

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

**POLİFENOL KATKILI ZIF-8 METAL ORGANİK KAFES İLAÇ
TAŞIYICI SİSTEMLERİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE
ANTİKANSER ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Münteha ÖZSOY

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Bilim Dalı

TEMMUZ 2023

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

**POLİFENOL KATKILI ZIF-8 METAL ORGANİK KAFES İLAÇ
TAŞIYICI SİSTEMLERİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE
ANTİKANSER ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Münteha ÖZSOY

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Gülnur ARABACI

TEMMUZ 2023

Münteha ÖZSOY tarafından hazırlanan “Polifenol Katkılı ZIF-8 Metal Organik Kafes İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Antikanser Etkilerinin Araştırılması” adlı tez çalışması 13.07.2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Bilim Dalı’nda Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Fehim FINDIK
Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Gülnur ARABACI (Danışman)
Sakarya Üniversitesi

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Gamze GÜNEY ESKİLER
Sakarya Üniversitesi

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Sevgi KARAKUŞ
Marmara Üniversitesi

Jüri Üyesi : Dr. Öğr. Üyesi Semra YILMAZER KESKİN
Sakarya Üniversitesi

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğine ve Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesine uygun olarak hazırlamış olduğum “Polifenol Katkılı ZIF-8 Metal Organik Kafes İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Antikanser Etkilerinin Araştırılması” başlıklı tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın tüm aşamalarında yukarıda belirtilen yönetmelik ve yönergeye uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, bu tezi başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve 20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince Sakarya Üniversitesi’nin abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Enstitü tarafından belirlenmiş ölçütlere uygun rapor alındığını, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun ortaya çıkması halinde doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi beyan ederim.

(13/07/2023)

Münteha ÖZSOY

Eşime, çocuklarıma ve geniş aileme...

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim sürecindeki tüm aşamalarda kolaylaştırıcı olup beni destekleyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Gülnur ARABACI'ya teşekkürü borç bilirim.

Tez çalışmam süresince bilgi ve birikimlerini benimle paylaşan, çalışmalarına yön gösteren ve beni her zaman motive eden kıymetli hocalarım Doç. Dr. Vesen ATİROĞLU ve Doç. Dr. Atheer ATİROĞLU'na teşekkürü borç bilirim.

Tez çalışmamdaki hücre testleri aşamasında yol gösterici yardımları ve bilgi birikimi paylaşımları için değerli hocam Doç. Dr. Gamze GÜNEY ESKİLER'e teşekkürü borç bilirim.

Hayatımın her anında bana yol gösteren, benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, üzerimde büyük emekleri olan ve tez çalışmamda da her türlü desteği sağlayan kıymetli babam Prof. Dr. Mahmut ÖZACAR'a, sevgi ve şefkatiyle beni büyüten, her zaman büyük desteklerini gördüğüm, bugünlere gelmemde üzerimde çok emeği olan kıymetli annem Büşra ÖZACAR'a teşekkür, sevgi ve hürmetlerimi sunarım.

Hayatıma girdiği andan itibaren hep güzellikler yaşatan, doktora sürecindeki anlayış ve desteğini her zaman hissettiğim yol arkadaşım, kıymetli eşim Dr. Öğr. Üyesi Mehmet İskender ÖZSOY'a en içten ve samimi dileklerle teşekkürlerimi sunarım.

Doktora sürecinde tüm masumiyetleri ile hayatımıza katılan ve büyüyen güzel evlatlarımız Ayşegül ÖZSOY ve Mahmut Arif ÖZSOY'a sevgilerimi sunarım.

Doktora sürecinde 2211-A Genel Yurt İçi Doktora Burs Programı kapsamında burs aldığım Türkiye Bilimler ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)'a teşekkür ederim.

Münteha ÖZSOY

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	v
TEŞEKKÜR	ix
İÇİNDEKİLER	xi
KISALTMALAR	xiii
SİMGELER	xv
TABLO LİSTESİ	xvii
ŞEKİL LİSTESİ	xix
ÖZET	xxiii
SUMMARY	xxv
1. GİRİŞ	1
2. KANSER TEDAVİSİNDE İLAÇ TAŞIYICI SİSTEMLER	5
2.1. Kanser ve Oluşum Mekanizmaları	5
2.2. Meme Kanseri ve Kanser Tedavi Yöntemleri	7
2.2.1. Açlık terapi ve glikoz oksidaz	10
2.2.2. Polifenol katkılarının kanser tedavisindeki rolü	11
2.3. Kanser Tedavisinde Kullanılan Nano-İlaç Taşıyıcı Sistemler ve Özellikleri .	13
2.4. İlaç Hedefleme Stratejileri.....	15
2.4.1. Pasif hedefleme	15
2.4.2. Aktif hedefleme	15
2.4.3. Dinamik hedefleme.....	16
2.5. Metal Organik Kafes (MOF).....	17
2.5.1. MOF yapılarının tarihçesi ve özellikleri.....	17
2.5.2. MOF sentezleme yöntemleri ve uygulama alanları	19
2.5.3. MOF esaslı uyaranlara duyarlı ilaç taşıyıcı sistemler.....	21
2.5.3.1. pH'a duyarlı ilaç salımı	22
2.5.3.2. Redoksa duyarlı salım.....	23
2.5.3.3. ATP'ye duyarlı salım.....	27
2.5.3.4. İyon duyarlı salım	27
2.5.3.5. Işığa duyarlı salım.....	28
2.5.3.6. Sıcaklığa duyarlı salım.....	29
2.6. Zeolitik İmidazolat Kafes-8 (ZIF-8).....	30
3. MATERYAL VE YÖNTEM	37
3.1. Kullanılan Cihaz ve Ekipmanlar	37
3.2. Kullanılan Kimyasal Madde ve Malzemeler	37
3.3. İstatiksel Analiz.....	38
3.4. ZIF-8 Sentezi ve Modifikasyonu.....	38
3.4.1. Atikanser ilaç taşıyıcı sistem olarak metal-organik kafes nanokompozitinde bir protein-sülfosalisilik asit/bosvelik asit çalışması	38
3.4.2. Gallik asit ve Fe katkılı, Au veya GOx modifiye ZIF-8 esaslı ilaç taşıyıcı sistemlerin antikanser aktiviteleri çalışması.....	39
3.5. ZIF-8 Nanoyapılarına İlaç Yükleme Çalışmaları	41

3.6. Geliştirilmiş İlaç Taşıyıcı Sistemlerin <i>İn Vitro</i> İlaç Salım Özellikleri	41
3.6.1. Antikanser ilaç taşıyıcı sistem olarak metal-organik kafes nanokompozitinde bir protein-sülfosalisilik asit/bosvelik asit çalışması	41
3.7. Geliştirilmiş İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Karakterizasyon Çalışmaları	42
3.7.1. Antikanser ilaç taşıyıcı sistem olarak metal-organik kafes nanokompozitinde bir protein-sülfosalisilik asit/ bosvelik asit çalışması	42
3.8. Geliştirilmiş İlaç Taşıyıcı Sistemlerin <i>İn Vitro</i> Sitotoksisite Çalışmaları	43
3.8.1. Antikanser ilaç taşıyıcı sistem olarak metal-organik kafes nanokompozitinde bir protein-sülfosalisilik asit/ bosvelik asit çalışması	43
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	47
4.1. Antikanser İlaç Taşıyıcı Sistem Olarak Metal-Organik Kafes Nanokompozitinde Bir Protein-Sülfosalisilik Asit/Bosvelik Asit Çalışması ...	47
4.1.1. ZIF-8 esaslı ilaç taşıyıcı sistemlerin sentezi ve karakterizasyonu	47
4.1.2. ZIF-8 esaslı ilaç taşıyıcı sistemlerin ilaç salım özellikleri.....	53
4.1.3. ZIF-8 esaslı ilaç taşıyıcı sistemlerin <i>in vitro</i> sitotoksisite sonuçları	57
4.1.4. Hücre canlılığının değerlendirilmesi	60
4.1.5. Hücrelerde morfolojik değişikliklerin gözlemlenmesi	61
4.2. Gallik Asit ve Fe Katkılı, Au veya GOx Modifiye ZIF-8 Esaslı İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Antikanser Aktiviteleri Çalışması	63
4.2.1. GA ve GOx/Au modifiye ZIF-8 esaslı ilaç taşıyıcı sistemlerin sentezi ve karakterizasyonu.....	63
4.2.2. GA ve GOx/Au modifiye ZIF-8 esaslı ilaç taşıyıcı sistemlere 5-FU yükleme çalışmaları.....	71
4.2.3. GA ve GOx/Au modifiye ZIF-8 esaslı ilaç taşıyıcı sistemlerin 5-FU salım özellikleri	72
4.2.4. Geliştirilen ilaç taşıyıcı sistemlerin <i>in vitro</i> sitotoksisite çalışmaları	74
4.2.5. Hücrelerdeki morfolojik değişikliklerin ve apoptozun değerlendirilmesi	77
5. GENEL DEĞERLENDİRME VE ÖNERİLER.....	83
KAYNAKLAR.....	87
EKLER.....	99
ÖZGEÇMİŞ.....	101

KISALTMALAR

AO	: Akridin turuncusu
Au	: Altın
BA_s	: Bosvelik asit
BSA	: Sığır serum albümini
DAPI	: 4'-6-diamidino-2-fenilindol
İTS	: İlaç taşıyıcı sistem
ER	: Östrojen reseptörü
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kıızılötesi Spektroskopisi
5-FU	: 5- fluorourasil
GA	: Gallik asit
GO_x	: Glikoz oksidaz
HER2	: İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2
HUVEC	: İnsan umbilikal damar endotel hücresi
MCF-7	: İnsan meme kanseri hücre hattı
MDA-MB-231	: İnsan meme kanseri hücre hattı
ÜNMK	: Üçlü negatif insan meme kanseri hücre hattı
2-MeIm	: 2- metil imidazol
MNP	: Manyetik nanopartikül
MOF	: Metal organik kafes
PR	: Progesteron reseptörü
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
TEM	: Geçirimli Elektron Mikroskobu
TGA	: Termal Gravimetrik Analiz
TNBC	: Üçlü negatif meme kanseri
UV-VIS spektrofotometre	: Ultraviyole-görünür bölge spektrofotometresi
XRD	: X-ışınları Toz Difraktometresi
ZIF-8	: Zeolitik imidazolat kafes-8

SİMGELER

λ	: Dalgaboyu
$^{\circ}\text{C}$: Sıcaklık [santigrat derece]
t	: Zaman [saat]
a.u.	: Yoğunluk
m	: Kütle [mg]
T	: Transmisyon
ζ	: Zeta potansiyeli

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1. Kanser tedavi yöntemleri ve mekanizmaları (Baykara, 2016).....	9
Tablo 2.2. Uyarılara duyarlı ZIF-8 ilaç taşıyıcı sistemler ve salım mekanizmaları.	33
Tablo 2.3. ZIF-8 ilaç taşıyıcı sistemler ve in vitro sitotoksisite çalışmaları.	34
Tablo 4.1. Farklı kinetik modellerin regrasyon sonuçları.	56

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. Karsinogenezin oluşumu (Aliustaoğlu, 2014).....	6
Şekil 2.2. Kanserde glikoz metabolizması: Warburg etkisi (Bose et al., 2021).	7
Şekil 2.3. Nanoreaktörün tasarımı ve kanser hücreleri için katalitik kademeli geliştirilmiş sinerjistik kemo-açlık tedavisi (D. Sun et al., 2020).	11
Şekil 2.4. Gallik asit ve bosvelik asidin kimyasal yapısı.....	12
Şekil 2.5. Farklı nanopartikül ilaç taşıyıcı sistemlere örnekler (Montané et al., 2020).	14
Şekil 2.6. Hedeflenen ilaç taşınım türleri (Aghebati-Maleki et al., 2020).....	16
Şekil 2.7. Dinamik hedefleme stratejisi: İç ve dış uyaranlara duyarlı nano taşıyıcılar.	17
Şekil 2.8. MOF'ların bazı yapı şemaları (Y. Wang et al., 2020).....	18
Şekil 2.9. MOF'ların üretimi ile ilgili karmaşık yöntemleri sunan bir akış şeması (Y. Wang et al., 2020).	19
Şekil 2.10. Biyomedikal uygulamalarda kullanılan MOF'ların tasarım şeması (Bieniek et al., 2021).....	20
Şekil 2.11. MOF'ların uygulama alanları.	21
Şekil 2.12. MOF esaslı uyarıcılara duyarlı ilaç taşıyıcı sistem (Y. Wang et al., 2020).	22
Şekil 2.13. MOF esaslı pH'a duyarlı ilaç taşıyıcı sistemlerin mekanizmaları (Y. Wang et al., 2020)	23
Şekil 2.14. Redoks duyarlı ilaç salımının birkaç tipik mekanizması (Y. Wang et al., 2020).....	23
Şekil 2.15. Kansere tedavisi için tümör hücrelerinde CCM@MOF-M(DTBA)'nın hazırlanmasının ve redoks duyarlı bozunmasının şematik gösterimi (B. Lei et al., 2018).....	24
Şekil 2.16. MOF tabanlı nanosistemden glikozla tetiklenen insülin salınımının şematik gösterimi (Duan et al., 2018).....	25
Şekil 2.17. CD44 reseptörünü hedeflemek için HA ile kaplanmış metal-organik kafes nanosisteminin ve kemo&fotodinamik tedavi kombine tedavi prosedürünün hazırlanmasının şematik gösterimi (Kim et al., 2019).	26
Şekil 2.18. ATP'ye yanıt veren salım ilaç salımının mekanizmaları: (a) ATP-aptamer komplekslerinin oluşumu ve (b) ATP-iyon komplekslerinin oluşumu (Y. Wang et al., 2020).	27
Şekil 2.19. İyona duyarlı salım mekanizmaları: (a) metal iyonu/nükleik asit kompleksinin oluşumu, (b) anyon değişimi ve (c) rekabetçi bağlama (Y. Wang et al., 2020).	28
Şekil 2.20. Fe ₃ O ₄ @UiO-66@WP6 teranostik nanoplatformun üretim sürecinin ve çalışmasının şematik gösterimi (Wu et al., 2018).	29
Şekil 2.21. Zn-GA kapsüllü MTX'in ikili yanıt veren ilaç salımının şematik gösterimi (Lin et al., 2018).....	30

Şekil 2.22. 3,4 Å açıklıklarla birbirine bağlanan 11,6 Å çapında büyük gözeneklere sahip olan ZIF-8'in çökyüzlü sunumu (C.-Y. Sun et al., 2012).....	31
Şekil 2.23. ZIF-8'den salınan kapsüllenmiş 5-FU'nun iki yaklaşımının şematik gösterimi. C = gri, N = mavi, O = kırmızı, F = açık mavi, Zn = yeşil (C.-Y. Sun et al., 2012).....	31
Şekil 2.24. 37 °C'de farklı pH tamponlarına (sırasıyla pH 7,4 PBS ve pH 5,0 asetat) daldırılmış ZIF-8'in taramalı elektron mikroskopik (SEM) görüntüleri (a) 0 gün (hazırlanmış gibi); (b) pH 7,4 tamponunda 7 gün; (c) pH 5,0 tamponunda 5 dakika ve (d) pH 5,0 tamponunda 15 dakika (C.-Y. Sun et al., 2012). 32	32
Şekil 4.1. 5-sülfosalisilik asit/BSA, 5-sülfosalisilik asit /BSA/BAs, 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8 üretiminin şematik gösterimi.	47
Şekil 4.2. 5-sülfosalisilik asit/BSA (A), 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs (B), 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 (C) ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8 (D) SEM görüntüsü.....	48
Şekil 4.3. Saf ZIF-8 nanoparçacıklarının SEM görüntüsü.....	49
Şekil 4.4. ZIF8'in TGA eğrileri.....	50
Şekil 4.5. TGA modelleri (A), Zeta potansiyelleri (B), FTIR spektrumları (C&D), 5-sülfosalisilik asit/BSA, 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs, ZIF-8, 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8.	52
Şekil 4.6. ZIF8'in XRD deseni.....	53
Şekil 4.7. 5-sülfosalisilik asi/BSA ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs (A) ve 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8 (B) 5-sülfosalisilik asidin pH duyarlı salınımı. Sonuçlar ortalama \pm SD (n = 3) olarak elde edilir.	55
Şekil 4.8. pH 5,0'da 5-sülfosalisilik asit/BAs salım davranışının şematik diyagramı. Etkileşim yoluyla 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8 alımının ve içselleştirilmesinin tasarımı. MCF-7 hücrelerinin lizozomunda veya endozomunda pH ile tetiklenen 5-sülfosalisilik asit/BAs salınımı.	57
Şekil 4.9. Tek başına 5-sülfosalisilik asit, BSA ve ZIF-8 ile karşılaştırıldığında sentezlenmiş nano taşıyıcıların uygulanmasından sonra (A) MCF-7 ve (B) HUVEC hücrelerinin canlılığı ($p < 0,05^*$, $p < 0,01^{**}$, $n = 3$).	59
Şekil 4.10. (a) 5-sülfosalisilik asit/BSA, (b) 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs, (c) 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8, (d) 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8, (e) Kontrol, (f) 5-sülfosalisilik asit, (g) BSA ve (h) tek başına ZIF-8 ile tedaviden sonra MCF-7 ve HUVEC hücre canlılığının gözlemlenmesi. Ölçek çubuğu 100 μ m'yi temsil eder ve tüm görüntüler için geçerlidir. . 61	61
Şekil 4.11. (a) 5-sülfosalisilik asit/BSA, (b) 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs, (c) 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8, (d) 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8, (e) Kontrol, (f) 5-sülfosalisilik asit, (g) BSA ve (h) tek başına ZIF-8 uygulanmasından sonra MCF-7 ve HUVEC hücrelerinde apoptotik hücre ölümünün morfolojik gözlemlenmesi. Ölçek çubuğu 100 μ m'yi temsil eder.	62
Şekil 4.12. ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx veya ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au sentezinin şematik gösterimi.	63
Şekil 4.13. ZIF-8 (A), ZIF-8@GA (B), ZIF-8@GA@5-FU (C), ZIF-8@GA@Fe@5-FU (D), ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx (E) ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au (F) nanoyapılarının SEM fotoğrafları.....	65

Şekil 4.14. ZIF-8 (A), ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx (B) ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au (C)'nin TEM görüntüsü.....	66
Şekil 4.15. ZIF-8 ve ZIF-8:GA'nın farklı kütle oranları için FTIR spektrumları.	67
Şekil 4.16. ZIF-8, GA, ZIF-8@GA, ZIF-8@GA@5-FU, ZIF-8@GA@Fe@5-FU, ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au nanoyapılarının FTIR spektrumları.	68
Şekil 4.17. ZIF-8, ZIF-8@GA, ZIF-8@GA@5-FU, ZIF-8@GA@Fe@5-FU, ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au nanoyapılarının zeta potansiyelleri.....	69
Şekil 4.18. Hazırlanan ZIF-8@GA@5-FU, ZIF-8@GA@Fe@5-FU, ZIF-8@GA@5-FU@GOx ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au nanoyapılarının TGA eğrileri.	70
Şekil 4.19. 5-FU standart eğrisi.	71
Şekil 4.20. Hazırlanan ZIF-8@GA@5-FU, ZIF-8@GA@Fe@5-FU, ZIF-8@GA@5-FU@GOx ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au nanoyapılarının ilaç yükleme kapasitesi ve 5-FU kapsülleme verimliliği.....	72
Şekil 4.21. ZIF-8@GA@Fe@5-FU (A), ZIF-8@GA@5-FU@GOx (B) ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au (C) nanoyapılarından pH duyarlı 5-FU salınımı. Veriler ortalama \pm SD (n = 3) olarak elde edildi.....	73
Şekil 4.22. Tek başına ZIF-8@GA ile karşılaştırıldığında 1, 2,5 ve 5 μ g/mL konsantrasyonlarında sentezlenmiş nano taşıyıcılarla tedaviden sonra MDA-MB-231 ve HUVEC kontrol hücrelerinin canlılığı (p < 0,05*, p < 0,01**, n = 3).	75
Şekil 4.23. Tek başına ZIF-8@GA'ya kıyasla 1 μ g/mL'lik etkili bir konsantrasyonda sentezlenmiş nano taşıyıcılarla tedaviden sonra MDA-MB-231 hücrelerinin canlılığı (p < 0,05*, p < 0,01**, n = 3).	76
Şekil 4.24. Apoptotik hücre ölümünün morfolojik gözlemi, Kontrol (A), ZIF-8@GA (B), ZIF-8@GA@5-FU (C), ZIF-8@GA@Fe@5-FU (D), ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx (E) ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au (F). Fotoğraflar 510 ± 42 nm yeşil ile elde edilmiştir.	78
Şekil 4.25. Mitotracker boyaması ile MDA-MB-231 hücrelerinde mitokondriyal hasar gözlemlendi. Kontrol (A), ZIF-8@GA@Fe@5-FU (B), ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx (C) ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au (D). ...	79
Şekil 4.26. Kontrol (A), ZIF-8@GA@Fe@5-FU (B), ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx (C) ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au (D) nanotaşıyıcılarının floresans mikroskopisi.	81
Şekil 4.27. ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx veya ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au sentezinin, ayrıntılı hücre içi işlemlerin ve antikanser aktivite mekanizmasının şematik tasviri.	82

POLİFENOL KATKILI ZIF-8 METAL ORGANİK KAFES İLAÇ TAŞIYICI SİSTEMLERİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE ANTİKANSER ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Kanser, kontrolsüz hücre bölünmesi ve proliferasyon ile oluşan, genetik ve çevresel faktörlerin neden olduğu kompleks bir hastalıktır. Farklı kanser tiplerinin tedavisi için oldukça standart yaklaşımlar geliştirilmiş olması kanserin kişisel bir hastalık olduğu gerçeğini değiştirmemiştir. Kadınların sağlığını tehdit eden en önemli unsurlardan biri olan meme kanserinin tanı ve tedavisinde gelişme kaydedilmesine karşın, yan etkilerin azaltılması için alternatif yöntemlere halen ihtiyaç duyulmaktadır. Nanoteknoloji ile birlikte gelişen ilaç taşıyıcı sistemler bu ihtiyaca cevap veren iyi birer alternatiftir. Metal organik kafesler (MOF), biyomedikal uygulamalarda büyüleyici olanaklar göstermiştir, MOF'a dayalı çok işlevli bir ilaç taşıyıcı sistem tasarlamak kanser tedavisi için oldukça önemlidir.

Bu tez çalışmasında zeolitik imidazolat kafes-8 (ZIF-8) esaslı iki ilaç taşıyıcı sistem geliştirilmiştir. Bu sistemlerin ilkinde, merkez olarak sığır serum albümini (BSA) içeren pH duyarlı ZIF-8 nanokompozitine 5-sülfosalisilik asit ve bosvelik asit (BAs) yüklenmiştir. ZIF tabakası, fizyolojik koşullar altında 5-sülfosalisilik asit ve BAs'nin toksik olmayan depolanması için iyi bir kapsül görevi görür. Karakterizasyon sonuçları, nanotaşıyıcı oluşumunun performansını göstermiştir. 5-sülfosalisilik asidin pH'a duyarlı ilaç salımı, ZIF-8'in doğasından gelen pH'a bağlı stabilitesi nedeniyle tespit edildi. 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8 pH'a duyarlı etkili ilaç taşıyıcı sistemlerdir, burada 5-sülfosalisilik asit fizyolojik pH'ta serbest değildir, ancak asidik pH'ta (5) salınır formu oluşmuştur. 5-sülfosalisilik asit/BSA, 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs ve 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ile karşılaştırıldığında en iyi biyouyumluluk, 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8'de bulunmuştur. Ek olarak, 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8, daha fazla toksisite ile meme kanseri hücre dizisi MCF-7'ye karşı diğer bileşiklerden daha yüksek etkinlik sergilemiştir.

İkinci ilaç taşıyıcı sistem olarak fenolik bileşik gallik asit ile modifiye edilmiş Fe katkılı ZIF-8 MOF yapısı sentezlenmiştir. Geliştirilen ilaç taşıyıcı sistemin terapötik etkinliğinin glikoz oksidaz enzimi ve altın nanopartikülleri ile artırılması amaçlanmıştır. Nanotaşıyıcıların başarılı üretimi ve yapısal özellikleri, SEM, TEM, FT-IR, Zeta potansiyeli, XRD ve TGA analizleri gibi farklı karakterizasyon yöntemleri kullanılarak doğrulanmıştır. İlaç yükleme kapasitesi ve kapsülleme etkinliği üzerine yapılan çalışmalar, tasarlanan ZIF-8 tabanlı nano ilaç taşıyıcı yapıların yüksek kapsülleme etkinliğine sahip olduğunu göstermiştir. pH 5 ve pH 7,4'te ZIF-8@GA@Fe@5-FU, ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx ve ZIF-8@GA@Fe@Au@5-FU sistemleri ile yapılan *in vitro* ilaç salım çalışmalarında pH'a bağlı ilaç salımları gözlenmiştir. *In vitro* sitotoksosite sonuçlarına göre MDA-MB-231 meme kanseri hücre hatları üzerinde apoptoz ve çeşitli morfolojik değişikliklere neden olan en etkili yapı olarak ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx belirlenmiştir. Ayrıca ZIF-

8@GA@Fe@5-FU@Au ile birlikte gallik asit içeren ZIF-8@GA@Fe@5-FU yapısı da lüminesans özellikleri göstermiştir. Her iki çalışma için de elde edilen sonuçlar, geliştirilen ilaç taşıyıcı sistemlerin meme kanseri hücre hatlarında ilaç salım uygulamaları için alternatif ve uygun temsilciler olduğunu göstermektedir.

INVESTIGATION OF THE SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND ANTI-CANCER EFFECTS OF POLYPHENOL DOPED ZIF-8 METAL ORGANIC FRAMEWORK DRUG DELIVERY SYSTEMS

SUMMARY

Cancer is a complex disease caused by uncontrolled cell division and proliferation and caused by genetic and environmental effects. Although there are more than 100 known types of cancer have been identified in the literature and standardized approaches have been developed for certain types of cancers. But also this situation has not changed the fact that cancer is a personal disease. Abnormal changes in energy metabolism and nutrient uptake are observed commonly in most of the cancer cells and uncontrolled proliferation and growth of cells is occurred. The continuity of the unlimited replication ability of cancer cells is provided by glucose, one of the essential nutrients they receive. Glucose, along with synthesizing ATP, provides a carbon source to cancer cells. One of the best-known forms of glucose metabolic reprogramming is the "Warburg effect", which refers to the fact that most cancer cells produce ATP through glycolysis even under aerobic conditions, whereas for normal cells it occurs only under non-aerobic conditions. Modified expressions of many speed-limiting enzymes activate the Warburg effect, and numerous oncogenes and tumor suppressors are included in various energy reprogramming processes.

Breast cancer which is a highly heterogeneous group of genetically and epigenetically diseases is the most seen as the second type of malignant neoplasm in the world. Despite ongoing developments have been made in the diagnosis and treatment of breast cancer, which is one of the most critical factors threatening women's health, alternative methods are still needed to reduce the side effects. Chemotherapy, radiotherapy, and surgery are the current options for cancer treatment. However, the treatment of breast cancer patients is limited because of the reactions of chemotherapeutics and several clinical features. Therefore, new treatment approaches have been improved to raise the effectiveness of the new drugs registered so far.

Nanotechnology is an important field that allows the development of new nanomaterials to be used in various biomedical sides. The popularity of nanotechnology has increased in the last decade by offering a variety of applications for researchers and drug delivery systems play an essential role in the chemical and physical properties of nanomaterials. There are two generally accepted drug delivery systems: inorganic systems, such as graphene, zeolites and silica nanoparticles (NPs); and organic systems, including protein nanoparticles (NPs), liposomes and polymers. Organic carriers are biocompatible, but they have disadvantages such as poor loading potential and insuperable volatility. Although the inorganic carriers have the superiorities such as well-defined high stability, absorbance, controlled drug release and high drug loading, but also they are difficult to remove from the human body.

Metal-organic frameworks (MOFs) which consist of metal ions and organic binders are highly porous materials. MOFs are widely preferred for drug delivery with their outstanding physical properties, low toxicity, good clearance, easy functionalization,

good biocompatibility and high drug loading capacity. MOFs, a new generation of extremely porous materials composed of metal knots connected via multi-dentate organic binders, have remarkable potential in different application areas including separation, catalysis, storage, water treatment and gas capture as well as drug transport. Several challenges in studied strategies for drug delivery systems (DDS) such as drug bioavailability, poor loading capacity, uncontrolled drug release (i.e. burst effect), toxicity, and inefficient cellular internalization are still not fully overcome. To overcome the impact of these difficulties, MOF structures with superior properties constitute a good alternative.

Zeolitic imidazolate framework-8 (ZIF-8), a subclass of MOF, is a highly porous nanocomposite formed through the coordination of Zn^{2+} and 2-methyl imidazole (2-MeIm). ZIF-8 has been chosen due to having low cytotoxicity, large pores, limited surface area, high performance, acid sensitivity and production with different synthetic processes. ZIF-8 has zero release at physiological pH 7.4, with high porosity and good bioavailability, it degrades at low pH values of cancer cells and shows good release properties.

It has been found that 5-sulfosalicylic acid, which is known as the sulfosalicylate, has biological activity and its metal complexes show antimicrobial and anti-inflammatory efficiency. In addition, the Boswellic acid (BAs) present in gum resin is responsible for the anti-inflammatory properties. In the literature BAs have anticancer effects by triggering apoptosis in cancer cells through caspase activation. Additionally, several preliminary clinical trials encourage the procedure of *Boswellia serrata* to treat a variety of chronic inflammatory diseases.

Bovine serum albumin (BSA), which combines several advantages such as good biocompatibility, low toxicity and preferential uptake in the tumor is of interest for the treatment of different types of cancer. There is increasing interest in the use of BSA-based formulations in drug delivery systems, and several formulations have been approved by the FDA.

5-Fluorouracil (5-FU) has been used in the treatment of different cancer such as the colon, breast, esophagus, stomach, and pancreas since it was first synthesized in 1957. It is a known fact that 5-FU, one of the cornerstones of chemotherapy, improves survival in cancer patients.

Gallic acid (3,4,5-trihydroxybenzoic acid) (GA), a phenolic compound found in acorns, tea leaves, blueberries and other plant species, has antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory, radical scavenging effects as well as effective against many tumor cell types. It has been reported as an anticancer agent. GA, which has mild toxicity at low concentrations, can form strong complexes as a result of the presence of more than one adjacent hydroxyl group in its structure. With the mentioned features of GA, the use of stable complexes formed with metal ions in many MOF structures for different purposes has been reported. According to *in vitro* and *in vivo* experimental results, GA may contribute to cancer treatment by reducing Fe(III) to Fe(II) and increasing the Fenton reaction efficiency. Considering the interactions of metal ions and polyphenols, the GA-induced Fe(III)/Fe(II) conversion can be used as a catalyst to convert intracellular H_2O_2 to OH, thereby accelerating the intracellular Fenton reaction. Co-administration of GA and Fe additives in the polyphenol-metal-drug structure synthesized in line with this target can effectively trigger the Fenton reaction for cancer treatment of GOx or Au-modified nanocomplexes.

In this thesis, two drug delivery systems based on ZIF-8 were developed. In the first of these systems, 5-sulfosalicylic acid and BAs were loaded onto the BSA-centered ZIF-8 nanostructure. The capsule structure is provided by the ZIF layer for the storage of 5-sulfosalicylic acid and BAs under physiological conditions. The characterization results confirmed the syntheses. The pH dependent dissociation of ZIF-8 is an important parameter for pH sensitive drug release detection of 5-sulfosalicylic acid. 5-sulfosalicylic acid is not free at physiological pH, but is released from 5-sulfosalicylic acid/BSA@ZIF-8 and 5-sulfosalicylic acid/BSA/BAs@ZIF-8 nanostructures at acidic pH (5). The best biocompatibility has been found in 5-sulfosalicylic acid/BSA/BAs@ZIF-8 compared to the other synthesized nanosystems. In addition, 5-sulfosalicylic acid/BSA/BAs@ZIF-8 caused higher cytotoxicity in the MCF-7 cells compared to other nanosystems. As a result, it was concluded that the synthesized ZIF-8-based nanocarrier could provide therapeutic effects on breast cancer cells.

As the second drug delivery system, a modified Fe-doped ZIF-8 MOF structure, which was modified with the phenolic compound gallic acid, was synthesized. It was aimed to increase the therapeutic efficiency of the developed drug delivery system with glucose oxidase enzyme and gold nanoparticles. The successful fabrication and structural properties of nanocarriers were verified using different characterization methods such as SEM, TEM, FT-IR, Zeta potential, XRD and TGA analyses. Studies on drug loading capacity and encapsulation efficiency have shown that the designed ZIF-8-based nano drug carrier structures have high encapsulation efficiency. pH-dependent drug releases were observed in *in vitro* drug release studies with ZIF-8@GA@Fe@5-FU, ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au systems at pH 5,0 and pH 7,4. According to *in vitro* cytotoxicity results, ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx was determined as the most effective structure causing apoptosis and various morphological changes on MDA-MB-231 breast cancer cell lines. In addition, ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au structure containing gallic acid together with ZIF-8@GA@Fe@5-FU also showed luminescence properties. The obtained results show that the developed drug delivery systems are alternative and suitable representatives for drug delivery applications in breast cancer cell lines.

1. GİRİŞ

Meme kanseri, dünyadaki en yaygın ikinci malign neoplazm türüdür. Meme kanseri, genetik ve epigenetik olarak farklı hastalıkların oldukça heterojen bir grubudur (Mota de Lima et al., 2017).

Kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi yöntemler kanser tedavisindeki mevcut seçeneklerdir. Bununla beraber kemoterapötiklerin yan etkileri ve ayrıca çeşitli klinik özellikler nedeniyle meme kanseri hastalarının tedavisi sınırlıdır. Bu nedenle bugüne kadar kaydedilen yeni ilaçların etkinliğini artırmak için yeni tedavi yaklaşımları geliştirilmiştir (Sanad et al., 2019).

Nanoteknoloji, çok çeşitli biyomedikal uygulamalarda kullanılacak yeni nanomalzemelerin geliştirilmesine imkan sağlayan önemli bir alandır. Nanomalzemelerin spesifik ve önemli kimyasal ve fiziksel özelliklerine göre, nanobilim ve nanoteknolojinin popülerliği son on yılda artmıştır ve araştırmacılar için uygulama alanı çeşitliliği sunmuştur (Özsoy et al., 2021a) ve bu alanların içinde ilaç taşıyıcı sistemler önemli bir yere sahiptir. Genel olarak iki tip ilaç taşıyıcı sistem bilinmektedir: inorganik sistemler, örneğin grafen, zeolitler ve silika nanopartiküller (NP'ler); ve protein nanoparçacıkları, lipozomlar ve polimerler (Bugnicourt & Ladavière, 2017; Y. Qin et al., 2017; Tian et al., 2018; Tran & Lee, 2018) dahil olmak üzere organik sistemler. Organik taşıyıcılar biyoyumludur, ancak zayıf yükleme potansiyeli ve üstesinden gelmesi zor uçuculuk gibi dezavantajları vardır (Bugnicourt & Ladavière, 2017). İnorganik taşıyıcılar, iyi tanımlanmış yüksek stabilite, absorpsiyon, kontrollü ilaç salımı ve yüksek ilaç yükleme gibi birçok avantaja sahiptir ancak insan vücudundan uzaklaştırılmaları zordur (Baeza et al., 2017).

Metal-organik kafesler, metal iyonları ve organik bağlayıcılardan oluşan oldukça gözenekli malzemelerdir (Uzak et al., 2020). Metal organik kafes, olağanüstü fiziksel özellikleri, düşük toksisitesi, iyi klirensi, kolay işlevselleştirilmesi, iyi biyoyumluluğu ve yüksek ilaç yükleme kapasitesi ile ilaç taşınması için yaygın olarak tercih edilen adaylardır. Çok dişli organik bağlayıcılar aracılığıyla bağlanan metal düğümlerden oluşan aşırı gözenekli malzemelerin yeni bir nesli olan MOF'lar, ayırma,

kataliz, depolama, su arıtma ve gaz tutmanın yanı sıra ilaç taşınmasını içeren farklı uygulama alanlarında dikkate değer bir potansiyele sahiptir (X. Fu et al., 2022a). İlaç biyoyararlanımı, zayıf yükleme kapasitesi, kontrolsüz ilaç salımı (yani patlama etkisi), toksisite ve verimsiz hücresel içselleştirme gibi ilaç taşıyıcı sistemler (İTS) için çalışılan stratejilerdeki çeşitli zorluklar hala tam olarak aşılmamıştır (Abánades Lázaro et al., 2020). Bu zorlukların etkisinin üstesinden gelmek için üstün özelliklere sahip MOF yapıları iyi bir alternatif oluşturmaktadır.

Bir MOF alt sınıfı olan zeolitik imidazolat kafes-8, Zn^{2+} ve 2-metil imidazolün koordinasyonu yoluyla oluşan oldukça gözenekli bir nanokompozittir. ZIF-8, düşük sitotoksitesi, geniş gözenekleri, sınırlı yüzey alanı, yüksek performansı, asit duyarlılığı ve çeşitli sentetik işlemlerle üretilmesi nedeniyle araştırmacılar tarafından seçilmiş ve çeşitli uygulamalar için endüstrileştirilmiştir (Feng et al., 2019). ZIF-8, fizyolojik pH 7,4'te sıfır salınıma sahiptir, yüksek gözeneklilik, iyi biyoyararlanım ile kanser hücrelerinin düşük pH değerlerinde bozunur ve iyi salınım özellikleri gösterir (Abánades Lázaro et al., 2018).

Liu ve ark. tarafından yapılan çalışmada, sülfosalisilat olarak da bilinen 5-sülfosalisilik asidin biyolojik aktiviteye sahip olduğu ve metal komplekslerinin antimikrobiyal ve antiinflamatuvar aktivite gösterdiği bulunmuştur (Q. Liu et al., 2019). Ek olarak, sakız reçinesinde bulunan BAs, anti-enflamatuvar özelliklerden sorumludur. Diğer çalışmalar, BAs'nin ayrıca kaspaz aktivasyonu yoluyla kanser hücrelerinde apoptozu indükleyerek antikanser etkilere sahip olduğunu göstermiştir (Frank et al., 2009; Narasagoudr et al., 2020). Ek olarak, birkaç ön klinik deneme, *Boswellia serrata*'nın romatoid artrit, osteoartrit, kronik kolit, ülseratif kolit, kollajenöz kolit, Crohn hastalığı ve bronşiyal astım gibi çeşitli kronik enflamatuvar hastalıkları tedavi etme potansiyelini desteklemektedir (Ammon, 2016).

İnsan serum albümini, düşük maliyeti, tümörde tercihli alımı ve düşük toksisitesi nedeniyle ilaç taşınmasına olan ilgiyi artırmıştır. Bu nedenle, sığır serum albümini (BSA) bazlı NP formülasyonları, farklı kanserlerin tedavisi için büyük ilgi görmüş ve Amerika Gıda ve İlaç İdaresi tarafından bazı formülasyonlar önerilmiştir (C.-X. Zheng et al., 2018).

Üçlü negatif meme kanseri (ÜNMK), insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2), progesteron reseptörü (PR) ve östrojen reseptörü (ER) ekspresyonlarından yoksun invaziv ve aşırı derecede agresif bir meme kanseri alt tipidir (Bos et al., 2009).

5-Florourasil (5-FU), ilk sentezlendiği 1957 yılından bu yana kolon, meme, yemek borusu, mide, ve pankreas gibi çeşitli kanser türlerinin tedavisinde kullanılmaktadır. Kemoterapinin temel taşlarından biri olan 5-FU'nun kanser hastalarında sağkalımı iyileştirdiği bilinen bir gerçektir (Abd Al-jabbar et al., 2022a).

Meşe palamudu, çay yaprağı, yaban mersini ve diğer bitki türlerinde bulunan fenolik bir bileşik olan gallik asit (3,4,5-trihidroksibenzoik asit) (GA), antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, radikal süpürücü etkilerin yanı sıra birçok tümör hücre tipine karşı etkili bir antikanser ajan olarak bildirilmiştir (Ye et al., 2020a; X. Zhang et al., 2022). Düşük konsantrasyonlarda hafif toksisiteye sahip olan GA, yapısında birden fazla bitişik hidroksil grubunun bulunması sonucu güçlü kompleksler oluşturabilmektedir. Bahsedilen özelliği ile birçok MOF yapısında metal iyonları ile oluşturduğu kararlı komplekslerinin farklı amaçlarla kullanımı rapor edilmiştir (Chang et al., 2022a). *In vitro* ve *in vivo* deneysel sonuçlara göre GA, Fe(III)'ü Fe(II)'ye indirgeyerek ve Fenton reaksiyonu etkinliğini artırarak kanser tedavisine katkıda bulunabilir. Metal iyonları ve polifenollerin etkileşimleri göz önüne alındığında, GA kaynaklı Fe(III)/Fe(II) dönüşümü hücre içi H₂O₂'yi •OH'ye dönüştürmek için bir katalizör olarak kullanılabilir ve böylece hücre içi Fenton reaksiyonunu hızlandırır. Bu hedef doğrultusunda sentezlenen polifenol-metal-ilaç yapısında GA ve Fe katkı maddelerinin birlikte uygulanması, glikoz oksidaz (GOx) veya Au ile modifiye edilmiş nanokomplekslerin kanser tedavisi için Fenton reaksiyonunu etkili bir şekilde tetikleyebilir (X. Fu et al., 2022a).

Bu çalışmanın amacı fenolik bileşikler ile modifiye edilen ZIF-8 MOF yapılarına antikanser ilaçların yüklenerek meme kanseri hücre hatlarındaki etkinliğinin değerlendirilmesidir. Polifenol katkılarının kanser hücrelerinde antikanser etkileri artırıp, kontrol grubu hücrelerde toksisiteyi azaltarak etki göstermesi beklenmektedir. BSA gibi protein katkılarının ilaç taşıyıcı sistemin biyoyumluluğunu arttırması, ayrıca GOx ve Au katkılarının ilaç taşıyıcı sistemde açlık terapi ve fotolüminesans etkilerinin gözlenmesi amaçlanmıştır.

2. KANSER TEDAVİSİNDE İLAÇ TAŞIYICI SİSTEMLER

2.1. Kanser ve Oluşum Mekanizmaları

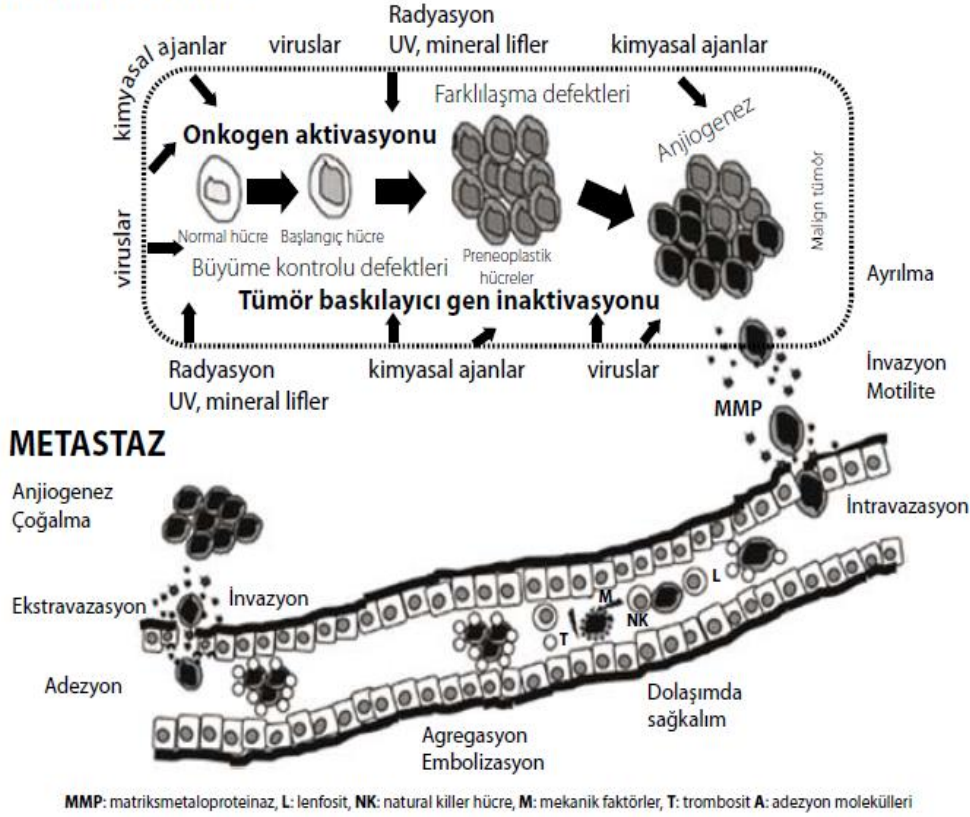
Dünyanın en büyük sorunları arasında yer alan kanser, hareketsiz yaşam tarzı, düzensiz beslenme, yaşam gereksinimlerindeki katkılar, nüfus artışı, genetik faktörler ve yaşlanma faktörlerinden etkilenmekte ve her birimiz için tehdit oluşturmaktadır. Meme kanseri, kadın popülasyonunda görülme olasılığı 1/8 olan, yaşamı olumsuz etkileyen agresif bir kanser türüdür (Abd Al-jabbar et al., 2022a). Hücrelerin bölünmesi ve çoğalması genlerin kontrolünde gerçekleşir ve bu işleyişin bozulması ile sonuçlanan kanser, genlerle ilişkili bir hastalık kabul edilmektedir. Kanser hücreleri normal hücrelerden ayırt edilebilecek birçok özelliğe sahiptir (Baykara, 2016):

- Hücre reseptörleri daha sık sinyal alır.
- Kendi sinyal sistemleri ile kontrolsüz hücre çoğalmasına neden olurlar.
- Her tipteki besin kaynağını kullanabilen sağlıklı hücrelere kıyasla kanser hücreleri sadece glikoliz sonucu oluşan glikozu kullanabilir. Normal hücrelerden yaklaşık 100 kat fazla şekeri kandan alırlar ve laktat üretimi sonucu enerji sağlarlar (Warburg etkisi).
- İhtiyaç duydukları oksijen ve besini almak amacıyla çevrelerindeki stromayı etkileyerek yeni damar sistemleri oluşturabilirler (neo-vaskülarizasyon).
- Telomerlerini sabitleyerek veya telomeraz aktivitesini koruyarak sonsuz replikasyon yeteneği ile çoğalabilirler.
- Dolaşım sistemine giren kanser hücreleri uzak bir bölgeye hareket eder ve yeni bir dokuya yerleşerek metastazı başlatabilir.
- Apoptozdan kaçabilirler.
- Genetik ve epigenetik olarak stabil değildir.

