

**NANO ÇÖKTÜRME VE ÇİFT EMÜLSİYON
ÇÖZÜCÜ BUHARLAŞTIRMA YÖNTEMİ İLE
HAZIRLANAN TEMOZOLOMİD YÜKLÜ
FORMÜLASYONLARIN ETKİNLİK VE
HEDEFE SEÇİCİLİK AÇISINDAN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Şule ŞAHİN

Eskişehir 2025

**NANO ÇÖKTÜRME VE ÇİFT EMÜLSİYON ÇÖZÜCÜ BUHARLAŞTIRMA
YÖNTEMİ İLE HAZIRLANAN TEMOZOLOMİD YÜKLÜ
FORMÜLASYONLARIN ETKİNLİK VE HEDEFE SEÇİCİLİK AÇISINDAN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Şule ŞAHİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmasötik Teknoloji Ana Bilim Dalı

Farmasötik Teknoloji Programı

Danışman: Doç. Dr. A. Alper ÖZTÜRK

İkinci Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Elif KAYA TİLKİ

Anadolu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Haziran 2025

Eskişehir

Bu tez çalışması Anadolu Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Koordinatörlüğü tarafından TYL-2024-2735 (ID: 2735) proje numarası ile desteklenmiştir.

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Şule ŞAHİN'in "Nano Çöktürme ve Çift Emülsiyon Çözücü Buharlaştırma Yöntemi ile Hazırlanan Temozolomid Yüklü formülasyonlarının Etkinlik ve Hedefe Seçicilik Açısından Karşılaştırılması" başlıklı tezi 30/06/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Teknoloji Ana Bilim dalında Farmasötik Teknoloji Programında Yüksek Lisans Yeterlik tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Ünvanı Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Danışman) :	Doç. Dr. A. Alper ÖZTÜRK	
Üye :	Prof. Dr. Ebru BAŞARAN	
Üye :	Dr. Öğr. Üyesi Tilbe ÇEVİKELLİ	

Prof. Dr. Nafiz Öncü CAN

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ÖZET

NANO ÇÖKTÜRME VE ÇİFT EMÜLSİYON ÇÖZÜCÜ BUHARLAŞTIRMA YÖNTEMİ İLE HAZIRLANAN TEMOZOLOMİD YÜKLÜ FORMÜLASYONLARIN ETKİNLİK VE HEDEFE SEÇİCİLİK AÇISINDAN KARŞILAŞTIRILMASI

Şule ŞAHİN

Farmasötik Teknoloji Ana Bilim Dalı

Farmasötik Teknoloji Programı

Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Haziran 2025

Danışman: Doç. Dr. A. Alper ÖZTÜRK

İkinci Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Elif KAYA TİLKİ

Glioblastoma multiforme (GBM) için tedavi seçenekleri oldukça sınırlıdır. En ölümcül birincil beyin tümörlerinden biridir. Temozolomid (TEM), GBM için standart kemoterapötik ajan olmasına rağmen, klinik etkinliği hızlı sistemik klirens, düşük beyin penetrasyonu ve seçici olmayan sitotoksikite nedeniyle ciddi şekilde engellenmektedir. Bu çalışmada, nanoçöktürme ve çift emülsiyon çözücü buharlaştırma teknikleri ile hazırlanan oral TEM salımı için iki yenilikçi PLGA tabanlı nanopartikül (NP) sistemi geliştirilmiş ve karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Parçacık boyutu, polidispersite indeksi (PDI), zeta potansiyeli (ZP), enkapsülasyon etkinliği (%EE), *in vitro* salım, salım kinetiği ve katı hal analizi (DSC ve FTIR) dahil olmak üzere kapsamlı fizikokimyasal karakterizasyon, olumlu özelliklere sahip nanosistemlerin başarılı bir şekilde oluştuğunu göstermiştir. Nanoçöktürme tekniği ile hazırlanan NP1-TEM kodlu formülasyon, çift emülsiyon çözücü buharlaştırma tekniği ile hazırlanan NP2-TEM kodlu formülasyona kıyasla daha küçük parçacık boyutu, daha dar boyut dağılımı, daha yüksek kapsülleme verimliliği ve daha verimli hücresel alım gibi üstün özellikler göstermiştir. Ayrıca, U-87 MG glioblastoma ve NIH/3T3 fibroblast hücre hatlarında yapılan sitotoksikite çalışmaları, NP1-TEM için gelişmiş tümör seçiciliği ve reaktif oksijen türleri (ROS) üretimini ortaya koyarak seçici tümör hedeflemesi potansiyelini vurgulamıştır. Bu tez çalışmasından elde edilen sonuçlar optimize edilmiş nanoenkapsülasyonun TEM salımını ve terapötik performansını önemli ölçüde iyileştirdiğini ve yeni nesil GBM tedavileri için umut verici bir strateji sunduğunu göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: Glioblastoma multiforme, Temozolomid, Antikanser, Nanoçöktürme, Çift emülsiyon çözücü buharlaştırma.

ABSTRACT

COMPARISON OF TEMOZOLOM ID-LOADED FORMULATIONS PREPARED BY NANOPRECIPITATION AND DOUBLE EMULSION SOLVENT EVAPORATION METHODS IN TERMS OF EFFECTIVENESS AND TARGET SELECTIVITY

Şule ŞAHİN

Department of Pharmaceutical Technology

Programme in Pharmaceutical Technology

Graduate School of Anadolu University, June 2025

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. A. Alper ÖZTÜRK

Co- Supervisor: Asst. Prof. Dr. Elif KAYA TILKI

Treatment options for glioblastoma multiforme (GBM) remain highly limited. As one of the most lethal primary brain tumors, GBM presents significant therapeutic challenges. Although temozolomide (TEM) is the standard chemotherapeutic agent used in GBM treatment, its clinical efficacy is severely hampered by rapid systemic clearance, low brain penetration, and non-selective cytotoxicity. In this study, two innovative oral TEM delivery systems based on PLGA nanoparticles (NPs) were developed and comparatively evaluated using nanoprecipitation and double emulsion solvent evaporation techniques. Comprehensive physicochemical characterization—including particle size, polydispersity index (PDI), zeta potential (ZP), encapsulation efficiency (%EE), in vitro release, release kinetics, and solid-state analysis (DSC and FTIR)—confirmed the successful formation of nanosystems with favorable properties. The NP1-TEM formulation, prepared via nanoprecipitation, demonstrated superior features compared to the NP2-TEM formulation obtained via the double emulsion technique, including smaller particle size, narrower size distribution, higher encapsulation efficiency, and more efficient cellular uptake. Furthermore, cytotoxicity studies conducted on U-87 MG glioblastoma and NIH/3T3 fibroblast cell lines revealed enhanced tumor selectivity and elevated reactive oxygen species (ROS) generation for NP1-TEM, highlighting its potential for selective tumor targeting. The findings of this thesis study indicate that optimized nanoencapsulation significantly improves the release and therapeutic performance of TEM, offering a promising strategy for the next generation of GBM treatments.

Keywords: Glioblastoma multiforme, Temozolomide, Anticancer, Nanoprecipitation, Double emulsion solvent evaporation.

30/06/2025

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmamın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “Bilimsel İntihal Tespit Programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

.....

(İmza)

Şule Şahin

30/06/2025

STATEMENT OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES AND RULES

I hereby truthfully declare that this thesis/dissertation is an original work prepared by me; that I have behaved in accordance with the scientific ethical principles and rules throughout the stages of preparation, data collection, analysis and presentation of my work; that I have cited the sources of all the data and information that could be obtained within the scope of this study, and included these sources in the references section; and that this study has been scanned for plagiarism with “Scientific Plagiarism Detection Program” used by Anadolu University, and that “it does not have any plagiarism” whatsoever. I also declare that, if a case contrary to my declaration is detected in my work at any time, I hereby express my consent to all the ethical and legal consequences that are involved.

(Signature)

.....

Şule ŞAHİN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezim boyunca bilgisi ve deneyimiyle bana rehberlik eden, gerek ders döneminde gerek tez döneminde bizden yardımlarını esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. A. Alper Öztürk'e,

Yine yüksek lisansım boyunca bilgi ve tecrübeleriyle bana katkıda bulunan Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı'nın kıymetli öğretim üyelerine, araştırma görevlilerine, dönem arkadaşlarıma ve tüm çalışanlarına,

Farmakolojik etkinlik çalışmalarımda laboratuvarlarını kullanmama izin veren Farmakoloji Anabilim Dalı'na ve bana bu deneylerde desteğini esirgemedi sunan yardımcı danışman hocam sn. Dr. Öğr. Üyesi Elif KAYA Tilki'ye,

Doğduğum günden beri bugünlere gelmemde büyük payı olan canım annem Şükran Şahin ve babam Mehmet Salih Şahin'e, tezimi yazmam için eczanemde gece gündüz hafta içi-hafta sonu demeden çalışan ve bana destek olan canım kardeşim Tarık Buğra Şahin'e, teşekkür ederim.

Son bir teşekkür de bu yolculuğumda beni maddi manevi destekleyen canım arkadaşlarıma gelmeli. Eskişehir'de kalacak yer ve sığınacak liman sponsorum olan canım arkadaşım Uzm. Ecz. Seda Baş Erdönmez'e ve onun değerli eşi; arkadaşım Uzm. Ecz. Burak Erdönmez'e yazıya dökülemeyecek kadar içten bir teşekkür etmek isterim. Bu süreçte çeşitli heyecan ve hezeyanlarımı sabırla dinleyen Büşra, Hilal, Merve, Esin ve Hilal'e teşekkürlerimi sunarım.

30/06/2025

ETİK KURUL BELGESİ BEYANNAMESİ

Bu tez çalışmasının hazırlanmasında, yürütülmesinde, verilerin analizinde Etik Kurul İzni'ne gerek yoktur

Şule Şahin

30/06/2025

ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI

Bu tezi hazırlarken (örneğin ChatGPT, Gemini, DALL-E vb.) üretken yapay zekâ programlarından destek aldığımı beyan ederim. Tezin hazırlığı aşamasında üretken yapay zekâ programlarından (örneğin çeviri, bilimsel makale vb.) desteği aldım. Üretken yapay zekâ programlarından aldığım bilgilerin doğruluğunu kontrol ettiğimi bildiririm.

Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

.....

(İmza)

.....

Şule ŞAHİN

30/06/2025

DECLARATION OF GENERATIVE ARTIFICIAL INTELLIGENCE USAGE

I declare that I received support from generative artificial intelligence programs (for example ChatGPT, Gemini, DALL-E, etc.) while preparing this thesis/dissertation. I have received support from generative artificial intelligence programs (for example language translation, access to scientific articles, etc.) during the preparation of the thesis/dissertation. I declare that I have checked the accuracy of the information I received from generative artificial intelligence programs.

I also declare that, if a case contrary to my declaration is detected in my work at any time, I hereby express my consent to all the ethical and legal consequences that are involved.

.....

(Signature)

.....

Şule ŞAHİN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	v
STATEMENT OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES AND RULES	vi
TEŞEKKÜR	vii
ETİK KURUL BELGESİ BEYANNAMESİ	viii
ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI	ix
DECLARATION OF GENERATIVE ARTIFICIAL INTELLIGENCE USAGE ..	x
İÇİNDEKİLER.....	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xx
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. KAYNAK BİLGİSİ	3
2.1 Kanser	3
2.2 Glioblastoma Multiform	4
2.2.1 GBM'nin moleküler tanısı	4
2.3 Temozolomid	7
2.3.1 Kimyasal ve moleküler özellikler	9
2.3.2 Farmakoloji ve etki mekanizması	9
2.3.3 Farmakokinetik ve farmakodinamik özellikler	10
2.3.4 Glioblastoma multiforme tedavisinde kullanımı	11
2.3.5 Yan etkiler ve güvenlik profili.....	11
2.4 Nanopartiküller	11
2.4.1 Polimerik nanopartiküller	13
2.4.1.1 Polimerik nanopartiküllerin avantajları ve dezavantajları.....	13
2.4.2 Polimerik nanopartikül hazırlamada kullanılan polimerler	16

2.4.3 Zincir yapısına göre polimerler.....	16
2.4.3.1 Düz zincirli polimerler.....	16
2.4.3.2 Hetero zincirli polimerler.....	16
2.4.4 Kaynağına göre polimerler	17
2.4.4.1 Sentetik polimerler	17
2.4.4.1.1 Biyoparçalanabilir polimerler.....	18
2.4.4.1.2 Biyoparçalanmayan polimerler	18
2.4.4.2 Doğal polimerler.....	18
2.5 PLGA.....	19
2.5.1 PLGA'nın fizikokimyasal özellikleri	20
2.5.2 Resomer® RG 502 H	21
2.6 Polimerik Nanopartikül Hazırlanmasında Kullanılan Teknikler	21
2.6.1 Diyaliz tekniği	21
2.6.2 Süper kritik sıvı teknolojisi.....	22
2.6.3 Çözücü buharlaştırma tekniği.....	23
2.6.4 Tuzla çöktürme tekniği	26
2.6.5 Püskürterek kurutma tekniği.....	27
2.6.6 Nanoçöktürme yöntemi.....	28
2.7 Nanopartiküllerin Karakterizasyonu.....	30
2.7.1 Parçacık boyutu ve dağılımı	30
2.7.2 Zeta potansiyel.....	31
2.7.3 Yapısal analiz.....	31
2.7.4 İlaç salımı / dissolüsyon.....	32
2.7.4.1 Ultraviyole-Görünür Spektroskopisi (UV-Vis).....	33
3. GEREÇLER.....	34
3.1 Kullanılan Maddeler.....	34
3.2 Kullanılan Cihazlar.....	34
4. YÖNTEM	35
4.1 Nanopartikül Formülasyonlarının Hazırlanması	35
4.1.1 Nanoçöktürme tekniği ile PLGA bazlı nanopartikül formülasyonlarının hazırlanması.....	35
4.1.2 Çift emülsiyon solvent buharlaştırma tekniği ile PLGA bazlı nanopartikül formülasyonlarının hazırlanması	36

4.2 Nanopartikül Formülasyonlarının Karakterizasyonu.....	37
4.2.1 Analitik miktar tayini için validasyon çalışmaları	37
4.2.1.1 Temozolomid için dimetilformamid:su (1:1, h/h) ortamında	
validasyon çalışması.....	37
4.2.1.1.1 Absorbans belirleme çalışmaları	37
4.2.1.1.2 Doğrusallık.....	38
4.2.1.1.3 Kesinlik.....	38
4.2.1.1.4 Doğruluk	38
4.2.1.1.5 Duyarlılık	38
4.2.1.1.6 Seçicilik.....	39
4.2.1.2 Temozolomid için PBS (pH 7.4) ortamında validasyon çalışması.....	39
4.2.1.2.1 Absorbans belirleme çalışmaları	39
4.2.1.2.2 Doğrusallık.....	39
4.2.1.2.3 Kesinlik.....	40
4.2.1.2.4 Doğruluk	40
4.2.1.2.5 Duyarlılık	40
4.2.1.2.6 Seçicilik.....	40
4.2.2 Partikül boyutu, Polidispersite İndeksi (PDI) ve zeta potansiyeli	40
4.2.3 Enkapsülasyon Etkinliği (%EE)	41
4.2.4 <i>In Vitro</i> Salım	41
4.2.5 Salım Kinetiği.....	42
4.2.6 Katı Hal Karakterizasyonu	42
4.2.6.1 Termal Analiz.....	42
4.2.6.2 Fourier-Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi Analizi.....	42
4.3 Nanopartikül Formülasyonlarının Biyolojik Aktivite Çalışmaları	43
4.3.1 U-87 MG ve NIH/3T3 hücre kültürü çalışması	43
4.3.2 MTT yöntemi ile hücre canlılığının belirlenmesi	43
4.4 Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) Oluşumunun Belirlenmesi	44
5. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	45
5.1 Analitik Miktar Tayini İçin Validasyon Çalışmaları.....	45
5.1.1 Temozolomid için DMF:su ortamında validasyon çalışması.....	45
5.1.1.1 Absorbans belirleme	45
5.1.1.2 Doğrusallık	45

5.1.1.3 Kesinlik	46
5.1.1.4 Doğruluk	48
5.1.1.5 Duyarlılık	48
5.1.1.6 Seçicilik	48
5.1.2 Temozolomid için PBS (pH 7.4) ortamında validasyon çalışması	51
5.1.2.1 Absorbans belirleme	51
5.1.2.2 Doğrusallık	52
5.1.2.3 Kesinlik	53
5.1.2.4 Doğruluk	54
5.1.2.5 Duyarlılık	55
5.1.2.6 Seçicilik	55
5.2 Nanopartikül Formülasyonlarının Karakterizasyonu	58
5.2.1 Parçacık boyutu, Polidispersite İndeksi (PDI) ve zeta potansiyeli	58
5.2.2 Enkapsülasyon etkinliği	63
5.2.3 <i>In vitro</i> salım	64
5.2.4 Salım kinetiği	69
5.3 Katı Hal Karakterizasyonu	74
5.3.1 Termal analiz	74
5.3.2 Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi analizi	77
5.4 Nanopartikül Formülasyonlarının Biyolojik Aktivite Çalışmaları	81
5.4.1 Temozolomid yüklü nanopartiküllerin U-87 MG ve NIH/3T3 hücre canlılığı üzerindeki etkileri	81
5.4.2 Nanopartiküllerin ROS oluşumu üzerindeki etkileri	88
6. SONUÇ	90
KAYNAKÇA	91
ÖZ GEÇMİŞ	

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1 GBM Tedavisinde Kullanılan Yöntemler.....	6
Tablo 2.2 Temozolomid İçeren Türkiye’deki Müstahzarlar	8
Tablo 2.3 TEM İçin Bazı Kimyasal Bilgiler.....	9
Tablo 2.4 NP sistemlerin Bazı Avantajları	15
Tablo 2.5 NP Sistemlerin Bazı Dezavantajları	16
Tablo 2.6 NP Sistemlerinin Hazırlanmasında Kullanılan Bazı Sentetik Polimerlerin Avantajları	17
Tablo 2.7 Sentetik Polimerlerin Bir Sınıflandırması.....	18
Tablo 2.8 Polimerlerin Kaynaklarına Göre Sınıflandırılması	19
Tablo 2.9 Nanopartikül Hazırlama Teknikleri	21
Tablo 4.1 Nanoçöktürme Tekniğiyle Hazırlanan PLGA Bazlı Nanopartikül Formülasyonlarının Bileşimi	36
Tablo 4.2 Çift Emülsiyon Çözücü Buharlaştırma Tekniğiyle Hazırlanan PLGA Bazlı Nanopartikül Formülasyonlarının Bileşimi	37
Tablo 5.1 Doğrusallık Çalışması Sonuçları (DMF:Su Ortamı)	46
Tablo 5.2 5.0 µg.mL ⁻¹ Konsantrasyon İçin Kesinlik Sonuçları (DMF:Su Ortamı).....	47
Tablo 5.3 10.0 µg.mL ⁻¹ Konsantrasyon İçin Kesinlik Sonuçları (DMF:Su Ortamı).....	47
Tablo 5.4 15.0 µg.mL ⁻¹ Konsantrasyon İçin Kesinlik Sonuçları (DMF:Su Ortamı).....	47
Tablo 5.5 Doğruluk Çalışması Sonuçları (DMF:Su Ortamı)	48
Tablo 5.6 Doğrusallık Çalışması Sonuçları (PBS Ortamı)	52
Tablo 5.7 5.0 µg.mL ⁻¹ Konsantrasyon İçin Kesinlik Sonuçları (PBS Ortamı)	53
Tablo 5.8 10.0 µg.mL ⁻¹ Konsantrasyon İçin Kesinlik Sonuçları (PBS Ortamı)	54
Tablo 5.9 15.0 µg.mL ⁻¹ Konsantrasyon İçin Kesinlik Sonuçları (PBS Ortamı)	54
Tablo 5.10 Doğruluk çalışması sonuçları (PBS Ortamı)	55
Tablo 5.11 Partikül Boyutu (PB), Polidispersite İndeksi (PDI), Zeta Potansiyel (ZP) ve Enkapsülasyon Etkinliği (% EE) Sonuçları	58

Tablo 5.12 In Vitro Salım Sonuçları	66
Tablo 5.13 Salım Kinetiği Çalışması Sonuçları	69
Tablo 5.14 NP1-TEM ve NP2-TEM Formülasyonları Arasında Benzerlik Faktörü (f_2) Analizi Sonuçları	74
Tablo 5.15 Hücre Canlılığı Verilerinden Elde Edilen TEM ve Formülasyonlar İçin IC_{50} ve SI Değerleri	87

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1 Temozolomid'in Moleküler Formu.....	9
Şekil 2.2 https://tr.wikipedia.org/wiki/PLGA	20
Şekil 2.3 Nanopartikül Üretiminde Kullanılan Diyaliz Tekniğinin Şematik Olarak Gösterimi	22
Şekil 2.4 Nanopartikül Üretiminde Kullanılan Farklı Süper Kritik Sıvı Teknolojisi Tekniklerinin Şematik Olarak Gösterimi.....	23
Şekil 2.5 Nanopartikül Üretiminde Kullanılan Tek Emülsiyon Çözücü Buharlaştırma Tekniğinin Şematik Olarak Gösterimi	25
Şekil 2.6 Nanopartikül Üretiminde Kullanılan Çift Emülsiyon Çözücü Buharlaştırma Tekniğinin Şematik Olarak Gösterimi	25
Şekil 2.7 Nanopartikül Üretiminde Kullanılan Tuzla Çöktürme Tekniğinin Şematik Olarak Gösterimi.....	26
Şekil 2.8 Nanopartikül Üretiminde Kullanılan Püskürterek Kurutma Tekniğinin Şematik Olarak Gösterimi.....	27
Şekil 2.9 Nanoçöktürme Yöntemi Şematik Gösterimi	28
Şekil 5.1 Temozolomide ait 200-800 nm Arasında Elde Edilen Spektrum (DMF:su Ortamı, $\lambda_{max}=327.0$ nm).....	45
Şekil 5.2 Temozolomidin Standart Eğrisi (DMF:su Ortamı)	46
Şekil 5.3 Temozolomide ait Spektrum (DMF:Su Ortamı)	49
Şekil 5.4 NP1-Blank Kodlu Formülasyona ait Spektrum (DMF:Su Ortamı).....	49
Şekil 5.5 NP2-Blank Kodlu Formülasyona ait Spektrum (DMF:Su Ortamı).....	50
Şekil 5.6 DMF:su (1:1, h/h) Karışımına ait Spektrum (DMF:Su Ortamı)	50
Şekil 5.7 Temozolomide ait 200-800 nm Arasında Elde Edilen Spektrum (PBS Ortamı, $\lambda_{max}=327.0$ nm).....	52
Şekil 5.8 Temozolomidin Standart Eğrisi (PBS Ortamı)	53
Şekil 5.9 Temozolomid'e ait Spektrum (PBS Ortamı).....	55
Şekil 5.10 NP1-Blank Kodlu Formülasyona ait Spektrum (PBS Ortamı)	56
Şekil 5.11 NP2-Blank Kodlu Formülasyona ait Spektrum (PBS Ortamı)	56

Şekil 5.12 PBS’e ait Spektrum (PBS Ortamı)	57
Şekil 5.13 Parçacık Boyutu Sonuçlarının İstatistiksel Değerlendirmesi (PS: Particle size / Parçacık boyutu, Önemli Farklılıklar * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$ Olarak Gösterilirken, Anlamlı Bir Fark Olmadığında $p > 0,05$ veya ns Olarak Gösterilir.).....	58
Şekil 5.14 PDI Sonuçlarının İstatistiksel Değerlendirmesi (Önemli farklılıklar * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$ Olarak Gösterilirken, Anlamlı Fark Olmadığında $p > 0,05$ veya ns Olarak Gösterilir.).....	60
Şekil 5.15 Zeta Potansiyeli Sonuçlarının İstatistiksel Değerlendirmesi (Önemli Farklılıklar * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$ Olarak Gösterilirken, Anlamlı Fark Olmadığında $p > 0,05$ veya ns Olarak Gösterilir)	62
Şekil 5.16 Temozolomid, NP1-TEM ve NP2-TEM İçin 72 Saatlik Kümülatif Salım Grafiği.....	67
Şekil 5.17 Temozolomid, NP1-TEM ve NP2-TEM İçin 24 Saatlik Kümülatif Salım Grafiği.....	68
Şekil 5.18 NP1-TEM Kodlu Formülasyon İçin Korsmeyer-Peppas Modeli Grafiği. *Observed: Elde Edilen Salım Profili, Predicted: Beklenen Salım Profili.....	70
Şekil 5.19 NP2-TEM Kodlu Formülasyon İçin Korsmeyer-Peppas Modeli Grafiği. *Observed: Elde Edilen Salım Profili, Predicted: Beklenen Salım Profili.....	70
Şekil 5.20 NP1-TEM Kodlu Formülasyon İçin Higuchi Modeli Grafiği. *Observed: Elde Edilen Salım Profili, Predicted: Beklenen Salım Profili	71
Şekil 5.21 NP2-TEM Kodlu Formülasyon İçin Higuchi Modeli Grafiği. *Observed: Elde Edilen Salım Profili, Predicted: Beklenen Salım Profili	71
Şekil 5.22 NP1-TEM Kodlu Formülasyon İçin Wiebull Modeli Grafiği. *Observed: Elde Edilen Salım Profili, Predicted: Beklenen Salım Profili	72
Şekil 5.23 NP2-TEM Kodlu Formülasyon İçin Wiebull Modeli Grafiği. *Observed: Elde Edilen Salım Profili, Predicted: Beklenen Salım Profili	72
Şekil 5.24 Temozolomid İçin DSC Termogramı.....	74
Şekil 5.25 PLGA İçin DSC Termogramı.....	75
Şekil 5.26 NP1-Blank İçin DSC Termogramı	75
Şekil 5.27 NP1-TEM İçin DSC Termogramı	75
Şekil 5.28 NP2-Blank İçin DSC Termogramı	76
Şekil 5.29 NP2-TEM İçin DSC Termogramı	76
Şekil 5.30 Temozolomid İçin FTIR Spektrumu	77

Şekil 5.31 PLGA İçin FTIR Spektrumu	78
Şekil 5.32 NP1-Blank İçin FTIR Spektrumu.....	78
Şekil 5.33 NP1-TEM İçin FTIR Spektrumu.....	79
Şekil 5.34 NP2-Blank İçin FTIR Spektrumu.....	79
Şekil 5.35 NP2-TEM İçin FTIR Spektrumu.....	79
Şekil 5.36 Temozolomid İçin U-87 MG Glioblastoma Hücre Hattı Üzerindeki Hücre Canlılığı Grafiği.....	82
Şekil 5.37 NP1-Blank İçin U-87 MG Glioblastoma Hücre Hattı Üzerindeki Hücre Canlılığı Grafiği.....	82
Şekil 5.38 NP1-TEM İçin U-87 MG Glioblastoma Hücre Hattı Üzerindeki Hücre Canlılığı Grafiği.....	83
Şekil 5.39 NP2-Blank İçin U-87 MG Glioblastoma Hücre Hattı Üzerindeki Hücre Canlılığı Grafiği.....	83
Şekil 5.40 NP2-TEM İçin U-87 MG Glioblastoma Hücre Hattı Üzerindeki Hücre Canlılığı Grafiği.....	84
Şekil 5.41 Temozolomid İçin NIH/3T3 Hücre Hattı Üzerindeki Hücre Canlılığı Grafiği.....	85
Şekil 5.42 NP1-Blank İçin NIH/3T3 Hücre Hattı Üzerindeki Hücre Canlılığı Grafiği ..	85
Şekil 5.43 NP1-TEM İçin NIH/3T3 Hücre Hattı Üzerindeki Hücre Canlılığı Grafiği ..	86
Şekil 5.44 NP2-Blank İçin NIH/3T3 Hücre Hattı Üzerindeki Hücre Canlılığı Grafiği ..	86
Şekil 5.45 NP2-TEM İçin NIH/3T3 Hücre Hattı Üzerindeki Hücre Canlılığı Grafiği ..	87
Şekil 5.46 TEM ile Uyarılan U87-MG Hücrelerinde ROS Üretimi.....	88
Şekil 5.47 NP1-TEM ile Uyarılan U87-MG Hücrelerinde ROS Üretimi	89
Şekil 5.48 NP2-TEM ile Uyarılan U87-MG Hücrelerinde ROS Üretimi	89

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

% EE	: Enkapsülasyon etkinliği
°C	: Derece santigrat
$\mu\text{g.mL}^{-1}$	: Mikrogram/mililitre
a/h	: Ağırlık/hacim
AIC	: Akaike Bilgi Kriteri
ATP	: Adenozin trifosfat
BCNU	: Karmustin
DLS	: Dinamik ışık saçılımı
DMF	: Dimetilformamit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DSC	: Diferansiyel Taramalı Kalorimetri
EGF	: Epitelyal Büyüme Faktörü
EMA	: Avrupa İlaç Ajansı
FDA	: ABD Gıda ve İlaç Dairesi
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopi
FTS	: Fourier Dönüşümlü Spektroskopi
GBM	: Glioblastoma Multiform
h/h	: Hacim/hacim
HGF	: Hepatosit Büyüme Faktörü
ICH	: Uluslararası Harmanizasyon Konseyi
IDH	: İzositrat dehidrogenaz
LOD	: Tespit Sınırı
LOQ	: Ölçüm Sınırı
M	: Korelasyon Eşitliğinin Eğimi

mg/mL	: Miligram/mililitre
MGMT	: Metil Guanin Metil Transferaz
MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
MRI	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MTIC	: 5-(3-methyltriazin-1-yl) imidazole-4-carboxamide
MTKI	: Çoklu hedefli tirozin kinaz inhibitörü
NADP	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
nm	: Nanometre
NP	: Nanopartikül
NP1-BLANK	: Nanoçöktürme tekniği ile hazırlanan boş nanopartikül formülasyonu
NP1-TEM	: Nanoçöktürme tekniği ile hazırlanan temozolomid yüklü nanopartikül formülasyonu
NP2-BLANK	: Çift emülsiyon çözücü buharlaştırma tekniği ile hazırlanan boş nanopartikül formülasyonu
NP2-TEM	: Çift emülsiyon çözücü buharlaştırma tekniği ile hazırlanan temozolomid yüklü nanopartikül formülasyonu
OS	: Oksidatif stres
PACA	: Polialkil siyanoakrilat
PBS	: Fosfat Tampon Çözeltisi
PCL	: Polikaprolakton
PCS	: Foton korelasyon spektroskopisi
PDI	: Parçacık Boyutu Dağılımı
PEG	: Poli(etilen glikol)
PEO	: Poli(etilen oksit)
PGA	: Poliglikolik asit
PGDF	: Trombositten türetilmiş Büyüme Faktörü

PLA	: Polilaktik asit
PLGA	: Poli-laktik- <i>ko</i> -glidikolik asit
PNP	: Polimerik Nanopartikül
POE	: Poliortoester
PPO	: Poli(propilen oksit)
PS	: Partikül boyutu
PTEN	: Fosfotensin Analogu
PVA	: Polivinil alkol
R ²	: Korelasyon katsayısı
R ² _{adjusted}	: Düzeltilmiş korelasyon satısı
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RSD %	: Varyasyon Katsayısı
RT	: Radyoterapi
S/Y/S	: Su içinde yağ -su içinde
TCGA	: Kanser Genom Atlası
TEM	: Temozolomid
TERT	: Telomeraz reverse transkriptaz
Tg	: Camsı geçiş sıcaklığı
TGF	: Transgranüle Büyüme Faktörü
UV	: Ultraviyole
UV-Vis	: UV Spektroskopisi
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
XRD	: X-ışını Kırınımı
Y/S	: Su içinde yağ
ZP	: Zeta Potansiyel

ZS : Zetasizer

λ_{maks} : Maksimum Dalga boyu

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Glioblastoma multiform (GBM), erişkinlerde en sık görülen ve en kötü prognoza sahip birincil malign beyin tümörüdür. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından derece IV olarak sınıflandırılan bu tümör, hızlı proliferasyon, yüksek invazivlik ve yaygın tedavi direnci ile karakterizedir. GBM'nin mevcut tedavi yaklaşımlarına rağmen medyan sağkalım süresi genellikle 12 ila 15 ay arasında değişmekte olup, hastalığın tekrarlama oranı oldukça yüksektir. Standart tedavi rejimi; tümör kütlelerini azaltmak için yapılan maksimal güvenli cerrahi rezeksiyonun ardından radyoterapi ile birlikte temozolomid (TEM) adlı oral kemoterapötik ajanla eş zamanlı kemoterapi uygulanmasını içermektedir. Ancak bu çok modlu tedavi yaklaşımı, sıklıkla palyatif etki sağlamakta ve tümör rekürrensini önlemede yetersiz kalmaktadır.

TEM, DNA'nın guanin bazı üzerinde O6 metilasyonuna neden olarak apoptozisi indükleyen, oral yoldan uygulanan bir alkilendirici ajan olup, merkezi sinir sistemi tümörlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. TEM'in en önemli avantajlarından biri, kan-beyin bariyerini geçme kapasitesidir. Ancak buna rağmen, klinik etkinliği çeşitli farmakokinetik ve farmasötik sınırlamalar nedeniyle kısıtlanmaktadır. Özellikle kısa yarı ömrü (yaklaşık 1.8-2 saat), pH'ya duyarlılığı nedeniyle hızla inaktif metabolitlere (MTIC ve AIC) dönüşmesi, düşük beyin dokusu biyoyararlanımı ve sistemik toksisite riski, TEM'in tedavi etkinliğini azaltan başlıca faktörlerdir. Literatürde bildirilen bulgulara göre, oral yoldan verilen TEM'in %1'den azı aktif formda beyin dokusuna ulaşmakta ve bu da terapötik etkinliğin sınırlı kalmasına neden olmaktadır. Bu durum, daha yüksek sistemik doz uygulamalarını zorunlu kılmakta ve hematolojik toksisiteler başta olmak üzere ciddi yan etkilere yol açmaktadır.

Bu zorlukları aşmak amacıyla geliştirilen nano-taşıyıcı sistemler, son yıllarda TEM'in terapötik profilini iyileştirmek için umut vaat etmektedir. Özellikle polimerik nanopartiküller (NP'ler), ilacın stabilitesini artırmak, biyoyararlanımını iyileştirmek, dolaşım süresini uzatmak ve hedef dokuda birikimini sağlamak açısından önemli avantajlar sunmaktadır. Bu sistemlerin geliştirilmesinde en sık tercih edilen biyobozunur polimerlerden biri olan polilaktik-ko-glikolik asit (PLGA), FDA ve EMA onaylı bir materyal olarak öne çıkmaktadır. PLGA, biyoyuumluluğu, kontrollü salım sağlayabilme kapasitesi ve yüzey modifikasyonuna uygunluğu ile dikkat çekmektedir. Bu özellikleri

sayesinde PLGA, özellikle beyin tümörü gibi hedeflenmesi zor olan bölgelerde ilaç taşıyıcı sistemler için uygun bir adaydır.

Bu çalışmada, TEM yüklü PLGA NP'ler hem nanoçöktürme hem de çift emülsiyon-çözücü buharlaştırma teknikleri kullanılarak hazırlanmıştır. Bu iki farklı üretim tekniği, ilacın enkapsülasyon etkinliği, parçacık boyutu, polidispersite indeksi, zeta potansiyeli ve salım profili gibi temel parametreler açısından karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, FTIR ve DSC analizleri ile ilaç-polimer uyumu ve fiziksel durum değişimleri incelenmiştir.

Çalışmanın bir diğer önemli yönü ise geliştirilen NP formülasyonlarının seçici toksisite potansiyelini değerlendirmek amacıyla yapılan *in vitro* hücre çalışmalarıdır. Bu kapsamda, insan glioblastoma hücre hattı (U-87 MG) ve normal fibroblast hücre hattı (NIH3T3) kullanılarak sitotoksikite ve hücre içi reaktif oksijen türleri (ROS) düzeyleri analiz edilmiştir. ROS düzeylerindeki artış, oksidatif stres aracılığıyla indüklenen sitotoksikiteyi yansıtmakta olup, bu parametre aracılığıyla tümör seçiciliği değerlendirilmiştir.

Bu bağlamda, çalışmanın temel amacı; TEM'in farmakokinetik kısıtlamalarını aşmak üzere PLGA bazlı NP sistemleri geliştirmek, farklı üretim yöntemlerinin formülasyon karakteristikleri üzerindeki etkilerini karşılaştırmak ve geliştirilen sistemlerin glioblastoma hücrelerine karşı seçici sitotoksik etkisini ortaya koymaktır. Bu yaklaşım, konvansiyonel kemoterapinin sınırlamalarını aşarak, daha etkin ve hedefe yönelik bir tedavi stratejisi sunma potansiyeli taşımaktadır.

2. KAYNAK BİLGİSİ

2.1 Kanser

Kanser, vücuttaki hücrelerin kontrolsüz bir şekilde büyümesi ve yayılmasıyla karakterize edilen karmaşık bir hastalık grubudur. Dünya genelinde ölüm nedenleri arasında ilk sıralarda yer almakta olup, yaşam kalitesini ve süresini ciddi şekilde etkileyebilmektedir. Kanserin anlaşılması, etkili tedavi ve önleme stratejilerinin geliştirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Kanser, normal hücrelerin genetik ve epigenetik değişiklikler sonucu kontrolsüz bir şekilde çoğalmasıyla oluşmaktadır. Bu süreçte, hücre döngüsünü düzenleyen genlerde meydana gelen mutasyonlar, hücrelerin apoptozdan kaçmasına ve sınırsız bölünme yeteneği kazanmasına neden olmaktadır. Ayrıca, tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu ve onkogenlerin aktivasyonu da kanser gelişiminde kritik rol oynadığı bilinmektedir. Onkogen epigenetik değişiklikler, DNA metilasyonu ve histon modifikasyonları gibi mekanizmalarla gen ekspresyonunu etkileyerek kanser oluşumuna katkıda bulunabilmektedir. (Şeydel & Aksoy, 2009) (Kiri & Ryba, 2024)

Kanserler, kökenlerinin bulunduğu hücre tipine ve dokuya göre sınıflandırılmaktadır. Başlıca kanser türleri şunlardır: karsinomlar (epitel hücrelerinden), sarkomlar (bağ dokusu, kas ve kemik), lösemiler (kan hücreleri), lenfomalar (lenfatik sistem), melanomlar (melanositler). Her kanser türü, farklı biyolojik özelliklere ve tedavi yaklaşımlarına sahiptir. (Hanahan,2022). Bu tez çalışmasında kanser türlerinden Glioblastoma Multiform (GBM) incelenmiştir ve ilgili kemoterapötik ajanların tedavideki etkinliğini nasıl arttırabileceği tartışılmıştır.

Kanser tedavisinde kullanılan yöntemler, hastalığın türüne, evresine ve hastanın genel sağlık durumuna bağlı olarak değişmektedir. Cerrahi yaklaşım, lokalize tümörlerin çıkarılmasında önemli bir yer tutmaktadır. (Gohil et al., 2022) Radyoterapi, yüksek enerjili ışınlarla kanser hücrelerinin yok edilmesini sağlamaktadır. Kemoterapi, hızla bölünen hücreleri hedef alır ancak sağlıklı hücrelere de zarar verebildiği bilinmektedir. Hedefe yönelik tedaviler, spesifik moleküler hedeflere yönelik ilaçlarla sağlıklı dokulara daha az zarar vermektedir. İmmünoterapi ile bağışıklık sistemini aktive ederek kanser hücrelerini yok etmektedir. Hormon tedavisi, bazı hormon bağımlı kanserlerde etkili olabilmektedir. Kombinasyon tedavileri ise farklı yöntemlerin birlikte kullanılmasıyla daha etkili sonuçlar sağlayabildiği kanıtlanmış bir yaklaşımdır (Ali et al., 2023).

2.2 Glioblastoma Multiforme

Glioblastoma Multiforme (GBM), kötü huylu bir beyin tümörü olup, kesin tedavisi olmayan primer beyin tümörlerinden bir tümör çeşididir. Nöroglial kök veya progenitör hücrelerinden kaynaklandığı düşünülen intrinsik bir beyin tümörüdür. (Weller et al., 2019) GBM, gliomların kötü huylu türlerinin %81'ini oluşturan oldukça agresif bir beyin tümörü çeşididir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), GBM'yi derece IV tümör olarak sınıflandırmıştır, bu da onun oldukça agresif ve infiltratif doğasını göstermektedir. (Ke et al., 2025)

GBM tedaviye dirençli bir kanser tipidir. Bu sebeple hasta prognozu da düşüktür. Bu durum medyan sağ kalım süresini 15 aya kadar indirmektedir. Yapılan araştırmalara göre hastaların %27'si 2 yıl yaşamaktadır. Standart birinci basamak tedavi önce cerrahi rezeksiyon uygulamasıdır. Bununla birlikte, tedavi büyük ölçüde palyatiftir ve nüks neredeyse kaçınılmazdır, bu da daha etkili terapötik stratejilere acil ihtiyacın altını çizmektedir. (Ostrom et al., 2020)

Cerrahi operasyon sonrası hastalığın nüks olmaması için radyoterapi ve Temozolomid (TEM) ile kemoterapi en yaygın yaklaşımlardan biridir. Cerrahi operasyon, tümörün mümkün olduğunca çıkarılmasını amaçlamaktadır; fakat GBM infiltratif bir kanser türüdür. Bu yüzden tamamen çıkarılması neredeyse imkansızdır. Bu yüzden nüks etme olasılığı da oldukça yüksektir. Kemoterapi tercih etmenin bir diğer sebebi de bu durumdur. (Baykara, 2016) (Brandes et al., 2008) (Zanders et al., 2019)

GBM görülme sıklığı yaşla beraber artmakta ve erkeklerde kadınlara göre yaklaşık 1,7 kat daha sık görülmektedir. (Brandes et al., 2008)

GBM tanısı koymak için gadolinyum ile güçlendirilmiş manyetik rezonans görüntüleme (MRI) standart bir prosedürün parçası olarak kullanılmaktadır.(Oronsky vd., 2021)

2.2.1 GBM'nin moleküler tanısı

Telomeraz reverse transkriptaz (TERT) promotör mutasyonu veya epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) gen amplifikasyonu tüm kromozom kazancı 7 ve tüm kromozom 10 kaybı (+7/-10) gibi GBM ile ilişkili genetik değişikliklerin moleküler olarak tespiti IDH-vahşi tip GBM tanısına olanak tanımaktadır.(Guo vd., 2023)

GBM patogenezi üzerine yapılan araştırmalarla yeni tedavi yöntemleri geliştirilmektedir ve hastalığın daha iyi ve kolay kontrolü sağlanmaya çalışılmaktadır. Tümör direncini

bulmak ve buna göre ilaç veya tedavi geliştirmek oldukça önemlidir. Maligniteye dönüş, genetik değişikliklerin ve büyüme faktörü sinyal yollarının anormal düzenlenmesinin peş peşe birikmesinden kaynaklanmaktadır. Bu anormal çoğalmalar, epidermal büyüme faktörü (EGF), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), trombositte türetilmiş büyüme faktörü (PGDF), hepatosit büyüme faktörü (HGF) gibi moleküller ve fosfotensin analog (PTEN) kaybı yoluyla gerçekleşir. Büyüme sinyal yollarındaki aşağı akış kaskadları tetiklenebilir. Tümörler nüks ettiğinde, daha yüksek bir histolojik dereceye ilerleme gösterir ve bu da hastalığın doğal seyrini göstermektedir.(Pouyan vd., 2025)

Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADP+) bağımlı izositrat dehidrojenazdaki (IDH1) mutasyon, GBM’de prognozu olumlu olarak değiştirmekte ve TEM’e yanıt tahmini sağlamaktadır. Ayrıca vahşi tip IDH anaplastik astrositomlu hastalar, IDH mutasyona uğramış hastalardan daha kötü prognoza sahiptir.(Louis vd., 2016)

GBM’nin moleküler heterojenliğinin arttığı durumlara dayanarak Kanseri Genom Atlası (TCGA), bu tümörü çeşitli moleküler alt sınıflara ayırmıştır. Bunlar; klasik, mezenkimal, pronral ve nöral tipler olarak adlandırılır. Bu tümörleri genetik değişikliklerine ve PDGFRA, EGFR, NF ve IDH’in ekspresyon profillerine dayanarak sınıflandırmışlardır. Bu heterojenlik hastalar arasında da farklı tedavi yaklaşımlarıyla farklı tedavi etkinliğine yol açar. Bu da her hastanın tedavisinin spesifik olması gerektiğini açıklar. (Tomczak vd., 2015)(Brennan vd., 2013)

GBM tedavisi için tartışılan çeşitli yaklaşımlar ve tedaviler bulunmaktadır. Bunlar; cerrahi rezeksiyon, kemoterapi, karmustin ve lomustin gibi nitrozreler, radyoterapi, molekül hedefleyen terapiler, mTOR inhibitörleri, çoklu hedefli tirozin kinaz inhibitörleridir. Tablo 2.1.’de GBM için bulunan çeşitli deneysel tedaviler sunulmuştur. (Kotecha vd., 2023)(Chinot vd., 2014)

Tablo 2.1*GBM Tedavisinde Kullanılan Yöntemler(Alifieris & Trafalis, 2015)*

Tedavi Tipi	Açıklama
Cerrahi rezeksiyon	Uygun olduğu durumlarda maksimal düzeyde rezeksiyon yapılmalıdır.
Kemoterapi	TEM: yeni teşhis edilmiş GBM tedavisi için onaylanmış alkilleyici bir ajandır. Miyelosupresyon ve mide bulantısı gibi yan etkileri bulunmaktadır.
Karmustin (BCNU) ve lomustin gibi nitrozüreler	PCV kombinasyonunun (prokarbazin, lomustin ve vinkristin) tekrarlayan GBM’de önemli sonuçlar gösterdiği bildirilmiştir.
Radyoterapi (RT)	Cerrahi uygulamadan sonra, cerrahi boşluğa 6 hafta süreyle uygulanmaktadır.
Moleküler Hedefleyen Terapiler	EGFR tirozin kinaz inhibitörleri (erlotinib, gefitinib, afatinib, dakomitinib)
mTor inhibitörleri	Temsirolimus, sirolimus, everolimus, ridaforolimus, enzastaurin, vismodegib, cilengitide, talidomid.
Çoklu hedefli tirozin kinaz inhibitörleri (MTKI)	Lapatinib, Vandetanib.
Diğer moleküler hedefler ve ilaçlar	Transgranüle büyüme faktörü beta (TGF- β) ve özellikle β 2 izoformu, malign glioma progresyonunda önemli bir faktör olarak kabul edilmektedir.
Histon deasetilazlar	Kromatin yapısına dahil olup gen transkripsiyonunu düzenlemekte ve malign gliomalarda değişmektedir.
Diğer deneysel tedaviler	C-150, yeni bir köri baharatı kurkuminin nanoformülatif bir türevidir. Glioma başlatıcı hücrelerin farklılaşmasını sağlayarak tedaviye katkı sağlar.
İmmünoterapi	Niklosamid, apreptant, artesunat, auranofin gibi ilaçlarda diğer deneysel tedavi grubuna alınabilmektedir.
	İmmünoterapi, çevredeki sağlıklı dokulara zarar vermeden kanser hücrelerini ortadan kaldırma yeteneği gösteren umut verici bir yaklaşımdır.

