

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MEME KANSERİ TEDAVİSİ İÇİN YENİ BİR POLİMERİK İKİLİ İLAÇ
TAŞIMA SİSTEMİNİN GELİŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tuğba GENÇOĞLU

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Biyoteknoloji Tezli Yüksek Lisans Programı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Aydan DAĞ

TEMMUZ 2021

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MEME KANSERİ TEDAVİSİ İÇİN YENİ BİR POLİMERİK İKİLİ İLAÇ
TAŞIMA SİSTEMİNİN GELİŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Tuğba GENÇOĞLU
(195309002)**

**Biyoteknoloji Anabilim Dalı
Biyoteknoloji Tezli Yüksek Lisans Programı**

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Aydan DAĞ

TEMMUZ 2021

Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün 195309002 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi Tuğba GENÇOĞLU, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "Meme kanseri tedavisi için yeni bir polimerik ikili ilaç taşıma sisteminin geliştirilmesi" başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Doç. Dr. Aydan DAĞ**
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Dr. Öğr. Üye. Zeynep ÇAĞMAN**
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Dr. Öğr. Üye. P. Sinem O. ÖZGEN
İstanbul Medipol Üniversitesi

Teslim Tarihi **: 18 Ağustos 2021**

Savunma Tarihi **: 1 Temmuz 2021**



En sevdiklerime;

ÖNSÖZ

Öncelikle bilgileriyle bize yol gösteren, çalışma azmiyle örnek olan, cevap bulamadığımız her sorunumuzda tüm birikimiyle bize ışık tutarak yardımcı olan ve bu süreçte desteklerini esirgemeyen sevgili danışman hocam Doç. Dr. Aydan DAĞ'a teşekkürü borç bilirim. Kendisinden çok şey öğrendiğim ve değerli tavsiyeleriyle yanımda bulunan Dr. Öğr. Üye. Pınar Sinem OMURTAG ÖZGEN hocama teşekkür ederim. Çalışmalarımı sürdürürken benimle ayrıca ilgilenen ve yardımcı olan Araş. Gör. Dr. Sezen ATASOY'a teşekkür ederim. Çalışmalarım boyunca destek ve yardımda bulunan, karşılaştığım sıkıntılarda ilk kendilerine danıştığım ve her seferinde ilgiyle karşılık veren Ecz. Gülşah YİĞİT ERDEM, Büşra ÇETİN ve Emine KESKİN'e en içten bir şekilde teşekkür ederim. Çalışma alanında yol gösterip yardımcı olan hocalarım Prof. Dr. Binnur TEMEL, Doç. Dr. Belma Zengin KURT ve Araş. Gör. Ebru Coşar'a, bilgilerini benimle paylaşarak gelişmemi sağlayan hocalarım Dr. Öğr. Üye. Zeynep ÇAĞMAN ile Dr. Öğr. Üye. Salih TUNCAY'a ayrıca teşekkür ederim. Çalışmam boyunca yaptığım analizlerde bana yardımcı olan Uzm. Kimyager Ahmet BALCI'ya teşekkür ederim. Hayatım boyunca zorda kaldığımda ellerini uzatan, her durumda beni düşünen, emeklerinin karşılığını ödeyemeyeceğim anne ve babama, çok sevdiğim ailem ve kardeşlerime, kardeşim olarak bildiğim tüm dert ve sıkıntılarımı paylaştığım Büşra SONKAYA ve Fzt. Ebrar Nur YILDIRIM'a, iç dünyanın şekillenmesinde önemli yeri olan Sevilay AYDEMİR'e gönülden teşekkür ederim. Beraber gülmüş ağladığım hayatımda güzel şeylere vesile olan kardeşim Zahide ŞAŞMAZ'a ve maddi manevi yaşadığım zorluklarda yanımda bulunan, hayatıma yeni bir yön veren Emin KATMERLİKAYA'ya ayrıca teşekkür ederim. Bu çalışma Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimi tarafından 20200919 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Temmuz, 2021

Tuğba GENÇOĞLU

(Moleküler Biyolog)

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tuğba GENÇOĞLU

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	iv
BEYAN.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR	ix
SEMBOLLER	x
TABLO LİSTESİ	xi
ŞEKİL LİSTESİ.....	xii
ÖZET.....	xv
SUMMARY	xvi
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Tümör Mikroçevresi ve EPR etkisi	3
2.2. Kanser; Meme Kanseri ve Tedavi Yöntemleri.....	6
2.3. Polimerizasyon Teknikleri	9
2.3.1. Katılma Polimerizasyonu	10
2.3.2. Kondenzasyon Polimerizasyonu	10
2.3.3. Kontrollü Yaşayan Serbest Radikalik Polimerizasyon	10
2.3.3.1.Nitroksit aracılı polimerizasyon (NMP).....	12
2.3.3.2.Atom transfer radikal polimerizasyonu (ATRP).....	13
2.3.3.3.Tersinir katılma parçalanma zincir transfer polimerizasyonu (RAFT)	
.....	14
2.4. Nanoteknoloji ve İlaç Taşıyıcı Sistemler	16
2.4.1. Polimerik ilaç taşıyıcı sistemler	18
2.4.2. İkili ilaç taşıyıcı sistemler	20
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	24
3.1. Kimyasallar ve Kullanılan Cihazlar	24
3.1.1. Kimyasallar	24
3.1.2. Kullanılan Cihazlar	25
3.2. Gemsitabin ve Cisplatin Yüklü Nanotaşıyıcı Sistemin Sentezi	25
3.2.1. RAFT Ajanı sentezi.....	26
3.2.1.1.Bis-(bütansülfanil tiyokarbonil) disülfid sentezi.....	26
3.2.1.2.Bütil 2-siyanopropan2-il-tritiyokarbonat (CBPA) sentezi	26
3.2.1.3.Gemsitabin konjuge RAFT ajanı (CBPA-Gem) sentezi	27
3.3. Monomer Sentezi	27
3.3.1. 1,2,3,4,6-Penta- <i>O</i> -asetil- β -D-glukopiranoz (β -GluAc) sentezi.....	28
3.3.2. 2-(2',3',4',6'-Tetra- <i>O</i> -asetil- β -D-glukoziloksi)etil metakrilat (GluAcMA)	
sentezi	28
3.3.3. 2-(2',3',4',6'-Tetra- <i>O</i> -asetil- β -D-glukoziloksi)etil akrilat (GluAcA)	
sentezi	28
3.3.4. 2,3:4,5-Di- <i>O</i> -izopropiliden- β -D-fruktopiranoz (<i>ipr</i> -Fru) sentezi.....	29

3.3.5. 1- <i>O</i> -Metakriloil-2,3:4,5-di- <i>O</i> -izopropiliden-D-fruktopiranoz (<i>ipr</i> -FruMA) sentezi	29
3.3.6. 1- <i>O</i> -Akriloil-2,3:4,5-di- <i>O</i> -izopropiliden-D-fruktopiranoz (<i>ipr</i> -FruA) sentezi.....	30
3.4. RAFT Polimerizasyon Yöntemiyle Polimer Sentezi	30
3.4.1. P(<i>ipr</i> -FruA) Homoblok polimer sentezi.....	31
3.4.2. P(<i>ipr</i> -FruMA) Homoblok polimer sentezi	31
3.4.3. P(<i>ipr</i> -FruMA- <i>b</i> -MAc) Diblok polimer sentezi	31
3.4.4. P(<i>ipr</i> -FruMA)-Gem Homoblok polimer sentezi	32
3.4.5. P(<i>ipr</i> -FruMA- <i>b</i> -MAc)-Gem Diblok polimer sentezi	32
3.5. Sentezlenen Polimerlerin Hidrolizi	32
3.5.1. P(<i>ipr</i> -FruMA- <i>b</i> -MAc) Diblok polimerinin hidrolizi.....	33
3.5.2. P(<i>ipr</i> -FruMA- <i>b</i> -MAc)-Gem Diblok polimerinin hidrolizi.....	33
3.6. Polimerik Nanopartiküllerin Sentezi.....	33
3.6.1. Cisplatin taşımayan polimer nanopartikül sentezi	33
3.6.2. Cisplatin yüklü nanopartikül sentezi.....	33
3.6.2.1. Cisplatin aktivasyonu	33
3.6.2.2. P(FruMA- <i>b</i> -MAc) Polimerine cisPt yüklenmesi: P(FruMA- <i>b</i> -MAc)-cisPt nanopartikülü (NP2) sentezi.....	34
3.6.2.3. P(FruMA- <i>b</i> -MAc)-Gem Polimerine cisPt yüklenmesi: P(FruMA- <i>b</i> -MAc)-Gem-cisPt (NP3)sentezi	34
3.7. İlaç Salım Deneyi	34
3.8. Hücre Kültürü Çalışmaları	35
3.8.1. Hücrelerin büyütülmesi.....	35
3.8.2. Sitotoksisite Testi.....	35
3.8.3. Hücre içi alımın incelenmesi	36
4.BULGULAR VE TARTIŞMA	37
4.1. RAFT Ajanı Sentezi	37
4.1.1. RAFT Ajanı için öncü sentezi.....	37
4.1.2. CBPA RAFT Ajanı sentezi	38
4.1.3. Gemsitabin konjuge CBPA RAFT ajanı (CBPA-Gem) sentezi	39
4.2. Monomer Sentezi	41
4.2.1. 1,2,3,4,6-Penta- <i>O</i> -asetil- β -D-glukopiranoz (β -GluAc) sentezi.....	41
4.2.2. 1-(2-Etoksi metakrilat)-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -asetil- β -D-glukopiranoz bileşiğinin (GluAcMA) sentezi	43
4.2.3. 1-(2-Etoksi akrilat)-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -asetil- β -D-glukopiranoz (GluAcA) bileşiğinin sentezi	44
4.2.4. (2,3:4,5-Di- <i>O</i> -izopropiliden)- β -D-fruktopiranoz (<i>ipr</i> -Fru) sentezi.....	46
4.2.5. 1- <i>O</i> -Metakriloil-2,3:4,5-di- <i>O</i> -izopropiliden-D-fruktopiranoz (<i>ipr</i> -FruMA) sentezi	47
4.2.6. 1- <i>O</i> -Akriloil-2,3:4,5-di- <i>O</i> -izopropiliden-D-fruktopiranoz (<i>ipr</i> -FruA) sentezi	48
4.3. RAFT Polimerizasyon Yöntemiyle Polimer Sentezi	50
4.3.1. P(<i>ipr</i> -FruA) Homoblok polimer sentezi.....	50
4.3.2. P(<i>ipr</i> -FruMA) Homoblok polimer sentezi	52
4.3.3. P(<i>ipr</i> -FruMA- <i>b</i> -MAc) Diblok polimer sentezi	53
4.3.4. P(<i>ipr</i> -FruMA)-Gem Homoblok polimer sentezi	54
4.4. Sentezlenen Polimerlerin Hidrolizi	57
4.4.1. P(<i>ipr</i> -FruMA- <i>b</i> -MAc) Diblok polimerinin hidrolizi	57
4.4.2. P(<i>ipr</i> -FruMA- <i>b</i> -MAc)-Gem Diblok polimerinin hidrolizi.....	58

4.5. Polimerik Nanopartiküllerin Sentezi	60
4.5.1. cisPt Aktivasyonu	60
4.5.2. P(FruMA- <i>b</i> -MAc) Polimerine cisPt yüklenmesi: P(FruMA- <i>b</i> -MAc)-cisPt nanopartikülü (NP2) sentezi	61
4.5.3. P(FruMA- <i>b</i> -MAc)-Gem Polimerine cisPt yüklenmesi: P(FruMA- <i>b</i> -MAc)-Gem-cisPt (NP3) sentezi.....	62
4.6. Sentezlenen Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	63
4.6.1. DLS Analizi	63
4.6.2. TEM Analizi	64
4.7. Sitotoksisite Testi	64
4.8. Hücre İçi İnternalizasyonu	65
5. SONUÇ.....	67
KAYNAKLAR	69
ÖZGEÇMİŞ.....	76



KISALTMALAR

¹H NMR	: Proton Nükleer Manyetik Rezonans
ACP	: 4,4'-Azobis(4-cyanovaleric acid)
ACVA	: 4,4' - Azobis(4-siyanovalerik asit)
AIBN	: 2,2'-Azobis(2-methylpropionitrile)
ATRP	: Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu
CBPA	: Bütil 2-siyanopropan2-il-tritiyokarbonat
CDCl₃	: Döteryumlanmış kloroform
CD₃OD	: Döteryumlanmış metanol
CI	: Kombinasyon indeksi
cisPt	: Cisplatin
DAPI	: 4,6,6-Diamidino-2-fenilindol
DCM	: Diklorometan
dH₂O	: Distile su
DLS	: Dinamik ışık saçılımı
D-MEM	: Dulbecco modifiye besin ortamı
DMF	: Dimetil formamid
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDC	: 1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)-karbodiimid hidroklorür
EPR	: Arttırılmış geçirgenlik ve alıkonma
FTIR	: Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
Gem	: Gemsitabin
GPC	: Jel dağılım kromatografisi
HOBT	: 1-Hidroksibenzotriazol hidrat
ICP-MS	: İndüktif eşleşmiş plazma-kütle spektroskopisi
<i>ipr-FruA</i>	: 1-(Metoksietil akrilat)-2,3:4,5-di- <i>O-izopropiliden</i>)-β-D-fruktopiranoz
<i>ipr-FruMA</i>	: 1-(Metoksietil metakrilat)-2,3:4,5-di- <i>O-izopropiliden</i>)-β-D-fruktopiranoz
MTT	: 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid
NMP	: Nitroksit Aracılı Polimerizasyon
PECA	: Poli(etil-2-siyanoakrilat)
RAFT	: Tersinir eklemeli-parçalanma zincir reaksiyonu
RES	: Retikuloendotelial sistem
RNA	: Ribonükleik asit
SMANCS	: Poli(stiren- <i>ko</i> -maleik asit) neokarzinostatin
SPION	: Süperparamanyetik demir oksit nanoparçacıklar
TEM	: Geçirimli elektron mikroskopisi
TEMPO	: 2,2,6,6-Tetrametil-1-piperidini-N-oksi

SEMBOLLER

μg : Mikrogram
μL : Mikrolitre
μmol : Mikromol
Å : Angstrom
g : Gram
kDa : Kilodalton
M : Molar
mg : Miligram
MHz : Megahertz
mm : Milimetre
mL : Mililitre
mmol: Milimol
N : Normal
ng : Nanogram
Pt : Platinyum
°C : Derece santigrat

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1 : Parçalanabilirliklerine göre polimerlerin sınıflandırılması	20
Tablo 4.1 : Polimerizasyon oranları ve polimerlerin moleküler ağırlık ve özellikleri	50
Tablo 4.2 : Nanopartiküllere ait DLS analizi verileri	65



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1	: Tümör mikroçevresini oluşturan bileşenler [6].	3
Şekil 2.2	: Arttırılmış geçirgenlik ve alıkonma etkisiyle hedefli nanoilaç alımı [12].	5
Şekil 2.3	: Polimerizasyon çeşitlerinin sınıflandırılması	9
Şekil 2.4	: Kompozisyon ve yapı bakımından polimerler	11
Şekil 2.5	: Polimerizasyonda aktivasyon-deaktivasyon dengesi.	11
Şekil 2.6	: NMRP başlatıcı türleri.	12
Şekil 2.7	: NMP'de aktivasyon-deaktivasyon dengesi.	13
Şekil 2.8	: ATRP'de aktivasyon-deaktivasyon dengesi.	13
Şekil 2.9	: RAFT ajanı çeşitleri.	14
Şekil 2.10	: Polimerizasyon basamakları.	15
Şekil 2.11	: Farklı tipteki nanotaşıyıcı sistemlerinin şematik gösterimi [41].	17
Şekil 2.12	: Polimerik yapıli ilaç taşıyıcı sistemler.	19
Şekil 2.13	: Oksaliplatin yüklü M(Pt) ve gemitabin yüklü M(Gem) miseller ve ikili ilaç yüklü miseller M(Gem/Pt) oluşturmak için P(Pt) ve P(Gem)'in kendiliğinden oluşumu ve birlikte oluşumu [54].	21
Şekil 2.14	: Karboplatin ve gemitabin içeren nanotaşıyıcı sistemin şematik gösterimi [55].	22
Şekil 2.15	: (a) Nanoformülasyonları için kullanılan bileşenlerin kimyasal yapısı. (b) Isı uygulamasından sonra, TR bloğu bobinden globüle geçişe uğraması ve lipid membranın bozulması ve ilaçların salımı[56].	23
Şekil 4.1	: Bis-(bütansülfanil tiyokarbonil)disülfid sentezi.	37
Şekil 4.2	: Bis-(bütansülfanil tiyokarbonil)disülfid bileşiğine ait ¹ H NMR (A) ve ¹³ C NMR (B) spektrumu (CDCl ₃).	38
Şekil 4.3	: 2-Siyanopropan 2-il-tritiyokarbonat (CBPA) sentezi.	38
Şekil 4.4	:Bütıl 2-siyanopropan2-il-tritiyokarbonat bileşiğine ait ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃).	39
Şekil 4.5	: CBPA-Gem RAFT ajanı sentezi.	39
Şekil 4.6	: Sentezlenen CBPA-Gem bileşiğine ait ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃).	40
Şekil 4.7	: CPBA, Gem ve CBPA-Gem bileşiklerine ait FTIR spektrumu.	41
Şekil 4.8	: β-D-glukopiranoz asetilasyon reaksiyonu.	41
Şekil 4.9	:1,2,3,4,6-Penta- <i>O</i> -asetil-β-D-glukopiranoz (β-GluAc) bileşiğine ait ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃).	42
Şekil 4.10	:β-D-Glukopiranoz (Glu) ve 1,2,3,4,6-penta- <i>O</i> -asetil β-D-glukopiranoz (β-GluAc) bileşiklerine ait FTIR spektrumu.	42

Şekil 4.11	:1-(2-Etoksi metakrilat)-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -asetil-β-D-glukopiranoz bileşiğinin sentezi.....	43
Şekil 4.12	:1-(2-Etoksi metakrilat)-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -asetil-β-D-glukopiranoz (GluAcMA) bileşiğine ait ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃).....	43
Şekil 4.13	:1,2,3,4,6-Penta- <i>O</i> -asetil β-D-glukopiranoz (β-GluAc) ve 1-(2-etoksi metakrilat)-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -asetil-β-D-glukopiranoz (GluAcMA) bileşiklerine ait FTIR spektrumu.....	44
Şekil 4.14	:1-(2-Etoksi akrilat)-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -asetil-β-D-glukopiranoz (GluAcA) bileşiğinin sentezi.....	44
Şekil 4.15	:1-(2-Etoksi akrilat)-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -asetil-β-D-glukopiranoz (GluAcA) bileşiğine ait ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃).....	45
Şekil 4.16	:1,2,3,4,6-Penta- <i>O</i> -asetil β-D-glukopiranoz (β-GluAc) ve 1-(2-etoksi akrilat)-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -asetil-β-D-glukopiranoz (GluAcA) bileşiklerine ait FTIR spektrumu.....	45
Şekil 4.17	: (2,3:4,5-Di- <i>O</i> -izopropiliden)-β-D-fruktopiranoz (<i>ipr</i> -Fru) sentezi.....	46
Şekil 4.18	:D-Fruktopiranoz (Fru) ve (2,3:4,5-di- <i>O</i> -izopropiliden)-β-D-fruktopiranoz (<i>ipr</i> -Fru) bileşiklerine ait FTIR spektrumu.....	46
Şekil 4.19	:1- <i>O</i> -metakriloil-2,3:4,5-di- <i>O</i> -izopropiliden-D-fruktopiranoz (<i>ipr</i> -FruMA) sentezi.....	47
Şekil 4.20	:1- <i>O</i> -metakriloil-2,3:4,5-di- <i>O</i> -izopropiliden-D-fruktopiranoz (<i>ipr</i> -FruMA) bileşiğine ait ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃).....	47
Şekil 4.21	:(2,3:4,5-di- <i>O</i> -izopropiliden)-β-D-fruktopiranoz (<i>ipr</i> -Fru) ve 1- <i>O</i> -metakriloil-2,3:4,5-di- <i>O</i> -izopropiliden-D-fruktopiranoz (<i>ipr</i> -FruMA) bileşiklerine ait FTIR spektrumu.....	48
Şekil 4.22	:1- <i>O</i> -akriloil-2,3:4,5-di- <i>O</i> -izopropiliden-D-fruktopiranoz (<i>ipr</i> -FruA) sentezi.....	48
Şekil 4.23	:1- <i>O</i> -akriloil-2,3:4,5-di- <i>O</i> -izopropiliden-D-fruktopiranoz (<i>ipr</i> -FruA) sentezi bileşiğine ait ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃).....	49
Şekil 4.24	:(2,3:4,5-di- <i>O</i> -izopropiliden)-β-D-fruktopiranoz (<i>ipr</i> -Fru) ve 1- <i>O</i> -akriloil-2,3:4,5-di- <i>O</i> -izopropiliden-D-fruktopiranoz (<i>ipr</i> -FruA) bileşiklerine ait FTIR spektrumu.....	49
Şekil 4.25	: CBPA RAFT ajanıyla P(<i>ipr</i> -FruA) homoblok polimer sentezi.....	51
Şekil 4.26	: P(<i>ipr</i> -FruA) homoblok polimerine ait ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃)..	51
Şekil 4.27	: A) P(<i>ipr</i> -FruA) homoblok polimerlerine ait FTIR spektrumu B) P(<i>ipr</i> -FruA) homoblok polimerine ait GPC grafiği.....	52
Şekil 4.28	: CBPA RAFT ajanıyla P(<i>ipr</i> -FruMA) homoblok polimer sentezi.....	52
Şekil 4.29	: P(<i>ipr</i> -FruMA) homoblok polimerine ait ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃).....	53
Şekil 4.30	: P(<i>ipr</i> -FruMA- <i>b</i> -MAc) diblok polimer sentezi.....	53
Şekil 4.31	: P(<i>ipr</i> -FruMA- <i>b</i> -MAc) diblok polimerine ait ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃).....	54
Şekil 4.32	: A) P(<i>ipr</i> -FruMA) homoblok ve P(<i>ipr</i> -FruMA- <i>b</i> -MAc) diblok polimerlerine ait FTIR spektrumu B) P(<i>ipr</i> -FruMA) homoblok ve P(<i>ipr</i> -FruMA- <i>b</i> -MAc) diblok polimerlerine ait GPC grafiği (THF).....	54
Şekil 4.33	: CBPA-Gem RAFT ajanıyla P(<i>ipr</i> -FruMA)-Gem homoblok polimer sentezi.....	55

Şekil 4.34 : P(<i>ipr</i> -FruMA)-Gem homoblok polimerine ait ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃).....	55
Şekil 4.35 : P(<i>ipr</i> -FruMA- <i>b</i> -MAc)-Gem diblok polimer sentezi.	56
Şekil 4.36 : P(<i>ipr</i> -FruMA- <i>b</i> -MAc)-Gem diblok polimerine ait ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃).....	56
Şekil 4.37 :A) P(<i>ipr</i> -FruMA)-Gem homoblok ve P(<i>ipr</i> -FruMA- <i>b</i> -MAc)-Gem diblok polimerlerine ait FTIR spektrumu, B) P(<i>ipr</i> -FruMA)-Gem homoblok ve P(<i>ipr</i> -FruMA- <i>b</i> -MAc)-Gem diblok polimerlerine ait GPC grafiği (THF).	57
Şekil 4.38 : P(<i>ipr</i> -FruMA- <i>b</i> -MAc) polimerinin hidroliz reaksiyonu.....	57
Şekil 4.39 :A) P(<i>ipr</i> -FruMA- <i>b</i> -MAc) ve B) hidroliz sonrası P(FruMA- <i>b</i> -MAc) polimerlerine ait ¹ H NMR spektrumu (A: CDCl ₃ , B: CD ₃ OD).	58
Şekil 4.40 :Hidroliz edilen P(FruMA- <i>b</i> -MAc) polimerine ait A) FTIR ve B) GPC grafiği (H ₂ O).	58
Şekil 4.41 : P(<i>ipr</i> -FruMA- <i>b</i> -MAc)-Gem polimerinin hidroliz reaksiyonu.	59
Şekil 4.42 :A) P(<i>ipr</i> -FruMA- <i>b</i> -MAc)-Gem ve B) hidroliz sonrası P(FruMA- <i>b</i> -MAc)-Gem polimerlerine ait ¹ H NMR spektrumu (A: CDCl ₃ , B: CD ₃ OD).....	59
Şekil 4.43 : Hidroliz edilen P(FruMA- <i>b</i> -MAc)-Gem polimerine ait A) FTIR ve B) GPC grafiği (H ₂ O).....	60
Şekil 4.44 : Gümüş Nitrat ile cisPt aktivasyonu reaksiyonu.	60
Şekil 4.45 : P(FruMA- <i>b</i> -MAc) polimerine cisPt yüklenmesi.....	61
Şekil 4.46 : cisPt, P(FruMA- <i>b</i> -MAc)-cisPt (NP2) örneklerin DLS analiz sonucu... 61	
Şekil 4.47 : P(FruMA- <i>b</i> -MAc)-Gem polimerine cisPt yüklenmesi.	62
Şekil 4.48 :Sudaki cisPt, NP(FruMA- <i>b</i> -MAc)-Gem-cisPt (NP3) örneklerin sayıya göre boyut dağılımı grafiği.....	62
Şekil 4.49 : P(FruMA- <i>b</i> -MAc) (NP0), P(FruMA- <i>b</i> -MAc)-Gem (NP1), P(FruMA- <i>b</i> -MAc)-cisPt (NP2) ve P(FruMA- <i>b</i> -MAc)-Gem-cisPt (NP3) nanopartiküllerinin DLS analiz sonucu.	63
Şekil 4.50 :P(FruMA- <i>b</i> -MAc)-Gem-cisPt nanopartikülüne (NP3) ait TEM görüntüsü.....	64
Şekil 4.51 : A) CCD-1079Sk hücrelerinin % hücre canlılığı ve B) MDA-MB-231 hücrelerinin % canlılığı.	65
Şekil 4.52 : (A) CCD-1079Sk, (B) MDA-MB-231 kontrol grupları, NP3 uygulanan CCD-1079Sk ve MDA-MB-231 hücrelerinin sırasıyla (C) ile (D) 3. Saat ve (E) ile (F) 6. saat floresan mikroskopisi görüntüleri.	66

MEME KANSERİ TEDAVİSİ İÇİN YENİ BİR POLİMERİK İKİLİ İLAÇ TAŞIMA SİSTEMİNİN GELİŞTİRİLMESİ

ÖZET

Kanser tedavisinde kullanılan konvansiyel yöntemlerinin sistemik etkiye sahip olması bundan dolayı kanserli hücrelerin yanı sıra sağlıklı hücrelerin de olumsuz olarak etkilenmesi ilaç taşıyıcı sistemler üzerine yapılan çalışmaların giderek artmasını sağlamıştır. Kemoterapötik ajanların düşük çözünürlükleri, yüksek toksisiteleri, düşük stabiliteye sahip olmaları tedavinin etkinliğini sınırlamaktadır. Polimerik ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesi antikanser ilacı tümör bölgesine hedeflemeyi sağlamakta ve yan etkileri azaltmaktadır. İkili ilaç taşıyıcı sistemlerin kanser tedavisinde kullanılarak sinerjistik etkiye sahip antikanser ajanların bir arada verilmesiyle tedavinin etkinliğini arttırılmaktadır. Akciğer kanserinden sonra en sık görülen ikinci kanser çeşidi olan meme kanserinde cerrahi tedavi, radyoterapi, hormone terapi ve kemoterapi tedavi yöntemi olarak kullanılmaktadır. Kemoterapötik ajan olarak kanser tedavisinde kullanılan alkilleyici bir ajan olan Gemsitabin ve platin türevi bir antikanser ilaç olan Cisplatin'in bir arada kullanılması meme kanseri üzerindeki sitotoksik etkiyi arttırdığı bilinmektedir. Bu çalışmayla birlikte Gemsitabin ve Cisplatin yüklü nanopartiküllerin sentezi gerçekleştirilmiş ve nanopartiküllerin MDA-MB-231 meme kanseri ve CCD-1079Sk sağlıklı fibroblast hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkileri incelenmiştir. Literatüre bakıldığında Cisplatin ve Gemsitabin antikanser ilaçların bir arada kullanılarak meme kanserini hedef alan ilaç taşıyıcı sistemin geliştirilmesi üzerine yapılan çalışmalar sınırlıdır. Araştırma düşük doz kullanımıyla yan etkilerin azaltılması ve meme kanseri hedefli bir polimerik ikili ilaç taşıyıcı sistem geliştirilmesini amaçladığından kadınlarda en sık görülen kanser tipi olan meme kanserinin tedavisindeki etkinliğin arttırılması açısından önem taşımaktadır. Yeni bir polimerik ikili ilaç taşıma sisteminin literatüre kazandırılması çalışmayı ayrıca önemli kılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri, Gemsitabin, Cisplatin, İlaç taşıyıcı sistemler

DEVELOPMENT OF A NEW POLYMERIC DUAL DRUG DELIVERY SYSTEM FOR BREAST CANCER TREATMENT

SUMMARY

The fact that the conventional methods used in cancer treatment have a systemic effect that cause the side effects of cancerous cells as well as healthy cells have led to an increasing number of studies on drug delivery systems. Insolubility, high toxicity, and low stability of chemotherapeutic agents limit the effectiveness of the treatment. The development of polymeric drug delivery systems enables targeting the anticancer drug to the tumor site and reduces side effects. By using dual drug delivery systems in cancer treatment, the effectiveness of the treatment is increased by combining anticancer agents that have synergetic effect. Surgical treatment, radiotherapy, hormone therapy and chemotherapy are used as treatment methods in breast cancer, which is the second most common type of cancer after lung cancer. It is known that the combined use of Gemcitabine, an alkylating agent used in cancer treatment as a chemotherapeutic agent, and Cisplatin, a platinum-derived anticancer drug, increases the cytotoxic effect on breast cancer. In this study, Gemcitabine and Cisplatin loaded nanoparticles were synthesized and the cytotoxic effects of nanoparticles on MDA-MB-231 breast cancer and CCD-1079Sk healthy fibroblast cell line were investigated. When we look at the literature, studies on the development of a drug delivery system targeting breast cancer by using a combination of Cisplatin and Gemcitabine anticancer drugs are limited. The research is important in terms of increasing the effectiveness in the treatment of breast cancer, which is the most common type of cancer in women, as it aims to reduce side effects with the use of low doses and to develop a polymeric dual drug delivery system targeted at breast cancer. Adding a new polymeric dual drug delivery system to the literature also makes the study important.

Keywords: Breast cancer, Gemcitabine, Cisplatin, Drug delivery systems

1. GİRİŞ

Günümüzde antikanser ilaçlar başta olmak üzere birçok ilaç molekülü için giderek artan sayıda nanopartikül temelli ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilmektedir. Ayrıca yapılan deneysel ve klinik çalışmalarla birlikte bu ilaç taşıyıcı sistemlerin *in vitro* ve *in vivo* etkinliklerinin gösterilmesi bu ilaç taşıyıcı nanopartiküllerin kanser başta olmak üzere birçok hastalığın tedavisinde kullanılması açısından önem taşımaktadır. Tanı ve tedavide kullanılmak üzere farklı tekniklerle geliştirilen ve çeşitli özelliklere sahip nanopartiküller moleküler görüntülemeyi mümkün kılmaları sayesinde hastalığın erken tespiti ve hastalık evresinin belirlenmesini, ilacın kontrollü salımı ve dozaj düzeyinin minimum düzeye indirilmesini, yan etkilerin azaltılmasını ve tedavi etkinliğinin artırılmasını sağlamaktadır [1].

Nanopartiküllerin hastalığın tanı ve teşhisinde sahip olduğu üstün özellikleri nedeniyle yapılan çalışmalar farklı nanopartikül hazırlama ve karakterizasyon tekniklerinin geliştirilmesi alanında yoğunlaşmıştır. İlaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesinde kitosan ve dekstran gibi doğal maddeler, dallanmış polimerlerden oluşan dendrimerler, süperparamanyetik demir oksit nanoparçacıklar (SPIONs) gibi çeşitli manyetik nanoparçacıklar, lipozomlar, altın nanoparçacıklar ve polilaktik asit, poliakrilat, polikaprolakton, polietilen glikol gibi çeşitli moleküllerden oluşan polimer yapılı nanopartiküller kullanılmaktadır [2]. Dış uyaranlara tepki verebilen polimerler sentezlenerek bunların nanopartiküllere dönüştürülmesi ve sentezlenen nanoparçacıkların yüzeylerine fonksiyonel polimerler aracılığıyla işlevsellik kazandırılması kansere hedeflendirilmiş kontrollü salınan ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesine ivme kazandırmıştır. Kontrollü polimerizasyon tekniklerinin ve bu tekniklerle sentezlenen polimerlerin karakterizasyon yöntemlerinin geliştirilmesiyle sağlık alanında yüksek potansiyele sahip iyi karakterize edilmiş polimerlerden oluşturulan nanoparçacıkların kullanımı artmaktadır.

