

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ANTİBİYOTİK YÜKLÜ METAL ORGANİK KAFES YAPILARIN SENTEZİ ve
KARAKTERİZASYONU**

Toygun ŞAHİN

KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2022**

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ANTİBİYOTİK YÜKLÜ METAL ORGANİK KAFES YAPILARIN SENTEZİ ve KARAKTERİZASYONU

Toygun ŞAHİN

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ayşe KARAKEÇİLİ
Eş-Danışman: Doç. Dr. Berna TOPUZ

Metal-organik kafes yapı (MOF) temelli biyomolekül taşıyıcı sistemler; yüksek yüzey alanları ve gözeneklilikleri, ayarlanabilir yapısal özellikleri ve yüksek kimyasal/termal kararlılıkları nedeniyle alternatiflerine göre avantajlıdır. En kararlı Zr(IV) bazlı MOF'lardan biri olan UiO-66, teorik olarak 0,6 nm'lik bir gözenek açıklığına ve 0,77 cm³/g gözenek hacmine sahiptir. Ayrıca farklı çözücü ortamlarında kararlılığı değişmekle beraber, tez çalışması kapsamında yapılan çalışmalarda pH 5,5 değerinde yapısal bütünlüğü bozulurken, trifluoroetanol (TFE) ve diklorometan (DCM) ortamlarında kararlılığını koruduğu kanıtlanmıştır. Bu özellikleriyle UiO-66, biyomedikal uygulamalarda ilaç ve biyomoleküllerin depolanması, taşınması ve salımı için alternatif olabilecek bir MOF yapısıdır. Fosfomisin antibiyotiği ağır seyreden enfeksiyonların tedavisi amacıyla yeniden ortaya çıkmış bir fosfonik asit türevidir. Tez çalışması kapsamında UiO-66 nanokristallerine Fosfomisin yüklenmesi ve taşınımı için etkinliği araştırılmıştır. Fosfomisini UiO-66'ya yüklemek için sentez esnasında (*in situ*) enkapsülasyon ve sentez sonrası adsorpsiyon yöntemleri uygulanmıştır. Sentez esnasında gerçekleştirilen *in situ* enkapsülasyon çalışmalarında, sentez süresi, sentez ortamına eklenen Fosfomisin miktarı ve sıcaklık faktörlerinin yükleme verimi ve UiO-66 nanokristallerinin yapısal özellikleri üzerine olan etkileri incelenmiştir. UiO-66 nanokristalleri için Fosfomisin enkapsülleme ve adsorpsiyon verimleri sırasıyla %90 ve %70 olarak hesaplanmıştır. Tez çalışması kapsamında yapılan antibakteriyel aktivite çalışmaları, Fosfomisin yüklü UiO-66 nanokristalleri için *S.aureus* ve *E.coli*'ye karşı ilaç yüklü MOF derişimine bağlı olarak bakterisidal ve bakteriyostatik aktiviteleri ortaya çıkarmıştır. Çalışma sonucunda UiO-66 MOF yapısının Fosfomisin taşıyıcı olarak etkin bir yapı olduğu görülmüş ve farklı biyomoleküllerin de UiO-66'ya yüklenerek biyomedikal alanda kullanım potansiyeli olduğu sonucuna varılmıştır.

Eylül 2022 67 sayfa

Anahtar Kelimeler: Metal Organik Kafes Yapı (MOF), UiO-66, çözücü etkileşimi, ilaç yükleme, Fosfomisin, antibakteriyel aktivite.

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF ANTIBIOTIC LOADED METAL ORGANIC FRAMEWORKS

Toygun ŞAHİN

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemical Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Ayse KARAKECILI
Co-supervisor: Assoc. Prof. Dr. Berna TOPUZ

Biomolecule carrier systems based on metal-organic frameworks (MOFs) are advantageous to their counterparts owing to a high degree of structural tunability, high surface area and porosity, and higher chemical/thermal stability. UiO-66, one of the most stable Zr(IV) based MOFs, has a pore opening of 0.6 nm and a theoretical pore volume of 0.77 cm³/g. It has also been proven to remain stable in trifluoroethanol (TFE) and dichloromethane (DCM) solvents, while its structural integrity is compromised at pH 5.5. With these features, UiO-66 is an alternative MOF structure for the storage, transport and release of drugs and biomolecules in biomedical applications. Fosfomycin which is a re-emerging natural bactericidal antibiotic for the treatment of serious infections is a phosphonic acid derivative. The efficiency of UiO-66 nanocrystals for Fosfomycin loading was reported. Drug modulated synthesis and post-synthesis were applied to incorporate the fosfomycin in and/or on UiO-66 crystals. In the *in situ* encapsulation studies the effects of the synthesis time, the amount of Fosfomycin, and synthesis temperature factors on the loading efficiency and structural properties of UiO-66 nanocrystals were investigated. Fosfomycin molecule encapsulation and adsorption efficiencies for UiO-66 nanocrystals were calculated as □90 % and □70%, respectively. Antibacterial activity studies revealed the drug loaded MOF concentration dependent bactericidal and bacteriostatic activities towards *S.aureus* and *E.coli* for fosfomycin loaded UiO-66 nanocrystals. As a result of the study, it has been seen that UiO-66 MOF, is an effective structure as a Fosfomycin carrier and it has been proven that create different biomedical application areas.

September 2022 67 pages

Key Words: Metal Organic Frameworks (MOF), UiO-66, solvent interaction, drug loading, fosfomycin, antibacterial activity.

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Hayatım boyunca desteklerini her koşulda sonuna kadar hissettiğim ve beni bugünlere getiren canım aileme; lisans ve yüksek lisans kariyerim boyunca birlikte çalıştığım, her konuda bana destek olan çalışma arkadaşım ve biricik dostum Feriha Şevval Ersoy’a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans çalışmalarım süresince daima yolumu aydınlatan Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Ayşe Karakeçili (Ankara Üniversitesi Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı Öğretim Üyesi) ve bilgi ve tecrübesini benden asla esirgemeyen Eşdanışman Hocam Sayın Doç. Dr. Berna Topuz’a (Ankara Üniversitesi Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı Öğretim Üyesi) bugüne kadarki tüm öğrettikleri ve çok kıymetli katkıları için teşekkür ederim.

Yüksek lisans tez çalışmam sürecinde 218M324 numaralı 1001 projesi kapsamında çalışmalarına maddi destek sağlayan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumuna (TÜBİTAK) teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, tez çalışmalarım boyunca tecrübeleri ve dostluklarıyla bana destek olan çalışma arkadaşlarım Ayşe Günyaktı’ya, Özge Toprak’a, Dr. Serdar Korpavev’e, Şimal Mirza’ya ve Pınar Kaya’ya teşekkürü borç bilirim.

Toygun ŞAHİN
Ankara, Eylül 2022

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI	
ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ VE KURAMSAL TEMELLER	4
2.1 Metal Organik Kafes Yapı (MOF).....	4
2.2 Metal Organik Kafes Yapıların Sentezi	6
2.3 Metal Organik Kafes Yapıların Özellikleri ve Kullanım Alanları	7
2.4 MOF'ların Biyomedikal Alandaki Uygulamaları	9
2.5 UiO-66 ve Biyomedikal Uygulamaları	15
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	21
3.1 Kullanılan Malzemeler	21
3.2 UiO-66 Nanokristal Yapıların Sentezi	22
3.3 UiO-66 ve Çözücü Etkileşimleri.....	22
3.4 Fosfomisin Yüklü UiO-66 Nanokristal Yapıların Sentezi	23
3.5 Yükleme Verimi.....	25
3.6 UiO-66 Nanokristal Yapıların Karakterizasyon Çalışmaları.....	25
3.6.1 Toz X-ışınları kırınımı (PXRD)	26
3.6.2 Fourier dönüşüm kızılötesi spektroskopisi (FTIR-ATR)	26
3.6.3 Taramalı elektron mikroskopisi (SEM)	26
3.6.4 Termogravimetrik analiz (TGA)	26
3.6.5 Brunauer – Emmett – Teller (BET)	27
3.7 Antibakteriyel Aktivite Çalışmaları.....	27
3.8 İstatistiksel Analizler	28
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	29
4.1 UiO-66 Nanokristal Yapıların Sentezi	29
4.2 UiO-66 MOF Yapısının Organik Çözücüler ve Fosfat Tampon Çözeltisi ile Etkileşimi.....	31
4.3 Fosfomisin Yüklü UiO-66 MOF Yapıların Sentezi ve Karakterizasyonu.....	38
4.3.1 Yükleme verimi	38
4.3.2 Toz X-ışınları kırınımı (PXRD)	39
4.3.3 Fourier dönüşüm kızılötesi spektroskopisi (FTIR-ATR)	41
4.3.4 Taramalı elektron mikroskopisi (SEM)	43
4.3.5 Termogravimetrik analiz (TGA)	45
4.3.6 Brunauer – Emmett – Teller (BET)	46
4.4 Antibakteriyel Aktivite Çalışmaları.....	48
5. SONUÇ	55
KAYNAKLAR	57
EKLER.....	63
ÖZGEÇMİŞ.....	66

SİMGELER DİZİNİ

a	Ağırlık
h	Hacim
cm	Santimetre
k	Kütle
µg	Mikrogram
gr	Gram
m ²	Metrekare
cm ²	Santimetrekare
mg	Miligram
nm	Nanometre
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
ppm	Milyonda bir kısım
mol	Madde miktarı
°C	Santigrat
K	Kelvin
dk	Dakika
sa	Saat
rpm	Dakikada Devir
Zr	Zirkonyum
CHCl ₃	Kloroform
CH ₂ Cl ₂	Diklorometan
(CH ₃) ₂ NCH	N,N-dimetilformamid
C ₄ H ₈ O ₂	1,4-dioksan
(CF ₃) ₂ CHOH	Hekzafluoro-2-propanol
C ₂ F ₄	Tetrafluoroetilen
V _p	Gözenek açıklığı

Kısaltmalar

MOF	Metal Organik Kafes Yapı
UiO-66	Universitet i Oslo
ZIF	Zeolitik İmizdazol Kafes Yapı
FOS	Fosfomisin
PBS	Fosfat tampon çözeltisi
BDC	Teraftalik asit
DCM	Diklorometan
HFIP	Hekza fluoro izopropanol
TFE	Trifluoroetilen
DMF	Dimetil formamit
SEM	Taramalı elektron mikroskopisi
PXRD	Toz X-ışını kırınımı

FTIR-ATR	Fourier dönüşümlü kızılötesi – zayıflatılmış toplam yansıtma
BET	Brunauer– Emmett–Teller (Yüzey Alanı Ölçüm Analizi)
TGA	Termogravimetrik analiz
CFU	Koloni Oluşturan Birimler
DOX	Doksorubisin
VAN	Vankomisin
CIP	Ciprofloksacin
MIC	Minimum İnhibasyon Konsantrasyonu
MBC	Minimum Bakterisidal Konsantrasyonu
TSB	Tryptic Soy Broth
TSA	Tryptic Soy Agar
MHA	Muller Hinton Agar
MHB	Muller Hinton Broth
Da	Dalton
DNA	Deoksiribo nükleik asit
ATP	Adenozin trifosfat
FU	Fluorourasil
FA	Folik asit
TRIS	Hidroksimetil aminometan
HEPES	4-(2-hidroksietil)-1-piperazineetansulfonik asit
NEM	N-etilmetilamid kristalin
CMC	Karboksimetilselüloz
PDC	2,5-piridinekarboksilik asit
Ald	Alendronat
TMZ	Temozolomid
UV-Vis	Ultraviyole – Görünür Bölge
AA	Asetik asit

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Metal Organik Kafes Yapıların şematik gösterimi (Ahmadi vd. 2021).....	5
Şekil 2.2 MOF'ların sentez yöntemleri (Wu ve Yang 2017).....	7
Şekil 2.3 MOF'ların kullanım alanları (Wu ve Yang 2017)	8
Şekil 2.4 MOF'ların sentez ve ilaç salım mekanizması (Keskin ve Kızılel 2011)	11
Şekil 2.5 İlaç yüklenmiş ZIF-8'den farklı pH'larda ilaç salımının şematik gösterimi (Sun vd. 2012)	12
Şekil 2.6 UiO-66 nanokristalinin şematik gösterimi (UiO-66 - nanoMOF 2021).....	15
Şekil 2.7 Yıllara göre UiO-66 MOF yapısı üzerine yayımlanan makale sayıları (Winarta vd. 2019, Google Scholar 2022).....	16
Şekil 3.1 UiO-66, UiO-66/FOS ve UiO-66/FOS-AD nanokristallerinin sentez yöntemlerinin şematik gösterimi. UiO-66/FOS sentez esnasında (<i>in situ</i>) enkapsülasyonla Fosfomisin yüklenmiş nanokristalleri, UiO-66/FOS-AD sentez sonrasında adsorpsiyon yöntemiyle Fosfomisin yüklenmiş UiO-66 nanokristallerini tanımlamaktadır.....	24
Şekil 4.1 (a) Sentezlenen UiO-66 ve referans UiO-66'ya ait PXRD desenleri. (b) UiO-66'ya ait SEM görüntüleri. Dış görsel x100000, iç görsel x200000 (DeStefano vd. 2017).....	30
Şekil 4.2 24 saat süresince çözücü ortamlarında bekletilmiş olan DMF/ UiO-66, Kloroform/ UiO-66, pH 7,4 PBS/ UiO-66, pH 5,5 PBS/ UiO-66, 1-4 Dioksan/ UiO-66, HFIP/ UiO-66 ve referans olarak değerlendirilen UiO-66'ya ait PXRD desenleri	33
Şekil 4.3 Çözücü ortamlarında 24 saat süreyle bekletilmiş UiO-66'ya ait SEM görüntüleri (a) UiO-66 x100000 (b) Kloroform/ UiO-66 x100000 (c) DMF/ UiO-66 x100000 (d) PBS 7.4/ UiO-66 x100000 (e) PBS 5.5/ UiO-66 x100000 (f) 1,4-Dioksan/ UiO-66 x100000 (g) HFIP/ UiO-66 x50000. İç görseller x200000	34
Şekil 4.4 UiO-66, 48 saat süresince çözücü ortamlarında bekletilmiş olan DMF/ UiO-66, TFE/ UiO-66, Kloroform/ UiO-66, 7.4 PBS/ UiO-66 (pH:7,4 iken), 5,5 PBS/ UiO-66 (pH: 5,5 iken), 1-4 Dioksan/ UiO-66, DCM/ UiO-66 ve HFIP/ UiO-66'ya ait PXRD desenleri.....	35

- Şekil 4.5 UiO-66 ve tampon çözeltilerde 48 saat sürede bekletilmiş UiO-66 nanokrisallerine ait SEM görüntüleri. (a) UiO-66 x100000 (b) TFE/ UiO-66 x100000 (c) DCM/ UiO-66 x100000 (d) DMF/ UiO-66 x100000 (e) Kloroform/ UiO-66 x100000 (f) 7.4 PBS/ UiO-66 x100000 (g) 5.5 PBS/ UiO-66 x100000 (h) 1,4-Dioksan/ UiO-66 x100000 (i) HFIP/ UiO-66 x100000. İç görseller x200000.....36
- Şekil 4.6 Simüle edilmiş UiO-66, sentezlenen UiO-66 ve farklı koşullarda Fosfomisin yüklenmiş UiO-66-FOS nanokristallerine ait PXRD desenleri.....40
- Şekil 4. 7 (a) UiO-66, (b) Fosfomisin, (c) UiO-66/FOS-1, UiO-66, (d) UiO-66/FOS-2, (e) UiO-66/FOS-3, (f) UiO-66/FOS-AD nanokristallerine ait FTIR-ATR spektrumları42
- Şekil 4.8 UiO-66, UiO-66/FOS ve UiO-66/FOS-AD nanokristallerinin SEM görüntüleri. (a) UiO-66, x100000 (b) UiO-66/FOS-1, x100000 (c) UiO-66/FOS-2 x100000 (d) UiO-66/FOS-3, x100000 (e) UiO-66/FOS-AD x100000. İç görseller x200000 (f) UiO-66, UiO-66/FOS ve UiO-66/FOS-AD nanokristallerinin ImageJ ile hesaplanmış ortalama parçacık çapları44
- Şekil 4.9 UiO-66, UiO-66/FOS ve UiO-66/FOS-AD nanokristallerinin termal bozunmasını gösteren TGA eğrileri (a) ve türevsel kütle kaybı eğrileri (b) ..45
- Şekil 4.10 UiO-66, UiO-66/FOS ve UiO-66/FOS-AD nanokristallerine ait N₂ adsorpsiyon – desorpsiyon eğrileri47
- Şekil 4.11 (a) UiO-66, (b) UiO-66/FOS-3 nanokristallerine ait antibakteriyel aktivite sonuçları49
- Şekil 4.12 %0,1 ve %0,3 (k/h) derişimlerdeki UiO-66/FOS-2 ve %0,1 ve %0,3, %0,5 (k/h) UiO-66/FOS-AD nanokristallerine ait antibakteriyel aktivite sonuçları50
- Şekil 4.13 UiO-66, UiO-66/FOS ve UiO-66/FOS-AD nanokristallerinin *S.aureus* inhibisyonunda gösterdikleri antibakteriyel aktiviteler. Negatif kontrol olarak doğrudan mikroorganizma kullanılmıştır. (a) 18-24 saatin sonunda pH 7,4 ve 5,5 değerlerinde MH agar üzerindeki koloni görüntüleri. UiO-66/FOS-2 için %1 ve %0,5 (k/h) derişiminde, UiO-66/FOS-AD için %1 (k/h) derişiminde elde edilen sonuçlar sunulmuştur. (b) Negatif kontrole göre koloni sayımı yüzdesi olarak CFU (koloni oluşturan birim) oranları. (İstatistiksel anlamlılık; *** p<0,005, kontrol grubu pH: 7,4 değerinde %0,5 UiO-66/FOS-2 iken, ●●● p<0,005 kontrol grubu pH: 5,5 değerinde %0,5 UiO-66/FOS-2 iken, %1 UiO-66/FOS-2 için. İstatistiksel anlamlılık ### p<0,005 kontrol grubu pH: 7,4 %1 UiO-66/FOS-2 iken ve ΔΔ p<0,01 kontrol gurubu pH 5,5 %1 UiO-66/FOS-2 iken %1 UiO-66/FOS-AD için)51

Şekil 4.14 UiO-66, UiO-66/FOS ve UiO-66/FOS-AD nanokristallerinin *E.coli* inhibisyonunda gösterdikleri antibakteriyel aktiviteler. Negatif kontrol olarak doğrudan mikroorganizma kullanılmıştır. (a) 18-24 saatin sonunda pH 7,4 ve 5,5 değerlerinde MH agar üzerindeki koloni görüntüleri. UiO-66/FOS-2 için %1 ve %0,5 (k/h) derişiminde, UiO-66/FOS-AD için %1 (k/h) derişiminde elde edilen sonuçlar sunulmuştur. (b) Negatif kontrole göre koloni sayımı yüzdesi olarak CFU (koloni oluşturan birim) oranları. (İstatistiksel anlamlılık; * $p<0,05$, kontrol grubu pH: 7,4 değerinde %0,5 UiO-66/FOS-2 iken, ● $p<0,05$ kontrol grubu pH: 5,5 değerinde %0,5 UiO-66/FOS-2 iken, %1 UiO-66/FOS-2 için) 53



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 UiO-66 ve Fosfomisin yüklü UiO-66 nanokristal yapıların sentez koşulları	25
Çizelge 4.1 48 saat süresince çözücü ortamlarında bekletilen UiO-66 nanokristallerinin bağıl kristaliniteleri	36
Çizelge 4.2 UiO-66 ve UiO-66/FOS nanokristallerinin termal bozunma sıcaklıkları ve yüzde kütle kayıpları	45
Çizelge 4.3 UiO-66 ve Fosfomisin yüklü UiO-66 nanokristallerine ait BET yüzey alanları ve mikrogözenek hacimleri	48



1. GİRİŞ

Metal-organik kafes yapılar (*Metal Organic Frameworks*, MOFs), organik bağlayıcılar ile birbirine bağlanan metal iyonlarından veya kümelerinden oluşan, bir iki veya üç boyutlu olabilen gözenekli kristal malzemelerin gelecek vaadeden sınıflarından biri olarak ortaya çıkmıştır. MOF'lar geleneksel nanomalzemelere göre oldukça üstün özelliklere sahiptirler. Bu özellikleri nedeniyle ilaçlar ve biyoaktif moleküller için depolama ve salım aracı olarak oldukça fazla araştırmaya konu olmuşlardır. Yüksek ilaç yükleme verimliliği, gözenekli yapıları ve yüksek yüzey alanlarına sahip olmalarının yanı sıra MOF'lar ayarlanabilir gözenek boyutları, biyo bozunur yapıları ve yüksek biyoyumluluk göstermeleri sebebiyle güçlü bir potansiyele sahiptirler (Keskin vd. 2011, Cai vd. 2019, Wang vd. 2020). UiO-66 (UiO, Universitet i Oslo anlamına gelir), $[Zr_6O_4(OH)_4]^{12+}$ kümelerinin 1,4-benzendikarboksi (BDC) organik bağlayıcı molekülleriyle etkileşimi sonucu oluşan yüzey merkezli kübik yapıdaki Zirkonyum temelli MOF yapılarıdır (Kaur vd. 2019). UiO-66, toksik olmayan yapısı, biyoyumluluğu, kimyasal, mekanik kararlılığı ve termal özellikleri nedeniyle son zamanlarda ilaç salım uygulamalarında büyük ilgi görmüştür (Zhu vd. 2014, Nasrabadi vd. 2019). Antibiyotikler, antienflamatuar ilaçlar, kortikosteroidler ve kemoterapötikler dahil olmak üzere çeşitli ilaç türleri, sentezi sonrasında UiO-66 MOF yapısına adsorpsiyon yöntemiyle yüklenmiştir (Cunha vd. 2013, Nasrabadi vd. 2019, Javanbakht vd. 2019, Jarai vd. 2020, Wang vd. 2021, Xie vd. 2021). MOF yapılarının sentezinde; homojen faz yaklaşımı ve difüzyon yöntemi, hidro/solvo termal sentez yöntemi ve mikrodalga, mekanik-kimyasal, elektro-kimyasal sentez gibi pek çok yöntem mevcuttur (Wu ve Yang 2017). Bunlar içinde laboratuvar ölçekli sentezler göz önüne alındığında maliyeti en az olan yöntemlerden hidro/solvo termal sentez yöntemi pek çok MOF sentezinde olduğu gibi UiO-66 nanokristallerinin sentezinde de en çok tercih edilen yöntemdir. Bu sentez yaklaşımıyla ayrıca MOF yapıların fiziksel ve kimyasal özelliklerini kontrol ve modifiye etmek daha kolay olduğu için özellikle biyomedikal alanlarda kullanım için geliştirilen MOF'ların sentezinde de sıklıkla tercih edilmektedir. (Zou ve Liu 2019, Winarta vd. 2020). 80-150 °C gibi yüksek sıcaklıkta hidro/solvo termal yöntem UiO-66 sentezi için sık tercih edilse de yüksek sıcaklıkta kristalizasyon ile elde edilenlere kıyasla benzer kristallığe ve morfolojiye sahip, oda sıcaklığında

sentez yönteminden elde edilen UiO-66 yapıları da umut vaatetmektedir (DeStefano vd. 2017, Vinarta vd. 2019, Dai vd. 2021). Fosfomisin ($C_3H_7O_4P$), vankomisine dirençli *Enterokoklar*, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ve karbapenemlere dirençli *Enterobacteriaceae* dahil olmak üzere çeşitli Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilerin neden olduğu ciddi enfeksiyonların tedavisi için yeniden ortaya çıkan doğal bir bakterisidal antibiyotiktir. Fosfomisin bir fosfonik asit türevidir ve etki mekanizması MurA sentezinin inhibisyonuna bağlıdır, bu da peptidoglikan biyosentezinin bloke edilmesi ve bakteriyel hücre duvarı yıkımı ile sonuçlanır. Fosfomisinin, düşük molekül ağırlığı (138 Da) ve küçük boyutu nedeniyle, diğer antibiyotiklere kıyasla kemik dokusundaki enfeksiyonlara ulaşmak için dokulara daha iyi nüfuz etme kabiliyetine sahip olduğu bildirilmiştir (Hashemian vd. 2019, Tsegka vd. 2021). Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, Fosfomisin, bir süredir klinik çalışmalarda geleneksel olarak doğrudan kullanılmasına karşın, taşıyıcı sistemlere yüklenmesi ve etkinliğinin değerlendirilmesi ile ilgili çok az yayın vardır. Örneğin Eick vd. (2017), PMMA yapısına dahil edildiğinde Fosfomisinin aktivitesini değerlendirmiş ve yakın tarihli bir araştırmada Tucker vd. (2021), kitosan hidrojellerine Fosfomisin yüklemiş, enfeksiyona karşı etkilerini gözlemlemişlerdir. Bununla birlikte, MOF yapıların biyomedikal alanda ve doku mühendisliği uygulamalarında kullanımı ve özellikle polimerler gibi diğer biyomalzemeler ile kompozit yapılar elde edilmesi çalışmalarında, MOF'lar çeşitli organik çözücüler ve ortamlar ile temas etmektedir. Biyomedikal alandaki uygulamaları oldukça yeni olan MOF yapıların, bu alanda sıklıkla kullanılan çözücüler ile etkileşimi ve yapılarındaki değişimin incelenmesi önem taşımaktadır.

