

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Antikanser İlaçların Kontrollü Salımı İçin Pektin Bazlı Sıcaklık / pH/ Manyetik Alan
Duyarlı Nanopartikül Sentezi ve Karakterizasyonu

Sevim POLAT

AĞUSTOS 2020

ÖZET

ANTİKANSER İLAÇLARIN KONTROLLÜ SALIMI İÇİN PEKTİN BAZLI SICAKLIK/ pH / MANYETİK ALAN DUYARLI NANOPARTİKÜL SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU

POLAT, Sevim

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof.Dr. Nuran IŞIKLAN

AĞUSTOS 2020, 82 Sayfa

Bu çalışmada, pektin polimerine mikrodalgada N,N-dimetilaminoetil metakrilat monomerinin aşılınması ve aşı kopolimerlerin sıcaklık, pH ve manyetik alan duyarlı ilaç taşıyıcı sistemlerinde kullanılması hedeflenmiştir. Pek-aşı-poli(N,N-dimetilaminoetil metakrilat) aşı kopolimerlerin yapıları Fourier transform infrared spektroskopisi (FTIR), nükleer magnetik rezonans spektroskopisi (¹³C-NMR), termogravimetrik analizler (DSC, TGA), X-ışını difraksiyonu (XRD), jel geçirgenlik kromatografisi (GPC) ile aydınlatılmıştır.

Aşı yüzdesi ve aşılama verimi üzerine tepkime süresi, monomer derişimi, pektin derişimi ve mikrodalga gücü etkileri çalışılmıştır. Optimum koşullar; 2 saat çalışma süresi, 70 °C sıcaklık, 750 watt mikrodalga gücü, 0,356 M DMAEMA derişimi ve 1,5 g/dL pektin derişimi olarak bulunmuştur. Termal analiz sonuçlarından sentezlenen kopolimerlerin pektine göre termal dayanımının daha düşük olduğu bulundu.

Çalışmanın ikinci bölümünde Pek-aşı-PDMAEMA@Fe₃O₄ nanopartikülleri mikrodalga ile hazırlanmış ve model ilaç olarak 5-Fluorourasil (5-FU) seçilerek ilaç salım profilleri incelenmiştir. Pek-aşı-PDMAEMA@Fe₃O₄ nanopartikülleri Fe⁺² ve Fe⁺³ iyonlarının varlığında Ca(OH)₂ ile çapraz bağlanarak hazırlandı. Pek-aşı-PDMAEMA@Fe₃O₄ nanopartiküllerindeki ilaç-polimer etkileşimleri FTIR ve XRD ile, termal davranışları DSC ile, yüzey morfolojileri TEM ile ve nanopartiküllerin parçacık boyutları zeta- sizer ile karakterize edilmiştir.

İlaç yüklü nanopartiküller tutuklanma verimleri, ilaç yükleme kapasiteleri ve partikül boyutları karakterize edildi. İlaç yüklü nanopartiküllerin farklı pH ve sıcaklıktaki salım çalışmaları incelendi. Nanopartiküllerden ilaç salımına aşı yüzdesi, pH, sıcaklık ve manyetik alan etkileri araştırıldı. Nanopartiküllerin 5-FU salım sonuçlarından sıcaklığa, pH'ya ve magnetik alana duyarlılık gösterdikleri ve kontrollü salım gerçekleştirildikleri tespit edildi.

Kinetik parametreler salım sonuçlarından yararlanılarak Peppas eşitliği ile belirlendi. Difüzyon katsayısı Pek-aşı-PDMAEMA@Fe₃O₄ nanopartiküllerinden ilacın difüzyonu için hesaplandı ve salım sonuçları ile uyumlu değerler bulundu.

Anahtar Kelimeler: Pektin, 5- Fluorourasil, N,N-dimetilaminoetil metakrilat, aşı kopolimer, nanopartikül, kontrollü salım, sıcaklık duyarlı sistemler, manyetik alan duyarlı sistemler.

ABSTRACT

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF PECTIN BASED TEMPERATURE/ pH/ MAGNETIC FIELD SENSITIVE NANOPARTICLE FOR CONTROLLED ANTICANCER DRUGS

POLAT, Sevim

Kırıkkale University

Graduate School of Natural Of Applied Sciences

Department Of Chemistry, M.Sc.Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Nuran IŞIKLAN

AUGUST 2020, 82 pages

In this study, it was aimed to graft of N,N-dimethylaminoethyl methacrylate monomer onto the pectin polymer in microwave and to use the graft copolymers in temperature, pH and magnetic field sensitive drug delivery systems. Structures of pek-graft-poly(N,N-dimethylaminoethyl methacrylate) graft copolymers was characterized by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), nuclear magnetic resonance spectroscopy (^{13}C -NMR), thermogravimetric analysis (DSC, TGA), X-ray diffraction (XRD) and gel permeability chromatography (GPC).

The effects of reaction time, monomer concentration, pectin concentration and micro wave power on graft percentage and grafting efficiency were studied. The optimum conditions were found to be as follows; reaction time of 2 h, 0,356 M DMAEMA concentration, 1,5 g/dL pectin concentration, and microwave power of 750 watts at 70 °C. The thermal stability of the copolymers synthesized from the results of thermal analysis was found to be lower compared to the pectin.

In the second part of the study, Pec-graft-PDMAEMA@Fe₃O₄ nanoparticles were prepared and drug release profiles were examined by choosing 5-Fluorouracil (5-FU) as a model drug. Pec-graft-PDMAEMA@Fe₃O₄ nanoparticles were prepared by crosslinking with Ca(OH)₂ in the presence of Fe⁺²/Fe⁺³ ions. Drug polymer interactions, thermal behavior, surface morphology and zeta potential of the Pec-graft-PDMAEMA@Fe₃O₄ nanoparticles were characterized by FTIR, XRD, DSC, TGA, TEM and particle sizes of nanoparticles by zeta sizer.

Drug loaded nanoparticles were also characterized with entrapment efficiencies, drug loading capacities and particle sizes. 5-FU release behavior from Pec-graft-PDMAEMA@Fe₃O₄ nanoparticles were investigated at various pH and temperatures. The effects of graft percentage, pH, temperature and magnetic field on drug release from the nanoparticles were explored.

Kinetic parameters were determined by using Peppas equation by using release results. The diffusion coefficient was calculated for the diffusion of the drug from Pec-graft-PDMAEMA@Fe₃O₄ nanoparticles and values were found compatible with the release results.

Keywords: Pectin, 5- Fluorouracil, N, N-Dimethylaminoethyl methacrylate, graft copolymer, nanoparticle, controlled release, temperature sensitive systems, magnetic field sensitive systems.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın gerçekleştirilmesinde, başlangıcından sonuna kadar, gerekli bütün yardım, tavsiye ve yönlendirmeleri yapan, karşılaştığım problemlerin çözümünde bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım sabırlı ve hoşgörülü tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Nuran IŞIKLAN' a sonsuz teşekkür ederim.

Deneysel çalışmalarım boyunca yardımlarını hiç bir zaman esirgemeyen laboratuvar arkadaşım canım ablam Öğr. Gör. Gülcan GEYİK'e teşekkürü bir borç bilirim. Tez çalışmamda maddi destek sağlayan Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimine (Proje No:2020/011) teşekkürlerimi sunarım. Sentezlenen kopolimer ve nanopartiküllerin yapısının aydınlatılmasında yardımlarından dolayı Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Merkezi Araştırmalar Laboratuvarları Çalışanları'na, ODTÜ laboratuvar çalışanlarına teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca bu zorlu çalışmada her zaman yanımda olup beni destekleyen ve maddi manevi her desteği veren canım aileme en içten teşekkürlerimi ve şükranları sunarım.

İÇİNDEKİLER

| | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| ÖZET..... | i |
| ABSTRACT..... | iii |
| TEŞEKKÜR..... | V |
| İÇİNDEKİLER..... | VI |
| ŞEKİLLER DİZİNİ..... | X |
| ÇİZELGELER DİZİNİ..... | XIV |
| KISALTMALAR..... | XV |
| 1. GİRİŞ..... | 1 |
| 1.1. Polimerlerin Genel Tanımı..... | 3 |
| 1.2. Uyarıya Duyarlı Polimerler..... | 3 |
| 1.3. Sıcaklığa Duyarlı Polimerler..... | 4 |
| 1.4. pH Duyarlı Polimerler..... | 4 |
| 1.5. Işık Duyarlı Polimerler..... | 5 |
| 1.6. Elektrik Alan Duyarlı Polimerler..... | 6 |
| 1.7. Manyetik Alan Duyarlı Polimerler..... | 6 |
| 1.8. Kontrollü İlaç Salım Sistemleri..... | 6 |
| 1.8.1. Salım Mekanizmasına Göre Kontrollü Salım Sistemleri..... | 7 |
| 1.8.1.1. Difüzyon Kontrollü Sistemler..... | 7 |
| 1.8.1.2. Çözücü Kontrollü Sistemler..... | 8 |
| 1.8.1.3. Kimyasal Kontrollü Sistemler..... | 8 |
| 1.8.1.4. Ortama Duyarlı Sistemler..... | 9 |
| 1.9. Kontrollü İlaç Salım Sistemlerinin Uygulama Yolları..... | 10 |
| 1.10. İlaç Salım Kinetiği..... | 12 |
| 1.11. Nanopartiküller..... | 15 |
| 1.12. Çalışmada Kullanılan Polimerler ve İlaçlar..... | 16 |
| 1.12.1. Pektin..... | 16 |

| | |
|---|----|
| 1.12.2. Poli(N,N-dimetilaminoetil metakrilat) (PDMAEMA) | 16 |
| 1.12.3. 5-Fluorourasil (5-FU) | 17 |
| 2. MATERYAL YÖNTEM..... | 18 |
| 2.1. Kimyasal Maddeler | 18 |
| 2.2. Cihazlar | 19 |
| 2.3. Mikrodalga Destekli Pek-aşı-PDMAEMA Sentezi..... | 21 |
| 2.4. Pek- aşı -PDMAEMA kaplı manyetik nanopartiküllerin hazırlanması..... | 22 |
| 2.5. 5-FU' nun Pektin ve pektin-aşı-PDMAEMA Manyetik Kaplı Nanopartiküllerden Salım Çalışması..... | 24 |
| 2.6. Pektin ve pektin-aşı-PDMAEMA manyetik nanopartiküllerinde MTT Çalışması..... | 23 |
| 3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA..... | 26 |
| 3.1. Pektin Aşı Kopolimerizasyonu..... | 26 |
| 3.2. Pektin ve Pek-aşı-PDMAEMA Kopolimerinin Yapısal Karakterizasyonu .. | 27 |
| 3.2.1. Pektin ve Pek-aşı-PDMAEMA' nın FTIR Sonuçlarının Değerlendirilmesi..... | 27 |
| 3.2.2. DSC Sonuçlarının Değerlendirilmesi | 30 |
| 3.2.3. TGA Sonuçlarının Değerlendirilmesi..... | 32 |
| 3.2.4. GPC-SEC Sonuçlarının Değerlendirilmesi..... | 33 |
| 3.2.5. ¹³ C- NMR Sonuçlarının Değerlendirilmesi | 35 |
| 3.2.6. Pek-aşı-PDMAEMA Kopolimerlerinin LCST Değerlerinin Belirlenmesi..... | 36 |
| 3.3. OPTİMİZASYON PARAMETRELERİ..... | 37 |
| 3.3.1. Aşılama Üzerine Süre Etkisi..... | 37 |
| 3.3.2. Aşılama Üzerine Mikrodalga Gücü Etkisi..... | 38 |
| 3.3.3. Aşılama Üzerine Monomer Değişimi Etkisi | 39 |
| 3.3.4. Aşılama Üzerine Pektin Değişimi Etkisi..... | 42 |
| 3.4. Pektin ve Pek-aşı-PDMAEMA Kaplı Manyetik Nanopartiküllerden 5- Fluorourasil Salım Çalışması | 43 |

| | |
|---|----|
| 3.4.1. Pektin@ Fe ₃ O ₄ ve Pektin-aşı-PDMAEMA@Fe ₃ O ₄ Nanopartiküllerin Tutuklanma Verimi ve İlaç Yükleme Kapasitesi..... | 41 |
| 3.4.2 . Pek-aşı-PDMAEMA Kaplı Manyetik Nanopartiküllerin FTIR Sonuçlarının Değerlendirilmesi | 44 |
| 3.4.3. 5-FU ve Pek-aşı-PDMAEMA Kaplı Nanopartiküllerin DSC Termogramının Değerlendirilmesi | 45 |
| 3.4.4. Pektin@ Fe ₃ O ₄ ve Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @ Fe ₃ O ₄ nanopartikülünün DSC Termogramının Değerlendirilmesi | 46 |
| 3.4.5. TGA Sonuçlarının Değerlendirilmesi..... | 47 |
| 3.4.5.1. Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @Fe ₃ O ₄ @5-FU nanopartiküllerinin TGA termogramının değerlendirilmesi..... | 45 |
| 3.4.5.2. Pek-aşı-PDMAEMA ₄ ve Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @Fe ₃ O ₄ TGA termogramının değerlendirilmesi..... | 46 |
| 3.4.5.3. Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @Fe ₃ O ₄ ve Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @Fe ₃ O ₄ @5-FU TGA termogramının değerlendirilmesi..... | 47 |
| 3.4.6. X-ışını Difraksiyonu (XRD)..... | 48 |
| 3.4.6.1. Pektin, Pek-aşı-PDMAEMA ₂ ve Pek-aşı-PDMAEMA ₄ Kopolimerlerinin XRD Sonuçlarının Değerlendirilmesi | 48 |
| 3.4.6.2. Pektin@Fe ₃ O ₄ , Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @Fe ₃ O ₄ ve Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @ Fe ₃ O ₄ @5-FU nanopartiküllerinin XRD Sonuçlarının Değerlendirilmesi | 49 |
| 3.4.6.3. 5-FU ve Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @Fe ₃ O ₄ @5-FU nanopartikülünün XRD Sonuçlarının Değerlendirilmesi..... | 52 |
| 3.4.7. Pek-aşı-PDMAEMA aşı kopolimerin ve Pek-aşı-PDMAEMA nanokürelerinin MTT Sonuçları..... | 53 |
| 3.4.8. Manyetik nanopartiküllerin VSM Sonuçlarının Değerlendirilmesi | 56 |
| 3.4.9. Hazırlanan nanopartiküllerin TEM Analizi..... | 55 |

| | |
|---|----|
| 3.4.10. Manyetik nanokürelerin Zeta potansiyeli ve Size Sonuçlarının Değerlendirilmesi..... | 56 |
| 3.5. Pek-aşı-PDMAEMA@Fe ₃ O ₄ @5-FU Manyetik Nanopartiküllerin in vitro Salım Çalışmaları | 59 |
| 3.5.1. Aşı yüzdesinin 5-FU Salımına Etkisi | 59 |
| 3.5.2. pH'nın 5-FU Salımına Etkisi | 63 |
| 3.5.3 5-FU Salımına Magnetik Alan Etkisi | 66 |
| 3.5.4. 5-FU Salımına Sıcaklığın Etkisi | 66 |
| 3.6. Kinetik Sonuçlar..... | 69 |
| 4. SONUÇLAR..... | 75 |
| 5. KAYNAKLAR | 76 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| <u>ŞEKİL</u> | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| 1.1 Polimer çözeltilerinin faz geçiş diyagramları a) LCST davranışı, b) UCST davranışı)..... | 4 |
| 1.2. Biyobozunur sistemlerden ilaç salımının şematik gösterimi..... | 9 |
| 1.3. Zincire takılı sistemlerden ilaç salımının şematik gösterimi..... | 9 |
| 1.4. Şişme kontrollü ilaç dağıtım sistemi . Camsı hidrojel su ile temas ettiğinde polimer matrisi şişmeye başlar ve kauçuksu faz görünür. İlaç molekülleri kauçuksu fazda yayılır | 12 |
| 1.5. Nanotaşıyıcıya bazı örnekler | 14 |
| 1.6. Pektinin yapısı..... | 15 |
| 1.7. Poli (N,N- dimetilamino etil metakrilat) ' in kimyasal yapısı | 16 |
| 1.8. 5-Fluorourasil 'in kimyasal yapısı..... | 16 |
| 3.1. Pektin ve Pek-aşı-PDMAEMA' nın FTIR Spektrumu..... | 28 |
| 3.2. Pektin ve farklı aşı yüzdeleri kopolimerlerin DSC termogramı..... | 30 |
| 3.3. Pektin ve farklı aşı yüzdelerindeki kopolimerlerin TGA termogramları..... | 31 |
| 3.4. Pektin ve farklı yüzdelerdeki aşı kopolimerlerin DTGA termogramı..... | 32 |
| 3.5. Pektin ve aşı kopolimerlerin SEC alıkonma zaman değişimleri..... | 33 |
| 3.6. Pektinin ¹³ C -NMR spektrumu..... | 35 |
| 3.7. Pek-aşı-PDMAEMA' nın ¹³ C -NMR spektrumu..... | 36 |
| 3.8. Pektin ve farklı aşı kopolimerlerin sıcaklıkla geçirgenliklerinin değişimi..... | 37 |
| 3.9. Aşı yüzdesi ve aşılama verimi üzerine süre etkisi..... | 38 |

| | |
|---|----|
| 3.10. Aşı yüzdesi ve aşılama verimi üzerine mikrodalga gücü etkisi..... | 39 |
| 3.11. Aşı yüzdesi ve aşılama verimi üzerine monomer derişimi etkisi..... | 40 |
| 3.12. Aşı yüzdesi ve aşılama verimi üzerine pektin derişimi etkisi..... | 41 |
| 3.13. Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @, 5-FU, Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @Fe ₃ O ₄ @5-FU FTIR spektrumu..... | 43 |
| 3.14. Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @ ve Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @Fe ₃ O ₄ @5-FU nanopartiküllerin DSC termogramı..... | 44 |
| 3.15. Pektin@Fe ₃ O ₄ nanopartikülü ve Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @Fe ₃ O ₄ nanopartikülü DSC termogramı..... | 45 |
| 3.16. Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @Fe ₃ O ₄ @5-FU nanopartikülünün TGA Termogramı..... | 46 |
| 3.17. Pek-aşı-PDMAEMA ₄ kopolimeri ve Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @Fe ₃ O ₄ nanopartikülünün TGA termogramı..... | 47 |
| 3.18. Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @Fe ₃ O ₄ ve Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @Fe ₃ O ₄ @5-FU nanopartiküllerinin TGA termogramı..... | 48 |
| 3.19. Pektin, Pek-aşı-PDMAEMA ₂ ve Pek-aşı-PDMAEMA ₄ XRD Dağılımları..... | 49 |
| 3.20. Pektin@Fe ₃ O ₄ , Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @Fe ₃ O ₄ ve Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @Fe ₃ O ₄ @5-FU nanopartiküllerin XRD Dağılımları..... | 50 |
| 3.21. 5-FU ve Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @Fe ₃ O ₄ @5-FU nanopartikülünün XRD Dağılımları..... | 51 |
| 3.22. Pektin@Fe ₃ O ₄ , Pek-aşı-PDMAEMA ₄ kopolimeri ve Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @Fe ₃ O ₄ nanopartiküllerinin hücre canlılığı derişim değişimi..... | 52 |
| 3.23. Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @Fe ₃ O ₄ ve 5-FU derişim değişimi..... | 53 |

| | |
|---|----|
| 3.24. Pektin@Fe ₃ O ₄ ve Pektin@Fe ₃ O ₄ @PDMAEMA nanopartiküllerinin manyetik histerisis eğrisi..... | 54 |
| 3.25. Pek@ Fe ₃ O ₄ nanopartikülüne ait SEM Görüntüsü..... | 55 |
| 3.26. Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @Fe ₃ O ₄ nanopartikülüne ait TEM Görüntüsü..... | 55 |
| 3.27. Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @Fe ₃ O ₄ nanopartikülüne ait TEM Görüntüsü..... | 56 |
| 3.28. Aşı yüzdesinin pH 1,2' de 5-FU salımına etkisi..... | 59 |
| 3.29. Aşı yüzdesinin pH 5,5 ' de 5-FU salımına etkisi..... | 60 |
| 3.30. Aşı yüzdesinin pH 7,4' de 5- FU salımına etkisi..... | 60 |
| 3.31. Pek-aşı-PDMAEMA ₁ @Fe ₃ O ₄ , pH 1,2 ve 7,4' deki salımı..... | 61 |
| 3.32. Pek-aşı-PDMAEMA ₂ @Fe ₃ O ₄ , pH 1,2 ve 5,5 ' deki salımı..... | 62 |
| 3.33. Pek-aşı-PDMAEMA ₃ @Fe ₃ O ₄ , pH 1,2 ve 5,5' deki salımı..... | 62 |
| 3.34. Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @Fe ₃ O ₄ , pH 1,2 ve 5,5 ' deki salımı..... | 63 |
| 3.35. Pek-aşı-PDMAEMA ₂ @Fe ₃ O ₄ 'ün pH 5,5' deki manyetik alanlı ve manyetik alansız ortamda 5-FU salımı..... | 64 |
| 3.36. Pek-aşı-PDMAEMA ₂ @Fe ₃ O ₄ 'ün pH 7,4 deki manyetik alanlı ve manyetik alansız ortamda 5-FU salımı..... | 64 |
| 3.37. Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @Fe ₃ O ₄ 'ün pH 7,4 deki manyetik alanlı ve manyetik alansız ortamda 5-FU salımı..... | 65 |
| 3.38. Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @Fe ₃ O ₄ pH 5,5 deki salımı..... | 65 |
| 3.39. Pek-aşı-PDMAEMA ₂ @Fe ₃ O ₄ pH 5,5 deki 37 °C ve 44 °C 'deki salımı..... | 66 |
| 3.40. Pek-aşı-PDMAEMA ₂ @Fe ₃ O ₄ pH 7,4 deki 37 °C ve 44 °C 'deki salımı..... | 67 |

| | |
|---|----|
| 3.41. Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @Fe ₃ O ₄ pH 5,5 deki 37 °C ve 44 °C 'deki salımı..... | 67 |
| 3.42. Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @Fe ₃ O ₄ pH 7,4 deki 37 °C ve 44 °C 'deki salımı..... | 68 |



ÇİZELGELER DİZİNİ

| <u>ÇİZELGE</u> | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| 1.1. İlaç salım mekanizmaları ve salım üstelinin aldığı değerler..... | 13 |
| 2.1. Kullanılan kimyasal maddeler ve temin edildiği firmalar..... | 18 |
| 2.2. Kullanılan cihazlar, markaları ve analizlerin yapıldığı yerler..... | 19 |
| 2.3. Nanopartiküllerin aşı yüzdelere göre değişim tablosu..... | 22 |
| 3.1. Mikrodalganın aşı yüzdesine etkisi..... | 26 |
| 3.2. Pektin ve Pektin-aşı-PDMAEMA'nın FTIR Spektrumu..... | 28 |
| 3.3. Pektin ve aşı kopolimerlerde mol kütlesi sonuçları..... | 34 |
| 3.4. Pek@Fe ₃ O ₄ ve Pek@PDMAEMA@Fe ₃ O ₄ @5-FU nanopartiküllerinin tutuklanma verimi ve ilaç yükleme yüzdeleri | 42 |
| 3.5. Pektin@Fe ₃ O ₄ ve Pek-aşı-PDMAEMA@ Fe ₃ O ₄ 'ün Zeta Potansiyeli Sonuçları..... | 57 |
| 3.6. Pektin@Fe ₃ O ₄ ve Pek-aşı-PDMAEMA@Fe ₃ O ₄ 'ün Size sonuçları..... | 57 |
| 3.7 Farklı formülasyonlarla elde edilen Pek@Fe ₃ O ₄ ve Pek-aşı-PDMAEMA@Fe ₃ O ₄ @5-FU salımının kinetik parametreleri ve difüzyon katsayısı değerleri..... | 70 |

KISALTMALAR

| | |
|---------------------------------------|---|
| Pek | Pektin |
| PDMAEMA | Poli(N,N-dimetilaminoetil metakrilat) |
| Ca(OH) ₂ | Kalsiyum Hidroksit |
| KOH | Potasyum Hidroksit |
| FeCl ₃ .6H ₂ O | Demir(III) klorür |
| FeCl ₂ .4 H ₂ O | Demir(II) klorür |
| 5-FU | 5-Fluorourasil |
| FTIR | Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi |
| DSC | Diferansiyel Taramalı Kalorimetre |
| TGA | Termogravimetrik Analiz |
| SEM | Taramalı Elektron Mikroskobu |
| XRD | X-Işını Kırınımı |
| VSM | Titreşimli Manyetometre |
| LCST | Alt Kritik Çözünme Sıcaklığı |
| UCST | Üst Kritik Çözünme Sıcaklığı |
| L | Litre |
| mL | Mililitre |
| mg | miligram |
| nm | nanometre |
| THF | Tetrahidrofur |

1. GİRİŞ

Uyarıya duyarlı polimerler çevresel koşullardaki değişikliklere tepki olarak özelliklerini değiştirirler [1]. Farklı sistem uygulamaları için geniş çapta araştırılmıştır, örneğin; kontrollü ilaç salım sistemleri, doku mühendisliği, gen dağıtım sistemleri. Bu polimerler çevresel koşullardaki mikro yapısal formlarındaki değişiklikler nedeniyle ‘akıllı’ veya ‘çevreye duyarlı polimerler’ olarak adlandırılır [1]. Uyarıya duyarlı polimer sistemlerinin uyarıya cevap olarak değişmesine sebep olan mekanizmalar vardır. İyonlar arası etkileşimler, su moleküllerinin bağlanması ve zincir hareketliliğinin etkilenmesi gibi mekanizmalar uyarı cevap sistemlerine ait bazı mekanizmalardır [2]. Bu mekanizmalar uyarı cevap polimerlerindeki değişikliklerinin boyutunu ve şeklini etkilemektedir. Uyarının miktarı ile uyarı etkisi kontrol edilerek uyarı duyarlı polimerlerin hacimsel faz geçişi ayarlanabilmektedir [2].

pH duyarlı polimerler, moleküler yapılarındaki iyonlaşabilen gruplarından dolayı değişen çevresel pH değerleri altında farklı tepkiler gösterebilir [3]. Bu zayıf iyonlaşabilen gruplar pH derecesine göre proton kabul edebilir. pKa adı verilen kritik noktada, genel moleküler yapı çökmüş durumdan genişlemiş duruma geçer ve osmotik basınç nedeniyle molekülün hacmi artar [3].

Sıcaklığa duyarlı polimerler, sıcaklığı kolayca kontrol edilebilen ve uygulanabilir bir uyarı türü olduğundan en çok tercih edilen polimer türü olarak düşünülebilir. Sıcaklığa duyarlı polimerler çoğunlukla faz geçişi için kritik bir noktaya sahiptir. Alt kritik çözelti sıcaklığı (LCST), sıcaklığa duyarlı polimer sistemleri için yaygın olarak gözlenir. Bu sıcaklığın altında çözelti ve polimer molekülleri tek bir faz oluştururken polimer zincirleri LCST nin üzerinde çöker [3].

PDMAEMA pH ve sıcaklık duyarlı bir polimerdir [4]. PDMAEMA düşük sıcaklıklarda suda çözünür ve alt kritik çözelti sıcaklığı (LCST) gösterir ve ısıtıldığında faz ayrımı gösterir [5]. Bu tip uyarılara duyarlı polimerler akıllı malzemeler olarak da bilinmektedir [5].

Pektin polianyonik bir polisakkarittir [6]. Elma, portakal, armut gibi meyvelerde bulunur. Yaklaşık pKa değeri 3,5 olan zayıf bir polielektrolittir [7]. Pektin, üst

solunum yolunda bozulmadan kaldığı ve daha sonra kolon mikroflorası tarafından sindirildiği için kolona ilaç verme potansiyeli olarak bulunmaktadır [7] .

Manyetik nanopartiküller, manyetik bileşiklerden oluşan bir çekirdeğe sahiptir [8]. Manyetik alanın uygulandığı bir bölgeye hedeflenebilirler. Kanser ilacı verme çalışmalarında kullanılan nanopartiküller pasif ve aktif hedefleme ile kanser hücrelerinin sağlıklı hücrelerden ayırt edilmesinde etkilidir. Geleneksel tedavinin ciddi yan etkilerini önlemede başarılıdırlar [8].

İyi bilinen bir antikanser maddesi olan 5-Florourasil (5-FU), kolon, rektum, meme kanserleri gibi katı tümörlerde daha yüksek terapötik etkinlik gösterir [9]. 5-FU artan biyoyararlanım ve çok yönlü bir antineoplastik özellikler sergiler ve yaygın olarak kullanılan kemoterapötik bir ilaçtır [9].

Tez çalışması iki bölümden oluşmaktadır. Çalışmanın ilk bölümünde sıcaklık ve pH duyarlı PDMAEMA ile doğal polimer pektinin mikrodalga destekli serbest radikalik katılma polimerizasyonu ile sentezlenmesi, optimum aşılama koşullarının belirlenmesi ve yapılarının aydınlatılması hedeflenmiştir.

Çalışmanın ikinci bölümünde ise sıcaklık ve pH duyarlı kopolimer kaplı manyetik nanopartikül formülasyonları ile 5-FU salımı incelenmiştir. Aşı kopolimerin 5-FU yüklü Pek-aşı-PDMAEMA@Fe₃O₄ nanopartiküllerinin kontrollü ve manyetik alan kontrollü salım davranışları incelenmiş ve 5-FU yüklü salım mekanizmaları aydınlatılmıştır.

1.1. Polimerlerin Genel Tanımı

Polimerler yaşamın başlangıcından itibaren protein ve DNA gibi bitki ve hayvanlarda rol oynayan yapılardır [10]. Polimerler tanım olarak, tekrarlanan birimlerin birbirlerine bağlanması ile oluşan büyük makromoleküller olarak tanımlanır [11]. Polimer molekülü içinde tekrarlanan küçük birimlere 'mer', polimeri oluşturan küçük molekülü maddelere de 'monomer' adı verilir [11]. Bu makromoleküllerde bulunan grupların avantajından dolayı polimerler hem bilimsel hem ticari olarak büyük önem kazanmıştır. Nanofiberler ve ilaç salınımı bu alanlardandır [10]. İlaç salımı, ilaç çözeltisinin önce polimerin dış yüzeyine daha sonra ise salım ortamına transfer işlemini gösterir. Hem sentetik hem doğal olarak verimi üst düzeye çıkarmak, uygulanabilirliğini kolaylaştırmak ve yaşam düzeyini artırmak için ilaç salım sistemlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır [3].

