T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

LİPOZOM TABANLI BİR İLAÇ TAŞIYICININ İLAÇ HAPSETME DAVRANIŞININ MOLEKÜLER SİMÜLASYONLARLA BELİRLENMESİ

İNSUNUR ERYILMAZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: DOÇ. DR. GÖKHAN KAÇAR

EDİRNE-2023

İNSUNUR ERYILMAZ'ın hazırladığı "**Lipozom Tabanlı Bir İlaç Taşıyıcının İlaç Hapsetme Davranışının Moleküler Simülasyonlarla Belirlenmesi**" başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından **Genetik ve Biyomühendislik** Anabilim Dalında bir **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	İmza
Doç. Dr. Gökhan KAÇAR	……..
Dr. Öğr. Üyesi Güzin TUNCA ALPARSLAN	……...
Dr. Öğr. Üyesi Nergiz CENGİZ	……

Tez Savunma Tarihi: 26/05/2023

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

GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK 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.

26/05/2023

İnsunur ERYILMAZ

İmza

Yüksek Lisans Tezi

Lipozom Tabanlı Bir İlaç Taşıyıcının İlaç Hapsetme Davranışının Moleküler Simülasyonlarla Belirlenmesi

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Genetik ve Biyomühendislik Anabilim Dalı

ÖZET

Günümüzde başta kanser tedavisi olmak üzere çeşitli hastalıkların tedavisinde nanoteknoloji yaklaşımları sıklıkla kullanılmaktadır. İlaç dağıtımı için son çalışmalar nano taşıyıcı sistemler üzerine yoğunlaşmaktadır. Klasik tedavilerin neden olduğu hasarlı dokunun yanında sağlıklı dokularında zarar görmesi, nano taşıyıcı sistemlerin akıllı hedefleme sistemleri olarak tasarlanması nedenleri arasında en önemli etkenlerdendir. Akıllı hedefleme sayesinde, ilaç fizyolojik ortamla en az etkileşime girerek hedeflenen bölgeye ulaşır. Hedeflenen bölgeye ilacın nanoyapı içinde taşınması sırasında ilacın biyoyararlanımı artırılarak toksisite azaltılmaya çalışılır. Akıllı nano taşıyıcılar arasında en sıklıkla kullanılan materyallerin başında lipozomlar gelmektedir. Lipozom, diğer bir değişle lipit tabanlı misel formlu nanoyapı temelli taşıma sistemlerinin çalışmaları 1950'li yıllara dayanmaktadır. Amfifilik özellik gösteren lipozomlar, hidrofobik ilaçların taşınmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Bu tez kapsamında hidrofobik yapılı koenzim Q10 moleküllerini kapsülleyen fosfolipit-bazlı lesitin nano lipozomların moleküler simülasyonlar yardımıyla incelenmiştir. Moleküler simülasyonlar kaba taneli Dağıtıcı Parçacık Dinamiği yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Simülasyonlar sonucunda lipozomların moleküler seviyedeki yapısal özellikleri niceliksel olarak karakterize edilmiştir. Elde edilen özellikler Radyal Dağılım Fonksiyonu, her bir moleküler birim için Voronoi hacimleri farklı yönlerde yoğunluk profilleri ve koenzim Q10 enkapsülasyonu şeklindedir. Tez kapsamında elde

edilen özelliklerin incelenen sistemin ve benzer sistemlerin moleküler yapısının ve işleyişinin doğru anlaşılması için önemli bir adım olacağı düşünülmektedir.

Yıl : 2023

Sayfa Sayısı : 67

Anahtar Kelimeler : Nanoteknoloji, nanolipozom, ilaç taşıyıcı sistemler, moleküler simülasyonlar

Master's Thesis

Determination of Drug Retention Behavior of a Liposome-Based Drug Transporter by Molecular Simulations

Trakya University Institute of Natural and Applied Sciences

Department of Genetics and Bioengineering

ABSTRACT

Today, nanotechnology approaches are frequently used in the treatment of various diseases, especially cancer Recent studies for drug delivery focus on nanocarrier systems. Damage to healthy tissues as well as damaged tissue caused by conventional treatments is one of the most important factors among the reasons such that nanocarrier systems are designed as smart targeting systems. As a result of smart targeted delivery, the drug reaches the targeted area with minimal interaction with the physiological environment. During the transport of the drug to the targeted area in the nanostructure, the bioavailability of the drug is increased and the toxicity is aimed to be reduced. Liposomes are the most frequently used materials among smart nanocarriers. The studies of liposome, in other words, lipid-based micelle-form nanostructure-based transport systems date back to the 1950s. Amphiphilic liposomes are frequently used in the transport of hydrophobic drugs. In this thesis, phospholipid-based lecithin nanoliposomes encapsulating hydrophobic coenzyme Q10 molecules were investigated with the aid of molecular simulations. Molecular simulations were carried out using the coarse-grained Dissipative Particle Dynamics method. As a result of the simulations, the structural properties of liposomes at the molecular level were quantitatively characterized. Obtained properties are Radial Distribution Function, Voronoi volumes for each molecular unit, density profiles in different directions and coenzyme Q10 encapsulation. The properties obtained within the scope of the thesis will be an important step for the correct understanding of the molecular structure and functioning of the examined system which can further be applied to similar systems as well.

Year : 2023

Number of Pages : 67

Keywords : Nanotechnology, nanoliposome, drug delivery systems, molecular simulations

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında desteğini esirgemeyen, bizi bizden daha çok düşünen, rol modelimiz değerli danışman hocam Doç. Dr. Gökhan KAÇAR'a sonsuz teşekkür ederim. Çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen, CompBioMat Araştırma Grubundan Hakan ÇAMOĞLU, Deniz KIZILKAYA ve Buket YOLDAŞ'a teşekkür ederim. Her koşulda yanımda olan yol gösterenim ağabeyim Ömer Bahadır ERYILMAZ'a ve tüm emekleri için aileme minnettarım. Bu çalışmanın bir bölümü TÜBİTAK 119Z034 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir. Simülasyonların bir bölümünün gerçekleştirilmesinde TÜBİTAK ULAKBİM TRUBA kaynakları kullanılmıştır.

İnsunur ERYILMAZ

Edirne, 2023

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....iv

ABSTRACT.....vi

TEŞEKKÜR.....vi

SİMGELER DİZİNİ.....viii

KISALTMALAR DİZİNİ.....ix

BÖLÜM 1.....1

GİRİŞ.....1

BÖLÜM 2.....4

GENEL BİLGİLER.....4

2.1. İlaç Taşımada Lipozom ve Özellikleri.....4

2.2. Fosfatidilkolin (Lesitin) ve Özellikleri.....10

2.3. Koenzim Q10 (CoQ10) ve Özellikleri.....11

2.4. Moleküler Modelleme.....12

2.5. Kaba Taneli Dağıtıcı Parçacık Dinamiği (DPD) Yöntemi.....13

2.6. Radyal Dağılım Fonksiyonu (RDF).....16

2.7. Yoğunluk Profili.....17

2.8. Voronoi Analizi.....17

BÖLÜM 3.....19

3.1. Materyal 19

3.2. Materyallerin Kaba Taneli Modellenmesi 20

3.3. DPD Simülasyon Parametreleri ve Detayları 20

BÖLÜM 4 23

4.1 Kaba tanelerin birbirleriyle çekici ve itici etkileşimleri 23

4.2. Lesitin Bazlı Nanolipozoma CoQ10 Yükleme Simülasyonları 24

4.3. Radyal Dağılım Fonksiyonları (RDF) ile Simülasyon Özellikleri 30

4.4. Yoğunluk Profilleri (DP) 34

4.5. Voronoi Analizleri ile Simülasyon Özellikleri 39

4.6. Geleceğe Yönelik Öneriler 43

BÖLÜM 5 44

SONUÇLAR 44

KAYNAKLAR 46

ÖZGEÇMİŞ 52

SİMGELER DİZİNİ

a_{ij}: *i* ve *j* kaba tanelerinin arasındaki DPD etkileşim parametresi

$\hat{a}_{ij}$: *i* ve *j* kaba tanelerinin arasındaki DPD nötr etkileşim parametresi

E: Enerji

f^T: Kaba tane üzerine etkiyen toplam kuvvet

f^C: Kaba tane üzerine etkiyen koruyucu kuvvet

f^D: Kaba tane üzerine etkiyen dağıtıcı kuvvet

f^R: Kaba tane üzerine etkiyen rastgele kuvvet

g(r): RDF fonksiyonu

N: Boncuk sayısı

P: Basınç

r_{DPD}*:* Kesme uzaklık değeri

T: Sıcaklık

V: Hacim

V_m: Sistemdeki tanelerin ortalama moleküler hacim değeri

ρ_i*:* *i* kaba tanesinin boyutsuz olarak yoğunluğu

δ_i*:* Çözünürlük parametresi

KISALTMALAR DİZİNİ

CoQ10:	Koenzim Q10
DPD:	Dağıtıcı Parçacık Dinamiği
DP:	Yoğunluk Profili
MD:	Moleküler Dinamik
RDF:	Radyal Dağılım Fonksiyonu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1. Sulu Çözelti İçinde Hidrofilik Ve Hidrofobik Grupların Dizilimi Sonucu Oluşan Küresel Yapı. 5

Şekil 2. 2. Lipozomun Ortadan Kesilmiş Üç Boyutlu Görünümü. 6

Şekil 2. 3. (A) Küçük Tek Katmanlı Kesecik, (B) Büyük Tek Katmanlı Kesecik, (C) Çok Katmanlı Kesecikler, (D) Çok Kesecikler. 7

Şekil 2. 4. Kritik Paketleme Parametrelerine Göre Oluşan Farklı Miseller 7

Şekil 2. 5. Kullanılan Simülasyonların Uzunluk Ölçekleri 13

Şekil 2. 6. Dpd Simülasyon Akış Şeması 16

Şekil 2. 7. Voronoi Hücresi Gösterimi 18

Şekil 3. 1. (A) Soya Fasulyesinden Elde Edilen Lesitin, (B) Koenzim Q10, (C) Çözücü Su Moleküllerinin Kimyasal Yapıları. 19

Şekil 3. 2. Lesitin (Üst Şekil) Ve Coq10'in (Alt Şekil) Kaba Taneli Gösterimi 20

Şekil 4. 1. %6 Mol Kesrine Ait Sistemin Farklı Adımlardaki Simülasyon Görüntüleri. Daha İyi Bir Görüntü İçin Su Kaba Taneleri Gösterilmemiştir. 24

Şekil 4. 2. %6 Mol Kesrine Ait Sistemin Farklı Adımlardaki Simülasyon Görüntüleri. Daha İyi Bir Görüntü İçin Su Kaba Taneleri Gösterilmemiştir. 25

Şekil 4. 3. %9 Mol Kesrine Ait Sistemin Farklı Adımlardaki Simülasyon Görüntüleri. Daha İyi Bir Görüntü İçin Su Kaba Taneleri Gösterilmemiştir. 26

Şekil 4. 4. %9 Mol Kesrine Ait Sistemin Farklı Adımlardaki Simülasyon Görüntüleri. Daha İyi Bir Görüntü İçin Su Kaba Taneleri Gösterilmemiştir. 27

Şekil 4. 5. %13 Mol Kesrine Ait Sistemin Farklı Adımlardaki Simülasyon Görüntüleri. Daha İyi Bir Görüntü İçin Su Kaba Taneleri Gösterilmemiştir. 28

Şekil 4. 6. %13 Mol Kesrine Ait Sistemin Farklı Adımlardaki Simülasyon Görüntüleri. Daha İyi Bir Görüntü İçin Su Kaba Taneleri Gösterilmemiştir. 29

Şekil 4. 7. Her Konsantrasyon İçin Son Durumda Oluşan Lipozomun Kesiti. Daha İyi Bir Görüntü İçin Su Kaba Taneleri Gösterilmemiştir. 29

Şekil 4. 8. Lesitinin Üç Farklı Konsantrasyonda Hesaplanan Lesitinin Hidrofilik Kısmı İle Coq10 Etkileşimlerinin Rdf Grafiği. 30

Şekil 4. 9. Lesitinin Üç Farklı Konsantrasyonda Hesaplanan Lesitinin Hidrofobik Kısmı İle Coq10 Etkileşimlerinin Rdf Grafiği 31

Şekil 4. 10. Üç Farklı Konsantrasyonda Hesaplanan Coq10-Su Etkileşimlerinin Rdf Grafiği 32

Şekil 4. 11. Lesitinin Üç Farklı Konsantrasyonda Hesaplanan Lesitinin Hidrofilik Kısmı İle Su Etkileşimlerinin Rdf Grafiği 32

Şekil 4. 12. Lesitinin Üç Farklı Konsantrasyonda Hesaplanan Lesitinin Hidrofobik Kısmı İle Su Etkileşimlerinin Rdf Grafiği 33

Şekil 4. 13. %6 Mol Kesrinde Lipozomun X Ekseninde Yoğunluk Profilleri 34

Şekil 4. 14. %6 Mol Kesrinde Lipozomun Y Ekseninde Yoğunluk Profilleri 35

Şekil 4. 15. %6 Mol Kesrinde Lipozomun Z Ekseninde Yoğunluk Profilleri 35

Şekil 4. 16. %9 Mol Kesrinde Lipozomun X Ekseninde Yoğunluk Profilleri 36

Şekil 4. 17. %9 Mol Kesrinde Lipozomun Y Ekseninde Yoğunluk Profilleri 36

Şekil 4. 18. %9 Mol Kesrinde Lipozomun Z Ekseninde Yoğunluk Profilleri 37

Şekil 4. 19. %13 Mol Kesrinde Lipozomun X Ekseninde Yoğunluk Profilleri 37

Şekil 4. 20. %13 Mol Kesrinde Lipozomun Y Ekseninde Yoğunluk Profilleri 38

Şekil 4. 21. %13 Mol Kesrinde Lipozomun Z Ekseninde Yoğunluk Profilleri 38

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2. 1. En çok tercih edilen fosfolipit örnekleri……..…….4

Çizelge 2. 2. Klinik tedavilerde kullanılan ilaç moleküllerinin kimyasal yapıları…..…..……...……..8

Çizelge 3. 1. Sistemde kullanılan DPD parametrelerinin etkileşimleri…….....20

Çizelge 3. 2. Sistemde mol kesir yüzdelerine karşılık gelen molekül sayıları……..……...22

Çizelge 4. 1. Lipozomların farklı konsantrasyonlardaki ortalama hacim değerleri..……38

Çizelge 4. 2. Tüm sistemlerdeki boncukların ortalama Voronoi koordinasyon sayı değerleri……..39

Çizelge 4. 3. Tüm sistemlerdeki her boncuğun hacim değeri [r_{DPD}^3]……...……..40

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Nanoteknoloji, metrenin milyarda biri olan nanometre boyutundaki parçacık bilimi olarak tanımlanabilir. Nanoteknolojik sistemlerde parçacık boyutu çoğunlukla 10-100 nm arasında yer almaktadır. Nanoteknoloji alanındaki gelişmelerin sağlık alanındaki en büyük katkısı, nanopartiküller, nano emülsiyonlar, nano süspansiyonlar, lipozomlar, karbon nanotüpler gibi ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesinde gözlenmektedir (Çomoğlu & Sayıner, 2016).

Uzun yıllardır çalışılan nano taşıyıcı sistemlerden olan lipozomlar, başta kanser olmak üzere aşı teknolojisi, gıda takviyeleri ve biyoteknoloji gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Bir ilacın nano taşıyıcı sistemlerle taşınmak istenmesinin başlıca sebepleri, ilacın fizyolojik ortamdaki erişiminin hedeflenen bölge ile sınırlı kalması, toksik etkiyi azaltma ve tedavinin daha düşük dozlarda yapılabilmesine imkân sağlamasıdır. Lipozomların geliştirilmesi süreci içerisinde bu sistemlerin matematiksel modellenmesi, fiziksel ve fizikokimyasal süreçleri inceleme avantajı sağlamaktadır ve bu yapıların özelliklerinin daha iyi anlaşılmasına yol açmaktadır (Zhan, 2019).

Lipozomlar, amfifilik yapıda, kendi kendilerine topaklanabilme özelliğine sahip, küresel şekilli çift katmanlı kapalı veziküllerdir (Çomoğlu & Sayıner, 2016). Lipozomların amfifilik karakteri onların hem hidrofilik hem hidrofobik uçları yapılarında bulundurmalarını sağlar. Bu durum ilaç taşımada kullanılan bazı hidrofobik ilaçların çözünürlüğünün düşük olması sonucunda konsantrasyonu stabil olmayan

ilaçların vücut içine alınmasında yüksek biyoyararlanım sağlamaktadır (Terrón-Mejía vd., 2018).