GBM’nin histolojik özellikleri incelendiğinde mitotik olarak aktif tümörler olduğu ve mikrovasküler proliferasyon gibi grade IV özellik gösterdiği bilinmektedir. (Louis vd., 2021)

GBM’nin moleküler alt grupları oldukça çeşitlidir. Geniş ölçekli genetik ve epigenetik profillemeye çalışmaları, karakteristik mutasyonel ve ekspresyon profilleriyle ilişkili farklı DNA metilasyon modelleriyle karakterize edilen çeşitli moleküler IDH-vahşi tip glioblastoma alt gruplarının ayırt edilmesini sağlamıştır. Alıcı tirozin kinaz (RTK) 1 ve 2 alt grupları ile mezenkimal alt grup en yaygın olanlardır. (Le Rhun et al., 2019)

Sitotoksik ilaçlar antikanser ajan sınıflarındandır. Yıllar boyunca çok sayıda sentetik sitotoksik bileşik geliştirilmiş ve günümüzde birçoğu kanser kemoterapisinde kullanılmak üzere araştırılmaya devam etmektedir.(R. Singh vd., 2023)

Sitotoksik ilaçlar esas olarak alkile edici ajanları (mekloreタミン, siklofosfamid, sisplatin, karmustin, busulfan ve dakarbazin), antimetabolitleri (metotreksat, 5-florourasil, tioguanin ve 6-merkaptopurin) talidomid ve analoglarını (lenalidomid, pomalidomid) ve hidroksiüre, tretionin ve estramustin gibi bazı çeşitli ilaçları içermektedir. Bu ilaçlar kanser tedavisinde oldukça etkili olduğu bilinmektedir. Kanserli agresif hücreler normal hücrelere göre bu ilaçlara daha duyarlıdır. Ayrıca yapısal grupları majör ve minör oluklardaki nükleotidlerin spesifik DNA dizilerine göre modifiye edilebildiğinden, sitotoksik ilaçların bağlayıcı özelliklerini rasyonalize etmek mümkündür.(Temel, 2015)

2.3 Temozolomid

Temozolomid (TEM), dakarbazinden türetilen oral bir alkilleyici kemoterapötik ajandır. Etki mekanizması, öncelikle guaninin O6 pozisyonunda DNA'yı metilleyerek, hızla bölünen kanser hücrelerinde apoptozu indüklemeye yeteneğinden gelmektedir. TEM'in başlıca avantajlarından biri, kan-beyin bariyerini (BBB) etkili bir şekilde geçme yeteneğidir, bu da onu merkezi sinir sistemi malignitelerinin tedavisi için özellikle uygun hale getirir fakat bazı biyoyararlanım sorunları bulunmaktadır. TEM'in en önemli avantajlarından biri, kan-beyin bariyerini geçme kapasitesidir. Ancak buna rağmen, klinik etkinliği çeşitli farmakokinetik ve farmasötik sınırlamalar nedeniyle kısıtlanmaktadır. Özellikle kısa yarı ömrü (yaklaşık 1.8-2 saat), pH'ya duyarlılığı nedeniyle hızla inaktif metabolitlere (MTIC ve AIC) dönüşmesi, düşük beyin dokusu biyoyararlanımı ve sistemik toksisite riski, TEM'in tedavi etkinliğini azaltan başlıca faktörlerdir. Literatürde bildirilen bulgulara göre, oral yoldan verilen TEM'in %1'den azı aktif formda beyin dokusuna ulaşmakta ve bu da terapötik etkinliğin sınırlı kalmasına neden olmaktadır. Bu durum, daha yüksek sistemik doz uygulamalarını zorunlu kılmakta ve hematolojik toksisite başta olmak üzere ciddi yan etkilere yol açmaktadır.(Ortiz vd., 2020) (Jezierzański vd., 2024) (Gozdz, 2023)(Jia vd., 2023)(P. Singh vd., 2025)(Jatyan vd., 2022)(Blagosklonny, 2023)

TEM özellikle malign beyin tümörlerinin tedavisinde kullanılır. (Gozdz, 2023) ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA), 2005 yılında TEM'i GBM için standart tedavi protokolünün bir parçası olarak onaylamıştır. GBM'ye ek olarak, TEM, geniş spektrumlu antitümör aktivitesi ve uygun farmakokinetik profili nedeniyle, ilerlemiş nöroendokrin tümörler gibi diğer agresif ve tedaviye dirençli solid tümörlerin tedavisinde terapötik fayda göstermiştir. (Jezierzański et al., 2024) (Jia et al., 2023) TEM, beyin tümörleri tedavisinde

özellikle GBM gibi yüksek dereceli gliomlarda kullanılan alkilleyici oral bir kemoterapötik ajandır. (stupp2009, t.y.) DNA’da hasara yol açarak antitümöral etki gösterir. TEM, astrositomlar için ikinci basamak tedavi olarak kullanılırken glioblastoma multiforme için birinci basamak tedavidir. TEM fizyolojik pH’ta kendiliğinden 5-(3-metil-1-triazeno) imidazol-4-karboksamid’e hidrolize olan bir ön ilaçtır (MTIC). MTIC ayrıca aktif bir metilleme maddesi olan metil diazonyum iyonuna (diazometan) ve 5-aminoimidazol-4-karboksamide parçalanır.(N. Singh vd., 2021a)

TEM, bağırsaktan hızla ve neredeyse tamamen emilir ve kan-beyin bariyerini kolayca geçebilmektedir. 1987 yılında geliştirilmiş ve 1999’da Avrupa’da, 2005’te FDA tarafından onaylanarak kullanıma sunulmuştur. GBM gibi yüksek dereceli gliomların tedavisinde standart kemoterapötik ajan olarak yer almaktadır.(N. Singh vd., 2021b) (Hegi vd., t.y.)

GBM, merkezi sinir sisteminin en agresif ve en yaygın malign tümörlerinden biridir. Hastalığın seyri kötü olup, tanıdan sonraki ortalama sağkalım süresi genelde 15 aydan kısadır. Bu hastalığın standart tedavisi cerrahi rezeksiyon, radyoterapi ve kemoterapi üçlüsünden oluşur. 2005 yılında yayınlanan çalışmayla beraber TEM bu protokolda vazgeçilmez bir ajan olarak tedavinin bir parçası haline gelmiştir. (stupp2009, t.y.)

Bu tez çalışmasında, TEM’in NP formülasyon yaklaşımı ile klinik etkinliği, direnç mekanizmaları ve gelecekteki kullanım stratejileri üzerine odaklanılmıştır ve iki farklı NP hazırlama tekniği ile en etkili en az direnç geliştiren tedaviyi bulma yolunda adımlar atılmıştır. Tablo 2.2.’de RxMediaPharma’dan elde edilen Türkiye piyasasında bulunan TEM içeren müstahzar örnekleri sunulmuştur.

Tablo 2.2

Temozolomid İçeren Türkiye’deki Müstahzarlar

Müstahzar ismi	Farmasötik Form ve Doz	Firma
Temodal İnfüzyonluk Çözelti İçin Toz 2.5 mg/ml 1 flakon/kutu	Enjektabl Preparat, 2.5 mg/1 ml	MERCK SHARP & DOHME
Midizol Kapsül	Kapsül, 100 mg/ 20 mg/ 250 mg/5 mg	DEVA
Temodal Sert Kapsül	Kapsül, 100 mg/ 140 mg/180 mg/20 mg/250 mg/ 5 mg	MERCK SHARP & DOHME
Temomid kapsül	Kapsül, 100 mg/ 20 mg/ 150 mg/5 mg	KOÇAK
Temotu Sert Kapsül	Kapsül, 100 mg/ 20 mg/250 mg / 5 mg	ONKO
Temozolid Kapsül	Kapsül, 100 mg/ 20 mg/250 mg	DEM İLAÇ

2.3.1 Kimyasal ve moleküler özellikler

Tablo 2.3'te TEM için bazı kimyasal bilgiler sunulmuştur. Şekil 2.1.'de ise TEM'in açık kimyasal moleküler formülü gösterilmiştir.

Tablo 2.3

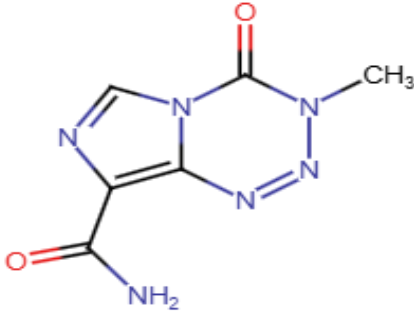
TEM İçin Bazı Kimyasal Bilgiler

IUPAC ismi	3-metil-4-oksoimidazol[5,1-d] [1,2,3,5] tetrazin-8-karboksamid
Moleküler formül	C ₆ H ₆ N ₆ O ₂
Moleküler ağırlık	194.15 g/mol
Sınıf	İmidazotetrazin türevi alkilleyici ajan

Kaynak: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5394>

Şekil 2.1

Temozolomid'in Moleküler Formu



Kaynak: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5394>

2.3.2 Farmakoloji ve etki mekanizması

TEM, imidazotetrazin türevi bir DNA alkilleyici ajandır. Vücut içinde spontan olarak aktif metaboliti olan MTIC'e dönüşür ve DNA bazlarında alkilasyon yaparak özellikle O6-metilguanin lezyonları oluşturur. Bu lezyonlar replikasyon sırasında karşı zincirde timin ile eşleşmeye çalışır ve hücre DNA hasarını onaramazsa apoptoz meydana gelir. TEM'in önemli özelliklerinden biri lipofilik olması sayesinde kan-beyin bariyerini geçebilmesidir. Bu özellik onu gliom tedavisinde eşsiz kılmakta olup daha önce belirtilen bazı biyoyaralanım problemleri bulunmaktadır (M. J. Ramalho et al., 2019)

TEM, DNA'nın guanin bazlarına O6 ve N7 pozisyonlarında metil grubu ekleyerek hücre ölümüne neden olmaktadır. MGMT enzimi, bu metilasyon hasarını onarabilmektedir ve bu durum ilaca karşı direnç gelişmesine neden olabilmektedir.(Shaw vd., 2024)

TEM'e direnç gelişimi, tedavi başarısını sınırlayan en önemli faktördür. MGMT enzimi, O6-metilguanin lezyonlarını onararak ilacın etkisini nötralize etmektedir. Ayrıca mismatch repair (MMR) sistemi bozuklukları, glioma kök hücrelerinin varlığı, ATP-bağımlı ilaç pompa proteinleri ve hipoksik mikroçevre de direnç gelişiminde rol oynamaktadır. Epigenetik faktörler de oldukça önemlidir. miR-484, lncRNA MALAT1, H19 ve S100P gibi genetik elementler TEM duyarlılığını belirlemektedir.(Von Bueren vd., 2012)

TEM'in etkinliğini artırmak amacıyla çeşitli ajanlarla kombinasyonlar denenmektedir. Örneğin MGMT inhibitörleri (lomeguatrib), CDK4/6 inhibitörleri (ribosiklib), VEGF inhibitörleri (bevacizumab), antioksidan doğal bileşikler (resveratrol) ile yapılan kombinasyonlarda umut verici sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca NP sistemleri kullanılarak TEM'in hedefli salımı sağlanmaktadır. Apoferritin, PLGA ve lipozomal taşıyıcılar bu sistemlerin başlıcalarıdır.

2.3.3 Farmakokinetik ve farmakodinamik özellikler

TEM oral yolla hızla emilen bir ilaç etkin maddesidir. Biyoyararlanım açısından değerlendirildiğinde oral yoldan hızla emildiği için biyoyararlanımı %100'e yaklaşır. Kısa yarı ömrü, pH'ya duyarlılığı nedeniyle hızla inaktif metabolitlere (MTIC ve AIC) dönüşmesi, düşük beyin dokusu biyoyararlanımı ve sistemik toksisite riski, TEM'in tedavi etkinliğini azaltan başlıca faktörlerdir (Diez et al., 2010)

TEM'in plazma yarılanma ömrü yaklaşık 1.8 saattir. (Aoki et al., 2007) TEM kan-beyin bariyerini geçebildiği için beyin tümörleri tedavisinde kullanılmaktadır (M. J. Ramalho et al., 2019). TEM, spontan olarak MTIC'ye dönüşür ve bu reaksiyon özel bir enzim gerektirmemektedir. (Diez et al., 2010) MTIC kısa sürede daha küçük bileşenlerine ayrılmaktadır. AIC (5-aminoimidazol-4-karboksamid) inaktif olup sonra fizyolojik olarak atılmaktadır fakat metil diazonyum iyonu DNA'nın guanin bazına metil grubu ekleyerek sitotoksositeye neden olabilmektedir (Baker et al., 1999) (Ballesta et al., 2014). (Brada & al, 1999) TEM plazma proteinlerine belli bir oranda bağlanır. Bu oran yaklaşık %15'tir. (Tong vd., 2021)

Oral yolla uygulanan TEM'in %1'inden azının aktif formunda kan-beyin bariyerini (BBB) başarıyla geçtiği tahmin edilmektedir, bu da beyin dokusunda sub-terapötik ilaç konsantrasyonlarına yol açmaktadır. Klinikte, düşük beyin biyoyararlanımının üstesinden gelmek için, genellikle yüksek sistemik dozlar uygulamaktadır. Bu kullanılan yüksek doz

sırayla doza bağılı yan etkilere, en belirgin olarak miyelosupresyon ve trombositopeni gibi hematolojik toksisitelerle sonuçlanmaktadır. (Singh et al., 2023). (Jatyan et al., 2022) TEM'in en büyük dezavantajlarından biri ise kemoterapide kanser hücrelerine karşı seçiciliğin olmamasıdır. (Blagosklonny, 2023) Bu zorlukları aşmak için çeşitli ileri ilaç salım sistem stratejileri araştırılmıştır. TEM'in nanometre ölçeğindeki taşıyıcılara enkapsülasyonu [lipozomlar, nanopartiküller (NP'ler), dendrimerler ve miseller gibi organik sistemler ile mezoporöz silika, altın, gümüş NP'ler ve kuantum noktaları gibi inorganik nanomateriyaller vb] artan ilaç stabilitesi, uzatılmış dolaşım süresi ve artan beyin birikimi gibi avantajlar sergilemektedir. Buna paralel olarak, TEM'in fizyokimyasal özelliklerini, hücresel alımını ve hedefe yönelik salımını geliştirmek için küçük moleküller veya polimerlerle konjugasyonu araştırılmış, bu da geleneksel TEM terapisiyle ilişkili mevcut sınırlamaların üstesinden gelmek için umut verici bir yol olarak yorumlanmıştır. (Nordling-David et al., 2017) (Duwa et al., 2020) (PATIL et al., 2021) (K. Xu et al., 2020) (Y. Xu et al., n.d.)

2.3.4 Glioblastoma multiforme tedavisinde kullanımı

Stupp protokolünde TEM, cerrahiden sonra radyoterapi ile günlük verilmektedir ve ardından adjuvan olarak 6 ay boyunca uygulanmaktadır. Bu yaklaşımın sağkalım süresini artırdığı bildirilmiştir.(SEZER vd., 2023)

2.3.5 Yan etkiler ve güvenlik profili

TEM'in en sık görülen yan etkileri arasında bulantı, kusma, yorgunluk, iştahsızlık, lökopeni, trombositopeni, nadir durumlarda nöbet ve ciddi enfeksiyonlar bulunmaktadır. (H. Ke vd., 2024)

2.4 Nanopartiküller

Nanometre boyutlarına (1000 nm altı) sahip yapıların belli bir amaca hizmet etmesi için tasarlanan bilim dalına nanoteknoloji adı verilmektedir. Nanoteknoloji; nanobiyoteknoloji, nanomalzemeler ve nanoelektronik olmak üzere üç alanı kapsayan bir bilim dalıdır. Nanoteknoloji disiplinler arası bir teknolojidir. Nano boyutta hazırlanan partiküllerle ilaç taşınmasına ise nanopartikül (NP) taşıyıcı sistemler adı verilmektedir (Anton et al., 2008)

Bu modern sistemler istenilen ilacın spesifik olarak yalnızca istenilen organa taşınması, molekülün yapısı ayarlanarak belirtilen süre boyunca ortamda kalması, toksik maddelerin ortamdan uzaklaştırılması gibi özelliklere sahiptir.(Nikezić vd., 2020)

Medikal uygulamada çok yönlü çeşitli yollar olmakla beraber genelde antikanser tedavilerde tümöre yönelik spesifik etkisi sayesinde bu teknoloji geliştirilmiştir. (Nikezić vd., 2020)

Son yıllarda, NP tabanlı taşıyıcı sistemler, çeşitli terapötik zorlukların üstesinden gelmek için ilgi görmektedir. Bu sistemler, 10 ila 1000 nanometre boyutlarında katı kolloidal taşıyıcılar olarak bilinmektedir. Doğal veya sentetik polimerler ile inorganik veya seramik malzemeler kullanılarak üretilebilirler. İlaç etkin maddesi, NP'lere birkaç şekilde dahil edilebilmektedir. İlaç etkin maddesi partikül matrisi içinde çözülebilir veya dağılılabilir, yüzeye adsorbe edilebilir veya kovalent bağ yoluyla kimyasal olarak bağlanabilmektedir. NP'ler genellikle iki ana türe ayrılmaktadır. Bunlardan ilki aktif bileşiğin polimer matrisi boyunca eşit olarak dağıldığı nanoküreler ve diğeri ise aktif maddenin polimerik bir membranla çevrili bir çekirdek içinde sınırlı olduğu nanokapsüllerdir (Kaya-Tilki et al., 2024).

Yeni terapötik bileşiklerin geliştirilmesi sadece pahalı ve zaman alıcı olmakla kalmayıp, aynı zamanda genellikle başarısızlıkla sonuçlanan çok sayıda karmaşık aşama içermektedir. Bu zorlu sürece bir alternatif olarak, halihazırda klinik kullanımda olan ilaçların farmakolojik özelliklerini biyoyararlanım, seçicilik, etkinlik ve güvenlik açısından geliştirmek daha verimli ve pratik bir çözüm sunabilmektedir. Son yıllarda, araştırmacılar mevcut tedavileri optimize etmek için bir dizi yenilikçi stratejiyi kapsamlı bir şekilde araştırmaktadır. Bunlar arasında uyarana yanıt veren hedefe yönelik ilaç salım sistemleri, ilaç-polimer konjugatları, NP aracılı ilaç taşıyıcıları, kişiselleştirilmiş tedaviler ve terapötik ilaç izleme yaklaşımları yer almaktadır (Öztürk & Güven, 2019) (Solak et al., 2025).

Nanoformülasyonlar çeşitli şekillerde bulunmaktadır. Bunlara örnek olarak nanoemülsiyonlar, nanosüspansiyonlar, polimerik NP'ler, katı lipid NP'ler, lipozomlar verilebilir (Çobanoğlu & Şenel, 2023). Bu sistemler gelecek vadede ilaç salım sistemleri arasında bulunmaktadır. Etkili bir ilaç ve gen salım yöntemi olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu salımı etkin yapabilmek için ilgili dokunun fizikokimyasal özelliklerini,

moleküler mekanizmalarını, dokulara bağlanma kapasitelerini iyi bilmek gerekmektedir (Suri et al., 2007).

NP'lerin boyutları, kullanım amacına göre değişebilmektedir. Sistemik (damar içi) uygulamalar için çapı 500 nm'den küçük parçacıklar gerekirken, kas içi veya bazı oral uygulamalar için 1 mikrondan büyük ve 125 µm'den küçük parçacıklar kullanılabilir. Boyutun yanı sıra NP'lerin şekilleride önemlidir. NP'nin şekli; bağışıklık sistem hücreleri tarafından alınımı, biyomoleküllerin salım davranışını ve hücre hedeflemesini etkileyebilir. NP'ler, ilaçlar, vitaminler, mineraller, uçucu aromatik bileşikler ve nutrasötik olarak adlandırılan çeşitli besin takviyeleri gibi aktif bileşenlerin taşıyıcısı olarak kullanılabilirler.(Gohil vd., 2022)

2.4.1 Polimerik nanopartiküller

Polimerik NP; polimerlerden üretilen, boyutları 10-1000 nm arası değişebilen matriks sistem olarak tanımlanmaktadır. Polimerik NP üretiminde doğal veya sentetik polimerler kullanılabilir. Etkin maddelerin partikül üzerinde çözünebildiği, yüzeyine absorbe olabildiği veya bağlandığı yapılar polimerik NP sistemlerdir. (ONBAŞLI, 2018)

2.4.1.1 Polimerik nanopartiküllerin avantajları ve dezavantajları

Polimerik NP'ler farklı açılardan bazı avantajlara sahiptir. Küçük boyutları sayesinde, NP'ler küçük kapillerlerden geçebilir ve hücrelere kolayca alınabilirler ve böylece hedef bölgede etkin madde birikimini sağlanabilir. Mikropartiküllerle karşılaştırıldığında, NP'ler hücre içine daha fazla alınmaktadır. Örneğin, 100 nm boyutundaki NP'lerin, 1 µm boyutundaki mikropartiküllere göre iki buçuk kat, 10 µm boyutundaki mikropartiküllere göre ise altı kat daha fazla hücre içine alındığı gösterilmiştir.(Kulkarni & Feng, 2013)

Biyobozunur malzemelerden üretilen NP'ler hedef dokuda kontrollü etkin madde salımı sağlayabilir ve bu salım polimer tipine göre günler hatta haftalar sürebilir. Ayrıca, fizyolojik ortamda parçalanabilirler ve parçalanma ürünleri toksik değildir. İlaçların, proteinlerin ve peptitlerin stabilitesini artırabilirler. Polimerik yapı, katı matriks içine hapsedilmiş aktif maddeyi parçalanmaktan korur, bu da etkin maddenin istenen bölgeye ulaşma olasılığını artırır. Yüksek etkin madde yükleme kapasitelerine sahiptirler ve bu sayede etkin maddenin hücre içi dağılımı artar. Oral yolla ilaç uygulamada, NP şeklinde verilen ilacın salımı ve biyoyararlanımı artar. Parçacık boyutu ve yüzey özellikleri

kolayca modifiye edilebilir, bu da parenteral uygulamadan sonra pasif ve aktif ilaç hedeflemesine olanak tanır.(Erem Bilensoy & Ayla Zırh-Gürsoy, 2014)

İlaçların hedef bölgede kontrollü ve sürekli salımını sağlayarak ilacın farmakokinetiğini değiştirebilir. Bu durum ilacın terapötik etkinliğini artırırken yan etkilerini azaltır. (Erem Bilensoy & Ayla Zırh-Gürsoy, 2014)

Kontrollü salım ve parçacık özellikleri, matris bileşenlerinin seçimiyle kolayca modifiye edilebilir. İlaç yükleme kapasitesi nispeten yüksektir ve ilaçlar, herhangi bir kimyasal reaksiyon olmadan NP'lere dahil edilebilir. Bu durum ilaç aktivitesini korumak için önemli bir faktördür. Ligandların NP'lerin yüzeyine bağlanmasıyla veya manyetik yönlendirme kullanılarak bölgeye özgü hedefleme sağlanabilir. Oral, nazal, parenteral ve intraoküler dahil olmak üzere çeşitli uygulama yolları ile kullanılabilir. İlaçların ve proteinlerin stabilitesini artırmaya yardımcı olurlar ve kontrollü salım özelliklerine sahiptirler.(Begines vd., 2020)

NP sistemler hedeflendirme ve salım kontrolünü sağlayabilmektedir. NP'lerin yüzeyine hedefleme bölgesindeki özel moleküler yapıları tanıyan özel ligandların tutturulması ile etkin maddenin lokalizasyonu mümkün olmaktadır. Diğer kolloidal taşıyıcı sistemlerle karşılaştırıldıklarında biyolojik sıvılarda çok daha yüksek stabiliteye sahiptirler. İlaç etkin maddesinin diğer organ ve dokular üzerindeki sistemik toksisiteyi azaltırlar çünkü etkin maddenin hedef bölgede salımını sağlarlar. İlaç etkin maddesinin herhangi bir taşıyıcı ya da ilave zararlı çözücüler içinde çözünmesine gerek kalmadığı için parenteral yolla kolayca uygulanabilirler. Üretim teknikleri genellikle basit ve kolaydır. İlaçların katı dozaj şekillerinde, uzun süre ve ilave saklama koşullarına gerek kalmaksızın saklanmasına imkân verirler. Kolaylıkla sterilize edilebilirler.(Islam vd., 2025)

NP sistemler tıp, biyoteknoloji ve diğer alanlarda yoğun olarak araştırılmaktadır. Özellikle antikanser ilaçlar, antienflamatuvar ilaçlar, anti paraziter ilaçlar, peptit ve proteinler için taşıyıcı sistem olarak, ayrıca aşılar ve tanı maddeleri olarak kullanılmaktadırlar. Veterinerlikte de yaygın kullanım alanları vardır. Örneğin, hayvanları parazitlere karşı korumak için içme suyu içinde verilen ve bağırsakta parçalanarak ilacı serbestleştiren NP'ler kullanılmaktadır.(Manish & Vimukta, t.y.)

Polimerik NP'lerin bazı avantajları Tablo 2.4.'te özetlenmiştir.

Tablo 2.4*NP sistemlerin Bazı Avantajları*

Avantaj	Açıklama
Yüksek stabilite	NP'ler diğer kolloidal taşıyıcı sistemlere göre biyolojik sıvılarda daha yüksek stabiliteye sahiptir. Bu durum etkin madde parçalanmasını önleyerek hedef bölgeye ulaşma olasılığını artırır.
Kontrollü salım	NP'ler ilaç etkin maddesinin hedef bölgede kontrollü bir şekilde dağılımını sağlar ve bu durum ilacın yan etkisini azaltırken ilacın etkisini artırır.
Hedefleme	NP'lerin özellikleri değiştirilerek belli bir noktaya (doku, hücre vs.) hedeflenmeleri sağlanabilir.
Biyobozunurluk	Biyobozunur polimerlerden üretilen NP'ler, fizyolojik ortamda parçalanabilirler ve toksik olmayan metabolitlerine dönüşürler.
Sterilizasyon	NP'ler kolaylıkla sterilize edilebilirler, bu durum ilaç taşıyıcı NP sistemler için büyük avantajdır.

Kaynak: (Manish & Vimukta, t.y.)

Literatürde özellikle NP'lerin üretiminde kullanılan polimerlerle ilgili bazı potansiyel sorunlar NP sistemler için dezavantaj olarak belirtilmiştir. Örneğin, proteinlerin NP üretiminde kullanımında antijenik reaksiyonlar oluşabilirken, biyobozunur olmayan sentetik polimerlerin kullanımında ise bu polimerlerin toksisiteleri risk oluşturabildiği bildirilmiştir. Ayrıca, NP üretimi sırasında sentezlenen polimerlerin kullanımında ise monomerlerin tamamının polimerize olmayıp NP yapısında artık olarak kalabilme sakıncası bulunmaktadır. Bu, hazırlama yöntemine bağlı olarak, istenmeyen bazı sonuçlara neden olabilmektedir.(Gagliardi vd., 2021)

NP'lerin hazırlanmasında kullanılan yöntemlerin karmaşıklığı da potansiyel bir dezavantaj olarak değerlendirilebilmektedir. NP üretimi, kullanılan polimerin yapısına ve etkin maddenin çözünürlük özelliğine göre değişebilir ve bu durum, uygun yöntem ve parametrelerin belirlenmesini gerektirebilir. NP'lerin istenilen özelliklere sahip olarak hazırlanması için en uygun yöntemin seçilmesi, homojenizasyon sürecinin sağlanması, uygun yüzey aktif madde ve çözücünün seçimi gibi bileşenlerin sağlanmasını gerektirmektedir.(Herdiana vd., 2022)

Tablo 2.5'te NP sistemler ile ilgili bazı dezavantajlar hakkında bilgi verilmiştir. (Derman et al., 2013)

Tablo 2.5*NP Sistemlerin Bazı Dezavantajları*

Dezavantaj	Açıklama
Büyük Ölçekli Üretim Zorlukları	Laboratuvar ölçeğinde üretilen NP'lerin büyük ölçekte üretilmesi ve standardize edilmesi zor olabilir.
Toksisite ve Biyolojik Etkiler	Her ne kadar biyoyumlu polimerler kullanılsa da bazı NP'lerin toksik etkileri olabilir. Ayrıca, NP'lerin bağışıklık sistemi üzerindeki etkileri de dikkate alınmalıdır.
Vücutta Dağılım ve Birikim	NP'lerin vücutta nasıl dağıldığı, metabolize edildiği ve atıldığı tam olarak anlaşılamayabilir ve bazı durumlarda organlarda birikim gösterebilir. Bu durumlar, uzun vadeli güvenlik eproblemlerine neden olabilmektedir.
Yüzey Modifikasyonu Gerekliliği	NP'lerin yüzey özelliklerini değiştirmek, örneğin hedeflendirme için ligandlar eklemek veya stabiliteyi artırmak için ek işlemler gerekebilir. Bu, üretim sürecini karmaşılaştırabilir.

*Kaynak: (Derman vd., 2013)***2.4.2 Polimerik nanopartikül hazırlamada kullanılan polimerler**

Polimerler zincir yapısına göre ve oluşturan kaynağına göre ikiye ayrılmaktadır. Zincir yapısına göre ise düz karbon zincirine sahip olanlar ve hetero zincir yapısına sahip olanlar olarak ikiye ayrılmaktadır.(Erem Bilensoy & Ayla Zırh-Gürsoy, 2014)

2.4.3 Zincir yapısına göre polimerler**2.4.3.1 Düz zincirli polimerler**

Düz zincirli polimer, polimer molekülünün monomer birimlerinin bağlandığı zincirin dallanma göstermeden, doğrusal şekilde ilerlediği polimer türüdür. Polivinil klorür, polietileni polistiren, polivinil alkol, polivinil pirolidon, polivinil asetat ve polipropilen düz zincirli polimerlere örnek olarak verilebilir.(Herdiana vd., 2022)

2.4.3.2 Hetero zincirli polimerler

Monomer birimlerinin bağlanmasıyla oluşan zincir yapısında karbon–karbon bağları dışında, karbon dışı atomların (heteroatomların) yer aldığı polimerlere denir. Amiloz, polipropilen oksit ve polietilen oksit hetero zincirli polimerlere örnek olarak verilebilir.(Y. Zhang vd., 2025)

2.4.4 Kaynağına göre polimerler

Kaynağına göre polimerler sentetik ve doğal olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Doğal ve sentetik polimerler, ilaç salım sistemleri başta olmak üzere birçok farklı alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu polimerlerin kullanım alanları, özelliklerine ve uygulama gereksinimlerine göre değişiklik göstermektedir.(Satchanska vd., 2024a)

2.4.4.1 Sentetik polimerler

Sentetik polimerler de kendi aralarında vücutta çözünürlüklerine göre biyoçözünür/biyoparçalanabilir ve biyoçözünmez/biyoparçalanmayan olarak ikiye ayrılır. Laboratuvar ortamında üretilen polimerlerdir. Polieterler grubundan polietilen glikol (PEG) veya polietilenoksit (PEO), ilaç salım sistemlerinde en çok tercih edilen sentetik polimerlerdendir. (Satchanska vd., 2024a)

Poliesterler grubu polimerler de ilaç salım sistemlerinde sıkça kullanılmaktadır. Bu grupta polilaktid (PLA), poliglikolid (PGA) ve bunların kopolimerleri (PLGA) yer alır. Polikaprolakton (PCL) da bu grupta yer alan bir diğer popüler polimerdir.(Satchanska vd., 2024a)

Tablo 2.6.'da NP sistemlerinin hazırlanmasında kullanılan bazı polimerlerin avantajları verilmiştir. NP yapımında kullanılan sentetik polimerlerin dezavantajları arasında ise sentetik polimerlerin bazı durumlarda doğal polimerlere göre daha az biyoyumlu olabileceği sayılabilir. Bazı sentetik polimerlerin degradasyon ürünleri toksik olabilmektedir. (Satchanska vd., 2024a)

Tablo 2.6

NP Sistemlerinin Hazırlanmasında Kullanılan Bazı Sentetik Polimerlerin Avantajları

Polimer	Açıklama / Bilgi
PEG	Avantajı nispeten ucuz olması olup çeşitli molekül ağırlıklı ticari formlara sahip olmasıdır.
PLA	Avantajı biyobozunur, biyoyumlu, insan vücudunun doğal metabolik atığı olan laktik asit içermedir.
PGA	Biyomedikal uygulamalarda kullanılan ilk biyobozunur poliester grubu polimerlerdendir.
PLGA	Biyomedikal uygulamalarda en çok kullanılan poliester grubu polimerdir. Kanser tedavileri, anti-enflamatuvar ilaçlar, proteinler ve siRNA gibi farklı alanlarda kullanılır. Kısa sürede degrade olması tercih sebebidir.
PCL	Yüksek hidrofobisiteye sahiptir ve degradasyon oranı yavaştır.

Kaynak: (Makadia & Siegel, 2011; Derman et al., 2013)

2.4.4.1.1 Biyoparçalananan polimerler

Canlı organizmaların (örneğin enzimler, mikroorganizmalar) ya da vücut içi suyu parçalayan mekanizmaların etkisiyle zamanla parçalanarak CO₂, su, metan ve biyokütle gibi zararsız son ürünlere dönüşen polimer çeşidine biyoparçalananan polimer denir.

Poli laktik asit (PLA), poli glikolik asit (PGA) ve Poliortoesterler biyoçözünür polimerlere örnek olarak verilebilir. (Baidurah, 2022)

2.4.4.1.2 Biyoparçalanmayan polimerler

Biyoparçalanmayan polimerler, doğada mikroorganizmalar, enzimler veya vücut içi biyolojik süreçler tarafından kolayca parçalanamayan, uzun süre yapısını koruyan polimer türleridir. Polimetakrilat, poli etil metakrilat, karboksi metil selüloz, etil selüloz, etil vinil asetat, poloksamin, poloksamerler ve polivinil pirolidon biyoparçalanmayan polimerlere örnek olarak verilebilir. (Shastri, 2003)

Tablo 2.7’de sentetik polimerlerin bir sınıflandırması sunulmuştur.

Tablo 2.7

Sentetik Polimerlerin Bir Sınıflandırması

Sentetik Polimerler	
Biyoparçalanabilir Polimerler	Biyoparçalanmayan Polimerler
Poli-alkil-siyano-akrilat (PACA)	Akrilik Polimerler
Poli-glikolik asit (PGA)	Etil vinil asetat
Poli-D,L-laktit-ko-glikolit (PLGA)	Polivinil pirolidon
Poli-ε-kaprolakton (PCL)	Poloksamin
Polilaktik asit (PLA)	Poloksamer
Polianhidritler	Selüloz türevleri
Poliamitler	Silikonlar

2.4.4.2 Doğal polimerler

Doğada bulunan polimerlerdir ve genellikle polisakkaritler, proteinler ve polinükleotidler olarak sınıflandırılır. Örnek olarak kitin, selüloz, alginat, amiloz, guar gam, ksantan gam, pektin, nişasta, dekstran, siklodekstrin, ipek, elastin, jelatin, kazein, kolajen ve hiyalüronik asit sayılabilir. Farmasötik ve biyoteknoloji endüstrilerinde yardımcı bileşen, medikal ve dental ekipman olarak kullanılırlar. (Derman vd., 2013)

Doğal polimerlerin bazı avantajları bulunmaktadır. Genellikle *in vivo* koşullarda zararsız olarak nitelendirilirler. Biyouyumlu olup ve enzimatik olarak bozunabilir özellik

gösterirler. Bol bulunmaları, kolay saflaştırılabilirmeleri ve tedaviye yönelik ihtiyaçlar doğrultusunda kimyasal olarak modifiye edilebilir olması bazı avantajları arasındadır. (Satchanska vd., 2024b)

En önemli dezavantajlarından biri polimerin kaynağına bağlı olarak materyal özelliklerinin değişebilmesidir. Mikrobiyal kontaminasyon riski, kontrol edilemeyen su alımı, zayıf mekanik dayanım, tahmin edilemeyen degradasyon tipi gibi dezavantajları bulunmaktadır. Bu sorunlarla başa çıkmak için yarı-sentetik doğal polimerler olarak modifiye edilebilmektedirler(Dmour & Taha, 2018).

Kitosan, hiyalüronik asit, agaroz, siklodekstrin, dektran, jelatin, albümin ve kolajen doğal polimerlere örnek olarak gösterilebilir. Bazı doğal polimerlerin kaynaklarına göre sınıflandırılması Tablo 2.8’de sunulmuştur.

Tablo 2.8

Polimerlerin Kaynaklarına Göre Sınıflandırılması

Kaynak	Polimer örneği
Alg kaynaklı	Aljinat, Karagen
Bitkisel kaynaklı	Selüloz, Pektin, Guar Zamkı
Mikrobiyal kaynaklı	Dekstran, Ksantan Zamkı
Hayvansal kaynaklı	Kitosan, Hyoluranan, Heparin, Kondrotin

Kaynak: (Dmour & Taha, 2018b)

2.5 PLGA

Bu tez çalışmasında Poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) tercih edildiği için ayrıntılı olarak PLGA hakkında bilgiler sunulmuştur. Nanotıpta yaygın olarak kullanılan bir polimer olan PLGA, hedeflenmiş kemoterapi uygulamalarında kullanım için hem FDA hem de Avrupa İlaç Ajansı (EMA) tarafından onaylanmıştır. NP formülasyonlarında yaygın olarak kullanılan yapısal ve çekirdek bileşeni olarak PLGA, mükemmel biyolojik olarak parçalanabilirlik, biyoyumluluk ve kapsamlı yüzey modifikasyon kapasitesi dahil olmak üzere birkaç önemli avantaj sunar.(Todaria & Awasthi, 2025)

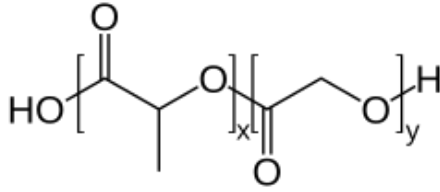
PLGA laktik asit ve glikolik asit monomerlerinin farklı oranlarda kopolimerizasyonu ile elde edilen, biyobozunur ve biyoyumlu bir polimerdir. FDA ve EMA gibi düzenleyici kurumlar tarafından onaylanmış olan PLGA, ilaç taşıma sistemlerinden doku mühendisliğine kadar pek çok biyomedikal uygulamada yaygın olarak kullanılmaktadır.

PLGA'nın vücutta hidrolize olarak monomerlerine ayrılması, bu monomerlerin metabolik yollarla (Krebs döngüsü) su ve karbondioksit'e dönüşmesi sayesinde biyolojik olarak güvenlidir. (Todaria & Awasthi, 2025)

Farklı PLGA tiplerinin ilaç salım özelliklerinin farklılaşması, bozunma hızının laktik asit (LA): glikolik asit (GA) oranına, moleküler ağırlığına ve uç gruplarına bağlı olarak değişmesi ile ilgilidir. Örneğin, 50:50 LA:GA oranındaki PLGA en hızlı bozunma eğiliminde olan PLGA tipidir. (Danhier vd., 2012) Şekil 2.2.'de PLGA'nın kimyasal açık formülü sunulmuştur.

Şekil 2.2

PLGA'nın Kimyasal Açık Formülü



Kaynak: <https://tr.wikipedia.org/wiki/PLGA>

2.5.1 PLGA'nın fizikokimyasal özellikleri

PLGA hem fiziksel hem de kimyasal özellikleri nedeniyle ilaç salım sistemlerinde yaygın şekilde tercih edilen bir polimerdir. PLGA'nın camı geçiş sıcaklığı (T_g) 45–55 °C arasında değişir ve bu değer, polimerin LA:GA oranına ve moleküler ağırlığına bağlıdır. Laktik asit içeriği arttıkça hidrofobiklik artar, bu da bozunma süresini uzatır. PLGA, sulu ortamda hidrojen bağlarına duyarlıdır ve amorf yapıda olup kristallik özellik göstermez. Yüksek LA içeriği polimeri daha sert ve kırılgan hale getirirken, GA içeriği arttıkça hidrofiliklik ve bozunma hızı artmaktadır (Danhier et al., 2012).