İlaç taşıyıcı polimerik nanopartiküller suda iyi çözünmeyen antikanser ilaçların biyoçözünürlüğünü arttırarak ilaçtan yüksek biyoyararlanımı sağlamaktadır. Aynı

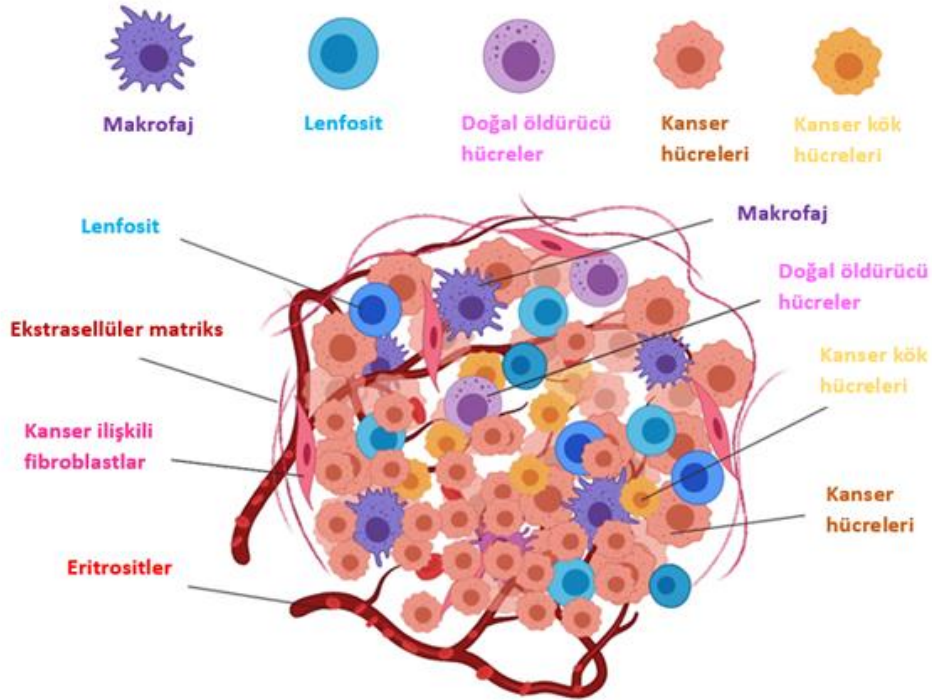
zamanda nanopartiküllerin ikili ilaç taşıyıcı sistemler olarak tasarlanması ya da çeşitli tedavi yöntemleriyle kombinasyonu ile tedavinin etkinliği artırılabilir.

Bu çalışmada meme kanserine yönelik tedavinin etkinliğinin artırılması için yeni ikili ilaç taşıyıcı sistemin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada tersinir eklemeli - parçalanma zincir aktarımı polimerizasyonu (RAFT) tekniği kullanılarak fruktoz şeker ünitesi içeren Gemsitabin (Gem) ve Cisplatin (cisPt) antikanser ilaçlarını taşıyan polimerik ilaç taşıyıcı nanopartiküllerin sentezi, karakterizasyonu ve *in vitro* etkinliklerinin belirlenmiştir. Bu kapsamda polimerlerin sentezinde kullanılacak fruktoz ve glukoz metakrilat yapılı monomerler ve Gem ile fonksiyonlandırılmış RAFT ajanı sentezlenip karakterize edilmiştir. İlk olarak şeker monomerlerinin homopolimerizasyonu Gem taşıyan RAFT ajanı ile hazırlanmış akabinde metakrilik asit ile diblok kopolimerleri sentezlenmiştir. Sentezlenen polimerlere cisPt ilaç yüklemesi gerçekleştirilmesinin ardından oluşturulan nanopartiküllerin sitotoksikite, ilaç salım ve hücre içi alım etkinlikleri hem CCD-1079Sk sağlıklı fibroblast hücre hattı hem de MDA-MB-231 göğüs kanseri hücre hatları kullanılarak *in vitro* olarak araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tümör Mikroçevresi ve EPR etkisi

Tümör; komşu hücre ve organlara ya da vücudun diğer kısımlarına yayılma potansiyeli taşıyan normalden farklılaşmış hücrelerin anormal şekilde bölünmesiyle meydana gelmektedir. Vücudun diğer kısımlarına yayılmayan tümörler iyi huylu tümör olarak adlandırılmakla birlikte istilacı hücrelerden oluşan kötü huylu tümörler metastatik özellik taşırlar. Kanserin metastatik formunda kanserli hücreler kanserin başlangıçta olduğu konumdan komşu hücre ya da dokulara lenfatik yolla bölgesel lenf düğümlerine ya da kan yoluyla hematojenik olarak yayılır [3,4]. Tümör mikroçevresi olarak adlandırılan tümörün mevcut olduğu hücresel çevre kan damarları, fibroblastlar, bağışıklık sistemi hücreleri, kemik iliğinden türelenen enflamasyon hücreleri, lenfositler ve ekstrasellüler matriks bileşenlerinden oluşmaktadır (Şekil 2.1) [5].



Şekil 2.1 : Tümör mikroçevresini oluşturan bileşenler [6].

Varolan tümör ekstrasellüler sinyaller aracılığıyla etrafını çevreleyen mikroçevreyle etkileşime girerek tümör anjiyogenezini ve periferal immün toleransı sağlar. Ayrıca

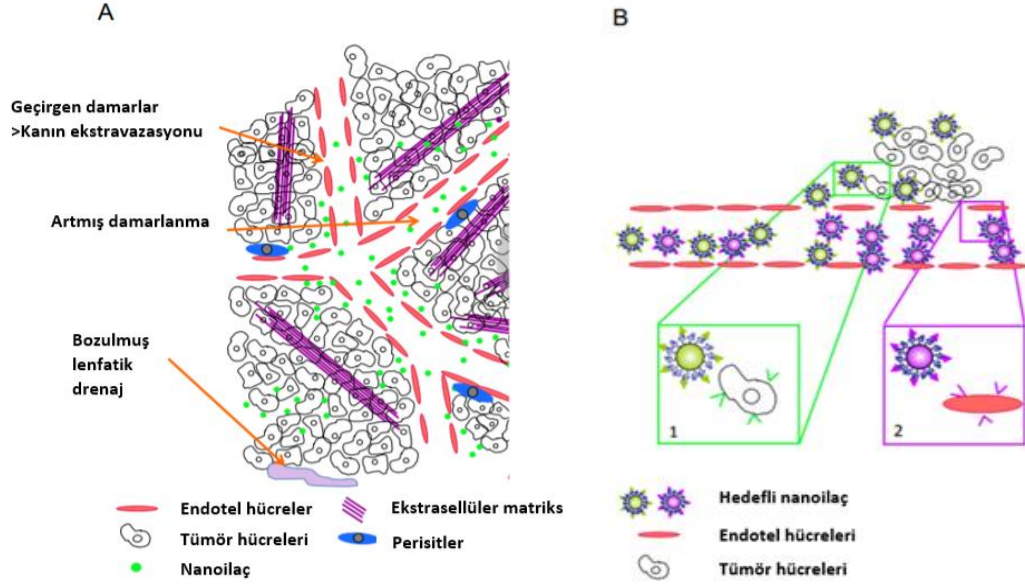
tümör mikroçevresi kanser ilerlemesinin ve ilaç direncinin araştırılmasında önemli rol oynamaktadır. Tümör; yayılma yeteneği, ekstrasellüler matriks bileşenlerini yıkıma uğratma kapasitesi, kan akışı içerisinde varlığını sürdürebilme yeteneği ve vücudun farklı dokularına yerleşebilme kapasitesi olmak üzere dört temel özelliğe sahiptir. Tümörün dokular arasında gelişimi ve ilerlemesi içinde bulunduğu doku mikroçevresi ile yakından ilişkilidir [7].

Tümör anjiyogenezi hücrelerin bölünüp çoğalmaları için gereken besinlere ulaşmaları açısından önem taşımaktadır. Kanser hücreleri buldukları bölgelerde anjiyogenezi arttırıp kan akışıyla gelen besinleri kullanarak bölünmeleri için gerekli enerjiyi buradan elde ederler. Kanserli hücrelerde hızlı bir şekilde enerji eldesi gerekliliğinden dolayı kolayca yıkılarak yüksek enerjinin elde edildiği karbonhidratlar hücreler için önemli bir kaynak olarak teşkil etmektedir [8].

Kanserin tanı ve tedavisinin araştırılmasında doku mikroçevresi tümör oluşumu ve gelişmesi süreci üzerine etkisinin anlaşılması çok büyük öneme sahiptir. Tümör mikroçevresi aynı zamanda kanserin hangi aşamada olduğu, tedaviye karşı tümör bölgesinde gelişen direnci, kanserli hücrelerin immün sistem tarafından tanınması ve metastazda önemli rol oynamaktadır. Bu sebeple yapılan araştırmalar tümör mikroçevresini hedef alan tedavi yöntemlerine yoğunlaşmıştır.

Birçok kanser normalde damarlı olmayan çoğunlukla epitel dokularda oluşan etraftaki doku ve organları işgal eden karsinomlardan meydana gelmektedir. Kanserin önemli bir belirteci olan anjiyogenezdeki artış tümör bölgesinde anormal vasküler yapıların oluşmasına sebep olmaktadır. Tümör dokularında difüzyon kısıtlı hale geldiğinde, besin alımı, atıkların uzaklaştırılması ve oksijen iletimi için yeni vasküler yapıların oluşturulması anjiyogenez olarak adlandırılmaktadır [9]. Tümör bölgesinde bulunan damarlar işlevleri, yapıları ve organizasyonları itibarıyla heterojen bir özellik gösterirler. Tümör bölgesinde bulunan vasküler yapılar normal hiyerarşik düzenlerinden uzaklaşmıştır ve normal vasküler yapıdan daha geçirgen özellik taşımaktadır Tümör damar sistemi bileşenlerin tümör dokularına birikmesine yol açan zayıf bir lenfatik sistemi de beraberinde barındırmaktadır. Bu tür bir etki arttırılmış geçirgenlik ve alıkonma (EPR) etkisi olarak adlandırılmaktadır (Şekil 2.2) [10,11].

EPR etkisi tümör dokularının sahip olduğu, terapötik amaçla geliştirilen moleküllerin pasif hedeflendirilmesinde yararlanılan bir özelliktir. Pasif hedeflendirmede tümör dokularına nüfuz eden vasküler yapıların sahip olduğu porların boyutundan daha küçük bir çapa sahip olan nanopartiküller sayesinde kullanılan terapötik ajanın iletimi, tümör bölgesinde alıkonması ve kontrollü salımı amaçlanmaktadır.



Şekil 2.2 : Arttırılmış geçirgenlik ve alıkonma etkisiyle hedefli nanoilaç alımı [12].

EPR etkisinin terapötik bir molekülün tümör bölgesine hedeflendirilmesinde kullanılması konsepti Maeda'nın çalışmasında Poli(stiren-*ko*-maleik asit) neokarzinostatin (SMANCS) molekülünün tümör dokularına yönelik kullanılmasıyla başlamıştır [13]. EPR etkisi ilk olarak Maeda ve Matsumura tarafından 1986 yılında kullanılmıştır. Yaptıkları çalışmada polimer konjugatı antikanser bir protein olan neokarzinostatini kullanarak radyoaktif işaretlenmiş, moleküler ağırlığı 12 kDa ile 160 kDa arasında değişen terapötik ajanın 19 ve 72 saat aralığı içerisinde kan damarları içerisindeki konsantrasyonlarını ve tümör bölgesindeki birikimi incelemişlerdir. Tümör bölgesindeki birikimin sebebinin bölgedeki vasküler yapılanmadaki artış, arttırılmış geçirgenlik ve düşük kan akışı ya lenfatik sisteme geri alımdan kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir [14].

Tümör dokularındaki anormal yapıdaki geçirgen damarlar ve EPR etkisi sayesinde nanopartiküller diğer dokulardan daha çok tümör dokularında birikim gösterirler. Nanopartiküllerin yüzeylerinin modifikasyonu ile partikül boyutunun arttırılması nanopartiküllerin tümör bölgesine iletimini etkiler. Ayrıca karaciğer ve dalakta

bulunan retikuloendotelial sistemin (RES) de EPR etkisini azalttığı bilinmektedir. RES monositlerden oluşan vücut sistemindeki yabancı madde ve partiküllerin fagositozundan sorumlu hücrelerden oluşmakta olup mononükleer fagosit sistem olarak da bilinmektedir. Bu hücrelerin büyük çoğunluğu (%90) karaciğerde geri kalanı ise dalakta bulunmaktadır. RES vücuttaki diğer yabancı maddeler gibi terapötik amaçla verilen nanopartikülleri de hedef almaktadır. Nanopartiküllerin tümör bölgesine iletilmesindeki bu zorluğu partiküllerin yüzey modifikasyonu ile aşabilmek mümkün olmaktadır [14]. Örneğin dekstran, albümin, polietilen glikol gibi biyouyumluluk sağlayan moleküller demir oksit nanopartiküllerin yüzey modifikasyonu için kullanılmaktadır [15].

2.2. Kanser; Meme Kanseri ve Tedavi Yöntemleri

Kanser; hücre bölünmesi, programlı hücre ölümü gibi önemli hücresel süreçleri düzenleyen proto-onkogen ve tümör baskılayıcı genler olarak adlandırılan genlerde birçok genetik ve somatik mutasyonun birikmesiyle hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalması ve yayılmasıyla sonuçlanan multifaktöriyel bir hastalıktır. Kanser dünya genelinde gerçekleşen ölümlere yüksek oranda sebebiyet veren önemli hastalıkların başında gelmektedir. Her yıl kanser sebebiyle milyonlarca insanın kanser nedeniyle vefat ettiği bilinirken 2012 yılından 2030 yılına kadar ortaya çıkan kanser vakalarının %50 oranında artacağı düşünülmektedir [17].

İnsanları etkileyen birçok tip kanser çeşidi bulunmaktadır. Kadınlarda en yaygın olarak dünya genelinde ise akciğer kanserinden sonra en yaygın ikinci kanser çeşidi olan meme kanseri 2020 yılında 2.3 milyondan fazla kadında teşhis edilmiş ve aynı yıl içerisinde dünya genelinde 685 bin kişinin ölümüne sebep olmuştur [18]. Kanser çeşidine ve aşamasına göre kullanılan farklı tedavi yöntemleri bulunmaktadır. Bunların arasında kemoterapi, cerrahi tedavi, radyoterapi, hormonal terapi, immunoterapi gibi tedavi yöntemleri bulunmaktadır. Bazı durumlarda tedavinin daha etkili olması için yöntemlerin kombinasyonu kullanılabilir.

Cerrahi tedavi birçok klinik meme kanseri vakasında en sık kullanılan tedavi yöntemlerinin başında gelmektedir. Cerrahi tedavi meme kanserinin lokal tedavi yöntemlerinden birisidir. Bu yöntemde vücudun yalnız tedavinin uygulandığı bölgedeki hücreleri etkilenmektedir. Yapılan ameliyatlarda memenin tamamen alınarak tümörün çıkarılması ya da meme korunarak yalnızca tümör cerrahi yöntemle

uzaklaştırılmasıyla gerçekleşmektedir. Meme koruyucu cerrahi olarak anılan bu yöntem segmental ya da parsiyel (kısmi) mastektomi olarak adlandırılmaktadır. Onkoplastik cerrahi yöntemlerin günümüzde giderek gelişmesiyle beraber meme koruyucu cerrahi tedavi teknik olarak daha mümkün hale gelmekle beraber ameliyat öncesi neoadjuvan kemoterapinin tedavi başarısını da arttırdığı bilinmektedir [19].

Meme kanserinde diğer bir tedavi yöntemi olan radyoterapide X ışınları kullanılarak kanser hücrelerinin yapılarına zarar vererek hücreleri yok etmek amaçlanmaktadır. Radyoterapi de cerrahi tedavi gibi lokal tedavi yöntemlerinden biridir. Kanserli hücrelerin yanısıra sağlıklı hücrelerin de radyoterapiden etkilenmesi bu yöntemin dezavantajlarının başında gelmektedir. Yöntemin sağlıklı hücrelere de zarar veren yan etkilerini azaltmak amacıyla önceden belirlenen miktarda ışının daha az dozlara bölünmesiyle hastaya verilmektedir. Meme kanserinde radyoterapi tümörün cerrahi olarak çıkarılmasının ardından kemoterapiyle birlikte ya da tek başına adjuvan tedavi olarak uygulanmaktadır [20].

Bazı durumlarda meme kanseri hücrelerinde hormon reseptörlerinin anlatımı artmıştır. Bu sebeple hücrelerin yüzeylerinde fazla bulunan hormon reseptörleri sebebiyle kanser hücreleri östrojene duyarlı hale gelmektedirler. Östrojen hormonu bu kanserli hücrelerin bölünmesi ve çoğalmaları için gereklidir. Hormonal tedavide amaç östrojene duyarlı bu kanser hücrelerinde östrojen reseptörünün işlevinin baskılanmasıyla kanserli hücrelerin bölünmesi ve çoğalmalarını durdurmaaktır. Hormonal terapi tüm vücudun etkilendiği sistemik tedavi çeşitlerinden biridir [21].

Meme kanserinde çoğunlukla adjuvan veya neoadjuvan olarak kullanılan kemoterapide tek başına ya da birkaç antikanser ilacın hastaya verilerek kanserli hücrelerin yok edilmesi amaçlanır. Aynı zamanda cerrahi müdahalenin mümkün olmadığı lokal ileri meme kanserinde ve metastatik ileri evre meme kanserli hastalarda da kemoterapi temel tedavi yöntemi olarak kullanılmaktadır. Tüm vücudun etkilendiği sistemik bir tedavi türü olan kemoterapide oluşan yan etkileri azaltmak amacıyla antikanser ilaçlar hastaya dozlar şeklinde uygulanmaktadır [22].

Bütün kemoterapi ajanlarının etkisi bir ya da daha fazla mekanizmayla hücre döngüsünü bozarak kanserli hücreleri apoptaza uğratmalarına dayanır. Bahsedildiği gibi kanserli hücrelerin büyüme ve çoğalma yetenekleri normal hücrelerden farklı özelliktedir. Kanserli hücrelerin DNA'larında biriken mutasyonlar sonucu önemli

hücrel süreçlerde etkili olan tümör baskılayıcı genlerin sessizleşir ve proto-onkogenlerin aktifleşir. Bunun sonucu olarak normal hücre döngüsü kontrolü bu hücrelerde etkisizleşmiştir ve hücreler kontrolsüz bir şekilde çoğalarak yayılırlar. Hücre döngüsü mitoz evresi, G1 fazı, sentez fazı (S faz) ve G2 fazı olmak üzere 4 aşamadan oluşmaktadır. DNA sentezinin gerçekleştiği sentez fazı olan S fazının ardından oluşturulan kromozomların hücrelere dağıtılması ve hücre bölünmesi mitoz evresinde gerçekleşir. Kemoterapi ajanları DNA'ya doğrudan müdahale ederek ya da hücre bölünmesinde önemli işlevi olan proteinleri hedef alarak hücreleri apoptaza sürükler. Kemoterapi ajanlarının kanserli hücrelere etki ederek yok edilmelerini sağlamasına karşılık normal hücreler üzerinde de sitotoksik etkilerinin bulunması yöntemin başlıca kısıtlılığını oluşturmaktadır [23].

Kemoterapi ajanları biyokimyasal özelliklerine ya da hücre döngüsüne etkilerine göre sınıflandırılmaktadır. Platinyum içeren ajanlar (Cisplatin, Karboplatin, Oksaliplatin) DNA, RNA ve önemli proteinlerle kovalent bağlar yapabilen alkilleyici ajanlardır. Antifolatlar (Metotreksat, Raltireksed) ve pirimidin analogları (Gemsitabin, 5-Florourasil, Kapesitabin) ise DNA ve RNA sentezinde yer alan doğal metabolitlerin yapısal analogları olan anti-metabolitlerdir ve bu antikanser ilaçlar doğal metabolitin yerine geçerek ya da DNA veya RNA sentezinde yer alan anahtar bir enzimin katalitik bölgesi için bu doğal metabolitlerle rekabete girerek etki ederler. Bunların dışında anti-tümör antibiyotikleri olan ve DNA'daki belirli dizilerin arasına girebilen antrasiklinler (Doksorubisin, Epirubisin), DNA'nın üç boyutlu yapısını etkileyen bir enzim olan Topoizomerazın inhibitörleri (Topotekan, İrinotekan, Etoposid) ve Tubulin proteinine bağlanarak mitoz sırasında mikrotübüllerin oluşumu engelleyen tubulin bağlayıcı antikanser ilaçlar vinka alkaloidler (Vinkristin, Vinorelbin) ile taksanlar (Paklitaksel, Doketaksel) diğer kemoterapik ajanları oluşturmaktadır [22].

Kemoterapi ajanları hücre döngüsünün herhangi bir aşamasında etki edebilen faz spesifik olmayan antikanser ilaçları olabileceği gibi hücre döngüsünün belli bir aşamasında etki edebilen faz spesifik ilaçlar da olabilmektedir. Antikanser ilaçları hücre döngüsüne etkilerine göre bu şekilde sınıflandırmak ilaçların nasıl etki ettiğinin anlaşılması ve aynı işlevde olmayan antikanser ilaçların bir arada kullanılarak combine tedaviden maksimum verimliliğin elde edilmesi açısından önemlidir. Örneğin Cisplatin hücre döngüsünün herhangi bir aşamasında kolayca etki

edebilen ve DNA hasarına yol açarak hücreleri apoptoza sürükleyen faz spesifik olmayan antikanser bir ilaçtır. Faz spesifik ajanlarda ise genellikle eşik doza karşı gelişen bir yanıt oluşmaktadır ve bu dozun yukarısında hücrelerin ölümünde artış gözlenmemektedir. Buna örnek olarak Gemsitabin ve 5-Florourasil gibi alkilleyici ajanlar faz spesifik olmayan antikanser ilaçların tersine bir doz yanıt ilişkisi gösterirler ve eşik doz çoğunlukla normal dokulara olan toksisite ile sınırlıdır [24].

Klinikte çoğu kemoterapi uygulaması farklı sınıflardaki kemoterapi ajanlarının kombinasyonu halinde kullanılmasıyla gerçekleştirilmektedir. Kombinasyonlar oluşturulurken hücre döngüsünün farklı aşamalarını hedefleyen ve daha az kemoterapi direncine olasılığını sağlayan, bir arada kullanıldıklarında maksimum kemoterapötik etkiyi gösteren, sinerjistik etkinin oluşması için etki mekanizmaları farklı olan ve minimum dozda kullanıldığında birlikte etki gösterebilen, sisteme olan toksisitesinin ve yan etkilerin en aza indirildiği antikanser ilaçların bir arada kullanılması tedavinin etkinliğini arttırmaktadır [25]. Antikanser ilaçlardan alınan verimin artırılması ve yan etkilerin azaltılması için kullanılan ilaçların ilaç taşıyıcı bir sistem ile birlikte verildiği hedefli ilaç molekülleri geliştirilmektedir. Bu amaçla polimerik yapıdaki lipozomlar, polimer ilaç konjugatları, dendrimerler, polimerik miseller gibi ilaç taşıyıcı sistemler kullanılmaktadır.

2.3. Polimerizasyon Teknikleri

Polimerler monomerlerin kovalent bağlarla oluşturduğu yüksek molekül kütleli makromoleküllerdir. W. H. Carothers 1929'da polimerlerin, katılma polimerizasyonu ve polimerizasyonu olmak üzere iki farklı şekilde sentezlendiğini belirtmiştir [26] (Şekil 2.3).



Şekil 2.3 : Polimerizasyon çeşitlerinin sınıflandırılması

2.3.1. Katılma Polimerizasyonu

Çift bağ içeren vinil bileşikleri yapısındaki π bağı sayesinde serbest radikalik başlatıcılar ya da iyonik başlatıcılarla kolayca etkileşerek polimerizasyonu gerçekleştirecek aktif merkezler oluşturabilirler. Katılma polimerizasyonunda monomer molekülleri, zincirdeki aktif merkezlere ard arda ve hızla katılarak polimer zincirini büyütürler. Zincir büyüme reaksiyonları, aktif zincirler ve monomer molekülleri arasında gerçekleşmektedir. Polimerizasyonun ilk anlarında yüksek molekül kütleli polimer zinciri oluşurken tepkime süresince de ortamda yalnızca yüksek molekül kütleli polimer ve monomer bulunmaktadır [27, 28].

2.3.2. Kondenzasyon Polimerizasyonu

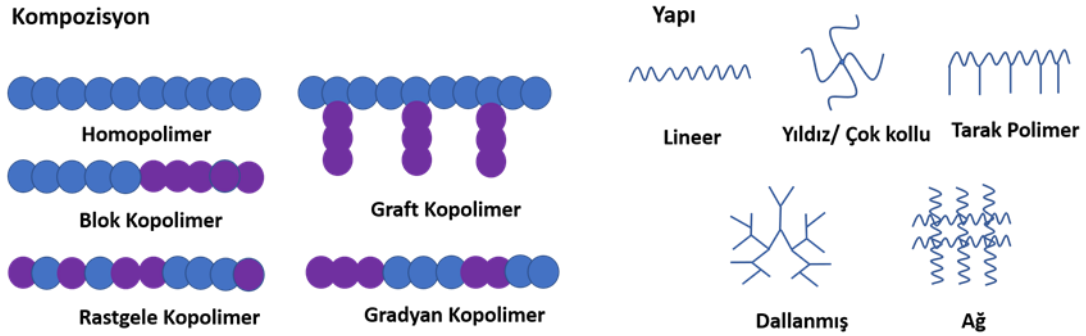
Kondenzasyon reaksiyonları genellikle $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{COOH}$ gibi fonksiyonel grup taşıyan moleküller arasında gözlenmektedir. Tepkimeye katılan moleküllerin birleşmesi aralarından küçük bir molekülün (genellikle su) ayrılması ile oluşur. Kondenzasyon polimerizasyonu ile polimer elde edilebilmesi için en az iki noktadan kondenzasyona girebilecek kimyasal maddeler gerekmektedir. Kondenzasyon polimerizasyonu diğer adıyla basamaklı polimerizasyon bu fonksiyonel gruplar arasında adım adım ilerlemektedir. Böylece polimerizasyon ortamındaki monomerler birbirleriyle tepkimeye girerek polimerin molekül kütlesi, uzun bir zaman aralığında yavaş yavaş artış gösterir. Polimerizasyon, reaksiyona giren maddelerden birinin tükenmesi ve bütün zincirlerin her iki yönde aynı fonksiyonlu gruplarla sonlanması ile tamamlanır [27, 28].

2.3.3. Kontrollü Yaşayan Serbest Radikalik Polimerizasyon

Geçtiğimiz son 20 yılda, geleneksel radikalik polimerizasyon ve iyonik polimerizasyon yöntemlerindeki sınırlamalar nedeniyle sentezlenen polimerin molekül kütesinin, kimyasal ve moleküler yapısının kontrol edilebildiği kontrollü yaşayan serbest radikalik polimerizasyon türleri üzerine yapılan çalışmalar dikkat çekmektedir [29].

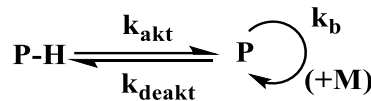
Kontrollü yaşayan serbest radikalik polimerizasyon yönteminde aktif ve geçici türler arasında hızlı ve ayarlanabilir bir denge söz konusudur. Bu sayede oluşan polimerin molekül kütlesi kontrol edilebilmekte ve düşük molekül ağırlık dağılımına sahip polimerlerin sentezi gerçekleştirilebilmektedir. Ayrıca polimer zincirlerindeki aktif uçlar sayesinde reaksiyon ortamında bulunan monomerler tamamen tükense bile

yeniden monomer ilavesi ile polimerizasyon yeniden başlatılabilmektedir. Farklı monomerin ilavesi ile blok kopolimerler sentezlenebilmektedir (Şekil 2.4). Polimerizasyon aşamalarında serbest radikal polimerizasyonundan farklı olarak sonlanma ve zincir transfer basamağı bulunmamaktadır.



Şekil 2.4 : Kompozisyon ve yapı bakımından polimerler

Polimerizasyonun başlama basamağı çok hızlı ilerlerken nispeten yavaş zincir uzaması nedeniyle oluşan kopolimerlerin blok reaksiyonunda deaktivasyon hız sabiti, aktivasyon hız sabitinden yüksek olduğu için reaksiyon her zaman sola doğru ilerleme eğilimi göstermektedir. Bu nedenle pasif haldeki polimer zinciri aktif hale geçtiğinde, yapıya kısa bir süre içerisinde yeni monomerler eklenerek yapı tekrar pasif hale geçmektedir. Bu işlem bir döngü halinde devam ederek kontrollü zincir uzaması gerçekleştirilmektedir [30]. Polimerizasyon uzunluğu dağılımı kontrol edilebilmektedir.



Şekil 2.5 : Polimerizasyonda aktivasyon-deaktivasyon dengesi.

Kontrollü yaşayan serbest radikalik polimerizasyon yöntemleri gradyan, blok, üç ve çok kollu yıldız kopolimerler, bölgeye özgü fonksiyonel polimerler ve kontrollü aşırı yoğunluğu ve aşırı dağılımına sahip aşırı kopolimerleri dahil olmak üzere yeni (ko)polimerler oluşturmak için kullanılabilirler. Ek olarak, inorganik malzemeler ve doğal ürünler, nanokompozitler ve kopolimerler oluşturmak için sentetik polimerlere bağlanabilirler.

Günümüzde sıklıkla kullanılan kontrollü yaşayan serbest radikalik polimerizasyon yöntemleri;

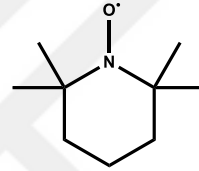
- Nitroksit Aracılı Polimerizasyon (Nitroxide-Mediated Polymerization, NMP),

- Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu (Atom Transfer Radical Polymerization, ATRP),
- Tersinir Katılma-Parçalanma Zincir Transfer Polimerizasyon (Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer Polymerization, RAFT) olarak sınıflandırılmaktadır.

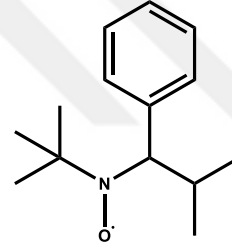
2.3.3.1. Nitroksit aracılı polimerizasyon (NMP)

Georges tarafından 1993 yılında raporlanan benzoil peroksit ve kararlı serbest radikal TEMPO (2,2,6,6-tetrametil-1-piperidinil-N-oksi) bileşiği varlığında stirenin kontrollü polimerizasyonu, modern kontrollü yaşayan serbest radikalik polimerizasyonun başlangıcı olmuştur.

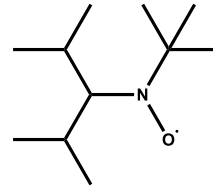
2,2,6,6-Tetrametil-1-piperidiniloksi
(TEMPO)



2,2,5-Trimetil-4-fenil-3-azaheksan-3-nitroksit
(TIPNO)

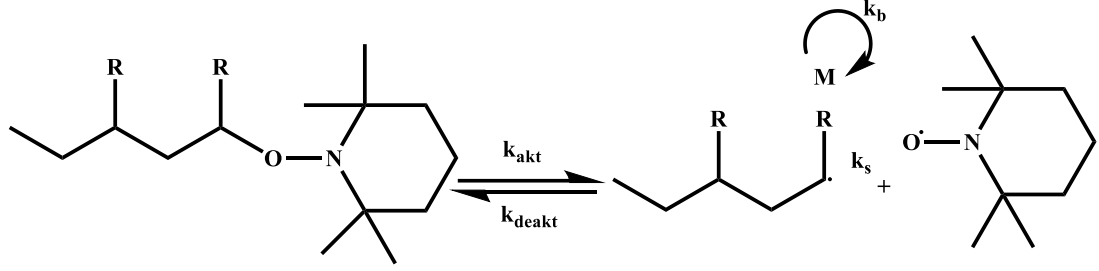


2,2,5-Trimetil-4-(izopropil)-3-azaheksan-3-nitroksit
(BIPNO)



Şekil 2.6 : NMRP başlatıcı türleri

NMP'de kontrol, hareketsiz alkoksiaminler ve aktif olarak yayılan radikaller arasındaki dinamik denge ile sağlanmaktadır. Kararlı nitroksit radikali, polimer zincirinin büyüme basamağını kontrol eder ve sıcaklık etkisiyle ayrılan uç grup, büyümekte olan zincirin sonuna tekrar eklenir ve bu sayede oluşan aktivasyon-deaktivasyon dengesi ile polimerleşmenin kontrollü olarak gerçekleşmesi sağlanır [31].

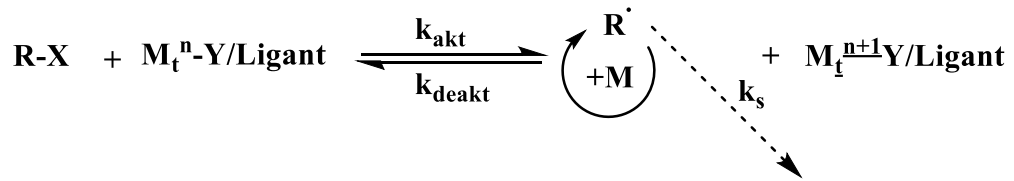


Şekil 2.7 : NMP'de aktivasyon-deaktivasyon dengesi.

NMP, katalizör olarak pek çok metalin kullanılabilirliği ve polimerizasyon sonrasında herhangi bir saflaştırma işlemine ihtiyaç duyulmaması gibi avantajlara sahip olsa da reaksiyon ortam sıcaklığı akrilat türevi monomerlerin kaynama noktasından daha yüksek olduğu için akrilat türevi monomerlerin polimerizasyonunda etkin olarak kullanılamamaktadır [32].