Lipozomlar, oral ya da damar yolu ve kas içi yollarından uygulanabilen terapötik ajanlardır. Bu ajanlar kullanım sonrası karaciğer, dalak ve kemik iliği gibi retiküloendotelyal sistem tarafından vücuttan uzaklaştırılmaktadır (Schnyder & Huwyler, 2005). Bu durumun önüne geçmek için lipozomun etrafı çeşitli bileşiklerle kaplanmaktadır. Bunlardan biri kitosan olup yapılan çalışmalarda kitosanın biyouyumluluğu sayesinde görülmüş bu materyalin lipozomal taşımada ya da lipozomun kaplanmasında kullanıldığı çalışmalar mevcuttur (Terrón-Mejía vd., 2018). Ayrıca insan mukozasında parçalanabilmesi toksikolojik özellik göstermediğinin göstergesidir (Garcia-Fuentes & Alonso, 2012). Lipozomların vücut içindeki dolaşım süreleri gangliosidler ve polietilen glikol (PEG) türevli lipidler ile uzatılabilmektedir. PEG'le kaplanan lipozomların fagositik hücreler tarafından tanınmasının engellenmesi lipozomun vücut içindeki ömrünü uzatmaktadır. Bu durum hedeflenen dokulara taşınan ilaçlar için avantaj sağlamaktadır. Lipozomların fagositik sistem tarafından makrofajlar ile sindirilmesini engelleyen bir diğer yaklaşım örneğinde ise mantar enfeksiyonları ve leishmaniniasis hastalıklarının tedavisi için makrofajlara lipozom aracılığı ile Amfoterisin B gibi ilaçlar taşıtılmıştır (Çoşkun, Tayyar, & Tetik, 2021). PEG kaplamalı lipozomal doksorubisin (PLD), lipozomal doksorubisin (NPLD), lipozomal daunorubisin (DNX) gibi ilaçlar yumurtalık kanseri, meme kanseri hastalıkların tedavisinde kullanılmak üzere geliştirilmektedir. Antimikrobiyal özelliğinden dolayı kurkuminin bileşiğinin davranışı incelenmiştir (Ileri Ercan, 2019). Ayrıca lipozomlar, manyetik rezonans gibi teşhis koyma yöntemlerinde birden fazla ajanın hedef bölgeye taşınabilmesini sağlamaktadır (Ayata, Haberal, Or, Polat, & Turgut, 2012).

Bu çalışmada lipozom, lesitin adı verilen bileşikten oluşturulmuştur. Lesitin, fosfatidikolin adıyla da bilinmektedir. Bu madde yumurta sarısından ya da soya fasulyesinden elde edilebilmektedir. Fosfatidilkolinler, fosfolipit sınıfına aittirler. Hidrofilik (polar) baş grubu ve hidrofobik (apolar) kuyruk grubu bulunmaktadır. Fosfolipit moleküllerinden lipozom oluşma süreci değerlendirildiğinde, molekülün su eklenmesiyle dış tabakanın hidrasyonu artar ve polar gruplar genişler. Bu genişleme ile içeriye su dolmaya başlar ve bu durum fosfolipit çift tabakasının oluşumu ile çok

katmanlı lipozomlar oluşmasını sağlar (Elhissi, Phoenix, & Ahmed, 2015). Bu sayede elde edilen lipozomlar hidrofobik (ya da hidrofilik) ilaçların vücuda alınmasında, hedeflenen bölgeye ulaşana kadar vücut enzimlerinden etkilenmesini engelleyerek ilacın etkisini artırmada kullanılmaktadır.

Tez kapsamındaki lesitinden elde edilen lipozomda taşınacak aktif madde, hidrofobik özelliklerinden dolayı koenzim Q10 (CoQ10) (2,3 dimetoksi-5 metil-6-dekaprenil benzokinon) şeklinde belirlenmiştir. CoQ10 hücreler arası elektron taşımada yardımcı bir faktör olarak görev almakta ve ATP formunda enerji üreterek aerobik solunuma katılmaktadır. Ayrıca yaşa bağlı kırışıklıkları gidermede kozmetik sektöründe de kullanılmaktadır (Lee & Tsai, 2010). Bunun yanında son yıllarda besin takviyesi olarak tüketimi yaygınlaşmıştır.

Lipozomların ilaç tedavisinde kullanımının artırtılması için yeni bileşenlerin belirlenmesi, mevcut lipozomal yapıların nano boyuttaki yapı-işlev özelliklerinin doğru bir şekilde anlaşılmasını gerekli kılar. Özellikle moleküler seviyede elde edilen lipozom yapısı ve ilişkili olduğu ilaç enkapsülasyon özelliği bu yapıların daha iyi bir şekilde anlaşılmasını sağlayacaktır.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1. İlaç Taşımada Lipozom ve Özellikleri

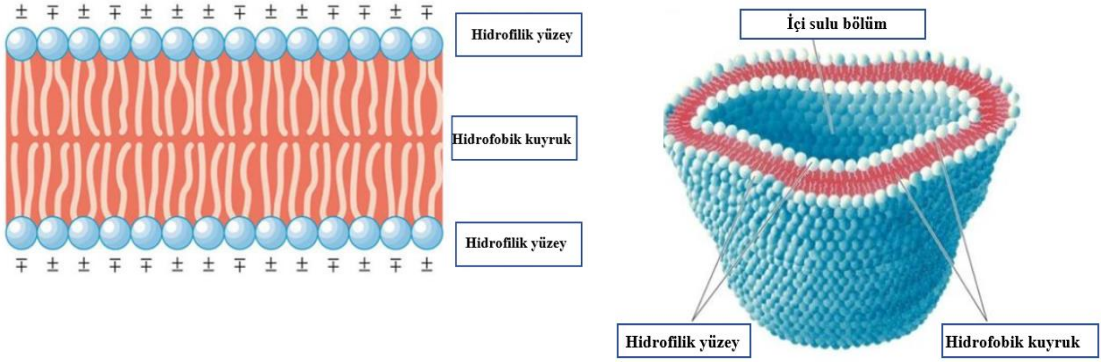
Lipozomların ve hücre zarının yapı taşı olan fosfolipitler, fosfat grubu içeren baş grup (suyu seven) ve iki tane kuyruk grubundan (suyu sevmeyen) oluşmaktadır. Bu moleküllere amfifilik yapılı moleküller denilmektedir. 1961 yılında ilk defa Bangham ve arkadaşları tarafından keşfedilen fosfolipitlere 'bangozomlar' adı verilmiş daha sonra yunanca yağ anlamındaki 'lipos' ile vücut anlamındaki 'soma' kelimeleri ile türetilen lipozom kelimesi kullanılmıştır (Bangham, 1993). Lipozom oluşturmada doğal veya sentetik fosfolipitler kullanılmaktadır. En çok tercih edilen fosfolipitler Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2 1. En çok tercih edilen fosfolipit örnekleri (Kırtıl & Öztop, 2014)

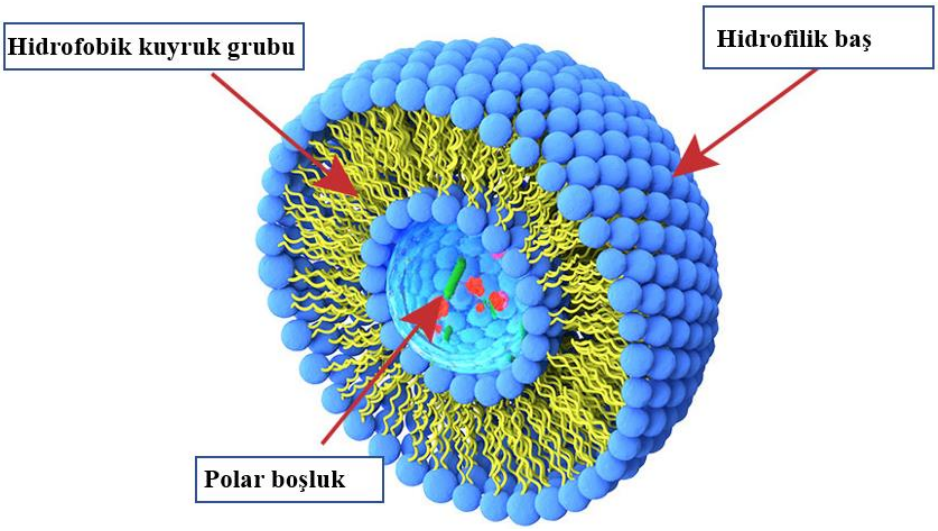
Doğal Fosfolipitler	**Sentetik Fosfolipitler**
Fosfatidilkolin (PC)	Distearoil fosfatidilkolin (DSPC)
Fosfatidilserin (PS)	Dipalmitoil fosfatidilkolin (DPPC)
Fosfatidiletanolamin (PE)	Dimiristoil fosfatidilkolin (DMPC)
Fosfatidilgliserol (PG)	Dilauril fosfatidilkolin (DLPC)
	Distearoil fosfatidil etanolamin (DSPE)

En çok tercih edilen doğal fosfolipit olan fosfatidilkolindir (lesitin). Fosfolipitler genel olarak negatif yüklü olmalarından dolayı nötr lipozom yapımı için pozitif yüklü

polar lipitler (Stearilamin (SA)) kullanılmaktadır (Yurdakul & Rıza, 2007). Sentetik fosfolipit elde edilmesi için en çok tercih edilen molekül ise L-α-dipalmitoil fosfatidilkolin (DPPC)'dir. Lipozomlar sadece lipitten değil polimerik malzemelerden de elde edilebilmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda polimer kaplı lipozomların stabilitesinde olumlu gelişmeler olduğu görülmüştür (Sunamoto, Iwamoto, Takada, Yuzuriha, & Katayama, 1983). Fosfolipitler, sulu çözelti içindeyken hidrofobik kuyruklar sudan kaçarak karşılıklı olarak dizilme eğilimi gösterirler ve bu durum sonucunda hidrofilik başların suyu hapsettiği kapalı küre şekli Şekil 2.1'de gösterildiği gibi oluşmaktadır. Böylelikle hidrofilik ilaçlar içi sulu bölümde taşınırken hidrofobik ilaçlar hidrofobik kuyrukların oluşturduğu katmanda taşınmaktadır. Bunu Şekli 2.1'de görmekteyiz.

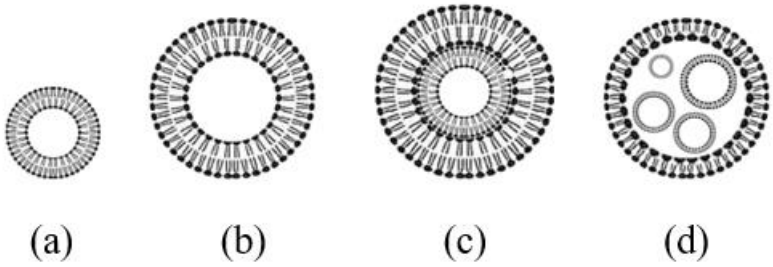


Şekil 2. 1. Sulu çözelti içinde hidrofilik ve hidrofobik grupların dizilimi sonucu oluşan küresel yapı (Biological Membranes (2019) https://slideplayer.com/slide/15220396/).



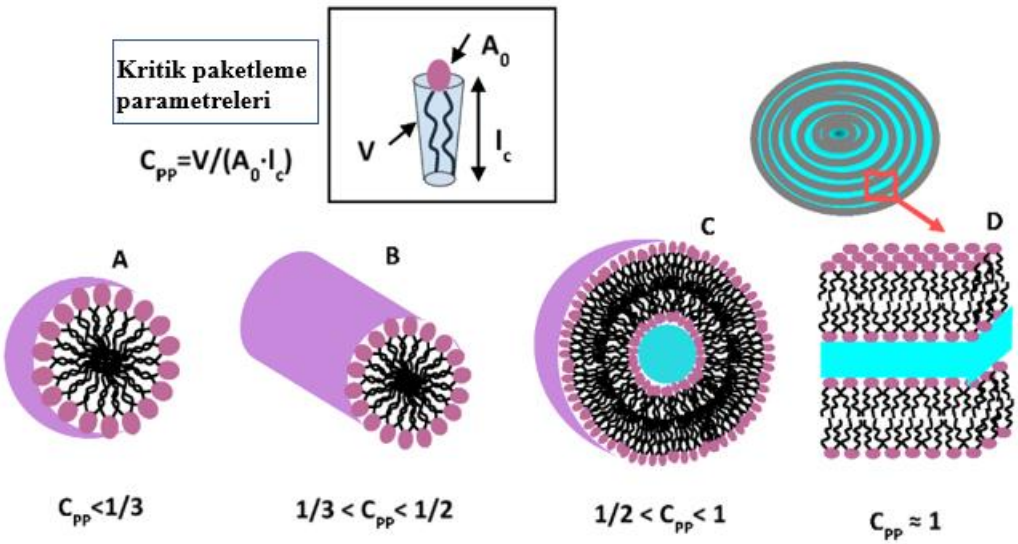
Şekil 2. 2. Lipozomun ortadan kesilmiş üç boyutlu görünümü (Liposomes (2023) https://www.inprocess-lsp.com/liposomes/).

Lipozomların sahip oldukları kendi kendine topaklanabilme özellikleri ve biyouyumlulukları nedeniyle ilaç taşıma sistemlerinde tercih edilmektedir. Lipozomlar boyutlarına ve katmanlarına göre iki sınıfa ayrılmaktadırlar. Boyutlarına göre çapı 30 nm'den küçük olan veziküller ve çapı 30-100 nm arası büyük veziküller olarak tanımlanmaktadır. Katman sayısına göre tek katmanlı, çift katmanlı ve çok katmanlı olarak sınıflandırılmaktadır. Şekil 2.3'te farklı katmanlı lipozomlar görülmektedir. İlaç taşıma sistemleri tasarımında kullanılan lipozomların boyutu 50-500 nm arasında değişmektedir (Moghimi, Hunter, & Murray, 2001). Yapılan araştırmalarda ilaç miktarının yüksek olmasıyla oral biyoyararlanım arasında doğru orantı olduğu görülmüş ancak büyük boyutlu lipozomların daha düşük biyoyararlanım sergilediği görülmüştür. Kısaca tek katmanlı lipozomların çok katmanlılara göre daha hızlı ilaç salınımı gerçekleştirdiği görülmüş ve lipozom boyutunun 400nm'nin altına çekilmesinde biyoyararlılık açısından bir artısı olmadığı anlaşılmıştır (Lombardo, Calandra, Barreca, Magazù, & Kiselev, 2016).



Şekil 2. 3. (a) küçük tek katmanlı kesecik, (b) büyük tek katmanlı kesecik, (c) çok katmanlı kesecikler, (d) çok kesecikler (Kırtıl & Öztop, 2014).

Degiorgio ve arkadaşlarının çalışmalarına göre fosfolipitlerin kuyruk ve baş kısımlarının parametrelerine göre kritik paketleme parametresi olarak adlandırılan ve $C_{pp} = V_0/A_0 \cdot l_c$ formülü ile hesaplanarak lipozomun şekil ve boyutu hakkında tahmin yürütülebilmektedir. V_0, hidrofobik kuyruğun çekirdek bölgesinde kapladığı hacmini, A_0 hidrofilik yüzey alanını, l_c ise kritik zincir uzunluğunu göstermektedir. Şekil 2.4'te farklı C_{pp} değerlerine sahip miseller görülmektedir (Degiorgio & Corti, 1985; Lombardo vd., 2016).

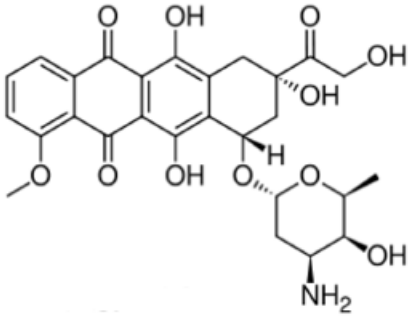


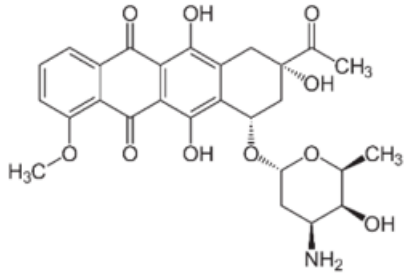
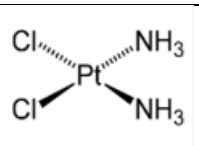
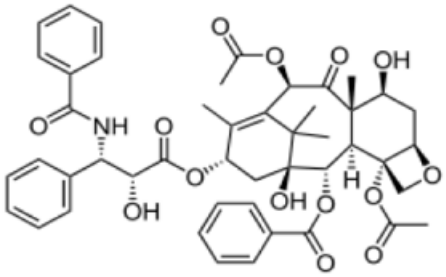
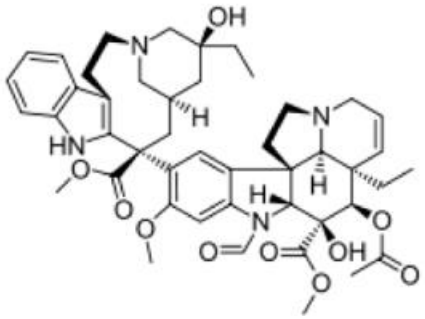
Şekil 2. 4. Kritik paketleme parametrelerine göre oluşan farklı miseller (Lombardo vd., 2016)

Deneysel lipozomların yapısal ve karakteristik özelliklerini kontrol edebilmek için bazı farklı hazırlama teknikleri kullanılmaktadır. Bu teknikler belirlenirken taşınacak molekül ile lipozomun özelliklerinin etkileşimi, lipozomun boyutu (lipozomun katman sayısı vs.), taşınan molekülün serbest kalacağı ortam ve üretilen lipozomun tekrarlanabilirliği dikkate alınmaktadır (Gomez-Hens & Fernandez-Romero, 2006), (Dua, Rana, & Bhandari, 2012). Temelde dört farklı hazırlama tekniği (mekanik çalkalama, solvent buharlaştırma, solvent enjeksiyonu, deterjan çözündürme) bulunmaktadır.