PLGA'nın çözünürlüğü organik çözücülere bağlı olarak değişmektedir. Dimetilsülfoksit (DMSO), aseton ve etil asetat gibi çözücülerde çözünebilen PLGA, su gibi polar çözücülerde çözünmez. Hidrolitik bozunma mekanizması, polimerin ester bağlarının su ile yavaş yavaş kırılmasıyla gerçekleşir. Bu reaksiyonlar, genellikle pH ve sıcaklık gibi çevresel koşullara duyarlıdır. Polimerin uç grupları (asit veya ester), bozunma ürünlerinin doğasını ve hızını belirlemede önemli rol oynar. PLGA, fizikokimyasal özellikleri

sayesinde hem ilaç stabilitesini hem de salım kinetiğini optimize etmek için ideal bir platform sunar (Kumar Sahdev et al., 2025).

2.5.2 Resomer® RG 502 H

Resomer® RG 502 H, PLGA bazlı biyobozunur bir kopolimerdir. İsimde bulunan “502” ifadesi, kopolimerin LA ve GA oranını ifade etmekte olup, Resomer® RG 502 H, %50 LA ve %50 GA’dan oluşmaktadır. Bu oran, polimerin en hızlı bozunma profiline sahip versiyonu olduğunu gösterir. “H” harfi ise polimerin serbest karboksil uç gruplarına (free acid-terminated) sahip olduğunu belirtir ve bu özellik Resomer® RG 502 H’i özellikle hidrofilik ilaçların enkapsülasyonu için uygun hale getirir (Danhier et al., 2012).

2.6 Polimerik Nanopartikül Hazırlanmasında Kullanılan Teknikler

Polimerik NP’ler çeşitli tekniklerle hazırlanabilir. Bu tekniklere örnek olarak diyaliz yöntemi, süper kritik sıvı teknolojisi, çözücü buharlaştırma (tekli emülsiyon/çoklu emülsiyon buharlaştırma) yöntemi, tuzla çöktürme yöntemi, püskürterek kurutma yöntemi, nanoçöktürme verilebilir. NP hazırlama teknikleri Tablo 2.9’da özet olarak sunulmuştur.(Erem Bilensoy & Ayla Zırh-Gürsoy, 2014)

Tablo 2.9

Nanopartikül Hazırlama Teknikleri

Monomer Polimerizasyonu	Polimer Dispersiyonu
Emülsiyon Polimerizasyonu	Emülsiyon Oluşturma/Çözücü Buharlaştırma
Dispersiyon Polimerizasyonu	Tuzla çöktürme
	Emülsiyon çapraz bağlama
	Nanoçöktürme
	Koaservasyon
	Püskürterek Kurutma/ Dondurma
	Süperkritik sıvı teknolojisi
	İyonik Jelleşme

Kaynak: (Erem Bilensoy & Ayla Zırh-Gürsoy, 2014)

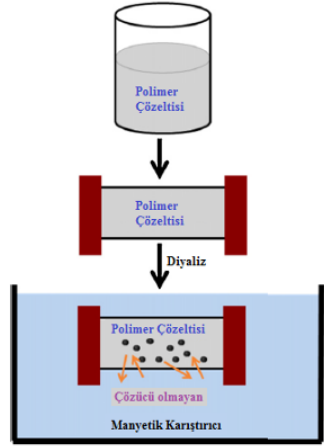
2.6.1 Diyaliz tekniği

Bu teknik genellikle monodispers küçük NP’lerin oluşturulmasında kullanılmaktadır. Basit ve etkili bir tekniktir. Bu teknikte öncelikle kullanılacak olan polimer organik bir çözücünün içinde çözündürülür. Uygun molekül ağırlığına göre diyaliz yapan bir diyaliz tüpüne yerleştirilir. Çözücü diyaliz prosesi sonucu yer değiştirir ve buna bağlı olarak polimer çözünürlüğünü kaybeder, agregasyon meydana gelir ve NP’ler elde edilir

(Adeyemi et al., 2023) (Fessi et al., 1989) (Derman et al., 2013). Şekil 2.3.'te Diyaliz tekniği şematik olarak gösterilmiştir.

Şekil 2.3

Nanopartikül Üretiminde Kullanılan Diyaliz Tekniğinin Şematik Olarak Gösterimi



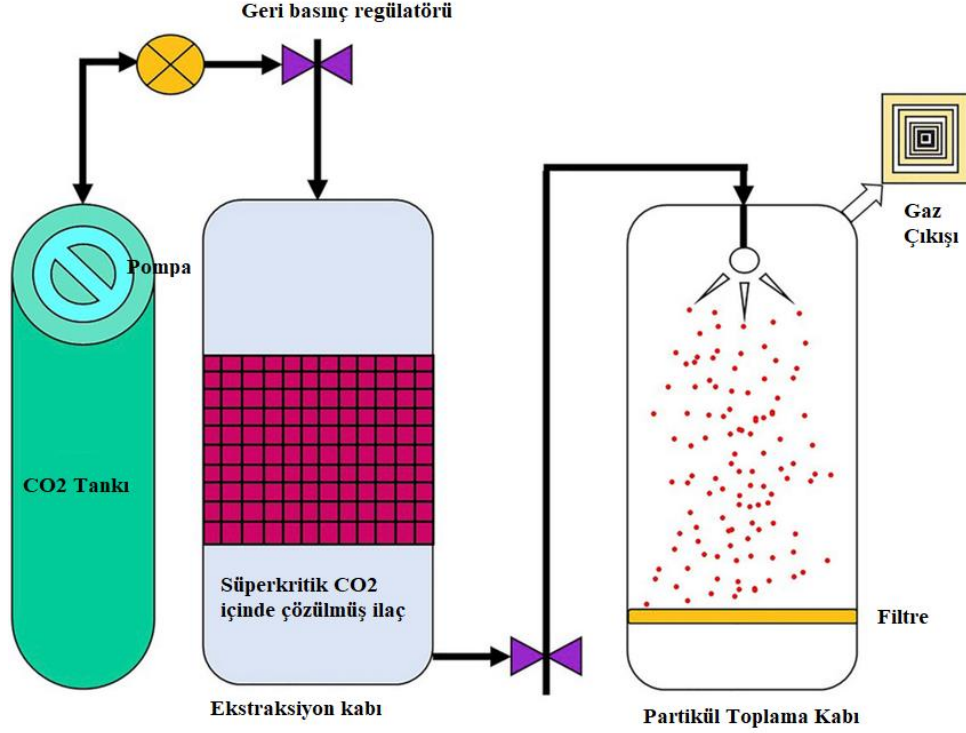
Kaynak: (Derman vd., 2013)

2.6.2 Süper kritik sıvı teknolojisi

Polimerin ve ilacın süperkritik bir sıvıda çözündürülüp basınç farkıyla genişletilip süperkritik sıvıdan uzaklaştırılarak NP'lerin oluşmasıyla sonuçlanan bir tekniktir. Herhangi bir organik çözücü kullanılmadığı için güvenli ve çevreci bir yöntemdir. Fakat süperkritik akışkanlar pahalı olduğundan ekonomik bir yöntem değildir. Bu yüzden de özel durumlar harici bu yöntem pek kullanılmamaktadır. (Erem Bilensoy & Ayla Zırh-Gürsoy, 2014) (Derman et al., 2013) (Fessi et al., 1989) (Adeyemi et al., 2023) (Nikezić et al., 2020b) Şekil 2.4'te farklı süper kritik sıvı teknolojisi teknikleri şematik olarak gösterilmiştir.

Şekil 2.4

Nanopartikül Üretiminde Kullanılan Farklı Süper Kritik Sıvı Teknolojisi Tekniklerinin Şematik Olarak Gösterimi



Kaynak: (Essa et al., 2020)

2.6.3 Çözücü buharlaştırma tekniği

Bu teknik NP hazırlanmasında geliştirilen ilk tekniktir (Kumar Yadav et al., 2012). Bu teknik iki ana basamaktan oluşur. İlk olarak polimer organik çözücü içinde çözündürülür ve polimer çözeltisi hazırlanır (organik faz). Bu amaçla geçmişte kloroform ve diklorometan gibi çözücüler kullanılırken günümüzde yerini toksisitesi daha kabul edilebilir sınırlarda olan aseton, etil asetata gibi çözücülere bırakmıştır. İkinci basamakta ise bu çözelti sulu faz ile emülsifiye edilir. Polimer, çözücünün buharlaşmasıyla emülsiyonun sürekli fazı üzerinden difüze olarak NP'leri oluşturur. Oluşan NP'ler ultrasantrifüjleme ile toplanır, distile su ile yıkanarak stabilizör kalıntıları, serbest etkin maddeler gibi safsızlıklardan arındırılır ve liyofilize edilerek saklanır (Pinto Reis et al., 2006). Teknik, polimerin ve ilacın çözünürlüğüne göre, tek emülsiyon (S/Y veya Y/S) ya da çift emülsiyon (S/Y/S) şeklinde teknik modifiye edilebilir. Tüm teknikte organik

çözücü uçurulması veya ekstraksiyonu ile NP'ler sulu dispersiyon şeklinde elde edilmektedir. (ÇOMOĞLU, 2022)

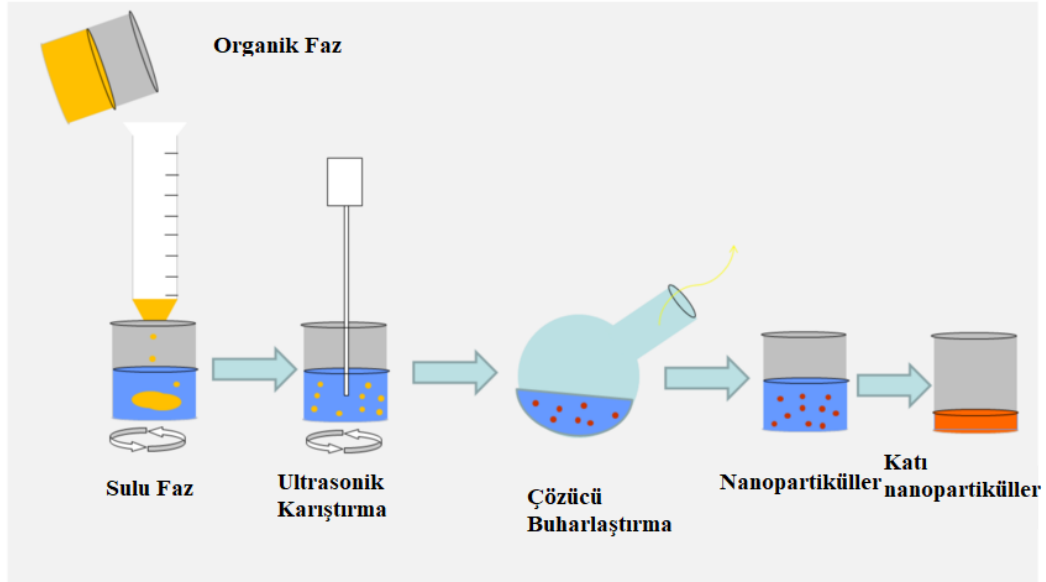
Tek emülsiyon çözücü buharlaştırma tekniğinde farklı emülsiyon çeşitleri bu yöntem için kullanılabilir olsa da yıkama işlemini kolaylaştırması, ekonomik giderleri azaltması, partikül agregasyonu ihtimalini minimize etmesi gibi üstünlükleri nedeniyle yağ/su emülsiyonları daha çok tercih edilmektedir. Ancak bu yöntemin lipofilik etkin maddeler için kullanılması ve homojenizasyonda yüksek enerji gereksinimi uygulanabilirliğini sınırlandırmaktadır. (Pinto Reis et al., 2006), (ÇOMOĞLU, 2022) (Soppimath et al., 2001)

Tek emülsiyon çözücü buharlaştırma tekniğinin hidrofilik etkin maddeler için kullanılamaması çift emülsiyon çözücü buharlaştırma tekniğinin geliştirilmesine yol açmıştır. Bu teknik ile hidrofilik etkin maddelerin NP sistemleri hazırlanabilmektedir. Tekniğin esası güçlü karıştırma ile sulu etkin madde fazının organik polimer çözeltisine eklenerek s/y emülsiyonu oluşturulmasına dayanır. Oluşan s/y emülsiyonu karıştırmaya devam edilerek ikinci bir su fazına ilave edilir ve s/y/s çift emülsiyonu oluşturulur. Çift emülsiyondan çözücü buharlaştırılarak polimer çöktürülür ve yüksek devirli santrifüj ile NP'ler izole edilir. Ardından NP'ler yıkanır ve liyofilize edilir. Eklenen hidrofilik etkin maddenin miktarı, kullanılan stabilizör ve polimerin konsantrasyonu, sulu fazın hacmi oluşan NP'nin özelliklerini önemli ölçüde etkiler (Couvreur2002, n.d.)(Vandervoort & and Ludwig, 2007) (Sharma & Malviya, 2011) (Müderrişoğlu & Çomoğlu, 2010) (Ubrich et al., 2004).

Şekil 2.5. ve Şekil 2.6.'te sırasıyla tek emülsiyon ve çift emülsiyon çözücü buharlaştırma teknikleri sırasıyla şematik olarak gösterilmiştir. Ayrıca bu tez çalışmasında tercih edilen yöntemlerden biri çift emülsiyon çözücü buharlaştırma tekniğidir.

Şekil 2.5

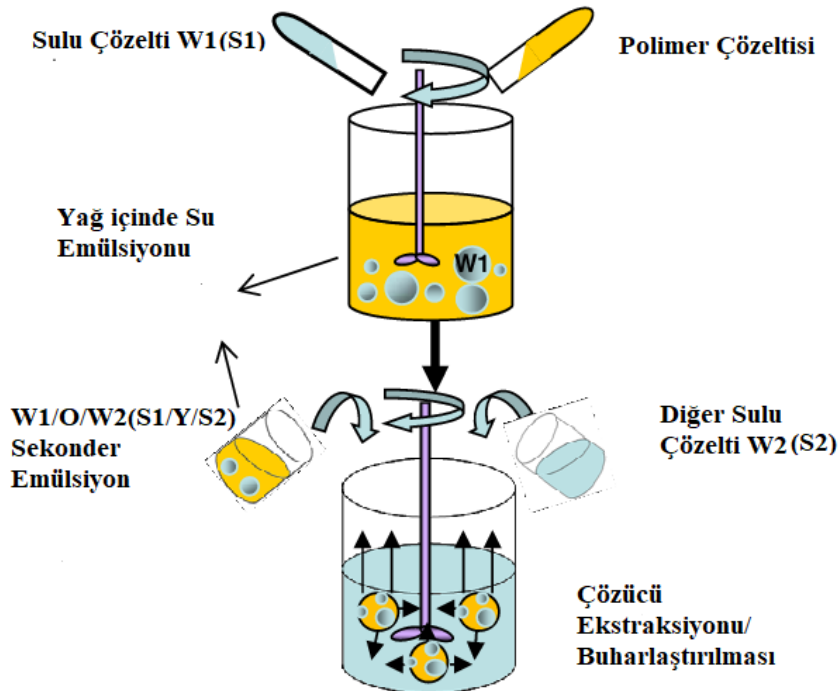
Nanopartikül Üretiminde Kullanılan Tek Emülsiyon Çözücü Buharlaştırma Tekniğinin Şematik Olarak Gösterimi (Umerska vd., 2018)



Kaynak: (Umerska vd., 2018)

Şekil 2.6

Nanopartikül Üretiminde Kullanılan Çift Emülsiyon Çözücü Buharlaştırma Tekniğinin Şematik Olarak Gösterimi



Kaynak: (Liu vd., 2010)

2.6.4 Tuzla çöktürme tekniği

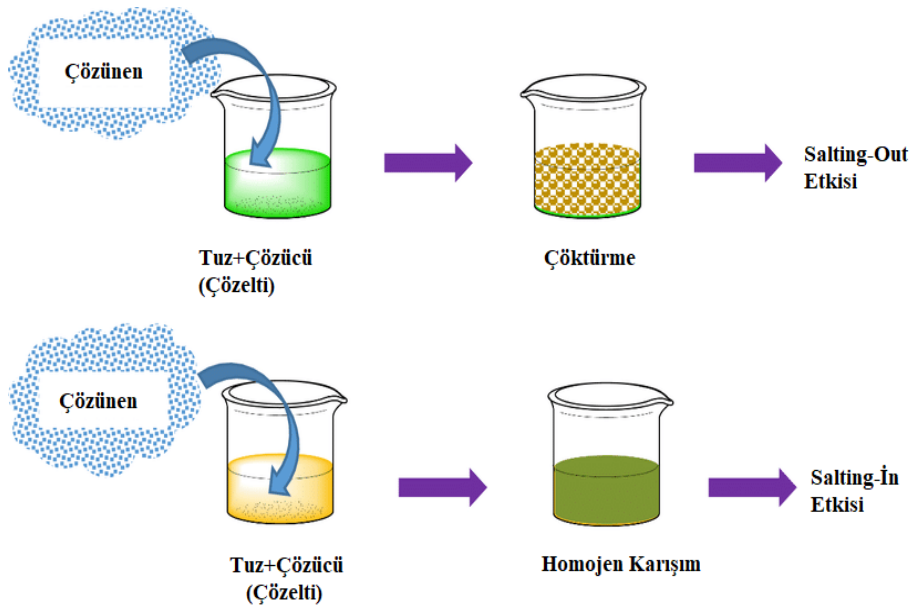
Tuzla çöktürme tekniği (salting out), proteinlerin, enzimlerin ve bazı biyolojik moleküllerin saflaştırılması ve formülasyonu sırasında kullanılan klasik ve etkili bir tekniktir. Bu teknik, çözeltideki iyonik kuvvetin artırılarak makromoleküllerin çözünürlüklerinin azaltılması ve bu sayede çökerek ayrılmaları prensibine dayanır. Farmasötik teknoloji alanında, biyolojik ilaçların stabilizasyonu, NP üretimi ve protein formülasyonlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. (Mendoza-Muñoz vd., 2012)

Tuzla çöktürme, proteinlerin sulu ortamdaki çözünürlüklerinin, ortama eklenen tuzlarla değişen iyonik denge ve hidrasyon kabiliyeti ile azaltılmasıdır. Tuzlar, su moleküllerini kendilerine çekerek proteinlerin etrafındaki su tabakasını bozar. Bu durumda protein-protein etkileşimi artar ve proteinler agregatlaşarak çöker. En yaygın kullanılan tuzlar arasında amonyum sülfat, sodyum sülfat ve magnezyum sülfat yer alır. Özellikle amonyum sülfat, yüksek çözünürlüğü ve proteinlere karşı nazik etkisi nedeniyle tercih edilir. (Mendoza-Muñoz vd., 2012)(Wingfield, 1998)

Şekil 2.7’de tuzla çöktürme tekniği ile NP üretimi şematik olarak gösterilmiştir.

Şekil 2.7

Nanopartikül Üretiminde Kullanılan Tuzla Çöktürme Tekniğinin Şematik Olarak Gösterimi



Kaynak:(Kamat vd., 2022)

2.6.5 Püskürterek kurutma tekniği

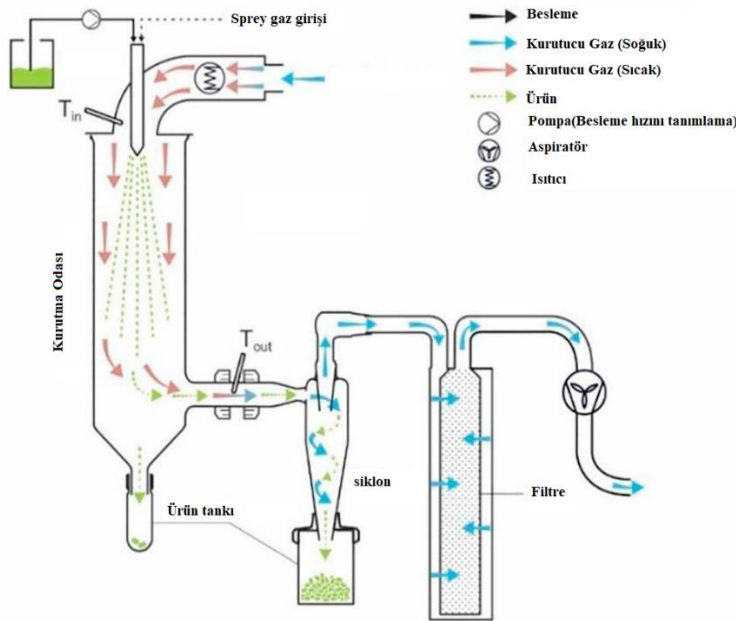
Püskürterek kurutma tekniği, sıvı bir çözeltinin, süspansiyonun veya emülsiyonun sıcak hava akımıyla hızla buharlaştırılarak katı bir toz formuna dönüştürülmesini sağlayan bir kurutma tekniğidir. Farmasötik endüstride, ilaçların stabil katı formlara dönüştürülmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu teknik hem küçük moleküllü ilaçlar hem de proteinler, peptitler gibi biyolojik ajanlar için uygundur. (Guterres vd., 2009)

Püskürterek kurutma süreci üç temel adımdan oluşur. Bu adımlar atomizasyon, kurutma ve toplama adımlarıdır. Sıvı formdaki ilaç çözeltisi, emülsiyonu veya süspansiyonu, yüksek basınçlı bir atomizatör veya nozul yardımıyla ince damlacıklar hâline getirilir. Bu damlacıklar sıcak hava akımına maruz bırakılır. Sıcaklık genellikle 100-200 °C arasında değişir. Bu süreçte damlacıklar içindeki çözücü hızla buharlaşır. Oluşan katı partiküller, siklon seperatör (ayırıcı), filtre sistemleriyle ya da gelişmiş elektrostatik sistemler ile toplanır. (Strojewski & Krupa, 2022)

Şekil 2.8’de püskürterek kurutma tekniği şematik olarak gösterilmiştir.

Şekil 2.8

Nanopartikül Üretiminde Kullanılan Püskürterek Kurutma Tekniğinin Şematik Olarak Gösterimi



Kaynak: (Arpagaus et al., 2018)

Püskürterek kurutma tekniği inhalasyon yoluyla uygulanan ilaç üretiminde, hidrofobik ilaçların çözünürlüğünü artırma amacıyla, termal stabiliteyi artırmak için biyolojik ajanların/aşıların kurutulmasında ve protein/peptid formülasyonlarında sıklıkla tercih edilmektedir.(Haggag & Faheem, 2015)

Bu tekniğin bazı avantajları bulunmaktadır. Hızlı ve kontrollü kurutma sağlar, ölçeklenebilir ve endüstriyel üretime uygundur, katı dispersiyonların elde edilmesini sağlar ve çözünürlüğü zayıf ilaçlar için çözünürlük artırıcı sistemlerin hazırlanmasına olanak sağlar.(McAdams vd., 2012)

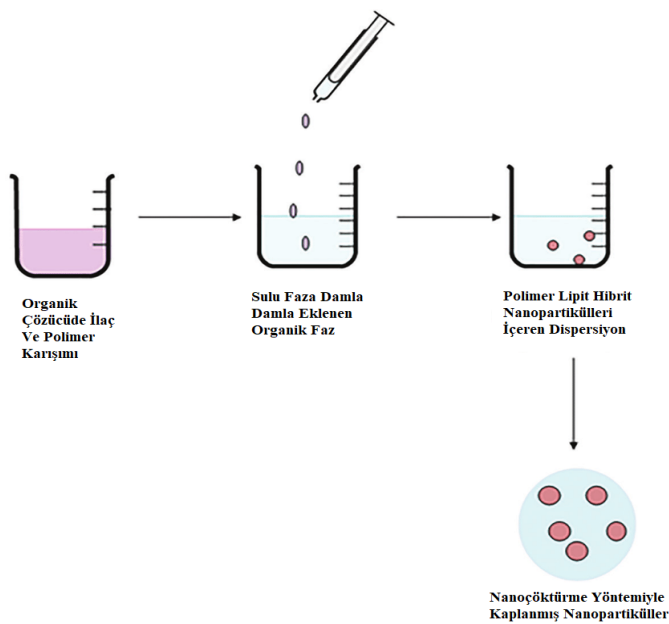
Tekniğin zorlukları ve sınırlamaları ise yüksek sıcaklık, bazı biyolojik ajanların inaktivasyonuna neden olabilmektedir. Süspansiyon viskozitesi ve yüzey gerilimi gibi fiziksel özelliklerin optimize edilmesi gerekir ve ayrıca cihaz maliyeti ve enerji tüketimi yüksektir.(Wintzheimer vd., 2023)

Sonuç olarak püskürterek kurutma tekniği, ilaç endüstrisinde katı formülasyonların geliştirilmesinde yaygın ve etkili bir teknik olarak kullanılmaktadır. Bostankolu et al., n.d.)(Zanders et al., 2019)(Ampie et al., 2015)(Wirsching & Weller, 2016)(Ohgaki & Kleihues, 2013)(Gürel & Feyda Nursal, 2016)

2.6.6 Nanoçöktürme yöntemi

Şekil 2.9

Nanoçöktürme Yöntemi Şematik Gösterimi



Kaynak: (Mahajan et al., 2021)

Nanoçöktürme, özellikle hidrofobik ilaçlar için kullanılan, basit, hızlı ve organik çözücü-temelli bir NP üretim tekniğidir. Genellikle solvent difüzyonu tekniği olarak da bilinir. Nanoçöktürme, hem hidrofilik hem de hidrofobik ilaçların NP içinde kapsüllenmesi için kullanılan basit bir tekniktir. Bu yöntem, NP'lerin anında oluşumuyla sonuçlanır, uygulanması kolay bir tekniktir, kolayca ölçeklendirilebilir ve tek adımlı bir prosedürdür. Nanoçöktürme, birbirleriyle karışabilen iki çözücünün eklenmesini gerektirir ve faz ayrımında NP'lerin kendiliğinden oluşumuyla sonuçlanır. İki çözücünden ideal olarak, birincisi (çözücü), polimerin ve ilacın çözündüğü ancak ikinci sistemde (çözücü olmayan) çözünmediği çözücüdür.(Fessi vd., 1989) Polimerik NP'lerin hazırlanması için kullanılan nanoçöktürme yöntemi Fessi ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir ve çözücü yer değişimi olarak da adlandırılır. Bu yöntemin temel prensibi; lipofilik çözeltideki, suyla karışabilen, yarıpolar çözücünün yerdeğişimi sonucu polimerin arayüzeyde çökmesidir. Bu yöntemde polimer aseton içerisinde çözünür aynı ortama etkin madde de eklenerek çözünmesi sağlanır. Bu organik çözelti manyetik karıştırıcı ile karıştırılan ve stabilizatör içeren distile su içerisine enjekte edilir. Aseton ve bir miktar suyun vakum altında uzaklaştırılması ile süspansiyonun son hacmi gerekli miktara ayarlanır .(Bilati vd., 2005) Bu yöntemde aynı zamanda etkin maddenin NP hazırlanmadan önce polimere ya da sonrasında NP'nin yüzeyine kovalent bağlanması, etkin maddenin polimerik taşıyıcı sisteme adsorpsiyonu, yada NP hazırlanırken etkin maddenin polimerik matriks içerisinde hapsedilmesi gibi farklı çalışma stratejileri geliştirilmiştir.

Fessi ve arkadaşları tarafından geliştirilen bu çalışmada, nanokapsül üretiminde interfasiyel polimer çöktürme tekniği temel alınmıştır.(Shastri, 2003) Bu yöntemde, önceden hazırlanmış biyobozunur bir polimer (PLA), suyla karışabilen yarı-polar bir çözücünün lipofilik fazdan uzaklaştırılmasıyla su/yağ ara yüzeyine çökertilmiştir. Bu yöntemle, model ilaç olarak indometasin içeren PLA nanokapsülleri başarıyla elde edilmiştir (Fessi et al., 1989).

Nanokapsül oluşum mekanizması, iki dengesiz sıvı faz arasındaki arayüzey türbülansı veya kendiliğinden ajitasyon (akış, difüzyon ve yüzey süreçlerini içeren) olarak açıklanabilir. Arayüzey türbülansını teşvik eden önemli faktörler arasında, daha yüksek viskoziteli fazdan çözünen madde transferi, arayüzey yakınında dik konsantrasyon gradyanları ve çözünen madde konsantrasyonuna duyarlı arayüzey gerilimi yer alır. Sürfaktanların varlığı durumu karmaşıktırabilir, çünkü arayüzey akışını bastırma

eğilimindedirler. (Berg, 1982) Tek başına kullanıldığında çökelme eğiliminde olan nanokapsüller, fosfolipid + poloksamer kombinasyonu ile en stabil forma ulaşmıştır. Sürfaktanlar olmadan nanokapsül hazırlamak mümkün olsa da poloksamer gibi yüksek oranda suda çözünen bir sürfaktanın fiziksel stabilite için gerekli olduğu gözlemlenmiştir. Son olarak, bu yöntemin sadece PLA ile değil; Eudragit, polivinil asetat, polikaprolakton, etil selüloz gibi farklı polimerlerle ve taksol, betaksolol gibi çeşitli ilaçlarla da uygulanabilirliği gösterilmiştir. Bu da yöntemin geniş bir uygulama potansiyeline sahip olduğunu ortaya koymaktadır. (Yadav & Sawant, 2010) Nanopresipitasyon, bugüne kadar istikrarlı bir şekilde rapor edilen en basit laboratuvar tabanlı polimerik NP hazırlama yöntemidir. Bu yöntem kullanılarak hazırlanan amfifilik polimer tabanlı partiküllerin optimum bir durumunda; hazırlama, yüksek kesme homojenizasyon teknikleri, ultra santrifüjleme veya yüzey aktif maddeler gerektirmez (Chin vd., 2011). Ancak, bu yöntem; düşük konsantrasyonlu hazırlama, partikülleri dondurarak kurutmanın tartışmalı yetersizliği gibi önemli dezavantajlar tarafından engellenmektedir.

2.7 Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

2.7.1 Parçacık boyutu ve dağılımı

NP sistemlerinde parçacık boyutu ve dağılımı, ilacın farmasötik performansı ve biyolojik etkinliği üzerinde doğrudan etkilidir. Parçacık boyutu, biyoyararlanım, hücresel alım, dolaşım süresi, hedef dokuya geçiş ve kontrollü salım gibi parametreleri belirler. Özellikle 200 nm'nin altındaki NP'ler, lenfatik drenaj sistemini atlayarak doğrudan dolaşım sistemine geçebilirken, daha büyük NP'ler genellikle makrofajlar tarafından fagosite edilir. Bunun yanı sıra, partikül boyutu ilacın çözünürlüğü ve çözünme hızı üzerinde de doğrudan etkilidir; daha küçük boyutlar daha geniş yüzey alanı sağlayarak çözünme kinetiğini artırır. Bu nedenle, hedefe yönelik ilaç taşıyıcı sistemlerde, en uygun boyutun belirlenmesi terapötik etkinlik açısından oldukça önemlidir. (Danaei vd., 2018).

Parçacık boyutu dağılımı (polidispersite indeksi, PDI) ise sistemin homojenliğini ve stabilitesini belirleyen önemli bir parametredir. Düşük PDI (<0.2), monodispers yani homojen dağılımlı bir sistemi gösterir ve uzun süreli fiziksel stabilite için uygundur. Yüksek PDI değerleri (> 0.3), partiküller arası büyüklük farklarının fazla olduğunu gösterir ve bu durum aglomerasyon, çökelme veya tutarsız ilaç salımı gibi sorunlara yol açabilir. Bu nedenle, NP temelli ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesinde dinamik ışık saçılımı (DLS) gibi yöntemlerle parçacık boyutu ve dağılımının düzenli olarak kontrol

edilmesi gereklidir. Ayrıca, ilaçların endüstriyel ölçekte üretiminde tekrarlanabilir ve kontrol edilebilir parçacık boyutlarının elde edilmesi, düzenleyici otoriteler tarafından da kalite kriteri olarak değerlendirilir (Desai vd., 2012).

2.7.2 Zeta potansiyel

Zeta potansiyeli, bir kolloidal sistemdeki parçacıkların yüzeyindeki elektriksel yük ile çevresindeki sıvı ortam arasındaki elektrostatik potansiyel farkını tanımlar. Yani, zeta potansiyeli, parçacığın etrafında oluşan elektriksel çift tabakanın kayma düzlemi (slip plane) üzerindeki potansiyel değeridir. Bu potansiyel, parçacıkların birbiriyle etkileşimini ve süspansiyon içerisindeki stabilitesini doğrudan etkiler. Yüksek pozitif veya negatif zeta potansiyel değerleri, parçacıklar arasında güçlü elektrostatik itme kuvvetleri oluşturur ve bu da sistemin agregasyon(çökme) eğilimini azaltarak stabilize bir dispersiyon elde edilmesini sağlar. Örneğin, ± 30 mV'nin üzerindeki zeta potansiyeli genellikle fiziksel olarak stabil sistemlerle ilişkilendirilir (Bhattacharjee, 2016).

Zeta potansiyeli, özellikle NP, emülsiyon, süspansiyon ve lipozom gibi sistemlerin karakterizasyonunda kritik öneme sahiptir. Bu değer, pH, iyonik kuvvet, ortamın dielektrik sabiti ve kullanılan stabilizatör gibi çeşitli parametrelerden etkilenebilir. İlaç taşıyıcı sistemlerde zeta potansiyeli, biyouyumluluk, hücre etkileşimi ve dolaşım süresi üzerinde belirleyicidir. Negatif yüzey yükleri genellikle daha az hücre alım ile ilişkilendirilirken, hafif pozitif yükler hücre membranlarıyla daha güçlü etkileşime girerek taşıyıcı sistemlerin etkinliğini artırabilir. Dolayısıyla zeta potansiyel ölçümü hem formülasyon geliştirme sürecinde hem de kalite kontrol aşamasında önemli bir araçtır (Hunter, 1981).

2.7.3 Yapısal analiz

NP'lerin yapısal analizi, taşıyıcı sistemlerin morfolojik, fizikokimyasal ve kristalografik özelliklerinin belirlenmesi açısından büyük öneme sahiptir. Bu analizler, NP'lerin boyut, şekil, yüzey yapısı, kristalin ya da amorf doğası, iç yapısal bütünlüğü ve yük dağılımı gibi parametrelerini ortaya koyar. X-ışını difraksiyonu (XRD) ise partiküllerin kristal ya da amorf yapıda olup olmadığını belirlemek için kullanılır ve ilaç etkin maddesinin taşıyıcı matris içinde hangi fiziksel durumda bulunduğunu ortaya koyar.(Kulkarni & Feng, 2013) Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), NP'lerin yapısında yer alan fonksiyonel grupların tanımlanması için kullanılırken, diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC) ve termogravimetrik analiz (TGA) gibi termal analiz teknikleri, sistemin termal

stabilitesini ve bileşenler arası etkileşimleri değerlendirmede önemli rol oynar. Ayrıca, dinamik ışık saçılımı (DLS) ve zeta potansiyel ölçümleri, yapısal analiz kapsamında partikül boyutu dağılımı ve yüzey yükü karakterizasyonu açısından tamamlayıcıdır. Bu teknikler birlikte kullanıldığında, NP formülasyonlarının stabilitesi, ilaç salım profili ve biyoeşdeğerliği gibi farmasötik performansa doğrudan etki eden yapısal özellikleri güvenilir biçimde değerlendirilmiş olur. Bu nedenle, yapısal analiz sadece kalite kontrol değil, aynı zamanda formülasyon optimizasyonu ve regülasyon uyumluluğu açısından da vazgeçilmezdir. (Danaei vd., 2018)

2.7.4 İlaç salımı / dissolüsyon

Dissolüsyon, ilaç etkin maddesinin formülasyondan salınarak çözelti fazına geçişini tanımlayan kinetik bir süreçtir ve oral farmasötik dozaj formlarının biyoyararlanımını belirleyen temel parametrelerden biridir. Bir ilacın gastrointestinal sistemde etkili olabilmesi için öncelikle çözünmesi gerekmektedir; dolayısıyla çözünme hızı, etkin maddenin absorpsiyon sürecini doğrudan etkiler. Noyes-Whitney denklemi, çözünme hızının yüzey alanı, doyumluk konsantrasyonu, difüzyon katsayısı ve çözeltideki ilaç konsantrasyonu arasındaki ilişkiyi tanımlar. Özellikle zayıf suda çözünür ilaçlarda, çözünme hızını artırmaya yönelik mikronizasyon, katı dispersiyon, yüzey modifikasyonu gibi teknikler sıklıkla kullanılmaktadır (Dressman & Reppas, 2000). Bu bağlamda, *in vitro* dissolüsyon testleri, biyoeşdeğerlilik ve kalite kontrol açısından farmasötik ürünlerin geliştirme sürecinde önemlidir. (Dressman & Reppas, 2000)

Kontrollü ilaç salım sistemlerinde dissolüsyon yalnızca çözünme değil, aynı zamanda salım profili açısından da değerlendirilmelidir. Bu sistemlerde kullanılan biyopolimerler (örneğin PLGA, Eudragit, HPMC) ilaç salımını zamana, pH'a veya çevresel faktörlere bağlı olarak modüle edebilir. Bu tür formülasyonlarda, çözünme hızı sadece etkin maddenin çözünürlüğüne değil, aynı zamanda taşıyıcı matrisin erime, şişme veya parçalanma özelliklerine de bağlıdır. Dissolüsyon profilleri genellikle sıfırıncı derece, birinci derece, Higuchi, Korsmeyer-Peppas gibi matematiksel modellerle tanımlanır ve bu sayede ilacın salım mekanizması anlaşılabilir. Modern araştırmalarda, *in vitro*-*in vivo* korelasyon (IVIVC) kurularak dissolüsyon verilerinin klinik etkinliği ne derece yansıttığı da analiz edilmektedir. Bu analizler, yeni ilaç formülasyonlarının regülasyonlara uygun şekilde geliştirilmesini sağlar. (Emami, 2006)

2.7.4.1 Ultraviyole-Görünür Spektroskopisi (UV-Vis)

İlaç salım profillerinin kantitatif olarak değerlendirilmesinde en yaygın kullanılan yöntemlerden biri UV-görünür (UV-Vis) spektroskopisidir. Bu yöntemle çözünmüş etkin maddenin karakteristik dalga boyundaki absorpsiyonuna dayanarak konsantrasyonu belirlenebilir. Salım testleri genellikle uygun bir ortamda (örneğin pH 1.2, 4.5 veya 6.8 tampon çözeltilerinde) gerçekleştirilir ve belirli zaman aralıklarında örnekler alınarak UV-Vis spektrofotometresi ile analiz edilir. Elde edilen absorpsiyon değerleri, önceden oluşturulmuş kalibrasyon eğrileri kullanılarak konsantrasyona dönüştürülür ve zamana karşı çözünen ilaç miktarı hesaplanarak salım profili oluşturulur. Bu yöntem, özellikle hızlı ve tekrarlanabilir sonuçlar sağlaması nedeniyle hem AR-GE çalışmalarında hem de rutin kalite kontrol süreçlerinde yaygın olarak tercih edilmektedir. Ayrıca, UV-Vis spektroskopisi, salım kinetiği modellerinin (Higuchi, Korsmeyer-Peppas, vs.) doğrulanmasında da önemlidir. (Costa & Sousa Lobo, 2001)

3. GEREÇLER

3.1 Kullanılan Maddeler

<u>Madde adı</u>	<u>Firma Adı</u>
Aseton	: Merck, Almanya
Dimetilformamid (DMF)	: Merck, Almanya
Potasyum fosfat monobazik	: Sigma-Aldrich, Almanya
PVA (polivinil alkol)	: Sigma-Aldrich, Almanya
Resomer RG 502 H (PLGA)	: Sigma-Aldrich, Almanya
Sodyum hidroksit	: Sigma-Aldrich, ABD
Span 60	: Sigma-Aldrich, Almanya
Temozolomid	: Deva Holding, Türkiye

3.2 Kullanılan Cihazlar

<u>Cihaz Adı</u>	<u>Firma Adı</u>
Buz Dolabı	: Arçelik, Türkiye
Derin Dondurucu	: Liebherr LGEX 3410 Medline, İsviçre
Distile su cihazı	: MiliQMilipore, Fransa
DSC	: Shimadzu, Japonya
Evaporatör	: Shimadzu, Japonya
FTIR	: Shimadzu, Japonya
Hassas Terazî	: Ohaus E1 2140, ABD
Liyofilizatör	: Scanvac-Coolsafe Pro, Danimarka
Manyetik Karıştırıcı	: Weightlab Instruments, Türkiye
Mikropipet seti	: DLAB, Çin
pH metre	: WTW Profilab pH 597, Almanya
Ultrasonik Banyo	: Weightlab Instruments, Türkiye
UV-Spektrofotometre	: Shimadzu, Japonya
Vorteks	: DLAB, Çin
Zetasizer	: Malvern Nano ZS, İngiltere

4. YÖNTEM

4.1 Nanopartikül Formülasyonlarının Hazırlanması

Bu tez çalışmasında hazırlanan NP formülasyonları nanoçöktürme ve çift emülsiyon çözücü buharlaştırma tekniklerinin modifiye edilmiş versiyonları kullanılarak formüle edilmiştir.(Arınmış vd., 2024)(Baghirova vd., 2023) (Ekinci vd., 2022)(Öztürk & Yurtdaş Kırımlıoğlu, 2019)(Öztürk vd., 2019a)

4.1.1 Nanoçöktürme tekniği ile PLGA bazlı nanopartikül formülasyonlarının hazırlanması

Bu tez çalışmasında ilk olarak PLGA bazlı boş/blank NP'ler, modifiye edilmiş nanoçöktürme tekniği kullanılarak hazırlanmıştır. Öncelikler doğru tartılmış miktarda PLGA ve stabilizatör olarak kullanılan Span 60 (HLB: 4.7), 3 mL dimetilformamid (DMF) içinde çözülmüş ve organik faz oluşturulmuştur. Bu organik faz, sürekli manyetik karıştırma altında 10 mL'lik bir sulu polivinil alkol (PVA, %1.5 a/h) çözeltisine 5 mL·dk⁻¹ hızında damla damla ilave edilmiştir. Damlatma işlemi tamamlandıktan sonra, organik çözücü rotavapor kullanılarak uzaklaştırılmıştır. Oluşan NP süspansiyonundan NP'leri toplamak için, süspansiyon 4°C'de 45 dakika boyunca 11.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Süpernatant atılmış ve ardından NP'ler 5 mL distile su içinde yeniden dağıtılmıştır. Bu yıkama işlemi kalıntı maddeler ve çözücülerin tamamen uzaklaştırılmasını sağlamak için yapılmıştır. Yıkama ve santrifüj adımları toplamda 3 kez olacak şekilde tekrarlanmıştır.

Nanoçöktürme yöntemi ile TEM yüklü NP'lerin hazırlanması boş/blank NP'lerin hazırlanmasına benzemektedir. Tek fark organik faza 6 mg TEM eklenmiş, çözündürülmüş ve prosese devam edilmiştir.

Yıkama adımlarından sonra, NP'ler distile suda yeniden süspanse edilmiş, dondurulmuş ve daha sonra kullanılmak üzere liyofilize edilmiştir. Bu tez çalışmasında nanoçöktürme tekniği ile geliştirilen PLGA bazlı NP formülasyonlarının ayrıntılı bileşimleri Tablo 4.1'de özetlenmiştir.

