeda, Wu, Sawa, Matsumura, & Hori, 2000).

Aktif hedeflemede ise peptit (Maeda ve ark., 2000), protein (Maeda ve ark., 2000), antikör (Colombo ve ark., 2010), aptamer (Maeda ve ark., 2000), polisakkarit (Lemarchand, Gref, & Couvreur, 2004) gibi ligandlar veya folik asit gibi küçük moleküllerin (Manuscript, Targeted, & Therapy, 2011) bağlanması ile modifiye edilen ilaç seçici olarak tümörlü bölgeyi tanır ve buraya bağlanır.

## **2.5 Nanoparçacıkların İlaç Taşıyıcı Sistem Olarak Kullanılması**

Nanoteknoloji, genellikle boyutları 1-100 nanometre aralığında olan maddelerin üretimi ve mühendislik uygulaması olarak tanımlanır (Darling-Hammond, 2000). Nanoteknolojinin; biyolojik sistemleri kontrol etme, görüntüleme, tanı ve tedavi alanında kullanımı ise nanotıp olarak tanımlanır (Moghimi, 2005). Nanotıp uygulamalarının yeni cihazların ve ilaçların geliştirilmesine, birçok hastalığın erken tanı ve tedavisine, hasta yaşam kalitesini yükselterek öncülük etmesi beklenmektedir (Pelaz ve ark., 2017). Nanoteknolojideki gelişmelerin ilaç taşıyıcı sistemlere önemli ölçüde etkisi vardır ve nanoparçacıklar, birçok klinik uygulama ve araştırmada önemli rol oynamaktadır. Nanoparçacık platformlarına: dendrimer (Şekil 2.6-a), lipozom (Şekil 2.6-b), misel (Şekil 2.6-c), nanokabuk, albümin temelli ve polisakkarit temelli nanoparçacıklar, metalik, seramik ve polimerik nanoparçacıklar örnek verilebilir (Darling-Hammond, 2000).

Günümüzde kullanılan konvansiyonel ilaç taşıyıcı sistemlerde; ilacın çözünürlüğünün ve biyodağılımının az olması, in vivo ortamda ilacın hızlı bozunması ve aktivitesini kısa sürede kaybetmesi, hücrelere toksik etki (sitotoksikite) göstermesi ve yan etkilere ek olarak doku hasarı oluşturması sebebiyle yeni ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaç doğrultusunda ilaç taşıyıcı sistemlerde nanoparçacıkların kullanılmasının avantajları: ilacın suda çözünürlüğünü arttırmak, salım süresini uzatmak ve biyoyararlanımını arttırmak,



Şekil 2.6 : (a) Dendrimer, (b) Lipozom, (c) Misel

hedeflenmiş taşınımını sağlamak, toksik yan etkilerini azaltmak, ilacı bozunmadan korumak, ilacın tüm alım yolları için uygun form sağlanması olarak sıralanabilir (Parveen, Misra, & Sahoo, 2012).

### 2.5.1 Teranostik nanoparçacıkların ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılması

Tanı ve tedaviyi birarada sunan sistemlere teranostik sistemler denir. Etkili bir ilaç taşınım sistemi geliştirmenin yanı sıra yüklenen ilacın hedeflenen bölgeye taşınımının kontrolü, diğer bir deyişle ilacın sistemik seviyeden hücre altı seviyesine kadar takip edilmesi ve görüntülenmesi de çok önemlidir. Farklı nanoparçacık sistemleri in vitro ve in vivo çalışmalarda tanı ve tedavi amacıyla kullanılabilir (Parveen ve ark., 2012).

Kullanılan kontrast ajanına göre: optik ve nükleer görüntüleme, manyetik rezonans görüntüleme, bilgisayarlı tomografi ve ultrason yöntemleri kullanılarak ilacın biyodağılımı, birikimi ve salınımı izlenebilir (Manuscript, Agents, Controlled, Drug, & Carriers, 2012) Lipozom, misel, silika tabanlı poröz nanoparçacıklar, polimerik, altın tabanlı, nanotüp tabanlı nanoparçacıklar teranostik amaçlı kullanılabilir (Michael J. Sailor, 2013).

## 2.6 Nanoparçacık Sentezleme Yöntemleri

Nanoparçacıkların sentezlenmesinde iki temel yaklaşım kullanılır.

Yukarıdan aşağıya üretim yaklaşımı: Hacimsel malzemeye dışarıdan mekaniksel ve/veya kimyasal işlemler ile enerji verilmesi sonucunda malzemenin nano boyuta

kadar inebilecek küçük parçalara ayrılması esas alınmaktadır. Yukarıdan aşağıya yaklaşımı ile çalışan yöntemlere örnek olarak; mekanik öğütme, nanolitografi, lazer ablasyon, püskürtme ve termal dekompozisyon verilebilir (Anu Mary Ealia & Saravanakumar, 2017).

Aşağıdan yukarıya üretim yaklaşımı: Atomik veya moleküler boyuttaki yapıları kimyasal reaksiyonlar ile büyütürken partikül oluşumunun gerçekleştirilmesi olarak tanımlanmaktadır. Aşağıdan yukarıya yaklaşımı ile çalışan yöntemlere örnek olarak: Kimyasal buhar kaplama, alev sentezi, sol jel ve lazer piroliz yöntemleri verilebilir (Anu Mary Ealia & Saravanakumar, 2017; Dhand ve ark., 2015).

Nanoparçacık üretiminde kullanılan yöntemlerin yukarıda açıklanan ayrımı dışında fiziksel, kimyasal ve biyolojik temelli yöntemler olarak da üç ayrı grupta sınıflandırılması mümkündür.

- Fiziksel yöntemler: Mekanik basınç, yüksek enerjili radyasyon, ısı veya elektrik enerjisi uygulanarak; malzemenin aşınması, erimesi, buharlaşması veya yoğunlaşması ile nanoparçacıkların elde edildiği yöntemlerdir.
- Kimyasal yöntemler: Sol jel, hidrotermal, kimyasal buhar kaplama metodlarında olduğu gibi kimyasal reaksiyonların gerçekleştirdiği yöntemlerdir.
- Biyolojik Yöntemler: Bakteri, mantar, virüs, maya gibi biyolojik sistemlerin metal ve metal oksit nanoparçacıkların sentezinde kullanıldığı yöntemlerdir (Dhand ve ark., 2015).

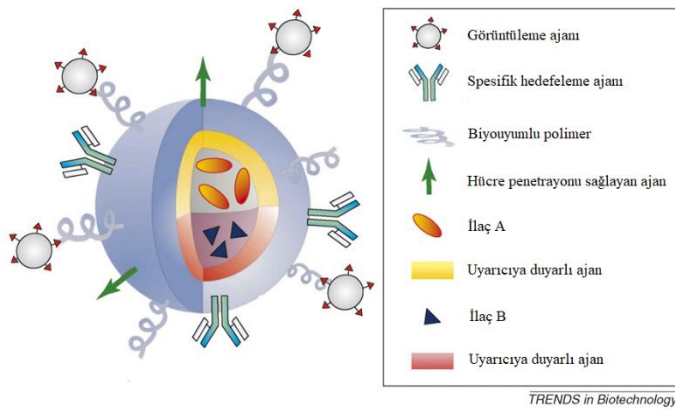
### **2.6.1 Ultrasonikasyon yöntemi ile nanoparçacık sentezi**

Sonokimya, güçlü ultrason radyasyonu (20 kHz-10 MHz) uygulanarak moleküllerin kimyasal reaksiyona girdiği çalışmaların yapıldığı bir alandır. Sonokimya sürecinden sorumlu fiziksel olay akustik kaviteasyon etkisidir.

Sonokimyanın temeli, sıvı içerisinde oluşan baloncukun büyüyerek patlaması esasına dayanır. Baloncuk maksimum boyutuna ulaştığında son aşama olan patlama basamağı gerçekleşir. İnorganik ürünlerin elde edildiği neredeyse tüm sonokimyasal reaksiyonlarda nanomalzeme elde edilir. Elde edilen bu malzemeler farklı boyutta, şekilde, yapıda ve katı fazda (kristal veya amorf) olabilir, fakat her zaman nano boyuttadır (Gedanken, 2004). Yapılan çalışmalarda herhangi bir proteinin sonikasyon ile nanokürelere dönüştürülebileceği gösterilmiştir (Avivi, Nitzan, Dror, & Gedanken, 2003; Baram-Pinto ve ark., 2012).

## 2.7 Nanoparçacıkların Fonksiyonelleştirilmesi

Nanoparçacıkların görüntüleme, tanı ve ilaç taşınımı alanlarında sağladığı avantajlara rağmen, in vivo ortamda hücre içerisindeki değişimlerin eş zamanlı görüntülenmesi, istenilen bölgeye spesifik hedefleme veya hedef hücre içerisindeki etkin ilaç taşınımı gibi bazı uygulamaların hala geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu anlamda, multifonksiyonel (birden fazla fonksiyonu olan) nanoparçacıkların tasarlanması, hazırda varolan nanoparçacıkların karakteristik özelliklerinin iyileştirilmesine katkıda bulunmaktadır.



Şekil 2.7 : Multifonksiyonel nanoparçacık.

Örneğin lipozom gibi monofonksiyonel bir sistem sadece ilacın taşınımını sağlamakta, öte yandan sağlıklı ve kanserli hücre veya dokuları birbirinden ayıramamaktadır. Multifonksiyonel nanoparçacıklar farklı özellikleri tek bir kararlı yapı içerisinde bulundurabilir (Şekil 2.7). Örneğin; merkezdeki nanoparçacığa spesifik hedefleme ajanı bağlanarak, hedef hücrenin kendine özgü yüzey özelliklerinin tanınması sağlanabilir. Aynı zamanda bu yeni yapıya; ilaç, hücreye penetrasyonu sağlayan ajan ile birlikte bir görüntüleme ajanı bağlanarak ilaç taşınımı izlenebilir (Sanvicens & Marco, 2008). Çizelge 2.1' de multifonksiyonel nanoparçacıkların geliştirilmesinde kullanılan bazı yaklaşımlar özetlenmiştir.

Çizelge 2.1 : Multifonksiyonel nanoparçacıkların geliştirilmesinde kullanılan bazı yaklaşımlar.