1.2. Uyarıya Duyarlı Polimerler

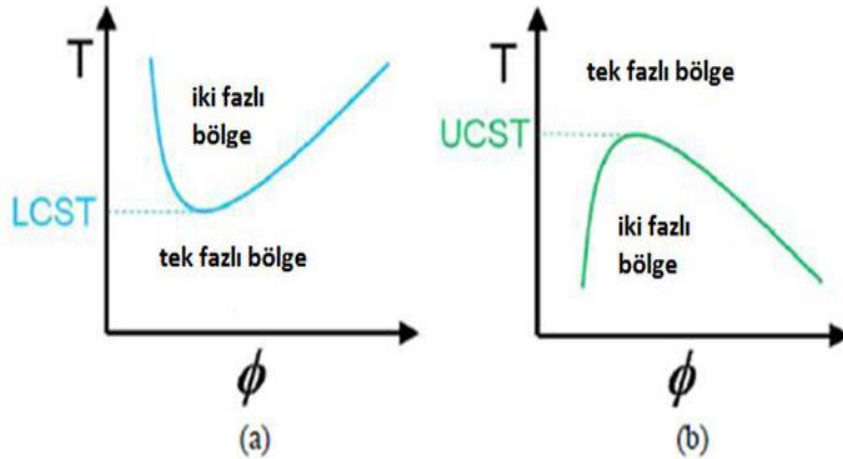
Uyarıya duyarlı polimerler, çevresel faktörlere göre fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştirebilen polimerler olarak adlandırılır [3]. Bu polimer sistemleri bir uyarıcıyı sinyal olarak tanımlar, bu sinyalin önemini değerlendirir ve sonra yanıt olarak zincir konformasyonunda değişiklikler yapar [3]. Akıllı polimerler, bir uyarının (pH veya sıcaklıktaki değişme) fiziksel ve kimyasal özelliklerde değişikliğe neden olduğu canlı sistemleri düzenler. Bu değişiklik bir molekülün konformasyonunu, çözünürlüğünü, veya bağlanma özelliklerini belirler [12]. Küçük değişiklikler bile bu polimerin molekülü arasında aniden büyük bir değişikliğe neden olabilir, bu da polimerin çevreye verdiği tepkinin büyük bir şekilde değişmesine neden olur [13]. Uyarıya duyarlı polimerlerin geri dönüşümlü ve akıllı özellikleri sayesinde farklı şekillerde birleştirilebilir. Bu özelliklerinden dolayı birden fazla uyarana cevap verebilen polimer sentezine odaklanılmıştır [3]. Bu özelliklerine göre polimerler şu şekilde sınıflandırılır :

- Sıcaklık duyarlı polimerler
- pH duyarlı polimerler
- Işığa duyarlı polimerler

- Elektrik alan duyarlı polimerler
- Manyetik alan duyarlı polimerler [3]

1.3. Sıcaklığa Duyarlı Polimerler

Sıcaklık duyarlı polimerler sıcaklığa duyarlıdırlar, ortam sıcaklığının değişmesiyle birlikte fiziksel ve kimyasal özelliklerini aniden değiştirirler [3]. Son yıllarda geri dönüşümlü olma ve uyarıcı değişimi kolaylığı sebebiyle özellikle ilaç dağıtım sistemleri ve biyomalzemeler için en yaygın kullanılan ve en güvenli uyarı duyarlı polimer grubudur [3]. Sıcaklık duyarlı iki çeşit polimer sınıfı vardır ; Alt Kritik Çözelti Sıcaklığı veren polimerler (Lower Critical Solution Temperature - LCST), Üst Kritik Çözelti Sıcaklığı (Upper Critical Solution Temperature- UCST). UCST ve LCST çözücü ve polimerin tamamen çözüldüğü durumda alt ve üst kritik sıcaklık noktalarıdır [3]. LCST davranışı gösteren bir polimer çözeltisi, kritik sıcaklık altında şeffaf homojen bir görüntüdeyken kritik sıcaklığın üstünde bulutsu bir görünüm alır [2]. Şekilde LCST ve UCST davranışı gösteren polimerlerin faz geçiş diyagramları verilmiştir [3].



Şekil 1.1. Polimer çözeltilerinin faz geçiş diyagramları a) LCST davranışı, b) UCST davranışı) (ϕ : hacimsel oran, T: sıcaklık) [1]

1.4. pH Duyarlı Polimerler

pH duyarlı polimerler, polimer yapısındaki iyonlaşabilen gruplarından dolayı ortamın pH seviyesi açısından farklı fiziksel ve kimyasal özellikler gösterebilir [3]. Polimer zincir konformasyonu, polimer hacmi ve çözünürlüğü, ortamın asitliği yada bazlığına göre değişebilir. Hacimsel genişleme veya büzülme pH duyarlı polimerlerin kullanımını farklı uygulamalarda daha kullanışlı hale getirir [3].

pH duyarlı polimerler, asılı asit veya baz grupları taşıyan zayıf polielektrolitlerdir ve çevre ortamının pH'sındaki değişikliklerle protonları kabul edebilirler. Bundan dolayı polielektrolitler iki gruba ayrılır bunlar; anyonik polielektrolitler ve katyonik polielektrolitlerdir [3]. Anyonik pH duyarlı polimerler, protonları serbest bırakan ve pKa değerlerinin üzerindeki pH' da iyonize hale gelen karboksilik asit veya sülfonik asit asılı gruplar içeren zayıf polielektrolitlerdir [3].

Zayıf poliasidik polimerler düşük pH'da protonları kabul ederken, yüksek pH'da protonları iterler [3]. Bu nedenle, tüm polimer zincirinde polimer arasında güçlü elektrostatik itme ile sonuçlanan birçok negatif yüklü grup formu bulunur. Zincir ve hacimsel genişleme yüksek pH'da gerçekleşir [3]. Zayıf poliasidik pH duyarlı polimerlerin en bilinen örnekleri poli(akrilik asit), poli(metakrilik asit), poli sülfonamidler ve poli(dimetilaminoetil metakrilat) dır. Diğer yandan pH duyarlı zayıf baz grubuna sahip malzemeler zıt bir eğilim gösterir. Baz grupları yüksek pH' da nötrlenirken, düşük pH'da protonlanır. Dolayısıyla poli bazlar pozitif yüklü fonksiyonel polimer zincir grupları arasındaki büyük elektrostatik itme kuvvetleri nedeniyle düşük pH'da şişmiş durumdadır. Poli(4-vinilpridin), Poli(2-vinil pridin) ve poli(vinil amin) ve poli(dimetil amino etil metakrilat) poli bazik pH duyarlı polimerlerin en yaygın örnekleridir [3].

1.5. Işık Duyarlı Polimerler

Işığa duyarlı bir polimer, ışığa maruz kaldığında hızlı bir yapı değişimi gözlenir [1]. Işık herhangi bir fiziksel temas gerektirmeyen, ucuz kolay kontrol edilebilen bir uyandır. Işığa duyarlı polimerler çoğunlukla azobenzen, spirofiran, ve trifenil

metan gibi fotoduyarlaştırıcılar tarafından modifiye edilir [1]. Bu ışık duyarlı moleküller, ışığa maruz kaldıklarında polimer zincirlerinde konformasyonel değişiklikler sağlayarak geometride veya polaritede bir değişiklik meydana getirirler. Işığa duyarlı polimerler ikiye ayrılır; UV duyarlı ve görünür bölge duyarlı polimerler. UV duyarlı polimerler ucuz, güvenli ve kolay uygulanabilir olduğundan biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır [1].

1.6. Elektrik Alan Duyarlı Polimerler

Elektrik alan duyarlı polimerler, elektrik alanındaki değişikliklere tepki olarak özelliklerini değiştirir [1]. Dışarıdan bir uyarıcı olan elektrik alanı bir ekipman yardımıyla akımın büyüklüğünü ve elektrik darbelerinin süresini kontrol ederek sistem üzerinde kontrol sağlar. Elektrik alan duyarlı polimerler iyonlaşabilir gruplara sahip polielektrolitlerdir [1]. Bu grupların iyonizasyonunun elektrik akımı değiştirilerek kontrol edilebildiğini göstermiştir. Bu özellik hidrojellerin şişmesini, bükülmesini veya küçülmesini ayarlamak için hidrojellerin ilaç salımı yapay kas sisteminde kullanılmasının önünü açmak için kullanılmıştır. İlaç dağıtım sistemlerinde elektrik alana duyarlı polimerlerin kullanılmasındaki en büyük tehlike, çevre dokulardaki sinir uçlarına zarar vermemek için elektrik akımının dozunun ayarlanmasındaki güçlülüdür [1].

1.7. Manyetik Alan Duyarlı Polimerler

Bu tür polimerler oluşturulan manyetik alanın etkisiyle şekil değiştirebilen polimerlerdir. Polimer manyetik alana girdiğinde ısınırken manyetik alan kaldırıldığında soğuyarak başlangıç haline gelir [48]. Biyomedikal uygulamalarda manyetik alan kullanımı, yeni ilaç taşıyıcı sistemleri tasarlamak için gelişen bir yaklaşımdır. Manyetik alana duyarlı polimerler hazırlamak için polimerler ve manyetik nanopartiküller aynı polimer matrisinde birleştirilir. Ferrit ve demir esaslı manyetik nano parçacıklar toksik olmamaları, biyolojik uyumları ve immunojenik

olmamaları nedeniyle tercih edilirler. İlaçların salımını ve hareketini kontrol etmeye ek olarak ayrıca görüntüleme ajanları olarak işlev görebilir, doku tedavilerinde ısı üretmek için kullanılır [1]. Görüntüleme ve kontrollü ilaç verme uygulamaları için manyetik nanopartiküller veya manyetik nanopartiküllerin polimer tarafından kapsüllenmesi ile katkılı polimerik jellerden faydalanılmıştır [1].

1.8. Kontrollü İlaç Salım Sistemleri

Tüm kontrollü salım sistemleri ilaç tedavisinin etkinliği için geliştirilmiştir. Bu gelişme yan etkilerinin yoğunluğuna kıyasla terapötik aktivitenin artırılması, özel ilaç uygulama ihtiyacını ortadan kaldırma veya tedavi sırasında gerekli ilaç uygulamalarının sayısını azaltma gibi bazı avantajlar sağlar [14]. Kontrollü ilaç salım sistemleri vücudun belli bölgelerine ilacı iletebilen veya uzun süreli ilaç salımını kontrol edebilen sistemlerdir [14]. Kontrollü ilaç salım çalışmalarına ilk kez 1950' li yıllarda başlanmış ve tarım alanında kullanılmıştır [14].

Polimerler ilaç verme sistemi alanlarında giderek daha fazla önem kazanmıştır. Polimerik ilaç verme sistemlerinden ilaçların kontrollü salımı, polimer biyo bozunması ve ilaç matrisinden ilaç difüzyonu oranlarının düzenlenmesi ile elde edilmektedir. Polimerik sistemler için, ilaç salımı tipik olarak polimerik matristeki polimer matrisinin dış yüzeyine nasıl maruz kaldığı ve bunun çevreye nasıl salındığı anlamına gelir. İlaç molekülleri difüzyon kontrollü salım, çözücü kontrollü salım ve degradasyon kontrollü salım ile ilaç dağıtım sistemlerinden taşınabilir.

1.8.1. Salım Mekanizmasına Göre Kontrollü Salım Sistemleri

Kontrollü salım yapan sistemler aşağıdaki gibi sınıflandırılmıştır [15].

- 1. Difüzyon kontrollü sistemler**
 - Membran (rezervuar) sistemler
 - Matriks (monolitik) sistemler
- 2. Çözücü kontrollü sistemler**
 - Osmotik kontrollü sistemler
 - Şişme kontrollü sistemler

3. Kimyasal kontrollü sistemler

- Biyobozunur sistemler
- Zincire takılı sistemler

4. Ortama duyarlı sistemler

1.8.1.1. Difüzyon Kontrollü Sistemler

Difüzyon kontrollü sistemler en yaygın kullanılan kontrollü sistemlerdir. Bu sistemlerde etkin maddenin salım hızı, etkin maddenin suda çözünmeyen bir polimerden difüzyonu ile kontrol edilir. Difüzyon ilaç moleküllerinin derişiminin yüksek olduğu bölgeden, düşük olduğu bölgeye hareketidir. Buradan etkin maddeyi içeren çekirdek kısmı polimerik membranla kaplanmışsa buna membrandan difüzyonla salım hızının kontrol edildiği sistemler, eğer etkin madde inert polimerik bir matriksle çözündürülmüş veya dağıtılmışsa bu sistemlere de matriksten difüzyonla salım hızının kontrol edildiği sistemler adı verilmektedir [16].

1.8.1.2. Çözücü Kontrollü Sistemler

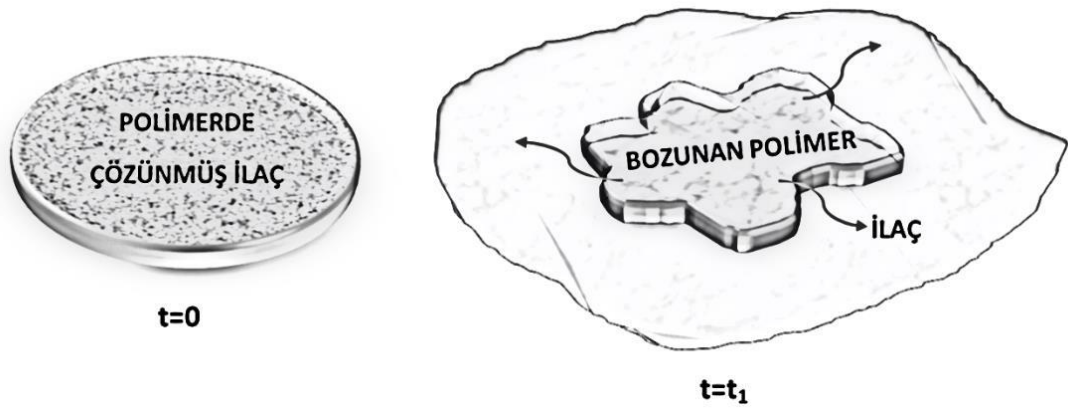
Çözücünün aktive ettiği sistemler osmotik ve şişme kontrollü sistemler olmak üzere iki türdür [17]. Osmotik kontrollü ilaç salım sistemlerinde, ilacı düşük bir miktarını içeren bir dış sıvı yarı geçirgen bir membrandan ilacın yoğun olarak bulunduğu bölgeye doğru hareket eder [17]. Osmotik basınç membranının bir tarafı ile diğer tarafı arasındaki derişim farkını azaltma eğilimindedir. Sıvının içeri doğru hareketi, çözünmüş ilacın küçük bir delik yoluyla dışarı çıkmasına sağlar.

İlaç salımında kullanılan bir diğer mekanizma, çözücü içerisine konulduktan sonra taşıyıcının şişmesi ile salınımı gerçekleştirilen şişme kontrollü salım sistemlerdir [17]. Bu sistemler başlangıçta kurudurlar, vucüt içine yerleştirildiklerinde suyu veya diğer vucüt sıvılarını adsorplar ve şişerler [17].

1.8.1.3. Kimyasal Kontrollü Sistemler

Kimyasal kontrollü ilaç salım sistemleri biyobozunur ve zincire takılı sistemler olarak ikiye ayrılır.

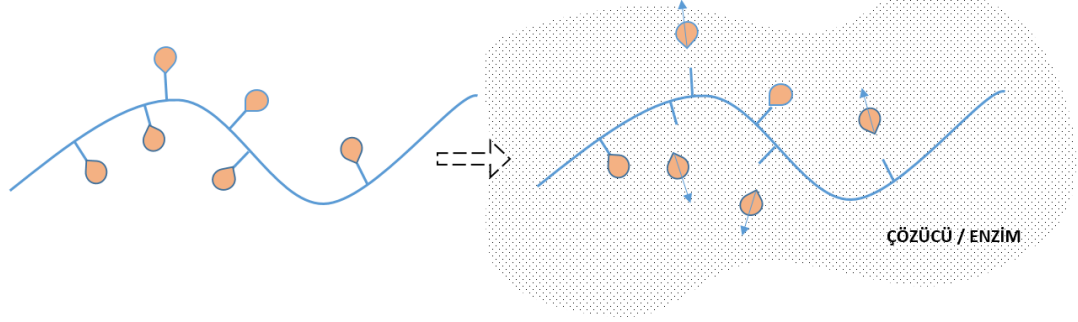
Biyobozunur Sistemler: Canlı vücudu içerisinde yapısının bozularak zararsız , küçük moleküllü yapılara dönüşerek polimerlerin taşıyıcı olarak kullanıldığı sistemlerdir [18]. Bu sistemde etken madde polimer içinde dağılmıştır. Matriks sistemlerde salım boyunca polimer faz değiştirmeden ilaç difüzyon ile salınırken, vücutta aşınan sistemlerde ise polimer faz zaman geçtikçe yapısı erozyona uğrayarak zaman geçtikçe azalır. Vücutta aşınan sistemlerde polimer faz ile zaman geçtikçe vücut tarafından emilip atıldığından dolayı cerrahi bir müdahale çıkarılmasına gerekmez [18].



Şekil 1.2. Biyobozunur sistemlerden ilaç salımının şematik gösterimi

Zincire Takılı Sistemler: İlaç polimer zincirine kovalent bağla bağlanmıştır. İlaç salımı kovalent bağların enzimatik yol ile ya da kimyasal yolla kopması sonucu gerçekleşir. Zincire takılı sistemlerin diğer kontrollü salım sistemlerine göre üstünlüğü, sistemin % 80'ninin etken madde olmasıdır. Geleneksel taşıyıcı

sistemlerde yapının %70-90 'ının polimer faz olduğu düşünülürse ekonomik yönden bir üstünlüğü olduğu söylenebilir [18].



Şekil 1.3. Zincire takılı sistemlerden ilaç salımının şematik gösterimi

1.8.1.4. Ortama Duyarlı Sistemler

Ortama duyarlı sistemler pH, sıcaklık, manyetik alan, elektrik alan gibi dış ortam şartları değiştirildiğinde cevap olarak ilaç salımı gerçekleştirilir [18].

1.9. Kontrollü İlaç Salım Sistemlerinin Uygulama Yolları

İlacın uygulama alanı terapötik sonucu doğrudan etkiler. Son yapılan çalışmalarda biyoteknoloji ürünü pek çok protein ve pektinin fiziksel ve kimyasal özellikleri, uygulama yeri ve ilaç tasarımında göz önünde bulunmaktadır [19].

Parantral Yol: Parantral ilaç verme sistemlerinde, ilaç vücuda enjeksiyon veya infüzyon yoluyla uygulanır [20]. Parantral uygulama, intravenöz, intramüsküler, subkütan, intradermal ve intraperitoneal gibi uygulama bölgesine sınıflandırılabilir [20]. Genel olarak, ilaç formülasyonlarının sulu çözeltileri ve sıvı ve katı formların dispersiyonları kullanılır [20].

Transdermal Yol: Bir ilacın transdermal uygulaması, ilacın deriden ve kan dolaşımına enjekte edilmesini içerir. Yarı katı ilaç formları daha çok kullanılmasına

rağmen, sıvı dozaj formları ve katı formülasyonlarda kullanılmaktadır. Transdermal ilaç verme sistemlerinin ana fikri, terapötik ajanların cilt boyunca sistemik dolaşıma kontrollü olarak verilmesidir. Polimerler ve özellikle polimerik tabakalar transdermal uygulama sistemlerinin tasarımının önemli bir parçasını oluşturur. Transdermal uygulama sisteminde, ilacın polimerik ağ içinde dağıldığı veya çözüldüğü tabaka olabilir, öyle ki sistem kontrollü bir ilaç verme aracı görür ve ilacın deriden salınmasına neden olur. Bu polimerik membranlar, terapötik ajanların olası bir dış hasardan koruyucu kaplaması olarak da kullanılabilir [20].

Oral Yol: Oral ilaç verme sistemleri terapötik ajanların uygulanması için yaygın olarak tercih edilen yoldur. Kolay uygulama, hasta uyumu ve uygun maliyetli üretimi nedeniyle ilaç verme sistemlerinde yaygın olarak kullanılır. Oral salım mekanizmaları, ilacın kandaki derişimlerinin azalmasına neden olur ve bu da toksisiteyi azaltır [20].

Oküler Yol: Göz hastalıklarının tedavisinde kolay uygulanma ve güvenilirlik aktif ilaçların tek veriliş yolu olmasından dolayı en yaygın ilaç verme yöntemlerinden biri topikal yöntem olarak kullanılır. Oküler ilaçların kullanılmasında genellikle kullanılan topikal dozaj formları, göz damlaları, göz merhemleri, jeller ve süspansiyonlardır [21].

Rektal Yol: Protein ve peptid ilaçlarının ağız ve sindirim dışı yolla uygulanmasında etkin bir yoldur. Rektal yol ilaç salımında birçok avantajlar sağlar. Bu avantajlar; ilk geçiş metabolizmasının kısmi olarak engellenmesi, düşük molekül ağırlıklı ilaçların hızlı emilimi, lenf sistemi içine emilme potansiyeli ve ilaç salımının hızının kontrol edilebilmesi ve emiliminin artırılmasıdır [21].

İmplant Yol: Gelişen teknoloji ile beklentilerin artması sebebiyle sistemik etki veya uzun süreli bölgesel uygulamalarda dozaj formlarının kontrollü salım sağlayan sistemler olarak, özellikle implant formunda tasarlanması önem kazanmıştır. İmplant olarak tasarlanma ile karaciğerden ilk geçiş etkisine uğrayan kaybının önüne geçilmesi, yan etkilerinin azaltılması gibi avantajlar ve oral yolla verişte karşılaşılan gastrointestinal sistemden etkilenme ve burada sınırlı süre tutulmadan kaynaklanan dezavantajlar, klasik dozaj formlarının neden olduğu kan seviyelerindeki değişiklikler ve buna bağlı dezavantajlar giderilmiş olmaktadır [22].

Pulmoner Yol: Pulmoner yol, akciğerler aracılığı ile ilaç verme şeklidir [22]. Bu sistemde ilaç ağız veya burundan püskürtme yolu ile uygulanır [22].

1.10. İlaç Salım Kinetiği

Kontrollü salım sistemlerinin amacı, kandaki veya hedef dokulardaki ilaç derişimini mümkün olduğu sürece uzun tutmaktır. İlaç süresi ve ilaç salım üzerinde bir kontrol uygulamaktadır. Bu amaçla genellikle kontrollü salım sistemi ilacın etkin derişimini hızlıca elde etmek amacıyla başlangıçta dozun bir kısmını serbest bırakır. Daha sonra, ilaç salım kinetikleri istenen ilaç derişiminin elde edilmesini sağlayan ilaç dozunu sağlamak için iyi tanımlanmış bir davranışı takip eder.

Modele bağlı yöntemler çözünme yapısını açıklayan farklı matematiksel modellere dayanır [23].

Sıfırıncı Derece Kinetik: İlacın taşıyıcı sistemden ayrılmadığı ve yavaş yavaş çözünmenin gerçekleştiği salımı temsil eder ve aşağıdaki eşitlikle ifade edilir [23] :

$$Q_t = Q_0 - K_0 t$$

Burada, Q_t : t anındaki çözünmeden kalan ilaç miktarı,

Q_0 : başlangıçta çözelti içerisinde bulunan ilaç miktarını,

K_0 : sıfırıncı derece hız sabiti .

Serbest salım kinetiklerini incelemek için, in vitro ilaç salım çalışmalarından elde edilen veriler, zamana karşı salınan kümülatif ilaç miktarı olarak grafiğe geçirilir [23].

Birinci Derece Kinetik: Bu kinetiğe göre hız ifadesi şu eşitlikle verilmektedir.

$$\ln Q_t = \ln Q_0 - K_1 t$$

Q_t : t anındaki çözünmeden kalan ilaç miktarı

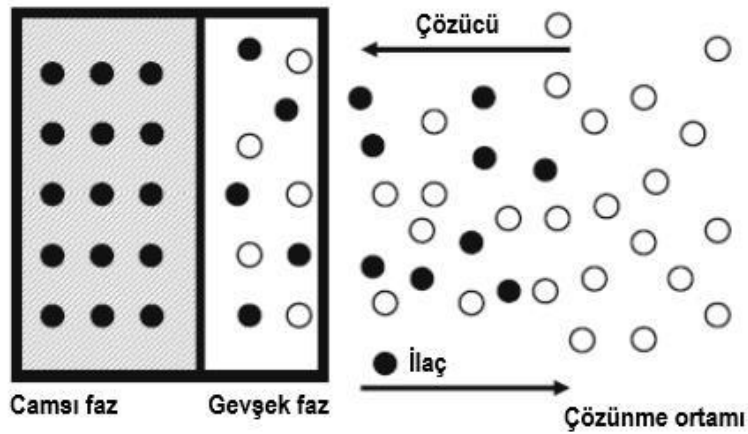
Q_0 : Başlangıçtaki etkin madde miktarı

K_1 : Birinci derece çözünme hız sabiti

t: zaman

Kalan $\ln Q$ değerleri t' ye karşı grafiğe geçirildiğinde eğimi $-k$ olan bir doğru elde edilmektedir. Birinci derceden kinetikle, zamana bağlı olarak çözünene etkin madde miktarı üstel şekilde azalmaktadır. Klasik dozaj formlarının çoğu, bu çözünme mekanizmasını göstermekte ve uzatılmış salım yapan formülasyonlar da bu tip çözünme işlemine uyum sağlamaktadır [24].

Peppas Eşitliği: Polimerik bir sistemden ilaç salımını açıklayan bu model Korsmeyer ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır [23]. İlaç salım sisteminde, hidrofilik polimer matrisindeki su akışı ve sistemin şişmesi ilacın salınmasını kontrol eder. İlaç başlangıçta camsı polimer matrisinde homojen olarak dağılmış şekilde bulunmaktadır. Camsı polimerden olası bir ilaç difüzyonu gerçekleşemez. Polimer biyolojik sıvılar veya su ile temas ettiğinde, polimer matrisi şişmeye başlar ve şişmiş kauçuksu bir hal alarak gevşer. Polimerin gevşemesi ile ilaç molekülleri kauçuğumsu fazdan ayrılıp difüzyona uğrayabilirler [23].



Şekil 1.4. Şişme kontrollü ilaç dağıtım sistemi . Camsı hidrojel su ile temas ettiğinde polimer matrisi şişmeye başlar ve kauçuksu faz görünür. İlaç molekülleri kauçuksu fazda yayılır [23].

Ritger ve Peppas genel ilaç salım süreci üzerinde difüzyon ve makromoleküler rahatlamamanın önemini belirlemek için basit bir denklem önermişlerdir [23]:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n$$

Bu denklemde M_t ve M_∞ sırasıyla t zamanında ve dengede salınan ilaç miktarlarıdır. k orantı sabiti ve n difüzyon katsayısıdır [23].

Bu eşitlik camsı polimerlerde Fick yasasına uymayan (durum II taşınma) ve Fick yasalarına göre difüzyonla salım mekanizmalarının birleştirilmiş halidir. [24].

Güç yasası olarak adlandırılan eşitlik Peppas ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir. Bu yüzden “Peppas eşitliği” olarak adlandırılır. Bu eşitlik %60’lık salım için geçerlidir [22].

Nanopartiküllerden ilaç salımı aynı zamanda difüzyon katsayısı (D) değerlerinin hesaplanmasıyla desteklenmiştir.

$$D = \left(\frac{r\theta}{6M_\infty}\right)^2 \pi$$

Burada θ , $M_t/M_\infty - \sqrt{t}$ grafiğinin eğimi, r mikrokürelerin yarıçapları, M_∞ ise mikrokürelerdeki salınabilecek maksimum ilaç miktarıdır [24]

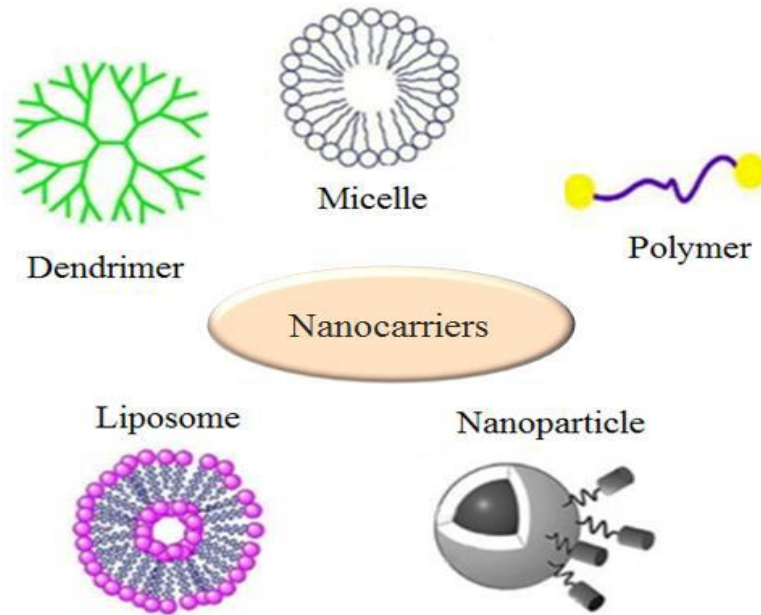
Çizelge 1.1. İlaç salım mekanizmaları ve salım üstelinin aldığı değerler[22].

| Salım üsteli, n | | | İlaç salım mekanizması |
|-----------------|-------------------|-------------------|------------------------|
| İnce film | Silindir | Küre | |
| 0.5 | 0.45 | 0.3 | Fick Difüzyonu |
| $0.5 < n < 1.0$ | $0.45 < n < 0.89$ | $0.43 < n < 0.85$ | Anamolous |
| 1.0 | 0.89 | 0.85 | Durum II |

1.11. Nanopartiküller

Yan etkilerin üstesinden gelmek ve kemoterapinin handikaplarını azaltmak için bazı nanoyapılar kimyasal olarak kurulmaktadır. Amaç, bu tehlikeli olmayan nanotaşıyıcıları farklı mekanizmalarla hastanın vücudunda ilgili bölgeye iletmektir. Lipozomlar, dendrimerler, polimerler, nanopartiküller ve miseller çoğu yan etkilerin önlenmesi, etkinliğinin artırılması ve kemoterapinin dezavantajlarının üstesinden gelmek için serbest kemoterapi ilaçlarından çok daha verimli olan bu nanopartiküllerin bazı örnekleridir [25] .

Manyetik nanopartiküller, manyetik bileşiklerden ve polimer örtüden oluşan bir çekirdeğe sahiptir. Manyetik alanın uygulandığı bölgeye hedeflenebilirler. Kanser ilacı verme çalışmalarında kullanılan nanopartiküller pasif ve aktif hedefleme ile kanser hücrelerinin sağlıklı hücrelerden ayırt edilmesinde etkilidir. Geleneksel tedavinin ciddi yan etkilerini önlemede başarılıdırlar. Spesifik alanlara konjuge edilerek reseptör aracılı endositoz ile hücreye alınabilir ve bu da ilaca dirençli hücrelere ilaç verilmesinde etkili olur. Bununla birlikte toksisite, dolaşımdaki stabilite ve etkili doku dağılımı ile ilgili bazı sınırlamaları vardır. [8]

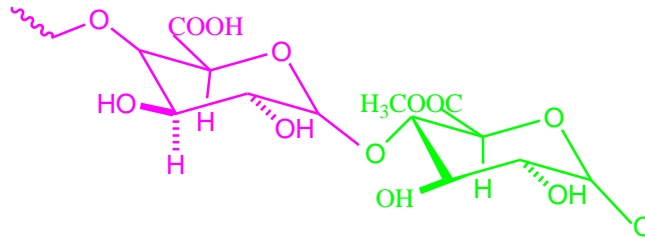


Şekil 1.5. Nanotaşıyıcıya bazı örnekler [25].

1.12. Çalışmada Kullanılan Polimerler ve İlaçlar

1.12.1. Pektin

Proteinler ve diğer polisakkaritler ile birlikte, pektinler kimyasal olarak kararlı ve fiziksel olarak güçlü olan bitkilerin iskelet dokularını oluştururlar [6]. Pektin, karboksil gruplarının kısmen metil ester formunda olduğu α -1,4-glikozidik bağı yoluyla bağlanmış büyük miktarda poli(D-galakturonik asit) içeren heterojen bir polisakkarittir [7]. Esterleştirilmiş karboksil gruplarının yüzdesi olarak ifade edilen esterefikasyon derecesi (DE), pektini sınıflandırmak için önemli bir araçtır. DE %50' den fazla olduğunda pektinin yüksek metoksi, HM (High methly ester) pektin olduğu söylenir [7]. Pektinin gıda endüstrisinde jelleşme veya koyulaştırıcı ajan olarak ve farmasötik endüstrisinde bir yardımcı madde olarak büyük uygulanabilirliği esas olarak toksik olmayan, düşük üretim maliyetleri ve jelleşme aktivitesi özelliklerinden kaynaklanmaktadır [6]. İlaç dağıtım sistemlerinde pektin kullanımı ile ilişkili en önemli avantajlardan biri, kolonda bulunan anaerobik bakteriler tarafından biyolojik olarak parçalandığı için gastrointestinal sistemin(GIT) proksimal kısmından geçişe karşı direncidir [26].

