



**T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KANSER TEDAVİSİNDE GRAFEN TABANLI İLAÇ TAŞIYICI
SİSTEMİNİN GELİŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**SEFA DUMAN
(201592181135)**

**Enerji Bilimi ve Teknolojisi Mühendisliği Ana Bilim Dalı
Tez Danışmanı: Doç.Dr. Kerim YAPICI**

**SİVAS
2017**

SEFA DUMAN'nın hazırladığı ve “ **Kanser Tedavisinde Grafen Tabanlı İlaç Taşıyıcı Sisteminin Geliştirilmesi** ” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **ENERJİ SİSTEMLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALINDA**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Kerim YAPICI

Süleyman Demirel Üniversitesi

Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Atalay SÖKMEN

Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi

Yrd.Doç. Dr. Ümit Nazlı TEMEL

Cumhuriyet Üniversitesi

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. İdris ZORLUTUNA
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 20.08.2014 tarihli ve 7 sayılı kararı ile kabul edilen Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırlanmıştır.



Bu tez, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)115S037 Nolu ve Oral Kavite Kanserinin Tedavisinde Sisplatin Yüklenmiş Grafen Tabanlı Nanomalzemelerle Kombine Edilen Pulsed Lazer Hiperterminin Etkisinin Değerlendirmesi başlıklı proje kapsamında desteklenmiştir.



Bütün hakları saklıdır.

Kaynak göstermek koşuluyla alıntı ve gönderme yapılabilir.

© Sefa DUMAN, 2017



Sevgili Aileme...

ETİK

Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- ✓ Bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- ✓ Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- ✓ Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere, bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- ✓ Bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- ✓ Tezin herhangi bir bölümünü, Cumhuriyet Üniversitesi veya bir başka üniversitede, bir başka tez çalışması olarak sunmadığımı; beyan ederim.

Tarih

İmza

Sefa DUMAN

ÖZET

KANSER TEDAVİSİNDE GRAFEN TABANLI İLAÇ TAŞIYICI SİSTEMİNİN GELİŞTİRİLMESİ

Sefa DUMAN

Yüksek Lisans Tezi

Enerji Bilimi ve Teknolojisi Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Kerim YAPICI

2017, 55+XVIII sayfa

Kanser, vücudun herhangi bir organı veya dokusunda meydana gelen hücrelerin kontrolsüz büyümesi, invaze edebilme yeteneği ve metastaz yapabilme özellikleri kazanması ile karakterize hastalıklar kompleksidir. Dünya sağlık örgütünün 2014 yılında yayınlamış olduğu raporda dünyada 2012 yılında 14.1 milyon kişinin kanser tanısı aldığı ve 8.2 milyon kişinin de kansere bağlı nedenlerden öldüğü belirtilmiştir. Bunlara ilaveten dünya genelinde kanserin 2010 yılındaki ekonomik maliyetinin 1.16 trilyon dolar olduğu vurgulanmıştır. Günümüzde, kanser tedavisinde uygulanan temel tedavi yöntemleri cerrahi, kemoterapi ve radyoterapidir. Bunların yanısıra, özellikle son yıllarda popülerize olan ve bu alanda ümit verici sonuçlar sunan ve literatürde termalterapi olarak adlandırılan ışı-ısı, fotodinamik ve immünoterapi metodları da kullanılmaktadır. Kemoterapi çok çeşitli kanserlerin tedavisinde kullanılan başlıca yöntemlerden biri olmasına karşın kanserli hücreleri öldürecek konsantrasyonlarda tümörlü dokuya ulaşamaması ve çevre canlı hücrelere ciddi şekilde zarar vermesi bilinen en büyük dezavantajlarından. Arzu edilen sağlıklı hücrelere zarar vermeden düşük konsantrasyonlardaki kemoterapötik ajanı kanserli dokuya yüksek oranda taşıyabilen ve diğer termal, fotodinamik tedavi yöntemleri ile birlikte kullanılabilen sistemlerin geliştirilmesidir. Özellikle nanoteknoloji alanındaki gelişmelere paralel olarak son yıllarda yapılan çalışmalar ile kanser tanı ve tedavisinde etkin yöntemlerin geliştirilmesi hız kazanmıştır. Bu kapsamda tez çalışması, tümörlü bölgeye kemoterapötik ajanı ve ısıyı taşıyabilen polietilen glikol ile fonksiyonlaştırılmış grafen tabanlı nanoilaç sisteminin geliştirilmesini diğer bir ifade ile tümörün yok edilmesinde kemo- ve termalterapi yöntemlerini kombine ederek kullanan metodunun oluşturulmasını amaçlamaktadır. Grafen tabanlı grafen oksit, indirgenmiş grafen oksit ve karbon nanotüp nanoşerit

nanomalzemeler yakın kızıl ötesi ışınım dalga boyu (NIR) aralığında (808 nm) yüksek absorpsiyon değerine sahiptirler. Diğer bir ifade ile grafen tabanlı nanomalzemelere uygulanacak çok düşük güç yoğunluklarındaki uyarılmada bile soğurdukları ışığı ısıya çevirme kapasiteleri yüksek olduğundan kanser tedavisinde kullanılabilme potansiyelleri çok yüksektir.

Tez çalışması kapsamında, grafen oksit (GO), indirgenmiş grafen oksit (rGO), karbon nanotüp nanoşerit (U-MWCNT) ve asit ile muamele edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp (A-MWCNT) iyileştirilmiş Hummers metodu kullanılarak sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Tüm nanopartiküller arasında, indirgenmiş GO (rGO-COOH) 15 mV zeta potansiyel değeri ile en düşük, karbon nanotüp nanoşerit (U-MWCNTs-COOH/DI su) ise 40 mV mutlak zeta potansiyel değeri ile en yüksek zeta potansiyel değerini vermiştir. Bunun yanı sıra, GO, U-MWCNT ve A-MWCNT ile PEG-NH₂ ve sitotoksik bir ajan olan sisplatin (CDDP) ve epidermal büyüme faktör reseptörüne (EBFR) yönelik monoklonal antikör olan setuksimab (C225) bağlanarak farklı kemoterapötik ajanların karbon tabanlı nanoparçacık yüzeylerine bağlanabileceği gösterilmiştir. Sabit adsorbant konsantrasyonunda sisplatinin karbon tabanlı nanoparçacık (GO veya A-MWCNTs) yüzeylerine adsorplanma kapasitesi 3-9 pH aralığında incelenmiş ve GO nanoparçacıkların yüksek adsorpsiyon kapasitesine sahip olduğu ve pH=3 değerinde 1 g GO nanoparçacıkların yaklaşık 836 mg sisplatin adsorplayabildiğini açıkça ortaya koymuştur. Benzer sonuçlar A-MWCNTs nanoparçacıklar ile de elde edilmiştir. Bunun yansısı, karbon tabanlı nano-ilaç taşıyıcı kompleksleri PEG ile fonksiyonlaştırılmamış formu serum ve hücre sıvısı içerisinde kararlılıklarını kaybederken PEG ile fonksiyonlaştırılmış formlarının bu sıvılar için kararlılıklarını kordukları gözlenmiştir. Proje kapsamında, pulsed NIR lazer (808 nm dalga boyu) ile farklı sürelerle uyarılan karbon tabanlı nano-ilaç taşıyıcı komplekslerin su taban akışkanına göre daha yüksek sıcaklık artışı verdiği tespit edilmiştir. Bu çerçevede, en yüksek ısı artışının U-MWCNT ve A-MWCNT ile olduğu anlaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Nanoteknoloji, grafen, kanser, nano-ilaç taşıyıcı kompleks, fototermal.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF GRAPH-BASED DRUG CARRIER SYSTEM IN CANCER TREATMENT

Sefa DUMAN

Master of Science Thesis, Department of Energy Science and Technology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Kerim YAPICI

2017, 55+XVIII pages

Cancer is a combination of various diseases that includes uncontrolled abnormal cells which can grow in any part of the body and have an ability to metastasize other organs. According to 2014 report of World Health Organization , there were 14.1 million new cases of cancer and 8.2 million of them lead to deaths from the cancers worldwide in 2012. In addition to this, the total economic burden of cancer was about \$1.16 million in 2010. The current major techniques for the treatment of cancer are surgery, chemotherapy and radiotherapy. Besides, recent studies demonstrated that hyperthermia called as thermotherapy, photodynamic and immunotherapy are become popular and can be used for the treatment of wide variety of cancers. Chemotherapy is used as a major therapeutic approach for the treatment of various cancers, even though it has several drawbacks such as undesired side effects to normal cells and insufficient dosages to kill cancer cells at the tumor microenvironment. It is desired to develop a new technique that may deliver sufficient amount of chemotherapeutic agents to the specific locations and able to combined with other treatments like thermotherapy, photodynamic. In recent studies, the advances in nanotechnology demonstrate promising results to develop an effective method to detect and cure the cancers. In this respect, the purpose of this thesis is to develop a graphene based nanomedicine that delivers both chemotherapeutic agents and heat to the tumor microenvironment to kill cancer cells with the combination of chemotherapy and thermotherapy. Graphene based nanomaterials such as graphene oxide, reduced graphene oxide and ribbon have high optical absorption at the near infrared NIR (808 nm). In other words, these materials possess high light to heat conversion properties even irradiated at very low power density. Hence, they can be effectively utilized to cure the cancers. In this thesis, graphene oxide (GO), reduced graphene oxide (rGO), ribbon

(U-MWCNT) and acid-treated multiwall carbon nanotubes (A-MWCNT) were synthesized and characterized using the improved Hummers method. Among all nanoparticles, reduced GO (rGO-COOH) gave the lowest zeta potential value with an absolute zeta potential value of 15 mV, while ribbon (U-MWCNTs-COOH / DI water) gave the highest zeta potential value with a zeta potential value of 40 mV. In addition, GO, U-MWCNT and A-MWCNT with PEG-NH₂ bind to cisplatin (CDDP), a cytotoxic agent and cetuximab (C225), an epidermal growth factor receptor (EGFR) monoclonal antibody; thereby, demonstrated that these carbon-based nanoparticle surfaces were able to bind different chemotherapeutic agents. The adsorption capacity of cisplatin to the carbon-based nanoparticle (GO or A-MWCNTs) surfaces at a fixed adsorbent concentration was investigated at pH range 3-9 and clearly demonstrated that the GO nanoparticles had a high adsorption capacity and that 1 g of GO nanoparticles at pH = 3 adsorbed approximately 836 mg of cisplatin. Similar results have been obtained with A-MWCNTs nanoparticles. Moreover, it was observed that the carbon-based nano-drug carrier complexes that have not been functionalized with PEG lose their stability in serum and cell lysates, however PEG-functionalized carbon-based nano-drug carrier complexes retained their stability for these fluids. In this project, it was determined that carbon-based nano-drug carrier complexes had a higher increase in temperature than the water base fluid when triggered by pulsed with NIR laser (808 nm wavelength). In addition, it is demonstrated that the highest temperature increase occurred with U-MWCNT and A-MWCNT.

Keywords: Nanotechnology, graphene, cancer, nano-drug carrier system, photothermal.

KATKI BELİRTME VE TEŞEKKÜR

Bilgi ve deneyimlerinden sürekli yararlandığım, tezin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Kerim YAPICI'ya çok teşekkür ederim.

Deneysel çalışmalarında bana yardımcı olan sevgili hocam Yrd. Doç. Dr. Ümit Nazlı TEMEL' e, sevgili yüksek lisans arkadaşım Tarık Buğra ELÇİTEPE' ye ve bütün öğrenim hayatım boyunca her zaman yanımda olup maddi manevi desteklerini ve emeklerini esirgemeyen aileme teşekkür etmeyi bir borç bilirim.



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	VII
ABSTRACT	IX
KATKI BELİRTME VE TEŞEKKÜR	XI
İÇİNDEKİLER	XII
ŞEKİLLER DİZİNİ	XIII
ÇİZELGELER DİZİNİ	XVI
SİMGELER DİZİNİ	XVII
KISALTMALAR DİZİNİ	XVIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	10
2.1 Grafen oksit nanoparçacıkların iyileştirilmesi Hummers yöntemi ile sentezlenmesi ve karakterizasyonu	10
2.2 Karbon nanotüp nanoşerit (Ribon) nanoparçacıklarının iyileştirilmesi Hummers yöntemi ile sentezlenmesi ve karakterizasyonu.....	13
2.3 Asit ile muamele edilmiş çok duvarlı karbon nanotüplerin sentezlenmesi ve karakterizasyonu	14
2.4 Karbon tabanlı nanoparçacıkların PEG ile fonksiyonlaştırılması.....	15
2.5 Karbon tabanlı nanotaşıyıcı sistemin üretilmesi	17
3. BULGULAR	24
3.1 Karbon tabanlı nanotaşıyıcı komplekslerinin kararlılık analizleri	24
3.2 Aktif ve pasif hedeflendirilmiş karbon tabanlı nanotaşıyıcı sisteminin üretilmesi.	33
3.3 Karbon tabanlı nanotaşıyıcı sistemlerinin 808 nm dalga boyunda lazer ile uyarılması	41
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	49
KAYNAKLAR.....	52
ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1	İyileştirilmiş Hummers metodları ile sentezlenen Grafen Oksit nanoparçacıkların a) SEM ve b) TEM görüntüsü.....	12
Şekil 2.2	Grafen Oksidin Raman görüntüsü	12
Şekil 2.3	Grafit ve Grafen Oksidin IR spektrumları	13
Şekil 2.4	20–30 nm çapında ve L=10–30µm uzunluğunda a) İşlem görmemiş MWCNT’ s b) İyileştirilmiş Hummers metodu ile boylamasına açılan MWCNT’ s e ait SEM görüntüleri	14
Şekil 2.5	20-30nm çapında ve L=10-30µm uzunluğundaki çok duvarlı karbon nanotüplerin hacimce 1:3 HNO ₃ /H ₂ SO ₄ asit karışımı ile muamele edilmesi ile üretilen MWCNTs-COOH’lerin Sem görüntüleri.....	15
Şekil 2.6	Nanoakışkanların hazırlanmasında kullanılan makine teçhizat a), hassas elektronik terazi b), sonifikatör banyosu c), sabit sıcaklık su banyosu ve pH ölçer	18
Şekil 2.7	Yukarıdan aşağı sırası ile GO, GO-COOH ve GO-COOH/PEG nanoparçacıkların DI su taban akışkanına dağıtılması ile 10-200 µg/ml derişim aralığında üretilen nanoakışkan görüntüleri	20
Şekil 2.8	Yukarıdan aşağı sırası ile rGO-COOH, rGO-COOH/PEG nanoparçacıkların DI su taban akışkanına dağıtılması ile 10-200 µg/ml derişim aralığında üretilen nanoakışkan görüntüleri	21
Şekil 2.9	Yukarıdan aşağı sırası ile U-MWCNTs-COOH ve U-MWCNTs-COOH/PEG nanoparçacıkların DI su taban akışkanına dağıtılması ile 10-200 µg/ml derişim aralığında üretilen nanoakışkan görüntüleri.....	22
Şekil 2.10	Yukarıdan aşağı sırası ile A-MWCNTs-COOH ve A-MWCNTs-COOH/PEG nanoparçacıkların DI su taban akışkanına dağıtılması ile 10-200 µg/ml derişim aralığında üretilen nanoakışkan görüntüleri.....	23
Şekil 3.1	Nanotaşıyıcı komplekslerin kararlılık testlerinin incelenmesinde kullanılan Shimadzu marka spektrofotometre	26
Şekil 3.2	10-50 µg/ml derişim aralığında üretilen grafen oksit (GO) ve indirgenmiş grafen oksit (rGO) nanotaşıyıcı komplekslerinin DI su taban akışkanı içerisindeki absorbans değerlerinin dalga boyu değişimi.....	28
Şekil 3.3	10-50 µg/ml derişim aralığında üretilen karbon nanotüp nanoşerit (U-MWCNTs) ve asit ile muamele edilmiş çok duvarlı karbon naotüp (A-MWCNTs) nanotaşıyıcı komplekslerinin DI su taban akışkanı içerisindeki absorbans değerlerinin dalga boyu değişimi	29
Şekil 3.4	10-50 µg/ml derişim aralığında üretilen grafen oksit (GO) ve indirgenmiş grafen oksit (rGO), karbon nanotüp nanoşerit (U-MWCNTs) ve asit ile muamele edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp (A-MWCNTs) nanotaşıyıcı komplekslerinin DI su taban akışkanı içerisindeki absorbans değerlerinin dalga boyu değişimi.....	30
Şekil 3.5	Nanoakışkanların kararlılık testlerinin analizinde kullanılan Malvern Zetosizer Nano Z Cihazı.....	31
Şekil 3.6	50 µg/ml derişimde hazırlanan karbon tabanlı/DI su nanotaşıyıcı komplekslerinin zeta potansiyel değerlerinin kararlaştırılması	32

Şekil 3.7	Karbon nanotüp nanoşerit (U-MWCNTs)/DI su nanotaşıyıcı komplekslerinin zeta potansiyel değerinin derişim ile değişimi 32
Şekil 3.8	Sisplatin (CDDP) sulu çözeltisine ait kalibrasyon eğrisi 5-50 µg/ml derişim aralığında hazırlanan sisplatin (CDDP) sulu çözeltilerinin 204 nm dalga boyunda ölçülen maksimum absorbans değerleri..... 34
Şekil 3.9	Farklı pH değerlerinde hazırlanan grafen oksit taşıyıcı sistemlerine Sisplatin bağlanıp 10000 rpm dönüş hızında santrifüj uygulandıktan sonra üst fazdan alınan örneklerin dalga boyunda absorbanlarının değişimi 36
Şekil 3.10	Grafen oksit nanoparçacık yüzeylerine adsorplanan %Sisplatin pH ile değişimi 36
Şekil 3.11	Grafen oksit nanoparçacık yüzeylerine adsorplanan Sisplatin adsorpsiyon kapasitesinin pH ile değişimi..... 37
Şekil 3.12	A-MWCNTs yüzeylerine adsorplanan % Sisplatin pH ile değişimi 37
Şekil 3.13	PEG ile fonksiyonlaştırılmış (soldan dört vial) ve fonksiyonlaştırılmamış GO ve A-MWCNTS nanoparçacıkların serum ve hücre sıvısı içerisine dağıtılması ile üretilen taşıyıcı sistemler 39
Şekil 3.14	PEG ile fonksiyonlaştırılmış ve fonksiyonlaştırılmamış GO ve A-MWCNTS nanoparçacıkların serum ve hücre sıvısı içerisine dağıtılması ile üretilen taşıyıcı sistemlerin hazırlandıktan bir gün sonraki görüntüleri 39
Şekil 3.15	PEG ile fonksiyonlaştırılmış ve fonksiyonlaştırılmamış GO ve A-MWCNTS nanoparçacıkların serum ve hücre sıvısı içerisine dağıtılması ile üretilen taşıyıcı sistemlerin hazırlandıktan iki gün sonraki görüntüleri 40
Şekil 3.16	PEG ile fonksiyonlaştırılmış (soldan dört vial) ve fonksiyonlaştırılmamış GO ve A-MWCNTS nanoparçacıkların serum ve hücre sıvısı içerisine dağıtılması ile üretilen taşıyıcı sistemlerinin a)santrifüj edilmeden ve b)1000 rpm dönüş hızında 5 dakikada süre ile santrifüj edildikten sonraki durum..... 40
Şekil 3.17	Karbon tabanlı nanotaşıyıcı sistemlerinin lazer ile uyarılmasında kullanılan deney düzeneği 42
Şekil 3.18	10-200 µg/ml derişim aralığında grafen oksit (GO-COOH)/DI su nanotaşıyıcı sistemlerinin 808nm dalga boyunda 1, 1.5 ve 2W lazer güçlerinde uyarılması sonucu elde edilen sıcaklık zaman değişimi 44
Şekil 3.19	10-200 µg/ml derişim aralığında karbon nanotüp nanoşerit (U-MWCNTs)/DI su nanotaşıyıcı sistemlerinin 808nm dalga boyunda 1, 1.5 ve 2W lazer güçlerinde uyarılması sonucu elde edilen sıcaklık zaman değişimi 45
Şekil 3.20	10-200 µg/ml derişim aralığında PEG/NH ₂ ile fonksiyonlaştırılmış karbon nanotüp nanoşerit (U-MWCNTs/PEG)/DI su nanotaşıyıcı sistemlerinin 808nm dalga boyunda 1, 1.5 ve 2W lazer güçlerinde uyarılması sonucu elde edilen sıcaklık zaman değişimi 46
Şekil 3.21	10-200 µg/ml derişim aralığında asit ile muamele edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp (A-MWCNTs)/DI su nanotaşıyıcı sistemlerinin 808nm dalga boyunda 1, 1.5 ve 2W lazer güçlerinde uyarılması sonucu elde edilen sıcaklık zaman değişimi..... 47

Şekil 3.22	50 µg/ml derişiminde hazırlanan karbon tabanlı/DI su nanotaşıyıcı sistemlerinin 808nm dalga boyunda 1, 1.5 ve 2W lazer güçlerinde uyarılması sonucu elde edilen sıcaklık zaman değişimlerinin karşılaştırmalı analizi.....	48
-------------------	--	----



ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 1.1	Günümüze kadar farklı araştırma gruplarınca kanser tedavisinde grafen tabanlı GO, rGO ve GOR nanomalzemeler kullanılarak gerçekleştirilen çalışmaların sistematik derlemesi.....	7
Çizelge 1.2	Çizelge 1.1’de verilen çalışmalardan kanser hücrelerinin yok edilmesinde ışın ısı tedavisi (termal terapi) uygulayan çalışmaların karşılaştırılması	9
Çizelge 3.1	Farklı pH değerlerinde GO yüzeylerine bağlanmasıyla sisplatin derişimi	36
Çizelge 3.2	Farklı pH değerlerinde A-MWCNTs yüzeylerine bağlanmasıyla sisplatin derişimi	37



