

BİYOTEKNOLOJİ DOKTORA PROGRAMI

2025

1. **G***** Y***** E******* Glikopolimer Bazlı Teranostik Nanosistemlerin Meme Kanserindeki Etkinliğinin Araştırılması
2. **H***** K***** B****** İlaç Taşıyıcı Sistemler Olarak Tek-Zincir Polimer Nanopartiküller
3. **G***** İ******* Alzheimer Hastalığı İçin Polimerik İlaç Taşıyıcı Platformların Geliştirilmesi
4. **B***** S***** A******* Kurkumin Yüklü Topikal Formülasyonların Geliştirilmesi Ve Karakterizasyonu

GLİKOPOLİMER BAZLI TERANOSTİK NANOSİSTEMLERİN MEME KANSERİNDEKİ ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Tanı ve tedavi özelliklerini bir arada sunan teranostik nanopartiküller (TNP'ler), kişiselleştirilmiş tıp alanında büyük bir potansiyele sahiptir. Bu çalışmada, meme kanserini hedefleyen ve sinerjistik üçlü tedavi yaklaşımı sunan iki yenilikçi nanoprop geliştirildi. İlk olarak, sodyum itriyum florür (NaYF_4) çekirdeği üzerine iterbiyum ve erbiyum (Yb^{3+} , Er^{3+}) katkılı upconversion nanopartiküller sentezlendi. Bu nanopartiküller, biyoyumlu ve biyobozunur özelliklere sahip doksorubisin (Dox) yüklü tetrablok kopolimer (P-Dox) ile kaplanarak UCNP@P-Dox adı verilen teranostik nanoprob oluşturuldu. Ardından, yapıya fototermal terapi özelliği kazandırmak için Fe_3O_4 nanopartikülleri ile modifiye edilerek UCNP@MP-Dox adlı, üçlü tedavi yapabilen bir nanoprob geliştirildi. Son olarak, UCNP@P-Dox ve UCNP@MP-Dox nanoprobuları, anti-apoptotik Bcl-2 proteininin aşırı ekspresyonunu düzenlemek amacıyla anti-Bcl-2 siRNA ile yüklendi. Böylece, UCNP@P-Dox/siRNA ve UCNP@MP-Dox/siRNA teranostik nanoprobuları elde edildi. Bu teranostik nanoproblarda, tümör dokusunun asidik mikroçevresinde polimer ile Dox arasındaki asit duyarlı imin bağı sayesinde Dox salımının önemli ölçüde arttığı gözlemlendi. Ayrıca, UCNP@MP-Dox/siRNA nanoprobunu 980 nm yakın kızılötesi ışık (NIR) ile uyarıldığında, artan sıcaklıkla birlikte Dox salımının daha da arttığı tespit edildi. Dahası, Fe_3O_4 içeriği sayesinde UCNP@MP-Dox/siRNA nanoprobunu, UCNP'nin sağladığı upconversion lüminesans görüntüleme (UCL) özelliğine ek olarak manyetik rezonans görüntüleme (MRI) imkanı da sunmaktadır. Üçlü tedavi için tasarlanan UCNP@MP-Dox/siRNA nanoprobunu, ön değerlendirmeler sonucunda etkileyici bir fototermal etkinlik ve iyi bir MRI kontrast özelliği göstermektedir. Bunun yanı sıra, ikili tedavi için geliştirilen UCNP@P-Dox/siRNA nanoprobunu, *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda antitümör etkinliği önemli ölçüde artırmaktadır. Tümör oluşturulan farelerde yapılan *in vivo* deneylerde, nanoprobun tümör bölgesinde biriktiği ve kombinasyon tedavisinin yalnızca Dox ve siRNA tedavilerine göre daha etkili olduğu görülmüştür. Bu çalışmada, teranostik nanoprobun glikopeptid polimer aracılığıyla tümör hedefleme yeteneği sergilediği ve kemoterapi ile gen tedavisinin sinerjik etkisi sayesinde güçlü bir tedavi stratejisi sunduğu ortaya konulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Kanser tedavisi, fototermal terapi, gen tedavisi, glikopeptid polimerler, upconversion nanopartiküller, teranostik nanoprobunlar.

