

**KATI LİPİT NANOPARTİKÜLLER KULLANILARAK
KOLLOİDAL MİKROKAPSÜL ÜRETİMİ**

**COLLOIDAL MICROCAPSULE PRODUCTION BY USING
SOLID LIPID NANOPARTICLES**

Gökçe Dicle KALAYCIOĞLU

**Prof. Dr. Nihal AYDOĞAN
Tez Danışmanı**

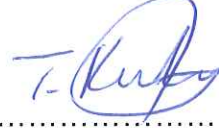
Hacettepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı İçin Öngördüğü
DOKTORA TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2017

GÖKÇE DİCLE KALAYCIOĞLU'nun hazırladığı "**Katı Lipit Nanopartiküller Kullanılarak Kolloidal Mikrokapsül Üretimi**" adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI'nda DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Tülin KUTSAL

Başkan



Prof. Dr. Nihal AYDOĞAN

Danışman



Prof. Dr. Nuray YILDIZ

Üye



Prof. Dr. Tülay DURUSOY

Üye



Prof. Dr. Pınar ÇALIK

Üye



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **DOKTORA TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Menemşe Gümüşderelioğlu

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

YAYINLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanması zorunlu metinlerin yazılı izin alarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

- Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.**

(Bu seçenekle teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etseniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirirse bile, tezinin arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir.)

- Tezimin/Raporumun tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç Kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.**

(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı ve ya tamamının fotokopisi alınabilir)

- Tezimin/Raporumun 06/06/2018 tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum, ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.**

- Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi**

07 / 06 / 2017

Gökçe Dicle Kalaycıoğlu
(İmza)

Öğrencinin Adı Soyadı

Gökçe Dicle Kalaycıoğlu

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu te çalışmada,

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversitede veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

30/05/2017

Gökçe Dicle KALAYCIOĞLU

ÖZET

KATI LİPİT NANOPARTİKÜLLER KULLANILARAK KOLLOİDAL MİKROKAPSÜL ÜRETİMİ

Gökçe Dicle KALAYCIOĞLU

Doktora, Kimya Mühendisliği Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nihal Aydoğan

Haziran 2017, 176 sayfa

Nanopartiküller, son yıllarda, hem bilimsel çalışmalar hem de medikal ve teknolojik uygulamalarda kullanılabilirliği nedeniyle oldukça ilgi çekmektedir. Metalik, polimer ve lipit başlıcaları olmak üzere, çeşitli yapıtaşları kullanılarak nanopartiküller sentezlenebilmektedir. Nanopartiküllerin hangi malzemeden oluştuğu, boyutu, şekli ve yüzey fonksiyonelliği, kullanılacağı hedef alana göre değişmekte ve görecelilik kazanmaktadır. Çeşitli fizyolojik lipitler, emulsifiye edici ajanlar ve su kullanılarak sentezlenen katı lipit nanopartiküller (KLN); 1990lı yıllarda ilk defa, alternatif bir nanotaşıyıcı olarak kullanılmaya başlanmıştır. KLNler biyoyumluluk, yüksek dayanım ve çeşitli malzemelerin enkapsülasyonuna olanak sağlaması gibi avantajlarıyla, özellikle biyomedikal ve farmasötik başta olmak üzere birçok alanda diğer nanotaşıyıcılardan öne çıkmaktadır. Ayrıca KLNlerin sentez yöntemine göre, bünyesinde taşıyacağı etken maddenin salım özelliklerinin kontrollü şekilde ayarlanabiliyor olması ve fizyolojik olarak tolere edilebilen lipitler kullanılarak sentezleniyor olması; vücut içinde, çok çeşitli kullanım amaçları ve uygulama yolları için ideal bir alternatif olmalarını sağlamaktadır. Yapılan çalışmanın ilk aşamasında, uygun boyut ve yüzey özelliklerinde KLNlerin hazırlanması, karakterize edilmesi ve ilaç alım/salım kapasitelerinin hesaplanması ile bu bağlamda sentezlenen nanopartiküllerin hastalık teşhisinde sensör veya

tedavisinde çeşitli molekülleri (gen, ilaç vb.) taşıma ajanı olarak biyomedikal uygulamalarda kullanılabilirliğinin araştırılması hedeflenmiştir. Sentez yöntemi olarak “Mikroemülsiyon Yöntemi” kullanılan çalışmanın bu ilk kısmında, hazırlanan KLNlerin Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) ve Dinamik Işık Saçınımı (DLS) ile boyut, boyut dağılımı ve geometrileri hakkında bilgi edinirken, zeta potansiyel ölçümleri de gerçekleştirilip yüzey yük yoğunlukları hesaplanmıştır. Bunun yanı sıra Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) tekniği ile de KLNlerin termal özellikleri ve morfolojik yapısı detaylı şekilde incelenmiştir. KLNlerin literatürde geçen önemli avantajlarından biri olan yüksek uzun dönemli stabilitesinin de değerlendirilebilmesi için, sentezin ardından 3 ay sonra boyut ve yüzey özellikleri tekrar ölçülmüştür. İstenen özelliklerde hazırlanan KLNlerin ilaç alım/salım kapasitelerinin değerlendirilmesi için model ilaç molekülleri olarak askorbik asit (AA) ve metilen mavisi (MM) kullanılmıştır. Elektrostatik etkileşimden faydalanılarak MM partikül yüzeyine tutturulurken, sentez aşamasında eklenerek AA partikül yapısı içine yüklenmiştir. Kullanılan partiküller için ilaç alım/salım kapasiteleri UV-vis spektroskopisi kullanılarak analizlenmiştir. Çalışmanın ikinci kısmında istediğimiz boyut ve yüzey özelliklerinde hazırlayabildiğimiz biyoyumlu, dayanımı yüksek ve ilaç alım/salım performansları test edilmiş KLNler yapıtaşı olarak kullanılarak koloidal mikrokapsüller hazırlanmıştır. Koloidal mikrokapsüller, kabuk kısmında yapıtaşı olarak koloidal partiküller kullanılarak sentezlenen kapsüller olup, günümüzde daha çok metal ya da polimerik nanopartiküller kullanılarak sürdürülmektedir. KLNler kullanılarak hazırlanan bu yapılar, hem kabuk kısmını oluşturan nanopartiküller sayesinde gelişmiş alım kapasitesi ve fonksiyonellik gösteren, hem de yüksek dayanım ve biyoyumluluğa sahip lipid bazlı koloidal mikrokapsüllerin (MK) üretimi literatürde ilk kez sağlanmıştır. Çekirdek malzeme olarak polistiren partiküller ile Ibuprofen ilaç kristalleri kullanılırken, kabuk kısmında KLNler, altın nanopartiküller ve kitosandan faydalanılmıştır. Oluşturulan MKların kabuk kısmı zıt yüklü malzemelerin elektrostatik etkileşiminden faydalanılarak “Tabaka-tabaka kaplama yöntemi” kullanılarak hazırlanmıştır. Her bir tabaka kaplanmasının ardından zeta potansiyel değişimi ile tabakaların kaplanma performansı takip edilmiştir. Ayrıca Taramalı Elektron Mikroskobu kullanılarak da tabakalar görüntülenmiştir. Hazırlanan MKlar ile belirlenen model moleküller için alım/salım denemeleri yine KLNler için uygulanan prosedürler kullanılarak yapılmıştır. Yapılan çalışmalar doğrultusunda

KLN kullanılarak MK üretiminin tamamlanmasıyla, literatürde ilk defa yapıtaşı olarak lipit bazlı nanopartikül kullanılarak hazırlanmış olan koloidal MK üretimi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca MK yapısına eklenen altın nanopartiküller sayesinde hem teşhis hem de terapi amaçlı kullanılacak yeni nesil koloidal yapılar elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Katı lipit nanopartiküller, koloidal mikrokapsüller, ilaç alımsalımı, kendi-kendine kümeleşme, tabaka-tabaka kaplama yöntemi

ABSTRACT

PREPARATION OF COLLOIDAL MICROCAPSULES BY USING SOLID LIPID NANOPARTICLES

Gökçe Dicle KALAYCIOĞLU

Doctor of Philosophy, Department of Chemical Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Nihal Aydoğın

June 2017, 176 pages

Nanoparticles have been driving much attention in the last years since they can be used both in scientific studies and in medical and technological applications, Nanoparticles can be synthesized by utilizing a variety of constituents, among which the most studied ones are metallic, polymeric and lipid based nanoparticles. The size, shape, and the surface functionalities of nanoparticles as well as the material which is synthesized vary in accordance with and relative to their target applications. Solid lipid nanoparticles (SLNs), which are synthesized by using various physiological lipids, emulsifiers and water, have first come into use as an alternative nanocarrier in 1990s. Due to their high biocompatibility, stability and availability/efficiency to encapsulate various active materials, SLNs are positively distinguished from other alternatives in many fields, pharmaceutical and biomedical applications in particular. In addition, since they possess biocompatible and physiologically related raw materials and adjustable release kinetics which depend on the synthesis method, SLNs are an ideal alternative to be used in the body for different purposes and with various administration routes. In the first stage of the study, it has been aimed to prepare and characterize SLNs with proper size and surface functionalities to calculate their drug encapsulation/release capacities. In order to characterize the SLNs which are prepared by using "Microemulsion Method", Atomic Force Microscopy (AFM) and

Dynamic Light Scattering (DLS) have been utilized to get information regarding size, the polydispersity, and geometry, while zeta potential measurements have brought out surface charge density of the SLNs prepared. Moreover, thermal properties and morphological structures of SLNs have been studied in detail with Differential Scanning Calorimetry (DSC) technique. The size and zeta potential values of SLNs have been re-measured three months after the synthesis in order to evaluate high long-term stability feature, which is cited as one of the major advantages of SLNs in literature. Ascorbic acid (AA) and methylene blue (MB) have been used as model drugs to evaluate the drug encapsulation/release capacities of SLNs prepared with certain specifications. MB has been attached to the surface of the SLNs with electrostatic interaction whereas AA has been loaded in the particle structure during the synthesis. Drug encapsulation/release capacities have been analyzed by UV-vis spectrophotometry. In the second part of the study SLNs have been used as building block to prepare colloidal microcapsules. It is very common to use metallic nanoparticles to prepare microcapsule structure. The synthesis of MCs whose shell-side is constructed by SLNs, is the first in literature. While polystyrene particles and Ibuprofen drug crystals have been used as the core material, SLNs, gold nanoparticles and chitosan have been used in the shell-side. The shell of the MCs has been prepared with "Layer-by-layer method" with use of electrostatic interaction of materials. The coating performance of each layer has been monitored by measuring zeta potential changes after each layer of coating. In addition, the layers have been viewed with Scanning Electron Microscope (SEM). In addition, encapsulation/release performance of MCs was investigated by using these predetermined model molecules. As a result, the introduced MCs by this thesis which has produced by using SLNs as building blocks has been achieved for the first time in literature and a good alternative for both multiple drug delivery and as a diagnostic tool which will launce lots of new project for more functional drug delivery vehicles. What is more, with gold nanoparticles added to the MC structure, new- generation colloidal structures have been produced which can be used in both diagnosis and treatment.

Keywords: Solid lipid nanoparticles, colloidal microcapsules, drug encapsulation/release, self-assembly, layer-by-layer method

TEŞEKKÜR

Sonsuz desteği ve güler yüzü ile bir danışmandan veya hocadan çok ailemden biri gibi, yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, her türlü sorunumda hiç çekinmeden kapısını çalabildiğim, akademik açıdan bildiğim neredeyse her şeyi borçlu olduğum, çalışma etiğine, insan ilişkilerine ve hayat görüşüne sonsuz saygı duyduğum, birlikte çalışmaktan her zaman ve son derece gururlandığım, sadece akademik anlamda değil hayatımın her aşamasında yanımda olmasından büyük mutluluk duyacağım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Nihal Aydoğan'a,

Yüksek lisans tez jürimde de varlığıyla beni çok şanslı ve mutlu hissettiren, önerilerini ve yardımlarını esirgemeyen, beni hep cesaretlendiren ve destekleyen, doktora tez çalışmamın en azından bir bölümünde beraber çalışma şansını bulabildiğim, aklımdaki ve kalbimdeki değerli hatırasını her zaman koruyacağım rahmetli Prof. Dr. Ayla Çalimli'ya,

Tecrübe, öneri ve paylaşımlarıyla doktora çalışmam boyunca yol gösteren ve değerli zamanlarını ayıran Tez İzleme Komitesi'ndeki değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Nuray Yıldız ve Prof. Dr. Tülay Durusoy'a, Tez çalışmamı 215 M 759 numaralı proje kapsamında destekleyen ve daha anlamlı olmasını sağlayan TÜBİTAK'a,

Her an bana gösterdikleri karşılıksız yardımseverlikleri, güler yüz, iyi niyet ve hoşgörülerıyla doktora sürecimin zorluklarını eğlence ve mutluluğa dönüştüren, ihtiyaç duyduğum her zaman destek ve yardımlarını esirgemeyen, beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum Gökçe, Erdem, Gülnur, Nihan, Merve ve Merve (☺), Arwa, Dilara ve Elife,

Hayatın bana verdiği en büyük hediye olarak gördüğüm, türlü zorluklarıyla birbirimize olan bağlarımızı sorgulayan hayat karşısında beni hiçbir zaman yalnız ya da eksik hissettirmeyen, her dileğimi her an müthiş bir özveriyle gerçekleştiren, hem en yakın dostum, hem kardeşim, hem öğretmenim olan, ne olursa olsun kendimi hep güvende ve şanslı hissetmemi sağlayan canım ablam ve Babür ağabeyime,

Hiçbir engelin üzerimdeki ellerini, kalbimdeki sevgilerini ve hissettirdikleri merhamet, fedakârlık ve sevgiyi benden alamayacağı, beni hep izlediklerini ve koruduklarını bildiğim canım annem ve babama,

Sonsuz iyilik, fedakârlık, destek ve anlayışlarıyla beni kendilerinden ayırmayan ve hiç eksik hissettirmeyen, her türlü ihtiyaç ve isteğimi özveri ve sabırla karşılayan, bana hayatın yaptığı bir güzellik olarak gördüğüm Nesrin annem, Hüseyin babam ve kardeşim Başak'a,

Yüksek lisans ve doktora hayatım boyunca içtenlik, hoşgörü ve dostluklarını benden hiç esirgemeyen, en zor zamanları güzelleştiren ve eğlenceli hale getiren, yalnız olmamanın verdiği huzuru her zaman sayelerinde hissettiğim ve hep yüzümün gülmesini sağlayan canım arkadaşlarım Hande ve Hande (☺), Yasemin ve İlkay'a,

Her sıkıntıma bitmek bilmeyen bir sabırla çözüm bulmaya ve beni rahatlatmaya çalışan, bana konu ne olursa olsun onlarla paylaşabileceğimi ve beraber her şeyin üstesinden gelebileceğimizi gösteren, hayatıma renk katan güzel arkadaşlarım Pınar ve Özge'ye,

Asla eskimeyen, azalmayan ve değişmeyen sevgi ve dostluklarıyla, her anımı koşulsuzca paylaşabildiğim, varlıkları sayesinde iyiliğin ve güzelliğin gücüne daha çok inandığım, bana hep destek olan, hep güç veren, yollarımız kesiştiği için tüm kalbimle "iyi ki" dediğim canım kardeşlerim Yıldız, Ezgi, Efsun, Ümran ve Dilek'e,

Anlatılmaz dostluğu, içtenliği, fedakârlığı ve güler yüzü ile iyi ki hayatımda ve iyi ki bundan sonra da hep hayatımda olacak dediğim, hayatın bana sunduğu en büyük şanslardan biri olarak gördüğüm canım dostum Gözde'ye,

En zor zamanımda en büyük şansım olarak karşıma çıkan, varlığı ile hayatımı anlamlandıran, beni iyiliğin ve güzelliğin gücüne inandıran, sonsuz sevgi, anlayış, fedakârlık, destek ve özverisi ile kendimi dünyanın en şanslı insanı olarak hissettiren, en iyi dostum, yol arkadaşım, canım eşim Cem'e,

Ve bu süreçte kahrımı çeken burada adını anmadığım bütün hocalarıma, arkadaşlarıma ve bölüm çalışanlarına,

en içten teşekkürlerimi sunarım.

Gökçe Dicle KALAYCIOĞLU

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
ÇİZELGELER.....	xi
ŞEKİLLER.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xx
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	6
2.1. Nanobilim ve Teknoloji.....	6
2.2. Nanopartiküller.....	6
2.2.1. Lipit Nanopartiküller.....	7
2.2.1.1. Katı Lipit Nanopartiküller (KLN).....	8
2.2.1.1.1. Kullanılan Malzemelerin KLNlerin Özellikleri Üzerine Etkisi.....	10
2.2.1.1.1.1. Kullanılan Lipitin Etkisi.....	10
2.2.1.1.1.2. Kullanılan Emülsifiye Edici Ajanın Etkisi.....	11
2.2.1.1.2. KLN Hazırlama Yöntemleri.....	11
2.2.1.1.3. KLNlerde Etken Madde Yüklenmesi ve Salımı.....	15
2.2.1.1.4. KLNlerin Stabilitesi.....	19
2.2.1.1.5. KLNlerin Uygulama Yolları.....	20
2.3. Mikrokapsüller.....	23
2.3.1. Mikrokapsüllerin Hazırlanması.....	24
2.3.1.1. Yüzey Aktif Madde Temelli Emülsiyon (Surfactant Mediated Emulsion).....	24
2.3.1.2. Pickering Emülsiyonların ve Kolloidozomlar.....	25
2.3.1.3. Mikroakışkanlar.....	27
2.3.1.4. Tabaka-Tabaka Kaplama Yöntemi.....	27
2.3.1.4.1. TTK Yöntemiyle Hazırlanan Mikrokapsüllerin İçine Etken Madde Alımı.....	30
2.3.1.4.2. TTK Yöntemiyle Hazırlanan Mikrokapsüllerden Etken Madde Salımı.....	32
2.4. İlaç Salım Mekanizma ve Modelleri.....	33

3. DENEYSEL YÖNTEMLER.....	41
3.1. Kimyasal Maddeler.....	41
3.2. Katı Lipit Nanopartiküllerin Sentezi.....	41
3.2.1. 1. Basamak – Mikroemulsiyon Hazırlanması.....	41
3.2.2. 2. Basamak – KLNlerin Oluşturulması.....	42
3.3. Katı Lipit Nanopartiküllerin İlaç Tutma Özelliklerinin İncelenmesi.....	42
3.3.1. Katı Lipit Nanopartiküllere Askorbik Asit Yüklenmesi.....	43
3.3.2. Katı Lipit Nanopartiküllere Metilen Mavisi Yüklenmesi.....	44
3.4. Katı Lipit Nanopartiküllerden İlaç Salım Özelliklerinin İncelenmesi.....	44
3.4.1. Katı Lipit Nanopartiküllerden Askorbik Asit Salım Özelliklerinin İncelenmesi.....	44
3.4.2. Katı Lipit Nanopartiküllerden Metilen Mavisi Salım Özelliklerinin İncelenmesi.....	45
3.5. Altın Nanopartiküllerin Sentezi.....	45
3.6. Kolloidal Mikrokapsüllerin Hazırlanması.....	46
3.6.1. Polistiren (PS) Lateks Partiküller Kullanılarak Mikrokapsül Oluşturulması.....	46
3.6.2. İbuprofen (IBU) Kristalleri Kullanılarak Mikrokapsül Oluşturulması.....	48
3.7. Sentezlenen Katı Lipit Nanopartiküllerin, Altın Nanopartiküllerin ve Kolloidal Mikrokapsüllerin Karakterizasyonu.....	51
3.7.1. LS (Işık Saçınımı Yöntemi).....	51
3.7.2. AFM Görüntülemesi (Atomik Kuvvet Mikroskobu).....	53
3.7.3. Zeta-potansiyel ölçümleri.....	54
3.7.4. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC).....	56
3.7.5. Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM).....	57
3.7.6. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM).....	58
4. DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞILMASI.....	61
4.1. Katı Lipit Nanopartiküllerin Sentezi.....	61
4.1.1. Malzemelerin ve Yöntemin Belirlenmesi.....	61
4.1.2. KLN Sentezi 1. Basamak - ME Hazırlanması.....	63
4.1.3. KLN Sentezi 2. Basamak - KLN Hazırlanması.....	69
4.2. Katı Lipit Nanopartiküllerin Karakterizasyonu.....	71
4.3. Katı Lipit Nanopartiküllerin Stabilitesi.....	81
4.4. Katı Lipit Nanopartiküllerin İlaç Tutma Özelliklerinin İncelenmesi.....	84

4.4.1. Katı Lipit Nanopartiküllerin Metilen Mavisi Tutma Özelliklerinin İncelenmesi.....	85
4.4.2. Katı Lipit Nanopartiküllerin Askorbik Asit Tutma Özelliklerinin İncelenmesi.....	89
4.5. Katı Lipit Nanopartiküllerin In Vitro İlaç Salım Özelliklerinin İncelenmesi.....	91
4.5.1. Katı Lipit Nanopartiküllerden Metilen Mavisi Salım Özelliklerinin In Vitro Ortamda İncelenmesi.....	92
4.5.2. Katı Lipit Nanopartiküllerden Askorbik Asit Salım Özelliklerinin In Vitro Ortamda İncelenmesi.....	94
4.6. Kolloidal Mikrokapsüllerin Oluşturulması.....	101
4.6.1. Polistiren (PS) Lateks Partiküller Kullanılarak Mikrokapsül Oluşturulması.....	105
4.6.2. İbuprofen Kristalleri (IBU) Kullanılarak Mikrokapsül Oluşturulması.....	124
5. SONUÇLAR.....	151
KAYNAKLAR.....	157
EKLER.....	169
ÖZGEÇMİŞ.....	174

ÇİZELGELER

Sayfa

Çizelge 2.1. Korsmeyer-Peppas Salım Modeli kullanılarak hesaplanan salım derecesi (n) değerinin karakterize ettiği salım mekanizmaları.....	40
Çizelge 4.1. KLN sentez sürecinde 1. Basamakta hazırlanan ME oluşumu için optimize edilen parametreler ve kompozisyonları.....	64
Çizelge 4.2. Hazırlanan KLNlerin kompozisyonları ve kullanılan ME:su oranları.....	70
Çizelge 4.3. Hazırlanan KLNlerin % bileşimleri ve fizikokimyasal özellikleri (ortalama± SS, n=3).....	71
Çizelge 4.4. Hazırlanan KLNlerin erime noktası, erime entalpisi (ΔH) ve kristallik indeksi (CI%) değerleri.....	79
Çizelge 4.5. KLNlerin hazırlanmasından 3 ay sonra oda sıcaklığında tutulmuş örneklerle yapılan stabilite ölçüm sonuçları.....	83
Çizelge 4.6. KLNlere MM yükleme kapasitesi (YK%) ve yüzey yük yoğunluğu değerleri.....	87
Çizelge 4.7. KLN _{L2} , KLN _{P1} , KLN ₆ , KLN ₉ ve KLN ₉₋₂ partiküllerine ait AA yükleme kapasitesi değerleri.....	90
Çizelge 4.8. Hazırlanan KLNlerden AA salımına yönelik hesaplanan kinetik parametreler.....	99
Çizelge 4.9. AA salım profilleri incelenen KLNlerin, hesaplanan R ² değerlerine göre en uygun bulunan salım modelleri.....	100
Çizelge 4.10. TTK yöntemiyle koloidal mikrokapsül hazırlanmasında kullanılan PS, AuNP, KLN _{P1} ve KLN _{L1} partiküllerine ait zeta potansiyel değerleri.....	105
Çizelge 4.11. Pozitif yüklü PS partiküller üzerine KLN _{P1} kaplanması sonucunda zeta-potansiyel değerinin zamanla değişimi.....	106

Çizelge 4.12. PS partiküller üzerine kabuk malzeme olarak kullanılan KLN ve AuNPLerin kullanım miktarlarına göre zeta potansiyel değişimleri.....	106
Çizelge 4.13. PS partiküller üzerine kabuk malzeme olarak kullanılan KLN ve AuNPLer ile yapılan 9 katman kaplama sonucunda, partiküllerin kullanım miktarlarına göre zeta potansiyel değişimleri.....	114
Çizelge 4.14. AA salım profilleri incelenen PS-KLN _{L1} , PS-KLN _{L1} -AuNP ve PS-KLN _{L1} -Kitosan sistemleri için hesaplanan R ² değerlerine göre en uygun bulunan salım modelleri.....	118
Çizelge 4.15. PS partiküllerin çekirdek malzemesi olarak kullanıldığı kolloidal mikrokapsüllerden AA salımına yönelik hesaplanan kinetik parametreler.....	119
Çizelge 4.16. PS-KLN _{P1} -Kitosan mikrokapsüllerden AA salımına yönelik hesaplanan kinetik parametreler.....	122
Çizelge 4.17. IBU kristallerin çekirdek malzemesi olarak kullanıldığı kolloidal mikrokapsüllerden IBU salımına yönelik hesaplanan kinetik parametreler.....	131
Çizelge 4.18. IBU salım profilleri incelenen yüzeyi kaplanmamış IBU kristali, IBU-AuNP ve IBU-Kitosan sistemleri için hesaplanan R ² değerlerine göre en uygun bulunan salım modelleri.....	132
Çizelge 4.19. IBU kristallerin çekirdek malzemesi olarak kullanıldığı kolloidal mikrokapsüllerden IBU salımına yönelik hesaplanan kinetik parametreler.....	141
Çizelge 4.20. IBU salım profilleri incelenen yüzeyi kaplanmamış IBU (0), IBU (1), IBU (2) ve IBU (3) olarak kodlanmış sistemler için hesaplanan R ² değerlerine göre en uygun bulunan salım modelleri.....	143
Çizelge 4.21. IBU kristallerin çekirdek malzemesi olarak kullanıldığı kolloidal mikrokapsüllerden AA salımına yönelik hesaplanan kinetik parametreler.....	147
Çizelge 4.22. AA salım profilleri incelenen AA (0), AA (1), AA (2) ve AA (3) olarak kodlanmış sistemler için hesaplanan R ² değerlerine göre en uygun bulunan salım modelleri.....	149

ŞEKİLLER

Sayfa

Şekil 2.1. Misel, lipozom, nanoemülsiyon damlacığı ve katı lipit nanopartiküllerin yapısal olarak karşılaştırılmasının şematik gösterimi.....	7
Şekil 2.2. Sıcak ve soğuk yüksek basınçlı homojenizasyon yöntemiyle KLN hazırlanma mekanizması.....	12
Şekil 2.3. Yüksek hızda karıştırma ve ultrasonikasyon yöntemiyle KLN hazırlanma mekanizması.....	13
Şekil 2.4. Çözücü Emulsifiye Etme – Buharlaştırma Yöntemi ile KLN hazırlanma mekanizması.....	14
Şekil 2.5. Mikroemülsiyon Yöntemi ile KLN hazırlanma mekanizması.....	15
Şekil 2.6. Katı çözelti, etken madde bakımından zengin kabuk ve etken madde bakımından zengin çekirdek modeliyle KLNlere etken madde yüklenmesinin şematik gösterimi.....	17
Şekil 2.7. Yüzey aktif madde temelli emülsiyon ve dondurarak-kurutma yöntemleri bir arada kullanılarak hazırlanan polimer mikrokapsül hazırlanışının şematik gösterimi.....	25
Şekil 2.8. Yağ-su emülsiyonları içinde partikül tarafından stabilize edilen sıvı çekirdek-polimer kabuk mikrokapsül hazırlanışının şematik gösterimi.....	26
Şekil 2.9. Monodispers su/yağ/su çift emülsiyonu hazırlayan mikroakışkan cihazının şematik gösterimi.....	27
Şekil 2.10. TTK yöntemiyle elektrostatik olarak birbirleriyle etkileşen polielektrolitlerin kabuk malzemesi olarak kullanıldığı mikrokapsül hazırlanışının şematik gösterimi.....	28
Şekil 2.11. Farklı yöntemler ile etken maddelerin enkapsülasyonu A) Geçirgen mikrokapsüllerin önceden hazırlanması, B) Etken madde kristallerinin enkapsülasyonu, ve C) Etken maddenin poroz malzemelere yüklenmesi.....	31

Şekil 2.12. Kontrollü ve kontrolsüz ilaç salım sistemlerinden gerçekleşen salımın kandaki ilaç derişimi üzerine etkisi.....	33
Şekil 2.13. Farklı fazları içeren ilaç salım profilleri.....	34
Şekil 2.14. Çekirdek-kabuk yapısında olan ilaç taşıyıcı sistemlerden gerçekleşen çeşitli ilaç salım profilleri.....	36
Şekil 3.1. (A) KLNlerin çekirdek kısmına etken madde yüklenmesi, (B) KLNlerin yüzeyine etken madde tutturulması.....	43
Şekil 3.2. A) Çekirdek olarak kullanılan PS partiküller üzerine KLN ve AuNP partiküllerin kabuk malzeme olarak kullanıldığı, B) KLN, AuNP partiküllerin ve kitosanın kabuk malzeme olarak kullanıldığı mikrokapsüllerin şematik gösterimi.....	47
Şekil 3.3. Çekirdek olarak kullanılan PS partikülünün KLN _{L1} , AuNP ve kitosan kullanılarak 4 katman ile kaplandıktan sonra THF yardımıyla ortamdan uzaklaştırılmasının şematik gösterimi.....	48
Şekil 3.4. Ticari olarak edinilen Ibuprofen kristallerinin küçük ve eşboyutlu hale getirilmeleri için, mikrokapsül çalışmaları öncesinde uygulanan işlem sırası.....	49
Şekil 3.5. A) Çekirdek olarak kullanılan IBU kristaller üzerine KLN ve AuNP partiküllerin kabuk malzeme olarak kullanıldığı, B) KLN, AuNP partiküllerin ve kitosanın kabuk malzeme olarak kullanıldığı IBU mikrokapsüllerin şematik gösterimi.....	49
Şekil 3.6. Numune üzerinden ışık saçınımının şematik gösterimi.....	51
Şekil 3.7. AFM ile örnek yüzeyi taranmasının şematik görüntüsü.....	53
Şekil 3.8. Zeta-potansiyel ölçümünün şematik gösterimi.....	55
Şekil 3.9. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre ile yapılan termal analizinin şematik gösterimi.....	57
Şekil 3.10. Geçirimli Elektron Mikroskobu ile görüntü alınmasının şematik gösterimi.....	58

Şekil 3.11. Taramalı Elektron Mikroskobu ile görüntü alınmasının şematik gösterim.....	59
Şekil 4.1. A) ME yöntemiyle KLN hazırlanmasının ilk basamağını oluşturan “ME hazırlanması” işleminin şematik gösterimi B) ME oluşumu gözlenmeyen C) Şeffaf ME oluşumu gözlenen 1. basamak ürünü.....	65
Şekil 4.2. ME yöntemiyle KLN sentezinin 2. basamağının şematik gösterimi.....	69
Şekil 4.3. Hazırlanan KLNlerin temiz cam lamel üzerine damlatılıp oda sıcaklığında kurutulduktan sonra “Topografya” modunda alınan AFM görüntüleri.....	74
Şekil 4.4 Hazırlanan A) KLN _{P1} , B) KLN _{L1} , C) KLN ₅ , D) KLN ₆ , E) KLN ₇ , F) KLN ₈ , G) KLN ₉ , H) KLN ₁₀ , I) KLN ₁₁ , J) KLN ₁₂ partiküllerinin DSC termogramları.....	77
Şekil 4.5. Zamanla KLNler tarafından tutulan MM miktarının değişimi.....	86
Şekil 4.6. Yüzey yük yoğunluğunun partiküllere ait YK%±SS (hata çubukları) değerlerine etkisi.....	88
Şekil 4.7. Sentezlenen KLNlerden in vitro MM salımının zamanla değişimi.....	92
Şekil 4.8. Hazırlanan KLNlere ait MM yükleme (%YK) ve salım (%SK) kapasitesi değerleri.....	93
Şekil 4.9. AA yükleme çalışması yapılan KLNlerin AA salım veriminin (SV%) zamanla değişimi.....	94
Şekil 4.10. AA yükleme çalışması yapılan KLNlerin AA salım veriminin (SV%) “kısa zamanlı” değişimi.....	96
Şekil 4.11. Hazırlanan KLNlerden AA salım davranışının A) Sıfırıncı-derece, B) Birinci-derece, C) Higuchi, D) Korsmeyer-Peppas ve E) Hixson-Crowell modeline göre hesaplanan profilleri.....	98
Şekil 4.12. Tohum-Büyütme Yöntemi ile sentezlenmiş küre şeklindeki AuNPlerin LS sonucu.....	103
Şekil 4.13. Tohum-Büyütme Yöntemi ile sentezlenmiş küre şeklindeki AuNPlerin	

TEM sonuçları.....	104
Şekil 4.14. Tohum-Büyütme Yöntemi ile sentezlenmiş küre şeklindeki AuNPlerin UV-vis spektroskopisi sonucu.....	104
Şekil 4.15. A) Yüzeyi boş PS partikülüne; B) ve C) Optimizasyon sürecinde denenen KLN miktarlarıyla inkübe edilen PS partikülüne; D, E ve F) Optimizasyon sonucunda karar verilen KLN miktarıyla inkübe edilmiş PS yüzeyine ait SEM görüntüleri.....	108
Şekil 4.16. PS partikül üzerine kaplanan malzemeye göre zeta-potansiyel değişimi.....	109
Şekil 4.17. UV-vis ışığı altında AuNPlere ait “enine” ve “boyuna” plazmon bandı oluşumunun şematik görünümü.....	110
Şekil 4.18. (A) PS, (B) PS-KLN-AuNP, (C) PS-KLN-AuNP-KLN partiküllerine ait UV vis spektroskopisi sonuçları (Hocam bu grafikler benim çektiğim fotoğrafların üstüste çizdirilmiş hali.....	111
Şekil 4.19. PS partikül üzerine kaplanan malzemeye göre zeta-potansiyel değişimi.....	112
Şekil 4.20. Yüzeyi KLN ile kaplanmış PS partikülünün üstüne son katman olarak A) 0.1 mg/mL ve B) 1 mg/mL derişimlerde kitosan kaplanmış PS yüzeyine ait SEM görüntüleri.....	113
Şekil 4.21 PS partikül üzerine KLN_{P1} , AuNP ve Kitosan kullanılarak yapılan 10 kat kaplama sonucunda elde edilen zeta-potansiyel değişimi.....	113
Şekil 4.22. Çekirdek malzemesi olarak PS partikül ve kabuk malzemesi olarak da AA yüklü KLN_{L1} , AuNP ya da kitosan kullanılarak TTK yöntemiyle hazırlanan ilaç taşıyıcı sistemden salınan AA yüzdesinin zamanla değişimi.....	115
Şekil 4.23. Çekirdek malzemesi olarak PS partikül ve kabuk malzemesi olarak da AA yüklü KLN_{L1} , AuNP ya da kitosan kullanılarak TTK yöntemiyle hazırlanan ilaç taşıyıcı sistemden salınan AA yüzdesinin kısa-zaman davranışı.....	116

- Şekil 4.24. Çekirdek malzemesi olarak PS partiküllerin ve kabuk malzemesi olarak da AA yüklü KLNlerin, AuNPlerin ve kitosanın kullanıldığı mikrokapsüllerden AA salımının A) Sıfırıncı-derece, B) Birinci-derece, C) Higuchi, D) Korsmeyer-Peppas ve E) Hixson-Crowell modeline göre hesaplanan profilleri.....117
- Şekil 4.25. PS-KLN_{P1}-Kitosan mikrokapsüllerden AA salımının A) Sıfırıncı-derece, B) Birinci-derece, C) Higuchi, D) Korsmeyer-Peppas ve E) Hixson-Crowell modeline göre hesaplanan profilleri.....121
- Şekil 4.26. PS partiküllerler üzerine KLN_{L1}, AuNP ve kitosanın kabuk olarak kullanıldığı yapıdan THF yardımıyla, PS çekirdeklerin uzaklaştırılmasının ardından oluşan kapsül yapısının TEM görüntüleri.....123
- Şekil 4.27. IBU kristalleri üzerine kaplanan malzemeye göre zeta-potansiyel değişimi..... 125
- Şekil 4.28. Çekirdek malzemesi olarak IBU kristali ve kabuk malzemesi olarak da AuNP ya da kitosan kullanılarak TTK yöntemiyle hazırlanan ilaç taşıyıcı sistemden salınan IBU yüzdesinin zamanla değişimi.....126
- Şekil 4.29. Çekirdek malzemesi olarak IBU kristali ve kabuk malzemesi olarak da AuNP ya da kitosan kullanılarak TTK yöntemiyle hazırlanan ilaç taşıyıcı sistemden salınan AA yüzdesinin kısa-zaman davranışı.....127
- Şekil 4.30. IBU kristalleri üzerine TTK yöntemi ile A) AuNP B) Kitosan kaplandıktan sonra pH7.4'te IBU salımının 48 saat ardından oluşan kapsüllerin..... 128
- Şekil 4.31. Çekirdek malzemesi olarak IBU partiküllerin ve kabuk malzemesi olarak da AuNPlerin ve kitosanın kullanıldığı mikrokapsüllerden IBU salımının A) Sıfırıncı-derece, B) Birinci-derece, C) Higuchi, D) Korsmeyer-Peppas ve E) Hixson-Crowell modeline göre hesaplanan profilleri.....130
- Şekil 4.32. IBU kristalleri üzerine kaplanan malzemeye göre zeta-potansiyel değişimi..... 133
- Şekil 4.33. Mikrokapsül yapımında çekirdek malzeme olarak kullanılan IBU kristallerinin (A) herhangi bir kaplama yapılmadan önceki ve (B) AuNP ve KLN_{P1}

partikülleri ile 4 tabaka kaplandıktan sonraki SEM görüntüleri.....	134
Şekil 4.34. IBU kristaller üzerine $KLNP_1$, AuNP ve Kitosan kullanılarak yapılan 9 kat kaplama sonucunda elde edilen zeta-potansiyel değişimi.....	135
Şekil 4.35. IBU kristallerinin çekirdek malzeme olarak kullanıldığı A) 2 katmanlı, B) 4 katmanlı, C) 6 katmanlı ve D) 9 katmanlı kapsül yapılarının 48 saat pH 7.4 ortamında bekletildikten sonra alınan TEM görüntüleri.....	136
Şekil 4.36. Çekirdek malzemesi olarak IBU kristali ve kabuk malzemesi olarak da AA yüklü $KLNL_1$, AuNP ya da kitosan kullanılarak TTK yöntemiyle hazırlanan ilaç taşıyıcı sistemden salınan IBU yüzdesinin zamanla değişimi.....	137
Şekil 4.37 Çekirdek malzemesi olarak IBU kristali ve kabuk malzemesi olarak da AA yüklü olan ve olmayan $KLNL_1$, AuNP ya da kitosan kullanılarak TTK yöntemiyle hazırlanan ilaç taşıyıcı sistemden salınan IBU yüzdesinin kısa-zaman davranışı.....	139
Şekil 4.38. Çekirdek malzemesi olarak IBU partiküllerin ve kabuk malzemesi olarak da AA yüklenmiş ve yüklenmemiş $KLNP_1$, AuNPlerin ve kitosanın kullanıldığı mikrokapsüllerden IBU salımının A) Sıfırıncı-derece, B) Birinci-derece, C) Higuchi, D) Korsmeyer-Peppas ve E) Hixson-Crowell modeline göre hesaplanan profilleri.....	140
Şekil 4.39. Çekirdek malzemesi olarak IBU kristali ve kabuk malzemesi olarak da AA yüklü olan ve olmayan $KLNP_1$, AuNP ya da kitosan kullanılarak TTK yöntemiyle hazırlanan ilaç taşıyıcı sistemden salınan AA yüzdesinin zamanla değişimi.....	144
Şekil 4.40. Çekirdek malzemesi olarak IBU kristali ve kabuk malzemesi olarak da AA yüklü olan ve olmayan $KLNP_1$, AuNP ya da kitosan kullanılarak TTK yöntemiyle hazırlanan ilaç taşıyıcı sistemden salınan AA yüzdesinin kısa-zaman davranışı.....	145
Şekil 4.41. Çekirdek malzemesi olarak IBU partiküllerin ve kabuk malzemesi olarak da AA yüklenmiş ve yüklenmemiş $KLNP_1$, AuNPlerin ve kitosanın kullanıldığı mikrokapsüllerden AA salımının A) Sıfırıncı-derece, B) Birinci-derece, C) Higuchi, D) Korsmeyer-Peppas ve E) Hixson-Crowell modeline göre hesaplanan	

profilleri..... 146

Şekil 4.42. IBU kristalleri üzerine TTK yöntemiyle kaplanarak hazırlanan sistemlerden ilk 1 saat için AA ve IBU salım yüzdeleri..... 150

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

ζ	Zeta potansiyel değeri
μ	Elektroforetik mobilite
η	Viskozite
λ	Lazer dalga boyu
ω_0	Gönderilen ışığın frekansı
σ	Yüzey yük yoğunluğu
κ	Debye uzunluğu
k	Salım hız sabiti
n	Salımın derecesi
R^2	Determinasyon katsayısı

Kısaltmalar

AA	Askorbik asit
AFM	Atomik Kuvvet Mikroskobu
AuNP	Altın nanopartikül
CHI	Kitosan
CI%	Kristallik derecesi
CTAB	Setil trimetil amonyum bromür
DLS	Dinamik Işık Saçınımı
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
IBU	İbuprofen
KLN	Katı lipit nanopartikül
ME	Mikroemülsiyon

MK	Mikrokapsül
MM	Metilen mavisi
PS	Polistiren
SDS	Sodyum dodesil sülfat
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
SK%	Salım kapasitesi
TEM	Geçirimli Elektron Mikroskobu
THF	Tetrahidrofur
TTK	Tabaka-tabaka kaplama
YK%	Yükleme Kapasitesi

1. GİRİŞ

Nanobilim ve nanoteknoloji, 1-100 nm arasındaki malzemelerle yapılan bilimsel ve teknolojik çalışmaların ve bu çalışmaların kullanıldığı uygulamaların genel adıdır. Nanomalzemeler, yığın hallerinden bağımsız ve onları oluşturan yapıtaşlarına bağlı olarak, makro boyutlarından farklı, gelişmiş elektronik, manyetik, optik ve fiziksel özelliklere sahip olurlar. Bu üstün özellikleri sayesinde nanomalzemeler, elektronikten kozmetiğe, tıptan malzeme bilimine ve enerji üretimine kadar uzanan geniş bir yelpazede kullanım alanı bulmaktadır. Sıklıkla kullanılan nano malzemeler içerisinde nanopartiküller, nanotüpler, nanokompozitler ve nanokristaller sayılabilmektedir [1].

Nanopartiküller, son yıllarda, hem bilimsel çalışmalar hem de medikal ve teknolojik uygulamalarda kullanılabilirliği nedeni ile oldukça ilgi çekmektedir [2,3,4]. En genel tanımıyla nanopartiküller, 2 veya 3 boyutunun uzunluğu 1-100 nm arasında olan partiküllerdir [5]. Metalik, polimer, kompozit ve lipit başlıcaları olmak üzere, çeşitli yapıtaşları kullanılarak nanopartiküller sentezlenebilmektedir [6,7,8]. Nanopartiküllerin hangi malzemeden oluştuğu, boyutu, şekli ve yüzey fonksiyonelliği, kullanılacağı hedef alana göre değişmekte ve görecelilik kazanmaktadır.

İstenen boyutta, şekilde ve kompozisyonda nanopartikül sentezinin gerçekleştirilebiliyor olması, medikal ve farmasötik başta olmak üzere birçok alanda önemli gelişmeleri de beraberinde getirmiştir [2,9]. Etken maddelerin bünyesine dahil edilerek teşhis ya da tedavide kullanımının kolay hale getirilmesi, nanopartiküllerin (polimer, lipit vb.), kontrollü ve hedeflenmiş salım uygulamaları için yaygın olarak araştırılan bir konu olmasını sağlamıştır. Polimerik nanopartiküller, düşük biyobozunma performansları, sentez aşamasından kalan toksik organik çözücü kalıntıları, endüstriyel boyutta üretimlerinin mümkün olmaması ve sterilizasyonları için bir yöntem bulunmaması gibi dezavantajları olduğundan, ideal bir nanotaşıyıcının sahip olması gereken temel özellikleri (biyoyumluluk, sterilizasyon, üretim kapasitesi vb.) karşılayamamaktadır. Son yıllarda, farklı kolloidal taşıyıcıların (polimer nanopartiküller, lipozomlar vb.) avantajlarını bir arada bulunduran ve dezavantajlarını ortadan kaldıran katı lipit

nanopartiküller (KLN), diğer nanotaşıyıcılara alternatif bir etken madde taşıyıcı sistemi olarak daha çok tercih edilmektedir [10,11].

Katı lipid nanopartiküller (KLN), 1990lı yıllarda ilk defa, alternatif bir nanotaşıyıcı olarak kullanılmaya başlanmıştır [12]. Boyutları 50-1000 nm aralığında değişim gösterebilen KLNlerin temel yapıtaşları, çeşitli fizyolojik lipidler, emulsifiye edici ajanlar ve sudan ibarettir. KLNler; lipid biyoyumluluğu, çeşitliliği ve fonksiyonelliği özelliklerine sahip oldukları için, medikal ve farmasötik alanlarında, diğer nanopartiküllere göre avantajlı olabilmektedir. KLNlerin diğer önemli avantajları arasında, diğer lipid bazlı taşıyıcılara göre daha dayanıklı olması, içeriklerinin biyoyumlu olması dolayısıyla toksisiteye neden olmaması, polimerik nanopartiküllere göre, sentez yöntemlerinin daha kolay ve az tehlikeli olması, enkapsüle edilecek malzemenin salım kinetiğinin kolay kontrol edilebiliyor olması ve çeşitli seçenekleri bulunması, biyoyumluluğu dolayısıyla uygulama yöntemi açısından çeşitlilik sağlaması ve büyük ölçekte üretiminin mümkün olması sayılabilir [13].

KLNler, yüksek basınçlı homojenizasyon başta olmak üzere, mikroemülsiyon yöntemi ve çözücü emulsifiye etme/uçurma yöntemi gibi çeşitli tekniklerle hazırlanabilmektedir. Ayrıca, püskürterek kurutma ve liyofilizasyon yöntemleriyle de kuru halde KLN elde edilmesi mümkün olmaktadır.

İlk aşamada küçük boyut (<200 nm) ve dar boyut aralığında KLN sentezinin gerçekleştirilmesi hedeflenen tez çalışmasında, lipid malzeme olarak stearik asit ve emülsifiye edici ajan olarak da litokolik asit, Pluronik F 127, Tween 20, lesitin ve butanol kullanılmıştır. KLN sentezi için tercih edilen mikroemülsiyon yöntemi kullanılarak 12 farklı partikül sentezi başarıyla tamamlanmıştır. Hazırlanan KLNlerin karakterizasyonu Taramalı Elektron Mikroskobu, Atomik Kuvvet Mikroskobu, Işık Saçınımı, Diferansiyel Taramalı Kalorimetre analizleri ve zeta potansiyel ölçümleri ile tamamlandıktan sonra elde edilen uygun boyut ve yüzey fonksiyonelliğine sahip partiküller ile askorbik asit ve metilen mavisi model ilaçlarının alım/salım çalışmaları yapılmıştır.

Nanopartiküller medikal, elektronik, çevre, gıda ve enerji gibi birçok sektörde tek başlarına kullanılabildikleri gibi, günümüzde kendi-kendine kümeleşme ile oluşturdukları çeşitli boyut ve dizilimdeki yapılarla da kendilerine kullanım alanları

bulmaktadır. Nano boyutlu malzemelerin bir araya gelerek oluşturdukları yapılanmalar da yığın hallerinden bağımsız olarak, farklı özellikler edinmektedirler. Çözelti içinde kendinden dizilebilen moleküller veya biyolojik moleküllerin DNA gibi üç boyutlu dizilimler oluşturması nano boyuttaki yapılanmalara örnek olarak verilebilir [14]. Bu yolla oluşan malzemeler, parçadan bütüne ulaştığı için, farklı özelliklerdeki yapıtaşlarının kullanılmasıyla, birden fazla özelliği bünyesinde barındırabilmektedir.

Kendi-kendine kümeleşme ile oluşan yapılara verilebilecek önemli örneklerden biri, son yıllarda ilaç taşıma sistemleri, mikroreaktörler, katalizörler ve enkapsüle edici ajanlar gibi birçok kullanım alanı olan mikrokapsüllerdir (MK) [15]. Küçük ve ayarlanabilir boyutları, geniş iç hacimleri ve yüzey alanları, yüksek dayanımları ve etkiye cevap verebilme özellikleri MKleri istenilen malzemelerin enkapsüle edilmesi ve taşınması açılarından ideal kılmaktadır. Geçtiğimiz yıllarda, lipozomlar, polimerzomlar ve polielektrolit kapsüller gibi çok çeşitli nano ve mikro boyutlu kapsüller sentezlenmiştir. Sentezlenen bu kapsüller, klinik olarak, ilaç taşınımı, gen taşınımı, kanser tedavisi gibi birçok medikal alanda da kullanılmıştır. Umut vadeden bu çalışmalar da göz önünde bulundurularak, kapsüllerin daha dayanıklı ve daha fonksiyonel yapılar haline getirilmeleri için çalışmalar yapılmıştır.

Bu bilgiler ışığında, çalışmanın ikinci aşamasında, yüksek dayanımları ve gelişmiş ilaç alım/salım kapasitelerinden faydalanılmak üzere KLNler kullanılarak kendi-kendine kümeleşme yöntemiyle biyouyumlulukları, ayarlanabilir boyutları, geniş iç hacimleri ve yüzey alanları gibi öne çıkan birçok avantaja sahip bir ilaç taşıma sistemi olarak kullanılabilecek koloidal mikrokapsüllerin üretimi (MK) çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bahsedilen özelliklerin yanı sıra, kendi-kendine kümeleşme yöntemiyle elde edilebilecek olan yapılar, nanopartiküllerin bireysel hallerinden daha fonksiyonel olabilmektedir. Farklı malzemelerin özelliklerinin tek bir bünyede toplanmasıyla elde edilebilecek bu işlevselliğin yanı sıra daha dayanıklı malzemelerin de bu yolla üretimi mümkündür [16]. Literatürde, nanopartiküller kullanılarak çeşitli yöntemlerle kendi-kendine kümeleşme çalışmalarının yapıldığı görülmektedir [17]. Nanopartiküllerin, mikrokapsülün kabuk kısmını oluşturmasıyla hazırlanan koloidal mikrokapsüller, hem kapsülün kabuk kısmının, hem de kullanılacak çekirdek malzemenin ilaç taşıma kapasitesi düşünüldüğünde, oldukça iyi bir alternatif olarak değerlendirilmektedir. Literatürde yapılan çalışmalar

incelendiğinde, polistiren (PS), melamin formaldehit (MF) ya da kalsiyum karbonat (KK) gibi birçok farklı malzeme şablon olarak kullanıldığı görülmektedir [15]. Bu bağlamda, yaptığımız çalışmada başlangıçta, ticari olarak temin edilen aminlenmiş, pozitif yüklü PS partiküller şablon olarak kullanılmıştır. Daha önce de bahsedildiği gibi, nanopartiküllerin kabuk olarak kullandığı kolloidal kapsüllerin daha dayanıklı ve işlevsel olması dolayısıyla, çalışmamız kapsamında sentezlenen KLNler kabuk malzemesi olarak kullanılmış ve yöntem olarak da literatürde sıklıkla kullanılan bir kendi-kendine kümeleşme metodu olan Tabaka-Tabaka Kaplama yöntemi (TTK) tercih edilmiştir [18]. Kısaca bahsetmek gerekirse, bu yöntemde, birbirleriyle zıt yükleri taşıyan 2 farklı kabuk malzemesi, çekirdek malzeme üzerine ardarda ve elektrostatik etkileşimlerinden faydalanılarak adsorbe edilmektedir. Bizim çalışmamızda, negatif yüklü KLNlerin yanı sıra, kabuk malzemesi olarak, laboratuvarımızda Tohum-büyütme yöntemi kullanılarak sentezlediğimiz pozitif yüklü altın nanopartiküller (AuNP) ve ticari olarak temin edilen düşük molekül ağırlıklı kitosan da kullanılmıştır. Miktar ve inkübasyon süresinin optimizasyonu ile PS partiküller üzerine TTK yöntemi kullanılarak malzemeler ardarda adsorplanmış ve adsorplanma aşamaları zeta-potansiyel değişimleriyle takip edilmiştir. Üretilen malzeme Dinamik Işık Saçınımı (DLS) ve Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) kullanılarak karakterize edilmiştir.

PS partiküller kullanılarak yapılan çalışmalardan elde edilen tecrübelerden faydalanılarak, çekirdek malzeme olarak bir non-steroidal antiinflamatuvar ilaç etken maddesi olan Ibuprofen kristalleri kullanılmıştır. Negatif yüklü Ibuprofen kristalleri de aynı şekilde TTK yöntemiyle KLN, AuNP ve kitosan kullanılarak kaplanmıştır. Ibuprofen salımının etkili şekilde yavaşlatılabildiği ve kontrol edilebildiği çalışmada aynı zamanda kabuk kısmında kullanılan KLNlere de AA yüklenerek ikili ilaç salımı yapabilen fonksiyonel bir sistem geliştirilmiştir. TTK adsorpsiyon aşamaları zeta-potansiyel değişimleriyle takip edilirken, elde edilen malzeme TEM ve SEM kullanılarak görüntülenmiştir. Spektrofotometrik yöntemle analizlenen ilaç alım/salım kapasiteleri değerlendirildiğinde, kullanılacak kabuk malzeme türü ve tabaka sayısının hedeflenen kullanım alanına göre değiştirilebildiği ve ayarlanabildiği, aynı anda birden fazla ilaç salımı için kullanılacak kontrollü ilaç salım sistemlerinin geliştirilebildiği görülmüştür.

Sonuç olarak, yapılan tez çalışması ile literatürde bir ilk olarak, biyouyumluluklarını ve salım kapasitesini arttırırken, onlara çok fonksiyonluluk özelliği de kazandıracak olan KLNler kullanarak, ilaç taşıma sistemlerinde iyi bir alternatif olarak kullanılabilircek kolloidal mikrokapsüller başarıyla hazırlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nanobilim ve Teknoloji

Nanobilim ve nanoteknoloji, 1-100 nm arasındaki malzemelerle yapılan bilimsel ve teknolojik çalışmaların ve bu çalışmaların kullanıldığı uygulamaların genel adıdır. Malzemelerin makro ölçekten mikro ölçeğe kadar herhangi bir boyutlarında fiziksel ve kimyasal özelliklerinin değişim göstermediği bilinmektedir. Ancak malzemenin boyutu 100 nm'nin altına indiğinde, yığın hallerinden bağımsız olmak üzere, onları oluşturan elementlere bağlı olarak, farklı özelliklere sahip olurlar. Örneğin yığın haldeki altın 1064°C'de erirken, altından elde edilmiş nanopartiküller çok daha düşük sıcaklıklarda (~300°C) erimektedir. Nano boyutlu malzemelerin bir araya getirerek oluşturdukları yapılanmalar da yığın hallerinden bağımsız olarak, farklı özellikler edinmektedirler. Çözelti içinde kendinden dizilebilen moleküller veya biyolojik moleküllerin DNA gibi üç boyutlu dizilimler oluşturması nano boyuttaki yapılanmalara örnek olarak verilebilir.

Nano malzemeler, her bir boyutlarının uzunluklarına göre farklı isimlendirilmektedir. Üç boyutlu bir malzemenin sadece bir boyutu nano ölçekteyse, bu malzemeye kuantum kuyusu, iki boyutu nano ölçekteyse kuantum teli, üç boyutu da nano ölçekteyse ise kuantum noktası adı verilir.

Sıklıkla kullanılan nano malzemeler içerisinde nanopartiküller, karbon nanotüpler, lipit nanotüpler, nanokompozitler ve nanokristaller sayılabilmektedir [1].

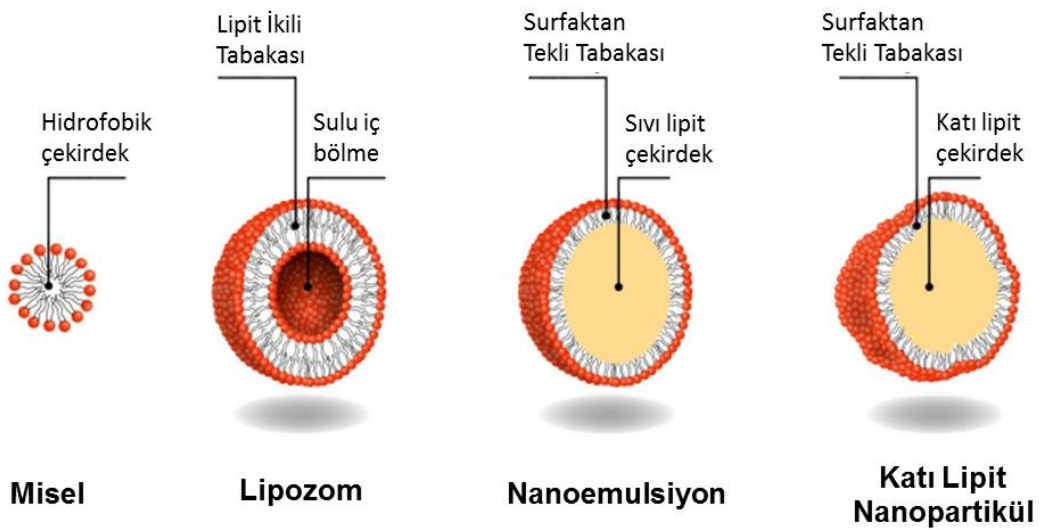
2.2. Nanopartiküller

Nanopartiküller, en genel tanımıyla, 2 veya 3 boyutunun uzunluğu 1-100 nm arasında olan partiküllerdir [5]. Nanopartiküller, kendilerini oluşturan malzemelerin yığın hallerinden bağımsız ve boyutlarına bağlı olarak optik, manyetik, elektronik ve katalitik özelliklere sahiptirler. Nanopartikülün hangi malzemedен oluştuğu kadar, boyutu, şekli ve yüzey fonksiyonelliği de önemlidir. Nanopartiküller sözü edilen bu farklı morfolojilere sahip olmalarına neden olarak; oluşma aşamalarındaki büyüme hızlarının değişikliği, yüzeylerini kaplayan ve/veya stabil kalmalarını sağlayan ajanların farklı kristal yüzeylerine bağlanma hızıyla ve sentez aşamasındaki ortamın sıcaklığı, reaksiyon süresi ve malzeme konsantrasyonunun farklı olması, gösterilebilmektedir [19].

Nanopartiküller, kullanılmak istendiği hedef alana yönelik olarak metal, polimer, lipit ya da kompozit gibi çeşitli malzemeler kullanılarak hazırlanabilmektedir [6,7,8].

2.2.1. Lipit Nanopartiküller

Lipitler, dünya üzerinde yaşamın devam edebilmesi için oldukça önemli roller üstlenen geniş bir organik bileşik kümesidir. İnsan vücudunda enerjinin saklanmasıyla ilgili görevinin ve hücre membranının temel yapıtaşı olmasının yanı sıra, birçok fizyolojik ve biyokimyasal süreçte de kilit roller oynamaktadır. Yapısı dolayısıyla süregelen özellikleri sayesinde lipitler suda çözünür olmayan malzemeleri çözünüreştirerek, biyolojik membranların içinden geçip enzimler tarafından sindirilmelerini sağlayabilmektedir. İlaç endüstrisinde lipitler emülsiyon, merhem, pellet ya da fitil gibi birçok formda ve çok çeşitli uygulama yollarıyla farmasötik olarak etken madde taşıma aracı olarak kullanılmaktadır. Emülsiyonlar (su-içinde-yağ) bu malzemeler içerisinde, yağda çözünen farmasötik ajanların vücuda alınımını sağladığı için oldukça önemli bir yere sahiptir. 1950li yıllarda parenteral nanoemülsiyonların keşfine kadar lipitlerin ve lipit ortamında çözünebilir malzemelerin vücut içine taşınımı mümkün değildi. Sözü geçen avantajlarının yanı sıra, çok küçük boyutlu ve dolayısıyla yüksek yüzey alanlı olmaları dolayısıyla ilaç salımı oldukça hızlı olmaktadır. Bunun yanı sıra, damlacıkların sıvı yapıda olmaları oksidasyona neden olabilmekte ve malzemenin stabilitesini düşürmektedir (Ostwald olgunlaşması) [20].



Şekil 2.1. Misel, lipozom, nanoemülsiyon damlacığı ve katı lipit nanopartiküllerin yapısal olarak karşılaştırılmasının şematik gösterimi

Lipitlerin su içindeki dispersiyonlarıyla ilgili uygulama alanlarının genişlemesine yönelik isteğin artması ve sürekli devam eden optimizasyon çalışmaları sonucunda, 1980li yıllarda Speiser ve çalışma arkadaşları tarafından ilk katı lipit mikropartiküller geliştirilmiştir [21]. Devam eden yıllarda, Westesen, Müller ve Gasco tarafından gerçekleştirilen yoğun çalışmalar ve deneyler sonucunda katı lipit partiküller mikron boyutunun altına indirilebilmiştir [22,23,24]. Mikron boyutunun altında, biyouyumlu ve biyobozunur lipitler ile hazırlanan, oda ve vücut sıcaklığında katı halde bulunan bu yeni malzemelere Katı Lipit Nanopartiküller (KLN) adı verilmiştir.

2.2.1.1. Katı Lipit Nanopartiküller (KLN)

Boyutları 50-1000 nm aralığında değişim gösterebilen KLNlerin temel yapıtaşları, çeşitli fizyolojik lipitler, emulsifiye edici ajanlar ve sudan ibarettir. Doymuş yağ asitleri, trigliseritler ve steroidler gibi çok geniş bir yelpazede birçok malzeme, KLNlerin sentezinde lipit olarak kullanılabilir. KLN yapısı içerisinde lipit malzeme, çekirdeği oluşturmakta ve partiküle ait boyut, farmasötik özellikler ve ilaç alım/salımı gibi birçok parametreyi etkilemektedir. Kullanılan lipit malzeme oranının emülsifiye edici ajana göre arttıkça partikül boyutunun arttığı bilinmektedir. Literatürde yapılan çalışmalara bakıldığında, bu oranın %4'ün altında tutulmasının küçük (<200 nm) ve eş-boyutlu partikül sentezini desteklediği görülmektedir [25]. Miktarının yanı sıra, yüksek erime noktasına sahip ve uzun kuyruk gruplu lipit malzemelerin, daha büyük boyutlu partikül oluşumuna neden olduğu söylenebilmektedir [26].

Lipit malzemenin kimyasal yapısı ve miktarının yanı sıra, KLN sentezinde kullanılan emülsifiye edici ajana ait özellikler de partikül yapısı üzerinde oldukça önemli etkilere neden olmaktadır. Literatürde yapılan çalışmalarda iyonik olan ve olmayan emülsifiye edici ajanlarla hazırlanan KLNler boyutları bakımından birbirleriyle karşılaştırılmış ve iyonik emülsifiye edici ajanlar kullanıldığı koşulda partikül boyutunun düştüğü görülmüştür [27]. Yapılan başka bir çalışmada da, yüksüz olan emülsifiye edici ajanın miktarının artmasıyla partiküle ait zeta potansiyel değerinin ve dolayısıyla stabilitesinin düştüğü görülmüştür [28]. kullanılacak temel emülsifiye edici ajanın yanı sıra, KLN sentezi sırasında yardımcı emülsifiye edici ajanlar da kullanmak mümkündür. Partikül yapısı içerisinde emülsifiye edici ajan çeşitliliğinin artırılmasının, partikül boyutunu küçültmenin

yanı sıra yüzey özelliklerini geliştirmesi adına da olumlu etkileri olduğu bilinmektedir.

KLNler; lipit biyoyumluluğu, çeşitliliği ve fonksiyonelliği özelliklerine sahip oldukları için, medikal, farmasötik, kozmetik ve gıda alanlarında, diğer nanopartiküllere göre avantajlı olabilmektedir. KLNlerin diğer öne çıkan avantajları arasında,

- Lipitlerin yapıtaşı olarak kullanıldığı diğer malzemelere göre (lipozom, niozom) daha dayanıklı olması,
- Fizyolojik lipitler kullanılarak hazırlanması nedeniyle akut ve kronik toksisiteye neden olmaması,
- Polimerik nanopartiküllere göre, sentez yöntemlerinin daha kolay ve az tehlikeli olması,
- Enkapsüle edilecek malzemenin salım kinetiğinin kolay kontrol edilebiliyor olması ve çeşitli seçeneklerin bulunması
- Biyoyumluluğu dolayısıyla uygulama yöntemi açısından çeşitlilik sağlaması
- Büyük ölçekte üretiminin mümkün olması,
- Liyofilizasyonun ve sterilizasyonunun mümkün olması sayılabilir.