SİMGELER DİZİNİ

x	İstenilen kütlece % fraksiyon
M_{np}	Nanoparçacığın kütlesi
V_t	Taban akışkanının hacmi
ρ_t	Taban akışkanın yoğunluğu
ρ_p	Parçacık yoğunluğu
ρ_f	Akışkan yoğunluğu
g	Yerçekimi ivmesi
μ	Akışkan viskozitesi
R	Parçacık yarıçapı
C_o	Başlangıç Sisplatin derişimi (mg/ml)
C_e	Dengedeki Sisplatin derişimi (mg/ml)
m	Adsorbant miktarı (mg)
V	Çözelti hacmi (ml)

KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
A-MWCNT	Asit ile muamele edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp
CDDP	Cisplatin
CNT	Karbon nanotüp
CVD	Kimyasal buhar çöktürme metodu
DGO	İki kere oksitlenmiş grafen oksit
DOX	Doxorubicin
EBFR	Epidermal büyüme faktör reseptörü
EDC	3-Dimetilaminopropil-N-etil kabodimid hidroklorid
EPI	Epirubicin
GO	Grafen oksit
GOR	Grafen oksit ribon, karbon nanotüp nanoşerit
HA	Hyaluronic asit
NHS	n-hidroksi-sukkinamid
NIR	Yakın kızıl ötesi ışınım dalga boyu
PEG-NH₂	Metaksifenetilamin
PEG	Polietilen glikol
PLL	Poly-L-lysine
PL-PEG	Phospholipid polyethylene glycol
PPT	Podophylotoxin
rGO	İndirgenmiş grafen oksit
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
TEM	Geçirimli elektron mikroskobu
U-MWCNT	Karbon nanotüp nanoşerit
UV	Spektrofotometri

1. GİRİŞ

Kanser, vücudun herhangi bir organı veya dokusunda meydana gelen hücrelerin kontrolsüz büyümesi, invaze edebilme yeteneği ve metastaz yapabilme özellikleri kazanması ile karakterize hastalıklar kompleksidir. Dünya sağlık örgütü 2012 yılında dünyada 14.1 milyon kişinin kanser tanısı aldığını ve 8.2 milyon kişinin de kansere bağlı nedenlerden öldüğünü rapor etmiştir (Steward ve Wild, 2014). Bunun yanısıra, yapılan tahminlere göre 2035 yılı itibariyle dünyada 24 milyon kişinin yeni kanser tanısı alacağı tahmin edilmektedir; ki bu açılardan giderek büyüyen bir sağlık sorunu ve önemli bir ekonomik maliyet olarak önem kazanmaktadır. Her ne kadar, kanser alanında yapılan birçok bilimsel araştırma sayesinde kanser tanısı alan olguların 5-yıllık sağkalım oranlarında belirgin artışlar elde edilse de (A.B.D.'de kansere bağlı 5-yıllık sağkalım oranı 1975-1977 yılları arası %49 iken 2003-2009 yılları arası %68'e yükselmiştir.), maalesef bu oranlar hala hedeflenen düzeylerin altında seyretmektedir. Günümüzde, kanser tedavisinde uygulanan temel tedavi yöntemleri cerrahi, kemoterapi ve radyoterapidir. Bunların yanısıra, özellikle son yıllarda popülerize olan ve bu alanda ümit verici sonuçlar sunan literatürde termalterapi olarak adlandırılan ışıl-ısı, fotodinamik ve immünoterapi yöntemleri de kullanılmaktadır. Erken evre kanserlerde cerrahi yöntemler etkin sonuçlar verebilmesine rağmen ileri evrelerde tümör boyutunun küçültülmesi ve/veya yok edilmesi için kemoterapi ve/veya radyoterapinin de uygulanması veya bu tedavilerin çeşitli şekillerde kombine edilmesi gerekmektedir. Kanser tedavilerinde yaygın olarak kullanılan kemoterapötik ajanların kanseri kontrol ve tedavi edebilmedeki önemli etkilerine karşın belirli dokularda kanser hücrelerini öldürecek konsantrasyonlara ulaşamamaları, tümörlü dokuya istenilen düzeyde ulaşamamaları, kanser hücrelerinin direnç göstermeleri/kazanmaları ve bu ilaçların kanserli hücrelerin yanısıra vücuttaki sağlıklı hücrelerde de ciddi hasarlar oluşturmasına bağlı hastalarda birçok yan etkilerin ortaya çıkması, kemoterapi tedavisinin en büyük dezavantajlarıdır (Hervault ve Thanh, 2014). Bu nedenle, hedeflenen ve ideal bir kemoterapötik ajan, kanserli alana yüksek konsantrasyonda ulaşabilen, kanseri erken evrede tanıyarak yok edebilen ve bu arada vücuttaki sağlıklı hücreler üzerine minimum zarar veren ilaçlar elde etmektir, ki son yıllarda bu kemoterapötikleri kanserli dokuya taşıyabilen metodlar geliştirilmesi üzerine çalışmalar yapılmaktadır (Ji vd., 2010). Özellikle nanoteknoloji ile 100 nm ve daha küçük

boyutlarda, farklı tip ve şekillerde nanoparçacıkların sentezlenebilmesi ile kanser tanı ve tedavisinde yeni yöntemlerin geliştirilmesi hız kazanmış ve literatürde en güncel ve ilgi çekici çalışma konuları içerisinde hızla yerini almıştır.

Latince "*nanus*" kelimesinden türetilen nano kelimesi "*cüce*" anlamına gelmektedir. Literatürde ise, metrenin milyarda birine denk gelen nano teknik bir ölçü birimi olarak kullanılmaktadır. Nanoteknoloji terimi ilk olarak 1986 yılında Drexel tarafından literatüre kazandırılmış olup maddenin nanometre ölçeğinde, diğer bir ifade ile maddenin moleküler düzeyde denetlenmesi ile gerçekleştirilen sentezleme, ölçüm, modelleme ve düzenleme gibi çalışmalarla yeni malzeme, cihaz ve sistemlerin tasarlanması ve üretilmesini konu almaktadır. "Yüzyılın malzemesi" olarak adlandırılan grafen, karbon atomlarının tek düzlemde altıgen yapıda dizilmesiyle oluşan bir atom kalınlığında iki boyutlu karbon allotropudur. Karbon atomları 2s ve 2p orbitallerinin birleşimi ile 120° açılı sp² melezleşmesi yaparken boşta kalan pz orbitalleri ise grafenin elektronik özelliklerini belirleyerek ona sıra dışı yüzey alanı (2630 m²g⁻¹, gram başına yaklaşık yarım futbol sahasının kapladığı alan), yüksek mekanik sertlik (Young modülüs ~1.0 TPa), yüksek elektriksel ve termal iletkenlik (~5000 Wm⁻¹K⁻¹) ve ayrıca optik transparanlık (~ %97.7) özelliklerini kazandırır (Yanwu vd., 2010). Kendine özgü üstün özelliklerinden dolayı grafen uzaydan savunmaya, uçaktan, otomotive, tıptan ilaç endüstrilerine çok geniş uygulama alanlarına sahip olup günümüzde literatürde üzerinde çalışılan en sıcak araştırma konuları arasında yer almaktadır. Grafen sentezlenmesinde literatürde önerilmiş olan ve kullanılan üç yöntem bulunmaktadır. Bu yöntemler sırasıyla kimyasal buhar çöktürme metodu (CVD), grafit oksidin ekfoliasyonu ve elektrokimyasal sentezleme yöntemleridir. Belirtilen yöntemler arasında grafit oksidin ekfoliasyonu diğer yöntemlere kıyasla kolay ve düşük maliyet ile istenilen miktarlarda üretilmesi sebebi ile literatürde en çok kullanılan yöntemdir.

Özellikle son yıllarda yapılan çalışmalarda grafen tabanlı nanomalzemelerin biyoyumlu oldukları, çeşitli aromatik ilaçları yüksek verimlilik ile adsorplayabildikleri ve yakın kızıl ötesi ışınım dalga boyu (NIR) aralığında yüksek absorpsiyon değerine sahip olmalarının gösterilmesi ile birlikte grafen tabanlı nanomalzemelerin biyo- ve nanotıp uygulamalarında kullanımı hız kazanmıştır. Yang vd., (2013) yakın bir zaman önce yayınladıkları derleme çalışmasında grafen tabanlı nanomalzemelerin biyotıpta uygulama

alanlarını: i) grafen tabanlı biyosensörler; ii) grafen tabanlı biyogörüntüleme; iii) ilaç salımı ve iv) ışı-ısı (termal) tedavisi olarak özetlemiştir. Bu kapsamda Çizelge 1.1 günümüze kadar farklı araştırma gruplarınca çeşitli kanser hücre hatlarının yok edilmesinde grafen tabanlı nanomalzemeler (grafen oksit (GO); indirgenmiş grafen oksit (rGO); karbon nanotüp nanoşerit (GOR) kullanılan çalışmaları listelenmiştir. Çizelge 1.1'den görüleceği üzere bu alanda yapılan çalışmalar üç ana grup altında toplanmaktadır. Bunlar sırası ile gerek kemoterapötik ajanların gerekse ışık duyarlı moleküllerin grafen tabanlı nanomalzemelere kovalent ve/veya kovalent olmayan bağ yapısında bağlanarak kanserli hücrelere taşınmasında ve grafen tabanlı nanomalzemelerin NIR bölgesindeki yüksek absorpsiyon özelliğinden yararlanılarak termalterapi de kullanılmıştır. Çizelge 1.1'de verilmiş olan çalışmalar kendi aralarında ayrıntılı olarak tartışılmadan önce yüzeysel olarak irdelendiğinde şu yargılara varılmıştır: i) günümüze kadar 12'si 2014 yılında olmak üzere toplam 20 kanser tedavisi ile ilgili çalışmada grafen tabanlı nanomalzemeler kullanılmıştır; ii) verilen çalışmalar içerisinde 5'i hariç diğer tüm çalışmalar grafen tabanlı nanomalzemelerin biyolojik ortamdaki kararlılığını artırmak için grafen nanomalzemelere PEG-NH₂, 6 arm PEG veya Poly-L-lysine fonksiyonlu gruplar bağlamışlardır; iii) gerçekleştirilen 20 çalışmadan sadece 5'i antikanser ilacını tümörlü hücreye hedeflemek üzere grafen tabanlı nanomalzemelerin yüzeylerine farklı ligantlar konjüge etmiştir; iv) çalışmalarda farklı kanser hücre hatları kullanılmasına karşın en çok beyin tümörü olarak bilinen glioma hücre hattı incelenmiştir; v) Çizelge 1.1'de verilen çalışmalar içerisinde sadece 4'ü kanser hücrelerinin yok edilmesinde hem kemoterapötik ajan hem de termalterapiyi birlikte kullanmıştır; v) benzer şekilde verilen çalışmalar içerisinde 4'ü hem kemoterapötik ajan hem de fotodinamik yöntemi birlikte kullanmıştır; son olarak v) çalışmalarda anti kanser ilacı olarak en çok Doxorubicin (DOX) çalışılmıştır.

Vücudun lokal ve/veya tamamının sıcaklığını belli bir değerin üstüne çıkarılması olarak bilinen hipertermi klinik tıpta çok uzun zamandır bilinmesine ve uygulanmasına karşın özellikle kanser hücrelerinin sıcaklığa olan hassasiyetlerinin gözlemlenmesinden sonra günümüzde kanser hücrelerinin öldürülmesinde yaygın olarak uygulanmaktadır. Kanserli hücrelerin uygulanan termalterapi sonucu hangi mekanizma ve/veya mekanizmalar sonucu öldüğü tam olarak aydınlatılamamasına karşın yakın bir zaman önce Hervault ve Thanh (2014) tarafından gerçekleştirilen derleme çalışmasında, temel sitotoksik etkinin

membran ve protein denaturasyonu sonucu kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Bunların yanısıra, kanser hücrelerinin uygulanan termalterapiden normal hücrelere göre daha çok etkilenmesinin bir sebebinin de yüksek sıcaklıklarda ($>42^{\circ}\text{C}$) tümörlü doku kan akış hızının normal dokulara kıyasla azalması olabileceği vurgulanmıştır. Bilindiği üzere ısı aktarım hızı akışkan akış hızı ile doğru orantılı olarak değişir; diğer bir deyiş ile akışkanın kütleli akış hızı arttıkça ısı aktarım hızı artar. Bu sebepten dolayı tümörlü hücrelerde oluşan ısı yayılamadığından kısa süre içerisinde hücre mikroçevresinde sıcaklık artar ve sonucunda kanserli hücreler ölür. Kanser hücrelerinin hipertermi ile öldürülebilmeleri için, sıcaklığın tümörlü bölgede belirli bir süre 42°C 'in üzerinde tutulması gerekmektedir (Hervault ve Thanh, 2014). Grafen tabanlı nanomalzemeler NIR aralığında (808 nm) yüksek absorpsiyon değerine sahiptirler. Onların bu özellikleri ışığı ısıya çevirme kapasitelerinin yüksek olduğunu diğer bir ifade ile uygulanacak düşük güç yoğunluklarındaki ışının bile sıcaklığı arttırabileceğini göstermektedir. Grafen tabanlı nanomalzemelerin bu özellikleri onların kanser hücrelerinin öldürülmesinde etkin bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir. Literatürde grafen tabanlı nanomalzemelerin bu özelliğinden yararlanan çalışmalar Çizelge 1.2'de karşılaştırmalı olarak listelenmiştir; Çizelge 1.2'de verilen çalışmalar ayrıntılı olarak irdelendiğinde şu yargılara varılabilir: (i) tüm çalışmalar farklı güç yoğunlukları ve sürelerde fakat 808 nm dalga boyunda devamlı ışın üreten lazer güç kaynağı kullanmıştır. Termalterapinin bilinen en büyük dezavantajı ışının doku içerisindeki düşük penetrasyon derinliğidir. Yakın bir zaman önce Hudson vd. (2013) yapmış oldukları bir çalışma ile 808 nm ve 980 nm dalga boylarındaki ışınların 1,8-9,5 cm kalınlık aralığındaki sığır dokusundaki penetrasyon derinliklerini ölçmüşlerdir. Farklı güç yoğunluklarında gerçekleştirilen detaylı çalışma sonucunda 808 nm dalga boyundaki ışının 980 nm dalga boyundaki ışına göre %54 daha fazla derine penetre olduğunu ve güç yoğunluğu azaldıkça penetrasyon derinliğinin arttığı sonucuna varmışlardır. Güç yoğunluğu azaldıkça penetrasyon derinliğinin artması istenen bir özellik olmasına karşın düşük güç yoğunluklarında lokal sıcaklığın arttırılabilmesi için malzemenin çalışılan dalga boyundaki ışın absorpsiyon değerinin çok yüksek olması gerekir. Sonuç olarak, grafen tabanlı nanomalzemelerin 808 nm dalga boyundaki ışın absorpsiyon değerlerinin yüksek olması onların düşük güç yoğunluklarında çalışabilmesine imkan tanımaktadır, ki böylelikle grafen tabanlı nanomalzemelerin pratikte birçok solid kanserin termalterapi ile tedavisinde kullanılması mümkün

olabilecektir. Bununla birlikte, termalterapi elde edebilmek için uygulanacak kızıl ötesi ışınının tümör mikroçevresine direkt ve kolay ulaşımının gerekliliği itibariyle bu çalışmada oral kavite kanserleri model olarak tercih edilmiştir. (ii) Çizelge 1.2’de verilmiş olan çalışmalardan 4’ü kanser hücrelerinin öldürülmesinde sadece termalterapi kullanırken 3 çalışma hem kemo- hem de termalterapi yöntemlerini birlikte kullanmıştır; iii) termalterapi yöntemini kullanan çalışmalardan, 3’ü tümörlü hücreleri hedeflemek üzere grafen tabanlı nanoparçacık yüzeylerine EGFR ligantı konjüge etmiştir. İzleyen paragrafta Çizelge 1.2’de gerek termalterapiyi tek başına gerekse kemoterapi yöntemi ile birlikte kullanan çalışmalardan elde edilen sonuçlar ayrıntılı olarak tartışılmıştır.

Tez kapsamında da çalışılacak olan ve literatürde sadece Lu vd. (2014) tarafından incelenen grafen tabanlı nanomalzemelerden nanotüp nanoşerit (GOR), U87 Glioma kanser hücrelerinin *in vitro* ve *vivo* ortamlarındaki tedavisinde kemo- ve termalterapi yöntemleri ile birlikte kullanılmıştır. Lu vd. (2014) kemoterapik ajan olarak 0-30 µg/ml konsantrasyon aralığında değişen DOX ve 0-120 sn zaman aralığında, 2 W/cm² güç yoğunluğunda lazer ışın kaynağı kullanmışlardır. Gerçekleştirilen kapsamlı deneyler sonucunda Lu vd. (2014): i) PL-PEG (Phospholipid polyethylene glycol) ile fonksiyonlaştırılmış fakat kemoterapötik ajan yüklenmemiş PL-PEG-GOR nanoparçacıklarının biyolojik ortamda kararlılıklarını uzun süre koruyabildikleri ve tek başlarına kullanıldıklarında U87 hücrelerine karşı sitotoksik etki göstermedikleri, buna karşın 808 nm dalga boyunda ve 2 W/cm² güç yoğunluğunda ışın ile uyarıldığında sitotoksik etkinin uygulanan uyarılma zamanı ile arttığını ve 120 sn sonra U87 hücrelerinin %57,8’inin öldüğünü; ii) DOX yüklenmiş PL-PEG-GOR’ın termalterapi ile birlikte uygulandığında çok etkin olduğunu, örneğin U87 hücrelerinin yarısının öldürülmesi için gerekli olan DOX konsantrasyon miktarının (IC₅₀) 120 sn ışın ile uyarılmış PL-PEG-GOR/DOX (13,1 µg/ml) ortamında, uyarılmamış PL-PEG-GOR/DOX’a (2,7 µg/ml) göre yaklaşık 6,7 kat daha az olduğu sonucunu yayınlamışlardır. Bu çalışma grubunun farklı bir yayınında (Yang vd., 2013) ise, NH₂-PEG ile fonksiyonlaştırılmış olan NH₂-PEG-GO, U-87 kanser hücrelerinin tedavisinde kullanılmıştır. Bir önceki çalışmadan farklı olarak Yang ve arkadaşları (2013) bu çalışmalarında kemoterapötik ajan olarak Epirubicin (EPI) ve ayrıca U87 kanser hücrelerine hedeflenmek üzere EGFR ligantı kullanmışlardır. U87 hücrelerinin yarısının

öldürülmesi için gerekli olan EPI konsantrasyon miktarını NH₂-PEG-GO/EPI için 13,2 µg/ml, hedeflenmiş NH₂-PEG-GO/EPI için 9,7 µg/ml ve 808 nm dalga boyunda, 2 W/cm² güç yoğunluğunda 120 sn ışın ile uyarılmış NH₂-PEG-GO/EPI için 2,6 µg/ml olarak ölçmüştür. Elde edilen sonuçlardan hedefleme her ne kadar etkinmiş gibi görünse de, kemo- ve termalterapinin birlikte uygulanması sinerjik etki yarattığından daha iyi sonuç vermiştir. Karşılaştırılan bu iki çalışmadan çıkarılacak olan sonuç, seçilen kemoterapötik ajan tipi ve konsantrasyonunun grafen tabanlı nanoparçacık tipi ve uygulanan termalterapi yöntemi ile tümörün yok edilmesinde önemli rol oynamaktadır.

Polietilen glikol (PEG) ile fonksiyonlaştırılan grafen nanoparçacıklarının *in vivo* hayvan modelindeki davranışları literatürde ilk olarak Yang vd. (2010) tarafından incelenmiştir. Yang vd. (2010) yaptıkları bu çalışmada 4T1, KB, ve U87 tümörlerin yok edilmesinde kemoterapötik ajan kullanmayıp sadece termalterapi yöntemini kullanmış ve şu yargılara ulaşmıştır: i) farelere 2 mg/ml konsantrasyonunda PEG-Grafen enjekte edildikten 24 saat sonra, fareler 808 nm dalga boyunda ve 2 W/cm² güç yoğunluğunda ışın ile uyarılmış ve her 2 günde bir tümör boyutu ölçülmüştür. Gerçekleştirilen 40 günlük ölçüm sonucunda tümör boyutunun zaman ile azaldığı ve ışın ile uyarılmış tüm deneklerdeki tümörün kaybolduğu ve kemoterapinin yan etkisi olarak bilinen kilo kaybının gözlemlenmediğini buna karşın ışın ile uyarılmayan farelerin ortalama 16 gün sonra öldüklerini belirtmiştir; ii) grafen tabanlı nanomalzemelerin *in vivo*'daki davranışlarının daha iyi anlaşılması için uzun süreli toksik etkilerinin incelenmesi gerektiğini de vurgulamışlardır.

Gerçekleştirilen kapsamlı literatür özetinde günümüze kadar grafen tabanlı nanomalzemeleri kanser tedavisinde kullanan 14'ü 2014 yılında olmak üzere toplam 20 adet çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalardan çıkarılan ortak sonuç: i) yukarıda detaylı olarak belirtilen üstün özelliklerinden dolayı grafen tabanlı nanomalzemelerin kanser tedavisinde ümit verici bir ajan olduğu; ii) kemo- ve termalterapi yöntemlerinin aynı anda kullanılmasının sinerjik etki yaratarak kanser tedavisinde daha yüksek başarı sağlayabileceğidir.

Çizelge 1.1 Günümüze kadar farklı araştırma gruplarınca kanser tedavisinde grafen tabanlı GO, rGO ve GOR nanomalzemeler kullanılarak gerçekleştirilen çalışmaların sistematik derlemesi.