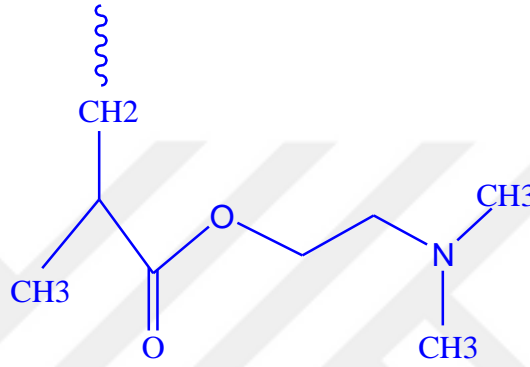


Şekil 1.6. Pektinin yapısı

1.12.2. Poli(N,N-dimetilaminoetil metakrilat) (PDMAEMA)

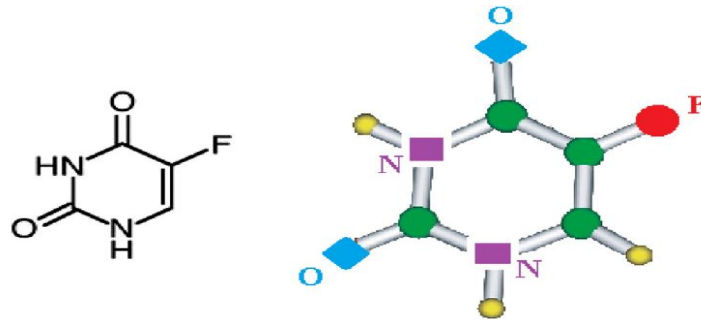
N,N-dimetilamino etil metakrilat (DMAEMA) katyonik polielektrolit oluşturmak üzere polimerize olan bir monomerdur [27]. Poli(N,N-dimetilaminoetil metakrilat) veya P(DMAEMA), hem sıcaklık hem de pH duyarlıdır. P(DMAEMA), pH 8.5'te yaklaşık 45 °C' lik bir LCST' ye ve suda 7.0–7.3'lik bir pKa'ya sahiptir [28].

P(DMAEMA) düşük pH ortamında protonlanır ve hidrofilik hale getirilir. Yüksek pH'da deprotonlanma ile, P(DMAEMA) hidrofobik hale getirebilir [28]. P(DMAEMA) LCST'si büyük ölçüde pH'ya bağlıdır ve düşük pH'da hiçbir LCST gözlenmemiştir [28]. P (DMAEMA) LCST'si pH 7.0'da 50 °C'den yüksektir [28]. Biyomedikal uygulamalarda bu LCST'nin kullanılması pratik değildir. Bu nedenle, P(DMAEMA) genellikle sadece pH'a duyarlı malzemeleri hazırlamak için kullanılır. P(DMAEMA) esaslı malzemeler düşük pH'da geri dönüşümlü pH'a bağlı şişme davranışı sergileyebilir [28].



Şekil 1.7. Poli (N,N- dimetilaminoetil metakrilat) ' in kimyasal yapısı

1.12.3. 5-Fluorourasil (5-FU)



Şekil 1.8. 5-Fluorourasil 'in kimyasal yapısı

Son 70 yıldır, floropirimidin 5-florourasil (5-FU) kolorektal, baş, boyun ve meme kanserleri de dahil olmak üzere çeşitli kanserlerin tedavisinde birinci basamak

kemoterapi olarak konumlandırılmıştır [29]. 5-fluorourasil (5-FU) klinik kemoterapide katı tümörleri tedavi etmek için bir antikanser ilacıdır ve asidik hidrofilik bir ilaçtır. Bu ilaç, kontrollü salım teknolojisi ile olumsuz etkileri en aza indirmek için iyi bir ilaçtır [30]. 5-Fluorourasil; asidik ($pK_a=7,98$), hidrofilik karakterli, erime noktası ($282-283\text{ }^{\circ}\text{C}$) yüksek ve solid tümör tedavisinde kullanılan antineoplastik ajandır [24]. Nükleotid analog kimyasal yapısı nedeniyle 5-FU fluoro nükleotitlerin DNA ve RNA'ya dahil edilmesini sağlar ve sentetik enzim (yani timidilat) sentazını etkili bir şekilde inhibe eder, bu da hücresel büyüme ve proliferasyonun durdurulmasına neden olur [31].



2. MATERYAL YÖNTEM

2.1. Kimyasal Maddeler

Kullanılan kimyasal maddeler ve temin edildikleri firmalar Çizelge 2.1’de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Kullanılan kimyasal maddeler ve temin edildiği firmalar

| No | Kimyasal Maddeler | Firma |
|----|---|------------------|
| 1 | Pektin (%55-70 esterlenmiş) Tetrahidrofur (THF) Aseton 5-Fluorourasil 4,4’ Azobis(4-siyanovalerik asit) 2 -(Dimetilaminoetil) metakrilat (Demir (III) klorür) FeCl ₃ .6H ₂ O %37(HCl) Hidroklorik asit Kalsiyum Hidroksit(Ca(OH) ₂) Asetik asit (% 100) Sodyum fosfat çift bazlı susuz (HN _a 2O ₄ P) | Sigma Aldrich |
| 2 | Demir (II) klorür(FeCl ₄ .4H ₂ O) | Carlo Erba |

| | | |
|---|---|---------|
| 3 | Potasyum Hidroksit (KOH) Sodyum asetat trihidrat (CH ₃ COONa.3H ₂ O) | ISO LAB |
| 4 | Sodyum dihidrojen fosfat (susuz) (H ₂ NaO ₄ P) | Fluka |

2.2. Cihazlar

Çizelge 2.2' de deneysel çalışmalarda kullanılan cihazların markaları/modelleri ve analizlerin yapıldığı yerler belirtilmiştir.

Çizelge 2.2. Kullanılan cihazlar, markaları ve analizlerin yapıldığı yerler

| No | Cihaz Adı | Marka,Model | Analizin yapıldığı yer |
|----|----------------------------------|-------------------------|---|
| 1 | FTIR Spektrofotometresi | Bruker,Vertex 70V,USA | Kırıkkale Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı |
| 2 | Termogravimetrik Analiz (TGA) | TA TGA Q 500 USA | Kırıkkale Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı |
| 3 | Zeta sizer | Malvern Instruments, UK | Kırıkkale Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı |
| 4 | Manyetik histerisis Ölçümü (VSM) | Cryogenic Limited PPMS | ODTÜ Merkez Laboratuvarı |

| | | | |
|---|--|-----------------------------|---|
| 5 | X Işını Difraksiyonu (XRD) | Rigaku, Ultima IV, USA | ODTÜ Merkez Laboratuvarı |
| 6 | Yüksek Kontrastlı Transmisyon Elektron Mikroskobu (CTEM) | Jeol, JSM 5600, JAP | ODTÜ Merkez Laboratuvarı |
| 7 | Manyetik Alınganlık Testi | SR 830 DSP Lock-in Amplifer | Kırıkkale Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı |
| 8 | Diferansiyal Taramalı Kalorimetri (DSC) | DSC Q2000 | Kırıkkale Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı |

Yukarıdaki cihazlara ek olarak aşağıdaki cihazlarda kullanılmıştır;

- UV Spektrofotometresi (Perkin Elmer Lambda 35, USA)
- Çalkamalı su banyosu (Medline BS-21)
- Manyetik karıştırıcı (Corning PC-420)
- Vakum etüvü (Vacucell VUS-B2V)
- Analitik terazi (Pioneer PA214C)
- Mikrodalga fırın (Milestone, stars)

2.3. Mikrodalga Destekli Pek-aşı-PDMAEMA Sentezi

Aşılama işlemi azot atmosferi altında, üç boyunlu balonda, geri soğutucu altında su banyosunda ve mikrodalga fırında gerçekleştirilmiştir. Pektin çözeltisi saf su içerisinde (%2), oda sıcaklığında 1 gün karıştırılarak elde edilmiştir. Çözeltiye gerekli miktarda destillenmiş N,N-dimetilaminoetil metakrilat monomeri ilave edilerek 70 °C’ de 30 dakika süreyle azot gazı geçirilerek ve daha sonra karışıma 4,4-azobis 4-siyanovalerik asit başlatıcısı ilave edilerek tepkime başlatılmıştır. Tepkime süresince ortamdaki azot gazı geçirilmeye devam edilmiştir. Aşılama tepkimesi çeşitli sürelerde (1-4 saat) gerçekleştirilmiştir. Oluşan ürünler asetonla çöktürülerek ve süzülerek elde edilen ürün homopolimerinden uzaklaştırmak için sokslet içerisinde THF ile 48 saat yıkanmıştır. Homopolimeri uzaklaştırılan kopolimer 40 °C de vakum etüvünde sabit tartıma gelene kadar kurutuldu. Optimum çalışma koşullarını belirlemek için aşılama süresi, mikrodalga gücü, monomer miktarı ve polimer derişimlerinin etkisi incelenmiştir. Aşı yüzdesi ve verimi aşağıdaki gibi hesaplanmıştır.

$$\%Aşılama\ verimi = \frac{mc-mp}{(mc-mp) + mh} \times 100$$

$$Aşı\ Yüzdesi = \frac{mc-mp}{mp} \times 100$$

mc: Kopolimer kütlesi

mp: Polimer kütlesi

mh: Homopolimer kütlesi

2.4. Pek- aşısı -PDMAEMA kaplı manyetik nanopartiküllerin hazırlanması

Pek-aşı-PDMAEMA kopolimerinden (0,2 g) 50 mL deoksijene suda 70 °C de manyetik karıştırıcı yardımıyla çözülmüştür. İlaç yüklü nanopartikülde hazırlanan

kopolimer çözeltisine 100 mg olarak ilave edilmiştir. Hazırlanan bu çözelti mikrodalga fırında 70 °C sıcaklıkta 500 watt gücünde en son karışma hızında yarım saat boyunca azot atmosferinde karıştırılmıştır. Daha sonra bu çözeltiliye 1 M HCl ile asitlendirilmiş 10 mL 0,2 M FeCl₃.6H₂O ve 182 mg FeCl₄. 4H₂O eklenmiştir. Hazırlanan bu karışım mikrodalgadaki çözeltiliye damla damla eklenip yarım saat karıştırılması sağlanmıştır. Çözeltiye çapraz bağlayıcı olarak 20 mL 1 M Ca(OH)₂ ve ortamın bazikleşmesini sağlamak için 20 mL 2 M KOH karıştırılarak ilave edilmiş ve 1 saat karıştırılmıştır. pH değeri 10'a ayarlanmıştır. Bu karışma işleminden sonra oluşan manyetik nanopartiküller alınıp iki ayrı behere dökülüp magnet yardımıyla toplanmıştır. Nanopartiküller magnetle toplandıktan sonra 50 mL %40 aseton %60 deoksijene su karışımı ile 3 kere yıkama işlemi yapılmıştır. Yıkama işleminden sonra oluşan nanopartiküller petrilere dökülüp sabit tartıma gelene kadar etüvde 25 °C'de kurutulmuştur. İlaç yüklü nanopartiküllerde aynı şekilde hazırlanmış, nanopartikülün ilaç yükleme kapasitesi ve ilacın tutuklanma verimi aşağıdaki eşitlik ile hesaplanmıştır.

$$\text{İlaç yükleme kapasitesi} = \frac{\text{Nanopartiküldeki deneysel ilaç miktarı}}{\text{Nanopartikül miktarı}} \times 100$$

$$\text{Tutuklanma verimi(\%)} = \frac{\text{Nanopartiküldeki deneysel ilaç miktarı}}{\text{Nanopartiküldeki teorik ilaç miktarı}} \times 100$$

Çizelge 2.3. Nanopartiküllerin aşı yüzdelerine göre değişim tablosu

| KOD | Kısaltma | Aşı verimi | Fe ⁺² | Fe ⁺³ |
|-----|---|------------|------------------|------------------|
| A0 | Pek@Fe ₃ O ₄ | 0 | 182 mg | 54 mg |
| A1 | Pek-aşı-PDMAEMA ₁ @ Fe ₃ O ₄ | 12 | 182 mg | 54 mg |

| | | | | |
|----|---|----|--------|-------|
| A2 | Pek-aşı-PDMAEMA ₂ @ Fe ₃ O ₄ | 18 | 182 mg | 54 mg |
| A3 | Pek-aşı-PDMAEMA ₃ @ Fe ₃ O ₄ | 30 | 182 mg | 54 mg |
| A4 | Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @ Fe ₃ O ₄ | 37 | 182 mg | 54 mg |

2.5. 5-FU' nun Pektin ve pektin-aşı-PDMAEMA Manyetik Kaplı Nanopartiküllerden Salım Çalışması

Değişik formülasyonda hazırlanan Pek-aşı-PDMAEMA@Fe₃O₄ kaplı manyetik nanopartiküllerin ilaç salım davranışını incelemek için belirli miktarda nanopartikül örnekleri 50 mL tampon çözeltilerin içerisine konularak çalkamalı su banyosuna yerleştirildi. Salım çalışmaları pH 1,2 HCl asit çözeltisinde, pH 5,5 asetik asit/asetat tamponunda ve pH 7,4 fosfat tamponunda 37 °C ve 44 °C sıcaklıkta 96 saat süreyle yapılmıştır. Nanopartiküllerden salınan 5-FU miktarını belirlemek için çözeltilerden saat başı 0,5 mL örnek alınıp UV spektrofotometresi ile 266 nm dalga boyunda absorbans değerleri belirlenmiş ve elde edilen absorbans değerlerinden kalibrasyon grafiği yardımıyla derişimler hesaplanmıştır. Ayrıca pektin ve farklı aşı yüzdeli kopolimerlerin LCST sıcaklık değerlerine bakılmıştır. Manyetik alan varlığında ilaç salım çalışması da yapılmıştır.

2.6. Pektin ve Pek-aşı-PDMAEMA Nanopartiküllerinde MTT Çalışması

Hazırlanan nanopartiküllerin in vitro sitotoksitelerin belirlenmesi için MTT testi kullanılmıştır. MTT testi ISO 10993-5 stansartlarına uygun şekilde yapıldı. Bu test

hücre proliferasyonunun ölçülmesi için 3,[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5diphenyltetrazolium bromide (MTT) tetrazolyumtuzu'nun kullanıldığı hassas bir metoddur. MTT, metabolik aktivite ilgili mitokondrial enzimler tarafından suda çözünmeyen formazan boyaya indirgenmektedir. MTT' nin indirgenmesi primer olarak hücre içerisindeki glikolitik aktivite ile ilgili olmakla birlikte NADH ((Nikotinamid Adenin Dinükleotit) ve NADPH (Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat) varlığına bağlıdır. MTT solüsyonu canlı veya apoptozun erken evresindeki hücrelerin mitokondrileri aracılığı ile oluşturduğu reaksiyonda, solüsyonlarda bulunan tetrazolium halkası hücre mitokondrilerinde bulunan dehidrogenaz enzimlerince parçalanarak renkli formazan kristalleri oluşturur. Canlı hücrelerde gözlenen renk değişimi Elisareader'da yapılan okuma sonundaki absorbance değerlerini verir.

İnvitro biyoyumluluk için L929 fibroplast hücrelerinde 48 well platalere her bir kuyucuğa 10×10^3 hücre olacak şekilde ekimi yapılmıştır. Antikanser aktivitesi içinde MCF-7 hücresi kullanılır. Hücreler 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Daha önceden hazırlanan 1mg/mL'lik aşı kopolimer ve nanopartikül örneklerinden belirlenen derişimlerde (1,56 $\mu\text{g/mL}$ - 3,13 $\mu\text{g/mL}$ - 6,25 $\mu\text{g/mL}$ - 12,5 $\mu\text{g/mL}$ - 25 $\mu\text{g/mL}$ - 50 $\mu\text{g/mL}$ - 100 $\mu\text{g/mL}$) hücrelerin üzerine uygulanıp, 24 saat inkübe edilmiştir. Örnekler tekrarlı olarak çalışılmıştır. Pozitif kontrol olarak sadece besi ortamı hücrelere uygulanmıştır. 24 saat sonunda kuyucuklardaki vasatlar atılarak her kuyucuğa 100 μL besiyeri ve 20 μL MTT çözeltisi ilave edilmiştir. 37 °C'de 3,5 saat inkübasyondan sonra kuyucuklara 150 μL MTT solventi DMSO eklenerek 15 dakika inkübe edilmiştir. Hücre canlılığının tespiti için 48 kuyucuklu plate' in absorbans değerleri ELİSE plate okuyucuda 570 nm' de okutulmuştur. Kontrol grupları baz alınarak % canlılık hesaplanmıştır.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Çalışmanın ilk bölümünde, pektine DMAEMA monomeri 4,4-azobis 4-siyanovalerik asit başlatıcısı kullanılarak mikrodalgada aşılantmıştır. Aşılama için ortam koşullarının etkisini incelemek amacıyla, aşılama süresi, mikrodalga gücü, pektin derişimi, monomer derişimi parametrelerin aşılama üzerine etkisi incelenmiştir. Sentezlenen aşı kopolimer yapıları FTIR, NMR, DSC, TGA ve GPC yöntemleri ile karakterize edilmiştir.

Çalışmanın ikinci kısmında sentezlenen aşı kopolimerlerin 5-FU içeren manyetik nanopartikülleri oluşturulmuştur. İn vitro ilaç salımına 5-FU'nun etkisini incelemek amacıyla, aşı yüzdesi, sıcaklık, manyetik alan gibi parametreler değiştirilerek farklı sıcaklık ve pH' da salım incelenmiştir. Manyetik nanopartiküllerin zeta potansiyeli ve parçacık boyut analizi yapılmış ve TEM analizleri ile yüzey morfolojileri karakterize edilmiştir. FTIR analizi ile oluşan manyetik alan duyarlı nanokürelerin kimyasal kararlılığı, XRD ve VSM analizi ile oluşan yapıların kristalin yapısı karakterize edilmiştir.

3.1. Pektin Aşı Kopolimerizasyonu

Mikrodalga etkisi altında pektin polimeri üzerine 4,4-Azobis-4-siyanovalerik asit başlatıcısı ilave edilerek aşılama işlemi gerçekleştirilmiştir. Pektine aşı çalışması mikrodalga ortamında ve dış ortamda ısıtma yöntemi ile yapılmış ve elde edilen aşı yüzdeleri Çizelge 3.1.'de sunulmuştur. Mikrodalga ışını altında ortamda daha fazla radikallerin oluştuğu ve polimere bağlanan DMAEMA sayısını artırarak aşı yüzdesini artırdığı düşünülmüştür [51].

Çizelge 3.1. Mikrodalganın aş1 yüzdesine etkisi

| | |
|--|--|
| Mikrodalga etkisi altında aşılama | Aş1 Yüzdesi: %14 (t=1 saat, T=70 °C, M.G=500 Watt, [ACVA]= $2,00 \times 10^{-3}$ M, [DMAEMA]=0,118 M, [Pektin]=2 g/dL |
| Dış ortamda aşılama | Aş1 yüzdesi: %8 (t=1 saat, T=70 °C, [ACVA]= $2,00 \times 10^{-3}$ M, [DMAEMA]=0,118 M, [Pektin]=2 g /dL |

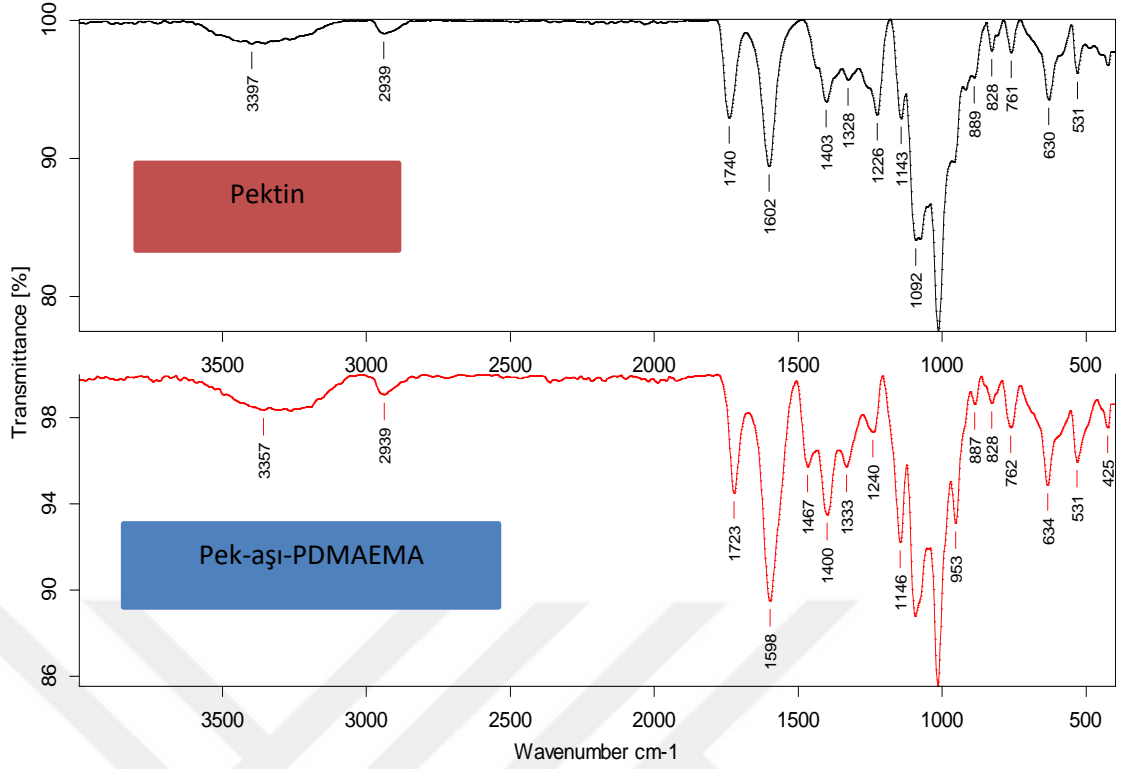
Genel olarak, aş1 kopolimerlerin sentezi sırasında mikrodalga ışınlama süresi aşılama yüzdesini önemli derecede etkiler. Aşılama yüzdesindeki artış , ışınlanma süresinin artması ile aktif zincirlere eklenen monomer sayısındaki artışa bağlanabilir [50].

3.2. Pektin ve Pek-aşı-PDMAEMA Kopolimerinin Yapısal Karakterizasyonu

3.2.1. Pektin ve Pek-aşı-PDMAEMA' nın FTIR Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Şekil 3.1.'de pektin ve %37 (%1,5 pektin derişimi, 2 mL DMAEMA, 500 watt mikrodalga gücü ve başlatıcı derişimi $1,998 \times 10^{-3} M$) aşu yüzdesine sahip Pek-aşı-PDMAEMA aşu kopolimerinin spektrumları sunulmuştur. Pektin spektrumu incelendiğinde 3397 cm^{-1} 'de gözlenen yayvan pik OH gerilme titreşimlerini göstermektedir. Spektrumunda 2939 cm^{-1} 'de görülen pikin C-H gerilmelerine, 1740 cm^{-1} 'lerde belirlenen pikin C=O gerilmelerine (metoksi grubuna bağı), 1602 cm^{-1} 'lerde belirlenen pikin iyonik karboksil gruplarındaki C=O gerilmesine, 1403 cm^{-1} 'de görülen pikin C-O-H gerilmelerine, 1226 cm^{-1} 'de görülen pikin asimetrik metoksi O-CH₃ grubuna grubuna ait C-O-C gerilmelerine, 1143 cm^{-1} 'de gözlenen pik alifatik halkalı ikincil alkoldeki CH-OH varlığına, 1092 cm^{-1} 'de aralığında gözlenen piklerin C-O-C gerilmelerine ait olduğı tespit edilmiştir. Benzer sonuçlar literatürde rapor edilmiştir [32].

Pek-aşı-PDMAEMA'nın kopolimerinin FTIR spektrumundaki 3357 cm^{-1} 'de en pik pektinden gelen OH gerilmesine, 2939 cm^{-1} 'de gözlenen pik pektinden gelen C-H gerilmelerine, 1723 cm^{-1} 'de gözlenen pik C=O gerilmesine, 1598 cm^{-1} 'de gözlenen pik pektinden gelen C=O gerilmesine, 1467 cm^{-1} 'de gözlenen pik PDMAEMA'dan gelen CH₂ gerilmelerine, 1400 cm^{-1} 'de gözlenen pik pektinden gelen C-O-H gerilmelerine, 1333 cm^{-1} 'de gözlenen pik pektinden gelen asimetrik metoksi -O-CH₃ grubuna ait C-O-C gerilmelerine, 1240 cm^{-1} 'de gözlenen pik PDMAEMA' dan gelen -O-CH₃ grubuna ait C-O-C gerilmelerine ve 1146 cm^{-1} 'de gözlenen pik PDMAEMA'dan gelen C-N ait olduğı tespit edilmiştir [33].



Şekil 3.1. Pektin ve Pek-aşı-PDMAEMA' nın FTIR Spektrumu

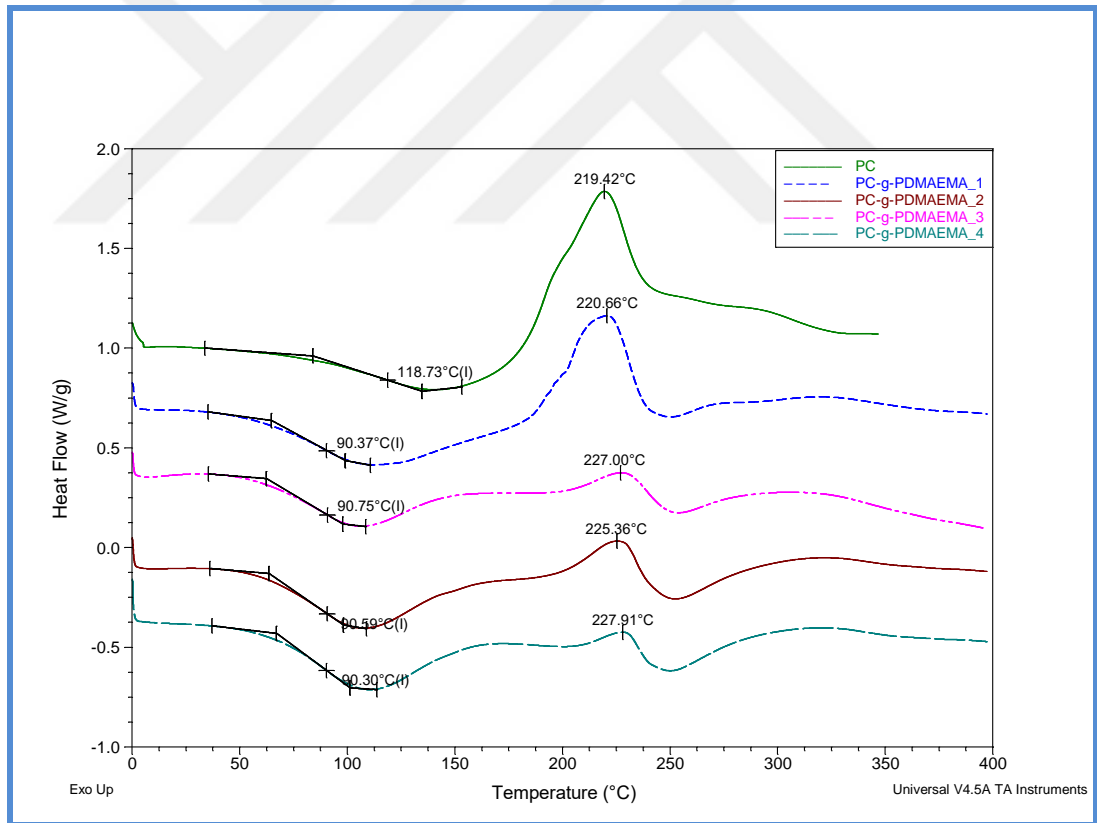
Çizelge 3.2. Pektin ve Pektin-aşı-PDMAEMA' nın FTIR Spektrumu

| Polimer | cm ⁻¹ | Açıklaması |
|---------------|------------------|--|
| Pektin | 3397 | OH gerilme titreşimi |
| | 2939 | C-H gerilme titreşimi |
| | 1740 | C=O gerilme titreşimi(metoksi grubuna bağlı) |
| | 1602 | C=O gerilme titreşimi |
| | 1403 | C-O-H gerilme titreşimi |

| | | |
|--------------------------------|------|---|
| Pektin-aşı- PDMAEMA | 1226 | Asimetrik metoksi O-CH ₃ grubuna ait C-O-C gerilme titreşimi |
| | 1143 | Alifatik halkalı ikincil halkadaki CH-OH titreşimi |
| | 1092 | C-O-C gerilme titreşimi |
| | 3357 | Pektinden gelen OH gerilme titreşimi |
| | 2939 | Pektinden gelen C-H gerilme titreşimi |
| | 1723 | PDMAEMA'dan gelen C=O gerilme titreşimi |
| | 1598 | Pektinden gelen C=O gerilme titreşimi |
| | 1467 | PDMAEMA'dan gelen CH ₂ gerilme titreşimleri |
| | 1400 | Pektinden gelen C-O-H gerilme titreşimi |

3.2.2. DSC Sonuçlarının Değerlendirilmesi

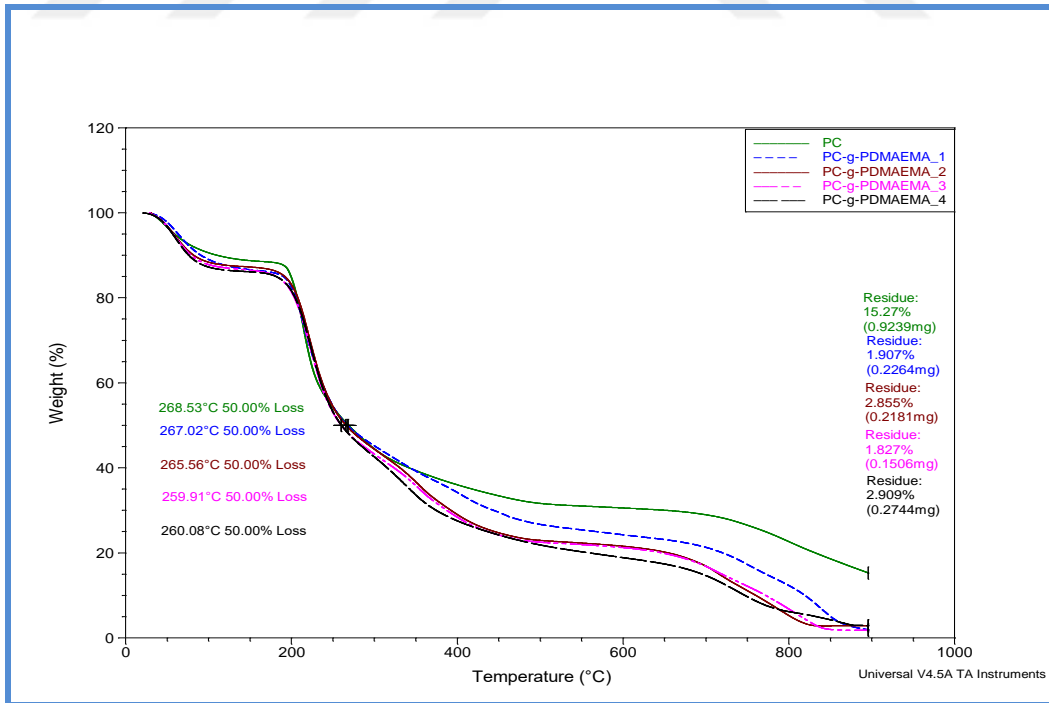
Aşı kopolimerlerin termal davranışını incelemek amacıyla DSC analizi gerçekleştirilmiştir. Pektin ve % 12, % 18, % 30 ve % 37 yüzdeli aşı kopolimerlerin DSC termogramları Şekil 3.2’de verilmiştir. Pektinin DSC termogramında 0-150 °C aralığında endoterm bir geçiş, 150-250 °C aralığında ekzoterm bir pik gözlenmiştir. Termogramdan aşılana PDMAEMA ile endoterm pikin sonlanma sıcaklığının azaldığı gözlenmiştir. Polimerlerin T_g değerleri şekildeki endoterm geçişten bulunmuştur. Şekil 3.2’den farklı aşı yüzdeli Pek-aşı-PDMAEMA kopolimerlerinin T_g değerlerinin pektinin T_g değerinden daha düşük olduğu gözlenmiştir. Aşı yüzdelerinin artmasıyla T_g değerlerinin değişmediği görülmektedir. T_g değerinin azalması PDMAEMA birimlerinin artmasıyla amorf yapının artmasından ve zincirler arası serbest hacmin artmasından kaynaklandığı düşünülmüştür [34].



