

İLAÇ TAŞIYICI SİSTEM OLARAK MANYETİK O-KARBOKSİ METİL KİTOSAN NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZ VE KARAKTERİZASYONU

PROF. DR. BİLSEN TURAL
DR.ÖĞR. ÜYESİ TUBA TARHAN
PROF. DR. SERVET TURAL

ÖZET

Günümüzde kanser kemoterapisinin en önemli sorunlarından biri, kullanılan anti-kanser ilaçlarının kanserli hücreyi ayırt edici özelliğe sahip olmamaları ve yan etki olarak sağlıklı hücrelerin üzerinde de toksik etki göstermeleridir. Bu problemlere çözüm bulmak amacı ile kontrollü ilaç salım sistemleri üzerine yapılan çalışmalar artmıştır.

Manyetik nanoparçacıkların (MNPs) seçimi onların yüksek manyetik duyarlılığı, biyoyumluluk, kararlılık ve çeşitli hazırlama yöntemlerinin kullanılabilirliği ile ilişkilidir. MNPs bir dış manyetik alan uygulanması ile kolayca kontrol edilebilirler ki bu antikanser maddesinin belirli bir hızda ve belli bir bölgede salıverilmesini sağlar. Böylece geleneksel teşhis ve tedavideki sorunların üstesinden gelinir.

Bu malzemelerin nanoboyutu ve artan yüzey alanı/hacim oranının bir sonucu olarak araştırmacılar MNPs yapı ve özellikleri arasındaki ilişkiyi çalışmaya odaklanmışlardır. Bileşim, boyut, morfoloji ve yüzey kimyası, hem manyetik özellikleri geliştirmek hem de in vivo olarak nanopartiküllerin istenilen davranışı göstermesi için çeşitli prosesler ile ayarlanabilir. Biyomedikal alanında MNPs'in başarılı uygulamaları onların manyetik özelliğine yani dış bir manyetik alan uygulanmasıyla kontrollü dağılımına ve agregasyon derecesine özellikle bağlıdır. Bu nedenle, molekülün kararlılığının artırılması amacıyla ya sentez süresince ya da sentez sonrası biyoyumlu bir polimer kullanılarak MNPs'in kaplanmasıyla yapılan kapsülleme işlemi, biyolojik sisteme maruz kalındığında agregat oluşumunu ve biyodegradasyonu engeller.

Bu amaç doğrultusunda terapötik ajanları taşımaya elverişli, biyomedikal uygulamalarda kullanılmak üzere uygun boyutta, manyetik ve kimyasal özelliklere sahip, manyetik hedeflendirme yapılabilen, ilaç yükleme verimi yüksek, karboksil grupları ile dallanmış polimerik materyallerin sentezlenmesi ve karakterize edilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada O-Karboksümetil Kitosan sentezlenip XPS ile karakterizasyonu yapılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kanser, Manyetik Nanopartiküller, Dekstran, Sentez ve Karakterizasyon

1.GİRİŞ

Demir yaşayan canlılarda en çok bulunan metalik elementlerden biridir ve oksijenin hemoglobin ile taşınması ve hücresel solunumdaki redoks enzimleri gibi çeşitli biyolojik süreçler için gereklidir. Demir oksit nanoparçacıklar (MNPs) manyetik duyarlılığı ile vücuda enjekte edildiği zaman insan vücudunda doğal metabolik faaliyetlere dahil edilebilen birkaç nanomalzemedir. Bu sebeplerden diğer nanoparçacıklar ile karşılaştırıldığı zaman demir oksit nanoparçacıklar, daha düşük toksisiteye sahiptir ve biyolojik olarak daha geniş bir konsantrasyon aralığında tolare edilebilmektedir (Bourinnet ve ark. 2006).