2.3.3.2. Atom transfer radikal polimerizasyonu (ATRP)

ATRP'de başlatıcı olarak bir alkil halojenür (RX), katalizör olarak ise bir geçiş metal kompleksi kullanılmaktadır. Katalizör olarak genellikle Cu, Fe, Ru, Ni ve Os gibi geçiş metal kompleksleri tercih edilmektedir. ATRP'de, hareketsiz türler, bir elektron transfer işlemi yoluyla radikaller oluşturmak için geçiş metal kompleksi tarafından aktive edilir. Aynı zamanda geçiş metali daha yüksek oksidasyon durumuna oksitlenir. Bu tersine çevrilebilir süreç, hızlı bir şekilde, ağırlıklı olarak çok düşük radikal konsantrasyonları ile bir denge kurar. Sonuç olarak, benzer moleküler ağırlıklara ve dar moleküler ağırlık dağılımına sahip polimerler hazırlanabilmektedir [33].

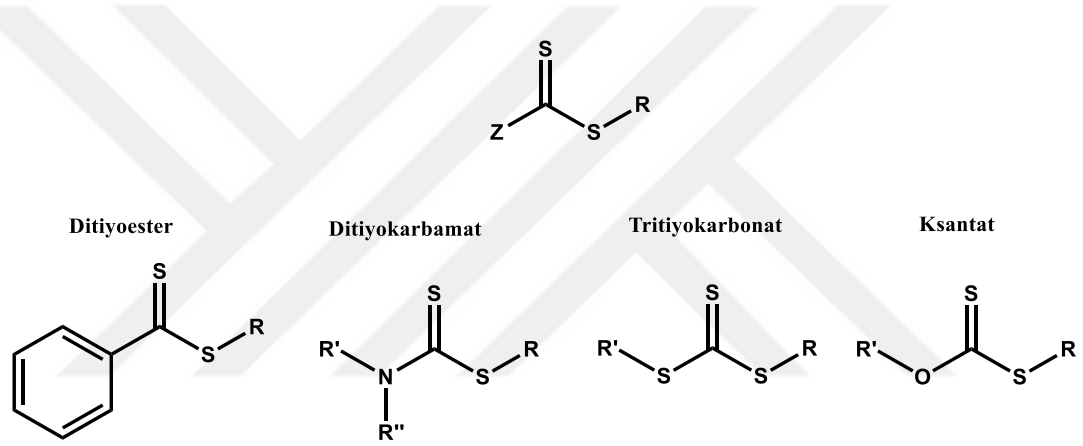


Şekil 2.8 : ATRP'de aktivasyon-deaktivasyon dengesi.

ATRP'de çok işlevli başlatıcıların kullanımı ile yıldız polimerlerin ve telekelik polimerin sentezi kolaylaştırılabilmektedir. Ancak polimerizasyon sırasında kullanılan halojen fazlasının reaksiyon sonrasında uzaklaştırılması için ilave işlem gerektirmektedir [34].

2.3.3.3. Tersinir katılma parçalanma zincir transfer polimerizasyonu (RAFT)

Tersinir katılma parçalanma zincir transfer polimerizasyonu ilk kez 1998 tarihinde Rizzardo tarafından ortaya atılmıştır. NMP ve ATRP yöntemlerinde polimerizasyon tersinir zincir sonlanması ile kontrol edilirken RAFT polimerizasyonunda ise tersinir zincir tepkimeleri zincirin büyüme adımını kontrol etmektedir. Bu durum RAFT polimerizasyonunda daha çeşitli monomerlerin kullanılmasına olanak sağlamaktadır. Polimerizasyonda kullanılan RAFT ajanı olarak tanımlanan tiyokarboniltiyolo bileşikler, aktif ve aktif olmayan polimer zincirleri arasında transfer edilerek polimerizasyonu kontrol altında tutmaktadır. RAFT ajanları ditiyoesterler, ditiyokarbamatlar, tritiyokarbonatlar ve ksantatlar olarak içerdiği Z grubuna göre dört farklı sınıfta incelenmektedir.



Şekil 2.9 : RAFT ajanı çeşitleri.

Z grubu aktifleştirici gruptur, öncelikle S=C bağının stabilitesini ve ara radikalın stabilitesini etkilemektedir. R grubu ise hiçbir yan reaksiyon gerçekleştirmeden koptuğu için aynı zamanda serbest-radikal şeklinde ayrılan grup olarak da bilinmektedir. Ayrılan radikalik R grubu polimerizasyonu başlatacak yetkinliğe sahiptir.

RAFT polimerizasyonu 5 basamakta gerçekleşmektedir:

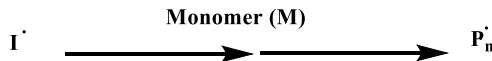
- Başlama basamağı; bu aşamada bir radikal başlatıcısı (AIBN, ACP, $K_2S_2O_8$) monomerle tepkimeye girerek büyümekte olan bir polimer zinciri oluşturur.
- Zincir transfer basamağı; polimerizasyonun ilk basamağında büyüyen radikalın ($P_n\bullet$) tiyokarboniltiyolo bileşiğine ($RSC(Z)=S$) katılmasını ara radikalın parçalanmasıyla polimerik tiyokarboniltiyolo bileşiği ($P_nS(Z)C=S$) ve yeni radikal ($R\bullet$)'in oluşması takip eder.

- Yeniden başlama basamağı; ayrılan radikalik grup monomerlerle tepkimeye girerek yeni büyümekte olan bir polimer zinciri oluşturur.
- Zincir dengesi; aktif olarak büyümekte olan polimer zincirleri ile RAFT ajanı arasında denge kurularak, polimer kütlesinin kontrolü sağlanır.
- Sonlanma basamağı; radikal-radikal sonlanması şeklinde klasik serbest radikal polimerizasyonlardaki gibi meydana gelmektedir.

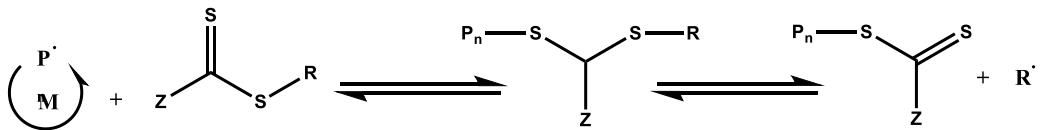
Polimerizasyon tamamlandığında zincirler tiyokarboniltiyo uç grubunu içerir ve kararlı materyaller olarak izole edilebilirler.

RAFT polimerizasyonu, kontrollü moleküler ağırlığa ve düşük polidispersitelere (birçok monomer için 1.05 ile 1.40 arasında) sahip çok çeşitli polimerleri sentezlemek için kullanılmaktadır. RAFT ile polimerize olabilen bazı monomerler arasında stirenler, akrilatlar, akrilamidler ve birçok vinil monomer bulunmaktadır. Ek olarak, RAFT yöntemi, blok, gradyan, tarak, fırça, yıldız, aşırı dallanmış ve ağ kopolimerleri gibi belirli makromoleküler mimarilere sahip polimerlerin sentezine izin vermektedir. RAFT polimerizasyonu, geniş bir çözücü yelpazesinde (su dahil), geniş bir sıcaklık aralığında (25-140°C), yüksek fonksiyonel grup toleransında ve polimerizasyon için metallerin bulunmadığı ortamda gerçekleştirilebilmektedir. Bu özellikler, RAFT polimerizasyonu yöntemini birçok polimer sentezi türünden avantajlı kılmaktadır [35-38].

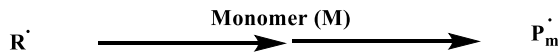
1. Baslama



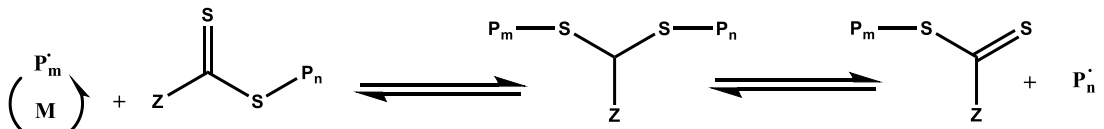
2. Zincir Transferi



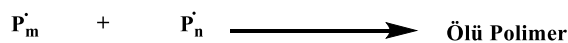
3. Yeniden Baslama



4. Zincir Dengesi



5. Sonlanma



Şekil 2.10 : Polimerizasyon basamakları.

RAFT ajanları hem R hem de Z süstitüentlerinde çeşitli fonksiyonel gruplarla sentezlenebilme özellikleri sayesinde, küçük molekülü ilaçlara, peptitlere veya daha büyük biyo makromoleküllere konjügasyon için reaktif uçlu homo veya kopolimerlerin sentezinde kullanılabilir. Alternatif olarak, RAFT ajanları tepkimelerden sonra doğrudan terapötik maddeye de bağlanabilir [39].

2.4. Nanoteknoloji ve İlaç Taşıyıcı Sistemler

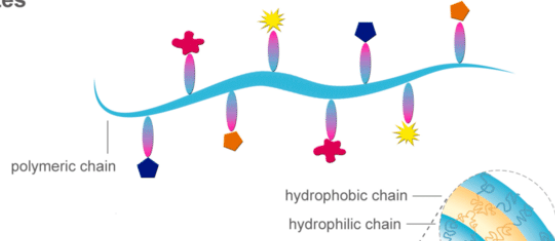
Konvansiyonel ilaç tedavilerinde sık ve belirli aralıklarla ilaç kullanımı söz konusu olmakla birlikte hastalıklı hücrelere veya dokulara spesifik ilaç taşınması mümkün olmamaktadır. Klasik ilaç uygulamalarında hastalıklı bölgeye ulaşan etken maddenin konsantrasyonu tedavinin etkililiği açısından önem taşımaktadır. Hedeflenen bölgenin yanında sağlıklı hücrelere de ulaşan etken maddeler önemli istenmeyen etkilere sebep olabilmektedir. Bu istenmeyen etkiler hastaların tedaviye olan umudunu düşürmekle birlikte tedavinin durdurulmasına dahi sebep olabilmektedir.

Etken maddelerin çoğunun zayıf çözünürlükleri, yüksek toksisiteleri, yüksek dozajlarda kullanılmaları, agregasyon göstermeleri, vücutta spesifik olmayan dağılımları, in vivo bozunma ve kısa yarı ömürleri sebebiyle tedavideki kullanımları sınırlıdır. Buna karşılık günümüzde, çeşitli disiplinlerden araştırmacıların, ilaçların sorunlarının azaltılmasına yardımcı olmak için bir araya gelmesiyle, ilaç taşıma sistemleri hızla gelişmektedir [40]. Teknolojinin ilerlemesi ve bilimsel gelişmelerin hızla artması, yapılan çalışmaları sağladığı birçok avantajlar sebebiyle akıllı ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesi üzerine yoğunlaştırmıştır. Hastalıkların tedavisinde kullanılan geleneksel yöntemlerin hasta tarafından alınan ilaç dozaj sıklığı azaltması, dolaşımda sirküle olan ilaç düzeyi dalgalanmalarını ve ilacın yan etkilerini düşürmeleri sebebiyle yerini yeni ilaç taşıyıcı sistemlere bırakması beklenmektedir.

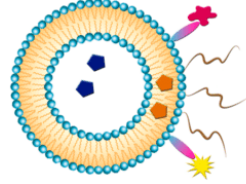
İlaç taşıma sistemleri lipozomlar, miseller, nanopartiküller, polimer-ilaç konjugatları, dendrimerler, metal nanopartiküller ve karbon nanotüpler olarak çeşitli sınıflara ayrılmaktadır.

A. Polymer-drug conjugates

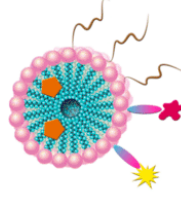
- Hydrophilic drug
- Hydrophobic drug
- Linker
- ✱ Targeting moiety
- ☀ Imaging agent
- ~ Polymer brush (usually PEG)



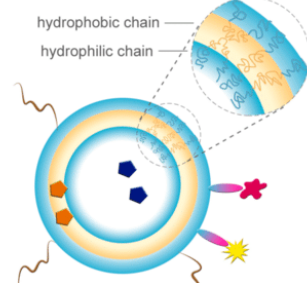
B. Carrier-based systems



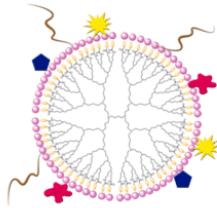
Liposomes



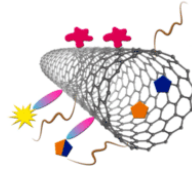
Micelles



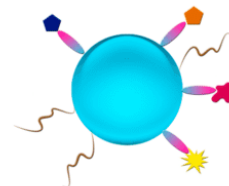
Polymersomes



Dendrimers



Carbon nanotubes



Metal nanoparticles

Şekil 2.11 : Farklı tipteki nanotaşıyıcı sistemlerinin şematik gösterimi [41].

Hedefli ilaç taşıma sistemleri, etken maddelerin geçmişe göre daha etkili ve rahat bir şekilde hedefe iletilmesini sağlayabilmekte, etken maddenin yarılanma ömrünü uzatabilmekte, ilacın farklılaştırılmasını sağlayabilmekte ve sağlık maliyetlerini azaltabilmektedir [42]. Ek olarak, yeni ilaç taşıma sistemleri, *in vivo* olarak kısa yarı ömürleri olan, kolayca bozunabilen peptitlerin ve proteinlerin farmakokinetiğini geliştirerek, koruma sağlayabilmektedir [43].

Hedefe yönelik ilaç taşıyıcı sistemler kanser hastalığının tedavisinde önemli yer tutmaktadır. Kanser hücrelerinin çeşitliliği, evreleri ve birçoğunun farklı özellikler göstermesi tedaviyi zorlaştırmaktadır. Meme kanseri tedavisinde kullanılan etken maddelerin (Cisplatin, Gemsitabin, Doksorubisin, Epirubisin gibi) tümörlü dokuda bir seçiciliğinin olmaması, sağlıklı hücrelere de zarar vermesi ayrıca tedavi süresince ciddi yan etkilerinin olması araştırmacıları hedefli ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesine sevk etmiştir. Polimerik ilaç taşıyıcı sistemler gibi hedefli ilaç taşıyıcı sistemleri kanser tedavisinde; sağlıklı hücrelerin sitotoksik bileşiklerden korunması, doz sınırlayıcı yan etkilerin azaltılması ve ilaca dirençli kanserli hücrelerle mücadele dahil olmak üzere çeşitli avantajlara sahiptir [44].

2.4.1. Polimerik ilaç taşıyıcı sistemler

Polimer bilimindeki gelişmeler sayesinde polimerler çok farklı uygulama alanlarında çalışma konusu olmuştur. Özellikle polimerlerin ilaç taşıma sistemlerinde kullanımı ile, bu alanda büyük bir ilerlemeler kaydedilmiştir. Bu zamana kadar kontrollü ve hedefli taşıma sağlamak için birçok polimer geliştirilmiştir [45]. Sentetik veya doğal kaynaklara dayalı bu polimerler, biyouyumluluk, yüksek ilaç taşıma kapasitesi, uzun dolaşım süresi ve gerekli patolojik bölgelerde birikme yeteneği gibi çeşitli özellikler taşımakta olup polimerik miseller, dendrimerler, nanoparçacıklar, nanojeller, nanokapsüller gibi belirli bir taşıma sistemine göre sentezlenebilmektedirler [46]. İlaç taşıma sistemlerinin hazırlanmasında parçalanabilen ve sonrasında biyolojik olarak uyumlu bileşenlere ayrılabilen polimerler biyolojik olarak parçanmayan polimerlere göre daha çok tercih edilmektedir. İlaç taşıma sistemlerinde kullanılan polimerler ve örnekleri Tablo 2.1’de gösterilmektedir [47].

Tablo 2.1. Parçalanabilirliklerine göre polimerlerin sınıflandırılması

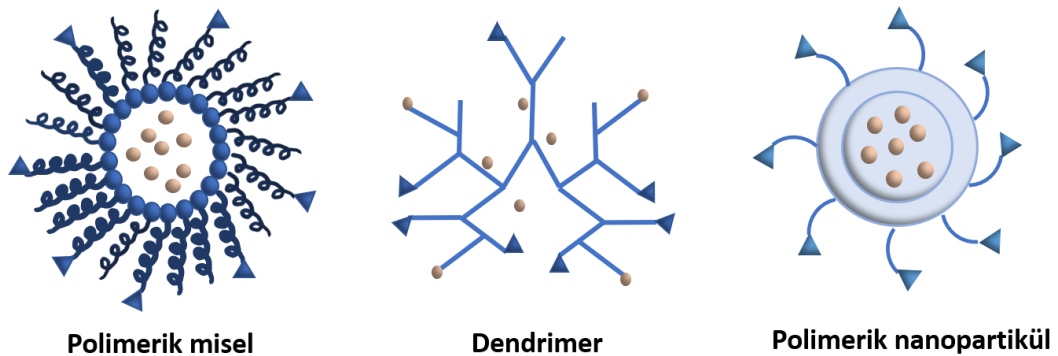
Polimerler	Polimer Grupları	Numuneler
Doğal ve biyolojik olarak parçalanabilirler	Proteinler	Albumin, Kolajen, Jelatin, Sığır ve İnsan Serum Albuminleri (BSA ve HSA)
	Polisakkaritler	Selüloz, Dekstran, Kitozan, Kondroitin sülfat, Aljinat Nişasta, Hiyaluronik asit
	Poliamidler	Poliamino asit, Polipeptid
Sentetik ve biyolojik olarak parçalanabilirler	Poliesterler	Poli(laktik asit)
		Poli(glikolik asit)
		Poli(laktik-ko-glikolik asit)
		Poli(kaprolakton)
Sentetik ve biyolojik olarak parçalanamayanlar	Silikon elastomerler	Poli(dioksanon)
		Poli(hidroksibütirat)
		Polifosfat, Polifosfonat, Polifosfit
		Poli(etilen-ko-vinil asetat)
		Poliakrilatlar

Polimerik nanopartiküllerin diğer ilaç taşıyıcı sistemlere göre bazı avantajları bulunmaktadır. Bunlar;

- Etken madde yükleme kapasitesi yüksektir.

- Polimerik partiküler yapı etken maddeyi bozunmaya karşı korur. Böylece etken maddenin hedef hücelere veya bölgeye etkili şekilde ulaşma olasılığı artar.
- Polimerik nanopartiküller etken maddenin belirli bölgeye hedeflendirilmesini ve kontrollü bir şekilde salımının yapılmasını sağlar.
- Polimerik nanopartiküllerin yüzey özellikleri çeşitli yöntemlerle veya ajanlarla fonksiyonlandırılarak nanopartiküllerin retikuloendotelial sistem (RES) hüceleri tarafından tanınması engellenir ve etken maddenin hedef hücelere ulaşma olasılığı artar.
- Polimerik nanopartiküller biyolojik sıvılarda diğer koloidal taşıyıcı sistemlere göre daha yüksek stabiliteye sahiptirler ve kolaylıkla sterilize edilebilirler.
- Polimerik nanopartiküller taşıdıkları etken maddenin hedef bölgede salımına neden oldukları için etken maddelerin sistemik toksisitesini azaltırlar [48].

Polimer temelli nanoküreler, polimer konjugat kompleksleri, polimerik miseller ve dendrimerler olmak üzere birçok çeşit polimerik nanopartiküller geliştirilmektedir (Şekil 2.12). İlaç taşıyıcı sistemler olarak geliştirilen polimerik nanopartiküller antikanser ilacın tümör bölgesine taşınmasını ve hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemlerin kullanılmasıyla çeşitli kanser tiplerine karşı tedavi etkinliğini arttırmayı sağlamaktadır. İlaç moleküllerinin polimerik bir taşıyıcı sistem aracılığıyla iletimi ilacın dozajının ayarlanması ve kontrollü bir şekilde salımını sağlamaktadır.



Şekil 2.12 : Polimerik yapıli ilaç taşıyıcı sistemler.

Karbonhidratlar kanser metastazı, hücre büyümesi ve inflamasyon gibi birçok biyolojik süreçte önemli rol oynamaktadırlar. Spesifik membran proteinleri

tarafından yüksek hücrel birikim ve tanınma özelliği gösteren, biyolojik olarak uyumlu ve parçalanabilir biyomakromoleküller oldukları için hedefli ilaç taşıma sistemi olarak kullanılabilirler. Birçok şeker arasında, fruktoz molekülleri, literatürde tarif edildiği gibi meme kanseri hücrelerinde aşırı eksprese edilen GLUT5 (iyi bilinen bir fruktoz taşıyıcısı) tarafından benzersiz bir biyoyumluluk ve spesifik tanınmaya sahiptir. Karbonhidratlarla ilişkili dikkat çekici özellikler nedeniyle, glikopolimerler, meme kanseri tedavisi için çok işlevli materyaller oluşturmak için uygun bir aday olarak kabul edilebilir. Bunun nedeni glikopolimerin taşıdığı fruktoz monomerinin, meme kanseri hücrelerinde aşırı eksprese edilen GLUT5 tarafından spesifik tanınma için ideal bir platform sağlamasıdır. Son yıllarda, *in vitro* görüntüleme ve *in vitro* kanser tedavisi dahil olmak üzere *in vitro* uygulamalar üzerinde fruktosile edilmiş glikonanopartiküllere dayalı bir dizi araştırma yapılmıştır [49-51].

2.4.2. İkili ilaç taşıyıcı sistemler

Kombinasyon tedavisi, günümüzde kanser için önemli tedavi stratejilerinden biridir. Ancak, konvansiyonel dozaj formlarının birlikte uygulanmasına dayanan mevcut kombinasyon tedavisi kemoterapötik ilaçların kısa yarı ömürleri, yetersiz tümör seçiciliği gibi bazı dezavantajlar içermektedir. Diğer taraftan nanoteknoloji tabanlı hedefli ilaç salım sistemleri bu sorunları gidermede ve üstün terapötik etki sağlama konusunda büyük umut vaat etmektedir [52]. Bu bölümde, farklı ilaçların kombinasyonunu tek bir nanotaşıyıcı sistemde içeren çalışmalara örnekler verilmektedir. Fonksiyonlandırılmış nanopartiküller, akıllı dağıtım sistemleri olarak çeşitli bariyerleri aşmak ve terapötik ajanların kanser hücreleri ile etkileşimini arttırmak üzere yoğun olarak araştırılmıştır.

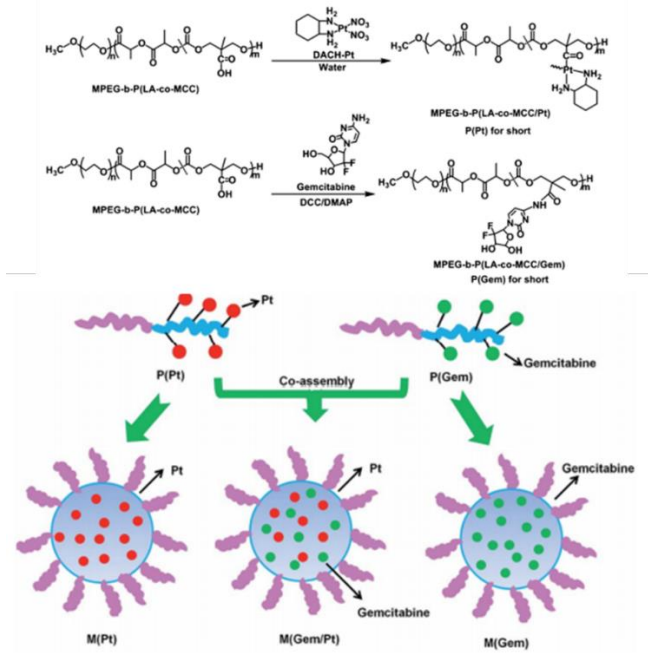
İki veya daha fazla kemoterapötik ajanın kombinasyonu her zaman ayrı ayrı uygulanan ajanların toplamından daha üstün etkinlikte sonuç vermeyebilir. Belirli bir etki seviyesindeki ilaç etkileşimlerinin nicel bir ölçüsü olan kombinasyon indeksi (CI), yaygın olarak genel etkiyi belirlemek için denklem 2.1'de verilen formülle hesaplanır.

$$CI = \frac{D1}{Dm1} + \frac{D2}{Dm2} \quad (2.1)$$

Denklem 2.1’de görüldüğü üzere D1 ve D2, ayırıcı bir etki elde etmek için kombinasyon indeksi formülünde 1. ve 2. ilacın dozudur, örneğin yarı maksimum inhibitör konsantrasyon (IC_{50}), orta etkili doz (ED_{50}) veya orta öldürücü doz (LD_{50}); Dm1 ve Dm2 ise aynı etkiyi elde etmek için ayrı ayrı tek ilaç formülasyonlarında 1. ve 2. ilacın dozudur. Kombinasyon tedavisinde terapötik etki üç farklı şekilde olabilir: Her bir bireysel ajanın monoterapisinin toplamına eşit (toplamsal etki, $CI = 1$) veya daha büyük (sinerjistik etki, CI monoterapi toplamından < 1) veya daha küçük (antagonizm, $CI > 1$) olabilir. Birlikte uygulama sisteminin ideal bir tasarımında sinerjik etki için $CI \leq 1$ olmalıdır.

Kontrollü/hedefli ilaç salım sistemleri, çoklu ilaç moleküllerini aynı anda taşıyabilen nanotaşıyıcıların tasarımıyla sistemik yan etkileri azaltırken ilgili bölgede ilaç sinerjizmini artırmak suretiyle belirtilen sınırlamaları hafifletebilir. Örneğin, Lu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada doksorubisin ve dihidroartemisinin birlikte uygulandığında test edilen tüm göğüs kanseri hücre hatlarına (MCF-7 ve MDA-MB-231) karşı sinerjik bir etki ($CI < 1$) gösterdiği bulunmuştur [53].

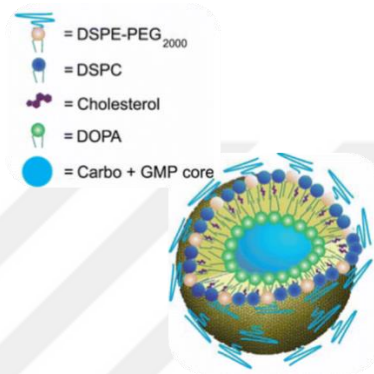
Song ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada gemitabin (Gem) ve oksaliptin (Pt) polimer-ilaç konjugatlarının her ikisini de içeren hibrit miseller elde edilmiştir [54] (Şekil 2.13).



Şekil 2.13 : Oksaliptin yüklü M(Pt) ve gemitabin yüklü M(Gem) miseller ve ikili ilaç yüklü miseller M(Gem/Pt) oluşturmak için P(Pt) ve P(Gem)’in kendiliğinden oluşumu ve birlikte oluşumu [54].

MCF7 hücre hattında yapılan *in vitro* çalışmalarda IC₅₀ değerlerinden elde edilen sonuçlar kıyaslandığında 48 saat ve 72 saatte hem Gem ve Pt birlikte uygulandığında hem de her iki ilacı içeren kombinasyonları için CI değerlerinin 1'in oldukça altında olduğu bulunmuştur [54].

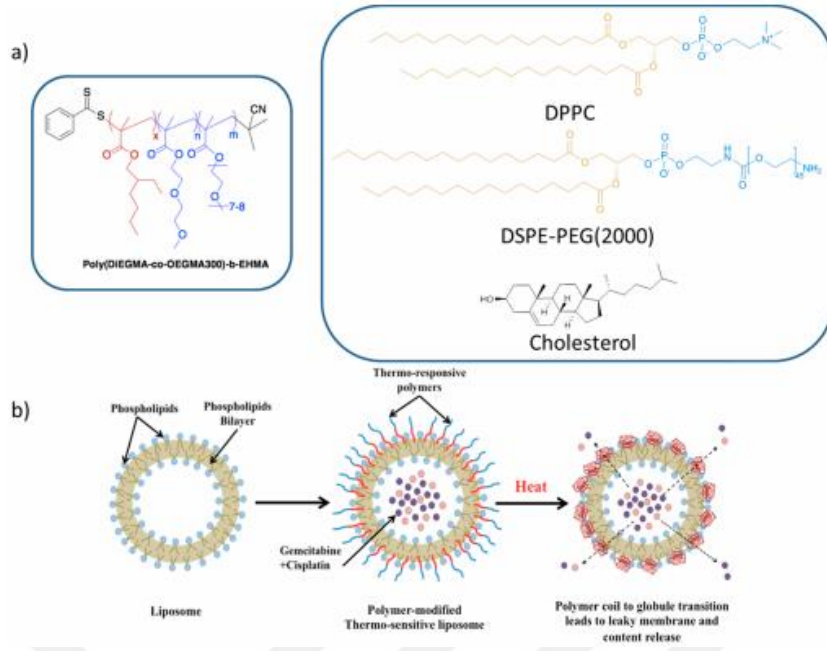
Yapılan bir diğer çalışmada da karboplatin ve gemsitabin içeren nanotaşıyıcı sistemin yumurtalık kanseri hücre hatlarında yapılan çalışmalar ışığında etkinliğinin serbest ilaç uygulamalarına kıyasla artırıldığını ve ilaç direncinin azaltıldığı rapor edilmiştir [55] (Şekil 2.14).



Şekil 2.14 : Karboplatin ve gemsitabin içeren nanotaşıyıcı sistemin şematik gösterimi [55].

Yapılan diğer bir çalışmada cisplatin ve gemsitabin antikanser ilaçlarını aynı anda taşıyabilen ve bu ilaçları sıcaklığa duyarlı olarak serbest bırakabilen polimer kaplı lipozom nanotaşıyıcı sistem ([poli(dietilen glikol) metakrilat-ko-poli(oligoetilen glikol) metakrilat]-*b*-poli(2-etilheksil) metakrilat), tersinir ekleme-parçalanma zincir transferi (RAFT) polimerizasyon yöntemi ile sentezlenmiştir [56] (Şekil 2.15).

Hazırlanan formülasyonların, iki pankreas kanseri hücre hattına (MiaPaCa-2 ve BxPC-3) karşı sitotoksik etkileri *in vitro* olarak test edilmiştir. Sıcaklık duyarlı ilaç salımı yapan nanotaşıyıcıların, test edilen her iki hücre hattında, monoterapiler olarak veya serbest ilaçların kombinasyonu halinde kıyaslandığında IC₅₀ değerlerinde 10 kattan fazla daha iyi sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir [56]. Cisplatin ve gemsitabin içeren ikili ilaç taşıyıcı sistemlerine örnek olarak manyetik poli(etil-2-siyanoakrilat) (PECA) nanopartiküller arayüzey polimerizasyon yöntemi ile hazırlanmıştır [57].



Şekil 2.15 : (a) Nanoformülasyonları için kullanılan bileşenlerin kimyasal yapısı. (b) Isı uygulamasından sonra, TR bloğu bobinden globüle geçişe uğraması ve lipid membranın bozulması ve ilaçların salımı [56].

Göğüs kanserine yönelik gemitabin ve cisplatin birarada uygulandığı kombinasyon tedavisini içeren hedefli polimerik nanotaşıyıcı sistemler literatürde bulunmamaktadır. Bu nedenle, bu çalışmada kullanılan terapötik strateji, farklı ilaçların kombinasyonlarını içeren yeni bir hedefli polimerik konjugat platformlarının sentezi ve antikanser ilaçların birlikte iletimiyle istenen sinerjik bir etki oluşturarak daha etkin bir tedavi yaklaşımı sunabilir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kimyasallar ve Kullanılan Cihazlar

3.1.1. Kimyasallar

1-Bütantiol ($\geq\%99,0$), potasyum terbutoksit ($\geq\%98,0$), karbondisülfid ($\geq\%99,0$), 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-karbodiimid hidroklorür (EDC, $\geq\%98,0$), 1-hidroksibenzotriazol hidrat (HOBT, $\geq\%97,0$), 4,4'- azobis(4-siyanovalerik asit) (ACVA, $\geq\%98,0$), sodyum hidroksit (ACS Reagent, ≥ 97 pellet), borontriflorür dietil eterat (sentez için), D-glukoz ($\geq\%99,5$), D-(-)-fruktoz ($\geq\%99,0$), 2-hidroksi etil metakrilat (HEMA, $\geq\%99,0$), akrilol klorür ($\geq\%97,0$), asetik anhidrit (Reagentplus[®] $\geq\%99,0$), florosein-O-metakrilat ($\geq\%95,0$), 2,2'-azobis(2-metilpropiyonitril) (AIBN, $\geq\%98,0$), cisplatin (cis-diaminplatinum (II) diklorür) (cisPt, $\geq 99,9$), gümüş nitrat ($\geq\%99,0$), florosein izotiyosiyanat (FITC, $\geq\%90,0$), dietil eter ($\geq\%99,5$), petrol eteri (ACS Reagent $\geq\%90,0$), trietilamin (Et_3N , $\geq\%99,0$), N,N-dimetil formamid (DMF, $\geq\%99,8$), diklorometan (DCM, HPLC için $\geq\%99,8$), tetrahidrofuran (THF, $\geq\%99,9$), kloroform ($\geq\%99,4$), trifloroasetik asit (TFA, Reagentplus[®] $\geq\%99,0$), nitrik asit (HNO_3 , ACS Reagent $\geq\%70,0$) kimyasallarının tamamı Sigma Aldrich'den alınarak kullanıldı. Metanol (MeOH , $\geq\%99,5$), asetonitril (likit kromatografi için $\geq\%99,9$), dioksan (likit kromatografi için $\geq\%99,8$), piridin (EMSURE ACS Reagent $\geq\%99,5$), toluen (EMSURE, analiz için), sodyum tiyosülfat (EMPLURA, $\geq 97,0$), hidroklorik asit (HCl , EMPLURA $\geq\%32,0$) çözücülerinin tamamı Merck'ten temin edilerek kullanıldı. Etil asetat (EtOAc , $\geq 99,7\%$ LC-MS için), n-hekzan ($\geq\%96,0$) çözücülerini ve sodyum bikarbonat ($\geq\%99,0$), sodyum karbonat ($\geq\%99,0$), sodyum sülfat (ACS analizi için) kimyasalları Isolab'dan alındı. Sodyum asetat (ACS Reagent $\geq\%99,0$) Alfa Aesar'dan temin edildi. 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid (MTT), fosfat bovine serum tampon çözeltisi (PBS, tablet 100 mL için) Invitrogen'den temin edildi. 4 Å moleküler sieve Merck, 3,5 kDa Diyaliz membranı Repligen'den alındı. Gemsitabin hidroklorür (Gem) KOÇAK farma A.Ş. tarafından temin edildi. Geri kalan tüm kimyasallar Sigma Aldrich'ten alınarak herhangi bir ileri saflaştırma yapılmaksızın kullanıldı.

