

Fe₃O₄@κ-KRG-aşı-PDMAEMA manyetik nanopartiküllerden pH kontrollü doksorubisin salımı

Gülcan Geyik^{1*}, Nuran Işıklan²

¹Hitit Üniversitesi, Alaca Ayni Çelik Meslek Yüksekokulu, Mülkiyet Koruma ve Güvenlik Bölümü, Çorum, Türkiye
²Kırıkkale Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Kırıkkale, Türkiye

*Corresponding author : gulcan_gyk@hotmail.com
Orcid No: <https://orcid.org/0000-0003-4558-9288>

Received : 19/12/2021
Accepted : 14/04/2022

Özet: Son yıllarda manyetik yapıları biyouyumlu nanoparçacıkların kanser tedavisinde etkinliği artmaktadır. Hedefli ilaç salım sistemi, geleneksel kanser tedavi yöntemlerinin yan etkilerini azaltmakta ve tedavi etkinliğini artırması sebebiyle yakın zamanda umut verici kanser tedavisi olarak ortaya çıkmaktadır. Çalışmamızda hibrit yapıları manyetik nanopartiküller sentezlenmiştir. Nanopartiküller anorganik yapıları demir oksit çekirdeği (Fe₃O₄) ve organik yapıları kopolimerden (κ-KRG-aşı-PDMAEMA) oluşmaktadır. Manyetik nanopartiküllerin yapıları UV ve Zeta-sizer ile karakterize edilmiştir. Sentezlenen Fe₃O₄@κ-KRG-aşı-PDMAEMA nanopartiküllerine anti-tümör etkiye sahip kanser ilacı doksorubisin (DOX) yüklenerek Fe₃O₄@κ-KRG-aşı-PDMAEMA@DOX manyetik nanopartikülleri elde edilmiştir. İlaç yüklü manyetik nanopartiküllerin fosfat tamponunda (pH 7,4), asetat tamponunda (pH 5,5) ve asidik ortamda (pH 1,2) 37 °C'de *in vitro* salımı incelenmiştir. Sentezlenen Fe₃O₄@κ-KRG-aşı-PDMAEMA@DOX manyetik nanopartiküllerin pH'ya duyarlı olduğu ve yüksek salım performansına sahip olduğu gösterildi. Fe₃O₄@κ-KRG-aşı-PDMAEMA@DOX nanopartiküllerin DOX salımı pH 7,4, pH 5,5 ve pH 1,2 ortamlarında sırası ile %66,53, %70,08 ve %90,47 bulunmuştur. Manyetik nanopartiküllerin kinetik hesaplamaları yapılmıştır. Manyetik nanopartiküllerin demir içeriği %66,77 bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Manyetik nanopartikül, doksorubisin, kopolimer, demir oksit

pH controlled release of doxorubicin from Fe₃O₄@κ-CRG-graft-PDMAEMA magnetic nanoparticles

Abstract: In recent years, the effectiveness of magnetically biocompatible nanoparticles in cancer treatment has been increased. Targeted drug delivery system has recently emerged as a promising cancer treatment because it reduces the side effects of traditional cancer treatment methods and increases the effectiveness of treatment. In our study, hybrid magnetic nanoparticles were synthesized. Nanoparticles consist of an inorganic iron oxide core (Fe₃O₄) and an organic copolymer (κ-CRG-graft-PDMAEMA). The magnetic nanoparticles' structure was characterized by UV and Zeta-sizer techniques. Fe₃O₄@κ-CRG-graft-PDMAEMA@DOX magnetic nanoparticles were obtained by loading the anti-tumor cancer drug doxorubicin (DOX) on the synthesized Fe₃O₄@κ-CRG-graft-PDMAEMA nanoparticles. The *in vitro* release of drug-loaded magnetic nanoparticles in phosphate buffer (pH 7.4), acetate buffer (pH 5.5) and acidic medium (pH 1.2) at 37 °C was investigated. It has been shown that the synthesized Fe₃O₄@κ-CRG-graft-PDMAEMA@DOX magnetic nanoparticles are pH sensitive and have high release performance. The DOX release of Fe₃O₄@κ-CRG-graft-PDMAEMA@DOX nanoparticles in pH 7.4, pH 5.5 and pH 1.2 mediums was found to be 66.53%, 70.08% and 90.47% s, respectively. Kinetic calculations of magnetic nanoparticles were made. The iron content of magnetic nanoparticles was found to be 66.77%.