Piyasada bulunan MNPs çoğu spesifik organik veya inorganik tabakalar ile kaplanmaktadır. Bu kaplamanın uygunluğu nanoparçacığın çekirdek türüne ve bu parçacıklar için önerilen uygulama alanına bağlıdır. Farklı olarak kaplanan demir oksit nanoparçacıklar vücut içerisinde farklı kadere ve hücreler üzerine farklı etkilere sahiptir. Bu yüzden nanoparçacıkların hem

çekirdeği hem de kabuğunun kimyasal tasarımı gelecekte öngörülen klinik çalışmaları için son derece önemlidir (Figueroa ve ark. 2010, Verderio 2014).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Kean ve Thanou, ilaç dağılım sistemlerinin bir parçası olarak kullanılan polimerlerin, vücut içerisinde kendiliğinden biyo-bozunur özellik göstermesi onların kilit özelliklerinden bir tanesi olduğunu ifade ettiler. İdeal bir taşıyıcı istenilen süre zarfında bozunur özellikte olması gerektiğini tespit ettiler (Kean ve Thanou 2010). Ratajska ve Boryniec, ilaç taşıma sistemlerinde kabul edilebilir bir tasarıma sahip olabilmesi için bozunma zamanının öngörülebilir olması gerektiğini açıkladılar (Ratajska ve Boryniec 1998). Kean ve Thanou, hidrofilik polimerler eğer düşük molekül ağırlığına sahipse renal sistemlerde temizlenebileceğini tespit ettiler (Kean ve Thanou 2010). Diğer taraftan çoğunlukla lizozomlar tarafından parçalanmış kitosanın bozunma derecesi polimerin molekül ağırlığına ve deasetillenme derecesine bağlı olduğunu tespit ettiler. Bu değerlerin artması bozunma hızını ve yer değiştirme derecesini arttırdığını ifade ettiler. Bazı özel modifikasyonlar, örneğin kovalent çapraz bağlayıcılar ve tiyolleme ile bozunma profillerinin değiştiğini açıkladılar (Ratajska ve Boryniec 1998, Kean ve Thanou 2010).

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Materyal

Sentez için gerekli kimyasallar; $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (puriss. p.a., $\geq 99.0\%$ RT, Sigma-Aldrich), $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (ACS reagent, 97%, Sigma-Aldrich), Bromo asetik asit (reagent grade, 97%, Aldrich), Kitosan (low molecular weight (Aldrich)).

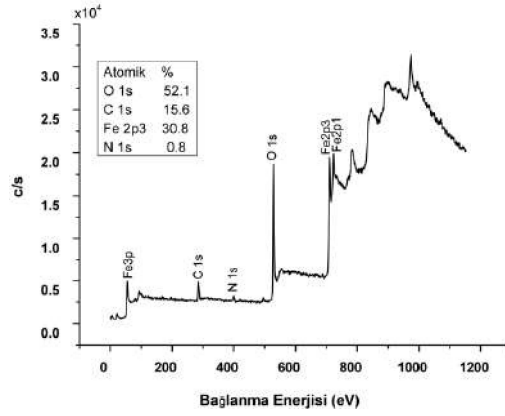
3.2. Metod

Bu çalışmada, demir oksit nanoparçacıkları (Fe_3O_4) birlikte çöktürme metodu ile sentezlenmiştir. Bu parçacıklar Karboksilik asit fonksiyonel grupları ile fonksiyonlandırılmış Kitosan polimerleri ile kaplanmıştır. 2 gram Kitosan ağırlıkça % 1.5 olan asetik asit çözeltisinde çözülmüştür. Hazırlanan kitosan çözeltisi, Fe_3O_4 nanoparçacıkları ile 24 saat boyunca laboratuvar sıcaklığında etkileştirildi. Elde edilen manyetik kitosan nanoparçacıklar deiyonize su ile bir kaç kez yıkanarak süzüntü atılmıştır daha sonra sonikatör ile deiyonize suda iyice disperse edilmiştir. 6 gram NaOH 400 mL isopropil alkol ve 400 mL deiyonize suda tamamen çözülüp karışımına ilave edilmiştir. Geri soğutucu altında yağ banyosunda 50°C 'de 1 saat boyunca mekanik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. 1 saat sonunda 8 gram monobromo asetik asit 12 mL isopropil alkolde çözülüp reaksiyon ortamına ilave edilmiştir. Sistem 4 saat daha 50°C 'de karıştırılmaya devam edilmiştir. 4 saat sonunda sistem kapatılıp karışım % 70'lik etil alkol çözeltisi ile 3-4 kez ve 2-3 kez deiyonize su ile yıkanmıştır. Sentezlenen manyetik nanokompozitin yapısal analizi için XPS kullanılmıştır.