Tez çalışması kapsamında, UiO-66 MOF yapısının sentezi, karakterizasyonu, doku mühendisliğinde sıklıkla kullanılan organik çözücüler ile olan etkileşimi ve bu çözücülerdeki kararlılığının belirlenmesinin ardından Fosfomisin antibiyotiğinin iki farklı yöntemle UiO-66 yapısına yüklenmesi ve antibiyotik taşıyıcı sistem olarak potansiyelinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaç ve hedefler doğrultusunda, öncelikle UiO-66 yapısının diklorometan (DCM), N,N-Dimetilformamit (DMF), tetrafloroetilen (TFE), 1,4-dioksan, Kloroform ve 1,1,1,3,3,3 hekzafluoro-2-propanol (HFIP) gibi doku mühendisliği uygulamaları için doku iskelesi hazırlanmasında sıklıkla kullanılan organik çözücüler ve fosfat tampon çözeltisi (PBS) ile olan etkileşimi

incelenmiştir. Ardından, Fosfomisin sentez sırasında (*in situ*) ve sentez sonrası adsorpsiyon yolu ile UiO-66 nanokristallerine yüklenmiş ve her iki yöntemin nanokristal yapısı, yükleme verimi ve antibakteriyel aktiviteye olan etkileri incelenmiştir. Oda sıcaklığında gerçekleştirilen sentez Fosfomisin molekülünün, UiO-66'nın kristalizasyon işlemi sırasında *in situ* olarak enkapsüllenmesine olanak tanımış ve literatürde ilk kez, etkinliği korunan antibiyotik yüklü UiO-66'nın solvotermal sentez yöntemi bu tez çalışması ile rapor edilmiştir. Fosfomisin yüklü UiO-66 nanokristallerini elde etmek için reaksiyon süresi, sıcaklık ve sentez ortamındaki Fosfomisin miktarı değiştirilerek fiziksel, kimyasal ve antibakteriyel özellikler açısından en etkin yapının elde edilmesi amaçlanmıştır. Farklı koşullardaki *in situ* sentez ve adsorpsiyon sonrası elde edilen Fosfomisin yüklü UiO-66 nanokristallerinin antibakteriyel aktivitesi, Gram pozitif *Staphylococcus aureus* ve Gram negatif *Escherichia coli* bakterileri kullanılarak test edilmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ ve KURAMSAL TEMELLER

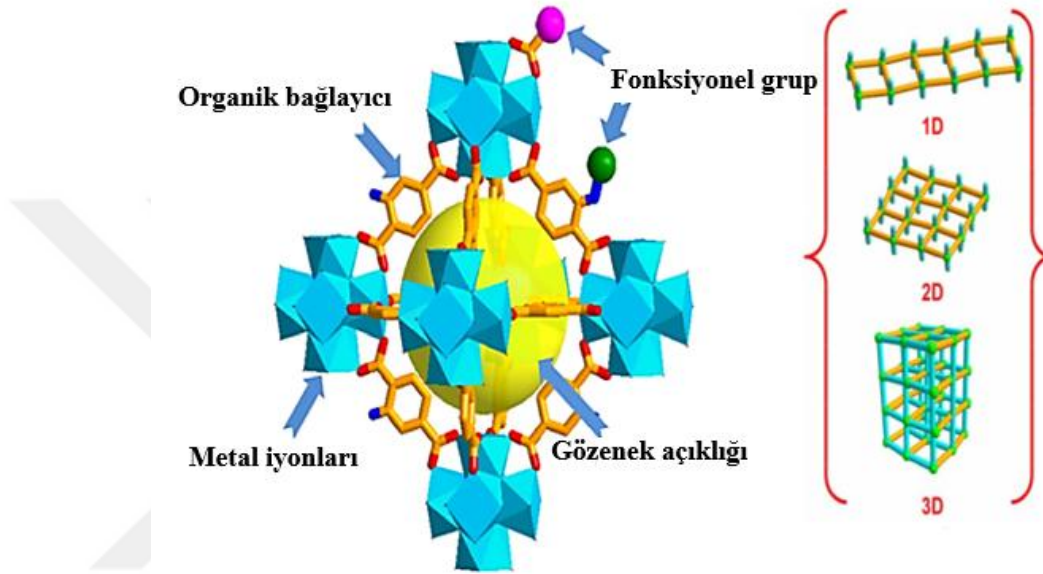
Bu bölümde gerçekleştirilmiş olan tez çalışmasıyla ilgili kuramsal bilgilere ve kaynak araştırmalarına yer verilmiştir. İlk olarak Metal Organik Kafes yapılar (MOF'lar) hakkında genel bilgi verilmiş, ardından sırasıyla MOF'ların sentez yöntemleri, özellikleri ve kullanım alanları anlatılmıştır. Sonrasında MOF'ların kontrollü ilaç salımı başta olmak üzere biyomedikal alanlardaki uygulamalarına dair araştırmalara yer verilmiştir. Son olarak tez çalışması kapsamında çalışılan UiO-66 MOF yapısına ait detaylı bilgiler sunulmuş ve biyomedikal uygulamalarındaki mevcut yaklaşımlar ve potansiyeli ele alınmıştır.

2.1 Metal Organik Kafes Yapı (MOF)

Nanomalzemeler; kalınlık, genişlik, uzunluk gibi boyutlarından en az birinin 1-100 nanometre arasında olduğu malzemeler olarak tanımlanır. Gözenekli nanomalzemelerin gözenek çaplarıysa mikro düzeyden makro düzeye değişebilmektedir. Nanomalzemeler, sahip oldukları geniş gözenek hacimleri, yüksek yüzey alanları ve yapılarının istenilen özelliklere uygun olarak ayarlanabilmesi nedeniyle özellikle biyoteknoloji, tıp, savunma sanayi gibi alanlarda oldukça yaygın şekilde kullanılmaktadırlar.

Metal Organik Kafes Yapılar (MOF'lar) bir, iki veya üç boyutlu yapılar oluşturmak için organik ligandlar ile koordine edilmiş metal iyonlarından veya kümelerden oluşan kristalin yapıda gözenekli malzemelerdir. MOF'ların zeolitler ve karbon nanotüpler gibi diğer iyi bilinen nano gözenekli malzemelere göre en büyük avantajı, yapı ve işlevselliklerinin sentez sırasında doğrudan ayarlanabilmesidir. Barındırdıkları bağlar ve güçlü koordine edici yapıları sayesinde 200-550 °C arasında değişen ısısal kararlılıklara sahiptirler. Esnek gözenek yapısına sahip olan MOF'lar mekanik kararlılık gösterebilmekte ve bu durum çeşitli uygulama alanlarında avantaj oluşturmaktadır. MOF'lar biyoyumlu moleküllerle veya hedef ligandlarla modifiye edilebilmekte ve bu durum biyomedikal uygulamalar için avantaj sağlamaktadır. Diğer gözenekli

malzemelerin aksine benzersiz yapısal çeşitlilik sunmaktadırlar. Ayarlanabilir gözenek hacimleri farklı moleküllerin depolanmasına (gaz, protein, DNA, flüoresans madde vb.) olarak sağlamaktadır (Keskin ve Kızılel 2011, Ahmadi vd. 2021). MOF'ların fonksiyonel grup ile modifiye edilmiş şematik yapısı **şekil 2.1**'de verilmiştir.



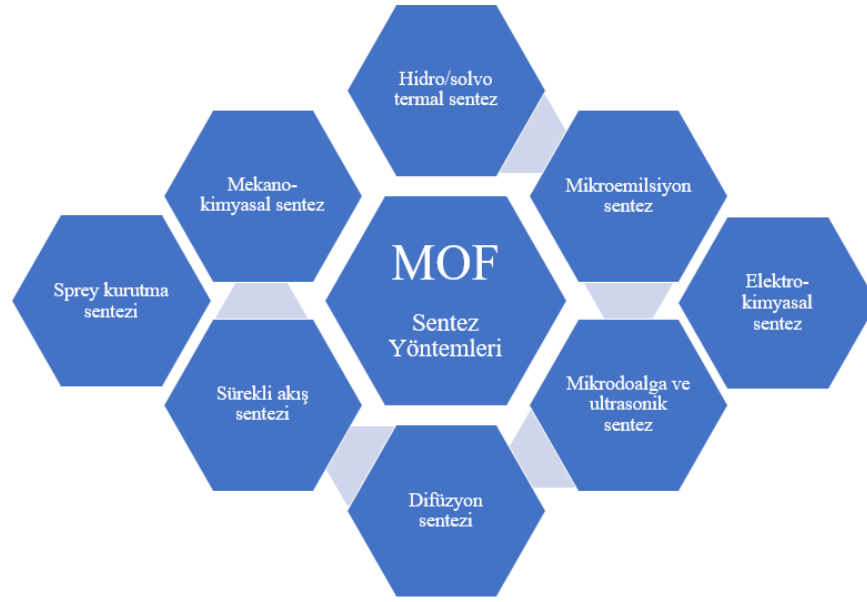
Şekil 2.1 Metal Organik Kafes Yapıların şematik gösterimi (Ahmadi vd. 2021)

MOF'lar organik bağlayıcılar ile inorganik metal iyonlarının birleşmesiyle sentezlenmektedir. Organik birimler (karboksilat, imidazolat, fosfonat, pirazolat) tipik olarak mono-, di-, tri- veya tetravalent ligandlardır. Periyodik Tablodaki neredeyse tüm metal kanyonları, bazı radyoaktif olanlar da dahil olmak üzere, MOF'ları sentezlemek için inorganik yapılar olarak kullanılmıştır. MOF araştırmalarının ilk aşamalarında, MOF sentezinde Zn^{+2} ve Cu^{+2} gibi iki değerli metaller yaygın olarak tercih edilmiştir. Bazı MOF'lar, gözeneklerin duvarlarında "açık metal bölgeler" olarak da adlandırılan doymamış metal bölgelere sahiptir. Bu açık metal bölgeler aktivasyondan sonra konuk molekülleri bağlamak için kullanılabilir. Hem deneyler hem de moleküler simülasyonlar, açık metal bölgelerinin varlığının fonksiyonel grup adsorpsiyonu üzerinde belirgin bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Katı bir maddenin MOF olarak değerlendirilebilmesi için geometrik şeklinin iyi tanımlanmış olması ve yüksek kristal

yapı göstermesi, güçlü bağ yapma yeteneği, farklı bağ yapma noktalarının olması gerekmektedir (Keskin ve Kızılel 2011, Wu ve Yang 2017).

2.2 Metal Organik Kafes Yapıların Sentezi

Literatürde MOF yapıların sentezi ile ilgili pek çok yöntem yer almaktadır. Bunlar; hidro/solvotermal sentez, mikroemülsiyon sentez, elektrokimyasal sentez, mikrodalga-ultrasonik sentez, difüzyon sentez, sürekli akış sentezi, sprey kurutma ve mekanokimyasal sentezdir (Wu ve Yang 2017). Sentez mekanizmalarının gelişimi temelde üç yaklaşımda şekillenmiştir (Zou ve Liu 2019). Bunlardan ilki; **homojen faz yaklaşımı** veya **difüzyon** yöntemidir. Buradaki yaklaşım çözücülerin yavaş buharlaşması veya difüzyonu ile MOF yapıların sentezlenmesidir. İkinci yaklaşım, MOF nanokristallerinin boyutunun, morfolojisinin ve kristalliğinin rahatlıkla kontrol edilebildiği **hidro/solvotermal sentez** yöntemidir. Özellikle biyomühendislik, kontrollü ilaç salımı gibi MOF yapısının fiziksel ve kimyasal özelliklerinin kritik olduğu çalışma alanlarında, laboratuvar ölçekli sentezlerde ikinci yaklaşım olan solvo/hidrotermal yöntem düşük maliyetli olması sebebiyle de sıklıkla tercih edilmektedir. **Hidro/solvotermal** yöntemde, yüksek kristaliniteye ve tek tipte morfolojiye sahip MOF yapıları elde edilmesine karşın bu yöntem büyük çapta üretimler için zaman alıcıdır. Üçüncü yaklaşımda ise mikrodalga, elektrokimyasal ve mekanik öğütme gibi sentez yöntemleri sayesinde büyük kapasitelerde ve diğer yöntemlere görece kısa sürelerde MOF'lar sentezlemek mümkündür. Ayrıca MOF'ları farklı metal, grafen ve yarı iletken malzemelerle karıştırarak MOF bazlı kompozitler üretmek de mümkündür (Zou ve Liu 2019). MOF'ların sentez yöntemleri **şekil 2.2**'de özetlenmiştir. Sentezlenen MOF yapılarının karakterizasyonları ve analizleri için genellikle XRD (X-ray diffraction methods), SEM (Scanning electron microscopy), BET (Brunauer– Emmett–Teller), FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) ve TGA (Termogravimetrik analiz) teknikleri yaygın olarak kullanılmaktadır.

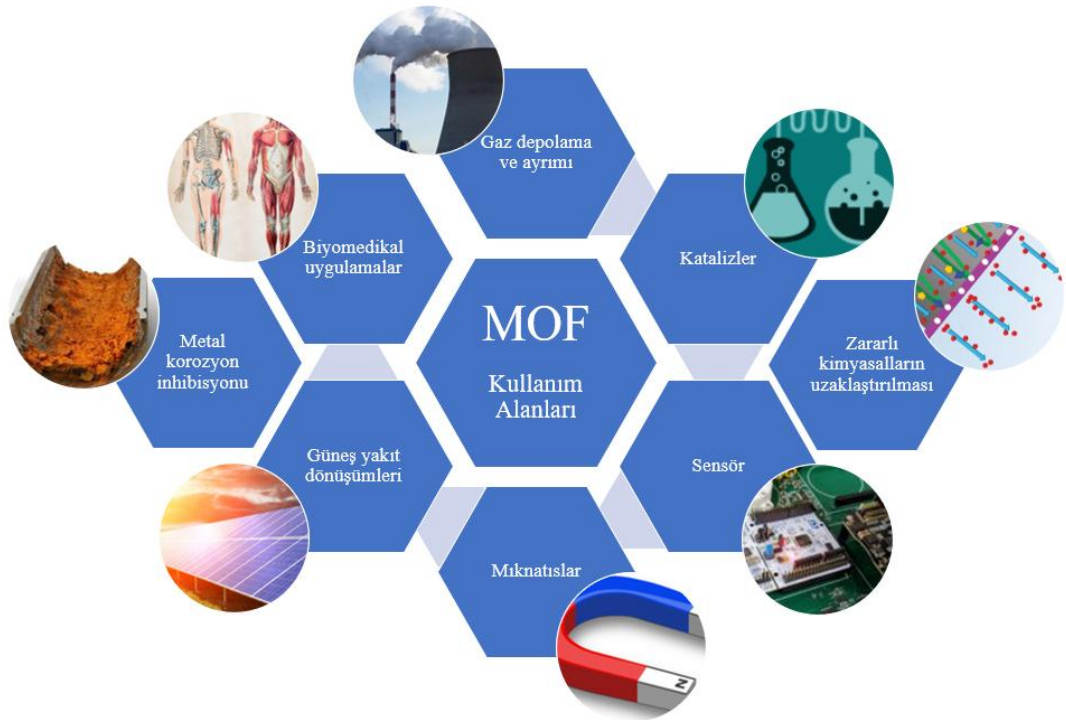


Şekil 2.2 MOF'ların sentez yöntemleri (Wu ve Yang 2017)

2.3 Metal Organik Kafes Yapıların Özellikleri ve Kullanım Alanları

Farklı yapılardaki organik-inorganik hibrit MOF'lar metallerin ve organik bağlayıcıların farklı kombinasyonları ile ya da sentez yöntemindeki değişikliklerle elde edilebilmektedir. Literatürde yaklaşık 90000 çeşit MOF bulunmaktadır (Jones 2022). MOF'lar zeolitlerin kristal yapılı olma ve gözenek boyutlarının sabit olması özelliklerinin yanı sıra polimerlere ait olan esnek olma özelliklerini de bünyelerinde bulundurlar. Ayrıca MOF'lar geniş yüzey alanlarına sahiptirler, ısısal ve kimyasal kararlılıkları yüksektir. Bileşimlerine göre biyoyuyluluk gösterirler (Liang vd. 2015). MOF'lar bu özellikleri sayesinde ayırma ve depolama işlemlerinde, doğalgaz proseslerinde, ilaç depolamada ve kontrollü ilaç salımında kullanılırlar. Ayrıca katalizör olarak, manyetik madde olarak ve gaz sensörlerinde, güneş yakıt dönüşümlerinde ve metal korozyon inhibisyonunda da kullanılmaktadırlar (Wu ve Yang 2017). MOF'lar içerdikleri C-C, C-H ve C-O bağları sayesinde 250°C-500°C gibi yüksek termal kararlılık göstermelerine karşın, su ve/veya su buharı ve çözücü ortamında bağlayıcı yer değiştirme reaksiyonlarına duyarlılıkları nedeniyle endüstriyel boyutta kullanımları kısıtlıdır (Furukawa vd. 2013). Karakteristik olan üstün özellikleri sayesinde MOF'ların temel kullanım alanlarını özetlemek gerekirse; gaz depolama ve ayrımı, bacalardan

ıkan zararlı gazların tutulması, karbon yakalama ve ayırma, toksik gazların tutulması, saflaştırma ve filtreleme prosesleridir. Katalizör olarak katalitik destek sağlarlar, seçicilik gösterirler ve mevcut kullanımdaki katalizleri desteklerler. Sensör ve tayin amaçlı olarak, gaz-buhar ve küçük moleküllerin tespitinde, tıbbi teşhis ve görüntülemede uygulama alanları bulunmaktadır. MOF yapıları tekstil alanında, kimyasal, biyolojik ve nükleer koruyucu kıyafet ve kumaş tasarımında karşımıza çıkmaktadır. Gıda sektöründe ise yiyeceklerin raf ömrünü uzatmada ve tarımda kullanılan zirai kimyasalların kontrollü salımında uygulamaları bulunmaktadır. İletkenlik başlığı altında ise elektrotlar ve elektrolit kompozitler meydana getirerek iletkenlik sorunlarına yeni özömler getirmektedir. MOF'lar, iletkenliği geliştirmek için güneş yakıt dönuşmaları ve piller gibi çeşitli elektronik alanlarda da kullanılmaktadır. MOF'ların biyomedikal alanlardaki kullanımı ise detaylı olarak bölüm 2.4'de sunulmuştur. **şekil 2.3**'de MOF'ların kullanım alanlarının şematik gösterimi yer almaktadır.



şekil 2.3 MOF'ların kullanım alanları (Wu ve Yang 2017)

2.4 MOF'ların Biyomedikal Alandaki Uygulamaları

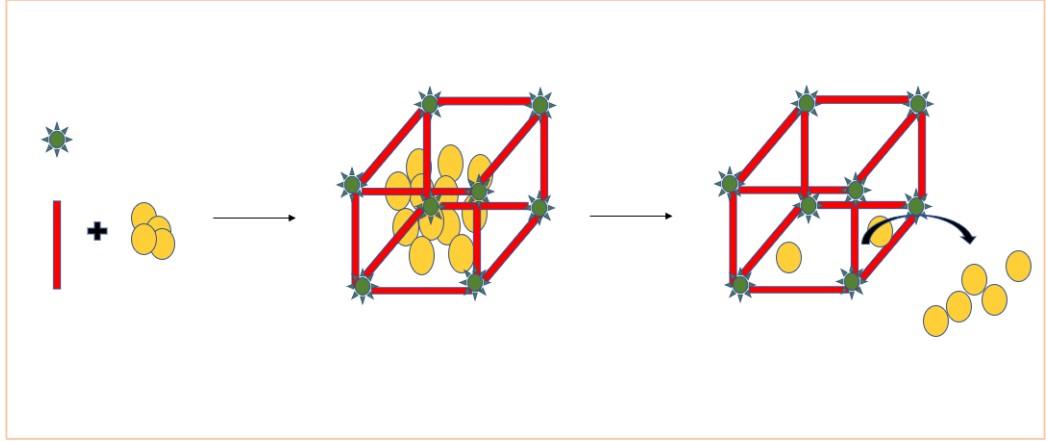
Biyomedikal alanda MOF uygulamalarını üç temel başlıkta incelemek mümkündür (Yang vd. 2018). Bunlar **ilaç taşıma ve kontrollü salım, fotodinamik tedaviler ve biyogörüntülemedir**. MOF'ların biyomedikal alanda kullanımını arttıran temel özellikleri, yüzey alanlarının büyük olması, fiziksel ve kimyasal kararlılıklarının iyi olması olarak özetlenebilir. Ayrıca MOF'lar diğer nanoyapılara göre, değiştirilebilir boyutları, farklı işlevsellikleri, yüksek gözenek hacimleri, yüksek yükleme kapasiteleri ve biyouyumlu olmaları sebebiyle özellikle ilaç salım çalışmaları için avantajlı yapılardır (Wu ve Yang 2017).

Biyomedikal uygulamalar göz önünde bulundurulduğunda, geçmiş çalışmalarda kullanılan geleneksel malzemelere göre MOF'lar üstün avantajlara sahiptirler. Bunlardan ilki, MOF'ların yüklenen maddeyle olan etkileşimlerinin, yalnızca gözenek açıklıklarını değiştirerek değil, sentez sonrası yapısındaki grupları değiştirip kimyasal gruplarla fonksiyonalleştirerek de sağlanabilmesidir. Ayrıca, enfeksiyonlu ya da tümörlü dokulara karşı duyarlı olabilen MOF'lar da çeşitli araştırmalarda kullanılmaktadırlar. Literatürde daha önce polimer temelli gerçekleştirilen bu hedeflendirme çalışmaları günümüzde kontrollü ilaç salım sistemlerinde, biyogörüntülemede ve fotodinamik tedaviler gibi çeşitli biyomedikal çalışmalarda MOF temelli olmaya doğru ilerlemektedir (Gu vd. 2005, Ge vd. 2022). Bu çalışmaların başında MOF'ların bir çok karakteristik özelliğini avantaja çevirme şansı sunan kontrollü ilaç salım uygulamaları gelmektedir.

Kontrollü ilaç salım sistemlerinin amacı gerekli olan minimum dozda, ilacın istenilen bölgeye sağlıklı hücrelere zarar vermeden doğrudan ulaşmasını sağlamaktır (Zhuang vd. 2014). Bu sistemler için, ilaçların yarılanma ömrünü uzatmak ve kararlılıklarını arttırıp hedef bölgeye doğrudan ulaşmasını sağlamak önemli bir yaklaşımdır. Bu yaklaşım ile damar içinde kolayca dolaşabilen küçük boyutlu, toksik etkileri düşük ve biyobozunur sistemler tasarlanmaktadır. Günümüzde devam eden geleneksel klinik uygulamalara nazaran, nanotaşıyıcılar ilaç salım sistemlerinde pek çok avantajı da beraberinde

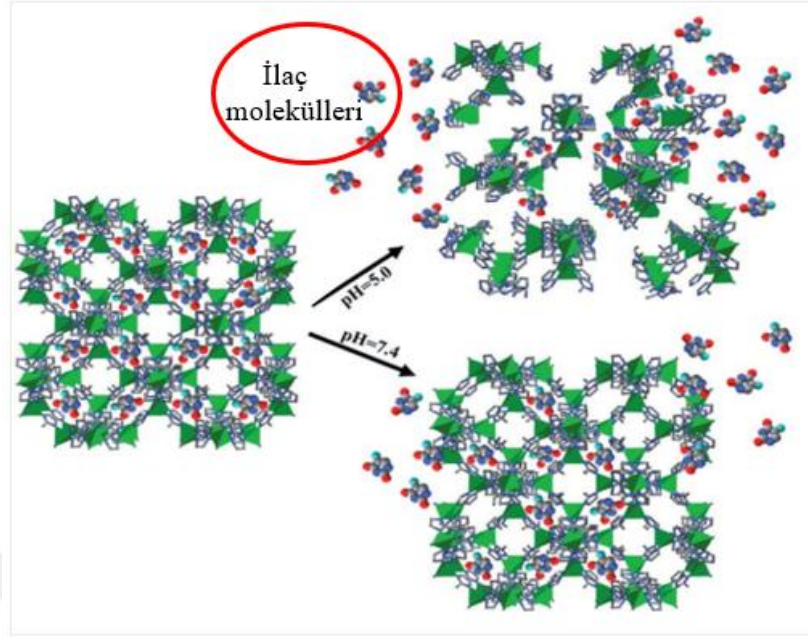
getirmektedirler. Mevcut tedavi yöntemlerinde kullanılan ilaçların toksisitelerini azaltmak ve ilaca karşı direncin önüne geçmek nanotaşıyıcıların en kritik avantajlarından biridir. Bu hedef için kullanılan nanomalzemeler genellikle lipid, polimerik ve inorganik temellidir. Günümüzde polimerik yapıda olan miseller, nanopartiküller, konjugatlar ile dendrimler, lipozomlar, altın nanoparçacıklar ve karbonnanotüpler ilaç salım sistemleri arasında en sık araştırılan yapılardandır (Tüylek 2019, Ge vd. 2022). Nano boyuttaki ilaç taşıyıcı sistemlerin avantajları olduğu gibi dezavantajları da bulunmaktadır. Özellikle polimerik malzemeler ilaç taşıyıcı olarak düşük maliyetleri sebebiyle ön plana çıkmalarına karşın, düşük ilaç yükleme kapasiteleri ve yüklenen ilacı ani şekilde salmaları sebebiyle etkin ilaç taşıyıcı sistemler olma yolunda potansiyelleri zayıftır. Lipozomlar, polimerik yapılar ve miseller gibi organik temelli olan ilaç taşıyıcı sistemler ise biyouyumludurlar ancak çoğunlukla kontrollü bir salım mekanizmasına sahip olmamaları nedeniyle ilaç taşıyıcı sistemler arasında yine dezavantajlara sahiptirler (Ge vd. 2022).