Kanser, kontrolsüz hücre çoğalması ile ilgili bir hastalıktır. Kötü huylu bir tümörün, farklı proliferasyon eğilimlerine sahip çeşitli hücre tiplerinden oluştuğu deneysel

olarak belirlenmiştir (Samanta & Kar, 2021). Şekil 2.1.'de kanser oluşum mekanizmaları ayrıntılı bir şekilde görülmektedir (Aliustaoğlu, 2014).

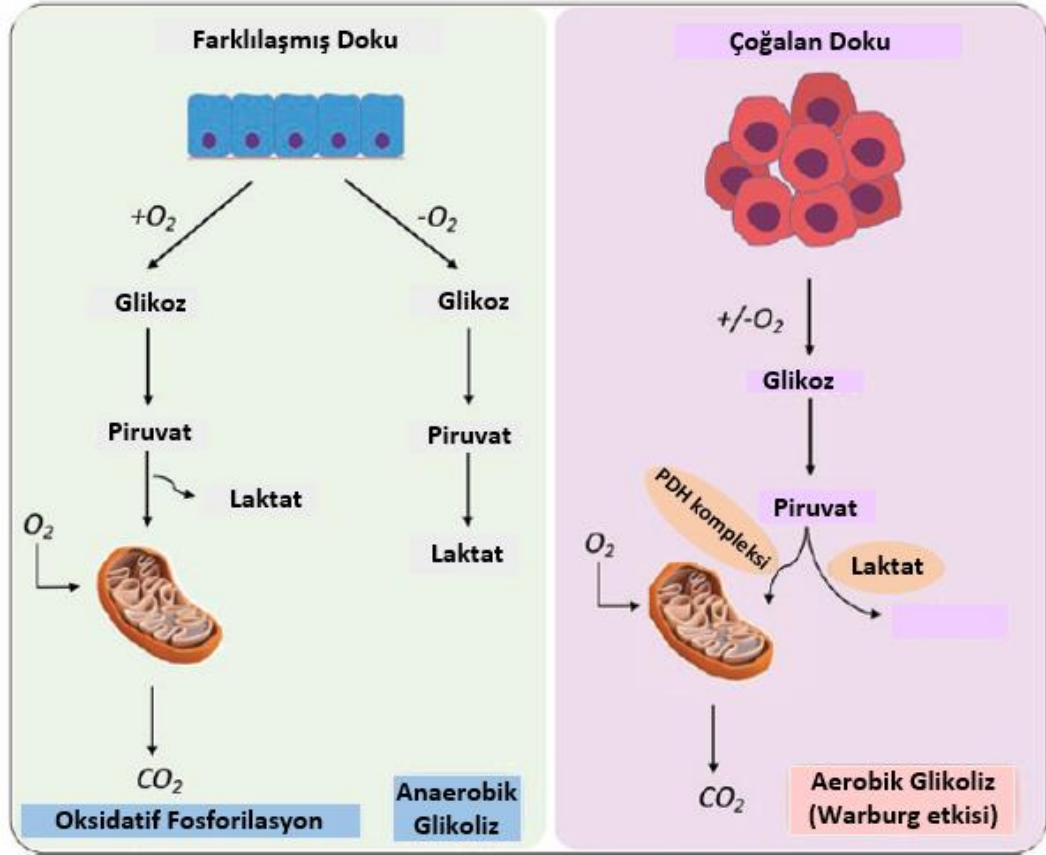
KARSİNOGENEZ



Şekil 2.1. Karsinogenezin oluşumu (Aliustaoğlu, 2014).

Çeşitli kanser hücrelerinde enerji metabolizmasında ve besin alımında dramatik değişiklikler yaygın olarak gözlenmektedir ve kontrolsüz hücre çoğalması ve büyümesi desteklenmektedir (Z. Liu et al., 2021). Kanser hücrelerinin sınırsız replikasyon yeteneğinin devamlılığı aldıkları en önemli besinlerden biri olan glikoz ile sağlanmaktadır. Glikoz ATP'yi sentezlemekle beraber kanser hücrelerine karbon kaynağı sağlamaktadır (Vander Heiden et al., 2009). En iyi bilinen glikoz metabolik yeniden programlama biçimlerinden biri, çoğu kanser hücrelerinin aerobik koşullar altında bile glikoliz yoluyla ATP ürettiği, normal hücreler için ise yalnızca aerobik olmayan koşullarda gerçekleştiği olgusuna atıfta bulunan "Warburg etkisi"dir (Warburg, 1956). Birçok hız sınırlayıcı enzimin değiştirilmiş ifadeleri, Warburg etkisinin aktivasyonuna katılmaktadır (Vander Heiden et al., 2009) ve çok sayıda onkogen ve tümör baskılayıcı, çeşitli enerji yeniden programlama süreçlerinde yer almaktadır (Stine et al., 2015).

Şekil 2.2.'de kanser hücrelerinde farklılaşan glikoz metabolizmasına ait mekanizma gösterilmektedir.



Şekil 2.2. Kanserde glikoz metabolizması: Warburg etkisi (Bose et al., 2021).

2.2. Meme Kanseri ve Kanser Tedavi Yöntemleri

Meme kanseri, dünyadaki en yaygın ikinci malign neoplazm türüdür. Meme kanseri, genetik ve epigenetik olarak farklı hastalıkların oldukça heterojen bir grubudur (Mota de Lima et al., 2017). Kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi meme kanserindeki mevcut tedavi stratejileridir. Kemoterapötiklerin etkinlikleri, toksik yan etkileri ve ayrıca farklı klinik özellikler nedeniyle meme kanseri hastalarının tedavisi sınırlıdır. Bu nedenle bugüne kadar kaydedilen yeni ilaçların etkinliğini artırmak için yeni tedavi yaklaşımları geliştirilmiştir (Sanad et al., 2019). Nanopartiküllerin biyolojik olarak uygulanması, meme kanseri tanı ve tedavisinde ivme kazanan güncel yaklaşımlardır. Nano boyuttaki materyaller sayesinde, hücre zarı engeli aşılabılır ve hem hücrenin yüzeyindeki hem hücrenin içindeki biyomoleküllerle etkileşim imkanı sağlanır. Nanopartiküller kullanılarak ilacın dolaşım süresi ve antikanser etkinliği

arttırılabilmekte, aynı zamanda kanser kitlesi erken dönemde belirlenebilmektedir (Akyolcu & Kandem, 2019).

Kanserin tedavisinde yaygın kullanılan kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi tedavi yöntemlerine ek olarak hormon terapisi ve biyolojik yöntemlerin kullanılması, farklı yaklaşımların da tedavide sinerjik katkılarının bulunması söz konusudur. Her yöntemin kendi içinde pozitif ve negatif yönlerinin bulunması, kanserin kişisel bir hastalık olmasına bağlı olarak, tedavilerin her bireyde farklılık gösterebilmesi nedeniyle mevcut şartlarda kansere özgü spesifik tedavi stratejileri belirlenmelidir (Baykara, 2016). Tablo 2.1.'de kanser tedavi yöntemleri ayrıntılı bir şekilde açıklanmıştır.

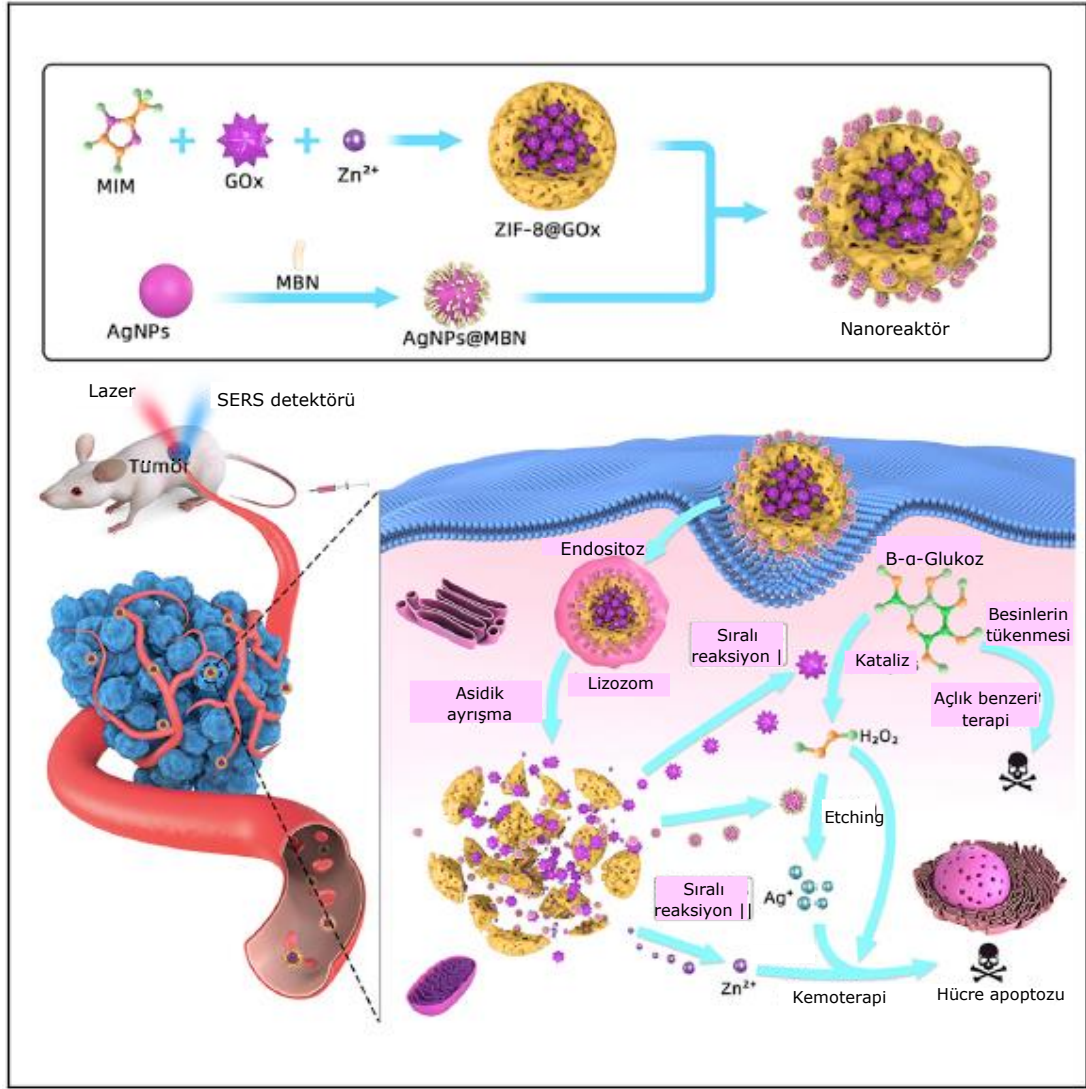
Tablo 2.1. Kanser tedavi yöntemleri ve mekanizmaları (Baykara, 2016).

Kanser Tedavi Yöntemi	Mekanizması
Radyoterapi	Kanserli hücreleri iyonlaştırıcı ışınlar kullanarak öldürmeye dayanan bir tedavidir.
Kemoterapi	Kanser hücrelerini kemoterapötik ajanlarla öldürmektir, sitotoksik ve anti-neoplastik ajanlar tedavinin öncüsüdür.
Kök hücre tedavisi	Bu hücreler belli genleri veya faktörleri ifade etmek üzere özel olarak programlanarak kanser tedavisinde kullanılabilir.
Hormon tedavisi	Vücudun doğal yollardan ürettiği hormon, kanser hücresine bağlanarak hücre büyümesini engellemektedir.
6 Cerrahi yöntemler	Gelişen kanserlerin engellenmesinde profilaktik olarak, dokudan bir parça alıp (biyopsi) tanı konmasında ve metastaz veya yayılım olmayan durumlarda kanserli dokunun/kitlenin vücuttan çıkarılmasında çok sık kullanılmaktadır
Biyolojik tedaviler	Biyolojik maddeler (monoklonal antikolar, kanser aşılı, anti tümörojenikler, anti anjiyogenikler, interferonlar, interlökinler ve gen terapi) kullanarak kanserin tedavi edilmesidir.
İmmünoterapi	Vücudun bağışıklık sisteminin iç ve dış uyaranlara karşı cevabını kullanarak yapılan tedavidir. Tedavideki amaç bağışıklık sistemini harekete geçirip kanserli hücelere saldırmasını sağlamaktır
Alternatif yöntemler	Fotodinamik tedavi, radyofrekans ablasyon tedavisi, hiperbarik oksijen tedavisi, uyaranlara duyarlı ilaç taşıyıcı sistemler (deney aşamasında)

2.2.1. Açlık terapi ve glikoz oksidaz

Açlık tedavisi, tümör hücrelerinin enerji ihtiyacını karşılayan metabolizmayı bozarak tümör büyümesini engellemeye dayanan mekanizması ile kanser tedavisi için önemli bir stratejidir. Kanser hücreleri normal hücrelerden daha fazla enerjiye ihtiyaç duydukları için hızla çoğalırlar. Warburg etkisi ile açıklanan bu durum, tümör hücrelerinin enerji kaynağının verimsiz aerobik glikoliz ile bağlantılı olduğunu ve kanser hücrelerinin hücre içi glikoz miktarına daha duyarlı olduğunu belirtmektedir. Bu görüşe göre, yüksek düzeyde hücresel glikoz metabolizması kanser ile ilişkilidir. Bir tür oksidoredüktaz olan GOx, glikozu oksijenle H₂O₂ ve glukonik aside kataliz etmektedir. Bu katalitik reaksiyonun bir sonucu olarak, hücre içi glikoz tüketilir ve tümörün enerji sağlama mekanizması bloke edilir, böylece tümör büyümesi inhibe edilir (Yan Zhang et al., 2022). Tüm bu sonuçlar bize GOx'un açlık tedavisi için umut verici bir ajan olduğunu göstermektedir.

Kemoterapi ve açlık terapinin birlikte kullanıldığı bir başka çalışmada Sun ve ark., 4-merkaptobenzonitril ile dekore edilmiş gümüş nanoparçacıkların (AgNPs@MBN) ve GOx yüklü metal-organik kafesin (ZIF-8@GOx) bir düzeneği olan akıllı ve katalitik kaskad ile güçlendirilmiş kemo-açlık sinerjistik tedavisini ve eşzamanlı hücresel glikoz seviyesinin kendi kendini algılamasını başlatmak için tümör mikro ortamı tarafından parçalanabilir ve etkinleştirilir bir nanoreaktörü rapor etmiştir (Şekil 2.3.). Tümörün hafif asidik mikroçevresi altında, nanoreaktör çökerek *in vivo* katalitik bir kaskad reaksiyonunu tetikleyen, glikozu tüketen, AgNPs@MBN'yi aşındıran ve toksik H₂O₂, Ag⁺ ve Zn²⁺ iyonları üreten GOx'u serbest bırakacaktır; bunların tümü tümör büyümesini inhibe etmek için birlikte çalışır. SERS nanoprobu olarak AgNPs@MBN, terapötik ilerlemenin anında geri bildirimini elde etmek için tümördeki glikoz konsantrasyonunu noninvaziv olarak ölçmek için kullanılmaktadır. Bu çalışma, enzim kapsüllü biyomineralize MOF'ların klinik uygulamalar için etkili bir antikanserojen olarak kullanılmasının umut verici bir örneğini önermektedir (D. Sun et al., 2020).



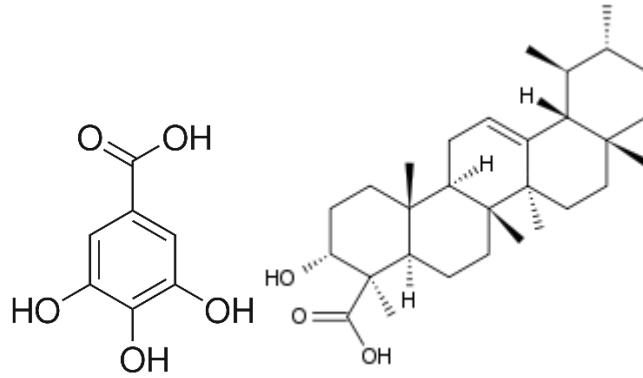
Şekil 2.3. Nanoreaktörün tasarımı ve kanser hücreleri için katalitik kademeli geliştirilmiş sinerjistik kemo-açlık tedavisi (D. Sun et al., 2020).

2.2.2. Polifenol katkılarının kanser tedavisindeki rolü

Doğal polifenoller, antioksidan, antikanser ve antibakteriyel gibi çok yönlü işlevleri nedeniyle tıpta, gıda ve kozmetikte büyük ilgi görmektedir. Doğal polifenollerdeki polifenolik yapılar (yani katekol ve pirogallol), çoklu hidrojen bağı ve hidrofobik etkileşimler yoluyla güçlü kovalent olmayan etkileşimlerden, boronat grupları ve çoklu metal iyonları ile dinamik kovalent kompleksleşmeden sorumludur. Doğal polifenoller, çeşitli kargo moleküllerinin taşınması için nanopartiküller, nanokapsüller ve hidrojeller gibi biyomateryallerin üretiminde yaygın olarak kullanılmıştır. Fenolik bileşikler, hafif fizyolojik koşullar altında oligomerlere, polimerlere ve nanopartiküllere oksitlenebilir ve fenolik ligandlı nanomateryaller ilaç taşınması, fototermal terapi, antibakteriyel ürünler ve güneş kremleri gibi çeşitli uygulamalar için

kullanılabilir. Ayrıca, çok sayıda kateşol/pirogallol grubundan oluşan doğal polifenoller, fonksiyonel materyaller geliştirmek için çeşitli polimerlerle kolaylıkla birleştirilebilir (Hui Wang et al., 2020).

Doğal polifenollerden biri olan gallik asit (Şekil 2.4.), meşe palamudu, çay yaprağı, yaban mersini ve diğer bitkilerde bulunmaktadır. GA antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, radikal süpürücü etkilerin yanı sıra birçok tümör hücre tipine karşı etkili bir antikanser ajan olarak bildirilmiştir (Ye et al., 2020b; X. Zhang et al., 2022).



Şekil 2.4. Gallik asit ve bosvelik asidin kimyasal yapısı.

Düşük konsantrasyonda hafif bir toksisiteye sahip olan GA, yapısında birden fazla bitişik hidroksil grubunun bulunması sonucu güçlü kompleksler oluşturma yeteneğine sahiptir. Bahsedilen özelliği ile birçok MOF yapısında metal iyonları ile oluşturduğu kararlı komplekslerinin farklı amaçlarla kullanıldığı bildirilmiştir (Chang et al., 2022b). Ayrıca *in vitro* ve *in vivo* deneysel sonuçlara göre GA, Fe(III)'ü Fe(II)'ye indirgeyerek ve Fenton reaksiyonu etkinliğini artırarak kanser tedavisine katkıda bulunabilir. Metal iyonları ve polifenollerin etkileşimleri göz önüne alındığında, GA kaynaklı Fe(III)/Fe(II) dönüşümü hücre içi H_2O_2 'yi $\bullet OH$ 'ye dönüştürmek için bir katalizör olarak kullanılabilir ve böylece hücre içi Fenton reaksiyonunu hızlandırmaktadır. Bu hedef doğrultusunda sentezlenen polifenol-metal-ilaç yapısında GA ve Fe katkı maddelerinin birlikte uygulanması, GOx veya Au ile modifiye edilmiş nanokomplekslerin kanser tedavisi için Fenton reaksiyonunu etkili bir şekilde tetikleyebilir (X. Fu et al., 2022b).

Bosvelik asit (BAs), çeşitli akut ve kronik enflamatuvar hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan *Boswellia serrata* bitkisinin önemli aktif bileşenleridir. Bu asitler, hem *in vitro* hem de *in vivo* hayvan modellerinde çok güçlü anti-inflamatuvar aktivitelerini göstermiştir. Ayrıca, anti-artritik, antiromatizmal, anti-hiperlipidemik,

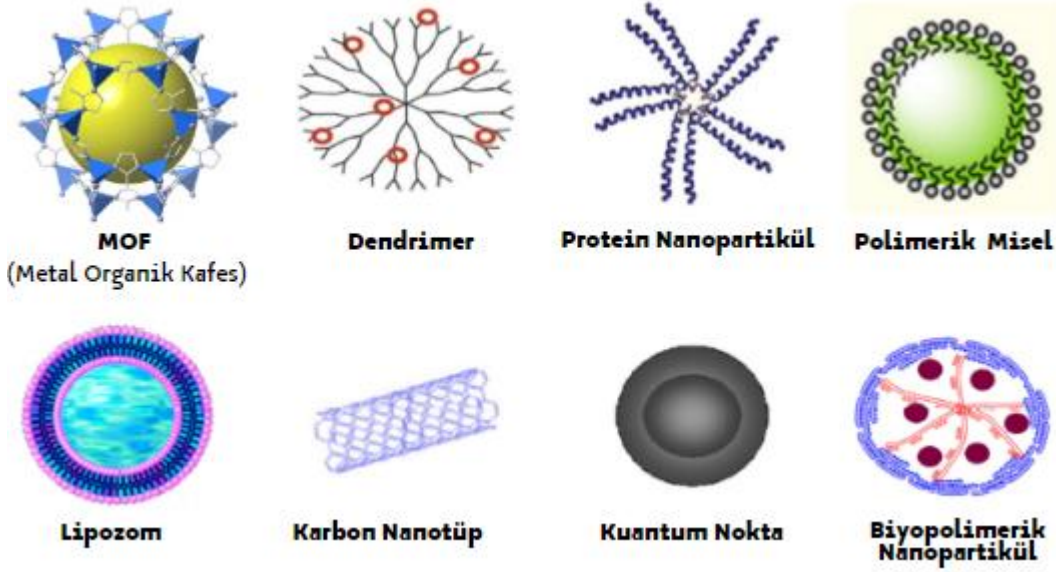
antikanser, anti-mikrobiyal, analjezik aktiviteleri, hepatoprotektif ve immünomodülatör aktiviteleri bildirilmiştir. BAs, araşidonik asit metabolizmasında yer alan bir enzim olan 5-lipoksijenazın (5-LOX) spesifik ve redoks olmayan inhibitörleridir. Klinik öncesi veriler ayrıca bu bileşiklerin hem hücre kültüründe hem de *in vivo* modellerde çeşitli malign tümör tiplerine karşı anti-kanser potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, antikanser etkilerine neden olan moleküler mekanizmalar henüz aydınlatılamamıştır (Sharma & Jana, 2020).

2.3. Kanser Tedavisinde Kullanılan Nano-İlaç Taşıyıcı Sistemler ve Özellikleri

Nano-ilaç taşıyıcı sistemler, doğal veya sentetik nanometre boyutlu dispersiyon sistemlerini ifade eder. Teorik olarak, 1 ile 1000 nm arasında değişen partikül boyutlarına sahip herhangi bir atomik agregat, nano-ilaç taşıyıcı sistemlerde bir taşıyıcı görevi görebilir. İlaç taşıyıcı sistemler aşağıdaki özelliklere sahiptir (Fang et al., 2020):

- İlaç çözünürlüğünü artırabilir, ilaçların emilim oranını ve biyoyararlanımını iyileştirebilir, farmakokinetik özelliklerini optimize edebilir.
- Kan-beyin bariyerini geçebilir, interstisyel boşluğa girebilir, spesifik doku hücrelerinde kalabilir ve ilacı yavaşça salgılayarak hedefe yönelik tedaviye izin verebilir.
- Nano ilaç taşıyıcı sistemlerin görsel işleyişinin uygulanmasına yardımcı olan çeşitli görüntüleme teknolojileri tarafından gerçek zamanlı olarak izlenebilir ve yönetilebilirler.
- 200 nm'den küçük çaplı nano-ilaç taşıyıcı sistemler dokulardan kolaylıkla geçebilir. Bu, ilaç yüklü nanopartiküller kan damarlarına enjekte edildiğinde tromboz riskini azaltır.

Farklı nanopartikül ilaç taşıyıcı sistemlere inorganik nanopartiküller, dendrimerler, protein nanopartiküller, polimerik miseller, lipozomlar, karbon nanotüpler, kuantum noktalar ve biyopolimerik nanopartiküller örnek olarak verilebilir (Şekil 2.5.).



Şekil 2.5. Farklı nanopartikül ilaç taşıyıcı sistemlere örnekler (Montané et al., 2020).

Kontrol edilebilir ve seçici ilaç taşınmasının geliştirilmesi geleneksel terapötik ilaçların doğal dezavantajlarından kaçınırken yeterli dozda kemoterapötikleri ilgili hedeflere iletme yolları, tıbbi biyokimya araştırma alanları arasındadır. Bu görevleri başarmak için ilaç taşıyıcı sistemlerin mimarisinde birkaç temel kriter dikkate alınmalıdır. En önemli kriter, taşıyıcı hedef pozisyonuna ulaştığında sağlıklı hücreler üzerinde yaratacağı yan etkileri en aza indirmek için yüklenen ilacın salınımını mümkün olduğunca bloke ederek daha uzun süre salınmasını sağlamaktır. İlaç yüklü taşıyıcı hedefe çarptığında, ilacın istenilen bölgeye kontrollü salınımını sağlayan karmaşık bir mekanizma harekete geçmelidir. Bir antikanser ajanın ilaç olarak yüklenmesi durumunda bu gereksinimin karşılanması özellikle önemlidir (Resen et al., 2022a).

Modern kapsülleme yöntemleri, geleneksel tıbbi yöntemlere göre birçok avantaj sergilemektedir:

- Nanokapsüller, moleküler düzeyde seçici dokuyu hedefleme ve içine girme yeteneğine sahiptir.
- Nanokapsüller geniş yüzey alanı sağlar.
- Nanokapsüller yüksek emilim oranı sağlar.
- Artmış hücresel alım ve ilaç lokalizasyonu sağlar.

- Sağlıklı hücrelerle etkileşime girmeden kanserli hücrelere doğru ve hedefe yönelik ilaç teslimi yapar.
- İlaçların veya küçük moleküllerin kapsüllenmesi nedeniyle daha düşük dozaj gerekir.
- Az çözünen ilaçların alımının iyileştirilmesi sağlanır.
- Tıbbi toksisitede azalma sağlanır.
- Vücudun küçük bölgelerine ilaç taşınımı konusunda daha fazla hassasiyet gösterir.
- İlaç direncinin aşılmasında etkilidir.
- İlaçların nanoenkapsülasyonu vücuttaki fizyolojik engellerden kaynaklanan direnci en aza indirir veya bastırır (Montané et al., 2020).

2.4. İlaç Hedefleme Stratejileri

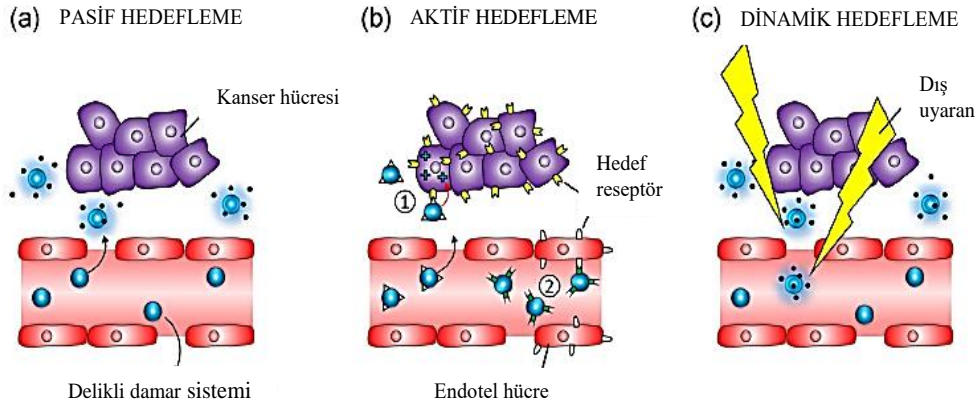
Kanser ilaçlarının, çeşitli kanser hücrelerine hedeflenmesi için üç temel yaklaşım mevcuttur (Şekil 2.6.).

2.4.1. Pasif hedefleme

Kan dolaşımından tümör dokusuna 10-150 nm'lik nanopartiküllerin tercihli ekstravazasyon kapasitesini temsil eder. Tümörlerdeki yeni kan damarlarındaki endotelial hücreler arasındaki sıkı bağlantılar düzgün şekilde oluşmadığından, nanopartiküller tercihen tümör dokusunda birikebilir (Ye Zhang et al., 2019).

2.4.2. Aktif hedefleme

Araştırmacılar, gelişmiş geçirgenlik ve tutunma (EPR) etkisine dayalı pasif hedefleme yoluyla nanopartikül birikiminin yardımıyla tümör görüntülemesine ek olarak, tümör dokularının aktif hedeflenmesi için hücre yüzeyindeki reseptörlerin tanınması üzerine çok sayıda çalışma gerçekleştirmiştir. Genellikle bu yöntemler, her birim zamanda tümör dokusuna verilen nanopartiküllerin sayısını artırır, böylece *in vivo* tümör saptama yöntemleriyle sergilenen hassasiyeti artırır. Aktif tümör hedeflemesi, tümörlerin yüksek kontrastlı görüntüleme ile erken bir aşamada tespit edilmesi, EPR etkisine dayanan pasif hedeflemeden daha iyi bir sonuç elde eder (Ye Zhang et al., 2019).

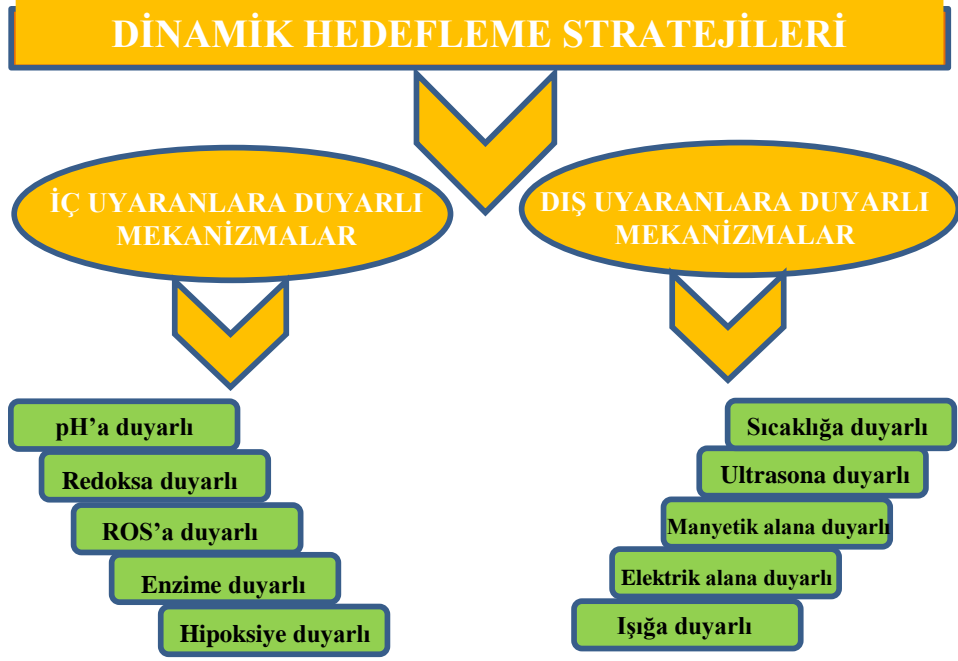


Şekil 2.6. Hedeflenen ilaç taşınım türleri (Aghebatı-Maleki et al., 2020).

Taşıyıcıların tümör dokusuna verilmesi pasif ve aktif hedefleme ile yapılabilir. (a) Pasif hedeflemede nanopartiküller, sızdıran damarlar ve tümörlerin benzersiz intraorgan basınçları yoluyla taşınmak üzere tasarlanmıştır. (b) Kanser hücrelerinin veya tümör endotelyumunun nanopartiküllerinin aktif hedeflenmesi, yüzeye bağlı ligandların moleküler tanınması yoluyla tümörlerde spesifik biyolojik yapılar yapışacak şekilde tasarlanmıştır. (c) Dinamik hedefleme, nanopartiküllerin manyetik alan veya ışık gibi harici bir uyarana maruz kalırsa birleşmesine olanak sağlamaktadır.

2.4.3. Dinamik hedefleme

İTS'ler, hedef bölgelere taşıyıcı naklinin biyolojik karmaşıklığının getirdiği sınırlamaları en aza indirecek şekilde tasarlanmıştır. İşleyişleri temel olarak iki önemli stratejiye dayanır. İlki, statik hedefli strateji, pasif ve aktif hedeflemeyi içermektedir. Pasif hedeflemenin anahtarı, tüm İTS'lerin temeli olan EPR etkisidir. Aktif hedeflemede, nanotaşıyıcıların yüzeyleri, içselleştirme için kanser hücresi reseptörlerine bağlanan hedef ligandlar tarafından modifiye edilir. İkincisi, dinamik strateji (Şekil 2.7.), aktif hedeflemeye iyi bir alternatiftir ve ilaçların taşıyıcılardan salımı için iç ve dış uyaranları aynı anda kullanılmasını sağlar (Moradi Kashkooli et al., 2020).



Şekil 2.7. Dinamik hedefleme stratejisi: İç ve dış uyaranlara duyarlı nano taşıyıcılar.

2.5. Metal Organik Kafes (MOF)

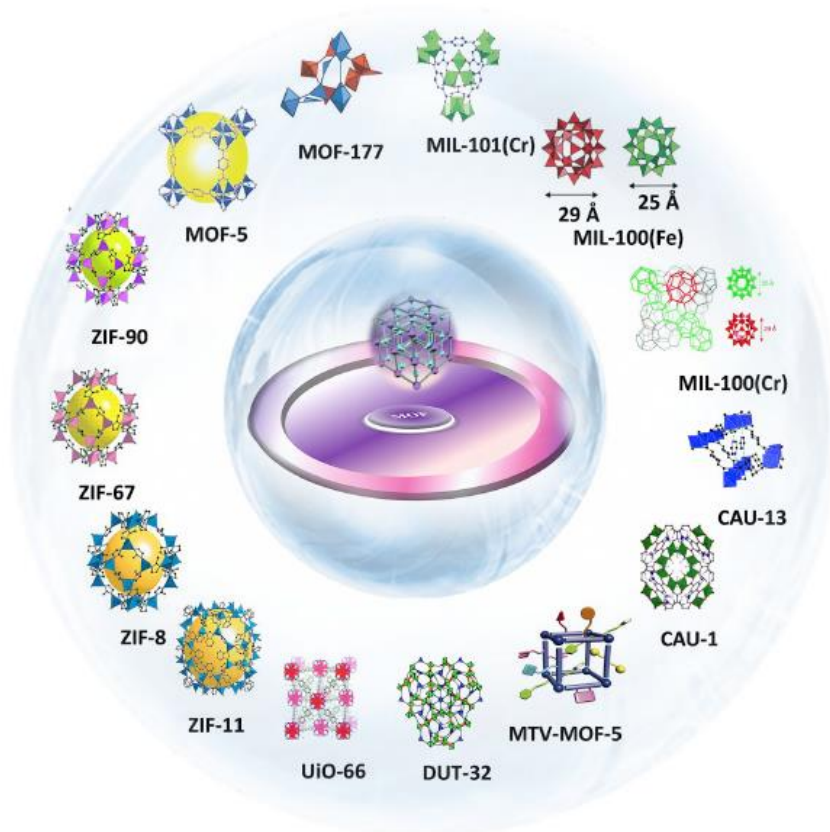
Metal-organik kafesler, metal iyonları ve organik bağlayıcılardan oluşan oldukça gözenekli malzemelerdir ve sentezlendiği ilk zamandan günümüze büyük ilgi görmüştür. Geleneksel malzemelerle karşılaştırıldığında, MOF'lar ilaç taşıyıcı sistemlerde birçok benzersiz özellik ile donatılmıştır. Büyük gözenekli yapı ve geniş yüzey alanları, ilaçların veya konuk moleküllerin yükleme verimliliğini artırır. Aynı zamanda biyoyararlanımı ve ilacın etkinliğini artırabilen işlevselleştirilmesi kolay yapısı ile iyi biyouyumluluk, suda çözünürlük ve vücutta kolay biyobozunurluk özelliklerine sahiptir (Resen et al., 2022b). Özellikle nano ölçekli MOF'lar kanser tedavisi için partiküller içeren ilaç taşıyıcı sistemler arasında umut verici bir nanotaşıyıcı sınıfı olarak değerlendirilir. Son on yılda, nano MOF'lara olan ilgi her geçen gün ivme kazanmaktadır (Y. Wang et al., 2020).

2.5.1. MOF yapılarının tarihçesi ve özellikleri

MOF ilk olarak 1989 yılında Richard Robson ve çalışma arkadaşları tarafından 3D bağlantılı çubuk benzeri parçalardan oluşan sonsuz polimerik kafesler olarak ortaya atılmıştır. 1995'te metal-organik kafes tanımı ilk kez gündeme gelmiştir. O zamandan beri, MOF yapılarını sentezlemek için ilgi hızla artmıştır ve birçok MOF ailesi ortaya çıkmıştır (Şekil 2.8.).

MOF aileleri ve üyeleri:

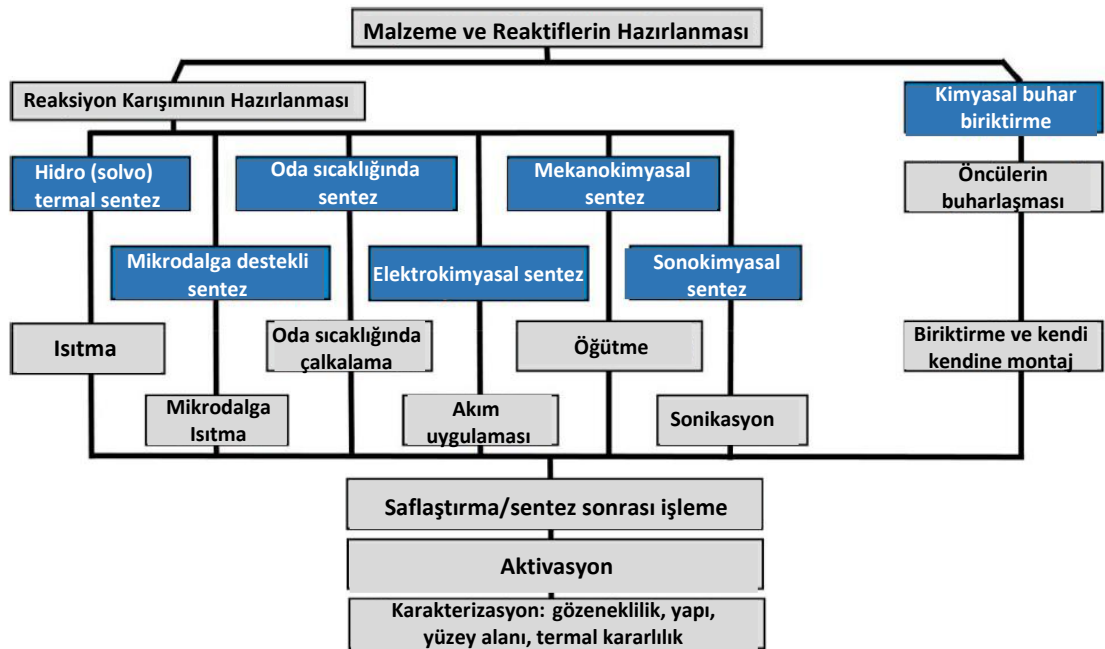
- Metal-Organik Kafes (MOF-n ailesi)
- İzoretiküler Metal-Organik Kafes (IRMOF-n ailesi)
- Çok Değişkenli Metal-Organik Kafes (MTV-MOF-n ailesi)
- Lavoisier Enstitüsü Malzemeleri (MIL-n ailesi)
- Christian-Albrechts-Üniversitesi (CAU-n ailesi)
- Zeolitik İmidazolat Kafesleri (ZIF-n ailesi)
- Oslo Üniversitesi (UiO-n ailesi)
- Dresden Teknoloji Üniversitesi (DUT-n ailesi)
- Gözenekli Koordinasyon Ağı (PCN-n ailesi)
- Northwestern Üniversitesi (NU-n ailesi)



Şekil 2.8. MOF'ların bazı yapı şemaları (Y. Wang et al., 2020).

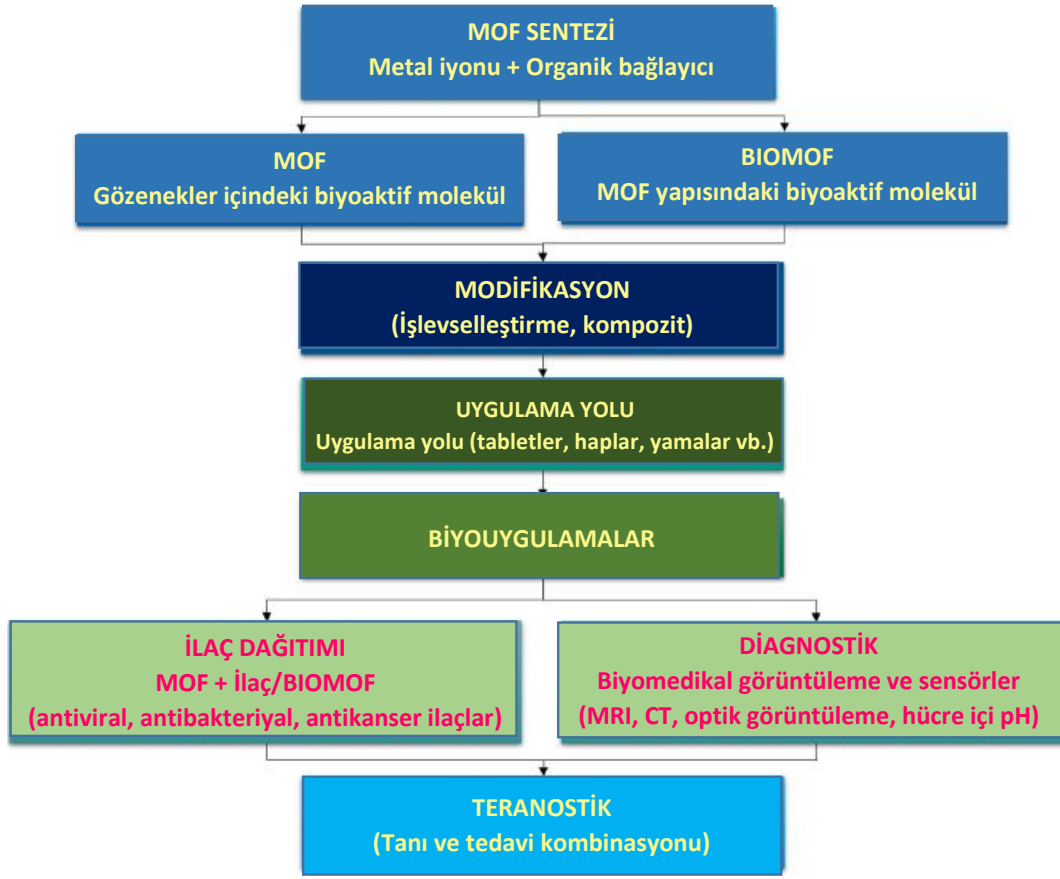
2.5.2. MOF sentezleme yöntemleri ve uygulama alanları

Özel fonksiyonel ve yapısal özelliklerinden dolayı MOF'lar günümüzde önemli bir gözenekli bileşik grubu olarak kabul edilmektedir. Bu kafes yapıları, organik bağlayıcılar ve metal iyon kümeleri ve metal iyonları arasında köprü oluşturularak sentezlenir. MOF'un nihai yapısında ve özelliklerinde önemli ölçüde yer alan bir diğer kavram, seçilen birincil yapı taşlarıdır. Bununla birlikte, sıcaklık, reaksiyon süresi, basınç, pH ve çözücü gibi diğer birçok sentetik yöntem ve parametre de dikkate alınmalıdır. Ortaya çıkan yapılara ve özelliklere dayanan MOF'ları üretmek için yavaş difüzyon, hidrotermal (solvotermal), elektrokimyasal, mekanokimyasal, mikrodalga destekli ısıtma ve ultrason dahil çok sayıda farklı sentez yaklaşımı uygulanabilir (Şekil 2.9.) (Y. Wang et al., 2020).