4. BULGU VE TARTIŞMALAR

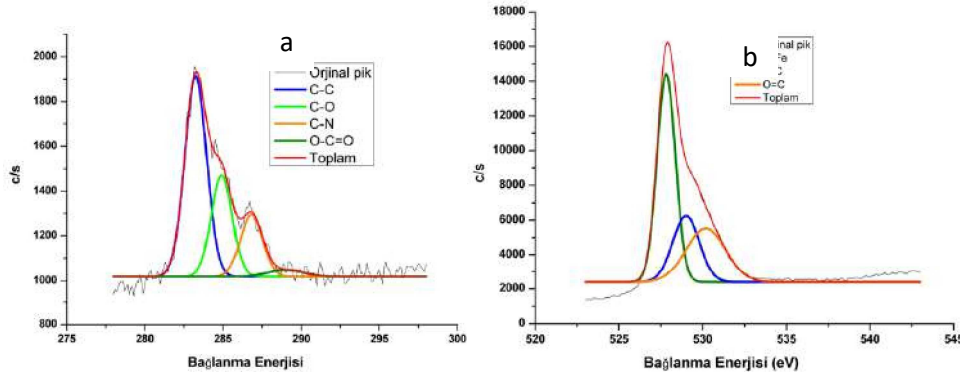
4.1. XPS Karakterizasyonu

Manyetik O-karboksümetil Kitosan nanokompozitinin başarılı bir şekilde sentezlendiğini gösteren genel ve yüksek çözünürlükteki XPS spektrumları Şekil 1, Şekil 2, Şekil 3 ve Şekil 4'te verilmiştir. Şekil 1'de verilen genel tarama spektrumunda görüldüğü gibi O-karboksümetil Kitosan nanokompozitinde C (1s), O (1s), Fe (2p₃) ve N(1s) atomları sırasıyla % 15.6, % 52.1, % 30.8 ve % 0.8 ağırlıkta bulunmuştur.



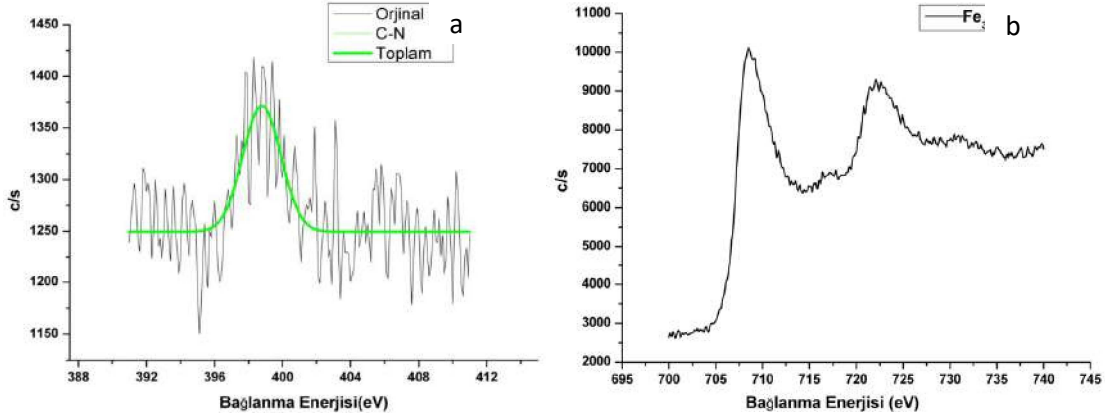
Şekil 1. Manyetik O-karboksümetil Kitosan nanokompoziti için XPS genel tarama spektrumu