Lipozom formülasyonlarının geliştirilmesinde yapılan çalışmaların büyük çoğunluğu kanser tedavisine ayrılmış durumdadır. Bu çalışmalarda fizikokimyasal özellikler, dolaşımdaki süresi, hedeflenen dokuda birikme miktarı gibi konuların üzerinde durulmaktadır (Chang & Yeh, 2012), (Fan & Zhang, 2013). Lipozom teknolojisi için geliştirilen ilk ürün Doxil®'dir (Barenholz, 2012). Kanser ilaçlarına ek olarak mantar tedavisinde kullanılan Abelcet® (Lister, 1996), Ambisome® (Stone, Bicanic, Salim, & Hope, 2016), Amphotec® (Guo, Fielding, Lasic, Hamilton, & Mufson, 1991) vs. gibi ilaçlar geliştirilmiştir. Kanser çalışmalarda kullanılan ve klinik tedavi amacıyla kullanılan moleküller Çizelge 2.2'te gösterilmiştir.

Çizelge 2. 2. Klinik tedavilerde kullanılan ilaç moleküllerinin kimyasal yapıları (Lombardo vd., 2016)

Molekül adı	**Kimyasal yapısı**	**Kullanıldığı hastalık**
Doxorubicin		Lösemi ve Lenfoma Karsinom, sarkomalar vs.

Daunorucin		Lösemi
Cisplatin		Baş ve boyun Yumurtalık Testis vs.
Paclitaxel		Yumurtalık Meme Akciğer Pankreas vs.
Vincristine		Akciğer Baş ve boyun Lösemi Plazma hücre kanseri vs.

İlaç dağıtımında kullanılan nanoparçacıklar genellikle 100 nm'den küçük olmaktadırlar. Lipozomlar 1965 yılında Alec Bangham tarafından geliştirilmiş ve fosfolipitlerin membran sistemi olarak lipozomları tanımlamasıyla gündeme gelmiştir. Gregory Gregoriadis, lipozomları iletim uygulamalarında kullanımını araştırmıştır (Gregoriadis & Florence, 1993). Lipozomlar doğal veya sentetik fosfolipitlerden üretilebilmektedir. Bu durum da farklı boyutlarda kapsülleme yapılabilmesini sağlamaktadır (Kumar, 2019).

Lipozomlar, çift katmalı vezikül oluşturabilmeleri ile hidrofobik özellik gösteren ilaçları taşımada büyük avantaj sağlamaktadır. Lipozomal ajanlar sadece tedavi için değil, vücuttaki biyolojik ve fizyolojik fonksiyonların iyileştirilmesinde de

kullanılmaktadır. Örneğin kronik karaciğer hastalığı gibi özel ihtiyaçları olan hastalar için gıda takviyesi formülasyonlarında da kullanılabilmektedir. Sonuç olarak lesitin türevli lipozom taşıyıcıları kozmetik, beslenme ve teşhis koyma gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır (Le vd., 2019).

Deri iletimi için lesitin bazlı nanoyapılı jeller araştırma konusu olmuş, deri iletiminde geleneksel taşıyıcılarda ilaç sızıntısı ve yetersiz nüfuz etme gibi nedenlerle verimlilik düşükken lipozom tabanlı taşıyıcılar jellerin, ilaçların ciltte tutunurluğunu arttırdığı görülmüştür (Abdallah, El-Massik, Elnaggar & El-Refaie, 2014).

Lesitinin ana bileşeni olan fosfolipitler merkezi sinir sisteminde de bulunmaktadır. Omega-3 yağ asidi olan eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosahesaenoik asit (DHA) gibi fosfolipitler beynin bilişsel işlevinde önemli rol oynamaktadır. Lipozom tarafından taşınan bu fosfolipitlerin sinaps gelişimine katkı sağladığı görülmüştür (Arab-Tehrany, Elkhoury, Kahn & Sanchez-Gonzalez, 2021).

İlaç taşıyıcı sistemler, lipozom tabanlı taşıyıcılar ile gerçekleştirildiğinde yüksek biyoyararlanım ile sonuçlanarak umut verici sonuçlar alınmıştır. Lipozomlarda taşınan ilaçlarda oksidasyon, bozunma ve ayrışma engellenebilmektedir.

2.2. Fosfatidilkolin (Lesitin) ve Özellikleri

Soya fasulyesi lesitinin ana kaynağını oluşturmaktadır. Bunu yanında lesitinin geniş kullanım alanı olması nedeniyle lesitine ihtiyaç artmaktadır, kanola ve ayçiçeğinden de elde edilmektedir.

Lesitin glikolipidler, trigliseritler ve fosfolipitlerin karışımına verilen addır. En bilineni fosfatidilkolindir. Lesitin genellikle soya fasulyesinden kimyasal yollarla ekstrakte edilmektedir. Lesitin ilaç ve kozmetik sanayisinde emülgatör ya da yüzey aktif madde olarak kullanılırken lipozom üretiminde de kullanılmaktadır. Gıda takviyesi ya da kozmetik ürünlerde A ve E vitaminlerinin oksidasyonunu engellemek için antioksidan görevi de görmektedirler (Meyers, 1990). Boya endüstrisinde ise stabilizatör olarak kullanılmaktadır (Marón vd., 2007). Birçok sektörün içinde olan lesitine gündelik hayatta en fazla gıdalarda ve gıda takviyelerinde rastlanmaktadır. ABD

Gıda ve İlaç Daire (FDA) tarafından güvenli onayı almıştır. Avrupa Birliği katkı maddeleri kodu E322'dir.

Lipozomların ana maddesi fosfolipitlerdir, lesitin tabanlı lipozomlar üretilmektedir. Toksik olmayışları ve yüksek biyoyararlılığı nedeniyle klinik tedavilerde kullanılmaktadır.

2.3. Koenzim Q10 (CoQ10) ve Özellikleri

Koenzim Q10 (Ubikinon), 10 izopren yan zinciri ve kinon grubundan oluşmaktadır. Latince 'ubiquitous quinone', 'her yerde olan' anlamına gelen ismi tüm hücrelerde bulunmasından kaynaklı olarak verilmiştir (Battino, & Quiles, Giampieri, Varela-López, 2016). İlk defa 1955 yılında izole edilip, 1958 yılında kimyasal yapısı anlaşılmıştır (Wolf vd., 1958). Hücreler arası elektron taşıma sisteminde görev alan temel bileşendir. Mitokondriyel solunumda görev almasıyla enerji üretimine destek vermektedir. Bunu yanında kalp sağlığı, diyabet, tansiyon gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda nörodejeneratif hastalıklarda (Alzheimer, Parkinson vb.) etkili olduğu görülmüştür (Overvad vd., 1999). İlerleyen yaşlarda görülen CoQ10 eksiliği nedeniyle gıda takviyesi olarak alınımına yoğun ilgi gösterilmektedir.

Ubikinonun diğer bir işlevi de antioksidan olarak görev yapmaktır. Ortamda doymamış yağlara yakın konumlanan CoQ10 serbest radikalleri tutmakta, lipit ve proteinlerin reaksiyona girmesini engellemektedir (Navarro vd., 1999), (Bentinger, Tekle, & Dallner, 2010). Diğer antioksidanlarla (Askorbik asit, α-tokoferol vb.) kullanılması etkilerini arttırmaktadır. CoQ10 yokluğunda bu antioksidanların dokuları yenileme süresinde yavaşlama görülmüştür (Bello vd., 2003), (Gómez-Díaz vd., 1997). Sonuç olarak CoQ10'nin hücre kayıplarını engellediği bunu mitokondrinin geçirgenliğini önleyerek yaptığı düşünülmektedir (Barroso vd., 1997).

Nörodejeneratif hastalıklar (Parkinson, Alzheimer vb.), mitokondrideki antioksidan aktivitelerinin azalmasından dolayı serbest radikal miktarındaki artışın oluşturduğu dengesizlikten kaynaklandığı ve CoQ10'in antioksidan görevi görerek fayda sağladığı düşünülmektedir (Butterfield, 2004; Dallner & Ernster, 1995).

Mitokondrinin görev bozukluğu ve CoQ10 eksikliğinin belirtileri yorgunluk, baş ağrısı ve uyku bozuklukları semptomları olan fibromiyalji kronik hastalığının belirtilerini azaltacağı düşünülmektedir (Cordero vd., 2013).

Nedeni bilmeyen eklemlerin iltihaplanması ya da yapısal bozuklukların görüldüğü romatoid artrid (RA) hastalığında CoQ10'in kullanıldığı çalışmalar mevcuttur. Bu hastalıkta görülen iltihaplanma organların metabolik fonksiyonlarını bozup, insülin direnci gibi rahatsızlıklara neden olmaktadır (Abdollahzad, Aghdashi, Alipour & Jafarabadi, 2015). Bazı çalışmalarda CoQ10'in olumlu etki gösterdiği çalışmalar olmakla birlikte etkisi olmadığı görülen çalışmalarda mevcuttur. Sonuç olarak bu alanda yapılan çalışmalar yeni olmakla birlikte yeterli veri yoktur.

CoQ10 ilk olarak kardiyovasküler hastalıklar ile nörodejeneratif hastalıkların tedavisi için kullanılmış elde edilen başarılı sonuçlar sonucunda kullanım alanları ve tüketimi artmıştır. Bu sebeple tıp alanından kozmetik ve gıda gibi birçok farklı alanda kullanılmaktadır.

2.4. Moleküler Modelleme ve Simülasyon Yöntemleri

Moleküler dinamik simülasyon yöntemleri 1950'lerin sonlarında tasarlanmıştır. İlk MD simülasyonu Alder ve Wainwright tarafından gerçekleştirilmiştir (Alder & Wainwright, 1957). Simülasyon yönteminin ilaç geliştirme metotlarında kullanılması son dönemlere denk gelmektedir (Eren & Yalçın). Moleküler dinamik (MD) simülasyonları, moleküler sistemleri modellemede kullanılan bir yöntemdir. Gerçek deneysel verilere yakın sonuç alınmasından dolayı ilaç geliştirme çalışmalarında sıklıkla tercih edilir. MD simülasyon yöntemi; kullanılacak molekülün atomlarının zamana bağlı olarak davranışlarını anlayabilmek için Newton'un hareket kanunlarının kullanılmasına dayanır.

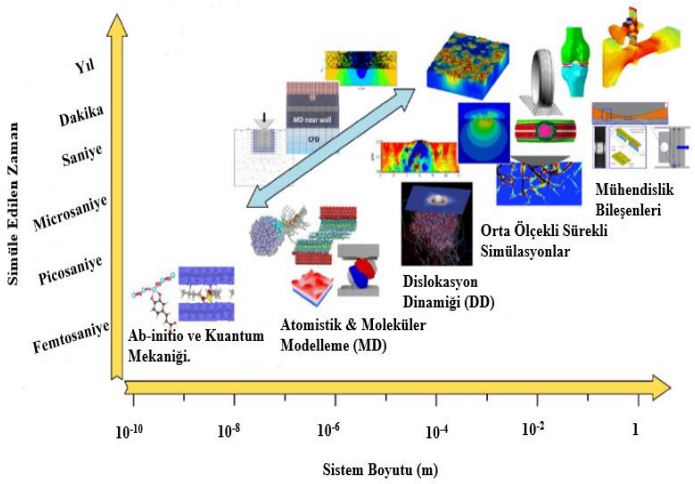
Bu yöntem için öncelikle bilgisayar ortamında model oluşturulur ve sistemler modellenirken o sistem basitleştirilerek davranışları tanımlanmaya çalışılır. Daha sonra "modeldeki her atom için uygulanan kuvvet hesaplanır. Bu işleme Newton'un hareket kanunu denklemleri de eklenir (Frenkel & Smit, 2001). Kuvvetlerin zamana bağlı olarak oluşan yeni pozisyonlar da hesaplanarak değişmediği yani denge anına kadar

hesaplamalar tekrarlanır. Dengeye gelen sistemden ölçüm yapılarak gerçeğe yakın sonuç elde edilmiş olur (Hinchliffe, 2003). Bu adımlar için Newton'un ikinci hareket denklemi kullanılır MD simülasyonlarının hesaplanması Verlet algoritması olarak bilinen denklem kullanılır, denklem 2.1, 2.2'de gösterilmiştir.

$$F_i = m_i \frac{d^2 r_i}{dt^2} \tag{2.1.}$$

$$r_i(t + \Delta t) = 2r_i(t) - r_i(t - \Delta t) + (\frac{d^2 r_i}{dt^2})_t (\Delta t)^2 \tag{2.2.}$$

Moleküler modelleme simülasyonları ile moleküllerin zaman içerisindeki davranışları gözlemlenebilmekte ve daha kısa sürede kullanılabilecek malzemeler/moleküller hakkında bilgi sahibi olunabilmektedir. Bu yöntem ile nanosaniye ve nanometre boyutunda simülasyonlar gerçekleştirerek deneysel çalışmaların zaman ve maddi kaynak tüketimi engellenebilmektedir. Aşağıdaki Şekil 2.5'te kullanılan diğer simülasyon yöntemlerinin örnekleri gösterilmektedir.



Şekil 2. 5. Kullanılan simülasyonların uzunluk ölçekleri (Vakis vd., 2018)

2.5. Kaba Taneli Dağıtıcı Parçacık Dinamiği (DPD) Yöntemi

Kaba taneleme yöntemi, çeşitli büyüklükte gruplar içeren lipit, polimer, kopolimer gibi büyük yapıların boncuk adı verilen küçük gruplara ayırma ve bu fonksiyonel gruplar arasındaki efektif etkileşimleri belirli kurallara göre tanımlayarak zaman içerisindeki hareketlerini tahmin etme yöntemidir. Kaba taneli simülasyonların gerçekleştirilmesindeki amaç klasik moleküler dinamik yöntemlerinin çözmekte

yetersiz kaldığı karmaşık sistemlerin özelliklerini makul zaman ve uzunluk mertebelerinde elde etmektir (Peter & Kremer, 2009). Kaba taneli yöntemlerde molekül fonksiyonel grupları tanımlayan kaba taneler ve arasında kovalent bağlar olan zincirler şeklinde gösterilir. Bu yöntemler arasında en bilineni polimer, kopolimer gibi büyük sistemleri mezoskopik ölçekte simüle edilmesinde kullanılan Dağıtıcı Parçacık Dinamiği (DPD) yöntemidir (Groot & Warren, 1997; Espanol & Warren, 1995; Hoogerbrugge & Koelman, 1992). DPD yönteminde Newton hareket denklemleri kullanılmakta olup kaba taneli parçacıkların üzerine $\mathbf{F}_{ij}^{C}$ koruyucu, $\mathbf{F}_{ij}^{D}$ dağıtıcı ve $\mathbf{F}_{ij}^{R}$ rastgele olmak üzere üç kuvvet uygulanmaktadır. Diğer bir deyişle, tek bir boncuk üzerine etki eden kuvvet bu üç kuvvetin toplamıdır (Denklem 2.3). Koruyucu kuvvetler, sistemin belirli bir enerjide (dengede) kalmasını sağlayıp son yapıyı belirlerken dağıtıcı ve rastgele kuvvetler kolektif olarak termostat görevi yaparak sıcaklığı kontrol etmektedirler (Groot & Warren, 1997).

$$\mathrm{f}_i = \sum_{i \neq j} \left(\mathrm{F}_{ij}^{C} + \mathrm{F}_{ij}^{D} + \mathrm{F}_{ij}^{R} \right) \qquad \textbf{(2.3.)}$$

DPD metodunda moleküler arası bağsız (Van der Waals tipi) potansiyel enerji, denklem 2.4'teki gibi ifade edilmektedir.

$$V_{DPD,ij}(r) = \begin{cases} \frac{a_{ij}}{2}\left(1 - \frac{r}{r_{DPD}}\right)^2 & r < r_{DPD} \\ 0 & r \geq r_{DPD} \end{cases} \qquad \textbf{(2.4.)}$$

Bu ifadede, r etkileşimin kesme değeri, i ve j boncuklar arasındaki mesafeyi tanımlarken r_{DPD} kesme uzunluğu değeridir tüm boncuklar için aynı kabul edilmektedir. DPD yönteminde uzunluk ve zaman indirgenmiş birimlerdedir. Gerçek birimlerde zaman ifadesini elde etmek için kullanılan DPD zaman birimi denklem 2.5'teki gibi hesaplanır (Kacar, Peters, & de With, 2013).

$$\tau = R_c \sqrt{m/kT} \qquad \textbf{(2.5.)}$$

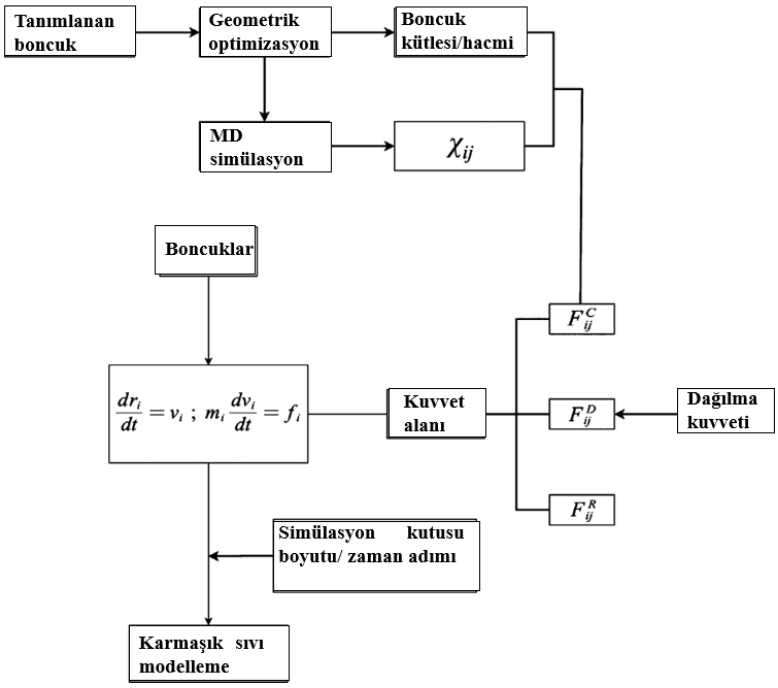
DPD parametrelerinin itici kuvvetinin boyutu a_{ij} olarak denklem 2.6'da görüldüğü gibi hesaplanmaktadır.

