T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEŞİTLİ POLOXAMER MOLEKÜLLERİNİN MİSELLEŞME DAVRANIŞLARININ MOLEKÜLER SİMÜLASYONLAR İLE BELİRLENMESİ

ERDAL ANIL DALGAKIRAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOTEKNOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: DOÇ. DR. GÖKHAN KAÇAR

EDİRNE-2023

ERDAL ANIL DALGAKIRAN'ın hazırladığı "**Çeşitli poloxamer moleküllerinin miselleşme davranışlarının moleküler simülasyonlar ile belirlenmesi**" başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalında bir **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri (Ünvan, Ad, Soyad): İmza

Doç. Dr. Gökhan KAÇAR

Doç. Dr. Özge KÜRKÇÜOĞLU LEVİTAS

Dr. Öğr. Üyesi Sevil ERDOĞAN

Tez Savunma Tarihi: 16 / 01 / 2023

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

İmza

Doç. Dr. Gökhan KAÇAR
Tez Danışmanı

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Prof. Dr. Hüseyin Rıza Ferhat KARABULUT

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

T.Ü.FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ VE GENETİK YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
DOĞRULUK BEYANI

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında, tüm verilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini, kullanılan verilerde tahrifat yapılmadığını, tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını, kullanılan tüm literatür bilgilerinin bilimsel normlara uygun bir şekilde kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını ve bu tezin tamamı ya da herhangi bir bölümünün daha önceden Trakya Üniversitesi ya da farklı bir üniversitede tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

16 / 01 / 2023

Erdal Anıl DALGAKIRAN

Yüksek Lisans Tezi

Çeşitli poloxamer moleküllerinin miselleşme davranışlarının moleküler simülasyonlar ile belirlenmesi

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalı

ÖZET

Poloxamer molekülleri, düşük toksisiteleri ve geri çevrilebilir miselleşme davranışları sayesinde, başta ilaç taşıyıcı sistemler olmak üzere biyoteknolojinin birçok alanında kullanılmaktadır veya umut vaat etmektedir. Bu tez kapsamında Pluronic® L81, P84, P85 ve F88 ticari isimlerine sahip poloxamer polimerlerinin miselleşme davranışlarının moleküler modelleme ve simülasyon yöntemleri ile belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu özelliklerin moleküler simülasyonlar tarafından belirlenmesi için hesaplamalı yöntemler geliştirmesi bakımından özgün olan bu çalışma boyunca gerçekleştirilen tüm simülasyonlarda Dağılıcı Parçacık Dinamiği (DPD) yöntemi kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar, poloxamer sistemlerinin miselleşme davranışlarının daha iyi anlaşılmasını sağlayarak moleküler düzeydeki misel yapıları hakkında bilgi sağlayacaktır. Ayrıca, simülasyonlar sonucunda Kritik Miselleşme Konsantrasyonu (KMK) gibi parametrelerin deneysel sonuçlarla uyumlu olarak belirlenebilmesi bu simülasyon yönteminin etkinliğini ispatlıyor olup, farklı deneysel sistemlerde de kullanılmasının önünü açacaktır.

Yıl : 2023

Sayfa Sayısı : 51

Anahtar Kelimeler : kaba tanecikli modelleme, moleküler simülasyon, dağılıcı parçacık dinamiği, poloxamer, miselleşme

Master's Thesis

Determination of micellization behaviour of various poloxamer molecules via molecular simulations

Trakya University Institute of Natural and Applied Sciences

Department of Biotechnology and Genetics

ABSTRACT

Poloxamer molecules are used or promising in many areas of biotechnology, especially drug delivery systems, thanks to their low toxicity and reversible micellization behavior. In this thesis, it is aimed to determine the micellization behaviour of various Poloxamer molecules with the commercial names Pluronic® L81, P84, P85 and F88 via coarse-grained modelling. DPD method has been used in all of the simulations carried out in this study which is distinctive in terms of investigating these properties via simulations. Results that have been obtained will help the better understanding of molecular structures of poloxamer molecules. Moreover, estimated parameters such as Critical Micellization Concentration (CMC) have been compared with that of the experimental values found in the literature. Ability of the simulations to successfully predict experimental values have proven the efficiency of the simulation method and have shown that they can be used for other polymeric systems about which there is no experimental information is present in the literature.

Year : 2023

Number of Pages : 51

Keywords : coarse-grained modelling, molecular simulation, dissipative particle dynamics, poloxamer, micellization

TEŞEKKÜR

Tezim ile ilgili çalışmalarımın her aşamasında bana her konuda destek olan danışmanım Doç. Dr. Gökhan KAÇAR'a teşekkürlerimi sunarım. Bu araştırmada yer alan kısmi nümerik hesaplamalar TÜBİTAK ULAKBİM, Yüksek Başarım ve Grid Hesaplama Merkezi'nde (TRUBA kaynaklarında) gerçekleştirilmiştir.

İÇİNDEKİLER

ÖZET iv
ABSTRACT v
TEŞEKKÜR vi
İÇİNDEKİLER vii
SİMGELER DİZİNİ ix
KISALTMALAR DİZİNİ x
ŞEKİLLER DİZİNİ xi
ÇİZELGELER DİZİNİ xii
EKLER DİZİNİ xiii
BÖLÜM 1 1
GİRİŞ VE AMAÇ 1
BÖLÜM 2 3
GENEL BİLGİLER 3
2.1. Poloxamer Moleküllerinin Genel Özellikleri 3
2.2. Poloxamerlerin Miselleşme Davranışı 4
2.3. Moleküler Dinamik Simülasyonları 6
2.4. Kaba-Tanecikli Modelleme 7
2.5. Dağılıcı Parçacık Dinamiği (DPD) Yöntemi 7
BÖLÜM 3 10
MATERYAL VE SİMÜLASYON DETAYLARI 10
3.1. Poloxamer Moleküllerinin Modellenmesi 10
3.2. Başlangıç Yapısının Oluşturulması 11
3.3. DPD Parametrelerinin Belirlenmesi 11
3.4. Hidrojen Bağlarının Modellenmesi 11
3.5. Simülasyon Detayları 12
BÖLÜM 4 13
SONUÇLAR VE TARTIŞMA 13
4.1. Miselleşme Davranışı ve Morfolojik Analiz 13
4.2. Kritik Miselleşme Konsantrasyonunun Belirlenmesi 19
EKLER 24
KAYNAKLAR 33

ÖZGEÇMİŞ 36

SİMGELER DİZİNİ

a_{ii}	:	Aynı türdeki tanecikler arasındaki DPD itici etkileşim parametresi
a_{ij}	:	Farklı türdeki tanecikler arasındaki DPD itici etkileşim parametresi
D_0	:	Morse potansiyeli derinlik parametresi
F	:	Kuvvet
N	:	Agregasyon sayısı
r	:	Konum
v	:	Hız
w	:	Ağırlık katsayısı
χ	:	Mol fraksiyonu
χ_{ij}	:	Flory-Huggins parametresi
$\%_{(a/a)}$	:	Ağırlıkça yüzde

KISALTMALAR DİZİNİ

CMC	:	Kritik Miselleşme Konsantrasyonu (Critical Micellization Concentration)
DPD	:	Dağılıcı Parçacık Dinamiği (Dissipative Particle Dynamics)
LD	:	Öldürücü Doz (Lethal Dose)
MD	:	Moleküler Dinamik (Molecular Dynamics)
PEG	:	Polietilen Glikol (Polyethylene Glycol)
PEO	:	Polietilen Oksit (Polyethylene Oxide)
PLA	:	Polilaktik Asit (Polylactic Acid)
PPO	:	Polipropilen Oksit (Polypropylene Oxide)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Simülasyonlarda kullanılan kaba-tanecikli poloxamer modeli 10
Şekil 4.1. Pluronic® L81 molekülünün ağırlıkça yüzde (a) 3, (b) 7, (c) 15, (d) 30 konsantrasyonlarındaki denge durumu görüntüleri (kırmızı: hidrofilik A tanecikleri, mavi: hidrofobik B tanecikleri) 14
Şekil 4.2. Pluronic® P84 molekülünün ağırlıkça yüzde (a) 3, (b) 7, (c) 15, (d) 30 konsantrasyonlarındaki denge durumu görüntüleri (kırmızı: hidrofilik A tanecikleri, mavi: hidrofobik B tanecikleri) 15
Şekil 4.3. Pluronic® P85 molekülünün ağırlıkça yüzde (a) 3, (b) 7, (c) 15, (d) 30 konsantrasyonlarındaki denge durumu görüntüleri (kırmızı: hidrofilik A tanecikleri, mavi: hidrofobik B tanecikleri) 17
Şekil 4.4. Pluronic® F88 molekülünün ağırlıkça yüzde (a) 3, (b) 7, (c) 15, (d) 30 konsantrasyonlarındaki denge durumu görüntüleri (kırmızı: hidrofilik A tanecikleri, mavi: hidrofobik B tanecikleri) 18

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Teze konu olan dört Pluronic® molekülünün moleküler kütleleri ve zincir uzunlukları 5
Çizelge 3.1. Simülasyonlar için tanımlanan taneciklere ait parametreler 10
Çizelge 3.2. Tez çalışması kapsamında simülasyonu gerçekleştirilen sistemler 12
Çizelge 4.1. Pluronic® L81 sistemlerine ait morfolojik bilgiler 13
Çizelge 4.2. Pluronic® P84 sistemlerine ait morfolojik bilgiler 15
Çizelge 4.3. Pluronic® P85 sistemlerine ait morfolojik bilgiler 16
Çizelge 4.4. Pluronic® F88 sistemlerine ait morfolojik bilgiler 17
Çizelge 4.5. Misel çaplarının literatürdeki değerleri ile simülasyon verilerinden hesaplanan değerlerin karşılaştırması 19
Çizelge 4.6. Literatürde bulunan CMC değerleri ile simülasyon verilerinden hesaplanan CMC değerlerinin karşılaştırması 20

EKLER DİZİNİ

EK-1 Pluronic® L81 molekülünün $\%_{a/a}$ 1'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 24
EK-2 Pluronic® L81 molekülünün $\%_{a/a}$ 3'lük sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 24
EK-3 Pluronic® L81 molekülünün $\%_{a/a}$ 5'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 24
EK-4 Pluronic® L81 molekülünün $\%_{a/a}$ 7'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 24
EK-5 Pluronic® L81 molekülünün $\%_{a/a}$ 10'luk sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 25
EK-6 Pluronic® L81 molekülünün $\%_{a/a}$ 12'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 25
EK-7 Pluronic® L81 molekülünün $\%_{a/a}$ 15'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 25
EK-8 Pluronic® L81 molekülünün $\%_{a/a}$ 30'luk sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 25
EK-9 Pluronic® P84 molekülünün $\%_{a/a}$ 1'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 25
EK-10 Pluronic® P84 molekülünün $\%_{a/a}$ 3'lük sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 26
EK-11 Pluronic® P84 molekülünün $\%_{a/a}$ 5'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 26
EK-12 Pluronic® P84 molekülünün $\%_{a/a}$ 7'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 26
EK-13 Pluronic® P84 molekülünün $\%_{a/a}$ 10'luk sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 26
EK-14 Pluronic® P84 molekülünün $\%_{a/a}$ 12'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 27

EK-15 Pluronic® P84 molekülünün %a/a 15'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 27
EK-16 Pluronic® P84 molekülünün %a/a 30'luk sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 27
EK-17 Pluronic® P85 molekülünün %a/a 1'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 27
EK-18 Pluronic® P85 molekülünün %a/a 3'lük sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 27
EK-19 Pluronic® P85 molekülünün %a/a 5'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 28
EK-20 Pluronic® P85 molekülünün %a/a 7'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 28
EK-21 Pluronic® P85 molekülünün %a/a 10'luk sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 28
EK-22 Pluronic® P85 molekülünün %a/a 12'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 28
EK-23 Pluronic® P85 molekülünün %a/a 15'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 29
EK-24 Pluronic® P85 molekülünün %a/a 30'luk sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 29
EK-25 Pluronic® F88 molekülünün %a/a 1'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 29
EK-26 Pluronic® F88 molekülünün %a/a 3'lük sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 29
EK-27 Pluronic® F88 molekülünün %a/a 5'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 29
EK-28 Pluronic® F88 molekülünün %a/a 7'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 30
EK-29 Pluronic® F88 molekülünün %a/a 10'luk sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 30
EK-30 Pluronic® F88 molekülünün %a/a 12'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 30