KLNlere etkin madde yüklenmesi, bu maddenin istenen salım hızı ve miktarı gibi parametrelere göre değiştirilebilmekte ve partikül içinde farklı bölgelere yapılabilmektedir. Tutulan maddenin salımının kısıtlanması ve geciktirilmesi istendiği durumlarda, madde KLNnin çekirdek kısmına, hedefe yönelik ve ani salımlar istendiğinde ise kabuk kısmına yakın bölgelere tutundurulabilmektedir. Sentez şekline ve koşullarına göre etkin maddenin tutunduğu bölgenin değiştirilebiliyor olması, KLNler kullanılarak madde alımı ve salımına yönelik kullanımını oldukça geliştiren ve çeşitlendiren bir özelliktir. Ayrıca, taşınmak istenen malzeme partikülün yüzeyine de tutundurulabilmekte ve yüzey yük yoğunluğuna bağlı olarak, salımı kontrol edilebilmektedir [29].

Literatürde KLNlerin çok çeşitli kullanımına yönelik çalışmaları görmek mümkündür. Müller ve çalışma arkadaşları yaptıkları çalışmada, KLNlerin UV ışınlarını dağıtarak ve yansıtarak doğal bir güneş ışını filtresi olma özelliğinden faydalanmışlardır. 200-220 nm boyut aralığında partiküllerin kullanıldığı çalışmada

güneş ışığı filtre edici olarak kullanılan malzemelerin, KLNlerin bünyesine dahil edilerek kullanılmasının sinerjik bir etki yarattığı söylenmektedir. KLNler ile birlikte kullanılarak, ciddi yan etkileri olan bu malzemelerin güneşten koruma faktörü değiştirilmeden kullanım miktarlarının azaltılması ile daha etkili ve güvenli formülasyonların oluşturulabileceği yapılan çalışma ile ispatlanmıştır [30].

Yapılan başka bir çalışmada, Zhang ve çalışma arkadaşları, KLNlere ilaç etken maddesi yüklenilerek beyin bariyerinin aşılması üzerine çalışmışlardır. Çalışma sonucunda, 3',5'-dioctanoyl-5-fluoro-2'-deoxyuridine (DOFUdR) ilaç etkin maddesinin KLNlere yüklenmesiyle kan-beyin bariyerinin aşılabildiği ve ilacın doğru dozda hedef bölgeye taşınabildiği söylenmiştir [31].

2.2.1.1.1. Kullanılan Malzemelerin KLNlerin Özellikleri Üzerine Etkisi

2.2.1.1.1.1. Kullanılan Lipitin Etkisi

KLNlerin boyut, kristallik, yüzey fonksiyonelliği ve ilaç alım/salım kapasiteleri gibi birçok özelliği üzerinde kullanılan lipit malzemenin önemli ölçüde etkileri bulunmaktadır [32]. Kullanılan lipit malzemenin saflığı ve kompozisyonunun, oluşacak kristal yapılar üzerinde önemli etkileri dolayısıyla, farklı tedarikçilerden alınan lipit malzemelerin dahi KLN özelliklerini değiştirebileceği söylenebilmektedir. Lippacher'in yaptığı çalışmada, farklı tedarikçilerden alınan setil palmitat ile hazırlanan lipit partiküllerin gerek boyut ve dayanım, gerekse kristallik anlamında birbirlerinden farklılık gösterdiği söylenmektedir [33].

Bunun yanı sıra lipit malzemenin kuyruk grup sayısı ve uzunluğunun da partikül boyutu üzerinde önemli etkileri olduğu bilinmektedir. Literatürde yapılan bir çalışmada Witepsol W35 ve Dynasan 118'in karşılaştırmalı olarak kullanıldığı bir çalışmada, daha kısa zincir grubuna sahip olan Witepsol W35 ile hazırlanan partiküllerin diğerlerinden daha küçük boyutta elde edildiği görülmüştür [34].

Lipit malzemenin kimyasal doğasının yanında, partikül kompozisyonunda bulunma yüzdesi de boyutu etkilemektedir. Lipit yüzdesinin %5-10 gibi bir orana çıkması koşulunda boyutun oldukça arttığı ve hatta mikro ölçeğe doğru kaydığı bilinmektedir [25]. Bu duruma neden olarak, partiküllerin hazırlanmaları aşamasında viskozitenin artması dolayısıyla homojenizasyon veriminin düşmesi ve partikül kümeleşme ihtimalinin artması gösterilebilmektedir [35].

2.2.1.1.1.2. Kullanılan Emülsifiye Edici Ajanın Etkisi

KLN hazırlanması aşamasında tercih edilen emülsifiye edici ajanın ve konsantrasyonunun oluşan ürün kalitesinde önemli katkıları olmaktadır [36]. Lipit malzeme ile karıştırıldıkları aşamada yüzey gerilimini düşürerek daha küçük damlacıklar olmasını sağlamakta ve yüzey aktiflikleriyle doğru orantılı olarak oluşan yeni yüzeyleri hızla kaplayarak, meydana gelen lipit damlacıklarını stabilize etmektedir. Bu nedenlerden dolayı, ortamda yeterli emülsifiye edici ajan bulunması kümeleşmenin engellenmesi ve oluşan damlacıkların partiküle dönüştürülmesi anlamında oldukça önemli ve boyutun belirlenmesi için kritiktir. Bunun yanı sıra emülsifiye edici ajan konsantrasyonunun fazla artırılması, yüzeyde birden fazla tabaka halinde emülsifiye edici ajan olduğu için partikül boyutunun büyümesine neden olabilmektedir. Dolayısıyla emülsifiye edici ajanın çözelti içindeki derişiminin iyi optimize edilmesi gerekmektedir.

zur Mühlen ve çalışma arkadaşları, lipit malzeme olarak Compritol kullanarak hazırladıkları KLNler üzerinde emülsifiye edici ajan konsantrasyonunun etkisini incelemek için yaptıkları çalışmada, %5'in üstünde sodyum kolat kullandıkları koşulda partikül boyutunda büyüme gözlemlendiği söylenmektedir [36]. Siekmann ve çalışma arkadaşları ise emülsifiye edici ajan olarak tiloksapol ve lipit olarak da tripalmitin kullandıkları çalışmalarında, %2'nin altında kullanılan emülsifiye edici ajanın lipit malzemeyi stabilize etmeye yeterli olmadığını tespit etmişlerdir [37].

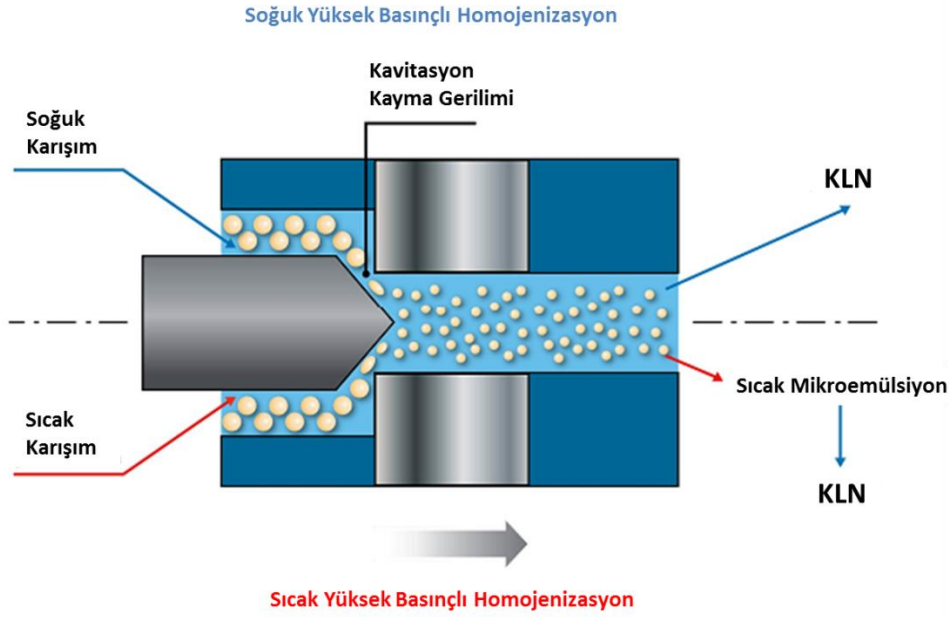
Kullanılan konsantrasyonun yanı sıra, emülsifiye edici ajanın kimyasal yapısı da partiküle ait özelliklerin belirlenmesinde rol oynamaktadır. Cavalli ve çalışma arkadaşlarının yaptığı çalışmada iyonik ve noniyonik emülsifiye edici ajanlarla çalışılmış ve oluşan KLNler boyutları bakımından birbirleriyle karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara bakıldığında, iyonik emülsifiye edici ajanlarla çalışıldığı koşulda, noniyonik olanlara kıyasla oldukça küçük partiküllerin elde edilebildiği görülmüştür [38]. Bunun yanı sıra, yardımcı emülsifiye edici ajan kullanımının da partikül boyutunda düşüğe neden olduğu literatürde yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır [39].

2.2.1.1.2. KLN Hazırlama Yöntemleri

KLNlerin kullanım alanlarındaki çeşitlilik araştırmaları KLNlerin üretim tekniklerinin farklılaştırılmasına yönelmiştir. KLNler, yüksek basınçlı homojenizasyon,

mikroemülsiyon yöntemi ve çözücü emulsifiye etme/uçurma yöntemi gibi çeşitli tekniklerle hazırlanabilmektedir. Ayrıca, püskürterek kurutma ve liyofilizasyon yöntemleriyle de kuru/toz halde KLN elde edilmektedir.

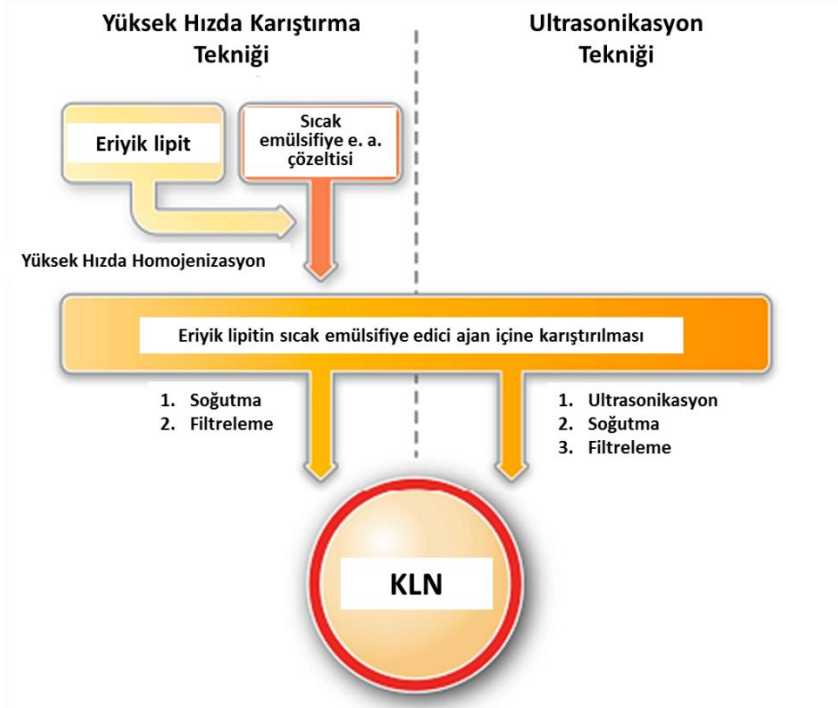
Yüksek Basıncılı Homojenizasyon Yöntemi



Şekil 2.2. Sıcak ve soğuk yüksek basınçlı homojenizasyon yöntemiyle KLN hazırlanma mekanizması

Yüksek basınçlı homojenizasyon (HPH), KLN sentezi için ilk keşfedilen yöntemlerden biridir ve günümüzde de yaygın şekilde kullanılmaya devam edilmektedir. HPH yönteminde, KLN sentezi için hazırlanan uygun karışımdaki çözelti birkaç mikron genişliğindeki dar bir delikten, yüksek bir basınçla (100-2000 bar) itilir. Bu süreçte sıvı, çok kısa bir mesafede çok yüksek bir hıza ulaştırılır. Uygulanan bu kuvvet sonucunda oluşan yüksek kayma gerilimi ve kavitasyon kuvvetleri sonucunda KLNler oluşur. HPH yönteminin uygulanması, sıcak homojenizasyon ve soğuk homojenizasyon olmak üzere iki şekilde gerçekleştirilebilmektedir. Her iki yöntemde de yüksek basınç değerlerinde çalışılıyor olması ve bazı koşullarda yüksek sıcaklıklarda sentezin gerçekleştiriliyor olması, KLNnin bünyesine dahil edilmek istenen etkin maddenin aktifliğini yitirmesine neden olduğu için bu yöntem, özellikle medikal ve farmasötik gibi alanlarda kullanımı açısından idealden uzaklaşmaktadır [32].

Yüksek Hızda Karıştırma - Ultrasonikasyon Yöntemi

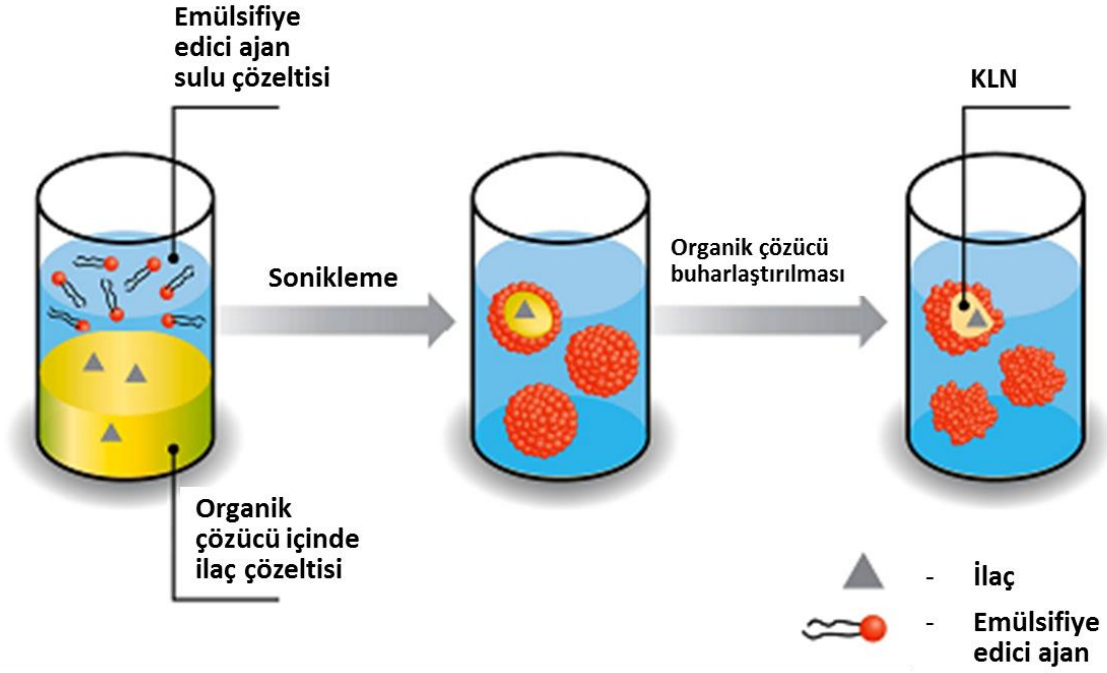


Şekil 2.3. Yüksek hızda karıştırma ve ultrasonikasyon yöntemiyle KLN hazırlanma mekanizması

KLN sentezi için kullanılan yöntemlerden biri de yüksek hızda karıştırma – ultrasonikasyon yöntemidir. Bu iki yöntem genellikle beraber kullanılmakla birlikte, sentez sürecinde belli bir süre boyunca yüksek sıcaklık uygulanmaktadır. Yüksek hızda karıştırma yöntemi tek başına uygulandığında, mikrometre boyutuna varabilen geniş partikül büyüklüğü dağılımına sahip KLN oluşumu gözlemlenirken, ultrasonikasyonla birlikte partikül boyutunda küçülme olmakta ancak bu kez de metal kontaminasyonunun önüne geçilememektedir [40].

Çözücü Emulsifiye Etme – Buharlaştırma Yöntemi

Çözücü emulsifiye etme – buharlaştırma yönteminde, lipit faz su ile karışmayan organik bir çözücüde (toluen, kloroform vb) çözülür ve bu çözelti, bir sulu faz içinde emülsifiye edilir. Bu işlemin ardından çözücü vakum altında buharlaştırılırken, KLN oluşu gerçekleşir. Bu yöntemin önemli bir avantajı, hazırlama sırasında yüksek sıcaklıklara çıkılmıyor olmasıdır. Bu nedenle, yüksek sıcaklıkta bozulan etkin maddelerin yüklenmesi için uygun bir yöntemdir [41]. Ancak, organik çözücü kullanımının gerekmesi ve büyük ölçekte üretimin mümkün olmaması, bu yöntemi etkin madde taşınımı için ideal bir alternatif olmaktan uzaklaştırmaktadır.

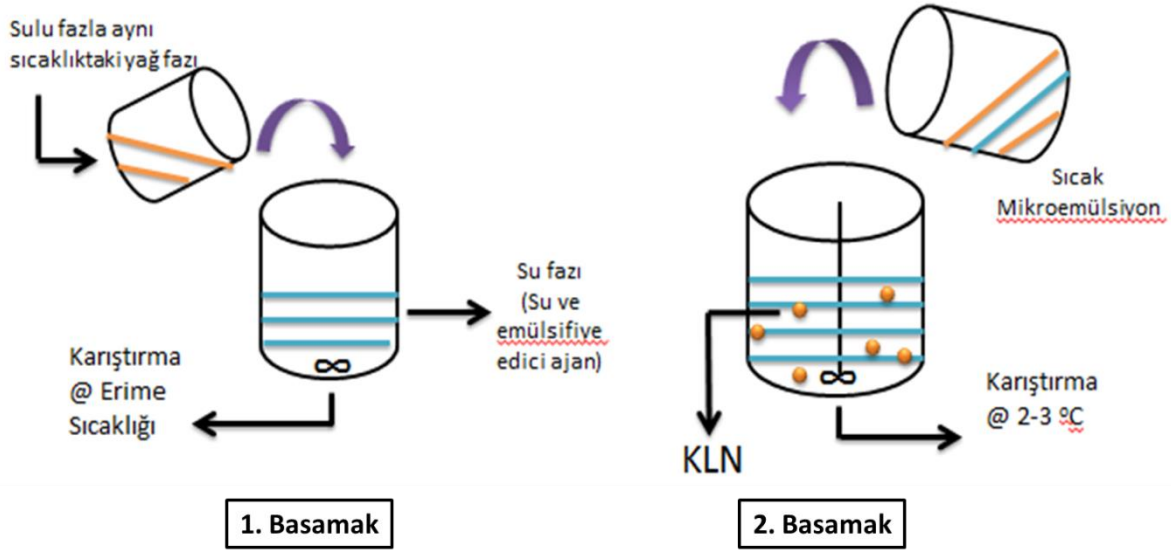


Şekil 2.4. Çözücü Emulsifiye Etme – Buharlaştırma Yöntemi ile KLN hazırlanma mekanizması

Mikroemülsiyon Yöntemi

KLN sentezi için sıklıkla başvurulan yöntemlerden biri de mikroemülsiyon yöntemidir. Bu yöntemde, sentezin ilk basamağı olarak, erime noktasının üzerine çıkarılan lipit fazı ile aynı sıcaklıktaki emulsifiye edici ajan fazı karıştırılarak şeffaf ve termodinamik olarak kararlı mikroemülsiyon (ME) elde edilmektedir. Sentezin ikinci basamağında, ME kendinden hacimce oldukça fazla miktarda 2-3°C'deki suyla karıştırılarak KLN oluşumu sağlanmaktadır. Sıcak ME : soğuk su hacim oranı, 1:10/1:20 gibi değerler arasında değişebilmektedir. Ortamda bulunan fazla su -80°C'de 2 gün liyofilizasyon uygulanarak ortamdaki uzaklaştırılmaktadır. MEler izotropik yapıdaki karışımlardır ve damlacık boyutları 1-100 nm arasında değişmektedir. Doğru karışım ve ortam özellikleri sağlandığı durumda, herhangi bir güç uygulanmasına gerek duyulmadan transparan ve kararlı mikroemülsiyon yapısı oluşabilmektedir. Bu nedenle ME oluşturma aşamasında doğru fiziksel işlemler (lipit fazın hazırlanması aşaması, karıştırma hızı, yöntemi ve süresi vb.), ortam pH'ı, kullanılan çözücüler ve lipit:emulsifiye edici ajan karışım oranı oldukça önemli parametreler olmakta ve optimize edilmesi gerekmektedir. Bu yöntem, yüksek sıcaklık ve basınç değerlerinde çalışılmıyor olması ve organik çözücü kalıntısı bulundurmaması dolayısıyla, etkin madde yüklemesi yapılacak KLNlerin

sentezi için uygun bir yöntem olarak düşünülmektedir [42,43]. Diğer yöntemler arasında öne çıkan bu özellikleri dolayısıyla, yapılan tez çalışmasında mikroemülsiyon yöntemi kullanılarak KLN sentezinin gerçekleştirilmesine karar verilmiştir.



Şekil 2.5. Mikroemülsiyon Yöntemi ile KLN hazırlanma mekanizması

2.2.1.1.3. KLNlerde Etken Madde Yüklenebilirliği ve Salımı

KLNlerin; dayanıklı yapıları, biyoyuymululukları ve nanoboyutlarda sentezlenebiliyor olmaları dolayısıyla, kontrollü ilaç, gen ve çeşitli biyomoleküllerin taşınımı gibi birçok işlevle, medikal ve farmasötik başta olmak üzere, birçok alanda bireysel olarak kullanıldığı bilinmektedir. KLNlere ait bilinen en önemli avantajlardan biri, etken maddenin partikül yapısı içerisinde, kullanılacağı amaca yönelik olarak, çeşitli bölgelere yüklenebiliyor olmasıdır. Malzemelerin, elektriksel yükleri ve hidrofilik/hidrofobikliklerine göre, partikülün kabuk veya çekirdek bölgelerinde tutundurulmuş olarak ya da yüzeylerine kaplanarak taşınmaları mümkündür. KLNlerin etken madde tutma verimini etkileyen faktörler aşağıdaki gibi sıralanabilmektedir [29,41];

- I. Eriyik haldeki lipit içinde taşınmak istenen maddenin çözünürlük oranı
- II. Kullanılan lipit malzemenin kimyasal yapısı kimyasal yapısı
- III. Kullanılan lipitin polimorfik formu

I. Eriyik haldeki lipit içinde taşınmak istenen maddenin çözünürlük oranı

Partikülün çekirdek kısmına yüklenmek istendiğinde, uygun bir yükleme kapasitesi elde etmek için en önemli şart erimiş lipit içinde etken maddenin yeterince yüksek bir çözünürlüğe sahip olmasıdır. Çözünürlük, lipit soğutulduğu süreçte düşeceği için, bu değer en başta oldukça yüksek olarak seçilmesi gerekmektedir [29].

Etken madde-lipit oranına ve çözünürlüğe bağlı olarak etkin madde, partiküllerin çekirdeğinde veya kabuğunda lokalize olabilmekte ya da matris yapı içinde moleküler olarak disperse olabilmektedir. Bu da, ilaç salımını doğrudan etkilemektedir [41].

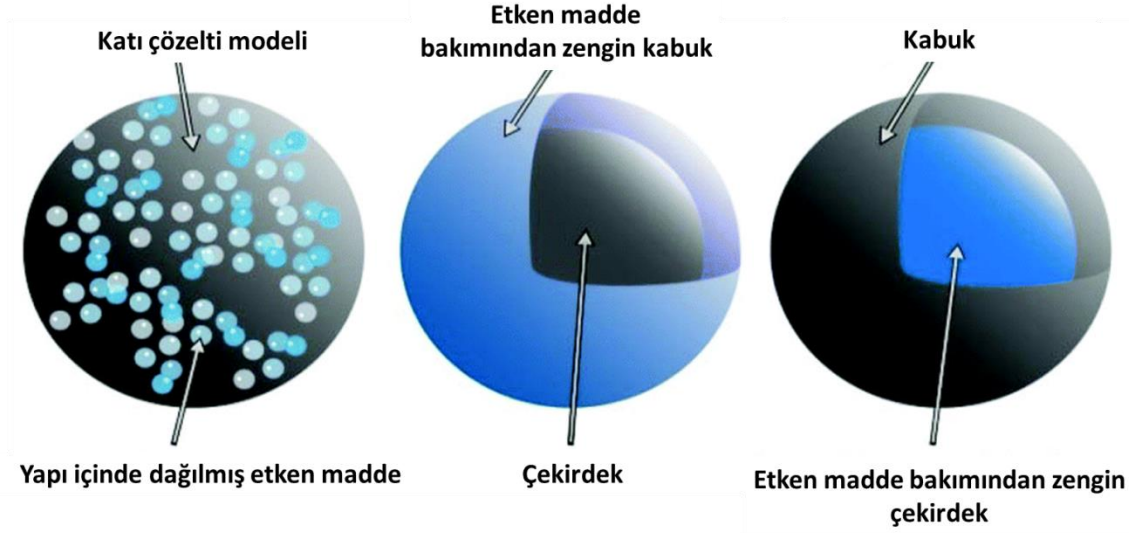
II. Kullanılan lipit malzemenin kimyasal yapısı kimyasal yapısı

Partikül içine yüklenen etken maddeler; yağ asidi zincirleri arasında, lipit tabakaları arasında ve kristal kafesteki kristal noksanlık bölgelerinde lokalize olduklarından; lipit malzemenin yüksek derecede düzenli kristal kafes yapısına sahip olması durumunda, fazla miktarda etken maddenin yerleşmesi mümkün olmamaktadır. Bu duruma ek olarak, kullanılan emülsifiye edici ajanın yüksek kristalliğe sahip olması da benzer şekilde etken tutma kapasitesini düşürmektedir.

Bunun yanı sıra, yüklenmek istenen etken maddenin hidrofilik/hidrofobiklik derecesi ve partikül yapımında kullanılan emülsifiye edici ajan içinde bu etken maddenin lokalize olma kapasitesi de, özellikle suda çözünürlüğü yüksek etken maddelerin enkapsüle edilmesinde oldukça önemli bir faktör olmaktadır [44].

III. Kullanılan lipitin polimorfik formu

Üretimden sonra lipit nanopartiküller, kristal kafeste daha çok noksanlık bölgesine sahip olan, daha yüksek enerjili α polimorfunda rekristalize olmaktadır. Saklama sırasında β formuna polimorfik geçiş meydana gelirse, daha stabil polimorfların oluşumunun artmasıyla kristal noksanlık bölgelerinin sayısı azalır ve kristal kafes daha mükemmel hale gelir. Sözü edilen bu koşulda daha stabil polimorfların oluşumu, etken maddenin lipit matristen sızmasına neden olmaktadır [29.41].



Şekil 2.6. Katı çözelti, etken madde bakımından zengin kabuk ve etken madde bakımından zengin çekirdek modeliyle KLNlere etken madde yüklenmesinin şematik gösterimi

KLNlerden etken madde salım profili; lipit matrisin yapısı, emülsifiye edici ajan konsantrasyonu ve sıcaklık gibi üretim parametrelerinden etkilenebilmektedir. Literatürde gerçekleştirilen in vitro salım çalışmaları sonucunda, farklı salım profilleri gösteren yapısal modeller geliştirilmiş ve buna göre 3 farklı etken madde enkapsüle etme modeli ortaya konulmuştur (Şekil 2.6) [30];

I) Katı çözelti modeli

II) Etken madde bakımından zengin kabuk içeren çekirdek-kabuk modeli

III) Etken madde bakımından zengin çekirdek içeren çekirdek-kabuk modeli

I) Katı çözelti modeli

KLNler, soğuk homojenizasyon yöntemi kullanılarak hazırlandığında ve sentez aşamasında emülsifiye edici ajan kullanılmadığı durumda veya etken maddenin çözünürlüğünü artırıcı emülsifiye edici ajanlar tercih edilmediği koşulda; homojen katı çözelti matris modeli elde edilmektedir. Bu modelde, etken madde lipit matris içinde moleküler olarak disperse olmaktadır [29, 41].

II) Etken madde bakımından zengin kabuk içerek çekirdek-kabuk modeli

Salım profilleri, partiküllerin üretimi sırasında, sulu emülsifiye edici ajan fazı ile eritilmiş lipit faz arasında etken maddenin bölünmesi (partisyon) ile açıklanabilir. Sıcak homojenizasyon yöntemi ile üretim sırasında, etken madde lipit fazından sulu faza geçmektedir. Su fazına geçen etken madde miktarı, etken maddenin su fazındaki çözünürlüğü arttıkça (emülsifiye edici ajan konsantrasyonu ve sulu fazın sıcaklığı yükseldikçe) artmaktadır. Elde edilen emülsiyonun soğutulması sırasında, su fazının sıcaklığının azalması nedeniyle, etken maddenin su fazındaki çözünürlüğü sürekli azalmakta, bu da etken maddenin lipit faza geri dönmesine (repartisyonuna) neden olmaktadır. Lipitin rekristalizasyon sıcaklığına ulaşıldığında, lipit faz içinde o anda bulunan etken maddenin hapsedilmesiyle katı lipit çekirdek oluşmaya başlamaktadır.

Etken maddenin lipitteki konsantrasyonu, doyumluk çözünürlüğünün altında olduğunda, ilk önce etken madde su fazına dağılmaktadır. Soğutma sırasında da, ilk önce lipit kristalize olur. Etken madde, sıvı lipit faza geri döner ve partiküllerin hala sıvı olan dış kabuğunda konsantre hale gelir. Bu durumun sonucunda, etken madde bakımından zengin kabuk kristalize olur. Dış kabuktaki etken madde, bir patlama etkisi ile aniden salınır (burst release). Partikül çekirdeğinde hapsedilmiş olan etken madde ise, patlama etkisini takiben uzatılmış bir salım sağlar. Ani salımın derecesi, üretim sırasında etken maddenin su fazındaki çözünürlüğü ile kontrol edilebilir. Yüksek sıcaklıklar ve yüksek emülsifiye edici ajan konsantrasyonları ani salım derecesini arttırabilmektedir [29].

III) Etken madde bakımından zengin çekirdek içeren çekirdek-kabuk modeli

Etken madde, erimiş lipit içinde doyumluk çözünürlüğünde veya ona yakın olduğunda, bu model elde edilmektedir. Oluşturulan emülsiyon soğutulurken, sıvı lipit içinde etken maddenin süper doyumluğu ve sonrasında lipit kristalizasyonundan önce etken madde kristalizasyonu gerçekleşmektedir. Daha çok soğutma sonucunda, çekirdek kısmında, etken madde bakımından zengin bölgeyi çevreleyen lipit rekristalize olmaktadır. Artan difüzyonel mesafe ve çevreleyen katı lipit kabuk nedeniyle, etken maddenin sürekli salımı sağlanabilmektedir.

2.2.1.1.4. KLNlerin Stabilitesi

Kolloidal bir ilaç taşıyıcı olarak KLNlerin tercih edilmesinin en önemli nedenlerinden biri, uzun süreli fiziksel ve kimyasal stabiliteleridir [45]. Çeşitli yöntemlerle hazırlanabilen KLN dispersiyonlarının partikül büyüklüklerinin 2-3 yıl boyunca stabil kalabildiği bilinmektedir. Bunun yanı sıra, partiküllere ait önemli bir stabilite ölçütü olan zeta potansiyel değerleri de, partiküllerin kümeleşmelerini engelleyerek partikül boyutunun sabit kalmasını sağlayan önemli parametrelerden biridir. Kullanılan lipit ve emülsifiye edici ajan tipine göre değişebilen zeta potansiyel değerinin ± 20 mV'un üstünde olduğu durumda partiküllerin uzun süreler fiziksel ve kimyasal özelliklerini kaybetmeden kalabildiği söylenebilmektedir.

KLN dispersiyonlarının termal analiz gibi birçok karakterizasyon için kuru formda kullanılması gerekmektedir. KLNlerin kuru toz formunda bir ürüne dönüştürülmesi faydalı ve sıklıkla da gerekli bir durumdur. Elde edilen katı haldeki ürün, sulu lipit dispersiyonlarından daha iyi bir kimyasal ve fiziksel stabiliteye sahip olmaktadır. Ayrıca kuru toz formundaki KLNler kapsüller içine doldurulabilmekte, tablet halinde basılabilmekte veya pelletler içine hapsedilebilmektedir [46]. KLNlerin kurutulabilmesi için literatürde sıklıkla kullanılan 2 temel yöntem mevcuttur:

- a) Dondurarak kurutma (Liyofilizasyon)
- b) Püskürterek kurutma (Spray drying)

a) **Dondurarak kurutma (Liyofilizasyon):**

Liyofilizasyon, KLNlerin uzun süreli fiziksel ve kimyasal stabilitesini artırmak için sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Partikülleri katı toz formuna dönüştürmek partikül büyümesini ve hidroliz reaksiyonlarını önlemektedir [32]. KLNlerin liyofilizasyonu ile ilgili dikkat edilmesi gereken önemli parametrelerden biri, dispersiyon içindeki lipit partiküllerin birbirleriyle direkt temasını en aza indirebilmek ve partikül boyut artışını önlemek için, KLN dispersiyonunun lipit içeriğinin %5'i aşmamasını sağlamaktır. Bunun yanı sıra, liyofilizasyon sırasındaki partikül kümeleşmesini azaltmak ve kuru ürünün daha homojen bir dağılıma sahip olabilmesini sağlamak için kriyoprotektan adı verilen dondurma işlemi koruyucu kimyasalları da eklenebilmektedir. Dispersiyon içindeki partiküller arasındaki teması önleyen yer tutucular olan kriyoprotektanların en çok kullanılan örnekleri sorbitol, mannitol, trehaloz ve glikozdur [32].

b) Püskürterek kurutma (Spray drying):

Püskürterek kurutma, sulu KLN dispersiyonlarının kuru bir ürüne dönüştürülmesi için, liyofilizasyona alternatif bir yöntemdir. Liyofilizasyona kıyasla daha ucuz bir yöntem olmasına rağmen, SLN formülasyonları için nadir olarak kullanılmıştır. Bunun nedeni; bu yöntemin yüksek sıcaklık, kayma kuvveti ve partiküllerin kısmi erimesi nedeniyle partikül agregasyonuna neden olabilmesidir. Yüksek sıcaklıklar ve kayma kuvvetleri, kinetik enerjiyi artırmakta ve bunun sonucunda partiküllerin çarpışma sıklığı artmaktadır. Partiküllerin çarpışması, dış yüzeyde bulunan emülsifiye edici ajan filminde kısmi hasara neden olabilmekte bu da, partiküllerin kümeleşme eğilimini arttırmaktadır [46]. Püskürterek kurutma yöntemi ile maksimum verime ulaşılabilmesi ve partikül boyutunda büyümenin engellenebilmesi için yaklaşık %20-25 konsantrasyondaki kriyoprotektan kullanımı ve düşük lipit içeriği gerekmektedir. Ayrıca lipit matrisin erime noktasının 70°C'den büyük olması da, partikül boyutunun sabit kalabilmesi için önemli parametrelerden biridir.

2.2.1.1.5. KLNlerin Uygulama Yolları

Yapıtaşı olarak kullanılan malzemelerin doğasından gelen biyouyumlulukları, yüksek dayanımları ve gelişmiş ilaç alım/salım kapasiteleri sayesinde KLNler vücut içi ve dışında birçok işlevde aşağıda verilen uygulama yolları ile kullanılabilir;

- a) Oral uygulama
- b) Parenteral uygulama
- c) Topikal uygulama
- d) Pulmoner uygulama
- e) Oküler uygulama
- d) Kozmetik uygulama

a) Oral uygulama:

KLNler vücut içi kullanımda oral yolla, doğrudan sulu dispersiyonları halinde veya tablet, pellet, kapsül ya da kaşe gibi geleneksel dozaj formlarına dönüştürülerek uygulanabilmektedir [29,41]. Literatürde antitümör özelliği olan etken maddelerle

yapılan çalışmalara bakıldığında, KLNlere yüklenmiş etken madde ile serbest etken maddenin oral yolla alındığında, KLNlere yüklendiği koşulda etken maddenin biyoyararlanımının serbest haline kıyasla çok daha yüksek olduğu ve ilacın hedeflenen bölgeye daha yüksek dozlarda ulaştırılabildiği söylenmektedir [47]. KLNler ile hazırlanabilecek formulasyonların bazıları aşağıdaki gibidir;

- Tablet retimi için, granülasyon işleminde kullanılan bağlayıcı sıvı yerine sulu KLN dispersiyonu kullanılabilir. Bunun yanı sıra KLN dispersiyonu toz forma dönüştürülür ve tabletlenecek toz karışımına eklenebilir.
- Daha önce bahsedilen yöntemler kullanılarak toz forma dönüştürülen KLNler sert ya da yumuşak jelatin kapsüllere doldurulabilir. Kuru toz halindeki KLNler kaşelerin hazırlanmasında başka hiçbir işleme ihtiyaç duyulmadan olduğu gibi de kullanılabilir.
- Pellet retimi için ise KLN dispersiyonu basınçla şekillendirme (extrusion) işleminde ıslatıcı ajan olarak kullanılabilir [41].

b) Parenteral uygulama:

KLNlerin parenteral uygulamalarıyla ilgili temel olarak, polimerik nanopartiküllerin kullanılabilirliği bütün uygulamalar için uygun oldukları söylenmektedir [41]. KLNlerin deri altı (subcutaneous), intraperitoneal, damar içi (intravenous) ve damar içi (intraarticular) uygulamaları sonucu, kontrollü ve sürekli salım ile birlikte düşük irrite edici etki yarattığı söylenmektedir.

c) Topikal uygulama:

KLNler birçok lipit bazlı nanotaşıyıcıya benzer olarak, iyi tolere edilebilen yapıtaşlarından oluşmaktadır ve küçük boyutları sayesinde deri üzerinde film oluşumuna imkan veren adhezif özelliklere sahiptirler [41]. Literatürde yapılan çalışmalara bakıldığında, deriye topikal olarak uygulanan KLN dispersiyonunun kurutulmasından sonra yoğun bir filmin oluştuğu elektron mikroskobu ile gözlemlenebilir. Oluşan film tabakası deri üzerinde etkili bir örtücü (occlusive) etki sağlamaktadır [32]. Bunun yanı sıra, topikal uygulamalarda KLNlerin sağladığı bir diğer avantaj, kimyasal olarak dayanıksız olan bileşiklerin

KLN matrisi içine hapsedilerek korunması ve etken maddenin kontrollü salımının sağlanabilmesidir [29].

d) Pulmoner uygulama:

Literatürde pulmoner yolla etken madde taşınması için KLNlerin kullanımı ile ilgili az sayıda çalışma bulunmaktadır. KLNlerin küçük boyutta olmaları dolayısıyla kuru toz formunda pulmoner yolla kullanıldıkları durumda, nefes verme esnasına dışarı atılmaları söz konusu olmaktadır. Ancak sulu dispersiyonları şeklinde nebulizör gibi cihazlar aracılığıyla kullanılabilmekte ve bronş ya da alveollerde depolanarak kontrollü şekilde etken maddenin salımı sağlanabilmektedir [48]. Bunun yanı sıra KLNler akciğerlerdeki makrofajlara ilaç hedefleme de kullanılabilir [41].

d) Oküler uygulama:

KLNler yüksek adhezif özellikleri sayesinde göz yüzeyinde uzun süre kalarak, görüntüyü bozmadan, yüksek ilaç konsantrasyonunun elde edilmesini sağlayabilmektedir [48]. Literatürde yapılan çalışmalara bakıldığında, etken maddelerin oküler uygulanma için KNLere yüklendiği koşulda preoküler alıkonmasını, oküler toleransını ve biyoyararlanımı arttırdığı söylenmektedir. Ayrıca KLN dispersiyonunun stabil bir prekorneal film oluşturduğunu ve gözde uzun süre kaldığını, mükemmel bir şekilde tolere edilebildiğini ve oküler irritasyona neden olmadığı görülmüştür [49].

e) Kozmetik uygulama:

KLNler kozmetik uygulamalarda özellikle tercih edilmelerine neden olabilecek, onları diğer nanotaşıyıcılardan ayıran birçok avantaja sahiptirler. Bu özellikler aşağıdaki gibi sıralanabilmektedir:

1. Retinol ve α -tokoferol gibi stabilitesi iyi olmayan bileşikler kimyasal bozunmaya karşı korumaktadırlar.
2. Üretilen KLN'nin tipine bağlı olarak, kozmetik aktif bileşenlerin kontrollü salımını sağlamaktadırlar.

3. Deriye uygulandıklarında bir film tabakası oluşturarak örtücü etki göstermektedirler.

4. UV bloke edici özellikleri vardır. Partiküler özellikleri nedeniyle UV ışığını etkin bir şekilde yansıtarak, fiziksel güneş filtresi (sunscreen) olarak rol oynarlar. Ayrıca, moleküler güneşten koruyucu ajanlar için taşıyıcı olarak kullanılabilirler. Bu, uzun süreli stabil formülasyonların elde edilmesini sağlar. Ayrıca UV bloke edici etkinin artmasına ve formülasyondaki güneşten koruyucu madde konsantrasyonunun azaltılmasına imkan verirler [30].

2.3. Mikrokapsüller

Son birkaç 10 yıllık süreçte, birçok araştırma alanında ultra-küçük malzemeler çok dikkat çekmiş ve yine birçok alanda kendilerine yerleri doldurulamayacak büyüklükte uygulama sahası bulmuşlardır [50]. Bilimsel araştırma adına sarfedilen emeğin büyük bir çoğunluğu nanometre ölçeğindeki malzemelerin geliştirilmesi ve uygulamaları alanında yapılmıştır. Bu ilgi çekici nanoyapıların yüksek yüzey alanı, gelişmiş reaktivite, yeni arayüzeylerin kurulmasında önemli görevler ve malzeme ve enerji açısından oldukça kâr getirecek uygulamalar gibi, özellikle bilim ve mühendislik alanında birçok avantajından bahsetmek mümkündür. Bütün bu avantajlarından dolayı multifonksiyonel nanoreaktörlerin tasarımı, ilaç taşınımı ve yüksek etkili katalizörler gibi biyomedikalden enerji depolamaya ve çevresel konulara kadar birçok alanda yaşanan problemlerin çözülmesi ve eksikliklerin giderilmesi anlamında nanoyapılı malzemeler oldukça umut vaat edici olmuştur.

Günümüze kadar sözü geçen alanlarda nanoyapılı malzemeler ile ilgili birçok gelişme kaydedilmiş ve geliştirilen malzemelerin bazıları da ticarileştirilmiştir. Ancak zaman içerisinde birçok uygulama alanında performansları incelenen nanomalzemeler ile ilgili bazı potansiyel engeller baş göstermeye başlamıştır. Stabil olmayan arayüzey özellikleri, yığın halindeki bazı önemli özelliklerin nano boyutta ortadan kalkması ve bazı malzemelerin nano ölçekte toksik hale gelmesi gibi dezavantajları dolayısıyla araştırmacılar yeni malzemeler arayışına girmişlerdir. Bu yeni malzemelerin geliştirilmesinde farklı ölçeklerdeki malzemelerin sinerjistik bir kombinasyonu ile avantajlarının bir arada toplanması hedeflenmiştir.

Mikrokapsüller nano boyuttan mikro ölçeğe kadar yapısında bulunabilen bütün malzemelerin gelişmiş özelliklerini kendi bünyesinde barındırabilen, yüksek yüzey alanı, geniş iç hacmi ve hem esnek hem de dayanıklı olabilen kabuk kısmı ile oldukça fonksiyonel malzemelerdir [51]. Gelişmiş özellikleri sayesinde ilaç taşıma sistemlerinden [52] çok fonksiyonlu mikroreaktörlere [53], katalizörlerden ışığa duyarlı taşıyıcılara [54] ve enerji depolama cihazlarına kadar birçok alanda mikrokapsüllerin performansları araştırılmakta ve kullanılmaktadır. Bütün bu avantajları dolayısıyla son yıllarda mikrokapsüllerin hazırlanması ve uygulamalarıyla ilgili kayda değer gelişmeler kaydedilmiştir.

2.3.1. Mikrokapsüllerin Hazırlanması

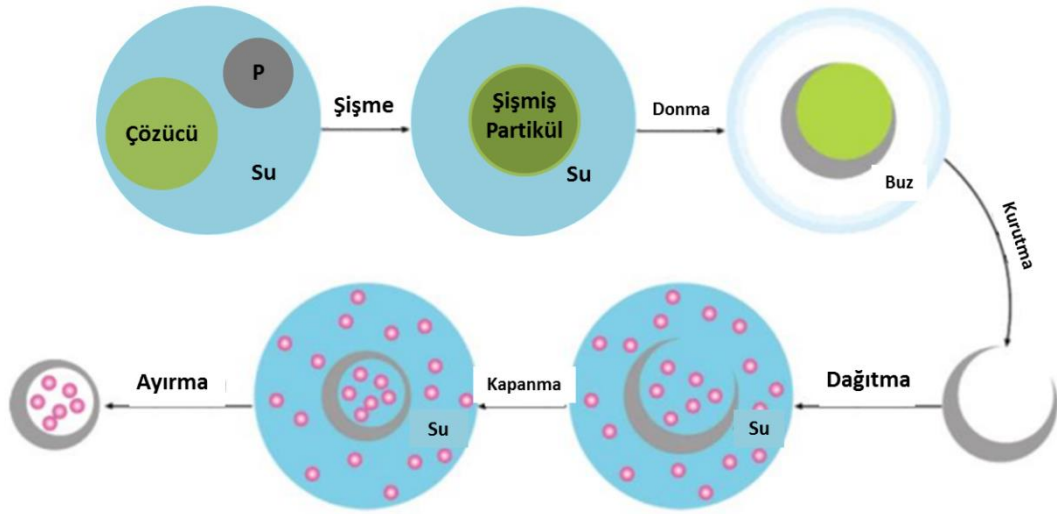
Mikrokapsüllerin hazırlanması ile ilgili literatürde “Tabaka-Tabaka Kaplama (Layer-by-Layer)” [55], “Yüzey Aktif Madde Temelli Emülsiyon (Surfactant Mediated Emülsiyon)” [56], “Pickering Emülsiyonları” [57] ve “Mikroakışkanlar (Microfluidics)” [58] gibi temel yöntemler yer almaktadır.

2.3.1.1. Yüzey Aktif Madde Temelli Emülsiyon (Surfactant Mediated Emulsion)

Yüzey aktif madde molekülleri kritik misel konsantrasyonlarının üstüne çıktığında çözelti içinde kümeleşerek küre, tüp, vezikül, globül ve silindir gibi birçok geometride yapının oluşumunu sağlayabilmektedir [59]. Emülsiyon sistemleri, içlerinde bulunan yüzey aktif madde konsantrasyonuna bağlı olarak emülsiyonlar, miniemülsiyonlar ve mikroemülsiyonlar gibi isimlerle sınıflandırılabilir. Misel yapıları da emülsiyonlar gibi, ortamda bulunan yüzey aktif maddeler tarafından arayüzey enerjisinin minimize edilmesinin yol açtığı fiziksel itici güç ile kontrol edilebilmektedir. Nano ve mikro ölçekte yapıların oluşturulabilmesi için oldukça dayanıklı ve yumuşak şablonlar olmaları dolayısıyla misellerden mikrokapsül oluşturulmasında da sıklıkla kullanılmaktadır.

İlk ve en basit haliyle mikrokapsüller polimer partiküllerin sulu çözeltilerinin bir çözücü yardımıyla şişirilmesi ve bu çözelti içine yüzey aktif maddelerin eklenmesi ile hazırlanmıştır [60]. Yates'in grubunun yaptığı çalışmada, sıvı nitrojen içinde dondurularak faz ayırımı yapılan polimer emülsiyon damlacıklarının morfolojik değişimi yine ara yüzey enerjisinin düşürülmesiyle sağlanmaktadır [60]. Prosesin nasıl gerçekleştiği şematik olarak Şekil 2.7'de verilmiştir. Sözü geçen grup

tarafından, arayüzey serbest enerjisinin rolünün daha iyi anlaşılabilmesi için şişme aşamasında yüzey aktif maddelerin kullanıldığı ve kullanılmadığı iki paralel deney seti yürütülmüştür. Yapılan çalışma sonucunda, özellikle dağıtma işleminden sonra ortamda bulunan yüzey aktif maddenin kapsülün kapanması aşamasında oldukça önemli rol oynadığı görülmüştür. Hazırlanan mikrokapsüllerin uygulamalarına yönelik yapılan çalışmalar sonucunda, istenen malzemelerin enkapsülasyonu ve kontrollü salımı için kullanılabileceği söylenmektedir.

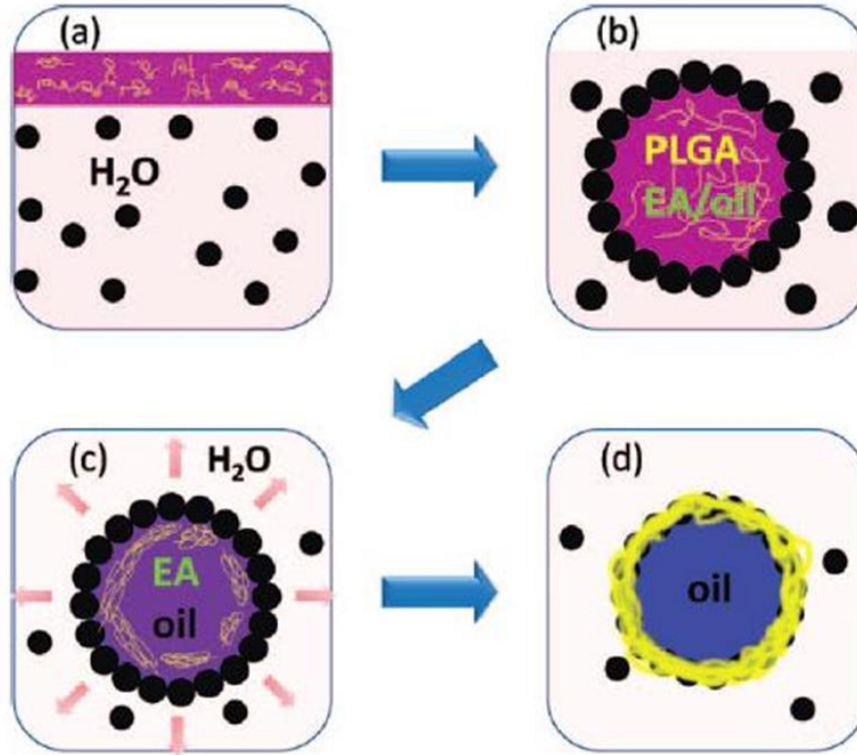


Şekil 2.7. Yüzey aktif madde temelli emülsiyon ve dondurarak-kurutma yöntemleri bir arada kullanılarak hazırlanan polimer mikrokapsül hazırlanışının şematik gösterimi [60]

2.3.1.2. Pickering Emülsiyonları ve Kolloidozomlar

Günümüzde en çok çalışılan mikrokapsül hazırlama yöntemlerinden biri partikül tarafından stabilize edilen emülsiyonların şablon olarak kullanıldığı Pickering emülsiyonlarıdır. Bu yöntem, sıvı damlacıkların şablon olarak kullanılabilmesi ve kolloidal partiküllerin yağ-su arayüzeyinde kendi-kendine kümeleşebilmesi özelliklerinin bir arada kullanılması ile ortaya çıkmıştır [61]. Dinsmore ve arkadaşları yaptıkları çalışmada bu prosesi biraz modifiye etmiş ve kolloidal partiküllerin su-yağ emülsiyon damlacıkları etrafında kabuk olarak kullanıldığı ve daha sonra termal kaynaştırma ile birbirlerine tutundurulduğu “kolloidozom”ları üretmişlerdir [62].

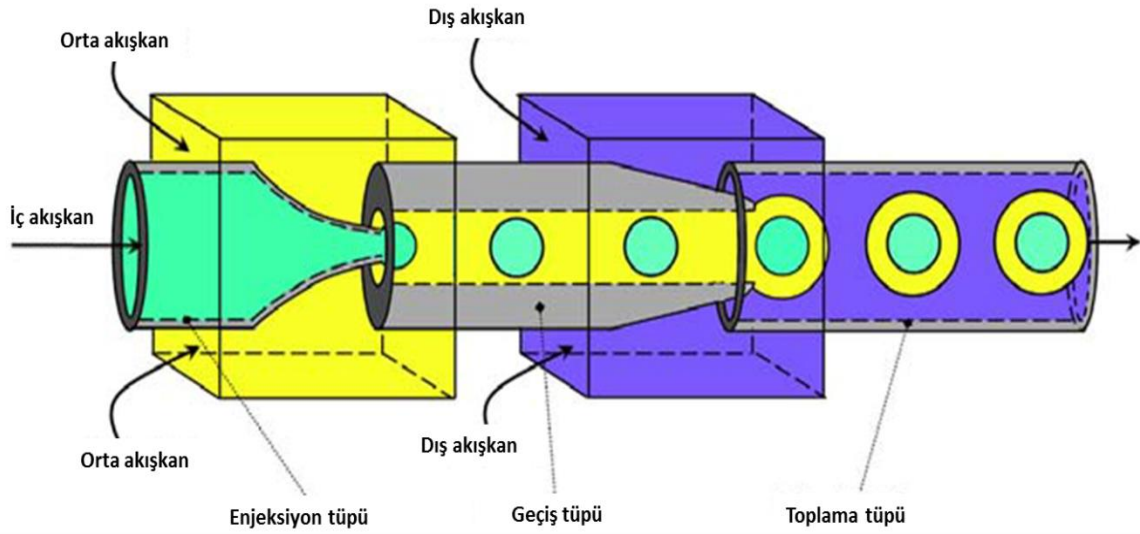
Ngai ve çalışmaları arkadaşları polistiren lateks partiküller kullanarak yeni ve basit bir mikrokapsül üretim stratejisi geliştirmişlerdir. Bu yeni yöntemde, yağ/su emülsiyon damlacıkları arayüzeyde oluşan bir polistiren lateks tekli tabakasıyla stabilize edilmiş ve ardından bu tabaka biyobozunur bir polimer ile güçlendirilmiştir (Şekil 2.8) [63]. Çalışma kapsamında n-octanol yağı (oil), etil asetat (EA), EA'da çözünen ancak suda çözünmeyen PLGA polimeri ve polistiren lateks partiküller kullanılmıştır. İlk olarak oluşan yağ/su emülsiyonu, arayüzeyi polistiren partiküller tarafından stabilize edilen ve yağ fazı içinde enkapsüle edilmiş PLGA'dan oluşmaktadır (Şekil 2.8 (b)). İkinci basamakta yüksek hacimde su fazının eklenmesiyle, EA kapsül içinden dışarıya difüze olmaktadır (Şekil 2.8 (c)). Ardından EA'da çözünür olan ancak yağ fazında çözünür olmayan PLGA kapsül içinden dışarıya doğru çıkmaya çalışırken partiküllerin birbirlerine tutunmasını sağlayarak kabuk kısmını oluşturmaktadır (Şekil 2.8 (d)). Bu sayede çok çeşitli fonksiyonel grupları enkapsüle edebilecek mikrokapsüller oluşturulmuştur.



Şekil 2.8. Yağ-su emülsiyonları içinde partikül tarafından stabilize edilen sıvı çekirdek-polimer kabuk mikrokapsül hazırlanışının şematik gösterimi [63]

2.3.1.3. Mikroakışkanlar

Mikroakışkanların geliştirilmesi için gösterilen yoğun çabalar ve optimizasyon çalışmaları sonucunda geniş bir boyut aralığında ve eşboyutlu polimerik kapsüllerin sentezi ve fabrikasyonu için uygun mikrokimyasal işlemlerin gerçekleştirilebildiği tesisler hızla geliştirilmiştir. Cihaz içindeki mikrokanallar içinde çoklu-yoğuşma, fotopolimerizasyon ve enkapsüle edilen çözücünün kabuktan kontrollü şekilde salımı gibi birçok fizikokimyasal proses gerçekleşmektedir. Mikroakışkan cihazlar kullanılarak en sık hazırlanan yapı su/yağ/su çift emülsiyonlarıdır (Şekil 2.9) [64].



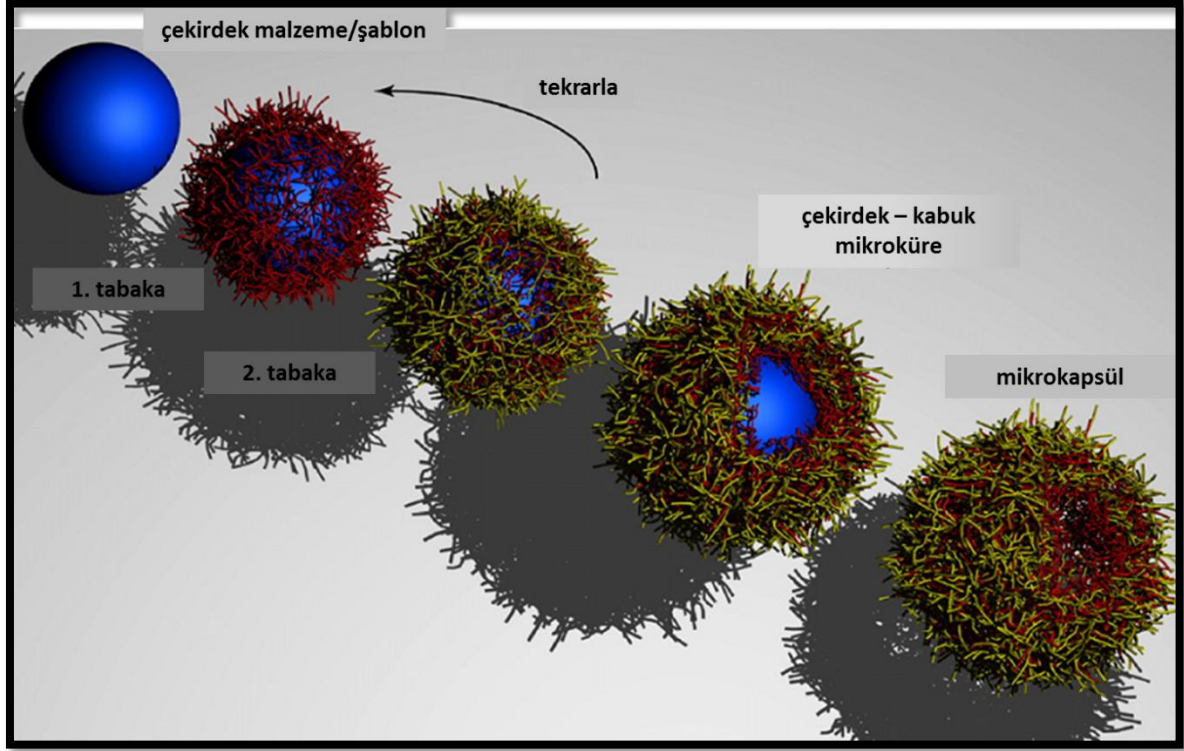
Şekil 2.9. Monodispers su/yağ/su çift emülsiyonu hazırlayan mikroakışkan cihazının şematik gösterimi [64].

Mikroakışkan cihazlar kısaca cam kapiler tüplerin cam slaytlar üzerine yerleştirilmesi ile hazırlanmaktadır. Kapiler tüplerin yerleştirilmesi için, silindirik tüpler kübik kapilerler içine eş-aksanlı olarak yerleştirilirler. Kullanılan 3 farklı akışkan içteki ince kapiler tüp, ortadaki kübik bölüm ve en sonda yer alan daha büyük çaplı kapiler tüpten, eş-zamanlı olarak verilmekte ve bu sayede eş-boyutlu emülsiyonlar kısa sürede hazırlanabilmektedir.

2.3.1.4. Tabaka-Tabaka Kaplama Yöntemi

Tabaka-tabaka kaplama yöntemi (TTK) literatürde sıklıkla kullanılan mikrokapsül hazırlama yöntemlerinden biridir [55,65]. Tabaka üzerine tabaka kaplama yöntemi ilk defa Decher ve çalışma arkadaşları tarafından geliştirilmiştir [66]. Önerdikleri protokol katı bir yüzey üzerine polianyon ve polikasyonların ince bir film

oluşturacak şekilde birbirinin ardı sıra adsorpsiyonu yer almaktadır. TTK yönteminde kullanılacak katmanlar, mikrokapsüle kazandırılmak istenen özelliklere göre çok çeşitli malzemelerden seçilebilmektedir. Her bir tabakanın kaplanması için itici güç sadece elektrostatik etkileşimle kısıtlı kalmamakta aynı zamanda hidrojen bağı, kovalent bağ ve biyolojik çekim gibi farklı etkileşimler de TTK yöntemiyle mikrokapsül oluşumunda kullanılabilir.



Şekil 2.10 TTK yöntemiyle elektrostatik olarak birbirleriyle etkileşen polielektrolitlerin kabuk malzemesi olarak kullanıldığı mikrokapsül hazırlanışının şematik gösterimi

Literatürde yapılan çalışmalara bakıldığında, CaCO_3 [67], MnCO_3 [68], SiO_2 [69], manyetik [70] ve polimer partiküller olmak üzere birçok malzeme çekirdek/şablon olarak tercih edilmiştir. Örneğin tabakalar arasında metal etkileşimleri sağlanarak yüksek dayanıma sahip mikrokapsüller üretilebilmektedir [71]. Bunun yanı sıra hem tabaka-tabaka kaplanma hem de mineralleşme özellikleri sinerjistik olarak kullanılarak Protamin-titanyum mikrokapsülleri oluşturulabilmektedir [72]. Yine TTK yöntemiyle mikrokapsül oluşturulmasında en çok kullanılan etkileşimlerden biri de konakçı-konuk ilişkileridir. Literatürde bu etkileşimden faydalanılarak hazırlanan birçok mikrokapsül çalışmasına rastlamak mümkündür [73].

Li ve çalışma arkadaşları, TTK yöntemini kullanarak çekirdek partiküller üzerine protein ve lipit çoklu tabakaları kaplamış ve bu sayede ilaç salımı kontrol altına alınabilen taşıyıcı sistemler geliştirmişlerdir. Protein olarak insan serum albümini ve lipit malzeme olarak da L--dimiristolfosfatidik asit (DMPA) kullanılan çalışmada çekirdek malzeme olarak melamin formaldehit (MF) ve mangan karbonat (MnCO₃) tercih edilmiştir. Her bir tabaka kaplanmasının ardından kaplama verimi zeta potansiyel ölçümleriyle takip edilmiş ve son basamak olarak 0,1 M HCl ile yüzeyleri kaplanmış çekirdek partiküller muamele edilerek, iç kısmı boşaltılmış polielektrolit mikrokapsüller hazırlanmıştır [65].

Yapılan bir diğer çalışmada Möhwald ve çalışma arkadaşları yüzeyleri fonksiyonelleştirilmiş lateks partiküller üzerine sodyum polistiren sulfonat (PSS) ve polialilamin hidroklorür (PAH) polielektrolitleri kullanarak yine TTK yöntemiyle kaplama yapılmıştır ve kaplama verimi aynı şekilde zeta potansiyel ölçümleri ile takip edilmiştir. Toplam 14 kata kadar polielektrolitler ile kaplama yapılan çalışmada miktar ve süre optimizasyonu yapılarak tabaka sayısının arttırılabileceği gösterilmiştir [74].