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

Reaksiyonlar sırasında HEIDOLPH Labortechnique ısıtıcılı manyetik karıştırıcı kullanılmış ve reaksiyon sonunda elde edilen maddelerin çözücüleri HEIDOLPH Labaroto döner buharlaştırıcı kullanılarak uçurulmuştur. Saflaştırma aşamalarından sonra elde edilen maddeleri kurutulmak için VACUCELL vakum inkübatörü kullanılmıştır. ¹H NMR ölçümleri, 500 MHz'lik Bruker NMR cihazında CDCl₃ ve CD₃OD çözücüleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Fourier dönüşümlü infrared (FTIR) spektrumları platin-ATR aksesuarı ile (ZnSe kristali) ALPHA Bruker spektrometresinde kaydedilmiştir. Jel geçirgenlik kromatografisi (GPC) ölçümleri, bir pompa ve Viscotek VE 3580 refraktif indeks (RI) dedektöründen oluşan Viscotek GPCmax VE 2001 Autosampler sistemi kullanılarak alınmıştır. Seri olarak bağlanmış üç Viscotek GPC kolonu (T3000, LT4000L ve LT5000L) (iç çap 7,8 mm, 300 mm uzunluk) ve bir Viscotek guard kolonu (CLM3008, iç çap 4,6 mm, 10 mm uzunluk) kullanılmıştır. Ölçümler 35 °C'de 1,0 mL/dakika akış hızında yapılmıştır ve çözücü olarak THF kullanılmıştır. Dedektör, dar molekül ağırlığı dağılımına sahip PS standartlarıyla kalibre edilmiş ve veriler Viscotek OmniSEC 4.7.0 yazılımı kullanılarak analiz edilmiştir. DMF-GPC deneyleri TOSOH EcoSEC/GPC sisteminde gerçekleştirilmiştir. Sistem kırılma indeksi (RI), UV, DLS Wyatt Dynapro Nanostar ve DAWN HELEOS-18 çok açılı lazer ışığı saçılma dedektörü (MALLS dedektörü, Wyatt Teknoloji, Santa Barbara, CA, ABD) içermektedir. N,N-Dimetilformamid (0.01 M LiBr/DMF, 50 °C'de 0,5 mL/dakika akış hızına sahip DMF sınıfı) mobil faz olarak kullanıldı. DMF-GPC analizleri seri olarak bağlanmış (TSKgel HHR guard kolon, G3000 HHR ve G5000 HHR) (7,8 mm ID x 30 cm) kolonlarla gerçekleştirildi. Nanopartiküllerin ortalama partikül boyutu ve partikül boyutu dağılımları, 633 nm dalga boyunda ve 25°C'de bir Malvern NanoZSP dinamik ışık saçılım (DLS) spektrometresi cihazı kullanılarak dH₂O içerisinde 173°'lik ölçüm açısı ile belirlenmiştir.

3.2. Gemsitabin ve Cisplatin Yüklü Nanotaşıyıcı Sistemin Sentezi

İki ilaç içeren taşıyıcı sistemin sentezlenmesi için öncelikle nanopartikülleri oluşturulacak polimerlerin RAFT polimerizasyonunda kullanılacak Gemsitabin (Gem) taşıyan ajan sentezlenmiştir. Polimerlerin tekrarlanan ünitelerini oluşturacak şeker monomerlerinin sentezlendikten sonra diblok kopolimerlerin sentezi

gerçekleştirilmiştir. Diblok polimerler hidroliz edilmiş, ardından Cisplatin (cisPt) yüklenerek ikili ilaç yüklü nanopartiküllerin sentezi gerçekleştirilmiştir.

3.2.1. RAFT ajanı sentezi

Gem konjuge RAFT ajanı üç basamakta sentezlenmiştir. Öncelikle RAFT ajanının öncüsü olan bis-(bütansülfanil tiyokarbonil) disülfid sentezlenmiş, bu öncü kullanılarak bütül 2-siyanopropan2-il-tritiyokarbonat (CBPA) RAFT ajanı sentezlenerek son basamakta bu ajanın Gem ile reaksiyonu gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.1. Bis-(bütansülfanil tiyokarbonil) disülfid sentezi

Bis-(bütansülfanil tiyokarbonil) disülfid sentezi literatürdeki prosedüre göre gerçekleştirildi [58]. 100 mL kuru dietileterde potasyum ter-butoksit (4,190 g, 0,037 mol) 250 mL'lik iki boyunlu cam balonda çözülür. 4 mL 1-Bütantiol (3,368 g, 0,037 mol) cam pipet yardımıyla balona eklenir ve 5-10 °C'de karıştırılır. Yarım saat karışmanın ardından beyaz toz şeklinde potasyum tiyobütanat katısını içeren süspansiyon 0 °C'ye soğutulur ve 2,24 mL karbon disülfid (2,842 g, 0,037 mol) şırınga ile damlatılarak eklenir. Yarım saatin sonunda oluşan sarı katı süzülüp tartılır (7 g, 0,034 mol) Katı 100 mL dietil eter ile çözülür ve iyot (I₂) (2,150 g, 0,017 mol) balona yavaş yavaş eklenir ve 1,5 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırılmaya bırakılır. Bu aşamaya kadar olan tüm işlemler azot gazı altında gerçekleştirilir. 2 saatin sonunda karışımdan beyaz potasyum iyodür katısı filtre kağıdı ile süzülerek uzaklaştırılır. Turuncu renkli sıvı filtrat reaksiyona girmeyen I₂ uzaklaştırmak için 2 kere sodyum tiyosülfat çözeltisiyle 1 kere distile suyla yıkanır. Sodyum sülfat üzerinden kurutulur, filtre kağıdıyla süzülüp döner buharlaştırıcıda uçurulur. Kırmızı sıvı şeklinde bis-(bütansülfanil tiyokarbonil) disülfid elde edildi ve proton ve karbon nükleer manyetik rezonans (¹H NMR, ¹³C NMR) spektroskopisiyle karakterize edildi. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ ppm 2.98-2.39 (m, 3H), 1.81-1.58 (m, 2H), 1.49-1.30 (m, 2H), 1.10-0.81 (m, 2H).

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ ppm 13.65 (d, J = 13.49 Hz, 1C), 22.66-21.55 (m, 1C), 29.40 (s, 1C), 38.04 (s, 1C), 221.58 (s, 1C).

3.2.1.2. Bütül 2-siyanopropan2-il-tritiyokarbonat (CBPA) sentezi

Bis-(bütansülfanil tiyokarbonil) disülfid (5,464 g, 16,5 mmol) 120 mL etilasetat ile iki boyunlu 250 mL'lik balonda çözülür. ACVA (6,979 g, 24,0 mmol) tartılıp balona

eklenir. Balon yağ banyosuna alınır ve yarım saat boyunca oda sıcaklığında azot gazı altında karıştırılır. Ardından balon reflux sıcaklığında (80 °C) 24 saat boyunca karıştırılmaya bırakılır. Karışım 5 kere distile suyla yıkanır. Sodyumsülfat üzerinden kurutulur, filtre kağıdıyla süzülüp döner buharlaştırıcıda uçurulur. bütül 2-siyanopropan2-il-tritriyokarbonat 1:2 etilasetat:hekzan çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisiyle saflaştırılır [58]. Elde edilen bütül 2-siyanopropan2-il-tritriyokarbonat (CBPA) ¹H NMR spektroskopisiyle karakterize edildi. ¹H NMR (500 MHz, *CDCl*₃) δ ppm 1.07-0.83 (m, 1H), 1.69 (dd sekt., 1H), 1.55-1.34 (m, 1H), 2.62-2.26 (m, 1H), 2.87-2.64 (m, 1H), 3.55-3.16 (m, 1H), 1.90 (ddt, 1H).

3.2.1.3. Gemsitabin konjuge RAFT ajanı (CBPA-Gem) sentezi

Gemsitabin konjuge RAFT ajanı (CBPA-Gem) sentezi için literatürde var olan prosedür uyarlandı [59]. Gemsitabin hidroklorür (Gem) (0,205 g, 0,686 mmol), 1-Hidroksibenzotriazol hidrat (HOBT) (0,093 g, 0,686 mmol), 1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)-karbodiimid hidroklorür (EDC) (0,131 g, 0,686 mmol), CBPA (0,201 g, 0,686 mmol) tartılıp iki boyunlu 100 mL'lik cam balona alınır, 26 mL kuru dimetil formamid (DMF) ve 2 mL piridin ile çözülür ve argon gazı altında oda sıcaklığında 96 saat boyunca karıştırılır. Uçurulup 50 mL Diklorometan (DCM) ile çözülür ve 3 kez %10 Sodyum bikarbonat çözeltisi ile yıkanır. Sodyum sülfat üzerinden kurutulup süzülür, döner buharlaştırıcıda uçurulur. 1:10 MeOH:DCM çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılır. Elde edilen madde ¹H NMR spektroskopisiyle karakterize edildi. ¹H NMR (500 MHz, *CDCl*₃) δ ppm 10.38-9.73 (1 H, m), 8.06 (1 H, s), 6.37-6.05 (1 H, m), 5.87-5.52 (1 H, m), 4.71-4.26 (1 H, m), 4.27-3.53 (1 H, m), 3.37-3.25 (1 H, m), 2.74-2.44 (1 H, m), 2.38-2.25 (1 H, m), 1.86 (1 H, d, J = 18.97 Hz), 1.66 (1 H, dd, J = 14.25, 7.02 Hz), 1.42 (1 H, td, J = 14.58, 7.16, 7.16 Hz), 0.93 (1 H, t, J = 7.25, 7.25 Hz).

3.3. Monomer Sentezi

Polimerizasyonda kullanılmak üzere dört farklı (met)akrilat yapılı Glukoz ve Fruktoz şeker monomeri sentezlendi.

3.3.1. 1,2,3,4,6-Penta-*O*-asetil- β -D-glukopiranoz (β -GluAc) sentezi

1,2,3,4,6-penta-*O*-asetil- β -D-glukopiranoz daha önce literatürde varolan prosedüre göre sentezlendi [60]. Sodyum asetat (6,1 g, 0,074 mol) ve asetik anhidrit (65 mL, 0,690 mol) yarım saat boyunca azot gazı altında karıştırılır. Reflux sıcaklığına çıkarılır ve 5 dakika aralıklarla β -D-Glukopiranoz (Glu) (11,9 g, 0,066 mol) yavaş yavaş eklenir. 45 dakika sonunda tüm Glukoz eklendikten sonra reaksiyon karışımı 500 mL buzlu su içerisine çöktürülür. 15 dakika karıştırıldıktan sonra beyaz katı çökelek krozedden süzülür, vakum etüvünde kurutulur. Elde edilen ürün ^1H NMR spektroskopisiyle karakterize edildi. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ ppm 5.72 (d, J = 8.31 Hz, 1H), 5.25 (t, J = 9.43, 9.43 Hz, 1H), 5.21-5.05 (m, 1H), 4.29 (dd, J = 12.50, 4.53 Hz, 1H), 4.12 (dd, J = 12.49, 2.12 Hz, 1H), 3.84 (ddd, J = 10.04, 4.48, 2.19 Hz, 1H), 2.17-2.00 (m, 1H).

3.3.2. 2-(2',3',4',6'-Tetra-*O*-asetil- β -D-glukozi)etil metakrilat (β -GluAcMA) sentezi

2-(2',3',4',6'-tetra-*O*-asetil- β -D-glukozi)etil metakrilat sentezi daha önce literatürde var olan prosedüre göre gerçekleştirildi [61]. β -GluAc (11 g, 28 mmol) 120 mL diklorometan ile 3 boyunlu 250 mL'lik cam balonda çözülür. 4 Å moleküler sieve eklenir ve balon septayla kapatılarak azot gazı altında yarım saat karıştırılır. 2-hidroksi etil metakrilat (4,78 mL, 39 mmol) cam şırınga ile balona eklenir. Balon buza alınır ve Borontriflorür dietil eterat (17,37 mL, 140 mmol) yavaşça damlatılır. Reaksiyon karanlıkta oda sıcaklığında 48 saat boyunca gerçekleşir. Reaksiyon karışımı filtre kağıdıyla süzülür. Bir kere buzlu suyla, iki kere sodyum bikarbonat çözeltisiyle, bir kere de distile suyla yıkanır. Uçurular, Sodyum sülfat üzerinden kurutulup filtre kağıdıyla süzülür ve döner buharlaştırıcıda uçurular. GluAcMA 1:3 dietil eter: petrol eteri kolon kromatografisiyle saflaştırılır. Elde edilen ürün ^1H NMR spektroskopisiyle karakterize edildi. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ ppm 6.16 (s, 1H), 5.66-5.52 (m, 1H), 4.61 (ddd, J = 16.67, 8.00, 2.68 Hz, 1H), 4.52-4.43 (m, 1H), 4.43-4.31 (m, 1H), 4.31-4.19 (m, 1H), 4.00-3.86 (m, 1H), 3.84-3.72 (m, 1H), 1.58-1.32 (m, 1H), 4.16 (d, J = 11.86 Hz, 1H), 2.00-1.95 (m, 1H).

3.3.3. 2-(2',3',4',6'-Tetra-*O*-asetil- β -D-glukozi)etil akrilat (β -GluAcA) sentezi

2-(2',3',4',6'-tetra-*O*-asetil- β -D-glukozi)etil akrilat sentezi daha önce literatürde varolan prosedür uyarlanarak gerçekleştirildi [61]. β -GluAc (5,79 g, 14 mmol) 75

mL diklorometanla 3 boyunlu 100 mL'lik cam balonda çözülür. 4 Å moleküler sieve eklenir ve cam balon septayla kapatılarak azot gazı altında yarım saat karıştırılır. 2-hidroksi etil akrilat (2,38 mL, 20 mmol) cam şırınga ile balona eklenir. Balon buza alınır ve borontriflorür dietil eterat (9,14 mL, 74 mmol) cam şırıngayla yavaşça damlatılır. Reaksiyon karanlıkta oda sıcaklığında 48 saat boyunca gerçekleşir. Reaksiyon karışımı filtre kağıdıyla süzülür. Bir kere buzlu suyla, iki kere sodyum bikarbonat çözeltisiyle, bir kere de distile suyla yıkanır. Uçurular, Sodyum sülfat üzerinden kurutulup filtre kağıdıyla süzülür ve döner buharlaştırıcıda uçurular. Ürün 1:3 dietil eter:petrol eteri kolon kromatografisiyle saflaştırılır. Elde edilen ürün ¹H NMR spektroskopisiyle karakterize edildi. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ ppm 3.71 (ddd, J = 9.99, 4.76, 2.41 Hz, 1H), 3.85-3.79 (m, 1H), 4.05 (ddd, J = 11.61, 5.03, 3.80 Hz, 1H), 5.09 (t, J = 9.69, 9.69 Hz, 1H), 5.21 (t, J = 9.50, 9.50 Hz, 1H), 6.46-6.40 (m, 1H), 6.14 (t sekt., J = 6.86, 6.86, 5.36, 5.36, 5.36, 5.36, 5.36 Hz, 1H), 5.90-5.84 (m, 1H), 4.28-4.24 (m, 1H), 4.34-4.28 (m, 1H), 2.16-2.01 (m, 1H).

3.3.4. 2,3:4,5-Di-O-izopropiliden-β-D-fruktopiranoz (*i*pr-Fru) sentezi

2,3:4,5-di-O-izopropiliden-β-D-fruktopiranoz sentezi için literatürde var olan prosedür takip edildi [62]. Beyaz katı toz halindeki D-fruktoz (18 g, 100 mmol) 500 mL'lik cam balonda 350 mL aseton içerisindeki 17,5 mL soğuk konsantre sülfirik asit üzerine eklenir. Balon oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı üzerine alınarak 8 dakika boyunca tüm şeker çözünene kadar karıştırılır. Reaksiyon oda sıcaklığında ek olarak 82 dakika boyunca gerçekleşir, ardından balon buz içerisine alınarak soğutulur. Balon karışmaktayken üzerine soğuk 250 mL suda sodyum hidroksit (5,5 g, 137 mmol) çözeltisi eklenir. Solüsyon döner buharlaştırıcıda uçurular. 100 mL DCM ile çözülür 50 mL dH₂O ile iki kez ekstrakte edilir. DCM fazı sodyum sülfat üzerinden kurutulur, filtre kağıdıyla süzülüp döner buharlaştırıcıda uçurular.

3.3.5. 1-O-Metakriloil-2,3:4,5-di-O-izopropiliden-D-fruktopiranoz (*i*pr-FruMA) sentezi

1-O-metakriloil-2,3:4,5-di-O-izopropiliden-D-fruktopiranoz sentezi için daha önce literatürde var olan prosedür takip edildi [62]. Daha önceden sentezlenen *i*pr-Fru (10 g, 3,84x10⁻² mol) monomeri tartılıp 100 mL diklorometanla 250 mL'lik iki boyunlu cam balonda çözülür. Trietilamin (11,78 mL, 8,45x10⁻² mol) iki boyunlu cam balona eklendikten sonra karışım argon gazı altında 45 dakika boyunca oda sıcaklığında

karıştırılır. Balon buza alınarak akriloil klorür (4,68 mL, $5,76 \times 10^{-3}$ mol) cam şırınga ile yavaşça damlatılır. Karanlıkta oda sıcaklığında 24 saat boyunca reaksiyon gerçekleşir. Ardından reaksiyon karışımı iki kere 0,1 M sodyum karbonat çözeltisiyle bir kere de distile suyla ekstrakte edilir. Sodyum sülfat üzerinden kurutulur, filtre kağıdıyla süzülüp döner buharlaştırıcıda uçurulur. Ürün 1:2 etilasetat:hekzan eluent sistemi kullanılarak kolon kromatografisiyle saflaştırılır. *i*pr-FruMA ^1H NMR spektroskopisiyle karakterize edildi. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ ppm 6.16 (s, 1H), 5.66-5.52 (m, 1H), 4.61 (ddd, $J = 16.67, 8.00, 2.68$ Hz, 1H), 4.52-4.43 (m, 1H), 4.43-4.31 (m, 1H), 4.31-4.19 (m, 1H), 4.00-3.86 (m, 1H), 3.84-3.72 (m, 1H), 1.58-1.32 (m, 1H), 4.16 (d, $J = 11.86$ Hz, 1H), 2.00-1.95 (m, 1H).

3.3.6. 1-*O*-Akriloil-2,3:4,5-di-*O*-izopropiliden-D-fruktopiranoz (*i*pr-FruA) sentezi

1-*O*-akriloil-2,3:4,5-di-*O*-izopropiliden-D-fruktopiranoz sentezi için daha önce literatürde var olan prosedür takip edildi [63]. Daha önceden sentezlenen *i*pr-Fru (10 g, 0,384 mmol) monomeri tartılıp 100 mL diklorometanla 250 mL'lik iki boyunlu cam balonda çözülür. Trietilamin (11,78 mL, 0,845 mmol) iki boyunlu cam balona eklendikten sonra karışım argon gazı altında 45 dakika boyunca oda sıcaklığında karıştırılır. Balon buza alınarak metakriloil klorür (5,63 mL, 5,76 mmol) cam şırınga ile yavaşça damlatılır. Karanlıkta oda sıcaklığında 24 saat boyunca reaksiyon gerçekleşir. Ardından reaksiyon karışımı iki kere 0,1 M sodyum karbonat çözeltisiyle bir kere de distile suyla ekstrakte edilir. Sodyum sülfat üzerinden kurutulur, filtre kağıdıyla süzülüp döner buharlaştırıcıda uçurulur. Ürün 1:2 etilasetat:hekzan eluent sistemi kullanılarak kolon kromatografisiyle saflaştırılır. *i*pr-FruA ^1H NMR spektroskopisiyle karakterize edildi. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ ppm 6.51-6.43 (m, 1H), 6.18 (td, $J = 17.33, 7.87, 7.87$ Hz, 1H), 5.86 (dd, $J = 10.45, 1.32$ Hz, 1H), 4.64-4.60 (m, 1H), 4.51 (d, $J = 11.77$ Hz, 1H), 4.36 (t, $J = 4.57, 4.57$ Hz, 1H), 4.26 (ddd, $J = 9.18, 6.74, 2.61$ Hz, 1H), 3.92 (td, $J = 7.32, 3.66, 3.66$ Hz, 1H), 3.78 (d, $J = 12.54$ Hz, 1H), 1.55-1.33 (m, 1H), 4.16-4.13 (m, 1H).

3.4. RAFT Polimerizasyon Yöntemiyle Polimer Sentezi

Tersinir eklenme parçalanma zincir transferi polimerizasyonu yöntemi kullanılarak Fruktoz akrilat (*i*pr-FruA) ve Fruktoz metakrilat (*i*pr-FruMA) monomerleriyle

homoblok polimerleri sentezlenmiş ardından asit monomeriyle diblok polimerlerin sentezi gerçekleştirilmiştir.

3.4.1. P(*ipr*-FruA) Homoblok polimer sentezi

Sentezlenen *ipr*-FruA monomeri (0,5 g, 1,6 mmol) tartılıp küçük bir vial alınır ve 1,988 mL asetonitril ile çözülür. CBPA (6,9 mg, 212,0 μ mol) vial eklenir. Ardından 2,2'-Azobis(2-methylpropionitrile) (AIBN) (0,52 mg, 3,18 μ mol) vial eklendikten sonra vial hızlıca septa ve parafilmle kapatılarak azot gazı altında buz içerisinde yarım saat boyunca karıştırılır. Ardından vial 60 °C yağ banyosuna alınarak polimerizasyon başlatılır. 17 saat polimerizasyonun ardından vial yağ banyosundan alınır. İğne ile delinip buza konularak polimerizasyon sonlandırılır. Polimer uçurular, 1 mL THF ile çözülüp 40 mL soğuk heksanda iki kez çöktürülür. Vakum etüvünde kurutulur. 0,1 g polimer elde edildi. Elde edilen madde jel dağılım kromografisi (GPC) ve ¹H NMR spektroskopisiyle karakterize edildi.

3.4.2. P(*ipr*-FruMA) Homoblok polimer sentezi

Daha önceden sentezlenmiş *ipr*-FruMA monomeri (0,50 g, 1,46x10⁻³ mol) tartılıp küçük bir vial alınır ve 1,825 mL asetonitril ile çözülür. CBPA (5,60 mg, 194 μ mol) vial eklenerek çözülür. Ardından AIBN (0,48 mg, 2,92 μ mol) vial eklendikten sonra vial hızlıca septa ve parafilmle kapatılarak azot gazı altında buz içerisinde yarım saat boyunca karıştırılır. Ardından vial 60 °C yağ banyosuna alınarak polimerizasyon başlatılır. 17 saat polimerizasyonun ardından vial yağ banyosundan alınır. İğne ile delinip buza konularak polimerizasyon sonlandırılır. Polimer uçurular, 1 mL THF ile çözülüp 40 mL soğuk heksanda iki kez çöktürülür. Vakum etüvünde kurutulur. 0,4 g polimer elde edildi. Elde edilen madde GPC ve ¹H NMR spektroskopisiyle karakterize edildi.

3.4.3. P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc) Diblok polimer sentezi

Homoblok polimer P(*ipr*-FruMA) (0,2 g, 9,59 μ mol) tartılıp küçük bir vial alınır. 1,917 mL asetonitril ile çözülür. Viale metakrilik asit (0,976 mL, 1,15 mmol) eklenir. Ardından AIBN (0,27g, 1,67 μ mol) vial eklendikten sonra vial hızlıca septa ve parafilmle kapatılarak buz içerisine alınır ve azot gazı altında yarım saat boyunca karıştırılır. Ardından vial 60 °C yağ banyosuna alınarak polimerizasyon başlatılır. 16 saat polimerizasyonun ardından vial yağ banyosundan alınır. İğne ile delinip buza

konularak polimerizasyon sonlandırılır. Polimer uçurular, 1 mL tetrahidrofurana ile çözülüp 40 mL soğuk heksanda iki kez çöktürülür. 0,15 g polimer elde edildi. Elde edilen madde GPC ve ¹H NMR spektroskopisiyle karakterize edildi.

3.4.4. P(*ipr*-FruMA)-Gem Homoblok polimer sentezi

ipr-FruMA monomeri (1 g, 2,9 mmol) tartılıp küçük bir vial alınır ve 3,65 mL asetonitril ile çözülür. Gem konjuge edilen CBPA RAFT ajanı (20,8 mg, 389,0 μ mol) vial eklenerek çözülür. Vial florosein-*O*-metakrilat (1,70 mg, 4,29 μ mol) eklenir. Ardından AIBN (0,96 mg, 5,84 μ mol) vial eklendikten sonra vial hızlıca septa ve parafilmle kapatılarak azot gazı altında buz içerisinde yarım saat boyunca karıştırılır. Ardından vial 60 °C yağ banyosuna alınarak polimerizasyon başlatılır. 17 saat polimerizasyonun ardından vial yağ banyosundan alınır. İğne ile delinip buza konularak polimerizasyon sonlandırılır. Polimer uçurular, 1 mL tetrahidrofurana ile çözülüp 40 mL soğuk heksanda iki kez çöktürülür. 0,74 g polimer elde edildi. Elde edilen madde GPC ve ¹H NMR spektroskopisiyle karakterize edildi.

3.4.5. P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc)-Gem Diblok polimer sentezi

Homoblok polimer P(*ipr*-FruMA) (0,2 g, 9,05 μ mol) tartılıp küçük bir vial alınır, 1,809 mL asetonitril ile çözülür. Vial metakrilik asit (0,092 mL, 1,08 mmol) eklenir. Ardından AIBN (0,37 mg, 2,26 μ mol) vial eklendikten sonra vial hızlıca septa ve parafilmle kapatılarak buz içerisine alınır, azot gazı altında yarım saat boyunca karıştırılır. Ardından vial 60 °C yağ banyosuna alınarak polimerizasyon başlatılır. 16 saat polimerizasyonun ardından vial yağ banyosundan alınır. İğne ile delinip buza konularak polimerizasyon sonlandırılır. Polimer uçurular, 1 mL THF ile çözülüp soğuk 30 mL heksanda iki kez çöktürülür. 0,2 g polimer elde edildi. Elde edilen madde GPC ve ¹H NMR spektroskopisiyle karakterize edildi.

3.5. Sentezlenen Polimerlerin Hidrolizi

Sentezlenen P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc) ve P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc)-Gem polimerlerinin *izopropiliden* halka korumalarını kaldırmak amacıyla asidik ortamda hidroliz reaksiyonu gerçekleştirildi. Reaksiyon sonucunda hidroliz edilmiş P(FruMA-*b*-MAc) ve P(FruMA-*b*-MAc)-Gem polimerleri metanolde çözülüp dietil eter içerisinde çöktürülerek elde edildi.

3.5.1. P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc) Diblok polimerinin hidrolizi

Diblok P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc) polimeri (0,15 g, 4,82 μ mol) tartılıp 10 mL'lik cam balona alınır ve 3,25 mL kloroform ile çözülür. Cam balona 0,3 mL distile su eklenir ve azot gazı altında 15 dakika karıştırılır. Ardından trifloroasetik asit (TFA) (2,21 mL, 289 mmol) cam şırıngayla damlatılarak eklenir. Reaksiyon 24 saat boyunca oda sıcaklığında karanlıkta gerçekleşir. Polimer uçurulur, 1 mL metanolde çözülüp 7 mL soğuk dietil eter içerisine çöktürülür. Elde edilen 0,12 g polimer GPC ve ^1H NMR spektroskopisiyle karakterize edildi.

3.5.2. P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc)-Gem Diblok polimerinin hidrolizi

Diblok P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc)-Gem polimeri (0,2 g, 7,42 μ mol) tartılıp 10 mL'lik cam balona alınır ve 3,25 mL kloroform ile çözülür. Cam balona 0,3 mL distile su eklenir ve azot gazı altında 15 dakika karıştırılır. Ardından TFA (3,69 mL, 482 mmol) cam şırıngayla damlatılarak eklenir. Reaksiyon 24 saat boyunca oda sıcaklığında karanlıkta gerçekleşir. Polimer uçurulur, 1 mL metanolde çözülüp 7 mL soğuk dietil eter içerisine çöktürülür. Elde edilen 0,13 g polimer GPC ve ^1H NMR spektroskopisiyle karakterize edildi.

3.6. Polimerik Nanopartiküllerin Sentezi

3.6.1. Cisplatin taşımayan polimer nanopartikül sentezi

50 mg P(FruMA-*b*-MAc) (NP0) ve P(FruMA-*b*-MAc)-Gem (NP1) iki ayrı vialde tartılarak 5 mL distile suda çözülür. 0,025 mL 2 mg/mL florosein izotiyosiyanat (0,5 mg, 12,8 μ mol) eklenir. Toplam hacim 10 mL olacak şekilde distile suyla tamamlanır.

3.6.2. Cisplatin yüklü nanopartikül sentezi

3.6.2.1. Cisplatin aktivasyonu

Cisplatin (cisPt) yüklü nanopartikül oluşturmak için önceden hazırlanan suda cisPt solüsyonu kullanıldı. cisPt (100 mg, 33,3 mmol) tartılıp 50 mL su eklenerek çözülür. Ardından gümüş nitrat (113 mg, 66,6 mmol) eklenerek 20 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. Oluşan gümüş klorür katısını uzaklaştırmak için karışım alınarak 2,5 saat boyunca santrifüj edildi ve santrifüj tüpü değiştirildi. cis-

$[Pt(NH_3)_2(H_2O)_2]^{+2}$ solüsyonu alınarak 0,22 mikrometrelik şırınga filtresiyle filtre edildi. Solüsyonun içerdiği Platinyum (Pt) elementi miktarı induktif eşleşmiş plazma-kütle spektroskopisi (ICP-MS) analizi kullanılarak belirlendi.

3.6.2.2. P(FruMA-*b*-MAc) Polimerine cisPt yüklenmesi: P(FruMA-*b*-MAc)-cisPt nanopartikülü sentezi (NP2)

P(FruMA-*b*-MAc) polimeri (50 mg, 19,8 µmol) tartılıp vial alınır. Toplam hacim 10 mL olacak şekilde distile su ile çözülür. 0,35 mL 0,1 N NaOH eklenerek pH 9'a getirilir. 0,025 mL 2 mg/mL florosein izotiyosiyanat (0,5 mg, 12,8 µmol) eklenir. 1,03 mL cisPt solüsyonu şırınga ile çekilerek 0,2 mL/saat olacak şekilde vial 250 rpmde karıştırırken şırınga pompasıyla eklenir. Ardından vial 37 °C'lik inkübatöre alınarak 24 saat boyunca karıştırılır. Örnek 3,5 kDa diyaliz membranı içerisine bir gün boyunca alınıp suya karşı diyaliz gerçekleştirilir. Oluşturulan nanopartikül NP2 dinamik ışık saçılımı (DLS) ölçümüyle karakterize edildi. Nanopartikülün içerdiği Pt elementi miktarı ICP-MS analizi kullanılarak belirlendi.

3.6.2.3. P(FruMA-*b*-MAc)-Gem Polimerine cisPt yüklenmesi: P(FruMA-*b*-MAc)-Gem-cisPt sentezi (NP3)

P(FruMA-*b*-MAc)-Gem polimeri (50 mg, 22,8 µmol) tartılıp vial alınır. Toplam hacim 10 mL olacak şekilde distile su ile çözülür. 0,375 mL 0,1 N NaOH eklenerek pH 9'a getirilir. 0,025 mL 2 mg/mL florosein izotiyosiyanat (0,5 mg, 12,8 µmol) eklenir. 1,029 mL cisPt solüsyonu şırınga ile çekilerek 0,2 mL/saat olacak şekilde vial 250 rpmde karıştırırken şırınga pompasıyla eklendi. Ardından vial 37 °C'lik inkübatöre alınarak 24 saat boyunca karıştırıldı. Örnek 3,5 kDa diyaliz membranı içerisine bir gün boyunca alınıp suya karşı diyaliz gerçekleştirildi. Oluşturulan nanopartikül NP3 DLS ölçümüyle karakterize edildi. Nanopartikülün içerdiği Pt elementi miktarı ICP-MS analizi kullanılarak belirlendi.