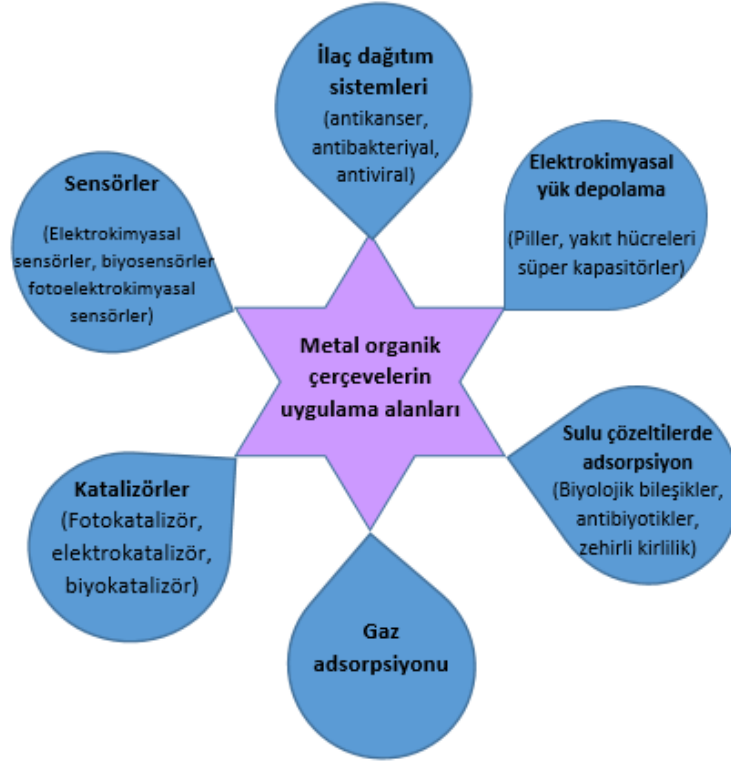
Şekil 2.9. MOF'ların üretimi ile ilgili karmaşık yöntemleri sunan bir akış şeması (Y. Wang et al., 2020).

MOF'ları tasarlamak için metal iyonu ve organik bağlayıcının sentezi sırasında biyoaktif moleküller direk MOF yapısına dahil edilebilir veya sentezin ardından gözenekler içine biyoaktif molekül dahil edilebilir. Modifikasyonla işlevselleştirilen MOF yapıları ilaç taşıyıcı sistem, diagnostik veya teranostik olarak biyomedikal uygulamalarda kullanılabilir (Şekil 2.10.).



Şekil 2.10. Biyomedikal uygulamalarda kullanılan MOF'ların tasarım şeması (Bieniek et al., 2021).

MOF'ların kataliz (Fouladi et al., 2017), enerji ve biyomedikal (Y. Liu et al., 2019; Y. Sun et al., 2020; Zhao et al., 2018) dahil çeşitli alanlarda uygulama potansiyeli geniştir. MOF yapı taşları, diğer nanomalzemelerden farklı olarak gözenekli kristal malzemelerin yeni formları olarak kullanılabilir (Şekil 2.11.) (Yang Zhang et al., 2019).



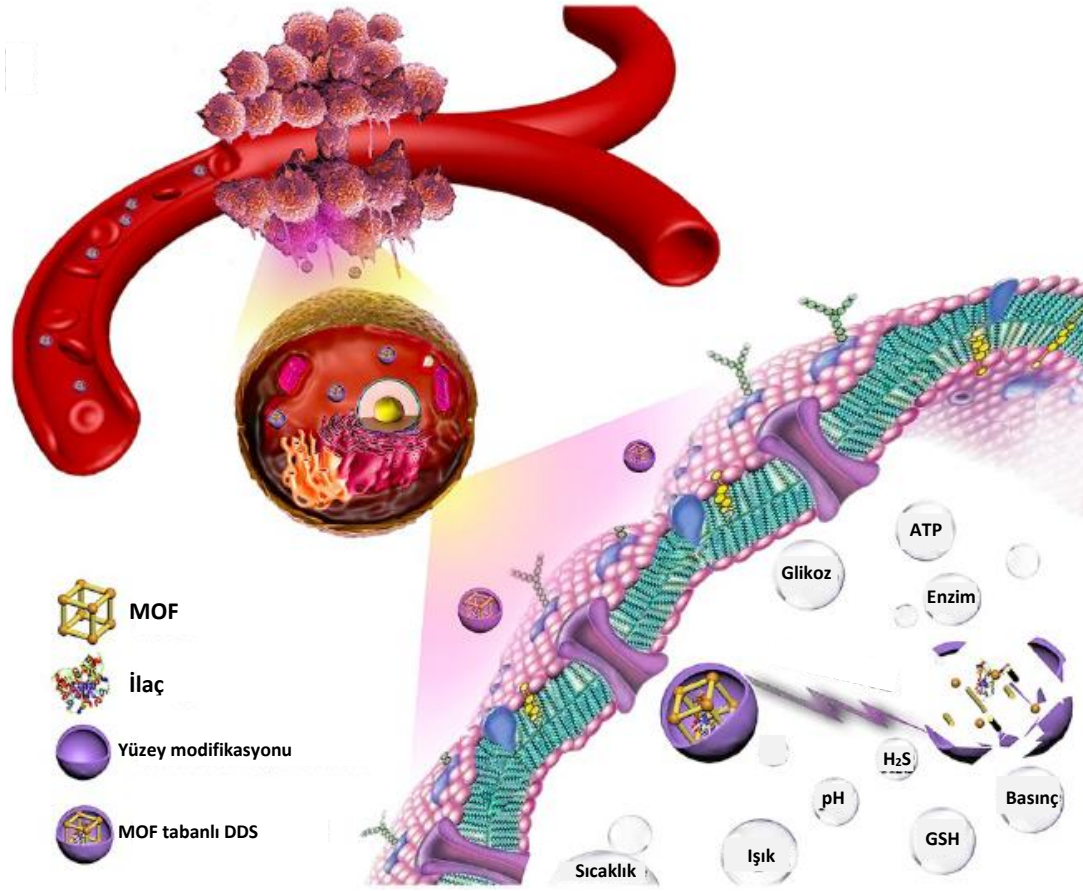
Şekil 2.11. MOF'ların uygulama alanları.

2.5.3. MOF esaslı uyarılara duyarlı ilaç taşıyıcı sistemler

Yaygın ilaç enjeksiyonu yöntemi, nanopartiküllerin kan damarlarındaki endotel ile etkileşime girdiği ve böylece tümör interstitiyumuna seçici olarak geçebilen nanopartiküllerin intravenöz infüzyonunu içermektedir. Nanopartiküller, hedef kanser hücreleri tarafından alınmalı ve terapötik fonksiyonlarını yerine getirecek kadar uzun süre tutulmalıdır. İlaç taşıyıcı sistemler, biyolojik karmaşıklığın hedef bölgelere ilaç iletimi için getirdiği sınırlamaları minimize etmek için tasarlanmıştır. İTS'nin başarılı kabul edilmesi için, ilaç salımının yöntemi ve profili dikkatlice seçilmelidir. Her biri belirli bir amaca bağlı olarak ilaç salımı için çeşitli mekanizmalar vardır (Moradi Kashkooli et al., 2020).

İmidazolil (pH), disülfid bağı (GSH), porfirin (ışık) vb. gibi uyarılara duyarlı grupların veya malzemelerin MOF yapısına dahil edilmesi nedeniyle, akıllı malzemeler uyarılar altında moleküler konformasyonel değişikliklere, protonasyona veya hidrolitik bölünmeye uğrayacaktır. Bu durum MOF yapısına dahil edilen konuk moleküllerin salınmasına yol açar. pH, GSH, glikoz, ATP, iyon, H₂S, enzim, ışık, sıcaklık, basınç vb. gibi uyarılara göre MOF esaslı ilaç taşıyıcı sistemler

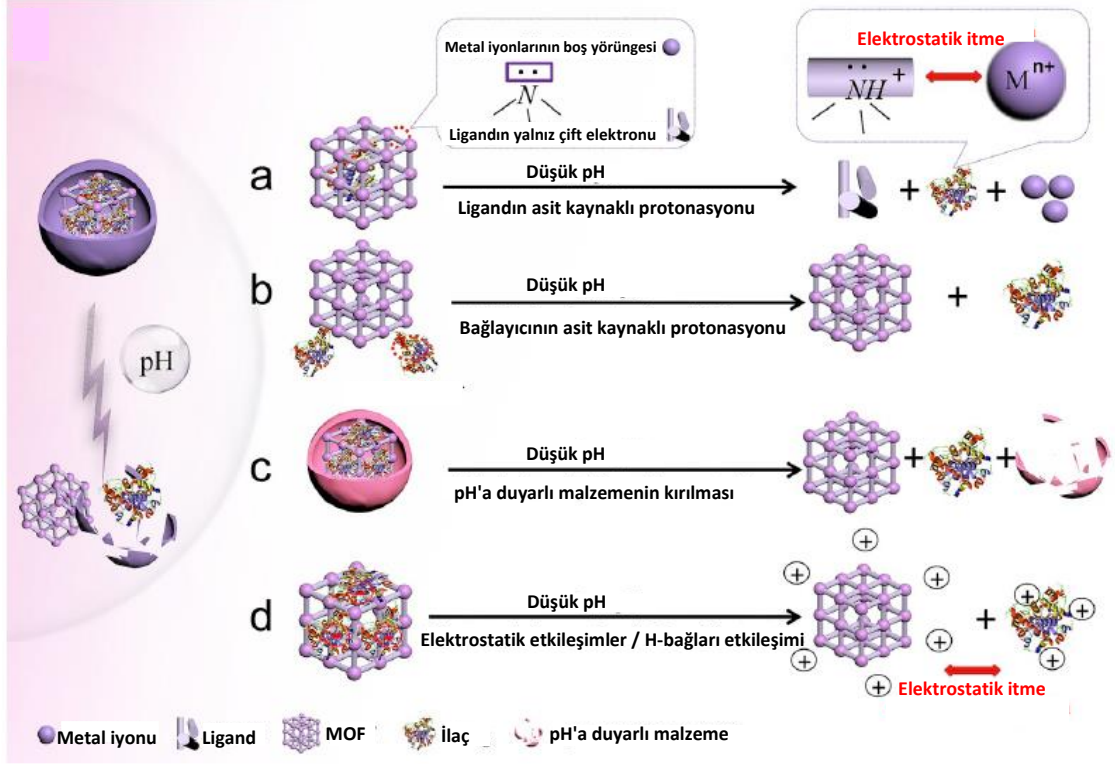
tanımlanmıştır ve literatürde bu salım mekanizmalarını esas alan birçok çalışma mevcuttur (Şekil 2.12.).



Şekil 2.12. MOF esaslı uyarıcılara duyarlı ilaç taşıyıcı sistem (Y. Wang et al., 2020).

2.5.3.1. pH'a duyarlı ilaç salımı

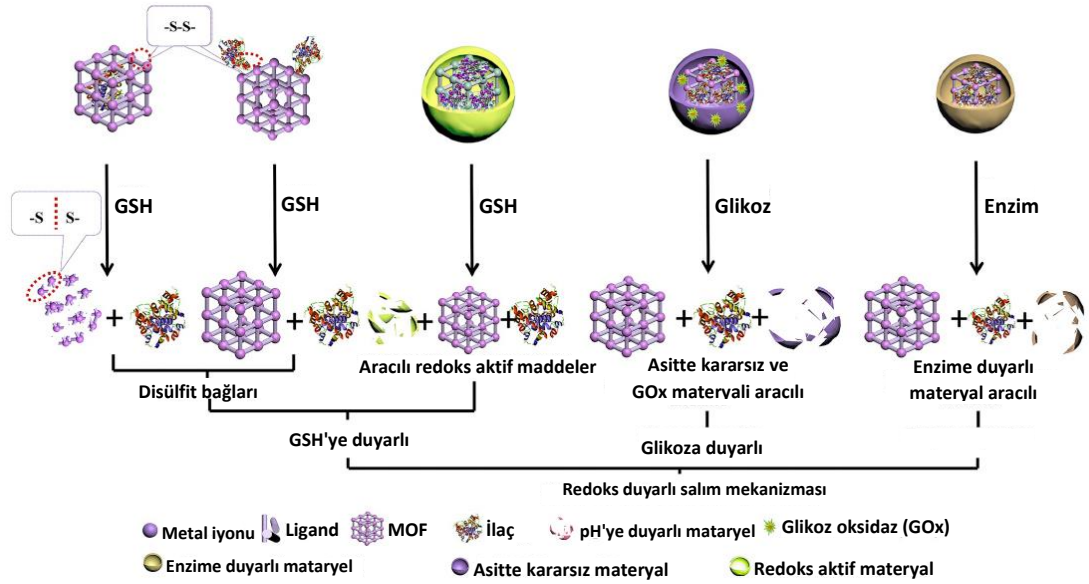
Normal kan ve doku ile karşılaştırıldığında, tümör mikroçevresinde (pH 5,7–7,8), endozomda (pH 5,5–6) ve lizozomda (pH 4,5–5) olmak üzere pH daha düşüktür. Aside duyarlı birçok MOF (ZIF-n, MIL-n, UiO-n, DUT-n ve benzeri), aside kararsız bağlar (amid, oksim, ortoester bağları, imin, poliasetal, poliketal, sülfonatlar vb.) veya diğer pH'a duyarlı malzemeler (karboksimetilselüloz (CMC), kitosan, jelatin polimer vb.) düşük pH'a maruz bırakıldıklarında tahrip olabilir ve bu da yük salınımına neden olabilir. Bu üstün özelliklerden yararlanarak, MOF esaslı pH'a duyarlı ilaç taşıyıcı sistemler, hücre dışı ve hücre içi ilaç taşıyıcısı olarak tasarlanmıştır. pH'a duyarlı İTS'lerin ilaç salım mekanizmaları dört farklı kategoride özetlenebilir: (a) koordinasyon bağlarının protonasyonla indüklenen kırılması, (b) pH ile bölünebilir bağlar, (c) pH'a duyarlı malzemeler ve (d) konukçu yapı-konuk molekül etkileşimleri (Şekil 2.13.).



Şekil 2.13. MOF esaslı pH'a duyarlı ilaç taşıyıcı sistemlerin mekanizmaları (Y. Wang et al., 2020) .

2.5.3.2. Redoksa duyarlı salım

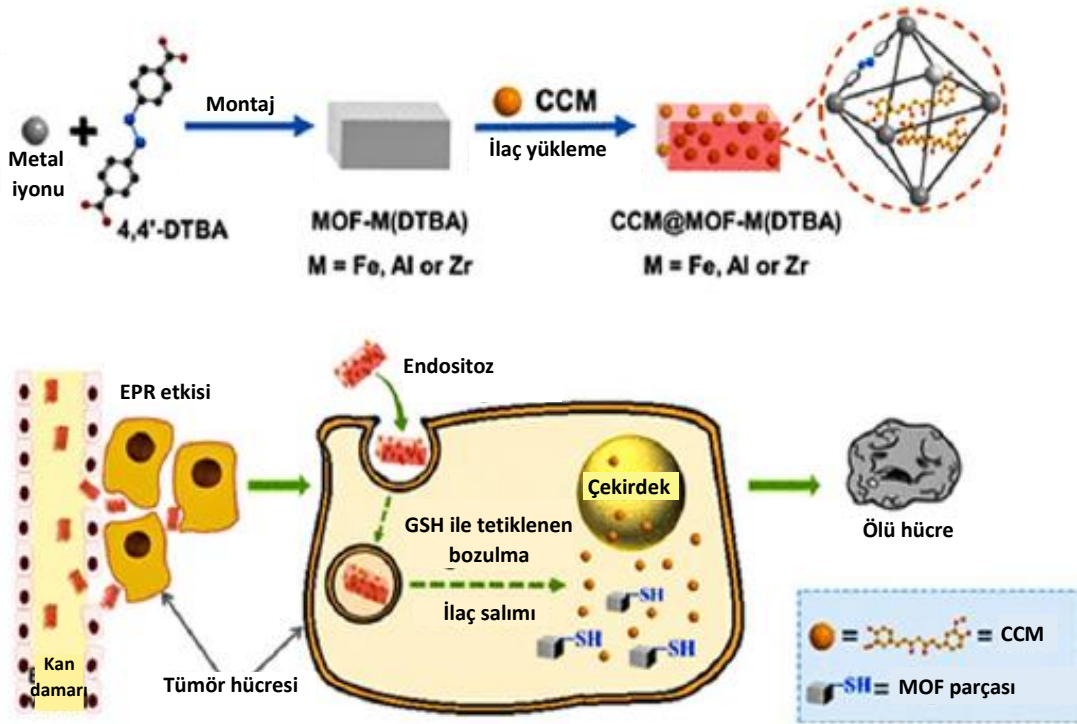
Redoksa duyarlı mekanizmalar malzemelerin redoksa duyarlı olarak ayrışmasıdır ve üç grupta toplanır: (1) glutatyona (GSH)-yanıtlı salım, (2) glikoza duyarlı salım ve (3) enzime duyarlı salım (Şekil 2.14.).



Şekil 2.14. Redoks duyarlı ilaç salımının birkaç tipik mekanizması (Y. Wang et al., 2020).

Normal dokularla karşılaştırıldığında, yüksek GSH konsantrasyonu (sitoplazmada 2 ila 10 mM arasında değişir), kan ve hücre dışı matristekinden (2 μ M) 100-1000 kat daha yüksek olan tümör dokularının ana özelliğidir. Daha da önemlisi, GSH disülfid bağları, redoksaktif malzemeler vb. maddeleri oksitleyen güçlü bir indirgeyici ajandır. Bu bilgiler ışığında, MOF'lara dayalı GSH'ye yanıt veren ilaç taşıyıcıları için mevcut mekanizmalar temel olarak ikiye ayrılır: (1) disülfid bağlarını parçalama mekanizması, (2) GSH'ye duyarlı materyallerin aracılık ettiği mekanizma (Y. Wang et al., 2020).

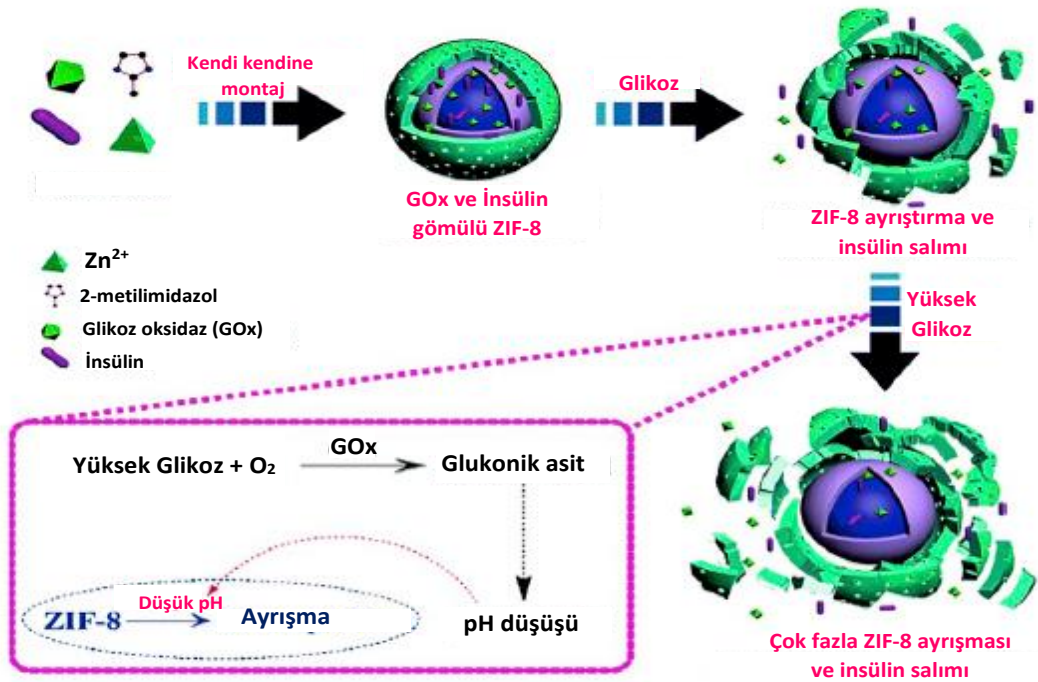
Lei ve ark. MOF-Zr (DTBA), metal düğümler (Zr) ve 4,4'-ditiyobisbenzoik asidin (4,4'-DTBA) organik ligandını kullanarak yeni bir GSH'ye duyarlı taşıyıcı oluşturmuştur. Ditiyodiglikolik asit içindeki disülfür bağı (SS), GSH varlığında bölünebilir, bu da MOF'un verimli redoks tepkili ayrışmasına ve ardından ilacın salınmasına yol açmaktadır. (Şekil 2.15.). Ligand tasarımı açısından bakıldığında, MOF tabanlı GSH'ye yanıt veren terapötik platformlarda, ilacın MOF'tan disülfid bağının kırılması ve kafes yapısının çökmesi yoluyla ayrıldığı sonucuna ulaşılmıştır.



Şekil 2.15. Kanser tedavisi için tümör hücrelerinde CCM@MOF-M(DTBA)'nın hazırlanmasının ve redoks duyarlı bozunmasının şematik gösterimi (B. Lei et al., 2018).

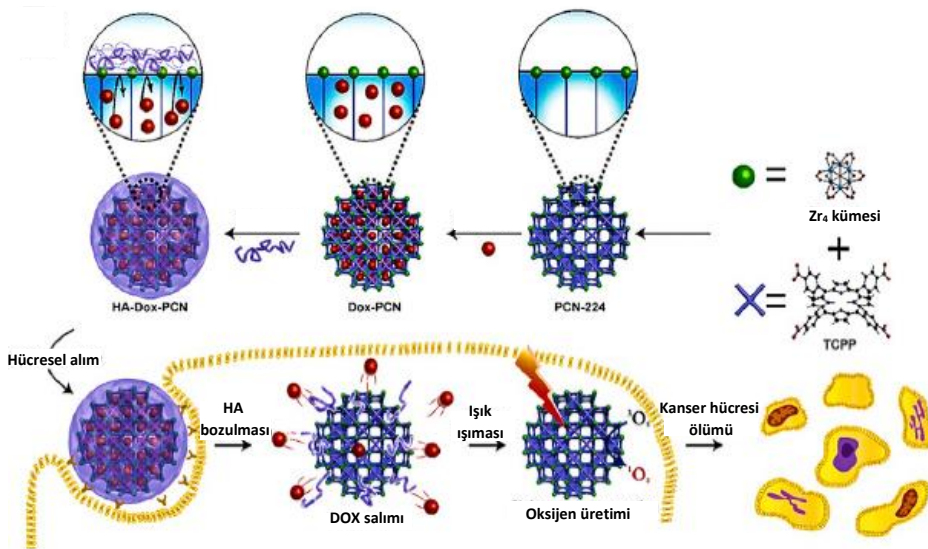
Şimdiye kadar, GOx bazlı insülin iletim sistemi üstün kararlılığı ve seri tepki hızı ile glikoza duyarlı sistemin en popüler yoludur. Nanotaşıyıcılar yüksek bir glikoz konsantrasyonunda görüldüğünde, GOx, glikozun glukonik asit ve H₂O₂'ye

dönüşümünü katalize ederek lokal asitleşmeye neden olmaktadır. Daha sonra asidik ortamlarda MOF'un bozunması meydana gelir ve bu da insülin salınımına yol açmaktadır (Şekil 2.16.). ZIF-8, MIL-100 (Fe) vb. gibi karşılık gelen MOF'lar asit ortamda kararsız olmalıdır. İlaç salımı açısından bakıldığında, bu tip GOx/glikoza duyarlı NMOF bazlı İTS, pH'a duyarlı İTS'lere daha çok benzer. Her ikisi de kafesi parçalamak için asidik koşullar tarafından salınmasına rağmen, aradaki fark, glikoza duyarlı taşıyıcı sistemin ilk olarak glikoz tarafından tetiklenmesidir. GOx/glikoza duyarlı NMOF bazlı İTS, büyük miktarlarda glikoz tüketimi nedeniyle açlık tedavisi için potansiyel adaylardır. Bu avantaja ek olarak Fenton benzeri reaksiyon için pozitif bir geri besleme nanoplatformu olarak kullanılabilir ve MIL-100 (Fe) söz konusu olduğunda enzimatik reaksiyon yoluyla açlık tedavisini iyileştirebilir. Ayrıca, hidrofobik ışığa duyarlılaştırıcılar (PS'ler) ve yukarı dönüştürme nanoparçacıkları (UCNP'ler) ile birlikte, sinerjik fotodinamik tedavi ve açlık tedavisini geliştirmek için GOx ile işlevselleştirilmiş ZIF-8 (UCNP'ler/TAPP@ZIF-8) de benimsenmiştir. Hem GOx tarafından üretilen hem de endojen H_2O_2 'nin GOx tarafından indüklenen ayrışması, itme kuvveti sağlamakta ve nano taşıyıcının yayılımını güçlendirmektedir (%27), bu da terapötik nano taşıyıcının hücresel alımını geliştirmektedir. Bu glikoza duyarlı nanoamplifikatörler, daha fazla araştırılabilecek umut verici teranostik ajanlardır (Y. Wang et al., 2020).



Şekil 2.16. MOF tabanlı nanosistemden glikozla tetiklenen insülin salınımının şematik gösterimi (Duan et al., 2018).

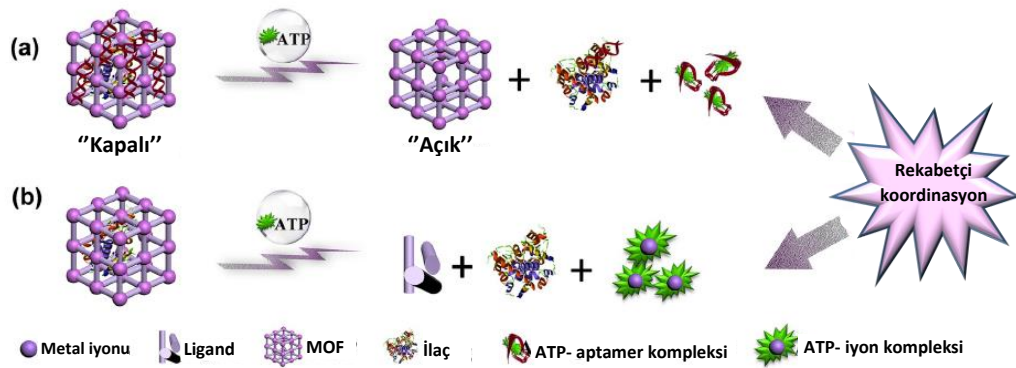
Son zamanlarda, pozitif geri besleme nanoplatformunun tasarımı, açlık tedavisi ve ayrıca enzime duyarlı ilaç salımı gibi MOF tabanlı İTS'de enzimler kullanılmıştır. MOF bazlı enzime duyarlı ilaç taşıyıcı sistemlerin çoğu için, enzim ve karşılık gelen enzimler tarafından parçalanabilen madde arasındaki redoks reaksiyonları yoluyla ilaç sadece belirli bölgelerde salınabilir. Bu mekanizma için hyaluronik asit (HA)/hiyalüronidaz (HADaz) ve pektin/pektinaz gibi birçok enzime duyarlı materyalden yararlanılmıştır. Spesifik enzime duyarlı materyaller, enzime yanıt veren salım mekanizmasındaki anahtar faktörlerdir. Örnek olarak HADaz-yanıtını alarak, Kibeom ve ark. PCN-224 nanoMOF ve HA ile enzime duyarlı polimer kaplı MOF sistemini bildirmiştir (Şekil 2.17.). Nanotaşıyıcı, yüksek yükleme kapasitesi yeteneği (%108) gösterdi ve kapsülleme mekanizmasına esas olarak van der Waals etkileşimleri ve hidrojen bağı gibi kovalent olmayan etkileşim neden olduğu belirlendi. Ayrıca, nanoMOF üzerindeki HA kaplama, basit tekli koordinasyon bağları ve çok değerlikli koordinasyon bağları ile birlikte elektrostatik etkileşim yoluyla gerçekleşebilir. 3 saatlik inkübasyondan sonra HADaz, HADox-PCN sistemine eklendiğinde Doksorubisin (DOX) floresan yoğunluğu kademeli olarak arttı, bunun da HADaz'ın PCN-224 yüzeyi üzerinde kaplanan HA'yı parçalayarak ilaç salımını indüklediği belirtilmiştir. Burada HADaz, DOX'un salımından sorumludur. Sonuç olarak, enzime duyarlı salım, uyarılara yanıt veren ilaç taşıyıcı sistemlerin tasarımı için yeni fikirler sağlar, ancak aynı zamanda sınırlı enzim türleri, enzimlerin inaktive edilmesinin kolay olması, vb. gibi belirli sınırlamaları vardır.



Şekil 2.17. CD44 reseptörünü hedeflemek için HA ile kaplanmış metal-organik kafes nanosisteminin ve kemo&fotodinamik tedavi kombine tedavi prosedürünün hazırlanmasının şematik gösterimi (Kim et al., 2019).

2.5.3.3. ATP'ye duyarlı salım

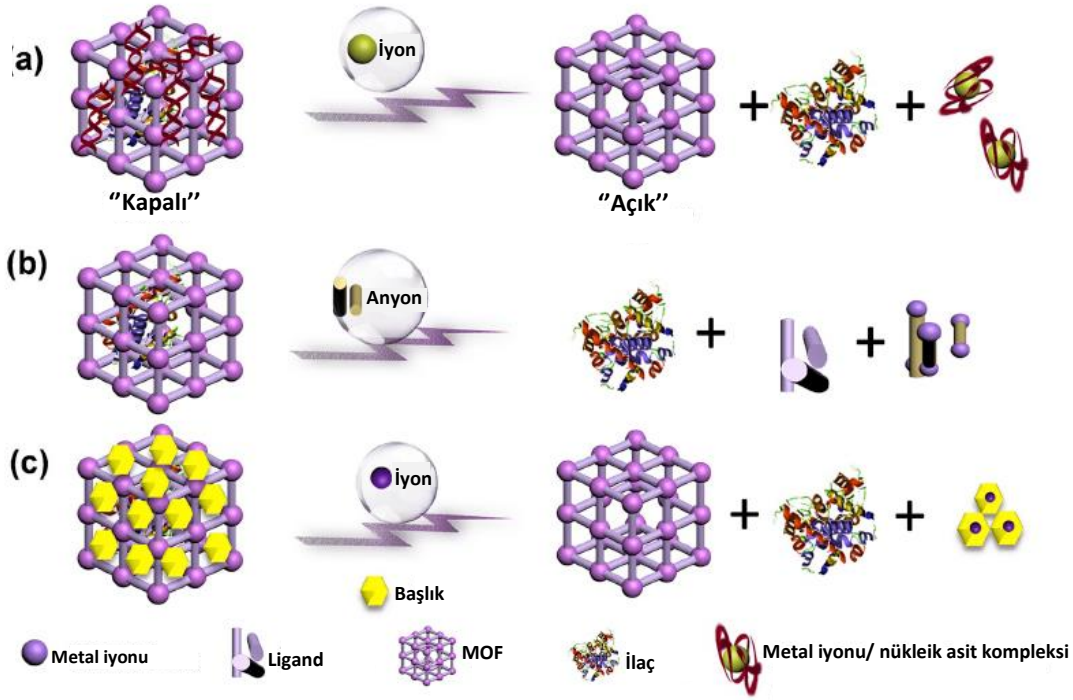
Canlı organizmalarda yaygın olarak bulunan kararsız yüksek enerjili bir bileşik olan adenozin trifosfat (ATP), güçlü koordinasyon yeteneğine sahiptir. ATP'nin koordinasyon ilkesi şunları içerir: (1) imidazol halkası, benzen halkası ve amino grubunun N elementinde yalnız çift elektron bulunduğundan, çözeltiye metal iyonları eklendiğinde koordinasyon reaksiyonu meydana gelebilir; (2) benzen halkası, imidazol halkası ve amino grubu üzerindeki N elementinin koordinasyon yeteneğinin farklılığından dolayı metal iyonu ile koordinasyon yeteneğinde bir fark vardır. Ayrıca ATP, DNA'nın ATP-agaroz kolonuna spesifik bağlanması nedeniyle ilaç salınımını teşvik etmek için DNA/RNA ile bir ATP-aptamer kompleksi de oluşturabilir. İlaç salım mekanizmasına göre iki kısma ayrılır: (1) ATP-aptamer komplekslerinin oluşumu; veya (2) ATP-iyon komplekslerinin oluşumu Şekil 2.18.'de özetlenmiştir.



Şekil 2.18. ATP'ye yanıt veren salım ilaç salımının mekanizmaları: (a) ATP-aptamer komplekslerinin oluşumu ve (b) ATP-iyon komplekslerinin oluşumu (Y. Wang et al., 2020).

2.5.3.4. İyon duyarlı salım

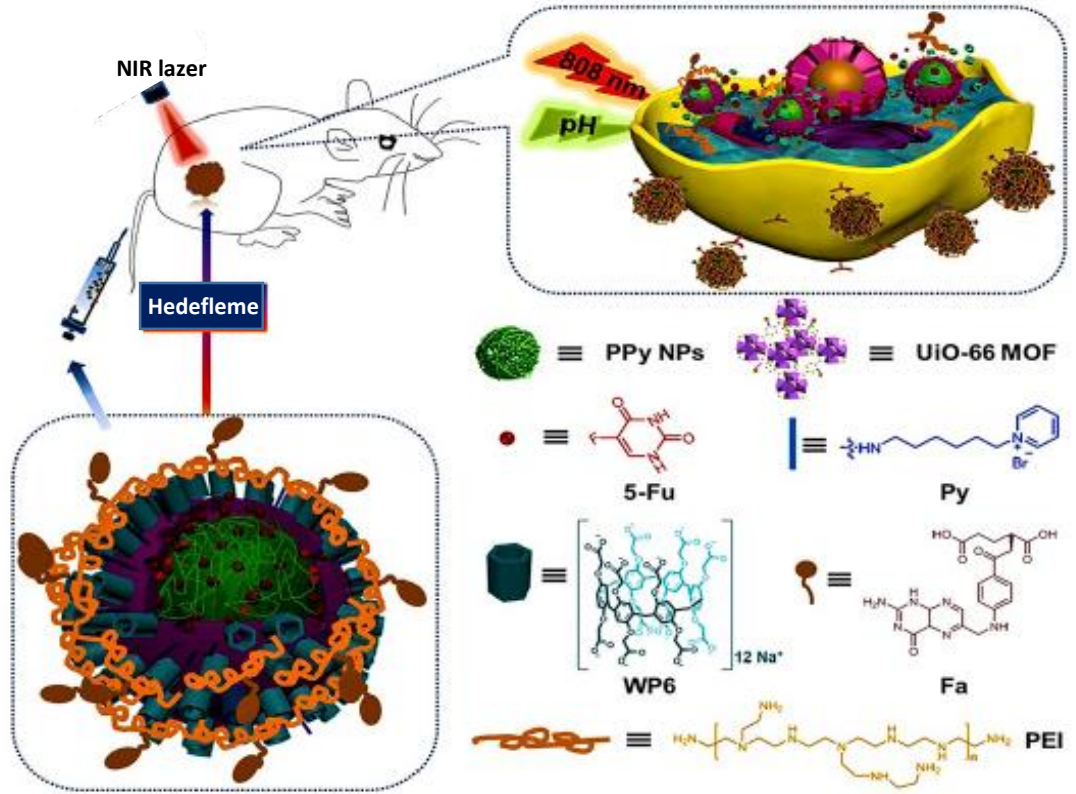
Metal iyonuna duyarlı ilaç salımı, son yıllarda popüler yaklaşımlardır ve birçok metal iyonu, örn. Mg^{2+} , Pb^{2+} , Ca^{2+} , K^+ , Zn^{2+}/Ca^{2+} , $PO_4^{3-}/HPO_4^{2-}/H_2PO_4^{3-}$, PO_4^{3-} , akıllı iyon duyarlı İTS tasarlamak için kullanılmıştır. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda, iyon duyarlı salım mekanizmaları üç ana formda mevcuttur: (1) metal iyonu/nükleik asit kompleksinin oluşumu; (2) anyon değişimi; ve (3) rekabetçi bağlama (Şekil 2.19.). Özellikle rekabetçi koordinasyon, metal iyon/nükleik asit kompleksinin oluşumu ve anyon değişiminin gerçekleşmesi için itici güçtür.



Şekil 2.19. İyona duyarlı salım mekanizmaları: (a) metal iyonu/nükleik asit kompleksinin oluşumu, (b) anyon değişimi ve (c) rekabetçi bağlama (Y. Wang et al., 2020).

2.5.3.5. Işığa duyarlı salım

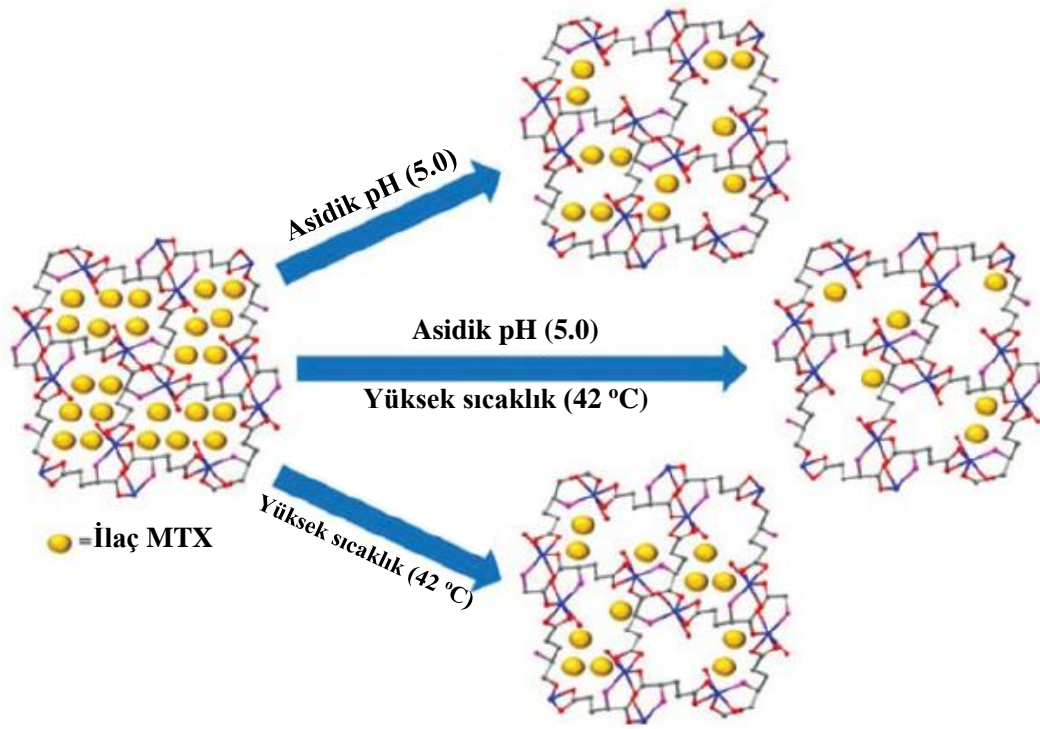
Işığa duyarlı MOF yapısı kirlilik içermeyen, kolay çalıştırma tekniği, zaman içinde kontrol edilebilirlik ve sıfır enerji maliyeti ile ışıkla tetiklenen İTS'lerin giderek daha fazla dikkat çekmesini sağlamaktadır. Işık kontrollü ilaç salımının ana mekanizması, aydınlatma altında moleküllerin/malzemelerin konformasyonel değişiklikler, kimyasal bağ bölünmesi veya fototermal dönüşümü ile ilaç salımını kontrol etmektir. Ligand tasarım stratejisi, bazı özel ışığa duyarlı molekülleri ligand olarak seçerek ışığa duyarlı MOF tasarlamak için de uygundur. Porfirin MOF'ları ve UiO-AZB gibi ışığa duyarlı MOF'lar genellikle bazı reaktif oksijen türlerinin veya fotoaktif moleküllerin (porfirin, azobenzendikarboksilat (AZB), antrasen ve türevleri, indosiyenin yeşili (ICG) vb.) MOF'un yapısına dahil edilmesiyle oluşturulmaktadır (Şekil 2.20.).



Şekil 2.20. $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{UiO-66}@\text{WP6}$ teranostik nanoplatforunun üretim sürecinin ve çalışmasının şematik gösterimi (Wu et al., 2018).

2.5.3.6. Sıcaklığa duyarlı salım

Lin ve ark. yaptıkları çalışmada çinko iyonları ve L-glutamik asit (GA) içeren biyoyumlu bir metal-organik kafes Zn-GA, bir ilaç taşıyıcı sistem olarak sentezlemiştir ve erken teslimat olmadan pH ve termal uyarılarla tetiklenen kontrollü ilaç salınımı gerçekleştirmiştir. Antikanser ilaç metotreksat (MTX), a eksenini boyunca tek boyutlu kanallara sahip olan kristalin içine kapsüllenmek üzere seçilir. İsteğe bağlı ilaç taşıyıcısı üstün biyoyumluluk, son derece düşük toksisite, yüksek yükleme yetenekleri ve mükemmel ikili yanıt verme özelliği gösterir, bu da kontrollü salım ile verimli bir ilaç taşıyıcısı olarak pratik uygulanabilirliği göstermektedir (Şekil 2.21.) (Lin et al., 2018).

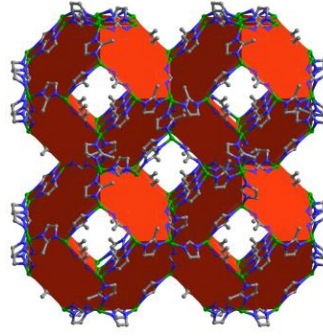


Şekil 2.21. Zn-GA kapsüllü MTX'in ikili yanıt veren ilaç salımının şematik gösterimi (Lin et al., 2018).

2.6. Zeolitik İmidazolat Kafes-8 (ZIF-8)

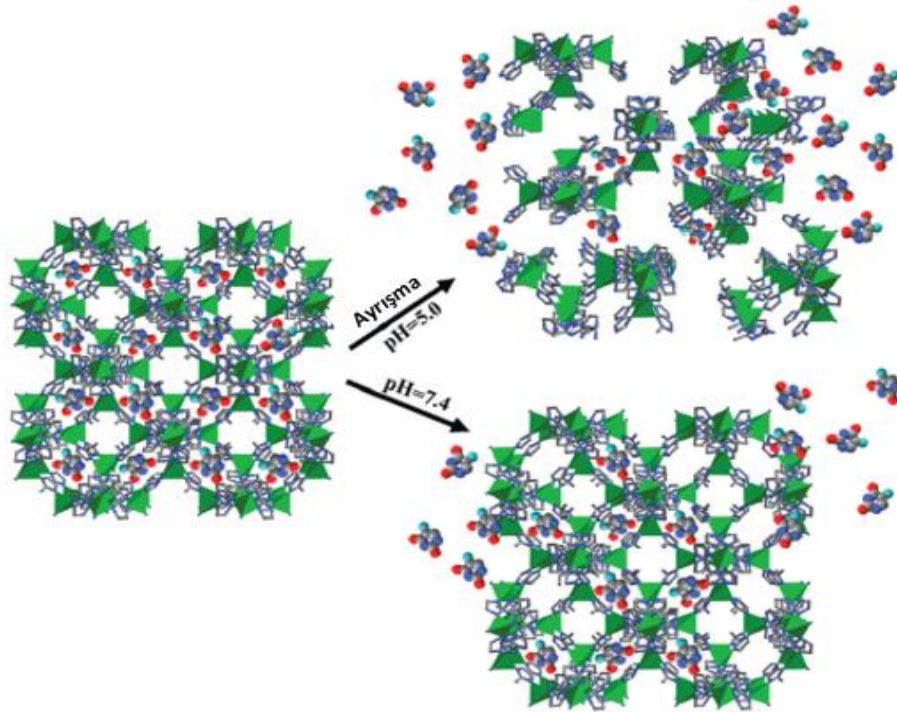
ZIF-8, Zn iyonlarının 2-metilimidazol ile koordinasyonu ile oluşturulmuş bir MOF sınıfıdır (Cai et al., 2015). ZIF-8, düşük sitotoksitesi, geniş gözenekleri, büyük yüzey alanı, yüksek performansı, asit duyarlılığı ve çeşitli sentetik işlemlerle üretilmesi nedeniyle araştırmacılar tarafından seçilmiş ve çeşitli uygulamalar için endüstrileştirilmiştir (Y. Wang et al., 2020). ZIF-8; floresein, enzimler, ilaçlar ve DNA gibi birçok molekül için kontrollü ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanılmıştır (Hui Wang et al., 2020). ZIF-8, vücudun doğal fizyolojik pH'ı olan 7,4'te stabil olduğundan ve birçok kanser hücrelerinin asidik koşulları altında ayrışabildiğinden, pH'a duyarlı bir ilaç taşıyıcı sistemin oluşturulması için son derece iyi bir adaydır (Q. Meng et al., 2018).

Yaghi ve çalışma arkadaşları tarafından ilk kez 2006 yılında sentezlenen ZIF-8 ($Zn(mim)_2$, mim = 2-metilimidazolat), düzenli bir zeolitik sodalit (sod) topolojisine benzer (Park et al., 2006). ZIF-8'in ilgi çekici yapısal özellikleri, geniş gözenekleri (11,6 Å, bkz. Şekil 2.22) ve daha yüksek yüzey alanıdır (BET: $1630 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) (Q. Shi et al., 2011). Bu özellikleri ZIF-8'i çeşitli etkileyici uygulamalara sahip en köklü ZIF malzemesi haline getirmiştir (Venna et al., 2010).