Şekil 2a’da görüldüğü gibi C (1s)’e ait yüksek çözünürlük spektrumunda ~284.4 eV bağlanma enerjisindeki pik C-C bağlarını, ~286.4 eV bağlanma enerjisindeki pik C-O bağlarını, ~287.1 eV bağlanma enerjisindeki pik C-N bağlarını ve ~288.5 eV bağlanma enerjisindeki pik O-C=O bağlarını göstermiştir (Wang ve ark. 2014, Zhang ve ark. 2016). Şekil 2b’de görüldüğü gibi O (1s)’e ait yüksek çözünürlük spektrumunda ~528.0 eV bağlanma enerjisinde görülen pik O-Fe bağlarını, ~530.5 eV bağlanma enerjisinde görülen pik O-C bağlarını ve ~531.5 eV bağlanma enerjisinde görülen pik O=C bağlarını temsil etmiştir.



Şekil 2. Manyetik O-karboksümetil Kitosan nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki C 1s spektrumu (a) ve yüksek çözünürlükteki O 1s spektrumu (b)

Şekil 3a’da N (1s)’e ait yüksek çözünürlük spektrumunda ~398.1 eV bağlanma enerjisinde görülen pik C-N bağlarını varlığını göstermiştir (Zhang ve ark. 2016). Şekil 3b’de Fe’in oksidasyon durumunu belirleyen 2p_{3/2} ve 2p_{1/2} ait karakteristik pikler yüksek çözünürlük spektrumunda ~709.2 eV ve ~722.8 eV’de olarak görülmüştür. Sonuçlar literatürle uyum içindedir (Anderson ve ark. 1996, Godo ve ark. 2016).



Şekil 4. Manyetik O-karboksimetil Kitosan nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki N 1s spektrumu (a) ve yüksek çözünürlükteki Fe 2p spektrumu (b)

5. SONUÇ

Elde edilen sonuçlar doğrultusunda; biyouyumlu ve biyobozunur Manyetik O-karboksimetil Kitosan nanokompozitin başarılı bir şekilde sentezlendiği ve ilaç taşıma sistemleri için istenilen özellikğe sahip olduğunu görülmüştür.

6. REFERANSLAR

1. Bourrinet, P., Bengel, H.H., Bonnemain, B., Dencausse, A., Idee, J.-M., Jacobs, P.M., Lewis, J.M. 2006. Preclinical safety and pharmacokinetic profile of ferumoxtran-10, an ultrasmall superparamagnetic iron oxide magnetic resonance contrast agent. *Investigative Radiology*, 41(3), 313-324.
2. Figuerola, A., Di Corato, R., Manna, L., Pellegrino, T. 2010. From iron oxide nanoparticles towards advanced iron-based inorganic materials designed for biomedical applications. *Pharmacological Research*, 62(2), 126-143.
3. Verderio, P. 2014. Synthesis and Biofunctionalization of Novel Composite Nanocarriers for Targeted Detection and Treatment of Malignant Cells. PhD thesis, University of Milano-Bicocca of School of Doctorate in Chemical Sciences, Milano-Bicocca. 208.
4. Kean, T., Thanou, M. 2010. Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62(1), 3-11.
5. Ratajska, M., Boryniec, S. 1998. Physical and chemical aspects of biodegradation of natural polymers. *Reactive and Functional Polymers*, 38(1), 35-49.
6. Wang, C., Luo, H., Zhang, Z., Wu, Y., Zhang, J., Chen, S. 2014. Removal of As (III) and As (V) from aqueous solutions using nanoscale zero valent iron-reduced graphite oxide modified composites. *Journal of Hazardous Materials*, 268, 124-131.
7. Zhang, K., Zheng, H., Liang, S., Gao, C. 2016. Aligned PLLA nanofibrous scaffolds coated with graphene oxide for promoting neural cell growth. *Acta Biomaterialia*, 37, 131-142.
8. Anderson, J., Kuhn, M., Diebold, U. 1996. Epitaxially grown Fe₃O₄ thin films: an XPS study. *Surface Science Spectra*, 4(3), 266-272.
9. Godo, O., Gaskell, K., Pathak, G.K., Kyrtos, C.R., Ehrman, S.H., Shah, S.B. 2016. Characterization of fluorescent iron nanoparticles—candidates for multimodal tracking of neuronal transport. *Aims Bioengineering*, 3(3), 362-378.