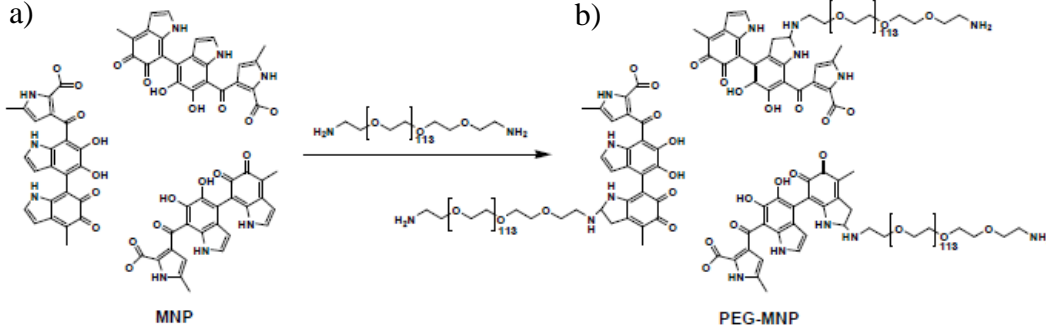
Ozellik	Avantaj	Fonksiyonelleştirme Unsuru	Referans
Stabilite, biyoyumumluluk	Kandaki ilaç seviyesini koruyarak, özgüllüğü arttırmak	PEG Fosfolipit misel Polipeptit	(Gref ve ark., 1994) (Dubertret ve ark., 2002) (Pinaud, King, Moore, & Weiss, 2004)
Spesifik Hedefleme	Toksik etkinin azaltılması	Antikor Peptit Aptamer Karbohidrat Folik asit	(Lukyanov, Elbayoumi, Chakilam, & Torchilin, 2004) (Akerman, Chan, Laakkonen, Bhatia, & Ruoslahti, 2002) (Farokhzad ve ark., 2006) (Zhu, Xue, Guo, Zhang & Marchant, 2007) (Kukowska-Latallo ve ark., 2005)
Hücre içine penetrasyon	Nanoparçacığın farmakokinetiğinin ve biyodağılımının değiştirilmesi, etkinliğinin artırılması	Trans-transkripsiyon aktivatörü (TAT) Transferrin Katyonik polimerler	(Sawant ve ark., 2006) (Bartlett, Su, Hildebrandt, Weber, & Davis, 2007) (Luten, van Nostrum, De Smidt, & Hennink, 2008)
Görüntüleme	Eş zamanlı olarak nanoparçacık biyodağılımının izlenmesi	Manyetik nanoparçacıklar	(Medarova, Pham, Farrar, Petkova, & Moore, 2007)

### 2.7.1 Nanoparçacıkların polietilen glikol ile fonksiyonelleştirilmesi

Polietilen glikol, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi'nce (FDA) onaylanmış biyobozunur bir polimerdir. Su molekülleri, polietilen glikoldaki eter oksijenine hidrojen bağı ile bağlanarak PEG zincirlerinin de esnekliği sayesinde bir bulut oluşturur. Bu bulut, nanoparçacığın makrofajlar tarafından tanınıp fagosite edilmesini engeller. Bu sayede, PEG ile modifiye edilmiş nanoparçacıkların; vücut

içerisinde daha uzun süre kalması, pasif hedefleme ile istenilen bölgeye ulaşması ve biyoyararlanımının artırılması sağlar.

Tez çalışması kapsamında suda çözünebilir şekilde sentezlenen melanin (MNP) ve ardından PEG ile modifiye edilmiş melanin nanoparçacıkların (PEG-MNP) yapısı aşağıdaki gibidir (Şekil 2.8).



Şekil 2.8 : (a) Melanin nanoparçacığının, (b) PEG ile modifiye edilmiş melanin nanoparçacığının kimyasal yapısı.

## 2.8 Nanoparçacıklara İlaç Yüklenmesi

Nanoparçacıklara ilaç yüklemesi; nanoparçacık üretimi sırasında ilacın eklenmesi veya nanoparçacıklar üretildikten sonra ilaç solüsyonu içerisinde inkübe edilerek ilacın absorbe olması yoluyla iki şekilde gerçekleşebilir. Adsorpsiyon ile karşılaştırıldığında nanoparçacık üretimi sırasında ekleme metodunda daha fazla ilaç sisteme hapsedilebilir (Soppimath, Aminabhavi, Kulkarni, & Rudzinski, 2001).

## 2.9 Melanin' in Yapısı ve Özellikleri

Genel tanım olarak melanin: fenollerin oksidasyonu ve sonraki ara fenoller ile kinonların polimerizasyonu sonucu oluşmuş heterojen bir polimerdir.

Melanin doğada eumelanin, pheomelanin, neuromelanin, allomelanin ve pyromelanin olmak üzere, beş farklı tipte bulunur.

Eumelanin: L-tirozin veya L-dopa'nın, 5,6-dihidroksindol (DHI) veya 5,6-dihidroksindol-2-karboksilikasit (DHICA) ile oksidatif polimerizasyonu sonucu oluşan siyah-kahverengi bir pigmenttir. Siyah saçta ve mürekkep balığına ait mürekkepte bulunur.

Pheomelanin: 5-S-Sistein-dopamin ve 5-S-Sistein-dopa'nın oksidatif polimerizasyonu sonucu oluşan sarımsı-kırmızımsı renkte bir pigmenttir.



Eumelanin'den temel farkı aromatik halkasında kükürt bulundurmasıdır. Kırmızı saçta, çillerde ve kuş tüyünde bulunur.

Neuromelanin: Dopamin ve diğer katekolamin öncüllerinin oksidasyonu sonucu nöronlar tarafından üretilen koyu pigmenttir. İnsanlarda bulunan nöromelanin yapısı merkezdeki pheomelanini kaplayan eumelanin yüzeyden oluşur.

Allomelanin: Bitkilerde katekol oksidaz ile katekol öncüllerinden üretilen koyu kahverengi-siyah renkteki pigmentlerdir. Yapısında nitrojen bulundurmaz. Katekol-melanin şeklinde de adlandırılır.

Pyomelanin: Genelde mikroorganizmalar tarafından homogentisik asit varlığında üretilen koyu renkli pigmentlerdir.

Sentetik Melanin: Genelde L-dopa, L-dopamin, DHI ve DHICA öncüllerinin tirozinaz, peroksidaz ve hidrojen peroksit ile katalitik reaksiyonları sonucu veya bazik pH koşulunda ( $\text{pH} > 7.5$ ) oksidasyon sonucu polimerleşmesiyle elde edilir. Özellikle, dopaminin polimerleşmesi sonucu elde edilen polidopamin, eumelanine benzer yapıdadır (Eom, Woo, & Shim, 2016).

Melaninin özellikleri:

- Elektriksel özellikleri: Özellikle eumelanin, yapısında bulunan  $\pi$ - $\pi$  bağı sayesinde elektriksel iletkenliğe sahiptir. Doğal ve sentetik melaninlerin elektriksel iletkenlikleri  $\sim$  S/cm aralığındadır (Baraldi, P. Cappelletti, R. Crippa, 1979) (Osak, Tkacz, Czternastek, & Sławiński, 1989) (Bothma, De Boor, Divakar, Schwenn, & Meredith, 2008) (Chen ve ark., 2013) (Wünsche, Cicoira, Graeff, & Santato, 2013).
- Biyoyumluluk: Melaninin biyobozunur ve biyoyumlu olduğu, in-vitro ve in-vivo çalışmalarda gösterilmiştir. Biyoyumluluğuna ek olarak dokularda rejeneratif etki de göstermektedir (Kai, Prabhakaran, Jin, & Ramakrishna, 2013) (Bettinger, Bruggeman, Misra, Borenstein, & Langer, 2009).
- Metal iyonları ile şelat oluşturması: Melanin, yapısında bulunan o-benzosemikinon, cis-semidiones, ve flavin semikinon ile , , gibi metal iyonlarına bağlanabilir (Riley, 1997), (Felix, Hyde, Sarna, & Sealy, 1978). DOPA' nın oksidatif polimerizasyonu sonucu sentezlenen melanin parçacıklarının yüzeyine kurşun, bakır ve kadmiyum gibi ağır metaller absorbe olabilir (Kim, Ju, & Lee, 2012).
- Radikal tutucu: Melanin aynı zamanda antioksidan özellik göstermektedir (Wang ve ark., 2015) (Shanmuganathan, Cho, Iyer, Baranowitz, & Ellison, 2011).

## **2.10 Doksorubisin'in Yapısı ve Özellikleri**

Doksorubisin (Adriamycin) onkolojik uygulamalarda 1960 yılı sonundan beri kullanılmaktadır (Dunn, 1994). İleri seviye meme kanseri, akciğer kanseri, AIDS ile ilişkili Kaposi sarkoması, akut lösemi, özafagus karsinomları, lenfomalar ve miyelom gibi bir çok katı tümörün ve hematolojik malignitelerin tedavisinde antiasiklin antibiyotik olarak kullanılmaktadır (Dunn, 1994; Hortobagyi, 1997). Mide, karaciğer ve pankreas kanserleri daha az duyarlı olmalarına rağmen genel faydalarına bakıldığında doksorubisin ile tedavi edilmektedir (Dunn, 1994).

Doksorubisin, DNA sentezini dolayısıyla makromolekül biyosentezini interkalasyon ile engelleyerek, topoizomerez II enzimini (DNA replikasyonunda görevli bir enzim) inhibe ederek, serbest radikal oluşturarak ve lipit peroksidasyonu yaparak işlev görür. Doksorubisin en çok kullanılan anti-kanser ilaçlarından biridir ve en önemli yan etkisi ise kardiyotoksik oluşudur (Gewirtz, 1999; Hortobagyi, 1997; Luo, Carter, Miranda, & Lovell, 2017; Momparler, Karon, Siegel, & Avila, 1976).

## **2.11 Karakterizasyon Teknikleri**

### **2.11.1 Geçirimli elektron mikroskopu**

Geçirimli Elektron Mikroskopu, görüntüleme ve kırınım tekniklerini birlikte kullanarak malzemelerin mikroyapılarının ve kristal yapılarının belirlenmesini sağlayan bir malzeme karakterizasyon cihazıdır. Nano boyutta ve ince alanlardan, milyon katı büyütmelede malzemenin kristalagrofik ve morfolojik bilgilerine aynı anda ulaşılabilir. TEM ile görüntü ve kırınım bilgisini elde etmenin temel prensibi, ortasında çok küçük bir delik bulunan numuneye paralel bir elektron demeti göndermek ve numuneden doğrudan geçen kırınımına uğramamış ışınları ve numunenin belirli düzlemlerinden Bragg şartlarına uygun açılarda kırınımına uğramış ışınları numunenin altında toplamak esasına dayanır. Aydınlık alan görüntülerinde sadece geçen ışın demeti kullanılarak, karanlık alan görüntülerinde kırınımına uğramış ışınlardan biri kullanılarak numunelerdeki mikron altı boyutlardaki oluşumların incelenebilir ve varolan ikinci fazların ayırt edilebilir.