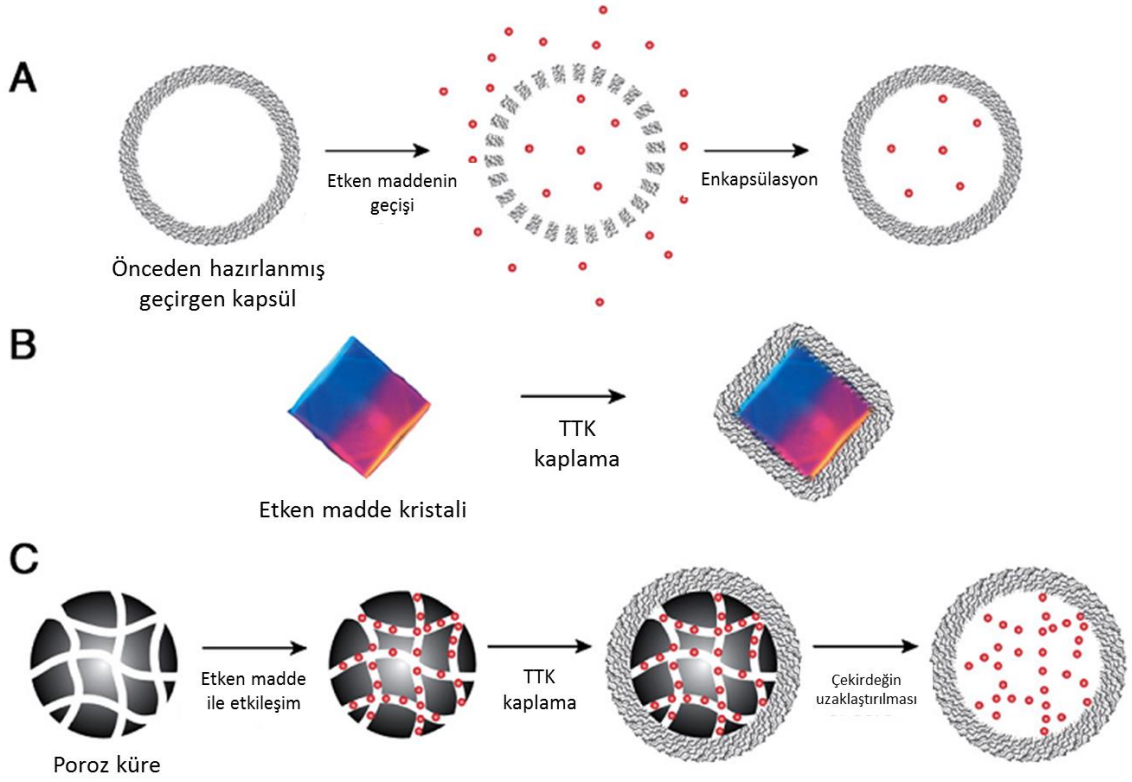
Yine aynı çekirdek ve kabuk malzemeleriyle Advincula ve çalışma arkadaşlarının yaptığı çalışmada, polielektrolitler PS partiküller üzerine kaplandıktan sonra, hazırlanan yapılar THF ile muamele edilerek çekirdek malzemenin çözülerek ortamdaki uzaklaşması ve geriye içi boş kapsül yapılarının kalması sağlanmıştır. Oluşturulan bu kapsüller, ilaç çözeltisi içerisinde dağıtıldıktan sonra difüzyon ile ilacın kapsül içine girmesi sağlanmış ve bu sayede, geniş hacimli ve kontrollü ilaç salımı yapabilen, yüksek enkapsülasyon kapasitesine sahip ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir [18].

Kolloidal mikrokapsüller, bu alanda yapılan çalışmalar içerisinde yeni keşfedilen bir sınıf olmakla birlikte, yapıtaşı olarak kolloidal partiküllerin kullanıldığı mikrokapsül türleridir. Daha önce anlatılan "Pickering emülsiyonları" yöntemiyle hazırlanan örneklerine literatürde sıklıkla rastlamak mümkünken, TTK yöntemiyle, kabuk malzemesi olarak nanopartiküllerin kullanıldığı ve elektrostatik etkileşimden faydalanılarak mikrokapsüllerin hazırlandığı örneklerin literatürde eksikliği duyulmaktadır.

Bu alanda yapılmış çalışmalardan biri olarak Thompson ve çalışma arkadaşlarının polistiren partiküller kullanarak hazırladığı mikroküreler örnek olarak gösterilebilmektedir. Çekirdek-kabuk yapıda hazırlanmış olan bu sistemde kabuk malzeme olarak koloidal metal partiküller kullanılmıştır. Altın ve paladyum partiküllerin, elektrostatik olarak yüzeyi fonksiyonelleştirilmiş polistiren partiküllerin üzerine elektrostatik etkileşimle immobilize edildiği çalışmada, karıştırma ve sonikleme gibi bazı uygulamalar sonucunda da koloidal metal partiküllerin yüzeyden kopmadığı görülmüştür. Bu çalışma ile elektrostatik etkileşimle inert bir destek üzerine kaplanabilen partiküllerin uzun süre yüzeyde kalabildiği heterojen katalizör sistemlerin kendi-kendine kümeleşme yöntemiyle geliştirilebildiği gösterilmiştir [75].

2.3.1.4.1. TTK Yöntemiyle Hazırlanan Mikrokapsüllerin İçine Etken Madde Alımı

Şekil 2.11'de verildiği gibi, mikrokapsüllerin içine etken madde enkapsülasyonu için literatürde bazı yöntemler mevcuttur. En sıklıkla kullanılan basit bir yaklaşım olarak, enkapsüle edilen etken maddenin, TTK yöntemiyle oluşturulan kabuk kısmından içeri difüze olmasıdır (Şekil 2.11 (A)). Kabuk kısmını oluşturan malzeme tuza (dekstran sülfat/polialilamin hidroklorür) [76] ya da pH'a (polistiren sülfonat) [74] duyarlı kimyasallardan seçildiğinde, bu değişkenlere bağlı olarak porların açılması ve taşınması istenen etken maddenin kapsül içine alınması sağlanabilmektedir. Bu yöntem ile enkapsüle edilmek istenen malzemenin boyutu ve molekül ağırlığı uygun olduğu müddetçe, tercih edilen herhangi bir terapötik ajan taşınımı gerçekleştirilebilmektedir. Ancak bu yöntemin kullanımını kısıtlayan bir unsur, kapsül dışındaki ilaç konsantrasyonunun kapsül içinde ulaşılacak maksimum konsantrasyonu kısıtlıyor olması dolayısıyla, enkapsüle edilen ilaç derişiminin düşük değerlerde kalmasıdır.



Şekil 2.11. Farklı yöntemler ile etken maddelerin enkapsülasyonu **A)** Geçirgen mikrokapsüllerin önceden hazırlanması, **B)** Etken madde kristallerinin enkapsülasyonu, ve **C)** Etken maddenin poroz malzemelere yüklenmesi [77]

Terapötik ajanların TTK yöntemiyle taşınmasının ve enkapsülasyonunun bir diğer örneği, kristalize formdaki protein ya da ilaçların direkt olarak çekirdek malzeme olarak kullanılmasıdır (Şekil 2.11 (B)) [78]. Literatürde katalaz enzimi [78], piren model ilaç bileşiği [79] ve floresan özellikli diasetat [80] için bu yöntemle yapılmış mikrokapsül çalışmaları bulunmaktadır. TTK yöntemi ile direkt olarak taşınmak istenen malzemenin yüzeyinin kaplanması yönteminde en çok dikkat edilmesi gereken kritik nokta, etken maddenin kaplanmanın yapılacağı koşullarda çözünür olmamasıdır. Özellikle düşük molekül ağırlıklı terapötik ajanlarla çalışılırken bu durum önemli hale gelmektedir. Bu yöntemin en önemli avantajlarından biri, çekirdek malzemenin tamamı etken maddeden oluştuğu için oldukça yüksek derişimlerde ilaçla çalışılmaya elverişli olmasıdır. Yöntemi kısıtlayan tek koşul, taşınmak istenen etken maddenin yüksek kristalliğe sahip olması ve çözünür olmadığı koşulların, kaplamanın yapılabileceği ılımlı koşullar olmasının gerekliliğidir.

Bu yöntem ile terapötik ajanların enkapsülasyonu için en fonksiyonel tekniklerden biri de, etken maddenin poroz bir malzemeye yüklenmesi ve o malzemenin de TTK yöntemiyle kaplanmasıdır (Şekil 2.11(C)). Poroz malzemelerin yüksek yüzey alanları sayesinde, bu yöntem kullanılarak hazırlanan taşıyıcı sistemlerin ilaç taşıma kapasitesi oldukça yüksek derişimlere ulaşabilmektedir. Bu sayede çok farklı boyut ve moleköl ağırlığı aralığında protein ve ilaç gibi malzemeler taşınabilmektedir [77].

2.3.1.4.2. TTK Yöntemiyle Hazırlanan Mikrokapsüllerden Etken Madde Salımı

Aktif farmasötik ajanların taşıyıcı sistemlerden istenen bölgeye aktarımı aniden (burst release) ya da yavaş ve uzun bir periyoda yayılarak (controlled/sustained release) olabilmektedir. Taşınmak istenen malzeme hücre içine aktarılmak isteniyorsa (kemoterapi, gen transfeksiyonu vb.) ani salım uygun bir yöntem olabilmektedir. Ancak, taşıyıcı kapsöl hücre dışında kalacaksa, yüksek dozda verilen etken maddenin tehlikeli olduğu koşullarda ve/veya ilacın belli bir seviyede kalması isteniyorsa (şizofreni tedavisi vb.) kontrollü salım alternatifi ideal hale gelmektedir [81].

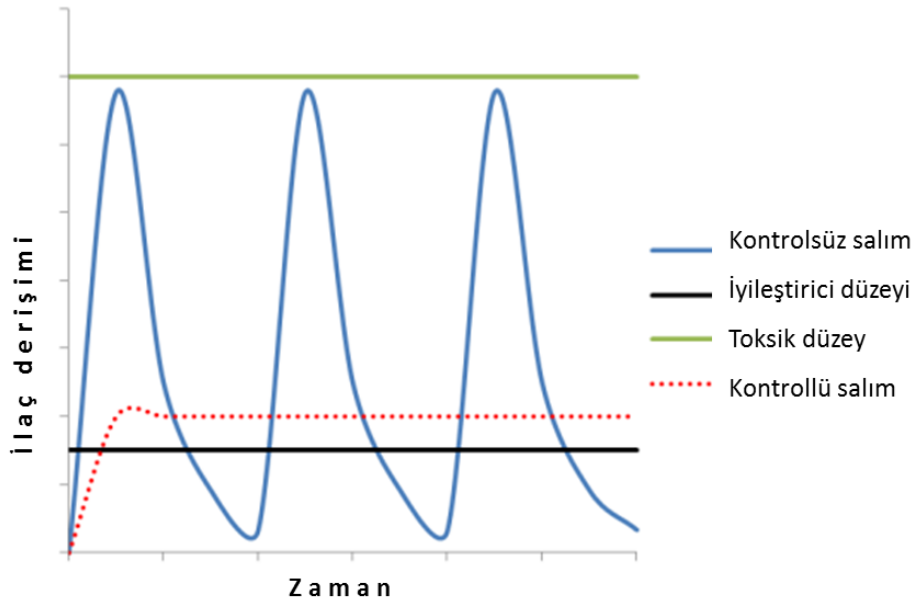
Ani salım, her ne kadar ilaç salım sistemleri için istenmeyen bir durum olsa da, dışarıdan bir etkiyle enkapsüle edilen etken maddenin salımının başlatılması ya da hızlandırılması bazı özel uygulamalar için istenen bir durum olabilmektedir. Literatürde altın nanopartiküllerle yapılan çalışmada yakın kızıl-ötesi ışın ile kabuğa yerleştirilen altın nanopartiküllerin ısınması sağlanmakta ve bu sayede kapsöl duvarları parçalanarak enkapsüle edilen etken maddenin salımı gerçekleşmektedir [82].

Kontrollü ve sürdürülebilir ilaç salımının sağlanması, özellikle TTK yöntemiyle hazırlanan mikrokapsüllerin hazırlanma amaçlarından biri olarak düşünülebilmektedir. Vücuda alınması gereken etken madde dozunun uzun periyotlar boyunca aynı seviyede korunması tedavinin etkisini ve verimini artırırken aynı zamanda yüksek dozajın neden olabileceği toksik etkiden de bu sayede kaçınılmış olmaktadır. Etken maddenin kendi difüzyon hızının yavaşlatılması ya da yavaş yavaş bozulan bir kapsölden etken maddenin salımına izin verilmesi şeklinde gerçekleştirilebilmektedir [83]. Ortamdaki pH ve iyonik güç

gibi parametrelerin değişimiyle de etken maddenin salımı kontrol altına alınabilmektedir [84].

2.4. İlaç Salım Mekanizma ve Modelleri

Partiküllerden kontrollü şekilde ilaç salımının gerçekleştirilmesi ilaç seviyesinin ayarlanması, bazı koşullarda düşük dozda ilaç seviyelerinin sabit kalma gerekliliği ve hastanın toksik etkilerden korunması gibi çeşitli nedenlerle büyük önem taşımaktadır [85] (Şekil 2.12). Kontrollü şekilde ilaç salımı yapabilmemesinin yanı sıra, ideal bir ilaç taşıyıcı sistemin biyouyumlu, dayanıklı, yüksek ilaç tutma kapasitesine sahip, ani salım gerçekleştirilmeyen, kolay üretilebilen ve uzun süre saklanabilen bir malzeme olması gerekmektedir.



Şekil 2.12. Kontrollü ve kontrolsüz ilaç salım sistemlerinden gerçekleşen salımın kandaki ilaç derişimi üzerine etkisi

Kontrollü ilaç salım sistemlerinin ilk akla gelen avantajları aşağıdaki gibi sıralanabilmektedir [86];

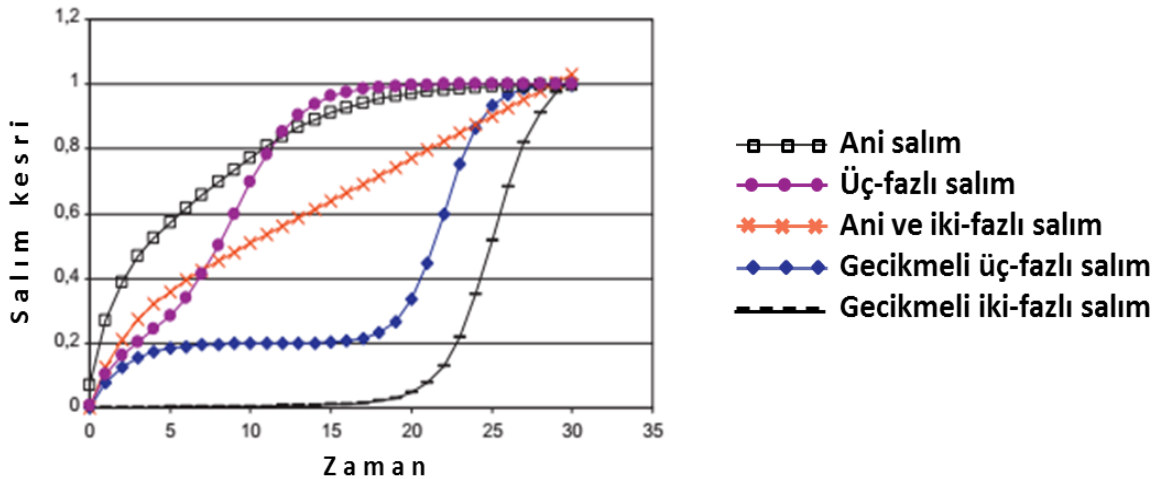
- Vücuda ilaç alım sıklığının azaltılabilmesi
- İlacın hastaya uygunluğunun artırılabilmesi
- Kandaki ilaç seviyesi dalgalanmalarının azaltılabilmesi
- Konvansiyonel tedavi ile karşılaştırıldığında, kullanılacak ilaç miktarının azaltılabilmesi
- Vücut içinde ilaç birikiminin azaltılabilmesi

- Bölgesel ve sistemik ilaç toksisitesinin düşürülebilmesi
- Hastanın tıbbi durumunun stabil halde korunabilmesi
- İlaçların biyoyararlanımının artırılabilmesi
- Daha az ilaç ve daha az uygulama sayesinde, hastalıkların ekonomik bir yolla tedavi edilebilmesi

İlacın taşıyıcı içinden kontrollü şekilde salımı birkaç farklı yolla sağlanabilmektedir [85];

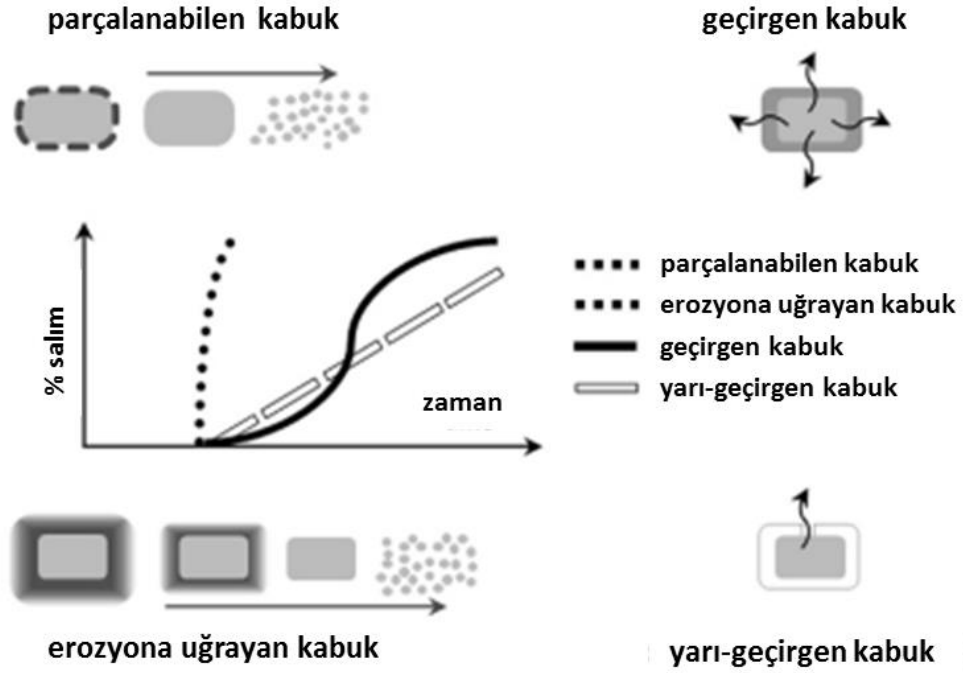
- Çözünme kontrollü salım
- Enkapsülasyon ve çözünme kontrollü salım
- Difüzyon kontrollü salım
- Difüzyon ve çözünme kontrollü salım
- İyon değiştirme reçineleri
- Ozmotik kontrollü salım

Taşıyıcı sistem için ilacın salımına dair geliştirilen birçok teori ve kinetik modele literatürde rastlamak mümkündür [87]. Elde edilen ilaç salım profilleri genellikle salıma ait doğru mekanizmasının tahmin edilebilmesini sağlamaktadır. İlaç salım profilleri, özellikle daha az kontrollü olduğu koşullarda tek-fazlı olarak gözlemlenirken, taşıyıcı sistem daha komplike oldukça salım profilleri de iki-fazlı ya da üç-fazlı şeklinde gözlemlenebilmektedir (Şekil 2.13).



Şekil 2.13. Farklı fazları içeren ilaç salım profilleri [87]

Şekil 2.13'te görülen “ani salım” profili, genellikle konvansiyel yöntemlerle ilacın doğrudan damar yoluna verildiği koşuldaki kontrolsüz salım eğrisine (Şekil 2.12) benzemekte ve kısa sürede ilacın kandaki seviyesinin yüksek değerlere ulaşmasına neden olmaktadır. Klasik bir “üç-fazlı salım” ile “ani ve iki-fazlı salım” profillerinde ilk faz genellikle ani salım şeklinde olmaktadır. Bu duruma neden olarak, yüzeye tutunmuş ve enkapsüle edilemeyen ilaç molekülleri, yüzeye çok yakın bir bölgeye tutunan ilaç molekülleri ya da yüksek hidrofiliğe sahip ilaç moleküllerinin enkapsüle edilmiş olması gösterilebilmektedir [88]. 2. faz ilk faza oranla daha kontrollü ve yavaş şekilde gerçekleşmektedir. Bu faz hazırlanan ilaç taşıyıcısının ne kadar verimli şekilde kontrollü ilaç salımını gerçekleştirdiğinin bir göstergesi olarak sayılabilmektedir. “Üç fazlı salım” profili gösteren ilaç taşıyıcı sistemlerde ise 3. faz, taşıyıcıda neden olan ani erozyon ya da taşıyıcının yapısında gerçekleşmiş olabilecek hasarlardan dolayı 2. ani salım olarak düşünülmektedir [87]. Yavaş ve kontrollü salımın gerçekleştiği 2. faz ya da Şekil 2.13'te de görülen gecikme süreleri genellikle ilacın salındığı malzemenin düşük poroziteye sahip olmasıyla açıklansa da, bazı koşullarda yapının iç kısmı ilacın ortama salımı için elverişli olsa dahi, yüzeyde bulunan farklı kaplama malzemeleri ilacın ortama salım hızını ve difüzyonunu etkilemekte ve gecikme süresinin oluşmasını sağlamaktadır [87].



Şekil 2.14. Çekirdek-kabuk yapısında olan ilaç taşıyıcı sistemlerden gerçekleşen çeşitli ilaç salım profilleri [89]

Mikrokapsüller gibi çekirdek-kabuk yapısında olan ilaç taşıyıcı sistemler, ilacın salım profili temel alınarak yukarıda sözü edilen sınıflandırmalarla açıklanabilse dahi, kabuk kısmının yapısı esas alınarak da bazı kategorilere ayrılabilir (Şekil 2.14) [89]. “Parçalanabilen kabuk” yapısına sahip ilaç taşıyıcı sistemler suda çekirdek malzemeye göre göreceli olarak daha az çözünür olan bir kabuk malzemesiyle çalışılarak hazırlanmaktadır. Salım mekanizmasının diğer örneklerle karşılaştırıldığında daha az kontrollü olduğu söylenebilen bu tür yapılarda kabuk malzemenin kalınlığı değiştirilerek salım daha kontrollü hale getirilebilmektedir [90]. “Erozyona uğrayan kabuk” yapısındaki sistemlerde genellikle yüksek hidrofiliğe sahip polimer malzemeler kabuk olarak tercih edilmektedir. Bu tür sistemler ile pH-kontrollü olarak kabuk malzemenin ilacın salınmak istendiği ortamda çözünür olması sağlanarak, hedeflenen bölgede istenen dozlara ulaşılabilir [91]. “Geçirgen kabuk” yapısına sahip ilaç taşıyıcılarda kabuk olarak, salım koşullarında çözünür olmayan polimer malzemeler tercih edilmektedir. Bu tür sistemlerde, sulu salım ortamı kabuk malzemeni aşarak yapının içine doğru girmekte ve etken maddeyi çözünürleştirerek kabuktan çıkmasını sağlamaktadır. Şekil 2.14’te görüldüğü gibi, ilk başta oluşan gecikme süresi sözü geçen bu çözünürleştirme-difüzlenme prosedürü nedeniyle

gerçekleşmekte ve kullanılan kabuk malzemenin geçirgenliğine bağlı olarak değişebilmektedir. Parçalanabilen ve erozyona uğrayabilen kabuk malzemelerden farklı olan geçirgen kabuklu taşıyıcılarla çok daha süresi uzatılmış, kontrollü salım çalışmaları yapmak mümkün olmaktadır. Narisawa ve çalışma arkadaşlarının yaptığı çalışmaya bakıldığında, kabuk malzemesi olarak Eudragit RS kullanıldığı ve ortama succinic acid salımı yapılmak istenen taşıyıcı sistemde, kabuk malzemesinin kullanılmadığı koşulla karşılaştırıldığında salımın yaklaşık %70 oranında yavaşlatılabildiği görülmektedir [92]. “Yarı-geçirgen kabuk” yapılı ilaç taşıyıcı sistemlerde ise kullanılan kabuk malzeme suyun içeri girmesini sağlamakta ancak çözünen malzemenin geçişine izin vermemektedir. Bu tür sistemlerde anahtar bileşen taşıyıcının içi ve dışı arasındaki ozmotik basınç farkıdır. Taşıyıcı içindeki basınç dışarıdakinden çok yüksek değerlere ulaştığında, etken madde yavaş yavaş ortama salınmaya başlanmaktadır. Literatürde yapılan çalışmalara bakıldığında, bu tür sistemlerde genellikle kabuk malzeme olarak selüloz asetat ve selüloz asetat türevlerinin tercih edildiği görülmektedir [93].

Literatürde partiküller ya da mikrokapsüller gibi daha komplike sistemler kullanılarak yapılan kontrollü salım çalışmaları incelendiğinde, ilaç salım profilinin sıklıkla Sıfırıncı-derece modeli, Birinci-derece modeli, Higuchi modeli, Korsmeyer-Peppas modeli ve Hixson-Crowell modeli ile açıklanabildiği görülmektedir [94].

Sıfırıncı-derece modeli

Sıfırıncı-derece modeline uygun salım yapan sistemlerde genellikle salınan ilaç miktarı ilacın enkapsüle edildiği yapı içindeki konsantrasyonundan bağımsızdır. İlacın salımı zamanla değişmemekte ve dolayısıyla zamanın bir fonksiyonu olarak düşünülmemektedir. Eşitlik 2.1’de verilen formülle açıklanabilen sıfırıncı-derece modeline uygun salımlar genellikle transdermal uygulamalar, bir matris yapı içerisine yerleştirilmiş ve suda çözünürlüğü düşük olan ilaçlar ya da ozmotik basınç kontrollü uygulamalarda görülmektedir [85].

$$F = k_0 t \quad \text{Eşitlik 2.1}$$

$F = t$ anında salınan ilaç kesri

k_0 =Sıfırıncı-derece salım hız sabiti

Birinci-derece modeli

1967'de ilk defa Gibaldi ve Feldman tarafından önerilen birinci-derece modeli, salınmadan kalan ilaç miktarının logaritmasını, salım için geçen zaman ile ilişkilendirmektedir. İlk önerildiği dönemlerde, difüzyon, çözünme veya eliminasyon gibi birçok salım mekanizması Birinci-derece modeli ile açıklanabilmekteydi. Ancak zaman içerisinde elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, suda çözünebilir hidrofil yapıda ilaçlar için ve poroz taşıma sistemlerinde kesinliği daha yüksek cevaplar verdiği görülen modelde, sıfırıncı-derece modeli'nden farklı olarak salım hızı zamanla sabit olmamaktadır. Eşitlik 2.2'de verilen formül ile açıklanabilen sistemin difüzyon kontrollü salım, çözünme kontrollü salım ve kontrollü salım çalışmalarındaki sistemlere uygunluk gösterdiği literatürde yapılan çalışmalarda belirtilmektedir. Mulye ve Turco yaptıkları çalışmada, suda oldukça yüksek çözünürlüğe sahip olan ilaçların suda çözünür olmayan ve şişme özelliği göstermeyen taşıyıcılardan salımını incelemiş ve salımın birinci-derece modeline yüksek uygunluk gösterdiğini göstermişlerdir [95].

$$\ln(1 - F) = -k_1 t \quad \text{Eşitlik 2.2}$$

k_1 =Birinci-derece salım hız sabiti

Higuchi modeli

1960'lı yıllarda geliştirilen bu model, suda çözünebilir ve çözünürlüğü nispeten düşük olan ilaçların yarı-katı ve/veya katı taşıyıcılar içinden salımını açıklamaktadır. Higuchi modeline uygun salım davranışında salınan ilaç kesri zamanın karekökü ile doğru orantılı olmakta ve Eşitlik 2.3 ile açıklanabilmektedir. Aburahma ve çalışma arkadaşlarının yaptığı çalışmaya bakıldığında, yarı katı yapıda olan Nanoyapılı Lipit Taşıyıcılardan (NLC) ödem söktürücü bir etken madde olan Spironolakton salımı için çalışılmış ve farklı kompozisyonlardaki NLCler ile yapılan çalışmaların tamamında salımın teorik bilgiye uygun şekilde Higuchi modeli ile açıklanabildiği görülmüştür [85].

$$F = k_H \sqrt{t} \quad \text{Eşitlik 2.3}$$

k_H = Higuchi salım hız sabiti

Korsmeyer-Peppas modeli

1983 yılında Korsmeyer tarafından ilaç salımının zamanın üssü ile ilişkilendirildiği yarı empirik bir eşitlik olan Eşitlik 2.4 türetilmiştir.

$$F = k_{KP}t^n \quad \text{Eşitlik 2.4}$$

Eşitlikte verilen k_{KP} Korsmeyer-Peppas salım hız sabiti ve n ise salımın derecesini göstermektedir. Korsmeyer-Peppas modeline göre ilacın salım kesri, zamanın üssü ile ilişkilendirilmiştir.

1985 yılında Peppas, Eşitlik 2.4'te verilen n değerini salım mekanizmasını karakterize etmek için kullanmış ve hesaplanan n değerlerine göre salım profillerini Çizelge 2.1'deki gibi kategorize etmiştir. Bu sınıflandırmaya göre küresel taşıyıcılar için n değeri 0,45'in altında ya da 0,45 olduğu durumda salımın Fick yasasına uyan (Fickian) difüzyon mekanizmasıyla, $0,45 < n < 1$ olduğu durumda ise Fick yasasına uymayan difüzyon mekanizmasıyla (non-Fickian) açıklandığı söylenebilmektedir. Literatürde yapılan çalışmalara bakıldığında, Fick yasasına uyan koşulda, salımın yüklenen ilaç miktarıyla orantılı şekilde ve yüklenen malzeme ile taşıyıcının kimyasal yapılarının uyumluluğuna bağlı olarak hızlanıp yavaşlayabildiği görülmektedir. Fick yasasına uymayan koşullarda ise salımın yine difüzyonla gerçekleşmekte ancak bu koşulda erozyon ya da taşıyıcı malzemenin şişmesi gibi başka kuvvetler de salımı etkilemektedir. Salım derecesi n değerinin 1'in üstüne çıktığı koşulda ise yine difüzyon ve erozyon mekanizmalarının etkili olduğu ancak difüzyondansa erozyonun daha baskın olmaya başladığı söylenebilmektedir [85,96].

Çizelge 2.1. Korsmeyer-Peppas Salım Modeli kullanılarak hesaplanan salım derecesi (n) değerinin karakterize ettiği salım mekanizmaları

Salımın derecesi (n)	Salım mekanizması
$n \leq 0,45$	Fick yasasına uyan (Fickian)
$0,45 < n < 1$	Fick yasasına uymayan (non-Fickian)
$n > 1$	Durum-2 (Case-2)

Hixson-Crowell modeli

Hixson ve Crowell 1931 yılında partikülün alanı ile hacminin 3. dereceden kökünün birbirleriyle orantılı olduğunu keşfetmiş ve buradan yola çıkarak partiküle yüklenen ilacın salım mekanizmasını modellemişlerdir. Eşitlik 2.5'te verilen formül ile açıklanabilen model, salım sırasında partikülün yüzey alanında ve partikül çapında değişimler olduğu koşulda yüksek uygunluk göstermektedir [85].

$$1 - \sqrt[3]{(1 - F)} = k_{HC} t \quad \text{Eşitlik 2.5}$$

k_{HC} = Hixson-Crowell salım hız sabiti

3. DENEYSEL YÖNTEMLER

3.1. Kimyasal Maddeler

Yapılan doktora tez çalışmasında kullanılan stearik asit Tween 20, monosodyum fosfat ve disodyum fosfat Merck'ten; Pluronik F 127, litokolik asit, lesitin, butanol, tetrakloroaurik(III) asit, setiltrimetil amonyum bromür, sodyum borhidrür ve gümüş nitrat Aldrich'ten; THF, Ibuprofen, PS lateks partiküller ve kitosan Sigma'dan, metilen mavisi ve potasyum permanganat Fluka'dan temin edilmiştir ve kullanılmadan önce herhangi bir saflaştırma işlemi uygulanmamıştır. Çözeltilerin tamamı ultra saf su kullanılarak hazırlanmıştır.

3.2. Katı Lipit Nanopartiküllerin Sentezi

3.2.1. 1. Basamak - Mikroemulsiyon Hazırlanması

KLN sentezinin ilk basamağını şeffaf ve stabil mikroemulsiyon (ME) hazırlanması oluşturmaktadır. ME hazırlanırken temel olarak, lipit ve emulsifiye edici ajan bileşenleri farklı ortamlarda hazırlanmakta, istenen sıcaklığa getirildikten sonra uygun yöntemlerle karıştırılmaktadır.

Literatürde lipitin hazırlanması aşaması için farklı teknikler mevcuttur. Çalışmamız dahilinde, bu tekniklerden ikisi olan, lipitin çözdürülmesi ve eritilmesi yollarına başvurulmuştur. Çözdürülerek hazırlanan çözelti için, lipit olarak tercih edilen stearik asit, belirlenen oranlarda etanol ile çözdürülüp 70°C'ye çıkartılmıştır. Eritilerek hazırlandığı durumda ise 80°C'de çalışılmıştır. Çözdürülerek hazırlanan lipit çözeltisi için, sıcaklık 70°C'ye gelene kadar ve 70°C'de 10 dakika boyunca homojenizasyon, sonikasyon ve manyetik karıştırma gibi çeşitli yöntemlerle çözeltinin karışması sağlanmıştır.

Emulsifiye edici ajan çözeltisinin hazırlanma sürecinde ise, seçilen maddeler belirli bir oranda saf su ile karıştırıldıktan sonra, tercih edilen pH değeri ayarlanmış ve çözelti lipit için çalışılan sıcaklığa getirilmiştir. Sonikasyon ve manyetik karıştırma gibi yöntemler kullanılarak homojenizasyon sağlanmıştır.

Aynı sıcaklığa getirilmiş lipit çözeltisi üzerine hipodermik enjektör yardımıyla emulsifiye edici ajan eklenmiş ve bahsedilen yöntemlerle 10 dakika daha karıştırma uygulanmıştır. Şeffaf ve stabil ME oluşumu, karıştırmanın yapıldığı ilk saniyelerden itibaren gözlemlenebilmektedir.

3.2.2. 2. Basamak - KLNlerin Oluşturulması

KLN oluşumunun gerçekleştiği ikinci basamak, ilk basamakta şeffaf ME oluşturulduğu denemeler için uygulanmıştır. Bu aşamada, oluşturulan ME özeltisi, farklı çalışmalar için, hacimce 1:10 ve 1:20 olmak üzere 2-3°C'deki soğuk suyla karıştırılmıştır. Hazırlanan buz banyosu içine yerleştirilen saf suyun sıcaklığı 2-3°C'de tutulurken, içerisine hazırlanan sıcak ME çözeltisinden hipodermik enjektör yardımıyla eklenmiş ve 10 dakika boyunca manyetik karıştırma uygulanmıştır. Oluşturulan tüm KLN çözeltileri, sentez işleminin ardından, safsızlıkların giderilebilmesi için 2000 rpm'de 10 dakika boyunca 2 kez santrifülenmiş ve ardından -80°C'de 3 gün boyunca liyofilize edilmiştir. Sonuç olarak liyofilize edilen KLNler -20°C'de muhafaza edilmiştir.

3.3. Katı Lipit Nanopartiküllerin İlaç Tutma Özelliklerinin İncelenmesi

KLNlere etken madde yüklenmesi sentez aşamasında gerçekleştirilebileceği gibi, etken madde KLNler sentezlendikten sonra, elektrostatik etkileşimler, hidrojen bağı ya da hidrofilik/hidrofobik etkileşimler gibi yollarla da yüzeylerine tutundurulabilmektedir.

Sentez yöntemine bağlı olarak, etken maddenin KLN yapısı içerisinde konumlanacağı bölge değişmektedir. Kontrollü bir şekilde salımının istendiği durumlarda, etken maddenin KLN yapısı içerisinde, çekirdek bölgesine yüklenmesi avantajlı bir durum olarak düşünölmektedir. Bunun yanı sıra, KLN yüzeyine tutundurulması, ortamdaki madde uzaklaştırılması ya da yüzeyin spesifik özelliklerde ve uygun molekülle modifiye edilmesi istendiği durumlarda tercih edilir hale gelmektedir. Çalışmamız kapsamında model ilaç molekülleri olarak Askorbik Asit ve Metilen Mavisi kullanılmış ve partiküllere ait ilaç salım özelliklerinin birçok açıdan değerlendirilebilmesi adına askorbik asit partiküllerin yapısına dahil edilerek iç kısmına yüklenirken, metilen mavisi yüzeyine kaplanmıştır (şekil 3.1).



Şekil 3.1. (A) KLNlerin çekirdek kısmına etken madde yüklenmesi, (B) KLNlerin yüzeyine etken madde tutturulması

3.3.1. Katı Lipit Nanopartiküllere Askorbik Asit Yüklenmesi

KLNlere askorbik asit (AA) yüklenmesi, KLN sentezi sırasında, ME oluşturma aşamasında gerçekleştirilmiştir. Tutabileceği maksimum AA miktarına, yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda, şeffaf ve stabil ME oluşumu gözlemlenerek karar verilmiştir. AA'nın salımının yavaşlatılabilmesi adına, KLNnin çekirdek kısmında durması istendiğinden, ME hazırlanması sırasında lipit fazına dahil edilmiştir. Stearik asitle birlikte çözündürülerek hazırlandıktan sonra sıcaklık 65°C'ye çıkarılmış ve aynı sıcaklıkta emulsifiye edici ajan fazıyla karıştırılmıştır. Karıştırma işlemi, manyetik karıştırıcı kullanılarak gerçekleştirilmiş ve 10 dakika boyunca sürdürülmüştür.

AA yüklemesi yapılan KLNler için (KLN₆, KLN₉, KLN_{P1} ve KLN_{L2}) sentezde kullanılan malzeme miktarları sabit tutulmuş ve her bir partikül için AA miktarı sabit tutularak 0.0324 g AA kullanılmıştır.

KLN oluşturma aşamasında, AA yüklenmediği durumdaki ile aynı işlem serisi yürütülmüş, ancak 2-3°C sıcaklıkta 10 dakika boyunca manyetik karıştırma işlemi uygulandıktan sonra, KLN çözeltisi 14000 rpm'de 5 dakika santrifüjenip, üstte kalan sulu AA çözeltisi ile AA yüklenmiş KLN (AA-KLN) çökeleği birbirinden ayrılarak, tutunmayan AA UV-vis spektroskopisi ile incelenmek üzere ortamdaki uzaklaştırılmıştır.

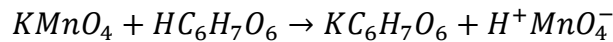
3.3.2. Katı Lipit Nanopartiküllere Metilen Mavisi Yüklenmesi

Negatif yüklü KLNler ile pozitif yüklü metilen mavisi (MM) arasında oluşan elektrostatik çekimden yararlanarak, sentezlenen KLNlerin tamamı ile MM tutma denemeleri gerçekleştirilmiştir. 0,0026 mg/L MM çözeltisi ile her çalışma için aynı miktardaki KLN çözeltisi 24 saat etkileştirildikten sonra, 10000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenerek, nanopartiküller tarafından tutulan MM'nin çökmesi sağlanmış ve süpernatant MM çözeltileri UV-vis yöntemi kullanılarak analizlenmiştir. 0,0005 – 0,0026 mg/L derişim aralığında MM çözeltileri hazırlanarak, 664 nm'deki absorbans verileriyle oluşturulan kalibrasyon doğrusuna ait eşitlikten faydalanılarak, MM derişimindeki değişiklikler belirlenmiştir.

3.4. Katı Lipit Nanopartiküllerden İlaç Salım Özelliklerinin İncelenmesi

3.4.1. Katı Lipit Nanopartiküllerden Askorbik Asit Salım Özelliklerinin İncelenmesi

KLNler tarafından tutulan AAnın salım özellikleri UV-vis spektrofotometresi kullanılarak incelenmiştir. Daha önce de söylendiği gibi sentezin ardından KLN çözeltisi 14000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenip, üstte kalan sulu AA çözeltisi ile AA yüklenmiş KLN (AA-KLN) çökeleği birbirinden ayrılarak, tutunmayan AA ortamdan uzaklaştırılmıştır. Bu işlemin ardından, AA-KLN çözeltisi diyaliz membran içine doldurulup, 80 ml pH 6.8 fosfat tampon çözeltisi içerisine yerleştirilmiş, 37°C'de ve 75 rpm manyetik karıştırma hızında 24 saat boyunca karıştırılmıştır. Salınan AA miktarı tayin edilmek üzere, tampon çözelti içerisinden periyodik aralıklarla 1.2 ml örnek alınmış ve yerine aynı miktarda tampon çözelti eklenmiştir. Alınan örnekler analiz edilmek üzere ayrılmıştır.



AA'nın tek başına UV-vis bölgesinde pik vermemesi dolayısıyla örnekler, 5M H₂SO₄ çözeltisi kullanılarak hazırlanan KMnO₄ çözeltisi ile 5 dakika etkileştirilmiş ve yukarıda verilen kimyasal reaksiyona göre, ortamda bulunan AAnın, permanganat ile reaksiyona girerek renksiz potasyum askorbat oluşturması sağlanmıştır [97]. UV-vis yöntemi kullanılarak örnekler incelenmiş, 525 nm'de elde edilen absorbans değerleri her bir zaman aralığı için kaydedilmiştir.

3.4.2. Katı Lipit Nanopartiküllerden Metilen Mavisi Salım Özelliklerinin İncelenmesi

KLNler tarafından tutulan MM'nin salımı UV-vis yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Sentezlenen bütün KLNler için, 24 saat MM tutundurma işlemi sonrasında örnek, 10000 rpmde 10 dakika santrifüjlenmiş ve tutulmayan MMLer süpernatant çözelti alınarak ortamdan uzaklaştırılmıştır. Yerine aynı miktarda tampon çözelti koyulmuş ve çeşitli zaman aralıklarında, aynı santrifüj işlemi tekrarlanmış ve süpernatant çözeltinin UV-vis spektrofotometresi kullanılarak 664 nm'deki absorbands değeri incelenmiştir. Oluşturulan kalibrasyon doğrusundan yararlanılarak, elde edilen absorbands değerinde, zamanla ortama salınan MM derişimi belirlenmiştir.

3.5. Altın Nanopartiküllerin Sentezi

Yapılan tez çalışması kapsamında, kabuk malzemesi olarak kullanılmak üzere hazırlanan AuNPLer tohum-büyütme yönteminden faydalanılarak sentezlenmiştir [98].

Tohum oluşturma aşaması

- 5 mL 0.5 mM'lık sulu altın tuzu çözeltisi, 5 mL 0.2 M'lık sulu CTAB (setil trimetil amonyum bromür) çözeltisine eklenmiştir ve çözelti hafifçe karıştırılmıştır.
- Elde edilen çözelti üzerine, öncesinde buzdolabında bekletilmiş olan 0.6 mL 0.01M'lık sulu sodyum borhidrür çözeltisi eklenmiştir. Karışım yaklaşık 2 dakika hızlı bir şekilde karıştırılmıştır.
- Elde edilen kahverengi renkli tohum çözeltisi, büyütülmeden önce 25 °C de 2 saat bekletilmiştir.

Tohum büyütme aşaması

- 0,05 mL 0,01M'lık sulu altın tuzu çözeltisi ve 0,08 mL 0,01M'lık sulu gümüş nitrat çözeltisi, 9,5 mL 0,1M'lık sulu CTAB çözeltisine eklenmiş ve hafif bir şekilde karışmaları sağlanmıştır.
- Elde edilen çözelti üzerine, 0,055 mL 0,1M'lık sulu askorbik asit çözeltisi eklenerek, çözelti rengi açık sarıdan şeffafa dönüşene kadar karıştırılmıştır.
- Ardından, hazırlanmış olan tohum çözeltisinden 0,012 mL, büyütme çözeltisi üzerine eklenmiş ve çözelti 10 saniye boyunca hafif bir şekilde karıştırılmıştır. Daha sonrasında çözelti sarsılmadan 3 saat bekletilmiştir.

Saflaştırma aşaması

- Serbest haldeki CTAB moleküllerinin uzaklaştırılması için çubuk şeklindeki altın nanopartiküllerin sulu çözeltisi 10000 rpm'de 30 dakika boyunca santrifüjlenmiştir.
- Santrifüj sonucu, üstte kalan CTAB moleküllerince zengin sulu kısım uzaklaştırılmış ve altta kalan katı kısım üzerine saf su eklenmiştir. Bu işlem arka arkaya 2 kere tekrar edilmiştir.

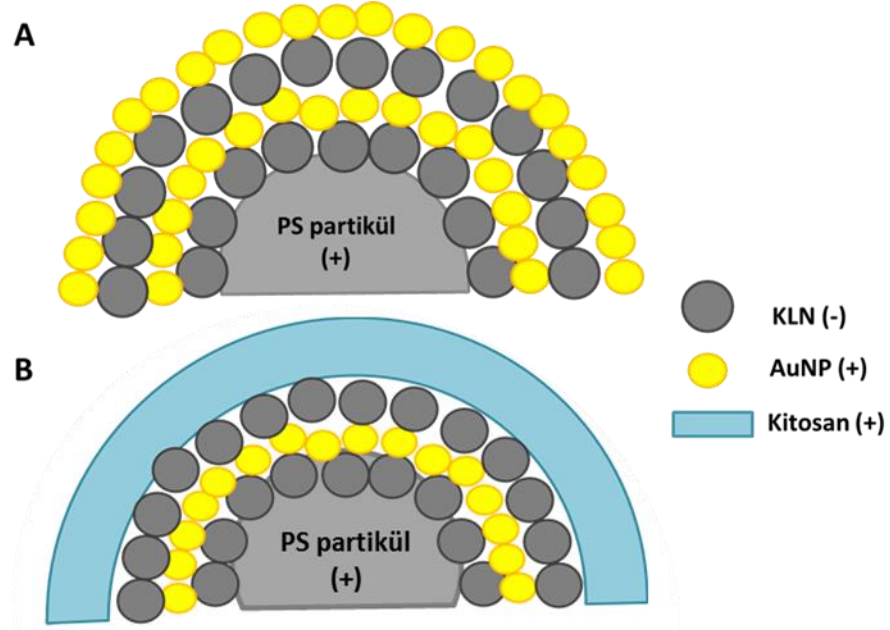
3.6. Kolloidal Mikrokapsüllerin Hazırlanması

3.6.1. Polistiren (PS) Lateks Partiküller Kullanılarak Mikrokapsül Oluşturulması

Literatürde sıklıkla başvuru alan, bir kendi-kendine kümeleşme yöntemi olarak nitelendirilen, Tabaka-Tabaka Kaplama (TTK) yöntemi kullanılarak PS partiküller üzerine nanopartiküller kaplanmıştır. Kullanılan PS partiküller aminlenmiş olduğundan pozitif yük taşımaktadırlar. Sentezlediğimiz KLNlerin tümü, daha önce anlatıldığı sebeplerden ötürü negatif yüklü olduklarından, ilk tabaka KLN kullanılarak hazırlanmıştır. Bu kısımda yapılacak çalışmalara, P1 kodlu partikülü kullanılarak başlanmıştır. Pozitif yüklü tabakanın oluşturulması için ise yukarıda anlatıldığı gibi, "Tohum-büyütme yöntemi" kullanılarak hazırlanan küresel altın nanopartiküller (AuNP) kullanılmıştır (Şekil 3.2).

2.8×10^{-5} g/ml konsantrasyonundaki PS partikül dispersiyonundan 5 ml alınarak $3,95 \times 10^{10}$ KLN ile toplam hacim 18 ml olacak şekilde çözelti hazırlanmış ve değişen sürelerde inkübe edilmiştir. Bu sayede, inkübasyon süresinin tabaka hazırlanması üzerine etkisi incelenmiştir. Daha sonra, 2. tabakayı oluşturmak için değişen hacimlerde 5.25×10^{11} partikül/ml konsantrasyonunda AuNP çözeltisi kullanılmıştır. Devam eden her bir tabaka için, bu işlemler uygulanmıştır.

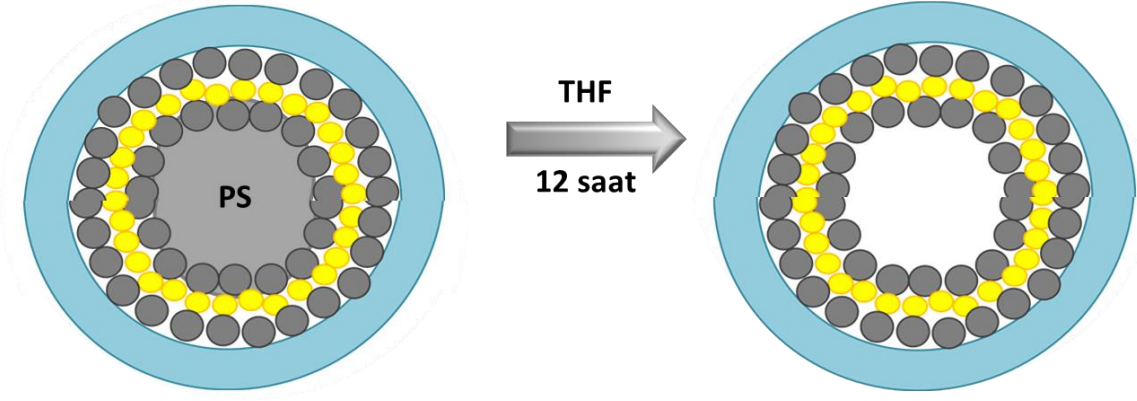
Kitosan kullanıldığı durumda ise, düşük molekül ağırlıklı kitosan ile %2 asetik asit içeren 1 mg/ml konsantrasyonunda sulu çözeltiden 500 µL kullanılmıştır. Her bir tabaka oluşturulması öncesinde, üzeri kaplanmış PS çözeltisi 7000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenmiş ve kaplanmamış fazla KLN, kitosan ya da AuNPlar ortamdaki uzaklaştırılmıştır. Tabakanın kaplanıp kaplanmadığının tayini ise zeta-potansiyel ölçümleriyle analizlenmiştir.



Şekil 3.2. A) Çekirdek olarak kullanılan PS partiküller üzerine KLN ve AuNP partiküllerin kabuk malzeme olarak kullanıldığı, **B)** KLN, AuNP partiküllerin ve kitosanın kabuk malzeme olarak kullanıldığı mikrokapsüllerin şematik gösterimi

AA salımına TTK yöntemiyle hazırlanan kapsül yapısının etkisinin incelenmesi için, AA yüklü KLN_{L1} partiküllerinin kullanıldığı koşulda, kaplama işleminden önce, daha önce anlatılan prosedürle KLNlere AA yüklenmiştir. PS partiküller üzerine AA adsorpsiyonu süresince salınan AA'nın ortamdaki uzaklaştırılması için, salım çalışmasından önce 7000 rpm'de 5 dakika santrifüj yapılmış ve ardından salım çalışmaları başlatılmıştır.

PS partiküllerin çekirdek olarak kullanıldığı mikrokapsüllerden AA salımının incelenmesi için mikrokapsül çözeltisi diyaliz membran içine doldurulup, 80 ml pH 6.8 fosfat tampon çözeltisi içerisine yerleştirilmiş, 37°C'de ve 75 rpm manyetik karıştırma hızında 24 saat boyunca karıştırılmıştır. Daha önce yapılan AA salım prosedürüyle aynı basamaklar izlenerek, salınan AA miktarı tayin edilmek üzere, tampon çözelti içerisinden periyodik aralıklarla 1.2 ml örnek alınmış ve yerine aynı miktarda tampon çözelti eklenmiştir. Alınan örnekler, yine 5 M H₂SO₄ ile hazırlanan KMnO₄ çözeltisi ile etkileştirilerek UV-vis spektroskopisi ile analizlenmiştir.



Şekil 3.3. Çekirdek olarak kullanılan PS partikülünün KLN_{L1}, AuNP ve kitosan kullanılarak 4 katman ile kaplandıktan sonra THF yardımıyla ortamdaki uzaklaştırılmasının şematik gösterimi

PS partiküllerin çekirdek olarak, KLN, AuNP ve kitosanın da kabuk malzemesi olarak kullanıldığı çalışmada, çekirdek kısmı boşaltılmış, içi boş kapsül yapımı için Şekil 3.3'te verildiği gibi, öncelikle PS partiküller üzerine son tabaka kitosan olacak şekilde 4 kat kaplama yapılmıştır. Ardından 0,2 ml PS partikül çözeltisi 1 ml THF ile 12 saat boyunca muamele edilmiştir. Sürenin sonunda kapsüller 7000 rpm'de 5 dakika santrifüjledikten sonra süpernatant çözeltisi uzaklaştırılıp yerine saf su eklenmiştir. Yıkama işlemi, tüm THF ve çözünmüş halde bulunan PS'nin ortamdaki uzaklaştırılmasına emin olmak için 2 kez daha tekrarlanmıştır.

3.6.2. İbuprofen (IBU) Kristalleri Kullanılarak Mikrokapsül Oluşturulması

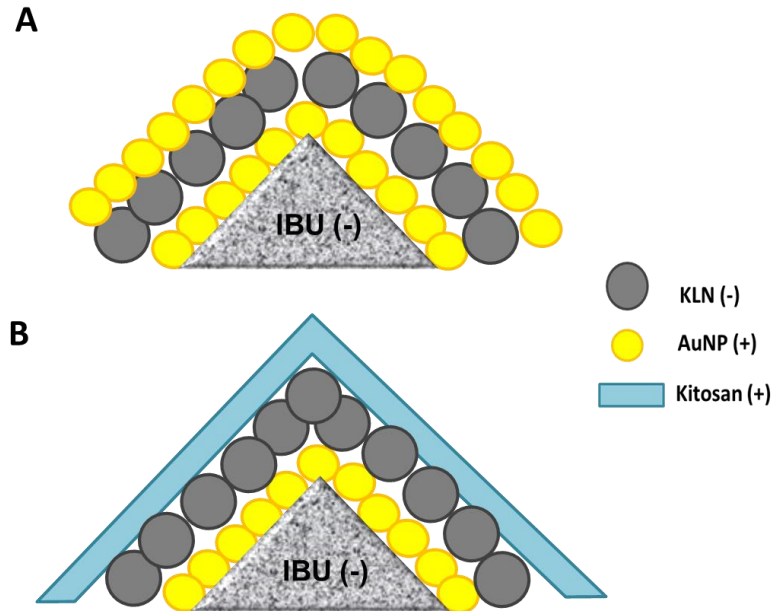
İbuprofen ilaç etken maddesi ticari olarak temin edildikten sonra, kullanılabilir koşullara getirilmek üzere birkaç aşamalı fiziksel bir işlemle geçirilmiştir (Şekil 3.4). Öncelikle, kristal boyutlarının küçültülmesi için agat mortar yardımıyla öğütülmüş sonra da el boyutlu kristallerin fraksiyone edilebilmesi için dekantasyon uygulanmıştır. Dekantasyon işleminde öğütülmüş 500 mg IBU saf su içinde dağıtılıp, iyi bir karışım sağlanması için ultrasonikasyon işlemi uygulanmaktadır. Elde edilen süspansiyon 5 dakika hareket etmeden bırakıldığında, en büyük kristaller ayrılabilir. Ardından yarım saat bekletildiğinde orta büyüklükte kristaller ve toplam 2 saatin sonunda en küçük kristaller (1-3 µm) ayrılabilir. Yapılan çalışmada, dekantasyon işlemi sonunda ayrılan en küçük kristaller kullanılmıştır.



Şekil 3.4. Ticari olarak edinilen Ibuprofen kristallerinin küçük ve eşboyutlu hale getirilmeleri için, mikrokapsül çalışmaları öncesinde uygulanan işlem sırası

IBU'nun çekirdek malzeme olarak kullanılabilmesi için katı kristal halinde muhafaza edilebilmesi gerekmektedir. pH değeri 7'nin üstüne çıktığında çözünür hale gelen kristaller kuru halde izole edildikten sonra pH 5 tampon çözelti içinde dağıtılmıştır. IBU'ya ait bu özellik, salımın istediğimiz pH koşullarında başlayabilmesi için de imkân sağlamaktadır.

P1 kodlu KLN hazırlanırken, emülsifiye edici ajan olarak Pluronik F127 kullanılmıştır. Yüksüz bir bileşik olan Pluronik F127, pH değişiminden etkilenmeyeceği için, IBU üzerine TTK yöntemiyle kaplama yapılmak üzere P1 kodlu KLNler tercih edilmiştir.



Şekil 3.5. A) Çekirdek olarak kullanılan IBU kristaller üzerine KLN ve AuNP partiküllerin kabuk malzeme olarak kullanıldığı, **B)** KLN, AuNP partiküllerin ve kitosanın kabuk malzeme olarak kullanıldığı IBU mikrokapsüllerin şematik gösterimi

AA yüklenmiş P1 kodlu KLNlerin, (AA-KLN_{P1}) AuNPlerin ve kitosanın kabuk malzemesi olarak kullanıldığı çalışmada, karşılaştırılabilir değerlendirmeler ve sonuçlar elde etmek için sistematik bir çalışma yürütülmüştür. Tabaka sayısının ve malzemesinin AA salımına etkisini anlamak için aşağıda verilen 1. set, IBU salımına etkisini anlamak için ise 2. set deney sistemi kullanılmıştır;

1. set

(0) AA-KLN_{P1}

(1) IBU / AuNP / AA-KLN_{P1} / AuNP / KLN_{P1} / Kitosan

(2) IBU / AuNP / KLN_{P1} / AuNP / AA-KLN_{P1} / Kitosan

(3) IBU / AuNP / AA-KLN_{P1} / AuNP / AA-KLN_{P1} / Kitosan

2. set

(0) IBU

(1) IBU / AuNP / AA-KLN_{P1} / AuNP / KLN_{P1} / Kitosan

(2) IBU / AuNP / KLN_{P1} / AuNP / AA-KLN_{P1} / Kitosan

(3) IBU / AuNP / AA-KLN_{P1} / AuNP / AA-KLN_{P1} / Kitosan

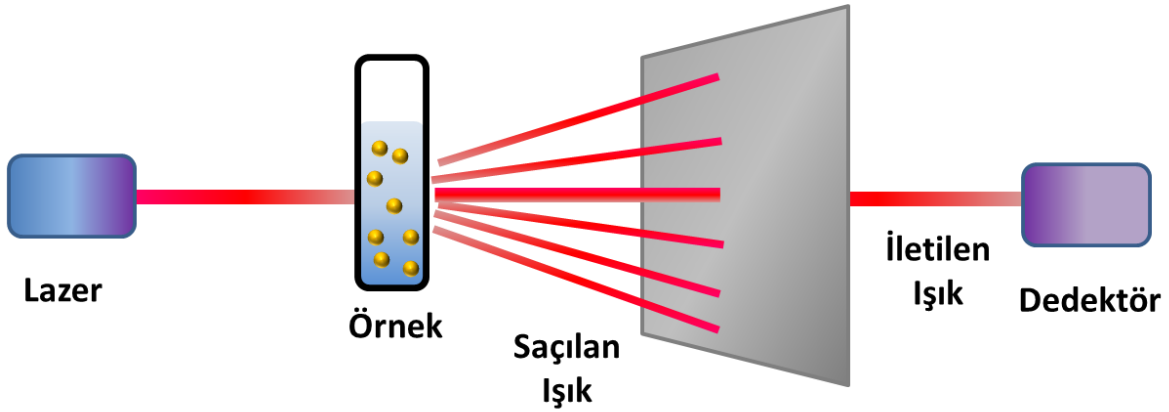
Bu setlerin dışında, katman sayısının etkisinin anlaşılabilmesi için de IBU kristalleri üzerine tek bir kabuk tabakası olarak AuNP veya kitosan kaplanarak, IBU salım profili izlenmiştir. İlaç salım deneyleri, bir gün önceden aktifleştirilmiş diyaliz membran kullanılarak ve 37°C'de gerçekleştirilmiştir. Membran içine pH tampon çözelti içinde TTK yöntemiyle kaplanan IBU kristalleri koyulurken, salım ortamı pH'ı 7.4'e ayarlanmıştır. Salınan AA ve IBU miktarı tayin edilmek üzere, tampon çözelti içerisinde çeşitli zaman aralıklarında 1.2 ml örnek alınmış ve yerine aynı miktarda tampon çözelti eklenmiştir. Alınan örnek öncelikle IBU tayini için UV-vis spektrofotometrisiyle tayin edildikten sonra (265 nm), AA'nın tayini için daha önce anlatıldığı gibi 5M H₂SO₄ çözeltisi kullanılarak hazırlanan KMnO₄ çözeltisi ile 5 dakika etkileştirilmiş ve ortamda bulunan AA'nın, permanganat ile reaksiyona girerek renksiz potasyum askorbat oluşturması sağlanmıştır [97]. Ardından, UV-vis spektrofotometrisi kullanılarak (525 nm) salınan AA miktarı tayin edilmiştir. Alınan

örnek yerine, ortama her seferinde taze tampon çözelti eklenmiştir. Ortam derişiminde oluşacak değişikliği minimize etmek için, ilaç tayini yapılmak üzere ortamdaki 500 µL örnek alınmıştır.

3.7. Sentezlenen Katı Lipit Nanopartiküllerin, Altın Nanopartiküllerin ve Kolloidal Mikrokapsüllerin Karakterizasyonu

3.7.1. LS (Işık Saçınımı Yöntemi)

Çalışma kapsamında sentezlenen KLNlerin boyut analizleri, lazer dalga boyu 632,8 nm olan, Malvern CGS-3 serisine ait LS cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Bu cihazdan alınan verilerin kullanılabilir hale getirilebilmesi için ALV-correlator kullanılmıştır.



Şekil 3.6. Numune üzerinden ışık saçınımının şematik gösterimi

Bir malzeme üzerine yollanan ışık ile o malzeme arasında gerçekleşebilecek 4 farklı etkileşim türü mevcuttur. Bunlar;

- Işığın malzemenin içinden geçmesi (transmission),
- Işığın malzemenin üzerinden yansması (reflection),
- Işığın malzeme içine alınması (absorption)
- Işığın malzeme üzerinde saçılması (scattering)

olarak sıralanabilir.

Işığın malzemenin üzerinden saçılması durumunda, saçılan ışık miktarı ve şiddeti, malzemenin boyut ve şekil özellikleriyle ilgili bilgi verebilmektedir.

Işık saçınımı yöntemi, "Dinamik Işık Saçınımı" ve "Statik Işık Saçınımı" yöntemleri olmak üzere ikiye ayrılabilir.

Dinamik ışık saçınımı yöntemi, partikül boyutu belirlemede sıklıkla tercih edilen yöntemlerden biridir. Bir çözelti içerisinde Brownian hareketi yapan partiküllerin üzerine yollanan monokromatik (tek renkli) ışığın, partiküle çarptığında dalgaboyunun değişimiyle, o partikülün boyutu hakkında bilgi edinilebilmektedir.