3.7. İlaç Salım Deneyi

NP3 ile 37 °C'de iki farklı pH'ta salım deneyi gerçekleştirildi. İkişer mL örnek 3.5 kDa'lık diyaliz membranı içerisine alınarak pH 5.5 ve pH 7.4'te 40 mL'lik fosfat bovine serum tampon çözeltilerine (PBS) alınarak 37 °C'lik inkübatörde karıştırıldı. Deney başlatıldıktan sonra 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 30, 48, 52, 72, 80 ve 96 saat

sonra tampon çözelti içerisinde 1'er mL örnek çekilerek, 1'er mL PBS çözeltisi kondu. Salım deneyinden alınan örnekler ICP-MS kullanılarak analiz edildi. ICP-MS analizine gönderilen numuneler aşağıda anlatılan prosedüre göre hazırlandı. 2% nitrik asit (HNO₃) (%70 lik çözelti) ve 2% hidroklorik asit (HCl) (%37 lik çözelti) içeren aqua regia karışımı hazırlandı. 128 mL suya 4 mL HNO₃ ve 11,4 mL HCl konularak aqua regia solüsyonu hazırlandı. 1 mL salım deneyinden alınan örnekler üzerine vial içerisinde 4 mL ve 250 µL NP2 ve NP3 nanopartikülleri ve cisPt solüsyonu örneklerinin üzerine 4,75 mL aqua regia solüsyonu eklendi. Vialler septa ile kapatılarak 90 °C yağ banyosunda 4 saat boyunca ısıtıldı. İşlem sonunda örneklerin hacimleri kontrol edilip, salım örneklerinin son hacmi 5 mL, diğer örneklerin son hacmi 10 mL olacak şekilde distile su (dH₂O) ile tamamlandı.

3.8. Hücre Kültürü Çalışmaları

3.8.1. Hücrelerin büyüülmesi

Hücre kültürü çalışmaları için MDA-MB-231 meme kanser hücre hattı ve CCD-1079Sk sağlıklı deri fibroblast hücre hattı kullanıldı. Her kuyuda 5x10³ hücre olacak şekilde 200 µL D-MEM besi yerinde 96 ve 12 kuyulu plate içerisine ekim yapılarak %10 CO₂ içeren 37 °C'lik inkübatörde hücrelerin kuyulara tutunmaları için 24 saat bekletildi. 24 saatin sonunda hücrelerin üstündeki besiyeri boşaltılarak kuyular PBS ile yıkandı. Ardından kuyulara yeni besiyeri eklenerek hücrelere uygulanacak işlem gerçekleştirildi.

3.8.2. Sitotoksosite testi

Gem, cisPt solüsyonu, NP0, NP1, NP2 ve NP3 olmak üzere 6 örnek hücrelere uygulandı. Her kuyuda 5x10³ hücre olacak şekilde 200 µL D-MEM besi yerinde 96 kuyulu plate içerisine ekim yapılarak %10 CO₂ içeren 37 °C'lik inkübatörde 24 saat bekletildi. Örnekler 0,78125 µg/mL, 1,5625 µg/mL, 3,125 µg/mL, 6,25 µg/mL, 12,5 µg/mL ve 25 µg/mL konsantrasyonlarında hazırlandı. Ardından kuyulardaki besiyeri boşaltılarak 3 tekrarlı olacak şekilde MDA-MB-231 ve CCD-1079Sk hücrelerine 100 µL besi yeriyle birlikte 100 µL örnek 6 farklı konsantrasyonda hazırlanan örnekler eklendi. Kontrol olarak 100 µL dH₂O kullanıldı. Hücreler 24 saat boyunca %10 CO₂ içeren 37 °C'lik inkübatörde bekletildi. 24 saatin sonunda hücrelerin üzeri boşaltılarak 100 µL MTT karanlık ortamda eklenerek 3 saat boyunca 37 °C'de inkübe edildi. 3 saat sonunda hücrelerin üzeri boşaltılıp 100 µL dimetilsulfoksit

(DMSO) eklendi. Ardından hücre canlılığını belirlemek için mikrolaka okuyucu (ELISA Reader) cihazında ölçüm alındı.

3.8.3. Hücre içi alımın incelenmesi

Hazırlanan Gem ve cisPt içeren NP3 nanopartikülünün hücre içi alım özelliği değerlendirilmek üzere MDA-MB-231 ve CCD-1079Sk hücre hatlarında floresan mikroskopisi kullanılarak inceleme yapıldı. Hücreler 12 kuyucuklu plate içerisine her kuyucukta 2×10^5 hücre olacak şekilde ekim yapıldı. 24 saat boyunca %10 CO₂ içeren 37 °C'lik inkübatörde kuyucuklara tutunmaları için bekletildi. Nanopartikül 0,625 µg/mL konsantrasyon olarak hazırlandı ve 12 kuyucuklu plate içinde D-MEM besi yerinde büyüyen MDA-MB-231 ve CCD-1079Sk hücrelerinin üzerine uygulandı. Hücreler %10 CO₂ içeren 37 °C'lik inkübatörde 3 ve 6 saat bekletildi. 3 ve 6. saatlerin sonunda kuyucukların üzerleri boşaltılarak kuyular PBS ile yıkandı. Ardından hücrelerin üzerine FBS içermeyen besiyeri ve 6, 6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) eklendi. 30 dakikanın ardından floresan mikroskopisi kullanılarak hücreler görüntülendi.

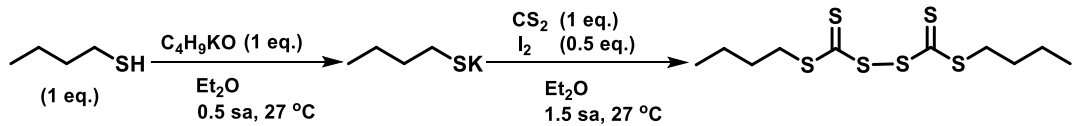
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. RAFT Ajanı Sentezi

Diblok kopolimerin sentezinde başvurulacak antikanser ilaç yüklü RAFT ajanı 3 basamakta sentezlenmiştir.

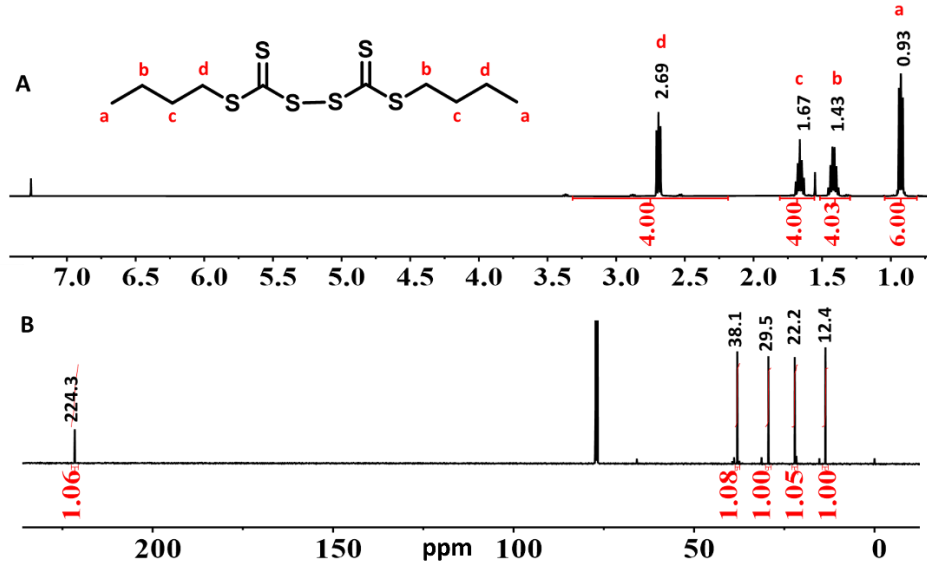
4.1.1. RAFT Ajanı için öncü sentezi

Bis-(bütansülfanil tiyokarbonil)disülfid bileşiği butantiyolün potasyum tert-butoksit ile muamelesi sonucunda oluşan potasyum tiyobütanat ile karbondisülfidin reaksiyonundan elde edildi. (Şekil 4.1) Reaksiyon dietil eter içerisinde oda sıcaklığında 1,5 saat karıştırıldı. Ham ürün 2 kez sodyumtiyosülfat ile 1 kez de distile suyla ekstrakte edildi. %88 verimle elde edilen ürün ileri bir saflaştırma yapılmadan bir sonraki aşamada kullanılmak üzere 4 °C’de saklandı.



Şekil 4.1 : Bis-(bütansülfanil tiyokarbonil)disülfid sentezi.

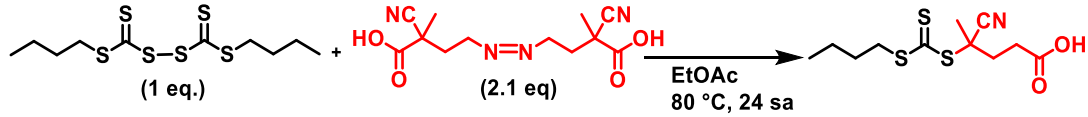
Elde edilen ürün ¹H NMR ve ¹³C NMR spektroskopisiyle karakterize edildi. Bis-(bütansülfanil tiyokarbonil)disülfid bileşiğine ait metilen ve metil protonları Şekil 4.2’de (A) açıkça görülmektedir. Metil protonlarına (d) kıyasla bileşiğin yapısındaki diğer protonların integrasyon değerleri göz önüne alındığında bileşiğin sentezinin başarılı şekilde gerçekleştirildiği görülmektedir. Benzer şekilde Şekil 4.2’de (B) görülen ¹³C NMR spekturumuna bakıldığında bileşiğin yapısındaki beş farklı karbon atomuna ait pikler spektrumda açık şekilde görülmektedir.



Şekil 4.2 : Bis-(bütansülfanil tiyokarbonil)disülfid bileşiğine ait ^1H NMR (A) ve ^{13}C NMR (B) spektrumu (CDCl_3).

4.1.2. CBPA RAFT Ajanı sentezi

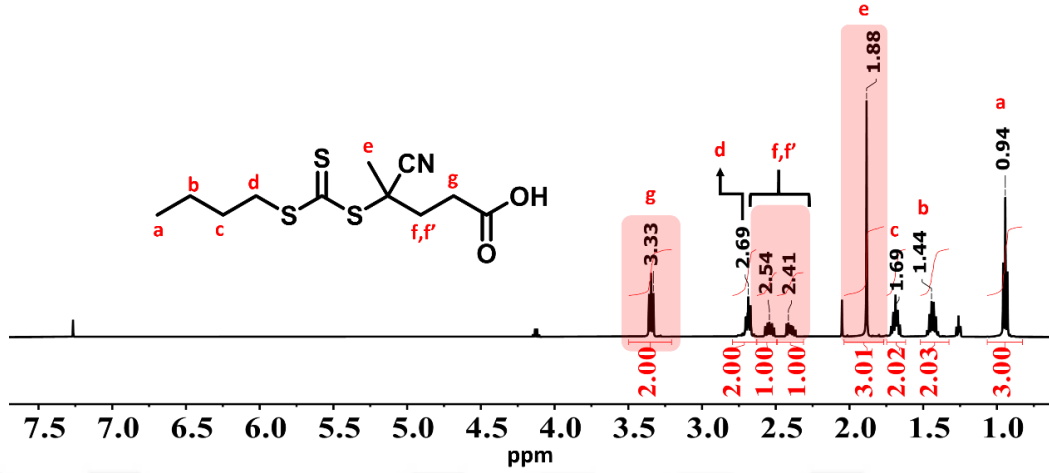
Bütil 2-siyanoopropan 2-il-tritiyokarbonat (CBPA) sentezi bis-(bütansülfanil tiyokarbonil)disülfid ile 4,4'- azobis(4-siyanovalerik asit) (ACVA) bileşiklerinin reaksiyonu sonucunda elde edildi. (Şekil 4.3) Reaksiyon etil asetat içerisinde $75\text{-}80^\circ\text{C}$ 'de 24 saat boyunca gerçekleşti. 5 kez distile suyla ekstrakte edilerek ham ürün elde edildi. Ardından CBPA bileşiği 1:2 etil asetat:hekzan eluent sistemi kullanılarak kolon kromatografisi yöntemiyle %89 verimle saflaştırıldı.



Şekil 4.3 : 2-Siyanoopropan 2-il-tritiyokarbonat (CBPA) sentezi.

Reaksiyon sonunda elde edilen ürün ^1H NMR (Şekil 4.4) ve FTIR (Şekil 4.7) ile karakterize edildi. Tüm protonlar Şekil 4.2'de açıkça görülmektedir. Bir önceki aşamada sentezlenen öncü bileşiğin ^1H NMR spektrumunda öncü bileşikte 2.66-2.71 ppm aralığında gözükken CH_2S - ait triplet pik reaksiyon sonrasında sentezlenen CBPA bileşiğinde 3.23-3.44 ppm aralığında triplet olarak gözükmemektedir ve 2.47-2.59 ile 2.34-2.44 ppm aralıklarında multipler pikler olarak gözükmemektedir. Karboksil grubuna komşu karbon atomuna ait protonlar spektrumda 2.62-2.74 ppm aralığında triplet pik olarak çıkmıştır. Ayrıca siyano grubunun bağlı olduğu karbon

atomuna bağlı metil grubuna ait protonlardan gelen 1.88 ppm’de çıkan singlet pik bileşiğin başarılı şekilde sentezlendiğini göstermektedir.

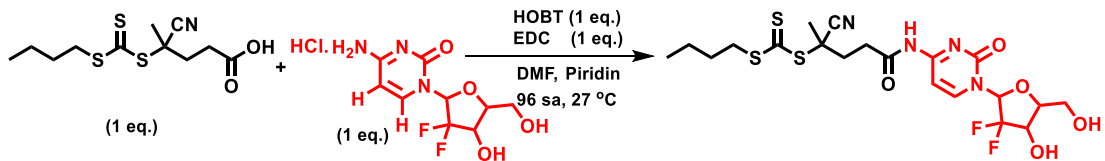


Şekil 4.4 : Bütil 2-siyano-3-(butil-sülfanyol)propanoat bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu (CDCl_3).

CBPA bileşiğine ait FTIR spektrumu Şekil 4.7’de gösterilmektedir. FTIR spektrumunda 2233 cm^{-1} dalga sayılı bant siyano grubuna ait karbon ve azot atomunun yaptığı üçlü bağa ait gerilme titreşimi ve 1715 cm^{-1} dalga sayılı bant karbonil grubunun karbon ve oksijen atomları arasındaki ikili bağa ait gerilme titreşimini göstermektedir. FTIR spektrumuna göre karboksil ve siyano gruplarının yapıya katılmasıyla CBPA bileşiğinin başarılı şekilde sentezlendiği ayrıca anlaşılmaktadır.

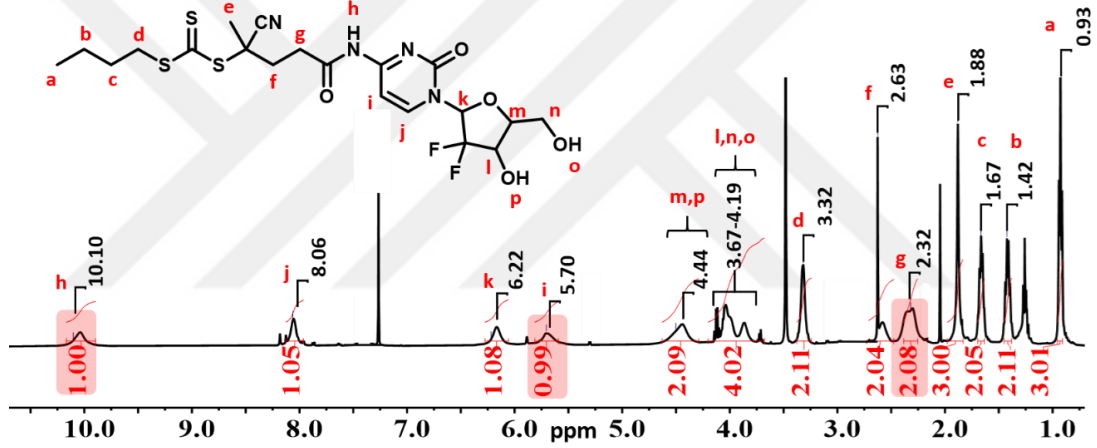
4.1.3. Gemsitabin konjuge CBPA RAFT ajanı (CBPA-Gem) sentezi

CBPA bileşiğine Gem konjugasyon reaksiyonu aktif ester kimyası üzerinden önceki aşamada sentezlenen CBPA ve Gem kullanılarak HOBt ve EDC varlığında oda sıcaklığında 96 saat boyunca gerçekleşti (Şekil 4.5). Ham ürün diklometanda çözülüp sodyum bikarbonat çözeltisiyle ekstrakte edilerek elde edildi. Daha sonra ürün 1:15 MeOH:DCM eluent sistemi ile kolon kromatografisiyle saflaştırıldı. Ürün %40 verimle elde edildi.



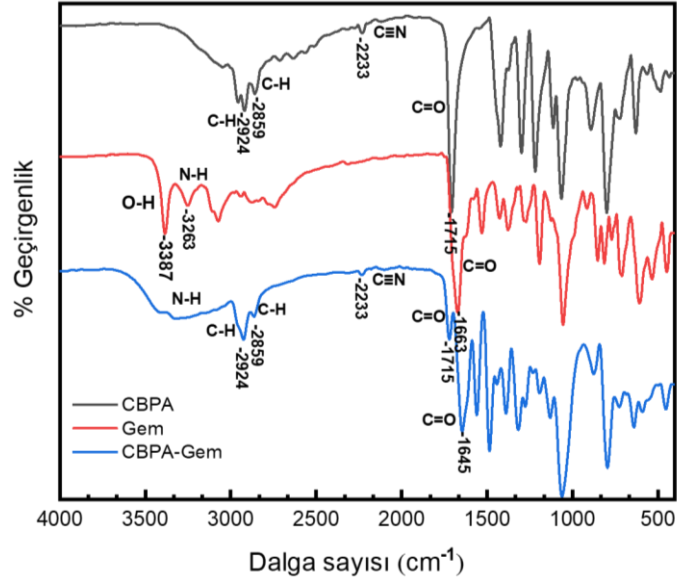
Şekil 4.5 : CBPA-Gem RAFT ajanı sentezi.

Elde edilen ürün ^1H NMR spektroskopisi (Şekil 4.6) ve FTIR (Şekil 4.7) ile karakterize edildi. Şekil 4.6'da CBPA-Gem RAFT ajanına ait protonlar görülmektedir. ^1H NMR spektrumuna göre reaksiyonun sonucunda oluşan ürünün CBPA bileşiğinden gelen 16 protonu spektrumun 0,84-3,37 ppm aralığında ve Gem bileşiğinden gelen 10 proton ise spektrumun 3,63-10,15 ppm aralığında gözükmemektedir. ^1H NMR spektrumunda gözükken bütün protonlara ait piklerin integrasyon değerleri amin grubuna ait protonun (h) integrasyon değerine göre kıyaslandığında CBPA-Gem bileşiği başarılı bir şekilde sentezlendiği anlaşılmaktadır. Aynı zamanda reaksiyon sonucunda oluşan bileşikte Gemsitabin bileşiğinin ^1H NMR spektrumunda 6.18 ppm'de ve CBPA bileşiğinin ^1H NMR spektrumunda 3.32'de çıkan pikin spektrumun sağına kayma gösterdiği görülmektedir.



Şekil 4.6 : Sentezlenen CBPA-Gem bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu (CDCl_3).

Şekil 4.7'de verilen FTIR spektrumunda CBPA/Gem bileşiğindeki karbonil grubunun karbon atomuna bağlı azot atomunun hidrojen atomuyla yaptığı tekli bağın titreşiminin oluşturduğu bant FTIR spektrumunda 3000 ve 3600 dalga sayıları arasında gözükmemektedir. Aynı zamanda CBPA bileşiğinden gelen siyano grubunun karbon ve azot atomları arasındaki üçlü bağın gerilme titreşimi spektrum üzerinde 2233 cm^{-1} dalga sayılı bant şeklinde görülmektedir. Bileşiğin yapısında bulunan iki karbonil grubunun gerilme titreşimleri 1645 cm^{-1} ve 1715 cm^{-1} dalga sayılı bantlarda gözükmemektedir.



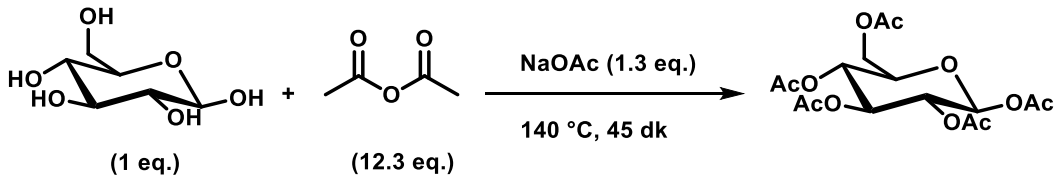
Şekil 4.7 : CPBA, Gem ve CBPA-Gem bileşiklerine ait FTIR spektrumu.

4.2. Monomer Sentezi

Diblok kopolimerlerin hazırlanmasında akrilat ve/veya metakrilat fonksiyoniteleri içeren iki farklı şeker (glukoz ve fruktoz) monomerinin sentezi gerçekleştirilmiştir.

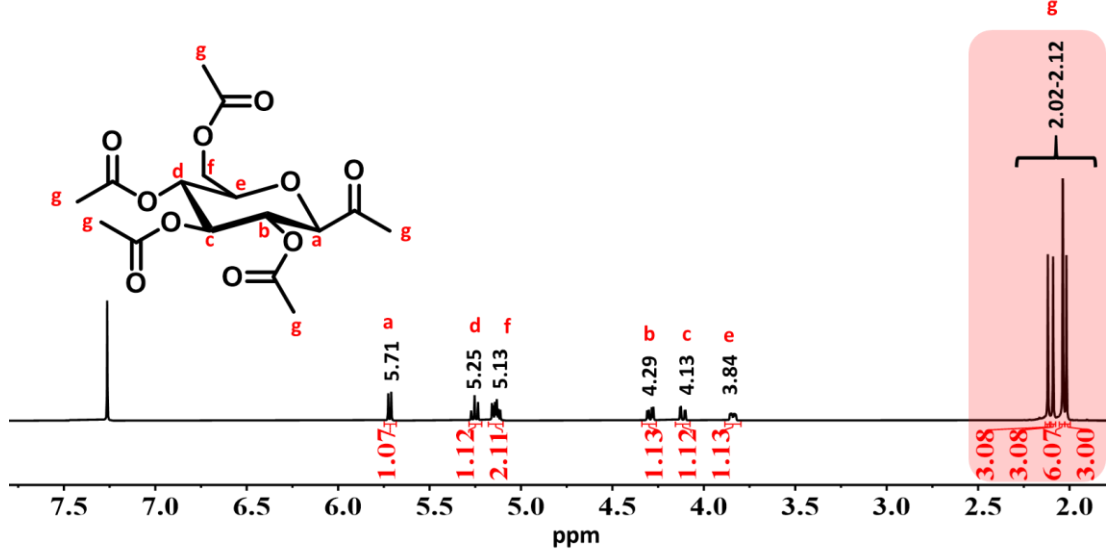
4.2.1. 1,2,3,4,6-Penta-*O*-asetil- β -D-glukopiranoz (β -GluAc) sentezi

1,2,3,4,6-Penta-*O*-asetil- β -D-glukopiranoz (β -GluAc) sentezi β -D-glukopiranoz (Glu) bileşiğinin asetik anhidrit varlığında sodyum asetat kullanarak asetillenmesi reaksiyonu sonucunda elde edildi (Şekil 4.8). Buzlu suda çöktürülüp vakum etüvünde kurutuldu. %43 verimle β -GluAc sentezlendi.



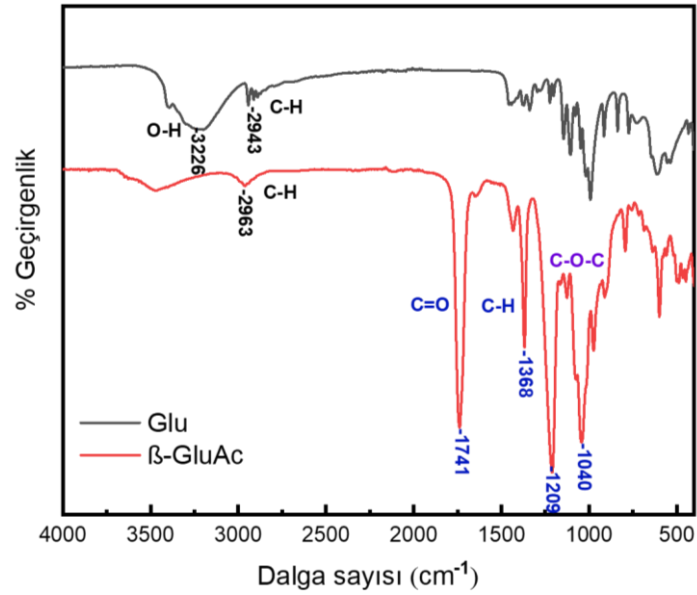
Şekil 4.8 : β -D-glukopiranoz asetilasyon reaksiyonu.

^1H NMR spektroskopisi (Şekil 4.9) ve FTIR (Şekil 4.10) kullanılarak karakterize edildi. Şekil 4.9.'da β -GluAc bileşiğine ait protonlar açık şekilde gösterilmiştir. Spektreminde yapıya katılan beş asetil grubuna ait protonlar 2.01, 2.03, 2.09, 2.09 ve 2.11 ppm'de singlet pikler olarak görülmektedir.



Şekil 4.9 : 1,2,3,4,6-Penta-*O*-asetil- β -D-glukopiranoz (β -GluAc) bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu (CDCl_3).

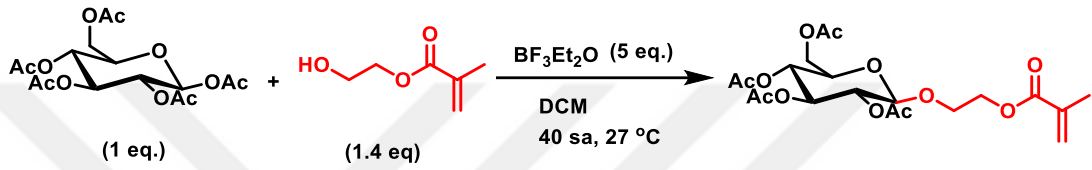
FTIR analizinde elde edilen verilere göre β -GluAc ve Glu bileşiklerine ait FTIR spektrumu Şekil 4.10'da gösterilmektedir. Glu bileşiğinin gösterildiği eğride yapıdaki hidroksil grubuna ait oksijen ve hidrojen atomlarının tekli bağlarına ait titreşim spektrumunda 3226 cm^{-1} dalga sayılı yaygın bant şeklinde gözükmektedir. β -GluAc bileşiğine ait eğride diğer eğriden farklı olarak karbonil grubuna ait 1741 cm^{-1} dalga sayılı bant olarak ve karbonil gerilme titreşimi, 1209 cm^{-1} dalga sayılı bant görülmektedir.



Şekil 4.10 : β -D-Glukopiranoz (Glu) ve 1,2,3,4,6-penta-*O*-asetil β -D-glukopiranoz (β -GluAc) bileşiklerine ait FTIR spektrumu.

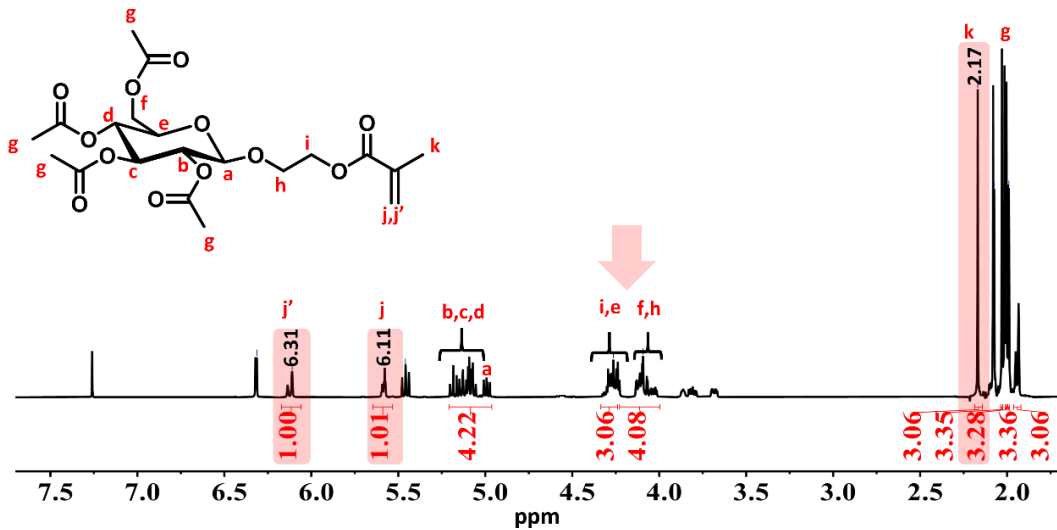
4.2.2. 1-(2-Etoksi metakrilat)-2,3,4,6-tetra-*O*-asetil- β -D-glukopiranoz bileşiğinin (GluAcMA) sentezi

Bir önceki aşamada sentezlenen β -GluAc bileşiği borontriflorür dietil eterat varlığında 2-hidroksi etil metakrilat ile reaksiyonu sonucunda 1-(2-etoksi metakrilat)-2,3,4,6-tetra-*O*-asetil- β -D-glukopiranoz (GluAcMA) sentezlendi (Şekil 4.11). Ham ürün iki kere sodyum bikarbonat çözeltisiyle, bir kere de distile suyla ekstrakte edildi. Ürün 1:3 dietil eter: petrol eteri eluent sistemiyle kolon kromatografisi yöntemi kullanılarak saflaştırıldı. %51 verimle GluAcMA monomeri elde edildi.



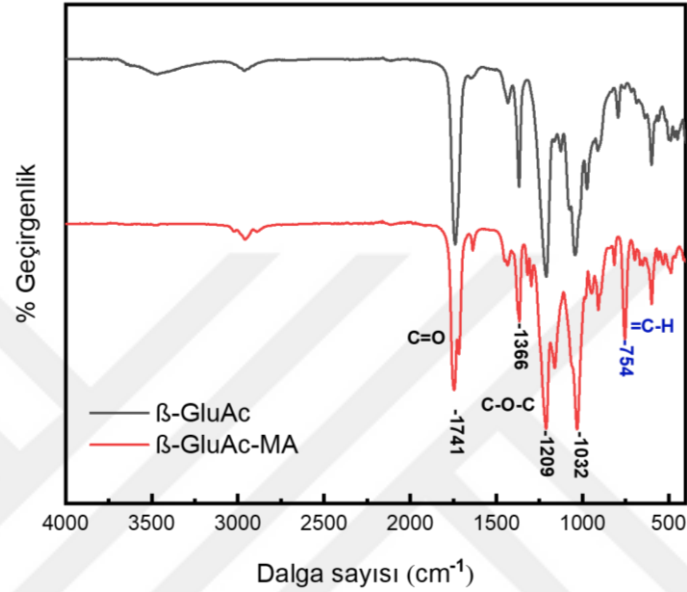
Şekil 4.11 : 1-(2-Etoksi metakrilat)-2,3,4,6-tetra-*O*-asetil- β -D-glukopiranoz bileşiğinin sentezi.

Sentezlenen GluAcMA monomeri ^1H NMR spektroskopisi (Şekil 4.12) ve FTIR (Şekil 4.13) kullanılarak karakterize edildi. Şekil 4.12’de GluAcMA monomerine ait protonlar gösterilmektedir. Monomere ait 6.11 ve 6.31 ppm’de çıkan vinil grubu protonları bileşiğin başarılı şekilde sentezlendiğini göstermektedir. Aynı zamanda 4.00-4.50 ppm aralığında çıkan metilen protonları (i,h) ve 2.17 ppm’de çıkan metil protonlarına ait singlet pike bakılarak bileşiğin sentezinin gerçekleştiği anlaşılmaktadır.



Şekil 4.12 : 1-(2-Etoksi metakrilat)-2,3,4,6-tetra-*O*-asetil- β -D-glukopiranoz (GluAcMA) bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu (CDCl_3).

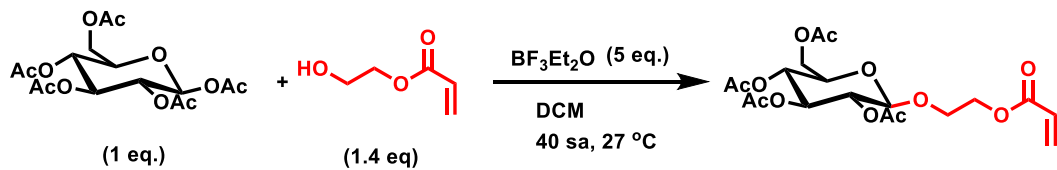
FTIR analizinde elde edilen verilere göre β -GluAc ve sentezlenen GluAcMA bileşiğine ait FTIR spektrumu Şekil 4.13'de gösterilmektedir. FTIR spektrumunda yapıdaki pi bağı yapmış karbon atomunun hidrojen atomu arasındaki gerilme titreşimini gösteren 754 cm^{-1} dalga sayılı bant ve 1740 cm^{-1} 'de çıkan metakrilat ünitesinin karbonil grubuna ait bantın görülmesi GluAcMA bileşiğinin başarılı şekilde sentezlendiğini belirtmektedir.



Şekil 4.13 : 1,2,3,4,6-Penta-*O*-asetil β -D-glukopiranoz (β -GluAc) ve 1-(2-etoksi metakrilat)-2,3,4,6-tetra-*O*-asetil- β -D-glukopiranoz (GluAcMA) bileşiklerine ait FTIR spektrumu.