### **2.11.2 Fourier dönüşümlü kızıl ötesi spektrometre**

FTIR matematiksel Fourier dönüşümü yöntemi ile ışığın infrared yoğunluğuna karşı dalga sayısını ölçen analitik bir yöntemdir. Elektromanyetik ışık dizisinin kızıl ötesi bölgesi  $14000\text{ cm}^{-1}$  ile  $10\text{ cm}^{-1}$  arasındadır ve yakın dalga boylu kızıl ötesi (NIR;  $4000\sim 14000\text{ cm}^{-1}$ ), orta dalga boylu kızıl ötesi (MIR;  $400\sim 4000\text{ cm}^{-1}$ ) ve uzak dalga boylu kızıl ötesi (FIR;  $4\sim 400\text{ cm}^{-1}$ ) olmak üzere üç ana bölgeden oluşmaktadır (Skoog, Holler, & Crouch, 1998). FTIR spektrometresi geniş spektrum aralıklarında yüksek çözünürlüklü veri toplayabilir. Numune tarafından absorbe edilen ışık miktarını ölçebilmek için tek seferde farklı frekanslarda ışık gönderir. Farklı frekans kombinasyonlarında gönderilen ışık demeti ile farklı dalga boylarının absorpsiyonu bilgisayarda analiz edilir.

### **2.11.3 Ultraviyole ve görünür ışık absorpsiyon spektroskopisi**

Elektromanyetik radyasyon (örneğin görünür ışık) karakteristik bir dalga boyu ve frekansı olan bir dalga olarak kabul edilir. Spektrumda birbirini takip eden tepeler arasındaki mesafe dalga boyu olarak adlandırılır. Belirli bir noktadan belirli bir zamanda geçen dalga sayısı ise frekans olarak adlandırılır. UV-Vis Spektrometre kısa süre içerisinde tüm bileşen dalga boylarını tarar. Görünür ışık bölgesi 400 ile 800 nm, UV bölgesi 200 ile 400 nm arasındadır. Dikey eksen absorpsiyon, yatay eksen dalga boyu görüntülenir.  $\lambda_{\text{max}}$  maksimum absorbansın dalga boyu olup, ölçülen numunenin karakteristik bir değeridir.

### **2.11.4 Zeta potansiyel analizi**

Tanecikler arasındaki itme veya çekme değeri ölçümüne zeta potansiyel denir. Zeta potansiyel ölçümü dağılma mekanizmaları ile ilgili ayrıntılı bilgi verir. Belirli bir yükteki tane, süspansiyon içerisindeki karşı yükteki iyonları çekmesi sonucunda yüklü tanenin yüzeyinden dışa doğru yayılan güçlü bir bağ yüzeyi oluşur. Yayılmış bu yüzey içerisinde "kayma yüzeyi" adı verilen bir sınır bulunur. Yüklü tane ve onun etrafında bulunan iyonların kayma yüzey sınırına kadar olan kısmı bir bütün olarak hareket eder. Bu kayma yüzeyindeki potansiyel zeta potansiyeli olarak isimlendirilir. Zeta potansiyeli tanenin yüzey yapısından ve içinde bulunduğu sıvının içeriğinden etkilenir. Tanelerin polar sıvılar içerisindeki davranışlarını yüzeylerindeki elektrik yükü değil, zeta potansiyel değerleri belirler.

### **2.11.5 Hücre canlılığı belirleme testi 3-(4,5-dimetiltiyazol2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum-bromür testi**

Hücre canlılığı belirleme testi, 3-(4,5-dimetiltiyazol2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum-bromür (MTT) bileşiğinin yapısında bulunan tetrazolyum halkasının, canlı ve mitokondriyal fonksiyonları bozulmamış bir hücredeki mitokondriyal bir enzim olan süksinat dehidrojenaz enzimi ile formazana dönüşmesi temeline dayanır (Mosmann, 1983; Alley ve ark., 1988). Canlı hücrede soluk sarı renk veren MTT, tetrazolyum halkasının parçalanarak çözünmeyen formazan ürününe dönüşmesi sonucu koyu mavi-mor renk verir. Böylece canlı ve mitokondriyal fonksiyonları bozulmamış hücreler mor renkte boyanırken, ölü ve mitokondriyal fonksiyonu bozulmuş hücreler boyanmaz. Hücreler dimetil sülfoksit (DMSO) ile çözündürüldükten sonra formazan çözeltisine ait rengin şiddeti spektrofotometrik olarak 570 nm'de ölçülür. MTT'nin redüksiyonu sadece metabolik olarak aktif olan hücrelerde meydana gelir ve bu aktivitenin seviyesi hücrelerin canlılıklarıyla ölçülür (Alley ve ark., 1988; Fotakis ve Timbrell, 2006; Mosmann, 1983; Van Meerloo ve ark., 2011).

### 3. DENEYSEL GEREÇLER VE YÖNTEM

#### 3.1 Deneysel Gereçler

Melanin (Sigma-Aldrich), sodium hidroksit (Sigma-Aldrich), hidroklorik asit (37 wt %, Sigma-Aldrich), metoksipolietilen glikol amin (mPEG<sub>5000</sub> -NH<sub>2</sub>, M<sub>a</sub>=5000, Sigma-Aldrich), 3-(4,5-dimetiltiyazol2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum-bromür (MTT, Thermo-Fischer), fosfat tampon çözeltisi (Sigma-Aldrich) firmalarından temin edilmiştir. Ultra saf su (18 MOhm) eldesi için Millipore firmasına ait cihaz kullanılmıştır. Geçirimli Elektron Mikroskopu (FEI Tecnai G<sup>2</sup> Spirit BioTwin CTEM, ODTÜ Merkez Laboratuvarı), Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi (FT-IR) Spektrometre (Thermo Fisher), Ultraviyole ve görünür ışık (UV-Vis) absorpsiyon spektrometresi (Hitachi), spektrofotometre (Molecular Devices), Zeta Potansiyel Analizi (Malvern, Zetasizer, Nano ZS) cihazları, fiziksel, kimyasal ve fizikokimyasal analizlerde kullanılmıştır.

#### 3.2 Melanin Nanoparçacıkların Üretimi ve Karakterizasyonu

Melanin nanoparçacıkların üretilmesinde yukarıdan aşağıya tasarım yaklaşımı kullanılmıştır. Ticari olarak temin edilen melanin ilk olarak suda çözünebilir hale getirilmiş ardından ultrasonikasyon ile kavitasyon yöntemi uygulanarak nano boyuta inilmiştir. Melaninlerin suda çözünebilir hale getirilmesi için 20 mg melanin 0,1 M derişiminde 10 ml hacimli sodyum -hidroksit (NaOH) içerisinde karıştırılmış ardından 0,1 M hidroklorik asit (HCl) kullanılarak çözeltinin pH'ı 7 olacak şekilde ayarlanmıştır. Bu işlem sırasında oluşan sodyum klorürü (NaCl) uzaklaştırmak için üretilen nanoparçacıklar ultra saf su içerisinde, 9000 rpm hızda 20 dk süresince santrifüj işlemi ile yıkanmıştır. Yıkama işlemi 5 kez tekrarlanmıştır.

İşlem sonucunda elde edilen koyu kahverengi melanin çözeltisi kurutulduktan sonra 10 mg melanin toz formunda elde edilmiştir.

Elde edilen melanin nanoparçacıkların morfolojisi TEM ile, kimyasal yapısı FT-IR analizi ile, yüzey yükü zeta potansiyel analiz cihazı ile, ışığı absorblama özelliği ise UV-vis spektrofotometre kullanılarak incelenmiştir.

### **3.3 Polietilen Glikol ile Modifiye Edilmiş Melanin Nanoparçacıkların Üretimi ve Karakterizasyonu**

Suda çözünebilir şekilde elde edilen 10 mg melanin tozunun 10 ml ultra saf su içerisinde sulu çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözeltinin pH'ı 0,1 M derişiminde NaOH eklenerek pH:9 olacak şekilde ayarlanmıştır. Ardından 70 mg metoksi polietilen glikol amin'in (mPEG<sub>5000</sub> -NH<sub>2</sub>, M<sub>a</sub>=5000) pH:9 da hazırlanan sulu çözeltisi, melanin çözeltisine eklenmiş ve manyetik karıştırıcı ile 12 saat boyunca karıştırılmıştır.

Karışan solüsyon filtreli santrifüj tüpüne aktarılmış ve nanoparçacıklar ile etkileşime girmeyen mPEG<sub>5000</sub> -NH<sub>2</sub>'nin uzaklaştırılması için santrifüj cihazında 4000 rpm hızda 30 dk süresince ultra saf su ile yıkanmıştır. Yıkama işlemi 3 kez tekrarlanmıştır. Kurutma işlemi sonucunda PEG ile modifiye edilmiş melanin nanoparçacıklar (PEG-MNP) toz formunda elde edilmiştir.

Elde edilen nanoparçacıkların morfolojisi TEM ile, kimyasal yapısı FT-IR analizi ile, yüzey yükü zeta potansiyel analiz cihazı ile, ışığı absorblama özelliği ise UV-vis spektrofotometre kullanılarak incelenmiştir.

### **3.4 Polietilen Glikol ile Modifiye Edilmiş Melanin Nanoparçacıklara Doksorubisin Yüklenmesi ve Karakterizasyonu**

Elde edilen PEG-MNP lere farklı konsantrasyonlarda doksorubisin yüklenmiştir. Bunun için öncelikle doksorubisin suda çözülerek 0,50, 0,25, ve 0,125 mg/ml derişimlerinde 3 farklı çözelti hazırlanmış ve bu çözeltilerden 1 mL hacminde örnekler bir sonraki aşamada kullanılmak üzere ayrılmıştır.

PEG-MNP yapısına doksorubisin yükleme işleminde, 2 mg PEG-MNP, 2 ml ultra saf içerisinde karıştırılarak çözelti homojen hale getirilmiş, ardından bu çözeltinin üzerine yukarıda belirtilen derişimlerde hazırlanan ilaç çözeltilerinden birisi eklenerek toplam hacim 3 ml olmuştur. Bu farklı miktarlarda doksorubisin içeren çözeltiler 24 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır.

24 saat sonunda manyetik karıştırıcıdan alınan karışımlar santrifüj tüplerine aktarılmıştır. 4000 rpm hızda 30 dakika süren santrifüj işlemi sonucunda elde edilen süpernatant, UV-vis spektrofotometrede analiz edilerek PEG-MNP lerin ilaç yükleme kapasitesi, yapıya yüklenemeyerek çözeltilerde kalan doksorubisinin derişimi sonucu belirlenmiştir.

Santrifüj işlemi sonunda elde edilen pelet, ilaç salım çalışmalarında kullanılmak üzere 3 ml fosfat tampon çözeltilisine (PBS) eklenmiştir.