MOF'lar fiziksel ve kimyasal özellikleri, yüksek ilaç yükleme kapasiteleri ve biyobozunur yapıları nedeniyle ilaç taşınım/salımında oldukça dikkat çekici nano yapılar haline gelmiştir (Keskin ve Kızılel 2011, Karakeçili vd. 2019, Ge vd. 2022). Gözenek boyutlarının ve çerçeve fonksiyonlarının ayarlanabilmesi ilaç taşıyıcı sistem olarak önemli avantajlarından biridir. MOF'ların sentez ve ilaç salım mekanizmaları **Şekil 2.4**'de verilmiştir. Şekilde yer alan kırmızı çubuklar organik bağlayıcıları, yeşil yuvarlaklar ise metal iyonları sembolize etmektedir. Sarı yuvarlaklar ise ilaç gibi biyoaktif maddeleri ifade etmektedir. Metal iyonları ve organik bağlayıcıların birleşmesiyle elde edilen kübik yapı ise MOF'ları sembolize etmektedir. Biyoaktif maddeler MOF yapısına *in situ* enkapsülasyon ya da sentez sonrası adsorpsiyon olmak üzere iki farklı yükleme yöntemi ile yüklenir. Enkapsülasyon sentez sırasında (*in situ*) ilacın katıldığı durum iken adsorpsiyon ise MOF sentezi tamamlandıktan sonra ilacın genellikle bir çözücü ortamında MOF içine yüklendiği durumdur. **Şekil 2.4**'de görüldüğü üzere biyoaktif moleküller MOF yapısına katılarak yükleme işlemi gerçekleşmekte, ardından MOF'lar moleküllerin kontrollü salımı için taşıyıcı sistem görevi görmektedir.



Şekil 2.4 MOF'ların sentez ve ilaç salım mekanizması (Keskin ve Kızılel 2011)

MOF'lar yapısal özelliklerine bağlı olarak, **çevresel uyarılara duyarlı sistemler** de olabilirler. pH, ATP ve redoksa duyarlı MOF'lar iç kaynaklı (*endogenous*) uyarıya duyarlı sistemlerdendir. Dış uyaranlardan (*exogenous*) ise sıcaklık, manyetizma, basınç, ışık ve iyon duyarlı MOF yapıları mevcuttur. Bunların yanı sıra ilaçların istenilen bölgeye hedeflendirilmesini arttırabilmek adına çoklu uyarıya duyarlı sistemler de bulunmaktadır. Kontrollü ilaç salımında tüm bu yapılara ait çalışmalar bulunmakla birlikte en çok pH duyarlı MOF'lar tercih edilmektedir (Cai vd. 2019). pH duyarlı MOF yapıları özellikle antikanser ilaçların ve antibiyotiklerin taşınımı/salımı için avantajlı sistemlerdir. **Şekil 2.5** MOF ailesinin alt grubu olan Zeolitik Imidazolat Kafes (ZIF-*Zeolitic Imidazolate Framework*) yapısına ait ZIF-8'in farklı pH'larda yapısındaki bozunmayla birlikte yüklenmiş olan ilacı kontrollü bir şekilde salımının şematik gösterimi verilmiştir.



Şekil 2.5 İlaç yüklenmiş ZIF-8’den farklı pH’larda ilaç salımının şematik gösterimi (Sun vd. 2012)

Sun vd (2012) tarafından yapılan bir çalışmada ZIF-8’e antikanser ilacı olan 5-fluorouracil (5-FU) yüklenip kontrollü salım gerçekleştirilmiştir. Kontrollü salımı gerçekleştirecek yürütücü güç olarak ZIF-8’in pH’a karşı duyarlılığı belirtilmiştir. ZIF-8’in nötrale ya da bazik ortamda bozunma göstermeden asidik ortamda bozunması nedeniyle ilacın düşük pH değerine sahip tümörlü dokuya hedeflendirilmesi amaçlanmıştır. Böylelikle bir çeşit MOF olan ZIF-8’in pH’a karşı duyarlılığı kanıtlanıp alternatif bir ilaç salım sistemi olarak kullanılabilmesi hedeflenmiştir. Bu hipotezler doğrultusunda pH duyarlılığı, karakterizasyon çalışmaları, kontrollü ilaç salım çalışmaları yapılmıştır. pH duyarlılığı için yapılan çalışmalar pH: 7,4 ve pH:5,0 tampon çözelti ortamlarında ve 37°C’de gerçekleştirilmiştir. ZIF-8 su ve NaOH çözeltilerinde bekletildiğinde kararlı kaldığı yani yapısında herhangi bir bozunma olmadığı görülmüştür. Ancak asit çözeltisi içerisinde dağıtıldığında edildiğinde hızlıca bozunma göstermiştir. Bu da ZIF-8’in pH’a duyarlı olduğunu göstermiştir. pH duyarlılığı ZIF-8’i pH duyarlı tasarımda ideal bir alternatif haline getirmektedir (Sun vd. 2012, Karakeçili vd. 2019). İnsan fizyolojisine ait sağlıklı normal dokuların pH değeri 7,4 iken tümörlü ya da hastalıklı dokuların pH değeri 5 civarındadır. Bu pH farkı sayesinde nötral ortamda bozulmayan ZIF-8 içerisine yüklenmiş ilacın salımını da minimum düzeyde

tutarken asidik ortamlarda yani hastalıklı dokularda yapısının bozunması sebebiyle içerisindeki ilacı hızlıca ortama bırakabilir. Çalışmadaki hipotez SEM (Taramalı Elektron Mikroskopu) ve PXRD (Toz X-ışınları kırınımı) analizleri ile de test edilmiş ve düşük pH'larda MOF yapısının morfolojisinde ve kristalinitesinde bozulmalar gözlemlenmiştir. Çalışmada ilaç olarak 5-FU seçilmesinin sebebi 5-FU'nun yaygın bir kemoterapi ilacı olması ve küçük boyutlarda olmasıdır. Bu sayede ZIF-8'e adsorpsiyon yolu ile kolaylıkla yüklenmesi sağlanmıştır. (Sun vd. 2012). İlaç salım çalışmalarının sonuçları incelendiğinde beklendiği üzere düşük pH değerinde ilaç salımı daha hızlı, pH 7,4 iken ise salımın daha yavaş olduğu görülmüştür. Vücut sıcaklığı olan 37°C de yapılan çalışmalarda pH 7,4 ortamında ilk seferde ilacın %50'den az kısmı 24 saat içerisinde salınmış daha sonra kalan ilaç bir hafta içerisinde yavaşça salınmıştır. pH 5 ortamında ise 5-FU'nun neredeyse %45'i yalnızca ilk bir saat içinde salınmış, kalan ilaç ise bir gün içerisinde ZIF-8 nanopartikülünü terk etmiştir. Bu sonuçlar ZIF-8'in pH'a duyarlılığını göstermiş, ve ilacın sağlıklı hücrelere etkisi azaltılarak tümörlü hücrelere hedeflendirilmesi sağlanmıştır.

Zheng vd. (2016), yapmış olduğu bir diğer çalışmada ise ZIF-8 MOF yapısına kanser tedavisinde kullanılan doksorubisin (DOX) ilacı yüklenmiş ve pH duyarlı bir sistem oluşturması amaçlanmıştır. Sonuçlar, özellikle düşük pH değerlerinde ZIF-8 nanokristalinden ilaç salımının etkin bir şekilde gerçekleştiğini göstermiştir. DOX yüklü ZIF-8 yapıların yumurtalık ve meme kanserine neden olan hücreleri öldürme konusunda serbest haldeki DOX ilacından daha etkili olduğu kanıtlanmıştır. Ayrıca vücut pH değerinde DOX yüklü ZIF-8 yapısının bozulmadığı ve kanserli doku pH'larında (pH 5,5) salımın çok daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Chowdhuri vd. (2017), tarafından yapılan diğer bir çalışmada ise, Gram-pozitif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılmakta olan Vankomisin (VAN) antibiyotigine karşı direnç kazanmış olan *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) bakterileri üzerine çalışılmıştır. *S.aureus* bakterilerine karşı, oda koşullarında içerisinde ilaç enkapsüle edilmiş ZIF-8 nanokristallerinin etkisi incelenmiştir. *S.aureus* bakterilerinin antibiyotiklere olan direncini kırabilmek için ZIF-8 nanokristallerine ilaç yüklemesiyle beraber hedeflendirici ligand olarak Folik asit (FA) ile modifiye edilerek

bakterilerin VAN yüklü ZIF-8 nanokristallerini endositoz yoluyla içine alması hedeflenmiştir. Çalışmalar sonucunda, VAN ve FA yüklü ZIF-8 nanopartiküllerinin *S.aureus* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivite gösteriği kanıtlanmıştır.

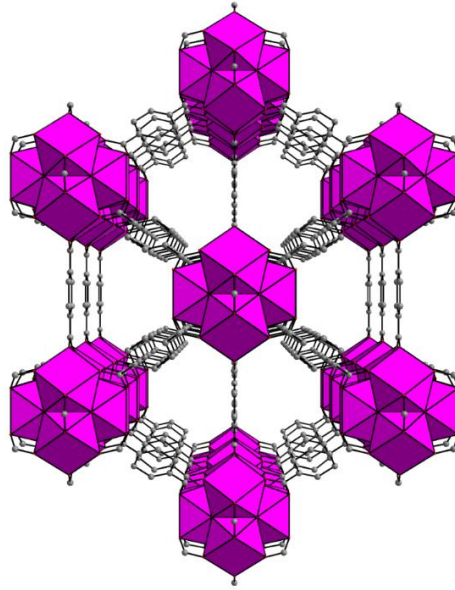
Literatürde ZIF-8 yapısının antibiyotik taşıyıcı olarak kullanıldığı çalışmalar oldukça sıklıkla karşımıza çıkmaktadır. ZIF-8 yapısı özellikle enfeksiyonlu bölgelerde bakteri üremesinden kaynaklı düşen pH'a bağlı olarak, düşük pH'da yapısı bozunduğunda ortama salınan Zn^{+2} iyonlarına bağlı olarak antibakteriyel etkinlik göstermektedir. Antibiyotiklerin ZIF-8'e yüklendiği çalışmalarda, antibiyotik sağlıklı hücrelere zarar vermeyecek şekilde pH kontrollü salım ile hedeflendirilmektedir (Karakeçili vd. 2019). Liu vd. (2020) yaptıkları çalışmalarda ZIF-8'e vankomisin yükleyerek, yüzeyini hiyaluronik asit ile modifiye etmişler ve *in vivo* olarak akciğer iltihabının tedavisi için olumlu sonuçlar bulmuşlardır. Karakeçili vd. (2019) ise doku mühendisliğine katkı sağlamak üzere gerçekleştirdikleri çalışmalarda ZIF-8'e vankomisin ilacını yüklemişler ve antibiyotik yüklü MOF yapılarını kitosan doku iskelelerine ekleyerek kemik iliği iltihaplanmasına karşı yeni bir yapı ortaya koymuşlardır.

Dou vd. (2021), doksepin hidroklorür isimli antidepresyon ilacının uygun dozlarda kullanımı için ilacın mevcut oral kullanımına alternatif olarak doksepin hidroklorürü ZIF-8'e yüklemişler ve %12 oranında yükleme verimi elde etmişlerdir. İlacın MOF yapısına difüzyonu ve adsorpsiyonu *configurational bias Monte Carlo* (CBMC) simülasyonu kullanılarak tespit edilmiştir. İlacın yükleme veriminin ve salım miktarının çözücüye bağlı olarak değiştiği öne sürülmüştür. Örneğin çözücü olarak etanol kullanıldığında, yükleme veriminin %2,1'e düştüğü ve bunun sebebinin ise ZIF-8'de yer alan gözenek açıklıklarının alkol molekülleri tarafından doldurulması kaynaklı olduğu belirtilmiştir. Çözücü varlığında ZIF-8 ile doksepin arasındaki etkileşim azaldığından doksepin moleküllerinin salımının dramatik olarak hızlandığı bildirilmiştir. Çalışmada ayrıca sentezlenen ZIF-8'in *in vitro* sitotoksik etkisini tespit etmek amacıyla PC3'e (insan prostat kanseri hücresi) yönelik MTT analizi yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda ZIF-8 derişiminin artmasıyla hücre canlılığının azaldığı tespit edilmiştir.

Genisteinin (GEN) iyi bir anti-kanser ajanı olarak bilinmesine karşın, suda çözünürlüğünün düşük olması sebebiyle geleneksel kullanımına ek olarak, etkinliğinin artması adına kontrollü ilaç salım sistemiyle uygulamaya ihtiyaç duymaktadır. Carreras vd. (2021), toksik olmayan, yüksek gözeneklilik gösteren ve ilaç taşıyıcı olarak kullanılabilen bir çeşit MOF olan MIL-100(Fe)'ye ağırlıkça %27,1 oranında GEN yüklemesini gerçekleştirmişler ve alternatif bir kullanım potansiyeli yaratmışlardır.

2.5 UiO-66 ve Biyomedikal Uygulamaları

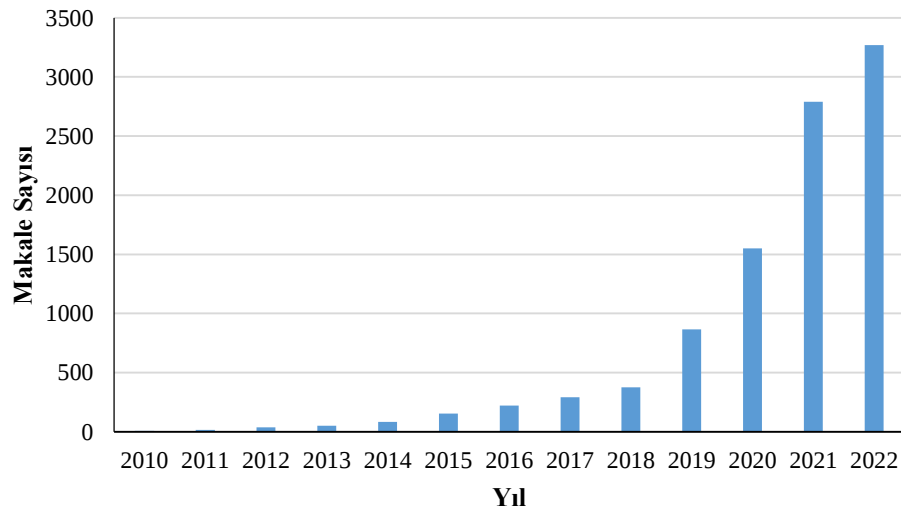
UiO-66 kimyasal ve termal kararlılığı sayesinde gelişmiş özellikler sunan Zr-temelli bir MOF olup, ilk kez 2008 yılında literatürde yer almıştır (Cavka vd. 2008). $Zr_6O_4(OH)_4$ kümelerinin 1,4-benzendikarboksi (BDC) organik bağlayıcılarıyla etkileşimi sonucunda meydana gelen kübik yapıdaki UiO-66 ($Zr_6O_4(OH)_4(BDC)_6$), 11Å boyutundaki oktahedral ve 8Å boyutundaki tetrahedral kafeslerden meydana gelmektedir. UiO-66 nanokristalinin şematik gösterimi **şekil 2.6'**da verilmiştir.



Şekil 2.6 UiO-66 nanokristalinin şematik gösterimi (UiO-66 - nanoMOF 2021)

UiO-66 ayarlanabilir gözenek boyutu, yüksek yüzey alanı özelliklerine ek olarak, yüksek koordinasyon sayısı olan Zr(IV) ile güçlü Zr-O bağı nedeniyle 350 °C'den yüksek hidrotermal stabilite gösterir. Bu özellik, UiO-66'yı bir çok çözücüye karşı

dirençli kılmakta ve UiO-66 nanokristalleri bu kendine özgü özellikleri sayesinde pek çok alanda diğer MOF'lara göre gelecek vaatetmektedir (Zou ve Liu 2019). Büyük gözenek açıklıkları ($V_p=0,5 \text{ g/cm}^3$, BET yüzey alanı = $1200 \text{ m}^2/\text{g}$) düşük toksik etki sunması, mekanik, kimyasal, termal kararlılığı ve biyoyumlu olması sayesinde UiO-66 nanokristalleri diğer MOF'lar gibi gaz depolama ve ayırma, katalizleme ve benzeri kullanım alanlarına ek olarak özellikle son dönemde ilaç taşıyıcı sistemler için etkin yapılar olarak ön plana çıkmaktadır (Cunha vd. 2013, Fortunati vd. 2013, Zhu vd. 2014, Orrelana vd. 2015, Bai vd. 2016, Wu ve Yang 2017, Karakeçili vd. 2019, Xie vd. 2021, Wang vd. 2021, Tucker vd. 2021). Son dönemde MOF'ların pek çok kullanım alanında tercih edilen UiO-66 ile ilgili yayımlanan makale sayılarının yıllara göre değişimi **şekil 2.7**'de verilmiştir.



Şekil 2.7 Yıllara göre UiO-66 MOF yapısı üzerine yayımlanan makale sayıları (Winarta vd. 2019, Google Scholar 2022)

Cunha vd. (2013), yaptıkları deneylerde UiO-66 ve UiO-66_X ($X=H, Br, NH_2$) metal organik kafes yapılarının kafein molekülü için taşıyıcı sistem olarak etkin kullanımını konu almışlardır. Zhu vd. (2014), yaptıkları çalışmalarda literatürde ilk olarak pH-duyarlı ilaç taşıyıcı malzemeler olarak UiO-66 MOF yapılarının kullanılabileceğini araştırmışlardır. Zirkonyum ve kalsiyum gibi metallerin, kuvvetli M-O-P bağları meydana getirmesi sebebiyle, Zr-O kümelerinin belirli bir düzende sıralanmasıyla

meydana gelen UiO-66 yapıları *alendronat amino bisphosphonate*, ilacının pH-duyarlı olarak kontrollü salımını sağlamıştır. Beş gün süresince, fizyolojik koşul olan 37°C’de ve pH: 7,4 de yüklenen ilacın yaklaşık %43 kadarı salınırken, iltahaplı dokulardaki nispeten asidik koşul olan pH: 5,5 da ise salım yaklaşık olarak %59 değerine kadar artmıştır. UiO-66 nanokristallerinin göstermiş olduğu bu pH duyarlı ilaç salım davranış asidik koşullarda fosfonat gruplarının protonasyonu sebebiyle ilaç ve Zr-O kümeleri arasındaki etkileşimin azalması şeklinde yorumlanmıştır. Aynı çalışmada, UiO-66 nanokristallerinin HepG2 ve MCF7 hücreleri üzerinde toksik etkilerinin oldukça az olduğu da kanıtlanmıştır.

Kontrollü ilaç salım sistemi olarak kullanılan UiO-66 çalışmalarından bir diğeri ise Tavra vd. (2015) yaptığı çalışmadır. UiO-66’ya kalsein moleküllerini yükleyerek UiO-66’nın ilaç salımındaki potansiyelini araştırmışlar ve moleküllerin yapıdan salımının bir anda olmaması için bilyalı değirmen yöntemiyle UiO-66 yapısını amorf hale getirerek salım süresini 15 kat arttırmışlardır. Yapılan farklı bir çalışmada ise, UiO-66 MOF nanokristaline, antikanser ilacı olarak kullanılan dikloroasetik asit yüklemesi yapılmış ve polietilen glikol modifikasyonu sayesinde pH duyarlı bir ilaç salım mekanizması oluşturulmuştur (Lazaro vd. 2017).

Nasrabadi vd. (2019), yaptıkları diğeri bir çalışmada, Zr bazlı bir MOF olan UiO-66’ya ciprofloksacin antibiyotiği yüklenmiş ve pH duyarlı olması hedeflenen sistem ile ilaç salım çalışmaları yapılmış, sonrasında antimikrobiyal aktivitesi test edilmiştir. UiO-66 nanokristalleri solvotermal yöntemle sentezlenmiş ve ciprofloksacin (CIP) ilacı enkapsülasyon ile kütlece %84 verimle yüklenmiştir (CIP-UiO-66). Ciprofloksacin antibiyotiğinin UiO-66 nanokristalinden salım profili incelendiğinde, amaçlanan pH duyarlı salımın sağlandığı görülmüştür. CIP, UiO-66 ve CIP-UiO-66’nın Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler olan *S.aureus* ve *E.coli* bakterileri üzerindeki antibakteriyel aktivitesi disk difüzyon yöntemi ile test edilmiştir. Yapılan antibakteriyel çalışmalar sonucunda, *S.aureus* bakterilerinin *E.coli* bakterilerine göre, kullanılan antibiyotiğe karşı daha dirençli olduğu gösterilmiştir. Ayrıca CIP yüklü UiO-66 nanokristallerinin CIP antibiyotiğine göre daha fazla antibakteriyel etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır. Bu

farkın, CIP-UiO-66 nanokristallerinin, ciprofloksacin antibiyotiğine göre çok daha küçük boyutlarda olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Bir başka çalışmada ise yüzeyi modifiye edilmiş UiO-66-NH₂ kullanılmıştır. Burada karboksilik çinko ftalosiyenin, *amidasyon* yoluyla UiO-66-NH₂'ye sentez sonrası bağlanmıştır. Daha sonra, gözeneklere antibiyotik olarak linezolid yüklenmiş ve elektrostatik etkileşimlerle yüzeyde lizozim kaplanmıştır. Antibakteriyel etkinlik ve linezolid salımı incelenmiş ve hem Gram-pozitif hem Gram-negatif bakteriler üzerinde etkili olmuş ve salım beklendiği üzere yavaş ve kontrollü bir şekilde gerçekleşmiştir (Lv vd. 2020). Literatürdeki bir başka çalışmada ise Doksorubisin (DOX) ve folik asit (FA), UiO-66 MOF yapısına sentez sonrası yüklenmiş ve ardından DOX'un kontrollü salımı için DOX ve FA yüklü UiO-66, karboksimetil kitosan/poli etilen oksit (PEO)/poliüretana yüklenmesi ile kompleks bir yapı elde edilmiştir. Salım çalışmaları pH 7,4 ve 5,5 değerlerinde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bu kompleks yapıdan DOX salımı incelendiğinde düşük pH'larda salımın daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Çalışma sonucunda UiO-66 nanokristallerinin süre açısından salımı yavaşlatıcı etki yarattığı öne sürülmüştür (Farboudi vd. 2020). Jarai vd. (2020), akciğer rahatsızlıklarına karşı alternatif bir tedavi yaklaşımı olarak UiO-66 nanokristaline deksametazon (DEX) ilacını yüklemişlerdir. Akciğer bölgesinin simülasyonunu yaratmışlar ve ilaç taşıyıcı olarak tercih edilen UiO-66'nın ilacı saldıktan sonra etki ettiği bölgede biyobozunur olduğunu gözlemlemişlerdir.

A. Lazaro vd. (2020), yapmış oldukları bir çalışmada, çok değişkenli modülasyon ile UiO-66'ya birden fazla ilaç yüklemişlerdir. Çalışmadaki amaç farklı tip ilaçlarla bir ilaç kokteyli hazırlamak ve özellikle kanser gibi çok yönlü ilaçlar gerektiren tedavileri kolaylaştırmaktır. Yapılan çalışmada nanokristalin sentezi esnasında üç farklı ilaç yüklemesi yapılmış, dördüncü bir ilaç ise sentez sonrası UiO-66 nanokristallerinin yüzeyine adsorbe edilmiştir. Çalışma sonucunda dört farklı ilaca ait en yüksek yükleme verimi ağırlıkça %27,5 olarak düşük bir seviyede bulunmuştur. Lazaro ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmayla düşük yükleme verimiyle de olsa birden fazla ilacın aynı anda UiO-66 nanokristallerine yüklenebileceğini göstermişlerdir.

Literatürde yer alan UiO-66'nın biyomedikal çalışmalarından bazılarında ise UiO-66 MOF nanokristali polimerik malzemelerle birlikte kullanılarak etkisinin artırılması amaçlanmıştır. Xie vd. (2021), UiO-66'nın pH duyarlılığını arttırmak amacıyla, UiO-66 nanokristallerini karboksimetilselüloz (CMC) ile kaplamış ardından doksorobusin (DOX) yüklenmiştir. Bu sayede hedeflendiği üzere düşük pH'larda ilaç salımı artmış ve A549 hücre hattıyla yaptıkları çalışmalar olumlu sonuçlanmıştır.