Tablo 4.1*Nanoçöktürme Tekniğiyle Hazırlanan PLGA Bazlı Nanopartikül Formülasyonlarının Bileşimi*

Kod	Organik Faz				Su Fazı PVA solution 10 mL	Hazırlık/cihaz durumu Damlama Hızı
	PLGA	TEM	DMF	Span 60		
NP1-Blank	60 mg	-	3 mL	20 mg	%1.5 (a/h)	5 mL.min ⁻¹
NP1-TEM	60 mg	6 mg	3 mL	20 mg	%1.5 (a/h)	5 mL.min ⁻¹

4.1.2 Çift emülsiyon solvent buharlaştırma tekniği ile PLGA bazlı nanopartikül formülasyonlarının hazırlanması

Bu tez çalışmasında nanoçöktürme yönteminin ardından PLGA bazlı NP'ler, modifiye edilmiş çift emülsiyon çözücü buharlaştırma (S₁/Y/S₂) tekniği kullanılarak da hazırlanmıştır. Öncelikle 60 mg PLGA, 3 mL aseton içinde çözündürülmüş ve organik fazı oluşturulmuştur. Daha sonra, ilk su içinde yağ (Y₁/S) emülsiyonunun oluşturulması için 400 µL PVA (HLB:18) (%1.5, a/h) içeren PBS çözeltisi (pH 7.4) organik faza ultrasonikasyon altında (1 dakika, ultrasonik banyo) damla damla eklenmiştir. Bu ilk emülsiyon daha sonra 10 mL PVA (%1.5, a/h) içeren PBS çözeltisi (pH 7.4) yavaşça eklenmiş ve çift emülsiyonu (S₁/Y/S₂) oluşturmak için 60% güçte 90 saniye boyunca prob sonikatör (Sonics, USA) kullanılarak emülsifiye edilmiştir. Organik çözücü oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı (250 rpm) ile sürekli karıştırma altında 4 saat boyunca buharlaştırılmıştır. Oluşan NP süspansiyonundan NP'leri toplamak için, süspansiyon 4°C'de 45 dakika boyunca 11.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Süpernatant atılmış ve ardından NP'ler 5 mL distile su içinde yeniden dağıtılmıştır. Bu yıkama işlemi kalıntı maddeler ve çözücülerin tamamen uzaklaştırılmasını sağlamak için yapılmıştır. Yıkama ve santrifüj adımları toplamda 3 kez olacak şekilde tekrarlanmıştır.

Çift emülsiyon çözücü buharlaştırma tekniği ile TEM yüklü NP'lerin hazırlanması boş/blank NP'lerin hazırlanmasına benzemektedir. Tek fark 400 µL PVA (%1.5, a/h) içeren PBS çözeltisine (pH 7.4) 6 mg TEM eklenmiş, çözündürülmüş ve prosese devam edilmiştir.

Yıkama adımlarından sonra, NP'ler distile suda yeniden süspanse edilmiş, dondurulmuş ve daha sonra kullanılmak üzere liyofilize edilmiştir. Bu tez çalışmasında çift emülsiyon çözücü buharlaştırma tekniği ile geliştirilen PLGA bazlı NP formülasyonlarının ayrıntılı bileşimleri Tablo 4.2'de özetlenmiştir.

Tablo 4.2

Çift Emülsiyon Çözücü Buharlaştırma Tekniğiyle Hazırlanan PLGA Bazlı Nanopartikül Formülasyonlarının Bileşimi

Kod	Sulu faz (S ₁)		Organik faz (Y ₁)		Sulu faz (S ₂)	Hazırlama/Cihaz durumu	
	% 1.5 (a/h) PVA içeren pH 7.4 PBS	TEM	PLGA	Aseton	% 1.5 (a/h) PVA içeren pH 7.4 PBS	Prob sonikasyon gücü (Genlik)	Prob sonikasyon süresi (Saniye)
NP2-Blank	400 µL	-	60 mg	3 mL	10 mL	%60	90
NP2-TEM	400 µL	6 mg	60 mg	3 mL	10 mL	%60	90

4.2 Nanopartikül Formülasyonlarının Karakterizasyonu

4.2.1 Analitik miktar tayini için validasyon çalışmaları

In vitro çalışmalarda TEM miktar tayini UV spektrofotometre ile gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla enkapsülasyon etkinliği çalışmaları ve *in vitro* dissolüsyon çalışmaları için iki farklı validasyon çalışması yapılmıştır.

4.2.1.1 Temozolomid için dimetilformamid:su (1:1, h/h) ortamında validasyon çalışması

TEM için dimetilformamid (DMF):su (1:1, h/h) ortamında yapılan çalışma doğrusallık, kesinlik ve doğruluk parametreleri dikkate alınarak istatistiksel olarak incelenmiştir. Parametreler Uluslararası Harmonizasyon Birliği (ICH)'nin kriterlerine göre kontrol edilmiştir.(Guideline of ICH, 2022) (Borman, P. & Elder,2017)(Committee, I. C. H. S., 1996).

4.2.1.1.1 Absorbans belirleme çalışmaları

Enkapsülasyon etkinliği çalışmalarında kullanmak üzere TEM için DMF:su (1:1, h/h) ortamında miktar tayini UV spektrofotometre ile gerçekleştirilmiştir. Maksimum absorbans (λ_{max}) değerinin bulunması için ilk olarak 25 mg TEM tam olarak tartılmış ardından DMF:su (1:1, h/h) karışımı ile balon jojede 25 mL'e tamamlanmıştır. Bu çözelti on dakika ultrasonik banyoda tutulmuş ve sonuç stok çözelti hazırlanmıştır. Stok çözeltinin konsantrasyonunun 1000.0 µg.mL⁻¹ olmasından hareketle farklı seyreltmeler ile daha düşük konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanmıştır. UV spektrofotometrede λ_{max} değerinin bulunabilmesi için 200-800 nm arasında taranmıştır.(Kömür vd., 2025)

4.2.1.1.2 Doğrusallık

Validasyon çalışmalarında doğrusallığın değerlendirilmesi için üç farklı stok çözeltiden 6 farklı konsantrasyonda çözelti hazırlanmıştır. Bu çözeltiler 2.5 ile 15.0 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ arasında farklı konsantrasyonlarda hazırlanmıştır. Her çözelti için analiz 3 kez tekrarlanmıştır. Çözeltilerin absorbans değerleri 327 nm’de kaydedilmiştir. Bulunan absorbans değerleri ile regresyon analizi yapılmıştır. Bu şekilde TEM’e ait kalibrasyon eğrisi, eğriye ait olan doğru denklemi ve korelasyon katsayısı değeri (r^2) elde edilmiştir. (Luna vd., 2022)

4.2.1.1.3 Kesinlik

Kullanılan miktar tayini yönteminin kesinliğini doğrulamak için doğrusallık çalışmalarında kullanılan konsantrasyonlar dikkate alınarak kalibrasyon aralığında bulunan 3 farklı konsantrasyonda 3 farklı günde TEM içeren stok çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan bu stok çözeltilerin seyreltilmesiyle 5.0 $\mu\text{g. mL}^{-1}$, 10.0 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ ve 15.0 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ konsantrasyonda çözeltiler hazırlanmış ve kesinlik çalışması için analiz edilmiştir. (Öztürk vd., 2017)

4.2.1.1.4 Doğruluk

Doğruluk çalışması için analitik metodun doğru olup olmadığını tespit etmek, kullanılan analitik metotla elde edilen sonucun gerçek değerleri ne kadar yansıttığına ne kadar uyumlu olduğuna bakılması için analizler gerçekleştirilmiştir. Bu analizlerde elde edilen sonuçlar yüzde geri kazanım ve her seri için bağıl standart sapma olarak sunulmuştur. Analitik yöntemin doğruluk analizleri için 3 ayrı konsantrasyonda (5.0 $\mu\text{g. mL}^{-1}$, 10.0 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ ve 15.0 $\mu\text{g. mL}^{-1}$) üç kez tekrarlanan analizler yapılmıştır. (Kömür vd., 2025)

4.2.1.1.5 Duyarlılık

Tespit sınırı (LOD), numunede tespit edilebilecek minimum analit miktarı demektir. Ölçüm sınırı (LOQ) ise uygun kesinlik ve doğrulukla kantitatif olarak belirlenebilen numune içindeki analit miktarlarının en düşük olanıdır. Genelde bu sınırlar bir analitin tespiti veya ölçümü için gereken en düşük konsantrasyonları gösterir. LOD ve LOQ değerleri aşağıda verilen Denklem 4.1 ve Denklem 4.2 ile hesaplanmıştır. Denklem 4.1 ve denklem 4.2’deki S, y eksenini kesim noktasının standart sapması, m ise korelasyon eşitliğinin eğimidir. (Solak vd., 2025)(Kumari & Khansili, 2020)

$$LOD = \frac{3.3 \times m}{S} \quad (4.1)$$

$$LOD = \frac{10 \times m}{S} \quad (4.2)$$

4.2.1.1.6 Seçicilik

Seçicilik çalışması için TEM, DMF:su (1:1, *h/h*) karışımı ve blank formülasyonlar (NP1-Blank ve NP2-Blank) için 200-800 nm aralığında alınan spektrumlar incelenerek seçicilik belirlenmiştir. (Araújo vd., 2013)

4.2.1.2 Temozolomid için PBS (pH 7.4) ortamında validasyon çalışması

4.2.1.2.1 Absorbans belirleme çalışmaları

In vitro dissolüyon çalışmalarından kullanmak üzere TEM için fosfat tamponu (PBS, pH 7.4) ortamında miktar tayini UV spektrofotometre ile gerçekleştirilmiştir. Maksimum absorbans (λ_{max}) değerinin bulunması için ilk olarak 25 mg TEM tam olarak tartılmış ardından PBS (pH 7.4) ile balon jojede 25 mL'e tamamlanmıştır. Bu çözelti on dakika ultrasonik banyoda tutulmuş ve sonuç stok çözelti hazırlanmıştır. Stok çözeltinin konsantrasyonunun $1000.0 \mu\text{g.mL}^{-1}$ olmasından hareketle farklı seyreltmeler ile daha düşük konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanmıştır. UV spektrofotometrede λ_{max} değerinin bulunabilmesi için 200-800 nm arasında taranmıştır. (Bhusari & Dhaneshwar, 2012)

4.2.1.2.2 Doğrusallık

Validasyon çalışmalarında doğrusallığın değerlendirilmesi için üç farklı stok çözeltilerden 6 farklı konsantrasyonda çözelti hazırlanmıştır. Bu çözeltiler 2.5 ile $15.0 \mu\text{g. mL}^{-1}$ arasında farklı konsantrasyonlarda hazırlanmıştır. Her çözelti için analiz 3 kez tekrarlanmıştır. Çözeltilerin absorbans değerleri 327 nm'de kaydedilmiştir. Bulunan absorbans değerleri ile regresyon analizi yapılmıştır. Bu şekilde TEM'e ait kalibrasyon eğrisi, eğriye ait olan doğru denklemi ve korelasyon katsayısı değeri (r^2) elde edilmiştir. (Luna vd., 2022)

4.2.1.2.3 Kesinlik

Kullanılan miktar tayini yönteminin kesinliğini doğrulamak için doğrusallık çalışmalarında kullanılan konsantrasyonlar dikkate alınarak kalibrasyon aralığında bulunan 3 farklı konsantrasyonda 3 farklı günde TEM içeren stok çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan bu stok çözeltilerin seyreltilmesiyle 5.0 µg. mL⁻¹, 10.0 µg. mL⁻¹ ve 15.0 µg. mL⁻¹ konsantrasyonda çözeltiler hazırlanmış ve kesinlik çalışması için analiz edilmiştir. (Öztürk vd., 2017)

4.2.1.2.4 Doğruluk

Doğruluk çalışması için analitik metodun doğru olup olmadığını tespit etmek, kullanılan analitik metotla elde edilen sonucun gerçek değerleri ne kadar yansıttığına ne kadar uyumlu olduğuna bakılması için analizler gerçekleştirilmiştir. Bu analizlerde elde edilen sonuçlar yüzde geri kazanım ve her seri için bağlı standart sapma olarak sunulmuştur. Analitik yöntemin doğruluk analizleri için 3 ayrı konsantrasyonda (5.0 µg. mL⁻¹, 10.0 µg. mL⁻¹ ve 15.0 µg. mL⁻¹) üç kez tekrarlanan analizler yapılmıştır. (Araújo vd., 2013)

4.2.1.2.5 Duyarlılık

PBS (pH 7.4) ortamında yapılan validasyon çalışması için LOD ve LOQ analizleri ‘4.2.1.1.5. **Duyarlılık**’ başlığı altında yer verilen Denklem 4.1 ve Denklem 4.2 yardımı ile hesaplanmıştır.

4.2.1.2.6 Seçicilik

Seçicilik çalışması için TEM, PBS (pH 7.4) ve blank formülasyonlar (NP1-Blank ve NP2-Blank) için 200-800 nm aralığında alınan spektrumlar incelenerek seçicilik belirlenmiştir.(Araújo vd., 2013)

4.2.2 Partikül boyutu, Polidispersite İndeksi (PDI) ve zeta potansiyeli

NP formülasyonlarının partikül boyutu (PB) ve polidispersite indeksi (PDI), Zetasizer Nano-ZS (Malvern Panalytical, Malvern, UK) cihazı kullanılarak dinamik ışık saçılması (DLS) ile belirlenmiştir. Zeta potansiyeli (ZP) ölçümleri de aynı cihaz kullanılarak yapılmıştır. PB ve PDI analizi için, NP'ler distile su ile uygun şekilde seyreltilmiş ve 25°C'de ölçümler alınmıştır. ZP değerleri, uygun iletkenliği sağlamak için distile su ile seyreltildikten sonra aynı sıcaklık koşulları altında tek kullanımlık katlanmış bir kılcal

zeta hücresi kullanılarak belirlenmiştir. Her örnek üç kez analiz edilmiş ve sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma (Ortalama $\pm$ SD) olarak rapor edilmiştir.

4.2.3 Enkapsülasyon Etkinliği (%EE)

NP1-TEM ve NP2-TEM formülasyonlarında TEM'in enkapsülasyon etkinliği (% EE), NP'lerden ekstrakte edilen ilaç miktarının ölçülmesiyle belirlenmiştir. Her ölçüm için, 5 mg liyofilize NP tozu doğru bir şekilde tartılmıştır. Daha sonra, NP'leri çözmek için 1 mL DMF:su karışımı (1:1, *h/h*) eklenmiş ve ardından polimer matrisin tamamen parçalanmasını ve kapsüllenmiş TEM'in serbest kalmasını sağlamak için önce vortekslenmiş ardından 5 dakika boyunca ultrasonik banyoda tutulmuştur. Elde edilen çözelti, herhangi bir artık polimer parçacığını ortadan kaldırmak için 0.22 μ m'lik bir membran filtreden süzülmiştir. Uygun seyreltmelerden sonra, filtrattaki TEM konsantrasyonu 327 nm'de bir UV-görünür spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir. Tüm analizler üç kez gerçekleştirilmiş ve % EE başlangıçtaki teorik ilaç miktarının NP'ler içinde ne kadar kapsüllendiği yüzde olarak hesaplanmıştır (Denklem 4.3.). (Elmaskaya vd., 2019)

$$\% EE = \left(\frac{\text{Enkapsüle edilen TEM Miktarı}}{\text{NP hazırlamada eklenen teorik TEM miktarı}} \right) \times 100 \quad (4.3)$$

4.2.4 In Vitro Salım

Saf TEM, NP1-TEM ve NP2-TEM formülasyonlarının *in vitro* salım profilleri diyaliz torbası difüzyon tekniği kullanılarak değerlendirilmiştir. Öncelikle, 5 mg TEM'e eşdeğer miktarda TEM içeren liyofilize NP formülasyonları ve 5 mg saf TEM, önceden PBS (pH 7.4) ile ıslatılmış diyaliz membran torbalarına (Selüloz diyaliz membranı, MWCO: 14.000 Da; düz genişlik: 33 mm; D9652, Sigma-Aldrich) ayrı ayrı aktarılmış ve 3 mL PBS (pH 7.4) ile tamamlanmıştır. İki ucu kapalı olan her diyaliz torbası daha sonra $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de tutulan PBS (pH 7.4) daldırılmış ve termostat kontrollü bir çalkalayıcıda 100 rpm'de karıştırılmıştır. Ortam buharlaşmasını en aza indirmek için, reseptör bölmeleri deney boyunca sıkıca kapatılmıştır. Önceden belirlenmiş zaman aralıklarında (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 12, 24, 48 ve 72 saat), salım ortamından 3 mL örnek çekilmiş ve hemen eşit hacimde taze, önceden ısıtılmış PBS ortamlara eklenmiştir. Her zaman noktasında salınan TEM miktarı, 327 nm'de bir UV-görünür spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir.

Tüm ölçümler her grup için üç kez yapılmış ve sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma (SD) olarak ifade edilmiş ve kümülatif salım grafikleri çizilmiştir. (Arınmış vd., 2024)

4.2.5 Salım Kinetiği

Salım profilleri elde edildikten sonra salım kinetiği çalışmaları için elde edilen salım verileri en önemli ve popüler kriterleri belirlemek için veriler DDSolver programına aktarılmıştır. Salım kinetiğini belirlemek için korelasyon katsayısı (R^2), düzeltilmiş korelasyon katsayısı (R^2_{adjusted}), Akaike Bilgi Kriteri (AIC), Model Seçim Kriteri (MSC) ve diğer parametreler değerlendirilmiştir. En yüksek R^2 , R^2_{adjusted} ve MSC değerleri ile en düşük AIC değerleri, ayrıca diğer salım kinetiği parametreleri Higuchi, Korsmeyer-Peppas ve Weibull modellerinin değerlendirilmesinde kullanılmıştır. Son olarak, NP1-TEM ve NP2-TEM'in salım farkları DDSolver programı ile 'Benzerlik Faktörü'ne (f_2) göre değerlendirilmiştir.(Öztürk vd., 2019b)(Güven vd., 2020)(Zuo vd., 2014)(H. Zhang & Gao, 2006)

4.2.6 Katı Hal Karakterizasyonu

4.2.6.1 Termal Analiz

Örneklerin termal davranışı diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC-60; Shimadzu Scientific Instruments, Columbia, MI, ABD) kullanılarak değerlendirilmiştir. Her bir örnekt yaklaşık 5 mg doğru bir şekilde tartılmış ve alüminyum kaba aktarılmıştır. Analizler $10^\circ\text{C}.\text{dk}^{-1}$ ısıtma hızıyla $30\text{--}300^\circ\text{C}$ sıcaklık aralığında, $50\text{mL}.\text{dk}^{-1}$ sürekli hava akışı altında gerçekleştirilmiştir. TEM yüklü NP formülasyonlarına (NP1-TEM ve NP2-TEM) ek olarak, saf TEM, PLGA ve boş NP'ler (NP1-Blank ve NP2-Blank) dahil olmak üzere referans örnekler, ilaç ve polimer matris arasındaki olası etkileşimleri ve ilacın fiziksel durumundaki olası değişiklikleri değerlendirmek için karşılaştırmalı amaçlarla analiz edilmiştir. (Başaran vd., 2022)(Öztürk, Yenilmez, vd., 2020)

4.2.6.2 Fourier-Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi Analizi

Fourier-Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) analizleri, $4000\text{--}500\text{ cm}^{-1}$ dalga boyu aralığında Shimadzu IR Prestige-21 spektrofotometresi (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. TEM yüklü NP formülasyonlarına (NP1-TEM ve NP2-TEM) ek olarak, saf TEM, PLGA ve boş NP'ler (NP1-Blank ve NP2-Blank) içeren referans numuneler de karşılaştırmalı analiz için kullanılmıştır. Elde edilen spektrumlar, ilaç ve polimer matrisi arasındaki fiziksel etkileşimleri veya kimyasal

uyumluluğu gösterebilecek karakteristik piklerin potansiyel kaymalarını veya kaybolmasını belirlemek için değerlendirilmiştir.(Başaran vd., 2022) (Öztürk, Yenilmez, vd., 2020)(Öztürk & Güven, 2019).

4.3 Nanopartikül Formülasyonlarının Biyolojik Aktivite Çalışmaları

4.3.1 U-87 MG ve NIH/3T3 hücre kültürü çalışması

U-87 MG (HTB-14) ve NIH/3T3 (CRL-1658) hücre hatları, American Type Culture Collection'dan (ATCC, Manassas, VA, ABD) temin edilmiştir. İnsan glioblastoma hücre hattı olan U-87 MG ile fare fibroblast hücre hattı olan NIH/3T3, %10 fetal bovin serumu (FBS) ve %1 penisilin/streptomisin içeren Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) besiyerinde, %5 CO₂ içeren nemlendirilmiş inkübatörde 37 °C'de kültüre edilmiştir. Hücreler, %70–80 proliferasyon yoğunluğu seviyesine ulaştıklarında pasajlanarak yeni kültür flasklarına aktarılmış ya da ileriki deneylerde kullanılmak üzere stok hücre olarak hazırlanmıştır. Deney öncesinde, uygun hücre yoğunluğunu teyit etmek amacıyla tripan mavisi boyası ile boyama yapılarak TC20 Otomatik Hücre Sayım Cihazı (Bio-Rad, ABD) ile canlı hücre sayımları gerçekleştirilmiştir.

4.3.2 MTT yöntemi ile hücre canlılığının belirlenmesi

TEM, NP1-TEM, NP2-TEM, NP1-Blank ve NP2-Blank formülasyonlarının antikanser ve sitotoksik etkileri, U-87 MG ve NIH/3T3 hücre hatları üzerinde MTT (3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-Difeniltetrazolyum Bromid) reaktifi kullanılarak 96 kuyucuklu plakalar üzerinde kolorimetrik yöntemle değerlendirilmiştir. MTT testi, metabolik olarak aktif hücreler tarafından sarı renkli tetrazolyum tuzunun mor renkli formazan kristallerine indirgenmesi esasına dayanmaktadır. Bu renk değişimi, hücre canlılığını ve proliferasyon düzeyini nicel olarak ifade eder; absorbans değerinin artması, hücre canlılığının yüksek olduğunu göstermektedir. Deneysel uygulama kapsamında hücreler, her bir kuyuya 10×10^3 hücre olacak şekilde 96 kuyucuklu plakalar üzerine ekilmiş ve 24 saat inkübe edilmiştir. Ardından her bir kuyucuğa test örnekleri farklı konsantrasyonlarda (1, 10, 100 ve 400 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) uygulanmış ve hücreler ilave 24 saat süreyle inkübe edilmiştir. Belirtilen sürenin sonunda her kuyucuğa 10 μL MTT çözeltisi eklenmiş ve plakalar 3 saat süreyle inkübatörde bekletilmiştir. Ardından oluşan formazan ürünlerinin absorbansı, 540 nm dalga boyunda BioTek Synergy H1 Multimode Reader (BioTek, ABD) cihazı kullanılarak ölçülmüştür. Elde edilen absorbans değerleri doğrudan canlı hücre sayısı ile

ilişkilendirilmiş ve hücre canlılığı oranları, kontrol grubuna göre yüzde olarak ifade edilmiştir.(Haffani vd., 2024)(Dikmen vd., t.y.) (Baghirova vd., 2023)(Mosmann, 1983)

Ayrıca, formülasyonların kanser hücrelerine karşı seçici toksisite potansiyelini değerlendirmek amacıyla selektivite indeksleri hesaplanmıştır. Selektivite indeksi, normal hücrelere ait IC₅₀ değerinin kanser hücrelerine ait IC₅₀ değerine oranı alınarak belirlenmiştir. Selektivite indeksinin 1'den büyük olması, ilgili formülasyonun kanser hücrelerine karşı tercihli sitotoksik etki gösterdiğini ifade etmektedir. (Lica vd., 2021)

4.4 Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) Oluşumunun Belirlenmesi

Hidroksil, peroksil ve diğer reaktif oksijen türlerinin (ROS) hücre içi düzeylerini belirlemek amacıyla, DCFDA/H₂DCFDA Cellular ROS Assay Kit (Abcam PLC, Cambridge, MA, ABD) kullanılmıştır.(Banerjee vd., 2017). Deneyler, kit üreticisinin protokolüne uygun şekilde gerçekleştirilmiştir. Öncelikel hücreler 96 kuyucuklu plakalara 2.5 x 10⁴ hücre/100 µL olacak şekilde ekilmiş ve 37 °C'de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından kültür ortamı uzaklaştırılmış ve her kuyucuğa 100 µL 20 µM konsantrasyonunda DCFDA çözeltisi eklenerek plakalar karanlık koşullarda 45 dakika süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda DCFDA çözeltisi uzaklaştırılmış ve kuyucuklar 1X tampon solüsyonu ile yıkanmıştır. Ardından, test bileşiklerinin farklı konsantrasyonları (1, 10, 100 ve 400 µg.mL⁻¹) her bir kuyucuğa eklenmiştir. Hücre içi ROS oluşumunun değerlendirilmesi amacıyla floresans şiddeti, 4 saat boyunca 30 dakikalık aralıklarla floresan plaka okuyucu kullanılarak ölçülmüştür (uyarma dalga boyu: 485 nm, emisyon dalga boyu: 535 nm).

5. BULGULAR VE TARTIŞMA

5.1 Analitik Miktar Tayini İçim Validasyon Çalışmaları

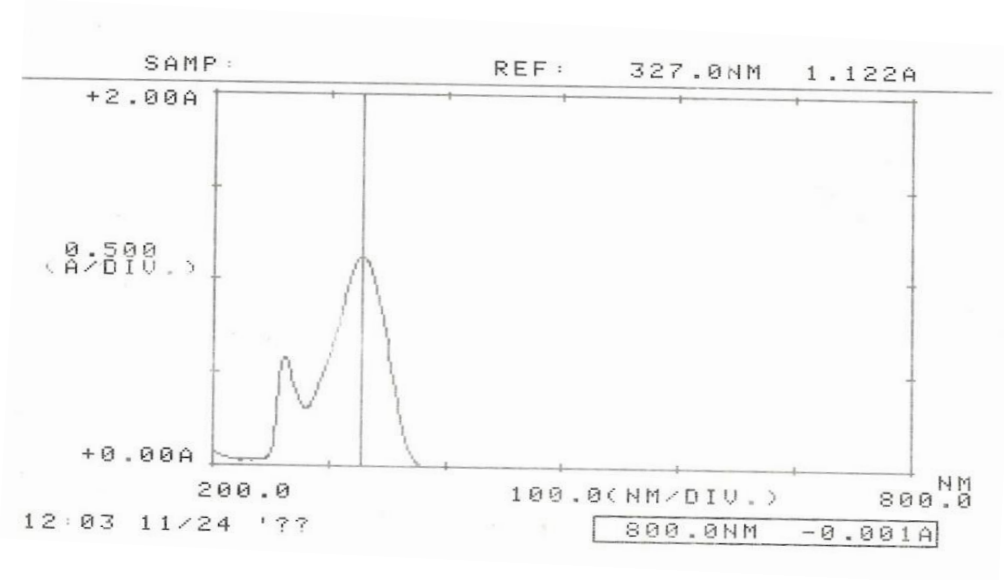
5.1.1 Temozolomid için DMF:su ortamında validasyon çalışması

5.1.1.1 Absorbans belirleme

DMF: Su (1:1 *h/h*) karışımı içinde hazırlanan TEM çözeltisinin 327 nm’de maksimum absorbans (λ_{max}) göstermiş olduğu Şekil 5.1’de sunulmuştur.

Şekil 5.1

Temozolomide ait 200-800 nm Arasında Elde Edilen Spektrum (DMF:su Ortamı, $\lambda_{max}=327.0$ nm)

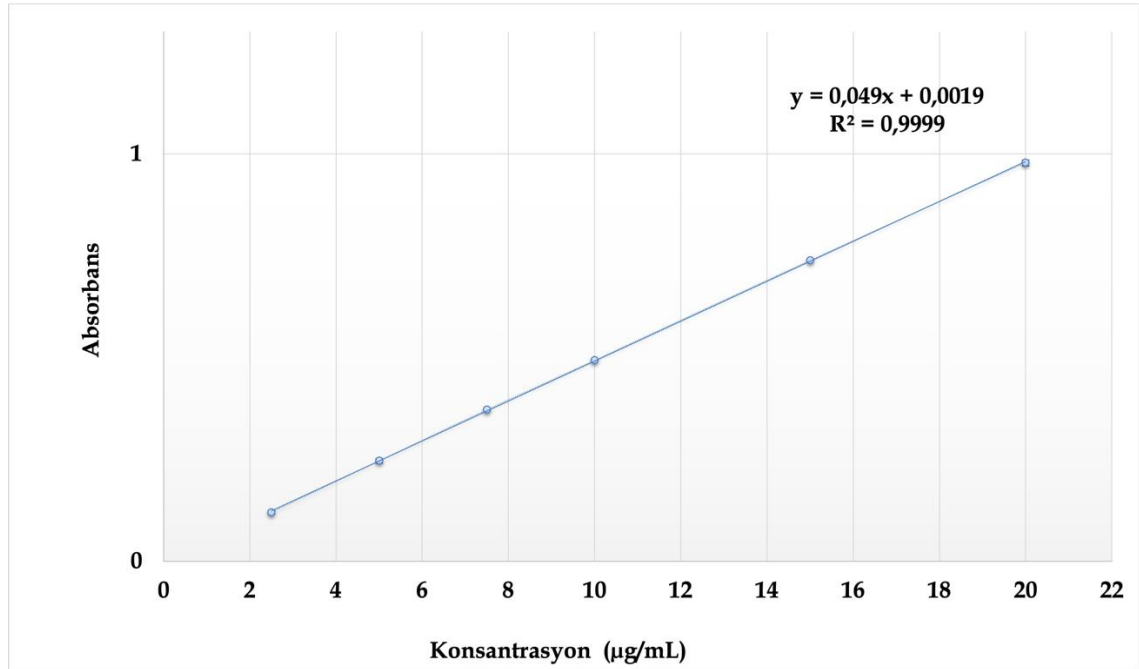


5.1.1.2 Doğrusallık

TEM’in DMF:Su (1:1, *h/h*) içinde 2.50-20.0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonları aralığında altı farklı konsantrasyonda farklı stok çözeltilerden üç kalibrasyon seti hazırlanmış ve ardından UV-spektrofotometre ile 327.0 nm’de analiz edilmiştir. Konsantrasyona karşılık gelen absorbans değerleri Tablo 5.1.’de; kalibrasyon eğrisi, eğriye ait olan doğru denklemi ve korelasyon katsayısı değeri (r^2) Şekil 5.2’de gösterilmiştir.

Tablo 5.1*Doğrusallık Çalışması Sonuçları (DMF:Su Ortamı)*

TEM ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Absorbans Değerleri				Standart sapma	Standart hata
	Seri 1	Seri 2	Seri 3	Ortalama		
2.50	0.111	0.118	0.132	0.120	0.01	0.00
5.00	0.232	0.248	0.260	0.247	0.01	0.01
7.50	0.366	0.380	0.371	0.372	0.01	0.00
10.00	0.491	0.494	0.496	0.494	0.00	0.00
15.00	0.731	0.746	0.739	0.739	0.01	0.00
20.00	0.959	0.994	0.981	0.978	0.02	0.01

Şekil 5.2*Temozolomidin Standart Eğrisi (DMF:su Ortamı)*

5.1.1.3 Kesinlik

Kesinlik çalışması için $5.0 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $10.0 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ve $15.0 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonda farklı çözeltiler hazırlanmıştır. Tüm konsantrasyonlar için 3 tekrar analizi, üç gün artarda yapılmıştır. Sonuçlar elde edilen regresyon denklemi yardımıyla hesaplanmış ve tam konsantrasyonlar ile karıştırılarak yöntemin kesinliği analiz edilmiştir. Kesinlik çalışması sonuçları $5.0 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $10.0 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ve $15.0 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonlar için sırasıyla Tablo 5.2, 5.3 ve 5.4.' te gösterilmiştir.

Tablo 5.2*5.0 µg.mL⁻¹ Konsantrasyon İçin Kesinlik Sonuçları (DMF:Su Ortamı)*

5.0 µg.mL⁻¹			
	Gün 1 (Absorbans)	Gün 2 (Absorbans)	Gün 3 (Absorbans)
	0.244	0.247	0.246
	0.248	0.250	0.249
	0.247	0.249	0.248
	Gün 1 (Derişim)	Gün 2 (Derişim)	Gün 3 (Derişim)
	4.944	5.005	4.985
	5.026	5.066	5.046
	5.005	5.046	5.026
Ortalama	4.992	5.039	5.019
Standart sapma (SS)	0.043	0.031	0.031
Varyasyon Katsayısı (%RSD)	0.852	0.619	0.621

Tablo 5.3*10.0 µg.mL⁻¹ Konsantrasyon İçin Kesinlik Sonuçları (DMF:Su Ortamı)*

10.0 µg.mL⁻¹			
	Gün 1 (Absorbans)	Gün 2 (Absorbans)	Gün 3 (Absorbans)
	0.488	0.494	0.496
	0.496	0.500	0.498
	0.494	0.498	0.492
	Gün 1 (Derişim)	Gün 2 (Derişim)	Gün 3 (Derişim)
	9.926	10.049	10.090
	10.090	10.171	10.130
	10.049	10.130	10.008
Ortalama	10.022	10.177	10.076
Standart sapma (SS)	0.085	0.062	0.062
Varyasyon Katsayısı (%RSD)	0.848	0.617	0.619

Tablo 5.4*15.0 µg.mL⁻¹ Konsantrasyon İçin Kesinlik Sonuçları (DMF:Su Ortamı)*

15.0 µg. mL⁻¹			
	Gün 1 (Absorbans)	Gün 2 (Absorbans)	Gün 3 (Absorbans)
	0.739	0.735	0.737
	0.736	0.737	0.736
	0.738	0.733	0.735
	Gün 1 (Derişim)	Gün 2 (Derişim)	Gün 3 (Derişim)
	15.052	14.970	15.011
	14.990	15.011	14.990
	15.031	14.929	14.970
Ortalama	15.024	14.970	14.990
Standart sapma	0.031	0.041	0.020
Varyasyon Katsayısı	0.208	0.273	0.136

5.1.1.4 Doğruluk

Analitik yönteminin doğruluğunun kanıtlanması amacıyla üç farklı konsantrasyonda ($5.0 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $10.0 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ve $15.0 \mu\text{g.mL}^{-1}$) TEM içeren çözeltiler hazırlanmıştır. Her bir konsantrasyon için 3 adet analiz yapılmıştır. Elde edilen veriler doğrusalılık çalışmasında elde edilen regresyon denklemi kullanılarak hesaplanmış ve gerçek çözelti konsantrasyonları ile karşılaştırılmış ve yöntemin doğruluğu % geri kazanım olarak elde edilmiştir. TEM için yapılan doğruluk çalışması verileri Tablo 5.5'te sunulmuştur.

Tablo 5.5

Doğruluk Çalışması Sonuçları (DMF:Su Ortamı)

	Derişim		
	$5.0 \mu\text{g.mL}^{-1}$	$10.0 \mu\text{g.mL}^{-1}$	$15.0 \mu\text{g.mL}^{-1}$
Elde edilen absorbanslar	0.247	0.491	0.735
	0.245	0.493	0.737
	0.248	0.490	0.736
	5.005	9.988	14.970
Bulunan Derişimler	4.964	10.028	15.011
	5.026	9.967	14.990
	100.103	99.875	99.799
% Geri Kazanım	99.286	100.284	100.072
	100.511	99.671	99.935
	99.967	99.943	99.935
Ortalama Geri Kazanım (%)	0.624	0.312	0.136
Standart sapma (SS)	0.624	0.312	0.136
Varyasyon Katsayısı (%RSD)	0.360	0.180	0.079
Standart hata (SH)			

5.1.1.5 Duyarlılık

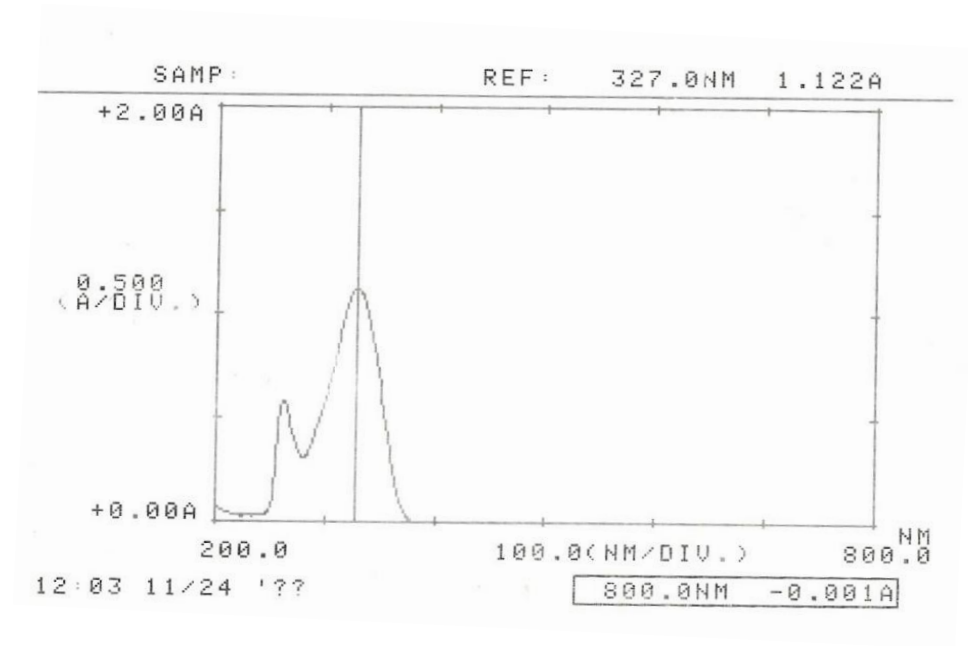
LOD ve LOQ değerleri sırasıyla $0.182 \mu\text{g. mL}^{-1}$ ve $0.553 \mu\text{g. mL}^{-1}$ olarak elde edilmiştir.

5.1.1.6 Seçicilik

Seçicilik çalışması için UV-Spektrofotometre'den elde edilen spektrumlar TEM, NP1-Blank, NP2-Blank kodlu formülasyon ve DMF:su (1:1, *h/h*) karışımı için sırasıyla Şekil 5.3., 5.4., 5.5., ve 5.6.'da gösterilmiştir.