Saçılan ışığın şiddeti ölçülerek difüzyon katsayısı değerine ulaşılabilmekte ve çeşitli korelasyonlar kullanılarak yarıçap değeri elde edilebilmektedir.

$$I(\omega) = A_1 D q^2 / [(\omega - \omega_0)^2 + (D q^2)^2] \quad \text{Eşitlik 2.6}$$

2.6 nolu eşitlikte, gönderilen ışığın frekansına (ω) bağlı olarak difüzyon katsayısının (D) değişimi görülmektedir. Verilen eşitlikte A_1 bir sabit ve q ise saçılma vektörünün büyüklüğüdür.

$$q = 4 \pi n_0 \sin(\theta/2) / \lambda \quad \text{Eşitlik 2.7}$$

Saçılma vektörünün büyüklüğü (Eşitlik 2.7) nolu eşitlikle tanımlanabilmektedir. Bu eşitlikte geçen n_0 ortamın kırılma indeksi, θ saçılma açısı ve λ örnek üzerine yollanan ışığın dalga boyudur.

$$R_h = k_B T / 6 \pi \eta D \quad \text{Eşitlik 2.8}$$

Stokes-Einstein eşitliğinde geçen (Eşitlik 2.8) R_h değeri, çözelti içinde bulunan partiküllerin hidrodinamik yarıçap değerine karşılık gelmektedir. Bir partikülün hidrodinamik yarıçapı, küresel olarak kabul edilen ve incelenen partikülle aynı hızda difüzlendi bir kürenin yarıçapı değeridir. Bu eşitlikte k_B Boltzman sabiti, D difüzyon katsayısı, T mutlak sıcaklık ve η ise çözücünün viskozitesidir. Statik ışık saçınımı yöntemi, partiküllerin boyut analizinin yanında şekilleri hakkında da bilgi edinilmesini sağlamaktadır. Ayrıca bu yöntemde ölçülen saçılma şiddeti partikülün molekül ağırlığı ve partiküller arası çekim kuvvetleri de hesaplanabilmektedir.

$$\frac{Hc}{R(\theta, c)} = \frac{1}{M_w} \left[1 + \frac{r_g^2 K^2}{3} \right] + 2A_2 C \quad \text{Eşitlik 2.9}$$

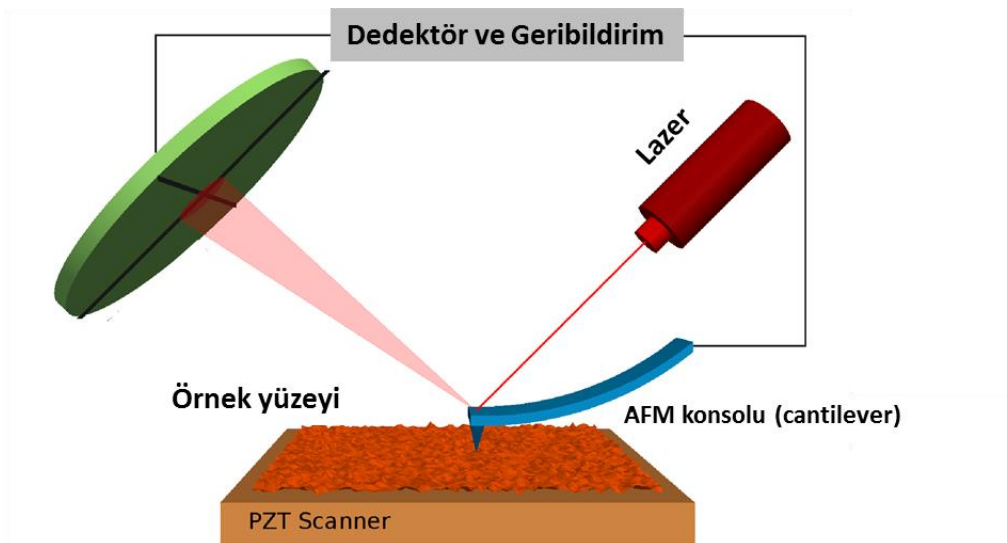
Eşitlik 2.9'da statik ışık saçınımı yönteminde kullanılan formülün en basit hali verilmektedir. Eşitlikte geçen H optik bir sabittir. Çözelti üzerine farklı açılarda ışık yollanmasıyla elde edilen saçınım bilgisi Eşitlik 2.9'da kullanılarak, molekül ağırlığı (M_w), dönme yarıçapı (Radius of gyration) ve ikincil virial katsayısı (A_2) hesaplanabilmektedir. Dinamik ve statik ışık saçınım ölçümleri yapılmadan yaklaşık 30 dakika öncesinde cihaz açılarak ışık yoğunluğunun istenen düzeye

gelmesi beklenir. Cihazın, içine örneklerin yerleştiril hazne, 0.02 µm gözenek büyüklüğündeki filtrelerle süzölmüş toluenle doldurulmakta ve sonuçların toluen içindeki safsızlık ve kırılmalardan etkilenmemesi adına, örnek cihaza yerleştirilmeden standart ölçümleri alınmaktadır.

3.7.2. AFM Görüntülemesi (Atomik Kuvvet Mikroskobu)

Çalışmamız kapsamında sentezlenen KLNlerin boyut analizleri, lipid malzemelerin boyutlarının ölçülmesi, boyut dağılımları ve geometrileri hakkında bilgi edinilmesi için oldukça sıklıkla kullanılan yöntemlerden biri olan AFM kullanılarak da gerçekleştirilmiştir. Ölçümler (PSIA Corporation, XE-100E) non-contact modda ACTA 10M tipi Cr-Au cantilever'lar kullanılarak ve 0.37 Hz tarama hızında gerçekleştirilmiştir. Liyofilizasyondan alınan KLNler, derişimi 1×10^{-4} g/ml olacak şekilde sulu örnekler hazırlanmış ve temiz mikroskop lamı üzerine damlatılıp hava ortamında oda sıcaklığında kurutulduktan sonra AFM analizleri yapılmıştır.

Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM), 1980'lerde üretilen, taramalı prob mikroskopları serisine ait bir cihazdır. Taramalı tünel mikroskobu (STM), bu serinin ilk cihazıdır ve bu cihaz iletken ve yarı iletken her türlü malzemeyle çalışılmasını mümkün kılmaktadır.



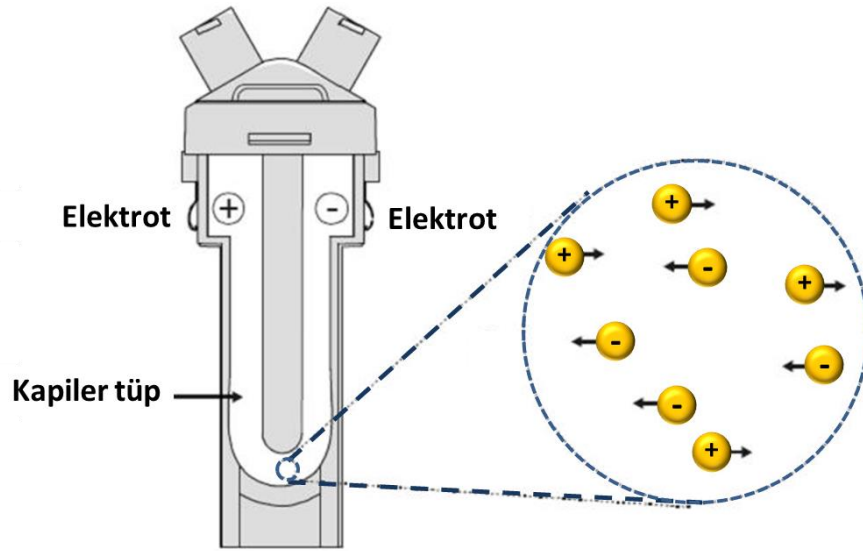
Şekil 3.7. AFM ile örnek yüzeyi taranmasının şematik görüntüsü

AFM'de örnekler, bir yayla sisteme bağlı olan konsolun (cantilever) ucunda bulunan ve "tip" adı verilen nanometre boyutundaki proplar kullanılarak yapılmaktadır. Yüzey taranırken, tip ve yüzey arasındaki etkileşim kuvveti, konsolun sapsına neden olmaktadır. Yayın ucunda salınan konsolun, yüzey özelliklerine göre sapma göstermesi, üzerine yollanan lazerin de sapma yönünü değiştirmektedir. Konsol üzerinden sapan lazer, ışık detektöründe toplanmakta ve elde edilen bu bilgiler yüzeyin görüntüsüne dönüştürülmektedir. Yüzeye ait topoğrafya görüntüsü, konsolun sapsına karşı, o anda örneğin üzerinde bulunduğu bölge çizilerek elde edilmektedir.

AFM ile ölçüm alımında iki farklı modda çalışılabilmektedir. Kontakt modda tip ile örnek arasındaki mesafe oldukça kısadır ve örnek ile tip arasında şiddetli itme ve çekme kuvvetleri mevcuttur. Kontakt olmayan modda ise, tip ile örnek arasındaki mesafe daha fazladır ve kuvvet daha düşük değerlerdedir. Kontakt olmayan mod, yüzeyin zarar görmemesi gerektiği durumlarda tercih edilmektedir [99]. Bu çalışmada kontakt olmayan mod kullanılarak analiz yapılmıştır.

3.7.3. Zeta-potansiyel ölçümleri

Çalışmamız kapsamında elde edilen KLNler için 1×10^{-4} g/ml, AuNPler için 25 ml 5.25×10^{11} partikül/ml ve koloidal mikrokapsüller için de 2.8×10^{-5} g/ml derişiminde olacak şekilde sulu çözeltiler hazırlanmış ve ~75 mV potansiyel farkı uygulanarak zeta potansiyel ölçümleri (Zeta Meter System 3.0, Zeta Meter Inc.) alınmıştır. Ölçüm için kuartz-teflon karışımı GT-2 hücresi, molibden anot ve platin katot kullanılmıştır. Her bir örnekte, en az 10 partikül için ölçüm tekrarlanmış ve elde edilen değerlerin ortalamaları alınmıştır.



Şekil 3.8. Zeta-potansiyel ölçümünün şematik gösterimi

Zeta-potansiyel ölçümleri koloidal partiküllerin sahip oldukları pozitif ya da negatif yükün bir ölçütüdür. Partiküllerin içinde bulunduğu örnek çözeltisine bir elektrik alan uygulandığında, partikül kendi yükünün tam tersi yükle yüklenmiş elektroda doğru hareket eder. Bu hareket esnasında uyarılan partiküllerden saçılan ışık elektroforetik mobilitelerine bağlı olarak bir Doppler kayması oluşturur. Ölçülen bu Doppler kayması değeri, partiküllerin hızı, örnek viskozitesi, yine cihaz tarafından ölçülen elektroforetik mobilite gibi değerler ve Eşitlik 2.10, 2.11 ve 2.12 kullanılarak partiküllerin zeta-potansiyel değerleri cihaz tarafından hesaplanır.

$$\Delta v = 2Vnsin(\phi/2)/\lambda \quad \text{Eşitlik 2.10}$$

$$U = V/E \quad \text{Eşitlik 2.11}$$

$$\zeta = \eta U/\varepsilon \quad \text{Eşitlik 2.12}$$

Verilen eşitliklerde Δv Doppler kaymasına, V partiküllerin hızına, n refraktif indeks değerine, η çözelti viskozitesine, ϕ dedektör açısına, λ uygulanan ışığın dalga boyuna, U elektroforetik mobilite değerine, E uygulanan elektrik alan değerine, ζ partiküllerin zeta potansiyeline ve ε geçirgenlik değerine tekabül etmektedir.

3.7.4. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC)

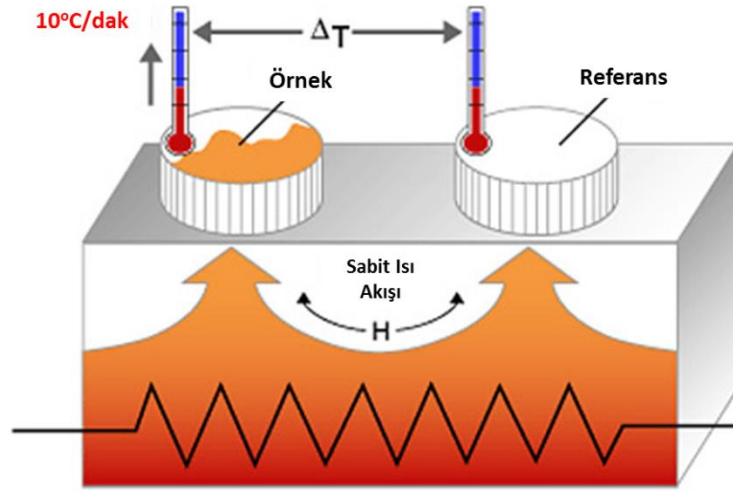
Tez çalışması kapsamında hazırlanan bütün KLNlerin DSC ölçümleri (Perkin Elmer PYRIS Diamond™) 5 mg kuru örnek hazırlandıktan sonra alüminyum tepsi içinde tartılarak alınmıştır. 50C/min ısıtma hızında ve 10-190°C sıcaklık aralığında çalışılmıştır. Elde edilen termogramlardaki endotermik piklerin lineer referans hattının integrali alınarak partiküllere ait erime noktaları tespit edilmiştir. Eşitlik 2.13 ve yine termogramlardan elde edilen entalpi değerleri kullanılarak partiküllerin kristallik derecesi (CI%) hesaplanmıştır [100].

$$CI\% = \frac{Entalpi_{KLN}(J/g)}{Entalpi_{lipit}(J/g)} \times 100\% \quad \text{Eşitlik 2.13}$$

DSC, örnek ısıtılırken, soğutulurken ya da sabit bir sıcaklıkta tutulurken soğurulan ya da salıverilen enerji miktarını ölçmektedir. Bu teknikte, referans ile örnekten gelen ya da uzaklaşan ısı farkı sıcaklığa veya zamana bağlı olarak gösterilmektedir. Eğer örnek ile referans arasında bir sıcaklık farkı saptanırsa, sıcaklığı aynı tutmak için örneğe verilen enerji miktarı değiştirilmektedir. Bu yolla örnekteki faz değişimi sırasındaki ısı transferi miktarı saptanabilmektedir. Daha az veya daha çok ısı akışı, işlemin endotermik veya ekzotermik olmasına göre değişmektedir. DSC ölçümleri sonucunda ısı akışının zamana veya sıcaklığa göre çizilen eğrisi elde edilmektedir. Örnekte oluşan ekzotermik reaksiyonlar, analiz yapmak için kullanılan ölçüm cihazlarında tercih edilen farklı teknolojilere bağlı olarak negatif veya pozitif tepe noktalarını göstermektedir. Bu eğri hal değişimlerinin entalpilerini hesaplamak için kullanılmaktadır. Hal değişiminin entalpisi Eşitlik 2.14 kullanılarak hesaplanmaktadır.

$$\Delta H = K \cdot A \quad \text{Eşitlik 2.14}$$

Eşitlik 2.14'teki ΔH değeri oluşan geçişin entalpisini, K değeri kalorimetrik sabit değerini ve A ise eğrinin altında kalan alanı göstermektedir. DSC termogramları, eklenen ısının sıcaklığa karşı çizilen grafikleri şeklinde elde edilmektedir. Bu grafikte görülen pikin altında kalan, tepkimede emilen veya açığa çıkan ısıyla; pik yükseklikleri de tepkime hızı ile doğrudan orantılıdır.



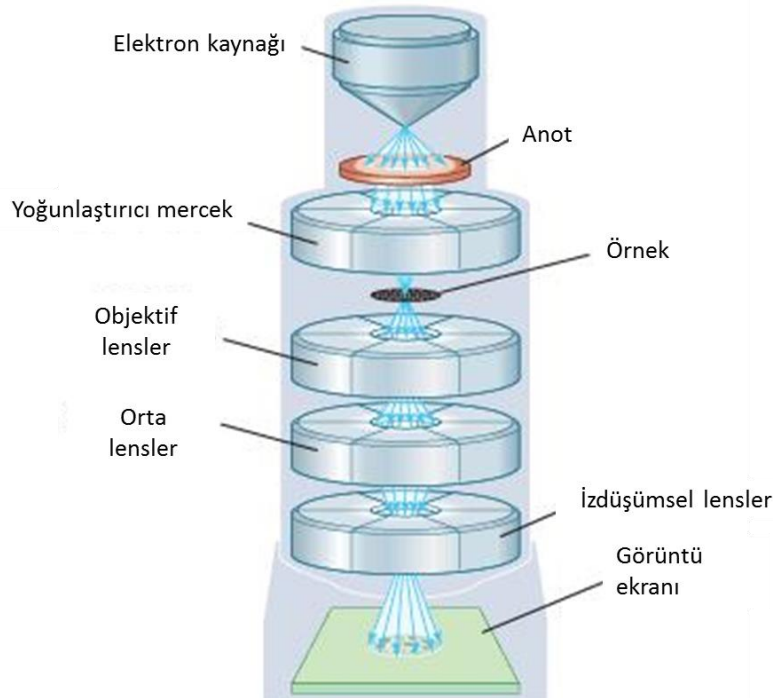
Şekil 3.9. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre ile yapılan termal analiz şematik gösterimi

3.7.5. Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM)

Sentezlenen AuNPlerden ve IBU kristalleri kullanılarak hazırlanan koloidal mikrokapsüllerden TEM için örnek hazırlanışı AFM için hazırlanışına çok benzemektedir ancak onun aksine, TEM ölçüm levhası hava-su arayüzüne çok yakın bir bölgeye yatay olarak yerleştirilmektedir. AFM ölçümlerinde olduğu gibi TEM sonuçlarına bakılarak, da partiküllerin boyut ve şekilleri hakkında bilgi edinilebildiği gibi, özellikle kapsül çalışmaları için kabuk kısmında bulunan partiküllerin tespit edilebilmesi ve çekirdek kısmının boşalıp boşalmadığının tayini için de elektron geçirimli olması kullanılması oldukça önemli ve gereklidir. Yapılan ölçümlerde FEI, Tecnai G2 F30 marka TEM kullanılmış ve AuNPler için ölçüm alınırken 200 kV, IBU kristalleri için ölçüm alınırken ise 80 kV voltaj uygulanarak ölçüm alınmıştır. Hazırlanan sulu örnekler karbon kaplı bakır TEM gridi üzerine damlatılmış ve hava ortamında oda sıcaklığında kuruması sağlanmıştır.

TEM cihazı optik mikroskop ile aynı temel ilkelerle çalışmakta ancak ışık yerine elektronlar kullanılmaktadır. Bir optik mikroskop ile elde edilecek görüntüler ışığın dalga boyu ile sınırlıdır. Benzer şekilde TEM ile elde edilecek görüntüler de elektronların dalga boyları ile sınırlandırılmaktadır. TEM ölçümü için ışık kaynağı olarak kullanılan, ışığa göre daha düşük dalgaboyuna sahip olan elektronlardan dolayı elektron mikroskopları optik mikroskoplara göre ~1000 kat daha yüksek çözünürlük sağlamaktadır.

TEM'in çalışma prensibi, vakumlanmış bir kolon sistemi içerisinde metal bir filamentin (katot) yüksek sıcaklığa ısıtılmasıyla üretilen elektronların katot ve anot arasında 60-100 kV'luk potansiyel farkı oluşturmasına dayanmaktadır (Şekil 3.9). Hızlandırılan elektron demeti anotun merkezindeki delikten vakumlanmış kolonun eksenini boyunca ilerlerken üç elektromanyetik mercekten geçmektedir. Birinci elektromanyetik mercek kondansör görevi görür ve elektron akımını obje üzerine odaklamaktadır. İkinci elektromanyetik mercek objektif gibi iş görerek objenin ters ve büyük görüntüsünü sağlamaktadır. Üçüncü elektromanyetik mercek ise oküler gibi iş görür ve görüntüyü daha da büyütürük düzeltmektedir. Oluşan görüntü sonuç olarak floresan ekranda görüntülenmektedir.



Şekil 3.10. Geçirimli Elektron Mikroskobu ile görüntü alınmasının şematik gösterimi

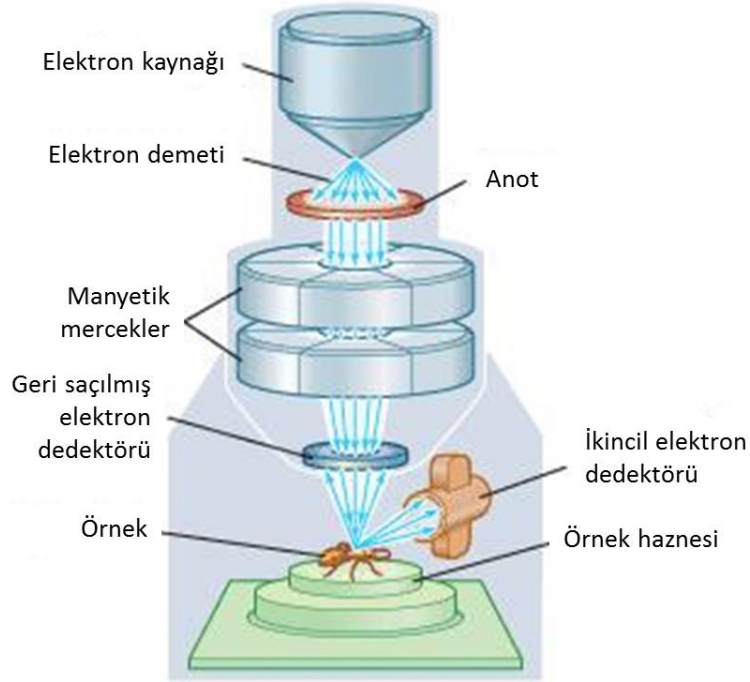
3.7.6. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Kolloidal mikrokapsül hazırlanma sürecinde, tabakaların kaplanma veriminin daha detaylı şekilde incelenebilmesi için SEM ölçümleri (QUANTA 400F Field Emission) yüksek çözünürlüklü (1,2 nm) elektron mikroskobu kullanılarak, derişimi 2.8×10^{-5} g/ml olacak şekilde hazırlanmış sulu örnekler bakır grid üzerine damlatılıp hava ortamında oda sıcaklığında kurutularak gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan örneklerin

üzerine, yüzey iletkenliğinin sağlanması için vakum altında ince film şeklinde altın kaplandıktan sonra SEM analizi gerçekleştirilmiştir.

SEM ölçümü, bir elektron demetinin ilgilenilen örnek boyunca taranması ve bu örnekten saçılan elektronların dedektörler tarafından algılanıp görüntü haline getirilmesi şeklinde uygulanan topografik bir inceleme yöntemidir.

SEM ile görüntü oluşturmak için en çok, elektron demeti tarafından uyarılan numune atomlarının yaydığı ikincil elektronlardan faydalanılmaktadır. Numunenin farklı bölgelerinden kopan ikincil elektronların sayısındaki değişim öncelikle demetin yüzeyle buluşma açısına, yani yüzeyin topografisine bağlıdır. İkincil elektronların yanında geri saçılan elektronlar, karakteristik X-ışınları, ışık (katot ışını), numune akımı ve aktarılan elektronlarla da numuneden çeşitli sinyaller elde edilerek amaca uygun topografi ve kompozisyon analizleri yapılmaktadır.



Şekil 3.11. Taramalı Elektron Mikroskobu ile görüntü alınmasının şematik gösterimi

Yüksek enerjili elektron demetleri, numune atomlarının dış yörünge elektronları ile elastik olmayan girişimi sonucunda düşük enerjili Auger elektronları oluşmaktadır. Bu elektronlar numune yüzeyi hakkında bilgi taşır ve Auger Spektroskopisinin (bir atomun, aynı atom arasında bir elektron emisyon ile atomdaki boşlukları

doldurması olayı) çalışma prensibini oluşturmaktadır. Yine yörünge elektronları ile olan girişimler sonucunda yörüngelerinden atılan veya enerjisi azalan demet elektronları numune yüzeyine doğru hareket ederek yüzeyde toplanmaktadırlar. Bu elektronlar “ikincil elektron” olarak tanımlanmaktadır. İkincil elektronlar numune odasında bulunan sintilatörde (bir yüklü parçacık uyarılmasında gözle görünür ışık yayan kristal veya maddelerdir.) toplanarak ikincil elektron görüntüsü sinyaline çevrilmektedir. İkincil elektronlar numune yüzeyinin 10 nm veya daha düşük derinlikten geldiği için numunenin yüksek çözünürlüğe sahip topografik görüntüsünün elde edilmesinde kullanılmaktadır.

4. DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞILMASI

Yapılan tez çalışması kapsamında, ilk aşama olarak Katı Lipit Nanopartikül (KLN) yapısını oluşturacak lipitin ve emulsifiye edici ajanın seçilmesi, istenen yüzey fonksiyonelliği ve partikül boyutu gibi özelliklere uygun olacak şekilde kullanılan malzeme oranının belirlenmesi ve mikroemulsiyon yöntemiyle, optimize edilen koşullar altında KLN sentezi, ardından elde edilen yapının çeşitli yöntemlerle analizi ve karakterizasyonu ve etken madde taşınım ve salım kapasitesinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir. İkinci aşamada ise KLNlerin kabuk malzeme olarak tercih edildiği, farklı çekirdek malzemeler kullanılarak hazırlanan, biyouyumlu, çok fonksiyonlu, istenen boyut ve boyut dağılımında akıllı taşıyıcı yapılar olan kolloidal mikrokapsüllerin üretimi gerçekleştirilmiştir.

4.1. Katı Lipit Nanopartiküllerin Sentezi

4.1.1. Malzemelerin ve Yöntemin Belirlenmesi

Çalışmanın ilk aşamasında, sunulan doktora tezinin asıl hedefi olan kolloidal mikrokapsül yapılarının hazırlanması için kullanılabilecek uygun boyut ve yüzey özelliklerinde KLNlerin hazırlanması amaçlanmıştır. Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde; kullanılan lipit ve emulsifiye edici ajan kompozisyonunun ve hazırlanma yönteminin, elde edilen partikülün boyut, yüzey fonksiyonelliği ve ilaç alım/salımı gibi hazırlanma amacına yönelik önemli özellikleri etkilediği bilinmektedir [25,26,27,28].

KLN'nin temel yapıtaşı olan lipit malzeme seçilirken yağ asitleri, trigliseritler ya da steroidler gibi çok çeşitli malzemeler tercih edilebilmektedir. Kullanılan lipit malzeme, partikülün çekirdek kısmını oluşturmakta ve kendi başına partiküle ait fizikokimyasal ve farmasötik anlamda olmak üzere birçok özelliğini etkilemektedir (boyut, zeta potansiyel, kristallik, ilaç alım/salım kapasitesi, ilaç salım kinetiği vb.) [101]. Westesen ve çalışma arkadaşları çalışmalarında, yüksek kaynama noktasına sahip lipitlerle hazırlanan KLNlerin boyutlarının büyüdüğünü rapor etmişlerdir [22]. Başka bir çalışmada ise, kullanılan lipit malzemenin zincir uzunluğu arttıkça, hazırlanan partikül boyutunun büyüdüğü; daha kısa zincir uzunlukları kullanıldığında ise küçük boyutlu partiküllerin elde edilebildiği tespit edilmiştir [102]. Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde, genel bir bulgu

olarak, kullanılan kompozisyon içindeki lipit oranı artırıldığında partikül boyutunun büyüdüğü ve polidispersitenin arttığı görülmüştür [25].

Kullanılan lipit malzemenin yanı sıra, emulsifiye edici ajan seçimi de hazırlanan KLN üzerinde oldukça etkilidir. Cavalli ve arkadaşlarının çalışmasında [27] biri iyonik olmak üzere birden fazla emulsifiye edici ajan ile iyonik olmayan emulsifiye edici ajanlar kullanılarak sentezlenen KLNler boyutları bakımından birbirleriyle karşılaştırılmış ve iyonik emulsifiye edici ajanlarla çalışıldığı durumda daha küçük KLNlerin sentezlenebildiği görülmüştür. Yapılan başka bir çalışmada, KLNlerin yüzey özellikleri üzerine çalışılmış ve noniyonik emulsifiye edici ajanların oranları artırıldığında partiküle ait zeta potansiyel değerinde düşüş olduğu gözlemlenmiştir [28]. Hazırlanacak KLNlerin kullanım amacına yönelik olarak istenen yüzey özellikleri değişiklik göstereceği için, belirlenen hedefe yönelik emulsifiye edici ajan kullanımı da önemli hale gelmektedir.

Elde edilen bilgiler ışığında, yapılan tez çalışmasında, lipit malzeme olarak stearik asit kullanılmasına ve lipit oranının %4'ün altında tutulmasına karar verilmiştir. Stearik asit, çoğunlukla hayvansal yağlar olmak üzere birçok bitkide de bulunan doğal ve doymuş bir yağ asididir. Diğer yağ asitleriyle karşılaştırıldığında, kısa zincir uzunluğu ve düşük kaynama noktası nedeniyle birçok çalışmada küçük boyutlu KLN sentezinde kullanılmaya uygun görülmüştür [39]. Çalışmamız kapsamında emulsifiye edici ajan olarak iyonik ve noniyonik olmak üzere litokolik asit, Pluronik F127, lesitin ve Tween 20 gibi birçok bileşik kullanılmış ve partiküllerin fizikokimyasal özellikleri üzerine özellikleri incelenmiştir. Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde, birden fazla emulsifiye edici ajanın birlikte kullanılmasının partikül boyutu üzerinde küçültücü etkileri olduğu görüldüğü için [103], çalışmamız kapsamında bir veya birden fazla emulsifiye edici ajan bir arada da kullanılarak, yapıya olan katkıları incelenmiştir.

Daha önce de belirtildiği gibi, KLN hazırlanması için literatürde yüksek basınçlı homojenizasyon, yüksek hızda karıştırma/ultrasonikasyon, mikroemulsiyon ve çözücü difüzyon gibi birçok yöntem bulunmaktadır. Gasco ve çalışma arkadaşları tarafından geliştirilen Mikroemulsiyon (ME) Yöntemi temel olarak, hazırlanan şeffaf ve termodinamik olarak stabil mikroemulsiyonların dilüsyonuna dayanan bir KLN hazırlama yöntemidir. Partikül sentezi viyaller içinde hızlı, tekrar edilebilir ve düşük maliyetle, ılımlı koşullar altında iki basamakta gerçekleştirilebilmektedir [43].

Ayrıca, küçük ve eş-boyutlu partikül sentezine imkan verirken, organik çözücü kalıntısı bırakmaması nedeniyle, diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında daha biyoyumlu bir ortam sağladığı söylenebilmektedir. Bunun yanı sıra, hazırlanan sıcak ME'nin çözünürleştirme özellikleri sayesinde, özellikle suda az miktarda çözünen ilaçların taşınabilirliğini mümkün hale getirmektedir.

4.1.2. KLN Sentezi 1. Basamak- ME Hazırlanması

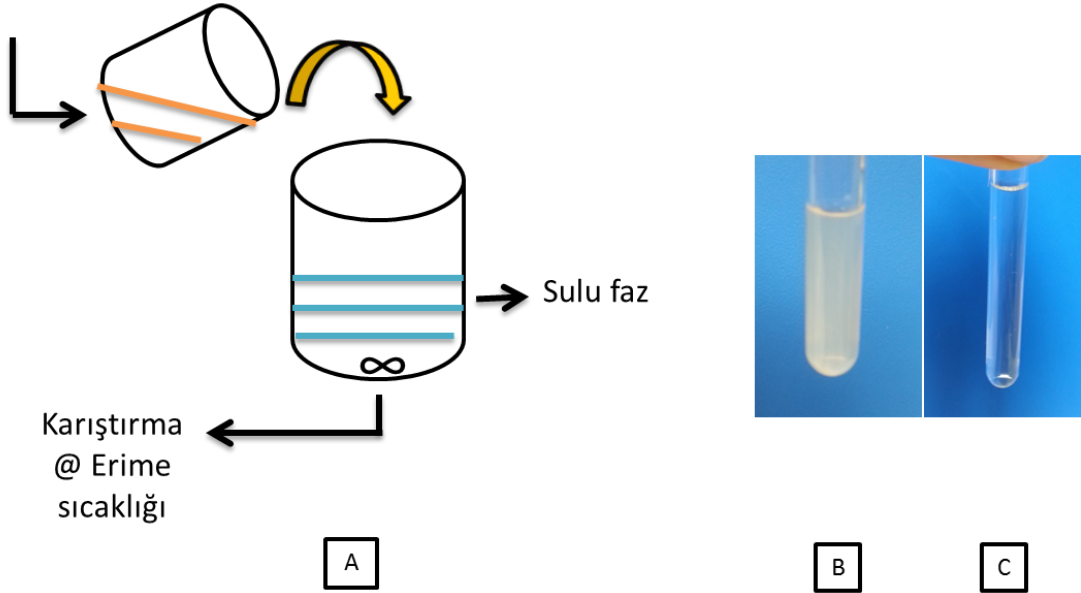
ME yöntemiyle KLN hazırlanma sürecinin en önemli basamağını şeffaf ve termodinamik olarak stabil ME hazırlanması oluşturmaktadır. Bu basamakta sıcaklık, pH ve karıştırma şekli gibi birçok sistem parametresi hayati rol oynamakta ve oluşacak partikülün boyut, polidispersite, stabilite ve ilaç alım/salım kapasitesi gibi birçok özelliğini etkileyebilmektedir. ME hazırlanma aşamasıyla ilgili önemli parametreler ve ME oluşumuyla ilgili bilgiler özet olarak Çizelge 4.1'de görülmektedir.

Çizelge 4.1. KLN sentez sürecinde 1. Basamakta hazırlanan ME oluşumu için optimize edilen parametreler ve kompozisyonları

Deneme Numarası	Lipit fazı	Lipitin Hazırlanışı	Su fazı	pH	Karıştırma Şekli	Sıcaklık	ME oluşumu
1	Stearik asit	Çözdürme	Litokolik asit İsopropanol	~6	Manyetik Karıştırma	70°C	-
2	Stearik asit	Çözdürme	Litokolik asit İsopropanol	~6	Manyetik Karıştırma	70°C	-
3	Stearik asit	Çözdürme	Litokolik asit İsopropanol	~12	Manyetik Karıştırma	70°C	-
4	Stearik asit	Çözdürme	Pluronic F127 İsopropanol	~6	Manyetik Karıştırma	70°C	-
5	Stearik asit	Eritme	Pluronic F127	~6	Sonikasyon	80°C	-
6	Stearik asit	Eritme	SDS	~6	Sonikasyon	80°C	-
7	Stearik asit	Eritme	SDS	~6	Manuel Karıştırma	80°C	-
8	Stearik asit	Eritme	Pluronic F127	~6	-	80°C	-
9	Stearik asit	Eritme	SDS	~6	-	80°C	-
10	Stearik asit	Eritme	SDS	~6	Homojenizasyon	80°C	-
11	Stearik asit	Eritme	Pluronic F127	~6	Homojenizasyon	80°C	-
12	Stearik asit	Çözdürme	Pluronic F127	~6	Manyetik Karıştırma	70°C	+
13	Stearik asit	Çözdürme	Litokolik asit	~12	Manyetik Karıştırma	70°C	+
14	Stearik asit Lesitin	Eritme	Tween 20	~6	Manyetik Karıştırma	80°C	-
15	Stearik asit Lesitin	Çözdürme	Tween 20	~6	Manyetik Karıştırma	70°C	+
16	Stearik asit	Çözdürme	Pluronic F127 Tween 20	~6	Manyetik Karıştırma	70°C	+
17	Stearik asit	Çözdürme	Litokolik asit Tween 20	~12	Manyetik Karıştırma	70°C	+
18	Stearik asit Lesitin	Çözdürme	Pluronic F127 Tween 20	~6	Manyetik Karıştırma	70°C	+
19	Stearik asit Lesitin	Çözdürme	Litokolik asit Tween 20	~12	Manyetik Karıştırma	70°C	-
20	Stearik asit	Çözdürme	Pluronic F127 Tween 20 Butanol	~6	Manyetik Karıştırma	70°C	-
21	Stearik asit	Çözdürme	Litokolik Asit Butanol	~12	Manyetik Karıştırma	70°C	-
22	Stearik asit Butanol	Çözdürme	Pluronic F127 Tween 20	~6	Manyetik Karıştırma	70°C	-
23	Stearik asit Butanol	Çözdürme	Pluronic F127 Tween 20	~6	Manyetik Karıştırma	70°C	+
24	Stearik asit	Çözdürme	Pluronic F127 Tween 20 Butanol	~6	Manyetik Karıştırma	70°C	-
25	Stearik asit Butanol	Çözdürme	Litokolik Asit	~12	Manyetik Karıştırma	70°C	+
26	Stearik asit	Çözdürme	Litokolik asit Pluronic F127	~12	Manyetik Karıştırma	70°C	+
27	Stearik asit Butanol	Çözdürme	Litokolik asit Pluronic F127	~12	Manyetik Karıştırma	70°C	+

Yapılan tez çalışmasında, Şekil 4.1.A'da, kullanılan lipit malzemenin erime sıcaklığına ulaştırılması sonucu elde edilen lipit fazı, yine aynı sıcaklıktaki su fazı ile birleştirilmiş ve uygun karıştırma yöntemiyle karıştırıldıktan sonra (B) ME oluşumu gözlemlenmeyen, (C) transparant ME oluşumu gerçekleşen sonuçlar gösterilmiştir. Daha önce de bahsedildiği gibi, kullanılan lipit ve emülsifiye edici ajanların partikül içindeki miktarları, partikülün fizikokimyasal ve farmasötik birçok özelliğini etkilediği için, kullanılan oranlara kapsamlı bir literatür taraması ile karar verilmiş ve istenen boyut ve yüzey özelliklerinde nanopartikül sentezinin gerçekleştirilebileceği miktarlar saptanmıştır.

Lipit faz @ Erime sıcaklığı



Şekil 4.1. A) ME yöntemiyle KLN hazırlanmasının ilk basamağını oluşturan "ME hazırlanması" işleminin şematik gösterimi B) ME oluşumu gözlenmeyen C) Şeffaf ME oluşumu gözlenen 1. basamak ürünü

Çalışma kapsamında kullanılan lipit malzeme olan stearik asit, daha önce de bahsedildiği gibi bir yağ asididir ve literatürde küçük boyutlu KLN sentezinde oldukça popüler olduğu görülmektedir. Doymuş bir yağ asidi olan stearik asit dolayısıyla yapısında bulunan komşu karbon atomları arasında çift bağ bulundurmamaktadır. Bu özelliği sayesinde hidrokarbon zinciri elastikiyet kazanmakta ve partikül içinde daha kompakt bir form oluşturması dolayısıyla da partikül boyutunu küçültmeye imkan sağlamaktadır. Çalışma kapsamında,

emülsifiye edici ajan olarak tercih edilen malzemelerden biri olan litokolik asit, vücudumuzda hâlihazırda bulunan bir safra asididir ve literatürde biyouyumluluğu sayesinde birçok ilaç taşıma sisteminde kullanımı tercih edilmiştir [104]. Kullanılan emulsifiye edici ajanlardan bir diğeri, bünyesinde hidrofilik ve hidrofobik gruplar bulunduran bir blok polioksietilen polipropilen kopolimer olan Pluronik F 127'dir. İyonik olmayan bu polimer, literatürde KLN sentezi için sıklıkla kullanılan Pluronik polimerlerden biridir. Bu polimerlerin emulsifiye edici ajan olarak kullanılmasıyla, sentez aşamasında hidrofobik bölümün nanopartikül anayapısını oluşturması ve hidrofilik bölümün de yüzey kaplamasını sağlaması sayesinde hidrofil karakterli KLNler sentezlenebilmektedir [105]. Literatürde sıklıkla tercih edildiği görülen ve çalışmamızda da emulsifiye edici ajan olarak kullanılan diğeri madde de Tween 20'dir. Polisorbat yapıda, yüksüz bir yüzey aktif malzeme olan Tween 20, yüksek stabilitesi ve toksik olmaması dolayısıyla birçok domestik (deterjan, kozmetik, gıda), bilimsel ve farmakolojik alanda emulsifiye edici ajan olarak kullanılmaktadır. Çalışmamızda genelde yardımcı emulsifiye edici ajan olarak kullanılmasıyla birlikte, bazı denemelerde, KLNnin boyutu üzerindeki etkisini incelemek üzere tek başına da kullanılmıştır. SDS (sodyum dodesil sülfat) amfifilik yapıda anyonik bir moleküldür. Düşük kritik misel konsantrasyonu ve küçük molekül ağırlığı sayesinde, bulunduğu ortamda kısa sürede kararlı bir yapı kurup yeni bir denge oluşturabilme özelliğine sahiptir. Bu özellik dolayısıyla KLN sentezi için ideal hale gelirken, yüzeyleri çabuk kaplayabilmesi nedeniyle yüksek toksisite gösterdiği için medikal ve farmasotik gibi alanlarda kullanılması hedeflenen KLN sentezlerinde kullanımları tercih edilmemektedir. Çalışmamızda, KLN sentezini önemli ölçüde etkileyen parametrelerden biri olan karıştırma şeklinin optimizasyonunun sağlanması için kontrol amaçlı kullanılmıştır. Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde, kullanılan emulsifiye edici ajanların yanı sıra, lipit malzemeyi çözmek için kullanılan etanole ek olarak farklı alkol yapılarının da kullanıldığı görülmektedir [29]. Çalışmamız kapsamında, ilk aşamada bu amaca hizmet etmesi amacıyla isopropanol kullanılmasına karar verilmiştir. Yapılan denemeler incelendiğinde (3. ve 13. deneme), aynı malzemeler ve çalışma koşulları kullanıldığı durumda, sisteme dahil edilen isopropanolün ME oluşumunu engellediği görülmektedir. Bu nedenle diğeri denemelerde, isopropanol yerine değişen miktarlarda butanol ile çalışmalar devam etmiştir. Emulsifiye edici ajan ve lipit fazlarında ayrı ayrı olmak üzere, çeşitli miktarlarda butanol ile ME hazırlama

çalışmaları yapılmıştır. Denemeler sonucunda, butanolün emulsifiye edici ajan fazında olması durumunda, şeffaf ME oluşumunun sağlanamadığı, ancak miktarı 10 kat azaltıldığında ve lipit fazına dahil edildiğinde, şeffaf ME oluşumunun sağlandığı gözlemlenmiştir.

ME hazırlanma aşamasını etkileyen önemli işlemsel parametrelerden biri de sıcaklıktır. Optimum sıcaklığın belirlenmesi için lipit ve su fazı 65-70°C ve 75-80°C gibi iki ayrı aralıkta çalışılmıştır. Yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, sıcaklığın ME oluşumunu önemli ölçüde etkilediği ve ~70°C civarında çalışıldığında aynı kompozisyon ve işlem parametreleri ile şeffaf ME oluşumu gözlemlenirken, bahsedilen aralıkta diğer uçlara doğru gidildikçe ME yapısının bozulduğu görülmüştür. Bu bulgunun ardından, yapılan ME hazırlama çalışmaları ~70°C çözelti sıcaklığı kullanılarak devam ettirilmiştir.

Lipit fazın hazırlanması ile ilgili incelenen bir diğer parametre stearik asidin, emülsifiye edici ajanları içeren su fazına eklenmeden önce tabii tutulan işlemlerdir. Literatürde, lipit malzemenin eritilerek veya etanol gibi çeşitli alkollerde çözdürülerek hazırlandığı çalışmaları görmek mümkündür [29]. Çizelge 4.1'de verilen sonuçlara baktığımızda, bizim yürüttüğümüz tez çalışmasında, kullandığımız lipit malzeme olan stearik asidin eritilerek kullanıldığı koşulda şeffaf ME oluştuğu görülmüştür. 14 ve 15 nolu denemeler beraber değerlendirildiğinde, hazırlanan kompozisyonun aynı olduğu ve çalışmalar arasındaki tek farkın lipit malzemenin hazırlanış şekli olduğu göze çarpmaktadır. Stearik asidin çözdürüldüğü koşulda belirlenen oranlarda etanol ile karıştırılarak, erime noktası olan 65-70°C'ye çıkartılırken, eritildiği durumda herhangi bir çözücü ile karıştırılmadan erime noktasının üzerinde, ~80°C'de çalışılmıştır. Bu duruma neden olarak, lipit faz ile su fazının karıştırılması sürecinde sıcaklığın sabit tutulamaması dolayısıyla stearik asidin kısmen de olsa eriyik halden tekrar katı hale dönüşmesi söylenebilmektedir.

Hazırlanan ME'nin uygun miktarda enerji verilerek karıştırılması ve homojen bir karışım elde edilen sistemdeki enerji dengelerinin de korunması için çeşitli karıştırma yöntemleri denenmiş ve optimum yöntem araştırılmıştır. Gasco ve çalışma arkadaşları yaptıkları çalışmada, uygun oran ve miktarlardan oluşan kompozisyonda çözelti hazırlandığında, ekstra enerjiye ihtiyaç duyulmadan ME oluşumunun sağlanabileceğini rapor etmişlerdir [106]. ME içindeki emulsifiye edici

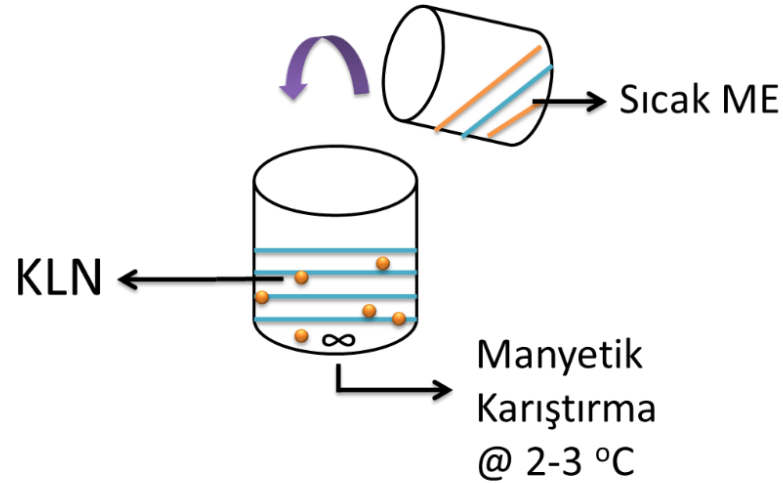
ajanın rolü, “yağ-içinde-su” ya da “su-içinde-yağ” tipi ME fark etmeksizin, ara yüzeye tutunarak yağ-su arayüzey enerjisini düşürerek termodinamik olarak stabil bir ME oluşmasını sağlamaktır. Bu nedenle, homojen bir çözelti (dispersiyon) oluşturulabilmesi için karıştırma uygulamanın gerekliliğinin yanı sıra, uygulanacak bu işlemin yüksek enerjili bir teknikle yapılması durumunda oluşabilecek kaotik ortam, emülsifiye edici ajanın oluşan yeni arayüzey enerjisini minimize etmesini, dolayısıyla da ME oluşumu engellenebilmektedir. Bu durumun aksi bir etki yaratmak amacıyla, karıştırma uygulanmayan ve sadece manuel karıştırma uygulanan denemeler gerçekleştirilmiştir. Ancak bu yöntem kullanıldığında da, sistemde birbiriyle hiç karışmayan bölgelerin kaldığı, çözeltinin bir bölümünde şeffaf ME oluşumu gözlenirken, diğer bölümünde heterojen bir yapının olduğu gözlemlenmiştir. Elde edilen verilerin doğruluğundan emin olmak için, daha önce de bahsedildiği gibi partikül oluşumunu oldukça kolaylaştırdığı bilinen iyonik bir yüzey aktif madde olan SDS kullanılarak, sonikasyon, homojenizasyon, manuel karıştırma uygulanan ve karıştırma uygulanmayan deney setleri hazırlanmış ve SDS kullanıldığı durumda dahi, bu tekniklerden faydalanıldığında şeffaf ME oluşumunun gözlemlenmediği görülmüştür. Çizelge 4.1’de listelenen, çalışma kapsamında tecrübe edilen homojenizasyon, sonikasyon gibi diğer karıştırma tekniklerinin arasında, manyetik karıştırmanın (~500 rpm) hem emülsifiye edici ajan ve arayüzey arasında gerekli etkileşimin kurulması için yeterli olurken hem de küçük boyutlu partikül oluşumuna imkan verdiği test edilmiş ve çalışmanın geri kalanında bu teknikle karıştırma uygulanmıştır.

ME hazırlanma aşamasında oldukça önemli olduğu bilinen ve kullanılan kompozisyona göre ayarlanması gereken bir diğer özellik de çözelti pH’ıdır. Litokolik asit, 11-12 aralığında pKa değerine sahip bir safra asididir ve çalışmamız süresince ME hazırlarken çalıştığımız koşullar olan ~pH7 civarında noniyonik bir karaktere sahiptir. HLB sayısı yaklaşık 2.5 olan litokolik asit, yapıya hidrofobik özellik katan benzen halkaları bulundurmakta ve suda çözünmemektedir. Çizelge 4.1’de özetlenen denemelerden 1. ve 2. çalışma incelendiğinde, aynı kimyasalların ve sistem parametrelerinin kullanıldığı görülmektedir. pH 6’da yapılan bu iki denemenin birbirinden farkı, ikincisinde, ilkinine oranla 100 kat daha az litokolik asitle çalışılmış olmasıdır. Litokolik asidin çözünürlüğünün ME oluşumuna etkisinin incelendiği bu iki durumda da istenilen sonuç elde edilememiş, şeffaf ME oluşumu

gözlemlenememiştir. Çalışmamızın devam eden kısımlarında litokolik asit kullanıldığı durumlarda, ortam NaOH kullanılarak pH 12 civarına getirilmiştir. Bu koşulda, litokolik asidin kuyruk kısmında bulunan karboksilik asit grubunun çoğunluğu $\text{COO}^- \text{Na}^+$ haline dönüştürülmüş ve yapının HLB sayısı yaklaşık 19.1'e çıkarılarak sudaki çözünürlüğü maksimize edilmiştir.

4.1.3. KLN Sentezi 2. Basamak – KLN Hazırlanması

KLN sentezinin ilk basamağını oluşturan şeffaf ve termodinamik olarak stabil ME oluşturulmasının ardından, Şekil 4.2'de gösterildiği gibi ikinci aşamayı temel olarak, hazırlanan sıcak ME'nin 2-3°C'deki soğuk su ile belirli oranlarda karıştırılması oluşturmaktadır.



Şekil 4.2. ME yöntemiyle KLN sentezinin 2. basamağının şematik gösterimi

Literatürdeki çalışmalara bakıldığında, ME yöntemiyle KLN sentezinin 2. basamağı için en önemli parametrelerden birinin, lipit fazın içine ekleneceği soğuk suyun sıcaklığı olduğu söylenmektedir [42,43]. KLN sentezinin bu noktasında sıcak ME ile soğuk su arasında oluşacak sıcaklık farkı, ME damlacıklarının katılaşmasından sorumludur. Yüksek sıcaklık farkı kullanılan lipit malzemenin kristalleşmesini kolaylaştırmakta ve lipit kümeleşmesini engelleyerek partikül boyutu üzerinde de önemli etkiler sağlamaktadır. Bu nedenle yapılan tez çalışması boyunca, seyreltme basamağı olarak da geçen 2. basamakta kullanılan suyun sıcaklığının 2-3°C'yi aşmaması sağlanmıştır.

Çizelge 4.2. Hazırlanan KLNlerin kompozisyonları ve kullanılan ME:su oranları

KLN Kodu	Bileşenler	ME:Su Oranı	KLN Kodu	Bileşenler	ME:Su Oranı
KLN_{P1}	Stearik asit Pluronik F127	1:20	KLN₇	Stearik asit Tween 20 Litokolik asit	1:20
KLN_{P2}	Stearik asit Pluronik F127	1:10	KLN₈	Stearik asit Lesitin Tween 20 Pluronik F127	1:20
KLN_{L1}	Stearik asit Litokolik asit	1:20	KLN₉	Stearik asit Butanol Pluronik F127 Tween 20	1:20
KLN_{L2}	Stearik asit Litokolik asit	1:10	KLN₁₀	Stearik asit Butanol Litokolik Asit	1:20
KLN₅	Stearik asit Lesitin Tween 20	1:20	KLN₁₁	Stearik asit Litokolik asit Pluronik F127	1:20
KLN₆	Stearik asit Tween 20 Pluronik F127	1:20	KLN₁₂	Stearik asit Butanol Litokolik asit Pluronik F127	1:20

Bu basamakta incelenen parametrelerden bir diğeri, karışma sırasında kullanılan ME:su oranıdır. Literatürdeki çalışmalara bakıldığında, ME yöntemi ile KLN sentezi yapıldığında ME:su oranının elde edilen partikül boyutu üzerinde önemli etkileri olduğu gözlemlenmiştir [42]. Yaptığımız çalışmada, bu parametrenin etkisini test etmek amacıyla, ilk 4 deneme için 1:10 ve 1:20 olmak üzere 2 farklı ME:su oranında KLN sentezi yapılmış ve değişen ME:su oranının partikül boyutu üzerine etkileri incelenmiştir. İlk basamakta şeffaf ME oluşan örnekler ile hazırlanan KLNlerin listelendiği Çizelge 4.2’de de gösterildiği gibi, birbirinden farklı 12 KLN, değişik bileşim ve ME:su oranlarında çalışılarak başarıyla hazırlanmıştır.

4.2. Katı Lipit Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

Çizelge 4.3. Hazırlanan KLNlerin % bileşimleri ve fizikokimyasal özellikleri (ortalama± SS, n=3)

KLN	Bileşim	Malzeme yüzdesi (%)	Çap (nm)		PDI	Zeta potansiyel (mV)	Yüzey yük yoğunluğu (σ) $\times 10^{14}$
			DLS	AFM			
KLN _{P1}	Stearik asit Pluronic F127	3,3 2,5	104±1,4	88±6	0,12±0,04	-28,2±1,9	18,8±0,6
KLN _{P2}	Stearik asit Pluronic F127	3,3 2,5	148±1,3	135±2	0,22±0,05	-28,1±1,3	19,3±0,3
KLN _{L1}	Stearik asit Litokolik asit	3,3 2,5	80±2,2	79±10	0,14±0,03	-42,4±1,1	160,0±15,0
KLN _{L2}	Stearik asit Litokolik asit	3,3 2,5	162±2,4	144±8	0,29±0,02	-47,0±1,3	415,0±8,8
KLN ₅	Stearik asit Lesitin Tween 20	3,3 4,0 1,7	164±1,4	148±5	0,13±0,02	-23,6±0,5	143,0±12,8
KLN ₆	Stearik asit Pluronic F127 Tween 20	3,3 0,8 1,7	72±0,5	62±3	0,21±0,03	-10,0±0,3	20,0±4,0
KLN ₇	Stearik asit Litokolik asit Tween 20	3,3 0,8 1,7	55±0,5	54±5	0,11±0,03	-35,3±1,3	57,1±0,8
KLN ₈	Stearik asit Pluronic F127 Tween 20 Lesitin	3,3 0,8 1,7 4,0	88±1,3	85±3	0,13±0,05	-18,4±0,8	21,4±1,2
KLN ₉	Stearik asit Pluronic F127 Tween 20 Butanol	3,3 0,8 1,7 0,8	78±0,3	94±4	0,27±0,02	-13,7±0,5	21,7±1,2
KLN ₁₀	Stearik asit Litokolik asit Butanol	3,3 2,5 2,7	85±1,2	83±8	0,26±0,03	-44,1±2,1	136,1±12,3
KLN ₁₁	Stearik asit Pluronic F127 Litokolik asit	3,3 2,5 2,5	39±0,1	40±6	0,12±0,02	-28,3±0,3	126,0±4,5
KLN ₁₂	Stearik asit Pluronic F127 Litokolik asit Butanol	3,3 2,5 2,5 2,7	68±1,1	56±5	0,28±0,04	-31,0±0,2	119,1±11,5

Daha önce de belirtildiği gibi, KLN hazırlanma aşamasında kullanılan emülsifiye edici ajan tipi ve toplam konsantrasyonunun partikül boyutu üzerinde önemli etkileri olmaktadır. Yapılan tez çalışmasında, iyonik ve noniyonik emülsifiye edici ajanların gerçek etkisini anlamak üzere, sırasıyla litokolik asit ve Pluronic F127 ile herhangi bir yardımcı emülsifiye edici ajan kullanılmadan KLN sentezi

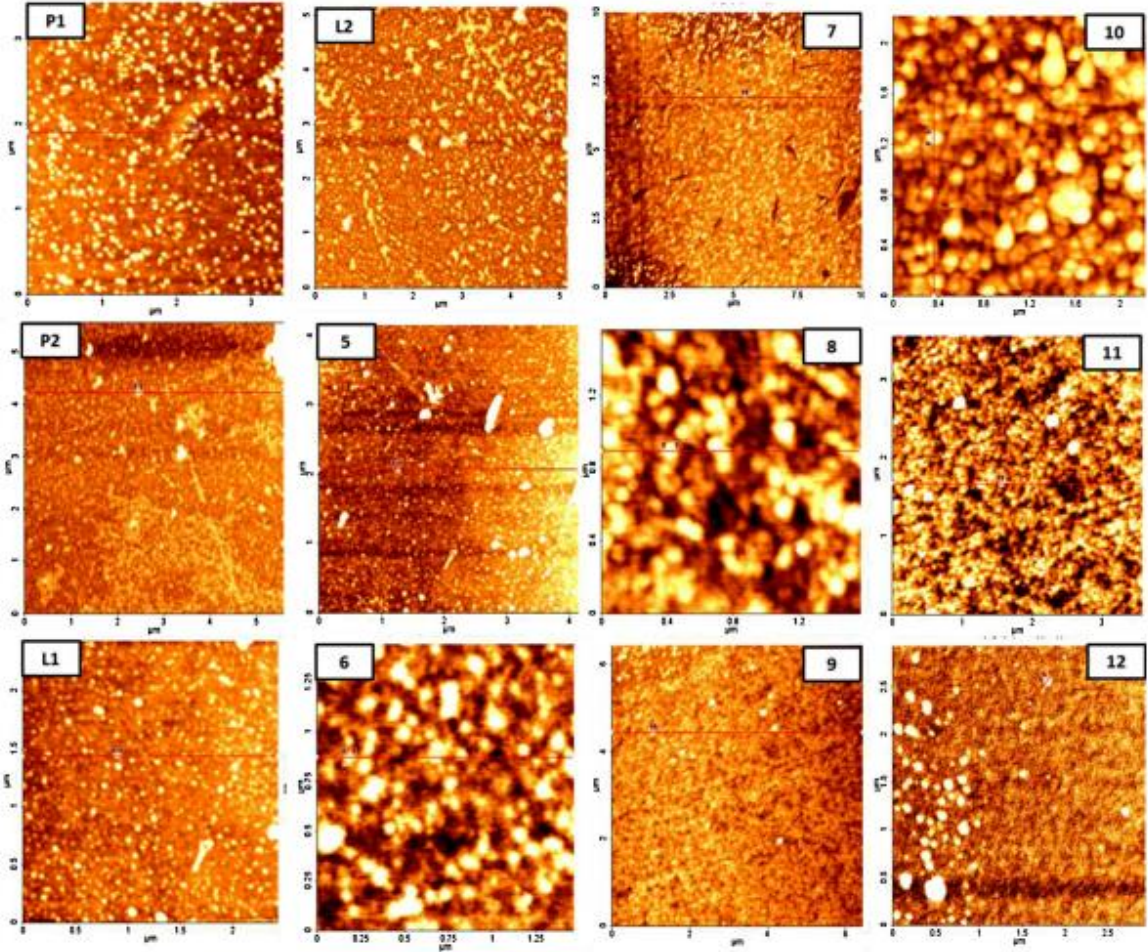
gerçekleştirilmiştir. Litokolik asit kullanılan KLNler “L” harfiyle (KLN_{L1} ve KLN_{L2}), Pluronik F127 kullanılan KLNler ise “P” harfiyle (KLN_{P1} ve KLN_{P2}) kodlanmıştır. Çizelge 4.3’te verilen ve Dinamik Işık Saçınımı (DLS) yöntemiyle elde edilen sonuçlara bakıldığında, literatürle uyumlu olarak KLN_{L1} ’in partikül boyutunun KLN_{P1} ’den küçük olduğu görülmektedir. Ancak KLN_{L2} ve KLN_{P2} kodlu partiküllerin çapları birbirleriyle karşılaştırıldığında (144 ± 1.3 and 135 ± 2 nm) aynı durumun bu iki partikül için geçerli olmadığı görülmektedir. Bu durum, çözelti içindeki emülsifiye edici ajan miktarının artışına bağlanabilmektedir. Literatürdeki çalışmalara bakıldığında, kullanılan yüksek konsantrasyondaki emülsifiye edici ajan miktarının yüzey gerilimini hızla düşürerek partikül oluşumunu desteklediği bilinmektedir. Partiküllerin oluşma aşamasında, ortamda yeteri kadar emülsifiye edici ajan bulunması, oluşan yeni yüzeylerin kaplanması ve kaplanmayan yüzey oluşumunun engellenerek partiküllerin büyümesini ya da kümeleşmesinin önüne geçilmesi açısından önemlidir. Bu sayede partikül boyutunun düşürülebileceği düşünülmektedir. Ancak, lipid:emülsifiye edici ajan oranı sabit olsa dahi, ortamda fazla miktarda bulunan emülsifiye edici ajan misel oluşumunu da tetiklemekte, bu nedenle de KLN stabilitesi düşmekte, lipid kümeleşmesi ve partikül boyutunda büyümelere neden olabilmektedir. Yapılan bu çalışma sonucunda kullanılan emülsifiye edici ajanın iyonik karakterinin yanı sıra, konsantrasyonunun da oldukça önemli bir parametre olduğu ve bu miktara karar verilirken partikül boyutunun takip edilmesi gerektiği görülmektedir.

Yapılan tez çalışması kapsamında, partikül boyutu düşürücü etkisinin test edilebilmesi için lesitin, Tween 20 ve butanol gibi çeşitli yardımcı emülsifiye edici ajanlardan faydalanılmıştır. KLN_6 ve KLN_7 , sırasıyla KLN_{P1} ve KLN_{L1} partiküllerinin yapısına Tween 20 eklenerek hazırlanmıştır. Partikül içindeki emülsifiye edici ajan miktarı sabit tutulduğu durumda dahi, Çizelge 4.3’te verilen DLS sonuçlarına bakıldığında, yardımcı emülsifiye edici ajan olarak Tween 20’nin kullanılmasının partikül boyutlarının KLN_{P1} ve KLN_{L1} için sırasıyla $104\pm 1,4$ nm’den $72\pm 0,5$ nm’ye ve $80\pm 2,2$ nm’den $55\pm 1,1$ nm’ye düşürdüğü görülmektedir. Yardımcı emülsifiye edici ajan olarak Tween 20 kullanıldığında elde edilen boyuttaki düşüşün, literatürle uyumlu olarak tek bir tür emülsifiye edici ajan kullanımından daha işlevsel ve küçük partikül sentezi açısından daha uygun olduğu söylenebilmektedir.

Lesitin, KLN sentezi için literatürde sıklıkla kullanılan bir emülsifiye edici ajandır [107]. Çizelge 4.3'te listelenen sonuçlara bakıldığında lesitin yapıya dahil edilmesinin partikül boyutunda bir artışa neden olduğu görülmektedir (KLN₅ ve KLN₈). Schubert ve çalışma arkadaşları yaptıkları çalışmada, lipit matrisi içine eklenen lesitin yüzdesinin partikül boyutu üzerine etkisini araştırmış ve elde ettikleri sonuçlara göre partikül yapısı içindeki lesitin varlığının geniş yağ/su arayüzeyleri oluşturmaya olanak sağladığı görülmüştür. Dolayısıyla, lesitin miktarı arttıkça oluşan yeni arayüzey sayısının da arttığı ve dolayısıyla partikül boyutunun küçüldüğü ifade edilmiştir. Yaptığımız tez çalışmasında stearik asite göre kullanılan lesitin oranı %55 olarak hesaplanmıştır. Kullanılan yüksek miktardaki lesitin etkisinin daha iyi anlaşılması için, bileşimleri arasındaki tek fark lesitin olan KLN₆ ve KLN₈ partiküllerinin boyutları birbirleriyle karşılaştırıldığında, çap değerinin 72±0,5 to 88±1,3 nm'ye çıktığı görülmektedir. Daha önce de anlatıldığı gibi Tween 20'nin partikül boyutu üzerinde yarattığı küçültücü etkisine rağmen, KLN₅'in 164±1,4 nm çap değeri ile diğer KLNler arasında en büyük boyuta sahip olması yardımcı emülsifiye edici ajan olarak kullanılan lesitin yüksek konsantrasyonu ile açıklanabilmektedir. Yukarıda sözü geçen çalışmanın sonuçlarına bakıldığında, partikül içindeki lesitin miktarı kritik bir değere ulaştığında (lesitin/lipit oranı olarak hesaplandığında %30'a tekabül etmektedir), kullanılan fazla lesitin partikül boyutunu küçültmede yardımcı olmadığı görülmüştür. Bu derişimin üstünde çalışıldığında, partikül yüzeyinde lesitin çoklu tabakalarının oluştuğu ancak altında çalışıldığında tekli tabaka oluşarak partikülün daha küçük bir boyutta stabilize olmasını sağladığı çıkarımı yapılabilmektedir. Elde edilen bulgular ve edinilen bilgiler ışığında, emülsifiye edici ajan olarak lesitin kullanıldığı koşulda, lesitin/lipit oranının %30'u aşmaması koşulunda lesitin partikül boyutu düşürücü özelliklerinin ortaya çıkabileceği, aksi durumda partikül boyutunu arttırabileceği söylenebilmektedir.

Literatürdeki çalışmalara bakıldığında, yardımcı emülsifiye edici ajan olarak alkollerin kullanılmasının partikül boyutunu küçültücü etkileri olduğu görülmektedir [29]. Yürütülen tez çalışmasında, alkol yapısı olarak butanol kullanılmasına karar verilmiş ve KLN sentezinin belirleyici basamağı olan ME hazırlanma aşamasında, su fazına katılarak etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara bakıldığında, butanolün su fazına katıldığı durumda şeffaf ve termodinamik olarak stabil ME

oluşumunu engellediği görülmüştür. Devam eden çalışmalarda, aynı miktarda butanol lipit fazına eklenmiş ve bu koşulda KLN₉ ve KLN₁₀ için istenen özelliklerde ME oluşumu sağlanmıştır. Elde edilen partiküllerin boyutları, butanol eklenmemiş halleriyle karşılaştırıldığında (KLN₆ ve KLN_{L1}), butanol eklendiği durumda partikül boyutunun büyüdüğü görülmüştür. Çizelge 4.3'te verilen sonuçlara göre KLN₆ için partikül boyutu 72±0.5 nm'den 78±0.3 nm'ye (KLN₉), KLN_{L1} için ise 80±2.2 nm'den 85±1.2 nm'ye (KLN₁₀) çıkmıştır. Ulaşılan sonuçlara bakıldığında, yardımcı emülsifiye edici ajan olarak kullanılan butanolün lipit yapısını daha gevşek bir formda stabilize ettiği ve bu durumun da partikül çapında beklenmedik bir artışa sebep olduğu şeklinde açıklanabilmektedir.