EK-31 Pluronic® F88 molekülünün $\%_{a/a}$ 15'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 30
EK-32 Pluronic® F88 molekülünün $\%_{a/a}$ 30'luk sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri 31
EK- 33 Morse potansiyeli parametrelerini hesaplarken kullanılan denklemi elde etmek için yapılan lineer regresyon işleminde kullanılan parametreler (Kacar & With, 2016) 31
EK-34 Pluronic® L81 molekülünün farklı konsantrasyonlara ait simülasyonlarındaki molekül sayıları 31
EK-35 Pluronic® P84 molekülünün farklı konsantrasyonlara ait simülasyonlarındaki molekül sayıları 31
EK-36 Pluronic® P85 molekülünün farklı konsantrasyonlara ait simülasyonlarındaki molekül sayıları 31
EK-37 Pluronic® F88 molekülünün farklı konsantrasyonlara ait simülasyonlarındaki molekül sayıları 32

BÖLÜM 1

GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde ilaç molekülünün suda çözünmemesi, kabul edilemeyecek bir yan etki profili çizmesi, vücut içerisinde stabil kalamaması gibi, bir ilaçtan istenen terapötik faydanın alınmasının önüne geçen çeşitli sorunlara karşı yeni ilaç taşıma sistemleri araştırılmakta ve geliştirilmektedir. Bunlara örnek olarak miseller, lipozomlar, nanoküreler, nanokabuklar, nanokapsüller verilebilir (Tanbour vd., 2016). İlaç taşıma sistemlerinin temel amacı bir ilaç molekülünden istenen terapötik etkinin alınması olmakla birlikte, bunu başarmak için izlediği temel strateji ilaç molekülünü bulunduğu çevreden izole etmekdir. Bunu yaparak molekülü bozunmaktan koruyabilir ve çözünürlüğü olmadığı bir ortamda taşınmasını sağlayabilir. Bir ilaç taşıma sistemi, ilaç molekülünü yalnızca etki etmesi istenen vücut bölgesinde serbest bırakarak diğer vücut bölgelerinde serbest dolaşması durumunda yol açacağı olumsuz etkileri ortadan kaldırabilir.

Bir blok kopolimer olan poloxamer molekülleri sulu ortamda miselleşme davranışı gösterek ilaç moleküllerinin taşınmasında rol oynayabilirler. Polimerik miseller deneysel olarak incelenmesine rağmen (Khimani, Rao, Bahadur & Bahadur, 2014), moleküler seviyede gerçekleşen miselleşme davranışlarının belirlenmesi için moleküler düzeyde yaklaşımlar geliştirilmesi gereklidir. Bu yaklaşımlar arasında moleküler modelleme ve simülasyon yöntemleri günümüzde son derece kullanışlı yöntemler olarak değerlendirilmektedir. Literatürde, bu kapsamdaki çalışmalar nitelik ve nicelik bakımından eksiktir ve tez kapsamında bu amaç doğrultusunda geliştirilecek moleküler modelleme yöntemlerinin literatürdeki bu önemli eksiği kapatması planlanmıştır.

Bir kaba tanecikli modelleme yöntemi olan Dağılıcı Parçacık Dinamiği (DPD) yöntemi, daha önce bir Pluronic® L64 polimerinin ilaç yükleme verimliliğinin incelenmesi için uygulanmıştır (Kacar, 2019). Bu tez kapsamında ise Pluronic® L81, P84, P85 ve F88 moleküllerinin sulu çözeltilerinin simülasyonları DPD yöntemi ile gerçekleştirilerek miselleşme davranışları incelenmiştir. Bu polimerlerik sistemlerin deneysel çalışmaları literatürde mevcuttur ve farklı zincir uzunluklarına sahip bu yapıların misel yapıları ve dinamiğinin birbirinden farklı olduğu deneysel olarak bilinmektedir (Khimani vd., 2014). Makroskopik olarak farklı morfolojilerde olan bu yapıların sulu çözeltilerinin sahip olduğu moleküler yapılar belirlenen konsantasyon aralığında bu tez kapsamında DPD simülasyonları ile belirlenmiştir. Literatürde farklı zincir uzunluklarında poloxamer sistemlerinin modelleme çalışmaları bulunmaktadır (Bedrov, Ayyagari & Smith, 2006) fakat bu tez kapsamında incelenmiş olan polimer zincirlerinin DPD yöntemiyle modellemesi bakımından tez çalışması konusu bilgimiz dahilinde literatürdeki ilk çalışma olmuştur.

Diğer yandan, gerçekleştirilmiş olan DPD simülasyonları ile çalışılan polimerik sistemlerin deneysel yöntemler tarafından elde edilmesi zor olan moleküler düzeyde yapısal özellikleri belirlenmeye çalışılmıştır. Miselleşme davranışlarının incelemesinde misel boyutu, miseli oluşturan polimerik zincir sayısı, polimerik zincirlerin fiziksel özellikleri gibi özellikler incelenmiştir. Uzun vadede, tez kapsamında ortaya konulan simülasyon yaklaşımının farklı polimerik sistemler için uygulanabilir olması beklenmektedir.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1. Poloxamer Moleküllerinin Genel Özellikleri

Poloxamer molekülleri iki polietilen oksit (PEO) zinciri ile bunların ortasında yer alan bir polipropilen oksit (PPO) zincirinden oluşan uzun polimerik moleküllerdir. Uçtaki PEO zincirleri hidrofilik bir karaktere sahip olup su molekülleri ile etkileşim yapmaya eğilim gösterirken, merkezi PPO zinciri sahip olduğu metil grubundan dolayı hidrofobik bir karaktere sahiptir. Bu durum poloxamer moleküllerine amfifilik bir davranış sergileme özelliğini kazandırmaktadır.

Poloxamerler sahip oldukları PPO ve PEO zincirlerinin uzunluklarına göre bir isimlendirmeye tabii tutulurlar. İsimlendirmeye P harfi ile başlanır ve molekülün merkezinde yer alan hidrofobik polipropilen zincirin moleküler kütlesi 100'e bölünerek elde edilen iki basamaklı sayı, bu harfin sağ tarafına eklenir. Son olarak, hidrofilik polietilen oksit zincirlerinin kütlesinin tüm molekül içindeki yüzdesi 10'a bölünerek elde edilen tek basamaklı sayı en sona eklenir.

Pluronic® ve Synperonic markaları altında satılan poloxamer moleküllerinin isimlendirmesi biraz farklıdır. Bunlarda isimlendirmeye poloxamerin oda sıcaklığındaki fiziksel formuna özgü bir harf kodu ile başlanır. Sıvı bir haldeyse L (likit) harfi, macun kıvamındaysa P (macun) harfi, katı tanecikli bir yapıdaysa F (tanecik) harfi ile kodlanır. Poloxamer molekülünün merkezinde yer alan hidrofobik polipropilen zincirin moleküler kütlesi 300'e bölünerek elde edilen iki basamakla sayı harfin sağ tarafına eklenir. Son olarak, hidrofilik polietilen oksit zincirlerinin kütlesinin tüm molekül içindeki yüzdesi 10'a bölünerek elde edilen tek basamaklı sayı en sona eklenir. Örneğin; bu çalışmada incelenen poloxamer moleküllerinden biri olan Pluronic® P84 molekülü oda sıcaklığında

macun kıvamında olup, ortalama 2400 g/mol (8 x 300 g/mol) PPO ve ağırlıkça yüzde 40 oranında PEO zinciri içerir.

2.2. Poloxamerlerin Miselleşme Davranışı

Poloxamer moleküllerinin amfifilik özelliği onların sulu ortamda miselleşme davranışı göstermelerine yol açar. Farklı poloxamer çeşitleri için değişkenlik gösteren Kritik Miselleşme Konsantrasyonu'na (CMC) ulaşıldığında gözlenen bu miselleşme davranışı, poloxamerlerin ilaç taşıma sistemi olarak değerlendirilmesini mümkün kılmıştır (Bodratti & Alexandridis, 2018). Hidrofobik PPO zincirinin oluşturduğu misel çekirdeği, suda iyi çözünmeyen küçük ilaç moleküllerine barınabilmeleri için uygun bir ortam sunmaktadır. Bu tür ilaç molekülleri genelde poloxamer miselleri tarafından bir paket gibi taşınırken, kendileri de amfifilik özellik gösteren görece büyük ilaç molekülleri ise poloxamer molekülleriyle birlikte miseller oluşturarak misellerin yapı taşı gibi davranabilirler.

Miselleşme davranışını detaylandırmak gerekirse, bir poloxamer molekülünün düşük konsantrasyonlu sulu çözeltisinde poloxamer molekülleri birbirinden bağımsız halde bulunurlar. Bu şekilde, su molekülleri tarafından sarılı haldeki poloxamer moleküllerine unimer adı verilir. Poloxamer konsantrasyonu arttıkça bu unimerler birbirleri ile rast gelerek etkileşime girmeye başlarlar. Birden fazla unimerin birbirine tutunarak oluşturduğu yapılara agregat adı verilir. Poloxamer konsantrasyonu daha da artırılarak CMC'ye ulaşıldığında ise PEO taneciklerinin yoğunlaştığı hidrofilik bir dış tabaka (korona) ile PPO taneciklerinin yoğunlaştığı hidrofobik bir çekirdeğe sahip olan miseller gözlemlenmeye başlanır. Miseller, aslında görece düzenli bir yapıya sahip agregatlardır ve miseller söz konusu olduğunda agregasyon sayısı tanımlanabilir. Agregasyon sayısı, bir miseli oluşturan poloxamer zincirlerinin sayısını ifade eder ve genelde poloxamer konsantrasyonunun yükselmesiyle birlikte artış gösterir.

Poloxamer konsantrasyonu daha da yükseltilerek belli bir eşik aşılırsa miseller kaynaşarak devasa boyutlarda miseller oluşturabilirler. Poloxamer konsantrasyonu yükseltilmeye devam edilirse bir noktadan sonra su molekülleri arasındaki bütünlük bozulur ve su molekülleri gruplar halinde bir araya gelerek agregatlar oluşturmaya başlarlar. Bu olaya tersine miselleşme (reverse micellization) adı verilir (Melo vd., 2001).

Bu teze konu olan Pluronic® L81, P84, P85 ve F88 molekülleriyle ilgili temel bilgiler Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Teze konu olan dört Pluronic® molekülünün moleküler kütleleri ve zincir uzunlukları

Pluronic®	Moleküler Kütle (g/mol)	Zincir Uzunlukları (PEO – PPO – PEO)
L81	2.750	3 – 43 – 3
P84	4.200	19 – 43 – 19
P85	4.600	26 – 40 – 26
F88	11.400	104 – 39 – 103

Poloxamer molekülleri çeşitli farmasötik ve tıbbi amaçlarla değerlendirilme potansiyeli olan moleküllerdir. Düşük toksisitelerinden kaynaklı yüksek biyouyumlulukları ile amfifilik özellikleri sayesinde ilaç taşıma sistemi olabilmelerinin yanı sıra, kanser dahil birçok hastalığın teşhisi ve tedavisi gibi farklı amaçlarla da kullanılabilmektedirler (Yu vd., 2021).

Yapılan bir çalışmada, normalde çözünürlük problemi yaşanan oksakarbazepin molekülünün $\%_{a/h}$ 5 konsantrasyonundaki Pluronic® P84 misellerinin varlığında % 98,33 yükleme verimliliği ile bu misellere yüklenerek taşınabildiği görülmüştür (Singla vd., 2016). Bir diğer çalışmada, haloperidol molekülünün fizyolojik çözeltisine % 10 konsantrasyonunda Pluronic® P85 molekülü eklenerek deney farelerine intravenöz yolla verildikten sonra LD_{95} değerleri ölçüldüğünde, Pluronic® P85 misellerinin haloperidol çözünürlüğünü artırıcı etkisinden kaynaklı olarak, toksisitenin 5 kat arttığı belirlenmiştir (Kabanov vd, 1989).