Anahtar Kelimeler: Manyetik nanopartikül, doksorubisin, kopolimer, demir oksit

1. Giriş

Nanoteknoloji kimya, biyoloji, fizik, mühendislik ve tıbbi alanları birleştiren geniş kapsamlı bir araştırma alanıdır (Gao ve ark. 2012; Jabir ve ark. 2012). Bu araştırma alanı

nanometre boyutundaki malzemelerin yapısını, davranışını ve uygulamalarını kapsamaktadır (Alexis ve ark. 2008). Hızla gelişmekte olan nanoteknoloji, dünya çapında bilim dünyasının ilgisini kazanmıştır (Jabir ve ark. 2012). Son

yıllarda kanser hastalığının tedavisine yenilikçi çözümler sunma potansiyeline sahiptir. Nano ölçekli materyallerin en önemli biyomedikal uygulamaları, moleküler görüntüleme, ilaç dağıtım, gen iletim, hedefli ilaç serbestleştirme, biyomarkır haritalama ve fototerapi alanlarını içermektedir (Bae ve ark. 2011).

Manyetik nanoparçacıklar genellikle geçiş metali demir, nikel ve mangan gibi manyetik elementlerden oluşur. Günümüzde manyetik nanoparçacıklar biyoteknoloji alanında örneğin; kanser hipertermia, hedefli ve kontrollü ilaç salımı, NMR görüntüleme, in vivo ve in vitro uygulamalarda geniş yer tutmaktadır (Akbarzadeh ve ark. 2012; Nene ve ark. 2016; Singamaneni ve ark. 2011). Manyetik hedefli ilaç dağıtım sistemi günümüzde çokça uygulanmakta ve etkili bir sistem olarak kabul görmektedir. Oral veya enjeksiyon yoluyla hastaya verilen manyetik materyal taşıyan ilaç, dış manyetik alanla kanser alanlarına yönlendirilebilecektir (Yang ve ark. 2014). Manyetik alan tarafından yönlendirilme, ilaç taşıyıcılarını etkili bir şekilde tümör dokularına sürükleyerek ilaç verme verimliliğini artıracaktır (Yang ve ark. 2008).

Kontrollü ilaç salımı; ilacı belirli dozda, belirli süre vücutta tutabilme prensibine dayanmaktadır (Danckwerts ve Fassih 1991). Etken madde salımı konvansiyonel dozaj şekillerine göre uzun bir süreçte devam etmektedir (Tüylek 2017). Kanser tedavisinde kullanılan birçok ilaç kanserli hücrelere özel olmadığı için sağlıklı hücrelere de zarar verebilmektedir. Bu sorunu aşmak için, manyetik nanopartiküller terapötik maddeleri istenilen hedef bölgeye iletmede kullanılabilir. Manyetik nanoparçacıklar dışardan uygulanan bir dış manyetik alan ile spesifik bölgede tutulabilir (Indira ve Lakshmi 2010). Kontrollü ilaç salımının avantajları manyetik nanopartiküllerin üstün özellikleri ile birleşince yan etkileri azaltılmış olur, doz aşımı engellenmiş ve tedavi için gerekli konsantrasyon aralığında ilaç seviyesi sağlanmış olmaktadır (Ruuge ve Rusetski 1993).

Doksorubisin (DOX), kanser tedavisinde kullanılan anti-tümör etkiye sahip bir ilaçtır (Huang ve ark. 2017; Zhang ve ark. 2017). Kanser tedavisinde etkinliği oldukça yüksektir (Patil ve ark. 2012). Meme kanseri, yumurtalık kanseri, akciğer kanseri, nöroblastoma kanseri, lösemi gibi kanserin tedavisinde en çok kullanılan ilaçlardan biridir.

Bu çalışmanın amacı kanser tedavisinde kullanılmak üzere hibrit yapılı nanopartikül tasarlamaktır. Çekirdek (Fe_3O_4)-kabuk (kappa-karagenan-aşı-dimetilaminoetil metakrilat) yapılı hibrit nanopartiküller sentezlenerek doksorubisinin yan etkilerinin azaltılması ve böylece terapötik etkinliğinin artırılması hedeflendi. Bu amaca ulaşmak için ilk olarak kappa-karagenan-aşı-poli(dimetilaminoetil metakrilat) kopolimeri serbest radikal katılma polimerizasyon yöntemi ile sentezlendi. Daha sonra kopolimer kaplı manyetik nanopartiküller mikrodalgada ikili çöktürme yöntemi ile sentezlenerek doksorubisin yüklendi. İlaç yüklü manyetik nanopartiküllerin tutuklanma verimi ve ilaç yükleme kapasiteleri hesaplandı ve nanopartiküllerin pH duyarlılığı araştırıldı.

2. Materyal ve Metod

2.1. Materyal

κ-Karagenan (KRG, %98), N,N-dimetilaminoetil metakrilat (DMAEMA, %98), $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ (%99), $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (%99), etanol (\geq %99,8) Sigma-Aldrich firmasından temin edildi. Doksorubisin (DOX) Santa Cruz Biotechnology Inc. firmasından temin edildi. N,N-dimetilaminoetil metakrilat 65 °C'de destillendikten sonra kullanıldı ve diğer kimyasalların hepsi alındığı halleriyle kullanılmıştır.