Elde edilen nanoparçacıkların morfolojisi TEM ile, kimyasal yapısı FT-IR analizi ile, yüzey yükü zeta potansiyel analiz cihazı ile, ışığı absorblama özelliği ise UV-vis spektrofotometre kullanılarak incelenmiştir.

### **3.5 Polietilen Glikol ile Modifiye Edilmiş Doksorubisin Yüklü Melanin Nanoparçacıklardan İlaç Salımı**

Farklı konsantrasyonlarda doksorubisin yüklü DOX-PEG-MNPlar, 3ml PBS içerisinde 100 rpm hızında 37 °C sıcaklıkta çalkalamalı inkübatöre yerleştirilmiştir.

DOX-PEG-MNP çözeltileri belirli zaman aralıklarında 4000 rpm hızında 30 dakika boyunca santrifüj edilmiş elde edilmiş, elde edilen süpernatanttan 1 ml PBS alınmış ve geriye kalan çözeltilinin üzerine tekrar 1 ml taze PBS eklenmiştir. 1 ml süpernatant içerisindeki ilaç konsantrasyonu UV-vis-spektrofotometre cihazı kullanılarak doksorubisine ait karakteristik dalga boyu olan 480 nm’de tayin edilmiş ve kümülatif ilaç salım yüzdeleri hesaplanmıştır.

### **3.6 Hücre Canlılığı Testleri**

MDA-MB-231 insan meme kanseri hücre hattı, %10 fetal sığır serumu içeren DMEM (*Dulbecco’s Modified Eagle’s Medium*) içerisinde, %5 CO<sub>2</sub> - %95 O<sub>2</sub> içeren ortamda çoğaltılmıştır. 24 saat boyunca kültürde çoğalan hücreler yerleştikten sonra deneye başlanmıştır. Deney için 96 çukurlu kültür kapları kullanılmıştır. Deney düzeneği her bir çukura 5000 hücre gelecek şekilde kurulmuştur. 24, 48 ve 72 saat aralıklarla MTT testi yapılarak hücre çoğalması takip edilmiştir. Hücreler dimetil sülfoksit (DMSO) ile çözündürüldükten sonra formazan çözeltilisine ait rengin şiddeti spektrofotometrik olarak 570 nm’de ölçülmüştür.



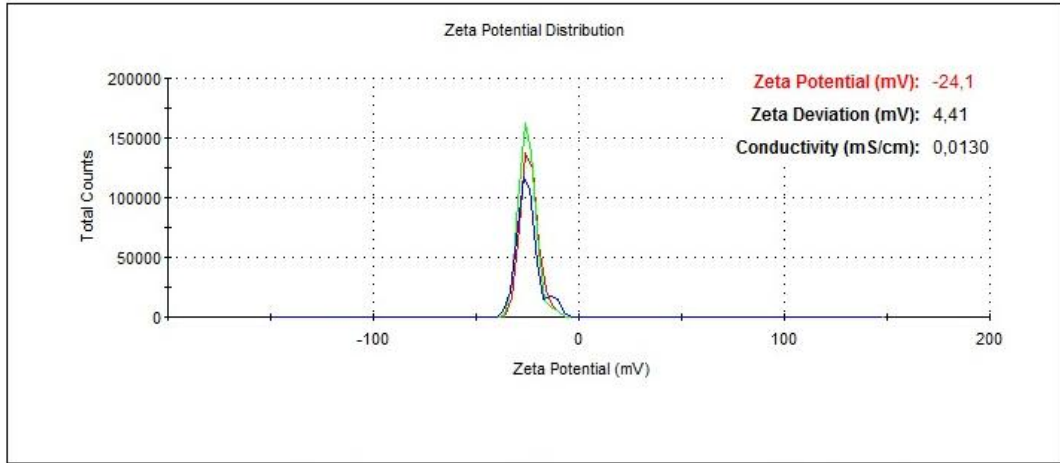


## 4. BULGULAR VE TARTIŞMALAR

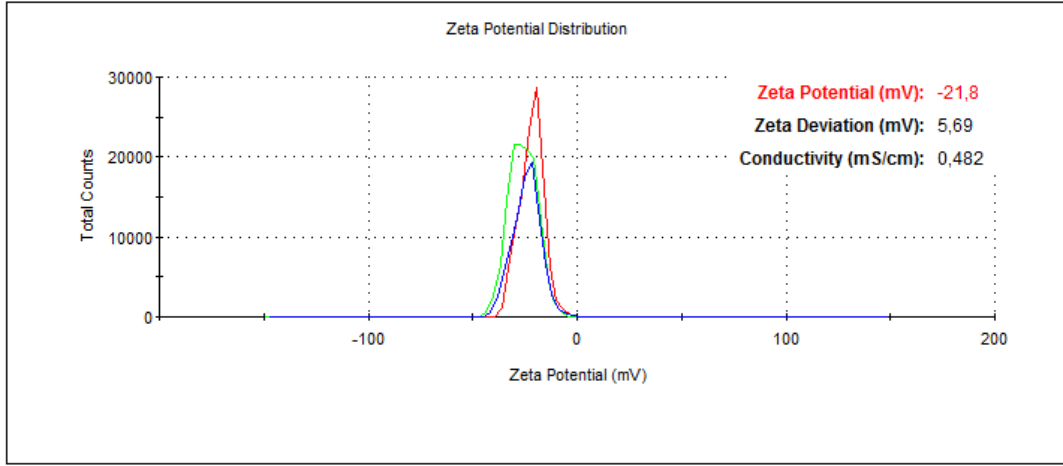
### 4.1 Nanoparçacıkların Karakterizasyonu

Suda çözünebilir hale getirilen melanin nanoparçacıkların, PEG ile modifiye edilmiş nanoparçacıkların ve ilaç yüklü PEG-MNPlerin yüzey yükleri zeta potansiyel analiz cihazı ile incelenmiştir. MNP, PEG-MNP ve DOX-PEG-MNP'lerin yüzey yükleri sırasıyla -24 (Şekil 4.1), -22 (Şekil 4.2) ve -40 mV (Şekil 4.3) olarak belirlenmiştir. Grafiklerdeki mavi, kırmızı ve yeşil eğriler, bir numuneden 3 kez ölçüm alındığını göstermektedir.

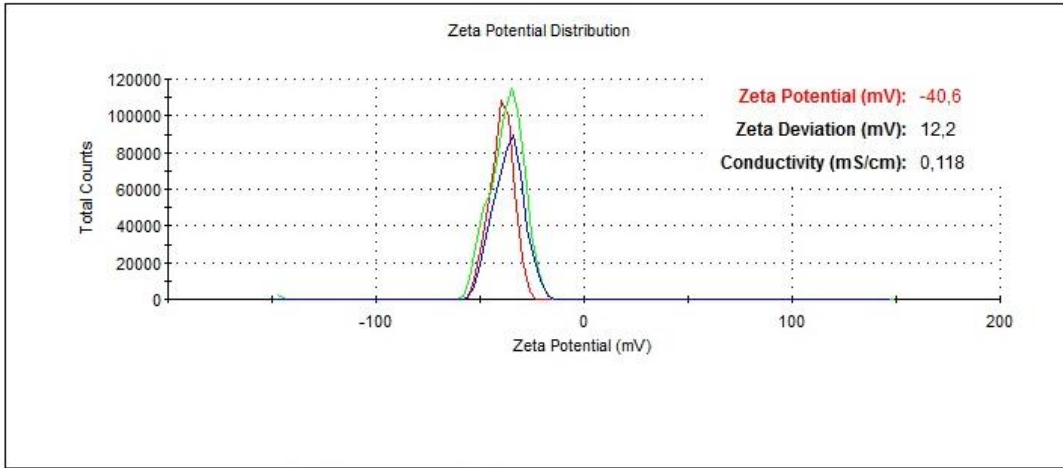
PEG ile modifiye edilmiş dokсорubisin yüklü melanin nanoparçacıklara ait -40 mV seviyesindeki yüzey yük değeri elektrostatik itme ile nanoparçacıkların agregasyonunu engellemektedir. PEG ile modifikasyon ve pozitif yüklü amin gruplarının eklenmesi sonucu, MNP'ye ait -24 mV değerindeki zeta potansiyeli PEG-MNP' de -22 mV değerine düşmüştür.



Şekil 4.1 : Melanin nanoparçacıkların zeta potansiyeli.



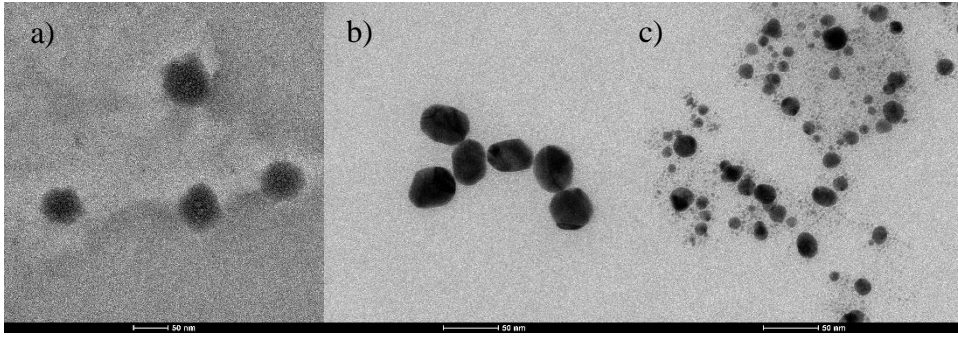
Şekil 4.2 : PEG ile modifiye edilmiş melanin nanoparçacıkların zeta potansiyeli.



Şekil 4.3 : PEG ile modifiye edilmiş dokсорubisin yüklü melanin nanoparçacıkların zeta potansiyeli.