Referans	Karbon tabanlı nanomalzeme	Fonksiyonlaştırma	Hedefleme	Ortam	Kanser hücre hattı	Kemoterapi ilacı	Termal terapi	Fotodinamik terapi
Yang vd., (2010)	GO	6 arm PEG	Yok	<i>vivo</i>	4T1&KB &U87MG	Yok	Evet	
Zhang vd., (2011)	GO	PEG-NH ₂	Yok	<i>vitro&vivo</i>	EMT6	DOX	Evet	
Markovic vd., (2011)	GO&CNT	DNA	Yok	<i>vitro</i>	U251	Yok	Evet	
Robinson vd. (2011)	rGO	PEG-NH ₂	Arg-Gly-Asp (RGD)	<i>vitro</i>	U87GM	Yok	Evet	
Yang vd., (2012)	GO&rGO	PEG-NH ₂	Yok	<i>vivo</i>	4T1	Yok	Evet	
Yang vd. (2013)	GO	PEG-NH ₂	EGFR	<i>vitro&vivo</i>	U87GM	EPI	Evet	
Lu vd., (2014)	GORs	PL-PEG	Yok	<i>vitro&vivo</i>	U87GM	DOX	Evet	
Jung (2014)	GO	Yok	HA	<i>vitro&vivo</i>	Meloma	Yok	Evet	
Tian vd., (2011)	GO	6 arm PEG	Yok	<i>vitro</i>	KB	Yok	Evet	Evet
Miao vd., (2014)	GO	PEG-NH ₂	Yok	<i>vitro&vivo</i>	SCC7	DOX	Hayır	Evet
Wu vd., (2014)	GO	Yok	Yok	<i>vitro</i>	MM RPMI-8226	DOX	Hayır	Evet
Li vd., (2014)	rGO	PEG-NH ₂	Transferrin	<i>vitro</i>	AGS	Yok	Hayır	Evet
Zhou vd.,	GO	Yok	Yok	<i>vitro</i>	A549	SN-38	Hayır	Evet

(2014)								
Wu vd., (2014)	GO	PLL	Yok	<i>vitro</i>	HeLa& MCF7& B16	DOX	Hayır	Evet
Liu vd. (2008)	GO	6 arm PEG	Yok	<i>vitro</i>	HCT-116	SN-38	Hayır	
Liu vd., (2013)	GO	6 arm PEG	Transferrin	<i>vitro&in vivo</i>	C6 Glimo	DOX	Hayır	
Tian vd., (2014)	GO	PEG-NH ₂	Yok	<i>vitro</i>	MCF-7& CAL-27	CDDP	Hayır	
Zhou vd. (2014)	GO	polyelectrolyt	Integrin $\alpha\beta3$	<i>vitro&in vivo</i>	U87GM & MCF-7	DOX	Hayır	
Wang vd. (2014)	GO	Yok	Chlorotoxin	<i>vitro</i>	C6 Glimo	DOX	Hayır	
Zhu vd., (2014)	GO	6 arm PEG	Yok	<i>vitro</i>	HeLa & SMMC-7721	PPT	Hayır	
Some vd., (2014)	DGO	Yok	Yok	<i>vitro&in vivo</i>	HCT-116	Cur	Hayır	

GO: Grafen oksit
rGO: İndirgenmiş grafen oksit
GOR: Grafen oksit ribon, karbon nanotüp nanoşerit
DGO: İki kere oksitlenmiş grafen oksit
CNT: Karbon nanotüp
PL-PEG:Phospholipid polyethylene glycol
PEG-NH₂: Metoksifenetilamin
PLL: Poly-L-lysine
HA: Hyaluronic asit
DOX: Doxorubicin
PPT: Podophyllotoxin
CDDP: Cisplatin
EPI:Epirubicin

Çizelge 1.2 Çizelge 1.1’de verilen çalışmalardan kanser hücrelerinin yok edilmesinde ışı1-ısı tedavisi (termalterapi) uygulayan çalışmaların karşılaştırılması.

Referans	Karbon tabanlı nanomalzeme	Hedefleme	Kanser hücre hattı	Kemoterapi ilacı	Lazer güç yoğunluğu (W/cm ²)	Süre (min)
Yang vd. (2013)	GO	EGFR	U87GM	EPI	2	2
Robinson vd. (2011)	rGO	Arg-Gly-Asp (RGD)	U87GM	Yok	15	8
Jung (2014)	GO	HA	Melonoma	Yok	2	10
Zhang vd., (2011)	GO	Yok	EMT6	DOX	2	5
Lu vd., (2014)	GORs	Yok	U87GM	DOX	2	2
Markovic cd., (2011)	GO&CNT	Yok	U251	Yok	2	0,5-5
Yang vd., (2012)	GO&rGO	Yok	4T1	Yok	0,15	5
Yang vd., (2010)	GO	Yok	4T1&KB&U87MG	Yok	2	3

2. MATERYAL VE METOT

Bu bölümde sırası ile: i) karbon tabanlı nanomalzemelerin (grafen oksit (GO), indirgenmiş grafen oksit (rGO), karbon nanotüp nanoşerit (U-MWCNT) ve asit ile muamele edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp (A-MWCNT)) sentezlenmesinde izlenen yöntem ve taramalı elektron mikroskopundan (SEM) elde edilen sonuçlar ayrıntılı olarak tartışılması ve ii) karbon tabanlı nanomalzemelerin PEG ile fonksiyonlaştırılmasında izlenen yöntem detaylandırılmıştır.

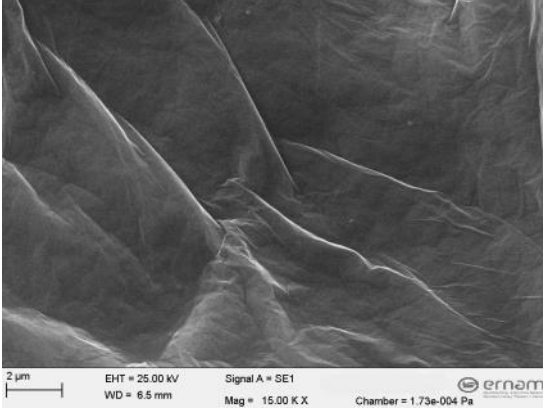
2.1 Grafen Oksit Nanoparçacıklarının İyileştirilmiş Hummers Yöntemi ile Sentezlenmesi ve Karakterizasyonu

“Yüzyılın malzemesi” olarak adlandırılan grafen, karbon atomlarının tek düzlemde altıgen yapıda dizilmesiyle oluşan bir atom kalınlığında iki boyutlu karbon allotropudur. Karbon atomları 2s ve 2p orbitallerinin birleşimi ile 120° açılı sp^2 melezleşmesi yaparken boşta kalan pz orbitalleri ise grafenin elektronik özelliklerini belirleyerek ona sıra dışı yüzey alanı ($2630 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$, gram başına yaklaşık yarım futbol sahasının kapladığı alan), yüksek mekanik sertlik (Young modülüs $\sim 1.0 \text{ TPa}$), yüksek elektriksel ve termal iletkenlik ($\sim 5000 \text{ Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$) ve ayrıca optik transparanlık ($\sim \%97,7$) özelliklerini kazandırır (Yanwu vd., 2010). Literatürde, grafen sentezlenmesi için önerilmiş olan ve kullanılan üç yöntem bulunmaktadır. Bu yöntemler sırasıyla kimyasal buhar çöktürme metodu (CVD), grafit oksidin eksfoliasyonu ve elektrokimyasal sentezleme yöntemleridir. Belirtilen yöntemler arasından grafit oksidin eksfoliasyonu diğer yöntemlere kıyasla kolay, düşük maliyet ve istenilen miktarlarda üretilmesi sebebi ile literatürde en çok kullanılan yöntemdir.

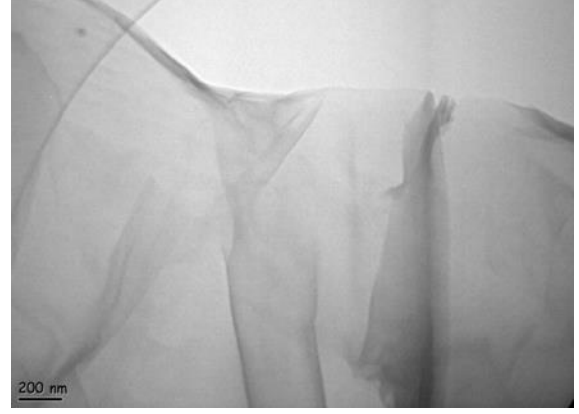
Bu çalışmada grafen oksit (GO), Marcano vd., (2010) tarafından önerilen iyileştirilmiş Hummers metodu kullanılarak sentezlenmiştir. İlk olarak 9:1 oranında Sülfürik asit-Fosforik asit/permanganat ortamında ağır oksidasyona maruz bırakılan 20 mikron altı grafit, peroksit ortamında grafen oksit nanoşeritlere dönüştürülmüştür. Bu yöntemde; 360 ml derişik H_2SO_4 40 ml H_3PO_4 karıştırılarak homojen bir çözelti oluşturulmuştur. Çözeltinin içerisine 3 g toz halindeki grafit eklenerek karıştırılmaya devam edilmiş elde edilen bu karışım, manyetik bir ısıtıcı yardımıyla yaklaşık 80°C 'de 6 saat boyunca ısıtılmıştır. Daha sonra karışımın oda sıcaklığına soğutulması sağlanmış karışım soğuyunca üzerine 1 L saf su eklenerek, bir gece ısıtılmadan karıştırılmıştır karışım

süzüldükten sonra içindeki asit kalıntılarını uzaklaştırmak için saf suyla yıkanarak tekrar süzölmüştür. Ortaya çıkan yarı oksitlenmiş grafit, kurutulduktan sonra, tam olarak oksitlenmesi için, içeresine 250 mL H₂SO₄ eklenmiştir. Karıştırma işlemi devam ederken bu çözeltinin içeresine 18 g KMnO₄ kademeli olarak eklenerek 35⁰C’de 4 saat boyunca karıştırılmıştır. Süre tamamlanınca, çözelti üzerine 500 ml saf su eklenerek soğutulmuştur. 500 ml saf su ilavesinden sonra karışım 2 saat boyunca karıştırılacak ve üzerine tekrar 1,5 L saf su eklenmiştir. Çok kısa bir süre sonra, çözelti içine 40 ml %30’luk H₂O₂ eklenerek karışımın renginin parlak sarı olduğu ve kabarcıklar çıktığı gözlenmiştir. Karışım süzölerek, içindeki metal kirliliğinin giderilmesi için 0,1 M HCl ile 4 defa yıkanarak saflaştırılmıştır. Ardından 1 L saf suyla tekrar yıkanana kahverengimsi çökeleğın süzöntü pH’sının 7 olması ve hava ortamında kuruması sağlanmıştır.

Çalışmada kullanılan iyileştirilmiş Hummers metodunun klasik Hummers metodundan ayıran temel farklar: i) kullanılan asit türü ve miktarları, klasik Hummers metodunda tek bir asit H₂SO₄ kullanılırken iyileştirilmiş Hummers metodunda hacimce 9:1 oranında H₂SO₄/H₃PO₄ karışımı kullanılmaktadır; ii) diğeri bir önemli fark ise kullanılan KMnO₄ miktarları ile uygulama süresidir. Klasik Hummers metodunda çıkılan grafit miktarının 3 katı iyileştirilmiş Hummers metodunda ise 6 katı KMnO₄ kullanılmaktadır. Belirtilen miktarlar klasik Hummers metodunda asit ile eksfoliasyon edilen çözelti içeresine tamamı birden eklenirken iyileştirilmiş Hummers metodunda adım adım eklenmektedir. Şekil 2.1 (a) ve (b) sırası ile iyileştirilmiş Hummers metodu ile sentezlenen Grafen oksit nanoparçacıklarının SEM ve TEM görüntüleri verilmiştir. Grafen oksidin karakteristik morfolojik özelliğı olan “saydam, bulutumsu, kırılğan ve buruşmuş” bir veya birkaç katmanlı düzlemsel görüntüsü Şekil 2.1’de açıkça görölmektedir.



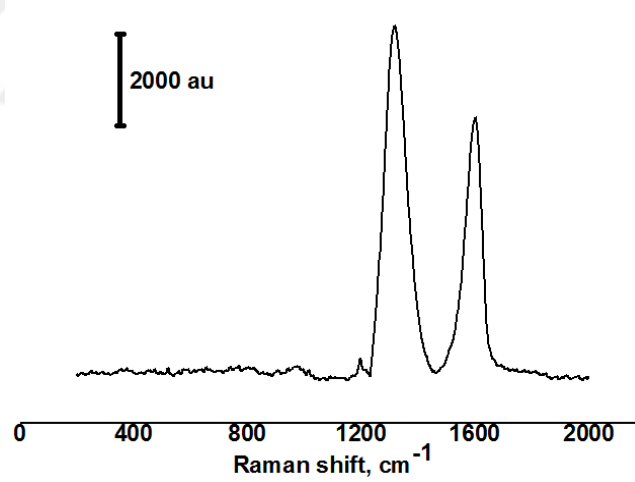
a)



b)

Şekil 2.1 İyileştirilmiş Hummers metodları ile sentezlenen Grafen oksit nanoparçacıkların a) SEM ve b) TEM görüntüsü.

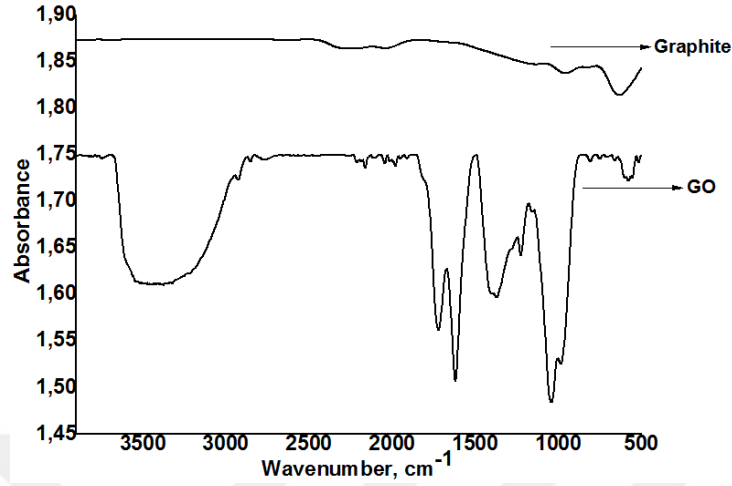
Şekil 2.2’de grafen oksidin Raman spektrumu sunulmuştur. Şekil 2.2’den görüleceği üzere grafen oksidin karakteristik Raman aktif D ve G bantları sırası ile spektrumunun 1320 cm^{-1} ve 1599 cm^{-1} de çıkmıştır



Şekil 2.2 Grafen oksidin Raman spektrumu.

Grafitin ve grafen oksidin infrared spektrumları Şekil 2.3’de gösterilmiştir. Grafen oksidin infrared spektrumunda gözlemlenen 3350 cm^{-1} , 1740 cm^{-1} , 1622 cm^{-1} , 1168 ve 1030 cm^{-1} deki bandlar, grafen oksitteki oksijen içeren fonksiyonel gruplarını belirtmektedir. Bu spektruma bakıldığında, 1740 cm^{-1} de karakteristik C=O (-COOH) ve

3350 cm^{-1} deki –OH gerilme titreşimleri grafen oksidin sentezlendiğini doğrulamaktadır. 950-1050 cm^{-1} civarında ise C-O-C simetrik gerilimine ait pik yer almaktadır



Şekil 2.3 Grafit ve grafen oksidin IR spektrumları.

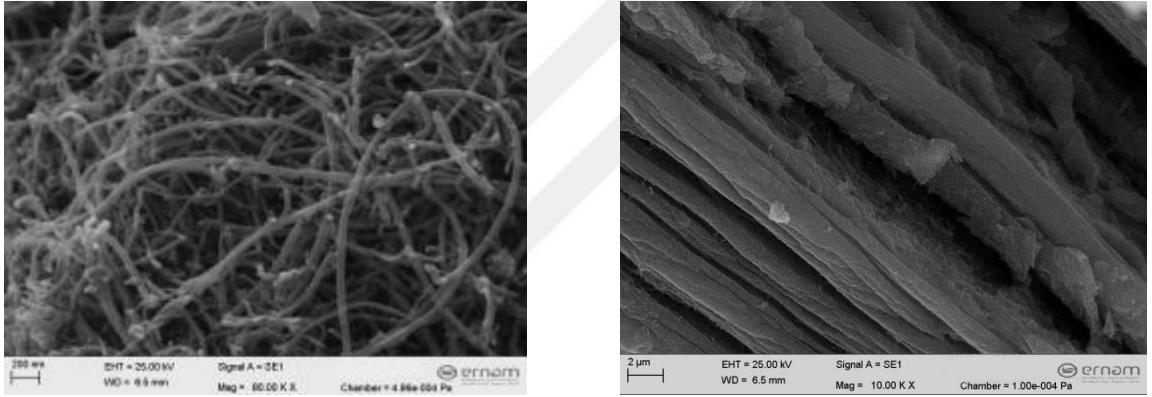
2.2 Karbon Nanotüp Nanoşerit (Ribbon) Nanoparçacıklarının İyileştirilmiş Hummers Yöntemi ile Sentezlenmesi ve Karakterizasyonu

Literatürde Ribbon olarak adlandırılan tek ve/veya çok duvarlı karbon nanotüplerin boylamasına açılması ile edilen iki boyutlu düzlem şeklindeki grafen tabanlı nanomalzemelere verilen isimdir. Bu çalışmada karbon nanotüp nanoşerit nanoparçacıklar uzunluğu $L=0.5-2 \mu\text{m}$ ve dış çap'ı $D=20-30\text{nm}$ aralığında değişen çok duvarlı karbon nanotüplerin (MWCNTs) iyileştirilmiş Hummers metodu ile boylamasına açılması ile sentezlenmiştir.

Belirtildiği üzere Ribbon nanoparçacıklar karbon nanotüplerin iyileştirilmiş Hummers metodu (Marcano vd., 2010) ile boylamasına açılması ile sentezlenmiştir. Bir önceki bölümde iyileştirilmiş Hummers metodu detaylı olarak anlatıldığından bu bölümde kısaca özetlenecektir. $L=10-30 \mu\text{m}$ uzunluğundaki ve $D=20-30 \text{nm}$ dış çapa sahip 1 gr çok duvarlı karbon nanotüp 9:1 oranında Sülfürik asit-Fosforik asit/permanganat içeren 120 ml asit çözeltisi içerisinde ağır oksidasyona maruz bırakılmıştır. Çok duvarlı karbon nanotüpleri içeren bu karışım manyetik bir ısıtıcı yardımıyla yaklaşık 80°C 'de 6 saat boyunca karıştırılmıştır. Ardından karışım üzerine 1 L DI su eklenerek bir gün boyunca sanifikasyon banyosunda karıştırılmıştır. Karışım içerisinden asitin uzaklaştırılması için, karışım 3 defa saf su ile yıkanarak süzümüştür. Daha sonra karışım içerisine 6 g KMnO_4

kademeli olarak eklenerek 35⁰C’de 4 saat boyunca karıştırılmıştır. Çözelti üzerine 500 ml saf su eklenerek 2 saat boyunca karıştırılmış ve içerisine 40 ml %30’luk H₂O₂ eklenerek karışımın renginin parlak sarı olduğu ve kabarcıklar çıktığı gözlenmiştir. Karışım süzülerek, içindeki metal kirliliğinin giderilmesi için 0,1 M HCl ile 4 defa yıkanarak saflaştırılmıştır. Ardından 1 L saf suyla tekrar yıkanana kahverengimsi çökeleğin süzüntü pH’sının 7 olması ve hava ortamında kuruması sağlanmıştır.

İşlem görmemiş ve iyileştirilmiş Hummers metodu ile boylamasında açılmış L=10-30 µm uzunluğunda ve D=20-30 nm dış çapındaki çok duvarlı karbon nanotüplerin SEM görüntüleri sırası ile Şekil 2.4 (a) ve (b)’de gösterilmiştir. Şekillerde sunulan SEM görüntülerinden de açıkça görüleceği üzere çok duvarlı karbon nanotüp nanoparçacıklar açılarak çok katmanlı grafen haline dönüşmüşlerdir.



a)

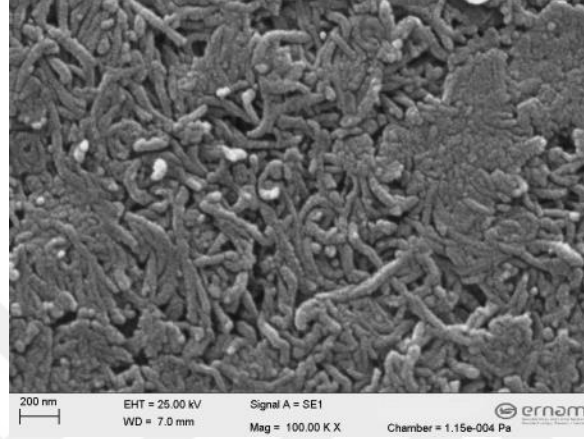
b)

Şekil 2.4 20-30 nm çapında ve L=10-30 µm uzunluğunda a) işlem görmemiş MWCNTs, b)iyileştirilmiş Hummers metodu ile boylamasına açılan MWCNTs’e ait SEM görüntüleri.

2.3 Asit ile muamele edilmiş çok duvarlı karbon nanotüplerin sentezlenmesi ve karakterizasyonu

Tek ve/veya çok duvarlı karbon nanotüp nanoparçacıklar birçok akışkan içerisinde özellikle DI su taban akışkanı içerisinde kararlılıklarını kısa süre içerisinde kaybederler. Karbon nanotüplerin DI su taban akışkanı içerisindeki kararlılıklarının artırılması diğer bir ifade ile su sever hale getirilmesi amacı ile karbon nanotüp yüzeyleri –COOH fonksiyonel gruplar ile bağlanır. Bu amaç doğrultusunda çok duvarlı karbon nanotüp nanoparçacıklar 1:3 hacimsel oranda HNO₃/H₂SO₄ asit karışımı ile dört saat sonifikasyon

banyosunda sabit 30°C altında karıştırılmış ardından asit kalıntılarında kurtarmak için en az sekiz defa DI su ile yıkanmıştır. Çok duvarlı karbon nanotüp nanoparçacıkların hacimce 1:3 oranında HNO₃/H₂SO₄ asit karışımı ile muamele edilmesi ile üretilen MWCNTs-COOH'ların SEM görüntüsü Şekil 2.5'de verilmiştir.