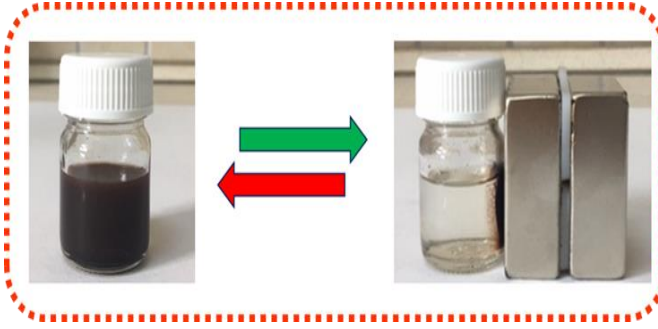
2.2. κ-KRG-aşı-PDMAEMA Kopolimerin Sentezi

Aşılama işlemi azot gazı atmosferinde, üç boyunlu balonda, geri soğutucu altında ve mikrodalga fırında gerçekleştirildi. Karagenan çözeltisi saf su içerisinde, 70 °C sıcaklığında 3 saat karıştırılarak elde edildi. Çözeltiye destillenmiş farklı miktarlarda N,N dimetilaminoetil metakrilat ilave edildi. Mikrodalga fırında 500 watta, 70 °C'de 30 dakika süreyle azot gazı geçirilerek ve daha sonra karışıma başlatıcısı 4,4'-Azobis (4-siyanovalerik asit) ilave edilerek tepkime başlatıldı. Tepkime süresince ortamdan azot gazı geçirilmeye devam edildi. Oluşan ürünler metanolde (500 mL) çöktürüldü ve süzülerek elde edilen ürün, homopolimerin uzaklaştırılması amacıyla Soxhlet içerisinde tetrahydrofuran (120 mL) yıkandı. Homopolimeri uzaklaştırılan aşı kopolimer 40 °C'de vakum etüvünde sabit tartıma gelene kadar kurutuldu. Aşı yüzdesi aşağıdaki Eşitlik 1 yardımıyla kütle artışından hesaplanmıştır. Elde edilen kopolimerin karakterizasyonu daha önceki çalışmamızda sunulmuştur (Geyik ve Işıklan 2022).

$$\text{Aşı yüzdesi} = (\text{kopolimer kütlesi} - \text{polimer kütlesi}) / \text{polimer kütlesi} \times 100 \quad (1)$$

2.3. κ-KRG-aşı-PDMAEMA Kopolimerinden Manyetik Nanopartikül Sentezi

κ-KRG-aşı-PDMAEMA kopolimerleri deoksijene suda 70 °C'de manyetik karıştırıcı yardımıyla 1 saatte çözüldü. Çift boyunlu balonda kopolimer çözeltisi 70 °C, asitlendirilmiş $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ tuzundan 5 mL, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ tuzundan 1 ($nFe^{+2}/nFe^{+3} = 0,625/1$ olacak şekilde) ilave edilerek azot atmosferinde, mikrodalgada 500 watta, yarım saat karıştırıldı. Çözeltiye KOH (1 M) ilave edildi. Çözelti azot atmosferinde, 70 °C'de, 500 watta 1 saat mikrodalgada karıştırıldı. Magnet yardımıyla manyetik özelliğe sahip olan nanopartiküllerle olmayan nanopartiküller birbirinden ayrıldıktan sonra manyetik nanopartiküller etanol/deoksijene su karışımı ile yıkandı. Elde edilen Fe_3O_4 @κ-KRG-aşı-PDMAEMA nanopartikülleri etüvde 40 °C'de 48 saat kurutuldu. İlaç yüklü nanopartiküller hazırlanırken kopolimer karışımına 5 mg DOX ilave edilerek oluşturuldu. Oluşan nanopartiküller sabit tartıma gelene kadar kurutuldu. Manyetik nanopartiküllerin mıknatıs yardımı ile toplanma görüntüsü Şekil 1'de sunulmuştur.



Şekil 1. Manyetik nanopartiküllerin mıknatıs varlığında toplanması

2.4. Tutuklanma Verimi (TV)

Tutuklanma verimi hesaplanması için ilaç yüklü nanopartiküllerden 5 mg alınarak 25 mL pH 7,4 ($H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$) tamponu ilave edildi ve 25 °C'de 100 rpm hızda çalkalamalı su banyosunda 4 saat boyunca bekletildi. Elde edilen ekstrakt süzülerek DOX içeriği UV spektrofotometresi ile DOX'un maksimum absorpsiyon gösterdiği dalgaboyu olan 499 nm'de tayin edildi. Tutuklanma verimi çalışmaları her bir formülasyondaki ilaç yüklü nanopartiküller için üçer defa tekrarlanarak hesaplandı.

Nanopartiküllerin DOX yükleme kapasitesi Eşitlik 2 ve DOX'un tutuklanma verimi Eşitlik 3 ile hesaplandı.