$$a_{ij} = \frac{\chi_{ij}}{0.286} + a_{ii} \quad \textbf{(2.6.)}$$

Denklem 2.6'da a_{ii} *ve* a_{ij} aynı tip boncukların itme gücü değerlerini farklı *i* ve *j* taneleri için temsil ederken ρ bileşenlerin boyutsuz sayı yoğunluğunu temsil eder. α parametresi ise sabittir ve 3'ten yüksek olan boyutsuz sayı yoğunlukları için 0.101'e eşittir (Groot & Warren, 1997). χ_i ifadesi kaba taneli boncukların birbirleriyle ne kadar çekici etkileşimde olduklarını karakterize eden Flory-Huggins parametresidir ve denklem 2.7'deki gibi hesaplanır (Flory, 1941). Denklemdeki V, ortalama kaba tane hacmini temsil etmektedir ve denklem 2.8'daki gibi hesaplanır.

$$\chi_{ij} = \frac{V_m}{RT\left(\delta_i - \delta_j\right)^2} \quad \textbf{(2.7.)}$$

$$\bar{V} = \rho^{-1} = \frac{\left(\sum_i N_i \rho_{i,\text{pure}}^{-1}\right)}{\sum_i N_i} \quad \textbf{(2.8.)}$$



Şekil 2. 6. DPD simülasyon akış şeması (Feng, Guo, Zhang & Zhao, 2020)

2.6. Radyal Dağılım Fonksiyonu (RDF)

RDF, referans alınan parçacığın, benzer parçacıkların r mesafede hangi konumda ve hangi olasılıkla bulunduğunun ideal gaza göre normalize edilip hesaplanması olarak tanımlanır. RDF aynı zamanda, karmaşık bir moleküler sistemin yapısı hakkında bilgi sağlar ve denklem 2.9'daki gibi ifade edilir.

$$g_{ij}(r) = \frac{\langle \Delta N_{ij}(r \to r + \Delta r) \rangle V}{4\pi r^2 \Delta r N_i N_j} \qquad \textbf{(2.9.)}$$

V hacmi, N boncuk sayısını, $\Delta N_{ij}(r \to r + \Delta r)$ i boncuklarının r'den $r + \Delta r$'ya kadar olan mesafede ortalama j boncuk cinsinden komşu sayısını ifade eder.

RDF, izotermal sıkıştırılabilirlik gibi termodinamik özelliklerin hesaplanmasında da kullanılır. RDF, maddenin türüne göre değişiklik göstermektedir. RDF, özellikle sıvıların ve sıvı karışımların özelliklerinin anlaşılması için önemlidir (Morsali, Goharshadi, Mansoori, & Abbaspour, 2005). Sıvılar hareket yeteneklerinden dolayı yapıyı koruyamazlar.

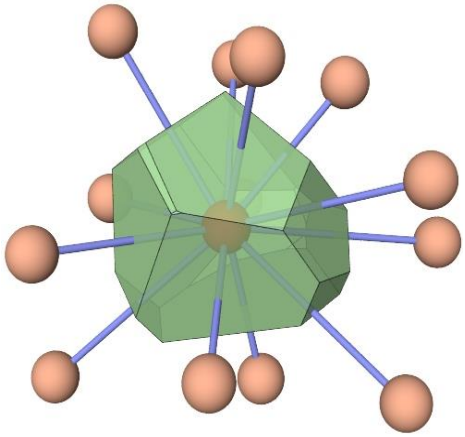
2.7. Yoğunluk Profili

Yoğunluk profilleri, birkaç zaman adımında bir veya daha fazla atomun vektörünün girdi olarak kullanarak her bir zaman aralığındaki atom yığını üzerinde olan değerlerin toplanıp ortalamasının alınmasıyla hesaplanmaktadır**.** Yani bu durum seçilen boncuğun belirlenen eksendeki koordinatlarda hangi sayı yoğunluğunda olduğu bilgisini vermektedir. Bu tez kapsamında her bocuk tipinin, toplam sistemdeki yoğunlukları hesaplanmış ve rapor edilmiştir.

2.8. Voronoi Analizi

Georgy Voronoy'dan adını alan Voronoi analizi, doğa bilimleri, beşerî bilimler, sağlık ve görsel sanatlar gibi birçok farklı alanda uygulanmaktadır. Bu analiz, parçacık konumlarını Voronoi hücre merkezleri olarak alıp simülasyon kutusunda üç boyutlu olarak Voronoi mozaiğinin hesaplanmasıdır (Sheng, Luo, Alamgir, Bai, & Ma, 2006). Bu hesaplamanın her bir parçacık için yapılabilmesi için üç özellik hesaplanır (bknz Şekil 2.7.).

1) Atom Hacmi: Parçacığın Voronoi hücresindeki hacmidir.
2) Koordinasyon: Her parçacığın en yakın komşusuna olan uzaklığı bir Voronoi yüzü oluşturmaktadır. Bu Voronoi hücresinin yüz sayısını verir, bu niceliğe de koordinasyon numarası denmektedir.
3) Boşluk Yarıçapı: Bir parçacığın diğer parçacığa kadar olan en uzak Voronoi hücresine olan mesafesi boşluk yarıçapıdır.



Şekil 2. 7. Voronoi hücresi gösterimi (Voronoi analysis (2023) https://www.ovito.org/docs/current/reference/pipelines/modifiers/voronoi_analysis.html).

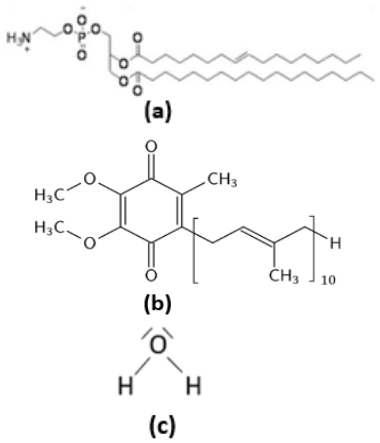
Bu tez çalışmasında Voronoi analiz yöntemiyle her boncuğun etrafındaki Voronoi hacim değeri hesaplanarak hangi kaba tanenin etrafında ne kadar hacim olduğu hesaplanmıştır. Ayrıca, farklı moleküllere karşılık gelen toplam hacim hesaplanarak sistemin bütününü oluşturan lesitin CoQ10 hacimleri hesaplanmış ve aralarındaki farklar tartışılmıştır.

BÖLÜM 3

MATERYAL ve SİMÜLASYON DETAYLARI

3.1. Materyal

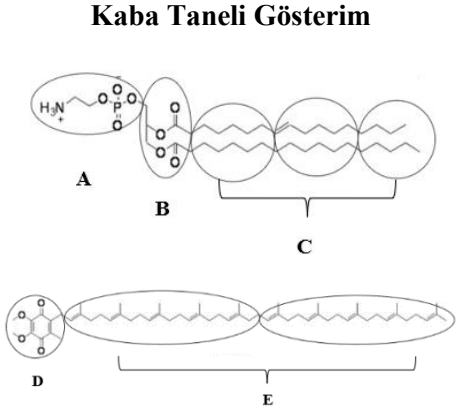
İlaç taşıyıcı sistem olan nano lipozomu oluştururken, fosfolipid olarak lesitin, çözücü olarak su, ilaç olarak koenzim Q10 kullanılmıştır. Lesitin, koenzim Q10 ve suyun kimyasal yapıları Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3. 1. (a) Soya fasulyesinden elde edilen lesitin, (b) koenzim Q10, (c) çözücü su moleküllerinin kimyasal yapıları.

3.2. Materyallerin Kaba Taneli Modellenmesi

Kaba taneleme, moleküllerin kimyasal yapılarının anlamlı kimyasal gruplar halinde gruplandırılarak ayrılması olarak da tanımlanabilir. Şekil 3.1'de gösterilen kimyasal yapıların kaba taneli yapıları Şekil 3.2'de gösterilmiştir. Kaba taneli yapıları ayırırken benzer hacimde olmalarına dikkat edilmiştir. Lesitinden oluşan lipit 5 adet kaba taneden, CoQ10 3 adet kaba taneden ve su molekülü 1 adet kaba taneden (W) oluşmaktadır. Kaba taneli modellerin oluşturulmasında Kranenburg ve arkadaşlarının çalışmasından yararlanılmıştır (Kranenburg, Nicolas, & Smit, 2004).



Şekil 3. 2. Lesitin (üst şekil) ve CoQ10'in (alt şekil) kaba taneli gösterimi

3.3. DPD Simülasyon Parametreleri ve Detayları

Bu çalışmada kullanılan DPD parametrelerini hesaplamak için gerekli değerleri Terrón-Mejía, Martinez-Benavidez'in çalışmalarından faydalanılmıştır (Terrón-Mejía vd., 2018) ve Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Sistemde kullanılan DPD parametrelerinin etkileşimleri

a_{ij}	A	B	C	D	E	W
A	78	79.3	104	104	104	79.3
B	79.3	78	86.7	86.7	86.7	79.3
C	104	86.7	78	78	78	104

D	104	86.7	78	78	78	104
E	104	86.7	78	78	78	104
W	79.3	79.3	104	104	104	78

Simülasyon başlangıç yapısında lipit, su ve CoQ10 için toplam kaba tane sayısı 150.000 olarak belirlenmiştir. Kaba tane sayı yoğunluğu, klasik DPD yöntemindeki başlangıç simülasyonlarında 3 olarak alınmaktadır (Groot & Warren, 1997). Bu durumda simülasyon kutusu 36,84×36,84×36,84 r_{DPD}^3olarak belirlenmiştir. Bütün simülasyonlar, 0,01 t_{DPD} zaman adımında 10^7 DPD adımıyla koşturulmuştur. Birim DPD zaman adımı gerçek birimlerde yaklaşık olarak 0,88 pikosaniyeye karşılık gelmektedir. Simülasyon sıcaklık değeri 298 K olarak alınmıştır. Simülasyonlar *NVE* (sabit parçacık sayısı *N*, sabit hacim *V*, sabit enerji *E*) koşullarında gerçekleştirilmiştir. Moleküller arasındaki açıda esneklik sağlayabilmek için açı modeli kosinüs/delta olarak alınmış ve açı (θ) sabiti 6 k_BT/θ^2 ve denge açı değeri 180 derece olarak belirlenmiştir. Bağ stili harmonik potansiyeldir ve yay sabiti 100 k_BT/r_{DPD}^2 ve denge bağ uzunluğu 0.7 r_{DPD} olarak alınmıştır.

Simülasyonların gerçekleştirilmesinde LAMMPS (Plimpton,1995) simülasyon paketi kullanılmıştır. Simülasyonların başlangıç yapıları için MAPS yazılımı (Materials and Processes Platform, Versiyon 4.3, Scienomics SARL, Paris, Fransa) kullanılmıştır. Simülasyonların üç boyutlu gösterimi için OVITO (A. Stukowski, 2010, OVITO– the Open Visualization Tool Modelling Simul. Mater. Sci. Eng. 015012 https://www.ovito.org/) programı kullanılmıştır.

Lesitin bazlı lipozomları elde etmek için mol kesir yüzdelerine karşılık gelecek üç adet sistemin simülasyonu gerçekleştirilmiştir. Çizelge 3.2'de sistemdeki toplam kaba tane sayıları ve karşılık gelen mol kesir değerleri gösterilmektedir. Sistemdeki toplam koenzim Q10 sayısı kontrol parametresi olarak değerlendirilmiş ve sadece lipozom sayıları değiştirilmiştir. Bunun nedeni değişen lipozom miktarına göre lipozom oluşum sürecini ve optimal lipozom oluşumu için gerekli mol kesrini incelemektir.

Çizelge 3.2. Sistemde mol kesir yüzdelerine karşılık gelen molekül sayıları

	Sistemdeki Kaba Tane Sayıları		
Mol Kesir Yüzdeleri	**Lipit**	**CoQ10**	**Su**
%6	1929	15	46770
%9	2929	15	45103
%13	3929	15	43436

BÖLÜM 4

BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Kaba tanelerin birbirleriyle çekici ve itici etkileşimleri

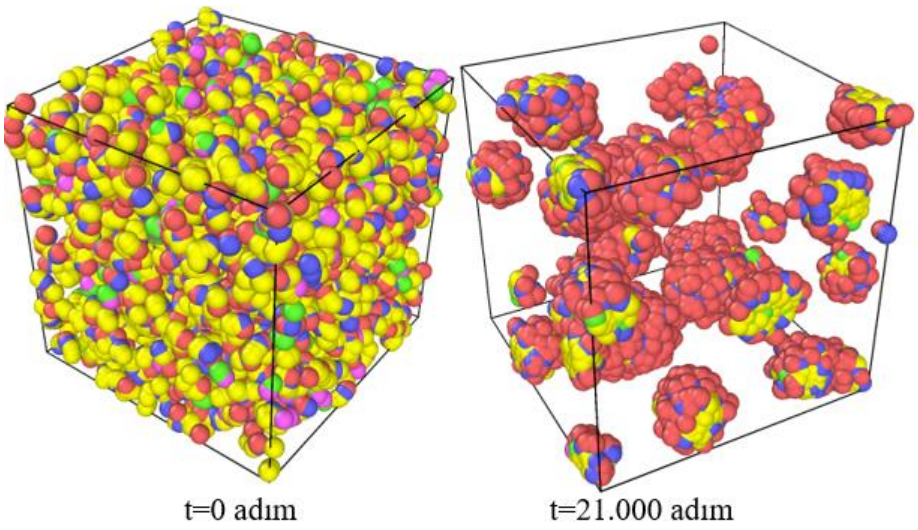
Çizelge 3.1'de belirtilen parametrelerde görüldüğü gibi kaba tanelerin su ile olan etkileşimlerine göre hidrofiliklik dereceleri anlaşılabilir. Örneğin, A kaba tanesi lesitin molekülünün baş grubuna karşılık gelmektedir ve su ile az bir DPD itici etkileşim değerine sahip olduğu için hidrofilik bir kaba tane olarak tanımlanabilir. B kaba tanesi ise lesitin molekülünün bağlayıcı bölümünü temsil eder ve önemli ölçüde hidrofilik bir karakter göstermektedir. A kaba tanesine göre daha az, fakat lesitinin kuyruk kısmı olan C kaba tanesine göre daha fazla hidrofilik özellik göstermesine rağmen Çizelge 3.1'de B kaba tanesinin DPD etkileşim değeri (su ile) A kaba tanesiyle aynı değere sahip alınmıştır. C kaba tanesi ise tamamen hidrokarbon gruplarından oluştuğu için su ile tamamen itici etkileşim göstermektedir.

Koenzim Q10'in hidrofobik özellik gösterdiği bilinmektedir. Dolayısıyla Koenzim Q10 kaba tanelerinin ise (D ve E) su ile çekici-itici etkileşimleri incelendiğinde, D ve E kaba tanesinin hidrofobik olduğu göze çarpmaktadır. Kimyasal yapısına bakıldığında hidrofobik özellik gösteren baş ve karbon zincirinden oluşan

kuyruk kısmından oluştuğu görülmektedir. Diğer bir deyişle, hidrofilik kaba taneler birbirleriyle yakın DPD itici etkileşimine, hidrofobik kaba taneler ise birbirlerine uzak DPD itici etkileşimlerine sahiptirler. Hesaplanan bu değerler ile simülasyonlar gerçekleştirilmiş ve sonuçlar analiz edilmiştir.