Buzek vd. (2021), UiO-66 nanokristallerinin çeşitli alanlardaki kullanım potansiyellerini ortaya koyabilmek adına farklı tampon çözücü ortamlarındaki davranışlarını incelemiştir. Nanokristal yapının kararlılığı, özellikle kontrollü ilaç salım ve ilaç taşıyıcı sistem tasarımlarında oldukça önemlidir. Hidroksimetil aminometan (TRIS), 4-(2-hidroksietil)-1-piperazineetansulfonik asit (HEPES), fosfat tampon (PB) ve N-etilmetilamid kristalin (NEM) gibi çeşitli çözücülerle yapılan çalışmalarda tüm tampon çözeltilerin pH etkisiyle birlikte UiO-66'nın yapısında farklı oranlarda bozunmalara sebep olduğunu ve bu bozunmadaki başlangıcın zirkonyum temelli olması sebebiyle benzer etkinin tüm Zr temelli MOF yapılarında olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Wang vd. (2021), ise UiO-66-PDC'ye (2,5-piridinekarboksilik asit ile fonksiyonlaştırılmış UiO-66) antienflamatuar bir ilaç olan Ibuprofen'i sentez sonrasında ağırlıkça %27 verim ile yüklemişlerdir. pH 7,5 ve 2'de (mide koşulları) Ibuprofen salımı incelenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, 70 günün sonunda pH 7,5 değerinde yüklenen ilacın tamamı salınırken, pH 2 ortamında yüklenen ilacın yalnızca %10'unun salındığı gözlemlenmiştir. Bu da UiO-66-PDC MOF yapısının çok düşük pH değerlerindeki asidik ortamlarda daha kararlı bir davranış gösterdiğini kanıtlanmıştır.

Borouhaki vd. (2022) ise deneysel çalışma gerçekleştirmeden, "moleküler dinamik simülasyon" yardımıyla UiO-66 nanokristaline kanser tedavisinde kullanılan ilaçlar olan Temozolomid (TMZ), Alendronat (Ald) ve 5-fluorouracil ilaçlarını yükleyerek, UiO-66 MOF yapılarının kanser tedavisinde alternatif ilaç taşıyıcılar olma potansiyellerini araştırmışlardır. Sonuçlar değerlendirildiğinde bu üç ilaçtan

Temozolomid ve Alendronat UiO-66'nın merkezine çok daha yakın konumlanmışken 5-fluorouracil'in ise UiO-66 yüzey boşluklarında konumlandığı tespit edilmiştir. Moleküler yapı açısından bunun nedeni, TMZ ve Ald'de uygun polar fonksiyonel grupların varlığı ve bu ilaçların yapısında daha iyi elektron rezonansı olması olasılığı olarak değerlendirilmiştir. Çalışma genelinde kullanılan moleküler dinamik simülasyondan elde edilen görsel sonuçlar incelendiğinde Temozolomid'in UiO-66 nanokristalinin boşluklarına diğer iki ilaca göre daha fazla yüklendiği sonucuna varılmıştır.



3. MATERİYAL ve YÖNTEM

Bu bölümde, tez çalışması kapsamında yapılmış olan deneysel çalışmaların bilgileri sunulmuştur. İlk bölümde, tez çalışması kapsamında yapılan deneylerde kullanılan kimyasal malzemeler belirtilmiştir. Sonraki bölümlerde, UiO-66 nanokristal yapıların sentezine, UiO-66 nanokristallerinin belirli çözücü ortamlarındaki kararlılıklarının incelendiği çalışmalara yer verilmiştir. Fosfomisin yüklü UiO-66 nanokristallerinin sentezine ve Fosfomisinin yükleme veriminin hesabına dair gerekli bilgiler açıklanmıştır. Sonrasında, UiO-66 ve Fosfomisin yüklü UiO-66 nanokristallerin karakterizasyon çalışmaları (PXRD, FTIR-ATR, SEM, TGA, BET) açıklanmıştır. Son bölümde ise, antibakteriyel çalışmalarla ilgili kullanılan yöntem sunulmuştur.

3.1 Kullanılan Malzemeler

Tez çalışması kapsamında kullanılan Zirconium(IV) propoksit çözeltisi (1-propanol içerisinde ağırlıkça %70) ($C_{12}H_{28}O_4Zr$), N,N-Dimetilformamit [DMF (CH_3)₂NCH₃]], 1-propanol, Fosfomisin (Fosfomisin Sodyum, FOS), fosfat tamponlu tuz çözeltisi tabletten (PBS, pH:7,4), asetik asit (AA) ve tereftalik asit (BDC) Sigma-Aldrich (Almanya) firmasından temin edilmiştir. Etanol ve metanol Isolab firmasından satın alınmıştır. Aseton Merck (Almanya) firmasından satın alınmıştır. Çözücü partikül etkileşiminin incelendiği deneylerde kullanılan kloroform ($CHCl_3$), diklorometan [DCM (CH_2Cl_2)], 1,4 dioksan ($C_4H_8O_2$), tetrafloroetilen [TFE (C_2F_4)] ve 1,1,1,3,3,3 hekzafluoro-2-propanol [HFIP (CF_3)₂CHOH]] Sigma-Aldrich (Almanya) firmasından tedarik edilmiştir. Antimikrobiyal aktivite çalışmalarının yapıldığı deneylerde kullanılan Tryptic Soy Broth (TSB), Tryptic Soy Agar (TSA), Muller Hinton Agar (MHA) ve Muller Hinton Broth (MHB) Merck (Almanya) firmasından satın alınmıştır.

3.2 UiO-66 Nanokristal Yapıların Sentezi

UiO-66 nanokristalleri iki aşamalı olarak sentezlenmiştir (DeStefano vd. 2017). İlk aşamada zirkonyum-izopropoksit ($C_{12}H_{28}O_4Zr$), AA ve DMF çözeltisi $130^{\circ}C$ 'de 2 saat süre ile etüvde ısıtılmıştır. Çözeltinin oda sıcaklığına gelmesi beklendikten sonra bağlayıcı olarak tereftalik asit (BDC) eklenmiştir. Elde edilen bu sentez çözeltisinde bileşenlerin mol oranları sırasıyla 1: 442,1: 571,4: 2,85 ($C_{12}H_{28}O_4Zr$:AA:DMF:BDC) olarak belirlenmiştir. Sentez çözeltisi $35^{\circ}C$ 'de, 250 rpm karıştırma hızıyla 24 saat boyunca karıştırılmıştır. 24 saatin sonunda sentezlenen UiO-66 nanokristalleri 15000 rpm'de (21130 RCF-Relative Centrifugal Force) 30 dakika boyunca uygulanan santrifüj işlemi ile ayrılmıştır. Süpernatanttan ayrılmış olan nanokristaller her yıkama adımı arasında 15000 rpm'de 20 dakika süresince çöktürme işlemleri uygulanarak, ilk olarak 3 kez DMF, ardından DMF'in uzaklaştırılması amacıyla 3 kez etanol ile yıkanmıştır. Son olarak $40^{\circ}C$ etüvde kurutulmuş ve toz halindeki UiO-66 nanokristalleri elde edilmiştir.

3.3 UiO-66 ve Çözücü Etkileşimleri

UiO-66 nanokristallerinin yapısal kararlılığı; kloroform, diklorometan, DMF, 1,4-dioksan, HFIP ve TFE çözücüleri ve fosfat tamponu (PBS, pH: 7,4 ve 5,5) içerisinde incelenmiştir. Deneylerde 1 mg UiO-66 nanokristali üzerine 10 mL çözücü eklenmiş ve karıştırma uygulanarak elde edilen dispersiyon belirlenen sürelerde (24 ve 48 saat) oda koşullarında cam tüplerde bekletilmiştir. Belirlenen süre sonunda tüpler tekrar karıştırılmış ve ardından 15000 rpm hızda 15 dakika süresince santrifüj işlemi uygulanarak nanokristaller çöktürülmüştür. Ardından, çöken nanokristaller etanol ile 2 defa yıkanarak çözücü uzaklaştırılmış ve $40^{\circ}C$ 'de 1 gün kurutulmuştur.

UiO-66 ve çözücü etkileşimi ardından elde edilen nanokristallerin yüzey morfolojileri, örneklerin analiz öncesinde altın/palladyumla (Au/Pd) kaplanmasıyla SEM (FEI Quanta 400 FEG) ile tayin edilmiştir.

UiO-66 ve belirlenen çözücülerle etkileşimi gerçekleştirilen UiO-66 nanokristallerin PXRD analizi ise Cu-K α radyasyon kaynaklı Rigaku Ultima-IV difraktometresi aracılığıyla 5-45⁰ 2 teta aralığında gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirilen SEM ve PXRD analizleri sonrasında belirlenen çözücülerin UiO-66 nanokristali üzerine etkileri tartışılmıştır.

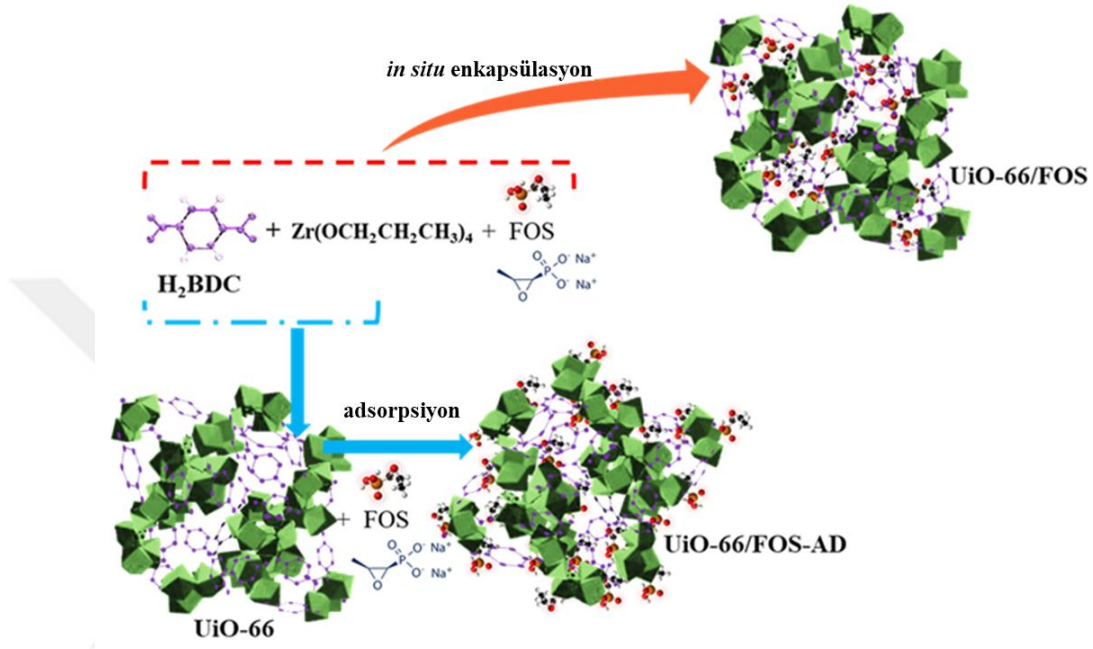
3.4 Fosfomisin Yüklü UiO-66 Nanokristal Yapıların Sentezi

UiO-66 nanokristallerine Fosfomisin antibiyotiğinin yüklemesi iki farklı yaklaşımla gerçekleştirilmiştir. Bunlardan ilki nanokristalin sentezi sırasında Fosfomisinin *in situ* olarak enkapsülasyonu; ikincisi ise UiO 66 sentezi sonrasında Fosfomisinin adsorpsiyon ile yüklenmesidir.

Sentez sırasında yapılan *in situ* enkapsülasyonda, farklı derişimlerdeki Fosfomisinin, sentez sıcaklığının ve sentez süresinin enkapsülasyon verimi ve nanokristal yapısı üzerindeki etkileri incelenmiştir. Sentez adımları Bölüm 3.2’de belirtildiği gibi olup, Zr(IV) propoksit çözeltisi, AA ve DMF çözeltilerinin 130°C’de 2 saat gerçekleşen tepkimesi sonrasında Fosfomisin sentez çözeltisine bağlayıcı molekülden (BDC) hemen önce eklenmiştir. Fosfomisin çözeltide homojen bir şekilde dağıtıldıktan sonra, UiO-66 için açıklanan sentez basamakları aynı şekilde devam ettirilmiştir. Sentez sonunda elde edilen nanokristaller yıkama ve santrifüj işlemlerinden sonra 40°C’de kurutulmuş ve nem tutmaması için silika jel içerisinde oda koşullarında saklanmıştır. Sentezlenen nanokristaller UiO-66/FOS-1, UiO-66/FOS-2, UiO-66/FOS-3 olarak adlandırılmıştır (**Çizelge 3.1**). Fosfomisinin enkapsülasyon yöntemiyle yüklendiği bu yapılar UiO-66/FOS olarak kısaltılmıştır.

Fosfomisinin adsorpsiyon yöntemiyle UiO-66 nanokristallerine yüklendiği çalışmalarda ise Bölüm 3.2’de açıklandığı gibi elde edilen UiO-66 nanokristalleri 80°C’de vakum etüvünde bir gece süresince bırakılmış ve böylece aktivasyon işlemi gerçekleştirilmiştir (Zhu vd. 2014). Sonrasında kurumuş olan UiO-66 nanokristalleri, PBS (pH: 7,4) içerisinde hazırlanan Fosfomisin çözeltisine eklenmiş ve 24 saat boyunca 37°C’de

kariştırılmıştır. Santrifüj işlemi sonrası elde edilen nanokristaller UiO-66/FOS-AD olarak adlandırılmıştır. Santrifüj sonunda süpernatant daha sonraki analizler için -20°C de saklanmıştır. UiO-66, UiO-66/FOS ve UiO-66/FOS-AD nanokristallerinin özetlenmiş sentez yöntemi şekil 3.1’de verilmiştir.



şekil 3.1 UiO-66, UiO-66/FOS ve UiO-66/FOS-AD nanokristallerinin sentez yöntemlerinin şematik gösterimi. UiO-66/FOS sentez esnasında (*in situ*) enkapsülasyonla Fosfomisin yüklenmiş nanokristalleri, UiO-66/FOS-AD sentez sonrasında adsorpsiyon yöntemiyle Fosfomisin yüklenmiş UiO-66 nanokristallerini tanımlamaktadır

Enkapsülasyon ve adsorpsiyon yöntemleriyle elde edilen Fosfomisin yüklü UiO-66 nanokristallerinin (UiO-66/FOS ve UiO-66/FOS-AD) sentez koşulları çizelge 3.1’de özetlenmiştir.

Çizelge 3.1 UiO-66 ve Fosfomisin yüklü UiO-66 nanokristal yapıların sentez koşulları

Nanokristal yapı	Fosfomisin miktarı, mg/mL	Sentez süresi, saat	Sıcaklık, °C
UiO-66	-	24	35
UiO-66/FOS-1	0,833	24	35
UiO-66FOS-2	0,416	24	35
UiO-66/FOS-3	0,416	48	40
UiO-66/FOS-AD	0,416	24	35

3.5 Yükleme Verimi

UiO-66 nanokristallerine yüklenen Fosfomisin miktarı indirekt yolla tayin edilmiştir. Bölüm 3.4’de açıklandığı üzere Fosfomisin yüklemesi sonrası sentez çözeltisinden elde edilen süpernatantlar sıvı kromatografisi/kütle spektroskopisi (LC-MS/MS, AGILENT 6460 Triple Quadrupole Sistem (ESI+Agilent Jet Stream) AGILENT 1200 Series HPLC) ile analiz edilmiştir. Analize ait detaylı bilgi **EK 1**’de sunulmuştur. Süpernantta yüklenmeden kalan ilaç miktarı tayin edilerek yükleme verimi **eşitlik 3.1** yardımıyla hesaplanmıştır.

$$\text{Yükleme oranı} = \% \frac{\text{Başlangıç ilaç miktarı} - \text{Süpernatantta kalan miktar}}{\text{Başlangıç ilaç miktarı}} \times 100 \quad (3.1)$$

3.6 UiO-66 Nanokristal Yapıların Karakterizasyon Çalışmaları

Sentezlenen UiO-66 ve Fosfomisin yüklü UiO-66 nanokristallerinin karakterizasyon çalışmaları aşağıda belirtilen analiz yöntemleri ile gerçekleştirilmiştir.

3.6.1 Toz X-ışınları kırınımı (PXRD)

UiO-66, UiO-66/FOS ve UiO-66/FOS-AD kristallerinin PXRD desenleri Cu-K α radyasyon kaynaklı Rigaku Ultima-IV difraktometresi aracılığıyla elde edilmiştir. Nanokristallerin faz içeriklerini tayin etmek amacıyla yapılan PXRD analizinde 5-45⁰ 2 teta aralığı uygulanmıştır. 7,35⁰;10,40⁰ ve 12,75⁰ Bragg açılarındaki piklerin yoğunluk değerleri numunelerin kristal oranlarını karşılaştırmak için kullanılmıştır. UiO-66 kristali %100 kristal oranına sahip olarak kabul edilmiştir.

3.6.2 Fourier dönüşüm kızılötesi spektroskopisi (FTIR-ATR)

Toz haldeki nanokristallerin kimyasal yapılarının analizi amacıyla ATR modunda 4000-500 cm⁻¹ dalga sayısı aralığında 4 cm⁻¹ çözünürlükte FTIR-ATR analizleri gerçekleştirilmiş ve bileşenlere ait spesifik piklerin varlığı belirlenmiştir.

3.6.3 Taramalı elektron mikroskopisi (SEM)

UiO-66, UiO-66/FOS ve UiO-66/FOS-AD nanokristallerinin parçacık boyutları ve yüzey morfolojileri SEM (FEI Quanta 400 FEG) ile tayin edilmiştir. Analizden önce numuneler altın/palladyum ile kaplanmıştır. Parçacık boyutları IMAGE J (USA) programı yardımıyla 50 farklı nanokristalin ortalaması alınarak belirlenmiştir.

3.6.4 Termogravimetrik analiz (TGA)

Nanokristallerin termal davranışlarının tespiti için yapılan çalışmalar 25 ile 800°C sıcaklık aralığında, ısıtma hızı 10°C/dk olacak şekilde, TGA (Perkin Elmer Pyris 1) ile hava ortamında gerçekleştirilmiştir.

3.6.5 Brunauer – Emmett – Teller (BET)

Nanokristallerin yüzey alanı karakterizasyon çalışmaları N₂ adsorpsiyon – desorpsiyon ile yapılmış olup, UiO-66 ve Fosfomisin yüklü UiO-66 izotermi 77 K’de Quantochrome Corporation Autosorb-6 cihazıyla belirlenmiştir. Numuneler analiz öncesinde 40°C’de vakum ortamında 3 gün bekletilerek aktivasyonları sağlanmıştır. Yüzey alanı hesaplamalarında BET (Brunauer– Emmett–Teller) modeli kullanılmıştır.

3.7 Antibakteriyel Aktivite Çalışmaları

Antibakteriyel aktivite çalışmalarında *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*, ATCC 6538) ve *Escherichia coli* (*E. coli*, ATCC 25922) bakterileri kullanılmıştır. Bakteriler, inkübatörde (Nuve, EN 500) 37°C’de aerobik koşullar altında gece boyunca Tryptic Soy Broth (TSB) içinde inkübe edilmiştir. Antibakteriyel deneyler için kullanılan Mueller Hinton Broth (MHB) (pH: 7,4 veya pH:5,5) otoklavlanıp ardından filtre edilmiştir (Minisart şırınga filtresi, Sartorius, 0,22 µm). pH ayarlamaları 1,2 M HCl çözeltisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm işlemler steril koşullarda laminar akış kabini (MN090 Sınıf II, Nuve) gerçekleştirilmiştir. Nanokristaller, antibakteriyel testlerden önce 1 saat UV altında sterilize edilmiştir. Antibakteriyel aktiviteleri incelemek için, MHB (pH 5,4 veya 7,4) içindeki 1 mL *S.aureus* veya *E.coli* süspansiyonu (5×10^3 CFU mL⁻¹), steril 48 kuyulu Petri kabına yerleştirilmiştir (Fortunati vd. 2013, Karakeçili vd. 2019). Her kuyuya MIC ve MBC değerlerinden (**EK 2**) yola çıkılarak belirlenen derişimlerde sterilize edilmiş nanokristaller (0,1, 0,3, 0,5 veya %1, kütle/hacim) ilave edilmiş ve termostatik çalkalayıcı inkübatörde (IKA KS 3000 i Control) 24 saat 37°C’de 100 rpm çalkalama hızında inkübe edilmiştir.

Sadece bakteri süspansiyonlarını içeren kuyucuklar negatif kontrol olarak kullanılmıştır. 24 saatin sonunda, her bir süspansiyondan 100 µL, Mueller Hinton agar üzerinde seri dilüsyonlar (1:10, 1:100 ve 1:1000) ile inokülasyon yapılmıştır. İnokulumlar agar besiyerine yayılmış ve ardından koloni sayımı için 37°C’de 18-24 saat inkübe edilmiştir.

3.8 İstatistiksel Analizler

Deneysel çalışmalardan elde edilenn sonuçların istatistiksel analizi GraphPad Prism 9.1.1 programı kullanılarak bağımsız örneklem t-testi yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Hesaplanan p değerlerine göre anlamlılıkları yorumlanmıştır. p değerinin 0,05'ten küçük olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı şeklinde değerlendirilmiştir.



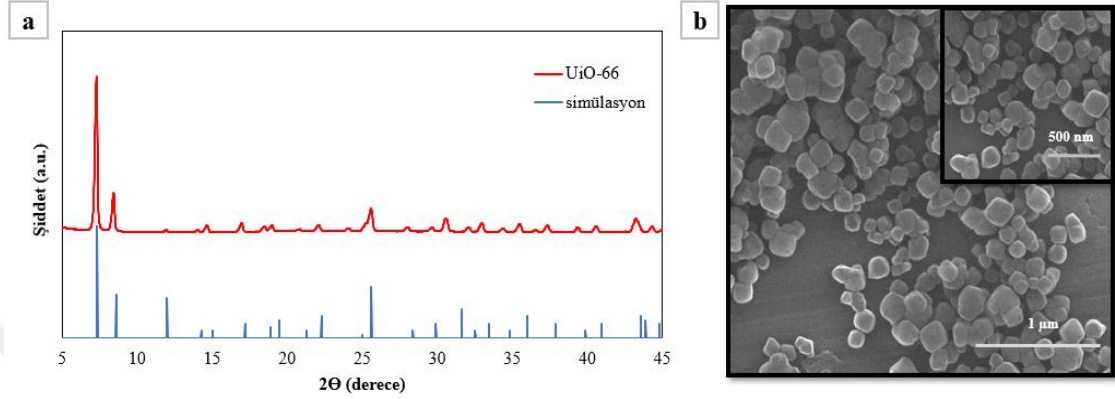
4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu bölümde tez çalışması kapsamında yapılan deneysel çalışmaların bulguları sunulmuştur. UiO-66 nanokristal yapılarının sentezine ait çalışmaların ardından, UiO-66 nanokristalinin farklı çözücü ortamlarında gösterdiği yapısal kararlılıkların analizinden elde edilen sonuçlar sunularak tartışılmıştır. Ardından Fosfomisin yüklü UiO-66 yapılarının sentez ve karakterizasyon çalışmalarına yer verilmiştir. Fosfomisin antibiyotığının UiO-66 nanokristallerine yükleme verimine ait sonuçlar sunulmuştur. Sentezlenen nanokristal yapıların karakterizasyonu Toz X-ışını Kırınımı (PXRD), Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektroskopisi (FTIR-ATR), Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), Termogravimetrik Analiz (TGA) teknikleri ile gerçekleştirilmiş olup yüzey alanı BET modeli ile hesaplanmış ve bu çalışmalara ait sonuçlar yine bu bölümde açıklanarak tartışılmıştır. Son bölümde ise tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen antibakteriyel aktivite çalışmalarından elde edilen sonuçlar sunularak tartışılmıştır.

4.1 UiO-66 Nanokristal Yapıların Sentezi

UiO-66 nanokristallerinin iki aşamalı sentezi ilk defa DeStefano vd. (2017) tarafından gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirdikleri çalışmada, 130°C'de Zr(IV) kümelerinin oluşumuna dayanan ve ardından oda sıcaklığında BDC ile koordinasyonu sonucu UiO-66 yapısının oluşumuna dayanan iki aşamalı prosedürle yüksek kristalliniteye sahip nanoboyutta UiO-66 kristallerinin sentezlenebileceğini göstermişlerdir. Isıya duyarlı biyoaktif maddelerin MOF yapıları içine yüklenmesinde sentez koşulları önemli kısıtlayıcıdır. Yüksek sıcaklıklarda bozulan biyoaktif moleküllerin MOF yapılarına yüklenerek kullanılabilmesi adına, biyoaktif moleküllerin oda sıcaklığında MOF yapılarının sentezi esnasında yüklenebilmesi ciddi avantajları beraberinde getirmektedir. DeStefano vd. (2017), UiO-66 için öne sürdükleri oda sıcaklığında sentezin çok yönlülüğü, kristal çekirdeklenme ve büyüme sırasında Fosfomisinin UiO-66 MOF yapısına *in situ* olarak yüklenmesine olanak sağlamıştır. Tez çalışması kapsamında sentezlenen UiO-66 nanokristaline ait PXRD ve SEM sonuçları, literatürden alınan ve

referans olarak kullanılan PXRD deseni karşılaştırmasıyla birlikte **şekil 4.1**'de sunulmuştur (DeStefano vd. 2017).