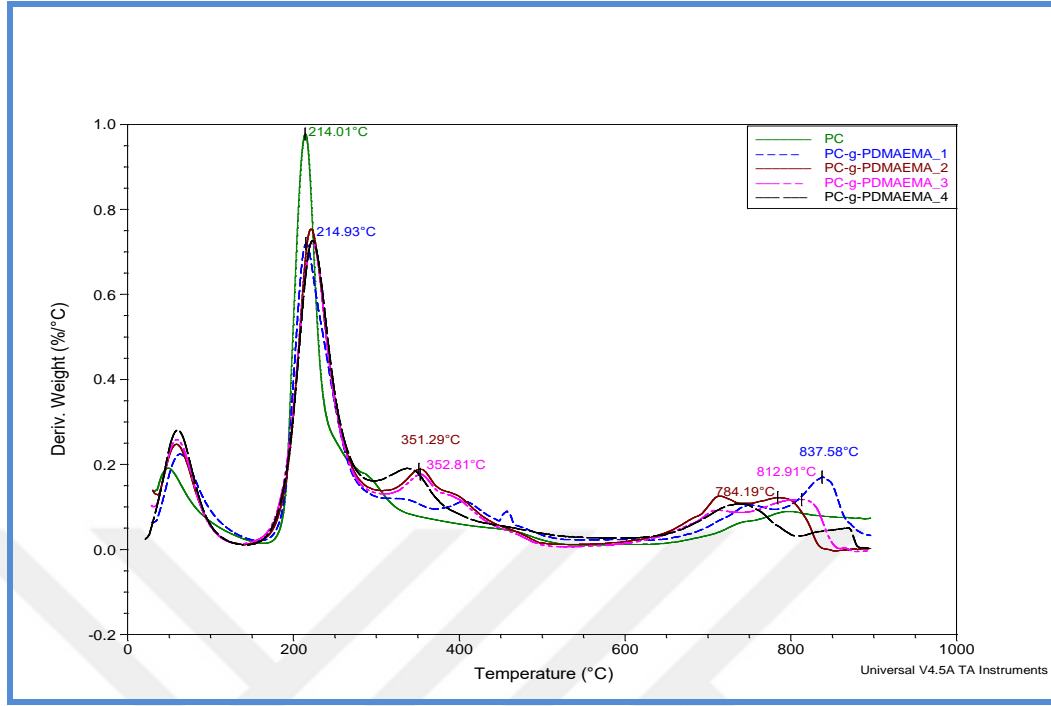
Şekil 3.2. Pektin ve farklı aşı yüzdeli kopolimerlerin DSC termogramı

3.2.3. TGA Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Pektin ve aşı kopolimerlerinin termogravimetrik analiz sonuçları Şekil 3.3 ve 3.4’de sunulmuştur. Pektin termogramı incelendiğinde 25-200 °C ve 200-400 °C aralığında iki temel bozunma görülmüştür. 25-200 °C aralığındaki kütle kaybı polimerin yapısındaki suyun uzaklaşmasına, 200-400 °C sıcaklık aralığındaki maksimum bozunma hızınının 214 °C’da gösteren kütle kaybı ise CH₄, CO₂ ve H₂O ayrılmasıyla pektin depolimerizasyonuna atfedilebilir [37]. Pektin kütlelerinin % 50’ sini kaybettiği sıcaklık 268 °C olarak tespit edilmiştir. Pek-aşı-PDMAEMA’nın sıcaklıkla bozunması 25-175 °C, 175-300 °C ve 300-500 °C sıcaklık aralıklarında 4 bozunma basamağından oluşmaktadır. 25-200 °C sıcaklık aralığında pek-aşı-PDMAEMA’nın yapısındaki adsorplanan suyun uzaklaşması gerçekleşmiştir. 200-400 °C sıcaklık aralığındaki pik aşı kopolimerinin depolimerizasyonuna atfedilebilir. 300-500 °C sıcaklık aralığında ise PDMAEMA’nın bozulmasına atfedilebilir. 12, 18, 30, 37 aşı yüzdeli aşı kopolimerlerinin kütlelerinin %50’ sini kaybettiği bozunma sıcaklıkları sırasıyla 267, 265, 259 ve 260 °C olarak bulunmuştur [35]. Literatürde benzer sonuçlar rapor edilmiştir.



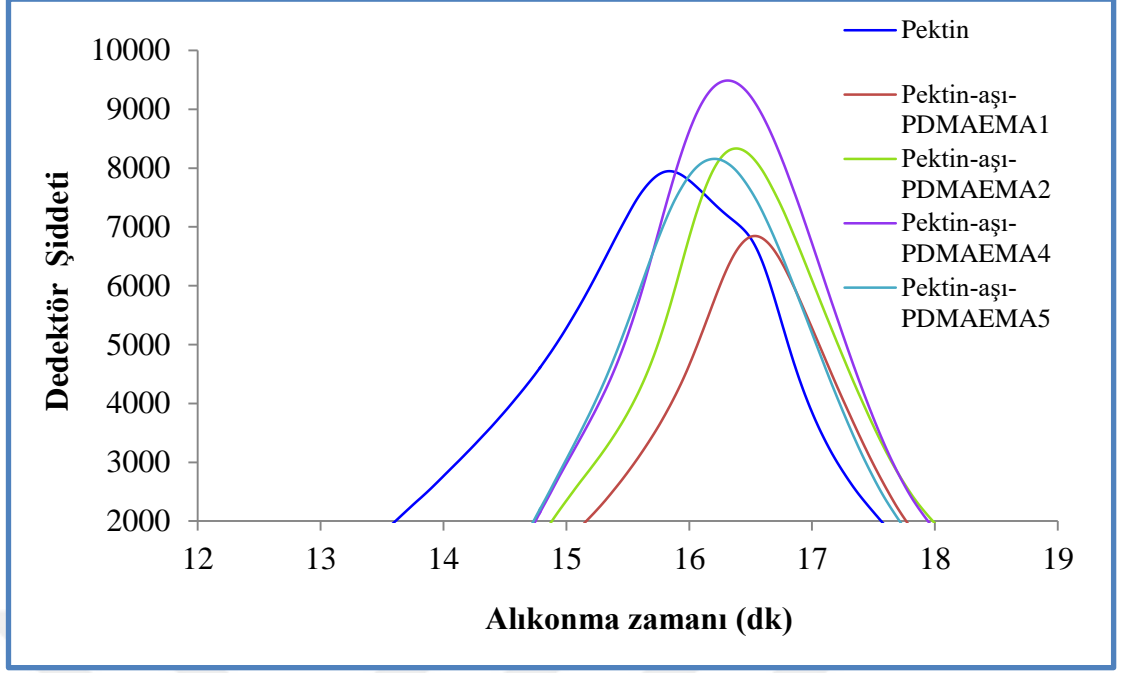
Şekil 3.3. Pektin ve farklı aşı yüzdelilerindeki kopolimerlerin TGA termogramları



Şekil 3.4. Pektin ve farklı yüzdedeki aşı kopolimerlerin DTGA termogramı

3.2.4. GPC-SEC Sonuçlarının Değerlendirilmesi

SEC analizi için suda çözülmüş %1' lik pektin çözeltisi ve aşı kopolimerleri kullanılmıştır. Hareketli faz olarak 0,5 mL/min akış hızında 0,1 M NaNO₃ ve kolon olarak PL aqua gel OH mixed (8µm) (MW: 100-107) kullanılmıştır. Pektin ve farklı aşı yüzdeli kopolimerlerin (Pek-aşı-PDMAEMA₁ : %10, Pek-aşı-PDMAEMA₂ : %12, Pek-aşı-PDMAEMA₄: %30, Pek-aşı-PDMAEMA₅ : %37) GPC-SEC analiz sonuçları alıkonma süresine (Pullulan standart 342 Da Mn 1080-636000 Da) karşı dedektör sinyali incelenmiş ve Şekil 3.5'te sunulmuştur.



Şekil 3.5. Pektin ve aşı kopolimerlerin SEC alıkonma zaman değişimleri

Alıkonma zamanları ve kalibrasyon doğrusundan farklı mol kütleli aşı kopolimerler elde edilmiş ve aşı kopolimerlerin mol kütleleri için farklı mol kütleleri Çizelge 3.3'te verilmiştir. Sayıca ortalama mol kütleleri incelendiğinde aşılama ile mol kütlelerinin azaldığı görülmektedir. Bu sonuçlardan polimerizasyon sırasında mikro dalga etkisi ile altılı galakturonik asit birimlerinde kopmaların olduğu düşünülmüştür. Çizelgeden ayrıca aşılama ile polidispersite değerinin azaldığı görülmüştür.

Benzer sonuçlar literatürde rapor edilmiştir [36,50]. Altınışık ve arkadaşları aljinat-aşı-poly(N,N-dietilakrilamid) kopolimerlerinin mol kütlelerine bakıldığında aşılama ile mol kütlelerinin azaldığı görülmüştür [50].

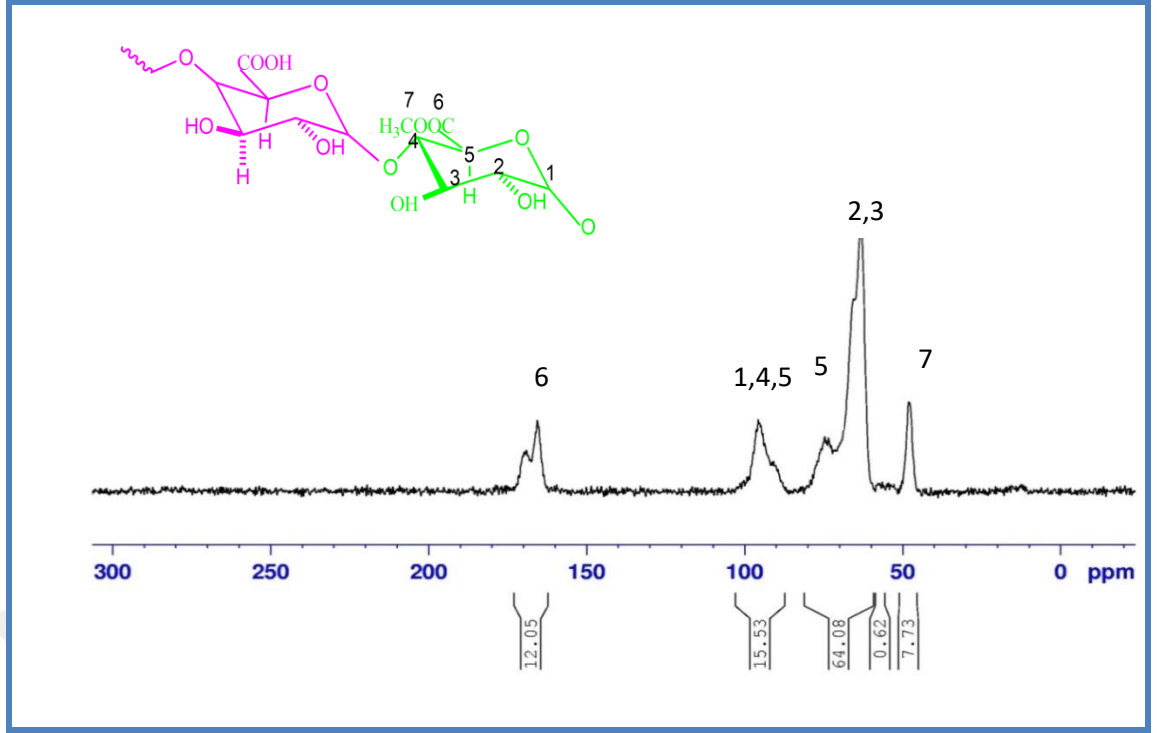
Çizelge 3.3. Pektin ve aşı kopolimerlerde mol kütlesi sonuçları

| | <u>Mn</u> | <u>Mw</u> | <u>Mz</u> | <u>Mp</u> | <u>PDI</u> |
|----------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|
| Pektin | 58882 | 322460 | 867960 | 144360 | 5.48 |
| Pek-aşı- PDMAEMA ₁ | 21841 | 81075 | 199500 | 45211 | 3,71 |
| Pek-aşı- PDMAEMA ₂ | 19193 | 70006 | 166950 | 40212 | 3,65 |
| Pek-aşı- PDMAEMA ₃ | 17730 | 61909 | 145410 | 34677 | 3,49 |
| Pek-aşı- PDMAEMA ₄ | 12621 | 35337 | 78112 | 20439 | 2,80 |

3.2.5. ¹³C- NMR Sonuçlarının Değerlendirilmesi

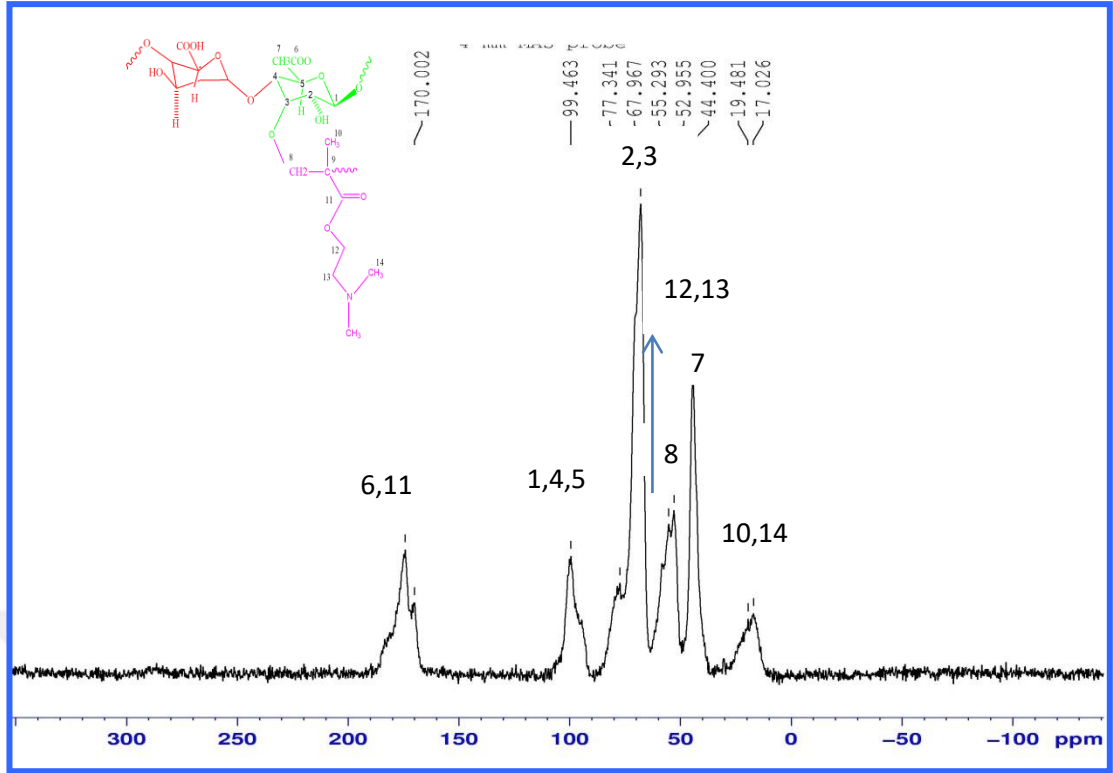
Şekil 3.6’da pektinin ¹³C-NMR spektrumu verilmiştir. Spektrumda 48 ppm’deki kimyasal kayma pektinin yapısında bulunan -OCH₃ grubu karbonuna, 60-80 ppm aralığındaki pik galakturonik asidin halka içi karbonlarına ait olduğu düşünülmektedir [37].

90-100 ppm aralığındaki pik pektinin galakturonik asit birimlerinin anomerik karbonu ve 165-170 ppm aralığındaki pik -C=O karbonuna ait olduğu bulunmuştur. [37].



Şekil 3.6. Pektinin ^{13}C -NMR spektrumu

Pek-aşı-PDMAEMA'nın ^{13}C -NMR spektrumu Şekil 3.7' de sunulmuştur. Spektrum incelendiğinde 20 ppm aralığında PDMAEMA'dan gelen $-\text{CH}_3$ gruplarının karbonu, 50 ppm aralığında PDMAEMA'dan gelen CH_2 ve CH gruplarının karbonunu, 50-65 ppm aralığında PDMAEMA'dan gelen CH_2 gruplarının karbonunu, 65-85 ppm aralığında pektinden gelen farklı konumlardaki karbon atomlarını, 85-100 ppm aralığında pektinden gelen galakturonik asit birimindeki esterlenmiş ve esterlenmemiş anomerik karbonu, 175 ppm'de hem pektinden gelen $-\text{COO}$, hem de PDMAEMA'dan gelen $\text{C}=\text{O}$ karbonlarını gösterdiği düşünülmektedir [49]. Böylelikle ^{13}C -NMR analizleri ile pektin yapısına PDMAEMA gruplarının aşılandığı doğrulanmıştır.

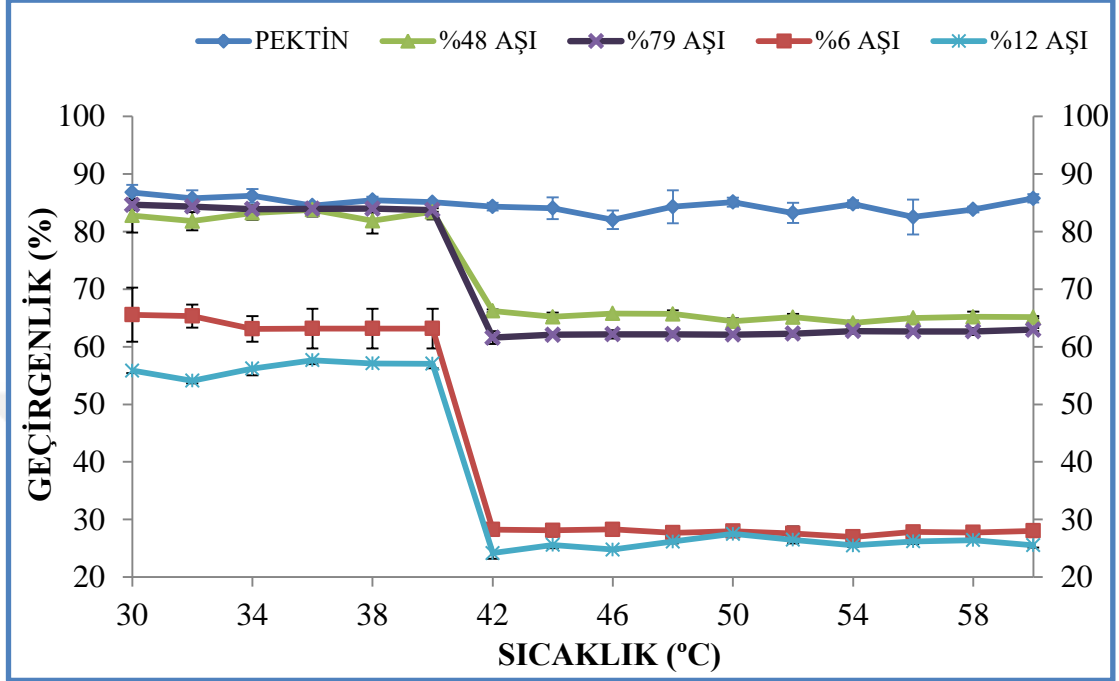


Şekil 3.7. Pek-aşı-PDMAEMA' nın ^{13}C -NMR spektrumu

3.2.6. Pek-aşı-PDMAEMA Kopolimerlerinin LCST Değerlerinin Belirlenmesi

Sıcaklığa duyarlı polimerlerin hacimsel faz geçişinin gerçekleştiği sıcaklık, alt kritik çözelti sıcaklığı (LCST) olarak adlandırılmıştır [22]. Pektin ve aşı kopolimerlerin sıcaklık geçirgenlik değişimleri Şekil 3.8'de görülmektedir. Şekilden pektinin geçirgenliğinin sıcaklıkla değişmediği, aşı kopolimer çözeltilerinin geçirgenliklerinin sıcaklıkla azaldığı görülmektedir. LCST değerleri aşı kopolimerlerde 41 °C olarak bulunmuştur. LCST değerinin altında bulunan sıcaklıklarda geçirgenlik artışının nedeni polimerin su ile yaptığı H bağlarından kaynaklanmaktadır [22]. Serbest enerjinin (G) pozitif olması sonucu LCST üzerindeki sıcaklıklarda polimer-su etkileşimi yerine polimer-polimer veya su-su etkileşimi artar. Böylelikle kopolimerde çökme meydana gelir ve bu da faz ayrımına sebep olur [53]. Benzer sonuçlar literatürde rapor edilmiştir. Işıklan ve arkadaşları κ -carrageenan ve CG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerinin 30-60 °C aralığında LCST değerleri ölçülmüş κ -

carrageenanın geçirgenliğinin sıcaklıkla değişmediği, CG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerinin farklı aşı verimlerinde geçirgenliklerinin düştüğü raporlanmıştır [52].



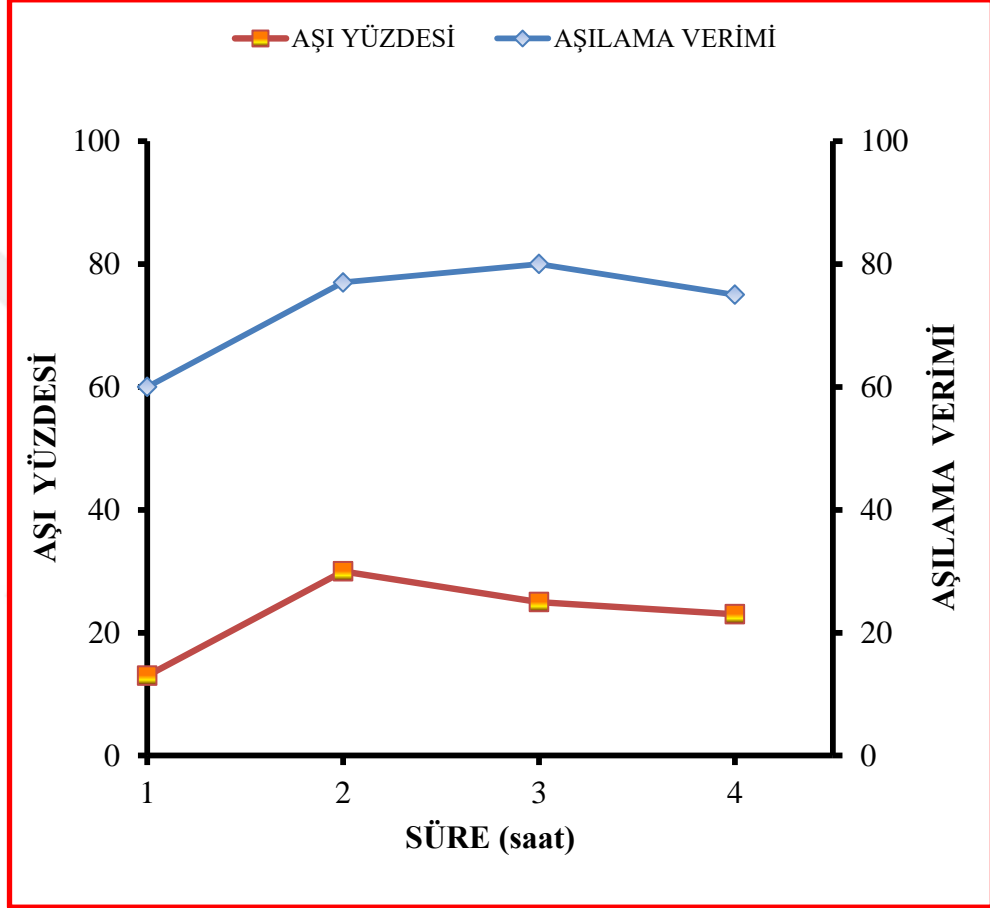
Şekil 3.8. Pektin ve farklı aşı kopolimerlerin sıcaklıkla geçirgenliklerinin değişimi

3.3. OPTİMİZASYON PARAMETRELERİ

3.3.1. Aşılama Üzerine Süre Etkisi

Tepkime süresinin aşılama yüzdesi ve aşılama verimine etkisi Şekil 3.9 'da gösterilmiştir. Aşılama çalışmasında diğer parametreler ($T=70$ °C, $[DMAEMA]=0,118$ M, $[ACVA]=2,00 \times 10^{-3}$ M, Pektin=2 g /dL, MG=500Watt) sabit tutularak tepkime süresi 1-4 saat aralığında değiştirilmiştir. Şekil 3.9 incelendiğinde maksimum aşı yüzdesi (%30) ve maksimum aşılama verimine (%80) 2 saat sonunda ulaşılmıştır. Aşı yüzdesi ve aşılama verimi iki saate kadar artmış bir değerden sonra azalmıştır. Bu artış pektin üzerine eklenen monomer sayısının zamanla artmasına atfedilebilir [24].

Benzer sonuçlar literatürde belirtilmiştir [54]. Kurşun F. Poli (N-hidroksimetakrilamid) aşı-poli(vinil alkol) kopolimerlerinin tepkime süresine karşı aşı yüzdesi ve aşılama verimlerine bakmış ve tepkime süresinin artması ile aşı yüzdesi ve aşılama verimi değerlerinin belli bir değere kadar arttığını daha sonra ise azaldığını bulmuştur [54].



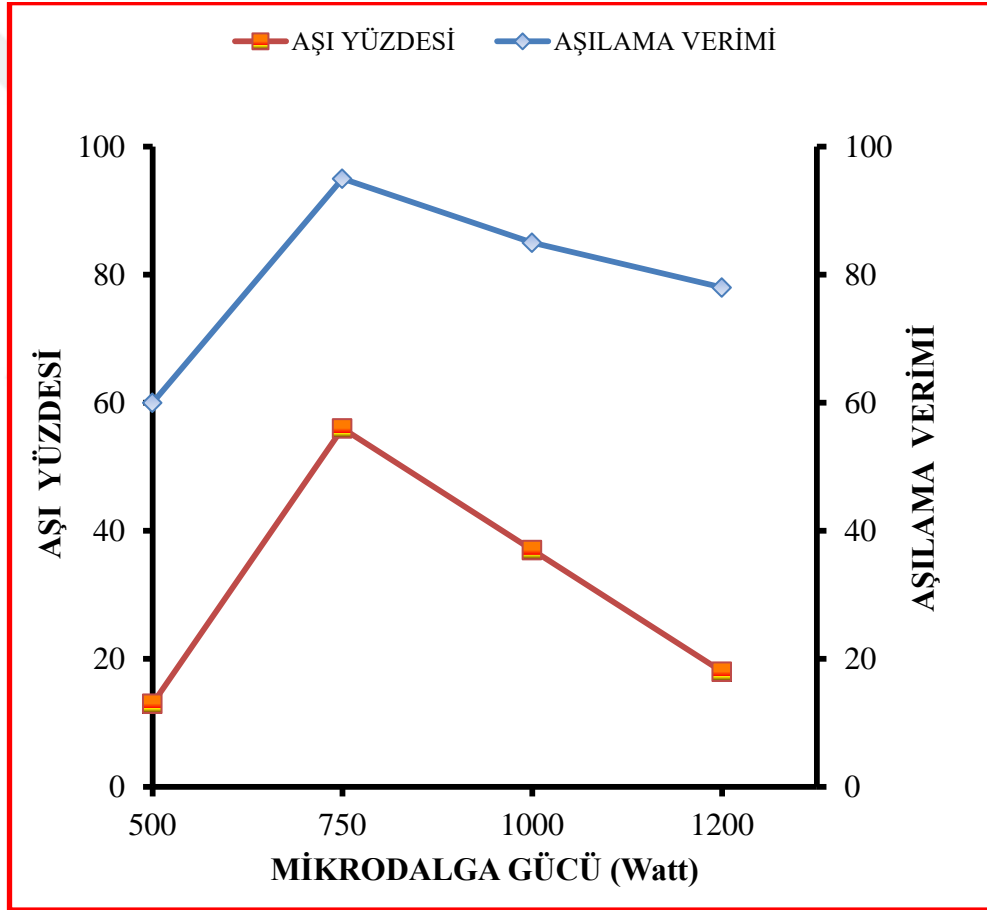
Şekil 3.9. Aşı yüzdesi ve aşılama verimi üzerine süre etkisi

Çalışma koşulları: T=70 °C, [ACVA]= $2,00 \times 10^{-3}$ M, [DMAEMA]=0,118 M, [Pektin]=2 g/dL, MG=500 Watt

3.3.2. Aşılama Üzerine Mikrodalga Gücü Etkisi

Mikrodalga gücünün aşılama etkisini incelemek için 500-1200 watt aralığında diğer parametreler sabit tutularak çalışılmış ve elde edilen sonuçlar Şekil 3.10'da

sunulmuştur. Mikrodalga gücünün artmasıyla birlikte aşı yüzdesi ve aşılama verimi belli bir değere kadar artmış daha sonra azalma gözlenmiştir. Bu azalmanın sebebi, polimerizasyon sırasında monomer sayısının azalması, ortamın viskozitesindeki artışa bağlı olarak ortam doygunluğa ulaşmasıdır [50]. En yüksek aşı yüzdesi %56 ve en yüksek aşılama verimi %95, 750 watt gücünde ulaşılmıştır. Mikrodalga gücünün artması ile birlikte ortamda oluşan serbest radikal sayısının arttığı ve bu radikallerin pektin üzerindeki aktif merkez sayısını artırdığı düşünüldü. Bu merkezlere bağlanan monomer sayısı artmış ve bu da aşılama miktarının artmasını sağlamıştır [37].