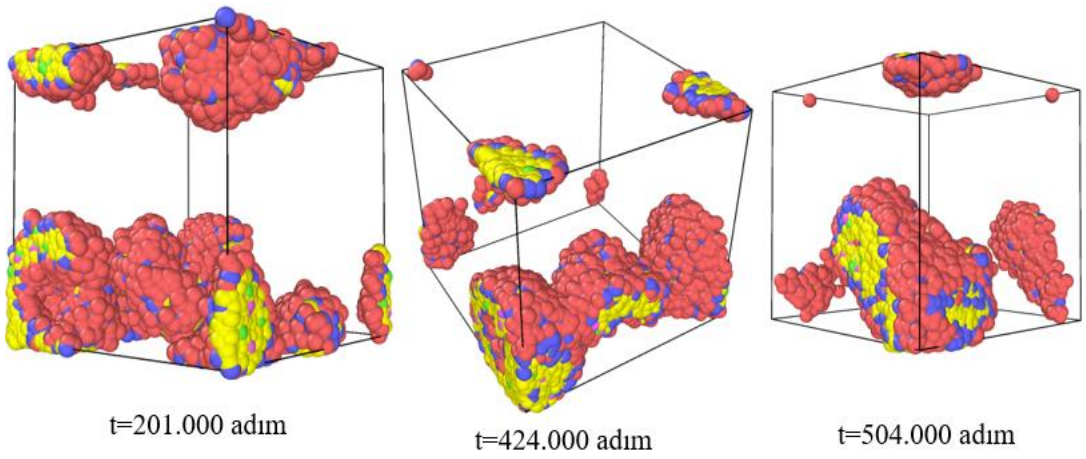
4.2. Lesitin Bazlı Nanolipozoma CoQ10 Yükleme Simülasyonları

Bir üst bölümde bahsedildiği gibi lesitin bazlı nanolipozoma CoQ10 yüklemesi yapılırken farklı konsantrasyon değerlerini elde etmek için simülasyon kutusundaki toplam kaba tane sayısı sabit bırakılmıştır. Farklı konsantrasyonların değerlendirilmesinin amacı, değişen değere göre yapısal farklılıklar, enkapsülasyon verimi gibi özelliklerini ne derece etkilendiğini belirlemektir. Ayrıca, lipozomların oluşum süreçlerine konsantrasyon etkisi de incelenmiştir. DPD simülasyon zamanı hesaplanarak zaman adımı ‘t’ ile gösterilmiştir.



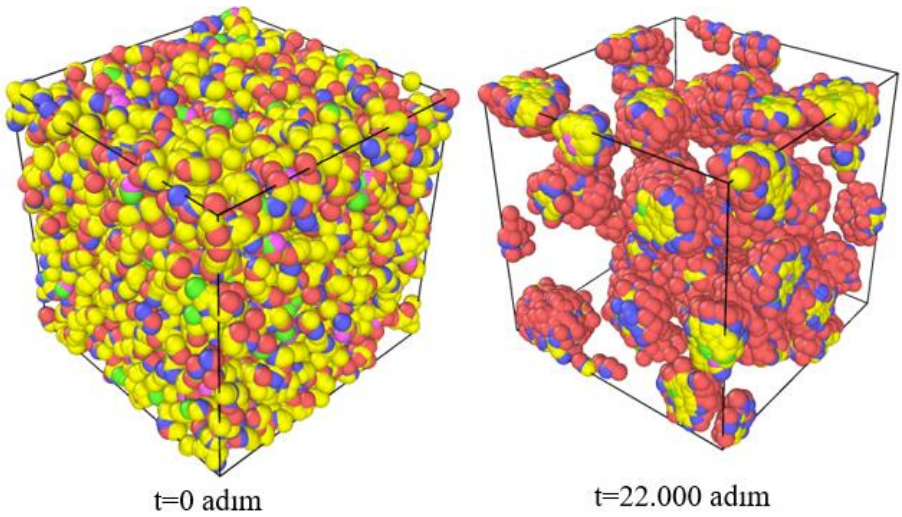
Şekil 4. 1. %6 mol kesrine ait sistemin farklı adımlardaki simülasyon görüntüleri. Daha iyi bir görüntü için su kaba taneleri gösterilmemiştir.

Şekil 4.1'de simülasyonun başlangıçta lesitin ve CoQ10'in rastgele dağılmış yapıda olduğu görülmektedir. Zaman adımı ilerledikçe moleküller arasındaki etkileşimden dolayı simülasyon kutusunda çok sayıda lipozomlar oluşmaktadır. Lipozomlar füzyonla büyümeye devam ederek kavisli yapılar oluşmaktadır (t = 201.000).



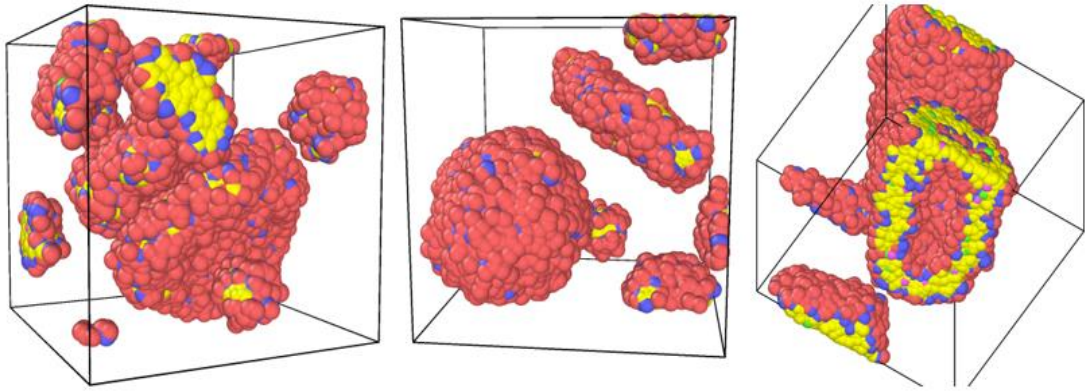
Şekil 4. 2. %6 mol kesrine ait sistemin farklı adımlardaki simülasyon görüntüleri. Daha iyi bir görüntü için su kaba taneleri gösterilmemiştir.

Kavisli yapının artıp lipozomların birleşerek tek yapı oluşturmasıyla sistem dengeye ulaşmaktadır (t = 504.000). Düşük konsantrasyonlarda vezikül oluşumu daha uzun sürmektedir.



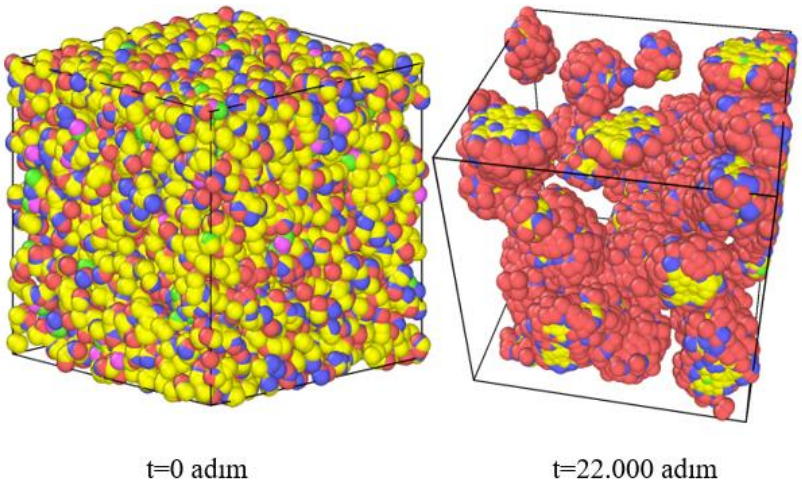
Şekil 4. 3. %9 mol kesrine ait sistemin farklı adımlardaki simülasyon görüntüleri. Daha iyi bir görüntü için su kaba taneleri gösterilmemiştir.

Başlangıçta rastgele etkileşim içinde olan amfifilik moleküller kendiliğinden birleşerek CoQ10 ile olan etkileşimlerine göre konumlanmaktadır. İlerleyen zaman adımlarında küçük veziküller oluşmaktadır (t = 22.000).



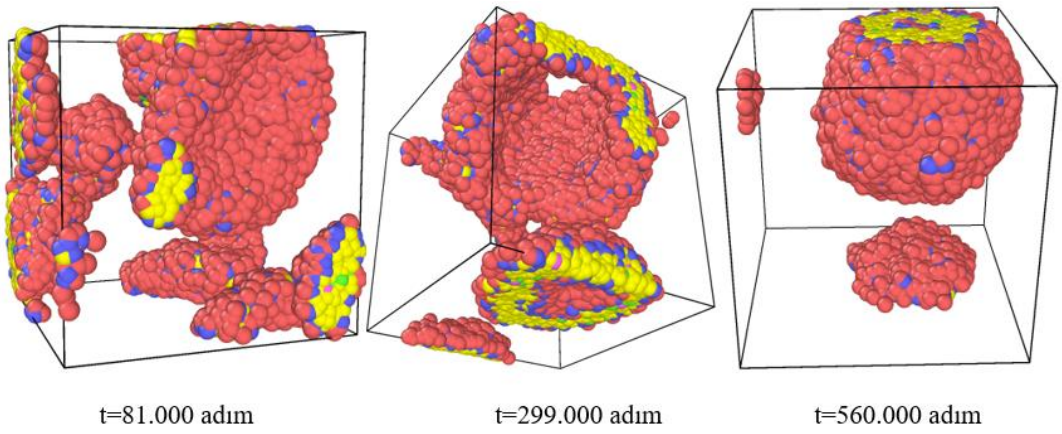
Şekil 4. 4. %9 mol kesrine ait sistemin farklı adımlardaki simülasyon görüntüleri. Daha iyi bir görüntü için su kaba taneleri gösterilmemiştir.

Veziküller füzyonla büyümeye devam ederek kavisli yapı oluşturmaktadır (t = 96.000, 163.000). Kavisli yapı kapalı kesecikler halinde kıvrılarak çift katmanlı yapı oluşturulmaktadır ve bunun oluşması daha uzun sürmektedir (t = 504.000). Konsantrasyonun artmasıyla birlikte lipozom oluşma süresi kısalmaktadır.

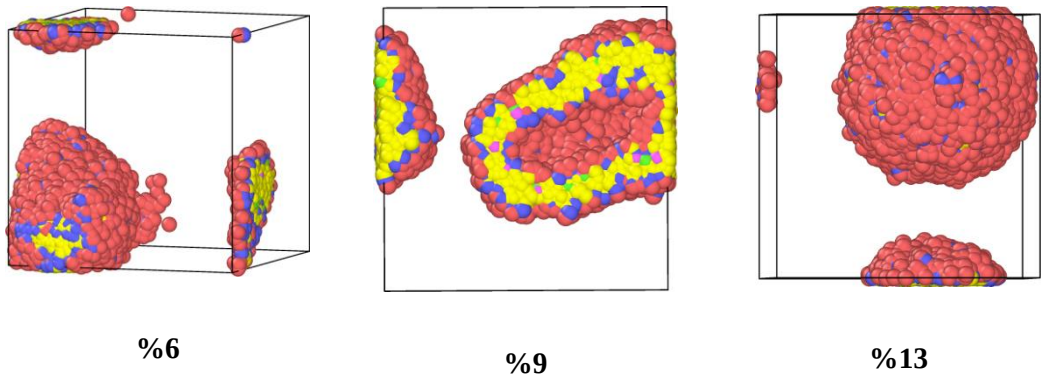


Şekil 4. 5. %13 mol kesrine ait sistemin farklı adımlardaki simülasyon görüntüleri. Daha iyi bir görüntü için su kaba taneleri gösterilmemiştir.

Konsantrasyonun artmasıyla birlikte başlangıç yapısındaki molekül yoğunluğunun arttığı görülmektedir (t = 0). Birleşen küçük veziküllerin diğer konsantrasyonlara göre daha büyük olduğu görülmektedir. Füzyon ile birleşmeye devam etmesiyle birlikte kavisli yapı oluşmakta bu yapılarında birleşmesiyle çift katmanlı kapalı vezikül oluşmaktadır. Bu durumu sırasıyla t =81.000, 299.000, 560.000 adımlarda görmekteyiz



Şekil 4. 6. %13 mol kesrine ait sistemin farklı adımlardaki simülasyon görüntüleri. Daha iyi bir görüntü için su kaba taneleri gösterilmemiştir.



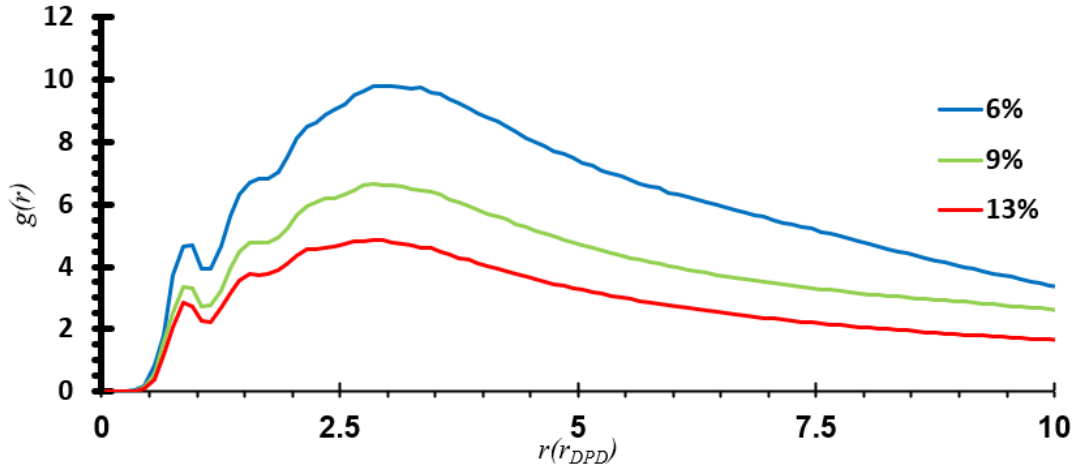
Şekil 4. 7. Her konsantrasyon için son durumda oluşan lipozomun kesiti. Daha iyi bir görüntü için su kaba taneleri gösterilmemiştir.

Konsantrasyonun artmasıyla vezikül oluşması için geçen süre azalmaktadır. Şekil 4.1'de %6'lık sistemde konsantrasyon düşüklüğünden dolayı ortamdaki moleküllerin elipsoid benzeri (küresel olmayan) bir lipozom yapısı oluşturduğu görülmüştür. Konsantrasyon artışı sonucu ile oluşan lipozomların şekil olarak %13'lük sistemde beklentiyi karşıladığı görülmüştür. Şekil 4.7'ye bakıldığında %6 sistemde oluşan lipozomun çekirdek kısmı çok küçük olduğu için yapının çökmek üzere olduğu

görülmektedir. %9'luk sisteme bakıldığında çekirdek kısmının (iç katmandaki kırmızı bölüm) oluştuğu ancak (sarı renk ile gösterilen bölümün) çeper kalınlığının fazla olmasından dolayı bu konsantrasyonda da yapı deforme olabilir. Ek olarak, koenzim Q10 moleküllerinin hidrofobik bölgede homojen dağılmamış olması da bu elipsoid yapının ortaya çıkmasını sağlamaktadır. %13'lük sisteme baktığımızda küresel yapının oluştuğunu çeperlerin diğer sistemlere göre daha tutarlı olduğu görülmektedir. Simülasyonlar sonucunda tüm CoQ10 moleküllerinin lipozom içinde hapsedildiği görülmüştür.

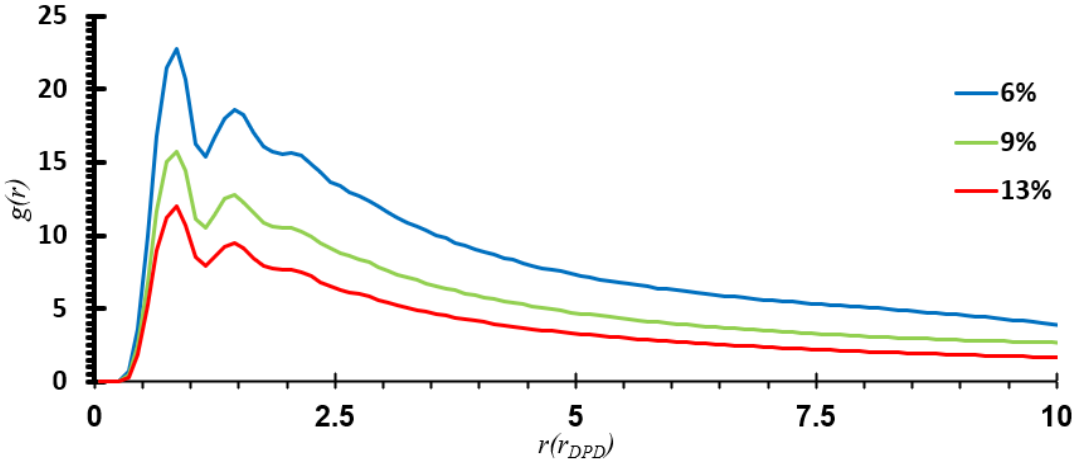
4.3. Radyal Dağılım Fonksiyonları (RDF) ile Yapısal Özellikler

Radyal dağılım fonksiyonu hesaplaması, moleküler bir sistemin yapısal özelliklerinin incelenmesinde kullanılmaktadır. Bu tez çalışmasında gerçekleştirilen yapıların moleküler olarak karakterize edilebilmesi ve aralarındaki etkileşimlerin belirlenmesi için, lesitin hidrofilik bölümü ve CoQ10, lesitin hidrofobik bölümü ve CoQ10, CoQ10 ve su, lesitin hidrofilik bölümü ve su, lesitin hidrofobik bölümü ve su etkileşimlerinin RDF analizleri hesaplanmıştır.