İlaç Yükleme Kapasitesi (%)= (Nanopartiküldeki deneysel ilaç miktarı)/(Nanopartikül miktarı)×100 (2)

Tutuklanma Verimi (%)=(Nanopartiküldeki deneysel ilaç miktarı)/(Nanopartiküldeki teorik ilaç miktarı)×100 (3)

2.5. Manyetik Nanopartiküllerin İn Vitro İlaç Salımı

$Fe_3O_4@κ\text{-KRG-aşı-PDMAEMA@DOX}$ manyetik nanopartiküllerinden belirli miktarda alınarak, farklı pH ortamlarında (fosfat tamponu (pH 7,4), asetat tamponunda (pH 5,5) ve asidik ortamda (pH 1,2)), 37 °C'de *in vitro* salımı 24 saat boyunca incelendi. Tüm salım deneyleri çalkalamalı su banyosunda 100 rpm hızda gerçekleştirildi. Belirli zaman aralıklarında 200 µL örnekler alındı ve toplam hacmi korumak için aynı miktarda tampon salım ortamına ilave edildi. Her bir deney 3 kez tekrarlandı ve standart sapmaları hesaplandı.

2.6. Manyetik Nanopartiküllerin Zeta Potansiyeli ve Partikül Boyutu Ölçümü

$Fe_3O_4@κ\text{-KRG-aşı-PDMAEMA}$ ve $Fe_3O_4@κ\text{-KRG-aşı-PDMAEMA@DOX}$ manyetik nanopartiküllerin zeta potansiyeli, partikül boyutu ve polidispersite indeksleri 1 mg manyetik nanopartikül 2 mL farklı pH ortamlarında (fosfat tamponu (pH 7,4), asetat tamponu (pH 5,5) ve asidik ortamda (pH 1,2)) hazırlanarak 25 °C'de ölçüldü.

2.7. Demir İçeriği Tayini

ICP-OES cihazı kullanılarak elde edilen manyetik nanopartiküllerin Fe_3O_4 miktarı tayin edildi. Numuneler ve 0-1-2-3-5-10-20 ppm'lik kalibrasyon için standart çözeltileri Plasma Power 1435 W, Pump Speed 30 rpm, Coolant Flow 0,80, Nebulizer Flow 0,70 cihaz şartlarında

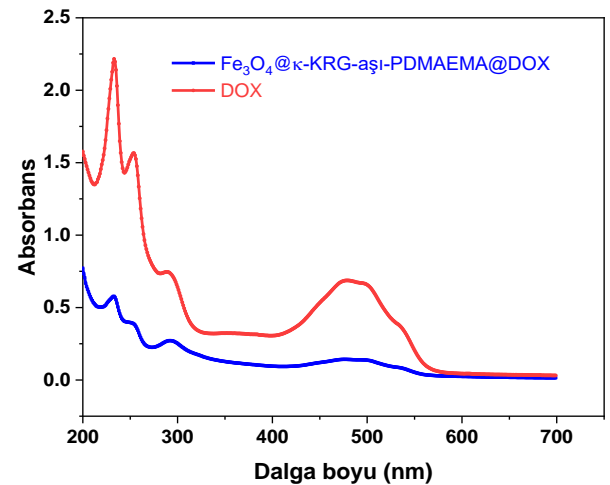
okutularak kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. (R2:0.9999). Numuneye uygulanan işlemler şu şekildedir; 0,01 g örneğe 10 mL HNO_3 eklendi ve CEM MARS6 mikrodalga cihazında Carbon Metodu kullanılarak; power: 290-1800, ramp time: 20:00, hold time: 15:00 ve sıcaklık:200 °C cihaz koşullarında yıkama işlemi yapılmıştır. Yıkama işlemi sonrası toplam hacim 50 mL olacak şekilde seyreltilerek yukarıda belirlenen ICP-OES cihaz koşulları altında okuma işlemi yapılmıştır.

2.8. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizi SPSS 16,0 yazılımı, ANOVA testi (IBM, NY, ABD) ile yapıldı. (P) < 0,05 anlamlılık düzeyi istatistiksel olarak farklı kabul edildi. Sonuçlar ortalama ± standart sapma (SS) olarak hesaplandı. Çalışmalarımızda üç bağımsız ölçüm yapılarak hesaplandı.