Şekil 4.1 (a) Sentezlenen UiO-66 ve referans UiO-66'ya ait PXRD desenleri. (b) UiO-66'ya ait SEM görüntüleri. Dış görsel x100000, iç görsel x200000 (DeStefano vd. 2017)

PXRD analizinden elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, sentezlenen UiO-66 nanokristallerinin, literatürde bildirilen UiO-66'ya ait karakteristik pikler olan $7,35^{\circ}$, $10,40^{\circ}$ ve $12,75^{\circ}$ Bragg açılarındaki piklere sahip olduğu görülmektedir (DeStefano vd. 2017). Bu sonuç UiO-66'nın faz içeriğini koruyarak yeni fazlar meydana gelmediğini göstermektedir. Bu sonuçlar UiO-66 nanokristallerinin literatürle uyumlu olarak başarıyla sentezlendiğini ispatlamaktadır. UiO-66 nanokristallerin morfolojik tayini için gerçekleştirilen SEM analizinden elde edilen sonuçlar değerlendirildiğindeyse, tekil dağılımlı (*mono dispersed*) oktahedral yapılar görülmektedir. Morfolojik yapılar DeStefano vd. (2017) tarafından yayınlanan çalışmayla oldukça benzer olmasına karşın, Image J programı yardımıyla hesaplanan ortalama parçacık çaplarının referans alınan sentez yönteminden elde edilen parçacık çaplarına oranla yarıya yarıya az olduğu görülmüştür. Bu farklılığın, tez çalışması kapsamında uygulanan sentez yönteminin referans alınan yöntemle kıyasla farklı yıkama basamakları ve daha büyük ölçekte yapılan sentezden kaynaklandığı düşünülmüştür. Cavka vd. (2008) ise UiO-66 sentezinde, DeStefano vd. (2017) tarafından kullanılan nispeten farklı bir sentez yöntemi tercih etmişlerdir. Tez çalışması kapsamında sentezlenen UiO-66

nanokristalleriyle kıyaslandığında, PXRD analizinden elde edilen piklerin aynı Bragg açılarında olduğu ve benzer oktahedral dağılımın gözlemlendiği görülmüştür. Bu sonuçlar UiO-66 nanokristallerinin benzer ve farklı koşulların uygulandığı sentez yöntemleriyle kıyaslandığında literatürle uyumlu şekilde başarıyla sentezlendiğini kanıtlamıştır.

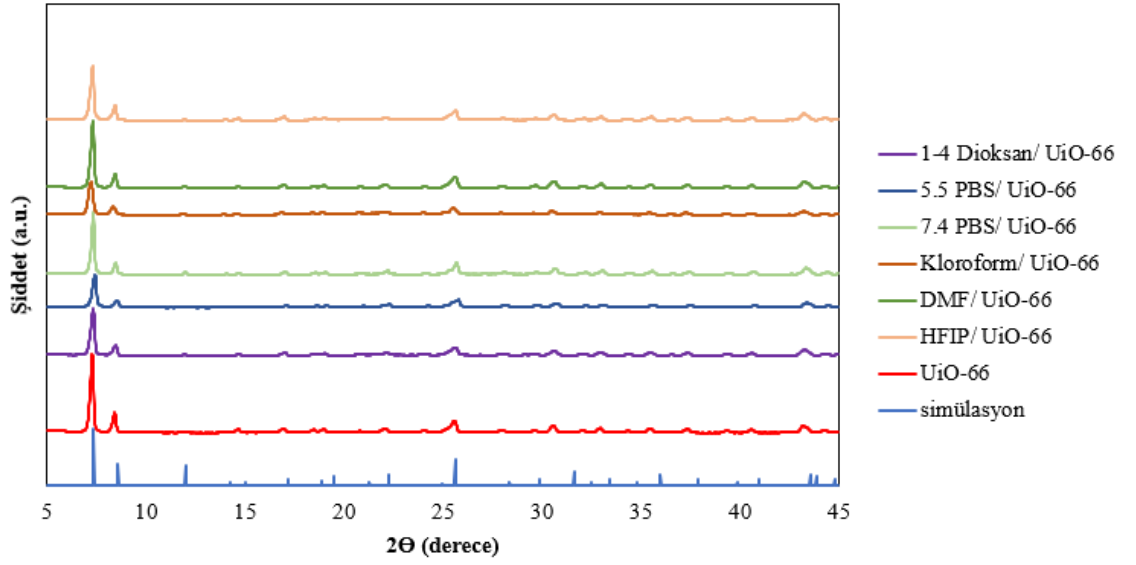
4.2 UiO-66 MOF Yapısının Organik Çözücüler ve Fosfat Tampon Çözeltisi ile Etkileşimi

UiO-66 nanokristalleri ile biyomedikal uygulamalarda sıklıkla kullanılan çeşitli çözücülerin etkileşimlerinin incelendiği deneyler Bölüm 3.3’de açıklandığı şekilde gerçekleştirilmiş olup, UiO-66 nanokristallerinin kristalinitelerindeki değişikliğin belirlenmesi amacıyla PXRD analizi Bölüm 3.6.1’de açıklandığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Çözücü ortamında bekletilen UiO-66 nanokristallerinin morfolojik yapısı ise Bölüm 3.6.3’de açıklandığı şekilde SEM analizi ile tayin edilmiştir.

UiO-66 MOF yapısı ve çeşitli çözücülerle gerçekleştirilen bu çalışmanın temel amacı, MOF nanokristallerinin uygulama alanlarını genişletmek ve farklı çalışmalara ışık tutmaktır. Literatürde MOF yapılarının biyomedikal alanlardaki uygulamalarından özellikle doku mühendisliği alanındaki yaklaşımlarda genellikle polimerik yapıda doku iskeleleri tercih edilmektedir. Bu doku iskelelerinin üretimi için ise organik çözücüler kullanılmaktadır (Karakeçili vd. 2019). Literatürde özellikle elektroegirme ve ıslak egirme tekniklerinin kullanıldığı MOF yüklü doku iskelesi üretimine yönelik çalışmalar yer almaktadır (Kohsari vd. 2016, Fan vd. 2017, Karakeçili vd. 2019, Liu vd. 2020). Bu çalışmalar değerlendirildiğinde ıslak egirme ve elektroegirme yöntemlerinde, MOF yapısının kullanılan çözücüler içerisinde kristal yapısını koruması ve çözücü ortamlarındaki özelliklerinin zamana bağlı değişiminin oldukça önemli olduğu görülmüştür. Ayrıca kontrollü ilaç salım sistemlerinin incelendiği çalışmalarda, fizyolojik koşullara yakın olması sebebiyle deneyler çoğunlukla fosfat tamponlu çözelti içerisinde gerçekleştirilmektedir. Bu çalışmalarda da özellikle zaman ve pH kavramları çalışmaların özgün değerini ortaya koymakta kritik rol oynamaktadır (Kaur vd. 2017,

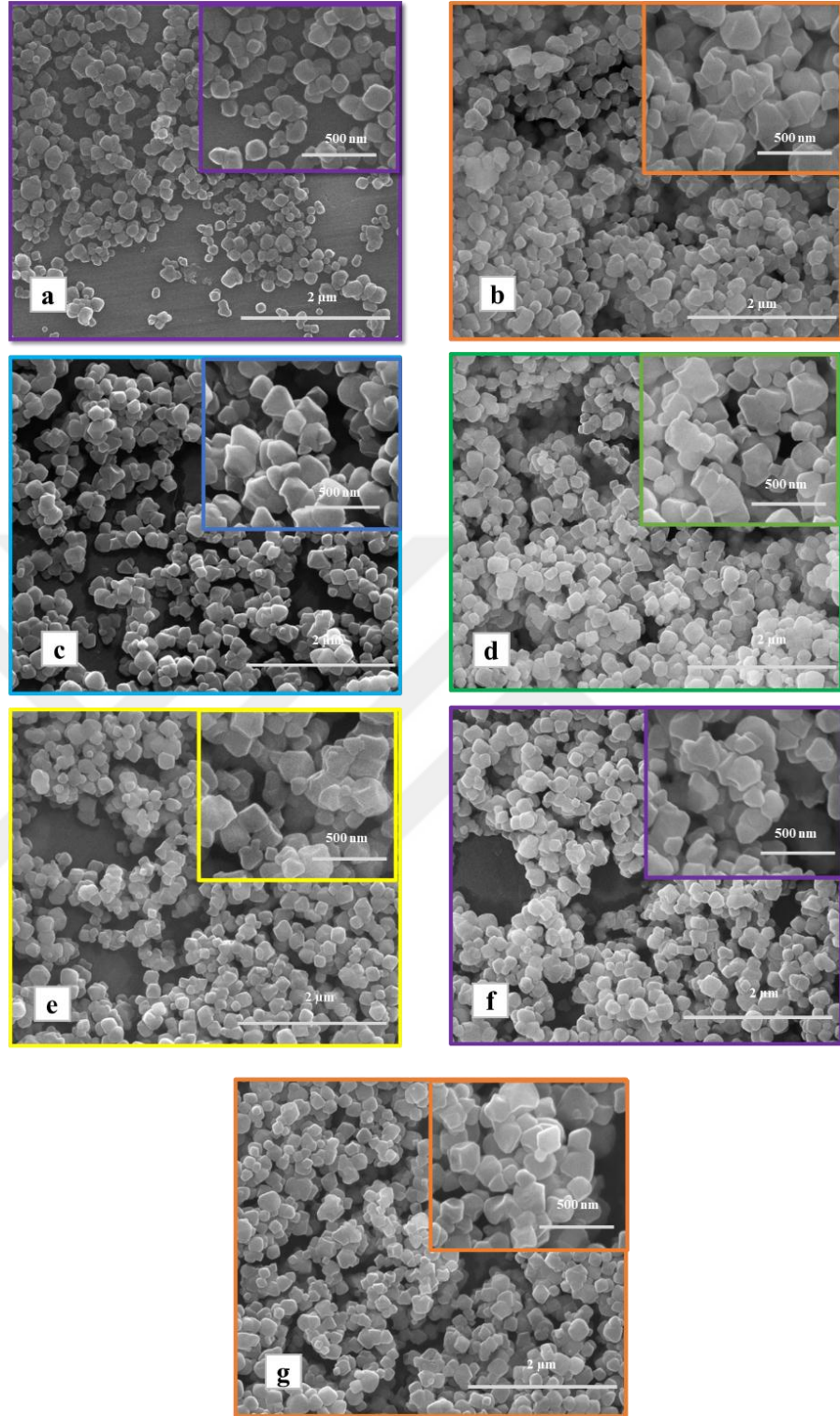
Nasrabadi vd. 2019). Bu kapsamda literatürde bu yöntemler için tercih edilen organik çözücülerle ve farklı pH'lardaki fosfat tampon çözeltisiyle UiO-66 MOF yapısının etkileşimleri kristal yapı ve morfolojik yapı yönlerinden belirlenen sürelerde incelenmiştir.

UiO-66 ve belirlenen çözücü ortamlarında 24 saat süreyle bekletilen UiO-66 nanokristallerine ait PXRD ve SEM analizi sonuçları **şekil 4.2** ve **şekil 4.3**'te sunulmuştur. Sonuçlar değerlendirildiğine; referans olarak belirlenen UiO-66'ya ait karakteristik pikler ile çözücü ortamlarına maruz bırakılan tüm UiO-66 yapılarına ait piklerin örtüştüğü görülmektedir (DeStefano vd. 2017). Bu sonuç UiO-66 nanokristallerinin literatüre göre başarıyla sentezlendiğini kanıtlamakla beraber çözücü içerisindeki UiO-66 nanokristallerinin faz içeriğini koruduğunu ve yeni fazlar oluşmadığını da göstermektedir. UiO-66 nanokristalinin karakteristik pikleri olan $7,35^{\circ}$, $10,40^{\circ}$ ve $12,75^{\circ}$ Bragg açılarındaki pikler üzerinden kıyaslandığında organik çözücüler ile etkileşim sonrası piklerin şiddet değerlerinde azalma olduğu görülmüştür. PXRD analizlerinden elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, UiO-66 şiddet değeri %100 kabul edildiğinde; bağıl kristalinite değerleri DMF/ UiO-66'da %93, HFIP/ UiO-66'da %81, Kloroform/ UiO-66'da %44, pH 7,4 PBS/ UiO-66'da %66, 1,4-Dioksan/ UiO-66'da %64, pH 5,5 PBS/ UiO-66'da %33 olarak bulunmuştur.



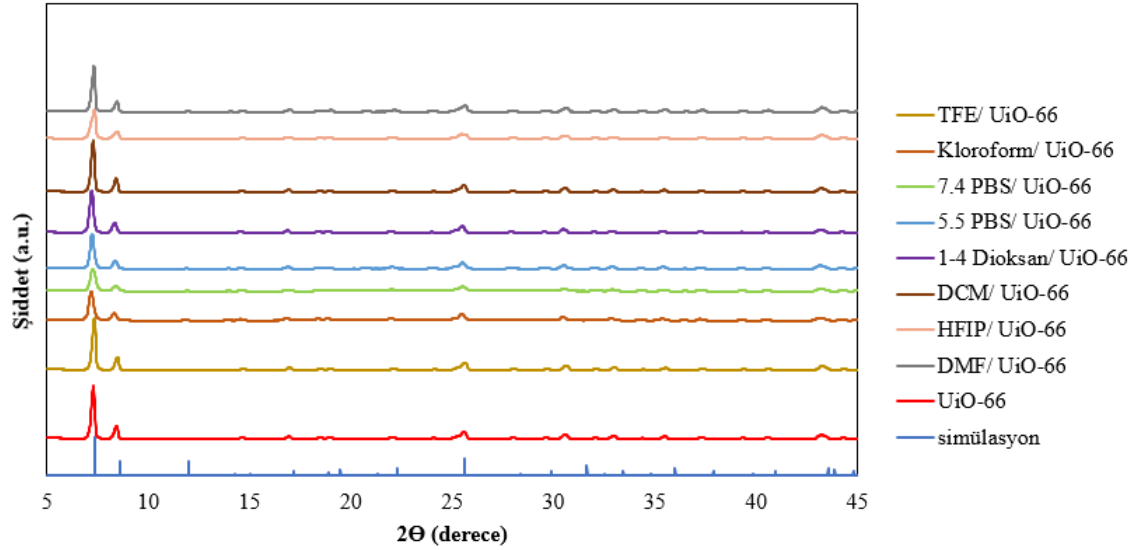
Şekil 4.2 24 saat süresince çözücü ortamlarında bekletilmiş olan DMF/ UiO-66, Kloroform/ UiO-66, pH 7,4 PBS/ UiO-66, pH 5,5 PBS/ UiO-66, 1-4 Dioksan/ UiO-66, HFIP/ UiO-66 ve referans olarak değerlendirilen UiO-66'ya ait PXRD desenleri

Belirlenen çözücüler ile 24 saatlik etkileşim sonrası UiO-66 nanokristallerinin morfolojilerindeki değişim SEM analizleri ile takip edilmiştir. Şekil 4.3'te sunulan SEM görüntüleri incelendiğinde, çözücü ortamlarındaki nanokristallerde UiO-66'ya kıyasla farklılık tespit edilmemiş, tekil dağılımlı oktahedral morfoloji korunmuştur.



Şekil 4.3 Çözücü ortamlarında 24 saat süreyle bekletilmiş UiO-66'ya ait SEM görüntüleri (a) UiO-66 x100000 (b) Kloroform/ UiO-66 x100000 (c) DMF/ UiO-66 x100000 (d) PBS 7.4/ UiO-66 x100000 (e) PBS 5.5/ UiO-66 x100000 (f) 1,4-Dioksan/ UiO-66 x100000 (g) HFIP/ UiO-66 x50000. İç görseller x200000

UiO-66 nanokristallerin çözücü ortamlarında 48 saat süreyle etkileşimi sonucu elde edilen PXRD sonuçları **şekil 4.4**'de sunulmuştur.



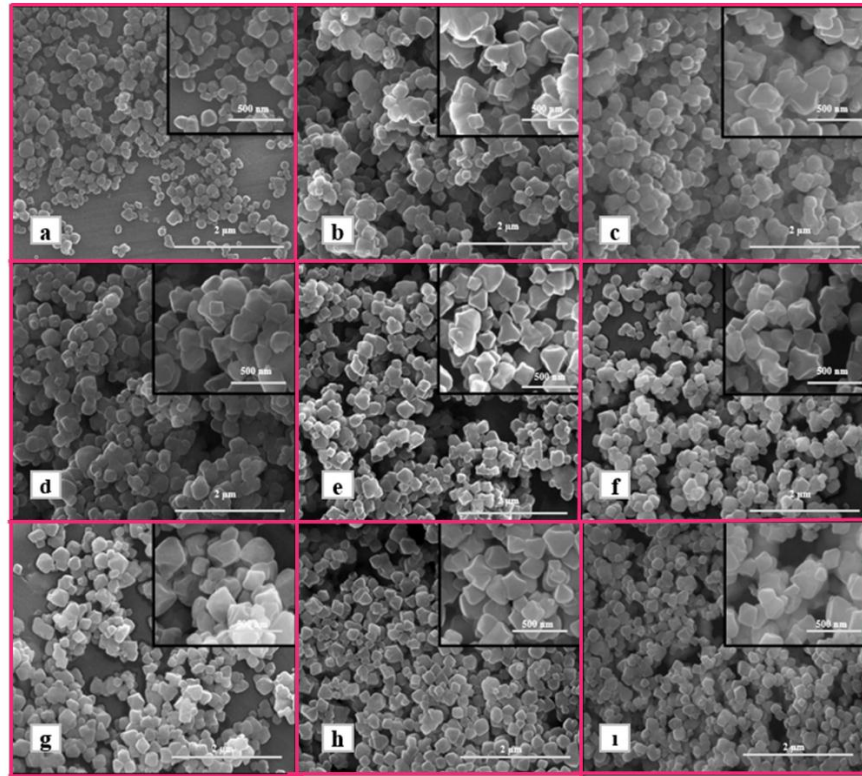
Şekil 4.4 UiO-66, 48 saat süresince çözücü ortamlarında bekletilmiş olan DMF/ UiO-66, TFE/ UiO-66, Kloroform/ UiO-66, 7.4 PBS/ UiO-66 (pH:7,4 iken), 5,5 PBS/ UiO-66 (pH: 5,5 iken), 1-4 Dioksan/ UiO-66, DCM/ UiO-66 ve HFIP/ UiO-66'ya ait PXRD desenleri

PXRD analizinden elde edilen sonuçlarda şiddet değerindeki değişimler karşılaştırıldığında referans olarak belirlenen UiO-66'ya göre bağıl kristalinite değerleri sırasıyla DCM/ UiO-66'da %98, TFE/ UiO-66'da %95, DMF/ UiO-66'da %81, 1,4-Dioksan/ UiO-66'da %66, PBS/ UiO-66 (pH 7,4 için) %58, HFIP/ UiO-66'da %50 Kloroform/ UiO-66'da %48, PBS/ UiO-66 (pH 5,5 için) ise %46 olarak bulunmuştur. Referans UiO-66 %100 kabul edildiğinde çözücü ortamlarındaki UiO-66 nanokristallerinin 48 saat için, UiO-66'ya göre kristalinite benzerlikleri **çizelge 4.1**'de verilmiştir.

Çizelge 4.1 48 saat süresince çözücü ortamlarında bekletilen UiO-66 nanokristallerinin bağıl kristaliniteleri

Çözücü/ UiO-66	Bağıl kristalinite değerleri
DCM/ UiO-66	98
TFE/ UiO-66	95
DMF/ UiO-66	81
1,4-Dioksan/ UiO-66	66
pH 7,4 PBS/ UiO-66	58
HFIP/ UiO-66	50
Kloroform/ UiO-66	48
pH 5,5 PBS/ UiO-66	46

Yüzey morfolojisinin tayini amacıyla gerçekleştirilen, çözücü ortamındaki UiO-66 partiküllerine ait SEM görüntüleri **şekil 4.5**'de verilmiştir.



Şekil 4.5 UiO-66 ve tampon çözeltilerde 48 saat sürede bekletilmiş UiO-66 nanokrisallerine ait SEM görüntüleri. (a) UiO-66 x100000 (b) TFE/ UiO-66 x100000 (c) DCM/ UiO-66 x100000 (d) DMF/ UiO-66 x100000 (e) Kloroform/ UiO-66 x100000 (f) 7.4 PBS/ UiO-66 x100000 (g) 5.5 PBS/ UiO-66 x100000 (h) 1,4-Dioksan/ UiO-66 x100000 (i) HFIP/ UiO-66 x100000. İç görseller x200000

Yüzey morfolojilerindeki değişim, PXRD sonucunda şiddet değerlerindeki değişimlerle kıyaslandığında SEM analizinde belirgin farklılıklar gözlemlenmemiştir. Tüm çözücü ortamlarında bekletilen UiO-66 nanokristallerinde tekil dağılımlı oktahedral yapı korunmuştur.

Çözücü partikül etkileşimi deneylerinden elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, UiO-66 nanokristallerinin belirlenen çözücüler içerisinde en çok TFE ve DCM içerisinde kristalinitesini koruduğu görülmektedir. Ayrıca UiO-66 içeren doku iskelesi üretimlerinde, 24 saat ve daha az sürelerde UiO-66 yapısında bozunma görülmeyeceği için çözücü olarak HFIP'nin de TFE ve DCM gibi kullanılabilmesi gösterilmiştir. Kristalinite değerindeki düşüşün ise en fazla pH 5,5 değerinde PBS içerisinde olduğu belirlenmiştir. Buzek vd. (2021) yaptıkları çalışmada UiO-66 nanokristalinin PBS içerisindeki yapısal bütünlüğünü teraftalik asit bağlarındaki kopmayı ele alarak incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmalar sonucunda, 3 saatin sonunda PBS içerisindeki UiO-66 nanokristallerine ait teraftalik asit bağlayıcılarının %80'inin koptuğunu bildirmişlerdir. Tez çalışmasından elde edilen sonuçlarda bu kadar dramatik bir bozunmanın ancak 48 saat sonunda gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Literatürle olan bu farklılığın sebebinin fosfat tampon tuz çözeltisinin derişimine bağlı olduğu düşünülmüştür. Buzek ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda PBS derişimi düştükçe bozunmanın yavaşladığı, pH değerinde azalma oldukça ise bozunmanın arttığı rapor edilmiştir. Kullanılan PBS derişimlerine bağlı olarak bu sonuçlar tez çalışmasından elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermektedir. pH 5,5 PBS ortamındaki bozunmanın pH 7,4 PBS ortamına göre çok daha kısa sürede ve fazla miktarda olduğu ispat edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar sayesinde UiO-66'nın biyomedikal alanlardaki çalışmalarında sekiz farklı çözücü içerisinden farklı amaçlar doğrultusunda hangi çözücünün tercih edilebileceğine dair yol gösterilmiştir. Tez çalışması kapsamında UiO-66 ile hedeflenen antibiyotik taşıyıcı sistem çalışmalarında, pH 7,4 sağlıklı dokuların, pH 5,5 ise enflamasyon durumunda gözlemlendiği için bu pH'lardaki PBS tampon çözeltilerinin amaca uygun tercihler olduğu kanıtlanmıştır.

4.3 Fosfomisin Yüklü UiO-66 MOF Yapıların Sentezi ve Karakterizasyonu

Tez çalışması kapsamında, Fosfomisin yüklü UiO-66 MOF yapıların sentezi ve karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalarda, Fosfomisinin nanokristallerin sentezi aşamasında (*in-situ*) enkapsülasyonu veya sentez sonrası elde edilen UiO-66 nanokristallere adsorpsiyonu ile Fosfomisin yükleme çalışmaları yapılmıştır. Fosfomisinin sentez sırasında ortama eklendiği çalışmalarda, Fosfomisin miktarının, sıcaklığın ve reaksiyon süresinin enkapsülasyona olan etkileri **çizelge 3.1**'de belirtildiği şekilde incelenmiştir. Tez çalışmasındaki temel amaç Fosfomisin antibiyotiğini UiO-66 nanokristaline yüksek yükleme verimiyle başarıyla yükleyip, en az antibiyotik derişimiyle en etkin antibakteriyel sonuçlar almaktır. Bu kapsamda çizelge 3.1'de belirtildiği üzere farklı koşullarda sentezler gerçekleştirilmiş ve belirlenen amaç için karakterizasyon çalışmaları yardımıyla en optimum nanokristal yapının belirlenmesi hedeflenmiştir.