Doğada pamuk bitkisinin birçok kısmında bulunan bir pigment olan gossypol normalde kolon kanseri hücrelerinin büyümesini inhibe etme özelliğine sahip olan fakat suda çözünmeyen (çözünürlüğü 0,01 mg/mL'den az) bir moleküldür (Yan vd., 2010). Tomoda ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Pluronic® P85 ve F88 misellerinin varlığının gossypol molekülüne suda sırasıyla 9,4 ± 0,4 mg/mL ve 9,9 ± 0,1 mg/mL kadar çözünürlük kazandırdığı ortaya konmuştur (Tomoda vd., 2015).

Pluronic® L81 molekülünün ilaç taşıma özelliğiyle ilgili literatürde birçok çalışma bulunmaktadır. Aseklofenak, lamotrijin ve siprofloksasin gibi çeşitli ilaç molekülleriyle

yapılan çalışmalarda Pluronic® L81 misellerinin suda iyi çözünmeyen hidrofobik molekülleri, özellikle de ikinci bir çeşit Pluronic® molekülleri ile karışım hâlinde misel oluşturdukları zaman, taşıyarak çözünürlüklerini artırdığı birden fazla kez gösterilmiştir (Chaudhari & Patil, 2014; Kulthe vd., 2011; Senthilkumar vd., 2019).

2.3. Moleküler Dinamik Simülasyonları

Moleküler dinamik simülasyonları, çeşitli sistemlerin bilgisayar ortamında, yani *in silico* şekilde çalışılmasını sağlayarak deneysel çalışmaların yüksek maliyetlerinden ve bunlara harcanan zamandan tasarruf etmeyi mümkün kılan bir yöntemdir.

Çalışma prensibi klasik fiziğe dayanmaktadır. Parçacıkların konumları, hız vektörleri ve parçacıklar arasındaki önceden tanımlanmış bağlar, sistemin durumunu tanımlar. Bağlı ve bağsız olmak üzere çeşitli etkileşim potansiyelleri hesaplanarak bu durum için her bir parçacık üzerine etkiyen net kuvvet bulunur. Newton'un ikinci yasasında yararlanarak parçacıkların ivme vektörleri hesaplandıktan sonra, hız vektörleri ve pozisyonları bulunarak sistemin bir sonraki adımdaki durumu elde edilmiş olur. Bu algoritmalara yaygın olarak kullanılmakta olan Velocity-Verlet algoritması örnek verilebilir (Frenkel & Smit, 2001). Bu algoritmada her bir adımda sırasıyla yeni konum *r*, yeni etkiyen kuvvet *F*, ve yeni hız *v* hesaplanır. Bu prosedürün matematiksel anlatımı Denklemler 2.1 ile 2.2 arasında gösterilmiştir.

$$r(t + \Delta t) = r(t) + v(t)\Delta t + \frac{1}{2m}F(t)\Delta t^2 \qquad \text{Denklem 2.1}$$

$$v(t + \Delta t) = v(t) + \frac{1}{2m}[F(t) + F(t + \Delta t)]\Delta t \qquad \text{Denklem 2.2}$$

Velocity-Verlet ve benzeri algoritmaların denklemlerinde tanecik üzerine etkiyen kuvvet yer almaktadır. Bu kuvvetin hesaplanması için kuvvet alanlarından yararlanılır. Kuvvet alanı kısaca tanecik tipleri ve bunların arasındaki etkileşimleri tanımlayan bir yöntem olarak tarif edilebilir. Simülasyondaki her bir tanecik kullanılan kuvvet alanının kriterlerine göre bir tanecik tipi ile işaretlenir. Kuvvet alanında tanımlanmış olan enerji terimlerinde bu tanecik tiplerine özel parametreler kullanılarak tanecikler üzerine etkiyen kuvvet hesaplanır. Modern bilgisayarların sürekli gelişen yüksek hızlı işlemcileri sayesinde tüm bu hesaplamalar daha seri şekilde yapılabilmekte ve böylelikle daha geniş zaman aralıklarında simülasyonlar gerçekleştirmek mümkün hale gelmektedir.

Moleküler dinamik simülasyonları, düşük maliyetli ve hızlı olmalarının yanı sıra, deneysel olarak çalışılması çok zor veya imkansız olan yapıların aydınlatılmasında önemi bir rol oynamaktadır. Moleküler kenetleme ve sanal tarama gibi yöntemlerle kombine edildiğinde, moleküler simülasyonların getirileri yeni ilaç keşfine kadar gidebilmektedir.

2.4. Kaba-Tanecikli Modelleme

Moleküler simülasyonlarda en büyük kısıtlayıcı etken işlem gücüdür. Devasa biyolojik yapılar veya polimerik sistemler gibi yüksek işlem gücü gerektiren sistemlerin simülasyonları için alternatif modelleme yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır.

Sistemin durumu hakkındaki bazı detaylar feda edilerek simülasyon için ihtiyaç duyulan işlem gücü azaltılabilir. Kaba-tanecikli modellemede atomlar yerine birden fazla atomdan oluşan atom grupları ile işlem yapılır. Bu atom grupları bir molekülün kendisi de olabilir. Bu yöntemde, kaba tanecikleri oluşturan atomların konumları ve hız vektörleri hesaplanmaz. Bunun yerine, kaba taneciğin konumu ve hız vektörü ile ilgilenilir. Böylece her bir adımda yapılması gereken hesaplama sayısı azalmış olur. Bu azalma, daha büyük sistemlerin çalışılmasına veya küçük sistemlerin daha uzun sürelerde simülasyonlarının gerçekleştirilebilmesine olanak sağlar.

Doğru bir parametrizasyon ile kaba-tanecikli simülasyonlar, ince-tanecikli simülasyonlar kadar doğru sonuçlar verebilir. Bu iki simülasyon çeşidinin birlikte kullanılması da mümkündür. Bir sistem kaba-tanecikli simülasyonlar ile uzun bir zaman boyunca simüle edildikten sonra, elde edilen yapılara tersine haritalandırma (reverse-mapping) yöntemi uygulanarak sistem ince-tanecikli yapıya dönüştürülebilir. Böylece başta feda edilmiş olan atomik bilgiler, sistem denge durumuna geldikten sonra simülasyon kısa bir süre daha devam ettirilerek toplanabilir.

2.5. Dağılıcı Parçacık Dinamiği (DPD) Yöntemi

Bir kaba-tanecikli simülasyon yöntemi olan Dağılıcı Parçacık Dinamiği (DPD), 1990lı yılların başlarında Hoogerbrugge ve Koelman tarafından ortaya atılmış olup, Español ve Warren tarafından geliştirilmiştir (Español & Warren, 1995; Hoogerbrugge & Koelman, 1992). Groot ve Warren tarafından DPD parametrelerinin kolayca hesaplanabilen Flory-Huggins parametreleri ile ilişkilendirilmesi sayesinde kullanımı kolaylaşmış ve yaygınlaşmıştır (Flory, 1941; Groot & Warren, 1997).

DPD yönteminde atomlar yerine, diğer kaba-tanecikli modellerde de olduğu gibi, bir atom grubunu temsil eden tanecikler yer alır. Bu yöntem sistemin denge hâlini araştırmak için uygundur. Denge durumuna ulaşırken sistemin hangi evrelerden geçtiği ile ilgilenilmez ve denge durumuna daha hızlı ulaşmak için ara evrelerdeki doğruluktan fedakarlık edilir. DPD yönteminde taneciklere etki eden toplam kuvvet f_i, üç ana kuvvet olan tutucu kuvvet F_{ij}^C, dağıtıcı kuvvet F_{ij}^D ve rastgele kuvvet F_{ij}^R kuvvetlerinin toplamlarına eşittir. Bu kuvvetler Denklem 2.3'te verilmiştir.

$$f_i = \sum_{j \neq i} \left(F_{ij}^C + F_{ij}^D + F_{ij}^R \right) \qquad \text{Denklem 2.3}$$

Tutucu kuvvet sistemin denge durumundaki yapısını belirler. Etki mesafesi 1 DPD mesafesi (r_{DPD}) ile limitlendirilmiş olan bu kuvvet Denklem 2.4'te ifade edilmiştir. Tanecikler arasındaki r_{ij} mesafesine bağlı olan tutucu kuvvetin şiddetini, itici a_{ij} parametresi belirler. İtici parametre, aynı tipte iki tanecik söz konusu olduğunda a_{ii} veya a_{jj} şeklinde de sembolize edilebilir.

$$F_{ij}^C = \begin{cases} a_{ij}\left(1 - r_{ij}\right)\hat{r}_{ij} & \left|r_{ij}\right| < 1 \\ 0 & \left|r_{ij}\right| \geq 1 \end{cases} \qquad \text{Denklem 2.4}$$

Denklemler 2.5 ve 2.6'da verilen dağıtıcı kuvvet ve rastgele kuvvet, beraber bir termostat görevi görür. Formüllerinde, tanecikler arasındaki r_{ij} mesafesine bağlı ağırlık fonksiyonları w^D ile w^R, sürtünme katsayısı γ, gürültü genliği σ, ve rastgele dalgalanan değişken θ_{ij} yer alır. Bu iki kuvvetin denge yapısı üzerinde hiçbir etkisi olmasa da denge yapısına ne kadar çabuk ulaşılabileceğini belirlerler. DPD yönteminden verim alabilmek için bu kuvvetlerin parametreleri iyi ayarlanarak simülasyonun zaman adımı maksimize edilebilir ve istenen hidrodinamik etki yaratılarak denge durumuna mümkün olan en az simülasyon adımı sonucunda ulaşılabilir.

$$F_{ij}^D = -\gamma w^D\left(r_{ij}\right)\left(\hat{r}_{ij} \cdot v_{ij}\right)\hat{r}_{ij} \qquad \text{Denklem 2.5}$$

$$F_{ij}^R = \sigma w^R\left(r_{ij}\right)\theta_{ij}\hat{r}_{ij} \qquad \text{Denklem 2.6}$$

DPD yöntemi, boyutsuz DPD yoğunluğunun 3 olduğu durumlarda doğru sonuç vermektedir. Bu kısıtlama, her taneciğin gerçekte kapladığı hacim farklı olabileceğinden, tersine haritalandırma yapıldığı zaman atomlar arasında gerçekçi olmayan mesafeler ortaya çıkmasına yol açmaktadır. Kacar tarafından 2013 yılında geliştirilen alternatif bir

parametrizasyon sayesinde tanecik boyutları dinamik tutulabilmektedir. Gerçekte sistem genelinde sabit bir yoğunluk yoktur (Kacar vd., 2013). Bu yeni parametrizasyon yöntemiyle lokal yoğunluk farklılıkları yaratılabilmekte ve gerçeğe daha yakın bir denge yapısı elde edilebilmektedir. Tanecikler arasındaki itici parametrenin hesaplanması Denklemler 2.7 ile 2.9 arasında gösterilmiştir. Denklemlerde basınç p, taneciklerin saf sayısal yoğunlukları p_i^{saf} ile p_j^{saf}, ve Flory-Huggins parametresi x_{ij} yer almaktadır.

$$\Delta a_{ij} = \frac{p}{0.0454\left(a_{ii}p_i^{saf} + a_{jj}p_j^{saf}\right)} x_{ij} kT \qquad \text{Denklem 2.7}$$

$$\Delta a_{ij} = a_{ij} - \hat{a}_{ij} \qquad \text{Denklem 2.8}$$

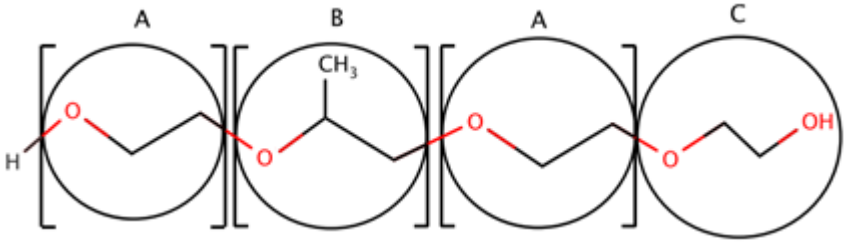
$$\hat{a}_{ij} = \sqrt{a_{ii}a_{jj}} \qquad \text{Denklem 2.9}$$

BÖLÜM 3

MATERYAL VE SİMÜLASYON DETAYLARI

3.1. Poloxamer Moleküllerinin Modellenmesi

Bu çalışmada poloxamer moleküllerinin hidrofilik PEO monomerleri A taneciği, hidrofobik PPO monomerleri B taneciği, molekülün ucundaki etilen glikol benzeri monomer C taneciği olarak modellenmiştir (Şekil 3.1). Su molekülleri ise W taneciği olarak tanımlanmıştır.