İLAÇ TAŞIYICI SİSTEMLER OLARAK TEK-ZİNCİR POLİMER NANOPARTİKÜLLER

ÖZET

Nanoteknolojinin artan cazibesi ile hassas boyut kontrolü ve özel olarak işlevselleştirmeye izin veren nano boyutta nesnelere üretimi için sentetik teknikler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu amaçla, polimer zincirlerinin mimari olarak tanımlanan nanoyapılara çökmesi veya katlanması ile oluşturulan tek-zincir polimer nanopartiküller (SCNP) polimer biliminde son yirmi yılda gelişmekte olan ve günümüzde hızla büyüyen bir araştırma konusudur. Ultra küçük çapraz-bağlı nanopartiküller olan SCNP'ler, yüksek seyreltme koşullarında zincir içi çapraz bağlanma yoluyla lineer polimer zincirlerinin ayrı ayrı katlanması veya çökmesi ile elde edilir. SCNP'ler geleneksel polimer nanopartiküllerden çok daha küçük 1-20 nm boyutunda polimer nanopartiküllerinin oluşumuna olanak sağlar. Son yıllarda bu alana olan ilgi kataliz, sensörler, nanoreaktörler ve biyotıp alanı da dahil olmak üzere SCNP'nin çeşitli potansiyel uygulamaları nedeniyle artmaya devam etmektedir. Özellikle ortaya koydukları çok çeşitli uygulamaların bir sonucu olarak, biyotıp alanında herhangi bir araştırma konusu için umut verici nanotaşıyıcılardandır. SCNP'nin oluşumu için bir dizi sentetik metodoloji kullanılmıştır. Örneklerin çoğu seyreltik polimer çözeltilerinde (tipik olarak $<1 \text{ mg mL}^{-1}$) postpolimerizasyon modifikasyon reaksiyonlarını içermektedir. Postpolimerizasyon çapraz bağlama reaksiyonları tipik olarak verimliliklerine göre seçilir; düşük verimli veya yan reaksiyonlar içeren reaksiyonlar istenmez. Zincir içi çapraz bağlama, kovalent, dinamik kovalent ve kovalent olmayan etkileşimler ile oluşur.

Bu tez çalışmasında, ilaç taşıyıcı sistemler olarak tek-zincir polimer nanopartiküller ile 3 farklı çalışma gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmalarda ilaç molekülleri SCNP oluşumunda zincir içi çapraz bağlanmayı gerçekleştirecek şekilde seçilmiş olup SCNP'lerde herhangi bir ilaç yüklemesine ihtiyaç duyulmayacaktır.

İlk olarak sisplatin molekülü çapraz bağlayıcı olarak kullanılarak SCNP'ler oluşturulmuştur. Bunun için tersinir katılma-ayırışma zincir transfer (RAFT) polimerizasyonu ile poli[poli(etilen glikol) metil eter metakrilat-*r*-metakrilik asit] (P(PEGMA-*r*-MAA)) hidrofilik kopolimeri ve poli(etilen glikol)-*b*-poli(*N*-izopropilakrilamid-*r*-metakrilik asit) (PEG-*b*-P(NIPAM-*r*-MAA)) amfifilik kopolimeri sentezlenmiştir. Aynı zamanda halka açılma polimerizasyonu kullanılarak poli[(γ -benzil-L-glutamat)-*r*-(N_ϵ -benzilkarbonil-L-lizin)] [P(Glu-*r*-Liz)] hidrofilik kopolimeri ve poli(etilen glikol amin)-*b*-poli[(γ -benzil-L-glutamat)-*r*-(L-alanin)] [PEG-*b*-P(Glu-*r*-Ala)] amfifilik kopolimeri sentezlenmiştir. Bu öncü polimerlerin sisplatin molekülü ile ultra seyreltik koşullarda reaksiyonu sonucunda SCNP'ler oluşturulması hedeflenmiştir.

Yapılan ikinci çalışmada kurkumin molekülünün çapraz bağlayıcı olarak kullanılmasıyla SCNP'ler oluşturulmuştur. Öncelikle RAFT polimerizasyonu ile poli[poli(etilen glikol metil eter metakrilat)-*r*-(bromometakrilat)] (P(PEGMA-*r*-

BrMA)) hidrofilik kopolimeri sentezlenmiştir. Ardından kurkumin molekülü ile ultra seyreltik koşullarda reaksiyonu sonucunda SCNP'ler oluşturulmuştur.

Son çalışmada ise kurkumin molekülünün çapraz bağlayıcı olarak kullanılmasıyla iribaş yapılı tek zincir polimer nanopartiküler (TSCNP) sentezlenerek miselleri oluşturulmuştur. Öncelikle RAFT polimerizasyonu ile poli(etilen glikol)-*b*-poli[(metil metakrilat)-*r*-(metakrilik asit)] (PEG-*b*-P(MMA-*r*-MAA)) amfifilik kopolimeri sentezlenmiştir. Ardından kurkumin molekülü ile ultra seyreltik koşullarda reaksiyonu sonucunda TSCNP'ler oluşturulmuştur. Oluşturulan TSCNP'ler kullanılarak diyaliz yöntemi ile doksorubisin yüklü miseller oluşturulmuştur