Şekil 4.3. Hazırlanan KLNlerin temiz cam lamel üzerine damlatılıp oda sıcaklığında kurutulduktan sonra “Topografya” modunda alınan AFM görüntüleri

Partikül boyutu hakkında daha gerçekçi sonuçlar elde edebilmek için partiküllerin AFM kullanılarak görüntüleri alınmıştır. AFM tekniği boyut, geometri ve dağılım

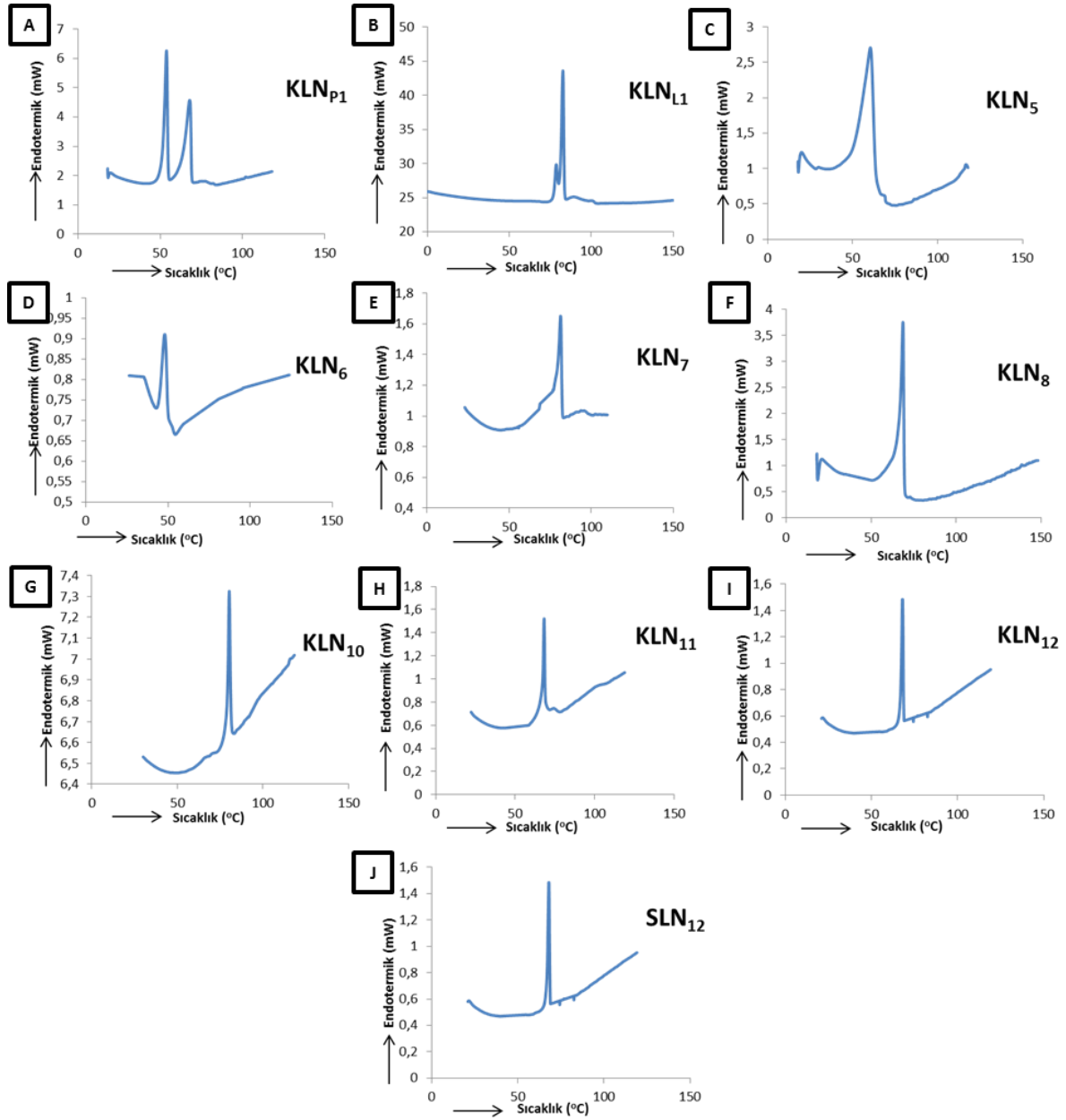
hakkında bilgi edinebilmek için nanopartiküllerin karakterizasyonunda oldukça sıklıkla başvurulan tekniklerden biridir. KLNler katı bir matrise ve yüksek stabiliteye sahip olsalar dahi, görüntü alınması amacıyla uzun süreler elektron akımına maruz kaldıklarında lipid malzemelerin zarar gördüğü bilinmektedir. Bunun yanı sıra, DLS tekniği ile partikül boyutu tayini yapıldığında, partikülün kendi boyutuna ek olarak etrafındaki hidrasyon tabakasının da dahil edildiği hidrodinamik yarıçap değerinin ölçüldüğü bilinmektedir. Hidrodinamik yarıçap değerinin her zaman için mikroskopik tekniklerle elde edilen yarıçap değerinden daha büyük olduğu bilinmektedir [108]. Bu nedenlerden dolayı AFM ölçümünün hazırlanan KLNler için oldukça uygun bir yöntem olduğu söylenebilmektedir. Çizelge 4.3'te verilen çap değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında DLS ve AFM ile ölçülen partikül boyutları arasındaki fark literatürle uyumlu olarak açıkça görülmektedir. Şekil 4.3'te verilen AFM görüntülerine bakıldığında, hazırlanan KLNlerin boyut dağılımlarının birbirlerine oldukça yakın olduğu söylenebilmektedir. Ayrıca partikül geometrisinin de küresele yakın olduğunu AFM görüntülerine bakarak anlamak mümkündür.

Zeta potansiyel değeri nanomalzemelerin uzun dönem dayanımı ile ilgili bilgi sahibi olabilmek için oldukça önemli bir parametredir. Özellikle elektrostatik etkileşim ile ilaç taşınımı uygulamaları için partiküllerin kapasitesinin belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Çalışmamız kapsamında hazırladığımız KLNlerin temel lipid malzemesi olan stearik asit ~4 civarında bir pKa değerine sahiptir ve çalıştığımız koşullarda (~pH6) negatif yüklenmektedir. Çizelge 4.3'te verilen zeta potansiyel değerlerine bakıldığında, stearik asidin bu özelliği sayesinde partiküllerin tamamının negatif yüklendiği görülmektedir. Ayrıca, emülsifiye edici ajan olarak da litokolik asit gibi negatif yüklü moleküller kullanıldığında zeta potansiyel değerinin eksi yönde bir artış gösterdiği de görülmektedir. Çizelge 4.3'teki veriler incelendiğinde, yapısında litokolik asit olan KLN_{L1}, KLN_{L2} ve KLN₁₀ kodlu partiküllerin sırasıyla -42.4 ± 1.1 , -47 ± 1.3 ve -44.1 ± 2.1 mV ile en yüksek negatifliğe sahip olduğu görülmektedir. Pluronic F 127, Tween 20 ve butanol gibi noniyonik emülsifiye edici ajanlar ve yardımcı emülsifiye edici ajanlar kullanıldığı durumda da KLN₆ ve KLN₉'da olduğu gibi -10 ± 0.3 ve -13.7 ± 0.5 mV ile daha düşük zeta potansiyel değerlerine ulaşıldığı görülmüştür.

Yüzey yük yoğunluğu (σ) değerleri, partiküllerin yüzey özellikleri ile ilgili daha gerçekçi ve nicel bulgular elde edilmesi anlamında oldukça önemli bir parametredir. Çalışmamız kapsamında hazırladığımız KLNlerin yüzeylerinde elektrostatik etkileşimle ilaç taşıma kapasiteleri ile çalışmalar yürütülmesi hedeflendiğinden, etkileşim veriminin daha iyi anlaşılabilmesi için yüzey yük potansiyelleri kritik bir öneme sahip olmaktadır. Hazırlanan KLNlerin yüzey yük yoğunlukları, zeta potansiyel değerleri, bileşimleri, geometri ve boyutları esas alınarak hesaplanmıştır. Hesaplama yapılırken literatürde verilen Eşitlik 2.15 kullanılmış ve partiküller küresel kabul edilmiştir (Ek 1) [109].

$$\sigma = \frac{2\varepsilon_r\varepsilon_0KkT}{Ze} \sinh\left(\frac{Ze\zeta}{2kT}\right) \left[1 + \frac{1}{Ka} \frac{2}{\cosh\left(\frac{Ze\zeta}{4kT}\right)^2} + \frac{1}{(Ka)^2} \frac{8\ln\left[\cosh\left(\frac{Ze\zeta}{4kT}\right)\right]}{\sinh\left(\frac{Ze\zeta}{2kT}\right)^2} \right]^{\frac{1}{2}} \quad \text{Eşitlik 2.15}$$

Çizelge 4.3'te verilen değerlerde görüldüğü üzere, partikül boyutu arttıkça yüzey yük yoğunluğunda da bir artış olmuştur. Bunun yanı sıra, iyonik emülsifiye edici ajanlar kullanıldığında da elektriksel potansiyelin arttığı görülmektedir. Çizelge 4.3'te de listelendiği gibi KLN_{L1} ve KLN_{L2}, sırasıyla 160±15.0 ve 415±8.8 C/m² (×10¹⁴) ile en yüksek yüzey yük yoğunluğuna sahip partiküllerdir. En düşük yüzey yük yoğunluğuna sahip partiküller ise, zeta potansiyel sonuçlarıyla da uyumlu olarak, 20±4.0, 21.4±1.2, 21.7±1.2, 18.8±0.6 ve 19.3±0.3 C/m² (×10¹⁴) değerleri ile KLN₆, KLN₈, KLN₉, KLN_{P1} ve KLN_{P2} olmuştur.



Şekil 4.4. Hazırlanan A) KLN_{P1}, B) KLN_{L1}, C) KLN₅, D) KLN₆, E) KLN₇, F) KLN₈, G) KLN₉, H) KLN₁₀, I) KLN₁₁, J) KLN₁₂ partiküllerinin DSC termogramları

Sentezlediğimiz KLNlere ait DSC termogramları Şekil 4.4'te verilmiştir. Ayrıca erime noktalarına ait piklerin başlangıç noktaları (T_{onset}), piklerin tepe noktasına ulaşıldığı sıcaklık değerleri (T_{max}) ve kullanılan stearik asit miktarı temel alınarak hesaplanan erime entalpisi değerleri Çizelge 4.4'te listelenmiştir. Stearik asidin A, B, C ve E olmak üzere 4 farklı polimorfu olduğu literatürdeki çalışmalarda verilmiştir [110]. A formu triklinik; B, C ve E formları monoklinik. Diğer polimorfları

ile karşılaştırıldığında C-formunun termodinamik olarak en stabil form olduğu görülmüştür ve erime noktasının da $\sim 72^{\circ}\text{C}$ olduğu ölçülmüştür.

Malzemelerin erime noktaları zincir uzunlukları ve yapılarında bulunan serbest hidroksil grupları gibi kimyasal doğası ile ilgili özelliklerine bağlıdır. Birbirinden farklı her bir malzemenin değişik erime noktaları ve erime entalpileri olması dolayısıyla DSC tekniği ile yapılan analizler malzemenin yapısı ve partikül içindeki etkileşimler hakkında bilgi vermek anlamında oldukça aydınlatıcı olabilmektedir. Partikül sentezinde kullanılan malzemelerin yapı içerisindeki dağılımları ve yapıya dahil olma verimleri de DSC analizi ile anlaşılabilir. Bunun yanı sıra partiküllerin bünyelerinde ilaç tutma kapasiteleri ve kristallikleri hakkında da bilgi verdiği için özellikle ilaç taşıma sistemlerinin incelenmesinde önemli bir rol oynamaktadır.

Elde edilen termogramlara ve hesaplanan CI% değerlerine bakıldığında KLNler içinde hem kristal hem de amorf bölümlerin olduğu anlaşılmaktadır. Partikül bileşimi içinde bulunan yüksek erime noktalı emülsifiye edici ajanların partikül erime noktasını daha yüksek değerlere, aynı şekilde düşük erime noktalı emülsifiye edici ajanların da daha düşük değerlere taşıdığı bilinmektedir. Bu nedenden dolayı, lesitin ve oda ve vücut sıcaklığında sıvı halde bulunan Tween 20'nin yapıya dahil edilmesiyle ölçülen erime noktalarının düştüğü görülmektedir (Çizelge 4.4). KLN_{P1}, KLN₅, KLN₆, KLN₈, KLN₉, KLN₁₁ ve KLN₁₂'ye ait sonuçlara bakıldığında, bu partiküllerin ortak noktalarının düşük erime noktalı emülsifiye edici ajanlar olduğu anlaşılmaktadır. Pluronik F 127 oda ve vücut sıcaklığında katı formda bulunan bir emülsifiye edici ajandır ve erime noktası $\sim 57^{\circ}\text{C}$ 'dir [105]. Stearik asitten daha düşük bir erime noktası değerine sahip olduğu için Pluronik F127'nin emülsifiye edici ajan olarak kullanıldığı koşullarda hem partikülün erime noktasını hem de kristallik yüzdesini düşürdüğü görülmektedir. Bunun yanı sıra, litokolik asidin herhangi bir yardımcı emülsifiye edici ajan eklenmeden kullanılmadığı koşulda (KLN_{L1}) erime entalpisi ile erime noktasını arttırdığı ve partikülü diğerleri arasında kristallik indeksi en yüksek (CI%) partikül haline getirdiği görülmektedir.

Çizelge 4.4. Hazırlanan KLNlerin erime noktası, erime entalpisi (ΔH) ve kristallik indeksi (CI%) değerleri

KLN	Erime Noktası (°C)		ΔH (J/g)	CI%
	T _{onset}	T _{max}		
P1	64	68-54	36,2	19,1
L1	77	82-78	61,3	32,3
5	53	60	2,7	1,5
6	44	47	1,9	1,0
7	79	81	14,3	7,5
8	65	68	2,8	1,5
9	61	63	4,3	2,3
10	78	80	27,1	14,3
11	65	64-51	3,3	1,8
12	63	65	1,4	1,0

DSC tekniği ile elde edilen termogramlar aynı zamanda KLNlerin yapısal özelliklerinin daha iyi anlaşılması anlamında da yardımcı olmaktadır. Şekil 4.4'te de görüldüğü gibi, partikülü oluşturmak için farklı malzemeler bir araya getirilmiş olsa dahi, partiküle ait tek bir erime piki göze çarpmaktadır. Ulaşılan bu sonuçlar partikül oluşumunun başarıyla gerçekleştirilebildiğinin de bir göstergesidir. İstisnai şekilde KLN_{L1}, KLN_{P1} ve KLN₁₁ için sırasıyla 82–78°C, 68–54°C ve 67–51°C noktalarında iki ayrı erime noktası oluştuğu görülmüştür. Bu partiküller için oluşan iki ayrı erime noktasının lipit çekirdek ve emülsifiye edici kabuk kısımlarına ait

olduğu söylenebilmektedir. Buna neden olarak, diğer partikül formülasyonlarından farklı şekilde, litokolik asit ve Pluronik F 127 kullanıldığı koşullarda bu emülsifiye edici ajanların tamamının partikül yapısına dahil olmadığı, bir kısmının da yüzey modifikasyonunu sağlayacak şekilde kabuk kısmını oluşturduğu söylenebilmektedir. Literatürde KLNlerle yapılan çalışmalara bakıldığında, aynı şekilde lipit ve emülsifiye edici ajanların sırasıyla çekirdek ve kabuk kısmını oluşturması dolayısıyla iki farklı erime piki ortaya çıkaracak şekilde iki ayrı noktada eridiği görülmektedir [111]. KLN_{P1} ve KLN_{L1} için elde edilen sonuçlara baktığımızda, her ne kadar Pluronik F 127'ye ait literatürle uyumlu olacak şekilde bağımsız bir erime piki oluşmuş olsa da ($54^{\circ}C$), Pluronik F 127'nin varlığının stearik aside ait erime noktasını (T_{max}) sırasıyla $68^{\circ}C$ ve $67^{\circ}C$ 'ye düşürdüğu görülmektedir. KLN_{L1} için ise, litokolik asidin oluşturduğu kabuk kısmının, yapıdaki stearik asidin varlığından etkilendiği ve kendine ait $188^{\circ}C$ 'deki erime noktasının $82^{\circ}C$ 'ye düştüğu görülmüştür. Ulaşılan sonuçlar gözden geçirildiğinde, yapıda bulunan emülsifiye edici ajandan dolayı bazı sapmalar gözlenirse dahi, çalışmamız kapsamında hazırlanan partiküllere ait erime noktası değerlerine bakıldığında, stearik asidin partikül yapısı içinde C-formunda bulunduğu çıkarımı yapılabilmektedir.

Partiküllerin kristallikleri hakkında bilgi sahibi olunması aynı zamanda ilaç tutma kapasitesinin de öngörülmesinde yardımcı olmaktadır. Yaptığımız alışmada CI% hesabı yapılırken, kullandığımız temel lipit malzeme olan saf stearik asidin kristallik indeksi %100 kabul edilmiştir. DSC sonuçlarından elde edilen erime entalpisi değerlerine bakıldığında, KLN oluşumu gerçekleştikten sonra saf malzeme formlarına göre entalpi değerinde düşüş olduğu görülmektedir. Buna rağmen yapının tamamen amorf forma dönüşmediği, hala bir miktar kristal bölgelerin bulunduğu, elde edilen CI% değerlerinden anlaşılabilmektedir (izelge 4.4) Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde, genel bir bulgu olarak, kristallik indeksi (CI%) yüksek olan partikül yapılarının ilaç tutma kapasitelerinin daha düşük olduğu görülmüştür [20]. Bu durum özellikle de taşınmak istenen molekül partikül yapısının iç kısmına yüklenmek istendiğinde oldukça önemli bir parametre haline gelmektedir. Çizelge 4.4'te verilen CI% değerlerine bakıldığında, hazırlanan KLNlerin kristallik yüzdelerinin %32.3 ile %1.0 arasında değişkenlik gösterdiği görülmektedir. KLN_{L1} 'in emülsifiye edici ajan olarak sadece litokolik asit

kullanılmasından dolayı en yüksek CI% değerine sahip olduğu görülmektedir. Literatüre bakıldığında kullanılan fazla emülsifiye edici ajan miktarının, partiküle ait kristalliği düşürdüğü söylenmektedir. Bunun yanı sıra, Tween 20 gibi bazı yardımcı emülsifiye edici ajanların lipit matrisin akışkanlığını arttırarak daha amorf bir yapı oluşturduğu da bilinmektedir. Hazırladığımız KLNlerden elde edilen sonuçlara bu bilgi ışığında baktığımızda da, yapılarında yardımcı emülsifiye edici ajan olarak Tween 20 kullanılan KLN₅, KLN₆, KLN₈ ve KLN₉'un en düşük kristalliğe sahip olduğu bulunmuştur. Ancak aynı sonucun Tween 20'nin yardımcı emülsifiye edici ajan olarak kullanıldığı KLN₇ için görülmediği, Çizelge 4.4'te listelenen sonuçlarda verilmiştir. Bu duruma neden olarak emülsifiye edici ajan olarak kullanılan litokolik asidin varlığı ve yapıya kattığı yüksek kristallik derecesi gösterilebilmektedir.

Her ne kadar adsorptif ilaç taşınımı açısından düşünüldüğünde yüksek zeta potansiyel değeri ve yüzey yük yoğunluğu sayesinde iyi bir alternatif olarak görünse de, yüksek kristalliği ve düzenli yapısı dolayısıyla, emülsifiye edici ajan olarak sadece litokolik asit kullanılan KLN_{L1}'in partikül içine ilaç yükleme çalışmalarında düşük ilaç tutma kapasitesine sahip olabileceği düşünülmektedir. Ancak litokolik asidin Pluronik F 127, Tween 20 ya da butanol gibi diğer yardımcı emülsifiye edici ajanlarla beraber kullanılması (KLN₇, KLN₁₀, KLN₁₁ ve KLN₁₂) yüksek kristalinite problemini çözmekte ve ilaç taşınımı için uygun morfolojide partiküllerin oluşuma imkan vermektedir. Buna ek olarak Pluronik F 127'nin tek emülsifiye edici ajan olarak veya Tween 20 ile birlikte kullanıldığı (KLN_{P1} ve KLN₆) partiküller, yüksek kapasitede ilaç taşıma potansiyelleriyle, alternatif bir çözüm olarak da önerilebilmektedir.

4.3. Katı Lipit Nanopartiküllerin Stabilitesi

Zeta potansiyel değerleri partiküllerin stabilitesi hakkında fikir sahibi olabilmek için kilit unsurdur. Çizelge 4.5'te verildiği gibi zaman geçtikçe partiküllere ait zeta potansiyel değerlerinde bir azalma görülmektedir. Literatürde yapılan çalışmalara bakıldığında, stabil olarak tanımlanan bir sistemin elektrostatik itme kuvvetlerinin van der Waals çekim kuvvetlerine baskın geldiği söylenmektedir [112]. Partiküllerin kendi aralarında oluşturduğu kümeleşmeler de aralarındaki elektrostatik itme gücünün az olmasından kaynaklanmaktadır. Yüksek sıcaklık ve ışığa maruz kaldıkça partiküllerin kinetik enerjileri artmakta ve çarpışma sayısının artmasıyla

birlikte kümeleşme için aşılması gereken enerji bariyerinin üzerine çıkılması da kolaylaşmaktadır. Dolayısıyla partiküllerin zeta potansiyel değerleri de bu değişimden etkilenmektedir. Bunun yanı sıra, literatürde yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlara bakıldığında, ~25 mV'un üstünde zeta potansiyel değerine sahip partiküllerin herhangi bir kümeleşme olmaksızın boyut ve zeta potansiyel değerlerini koruyabildikleri görülmüştür [39].

Çalışmamız kapsamında hazırladığımız partiküllerle yapılan stabilite çalışmalarına baktığımızda, zeta potansiyel değerlerinde meydana gelen %8,2, %9,5 ve %16,0'lık bir düşüş ile en yüksek değişimlerin sırasıyla KLN₆, KLN₈ ve KLN₉ için gerçekleştiği görülmektedir (Çizelge 4.5). Sözü geçen partiküllerin orijinal zeta potansiyel değerlerinin de düşük olduğu göz önünde bulundurulduğunda, hazırlanan KLNler içerisinde diğerleri kadar stabil olmadığını söylemek mümkündür. KLN_{P1}, KLN_{P2}, KLN₅, KLN₇, KLN₁₀, KLN₁₁ ve KLN₁₂ için zeta potansiyel değerlerinin oldukça düşük oranlarda değişime uğradığı ve bu değişimin %5'in altına kaldığı görülmektedir. Partiküllerin stabiliteleriyle ilgili bilgi sahibi olmak için kullanılabilir en önemli araçlardan biri de boyut değişimidir. Yapılan tez çalışmasında, KLNler hazırlandıktan 3 ay sonra DLS yöntemi kullanılarak partiküllerin çap değerlerine ulaşılmış ve sentezden hemen sonra ölçülen değerlerle karşılaştırılmıştır. Çizelge 4.5'te verilen değerlere bakıldığında, KLN₆'nın %9,6'lık bir boyut artışıyla, zeta potansiyel ölçümlerinde olduğu gibi, en büyük değişimi gösterdiği görülmektedir. Hazırlanan KLNlerle yapılan stabilite çalışmalarında elde edilen sonuçlara genel olarak bakıldığında, 3 ay boyunca oda sıcaklığında saklanmış olan partiküllerin kabul edilebilir ölçüde elektrokimyasal ve fiziksel stabiliteye sahip olduğunu söylemek mümkündür.

Çizelge 4.5. KLNlerin hazırlanmasından 3 ay sonra oda sıcaklığında tutulmuş örneklerle yapılan stabilite ölçüm sonuçları

KLN	Zeta potansiyel (mV)		Partikül çapı (nm)	
	Sentezlendiğinde	Sentezden 3 ay sonra	Sentezlendiğinde	Sentezden 3 ay sonra
P1	-28,2±1,9	-27,0±0,8	104±1,4	110,0±1,3
P2	-28,1±1,3	-27,2±0,2	148±1,3	152,0±1,2
L1	-42,4±1,1	-41,9±0,5	80±2,2	84,6±1,4
L2	-47,0±1,3	-46,7±1,1	162±2,4	164,7±1,3
5	-23,6±0,5	-21,9±1,4	164±1,4	170,7±1,2
6	-10,0±0,3	-8,4±0,1	72±0,5	79,6±0,2
7	-35,3±1,3	-33,7±0,8	55±1,1	58,2±1,4
8	-18,4±0,8	-16,9±1,7	88±1,3	92,8±1,1
9	-13,7±0,5	-12,4±0,8	78±0,3	80±0,3
10	-44,1±2,1	-41,9±1,0	85±1,2	90,2±0,4
11	-28,3±0,3	-26,7±0,2	39±0,1	41,0±1,4
12	-31,0±0,2	-30,6±1,2	68±1,1	70±1,4

4.4. Katı Lipit Nanopartiküllerin İlaç Tutma Özelliklerinin İncelenmesi

Katı lipit nanopartiküllerin, bireysel olarak kullanıldığı durumlarda, uygulama alanları arasında kontrollü ilaç salımı, şablon uygulamaları ve biyosensör çalışmaları gibi uygulamalar önemli yer tutmaktadır ve sentezlenen KLNlerin madde tutma potansiyelleri ve tutulan maddelerin nanopartikül yapısındaki konumları bu uygulamalardaki kullanımları açısından belirleyici özellik teşkil etmektedir. Daha önce de bahsedildiği gibi, taşınması hedeflenen etken madde; elektriksel yüküne, hidrofilik/hidrofobikliğine ve partikülün kullanılması hedeflenen potansiyel uygulamaya göre KLNlerin çekirdek kısmına (Şekil 3.1 (A)) veya yüzeylerine (Şekil 3.1(B)) yüklenebilmektedir. Nanotaşıyıcı olarak kullanılan diğer partiküller ile karşılaştırıldığında, KLNlerin önemli bir avantajı olarak sayılabilecek bu özelliğinden faydalanılarak, yaptığımız tez çalışması kapsamında da Askorbik asit (AA) ve Metilen mavisi (MM) model moleküller olarak kullanılarak, KLNlerin yüzeylerine ve partikül yapısı içine yüklenmiştir.

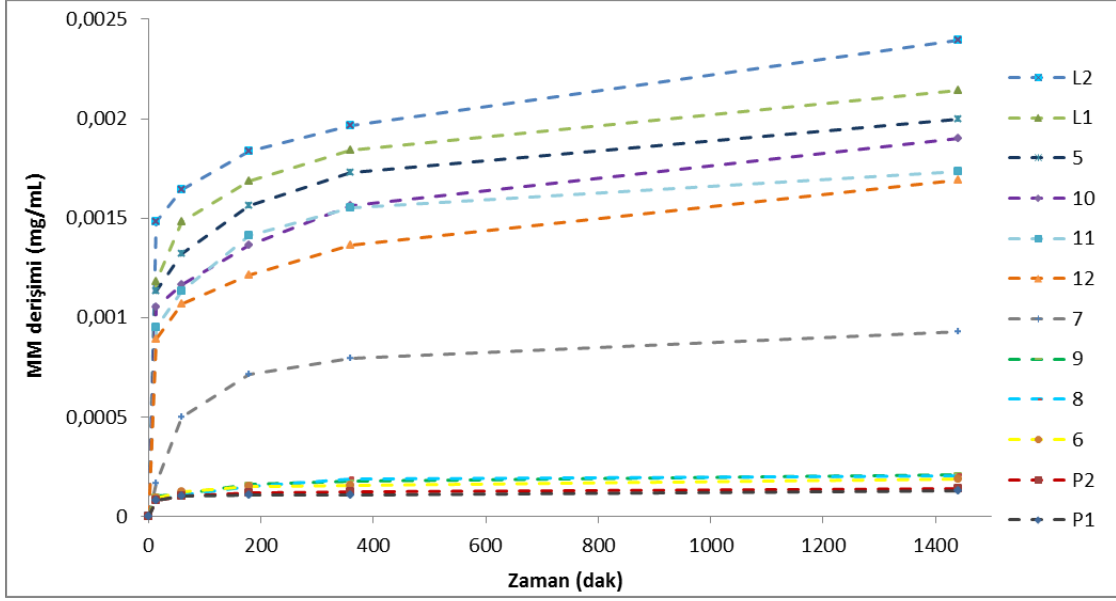
MM heterosiklik, aromatik ve pozitif yüklü bir bileşiktir ve analitik kimyada redoks reaksiyonlarında indikatör [113], biyolojik uygulamalarda boyama malzemesi, methemoglobinemi tedavisinde Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmış ilaç ve fotodinamik terapide (PDT) ışığa duyarlı malzeme gibi literatürde birçok çalışmada kullanılmaktadır [39]. Bunun yanı sıra, MM'nin kolay ulaşılabilir ve uygun fiyatlı bir molekül olması özellikle pozitif yüklü ve aromatik yapıdaki ilaçları taklit etmek amacıyla model molekül olarak kullanılması açısından malzemeyi ideal kılmaktadır. MM ile yapılan çalışmalar, KLNlerin yüzeylerinde etken madde taşınımı için uygun olup olmadığı konusunda bilgi vermesi açısından önem taşımaktadır.

AA, daha yaygın bilinen adıyla C vitamindir. Suda çözünebilen bir vitamin olan AA, bağışıklık sistemi üzerinde önemli etkiler yapabilmekte ve hücreleri serbest radikallerin zararlı etkilerinden korumaktadır. Kapsül şeklinde oral yolla alındığında, o anda vücudun ihtiyacı olan miktar kullanılmakta ve geri kalan kısım depolanmadan vücuttan atılmaktadır. Dolayısıyla, ihtiyaç duyulan miktarda AA'nın dolaşım sistemine verilebilmesi için, yavaş yavaş salım imkanı sağlayabilecek kontrollü salım sistemlerinin kullanılması önemlidir.

Kanser hücreleri, şekere normal hücelere göre daha fazla ihtiyaç duyduğundan, hücre içine şeker iletimini sağlayan taşıyıcıların miktarı tümörlü bölgede artmaktadır. Normalde bu durum, tümörün ilerleyişini tetiklediği için istenmeyen bir gelişmedir. Ancak ortamda AA bulunması koşulunda, AAnın kimyasal yapı olarak glikoza oldukça fazla benzerlik göstermesi dolayısıyla glikozla beraber hücre içine taşınması sonucunda, bu gelişme antitümör etkiyi destekleyici olmaktadır. Bu durum, bir yandan tümörlü hücrenin ihtiyaç duyduğu enerjiyi almasını engellerken bir yandan da AAnın tümörlü hücre üzerinde sağladığı antiproliferatif etkisi sayesinde hücre çoğalması ve canlılığı üzerinde olumsuz etki sağlamaktadır [114]. Ayrıca literatürde bulunan bazı kaynaklarda [115], AA'nın hücre içinde hidrojen peroksit oluşturduğu ve oluşan hidrojen peroksitin hücre içindeki protein sentezinden sorumlu ve mutasyon nedeniyle yapısı değişmiş olan enzimlerin miktarından azalmaya neden olduğu ve dolayısıyla sağlıklı hücelere zarar vermezken, tümörlü hücrelerin ölümüne neden olduğu söylenmektedir. Bütün bu özellikleri dolayısıyla, model molekül olarak AA kullanılarak madde yüklenmesi ve salımı çalışmalarına başlanması ve sentezlenen KLNler ile AA kontrollü salımının gerçekleşip gerçekleşmeyeceğinin incelenmesi, aday bir antitümör ajan taşıma sistemi olarak KLNlerin kullanımının araştırılmasını sağlayacaktır.

4.4.1. Katı Lipit Nanopartiküllerin Metilen Mavisi Tutma Özelliklerinin İncelenmesi

Ek 2'de verilen grafikte, 0,0005-0,0026 mg/ml derişim aralığında MM kullanılarak ve UV-vis yönteminden faydalanılarak hazırlanan kalibrasyon doğrusu görülmektedir. R^2 değerine bakıldığında, elde edilen verilerle çizilen doğrunun lineere oldukça yakın olduğu ve kesinliğinin yüksek olduğu söylenebilmektedir. Hazırlanan KLNler kullanılarak MM ile yapılan ilaç alım/salım çalışmaları değerlendirilirken Ek 2'de verilen kalibrasyon doğrusuna ait denklem kullanılmıştır.



Şekil 4.5. Zamanla KLNler tarafından tutulan MM miktarının değişimi

KLNlerin MM tutma davranışları Şekil 4.5'te verilen grafikte görülmektedir. Şekil 4.5'ten elde edilen derişim değerleriyle hesaplanan YK% değerleri, yüzey yük yoğunluklarıyla beraber değerlendirildiğinde, KLNlerin MM tutma kapasitelerinin yüzey yük yoğunluklarıyla doğru orantılı olduğu açıkça görülmektedir. Bu durum, MM ile KLNler arasındaki bağlantının elektrostatik etkileşimle doğrudan ilişkili olduğunun bir kanıtı niteliğindedir.

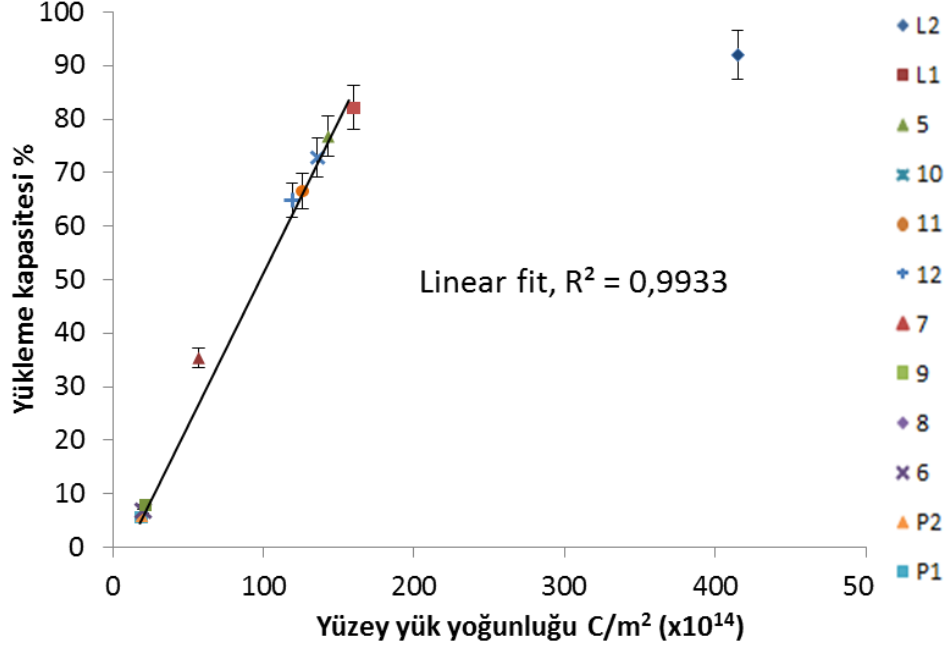
P kodlu KLNler ve L kodlu KLNler kendi içlerinde birbirleri ile MM yükleme kapasiteleri açısından karşılaştırıldığında, bileşimleri aynı olmasına rağmen malzeme yükleme performanslarının farklı olduğu görülmektedir. YK% değerleri arasındaki bu fark, bileşim aynı olduğunda dahi yüzey yük yoğunluğu değerlerinin etkili olduğunu göstermektedir. Hazırlanan KLNler içinde en büyük çapa sahip olan KLN_{L2}'nin aynı zamanda en yüksek yüzey yük yoğunluğuna ve buna bağlı olarak da YK% değerine sahip olduğu görülmektedir. Şekil 4.5'te verilen diğer KLNlerin MM tutma davranışlarına bakıldığında, KLN_{P1}, KLN_{P2}, KLN₆, KLN₈ ve KLN₉'un MM ile düşük bir etkileşimde bulunarak az miktarda malzemenin yüzeye yüklenebildiği tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde KLN_{L2}, KLN_{L1}, KLN₅, KLN₇, KLN₁₀, KLN₁₁ ve KLN₁₂'nin; KLN_{P1}, KLN_{P2}, KLN₆, KLN₈ ve KLN₉ ile karşılaştırıldığında adsorptif ilaç taşınımı bakımından daha efektif nanotaşıyıcılar olduğunu söylemek mümkündür.

Çizelge 4.6. KLNlere MM yükleme kapasitesi (YK%) ve yüzey yük yoğunluğu değerleri

KLN	Yüzey yük yoğunluğu (σ, C/nm²)x10⁴	YK%	MM Yükleme Oranı (μg/mg)
P1	18,8±0,6	5,6±0,5	231,6
P2	19,3±0,3	5,9±0,7	244,1
L1	160±15,0	82,1±3,2	3401,4
L2	415±8,8	92,0±4,1	3815,7
5	143±12,8	76,8±2,1	3181,7
6	20±4,0	6,8±0,9	281,8
7	57±4,8	35,4±1,1	1468,1
8	21,4±1,2	7,5±0,5	313,2
9	21,7±3,2	7,9±0,6	325,7
10	136±12,3	72,8±2,3	3018,5
11	126±4,5	66,6±3,1	2761,2
12	119±11,5	64,8±1,5	2685,8

Çizelge 4.6'da KLNlerin yüzey yük yoğunluğu değerleri ile %YK değerleri, birbirleri arasındaki ilişkinin daha net anlaşılabilmesi için birlikte verilmiştir. Elde edilen sonuçlara bakıldığında, %5,6 ve %5,9 ile sırasıyla KLN_{P1} ve KLN_{P2}'nin en düşük MM tutma kapasitesine sahip partiküller olduğu görülmektedir. KLNlerin MM tutma mekanizmasının elektrostatik etkileşim dominant olduğu göz önünde bulundurulduğunda, ulaşılan %YK değerlerinin oldukça mantıklı olduğu söylenebilmektedir. Çizelge 4.6'da listelenen bir diğer veri de KLNlerin kendi

kütleleri başına tutabildikleri MM miktarıdır. Adsorptif ilaç taşınımı anlamında yapılan diğer çalışmalarla karşılaştırabilmek için hesaplanan yükleme oranları değerlerinin ~230-3400 µg/mg arasında değiştiği ve literatürdeki çalışmalarla karşılaştırıldığında çalışmamız kapsamında hazırlanan KLNlerin tümünün oldukça yüksek ilaç tutma kapasitesine sahip oldukları söylenebilmektedir.



Şekil 4.6. Yüzey yük yoğunluğunun partiküllere ait YK%±SS (hata çubukları) değerlerine etkisi (Lineer regresyon çizgisi ve R² değeri KLN_{L2}'ye ait bilgiler dahil edilmeden hesaplanmıştır.)

Tez çalışması kapsamında hazırlanan KLNlerin yüzey yük yoğunluğu değerlerinin YK% değerleri ile ilişkisinin daha açık bir şekilde anlaşılabilmesi için Şekil 4.6'da verilen "Yükleme kapasitesi%" değerlerine karşı "Yüzey yük yoğunluğu" grafiği hazırlanmıştır. Lineer regresyon çizgisi ve 0,9933 ile oldukça yüksek olduğu söylenebilen R² değerine bakıldığında, MM yükleme kapasitesi ile yüzey yük yoğunluğu arasında doğrusal bir ilişki olduğunu ve dolayısıyla yüzey yük yoğunluğu hesabının önemini açıkça koymaktadır. İstisnai olarak, en yüksek yüzey yük yoğunluğuna sahip olan KLN_{L2}'ye ait değerler lineer regresyon çizgisine dahil edilmemiştir. KLN_{L2} ortamda bulunan MM'nin neredeyse tamamını (%92,0) adsorplayabilmiş ve elde edilen bu sonuçtan ortamda daha fazla MM bulunması durumunda bu değer artabileceği anlaşılmıştır. Dolayısıyla, KLN_{L2}'ye ait oluşan bu lineerlikten sapma durumu, ortama daha fazla MM eklendiği ve KLN_{L2}'nin daha

fazla adsorplayabilmesine izin verildiği koşulda ortadan kalkacağı çıkarımı yapılabilmektedir.

4.4.2. Katı Lipit Nanopartiküllerin Askorbik Asit Tutma Özelliklerinin İncelenmesi

Yapılan tez çalışması kapsamında hazırlanan KLNler ile partikül içine model ilaç yükleme verimliliği AA kullanılarak sürdürülmüştür. KLNlere yüklenen AA miktarının tayin edilmesi için UV-vis yöntemi kullanılmıştır. 0-0.65 ppm aralığında hazırlanan AA çözeltileri kullanılarak, 525 nm'deki absorpsiyon değerleri UV-vis spektroskopisi ile elde edilmiş ve Ek 3'te görülen kalibrasyon doğrusu oluşturulmuştur. AA gibi hidrofilik malzemelerin vücut içinde istenen bölgeye taşınması ve tercih edilen dozda uygulanabilmesi oldukça önemli ve zor ulaşılabilen bir koşuldur. Ancak daha önce de bahsedildiği gibi, özellikle de vücutta depolanamayan malzemelerin ihtiyaç duyulduğu anda vücuda alınması gerekmektedir. Bu yüzden kontrollü salım yapabilecek nanotaşıyıcıların önemi bir kat daha artmaktadır. Çalışmanın bu kısmında sentezlediğimiz farklı tipteki 12 KLN içinden AA salımını mümkün olduğunca yavaşlatabilecek KLN seçimi için çeşitli parametreler araştırılmıştır.

Partikül boyutu, kullanılan malzemelerin hidrofilik/hidrofobikliği ve yüzey yükleri gibi karakteristik özellikleri göz önünde bulundurularak, partikül içine AA yükleme çalışmalarının KLN_{L2}, KLN_{P1}, KLN₆ ve KLN₉ ile gerçekleştirilmesine karar verilmiştir. Bunun yanı sıra, KLN₉ partikülünün ME yöntemiyle KLN sentezinin ikinci basamağını oluşturan seyreltme basamağında orijinal oranı olan 1:20 dışında bir de 1:10 oranında çalışılarak aynı bileşimde ancak daha büyük boyutlu partiküller (KLN₉₋₂) hazırlanmıştır. Çalışılan bu yeni orana karar verilirken, literatürde, içeriğinde Tween 20 ve Pluronic F 127 gibi emülsifiye edici ajanlarla çalışıldığı koşulda kullanılan ME:su oranları göz önünde bulundurulmuştur. Bunun yanı sıra, çalışmamız kapsamında hazırlanan KLN_{P1} ve KLN_{L1} partikülleri ile daha önce yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda, ME:su oranının 1:10'dan 1:20'ye değiştirilerek boyutta kayda değer miktarda düşüş elde edilmiş olması da göz önünde bulundurulmuştur.

Partikül seçimi yapılırken KLN_{L2}'nin en büyük partikül olması, litokolik asidin diğer emülsifiye edici ajanlara oranla çalıştığımız koşullarda daha hidrofobik olması, daha küçük partikül boyutu ile 6, düşük zeta potansiyel değerinden dolayı 9 ve P1 kodlu KLNler literatürde AA salımı için sentezlenen KLNlerin yapısında da Pluronik F127 bulunması ve diğer KLNler içerisinde ortalama bir boyut ve zeta potansiyel değerine sahip olması gibi özellikleri göz önünde bulundurulmuştur.

Çizelge 4.7. KLN_{L2}, KLN_{P1}, KLN₆, KLN₉ ve KLN₉₋₂ partiküllerine ait AA yükleme kapasitesi değerleri

KLN	YK%
L2	96±3,5
P1	92±3,2
6	52±2,2
9	64±2,3
9-2	66±2,1

Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde (Çizelge 4.7), AA yükleme kapasitesi hesaplanan partiküller içerisinde en büyük boyuta sahip KLN_{L2}'nin madde tutma kapasitesinin en yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum, tutulmak istenen malzemenin, KLN içerisine yerleştirilmesinin hedeflendiği düşünülürse beklenen bir sonuçtur. Aynı şekilde, KLN₆'nın diğerleri içinde en küçük boyutta olması, en düşük ilaç tutma kapasitesine sahip olmasına neden olmuştur. KLN_{P1}, KLN₉ ve KLN₉₋₂ partiküllerinin AA tutma kapasitelerine bakıldığında L2 ve 6 kodlu KLNlerin arasında yer aldığı görülmektedir. Özellikle boyut anlamında düşünüldüğünde, bu durum beklenen bir sonuçtur. KLN_{P1}'in KLN₉'dan daha yüksek AA tutma kapasitesine sahip olması ise daha önce de bahsedildiği gibi 9 kodlu KLNnin yapısında bulunan butanolün, lipit ve emülsifiye edici ajanların dizilimlerini olmadığı duruma göre daha serbest ve birbirinden uzak bir formda stabilize etmesi ve bu nedenle partikül içinde tutulmak istenen malzemelerin içeride hapsedilememesi ile açıklanabilmektedir. Bunun yanı sıra, boyutu 6 ve L2 kodlu

KLNlerin arasında olan KLN₉ ve KLN₉₋₂ kendi içlerinde karşılaştırıldığında, yine boyut artışıyla yükleme kapasitesinin arttığı görülmüştür. Hidrofilik bir malzeme olan askorbik asidin suda çözünen bir vitamin olduğundan daha önce bahsedilmişti. Dolayısıyla, taşımak için kullanılan malzemenin boyutundan öte, kimyasal yapısının da önemli olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmanın sonuçlarının daha iyi anlaşılabilmesi için, aynı zamanda salım davranışlarının da incelenmesi ve birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir.

4.5. Katı Lipit Nanopartiküllerin In Vitro İlaç Salım Özelliklerinin İncelenmesi

KLNlerin diğer kolloidal nanotaşıyıcılarla karşılaştırıldığında, en önemli avantajlarından biri, sentez aşamasında çekirdek kısmına yüklenerek ya da partiküller hazırlandıktan sonra yüzeye tutundurulularak malzeme taşınımına imkan sağlamasıdır. Taşınan malzemenin özelliğine ve hangi amaçla kullanılacağına göre, KLNnin hangi bölgesinde taşınacağı oldukça önemli bir parametredir. Kontrollü ilaç salımı gibi kullanım hedefleri olduğunda, etken maddenin mümkün olduğunca partikülün çekirdek kısmına yakın olması ve dolayısıyla partikül dışına çıkışının daha kontrollü ve geciktirilmiş şekilde yapılması istenirken, etken maddeyi taşıyan malzemenin uygulanacağı yol da (dermal, rektal vb.), taşıyıcının ne kadar süre vücut içinde/üzerinde korunabileceğine bağlı olduğundan oldukça önemli bir parametre haline gelmektedir. Bu nedenlerden ötürü, partikül içine ilaç yüklenmesi ve salım özelliklerinin incelenmesi, hedeflenen uygulama göz önünde bulundurularak optimum koşulların sağlanmaya çalışılması şeklinde yürütülmelidir.

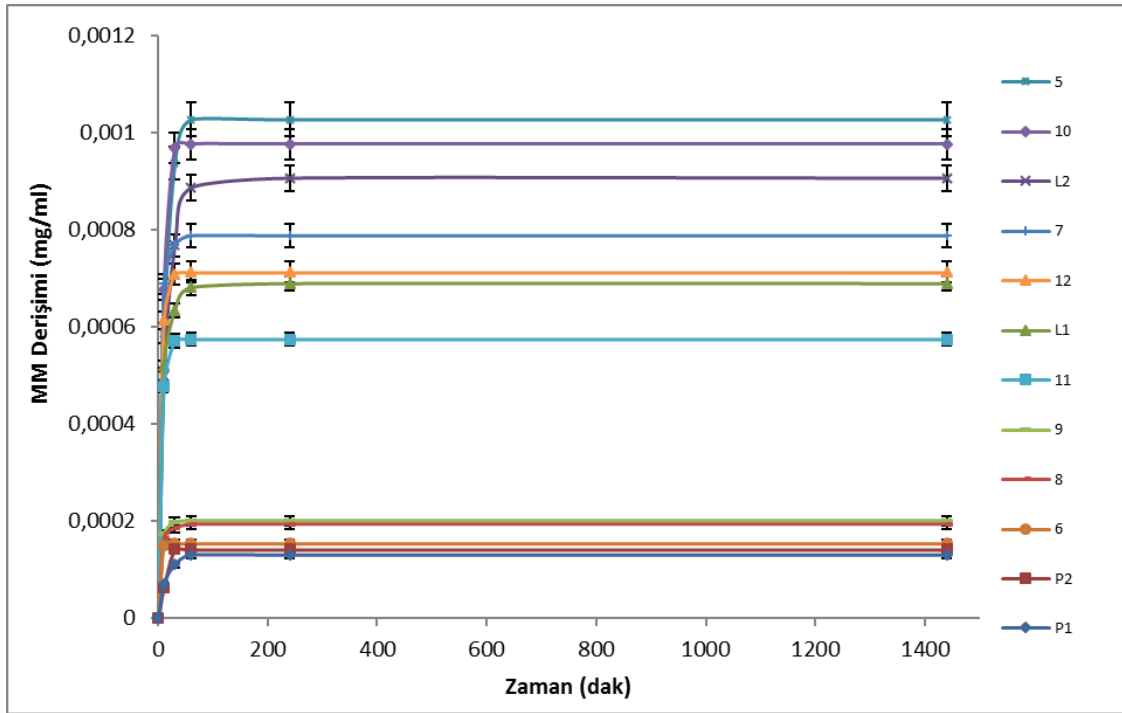
Partikül üzerine madde tutundurulması ise kontrollü ilaç salımının yanı sıra, yapay kan çalışmaları, şablon ve biyosensör uygulamaları gibi, salımın istenmediği durumlar için de kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra, etken maddenin partiküllerin sentezlenme aşaması tamamlandıktan sonra yüzeye tutturulması, hazırlanma sürecinde maruz kalınabilecek yüksek sıcaklık, basınç ya da çeşitli çözücülerin bulunduğu ortamlardan etkilenmeden daha ılımlı koşullarda yüklenerek taşınmasını sağlamaktadır.

Partiküllerin, içlerine ya da yüzeylerine yüklenen maddenin ne kadarının salınabildiği, yapılan salım çalışmaları sonucunda elde edilen veriler kullanılarak hesaplanmıştır. Salım kapasitesi (SK%), tutulabilecek maksimum madde miktarı

ve tutulmayan miktar bilgilerini kullanarak, partikülün madde salım davranışı hakkında nicel bulgular elde edilmesini sağladığı için oldukça önemli bir parametredir.

4.5.1. Katı Lipit Nanopartiküllerden Metilen Mavisi Salım Özelliklerinin In Vitro Ortamda İncelenmesi

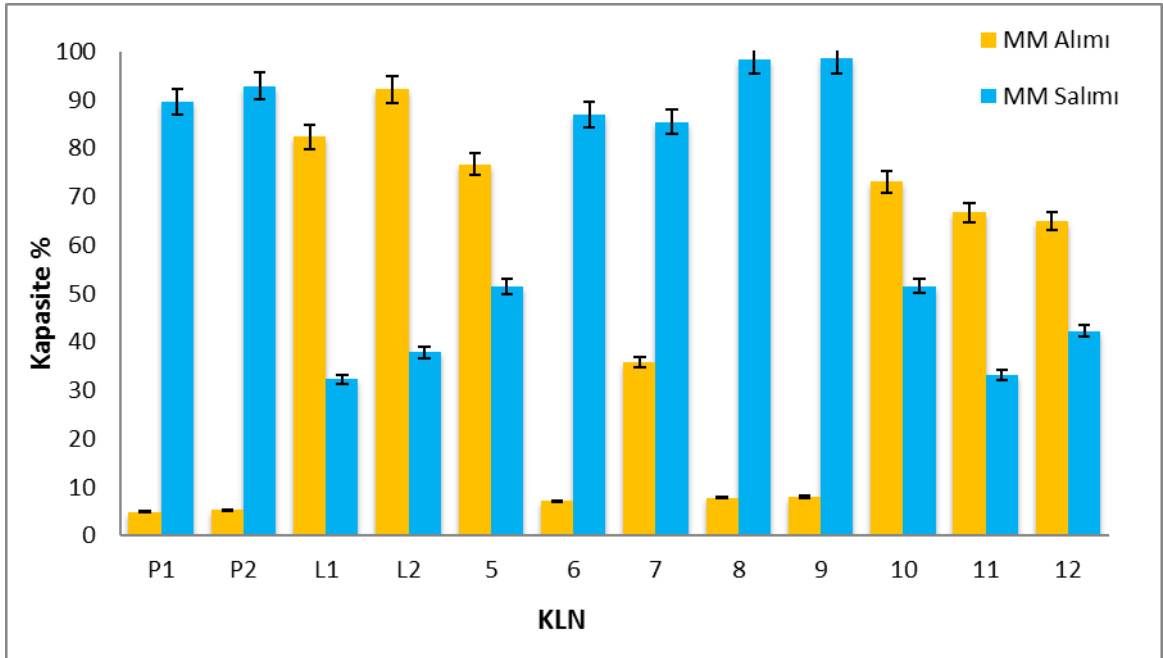
Yapılan tez çalışmasında, MM'nin in vitro koşullardaki salım özellikleri 24 saat boyunca sürdürülmüştür. Şekil 4.7'de verildiği gibi, salınan MM miktarının %90'lık bir kısmı ilk 4 saat içinde tamamlanmakta ve düşük bir ivmeyle 24 saatin sonunda maksimuma ulaşmaktadır.



Şekil 4.7. Sentezlenen KLNlerden in vitro MM salımının zamanla değişimi

KLNlere MM yüklenmesi koşulunda dominant faktör KLNlerin yüzeyleri ile MM arasındaki elektrostatik etkileşim olduğu için, bu etkileşimin miktarı aynı zamanda salım davranışları üzerinde de önemli rol oynamaktadır. MM yüklenmesi açısından listenin en sonlarında yer alan KLN_{P1}, KLN_{P2}, KLN₆, KLN₇, KLN₈ ve KLN₉ partiküllerinin diğerleri ile karşılaştırıldığında MM salımı açısından daha efektif

olduğu söylenebilmektedir. Her ne kadar derişim açısından değerlendirildiğinde yaklaşık $\sim 0,12 \mu\text{g/ml}$ gibi düşük bir değere denk geliyor olsa da, KLN_{P2} ve KLN_{P1} için sırasıyla yüzde salım kapasiteleri %89,7 ve %92,8 olarak hesaplanmıştır. Bu duruma neden olarak MM alım aşamasında az miktarda malzemenin yüzeye tutunabilmiş olması gösterilebilmektedir. KLN_5 ve KLN_{10} için elde edilen sonuçlara bakıldığında, yüzey yük yoğunluğu bakımından diğer KLNlerle karşılaştırıldığında ortalama değerlerde olmaları dolayısıyla taşınmak istenen malzemenin istendiği anda yüklenebilmesi ve istendiği anda salınabilmesi anlamında oldukça verimli şekilde çalışabilen partiküller olduğu söylenebilmektedir.



Şekil 4.8. Hazırlanan KLNlere ait MM yükleme (%YK) ve salım (%SK) kapasitesi değerleri

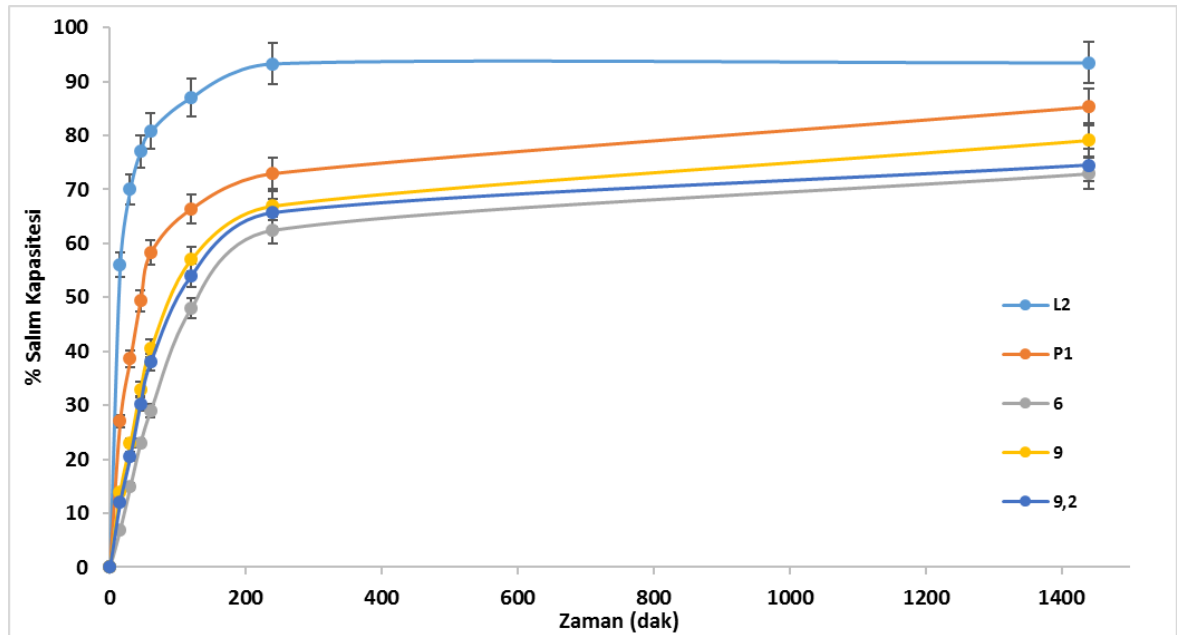
Tez çalışması kapsamında hazırlanan KLNler ile elde edilen MM alım/salım potansiyellerinin birbirleri ile ilişkisinin daha iyi anlaşılabilmesi için partiküllere ait bu iki bulgu birlikte kullanılarak Şekil 4.8'de verilen bar grafiği hazırlanmıştır. Hesaplanan kapasite değerlerine bakıldığında, alım ve salım verimlerinin birbirleri ile ters orantılı olduğu görülmektedir. Boyut, zeta potansiyel ve yüzey yük yoğunlukları dolayısıyla elektrostatik etkileşimi daha yüksek olduğu bilinen KLNlerin yine aynı nedenlerden dolayı salım performanslarının daha düşük

olduğu, diğerlerin oranla küçük yüzey yük yoğunluğuna sahip partiküllerin ise yüksek verimde MM salımı gerçekleştirdiği sonucuna ulaşılmıştır.

Ulaşılan bulgular ışığında, yüzey fonksiyonelliğinin, Adsorptif ilaç taşınımında kilit unsur olduğu ve performansı doğrudan etkilediği görülmektedir. Kullanılan emülsifiye edici ajan ve yardımcı emülsifiye edici ajanların miktar ve oranları ile, seyreltme basamağında tercih edilen ME:su oranının istenen ölçüde değiştirilmesiyle, kullanılması hedeflenen amaca yönelik olarak tercih edilen miktarda tutup salabilen KLNlerin başarıyla hazırlanabileceği ispatlanmıştır.

4.5.2. Katı Lipit Nanopartiküllerden Askorbik Asit Salım Özelliklerinin In Vitro Ortamda İncelenmesi

KLNlere yüklenen AAnın salım miktarının incelenmesi için UV-vis spektroskopisi yöntemi kullanılmıştır. Kalibrasyon doğrusu hazırlanarak elde edilen $y=0.8875x$ denkliği kullanılarak, absorbans değerinden AA derişim değerlerine geçilmiştir.

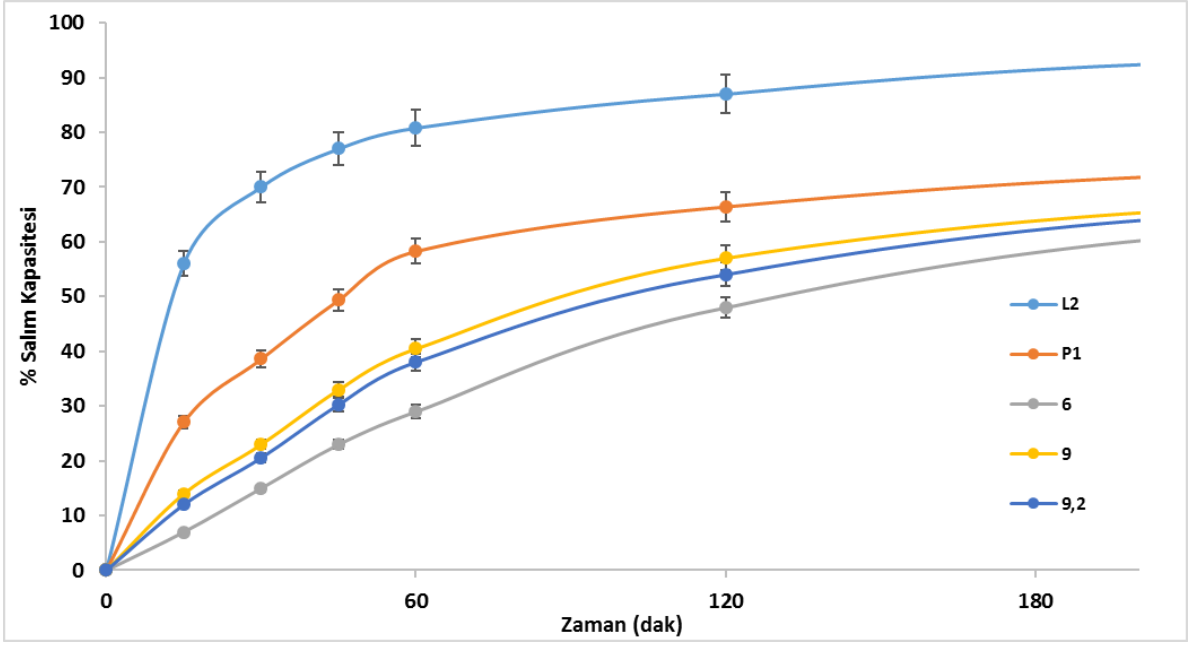


Şekil 4.9. AA yükleme çalışması yapılan KLNlerin AA salım veriminin (SV%) zamanla değişimi

L2 kodlu partikül ile yapılan salım çalışmalarına ait sonuçlar incelendiğinde (Şekil 4.9), salınan toplam madde miktarının yaklaşık %70lik bir bölümünün ilk 1 saat içerisinde salındığı, daha sonra ivmenin oldukça düşerek, geri kalan %30luk

bölümünün 24 saate kadar çok daha yavaş bir hızla salındığı görülmektedir. Madde tutma verimi açısından değerlendirildiğinde, 6 kodlu KLNye göre oldukça yüksek verime sahip olduğu görülen L2 kodlu KLNnin tuttuğu maddeyi, 6 kodlu KLNye göre daha az kontrollü şekilde saldığı söylenebilmektedir. Bu durumda, madde salımı için partikül boyutunun etkisinden daha farklı etkilerin var olduğu ortaya çıkmaktadır. Suda çözünen bir madde olan AA, KLNnin sentezlendiği ortam pHında hidrofobik özellik gösteren litokolik asidin oluşturduğu kabuk kısmında durmayı tercih etmeyerek, 6 kodlu partikülün kabuk kısmında bulunan ve hidrofilik olduğu bilenen Pluronik F 127 ile karşılaştırıldığında, suda daha çok durmayı tercih etmesinden kaynaklandığı, hızlı salıma neden olarak gösterilebilmektedir.

9 kodlu KLN ile yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlara bakıldığında partiküllerden AA salımının, tutulan madde miktarıyla doğrudan orantılı olduğu görülmektedir. 6 kodlu KLN ile oldukça benzer bir salım profili sergilediği görülen 9 kodlu KLN ile AA tutma kapasiteleri karşılaştırıldığında yine tutulan malzemenin de sırasıyla %52 ve %64 ile oldukça yakın olduğu görülmektedir. P1 kodlu KLN'nin ilaç tutma kapasitesi %92 ile 6 ve 9 kodlu olanlardan oldukça yüksek ve L2'nin tutma kapasitesine daha yakın bir değerdedir (%96). Ancak salım davranışına bakıldığında, L2 kodlu KLN'ye göre oldukça kontrollü olduğu görülmektedir. Bu durum, daha önce de söylendiği gibi yapısında litokolik aside göre çalıştığımız koşullarda daha hidrofilik olan Pluronik F127'nin emülsifiye edici ajan olarak kullanılmasıyla, hidrofilik yapıda bir malzeme olan AA'nın yapıya daha kolay hapsedilmesiyle açıklanabilmektedir. Ayrıca, tutma kapasitesinin artması nedeniyle de P1 kodlu KLNden AA salımının 6 ve 9 kodlu olanlardan nispeten daha hızlı olduğu görülmektedir.