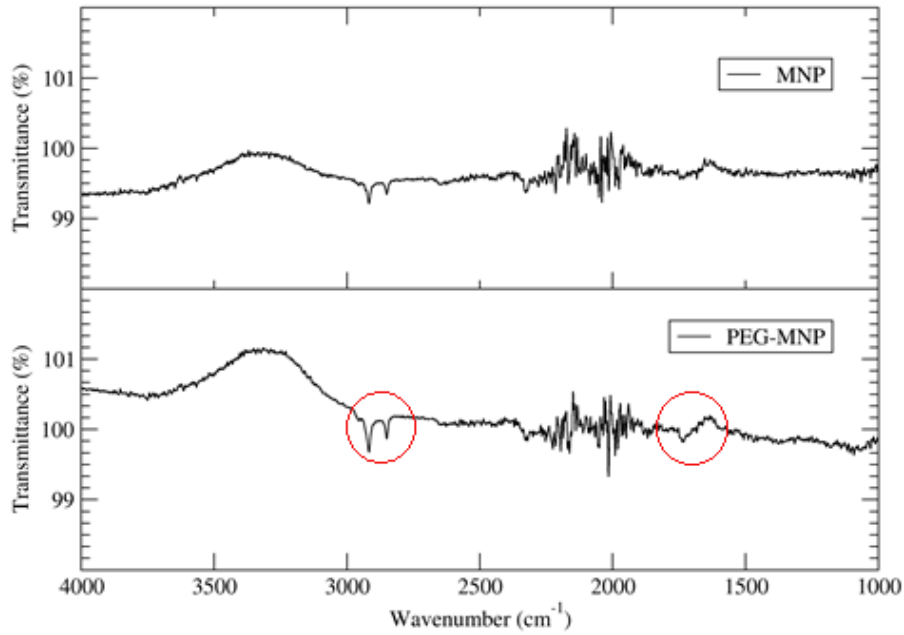
Tez kapsamında hazırlanan melanin nanoparçacıkların (MNP), ardından PEG ile modifiye edilmiş melanin nanoparçacıkların (PEG-MNP) ve ilaç yüklü PEG-MNPlerin (DOX-PEG-MNP) morfolojik özellikleri TEM ile incelenmiştir.

Şekil 4.4' de gösterilen TEM sonuçlarına göre, MNP, PEG-MNP ve DOX-PEG-MNP' lerin küresel şekle sahip olduğu ve sırasıyla 50, 30 ve 15 nm parçacık büyüklüğünde oldukları gözlenmiştir. Melanin nanoparçacıkların ortalama büyüklüklerindeki azalma trendi melaninin şişme özelliği göstermesi ile açıklanabilir. Melanin nanoparçacıklara ilaç yüklenmesi ve PEG ile modifikasyon yapılması bu nanoparçacıkların kendi içerisinde bağ yapma eğilimini arttırarak, parçacık boyutunda küçülmeye sebep olmaktadır.



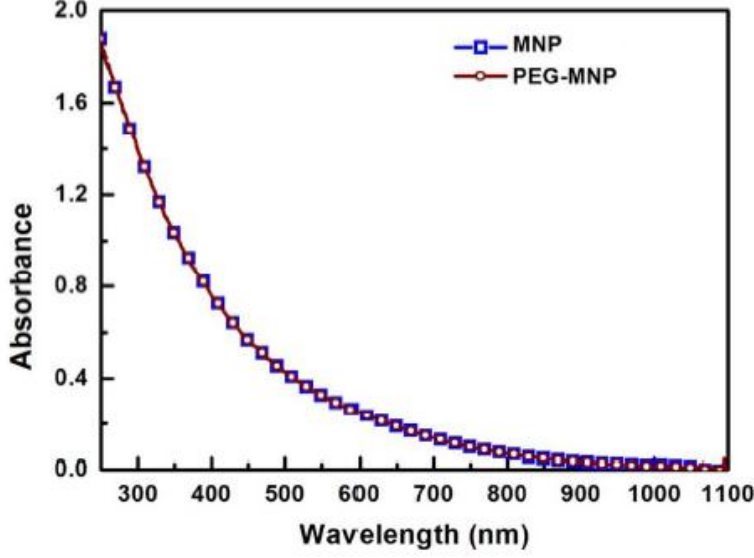
Şekil 4.4 : (a) MNP, (b) PEG-MNP, (c) DOX-PEG-MNP' ye ait TEM görüntüleri (ölçek çubuğu= 50nm).

FTIR analizine göre PEG e ait  $2900\text{ cm}^{-1}$  de (alkil C-H çekme),  $1110\text{ cm}^{-1}$  de (C-O-C çekme),  $1635$  de N-H bükülme görülen karakteristik pikler varlığında PEG ile modifikasyonun başarılı bir şekilde gerçekleştirildiği görülmüştür (Şekil 4.5



Şekil 4.5 : PEG-MNP (üstte) ve MNP' ye (altta) ait FTIR analizi.

UV-vis-spektrofotometre sonuçlarına bakıldığında ise PEG-MNP ile MNP nin benzer ışığı absorblama profilinde oldukları görülmüş (Şekil 4.6), PEG ile modifikasyonun melaninin ışığı absorblama özelliği üzerinde bir etkisi olmadığı yorumu yapılmıştır.



Şekil 4.6 : MNP ve PEG-MNP' ye ait UV-vis-spektrofotometre sonuçları.

#### 4.2 Polietilen Glikol ile Modifiye Edilmiş Doksorubisin Yüklü Melanin Nanoparçacıklardan İlaç Salımı

Farklı konsantrasyonlarda ilaç yüklü DOX-PEG-MNP'lerden zamana göre salınan kümülatif ilaç miktarı Şekil 4.7' de gösterilmiştir.

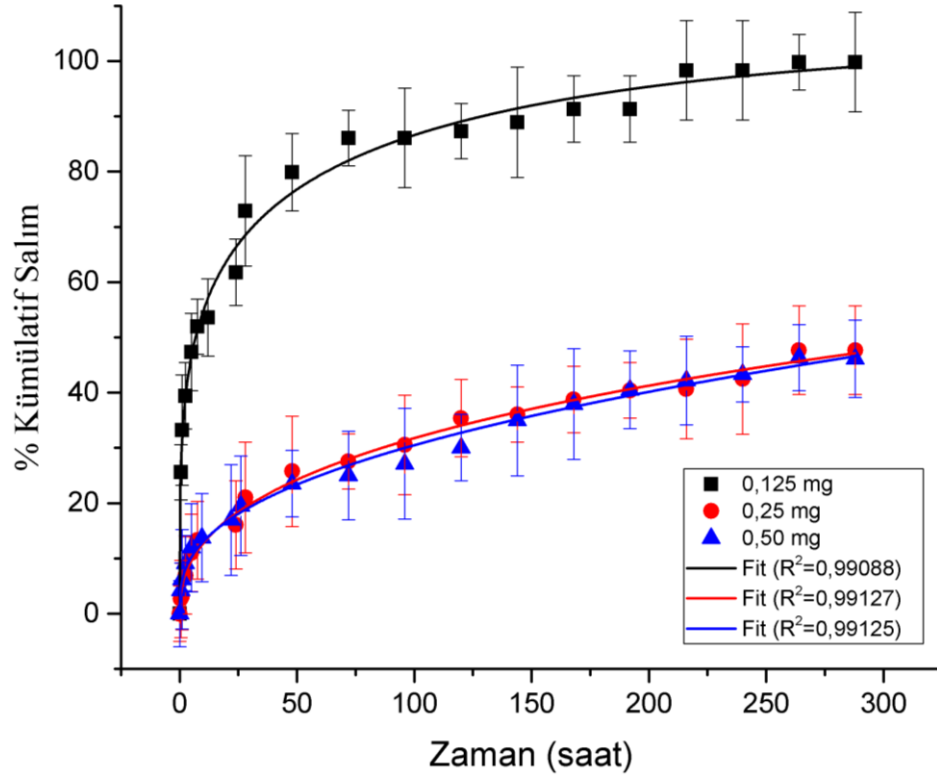
0,125 mg doksorubisin yüklü melanin nanoparçacıkların ilk 24 saatte ilacın %62'sini, 12. günün sonunda ise ilacın tamamını saldığı görülmüştür.

0,25 mg doksorubisin yüklü melanin nanoparçacıkların ilk 24 saatte ilacın %16'sını, 12. günün sonunda ise %48'ini saldığı görülmüştür.

0,50 mg doksorubisin yüklü melanin nanoparçacıkların ilk 24 saatte ilacın %17'sini, 12. Günün sonunda ise %46' sını saldığı görülmüştür.

İlaç miktarı arttıkça salım süresinin uzaması, sisteme yüklenen ilaç miktarının aşırı doyumluk derişimine yaklaşması ile ilişkilendirilebilir.

Önerilen ilaç taşıyıcı sistemin salım mekanizmasını belirlemek amacı ile eğri uydurma (curve fitting) programı kullanılmıştır. İlaç salım verileri, eğri uydurma programı ile farklı kinetik salım modelleri üzerinde denenmiştir. Bu çalışmalar doğrultusunda önerilen ilaç sisteminin, Eşitlik 2.2'de verilen Korsmeyer-Peppas eşitliğinin uyarlamasına uygun olarak, difüzyon kontrollü ve şişme kontrollü salım yaptığı saptanmıştır. Farklı konsantrasyonlarda ilaç yüklü üç DOX-PEG-MNP sisteminin de aynı salım profiline sahip olduğu görülmüştür.



Şekil 4.7 : Farklı konsantrasyonlarda ilaç yüklü DOX-PEG-MNP' lerden zamana göre salınan kümülatif ilaç miktarı.

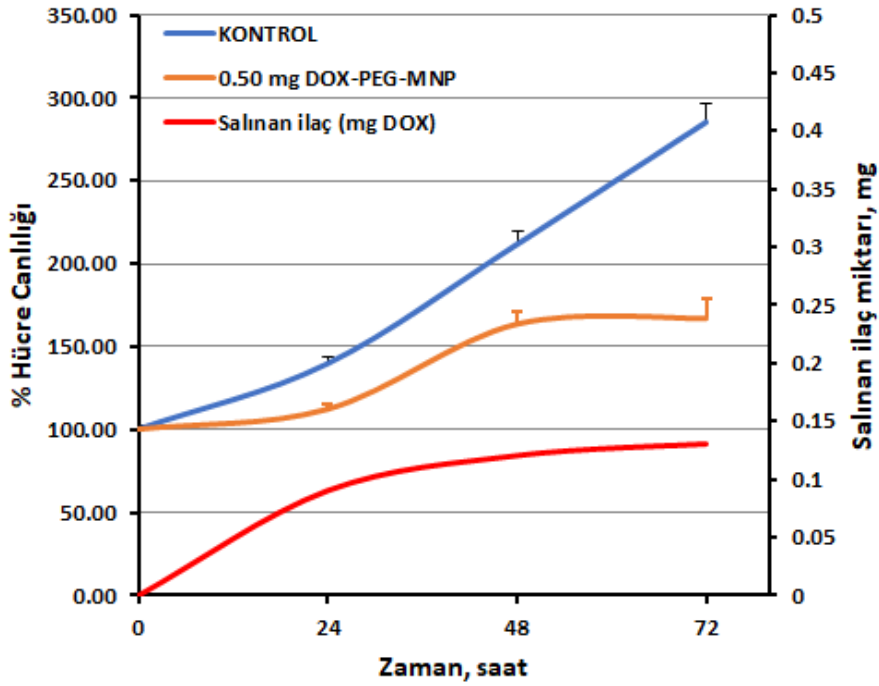
### 4.3 Nanoparçacıkların Hücre Canlılığına Etkisinin İncelenmesi

MNP, PEG-MNP ve DOX-PEG-MNP' lerin in-vitro ortamda hücre canlılığına etkisi incelenmiştir.