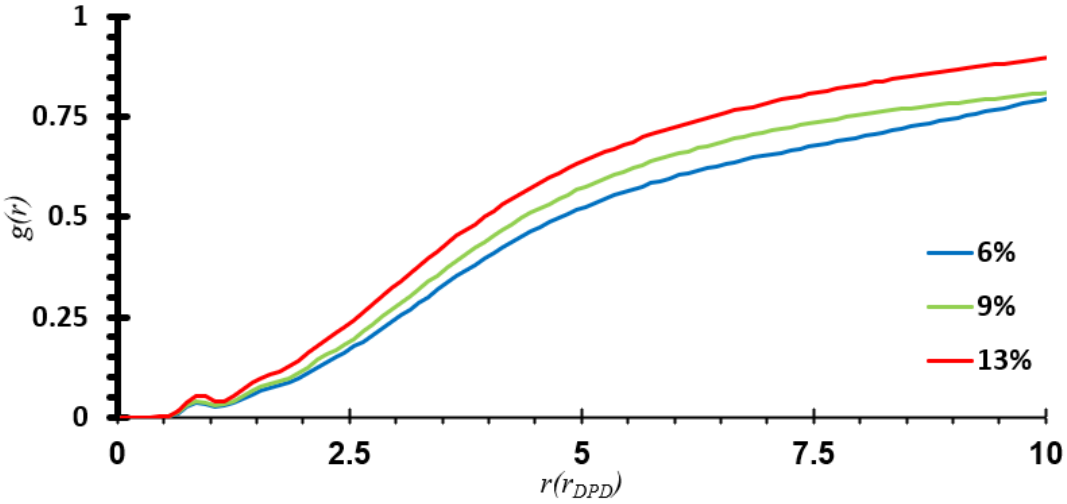
Şekil 4. 8. Lesitinin üç farklı konsantrasyonda hesaplanan lesitinin hidrofilik kısmı ile CoQ10 etkileşimlerinin RDF grafiği.

Şekil 4.8.'de görüldüğü gibi lesitin konsantrasyonu arttıkça CoQ10 ile olan etkileşim azalmıştır. Bu durum azalan RDF zirve (pik) değerleri ile belirlenmiştir.



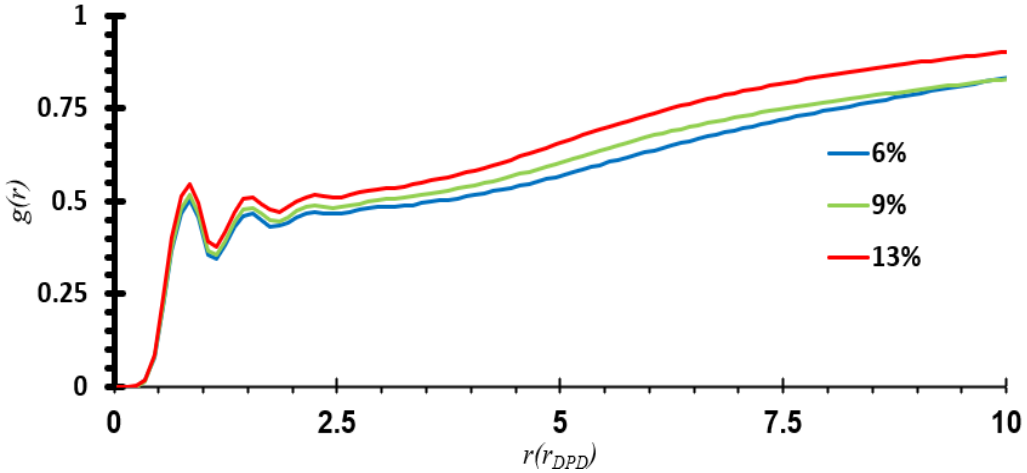
Şekil 4. 9. Lesitinin üç farklı konsantrasyonda hesaplanan lesitinin hidrofobik kısmı ile CoQ10 etkileşimlerinin RDF grafiği

Yağda çözünen bir madde olan CoQ10'in lesitinin hidrofobik ucundaki etkileşimi beklenildiği gibi daha fazladır. Tüm konsantrasyonlarda benzer davranış sergilenmiş ancak konsantrasyon değeri azaldıkça etkileşimde artış görülmüştür.



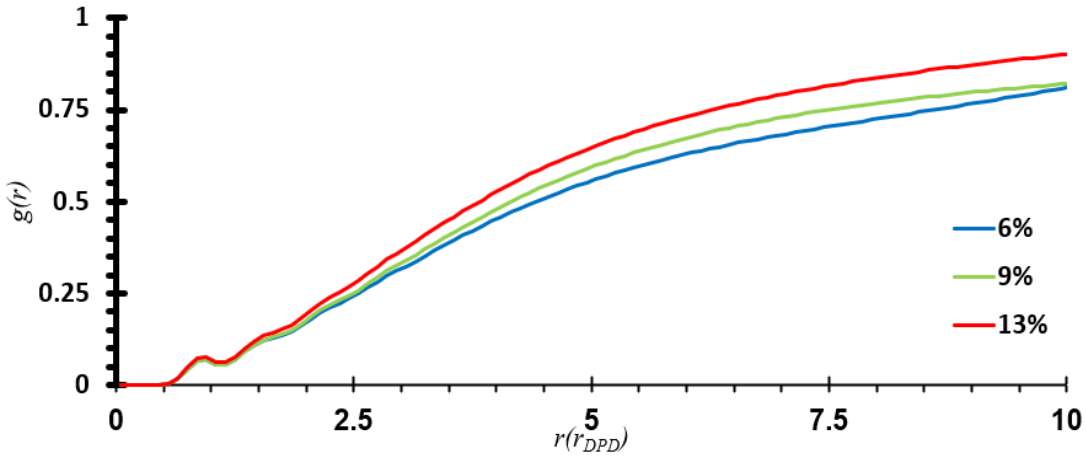
Şekil 4. 10. Üç farklı konsantrasyonda hesaplanan CoQ10-Su etkileşimlerinin RDF grafiği

CoQ10, uzun hidrofobik zincire sahip olmasından dolayı su ile olan etkileşimi kısa mesafelerde daha az; artan mesafelerde ise artmaktadır. Baştaki etkileşimin lipozomun çift katmanlı yapısı da etkilidir. Ancak CoQ10'in az miktarda da olsa lesitinin içindeki sulu bölgeyle etkileşiminin de var olduğu görülmektedir.



Şekil 4. 11. Lesitinin üç farklı konsantrasyonda hesaplanan lesitinin hidrofilik kısmı ile su etkileşimlerinin RDF grafiği

Lipozomun hidrofilik ortama konulması ve lesitinin hidrofilik ve hidrofobik uçları ile olan etkileşimi doğrultusunda hidrofilik kısımlar suya yakın durmaktadır ve bu da grafiği ve aralarındaki etkileşimleri açıklamaktadır. Ek olarak, kısa mesafelerde su ve lesitin hidrofilik bölümlerinin aralarında konsantrasyona dayanan bir farklılık görülmemiştir. Buna zıt şekilde, artan mesafelerde konsantrasyondaki artışın daha fazla bir su hidrofilik kaba tane etkileşimine yol açtığı görülmüştür.



Şekil 4. 12. Lesitinin üç farklı konsantrasyonda hesaplanan lesitinin hidrofobik kısmı ile su etkileşimlerinin RDF grafiği

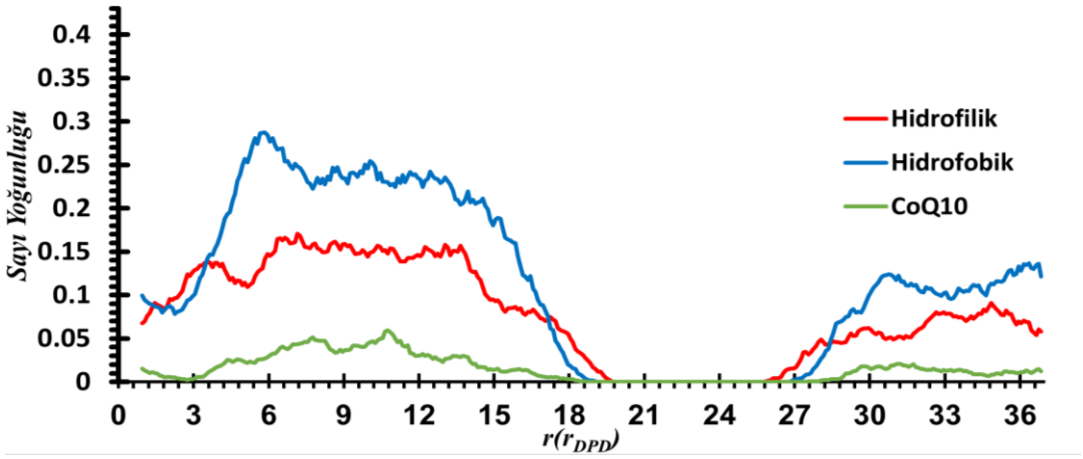
Hidrofobik-su etkileşimi ile Şekil 4.10'daki grafiğe bakıldığında kısa mesafedeki kaba tane etkileşimlerinin su ve hidrofilik etkileşimlere benzer şekilde konsantrasyon etkisinin görülmediği fark edilmektedir. Bu durum CoQ10'in yağda çözünen bir madde olup su ile olan etkileşiminin entalpik olarak minimum düzeyde olmasından kaynaklanmaktadır.

Genel olarak bir değerlendirme yapıldığında hidrofilik, hidrofobik ve CoQ10 arasındaki etkileşimler RDF grafikleri ile gösterilmiştir. Grafikler incelendiğinde Şekil 4.10. ve Şekil 4.11.'de diğer grafiklerden farklı olarak konsantrasyon arttıkça CoQ10 etkileşiminin de arttığı görülmüştür. Bu durumun sebebinin, konsantrasyon artışı sonucu lesitin miktarı artarken CoQ10 miktarının sabit kalmasıdır. %6'lık konsantrasyonda

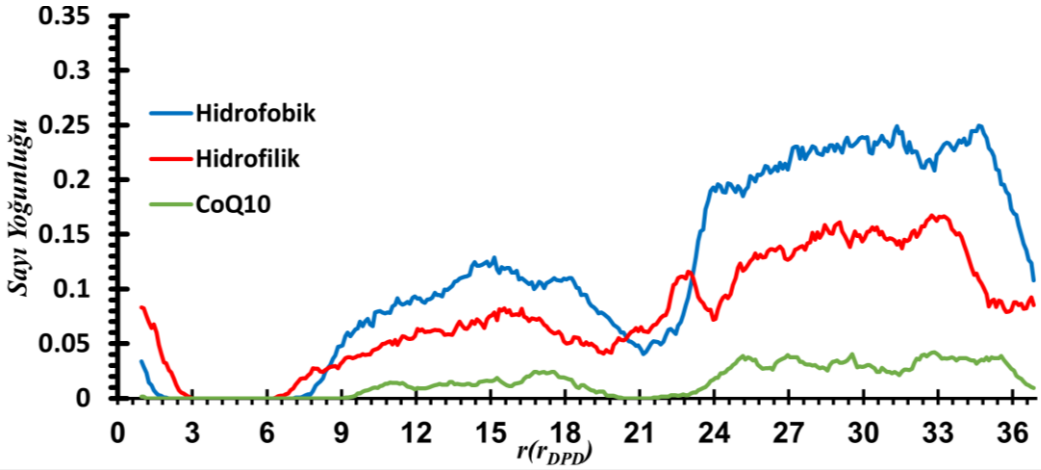
lesitin moleküllerinin etrafındaki CoQ10 moleküllerinin koordinasyon sayıları artan lesitin miktarı sonucunda azalmaktadır. Diğer grafiklere bakıldığında lesitinin mol kesri azaldıkça CoQ10 ile olan etkileşimlerinde artış görülmüştür. Lesitin bazlı nano lipozomun hidrofobik grubu, hidrofilik grubuna göre CoQ10 tarafından daha çok tercih edildiği görülmektedir.

4.4. Yoğunluk Profilleri (DP)

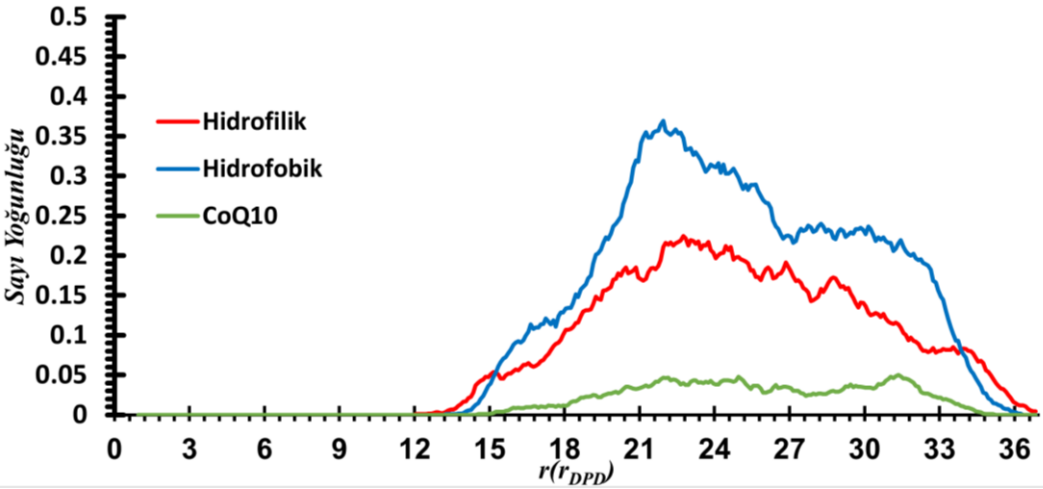
Sistemin yapısını incelemek için %6, %9, %13 mol kesirleri için lesitin ve CoQ10 boncuklarının *x, y, z*-ekseninde yoğunluk profilleri hesaplanmıştır. %6 ve %9'luk sistemlerde elipsoit yapı oluştuğu için *x, y, z*-eksenlerinde ayrı ayrı yoğunluk profilleri oluşturulmuştur. %13'lük sistem küresel simetride olduğu için sadece tek eksende yoğunluk profili hesaplanması yeterlidir fakat tez içerisinde tüm yönlerdeki yoğunluk profili gösterilmiştir.



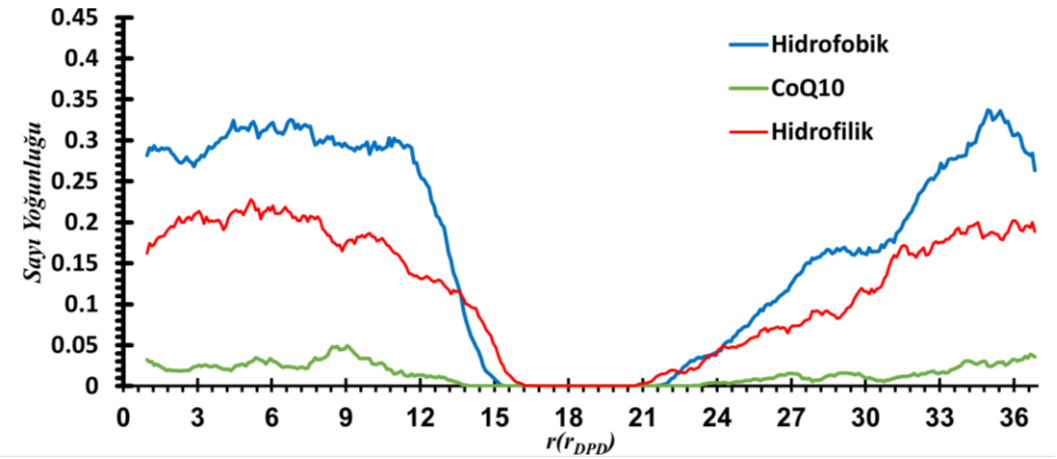
Şekil 4. 13. %6 mol kesrinde lipozomun x ekseninde yoğunluk profilleri



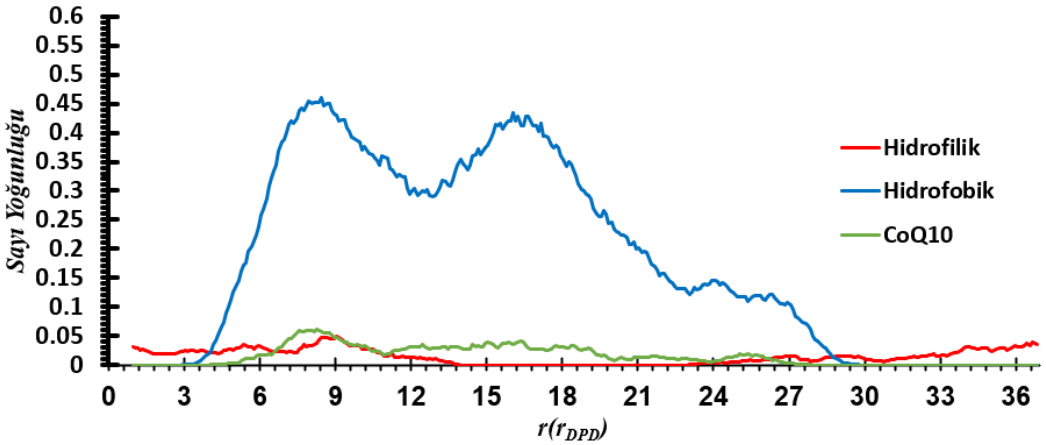
Şekil 4. 14. %6 mol kesrinde lipozomun y ekseninde yoğunluk profilleri