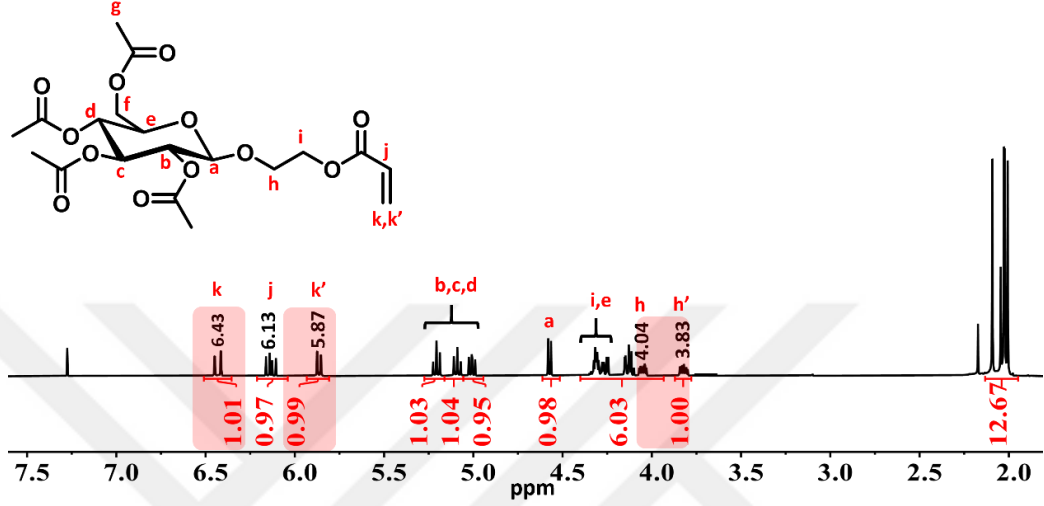
4.2.3. 1-(2-Etoksi akrilat)-2,3,4,6-tetra-*O*-asetil- β -D-glukopiranoz (GluAcA) bileşiğinin sentezi

Önceden sentezlenen β -GluAc borontriflorür dietil eterat varlığında 2-hidroksi etil akrilat ile metakrilatlanması reaksiyonu sonucunda 1-(2-etoksi akrilat)-2,3,4,6-tetra-*O*-asetil- β -D-glukopiranoz (GluAcA) sentezlendi (Şekil 4.14). Ham ürün iki kere sodyum bikarbonat çözeltisiyle, bir kere de distile suyla ekstrakte edildi. Ürün 1:3 dietil eter: petrol eteri mobil faz sistemiyle kolon kromatografisi yöntemi kullanılarak %40 verimle saf bir şekilde elde edildi.



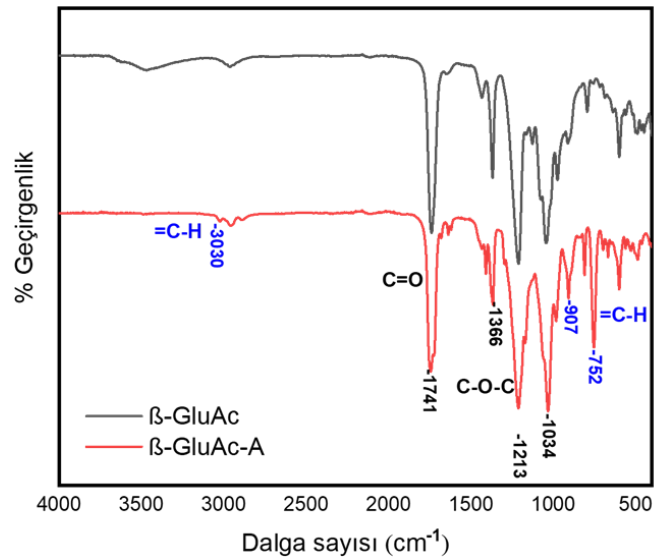
Şekil 4.14 : 1-(2-Etoksi akrilat)-2,3,4,6-tetra-*O*-asetil- β -D-glukopiranoz (GluAcA) bileşiğinin sentezi.

Elde edilen GluAcA monomeri ^1H NMR spektroskopisi (Şekil 4.15) ve FTIR (Şekil 4.16) kullanılarak karakterize edildi. Şekil 4.15’de GluAcA monomerine ait protonlar gösterilmektedir. ^1H NMR spektrumuna göre yapıya katılan vinil grubuna ait protonlar 5.87 ve 6.43 ppm’de çıkan dublet pikler ve 6.13 ppm’de çıkan dd pik olarak gözükmemektedir.



Şekil 4.15 : 1-(2-Etoкси akrilat)-2,3,4,6-tetra-O-asetil-β-D-glukopiranoz (GluAcA) bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu (CDCl_3).

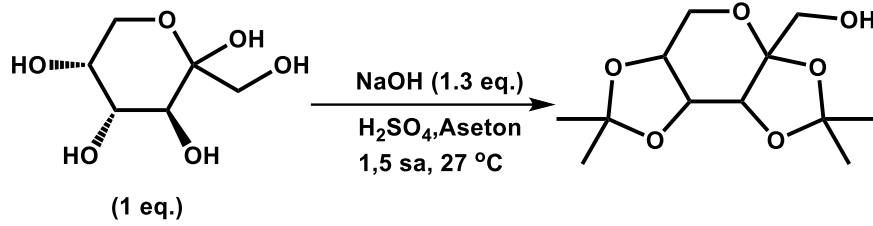
β-GluAc ve GluAcA monomerine ait FTIR spektrumu Şekil 4.16’da gösterilmektedir. Spektrumda karbonil grubuna ait 1741 cm^{-1} dalga sayılı görülmektedir. Ayrıca, vinil grubuna ait 752 cm^{-1} dalga sayılı bant monomerin sentezinin başarılı olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.16 : 1,2,3,4,6-Penta-O-asetil β-D-glukopiranoz (β-GluAc) ve 1-(2-etoksi akrilat)-2,3,4,6-tetra-O-asetil-β-D-glukopiranoz (GluAcA) bileşiklerine ait FTIR spektrumu.

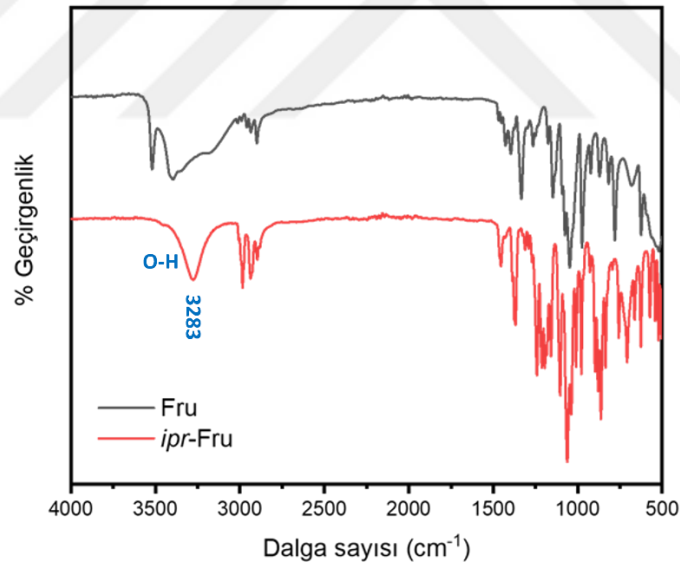
4.2.4. (2,3:4,5-Di-*O*-izopropiliden)- β -D-fruktopiranoz (*ipr*-Fru) sentezi

D-Fruktopiranoz'un (Fru) asidik ortamda sodyum hidroksit varlığında aseton içerisinde oda sıcaklığında 1,5 saat boyunca reaksiyona girmesiyle 2,3:4,5-di-*O*-izopropiliden)- β -D-fruktopiranoz (*ipr*-Fru) sentezlendi (Şekil 4.17). Reaksiyon karışımı DCM ve dH₂O ile ekstrakte edilerek saflaştırıldı ve vakum etüvünde kurutuldu.



Şekil 4.17 : (2,3:4,5-Di-*O*-izopropiliden)- β -D-fruktopiranoz (*ipr*-Fru) sentezi.

2,3:4,5-di-*O*-izopropiliden)- β -D-fruktopiranoz (*ipr*-Fru) bileşiğinin karakterizasyonu için FTIR analizi kullanıldı. Fru ve *ipr*-Fru bileşiklerine ait FTIR spektrumu Şekil 4.18'de verilmiştir.

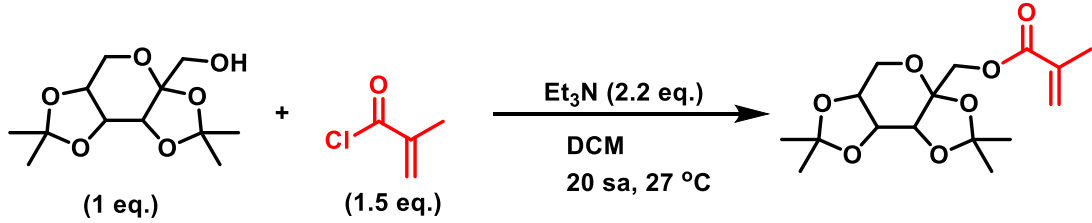


Şekil 4.18 : D-Fruktopiranoz (Fru) ve (2,3:4,5-di-*O*-izopropiliden)- β -D-fruktopiranoz (*ipr*-Fru) bileşiklerine ait FTIR spektrumu.

FTIR spektrumunda Fru bileşiğine ait eğride 3000-3500 cm⁻¹ aralığında görülen hidroksil gruplarının titreşiminden kaynaklanan bant *ipr*-Fru bileşiğine ait eğride 3283 cm⁻¹ dalga sayılı tek bir bant şeklinde görülmektedir.

4.2.5. 1-*O*-Metakriloil-2,3:4,5-di-*O*-izopropiliden-D-fruktopiranoz (*i*pr-FruMA) sentezi

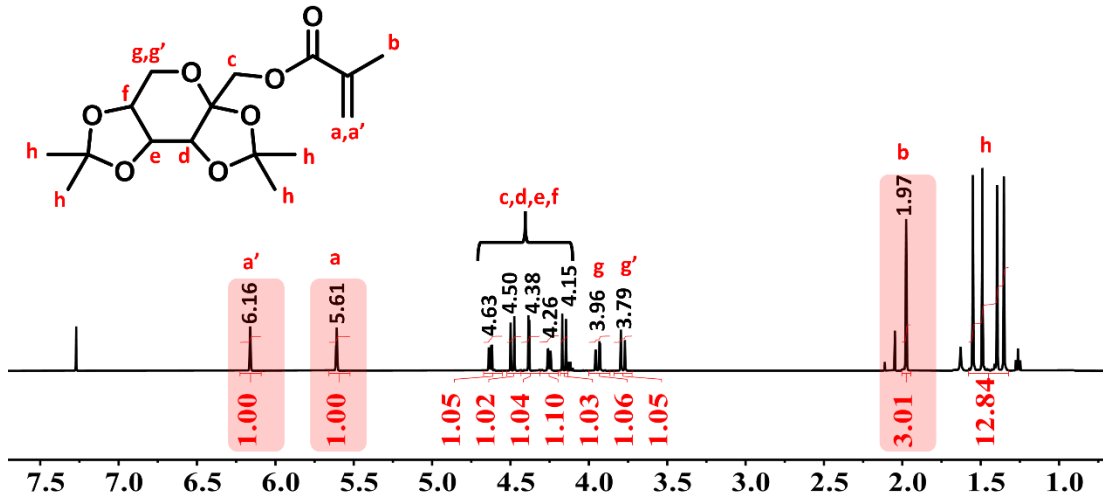
Önceden sentezlenen *izopropiliden* Fruktoz'un (*i*pr-Fru) trietilamin varlığında metakriloil klorürle reaksiyonu sonucunda 1-*O*-metakriloil-2,3:4,5-di-*O*-izopropiliden-D-fruktopiranoz (*i*pr-FruMA) sentezlendi (Şekil 4.19).



Şekil 4.19 : 1-*O*-metakriloil-2,3:4,5-di-*O*-izopropiliden-D-fruktopiranoz (*i*pr-FruMA) sentezi.

Ham ürün iki kere sodyum bikarbonat çözeltisiyle, bir kere de distile suyla ekstrakte edilir. Ürün 1:2 etil asetat:hekzan sistemiyle kolon kromatografisi yöntemi kullanılarak saflaştırıldı. Ürün %70 verimle elde edildi.

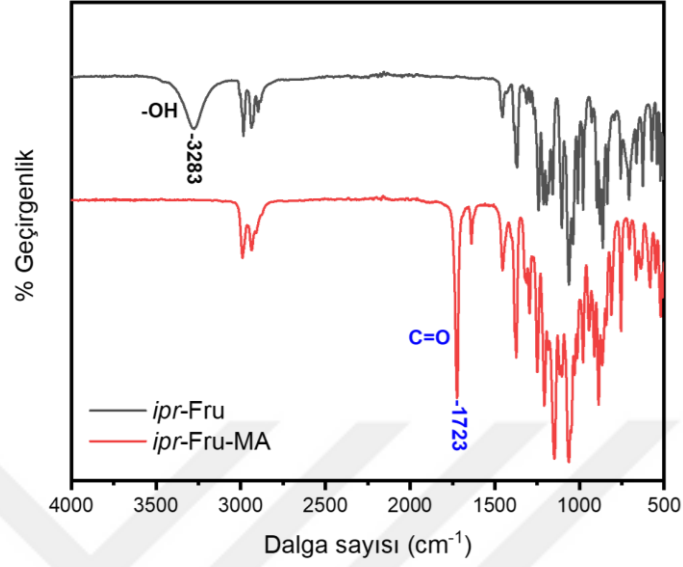
Şekil 4.20'de verilen ¹H NMR spektrumuna göre 1.97 ppm'de görülen vinil grubuna ait siglet pike göre integrasyon değerleri göz önüne alındığında *i*pr-FruMA bileşiğinin başarılı şekilde sentezlendiği anlaşılmaktadır. Ayrıca monomere ait vinil grubu protonları spektrumda 5.61 ve 6.16 ppm'de singlet pikler olarak gözükmektedir.



Şekil 4.20 : 1-*O*-metakriloil-2,3:4,5-di-*O*-izopropiliden-D-fruktopiranoz (*i*pr-FruMA) bileşiğine ait ¹H NMR spektrumu (CDCl₃).

Şekil 4.21'de verilen FTIR spektrumunda *i*pr-Fru bileşiğine ait eğride görülen hidroksil grubuna ait 3283 cm⁻¹ dalga sayılı bant *i*pr-FruMA bileşiğine ait eğride

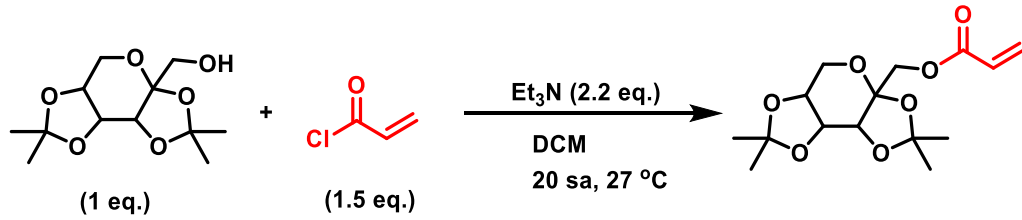
görülmemektedir. Ayrıca yine aynı egrideki 1723 cm⁻¹ dalga sayılı bant bileşiğe eklenen akrilat yapısının vinil grubuna ait atomların titreşiminden kaynaklanmaktadır.



Şekil 4.21 : (2,3:4,5-di-*O*-izopropiliden)- β -D-fruktopiranoz (*ipr*-Fru) ve 1-*O*-metakriloil-2,3:4,5-di-*O*-izopropiliden-D-fruktopiranoz (*ipr*-FruMA) bileşiklerine ait FTIR spektrumu.

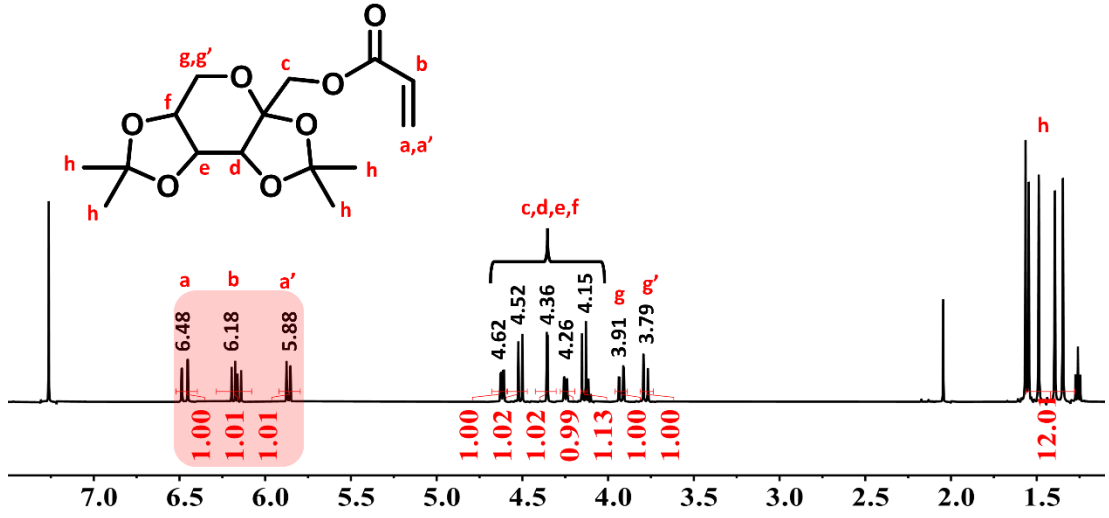
4.2.6. 1-*O*-Akriloil-2,3:4,5-di-*O*-izopropiliden-D-fruktopiranoz (*ipr*-FruA) sentezi

Önceden sentezlenen *izopropiliden* Fruktoz'un trietilamin varlığında akriloyil klorürle akrilatlanması reaksiyonu sonucunda 1-*O*-akriloil-2,3:4,5-di-*O*-izopropiliden-D-fruktopiranoz (*ipr*-FruA) sentezlendi (Şekil 4.22). Ham ürün iki kere sodyum bikarbonat çözeltisiyle, bir kere de distile suyla ekstrakte edilir. Ürün 1:2 etil asetat:hekzan sistemiyle kolon kromatografisi yöntemi kullanılarak saflaştırıldı. Ürün %81 verimle elde edildi.



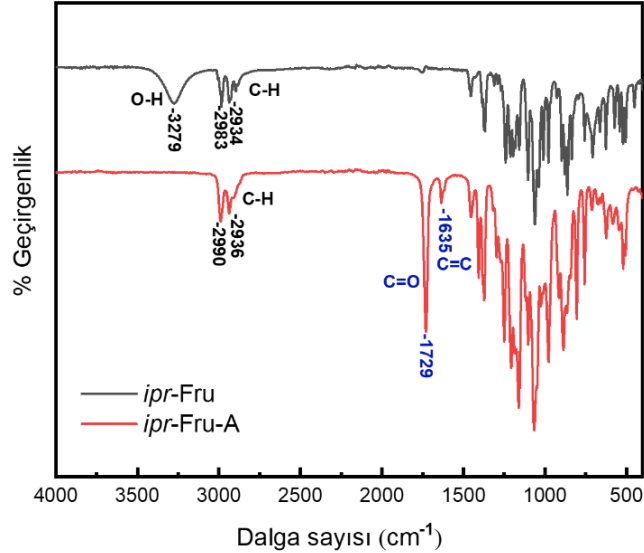
Şekil 4.22 : 1-*O*-akriloil-2,3:4,5-di-*O*-izopropiliden-D-fruktopiranoz (*ipr*-FruA) sentezi.

Elde edilen *ipr*-FruA monomeri ¹H NMR spektroskopisi (Şekil 4.23) ve FTIR (Şekil 4.24) kullanılarak karakterize edildi.



Şekil 4.23 : 1-O-akriloil-2,3:4,5-di-O-izopropiliden-D-fruktopiranoz (*ipr*-FruA) sentezi bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu (CDCl_3).

Şekil 4.23’de *ipr*-FruA monomerine ait protonlar gösterilmektedir. Spektrumda Fruktoz monomerinin halka yapılarında bulunan protonlar 3.75-4.64 ppm aralıklarındaki piklerde görülmektedir. İzopropiliden halkalarına bağlı metil gruplarına ait pikler 1.17-1.63 ppm aralığında singlet pikler olarak gözükmemektedir. ^1H NMR spektrumuna göre vinil grubu atomlarından gelen protonlardan kaynaklanan 5.88 ve 6.48 ppm’de dublet, 6.18 ppm’de kuartet olarak çıkan pikler monomerin başarılı bir şekilde sentezlendiğini göstermektedir.



Şekil 4.24 : (2,3:4,5-di-O-izopropiliden)-β-D-fruktopiranoz (*ipr*-Fru) ve 1-O-akriloil-2,3:4,5-di-O-izopropiliden-D-fruktopiranoz (*ipr*-FruA) bileşiklerine ait FTIR spektrumu.

ipr-Fru ve *ipr*-FruA monomerine ait FTIR spektrumu Şekil 4.24’te gösterilmektedir. FTIR spektrumunda bulunan pi bağı yapan karbon atomlarının ve bileşiğin yapısındaki

karbonil grubuna ait karbon ve oksijen atomlarının titreşimlerinden kaynaklanan sırasıyla 1635 ve 1729 cm^{-1} dalga sayılı bantlar *i*pr-FruA monomerinin başarılı şekilde sentezlendiğini belirtmektedir.

4.3. RAFT Polimerizasyon Yöntemiyle Polimer Sentezi

Öncelikle CBPA RAFT ajanını denemek amacıyla sentezlenen *i*pr-FruA ve *i*pr-FruMA monomerleri kullanılarak iki farklı polimerizasyon gerçekleştirildi. Ardından *i*pr-FruMA monomeri kullanılarak sentezlenen homoblok polimer kullanılarak metakrilik asit (MAc) zincir uzatma reaksiyonu gerçekleştirilerek P(*i*pr-FruMA-*b*-MAc) diblok kopolimeri sentezlendi. Benzer şekilde CBPA-Gem RAFT ajanıyla diblok polimer sentezlendi. Polimerlerin moleküler ağırlıklarının belirlenmesi için GPC ve ^1H NMR analizleri yapıldı (Tablo 4.1).

Tablo 4.1 : Polimerizasyon koşulları ve polimerlerin karakterizasyonu

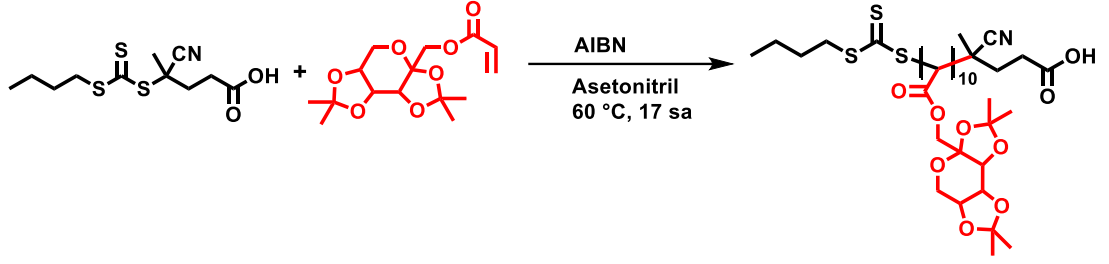
Polimer	[M]:[RAFT]:[B]	Süre	Dön. ^a	$M_{n,\text{NMR}}$	$M_{n,\text{GPC}}^b$	
		(sa)	(%)	(kDa)	M_n	M_w/M_n
P(<i>i</i>pr-FruA)	[75]:[1]:[0,15]	17	20	5,00	1,30	1,18
P(<i>i</i>pr-FruMA)	[75]:[1]:[0,15]	17	80	20,85	10,30	1,16
P(<i>i</i>pr-FruMA-<i>b</i>-MAc)	[120]:[1]:[0,175]	17	75	31,15	10,40	1,18
P(<i>i</i>pr-FruMA)-Gem	[75]:[1]:[0,15]	16	75	22,10	16,75	1,31
P(<i>i</i>pr-FruMA-<i>b</i>-MAc)-Gem	[120]:[1]:[0,25]	16	90	31,00	12,80	1,12

^a Polimerizasyon dönüşümü gravimetrik analizle belirlendi.

^b Moleküler ağırlık (M_n) ve polidispersite indeksi (M_w/M_n) THF GPC ile belirlendi.

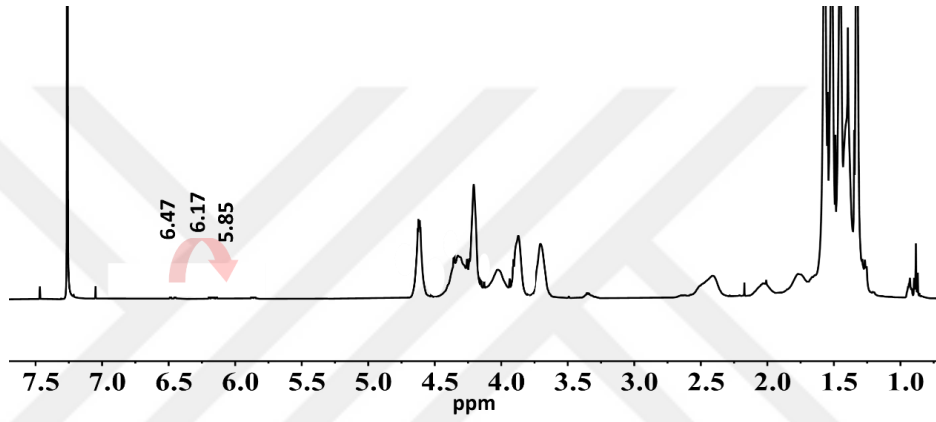
4.3.1. P(*i*pr-FruA) Homoblok polimer sentezi

Polimerizasyon [*i*pr-FruA]:[CBPA]:[AIBN] = [75]:[1]:[0,15] oranında ve monomer konsantrasyonu 0,8 M olacak şekilde 60 °C’de gerçekleştirildi (Şekil 4.25.) Polimer THF’te çözülüp soğuk heksana çöktürülerek reaksiyona girmemiş monomerden uzaklaştırıldı.



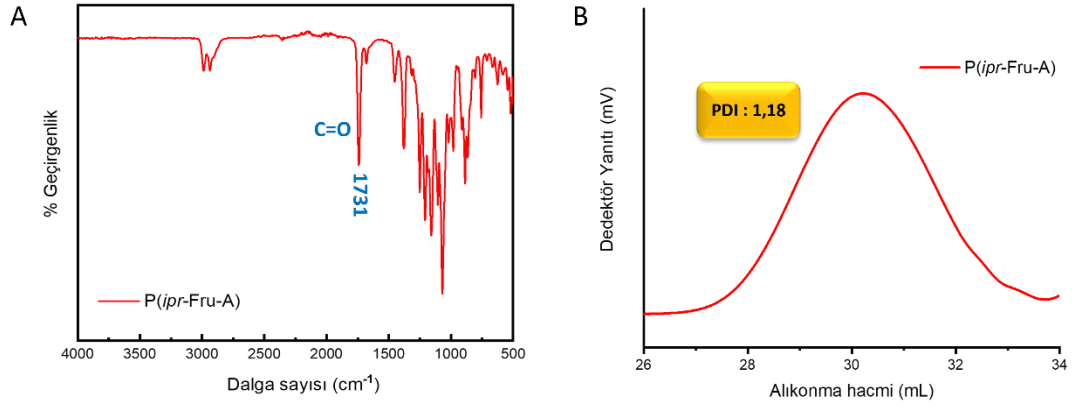
Şekil 4.25 : CBPA RAFT ajanıyla P(*ipr*-FruA) homoblok polimer sentezi.

Elde edilen P(*ipr*-FruA) homoblok polimeri ^1H NMR spektroskopisi (Şekil 4.26) FTIR ve GPC (Şekil 4.27) kullanılarak karakterize edildi. Şekil 4.26’da P(*ipr*-FruA) polimerine ait protonlar gösterilmektedir.



Şekil 4.26 : P(*ipr*-FruA) homoblok polimerine ait ^1H NMR spektrumu (CDCl_3).

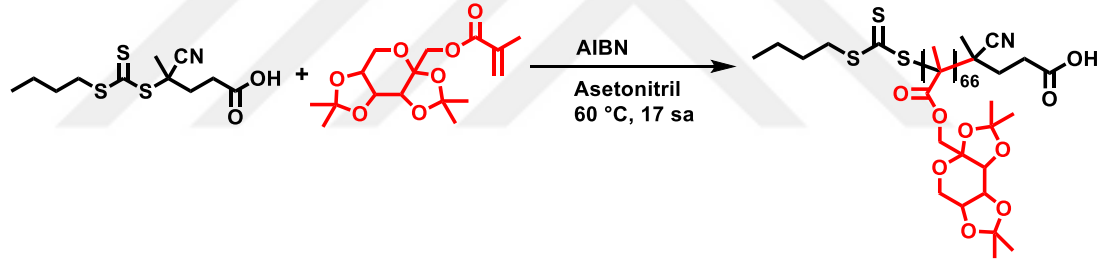
Polimerin sahip olduğu molekül ağırlığı NMR sonucuna göre hesaplama yapılarak 5 kDa olarak bulunmuştur. ^1H NMR spektrumunda 6.47, 6.17 ve 5.85 ppm’de çıkan monomere ait vinil grubu protonlarının dönüşümü kullanılarak tekrarlanan şeker monomerinin ünite sayısı 10 olarak bulunmuştur. Homoblok polimere ait FTIR (A) ve GPC (B) grafiği Şekil 4.27’de verilmiştir. Spektrumda polimerdeki karbonil grubunun atomları arasındaki titreşimden kaynaklı 1741 cm^{-1} dalga sayılı pik görülmektedir. *ipr*-FruA monomerinden sentezlenen homoblok polimere ait GPC sonucuna göre polimerin M_w/M_n değeri 1,18 olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.27 : A) *P(ipr-FruA)* homoblok polimerlerine ait FTIR spektrumu B) *P(ipr-FruA)* homoblok polimerine ait GPC grafiği.

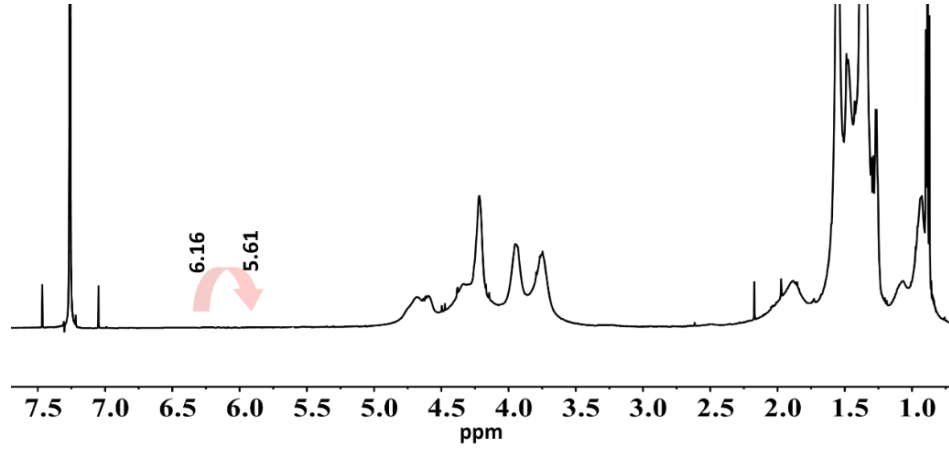
4.3.2. *P(ipr-FruMA)* Homoblok polimer sentezi

Polimerizasyon [*ipr-FruMA*]:[CBPA]:[AIBN] [75]:[1]:[0,15] oranında ve polimerizasyon ortamının molaritesi 0,8 M olacak şekilde 60 °C’de 17 saat boyunca gerçekleştirildi (Şekil 4.28). Polimer THF’te çözülüp soğuk hekzana çöktürülerek elde edildi.



Şekil 4.28 : CBPA RAFT ajanıyla *P(ipr-FruMA)* homoblok polimer sentezi.

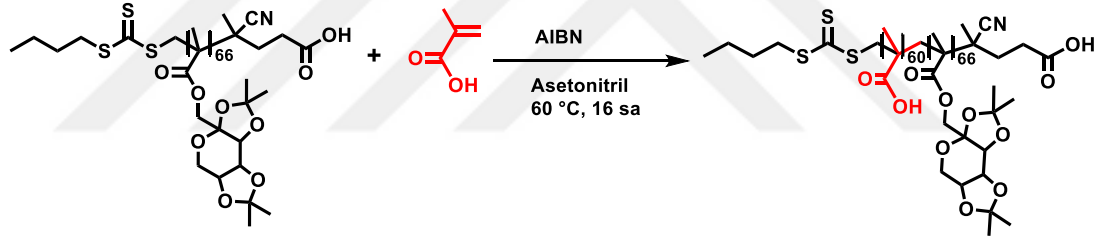
Elde edilen *P(ipr-FruMA)* homoblok polimeri ¹H NMR spektroskopisi (Şekil 4.29), FTIR ve GPC (Şekil 4.32) kullanılarak karakterize edildi. Şekil 4.29’da *P(ipr-FruMA)* homoblok polimerine ait protonlar gösterilmektedir. ¹H NMR analiziyle 6.16 ve 5.61 ppm’de çıkan monomere ait vinil protonlarının dönüşümü kullanılarak yapılan hesaplama göre polimer yapısına katılan şeker ünitesi sayısı 66 olarak belirlenmiştir. ¹H NMR sonucuna göre homoblok polimerin sahip olduğu moleküler ağırlık 20,85 kDa olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.29 : P(*ipr*-FruMA) homoblok polimerine ait ^1H NMR spektrumu (CDCl_3).