Şekil 2.5 20-30 nm çapında L=10-30 µm uzunluklarındaki çok duvarlı karbon nanotüplerin hacimce 1:3 HNO₃/H₂SO₄ asit karışımı ile muamele edilmesi ile üretilen MWCNTs-COOH'lerin SEM görüntüleri.

2.4 Karbon tabanlı nanoparçacıkların PEG ile fonksiyonlaştırılması

Nanoparçacıkların belli bir süre boyunca durgun taban akışkanı içerisinde çökmeden asılı durumda kalmaları nanoakışkan kararlılığı olarak tanımlanır. Nanoakışkanların hazırlanmasında tüm araştırma grupları tarafından belirtilen ve büyük bir sorun olarak adlandırılan, nanoparçacıkların yüksek yüzey enerjileri sebebi ile kümeleşme davranışında olmaları ve sonucunda kararlılığını kaybederek çökmeleridir. Nanoparçacıkların kümeleşmesini kırmak ve taban akışkanları içerisinde dağılımlarını sağlayabilmek amacı ile literatürde önerilen üç yöntem bulunmaktadır. Bu yöntemler sırası ile i) düşük derişimlerde yüzey aktif (surfactant) ve/veya dağıtıcılar (dispersant) kullanmak. Yüzey aktif malzemeler nanoparçacık yüzey yüklerini değiştirerek itme kuvvetleri şiddetinin çekme kuvvetlerine göre artmasını sağlayarak nanoparçacıkların taban akışkanları içerisindeki kararlılığını arttırmaktadırlar, ii) süspansiyon pH değerinin kontrol edilerek maksimum zeta potansiyel mutlak değerini verecek değerde ayarlanması ve son olarak iii) belli bir zaman aralığında prob veya banyo tip sonifikatör ile

süspansiyon akışkanına sonifikasyon uygulanması. Sonifikasyon işlemi her ne kadar nanoparçacık kümeleşmesini kırmak için kullanılan etkin bir yöntem olarak kabul edilse de, nanoparçacık kümeleşmesini uzun sürelerde engelleyememekte ve nanoakışkanın kararlılığını koruyamamaktadır. Nanoakışkan kararlılığını arttırmak için uygulanan diğer bir yöntem ise çok düşük derişimlerde yüzey aktif (surfactant) veya dağıtıcılar (dispersant) kullanarak nanoparçacıkların yüzey yüklerinin değiştirilmesi veya nanoparçacıklara fonksiyonlu grupların bağlanmasıdır. Arzu edilen, belli fraksiyonda hazırlanan nanoakışkanların istenilen sürelerde kararlılığını kaybetmeden taban akışkanı içerisinde asılı halde durmasıdır. Sonuç olarak, karbon tabanlı nanoparçacıkların tuz ve/veya protein içeren biyoakışkanlar içerisinde kararlılıklarını kaybetmeden durabilmeleri için PEG grupları ile kaplanmaları gerekmektedir. Bunlara ilaveten, Zhang vd. (2011) ve Yang vd. (2010) yaptıkları çalışmada PEG ile fonksiyonlaştırılmış grafen oksit nanoparçacıkların tümöre pasif hedeflenmede etkin olduğunu vurgulamıştır. Bundan dolayı, karbon tabanlı nanoparçacıklara PEG-NH₂ bağlanabilmesi için aşağıda detaylandırılan yöntem uygulanmıştır. İlk olarak nanoparçacıklar üzerinde bağlı olan –OH fonksiyonel grupları karboksilik asit (-COOH) fonksiyonel gruplarına dönüştürülmüştür. Bunun için 4 mg/ml derişimde grafen oksit nanoparçacık 10 ml DI su içerisine sonifikatör banyosunda yaklaşık 2 saat süre ile tutularak dağıtılmış ardından 3 M NaOH çözeltisinden 10 ml, hazırlanan grafen/DI su nanoakışkanına eklenerek yaklaşık 3 saat süre ile tekrar sonifikasyon banyosunda bekletilmiştir. Ardından çözelti 0.1 M seyreltik HCl çözeltisi ile en az 4 ve ardından DI su ile 4 defa daha yıkanarak nötralize edilmiştir. Karboksilik asit fonksiyon grupların bağlanmış olan grafen-COOH/DI su çözeltisinden 10 ml alınarak üzerine ticari olarak temin edilen mono PEG-NH₂ derişimi 10 mg/ml olacak şekilde 10 ml eklenmiştir. Ardından çözelti içerisine –COOH fonksiyonlu grupları aktivite etmek için 8 mg N-(3-Dimetilaminopropil-N-etilkarbodimid hidroklorid) (EDC) ve 12 mg n-hidroksi-sukkinamid (NHS) eklenerek yaklaşık 12 saat süre ile sonifikatörde bekletilerek reaksiyonun sonlanması sağlanmıştır. Çözelti içerisinde grafen nanoparçacıklara bağlanmamış PEG-NH₂ 5000 rpm yaklaşık 15 dakika santrifüjlenerek geri alınmıştır. Santrifüj tüpü tabanına biriken katı çökelek PEG-NH₂ ile fonksiyonlaştırılmış Grafen/PEG-NH₂ daha sonra istenilen derişimlerde deiyonize su içerisine dağıtılarak seyreltilmiştir. Grafen tabanlı nanoparçacıklara PEG fonksiyonlu grupların bağlanıp bağlanmadığı iki farklı yöntem ile karakterize edilebilir. Bunlardan

ilki UV spektroskopisi ikincisi ise Grafen/PEG-NH₂ nanoparçacıklarının biyolojik ortamdaki kararlılık testleridir. Bu çalışmada PEG fonksiyonlu grupların grafen nanoparçacıklara bağlanıp bağlanmadığı sonuçlar ve tartışma bölümünde detaylandırılacağı üzere UV spektroskopisinden elde edilecek dalga boyuna karşı absorpsiyon grafiği ile karakterize edilmiştir.

2.5 Karbon tabanlı nanotaşıyıcı sisteminin üretilmesi

Bu bölümde sentezlenen karbon tabanlı nanoparçacıkların DI su taban akışkanı içerisine farklı derişimlerde dağıtılması ile üretilen nanotaşıyıcı sistemlerinin hazırlanmasında kullanılan makine teçhizat ve deney düzenekleri detaylı olarak anlatılmıştır.

Şekil 2.6 (a-d) sırasıyla nanotaşıyıcı sistemlerinin hazırlanmasında kullanılan hassas elektronik teraziyi, sonifikatör banyosunu, sabit sıcaklık su banyosunu ve pH ölçer'i göstermektedir. İstenilen kütlece % fraksiyonlarda nanoakışkanların hazırlanabilmesi için taban akışkanı içerisine eklenmesi gereken nanoparçacık miktarı eşitlik (1) yardımıyla hesaplanmıştır. Örneğin: kütlece %1'lik Grafen oksit-DI su nanoakışkanı için 40 ml DI-su içerisine eklenmesi gereken GO miktarı eşitlik 1'den 0,403 gram olarak hesaplanır.

$$\frac{x}{100} = \frac{m_{np}}{m_{np} + (V_t * \rho_t)} \quad [1]$$

x: istenilen kütlece % fraksiyon

m_{np}: nanoparçacığın kütlesi

V_t: taban akışkanının hacmi

ρ_t: taban akışkanının yoğunluğu



(a)



(b)



(c)



(d)

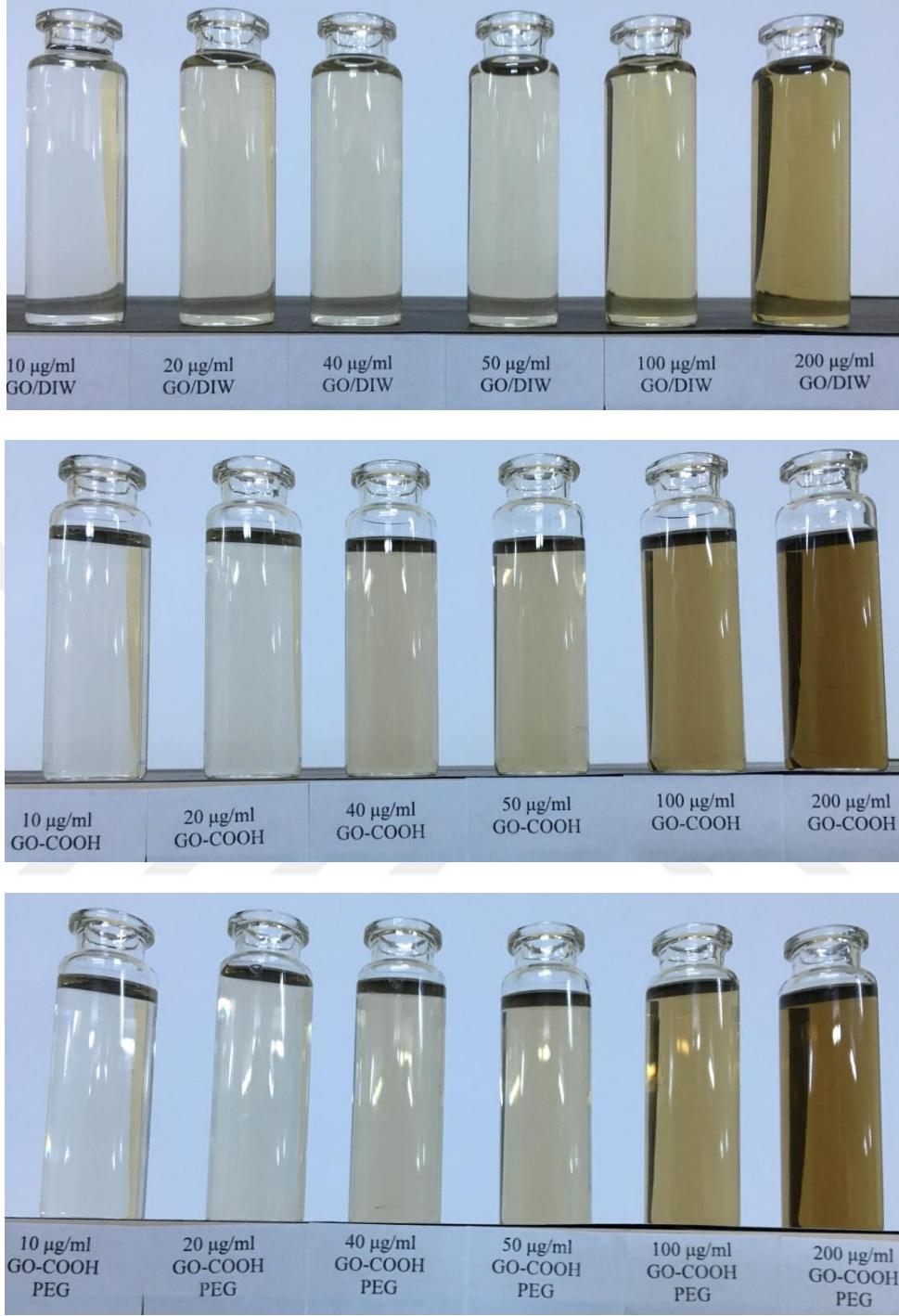
Şekil 2.6 Nanoakışkanların hazırlanmasında kullanılan makine-teçhizat (a), hassas elektronik terazi (b), sonifikatör banyosu (c), sabit sıcaklık su banyosu ve pH ölçer (d).

Nanoparçacık kümeleşmesini kırmak ve nanoakışkan kararlılığını artırmak için Şekil 6 (b)'de gösterilen 150 W ultrasonik güç ve 40 kHz frekansa sahip *Jeiotech* model sonifikatör banyosu kullanılmıştır. Hazırlanan nanoakışkanların pH ölçümlerinin sabit sıcaklıkta gerçekleştirilebilmesi için Şekil 2.6 (c)'de gösterilen *WiseBath* model sıcaklık kontrollü su banyosu kullanılmıştır.

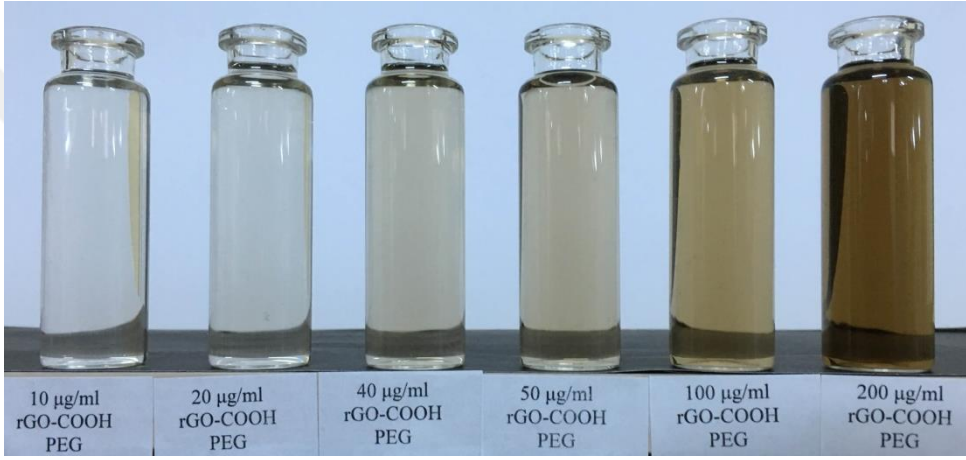
Şekiller 2.7, 2.8, 2.9 ve 2.10'da sırasıyla GO, rGO, U-MWCNTs ve A-MWCNTs nanoparçacıklarının PEG bağlanmadan ve bağlandıktan sonra DI su taban akışkanı içerisine 10-200 µg/ml derişim aralığında olacak şekilde dağıtılması ile hazırlanan nanoakışkanların vial içerisinde çekilmiş görüntüleri sunulmuştur. Karbon tabanlı

nanoparçacıkların DI su taban akışkanı içerisinde dağılımlarının sağlanması ve kümeleşmelerinin engellenmesi için her bir nanoakışkan iki saat süre ile sonifikatör ile karıştırılmıştır. Şekillerden görüleceği üzere gerek PEG bağlı gerekse bağlı olmayan karbon tabanlı nanoakışkanlar DI su akışkanı içerisinde kararlıdırlar. Aynı derişim altında asit ile muamele edilmiş A-MWCNTs ve boylamasına açılmış olan U-MWCNTs nanoakışkanların gerek GO gerekse rGO nanoakışkanlardan daha koyu renkte olmalarının sebebi sahip oldukları karbon atom sayısının oksijen atom sayısından daha yüksek olmasıdır.





Şekil 2.7 Yukarıdan aşağıya sırası ile GO, GO-COOH ve GO-COOH/PEG nanoparçacıkların DI su taban akışkanına dağıtılması ile 10-200 µg/ml derişim aralığında üretilen nanoakışkan görüntüleri.



Şekil 2.8 Yukarıdan aşağıya sırası ile rGO-COOH ve rGO-COOH/PEG nanoparçacıkların DI su taban akışkanına dağıtılması ile 10-200 µg/ml derişim aralığında üretilen nanoakışkan görüntüleri.



Şekil 2.9 Yukarıdan aşağıya sırası ile U-MWCNTs-COOH ve U-MWCNTs-COOH/PEG nanoparçacıkların DI su taban akışkanına dağıtılması ile 10-200 µg/ml derişim aralığında üretilen nanoakışkan görüntüleri.



Şekil 2.10 Yukarıdan aşağıya sırası ile A-MWCNTs-COOH ve A-MWCNTs COOH/PEG nanoparçacıkların DI su taban akışkanına dağıtılması ile 10-200 µg/ml derişim aralığında üretilen nanoakışkan görüntüleri.

3. BULGULAR

Bu bölümde sırası ile: i) bir önceki bölümde üretilen DI su tabanlı karbon nanotaşıyıcı sistemlerinin kararlılık analizleri; ii) PEG-NH₂/Karbon nanoparçacık/CDDP (sisplatin) nanoilaç kompleksi üretilmesinde izlenen yöntem ve iii) karbon tabanlı nanotaşıyıcı sistemlerinin 808 nm dalga boyunda lazer ile 1-2 W güç aralığında belli bir süre uyarılması ile nanotaşıyıcı sistemin sıcaklığının zaman ile değişimi incelenmiştir.

3.1 Karbon tabanlı nanotaşıyıcı komplekslerinin kararlılık analizleri

Nanoakışkan kararlılığı, nanoparçacıkların belli bir süre boyunca durgun taban akışkanı içerisinde çökmeden asılı durumda kalmaları olarak tanımlanmaktadır. Nanoakışkanların hazırlanmasında tüm araştırma grupları tarafından belirtilen ve büyük bir sorun olarak adlandırılan, nanoparçacıkların kümeleşme eğiliminde olmaları ve sonucunda kararlılığın kaybedilerek çökmeleridir. Arzu edilen, istenilen derişimlerde hazırlanan nanoakışkanın uzun süre kararlılığını kaybetmeden taban akışkanı içerisinde asılı halde durmasıdır.

Küresel katı bir parçacığın su akışkanı içerisindeki çökme hızı eşitlik (2)'de verilen Stokes akış denkleminde hesaplanabilir. Verilen eşitlik durgun akışkan içerisinde parçacık üzerine etki eden yerçekimi, hacim ve sürüklenme kuvvetlerinin, dengedeki kuvvet denkleğinden elde edilmiştir.

$$V_s = \frac{2(\rho_p - \rho_f)}{9\mu} gR^2 \quad [2]$$

ρ_p : parçacık yoğunluğu

ρ_f : akışkan yoğunluğu

g : yerçekimi ivmesi

μ : akışkan viskozitesi

R : parçacık yarıçapı

Stokes çökme hızı durgun akışkan içerisindeki tek bir parçacık için türetildiğinden elde edilecek çökme hızı limit hız değeridir. Diğer bir deyişle, Stokes çökme hızı su akışkanı içerisinde asılı olan tek bir parçacık için elde edildiğinden en düşük hızdır.

Stokes çökme hızı ile nano boyuttaki küresel herhangi bir parçacığın hızı hesaplanarak, parçacığın birim mesafeyi kat etmesi için gerekli olan zaman hesaplanabilmektedir. Örneğin: 21 nm boyutunda küresel olduğu bilinen TiO_2 parçacığın su akışkanı içerisindeki çökme hızı eşitlik (2)'den 3.1×10^{-9} m/s olarak hesaplanır. Diğer bir deyişle 21 nm boyutundaki tek bir TiO_2 parçacığın su taban akışkanı içerisindeki 1 m'lik ve 1 cm'lik mesafeleri sırasıyla 3700 ve 37 günde alır. Buna karşın nano boyuttaki parçacıklar Brownian hızlarından dolayı devamlı hareket halinde bulduklarından yığındaki diğer parçacıklar ile etkileşim halindedirler. Nanoparçacıkların yığındaki diğer parçacıklar ile etkileşimleri yeni kümeleşme yapılarının ortaya çıkmasına ve parçacığın Brownian hızının azalmasına neden olacaktır. Özetle, tek bir TiO_2 parçacık için verilmiş olan çökme hızı limit değer olup yığın içerisindeki nanoparçacıklar için bu değer daha yüksek çıkacağı tahmin edilmektedir. Buna karşın nanoparçacık şekli, boyutu, kristal yapısı, taban akışkanı ve nanoparçacık yüzde fraksiyonu nanoakışkan kararlılığını etkileyen en önemli parametrelerdendir.