3. Bulgular ve Tartışma

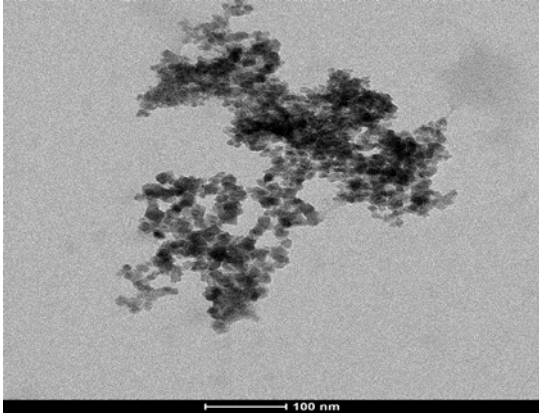
$κ\text{-KRG-aşı-P(DMAEMA)}$ kopolimerinin yapısında bulunan SO_2^{4-} ile Fe_3O_4 nanoyapısında bulunan Fe^{+3} ve Fe^{+2} iyonları ile bağlanarak demir oksit üzerine kaplandığı düşünülmektedir (Jones ve ark. 2007). Sentezlenen $Fe_3O_4@κ\text{-KRG-aşı-PDMAEMA}$ manyetik nanopartiküllerine kanser ilacı olarak DOX yüklendi. İlacın yapıya girdiği UV spektrometresi ile kanıtlandı. Şekil 2'de DOX ve $Fe_3O_4@κ\text{-KRG-aşı-PDMAEMA@DOX}$ manyetik nanopartiküllerin UV spektrumu sunulmuştur. DOX ve $Fe_3O_4@κ\text{-KRG-aşı-PDMAEMA@DOX}$ manyetik nanopartikülleri 200-700 nm dalgaboyu aralığında tarandı. Manyetik nanopartiküllerde ilacın pik noktalarının varlığı DOX'un yapıya girdiğini göstermektedir. Manyetik nanopartiküllerin spektrumunda DOX'un karakteristik pikleri; 233 nm, 253 nm, 291 nm, 474 nm, 499 nm ve 533 nm'de görülmektedir (Ma ve ark. 2016). Bu piklerde şiddet azalması dışında yerlerinde bir kayma olmamıştır.



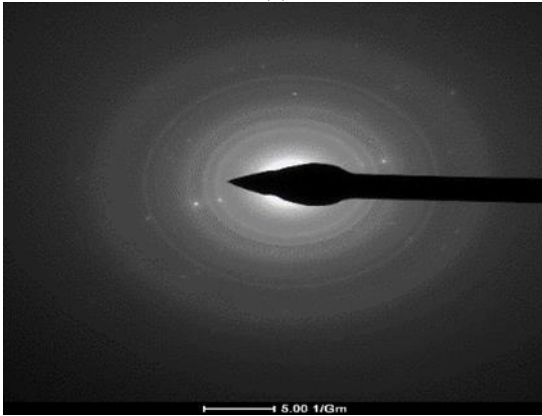
Şekil 2. DOX ve $Fe_3O_4@κ\text{-KRG-aşı-PDMAEMA@DOX}$ manyetik nanopartiküllerin UV spektrumu

$Fe_3O_4@κ\text{-KRG-aşı-PDMAEMA}$ 'nın yüzey morfolojisi TEM ve SAED kullanılarak incelendi. TEM ve SAED görüntüsü Şekil 3'te sunulmuştur. 100 nm'de sunulan TEM görüntüsü nanopartikülleri net olarak göstermektedir. Seçili alan elektron kırınım (SAED) deseni, nanopartiküllerin kristal yapısını karakterize etmek için kullanılan araçlardan

biridir. SAED deseni Fe_3O_4 nanoparçacıkların kristal düzlemlerini sunmaktadır. $Fe_3O_4@κ$ -KRG-aşı-PDMAEMA nanopartiküllerinin spesifik kırınım değerlerini (220), (311), (400), (511) ve (440)'de gösterdi. Fe_3O_4 kristalinin kırınım değerleri literatürde mevcuttur ve kübik kristal yapısına sahiptir (Rahimdad ve ark. 2019). SAED deseninde, altı kat desenli net kırınım halkalara sahip olduğu gözlenmiştir. Bu halkalar, partiküllerin yüksek oranda kristalliklerini nedeniyle kırınım noktalarının bir araya gelmesinden kaynaklanmaktadır. Bu da nano boyutlu olan Fe_3O_4 parçacıkların yüksek kristalliklerini göstermektedir.



(a)



(b)

Şekil 3. $Fe_3O_4@κ$ -KRG-aşı-PDMAEMA'nın TEM (a) ve SAED (b) görüntüsü

Kolloidal kararlılığı karakterize etmek için zeta potansiyeli önemli bir faktördür. Zeta potansiyeli partiküllerin yüzey yükleri hakkında bilgi vermektedir. Genel olarak, yüksek pozitif ve negatif zeta potansiyeli nanopartiküllerin dağılım stabilitesini göstermektedir. Yüksek zeta potansiyeli olan nanopartiküller, partiküller arası yüksek elektrostatik itme kuvvetinden dolayı depolanma süresinde koagüle olmazlar (Shete ve ark. 2013). $Fe_3O_4@κ$ -KRG-aşı-PDMAEMA ve $Fe_3O_4@κ$ -KRG-aşı-PDMAEMA@DOX için farklı pH ortamlarında (1,2, 5,5 ve 7,4) 25 °C'de zeta potansiyeli, hidrodinamik çapı ve polidispersite indeksi ölçümleri yapıldı. Sonuçlar Tablo 1'de sunulmuştur. Nanopartiküllerin pH 5,5 ve pH 7,4 ortamlarında zeta potansiyelleri yüksek çıkmıştır. Nanopartiküllerin yüksek