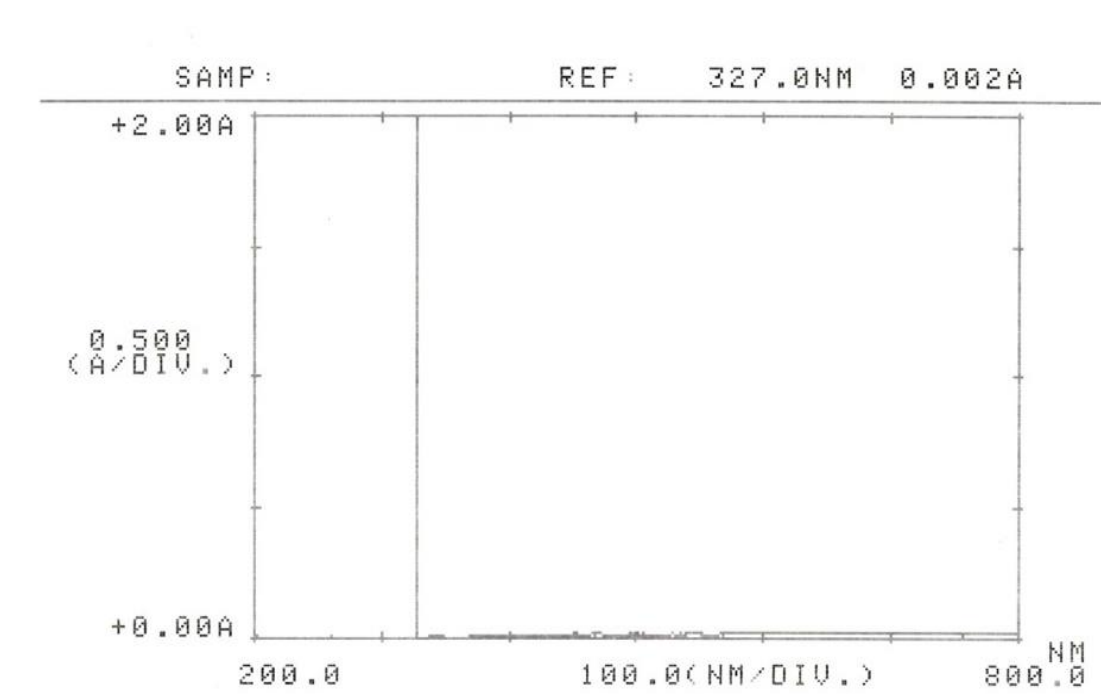
Şekil 5.3

Temozolomide ait Spektrum (DMF:Su Ortamı)



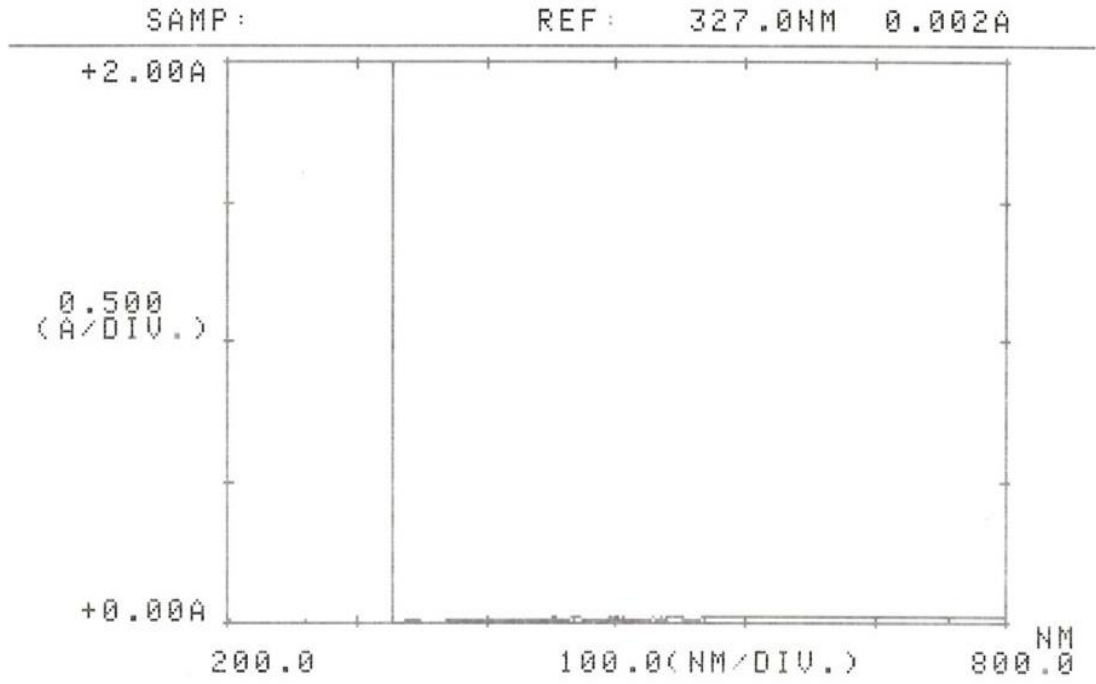
Şekil 5.4

NP1-Blank Kodlu Formülasyona ait Spektrum (DMF:Su Ortamı)



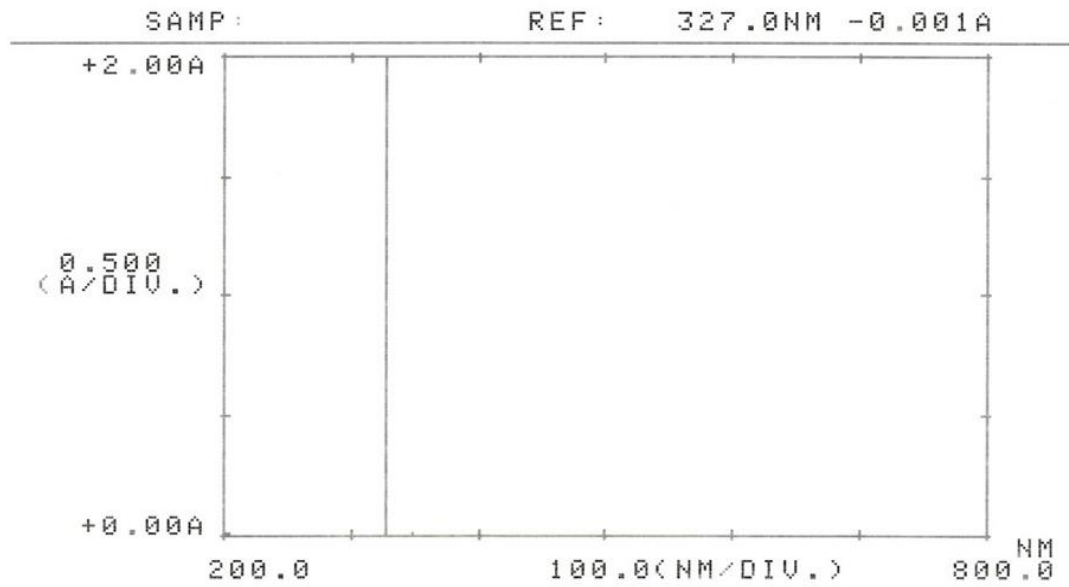
Şekil 5.5

NP2-Blank Kodlu Formülasyona ait Spektrum (DMF:Su Ortamı)



Şekil 5.6

DMF:su (1:1, h/h) Karışımına ait Spektrum (DMF:Su Ortamı)



Özetle enkapsülasyon etkinliğinin (% EE) kantitatif olarak belirlenmesine yönelik geliştirilen UV-görünür bölge spektrofotometrik yöntem, DMF:su (1:1, *h/h*) ortamında valide edilmiştir. Doğrusallık çalışması sonucunda 2.5-20.0 µg.mL⁻¹ konsantrasyon aralığında elde edilen regresyon denklemi $y = 0.049x + 0.0019$ olup, korelasyon katsayısı $r^2 = 0.9999$ olarak hesaplanmıştır. Yöntemin tekrarlanabilirliğini değerlendirmek amacıyla üç farklı konsantrasyon düzeyinde (5.0, 10.0 ve 15.0 µg.mL⁻¹) yapılan kesinlik (precision) analizlerinde, bağıl standart sapma değerlerinin (%RSD) %2'nin altında olduğu gözlemlenmiş ve bu durum yöntemin yeterli düzeyde kesinliğe sahip olduğunu göstermiştir. Doğruluk analizlerinde elde edilen sonuçlar sırasıyla 5.0, 10.0 ve 15.0 µg.mL⁻¹ konsantrasyonları için 99.967 ± 0.624 , 99.943 ± 0.312 ve 99.935 ± 0.136 olarak hesaplanmıştır. Seçicilik analizinde ise boş formülasyonlar (NP1-Blank ve NP2-Blank) ile DMF:su (1:1, *h/h*) karışımı 200-800 nm dalga boyu aralığında taranmış ve 327 nm'de herhangi bir absorbans pikine rastlanmamıştır. Bu bulgu, yöntemin seçiciliğini doğrulamaktadır. Ayrıca, yöntemin saptama sınırı (LOD) 0.182 µg.mL⁻¹ ve nicel tayin sınırı (LOQ) 0.553 µg.mL⁻¹ olarak belirlenmiştir. Bu değerler, doğrusal aralıkta değerlendirilen en düşük konsantrasyonun altında olup, yöntemin duyarlılığını ve uygunluğunu desteklemektedir. Sonuç olarak, DMF:su (1:1, *h/h*) ortamında geliştirilen spektrofotometrik yöntem, TEM'in rutin ve eşzamanlı kantitatif analizinde kullanılabilecek basit, ekonomik ve güvenilir yaklaşımlar sunmaktadır.(Solak vd., 2025)(Arınmış vd., 2024) (Çevikelli vd., 2024)(Öztürk, Guven, vd., 2018)(Öztürk & Aygöl, 2020)

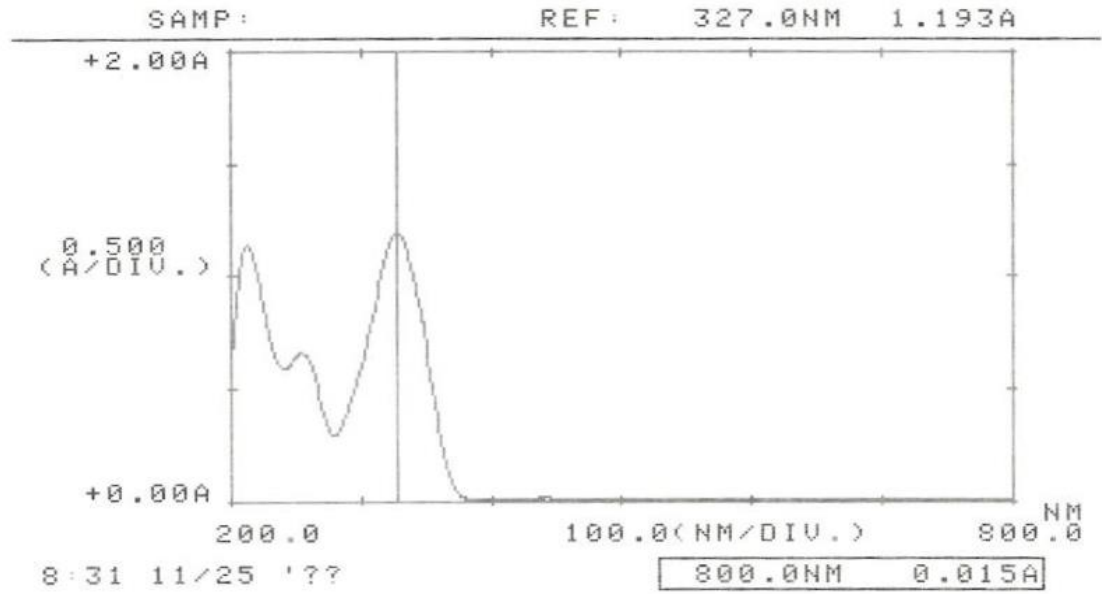
5.1.2 Temozolomid için PBS (pH 7.4) ortamında validasyon çalışması

5.1.2.1 Absorbans belirleme

PBS (pH 7.4) karışımı içinde hazırlanan TEM çözeltisinin 327 nm'de maksimum absorbans (λ_{max}) göstermiş olduğu Şekil 5.7'de sunulmuştur.

Şekil 5.7

Temozolomide ait 200-800 nm Arasında Elde Edilen Spektrum (PBS Ortamı, $\lambda_{max}=327.0$ nm)



5.1.2.2 Doğrusallık

TEM'in PBS (pH 7.4) ortamı içinde 2.50-20.0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonları aralığında altı farklı konsantrasyondan farklı stok çözeltilerden üç kalibrasyon seti hazırlanmış ve ardından UV-spektrofotometre ile 327.0 nm'de analiz edilmiştir. Konsantrasyona karşılık gelen absorbans değerleri Tablo 5.6'da kalibrasyon eğrisi, eğriye ait olan doğru denklemi ve korelasyon katsayısı değeri (r^2) Şekil 5.8'de gösterilmiştir.

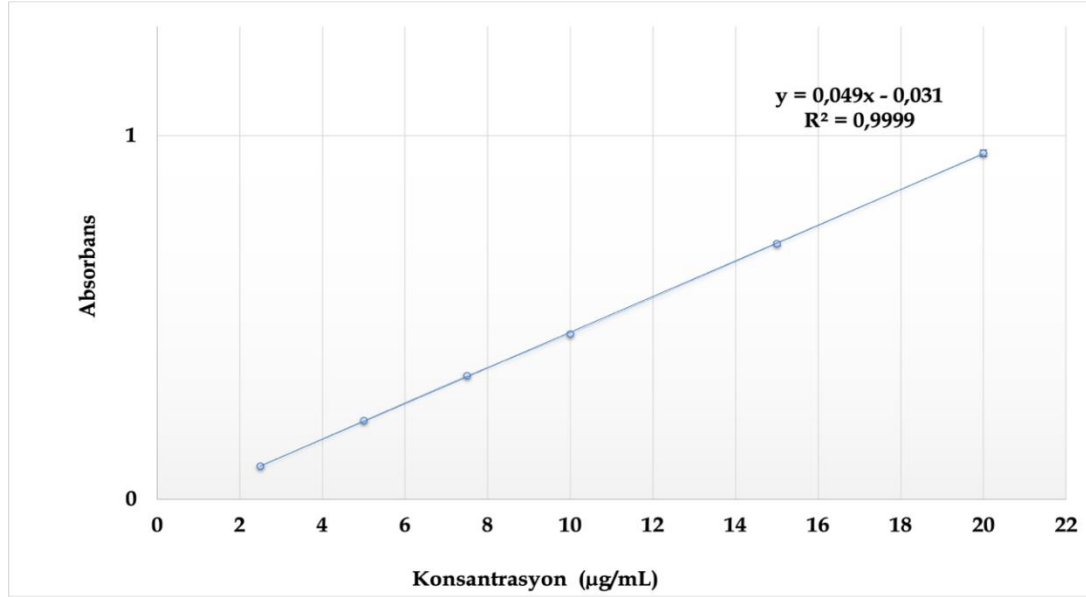
Tablo 5.6

Doğrusallık Çalışması Sonuçları (PBS Ortamı)

TEM ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbans Değerleri			Ortalama	Standart sapma	Standart hata
	Seri 1	Seri 2	Seri 3			
2.50	0.087	0.094	0.092	0.091	0.00	0.00
5.00	0.221	0.214	0.213	0.216	0.00	0.00
7.50	0.341	0.343	0.336	0.340	0.00	0.00
10.00	0.452	0.458	0.454	0.455	0.00	0.00
15.00	0.687	0.713	0.709	0.703	0.01	0.01
20.00	0.942	0.978	0.936	0.952	0.02	0.01

Şekil 5.8

Temozolomidin Standart Eğrisi (PBS Ortamı)



5.1.2.3 Kesinlik

Kesinlik çalışması için $5.0 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $10.0 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ve $15.0 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonda farklı çözeltiler hazırlanmıştır. Tüm konsantrasyonlar için 3 tekrar analizi, üç gün artarda yapılmıştır. Sonuçlar elde edilen regresyon denklemi yardımıyla hesaplanmış ve tam konsantrasyonlar ile karıştırılarak yöntemin kesinliği analiz edilmiştir. Kesinlik çalışması sonuçları $5.0 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $10.0 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ve $15.0 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonlar için sırasıyla Tablo 5.7, 5.8 ve 5.9'da gösterilmiştir.

Tablo 5.7

$5.0 \mu\text{g.mL}^{-1}$ Konsantrasyon İçin Kesinlik Sonuçları (PBS Ortamı)

$5.0 \mu\text{g. mL}^{-1}$			
	Gün 1 (Absorbans)	Gün 2 (Absorbans)	Gün 3 (Absorbans)
	0.217	0.215	0.213
	0.216	0.218	0.218
	0.215	0.211	0.214
	Gün 1 (Derişim)	Gün 2 (Derişim)	Gün 3 (Derişim)
	5.057	5.016	4.975
	5.037	5.077	5.077
	5.016	4.935	4.996
Ortalama	5.037	5.009	5.016
Standart sapma (SS)	0.020	0.072	0.054
Varyasyon Katsayısı (%RSD)	0.405	1.429	1.075

Tablo 5.8*10.0 µg.mL⁻¹ Konsantrasyon İçin Kesinlik Sonuçları (PBS Ortamı)*

10.0 µg. mL⁻¹			
	Gün 1 (Absorbans)	Gün 2 (Absorbans)	Gün 3 (Absorbans)
	0.461	0.462	0.458
	0.458	0.461	0.459
	0.459	0.457	0.462
	Gün 1 (Derişim)	Gün 2 (Derişim)	Gün 3 (Derişim)
	10.032	10.052	9.971
	9.971	10.032	9.991
	9.991	9.950	10.052
Ortalama	9.998	10.011	10.005
Standart sapma (SS)	0.031	0.054	0.042
Varyasyon Katsayısı (%RSD)	0.312	0.539	0.424

Tablo 5.9*15.0 µg.mL⁻¹ Konsantrasyon İçin Kesinlik Sonuçları (PBS Ortamı)*

15.0 µg.mL⁻¹			
	Gün 1 (Absorbans)	Gün 2 (Absorbans)	Gün 3 (Absorbans)
	0,714	0,709	0,708
	0,704	0,706	0,707
	0,707	0,703	0,704
	Gün 1 (Derişim)	Gün 2 (Derişim)	Gün 3 (Derişim)
	15,190	15,088	15,068
	14,986	15,027	15,047
	15,047	14,966	14,986
Ortalama	15.074	15.027	15.034
Standart sapma (SS)	0.105	0.061	0.042
Varyasyon Katsayısı (%RSD)	0.694	0.407	0.282

5.1.2.4 Doğruluk

Analitik yönteminin doğruluğunun kanıtlanması amacıyla üç farklı konsantrasyonda (5.0 µg.mL⁻¹, 10.0 µg.mL⁻¹ ve 15.0 µg.mL⁻¹) TEM içeren çözeltiler hazırlanmıştır. Her bir konsantrasyon için 3 adet analiz yapılmıştır. Elde edilen veriler doğrusallık çalışmasında elde edilen regresyon denklemi kullanılarak hesaplanmış ve gerçek çözelti konsantrasyonları ile karşılaştırılmış ve yöntemin doğruluğu % geri kazanım olarak elde edilmiştir. TEM için yapılan doğruluk çalışması verileri Tablo 5.10'da sunulmuştur.

Doğruluk çalışması sonuçları (PBS Ortamı)

	Derişim		
	5.0 µg.mL ⁻¹	10.0 µg.mL ⁻¹	15.0 µg.mL ⁻¹
Elde edilen	0.215	0.458	0.710
absorbanslar	0.213	0.460	0.711
	0.216	0.462	0.708
	5.016	9.971	15.108
Bulunan Derişimler	4.975	10.011	15.129
	5.037	10.052	15.068
	100.322	99.705	100.723
% Geri Kazanım	99.507	100.113	100.859
	100.730	100.521	100.451
Ortalama % Geri Kazanım	100.187	100.113	100.678
Standart sapma	0.623	0.408	0.208
Varyasyon Katsayısı	0.622	0.407	0.206
Standart hata (SH)	0.360	0.235	0.120

5.1.2.5 Duyarlilik

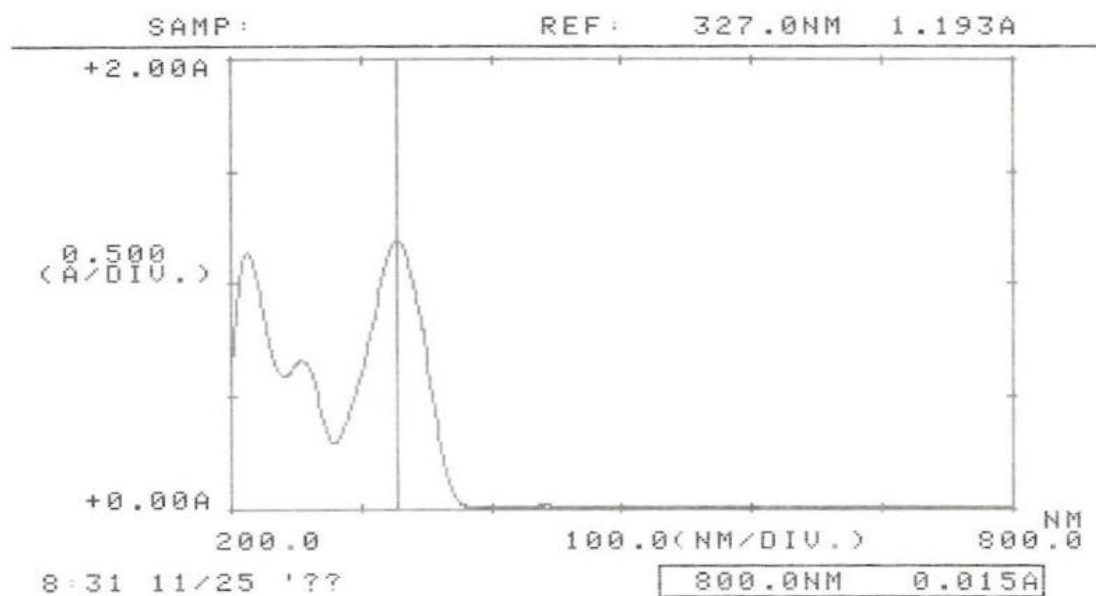
LOD ve LOQ değerleri sırasıyla $0.177 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ve $0.537 \mu\text{g.mL}^{-1}$ olarak elde edilmiştir.

5.1.2.6 Seçicilik

Seçicilik alışması için UV-Spektrofotometre’den elde edilen spektrumlar TEM, NP1-Blank, NP2-Blank kodlu formölasyon ve PBS için sırasıyla Şekil 5.9., 5.10., 5.11., ve 5.12’de gösterilmiştir.

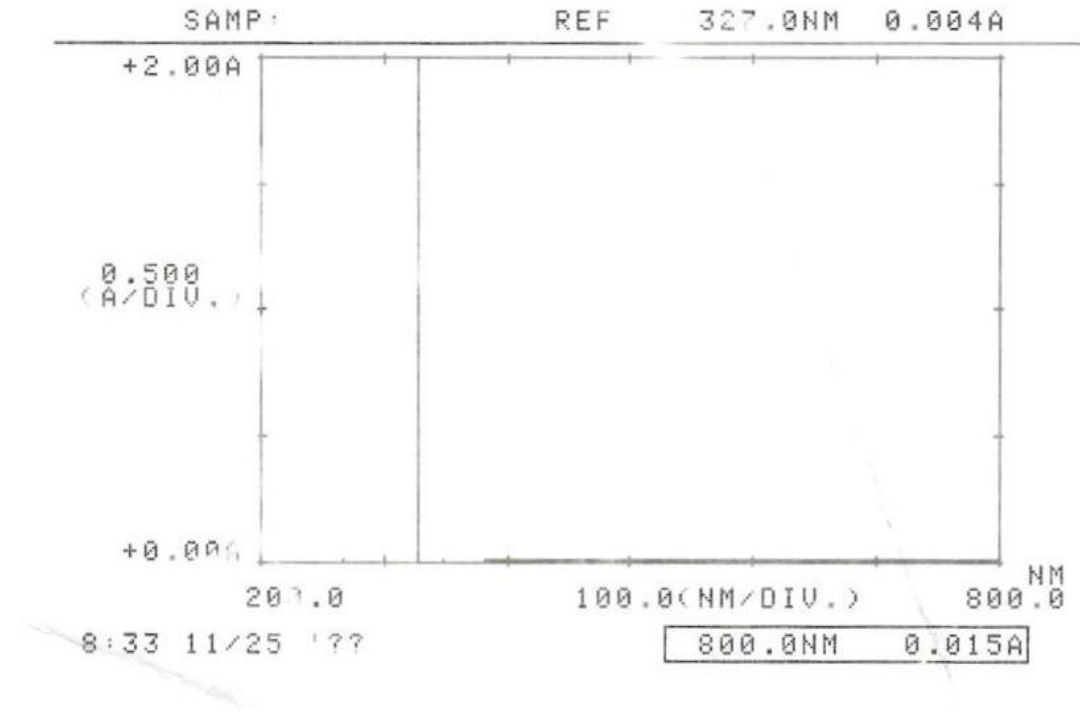
Şekil 5.9

Temozolomid'e ait Spektrum (PBS Ortamı)



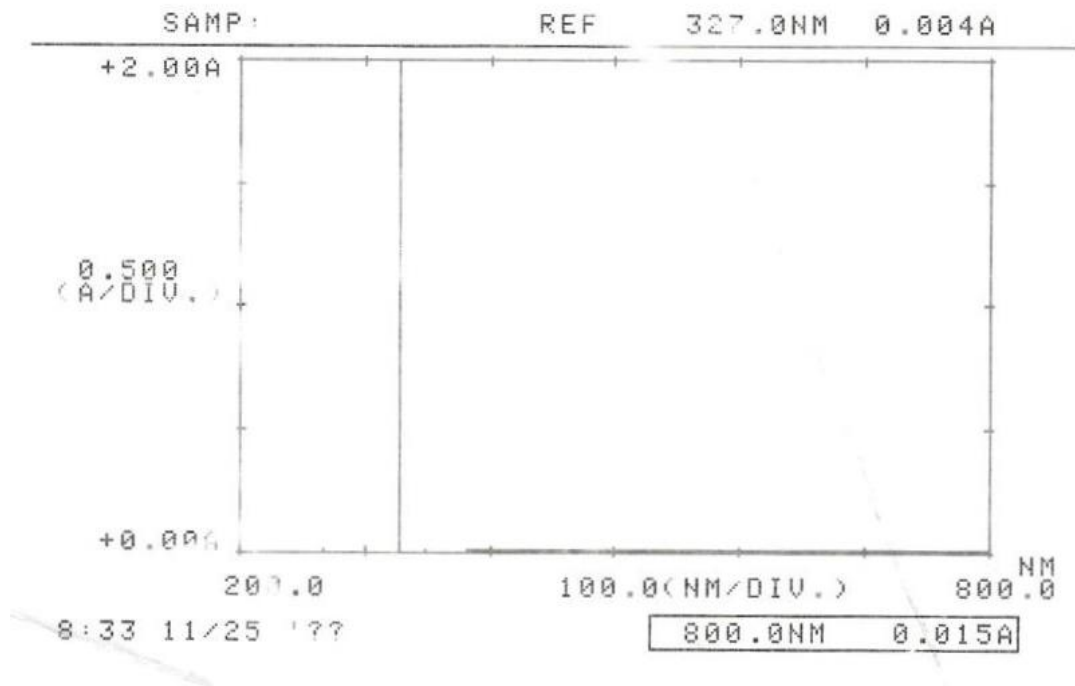
Şekil 5.10

NP1-Blank Kodlu Formülasyona ait Spektrum (PBS Ortamı)



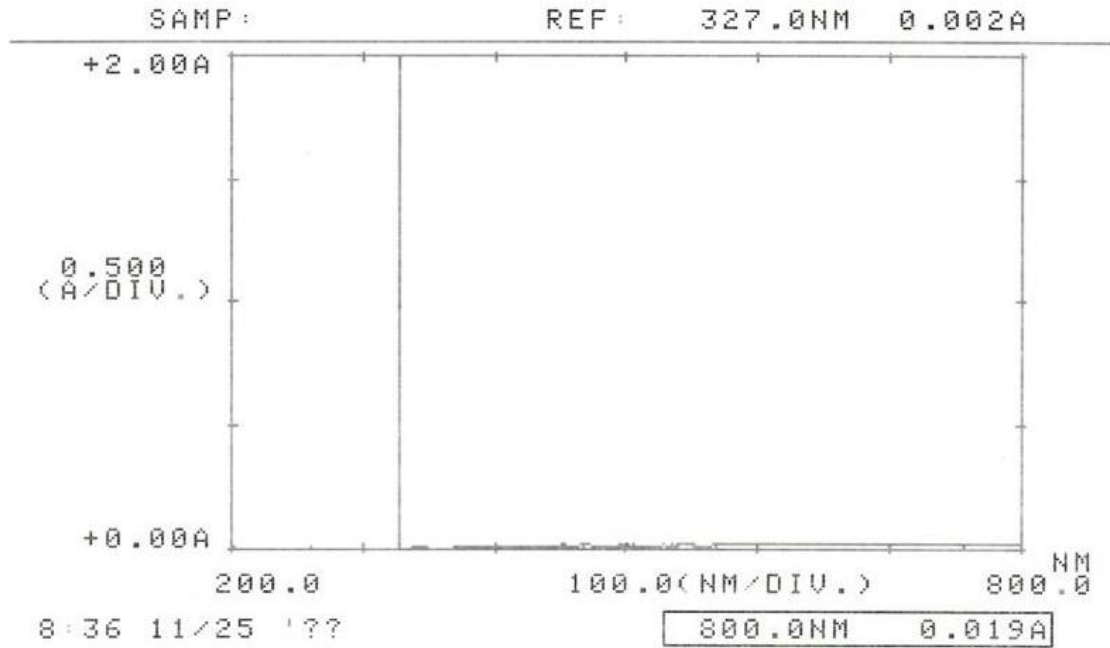
Şekil 5.11

NP2-Blank Kodlu Formülasyona ait Spektrum (PBS Ortamı)



Şekil 5.12

PBS'e ait Spektrum (PBS Ortamı)



Özetle *in vitro* salım çalışmalarında kullanılmak üzere geliştirilen UV-görünür bölge spektrofotometrik yöntem, PBS (pH 7.4) ortamında valide edilmiştir. Doğrusallık çalışması sonucunda $2.5\text{--}20.0\ \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyon aralığında elde edilen regresyon denklemi $y = 0.0049x - 0.0031$ olup, korelasyon katsayısı $r^2 = 0.9999$ olarak belirlenmiştir. Kesinlik değerlendirmesinde, 5.0, 10.0 ve $15.0\ \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonlar için elde edilen bağıl standart sapma (%RSD) değerlerinin %2'nin altında olması, yöntemin tekrarlanabilirliğini ve güvenilirliğini göstermektedir. Yöntemin doğruluğu, sırasıyla 5.0, 10.0 ve $15.0\ \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonları için 100.187 ± 0.623 , 100.113 ± 0.408 ve 100.678 ± 0.208 olarak hesaplanmıştır. Seçicilik analizinde, boş formülasyonlar (NP1-Blank ve NP2-Blank) ile PBS (pH 7.4) çözeltisi 200-800 nm dalga boyu aralığında taranmış ve 327 nm'de herhangi bir absorbans pikine rastlanmamıştır. Bu sonuç, yöntemin seçiciliğini ortaya koymaktadır. Ayrıca, yöntemin saptama sınırı (LOD) $0.177\ \mu\text{g.mL}^{-1}$ ve nicel tayin sınırı (LOQ) $0.537\ \mu\text{g.mL}^{-1}$ olarak belirlenmiş olup, bu değerlerin doğrusal aralıkta değerlendirilen en düşük konsantrasyonun altında olması, yöntemin duyarlılığını ve güvenilirliğini desteklemektedir. Sonuç olarak, PBS (pH) ortamında geliştirilen spektrofotometrik yöntem, TEM'in rutin ve eşzamanlı kantitatif analizinde kullanılabilecek basit, ekonomik ve güvenilir yaklaşımlar sunmaktadır.(Solak

vd., 2025) (Arınmış vd., 2024)(Çevikelli vd., 2024) (Öztürk, Güven, vd., 2018)(Öztürk & Güven, 2019)

5.2 Nanopartikül Formülasyonlarının Karakterizasyonu

5.2.1 Parçacık boyutu, Polidispersite İndeksi (PDI) ve zeta potansiyeli

Bu tez çalışmasında hazırlanan formülasyonların partikül boyutu, polidispersite indeksi (PDI), zeta potansiyel ve enkapsülasyon etkinliği sonuçları (% EE) Tablo 5.11.'de sunulmuştur. Partikül boyutu, polidispersite indeksi (PDI) ve zeta potansiyel sonuçlarının istatistiksel karşılaştırması ise sırasıyla Şekil 5.13., 5.14. ve 5.15.'te gösterilmiştir.

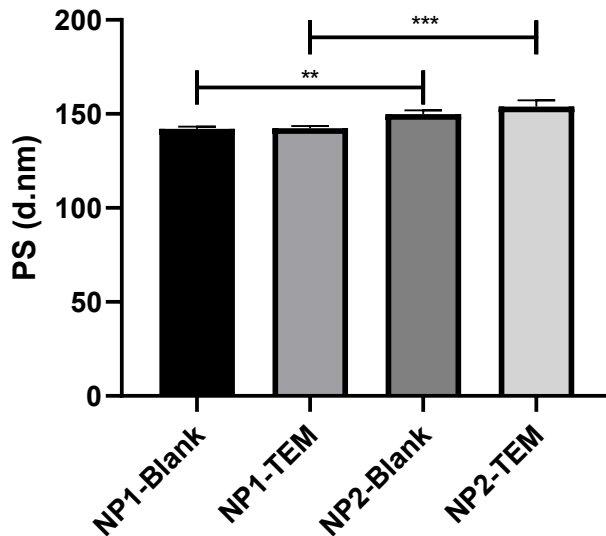
Tablo 5.11

Partikül Boyutu (PB), Polidispersite İndeksi (PDI), Zeta Potansiyel (ZP) ve Enkapsülasyon Etkinliği (% EE) Sonuçları

Kod	PB, nm (Ortalama $\pm$ SS)	PDI (Ortalama $\pm$ SS)	ZP, mV (Ortalama $\pm$ SS)	EE % (Ortalama $\pm$ SS)
NP1-Blank	142.100 $\pm$ 1.114	0.134 $\pm$ 0.022	-9.787 $\pm$ 0.065	-
NP1-TEM	142.467 $\pm$ 1.132	0.159 $\pm$ 0.009	-9.140 $\pm$ 0.298	70.02 $\pm$ 2.6
NP2-Blank	149.933 $\pm$ 1.976	0.220 $\pm$ 0.008	-7.967 $\pm$ 0.164	-
NP2-TEM	153.867 $\pm$ 3.365	0.254 $\pm$ 0.006	-7.913 $\pm$ 0.118	54.63 $\pm$ 3.1

Şekil 5.13

*Parçacık Boyutu Sonuçlarının İstatistiksel Değerlendirmesi (PS: Particle size / Parçacık boyutu, Önemli Farklılıklar * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$ Olarak Gösterilirken, Anlamlı Bir Fark Olmadığında $p > 0,05$ veya ns Olarak Gösterilir.)*



Tablo 5.11 ve Şekil 5.13'te gösterildiği gibi, NP1-Blank ve NP1-TEM formülasyonlarının ortalama parçacık boyutu (PB) sırasıyla 142.100 ± 1.114 nm ve 142.467 ± 1.132 nm olarak elde edilmiştir. NP1 grubundaki blank ve TEM yüklü NP'ler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir ancak NP1 ve NP2 kodlu formülasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış elde edilmiştir (NP1-TEM ve NP2-TEM, $p < 0.001$). Bu durum NP2 kodlu formülasyonlar için kullanılan çift emülsiyon çözücü buharlaştırma tekniğinin nanoçöktürme yöntemine kıyasla daha büyük PB ile sonuçlanabileceğini düşündürmektedir. NP2-Blank (149.933 ± 1.976 nm) ve NP2-TEM (153.867 ± 3.365 nm) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmamasına rağmen, TEM yüklü NP2-TEM kodlu formülasyona boş formülasyona göre PB'de matematiksel bir artış gözlenmiştir.(Solak vd., 2025) (Arınmış vd., 2024)Bu eğilim önceki çalışmalarda da bildirilmiştir ve formülasyonla ilgili birkaç faktörle açıklanabilir bir durumdur(Öztürk & Güven, 2019) (Ekinci vd., 2022)(Öztürk vd., 2019b)(Kömür vd., 2025).İlk olarak, aktif bileşiğin / ilaç etkin maddesinin NP yapısına dahil edilmesi çekirdek hacmini artırabilir ve bu da boyutta orta düzeyde bir büyümeye yol açabilir. İlaç, polimer matris içinde yer kaplayabilir ve bu da gözlenen değişime katkıda bulunur. İkinci olarak, ilaç yüklenmesinden sonra yüzey özelliklerindeki değişiklikler kolloidal kararlılığı etkileyebilir. Bu değişiklikler, görünür agregasyon olmasa bile DLS ile ölçülen hidrodinamik çapı etkileyebilir. Son olarak, çift emülsiyon çözücü buharlaştırması gibi tekniklerde, ilacın varlığı emülsifikasyon verimliliğini etkileyebilir. Artan viskozite gibi iç faz bileşimindeki değişiklikler, daha büyük parçacıklarla sonuçlanabilir. Özetle, boyut artışı istatistiksel olarak anlamlı olmasa da literatür bulgularıyla uyumludur ve ilaç kapsüllenmesiyle ilişkili fiziksel ve yapısal değişikliklere atfedilebilir(Yusuf vd., 2023) (Huang vd., 2018)(Shen vd., 2017).

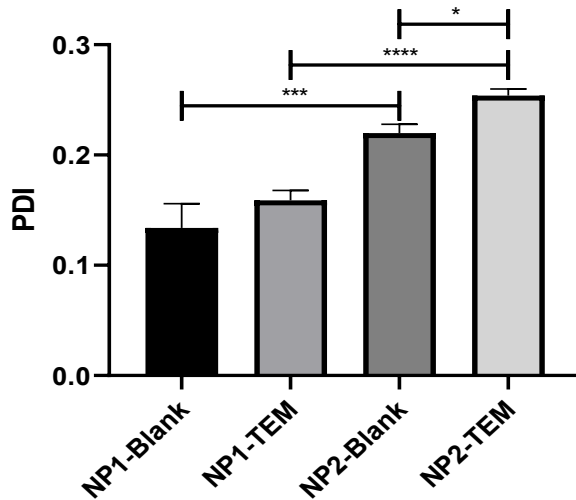
Formülasyonların kan-beyin bariyerini (KBB) geçebilme yeteneği beyin tümörleri ve beyinle ilgili birçok hastalıkta önemli bir noktadır. Literatürde 100-200 nm arasındaki partikül boyutuna sahip NP'lerle etkili GBM tedavisinin sağlanabileceğine dair veriler bildirilmiştir(Delello Di Filippo vd., 2021)(Ramalho vd., 2018). Bu tez çalışmasında elde edilen PB sonuçları değerlendirildiğinde literatürle uyumlu ve GMB tedavisinde kullanılabilecek formülasyonlar olarak kabul edilebilir.

Tablo 5.11. ve Şekil 5.14.'te sunulan Polidispersite indeksi (PDI) sonuçları, özellikle NP2 grubu için PS dağılımında artan heterojenliğe dair net bir eğilim göstermektedir. NP1

formülasyonlarının PDI değerleri 0.2'nin altında elde edilmiştir (NP1-Blank: 0.134 ± 0.022 ; NP1-TEM: 0.159 ± 0.009). NP1 grubu için elde edilen bu sonuçlar nispeten dar bir boyut dağılımına ve homojen partikül popülasyonuna işaret etmektedir. Buna karşılık, hem NP2-Blank (0.220 ± 0.008) hem de NP2-TEM (0.254 ± 0.006) önemli ölçüde daha yüksek PDI değerleri göstermiştir. Bu durum ise çift emülsiyon çözücü buharlaştırma tekniği ile daha polidispers / heterojen sistemlerin üretebileceğini düşündürmektedir. NP2-Blank ve NP2-TEM arasındaki PDI değerlerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bulunmuş olup, ilaç yüklemesinin, muhtemelen çözücü giderimi sırasında faz ayrımı veya kararsızlık nedeniyle PB değişkenliğine daha fazla katkıda bulunduğunu göstermektedir. Bu, formülasyon tekrarlanabilirliği ve ölçeklenebilirliği dikkate alındığında özellikle önemlidir. NP formülasyonları için 0.5'in altındaki bir PDI değeri genellikle optimum olarak kabul edilse de 0.3'ün altındaki değerler daha monodispers bir PB dağılımını gösteren optimum değerler olarak bilinmektedir. Bu tez çalışmasında hazırlanan tüm formülasyonlar kabul edilebilir aralıkta PDI değerleri sergileyerek monodispers sistemlerin başarılı bir şekilde hazırlandığını doğrulamıştır. Dahası, nanoçöktürme tekniği ile, çift emülsiyon çözücü buharlaştırma tekniğine kıyasla daha düşük PDI değerlerine sahip NP'ler üretilmiştir ve bu daha homojen NP popülasyonları üretmedeki üstünlüğünü göstermektedir.(Kurban vd., 2023) (Ekinci vd., 2022)(Öztürk vd., 2023)

Şekil 5.14

*PDI Sonuçlarının İstatistiksel Değerlendirmesi (Önemli farklılıklar * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$ Olarak Gösterilirken, Anlamlı Fark Olmadığında $p > 0,05$ veya ns Olarak Gösterilir.)*



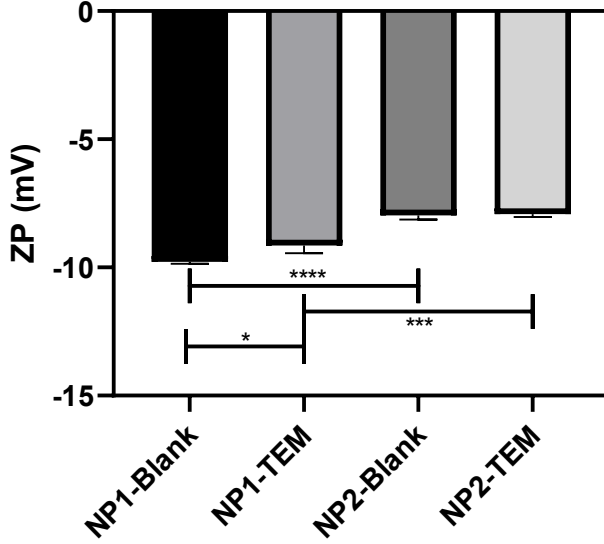
Tablo 5.11 ve Şekil 5.15'te gösterilen Zeta Potansiyeli (ZP) değerleri, tüm formülasyonların -7.913 ile -9.787 mV arasında değişen negatif yüzey yüklerine sahip olduğunu ortaya koymaktadır. NP'lerin ZP değerlerinin negatif olması, suda dağılmış PLGA polimerindeki kimyasal grupların toplam negatif yüklerinden kaynaklanan negatif yüküne atfedilebilir(Elmaskaya vd., 2019).

NP1-Blank en yüksek negatif yüke (-9.787 ± 0.065 mV) sahipken, NP2-TEM en az negatif değeri (-7.913 ± 0.118 mV) göstermiştir. Birkaç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmiştir. NP1-Blank ve NP1-TEM için $p < 0.05$, NP1-Blank ve NP2-Blank için $p < 0.0001$ ve NP1-TEM ve NP2-TEM için $p < 0.001$ olarak farklar elde edilmiştir. Bu sonuçlar hem hazırlama yönteminin hem de aktif bileşiğin varlığının yüzey yükünü etkilediğini göstermektedir. NP2 gruplarındaki daha az negatif ZP, yüzey aktif madde adsorpsiyon farklılıklarını veya kapsüllemeyle ilişkili yüzey yeniden düzenlenmelerini yansıtabilir. Mutlak ZP değerleri orta düzeyde olmasına rağmen, kısa süreli çalışmalarda kolloidal kararlılık için kabul edilebilir bir aralıkta kalır; ancak, uzun süreli depolama için ek stabilizasyon stratejileri gerekebilir. Önceki çalışmalar, -5.0 ile -15.0 mV arasındaki ZP değerlerinin nanosistemlerde flokülasyon eşiğinde kabul edildiğini, -5.0 ile -3.0 mV aralığındaki değerlerin ise flokülasyon için maksimum eğilimi gösterdiğini göstermiştir(Kömür vd., 2025) (Arınmış vd., 2024). Ölçülen ZP değerleri ve kolloidal kararlılık için daha önce belirlenmiş eşik değerlere dayanarak, bu çalışmada hazırlanan NP'lerin, test edilen koşullar altında ani flokülasyonu önlemek için yeterli yüzey yüküne sahip, nispeten kararlı bir profil sergilediği sonucuna varılabilir.

Formülasyonların ZP değerleri nispeten düşük olsa da çok küçük PDI değerleri monodispers ve kararlı nanosistemlerin başarıyla elde edildiğini göstermektedir. Bu, sınırlı elektrostatik itmeye rağmen, potansiyel olarak PLGA polimer matrisi tarafından sağlanan sterik stabilizasyon nedeniyle yeterli kolloidal stabilitenin elde edildiğini göstermektedir. Ek olarak, polimerik bir tabakanın varlığı kayma düzlemini kaydırmış olabilir ve bu da NP stabilitesini tehlikeye atmadan daha düşük ölçülen zeta potansiyeli ile sonuçlanabilir(Chigumira vd., 2015) (Quaglia vd., 2008)(Honary & Zahir, 2013)

Şekil 5.15

Zeta Potansiyeli Sonuçlarının İstatistiksel Değerlendirmesi (Önemli Farklılıklar * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$ Olarak Gösterilirken, Anlamlı Fark Olmadığında $p > 0,05$ veya ns Olarak Gösterilir)



Genel olarak, daha küçük PB'e sahip nanosistemler KBB'i etkili bir şekilde geçmek için tercih edilmektedir. Bu tez çalışmasında geliştirilen NP formülasyonlarının KBB'i geçme yeteneği olasıdır çünkü hem pasif difüzyon hem de endositoz aracılı taşıma mekanizmalarını destekleyen nanometre boyutlarına ve yüzey yükü özelliklerine sahip NP2ler elde edilmiştir. 200 nm'den küçük NP'lerin adsorptif aracılı ve reseptör aracılı taşıma dahil olmak üzere transsitoz yollarıyla KBB'yi geçebildiği bildirilmiştir. Bu tez çalışması için bu durumu kanıtlamak için ilave çalışmalar gelecekte yapılabilir niteliktedir. Formülasyonlarda gözlemlenen negatif ZP, sistemik dolaşım sırasında kümelenme riskini azaltarak kolloidal stabiliteye katkıda bulunabilir ve böylece beyne verimli bir şekilde iletilmesini destekleyebilir. Bu fizikokimyasal özellikler toplu olarak, geliştirilen PLGA tabanlı NP sistemlerin kapsüllenmiş TEM'in beyin biyoyararlanımını artırabileceğini ve sonuç olarak GBM tedavisindeki terapötik potansiyelini iyileştirebileceğini ileri sürmektedir(Saraiva et al., 2016)(Nikandish et al., 2016) (Lockman vd., 2004)(Wu vd., 2023)

Sonuçlar bir arada ele alındığında, nanoçöktürme tekniğinin (NP1 grubu) çift emülsiyon çözücü buharlaştırma tekniğine (NP2) kıyasla daha iyi yüzey yükü özelliklerine sahip daha düzgün ve daha küçük parçacıklar sağladığını göstermektedir. NP2'de ilaç

yüklenmesi üzerine boyuttaki ve polidispersitedeki artış, biyoyararlanımı ve *in vivo* performansı etkileyebilecek potansiyel bir formülasyon zorluğunu ileri sürmektedir. Bu nedenle, NP2-TEM daha iyi özelliklere sahip optimum bir formülasyon olarak tercih edilebilir.