Şekil 3.1. Simülasyonlarda kullanılan kaba-tanecikli poloxamer modeli

Taneciklerin moleküler kütle, çözünürlük ve 25ºC sıcaklıktaki yoğunluk bilgileri Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Simülasyonlar için tanımlanan taneciklere ait parametreler

Tanecik	Karşılık Geldiği Molekül	Moleküler Kütle (g/mol)	Çözünürlük ($J^{0.5}/mol^{0.5}$)	Yoğunluk (g/mL)
A	Etil alkol	46,090	25,9	0,78500
B	2-propanol	60,096	23,4	0,77337
C	Etilen glikol	62,068	33,8	1,16647
W	Su	18,020	47,0	0,99705

3.2. Başlangıç Yapısının Oluşturulması

Moleküler simülasyon çalışmalarında simülasyon programına bir veya birden fazla dosya girdi olarak verilmelidir. Bu dosyalar, atomların veya taneciklerin koordinatlarını, kimyasal bağları, simülasyon kutusunun boyutlarını ve çeşitli simülasyon parametrelerini içerir. Bu çalışmada gerçekleştirilmiş olan simülasyonların tamamının başlangıç yapısı kendi yazmış olduğumuz bir başlangıç yapısı oluşturucu program yardımıyla elde edilmiştir. Programa girdi olarak poloxamer moleküllerinin yapıları ve simülasyonla ilgili detaylar (konsantrasyon vb.) verilmektedir. Program, girilen konsantrasyona göre molekül sayılarını ve simülasyon parametrelerini otomatik olarak hesaplamaktadır. Hesapladığı molekül sayılarına göre gereken sayıda poloxamer molekülünü simülasyon kutusuna yerleştirir. Yerleştirme yaparken molekülün ilk taneciğini rastgele bir noktaya konumlandırır ve geri kalan tanecikleri bir öncekinin 0.5 r_{DPD} uzağında olacak şekilde yerleştirir. Tüm poloxamer molekülleri yerleştirildikten sonra simülasyon kutusunda kalan boşlukları gerekli sayıda su molekülü ile doldurur. Hesapladığı simülasyon parametrelerini ve oluşturduğu başlangıç yapısını LAMMPS yazılımının girdi formatına uygun bir çıktı hâlinde verir.

3.3. DPD Parametrelerinin Belirlenmesi

DPD itici etkileşim parametrelerinin (a_{ii} ve a_{ij}) belirlenmesinde Groot ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş olan modelin Kacar ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş olan modifiyeli versiyonu kullanılmıştır (Groot & Warren, 1997; Kacar vd., 2013). Tüm simülasyonlara ait DPD itici etkileşim parametreleri ve Flory-Huggins parametreleri Ekler 1 ile 32 arasında sunulmuştur.

3.4. Hidrojen Bağlarının Modellenmesi

Poloxamerlerin sulu çözeltilerinde hidrofilik PEO zincirlerinin su molekülleri ile etkileşimlerinin miselleşme üzerindeki muhtemel etkisi göz ardı edilmemelidir. DPD yönteminde ise hidrojen bağlarının etkisini hesaba katacak bir potansiyel yer almamaktadır. Kacar ve With 2016 yılında su-alkol karışımlarının DPD ile simülasyonlarında Morse potansiyelini kullanarak bu eksikliğe bir çözüm getirmeyi hedeflemiştir (Kacar & With, 2016). Onların çalışmasından esinlenilerek bu çalışmadaki simülasyonlarda da hidrojen bağı etkileşimleri Morse potansiyeli eklenerek modellenmiştir. Poloxamer taneciklerinin etanol ile yüksek benzerlik göstermeleri

nedeniyle, çalışmalarında kullandıkları etanol-su parametrelerine lineer regresyon yapılarak elde edilen Denklem 3.1 kullanılarak Morse potansiyeli parametreleri hesaplanmıştır. Yapılan regresyonun R^2 değeri 0,9999 olarak hesaplanmıştır. Etanol mol fraksiyonu χ, başlangıç yapısı oluşturması için geliştirdiğimiz yazılım tarafından otomatik olarak hesaplanıp denklemdeki yerine yerleştirilerek Morse potansiyeli enerji parametresi D_0 elde edilmektedir. Regresyonda kullanılan değerler Ek 33'te sunulmuştur.

$$D_0 = 8.9797\chi + 7.3202 \qquad \text{Denklem 3.1}$$

3.5. Simülasyon Detayları

Tez çalışması kapsamında Pluronic® L81, P84, P85 ve F88 moleküllerinin 25°C sıcaklıktaki ağırlıkça yüzde 1, 3, 5, 7, 10, 12, 15 ve 30'luk simülasyonları gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.2). Simülasyonlar için LAMMPS simülasyon yazılımı kullanılmıştır (Plimpton, 1995).

Çizelge 3.2. Tez çalışması kapsamında simülasyonu gerçekleştirilen sistemler

Pluronic®	**$\%_{(a/a)}$ Konsantrasyon**	**Sıcaklık**
L81	1 – 3 – 5 – 7 – 10 – 12 – 15 – 30	25°C
P84	1 – 3 – 5 – 7 – 10 – 12 – 15 – 30	25°C
P85	1 – 3 – 5 – 7 – 10 – 12 – 15 – 30	25°C
F88	1 – 3 – 5 – 7 – 10 – 12 – 15 – 30	25°C

Simülasyon kutusunun her bir boyutu tüm simülasyonlar için 50x50x50 r_{DPD} olarak alınmıştır. Her bir simülasyon başlangıçtaki bir minimizasyonun ardından 500.000 adım boyunca dengeye getirilmiş (equilibration), 500.000 adım boyunca ise veri üretimi (production) yapılmıştır. Veri üretimi aşamasında her 1.000 adımda bir veri kaydedilmiş, böylece toplamda her sistem için 501 adet görüntü (snapshot) elde edilmiştir. Sistemlerde yer alan molekül sayıları Ekler 34 ile 37 arasında sunulmuştur.

BÖLÜM 4

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. Miselleşme Davranışı ve Morfolojik Analiz

Simülasyonların veri üretme aşamalarından toplanan 501 görüntünün analiz edilmesiyle elde edilen sonuçlar aşağıda her dört poloxamer molekülü için ayrı ayrı sunulmuştur. Sistemlerin görüntülerini almak için VMD yazılımı, morfolojik analizleri için ise kendi geliştirmiş olduğumuz analiz yazılımı kullanılmıştır (Humphrey vd., 1996). Tüm analizlerde yalnızca agregasyon sayısı üç veya daha fazla olan agregatlar misel olarak kabul edilmiştir. Çizelgelerdeki r_{DPD} değeri simülasyonlardaki 1 r_{DPD} uzunluğunun gerçek hayatta kaç Å uzunluğa karşılık geldiğini, N değeri ortalama agregasyon sayısını (bir miseldeki ortalama polokasmer molekülü sayısı), çap değeri ortalama misel çapını, A/V değeri ise misellerin ortalama yüzey alanı/hacim oranlarını göstermektedir.

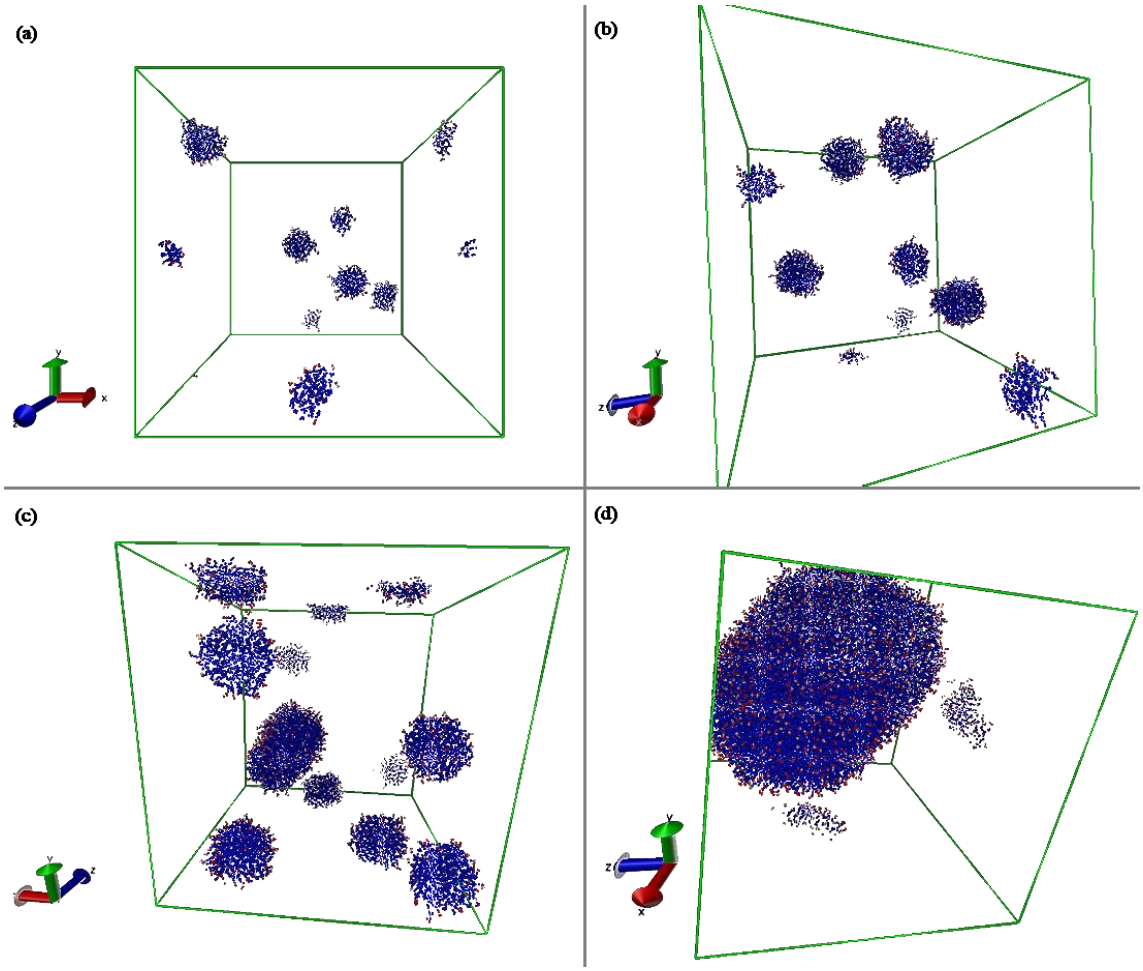
Pluronic® L81 molekülünün morfolojik analiz sonuçları Çizelge 4.1'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, Pluronic® L81 misellerinin boyutları konsantrasyonla birlikte genelde artış göstermiştir. Pluronic® L81 misellerinin sergilediği bu birleşme eğilimi, molekülün çok kısa hidrofilik PEO zincirlerine göre çok daha uzun bir hidrofobik PPO zincirine sahip olmasına bağlanabilir.

Çizelge 4.1. Pluronic® L81 sistemlerine ait morfolojik bilgiler (standart sapma en az 2 misel içeren sistemler için hesaplanabilmiştir)

$\%_{a/a}$ L81	**r_{DPD} (Å)**	**N**	**Çap (r_{DPD})**	**Çap (nm)**	**Standart Sapma (nm)**	**A/V (nm^{-1})**
1	4,50	6	6,2	2,8	0,7	2,15
3	4,53	15	7,8	3,5	1,0	1,70
5	4,56	21	8,8	4,0	1,5	1,50

7	4,59	26	9,6	4,4	0,9	1,37
10	4,64	44	11,6	5,4	1,4	1,12
12	4,67	80	15,1	7,1	0,9	0,85
15	4,72	59	12,7	6,0	1,3	1,00
30	4,99	926	48,8	24,4	tanımsız	0,25

Farklı konsantrasyonlardaki Pluronic® L81 misellerine ait simülasyon görüntüleri Şekil 4.1'de verilmiştir.