Tez kapsamında elde edilen tüm polimerler, jel geçirgenlik kromatografisi (GPC), nükleer manyetik rezonans spektroskopisi (¹H NMR), diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) teknikleri ile karakterize edilmiştir. Elde edilen SCNP ve TSCNP'ler ise GPC, DSC, dinamik ışık saçılması (DLS), geçirimli elektron mikroskopisi (TEM) analizleri ile çapraz bağlanmaya bağlı değişen molekül ağırlığı, boyut, camsı geçiş sıcaklığı ve morfolojisi açısından karakterize edilmiştir. İlaç yükleme verimliliği ve salım davranışı ultraviyole-görünür ışık absorpsiyon spektroskopisi ve mikropilaka okuyucu ile izlenmiştir. SCNP, TSCNP ve misellerin sitotoksitesi ve hücrel alımları incelenmiştir. Yapılan çalışmalar tek zincir nanopartiküllerin ilaç taşıyıcı sistemler açısından önemli bir potansiyele sahip olduğunu ve bu doğrultuda umut vadeden araştırmaların gerçekleştirilebileceğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Tek zincir polimer nanopartikül (SCNP), amfifilik kopolimer, tersinir katılma-ayırışma zincir transfer (RAFT) polimerizasyonu, kurkumin

ALZHEİMER HASTALIĞI İÇİN POLİMERİK İLAÇ TAŞIYICI PLATFORMLARIN GELİŞTİRİLMESİ

ÖZET

Alzheimer hastalığı (AH), uzun ve ilerleyici bir seyir gösteren, tedavi edilemeyen bilişsel ve davranışsal bozukluğa neden olan bir hastalıktır. AH patolojisinde bazı proteinlerin birikimi, enflamasyon değişiklikleri, sinaptik temasın kaybı, nöronal hücre ölümü ve sinaps kayıpları ile sonuçlanan oksidatif stres nedenleri yer almaktadır. AH'nin tedavisine yönelik mevcut farmakolojik yaklaşımlar, vasküler koruma ile kolinesteraz inhibitörleri ve *N*-metil-D-aspartat (NMDA) antagonistleri kullanılarak yapılan semptomatik tedaviye dayanmaktadır. Kolinesteraz inhibitörleri arasında donepezil (DZP), rivastigmin, galantamin ve takrin gibi ilaçlar yer almakta olup NMDA antagonisti olarak memantin kullanılmaktadır. AH, terapötiklerin kan-beyin bariyerini (KBB) geçme zorluğu nedeniyle sınırlı tedavi seçeneklerine sahiptir. Tedavi başarısızlığı sıklıkla ilaçların olumsuz farmakokinetik ve farmakodinamiği nedeniyle ortaya çıkar. Bu nedenle ilaçların nano-platformlarda taşınması önem taşımaktadır. Bu sistemler ilaçların biyoyararlanımını, farmakokinetiğini ve farmakodinamiğini iyileştirmeyi ve yan etkilerini azaltmayı sağlayabilmektedir. Küçük boyutlara sahip olabilmeleri ve ilaçların hastalık bölgelerinde kontrollü salımını sağlayabilmeleri nedeniyle polimerik nanopartiküllerin ilaç taşıyıcı sistemler olarak geliştirilmesi umut vericidir.

Bu tez kapsamında, AH tedavisinde en çok tercih edilen asetilkolinesteraz inhibitörü ilaç olan DZP'in KBB'den geçişini sağlamak için ilaç taşıyıcı platformlar olarak polimerik miseller geliştirilmiştir. Bu ilaç taşıyıcı sistemlerden ilk olarak tersinir ekleme-parçalanma zincir transferi (RAFT) polimerizasyonu ile poli(etilen glikol)-*b*-poli(*tert*-bütil metakrilat) (PEG-*b*-PtBMA) amfifilik blok kopolimerler sentezlenmiştir. Bir diğer taşıyıcı sistem olarak ise RAFT polimerizasyonu ile folik asit (FA)-konjugasyonlu amfifilik kopolimerler sentezlenmiştir. Elde edilen tüm polimerler, jel geçirgenlik kromatografisi (GPC), nükleer manyetik rezonans spektroskopisi (¹H NMR) ve diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) teknikleri ile karakterize edilmiştir. Boş ve DZP yüklü polimerik miseller diyaliz yöntemiyle hazırlanmış ve dinamik ışık saçılımı (DLS) ve transmisyon elektron mikroskobu (TEM) analizleri kullanılarak boyut, zeta potansiyeli ve stabilite açısından kapsamlı bir şekilde karakterize edilmiştir. Polimerik misellerin ilaç yükleme verimliliği ve salım davranışı UV/Vis mikropilaka okuyucu ile izlenmiştir. Misellerin sitotoksitesi, hücresel alımları kolorimetrik testler ve empedans ölçümleriyle incelenmiştir. Ayrıca, nanotaşıyıcıların *in vitro* KBB kültür modeli üzerindeki geçirgenliği gözlemlenmiştir. İlaç yüklü polimer miseller, DZP ile benzer bir geçirgenlik gösterdiği belirlenmiştir. Bu tez çalışması, polimerik misellerin bir ilaç taşıma sistemi olarak AH gibi nörodejeneratif bozuklukların tedavisinde kullanılabilme potansiyelini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Alzheimer hastalığı, polimerik miseller, donepezil, kan-beyin bariyeri.