Nanoparçacıkların yüksek enerji yüzeylerinden dolayı kolay kümeleşme eğiliminde bulunmaları, taban akışkanları içerisine çok iyi dağıtılmalarını güçleştirmektedir. Bu nedenle, nanoakışkan araştırmalarında nanoparçacıkların taban akışkanı içerisindeki kümeleşme eğilimlerini kontrol etmek en önemli araştırma konuları arasındadır. Literatürde nanoakışkan kararlılığını kontrol etmek ve zaman ile değişimini belirlemek üzere uygulanan iki yöntem bulunmaktadır. Bunlar sırasıyla nanoparçacıkların taban akışkanı içerisindeki zeta potansiyel ve görünür bölgedeki absorbans değerlerinin zaman ile değişiminin incelenmesidir. Zeta potansiyel, nanoparçacık yüzeyi ve taban akışkanı arasında var olan elektriksel potansiyel olarak tanımlanmakta olup zeta potansiyel mutlak değeri nanoakışkan kararlılığı ile ilişkilidir. Eğer ölçülen zeta potansiyel mutlak değeri 25 mV'dan büyük ve zaman ile değişimi çok az ise üretilen nanoakışkanın kararlı olduğu söylenebilir. Benzer şekilde görünür bölge dalga boyu aralığında ölçülen nanoakışkan maksimum absorbans değerinin zaman ile değişimi üretilen nanoakışkanın kararlılık durumu hakkında bilgi vermektedir. Nanoakışkan zeta potansiyel ve absorbans değerlerinden farklı olarak, nanoakışkan kararlılığının belirlenmesinde kullanılan diğer bir yöntem ise nanoakışkan fiziksel bir niceliğinin (yoğunluk, viskozite, ısı iletkenlik vb.) zaman ile değişiminin incelenmesidir. Sonuç olarak, bu çalışmada 10-200 $\mu\text{g/ml}$ derişim aralığında üretilen grafen oksit/DI su, U-MWCNTs/DI su ve A-MWCNTs/DI su

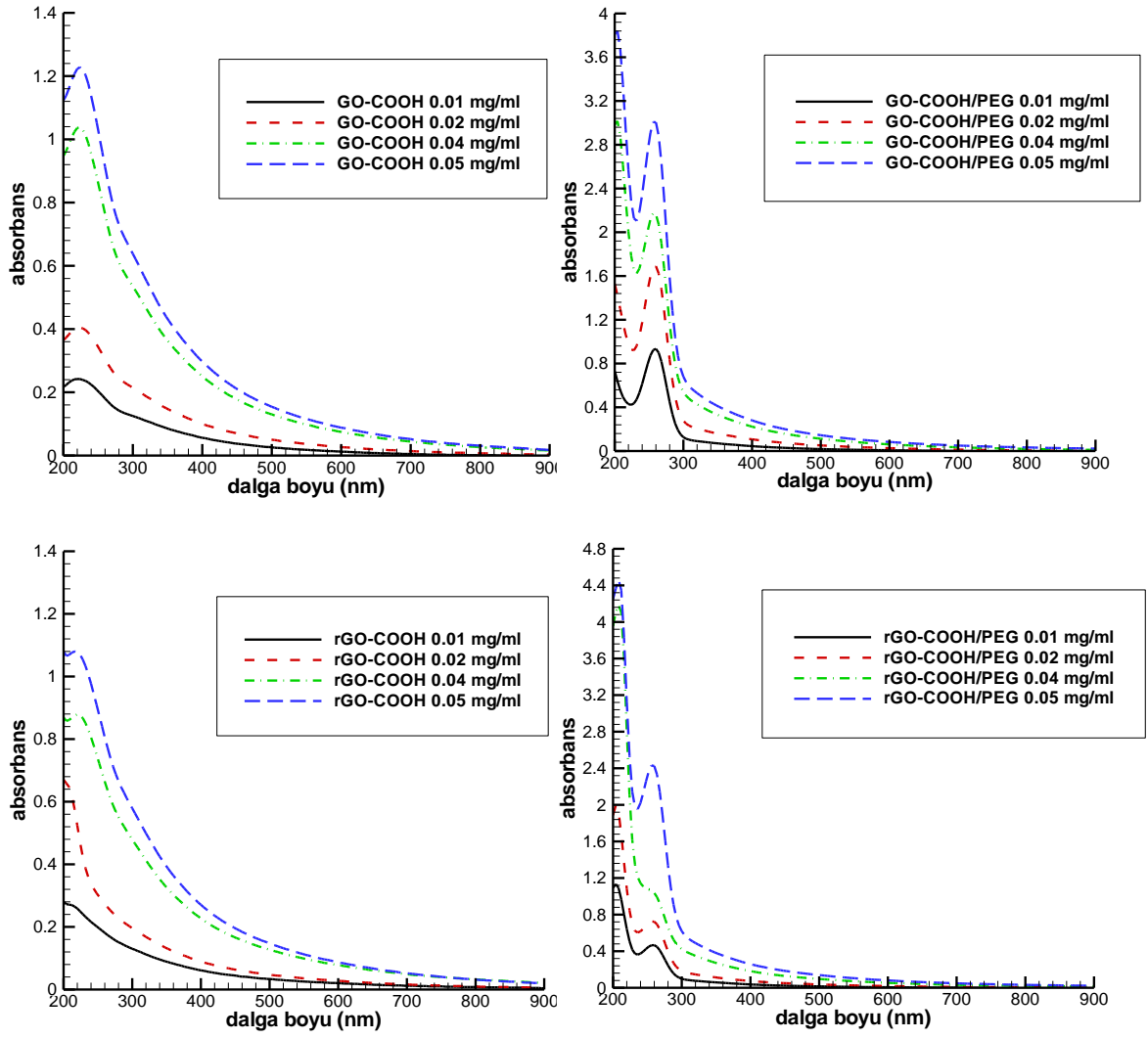
nanoakışkanlarının kararlılık analizleri nanoakışkanların zeta potansiyel ve absorbans değerlerinin zaman ile değişimi incelenerek belirlenmiştir.

Tez kapsamında üretilen grafen tabanlı nanotaşıyıcı komplekslerinin kararlılık analizleri ilk olarak Şekil 3.1’de gösterilen *Shimadzu* marka UV-3600 Spektrofotometre ile gerçekleştirilmiştir. Belirtmek gerekir ki, UV görünür bölge spektrofotometre ile ölçülen ve maksimum absorbans değerini veren dalga boyu değeri nanoparçacık karakterizasyonunda kullanılmaktadır. Diğer bir ifade ile farklı tiplerdeki nanoparçacıkların DI su taban akışkanı için maksimum absorbans değerini verdikleri dalga boyu değerleri karakteristik olup birbirlerinden farklıdır. Örneğin: GO nanoparçacıkların bilinen en büyük karakteristik özelliği grafen oksit/DI su tabanlı nanoakışkanlarının 229-234 nm dalga boyu aralığında maksimum absorbans değeri vermeleridir. Diğer bir ifade ile sentezlenen grafen oksit nanoparçacıklar ile üretilen nanoakışkanların belirtilen dalga boyu aralığında maksimum absorbans vermeleri üretilen nanoparçacıkların GO olduklarını gösterecektir.

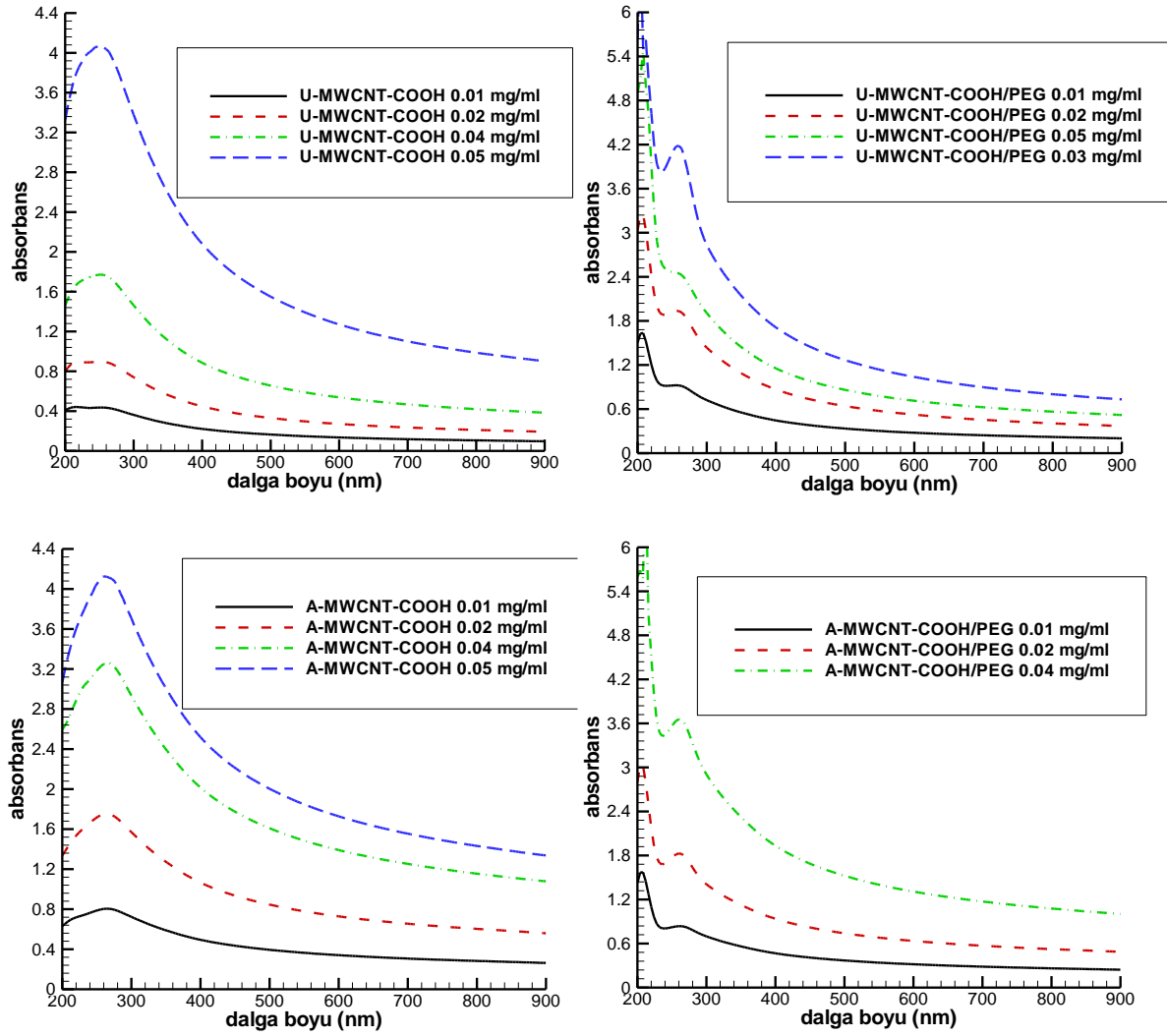


Şekil 3.1 Nanotaşıyıcı komplekslerin kararlılık testlerinin incelenmesinde kullanılan Shimadzu marka spektrofotometre

Şekiller 3.2 ve 3.3 sırasıyla DI su taban akışkanı içerisinde 10-50 µg/ml derişim aralığında GO, rGO, U-MWCNTs ve A-MWCNTs nanoparçacıkların dağıtılması ile hazırlanan nanotaşıyıcı komplekslerinin absorbans değerlerinin dalga boyu ile değişimini göstermektedir. GO-COOH/DI su, rGO-COOH/DI su, A-MWCNTs-COOH/DI su ve U-MWCNTs-COOH/DI su nanoakışkanlarının çalışılan tüm konsantrasyonlarındaki maksimum absorbans değerleri sırası ile 224, 218, 265 ve 252 nm dalga boylarında çıkmıştır. Buna karşın, PEG-NH₂ ile fonksiyonlaştırılan nanoparçacıklar ile hazırlanan nanoakışkanlar yaklaşık 200 nm dalga boyu civarında ikinci bir pik göstermiştir. Bu sonuç, PEG-NH₂ fonksiyonel grubun karbon tabanlı nanoparçacıklara bağlandığını göstermektedir. Şekiller 3.2 ve 3.3'den çıkarılacak diğer sonuçlar: i) karbon tabanlı nanoparçacıklara bağlanan PEG-NH₂ fonksiyonel grubu çalışılan tüm konsantrasyonlardaki oluşan birincil pikin şiddetini önemli ölçüde artırmıştır; ii) incelenen tüm karbon tabanlı nanoakışkanların konsantrasyonu yarıya düşürüldüğünde ölçülen maksimum absorbans değerleri yarıya inmiştir. Bu sonuç, hazırlanan karbon tabanlı tüm nanoakışkanlarının doğru konsantrasyonlarda hazırlandığını açıkça göstermektedir.



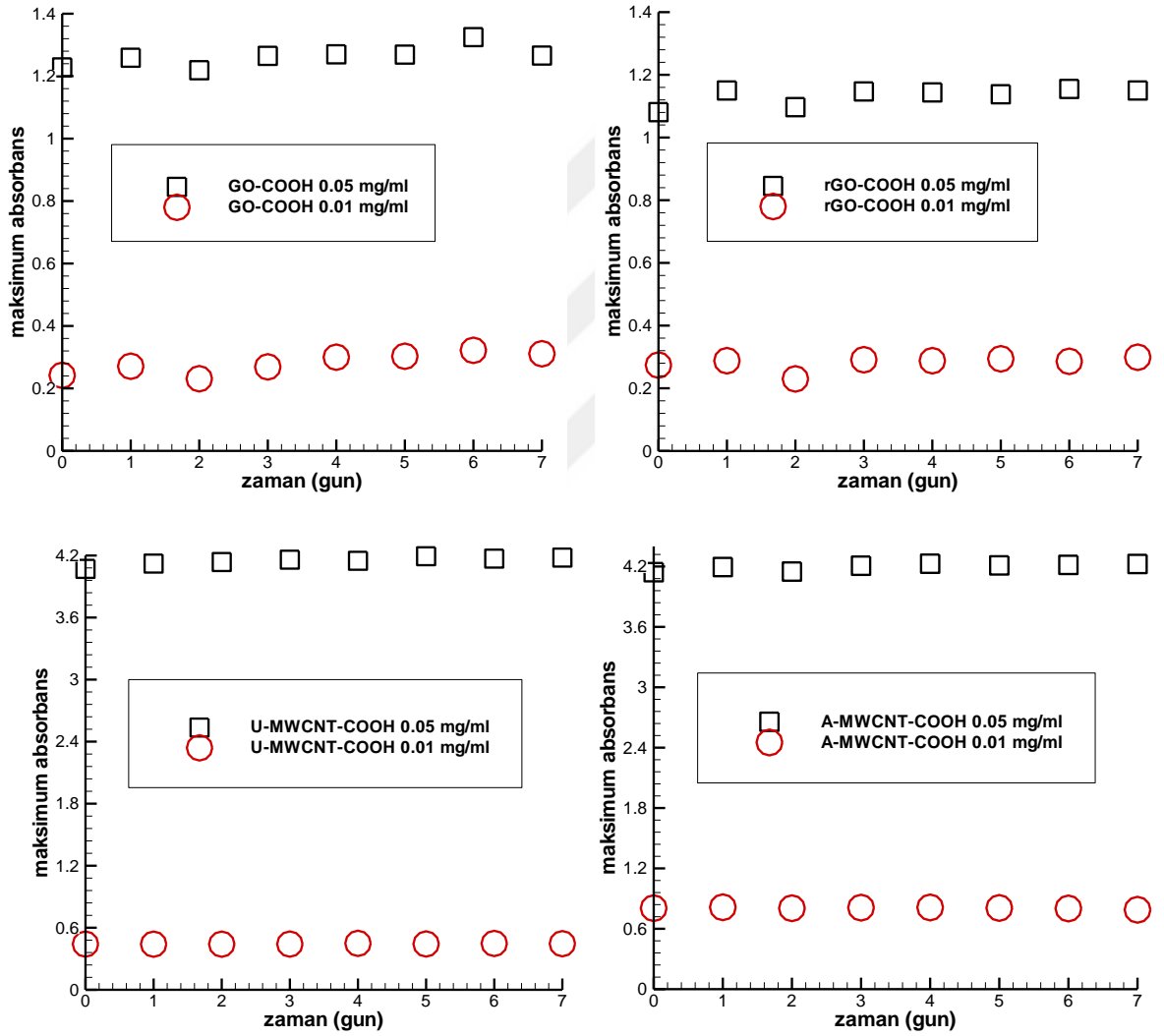
Şekil 3.2 10-50 µg/ml derişim aralığında üretilen grafen oksit (GO) ve indirgenmiş grafen oksit (rGO) nanotaşıyıcı komplekslerinin DI su taban akışkanı içerisindeki absorbans değerlerinin dalga boyu ile değişimi.



Şekil 3.3 10-50 µg/ml derişim aralığında üretilen karbon nanotüp nanoşerit (U MWCNTs) ve asit ile muamele edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp (A MWCNTs) nanoşayııcı komplekslerinin DI su taban akışkanı içerisindeki absorbans değerlerinin dalga boyu ile değişimi.

Yukarıda belirtildiği üzere nanoakışkanın kararlı olup olmadığı maksimum absorbans değerinin zaman ile değişimi ölçülerek belirlenebilmektedir. Eğer farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış olan nanoakışkanların ölçülen maksimum absorbans değerleri zaman ile salınım gösteriyorsa, süspansiyon içerisindeki nanoparçacıkların aglomere olduğu söylenebilir. Şekil 3.16 sırasıyla GO, rGO, karbon U-MWCNTs ve A-MWCNTs nanoparçacıkların 0.01 ve 0.05 mg/ml derişimlerinde su taban akışkanına dağıtılması ile hazırlanan nanoakışkanların 25⁰C’da ölçülen maksimum absorbans

değerlerinin zaman ile değişimini göstermektedir. Ölçümler birbirini takip eden 7 gün içerisinde ve gün içerisinde belirlenen aynı zaman diliminde gerçekleştirilmiştir. Şekil 3.4'den görüleceği üzere hem düşük hem de yüksek derişimde hazırlanan tüm karbon tabanlı nanoakışkanların absorbands değeri zaman ile çok az salınım göstermiştir. Diğer bir ifade ile karbon tabanlı nanoakışkanların kararlı olduklarını ve ölçüm yapılan yedi gün boyunca kararlılıklarının bozulmadığı gösterilmiştir.



Şekil 3.4 10 ve 50 $\mu\text{g/ml}$ derişim aralığında üretilen grafen oksit (GO), indirgenmiş grafen oksit (RGO), karbon nanotüp nanoşerit (U-MWCNTs) ve asit ile muamele edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp (A-MWCNTs) nanotaşıyıcı komplekslerinin DI su taban akışkanı içerisindeki maksimum absorbands değerlerinin zaman ile değişimi.

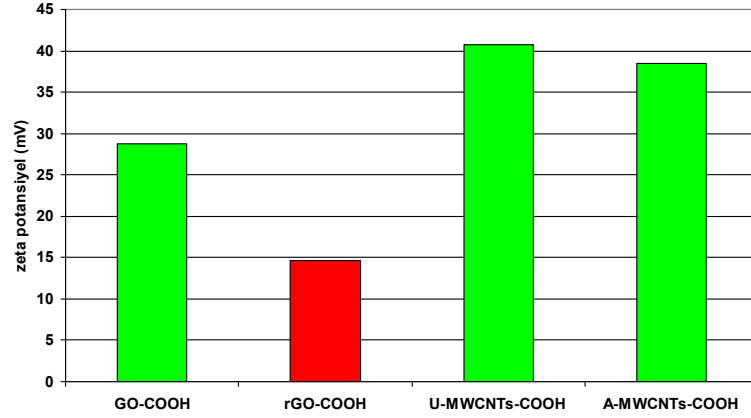
Nanoakışkan kararlılık analizinde kullanılan diğer bir yöntem ise belli konsantrasyonlarda üretilen nanoakışkanların zeta potansiyel değerlerinin ölçüm esasına dayanmaktadır. Zeta potansiyel, nanoparçacık yüzeyi ve taban akışkanı arasında var olan elektriksel potansiyel farkıdır. Literatürde birçok araştırmacı yüzey aktif ve/veya dağıtıcı içermeyen nanoakışkanların ölçülen zeta potansiyel mutlak değerinin 25 mV ve yüksek değerlerinde nanoakışkanların kararlı olduğu yönünde hemfikirdir. Bu çalışmada farklı derişimlerde üretilen karbon tabanlı nanotaşıyıcı komplekslerin zeta potansiyel değerleri Şekil 3.5’de gösterilen *Mavern Zetasizer Nano Z* cihazı ile ölçülmüştür.



Şekil 3.5 Nanoakışkanların kararlılık testlerinin analizinde kullanılan Malvern Zetasizer Nano Z cihazı.

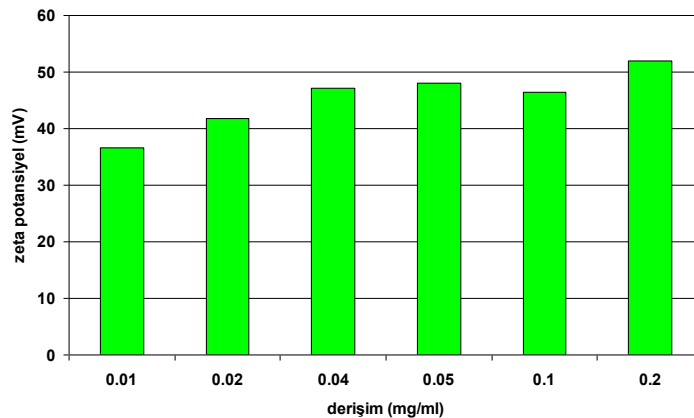
Şekil 3.6, 50 µg/ml derişimde hazırlanan GO-COOH/DI su, rGO-COOH/DI su, U-MWCNTs-COOH/DI su ve A-MWCNTs-COOH/DI su nanotaşıyıcı komplekslerinin ölçülen zeta potansiyel mutlak değerlerini göstermektedir. Belirtmek gerekir ki, tüm karbon tabanlı nanotaşıyıcı kompleksler barındırdıkları –COOH gruplarından dolayı negatif zeta potansiyel değeri vermişlerdir. Şekil üzerinde ise mutlak değerleri alınarak gösterilmiştir. Bunlara ilaveten, kritik kararlılık değeri olan 25 mV zeta potansiyel değerini aşan karbon tabanlı nanotaşıyıcı kompleksler Şekil 3.18 üzerinde yeşil renk, aşamayan ise kırmızı renk ile belirtilmiştir. 15 mV zeta potansiyel değeri ile indirgenmiş GO (rGO-COOH) çalışma kapsamında incelenen tüm karbon nanotaşıyıcı kompleksleri arasından en düşük 40 mV mutlak zeta potansiyel değeri ile de karbon nanotüp nanoşerit (U-MWCNTs-COOH/DI su) taşıyıcı kompleksi en yüksek zeta potansiyel değerini

vermiştir. Sonuç olarak, karbon tabanlı nanotaşıyıcı komplekslerden indirgenmiş GO en düşük kararlılığa sahip iken karbon nanotüp nanoşerit su taban akışkanı içerisinde en kararlı nanotaşıyıcı kompleks olarak bulunmuştur.



Şekil 3.6 50 µg/ml derişimde hazırlanan karbon tabanlı/DI su nanotaşıyıcı komplekslerinin zeta potansiyel değerlerinin karşılaştırılması.

Şekil 3.7, 10-200 µg/ml derişim aralığında hazırlanan karbon nanotüp nanoşerit (U-MWCNTs)/DI su nanotaşıyıcı komplekslerinin zeta potansiyel değerlerinin derişim ile değişimini göstermektedir. İncelenen tüm derişimler kritik zeta potansiyel değeri olan 25 mV değerini geçmişlerdir. Beklendiği üzere su taban akışkanı içerisinde karbon nanotüp nanoşerit miktarı arttıkça zeta potansiyel değeri artmıştır; sadece 100 µg/ml derişiminde çok az bir azalış göze çarpmaktadır.



Şekil 3.7 Karbon nanotüp nanoşerit (U-MWCNTs)/DI su nanotaşıyıcı komplekslerinin zeta potansiyel değerlerinin derişim ile değişimi.

3.2 Aktif ve pasif hedeflendirilmiş karbon tabanlı nanotaşıyıcı sisteminin üretilmesi

Tez kapsamında sentezlenen GO, karbon nanotüp nanoşerit (Ribbon) ve asit ile muamele edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp nanoparçacıkları ile PEG-NH₂/Karbon nanoparçacık/CDDP nano-ilaç kompleksi üretilmiştir. Bunlara ilaveten PEG-NH₂/Grafen oksit taşıyıcı kompleksine epidermal büyüme faktör reseptörüne (EBFR) yönelik monoklonal antikor olan Setuksimab bağlanarak farklı kemoterapötik ajanların karbon tabanlı nanoparçacık yüzeylerine bağlanabileceği gösterilmiştir. Setuksimab, EBFR'ye karşı geliştirilmiş ve A.B.D. *Food and Drug Association* tarafından onaylanmış, bilinen ilk monoklonal antikor olup günümüzde EBFR overeksprese eden kanserler arasında özellikle kolorektal, baş boyun, akciğer ve meme kanserlerinin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunlara ilaveten PEG ile fonksiyonlaştırılmış karbon tabanlı PEG-NH₂/Karbon nanoparçacık/CDDP ve PEG-NH₂/Karbon nanoparçacık/C225 nanoilaç komplekslerinin oral kavite kanser hücreesindeki sitotoksikite etkisi sistematik olarak incelenmiştir.