4.3.1 Yükleme verimi

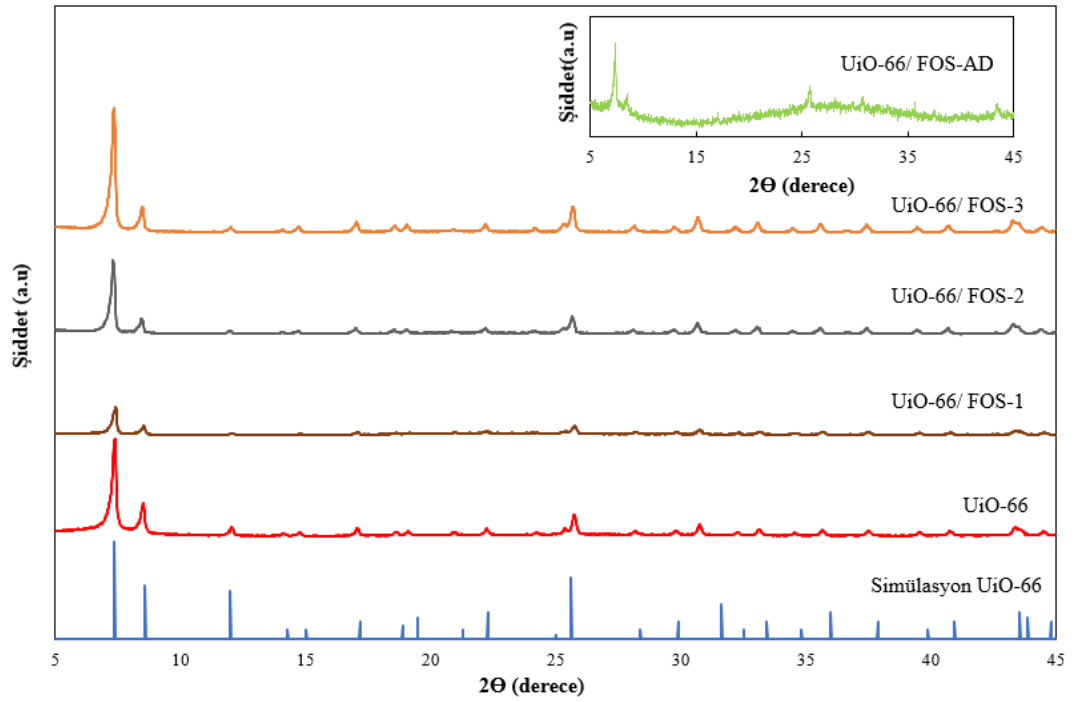
İndirekt yolla hesaplanan Fosfomisinin yükleme verimliliği, yükleme yöntemine (enkapsülasyon veya adsorpsiyon) göre farklılık göstermiştir. UiO-66/FOS-1, UiO-66/FOS-2 ve UiO-66/FOS-3 (UiO-66/FOS) nanokristalleri için yükleme verimleri sırasıyla $87,7 \pm 6,4$ %, $90,8 \pm 3,0$ % ve $89,7 \pm 4,1$ % olarak hesaplanmıştır. Fosfomisinin sentez esnasında ortama eklenmesiyle, yani *in situ* enkapsülasyon yöntemiyle sentezlenen UiO-66/FOS nanokristalleri için ortalama ~ 90 % yüksek bir yükleme verimi elde edilmiştir. Buna karşın, Fosfomisin adsorpsiyon yöntemiyle sentez sonrası yüklendiğinde ise UiO-66/FOS-AD nanokristalleri için antibiyotiğin yükleme verimi ~ 70 % olarak hesaplanmıştır.

MOF yapılarının ilaç taşıyıcıları olarak kullanılmasındaki en önemli özellik, çoğunlukla yüksek ilaç yükleme kapasitelerinden kaynaklanmaktadır (Keskin ve Kızılel 2011, Cai vd. 2019, Wang vd. 2020). Literatürdeki çalışmalar değerlendirildiğinde UiO-66

nanokristaline ilaç yüklenmesi çoğunlukla adsorpsiyon yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Zhu vd. (2014), UiO-66'ya alendronat ilacını adsorpsiyon yöntemiyle yükleyerek 1 gram UiO-66'ya 1,06 gram alendronatı yüklemişlerdir. Wang vd. (2021) ise UiO-66-PDC'ye Ibuprofeni %27'lik bir verimle adsorbe etmişlerdir. A. Lazaro vd. (2020), UiO-66'ya birden çok ilacı sentez sonrası adsorpsiyon yöntemiyle sırasıyla, dikloroasetik asiti %11, alendronatı %27,5, 5-FU ilacını ise yine sentez sonrası adsorpsiyon yoluyla %1,2 verimle yüklemişlerdir. Nasrabadi vd. (2019), yaptıkları çalışmada UiO-66 içerisine ciprofloxacin antibiyotigini %84'lük bir verimle *in situ* enkapsülasyonla yüklediklerini ve bu verimin literatürdeki en yüksek değer olduğunu bildirmişlerdir. UiO-66 nanokristaline yüklenen ilaç verimleri değerlendirildiğinde ilacın adsorpsiyonla yüklendiği yaklaşımda, enkapsülasyona göre yükleme verimi dramatik şekilde azalmaktadır. Tez çalışmasında hesaplanan yükleme verimi, enkapsülasyon yöntemi göz önüne alındığında UiO-66 için oldukça yüksek bir orandır. Yükleme verimiyle ilgili yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, yüksek yükleme verimliliği nedeniyle, enkapsülasyon yönteminin Fosfomisin taşıması için adsorpsiyondan daha etkili olduğunu literatürle uyumlu şekilde kanıtlamıştır. Tez çalışmasından elde edilen sonuçlar, enkapsülasyon ve adsorpsiyon olarak ayrı ayrı değerlendirildiğinde, literatürdeki en yüksek ilaç yükleme verimleri olarak bulunmuştur. Enkapsülasyon ile yükleme veriminin yüksek olmasının sebebi Fosfomisin moleküllerinin sentez esnasında (*in situ*) yüklenmesinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Adsorpsiyon ile yükleme veriminin literatüre göre yüksek olmasının sebebinin ise UiO-66 nanokristallerinin sentez sonrasında, literatürdeki sentez yöntemlerinden farklı olarak DMF ve etanol ile üçer defa yıkanarak, gözenek açıklıklarının etkin olarak aktive edilmesi ve literatüre göre kristal boyutunun daha küçük olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

4.3.2 Toz X-ışınları kırınımı (PXRD)

Sonuçları **şekil 4.6**'da verilen PXRD analizinden elde edilen veriler değerlendirildiğinde, tüm örneklere ait desenlerin referans (simülasyon) desen ile uyumlu olduğu görülmüştür (DeStefano vd. 2017).



Şekil 4.6 Simüle edilmiş UiO-66, sentezlenen UiO-66 ve farklı koşullarda Fosfomisin yüklenmiş UiO-66-FOS nanokristallerine ait PXRD desenleri

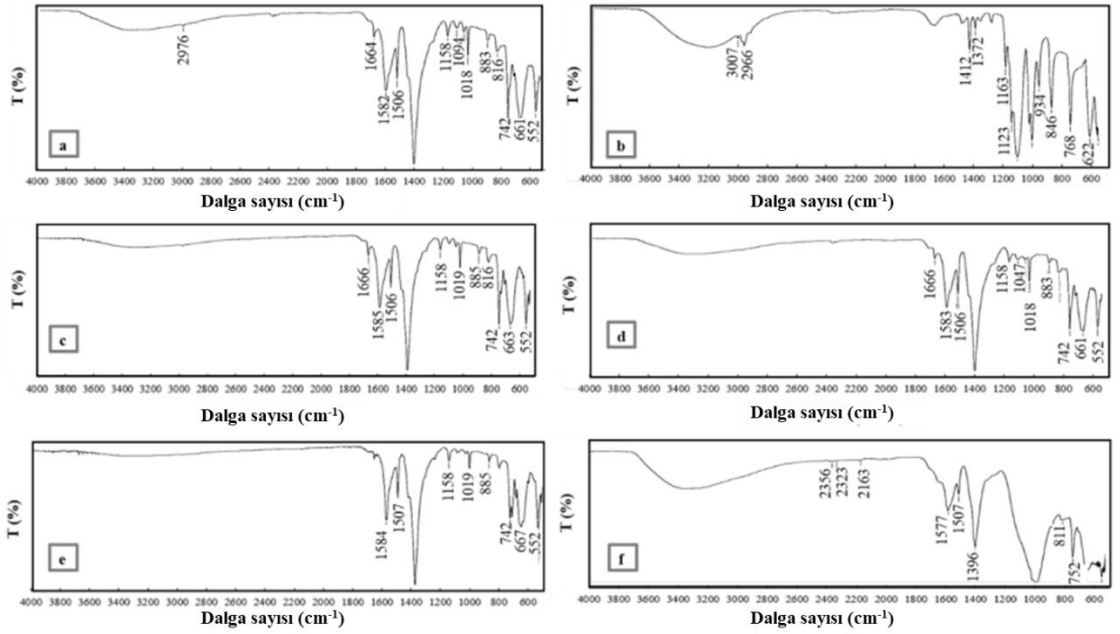
Fosfomisinin UiO-66 sentezi sırasında sentez ortamına eklendiği ve enkapsüle edildiği UiO-66/FOS-2 ve UiO-66/FOS-3 nanokristallerinin, sentez ve yükleme sonrasında kristal yapılarını korudukları görülmektedir. Ancak UiO-66'nın karakteristik pikleri olan $7,35^{\circ}$, $10,40^{\circ}$ ve $12,75^{\circ}$ Bragg açılarındaki piklerin şiddet değerlerinde azalma söz konusudur. Bu azalmanın Fosfomisinin UiO-66 nanokristaline enkapsülasyonuna bağlı olduğu düşünülmüştür. Fosfomisinin varlığında şiddet değerlerinde gözlemlenen düşüş literatürle uyumlu olarak UiO-66 çerçeve ve gözenek boşlukları arası X-ray kontrastının zayıflaması ile açıklanabilir (Gu vd. 2005, Gu vd. 2012). Karakeçili vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada da benzer bir sonuca rastlanmış, vankomisin yüklü ZIF-8 nanokristallerinin şiddet değerlerindeki düşüşün vankomisin yüklenmesinden kaynaklandığı öne sürülmüştür.

UiO-66 nanokristalleri ile karşılaştırıldığında, UiO-66/FOS-2 (0,416 mg/ml FOS, 24 sa, 35°C) şiddet değerinde yaklaşık %30 oranında bir azalma söz konusudur. Sıcaklığın ve reaksiyon süresinin arttırılmasıyla sentezlenen UiO-66/FOS-3 (0,416 mg/ml FOS, 48 sa,

40°C) nanokristallerinin ise şiddet değerleri yaklaşık olarak %2,5 oranında azalmıştır. Bu sonuç, sentez yönteminde tercih edilen sıcaklık ve uzun reaksiyon süresinin yapıdaki kristallliği korumada etkin olduğunu işaret etmektedir. Fosfomisin miktarının arttırılarak (0,833 mg/ml FOS, 24 sa, 35°C) sentez ortamına eklendiği çalışmalarda yani UiO-66/FOS-1 nanokristallerinde ise şiddet değerlerinde yaklaşık %72 oranında belirgin bir azalma görülmüştür. Bu dramatik azalmanın sebebinin yüksek miktardaki Fosfomisinin UiO-66 yapısını etkilediği, ilaç moleküllerinin UiO-66 yapısı içine enkapsülasyonuna ek olarak kristal yapının yüzeyine de adsorplanarak kristal yapıyı olumsuz yönde etkilediği düşünülmüştür. UiO-66 nanokristallerinin sentezi sonrası, Fosfomisinin adsorpsiyon yöntemiyle nanokristallere yüklendiği UiO-66/FOS-AD yapılarında ise şiddet değerlerinin ciddi oranda azaldığı ve UiO-66 nanokristaline ait karakteristik desenlerin kaybolduğu görülmektedir. Bu durumun kristal yapının bozulmayısıyla ilgili değil, antibiyotik moleküllerinin büyük çoğunlukla kristal yapının yüzeyini kaplamasından kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. Adsorpsiyon yöntemiyle nanokristallere ilaç yüklendiğinde, yapının yüzeyine adsorplanan ilaç moleküllerinin o yapıda kristalinite değerinde düşüslere neden olduğu bilinmektedir. Zhu vd. (2014) tarafından yapılan ve UiO-66 ile gerçekleştirilen bir çalışmada da alendronat ilacı adsorplamasından sonra kristalinite değerinde dramatik azalmaların olduğu rapor edilmiştir.

4.3.3 Fourier dönüşüm kızılötesi spektroskopisi (FTIR-ATR)

UiO-66 ve Fosfomisin yapısına ait karakteristik bantları gösteren FTIR-ATR spekturumları **şekil 4.7**'de sunulmuştur.



Şekil 4. 7 (a) UiO-66, (b) Fosfomisin, (c) UiO-66/FOS-1, (d) UiO-66/FOS-2, (e) UiO-66/FOS-3, (f) UiO-66/FOS-AD nanokristallerine ait FTIR-ATR spektrumları

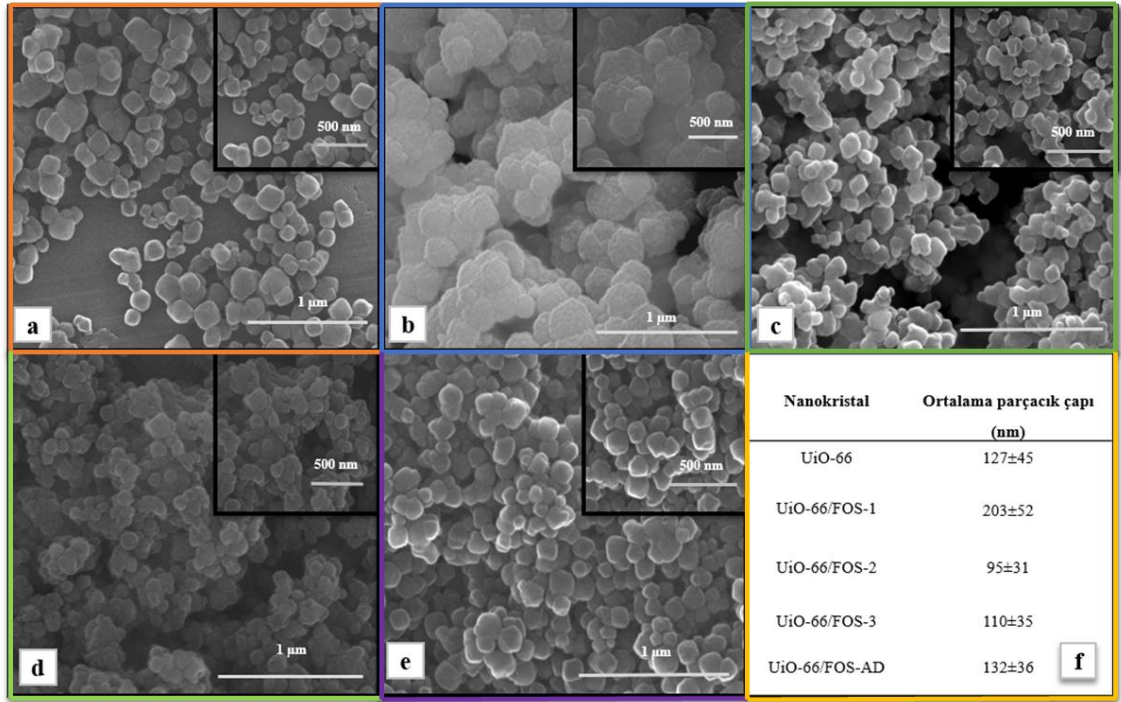
UiO-66 için, 1664 cm^{-1} piki, organik bağlayıcı olan BDC'deki karboksilik asidin C=O germe titreşimlerine aittir. 1582 cm^{-1} ve 1391 cm^{-1} 'deki pikler, sırasıyla BDC bağlayıcısının O-C-O asimetrik ve simetrik gerilmesine aittir. 742 cm^{-1} ve 661 cm^{-1} 'deki bantlar ise BDC'deki O-H ve C-H vibrasyonlarını göstermektedir (Zhang vd. 2019). Fosfomisin spektrumunda $\sim 3000\text{ cm}^{-1}$ 'deki zayıf bant C-H gerilme titreşimlerine aittir. 1412 cm^{-1} ve 1270 cm^{-1} 'deki pikler sırasıyla CH_3 deformasyonu ve C-C titreşimlerini göstermektedir. 1123 cm^{-1} ve 1082 cm^{-1} 'deki pikler ise, PO_3^{2-} 'deki germe titreşimlerine aittir. 1050 cm^{-1} ve 981 cm^{-1} 'deki pikler P-O gerilme titreşimlerini işaret etmektedir (Tucker vd. 2021). Fosfomisinde P-O titreşimlerine atfedilen bu tepe noktaları, UiO-66/FOS-AD spektrumunda 988 cm^{-1} civarında geniş bir bant ile ortaya çıkmıştır. Fosfomisine ait bu bandın UiO-66/FOS-AD yapısında belirgin şekilde gözlemlenmesi Fosfomisinin adsorpsiyon yoluyla UiO-66'ya başarıyla yüklendiğini ve kristal yapının yüzeyinde yoğunlaştığını işaret etmektedir. Fosfomisinin kimyasal yapısından kaynaklı olarak UiO-66/FOS-AD yapısında gözlemlenen 988 cm^{-1} bandın, enkapsülasyon yöntemiyle sentezlenen UiO-66/FOS yapılarında gözlemlenmemiştir. Fosfomisinin *in situ* enkapsülasyon ile yüklenmesi sonucu elde edilen UiO-66/FOS-1, UiO-66/FOS-2 ve

UiO-66/FOS-3 nanokristallerine ait FTIR-ATR spektrumlarının UiO-66 ile benzer olduğu görülmektedir (Şekil 4.7 c,d,e). Bu sonuçlar, Fosfomisin moleküllerinin UiO-66 nanokristallerine başarıyla enkapsüle edildiğini ve çoğunlukla nanokristal yapının içine yerleştiği sonucunu desteklemektedir.

PXRD analizi ve FTIR-ATR analizinden elde edilen sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, her iki analiz sonucu da birbirini desteklemektedir. UiO-66/FOS-AD nanokristalleri için PXRD analizi sonucunda kristalinite değeri dramatik düşüşler ve spesifik piklerin kaybolduğu görülmüştür. FTIR-ATR analizinde ise UiO-66/FOS-AD'a ait spektrumda UiO-66 nanokristallerinden ziyade Fosfomisin moleküllerine ait spektrumlar belirgin şekilde görülmektedir. Bu sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde UiO-66/FOS-AD nanokristalleri için Fosfomisin moleküllerinin UiO-66 yapısının merkezindense yüzeyindeki gözeneklere yüklendiğini söylemek mümkündür. Fosfomisinin *in situ* enkapsülasyonla yüklendiği nanokristallerde ise kristalinite dramatik azalmalar görülmemekte ve FTIR-ATR spektrumlarında bu yapıların tamamı UiO-66'ya ait spesifik pikleri korudukları görülmektedir. Bu nedenle UiO-66/FOS yapılarında Fosfomisinin çoğunlukla UiO-66 nanokristalinin içine enkapsüle düşünülmüştür.

4.3.4 Taramalı elektron mikroskopisi (SEM)

UiO-66 ve Fosfomisin yüklü UiO-66 nanokristallerinin morfolojik yapılarını incelemek amacıyla yapılan SEM analizinden elde edilen görüntüler **şekil 4.8**'de verilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde, literatürle uyumlu şekilde hem UiO-66 hem de UiO-66/FOS nanokristallerinde eşit dağılımlı oktahedral yapıların varlığı görülmektedir (DeStefano vd. 2017). Gerçekleştirilen SEM analizinden alınan görüntülerin her birinden 50 farklı nanokristalin parçacık çapları Image J programı yardımıyla belirlenerek **şekil 4.8**'de ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde gösterilmiştir.



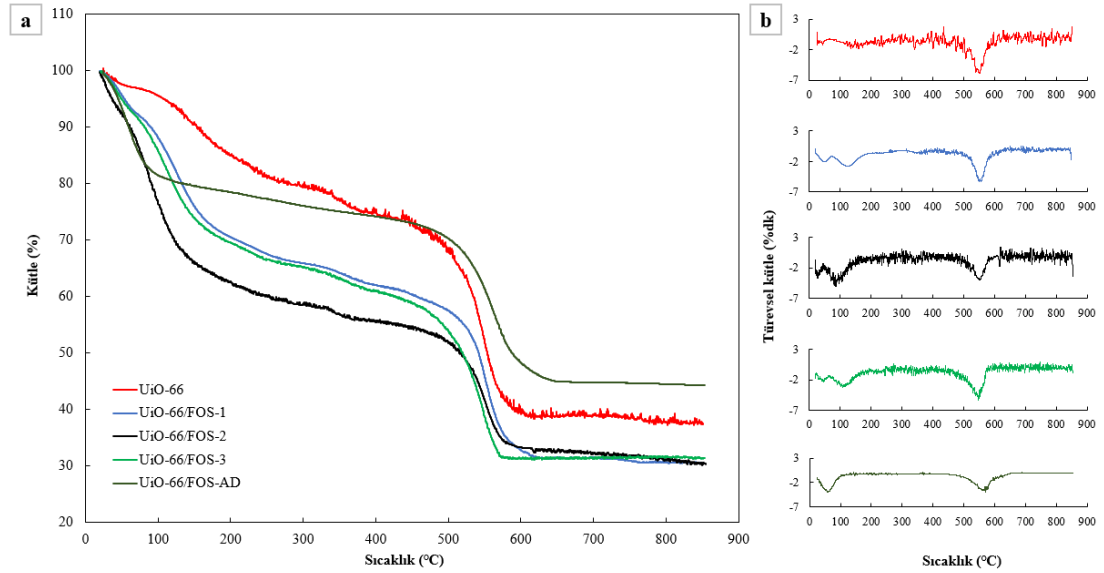
Şekil 4.8 UiO-66, UiO-66/FOS ve UiO-66/FOS-AD nanokristallerinin SEM görüntüleri. (a) UiO-66, x100000 (b) UiO-66/FOS-1, x100000 (c) UiO-66/FOS-2 x100000 (d) UiO-66/FOS-3, x100000 (e) UiO-66/FOS-AD x100000. İç görseller x200000 (f) UiO-66, UiO-66/FOS ve UiO-66/FOS-AD nanokristallerinin ImageJ ile hesaplanmış ortalama parçacık çapları

Literatürle karşılaştırıldığında, UiO-66 nanokristalleri için parçacık çaplarında yaklaşık yarı yarıya bir azalma görülmekle beraber, bu azalmanın sebebinin sentez koşullarında yapılan değişikliklerden ve sentez ortamının literatürden daha büyük ölçekte olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür (DeStefano vd. 2017). Ortalama parçacık çapları ele alındığında, nanokristaller Fosfomisin yüklendikten sonra morfolojilerini korumuş ve parçacık boyutları ortalama olarak %94 gibi yüksek oranda benzerlik göstermiştir. Bununla birlikte, Fosfomisin miktarının diğer UiO-66/FOS nanopartiküllerine oranla iki kat fazla olduğu (0.833 mg/ml) UiO-66/FOS-1 yapısında UiO-66'ya göre gözlemlenen çap artışı, UiO-66 nanokristallerine Fosfomisin yüklenmesi sonucu parçacık boyutlarında artış olduğunu kanıtlamaktadır. Bölüm 4.2.2'de açıklanan PXRD analizinden elde edilen sonuçlar da benzer şekilde fazla miktarda yüklenen Fosfomisin moleküllerinin UiO-66 kristal yapısını etkilediği sonucunu desteklemektedir. UiO-66/FOS-AD yapısındaki boyut değişiminin önemli

ölçüde olmadığı görülmektedir. Bu durumun temel nedeni, Fosfomisin moleküllerinin UiO-66 nanokristalinin içine değil yüzeyindeki gözenek açıklıklarına adsorbe edilerek yüklenmiş olmasıdır.

4.3.5 Termogravimetrik analiz (TGA)

UiO-66 ve Fosfomisin yüklü UiO-66 nanokristallerine ait TGA sonuçları **şekil 4.9**'da verilmiştir. Bozunma sıcaklıkları ve % kütle kayıpları ise **çizelge 4.2**'de sunulmuştur.