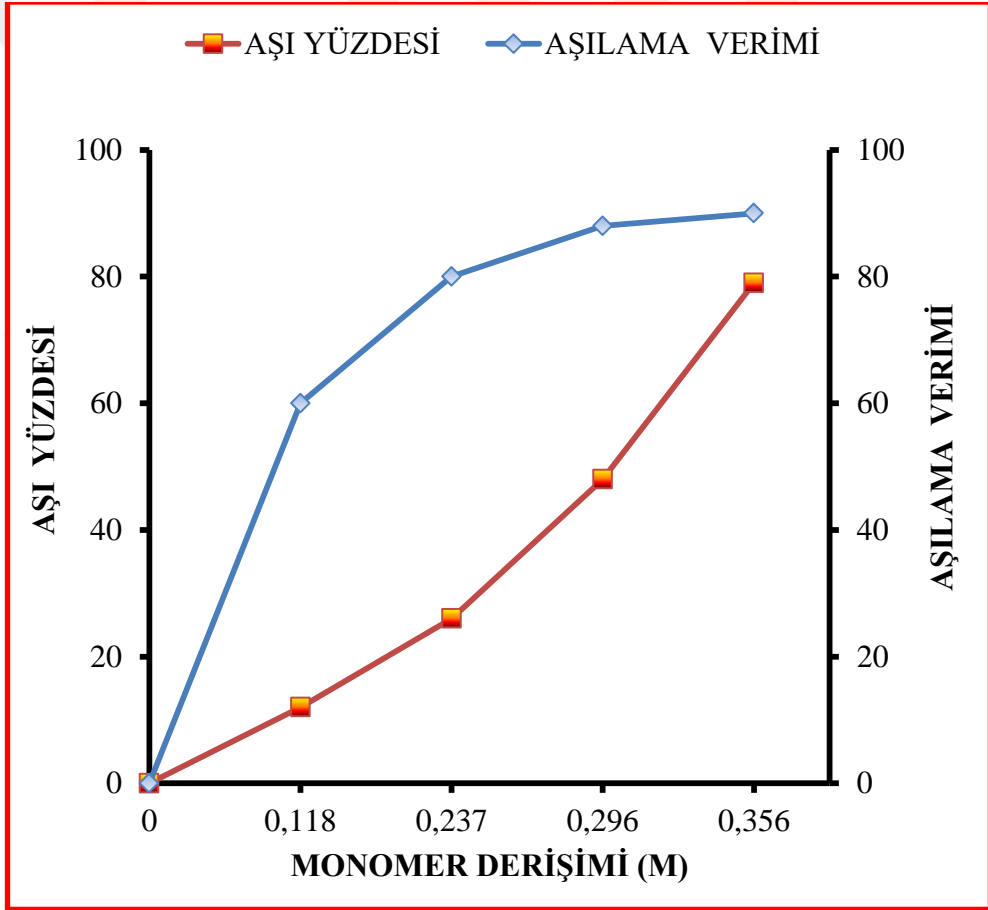


Şekil 3.10. Aşı yüzdesi ve aşılama verimi üzerine mikrodalga gücü etkisi

Çalışma Koşulları: t=2 saat, [ACVA]= $2,00 \times 10^{-3}$ M, t= 70°C, [DMAEMA]=0,118 M, Pektin= 2 g/dL

3.3.3. Aşılama Üzerine Monomer Derişimi Etkisi

Aşılama üzerine DMAEMA derişiminin etkisi incelemek için 0,118-0,356 M aralığında diğer parametreler sabit tutularak incelenmiştir. Sonuçlar Şekil 3.11’de sunulmuştur. Aşı yüzdesi ve aşılama verimi monomer derişimi ile sürekli artmıştır. Düşük monomer derişiminde pektin içerisine difüzlenen monomer miktarı az olacağından aşı yüzdesi ve aşılama verimi düşük çıkmıştır. En yüksek aşı yüzdesi %79 ve aşı verimi de %90 olarak 0,356 M DMAEMA monomeri derişiminde bulundu. Monomer derişiminin artması ile makromoleküle bağlanan monomer sayısının arttığı düşünöldü. Aktif merkezlere bağlanan monomer sayısı artmış ve bu da aşılama parametrelerinin artmasını sağlamıştır [34].

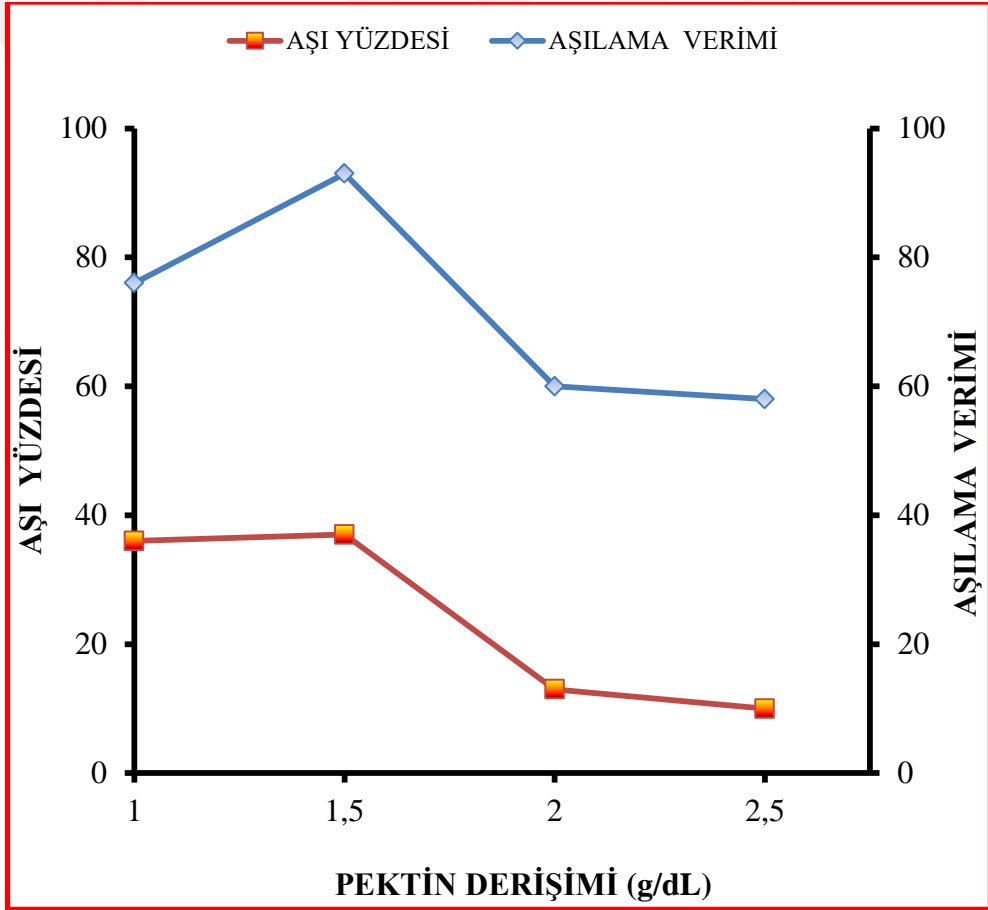


Şekil 3.11. Aşı yüzdesi ve aşılama verimi üzerine monomer derişimi etkisi

Çalışma Koşulları = t= 2 saat, [ACVA]= $2,00 \times 10^{-3}$ M, t=70 °C, Pektin=2 g/dL
MG=500 Watt

3.3.4. Aşılama Üzerine Pektin Derişimi Etkisi

Pektin yüzdesinin aşılama parametreleri üzerine etkisini görmek için diğer parametreler sabit tutularak pektin derişimi 1-2,5 g/dL aralığında değiştirilip elde edilen sonuçlar Şekil 3.12' de gösterilmiştir. Aşı yüzdesi ve aşılama veriminin pektin derişiminin 1,5 g/dL' ye kadar artmasıyla birlikte arttığı ve bu değerden sonra ise azaldığı gözlenmiştir. Aşılama parametrelerinin pektin yüzdesi ile azalması; polimer yüzdesinin artması ile çözelti vizkozitesinin artması ve buna bağlı olarak monomer ile başlatıcı radikallerinin difüzyonunun zorlaşmasına atfedilebilir. Böylelikle pektin birimleri üzerinde daha az sayıda aktif merkez oluşacak ve aşı yüzdesi ve aşılama verimi düşecektir [37].



Şekil 3.12. Aşı yüzdesi ve aşılama verimi üzerine pektin derişimi etkisi

Çalışma Koşulları= t= 2 saat, [ACVA]= $2,00 \times 10^{-3}$ M, [DMAEMA]=0,118 M, t=70 °C, MG=500 Watt

3.4. Pektin ve Pek-aşı-PDMAEMA Kaplı Manyetik Nanopartiküllerden 5-Fluorourasil Salım Çalışması

3.4.1. Pektin@ Fe₃O₄ ve Pektin-aşı-PDMAEMA@Fe₃O₄ Nanopartiküllerin Tutuklanma Verimi ve İlaç Yükleme Kapasitesi

Manyetik nanopartiküllerin ilaç yükleme yüzdeleri ve % tutuklanma verimi değerleri hesaplanmıştır. Sonuçlar aşağıdaki Çizelge 3.4'te sunulmuştur. Aşı yüzdesinin artması ile tutuklanma verimi ve ilaç yükleme verimi değerlerinin arttığı gözlenmiştir. Bunun sebebi olarak H bağı etkileşimleri verilebilir; Pektinde bulunan hidrofilik gruplar ile DMAEMA'da ve 5-FU'de bulunan hidrojen bağı yapımına destek sağlayan grupların bulunması ve aşı yüzdesinin artması ile bu grupların sayısının artmasından dolayı tutuklanma verimi değerleri artmıştır.

Çizelge 3.4. Pek@Fe₃O₄ ve Pek@PDMAEMA@Fe₃O₄@5-FU nanopartiküllerinin tutuklanma verimi ve ilaç yükleme yüzdeleri

| | Tutuklanma verimi (%TV) | İlaç yükleme kapasitesi |
|---|--------------------------------|--------------------------------|
| Pek@Fe ₃ O ₄ | 92±0,23 | 8,93±0,47 |
| Pek-aşı-PDMAEMA ₁ @ Fe ₃ O ₄ | 91±0,12 | 8,83±0,53 |
| Pek-aşı-PDMAEMA ₂ @ Fe ₃ O ₄ | 92±1,08 | 8,95 ±1,18 |

| | | |
|---|----------|------------|
| Pek-aşı-PDMAEMA ₃ @ Fe ₃ O ₄ | 95±1,04 | 9,25±1,14 |
| Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @ Fe ₃ O ₄ | 100±1,02 | 9,70 ±1,22 |

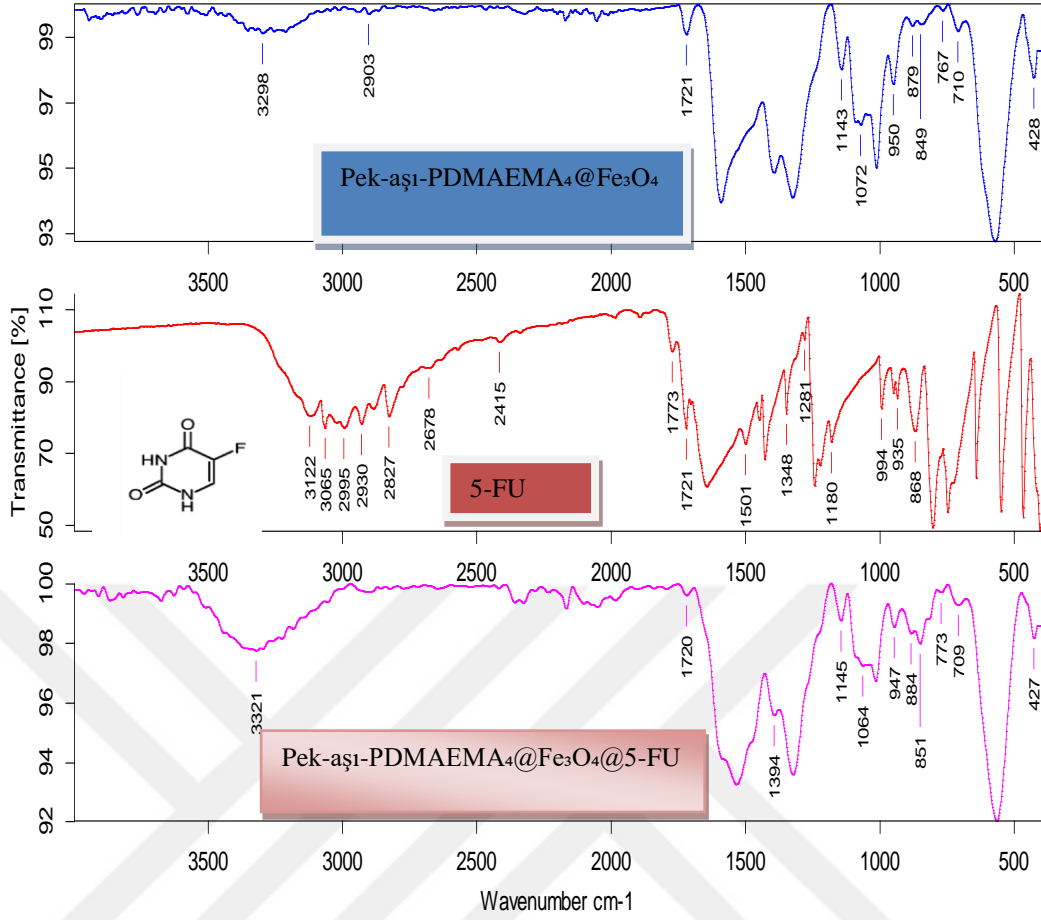
3.4.2 . Pek-aşı-PDMAEMA Kaplı Manyetik Nanopartiküllerin FTIR Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Şekil 3.13’de Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄, 5-FU, Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄@5-FU nanopartiküllerinin FTIR spektrumu sunulmuştur. Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄ spektrumu incelendiğinde; 3298 cm⁻¹’ de gözlenen yayvan pik pektine ait OH gerilme titreşimini göstermektedir. 2903 cm⁻¹’ de gözlenen pik pektine ait CH gerilmelerine, 1721 cm⁻¹’ de gözlenen pik hem pektinden hem de DMAEMA’dan gelen C=O gerilmelerine, 1467 cm⁻¹’ de gözlenen pik DMAEMA’dan gelen CH₂ gerime titreşimlerine, 1143 cm⁻¹’ de gözlenen pik PDMAEMA’dan C-N titreşimine, 1072 cm⁻¹’ de gözlenen pik pektinden gelen C-O-C gerilme titreşimine aittir. cm⁻¹’ de 570 cm⁻¹’de gözlenen pik ise Fe₃O₄’ e aittir [55].

Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄@5-FU spektrumu incelendiğinde;

3000-3600 cm⁻¹’ ilahtan gelen aromatik CH gerilme titreşimine aittir. 1720 cm⁻¹’ de gözlenen pik ise 5-FU ve PDMAEMA’dan gelen N-H gerilme titreşimine aittir. 1650 cm⁻¹’ de gözlenen pik ise 5-FU’dan gelen C=O gerilme titreşimine, 1500 cm⁻¹’ de gözlenen pik 5-FU’dan gelen C-N gerilme titreşimine, 1275 cm⁻¹’ de gözlenen pik C-F titreşimine aittir.

Spektrumlar incelendiğinde Pek-aşı-PDMAEMA@ Fe₃O₄’e ait nanopartiküllerinde Fe₃O₄’ün yapıya girdiği ve 5-FU pikleri ile Pek-aşı-PDMAEMA@Fe₃O₄@5-FU nanopartikülündeki 5-FU piklerinin örtüştüğü görülmüştür. Benzer sonuçlar literatürde rapor edilmiştir [38, 39].



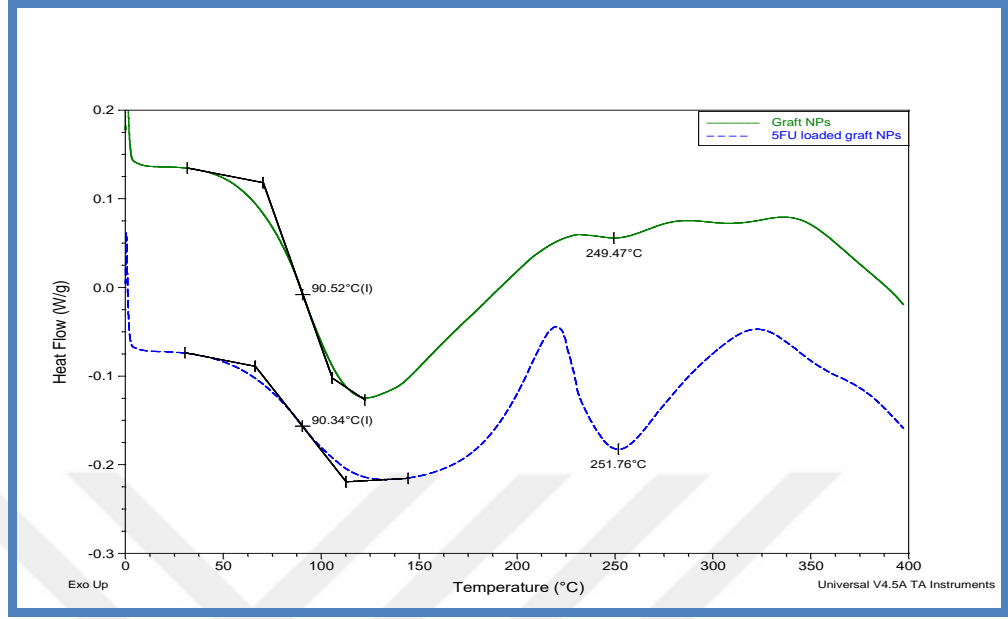
Şekil 3.13. Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄, 5-FU, Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄@5-FU FTIR spektrumu

3.4.3. 5-FU ve Pek-aşı-PDMAEMA Kaplı Nanopartiküllerin DSC Termogramının Değerlendirilmesi

Şekil 3.14' de 5-FU yüklü ve %37 aşırı yüzdeli Pek-aşı-PDMAEMA aşırı kopolimerinden elde edilen ilaçlı ve boş nanopartiküllerin DSC termogramı görülmektedir. DSC termogramlarından ilacın erime noktası 283 °C, Pek-aşı-PDMAEMA@Fe₃O₄(boş) nanopartiküllerin T_g değeri 90 °C ve Pek-aşı-PDMAEMA@Fe₃O₄@5-FU(dolu) nanopartiküllerin T_g değeri 90 °C olarak bulunmuştur.

Boş nanopartiküle ait termogramda bozunma sıcaklığı 249 °C olarak bulunmuştur. Yapıya 5-FU yüklenmesi ile bozunma sıcaklığı 251 °C' ye yükselmiştir. İlacın erime

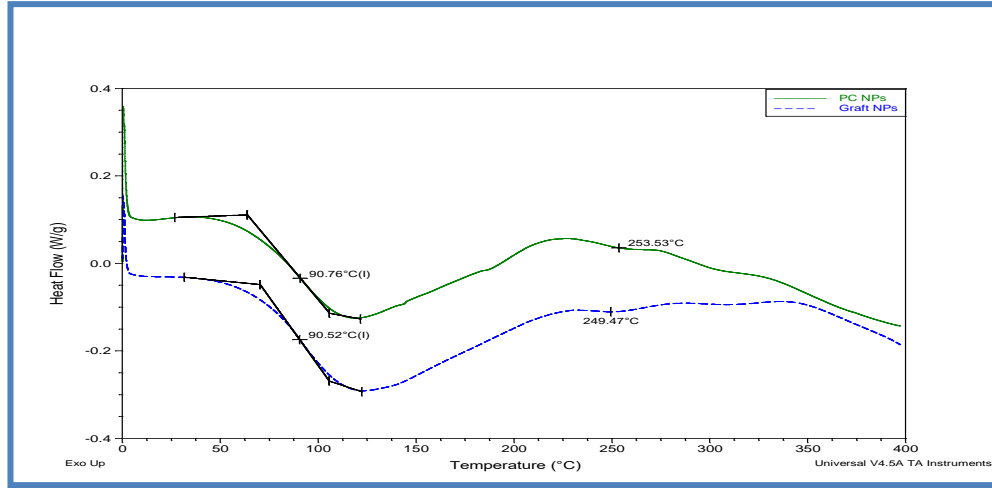
piki 283 °C olarak bulunmuş ve bozunma piki içerisinde kalmıştır. Benzer sonuçlar literatürde rapor edilmiştir [40].



Şekil 3.14. Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄ ve Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄@5-FU nanopartiküllerin DSC termogramı

3.4.4. Pektin@Fe₃O₄ ve Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄ nanopartikülünün DSC Termogramının Değerlendirilmesi

Şekil 3.15’de pektin nanopartikülü ve pek-aşı-PDMAEMA₄ nanopartikülüne ait DSC termogramı görülmüştür. Pektin nanopartikülüne ait termogram incelendiğinde T_g değeri 90 °C olarak gözlenmiştir. Pek-aşı-PDMAEMA₄ nanopartikülüne ait DSC termogramı incelendiğinde T_g değeri 90 °C olarak gözlenmiş aşılama ile birlikte camsı geçiş sıcaklığı değerinde değişim gözlenmemiştir.

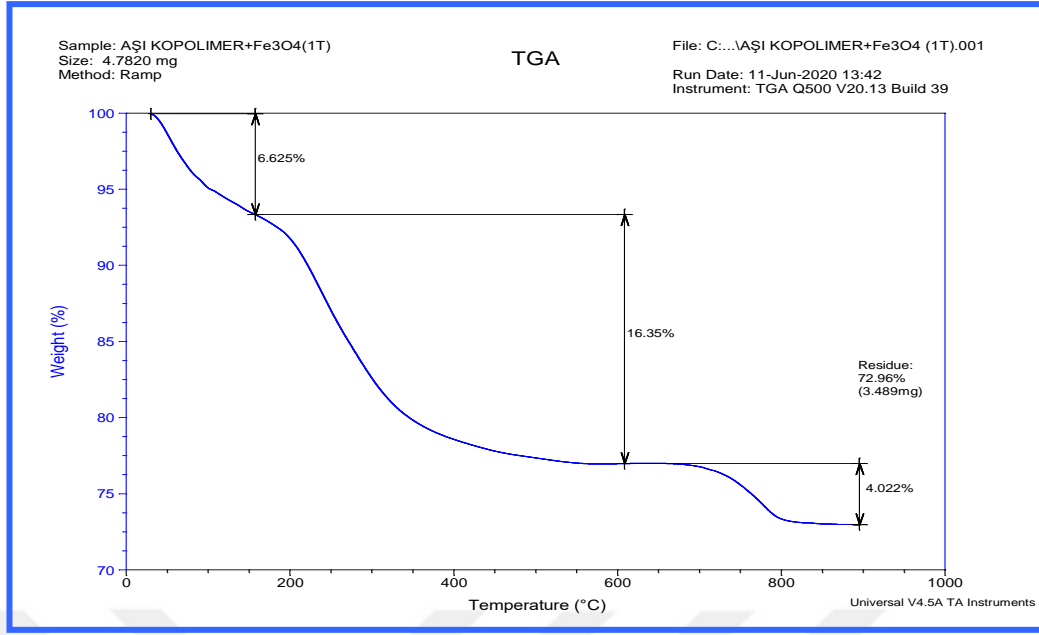


Şekil 3.15. Pektin@Fe₃O₄ ve Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄ nanopartiküllerinin DSC termogramı

3.4.5. TGA Sonuçlarının Değerlendirilmesi

3.4.5.1. Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄@5-FU nanopartiküllerinin TGA termogramının değerlendirilmesi

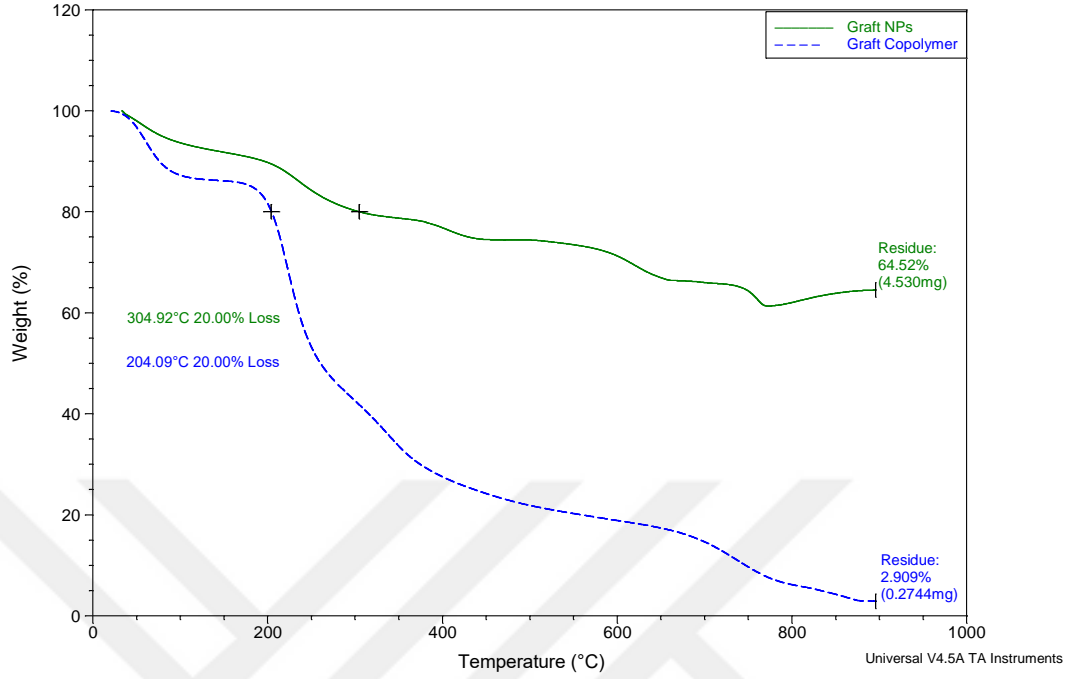
Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄@5-FU nanopartiküllerinin termogramı incelendiğinde Pek-aşı PDMAEMA'nın sıcaklık bozunması 25-200 °C, 200-600°C ve 600-900°C sıcaklık aralıklarında 3 bozunma basamağından oluşmaktadır. 25-200 °C sıcaklık aralığında Pek-aşı-PDMAEMA'nın yapısındaki adsorplanan suyun uzaklaşması gerçekleşmiştir [56]. 200-600°C sıcaklık aralığında ve maksimum 210 °C bozunma sıcaklığını gösteren pik aşırı kopolimerinin depolimerizasyonuna atfedilebilir. 300-500°C sıcaklık 450 °C' deki maksimum bozunma hızlı pik PDMAEMA'nın bozulmasına atfedilebilir [56]. 600-800°C sıcaklık aralığında ise nanopartikül yapısındaki Fe₃O₄' ten oksijenin kısmen uzaklaştığı düşünülmektedir [41].



Şekil 3.16. Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄@5-FU nanopartikülünün TGA Termogramı

3.4.5.2. Pek-aşı-PDMAEMA₄ ve Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄ TGA Termogramının Değerlendirilmesi

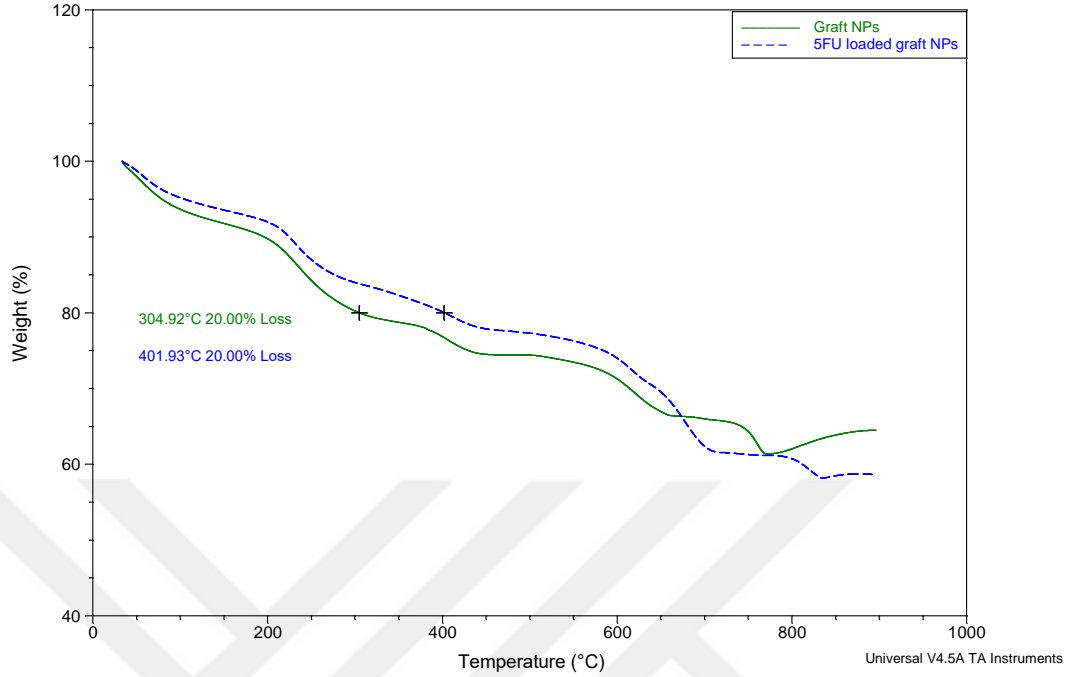
Şekil 3.17 incelendiğinde Pek-aşı-PDMAEMA₄ kopolimerinin sıcaklıkla bozunması 25-200 °C, 200-600 °C ve 600-800 °C sıcaklık aralıklarında 3 bozunma basamağından oluşmaktadır. 50-200 °C sıcaklık aralığında Pek-aşı-PDMAEMA₄ kopolimerinin yapısındaki adsorblanan suyun uzaklaşması gerçekleşmiştir. 200-600 °C sıcaklık aralığında görülen pik aşı kopolimerinin depolimerizasyonuna atfedilebilir. 600-800 °C sıcaklığındaki pik PDMAEMA 'nın bozulmasına atfedilebilir [56]. Yapıya Fe₃O₄'ün girmesiyle birlikte termal dayanımının arttığı görülmüştür.



Şekil 3.17. Pek-aşı-PDMAEMA₄ kopolimeri ve Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄ nanopartikülünün TGA termogramı

3.4.5.3. Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄ ve Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄@5-FU TGA Termogramının Değerlendirilmesi

Şekil 3.18 incelendiğinde ; Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄ nanopartikülü 25-200 °C, 200-600 °C ve 600-800 °C sıcaklık aralıklarında 3 bozunma basamağından oluşmaktadır. 25-200 °C sıcaklık aralığında Pek-aşı-PDMAEMA₄ kopolimerinin yapısındaki adsorblanan suyun uzaklaşması gerçekleşmiştir. 200-600 °C sıcaklık aralığında görülen pik aş kopolimerinin depolimerizasyonuna atfedilebilir. 600-800 °C sıcaklığındaki pik PDMAEMA'nın bozulmasına ve Fe₃O₄' ün yapısındaki oksijenin uzaklaşmasına atfedilebilir. Nanopartikül oluşumu ile birlikte termal dayanımın arttığı gözlenmiştir.