Sabit adsorbant derişiminde (GO veya A-MWCNTs) sisplatinin karbon tabanlı nanoparçacık yüzeylerine adsorplanma kapasitesi 3-9 pH aralığında incelenmiştir. Bu kapsamda ilk olarak 0.1 M HCl ve 0.1 M NaOH çözeltileri ile istenilen pH değerlerinde stok akışkanlar hazırlanmıştır. Daha sonra hazırlanan stok çözeltilerden 20 şer ml alınarak derişimi 50 µg/ml olacak şekilde GO ve A-MWCNTs nanoparçacık eklenmiş ve iki saat süre ile sonifikasyonda tutularak taban akışkanları içerisinde dağılmaları sağlanmıştır. Ardından farklı pH değerlerinde hazırlanan GO ve A-MWCNTs nanotaşıyıcı komplekslerine derişimi 50 µg/ml olacak şekilde sisplatin eklenmiş ve dört saat süre ile manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Sisplatinin ışıktan bozunmasını engellemek amacı ile tüm işlemler karanlık ortamda gerçekleştirilmiştir. Nanoparçacık yüzeylerine bağlanan sisplatin 10000 rpm dönüş hızında 10 dakika süre ile santrifüjlenerek üst fazdan alınmıştır. Nanoparçacık yüzeylerine bağlanmayan sisplatin miktarı ve yüzdesi üst fazdan alınan çözeltilerin UV spektrofotometre cihazından ölçülen maksimum absorbans değeri ile belirlenmiştir. Bunun için ilk olarak sisplatine ait Şekil 3.8'de gösterilen kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Kalibrasyon eğrisinin elde edilmesinde 5-50 µg/ml aralığında değişen 5 farklı derişimde sisplatin sulu çözeltileri kullanılmıştır. Hazırlanan her bir çözeltilerin UV spektrofotometre cihazından ölçülen

maksimum absorbans değerleri kullanılarak Şekil 3.8’de gösterilen kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Eğri üzerinde verilen doğrusal denklem sisplatin derişimi (x) ile absorbans (y) değişimini göstermektedir. Bunlara ilaveten sisplatin’in karbon tabanlı nanoparçacık yüzeylerine adsorplanma etkinliği eşitlik (3) % adsorplanma miktarı ise eşitlik (4)’de verildiği gibi hesaplanmıştır.

$$q_e = \left(\frac{C_0 - C_e}{m} \right) V \quad [3]$$

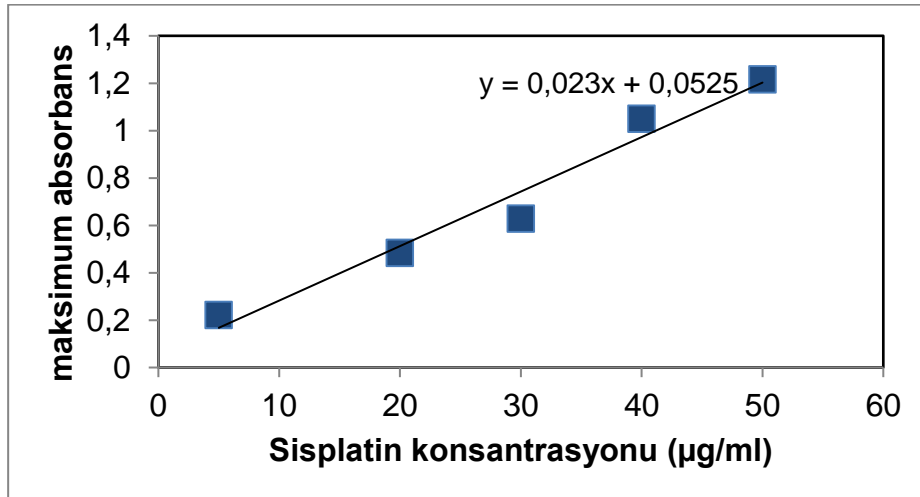
$$\%ads = \left(\frac{C_0 - C_e}{C_0} \right) \quad [4]$$

C_0 : Başlangıç Sisplatin derişimi (mg/ml)

C_e : Dengedeki Sisplatin derişimi (mg/ml)

m: Adsorbant miktarı (mg)

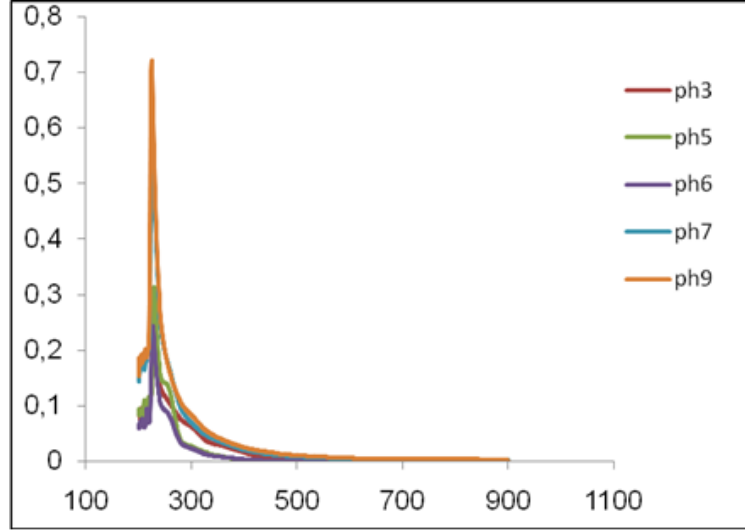
V: zlti hacmi (ml)



Şekil 3.8 Sisplatin (CDDP) sulu zltisine ait kalibrasyon eğrisi. 5-50 µg/ml derişim aralığında hazırlanan sisplatin (CDDP) sulu zltilerinin 204 nm dalga boyunda ölçülen maksimum absorbans değerleri

Şekil 3.9, yukarıda detaylandırıldığı üzere GO nanoparçacık yüzeylerine farklı pH değerlerinde bağlanmayan Sisplatinin UV spektrofotometresinden elde edilen dalga boyu ile absorbans değişimini göstermektedir. Yaklaşık 200-210 nm dalga boyu aralığında elde edilen pikler grafen oksit nanoparçacık yüzeyine adsorplanmamış sisplatine aittir. Farklı pH'larda Şekil 3.9'dan okunan maksimum absorbans değerleri Şekil 3.8 içerisinde verilen kalibrasyon eğri denkleminde yerine yazıldığında GO yüzeylerine bağlanmayan sisplatin derişim miktarları Çizelge 3.1'de verildiği gibi hesaplanmıştır. Bunlara ilaveten Eşitlik 4'den hesaplanan % adsorplanan Sisplatin değerlerinin pH ile değişimi Şekil 3.10'de gösterilmiştir. Düşük pH değerlerinde (3, 5 ve 6) Sisplatin GO nanoparçacık yüzeylerine yüksek pH değerlerinden daha yüksek kapasite ile bağlanmıştır. Bunun temel sebebinin düşük pH değerlerinde GO nanoparçacıkların daha kararlı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Grafen oksit yüzeylerine maksimum Sisplatin adsorplanması %83 ile pH=3 değerinde bulunmuştur. Eşitlik (3) ile hesaplanan adsorpsiyon kapasitesinin (mg/g) pH ile değişimi Şekil 3.11'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar grafen oksit nanoparçacıkların yüksek adsorpsiyon kapasitesine sahip olduğu ve pH=3 değerinde 1 g GO nanoparçacıkların yaklaşık 836 mg Sisplatin adsorplayabildiğini göstermiştir.

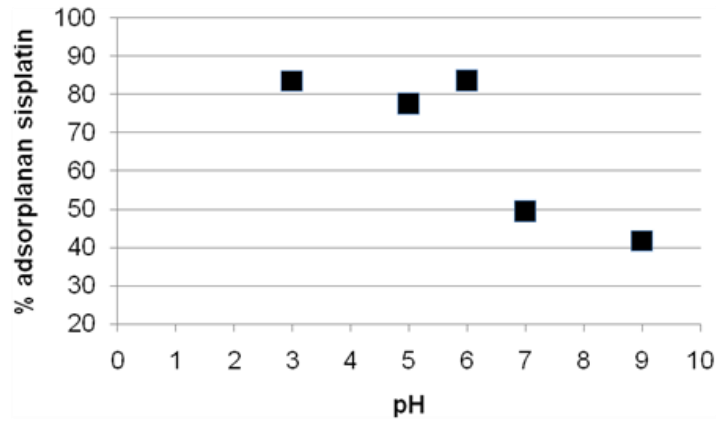
Benzer deneyler asit ile muamele edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp (A-MWCNTs) nanoparçacıklar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Şekil 3.20 içerisinde verilen kalibrasyon denkleminde hesaplanan A-MWCNTs yüzeylerine bağlanmayan Sisplatin derişimleri Çizelge 3.2'de listelenmiş ve adsorplanma yüzdesinin pH ile değişimi Şekil 3.12'de gösterilmiştir. Benzer şekilde karbon tabanlı nanoparçacık olarak A-MWCNTs kullanıldığında en yüksek adsorpsiyon düşük pH değerinde gözlemlenmiştir. Grafen oksit ve A-MWCNTs nanoparçacıkların sisplatin adsorlama kapasiteleri yaklaşık aynı çıkmıştır.



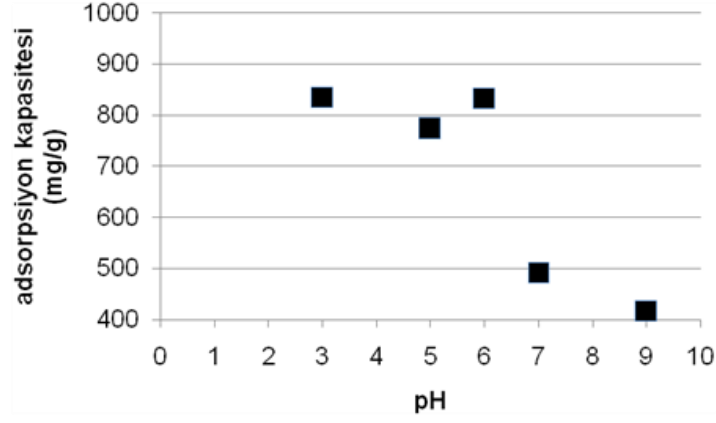
Şekil 3.9 Farklı pH değerlerinde hazırlanan grafen oksit taşıyıcı sistemlerine Sisplatin bağlanıp 10000 rpm dönüş hızında santrifüj uygulandıktan sonra üst fazdan alınan örneklerin dalga boyuna karşı absorbanslarının değişimi.

Çizelge 3.1 Farklı pH değerlerinde GO yüzeylerine bağlanmayan sisplatin Derişimi

pH	Bağlanmayan sisplatin derişimi ($\mu\text{g/ml}$)
3	8.19
5	11.32
6	8.28
7	25.32
9	29.06



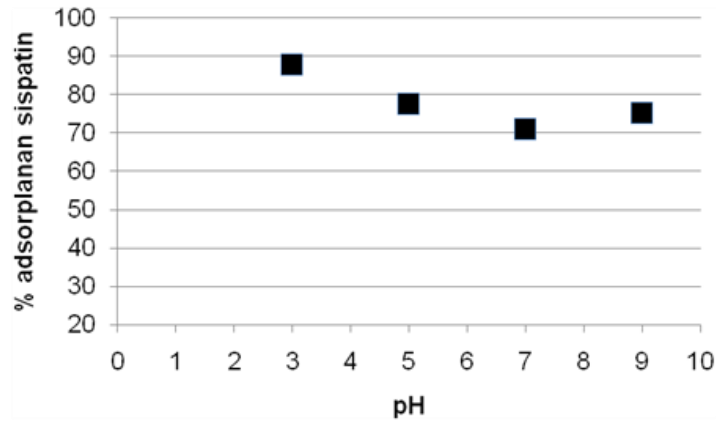
Şekil 3.10 Grafen oksit nanoparçacık yüzeylerine adsorplanan % Sisplatinin pH ile değişimi.



Şekil 3.11 Grafen oksit nanoparçacık yüzeylerine adsorplanan Sisplatin adsorpsiyon kapasitesinin pH ile değişimi

Çizelge 3.2 Farklı pH değerlerinde A-MWCNTs yüzeylerine bağlanmayan sisplatin derişimi.

pH	Bağlanmayan sisplatin derişimi ($\mu\text{g/ml}$)
3	6.15
5	8.54
7	14.41
9	12.32



Şekil 3.12 A-MWCNTs yüzeylerine adsorplanan % Sisplatinin pH ile değişimi

Şekil 3.13, PEG ile fonksiyonlaştırılmış ve fonksiyonlaştırılmamış grafen oksit (GO) ve asit ile muamele edilmiş MWCNTs nanoparçacıkların 50 µg/ml derişiminde serum ve hücre sıvısı içerisinde dağıtılması ile üretilen taşıyıcı sistemlerin iki saat süre ile sonifike edildikten hemen sonraki durumlarını göstermektedir. Şekilden açıkça görüleceği üzere sonifikasyon işleminden hemen sonra gerek PEG ile fonksiyonlaştırılan gerekse fonksiyonlaştırılmayan karbon tabanlı nanoparçacıklar serum ve hücre sıvısı içerisinde kararlı görünmektedir. Buna karşın, Şekil 3.14 ve 3.15’de gösterildiği üzere üretildiklerinden sırası ile bir ve iki gün geçtikten sonra PEG ile fonksiyonlaştırılmamış karbon tabanlı nanotaşıyıcı sistemleri hem serum hem de hücre sıvısı içerisinde kararlılıklarını kaybetmişlerdir. Nanoparçacık yüzeylerine bağlı olan PEG fonksiyonel grubu siterik etki sonucunda nanoparçacıkları dağıtıldıkları taban akışkanları içerisinde kararlı halde tutmaktadırlar. Diğer bir ifade ile nanoparçacık yüzeyleri polimer ile kaplanmış ise, nanotaşıyıcı sistemi birçok organik akışkan içerisinde kararlı olacaktır. Elde edilen bu sonuç PEG-NH₂ fonksiyonel grubun başarı ile karbon tabanlı nanoparçacık yüzeylerine kovalent olarak bağlandığını göstermektedir.

Nanoparçacık yüzeylerine bağlanmış PEG fonksiyonel grubunun fizyolojik ortam sıvılarındaki etkinliğinin araştırılmasında uygulanan diğer bir yöntem ise fonksiyonlaştırılmış ve fonksiyonlaştırılmamış nanotaşıyıcı sistemlerine belli bir dönüş hızında santrifüj uygulamasıdır. Şekil 3.16, PEG ile fonksiyonlaştırılmış ve fonksiyonlaştırılmamış GO ve asit ile muamele edilmiş MWCNTs nanoparçacıkların serum ve hücre sıvısı içerisinde uygulanan 1000 rpm dönüş hızından sonraki kararlılıklarını göstermektedir. Şekil 3.16 (b)’den açıkça görüleceği üzere PEG ile fonksiyonlaştırılan karbon tabanlı nanoparçacıklar uygulanan 1000 rpm dönüş hızından sonra bile hem serum hem de hücre sıvısı içerisinde kararlılıklarını kaybetmemişlerdir.



Şekil 3.13 PEG ile fonksiyonlaştırılmış (soldan ilk dört vial) ve fonksiyonlaştırılmamış GO ve A-MWCNTs nanoparçacıkların serum ve hücre sıvısı içerisine dağıtılması ile üretilen taşıyıcı sistemler.



Şekil 3.14 PEG ile fonksiyonlaştırılmış ve fonksiyonlaştırılmamış GO ve A-MWCNTs nanoparçacıkların serum ve hücre sıvısı içerisine dağıtılması ile üretilen taşıyıcı sistemlerin hazırlandıktan bir gün sonraki görüntüleri.



Şekil 3.15 PEG ile fonksiyonlaştırılmış ve fonksiyonlaştırılmamış GO ve A-MWCNTs nanoparçacıkların serum ve hücre sıvısı içerisine dağıtılması ile üretilen taşıyıcı sistemlerin hazırlandıktan iki gün sonraki görüntüleri.



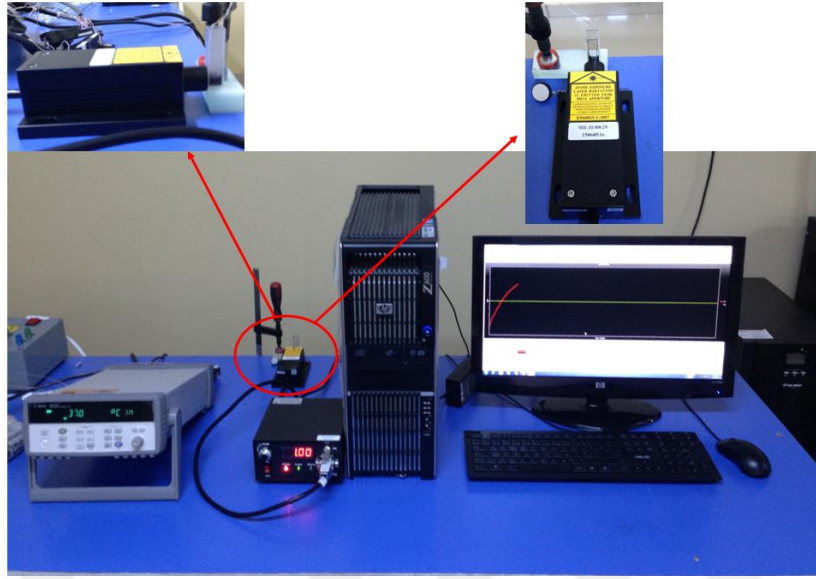
(a)

(b)

Şekil 3.16 PEG ile fonksiyonlaştırılmış ve fonksiyonlaştırılmamış GO ve A-MWCNTs nanoparçacıkların serum ve hücre sıvısı içerisine dağıtılması ile üretilen taşıyıcı sistemlerinin a) santrifüj edilmeden ve b) 1000 rpm dönüş hızında 5 dakika süre ile santrifüj edildikten sonraki durumları

3.3 Karbon tabanlı nanotaşıyıcı sistemlerinin 808 nm dalga boyunda lazer ile uyarılması

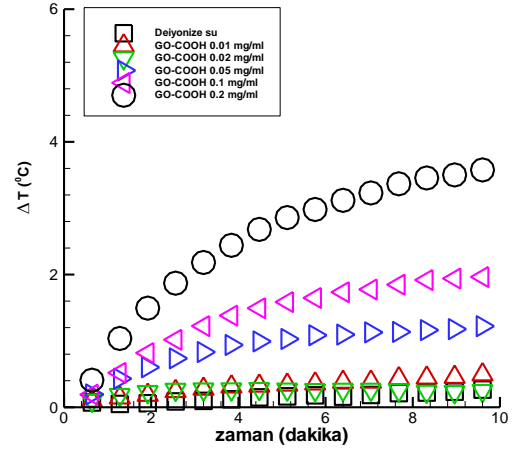
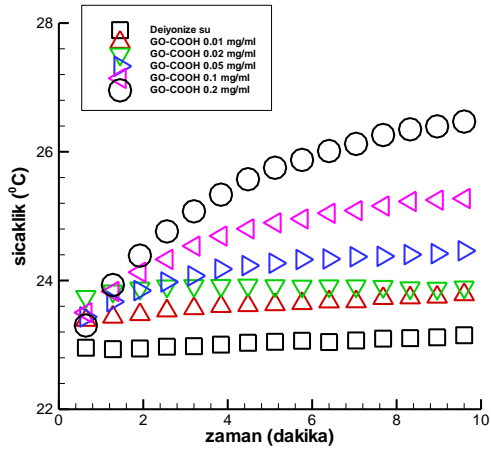
“Giriş” bölümünde detaylandırıldığı üzere Grafen tabanlı nanomalzemelerin üstün mekanik ve elektriksel özelliklerinin yanında yakın kızıl ötesi ışınım dalga boyu aralığındaki (808 nm) ışığı yüksek miktarda absorplama özelliğine sahiptirler. Onların bu özellikleri ışığı ısıya çevirme kapasitelerinin yüksek olduğunu diğer bir ifade ile uygulanacak düşük güç yoğunluklarında bile yüksek sıcaklık artışı elde edilebileceğini göstermektedir. Grafen tabanlı nanomalzemelerin, fototermal özellikleri onların kanser hücrelerinin öldürülmesinde etkin bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir. Şekil 3.17, 0-2 W güç aralığında ve 808 nm dalga boyunda ışın üreten lazer sistemi ile karbon tabanlı nanotaşıyıcıların lazer ile uyarılmasında kullanılan ölçüm düzeneğini göstermektedir. Ölçüm sistemi, karbon tabanlı nanotaşıyıcı sistemlerinin konulduğu 2 ml hacminde quartz malzemeden imal edilmiş vial, 0-2 W güç ve 808 nm dalga boyunda ışık üreten lazer, vial içerisine yerleştirilmiş ve sıcaklık değişimini algılayan j-tipi termal çift ve istenilen zaman aralığında ölçülen sıcaklık verilerini kaydedebilen veri kaydedicisi ile bilgisayardan oluşmaktadır. Uygulanan güç yoğunluğunun karbon tabanlı nanoparçacık üzerindeki etkisini inceleyebilmek amacı ile deneyler 1 W (2.5 W/cm^2), 1.5 W (3.75 W/cm^2) ve 2 W (5 W/cm^2) lazer güçlerinde gerçekleştirilmiştir. Bunların yanı sıra, karbon tabanlı nanoparçacıkların ışığı absorplamadaki etkinliğinin anlaşılabilmesi amacıyla aynı işletim koşullarında deneyler su akışkanı için tekrarlanmıştır. Ölçümlerde vial içerisine 1 ml akışkan konulmuş ve sıcaklık değişimi her 10 saniyede bir 10 dakika süre boyunca kaydedilmiştir.