pH'da daha stabil oldukları görülmektedir. $Fe_3O_4@κ$ -KRG-aşı-PDMAEMA ve $Fe_3O_4@κ$ -KRG-aşı-PDMAEMA@DOX nanopartiküllerin yüzey yükü sonuçları incelendiğinde DOX yüklü nanopartiküllerin yüzey yükünde negatif yönlü artış görülmektedir. $Fe_3O_4@κ$ -KRG-aşı-PDMAEMA ve $Fe_3O_4@κ$ -KRG-aşı-PDMAEMA@DOX nanopartiküllerinin hidrodinamik çapı pH'nın artması ile azalmaktadır. Kopolimer yapısında bulunan PDMAEMA yan dalları pH'ya duyarlıdır. Düşük pH'larda PDMAEMA zincirlerinde oluşan kuarterner amin grubunun birbirini itmesinden dolayı şişme artmaktadır. Nanopartiküllerin stabilitesi ve dağılımı hakkında bilgi veren diğer parametre polidispersite indeksi (PDI) değeridir. Polidispersite indeksi, dinamik ışık saçılımı (DLS) ölçümünde önemli bir parametredir. Nanopartiküllerin boyut dağılımındaki değişimi gösterir ve 0,5'in altında olması istenmektedir. PDI değeri 0,1-0,25 aralığında ise nanopartiküller dar dağılıma sahiptir ve istenilende dar dağılıma sahip olmasıdır (Özkahraman ve ark. 2018). Elde edilen PDI değeri 0,5 ve üzerinde ise geniş dağılıma sahiptir. $Fe_3O_4@κ$ -KRG-aşı-PDMAEMA ve $Fe_3O_4@κ$ -KRG-aşı-PDMAEMA@DOX nanopartiküllerinin PDI değeri 0,22 ile 0,27 aralığındadır. Sentezlenen manyetik nanopartiküller dar dağılımına sahiptir.

Tablo 1. Nanopartiküllerin zeta potansiyeli, hidrodinamik çapı ve PDI değerleri

Nanopartikül	pH	Zeta Potansiyeli (mV)	Hidrodinamik Çap (nm)	PDI
$Fe_3O_4@κ$ -KRG-aşı-PDMAEMA	1,2	11,23±	157,73±	0,238±
		1,10	5,50	0,09
	5,5	-14,20±	118,47±	0,255±
$Fe_3O_4@κ$ -KRG-aşı-PDMAEMA@DOX		0,36	3,84	0,12
	7,4	-21,96±	94,37±	0,254±
		0,51	6,51	0,10
$Fe_3O_4@κ$ -KRG-aşı-PDMAEMA@DOX	1,2	11,82±	181,60±	0,220±
		0,70	5,21	0,03
	5,5	-19,43±	148,33±	0,271±
$Fe_3O_4@κ$ -KRG-aşı-PDMAEMA@DOX		0,50	3,65	0,06
		-28,53±	119,33±	0,225±
	7,4	1,40	4,09	0,03

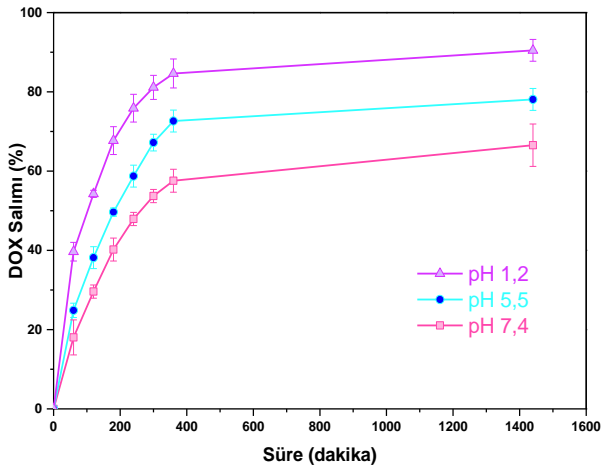
Manyetik nanopartiküllerin ilaç yüklenme performansını belirlemek için, tutuklanma verimi ve ilaç yükleme kapasitesi hesaplanmıştır. $Fe_3O_4@κ$ -KRG-aşı-PDMAEMA@DOX nanopartiküllerin tutuklanma verimi %66,82 ± 2,23 ve ilaç yükleme kapasitesi %1,63 ± 0,05 olarak hesaplanmıştır. DOX salım çalışmaları 24 saat süreyle pH 1,2, pH 5,5 ve pH 7,4 tamponlarında gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar Şekil 4'te sunulmuştur. $Fe_3O_4@κ$ -KRG-aşı-PDMAEMA@DOX nanopartikülleri pH 1,2 ve pH 5,5 tamponunda hızlı salım yaptığı, pH 7,4

tamponunda daha yavaş salım yaptığı görülmüştür. pH 1,2’de ilacı fazla salması yapıda bulunan PDMAEMA’ya bağlıdır. PDMAEMA pH duyarlı bir polimerdir ve düşük pH’larda şişme davranışı gösterir. Şişmenin artması ile nanopartikül içine ve etrafına nüfuz eden ilacın salımı artmıştır. Benzer sonuçlar literatürde rapor edilmiştir (Saha ve ark. 2019).