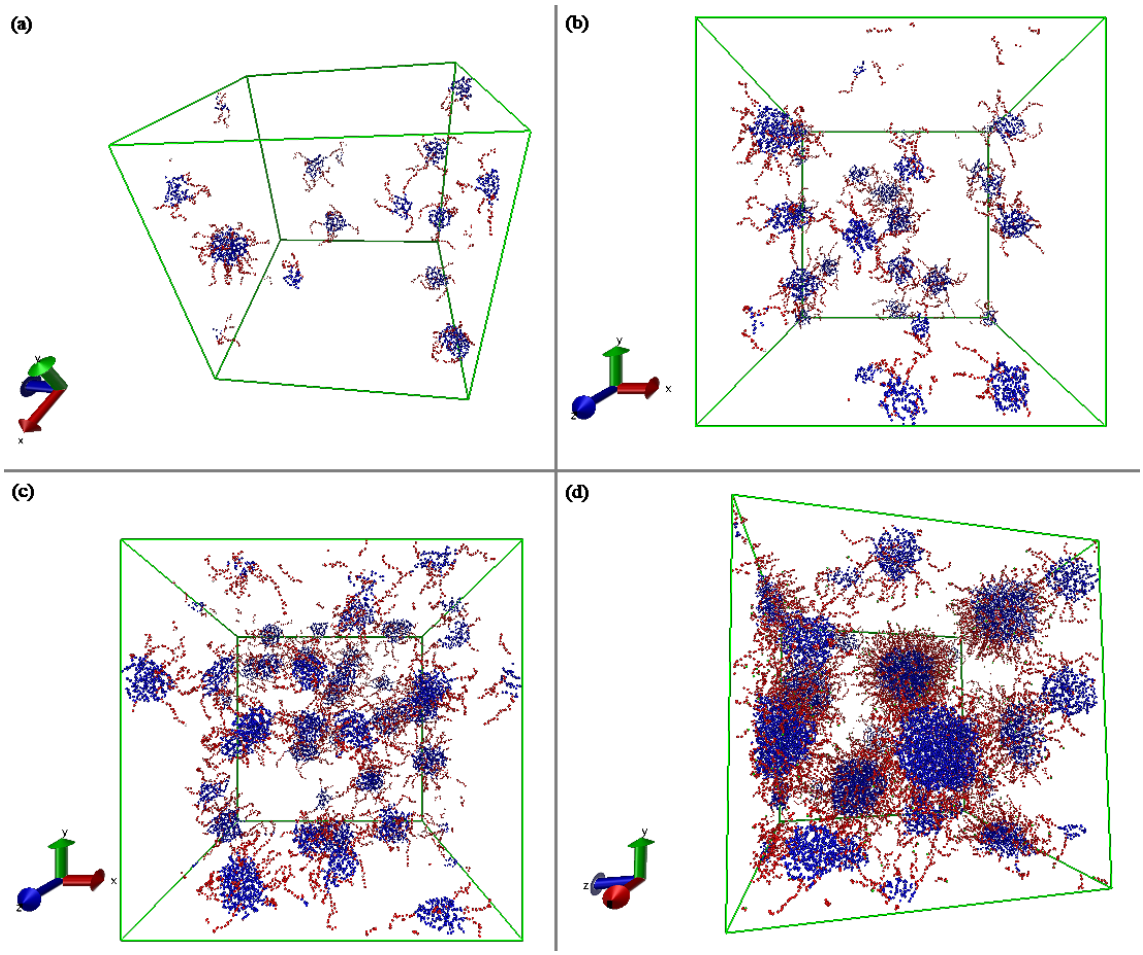
Şekil 4.1. Pluronic® L81 molekülünün ağırlıkça yüzde (a) 3, (b) 7, (c) 15, (d) 30 konsantrasyonlarındaki denge durumu görüntüleri (kırmızı: hidrofilik A tanecikleri, mavi: hidrofobik B tanecikleri)

Pluronic® P84 molekülünün morfolojik analiz sonuçları Çizelge 4.2'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, Pluronic® P84 misellerinin boyutu konsantrasyon artışından etkilenmeyerek 4.0 nm – 4.3 nm aralığında kalmıştır. Ancak, %a/a 30 konsantrasyonluk sistemde perkolasyon eşiğinin aşılmış olduğu ve tüm misellerin kaynaşarak devasa bir misel oluşturduğu görülmüştür.

Çizelge 4.2. Pluronic® P84 sistemlerine ait morfolojik bilgiler

$\%_{a/a}$ P84	r_{DPD} (Å)	N	Çap (r_{DPD})	Çap (nm)	Standart Sapma (nm)	A/V (nm^{-1})
1	4,50	4	8,8	4,0	0,8	1,52
3	4,53	6	9,6	4,3	1,0	1,39
5	4,56	5	8,7	4,0	1,1	1,51
7	4,59	6	9,3	4,3	0,7	1,40
10	4,63	7	9,2	4,3	0,7	1,41
12	4,66	7	9,2	4,3	0,8	1,40
15	4,71	7	9,1	4,3	0,7	1,40
30	4,97	30	13,2	6,5	2,7	0,92

Farklı konsantrasyonlardaki Pluronic® P84 misellerine ait simülasyon görüntüleri Şekil 4.2'de verilmiştir.



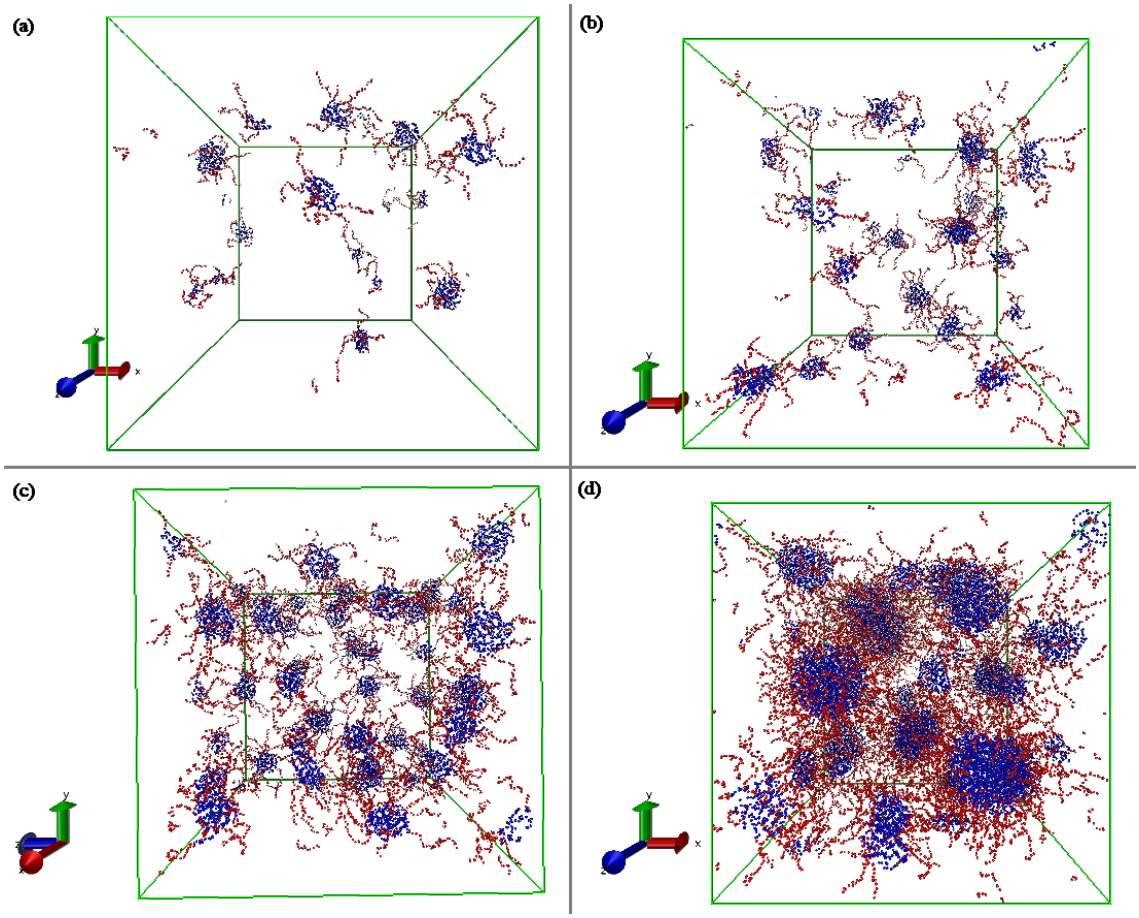
Şekil 4.2. Pluronic® P84 molekülünün ağırlıkça yüzde (a) 3, (b) 7, (c) 15, (d) 30 konsantrasyonlarındaki denge durumu görüntüleri (kırmızı: hidrofilik A tanecikleri, mavi: hidrofobik B tanecikleri)

Pluronic® P85 molekülünün morfolojik analiz sonuçları Çizelge 4.3'te verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, Pluronic® P85 misellerinin boyutu artan konsantrasyondan çok fazla etkilenmemiş, ufak büyümeler göstermiştir. Perkolasyon eşiğinin aşılmış olduğu %a/a 30 konsantrasyonluk sistemde ise tüm misellerin kaynaşarak devasa bir misel oluşturduğu görülmüştür.

Çizelge 4.3. Pluronic® P85 sistemlerine ait morfolojik bilgiler

%$_{a/a}$ P85	**r_{DPD} (Å)**	**N**	**Çap (r_{DPD})**	**Çap (nm)**	**Standart Sapma (nm)**	**A/V (nm^{-1})**
1	4,50	4	7,2	3,2	0,5	1,85
3	4,53	5	9,1	4,1	1,0	1,46
5	4,56	5	9,2	4,2	0,8	1,44
7	4,59	5	9,6	4,4	0,8	1,36
10	4,63	5	9,1	4,2	0,9	1,42
12	4,66	6	10,0	4,7	0,9	1,28
15	4,71	7	9,9	4,7	0,9	1,29
30	4,97	21	13,1	6,5	2,4	0,92

Farklı konsantrasyonlardaki Pluronic® P85 misellerine ait simülasyon görüntüleri Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3. Pluronic® P85 molekülünün ağırlıkça yüzde (a) 3, (b) 7, (c) 15, (d) 30 konsantrasyonlarındaki denge durumu görüntüleri (kırmızı: hidrofilik A tanecikleri, mavi: hidrofobik B tanecikleri)