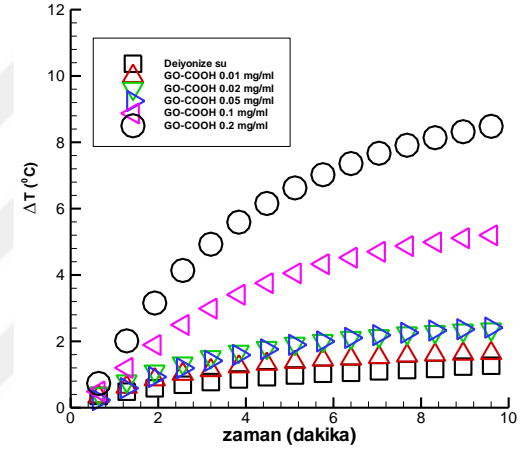
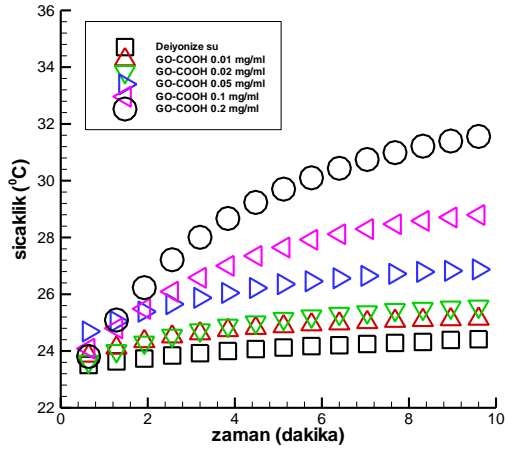
Şekil 3.17 Karbon tabanlı nanotaşıyıcı sistemlerinin lazer ile uyarılmasında kullanılan deney düzeneği.

Şekiller 3.18, 3.19, 3.20 ve 3.21 sırası ile 10-200 $\mu\text{g/ml}$ derişim aralığında grafen oksit (GO-COOH)/DI su, karbon nanotüp nanoşerit (U-MWCNTs)/DI su, PEG-NH₂ ile fonksiyonlaştırılmış karbon nanotüp nanoşerit (U-MWCNTs/PEG)/DI su ve asit ile muamele edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp (A-MWCNTs)/DI su nanotaşıyıcı sistemlerinin 808 nm dalga boyunda 1, 1.5 ve 2 W lazer güçlerinde uyarılması sonucu elde edilen sıcaklık zaman değişimini göstermektedir. Şekillerin sol kolonunda nanotaşıyıcı sistemlerinin zaman ile sıcaklık değişimleri verilirken, sağ kolonda ise her bir ölçümün başlangıç anında ölçülen değerden farkı ($\Delta T^{\circ}\text{C}$) verilmiştir. Taban akışkanı su'ya göre elde edilen sıcaklık artışının berirlenebilmesi için karbon tabanlı nanotaşıyıcı sistemlerine uygulanan işletme koşulları su taban akışkanına uygulanarak deneyler tekrarlanmıştır. Şekiller ayrıntılı olarak irdelendiğinde şu yargılara ulaşılabilir: i) çalışma kapsamında üretilen tüm karbon tabanlı nanotaşıyıcı sistemleri 808 nm dalga boyunda lazer ile uyarılmaları sonucunda su taban akışkanına göre daha yüksek sıcaklık artışı vermişlerdir. Bunun temel sebebi, 808 nm dalga boyunda karbon tabanlı nanomalzemelerin ışığı su'ya göre daha yüksek soğurmasıdır; ii) su taban akışkanı içerisine dağıtılan nanoparçacık miktarı arttıkça, nanotaşıyıcı sistemin ışığı soğurması arttığından sıcaklık artışı artmıştır. Diğer bir ifade ile yüksek derişimlerde daha yüksek sıcaklık farkı elde edilmiştir. Bu durum karbon nanotüp nanoşerit (U-MWCNTs/PEG)/DI

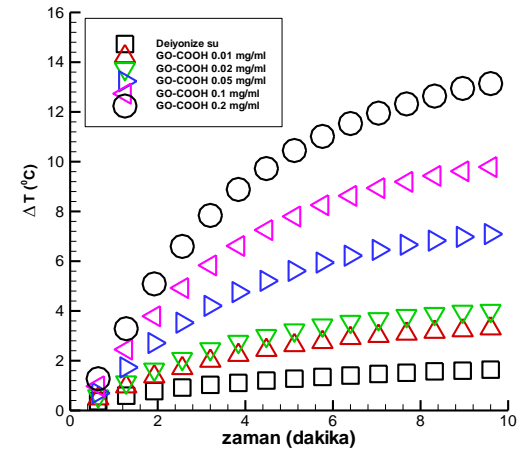
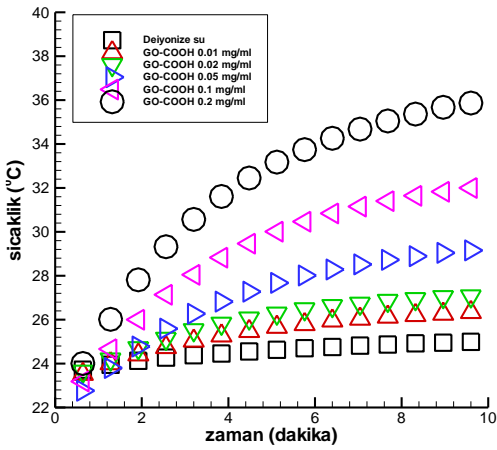
su ve asit ile muamele edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp (A-MWCNTs)/DI su nanotaşıyıcı sistemlerinin yüksek derişimlerinde farklılık göstermiştir. 50 µg/ml derişime kadar sıcaklık artışı derişim ile artar iken bu değerdan sonra tüm derişimler yaklaşık aynı sıcaklık artış değeri vermişlerdir; iii) beklendiğı üzere uygulanan lazer güç yoğunluğı ile sıcaklık artışı doğrusal olmayan bir ilişki ile artmıştır. Örneğın: karbon nanotüp nanoşerit (U-MWCNTs/PEG)/DI su nanotaşıyıcı sistemi 1 W gücünde lazer ile uyarıldığında 50 µg/ml derişim için elde edilen sıcaklık artışı başlangıç'a göre 10 dakika sonra yaklaşık 12⁰C iken bu değeri 2 W lazer güç ile uyarıldığında 37⁰C olarak ölçülmüştür. Sonuç olarak, aynı tip ve derişimde karbon tabanlı nanoparçacık içeren nanotaşıyıcı sistemine uygulanan lazer gücü iki katına çıkarıldığında elde edilen sıcaklık artışı yaklaşık üç kat olmuştur; iv) PEG-NH₂ ile fonksiyonlaştırılan karbon tabanlı nanotaşıyıcı sistemleri, PEG içermeyen nanoparçacıklara kıyasla daha yüksek sıcaklık artışı vermişlerdir.



1 W (2.5 W/cm²)

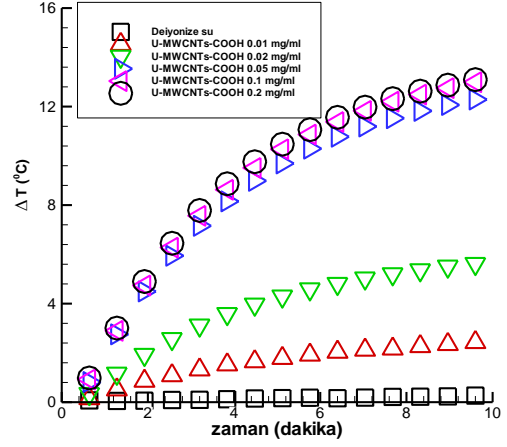
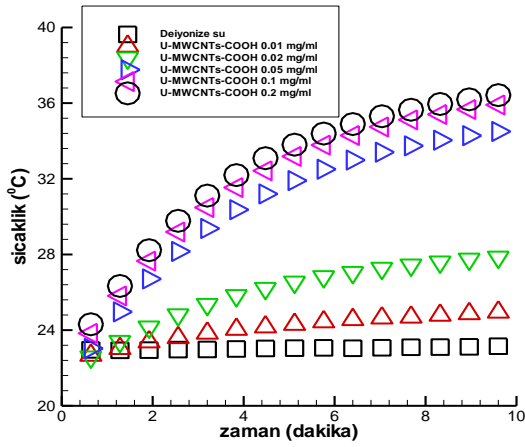


1.5 W (3.75 W/cm²)

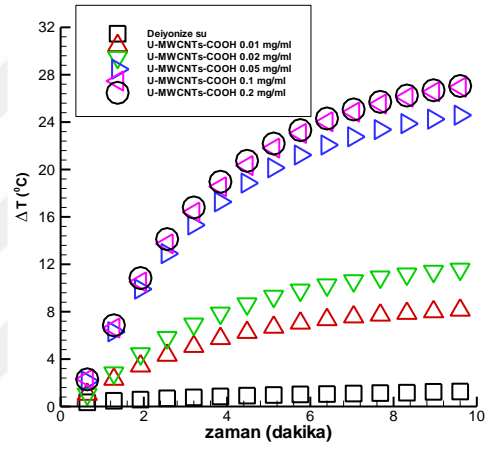
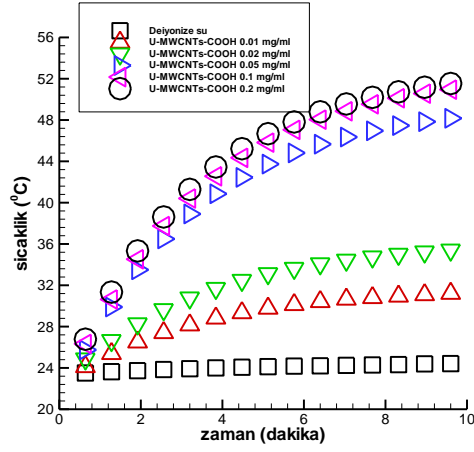


2 W (5 W/cm²)

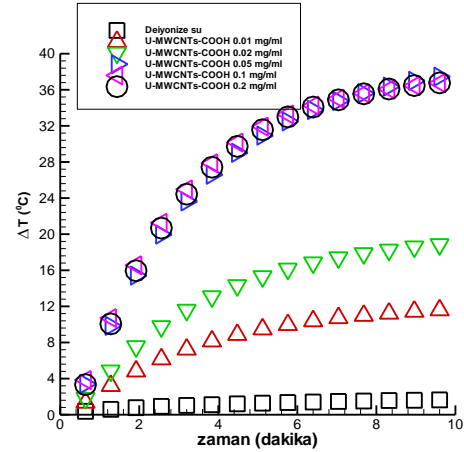
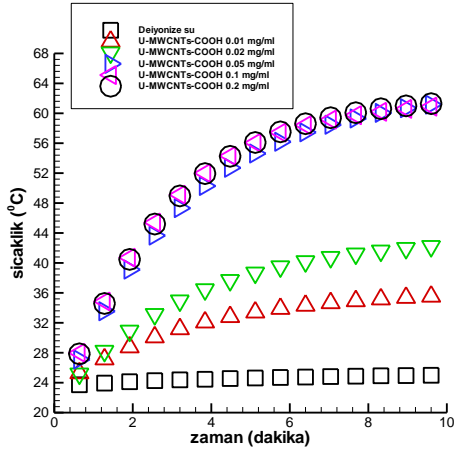
Şekil 3.18 10-200 µg/ml derişim aralığında grafen oksit (GO-COOH)/DI su nanotaşıyıcı sistemlerinin 808 nm dalga boyunda 1, 1.5 ve 2 W lazer güçlerinde uyarılması sonucu elde edilen sıcaklık zaman değişimi.



1 W (2.5 W/cm²)

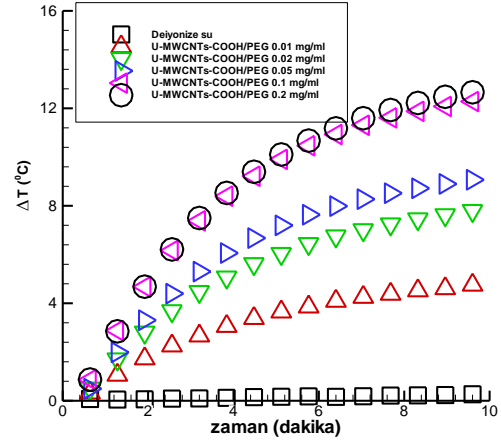
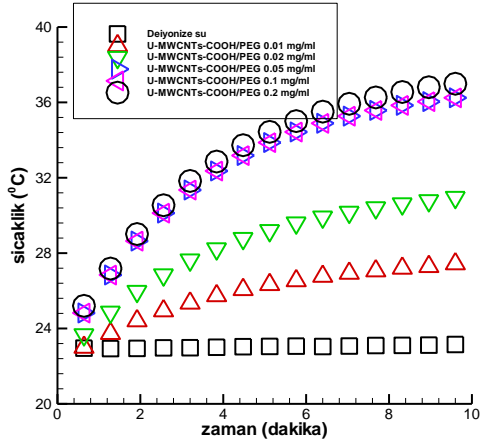


1.5 W (3.75 W/cm²)

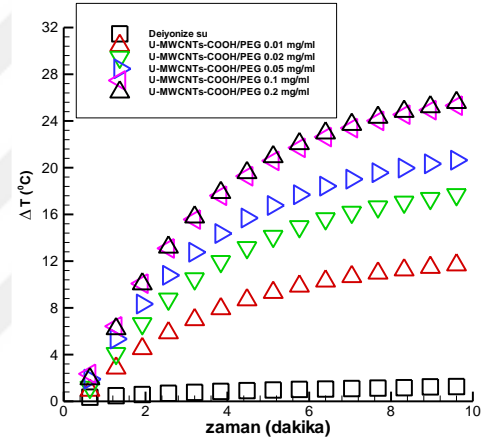
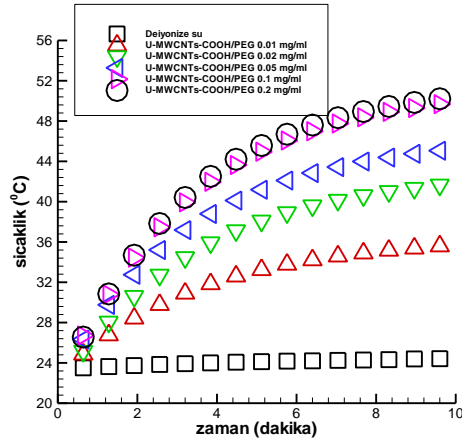


2 W (5 W/cm²)

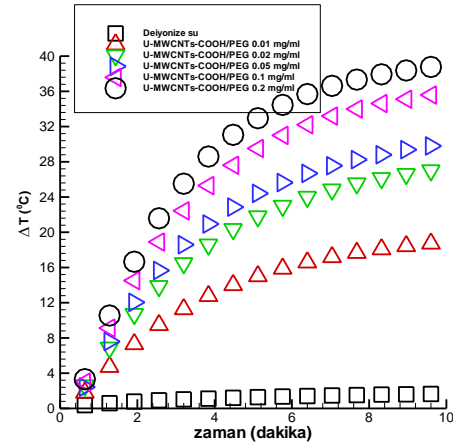
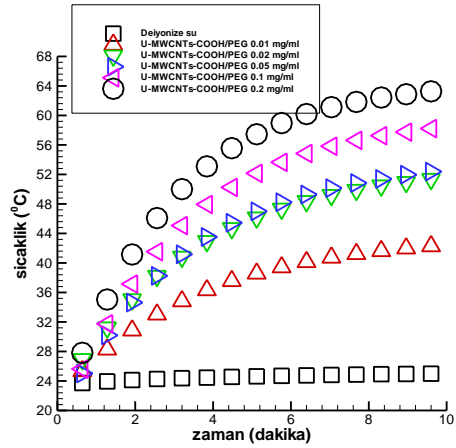
Şekil 3.19 10-200 µg/ml derişim aralığında karbon nanotüp nanoşerit (U-MWCNTs)/DI su nanotaşıyıcı sistemlerinin 808 nm dalga boyunda 1, 1.5 ve 2 W lazer güçlerinde uyarılması sonucu elde edilen sıcaklık zaman değişimi.



1 W (2.5 W/cm²)

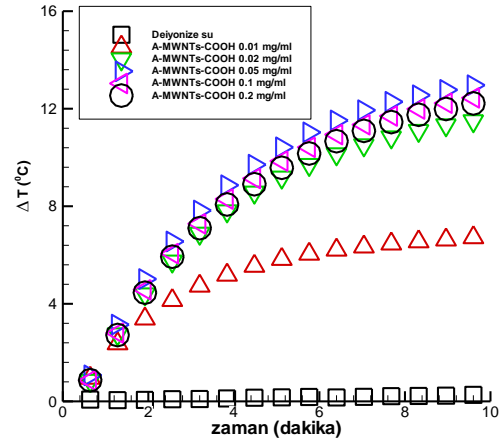
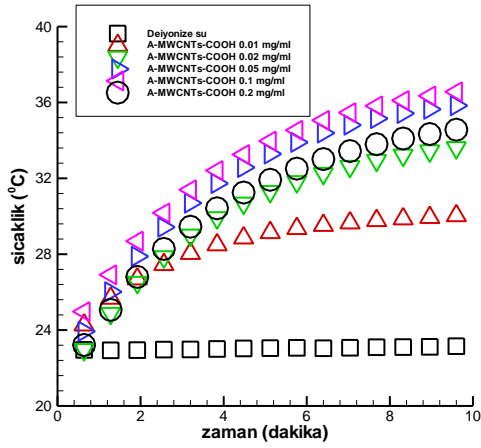


1.5 W (3.75 W/cm²)

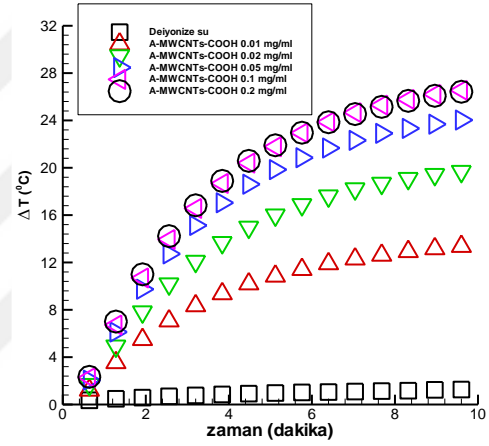
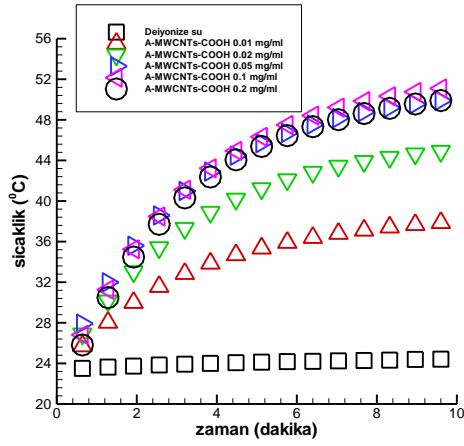


2 W (5 W/cm²)

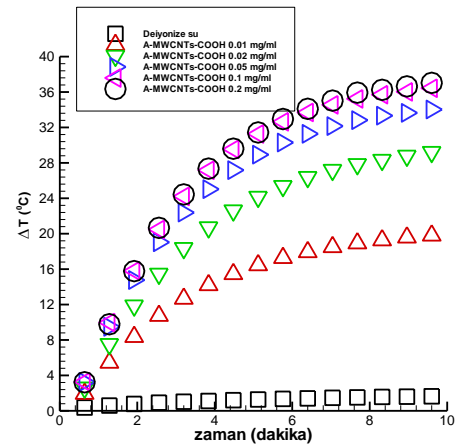
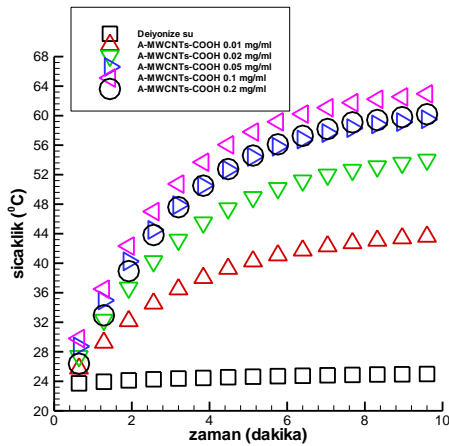
Şekil 3.20. 10-200 µg/ml derişim aralığında PEG-NH₂ ile fonksiyonlaştırılmış karbon nanotüp nanoşerit (U-MWCNTs/PEG)/DI su nanotaşıyıcı sistemlerinin 808 nm dalga boyunda 1, 1.5 ve 2 W lazer güçlerinde uyarılması sonucu elde edilen sıcaklık zaman değişimi



1 W (2.5 W/cm²)



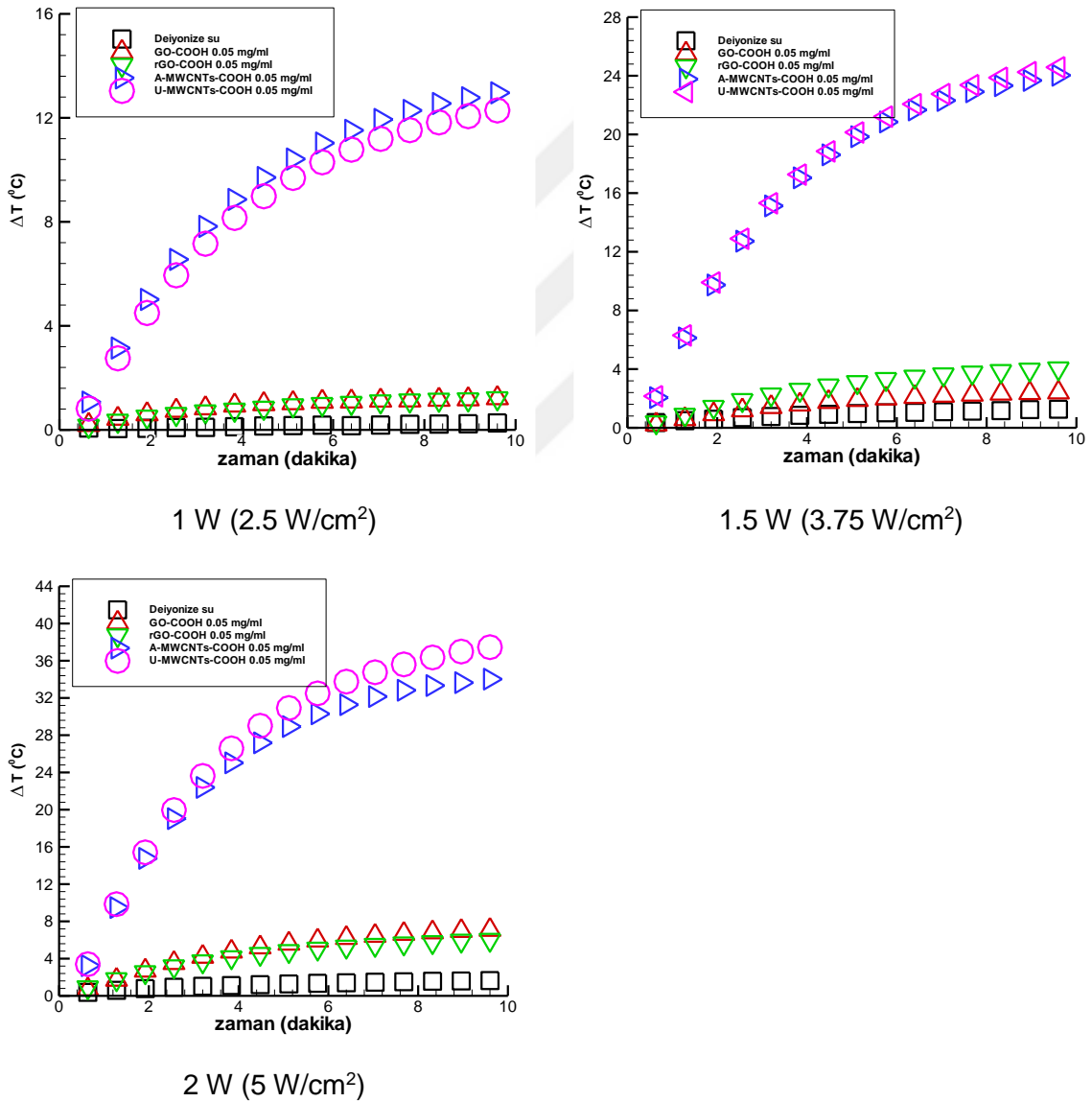
1.5 W (3.75 W/cm²)



2 W (5 W/cm²)

Şekil 3.21 10-200 µg/ml derişim aralığında asit ile muamele edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp (A-MWCNTs)/DI su nanotaşıyıcı sistemlerinin 808 nm dalga boyunda 1, 1.5 ve 2 W lazer güçlerinde uyarılması sonucu elde edilen sıcaklık zaman değişimi.