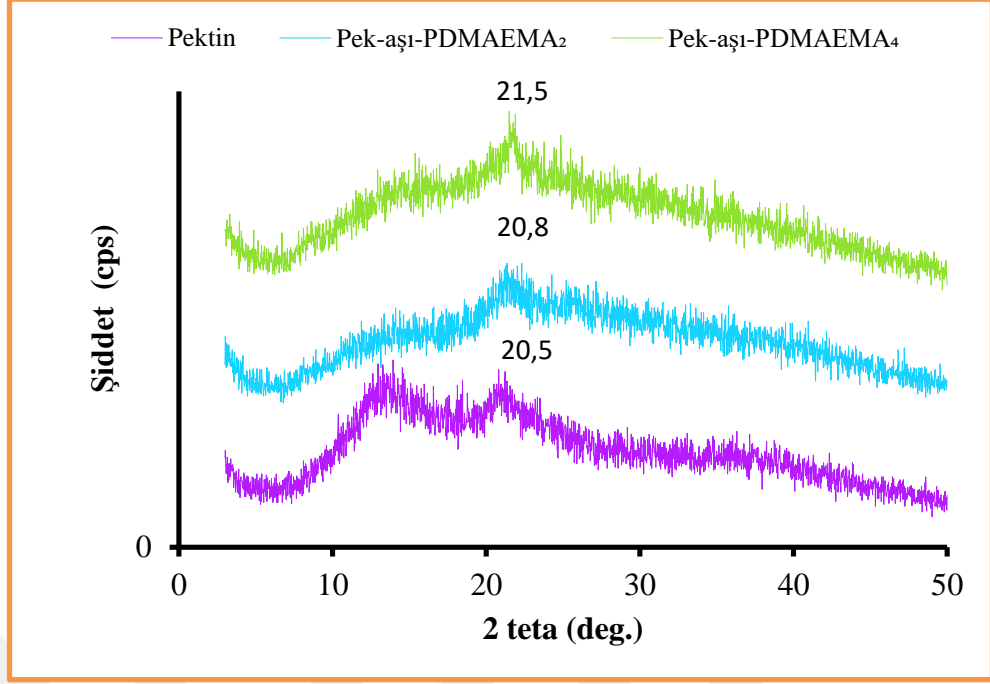


Şekil 3.18. Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄ ve Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄@5-FU nanopartiküllerinin TGA termogramı

3.4.6. X-ışını Difraksiyonu (XRD)

3.4.6.1. Pektin, Pek-aşı-PDMAEMA₂ ve Pek-aşı-PDMAEMA₄ Kopolimerlerinin XRD Sonuçlarının Değerlendirilmesi

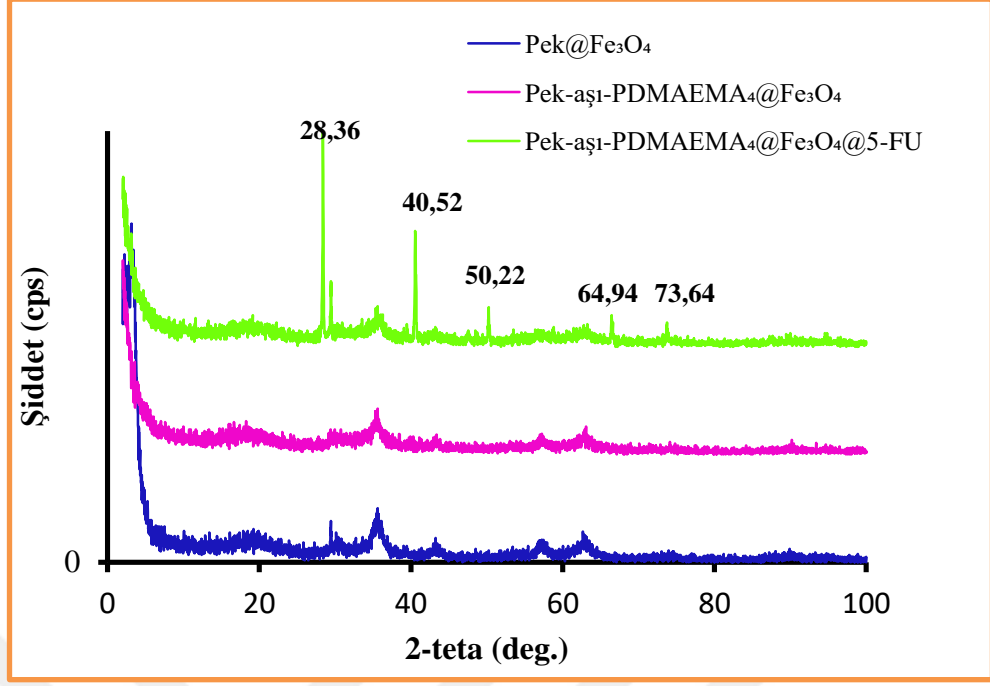
PDMAEMA gruplarının yapıya girmesi ile birlikte pektinin kristalin yapısının değiştiği gözlenmiştir. Pektin polimerinde gözlenen 12,66° değeri %18 aşı veriminde 12,5° ve %37 aşı veriminde ise 11,94° olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçtan yola çıkarak aşılama ile birlikte pektinde bulunan kristalin bölgelerin amorf yapıya dönüşmesine verilen pik değerinin azalması buna bağlanmıştır. Benzer sonuçlar literatürde rapor edilmiştir [42].



Şekil 3.19. Pektin, Pek-aşı-PDMAEMA₂ ve Pek-aşı-PDMAEMA₄ XRD Dağılımları

3.4.6.2. Pektin@Fe₃O₄, Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄ ve Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄@5-FU nanopartiküllerinin XRD Sonuçlarının Değerlendirilmesi

XRD (X-ışını kırınımı) karakteristik X-ışınları kullanılarak gerçekleştirilen analiz yöntemidir. X-ışını kırınımı desenindeki pik pozisyonlarının (Θ) pik yarı genişliğinin belirlenmesi sonucunda nanopartiküllerin kırılma ve dağılma verileri belirlenebilmektedir. Pektin@Fe₃O₄, Pek-aşı-PDMAEMA₄ ve Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄@5-FU nanopartiküllerinin kristal yapılarını belirlemek amacıyla XRD analizleri yapılmış ve elde edilen sonuçlar Şekil 3.20’de verilmiştir.



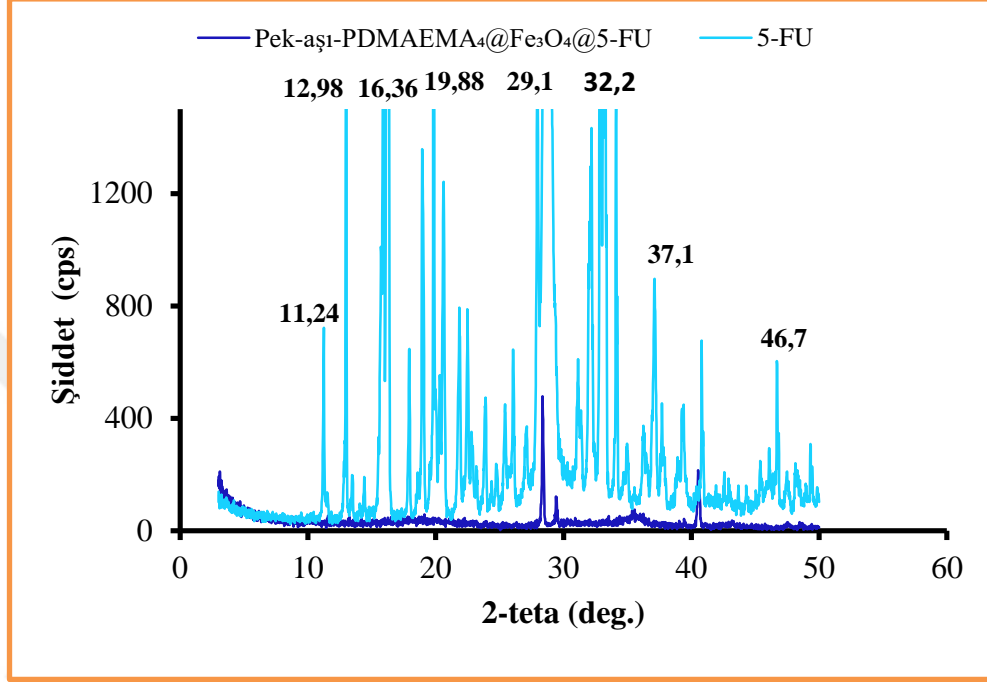
Şekil 3.20. Pektin@Fe₃O₄, Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄ ve Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄@5-FU nanopartiküllerin XRD dağılımları

Pek-aşı-PDMAEMA kopolimerlerinden elde edilen Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄ nanopartikülünün yapısına (220), (311), (400), (511), (440) düzlemlerini içeren Fe₃O₄'ün kübik kristal yapısının 2 θ değerleri sırasıyla 29,42°, 35,52°, 43,22° ve 57,24° de ve 62,66 ° olarak saptanmıştır. 5-FU yüklü Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄@5-FU nanopartiküllerinde ilaca ait karakteristik 2 θ değerleri 28,36°, 40,52° ve 50,22°, 64,94° ve 73,64° de görülmektedir [57]. XRD sonuçları yapıya ilacın girdiğini görülmektedir. Benzer sonuçlar literatürde rastlanmıştır [38,40].

3.4.6.3. 5-FU ve Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄@5-FU nanopartikülünün XRD Sonuçlarının Değerlendirilmesi

5-FU ve Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄@5-FU nanopartikülünün XRD dağılımları verilmiştir. Şekil 3.21 incelendiğinde; 5-FU'nun XRD deseninde 2 θ açıları 16,36°, 29,1° ve 32,2° değerleri ilacın kristalin yapısını göstermektedir.

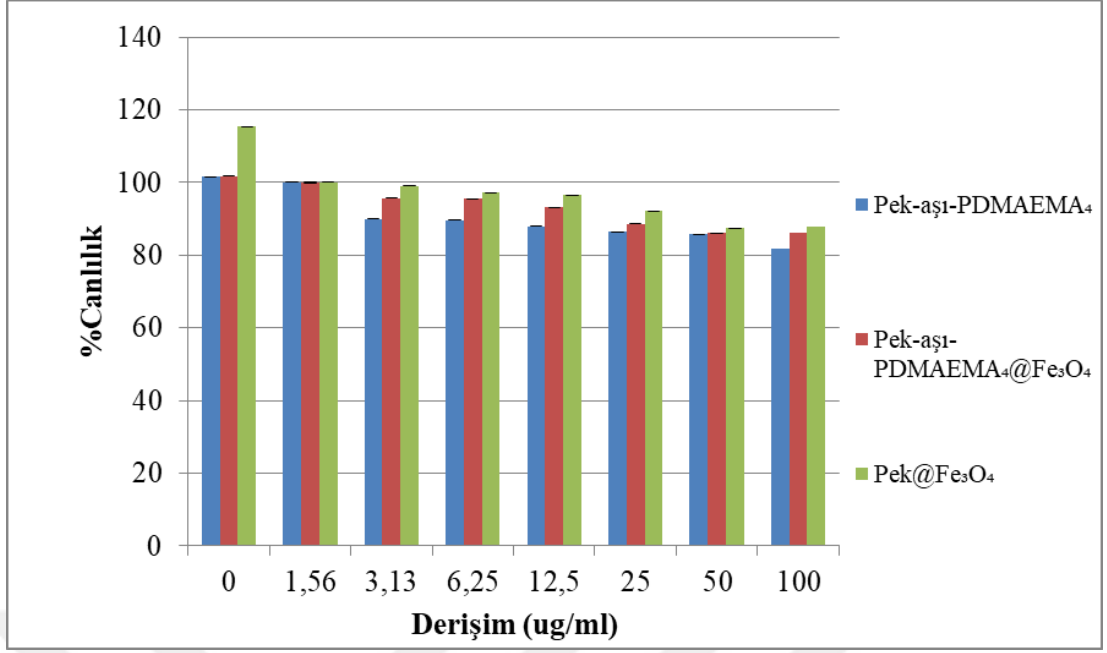
Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄@5-FU ilaçlı nanopartiküllerinde benzer yapıya sahip oldukları görülmektedir. Bununla birlikte 27,82 ° deki keskin pikin 5-FU ait pikin çıkması ilacın kristal yapısını nanopartikül içinde koruduğunu gösterir. Ayrıca 12,98 °, 16,36 °, 19,88 °, 29,1 ° ve 32,2 ° de keskin pikleri ölçülmüştür. Benzer sonuçlar literatürde rastlanmıştır [24].



Şekil 3.21. 5-FU ve Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄@5-FU nanopartikülünün XRD Dağılımları

3.4.7. Pek-aşı-PDMAEMA aşı kopolimerin ve Pek-aşı-PDMAEMA nanokürelerinin MTT Sonuçları

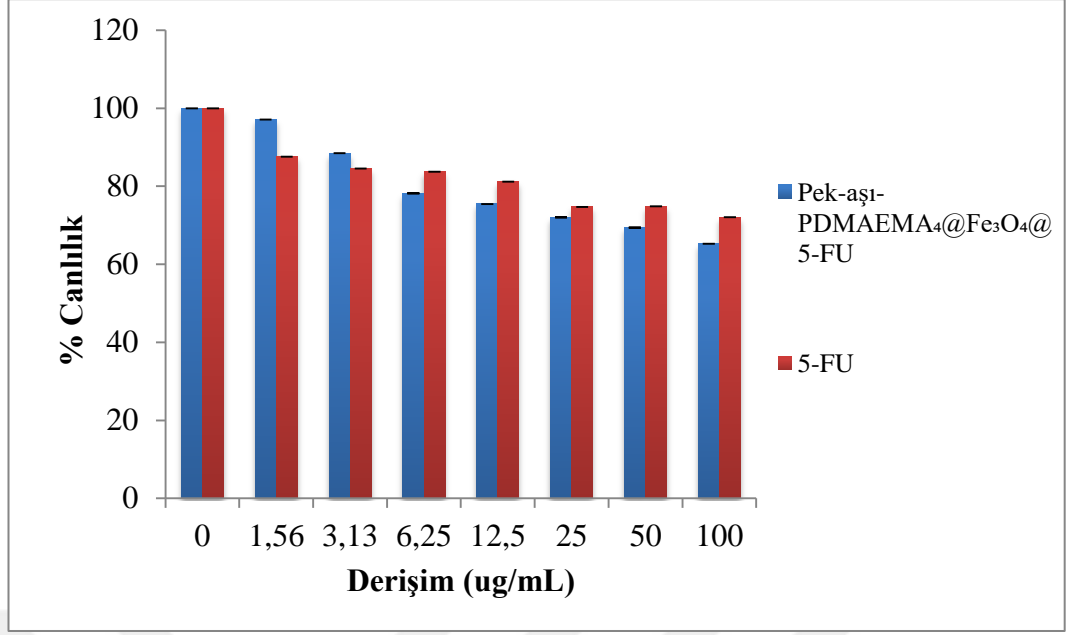
Sentezlenen kopolimerin ve hazırlanan nanopartiküllerin biyoyumlulukları MTT yöntemi ile yapılmış ve Şekil 3.22’de Pek-aşı-PDMAEMA₄ kopolimeri ve Pektin@Fe₃O₄, Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄ nanopartiküllerinin % canlılık değerleri sunulmuştur.



Şekil 3.22. Pektin@Fe₃O₄, Pek-aşı-PDMAEMA₄ kopolimeri ve Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄ nanopartiküllerinin hücre canlılığı derişim değişimi

Şekil 3.22 incelendiğinde kontrol grubunda (0 µg/mL) toksisitenin olmadığı gözlenmiştir. Düşük derişimde (3,13 µg/mL) en yüksek hücre canlılığı Pek@Fe₃O₄ uygulandığı hücrelerde görülmüştür. Numune derişimi arttıkça hücre canlılığında hafif azalma görülmüştür. En yüksek derişimde (100 µg/mL) Pektin@Fe₃O₄ uygulandığı hücrelerdeki canlılık yaklaşık %88, Pek-aşı-PDMAEMA₄ kopolimeri uygulandığı hücrelerdeki canlılık %81 ve Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄ uygulandığı hücrelerdeki canlılık %86 olarak bulunmuştur.

Genel sonuç; Sitoksisitesi incelenen örneklerin önemli bir sitotoksik etki göstermediği ve biyoyumlu kabul edilebileceği söylenebilir [42].



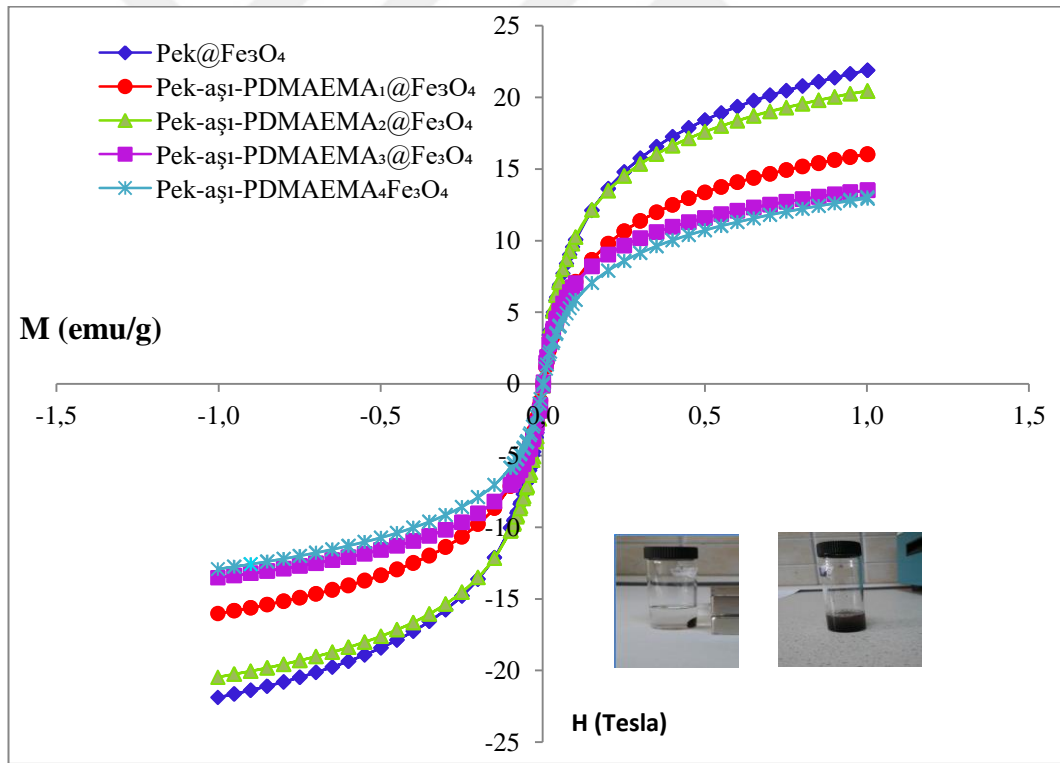
Şekil 3.23. Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄ ve 5-FU derişim değişimi

Hazırlanan Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄@5-FU nanopartiküllerinin antikanser aktivitesini araştırmak için MCF-7 hücreleri kullanılmıştır. Şekil 3.23' de Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄ ve 5-FU'nun % canlılık değerleri sunulmuştur. Düşük derişimde (3,13 µg/mL) en yüksek hücre canlılığı Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄@5-FU uygulandığı hücrelerde görülmüştür. Numune derişimi arttıka Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄@5-FU nanopartikül örneğinde hücre canlılığında azalma görülmüştür. En yüksek derişimde (100 µg/mL) Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄@5-FU nanopartikülüne numune uygulandığı hücrelerdeki canlılık %65 olarak bulunmuştur.

Genel sonuç; Numune derişimi arttıka Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄@5-FU nanopartikülünde toksik etkinin arttığı görülmüştür. Düşük dozlarda serbest 5-FU'nun daha aktif olduğu yüksek dozlarda ise Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄@5-FU nanopartikülünün daha aktif olduğu gözlenmiştir [43]. Ayrıca genel olarak hazırlanan nanopartiküllerin serbest 5-FU'ya göre antikanser aktivitesinin daha iyi olduğu bulunmuştur.

3.4.8. Manyetik nanopartiküllerin VSM Sonuçlarının Değerlendirilmesi

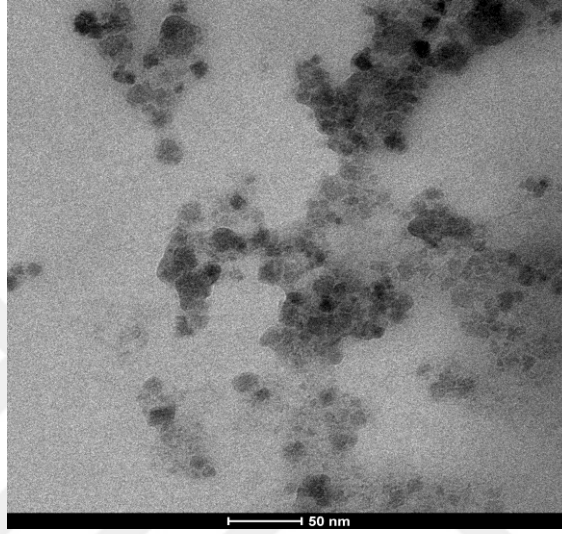
Farklı aşı yüzdelerinde kopolimer kaplı nanopartiküllerin manyetik özellikleri titreşim örneklemlerle manyetometre (VSM) ile araştırılmıştır ve histerisis döngüleri Şekil 3.24'te verilmiştir. Pek@Fe₃O₄ için manyetik doyum 21,9 emu g⁻¹, Pek-aşı-PDMAEMA₁@Fe₃O₄ için 16,1 emu g⁻¹, Pek-aşı-PDMAEMA₂@Fe₃O₄ için 20,5 emu g⁻¹, Pek-aşı-PDMAEMA₃@Fe₃O₄ için 13,4 emu g⁻¹ ve Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄ için 12,9 emu g⁻¹ bulunmuştur. Aşı yüzdesinin artmasıyla manyetik doyum değerleri hafif düşmüştür. Bu düşmenin sebebi, Pektinin Fe₃O₄ üzerine kaplanması sonucu manyetik olarak değerinin düşmesidir. Elde edilen sonuçlardan hazırlanan nanopartiküllerin paramanyetik özellikte olduğu doğrulanmıştır. Benzer sonuçlara literatürde rastlanmıştır [38].



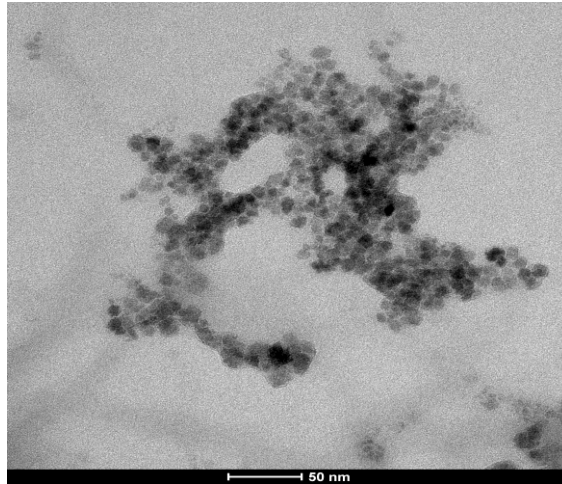
Şekil 3.24. Pektin@Fe₃O₄ ve Pektin@Fe₃O₄@PDMAEMA nanopartiküllerinin manyetik histerisis eğrisi

3.4.9. Hazırlanan Nanopartiküllerin TEM Analizi

Şekil 3,25, 3,26, 3,27' de farklı yapılarıdaki nanopartiküllerin TEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) görüntüleri sunulmuştur. Şekil 3.25'te sentezlenen nanopartiküllerin TEM ile boyut analizi yapılmıştır. Boyutları 10-15 nm bulunmuştur. TEM resimlerinden partiküllerin küresel olduğu ve genellikle birleşmiş yapılarda bulunduğu görülmektedir [38].



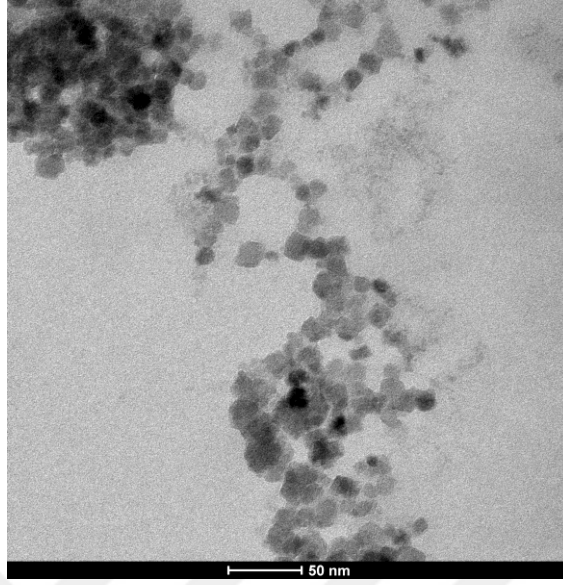
Şekil 3.25. Pek@Fe₃O₄ nanopartiküllerinin TEM görüntüsü



Şekil 3.26. Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄ nanopartiküllerinin TEM görüntüsü

Şekil 3.26 incelendiğinde Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄ formülasyonundan elde edilen nanopartiküllerin pektin nanopartiküllerine göre daha siyah olduğu, partiküllerin üst üste geldiği ve nanopartiküllerin birleşmiş olduğu gözlenmiştir.

Pektin bazlı Fe_3O_4 nanopartiküllerde benzer görüntüler literatürde yer almaktadır [9, 38].



Şekil 3.27. (a) Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄@5-FU nanopartiküllerinin TEM Görüntüsü

3.4.10. Manyetik nanokürelerin Zeta potansiyeli ve Size Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Zeta potansiyeli kolloidal kararlılığını karakterize etmek için önemli bir faktördür [45]. Ayrıca, partiküllerin yüzey yüklerinin ölçülmesini sağlar. Genel olarak yüksek pozitif ve negatif zeta potansiyeli olan nanoparçacıklar dağılma stabilitesi göstermektedir [45]. Yüksek zeta potansiyeli olan nanopartiküller, partiküller arası yüksek elektrostatik itme kuvvetinden dolayı depolanma süresinde koagüle olmazlar [44].

Pek-aşı-PDMAEMA@Fe₃O₄ ve 5-FU yüklü Pek-aşı-PDMAEMA@Fe₃O₄ nanopartiküllerinin fosfat tamponunda (pH 7,4), asetat tampon ortamında (pH 5,5) ve asidik ortamda (pH 1,2) 25 °C’ de zeta potansiyeli ölçümleri yapıldı ve elde edilen sonuçlar çizelge 3.6’da sunuldu. Ağırlıklı olarak Pek-aşı-PDMAEMA@Fe₃O₄ nanopartiküllerinde yüzeyde pektin bulunmaktadır. Pektinin anyonik bir polimer

olmasından dolayı yüzey yükleri negatif olarak bulunmuştur. Nanopartiküllerin genel olarak pH 5,5 ve pH 7,4’de stabilitelerinin daha iyi olduğu ve aşı yüzdesinin artması ile zeta değerlerinin hafif düştüğü gözlenmiştir. [45].

Size sonuçlarına bakıldığında; düşük pH’da partikül boyutlarının daha yüksek olduğu görülmüştür. Bunun sebebi PDMAEMA’nın katyonik bir polimer olmasından kaynaklı düşük pH’da daha fazla şişmesine atfedilebilir. Nanopartiküllere ilaç yüklenmesi ile partikül boyutlarında önemli bir değişim gözlenmemiştir.

Çizelge 3.5. Pektin@Fe₃O₄ ve Pek-aşı-PDMAEMA@Fe₃O₄ ’ün Zeta Potansiyeli Sonuçları

| Taşıyıcılar | pH | Zeta potansiyeli (mv) | İlaç | İlaç miktarı | İlaçlı zeta (mv) |
|--|-----|-----------------------|------|--------------|------------------|
| Pek@Fe ₃ O ₄ | 1.2 | 7.36±4.07 | 5-FU | 100mg | -0,05±0,6175 |
| | 5.5 | -17.60±1.01 | 5-FU | 100mg | -12,53±0,66 |
| | 7.4 | -33.77±0.42 | 5-FU | 100mg | -33,06±0,2 |
| Pek-aşı-PDMAEMA ₁ @Fe ₃ O ₄ | 1.2 | 2.86±0.18 | 5-FU | 100mg | -0,726±0,004 |
| | 5.5 | -17.67±1.02 | 5-FU | 100mg | -14,7±0,65 |
| | 7.4 | -33.30±1.47 | 5-FU | 100mg | -24,53±0,2 |
| Pek-aşı-PDMAEMA ₂ @Fe ₃ O ₄ | 1.2 | 1.32±1.29 | 5-FU | 100mg | -0,025±0,008 |
| | 5.5 | -13.17±1.22 | 5-FU | 100mg | -13,16±2,32 |
| | 7.4 | -27.17±0.45 | 5-FU | 100mg | -32,53±0,6 |
| Pek-aşı-PDMAEMA ₃ @Fe ₃ O ₄ | 1.2 | 0.63±0.34 | 5-FU | 100mg | 0,334±0,10 |
| | 5.5 | -17.87±0.40 | 5-FU | 100mg | -10,66±0,20 |
| | 7.4 | -31.73±2.37 | 5-FU | 100mg | -22,56±0,9 |
| Pek-aşı-PDMAEMA ₄ @Fe ₃ O ₄ | 1.2 | 0.08±0.43 | 5-FU | 100mg | -0,41±0,01 |
| | 5.5 | -18.10±0.17 | 5-FU | 100mg | -13,86±0,2 |
| | 7.4 | -27.37±1.90 | 5-FU | 100mg | -22,86±1,18 |

Çizelge 3.6. Pektin@Fe₃O₄ ve Pek-aşı-PDMAEMA@Fe₃O₄ 'ün size Sonuçları

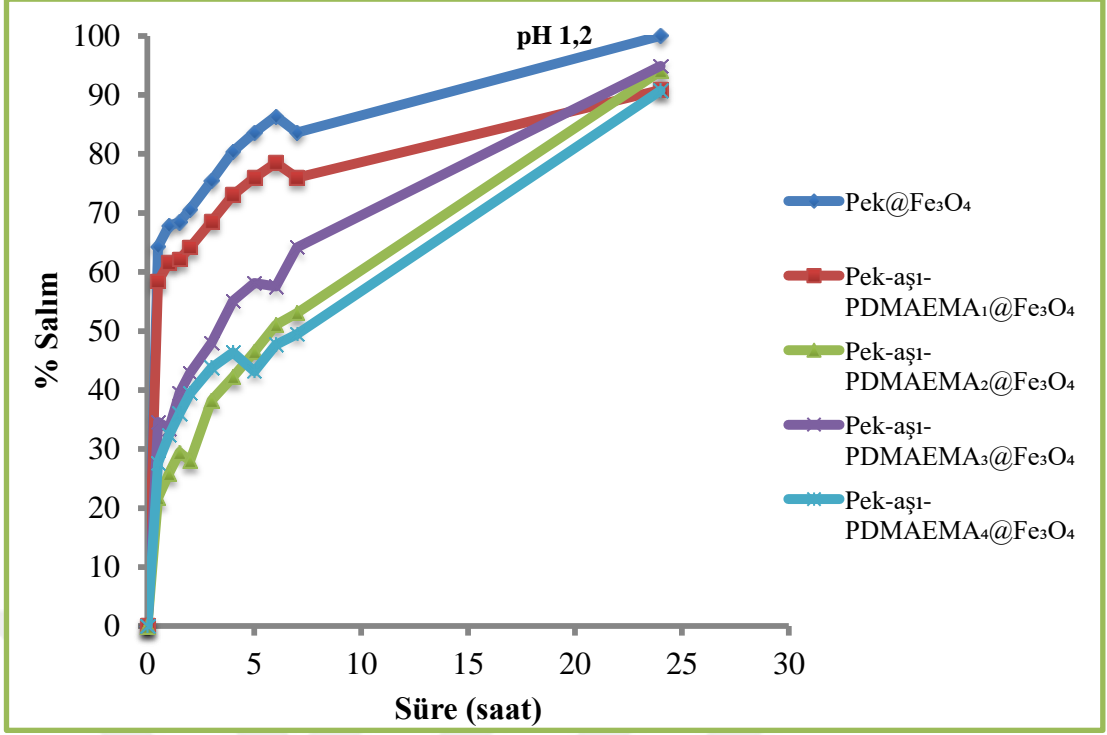
| Taşıyıcılar | pH | Boş çap(nm) | PDI | ilaç | İlaç miktarı | İlaçlı çap | PDI |
|-------------|-----|-------------|-------------|------|--------------|-------------|--------------|
| A0 | 1.2 | 274±5.50 | 0.387±0.064 | 5-FU | 100mg | 275.4±5.35 | 0.435±0,02 |
| | 5.5 | 285.6±9.31 | 0.325±0.034 | 5-FU | 100mg | 282.5±2.65 | 0.317±0.003 |
| | 7.4 | 304±6.16 | 0.343±0.020 | 5-FU | 100mg | 304±9.89 | 0.345±0.005 |
| A1 | 1.2 | 417.6±4.07 | 0.591±0.11 | 5-FU | 100mg | 458.2±3.65 | 0.512±0.021 |
| | 5.5 | 290.77±4.93 | 0.313±0.01 | 5-FU | 100mg | 359.8±2.15 | 0.255±0.008 |
| | 7.4 | 289.9±6.57 | 0.394±0.004 | 5-FU | 100mg | 252.6±1.57 | 0.372±0.002 |
| A2 | 1.2 | 449.9±12.5 | 0.511±0.016 | 5-FU | 100mg | 406.8±0.45 | 0.533±0.028 |
| | 5.5 | 323.3±3.3 | 0.248±0.015 | 5-FU | 100mg | 306.6±10.1 | 0.242±0.011 |
| | 7.4 | 277.7±0.1 | 0.349±0.022 | 5-FU | 100mg | 236.4±0.49 | 0.344±0.001 |
| A3 | 1.2 | 500.45±8.65 | 0.567±0.024 | 5-FU | 100mg | 365.86±11.9 | 0.591±0.02 |
| | 5.5 | 550.36±3.4 | 0.442±0.016 | 5-FU | 100mg | 556±4.3 | 0.526±0.05 |
| | 7.4 | 281.13±3.05 | 0.362±0.003 | 5-FU | 100mg | 238.63±4.8 | 0.347±0.005 |
| A4 | 1.2 | 300.03±20.1 | 0.545±0.11 | 5-FU | 100mg | 412.8±11.6 | 0.514±0.04 |
| | 5.5 | 575.3±3.3 | 0.538±0.03 | 5-FU | 100mg | 343.43±5.05 | 0.288±0.04 |
| | 7.4 | 333.9±2.2 | 0.365±0.03 | 5-FU | 100mg | 320.76±1.8 | 0.351±0.0005 |