5.2.2 Enkapsülasyon etkinliği

Enkapsülasyon etkinliği (%EE) sonuçları, farklı teknikler kullanılarak hazırlanan iki TEM yüklü PLGA NP sistemi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark ($p < 0,05$) göstermiştir (Bkz. Tablo 5.11.) Nanoçöktürme yöntemiyle geliştirilen NP1-TEM kodlu formülasyonu, 70.02 ± 2.6 'lık üstün bir % EE sergilemişken, çift emülsiyon çözücü buharlaştırma tekniği kullanılarak hazırlanan NP2-TEM kodlu formülasyon 54.63 ± 3.1 oranında nispeten daha düşük bir % EE sergilemiştir. Bu dikkate değer farklılık hem TEM'in fizikokimyasal özelliklerine hem de ilgili formülasyon tekniklerinin temel özelliklerine dayanarak açıklanabilmektedir. Nanoçöktürme, bir ilaç-polimer çözeltisinin organik bir çözücüde sulu bir faza hızla difüzyonunu içerir ve bu da anında çökmeye ve NP oluşumuna yol açar. TEM'in kısmi hidrofobisite sergilediği ve bir dizi organik çözücüde (örn. DMF, etanol, aseton) çözünmediği göz önüne alındığında, bu ortam ilacın polimerik matrise minimum kayıpla etkili bir şekilde dahil edilmesini kolaylaştırır. Bu işlem sırasında suyla nispeten kısa temas süresi, ilacın hidrolitik bozunmasını en aza indirir; bu, bilinen pH'a bağlı kararsızlığı nedeniyle TEM için özellikle kritiktir. Dahası, hızlı çökme kinetiği, ilacın sulu ortama difüze olmadan önce daha iyi moleküler hapsetmeye izin verebilir ve böylece yükleme verimliliğini artırabilir. Tersine, çift emülsiyon çözücü buharlaştırma tekniği, TEM'in sulu bir iç fazda (genellikle PBS, pH 7,4) çözünmesini gerektirir; bu çözelti daha sonra polimerde çözünmüş bir organik faza ve ardından harici bir sulu faz ile emülsifiye edilir. Bu çok adımlı süreç, polimer katılaşmasından önce ilacın dış sulu ortama yayılma olasılığını artırır. Ayrıca TEM'in fizyolojik pH'ta sulu bir ortama uzun süre maruz kalması, bozunma riskini önemli ölçüde artırır ve formülasyon süreci sırasında hem fiziksel hem de kimyasal kayba yol açar. Bu mekanik faktörler muhtemelen NP2-TEM formülasyonunda gözlemlenen daha düşük % EE'e neden olmuş olabilir. (Salatin vd., 2017) (Bovone vd., 2022)(Hou vd., 2019)(Rodriguez de Anda vd., 2019)(Krajcer vd., 2023)(Iturrioz-Rodríguez vd., 2023)

NP1-TEM için 70.02 ve NP2-TEM için 54.63 olarak elde edilen % EE, oral ilaç salım sistemleri için kabul edilebilir aralıktadır (Kömür vd., 2025)(Panyam vd., 2004)(Martín-

Banderas vd., 2012). NP1-TEM için elde edilen daha yüksek % EE, özellikle doz açısından kritik kemoterapötik rejimlerde oral uygulamaya uygunluğunu desteklerken, NP2-TEM için orta düzeyde elde edilen % EE, yeterli ilaç yüklemesi ve terapötik tutarlılığı sağlamak için daha fazla formülasyon optimizasyonu gerektirebilir.

5.2.3 *In vitro* salım

In vitro salım çalışmalarının sonuçları Tablo 5.12.'de sunulmuştur. Şekil 5.16. ve Şekil 5.17'de ise sırasıyla 72 saatlik ve 24 saatlik kümülatif salım grafikleri gösterilmiştir. TEM'in iki NP formülasyonu arasında belirgin şekilde farklı bir salım profili ortaya koymuştur. Nanoçöktürme yöntemi ile hazırlanan NP1-TEM kodlu formülasyon, başlangıçta hızlı bir salım (~1 saatte %30.6) ve ardından 72 saatte ~%90.9 kümülatif salım oranına kadar uzanan sürekli bir salım sergilemiştir. Bu hızlı salımı takip eden daha yavaş salım fazı ile iki fazlı bir salım deseni sergilemiştir. Bu salım davranışı, partikül yüzeyine yakın veya üzerinde bulunan ilaç moleküllerinin hızla salındığı, polimer matris içinde hapsolanların ise zamanla difüzyon kontrollü salıma uğradığı nanoçöktürme sistemlerinin özellikleriyle tutarlıdır. Buna karşılık, çift emülsiyon-çözücü buharlaştırma tekniği kullanılarak geliştirilen NP2-TEM formülasyonu, daha kademeli ve kontrollü bir salım profili sergilemiştir. Başlangıçta gözlenen hızlı salım önemli ölçüde daha düşüktür (~1 saatte %14.9) ve kümülatif salım 72 saatte ~%86.6 oranına ulaşmıştır. Nanoçöktürme tekniğine kıyasla bu fark bu fark muhtemelen TEM'in PLGA çekirdeğine daha derin gömüldüğü çift emülsiyon çözücü buharlaştırma tekniğinde kullanılan iç sulu fazdan kaynaklandığı düşünülebilir. Sonuç olarak bu durum ilaç etkin maddesinin daha belirgin bir difüzyon bariyeri ile karşılaştığı ve bu da daha yavaş salıma yol açtığı şeklinde yorumlanabilir.(Jain vd., 2014) (Lee, 2017)(Fang vd., 2015)(Ling vd., 2012)(Nordling-David vd., 2017).

Her iki NP sisteminden salım, aynı test koşulları altında analiz edilen serbest TEM'e (~1 saatte %95.8) kıyasla önemli ölçüde daha uzundur ve bu durum PLGA NP sistemlerinin etkin madde için koruyucu ve düzenleyici rolünü vurgulamaktadır. NP1-TEM'de gözlemlenen daha hızlı salım, başlangıçtaki tümör küçültme veya indüksiyon rejimleri gibi hızlı terapötik maruziyetin istendiği durumlarda faydalı olabilir. Öte yandan, NP2-TEM'in kontrollü ve sürdürülebilir profili, terapötik plazma konsantrasyonlarını uzun süreler boyunca korumak için daha uygun olabilir, böylece dozlama sıklığını en aza indirebilir ve potansiyel olarak hasta uyumunu iyileştirebilir. Bu farklılıklar, NP

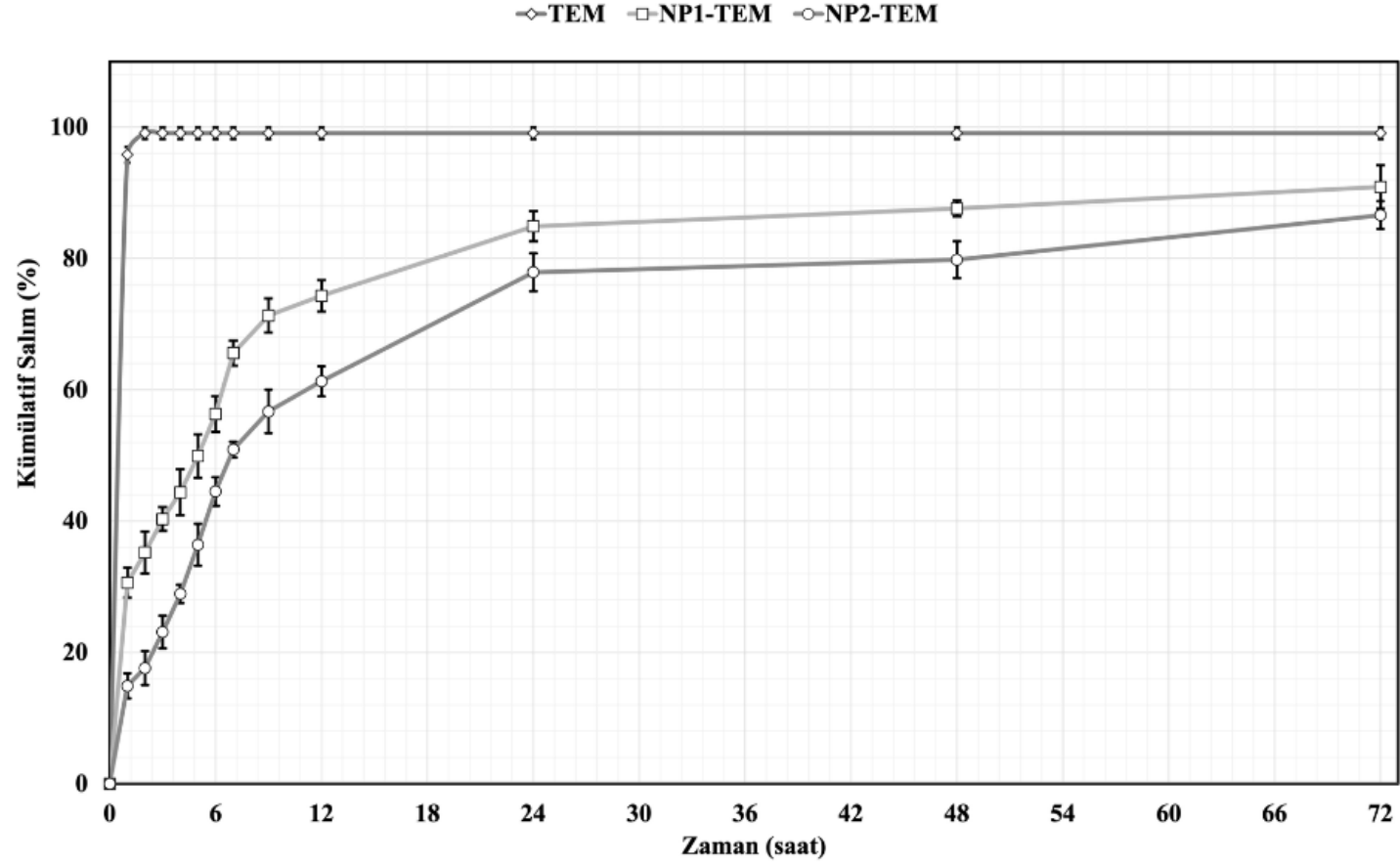
sistemleri tasarlanırken elde edilecek salım oranlarının klinik hedeflerle uyumlu hale getirilmesinin önemini vurgular.(G. Ke vd., 2025) (Lap & Groningen, t.y.)(Ananta vd., 2016) (Erthal vd., 2023).

Tablo 5.12*In Vitro Salm Sonuçları*

Saat	TEM (Ortalama $\pm$ SS)	NP1-TEM (Ortalama $\pm$ SS)	NP2-TEM (Ortalama $\pm$ SS)
1	95.8 $\pm$ 1.2	30.6 $\pm$ 2.3	14.9 $\pm$ 1.9
2	99.1 $\pm$ 0.9	35.2 $\pm$ 3.2	17.6 $\pm$ 2.6
3	99.1 $\pm$ 0.9	40.3 $\pm$ 1.8	23.1 $\pm$ 2.5
4	99.1 $\pm$ 0.9	44.4 $\pm$ 3.5	28.9 $\pm$ 1.4
5	99.1 $\pm$ 0.9	49.9 $\pm$ 3.3	36.4 $\pm$ 3.2
6	99.1 $\pm$ 0.9	56.3 $\pm$ 2.7	44.5 $\pm$ 2.2
7	99.1 $\pm$ 0.9	65.6 $\pm$ 1.9	50.9 $\pm$ 1.2
9	99.1 $\pm$ 0.9	71.3 $\pm$ 2.6	56.7 $\pm$ 3.3
12	99.1 $\pm$ 0.9	74.3 $\pm$ 2.4	61.3 $\pm$ 2.3
24	99.1 $\pm$ 0.9	84.9 $\pm$ 2.3	77.9 $\pm$ 2.9
48	99.1 $\pm$ 0.9	87.6 $\pm$ 1.2	79.8 $\pm$ 2.8
72	99.1 $\pm$ 0.9	90.9 $\pm$ 3.3	86.6 $\pm$ 2.1

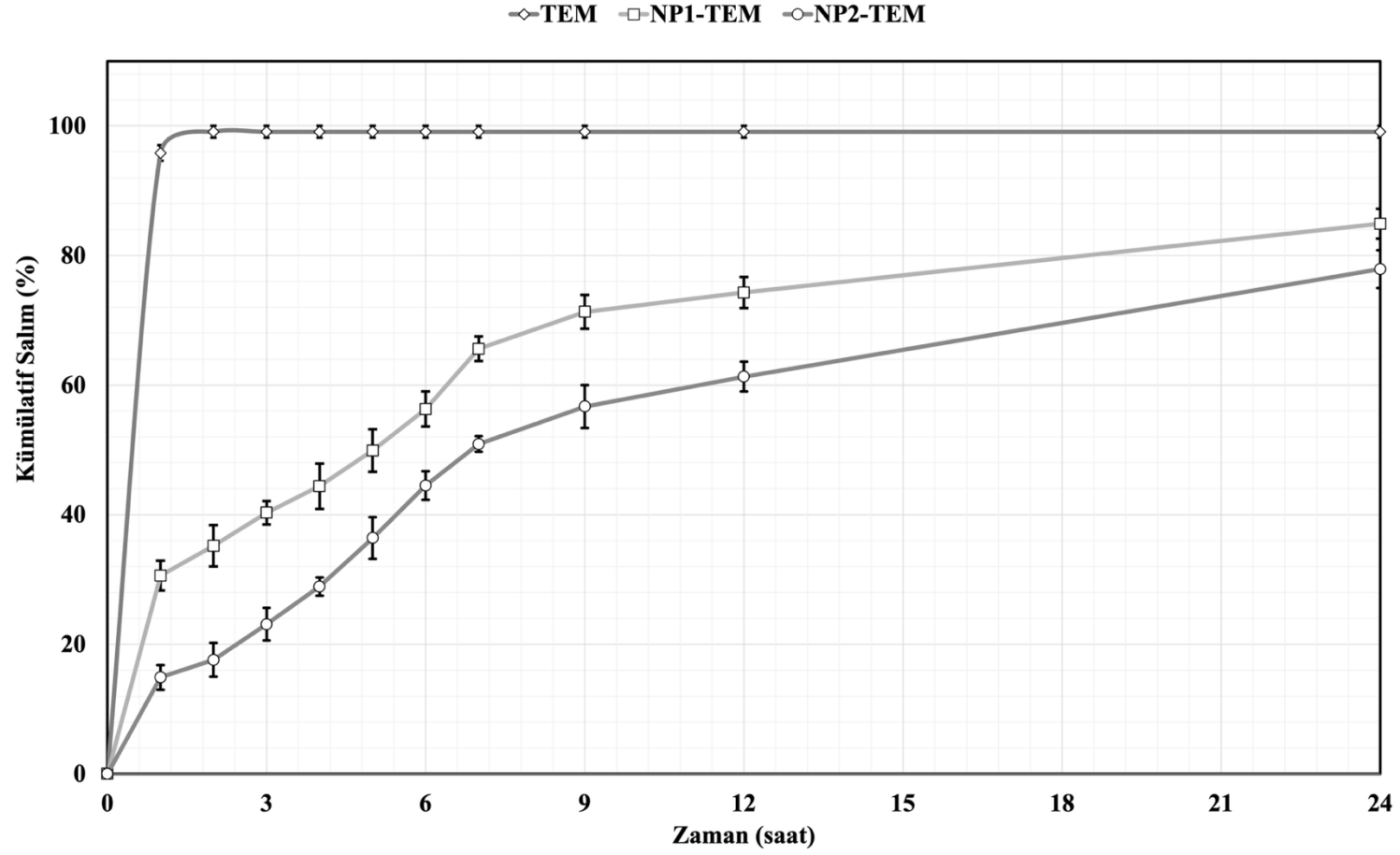
Şekil 5.16

Temozolomid, NP1-TEM ve NP2-TEM İçin 72 Saatlik Kümülatif Salım Grafiği



Şekil 5.17

Temozolomid, NP1-TEM ve NP2-TEM İçin 24 Saatlik Kümülatif Salım Grafiği



5.2.4 Salım kinetiği

Geliştirilen NP formülasyonlarından ilaç salım mekanizmalarını daha iyi anlamak için DDSolver programı kullanılarak Korsmeyer-Peppas, Higuchi ve Weibull dahil olmak üzere çeşitli kinetik modellere uygunluğu belirlemek için *in vitro* salım verileri kullanılmıştır. Salım kinetiği sonuçları Tablo 5.13.'te sunulmuştur. DDSolver programından elde edilen NP1-TEM kodlu formülasyon için Korsmeyer-Peppas modeli grafiği, NP2-TEM kodlu formülasyon için Korsmeyer-Peppas modeli grafiği, NP1-TEM kodlu formülasyon için Higuchi modeli grafiği, NP2-TEM kodlu formülasyon için Higuchi modeli grafiği, NP1-TEM kodlu formülasyon için Weibull modeli grafiği ve NP2-TEM kodlu formülasyon için Weibull modeli grafiği sırasıyla Şekil 5.18., Şekil 5.19., Şekil 5.20., Şekil 5.21., Şekil 5.22. ve Şekil 5.23.'te sunulmuştur.

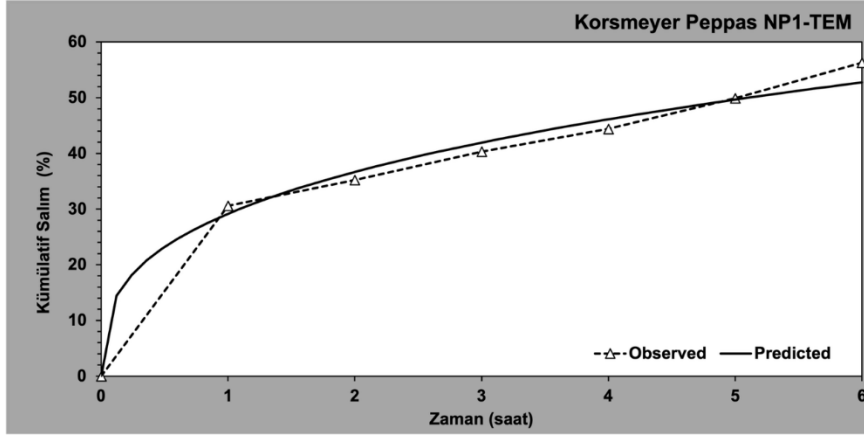
Tablo 5.13

Salım Kinetiği Çalışması Sonuçları

Parametre	Model ve denklem					
	Korsmeyer-Peppas $F = k_{KP} * t^n$		Higuchi $F = k_H * (t)^{0.5}$		Weibull $F = 100 * \{1 - \exp[-((t - T_i)^\beta)/\alpha]\}$	
	NP1-TEM	NP2-TEM	NP1-TEM	NP2-TEM	NP1-TEM	NP2-TEM
N_observed	7.000	9.000	11.000	11.000	13.000	13.000
DF	5.000	7.000	10.000	10.000	10.000	10.000
R_obs-pre	0.994	0.990	0.964	0.980	0.986	0.983
Rsqr (R ²)	0.989	0.977	0.884	0.959	0.972	0.965
Rsqr_adj (R ² adjusted)	0.987	0.973	0.884	0.959	0.966	0.958
MSE	4.516	9.088	66.760	22.251	23.443	31.030
MSE_root	2.125	3.015	8.171	4.717	4.842	5.570
Weighting	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
SS	22.578	63.615	667.601	222.507	234.427	310.304
WSS	22.578	63.615	667.601	222.507	234.427	310.304
AIC	25.819	41.376	73.541	61.455	76.943	80.588
MSC	2.822	2.904	1.398	2.704	2.634	2.651
kKP	29.151	12.598	-	-	-	-
n	0.331	0.668	-	-	-	-
kH	-	-	21.222	16.805	-	-
α	-	-	-	-	2.544	5.293
β	-	-	-	-	0.450	0.594
Ti	-	-	-	-	0.400	0.400

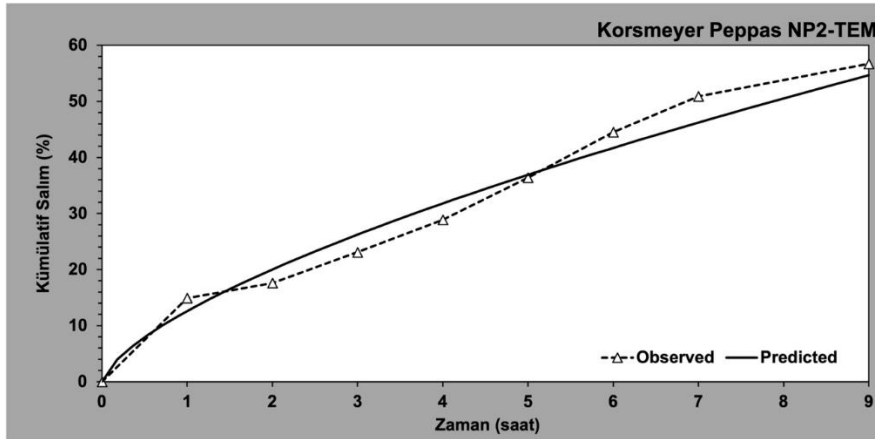
Şekil 5.18

NP1-TEM Kodlu Formülasyon İçin Korsmeyer-Peppas Modeli Grafiği. *Observed: Elde Edilen Salım Profili, Predicted: Beklenen Salım Profili



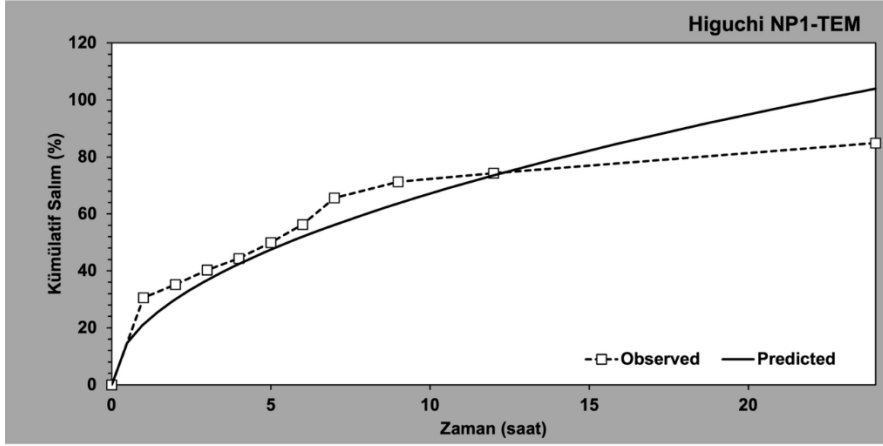
Şekil 5.19

NP2-TEM Kodlu Formülasyon İçin Korsmeyer-Peppas Modeli Grafiği. *Observed: Elde Edilen Salım Profili, Predicted: Beklenen Salım Profili



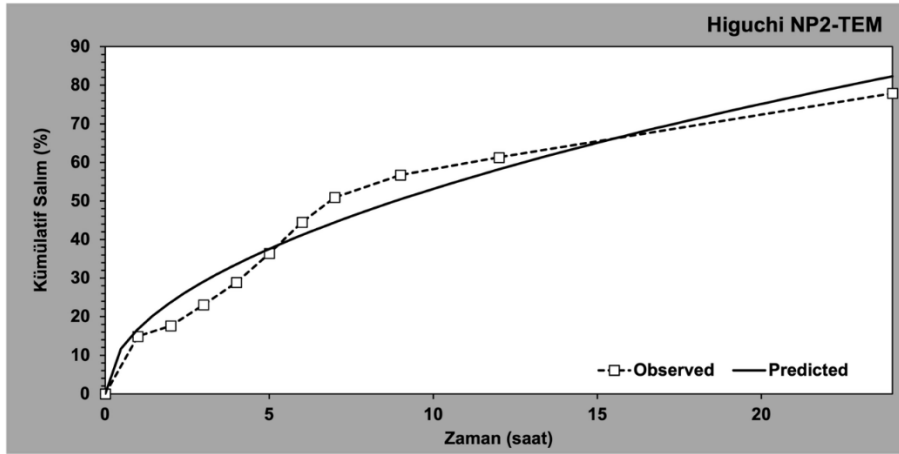
Şekil 5.20

NP1-TEM Kodlu Formülasyon İçin Higuchi Modeli Grafiği. *Observed: Elde Edilen Salım Profili, Predicted: Beklenen Salım Profili



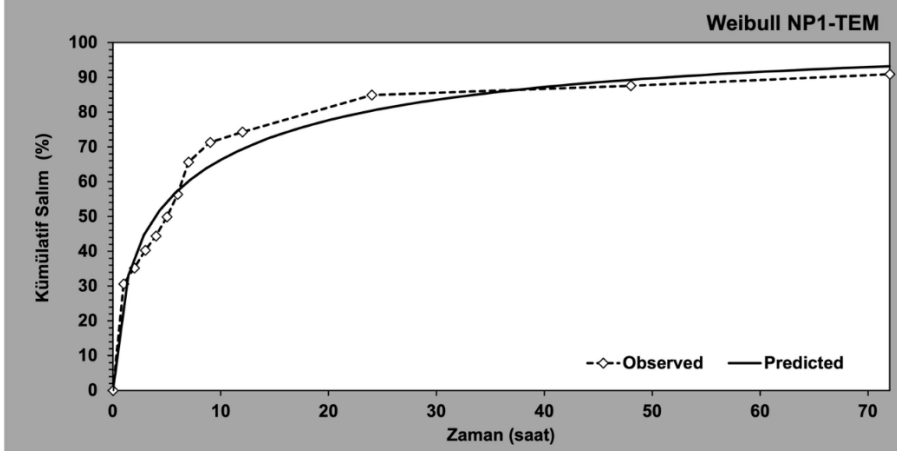
Şekil 5.21

NP2-TEM Kodlu Formülasyon İçin Higuchi Modeli Grafiği. *Observed: Elde Edilen Salım Profili, Predicted: Beklenen Salım Profili



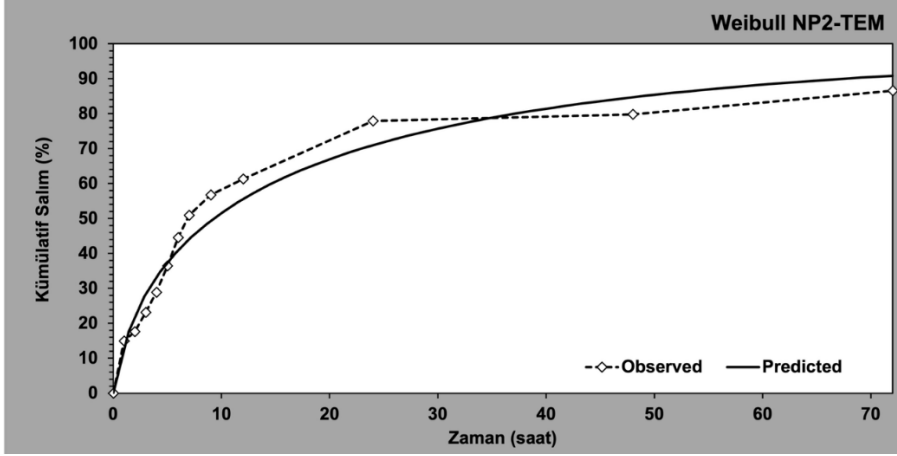
Şekil 5.22

NP1-TEM Kodlu Formülasyon İçin Wiebull Modeli Grafiği. *Observed: Elde Edilen Salım Profili, Predicted: Beklenen Salım Profili



Şekil 5.23

NP2-TEM Kodlu Formülasyon İçin Wiebull Modeli Grafiği. *Observed: Elde Edilen Salım Profili, Predicted: Beklenen Salım Profili



Test edilen modeller arasında, Korsmeyer-Peppas modeli hem NP1-TEM hem de NP2-TEM için en iyi uyumu sağladığı söylenebilir. Bu durum en yüksek korelasyon katsayısı (NP1-TEM için $R^2 = 0.989$ ve NP2-TEM için 0.977) ve en düşük AIC ve WSS değerleriyle elde edilmiştir. NP1-TEM için n değeri 0.331 olarak hesaplanmış ve bu değer ile NP1-TEM kodlu NP formülasyonundan TEM salımının fickian difüzyon kontrollü salıma işaret ettiği şeklinde yorumlanabilir. NP2-TEM için daha yüksek bir n değeri olan 0.668 elde edilmiş ve NP2-TEM için bu değer shem difüzyonun hem de polimer gevşemesinin salım sürecine katkıda bulunduğu Fickian olmayan (anormal) bir salım

mekanizmasına sahip olduğu şeklinde yorumlanabilir. Bu sonuç, NP1-TEM'in belirgin hızlı salımı takiben sürekli bir salım gösterdiği, NP2-TEM'in ise daha kontrollü ve kademeli bir profil sergilediği gözlenen salım profilleriyle uyumludur (Ismailovi vd., 2024). Metin girmek için buraya tıklayın veya dokununuz.

Higuchi modeli NP2-TEM için güçlü bir doğrusal korelasyon göstermiştir ($R^2 = 0.959$). Bu durum sistemden ilaç salımının ağırlıklı olarak hidrate olmuş polimer matrisi boyunca difüzyonla yönetildiğini düşündürmektedir. Buna karşılık, Higuchi modeli NP1-TEM için nispeten zayıf bir korelasyon göstermiştir ($R^2 = 0.884$). Bu duru muhtemelen difüzyonla sınırlı bir sistemin varsayımlarından sapan ilk saatlerdeki hızlı salım davranışının etkisinden kaynaklanmaktadır (Polat vd., 2025)

Karmaşık salım mekanizmalarını tanımlamadaki esnekliğiyle bilinen Weibull modeli de her iki formülasyon için makul derecede iyi bir uyum göstermiştir (NP1-TEM için $R^2 = 0.966$ ve NP2-TEM için 0.958). Şekil parametresi β her iki durumda da 1'den küçük elde edilmiştir (NP1-TEM için $\beta = 0.450$ ve NP2-TEM için $\beta = 0.594$). Bu durum difüzyon kontrollü bir mekanizma ile tutarlı parabolik salım kinetiğini katılar niteliktedir; ancak Korsmeyer-Peppas modeline kıyasla biraz daha yüksek AIC ve daha düşük MSC değerleri daha az optimum bir uyum olarakda yorumlanabilir (Öztürk, Namlı, vd., 2020)

Tüm bu kinetik bulgular birlikte değerlendirildiğinde, NP1-TEM formülasyonundan TEM salımının büyük ölçüde fickian difüzyon ile gerçekleştiği ve ilacın önemli bir kısmının yüzeye adsorbe halde bulunduğu, buna karşılık NP2-TEM formülasyonunun daha çok matris yapısına entegre, kontrollü ve uzamış bir salım profili sergilediği anlaşılmaktadır. Elde edilen veriler, uygulanan formülasyon yönteminin salım kinetiği üzerinde belirleyici bir rol oynadığını ve bu kinetik özelliklerin terapötik hedeflere göre (örneğin hızlı ilaç salımı gerektiren durumlar ya da uzun süreli plazma düzeyi sağlanması istenen tedaviler için) özelleştirilebileceğini bir kez daha ortaya koymaktadır (Zuo vd., 2014) (H. Zhang & Gao, 2006).

İki NP formülasyonu arasındaki benzerlik analizi sonuçları Tablo 5.14.'te sunulmuştur. Benzerlik analizi için DDSolver programının model bağımsız benzerlik faktörü (f_2) analiz yöntemi kullanılarak yürütülmüştür. NP1-TEM ve NP2-TEM arasında gözlenen f_2 değeri, iki çözünme profili arasındaki benzerliği göstermeyen 50 olan kritik eşik değerin altında kalan 44.52 olarak hesaplanmıştır. Genel olarak olarak, bu veriler NP1-TEM ve NP2-TEM için ilaç salım davranışının önemli ölçüde farklı olduğunu göstermektedir ve

bu da formülasyon tekniğinin salım kinetiğini düzenlemede önemli bir rol oynadığı sonucunu daha da desteklemektedir.(Jamil & Polli, 2024)

Tablo 5.14

NP1-TEM ve NP2-TEM Formülasyonları Arasında Benzerlik Faktörü (f_2) Analizi Sonuçları

İstatistiksel Parametreler	Değerler
f_2	44.520
Bootstrap sayısı	5000.000
Bootstrap ortalaması	44.520
Bootstrap Medyanı	44.520
5% yüzdelik	44.520
95% yüzdelik	44.520
Skewness	1.000
Kurtosis	-2.001
%5'lik yüzdelik dilim ;İ 50	Hayır
NP1-TEM ve NP2-TEM'in benzerliği	Benzer değildir.

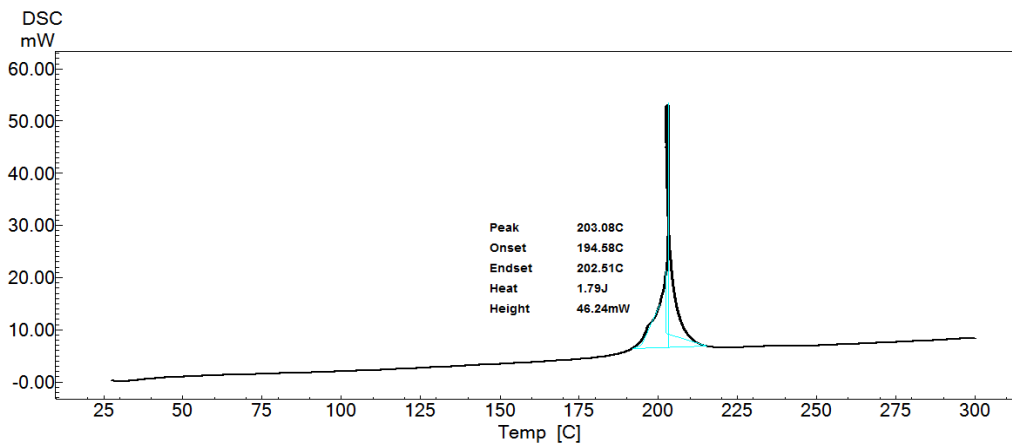
5.3 Katı Hal Karakterizasyonu

5.3.1 Termal analiz

TEM, PLGA, NP1-Blank, NP1-TEM, NP2-Blank ve NP2-TEM kodlu örneklerin DSC termogramları sırasıyla Şekil 5.24., Şekil 5.25., Şekil 5.26., Şekil 5.27., Şekil 5.28. ve Şekil 5.29'da sunulmuştur.

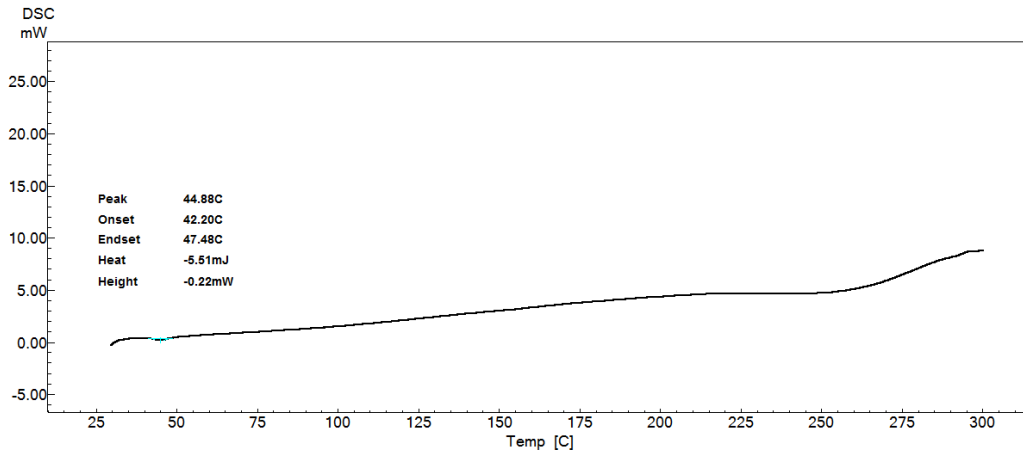
Şekil 5.24

Temozolomid İçin DSC Termogramı



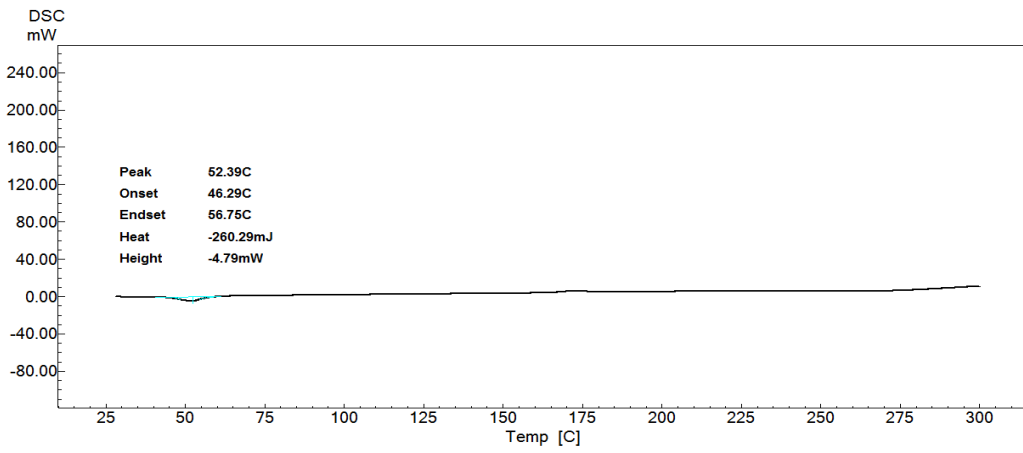
Şekil 5.25

PLGA İçin DSC Termogramı



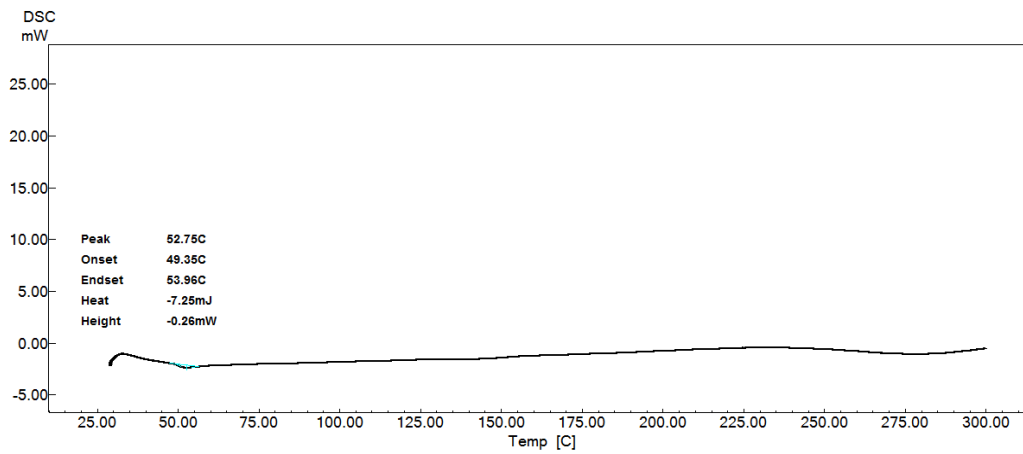
Şekil 5.26

NP1-Blank İçin DSC Termogramı



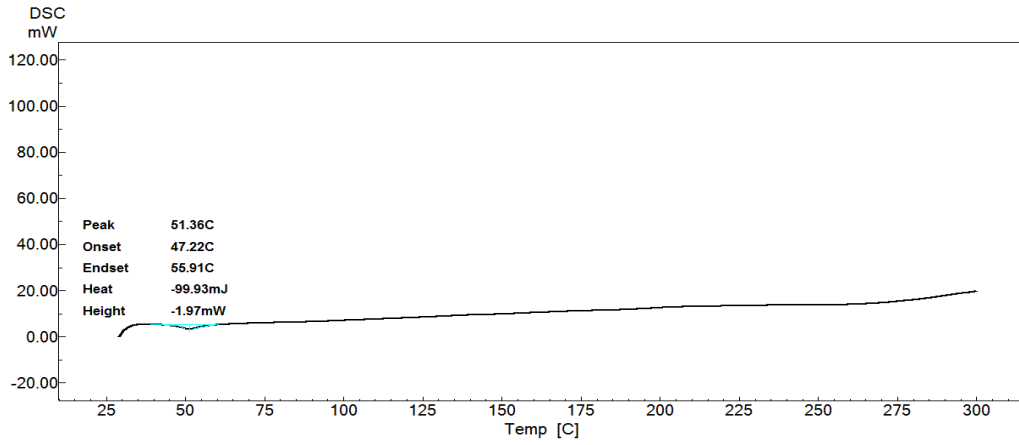
Şekil 5.27

NP1-TEM İçin DSC Termogramı



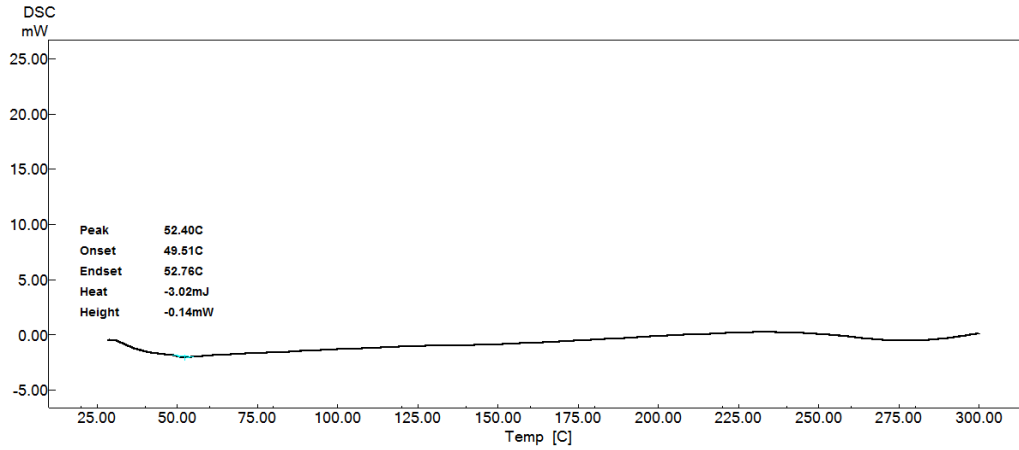
Şekil 5.28

NP2-Blank İçin DSC Termogramı



Şekil 5.29

NP2-TEM İçin DSC Termogramı



Saf TEM için elde edilen DSC termogramı (Şekil 5.24.) incelendiğinde erime noktasına karşılık gelen 203.08°C'de keskin bir endotermik tepe gözlenmiştir ve bu durum literatüre göre TEM'in kristalin yapısını doğrulanmıştır.(H. Zhang & Gao, 2006)

Buna karşılık, PLGA (Şekil 5.25), amorf bir polimerden beklendiği gibi, yaklaşık 44.88°C'lik bir camsı geçiş sıcaklığı (T_g) göstermiş ve amorf yapısı kanıtlanmıştır.(H. Zhang & Gao, 2006)

NP1-Blank (Şekil 5.26.) ve NP2-Blank (Şekil 5.28) için elde edilen termogramlarda sırasıyla 52.39°C ve 59.36°C'de erime pikleri olmadan T_g'de geçiş göstermiştir ve bu durum NP oluşumundan sonra PLGA'nın amorf doğasının korunduğu şeklinde

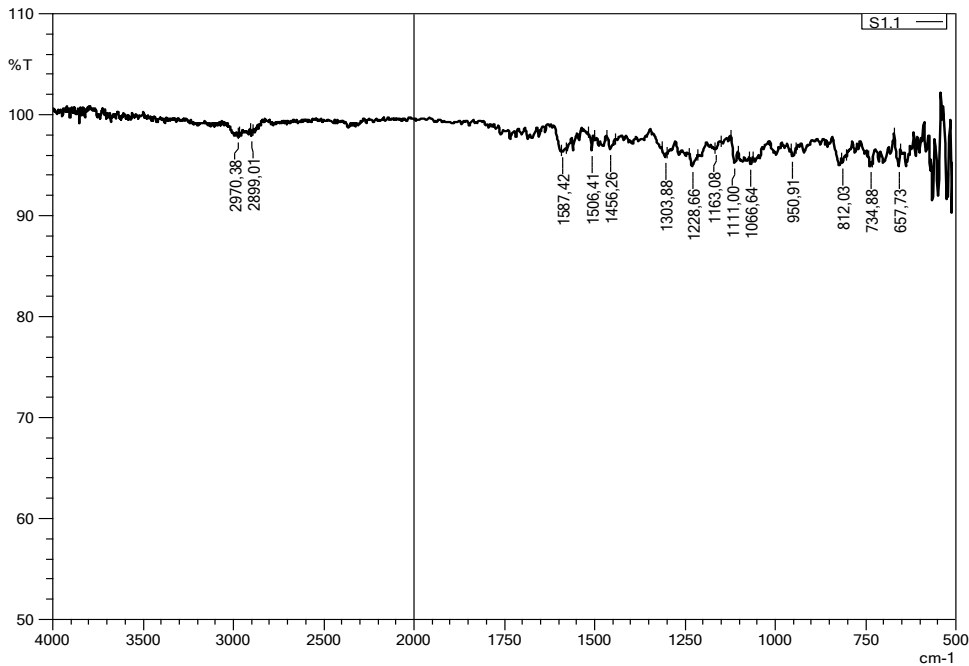
yorumlanabilir. TEM yüklü NP1-TEM (Şekil 5.27.) ve NP2-TEM (Şekil 5.29) kodlu formülasyonların DSC termogramları incelendiğinde boş NP' benzer termogramlar elde edilmiştir. En önemli nokta TEM'in karakteristik erime piki hem NP1-TEM hem de NP2-TEM kodlu formülasyonların termogramlarında gözlenmemiş olduğudur. Bu duruö ilacın polimer matris içinde amorf veya moleküler olarak dağılmış bir durumda bulunduğunu şeklinde yorumlanabilir Ayrıca, termogramlarda gözlenen Tg değerleri değerlendirildiğinde TEM yüklü formülasyonlarda, özellikle NP1-TEM kodlu formülasyonda Tg değerinin hafifçe arttığı belirlenmiştir. Bu durum ise literatür bulguları ışığında Nanoçöktürme tekniğine dayalı formülasyonda daha güçlü ilaç-polimer etkileşimini ve gelişmiş karışabilirliği göstergesi olarak yorumlanabilir.(Sharma vd., 2015)

5.3.2 Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi analizi

TEM, PLGA, NP1-Blank, NP1-TEM, NP2-Blank ve NP2-TEM kodlu örneklerin FTIR spektrumları sırasıyla Şekil 5.30., Şekil 5.31., Şekil 5.32., Şekil 5.33., Şekil 5.34. ve Şekil 5.35'te sunulmuştur.