0,50, 0,25 ve 0,125 mg olmak üzere farklı miktarlarda ilaç yüklü DOX-PEG-MNP' lerin kanseri hücreleri üzerindeki toksik etkisi 24, 48 ve 72 saat aralıklarla incelenmiştir.

Şekil 4.8' de 0,50 mg ilaç yüklü DOX-PEG-MNP' lerin 24, 48 ve 72. Saatlerde meme kanseri hücrelerinin canlılığına etkisi ve aynı sürelerde sistemin ilaç salma profili birlikte verilmiştir. İlk 24 saatte sistemde baskın mekanizmanın şişme kontrollü salım olması sebebi ile kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 0,50 mg ilaç yüklü DOX-PEG-MNP' lerin 24. Saatte, sistemde yüklü ilacın %18' ine karşılık gelen 0,09 mg miktarını salarak, meme kanseri hücrelerini %20 oranında öldürebildiği görülmüştür. Önerilen ilaç taşıyıcı sistemimizde, 24 ile 48. saatler arasında difüzyon kontrollü salım baskın olmaya başladığından, şişme kontrollü

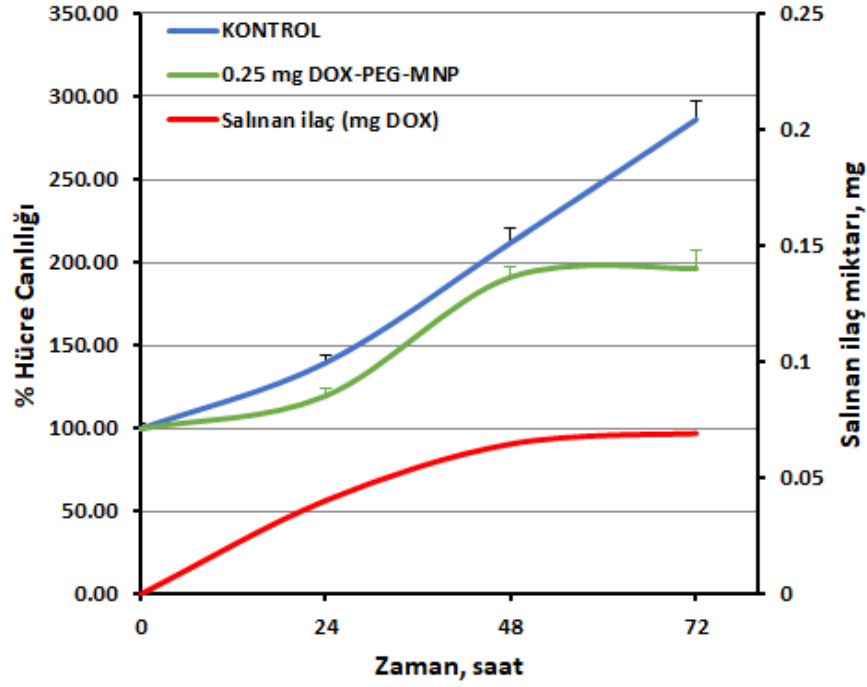
salımdan difüzyon kontrollü salıma geçilen bu aralıkta birim zamanda ortama salınan ilaç miktarı azalmıştır. Bu sebeple meme kanseri hücrelerinin sayısında 24. saate göre artış görülürken, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 48. saatte meme kanseri hücreleri üzerinde %23 oranında toksik etkisinin olduğu görülmüştür. 48 ile 72. saatler arasında salım difüzyon kontrollü olarak devam ettiği için meme kanseri hücrelerinin çoğalması 24-48 saat aralığındaki canlılığa göre baskılanmış ve 72. saatte kontrol grubu ile karşılaştırıldığında %41 oranında meme kanseri hücrelerini öldürebildiği görülmüştür.



Şekil 4.8 : 0,50 mg ilaç yüklü DOX-PEG-MNP'lerin 24, 48 ve 72. saatlerde meme kanseri hücrelerinin canlılığına etkisi ile ilaç salım profili.

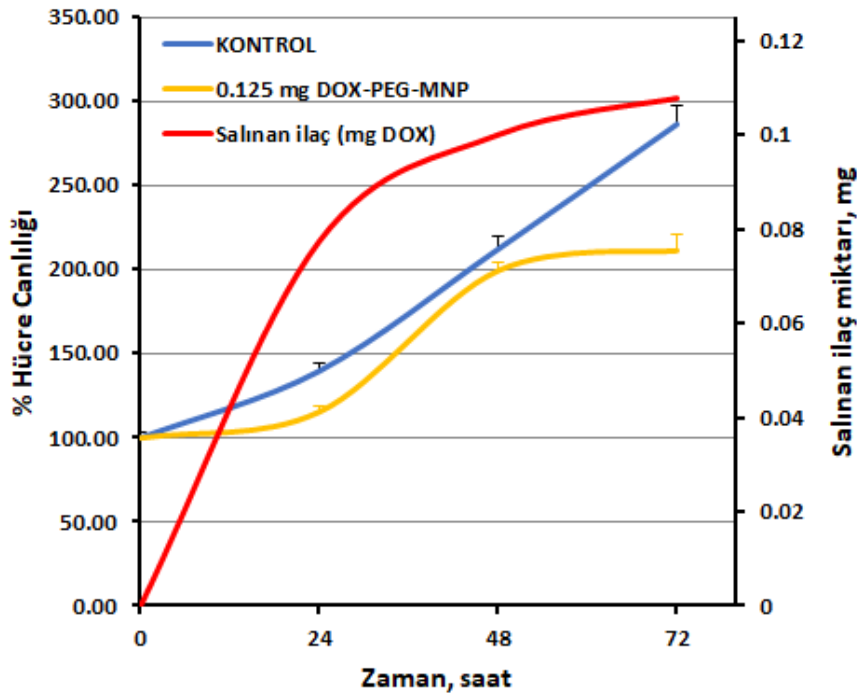
Şekil 4.9' da 0,25 mg ilaç yüklü DOX-PEG-MNP'lerin 24, 48 ve 72. Saatlerde meme kanseri hücrelerinin canlılığına etkisi ve aynı sürelerde sistemin ilaç salım profili birlikte verilmiştir. 0,50 mg ilaç yüklü taşıyıcı sistemde olduğu gibi, ilk 24 saatte sistemde baskın mekanizma şişme kontrollü salımdır. Bu sebeple 0,25 mg ilaç yüklü DOX-PEG-MNP'lerin, 24. saatte sistemde yüklü ilacın %16' sına denk gelen 0,04 mg miktarını salarak, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında meme kanseri hücrelerini %14 oranında öldürebildiği görülmüştür. Önerilen ilaç taşıyıcı sistemimizde, 24 ile 48. saatler arasında difüzyon kontrollü salım baskın olmaya başlamıştır. Bu sebeple meme kanseri hücrelerinin sayısında 24. saate göre artış

görülürken, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 48. saatte meme kanseri hücreleri üzerinde %10 oranında toksik etkisinin olduğu görülmüştür. 48 ile 72. saatler arasında salım difüzyon kontrollü devam ettiğinden meme kanseri hücrelerinin çoğalması 24-48 saat aralığındaki canlılığa göre baskılanmış ve 72. saatte kontrol grubu ile karşılaştırıldığında %31 oranında meme kanseri hücrelerini öldürebildiği görülmüştür.



Şekil 4.9 : 0,25 mg ilaç yüklü DOX-PEG-MNP' lerin 24, 48 ve 72. saatlerde meme kanseri hücrelerinin canlılığına etkisi ile ilaç salım profili.

Şekil 4.10' da 0,125 mg ilaç yüklü DOX-PEG-MNP' lerin 24, 48 ve 72. Saatlerde meme kanseri hücrelerinin canlılığına etkisi ve aynı sürelerde sistemin ilaç salım profili birlikte verilmiştir. İlk 24 saatte sistemde baskın mekanizma şişme kontrollü salımken, bu süreden sonra sistemde baskın mekanizma difüzyon kontrollü salım olmaktadır. 24 ile 48. saatler arasındaki meme kanseri hücrelerinin çoğalmasının etkin bir şekilde baskılanmaması bu profil ile ilişkilendirilmektedir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 0,125 mg ilaç yüklü DOX-PEG-MNP' lerin 24. saatte bünyesinde yüklü ilacın %62' sine karşılık gelen 0,07 mg miktarını şişme kontrollü salarak, meme kanseri hücrelerini % 17 oranında, 24-72 saat aralığında difüzyon kontrollü salım yaparak 72. saatte meme kanseri hücrelerini %26 oranında öldürebildiği görülmüştür.



Şekil 4.10 : 0,125 mg ilaç yüklü DOX-PEG-MNP' lerin 24, 48 ve 72. saatlerde meme kanseri hücrelerinin canlılığına etkisi ile ilaç salım profili.

Farklı miktarlarda ilaç yüklü nanoparçacıkların gösterdiği etki ile karşılaştırıldığında, en fazla ilaç salımını 0,50 mg ilaç yüklü DOX-PEG-MNP' ler sağladığından meme kanseri hücreleri üzerinde en yüksek toksik etki bu sistemde görülmüştür.

0,50, 0,25 ve 0,125 mg olmak üzere farklı miktarlarda serbest ilacın, meme kanseri hücreleri üzerindeki toksik etkisi 24, 48 ve 72 saat aralıklarla incelenmiştir.

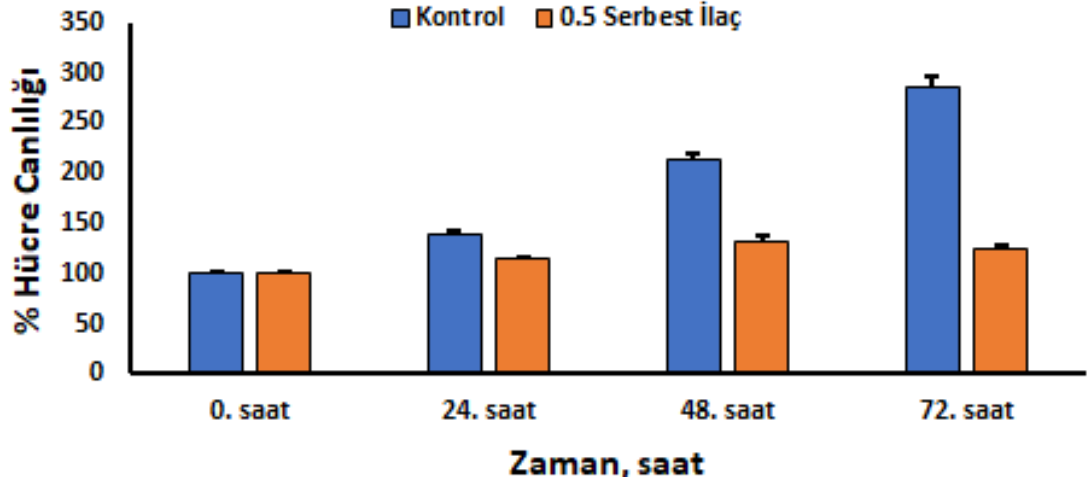
Şekil 4.11' de gösterildiği üzere, 0,50 mg serbest ilacın 24, 48 ve 72. saatlerde, sırasıyla %18, %38 ve %57 oranında meme kanseri hücrelerini öldürdüğü görülmüştür.