4.3.3. P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc) Diblok polimer sentezi

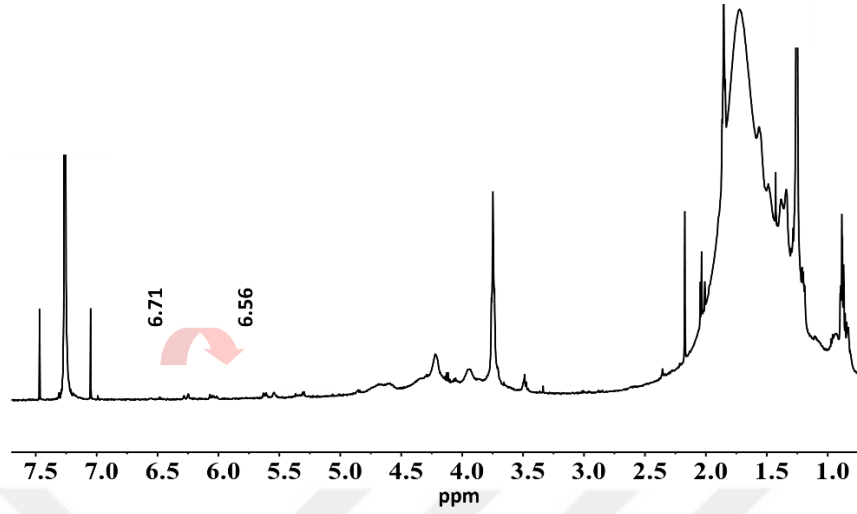
Polimerizasyon [MAc]:[P(*ipr*-FruMA)]:[AIBN] [120]:[1]:[0.175] oranında ve polimerizasyon ortamı molaritesi 0,6 M olacak şekilde 60 °C’de 16 saat boyunca gerçekleştirildi (Şekil 4.30). Polimer THF’te çözülüp soğuk hekzana çöktürülerek elde edildi.



Şekil 4.30 : P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc) diblok polimer sentezi.

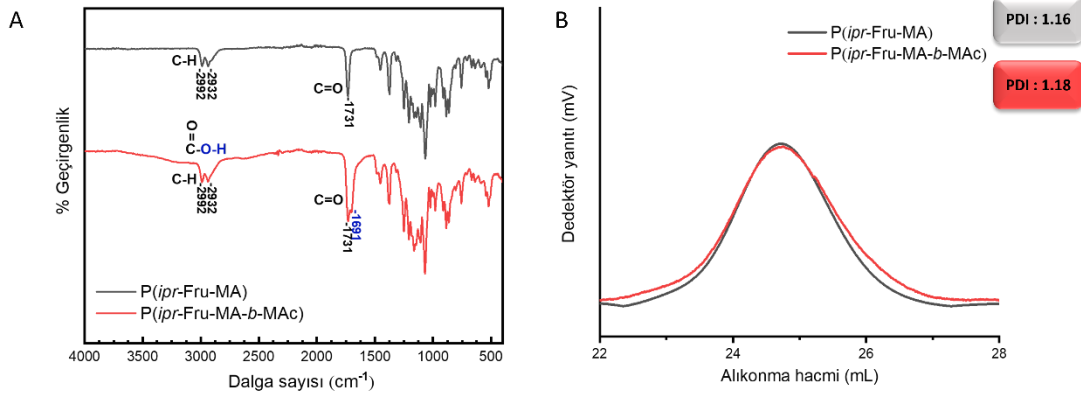
Elde edilen P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc) diblok polimeri ^1H NMR spektroskopisi (Şekil 4.31), FTIR ve GPC (Şekil 4.32) kullanılarak karakterize edildi. Şekil 4.31’de P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc) diblok polimerine ait protonlar gösterilmektedir. ^1H NMR analiziyle monomere ait 6.71 ve 6.56 ppm’de çıkan vinil grubu protonlarının dönüşümü kullanılarak yapılan hesaplama göre polimer yapısına katılan asit ünitesi sayısı 60 olarak belirlenmiştir. ^1H NMR sonucuna göre diblok polimerin sahip olduğu moleküler ağırlık 31,15 kDa olarak hesaplanmıştır. P(*ipr*-FruMA) homoblok polimerine ve P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc) diblok polimerine ait FTIR spektrumu Şekil 4.32’de (A) gösterilmiştir. Spektruma göre diblok polimere ait eğride 2750-3250 cm^{-1} dalga sayıları arasında görülen yayvan bant zincir uzatma polimerizasyon reaksiyonu sonrasında yapıya katılan asit ünitelerinin karboksil grubundaki oksijen ve hidrojen atomlarının titreşiminden kaynaklanmaktadır. Ayrıca spektrumdaki asit

ünitelerinin karbonil grubunun atomları arasındaki ikili bağın titreşiminden kaynaklanan 1691 cm^{-1} dalga sayılı bant diblok polimere ait eğride görülmektedir.



Şekil 4.31 : P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc) diblok polimerine ait ^1H NMR spektrumu (CDCl_3).

Şekil 4.32’de (B) P(*ipr*-FruMA) homoblok polimerine ve P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc) diblok polimerine ait GPC analizi sonuçları gösterilmektedir. GPC analizine göre P(*ipr*-FruMA) homoblok ve P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc) diblok polimerleri karşılaştırıldığında homoblok polimere ait M_w/M_n polidispersite indeksi 1,16 ve diblok polimere ait M_w/M_n polidispersite indeksi 1,18 olarak bulunmuştur.

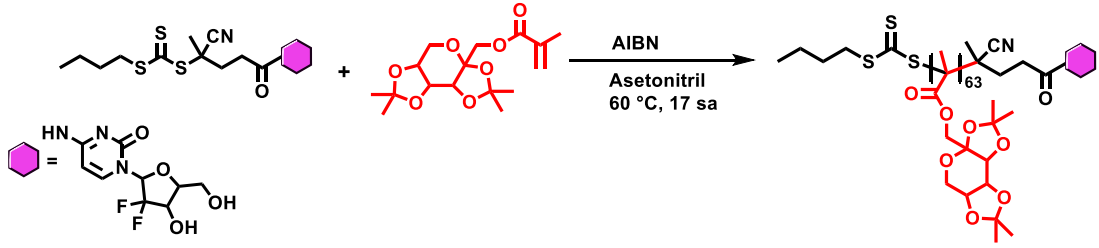


Şekil 4.32 : A) P(*ipr*-FruMA) homoblok ve P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc) diblok polimerlerine ait FTIR spektrumu B) P(*ipr*-FruMA) homoblok ve P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc) diblok polimerlerine ait GPC grafiği (THF).

4.3.4. P(*ipr*-FruMA)-Gem Homoblok polimer sentezi

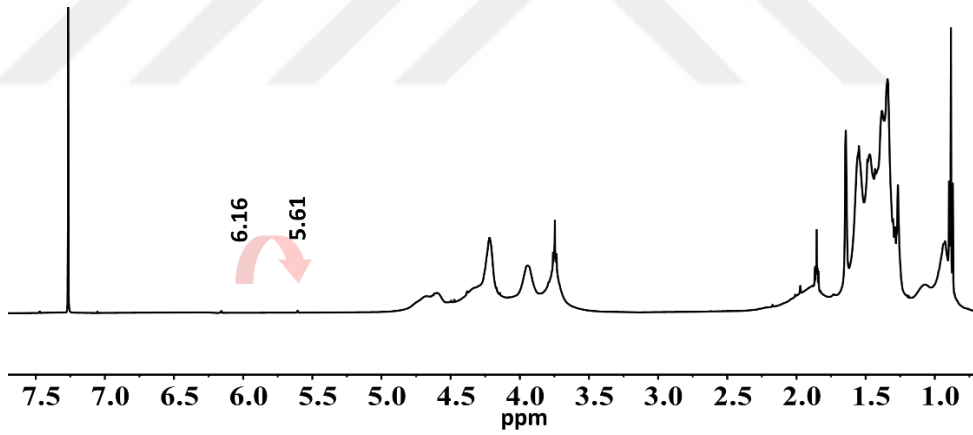
Polimerizasyon [*ipr*-FruMA]:[CBPA-Gem]:[AIBN] [75]:[1]:[0.15] oranında ve polimerizasyon ortamının molaritesi 0,8 M olacak şekilde $60\text{ }^\circ\text{C}$ ’de 17 saat boyunca

gerçekleştirildi (Şekil 4.33). Polimer THF’te çözülüp soğuk hekzana çöktürülerek elde edildi.



Şekil 4.33 : CBPA-Gem RAFT ajanıyla P(*ipr*-FruMA)-Gem homoblok polimer sentezi.

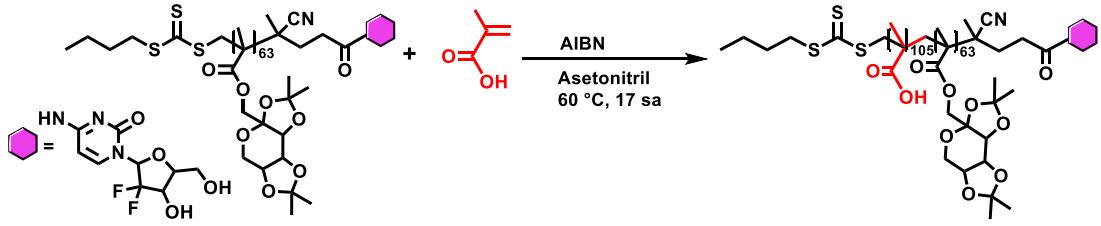
Elde edilen P(*ipr*-FruMA)-Gem homoblok polimeri ^1H NMR spektroskopisi (Şekil 4.34.), FTIR ve GPC (Şekil 4.37) kullanılarak karakterize edildi. Şekil 4.34’te P(*ipr*-FruMA)-Gem diblok polimerine ait protonlar gösterilmektedir. ^1H NMR analiziyle 6.16 ve 5.61 ppm’de çıkan monomere ait vinil protonlarının dönüşümü kullanılarak yapılan hesaplama göre polimer yapısına katılan şeker ünitesi sayısı 63 olarak belirlenmiştir. ^1H NMR sonucuna göre homoblok polimerin sahip olduğu moleküler ağırlık 22,10 kDa olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.34 : P(*ipr*-FruMA)-Gem homoblok polimerine ait ^1H NMR spektrumu (CDCl_3).

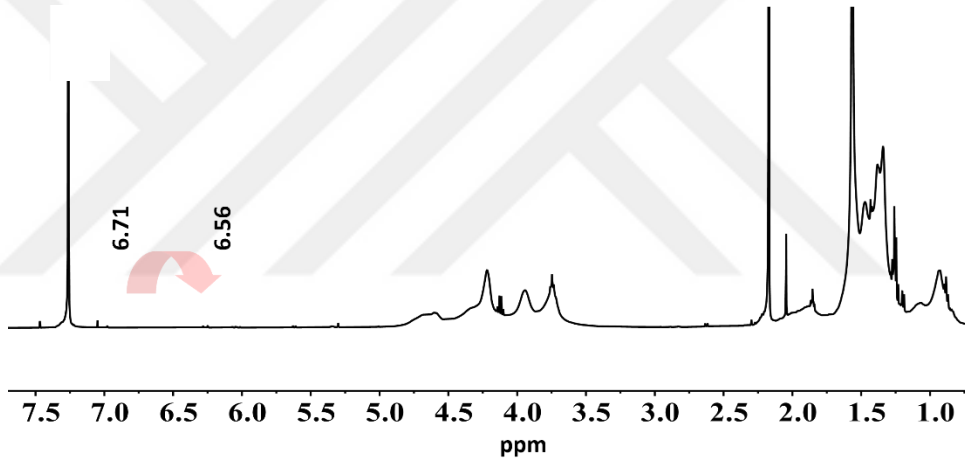
4.3.5. P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc)-Gem Diblok polimer sentezi

Polimerizasyon [MAc]:[P(*ipr*-FruMA)-Gem]:[AIBN] [120]:[1]:[0,25] oranında ve polimerizasyon ortamı molaritesi 0,6 M olacak şekilde 60 °C’de 17 saat boyunca gerçekleştirildi (Şekil 4.35). Polimer THF’te çözülüp soğuk hekzana çöktürülerek elde edildi.



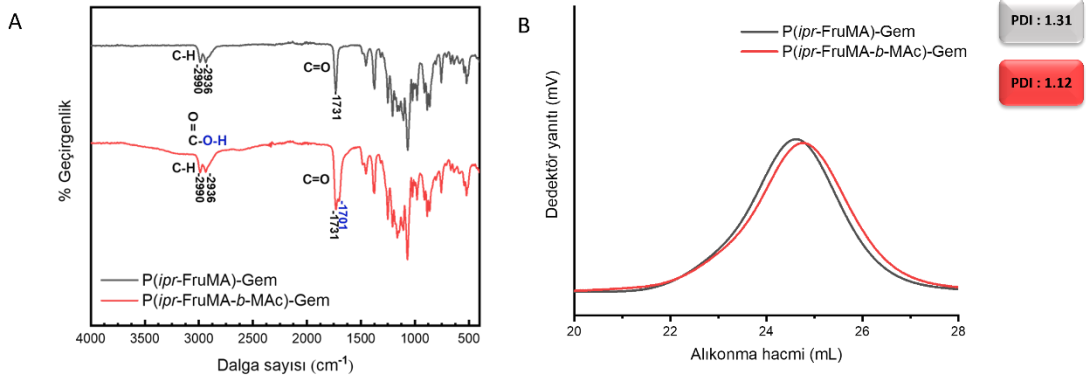
Şekil 4.35 : P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc)-Gem diblok polimer sentezi.

Elde edilen P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc)-Gem diblok polimeri ^1H NMR spektroskopisi (Şekil 4.36), FTIR ve GPC (Şekil 4.37) kullanılarak karakterize edildi. Şekil 4.36'da P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc)-Gem diblok polimerine ait protonlar gösterilmektedir. ^1H NMR analiziyle monomere ait 6.71 ve 6.56 ppm'de çıkan vinil grubu protonlarının dönüşümü kullanılarak yapılan hesaplama göre polimer yapısına katılan asit ünitesi sayısı 105 olarak belirlenmiştir. ^1H NMR sonucuna göre diblok polimerin sahip olduğu moleküler ağırlık 31,00 kDa olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.36 : P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc)-Gem diblok polimerine ait ^1H NMR spektrumu (CDCl_3).

P(*ipr*-FruMA)-Gem homoblok polimerine ve P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc)-Gem diblok polimerine ait FTIR spektrumu Şekil 4.37'de (A) verilmiştir. Spektrumda MAc monomerinin karbonil grubu atomlarının titreşiminden kaynaklanan 1701 cm^{-1} dalga sayılı görülmektedir. Ayrıca spektruma göre diblok polimere ait eğride görülen $2750\text{--}3250\text{ cm}^{-1}$ dalga sayıları arasında görülen yayvan bant yapıya katılan asit ünitelerinin karboksil grubundaki oksijen ve hidrojen atomlarının titreşiminden kaynaklanmaktadır.



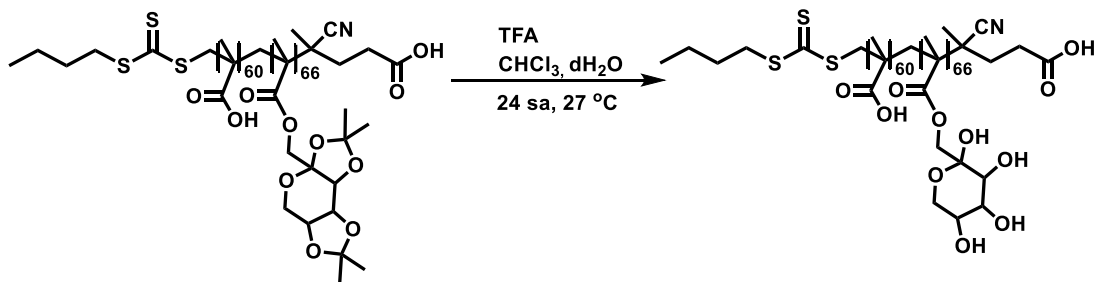
Şekil 4.37 : A) $P(ipr\text{-FruMA})\text{-Gem}$ homoblok ve $P(ipr\text{-FruMA-}b\text{-MAc})\text{-Gem}$ diblok polimerlerine ait FTIR spektrumu, B) $P(ipr\text{-FruMA})\text{-Gem}$ homoblok ve $P(ipr\text{-FruMA-}b\text{-MAc})\text{-Gem}$ diblok polimerlerine ait GPC grafiği (THF).

Şekil 4.37’de (B) $P(ipr\text{-FruMA})\text{-Gem}$ homoblok polimerine ve $P(ipr\text{-FruMA-}b\text{-MAc})\text{-Gem}$ diblok polimerine ait GPC sonuçları gösterilmektedir. GPC analizine göre $P(ipr\text{-FruMA})\text{-Gem}$ homoblok ve $P(ipr\text{-FruMA-}b\text{-MAc})\text{-Gem}$ diblok polimerleri karşılaştırıldığında homoblok polimere ait M_n/M_w polidispersite indeksi 1,30 ve diblok polimere ait M_w/M_n polidispersite indeksi 1,12 olarak bulunmuştur.

4.4. Sentezlenen Polimerlerin Hidrolizi

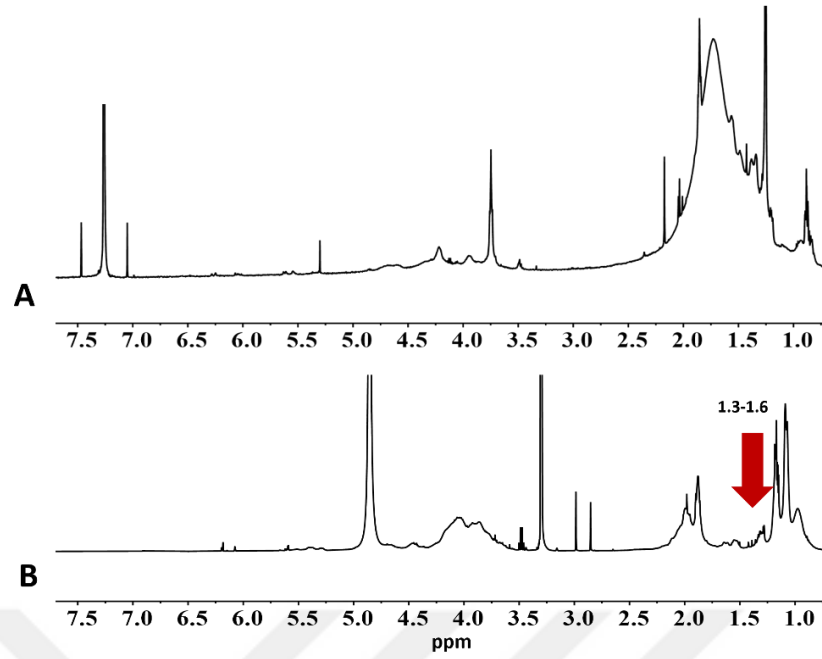
4.4.1. $P(ipr\text{-FruMA-}b\text{-MAc})$ Diblok polimerinin hidrolizi

0,18 g diblok $P(ipr\text{-FruMA-}b\text{-MAc})$ polimerinin $ipr\text{-FruMA}$ ünitelerinin hidroliz edilmesi için polimer kloroform ve suda çözüldükten sonra 24 saat boyunca oda sıcaklığında TFA ile hidroliz reaksiyonu gerçekleştirildi (Şekil 4.38). 0,10 g hidroliz edilmiş polimer elde edildi.



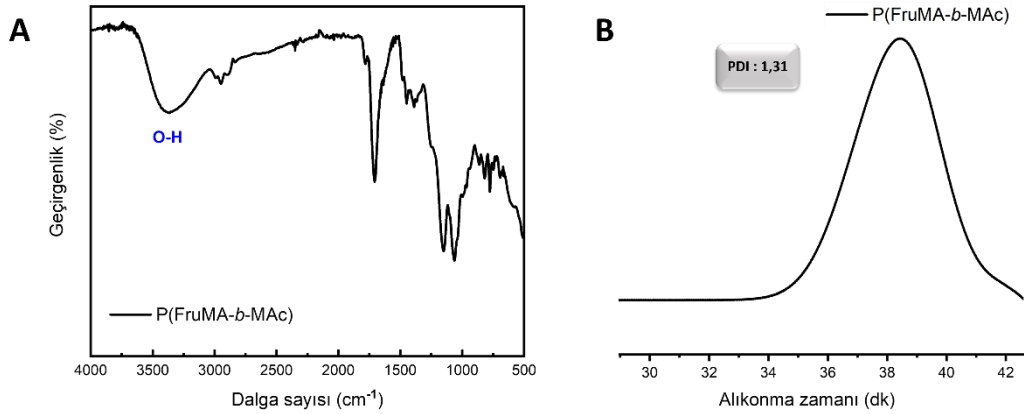
Şekil 4.38 : $P(ipr\text{-FruMA-}b\text{-MAc})$ polimerinin hidroliz reaksiyonu.

^1H NMR spektrumuna göre diblok polimerin fruktoz ünitelerinin *izopropiliden* halkarındaki metil gruplarına ait protonlardan gelen 1.3-1.6 ppm’deki pikin hidroliz sonrasında yok olduğu görülmektedir. (Şekil 4.39)



Şekil 4.39 : A) P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc) ve B) hidroliz sonrası P(FruMA-*b*-MAc) polimerlerine ait ^1H NMR spektrumu (A: CDCl_3 , B: CD_3OD).

Hidroliz edilmiş P(FruMA-*b*-MAc) polimerine ait FTIR ve GPC grafiği Şekil 4.40'ta gösterilmektedir. FTIR spektrumuna bakıldığında 3500 cm^{-1} dalga sayılı bant hidroliz sonrası polimerdeki şeker ünitelerinin hidroksil gruplarına ait oksijen ve hidrojen atomlarının titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. GPC analizi sonucunda polimere ait M_w/M_n değeri 1,31 olarak belirlenmiştir.

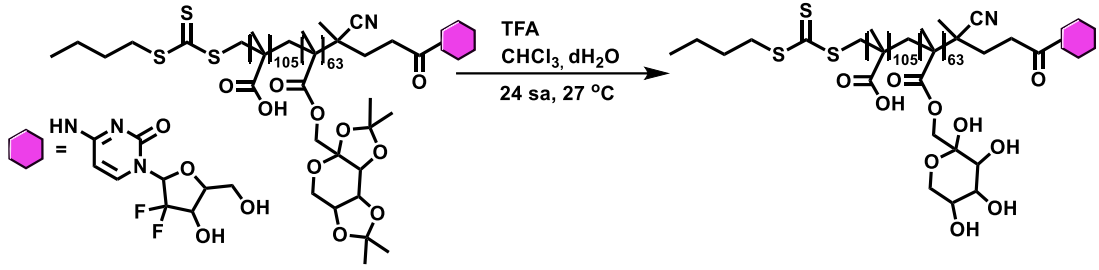


Şekil 4.40 : Hidroliz edilen P(FruMA-*b*-MAc) polimerine ait A) FTIR ve B) GPC grafiği (H_2O).

4.4.2. P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc)-Gem Diblok polimerinin hidrolizi

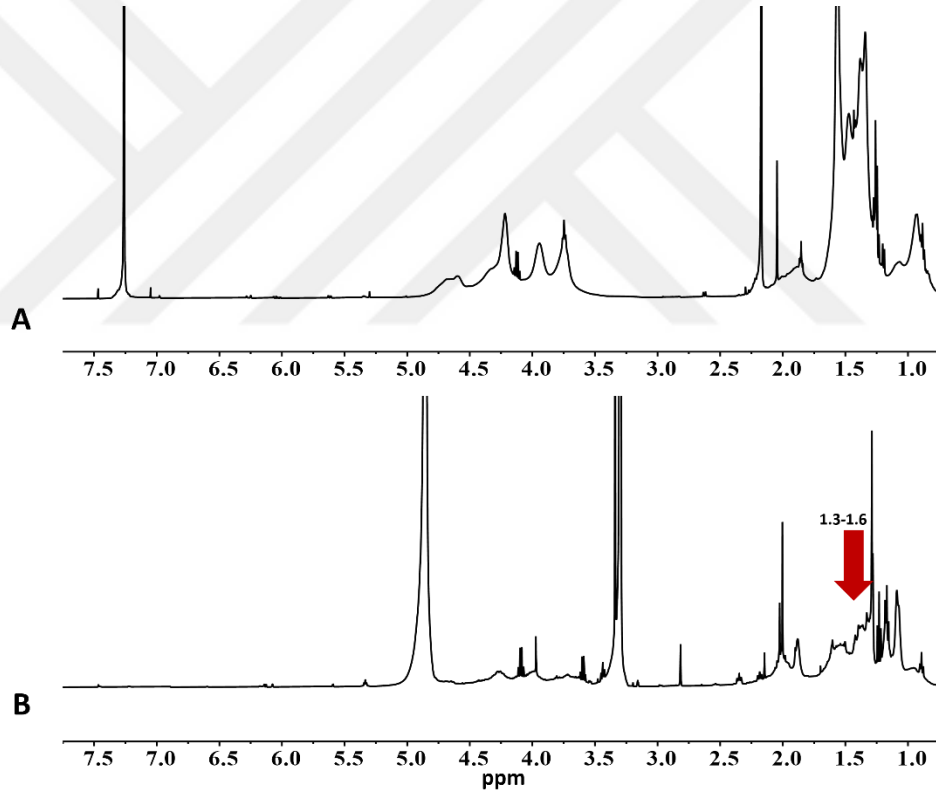
0,2 g Diblok P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc)-Gem polimerinin *ipr*-FruMA ünitelerinin hidroliz edilmesi için polimer kloroform ve suda çözüldükten sonra 24 saat boyunca

oda sıcaklığında TFA ile hidroliz reaksiyonu gerçekleştirildi (Şekil 4.41). 0,1 g hidroliz edilmiş polimer elde edildi.



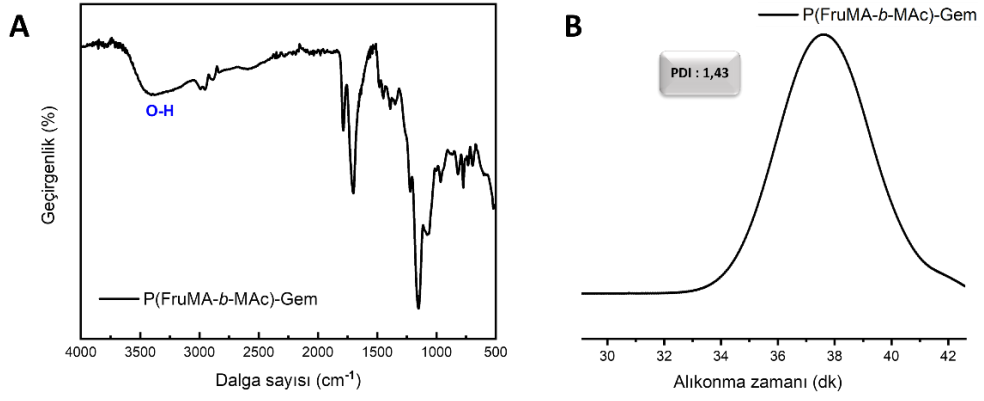
Şekil 4.41 : P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc)-Gem polimerinin hidroliz reaksiyonu.

^1H NMR spektrumuna (Şekil 4.42) göre P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc)-Gem fruktoz ünitelerinin *izopropiliden* gruplarına ait protonlardan kaynaklanan 1.3-1.6 ppm'deki pikin yok olmasıyla hidroliz reaksiyonunun başarı ile gerçekleştiği anlaşılmaktadır.



Şekil 4.42 : A) P(*ipr*-FruMA-*b*-MAc)-Gem ve B) hidroliz sonrası P(FruMA-*b*-MAc)-Gem polimerlerine ait ^1H NMR spektrumu (A: CDCl_3 , B: CD_3OD).

Hidroliz edilen diblok polimere ait FTIR ve GPC grafiği Şekil 4.43'te görülmektedir. FTIR spektrumuna bakıldığında 3500 cm^{-1} dalga sayılı bant hidroliz sonrası polimerdeki şeker ünitelerinin hidroksil gruplarına ait oksijen ve hidrojen atomlarının titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. GPC analizinden elde edilen verilere göre diblok polimerin M_n/M_w değeri 1,43 olarak belirlenmiştir.



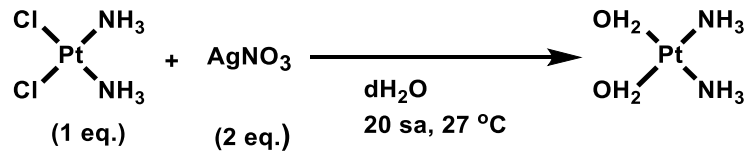
Şekil 4.43 : Hidroliz edilen P(FruMA-*b*-MAC)-Gem polimerine ait A) FTIR ve B) GPC grafiği (H₂O).

4.5. Polimerik Nanopartiküllerin Sentezi

P(FruMA-*b*-MAC) (NP0) ve P(FruMA-*b*-MAC)-Gem (NP1) hidroliz edilmiş diblok polimerler 0,025 mL 2 mg/mL florosein izotiyosiyanat (0,5 mg, 12,8 µmol) eklendikten sonra hacim 10 mL'ye tamamlandı. Ayrıca cisPt ilaç yüklemesi gerçekleştirilmek üzere P(FruMA-*b*-MAC) ve P(FruMA-*b*-MAC)-Gem hidroliz edilmiş diblok polimerler (0,5 mg, 12,8 µmol) tartılarak üzerine 0,025 mL 2 mg/mL florosein izotiyosiyanat (0,5 mg, 12,8 µmol) eklenip 0,1 N NaOH çözeltisiyle pH 9'a getirildi ve son hacim 10 mL olacak şekilde tamamlandı. Nanopartiküller oluşturulmadan cisPt suda çözünür hale getirmek için gümüş nitrat ile reaksiyona sokuldu. Elde edilen cis-[Pt(NH₃)₂(H₂O)₂]⁺² solüsyonu kullanılarak örneklere ilaç yüklemesi gerçekleştirildi.

4.5.1. cisPt Aktivasyonu

cisPt ve gümüş nitratın oda sıcaklığında 20 saat boyunca suda reaksiyonu sonucunda cis-[Pt(NH₃)₂(H₂O)₂]⁺² sentezi gerçekleşti (Şekil 4.44). Oluşan gümüş klorür katısı reaksiyon karışımının santrifüj yapıp filtrelenmesiyle uzaklaştırıldı.

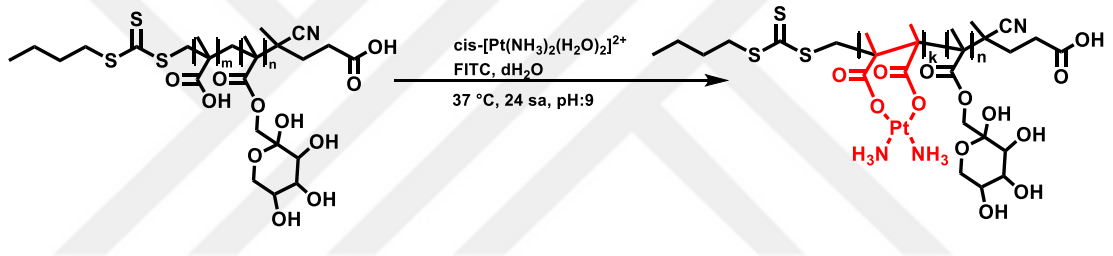


Şekil 4.44 : Gümüş Nitrat ile cisPt aktivasyonu reaksiyonu.

Sudaki cisPt bileşiğinin ortalama boyutu DLS analizi kullanılarak $0,7 \pm 0,003$ nm olarak belirlendi. Solüsyonun içerisindeki Pt elementi miktarı ICP-MS analizi kullanılarak $108,2 \pm 3,80$ ng/mL olarak belirlendi.

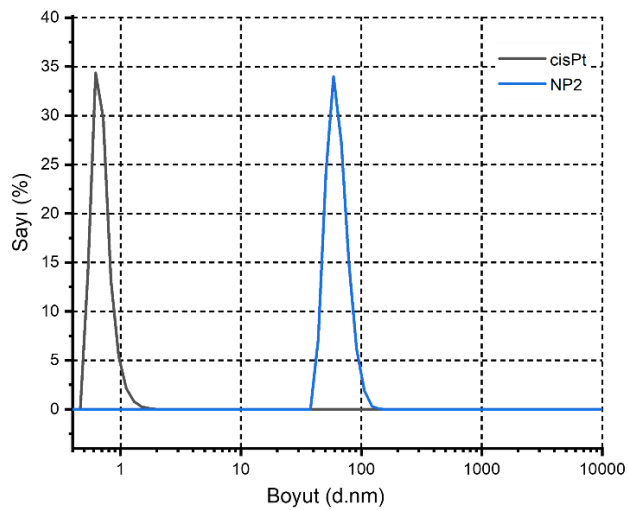
4.5.2. P(FruMA-*b*-MAc) Polimerine cisPt yüklenmesi: NP(FruMA-*b*-MAc)-cisPt nanopartikülü (NP2) sentezi

P(FruMA-*b*-MAc) diblok polimeri suda çözülerek pH 9'a getirilip oluşturulacak nanopartikülleri floresan mikroskopunda görüntülemek amacıyla solüsyona florosein izotiyosiyanat eklendikten sonra cisPt solüsyonu 0,2 mL/sa olacak şekilde şırınga pompasıyla damlatıldı. Damlatma işlemi bittikten sonra ilaç yükleme etkinliğinin artırılması amacıyla elde edilen karışım 37 °C'de 24 saat boyunca çalkalayıcı inkübatörde bekletildi (Şekil 4.45). Daha sonra bağlanmamış cisPt ilacını uzaklaştırmak için suya karşı diyaliz edildi.