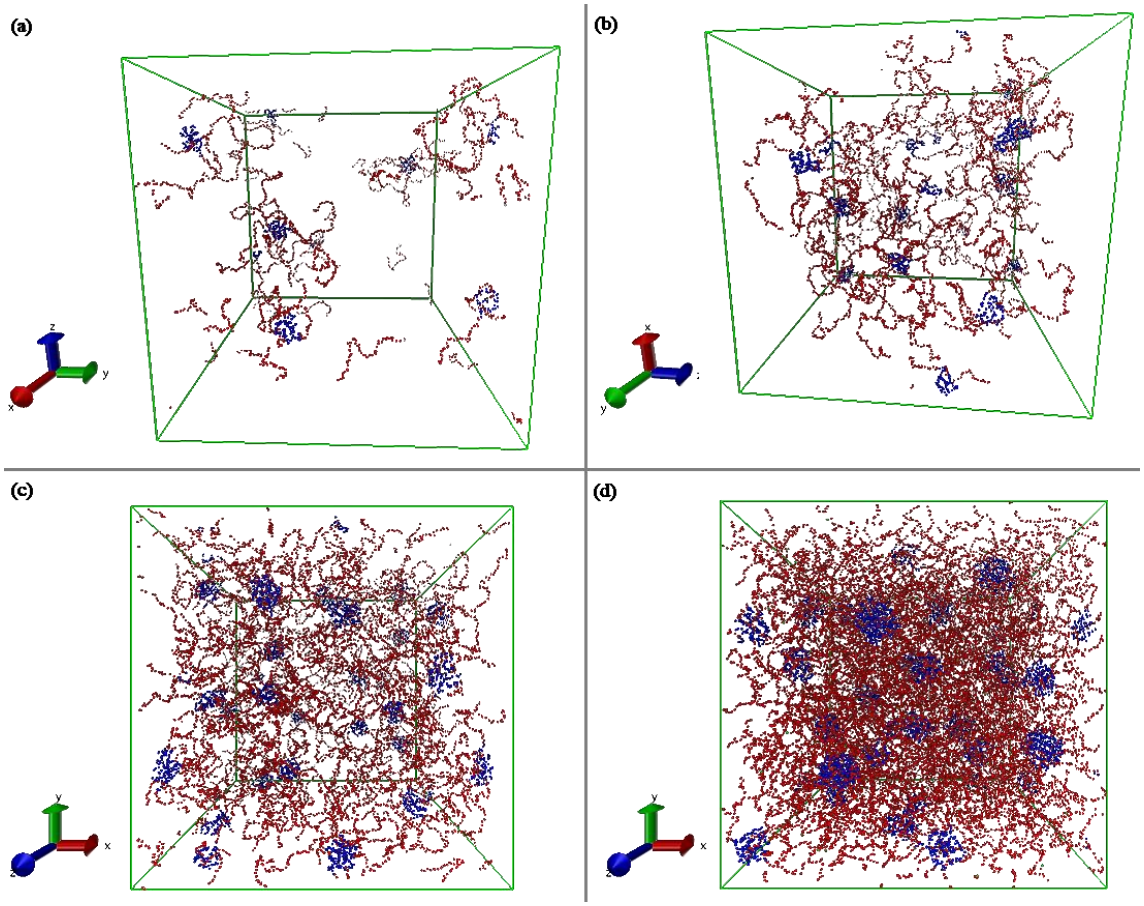
Pluronic® F88 molekülünün morfolojik analiz sonuçları Çizelge 4.4'te verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, Pluronic® F88 misellerinin boyutu konsantrasyon artışından etkilenmemiş ve ortalama 7.5 nm civarında seyretmiştir. Konsantrasyon %a/a 30'a ulaştığında perkolasyon eşiğinin hala aşılmamış olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.4. Pluronic® F88 sistemlerine ait morfolojik bilgiler (standart sapma en az 2 misel içeren sistemler için hesaplanabilmiştir)

$\%_{a/a}$ F88	**r_{DPD} (Å)**	**N**	**Çap (r_{DPD})**	**Çap (nm)**	**Standart Sapma (nm)**	**A/V (nm^{-1})**
1	4,50	4	12,2	5,5	tanımsız	1,09
3	4,52	4	19,1	8,6	3,6	0,69
5	4,55	3	16,0	7,3	1,0	0,83
7	4,58	4	16,7	7,6	1,4	0,79
10	4,63	4	15,8	7,3	2,4	0,82
12	4,66	4	16,1	7,5	1,3	0,80

15	4,70	4	16,0	7,5	1,9	0,80
30	4,95	7	15,7	7,7	2,0	0,77

Farklı konsantrasyonlardaki Pluronic® F88 misellerine ait simülasyon görüntüleri Şekil 4.4'te verilmiştir.



Şekil 4.4. Pluronic® F88 molekülünün ağırlıkça yüzde (a) 3, (b) 7, (c) 15, (d) 30 konsantrasyonlarındaki denge durumu görüntüleri (kırmızı: hidrofilik A tanecikleri, mavi: hidrofobik B tanecikleri)

Pluronic® L81 misellerinin çapı literatürde 222,0 nm (%$_{a/a}$ 2,5; 37°C) olarak geçmektedir (Senthilkumar vd., 2022). Pluronic® P84 misellerinin çapı farklı kaynaklarda 16,5 nm (%$_{a/a}$ 0,368; 37°C), 13,54 nm (%$_{a/a}$ 5; 37°C) ve 13,54 nm (%$_{a/a}$ 5; 37°C) olarak verilmiştir (Garg vd., 2022; Lee vd., 2018; Singla vd., 2019). Pluronic® P85 misellerinin çapı ise yine farklı kaynaklarda 15 nm (%$_{a/a}$ 10; 37°C) ve 15,70 nm (%$_{a/a}$ 5; 37°C) olarak verilmiştir (Garg vd., 2022; Kabanov vd., 1992). Pluronic® F88 misellerinin çapı ise 20,4 nm (%$_{a/a}$ 1; 37°C) olarak ölçülmüştür (Lee vd., 2018). Literatürdeki değerlerin simülasyon görüntülerinden yola çıkarak hesaplanan misel çapları ile kıyaslanması Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5. Misel çaplarının literatürdeki değerleri ile simülasyon verilerinden hesaplanan değerlerin karşılaştırması

Literatür Değeri	Simülasyon Sonucu	Oran (literatür:simülasyon)
Pluronic® L81		
222,0 nm (%a/a 2,5; 37°C)	3,5 nm (%a/a 3; 25°C)	63,43
Pluronic® P84		
16,5 nm (%a/a 0,368; 37°C)	4,0 nm (%a/a 1; 25°C)	4,13
13,54 nm (%a/a 5; 37°C)	4,0 nm (%a/a 5; 25°C)	3,39
13,54 nm (%a/a 5; 37°C)	4,0 nm (%a/a 5; 25°C)	3,39
Pluronic® P85		
15 nm (%a/a 10; 37°C)	4,2 nm (%a/a 10; 25°C)	3,57
15,70 nm (%a/a 5; 37°C)	4,2 nm (%a/a 5; 25°C)	3,74
Pluronic® F88		
20,4 nm (%a/a 1; 37°C)	5,5 nm (%a/a 1; 25°C)	3,71

Literatürdeki tüm ölçümler 37°C sıcaklıkta gerçekleştirilmiş iken, bu tezdeki simülasyonlar 25°C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Bu küçük sıcaklık farkı yoksayılarak karşılaştırma yapıldığında dikkat çekici bir sonuçla karşılaşılmaktadır. Pluronic® P84, P85 ve F88 misellerinin literatürde bulunan çapları, simülasyon görüntülerinden hesaplanan çapların 3,39 ile 4,13 arası katlarındadır. Bu üç molekül için hesaplamış olduğumuz misel çapları literatürdeki değerle aynı olmasa da, farklı Pluronic® moleküllerinin çapları oransal açıdan literatür ile uyumlu bulunmuştur.

Pluronic® L81 molekülünün literatürdeki misel çapına bakıldığında simülasyon kutu boyutuna denk olduğu görülmektedir. Dolayısıyla bu molekül için hesaplanan misel çapı literatürdekinden çok daha küçük bir değer olmuştur.

4.2. Kritik Miselleşme Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Teze konu olan dört poloxamer molekülünün kritik miselleşme konsantrasyonunu (CMC) belirlemek için her birinin sistemdeki poloxamer konsantrasyona karşı denge

durumundaki serbest poloxamer taneciği konsantrasyonu grafiği çizilmiştir. Agregasyon sayısı 3'ten düşük olan (N < 3) tüm agregatlardaki poloxamer molekülleri serbest poloxamer olarak kabul edilmiştir. Serbest poloxamer taneciği konsantrasyonunun düşmeye başlamadan önce tepe yaptığı sistem seçilmiş, bu sistemin sonuçlarını kullanarak Vishnyakov ve arkadaşlarının önermiş olduğu yöntem ile CMC hesaplaması yapılmıştır. Bu yönteme göre, sistemdeki serbest poloxamer tanecik konsantrasyonu sistemdeki su taneciklerinin sayısına bölündüğünde CMC değerine ulaşılmaktadır (Vishnyakov vd., 2013).

Dört poloxamer molekülünün literatürde bulunan deneysel CMC değerleri ile bu çalışmada hesaplanan CMC değerleri Çizelge 4.6'da karşılaştırılmıştır (Kabanov vd., 2002; Krupka vd., 2009; Shaik vd., 2009). Kullanmış olduğumuz bu yöntemle Pluronic® P84 ve F88 moleküllerinin CMC değerleri sırasıyla % 0,1 ve % 7,4 oranında fark ile tahmin edilebilmiştir. Pluronic® L81 ve P85 moleküllerinin CMC değerleri ise, daha düşük bir başarıyla, sırasıyla % 49,1 ve % 28,9 oranında fark ile tahmin edilebilmiştir.

Çizelge 4.6. Literatürde bulunan Kritik Miselleşme Konsantrasyonu (CMC) değerleri ile simülasyon verilerinden hesaplanan CMC değerlerinin karşılaştırması

Pluronic®	**$CMC_{literatür}$ (mM)**	**$CMC_{hesaplanan}$ (mM)**	**% Fark**
L81	0,0230	0,0117	49,1
P84	0,0710	0,0711	0,1
P85	0,0750	0,0974	28,9
F88	0,2500	0,2314	7,4

Sonuç olarak, bu tezde DPD yöntemi ile poloxamer moleküllerinin kritik miselleşme konsantrasyonlarının tespiti için umut vaat eden bir yöntem ortaya konmuştur. Bu yöntem ile Pluronic® L81, P84, P85 ve F88 moleküllerinden ikisinin CMC değeri yüksek başarıyla hesaplanabilmiş, diğer ikisinin ise CMC değerlerine sayısal olarak yakın sayılabilecek ancak oransal olarak biraz farklı değerler bulunmuştur. Elde edilen bu sonuçlar, DPD yönteminin kendisinin, bu tezde de kullanılmış olan alternatif parametrizasyon yönteminin başarısını göstermiştir. Dahası, DPD yöntemi ile gerçekleştirilen simülasyonlarda hidrojen bağlarının etkisini de hesaba katmak için Morse potansiyeli eklenmesinin mümkün olduğunu ortaya koymuştur.

Hesaplanan misel çapları literatürdeki değerlerle karşılaştırıldığında simülasyon kutusunun boyutlarının Pluronic® L81 molekülü için çok küçük kaldığı görülmüştür. Pluronic® P84, P85 ve F88 moleküllerinin misel çapları ise literatürdeki değerlere göre küçük olsa da, oransal olarak belli bir tutarlılık dahilinde hesaplanabilmiştir. Genel tabloya bakıldığında, her dört molekülün de misel çapı literatürdekinden daha küçük hesaplanmıştır. Gelecek çalışmalarda birkaç su molekülünün birleştirilerek tek bir kaba-tanecik olarak tanımlanması gibi yöntemlerle gereken işlem gücü azaltılarak simülasyon kutusunun boyutunun artırılması denenebilir. Ayrıca, bu tezdeki çalışmaların benzerinin diğer Pluronic® moleküllerine uygulanarak yöntemin başarısı pekiştirilebilir. Hatta, ilaç molekülleri de simülasyonlara dahil edilerek hesaplanacak olan ilaç yükleme verimliliği literatür verileri ile karşılaştırılabilir. Bu tezin kapsamında yer almamış olsa da, poloxamer misellerinin simülasyonlarına ilaç molekülleri de eklenerek poloxamer misellerinin ilaç enkapsülasyon verimliliklerinin hesaplanması mümkündür.