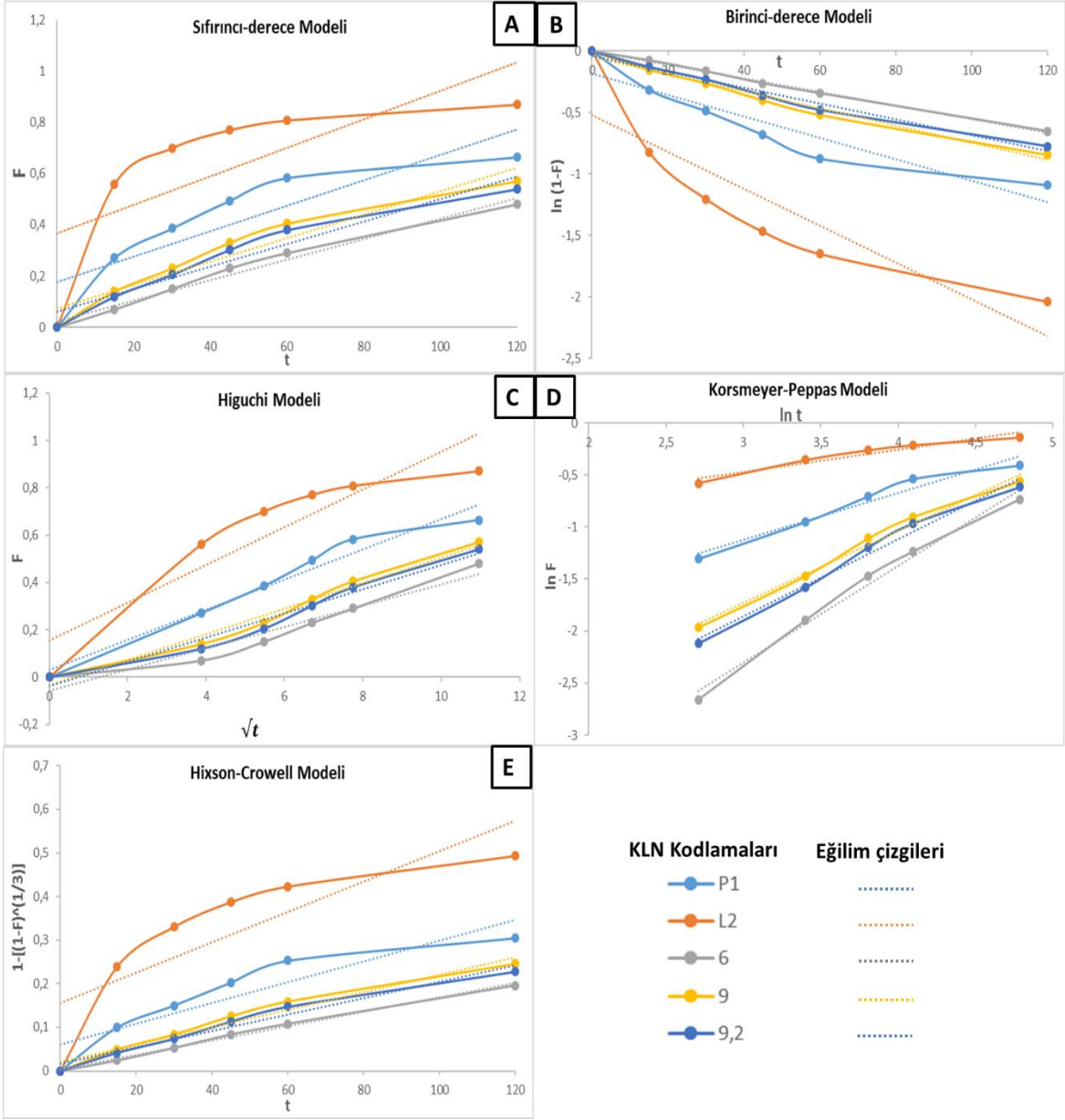
Şekil 4.10. AA yükleme çalışması yapılan KLNlerin AA salım veriminin (SV%) “kısa zamanlı” değişimi

Bunun yanı sıra, KLN₉ ve KLN₉₋₂ partiküllerinin salım davranışı birbirleri içinde karşılaştırıldığında yine aynı şekilde partiküllerden AA salımının, tutulan madde miktarıyla doğrudan orantılı olduğu görülmektedir. Bu noktada, partikül boyutunun madde alımı ve salımı üzerinde ne kadar etkili olduğu bir kez daha anlaşılmaktadır. Kompozisyon ve içeriğindeki malzeme oranı olarak aynı olduğu bilinen KLN₉ ve KLN₉₋₂ partiküllerinin birbirlerinden tek farkı olan boyutları, malzeme tutulumunda olduğu gibi salımında da beklenen sonucunun görülmesini sağlamıştır.

Şekil 4.10’da verilen kısa zamanlı salım davranışlarına bakıldığında, KLN₆, KLN₉ ve KLN₉₋₂ partiküllerinden farklı olarak KLN_{P1} ve KLN_{L2} partiküllerinden olan salımın iki fazlı olduğu görülmektedir. Öncelikle başta bir ani salım (burst release) olduğu ve ardından yavaşlayarak daha kontrollü şekilde devam ettiği, en son olarak da plato bölgesine ulaşarak sabitlendiği görülmektedir.

Partiküllere ait salım davranışlarının daha iyi anlaşılabilmesi için kinetik modelleme yapılmıştır. Sıfırıncı-derece modeli, Birinci-derece modeli, Higuchi modeli, Korsmeyer-Peppas modeli ve Hixson-Crowell modeli olmak üzere, literatürde kontrollü ilaç salım çalışmalarında en çok örneğine rastlanan 5 farklı kinetik model

hesaplamaları kullanılarak AA salımı modellenmiştir. Salım modelleme hesaplamaları yapılırken, plato bölgesine ulaşmadan önceki veriler göz önünde bulundurulmuş (Şekil 4.10) ve “Teorik bilgiler” kısmında her bir salım modeli için verilen, sırasıyla Eşitlik 2.1, 2.2, 2.3, 2.4 ve 2.5 eşitlikleri kullanılmıştır. Daha önce de verildiği gibi, ilaç salımına ait profilin hangi modele uygun olduğunun nicel bir göstergesi olarak, uygun eşitlikler ile hesaplama yapıldıktan sonra her bir partiküle ait veri grubu için eğilim çizgileri eklenmiştir (Şekil 4.11). Eklenen eğilim çizgileri sayesinde o salım profilini tanımlayan determinasyon katsayısı (R^2), salım hız sabiti (k) ve salımın derecesi (n) değerleri hesaplanmıştır (Çizelge 4.8). Elde edilen R^2 değerleri birbirleri ile karşılaştırılmış ve en yüksek değere ait modelin o taşıyıcıya ait profili en iyi tanımladığına karar verilmiştir.



Şekil 4.11. Hazırlanan KLNlerden AA salım davranışının A) Sıfırncı-derece, B) Birinci-derece, C) Higuchi, D) Korsmeyer-Peppas ve E) Hixson-Crowell modeline göre hesaplanan profilleri

Çizelge 4.8. Hazırlanan KLNlerden AA salımına yönelik hesaplanan kinetik parametreler

		KLN _{P1}	KLN _{L2}	KLN ₆	KLN ₉	KLN ₉₋₂
Zero order	R ²	0,7666	0,5412	0,9814	0,9392	0,9297
	k	0,4961	0,5563	0,4000	0,4391	0,4581
First order	R ²	0,8787	0,7904	0,9982	0,9917	0,9928
	k	0,0087	0,0150	0,0055	0,0070	0,0065
Higuchi	R ²	0,9563	0,8489	0,9373	0,9719	0,9719
	k	0,0638	0,0798	0,0448	0,0511	0,0511
Korsmeyer - Peppas	R ²	0,9658	0,9357	0,9876	0,9852	0,9873
	k	0,0844	0,3301	0,0061	0,0169	0,0223
	n	0,4295	0,2123	0,9305	0,7413	0,6913
Hixson - Crowell	R ²	0,8444	0,7034	0,9950	0,9712	0,9680
	k	0,0024	0,0035	0,0016	0,0019	0,0020

Çizelge 4.8’de listelenen R² değerleri incelendiğinde, KLN_{P1} ve KLN_{L2} partiküllerinden gerçekleşen salımın; KLN₆, KLN₉ ve KLN₉₋₂ partiküllerinden olan salımdan farklı bir modele uygunluk gösterdiği görülmüştür. Her bir partikül için, hesaplanan R² değerlerine göre uygun olduğu tespit edilen kinetik modeller Çizelge 4.9’da listelenmiştir.

Korsmeyer-Peppas modeli, daha önce de anlatıldığı gibi, 1980li yıllarda geliştirilmiş basit empirik bir modeldir ve belirlenen süreçte salınan ilaç miktarını “n” gibi bir değerle kategorize edebilmeye olanak sağlamaktadır. Korsmeyer-Peppas modeli ile yapılan çalışmalara ve bu modelin teorik temeline bakıldığında, ilacın yaklaşık %60’lık salınan kısmındaki verilerin kullanıldığı görülmektedir. Eşitlik 2.4’te verilen formüle göre hesaplanan n değeri Çizelge 2.1’de verildiği gibi salım mekanizmasını karakterize etmektedir. KLN_{P1} ve KLN_{L2} için elde edilen n değerlerine bakıldığında, salımın Fick yasasına uyan (Fickian) salım olduğu görülmektedir. Literatürdeki in vitro ilaç salım çalışmalarına bakıldığında, salımın göreceli olarak hızlı şekilde gerçekleştiği, daha sonra ivmenin düşerek salımın yavaşladığı ve ardından bir plato bölgesine ulaştığı ilaç taşıyıcı sistemler için bu mekanizmanın geçerli olduğu görülmektedir. Elde edilen sonuçlara ve Şekil 4.10’da verilen grafiğe bakıldığında, KLN_{P1} ve KLN_{L2} için yapılan hesaplamalar

sonucunda ulaşılan salım modelinin bizim sistemimizi açıklamasının yanı sıra, sonuçların literatürle de uyumlu olduğu görölmektedir.

Çizelge 4.9. AA salım profilleri incelenen KLNlerin, hesaplanan R^2 değerlerine göre en uygun bulunan salım modelleri

İlacın Salındığı Taşıyıcı	Salım Modeli
KLN _{L2}	Korsmeyer-Peppas
KLN _{P1}	Korsmeyer-Peppas
KLN ₆	Birinci-derece
KLN ₉	Birinci-derece
KLN ₉₋₂	Birinci-derece

KLN₆, KLN₉ ve KLN₉₋₂ için aynı modeller kullanılarak hesaplamalarda elde edilen R^2 değerlerine bakıldığında, KLN_{P1} ve KLN_{L2}'den farklı olarak, "Birinci-derece modeli"nin daha uygun olduğu görölmektedir (izelge 4.9). Daha önce de verildiği gibi, Gibaldi ve Feldman'ın 1960lı yıllarda önerdiği bu model, salım yüzdesinin zamanla logaritmik olarak değiştiğini öne sürmektedir [95] (Eşitlik 2.2). Birinci-derece modeli ile açıklanabilen bir profile uygun olarak salınan ilaç, taşıyıcı ajanın içinde kalan ilaçla doğru orantılı olarak salınmaktadır. Literatüre bakıldığında, yüksek hidrofiliğe sahip ilaçların poroz taşıyıcılardan salımının genellikle Birinci-derece modeli ile açıklanabildiği görölmektedir. Ayrıca, oldukça önemli bir nokta olarak, Birinci-derece salım modeline uyan ilaç taşıyıcı sistemlerde ani salım (burst release) olmadığı, salımın kontrollü şekilde gerçekleştiği söylenebilmektedir. Bizim çalışmamız kapsamında hazırladığımız KLN₆, KLN₉ ve KLN₉₋₂ ile yapılan çalışmalarla elde edilen özellikle kısa zamanlı sonuçlara bakıldığında (şekil 4.10), Birinci-derece modele uygun olacak şekilde alımın yavaş ve düzgün şekilde gelişim gösterdiği ve özellikle KLN_{P1} ve KLN_{L2} partikülleriyle karşılaştırıldığında, daha önce açıklanan sebeplerden dolayı çok daha kontrollü şekilde salım yaptıkları görölmektedir.

Yapılan salım kinetiği modelleme çalışmaları sonucunda, tez kapsamında hazırlanan KLNler ile hidrofilik bir malzeme olan AA molekülünün salımı incelenmiş ve elde edilen sonuçlara bakıldığında, hedef uygulama yerine uygun olacak şekilde, daha hızlı ya da daha kontrollü biçimde salım yapabilecek ve literatürde sıklıkla ilaç salım kinetiğinin anlaşılması için kullanılan modeller ile açıklanabilecek partiküllerin sentezinin ve alım/salım çalışmalarının başarıyla gerçekleştirildiği söylenebilmektedir.

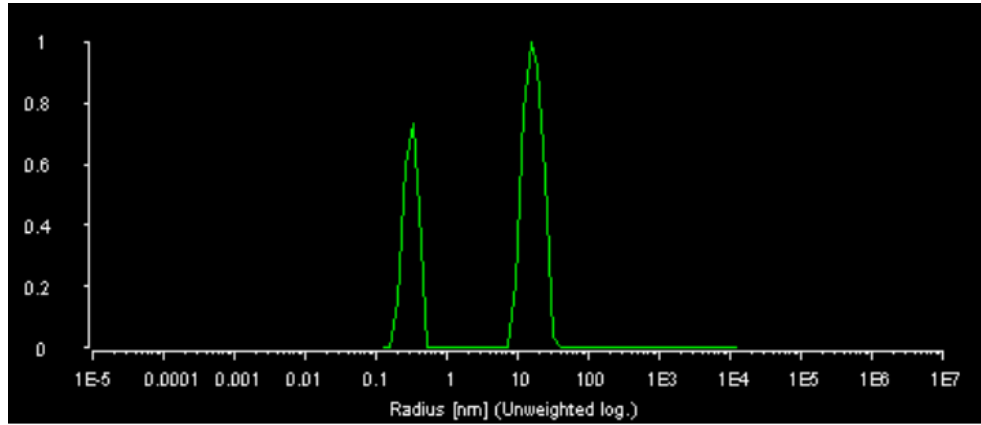
4.6. Kolloidal Mikrokapsüllerin Oluşturulması

KLNler ile yapılan stabilite ve ilaç alım/salım çalışmalarından elde edilen sonuçlara bakıldığında, hazırladığımız dayanımı yüksek ve biyouyumlu nanopartiküllerin bireysel olarak da biyomedikal ve farmasötik alanlarında ilaç taşınım sistemleri olarak kullanılabilmeği görülmüştür. Bu potansiyelin yanı sıra, kendi-kendine kümeleşme yöntemiyle nanopartiküllerin bireysel hallerinden daha fonksiyonel, daha çok işlevi aynı anda yerine getirebilecek ve birçok özelliği hazırlama aşamasında ayarlanarak kullanılması hedeflenen amaca yönelik olarak oluşturulabilecek akıllı malzemeler oluşturulabilmektedir. Farklı malzemelerin özelliklerinin tek bir bünyede toplanmasıyla elde edilebilecek bu işlevselliğin yanı sıra daha dayanıklı malzemelerin de bu yolla üretimi mümkündür. Literatürde, daha önce de detaylı şekilde anlatıldığı gibi, nanopartiküller kullanılarak çapraz bağlama yöntemi, konakçı-konuk ilişkisi ya da emülsiyon-şablon (Pickering emülsiyonları) yöntemi gibi çeşitli tekniklerle kendi-kendine kümeleşme çalışmalarının yapıldığı görülmektedir. Yaptığımız tez çalışmasında, KLNler kullanılarak kolloidal mikrokapsül oluşturulma aşamasında “Tabaka-Tabaka Kaplama Yöntemi (TTK)” kullanılmıştır. Literatürde TTK yöntemi protein saflaştırılması, korozyon kontrolü, biyomedikal uygulamalar ve ultragüçlü malzemelerin eldesi gibi birçok uygulamada sıklıkla kullanılmaktadır [77]. TTK yöntemi, seçilen bir çekirdek malzeme üzerinde, kabuk olarak kullanılacak zıt yüklü malzemelerin elektrostatik etkileşimlerinden faydalanılarak birbiri ardında kaplanması ile filmler oluşturulması temeline dayanmaktadır. Yapılan çalışmada, hazırlanan KLNlerin mikrokapsülün kabuk kısmını oluşturmasıyla oluşturulan kolloidal mikrokapsüller, hem kapsülün kabuk kısmının ilaç taşıma kapasitesi hem de şablon olarak kullanılacak malzemenin ortamdan uzaklaştırılmasıyla elde

edilecek olan çekirdek kısmının kapasitesi düşünülürken, oldukça iyi bir alternatif olarak değerlendirilmektedir. Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde, polistiren (PS) ya da melamin formaldehit (MF) gibi farklı malzemelerin şablon olarak kullanıldığı görülmektedir [15]. Kabuk malzemesi olarak ise genellikle sodyum polistiren sulfonat (PSS) ve polialilamin hidroklorür (PAH) polielektrolitlerinin kullanıldığı, ancak bunun yanı sıra kabuk malzemesinin daha fonksiyonel olmasıyla yapıya yeni işlevlerin katılması adına da bazı çalışmalarda metalik nanopartiküllerin tercih edildiği görülmektedir [75]. Bizim yaptığımız çalışmada temel kabuk malzemelerinden biri olarak yine çalışmamız kapsamında sentezlediğimiz, amacımıza en iyi hizmet edebilecek KLNlerden faydalanılmıştır. Negatif yüklü malzeme olarak KLNler kullanılırken, elektrostatik etkileşimle kaplanacak pozitif yüklü kabuk malzemesi olarak yine laboratuvarımızda tez çalışması kapsamında "Tohum-Büyütme Yöntemi" ile sentezlediğimiz küresel AuNPlerden faydalanılmıştır. Yapının dayanımının artırılması ve kontrollü ilaç salım özelliğinin geliştirilmesi adına da literatürde biyoyumluluğu sayesinde özellikle biyomedikal ve farmasötik alanlarında sıklıkla kullanıldığı bilinen [116] doğal bir polisakkarit olan kitosan (CHI) yine pozitif yüklü bir diğer kabuk malzemesi olarak tercih edilmiştir. Çekirdek malzeme olarak ise öncelikle, özellikle miktar ve inkübasyon süresinin optimize edilebilmesi için, dayanıklı bir malzeme olduğu ve literatürde yine TTK yöntemi ile mikrokürelerin hazırlanması için sıklıkla kullanılan aminlenmiş pozitif yüklü PS partiküller kullanılmıştır. Ardından çalışmanın bu aşamasında edinilen bilgilerden faydalanılarak, ikinci bir çekirdek malzeme olarak Ibuprofen kristalleri (IBU) kullanılmıştır. IBU steroid yapıda olmayan bir antiinflamatuvar etken maddesidir ve literatürde birçok kontrollü ilaç çalışmasında, taşınması hedeflenen etken madde olarak kullanılmaktadır [117].Yapılan tez çalışmasında, koloidal mikroküre oluşturulması için çekirdek malzeme olarak IBU kristallerinin kullanılmasıyla, hem çekirdek hem de kabuk kısmında birbirinden farklı aktif farmasötik etken madde ve biyosensör uygulamalarında kullanılacak AuNPlar taşınarak hem hastalıkların teşhisinde hem de tedavisinde kullanılacak biyoyumlu, multifonksiyonel ve akıllı sistemlerin geliştirilmesi başarıyla tamamlanmış olmaktadır. Koloidal mikrokapsüllerin hazırlanmasının öncesinde kabuk malzemelerden biri olarak kullanılması tercih edilen AuNPlar sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir.

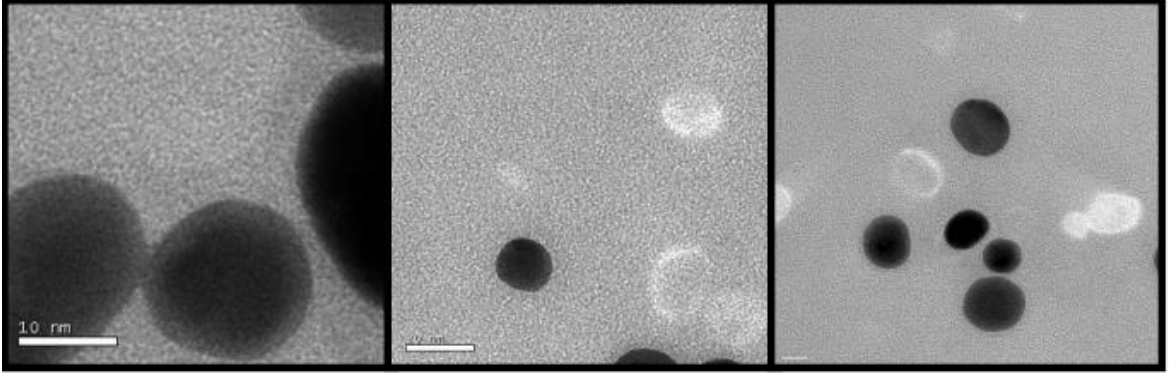
Altın Nanopartiküllerin Sentezi ve Karakterizasyonu

Şekil 4.12’de tohum-büyütme yöntemi kullanılarak hazırlanmış küre şeklindeki altın nanopartiküllerin LS sonucu görülmektedir. Yaklaşık 13 nm civarında çıkmış olan yüksek şiddetteki pik, çözelti içinde bulunan altın nanopartiküllerin ortalama yarıçapının yaklaşık bu civarda olduğunu göstermektedir. Literatüre bakıldığında, elde edilen LS sonucunun, uygulanan sentez yöntemiyle uygun olduğu görülmektedir [98]. 0.1 nm ile 1 nm arasında çıkan orta şiddetteki pikin, daha önce de söylendiği gibi, henüz büyümesini tamamlayamamış olan tohum nanopartiküllere ait olduğu düşünülmektedir. Bu durumda da, reaksiyon veriminin %100 gerçekleşmediği fakat sentezlenen tohumların büyük bir çoğunluğunun büyüme reaksiyonuna katılarak küresel altın nanopartikülleri oluşturduğu çıkarımı yapılabilmektedir.

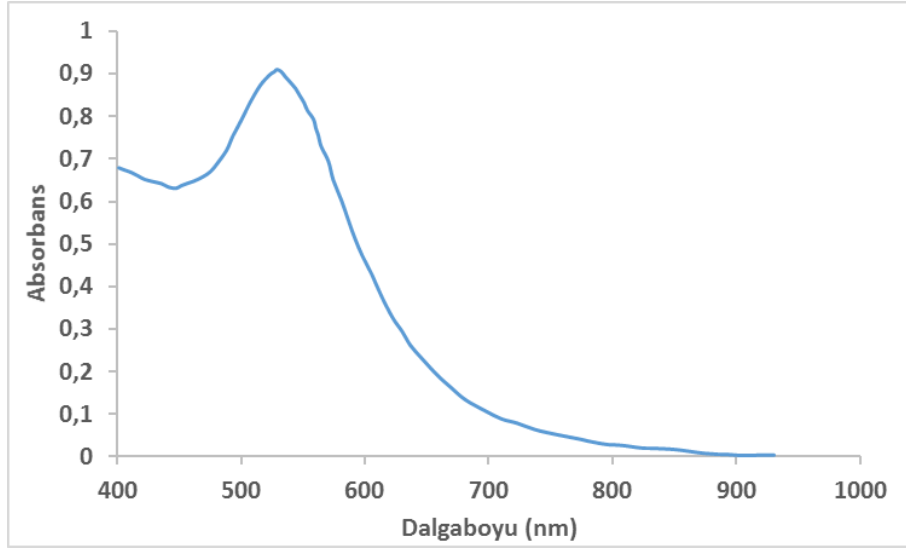


Şekil 4.12. Tohum-Büyütme Yöntemi ile sentezlenmiş küre şeklindeki AuNPlerin LS sonucu

Şekil 4.13’te tohum-büyütme yöntemi kullanılarak hazırlanmış küre şeklindeki altın nanopartiküllerin TEM görüntüleri görülmektedir. Görüntülere bakıldığında ortalama olarak, yaklaşık 25 nm çap boyutunda, küresel şekilli altın nanopartiküllerin sentezlenebildiği görülmüştür. Bu sonuçların LS sonucuyla ve literatürdeki değerlerle [98] de uyumlu olduğu söylenebilmektedir.



Şekil 4.13. Tohum-Büyütme Yöntemi ile sentezlenmiş küre şeklindeki AuNPlerin TEM sonuçları



Şekil 4.14. Tohum-Büyütme Yöntemi ile sentezlenmiş küre şeklindeki AuNPlerin UV-vis spektroskopi sonucu

Şekil 4.14'de tohum-büyütme yöntemiyle hazırlanmış küre şeklindeki altın nanopartiküllerin UV sonucu görülmektedir. Küre şeklindeki altın nanopartiküller, şekilleri itibariyle tek eksenli oldukları için, elektron salınımları da tek ekseninde gerçekleşmekte ve bu nedenle de tek bir plazmon rezonansı oluşturmaktadırlar. Şekil 4.14'de görüldüğü gibi spektrum boyunca 528 nm dalga boyunda tek bir pik görülmektedir. Literatüre bakıldığında, çalışma kapsamında kullanılan yöntemle sentezlenen küre şeklindeki altın nanopartiküllerin pik vermesi gereken dalga boyu da bu değerdir [98]. Yaklaşık 30 nm çapındaki küre şekilli altın nanopartiküllerin

pik verdiği dalga boyuna karşılık gelen bu değer, aynı partiküllerle elde edilmiş LS ve TEM sonuçlarıyla da uyumluluk göstermektedir.

4.6.1. Polistiren (PS) Lateks Partiküller Kullanılarak Mikrokapsül Oluşturulması

PS partiküllerin çekirdek malzeme olarak kullanıldığı, çalışmanın bu kısmında öncelikle tüm kabuk ve çekirdek malzemelerinin zeta potansiyel değerleri ölçülmüştür. Çekirdek üzerine aralarındaki elektrostatik etkileşimden faydalanılarak kabuk kısımların kaplanması planlandığı için malzemelerin zeta potansiyel değerleri çalışmanın istenen şekilde ilerleyebilmesi ve optimizasyonun yapılabilmesi için oldukça önemli bir parametredir.

Çizelge 4.10. TTK yöntemiyle kolloidal mikrokapsül hazırlanmasında kullanılan PS, AuNP, KLN_{P1} ve KLN_{L1} partiküllerine ait zeta potansiyel değerleri

	Zeta Potansiyel (mV)
PS	+27,6±2,2
AuNP	+25,8±2,2
KLN _{P1}	-28,2±1,9
KLN _{L1}	-42,4±1,1

KLNler için 1×10^{-4} g/ml, AuNPlar için 5.25×10^{11} partikül/ml ve PS partiküller için de 2.8×10^{-5} g/ml derişiminde sulu çözeltiler kullanılarak ölçülen zeta potansiyel değerleri Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Aminlenmiş PS partiküller pozitif yüklü olduklarından (Çizelge 4.10) TTK yöntemiyle mikroküre oluşturulması işlemine ilk olarak negatif yüklü KLNler ile başlanmıştır. Çalışmanın gerçekleştirilen ilk aşamasında, KLN_{P1} ile deneyler gerçekleştirilmiştir. Deneysel yöntemlerin verildiği kısımda bahsedilen oranlarda hazırlanan PS dispersiyonu üzerine KLN çözeltileri eklenmiştir. İnkübasyon süresinin optimizasyonu için 3 set şeklinde yürütölen çalışmada 10 dakika, 30 dakika ve 18 saat (1080 dakika) gibi 3 ayrı sürede inkübasyon tamamlanıp zeta potansiyel ölçümleri alınmıştır. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde (Çizelge

4.11), PS partikül yüzeyine KLN adsorpsiyonunun ilk 30 dakika içinde tamamlandığı görülmüştür ve çalışmanın geri kalan kısmında her bir tabaka için 30 dakika inkübasyon uygulanmıştır.

Çizelge 4.11. Pozitif yüklü PS partiküller üzerine KLN_{P1} kaplanması sonucunda zeta-potansiyel değerinin zamanla değişimi

İnkübasyon Süresi (dak)	Zeta-potansiyel değeri (mV)
10	-19,40±2,1
30	-27,21±1,9
1080	-27,72±2,3

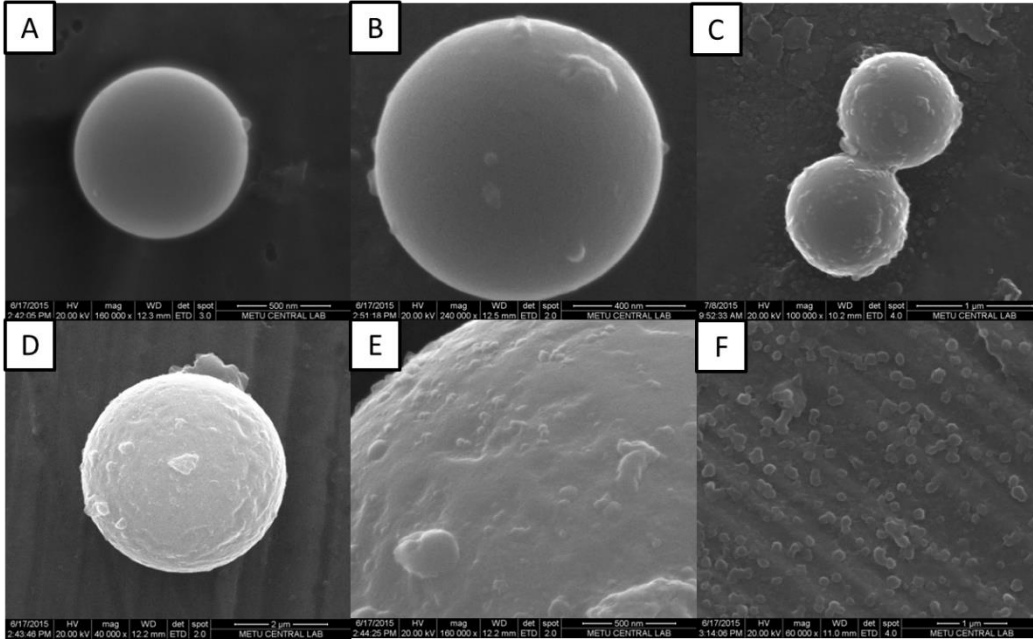
Çizelge 4.12 PS partiküller üzerine kabuk malzeme olarak kullanılan KLN ve AuNPlerin kullanım miktarlarına göre zeta potansiyel değişimleri

KLN Tabaka sayısı	KLN miktarı	Kaplanma durumu	Zeta potansiyel değeri (mV)	
			Kaplamadan önce	Kapladıktan sonra
1	7,89x10 ⁹	-	+27,6±2,2	+8,4±1,9
1	1,97x10 ¹⁰	-	+27,6±2,2	-10,2±2,3
1	3,95x10 ¹⁰	+	+27,6±2,2	-27,2±1,9
2	3,95x10 ¹⁰	-	+24,8±1,4	-13,4±1,4
2	7,89x10 ¹⁰	+	+24,8±1,4	-23,4±1,1
2	11,84x10 ¹⁰	+	+24,8±1,4	-23,7±1,0

İnkübasyon süresinin yanı sıra, kullanılacak KLN ve AuNP miktarları da optimize edilmiştir. Öncelikle hazırlanan KLN dispersiyonlarının ortalama boyutları ve kullanılan lipit malzeme miktarı esas alınarak partikül derişimi hesaplaması yapılmıştır (Ek 4). Tabakaların kaplanma verimi ve miktar optimizasyonu (Çizelge 4.12), PS partiküllerin zeta potansiyel (Şekil 4.16) ölçümleri yapılarak ve SEM görüntüleri (Şekil 4.15) alınarak analizlenmiştir. Çizelge 4.12’de verilen verilere bakıldığında PS partiküller üzerine KLN ile oluşturulan ilk ve ikinci basamak için kullanılan partikül miktarları ve kaplanmanın başarı durumu görülmektedir. İlk olarak Çizelge 4.12’de belirtilen miktarda KLN ile denemelere başlanmış ($7,89 \times 10^9$ partikül) ve $+27,6 \pm 2,2$ mV zeta potansiyel değerine sahip PS partiküller üzerine ilk kaplama gerçekleştirilmiştir. Yapılan 30 dakikalık inkübasyon denemesi sonucunda Çizelge 4.12’de verildiği gibi, değer pozitiften negatife dönüştürülemediği ancak $+8,4 \pm 1,9$ mV’a düşürülebildiği görülmüştür. Bunun üzerine, daha önce inkübasyon süresiyle ilgili optimizasyon çalışması yapılmış olsa dahi, sonucun değişip değişmeyeceğinden emin olmak için toplam 120 dakika inkübasyon süreci devam ettirilmiş ancak süre sonunda zeta potansiyel değerinde kayda değer bir değişim olmadığı görülmüştür. Bunun üzerine, 30 dakikalık inkübasyon süresinin ortamda bulunan ve kaplanma potansiyeli olan partiküllerin PS yüzeyine kaplanması anlamında yeterli olduğu görülürken, miktar konusunda değişiklik yapılması gerektiği izlenimine varılmıştır. Bir sonraki denemede KLN sayısı 2,5 kat arttırılmış ve zeta potansiyel ölçümü alınmıştır. Elde edilen sonuca bakıldığında değer pozitiften negatife dönüştüğü ($-10,2 \pm 2,3$ mV) ancak KLN_{P1} ’in kendi zeta potansiyel değerinden ($-28,2 \pm 1,9$ mV) oldukça uzakta bulunduğu görülmüştür. Bu durum kaplanma veriminin arttırabileceği düşüncesini doğurmuş ve KLN miktarı 2 kat daha arttırılarak kaplama çalışması tekrarlanmıştır. Elde edilen son zeta potansiyel değerine bakıldığında, kaplanmanın yüksek verimle tamamlandığına kanaat getirilmiş ve kullanılan KLN miktarının PS üzerine yapılacak olan ilk kaplama için yeterli olduğuna karar verilmiştir.

PS partiküller üzerine KLNler ile 1. basamak kaplama optimizasyon çalışmaları, zeta potansiyel değerleriyle takip edildikten sonra, daha önce de söylendiği gibi SEM görüntüleri alınarak da incelenmiştir. Şekil 4.15 A’da üzerine kaplama yapılmamış PS partikül görülmektedir. B ve C görüntülerinde ise ilk ve ikinci optimizasyon basamağı sonucunda elde edilen PS partikül yüzeyi görülmektedir.

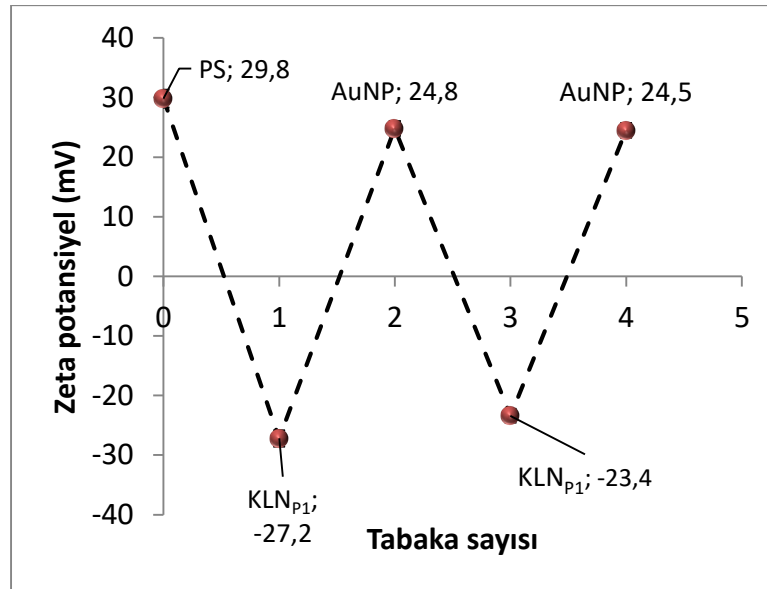
Elde edilen görüntülere bakıldığında, zeta potansiyelde neden olan değişimlerin, yüzeyin tamamını olmasa da bir kısmını kaplayan KLNlerden kaynaklandığı ancak bu kaplamanın, zeta potansiyel değerlerinden de anlaşıldığı üzere yüksek verimde olmadığı sonucuna varılabilmektedir. Şekil 4.15 D, E ve F'ye bakıldığında, optimizasyon sonucunda elde edilen yüzey kaplamasında KLNlerin, özellikle A, B ve C görüntüleriyle karşılaştırıldığında oldukça yoğun şekilde yüzeyi doldurduğu ve partikül yapısı bozulmadan yüzeyde kalabildiği açıkça fark edilmektedir. Elde edilen bu görüntü sonrasında, PS partiküllerin 1. katman yüzey kaplaması için kullanılacak KLN miktarına karar verilmiş ve çalışmanın geri kalan kısmında bu değerde çalışılmıştır.



Şekil 4.15. A) Yüzeyi boş PS partikülüne; B) ve C) Optimizasyon sürecinde denenen KLN miktarlarıyla inkübe edilen PS partikülüne; D, E ve F) Optimizasyon sonucunda karar verilen KLN miktarıyla inkübe edilmiş PS yüzeyine ait SEM görüntüleri

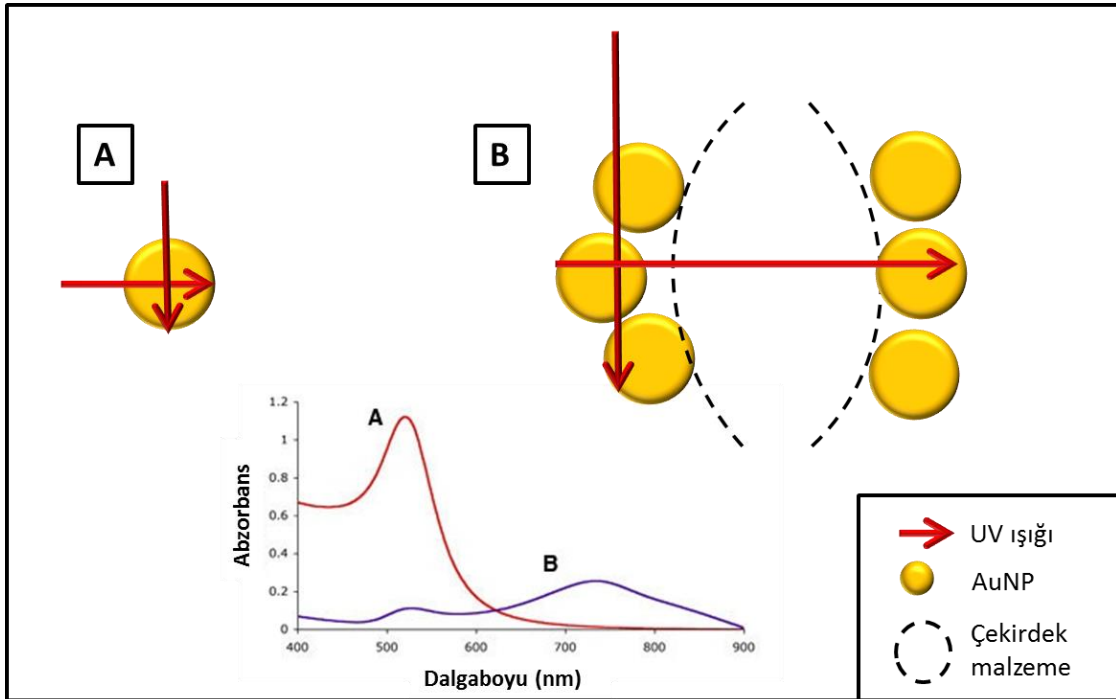
Şekil 4.16 her bir tabaka oluşumu sonrasında zeta potansiyel değerinin değişimi görülmektedir. KLN_{P1} partikülleri ile yapılan optimizasyon çalışması sonucunda oluşan negatif yüklü yüzey üzerine, pozitif yüklü AuNPler ile kaplama yapılmıştır. Elde edilen zeta potansiyel değerine bakıldığında $24,8 \pm 1,2$ mV ile AuNPlerin

orijinal zeta potansiyel değerine oldukça yakın bir sonuç elde edilmiş ve dolayısıyla ilk denemede kullanılan partikül miktarının ($2,63 \times 10^{11}$ adet AuNP) yeterli olduğuna kanaat getirilmiştir. Pozitif dönen yüzey yükünün ardından toplamda 3. ve KLNler kullanılarak hazırlanan 2. katman hazırlanmak üzere tekrar KLNler ile inkübasyon yapılmıştır. İlk deneme olarak, ilk tabakanın hazırlanmasında kullanılan miktarla aynı miktar KLN_{P1} kullanılmış ancak Çizelge 4.12’de de listelenen sonuçlara bakıldığında görüldüğü gibi, yüzey yükü negatif değere dönüştürülse dahi, yüzey maksimum verimle kaplanamamıştır. İkinci bir optimizasyon basamağı olarak kullanılan KLN miktarı 2 katına çıkarılmış ve bu sayede zeta potansiyel değerinin oldukça yükseldiği ve $-23,7 \pm 1,1$ değerine ulaştığı görülmüştür. Elde edilen zeta potansiyel değeri oldukça yüksek ve kaplanma verimi açısından tatmin edici olsa dahi, değerin daha da yükseltilemeyeceğinin test edilmesi için kullanılan KLN miktarı son değerın 1.5 katı fazla olacak şekilde artırılarak tekrar inkübe edilmiştir. Çizelge 4.12’de listelenen sonuçlara bakıldığında, ulaşılan son değerin 1,5 kat daha az KLN ile ulaşılan değerden istatistiksel olarak kayda değer bir farkının olmadığı kanaatine varılarak, $7,89 \times 10^{10}$ adet KLNnin yüzey kaplaması için yeterli olduğuna karar verilmiştir.



Şekil 4.16. PS partikül üzerine kaplanan malzemeye göre zeta-potansiyel değişimi

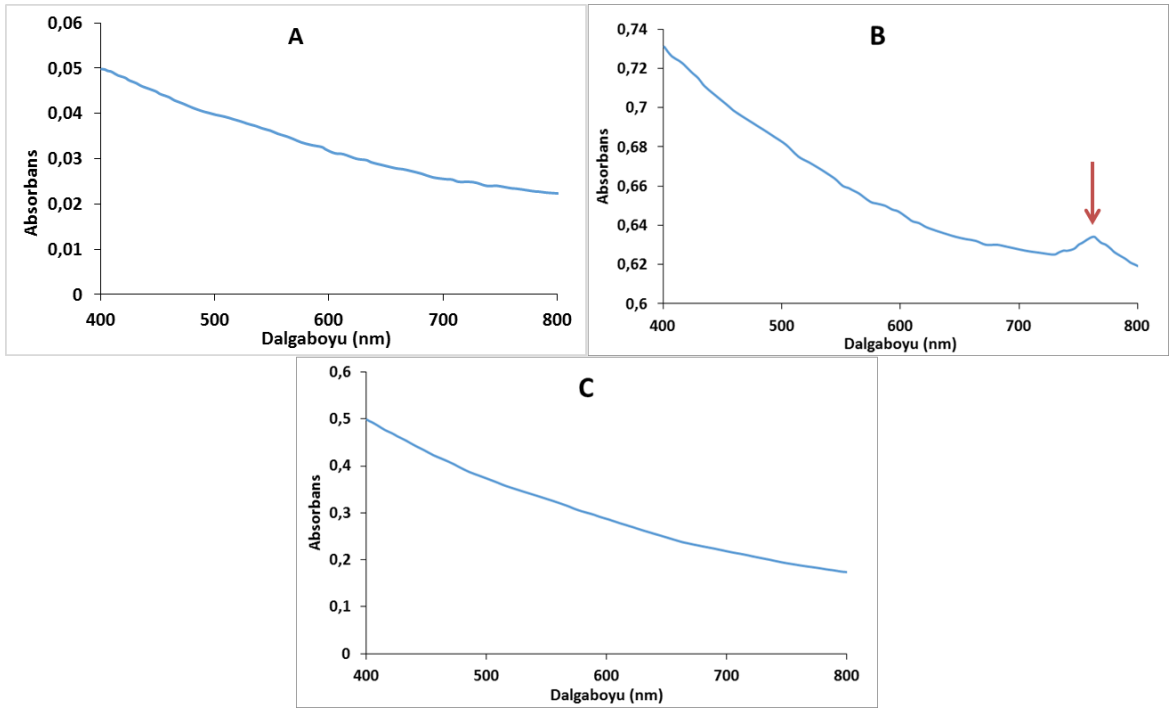
Zeta potansiyel değişimlerinin ve SEM görüntülerinin yanı sıra, yüzeyde AuNP varlığının ispatlanması için AuNPlerin gelişmiş optik özelliklerinden de faydalanılmıştır. Genel bilgiler kısmında da bahsedildiği gibi, AuNPlerin boyutuna, şekline ve içinde bulunduğu ortama bağlı olmak üzere, üzerlerine gelen ışık iletim bandı elektronlarının belli bir periyotta salınımını söz konusudur (bölgesel yüzey plazmon rezonansı). AuNPlerin küresel olması durumunda tek bir plazmon bandı oluşurken, anizotropik nanopartiküllerde (kümeleşme vb.) elektron salınımının iki farklı ekseninde olması nedeniyle iki plazmon bandı oluşmaktadır. “Enine” plazmon bandı 520 nm civarında oluşurken, “boyuna” plazmon bandı daha yüksek dalga boylarında (> 700 nm) görülmektedir (Şekil 4.17).



Şekil 4.17. UV-vis ışığı altında AuNPlere ait “enine” ve “boyuna” plazmon bandı oluşumunun şematik görünümü

Yapılan çalışmanın bu aşamasında AuNPlerde görülen bu boyut değişimine karşı cevap niteliğindeki plazmon bandının yer değiştirmesi özelliğinden faydalanılması amaçlanarak, PS partiküllerin öncelikle yüzeyleri kaplanmadan UV-vis ölçümleri alınmıştır. Şekil 4.18’de verilen UV-vis spektroskopisine bakıldığında, yüzeyi kaplı olmayan PS partiküllerin (A) ilgilenilen bölgede (400-1100 nm) herhangi bir plazmon bandı oluşturmadığı görülmektedir. AuNPler kaplandıktan sonra elde

edilen sonuca bakıldığında (B), 765 nm’de yeni bir pikin oluşumu tespit edilmiştir. Küresel AuNPLere ait ~530 nm civarında oluşan “enine” plazmon rezonansından farklı olarak bu pikin anizotropik AuNPLerde olduğu gibi daha yüksek dalga boyu değerlerine kaydığı görülmektedir. Şekil 4.17’de gösterildiği gibi bu duruma neden olarak, “enine” ya da “boyuna” her yönden gelen UV ışığının artık bireysel olarak AuNPLere denk gelemediği, ancak birden fazla AuNPyi aynı anda geçerek anizotropik partikül yapısının boyuna plazmon rezonansını ölçtüğü ya da çekirdek malzemenin diğer yarısında bulunan AuNP ile birlikte yine birden fazla AuNPye ait boyuna plazmon rezonansına ait dalgaboyunu göstermesiyle açıklanabilmektedir. Şekil 4.18 (C)’de de, AuNPLerin ardından tekrar yüzeye KLNler kaplandığında elde edilen sonuç görülmektedir. Oluşan UV-vis spektrumuna bakıldığında, (B)’de görülüşü gibi 765 nm’de oluşan pikin yok olduğu görülmüştür. Bu durum, KLNlerin yüzeyi kapladığının bir başka kanıtı niteliğindedir.

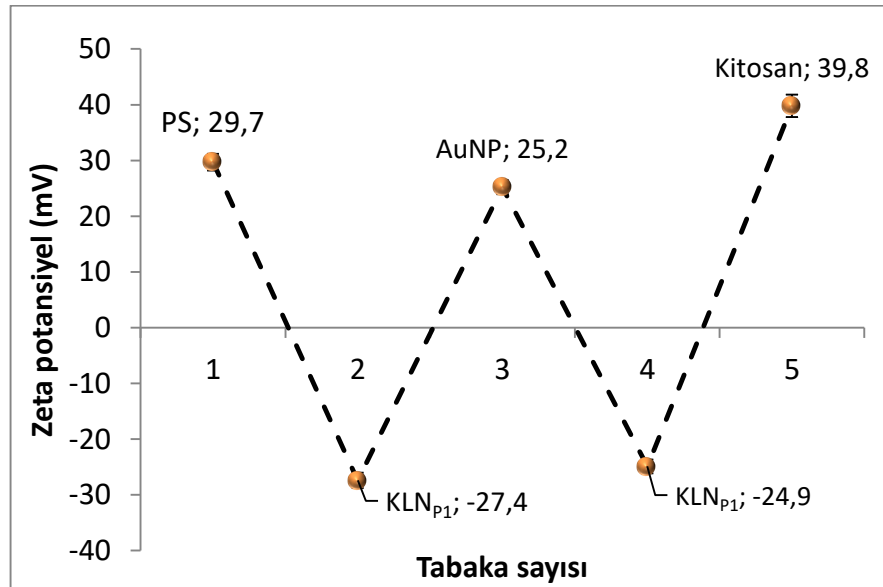


Şekil 4.18. (A) PS, (B) PS-KLN-AuNP, (C) PS-KLN-AuNP-KLN partiküllerine ait UV vis spektroskopisi sonuçları

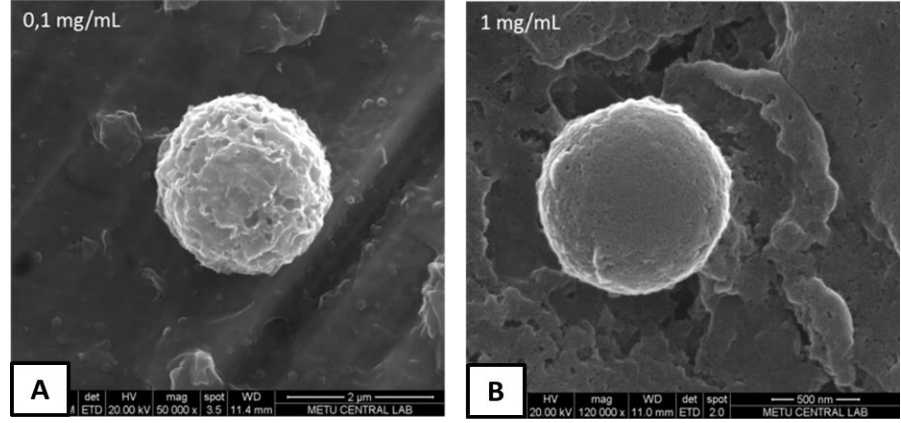
Elde edilen zeta-potansiyeli değişim sonuçları, SEM görüntüleri ve UV-vis spektrumlarına bakıldığında, çekirdek malzeme olarak tercih edilen aminlenmiş PS

partiküller üzerine, yapılan süre ve miktar optimizasyonu çalışmaları sonucunda KLN_{P1} ve AuNPlar kabuk malzemesi kullanılarak koloidal mikrokapsüllerin başarıyla hazırlanabildiği görülmüştür.

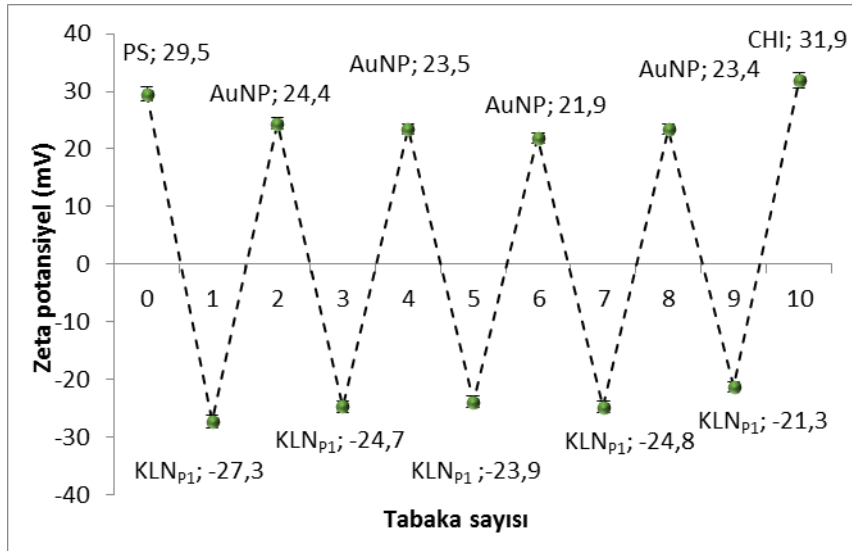
Kabuk malzemesi olarak kitosan kullanıldığı koşulda, inkübasyon süresinin yanı sıra, partikül miktarı ayarlanmasından farklı olarak bu kez de derişim anlamında bir optimizasyonun yapılmasına gerek duyulmuştur. Farklı derişimlerde hazırlanan kitosan çözeltileriyle kaplama çalışmaları yapılmış ve zeta potansiyel değişimleri izlenmiştir. Elde edilen sonuçlara bakıldığında 0.1 mg/L derişim değerinden itibaren zeta potansiyel sonucunun negatif bölgeden pozitif bölgeye geçiş yapabildiği görülmüştür. 0.1 mg/L ve 1 mg/L derişim değerleri için kitosan ile son tabaka kaplandığında zeta potansiyel değerinin yaklaşık eşit değere ulaştığı ölçülmüştür ($+38,0 \pm 2,3$ mV) (Şekil 4.19). Ancak kaplama veriminin daha gerçekçi şekilde takip edilebilmesi için bu iki yapının da SEM görüntüleri alınmıştır. Kitosanın son tabaka olarak kullanıldığı koşulda özellikle yapının dayanımını da arttıracığı düşünöldüğünde kitosan kaplamasının homojen ve yüksek verimde olması önem kazanmaktadır. Elde edilen SEM görüntülerine bakıldığında (Şekil 4.20) 1 mg/mL derişimle çalışıldığı koşulda kitosan tabakasının çok daha sıkı, homojen ve 0,1 mg/mL ile karşılaştırıldığında oldukça verimli şekilde kaplanabildiği görülmüştür. Bu nedenden dolayı çalışmanın geri kalan kısmında 1 mg/mL kitosan derişiminde çalışılmaya devam edilmiştir.



Şekil 4.19. PS partikül üzerine kaplanan malzemeye göre zeta-potansiyel değişimi



Şekil 4.20. Yüzeyi KLN ile kaplanmış PS partikülünün üstüne son katman olarak **A)** 0.1 mg/mL ve **B)** 1 mg/mL derişimlerde kitosan kaplanmış PS yüzeyine ait SEM görüntüleri



Şekil 4.21 PS partikül üzerine KLN_{p1}, AuNP ve Kitosan kullanılarak yapılan 10 kat kaplama sonucunda elde edilen zeta-potansiyel değişimi

PS partiküller ile ilk 4 katman için yapılan başarılı optimizasyon ve kaplama çalışmaları ile yeterli miktar partikül ve yeterli süre inkübasyon sayesinde tabaka sayısının artırılabilceği kanaatine varılmıştır. Varılan bu sonucu test etmek amacıyla 4. tabakada AuNP ile kaplama yapıldıktan sonra tekrar KLN_{p1} ve AuNP, en son basamak olarak da kitosan kullanılarak toplam 10 katmanlı mikrokapsüller oluşturulmuştur. Şekil 4.21’de verilen zeta potansiyel değişimlerine ve Çizelge 4.13’te verilen değerlere bakıldığında, 30 dakika inkübasyon süresi, yeterli

miktarda partikül ve kullandığımız TTK yöntemi sayesinde, hedeflenen amaca yönelik olacak şekilde mikrokapsüllerin geliştirilebileceği ispatlanmıştır.

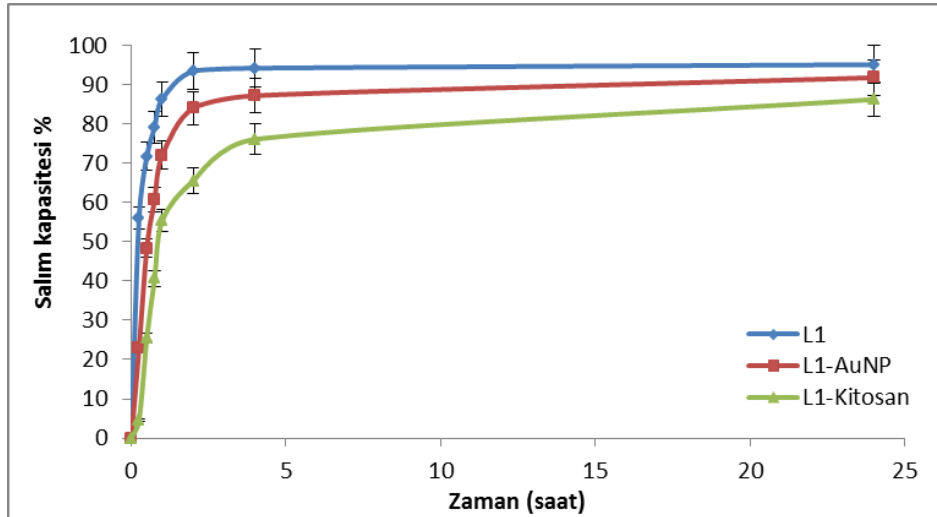
Çizelge 4.13 PS partiküller üzerine kabuk malzeme olarak kullanılan KLN ve AuNPlar ile yapılan 9 katman kaplama sonucunda, partiküllerin kullanım miktarlarına göre zeta potansiyel değişimleri

Tabaka sayısı	KLN miktarı	AuNP miktarı	Zeta potansiyel değeri (mV)
0	-	-	+29,5±1,2
1	3,95x10 ¹⁰	-	-27,3±1,5
2	-	2,63x10 ¹¹	+24,4±1,3
3	7,89x10 ¹⁰	-	-24,7±1,3
4	-	2,63x10 ¹¹	+23,5±1,6
5	7,89x10 ¹⁰	-	-23,9±1,5
6	-	2,63x10 ¹¹	+21,9±2,7
7	1,58x10 ¹¹	-	-24,8±1,6
8	-	5,26x10 ¹¹	+23,4±1,5
9	2,37x10 ¹¹	-	+21,3±1,5

Hazırlanan bu yeni, çok fonksiyonel ve akıllı yapıların en önemli kullanım amaçları ve diğer ilaç taşıyıcı sistemlerinden işlev bakımından en önemli farkı, daha önce de söylendiği gibi, KLN kullanılan her bir tabakaya ilaç yüklenmesiyle, taşınabilecek ilaç kapasitesinin artırılabilmesi ve aynı zamanda tek bir bünyede

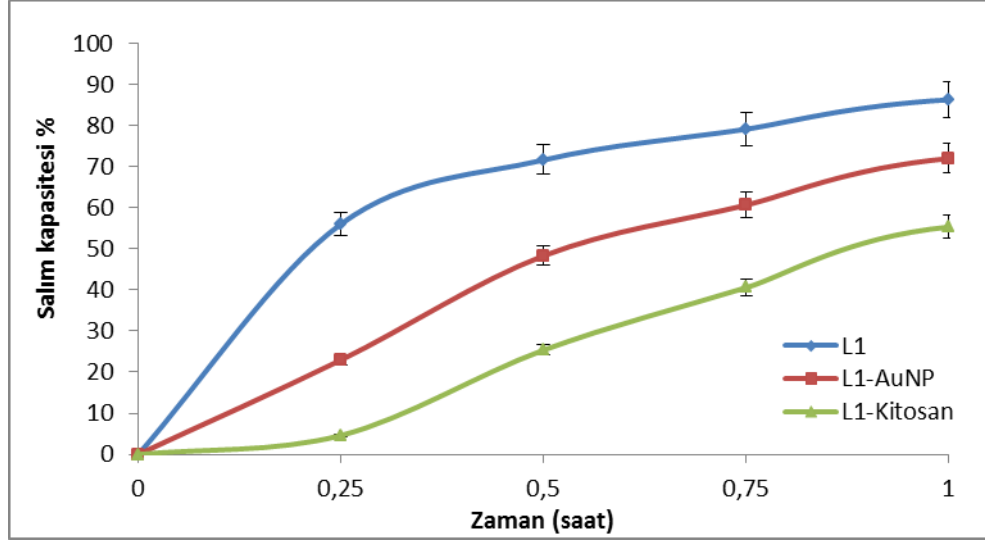
biyosensör olarak da kullanılabilen farklı malzemelerin taşınmasıyla tek seferde birden fazla biyomedikal ajanın yerine kullanılabilmesidir. Bu işlemlere ek olarak, kabuk malzemesi olarak kullanılacak ilaç yüklenmiş KLNlerin üzerine, farklı katmanların kaplanması olmasının ilaç salım hızını da etkileyebileceği düşünülmektedir. Bu fonksiyon sayesinde, tabaka sayısının değiştirilmesiyle ilaç salım hızı istenen ölçüde yavaşlatılabilecek ya da hızlandırılabilir. Bu amaca hizmet etmesi için çalışmamızın bu kısmında KLN_{P1} ile yapılan çalışmalara ek olarak, AA yüklenmiş KLN_{L1} ile çalışmalar devam ettirilmiştir. Partikül olarak KLN_{L1} seçilmesinin en önemli stratejik nedeni, daha önce detaylı şekilde anlatıldığı gibi, yüksek hidrofiliğe sahip bir etken madde olan AA molekülünün KLN_{L1} partikülünden salımının diğerleri ile karşılaştırıldığında daha kontrolsüz ve ani salımının (burst release) daha yüksek oranda olmasıdır.

Çalışmanın bu kısmında, daha önce kullanılan miktar ve prosedürle aynı olacak şekilde PS, KLN_{L1} ve AuNP partikülleri kullanılmıştır. Esas amaç olarak, kabuk kısmında kullanılan KLN_{L1} partikülünden AA salım davranışının izlenmesi ve bu davranışta gerçekleşen değişimlerin gözlemlenmesi hedeflendiğinden, KLN_{L1} partikülünün üzerine son tabaka olarak AuNP ya da kitosan kullanılmıştır.



Şekil 4.22. Çekirdek malzemesi olarak PS partikül ve kabuk malzemesi olarak da AA yüklü KLN_{L1}, AuNP ya da kitosan kullanılarak TTK yöntemiyle hazırlanan ilaç taşıyıcı sistemden salınan AA yüzdesinin zamanla değişimi

Şekil 4.22’de mavi çizgi ile verilen sonuçta, PS partiküller KLN_{L1} ile kaplanmış ve üzerine başka herhangi bir malzeme ile kaplama yapılmamıştır. Bu çalışma kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Kırmızı çizgi ile verilen sonuçta, KLN_{L1} üzerine AuNP ile kaplama yapılırken, yeşil ile verilen sonuçta son tabaka olarak AuNP yerine kitosan kullanılmıştır.