Şekil 4.9 UiO-66, UiO-66/FOS ve UiO-66/FOS-AD nanokristallerinin termal bozunmasını gösteren TGA eğrileri (a) ve türevsel kütle kaybı eğrileri (b)

Çizelge 4.2 UiO-66 ve UiO-66/FOS nanokristallerinin termal bozunma sıcaklıkları ve yüzde kütle kayıpları

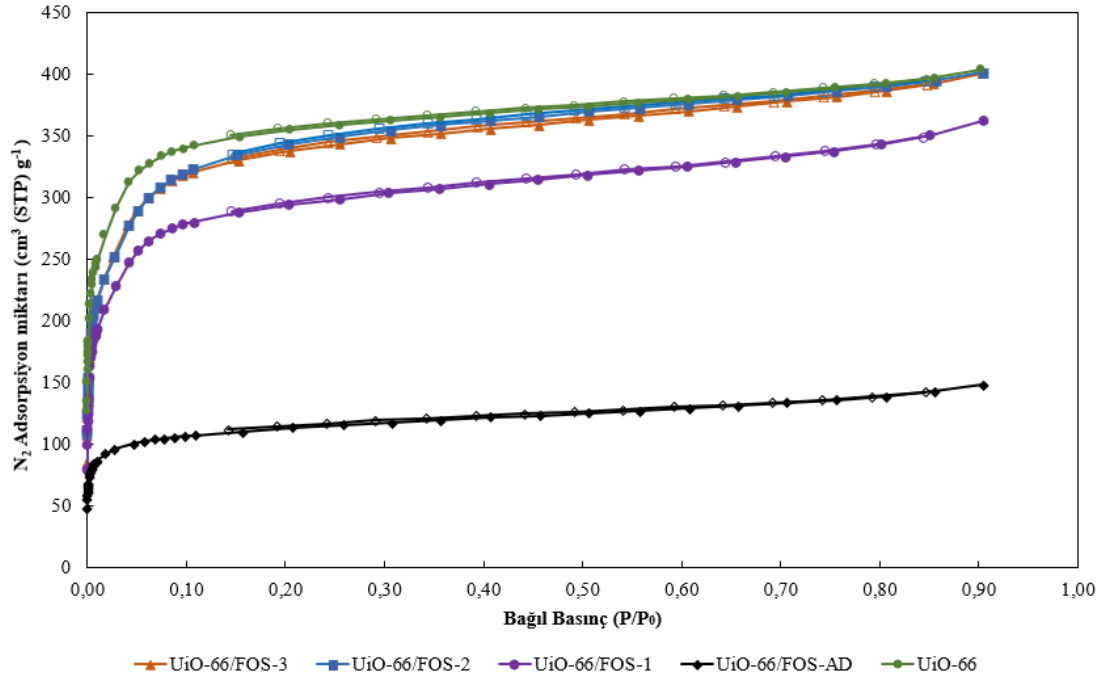
Nanokristal yapı	Bozunma sıcaklıkları (° C)	Kütle kaybı (%)
UiO-66	552,8	62,6
UiO-66/FOS-1	120,2; 555,5	69,4
UiO-66/FOS-2	85,6; 552,8	69,6
UiO-66/FOS-3	89,9; 549,4	68,4
UiO-66/FOS-AD	55,6; 569,4	55,6

Tüm örnekler için üç aşamalı gözlemlenen kütle kayıpları, yüzey su moleküllerinin/Fosfomisin uzaklaşması (<120 °C), gözenekler içerisinde kalan DMF molekülünün uzaklaşması (150-300 °C) ve UiO-66 yapısının bozunması (480-575 °C), olarak açıklanabilir. Sıcaklığa bağlı kütle kayıplarının daha net görülebilmesi adına türevsel sonuçlar da **şekil 4.9 b'**de verilmiştir. Fosfomisin moleküllerinin varlığı ısısal kararlılığı etkilememiş ve yaklaşık 550 °C bozunma sıcaklığı literatürle uyumlu olarak bulunmuştur (Cavka vd. 2008). UiO-66 nanokristallerinin termal bozunma eğrisinde görünmeyen, ancak ilaç yüklü UiO-66/FOS nanokristallerde görülen 55-121⁰ C aralığındaki kütle kayıplarının Fosfomisin molekülünün bozunması sonucu gözlemlendiği sonucuna varılmıştır. **Şekil 4.9 b'**den de görüleceği üzere, antibiyotiğin enkapsülasyonla yüklendiği nanokristallerde belirgin kütle kayıpları UiO-66 nanokristaline benzer bir şekilde 550 °C civarındayken, antibiyotiğin adsorpsiyonla yüklendiği UiO-66/FOS-AD nanopartikülünde 50 °C sıcaklıkta da belirgin bir bozunma söz konusudur. Bu düşük sıcaklıktaki kütle kaybının sebebinin Fosfomisin moleküllerinin adsorpsiyonla yükleme sonucunda UiO-66 nanopartikülünün yüzeyini kaplaması sonucu olduğu düşünülmüştür. Adsorpsiyon işlemi sonucu elde edilen UiO-66/FOS-AD nanopartiküllerinin onset sıcaklıklarının, enkapsülasyon sonucu elde edilen nanopartiküllerden daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. UiO-66 nanokristallerinin teorik olarak yüzde kütle kaybı, ısıl işlem sonrasında kalıntının ZrO₂ olduğu varsayımı ile %67,1 olarak hesaplanmıştır. UiO-66 nanokristalinde görülen toplam kütle kayıpları literatürle uyumlu olarak bulunmuştur (Xu vd. 2019). UiO-66/FOS-AD yapısında ise Fosfomisin moleküllerinin yüzeye tutunarak termal kararlılığı etkilemesi sebebiyle ısıl işlem sonucu gözlemlenen kütle kaybı da daha düşük oranlarda gözlemlenmiştir.

4.3.6 Brunauer – Emmett – Teller (BET)

UiO-66 ve Fosfomisin yüklü UiO-66 nanokristalleri 77K'de N₂-adsorpsiyon/desorpsiyon analizi ile karakterize edilmiş ve sonuçları **şekil 4.10'**da ve **çizelge 4.3'**de sunulmuştur. UiO-66 nanokristalleri, ilaç moleküllerinin varlığından bağımsız olarak, mikro gözenekli malzemeler için karakteristik olan Tip-I izoterm tipine sahip bulunmuştur. Bu durum, UiO-66'nın yapısal bütünlüğünün, Fosfomisinin

enkapsülasyon ya da adsorpsiyon yoluyla nanokristale yüklenmesinden sonra da korunduğunu göstermektedir. 35°C'de sentezlenen UiO-66 nanokristallerinin BET yüzey alanı (1375 m²/g), literatürde belirtilen 1320-1450 m²/g değerler aralığıyla uyumlu olarak bulunmuştur (Katz vd. 2013, Zhu vd. 2014, DeStefano vd. 2017). **Çizelge 4.3**'te verilen sonuçlar değerlendirildiğinde mikro gözenek hacmi ve BET yüzey alanının Fosfomisin yüklemesinden sonra azaldığı görülmüştür. BET yüzey alanları sırasıyla UiO-66 için 1375 m²/g, UiO-66/FOS-1 için 1139 m²/g, UiO-66/FOS-2 için 1320 m²/g, UiO-66/FOS-3 için 1308 m²/g, UiO-66/FOS-AD için ise 422 m²/g olarak bulunmuştur. İlaç moleküllerinin yüklenmesiyle BET yüzey alanında gözlemlenen bu azalma, literatürle uyumlu olarak Fosfomisin kapsüllenmesi/adsorbe edilmesi sonucu gözeneklerin doldurulduğunu göstermektedir (Zhu vd. 2014). BET yüzey alanı, enkapsülasyon işlemiyle Fosfomisin yüklendiği UiO-66/FOS yapılarına kıyasla UiO-66/FOS-AD nanokristallerinde Fosfomisin molekülünün adsorpsiyonu sebebiyle büyük ölçüde azaldığı görülmüştür. Bu sonuç UiO-66 nanokristallerinin, iç yüzeyine kıyasla dış yüzeyindeki mikro gözeneklerin Fosfomisin molekülleri ile kaplandığını göstermiştir.



Şekil 4.10 UiO-66, UiO-66/FOS ve UiO-66/FOS-AD nanokristallerine ait N₂ adsorpsiyon – desorpsiyon eğrileri

Çizelge 4.3 UiO-66 ve Fosfomisin yüklü UiO-66 nanokristallerine ait BET yüzey alanları ve mikrogözenek hacimleri

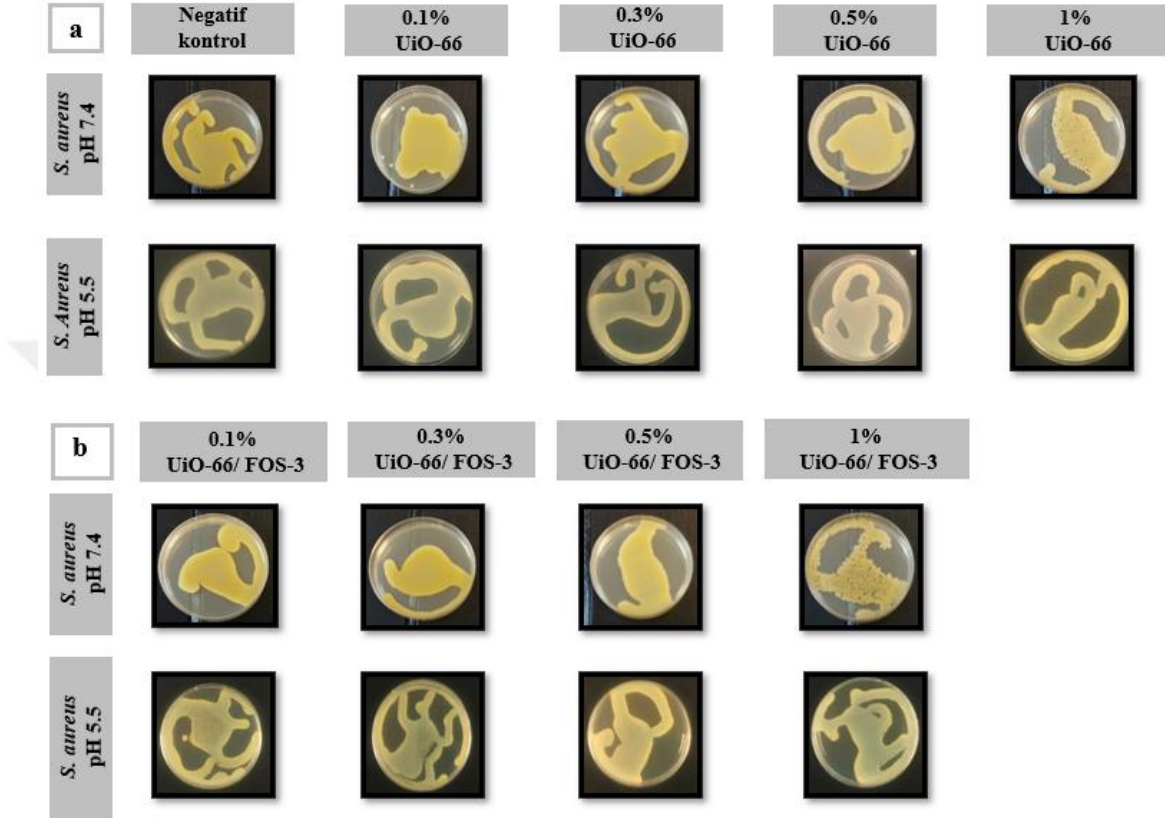
Nanokristal	UiO-66	UiO-66/FOS-1	UiO-66/FOS-2	UiO-66/FOS-3	UiO-66/FOS-AD
BET (m²/g)	1375	1139	1320	1308	422
Mikrogözenek hacmi (cc/g)	0,48	0,36	0,46	0,45	0,13

4.4 Antibakteriyel Aktivite Çalışmaları

Tez çalışması kapsamında UiO-66, UiO-66/FOS ve UiO-66/FOS-AD nanokristallerinin fizikokimyasal karakterizasyonuna ek olarak nanokristallerin antibakteriyel etkinliklerini belirlemek amaçlanmıştır. Bu amaçla yürütülen çalışmalar *S.aureus* ve *E.coli* bakterileri ile Bölüm 3.7’de açıklandığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Fizikokimyasal özellikleri Bölüm 4.3’de detaylı olarak değerlendirilen UiO-66/FOS-1 nanokristalleri, özellikle PXRD çalışmalarından elde edilen en düşük şiddet değeri göstermeleri sebebiyle antibakteriyel aktivite çalışmalarına dahil edilmemiştir. Antibakteriyel aktivite çalışmaları UiO-66, UiO-66/FOS-2, UiO-66/FOS-3 ve UiO-66/FOS-AD nanokristal yapıları ile gerçekleştirilmiştir.

Wyszogrodzka vd. (2016), MOF’ların yapısında bulunan metal iyonlarına bağlı olarak herhangi bir antibiyotik yüklenmeksizin tek başlarına da antibakteriyel etki sunduklarını, özellikle gümüş ve bakır gibi metal oksitlerde reaktif oksijen türlerine bağlı olarak antibakteriyel özellik gözlemlendiğini rapor etmişlerdir. Ancak Zr temelli MOF yapısı olan UiO-66 için herhangi bir antibakteriyel etki rapor edilmemiştir (Wyszogrodzka vd. 2016). Ayrıca literatürde bulunan farklı bir çalışmada ZrO₂ nanopartiküllerinden, Zr⁺² metal iyonlarının salınımının *S. aureus* gibi Gram-pozitif bakterilere karşı herhangi bir antibakteriyel aktivite gözlemlenmediği rapor edilmiştir (Tabassum vd. 2021). Fosfomisin yüklenmemiş UiO-66 nanokristalleri, literatürde paylaşılanlara paralel olarak beklendiği üzere kullanılan derişimlerin hiç birinde herhangi bir antibakteriyel etkinlik göstermemiştir (Nasrabadi vd. 2019). Ayrıca UiO-66/FOS-3 nanokristalleri de herhangi bir antibakteriyel aktivite göstermemiştir. UiO-66

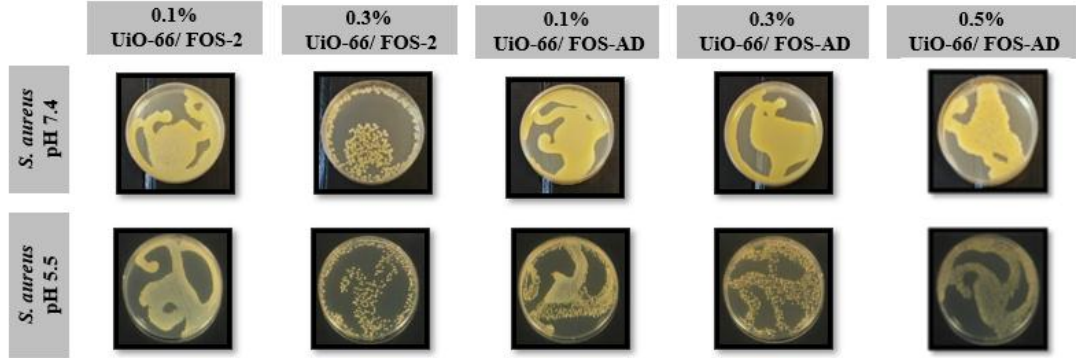
ve UiO-66/FOS-3 nanokristalleriyle gerçekleştirilen antibakteriyel aktivite çalışmalarından elde edilen agar sonuçları pH 7,4 ve 5,5 için **şekil 4.11**'de sunulmuştur.



Şekil 4.11 (a) UiO-66, (b) UiO-66/FOS-3 nanokristallerine ait antibakteriyel aktivite sonuçları

UiO-66/FOS-3 için elde edilen bu sonuç diğer Fosfomisin yüklü UiO-66 nanokristalleri ile karşılaştırıldığında, PXRD analizinden (**şekil 4.6**) elde edilen nispeten yüksek X-ışını şiddet değerlerine bağlanmıştır. Fosfomisinin yapıdan ayrılarak serbestleşmesi ve ortama salımı, UiO-66/FOS-3 nanokristalinin yüksek kristallliği sebebiyle gecikmiş ve antibakteriyel aktivite üzerinde olumsuz bir etki yaratmıştır. UiO-66/FOS-2 nanokristalleri, antibakteriyel çalışmalarda test edilen derişimlerinde, bakterilere karşı %0,5 ve/veya %1 (k/h) derişimlerinde antibakteriyel etki gözlemlenmiş, UiO-66/FOS-AD nanokristalleri için ise yalnızca %1 (k/h) derişimde antibakteriyel etki tespit edilmiş ve bu sonuçlar sunulularak yorumlanmıştır. UiO-66/FOS-2 için %0,1 ve %0,3, UiO-66/FOS-AD içinse %0,1, %0,3 ve %0,5 (k/h) derişimlerinde antibakteriyel etki

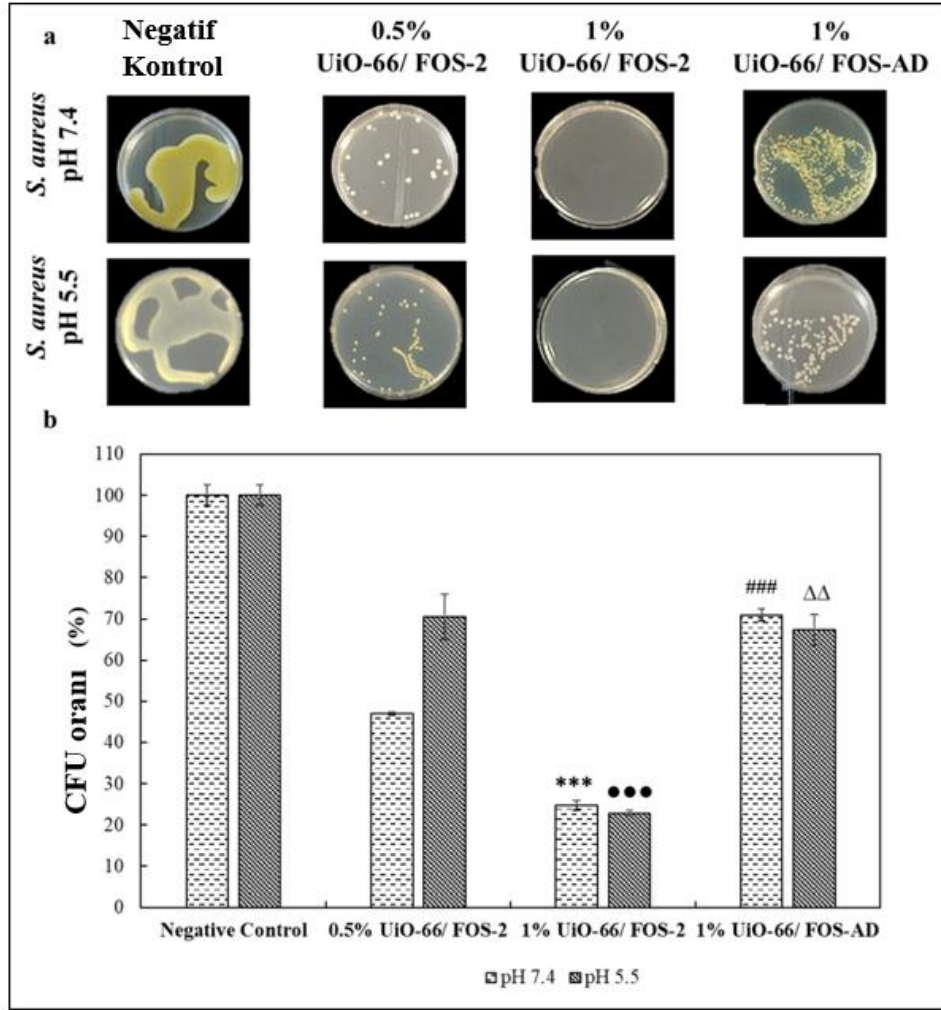
görülmemiştir. pH 7,4 ve 5,5 ortamlarında elde edilen agar sonuçları **şekil 4.12**'te sunulmuştur.



Şekil 4.12 %0,1 ve %0,3 (k/h) derişimlerdeki UiO-66/FOS-2 ve %0,1 ve %0,3, %0,5 (k/h) UiO-66/FOS-AD nanokristallerine ait antibakteriyel aktivite sonuçları

İki farklı pH ve iki farklı derişim için *S.aureus* üzerinde UiO-66/FOS-2 nanokristallerinin antibakteriyel aktivitesi **şekil 4.13** gösterilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, *S.aureus* üzerindeki antibakteriyel etkinin yüksek oranda UiO-66/FOS-2 derişimine bağlı olduğu ancak ortam pH'ından etkilenmediğini görülmüştür. Negatif kontrol ile karşılaştırıldığında %1 (k/h) derişimindeki UiO-66/FOS-2 nanokristali *S.aureus* canlılığı üzerinde pH'dan bağımsız olarak önemli bir etki göstermiştir. Bu sonuçlar açıkça göstermektedir ki, %1 UiO-66/FOS-2 nanokristallerin *S.aureus* üzerinde bakterisidal etkisi vardır. Buna karşın, %0,5 UiO-66/FOS-2, canlı bakteri sayıları üzerinde tutarsız sonuçlar göstermiştir ve pH 7,4'e kıyasla pH 5,5 iken etkinlik oldukça azalmıştır. UiO-66/FOS-AD nanokristalleri %1 (k/h) derişiminde *S.aureus* üzerine uygulandığında bakteri hücre canlılığı ~%30 azalmıştır (**Şekil 4.13**). Sonuç olarak, Fosfomisin moleküllerinin nanokristallere enkapsüle edildiği kanıtlanmış ve adsorplanmış Fosfomisin molekülleri ile karşılaştırıldığında, daha yüksek yükleme verimine bağlı olarak daha yüksek bakterisidal aktivite olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, antibakteriyel aktivite çalışmaları sırasında UiO-66/FOS-AD nanokristalleri büyüme ortamında zorlukla dağılmış, koagülasyon gözlenmiştir. Bu durumun da Fosfomisin salımı üzerinde olumsuz bir etki yaratmış olabileceği düşünülmüştür. *S.aureus*

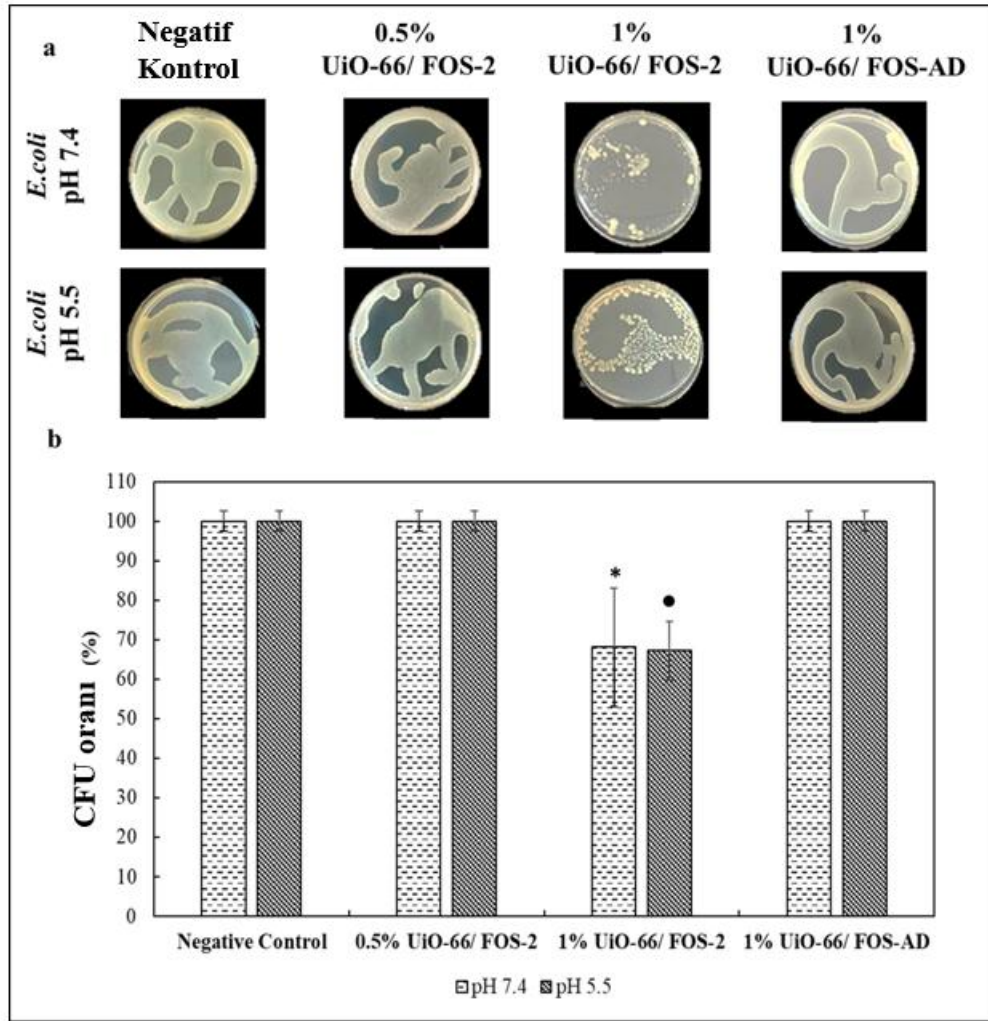
bakterisine karşı en etkin bakterisidal aktivite, %1 (k/h) UiO-66/FOS-2 varlığında gözlenmiştir, bu da daha düşük derişimlerin gerekli antibakteriyel etkinlik için yeterli olmayacağını göstermiştir.



Şekil 4.13 UiO-66, UiO-66/FOS ve UiO-66/FOS-AD nanokristallerinin *S.aureus* inhibisyonunda gösterdikleri antibakteriyel aktiviteler. Negatif kontrol olarak doğrudan mikroorganizma kullanılmıştır. (a) 18-24 saatin sonunda pH 7,4 ve 5,5 değerlerinde MH agar üzerindeki koloni görüntüleri. UiO-66/FOS-2 için %1 ve %0,5 (k/h) derişiminde, UiO-66/FOS-AD için %1 (k/h) derişiminde elde edilen sonuçlar sunulmuştur. (b) Negatif kontrole göre koloni sayımı yüzdesi olarak CFU (koloni oluşturan birim) oranları. (İstatistiksel anlamlılık; *** $p < 0,005$, kontrol grubu pH: 7,4 değerinde %0,5 UiO-66/FOS-2 iken, ●●● $p < 0,005$ kontrol grubu pH: 5,5 değerinde %0,5 UiO-66/FOS-2 iken, %1 UiO-66/FOS-2 için. İstatistiksel anlamlılık ### $p < 0,005$ kontrol grubu pH: 7,4 %1 UiO-66/FOS-2 iken ve ΔΔ $p < 0,01$ kontrol grubu pH 5,5 %1 UiO-66/FOS-2 iken %1 UiO-66/FOS-AD için)

UiO-66/FOS-2 ve UiO-66/FOS-AD nanokristallerinin *E.coli* üzerindeki antibakteriyel aktivitesi **şekil 4.14**'de gösterilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde, UiO-66/FOS-2'nin %0,5 (k/h) derişiminin *E.coli* üzerinde etkili olmadığı görölmüştür. UiO-66/FOS-2 nanokristallerinin derişimi %1'e (k/h) çıkarıldığında ise, canlılık ~%30 azalmıştır, bu da bakterisidal etkiden ziyade bakteriyostatik bir etkiyi desteklemektedir (Sungkhaphan vd. 2021). Ayrıca %1 (k/h) UiO-66/FOS-AD, *E.coli* üzerinde herhangi bir antibakteriyel aktivite yaratmamıştır. Bu nedenle, aynı miktarda UiO-66/FOS derişimlerinin, *S.aureus* ile karşılaştırıldığında *E.coli* aktivitesini azaltmak için yeterli olmadığı görölmüştür. *S.aureus* inhibisyonuna göre, UiO-66/FOS-2'nin *E.coli*'ye karşı antibakteriyel aktivitesinin, ortamın pH'ı ile bağlantılı olmadığı görölmüştür.