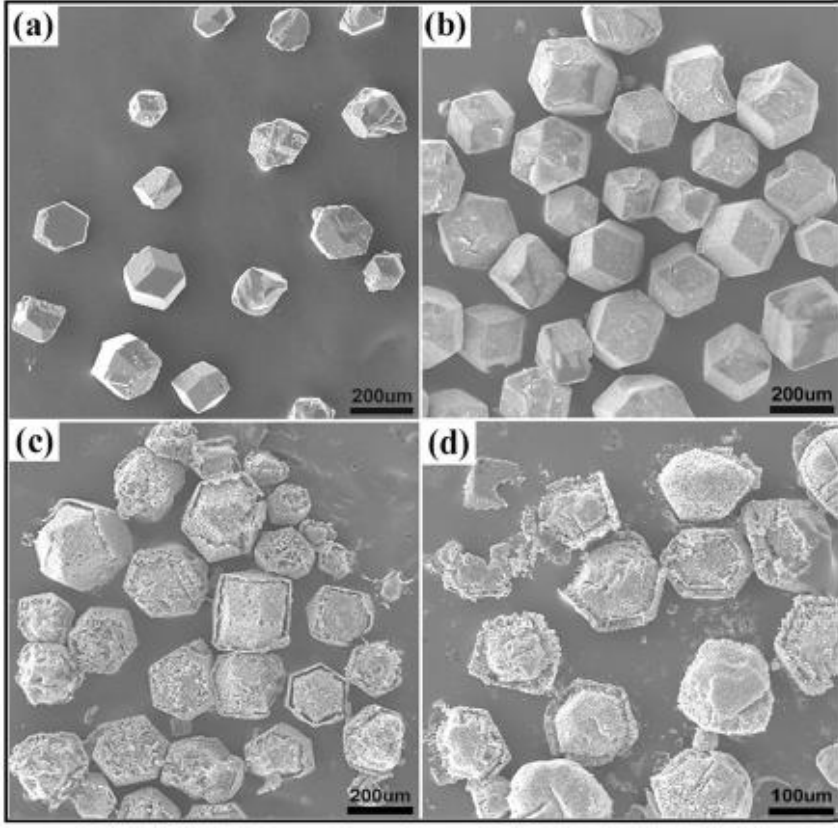


Şekil 2.22. 3,4 Å açıklıklarla birbirine bağlanan 11,6 Å çapında büyük gözeneklere sahip olan ZIF-8'in çokyüzlü sunumu (C.-Y. Sun et al., 2012).

Yapılan çalışmalar ZIF-8'in olağanüstü su ve sulu sodyum hidroksit stabilitesine sahip olduğunu göstermiştir (Park et al., 2006). Ancak Sun ve çalışma arkadaşları ZIF-8'i asit solüsyonunda süspanse ettiğinde hızla ayrışmaya başladı. Bu sonuçlar ZIF-8'i pH'a duyarlı bir ilaç taşıyıcısı olarak yeni çalışmaların gerçekleştirilmesine olanak sağlamıştır. Sun ve ark.'ın çalışmasına kadar, pH'a duyarlı ilaç araçları olarak başka hiçbir MOF veya ZIF kullanılmamıştır ve ilk defa, ZIF-8'den sürekli ilaç salınımını ve bunun fizyopatolojik pH sinyallerine yanıtının literatüre kazandırılmasını sağlamıştır (Şekil 2.23. ve Şekil 2.24.) (C.-Y. Sun et al., 2012).



Şekil 2.23. ZIF-8'den salınan kapsüllenmiş 5-FU'nun iki yaklaşımının şematik gösterimi. C = gri, N = mavi, O = kırmızı, F = açık mavi, Zn = yeşil (C.-Y. Sun et al., 2012).



Şekil 2.24. 37 °C'de farklı pH tamponlarına (sırasıyla pH 7,4 PBS ve pH 5,0 asetat) daldırılmış ZIF-8'in taramalı elektron mikroskopik (SEM) görüntüleri (a) 0 gün (hazırlanmış gibi); (b) pH 7,4 tamponunda 7 gün; (c) pH 5,0 tamponunda 5 dakika ve (d) pH 5,0 tamponunda 15 dakika (C.-Y. Sun et al., 2012).

ZIF-8 nano yapıları ilk sentezlendiğinden günümüze kadar oldukça yaygın olarak çalışılmıştır ve birçok gelişmeler kaydetmiştir. Literatürde bugüne kadar çalışılmış uyarılara duyarlı ZIF-8 ilaç taşıyıcı sistemlerin salım mekanizmaları ve *in vitro* sitotoksikite çalışmaları özet olarak gösterilmiştir (Tablo 2.2. ve Tablo 2.3.).

Tablo 2.2. Uyarılara duyarlı ZIF-8 ilaç taşıyıcı sistemler ve salım mekanizmaları.

İlaç taşıyıcı sistemler	Uyarılar	Mekanizmalar	Uyarana duyarlı malzemeler	İlaçlar	Yükleme verimliliği (%)	Salım oranı (%)	Ref.
5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8	pH	pH'a duyarlı malzeme	ZIF-8	5-sülfosalisilik asit/BAs	-	75	Tez 1. Çalışma (Özsoy et al., 2021a)
ZGGO@ZIF-8-DOX	pH	ZIF-8'in protonasyonu	ZIF-8	DOX	93,2	47,8	(Lv et al., 2019)
FZIF-8/DOX-PD-FA	pH, NIR	pH/ışığa duyarlı malzeme	HOOC-PDMAEMA-SH	DOX	25,88	57	(Y.-T. Qin et al., 2019)
ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx	pH	pH'a duyarlı malzeme	ZIF-8	5-FU	96,63	50	Tez 2. çalışma
CpG/ZANP'ler	pH	ZIF-8'in protonasyonu	ZIF-8	Antijen ovalbümin	30,6	>80	(Zhong et al., 2019)
FA-PDA-DOX/ZIF-8	pH	Koordinasyon bağının protonasyona bağlı kırılması	ZIF-8	DOX	9,12	68,78	(Feng et al., 2019)
DOX/Pd@Au@ZIF-8	pH, NIR	Protonasyon/ışığa duyarlı malzeme	ZIF-8/Au	DOX	3,93	73	(Yang et al., 2017)
Ce6-DNAzim@ZIF-8	pH	Koordinasyon bağının protonasyona bağlı kırılması	ZIF-8	DNAzim	10	-	(Huimin Wang et al., 2019)
DOX@ZIF-8@AS1411	pH	ZIF-8'in protonasyonu	ZIF-8	DOX	10	50	(Dong et al., 2018)
PEG-FA/(DOX + VER)@ZIF-8	pH	Koordinasyon bağının protonasyona bağlı kırılması	ZIF-8	DOX	40,9	76,48	(H. Zhang et al., 2017)

Tablo 2.3. ZIF-8 ilaç taşıyıcı sistemler ve *in vitro* sitotoksisite çalışmaları.

İlaç taşıyıcı sistemler	Yardımcı malzemeler	İlaç	Hücre hattı	Hücre canlılığı	Sitotoksisite	Morfolojik değişim/ mekanizma	Ref.
ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx	Gallik asit, Fe ³⁺ , glikoz oksidaz	5-Florourasil	MDA-MB-231	-	%45	kromatin yoğunlaşması, hücre membran parçalanması, vakuol oluşumu, mitokondriyal hasar	Tez 2. çalışma
5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8	Bovin serum albumin	5-sülfosalisilik asit, Bosvelik asit	HUVEC, MCF-7	%84,7	%66,4	nükleer membran parçalanması, apoptotik cisimler, hücre büzülmesi, vakuolar oluşum, kromatin yoğunlaşması	Tez 1. çalışma,(Özsoy et al., 2021a)
CS/PVA-TA-Z	Kitosan, tannik asit, polivinil alkol	-	İnsan fibroblast hücreleri	%96,1 ± 6,6	-	-	(Lamei & Hasanzadeh, 2022a)
GOx@ZIF@MPN	Glikoz oksidaz, tannik asit, Fe ³⁺	-	4T1, COS7	-	%65	Kaskad katalizi, açlık terapi, ROS artışı, Fenton reaksiyonu	(L. Zhang et al., 2018a)

Tablo 2.3. (Devamı) ZIF-8 ilaç taşıyıcı sistemler ve *in vitro* sitotoksisite çalışmaları.

İlaç taşıyıcı sistemler	Yardımcı malzemeler	İlaç	Hücre hattı	Hücre canlılığı	Sitotoksisite	Morfolojik değişim/ mekanizma	Ref.
BSA-Gem@ ZIF-8/Dopa/GA	Bovin serum albumin, dopamin, gallik asit	Gemsitabin	HUVEC, MCF-7	%80	%62	Vakuolizasyon, yuvarlak hücre morfolojisi, hücre büzülmesi, hücre ve nükleer zar parçalanması, kromatin yoğunlaşması	(Abd Al-jabbar et al., 2022b)
HA/Ara-IR820 @ZIF-8	Hyalüronik asit	Ara-IR820 (Ön ilaç)	4T1	-	%90	Kemo-fototermal etki	(H. Zhang et al., 2018)
ZIF-8@E. coli mikro yüzücüler	Tannik asit, <i>E. coli</i>	Doksorubisin (DOX)	5637	-	%60	Kemotaksi	(Li et al., 2022)
DSF/DOX@ ZIF-8@Cu-TA	Tannik asit, Cu ²⁺	Doksorubisin (DOX), disülfiram (DSF)	MDA-MB-231	-	%72,3	Cu ⁺ bazlı Fenton benzeri reaksiyon	(X. Y. Meng et al., 2021)

Tez kapsamında yapılan ilk çalışmada, 5-sülfosalisilik asit/BSA ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs NP'leri, sentezlenmiştir. Daha sonra 5-sülfosalisilik asit ve BAs hibrit yapısı bir çekirdek@kabuk (BSA@ZIF-8) mimarisinde üretilmiştir. 5-sülfosalisilik asit ve bosvelik asit (BAs) için etkili bir ilaç taşıyıcı sistem olarak BSA@ZIF-8 kullanılmıştır. 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8, kanser tedavisi için umut verici bir pH'a duyarlı ilaç taşıyıcı sistemdir. 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8'deki 5-sülfosalisilik asit ve boswellik asit (BAs) fizyolojik koşullar altında serbest değildir, asidik pH'larda ZIF-8 kabuğu parçalanarak salınır. Son olarak, 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8'in etkinliği ve hücre alımı normal hücreler (insan göbek damarı endotel hücreleri:HUVEC) ve meme kanseri hücreleri (Michigan Cancer Foundation-7:MCF-7) üzerinde hücre proliferasyon reaktifi (WST-1), hücre canlılığı görüntüleme deneyleri ve Akridin Oranj (AO) boyama ile analiz edildi.

Tez kapsamında yapılan ikinci çalışmada ilaç taşıyıcı sistem olarak fenolik bileşik gallik asit ile modifiye edilen Fe katkılı ZIF-8 MOF yapısı sentezlenmiştir. Taşıyıcı sistemin terapötik etkinliğinin glikoz oksidaz ve altın katkı maddeleri ile artırılması amaçlanmıştır. Nanotaşıyıcıların başarılı üretimi ve yapısal özellikleri, SEM, TEM, FT-IR, Zeta potansiyeli, XRD ve TGA analizleri gibi farklı karakterizasyon yöntemleri kullanılarak doğrulanmıştır. İlaç yükleme kapasitesi ve kapsülleme etkinliği üzerine yapılan çalışmalar, tasarlanan ZIF-8 tabanlı nano ilaç taşıyıcı yapıların yüksek kapsülleme etkinliğine sahip olduğunu göstermiştir. pH 5,0 ve pH 7,4'te ZIF-8@GA@Fe@5-FU, ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au *in vitro* ilaç salım çalışmaları pH'a bağlı salınımlar gözlenmiştir. *In vitro* sitotoksikite sonuçlarına göre ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx, MDA-MB-231 ÜNMK hücre hatları üzerinde apoptoz ve çeşitli morfolojik değişikliklere neden olarak en etkili yapı olarak belirlenmiştir. Ayrıca ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au ile birlikte gallik asit içeren ZIF-8@GA@Fe@5-FU yapısı da lüminesans özellikleri göstermiştir. Elde edilen sonuçlar, geliştirilen ilaç taşıyıcı sistemlerin farklı alt tiplerindeki meme kanseri hücre hatlarında ilaç salım uygulamaları için alternatif ve uygun temsilciler olduğunu göstermektedir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Cihaz ve Ekipmanlar

Bu tez çalışmasında FTIR spektrumları, bir Perkin Elmer FTIR Spektrometresi (Spectrum Two) kullanılarak 4000 ve 400 cm^{-1} aralığında elde edilmiştir. Numunelerin absorbans ölçümleri bir UV-Vis Spektrofotometre (Shimadzu UV-2600, Japonya) ile yapılmıştır. Sentezlenen ilaç taşıyıcı sistemlerin mikro yapısı, Philips XL30 SFEG taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile karakterize edilmiştir. DSS'lerin morfolojileri ve mikro yapıları, transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ile karakterize edilmiştir. Tüm ilaç taşıyıcı sistemlerin X-ışını kırınım (XRD) paterni, 60 kV'da çalıştırılan PANalytical Empyrean difraktometre ile analiz edilmiştir. Termal gravimetrik analiz (TGA), bir Setaram termo gravimetrik analiz cihazında yapılmıştır. NP'lerin zeta potansiyelleri, bir Micromeritics Zeta/Nano Particle Analyzer (Nano Plus-3) tarafından incelenmiştir. Tüm analizlerden elde edilen verilerin istatistiksel olarak incelenmesi için SPSS programı kullanılmıştır. Hücre kültürü çalışmalarında %5 CO_2 ile nemlendirilmiş Thermo Fisher Scientific inkübatör kullanılmıştır. Sentezlenen ilaç taşıyıcı sistemlerin *in vitro* sitotoksitesite çalışmaları için hücreler EVOS FL hücre görüntüleme sistemi (Thermo Fisher Scientific) ile görüntülenmiştir.

3.2. Kullanılan Kimyasal Madde ve Malzemeler

Bu tez çalışmasında BSA (sığır serum albümini), çinko klorür (ZnCl_2), 2-metilimidazol (2-MeIm), saf etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), sodyum klorür (NaCl), metanol (CH_3OH), SA (salisilik asit), sodyum hidroksit (NaOH), $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, gallik asit (GA), $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 5-Florourasil (5-FU), glikoz oksidaz (GOx), Au standart solüsyonu, Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) hücre kültürü besiyeri, fetal sığır serumu (FBS) ve akridin oranj boyası Sigma-Aldrich'ten temin edilmiştir. Hücre hatları (HUVEC, MCF-7 ve MDA-MB-231), American Type Culture koleksiyonundan (ATCC) satın alınmış ve Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD'de mevcuttur. Ultra saf su (Millipore), WST-1 kiti BioVision'dan satın alınmıştır. Pen-strep (penisilin ve streptomisin) antibiyotik, tripsin ve PBS 1X (pH 7,4)

Wisent'ten satın alınmıştır. ReadyProbes™ Hücre Canlılığı Görüntüleme Kiti, Life Technologies Thermo Corp'tan (Carlsbad, CA) temin edilmiştir.

3.3. İstatiksel Analiz

Bu tez çalışmasındaki tüm analizlerden elde edilen veriler SPSS programı ile istatistiksel olarak incelenmiştir. Çoklu karşılaştırmalar için Post-Hoc Tukey testi ile tek yönlü ANOVA kullanılmıştır. Tüm deneyler üç tekrar halinde gerçekleştirilmiştir. " $p < 0,05$ ", tüm istatistiksel araştırmalarda istatistiksel olarak önemli kabul edilmiştir.

3.4. ZIF-8 Sentezi ve Modifikasyonu

3.4.1. Atikanser ilaç taşıyıcı sistem olarak metal-organik kafes nanokompozitinde bir protein-sülfosalisilik asit/bosvelik asit çalışması

Tez kapsamında ZIF-8 sentezi literatürdeki oranlar dikkate alınarak (Özsoy et al., 2021b), 6 mL metanol içinde çözülmüş 1,18 g çinko klorür çözeltisi, 120 mL metanol içinde çözülmüş 2-metilimidazol (0,79 g) çözeltisine eklenmiştir. Sentez, oda sıcaklığında nitrojen spreyi altında 1 saat karıştırılarak yapılmıştır. ZIF-8 kristalleri, santrifüjleme (5000 rpm, 10 dakika) ile izole edilmiştir ve metanol ile yıkanmıştır. Numune gece boyunca kurutulmuştur. Daha sonra ZIF-8, sırasıyla BSA ve BAs ile modifiye edilmiştir.

5-sülfosalisilik asit/BSA NP'lerinin sentezi için, 1 g BSA, 20 mL sodyum klorür (2 mM) çözelti içinde çözülmüştür. Daha sonra 3 mL 0,1 M NaOH karıştırılarak eklenmiştir. Protein solüsyonu 80 mL 5-sülfosalisilik asit solüsyonu (etanol solüsyonunda 1 mg/mL) 4 mL/dk ekleme hızında eklenerek BSA/5-sülfosalisilik asit nanokompozitine dönüştürülmüştür. Süspansiyon, santrifüjlemeden sonra etanol ile yıkanmıştır ve 50 mL metanol içerisinde yeniden dağıtılmıştır.

5-sülfosalisilik asit/BSA NP'lerini ZIF-8 ile kaplamak için $ZnCl_2$ (6 mL metanolde 0,018 g) ve metilimidazol (6 mL metanol içinde 0,079 g) solüsyonları hazırlanan 5-sülfosalisilik asit/BSA süspansiyonuna eklenmiştir. Süspansiyon 45 dakika karıştırılmıştır ve santrifüjlemeden sonra metanol ile yıkanmıştır. 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 tozları, dondurarak kurutma yoluyla elde edilmiştir.

5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs NP'lerin sentezi için, 1 g BSA, 20 mL 2,5 mM NaCl çözeltisi içinde çözülmüştür. Daha sonra çözeltiye 3,5 mL 0,1 M NaOH karıştırılarak ilave edilmiştir. Çözünen proteinler, 30 dakika karıştırıldıktan sonra 4 mL/dk ilave

hızında 80 mL 5-sülfosalisilik asit çözeltisi (etanol çözeltisi içinde 1 mg/mL) eklenmiştir ve 5 mL/dk'lık bir ekleme hızında 80 mL BAs çözeltisi (etanol çözeltisi içinde 1 mg/mL) ilave edilerek 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs NP'lerine dönüştürülmüştür. Süspansiyon, santrifüjlemeden sonra etanol ile yıkanmıştır ve tekrar 50 mL metanol içerisinde dağıtılmıştır.

5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs NP'lerini ZIF-8 ile kaplamak için, hazırlanan 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs süspansiyonuna $ZnCl_2$ (6 mL metanolde 0,018 g) ve 2-metilimidazol (6 mL metanolde 0,079 g) çözeltileri eklenmiştir. Süspansiyon 45 dakika karıştırılmıştır ve santrifüjlemeden sonra metanol ile yıkanmıştır. 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8 tozları, dondurarak kurutma yoluyla elde edilmiştir.

3.4.2. Gallik asit ve Fe katkılı, Au veya GOx modifiye ZIF-8 esash ilaç taşıyıcı sistemlerin antikanser aktiviteleri çalışması

ZIF-8 sentezi için literatürdeki oranlar dikkate alınmıştır (F. Fu et al., 2018a). 60 mL metanol içinde $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ (2,7 g, 9,08 mmol) ve 2-MeIm (1,5 g, 18,3 mmol) çözeltileri ayrı ayrı hazırlanmıştır. Sentez, ortam sıcaklığındaki $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ çözeltisi içine damla damla 2-MeIm çözeltisi ilave edilerek ve 1 saat karıştırılarak gerçekleştirilmiştir. ZIF-8 nanokristalleri santrifüj (4000 rpm, 15 dk) ile ayrılmıştır ve reaksiyona girmeyen maddeler 3x30 mL metanol ile tekrar tekrar yıkanarak uzaklaştırılmıştır. Numune 24 saat süreyle kurutulmuştur. ZIF-8'in GA ile modifikasyonu literatürdeki oranlar dikkate alınarak ZIF-8:GA'nın kütle oranları 1:1, 1:3, 1:5, 1:7 olacak şekilde yapılmıştır. İdeal kütle oranı, FTIR sonuçları ile doğrulanmıştır ve bu oranla daha fazla modifikasyona devam edilmiştir. 60 mL metanol içinde ZIF-8 (0,287 g, 1,26 mmol) ve GA (1,435 g, 8,43 mmol) çözeltileri ayrı ayrı hazırlanmıştır. Sentez, oda sıcaklığında ZIF-8 çözeltisine damla damla GA çözeltisi eklenerek ve 2 saat karıştırılarak gerçekleştirilmiştir. ZIF-8@GA nanokristalleri, bir santrifüj (4000 rpm, 15 dakika) ile ayrılmıştır ve reaksiyona girmeyen maddeler, 3x30 mL metanol ile tekrar tekrar yıkanarak ortamdan çıkarılmıştır. Numune 24 saat süreyle kurutulmuştur.

Çalışmamızda literatürdeki bilgiler karşılaştırılarak ZIF-8@GA@5-FU'nun ideal mol oranı 1 mol GA için 0,6 mol 5-FU olarak belirlenmiştir (L. Zhang et al., 2018b). 447 mg ZIF-8@GA, 10 mL ultra saf su içinde çözülmüştür ve 170,9 mg 5-FU, 40 mL ultra saf su içinde dağıtılmıştır. ZIF-8@GA üzerine damla damla 5-FU ilave edilmiştir ve

manyetik bir karıştırıcıda 3 gün karıştırılmıştır. 3 gün sonra santrifüj (4000 rpm, 15 dk) ile ZIF-8@GA@5-FU partikülleri ayrılmıştır ve ultra saf su ile tekrar tekrar yıkanarak serbest 5-FU uzaklaştırılmıştır. Hazırlanan İTS 24 saat kurumaya bırakılmıştır.

İdeal mol oranı literatürdeki bilgilerle karşılaştırılarak; 1 mol GA için 0,05 mol Fe^{3+} ve 0,6 mol 5-FU olarak belirlenmiştir (L. Zhang et al., 2018b). 850 mg ZIF-8@GA, 15 mL ultra saf suda çözülmüştür ve 56,27 mg $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, 10 mL ultra saf suda çözülmüştür. ZIF-8@GA dispersiyonuna $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ solüsyonu damla damla eklenmiştir, koyu mavi renk oluşumu gözlenmiştir ve manyetik karıştırıcıda 2 saat karıştırılmıştır. ZIF-8@GA@Fe kristalleri, membran filtrasyonu ile ayrılmıştır ve sentezlenen numune, tekrar tekrar ultra saf su ile yıkanmıştır. Numune gece boyunca kurutulmuştur. Daha sonra sırasıyla 512 mg ZIF-8@GA@Fe ve 183,6 mg 5-FU 10 mL ultra saf suda ayrı ayrı çözülmüştür. ZIF-8@GA@Fe üzerine damla damla 5-FU solüsyonu ilave edilmiştir ve manyetik karıştırıcıda 3 gün karıştırılmıştır. ZIF-8@GA@Fe@5-FU partikülleri bir santrifüj (4000 rpm, 15 dakika) ile ayrılmıştır ve serbest 5-FU, tekrar tekrar ultra saf su ile yıkanarak ortamdan çıkarılmıştır. Numune 24 saat süreyle kurutulmuştur.

ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx, daha önce bildirilen prosedürdeki orandan çok az değişiklikle sentezlenmiştir (Altun et al., 2015). 355 mg ZIF-8@GA@Fe@5-FU, 10 mL ultra saf suda dağıtılmıştır ve 5 mg GOx, 5 mL ultra saf suda dağıtılmıştır. GOx solüsyonu damla damla ZIF-8@GA@Fe@5-FU dispersiyonuna eklenmiştir ve manyetik karıştırıcıda 3 gün karıştırılmıştır. ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx partikülleri, bir santrifüj (4000 rpm, 15 dakika) ile ayrılmıştır ve serbest 5-FU, tekrar tekrar ultra saf su ile yıkanarak ortamdan çıkarılmıştır. Numune liyofilizatörde 24 saat kurutulmuştur (Şekil 3.2.).

ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au, daha önce bildirilen prosedürdeki orandan çok az değişiklikle sentezlenmiştir (Huang et al., 2022). 6,5 mL Au^{3+} solüsyonu, standart Au solüsyonu kullanılarak (1 mg Au^{3+}/mL) %32 amonyak solüsyonu ile pH 5,0 ile hazırlanmıştır. 355 mg ZIF-8@GA@Fe, 10 mL ultra saf su içinde dağıtılmıştır ve Au^{3+} solüsyonu damla damla eklenmiştir ve daha sonra 60 °C'de gece boyunca bir manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. 127,3 mg 5-FU, 15 mL ultra saf suda çözülmüştür ve bu karışıma damla damla eklenmiştir. Daha sonra manyetik karıştırıcıda 3 gün karıştırıldıktan sonra ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au partikülleri santrifüj (4000 rpm, 15

dk) ile ayrılmıştır ve ultra saf su ile tekrar tekrar yıkanarak serbest kalan 5-FU uzaklaştırılmıştır. Numune 24 saat süreyle kurutulmuştur (Şekil 3.2.).

3.5. ZIF-8 Nanoyapılarına İlaç Yükleme Çalışmaları

3.5.1. Gallik asit ve Fe katkılı, Au veya GOx modifiye ZIF-8 esaslı ilaç taşıyıcı sistemlerin antikanser aktiviteleri çalışması

5-FU için ilaç yükleme kapasitesi ve kapsülleme verimliliği ZIF-8@GA@Fe@5-FU, ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au nanoyapılarında çalışılmıştır. İlaç yükleme çalışmaları üç tekrar halinde gerçekleştirilmiştir. Yüklenen 5-FU miktarları, 266 nm'de UV-Vis spektroskopisi kullanılarak belirlenmiştir. Denklemler (1) ve (2) 5-FU yükleme kapasitesi (%) ve kapsülleme etkinliğinin (%) hesaplanması için kullanılmıştır.

$$\text{İlaç yükleme kapasitesi (\%)} = \frac{\text{Taşıyıcıdaki ilaç miktarı (mg)}}{\text{Taşıyıcı miktarı (mg)}} \times 100 \quad (3.1)$$

$$\text{Kapsülleme verimliliği (\%)} = \frac{\text{Taşıyıcıdaki ilaç miktarı (mg)}}{\text{Başlangıçta eklenen ilaç miktarı (mg)}} \times 100 \quad (3.2)$$

3.6. Geliştirilmiş İlaç Taşıyıcı Sistemlerin *In Vitro* İlaç Salım Özellikleri

3.6.1. Antikanser ilaç taşıyıcı sistem olarak metal-organik kafes nanokompozitinde bir protein-sülfosalisilik asit/bosvelik asit çalışması

5-sülfosalisilik asit/BSA, 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs, 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8'den 5-sülfosalisilik asidin salım testleri, 37 °C'de pH 5,0 ve pH 7,4 değerlerine sahip 15,0 mL tampon çözeltilere 15 mg bileşik ilave edilerek gerçekleştirilmiştir. Önceden belirlenen zaman aralıklarında, test solüsyonundan 1 mL numune alınmıştır ve 5-sülfosalisilik asit konsantrasyonu bir UV-vis spektrofotometre ile belirlenmiştir. 5-sülfosalisilik asidin salım yüzdeleri hesaplanmıştır.

3.6.2. Gallik asit ve Fe katkılı, Au veya GOx modifiye ZIF-8 esaslı ilaç taşıyıcı sistemlerin antikanser aktiviteleri çalışması

Geliştirilmiş ZIF-8@GA@Fe@5-FU, ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au ilaç taşıyıcıların 5-FU'nun ilaç salım özelliklerini açıklamak için, *in vitro* ilaç salım testleri normal hücrelerin (pH 7,4) ve kanserli hücrelerin (pH

5,0) pH'ını temsil eden iki farklı pH ortamında gerçekleştirilmiştir. İlaç salım çalışmalarında kullanılan her numuneden 10 mg, sonikasyon yoluyla 10'ar mL pH 5,0 ve pH 7,4 fosfat tampon salin (PBS) tamponları içinde ayrı ayrı dağıtılmıştır ve diyaliz torbalarına kapatılmıştır. Diyaliz torbaları ayrı ayrı pH 5,0 ve pH 7,4 tampon çözeltilerine 37 °C'de 12 saat daldırılmıştır ve 100 rpm'de manyetik olarak karıştırılmıştır. Öceden belirlenen zaman periyotlarında, ortam koşullarını korumak için 1 mL salım ortamı ayrılmıştır ve her seferinde taze tampon solüsyonu ile yenilenmiştir. Salıcı ortamdaki toplanan numunelerindeki ilaç miktarları 266 nm'de UV spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. 5-FU'nun salımı (%) Denk. (3) eşitliğine göre belirlenmiştir (Kush et al., 2020).

Uygulanan kinetik modeller arasında, deneysel *in vitro* ilaç salım verilerine en iyi uyan kinetik model karşılık gelen regresyon katsayısı (r^2) ile belirlenmiştir.

$$\text{İlaç salımı (\%)} = \frac{t \text{ t zamanında salınan ilaç miktarı}}{t=0 \text{ zamanında salınan ilaç miktarı}} \times 100 \quad (3.3)$$

3.7. Geliştirilmiş İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Karakterizasyon Çalışmaları

3.7.1. Antikanser ilaç taşıyıcı sistem olarak metal-organik kafes nanokompozitinde bir protein-sülfosalisilik asit/ bosvelik asit çalışması

5-sülfosalisilik asit/BSA, 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs, 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8 bileşiklerinin mikro yapıları, bir Philips XL30 SFEG ile taramalı elektron mikroskopu (SEM) ile analiz edilmiştir. FTIR spektrumları, Perkin Elmer FTIR Spektrometresine (Spectrum Two) kaydedilmiştir. Termal gravimetrik analiz (TGA), Setaram termogravimetrik analiz cihazı ile yapılmıştır. NP'lerin parçacık boyutu dağılımları ve zeta potansiyelleri, dinamik ışık saçılımı tekniği (Nano Plus-3) ile incelenmiştir. Numunelerin UV-vis absorpsiyon spektrumları, UV-vis Spektrofotometre (Shimadzu UV-2600, Japonya) ile elde edilmiştir.

3.7.2. Gallik asit ve Fe katkılı, Au veya GOx modifiye ZIF-8 esaslı ilaç taşıyıcı sistemlerin antikanser aktiviteleri çalışması

ZIF-8, ZIF-8@GA, ZIF-8@GA@5-FU, ZIF-8@GA@Fe@5-FU, ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au nanotaşıyıcılarının FTIR spektrumları, bir Perkin Elmer FTIR Spektrometresi (Spectrum Two) kullanılarak 4000 ve 400 cm^{-1} aralığında elde edilmiştir. Numunelerin absorpsiyon ölçümleri bir

UV-Vis Spektrofotometre (Shimadzu UV-2600, Japonya) ile yapılmıştır. Sentezlenen ilaç taşıyıcı sistemlerin mikro yapısı, Philips XL30 SFEG taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile karakterize edilmiştir. DSS'lerin morfolojileri ve mikro yapıları, transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ile 200 keV voltajda çalışan bir FEI TALOS F200S ile karakterize edilmiştir. Tüm ilaç taşıyıcı sistemlerin X-ışını kırınım (XRD) paterni, 60 kV'da çalıştırılan PANalytical Empyrean difraktometre ile analiz edilmiştir. Termal gravimetrik analiz (TGA), bir Setaram termo gravimetrik analiz cihazında yapılmıştır. NP'lerin zeta potansiyelleri, bir Micromeritics Zeta/Nano Particle Analyzer (Nano Plus-3) tarafından incelenmiştir.

3.8. Geliştirilmiş İlaç Taşıyıcı Sistemlerin *In Vitro* Sitotoksik Çalışmaları

3.8.1. Antikanser ilaç taşıyıcı sistem olarak metal-organik kafes nanokompozitinde bir protein-sülfosalisilik asit/ bosvelik asit çalışması

Çalışmada MCF-7 ve HUVEC hücre hatları kullanılmıştır. Hücreler, %10 FBS ve %1 penstrep antibiyotik ile DMEM (Gibco) kültür ortamında kültüre edilmiştir. Her iki hücre hattı, %5 CO₂ ile 37°C'de nemlendirilmiş bir inkübatörde (Thermo Fisher Scientific) kültüre ekilmiştir ve WST-1 analizi, Hücre Canlılığı Görüntüleme Analizi ve AO boyamadan önce Countless II Hücre Sayacı (Thermo Fisher Scientific) kullanılarak hücreler sayılmıştır.

5-sülfosalisilik asit/BSA, 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs, 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8, 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8 nanoparçacıklarının tek başına BSA ve ZIF-8 ile karşılaştırıldığında sitotoksik etkilerini belirlemek için, WST-1 analizi yapılmıştır. 96 kuyulu plakalarda eşit sayıda hücre (2×10^4 hücre/kuyu) ekilmiştir. 24 saat sonra hücreler, yukarıda belirtilen sentezlenmiş NP'lerin 0,5, 1, 2 ve 4 mM konsantrasyonları ile muamele edilmiştir. 24 saatlik inkübasyonun ardından hücreler karanlıkta 30 dakika 37 °C'de 10 µL WST-1 reaktifi ile boyanmıştır. Daha sonra hücreler, 96 kuyulu bir mikroparka okuyucu (Allsheng, Çin) ile 450 nm'de analiz edilmiştir. WST-1 analizi sonuçlarına göre sentezlenen her bir ilaç sisteminin en iyi sitotoksik konsantrasyonu belirlenmiş ve ileri analizlere bu konsantrasyon ile devam edilmiştir. Her deney, her bir hücre hattı için en az üç tekrar gerçekleştirilmiştir.

Sentezlenen ilaç sistemlerinin uygulandığı hücrelerde canlı ve ölü hücrelerin görüntülenmesi için ReadyProbes® Cell Viability Imaging Kit kullanılmıştır. Kit, tüm hücrelerin çekirdeklerini boyayan ve standart bir 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI)

filtresiyle tespit edilebilen NucBlue® Live reaktifine sahiptir ve NucGreen® Dead reaktifi, yalnızca plazma membran bütünlüğü bozulmuş hücrelerin çekirdeklerini boyayan standart bir FITC/GFP (yeşil) filtre seti kullanılarak tespit edilmektedir. Kit, bilinen sitotoksosite ve hücre canlılığı parametrelerini ölçen iki prob ile canlı ve ölü hücreler arasında ayırım yapılmasını sağlamaktadır. Her bir kuyuya eşit sayıda hücre (2×10^4 hücre/kuyu), ekildikten 24 saat sonra, hücreler yukarıda bahsedilen 1 mM konsantrasyonda NP ile muamele edilmiştir. 24 saatlik inkübasyon süresinden sonra, hücre büyüme ortamına NucBlue® Live reaktifi (Hoechst 33,342) ve NucGreen® Dead reaktifi eklenmiştir ve ardından 15 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, hücreler EVOS FL hücre görüntüleme sistemi (Thermo Fisher Scientific) ile görüntülenmiştir. Grup başına en az 3 görüntü analiz edilmiştir.

Sentezlenmiş NP uygulanan hücrelerde apoptotik ölümün morfolojik olarak görüntülenmesi için, hücreler (5×10^5), altı kuyulu hücre kültürü plakalarında kültüre ekilmiştir. 24 saatlik inkübasyondan sonra, hücreler 1 mM konsantrasyonda sentezlenmiş NP'lerle muamele edilmiştir. Daha sonra hücreler %4 paraformaldehit (PFA) ile 15 dakika fikse edilmiştir ve ardından karanlıkta 30 dakika AO ile boyanmıştır. Boyama sonunda hücreler EVOS FL hücre görüntüleme sistemi (Thermo Fisher Scientific) ile analiz edilmiştir. Grup başına en az 3 görüntü analiz edilmiştir.

3.8.2. Gallik asit ve Fe katkılı, Au veya GOx modifiye ZIF-8 esaslı ilaç taşıyıcı sistemlerin antikanser aktiviteleri çalışması

Çalışmada kullanılan HUVEC kontrol hücreleri ve MDA-MB-231 ÜNМК hücre dizisi, %5 CO₂ ile nemlendirilmiş bir inkübatörde (Thermo Fisher Scientific) %10 FBS ve %1 pen-strep antibiyotik ile takviye edilmiş DMEM (Gibco) ortamında 37°C'de kültüre edilmiştir.

Nanoyapıların (ZIF-8@GA, ZIF-8@GA@5-FU, ZIF-8@GA@Fe@5-FU, ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au) tek başına ZIF-8@GA ile karşılaştırıldığında sitotoksik etkilerini analiz edilmesi için WST-1 analizi yapılmıştır. Eşit sayıda HUVEC ve MDA-MB-231 hücreleri (2×10^4 hücre/kuyu) 96 kuyulu plakalarda kültüre ekilmiştir ve 24 saat boyunca yukarıda bahsedilen sentezlenmiş nanoyapıların 1, 2,5, 5 ve 10 ug/mL konsantrasyonları ile muamele edilmiştir. İnkübe edilen hücreler, 37 °C'de 30 dakika boyunca 10 uL WST-1 reaktifi ile boyanmıştır. Sentezlenen her İTS'nin etkili sitotoksik konsantrasyonu, 450 nm'de

bir mikropilaka okuyucu tarafından analiz edilmiştir ve bu konsantrasyonlar, daha ileri analizler için kullanılmıştır. Hücre dizilerindeki tüm testler üç tekrar halinde gerçekleştirilmiştir.

Nanoyapılar tarafından indüklenen apoptotik hücre ölümünün morfolojik olarak görüntülenmesi için, hücreler (5×10^5), altı kuyulu hücre kültürü plakalarında kültüre edilmiştir. 24 saatlik inkübasyondan sonra, hücreler 1 ug/mL konsantrasyonda sentezlenmiş nanoyapılarla muamele edilmiştir. Daha sonra, hücreler %4 paraformaldehit ile fikse edilmiştir ve ardından karanlıkta 30 dakika AO ile boyanarak EVOS FL Hücre Görüntüleme Sistemi (Thermo Fisher Scientific, ABD) ile görüntülenmiştir. Ayrıca, hücrelerde mitokondriyal değişimlerin gözlemlenmesi için hücreler karanlıkta 45 dakika boyunca mitotacker boyası (1ug/mL) ile boyanmıştır ve PBS ile yıkanmıştır. Fiksasyondan sonra hücrelerin çekirdeği DAPI (1ug/mL) ile boyanmıştır ve PBS ile yıkanmıştır. Görüntüler EVOS FL Hücre Görüntüleme Sistemi (Thermo Fisher Scientific, ABD) ile elde edilmiştir.

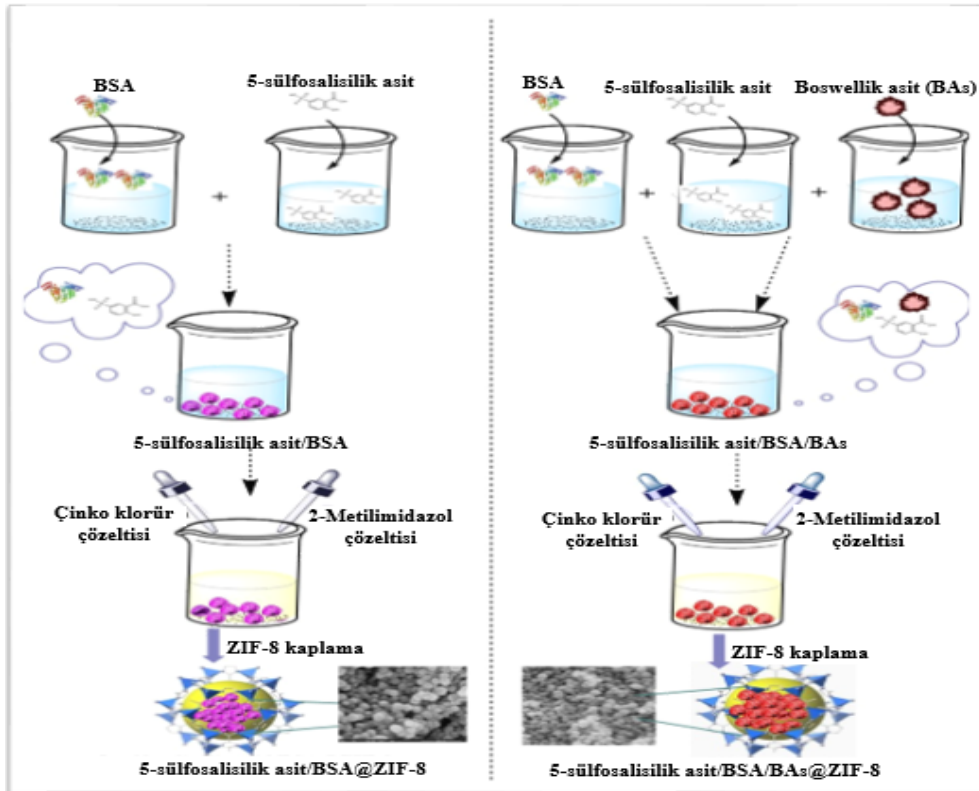
İTS'lerin fotoluminesan özelliklerini gözlemek için MDA-MB-231 hücreleri, 4 saat süreyle ZIF-8@GA@Fe@5-FU, ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au ile muamele edilmiştir. Daha sonra kırmızı filtrede görüntüler elde edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Antikanser İlaç Taşıyıcı Sistem Olarak Metal-Organik Kafes Nanokompozitinde Bir Protein-Sülfosalisilik Asit/Bosvelik Asit Çalışması

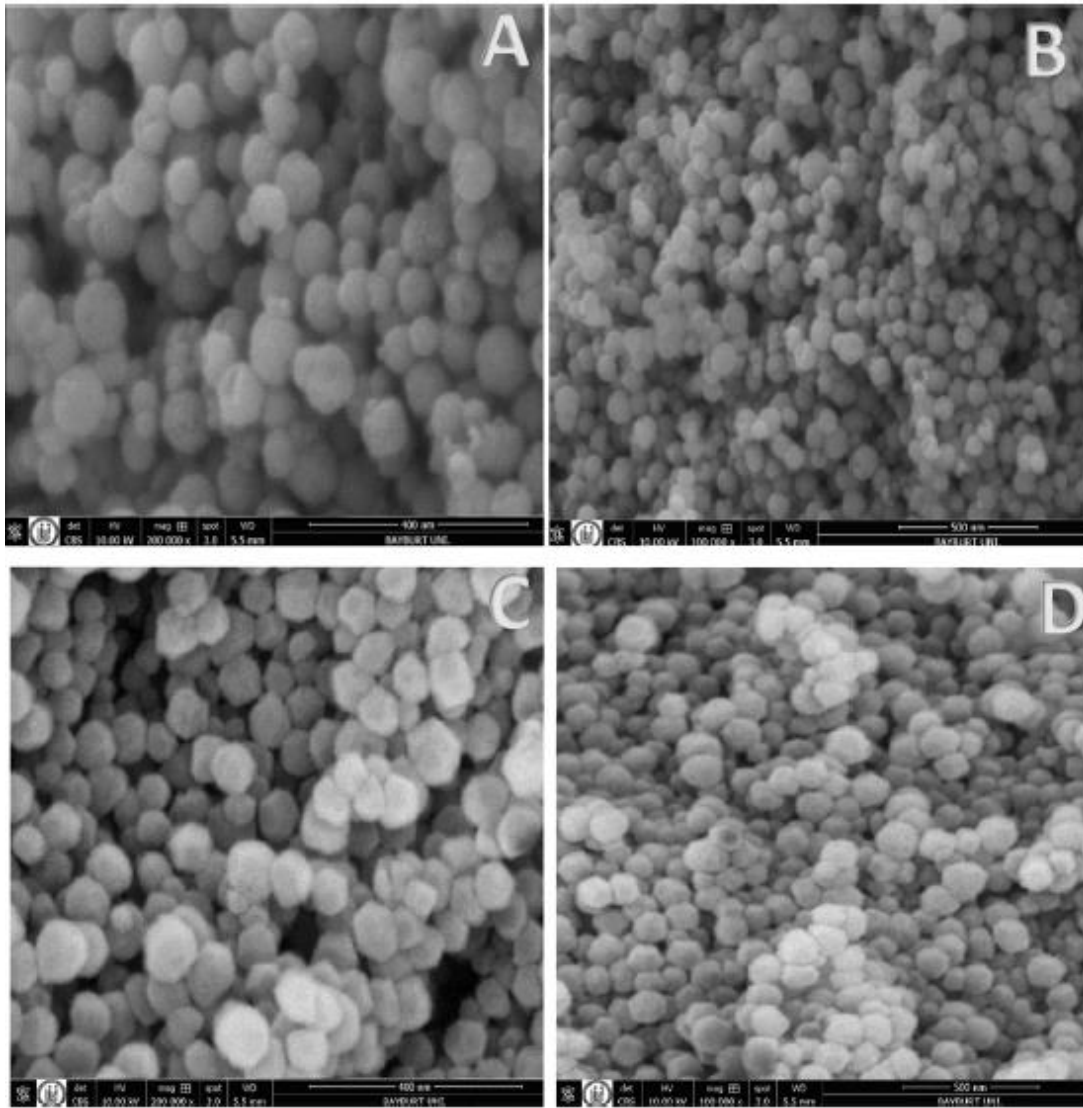
4.1.1. ZIF-8 esaslı ilaç taşıyıcı sistemlerin sentezi ve karakterizasyonu

5-sülfosalisilik asit/BSA ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs NP'ler başlangıç maddesi olarak ayrı ayrı sentezlenmiştir. ZIF-8 sentezi literatürdeki oranlar dikkate alınarak (Özsoy et al., 2021b), metanol içinde çözülmüş çinko klorür çözeltisi ve metanol içinde çözülmüş 2-metilimidazol çözeltisine eklenerek oda sıcaklığında nitrojen spreyi altında karıştırılarak gerçekleştirilmiştir. ZIF-8 kristalleri izole edilmiştir daha sonra ZIF-8 sırasıyla önceden sentezlenen 5-sülfosalisilik asit/BSA ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs NP'ler ile modifiye edilmiştir. Sentezlenen tüm ilaç sistemleri, Şekil 4.1.'de gösterilmiştir.