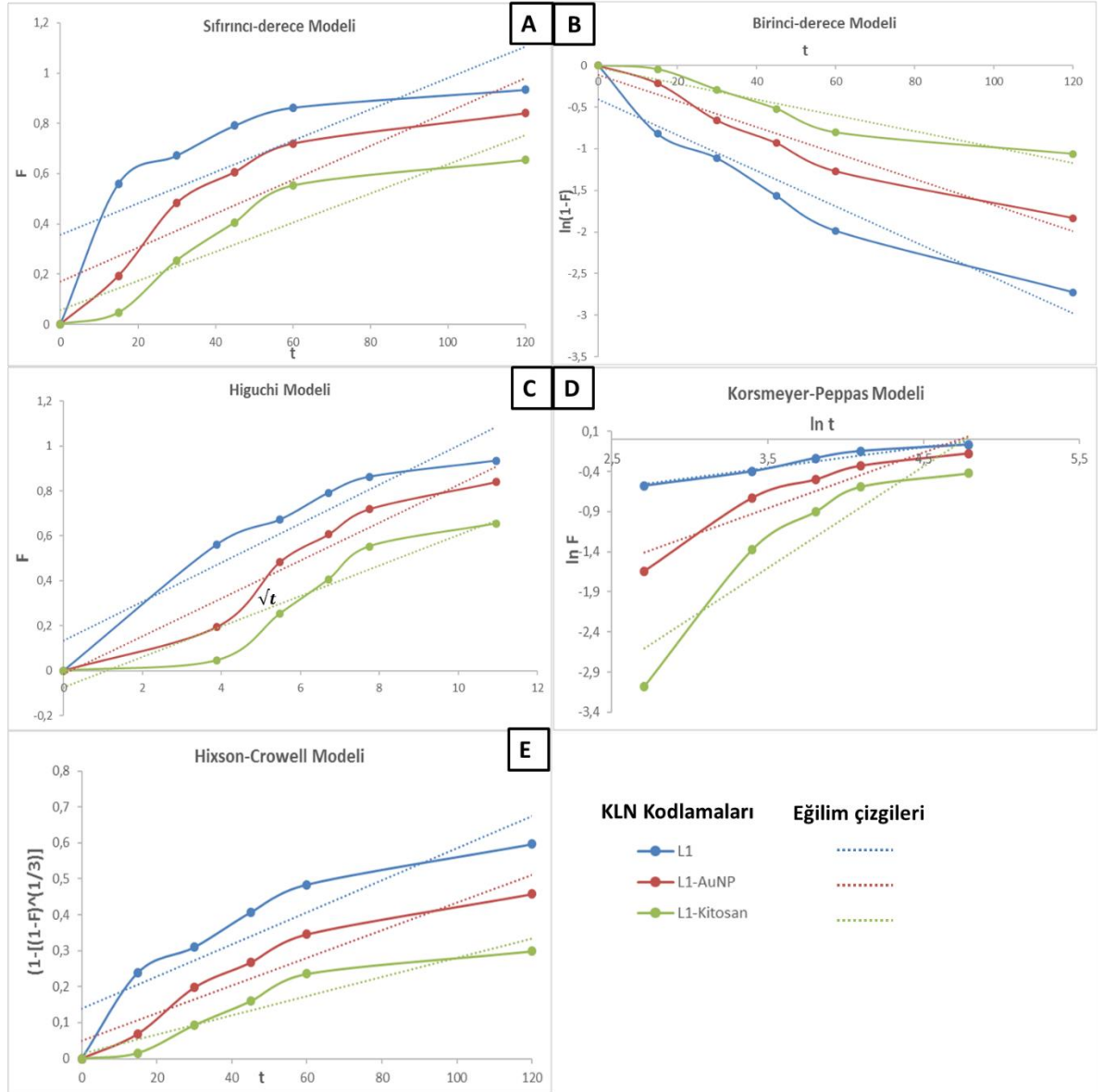
Şekil 4.23. Çekirdek malzemesi olarak PS partikül ve kabuk malzemesi olarak da AA yüklü KLN_{L1} , AuNP ya da kitosan kullanılarak TTK yöntemiyle hazırlanan ilaç taşıyıcı sistemden salınan AA yüzdesinin kısa-zaman davranışı

Elde edilen sonuçların daha doğru değerlendirilebilmesi için Şekil 4.23’te verilen kısa-zaman sonuçlarına bakıldığında, KLN_{L1} ’in üzerine TTK yöntemiyle kaplama yapıldığında salım davranışının kayda değer bir şekilde değişim gösterdiği görülmektedir.

Son tabakası AuNP ve kitosan olan iki koşul birbiriyle karşılaştırıldığında, kitosanla kaplanan ilaç taşıma sisteminde, AA salımının diğerlerine oranla daha yavaş olduğu görülmektedir. İlk 15 dakika için, PS- KLN_{P1} -Kitosan sisteminde ilaç salımının ~%5 olduğu görülürken, bu değer PS- KLN_{P1} -AuNP için ~%20 ve PS- KLN_{P1} için ~%60 civarındadır. Bu durum, kitosan kullanılarak hazırlanan son tabakanın, AuNP ile hazırlanana göre daha sıkı bir kabuk oluşturduğunu ve dolayısıyla, madde geçişine daha az izin verdiğini göstermektedir. Buna rağmen, AuNP kullanılarak elde edilen salım profili ile herhangi bir kabuk malzeme

kullanılmamış olan karşılaştırıldığında, AuNPLerin de KLN_{L1} 'in tek başına olduğu duruma göre, salımı yaklaşık %40 oranında geciktirdiği söylenebilmektedir.

Kabuk malzemesi olarak kullanılan KLNlere ait salım davranışlarının daha iyi anlaşılabilmesi için kinetik modelleme hesaplamaları yapılmış ve daha önce Eşitlik 2.1, 2.2, 2.3, 2.4 ve 2.5'te formülleri verilen modeller kullanılmıştır.



Şekil 4.24. Çekirdek malzemesi olarak PS partiküllerin ve kabuk malzemesi olarak da AA yüklü KLNlerin, AuNPLerin ve kitosanın kullanıldığı mikrokapsüllerden AA salımının **A)** Sıfırıncı-derece, **B)** Birinci-derece, **C)** Higuchi, **D)** Korsmeyer-Peppas ve **E)** Hixson-Crowell modeline göre hesaplanan profilleri

Farklı salım mekanizmalarına göre uygun formüller kullanılarak oluşturulan salım profillerinden ve çizilen eğilim çizgilerinden (Şekil 4.24) elde edilen determinasyon katsayısı (R^2), salım hız sabiti (k) ve salımın derecesi (n) değerleri Çizelge 4.15'te listelenmiştir. R^2 değerleri esas alınarak, PS-KLN_{L1}, PS-KLN_{L1}-AuNP ve PS-KLN_{L1}-Kitosan mikrokapsülleri için en uygun salım modelleri Çizelge 4.14'te verilmiştir. Ulaşılan veriler incelendiğinde, PS-KLN_{L1} sisteminde, yani tek kabuk malzemesi olarak AA yüklü KLN_{L1} partiküllerinin kullanıldığı ve üzerinin herhangi başka bir malzeme ile kaplanmadığı durumda, salımın Korsmeyer-Peppas modeline uygun olduğu görülmektedir. Bu model kullanılarak hesaplanan ve salımın Fick yasasına uygun olup olmadığını anlamaya yarayan n sabitine bakıldığında, değerinin 0.43'ten küçük olduğu ve bu durumda salımın Fick yasasına uygun bir şekilde difüzyonla gerçekleştiği söylenebilmektedir. Daha önce Çizelge 4.8'de verildiği gibi KLN_{L2} ile bireysel şekilde AA salımı üzerine çalışıldığı koşulda, salımın aynı şekilde Korsmeyer-Peppas modeline uygun şekilde gerçekleştiği görülmüştür. AA'nın yüksek hidrofiliği nedeniyle, yapıtaşı olarak litokolik asit ve stearik asit'in kullanıldığı L kodlu KLN yapısında durmaktansa, salım ortamına geçmeyi tercih etmesi dolayısıyla bu iki partikül için salım profillerinin birbirlerine oldukça yüksek benzerlik göstermeleri beklenen bir durumdur.

Çizelge 4.14 AA salım profilleri incelenen PS-KLN_{L1}, PS-KLN_{L1}-AuNP ve PS-KLN_{L1}-Kitosan sistemleri için hesaplanan R^2 değerlerine göre en uygun bulunan salım modelleri

İlacın Salındığı Taşıyıcı	Salım Modeli
PS-KLN _{L1}	Korsmeyer-Peppas
PS-KLN _{L1} -AuNP	Birinci-derece
PS-KLN _{L1} -Kitosan	Birinci-derece

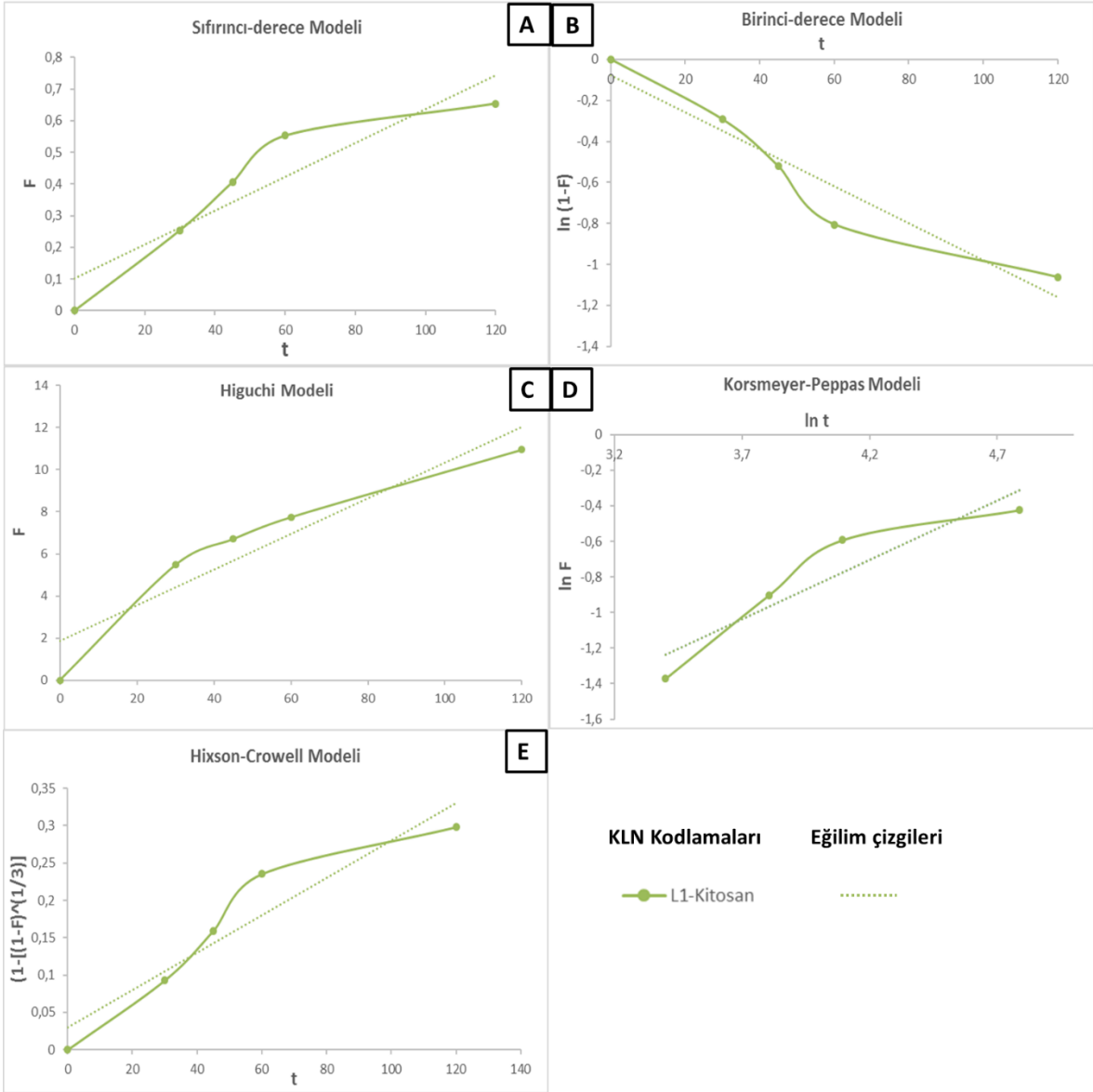
PS-KLN_{L1}-AuNP ve PS-KLN_{L1}-Kitosan mikrokapsülleri için elde edilen sonuçlar incelendiğinde, yine aynı şekilde R² değerlerine bakılarak, Birinci-derece salım modelinin daha uygun olduğu görülmektedir (Çizelge 4.15). Birinci-derece model, daha önce de söylendiği gibi ani salımın çok düşük oranlarda görüldüğü ve kontrollü salımın daha baskın olduğu ilaç salım sistemlerini açıklayan bir model olması dolayısıyla, bizim elde ettiğimiz deneysel verilerle oldukça iyi şekilde örtüştüğü söylenebilmektedir.

Çizelge 4.15. PS partiküllerin çekirdek malzemesi olarak kullanıldığı koloidal mikrokapsüllerden AA salımına yönelik hesaplanan kinetik parametreler

		PS-KLN _{L1}	PS-KLN _{L1} -AuNP	PS-KLN _{L1} -Kitosan
Sıfırıncı-derece	R ²	0,6080	0,7960	0,8517
	k	0,0062	0,0068	0,0058
Birinci-derece	R ²	0,9183	0,9471	0,9166
	k	0,0214	0,0156	0,0096
Higuchi	R ²	0,8935	0,9420	0,8906
	k	0,0866	0,0841	0,0679
Korsmeyer - Peppas	R ²	0,9562	0,8708	0,8436
	k	0,2845	0,0371	0,0024
	n	0,2584	0,6969	1,2682
Hixson - Crowell	R ²	0,8238	0,9038	0,8972
	k	0,0045	0,0038	0,0027

Bunun yanı sıra, PS-KLN_{L1}-Kitosan mikrokapsülü için her ne kadar en yüksek R² değerine Birinci-derece salım modeliyle ulaşılmış olsa dahi, Şekil 4.25'te verilen kısa zamanlı salım davranışına bakıldığında, daha önce verilen tüm salım davranışlarından farklı olarak ilk 15 dakika için bir gecikme süresi (delay time) olduğu görülmektedir. Bu tür salım davranışları, KLNlerin tek başlarına kullanıldığı koşulda elde edilen tek-fazlı ya da iki-fazlı salımdan farklı olarak, üç-fazlı salım profiline daha uygun görülmektedir. Daha önce "Teorik bilgiler" kısmında anlatıldığı ve Şekil 2.14'te de belirtildiği gibi, literatürde yapılan çalışmalara bakıldığında, suda çözünürlüğü düşük olan polimerler kullanılarak

“geçirgen” (permeable) kaplamalar yapıldığında, bu tür gecikmeli ilaç salımı profillerine ulaşılabilirdi bilinmektedir. Bu kaplamalar parçalanabilen (rupturable) ya da erozyona uğrayabilen (erodible) kaplama malzemeleriyle yapılan kaplamalardan farklı olarak mekanik dayanımı daha güçlü olduğu ve suyun içeri girerek suda çözünen ilaç etken maddesinin dışarı çıkışına kontrollü şekilde izin verdiği için uzatılmış-salıma uygun rezervuar olarak kullanılabilir ilaç taşıyıcı malzemelerin üretiminde oldukça ideal malzemeler olarak kabul edilmektedir. KLNlerin kendi morfolojik yapılarından farklı olarak, yüzeye yapılan kitosan kaplaması, Şekil 4.20’de daha önce verildiği gibi yüzeye oldukça yüksek verimde adapte olarak ilacın salım hızını belirleyen tabaka olmuştur. Bunun yanı sıra, Çizelge 4.15’te verilen PS-KLN_{L1}-Kitosan mikrokapsülleri’ne ait R²’nin, şimdiye kadar çalışmamız kapsamında modellenmeleri yapılan diğer ilaç taşıyıcı sistemlere ait R² değerleriyle karşılaştırıldığında düşük olduğu görülmektedir. Bu duruma neden olarak, daha önce de söylendiği gibi üç-fazlı salımın gerçekleşmiş olması gösterilebilmektedir. Bu noktada hazırlanan mikrokapsüllere ait AA salım profillerinin daha anlaşılır şekilde açıklanabilmesi için, PS-KLN_{L1}-Kitosan mikrokapsülleri için ilk fazın (gecikme süresi) sonuna gelen ilk 15 dakikadan sonra elde edilen verilerle modelleme çalışmalarının tekrarlanmasına ihtiyaç duyulmuştur.



Şekil 4.25. PS-KLN_{P1}-Kitosan mikrokapsüllerden AA salımının **A)** Sıfırıncı-derece, **B)** Birinci-derece, **C)** Higuchi, **D)** Korsmeyer-Peppas ve **E)** Hixson-Crowell modeline göre hesaplanan profilleri

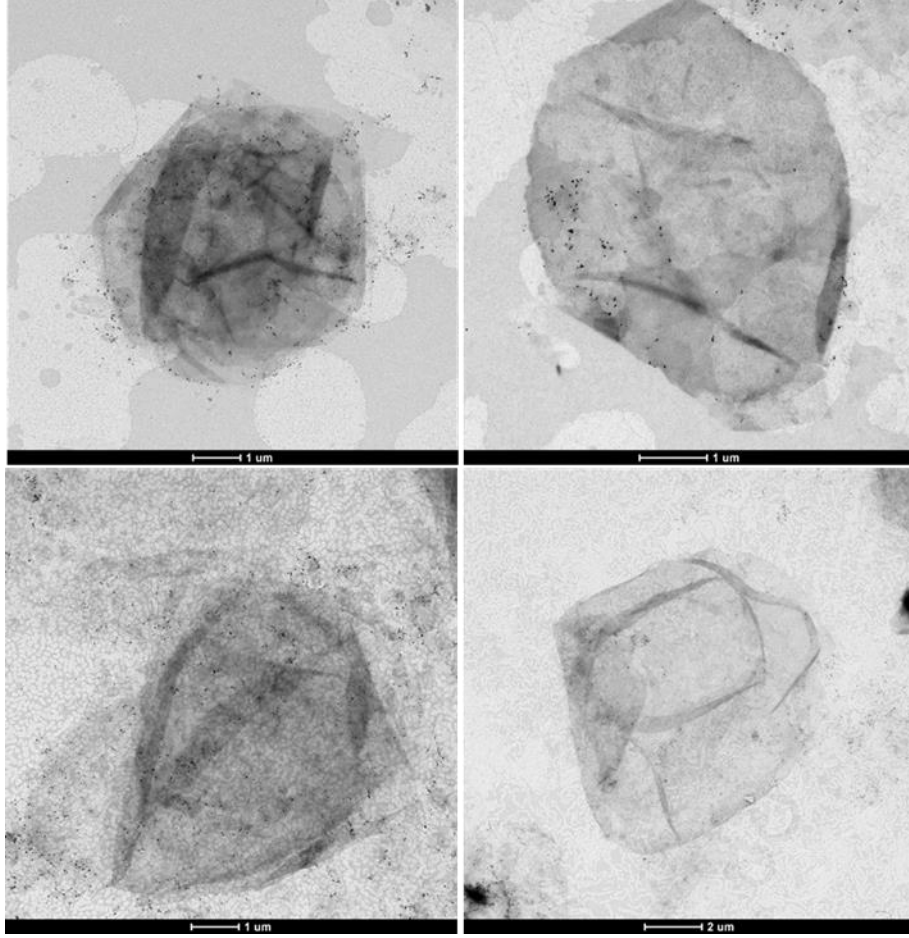
Çizelge 4.16'da elde edilen sonuçlara bakıldığında, yine en yüksek R² değerinin “birinci-derece modeli” için elde edildiğini, ancak salımın ilk fazında oluşan gecikme süresinin hesaba katılmadığı bu koşul için R² değerinin oldukça yükseldiği ve elde edilen doğrunun bu model için lineere yaklaştığı söylenebilmektedir (Şekil 4.25). Yaptığımız tez çalışmasında elde ettiğimiz salım

profili literatürde yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında, oluşturulan kaplamanın bahsedilen özellikleri taşıdığı ve salımı geciktirerek uzatılmış-salıma imkan sağladığı açıkça görülmektedir.

Çizelge 4.16. PS-KLN_{P1}-Kitosan mikrokapsüllerden AA salımına yönelik hesaplanan kinetik parametreler

		PS-KLN _{P1} -Kitosan
Sıfırıncı-derece	R ²	0,8045
	k	0,0040
Birinci-derece	R ²	0,9514
	k	0,0090
Higuchi	R ²	0,8825
	k	0,0846
Korsmeyer - Peppas	R ²	0,8691
	k	0,0304
	n	0,6644
Hixson - Crowell	R ²	0,9015
	k	0,0025

Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, kabuk malzemesi ve miktarı değiştirilerek, hidrofilik ilaçların kontrollü salımının gerçekleştirilebileceği bir ilaç taşıma sisteminin geliştirebileceği görülmektedir. Aynı zamanda, daha önce de bahsedildiği gibi, bir kabuk malzemesi olarak kullanılan AuNPlerin gelişmiş optik ve elektrokimyasal özelliklerinden faydalanılarak, malzemeye biyosensor gibi çeşitli kullanımlar için de aday bir ilaç taşıyıcı sistem olabilme özelliği katmaktadır.



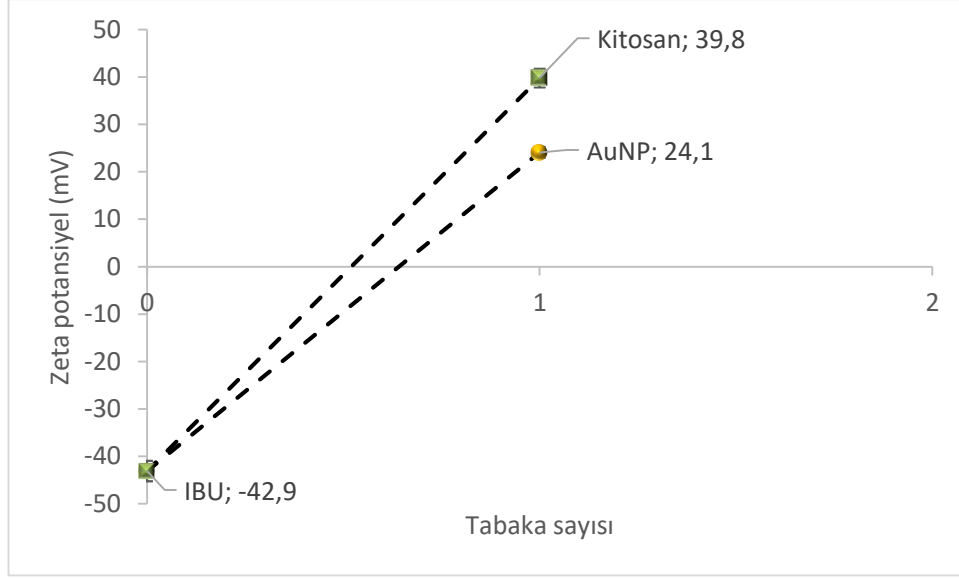
Şekil 4.26. PS partiküllerler üzerine KLN_{L1} , AuNP ve kitosanın kabuk olarak kullanıldığı yapıdan THF yardımıyla, PS çekirdeklerin uzaklaştırılmasının ardından oluşan kapsül yapısının TEM görüntüleri

PS partiküllerin çekirdek malzeme olarak kullanıldığı ve TTK yöntemiyle yüzeyinin KLN ler, AuNPler ve kitosan ile kaplandığı çalışmanın devam eden kısmında, enkapsüle edilebilecek farklı aktif malzemelere rezervuar görevi görebilecek yeni bir hacim yaratmak için çekirdek malzemenin ortamdaki uzaklaştırılması çalışmaları yürütülmüştür. Yüzeyi KLN_{L1} -AuNP- KLN_{L1} -Kitosan kabuk malzemeleri kullanılarak toplam 4 katmanlı olacak şekilde kaplanan PS partiküllerin, kaplanma verimleri daha önce de söylendiği gibi zeta potansiyel değişimleri ve SEM görüntüleriyle ispatlandıktan sonra, elde edilen PS partikül çözeltisi içine hacimce 1:5 oranında THF çözeltisi eklenmiş ve yüzeyleri kaplanmış PS partiküller 12 saat boyunca bu şekilde THF ile muamele edilmiştir. Yıkama işlemleri sonucunda Şekil 4.26'da elde edilen sonuçlara bakıldığında, PS partikül çekirdeğinin ortamdaki

tamamen uzaklaştırılabildiği ve içi boş kapsül yapısının başarıyla elde edilebildiği görülmektedir. Yapılan alışma sayesinde, hazırlanan kabuk malzemeler ile elde edilen ilaç taşıyımı ya da biyosensör uygulamalarında kullanılabilirlik gibi fonksiyonların yanı sıra, kontrollü ilaç taşıyım sistemlerine yeni bir işlevsellik kazandırılarak, içi boşaltılan kapsüller ile çeşitli aktif farmasötik malzemelerin boşaltılan çekirdek bölümünde taşıyabileceği yeni ilaç taşıma sistemleri oluşturulmuştur.

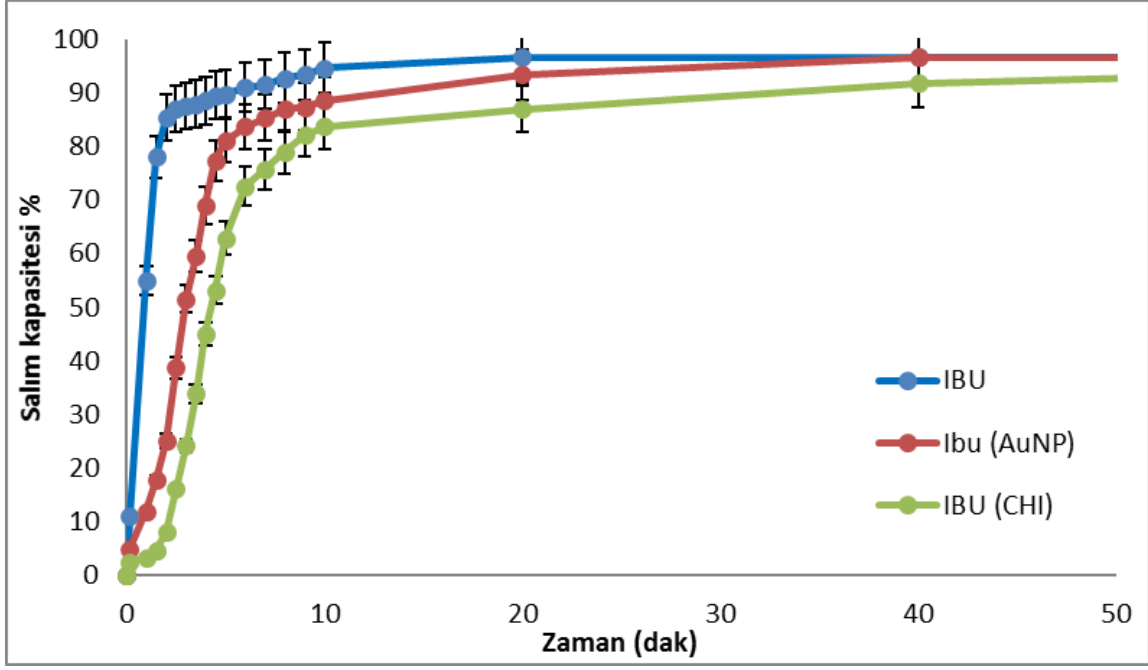
4.6.2. Ibuprofen Kristalleri (IBU) Kullanılarak Mikrokapsül Oluşturulması

Yapılan tez çalışmasının en özgün bölümlerinden biri, çekirdek malzeme olarak ilaç steroid olmayan bir antiinflamatuvar etken maddesi olan Ibuprofen kristallerinin çekirdek malzeme olarak kullanılarak koloidal mikrokapsüllerin oluşturulmasıdır. Literatürde, IBU'nun farklı taşıyıcı sistemlere yüklendiği ve kontrollü salım çalışmalarının yapıldığı çalışmalara oldukça sıklıkla rastlanmaktadır [117]. İnsan dolaşım sistemi pH'ı olan 7.4'te oldukça çözünür olan Ibuprofen için en önemli konulardan biri, ilaç salımının kontrol altına alınabilmesidir. Yaptığımız alışma kapsamında, TTK yöntemiyle çeşitli malzemeler ve tabaka sayıları kullanılarak, IBU'nun salımı kontrol altına alınabilecekken, aynı zamanda kabuk malzemesi olarak kullanılan KLNlere ilaç yüklenerek, aynı anda birden fazla ilacın salımına olanak sağlayacak ve ilaçların salım davranışlarının da kontrol edilebildiği akıllı sistemler hazırlanabilmiş olacaktır.



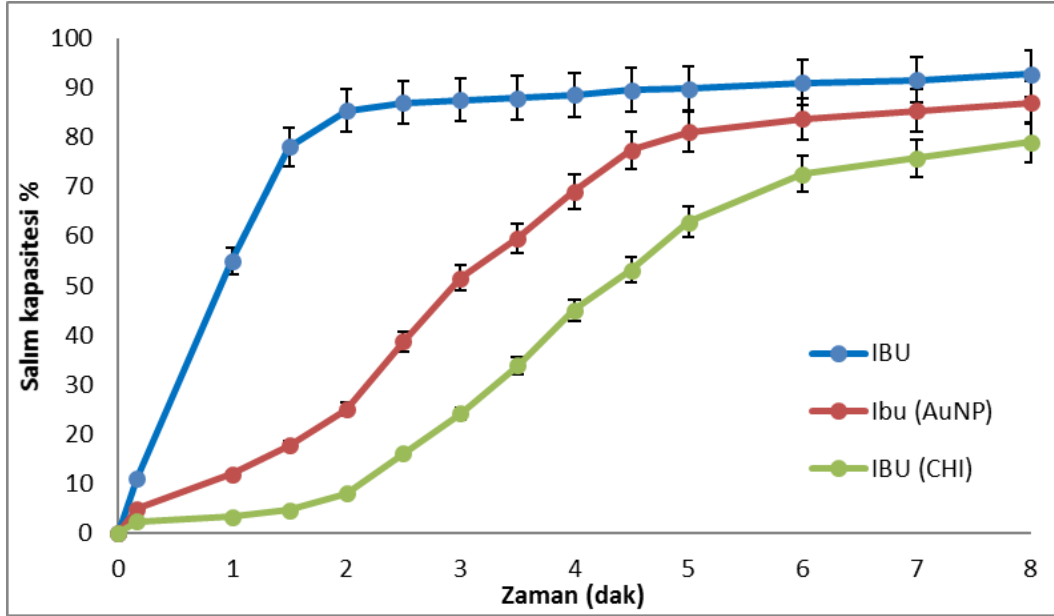
Şekil 4.27. IBU kristalleri üzerine kaplanan malzemeye göre zeta-potansiyel değişimi

IBU kristalleri ticari olarak edinildikten sonra, çekirdek malzeme olarak kullanılmadan önce boyutlarının küçültülmesi ve polidispersite oranının düşürülmesi için sırasıyla öğütme, dekantasyon ve sonikasyon işlemlerine tabii tutulmuştur. Kullanılacak kabuk malzeme tayini ve optimizasyonu yapılırken ortalama bir değer elde edilebilmesi için oldukça önemli olan bu fiziksel işlemlerin sonunda IBU kristalleri kuru olarak saklanmış, çekirdek malzeme olarak kullanılacağı zaman da pH~5 ortamında dağıtılmış ve kaplama işlemleri bu pH'ta gerçekleştirilmiştir. TTK kaplama işlemleri de bu pH'ta gerçekleştirilmiş ve her bir tabaka kaplanmasının ardından zeta potansiyel ölçümleri alınmıştır (Şekil 4.27). Kullanılacak AuNP miktarı ve kitosan konsantrasyonuna, PS partikülleriyle yapılan çalışmada gerçekleştirilen optimizasyon çalışmalarına göre karar verilmiştir. Çalışmanın bu aşamasında öncelikle, PS partiküllerin çekirdek olarak kullanıldığı çalışmayla benzer şekilde, IBU kristalleri herhangi bir kabuk malzeme kullanılmadan, AuNP ile veya kitosan ile kaplanarak olmak üzere, 3 farklı sistem hazırlanarak kullanılmış ve zamanla IBU salım yüzdesinin değişimi incelenmiştir.



Şekil 4.28. Çekirdek malzemesi olarak IBU kristali ve kabuk malzemesi olarak da AuNP ya da kitosan kullanılarak TTK yöntemiyle hazırlanan ilaç taşıyıcı sistemden salınan IBU yüzdesinin zamanla değişimi

Şekil 4.28’de yukarıda belirtilen 3 farklı ilaç salım sistemi için elde edilen zamana karşı ilaç salım yüzdesi değişimi grafiği görülmektedir. Deney sonuçlarına bakıldığında, Ibuprofen’in yüzeyi TTK yöntemiyle kaplandığında, salımın kaplı olmayan IBU kristaliyle karşılaştırıldığında yavaşlatılabildiği görülmektedir.

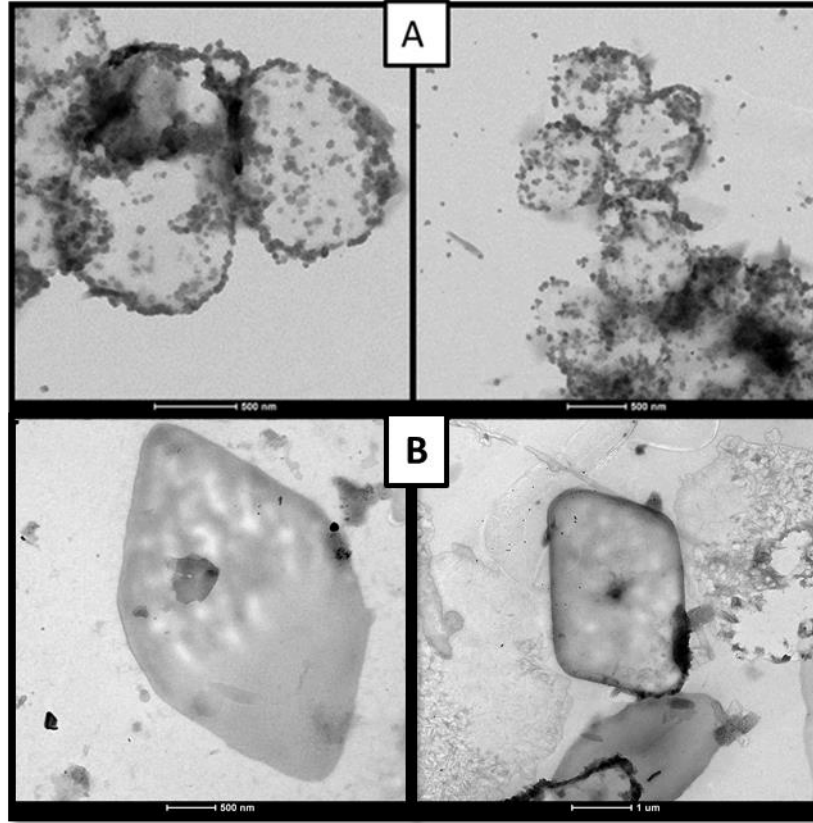


Şekil 4.29. Çekirdek malzemesi olarak IBU kristali ve kabuk malzemesi olarak da AuNP ya da kitosan kullanılarak TTK yöntemiyle hazırlanan ilaç taşıyıcı sistemden salınan IBU yüzdesinin kısa-zaman davranışı

Özellikle Şekil 4.29'da verilen kısa-zamanlı davranışa bakıldığında, salımın yüzeyi kaplı IBU kristalleri için, kayda değer şekilde geciktirildiği görülmüştür. İlk 120 dakika için kaplanmamış IBU salımının ~%85 civarında olduğu görülürken, bu değer AuNP ve kitosan kaplı olanlar için sırasıyla ~%25 ve ~%5 olarak bulunmuştur. Toplam ~48 saat sonunda, salınan miktarın yaklaşık aynı yüzdeye ulaştığı göz önünde bulundurularak, yüzeyi kaplı IBU kristalleriyle çalışmanın ilaç salımını oldukça kontrollü ve aynı zamanda etkili hale getirdiği söylenebilmektedir.

Şekil 4.30'da, pH ~5 ortamında yüzeyi AuNP (A) ve kitosan (B) ile kaplanmış IBU kristallerinin pH 7.4 ortamına alındıktan sonra IBU kristalinin çözünürleşmesi sonucunda oluşturduğu mikrokapsüllerin TEM görüntüleri görülmektedir. Şekil 4.30 (A)'da verilen görüntüye bakıldığında, yüzeylerin oldukça yoğun şekilde AuNPlarla kaplandığı ve sınırlarının belirgin olduğu görülmektedir. Ancak (B) görüntüsüyle karşılaştırıldığında, (A) görüntüsünde görülen boşluklu yüzeylerin kitosanla kaplı yüzeyde bulunmadığı fark edilmektedir. Kitosanın uzun fiberli yapısı dolayısıyla, AuNP ile karşılaştırıldığında yüzeyleri daha iyi kaplaması beklenen bir durumdur. Ayrıca özellikle AuNP kaplı kristal için, kuruma esnasında da yüzeyden bazı partiküllerin kopmuş olabileceği düşünülmektedir. Elde edilen görüntüler,

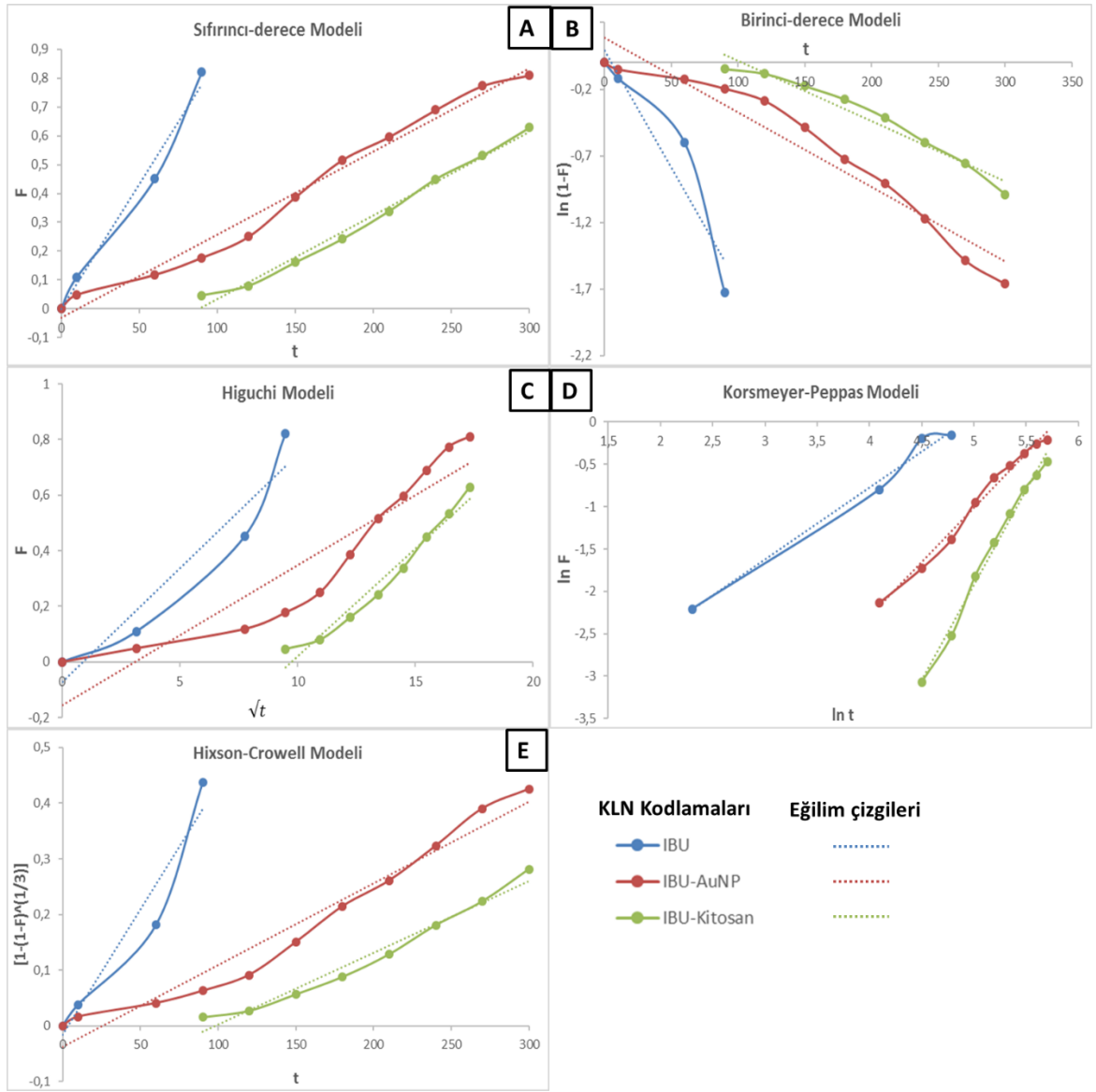
Şekil 4.29'da verilen sonuçlarla karşılaştırıldığında, kitosanın yüzeyi daha iyi kaplaması dolayısıyla, salımı AuNP kaplı partiküle göre daha kontrollü hale getirmesi açıklanabilir bir durum haline gelmektedir. AuNP kaplı kristallerin de hiç kaplı olmayan kristallere göre daha yavaş salınıyor olması, aynı şekilde, yüzeyi belirgin şekilde kaplayan AuNPLerin, IBU kristalinin kapsül içinden çıkışını yavaşlatmasıyla açıklanabilmektedir.



Şekil 4.30. IBU kristalleri üzerine TTK yöntemi ile A) AuNP B) Kitosan kaplandıktan sonra pH7.4'te IBU salımının 48 saat ardından oluşan kapsüllerin

PS partiküllerin çekirdek ve KLN_{L1}, AuNP ve kitosanın da kabuk malzemesi olarak kullanıldığı kolloidal mikrokapsüller ile yapılan kontrollü salım çalışmalarında olduğu gibi, bu salımda da kabuk malzemesi olarak kitosan kullanıldığı durumda salımın gecikmeli olması dolayısıyla, salım davranışlarının modellenmesi aşamasında bu durum dikkate alınmıştır. Özellikle IBU-kitosan sistemi için yaşanan gecikmenin nedeni, pH yükseldiğinde çözünür hale gelen IBU'nun, kitosan tabakasından geçebilmesi ve salım ortamına karışıp dedekte edilebilmesi için zamana gereksinim duyulması olarak düşünülmektedir.

Şekil 4.29'da verilen kısa zamanlı salım profillerinde de verildiği gibi, yüzeyi kaplanmamış IBU kristalleri iki-fazlı olacak şekilde ve pH değişiminden etkilenecek, sıfırıncı dakikadan itibaren hızlı şekilde salınmış ve salımı yaklaşık 120 dakika sonunda platoya ulaşmıştır. Yüzeyi kaplanmamış IBU kristalleri için, bu zaman aralığında ilaç salım modellemesi yapılmıştır. Yüzeyi AuNP ile kaplı IBU kristallerinde ise salımın yavaşlatılabildiği görülmektedir, ancak bir gecikme süresinin oluşmaması dolayısıyla 5 saatin sonunda ulaşılan plato bölgesine kadar elde edilen veriler modelleme hesabında kullanılmıştır. Bu 2 kristale ait salım profilinden farklı olarak, kitosan ile kaplı IBU kristalleri için ilk 1.5 saatlik süreç için IBU salımında bir gecikmenin olduğu gözle çarpılmaktadır. Üç-fazlı olarak gerçekleşen bu salımın modellenmesi ve diğer sistemler ile karşılaştırılabilmesi için ilk 1.5 saatin ardından gerçekleşen salım verileri plato bölgesine ulaşılan 6 saate kadar dikkate alınmış ve modelleme bu veriler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.31. Çekirdek malzemesi olarak IBU partiküllerin ve kabuk malzemesi olarak da AuNPlerin ve kitosanın kullanıldığı mikrokapsüllerden IBU salımının **A)** Sıfırıncı-derece, **B)** Birinci-derece, **C)** Higuchi, **D)** Korsmeyer-Peppas ve **E)** Hixson-Crowell modeline göre hesaplanan profilleri

Şekil 4.31'de daha önce de bahsedilen 5 salım modeline uygun şekilde hesaplamalar yapılmış ve çizilen grafiklerden elde edilen determinasyon katsayısı (R^2), salım hız sabiti (k) ve salımın derecesi (n) değerleri Çizelge 4.14'te listelenmiştir.

Çizelge 4.17. IBU kristallerin çekirdek malzemesi olarak kullanıldığı koloidal mikrokapsüllerden IBU salımına yönelik hesaplanan kinetik parametreler

		IBU	IBU-AuNP	IBU-Kitosan
Sıfırıncı-derece	R ²	0,983	0,9835	0,9896
	k	0,0087	0,0029	0,0029
Birinci-derece	R ²	0,8945	0,9372	0,9588
	k	0,0175	0,0056	0,0045
Higuchi	R ²	0,9101	0,8731	0,9679
	k	0,0819	0,0502	0,0773
Korsmeyer - Peppas	R ²	0,9866	0,9885	0,9920
	k	0,9840	0,9630	0,8814
	n	0,8519	1,2818	1,6397
Hixson - Crowell	R ²	0,9324	0,9609	0,9725
	k	0,0045	0,0015	0,0013

Çizelge 4.17’de listelenen verilere bakıldığında, sözü geçen periyotlar için yapılan modelleme çalışmaları sonucunda oldukça yüksek R² değerlerine ulaşıldığı görülmektedir. 5 farklı model için yapılan hesaplama sonucunda, en yüksek R² değeri 3 farklı sistem için de Korsmeyer-Peppas modeli ile elde edilmiştir (Çizelge 4.18). Korsmeyer-Peppas modeli, daha önce de söylendiği gibi salımın derecesine (n) göre, nasıl gerçekleştiği hakkında bilgi vermeye yarayan, literatürde kontrollü ilaç sistemi çalışmalarında oldukça sıklıkla uygulanan modellerden biridir. “n” değeri 0.45’in altında olduğunda salımın Fick yasasıyla hesaplanabilen basit difüzyon mekanizmasıyla açıklanabildiği bilinmektedir. Yapılan çalışmada, IBU kristalleri için elde edilen sonuçlara bakıldığında ise, yüzeyi kaplanmadığı durumda 0.5<n<1 aralığında olduğu görülmektedir. Bu aralıkta bir salım derecesi, “Teorik Bilgiler” kısmında da anlatıldığı gibi, aktif farmasötik malzemenin erozyonla salım ortamına karıştığını göstermektedir. Yaptığımız çalışmada, pH 5 ortamında çözünür halde olmayan IBU kristallerinin pH 7.4 ortamına getirildiğinde çözünür hale gelmesiyle erozyona uğrayarak salım ortamına karıştığı, literatürdeki çalışmalara bakıldığında, bilinen bir durumdur [117]. Yapılan modelleme çalışmaları sonucunda elde edilen sonuçlar da bu bilgiyle uyumlu şekilde IBU

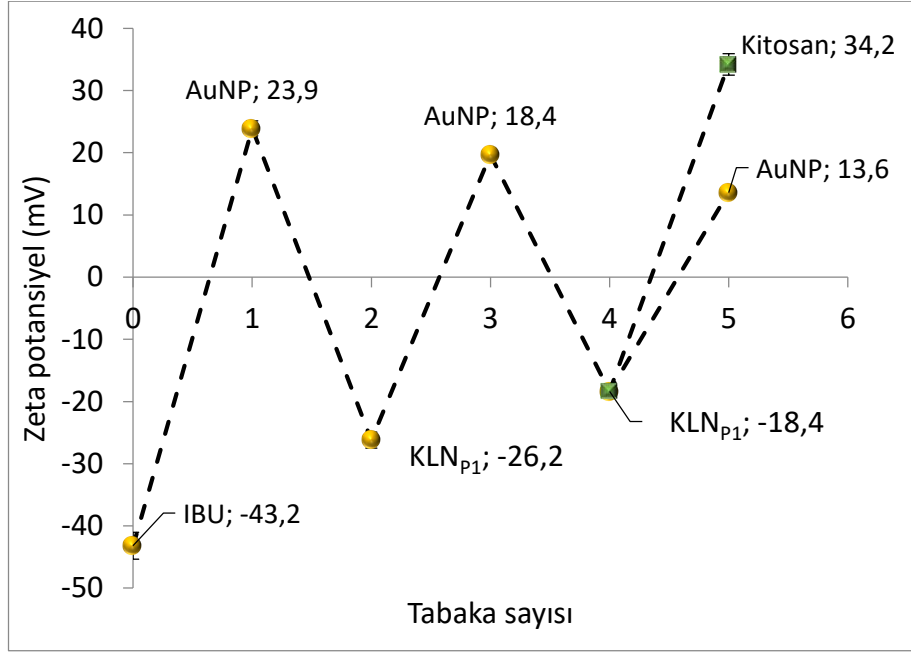
kristallerinin zaman içinde erozyona uğrayarak salım ortamına karıştığını destekler niteliktedir.

AuNP ve kitosan ile kaplanmış IBU kristalleriyle, gecikmeli salım fazı atlatıldıktan sonra elde edilen modelleme sonuçlarına bakıldığında, n değerlerinin 1'in üstünde olduğu görülmektedir. Literatürdeki çalışmalara bakıldığında, 1'in üstünde n değerlerine ulaşılan bu salım şekli "Durum-2" (Case-2) olarak isimlendirilmiştir. Bu salım türü hem difüzyonun hem de erozyonun bir arada bulunduğu, ancak erozyonun difüzyona oranla daha baskın olduğu sistemlerde karşılaşılan bir profildir ve yapılan çalışmada, kabuk malzemesinin altında IBU kristalinin çözünür hale geldikten sonra erozyona uğrayıp salım ortamına difüze olduğu düşünülürse, elde edilen salım modelleme verilerinin oldukça mantıklı ve oluşan duruma uygun olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.18. IBU salım profilleri incelenen yüzeyi kaplanmamış IBU kristali, IBU-AuNP ve IBU-Kitosan sistemleri için hesaplanan R^2 değerlerine göre en uygun bulunan salım modelleri

İlacın Salındığı Taşıyıcı	Salım Modeli
IBU	Korsmeyer-Peppas
IBU-AuNP	Korsmeyer-Peppas
IBU-Kitosan	Korsmeyer-Peppas

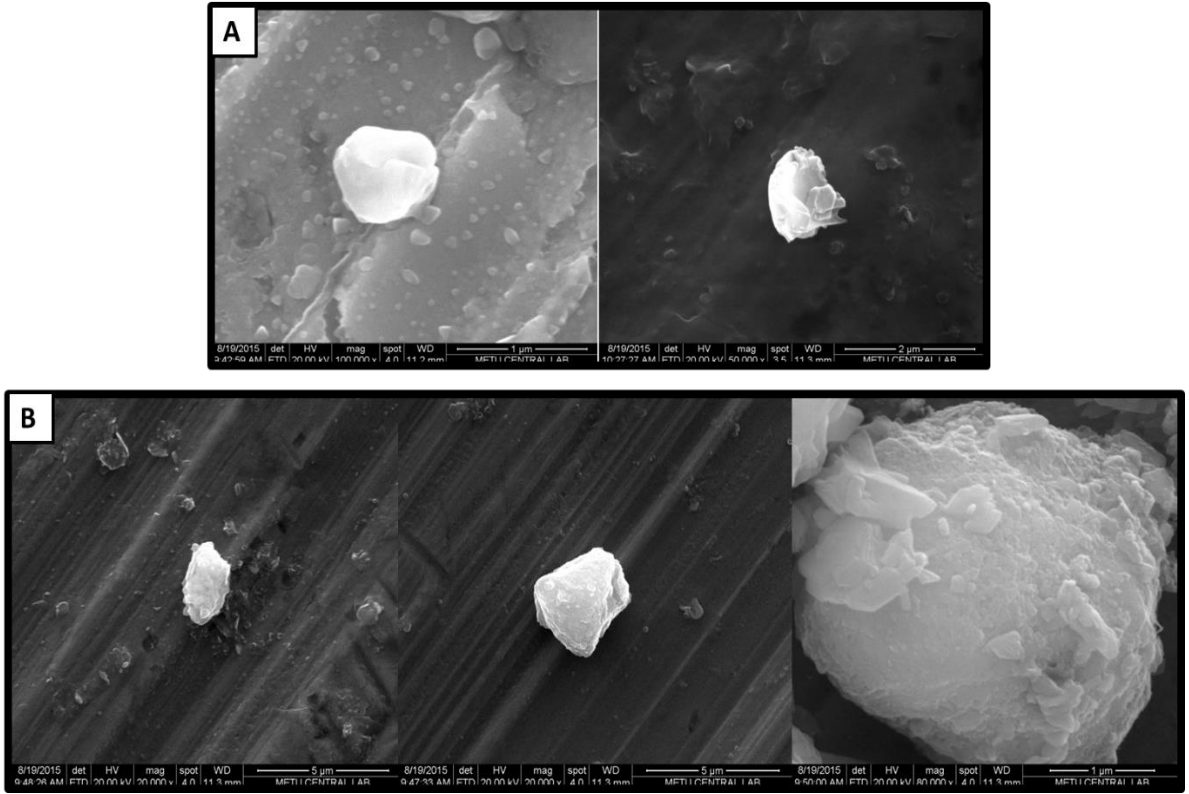
Yapılan çalışma sonucunda, AuNP ya da kitosan gibi tek bir kabuk malzemesi kullanılarak IBU kristallerinin salımının kayda değer şekilde yavaşlatılabildiği ve kullanılacak kabuk malzemesine göre de salım fazlarının arttırılabildiği ve profilinin değiştirilebildiği görülmüştür.



Şekil 4.32. IBU kristalleri üzerine kaplanan malzemeye göre zeta-potansiyel değişimi

Çalışmanın devam eden kısmında, yine çekirdek malzemesi olarak IBU kristalleri kullanılarak, çok katmanlı bir mikrokapsül yapısı oluşturmak üzere çalışmalar yapılmıştır. Bu sayede, IBU salımının istenen ve değişen ölçülerde kontrol edilebilmesi sağlanabileceken; aynı zamanda kabuk malzemesi olarak kullanılacak KLNlerin ilaç tutma ve salım kapasitelerinden faydalanılabileceği olacaktır. Bununla birlikte AuNPlerin de kabuk malzemesi olarak kullanılmasıyla, daha önce de söylendiği gibi hastalıkların teşhisinde biyosensör olarak kullanılacak bir alternatif sistem geliştirilebileceği olacaktır. Yapıya kitosan gibi doğal ve biyoyumlu bir polimerin dahil edilmesiyle yapı dayanıklılık kazanırken aynı zamanda ilaç salımının kontrol edilmesinde de oldukça önemli bir adım atılmış olacaktır. Bu aşamada negatif yüklü IBU kristalleri üzerine ilk katman olarak AuNPler ve ardından KLN, AuNP, KLN, AuNP şeklinde TTK yöntemiyle kabuk malzemeler kaplanmıştır. Son tabaka olarak AuNP ya da kitosan kaplanan iki ayrı sistem için her bir tabaka kaplanmasının ardından zeta potansiyel ölçümleri gerçekleştirilmiştir. bu aşamada PS partiküller ile yapılan optimizasyon çalışmalarından faydalanılmış ve aynı miktarda KLN ve AuNPler ile çalışmalar sürdürülmüştür. Elde edilen zeta potansiyel değerleri Şekil 4.32’de gösterildiği gibi değişmektedir. Görüldüğü gibi AuNP ve KLNler kullanılarak, yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda uygun miktarlarda çalışılarak, IBU kristaline ait yüzey yükü

eksi bölgeden artı bölgeye ve tekrar eksi değerlere taşınabilmiştir. Son katman olarak AuNP kullanıldığı durumda zeta potansiyel değerinin ~14 mV civarında kaldığı görülmektedir. Bu değer in düşük oluşu partiküller in oluşacak kapsüller in stabilitesini düşürerek birbirilerine yaklaşmalarını ve kümeleşmelerini destekleyebilmektedir. Yeterince pozitif değerlere AuNPler kullanılarak çıkılamaması ve aynı zamanda son tabaka olarak kitosan kullanılan ve çekirdek malzemesi olarak PS partiküller in kullanıldığı çalışmada, kitosan tabakasının salımı AuNP kullanılarına göre daha yavaş hale getirmesi dolayısıyla, hazırlanan ilaç alım/salım çalışmaları son tabakası kitosan ile kaplanan mikrokapsül sistemiyle gerçekleştirilmiştir.

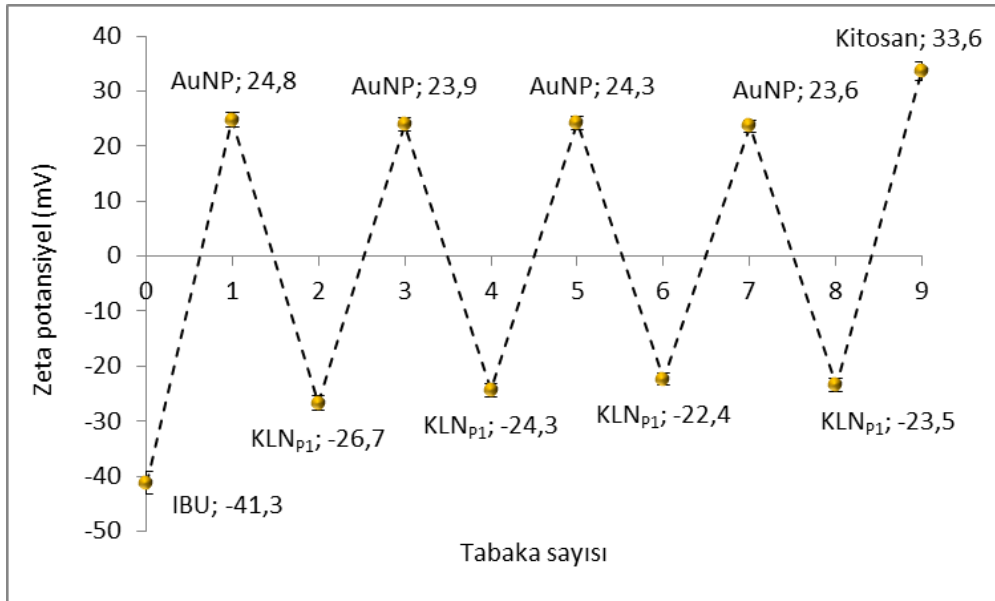


Şekil 4.33. Mikrokapsül yapımında çekirdek malzeme olarak kullanılan IBU kristallerinin (A) herhangi bir kaplama yapılmadan önceki ve (B) AuNP ve KLN_{P1} partikülleri ile 4 tabaka kaplandıktan sonraki SEM görüntüleri

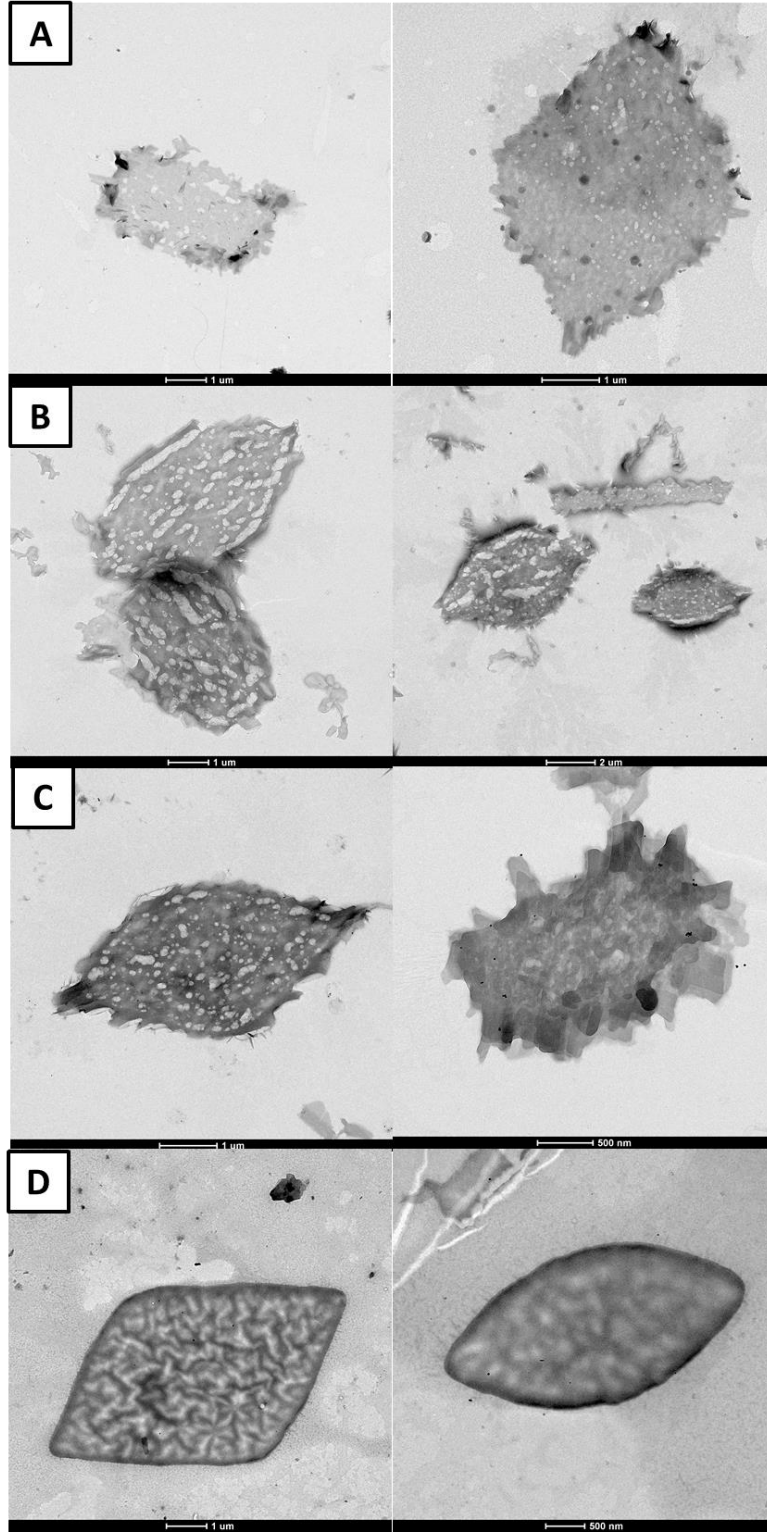
Zeta potansiyel ölçümlerinin yanı sıra, IBU kristalleri kullanılarak yapılan mikrokapsül çalışmalarında, kaplama yapılmadan önce ve AuNP ve KLN_{P1} partikülleri kullanılarak 4 tabaka kaplama yapıldıktan sonra SEM görüntüleri alınmıştır. Şekil 4.33 (A)'da verilen SEM görüntülerine bakıldığında, IBU

kristallerinin yüzeylerinin oldukça pürüzsüz olduğu dikkat çekmektedir. Ancak Şekil 4.33 (B)'de verilen görüntülere bakıldığında, yüzeylerin son tabakada bulunan KLNler ile kaplandığı ve (A) görüntülerinden farklı olarak yüzeyin oldukça pürüzlü olduğu göze çarpmaktadır. Alınan SEM görüntüleri ölçülen zeta potansiyel değerleriyle birlikte değerlendirildiğinde, yüzeyin hedeflendiği şekilde kaplanabildiği görülmektedir. Hazırlanan malzemelerle yapılan ilaç salım çalışmalarından elde edilen salım grafiklerinin yüzeyi kaplanmamış IBU kristalleriyle karşılaştırılması da yüzey kaplamasının istendiği ölçüde ve efektif şekilde yapılıp yapılamadığını anlamakta önemli bir gösterge niteliğindedir.

PS partiküllerinin çekirdek malzeme olarak kullanıldığı çalışmada gerçekleştirildiği gibi, IBU kristallerinin çekirdek olarak kullanıldığı mikrokapsül sistemi için de Çizelge 4.12'de kullanılan KLN ve AuNP miktarları ve daha önce verilen kitosan derişimi kullanılarak 9 katmanlı bir kapsül yapısı hazırlanmıştır. Şekil 4.34'te verilen zeta potansiyel değerlerine bakıldığında, Çizelge 4.12'de verilen miktarların kaplamanın verimli şekilde yapıldığını anlamak için yeterli olduğu görülmektedir. Bunun yanı sıra, PS partiküllerde olduğu gibi, kabuk malzemeler bakımından yeterli miktar ve inkübasyon süresi ile çalışıldığında, IBU kristalleri ile de istenen katman sayısına çıkılabildiği görülmüştür.