Şekil 4.12' de, 0,25 mg serbest ilacın 24, 48 ve 72. saatlerde meme kanseri hücreleri üzerindeki toksik etkisi sırasıyla %27, %31 ve %39 olarak verilmiştir.

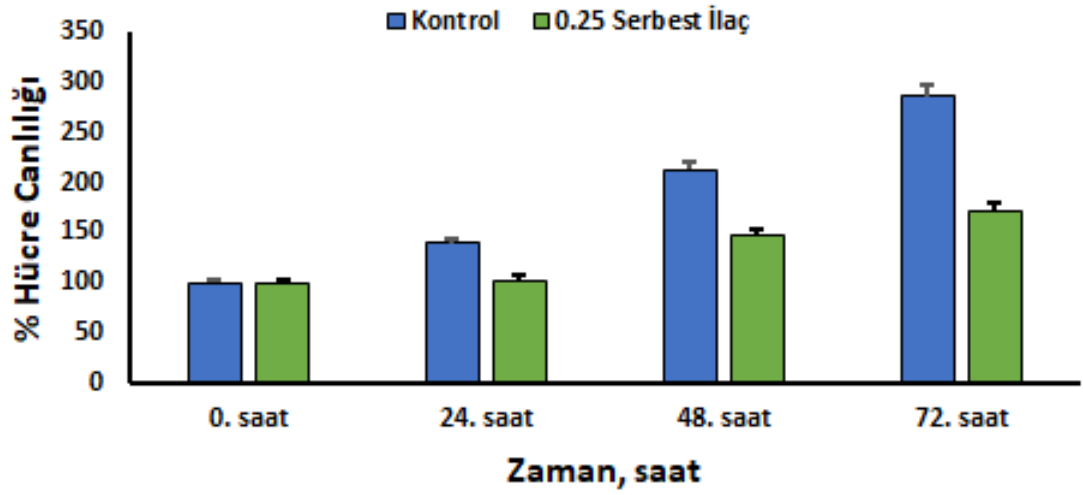
Şekil 4.13' de verildiği üzere, 0,125 mg serbest ilacın 24, 48 ve 72. Saatlerde, sırasıyla %1, %21 ve %31 oranında meme kanseri hücrelerini öldürdüğü görülmüştür.

Hücreler üzerinde sadece serbest ilacın etkisi izlendiğinde en yüksek doz olarak yüklenen 0,50 mg' ın hücrelerin çoğalmasını en etkili şekilde azaltan sistem olduğu görülmüştür.

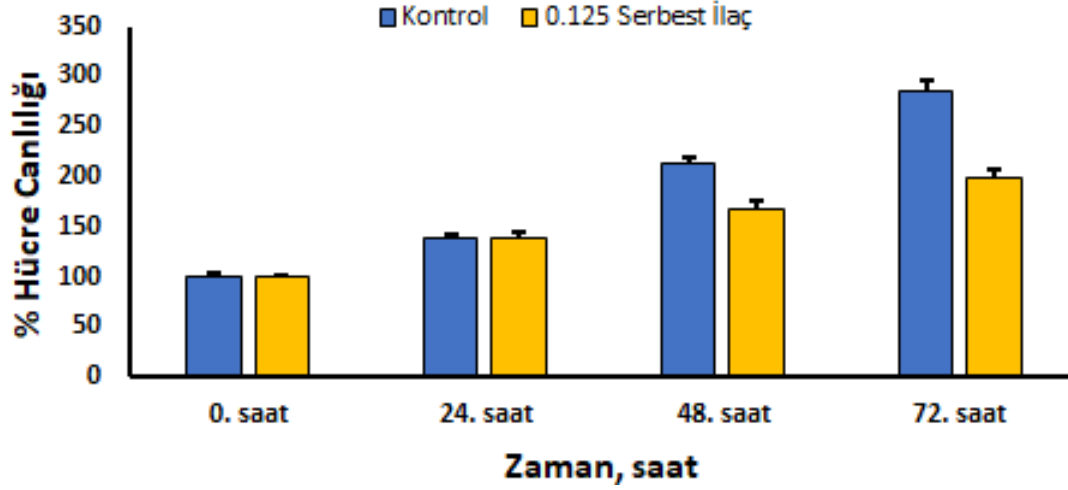




Şekil 4.11 : 0,50 mg serbest ilacın 24, 48 ve 72. saatlerde meme kanseri hücrelerinin canlılığına etkisi.

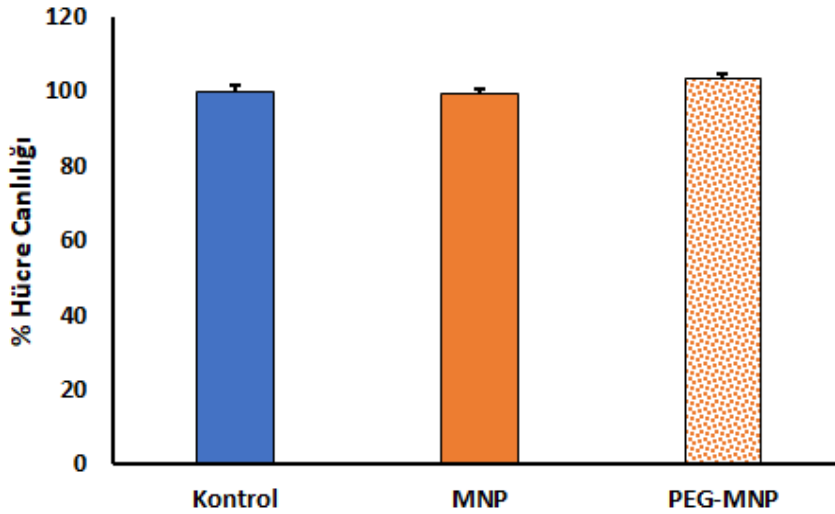


Şekil 4.12 : 0,25 mg serbest ilacın 24, 48 ve 72. saatlerde meme kanseri hücrelerinin canlılığına etkisi.



Şekil 4.13 : 0,125 mg serbest ilacın 24, 48 ve 72. saatlerde meme kanseri hücrelerinin canlılığına etkisi.

MNP ve PEG-MNP' lerin sağlıklı hücreler üzerinde canlılığa etkisi incelenmiştir. Şekil 4.14' de görüldüğü üzere, MNP ve PEG-MNP' lerin sağlıklı hücreler üzerinde herhangi bir toksik etki göstermeyen biyoyumlu malzemeler oldukları söylenebilir.



Şekil 4.14 : MNP ve PEG-MNP' lerin sağlıklı hücrelerin canlılığına etkisi.

Şekil 4.7 deki grafiğin 48-72 saat aralığına denk gelen doğrusal bölgesi,  $0^\circ$  salım kinetiği gösteren, eğimi  $2 \cdot 10^{-4}$  mg/saat olarak hesaplanan ideal bir kontrollü ilaç serbestleştirme davranışı sergilemektedir. Bu doğrultuda hücre canlılığına ait grafikler tekrar yorumlandığında, 0,50 mg ilaç yüklü sistemden salınan dokсорubisinin hem kanser hücrelerinin çoğalmasını engelleyici, hem de öldürücü etkisi yaklaşık 30 gün boyunca süreklilik gösterecektir. Bu çalışmanın koşullarından

dolayı yapılamayan, in vivo deneyler ile bu etkinin gerçek ortamlarda gösterilebileceği düşünülmektedir.

Deneysel koşullar nedeni ile veri alınamayan, 120. (5. Gün) ve 240. saat (10. Gün) gibi ileriki dönemlerde hücre canlılığına ait grafiklerde sabit olarak seyreden canlı hücre sayısının düşmeye başlayacağı beklenmelidir. Uzun dönemde, hücrelerin çoğalma sürecinde ilaç dolayısı ile gördükleri baskı ve ölen hücrelerin yarattığı çevresel koşulların mevcut canlı kanser hücrelerini apoptoza sürükleyerek etki etmesi beklenmelidir.

Benzer davranışların, daha düşük miktarlarda (0.250 ve 0.125 mg) ilaç yüklenen sistemlerde de gözlenebileceği, fakat etki süresinin 0.5 mg kadar uzun olmayacağı açıktır. Örneğin 0.125 mg olarak yüklenen DOX-PEG-MNP matrisinde, ilacın tamamının 12. günün sonunda tüketildiği düşünülürse, tedavinin planlamasının ve uygulanmasının, bu dinamik davranış göz önünde bulundurularak yapılması gerektiği kaçınılmaz olmaktadır.



## 5. SONUÇ, ÖNERİLER VE GELECEK ÇALIŞMALAR

Bu tez kapsamında yukarıdan aşağıya tasarım yaklaşımı ile ultrasonikasyon yönteminin kavitasyon etkisinden faydalanarak suda çözünebilir melanin nanoparçacıklar sentezlenmiştir. Ardından, PEG ile modifikasyon yapılarak, nanoparçacıkların makrofajlar tarafından tanınıp fagosite edilmesini engellenmiş ve daha uzun süre sistemik dolaşımında kalması, nanoparçacıkların pasif olarak hedeflenmesi sağlanmıştır. Son olarak, meme kanseri tedavisinde anti kanser ilaç olarak kullanılan doksorubisin, PEG ile modifiye edilmiş melanin nanoparçacıklara yüklenerek salım modelleri incelenmiş ve bu ilaç taşıyıcı sistemin sağlıklı hücrelerin ile meme kanseri hücrelerinin canlılığına etkisi incelenmiştir.

DOX-PEG-MNP, PEG-MNP ve MNP'ye ait morfolojik özellikler TEM ile analiz edilerek, küresel şekilde sırasıyla 50, 30 ve 15 nm boyutlarında oldukları saptanmıştır.

Zeta potansiyel analizi sonucu, DOX-PEG-MNP, PEG-MNP ve MNP'ye ait yüzey yükleri sırasıyla -40, -22 ve -24 olarak belirlenmiştir.