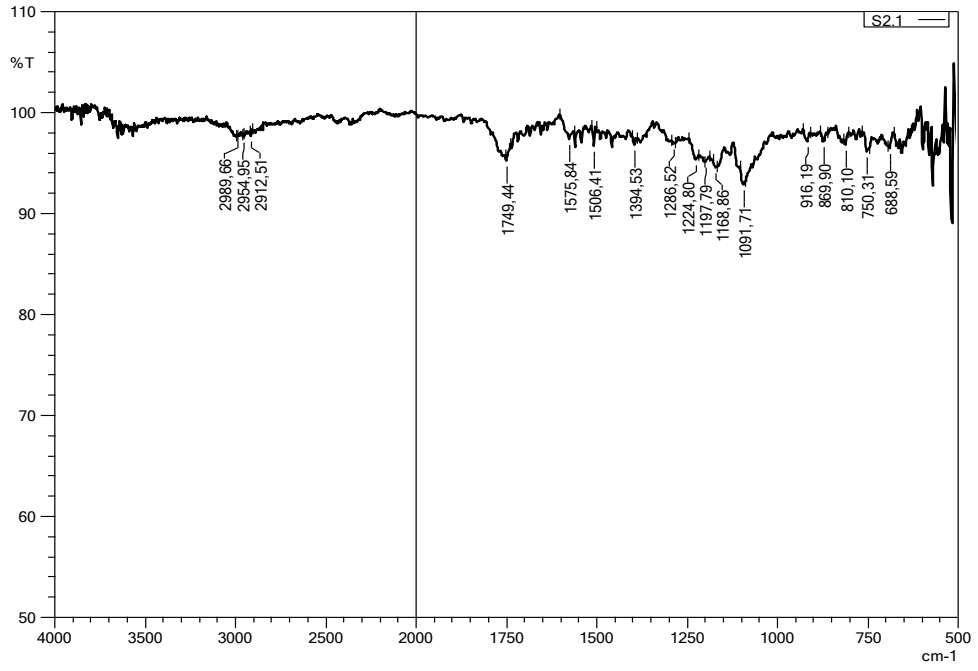
Şekil 5.30

Temozolomid İçin FTIR Spektrumu



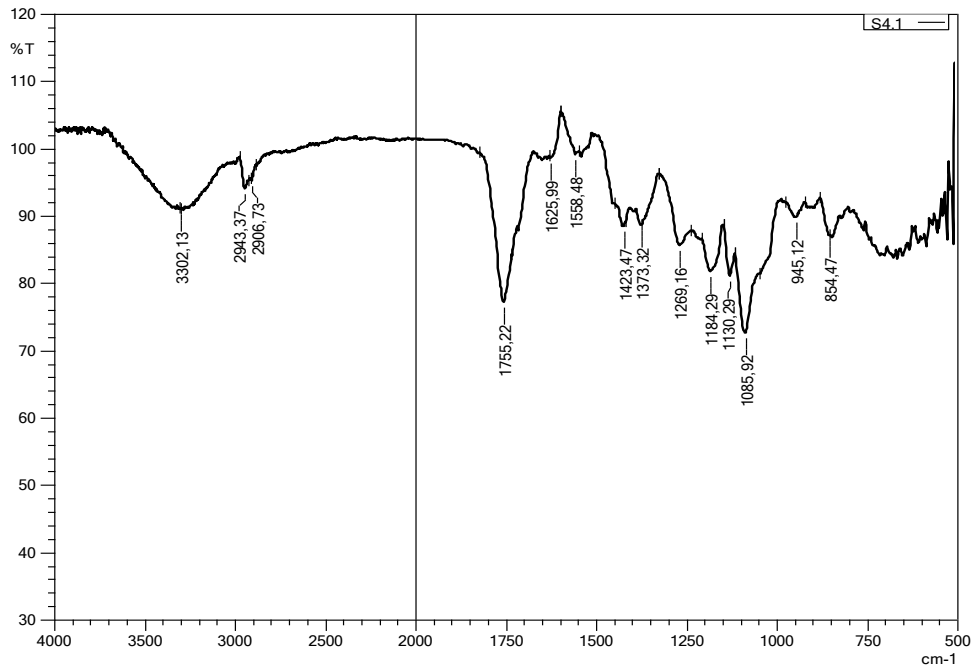
Şekil 5.31

PLGA İçin FTIR Spektrumu



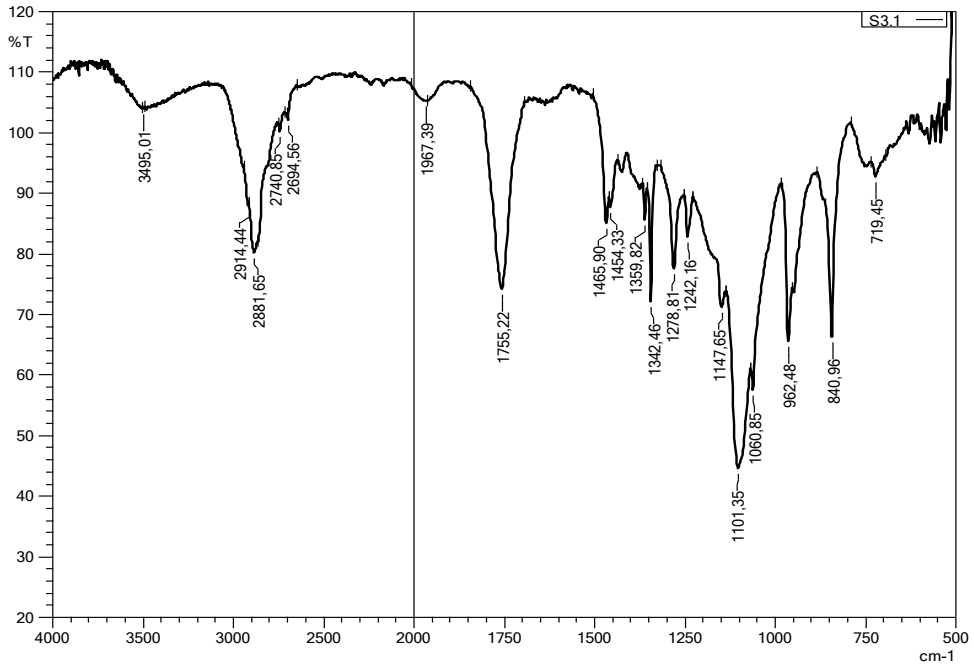
Şekil 5.32

NP1-Blank İçin FTIR Spektrumu



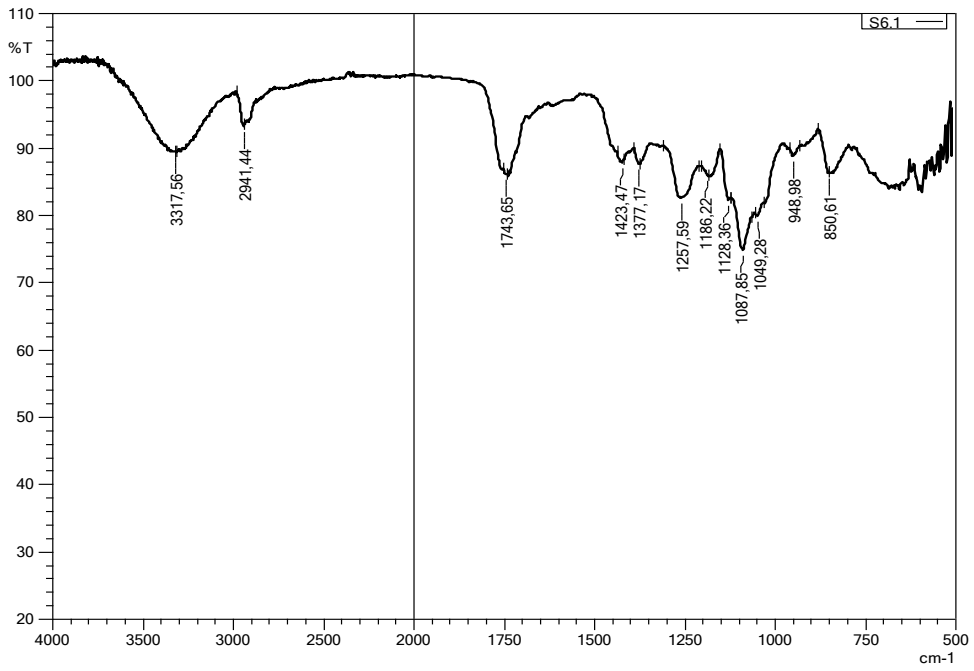
Şekil 5.33

NP1-TEM İçin FTIR Spektrumu



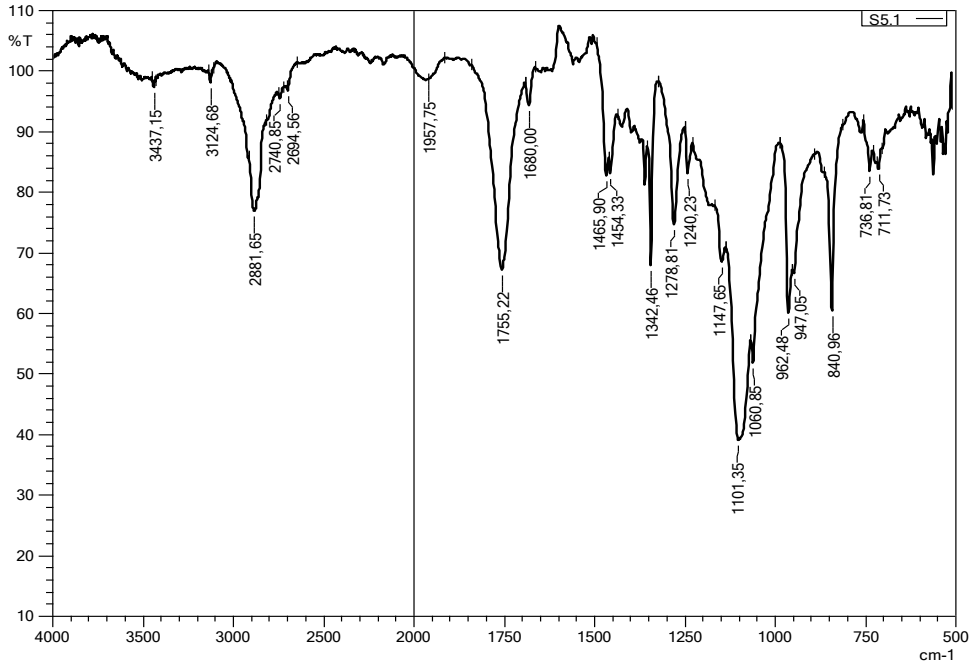
Şekil 5.34

NP2-Blank İçin FTIR Spektrumu



Şekil 5.35

NP2-TEM İçin FTIR Spektrumu



Saf TEM için elde edilen FTIR spektrumunda (Şekil 5.30.), 1587.42 cm^{-1} 'deki pikler $\nu(\text{C}=\text{O})$ 'ya (amid karbonil) atfedilirken, 1456.6 cm^{-1} ve 1303.8 cm^{-1} 'deki pikler aromatik ve heterosiklik halkaların $\delta(\text{C}-\text{N})$ ve $\nu(\text{C}-\text{C})$ gerilme titreşimlerine atfedilebilir. Ek olarak, 812.03 , 734.88 ve 657.73 cm^{-1} 'de gözlenen bantlar, $\gamma(\text{C}-\text{H})$ düzlem dışı bükülme modlarının göstergesi olup, aromatik bir sistemin varlığını doğrulamaktadır. Bu bulgular, TEM için daha önce bildirilen FTIR verileriyle büyük ölçüde uyumludur (Ahmad & Ahmad, 2015)

PLGA için elde edilen FTIR spektrumunda (Şekil 5.31.), $\nu(\text{C}=\text{O})$ (ester karbonil) ile ilişkili 1749.44 cm^{-1} seviyesinde keskin ve yoğun bir pik ve $\nu(\text{C}-\text{O}-\text{C})$ gerilme titreşimleriyle ilişkili 1091.71 cm^{-1} bölgesindeki bantlarla karakteristik ester işlevselliği sergilemiştir. 2989.66 cm^{-1} ve 2954.95 cm^{-1} 'deki pikler, polimer yapısının $\nu(\text{CH}_3)$ ve $\nu(\text{CH}_2)$ gerilmesi ile ilişkilidir (Kumar Sahdev vd., 2025)

NP1-Blank için elde edilen FTIR spektrumunda (Şekil 5.32.) PLGA'nın spektrumuna oldukça benzerlik elde edilmiş ve PLGA polimerine ait 1755.22 cm^{-1} 'deki baskın $\nu(\text{C}=\text{O})$ bant ve güçlü $\nu(\text{C}-\text{O}-\text{C})$ piklerini korunmuştur. Benzer şekilde, NP2-Blank için elde edilen FTIR spektrumu (Şekil 5.34.) PLGA ile neredeyse aynı spektrumu göstermiştir.

NP1-TEM için elde edilen FTIR spektrumu (Şekil 5.33.), 3495.01 cm^{-1} 'de merkezlenen daha geniş bir $\nu(\text{N}-\text{H})$ bandı ve 1755.22 cm^{-1} 'de kaymış bir $\nu(\text{C}=\text{O})$ tepe noktası göstermiştir ve bu durum TEM'in amid grubu ile PLGA matrisi arasında olası bir hidrojen

bağı olduğunu düşündürmüştür. NP2-TEM için elde edilen FTIR spektrumu (Şekil 5.35.), 3437.15 cm^{-1} 'de zayıf bir $\nu(\text{N-H})$ bandı sergilemiştir. NP2-TEM için elde edilen spektrum NP1-TEM için elde edilen spektrum ile karşılaştırıldığında, NP2-TEM'deki değişikliklerin daha az belirgin olduğu ve bu durumun çift emülsiyon çözücü buharlaştırma tekniğiyle hazırlanan NP formülasyonun TEM ile PLGA arasında nispeten daha zayıf bir etkileşim olduğunu düşündürmüştür. Tüm sonuçlar birlikte ele alındığında, FTIR verileri TEM'in hem NP1 hem de NP2 sistemlerine başarılı bir şekilde dahil edildiğini, NP1-TEM formülasyonunda daha belirgin spektral kaymalar ve etkileşimlerin gözlemlendiğini göstermektedir. Bu durum muhtemelen nanoçöktürme tekniğinin sağladığı elverişli dağılım ve moleküler etkileşim profilinden kaynaklandığı şeklinde yorumlanabilir (Rahdari vd., 2025)(Huang vd., 2018)(Öztürk & Aygöl, 2020)

5.4 Nanopartikül Formülasyonlarının Biyolojik Aktivite Çalışmaları

5.4.1 Temozolomid yüklü nanopartiküllerin U-87 MG ve NIH/3T3 hücre canlılığı üzerindeki etkileri

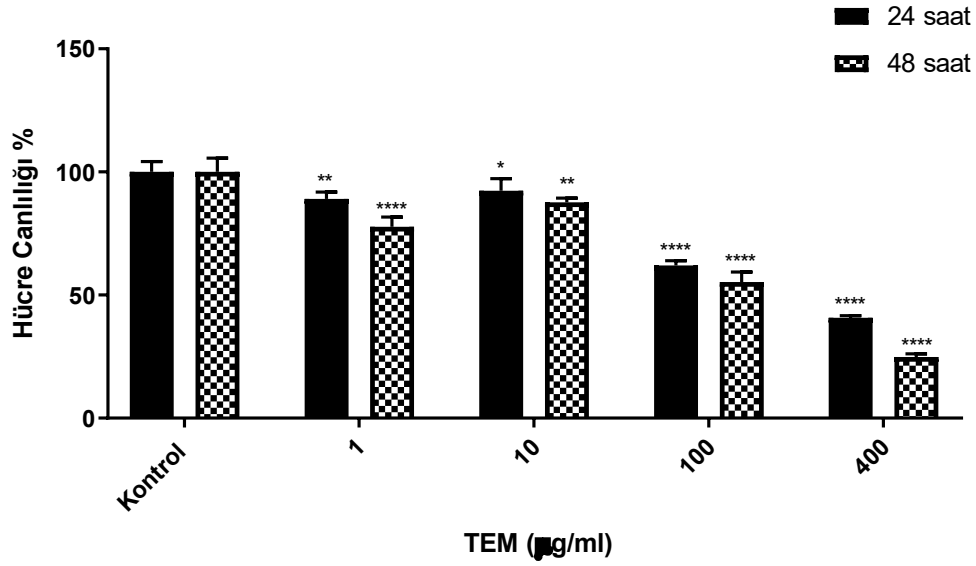
TEM, NP1-Blank, NP1-TEM, NP2-Blank ve NP2-TEM için U-87 MG glioblastoma hücre hattı üzerindeki hücre canlılığı grafikleri sırasıyla Şekil 5.36., Şekil 5.37., Şekil 5.38., Şekil 5.39. ve Şekil 5.40.'ta sunulmuştur. İlgili şekillerde canlılık, 24 ve 48 saatlik tedaviden sonra değerlendirilmiş ve sonuçlar, üç bağımsız deneyin (her tedavi grubu için $n=4$) ortalaması $\pm$ SS olarak sunulmuştur. Anlamlı farklılıklar $*p < 0.05$, $**p < 0.01$, $***p < 0.001$, $****p < 0.0001$ olarak gösterilmişken, anlamlı bir fark yok ise $p > 0.05$ veya ns olarak gösterilmiştir.

NP'lerin U-87 MG glioblastoma hücre hattı üzerindeki kanser karşıtı etkilerinin değerlendirilmesi için MTT testi kullanılmıştır. Eş zamanlı olarak, örneklerin ayrıca NIH/3T3 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkileride değerlendirilmiştir. TEM ve NP formülasyonlarının kanser hücreleri üzerinde antikanser ajan olarak terapötik etkinliğini gösteren seçicilik indeksi (SI), her iki testin IC_{50} sonuçları karşılaştırılarak hesaplanmıştır. NP1-TEM, NP2-TEM, TEM, NP1-Blank ve NP2-Blank'ın 400, 100, 10 ve 1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonlarındaki sonuçlarına göre, U-87 MG hücre canlılığı 24 saatte şu yüzdelerde azalmıştır: 80.66, 68.65, 40.59 ve 27.87; 68.41, 46.95, 26.90 ve 17.19; 59.23, 38.03, 7.64 ve 10.98; 32.64, 27.97, 14.88 ve 8.89; 14.59, 9.72, 9.42 ve 3.54. Benzer şekilde, 48 saatte elde edilen azalmalar sırasıyla %88.95, %92.3, %55.68 ve %41.09;

%83.18, %70.84, %49.28 ve %27.81; %75.21, %44.71, %12.31 ve %22.27; %42.43, %29.49, %18.32 ve %16.8; %18.93, %18.99, %18.79 ve %5.98 olarak elde edilmiştir.

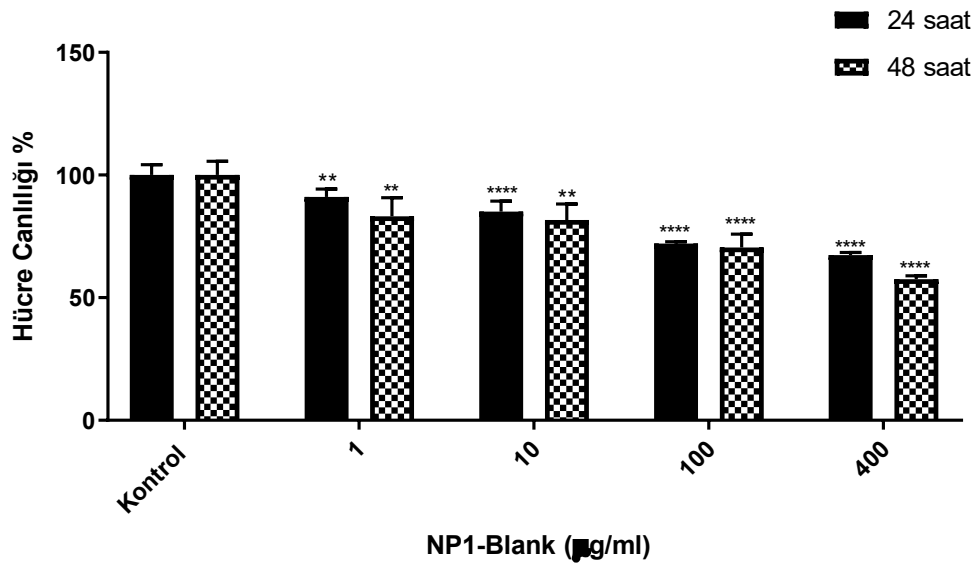
Şekil 5.36

Temozolomid İçin U-87 MG Glioblastoma Hücre Hattı Üzerindeki Hücre Canlılığı Grafiği



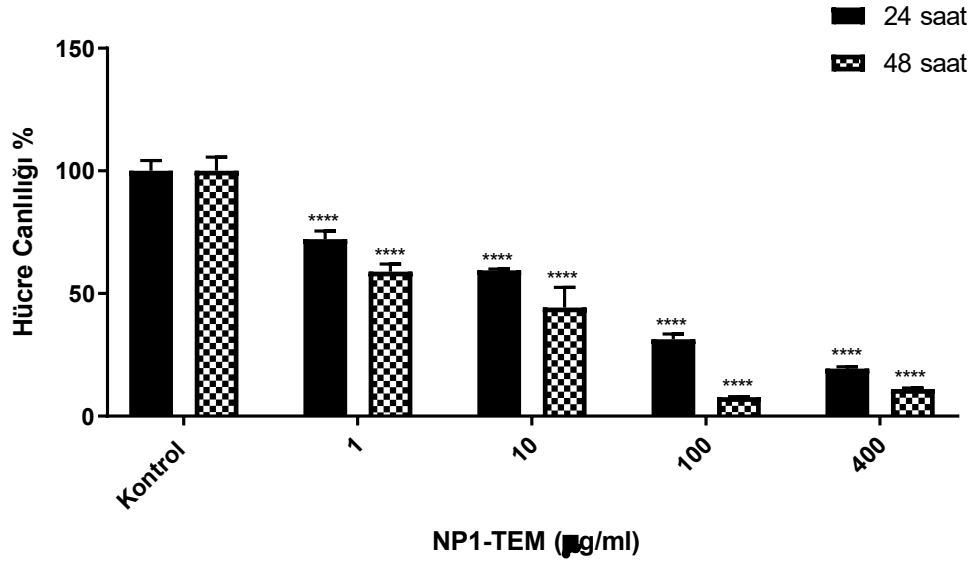
Şekil 5.37

NP1-Blank İçin U-87 MG Glioblastoma Hücre Hattı Üzerindeki Hücre Canlılığı Grafiği



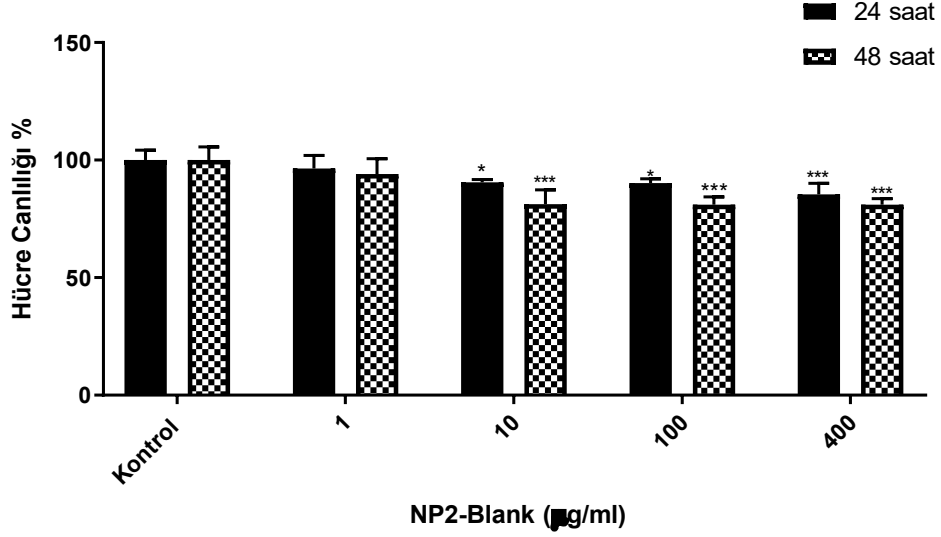
Şekil 5.38

NP1-TEM İçin U-87 MG Glioblastoma Hücre Hattı Üzerindeki Hücre Canlılığı Grafiği



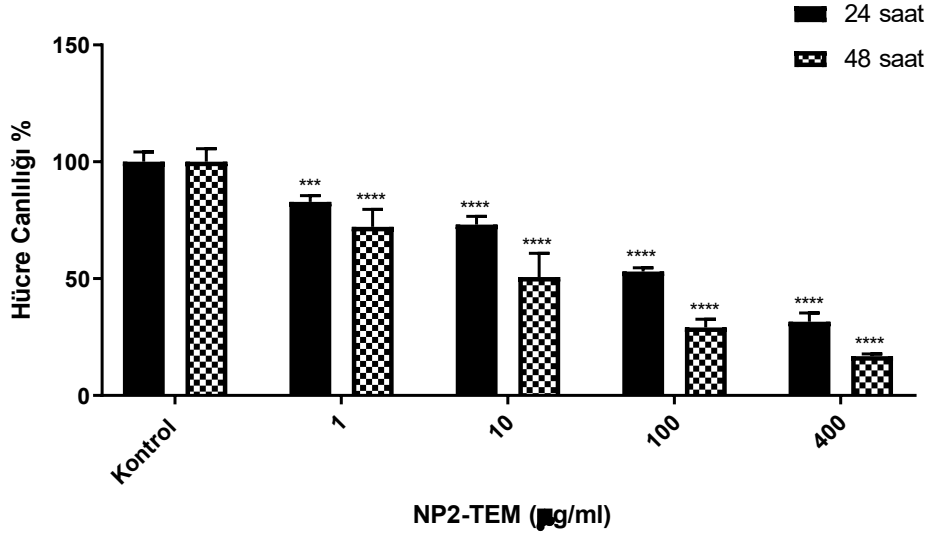
Şekil 5.39

NP2-Blank İçin U-87 MG Glioblastoma Hücre Hattı Üzerindeki Hücre Canlılığı Grafiği



Şekil 5.40

NP2-TEM İçin U-87 MG Glioblastoma Hücre Hattı Üzerindeki Hücre Canlılığı Grafiği



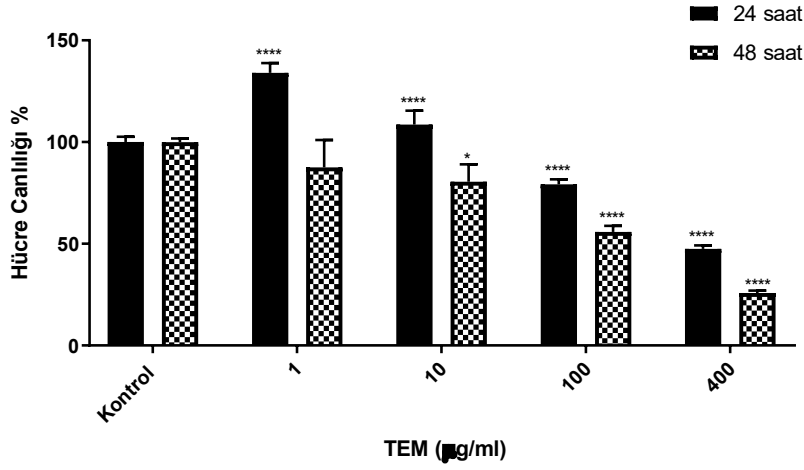
TEM, NP1-Blank, NP1-TEM, NP2-Blank ve NP2-TEM için NIH/3T3 hücre hattı üzerindeki hücre canlılığı grafikleri sırasıyla Şekil 5.41., Şekil 5.42., Şekil 5.43., Şekil 5.44. ve Şekil 5.45.'te sunulmuştur. İlgili şekillerde canlılık, 24 ve 48 saatlik tedaviden sonra değerlendirilmiş ve sonuçlar, üç bağımsız deneyin (her tedavi grubu için n=4) ortalaması $\pm$ SS olarak sunulmuştur. Anlamlı farklılıklar $*p < 0.05$, $**p < 0.01$, $***p < 0.001$, $****p < 0.0001$ olarak gösterilmişken, anlamlı bir fark yok ise $p > 0.05$ veya ns olarak gösterilmiştir.

24 saatlik sonuçlarda, 400, 100, 10 ve 1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonlarındaki NP1-TEM ve NP2-TEM, NIH/3T3 hücre canlılığında sırasıyla %79,98, %65,66, %28,07 ve %21,13; 72.96, 48.01, 18.99 ve 23.93% oranında azalmalara neden olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde, 48 saatte %88.13, %93.70, %40.72 ve %46.15; %79.90, %74.32, %39.51 ve %33.31 oranında azalmalar tespit edilmiştir. 400 ve 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ TEM konsantrasyonları 24 saatte hücre canlılığında %52.5 ve %20.74 oranında azalmaya neden olurken, 10 ve 1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ sırasıyla %8.65 ve %34.03 oranında artışa neden olmuştur. 48 saatte 400, 100, 10 ve 1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ TEM konsantrasyonları hücre canlılığını sırasıyla %74.19, %44.15, %19.5 ve %12.48 oranında azaltmıştır. 24 saatte NP1-Blank ve NP2-Blank, 400 ve 100 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ konsantrasyonlarında sırasıyla %29.6 ve %6.84 ve %0.56 ve %2.11 azalmalara neden olurken, 10 ve 1 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ sırasıyla %15.17, %18.28; %6.2 ve %2.16 oranında artışlara neden olmuştur. 48 saatte, 400, 100, 10 ve 1 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ konsantrasyondaki NP1-

Blank ve NP2-Blank sırasıyla %41.97, %33.65, %10.57 ve %2.04; %26.35, %19.15, %7.81 ve %3.17 oranında azalmaya neden olmuştur.

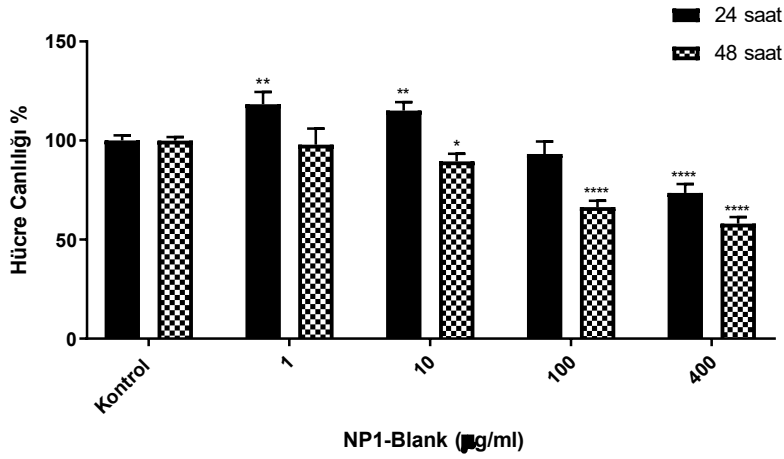
Şekil 5.41

Temozolomid İçin NIH/3T3 Hücre Hattı Üzerindeki Hücre Canlılığı Grafiği



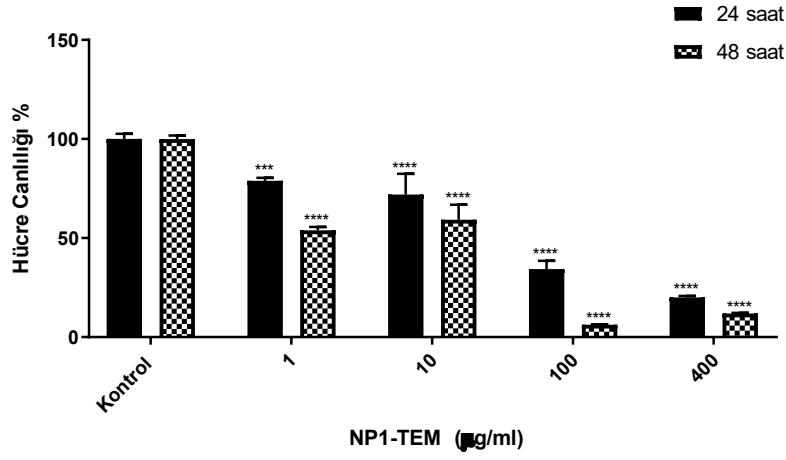
Şekil 5.42

NP1-Blank İçin NIH/3T3 Hücre Hattı Üzerindeki Hücre Canlılığı Grafiği



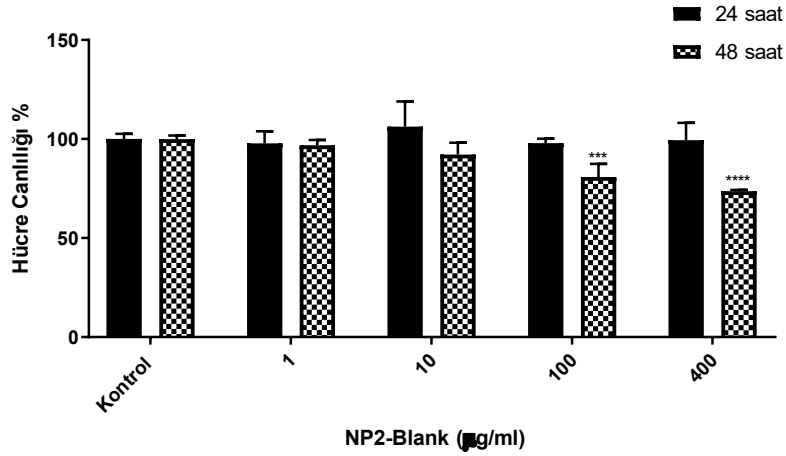
Şekil 5.43

NP1-TEM İçin NIH/3T3 Hücre Hattı Üzerindeki Hücre Canlılığı Grafiği



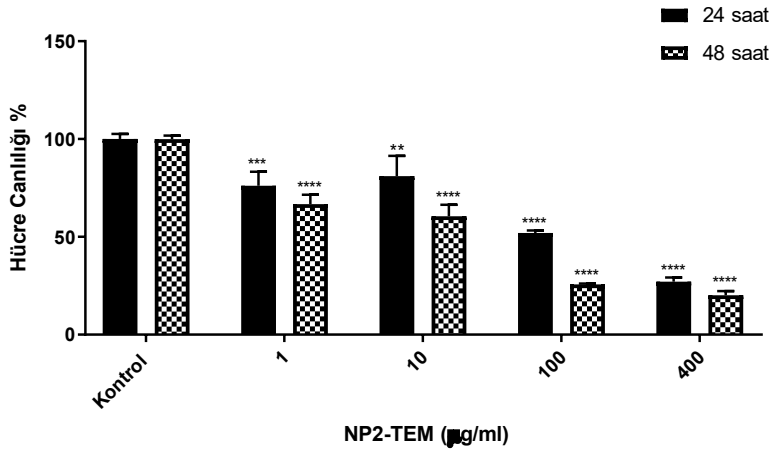
Şekil 5.44

NP2-Blank İçin NIH/3T3 Hücre Hattı Üzerindeki Hücre Canlılığı Grafiği



Şekil 5.45

NP2-TEM İçin NIH/3T3 Hücre Hattı Üzerindeki Hücre Canlılığı Grafiği



Hücre canlılığı verilerinden elde edilen TEM, NP1-TEM, NP2-TEM, NP1-Blank ve NP2-Blank için IC_{50} ve seçicilik indeksi (SI) değerleri Tablo 5.15.'te sunulmuştur. U-87 MG hücrelerinde NP1-TEM, NP2-TEM ve TEM için IC_{50} değerleri 24 saatte 139.51, 243.04 ve 294.43 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ve 48 saatte 186.36, 224.29 ve 367.76 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ olarak elde edilmiştir. NIH/3T3 hücrelerinde NP1-TEM, NP2-TEM ve TEM için IC_{50} değerleri 24 saatte 186.36, 224.29 ve 367.76 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ve 48 saatte 63.25, 128.78 ve 235.87 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ olarak elde edilmiştir. NP1-Blank ve NP2-Blank, hem U-87 MG hem de NIH/3T3 hücrelerinde 24 ve 48. saatlerde 400 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ 'i aşan IC_{50} değerleri sergilemiştir.

Tablo 5.15

Hücre Canlılığı Verilerinden Elde Edilen TEM ve Formülasyonlar İçin IC_{50} ve SI Değerleri

	U-87 MG		NIH/3T3		Seçicilik indeksi	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
TEM	294.43	187.74	367.76	235.88	1.25	1.26
NP1-TEM	139.51	21.85	186.36	63.25	1.34	2.89
NP2-TEM	243.04	107.00	224.29	128.78	0.92	1.20
NP1-Blank	> 400	> 400	> 400	> 400	-	-
NP2-Blank	> 400	> 400	> 400	> 400	-	-

Tüm veriler toplu olarak değerlendirildiğinde, NP1-TEM'in hem 24 hem de 48 saatte TEM'e kıyasla daha düşük bir IC_{50} değerine sahip olduğu ve seçiciliğinin özellikle 48 saatte 2.89 kat daha yüksek olduğunu belirlenmiştir. Daha düşük IC_{50} değeri, NP1-TEM'in U-87 MG hücrelerinin büyümesini engellemede potansiyel olarak daha yüksek bir etkinliğe sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca, 48 saatte artan seçicilik, potansiyel

terapötik avantajıda vurgulamaktadır. Bu veriler, bileşiğin kanserli olmayan hücreler üzerindeki etkiyi en aza indirirken belirli hücreleri hedefleme kapasitesine dair öngörüler sunmaktadır ve bu durum antikanser ajanlarının geliştirilmesinde önemli bir husustur.

5.4.2 Nanopartiküllerin ROS oluşumu üzerindeki etkileri

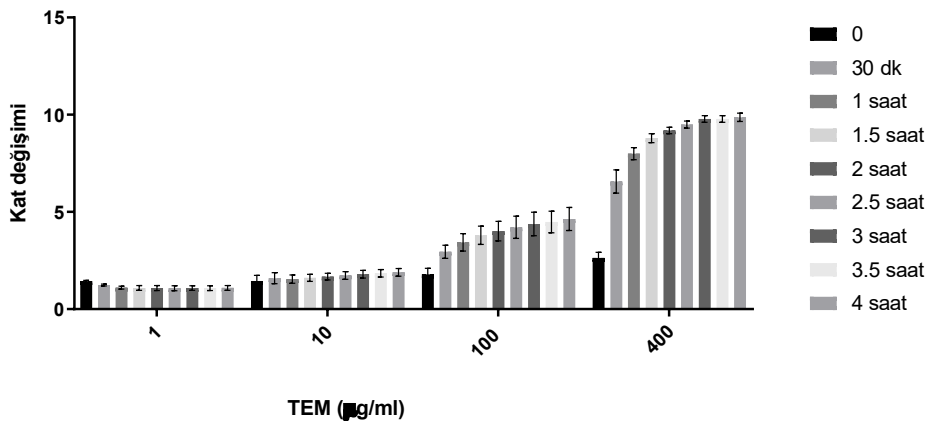
İnflamasyonlu bir ortamda, antimikrobiyal ve tümör öldürücü ROS'un yoğun oluşumuna "oksidatif patlama" denir ve çevresel patojenlere karşı birincil savunma hattı olarak önemli bir rol oynar (Dröge, 2002)

Son zamanlarda, ROS'un yükselmesi ve/veya antioksidan mekanizmaların inhibisyonu yoluyla oksidatif stresi tetikleyen antikanser tedavilerine önemli bir ilgi duyulmaktadır. Birikmiş ROS'un artışı, redoks homeostazını bozarak kanser hücrelerinde ciddi hasara yol açabilmektedir.(Kim vd., 2019)

ROS üretimi sonuçları TEM, NP1-TEM ve NP2-TEM için sırasıyla Şekil 5.46., Şekil 5.47. ve Şekil 5.48.'de sunulmuştur. Sonuçlara göre TEM, NP1-TEM ve NP2-TEM tüm test edilen konsantrasyonlarda ROS üretimini artırdığı belirlenmiştir. TEM, 100 ve 400 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonda daha önemli artışlara yol açarken, NP1-TEM ve NP2-TEM 10, 100 ve 400 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonlarda ROS üretimini indüklemiştir. Daha düşük konsantrasyonlarda NP'ler tarafından daha yüksek oranda ROS üretimi, kanser hücrelerine zarar vermede bir avantaj sağlayabilir. Ek olarak, bileşiklerin U87-MG hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerine benzer bir profile ROS oluşumunu indüklediği gözlemlenmiştir

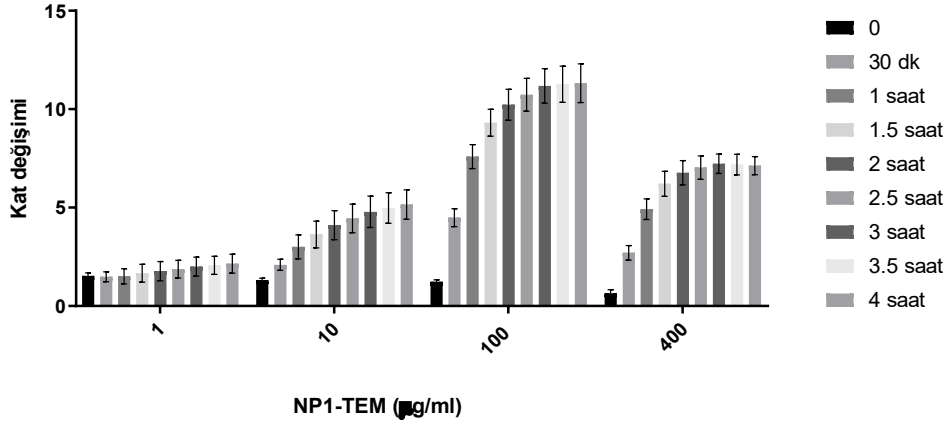
Şekil 5.46

TEM ile Uyarılan U87-MG Hücrelerinde ROS Üretimi



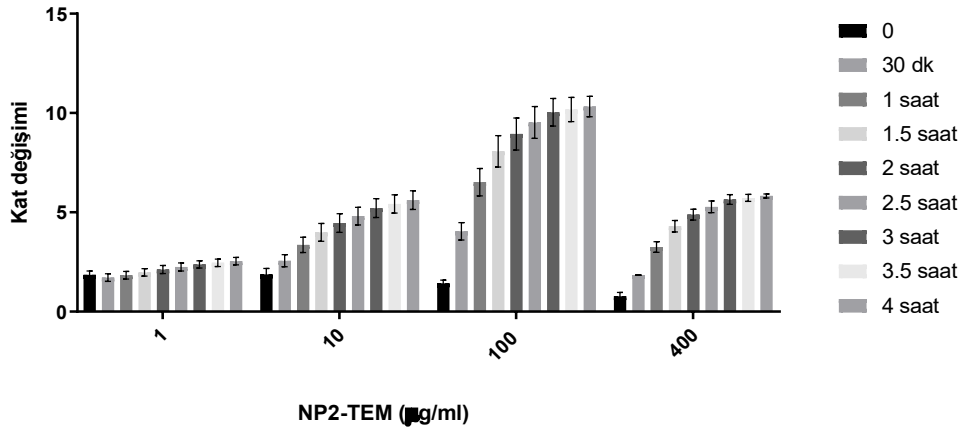
Şekil 5.47

NP1-TEM ile Uyarılan U87-MG Hücrelerinde ROS Üretimi



Şekil 5.48

NP2-TEM ile Uyarılan U87-MG Hücrelerinde ROS Üretimi



6. SONUÇ

Bu tez çalışmasında, temozolomid yüklü PLGA nanopartikülleri hem nanoçöktürme hem de çift emülsiyon çözücü buharlaştırma teknikleri kullanılarak başarıyla formüle edilmiştir ve oral glioblastoma multiform terapisi için iki farklı nanoteknolojik stratejinin kapsamlı bir şekilde karşılaştırılmasına olanak sağlamıştır. Bulgular, nanoçöktürme tekniği ile üretilen NP1-TEM kodlu formülasyonun, çift emülsiyon çözücü buharlaştırma tekniği ile üretilen NP2-TEM kodlu formülasyona kıyasla daha küçük boyut, daha monodispers, daha yüksek enkapsülasyon etkinliği, daha hızlı ilaç salınımı ve üstün tümör seçiciliğine sahip olması gibi avantajlara sahip olduğu belirlenmiştir. Katı hal karakterizasyonları (DSC ve FTIR), herhangi bir kimyasal etkileşime neden olmadan polimer matris içinde TEM'nin başarılı moleküler dağılımını doğrulamıştır. Yapılan biyolojik aktivite çalışmalarında, NP1-TEM'in önemli ölçüde daha yüksek bir reaktif oksijen türü üretimini indüklediğini ve NIH/3T3 fibroblast hücrelerinde azaltılmış toksisiteyi korurken U-87 MG glioblastoma hücrelerine karşı daha fazla sitotoksosite sergilediğini ve gelişmiş bir terapötik indeksi yansıttığını vurgulamıştır. Tüm bu sonuçlar nanoçöktürme tekniğine dayalı nanoformülasyonların geleneksel temozolomid uygulamasıyla ilişkili büyük farmakokinetik ve terapötik zorlukların üstesinden gelme potansiyelini vurgulamaktadır. Optimize edilmiş nanoenkapsülasyon, hedefli sitotoksosite ve sürekli ilaç salınımını birleştiren yenilikçi yaklaşım, glioblastomaya karşı temozolomid tabanlı tedavileri ilerletmek için umut verici bir platform oluşturarak, bu yıkıcı maligniteden muzdarip hastalar için klinik sonuçları potansiyel olarak iyileştirmektedir. Bu çalışmanın ilerleyen aşamalarında, hazırlanan nanopartiküllerin morfolojik analizleri, NMR ve XRD gibi ayrıntılı katı hal karakterizasyonu, ICH kılavuzlarına uygun olarak yapılacak stabilite testleri ve in vivo hayvan çalışmaları planlanmaktadır.