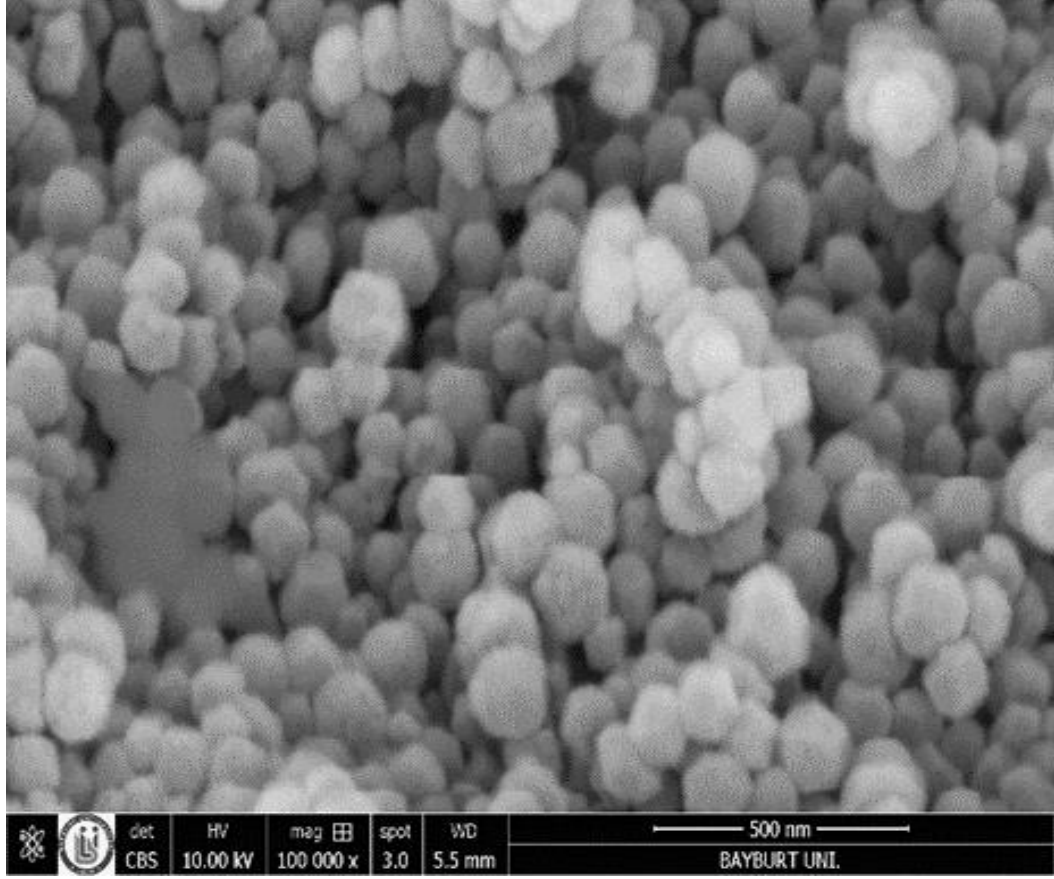
Şekil 4.1. 5-sülfosalisilik asit/BSA, 5-sülfosalisilik asit /BSA/BAs, 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8 üretiminin şematik gösterimi.

Sentezlenen tüm nanoparçacıkların mikro yapıları SEM ile karakterize edilmiştir (Şekil 4.2.). 5-sülfosalisilik asit/BSA ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs SEM görüntüleri küresel benzeri bir morfoloji sergilemiştir (Şekil 4.2. A, B). 5-sülfosalisilik asit/BSA ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs'nin, ZIF-8 ile kaplanmasından sonra elde edilen 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8 SEM görüntüleri ZIF-8'e benzer morfolojiler göstermiştir (Şekil 4.2. C, D). Bu sonuç 5-sülfosalisilik asit/BSA ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs'nin kapsüllenmesinin ZIF-8'in yapısını etkilemediği anlamına gelmektedir.



Şekil 4.2. 5-sülfosalisilik asit/BSA (A), 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs (B), 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 (C) ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8 (D) SEM görüntüsü.

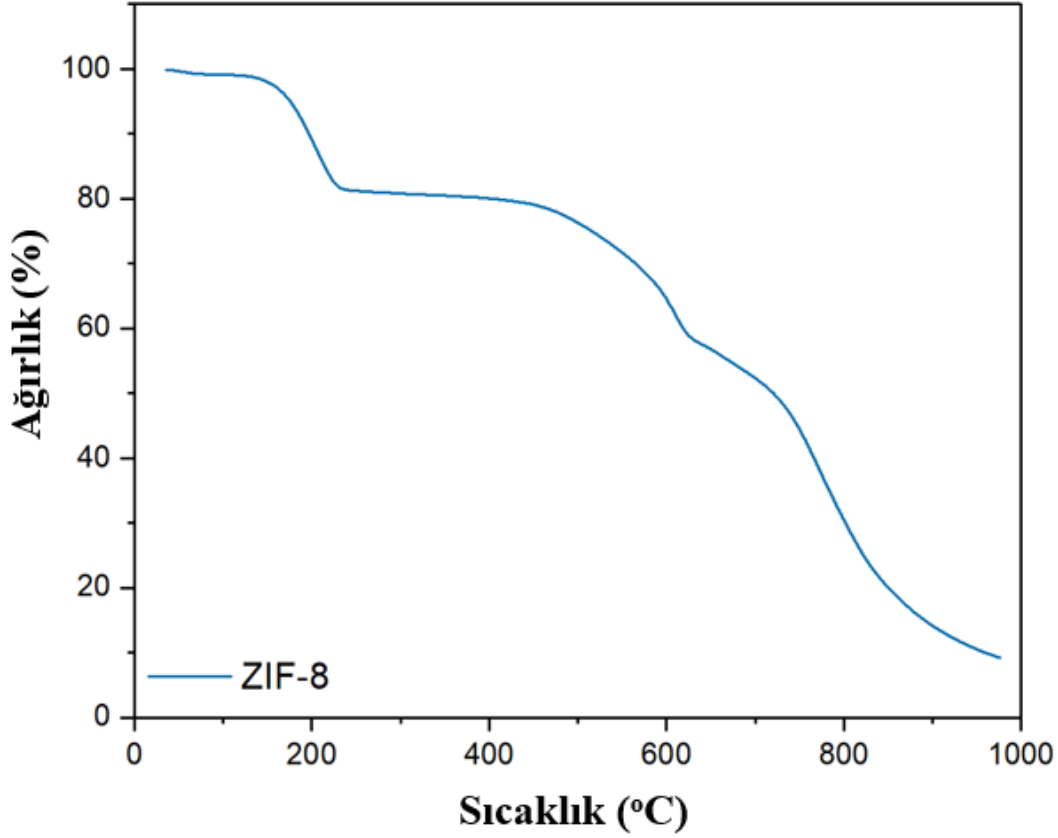
Tipik ZIF-8 morfolojisine sahip altıgen şekil, ZIF-8'in SEM görüntüsünden elde edilmiştir (Şekil 4.3.) (S. Liu et al., 2011).



Şekil 4.3. Saf ZIF-8 nanoparçacıklarının SEM görüntüsü.

TGA analizi, Şekil 4.4.'te gösterildiği gibi ZIF-8'in termal kararlılıklarını incelemek için kullanılmıştır. ZIF-8 için elde edilen eğri, çözücü moleküllerinin uzaklaştırılmasına uygun olarak 180°C ile 230°C aralığında %22'lik bir ağırlık kaybı göstermiştir. ZIF-8'in bozunmasında bahsedilen %40'lık ağırlık kaybı 650 °C'ye kadar gerçekleşmiştir. 650°C-950°C aralığında, yüksek sıcaklıklarda 2- metilimidazol bozunarak ikinci aşamada kristal yapının çökmesine bağlı olarak %30'luk son ağırlık kaybı gözlenmiştir. Son ağırlık kaybı, ZIF-8'in oksidatif ortam altında tamamen çinko oksite dönüşmesi anlamına gelir (S. Liu et al., 2011). Şekil 4.5. A' da 5-sülfosalisilik asit/BSA, 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs, 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8'in termal stabilitesi gösterilmiştir. 5-sülfosalisilik asit /BSA ve 5-sülfosalisilik asit /BSA/BAs numuneleri için elde edilen eğriler hemen hemen benzerdir ve 25-280 °C sıcaklık aralığında H₂O molekülleri %10 ağırlık kaybı göstermiştir. Daha sonra sıcaklık 400 °C'ye yükseldiğinde ağırlık kaybı %70'e ulaşmıştır ki bu da numunelerdeki organik moleküllerin ayrışmasına karşılık gelmektedir (Yao et al., 2013). 5-sülfosalisilik asit/BSA, 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs'nın TGA eğrisi, 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik

asit/BSA/BAs@ZIF-8'in TGA eğrisi ile karşılaştırıldığında çok fazla fark göstermemiştir. Bu sonuçlar 5-sülfosalisilik asit/BSA ve 5 sülfosalisilik asit/BSA/BAs molekülleri ZIF-8 içine eklendiğinde ZIF-8 termal stabilitesinin etkilenmediğini göstermiştir.



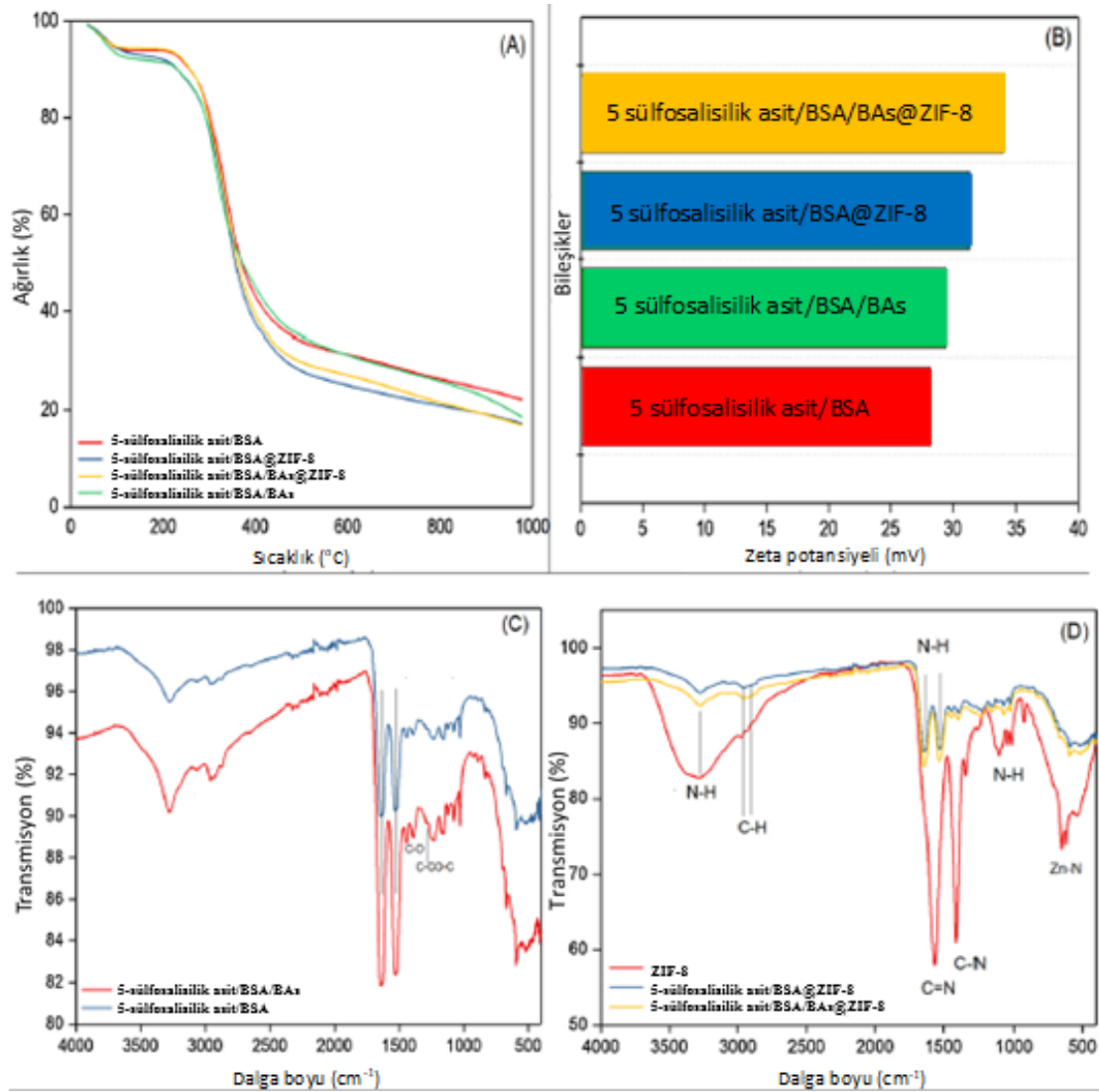
Şekil 4.4. ZIF8'in TGA eğrileri.

Parçacıkların, herhangi bir koloidal yapıda topaklanma olmadan ideal bir dağılım sergilemesi için yüzey yüklerine sahip olması gerekir. Bu nedenle yüzey yüklerinin anlaşılması, bu parçacıkların bir yüzeye adsorpsiyonuna veya hedeflenen bölgeye afinitelerine karar vermek için kritik öneme sahiptir. Zeta potansiyeli, koloidal dispersiyonların kararlılığının önemli bir göstergesidir. Yüksek zeta potansiyeline sahip kolloidler (negatif veya pozitif) elektriksel olarak stabilize edilirken, düşük zeta potansiyeline sahip kolloidler pıhtılaşma veya topaklanma eğilimindedir (Chun et al., 2002). 5-sülfosalisilik asit/BSA, 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs, 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8'in zeta potansiyelleri sırasıyla +28,2 mV, +29,5 mV, +31,4 mV ve +33,9 mV olarak ölçülmüştür (Şekil 4.5. B). Tüm ilaç taşıyıcı sistemler pozitif zeta potansiyel değerleri sergilemiştir, ancak 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8 sistemi, her bir bileşenin katkısıyla en yüksek

pozitif zeta potansiyeli değerini göstermiştir. ZIF'ler, iyi bilindiği gibi önemli sayıda pozitif yük içerir. Hücre zarları negatif yüklü olduğundan, nanoparçacıkların yüzeyindeki pozitif yükler bu nedenle hücre Emilimi için iyidir (Liédana et al., 2012).

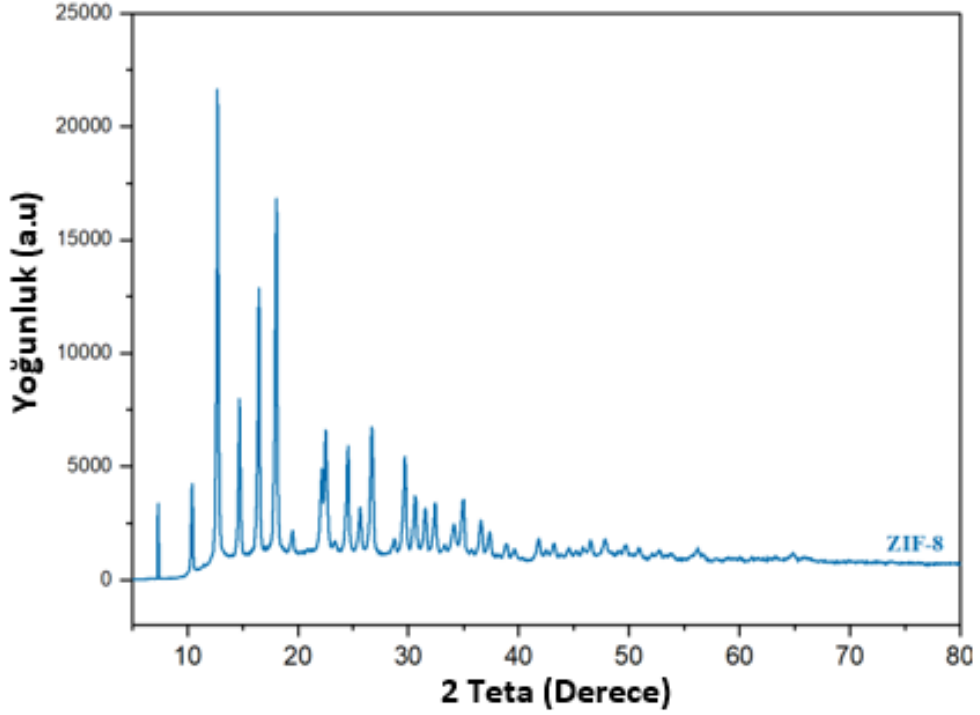
ZIF-8 içeren numunelerin FTIR spektrumları (Şekil 4.5. D)'de gösterilmiştir. 3200-3500 cm^{-1} arasındaki geniş pik, N-H bağının gerilmesini tanımlar, 2972 cm^{-1} ve 3097 cm^{-1} 'deki pikler, sırasıyla bağlayıcıdaki metil grubuna ve imidazol halkasının titreşim modlarında C-H gerilmesine aittir. (Devi et al., 2016). 1567 cm^{-1} ve 1409 cm^{-1} 'deki zirveler sırasıyla C=N ve C-N gerilme modlarıyla ilişkilirken, 1341 cm^{-1} 'deki pik tüm halka gerilmesiyle ilgilidir. 1112, 1019 ve 928 cm^{-1} aralığındaki bantlar, halkanın düzlem içi bükülmesine atfedilebilir, ayrıca 622 ve 653 cm^{-1} 'deki tepe noktaları aromatik sp^2 N-H bükülmesiyle ilgilidir (J. Liu et al., 2016). ZIF-8'in yapısındaki çinko atomları, ZIF-8 oluşumu boyunca 2-metilimidazol bağlayıcının nitrojen atomlarıyla ilişkili olduğundan, 543 cm^{-1} 'deki bant Zn-N gerilmesine atfedilir. 5-sülfosalisilik asit/BSA ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs FTIR spektrumlarını 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8 ile karşılaştırırken (Şekil 4.5. C ve 4.5. D), 1540 cm^{-1} 'de bulunan BSA'nın amid II yapısındaki N-H bükülmesi, ZIF-8'i kapladıktan sonra hala tespit edilmektedir. 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8 FTIR spektrumunda 495-1355 cm^{-1} ve 1340-1505 cm^{-1} bölgesindeki pikler ZIF-8'in imidazol halkasındaki bantlara atıfta bulunmaktadır. Öte yandan SA/BSA ve SA/BSA/BAs için elde edilen spektrumlar incelendiğinde, spektrumların iki sistem arasında çok güçlü benzerlikler gösterdiği görülmüştür. Bununla birlikte, 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs söz konusu olduğunda, piklerin yoğunlukları ve keskinlikleri artmıştır (Şekil 4.5. C). Saf 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs spektrumu, 3420 cm^{-1} (OH gerilme), 2928 cm^{-1} (C-H gerilme), 1685 cm^{-1} (C-O gerilme), 1330 cm^{-1} 'de (COO simetrik germe) ve 1268 cm^{-1} (C-CO-C germe) tepe noktalarını göstermiştir. Şekil 4.5. C ve Şekil 4.5. D'nin karşılaştırılması, 5-sülfosalisilik asit/BSA ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs karakteristik tepe noktalarının konumunun ZIF-8 ile kaplamadan sonra önemli ölçüde değişmediğini göstermiştir. 5-sülfosalisilik asit/BSA ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs kapsüllenmesiyle oluşturulan 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8'in FTIR spektrumundaki değişiklikler ZIF-8 ile çok yönlülüklerini ve serbest hareketlerini sınırlamıştır. Bununla birlikte, 5-sülfosalisilik

asit/BSA ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs'nin ZIF-8 tarafından kapsüllemesi, çevresel bozunma bileşiklerine ek koruma sağlamıştır.



Şekil 4.5. TGA modelleri (A), Zeta potansiyelleri (B), FTIR spektrumları (C&D), 5-sülfosalisilik asit/BSA, 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs, ZIF-8, 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8.

ZIF-8'in kristal faz yapısı XRD ile incelenmiştir. Şekil 4.6.'da gösterildiği gibi. $2\theta = 7,34; 10,41; 12,73; 14,72; 16,45$ ve $18,05^\circ$ 'de güçlü piklerin varlığı sırasıyla (011), (002), (112), (022), (013) ve (222) düzlemlerine karşılık gelir, bu da hazırlanan ZIF-8'in (Schejcn et al., 2014) yüksek kristalliğini göstermektedir.

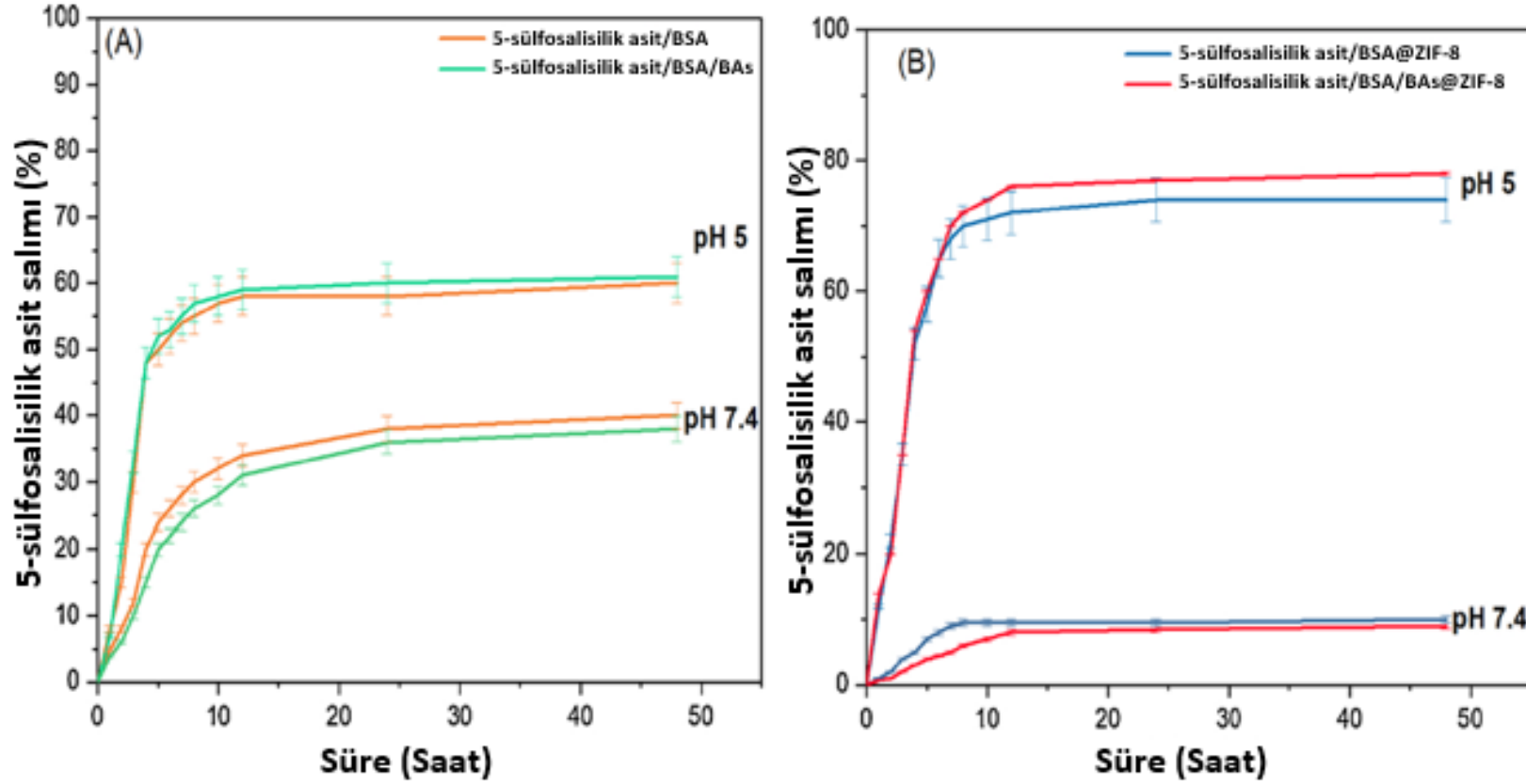


Şekil 4.6. ZIF8'in XRD deseni.

4.1.2. ZIF-8 esaslı ilaç taşıyıcı sistemlerin ilaç salım özellikleri

5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8'in başarılı konfigürasyonunun ardından, entegre 5-sülfosalisilik asit ve 5-sülfosalisilik asit/BAs salınım davranışı 48 saat boyunca incelenmiştir. Şekil 4.7.'de 5-sülfosalisilik asit/BSA, 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs, 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8'den iki farklı pH koşulu altında (pH 5,0 ve pH 7,4) 5-sülfosalisilik asidin salım kinetikleri gösterilmiştir. Sonuçlar, 5-sülfosalisilik asidin, pH durumundan bağımsız olarak nano taşıyıcıdan salındığını göstermiştir. 5-sülfosalisilik asidin %24'ünden fazlası ve %20'sinden fazlası, sırasıyla 5-sülfosalisilik asit/BSA, 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs'den, pH 7,4'te 5 saatte salınırken (Şekil 4.7. A), %9,5 ve %8,5'ten az 5-sülfosalisilik asit, 12 saat sonra aynı pH değerinde sırasıyla 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8'den salınmıştır (Şekil 4.17. B). Bu sonuç, 5-sülfosalisilik asidin fizyolojik koşullar altında 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8 içinde çok iyi depolandığını göstermektedir. 5-sülfosalisilik asidin %70 ve %75'inden fazlası sırasıyla 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8'den pH 5,0'da 10 saatte salınmıştır (Şekil 4.17. B) ve 5-sülfosalisilik asit salınımı doygunluk değerine ulaşmıştır, çünkü kanser hücrelerinin mikroçevresi daha düşük bir

pH ile asidiktir. ZIF-8 ince tabakası, pH 7,4'te 5-sülfosalisilik asidin muhafazasını sağlayan iyi bir kapsül görevi görmektedir. ZIF-8 tabakasının düşük pH değerlerinde parçalanması, nanotaşıyıcıdan daha fazla 5-sülfosalisilik asit salınımına neden olmaktadır (Zheng et al., 2016). 5-sülfosalisilik asit ve BAs'nin çoğu, 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8'den pH 5,0'da 48 saatte salınmıştır. pH bağımlı 5-sülfosalisilik asit salınımının nano ölçekli ZIF-8 yapısının parçalanma işlemi ile gerçekleştirilmesi, hazırlanan ilaç taşıyıcı sistemlere son derece önemli bir avantaj sağlamaktadır. Düşük pH koşulları altında Zn^{2+} ve imidazol arasındaki koordinasyon ilişkisinin kademeli olarak bozulacağı ve bunun da kapsüllenmiş 5-sülfosalisilik asidin difüzyonunu kolaylaştıracağı yaygın olarak gösterilmiştir. Başka bir olası açıklama, 5-sülfosalisilik asidin asidik koşullar altında nötr koşullara göre daha hidrofilik olmasıdır (Gao et al., 2019). 5-sülfosalisilik asidin pH 5,0'da hızlı salınımı, daha asidik tümör mikro ortamlarının normal dokuların aksine, dağılım etkinliğini önemli ölçüde artırabilir.



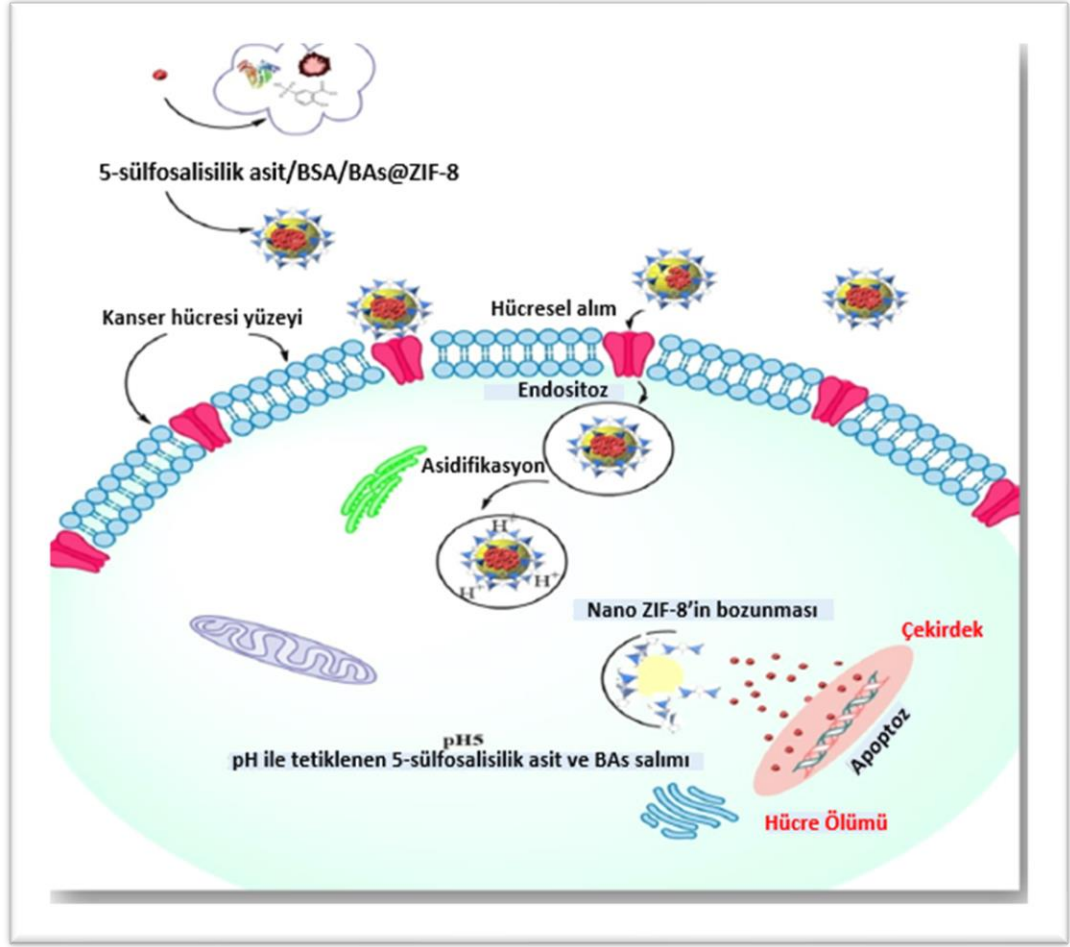
Şekil 4.7. 5-sülfosalisilik asi/BSA ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs (A) ve 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8 (B) 5-sülfosalisilik asidin pH duyarlı salınımı. Sonuçlar ortalama \pm SD (n = 3) olarak elde edilir.

In vitro ilaç salım profili farklı matematiksel modellerde uygulanmıştır ve grafik sunum şeklinde yorumlanmış ve korelasyon katsayısı (r^2) ile değerlendirilmiştir (Tablo 4.1.). En yüksek korelasyon katsayısı, ilaç salımını takip eden uygun matematiksel kinetik modeli belirler (Yuan et al., 2018). Karşılaştırmadan, birinci dereceden modelin diğer modellere göre daha yüksek derecede korelasyon katsayısı (r^2) gösterdiği bulunmuştur. Bu nedenle, incelenen katalitik reaksiyon en iyi şekilde birinci dereceden bir reaksiyon olarak tanımlanabilir.

Tablo 4.1. Farklı kinetik modellerin regrasyon sonuçları.

Model Adı	5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8			5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8		
	r^2	Eğim	Kesişim	r^2	Eğim	Kesişim
Sıfıncı derece model	0,958	9,517	4,822	0,948	9,283	5,311
Birinci derece model	0,984	-0,075	2,006	0,979	-0,072	2,006
Higuchi modeli	0,913	28,008	-8,483	-0,919	28,092	-8,613
Korsmeyer-Peppas modeli	0,945	75,175	4,172	0,961	75,845	3,898
Hixson-Crowell modeli	0,979	0,217	0,007	0,972	0,208	0,025

Hücrel pH'ın düzensizliği, katı tümörlerde tespit edilir ve bu nedenle, kanser hücrelerinin göçüne, invazyonuna ve metastazına yol açan hücrel pH'taki değişiklikler, terapötik müdahale için dikkat çekmektedir (Kush et al., 2020). Mevcut çalışmada, Şekil 4.8.'de 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8'in hücrel alım süreci ve pH'a duyarlı hedeflenen ilaç salımı görülmektedir. Düşük pH'ta (5), ZIF-8 kafes yapısı açılır ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8'den yüklenmiş olan 5-sülfosalisilik molekülleri kolayca salınabilir.

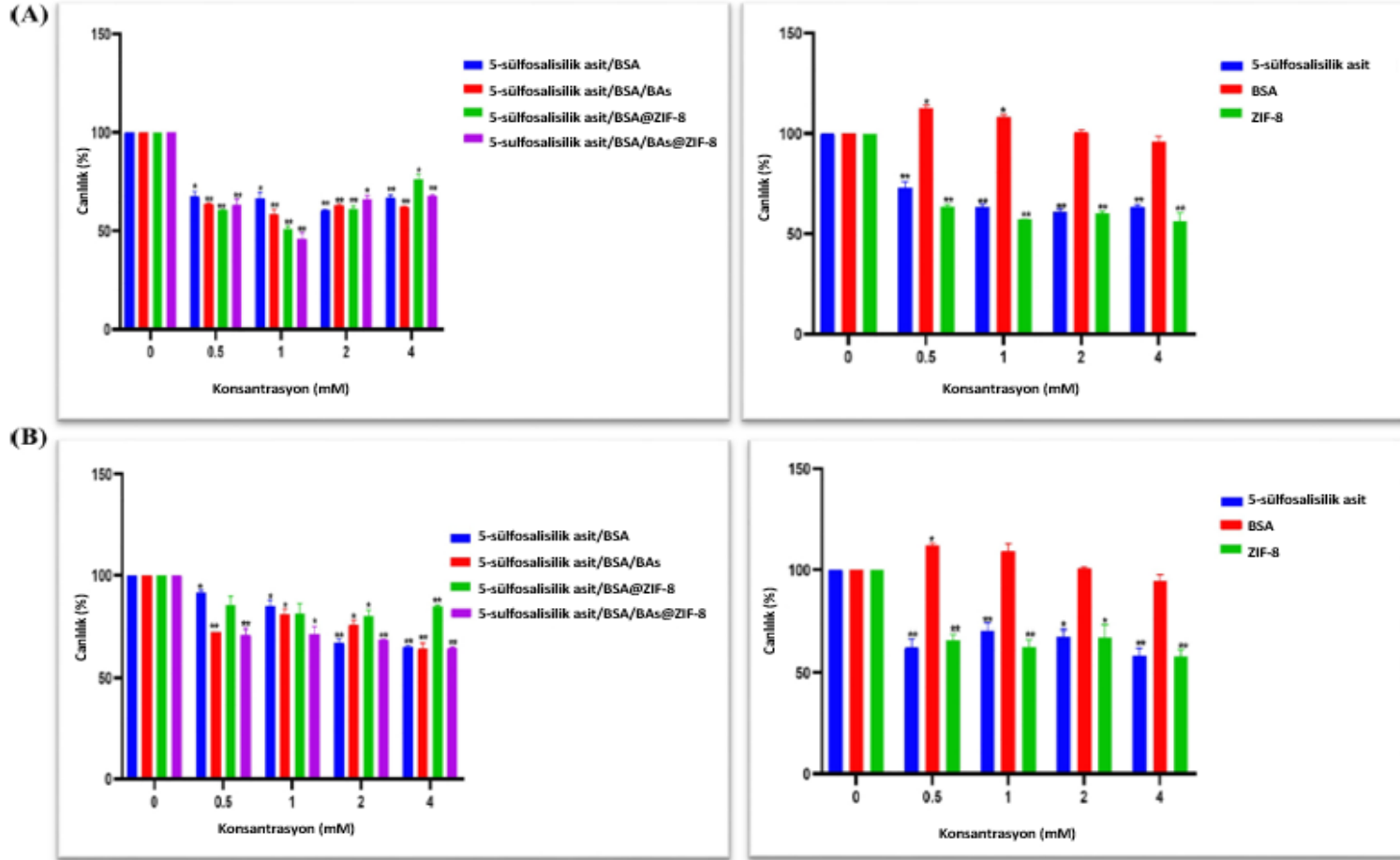


Şekil 4.8. pH 5,0'da 5-sülfosalisilik asit/BAs salım davranışının şematik diyagramı. Etkileşim yoluyla 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8 alınımının ve içselleştirilmesinin tasarımı. MCF-7 hücrelerinin lizozomunda veya endozomunda pH ile tetiklenen 5-sülfosalisilik asit/BAs salınımı.

4.1.3. ZIF-8 esaslı ilaç taşıyıcı sistemlerin *in vitro* sitotoksikite sonuçları

MCF-7 ve HUVEC hücreleri üzerinde tek başına 5-sülfosalisilik asit, BSA ve ZIF-8 ile karşılaştırıldığında sentezlenmiş nanotaşıyıcıların sitotoksik etkileri, Şekil 4.9.'da gösterildiği gibi WST-1 analizi ile değerlendirilmiştir. 24 saatlik uygulama süresinden sonra, MCF-7 hücrelerinin canlılığında önemli bir azalma tespit edilmiştir ($p < 0,05$). 1 mM konsantrasyonda 5-sülfosalisilik asit/BSA, 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs, 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8 uygulanan hücrelerde canlılık oranı sırasıyla %66,4, %58,4, %50,9 ve %45,8 olarak tespit edilmiştir ($p < 0,01$; Şekil 4.20. A). Bununla birlikte, MCF-7 hücrelerinin canlılığının, 1 mM 5-sülfosalisilik asit ve tek başına ZIF-8 ile inkübasyondan sonra sırasıyla %63,3 ve %57,2'ye düştüğü analiz edilmiştir. Ayrıca HUVEC kontrol hücrelerinin canlılığı, 1 mM konsantrasyonunda 5-sülfosalisilik asit/BSA, 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs, 5-

sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8 ile muameleden sonra sırasıyla %84,7, %80,9, %81,1, ve %71,6'ya düşmüştür (Şekil 4.20. B). Ek olarak, 1 mM 5-sülfosalisilik asit ve tek başına ZIF-8 ile inkübasyonun ardından hücre canlılığında sırasıyla %29,6 ve %37,4 azalma gözlenmiştir ($p < 0,05$). Öte yandan, farklı BSA konsantrasyonlarının uygulanması, MCF-7 ve HUVEC hücreleri üzerinde herhangi bir toksik etkiye neden olmamıştır. Sentezlenen her bir nanotaşıyıcının 1 mM konsantrasyonundan sonra, MCF-7 hücrelerinin canlılığında artışa neden olmuştur.



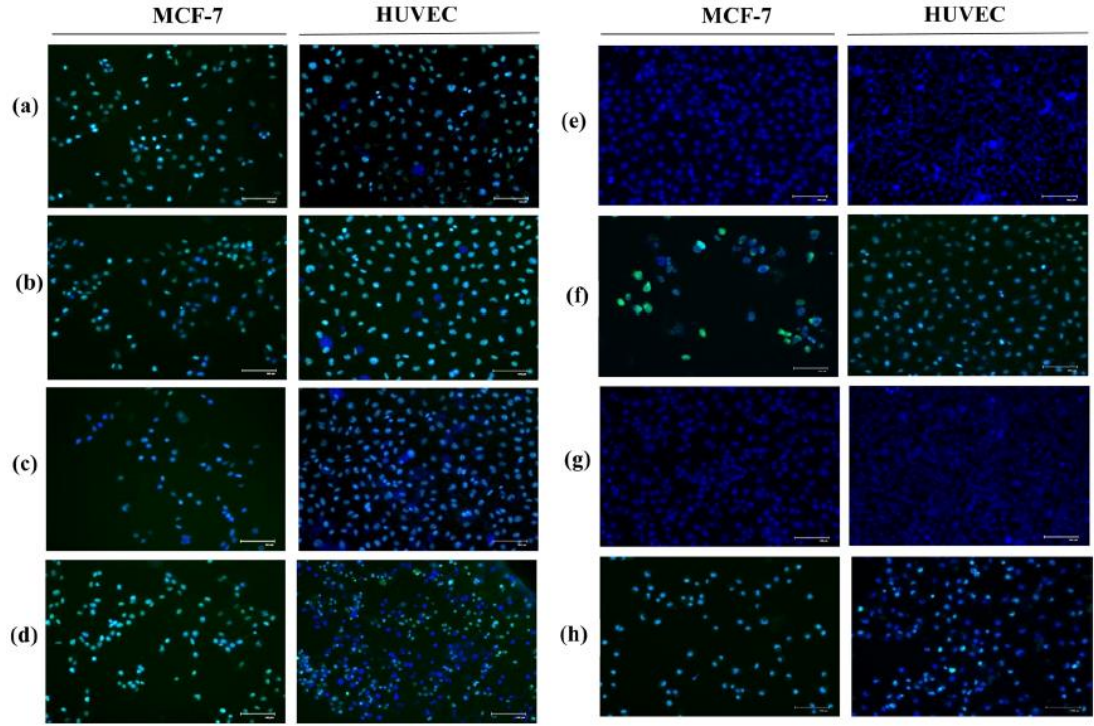
Şekil 4.9. Tek başına 5-sülfosalisilik asit, BSA ve ZIF-8 ile karşılaştırıldığında sentezlenmiş nanotaşıyıcıların uygulanmasından sonra (A) MCF-7 ve (B) HUVEC hücrelerinin canlılığı ($p < 0,05^*$, $p < 0,01^{**}$, $n = 3$).

Sonuç olarak 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8, MCF-7 hücreleri üzerinde 5-sülfosalisilik asit/BSA, 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs ve 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8'den daha etkili olmuştur. Ek olarak, tüm nanotaşıyıcılar, HUVEC hücrelerinde tek başına 5-sülfosalisilik asit ve ZIF-8'in toksisitesini azaltmıştır.

BAs antikanser aktivitesi farklı çalışmalarda araştırılmıştır (Frank et al., 2009; Khan et al., 2013). Pang ve diğerleri, asetil keto bosvelik asidin prostat kanser hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiğini belirlemiştir (Pang et al., 2009). Ayrıca bosvelik asitin, kaspaz 8 aktivasyonuna bağlı olarak kanser hücrelerinde apoptozu indükleyerek antikanser etkiye neden olduğu ve kanser hücrelerinde temel inflamasyon düzenleyici kompleks NF- κ B'yı inhibe ederek erken apoptoz ve hücre gerilemesine neden olduğu analiz edilmiştir (J.-J. Liu et al., 2002). Literatürdeki bilgiler ışığında, 5-sülfosalisilik asidin ROS aracılı antikanser ajanlarının geliştirilmesinde kullanılması bilimsel olarak önem arz etmektedir. Ayrıca bulgularımız, geliştirilmiş 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8 nanotaşıyıcısının, HUVEC kontrol hücrelerinde daha az toksisite ile MCF-7 hücrelerinde tek başına 5-sülfosalisilik asit ve ZIF-8'in yanı sıra diğer nanotaşıyıcılardan daha etkili olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, metal organik kafesler, farklı bileşiklerin yüklenmesi açısından meme kanseri tedavisi için potansiyel bir tedavi stratejisi olabilir.

4.1.4. Hücre canlılığının değerlendirilmesi

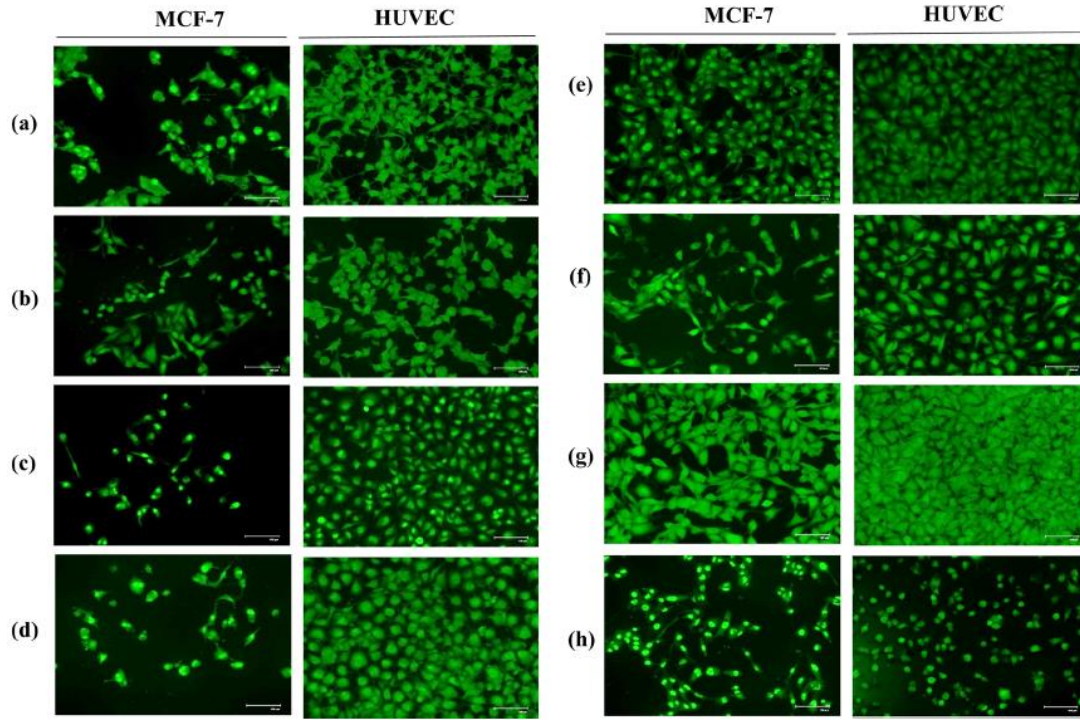
MCF-7 ve HUVEC hücrelerinde canlı hücre yüzdesindeki azalma, Şekil 4.10.'da gösterildiği gibi hücre canlılığı görüntüleme testi ile doğrulanmıştır. MCF-7 hücrelerinin, plazma zarı bütünlüğünün bozulması nedeniyle her bir nano taşıyıcı ile tedaviden sonra ağırlıklı olarak kontrol hücrelerinin aksine, ölü hücrelerin göstergesi olan yeşile boyandığı gözlemlenmiştir. Ek olarak, bu nano taşıyıcılar, tek başına serbest 5-sülfosalisilik asit ve ZIF-8 ile karşılaştırıldığında HUVEC hücrelerinde daha az toksisiteye neden olmuştur. Dolayısıyla elde edilen görüntüler WST-1 analiz sonucu ile uyumlu bulunmuştur.