Şekil 3.22, 50 µg/ml derişimde hazırlanan karbon tabanlı/DI su nanotaşıyıcı sistemlerinin 808 nm dalga boyunda 1, 1.5 ve 2 W lazer güçlerinde uyarılması sonucu elde edilen sıcaklık artışlarının karşılaştırılmasını göstermektedir. Şekillerden de görüleceği üzere karbon nanotüp nanoşerit (U-MWCNTs)/DI su ve asit ile muamele edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp (A-MWCNTs)/DI su nanotaşıyıcı sistemleri tüm lazer uyarılmalarında GO (GO-COOH)/DI su indirgenmiş GO (rGO-COOH)/DI su nanotaşıyıcı sistemlerinden kıyas edilemeyecek oranlarda sıcaklık artışı göstermiştir. Bunun temel sebebinin yukarıda da belirtildiği üzere uyarılan lazer dalga boyunda yüksek miktarda ışığı soğurmalarıdır.



Şekil 3.22 50 µg/ml derişimde hazırlanan karbon tabanlı/DI su nanotaşıyıcı sistemlerinin 808 nm dalga boyunda 1, 1.5 ve 2 W lazer güçlerinde uyarılması sonucu elde edilen sıcaklık zaman değışimlerinin karşılaştırmalı analizi.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Kemoterapi ve radyoterapi çok çeşitli kanserlerin tedavisinde uygulanan temel tedavi yöntemleridir. Kanser hastalarının tamamına yakını tedavileri boyunca kemoterapi, radyoterapi veya her iki tedavi yöntemini birlikte alırlar. Kemoterapi ve radyoterapi, tümörün kontrol ve tedavisinde olumlu etki göstermelerine karşın bilinen birçok dezavantajlara sahiptir. Örneğin kemoterapötik ajanların tümörlü hücreleri öldürecek konsantrasyonlarda tümör mikroçevresine ulaşamamaları, tümör hücrelerinin direnç kazanmaları ve sağlıklı organlardaki hücelere ciddi şekilde zarar vermeleri en önemli sınırlılıklarıdır. Arzu edilen sağlıklı hücelere zarar vermeden düşük konsantrasyonlardaki kemoterapötik ajanı kanserli dokuya yüksek oranda taşıyabilen ve diğer termal, fotodinamik tedavi yöntemleri ile birlikte kullanılabilen sistemlerin geliştirilmesidir. Özellikle nanoteknoloji alanındaki gelişmelere paralel olarak son yıllarda yapılan çalışmalar ile kanser tanı ve tedavisinde etkin yöntemlerin geliştirilmesi hız kazanmıştır. Bu kapsamda önerilen proje, tümörlü bölgeye kemoterapötik ajanı ve ısıyı taşıyabilen polietilen glikol ile fonksiyonlaştırılmış grafen tabanlı nanoilaç sisteminin geliştirilmesini diğer bir ifade ile tümörün yok edilmesinde kemo- ve termalterapi yöntemlerini kombine ederek kullanan metodunun oluşturulmasını amaçlamaktadır. Gerçekleştirilen kapsamlı deneyler ışığında aşağıda maddeler halinde verilen sonuçlara ulaşılmıştır.

- a. Tez kapsamında grafen oksit (GO), indirgenmiş grafen oksit (rGO), karbon nanotüp nanoşerit (U-MWCNT) ve asit ile muamele edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp (A-MWCNT) başarı ile sentezlenerek karakterize edilmiştir.
- b. Gerçekleştirilen kararlılık analizlerinde, karbon tabanlı nanotaşıyıcı komplekslerden indirgenmiş GO en düşük kararlılığa sahip iken karbon nanotüp nanoşerit su taban akışkanı içerisinde en kararlı nanotaşıyıcı kompleks olarak bulunmuştur.
- c. Tez kapsamında sentezlenen GO, karbon nanotüp nanoşerit (Ribbon) ve asit ile muamele edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp nanoparçacıkları ile PEG-NH₂/Karbon nanoparçacık/CDDP nano-ilaç kompleksi üretilmiştir. Bunlara ilaveten PEG-NH₂/Grafen oksit taşıyıcı kompleksine epidermal büyüme faktör reseptörüne (EBFR) yönelik monoklonal antikor olan Setuksimab bağlanarak farklı kemoterapötik ajanların

karbon tabanlı nanoparçacık yüzeylerine bağlanabileceği gösterilmiştir. Çalışmamızda EBFR'e yönelik monoklonal antikorun tedavi dozu kullanılmamıştır. Tümöre ve kişiye özgü olarak değişen moleküler yapıya göre hedeflenmiş bir ajan olarak seçilmiştir. Oral kavite kanser hücreleri yüksek düzeyde epidermal büyüme faktör reseptörü sunarlar. Çalışmamızda epidermal büyüme faktör reseptörüne (EBFR) yönelik monoklonal antikor olan Setuksimab, karbon temelli nanotaşıyıcının bireye özgü olarak hedeflenmesi amacı ile tedavi dozundan düşük doz değerinde kullanılmıştır.

- d. Sabit adsorbant derişiminde (GO veya A-MWCNTs) sisplatinin karbon tabanlı nanoparçacık yüzeylerine adsorplanma kapasitesi 3-9 pH aralığında incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar grafen oksit nanoparçacıkların yüksek adsorpsiyon kapasitesine sahip olduğu ve pH=3 değerinde 1 g GO nanoparçacıkların yaklaşık 836 mg Sisplatin adsorplayabildiğini göstermiştir. Benzer deneyler asit ile muamele edilmiş çok duvarlı karbon nanotüp (A-MWCNTs) nanoparçacıklar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Grafen oksit ve A-MWCNTs nanoparçacıkların sisplatin adsorlama kapasiteleri yaklaşık aynı çıkmıştır.
- e. PEG ile fonksiyonlaştırılmamış karbon tabanlı nanotaşıyıcı kompleksleri hem serum hem de hücre sıvısı içerisinde kararlılıklarını kaybetmişlerdir. Nanoparçacık yüzeylerine bağlı olan PEG fonksiyonel grubu siterik etki sonucunda nanoparçacıkları dağıtıldıkları taban akışkanları içerisinde kararlı halde tutmaktadırlar. Diğer bir ifade ile nanoparçacık yüzeyleri polimer ile kaplanmış ise, nanotaşıyıcı kompleksi birçok organik akışkan içerisinde kararlı olacaktır. Elde edilen bu sonuç PEG-NH₂ fonksiyonel grubun başarı ile karbon tabanlı nanoparçacık yüzeylerine kovalent olarak bağlandığını göstermektedir.
- f. Çalışma kapsamında üretilen tüm karbon tabanlı nanotaşıyıcı kompleksleri 808 nm dalga boyunda lazer ile uyarılmaları sonucunda su taban akışkanına göre daha yüksek sıcaklık artışı vermişlerdir. Uygulanan lazer güç yoğunluğu ile sıcaklık artışı doğrusal olmayan bir ilişki ile artmıştır. Örneğin: karbon nanotüp nanoşerit (U-MWCNTs/PEG)/DI su nanotaşıyıcı kompleksi 1 W gücünde lazer ile uyarıldığında 50 µg/ml derişim için elde edilen sıcaklık artışı başlangıç'a göre 10 dakika sonra yaklaşık 12⁰C iken bu değer 2 W lazer güç ile uyarıldığında 37⁰C olarak ölçülmüştür. Sonuç

olarak, aynı tip ve derişimde karbon tabanlı nanoparçacık içeren nanotaşıyıcı kompleksine uygulanan lazer gücü iki katına çıkarıldığında elde edilen sıcaklık artışı yaklaşık üç kat olmuştur. PEG-NH₂ ile fonksiyonlaştırılan karbon tabanlı nanotaşıyıcı kompleksleri, PEG içermeyen nanoparçacıklara kıyasla daha yüksek sıcaklık artışı vermişlerdir.



KAYNAKLAR

- Ciobotaru C.C.** (2014). “Daman CM., Matep E., Iovu H., Covalent functionalization of graphene oxide with cisplatin”, *Material Plastice*, 51, 75-80.
- Deng X.J., Lu L.I., Li H.W., Luo F.** (2010). “The adsorption properties of Pb(II) and Cd(II) on functionalized graphene prepared by electrolysis method”, *J. Hazard. Mater.*, 183, 923-930.
- Gao W., Alemany L.B., Ci L., Ajayan P.M.** (2009). “New insights into the structure and reduction of graphite oxide”, *Nat Chem*, 1(15): 403-408.
- Hervault A., Thanh NTK.** (2014). “Magnetic nanoparticles-based therapeutic agents for thermo-chemotherapy treatment of cancer”, *Nanoscale*, 6, 11553-11573.
- Hudson D.E., Hudson D.O., Wininger J.M., Richardson B.D.** (2013). “Penetration of laser light at 808 and 980 nm in bovine tissue samples”, *Photomedicine and Laser Surgery*, 31, 163-168.
- Ji S.R., Liu C., Zhang B., Yang F., Xu J., Long J., Jin C., Fu D.I., Ni Q.X., Yu X.J.** (2010) “Carbon nanotubes in cancer diagnosis and therapy”, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1806, 29-35.
- Jung H.S., Kong W.H., Sung D.K., Lee M.Y., Beack S.E., Keum D.H., Kim K.S., Yun S.H., Hahn S.K.** (2014). “ Nanographene oxide-hyaluronic acid conjugate for photothermal ablation therapy of skin cancer”, *ACS NANO*, 8, 260-268.
- Li J.L., Hou X.L., Bao H.C., Sun L., Tang B., Wang J.F., Wang X.G., Gu M.** (2014). “Graphene oxide nanoparticles for enhanced photothermal cancer cell therapy under the irradiation of a femtosecond laser beam”, *Journal of Biomedical Materials Research A*, 102A, 2181-2188.
- Liu G., Shen H., Mao J., Zhang L., Jiang Z., Sun T., Lan Q., Zhang Z.** (2013). “Transferin modified oxide for Glioma-targeted drug delivery: In vitro and in vivo evaluations”, *Applied Materials & Interfaces*, 5, 6909-6914.
- Liu Z., Robinson J.T., Sun X., Dai H.** (2008). “PEGylated nanographene oxide for delivery of water-insoluble cancer drugs”, *Journal of American Chemical Society*, 130, 10876-10877.
- Lu Y.J., Lin C.W., Yang H.W., Lin K.J., Wey S.P., Sun C.L., Wei K.C., Yen T.C., Li C.I., Ma C.C.M.** (2014). “Biodistribution of PEGylated graphene oxide nanoribbons and their application in cancer chemo-photothermal therapy”, *Carbon*, 74, 83-95.

- Marcano D.C., Kosynkin D.V., Berlin J.M., Sinitskii A., Sun Z., Slesarev A., Alemany L.B., Lu W., Tour J.M.** (2010). “Improved synthesis of graphene oxide”, *ACS NANO*, 4, 4806-4814.
- Marcato P.D., Favaro W.J., Duran N.** (2014). “Cisplatin Properties in a nanobiotechnological approach to cancer: A mini-review”, *Current Cancer Drug Targets*, 14, 458-476.
- Markovic Z.M., H-Trajkovic L.M., T-Markovic B.M., Kepic D.P., Arsić K.M., Jovanovic S.P., Pantovic A.C., Dramićanin M.D., Trajkovic V.** 2011. “In vitro comparison of the photothermal anticancer activity of graphene nanoparticles and carbon nanotubes”, *Biomaterials*, 32, 1121-1129.
- Miao W., Shim G., Lee S., Lee S., Choe Y.S.** (2013). “Safety and tumor accumulation of pegylated graphene oxide nanosheets for co-delivery of anticancer drug and photosensitizer”, *Biomaterials*, 34, 3402-3410.
- Novolesov K.S., Geim A. K., Morozov S. V., Yiang D., Zhang Y., Dubonos S. V., Grigorieva I. V., Firsov A.A.** (2004). “Nomenclature and terminology of graphite intercalation compounds”, *Science*, 306, 666.
- Robinson J.T., Tabakman S.M., Liang Y., Wang H., Casalongue H.S., Vinh D., Dai H.** (2011). “Ultrasmall reduced graphene oxide with high near-infrared absorbance for photothermal therapy”, *Journal of American Chemical Society*, 133, 6825-6831.
- Siegel R., Ma J., Zou Z., Jemal A.** (2014). “Cancer statistics, 2014”, *CA Cancer Journal for Clinicians*, 64, 9–29.
- Some S., Gwon A.R., Hwang E., Bahn H-hee., Yoon Y., Kim Y., Kim S.H., Bak S., Yang J., Jo D.G., Lee H.** (2014). “Cancer therapy using ultrahigh hydrophobic drug-loaded graphene derivatives”, *Scientific Reports*, 4:6314.
- Stewart B.W., Wild C.P.** (2014). “World Cancer Report 2014”, Lyon, France: International agency for research on cancer.
- Tian L., Pei X., Zeng Y., He R., Li Z., Wang, Wan Q., Li X.** (2014). “Functionalized nanoscale graphene oxide for high efficient drug delivery of cisplatin”, *Journal of Nanoparticle Research*, 16:2709.
- Tian B., Wang C., Zhang S., Feng L., Liu Z.** (2011). “Photothermally enhanced photodynamic therapy delivered by nano-Graphene oxide”, *ACS Nano*, 5, 7000-7009.

- Wang H., Gu W., Xiao N., ye L., Xu Q.** (2014), Clorotoxin-conjugated graphene oxide for targeted delivery of an anticancer drug, *International Journal of Nanomedicine*, 9, 1433-1442,.
- Wu C., He Q., Zhu A., Li D., Xu M., Yang H., Liu Y.** (2014). “Synergiestic anticancer activity of photo-and chemoresponsive nanoformulation based polylysine-functionalized graphene”, *ACS Applied Materials&Interfaces*, 6, 21615-21623.
- Wu S., Zhao X., Cui Z., Zhao C., Wang Y., Du L., Li Y.** (2014). “Cytotoxicity of graphene oxide and graphene oxide loaded with doxorubicin on human multiple myeloma cells”, *International Journal of Nanomedicine*, 4:9, 1413-1421.
- Wu S., Zhao X., Li Y., Du Q., Sun J., Wang Y., Wang X., Xia Y., Wang Z., Xia L.** (2013). “Adsorption properties of Doxorubicin hydrochloride onto graphene oxide: equilibrium, kinetic and thermodynamic studies”, *Materials*, 6, 2026-2042.
- Yang H.W., Lu Y.J., L K.J., Hsu S.C., Huang C.Y., She S.H., Liu H.L., Lin C.W., Xiao M.C., Wey S.P., Chen P.Y., Yen T.C., Wei K.C., Ma C.C.M.** (2013). “EGFR conjugated PEGylated nanographene oxide for targeted chemotherapy and photothermal therapy”, *Biomaterials*, 34, 7204-7214.
- Yang K., Wan J., Zhang S., Tian B., Zhang Y., Liu Z.** (2012). “The influence of surface chemistry and size of nanoscale graphene oxide on photothermal therapy of cancer using ultra-low laser power”, *Biomaterials*, 33, 2206-2214.
- Yang K., Zhang S., Zhang G., Sun X., Lee S.T., Liu Z.** (2010). “Graphene in mice: Ultrahigh in vivo tumor uprake and efficient ohoothermal therapy”, *Nano Letters*, 10, 3318-3323.
- Yang Y., Asiri A.M., Tang Z., Du D., Lin Y.** (2013). “Graphene based materials for biomedical applications”, *Materials Today*, 16: 365-373.
- Yanwu Z., Murali S., Cai W., Li X., Suk J.W., Potts J.R., Ruoff R.S.** (2010). “Graphene and Graphene Oxide: Synthesis, Properties, and Applications”, *Adv. Mater.*, 22, 3906–3924.
- Zhang W., Guo Z., Huang D., Liu Z., Gua X., Zhong H.** (2011). “Synergistic effect of chemo-photothermal therapy using PEGylated graphene oxide”, *Biomaterials*, 32, 8555-8561.
- Zhou T., Zhou X., Xing D.** (2014). “Controlled release of doxorubicin from graphene oxide based charge-reversal nanocarrier”, *Biomaterials*, 35, 4185-4194.

Zhou L., Zhou L., we S., Ge X., Zhou J., Jiang H., Li F., Shen J. (2014). “Combination of chemotherapy and photodynamic therapy using graphene oxide as drug delivery system”, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 135, 7-16.

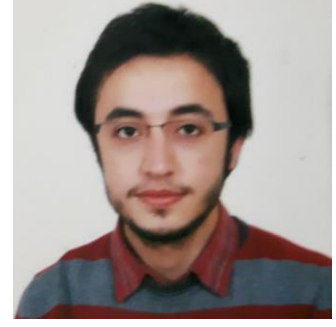
Zhu S., Zhen H., Li Y., Wang P., Huang X., Shi P. (2014). “PEGylated graphene oxide as a nanocarrier for podophyllotoxin”, *Journal of Nannoparticle Research*, 16.

Zhuang L., Robinson J.T., Sun X., Dai H. (2008). ‘PEGylated nanographene oxide for delivery of water-insoluble cancer drugs’, *JACS*, 130, 1079-10877.





ÖZGEÇMİŞ



KİŞİSEL BİLGİLER

Sefa DUMAN
SİVAS 23.07.1990
Esentepe Mahallesi 7.sokak
No:25 Merkez/SİVAS
05069445770
sefadumn@gmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

- Lisans Fırat Üniversitesi, Elazığ
Biyomühendislik, 2013
- Yüksek Lisans Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas
Enerji Sistemleri Mühendisliği
Enerji Bilimi ve Teknolojisi Mühendisliği ABD, 2017

İŞ TECRÜBESİ

- Kayseri İleri Biyolojik Atıksu Arıtma Tesisi, Stajyer Mühendis, 2012
- Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Uygulama ve Araştırma Hastanesi
Biyokimya Labaratuvarı, Sivas 2013

BULUNDUĞU PROJELER

- 115S037 numaralı TÜBİTAK Projesi 115S037
Oral Kavite Kanserinin Tedavisinde Sisplatin Yüklenmiş Grafen Tabanlı
Nanomalzemelerle Kombine Edilen Pulsed Lazer Hiperterminin Etkisinin
Değerlendirmesi
- Yüksek Lisans Tez ProjesiKanser tedavisinde grafen tabanlı ilaç taşıyıcı sisteminin
geliştirilmesi(115S037 numaralı TÜBİTAK projesi destekli)

ULUSAL BİLDİRİLER

- Görkem Eskiizmir, Yasemin Baskın, Şeniz İnanç, Sefa Duman, Gizem Çalıbaşı Koçal, Gizem Karaca, Kerim Yapıcı. Oral Kavite Kanserinde Pulsed Lazerle Uyarılmış Aktif Hedeflenmiş Grafen Oksit Setüksimab Nano-İlaç Kompleksinin Yarattığı Kemofototermal Etkinin İncelenmesi, 22. ULUSAL KANSER KONGRESİ, 2017.