DOX’un $Fe_3O_4@κ\text{-KRG-aşı-PDMAEMA}@DOX$ nanopartiküllerden salım mekanizması Korsmeyer-Peppas kinetik modeli kullanılarak değerlendirildi. Korsmeyer-Peppas modeli Eşitlik 3’te gösterilmektedir (Siepmann ve Peppas 2012):

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad (4)$$

burada M_t/M_∞ ; t zamanındaki DOX’un salım oranıdır, k; DOX’un salım hız sabitini temsil eder ve n; difüzyon üssüdür (Siepmann ve Peppas 2012; Luo ve ark. 2017). n’nin değeri, salım mekanizmasına bağlı olarak değişir. Küresel partiküller için, $n \leq 0,43$, ilacın taşıyıcıdan difüzyon kontrollü salınımını (Fick difüzyonu) belirtirken, $n \geq 0,85$, gevşeme kontrollü salımı (Durum II taşıma) gösterir. 0,43 ile 0,85 arasında değişen ara değerler, ilaç salımının hem gevşeme hem de difüzyon tarafından kontrol edildiği anormal taşımının göstergesidir (Siepmann ve Peppas 2012). Tablo 2, farklı salım ortamlarında $Fe_3O_4@κ\text{-KRG-aşı-PDMAEMA}@DOX$ nanopartikülleri için n ve R değerlerini göstermektedir. Tablo 2’de ortam pH’sının 1,2’den 7,4’e değişimi ile DOX salım mekanizmasının değiştiği görülmektedir.



Şekil 4. $Fe_3O_4@κ\text{-KRG-aşı-PDMAEMA}@DOX$ manyetik nanopartiküllerden farklı pH ortamlarında ilaç salımı

Tablo 2. Nanopartiküllerin salım kinetiği

pH	n	R	Difüzyon Mekanizması
1,2	0,4247	0,9981	Fick Difüzyonu
5,5	0,6232	0,9998	Fick Yasasına Uymayan
7,4	0,7121	0,9292	Fick Yasasına Uymayan

4. Sonuçlar

Bu çalışmada manyetik alana duyarlı nanopartiküller ikili çöktürme yöntemi ile başarıyla sentezlendi. Mikrodalgada serbest radikalik polimerizasyon yöntemi ile sentezlenen sıcaklık ve pH duyarlı $κ\text{-KRG-aşı-PDMAEMA}$ kopolimerinin Fe_3O_4 ’e kaplanmasıyla çekirdek-kabuk yapılı $Fe_3O_4@κ\text{-KRG-aşı-PDMAEMA}$ nanopartikülleri elde edildi. Manyetik nanopartiküller UV, Zeta-Sizer, TEM ve ICP-OES yöntemleri ile karakterize edildi. Sentezlenen bu nanopartiküllere DOX ilacı yüklenerek, ilaç salım çalışmaları *in vitro* farklı pH (7,4, 5,5 ve 1,2) ortamlarında çalışıldı. $Fe_3O_4@κ\text{-KRG-aşı-PDMAEMA}@DOX$ nanopartiküllerin DOX salımı pH 7,4, pH 5,5 ve pH 1,2 ortamlarında sırası ile %66,53, %70,08 ve %90,47 bulundu. Nanopartiküllerin asidik ortamda bazik ortama göre daha fazla salım yaptığı görüldü. Süperparamanyetik nanopartiküller pH duyarlı salım ve yüksek DOX tutuklanma verimi gösterdi. Manyetik nanopartiküllerin en düşük hidrodinamik çapı pH 7,4 tamponunda ilaç yüklü olmayan partiküllerde 94,37 nm olarak bulundu. Manyetik nanopartiküllerin pH 7,4 tamponunda daha stabil olduğu görüldü. Manyetik nanopartiküllerin demir içeriği %66,77 bulundu. Sentezlenen nanopartiküller biyoyoungulamalar için umut vadetmektedir.

Teşekkür

Çalışmamıza maddi destek sağlayan Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine (Proje No: 2018/057) teşekkürlerimizi sunuyoruz.