Şekil 4.10. (a) 5-sülfosalisilik asit/BSA, (b) 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs, (c) 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8, (d) 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8, (e) Kontrol, (f) 5-sülfosalisilik asit, (g) BSA ve (h) tek başına ZIF-8 ile tedaviden sonra MCF-7 ve HUVEC hücre canlılığının gözlemlenmesi. Ölçek çubuğu 100 μm 'yi temsil eder ve tüm görüntüler için geçerlidir.

4.1.5. Hücrelerde morfolojik değişikliklerin gözlemlenmesi

Nanotaşıyıcılarla inkübasyonun ardından MCF-7'de AO boyaması ile karakteristik apoptotik morfoloji gözlenmiştir ve elde edilen sonuçlar Şekil 4.24.'te gösterilmiştir. 5-sülfosalisilik asit/BSA, 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs, 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8 ile muameleden sonra MCF-7 hücrelerinde özellikle nükleer membran parçalanması, apoptotik cisimler ve hücre büzülmesi tespit edilmiştir. Öte yandan, nanopartiküllerin düşük toksisitesi nedeniyle HUVEC hücrelerinde bazı vakuolar oluşumlar ve kromatin yoğunlaşması gözlenmiştir. Ancak özellikle tek başına ZIF-8, HUVEC hücrelerinde daha fazla hasar oluşturmuştur. Dolayısıyla elde edilen sonuçlar, 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8'in MCF-7 hücrelerinde diğer nanotaşıyıcılara göre daha fazla apoptotik hücre ölümü indüklediğini ve ayrıca 5-sülfosalisilik asit ve tek başına ZIF-8'in HUVEC kontrol hücreleri üzerindeki toksisitesini azalttığını göstermiştir.



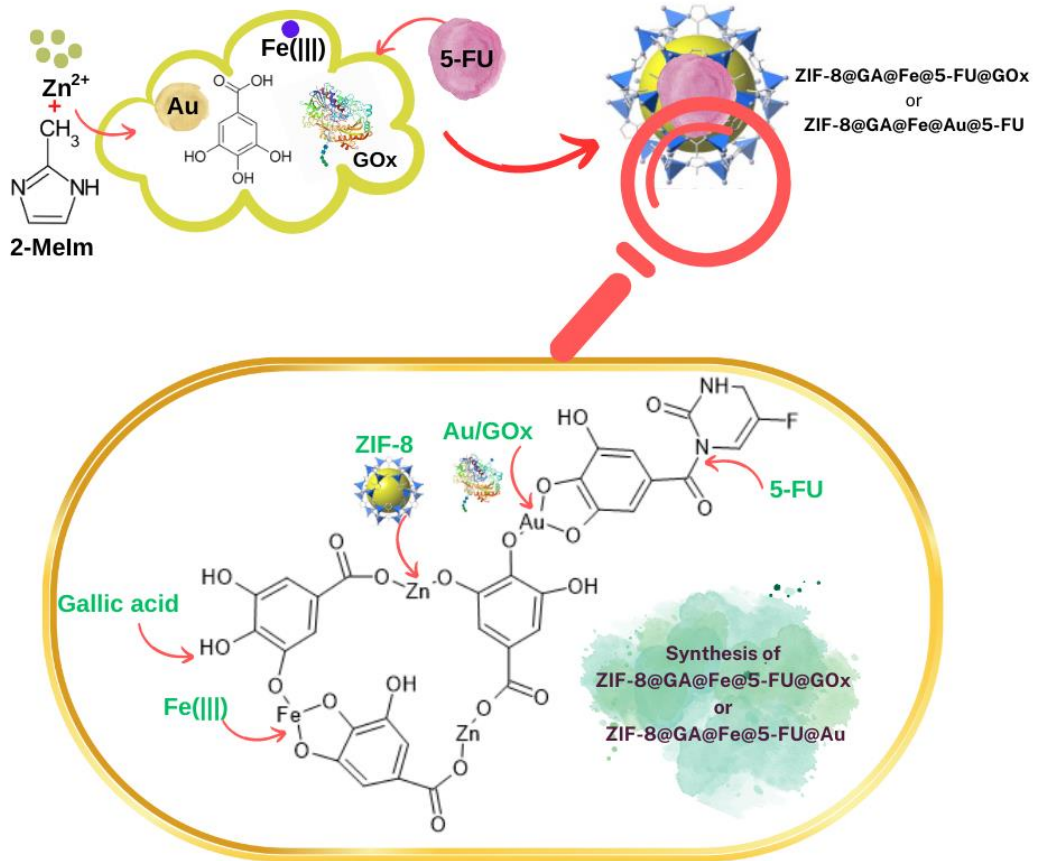
Şekil 4.11. (a) 5-sülfosalisilik asit/BSA, (b) 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs, (c) 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8, (d) 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8, (e) Kontrol, (f) 5-sülfosalisilik asit, (g) BSA ve (h) tek başına ZIF-8 uygulanmasından sonra MCF-7 ve HUVEC hücrelerinde apoptotik hücre ölümünün morfolojik gözlemlenmesi. Ölçek çubuğu 100µm'yi temsil eder.

Literatürdeki bilgiler ışığında, ZIF-8'den salınan 5-sülfosalisilik asit/BAs, hücre içi oksidatif stres nedeniyle kanser hücrelerinde hücre içi ROS'un artmasına ve hücre ölümüne yol açabilir. Salisilik asit, H₂O₂'yi parçalayan katalaz enziminin aktivitesini azaltarak H₂O₂ konsantrasyonunu artırabilir (Q. Liu et al., 2019). Ayrıca, Reszka ve ark. fenolik bir bileşik olarak, sülfosalisilik asidin vücuttaki peroksidazlar için substrat görevi görebileceğini, bunun da sülfosalisilik asidin karşılık gelen fenoksil radikale oksitlenmesine ve redoks aktif bir ürünün artmasına neden olduğunu göstermiştir (Reszka et al., 2005). Bu çalışmada, 5-sülfosalisilik asit/BSA, 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs, 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8 ile tedaviden sonra apoptotik hücre ölümünün bazı karakteristik özellikleri gözlemlenmiştir. Bu nedenle, nanotaşıyıcıların apoptotik etkilerine, MCF-7 hücrelerinde yüksek hücre içi ROS seviyeleri neden olabilir. Özetle, ön bulgularımız, nanotaşıyıcıların, özellikle ZIF-8 kafesi tarafından geliştirildiğinde, MCF-7 hücreleri üzerinde sitotoksik ve apoptotik etkiler sergilediğini göstermektedir. Bununla birlikte, apoptotik hücre ölümüne neden olan moleküler mekanizmaların aydınlatılmasına yönelik ileri çalışmaların gerçekleştirilmesi gerekmektedir.

4.2. Gallik Asit ve Fe Katkılı, Au veya GOx Modifiye ZIF-8 Esaslı İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Antikanser Aktiviteleri Çalışması

4.2.1. GA ve GOx/Au modifiye ZIF-8 esaslı ilaç taşıyıcı sistemlerin sentezi ve karakterizasyonu

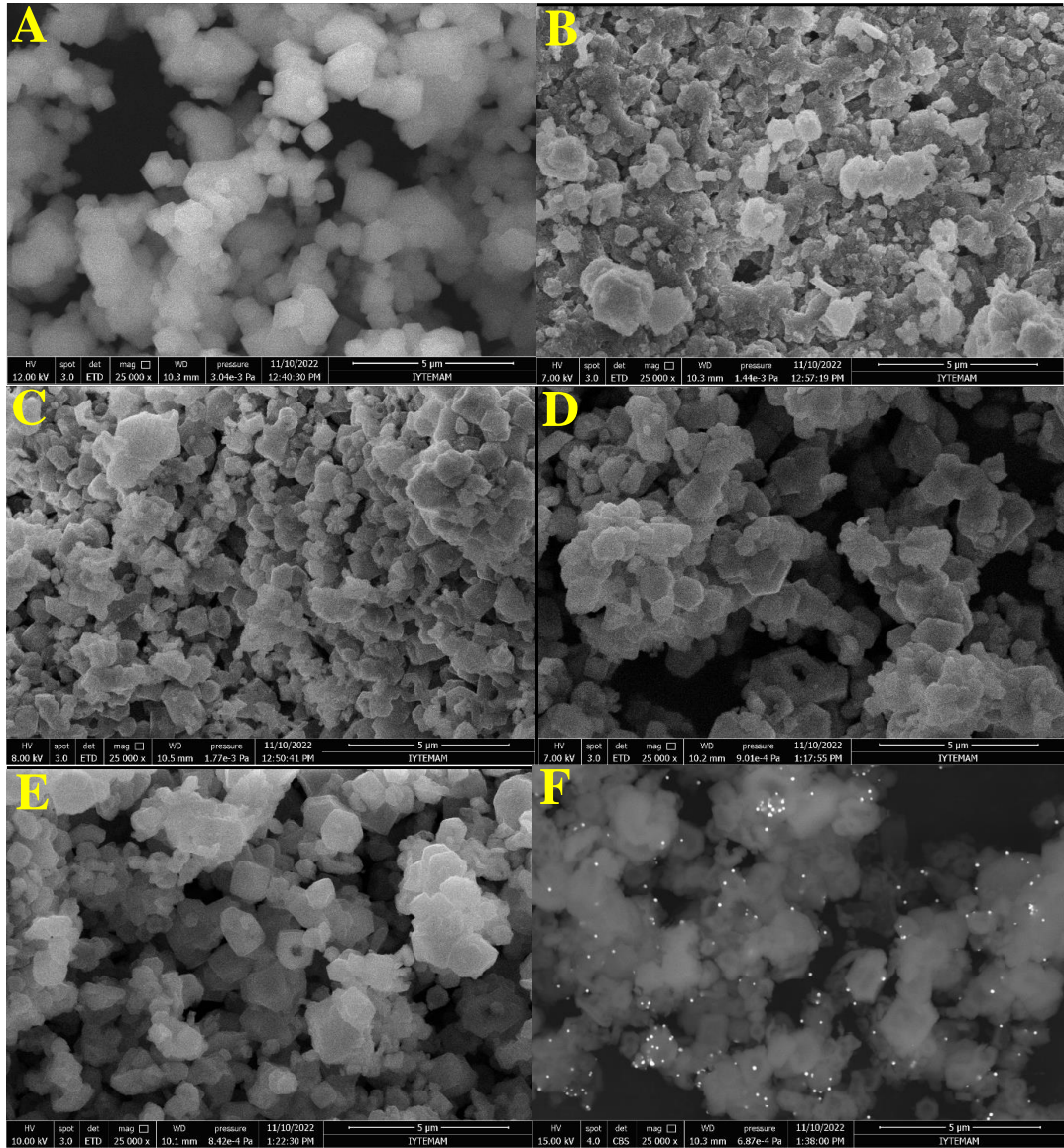
İlaç taşıyıcı sistem olarak $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ kullanılarak literatürdeki oranlar dikkate alınarak ZIF-8 MOF yapıları başarıyla sentezlenmiştir (F. Fu et al., 2018b). Zn^{2+} iyonları üzerine 2-MeIm ilavesi ile MOF yapıları koordinasyon yoluyla hızla oluşturulmuştur. ZIF-8'ler GA ile modifiye edilerek Fe^{3+} iyonları sisteme dahil edilmiştir. GOx modifikasyonu soğuk koşullar altında gerçekleştirilmiştir. Sisteme dahil olan Au^{3+} iyonları, GA yapısındaki -OH grupları ile etkileşerek kinon yapıları oluşturmuştur. 5-FU antikanser ilacı, tüm taşıyıcı sistemlere başarıyla yüklenmiştir ve sentezlenen tüm yapılar, daha ileri karakterizasyon süreçlerine tabi tutulmuştur. ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au nano ilaç taşıyıcı sisteminin sentez şeması, Şekil 4.12.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.12. ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx veya ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au sentezinin şematik gösterimi.

ZIF-8 bazlı ilaç taşıyıcı MOF yapıların morfolojileri ve mikro yapıları, taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve transmisyon elektron mikroskobu (TEM) aracılığıyla gözlemlenmiştir. Farklı sentez adımları ile ilaç iletimi için geliştirilen ilaç taşıyıcı sistemlerin mikro yapıları, Şekil 4.8.'de gösterildiği gibi SEM ile aydınlatılmıştır ve ortalama parçacık boyutu 400-500 nm olarak belirlenmiştir (Abd Al-jabbar et al., 2022a). İlaç taşıyıcı sistemlerin genel olarak nanoparçacık boyutu 100-200 nm olduğunda daha iyi performans gösterdiği iyi bilinmesine rağmen, 400-500 nm ve hatta bazı durumlarda 1-2 µm boyutlarında sistemlerde de başarılı sonuçlar alınmaktadır ve literatürde ZIF-8 tabanlı MOF yapılarının kullanıldığı birçok çalışma bulunmaktadır. (Esfahanian et al., 2019; Z. Lei et al., 2020; Nguyen et al., 2018; L. Shi et al., 2020; Tong et al., 2016; Yin et al., 2021; Zeyni et al., 2023; C. Zheng et al., 2017; Zhu et al., 2020). Sağladıkları geniş yüzey alanı nedeniyle, ZIF-8 tabanlı ilaç taşıyıcı sistemler, ilaç yükleme ve ilaç kapsülleme verimliliği için son derece faydalıdır. Şekil 4.13. A'daki SEM fotoğrafı, tipik altıgen ZIF-8 morfolojisini göstermektedir. Ayrıca, SEM görüntüleri sırasıyla ZIF-8'in GA ve Fe³⁺ modifikasyonlarını, 5-FU yüklemesini, GOx moleküllerinin ve Au nanoparçacıklarının homojen dağılımını göstermiştir ve böylece tüm ilaç taşıyıcı sistemler başarıyla sentezlenmiştir (Şekil 4.13. B-F). ZIF-8'in tipik altıgen benzeri morfolojisi, tüm sentezler boyunca korunmuştur.

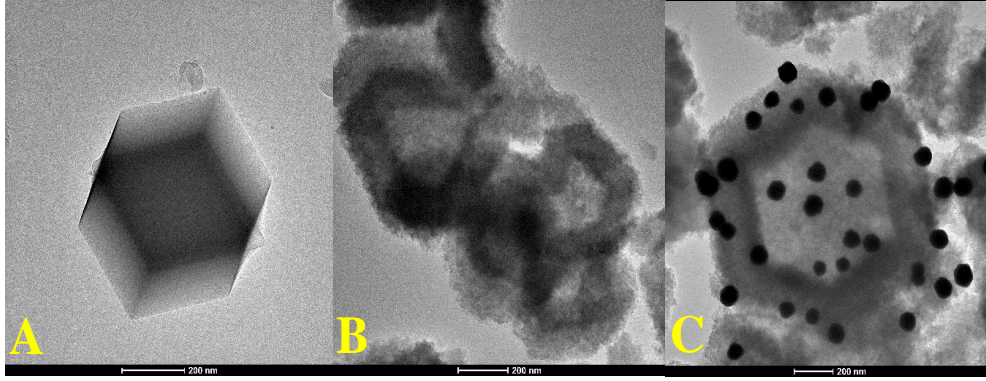
SEM görüntülerinden tahmin edilen parçacık boyutlarıyla karşılaştırmak için hücre hattı ve ilaç salım çalışmalarında en aktif olan ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au örneklerinin hidrodinamik parçacık boyutu dağılım analizi dinamik ışık saçılımı (DLS) ölçümleri ile gerçekleştirilmiştir. Hidrodinamik çap ölçümlerine göre, ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx'un ortalama parçacık boyutu, 534,7 ± 32 nm ve Polidağılım İndeksi (PDI) Şekil A.2.'de gösterildiği gibi 0,282 ile ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au'dan (512,0 ± 56 nm) PDI (0,243) biraz daha büyüktü (Şekil A.2. ve A.3.). Kolloidal mikro/nanopartiküllerin hidrodinamik boyutu, yüzeylerinde bulunan hidrasyon tabakaları dikkate alınarak belirlendiğinden, genellikle SEM görüntülerinden elde edilen ortalama boyuttan daha büyüktür (Mittal et al., 2022). DLS ölçümleri ile tespit edilen İTS'lerin hidrodinamik çapı, SEM görüntülerinden elde edilenlerle karşılaştırıldığında önemli bir boyut değişikliğinin gözlenmediğini göstermiştir.



Şekil 4.13. ZIF-8 (A), ZIF-8@GA (B), ZIF-8@GA@5-FU (C), ZIF-8@GA@Fe@5-FU (D), ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx (E) ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au (F) nanopartiküllerinin SEM fotoğrafları.

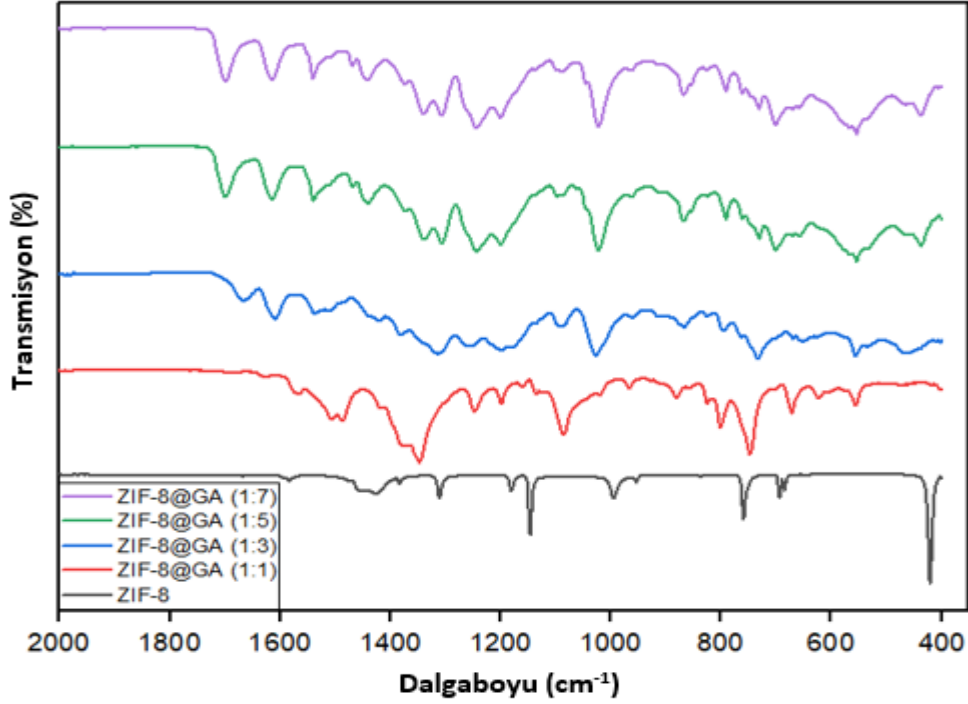
ZIF-8, ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au'nun TEM monografları, Şekil 4.14.'te gösterilmektedir. Şekil 4.14. A, ZIF-8'in başarılı bir şekilde sentezlendiğini ve mükemmel yakın bir altıgen formda olduğunu göstermektedir. ZIF-8 üzerinde yapılan modifikasyonların oluşturduğu organik fraksiyonlar Şekil 4.14. B'de görülmektedir. Şekil 4.14. C, Au nanopartikülünün ZIF-8'in kafes yapısı üzerinde başarılı bir şekilde biriktirildiği ve homojen bir şekilde dekore edildiğini göstermektedir (Hu et al., 2022). İTS'nin yapısındaki GA'nın hidroksil fonksiyonel grupları, Au^{3+} iyonlarını metalik Au nanopartiküllere indirgemişir, aynı zamanda kovalent olmayan etkileşimler yoluyla stabilize ederek

şeklini ve boyutunu kontrol etmiştir. SEM ve TEM görüntülerinden ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au yapısının, Au nanoparçacıklarının GA ile iyi bir şekilde stabilizasyonu sonucunda İTS üzerinde agregasyon olmaksızın oldukça homojen bir dağılım sağladığı görülmektedir.



Şekil 4.14. ZIF-8 (A), ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx (B) ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au (C)'nin TEM görüntüsü.

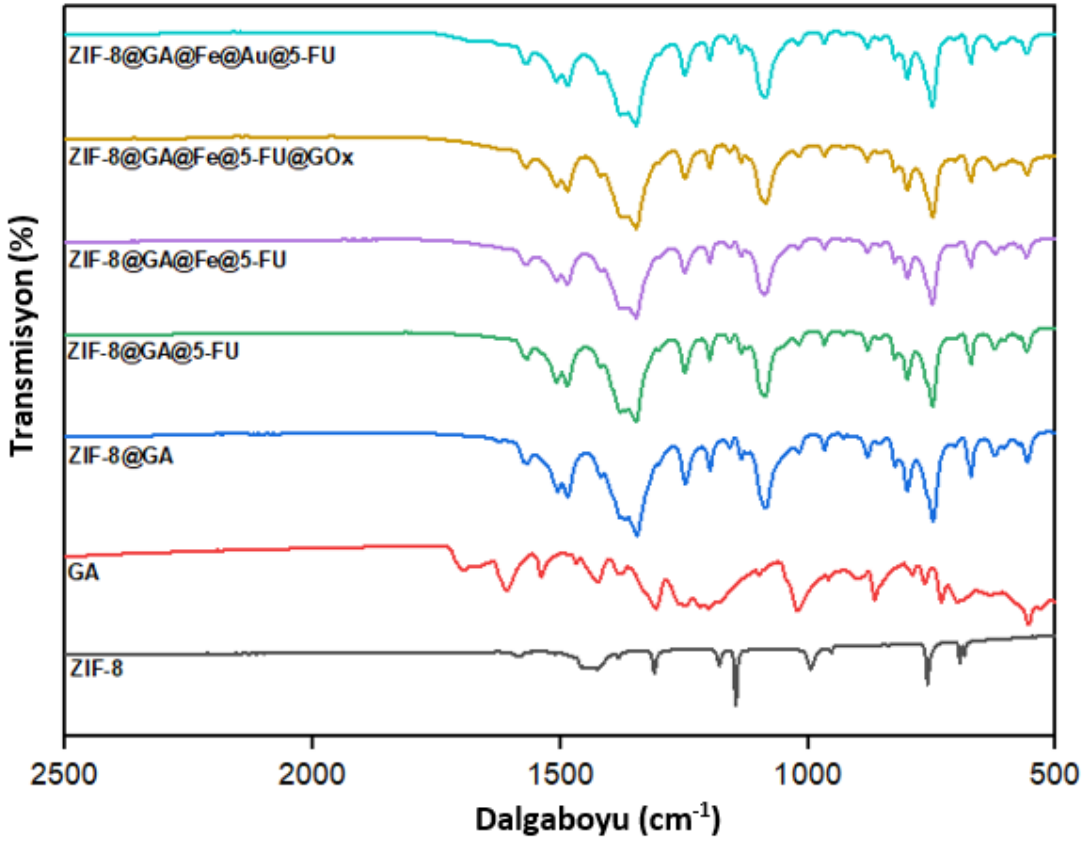
ZIF-8'in modifikasyonu için kullanılabilir maksimum GA miktarını belirlemek için farklı ZIF-8:GA kütle oranlarında modifikasyonlar yapılmıştır ve bu modifikasyonlara ilişkin FTIR spektrumları Şekil 4.15'te gösterilmiştir. ZIF-8:GA'nın modifikasyonları için kütle oranları sırasıyla (1:1), (1:3), (1:5) iken, FTIR spektrumundaki piklerde değişimler gözlenirken, ZIF-8:GA'nın kütle oranı (1:7)'ye yükseltildiğinde FTIR spektrumundaki piklerde değişim gözlenmemiştir. ZIF-8 modifikasyonunda GA doygunluğu ZIF-8:GA (1:5) kütle oranında elde edildiğinden, bu oran ZIF-8 modifikasyonu için optimum kütle oranı olarak kabul edilmiş ve sonraki çalışmalarda bu oran kullanılmıştır.



Şekil 4.15. ZIF-8 ve ZIF-8:GA'nın farklı kütle oranları için FTIR spektrumları.

ZIF-8 tabanlı nanoyapılarının 2500-400 cm^{-1} frekans aralığı üzerindeki Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) spektrumları, Şekil 4.16.'da gösterilmektedir. 1570 cm^{-1} ve 1409 cm^{-1} tepe noktaları, C=N germe modlarına atfedilir ve 1341 cm^{-1} 'deki tepe, genel halka gerilimi ile ilişkilendirilir. İmidazol halkasının C-N gerilme piki 1000 cm^{-1} 'de gözlenirken, 1112-928 cm^{-1} aralığındaki bantlar halka düzlemi iç bükülmesiyle ilişkilendirilebilir. İmidazol halkasındaki aromatik sp^2 N-H büküm tepe noktaları 653 cm^{-1} ve 622 cm^{-1} 'de yer almıştır (Lamei & Hasanzadeh, 2022b). 483 cm^{-1} 'deki bant, ZIF-8 oluşumu sırasında Zn atomları ile 2-MeIm arasındaki reaksiyonun bir sonucu olarak ortaya çıkan Zn-N bağının gerilmesine bağlanabilir (Özsoy et al., 2021a). 1550-1750 cm^{-1} 'de COOH dalga boyu bantlarının kaymasına yol açan GA'nın karboksilik grubu ve metal merkezinin kompleksleşmesi GA'nın FTIR spektrumunda gözlenmektedir (Tong et al., 2016). ZIF-8'in GA ile modifikasyonundan sonra oluşan tüm numunelerin spektrumları, ZIF-8'inkinden farklıdır. 755 cm^{-1} ve 863 cm^{-1} 'de bulunan pikler sırasıyla fenolik hidroksil grubunun düzlem dışı bükülmesine ve gallik asidin benzen halkasının C-H düzlem dışı bükülmesine aittir. Ayrıca karboksilik asidin C-O gerilme zirvesi 1023 cm^{-1} 'de ortaya çıkmıştır (Çakar & Özacar, 2016). Bu sonuçlar, ZIF-8'in GA ile başarılı bir şekilde modifiye edildiğini göstermiştir (Chen et al., 2020a).

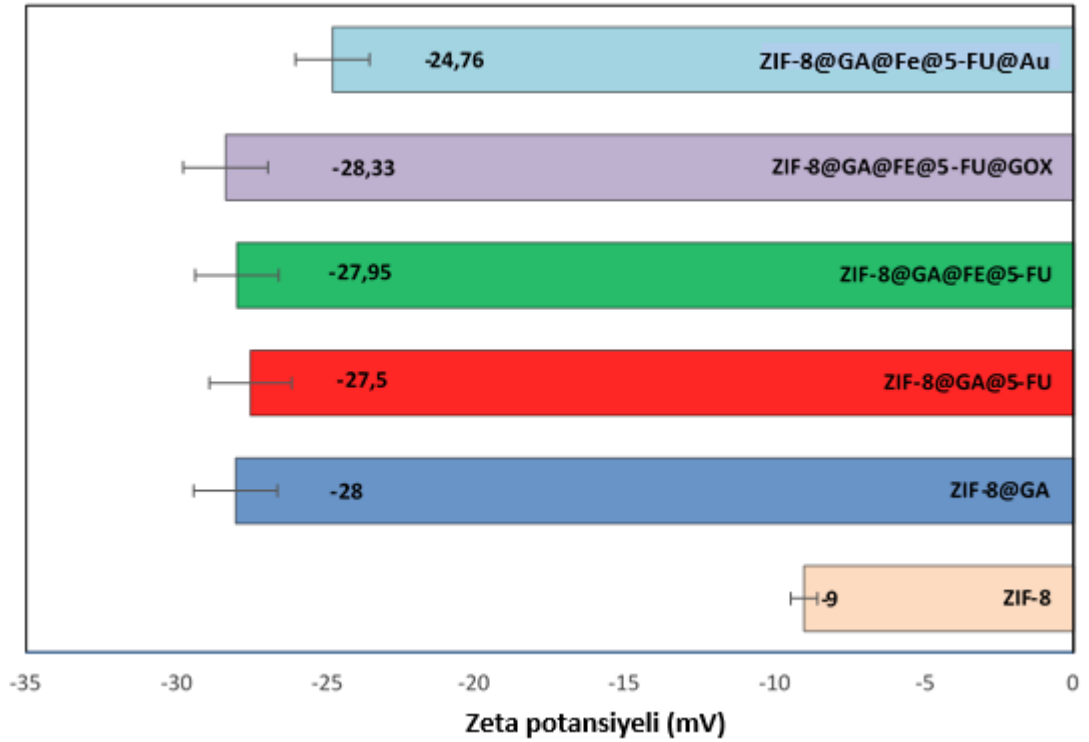
1610 cm^{-1} ve 1235 cm^{-1} 'de piklerdeki değişiklikler, ilaç taşıyıcı sistemlere 5-FU bağlanmasına bağlanabilir. 1610 cm^{-1} 'de pik şiddetinin azalması ve 1195 cm^{-1} 'de piklerin birleşmesi Fe^{3+} -GA kompleks yapısının oluşumundan kaynaklanmaktadır (Çakar & Özacar, 2016). 1200 cm^{-1} ve 979 cm^{-1} 'de piklerdeki değişiklikler GOx'un ilaç taşıyıcı sisteme bağlanmasından kaynaklanırken, 1500 cm^{-1} 'de pikteki değişiklik Au nanopartiküllerin ilaç taşıyıcı sisteme katılmasına bağlanabilir (Huang et al., 2022). FTIR sonuçları, ilaç taşıyıcı sistemlerin sentezinin tüm adımlarının başarıyla tamamlandığını doğrulamıştır.



Şekil 4.16. ZIF-8, GA, ZIF-8@GA, ZIF-8@GA@5-FU, ZIF-8@GA@Fe@5-FU, ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au nanoyapılarının FTIR spektrumları.

Parçacıkların kolloidal yapılarda topaklanma olmadan kararlı dağılımı için yüzey yüklerine sahip olmaları gerekir. İlaç taşıyıcı sistemlerin fizyolojik koşullar altında kararlı dağılımını belirlemek için zeta potansiyel değeri, parçacıkların yüzey yüklerini belirlemek ve etkileşimlerini anlamak için çok önemlidir. Yüksek zeta potansiyelleri (pozitif veya negatif), kolloidlerin elektriksel olarak kararlı olduğunu gösterirken, düşük zeta potansiyelleri, kolloidlerin topaklanma eğilimine sahip olduğunu gösterir (Violi et al., 2000). Sentezlenen ZIF-8, ZIF-8@GA, ZIF-8@GA@5-FU, ZIF-

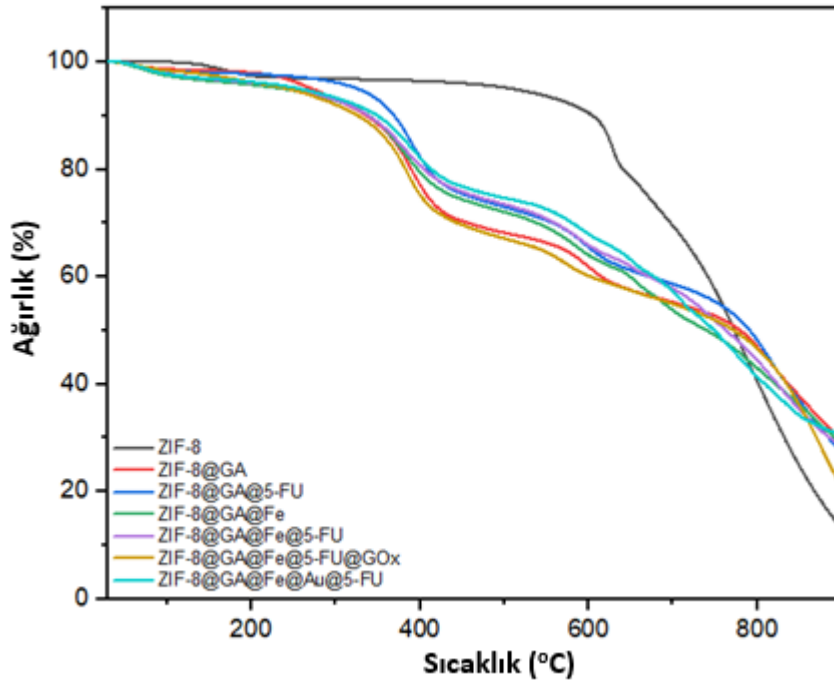
8@GA@Fe@5-FU, ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au'nun zeta potansiyelleri sırasıyla -9 mV, -28 mV, -27.5 mV, -27.95 mV, -28.33 mV ve -24.76 mV olarak ölçülmüştür ve Şekil 4.17.'de gösterilmiştir. ZIF-8'in GA ile modifikasyonundan sonra negatif zeta potansiyelinde önemli bir artış gözlemlendi. Bu artış, GA yapısındaki fenolik bileşiklerin yoğunluğuna bağlanabilir. Ayrıca, GOx'un çok fazla negatif yük taşıması nedeniyle, ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx, yüksek bir negatif zeta potansiyeline sahiptir (J. Wang et al., 2021). Bu, ilaç taşıyıcı sistemlerin fizyolojik koşullar altında daha etkili olabileceğini düşündürmektedir (Resen et al., 2022a). Stabil koloidal sistemlerin varlığı, ilaçların hedef bölgelere toplanma veya çökelme olmadan etkili bir şekilde verilmesini ve dağıtılmasını sağlamak ve böylece İTS'lerin terapötik etkinliğini arttırmak için esastır.



Şekil 4.17. ZIF-8, ZIF-8@GA, ZIF-8@GA@5-FU, ZIF-8@GA@Fe@5-FU, ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au nanoyapılarının zeta potansiyelleri.

ZIF-8 termal stabilitesini belirlemek için ölçülen ve Şekil 4.18.'de gösterilen termogravimetrik analiz (TGA) eğrilerine göre, fiziksel olarak adsorbe edilen çözücülerin uzaklaştırılmasına uygun olarak 350 °C'ye kadar yaklaşık %15'lik bir ağırlık kaybı gözlemlenmiştir (Özsoy et al., 2021a). GA modifikasyonu ile ZIF-8@GA'nın bozunma sıcaklığı artmıştır, bunun nedeni kısmen modifikasyon sırasında ZIF-8 yapısında Zn²⁺ ve GA arasında güçlü bir koordinasyon bağının oluşmasıdır (Chen et

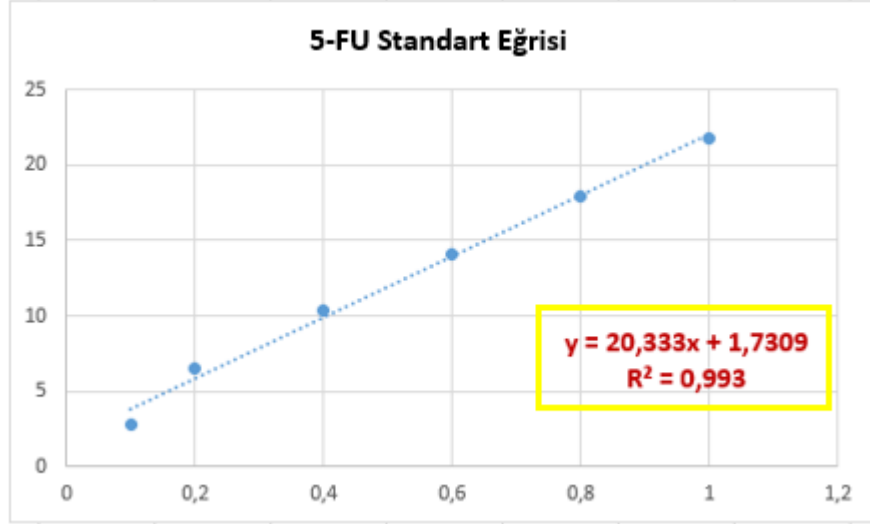
al., 2020b). 350°C ile 450°C arasındaki %15'lik kütle kaybı yapıdaki uçucu organik moleküllere bağlanabilir. 450°C'den 700°C'ye kadar olan %20'lik kayıp, organik moleküllerin kaybının devam ettiğini göstermiştir. 2-MeIm'nin 700°C-900°C'deki yüksek sıcaklık aralığında bozunması ile son aşamada ZIF-8 kristal yapısının bozulmasından kaynaklı %30'luk nihai bir ağırlık kaybı meydana gelmiştir. ZIF-8'in nihai ağırlık kaybı, oksidatif ortamda tamamen ZnO'ya dönüştürüldüğünü göstermektedir. Tüm numuneler için oluşturulan TGA eğrileri, adsorbe edilen nem ve içerdiği solventlerin ortadan kaldırılmasıyla 350 °C'de %15 'lik bir ağırlık kaybı ve 350 °C-700 °C'ye kadar uçucu organik moleküllerin çıkarılması anlamına gelen %35'lik bir ağırlık kaybı göstermiştir. ZIF-8'in 700°C-900°C'de ayrışması, 2-MeIm'nin bozunmasına yol açmıştır ve bunun sonucunda, ZIF-8 yapısının nihai bozunma bileşeni olarak ZnO ortaya çıkmıştır. ZIF-8'in GA ile modifikasyonu, Fe³⁺ koordinasyonu, ilaç yüklemesi ve hedefleme ajanlarının eklenmesinden sonra elde edilen ilaç taşıyıcı sistem numunelerinin 350 °C'ye kadar olan başlangıçtaki ağırlık kayıpları ve TGA eğrileri de ZIF-8'inkine benzer davranış göstermiştir. Sıcaklık 900 °C'ye ulaştığında ilaç taşıyıcı sistemlerin yapısındaki organik moleküllerin ayrışması ve ZIF-8'in ZnO'ya dönüştürülmesi nedeniyle tüm numuneler için ağırlık kayıpları %70'in üzerinde olmuştur (Chen et al., 2020b)



Şekil 4.18. Hazırlanan ZIF-8@GA@5-FU, ZIF-8@GA@Fe@5-FU, ZIF-8@GA@5-FU@GOx ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au nanoyapılarının TGA eğrileri.

4.2.2. GA ve GOx/Au modifiye ZIF-8 esaslı ilaç taşıyıcı sistemlere 5-FU yükleme çalışmaları

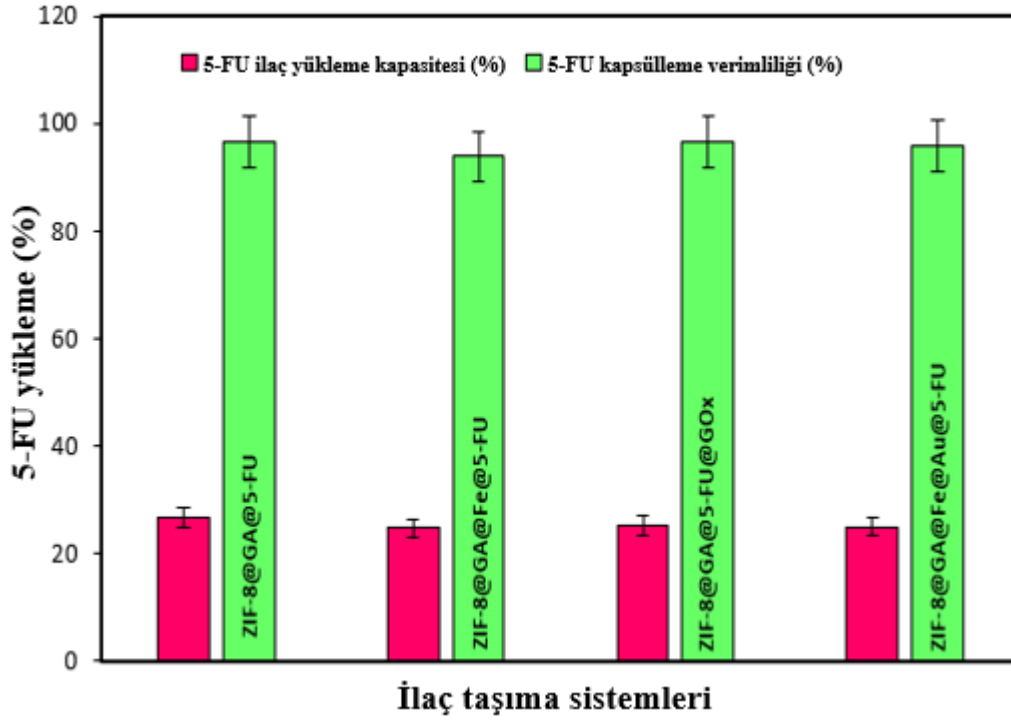
Şekil 4.19.'daki 5-FU standart eğrisinin yardımıyla UV ölçümlerinden belirlenen ilaç yükleme ve kapsülleme etkinliği sonuçları Şekil 4.20.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.19. 5-FU standart eğrisi.

5-FU yükleme kapasitesi ve kapsülleme verimliliği ZIF-8@GA@5-FU için sırasıyla %26,75 ve %96,74; ZIF-8@GA@Fe@5-FU için %24,77, %93,88; ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx için %25,18, %96,63 ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au için %24,99, %95,99 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar bize tasarlanan ZIF-8 tabanlı ilaç taşıyıcı yapıların yüksek kapsülleme etkinliğine sahip olduğunu ve bu ilaç taşıyıcılarının, yapılarında önemli miktarda 5-FU ilacı etkili bir şekilde barındırabilme yeteneklerini göstermektedir. Ayrıca, yüksek kapsülleme verimlilikleri, 5-FU'nun ZIF-8 tabanlı taşıyıcılar içinde başarılı bir şekilde kapsüllemesini vurgulayarak, ilaç verme işlemi sırasında yüklü ilacın büyük bir kısmının taşıyıcılar içinde kaldığını gösterir. Çalışmamızda elde edilen yüksek kapsülleme etkinliği, önemli miktarda ilaç yükünün korunmasını ve hedef bölgeye verimli bir şekilde iletilmesini sağladığı için büyük önem taşımaktadır. Bu özellik, herhangi bir olası olumsuz etkiyi en aza indirirken ilacın terapötik etkinliğini arttırdığı için ilaç dağıtım sistemlerinde çok önemlidir. Yüksek ilaç yükleme kapasitesi, ZIF-8 tabanlı ilaç taşıyıcılarımızın terapötik yükleri etkili bir şekilde iletme potansiyelini daha da destekler ve ZIF-8 tabanlı nano ilaç taşıyıcılarımızın tasarımını ve sentezini doğrulamaktadır. Bu sonuçlar, özellikle ZIF-8 gibi MOF yapılarının kullanılması bağlamında ilaç dağıtım

sistemlerinin ilerlemesine katkıda bulunur ve verimli ve etkili ilaç dağıtım platformlarının geliştirilmesi için umut verici çıkarımlar içermektedir.

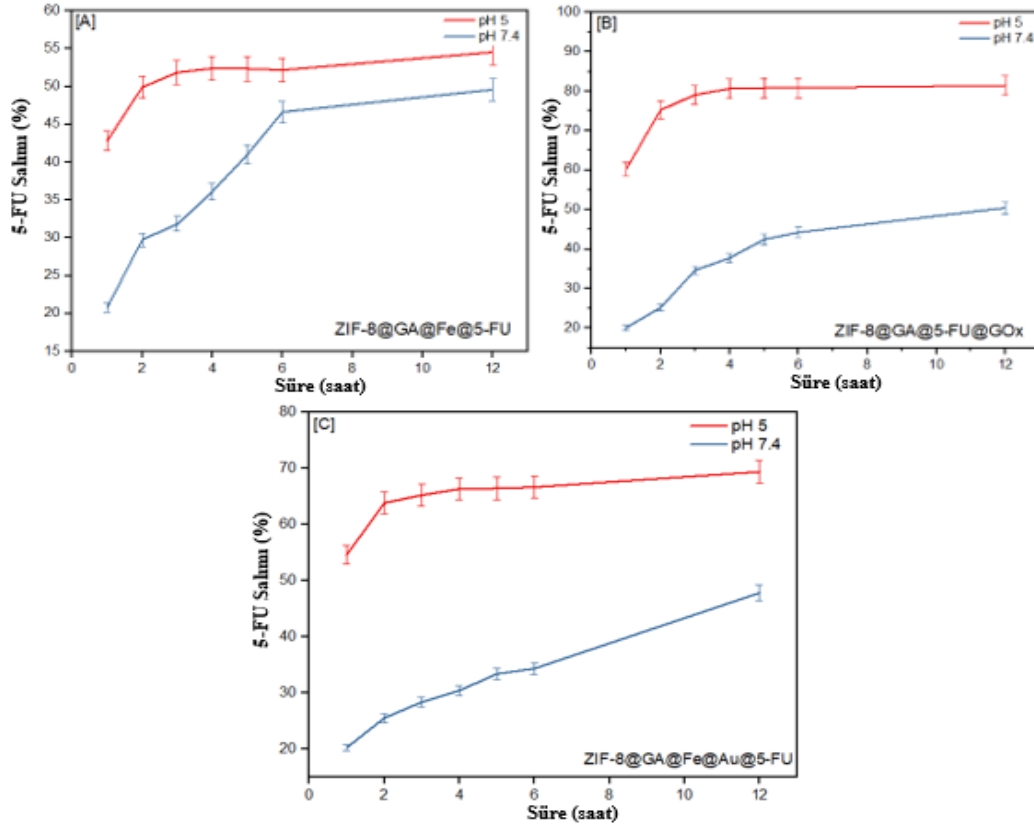


Şekil 4.20. Hazırlanan ZIF-8@GA@5-FU, ZIF-8@GA@Fe@5-FU, ZIF-8@GA@5-FU@GOx ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au nanoyapılarının ilaç yükleme kapasitesi ve 5-FU kapsülleme verimliliği.