KAYNAKÇA

- Ahmad, S. ve Ahmad, S. (2015). Quantum chemical calculations and analysis of FTIR, FT–Raman and UV–Vis spectra of temozolomide molecule. *Journal of Molecular Structure*, 1099. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2015.07.002>
- Alifieris, C. ve Trafalis, D. T. (2015). Glioblastoma multiforme: Pathogenesis and treatment. İçinde *Pharmacology and therapeutics* (Cilt. 152, ss. 63–82). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2015.05.005>
- Ananta, J. S., Ramasamy, P. ve Massoud, T. F. (2016). Temozolomide-loaded PLGA nanoparticles to treat glioblastoma cells: a biophysical and cell culture evaluation. *Neurological Research*, 38(1), 51–59. <https://doi.org/10.1080/01616412.2015.1133025>
- Araújo, L. B. D. C., Silva, S. L., Galvão, M. A. M., Ferreira, M. R. A., Araújo, E. L., Randau, K. P. ve Soares, L. A. L. (2013). Total phytosterol content in drug materials and extracts from roots of *Acanthospermum hispidum* by UV-VIS spectrophotometry. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23(5), 736–742. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2013000500004>
- Arınmış, K. N., Kıyan, H. T. ve Öztürk, A. A. (2024). Preparation, characterization, antioxidant activities, and determination of anti-alzheimer effects of PLGA-based DDSs containing ferulic acid. *ACS Omega*, 9(10), 11321–11338. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c07289>
- Arpagaus, C., Collenberg, A., Rütli, D., Assadpour, E. ve Jafari, S. M. (2018). Nano spray drying for encapsulation of pharmaceuticals. *International Journal of Pharmaceutics*, 546(1–2), 194–214. <https://doi.org/10.1016/J.IJPHARM.2018.05.037>
- Baghirova, L., Kaya Tilki, E. ve Öztürk, A. A. (2023). Evaluation of cell proliferation and wound healing effects of vitamin a palmitate-loaded PLGA/Chitosan-coated PLGA nanoparticles: Preparation, characterization, release, and release kinetics. *ACS Omega*, 8(2), 2658–2668. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c07232>
- Baidurah, S. (2022). Methods of analyses for biodegradable polymers: A review. *Polymers*, 14(22). <https://doi.org/10.3390/polym14224928>
- Banerjee, A., Banerjee, V., Czinn, S. ve Blanchard, T. (2017). Increased reactive oxygen species levels cause ER stress and cytotoxicity in andrographolide treated colon cancer cells. *Oncotarget*, 8(16), 26142–26153. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.15393>
- Başaran, E., Öztürk, A. A., Şenel, B., Demirel, M. ve Sarica, Ş. (2022). Quercetin, rutin and quercetin-rutin incorporated hydroxypropyl. *European Journal of Pharmaceutical Sciences: Official Journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*, 172, 106153. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2022.106153>
- Begines, B., Ortiz, T., Pérez-Aranda, M., Martínez, G., Merinero, M., Argüelles-Arias, F. ve Alcudia, A. (2020). Polymeric nanoparticles for drug delivery: Recent developments and future prospects. *Nanomaterials*, 10(7), 1–41. <https://doi.org/10.3390/nano10071403>

- Berg, J. (1982). Interfacial hydrodynamics: An overview. *Canadian Metallurgical Quarterly*, 21(2), 121–136. <https://doi.org/10.1179/cmqr.1982.21.2.121>
- Bhattacharjee, S. (2016). DLS and zeta potential – What they are and what they are not? *Journal of Controlled Release*, 235, 337–351. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.06.017>
- Bhusari, V. K. ve Dhaneshwar, S. R. (2012). Validated HPTLC method for simultaneous estimation of atenolol and aspirin in bulk drug and formulation. *ISRN Analytical Chemistry*, 2012, 1–5. <https://doi.org/10.5402/2012/609706>
- Bilati, U., Allémann, E. ve Doelker, E. (2005). Development of a nanoprecipitation method intended for the entrapment of hydrophilic drugs into nanoparticles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 24(1), 67–75. <https://doi.org/10.1016/J.EJPS.2004.09.011>
- Bilensoy, E. ve Zırh-Gürsoy, A. (2014). Nanofarmasötikler ve uygulamaları.
- Blagosklonny, M. V. (2023). Selective protection of normal cells from chemotherapy, while killing drug-resistant cancer cells. *Oncotarget*, 14.
- Borman, P. ve Elder, D. (2017). Q2 (R1) validation of analytical procedures. *ICH Quality Guidelines*, 127–166.
- Bovone, G., Cousin, L., Steiner, F. ve Tibbitt, M. W. (2022). Solvent controls nanoparticle size during nanoprecipitation by limiting block copolymer assembly. *Macromolecules*, 55(18), 8040–8048. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.2c00907>
- Brennan, C. W., Verhaak, R. G. W., McKenna, A., Campos, B., Noushmehr, H., Salama, S. R., Zheng, S., Chakravarty, D., Sanborn, J. Z., Berman, S. H., Beroukhi, R., Bernard, B., Wu, C. J., Genovese, G., Shmulevich, I., Barnholtz-Sloan, J., Zou, L., Vegesna, R., Shukla, S. A., ... McLendon, R. (2013). The somatic genomic landscape of glioblastoma. *Cell*, 155(2), 462. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.09.034>
- Çevikelli, T., Güven, U. M. ve Öztürk, A. A. (2024). Metronidazole loaded novel microemulsion formulation for topical delivery and characterization with validated new UPLC method. *Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences*, 49(1), 111–128. <https://doi.org/10.55262/fabadeczacilik.1359138>
- Chigumira, W., Maposa, P., Gadaga, L., Dube, A., Tagwireyi, D. ve Maponga, C. (2015). Preparation and evaluation of pralidoxime-loaded PLGA nanoparticles as potential carriers of the drug across the blood brain barrier. *Journal of Nanomaterials*, Article 692672. <https://doi.org/10.1155/2015/692672>
- Chin, S. F., Pang, S. C. ve Tay, S. H. (2011). Size controlled synthesis of starch nanoparticles by a simple nanoprecipitation method. *Carbohydrate Polymers*, 86(4), 1817–1819. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.07.012>
- Chinot, O. L., Wick, W., Mason, W., Henriksson, R., Saran, F., Nishikawa, R., Carpentier, A. F., Hoang-Xuan, K., Kavan, P., Cernea, D., Brandes, A. A., Hilton, M., Abrey, L. ve Cloughesy, T. (2014). Bevacizumab plus radiotherapy–temozolomide for newly diagnosed glioblastoma. *New England Journal of Medicine*, 370(8), 709–722. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1308345>

- Çomoğlu, T. (2022). Evaluation of drug release kinetics of temozolomide loaded PLGA nanoparticles in pluronic® F-127 Hydrogel. *Bezmialem Science*, 10(6), 735–741. <https://doi.org/10.14235/bas.galenos.2022.40427>
- Costa, P. ve Sousa Lobo, J. M. (2001). Modeling and comparison of dissolution profiles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(2), 123–133. [https://doi.org/10.1016/S0928-0987\(01\)00095-1](https://doi.org/10.1016/S0928-0987(01)00095-1)
- Danaei, M., Dehghankhold, M., Ataei, S., Hasanzadeh Davarani, F., Javanmard, R., Dokhani, A., Khorasani, S. ve Mozafari, M. R. (2018). Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems. *Pharmaceutics*, 10(2), 57. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10020057>
- Danhier, F., Ansorena, E., Silva, J. M., Coco, R., Le Breton, A. ve Préat, V. (2012). PLGA-based nanoparticles: An overview of biomedical applications. *Journal of Controlled Release*, 161(2), 505–522. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.01.043>
- Delello Di Filippo, L., Hofstätter Azambuja, J., Paes Dutra, J. A., Tavares Luiz, M., Lobato Duarte, J., Nicoleti, L. R., Olalla Saad, S. T. ve Chorilli, M. (2021). Improving temozolomide biopharmaceutical properties in glioblastoma multiforme (GBM) treatment using GBM-targeting nanocarriers. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 168, 76–89. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2021.08.011>
- Derman, S., Kızılbey, K. ve Akdeste, Z. M. (2013). Polymeric nanoparticles. *Sigma Journal of Engineering and Natural Sciences*, 31(1), 107–120.
- Desai, M. P., Labhasetwar, V., Amidon, G. L. ve Levy, R. J. (2012). Gastrointestinal uptake of biodegradable microparticles: effect of particle size. *Pharmaceutical Research*, 13(12), 1838–1845. <https://doi.org/10.1023/A:1016091005075>
- Dikmen, M., Cantürk, Z., Kaya, E. ve Engür, S. (t.y.). Evaluation of antiangiogenic and antimetastatic effects of penicillium chrysogenum secondary metabolites. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 49. www.ijpsonline.com
- Dmour, I. ve Taha, M. O. (2018a). Chapter 2: Natural and semisynthetic polymers in pharmaceutical nanotechnology. İçinde A. M. Grumezescu (Ed.), *Organic materials as smart nanocarriers for drug delivery* (ss. 35–100). William Andrew Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813663-8.00002-6>
- Dmour, I. ve Taha, M. O. (2018b). Chapter 2 - Natural and semisynthetic polymers in pharmaceutical nanotechnology. İçinde A. M. Grumezescu (Ed.), *Organic materials as smart nanocarriers for drug delivery* (ss. 35–100). William Andrew Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813663-8.00002-6>
- Dressman, J. B. ve Reppas, C. (2000). In vitro–in vivo correlations for lipophilic, poorly water-soluble drugs. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 11(SUP-S2), S73–S80. [https://doi.org/10.1016/S0928-0987\(00\)00187-1](https://doi.org/10.1016/S0928-0987(00)00187-1)
- Dröge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, 82(1), 47–95. <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2001>
- Ekinci, M., Öztürk, A. A. ve İlem-Özdemir, D. (2022). Preparation, radiolabeling and cell culture studies of chitosan coated PLGA nanoparticles as a potential cancer

- diagnostic agent. *Journal of Research in Pharmacy*, 26(6), 1636–1645. <https://doi.org/10.29228/jrp.254>
- Elmaskaya, A., Öztürk, A. A., Buyukkoroglu, G. ve Yenilmez, E. (2019). Spray-dried ketoprofen lysine-incorporated PLGA nanoparticles; formulation, characterization, evaluation and cytotoxic profile. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 81, 640–650. <https://doi.org/10.36468/pharmaceutical-sciences.555>
- Emami, J. (2006). In vitro–in vivo correlation: From theory to applications. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 9(2), 169–189. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16870532/>
- Erthal, L. C. S., Shi, Y., Sweeney, K. J., Gobbo, O. L. ve Ruiz-Hernandez, E. (2023). Nanocomposite formulation for a sustained release of free drug and drug-loaded responsive nanoparticles: an approach for a local therapy of glioblastoma multiforme. *Scientific Reports*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-32257-5>
- Essa, D., Kondiah, F.-P. P. P., Choonara, Y. ve Pillay, V. (2020). The design of poly(lactide-co-glycolide) nanocarriers for medical applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 48. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00048>
- Fang, C., Wang, K., Stephen, Z. R., Mu, Q., Kievit, F. M., Chiu, D. T., Press, O. W. ve Zhang, M. (2015). Temozolomide nanoparticles for targeted glioblastoma therapy. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 7(12), 6674–6682. <https://doi.org/10.1021/am5092165>
- Fessi, H., Puisieux, F., Devissaguet, J. P., Ammoury, N. ve Benita, S. (1989). Rapid Communication Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. *International Journal of Pharmaceutics*.
- Gagliardi, A., Giuliano, E., Venkateswararao, E., Fresta, M., Bulotta, S., Awasthi, V. ve Cosco, D. (2021). Biodegradable Polymeric nanoparticles for drug delivery to solid tumors. *Frontiers in Pharmacology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.601626>
- Gohil, D., Shah, N. ve Maheshwari, R. A. (2022). Effect of formulation variables on fabrication of risperidone loaded nanoparticles for sustained drug delivery. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 56(1), 58–64. <https://doi.org/10.5530/ijper.56.1.8>
- Gozdz, A. (2023). Proteasome inhibitors against glioblastoma—overview of molecular mechanisms of cytotoxicity, progress in clinical trials, and perspective for use in personalized medicine. *Current Oncology*, 30(11), 9676–9688. <https://doi.org/10.3390/curroncol30110702>
- Guo, X., Gu, L., Li, Y., Zheng, Z., Chen, W., Wang, Y., Wang, Y., Xing, H., Shi, Y., Liu, D., Yang, T., Xia, Y., Li, J., Wu, J., Zhang, K., Liang, T., Wang, H., Liu, Q., Jin, S., ... Ma, W. (2023). Histological and molecular glioblastoma, IDH-wildtype: A real-world landscape using the 2021 WHO classification of central nervous system tumors. *Frontiers in Oncology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1200815>

- Guterres, S. S., Beck, R. C. R. ve Pohlmann, A. R. (2009). Spray-drying technique to prepare innovative nanoparticulated formulations for drug administration: A brief overview. *Brazilian Journal of Physics*, 39(1A).
- Güven, U. M., Öztürk, A. A. ve Yenilmez, E. (2020). Evaluation of carvedilol-loaded eudragit® nanoparticles. *Journal of Research in Pharmacy*, 24(1), 71–81. <https://doi.org/10.35333/jrp.2020.116>
- Haffani, Y. Z., Louati, K., Tilki, E. K., Mami, N. Ben, Mbarek, S., Halim, N. Ben, Boudhrioua, N., Ozturk, Y., Chekir, R. B. C. ve Dikmen, M. (2024). Anti-tumoral activity of Allium roseum compounds on breast cancer cells MCF7 and MDA-MB231. *Advances in Traditional Medicine*, 24(1), 323–333. <https://doi.org/10.1007/s13596-023-00699-x>
- Haggag, Y. A. ve Faheem, A. M. (2015). Evaluation of nano spray drying as a method for drying and formulation of therapeutic peptides and proteins. *Frontiers in Pharmacology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00140>
- Hegi, M. E., Diserens, A. C., Gorlia, T., Hamou, M.-F., De Tribolet, N., Weller, M., Kros, J. M., Hainfellner, J. A., Mason, W., Mariani, L., Bromberg, E. C., Hau, P., Mirimanoff, R. O., Cairncross, J. G., Janzer, R. C. ve Stupp, R. (t.y.). *MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma*. NEJM. www.nejm.org
- Herdiana, Y., Wathoni, N., Shamsuddin, S. ve Muchtaridi, M. (2022). Scale-up polymeric-based nanoparticles drug delivery systems: Development and challenges. İçinde *OpenNano* (Cilt. 7). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.onano.2022.100048>
- Honary, S. ve Zahir, F. (2013). Effect of zeta potential on the properties of nano-drug delivery systems: A review (part 1). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v12i2.19>
- Hou, X., Pang, Y., Li, X., Yang, C., Liu, W., Jiang, G. ve Liu, Y. (2019). Core shell type thermo nanoparticles loaded with temozolomide combined with photothermal therapy in melanoma cells. *Oncology Reports*, 42(6), 2512–2520. <https://doi.org/10.3892/or.2019.7329>
- Huang, W., Tsui, C. P., Tang, C. Y. ve Gu, L. (2018). Effects of compositional tailoring on drug delivery behaviours of silica xerogel/polymer core-shell composite nanoparticles. *Scientific Reports*, 8(1), 13002. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31070-9>
- Hunter, R. J. (1981). *Zeta potential in colloid science: Principles and applications*. Academic Press.
- ICH Guideline. (2022). *Validation of Analytical Procedures Q2 (R2)*. ICH: Geneva, Switzerland.
- International Commission on Harmonisation (1996). ICH Q2B validation of analytical procedures: Methodology. *European Agency for the Evaluation of Medicinal Products*, (CPMP/ICH/281/95).
- Islam, S., Ahmed, M. M. S., Islam, M. A., Hossain, N. ve Chowdhury, M. A. (2025). Advances in nanoparticles in targeted drug delivery—A review. İçinde *Results in surfaces and interfaces* (Cilt. 19). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.rsurfi.2025.100529>

- Ismailovi, N., Kıyan, H. T. ve Öztürk, A. A. (2024). A novel phytotherapy application: Preparation, characterization, antioxidant activities and determination of anti-inflammatory effects by in vivo HET-CAM assay of chitosan-based DDSs containing endemic helichrysum pampphylicum İçinde P.H. Davis & Kupicha (Ed.), Methanolic extract. *Current Drug Delivery*, 21(6), 901–916. <https://doi.org/10.2174/1567201820666230328122504>
- Iturrioz-Rodríguez, N., Sampron, N. ve Matheu, A. (2023). Current advances in temozolomide encapsulation for the enhancement of glioblastoma treatment. *Theranostics*, 13(9), 2734–2756. <https://doi.org/10.7150/thno.82005>
- Jain, D. S., Athawale, R. B., Bajaj, A. N., Shrikhande, S. S., Goel, P. N., Nikam, Y. ve Gude, R. P. (2014). Unraveling the cytotoxic potential of Temozolomide loaded into PLGA nanoparticles. *Daru : Journal of Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences*, 22(1), 18. <https://doi.org/10.1186/2008-2231-22-18>
- Jamil, R. ve Polli, J. E. (2024). Application of bootstrap f2 to dissolution data from biorelevant media and evidence of the conservative nature of bootstrap f2. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 196, 106745. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2024.106745>
- Jatyan, R., Singh, P., Sahel, D. K., Karthik, Y. G., Mittal, A. ve Chitkara, D. (2022). Polymeric and small molecule-conjugates of temozolomide as improved therapeutic agents for glioblastoma multiforme. *Journal of Controlled Release*, 350, 494–513. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2022.08.024>
- Jezierzański, M., Nafalska, N., Stopyra, M., Furgoń, T., Miciak, M., Kabut, J. ve Gisterek-Grocholska, I. (2024). Temozolomide (TMZ) in the treatment of glioblastoma multiforme—a literature review and clinical outcomes. *Current Oncology*, 31(7), 3994–4002. <https://doi.org/10.3390/curroncol31070296>
- Jia, J. L., Alshamsan, B. ve Ng, T. L. (2023). Temozolomide chronotherapy in glioma: A systematic review. *Current Oncology*, 30(2), 1893–1902. <https://doi.org/10.3390/curroncol30020147>
- Kamat, S., Indi, Y., Kumbhar, A. ve Kamble, S. (2022). An aqueous hydrotropic solution as environmentally benign reaction medium for organic transformations: a short review. *Research on Chemical Intermediates*, 48. <https://doi.org/10.1007/s11164-022-04761-2>
- Ke, G., Zhang, M., Hu, P., Zhang, J., Naeem, A., Wang, L., Xu, H., Liu, Y., Cao, M. ve Zheng, Q. (2025). Exploratory study on nanoparticle co-delivery of temozolomide and ligustilide for enhanced brain tumor therapy. *Pharmaceutics*, 17(2). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17020191>
- Ke, H., Zhang, Z., Yu, Z., Zhang, B., Chen, R., Zhou, Q., Guo, Q. ve Lou, X. (2024). Characteristics of adverse reactions of three anti-glioma drugs in WHO-VigiAccess. *Frontiers in Pharmacology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1485067>
- Kim, S. J., Kim, H. S. ve Seo, Y. R. (2019). Understanding of ROS-inducing strategy in anticancer therapy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 5381692. <https://doi.org/10.1155/2019/5381692>

- Kömür, M., Kıyan, H. T. ve Öztürk, A. A. (2025). Development of donepezil hydrochloride-loaded PLGA-based nanoparticles for Alzheimer's disease treatment. *Scientific Reports*, 15(1), 13184. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-95792-3>
- Kotecha, R., Odia, Y., Khosla, A. A. ve Ahluwalia, M. S. (2023). Key clinical principles in the management of glioblastoma. *JCO Oncol Pract*, 19, 180–189. <https://doi.org/10.1200/OP.22>
- Krajcer, A., Grzywna, E. ve Lewandowska-Łańcucka, J. (2023). Strategies increasing the effectiveness of temozolomide at various levels of anti-GBL therapy. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*, 165, 115174. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115174>
- Kulkarni, S. A. ve Feng, S.-S. (2013). Effects of particle size and surface modification on cellular uptake and biodistribution of polymeric nanoparticles for drug delivery. *Pharmaceutical Research*, 30(10), 2512–2522. <https://doi.org/10.1007/s11095-013-1097-0>
- Kumar Sahdev, A., Raorane, C. J., Ali, M. A., Mashay Al-Anazi, K., Manoharan, R. K., Raj, V. ve Singh, A. (2025). Chitosan-folic acid-coated quercetin-loaded PLGA nanoparticles for hepatic carcinoma treatment. *Polymers*, 17(7). <https://doi.org/10.3390/polym17070955>
- Kumari, B. ve Khansili, A. (2020). Analytical method development and validation of UV-visible spectrophotometric method for the estimation of vildagliptin in gastric medium. *Drug Research*, 70(9), 417–423. <https://doi.org/10.1055/a-1217-0296>
- Kurban, B., Tuncel, T., Görgülü, Ş., Kar, F., Öztürk, A. ve Özek, T. (2023). Elemi essential oil nanocapsulated drug ameliorates lung cancer via oxidative stress, apoptosis and inflammation pathway. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 27(13), 1887–1899. <https://doi.org/10.1111/jcmm.17801>
- Lap, R. ve Groningen, R. (t.y.). Nanocarrier drug-delivery systems for temozolomide in the treatment of glioblastoma multiforme: A review of literature.
- Lee, C. Y. (2017). Strategies of temozolomide in future glioblastoma treatment. *OncoTargets and Therapy*, 10, 265–270. <https://doi.org/10.2147/OTT.S120662>
- Lica, J. J., Wierzch, M., Grabe, G. J., Heldt, M., Jancz, M., Misiak, M., Gucwa, K., Brankiewicz, W., Maciejewska, N., Stupak, A., Bagiński, M., Rolka, K., Hellmann, A. ve Składanowski, A. (2021). Effective drug concentration and selectivity depends on fraction of primitive cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9). <https://doi.org/10.3390/ijms22094931>
- Ling, Y., Wei, K., Zou, F. ve Zhong, S. (2012). Temozolomide loaded PLGA-based superparamagnetic nanoparticles for magnetic resonance imaging and treatment of malignant glioma. *International Journal of Pharmaceutics*, 430(1–2), 266–275. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.03.047>
- Liu, G., Miao, X., Fan, W., Crawford, R. ve Xiao, Y. (2010). Porous PLGA microspheres effectively loaded with BSA protein by electrospraying combined with phase separation in liquid nitrogen. *Journal of Biomimetics, Biomaterials and Tissue Engineering*, 6, 1–18. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/JBBTE.6.1>

- Lockman, P. R., Koziara, J. M., Mumper, R. J. ve Allen, D. D. (2004). Nanoparticle surface charges alter blood-brain barrier integrity and permeability. *Journal of Drug Targeting*, 12(9–10), 635–641. <https://doi.org/10.1080/10611860400015936>
- Louis, D. N., Perry, A., Reifenberger, G., von Deimling, A., Figarella-Branger, D., Cavenee, W. K., Ohgaki, H., Wiestler, O. D., Kleihues, P. ve Ellison, D. W. (2016). The 2016 World Health Organization Classification of tumors of the central nervous system: A summary. *Acta Neuropathologica*, 131(6), 803–820. <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1545-1>
- Louis, D. N., Perry, A., Wesseling, P., Brat, D. J., Cree, I. A., Figarella-Branger, D., Hawkins, C., Ng, H. K., Pfister, S. M., Reifenberger, G., Soffietti, R., Von Deimling, A. ve Ellison, D. W. (2021). The 2021 WHO classification of tumors of the central nervous system: A summary. *Neuro-Oncology*, 23(8), 1231–1251. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noab106>
- Luna, V. da S., Randau, K. P., Ferreira, M. R. A. ve Soares, L. A. L. (2022). Development and validation of analytical method by spectrophotometry UV-Vis for quantification of flavonoids in leaves of *Senna occidentalis* Link. *Research, Society and Development*, 11(1), e14411118584. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i1.18584>
- Makadia, H. K. ve Siegel, S. J. (2011). Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery carrier. *Polymers*, 3(3), 1377–1397. <https://doi.org/10.3390/polym3031377>
- Manish, G. ve Vimukta, S. (2011) Res. *Research Journal of Chemical Sciences*, 1(2). www.isca.in
- Martín-Banderas, L., Alvarez-Fuentes, J., Durán-Lobato, M., Prados, J., Melguizo, C., Fernández-Arévalo, M. ve Holgado, M. Á. (2012). Cannabinoid derivate-loaded PLGA nanocarriers for oral administration: formulation, characterization, and cytotoxicity studies. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 5793–5806. <https://doi.org/10.2147/IJN.S34633>
- McAdams, D., Dexiang, C. ve Kristensen, D. (2012). Spray drying and vaccine stabilization. *Expert Review of Vaccines*, 11(10), 1211–1219. <https://doi.org/10.1586/erv.12.101>
- Mendoza-Muñoz, N., Quintanar-Guerrero, D. ve Allémann, E. (2012). The impact of the salting-out technique on the preparation of colloidal particulate systems for pharmaceutical applications. *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*, 6.
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1–2), 55–63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
- Nikezić, A. V. V., Bondžić, A. M. ve Vasić, V. M. (2020). Drug delivery systems based on nanoparticles and related nanostructures. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 151, 105412. <https://doi.org/10.1016/J.EJPS.2020.105412>
- Nordling-David, M. M., Yaffe, R., Guez, D., Meirow, H., Last, D., Grad, E., Salomon, S., Sharabi, S., Levi-Kalishman, Y., Golomb, G. ve Mardor, Y. (2017). Liposomal

- temozolomide drug delivery using convection enhanced delivery. *Journal of Controlled Release*, 261, 138–146. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.06.028>
- Oronsky, B., Reid, T. R., Oronskey, A., Sandhu, N. ve Knox, S. J. (2021). A review of newly diagnosed glioblastoma. *Frontiers in Oncology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.574012>
- Ortiz, R., Perazzoli, G., Cabeza, L., Jiménez-Luna, C., Luque, R., Prados, J. ve Melguizo, C. (2020). Temozolomide: An updated overview of resistance mechanisms, nanotechnology advances and clinical applications. *Current Neuropharmacology*, 19(4), 513–537. <https://doi.org/10.2174/1570159x18666200626204005>
- Öztürk, A. A. ve Aygöl, A. (2020). Design of cefaclor monohydrate containing nanoparticles with extended antibacterial effect by nano-spray dryer: A nanoenglobing study. *Journal of Research in Pharmacy*, 24(1), 100–111. <https://doi.org/10.35333/jrp.2020.115>
- Öztürk, A. A. ve Güven, U. M. (2019). Cefaclor monohydrate loaded microemulsion formulation for topical application: Characterization with new developed UPLC method and stability study. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 23(3), 426–440. <https://doi.org/10.12991/jrp.2019.150>
- Öztürk, A. A. ve Yurtdaş Kırımlioğlu, G. (2019). Preparation and in vitro characterization of lamivudine loaded nanoparticles prepared by acid and/or ester terminated PLGA for effective oral anti-retroviral therapy. *Journal of Research in Pharmacy*, 23(5), 897–913. <https://doi.org/10.35333/jrp.2019.37>
- Öztürk, A. A., Çevikelli, T., Tilki, E. K., Güven, U. M. ve Kıyan, H. T. (2023). Ketorolac tromethamine loaded nano-spray dried nanoparticles: Preparation, characterization, cell viability, COL1A1 Gene simulation and determination of anti-inflammatory activity by in vivo HET-CAM assay. *Current Drug Delivery*, 20(6), 830–840. <https://doi.org/10.2174/1567201820666230125144133>
- Öztürk, A. A., Çınar, N. ve Yenilmez, E. (2019a). Development of nano-sized ketoprofen lysine incorporated Eudragit® S100 nanomedicine by double emulsion solvent evaporation and in vitro characterization. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 7, 47–54.
- Öztürk, A. A., Çınar, N. ve Yenilmez, E. (2019b). Development of nano-sized ketoprofen lysine incorporated Eudragit® S100 nanomedicine by double emulsion solvent evaporation and in vitro characterization. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 7, 47–54.
- Öztürk, A. A., Güven, U. M. ve Yenilmez, E. (2018). Flurbiprofen loaded gel based topical delivery system: Formulation and in vitro characterization with new developed UPLC method. *Acta Pharmaceutica Scientia*, 56(4), 81–105. <https://doi.org/10.23893/1307-2080.APS.05627>
- Öztürk, A. A., Guven, U., Yenilmez, E. ve Şenel, B. (2018). Effects of different derivatives of eudragit polymer on entrapment efficiency, In vitro dissolution, release kinetics and cell viability results on extended release flurbiprofen loaded nanomedicines. *Latin American Journal of Pharmacy*, 37, 1981.
- Öztürk, A. A., Namlı, İ., Güleç, K. ve Görgülü, Ş. (2020). Design of lamivudine loaded nanoparticles for oral application by nano spray drying method: A new approach

- to use an antiretroviral drug for lung cancer treatment. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 23(10), 1064–1079. <https://doi.org/10.2174/1386207323666200325155020>
- Öztürk, A. A., Yenilmez, E. ve Yazan, Y. (2017). Development and validation of high performance liquid chromatography (HPLC) modified method for dexketoprofen trometamol. *European International Journal of Science and Technology*, 6, 33–41.
- Öztürk, A. A., Yenilmez, E., Arslan, R., Şenel, B. ve Yazan, Y. (2020). Dexketoprofen trometamol loaded solid lipid nanoparticles (SLNs): Formulation, in vitro and in vivo evaluation. *Journal of Research in Pharmacy*, 24(1), 82–99. <https://doi.org/10.35333/jrp.2020.114>
- Panyam, J., Williams, D., Dash, A., Leslie-Pelecky, D. ve Labhasetwar, V. (2004). Solid-state solubility influences encapsulation and release of hydrophobic drugs from PLGA/PLA nanoparticles. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 93(7), 1804–1814. <https://doi.org/10.1002/jps.20094>
- Polat, G., Koçum, İ. ve Açıkel, Y. (2025). Development of a magnetic field-triggered system with magnetic silica nanoparticles for enhanced controlled protein release. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 624, 173059. <https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2025.173059>
- Pouyan, A., Ghorbanlo, M., Eslami, M., Jahanshahi, M., Ziaei, E., Salami, A., Mokhtari, K., Shahpasand, K., Farahani, N., Meybodi, T. E., Entezari, M., Taheriazam, A., Hushmandi, K. ve Hashemi, M. (2025). Glioblastoma multiforme: insights into pathogenesis, key signaling pathways, and therapeutic strategies. *Molecular Cancer*, 24(1). <https://doi.org/10.1186/s12943-025-02267-0>
- Quaglia, F., Ostacolo, L., Mazzaglia, A., Villari, V., Zaccaria, D. ve Sciortino, M. T. (2008). The intracellular effects of non-ionic amphiphilic cyclodextrin nanoparticles in the delivery of anticancer drugs. *Biomaterials*, 30(3), 374–382. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.09.035>
- Rahdari, T., Mahdavimehr, M., Ghafouri, H., Ramezanpour, S., Ehtesham, S. ve Asghari, S. M. (2025). Advancing triple-negative breast cancer treatment through peptide decorated solid lipid nanoparticles for paclitaxel delivery. *Scientific Reports*, 15(1), 6043. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-90107-y>
- Ramalho, M. J., Sevin, E., Gosselet, F., Lima, J., Coelho, M. A. N., Loureiro, J. A. ve Pereira, M. C. (2018). Receptor-mediated PLGA nanoparticles for glioblastoma multiforme treatment. *International Journal of Pharmaceutics*, 545(1–2), 84–92. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.04.062>
- Rodriguez de Anda, D. A., Ohannesian, N., Martirosyan, K. S., & Chew, S. A. (2019). Effects of solvent used for fabrication on drug loading and release kinetics of electrosprayed temozolomide-loaded PLGA microparticles for the treatment of glioblastoma. *Journal of Biomedical Materials Research. Part B, Applied Biomaterials*, 107(7), 2317–2324. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.34324>
- Salatin, S., Barar, J., Barzegar-Jalali, M., Adibkia, K., Kiafar, F. ve Jelvehgari, M. (2017). Development of a nanoprecipitation method for the entrapment of a very water soluble drug into Eudragit RL nanoparticles. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 12(1), 1–14. <https://doi.org/10.4103/1735-5362.199041>

- Saraiva, C., Praça, C., Ferreira, R., Santos, T., Ferreira, L. ve Bernardino, L. (2016). Nanoparticle-mediated brain drug delivery: Overcoming blood-brain barrier to treat neurodegenerative diseases. *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society*, 235, 34–47. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.05.044>
- Satchanska, G., Davidova, S. ve Petrov, P. D. (2024a). Natural and synthetic polymers for biomedical and environmental applications. *Polymers*, 16(8). <https://doi.org/10.3390/polym16081159>
- Satchanska, G., Davidova, S. ve Petrov, P. D. (2024b). Natural and synthetic polymers for biomedical and environmental applications. *Polymers*, 16(8). <https://doi.org/10.3390/polym16081159>
- Sezer, C., Açıkalın, R., Bilgin, E., Erman, T., Sezer, A., Gezgin, İ. ve Yavuz, S. (2023). Effect of concomitant and adjuvant temozolomide on prognosis and survival in glioblastoma multiforme. *Journal of Cukurova Anesthesia and Surgical Sciences*, 6(2), 245-250.
- Sharma, D., Sharma, R., Bhatnagar, A., Nishad, D., Singh, T., Gabrani, R., Sharma, S., Ali, J. ve Dang, S. (2015). Nose to brain delivery of midazolam loaded PLGA nanoparticles: Vitro and in vivo investigations. *Current Drug Delivery*, 13. <https://doi.org/10.2174/1567201812666150507120124>
- Shastri, V. P. (2003). Non-degradable biocompatible polymers in medicine: Past, present and future. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 4.
- Shaw, R., Basu, M., Karmakar, S. ve Ghosh, M. K. (2024). MGMT in TMZ-based glioma therapy: Multifaceted insights and clinical trial perspectives. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1871(3), 119673. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2024.119673>
- Shen, S., Wu, Y., Liu, Y. ve Wu, D. (2017). High drug-loading nanomedicines: progress, current status, and prospects. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 4085–4109. <https://doi.org/10.2147/IJN.S132780>
- Singh, N., Miner, A., Hennis, L. ve Mittal, S. (2021a). Mechanisms of temozolomide resistance in glioblastoma - a comprehensive review. *Cancer Drug Resistance*, 4(1), 17–43. <https://doi.org/10.20517/cdr.2020.79>
- Singh, N., Miner, A., Hennis, L. ve Mittal, S. (2021b). Mechanisms of temozolomide resistance in glioblastoma - a comprehensive review. *Cancer Drug Resistance*, 4(1), 17–43. <https://doi.org/10.20517/cdr.2020.79>
- Singh, P., Sahel, D. K., Jatyan, R., Bajaj, K., Mittal, A. ve Chitkara, D. (2025). Enhancing temozolomide in vivo stability and efficacy through hybrid nanoconjugate approach for improved glioblastoma multiforme treatment. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 101022. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2025.101022>
- Singh, R., Malhotra, A., ve Bansal, R. (2023). Synthetic cytotoxic drugs as cancer chemotherapeutic agents. *Medicinal Chemistry of Chemotherapeutic Agents: A Comprehensive Resource of Anti-Infective and Anti-Cancer Drugs*, 499–537. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90575-6.00010-7>
- Solak, B., Soyer, P., Kaya-Tilki, E. ve Öztürk, A. A. (2025). Evaluation of antimicrobial properties and antioxidant activity of rosmarinic acid loaded Resomer RG 502 H

- based nanoparticles against tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative stress: A detailed formulation, characterization and efficacy determination study. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 106. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2025.106721>
- Strojewski, D. ve Krupa, A. (2022). Spray drying and nano spray drying as manufacturing methods of drug-loaded polymeric particles. *Polymers in Medicine*, 52. <https://doi.org/10.17219/pim/152230>
- stupp2009. (t.y.).
- Temel, M. K. (2015). The development of cytotoxic chemotherapeutics in the twentieth century. *Türk Onkoloji Dergisi*, 30(2), 96–108. <https://doi.org/10.5505/tjoncol.2015.1151>
- Todaria, M. ve Awasthi, R. (2025). PLGA nanoparticles as promising drug delivery carrier: the future of skin cancer treatment. *Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences*. <https://doi.org/10.1007/s43994-025-00245-2>
- Tomczak, K., Czerwińska, P. ve Wiznerowicz, M. (2015). The Cancer Genome Atlas (TCGA): An immeasurable source of knowledge. *Współczesna Onkologia*, 1A, A68–A77. <https://doi.org/10.5114/wo.2014.47136>
- Tong, S., Wang, Y., Wu, J., Long, J., Zhong, P. ve Wang, B. (2021). Comprehensive pharmacogenomics characterization of temozolomide response in gliomas. *European Journal of Pharmacology*, 912, 174580. <https://doi.org/10.1016/J.EJPHAR.2021.174580>
- Umerska, A., Gaucher, C., Fries, I., Colin, F., Villamizar Sarmiento, M., Maincent, P. ve Sapin-Minet, A. (2018). Polymeric nanoparticles for increasing oral bioavailability of curcumin. *Antioxidants*, 7, 46. <https://doi.org/10.3390/antiox7040046>
- Von Bueren, A. O., Bacolod, M. D., Hagel, C., Heinemann, K., Fedier, A., Kordes, U., Pietsch, T., Koster, J., Grotzer, M. A., Friedman, H. S., Marra, G., Kool, M. ve Rutkowski, S. (2012). Mismatch repair deficiency: A temozolomide resistance factor in medulloblastoma cell lines that is uncommon in primary medulloblastoma tumours. *British Journal of Cancer*, 107(8), 1399–1408. <https://doi.org/10.1038/bjc.2012.403>
- Wingfield, P. (1998). Protein precipitation using ammonium sulfate. *Current Protocols in Protein Science*, 13(1). <https://doi.org/10.1002/0471140864.psa03fs13>
- Wintzheimer, S., Luthardt, L., Cao, K. L. A., Imaz, I., Maspoth, D., Ogi, T., Bück, A., Debecker, D. P., Faustini, M. ve Mandel, K. (2023). Multifunctional, hybrid materials design via spray-drying: Much more than just drying. *Advanced Materials*, 35(47), 2306648. <https://doi.org/10.1002/adma.202306648>
- Wu, D., Chen, Q., Chen, X., Han, F., Chen, Z. ve Wang, Y. (2023). The blood-brain barrier: structure, regulation, and drug delivery. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 8(1), 217. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01481-w>
- Yadav, K. S. ve Sawant, K. K. (2010). Modified nanoprecipitation method for preparation of cytarabine-loaded PLGA nanoparticles. *AAPS PharmSciTech*, 11(3), 1456–1465. <https://doi.org/10.1208/s12249-010-9519-4>

- Yusuf, A., Almotairy, A. R. Z., Henidi, H., Alshehri, O. Y. ve Aldughaim, M. S. (2023). Nanoparticles as drug delivery systems: a review of the implication of nanoparticles' physicochemical properties on responses in biological systems. *Polymers*, 15(7). <https://doi.org/10.3390/polym15071596>
- Zhang, H. ve Gao, S. (2006). Temozolomide/PLGA microparticles and antitumor activity against glioma C6 cancer cells in vitro. *International Journal of Pharmaceutics*, 329(1–2), 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.08.027>
- Zhang, Y., He, C. ve Xu, H. (2025). Functional heteroatom substituted hyperbranched polymers: Recent developments and perspectives. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 17(9), 13324–13341. <https://doi.org/10.1021/acsami.4c22844>
- Zuo, J., Gao, Y., Bou-Chacra, N. ve Löbenberg, R. (2014). Evaluation of the DDSolver software applications. *BioMed Research International*, 2014, 204925. <https://doi.org/10.1155/2014/204925>