Şekil 4.45 : P(FruMA-*b*-MAc) polimerine cisPt yüklenmesi.

Oluşturulan P(FruMA-*b*-Mac) nanopartikülü (NP2) dinamik ışık saçılımı (DLS) ölçümüyle karakterize edildi (Tablo 4.2). Nanopartikülün sayıya göre boyut dağılımı grafiği Şekil 4.46'da gösterilmektedir.

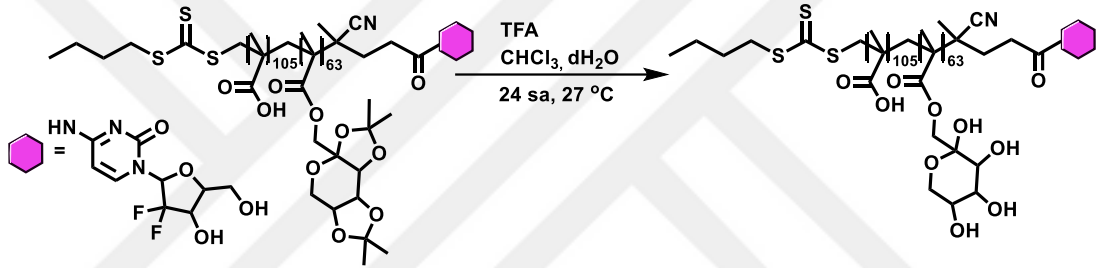


Şekil 4.46 : cisPt, P(FruMA-*b*-MAc)-cisPt (NP2) örneklerin DLS analiz sonucu.

Nanopartikül içerisinde bulunan Pt elementi miktarı ICP-MS analizi kullanılarak $41,72 \pm 1,46$ ng/mL olarak belirlendi.

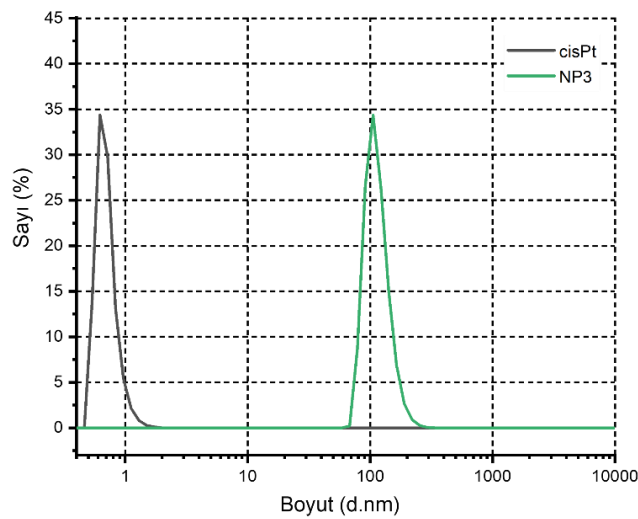
4.5.3. P(FruMA-*b*-MAc)-Gem Polimerine cisPt yüklenmesi: P(FruMA-*b*-MAc)-Gem-cisPt nanopartikülü (NP3) sentezi

P(FruMA-*b*-MAc)-Gem diblok polimeri suda çözülerek pH 9'a getirilip oluşturulacak nanopartikülleri floresan mikroskobunda görüntülemek amacıyla solüsyona florosein izotiyosiyanat eklendikten sonra cisPt solüsyonu 0,2 mL/sa olacak şekilde şırınga pompasıyla damlatıldı. Damlatma işlemi bittikten sonra ilaç yükleme etkinliğinin artırılması amacıyla elde edilen karışım 37 °C'de 24 saat boyunca çalkalayıcı inkübatörde bekletildi (Şekil 4.47). Daha sonra bağlanmamış cisPt ilacını uzaklaştırmak için suya karşı diyaliz edildi.



Şekil 4.47 : P(FruMA-*b*-MAc)-Gem polimerine cisPt yüklenmesi.

Oluşturulan P(FruMA-*b*-MAc)-Gem-cisPt nanopartiküllerin boyut ve boyut dağılımı DLS ölçümüyle belirlendi (Tablo 4.2). Nanopartikülün DLS grafiği Şekil 4.48'de gösterilmektedir.



Şekil 4.48 : Sudaki cisPt, NP(FruMA-*b*-MAc)-Gem-cisPt (NP3) örneklerin sayıya göre boyut dağılımı grafiği.

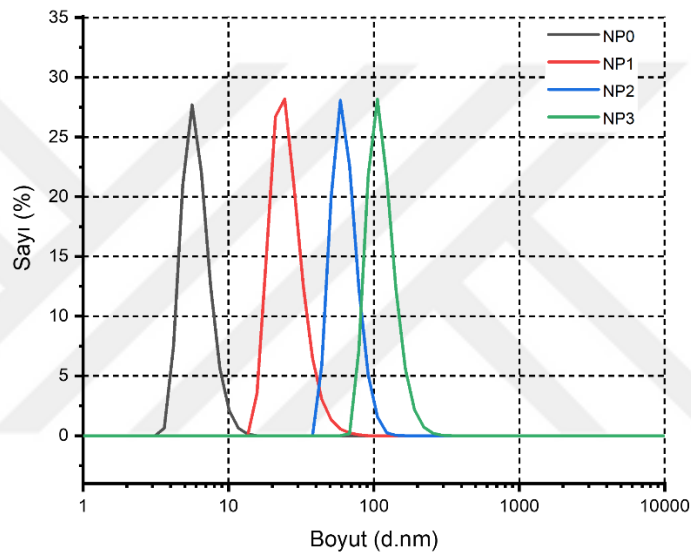
Nanopartikül içeirsinde bulunan Pt elementi miktarı ICP-MS analizi kullanılarak $82,73 \pm 2,90$ ng/mL olarak belirlendi.

4.6. Sentezlenen Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

Nanopartiküllerin boyutlarının, zeta potansiyellerinin ve morfolojilerinin incelenmesi amacıyla dinamik ışık saçılımı (DLS) analizi ve geçirimli elektron mikroskopisi (TEM) analizi gerçekleştirilmiştir.

4.6.1. DLS Analizi

Sudaki nanopartiküllerin boyut ve zeta potansiyelleri Zetasizer DLS ölçüm cihazıyla analiz edildi (Şekil 4.49).



Şekil 4.49 : P(FruMA-*b*-MAc) (NP0), P(FruMA-*b*-MAc)-Gem (NP1), P(FruMA-*b*-MAc)-cisPt (NP2) ve P(FruMA-*b*-MAc)-Gem-cisPt (NP3) nanopartiküllerinin DLS analiz sonucu.

Örneklere ait DLS verileri Tablo 4.2.'de özetlenmiştir.

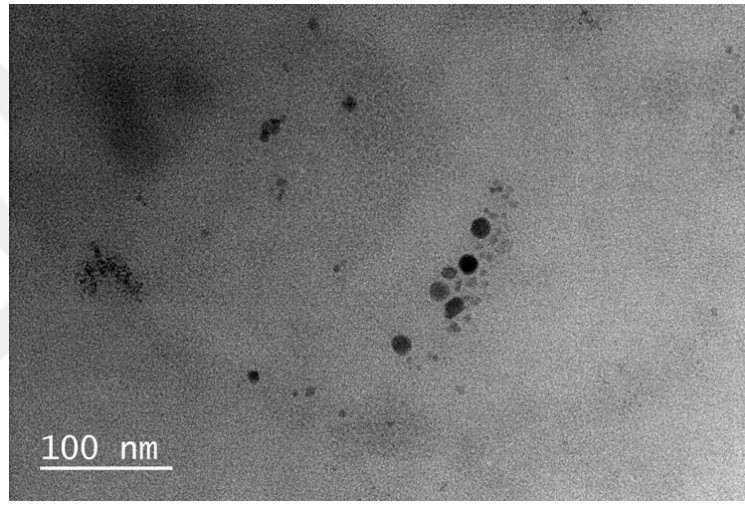
Tablo 4.2 : Nanopartiküllere ait DLS analiz verileri

Örnek	Zeta Potansiyeli (mV)	PDI	Boyut (d.nm)
P(FruMA- <i>b</i> -MAc) (NP0)	$-4,6 \pm 0,89$	0,606	$6,1 \pm 0,35$
P(FruMA-<i>b</i>-MAc)-Gem (NP1)	$-7,9 \pm 0,38$	0,401	$25,9 \pm 0,67$
P(FruMA-<i>b</i>-MAc)-cisPt (NP2)	$-37,2 \pm 2,80$	0,336	$63,3 \pm 0,78$
P(FruMA-<i>b</i>-MAc)-Gem-cisPt (NP3)	$-24,4 \pm 2,56$	0,243	$115,0 \pm 3,14$

NP(FruMA-*b*-MAc) (NP0) ve NP(FruMA-*b*-MAc)-Gem (NP2) örneklerinin sudaki ortalama boyutları sırasıyla $6,1 \pm 0,35$ nm ve $25,9 \pm 0,67$ nm olarak belirlendi. P(FruMA-*b*-MAc)-cisPt (NP1) ve P(FruMA-*b*-MAc)-Gem-cisPt (NP3) örneklerinin sudaki ortalama boyutları sırasıyla $63,3 \pm 0,78$ nm ve $115,0 \pm 3,14$ nm olarak ve zeta potansiyelleri sırasıyla $-37,2 \pm 2,80$ mV ve $-24,4 \pm 2,56$ mV olarak belirlendi.

4.6.2. TEM Analizi

Gem ve cisPt yüklü nanopartiküle (NP3) ait boyut ve morfolojinin incelenmesi amacıyla TEM analizi gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.50). Nanopartiküle ait TEM görüntüsü Şekil 4.50’de verilmiştir.



Şekil 4.50 : P(FruMA-*b*-MAc)-Gem-cisPt nanopartikülüne (NP3) ait TEM görüntüsü.

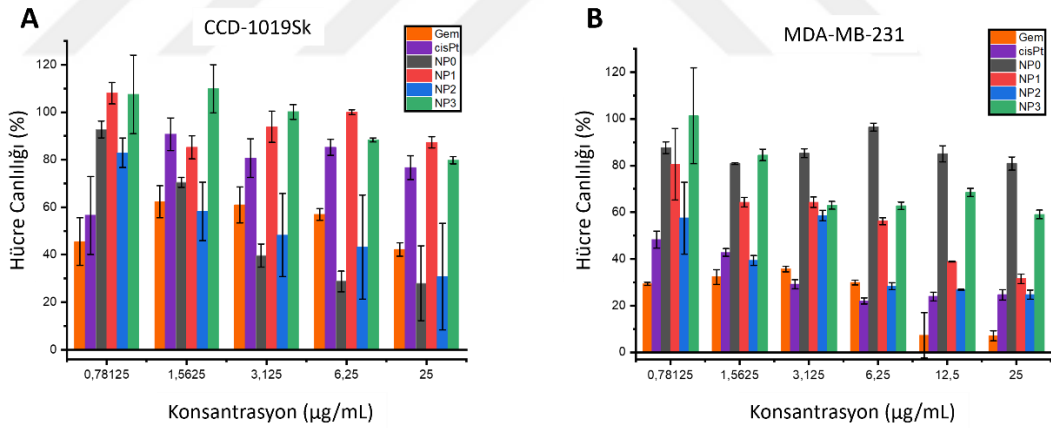
TEM analizi incelendiğinde düzgün morfolojide cisPt ve Gem yüklü nanopartiküllerin sentezlendiği görülmektedir.

4.7. Sitotoksikite Testi

Örneklerin hücreler üzerindeki sitotoksik etkilerini incelemek amacıyla 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromid (MTT) sitotoksikite testi gerçekleştirildi. Meme kanserini hedef alan ikili ilaç taşıyıcı sistemin geliştirildiği çalışmada MDA-MB-231 meme kanserli hücre hattı ve kontrol grubu olarak CCD-1079Sk sağlıklı hücre hattı kullanıldı. Hücrelere taşıyıcı sistemin toksisitesini değerlendirmek amacıyla ilaç içermeyen taşıyıcı sistem, yalnız Gem veya yalnız cisPt içeren nanopartikül ve Gem ve cisPt antikanser ilaçlarının her ikisini de içeren nanopartikülleri içeren örnekler uygulandı. Nanopartikülün etkinliğini

değerlendirmek amacıyla taşıyıcı sisteme yüklü olmayan yalnız Gem ve cisPt örnekleri de çeşitli konsantrasyonlarda hücelere uygulandı ve 24 saatlik inkübasyonun ardından hücre canlılığını kolorimetrik olarak incelemek amacıyla hücreler üzerine MTT eklendi ve 3 saat sonunda mikropalak okuyucu (ELISA Reader) cihazıyla ölçüm alındı (Şekil 4.51). Örneklerin CCD-1079Sk hücrelerinin canlılığına olan etkisi Şekil 4.51'deki (A) grafikte gösterilmektedir. Hazırlanan örnekler içinde en CCD-1079Sk hücreleri üzerinde de yüksek toksisite gösteren örneğin yalnız Gem içeren nanopartikül olduğu anlaşılmaktadır.

Ölçüm sonuçlarına göre örneklerin MDA-MB-231 hücrelerinin canlılığına olan etkisi Şekil 4.51'deki (B) grafikte gösterilmektedir. Gem içeren nanopartikülün hücreler üzerinde sitotoksik etkisi olduğu ve cisPt içeren nanopartikülün hücreler üzerinde ondan daha az sitoksisiteye sahip olduğu gözlenmektedir. İlaç içermeyen polimerik taşıyıcı sistemin hücreler üzerinde yüksek sitotoksikite göstermediği görülmektedir. İki ilacı içeren formülasyonların hücreler üzerindeki sitotoksik etkilerinin anlaşılabilmesi için daha uzun süreli sitotoksikite deneylerinin yapılarak tekrar değerlendirilmesi gerekmektedir.

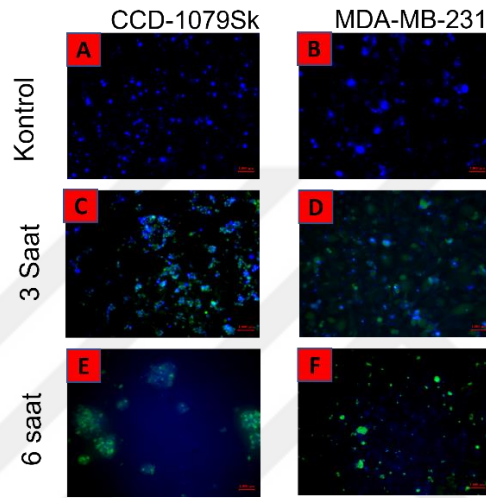


Şekil 4.51 : A) CCD-1079Sk hücrelerinin % hücre canlılığı ve B) MDA-MB-231 hücrelerinin % canlılığı.

4.8. Hücre İçi İnternalizasyonu

NP3 nanopartikülünün hücre içi alımı değerlendirilmek üzere MDA-MB-231 ve CCD-1079Sk hücre hatları kullanılarak analiz gerçekleştirildi. Hücrelerin nükleuslarını görüntülemek amacıyla DAPI boyama yöntemi kullanıldı. Kontrol grubu olarak nanopartikül içermeyen hücre örnekleri de boyanarak floresan görüntüleri alındı (Şekil 4.52). Hücelere ait 3. ve 6. Saatlerdeki floresan

mikroskopisi görüntüleri Şekil 4.52’de gösterilmiştir. Floresan mikroskopisi görüntülerine göre 3. ve 6. saatlerde nanopartikülün hücrelerin içine etkin şekilde alındığı görülmektedir. Hücrelerin içerisine alınan nanopartiküller karşılaştırıldığında zamanla birlikte hücre içine alımda artış olduğu anlaşılmaktadır. Sağlıklı CCD-1079Sk hücrelerine uygulanan nanopartikülün hücre içine alımının MDA-MB-231 hücrelerinin içerisine alınan nanopartikül miktarından da az olduğu görülmektedir. Hücre içi alım incelemesine göre Gem ve cisPt içeren nanopartikülün *in vitro*da kanserli hücreler içerisine etkin bir şekilde alımının gerçekleştiği anlaşılmaktadır.



Şekil 4.52 : (A) CCD-1079Sk, (B) MDA-MB-231 kontrol grupları, NP3 uygulanan CCD-1079Sk ve MDA-MB-231 hücrelerinin sırasıyla (C) ile (D) 3. Saat ve (E) ile (F) 6. saat floresan mikroskopisi görüntüleri.

5. SONUÇ

Polimerik yapıda ikili ilaç taşıyıcı sistemi geliştirmek üzere RAFT polimerizasyon yönteminde kullanılan tritiyokarbonat yapılı CBPA RAFT ajanı başarılı şekilde sentezlenmiştir. Antikanser ilaç molekülü olan Gemsitabin (Gem) CBPA RAFT ajanına konjuge edilmiştir. Sentezlenen RAFT ajanının (CBPA-Gem) karakterizasyonu ¹H NMR spektroskopisi ve FTIR kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Polimerizasyonda kullanılmak üzere şeker ünitesi (fruktoz) içeren (met)akrilat yapılı monomerlerin sentezi gerçekleştirilmiştir. Saflaştırılan monomerlerin karakterizasyonu ¹H NMR spektroskopisi ve FTIR kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Sentezlenen CBPA-Gem RAFT ajanı kullanılarak önce fruktoz ünitesi taşıyan glikopolimer sentezlenmiştir. Daha sonra metakrilik asit monomeri ile zincir uzama reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Polimerlerin karakterizasyonunda GPC, FTIR ve ¹H NMR cihazları kullanılmıştır.

Oluşturulan diblok polimerlere bir diğer antikanser ilacı olan cisplatin (cisPt) yüklenerek nanopartiküllerin sentezi gerçekleştirilmiştir. Nanopartiküllerin boyut dağılımı ve zeta potansiyeli analizi DLS ölçümü ile gerçekleştirilmiştir. DLS sonuçlarına göre boyutu $63,3 \pm 0,78$ nm olarak ölçülen cisPt yüklü nanopartiküller ve boyutu $115 \pm 3,14$ nm olarak ölçülen cisPt ve Gem içeren nanopartiküller oluşturulmuştur. Pasif hedeflemeden yararlanılarak meme kanseri tedavisinde kullanılmak üzere nanopartiküller oluşturulmuş ve hedefleme için uygun boyutlarda nanopartiküllerin sentezi gerçekleştirilmiştir. Bunun yanı sıra TEM analizi gerçekleştirilen cisPt ve Gem yüklü nanopartiküllerin düzgün morfolojide ve ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılmak üzere uygun boyutlarda nanopartiküller şeklinde sentezlendiği anlaşılmıştır.

Nanopartiküllerin *in vitro* etkinlikleri CCD-1079Sk sağlıklı fibroblast ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre hatlarında incelenmiş ve hücre içi alım (internalizasyon) etkinlikleri floresan mikroskopisi kullanılarak araştırılmıştır.

Elde edilen verilerin, CBPA-Gem RAFT ajanının farklı yapıda polimerlerin sentezinde kullanılması açısından literatüre katkı sağladığı düşünülmektedir. Meme kanserini hedef alan ikili ilaç taşıyıcı sistemin etkinliğinin daha iyi anlaşılması için ileri çalışmalar gerekmektedir. Hedefli ilaç taşıyıcı sistem ile ilgili çalışmalara devam edilmesi planlanmaktadır.



KAYNAKLAR

- [1] **Baetka, S.C., Lammers, T., Kiessling, M.D.**, *Applications of nanoparticles for diagnosis and therapy of cancer*. Br J Radiol, 2015. **88**(1054): p. 20150207.
- [2] **De Jong, W.H. ve Borm, P.J.A.**, *Drug delivery and nanoparticles: Applications and hazards*. Int J Nanomedicine, 2008. **3**(2): p. 133-149.
- [3] **Folkman J.**, (1971). *Tumor angiogenesis: therapeutic implications*. N Engl J Med., 285: p. 1182-1186.
- [4] **Merlo, L.M., Pepper, J.W., Reid, B.J., Maley C.C.** (2006). *Cancer as an evolutionary and ecological process*. Nat Rev Canc, 6: p. 924-935.
- [5] **Joyce, J.A., Fearon, D.T.** (2015). *T cell exclusion, immune privilege, and the tumor microenvironment*. Science, 348: p. 74-80.
- [6] **Ghmkin, H., Masaharu, S.**, (2020). *Blood and Cancer: Cancer Stem Cells as Origin of Hematopoietic Cells in Solid Tumor Microenvironments*, Cells. **9**(5): p. 1293.
- [7] **Weinberg R.A.**, (2007). *The biology of cancer*. Garland Science, 2. Baskı.
- [8] **Holmes, M.D., Liu, S., Hankinson, S.E., Colditz, G.A., Hunter, D.J., Willett, W.C.**, (2004). *Dietary Carbohydrates, Fiber, and Breast Cancer Risk*, American Journal of Epidemiology. **159**(8): p. 732-739.
- [9] **Byrne, J.D., Betancourt T., Brannon-Peppas, L.**, (2008). *Active targeting schemes for nanoparticle systems in cancer therapeutics*, Adv. Drug Deliv. Rev. 60: p. 1615-1626.
- [10] **Ruoslahti, E.**, (2002). *Specialization of tumour vasculature*, Nat. Rev. Cancer. 2: p. 83-90.
- [11] **Zanotelli, M.R., Reinhart, C.A.K.**, (2018). *Mechanical Forces in Tumor Angiogenesis*, Adv Exp Med Biol. 1092: p. 91-112.
- [12] **Danhier, F.**, (2016). *To exploit the tumor microenvironment: Since the EPR effect fails in the clinic, what is the future of nanomedicine?*, Journal of Controlled Release. 244: p. 108-121.
- [13] **Maeda, H.**, (2001). *SMANCS and polymer-conjugated macromolecular drugs: advantages in cancer chemotherapy* Adv Drug Deliv Rev. **1**(46) : p. 169-185.
- [14] **Matsumura, Y., Maeda H.**, (1986). *A New Concept for Macromolecular Therapeutics in Cancer Chemotherapy: Mechanism of Tumor-tropic Accumulation of Proteins and the Antitumor Agent Smancs*, Cancer Research. 46: p. 6387-6392.
- [15] **Blanco, E., Shen, H., Ferrari, M.**, (2015). *Principles of Nanoparticle Design for Overcoming Biological Barriers to Drug Delivery*, Nature Biotechnology. 33: p. 941-951.
- [16] **Wang, M., Thanou, M.**, (2010). *Targeting Nanoparticles to Cancer*, Pharmacological Research. **62**(2): p. 90-99.

- [17] Siegel, R. L., Miller, K. D., Jemal, A., (2016). *Cancer Statistics*. *Cancer J. Clin.*, 66: p. 7-30.
- [18] **Breast Cancer.** (2021). Retrived May 3, 2021, from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>
- [19] Haloua, M.H., Krekel, N.M., Winters, H.A., Rietveld, D.H., Meijer, S., Bloemers, F.W., Tol, M.P., (2013). *A systematic review of oncoplastic breast-conserving surgery: current weaknesses and future prospects*, *Ann Surg.* 257: p. 609-20.
- [20] Barry, M., Ho, A., Morrow, M., (2013). *The evolving role of partial breast irradiation in early-stage breast cancer*, *Ann Surg Oncol.* 20: p. 2534-40.
- [21] Dalmau, E., Alonso, A.A., Muñoz, M., Palmer, M.Á.S., (2014). *Current status of hormone therapy in patients with hormone receptor positive (HR+) advanced breast cancer*, *Breast.* 23(6): p. 710-720.
- [22] Dickens E, Ahmed S., (2018). *The principles of cancer treatment by chemotherapy*, *Cancer Treatment.* 36(3): p. 134-138.
- [23] Downing, A., Twelves, C., Forman, D., Lawrence, G., Gilthorpe, M.S., (2014). *Time to begin adjuvant chemotherapy and survival in breast cancer patients: a retrospective observational study using latent class analysis*, *Breast J.* 20: p. 29-36.
- [24] Priestman, T.J., (1980). *Cancer Chemotherapy: An Introduction.* 3. Baskı.
- [25] Price, P., Sikora, K., (2008). *Treatment of Cancer.* 7. Baskı.
- [26] Carothers, W.H., (1929). *Studies on polymerization and ring formation. I. An introduction to the general theory of condensation polymers.* *Journal of the American Chemical Society,* 51(8): p. 2548-2559.
- [27] Saçak, M., (2002). *Polimer Kimyası,* 8. Baskı.
- [28] Saçak, M., (2005). *Polimer Teknolojisi,* 2. Baskı.
- [29] Matyjaszewski, K., Spanswick, J., (2005). *Controlled/living radical polymerization*, *Materials Today,* 8(3): p. 26-33.
- [30] Braunecker, W.A., Matyjaszewski, K., (2017). *Controlled/living radical polymerization: Features, developments, and perspectives.* *Progress in Polymer Science.* 32(1): p. 93-146.
- [31] Nicolas, J., Guillaneuf, Y., Lefay, C., Bertin, D., Gignes, D., Charleux, B., (2013). *Nitroxide-mediated polymerization*, *Progress in Polymer Science,* 38(1): p. 63-235.
- [32] Hawker, C.J., Bosman, A.W., Harth, E., (2001). *New polymer synthesis by nitroxide mediated living radical polymerizations*, *Chemical Reviews.* 101(12): p. 3661-3688.
- [33] Matyjaszewski, K., (2012). *Atom transfer radical polymerization (ATRP): current status and future perspectives*, *Macromolecules,* 45(10): p. 4015-4039.
- [34] Sumerlin, B.S., Tsarevsky, N. V., Louche, G., Lee, R.Y., Matyjaszewski K., (2005). *Highly efficient "click" functionalization of poly (3-azidopropyl methacrylate) prepared by ATRP*, *Macromolecules.* 38(18): p. 7540-7545.
- [35] Moad, G., Rizzardo, E., Thang, S.H., (2008). *Radical addition-fragmentation chemistry in polymer synthesis*, *Polymer.* 49(5): p. 1079-1131.

- [36] **Keddie, D.J., Moad, G., Rizzardo, E., Thang S.H.**, (2012). *RAFT agent design and synthesis*, *Macromolecules*. **45**(13): p. 5321-5342.
- [37] **Perrier, S., Takolpuckdee P.**, (2005). *Macromolecular Design via Reversible Addition– Fragmentation Chain Transfer (RAFT)/Xanthates (MADIX) Polymerization*, *J. Polym. Sci. A*. **43**(22): p. 5347-5393.
- [38] **Moad, G., Chong, Y.K., Postma, A., Rizzardo, E., Thang, S.H.**, (2005). *Advances in RAFT polymerization: the synthesis of polymers with defined end-groups*, *Polymer*, **46**(19): p. 8458-8468.
- [39] **Fairbanks, B.D., Gunatillake, P.A., Meagher, L.**, (2015). *Biomedical applications of polymers derived by reversible addition–fragmentation chain-transfer (RAFT)*, *Advanced Drug Delivery Reviews*. 91: p. 141-152.
- [40] **Orive, G., Hernandez, R.M., Rodriguez, G.A., Dominguez-Gil, A., Pedraz, J.L.**, (2003). *Drug delivery in biotechnology: present and future*, *Curr Opin Biotechnol*. 14 : p. 659-64.
- [41] **Purrà, M.S.**, (2015). *Development of novel vesicle-like nanocarriers for targeted drug delivery*. (doktora tezi) Alındı: <https://dialnet.unirioja.es/>
- [42] **Juliano, R.L.**, (1978). *Drug delivery systems: a brief review*, *Can J Physiol Pharmacol*. 56 : p. 683-90.
- [43] **Parveen, S., Sahoo, S.K.**, (2006). *Nanomedicine: clinical applications of polyethylene glycol conjugated proteins and drugs*. *Clin Pharmacokinet*. 45: p. 965-88.
- [44] **Attiaa, M.F., Anton, N., Wallyn, J., Omran, Z., Vandamme, T.F.**, (2019). *An overview of active and passive targeting strategies to improve the nanocarriers efficiency to tumour sites*, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 71 : p. 1185-1198.
- [45] **Peppas, L.B., Peppas, N.**, (1997). *Polymers in Controlled Drug Delivery*, *Biomaterials*.
- [46] **Kim, S., Kim, J., Jeon, O., Kwon, I.C., Park, K.**, (2009). *Engineered polymers for advanced drug delivery*, *Eur J Pharm Biopharm*. 71: p. 420-430.
- [47] **Tüylek, Z.**, (2017). *İlaç Taşıyıcı Sistemler ve Nanoteknolojik Etkileşim*, *Bozok Med J*.7(3): p. 89-98.
- [48] **Sengel-Turk, C., Hasçıçek, C.**, (2009). *Polimerik nanopartikuler ilaç taşıyıcı sistemlerde yüzey modifikasyonu*, *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*. **38**(2): p. 137-154.
- [49] **Dag, A., Cakilkaya, E., Omurtag Ozgen, P.S., Atasoy, S. Yigit Erdem, G. Çetin, B., Kokuroğlu, A.Ç., Gürek, A.G.**, (2021). *Phthalocyanine Conjugated Glyconanoparticles for Chemo-Photodynamic Combination Therapy*, *Biomacromolecules*. 22: p. 1555-1567.
- [50] **Zhao, J., Lu, H., Xiao, P., Stenzel, M.H.**, (2016). *Cellular Uptake and Movement in 2D and 3D Multicellular Breast Cancer Models of Fructose-Based Cylindrical Micelles That Is Dependent on the Rod Length*, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **8**(26): p. 16622-30.
- [51] **Lu, M., Khine, Y.Y., Chen, F., Cao, C., Garvey, C.J., Lu, H., Stenzel, M.H.**, (2019). *Sugar Concentration and Arrangement on the Surface of*

- Glycopolymer Micelles Affect the Interaction with Cancer Cells*, *Biomacromolecules*, **20**(1): p. 273–284.
- [52] **Gao, Y., Tang, M., Leung, E., Svirskis, D., Shelling, A., Wu, Z.**, (2020). *Dual or multiple drug loaded nanoparticles to target breast cancer stem cells*, *RSC Advances*. 32: p. 19089.
- [53] **Lu, J.J., Wang, Y.T.**, (2013). *Synergistic anti-cancer activity of the combination of dihydroartemisinin and doxorubicin in breast cancer cells*, *Pharmacol Rep*. **65**(2): p. 453-459.
- [54] **Song, H., Xiao, H., Zheng, M., Qi, R., Yan, L., Jing, X.**, (2014). *A biodegradable polymer platform for co-delivery of clinically relevant oxaliplatin and gemcitabine*, *Journal of Materials Chemistry B*. **2**(38): p. 6560-6570.
- [55] **Poon, C., Duan, X., Chan, C., Han, W., Lin, W.**, (2016). *Nanoscale Coordination Polymers Codeliver Carboplatin and Gemcitabine for Highly Effective Treatment of Platinum-Resistant Ovarian Cancer*, *Molecular Pharmaceutics*. **13**(11): p. 3665-3675.
- [56] **Emamzadeh, M., Emamzadeh, Mi., Pasparakis, G.**, (2019). *Dual Controlled Delivery of Gemcitabine and Cisplatin Using Polymer-Modified Thermosensitive Liposomes for Pancreatic Cancer*, *Applied Biomaterials*. **2**(3): p. 1289-1309.
- [57] **Yang, J., Lee, H., Hyung, W., Park, S.B., Haam, S.**, (2005). *Magnetic PECA nanoparticles as drug carriers for targeted delivery: Synthesis and release characteristics*, *Journal of Microencapsulation*. **23**(2): p. 203-212.
- [58] **Alfurhood, J.A., Sun, H., Bachler, P.R., Sumerlin, B.S.**, (2016). *Hyperbranched Poly(N-(2-Hydroxypropyl) Methacrylamide) via RAFT Self-Condensing Vinyl Polymerization*, *Polymer Chemistry*. **7**(11): p. 2099-2104.
- [59] **Joubert, F., Martin, L., Perrier, S., Pasparakis, G.**, (2017). *Development of a Gemcitabine-Polymer Conjugate with Prolonged Cytotoxicity against a Pancreatic Cancer Cell Line*, *ACS Macroletters*. **6**(5): p. 535-540.
- [60] **Babiuch, K., Dag, A., Zhao, J., Lu, H., Stenzel, M.H.**, (2015). *Carbohydrate-Specific Uptake of Fucosylated Polymeric Micelles by Different Cancer Cell Lines*, *Biomacromolecules*. **16**(7): p. 1948-1957.
- [61] **Wang, X., Geng, X., Ye, L., Zhang, A., Feng, Z.**, (2009). *Synthesis and characterization of novel glucose- and lactose-containing methacrylate-based radiopaque glycopolymers*, *Reactive and Functional Polymers*. **69**(12): p. 857-863.
- [62] **Brady, R. F.**, (1970). *Cyclic acetals of ketoses*, *Carbohydrate Research*. **15**(1): p. 35-40.
- [63] **Neqal, M., Voisin, A., Neto, V., Coma, V., Heroguez, V.**, (2018). *New active supported antifungal systems for potential aeronautical application*, *European Polymer Journal*. 105: p. 304-312.

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Tuğba GENÇOĞLU

Doğum Tarihi ve Yeri :

E-posta :

ÖĞRENİM DURUMU:

- Lisans : 2019, İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik

YÜKSEK LİSANS TEZİNDEN TÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

Gencoglu, T., Cetin B., Yigit-Erdem, G., Omurtag-Özgen, P.S., Dag, A., “Synthesis of cisplatin and/or gemcitabine containing polymeric nanodrug formulations for breast cancer treatment”, *International Symposium of Pharmaceutical Scinces*, Ankara, Turkey, June 22-25, 2021.