4.2.3. GA ve GOx/Au modifiye ZIF-8 esaslı ilaç taşıyıcı sistemlerin 5-FU salım özellikleri

Asidik koşullar (pH 5,0) ve *in vitro* fizyolojik koşullar (37 °C, pH 7,4) altında 5-FU salım profili hücre hattı çalışmalarında en aktif olan üç farklı nanoyapı olan ZIF-8@GA@Fe@5-FU, ZIF-8@GA@5-FU@GOx ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au, ilaç taşıyıcı sistemler için 12 saat boyunca incelenmiştir ve elde edilen veriler Şekil 4.22.'de gösterilmiştir. Asidik koşullarda (pH 5,0), 2, 6 ve 12 saat boyunca ZIF-8@GA@Fe@5-FU'dan sırasıyla %49, %53 ve %54 5-FU salınmıştır (Şekil 4.21. A). Aynı pH değerinde, 2, 6 ve 12 saat boyunca ZIF-8@GA@5-FU@GOx'tan sırasıyla %75, %80, %82 5-FU salınmıştır (Şekil 4.21. B). Yine pH 5,0'da 2, 6 ve 12 saat boyunca ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au'dan sırasıyla %63, %67 ve %69 5-FU salınmıştır (Şekil 4.21. C). *In vitro* fizyolojik koşullar altında (37 °C, pH 7,4), 2, 6 ve 12 saat boyunca ZIF-8@GA@Fe@5-FU'dan sırasıyla %29, %46 ve %49 5-FU salınmıştır (Şekil 4.21. A). Aynı pH değerinde, 2, 6 ve 12 saat boyunca ZIF-8@GA@5-FU@GOx'tan sırasıyla %25, %44, %50 5-FU salınmıştır (Şekil 4.21. B).

Yine pH 7,4'te 2, 6, 12 saat boyunca ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au'dan sırasıyla %25, %34 ve %47 5-FU salınmıştır (Şekil 4.21. C).



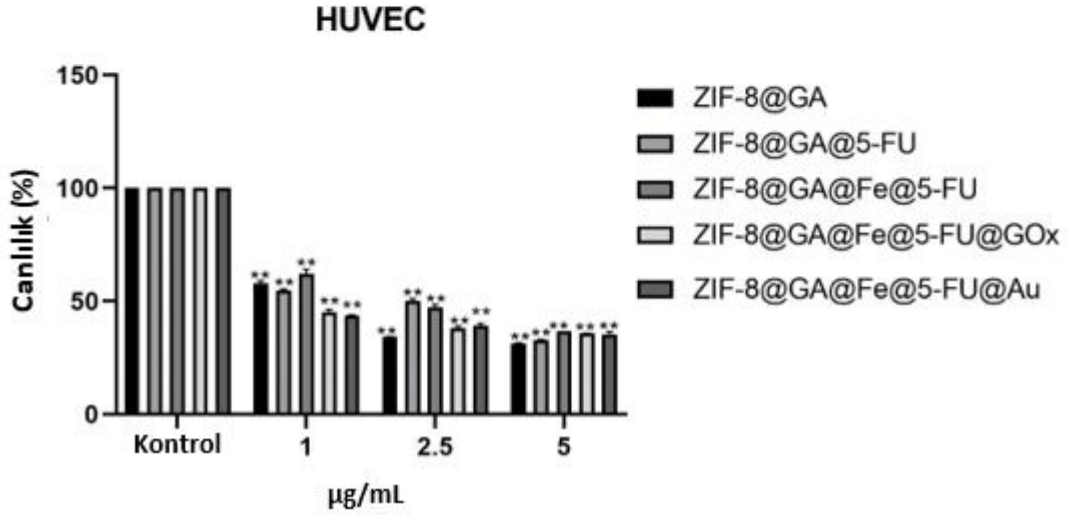
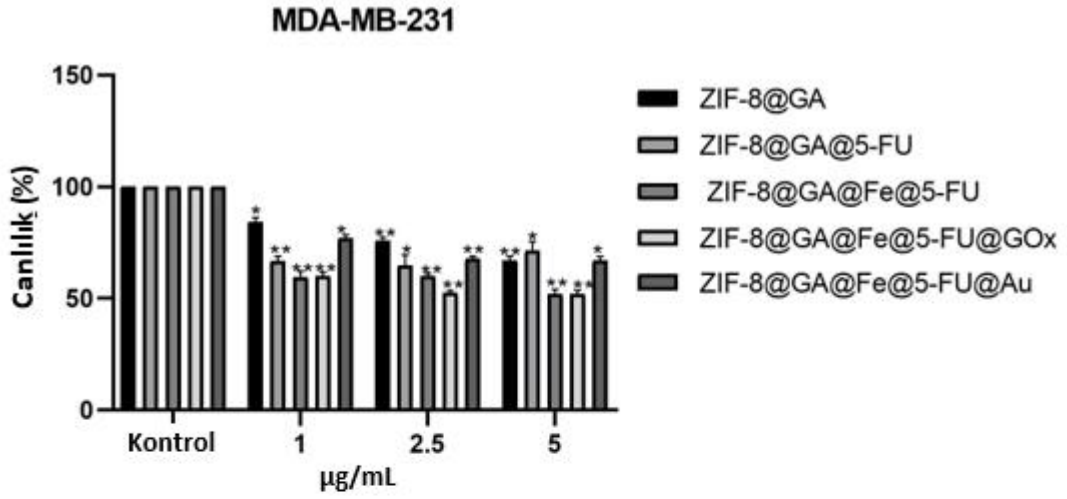
Şekil 4.21. ZIF-8@GA@Fe@5-FU (A), ZIF-8@GA@5-FU@GOx (B) ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au (C) nanoyapılarından pH duyarlı 5-FU salınımı. Veriler ortalama \pm SD (n = 3) olarak elde edildi.

ZIF-8 kafes yapısı, pH 7,4'te 5-FU için bir kapsül görevi görmüştür ve asidik koşullarda parçalanarak ilaç taşıyıcı sistemlerden daha fazla ilaç salınımına neden olmuştur. ZIF-8'in yapısındaki Zn^{2+} ve 2-MeIm tarafından oluşturulan koordinasyon bağları, asidik koşullar altında (pH 5,0) kademeli bir bozunma mekanizması ile parçalanarak ilaç dağıtım sistemlerinden gelişmiş ilaç salınımına yol açmıştır (Özsoy et al., 2021a). ZIF-8@GA@Fe@5-FU nano yapısı, diğer İTS'lere kıyasla daha yüksek miktarda fenolik yapıya sahip GA içerir. ZIF-8@GA@Fe@5-FU'daki ilaç molekülleri, GA'daki bol miktarda -OH gruplarıyla daha güçlü etkileşimler sergileyerek, özellikle pH 5,0'da ilaç salınımının azalmasına neden olur. Tersine, ZIF-8@GA@5-FU@'da GOx ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au nanoyapılarında, GA'daki -OH grupları Au ve GOx tarafından kullanılır, bu da 5-FU ile azaltılmış etkileşime ve sonuç olarak her iki pH değerinde daha yüksek ilaç salınımına yol açar. Ayrıca, GA'nın iyonlaşması pH 5,0'da azalır, bu da diğer İTS'lere kıyasla ZIF-8@GA@Fe@5-FU'daki

ilaç salım davranışını daha da etkiler. Bu bulgular, farklı nanoyapılardan ilaç salım davranışını belirlemede GA'nın etkisini ve 5-FU ile etkileşimini vurgulayarak, İTS'lerin pH'a duyarlı özelliklerine ışık tutmaktadır.

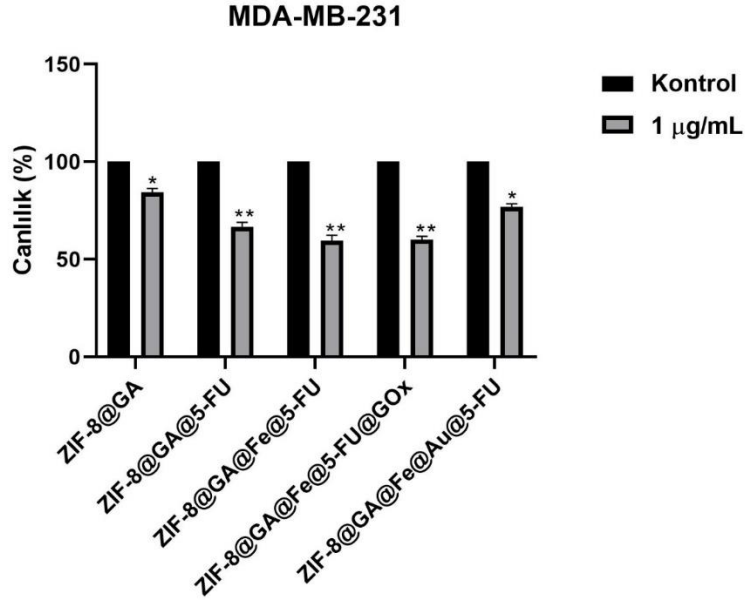
4.2.4. Geliştirilen ilaç taşıyıcı sistemlerin *in vitro* sitotoksikite çalışmaları

MBA-MB-231 ÜNMK ve HUVEC kontrol hücrelerinde hazırlanan ilaç taşıyıcı sistemlerin antikanser aktiviteleri değerlendirilmiştir (Şekil 4.22.). Sonuçlar, ilaç taşıyıcı sistemlerin doza bağlı olarak MBA-MB-231 hücrelerinin canlılığını azalttığını göstermiştir ($p < 0,01$). MDA-MB-231 hücrelerinde 1 µg/mL konsantrasyonda ZIF-8@GA@5-FU, ZIF-8@GA@Fe@5-FU ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx sırasıyla yaklaşık %35, %41 ve %45 hücre ölümüne neden olmuştur (Şekil 4.22.). Bu nedenle, tek başına ZIF-8@GA ile karşılaştırıldığında etkili konsantrasyon 1 µg/mL olarak seçilmiştir. Ayrıca, İTS'lerin HUVEC kontrol hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkileri Şekil 4.22.'de analiz edilmiştir. HUVEC hücrelerinin yaşayabilirliği, 1 µg/mL konsantrasyonda ZIF-8@GA@5-FU, ZIF-8@GA@Fe@5-FU, ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au tedavisinden sonra %55, %62, %45 ve %44'e düşmüştür. Bu nedenle, ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au, kontrol hücreleri üzerinde diğer İTS'lerden daha fazla toksisiteye neden olmuştur.



Şekil 4.22. Tek başına ZIF-8@GA ile karşılaştırıldığında 1, 2,5 ve 5 µg/mL konsantrasyonlarında sentezlenmiş nano taşıyıcılarla tedaviden sonra MDA-MB-231 ve HUVEC kontrol hücrelerinin canlılığı ($p < 0,05^*$, $p < 0,01^{**}$, $n = 3$).

Tek başına ZIF-8@GA'ya kıyasla 1 ug/mL'lik etkili bir konsantrasyonda sentezlenmiş ilaç taşıyıcı sistemlerin uygulanmasından sonra MDA-MB-231 hücrelerinin canlılığı, Şekil 4.23.'te gösterilmektedir.



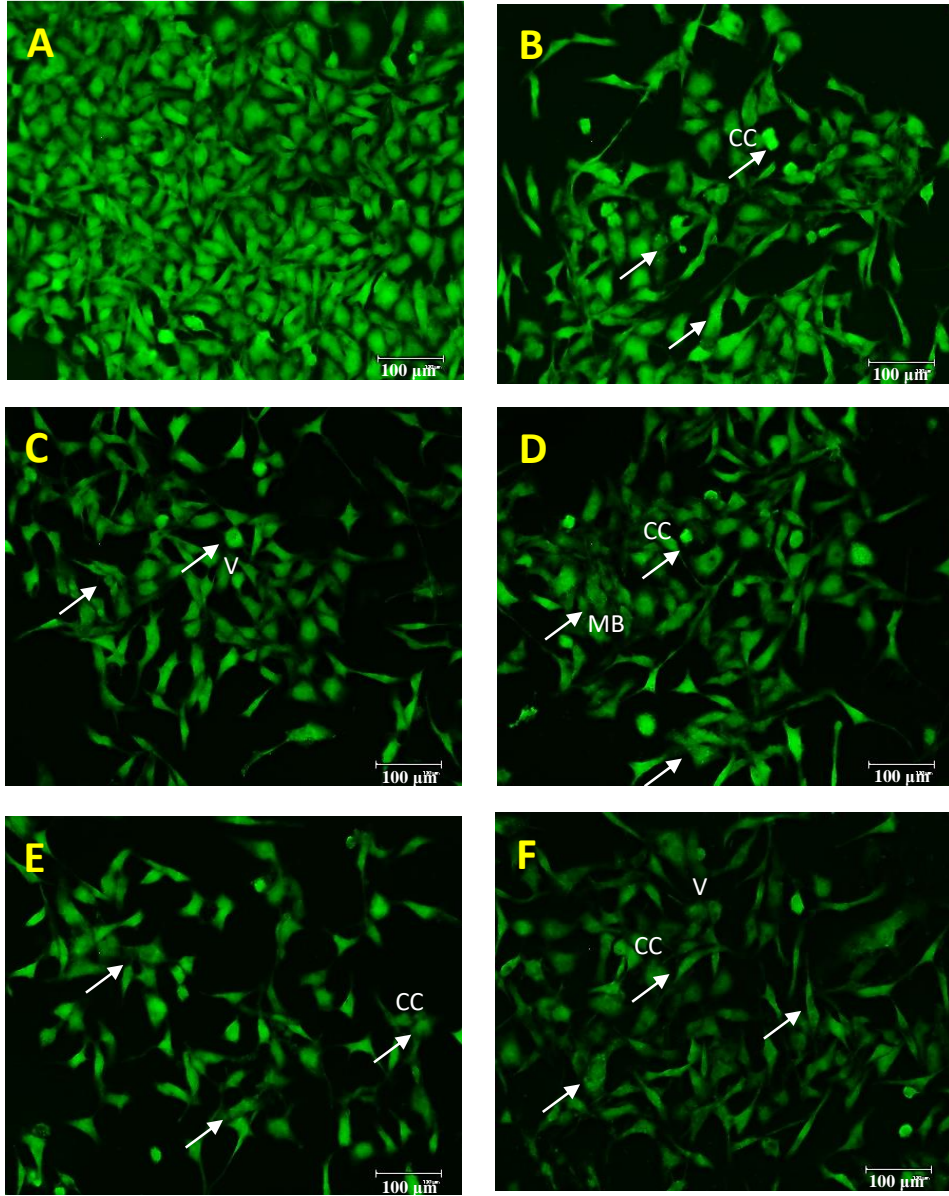
Şekil 4.23. Tek başına ZIF-8@GA'ya kıyasla 1 µg/mL'lik etkili bir konsantrasyonda sentezlenmiş nano taşıyıcılarla tedaviden sonra MDA-MB-231 hücrelerinin canlılığı ($p < 0,05^*$, $p < 0,01^{**}$, $n = 3$).

Ayrıca ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx'un ÜNMK hücrelerinde diğer ilaç taşıyıcı sistemlere kıyasla daha etkili olduğu görülmüştür. GOx katalizli glikoz oksidasyonunun hücre içi glikozu tüketebileceği ve hipoksiyi indükleyerek hipoksi ile uyarılan kemoterapiyi daha etkili hale getirebileceği değerlendirilmiştir (Shao et al., 2021). Kanser hücrelerinde bulunan glikoz, GOx tarafından oksitlenip tüketildiğinden, glikoz kanser hücrelerinin çoğalması için gerekli enerjiyi sağlayamaz. Glikoz oksidasyonunun bir sonucu olarak, daha fazla H_2O_2 üretilir, böylece ROS seviyelerini artırarak kanser hücrelerinin apoptozuna yol açmaktadır (Zhan et al., 2023). Fu ve ark., ultra küçük gallik asit-demir (GA/Fe) nanokomplekslerinin, glikoz oksidazın ve doksorubisinin ZIF-8'e kapsüllenmesiyle hazırlanan terapötik nanopartikülleri sentezlemişlerdir. DOX'u etkili bir şekilde serbest bırakan ilaç taşıyıcı sistem 4T1 fare ÜNMK hücre hatlarında apoptotik hücre ölümüne neden olduğu belirlenmiştir (X. Fu et al., 2022b). Ek olarak, GOx ile açlık terapinin ve fenton üreten hidroksil radikallerinin kombin uygulanması, kanser hücrelerinin çoğalması için ihtiyacı olan glikozu tüketerek, kanser tedavisi için umut verici bir stratejisi olabileceği belirtilmiştir. Ranji-Burachaloo ve ark., hemoglobin ve GOx kapsüllenmiş ZIF-8'in, ticari ilaçlarla karşılaştırıldığında HeLa ve MCF-7 hücrelerinde önemli sitotoksitete neden olduğunu analiz etmiştir (Ranji-Burachaloo et al., 2019). Çalışmamızda, ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx nanoyapısı, GOx ve fentonun kombinasyon etkilerinden dolayı en etkili antikanser aktiviteyi gösterdiği tespit edilmiştir. Öte yandan, ZIF-8'de

5-FU kapsülleme muhtemelen HUVEC kontrol hücrelerinde toksisiteye yol açmıştır. Bu nedenle, HUVEC hücrelerinde İTS'lerin toksisitesini azaltmak için başka İTS formülasyonları çalışılmalıdır.

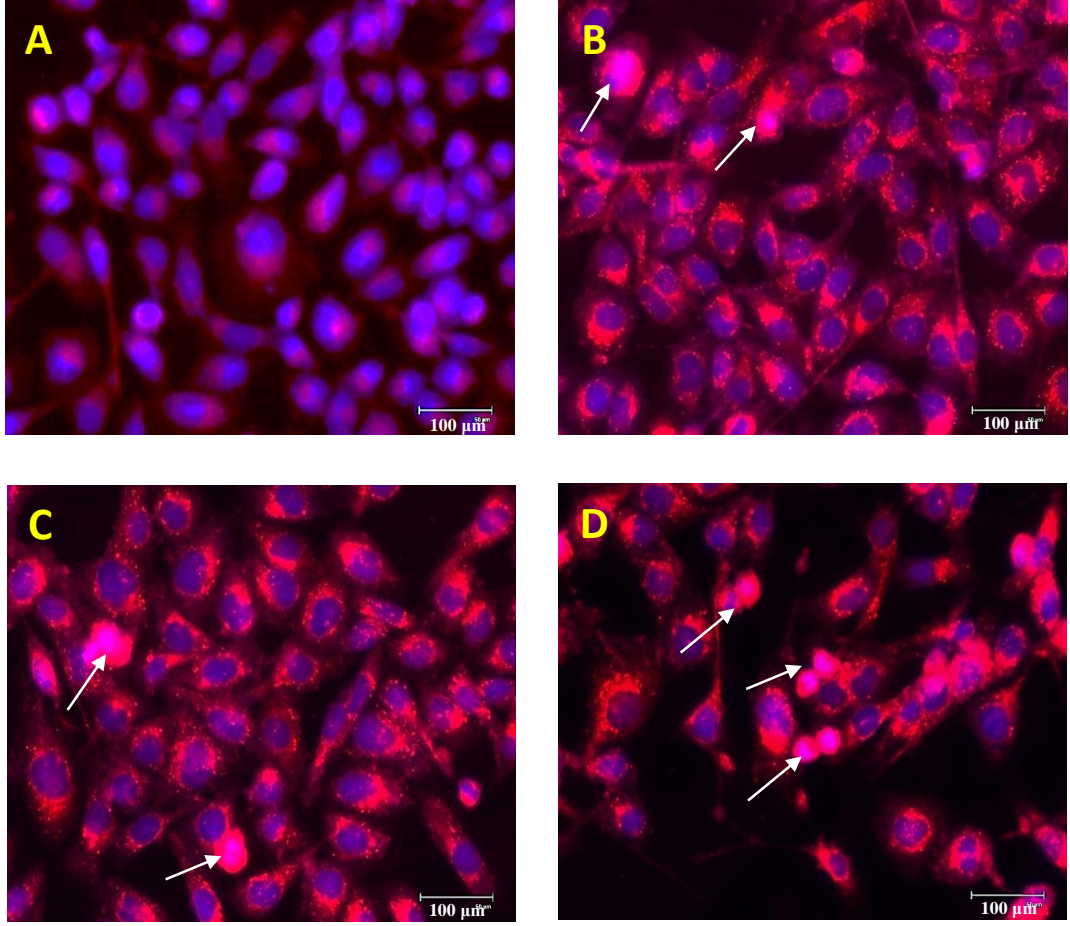
4.2.5. Hücrelerdeki morfolojik değişikliklerin ve apoptozun değerlendirilmesi

ZIF-8 bazlı nanotaşıyıcıların MDA-MB-231 hücre morfolojileri üzerindeki apoptotik etkileri AO boyama ile analiz edilmiştir (Şekil 4.24.). 1 µg/mL konsantrasyonda Fe³⁺ ve Au içeren GA-konjuge nanoyapılarla muamele, MDA-MB-231 hücrelerinde vakuollerin, apoptotik cisimlerin ve nükleer hasarın oluşmasına neden olmuştur. Bu, GA'nın vakuol oluşumunu indükleyebileceğini göstermiştir. Özellikle, ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx ile muamele, diğer sentezlenmiş nanoparçacıklara kıyasla kromatin yoğunlaşması ve hücre zarı parçalanması dahil olmak üzere daha belirgin hasara neden olmuştur.



Şekil 4.24. Apoptotik hücre ölümünün morfolojik gözlemi, Kontrol (A), ZIF-8@GA (B), ZIF-8@GA@5-FU (C), ZIF-8@GA@Fe@5-FU (D), ZIF-8@GA@Fe@ 5-FU@GOx (E) ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au (F). Fotoğraflar 510 ± 42 nm yeşil ile elde edilmiştir.

Ek olarak, ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx, ZIF-8@GA@Fe@5-FU ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au'ya kıyasla daha fazla mitokondriyal hasara neden olmuştur (Şekil 4.25.). Bu sonuçlar, aklık tedavisinde GOx'un artan etkinliğini vurgulamaktadır.

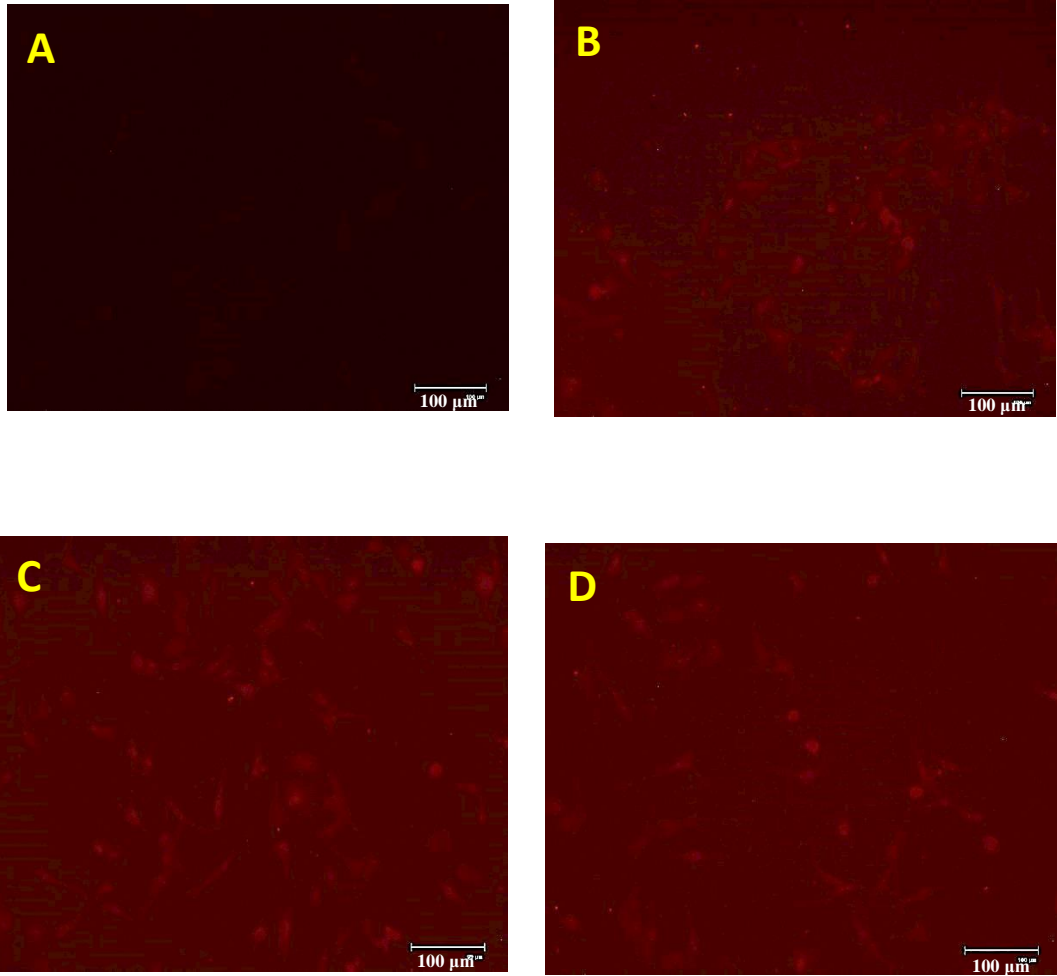


Şekil 4.25. Mitotracker boyaması ile MDA-MB-231 hücrelerinde mitokondriyal hasar gözlemlendi. Kontrol (A), ZIF-8@GA@Fe@5-FU (B), ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx (C) ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au (D).

Sales ve ark. T. Bellirica bitkisinden izole edilen GA ve oktil gallatın (OG) meme kanseri hücreleri üzerindeki sitotoksik ve apoptotik etkilerini araştırmıştır. Hem GA hem de OG'nin sırasıyla 80 uM ve 40 uM konsantrasyonlarda MDA MB-231 ve MCF-7 hücrelerinde hücre canlılığını azalttığı ve ve apoptoza neden olduğu analiz edilmiştir. GA'nın, meme kanseri hücrelerinde negatif hücre döngüsü düzenleyicilerinin yukarı regülasyonu ve pozitif hücre döngüsü düzenleyicilerinin aşağı regülasyonu yoluyla apoptozu indüklediği bulunmuştur. GA ve OG'nin MDA-MB-231 ve MCF-7 hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkisi, muhtemelen hücre zarı bütünlüğünün kaybindan kaynaklanan hücre ölümünü indüklediğini düşündürür (Sales et al., 2018).

Ek olarak, nanoyapıların fotoluminesan özelliklerini değerlendirilmiştir. ZIF-8@GA@Fe@5-FU ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au ile karşılaştırıldığında, ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx en yüksek parlaklığa sahiptir (Şekil 4.26.).

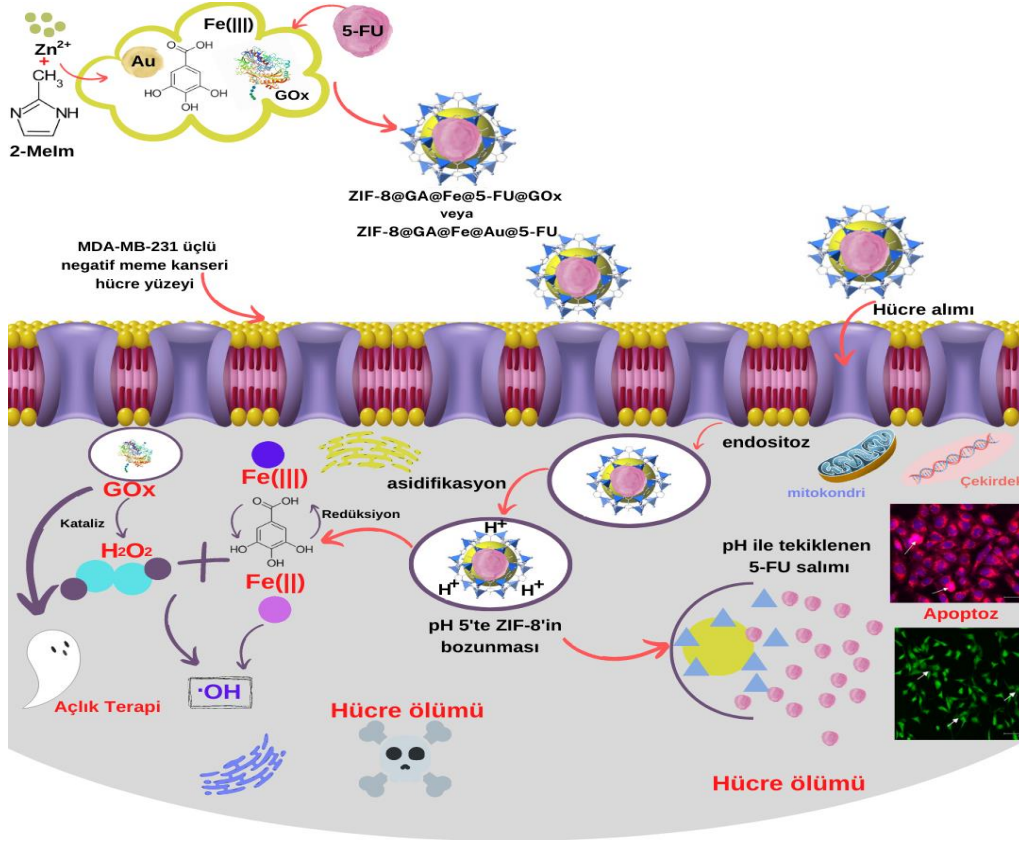
Azadikhah ve ark. çapraz bağlı kitosan (CS) zincirleri için kullanılan artan tannik asit (TA) konsantrasyonunun, fotodinamik terapilerinde A375 hücrelerinin hücre ölümüne neden olduğunu belirtmiştir. Ayrıca, 24 saatlik ışık radyasyonundan sonra, CS-TA/3,4,9,10-perilen tetrakarboksilik diimid (PDI) hidrojelleri ile tedavi edilen hücrelerin, yalnız PDI-N,N'-di-(L-alanin) (PDI-Ala) ile tedavi edilen hücrelere göre önemli ölçüde daha az canlılığa sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle TA'nın, fotodinamik terapinin fotohasar verme aktivitesini ve PDI-Ala'nın kanser hücrelerine karşı fototoksitesini önemli ölçüde geliştirdiği vurgulanmaktadır (Azadikhah et al., 2021). Azadikhah ve çalışma arkadaşlarının ışığa duyarlı hidrojellerde kullandığı TA, glikoz ile esterleşmiş GA birimlerinden oluşmaktadır. Bu nedenle, sonuçlarımız, GA ve GOx'tan oluşan ilaç taşıyıcı sistemin, muhtemelen GA ve GOx'un sinerjistik etkisi nedeniyle daha fazla fotolüminesans özelliği sergilediğini göstermiştir (Şekil 4.26.). Genel olarak bulgularımız, ZIF-8 tabanlı nanotaşıyıcıların, vakuol oluşumu, kromatin yoğunlaşması, hücre zarı parçalanması ve mitokondriyal hasar dahil olmak üzere MDA-MB-231 hücreleri üzerindeki apoptotik etkilerini vurgulamaktadır. Ayrıca, İTS'deki GA ve GOx, potansiyel sinerjistik etkiler ve gelişmiş fotolüminesans özellikleri sergilemiştir. Bu sonuçlar, geliştirilen nanoyapıların terapötik potansiyelinin ve fotodinamik özelliklerinin anlaşılmasına katkıda bulunmuştur.



Şekil 4.26. Kontrol (A), ZIF-8@GA@Fe@5-FU (B), ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx (C) ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au (D) nanotaşıyıcılarının floresans mikroskopisi.

Geliştirdiğimiz ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx veya ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au ilaç taşıyıcı sistemlerin terapötik etkinliğini açıklamak için önerilen mekanizma, Şekil 4.27.'de gösterilmektedir. Nanoyapılar kanser hücrelerinin içine alındığında, ZIF-8 üzerindeki kaplama, artan hücre içi asitlik ile bozulmuştur. Fe(III), GA ve GOx hücreye salınmıştır. Salınan GA, indirgeme kabiliyeti nedeniyle Fe(III)'ü Fe(II)'ye indirgerken, salınan GOx, glikozu tüketerek tümör hücrelerinin besin tedarikini kesintiye uğratar ve oluşan Fe(II), •OH üretmek için glikoz oksidasyonundan oluşan H₂O₂'yi katalize etmiştir (L. Zhang et al., 2018b). Bu nedenle, ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx nano yapısı, muhtemelen bu öngörülen mekanizmalar nedeniyle en yüksek antikanser aktiviteyi sergilemiştir. Ayrıca, Au ile reaksiyona giren gallik asidin fenolik yapısı muhtemelen kinon yapısına dönüştürülebildiğinden ve GA üzerinde yeterli fenolik -OH grubu bulunmadığından, Au içeren yapının (ZIF-8@GA@Fe@5-

FU@Au) etkinliği diğer sentezlenen ilaç taşıyıcı sistemlere göre daha düşük olmuştur (Kavya et al., 2022)



şekil 4.27. ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx veya ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au sentezinin, ayrıntılı hücre içi işlemlerin ve antikanser aktivite mekanizmasının şematik tasviri.

5. GENEL DEĞERLENDİRME VE ÖNERİLER

Antikanser ilaç taşıyıcı sistem olarak metal-organik kafes nanokompozitinde bir protein-sülfosalisilik asit/bosvelik asit çalışmasında; 5-sülfosalisilik asit ve bosvelik asit (BAs), merkez olarak sığır serum albümini (BSA) içeren pH'a duyarlı zeolitik imidazolat kafes-8 (ZIF-8) nanokompozitine başarılı bir şekilde yüklenmiştir. Çekirdek olarak 5-sülfosalisilik asit/BSA ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs nanokompoziti hazırlanmıştır. Daha sonra, 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs çekirdeğinin dış yüzeyinde bir ZIF-8 tabakası kaplanmıştır. ZIF tabakası, fizyolojik koşullar altında 5-sülfosalisilik asit ve bosvelik asidin toksik olmayan depolanması için bir kapsül görevi görmüştür. 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8 başarıyla sentezlenmiştir. Nanotaşıyıcıların başarılı üretimi ve yapısal özellikleri, SEM, TEM, FT-IR, Zeta potansiyeli, XRD ve TGA analizleri gibi farklı karakterizasyon yöntemleri kullanılarak doğrulanmıştır. 5-sülfosalisilik asidin pH'a duyarlı ilaç salımı, ZIF-8'in doğuştan gelen pH'a bağlı stabilitesi nedeniyle tespit edilmiştir. 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ve 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8 etkili bir pH'a duyarlı ilaç taşıyıcı sistemdir, burada 5-sülfosalisilik asit fizyolojik pH'ta (7,4) serbest değildir, ancak asidik pH'ta (5) salınım gerçekleşmiştir. ZIF-8'den salınan 5-sülfosalisilik asit/BAs, hücre içi oksidatif stres nedeniyle kanser hücrelerinde hücrel ROS'un artmasına ve hücre ölümüne yol açabilir. Salisilik asit, H₂O₂'yi parçalayan katalaz enziminin aktivitesini azaltarak H₂O₂ konsantrasyonunu artırabilir (Q. Liu et al., 2019) Ayrıca bosvelik asit, kaspaz 8 aktivasyonu ile kanser hücrelerinde apoptozu indükleyerek antikanser etkiye neden olmaktadır ve kanser hücrelerinde temel inflamasyon düzenleyici kompleks NF- κ B'yı kapatarak erken apoptoz ve inhibisyona neden olmaktadır (J.-J. Liu et al., 2002). Literatür bilgileri ışığında, 5-sülfosalisilik asidin ROS aracılı antikanser ajanlarının geliştirilmesinde kullanılmasının bilimsel olarak önemli olacağı öngörülmüştür. 5-sülfosalisilik asit/BSA, 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs ve 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 ile karşılaştırıldığında en iyi biyouyumluluk, 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8'de bulunmuştur. 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs@ZIF-8, HUVEC hücrelerinde daha az toksisite göstermiştir ve meme kanseri hücre dizisi MCF-7'ye karşı 5-sülfosalisilik

asit/BSA, 5-sülfosalisilik asit/BSA/BAs ve 5-sülfosalisilik asit/BSA@ZIF-8 nanokompozitleri ile karşılaştırıldığında daha yüksek sitotoksik etkinlik sergilemiştir. Mevcut çalışmanın sonuçlarından, üretilen ZIF-8 bazlı nanotaşıyıcının potansiyel olarak meme kanseri hücreleri üzerinde pH tetiklemeli salım yoluyla terapötik etki sağlayabileceği sonucuna varılmıştır.

Gallik asit ve Fe katkılı, Au veya GOx modifiye ZIF-8 esaslı ilaç taşıyıcı sistemlerin antikanser aktiviteleri çalışmada; ilaç taşıyıcı sistem olarak fenolik bileşik gallik asit ile modifiye edilen Fe katkılı ZIF-8 MOF yapıları sentezlenmiştir. Taşıyıcı sistemin terapötik etkinliğinin glikoz oksidaz ve altın katkı maddeleri ile artırılması amaçlanmıştır. Nanotaşıyıcıların başarılı üretimi ve yapısal özellikleri, SEM, TEM, FT-IR, Zeta potansiyeli, ZetaSizer, XRD, DLS ve TGA analizleri gibi farklı karakterizasyon yöntemleri kullanılarak doğrulanmıştır. İlaç yükleme kapasitesi ve kapsülleme etkinliği üzerine yapılan çalışmalar, tasarlanan ZIF-8 tabanlı nano ilaç taşıyıcı yapıların yüksek kapsülleme etkinliğine sahip olduğunu göstermiştir. pH 5,0 ve pH 7,4'te ZIF-8@GA@Fe@5-FU, ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au için *in vitro* ilaç salım çalışmaları pH'a bağlı salınımlar göstermiştir. Sonuçlarımız, pH duyarlı ZIF-8 bazlı İTS'lerin tasarım ve sentezinin *in vitro* ÜNMK tedavisi için etkili olabileceğini göstermektedir. 5-FU yüklü pH duyarlı İTS ile tedavinin, MDA-MB-231 hücrelerinde DNA hasarı ve hücre zarında parçalanma ile apoptotik ölüme neden olduğu belirlenmiştir. Ayrıca ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx nanoyapısının, apoptoz ve çeşitli morfolojik değişikliklere neden olarak İTS'ler arasında en yüksek antikanser aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx ve ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au nanoyapıları, kanser hücreleri tarafından alındığında, ZIF-8 üzerindeki kaplama, hücre içi asitliği arttırmıştır. İlaç taşıyıcı sistemin bozunması ile GOx, Fe(III) ve GA salınmıştır. Salınan GA, Fe(III)'ü Fe(II)'ye indirgerken, salınan GOx hücredeki glikozu oksitleyerek kanser hücrelerinin besin kaynağını tüketmekte ve hücre içinde H₂O₂ üretilmesini sağlayarak ve böylece Fe(II) H₂O₂'yi katalize ederek başka bir reaktif oksijen türü olan •OH radikallerinin üretilmesine neden olmaktadır. Au içeren nanoyapının etkinliğini daha düşük olmasının nedeninin Au ile reaksiyona giren gallik asidin fenolik yapısının kinon yapısına dönüşmesi olabileceği düşünülmektedir. Sonuç olarak çalışmamız, ÜNMK'nin *in vitro* tedavisi için pH duyarlılığına sahip ZIF-8 bazlı ZIF-8@GA@Fe@5-FU, ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx ve ZIF-8@GA@Fe@5-

FU@Au nanoyapıların potansiyelini göstermiştir. Yukarıda önerilen mekanizmalarla ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx, MDA-MB-231 hücrelerinde ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au ve diğer İTS'lere kıyasla en yüksek antikanser aktiviteyi sergileyerek üstün etkinlik göstermiştir. 5-FU ile yüklenen pH'a duyarlı İTS ile tedavi, MDA-MB-231 hücrelerinde DNA hasarı ve zar parçalanması ile karakterize edilen apoptotik hücre ölümünü indüklemiştir ve mitokondriyal hasara neden olmuştur. Ayrıca ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au ile birlikte gallik asit içeren ZIF-8@GA@Fe@5-FU yapısı da fotolüminesans özellikler göstermiştir. Au formülasyonlarının etkinliğini daha da artırmak için, gelecekteki çalışmalar, sentez aşamasında bağlanma mekanizmalarını dikkate alan yeni formülasyonlar geliştirmeye odaklanmalıdır. Ek olarak, antikanser aktiviteyi analiz etmek ve sentezlenen İTS'lerin moleküler mekanizmalarını kontrol hücre hatları da dahil olmak üzere hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak farklı kanser türlerinde araştırmak çok önemlidir. Elde edilen sonuçlar, geliştirilen ilaç taşıyıcı sistemlerin ÜNMK hücre hatlarında ilaç salım uygulamaları için alternatif ve uygun temsilciler olduğunu göstermiştir.

Bu tez çalışması sonunda ileride üzerinde araştırma yapılabilecek alanlar:

- İlaç taşıyıcı sistem için yüksek GOx aktivitesi, meme kanseri açlık tedavisi stratejileri için umut vericidir. İleriki çalışmalarda sentez aşamasındaki bağlanma mekanizmaları dikkate alınarak GOx ve Au'un birlikte kullanımı için yeni formülasyonlar geliştirilebilir.
- Başka MOF türleri kullanılarak ve farklı kanser hücre hatlarında çalışılarak ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilebilir.
- Fenolik bileşiklerin kanser tedavisindeki etkinlikleri daha detaylı ve karşılaştırılmalı olarak çalışılabilir.
- İlaç taşıyıcı sistemlerden ikili ilaç salımı ya da fenolik bileşik ve ilacın salım davranışları ayrı ayrı incelenebilir.
- İlaç taşıyıcı sistemler kontrast maddeleri ile entegre edilerek eş zamanlı olarak kanser görüntüleme ve tedavi çalışmaları yapılabilir.
- Aktif hedefleme molekülleri içeren ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilebilir.
- Kan beyin bariyeri, sublingual alan, burun mukozası ve deri hücrelerini hedef alan farklı ilaç moleküllerinin kullanıldığı ilaç taşıma sistemleri tasarlanabilir.