Şekil 4.14 UiO-66, UiO-66/FOS ve UiO-66/FOS-AD nanokristallerinin *E.coli* inhibisyonunda gösterdikleri antibakteriyel aktiviteler. Negatif kontrol olarak doğrudan mikroorganizma kullanılmıştır. (a) 18-24 saatin sonunda pH 7,4 ve 5,5 değerlerinde MH agar üzerindeki koloni görüntüleri. UiO-66/FOS-2 için %1 ve %0,5 (k/h) derişiminde, UiO-66/FOS-AD için %1 (k/h) derişiminde elde edilen sonuçlar sunulmuştur. (b) Negatif kontrole göre koloni sayımı yüzdesi olarak CFU (koloni oluşturan birim) oranları. (İstatistiksel anlamlılık; * $p < 0,05$, kontrol grubu pH: 7,4 değerinde %0,5 UiO-66/FOS-2 iken, • $p < 0,05$ kontrol grubu pH: 5,5 değerinde %0,5 UiO-66/FOS-2 iken, %1 UiO-66/FOS-2 için)

Ortam pH değeri enfeksiyonlu bölgelerde bakteri koloni oluşumundan kaynaklı olarak ~5,5'e düşebildiğinden, antibiyotik taşıyıcı sistemlerin pH duyarlı olmaları oldukça önemlidir (Sun vd. 2012, Nasrabadi vd. 2019). Literatürdeki çalışmalar değerlendirildiğinde, UiO-66 MOF yapısının pH duyarlılığı tartışmaya açık bir konudur.

Nasrabadi vd. (2019), UiO-66'dan ciprofloksasin ilacının salımı için pH 7,4'ün daha kontrollü olduğunu öne sürmüş, pH 5,5 ortamında daha hızlı ilaç salımı gözlemlemişlerdir. Ancak tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen antibakteriyel aktivite çalışmalarında Fosfomisin yüklü UiO-66 nanokristallerinde pH'a bağlı antibakteriyel etki farkı görülmemiş yani UiO-66'nın pH duyarlılığı gözlemlenmemiştir. Bu sonuçlara paralel olarak, UiO-66'nın tek başına pH duyarlılığı olmadığı düşüncesiyle literatürde UiO-66'nın pH duyarlılığını arttırabilmek için çeşitli modifikasyonlar da yapılmıştır. Xie vd. (2021) yaptıkları çalışmada UiO-66'nın pH'a duyarlı karakterini güçlendirebilmek ve kemoterapötik ajanların daha düşük pH değerlerinde (~5,5) etkili bir şekilde salımı için, UiO-66'ya bağlayıcı olarak karboksimetil selüloz gibi pH duyarlı moleküller ekleyerek güçlendirmişlerdir. UiO-66'nın pH duyarlı davranışı, kontrollü ilaç salım sistemi olarak değerlendirildiğinde UiO-66'ya yüklenen ilacın kimyasal yapısına da bağlı olarak farklı sonuçlar doğurmaktadır. Buna paralel olarak çalışılan pH aralığının da nanokristal yapının kararlılığı üzerinde etkisi söz konusudur (Wang vd. 2021). Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde UiO-66'nın pH duyarlılığı üzerine kesin bir yorum yapılamazken, tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen çalışmalarda, bakterisidal aktivite, hem pH 5,5 hem de pH 7,4 ortamında benzer sonuçlar göstermiş ve bu da UiO-66/FOS-2 nanokristallerinin pH 5,5-7,4 aralığındaki bakterilere karşı etkili olduğu sonucunu ortaya çıkarmıştır.

Sonuç olarak, antibakteriyel aktivite çalışmalarından elde edilen sonuçlar özetlenirse, UiO-66/FOS-2 nanokristallerinin, %1 (k/h) derişimde uygulandığında *S.aureus* ve *E.coli* üzerinde sırasıyla bakterisidal ve bakteriyostatik aktivite elde etmek için en etkili yapılar olduğu kanıtlanmıştır. *S.aureus* ve *E.coli* bakterileri üzerinde gözlemlenen bu farklılığın literatürle uyumlu olarak, serbest haldeki Fosfomisinin Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkisinin farkından kaynaklandığı tespit edilmiştir (Michalopoulos vd. 2011).

5. SONUÇ

Gerçekleştirilen tez çalışması kapsamında literatürde biyomedikal alandaki uygulamaları kısıtlı ve oldukça yeni olan UiO-66 metal organik iskelet yapıların uygulama alanlarının genişletilmesi ve antibiyotikler için taşıyıcı sistem olarak kullanımının araştırılması amaçlanmıştır. Tez çalışmasından elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

- ✓ UiO-66 nanokristalinin doku mühendisliği gibi çeşitli biyomedikal çalışmalarda yaygın şekilde tercih edilen çözücü ortamları içerisindeki yapısal durumu değerlendirilmiş ve 24 saatlik etkileşimin ardından, pH 5,5 PBS çözeltisinin UiO-66 yapısını bozduğu gözlemlenmiştir. DCM ve TFE çözücü ortamlarında ise 48 saat sonunda dahi UiO-66 kristal yapısını korumuştur. Bu sonuçlar doğrultusunda UiO-66'nın yapısal bütünlüğünün hangi ortamlarda ne kadar süre ile korunduğuna dair veriler raporlanarak doku iskelesi hazırlanması sırasında polimerler için kullanılacak çözücünün seçimine ışık tutulmuştur.
- ✓ UiO-66/FOS nanokristalleri için Fosfomisin'in *in situ* enkapsülasyonu ile ~%90 değerinde oldukça yüksek bir yükleme verimi elde edilmiştir. Fosfomisin adsorpsiyon yöntemiyle sentezden sonra yüklendiğinde ise UiO-66/FOS-AD nanokristalleri için yükleme verimi ~%70 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar Fosfomisin antibiyotığının UiO-66 nanokristaline yüklenmesi için en uygun yöntemin sentez esnasında enkapsülasyon olduğunu göstermiştir.
- ✓ Karakterizasyon çalışmaları kapsamında gerçekleştirilen PXRD, SEM, FTIR-ATR, TGA ve BET analizleri sonucunda, sentezlenen yapıların tamamının literatürle uyumlu şekilde beklenen karakteristik özelliklere sahip olduğu kanıtlanmıştır. Sonuç olarak, Fosfomisin'in sentez esnasında yüklendiği durumda UiO-66 nanokristallerinin oluşumu engellenmemiştir. Ayrıca elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde enkapsülasyon yönteminde sentez koşullarının önemli bir kısıtlayıcı olduğu görülmüştür. Bir çok MOF yapısının sentezi,

ilaçların ya da çeşitli biyoaktif maddelerin yapısını kolayca bozabilen veya biyolojik aktivitelerini engelleyebilen yüksek sıcaklıklar ve toksik organik çözücüler gerektirmektedir. Karakterizasyon çalışmalarından elde edilen sonuçlar, oda koşullarında sentezlenebilen biyoyumlu MOF yapılarının, enzimler, büyüme faktörleri veya proteinler gibi çeşitli biyomolekül türlerinin sentez esnasında enkapsülasyon ile yüklenebilmesi için oldukça önemli adaylar olarak ele alınabileceğini göstermiştir.

- ✓ Antibakteriyel aktivite çalışmaları sonucunda; tez çalışması kapsamında tasarlanıp sentezlenen beş farklı Fosfomisin yüklü UiO-66 yapıları arasında, UiO-66/FOS-2 olarak adlandırılan nanokritallerin %1 (k/h)'lik derişimde hem *S.aureus* hem de *E.coli* üzerinde antibakteriyel etkiye sahip oldukları kanıtlanmıştır.
- ✓ Yapılan çalışmalar sonucunda, UiO-66/FOS-2 nanokristali, tedavisi için Fosfomisin tercih edilen sağlık sorunlarının giderilmesinde ve farklı biyomedikal alanlarda kullanılmak üzere literatüre kazandırılmıştır. Ayrıca elde edilen sonuçlar UiO-66'ya farklı biyo-aktif maddelerin de yüklenip taşınması ve çeşitli biyomedikal alanlarda kullanılabilmesi adına yol gösterici olmuştur.

KAYNAKLAR

- A. Lazaro, I., Wells, C. J., & Forgan, R. S. 2020. Multivariate modulation of the Zr MOF UiO- 66 for defect- controlled combination anticancer drug delivery. *Angewandte Chemie*, 132(13), 5249-5255.
- Ahmadi, M., Ayyoubzadeh, S. M., Ghorbani-Bidkorbeh, F., Shahhosseini, S., Dadashzadeh, S., Asadian, E., Siavashy, S. 2021. An investigation of affecting factors on MOF characteristics for biomedical applications: A systematic review. *Heliyon*, 7(4), e06914.
- Bai, Y., Dou, Y., Xie, L.-H., Rutledge, W., Li, J.-R., & Zhou, H.-C. 2016. Zr-based metal–organic frameworks: design, synthesis, structure, and applications. *Chemical Society Reviews*, 45(8), 2327-2367.
- Boroushaki, T., Dekamin, M. G., Hashemianzadeh, S. M., Naimi-Jamal, M. R., & Koli, M. G. 2022. A molecular dynamic simulation study of anticancer agents and UiO-66 as a carrier in drug delivery systems. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 113, 108147.
- Botet-Carreras, A., Tamames-Tabar, C., Salles, F., Rojas, S., Imbuluzqueta, E., Lana, H., Horcajada, P. 2021. Improving the genistein oral bioavailability via its formulation into the metal–organic framework MIL-100 (Fe). *Journal of Materials Chemistry B*, 9(9), 2233-2239.
- Buzek, D., Adamec, S., Lang, K., & Demel, J. 2021. Metal–organic frameworks vs. buffers: case study of UiO-66 stability. *Inorganic Chemistry Frontiers*, 8(3), 720-734.
- Cai, W., Wang, J., Chu, C., Chen, W., Wu, C., & Liu, G. 2019. Metal–organic framework- based stimuli- responsive systems for drug delivery. *Advanced Science*, 6(1), 1801526.
- Cavka, J. H., Jakobsen, S., Olsbye, U., Guillou, N., Lamberti, C., Bordiga, S., & Lillerud, K. P. 2008. A new zirconium inorganic building brick forming metal organic frameworks with exceptional stability. *Journal of the American Chemical Society*, 130(42), 13850-13851.
- Chowdhuri, A. R., Das, B., Kumar, A., Tripathy, S., Roy, S., & Sahu, S. K. 2017. One-pot synthesis of multifunctional nanoscale metal-organic frameworks as an effective antibacterial agent against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nanotechnology*, 28(9), 095102.
- Cunha, D., Ben Yahia, M., Hall, S., Miller, S. R., Chevreau, H., Elkaïm, E., Serre, C. 2013. Rationale of drug encapsulation and release from biocompatible porous metal–organic frameworks. *Chemistry of Materials*, 25(14), 2767-2776.

- Dai, S., Nouar, F., Zhang, S., Tissot, A., & Serre, C. 2021. One- Step Room-Temperature Synthesis of Metal (IV) Carboxylate Metal—Organic Frameworks. *Angewandte Chemie International Edition*, 60(8), 4282-4288.
- DeStefano, M. R., Islamoglu, T., Garibay, S. J., Hupp, J. T., & Farha, O. K. 2017. Room-temperature synthesis of UiO-66 and thermal modulation of densities of defect sites. *Chemistry of Materials*, 29(3), 1357-1361.
- Dou, X., Keywanlu, M., Tayebie, R., & Mahdavi, B. 2021. Simulation of adsorption and release of doxepin onto ZIF-8 including in vitro cellular toxicity and viability. *Journal of Molecular Liquids*, 329, 115557.
- Eick, S., Hofpeter, K., Sculean, A., Ender, C., Klimas, S., Vogt, S., & Nietzsche, S. 2017. Activity of fosfomycin-and daptomycin-containing bone cement on selected bacterial species being associated with orthopedic infections. *BioMed research international*, 2017.
- Fan, X., Yu, L., Li, L., Yang, C., Wen, J., Ye, X., Hu, Y. 2017. Characterization and application of zeolitic imidazolate framework-8@ polyvinyl alcohol nanofibers mats prepared by electrospinning. *Materials Research Express*, 4(2), 026404.
- Farboudi, A., Mahboobnia, K., Chogan, F., Karimi, M., Askari, A., Banihashem, S., Irani, M. 2020. UiO-66 metal organic framework nanoparticles loaded carboxymethyl chitosan/poly ethylene oxide/polyurethane core-shell nanofibers for controlled release of doxorubicin and folic acid. *International journal of biological macromolecules*, 150, 178-188.
- Fortunati, E., Mattioli, S., Visai, L., Imbriani, M., Fierro, J. L. G., Kenny, J. M., & Armentano, I. 2013. Combined effects of Ag nanoparticles and oxygen plasma treatment on PLGA morphological, chemical, and antibacterial properties. *Biomacromolecules*, 14(3), 626-636.
- Furukawa, H., Cordova, K. E., O’Keeffe, M., & Yaghi, O. M. 2013. The chemistry and applications of metal-organic frameworks. *Science*, 341(6149), 1230444.
- Ge, X., Wong, R., Anisa, A., & Ma, S. 2022. Recent development of metal-organic framework nanocomposites for biomedical applications. *Biomaterials*, 281, 121322.
- Gu, J., Huang, M., Liu, J., Li, Y., Zhao, W., & Shi, J. 2012. Calcium doped mesoporous silica nanoparticles as efficient alendronate delivery vehicles. *New Journal of Chemistry*, 36(9), 1717-1720.
- Gu, J. L., Shi, J. L., You, G. J., Xiong, L. M., Qian, S. X., Hua, Z. L., & Chen, H. R. 2005. Incorporation of highly dispersed gold nanoparticles into the pore channels of mesoporous silica thin films and their ultrafast nonlinear optical response. *Advanced Materials*, 17(5), 557-560.

- Hashemian, S. M. R., Farhadi, Z., & Farhadi, T. 2019. Fosfomycin: The characteristics, activity, and use in critical care. *Therapeutics and clinical risk management*, 15, 525-530.
- Jarai, B. M., Stillman, Z., Attia, L., Decker, G. E., Bloch, E. D., & Fromen, C. A. 2020. Evaluating UiO-66 metal–organic framework nanoparticles as acid-sensitive carriers for pulmonary drug delivery applications. *ACS applied materials & interfaces*, 12(35), 38989-39004.
- Javanbakht, S., Shadi, M., Mohammadian, R., Shaabani, A., Amini, M. M., Pooresmaeil, M., & Salehi, R. 2019. Facile preparation of pH-responsive k-Carrageenan/tramadol loaded UiO-66 bio-nanocomposite hydrogel beads as a nontoxic oral delivery vehicle. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 54, 101311.
- Jones, C. W. 2022. Metal–Organic Frameworks and Covalent Organic Frameworks: Emerging Advances and Applications. In: ACS Publications.
- Karakeçili, A., Topuz, B., Korpayev, S., & Erdek, M. 2019. Metal-organic frameworks for on-demand pH controlled delivery of vancomycin from chitosan scaffolds. *Materials Science and Engineering: C*, 105, 110098.
- Katz, M. J., Brown, Z. J., Colón, Y. J., Siu, P. W., Scheidt, K. A., Snurr, R. Q., Farha, O. K. 2013. A facile synthesis of UiO-66, UiO-67 and their derivatives. *Chemical Communications*, 49(82), 9449-9451.
- Kaur, G., Øien-Ødegaard, S., Lazzarini, A., Chavan, S. M., Bordiga, S., Lillerud, K. P., & Olsbye, U. 2019. Controlling the synthesis of metal–organic framework UiO-67 by tuning its kinetic driving force. *Crystal Growth & Design*, 19(8), 4246-4251.
- Kaur, H., Mohanta, G. C., Gupta, V., Kukkar, D., & Tyagi, S. 2017. Synthesis and characterization of ZIF-8 nanoparticles for controlled release of 6-mercaptopurine drug. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 41, 106-112.
- Keskin, S., & Kızılel, S. 2011. Biomedical applications of metal organic frameworks. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 50(4), 1799-1812.
- Kohsari, I., Shariatnia, Z., & Pourmortazavi, S. M. 2016. Antibacterial electrospun chitosan-polyethylene oxide nanocomposite mats containing ZIF-8 nanoparticles. *International journal of biological macromolecules*, 91, 778-788.
- Lazaro, I. A., Haddad, S., Sacca, S., Orellana-Tavra, C., Fairen-Jimenez, D., & Forgan, R. S. 2017. Selective surface PEGylation of UiO-66 nanoparticles for enhanced stability, cell uptake, and pH-responsive drug delivery. *Chem*, 2(4), 561-578.

- Liang, K., Ricco, R., Doherty, C. M., Styles, M. J., Bell, S., Kirby, N., Doonan, C. J. 2015. Biomimetic mineralization of metal-organic frameworks as protective coatings for biomacromolecules. *Nature communications*, 6(1), 1-8.
- Liu, Y., Zhu, Z., Pei, X., Zhang, X., Cheng, X., Hu, S., Wan, Q. 2020. ZIF-8-modified multifunctional bone-adhesive hydrogels promoting angiogenesis and osteogenesis for bone regeneration. *ACS applied materials & interfaces*, 12(33), 36978-36995.
- Lv, H., Zhang, Y., Chen, P., Xue, J., Jia, X., & Chen, J. 2020. Enhanced synergistic antibacterial activity through a smart platform based on UiO-66 combined with photodynamic therapy and chemotherapy. *Langmuir*, 36(15), 4025-4032.
- Michalopoulos, A. S., Livaditis, I. G., & Gougoutas, V. 2011. The revival of fosfomycin. *International journal of infectious diseases*, 15(11), e732-e739.
- Nasrabadi, M., Ghasemzadeh, M. A., & Monfared, M. R. Z. 2019. The preparation and characterization of UiO-66 metal-organic frameworks for the delivery of the drug ciprofloxacin and an evaluation of their antibacterial activities. *New Journal of Chemistry*, 43(40), 16033-16040.
- Orellana-Tavra, C., Baxter, E. F., Tian, T., Bennett, T. D., Slater, N. K., Cheetham, A. K., & Fairen-Jimenez, D. 2015. Amorphous metal-organic frameworks for drug delivery. *Chemical Communications*, 51(73), 13878-13881.
- Orellana-Tavra, C., Baxter, E. F., Tian, T., Bennett, T. D., Slater, N. K., Cheetham, A. K., & Fairen-Jimenez, D. 2015. Amorphous metal-organic frameworks for drug delivery. *Chemical Communications*, 51(73), 13878-13881.
- UiO-66 – nanoMOF. 2021. Web Sitesi: <https://novomof.com>, Erişim Tarihi: 23.07.2022.
- Sun, C.-Y., Qin, C., Wang, X.-L., Yang, G.-S., Shao, K.-Z., Lan, Y.-Q., Wang, E.-B. 2012. Zeolitic imidazolate framework-8 as efficient pH-sensitive drug delivery vehicle. *Dalton Transactions*, 41(23), 6906-6909.
- Sungkhaphan, P., Thavornnyutikarn, B., Kaewkong, P., Pongkittiphan, V., Pornsuwan, S., Singhatanadgit, W., & Janvikul, W. 2021. Antibacterial and osteogenic activities of clindamycin-releasing mesoporous silica/carboxymethyl chitosan composite hydrogels. *Royal Society open science*, 8(9), 210808.
- Tabassum, N., Kumar, D., Verma, D., Bohara, R. A., & Singh, M. 2021. Zirconium oxide (ZrO₂) nanoparticles from antibacterial activity to cytotoxicity: A next-generation of multifunctional nanoparticles. *Materials Today Communications*, 26, 102156.

- Tsegka, K. G., Voulgaris, G. L., Kyriakidou, M., Kapaskelis, A., & Falagas, M. E. 2021. Intravenous fosfomycin for the treatment of patients with bone and joint infections: a review. *Expert review of anti-infective therapy*, 1-11.
- Tucker, L. J., Grant, C. S., Gautreaux, M. A., Amarasekara, D. L., Fitzkee, N. C., Janorkar, A. V., Priddy, L. B. 2021. Physicochemical and antimicrobial properties of thermosensitive chitosan hydrogel loaded with Fosfomycin. *Marine drugs*, 19(3), 144.
- Tüylek, Z. 2018. İlaç taşıyıcı nanosistemler. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 28(3), 184-192.
- Wang, Y., Lin, W., Yu, S., Huang, X., Lang, X., He, Q., Chen, J. 2021. A biocompatible Zr-based metal-organic framework UiO-66-PDC as an oral drug carrier for pH-response release. *Journal of Solid State Chemistry*, 293, 121805.
- Wang, Y., Yan, J., Wen, N., Xiong, H., Cai, S., He, Q., Liu, Y. 2020. Metal-organic frameworks for stimuli-responsive drug delivery. *Biomaterials*, 230, 119619.
- Winarta, J., Shan, B., McIntyre, S. M., Ye, L., Wang, C., Liu, J., & Mu, B. 2019. A decade of UiO-66 research: a historic review of dynamic structure, synthesis mechanisms, and characterization techniques of an archetypal metal-organic framework. *Crystal Growth & Design*, 20(2), 1347-1362.
- Wu, M. X., & Yang, Y. W. 2017. Metal-organic framework (MOF)- based drug/cargo delivery and cancer therapy. *Advanced Materials*, 29(23), 1606134.
- Wyszogrodzka, G., Marszałek, B., Gil, B., & Dorożyński, P. 2016. Metal-organic frameworks: mechanisms of antibacterial action and potential applications. *Drug Discovery Today*, 21(6), 1009-1018.
- Xie, C., Guo, B., You, H., Wang, Z., Leng, Q., Ding, L., & Wang, Q. 2021. Synthesis and surface modification of mesoporous metal-organic framework (UiO-66) for efficient pH-responsive drug delivery and lung cancer treatment. *Nanotechnology*, 32(29), 295704.
- Xu, W., Dong, M., Di, L., & Zhang, X. 2019. A facile method for preparing UiO-66 encapsulated Ru catalyst and its application in plasma-assisted CO₂ methanation. *Nanomaterials*, 9(10), 1432.
- Yang, H. Y., Li, Y., & Lee, D. S. 2018. Multifunctional and stimuli- responsive magnetic nanoparticle- based delivery systems for biomedical applications. *Advanced Therapeutics*, 1(2), 1800011.

- Zhang, Q., Yang, T., Liu, X., Yue, C., Ao, L., Deng, T., & Zhang, Y. 2019. Heteropoly acid-encapsulated metal–organic framework as a stable and highly efficient nanocatalyst for esterification reaction. *RSC advances*, 9(29), 16357-16365.
- Zheng, H., Zhang, Y., Liu, L., Wan, W., Guo, P., Nyström, A. M., & Zou, X. 2016. One-pot synthesis of metal–organic frameworks with encapsulated target molecules and their applications for controlled drug delivery. *Journal of the American Chemical Society*, 138(3), 962-968.
- Zhu, X., Gu, J., Wang, Y., Li, B., Li, Y., Zhao, W., & Shi, J. 2014. Inherent anchorages in UiO-66 nanoparticles for efficient capture of alendronate and its mediated release. *Chemical Communications*, 50(63), 8779-8782.
- Zhuang, J., Kuo, C.-H., Chou, L.-Y., Liu, D.-Y., Weerapana, E., & Tsung, C.-K. 2014. Optimized metal–organic-framework nanospheres for drug delivery: evaluation of small-molecule encapsulation. *ACS nano*, 8(3), 2812-2819.
- Zou, D., & Liu, D. 2019. Understanding the modifications and applications of highly stable porous frameworks via UiO-66. *Materials Today Chemistry*, 12, 139-165.

EKLER

EK 1 LC-MS/MS cihaz bilgileri ve analiz koşulları

EK 2 *S.Aureus* ve *E.coli* için MIC ve MBC değerleri

EK 1 LC-MS/MS cihaz bilgileri ve analiz koşulları

ODTÜ MERKEZ LAB – FOSFOMİSİN ANALİZ METODU	
KÜTLE SPEKTROSKOPİSİ	
Ekipman	AGILENT 6460 LCMSMS
İyon kaynağı	ESI+Agilent Jet Stream
Pompa	AGILENT BinPump-SL (G1312B9)
Otomatik numune alma cihazı	AGILENT h-ALS-SL+ (G1367D)
Sütun bölmesi	AGILENT G1316B 1200 Series Thermost. Col. Compart SL
Mikrodağazör	AGILENT G1379B 1200 Series Micro Degasser
Yazılım	AGILENT G3793AA MassHunter Optimizer software
Nitrojen jeneratör	Nitrogen generator UHPLCMS 30
Tarama modu	MRM
Gaz sıcaklığı	320
Gaz akışı	8
Püskürtücü	27
Kaplama gaz sıcaklığı	380
Kaplama gaz akışı	9
Kapilerlik	3750 V (+) - 2500 V (-)
Nozul voltajı	500 V (+) – 1500 V (-)
SIVI KROMOTOGRAFI	
Ekipman	AGILENT 1200 HPLC Series
Kolon	Zorbax Eclipse plus C18, 2.1 x 100 mm; 1,8 um (PN: 959764-902)
Mobil faz	A : 5mM Amonium Formate in H2O B : Acetonitrile
Kolon sıcaklığı	60 °C
Akış	0.5 mL/ min
Gerçekleşme süresi	4.5 min
Akış modu	Gradient
Enjeksiyon hacmi	1 µL
Standart eğri aralığı	0.05 ppm- 10 ppm

EK 2 S.Aureus ve E.coli için MIC ve MBC değerleri