Kaynaklar

- Akbarzadeh A, Samiei M, Davaran S. 2012. Magnetic nanoparticles: preparation, physical properties, and applications in biomedicine. *Nanoscale Res Lett.* 7:1-13
- Alexis F, Rhee J, Richie JP, Radovic-moreno AF. 2008. New frontiers in nanotechnology for cancer treatment. *Urol Oncol: Semin Orig Investig.* 26:74-85
- Bae K.H, Chung HJ, Park TG. 2011. Nanomaterials for Cancer Therapy and Imaging. *Mol Cells.* 31:295-302
- Danckwerts M, Fassihi A. 1991. Implantable controlled release drug delivery systems: a review. *Drug Dev Ind Pharm.* 17:1465-1502
- Geyik G, Işıklan N. 2022. Multi-stimuli-sensitive superparamagnetic $κ\text{-carrageenan}$ based nanoparticles for controlled 5-fluorouracil delivery. *Colloids Surf. A: Physicochem Eng Asp.* 634:127960
- Huang YS, Lu YJ, Chen JP. 2017. Magnetic graphene oxide as a carrier for targeted delivery of chemotherapy drugs in cancer therapy. *J Magn Magn Mater.* 427:34-40
- Indira, T, Lakshmi P. 2010. Magnetic nanoparticles—a review. *Int J Pharm Sci Lett.* 3:1035-1042
- Jabir NR, Tabrez S, Ashraf, GM, Shakil S, Damanhour GA, Kamal MA. 2012. Nanotechnology-based approaches in anticancer research. *Int J Nanomedicine.* 7:4391-4408
- Jones F, Cölfen H, Antonietti M. 2000. Iron oxyhydroxide colloids stabilized with polysaccharides. *Colloid Polym Sci.* 278:491-501

- Luo H, Ao H, Li G, Li W, Xiong G, Zhu Y, Wan Y. 2017. Bacterial cellulose/graphene oxide nanocomposite as a novel drug delivery system. *Curr Appl Phys.* 17:249-254
- Ma HL, Zhang YW, Zhang L, Wang LC, Sun C, Liu PG, Zhai ML. 2016. Radiation-induced graft copolymerization of dimethylaminoethyl methacrylate onto graphene oxide for Cr(VI) removal. *Radiat Phys Chem.* 124:159-163
- Nene AG, Takahashi M, Wakita K, Umeno M. 2016. Size controlled synthesis of Fe₃O₄ nanoparticles by ascorbic acid mediated reduction of Fe(acac)₃ without using capping agent. *J Nano Res.* 40:8-19
- Özkahraman B, Işıl A, Gök MK, Güçlü G. 2014. Poli (N-Vinilkaprolaktam) Mikrojellerinin Sentez Şartlarının Optimizasyonu. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi. 14:13-21
- Patil R, Portilla-Arias J, Ding H, Konda B, Rekechenetskiy A, Inoue S, Ljubimova JY. 2012. Cellular Delivery of Doxorubicin via pH-Controlled Hydrazone Linkage Using Multifunctional Nano Vehicle Based on Poly(beta-L-Malic Acid). *Int J Mol Sci.* 13:11681-11693
- Rahimdad N, Khalaj, A, Azarian G, Nematollahi D. 2019. Electrochemical Device for the Synthesis of Fe₃O₄ Magnetic Nanoparticles. *J. Electrochem.* 166: 1-6
- Ruuge E, Rusetski A. 1993. Magnetic fluids as drug carriers: targeted transport of drugs by a magnetic field. *J Magn Magn Mater.* 122:335-339
- Saha P, Rakshit R, Mandal K. 2019. Enhanced magnetic properties of Zn doped Fe₃O₄ nano hollow spheres for better bio-medical applications. *J Magn Magn Mater.* 445:130-136
- Shete P, Patil R, Ningthoujam R, Ghosh S, Pawar S. 2013. Magnetic core-shell structures for magnetic fluid hyperthermia therapy application. *New J Chem.* 37:3784-3792
- Siepmann J, Peppas NA. 2012. Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose. *Adv Drug Deliv Rev.* 64:163-174
- Singamaneni S, Bliznyuk VN, Binek C, Tsymbal EY. 2011. Magnetic nanoparticles: recent advances in synthesis, self-assembly and applications. *J Mater Chem.* 21:16819-16845
- Tüylek Z. 2017. İlaç Taşıyıcı Sistemler ve Nanoteknolojik Etkileşim. *Bozok Tıp Dergisi.* 7:89-98
- Yang X, Zhang X, Liu Z, Ma Y, Huang Y, Chen Y. 2008. High-efficiency loading and controlled release of doxorubicin hydrochloride on graphene oxide. *J Phys Chem C.* 112:17554-17558
- Yang JH, Ramaraj B, Yoon KR. 2014. Preparation and characterization of superparamagnetic graphene oxide nanohybrids anchored with Fe₃O₄ nanoparticles. *J Alloys Compd.* 583:128-133
- Zhang BM, Yang XY, Wang Y, Zhai GX. 2017. Heparin modified graphene oxide for pH-sensitive sustained release of doxorubicin hydrochloride. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 75:198-206