KAYNAKLAR

- Abánades Lázaro, I., Haddad, S., Rodrigo-Muñoz, J. M., Orellana-Tavra, C., Del Pozo, V., Fairen-Jimenez, D., & Forgan, R. S. (2018). Mechanistic Investigation into the Selective Anticancer Cytotoxicity and Immune System Response of Surface-Functionalized, Dichloroacetate-Loaded, UiO-66 Nanoparticles. *ACS Applied Materials and Interfaces*, *10*(6), 5255–5268. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b17756>
- Abánades Lázaro, I., Wells, C. J. R., & Forgan, R. S. (2020). Multivariate Modulation of the Zr MOF UiO-66 for Defect-Controlled Combination Anticancer Drug Delivery. *Angewandte Chemie International Edition*, *59*(13), 5211–5217. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/anie.201915848>
- Abd Al-jabbar, S., Atiroğlu, V., Hameed, R. M., Guney Eskiler, G., Atiroğlu, A., Deveci Ozkan, A., & Özacar, M. (2022a). Fabrication of dopamine conjugated with protein @metal organic framework for targeted drug delivery: A biocompatible pH-Responsive nanocarrier for gemcitabine release on MCF-7 human breast cancer cells. *Bioorganic Chemistry*, *118*, 105467. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105467>
- Abd Al-jabbar, S., Atiroğlu, V., Hameed, R. M., Guney Eskiler, G., Atiroğlu, A., Deveci Ozkan, A., & Özacar, M. (2022b). Fabrication of dopamine conjugated with protein @metal organic framework for targeted drug delivery: A biocompatible pH-Responsive nanocarrier for gemcitabine release on MCF-7 human breast cancer cells. *Bioorganic Chemistry*, *118*(October 2021), 105467. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105467>
- Aghebati-Maleki, A., Dolati, S., Ahmadi, M., Baghbanzhadeh, A., Asadi, M., Fotouhi, A., Yousefi, M., & Aghebati-Maleki, L. (2020). Nanoparticles and cancer therapy: Perspectives for application of nanoparticles in the treatment of cancers. *Journal of Cellular Physiology*, *235*(3), 1962–1972. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jcp.29126>
- Akyolcu, N., & Kandem, D. (2019). Meme Kanserinde Güncel Gelişmeler. *Archives of Health Science and Research*, *6*(3), 583–594. <https://doi.org/10.5152/hsp.2019.440012>
- Alıustaoğlu, M. (2014). Temel Kanser Fizyopatolojisi. *Numune, Haydarpaşa Onkoloji, Hastanesi*, 46–49.
- Altun, S., Çakıroğlu, B., Özacar, M., & Özacar, M. (2015). A facile and effective immobilization of glucose oxidase on tannic acid modified CoFe₂O₄ magnetic nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *136*, 963–970. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.10.053>
- Ammon, H. P. T. (2016). *Boswellic Acids and Their Role in Chronic Inflammatory Diseases BT - Anti-inflammatory Nutraceuticals and Chronic Diseases* (S. C. Gupta, S. Prasad, & B. B. Aggarwal (eds); bll 291–327). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-41334-1_13

- Azadikhah, F., Karimi, A. R., Yousefi, G. H., & Hadizadeh, M. (2021). Dual antioxidant-photosensitizing hydrogel system: Cross-linking of chitosan with tannic acid for enhanced photodynamic efficacy. *International Journal of Biological Macromolecules*, 188(July), 114–125. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.08.006>
- Baeza, A., Ruiz-Molina, D., & Vallet-Regí, M. (2017). Recent advances in porous nanoparticles for drug delivery in antitumoral applications: inorganic nanoparticles and nanoscale metal-organic frameworks. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 14(6), 783–796. <https://doi.org/10.1080/17425247.2016.1229298>
- Baykara, O. (2016). Current Modalities in Treatment of Cancer. *Balikesir Health Sciences Journal*, 5(3), 154–165. <https://doi.org/10.5505/bsbd.2016.93823>
- Bieniek, A., Terzyk, A. P., Wiśniewski, M., Roszek, K., Kowalczyk, P., Sarkisov, L., Keskin, S., & Kaneko, K. (2021). MOF materials as therapeutic agents, drug carriers, imaging agents and biosensors in cancer biomedicine: Recent advances and perspectives. *Progress in Materials Science*, 117, 100743. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2020.100743>
- Bos, P. D., Zhang, X. H. F., Nadal, C., Shu, W., Gomis, R. R., Nguyen, D. X., Minn, A. J., Van De Vijver, M. J., Gerald, W. L., Foekens, J. A., & Massagué, J. (2009). Genes that mediate breast cancer metastasis to the brain. *Nature*, 459(7249), 1005–1009. <https://doi.org/10.1038/nature08021>
- Bugnicourt, L., & Ladavière, C. (2017). A close collaboration of chitosan with lipid colloidal carriers for drug delivery applications. *Journal of Controlled Release*, 256, 121–140. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.04.018>
- Cai, W., Chu, C.-C., Liu, G., & Wáng, Y.-X. J. (2015). Metal–Organic Framework-Based Nanomedicine Platforms for Drug Delivery and Molecular Imaging. *Small*, 11(37), 4806–4822. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/sml.201500802>
- Çakar, S., & Özacar, M. (2016). Fe-tannic acid complex dye as photo sensitizer for different morphological ZnO based DSSCs. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 163, 79–88. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2016.03.031>
- Chang, Y., Rui, W., Zhang, M., Zhou, S., Qiu, L., Cui, P., Hu, H., Jiang, P., Du, X., Ni, X., Wang, C., & Wang, J. (2022a). Facile preparation of copper-gallic acid nanoparticles as a high reproducible and drug loading platform for doxorubicin. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 76(August), 103686. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2022.103686>
- Chang, Y., Rui, W., Zhang, M., Zhou, S., Qiu, L., Cui, P., Hu, H., Jiang, P., Du, X., Ni, X., Wang, C., & Wang, J. (2022b). Facile preparation of copper-gallic acid nanoparticles as a high reproducible and drug loading platform for doxorubicin. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 76, 103686. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jddst.2022.103686>
- Chen, F., Dong, S., Wang, Z., Xu, J., Xu, R., & Wang, J. (2020a). Preparation of mixed matrix composite membrane for hydrogen purification by incorporating ZIF-8 nanoparticles modified with tannic acid. *International Journal of Hydrogen Energy*, 45(12), 7444–7454. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.04.050>

- Chen, F., Dong, S., Wang, Z., Xu, J., Xu, R., & Wang, J. (2020b). Preparation of mixed matrix composite membrane for hydrogen purification by incorporating ZIF-8 nanoparticles modified with tannic acid. *International Journal of Hydrogen Energy*, *45*(12), 7444–7454. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.04.050>
- Chun, M.-S., Il Cho, H., & Song, I. K. (2002). Electrokinetic behavior of membrane zeta potential during the filtration of colloidal suspensions. *Desalination*, *148*(1), 363–368. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0011-9164\(02\)00731-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0011-9164(02)00731-2)
- Cooper, J. (2012). Cell line profile A549. *European Collection of Authenticated Cell Cultures*, *7*(86012803), 1–2.
- Devi, S., Singh, B., Paul, A. K., & Tyagi, S. (2016). Highly sensitive and selective detection of trinitrotoluene using cysteine-capped gold nanoparticles. *Analytical Methods*, *8*(22), 4398–4405. <https://doi.org/10.1039/C6AY01036A>
- Dong, K., Wang, Z., Zhang, Y., Ren, J., & Qu, X. (2018). Metal–Organic Framework-Based Nanoplatform for Intracellular Environment-Responsive Endo/Lysosomal Escape and Enhanced Cancer Therapy. *ACS Applied Materials & Interfaces*, *10*(38), 31998–32005. <https://doi.org/10.1021/acsami.8b11972>
- Duan, Y., Ye, F., Huang, Y., Qin, Y., He, C., & Zhao, S. (2018). One-pot synthesis of a metal–organic framework-based drug carrier for intelligent glucose-responsive insulin delivery. *Chemical Communications*, *54*(42), 5377–5380. <https://doi.org/10.1039/C8CC02708K>
- Ecacc, M.-. (2022). MCF-7 Cell line profile. *ECACC, European Collection of Authenticated Cell Cultures*, *4*(92020424), 1–2. <https://www.phe-culturecollections.org.uk/media/130237/mcf7-cell-line-profile.pdf>
- Esfahanian, M., Ghasemzadeh, M. A., & Razavian, S. M. H. (2019). Synthesis, identification and application of the novel metal-organic framework Fe₃O₄@PAA@ZIF-8 for the drug delivery of ciprofloxacin and investigation of antibacterial activity. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, *47*(1), 2024–2030. <https://doi.org/10.1080/21691401.2019.1617729>
- Fang, X., Cao, J., & Shen, A. (2020). Advances in anti-breast cancer drugs and the application of nano-drug delivery systems in breast cancer therapy. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, *57*, 101662. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101662>
- Feng, J., Xu, Z., Dong, P., Yu, W., Liu, F., Jiang, Q., Wang, F., & Liu, X. (2019). Stimuli-responsive multifunctional metal–organic framework nanoparticles for enhanced chemo-photothermal therapy. *Journal of Materials Chemistry B*, *7*(6), 994–1004. <https://doi.org/10.1039/C8TB02815J>
- Fouladi, F., Steffen, K. J., & Mallik, S. (2017). Enzyme-Responsive Liposomes for the Delivery of Anticancer Drugs. *Bioconjugate Chemistry*, *28*(4), 857–868. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.6b00736>
- Frank, M. B., Yang, Q., Osban, J., Azzarello, J. T., Saban, M. R., Saban, R., Ashley, R. A., Welter, J. C., Fung, K.-M., & Lin, H.-K. (2009). Frankincense oil derived from *Boswellia carteri* induces tumor cell specific cytotoxicity. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *9*(1), 6. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-9-6>

- Fu, F., Zheng, B., Xie, L.-H., Du, H., Du, S., & Dong, Z. (2018a). Size-Controllable Synthesis of Zeolitic Imidazolate Framework/Carbon Nanotube Composites. In *Crystals* (Vol 8, Number 10). <https://doi.org/10.3390/cryst8100367>
- Fu, F., Zheng, B., Xie, L. H., Du, H., Du, S., & Dong, Z. (2018b). Size-controllable synthesis of zeolitic imidazolate framework/carbon nanotube composites. *Crystals*, 8(10), 1–12. <https://doi.org/10.3390/cryst8100367>
- Fu, X., Zhang, Y., Zhang, G., Li, X., Ni, S., & Cui, J. (2022a). Targeted delivery of Fenton reaction packages and drugs for cancer theranostics. *Applied Materials Today*, 26, 101353. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.apmt.2021.101353>
- Fu, X., Zhang, Y., Zhang, G., Li, X., Ni, S., & Cui, J. (2022b). Targeted delivery of Fenton reaction packages and drugs for cancer theranostics. *Applied Materials Today*, 26, 101353. <https://doi.org/10.1016/j.apmt.2021.101353>
- Gao, L., Chen, Q., Gong, T., Liu, J., & Li, C. (2019). Recent advancement of imidazolate framework (ZIF-8) based nanoformulations for synergistic tumor therapy. *Nanoscale*, 11(44), 21030–21045. <https://doi.org/10.1039/C9NR06558J>
- Hu, C., Yang, C., Wang, X., Wang, X., Zhen, S., Zhan, L., Huang, C., & Li, Y. (2022). Rapid and facile synthesis of Au nanoparticle-decorated porous MOFs for the efficient reduction of 4-nitrophenol. *Separation and Purification Technology*, 300(May), 121801. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2022.121801>
- Huang, W., Xu, Y., Wang, Z., Liao, K., Zhang, Y., & Sun, Y. (2022). Dual nanozyme based on ultrathin 2D conductive MOF nanosheets intergraded with gold nanoparticles for electrochemical biosensing of H₂O₂ in cancer cells. *Talanta*, 249, 123612. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123612>
- Kavya, K. V., Vargheese, S., Pattappan, D., Rajendra Kumar, R. T., & Haldorai, Y. (2022). Screen-printed electrode modified by Au/NH₂-MIL-125(Ti) composite for electrochemical sensing performance of gallic acid in green tea and urine samples. *Chemical Physics Letters*, 807(May), 140074. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2022.140074>
- Khan, M. K. A., Ansari, I. A., & Khan, M. S. (2013). Dietary phytochemicals as potent chemotherapeutic agents against breast cancer: Inhibition of NF- κ B pathway via molecular interactions in rel homology domain of its precursor protein p105. *Pharmacognosy Magazine*, 9(33), 51–57. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.108140>
- Kim, K., Lee, S., Jin, E., Palanikumar, L., Lee, J. H., Kim, J. C., Nam, J. S., Jana, B., Kwon, T. H., Kwak, S. K., Choe, W., & Ryu, J. H. (2019). MOF \times Biopolymer: Collaborative Combination of Metal-Organic Framework and Biopolymer for Advanced Anticancer Therapy [Research-article]. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 11(31), 27512–27520. <https://doi.org/10.1021/acsami.9b05736>
- Kush, P., Bajaj, T., Kaur, M., Madan, J., Jain, U. K., Kumar, P., Deep, A., & Kim, K.-H. (2020). Biodistribution and Pharmacokinetic Study of Gemcitabine Hydrochloride Loaded Biocompatible Iron-Based Metal Organic Framework. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 30(8), 2827–2841. <https://doi.org/10.1007/s10904-019-01417-4>

- Lamei, E., & Hasanzadeh, M. (2022a). Fabrication of chitosan nanofibrous scaffolds based on tannic acid and metal-organic frameworks for hemostatic wound dressing applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 208(January), 409–420. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.03.117>
- Lamei, E., & Hasanzadeh, M. (2022b). Fabrication of chitosan nanofibrous scaffolds based on tannic acid and metal-organic frameworks for hemostatic wound dressing applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 208(March), 409–420. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.03.117>
- Bose, S., Zhang, C., Le, A. (2021). Glucose Metabolism in Cancer: The Warburg Effect and Beyond, in: Le, A. (Ed.), *The Heterogeneity of Cancer Metabolism, 2nd edition*, Springer, pp. 3-15, eBook. <http://www.springer.com/series/5584>.
- Lei, B., Wang, M., Jiang, Z., Qi, W., Su, R., & He, Z. (2018). Constructing Redox-Responsive Metal–Organic Framework Nanocarriers for Anticancer Drug Delivery. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 10(19), 16698–16706. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b19693>
- Lei, Z., Tang, Q., Ju, Y., Lin, Y., Bai, X., Luo, H., & Tong, Z. (2020). Block copolymer@ZIF-8 nanocomposites as a pH-responsive multi-steps release system for controlled drug delivery. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 31(6), 695–711. <https://doi.org/10.1080/09205063.2020.1713451>
- Li, Y., Tang, S., Cong, Z., Lu, D., Yang, Q., Chen, Q., Zhang, X., & Wu, S. (2022). Biohybrid bacterial microswimmers with metal-organic framework exoskeletons enable cytoprotection and active drug delivery in a harsh environment. *MATERIALS TODAY CHEMISTRY*, 23. <https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2021.100609>
- Liédana, N., Galve, A., Rubio, C., Téllez, C., & Coronas, J. (2012). CAF@ZIF-8: One-Step Encapsulation of Caffeine in MOF. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 4(9), 5016–5021. <https://doi.org/10.1021/am301365h>
- Lin, W., Cui, Y., Yang, Y., Hu, Q., & Qian, G. (2018). A biocompatible metal–organic framework as a pH and temperature dual-responsive drug carrier. *Dalton Transactions*, 47(44), 15882–15887. <https://doi.org/10.1039/C8DT03202E>
- Liu, J.-J., Nilsson, A., Oredsson, S., Badmaev, V., Zhao, W.-Z., & Duan, R.-D. (2002). Boswellic acids trigger apoptosis via a pathway dependent on caspase-8 activation but independent on Fas/Fas ligand interaction in colon cancer HT-29 cells. *Carcinogenesis*, 23(12), 2087–2093. <https://doi.org/10.1093/carcin/23.12.2087>
- Liu, J., He, J., Wang, L., Li, R., Chen, P., Rao, X., Deng, L., Rong, L., & Lei, J. (2016). NiO-PTA supported on ZIF-8 as a highly effective catalyst for hydrocracking of Jatropha oil. *Scientific Reports*, 6(1), 23667. <https://doi.org/10.1038/srep23667>
- Liu, Q., Du, K., Liu, M., Lv, R., Sun, B., Cao, D., He, N., & Wang, Z. (2019). Sulfosalicylic acid/Fe³⁺ based nanoscale coordination polymers for effective cancer therapy by the Fenton reaction: an inspiration for understanding the role of aspirin in the prevention of cancer. *Biomaterials Science*, 7(12), 5482–5491. <https://doi.org/10.1039/C9BM00799G>

- Liu, S., Xiang, Z., Hu, Z., Zheng, X., & Cao, D. (2011). Zeolitic imidazolate framework-8 as a luminescent material for the sensing of metal ions and small molecules. *Journal of Materials Chemistry*, *21*(18), 6649–6653. <https://doi.org/10.1039/C1JM10166H>
- Liu, Y., Zhao, Y., & Chen, X. (2019). Bioengineering of Metal-organic Frameworks for Nanomedicine. *Theranostics*, *9*(11), 3122–3133. <https://doi.org/10.7150/thno.31918>
- Liu, Z., Sun, T., Zhang, Z., Bi, J., & Kong, C. (2021). An 18-gene signature based on glucose metabolism and DNA methylation improves prognostic prediction for urinary bladder cancer. *Genomics*, *113*(1, Part 2), 896–907. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2020.10.022>
- Lv, Y., Ding, D., Zhuang, Y., Feng, Y., Shi, J., Zhang, H., Zhou, T.-L., Chen, H., & Xie, R.-J. (2019). Chromium-Doped Zinc Gallogermanate@Zeolitic Imidazolate Framework-8: A Multifunctional Nanoplatform for Rechargeable In Vivo Persistent Luminescence Imaging and pH-Responsive Drug Release. *ACS Applied Materials & Interfaces*, *11*(2), 1907–1916. <https://doi.org/10.1021/acsami.8b19172>
- Meng, Q., Meng, J., Ran, W., Wang, J., Zhai, Y., Zhang, P., & Li, Y. (2018). Light-Activated Core–Shell Nanoparticles for Spatiotemporally Specific Treatment of Metastatic Triple-Negative Breast Cancer. *ACS Nano*, *12*(3), 2789–2802. <https://doi.org/10.1021/acsnano.7b09210>
- Meng, X. Y., Jia, K. Y., Sun, K., Zhang, L. M., & Wang, Z. F. (2021). Smart responsive nanoplatform via in situ forming disulfiram-copper ion chelation complex for cancer combination chemotherapy. *CHEMICAL ENGINEERING JOURNAL*, *415*. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.128947>
- Mittal, A., Gandhi, S., & Roy, I. (2022). Mechanistic interaction studies of synthesized ZIF-8 nanoparticles with bovine serum albumin using spectroscopic and molecular docking approaches. *Scientific Reports*, *12*(1), 10331. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-14630-y>
- Montané, X., Bajek, A., Roszkowski, K., Montornés, J. M., Giamberini, M., Roszkowski, S., Kowalczyk, O., Garcia-Valls, R., & Tylkowski, B. (2020). Encapsulation for Cancer Therapy. In *Molecules* (Vol 25, Number 7). <https://doi.org/10.3390/molecules25071605>
- Moradi Kashkooli, F., Soltani, M., & Souri, M. (2020). Controlled anti-cancer drug release through advanced nano-drug delivery systems: Static and dynamic targeting strategies. *Journal of Controlled Release*, *327*, 316–349. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.08.012>
- Mota de Lima, A., Evangelista Feijo, A., Macedo, T., Oliveira, R., Scapulatempo-Neto, C., Vieira Aloisio da Costa, R., & Marques Maria Chiquitelli, M. (2017). Molecular characterization of breast cancer cell lines by clinical immunohistochemical markers. *Oncol Lett*, *13*(6), 4708–4712. <https://doi.org/10.3892/ol.2017.6093>

- Narasagoudr, S. S., Hegde, V. G., Chougale, R. B., Masti, S. P., & Dixit, S. (2020). Influence of boswellic acid on multifunctional properties of chitosan/poly (vinyl alcohol) films for active food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, *154*, 48–61. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.073>
- Nguyen, N. T., Nguyen, N. N. T., Tran, N. T. N., Le, P. N., Nguyen, T. B. T., Nguyen, N. H., Bach, L. G., Doan, V. N., Tran, H. L. B., Le, V. T., & Tran, N. Q. (2018). Synergic activity against MCF-7 breast cancer cell growth of nanocurcumin-encapsulated and cisplatin-complexed nanogels. *Molecules*, *23*(12). <https://doi.org/10.3390/molecules23123347>
- Özsoy, M., Atiroğlu, V., Guney Eskiler, G., Atiroğlu, A., Deveci Ozkan, A., & Özacar, M. (2021a). A protein-sulfosalicylic acid/boswellic acids @metal–organic framework nanocomposite as anticancer drug delivery system. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *204*(April). <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.111788>
- Özsoy, M., Atiroğlu, V., Guney Eskiler, G., Atiroğlu, A., Deveci Ozkan, A., & Özacar, M. (2021b). A protein-sulfosalicylic acid/boswellic acids @metal–organic framework nanocomposite as anticancer drug delivery system. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *204*, 111788. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.111788>
- Pang, X., Yi, Z., Zhang, X., Sung, B., Qu, W., Lian, X., Aggarwal, B. B., & Liu, M. (2009). Acetyl-11-keto-beta-boswellic acid inhibits prostate tumor growth by suppressing vascular endothelial growth factor receptor 2-mediated angiogenesis. *Cancer Research*, *69*(14), 5893–5900. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-0755>
- Park, K. S., Ni, Z., Côté, A. P., Choi, J. Y., Huang, R., Uribe-Romo, F. J., Chae, H. K., O’Keeffe, M., & Yaghi, O. M. (2006). Exceptional chemical and thermal stability of zeolitic imidazolate frameworks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *103*(27), 10186–10191. <https://doi.org/10.1073/pnas.0602439103>
- Qin, Y.-T., Peng, H., He, X.-W., Li, W.-Y., & Zhang, Y.-K. (2019). pH-Responsive Polymer-Stabilized ZIF-8 Nanocomposites for Fluorescence and Magnetic Resonance Dual-Modal Imaging-Guided Chemo-/Photodynamic Combinational Cancer Therapy. *ACS Applied Materials & Interfaces*, *11*(37), 34268–34281. <https://doi.org/10.1021/acsami.9b12641>
- Qin, Y., Wang, C., Jiang, Y., Liu, T., Yang, J., Lin, R., & Zhang, T. (2017). Phosphorylcholine oligomer-grafted graphene oxide for tumor-targeting doxorubicin delivery. *RSC Advances*, *7*(66), 41675–41685. <https://doi.org/10.1039/C7RA08287H>
- Ranji-Burachaloo, H., Reyhani, A., Gurr, P. A., Dunstan, D. E., & Qiao, G. G. (2019). Combined Fenton and starvation therapies using hemoglobin and glucose oxidase. *NANOSCALE*, *11*(12), 5705–5716. <https://doi.org/10.1039/c8nr09107b>

- Resen, A. K., Atiroğlu, A., Atiroğlu, V., Guney Eskiler, G., Aziz, I. H., Kaleli, S., & Özacar, M. (2022a). Effectiveness of 5-Fluorouracil and gemcitabine hydrochloride loaded iron-based chitosan-coated MIL-100 composite as an advanced, biocompatible, pH-sensitive and smart drug delivery system on breast cancer therapy. *International Journal of Biological Macromolecules*, *198*(August 2021), 175–186. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.12.130>
- Resen, A. K., Atiroğlu, A., Atiroğlu, V., Guney Eskiler, G., Aziz, I. H., Kaleli, S., & Özacar, M. (2022b). Effectiveness of 5-Fluorouracil and gemcitabine hydrochloride loaded iron-based chitosan-coated MIL-100 composite as an advanced, biocompatible, pH-sensitive and smart drug delivery system on breast cancer therapy. *International Journal of Biological Macromolecules*, *198*, 175–186. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.12.130>
- Reszka, K. J., Wagner, B. A., Teesch, L. M., Britigan, B. E., Spitz, D. R., & Burns, C. P. (2005). Inactivation of anthracyclines by cellular peroxidase. *Cancer Research*, *65*(14), 6346–6353. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-2312>
- Sales, M. S., Roy, A., Antony, L., Banu, S. K., Jeyaraman, S., & Manikkam, R. (2018). Octyl gallate and gallic acid isolated from *Terminalia bellarica* regulates normal cell cycle in human breast cancer cell lines. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, *103*(September 2017), 1577–1584. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.04.182>
- Samanta, T., & Kar, S. (2021). Unraveling the origin of glucose mediated disparate proliferation dynamics of cancer stem cells. *Journal of Theoretical Biology*, *526*, 110774. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2021.110774>
- Sanad, M. F., Shalan, A. E., Bazid, S. M., Abu Serea, E. S., Hashem, E. M., Nabih, S., & Ahsan, M. A. (2019). A graphene gold nanocomposite-based 5-FU drug and the enhancement of the MCF-7 cell line treatment. *RSC Advances*, *9*(53), 31021–31029. <https://doi.org/10.1039/C9RA05669F>
- Schejn, A., Balan, L., Falk, V., Aranda, L., Medjahdi, G., & Schneider, R. (2014). Controlling ZIF-8 nano- and microcrystal formation and reactivity through zinc salt variations. *CrystEngComm*, *16*(21), 4493–4500. <https://doi.org/10.1039/C3CE42485E>
- Shao, F., Wu, Y., Tian, Z., & Liu, S. (2021). Biomimetic nanoreactor for targeted cancer starvation therapy and cascade amplified chemotherapy. *Biomaterials*, *274*, 120869. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2021.120869>
- Sharma, T., & Jana, S. (2020). Boswellic acids as natural anticancer medicine: Precious gift to humankind. *Journal of Herbal Medicine*, *20*, 100313. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.hermed.2019.100313>
- Shi, L., Wu, J., Qiao, X., Ha, Y., Li, Y., Peng, C., & Wu, R. (2020). In Situ Biomimetic Mineralization on ZIF-8 for Smart Drug Delivery. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, *6*(8), 4595–4603. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.0c00935>
- Shi, Q., Chen, Z., Song, Z., Li, J., & Dong, J. (2011). Synthesis of ZIF-8 and ZIF-67 by Steam-Assisted Conversion and an Investigation of Their Tribological Behaviors. *Angewandte Chemie International Edition*, *50*(3), 672–675. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/anie.201004937>

- Stine, Z. E., Walton, Z. E., Altman, B. J., Hsieh, A. L., & Dang, C. V. (2015). MYC, Metabolism, and Cancer. *Cancer Discovery*, 5(10), 1024–1039. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-15-0507>
- Sun, C.-Y., Qin, C., Wang, X.-L., Yang, G.-S., Shao, K.-Z., Lan, Y.-Q., Su, Z.-M., Huang, P., Wang, C.-G., & Wang, E.-B. (2012). Zeolitic imidazolate framework-8 as efficient pH-sensitive drug delivery vehicle. *Dalton Transactions*, 41(23), 6906–6909. <https://doi.org/10.1039/C2DT30357D>
- Sun, D., Qi, G., Ma, K., Qu, X., Xu, W., Xu, S., & Jin, Y. (2020). Tumor Microenvironment-Activated Degradable Multifunctional Nanoreactor for Synergistic Cancer Therapy and Glucose SERS Feedback. *iScience*, 23(7), 101274. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101274>
- Sun, Y., Zheng, L., Yang, Y., Qian, X., Fu, T., Li, X., Yang, Z., Yan, H., Cui, C., & Tan, W. (2020). Metal–Organic Framework Nanocarriers for Drug Delivery in Biomedical Applications. *Nano-Micro Letters*, 12(1), 103. <https://doi.org/10.1007/s40820-020-00423-3>
- Tian, Z., Yu, X., Ruan, Z., Zhu, M., Zhu, Y., & Hanagata, N. (2018). Magnetic mesoporous silica nanoparticles coated with thermo-responsive copolymer for potential chemo- and magnetic hyperthermia therapy. *Microporous and Mesoporous Materials*, 256, 1–9. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2017.07.053>
- Tong, N. A. N., Nguyen, T. P., Cuu Khoa, N., & Tran, N. Q. (2016). Aquated cisplatin and heparin-pluronic nanocomplexes exhibiting sustainable release of active platinum compound and NCI-H460 lung cancer cell antiproliferation. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 27(8), 709–720. <https://doi.org/10.1080/09205063.2016.1154239>
- Tran, V. A., & Lee, S.-W. (2018). A prominent anchoring effect on the kinetic control of drug release from mesoporous silica nanoparticles (MSNs). *Journal of Colloid and Interface Science*, 510, 345–356. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jcis.2017.09.072>
- Uzak, D., Atiroğlu, A., Atiroğlu, V., Çakıroğlu, B., & Özacar, M. (2020). Reduced Graphene Oxide/Pt Nanoparticles/Zn-MOF-74 Nanomaterial for a Glucose Biosensor Construction. *Electroanalysis*, 32(3), 510–519. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/elan.201900599>
- Vander Heiden, M. G., Cantley, L. C., & Thompson, C. B. (2009). Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science (New York, N.Y.)*, 324(5930), 1029–1033. <https://doi.org/10.1126/science.1160809>
- Venna, S. R., Jasinski, J. B., & Carreon, M. A. (2010). Structural Evolution of Zeolitic Imidazolate Framework-8. *Journal of the American Chemical Society*, 132(51), 18030–18033. <https://doi.org/10.1021/ja109268m>
- Violi, A., D'Anna, A., D'Alessio, A., Astarita, M., & Vaglieco, B. M. (2000). Experimental and modeling study of particulate formation in high-pressure diesel-like conditions. *Proceedings of the Combustion Institute*, 28(1), 1241–1247. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0082-0784\(00\)80336-7](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0082-0784(00)80336-7)

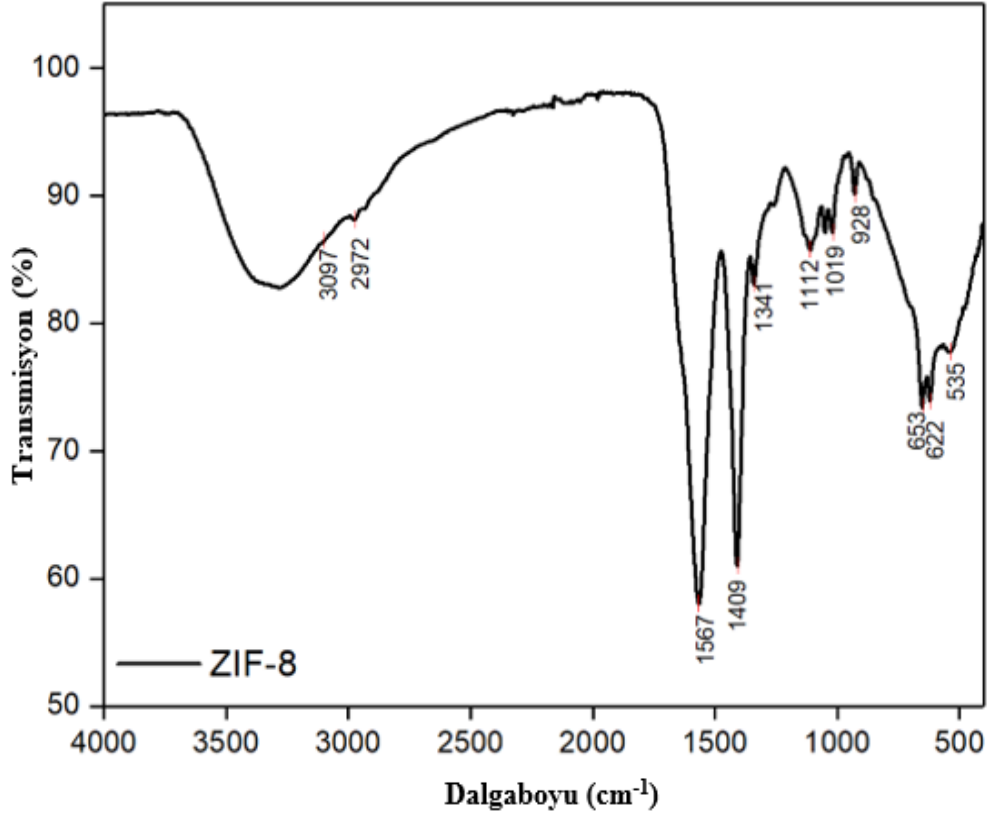
- Wang, Hui, Wang, C., Zou, Y., Hu, J., Li, Y., & Cheng, Y. (2020). Natural polyphenols in drug delivery systems: Current status and future challenges. *Giant*, 3, 100022. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.giant.2020.100022>
- Wang, Huimin, Chen, Y., Wang, H., Liu, X., Zhou, X., & Wang, F. (2019). DNAzyme-Loaded Metal–Organic Frameworks (MOFs) for Self-Sufficient Gene Therapy. *Angewandte Chemie International Edition*, 58(22), 7380–7384. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/anie.201902714>
- Wang, J., Yao, L., Hu, E., Cui, Y., Yang, D., & Qian, G. (2021). MnO₂ decorated ZIF-8@GOx for synergistic chemodynamic and starvation therapy of cancer. *Journal of Solid State Chemistry*, 298, 122102. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jssc.2021.122102>
- Wang, Y., Yan, J., Wen, N., Xiong, H., Cai, S., He, Q., Hu, Y., Peng, D., Liu, Z., & Liu, Y. (2020). Metal-organic frameworks for stimuli-responsive drug delivery. *Biomaterials*, 230, 119619. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.119619>
- Warburg, O. (1956). On the Origin of Cancer Cells. *Science*, 123(3191), 309–314. <https://doi.org/10.1126/science.123.3191.309>
- Wu, M.-X., Gao, J., Wang, F., Yang, J., Song, N., Jin, X., Mi, P., Tian, J., Luo, J., Liang, F., & Yang, Y.-W. (2018). Multistimuli Responsive Core–Shell Nanoplatfom Constructed from Fe₃O₄@MOF Equipped with Pillar[6]arene Nanovalves. *Small*, 14(17), 1704440. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/sml.201704440>
- Yang, X., Li, L., He, D., Hai, L., Tang, J., Li, H., He, X., & Wang, K. (2017). A metal–organic framework based nanocomposite with co-encapsulation of Pd@Au nanoparticles and doxorubicin for pH- and NIR-triggered synergistic chemophothermal treatment of cancer cells. *Journal of Materials Chemistry B*, 5(24), 4648–4659. <https://doi.org/10.1039/C7TB00715A>
- Yao, J., He, M., Wang, K., Chen, R., Zhong, Z., & Wang, H. (2013). High-yield synthesis of zeolitic imidazolate frameworks from stoichiometric metal and ligand precursor aqueous solutions at room temperature. *CrystEngComm*, 15(18), 3601–3606. <https://doi.org/10.1039/C3CE27093A>
- Ye, C., Chen, X., Xu, J., Xi, H., Wu, T., Deng, D., Zhang, J., & Huang, G. (2020a). Highly sensitive detection to gallic acid by polypyrrole-based MIES supported by MOFs-Co₂+@Fe₃O₄. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 859, 113839. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2020.113839>
- Ye, C., Chen, X., Xu, J., Xi, H., Wu, T., Deng, D., Zhang, J., & Huang, G. (2020b). Highly sensitive detection to gallic acid by polypyrrole-based MIES supported by MOFs-Co₂+@Fe₃O₄. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 859, 113839. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2020.113839>
- Yin, Z., Lin, M., Xu, Y., Wang, Z., Cai, Y., & Yang, X. (2021). Enzyme and Au nanoparticles encapsulated ZIF-8 for glucose responsive closed-loop drug delivery. *Materials Letters*, 301, 130276. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.matlet.2021.130276>

- Yuan, S., Feng, L., Wang, K., Pang, J., Bosch, M., Lollar, C., Sun, Y., Qin, J., Yang, X., Zhang, P., Wang, Q., Zou, L., Zhang, Y., Zhang, L., Fang, Y., Li, J., & Zhou, H.-C. (2018). Stable Metal–Organic Frameworks: Design, Synthesis, and Applications. *Advanced Materials*, 30(37), 1704303. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/adma.201704303>
- Zeyni, V., Karimi, S., & Namazi, H. (2023). Surface PEGylation of ZIF-8 metal-organic framework based on magnetic hydroxyapatite as a pH/magnetic targeting responsive system for anticancer drug delivery. *Microporous and Mesoporous Materials*, 354, 112544. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2023.112544>
- Zhan, L., Yin, X., Zhang, Y., Ju, J., Wu, Y., Ding, L., Li, C., Chen, X., & Wang, Y. (2023). Polydopamine-guarded metal-organic frameworks as co-delivery systems for starvation-assisted chemo-photothermal therapy. *Biomaterials Advances*, 146, 213306. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bioadv.2023.213306>
- Zhang, H., Jiang, W., Liu, R., Zhang, J., Zhang, D., Li, Z., & Luan, Y. (2017). Rational Design of Metal Organic Framework Nanocarrier-Based Codelivery System of Doxorubicin Hydrochloride/Verapamil Hydrochloride for Overcoming Multidrug Resistance with Efficient Targeted Cancer Therapy. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 9(23), 19687–19697. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b05142>
- Zhang, H., Li, Q., Liu, R., Zhang, X., Li, Z., & Luan, Y. (2018). A Versatile Prodrug Strategy to In Situ Encapsulate Drugs in MOF Nanocarriers: A Case of Cytarabine-IR820 Prodrug Encapsulated ZIF-8 toward Chemo-Photothermal Therapy. *Advanced Functional Materials*, 28(35), 1802830. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/adfm.201802830>
- Zhang, L., Wan, S.-S., Li, C.-X., Xu, L., Cheng, H., & Zhang, X.-Z. (2018a). An Adenosine Triphosphate-Responsive Autocatalytic Fenton Nanoparticle for Tumor Ablation with Self-Supplied H₂O₂ and Acceleration of Fe(III)/Fe(II) Conversion. *Nano Letters*, 18(12), 7609–7618. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.8b03178>
- Zhang, L., Wan, S. S., Li, C. X., Xu, L., Cheng, H., & Zhang, X. Z. (2018b). An Adenosine Triphosphate-Responsive Autocatalytic Fenton Nanoparticle for Tumor Ablation with Self-Supplied H₂O₂ and Acceleration of Fe(III)/Fe(II) Conversion. *Nano Letters*, 18(12), 7609–7618. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.8b03178>
- Zhang, X., An, D., Zhang, R., Huang, Y., & Liu, Z. (2022). Preparation of carbon nanotubes and polyhedral oligomeric-reinforced molecularly imprinted polymer composites for drug delivery of gallic acid. *International Journal of Pharmaceutics*, 615, 121476. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.121476>
- Zhang, Yan, Wang, K., Xing, G., Dong, X., Zhu, D., Yang, W., Mei, L., & Lv, F. (2022). Nanozyme-laden intelligent macrophage EXPRESS amplifying cancer photothermal-starvation therapy by responsive stimulation. *Materials Today Bio*, 16, 100421. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2022.100421>

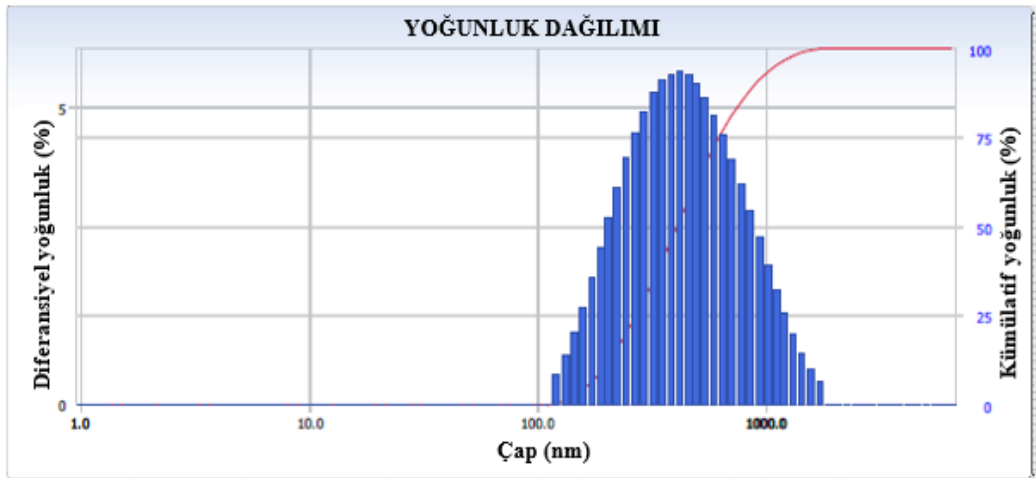
- Zhang, Yang, Yang, L., Yan, L., Wang, G., & Liu, A. (2019). Recent advances in the synthesis of spherical and nanoMOF-derived multifunctional porous carbon for nanomedicine applications. *Coordination Chemistry Reviews*, 391, 69–89. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ccr.2019.04.006>
- Zhang, Ye, Li, M., Gao, X., Chen, Y., & Liu, T. (2019). Nanotechnology in cancer diagnosis: progress, challenges and opportunities. *Journal of Hematology & Oncology*, 12(1), 137. <https://doi.org/10.1186/s13045-019-0833-3>
- Zhao, X., Feng, J., Liu, J., Shi, W., Yang, G., Wang, G.-C., & Cheng, P. (2018). An Efficient, Visible-Light-Driven, Hydrogen Evolution Catalyst NiS/ZnxCd1-xS Nanocrystal Derived from a Metal–Organic Framework. *Angewandte Chemie International Edition*, 57(31), 9790–9794. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/anie.201805425>
- Zheng, C.-X., Zhao, Y., & Liu, Y. (2018). Recent Advances in Self-assembled Nano-therapeutics. *Chinese Journal of Polymer Science*, 36(3), 322–346. <https://doi.org/10.1007/s10118-018-2078-y>
- Zheng, C., Wang, Y., Phua, S. Z. F., Lim, W. Q., & Zhao, Y. (2017). ZnO–DOX@ZIF-8 Core–Shell Nanoparticles for pH-Responsive Drug Delivery. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 3(10), 2223–2229. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.7b00435>
- Zheng, H., Zhang, Y., Liu, L., Wan, W., Guo, P., Nyström, A. M., & Zou, X. (2016). One-pot Synthesis of Metal–Organic Frameworks with Encapsulated Target Molecules and Their Applications for Controlled Drug Delivery. *Journal of the American Chemical Society*, 138(3), 962–968. <https://doi.org/10.1021/jacs.5b11720>
- Zhong, X., Zhang, Y., Tan, L., Zheng, T., Hou, Y., Hong, X., Du, G., Chen, X., Zhang, Y., & Sun, X. (2019). An aluminum adjuvant-integrated nano-MOF as antigen delivery system to induce strong humoral and cellular immune responses. *Journal of Controlled Release*, 300, 81–92. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.02.035>
- Zhu, W., Huang, W., Ye, L., Deng, Y., Xie, Q., & Jiang, Y. (2020). Facile preparation of succinylated-zein-ZIF-8 hybrid for enhanced stability and pH-responsive drug delivery. *Chemical Engineering Science*, 228, 115981. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ces.2020.115981>

EKLER

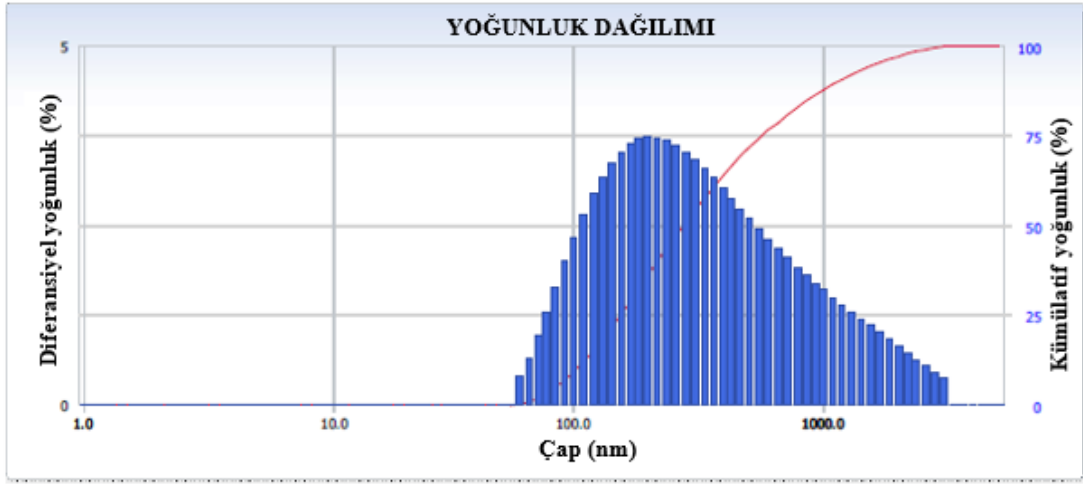
EK A: Sentezlenen bileşiklere ait yapısal analiz spektrumları



Şekil A.1. ZIF-8'e ait FTIR spektrumu.



Şekil A.2. ZIF-8@GA@Fe@5-FU@GOx'a ait ZetaSizer partikül boyut analizi.



Şekil A.3. ZIF-8@GA@Fe@5-FU@Au'ya ait ZetaSizer partikül boyut analizi.

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Mınteha ÖZSOY

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2018, Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Eczacılık Bölümü
- **Bütünleşik Doktora** : Devam ediyor, Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Biyokimya

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:

- 2021-2023 yılları arasında 1649B032002551 nolu TÜBİTAK 2211-A Genel Yurt İçi Doktora Burs Programı kapsamında burs almıştır

TEZDEN TÜRETİLEN ESERLER:

- Özsoy, M., Atiroğlu V., Guney Eskiler G., Atiroğlu A., Deveci Ozkan A., Özacar M. 2021. A Protein-Sulfosalicylic Acid/Boswellic Acids @Metal–Organic Framework Nanocomposite As Anticancer Drug Delivery System, *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, 204 (2021), 111788. (<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.111788>)
- Özsoy, M., Atiroğlu V., Atiroğlu A. ve Arabacı G. (2022, 23-25, Kasım). ZIF-8 Synthesis, Characterization and Modification with Gallic Acid as a Drug Delivery System. *5 th International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2022)*, Ankara, Turkey.

DİĞER ESERLER:

- Altun, S., Çakıroğlu, B., Özacar (Özsoy) M. ve Özacar, M. 2015. A Facile And Effective Immobilization Of Glucose Oxidase On Tannic Acid Modified CoFe_2O_4 Magnetic Nanoparticles, *Colloids and Surfaces B*, 136, 963-970. (<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.10.053>)
- Atacan K., Özacar (Özsoy), M. ve Özacar, M. 2018. Investigation Of Antibacterial Properties Of Novel Papain Immobilized On Tannic Acid Modified $\text{Ag/CuFe}_2\text{O}_4$ Magnetic Nanoparticles, *Int. J. Biol. Macromol.*, 109, 720-731. (<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.12.066>)
- Atiroğlu V., Atiroğlu A., Özsoy M. ve Özacar M. 2022. Coronavirus Disease (COVID-19), Chemical Structure, Therapeutics, Drugs and Vaccines. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 12(1), 547-566. (<https://doi.org/10.33263/BRIAC121.547566>)
- Atiroğlu A., Atiroğlu A., Özsoy M., Atiroğlu V. ve Özacar M. 2022. COVID-19 in Adults and Children, Symptoms and Treatment. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 12(2), 1735–1748. (<https://doi.org/10.33263/BRIAC122.17351748>)
- Özacar (Özsoy), M., Pirinççi, Y., Tok, F. ve Kaymakçioğlu, B. (2017, 27-29, Nisan). Radyoprotektif Ajanlara Güncel Yaklaşımlar. *İVEK Uluslararası İlaç ve Eczacılık Kongresi*, İstanbul, Turkey.
- Özacar (Özsoy), M., Atacan, K. ve Özacar, M. (2016, 3-5, Kasım). Tannik Asit İle Modifiye Edilmiş $\text{Ag/CuFe}_2\text{O}_4$ Manyetik Nanopartikülleri Üzerine Immobilize Edilmiş Papain Enziminin Antibakteriyel Etkisinin Araştırılması. *1. Ulusal Marmara Eczacılık Kongresi*, İstanbul, Türkiye.
- Özacar (Özsoy), M., Pirinççi, Y., Kaymakçioğlu, B., ve Özacar, M. (2016, 3-5, Kasım). Antikanser İlaç Transferinde Nanoteknolojik Yaklaşımlar: Manyetik Taşıma Sistemleri. *1. Ulusal Marmara Eczacılık Kongresi*, İstanbul, Türkiye.
- Özacar (Özsoy), M., Pirinççi, Y. ve Tok F. (2016, 3-5, Kasım). Sirkadiyen Ritmin Günlük Yaşam Döngüsü Üzerine Etkileri, *1. Ulusal Marmara Eczacılık Kongresi*, İstanbul, Türkiye.
- Pirinççi, Y., Özacar (Özsoy), M. ve Tok, F. (2016, 3-5, Kasım). İnsanoğlunun Makro Devrimi: Nanoteknoloji. *1. Ulusal Marmara Eczacılık Kongresi*, İstanbul, Türkiye.
- Özsoy, M. ve Kaymakçioğlu, B. (2018, 14-16, Kasım). Pirazolon Halkası Taşıyan Çeşitli Schiff Bazlarının Yapılarının Aydınlatılması, *2. Ulusal Marmara Eczacılık Kongresi*, İstanbul, Türkiye.
- KAYMAKÇIOĞLU, B., PİRİNÇÇİ, Y. ve ÖZACAR(Özsoy), M. 2018. Antipirin Molekülü Üzerinden Bazı Yeni Schiff Bazlarının Sentezi, Yapılarının Aydınlatılması ve Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi, *TÜBİTAK (2209/A) Projesi, Proje No: Projede Araştırmacı*.