Yayınlanma aşamasında olan bir çalışmamızda sulu Pluronic® F68 ve F127 çözeltilerinin simülasyonlarının yanı sıra, bu çözeltilerin farklı konsantrasyonlarda furosemid içerdikleri durumlara ait simülasyonlar da gerçekleştirilmiştir (Dalgakiran vd., 2022). Çalışmada hem Pluronic® moleküllerinin hem de furosemid moleküllerinin farklı konsantrasyonlarına ait kombinasyonlar incelenmiştir. Elde edilen simülasyon görüntülerinden yola çıkarak hem ilaç yüklü hem de yalın miseller için morfolojik analizler yapılmıştır. Her bir sistem için furosemid moleküllerinin konumları analiz edilerek Pluronic® F68 ve F127 misellerinin furosemid molekülü özelindeki ilaç enkapsülasyon verimlilikleri hesaplanmıştır. Diğer yandan, aynı parametreler deneysel olarak da ölçülerek simülasyonlar valide edilmiştir. Simülasyonlardan elde edilen sonuçlar ile hem deneysel sonuçların, hem de literatürde bulunan geçmiş çalışmalara ait sonuçların yüksek uyumluluk içinde oldukları görülmüştür. Çalışmada simülasyonlardan faydalanılmış olmasının bir diğer avantajı da furosemid moleküllerinin miseller içindeki pozisyonları hakkında bilgi verebiliyor olmasıdır. Radyal dağılım fonksiyonları (RDF) çizilerek misellerin hidrofilik ve hidrofobik taneciklerinin furosemid molekülleriyle aralarındaki etkileşimler incelenmiştir. İnceleme sonucunda görülmüştür ki hidrofilik-furosemid arası etkileşimler kısa mesafeli olurken hidrofobik-furosemid arası etkileşimler uzun mesafeli olmaktadır. Bu da furosemid moleküllerinin misellerin

çekirdek/korona arayüzünde fakat korona tarafına biraz daha yakın konumlandıklarına işaret etmektedir.

Bu tezde kullanılmış olan DPD yöntemi, poloxamerler dışındaki blok kopolimerlerin miselleşme davranışlarının incelenmesinde ve ilaç enkapsülasyon verimliliklerinin hesaplanmasında da kullanılabilir. Yayınlanmış olan bir diğer çalışmamızda PEG-PLA-PEG blok kopolimerlerin ibuprofen varlığında ve yokluğunda simülasyonları gerçekleştirilerek morfolojik analizleri yapılmış, ilaç enkapsülasyon verimlilikleri hesaplanmıştır (Kuru vd., 2021). Çalışma, PEG-PLA-PEG moleküllerinin misel oluşturduklarını ve bu misellere ibuprofen yüklenebildiğini ortaya koymuştur. Yapılan morfolojik analizlere göre, ibuprofen yüklenmesi misellerin ortalama agregasyon sayılarında ve boyutlarında artışa sebep olmuştur. Bu, ilaç moleküllerinin varlığının misel yapısına olan etkisinin simülasyon yöntemiyle belirlenebilirliğinin önemli bir göstergesidir. Bu morfolojik analizlerde boyut tespiti ile sınırlı kalınmayıp, misellerin şekil anizotropisi, asferiklik ve eylemsizlik yarıçapı gibi parametreleri de hesaplanarak üç boyutlu yapıları hakkında da bilgi toplanmıştır. Bunun için öncelikle 3 x 3 boyutlarındaki dönme tensörü matrisinin özdeğerleri *L[1]*, *L[2]* ve *L[3]* hesaplandıktan sonra Denklemler 4.1 ile 4.3 arasında gösterilen şekilde sırasıyla şekil anizotropisi, asferiklik ve eylemsizlik yarıçapı hesaplanmıştır.

$$Şekil\ anizotropisi = 1 - 3 * \frac{(L[1]*L[2]+L[2]*L[3]+L[3]*L[1])}{(L[1]+L[2]+L[3])^2} \qquad \text{Denklem 4.1}$$

$$Asferiklik = L[3]^2 - 0.5 * (L[1]^2 + L[2]^2) \qquad \text{Denklem 4.2}$$

$$Eylemsizlik\ yarıçapı = \sqrt{L[1]^2 + L[2]^2 + L[3]^2} \qquad \text{Denklem 4.3}$$

Misellerin, literatürdeki verilerle uygun şekilde, oldukça küresel bir yapıya sahip oldukları görülmüştür. Aynı çalışmada ibuprofen moleküllerinin PEG-PLA-PEG misellerinden salınımı da incelenmiştir. Bunun için, ibuprofen molekülünün karboksil grubunun fizyolojik koşullarda deprotone olmasından yola çıkılarak bu gruba karşılık gelen kaba taneciğin parametreleri değiştirilmiş, bunun sonucunda da molekülün suya olan ilgisi artmıştır. İlaçların misellere yüklü olduğu denge durumu görüntüsü alınmış, deprotone ibuprofen parametreleri girilerek simülasyon devam ettirilmiştir. Sonuç olarak, misel dışına çıkmaya eğilimli hâle gelen ibuprofen molekülleri miselleri terk etmeye başlamıştır. Moleküler düzeydeki çok sayıdaki detayın *in silico* yöntemler sayesinde

oldukça düşük maliyetli ve hızlı sonuç veren bir şekilde araştırılabilir olması biyoteknoloji çalışmalarına büyük katkı sağlayacaktır.

EKLER

EK-1 Pluronic® L81 molekülünün $\%_{a/a}$ 1'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	A	B	C	W
A	297,1	0,05	0,46	3,28
B	397,30	531,20	0,80	4,10
C	270,75	362,09	245,84	1,28
W	93,19	122,79	82,24	26,06

EK-2 Pluronic® L81 molekülünün $\%_{a/a}$ 3'lük sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	A	B	C	W
A	285,1	0,05	0,47	3,35
B	381,33	509,89	0,81	4,19
C	259,87	347,58	235,92	1,31
W	89,78	118,16	79,03	24,96

EK-3 Pluronic® L81 molekülünün $\%_{a/a}$ 5'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	A	B	C	W
A	273,4	0,05	0,48	3,42
B	365,66	488,98	0,83	4,27
C	249,19	333,34	226,18	1,34
W	86,46	113,65	75,88	23,89

EK-4 Pluronic® L81 molekülünün $\%_{a/a}$ 7'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	A	B	C	W
A	261,9	0,05	0,49	3,49
B	350,33	468,53	0,85	4,36
C	238,75	319,42	216,65	1,37
W	83,23	109,25	72,82	22,83

EK-5 Pluronic® L81 molekülünün $\%_{a/a}$ 10'luk sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	A	B	C	W
A	245,6	0,05	0,50	3,60
B	328,63	439,58	0,87	4,50
C	223,98	299,72	203,17	1,41
W	78,70	103,07	68,51	21,35

EK-6 Pluronic® L81 molekülünün $\%_{a/a}$ 12'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	A	B	C	W
A	235,3	0,05	0,52	3,68
B	314,90	421,25	0,89	4,60
C	214,63	287,25	194,64	1,44
W	75,87	99,19	65,79	20,40

EK-7 Pluronic® L81 molekülünün $\%_{a/a}$ 15'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	A	B	C	W
A	220,5	0,05	0,53	3,80
B	295,07	394,79	0,92	4,75
C	201,15	269,26	182,32	1,49
W	71,82	93,63	61,89	19,05

EK-8 Pluronic® L81 molekülünün $\%_{a/a}$ 30'luk sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	A	B	C	W
A	156,4	0,06	0,63	4,49
B	209,61	280,68	1,09	5,61
C	143,11	191,83	129,25	1,76
W	55,43	70,71	45,55	13,23

EK-9 Pluronic® P84 molekülünün $\%_{a/a}$ 1'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	A	B	C	W
A	297,5	0,05	0,46	3,28

B	397,90	532,00	0,80	4,10
C	271,16	362,64	246,22	1,28
W	93,32	122,96	82,36	26,10

EK-10 Pluronic® P84 molekülünün $\%_{a/a}$ 3'lük sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	**A**	**B**	**C**	**W**
A	285,9	0,05	0,47	3,34
B	382,41	511,34	0,81	4,18
C	260,60	348,57	236,59	1,31
W	90,01	118,48	79,24	25,04

EK-11 Pluronic® P84 molekülünün $\%_{a/a}$ 5'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	**A**	**B**	**C**	**W**
A	274,6	0,05	0,48	3,41
B	367,36	491,25	0,83	4,26
C	250,35	334,89	227,23	1,33
W	86,82	114,14	76,22	24,00

EK-12 Pluronic® P84 molekülünün $\%_{a/a}$ 7'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	**A**	**B**	**C**	**W**
A	263,7	0,05	0,49	3,48
B	352,75	471,76	0,84	4,35
C	240,40	321,62	218,15	1,36
W	83,74	109,94	73,30	23,00

EK-13 Pluronic® P84 molekülünün $\%_{a/a}$ 10'luk sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	**A**	**B**	**C**	**W**
A	248,1	0,05	0,50	3,58
B	331,89	443,92	0,87	4,48
C	226,20	302,67	205,19	1,40
W	79,38	103,99	69,15	21,57

EK-14 Pluronic® P84 molekülünün $\%_{a/a}$ 12'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	A	B	C	W
A	238,1	0,05	0,51	3,66
B	318,67	426,28	0,89	4,57
C	217,20	290,67	196,98	1,43
W	76,64	100,25	66,54	20,66

EK-15 Pluronic® P84 molekülünün $\%_{a/a}$ 15'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	A	B	C	W
A	223,4	0,05	0,53	3,77
B	298,98	400,00	0,92	4,72
C	203,80	272,80	184,75	1,48
W	72,61	94,72	62,66	19,31

EK-16 Pluronic® P84 molekülünün $\%_{a/a}$ 30'luk sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	A	B	C	W
A	161,3	0,06	0,62	4,42
B	216,13	289,40	1,07	5,53
C	147,54	197,73	133,30	1,73
W	56,60	72,37	46,76	13,67

EK-17 Pluronic® P85 molekülünün $\%_{a/a}$ 1'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	A	B	C	W
A	297,3	0,05	0,46	3,28
B	397,63	531,63	0,80	4,10
C	270,97	362,39	246,05	1,28
W	93,26	122,88	82,30	26,09

EK-18 Pluronic® P85 molekülünün $\%_{a/a}$ 3'lük sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	A	B	C	W
A	285,8	0,05	0,47	3,34

B	382,25	511,13	0,81	4,18
C	260,49	348,42	236,49	1,31
W	89,98	118,43	79,21	25,03

EK-19 Pluronic® P85 molekülünün $\%_{a/a}$ 5'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	**A**	**B**	**C**	**W**
A	274,6	0,05	0,48	3,41
B	367,24	491,10	0,83	4,26
C	250,27	334,78	227,16	1,33
W	86,79	114,10	76,20	24,00

EK-20 Pluronic® P85 molekülünün $\%_{a/a}$ 7'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	**A**	**B**	**C**	**W**
A	263,6	0,05	0,49	3,48
B	352,62	471,58	0,84	4,35
C	240,31	321,50	218,07	1,36
W	83,71	109,90	73,28	22,99

EK-21 Pluronic® P85 molekülünün $\%_{a/a}$ 10'luk sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	**A**	**B**	**C**	**W**
A	248,1	0,05	0,50	3,58
B	331,94	443,99	0,87	4,48
C	226,23	302,72	205,22	1,40
W	79,39	104,01	69,16	21,57

EK-22 Pluronic® P85 molekülünün $\%_{a/a}$ 12'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	**A**	**B**	**C**	**W**
A	238,1	0,05	0,51	3,66
B	318,60	426,19	0,89	4,57
C	217,15	290,61	196,94	1,43
W	76,63	100,23	66,52	20,66

EK-23 Pluronic® P85 molekülünün $\%_{a/a}$ 15'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	A	B	C	W
A	223,6	0,05	0,53	3,77
B	299,32	400,46	0,92	4,72
C	204,03	273,11	184,96	1,48
W	72,68	94,82	62,73	19,34

EK-24 Pluronic® P85 molekülünün $\%_{a/a}$ 30'luk sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	A	B	C	W
A	161,9	0,06	0,62	4,41
B	216,87	290,38	1,07	5,52
C	148,03	198,39	133,75	1,73
W	56,73	72,56	46,90	13,72

EK-25 Pluronic® F88 molekülünün $\%_{a/a}$ 1'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	A	B	C	W
A	297,6	0,05	0,46	3,28
B	398,02	532,16	0,80	4,10
C	271,24	362,75	246,29	1,28
W	93,34	123,00	82,38	26,11

EK-26 Pluronic® F88 molekülünün $\%_{a/a}$ 3'lük sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	A	B	C	W
A	286,7	0,05	0,47	3,34
B	383,38	512,63	0,81	4,18
C	261,26	349,44	237,19	1,31
W	90,22	118,76	79,44	25,11

EK-27 Pluronic® F88 molekülünün $\%_{a/a}$ 5'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	A	B	C	W
A	275,2	0,05	0,48	3,41