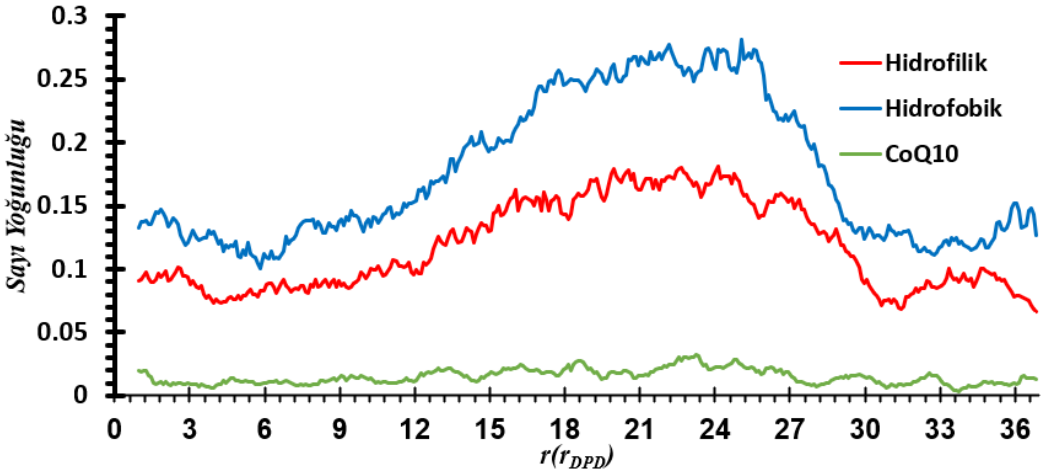
Şekil 4. 15. %6 mol kesrinde lipozomun z ekseninde yoğunluk profilleri



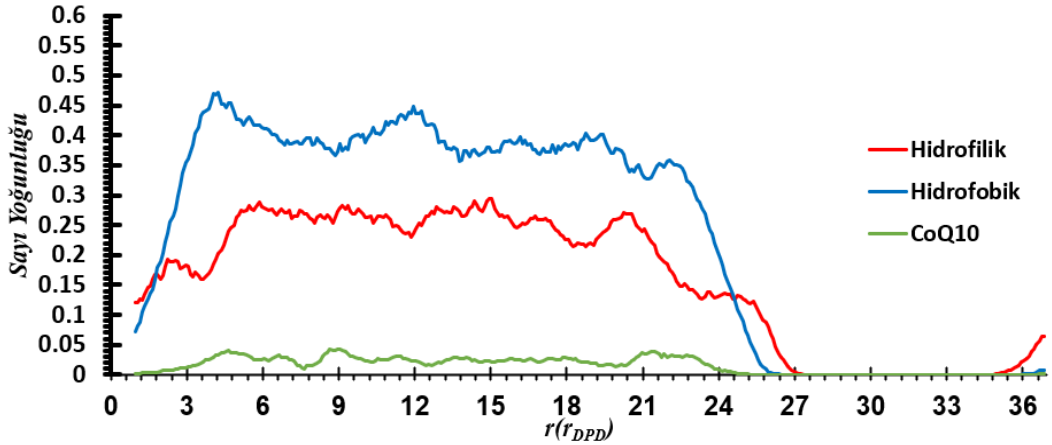
Şekil 4. 16. %9 mol kesrinde lipozomun x ekseninde yoğunluk profilleri



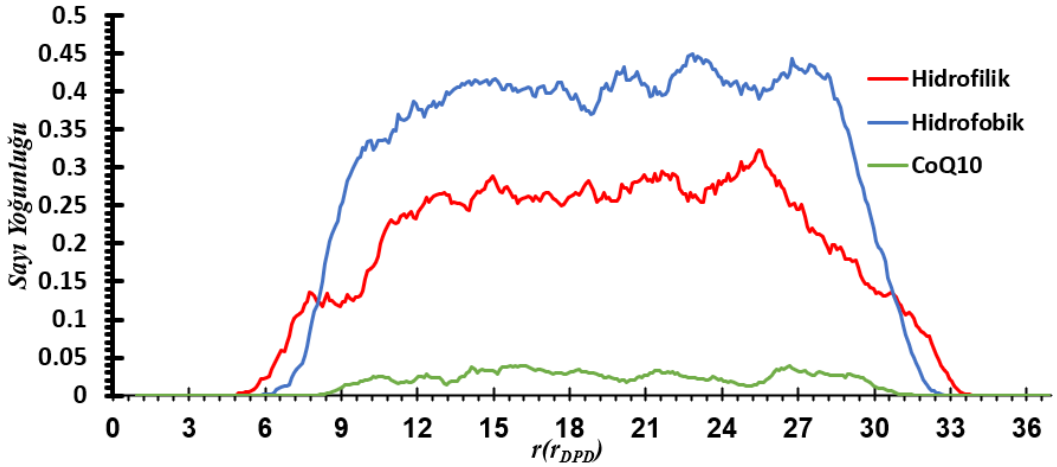
Şekil 4. 17. %9 mol kesrinde lipozomun y ekseninde yoğunluk profilleri



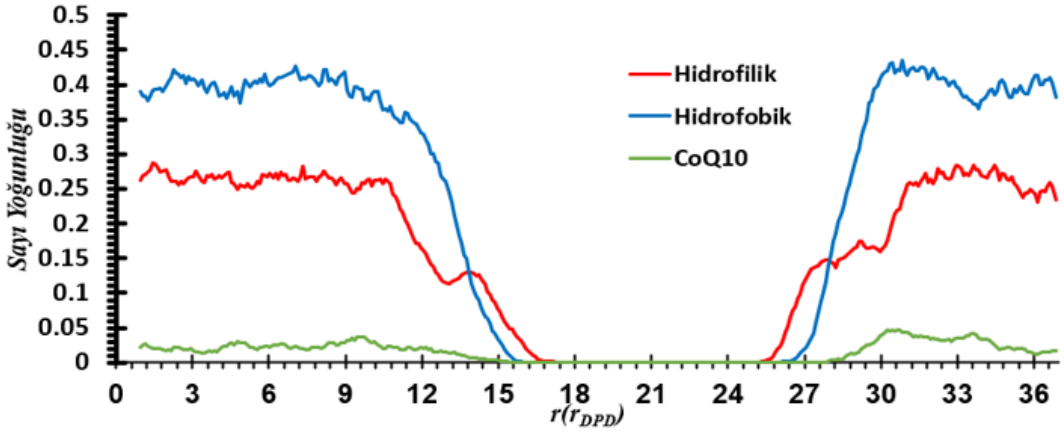
Şekil 4. 18. %9 mol kesrinde lipozomun z ekseninde yoğunluk profilleri



Şekil 4. 19. %13 mol kesrinde lipozomun x ekseninde yoğunluk profilleri



Şekil 4. 20. %13 mol kesrinde lipozomun y ekseninde yoğunluk profilleri



Şekil 4. 21. %13 mol kesrinde lipozomun z ekseninde yoğunluk profilleri

Tüm sistemlerde baktığımızda konsantrasyonu sabit kalan CoQ10 benzer davranış sergilemiştir. Hidrofobik ve hidrofilik grupları için baktığımızda konsantrasyonu artan sistemde daha yüksek yoğunlukta bulunduğu görülmektedir. %13 mol kesrindeki sistemde küresel bir yapı oluştuğu hidrofilik ve hidrofobik grupların dengeye geldiği görülmektedir. %6 ve %9 mol kesrine sahip sistemlerde tam küresel yapı elde edilememiştir. Lipozom-CoQ10 yoğunluğu simülasyon kutusuna dağılımlarını

rahat görebilmek için *x, y, z*-eksenlerindeki yoğunluk profilleri gösterilmiştir. Ayrıca yoğunluk profillerinden üç konsantrasyon için lesitin ve CoQ10 için hacim hesaplanmıştır. Hesaplamada elipsoit ve küre için geometri kuralları kullanılmıştır. Grafiklerdeki dalgalanmanın fazlalığını gidermek için veri çözümleme yapılmıştır.

%6 ve %9 mol kesrine sahip sistemlerde lipozomun yanında agregat oluşumu da görülmektedir. Bu agregatlar hacim hesaplamasına dahil edilmemiştir.

Çizelge 4.1 Lipozomların farklı konsantrasyonlardaki ortalama hacim değerleri

	Hacim [r^3_{DPD}]
Mol Kesir Yüzdeleri	**Lesitin**
%6	2955,1
%9	9012,9
%13	11943,9

Şekil 4.7'de gösterilen ekran görüntüleri kıyaslandığında hesaplanan değerler tutarlıdır. Üç konsantrasyon için de lesitinin hacim kesrine bakacak olursak %6'lık sistem %6 ya denk gelirken %9'luk sistem %18, %13'lük sistem ise %24'lük hacim kesrine karşılık gelmektedir. Oluşan lipozomların yaklaşık olarak 20 nm çapa sahip olduğu görülmüştür. Görece küçük lipozomların elde edilmesinin sebepleri arasında simülasyon kutusunun küçük boyutta olması gösterilebilir.

4.5. Voronoi Analizleri

Referans olarak aldığımız parçacıktan komşu parçacıklara olan yarı mesafelerin kesişmesiyle üç boyutlu bir hacim oluşmakta ve bu hacme Voronoi hacmi denmektedir. Bu hacmin oluşturduğu üç boyutlu yüzey sayısı Voronoi hacmini göstermektedir. Yüzey sayısı bir parçacığın en yakın komşularının sayısına eşit olduğunu göstermektedir bu durum Koordinasyon sayısı ile açıklanmaktadır. Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3'te her boncuğun, yoğunluklarının ortalaması ve bulundukları koordinatlar hesaplanmıştır. Farklı zaman aralıklarından alınan değerlerde hata payı ihmal edilebilir

kadar küçük olduğu için tek zaman adımındaki değerler kullanılmıştır. Referans alınan parçacıkların mesafelerinden oluşan üç boyutlu yapıda referans parçacığının komşularının sayısına Voronoi koordinasyon sayısı denir.

Çizelge 4.2'de Voronoi hacmi hesaplanırken boncukların etrafındaki komşuların sayısına karşılık gelen koordinasyon sayısı gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. Tüm sistemlerdeki boncukların ortalama Voronoi koordinasyon sayı değerleri. Standart sapmaları hesaplanarak parantez içinde gösterilmiştir.

	Boncuk Tipleri					
Konsantrasyon	1	2	3	4	5	6
%6	15.175 (1.66)	15.172 (1.55)	15.170 (1.59)	15.170 (1.66)	15.170 (1.60)	15.174 (1.64)
%9	15.175 (1.63)	15.174 (1.62)	15.174 (1.59)	15.174 (1.60)	15.174 (1.60)	15.174 (1.64)
%13	15.179 (1.58)	15.179 (1.58)	15.179 (1.59)	15.178 (1.58)	15.178 (1.59)	15.179 (1.64)

Çizelge 4.3'te hesaplanan Voronoi hacminde her boncuğun ayrı olarak hacmi hesaplanmıştır. Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3 bizlere her boncuğun bulunduğu koordinasyonlarda hangi hacimler olduğu bilgisini vermektedir.

Çizelge 4.3. Tüm sistemlerdeki her boncuğun hacim değeri [r_{DPD}^3]

	Boncuk Tipleri					
Konsantrasyon	1	2	3	4	5	6
%6	0.3337	0.3405	0.3335	0.3331	0.3321	0.3330
%9	0.3343	0.3416	0.3329	0.3307	0.3306	0.3331
%13	0.3358	0.3413	0.3336	0.3312	0.3311	0.3340

Voronoi hacimlerinin, kaba taneler etrafındaki ortalama hacimler olduğu düşünüldüğünde farklı kaba tanelerin kimyasal yapısından bağımsız benzer Voronoi hacim değerlerine sahip olduğu görülmektedir. Bu durum farklı kimyasal yapılara sahip kaba tanelerin DPD yöntemi altında benzer hacimlerle temsil edildiğini göstermektedir. Bocukları hacim değerlerinin standart sapması 0.03 olarak bulunmuştur.

Bu tez çalışmasında mezoskopik boyutta kaba taneleme yöntemi olan DPD yöntemi kullanılmıştır. Lesitinden oluşan küresel yapının CoQ10 kapsülleme yeteneği literatürdeki benzer çalışmalarla karşılaştırılmıştır. Lesitin yanında antioksidan olarak kullanılan maddelerde tercih edildiğinde sadece CoQ10 kapsülleyen lipozomlara göre hedeflenen bölgede birikimi 2 kat arttırdığı görülmüştür(Lee & Tsai, 2010; Terrón-Mejía vd., 2018). Antioksidan madde olan apigeninin, kolzadan üretilen lesitin ile kapsüllendiğinde kapsülleme verimliliğinin %98 olduğu görülmüştür (Paini vd., 2015). Membran sertliği yada yüzey alanının ilacın kapsülleme üzerine etkisini araştırmak için yapılan çalışmada saflaştırılmış yumurta sarısından elde edilen lesitin ile kısmen hidrojene saflaştırılmış lesitinin kullanılmasıyla taşınan ibuprofen ve flurbiprofen maddelerinin kapsüllenme verimliliğinin %80 olduğu görülmüştür (Nii & Ishii, 2005).

İlaç taşıyıcı sistemlerde pH duyarlılığının lipozomlar üzerindeki etkisini konu alan çalışmalara bakıldığında hyaluronik asit bazlı pH duyarlılığı olan ve kanser hücresinin belirteci olarak bilinen CD44 hücrelerini tanıyabilen lipozomlar geliştirilmiş ve yüksek düzeyde CD44 bulunan hücrelerle birleşmesi gözlemlenmiş ve intraselüler ilaç taşıman sistemleri olarak umut verici olarak görülmüştür (Miyazaki, Yuba, Hayashi, Harada, & Kono, 2018). Yapılan diğer bir çalışmada pH duyarlı, serumda kararlı bir yapı elde edebilmek için polietilen glikol türevi olan fosaftidiletanolaminin (DSPE-PEG) pH duyarlı lipozomlar üzerine etkisine bakılmış ve dioleoyl fosfatidiletanolamin (DOPE) ve dioleoyl fosfatidilserin (DPSG) ile pH duyarlı lipozomlar hazırlanmıştır. Çalışmanın sonucunda DSPE-PEG, DOPE, DSPG ile oluşturulan pH duyarlı lipozomlar, kan dolaşımın daha uzun süre kararlı bir yapı sergileyerek kalabildikleri görülmüştür Yapılan deneysel çalışmalar antikanser ajanlar gibi ilaçların hedeflenen dokuya teslimatı için olumlu sonuçlar alınmıştır (Hong, Lim, Oh, & Kim, 2002).

Tez çalışmasında taşınımı gerçekleştirilen CoQ10'in konsantrasyon değeri deneysel çalışmadan alınmıştır (Lee & Tsai, 2010). Lipozomlar, son yıllarda ilaç taşıma ve taşınması hedeflenen ilacın salınımı için tercih edilen nano taşıyıcı

malzemelerdendir. Lipozomlar, geçirgenlik ve tutunma yetenekleri sayesinde ilacın etkisini artırmakta ve beklenen yan etkileri azaltıp terapötik yaklaşımı iyileştirmelerinden dolayı etkili bir taşıyıcı sistem olarak kullanılmaktadır (Sonju, Dahal, Singh, & Jois, 2021). Literatürdeki çalışmalara bakıldığında fosfolipitler tarafından oluşturulan lipozomlar, kendiliğinden bir araya gelebildiği için hidrofobik moleküllerin taşınmaları için kullanılmaktadır. Bazı çalışmalarda lipozomun kitosan gibi moleküllerle kaplandığı görülmekte, bazı çalışmalarda ise lipozomu oluştururken ek olarak antioksidan madde kullanıldığı görülmektedir.

RDF, referans alınan parçacığın benzer parçacıklar arasındaki mesafede bulunduğu konum ve olasılığı belirlemede kullanılmaktadır. Bu hesaplamalar ile molekülün karakteristik özellikleri hakkında bilgi edinilmektedir. RDF grafiklerine bakıldığında düşük konsantrasyondaki lesitin molekülünün CoQ10 ile etkileşiminin daha fazla olduğu görülmektedir. RDF değerlerini lesitinin hidrofilik, hidrofobik grupları ile CoQ10 molekülünün verileri oluşturmaktadır.

4.6. Geleceğe Yönelik Öneriler

Küresel bir hastalık olan kanserin tedavisinden kozmetik sektörüne kadar birçok alanda lipozom tabanlı taşıma teknolojisinden faydalanılmaktadır. Lipozomun yapısal özelliği yaygın bir kullanım alanı açmıştır. Lipozom hem yağda hem suda çözünür moleküllerin kapsüllenmesinde, taşınmasında ve salınımında molekülün zarar görmesini engellediği için hedef dışı organellerde toksik birikimin engellenmesine katkı sağlamaktadır. Lipozomların yüzeylerine farklı moleküllerle kaplama yöntemi ile işlevsellik kazandırılabilmektedir. Böylece vücudun savunma sistemi tarafından hedeflenen bölgeye varmadan vücuttan uzaklaştırılması engellenerek terapötik etkisi iyileştirilebilmektedir. İlaç taşıma sistemleri ile oluşturulan akıllı ilaçlar mevcut hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bu sistemlerin deney aşamalarındaki zaman ve maddi kaynak yönünden tasarruf sağlanması için simülasyon yöntemleri kullanılmaktadır. Bu simülasyon yöntemlerinin gerçeğe yaklaştırılması farmakoloji alanına büyük katkı sağlayacağı açıktır. Lipozomların görüntüleme ajanları olarak kanserin evrelerinin tanısında da kullanılmaktadır. Bunun yanında gıda takviyesi olarak aşı teknolojisinde lipozomları görmekteyiz. Tez kapsamında taşınan CoQ10'in kozmetik sektöründe ve gıda takviyesi olarak kullanıldığı bilinmektedir. Çalışmamıza ek olarak lipozomu modifiye ederek CoQ10 birikimini artırırken emilimini artıracak, CoQ10 koruyucu farklı antioksidanlar kullanılarak CoQ10 etkisini artırıcı moleküllerin keşfi için çalışmalar gerçekleştirilebilir. Lipozom fiziksel olarak bazı dış etkilere maruz bırakılarak davranışı gözlemlenebilir. Bu sayede deneysel sonuçlara daha yakın veriler elde edilerek gerçekçi simülasyonlar yapılabilir.