PEG-MNP ve MNP'nin kimyasal yapısı FTIR ile incelenmiş ve PEG'e ait  $2900\text{ cm}^{-1}$  ile  $1100\text{ cm}^{-1}$  de karakteristik pik saptanması sonucu PEG ile modifikasyonun başarılı bir şekilde gerçekleştiği yorumu yapılmıştır.

Farklı konsantrasyonlarda ilaç yüklü DOX-PEG-MNP'lerden zamana göre salınan kümülatif ilaç miktarı izlenmiştir. Bu veriler eğri uydurma programında kullanılarak,

farklı salım kinetik modelleri üzerinde denenmiş, önerilen taşıyıcı sisteme en uygun modelin difüzyon ve şişme kontrollü salım olduğu sonucuna varılmıştır.

Hücre testleri sonucunda önerilen sistemin sağlıklı hücrelere herhangi bir toksik etki göstermezken, konvansiyonel yöntemle karşılaştırıldığında meme kanseri hücrelerini etkili bir şekilde öldürdüğü görülmüştür.

Sonuç olarak, polietilen glikol (PEG) ile modifiye edilmiş doksorubisin yüklü melanin nanoparçacıkların, biyomedikal alanındaki araştırmalarda ilaç taşıyıcı

sistem olarak kullanılabilirdiği gösterilmiştir. Melaninin aromatik yapıdaki anti-kanser ilaçlara bağlanabildiği düşünöldüğünde, farklı kanser türleri için ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılabilir.

Gelecek çalışmalarımızda;

- Meme kanserine ait bir biyobelirteç olan HER2 reseptörü ile etkileşecek bir ligand bağlanarak ilaç yüklü nanoparçacıklarımızın aktif hedeflenmesinin sağlanması böylece biyoyararlanım ve efikasinin arttırılıp, doz miktarının ve sıklığının azaltılarak hasta yaşam kalitesinin yükseltilmesi,
- Melaninin metaller ile şelat yapabilme özelliğinden faydalanarak, Fe<sup>+3</sup> ile şelat yapmış melanin nanoparçacıkların, rezonans görüntüleme (MRI) sistemlerinde görüntüleme ajanı olarak kullanılması, böylece multifonksiyonel yönde geliştirilmiş sistemimizin tanı ve tedaviyi aynı anda sağlayabilen teranostik ajan olarak kullanımı incelencektir.

## KAYNAKLAR

- Akerman, M. E., Chan, W. C. W., Laakkonen, P., Bhatia, S. N., & Ruoslahti, E.** (2002). Nanocrystal targeting in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. <https://doi.org/10.1073/pnas.152463399>
- Anu Mary Ealia, S., & Saravanakumar, M. P.** (2017). A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/263/3/032019>
- Avivi, S., Nitzan, Y., Dror, R., & Gedanken, A.** (2003). An Easy Sonochemical Route for the Encapsulation of Tetracycline in Bovine Serum Albumin Microspheres. *Journal of the American Chemical Society*. <https://doi.org/10.1021/ja036834+>
- Baram-Pinto, D., Shukla, S., Richman, M., Gedanken, A., Rahimpour, S., & Sarid, R.** (2012). Surface-modified protein nanospheres as potential antiviral agents. *Chemical Communications*. <https://doi.org/10.1039/c2cc33448h>
- Bartlett, D. W., Su, H., Hildebrandt, I. J., Weber, W. A., & Davis, M. E.** (2007). Impact of tumor-specific targeting on the biodistribution and efficacy of siRNA nanoparticles measured by multimodality in vivo imaging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. <https://doi.org/10.1073/pnas.0707461104>
- Dash, S., Murthy, P. N., Nath, L., & Chowdhury, P.** (2010). Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Poloniae Pharmaceutica*. [https://doi.org/10.1016/S0928-0987\(01\)00095-1](https://doi.org/10.1016/S0928-0987(01)00095-1)
- Dhand, C., Dwivedi, N., Loh, X. J., Jie Ying, A. N., Verma, N. K., Beuerman, R. W., ... Ramakrishna, S.** (2015). Methods and strategies for the synthesis of diverse nanoparticles and their applications: a comprehensive overview. *RSC Adv*. <https://doi.org/10.1039/C5RA19388E>
- Dubertret, B., Skourides, P., Norris, D. J., Noireaux, V., Brivanlou, A. H., & Libchaber, A.** (2002). In vivo imaging of quantum dots encapsulated in phospholipid micelles. *Science*. <https://doi.org/10.1126/science.1077194>
- Farokhzad, O. C., Cheng, J., Teply, B. A., Sherifi, I., Jon, S., Kantoff, P. W., ... Langer, R.** (2006). Targeted nanoparticle-aptamer bioconjugates for cancer chemotherapy in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. <https://doi.org/10.1073/pnas.0601755103>
- Gedanken, A.** (2004). Using sonochemistry for the fabrication of nanomaterials. *Ultrasonics Sonochemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2004.01.037>
- Gref, R., Minamitake, Y., Peracchia, M. T., Trubetskoy, V., Torchilin, V., & Langer, R.** (1994). Biodegradable long-circulating polymeric nanospheres. *Science*. <https://doi.org/10.1126/science.8128245>
- Huynh, C. T., & Lee, D.** (2014). Controlled Release. In *Encyclopedia of Polymeric Nanomaterials*. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-36199-9>
- Jantzen, G. M., & Robinson, J. R.** (2002). Sustained- and Controlled-Release

- Drug-Delivery Systems BT - Modern pharmaceuticals. *Modern Pharmaceutics*.
- Kukowska-Latallo, J. F., Candido, K. A., Cao, Z., Nigavekar, S. S., Majoros, I. J., Thomas, T. P., ... Baker, J. R.** (2005). Nanoparticle targeting of anticancer drug improves therapeutic response in animal model of human epithelial cancer. *Cancer Research*. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-3921>
- Lin, C. C., & Metters, A. T.** (2006). Hydrogels in controlled release formulations: Network design and mathematical modeling. *Advanced Drug Delivery Reviews*. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2006.09.004>
- Lukyanov, A. N., Elbayoumi, T. A., Chakilam, A. R., & Torchilin, V. P.** (2004). Tumor-targeted liposomes: Doxorubicin-loaded long-circulating liposomes modified with anti-cancer antibody. *Journal of Controlled Release*. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2004.08.007>
- Luten, J., van Nostrum, C. F., De Smedt, S. C., & Hennink, W. E.** (2008). Biodegradable polymers as non-viral carriers for plasmid DNA delivery. *Journal of Controlled Release*. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2007.10.028>
- Medarova, Z., Pham, W., Farrar, C., Petkova, V., & Moore, A.** (2007). In vivo imaging of siRNA delivery and silencing in tumors. *Nature Medicine*. <https://doi.org/10.1038/nm1486>
- Neeraj Agrawal, R., & Alok Mukerji, A. J.** (2013). Polymeric Prodrugs: Recent Achievements and General Strategies. *Journal of Antivirals & Antiretrovirals*. <https://doi.org/10.4172/jaa.S15-007>
- Pinaud, F., King, D., Moore, H. P., & Weiss, S.** (2004). Bioactivation and Cell Targeting of Semiconductor CdSe/ZnS Nanocrystals with Phytochelatin-Related Peptides. *Journal of the American Chemical Society*. <https://doi.org/10.1021/ja031691c>
- Sanvicens, N., & Marco, M. P.** (2008). Multifunctional nanoparticles - properties and prospects for their use in human medicine. *Trends in Biotechnology*, 26(8), 425–433. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.04.005>
- Sawant, R. M., Hurley, J. P., Salmaso, S., Kale, A., Tolcheva, E., Levchenko, T. S., & Torchilin, V. P.** (2006). “SMART” drug delivery systems: Double-targeted pH-responsive pharmaceutical nanocarriers. *Bioconjugate Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/bc060080h>
- Shaik, M. R., Korsapati, M., & Panati, D.** (2012). Polymers in Controlled Drug Delivery Systems. *International Journal of Pharma Sciences*. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2004.04.023>
- Siegel, R. A., Rathbone, M. J., Siepmann, J., Siegel, R. A., & Rathbone, M. J.** (2012). *Fundamentals and Applications of Controlled Release Drug Delivery*. *Fundamentals and applications of controlled release drug delivery*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0881-9>
- Skoog, D. A., Holler, F. J., & Crouch, S. R.** (1998). *Principles of Instrumental Analysis Sixth Edition*. Thompson Brooks/Cole. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)84936-3](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)84936-3)
- Soppimath, K. S., Aminabhavi, T. M., Kulkarni, A. R., & Rudzinski, W. E.** (2001). Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. *Journal of Controlled Release*. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(00\)00339-4](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(00)00339-4)
- Streubel, A., Siepmann, J., Peppas, N. A., & Bodmeier, R.** (2000). Bimodal drug release achieved with multi-layer matrix tablets: Transport mechanisms and



device design. *Journal of Controlled Release*. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(00\)00334-5](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(00)00334-5)

**Uhrich, K. E., Cannizzaro, S. M., Langer, R. S., & Shakesheff, K. M.** (1999). Polymeric systems for controlled drug release. *Chemical Reviews*. <https://doi.org/10.1021/cr940351u>

**Zhu, J., Xue, J., Guo, Z., Zhang, L., & Marchant, R. E.** (2007). Biomimetic glycoliposomes as nanocarriers for targeting P-selectin on activated platelets. *Bioconjugate Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/bc700212b>

**Url-1** <http://www.kanser.saglik.gov.tr/> , alındığı tarih: 12.10.2018





## ÖZGEÇMİŞ

**Ad-Soyad** : Buşra ÖZLÜ  
**Uyruğu** : TC  
**Doğum Tarihi ve Yeri** : 1995 / MERSİN  
**E-posta** : bozlu@etu.edu.tr

### ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lise** : İçel Anadolu Lisesi 2009-2013
- **Lisans** : TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi  
Biyomedikal Mühendisliği (Başarı Burslu) 2013-2017
- **Yükseklisans** : TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi  
Biyomedikal Mühendisliği (Tam Burslu) 2017-2018

**YABANCI DİL:** İngilizce, Almanca

### MESLEKİ DENEYİM:

- Stajyer, TOBB ETÜ Hastanesi, Mayıs - Ağustos 2015, Ankara/ TÜRKİYE
- Stajyer, Columbia Üniversitesi, Ocak - Nisan 2016, New York/ ABD
- Stajyer, Medtronic, Eylül - Aralık 2016 İstanbul/ TÜRKİYE

### TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

- **Ozlu, B., Kabay, G., Bocek I., Acar, A. O., Yılmaz, M., Mutlu, M., Ozden, A. K., Shim, B. S.** (2018) Doxorubicin Loaded melanin nanoparticles as theranostic vehicle for breast cancer therapy. Eco-Bio-Nano Material Processing and Applications, KONNECT Summer School. TOBB University of Economics and Technology, Ankara, Turkey.