KURKUMİN YÜKLÜ TOPİKAL FORMÜLASYONLARIN GELİŞTİRİLMESİ VE KARAKTERİZASYONU

ÖZET

Yaygın şekli ile zerdeçal olarak bilinen *Curcuma longa L.*; rizomunda bulunan biyoaktif bileşiklere, özellikle Kurkumin'e ve Turmeron'a atfedilen terapötik etkileri ile tanınmaktadır. Bu bileşikler; antiinflamatuvar, antioksidan ve anti-tümör etkileri dahil olmak üzere çeşitli terapötik özellikler sergilemektedir. Bununla birlikte, bu bileşiklerin topikal olarak uygulanması deri üzerinde irritasyona neden olma konusunda önemli bir potansiyel taşımaktadır. Bu çalışma kapsamında, deride görülen irritasyon olasılığının azaltılmasına yönelik Kurkumin ve Turmeron yüklü katı lipit nanopartiküllerin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Katı lipit nanopartikül formülasyonları yüksek devirli homojenizasyon ve ultrasonikasyon yöntemi kullanılarak hazırlanmış ve yanıt yüzey metodolojisi uygulanarak optimize edilmiştir. Katı lipit Compritol® 888 ATO (gliseril behenat) ve yüzey aktif madde Plantacare® 810 (kapril glukozit) miktarları bağımsız değişkenler, enkapsülasyon etkinliği ve partikül boyutu ise yanıtlar olarak belirlenmiştir. Hazırlanan bütün formülasyonlara belirlenen kritik parametreler öncülünde deneysel tasarım çalışmaları uygulanmıştır. Katı lipit miktarının artırılması, enkapsülasyon etkinliği değerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artışa yol açmıştır. Yüzey aktif madde miktarının artmasının da enkapsülasyon etkinliğini olumlu yönde etkilediği görülmüştür. Partikül boyutu incelendiğinde ise, Plantacare® 810 miktarındaki değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı bir etki gösterirken Compritol® 888 ATO miktarındaki değişikliklerin boyut üzerinde istatistiksel olarak bir anlamlılık göstermediği görülmüştür. Optimize edilmiş katı lipit nanopartikül formülasyonu Kurkumin ve Turmeron için yüksek oranda enkapsülasyon etkinliği göstermiştir. Elde edilen nanopartiküllerin küresel ve homojen bir şekle sahip olduğu çevresel taramalı elektron mikroskopu görüntüleri ile doğrulanmıştır. *In-vitro* salım çalışması için sink koşulları sağlanmış olup 24 saatlik salım süresinin sonunda Kurkumin ve Turmeron için sırasıyla % 71,32 ± 3,73 ve % 67,23 ± 1,64 oranlarında kümülatif salım elde edilmiştir. Ayrıca formülasyonun stabilitesi fiziksel stabilite testleri ile doğrulanmış ve 5 ± 3°C'de en az 60 gün boyunca formülasyonun saklanabileceği gösterilmiştir. Özellikle, yeniden yapılandırılmış insan epidermal modeli EpiDerm™ kullanılarak yapılan *in-vitro* deri irritasyon çalışması neticesinde, enkapsüle edilmemiş Kurkumin ve Turmeron ile karşılaştırıldığında Kurkumin ve Turmeron yüklü katı lipit nanopartikül ile irritasyon düzeyinde önemli bir azalma olduğu ortaya konmuştur. Bu bulgular, irritasyon düzeylerinin azaltılmasına yönelik optimize edilmiş katı lipit nanopartikülün Kurkumin'in ve Turmeron'un çeşitli topikal kullanımları için uygun bir taşıyıcı sistemi olduğunu desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Kurkumin, Turmeron, Deri irritasyonu, Üç boyutlu yeniden yapılandırılmış insan epidermal modeli, Katı lipit nanopartikül, Yanıt yüzey yöntemi