BÖLÜM 5

SONUÇLAR

Bu çalışmada, farklı konsantrasyonlarda lesitin bazlı lipozomların CoQ10 hapsetmesi için optimum konsantrasyonu hesaplanmaya çalışılmış bunun için de kaba tanecikli simülasyon yöntemi kullanılmıştır. %6, %9 ve %13 mol kesirlerinde gerçekleştirilen simülasyonlar incelenmiştir.

%6 mol kesrine sahip sistemde konsantrasyon düşüklüğü nedeniyle şekil olarak eliptik vezikül oluşmuş, sulu çekirdek kısmı olması gereken şekilde oluşmadığı görülmekte zarın kırılma riski ve içe göçme riski nedeniyle ilaç taşıma için uygun olmadığı düşülmektedir.

%9 mol kesrine sahip sistemde lipozomun sulu çekirdek kısmının %13'lük sisteme göre daha küçük olduğu ve çeperlerinin (hidrofobik uçlardan oluşan bölüm) daha ince olduğu görülmektedir. Bu durum çeperin içe göçme riski olduğunu göstermektedir.

%13 mol kesrine sahip sisteme bakıldığında lipozomun sulu çekirdek hacminin daha geniş olduğu görülmüştür. Lesitin yoğunluğu lipozom çeperinin diğer sistemlere göre daha iyi durumda olmasını sağlamıştır. Tüm bu bulgular sonucunda üç sistemde ideal olan sistemin %13 mol kesrine sahip olduğu bilinmektedir. Ancak dikkate alınan

makalede optimal lipozom molarite değeri 0,60 M olarak belirtilmiş bu da 0.16 mol kesrine denk gelmektedir(Terrón-Mejía vd., 2018).

Lipozom ve CoQ10 molekülü arasındaki RDF etkileşimlerine bakıldığında, lesitinin hidrofilik ve hidrofobik uçlarıyla CoQ10 ile olan etkileşiminin mol kesri azaldıkça arttığı görülmektedir. Konsantrasyona bağlı olarak düşünüldüğünde Lesitin miktarı artmaktadır; ancak CoQ10 miktarının sabit kalıyor olması nedeniyle düşük konsantrasyondaki etkileşimin daha fazla olması beklenen bir durumdur. Su moleküllerinin lesitinin hidrofilik ve hidrofobik uçları ile olan etkileşimlerine bakıldığında üç konsantrasyonun da benzer tepki verdiği daha sonra etkileşimin azaldığı görülmüştür. Bu durum CoQ10-su arasında da görülmektedir.

Konsantrasyondan bağımsız olarak enkapsülasyon verimi %100 olarak tespit edilmiştir. Sistemdeki boncukların birbirleriyle olan etkileşimleri ve mesafeleri hesaplanarak konumları hakkında bilgi edinilmiştir.

KAYNAKLAR

Abdollahzad, H., Aghdashi, M. A., Jafarabadi, M. A., & Alipour, B. (2015). Effects of coenzyme Q10 supplementation on inflammatory cytokines (TNF-α, IL-6) and oxidative stress in rheumatoid arthritis patients: a randomized controlled trial. *Archives of medical research, 46*(7), 527-533.

Alder, B. J., & Wainwright, T. E. (1957). Phase transition for a hard sphere system. *The Journal of chemical physics, 27*(5), 1208-1209.

Ayata, O., Haberal, K. C., Or, G., Polat, C., & Turgut, A. (2012). Lipozomların Tıpta Kullanımı. *Başkent Üniversitesi, Başkent Tıp Fakültesi Dergisi*.

Bangham, A. (1993). Liposomes: the Babraham connection. *Chemistry and physics of lipids, 64*(1-3), 275-285.

Barenholz, Y. C. (2012). Doxil®—The first FDA-approved nano-drug: Lessons learned. *Journal of Controlled Release, 160*(2), 117-134.

Barroso, M. P., Gómez-Díaz, C., Villalba, J. M., Burón, M. I., López-Lluch, G., & Navas, P. (1997). Plasma membrane ubiquinone controls ceramide production and prevents cell death induced by serum withdrawal. *Journal of bioenergetics and biomembranes, 29*, 259-267.

Bello, R. I., Kagan, V. E., Tyurin, V., Navarro, F., Alcaín, F. J., & Villalba, J. M. (2003). Regeneration of lipophilic antioxidants by NAD (P) H: quinone oxidoreductase 1. *Protoplasma, 221*, 129-135.

Bentinger, M., Tekle, M., & Dallner, G. (2010). Coenzyme Q–biosynthesis and functions. *Biochemical and biophysical research communications, 396*(1), 74-79.

Butterfield, D. A. (2004). Proteomics: a new approach to investigate oxidative stress in Alzheimer's disease brain. *Brain research, 1000*(1-2), 1-7.

Chang, H.-I., & Yeh, M.-K. (2012). Clinical development of liposome-based drugs: formulation, characterization, and therapeutic efficacy. *International journal of nanomedicine*, 49-60.

Cordero, M. D., Alcocer-Gómez, E., de Miguel, M., Culic, O., Carrión, A. M., Alvarez-Suarez, J. M., . . . Sánchez-Alcazar, J. A. (2013). Can coenzyme q10 improve clinical and molecular parameters in fibromyalgia? In: Mary Ann Liebert, Inc. 140 Huguenot Street, 3rd Floor New Rochelle, NY 10801 USA.

Çoşkun, H., Tayyar, A. E., & Tetik, G. (2021). Aromaterapi Özelliklere Sahip Tekstil Yüzeyleri Ve Yıkama Performansları. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 24*(3), 233-257.

Degiorgio, V., & Corti, M. (1985). *Physics of amphiphiles--micelles, vesicles, and microemulsions: Varenna on Lake Como, Villa Monastero, 19-29 July 1983* (Vol. 90): Elsevier Science Limited.

Dua, J., Rana, A., & Bhandari, A. (2012). Liposome: methods of preparation and applications. *Int J Pharm Stud Res, 3*(2), 14-20.

Elhissi, A., Phoenix, D., & Ahmed, W. (2015). Some approaches to large-scale manufacturing of liposomes. *Emerging Nanotechnologies for Manufacturing*, 402-417.

Elkhoury, K., Kahn, C., Sanchez-Gonzalez, L., & Arab-Tehrany, E. (2021). Liposomes for biomedical applications. *Soft Matter Series; Azevedo, HS, Mano, JF, Borges, J., Eds*, 392-404.

Elnaggar, Y. S., El-Refaie, W. M., El-Massik, M. A., & Abdallah, O. Y. (2014). Lecithin-based nanostructured gels for skin delivery: an update on state of art and recent applications. *Journal of Controlled Release, 180*, 10-24.

Eren, D., & Yalçın, İ. Rasyonel İlaç Tasarımında Moleküler Mekanik Ve Moleküler Dinamik Yöntemlerin Kullanılma Amacı.

Ernster, L., & Dallner, G. (1995). Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease, 1271*(1), 195-204.

Espanol, P., & Warren, P. (1995). Statistical mechanics of dissipative particle dynamics. *EPL (Europhysics Letters), 30*(4), 191.

Fan, Y., & Zhang, Q. (2013). Development of liposomal formulations: From concept to clinical investigations. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences, 8*(2), 81-87.

Feng, Y. H., Zhang, X. P., Zhao, Z. Q., & Guo, X. D. (2020). Dissipative particle dynamics aided design of drug delivery systems: a review. *Molecular Pharmaceutics, 17*(6), 1778-1799.

Flory, P. J. (1941). Thermodynamics of high polymer solutions. *The Journal of chemical physics, 9*(8), 660-660.

Frenkel, D., & Smit, B. (2001). *Understanding molecular simulation: from algorithms to applications* (Vol. 1): Elsevier.

Garcia-Fuentes, M., & Alonso, M. J. (2012). Chitosan-based drug nanocarriers: where do we stand? *Journal of Controlled Release, 161*(2), 496-504.

Gómez-Díaz, C., Rodriguez-Aguilera, J. C., Barroso, M. P., Villalba, J. M., Navarro, F., Crane, F. L., & Navas, P. (1997). Antioxidant ascorbate is stabilized by NADH-coenzyme Q 10 reductase in the plasma membrane. *Journal of bioenergetics and biomembranes, 29*, 251-257.

Gomez-Hens, A., & Fernandez-Romero, J. (2006). Analytical methods for the control of liposomal delivery systems. *TrAC Trends in Analytical Chemistry, 25*(2), 167-178.

Gregoriadis, G., & Florence, A. T. (1993). Liposomes in drug delivery. *Drugs, 45*(1), 15-28.

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

Guo, L. S., Fielding, R. M., Lasic, D. D., Hamilton, R. L., & Mufson, D. (1991). Novel antifungal drug delivery: stable amphotericin B-cholesteryl sulfate discs. *International journal of pharmaceutics, 75*(1), 45-54.

Hinchliffe, A. (2003). *Molecular modelling for beginners*: John Wiley & Sons.

Hong, M. S., Lim, S. J., Oh, Y. K., & Kim, C. K. (2002). pH-sensitive, serum-stable and long-circulating liposomes as a new drug delivery system. *Journal of pharmacy and pharmacology, 54*(1), 51-58.

Hoogerbrugge, P., & Koelman, J. (1992). Simulating microscopic hydrodynamic phenomena with dissipative particle dynamics. *EPL (Europhysics Letters), 19*(3), 155.

Ileri Ercan, N. (2019). Understanding Interactions of Curcumin with Lipid Bilayers: A Coarse-Grained Molecular Dynamics Study. *Journal of Chemical Information and Modeling, 59*(10), 4413-4426.

Kacar, G., Peters, E. A., & de With, G. (2013). Structure of a thermoset polymer near an alumina substrate as studied by dissipative particle dynamics. *The Journal of Physical Chemistry C, 117*(37), 19038-19047.

Kırtıl, E., & Öztop, M. H. (2014). Enkapsülasyon maddesi olarak lipozom ve gıdalarda kullanımı: Yapısı, karakterizasyonu, üretimi ve stabilitesi. *Akademik Gıda, 12*(4), 41-57.

Kranenburg, M., Nicolas, J.-P., & Smit, B. (2004). Comparison of mesoscopic phospholipid–water models. *Physical Chemistry Chemical Physics, 6*(16), 4142-4151.

Kumar, R. (2019). Lipid-based nanoparticles for drug-delivery systems. In *Nanocarriers for drug delivery* (pp. 249-284): Elsevier.

Le, N. T. T., Cao, V. D., Nguyen, T. N. Q., Le, T. T. H., Tran, T. T., & Hoang Thi, T. T. (2019). Soy lecithin-derived liposomal delivery systems: Surface modification and current applications. *International journal of molecular sciences, 20*(19), 4706.

Lee, W.-C., & Tsai, T.-H. (2010). Preparation and characterization of liposomal coenzyme Q10 for in vivo topical application. *International journal of pharmaceutics, 395*(1-2), 78-83.

Lister, J. (1996). Amphotericin B lipid complex (Abelcet®) in the treatment of invasive mycoses: the North American experience. *European Journal of Haematology, 56*(S57), 18-23.

Lombardo, D., Calandra, P., Barreca, D., Magazù, S., & Kiselev, M. A. (2016). Soft interaction in liposome nanocarriers for therapeutic drug delivery. *Nanomaterials, 6*(7), 125.

Marón, L. B., Covas, C. P., Da Silveira, N. P., Pohlmann, A., Mertins, O., Tatsuo, L. N., . . . De Araujo, P. S. (2007). LUVs recovered with chitosan: a new preparation for vaccine delivery. *Journal of Liposome Research, 17*(3-4), 155-163.

Meyers, S. (1990). Aquaculture diets with lecithin. *Feed International, Lousiana, june*, 17-19.

Miyazaki, M., Yuba, E., Hayashi, H., Harada, A., & Kono, K. (2018). Hyaluronic acid-based pH-sensitive polymer-modified liposomes for cell-specific intracellular drug delivery systems. *Bioconjugate chemistry, 29*(1), 44-55.

Moghimi, S. M., Hunter, A. C., & Murray, J. C. (2001). Long-circulating and target-specific nanoparticles: theory to practice. *Pharmacological reviews, 53*(2), 283-318.

Morsali, A., Goharshadi, E. K., Mansoori, G. A., & Abbaspour, M. (2005). An accurate expression for radial distribution function of the Lennard-Jones fluid. *Chemical physics, 310*(1-3), 11-15.

Navarro, F., Arroyo, A., Martín, S. F., Bello, R. I., De Cabo, R., Burgess, J. R., . . . Villalba, J. M. (1999). Protective role of ubiquinone in vitamin E and selenium-deficient plasma membranes. *Biofactors, 9*(2-4), 163-170.

Nii, T., & Ishii, F. (2005). Encapsulation efficiency of water-soluble and insoluble drugs in liposomes prepared by the microencapsulation vesicle method. *International journal of pharmaceutics, 298*(1), 198-205.

Overvad, K., Diamant, B., Holm, L., Hølmer, G., Mortensen, S., & Stender, S. (1999). Coenzyme Q10 in health and disease. *European Journal of Clinical Nutrition, 53*(10), 764-770.

Paini, M., Daly, S. R., Aliakbarian, B., Fathi, A., Tehrany, E. A., Perego, P., . . . Valtchev, P. (2015). An efficient liposome based method for antioxidants encapsulation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 136*, 1067-1072.

Peter, C., & Kremer, K. (2009). Multiscale simulation of soft matter systems–from the atomistic to the coarse-grained level and back. *Soft Matter, 5*(22), 4357-4366.

Sayıner, Ö., & Çomoğlu, T. (2016). Nanotaşıyıcı Sistemlerde Hedeflendirme Targetıng Wıth Nanocarrıer Systems. *Journal Of Faculty Of Pharmacy Of Ankara University, 40*(3), 62-79.

Schnyder, A., & Huwyler, J. (2005). Drug transport to brain with targeted liposomes. *NeuroRx, 2*(1), 99-107.

Sheng, H., Luo, W., Alamgir, F., Bai, J., & Ma, E. (2006). Atomic packing and short-to-medium-range order in metallic glasses. *Nature, 439*(7075), 419-425.

Sonju, J. J., Dahal, A., Singh, S. S., & Jois, S. D. (2021). Peptide-functionalized liposomes as therapeutic and diagnostic tools for cancer treatment. *Journal of Controlled Release, 329*, 624-644.

Stone, N. R., Bicanic, T., Salim, R., & Hope, W. (2016). Liposomal amphotericin B (AmBisome®): a review of the pharmacokinetics, pharmacodynamics, clinical experience and future directions. *Drugs, 76*, 485-500.

Sunamoto, J., Iwamoto, K., Takada, M., Yuzuriha, T., & Katayama, K. (1983). Improved drug delivery to target specific organs using liposomes as coated with polysaccharides. In *Polymers in Medicine* (pp. 157-168): Springer.

Terrón-Mejía, K. A., Martínez-Benavidez, E., Higuera-Ciapara, I., Virués, C., Hernández, J., Domínguez, Z., . . . Gama Goicochea, A. (2018). Mesoscopic modeling of the encapsulation of capsaicin by lecithin/chitosan liposomal nanoparticles. *Nanomaterials, 8*(6), 425.

Vakis, A. I., Yastrebov, V. A., Scheibert, J., Nicola, L., Dini, D., Minfray, C., . . . Limbert, G. (2018). Modeling and simulation in tribology across scales: An overview. *Tribology International, 125*, 169-199.

Varela-López, A., Giampieri, F., Battino, M., & Quiles, J. L. (2016). Coenzyme Q and its role in the dietary therapy against aging. *Molecules, 21*(3), 373.

Wolf, D. E., Hoffman, C. H., Trenner, N. R., Arison, B. H., Shunk, C. H., Linn, B. O., . . . Folkers, K. (1958). Coenzyme QI Structure studies on the coenzyme Q group. *Journal of the American Chemical Society, 80*(17), 4752-4752.

Yurdakul, A., & Rıza, A. (2007). Structures and classification of liposomes. *Textile and Apparel, 17*(4), 243-247.

Zhan, W. (2019). Delivery of liposome encapsulated temozolomide to brain tumour: Understanding the drug transport for optimisation. *International journal of pharmaceutics, 557*, 280-292.

LAMMPS documentation. (n.d.). Retrieved October 12, 2022, from https://docs.lammps.org/fix_ave_chunk.html

Voronoi analysis — OVITO User Manual 3.7.10 documentation. (n.d.). Retrieved October 12, 2022, from https://www.ovito.org/manual/reference/pipelines/modifiers/voronoi_analysis.html

ÖZGEÇMİŞ

İnsunur ERYILMAZ, 1996 yılında Kırklareli'nde doğmuştur. İlkokul, ortaokul ve lise eğitimini Kırklareli'nde tamamlamıştır. 2015 yılında lisans eğitimine Bursa Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümünde başlamış 2020 yılı ocak ayında mezun olmuştur. Yüksek lisans eğitimine 2020 yılında başlamıştır.