3.5. Pek-aşı-PDMAEMA@Fe₃O₄@5-FU Manyetik Nanopartiküllerin *in vitro* Salım Çalışmaları

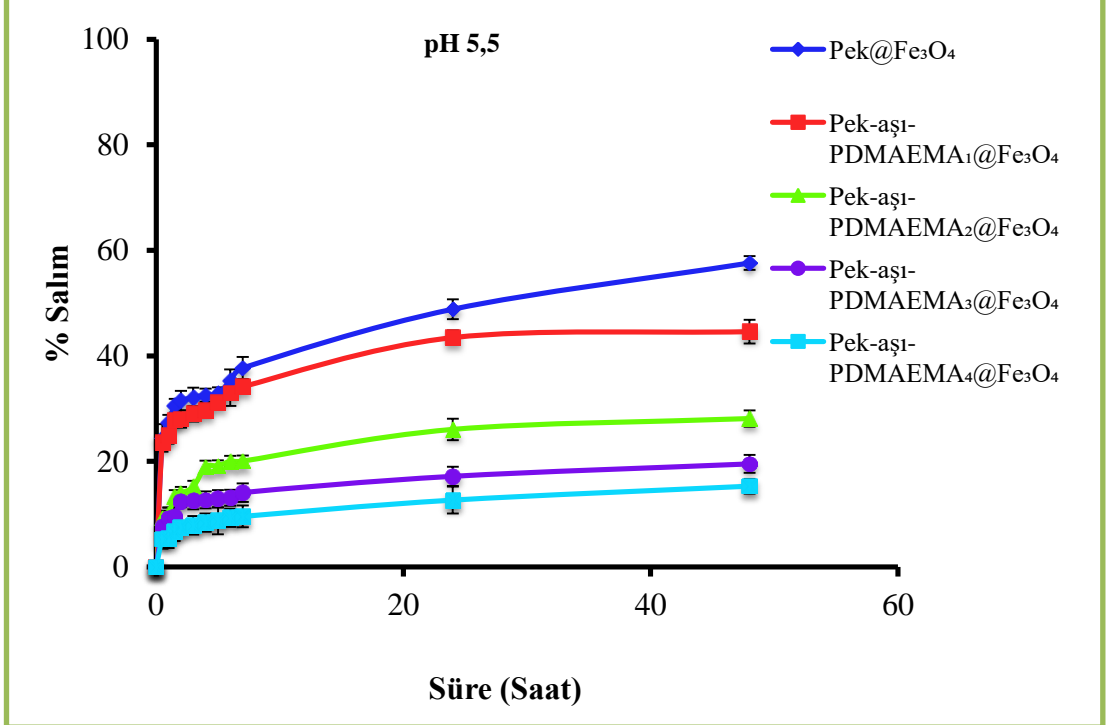
3.5.1. Aşı yüzdesinin 5-FU Salımına Etkisi

Farklı aşı yüzdeleri Pek-aşı-PDMAEMA@Fe₃O₄@5-FU nanopartiküllerinin *in vitro* salım çalışmaları fosfat tamponunda, (pH 7,4) asetat tampon ortamında (pH 5,5) ve asidik ortamda (pH 1,2) 37 °C’ de yapıldı. Sonuçlar Şekil 3.28 ve 3.29’da sunulmuştur. Genel olarak grafikler incelendiğinde nanopartiküllerde aşı yüzdesinin artması ile ilaç salımının azaldığı gözlenmiştir. Bu da pektine PDMAEMA gruplarının aşılansıyla hidrofobik karakterin artmasına atıf edilebilir.

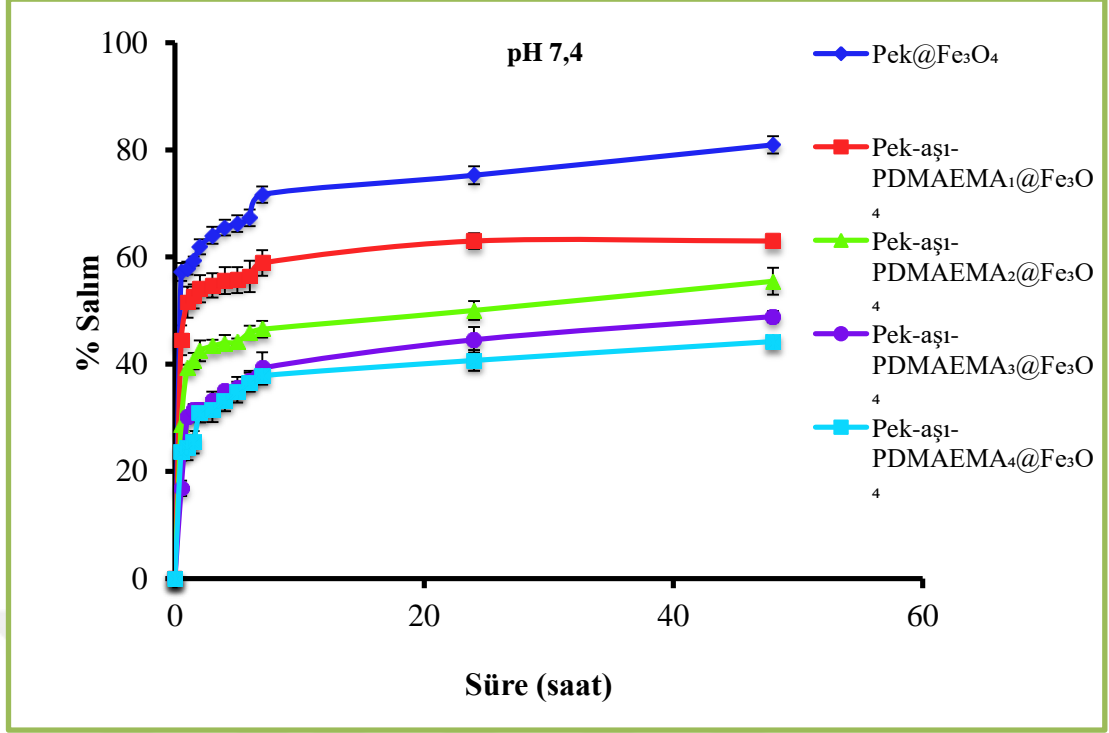
Literatürde kopolimerdeki aşı yüzdesinin artmasıyla salım değerlerinin azaldığı benzer çalışmalar bulunmaktadır [42]. M.Assaf ve arkadaşları pektine N-isopropilakril amid aşılans ve hidrojelini oluşturmuş , pH 5,5 pH 7,4 ’de ilaç salımına bakılmıştır. pH 7,4 ’de pH 5,5’ e göre daha hızlı salım yaptığı raporlanmıştır [42].



Şekil 3.28. Aşı yüzdesinin pH 1,2’ de 5-FU salımına etkisi



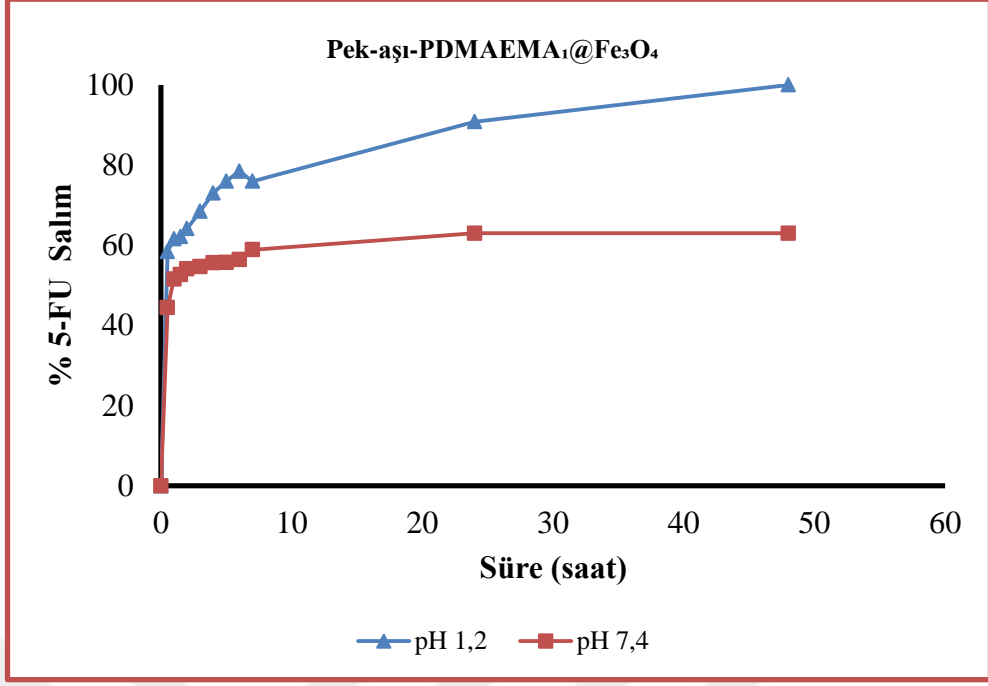
Şekil 3.29. Aşı yüzdesinin pH 5,5 ’ de 5-FU salımına etkisi



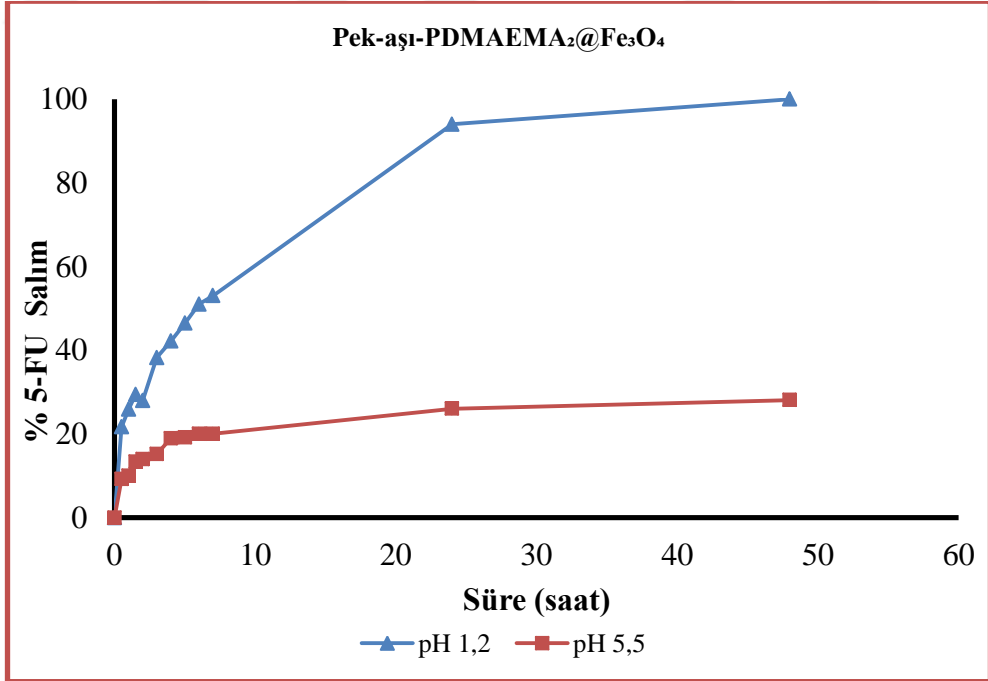
Şekil 3.30. Aşı yüzdesinin pH 7,4' de 5- FU salımına etkisi

3.5.2 pH'nın 5-FU Salımına Etkisi

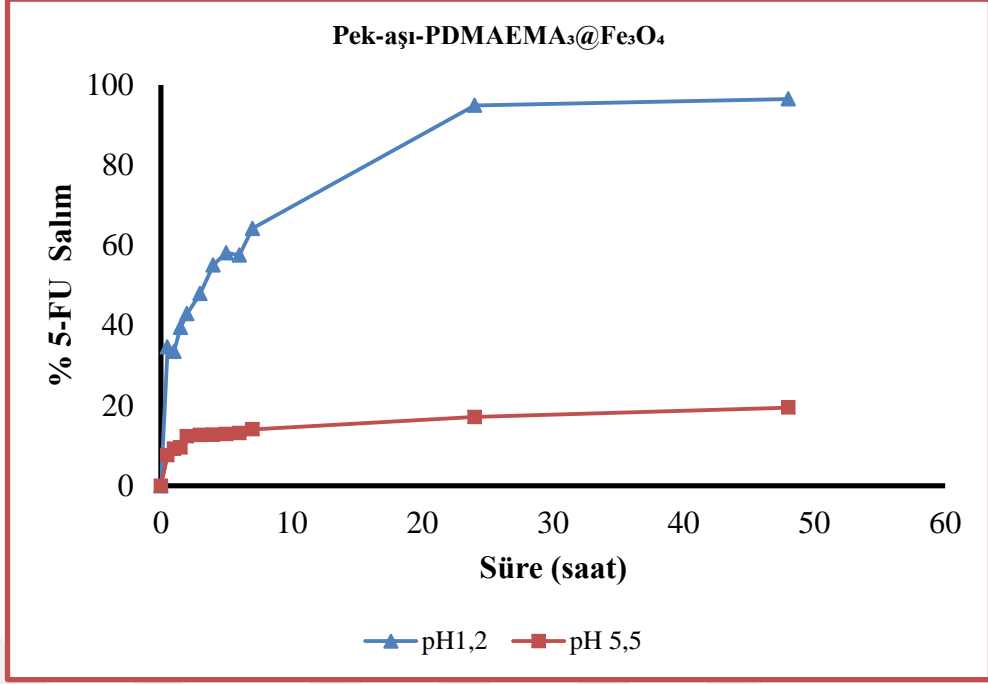
pH' nın 5-FU salımına etkisini incelemek için farklı pH ortamında sonuçlar incelenmiş ve elde edilen veriler Şekil 3.31, 3.32, 3.33 ve 3.34' de sunulmuştur. Pek-aşı-PDMAEMA@Fe₃O₄@5-FU nanopartiküllerinin bütün formülasyonlarında 5-FU'nun pH 1,2'de hızlı salım yaptığı, pH 7,4 tamponlarında daha yavaş salım yaptığı görülmüştür. pH 1,2'de ilacı fazla salması ilacın çözünürlüğünün yanı sıra yapıda bulunan PDMAEMA' ya bağlıdır. PDMAEMA pH'ya duyarlı bir polimerdir. Pek-aşı-PDMAEMA' da bulunan PDMAEMA dalları düşük pH'da daha iyi şişer ve ilaç salımını hızlandırır. Şişmenin artması ile nanopartikül içine ve etrafına nüfuz eden ilacın salımı artmıştır. Benzer sonuçlar literatürde raporlanmıştır [58]. Mohiyuddin ve arkadaşları kalsiyum pektinat ile kaplanmış Fe₃O₄ nanopartiküllerinin ilaç salımına bakıldığında pH 7,4' de daha yavaş, pH 5,5' de ise daha hızlı salım yaptığı görülmüştür [31, 46].



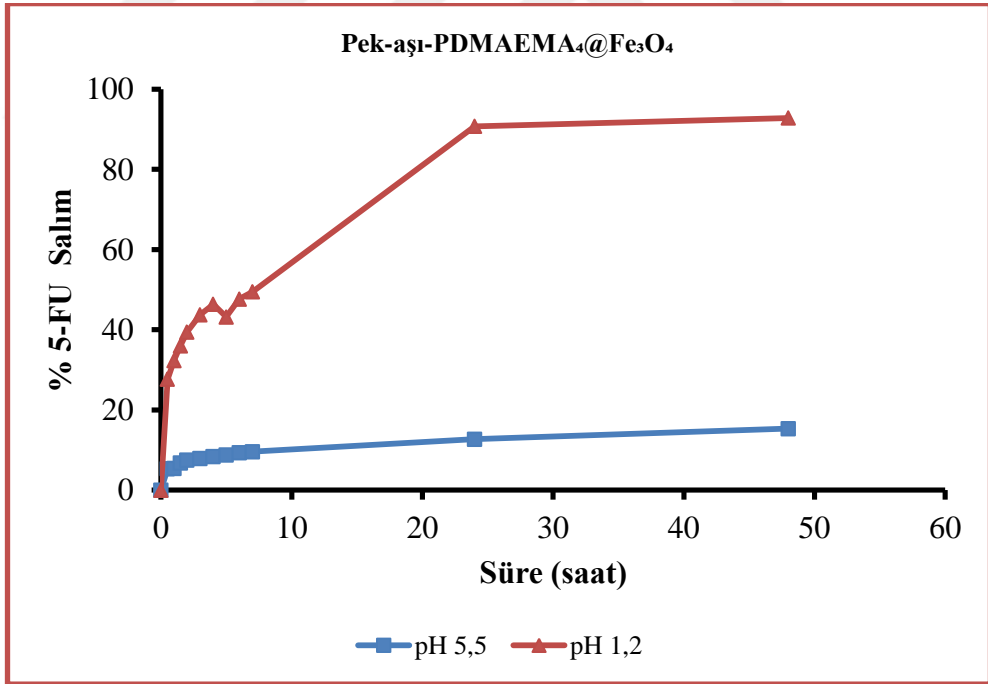
Şekil.3.31. Pek-aşı-PDMAEMA₁@Fe₃O₄ nanopartiküllerinin pH 1,2 ve 7,4’deki salımı



Şekil 3.32. Pek-aşı-PDMAEMA₂@Fe₃O₄ nanopartiküllerinin pH 1,2 ve 5,5’deki salımı



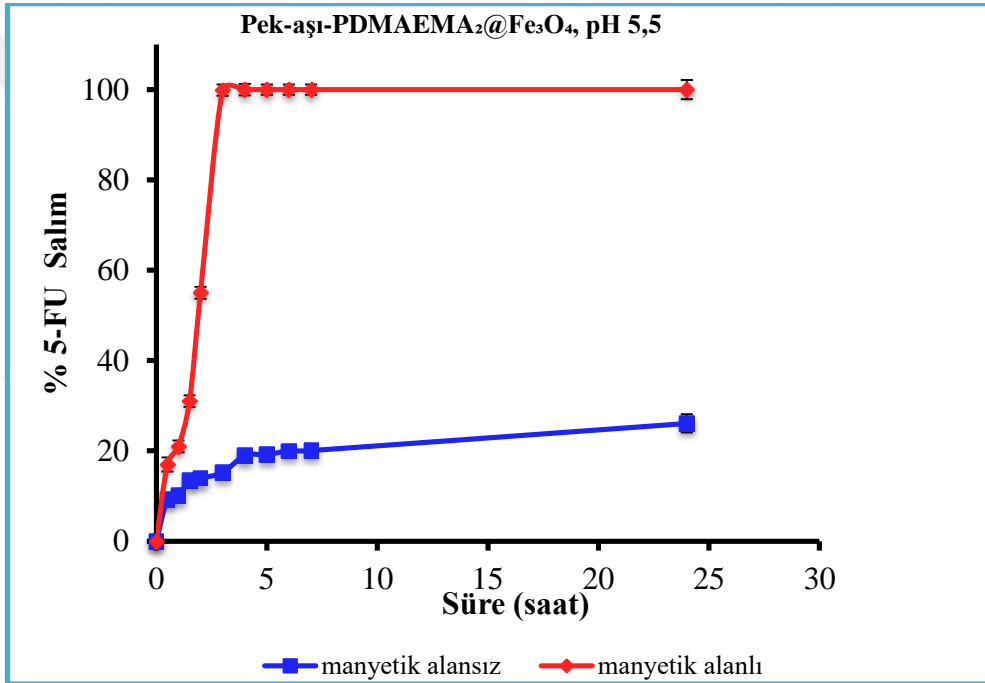
Şekil 3.33. Pek-aşı-PDMAEMA₃@Fe₃O₄ nanopartiküllerinin pH 1,2 ve 5,5 ' deki salımı



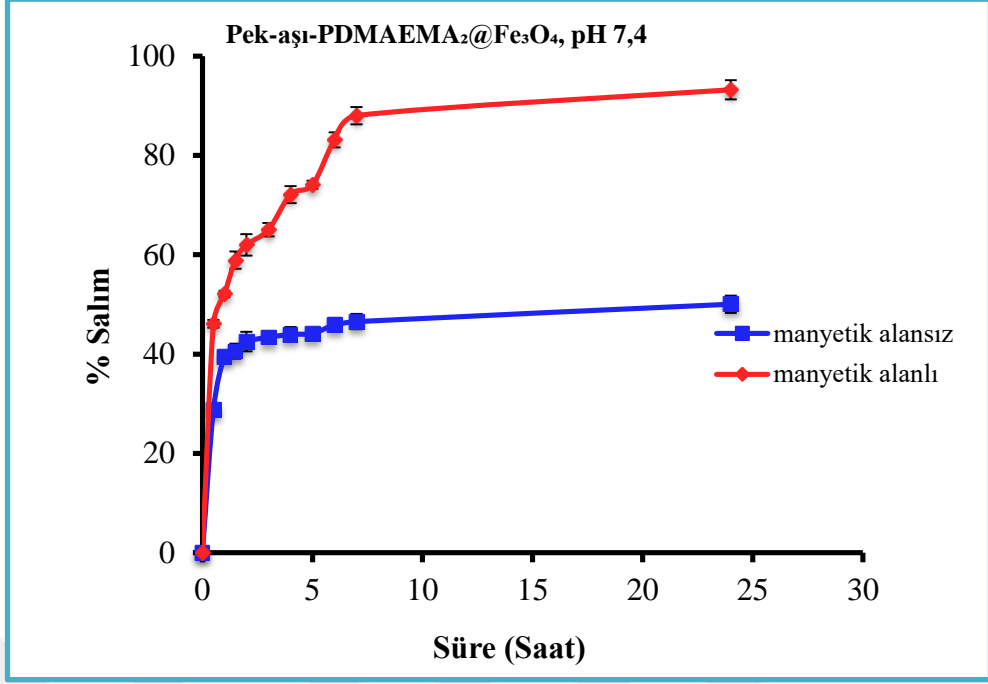
Şekil 3.34. Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄ nanopartiküllerinin pH 1,2 ve 5,5 ' deki salımı

3.5.3 5-FU Salımına Magnetik Alan Etkisi

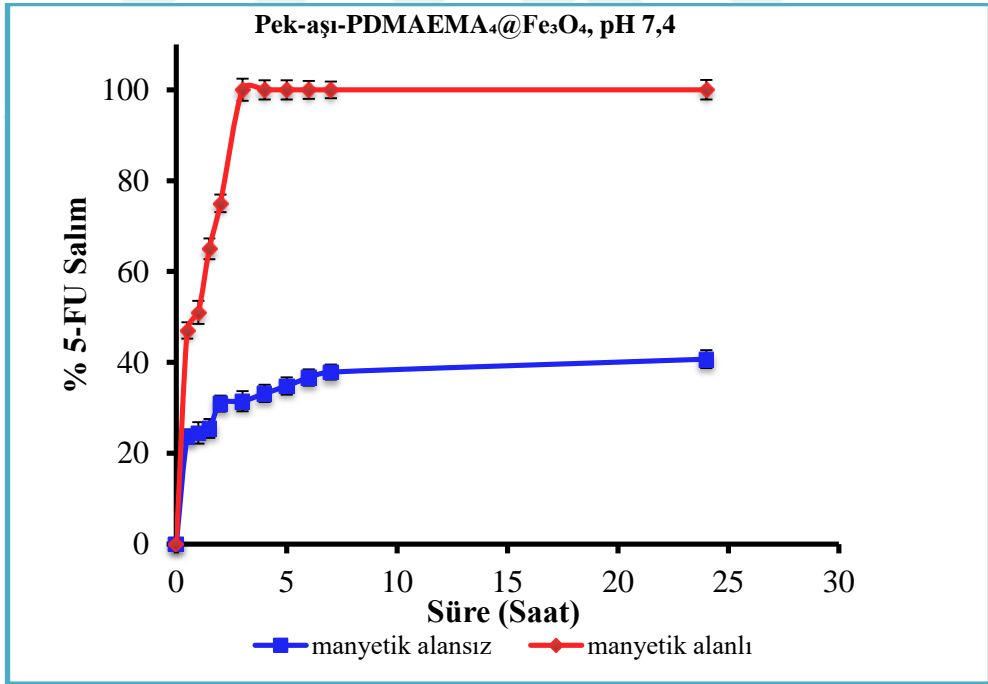
Hazırlanan nanopartiküllerin manyetik alan duyarlılığını incelemek için Pek-aşı-PDMAEMA₂@Fe₃O₄@5-FU ve Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄@5-FU nanopartiküllerinin pH 5,5 ve pH 7,4 'de 37 °C 'de 24 saat boyunca manyetik alanlı ve manyetik alansız ortamda salımı çalışılmıştır. Genel olarak sonuçlar incelendiğinde; manyetik alansız ortamda salımın daha yavaş olduğu, manyetik alanlı ortamda salımın daha hızlı olduğu gözlenmiştir. Benzer sonuçlar literatürde rapor edilmiştir [45].



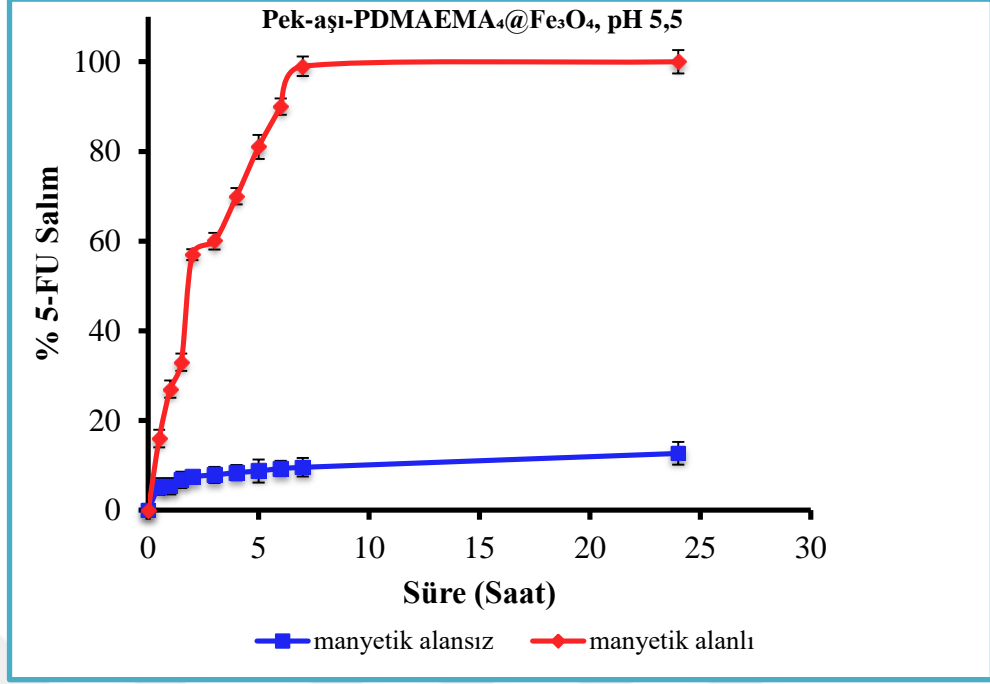
Şekil 3.35. Pek-aşı-PDMAEMA₂@Fe₃O₄ nanopartiküllerinin pH 5,5' deki manyetik alanlı ve manyetik alansız ortamda 5-FU salımı



Şekil 3.36. Pek-aşı-PDMAEMA₂@Fe₃O₄ nanopartiküllerinin pH 7,4 deki manyetik alanlı ve manyetik alansız ortamda 5-FU salımı



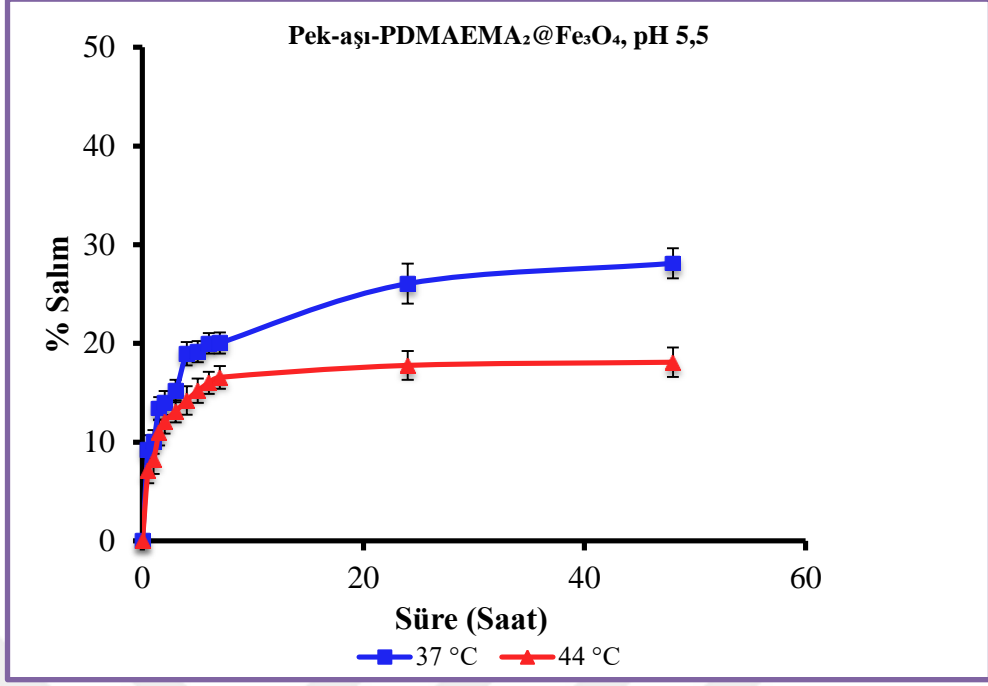
Şekil 3.37. Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄ nanopartiküllerinin pH 7,4 deki manyetik alanlı ve manyetik alansız ortamda 5-FU salımı