B	368,07	492,20	0,83	4,26
C	250,83	335,54	227,68	1,33
W	86,97	114,34	76,37	24,05

EK-28 Pluronic® F88 molekülünün $\%_{a/a}$ 7'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	**A**	**B**	**C**	**W**
A	265,6	0,05	0,49	3,46
B	355,30	475,16	0,84	4,33
C	242,13	323,93	219,74	1,36
W	84,27	110,67	73,81	23,17

EK-29 Pluronic® F88 molekülünün $\%_{a/a}$ 10'luk sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	**A**	**B**	**C**	**W**
A	250,2	0,05	0,50	3,57
B	334,81	447,82	0,87	4,46
C	228,18	305,33	207,01	1,40
W	79,98	104,82	69,73	21,77

EK-30 Pluronic® F88 molekülünün $\%_{a/a}$ 12'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	**A**	**B**	**C**	**W**
A	240,2	0,05	0,51	3,64
B	321,41	429,94	0,88	4,55
C	219,06	293,16	198,68	1,42
W	77,21	101,02	67,08	20,85

EK-31 Pluronic® F88 molekülünün $\%_{a/a}$ 15'lik sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} a_{ij}	**A**	**B**	**C**	**W**
A	226,4	0,05	0,53	3,75
B	302,99	405,36	0,91	4,69
C	206,53	276,44	187,24	1,47
W	73,43	95,84	63,45	19,59

EK-32 Pluronic® F88 molekülünün $\%_{a/a}$ 30'luk sulu çözeltisinin simülasyonuna ait Flory-Huggins ve DPD itici etkileşim parametreleri

x_{ij} / a_{ij}	A	B	C	W
A	166,0	0,06	0,61	4,36
B	222,40	297,77	1,06	5,45
C	151,79	203,40	137,19	1,71
W	57,74	73,99	47,93	14,10

EK-33 Morse potansiyeli parametrelerini hesaplarken kullanılan denklemi elde etmek için yapılan lineer regresyon işleminde kullanılan parametreler (Kacar & With, 2016)

Etanol Mol Fraksiyonu	D_0 (k_BT)
0.10	8.22
0.20	9.14
0.30	9.97
0.39	10.85
0.51	11.86
0.59	12.62
0.69	13.56
0.84	14.86
0.93	15.66

EK-34 Pluronic® L81 molekülünün farklı konsantrasyonlara ait simülasyonlarındaki molekül sayıları

Molekül	% 1	% 3	% 5	% 7	% 10	% 12	% 15	% 30
L81	25	75	127	181	264	321	410	926
Su	373.788	371.313	368.768	366.151	362.082	359.270	354.891	329.639

EK-35 Pluronic® P84 molekülünün farklı konsantrasyonlara ait simülasyonlarındaki molekül sayıları

Molekül	% 1	% 3	% 5	% 7	% 10	% 12	% 15	% 30
P84	16	49	83	118	172	209	268	600
Su	373.688	371.012	368.264	365.441	361.058	358.033	353.331	326.388

EK-36 Pluronic® P85 molekülünün farklı konsantrasyonlara ait simülasyonlarındaki molekül sayıları

Molekül	% 1	% 3	% 5	% 7	% 10	% 12	% 15	% 30

P85	15	45	76	108	157	191	244	545
Su	373.640	370.866	368.019	365.096	360.562	357.434	352.576	324.828

EK-37 Pluronic® F88 molekülünün farklı konsantrasyonlara ait simülasyonlarındaki molekül sayıları

Molekül	% 1	% 3	% 5	% 7	% 10	% 12	% 15	% 30
F88	6	18	31	43	63	77	98	218
Su	373.533	370.544	367.479	364.336	359.469	356.117	350.920	321.433

KAYNAKLAR

Bodratti, A. M., & Alexandridis, P. (2018). Formulation of Poloxamers for Drug Delivery. *Journal of functional biomaterials, 9*(1), 11.

Chaudhari, S. P., & Patil, J. R. (2014). Study of block copolymer micelles as vehicles for hydrophobic drug Lamotrigine. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research, 48*(supplementary), 55–66.

Dalgakiran, E. A., Ergin, A. D., & Kacar, G. (2022). *Properties of Pluronic F68 and F127 micelles interacting furosemide from coarse-grained molecular simulations as validated by experiments.* [Manuscript submitted for publication]. Department of Biotechnology and Genetics, Trakya University.

Español, P., & Warren, P. (1995). Statistical-Mechanics of Dissipative Particle Dynamics. *Europhysics Letters, 30*(4), 191-196.

Flory, P. J. (1953). *Principles of Polymer Chemistry*. Ithaca, New York: Cornell University Press.

Frenkel, D., & Smit, B. (2002). Chapter 4 - Molecular Dynamics Simulations. In D. Frenkel & B. Smit (Eds.), *Understanding Molecular Simulation (Second Edition)* (pp. 63-107). San Diego: Academic Press.

Garg, S., Peeters, M., Mahajan, R. K., & Singla, P. (2022). Loading of hydrophobic drug silymarin in pluronic and reverse pluronic mixed micelles. *Journal of Drug Delivery Science and Technology, 75,* 103699.

Groot, R. D., & Warren, P. B. (1997). Dissipative particle dynamics: Bridging the gap between atomistic and mesoscopic simulation. *Journal of Chemical Physics, 107*(11), 4423-4435.

Hoogerbrugge, P. J., & Koelman, J. M. V. A. (1992). Simulating Microscopic Hydrodynamic Phenomena with Dissipative Particle Dynamics. *Europhysics Letters, 19*(3), 155-160.

Humphrey, W., Dalke, A., & Schulten, K. (1996). VMD: visual molecular dynamics. *Journal of molecular graphics, 14*(1), 33–28.

Kabanov, A. V., Batrakova, E. V., & Alakhov, V. Y. (2002). Pluronic® block copolymers as novel polymer therapeutics for drug and gene delivery. *Journal of Controlled Release, 82*(2–3), 189–212.

Kabanov, A. V., Batrakova, E. V., Melik-Nubarov, N. S., Fedoseev, N. A., Dorodnich, T. Y., Alakhov, V. Y., Chekhonin, V. P., Nazarova, I. R., & Kabanov, V. A. (1992). A new class of drug carriers: micelles of poly(oxyethylene)-poly(oxypropylene) block

copolymers as microcontainers for drug targeting from blood in brain. *Journal of Controlled Release, 22*(2), 141–157.

Kabanov, A. V., Chekhonin, V. P., Alakhov VYu, Batrakova, E. V., Lebedev, A. S., Melik-Nubarov, N. S., Arzhakov, S. A., Levashov, A. V., Morozov, G. V., & Severin, E. S. (1989). The neuroleptic activity of haloperidol increases after its solubilization in surfactant micelles. Micelles as microcontainers for drug targeting. *FEBS letters, 258*(2), 343–345.

Kacar, G. (2019). Molecular understanding of interactions, structure, and drug encapsulation efficiency of Pluronic micelles from dissipative particle dynamics simulations. *Colloid and Polymer Science, 297*, 1037–1051.

Kacar, G., & de With, G. (2016). Hydrogen bonding in DPD: application to low molecular weight alcohol–water mixtures. *Physical Chemistry Chemical Physics, 18*(14), 9554-9560.

Kacar, G., Peters, E. A. J. F., & de With, G. (2013). A generalized method for parameterization of dissipative particle dynamics for variable bead volumes. *Epl, 102*(4).

Krupka, T. M., Solorio, L., Wilson, R. E., Wu, H., Azar, N., & Exner, A. A. (2010). Formulation and characterization of echogenic lipid-Pluronic nanobubbles. *Molecular pharmaceutics, 7*(1), 49–59.

Kulthe, S., Inamdar, N., Choudhari, Y., Shirolikar, S., Borde, L., & Mourya, V. (2011). Mixed micelle formation with hydrophobic and hydrophilic Pluronic block copolymers: Implications for controlled and targeted drug delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 88*(2), 691–696.

Kuru, M. M., Dalgakiran, E. A., & Kacar, G. (2021). Investigation of morphology, micelle properties, drug encapsulation and release behavior of self-assembled PEG-PLA-PEG block copolymers: A coarse-grained molecular simulations study. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 629*, 127445.

Lee, C.-F., Tseng, H.-W., Bahadur, P., & Chen, L.-J. (2018). Synergistic effect of binary mixed-pluronic systems on temperature dependent self-assembly process and drug solubility. *Polymers, 10*(1), 105.

Melo, E. P., Aires-Barros, M. R., & Cabral, J. M. (2001). Reverse micelles and protein biotechnology. *Biotechnology annual review, 7*, 87–129.

Plimpton, S. (1995). Fast Parallel Algorithms for Short-Range Molecular-Dynamics. *Journal of Computational Physics, 117*(1), 1-19.

Senthilkumar, M., Dash, S., Vigneshwari, R., & Paulraj, E. (2022). Aceclofenac-loaded pluronic F108/L81 mixed polymeric micelles: effect of HLB on solubilization. *Designed monomers and polymers, 25*(1), 1–11.

Senthilkumar, M., Sheelarani, B., Joshi, R. G., & Dash, S. (2019). Solubilization and interaction of ciprofloxacin with pluronics and their mixed micelles. *New Journal of Chemistry, 43*(42), 16530–16537.

Shaik, N., Giri, N., & Elmquist, W. F. (2009). Investigation of the micellar effect of pluronic P85 on P-glycoprotein inhibition: Cell accumulation and equilibrium dialysis studies. *Journal of Pharmaceutical Sciences, 98*(11), 4170–4190.

Singla, P., Chabba, S., & Mahajan, R. K. (2016). A systematic physicochemical investigation on solubilization and in vitro release of poorly water soluble oxcarbazepine drug in pluronic micelles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 504*, 479–488.

Singla, P., Singh, O., Sharma, S., Betlem, K., Aswal, V. K., Peeters, M., & Mahajan, R. K. (2019). Temperature-dependent solubilization of the hydrophobic antiepileptic drug lamotrigine in different pluronic micelles-a spectroscopic, heat transfer method, small-angle neutron scattering, dynamic light scattering, and in vitro release study. *ACS Omega, 4*(6), 11251–11262.

Tanbour, R., Martins, A. M., Pitt, W. G., & Husseini, G. A. (2016). Drug Delivery Systems Based on Polymeric Micelles and Ultrasound: A Review. *Current pharmaceutical design, 22*(19), 2796–2807.

Tomoda, K., Chiang, C., Kozak, K. R., & Kwon, G. S. (2015). Examination of Gossypol-Pluronic Micelles as Potential Radiosensitizers. *The AAPS Journal, 17*(6), 1369–1375.

Vishnyakov, A., Lee, M. T., & Neimark, A. V. (2013). Prediction of the Critical Micelle Concentration of Nonionic Surfactants by Dissipative Particle Dynamics Simulations. *The Journal of Physical Chemistry Letters, 4*(5), 797–802.

Yan, F., Cao, X. X., Jiang, H. X., Zhao, X. L., Wang, J. Y., Lin, Y. H., Liu, Q. L., Zhang, C., Jiang, B., & Guo, F. (2010). A novel water-soluble gossypol derivative increases chemotherapeutic sensitivity and promotes growth inhibition in colon cancer. *Journal of medicinal chemistry, 53*(15), 5502–5510.

Yu, J., Qiu, H., Yin, S., Wang, H., & Li, Y. (2021). Polymeric Drug Delivery System Based on Pluronics for Cancer Treatment. *Molecules (Basel, Switzerland), 26*(12), 3610.

ÖZGEÇMİŞ

İlk, orta ve lise öğretimini İstanbul'da tamamlamıştır. Lisans eğitimine 2014 yılında İstanbul Teknik Üniversitesi'nin Kimya programında başlamış, 2015 yılında Çift Anadal Programı (ÇAP) kapsamında Moleküler Biyoloji ve Genetik programına kayıt olmuştur. Bu iki programı 2019 yılında tamamladıktan sonra Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü bünyesindeki Biyoteknoloji ve Genetik Yüksek Lisans programına başlamıştır. İleri derecede programlama becerisine sahiptir. Yabancı dil olarak iyi derecede İngilizce bilmektedir.