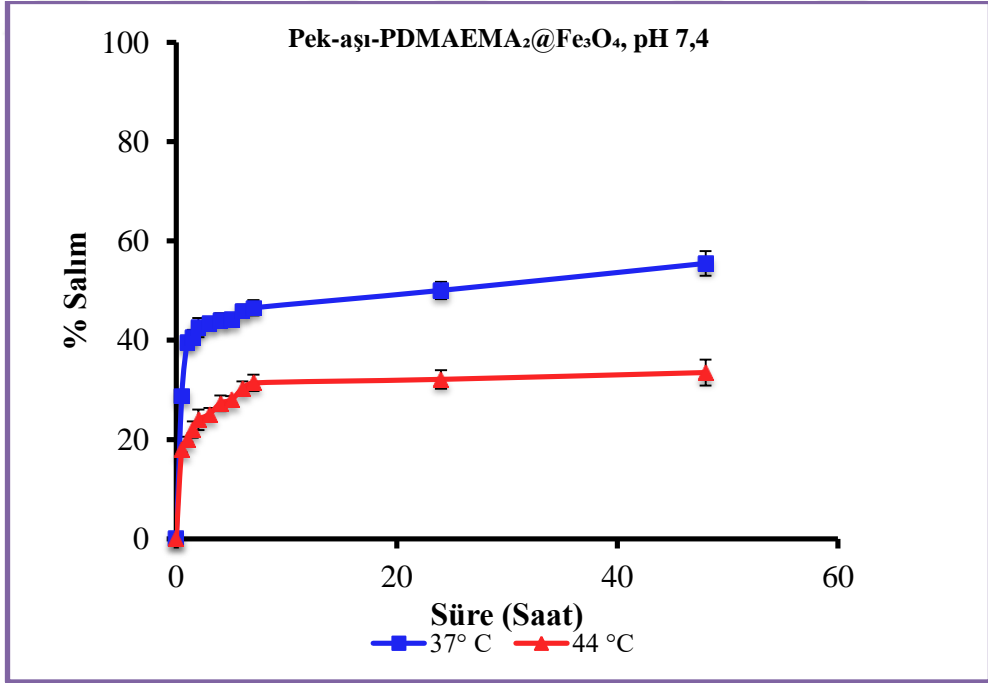
Şekil 3.38. Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄ nanopartiküllerini pH 5,5 deki manyetik alanlı ve manyetik alansız ortamda 5-FU salımı

3.5.4. 5-FU Salımına Sıcaklığın Etkisi

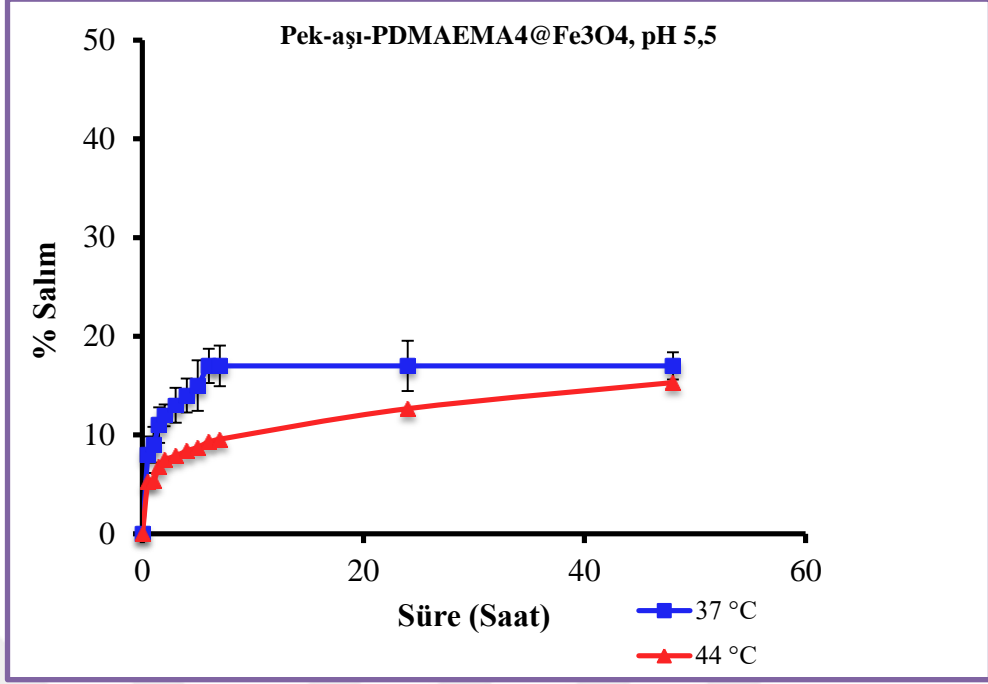
Hazırlanan nanopartiküllerin sıcaklığa duyarlılığını incelemek için, Pek-aşı-PDMAEMA₂@Fe₃O₄ ve Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄ nanopartiküllerinin pH 5,5 asetik asit/asetat çözeltisinde ve pH 7,4 H₂PO₄⁻/HPO₄⁻² tamponunda 37 °C ve 44 °C’de 24 saat ilaç salımı çalışıldı. (Bu iki sıcaklığın seçilmesinin sebebi LCST değerinin altındaki ve üstündeki sıcaklıklarda salım davranışlarını incelemek için seçilmiştir.) Şekil 3.38 incelendiğinde 37 °C sıcaklıkta ve pH 5,5’de salım değeri %28, 44 °C’de ise %18 olarak bulunmuştur. Genel olarak 37 °C’de 5-FU salımı yüksek çıkmıştır. Bunun sebebi, LCST değerinin üzerindeki sıcaklıklarda kopolimer tabakanın hidrofob etkileşimlerden tarafından şişmesi ve buna bağlı olarak daha yavaş 5-FU salımı oluşmasıdır. Işıklan ve arkadaşları kitosan/ hidroksi propil selüloz içeren nanopartiküller hazırlanmış, 37 °C ve 44 °C salımına bakılmıştır. Bu çalışmada 44 °C’de daha yavaş salım rapor edilmiştir. [47].



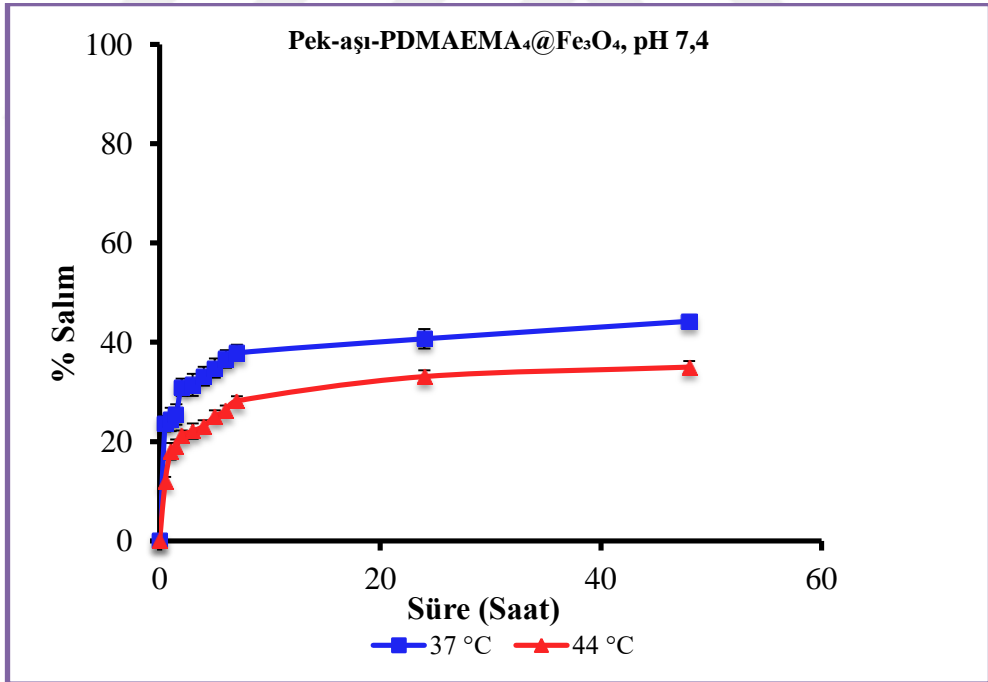
Şekil 3.39. Pek-aşı-PDMAEMA₂@Fe₃O₄ nanopartiküllerinin pH 5,5 deki 37 °C ve 44 °C 'deki salımı



Şekil 3.40. Pek-aşı-PDMAEMA₂@Fe₃O₄ nanopartiküllerinin pH 7,4 deki 37 °C ve 44 °C 'deki salımı



Şekil 3.41. Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄ nanopartiküllerinin pH 5,5 deki 37 °C ve 44 °C 'deki salımı



Şekil 3.42. Pek-aşı-PDMAEMA₄@Fe₃O₄ nanopartiküllerinin pH 7,4 deki 37 °C ve 44 °C 'deki salımı

3.6. Kinetik Sonuçlar

Değişik formülasyonlarda hazırlanmış nanopartiküllerin salım sonuçlarının kinetik değerlendirilmesi için elde edilen salım mekanizmasını belirleyen difüzyonel sabit n , salım hız sabiti k , korelasyon sabiti r , difüzyon sabiti D değerleri Çizelge 3.7'de verilmiştir. Bu değerler sayfa 15'de verilen eşitlikler kullanılarak hesaplanmıştır. İlaç salımı gerçekleşmeden önce etken madde polimer içerisinde dağıtılmış ya da çözülmüş olarak bulunmaktadır. İlaç katı polimerden dışarı difüzyonlanamaz. Ancak çözücü molekülleri polimerik matrikse girince polimer şişer ve şişen polimer ilacın difüzyonuna izin verir. Böylece polimer tabakasından çözünü difüzyonuyla aynı anda fakat ters yönde oluşan ilaç salımı gerçekleşir. Sistemlerin ilaç serbestleştirilmesi Fick tipi (difüzyon kontrollü) ve Fick olmayan durum II (şişme kontrollü) olarak sınıflandırılır [24].

$n = 0,43$ olduğunda Fick yasasına uygun ilaç geçişini, $n = 0,85$ olduğunda Durum II şişme kontrollü ilaç geçişini göstermektedir. $0,43 < n < 0,85$ ise Fick yasasına uymayan ya da anormal ilaç geçişini gösterir. Fick difüzyonu olduğunda salımı ilaç difüzyonuyla gerçekleşir. Fick olmayan ya da anormal geçişte ise difüzyon ile polimer zincirlerinin gevşeme hızları birbirlerine yakın durumda olmaktadır [24].

Sonuçlar incelendiğinde 5-Fluorourasil salımının hem pektin hem Pek-aşı-PDMAEMA kaplı nanopartiküllerinde Fick yasasına uyduğu görülmektedir. Bunun salımın azalmasıyla ilacın nanopartiküllerinden difüzyonunun azalmasına bağlı olduğu düşünülmüştür. Nanokürelerden ilaç salımı aynı zamanda difüzyon katsayısı (D) değerlerinin hesaplanması ile karakterize edildi. D değerlerinin salım değerleri ile uyumlu çıktığı görülmüştür. D değerlerinin pektin nanopartikülü için $1,14 \times 10^{-19} \text{ m}^2/\text{s}$, Pek-aşı-PDMAEMA kaplı manyetik nanopartiküllerin $6,0 \times 10^{-18} \text{ m}^2/\text{s}$ ile $34,3 \times 10^{-19}$ aralığında değişmektedir.

Çizelge 3.7. Farklı formülasyonlarla elde edilen Pek@Fe₃O₄ ve Pek-aşı-PDMAEMA@Fe₃O₄@5-FU salımının kinetik parametreleri ve difüzyon katsayısı değerleri

| Simge | Aşı yüzdesi | pH | Sıcaklık (°C) | Manyetik alan(100 kHz) | Dx10 ¹⁹ (m ² /s) | k | n | r | Difüzyon Mekanizması |
|-------|-------------|-----|---------------|------------------------|--|-------|------|------|----------------------|
| A2 | 18 | 1,2 | 37 | X | 2,31 | 0,04 | 0,2 | 0,87 | Ficke uygun |
| A3 | 30 | 1,2 | 37 | X | 2,41 | 0,09 | 0,15 | 0,67 | Ficke uygun |
| A4 | 37 | 1,2 | 37 | X | 3,49 | 0,034 | 0,25 | 0,99 | Ficke uygun |
| A0 | 0 | 5,5 | 37 | X | 1,14 | 0,13 | 0,18 | 0,98 | Ficke uygun |
| A1 | 12 | 5,5 | 37 | X | 0,78 | 0,14 | 0,15 | 0,99 | Ficke uygun |
| A2 | 18 | 5,5 | 37 | X | 0,58 | 0,04 | 0,26 | 0,97 | Ficke uygun |
| A3 | 30 | 5,5 | 37 | X | 2,38 | 0,04 | 0,19 | 0,97 | Ficke uygun |
| A4 | 37 | 5,5 | 37 | X | 21,7 | 0,02 | 0,24 | 0,99 | Ficke uygun |
| A0 | 0 | 7,4 | 37 | X | 0,40 | 0,52 | 0,03 | 0,95 | Ficke uygun |
| A1 | 12 | 7,4 | 37 | X | 1,07 | 0,35 | 0,08 | 0,93 | Ficke uygun |
| A2 | 18 | 7,4 | 37 | X | 2,79 | 0,28 | 0,08 | 0,99 | Ficke uygun |
| A3 | 30 | 7,4 | 37 | X | 3,33 | 0,12 | 0,19 | 0,90 | Ficke uygun |
| A4 | 37 | 7,4 | 37 | X | 1,35 | 0,14 | 0,15 | 0,96 | Ficke uygun |
| A1 | 12 | 7,4 | 37 | X | 1,55 | 0,35 | 0,08 | 0,93 | Ficke uygun |

| | | | | | | | | | |
|----|----|-----|----|---|------|-------|------|------|-------------|
| A2 | 18 | 1,2 | 37 | X | 2,36 | 0,04 | 0,2 | 0,87 | Ficke uygun |
| A2 | 18 | 5,5 | 37 | X | 0,75 | 0,006 | 0,32 | 0,88 | Ficke uygun |
| A3 | 30 | 1,2 | 37 | X | 2,92 | 0,09 | 0,15 | 0,67 | Ficke uygun |
| A3 | 30 | 5,5 | 37 | X | 2,38 | 0,84 | 0,02 | 0,83 | Ficke uygun |
| A4 | 37 | 1,2 | 37 | X | 7,87 | 0,03 | 0,25 | 0,99 | Ficke uygun |
| A4 | 37 | 5,5 | 37 | X | 0,21 | 0,006 | 0,25 | 0,81 | Ficke uygun |
| A2 | 18 | 5,5 | 37 | X | 0,58 | 0,04 | 0,26 | 0,97 | Ficke uygun |
| A2 | 18 | 5,5 | 44 | X | 0,58 | 0,002 | 0,4 | 0,93 | Ficke uygun |
| A2 | 18 | 7,4 | 37 | X | 2,79 | 0,28 | 0,08 | 0,99 | Ficke uygun |
| A2 | 18 | 7,4 | 44 | X | 0,57 | 0,10 | 0,18 | 0,99 | Ficke uygun |

| | | | | | | | | | |
|----|----|-----|----|---|------|--------|------|------|-------------|
| A4 | 37 | 5,5 | 37 | X | 0,16 | 0,02 | 0,24 | 0,99 | Ficke uygun |
| A4 | 37 | 5,5 | 44 | X | 0,56 | 0,006 | 0,3 | 0,96 | Ficke uygun |
| A4 | 37 | 7,4 | 37 | X | 1,75 | 0,14 | 0,15 | 0,96 | Ficke uygun |
| A4 | 37 | 7,4 | 44 | X | 2,93 | 0,07 | 0,22 | 0,96 | Ficke uygun |
| A2 | 18 | 5,5 | 37 | X | 0,75 | 0,04 | 0,26 | 0,97 | Ficke uygun |
| A2 | 18 | 5,5 | 37 | ✓ | 34,3 | 0,0002 | 0,79 | 0,84 | Anamolous |
| A2 | 18 | 7,4 | 37 | X | 2,79 | 0,28 | 0,08 | 0,99 | Ficke uygun |
| A2 | 18 | 7,4 | 37 | ✓ | 4,25 | 0,07 | 0,21 | 0,98 | Ficke uygun |
| A4 | 37 | 5,5 | 37 | X | 0,18 | 0,02 | 0,24 | 0,99 | Ficke uygun |
| A4 | 37 | 5,5 | 37 | ✓ | 0,47 | 0,001 | 0,78 | 0,98 | Anamolous |
| A4 | 37 | 7,4 | 37 | X | 1,51 | 0,14 | 0,15 | 0,96 | Ficke uygun |

4. SONUÇLAR

1. Tez çalışmasında Pektine N,N-dimetilaminoetil metakrilat monomeri aşılansmış ve elde edilen aşu kopolimerin yapısı FTIR, DSC, TGA, GPC ve NMR yöntemleri ile aydınlatılmıştır.
2. Mikrodalga sisteminde elde edilen aşu kopolimerin çalışma koşulları t=2 saat ,750 watt mikrodalga gücü, T=70 °C, [DMAEMA]= 0,356 M, Pektin= 1,5 g/dL olarak bulunmuştur.
3. En yüksek aşu yüzdesi ve aşılama verimi sırasıyla %79 ve %90 olarak bulunmuştur.
4. Pektine DMAEMA monomerinin aşılansmasıyla T_g değeri azalmıştır.
5. Pektine DMAEMA aşılansması ile pektine sıcaklığa duyarlılık kazandırılmıştır. Geçirgenlik ölçümlerinden pektinin LCST değerinin olmadığı, kopolimerlerin LCST değerinin 41 °C olduğu bulunmuştur.
6. Pek-aşu-PDMAEMA aşu kopolimerleri ile 5-FU yüklü manyetik nanopartiküller elde edilmiş ve yapıları FTIR, DSC, TGA, SEM, XRD ve VSM ile aydınlatılmıştır.
7. Nanopartikül içerisindeki 5-FU varlığı FTIR ve XRD ile doğrulanmıştır.
8. Nanopartiküllerden ilaç salımının sıcaklık arttıkça azaldığı, nanopartiküllerin manyetik alan ve pH duyarlı olduğu bulunmuştur.
9. PDMAEMA' nın aşu yüzdesinin artması ile 5-FU salım değerlerinin azaldığı bulunmuştur.
10. Çalışmanın kinetik sonuçları incelendiğinde; genellikle Fick yasasına uygun olduğu görülmüştür.

KAYNAKLAR

- [1] M. Haktanıyan, Stimuli-Responsive Release of Doxorubicin from Layer-by-layer films of Poly (2-isopropyl-2-oxazoline) and Tannic acid. Yüksek Lisans Tezi. Ortadoğu Teknik Üniversitesi, Ankara, 2016.
- [2] C. Yüzbaşıoğlu, Sıcaklığa Duyarlı Polimerlerin Adsorbsiyon İşlemlerinde Kullanımının İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 2019.
- [3] R. Demiryürek, Surface Modification of Stimuli Responsive Polymers by Wrinkling Method: Surface Morphology and Bacterial Adsorption Studies. Yüksek Lisans Tezi. Sabancı Üniversitesi, İstanbul, 2014.
- [4] Martínez, A.R.H., and Bucio, E., Novel pH and Temperature Sensitive Behavior of Binary Graft DMAEMA/PEGMEMA onto LDPE Membranes. Designed Monomers and Polymers. 12(6): 543-552, 2012.
- [5] Shieh, Y.T., Lin, Y.T., and Cheng, C.C., CO₂-switchable behavior of chitosan-g-poly [(2-dimethylamino)ethyl methacrylate] as an emulsifier. Carbohydr Polym. 170, 281-288, 2017.
- [6] Liu, L., Won, Y.J., Cooke, P.H., Coffin, D.R., Fishmann, M.L., Hicks, K.B., Ma, P., Pectin/poly(lactide-co-glycolide) composite matrices for biomedical applications .Biomaterials. 25 (16): 3201-10, 2004.
- [7] Ji, F., Li, J., Oin, Z., Yang, B., Zhang, E., Dond, D., Wang, J., Wen, Y., Tian, L., Yao, F., Engineering pectin-based hollow nanocapsules for delivery of anticancer drug. Carbohydrate polymers. 177, 86-96, 2017.

- [8] T. Keskin, Preparation Of Polyethylene Glycol Coated Magnetic Nanoparticles For Targeting of Cancer Cells. Yüksek Lisans Tezi. Ortadoğu Teknik Üniversitesi, Ankara, 2012.
- [9] Mohiyuddin, S., Naqvi, S., and Packirisamy, G., Enhanced antineoplastic /therapeutic efficacy using 5-fluorouracil -loaded calcium phosphate nanoparticles. Beilstein J Nanotechnol. 9, 2499-2515, 2018.
- [10] A. Küçük, Yeni Bir Başlatıcı Sistemi ile Biyouyumlu Poli Kaprolakton Polimerleri, Biyouyumlu Poli Kaprolakton Poli Metilmetakrilat Blok Kopolimerlerin Sentezi, Karakterizasyonu, Polimerlerin Nanofiberlerinin Sentezi, Karakterizasyonu, Polimerlerin Nanofiberlerinin Hazırlanması ve İlaç salınım özelliklerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon, 2019.
- [11] E. Uzluk, Bazı Polimerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Özelliklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi, Ankara, 2008.
- [12] G. Aktaş, Investigation of Smart Polymers and Their Applications as Biomaterials. Yüksek Lisans Tezi. Bahçeşehir Üniversitesi, İstanbul, 2014.
- [13] E. Armağan, Fabrication of stimuli responsive and conducting polymeric nanotubes by chemical vapor deposition: loading/release and sensor studies. Yüksek Lisans Tezi. Sabancı Üniversitesi, İstanbul, 2016.
- [14] P. Öncel, İlaç Salımı İçin Moleküler Baskılanmış Kriyojel Membranlar. Yüksek Lisans Tezi. Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 2013.
- [15] K. Çetin, Moleküler Baskılanmış Kriyojel Disklerden Florourasil Salınımı. Yüksek Lisans Tezi. Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 2013.
- [16] P.Yazıcılar, Akıllı Jellerin Kontrollü Salım Sistemlerine Uygulanması. Yüksek Lisans Tezi. Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul, 2016.
- [17] S. Yunak, Protein Bazlı İlaçların Kontrollü Salınımları İçin Biyopolimer - Hidrojel Sistemlerinin Geliştirilmesi. Yüksek Lisans Tezi. Celal Bayar Üniversitesi, Manisa, 2015.

- [18] E. Uysal, Sıcaklığa Duyarlı Polimerlerin Sentezi, Karakterizasyonu ve İlaç Salımında Kullanımının İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 2017.
- [19] Fix, J.A., Oral Controlled Release Technology for Peptides: Status and Future Prospects. *Pharmaceutical Research*. 13, 1760-1764, 1996.
- [20] Ö. Çevik, Visible-Light-Induced Synthesis of Novel pH Responsive Hybrid Hydrogels for Controlled Drug Delivery. Yüksek Lisans Tezi. Koç Üniversitesi, İstanbul, 2014.
- [21] E. Uzluç, Bazı Polimerlerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Özelliklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi, Ankara, 2008.
- [22] K. Çetin, Moleküler baskılanmış Kriyojel disklerden Florourasil salınımı. Yüksek Lisans Tezi. Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 2013.
- [23] A.B., Nazlı, Kanser Tedavisinde Kullanılan Resveratrolün İlaç Taşıyıcı Sistem Olarak Kitosan-Aljinat Kompozit Biyojellere yüklenmesi ve Salımının İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 2018.
- [24] Ş. Tokmak, Pektin-aşı-poli(N,N-dietilakrilamid) Kopolimerlerinin Sentezi ve Mikrokürelerden 5- Fluorourasilin Sıcaklık Kontrollü Salımı. Yüksek Lisans Tezi. Kırıkkale Üniversitesi, Kırıkkale, 2017.
- [25] S. Genç, Drug Encapsulated Polymeric Nanoparticles for Targeting Cancer Cells. Yüksek Lisans Tezi. Bogaziçi Üniversitesi, İstanbul, 2015.
- [26] Villanova, J.C., Ayres, E., and Orefice, R.L., Design, characterization and preliminary in vitro evaluation of a mucoadhesive polymer based on modified peçtin and acrylic monomers with potential use as a pharmaceutical excipient. *Carbohydr Polym.* 121, 372-381, 2015.
- [27] Anirudhan, T.S., Christa, J., and Binusreejayan, pH and magnetic field sensitive folic acid conjugated protein-polyelectrolyte complex for the controlled

and targeted delivery of 5-fluorouracil. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 57, 199-207, 2018.

[28] Xu, F.J., Kang, E.T., and Neoh, K.G., pH- and temperature-responsive hydrogels from crosslinked triblock copolymers prepared via consecutive atom transfer radical polymerizations. *Biomaterials*. 27(14): 2787-2797, 2006.

[29] Chandran, S.P., Natarajan, S.P., Chandraseharan, S., Shahimi, M.S.B.M., Nano drug delivery strategy of 5-fluorouracil for the treatment of colorectal cancer. *Journal of Cancer Research and Practice*. 4(2): 45-48, 2017.

[30] Özbaş, Z., Gürdağ, G., Synthesis and Characterization of 5-Fluorouracil Loaded Glutaraldehyde Crosslinked Chitosan Hydrogels. *SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. 20(3): 460-467, 2016.

[31] Mohiyuddin, S., Naqvi, S., and Packirisamy, G., Enhanced antineoplastic/ therapeutic efficacy using 5-fluorouracil-loaded calcium, phosphate nanoparticles. *Beilstein J of nanotechnol*. 9(1): 2499-2515, 2018.

[32] Sutar, P.B., Mishra, R.K., Pal, K., Banthia A.K., Development of pH sensitive polyacrylamide grafted pectin hydrogel for controlled drug delivery system. *J Mater Sci Mater Med*. 19(6): 2247-2453, 2008.

[33] Abou El Fadl, F.İ., and Maziad, N., Radiation syntheses of Pectin/acrylamide (PEC/PAM) and Pectin/Diethylaminoethylmethacrylate (PEC/DEAMA) hydrogels as drug delivery systems. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 303(1): 623-630, 2014.

[34] Fares, M.M., Assaf, S.M., and Abul-Haija, Y.M., Pectin grafted poly(N-vinylpyrrolidone): Optimization and in vitro controllable theophylline drug release. *Journal of Applied Polymer Science*. 117(4): 1945-1954, 2010.

[35] Babaladimath, G., and Badalamoole, V., Magnetic nanoparticles embedded in pectin-based hydrogel for the sustained release of diclofenac sodium. *Polymer International*. 67(8): 983-992, 2018.

- [36] Bostanudin, M.F., Arafat, M., Sarfraz, M., Gorecki, D.C., Barbu, E., Butylglyceryl Pectin Nanoparticles: Synthesis, Formulation and Characterization. *Polymers (Basel)*. 11(5): 1-12, 2019.
- [37] Isiklan, N., and Tokmak, S., Microwave based synthesis and spectral characterization of thermo-sensitive poly(N,N-diethylacrylamide) grafted peçtin copolymer. *Int J Biol Macromol*. 113, 669-680, 2018.
- [38] Tayel, A., Nasr P., and Sewilam, H., Forward osmosis desalination using pectin-coated magnetic nanoparticles as a draw solution. *Clean Technologies and Environmental Policy*. 21(8): 1617-1628, 2019.
- [39] A. Cihnioglu, Glukoz Kaplı Manyetik Nanopartiküllerin Sentezlenerek İlaç Yüklenmesi ve İn vivo Çalışmaları. Yüksek Lisans Tezi. Ege Üniversitesi, İzmir, 2015.
- [40] Dutta, R.K., and Sahu, S., Development of diclofenac sodium loaded magnetic nanocarriers of pectin interacted with chitosan for targeted and sustained drug delivery. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 97, 19-26, 2012.
- [41] Arora, V., Sood, A., Shah, J., Kotnala, R.K., Jain, T.K., Synthesis and characterization of pectin-6-aminohexanoic acid-magnetite nanoparticles for drug delivery. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 80, 243-251, 2017.
- [42] Assaf, S.M., Abul-Haija, Y.M., and Fares, M.M., Versatile Pectin Grafted Poly (N-isopropylacrylamide); Modulated Targeted Drug Release. *Journal of Macromolecular Science, Part A*. 48(6): 493-502, 2011.
- [43] Mellati, A., Kiamahalleh, V., Dai, S., Bi, J., Jin, B., Zhang, H., Influence of polymer molecular weight on the in vitro cytotoxicity of poly(isopropylacrylamide). *Materials Science and Engineering*. 59, 509-513, 2016.
- [44] Wahajuddin, M., Arora, S., Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: magnetic nanoplatforms as drug carriers. *International journal of nanomedicine*. 7, 3445, 2012.

- [45] P da Silva, E., Sitta, D.L.A., Fragal, V.H., Cellet, T.S.P., Mauricio, M., Garcia, F.P., Nakamura, CV., Guilhemre, M., Rubira, A., Kunita, M., Covalent TiO(2)/pectin microspheres with Fe(3)O(4) nanoparticles for magnetic field-modulated drug delivery. *Int J Biol Macromol.* 67, 43-52, 2014.
- [46] Devendiran, R.M., Chinnaiyan, S.K., Yadau, N.K., Moorthy, G.K., Ramanathan, G., Singaravelu, S., Sivagnanam, U., Perumal, P.T., Green synthesis of folic acid-conjugated gold nanoparticles with pectin as reducing/stabilizing agent for cancer theranostics. *RSC advance.* 6(35): 29757-29768, 2016.
- [47] Isiklan, N., and Erol, U.H., Design and evaluation of temperature-responsive chitosan/hydroxypropyl cellulose blend nanospheres for sustainable flurbiprofen release. *Int J Biol Macromol.* 159, 751-762, 2020.
- [48] P. Yılmaz, Isıl Tepki Verebilen Yan Gruplu Kopolimerlerin Sentezi, Fizikokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. İnönü Üniversitesi, Malatya, 2017.
- [49] Wang, L., Xu, Y., Effect of dimethylaminoethyl methacrylate on the graft copolymerization of ethyl acrylate onto hydroxypropyl methylcellulose in aqueous medium. *Springer.* 722, 713–724, 2006.
- [50] Işıklan, N., Altınışik, Z., Temperature-responsive alginate-g-poly(N,N-diethylacrylamide) copolymer: Synthesis, characterization, and swelling behavior. *Journal of Applied Polymer Science.* 46688, 2018.
- [51] Işıklan, N., Kazan, H., Thermoresponsive and biocompatible poly(vinyl alcohol)- graft poly(N,N-diethylacrylamide) copolymer: Microwave-assisted synthesis, characterization, and swelling behavior. *Journal of Applied Polymer Science.* 45969, 2017.
- [52] Işıklan, N., Geyik, G., Synthesis, characterization and swelling performance of a temperature/ pH-sensitive κ -carrageenan graft copolymer. *International Journal of Biological Macromolecules.* 359-370, 2020.
- [53] Gonçalves da, S.A.M.P.S., Lopes Sonia I.C., Brogueira, P., Prazeres, T.J.V., Beija, M., Martinho, J.M.G., Thermo-responsiveness of poly(N,N-

diethylacrylamide) polymers at the air-water interface: The effect of a hydrophobic block. *J. of Coll. And Inter. Sci.* 327, 129-137, 2008.

[54] Işıklan, N., Kurşun, F., Synthesis, characterization, and swelling behavior of poly (N-hydroxymethylacrylamide) grafted poly(vinyl alcohol). *Journal of Applied Polymer Science.* 49014, 2020.

[55] Huusuien, N., Işıklan, N., Türk, M., Aptmer-functionalized magnetic grapheneoxide nanocarrier for targeted drug delivery of paclitaxel. *Materials Chemistry and Physics.* 479-488, 2018.

[56] Hernández, A.R., Bucio, E., Novel pH- and Temperature-Sensitive Behavior of Binary Graft DMAEMA/PEGMEMA onto LDPE Membranes. *Designed Monomers and Polymers.* 543-552, 2012.

[57] Işıklan, N., Tokmak, Ş., Development of thermo/pH-responsive chitosan coated pectin-graft-poly(N,N-diethylacrylamide) microcarriers. *Carbohydr Polymers.* 112-125, 2019.

[58] Jian, Xu., Kang, E.T., Neoh, K.G., pH and temperature responsive hydrogels from crosslinked triblock copolymers prepared via consecutive atom transfer radical polymerization. 2787-2797, 2006.