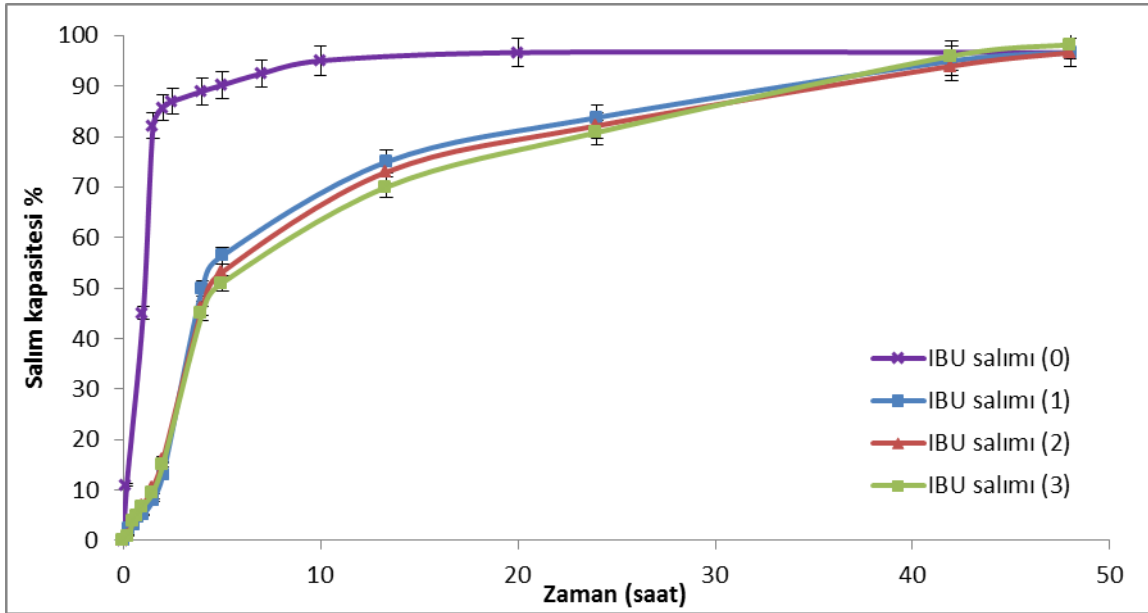


Şekil 4.34. IBU kristaller üzerine KLN_{p1}, AuNP ve Kitosan kullanılarak yapılan 9 kat kaplama sonucunda elde edilen zeta-potansiyel değişimi



Şekil 4.35. IBU kristallerinin çekirdek malzeme olarak kullanıldığı **A)** 2 katmanlı, **B)** 4 katmanlı, **C)** 6 katmanlı ve **D)** 9 katmanlı kapsül yapılarının 48 saat pH 7.4 ortamında bekletildikten sonra alınan TEM görüntüleri

Oluşumu zeta potansiyel ölçümleriyle kanıtlanmış olsa da, hazırlanan 2 katmanlı, 4 katmanlı, 6 katmanlı ve 9 katmanlı kapsül yapıları, IBU kristallerinin çözünür olduğu pH 7.4 koşullarına getirilmiş ve içi boşalmış kapsüllerin TEM görüntüleri alınmak üzere örnekler hazırlanmıştır. Şekil 4.35 A, B ve C'de verilen TEM görüntülerinde sırasıyla 2, 4 ve 6 katmanlı IBU kristallerinin, 48 saat pH 7.4 ortamında kaldıktan sonra oluşturduğu içi boş yapı görülmektedir. Görüntüler arasındaki farka bakıldığında, katmanlar arttıkça, çekirdek malzeme üzerinde oluşan kabuğun kalınlaştığı açıkça görülebilmektedir. Bunun yanı sıra Şekil 4.35 D'de verilen yüzeyi 9. katman olarak kitosan ile kaplanmış IBU kristallerine ait TEM görüntülerine bakıldığında, yüzeyin KLNler ile kaplı olduğu koşullardan farklı olarak, çok daha homojen şekilde kaplanabildiği ve yüzey morfolojisinin değiştiği görülmüştür. Görüntülerin 48 saatin sonunda alındığı düşünüldüğünde, Şekil 4.35'te verilen görüntülerde oluşan kontrast farkına bakıldığında, bu sürenin 9 katmanlı IBU kristali için çekirdeğin ortamdaki uzaklaşarak salım ortamına karışması için yeterli olduğu söylenebilmektedir.



Şekil 4.36. Çekirdek malzemesi olarak IBU kristali ve kabuk malzemesi olarak da AA yüklü KLN_{L1}, AuNP ya da kitosan kullanılarak TTK yöntemiyle hazırlanan ilaç taşıyıcı sistemden salınan IBU yüzdesinin zamanla değişimi

TTK yöntemiyle IBU salımının kontrol altına alınmasının yanı sıra, aynı anda iki ilacın birden tek bir bünyeden kontrollü şekilde salınmasına olanak sağlayan akıllı sistemlerin oluşturulabilmesi için yapılan çalışmada elde edilen sonuçların sistematik olarak değerlendirilebilmesi adına, daha önce de belirtildiği gibi 4 ayrı deney seti hazırlanmıştır. IBU salımı için hazırlanan deney setinde belirtilen kodlar sırasıyla aşağıdaki gibidir;

(0) IBU

(1) IBU / AuNP / AA-KLN_{P1} / AuNP / KLN_{P1} / Kitosan

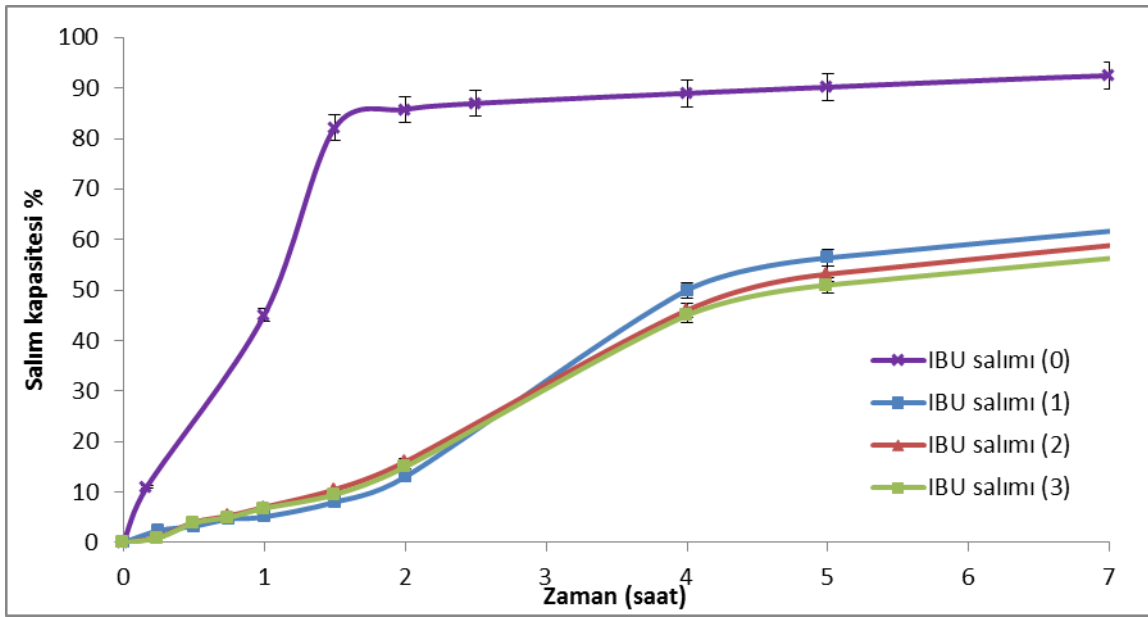
(2) IBU / AuNP / KLN_{P1} / AuNP / AA-KLN_{P1} / Kitosan

(3) IBU / AuNP / AA-KLN_{P1} / AuNP / AA-KLN_{P1} / Kitosan

Hazırlanan deney setlerine bakıldığında, (0) kodu ile bahsi geçen kristaller yüzeyleri kaplanmadan kullanan IBU kristalleridir ve kontrol grubu olarak kullanılmıştır. (1) ile kodlanan mikrokapsül yapısında ilk katman olarak AuNP kullanıldıktan sonra, AA yüklenmiş KLN_{P1} partikülleri (AA- KLN_{P1}) kaplanmış ve daha sonra sırasıyla AuNP, KLN_{P1} ve son olarak kitosanla kaplanarak mikrokapsül yapısı tamamlanmıştır. (2) kodlu sistemde, (1) nolu olandan farklı olarak 4. katmanın hazırlanmasında kullanılan KLN_{P1} partikülleri AA ile yüklenmiştir. (3) kodlu deney setinde ise, her iki KLN_{P1} katmanı için de AA kaplı partiküllerden faydalanılmıştır. Bu şekilde hazırlanan deney setleriyle yapılan salım çalışmalarının, üzerinde 5 tabakadan oluşan mikrokapsül yapısı sayesinde IBU salımında gerçekleşecek olacak yavaşlatıcı etkiler takip edilebilecekken hem de AA ile yüklenmiş KLN_{P1} partikülünün yüzeyinde herhangi bir kaplama yokken elde edilen salımıyla yüzeyi TTK yöntemiyle çeşitli malzemelerle kaplandığı koşulda ulaşılan salım profillerinin karşılaştırılabilme imkanı sağlanmış olacaktır. Çalışmanın bu aşamasında elde edilen sonuçlar IBU ve AA etken maddelerinin alımı için ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

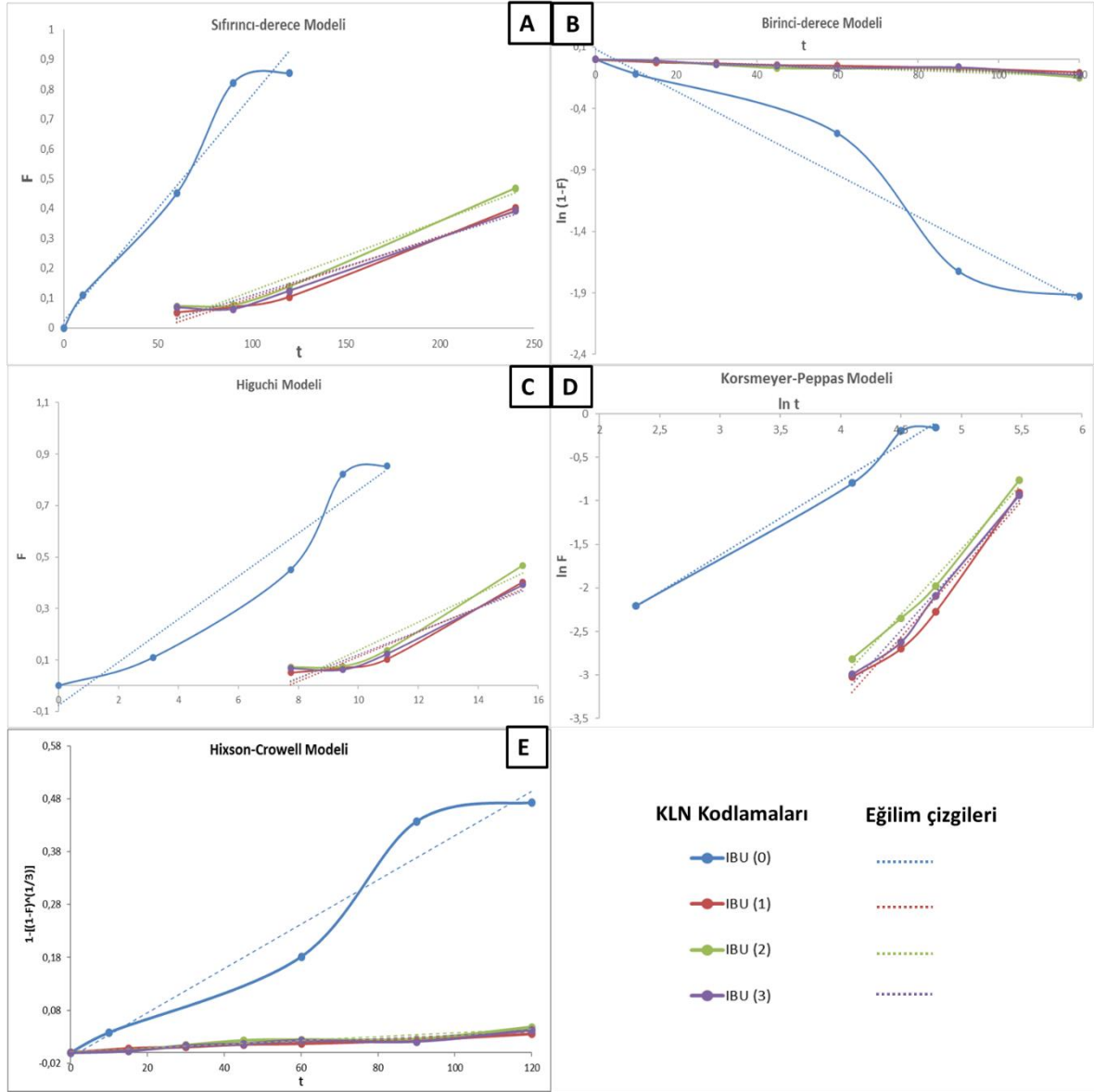
Şekil 4.36'da elde edilen sonuçlara bakıldığında, (0) ile kodlanan ve mor çizgi ile gösterilen yüzeyi kaplanmamış IBU kristalinin salımının, (1), (2) ve (3) sonuçlarıyla karşılaştırıldığında oldukça hızlı olduğu görülmektedir. (1), (2) ve (3) sistemlerinde

ise, IBU kristali üzerine KLN, AuNP ve kitosandan oluşan toplam 4 katman olduğu için, ~48 saat sonunda ulaşılan toplam yüzde salım miktarı aynı değere ulaşsa dahi, oldukça kontrollü ve birbirlerine çok benzer olduğu görülmektedir. Literatürdeki ilaç etkileşim bilgilerine bakıldığında, IBU ve AA'nın birbirleriyle herhangi bir şekilde etkileşmediği görülmektedir. Bu bilgi ışığında (1), (2) ve (3) için elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, IBU salımının 3 farklı sistem için birbirlerine oldukça düşük oranda farklılık göstermesi (<%5) literatürle uyumlu ve açıklanabilen bir durumdur.



Şekil 4.37 Çekirdek malzemesi olarak IBU kristali ve kabuk malzemesi olarak da AA yüklü olan ve olmayan KLN_{L1}, AuNP ya da kitosan kullanılarak TTK yöntemiyle hazırlanan ilaç taşıyıcı sistemden salınan IBU yüzdesinin kısa-zaman davranışı

Salım özelliklerinin daha gerçekçi değerlendirilebilmesi için Şekil 4.37'de verilen kısa-zamanlı salım profilleri incelendiğinde, sonuçların farklılığı daha net şekilde göze çarpmaktadır. İlk ~2 saat sonunda elde edilen salım yüzdelerine bakıldığında, yüzeyi kaplanmamış IBU kristalinin salımının ~%85 civarında olduğu görülürken, yüzeyleri kaplanmış olan kristallerin ise ilk ~2 saatte ~%10'unun salındığı görülmüştür. (1), (2) ve (3) sonuçları birbiri içinde karşılaştırıldığında, daha önce de söylendiği gibi, kabuk malzemesi olarak kullanılan KLN_{P1}'in AA yüklü olması ile olmaması arasında kayda değer bir fark olmadığı görülmektedir.



Şekil 4.38. Çekirdek malzemesi olarak IBU partiküllerin ve kabuk malzemesi olarak da AA yüklenmiş ve yüklenmemiş KLN_{P1} , AuNPlerin ve kitosanın kullanıldığı mikrokapsüllerden IBU salımının **A)** Sıfırncı-derece, **B)** Birinci-derece, **C)** Higuchi, **D)** Korsmeyer-Peppas ve **E)** Hixson-Crowell modeline göre hesaplanan profilleri

IBU kristalinin salımıyla ilgili yapılan çalışmanın sonuçları, PS partikül kullanılarak KLN_{L1} 'den AA salımı için yapılan sonuçlarla karşılaştırıldığında, kaplamanın aynı şekilde salımı kontrollü hale getirdiği görülürken, salım davranışında bazı değişiklikler olduğu göze çarpmaktadır. Özellikle Şekil 4.37 ve 4.38'deki sonuçlar beraber değerlendirildiğinde, IBU kristali için salımın gecikmeli şekilde olduğu

dikkat çekmektedir. Bu da, kapsül içine yerleştirilmiş çekirdek malzemesi olan IBU kristalinin erozyonla parçalanarak kapsül duvarları arasından salım ortamına difüze olmasının yarattığı zaman farkıyla açıklanabilmektedir.

Çizelge 4.19. IBU kristallerin çekirdek malzemesi olarak kullanıldığı koloidal mikrokapsüllerden IBU salımına yönelik hesaplanan kinetik parametreler

		IBU salımı (0)	IBU salımı (1)	IBU salımı (2)	IBU salımı (3)
Sıfırıncı-derece	R ²	0,9659	0,9621	0,9456	0,9123
	k	0,0075	0,0021	0,0023	0,0019
Birinci-derece	R ²	0,9384	0,9553	0,9094	0,9384
	k	0,0170	0,0008	0,0010	0,0170
Higuchi	R ²	0,9394	0,9240	0,9249	0,9214
	k	0,0835	0,0480	0,0547	0,0452
Korsmeyer - Peppas	R ²	0,9866	0,9673	0,9586	0,9525
	k	0,0150	0,0008	0,0010	0,0009
	n	0,8019	1,5331	1,5281	1,5133
Hixson - Crowell	R ²	0,9535	0,9552	0,9197	0,9103
	k	0,0042	0,0003	0,0004	0,0003

IBU mikrokapsüllerine ait elde edilen salım profillerinin daha nicel bulgularla açıklanabilmesi için modelleme çalışması yapılmıştır. Yüzeyi kaplanmamış IBU kristali [IBU(0)] ve kaplanmış olan mikrokapsüller için [IBU(1), IBU (2), IBU(3)] salım davranışları oldukça farklı olduğu için, modelleme yapılırken farklı zaman aralıklarının kullanılması uygun görülmüştür. Sistemlerin birbirleriyle karşılaştırılabilmesi için de, her biri için salıma başlanan nokta ve salımın yavaşladığı plato bölgesine kadar elde edilen veriler kullanılmıştır. IBU(0) için salımın başladığı "0" anından 2 saatin sonuna kadar; IBU(1), IBU (2), IBU(3) için ilk 1 saatten itibaren 5 saate kadar elde edilen veriler dikkate alınmıştır (Şekil 4.37).

Yapılan modelleme çalışmaları sonucunda elde edilen parametreler Çizelge 4.19'da listelenmiştir. Şekil 4.37'de oluşturulan salım grafiği modellerinin salımın tek fazlı olduğu bölgeye ait olduğu göz önünde bulundurularak, hesaplanan R²

değerlerine bakıldığında, hazırlanan 4 deney seti için de Korsmeyer-Peppas modelinin, hesaplanan 5 model içinde en uygunu olduğu görülmektedir (Çizelge 4.20). Elde edilen “n” değerlerine bakıldığında, IBU kristalleri için Çizelge 4.17’de sonuçları listelenen çalışmada da olduğu gibi, yüzeyi kaplanmadığı durumda $0.5 < n < 1$ aralığında olduğu görülmektedir. Daha önce de söylendiği gibi, salım derecesi bu aralıkta olduğunda, aktif farmasötik malzemenin erozyonla salım ortamına karıştığı söylenebilmektedir. IBU(1), IBU (2) ve IBU(3) mikrokapsülleri için hesaplanan “n” değerlerine bakıldığında sırasıyla 1,5331, 1,5281 ve 1,5133 ile birbirlerine oldukça yakın olduğu görülmektedir. Şekil 4.37’de verilen salım grafiklerine bakıldığında bu durum sonuçların mantıklı çıktığını göstermektedir. Bu 3 sisteme ait n değerlerinin >1 olmasıyla ise daha önce de açıklandığı gibi salımın “Durum-2” tipi salıma uygun olduğu söylenebilmektedir. IBU kristallerinin tek kabuk malzemesi olarak AuNP veya kitosanla kaplandığı ve sonuçların Çizelge 4.17’de listelendiği çalışma sonuçlarına bakıldığında, yine aynı şekilde salımın “Durum-2” transportuyla gerçekleştiği söylenmişti. Daha önce de detaylı şekilde açıklandığı gibi, hem difüzyonun hem de erozyonun bir arada bulunduğu sistemlerde karşılaşılan bu salım profilinin, kabuk malzemesinin altında IBU kristalinin çözünür hale geldikten sonra erozyona uğrayıp salım ortamına difüze olduğu düşünülürse, elde edilen sonuçlara ve kurulan sisteme oldukça uygun olduğu söylenebilmektedir.

Çizelge 4.20. IBU salım profilleri incelenen yüzeyi kaplanmamış IBU (0), IBU (1), IBU (2) ve IBU (3) olarak kodlanmış sistemler için hesaplanan R^2 değerlerine göre en uygun bulunan salım modelleri

İlacın Salındığı Taşıyıcı	Salım Modeli
IBU (0)	Korsmeyer-Peppas
IBU (1)	Korsmeyer-Peppas
IBU (2)	Korsmeyer-Peppas
IBU (3)	Korsmeyer-Peppas

Hazırlanan IBU mikrokapsüllerinden AA salımı da aynı şekilde aşağıda verilen deney setleriyle incelenmiş ve bu kodlamalar kullanılarak analizlenmiştir. (0) kodlu çalışmada, kapsül yapımında kullanılan ile aynı miktarda AA yüklü KLN_{P1} partikülünün yüzeyi herhangi bir kabuk malzemesiyle kaplanmadan alım çalışmaları gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlar, mikrokapsül yapısına kabuk malzemesi olarak dahil edilen AA- KLN_{P1} partiküllerinden gerçekleşen AA salım sonuçlarıyla karşılaştırılmıştır.

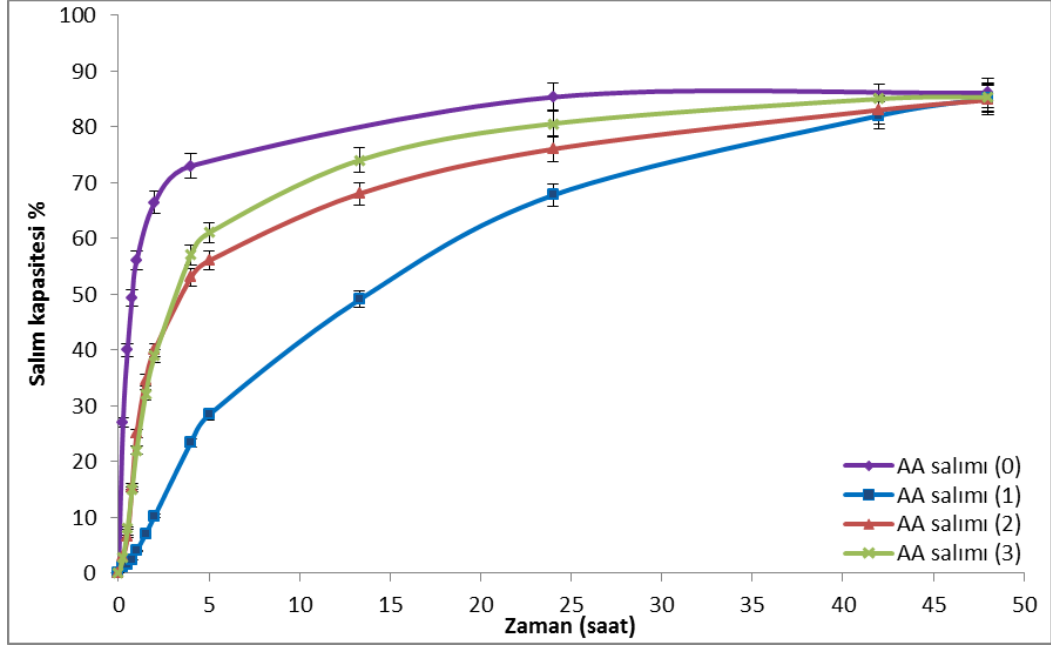
IBU kristalleri kaplanırken kullanılan AA yüklü KLN_{P1} 'lerden AA salım yüzdesinin zamanla değişimini veren Şekil 4.39'a bakıldığında, her bir sistem için birbirinden oldukça farklı davranış sergilediği görülmektedir. Bu deney sistemine ait kodlama aşağıdaki gibidir;

(0) AA- KLN_{P1}

(1) IBU / AuNP / AA- KLN_{P1} / AuNP / KLN_{P1} / Kitosan

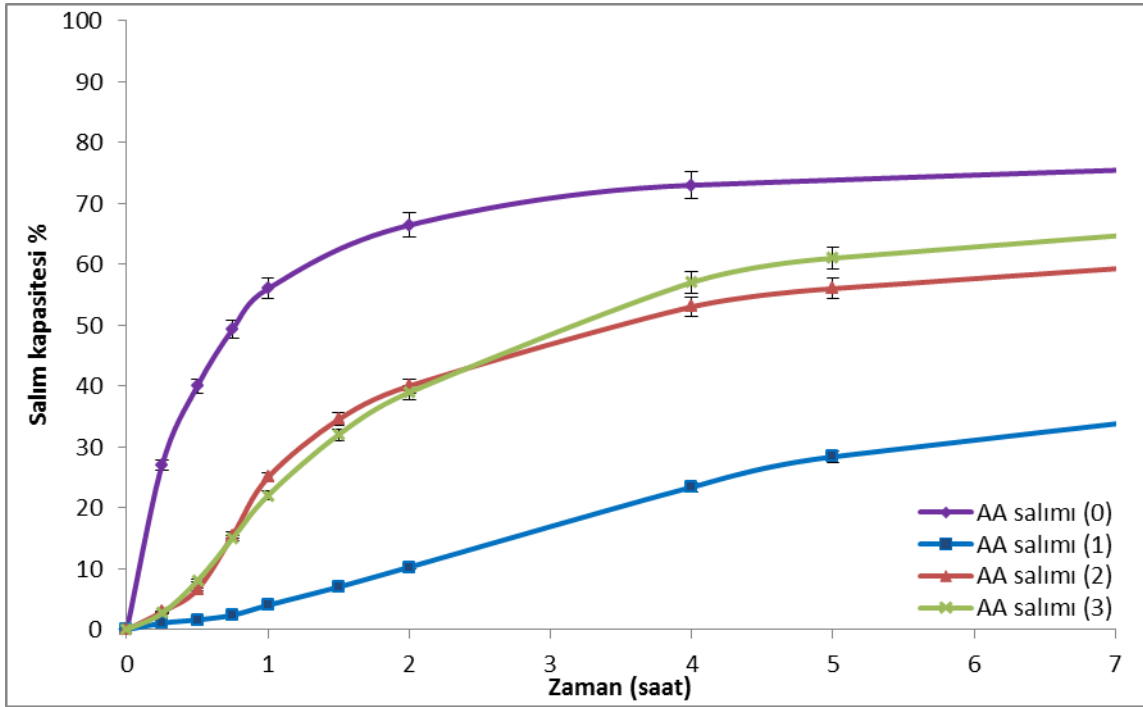
(2) IBU / AuNP / KLN_{P1} / AuNP / AA- KLN_{P1} / Kitosan

(3) IBU / AuNP / AA- KLN_{P1} / AuNP / AA- KLN_{P1} / Kitosan



Şekil 4.39. Çekirdek malzemesi olarak IBU kristali ve kabuk malzemesi olarak da AA yüklü olan ve olmayan KLN_{P1}, AuNP ya da kitosan kullanılarak TTK yöntemiyle hazırlanan ilaç taşıyıcı sistemden salınan AA yüzdesinin zamanla değişimi

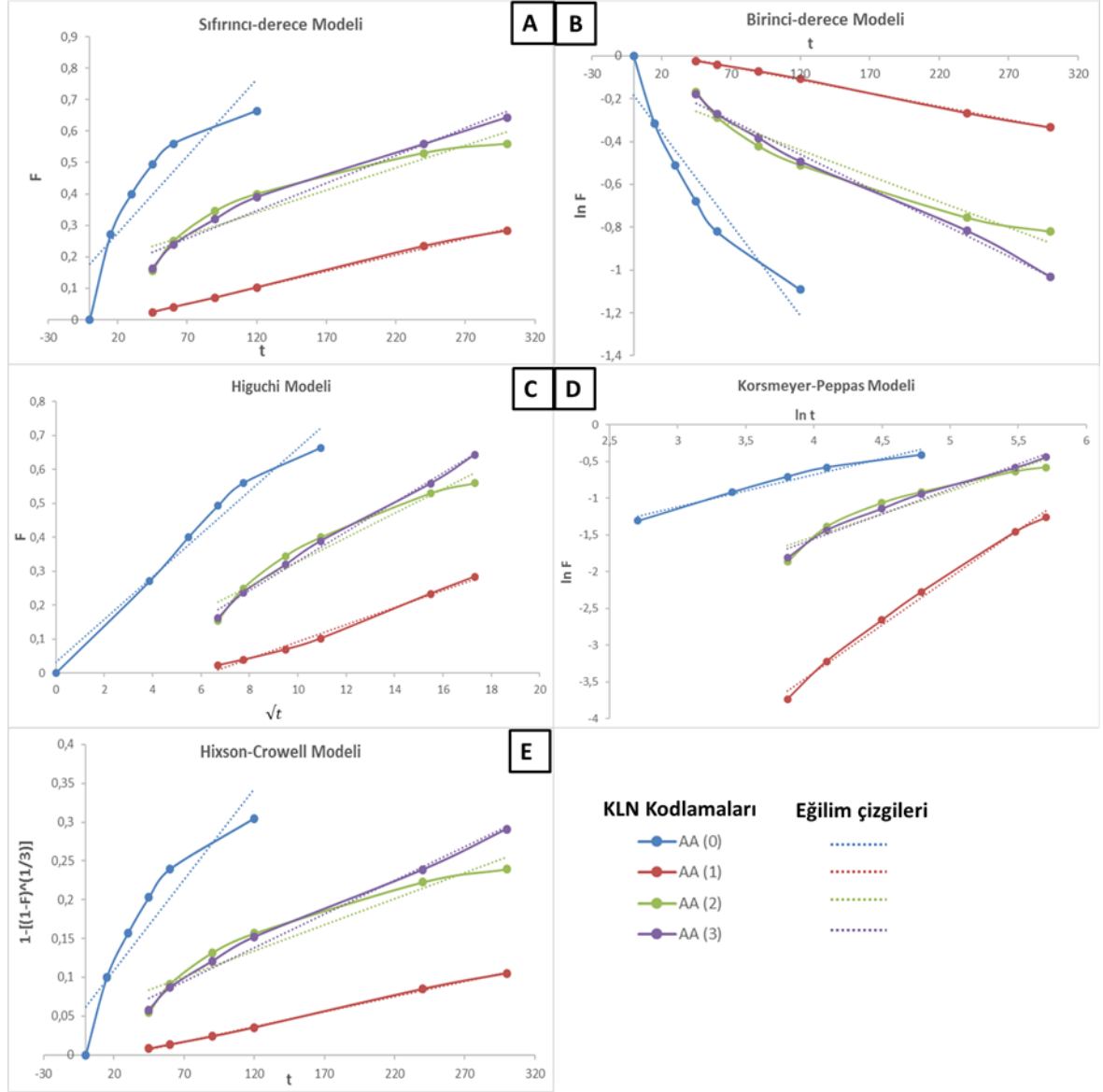
(0) kodlu mor ile gösterilen sonuç, AA yüklü KLN_{P1}'in yüzeyi herhangi bir kabuk malzemesi ile kaplanmamışken elde edilen sonuçtur ve diğerleriyle karşılaştırıldığında, onlara göre oldukça kontrolsüz olduğu söylenebilmektedir. Her bir sistem için toplam yaklaşık 48 saat sonunda ulaşılan salım yüzdesi aynı olsa da, salım davranışlarının birbirlerinden oldukça farklı olduğu söylenebilmektedir. Salım profillerinin daha iyi anlaşılabilmesi için özellikle kısa-zamanlı davranışlar oldukça önemli olduğu için Şekil 4.40'ta deney setlerine ait kısa-zamanlı salım profillerine ait sonuçlar verilmiştir.



Şekil 4.40. Çekirdek malzemesi olarak IBU kristali ve kabuk malzemesi olarak da AA yüklü olan ve olmayan $KLNP_1$, AuNP ya da kitosan kullanılarak TTK yöntemiyle hazırlanan ilaç taşıyıcı sistemden salınan AA yüzdesinin kısa-zaman davranışı

(1) kodlu mavi ile gösterilen deney sisteminde, AA- $KLNP_1$ TTK yöntemiyle yapılan kaplamada ilk AuNP tabakasından sonra kullanılmış ve üzerine toplam 3 tabaka daha kaplama yapılmıştır. Özellikle kısa-zamanlı davranışların gösterildiği Şekil 4.40'a bakıldığında, (1) ile gösterilen sistemden gerçekleşen AA salımının diğerleriyle karşılaştırıldığında oldukça yavaş ve kontrollü olduğu görülmektedir. (2) ve (3) kodlu sırasıyla kırmızı ve yeşil renkle gösterilen sonuçlara bakıldığında, birbirlerine oldukça benzer oldukları görülmektedir. (3) kodlu çalışmada, kullanılan iki KLN tabakasının ikisi de AA yüklüdür. Yaklaşık ~3. saatten sonra (3) kodlu sistemden AA salımının (2) kodlu olana göre ivme kazandığı ve (2)'nin önüne geçtiği görülmektedir. Bu noktada, içeride kalan AA yüklü $KLNP_1$ 'den salımın da ortamdaki AA miktarına kayda değer bir etkide bulunmaya başlamasının alınan sonuç üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir. Bu nedenden dolayı 3. saatten sonra, kullanılan her iki KLN tabakasından da AA yüklü olan sistemin yüzde salım miktarı, sadece son tabakasından AA olana göre daha hızlı yükselmiştir. Her durumda, elde edilen sonuçlar yüzeyi kaplanmamış olan AA- $KLNP_1$ ile

karşılaştırıldığında, oldukça kontrollü ve hızı istenen ölçüde ayarlanabilen ilaç salım sistemlerinin hazırlanabildiği görülmektedir.



Şekil 4.41. Çekirdek malzemesi olarak IBU partiküllerin ve kabuk malzemesi olarak da AA yüklenmiş ve yüklenmemiş KLN_{P1} , AuNPIlerin ve kitosanın kullanıldığı mikrokapsüllerden AA salımının **A)** Sıfırıncı-derece, **B)** Birinci-derece, **C)** Higuchi, **D)** Korsmeyer-Peppas ve **E)** Hixson-Crowell modeline göre hesaplanan profilleri

Şekil 4.41’de, yukarıda verilen 4 deney seti ile çalışılarak elde edilmiş AA salım davranışlarının, 5 farklı ilaç salım modeli kullanılarak hesaplanan salım profilleri gösterilmiştir. Daha önce IBU salımı çalışmalarında da görüldüğü gibi, AA

salımında da yüzeyi kaplanmış ve kaplanmamış mikrokapsüllere ait salım grafikleri birbirlerinden oldukça farklılık göstermektedir. Şekil 4.40'ta da açıkça görülebileceği gibi AA (0) kodu ile verilen yüzeyi kaplanmamış AA yüklü KLN_{P1} partiküllerine ait ilaç salımın büyük çoğunluğu tek-fazda gerçekleşmiş ve salımın oldukça yavaşladığı plato bölgesine ulaşmıştır. Ancak AA (1), AA (2) ve AA (3) olarak kodlanmış olan çalışmalarda, her ne kadar birbirlerinden de farklılık gösterebilir dahi salım iki-fazlı olarak gerçekleşmiştir ve buna neden olarak daha önce de açıklandığı gibi, son kabuk malzemesi olarak kitosanın kullanılmış olması gösterilebilmektedir. Bu neden dolayı, mikrokapsüllere ait salım verileri kullanılarak gerçekleştirilecek modelleme hesaplamaları sonuçlarının birbirleriyle karşılaştırılabilir olması adına, daha önce IBU'ya ait salım çalışmalarında da gerçekleştirildiği gibi, salımların tek fazlı olduğu, ilk gecikme süresinin atlatıldıktan sonra ve plato bölgesine ulaşana kadar elde edilen veriler kullanılarak mikrokapsüllerden gerçekleşen AA salımları modellenmiştir. Modelleme çalışmalarına ait parametreler Çizelge 4.21'de listelenmiştir.

Çizelge 4.21. IBU kristallerin çekirdek malzemesi olarak kullanıldığı koloidal mikrokapsüllerden AA salımına yönelik hesaplanan kinetik parametreler

		AA salımı (0)	AA salımı (1)	AA salımı (2)	AA salımı (3)
Sıfırıncı-derece	R ²	0,7692	0,9986	0,8895	0,9679
	k	0,0049	0,0010	0,0014	0,0018
Birinci-derece	R ²	0,8909	0,9990	0,9397	0,9928
	k	0,0086	0,0012	0,0024	0,0032
Higuchi	R ²	0,9713	0,9904	0,9462	0,9931
	k	0,0630	0,0251	0,0359	0,0433
Korsmeyer - Peppas	R ²	0,9649	0,9932	0,9115	0,9750
	k	0,0878	0,0002	0,0184	0,0139
	n	0,4386	1,2888	0,6179	0,6798
Hixson - Crowell	R ²	0,8533	0,9981	0,9247	0,9874
	k	0,0023	0,0004	0,0007	0,0009

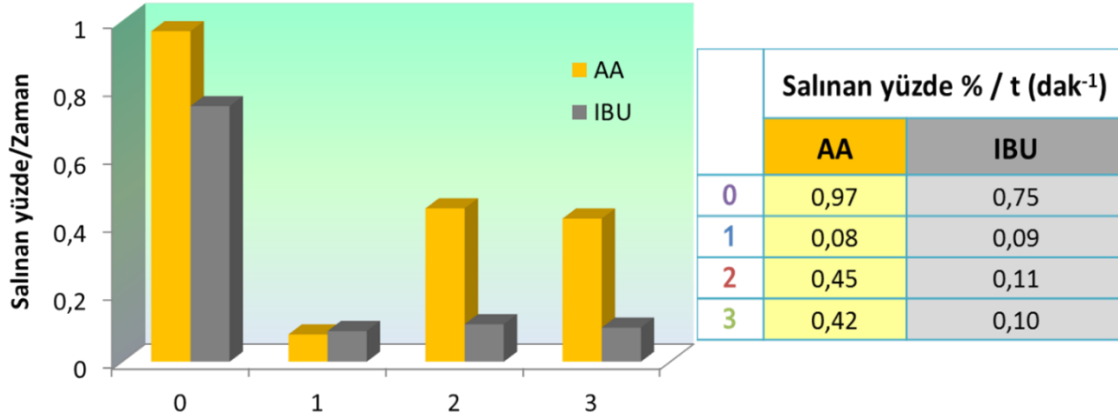
AA (0), AA (1), AA (2) ve AA (3)'e ait hesaplanan kinetik parametrelere bakıldığında, AA (0) için Korsmeyer-Peppas modeli kullanılarak hesaplanan R²

değerinin diğerlerinden yüksek olduğu görülürken, AA (1), AA (2) ve AA (3) için Birinci-derece modeline ait R^2 değerlerinin diğerlerinden daha yüksek olduğu görülmüştür (Çizelge 4.22). AA (0) kodlu, yüzeyi kaplanmamış AA yüklü KLN_{P1} ile yürütülen çalışmadan elde edilen “n” değerine bakıldığında, salımın Fick yasasına uygun şekilde difüzyonla gerçekleştiği söylenebilmektedir ($n < 0.45$). Daha önce de söylendiği gibi, literatürdeki in vitro ilaç salım çalışmalarına bakıldığında, salımın göreceli olarak hızlı şekilde gerçekleştiği, daha sonra salımın yavaşlayarak bir plato bölgesine ulaştığı ilaç taşıyıcı sistemler için bu mekanizmanın geçerli olduğu görülmektedir. Partikül içine yüklenen AA'nın çok yoğun olduğu ortamdan az yoğun olduğu salım ortamına difüzyonla geçiyor oluşu, gerçekleştirilen modelleme çalışmaları sonucunda hesaplanan R^2 ve n değerleriyle de ispatlanmış olmaktadır. AA (1), AA (2) ve AA (3) mikrokapsüllerinden gerçekleşen AA salımının Birinci-derece modeline uygun olması oldukça hidrofilik olduğu bilinen AA'nın, kullanılan kabuk malzemelerle oluşturulan katmanların arasından kontrollü şekilde salım ortamına salındığı düşünülürse oldukça mantıklı bir sonuçtur. Daha önce Şekil 4.10 ve Çizelge 4.8'de verilen sonuçlara bakıldığında, AA salımını KLN_{P1} 'e göre daha kontrollü şekilde gerçekleştiren KLN_6 , KLN_9 ve KLN_{9-2} partiküllerinin salım profillerinin de Birinci-derece modeli'ne uygun olduğu verilmişti. Bu durumda, kendi başına kullanıldığında kontrolsüz şekilde ilaç salımının gerçekleştiği KLN_{P1} partikülü ile gerçekleştirilen mikrokapsül çalışmaları sonucunda, salımın çok daha kontrollü hale getirildiği söylenebilmektedir.

Çizelge 4.22. AA salım profilleri incelenen AA (0), AA (1), AA (2) ve AA (3) olarak kodlanmış sistemler için hesaplanan R² değerlerine göre en uygun bulunan salım modelleri

İlacın Salındığı Taşıyıcı	Salım Modeli
AA (0)	Korsmeyer-Peppas
AA (1)	Birinci-derece
AA (2)	Birinci-derece
AA (3)	Birinci-derece

IBU kristallerinin çekirdek malzeme olarak kullanıldığı mikrokapsüllere ait salım çalışmalarına bakıldığında, daha önce de söylendiği gibi gecikme süresi ve salım ile birlikte toplam 2 ilaç salımının tamamlandığı görülmektedir. Gecikme süresi geçtikten sonra ulaşılan ilaç salım süreci yukarıda anlatıldığı gibi literatürde en sıklıkla kullanılan 5 farklı ilaç salım modeli ile açıklanmaya çalışılmıştır. Ancak ilaç salımının geciktirildiği ilk 1 saatlik periyot, yapılan tez çalışmasında hazırlanan mikrokapsüllere ait oldukça özgün bir özellik olmakla birlikte, ilacın kontrollü ve ayarlanabilir şekilde hedeflenen dokuya ulaşımının sağlanması açısından da oldukça önemli bir süreç olma özelliği taşımaktadır. Bu periyodun da nicel bulgularla desteklenebilmesi adına, elde edilen yüzde salım miktarları ilk 1 saat için hesaplanmış ve Şekil 4.42'deki bar grafikleri oluşturulmuştur. Renk ve sayı kodlamaları daha önce verilen grafiklerle aynı şekilde hazırlanmıştır. Elde edilen sonuçlara bakıldığında, AA-KLN_{P1}'in 2. katmandaki kabuk malzemesi olarak kullanıldığı (1) kodlu sistem diğerleriyle AA salımı açısından karşılaştırıldığında, 0,08 ile oldukça yavaş ve kontrollü olduğu görülmektedir. (0) kodlu sistemin 0,97 ile diğerleri içerisinde en hızlı, (2) ve (3) kodlu sistemlerin ise sırasıyla 0,45 ve 0,42 ile daha önce de bahsedildiği gibi birbirlerine çok benzer davranış sergilediği görülmüştür.



Şekil 4.42. IBU kristalleri üzerine TTK yöntemiyle kaplanarak hazırlanan sistemlerden ilk 1 saat için AA ve IBU salım yüzdeleri

Salım profilleri IBU salımı açısından değerlendirildiğinde, daha önce de belirtildiği gibi, (1), (2) ve (3) kodlu sistemler için sırasıyla 0,09, 0,11 ve 0,10 ile kayda değer bir değişiklik göstermediği söylenebilmektedir. Ancak (0) kodlu yüzeyi kaplı olmayan IBU kristalinin salımına bakıldığında, 0,75 ile diğerleriyle karşılaştırıldığında ilk 1 saat için oldukça kontrolsüz ve hızlı bir salım profili gerçekleştirdiği söylenebilmektedir. Oluşturulan yapılardan elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, salımın oldukça yavaşlatıldığı ve geciktirildiği görülmüştür. Böylece, yapıya birden fazla fonksiyonun dahil edilmesinin yanı sıra ilaç salım profili de istenen ölçekte uzatılabilmekte ve hızı ayarlanabildiği görülmektedir.

Çalışma sonucunda, sonuç olarak biyouyumluluklarını ve ilaç tutma kapasitesini artırırken, çok fonksiyonluluk özelliği de katacak olan KLNler ile kontrollü ilaç salımı için kullanılacak, aynı anda birden fazla ilaç için rezervuar olabilecek, salım miktar ve süresi ayarlanabilen taşıyıcı sistemler geliştirilmesi başarıyla tamamlanmış olmaktadır.

5.SONUÇLAR

Yapılan tez çalışmasının ilk basamağında küçük boyut ve dar boyut aralığında, dayanıklı ve biyouyumlu 12 farklı katı lipit nanopartikül (KLN) sentezlenmiş ve hazırlanan partiküller, boyut, boyut dağılımı, yüzey fonksiyonelliği ve termal özellikler açısından karakterize edildikten sonra model ilaç alım/salım kapasiteleri incelenmiştir. Çalışmada İkinci basamak olarak, hazırlanan KLNlerin kabuk malzeme olarak kullanıldığı koloidal mikrokapsüller hazırlanmış ve bu yeni akıllı ve çok fonksiyonlu malzeme kullanılarak kontrollü salım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışma süresince elde edilen önemli sonuçlar aşağıda verilmektedir:

- Çalışma kapsamında ilk olarak KLN sentezi için kullanılacak lipit ve emülsifiye edici ajan tür ve miktarları ile uygulanan işlemsel parametreler optimize edilerek, "Mikroemülsiyon Yöntemi" ile KLN sentezinin ilk basamağını oluşturan, şeffaf ve termodinamik olarak stabil mikroemülsiyonlar (ME) hazırlanmıştır.
- KLN sentezinin ikinci basamağında, hazırlanan MEler kullanılarak 1:10 ve 1:20 olmak üzere iki farklı ME:su oranında çalışılarak KLNler sentezlenmiştir.
- Lipit malzeme olarak stearik asit tercih edilirken, emülsifiye edici ajan olarak ise litokolik asit, Pluronik F 127, Tween 20, lesitin ve butanol kullanılmıştır.
- Sentezlenen KLNlerin boyut ve boyut dağılımı analizleri Dinamik Işık Saçınımı (DLS) ve Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) kullanılarak yapılırken yüzey yükü tayini ise zeta potansiyel ölçümleriyle gerçekleştirilmiştir. DLS ile yapılan ölçümler sonucunda ortalama partikül çapları $39\pm 0,1$ nm ile $164\pm 1,4$ nm arasında değişen partiküllerin sentezlendiği görülmüştür. AFM ile yapılan ölçümlerde ise bu değerler 40 ± 6 nm ile 148 ± 5 nm arasında değişmektedir.
- KLN sentezi için iyonik emülsifiye edici ajanlar kullanıldığı koşulda iyonik olmayanlara göre daha küçük boyutta partiküllerin sentezlenebildiği görülürken, yapıya emülsifiye edici ajan fazından alkol eklenmesinin de partikül boyutunda artışa neden olduğu saptanmıştır. Bunun yanı sıra, kullanılan emülsifiye edici ajan miktarının artırılmasıyla partikül boyutunun küçültülebileceği de yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır.

- Kullanılan emülsifiye edici ajanın yanı sıra, KLN hazırlanma aşamasında ortamda bulunan lipit derişiminin de oldukça önemli olduğu anlaşılmış, su içine ME eklenme oranı 1:20'den 1:10 değerine değiştirildiğinde partikül boyutunda büyüme olduğu görülmüştür.
- Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) ile yapılan termal analiz sonucunda, erime noktası, yararlanılan diğer emülsifiye edici ajanlardan yüksek olan litokolik asidin (188°C) kullanıldığı partiküllerin kristallik derecesinin yükseldiği, ancak oda sıcaklığında sıvı formda bulunan Tween 20 gibi emülsifiye edici ajanların yapıya dahil edilmesiyle hem partiküle ait erime noktasının hem de kristallik derecesinin düştüğü gözlemlenmiştir. Hazırlanan toplam 12 farklı KLN'nin, DSC termogramlarından elde edilen bilgiler kullanılarak hesaplanan kristallik dereceleri %1 ile %32.3 aralığında değişiklik göstermektedir.
- Yapılan tez çalışması kapsamında hazırlanan KLNlerin stabilite test edilebilmesi için sentezden hemen sonra ve 3 ay oda koşullarında bekletildikten sonra boyut ve zeta potansiyel ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara bakıldığında, partiküllerin istatistiksel olarak kabul edilebilir ölçüde elektrokimyasal ve fiziksel stabiliteye sahip olduğunu söylemek mümkündür.
- Hazırlanan KLNler ile ilaç alım/salım performanslarının değerlendirilmesi için Askorbik asit (AA) ve Metilen mavisi (MM) gibi iki farklı model ilaç kullanılmıştır. AA partikül sentezi aşamasında, partikül yapısı içine yüklenirken, MM partikül sentezi tamamlandıktan sonra, aralarındaki elektrostatik etkileşimden faydalanılarak partiküllerin yüzeyine kaplanmıştır.
- MM ile yapılan ilaç alım çalışmaları sonucunda, partiküllerin yüzeylerine ilaç tutma kapasitelerinin yüzey yük yoğunluğu değerleri ile doğru orantılı olarak değiştiği; yüzey yük yoğunluğu yüksek partiküllerin daha çok metilen mavisi taşıyabilirken, yüzey yük yoğunluğu düşük olanların tutabildiği MM miktarının oldukça azaldığı gözlemlenmiştir. Bu bağlamda, en yüksek yüzey yük yoğunluğu değerine sahip olan KLN_{L2} partikülünün MM yükleme kapasitesi %92,0 iken, en düşük yüzey yük yoğunluğu değeri ile KLN_{P1}'in MM tutma kapasitesinin %5,6 olduğu görülmüştür.

- Hazırlanan KLNlerden MM salımının ise, alım veriminin tersine, yüzey yük yoğunluğu değerleriyle ters orantılı olarak değiştiği söylenebilmektedir. Yüksek ilaç tutma verimi olan L kodlu KLNlerden MM salımı yüzdesi ~%35 civarında iken, P kodlu KLNlerin ~%90'lık salım verimi değerlerine ulaştığı görülmüştür.
- AA ile yapılan ilaç tutma çalışmalarında, partikül boyutu ve kimyasal kompozisyonunun etkisinin anlaşılabilmesi adına KNL_{L2}, KNL_{P1}, KNL₆, KNL₉ ve KNL₉₋₂ partikülleri ile çalışılmış ve ilaç tutma kapasitesinin en büyük partikül boyutuna sahip olan KNL_{L2} için ~%96 ile en yüksek değerine ulaştığı görülmüştür.
- Hidrofilik bir malzeme olan AAnın suda çözünen bir vitamin olması nedeniyle, taşımak için kullanılan malzemenin boyutundan öte, kimyasal yapısı da önemli bir faktör olmaktadır. AA salım çalışmalarından elde edilen sonuçlara bakıldığında, kullanılan emülsifiye edici ajanlar içerisinde hidrofobikliği en yüksek olan litokolik asit ile hazırlanan KNL_{L2} partikülünün, diğerleri arasında AA'yı en kontrolsüz şekilde salıyor olması, bahsedilen teoriyi destekler niteliktedir. Bunun yanı sıra, AA alım çalışmaları için tercih edilen KLNlerin ilaç alım verimleri ile salım verimleri birbirleriyle karşılaştırıldığında, daha yüksek kapasiteyle ilaç tutan partiküllerin, diğerlerine oranla AA'yı daha hızlı şekilde saldığı görülmüştür. Bu durumda ilacın partikül yüzeyine tutturulduğu koşulun tersine, partikül yapısına dahil edildiğinde, ilaç alım kapasitesinin salım kapasitesiyle doğru orantılı olarak değiştiği söylenebilmektedir.
- Çalışmanın ikinci kısmında, nanopartiküllerin bireysel olarak kullanıldığı koşulda sağladıkları avantajlardan faydalanmak ve geniş iç hacime ve yüzey alanına sahip, aynı anda birden fazla ilacın enkapsüle edilerek taşınabildiği, farklı özelliklerdeki yapıtaşlarının kullanılmasıyla, birden fazla özelliği bünyesinde barındırabilen koloidal mikrokapsüller (MK) hazırlanmıştır. Mikrokapsüllerin hazırlanmasında, elektrostatik olarak birbirleriyle etkileşebilen zıt yüklü malzemelerin, çekirdek malzeme üzerine birbiri ardına kaplanması esas alındığı Tabaka-Tabaka Kaplama Yöntemi (TTK) kullanılmıştır. Kabuk malzemesi olarak çalışma kapsamında hazırlanan KLNler, Tohum-Büyütme Yöntemi kullanılarak sentezlenen altın nanopartiküller (AuNP) ve doğal bir polisakkarit olan kitosan; Çekirdek

olarak ise polistiren partiküller (PS) ve Ibuprofen (IBU) ilaç kristalleri kullanılmıştır.

- Yüzeyi aminlenmiş PS partiküller üzerine, kabuk malzeme olarak kullanılan KLN, AuNP ve kitosanın miktar ve kaplanma sürecindeki inkübasyon süresi, her bir tabaka kaplanmasının ardından alınan zeta potansiyel ölçümleri ve Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüleri ile değerlendirilmiş ve optimize edilmiştir. Yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda, TTK yöntemi ile PS partiküller üzerine KLN, AuNP ve kitosan kullanılarak, 10 katmanlı MKlerin hazırlanabildiği görülmüştür.
- TTK yöntemiyle hazırlanan MKlerin kontrollü ve sürdürülebilir ilaç salım çalışmalarında kullanılabilirliğinin araştırılması için, tek başına kullanıldığı koşulda ani salım yaptığı bilinen AA yüklü KLN_{L1} partikülleri tek kabuk malzemesi olarak kullanılan; AA yüklü KLN_{L1} üzerine AuNPlar ile ve kitosan ile kaplama yapılan olmak üzere 3 ayrı deney seti ile AA salımı çalışılmış ve TTK yöntemiyle hazırlanan MKler ile ilaç salımının, partiküllerin tek başlarına kullanıldığı koşuldakine göre ilk 15 dakika için sırasıyla ~%40 ve ~%55 oranında yavaşlatılabildiği görülmüştür. Bunun yanı sıra, yüzeyi AuNP ve kitosan ile kaplı olan sistemlerden farklı olarak AA yüklü KLN_{L1} ile elde edilen salımın ~2 saat içerisinde tamamlanıp plato bölgesine ulaştığı, ancak üzerinde kaplama olan sistemlerde bu sürenin sırasıyla ~4 ve ~5 saate kadar uzatılabildiği görülmüştür.
- IBU kristalleri kullanılarak hazırlanan kolloidal MK çalışmaları, IBU'nun çözünür olmadığı koşullar olan ~pH5 civarında çalışılmış ve kabuk malzemesi olarak KLN_{P1}, AuNP ve kitosan kullanılmıştır. Kaplama verimliliği her bir tabaka kaplanmasının ardından zeta potansiyel ölçümleri ve SEM görüntüleriyle analizlenmiştir.
- IBU salımının daha kontrollü ve sürdürülebilir hale getirilebilmesi için AuNP ve kitosan olmak üzere iki farklı kabuk malzemesi kullanılarak yapılan çalışmanın sonucunda, IBU kristallerinin yüzeyinin kaplı olmadığı koşula göre ilk 2 saat için salımın sırasıyla ~%40 ve ~%60 oranında yavaşlatılabildiği görülmüştür. Buna ek olarak, yüzeyinin kaplanmadığı koşulda IBU salımı ~2 saat içinde tamamlanıp plato bölgesine ulaşırken, yüzeyi AuNP ve kitosan kaplı kapsüllerden salımın sırasıyla ~5 ve ~7 saat gibi uzatılmış sürelerde tamamlandığı görülmüştür.

- Çalışmanın devam eden kısmında, yine çekirdek malzemesi olarak IBU kristalleri kullanılarak, çok katmanlı MK yapısı oluşturmak üzere çalışmalar yapılmıştır. Bu sayede, IBU salımının istenen ve değişen ölçülerde kontrol edilebilmesi sağlanırken; aynı zamanda kabuk malzemesi olarak kullanılacak KLNlerin ilaç tutma ve salım kapasitelerinden faydalanılarak aynı anda iki ilaç için rezervuar görevi yapabilen taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir. Bununla birlikte AuNPlerin de kabuk malzemesi olarak kullanılmasıyla, hastalıkların teşhisinde biyosensör olarak kullanılacak bir alternatif sistem geliştirilebilmiş olacaktır.
- Çok katmanlı kapsül yapısı oluşturmak üzere, AuNP, KLN_{P1} ve kitosan kabuk malzemeleri olarak; negatif yüklü IBU kristalleri de çekirdek malzeme olarak kullanılarak toplam 5 katmanlı MKler oluşturulmuştur. Kullanılan KLN_{P1} katmanları AA ile yüklenerek aynı anda hem IBU hem AA salımının yapılabildiği taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir.
- Hazırlanan kapsüllerden gerçekleşen IBU salımına bakıldığında, kaplanmadığı koşula göre ilk 2 saat için salımın ~%75 oranında yavaşlatılabildiği görülmektedir. Bunun yanı sıra yüzeyi kaplanmış ve kaplanmamış olan IBU kristali salımının sürdürülebilirliğine bakılacak olursa, IBU'nun yüzeyi kaplı olmadığı koşulda salımın ~2 saat içinde tamamlandığı ve plato bölgesine ulaştığı, ancak yüzeyi AuNP, KLN_{P1} ve kitosan kabuk malzemeleri olarak 5 kat kaplanan IBU kristallerinden salımın ~40 saate kadar uzatılabildiği görülmüştür.
- TTK yöntemiyle hazırlanan kapsüllerden gerçekleşen AA salımı için elde edilen salım sonuçlarına bakıldığında ise, özellikle çekirdeğe yakın katmandaki KLNlere AA yüklendiği koşulda salımın ilk 2 saat için ~%55 oranında, çekirdeğe uzak katmandaki KLNlere AA yüklendiği koşulda ise ~%25 oranında yavaşlatılabildiği görülmüştür. Buna ek olarak, yüzeyi kaplanmamış AA yüklü KLN_{P1} partiküllerinden AA salımının ~3 saat içerisinde tamamlanıp plato bölgesine ulaştığı görülürken, çekirdeğe yakın katmandaki KLNlere AA yüklendiği koşulda salımın ~45 saat, uzak katmandaki KLNlere AA yüklendiğinde ise ~25 saat gibi bir süre uzatılabildiği görülmüştür.

- Çalışma sonucunda, sonuç olarak biyouyumluluklarını ve ilaç tutmak kapasitesini arttırırken, çok fonksiyonluluk özelliği de katacak olan KLNler ile kontrollü ilaç salımı için kullanılabilir, aynı anda birden fazla ilaç için rezervuar olabilecek, salım miktar ve süresi ayarlanabilen taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Rao, C.N.R., Cheetham, A.K., Science and technology of nanomaterials: current status and future prospects, *Journal of Materials Chemistry*, 11, 2887-2894, **2001**.
- [2] Murthy, S.K., Nanoparticles in modern medicine: State of the art and future challenges, *International Journal of Nanomedicine*, 2, 129-141, **2007**.
- [3] Salata, O.V., Applications of nanoparticles in biology and medicine, *Journal of Nanobiotechnology*, 2, 1-6, **2004**.
- [4] Li, X., Elliott, D.W., Zhang, W., Zero-Valent Iron Nanoparticles for Abatement of Environmental Pollutants: Materials and Engineering Aspects, *Critical Reviews in Solid State and Materials Sciences*, 31, 111-122, **2006**.
- [5] Lewinski, N., Colvin, V., Drezek, R., Cytotoxicity of Nanoparticles, *Small*, 4, 26-49, **2008**.
- [6] Mody, V.V., Siwale, R., Singh, A., Mody, H.R., Introduction to metallic nanoparticles, *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 2, 282-289, **2010**.
- [7] Rao, J.P., Geckeler, K.E., Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters, *Progress in Polymer Science*, 36, 887-913, **2011**.
- [8] Pari, A., Loomis, K., Smith, B., Lee, J., Yavlovich, A., Heldman, E., Blumenthal, R., Lipid-Based Nanoparticles as Pharmaceutical Drug Carriers: From Concepts to Clinic, *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 26, 523-580, **2009**.
- [9] Sheth, P., Sandhu, H., Singhal, D., Malick, W., Shah, N., Kislalioglu, M.S., Nanoparticles in the pharmaceutical industry and the use of supercritical fluid technologies for nanoparticle production, *Current Drug Delivery*, 9, 269-284, **2012**.
- [10] Fundaro, A., Cavalli, R., Bargoni, A., Vighetto, D., Zara, G.P., Gasco, M.R., Non- stealth and stealth solid lipid nanoparticles (SLN) carrying doxorubicin: pharmacokinetics and tissue distribution after i.v. administration to rats, *Pharmacological Research*, 42, 337-343, **2000**.

- [11] Almedia, J.A., Souto, E., Solid lipid nanoparticles as a drug delivery system for peptides and proteins, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59, 478-490, **2007**.
- [12] Müller, R.H., Weyhers, H., Cytotoxicity of Magnetite-Loaded Polyactide, Polyactide/Glycolide Particles and Solid Lipid Nanoparticles, *International Journal of Pharmaceutics*, 138, 85-94, **1996**.
- [13] Numanoğlu, U., Tarımcı, N., Katı Lipit Nanopartiküllerin Özellikleri, Farmasötik ve Kozmetik Alandaki Uygulamaları, *Journal of the Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 35, 211-235, **2006**.
- [14] Li, M., Schnablegger, H., Coupled Synthesis and Self-assembly of Nanoparticles to Give Structures with Controlled Organization, *Nature*, 402, 393-395, **1999**.
- [15] Jeong, Y., Patra, D., Sanyal, A., Fabrication of Stable Nanoparticle-Based Colloidal Microcapsules, *Current Organic Chemistry*, 17, 49-57, **2013**.
- [16] Amali, A.J., Awwada, N.H., Rana, R.K., Patra, D., Nanoparticle assembled microcapsules for application as pH and ammonia sensor, *Analytica Chimica Acta*, 708, 75-83, **2011**.
- [17] Grzelczak, M., Vermant, J., Furst, E.M., Liz-Marzan, L.M., Directed Self Assembly of Nanoparticles, *ACS Nano*, 4, 3591-3605, **2010**.
- [18] Park, M., Deng, S., Advincula, R.C., Sustained Release Control via Photo-Cross-Linking of Polyelectrolyte Layer-by-Layer Hollow Capsules, *Langmuir*, 21, 5272-5277, **2005**.
- [19] Alexandridis, P., Tsianou, M., Block copolymer-directed metal nanoparticle morphogenesis and organization, *European Polymer Journal*, 47, 569-583, **2010**.
- [20] Svilenov, H., Tzachev, C., Solid Lipid Nanoparticles – A Promising Drug Delivery System. *Nanomedicine*, (eds: Seifalian, A., de Mel, A., Kalaskar, D.M.), One Central Press, Manchester, 187-237, **2014**.
- [21] Eldem, T., Speiser, P., Hincal, A., Optimization of spray-dried and -congealed lipid micropellets and characterization of their surface

- morphology by scanning electron microscopy, *Pharmaceutical Research*, 8, 47-54, **1991**.
- [22] Siekmann, B., Westesen, K., Submicron-sized parenteral carrier systems based on solid lipids, *Pharmaceutical and Pharmacological Letters*, 1, 123-126, **1992**.
- [23] Lucks, S., Müller, R., *WIPO Patent No. 1993005768*. Geneva, Switzerland: World Intellectual Property Organization, **1993**.
- [24] Gasco, M.R., *U.S. Patent No. 5250236*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office, **1993**.
- [25] Siekmann, B., Westesen, K., Melt-homogenized solid lipid nanoparticles stabilized by nonionic surfactant tyloxapol, *Pharmaceutical and Pharmacological Letters*, 3, 194-197, **1994**.
- [26] Cavalli, R., Caputo, O., Gasco, M.R., Preparation and characterization of solid lipid nanospheres containing paclitaxel, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10, 305-309, **2000**.
- [27] Cavalli, R., Caputo, O., Marengo, E., Pattarino, F., Gasco, M.R., The effect of the components of microemulsions on both size and crystalline structure of solid lipid nanoparticles (SLN) containing a series of model molecules, *Pharmazie*, 53, 392-396, **1998**.
- [28] Schubert, M.A., Müller-Goymann, C.C., Characterisation of surface-modified solid lipid nanoparticles (SLN): influence of lecithin and nonionic emulsifier, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 61, 77-86, **2005**.
- [29] Müller, R.H., Mader, K., Gohla, S., Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery – a review of the state of the art, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50, 161-177, **2000**.
- [30] Müller, R.H., Radtke, M., Wissing, S.A., Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54, 131-155, **2002**.
- [31] Wang, J.X., Sun, X., Zhang, Z.R., Enhanced brain targeting by synthesis of 3',5'- dioctanoyl-5-fluoro-2'-deoxyuridine and incorporation into solid lipid

nanoparticles, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 54, 285-290, **2002**.

- [32] Mehnert, W., Mader, K., Solid lipid nanoparticles production, characterization and applications, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 47, 165-196, **2001**.
- [33] Lippacher, A., Müller, R.H., Mader, K., Investigation on viscoelastic properties of lipid based colloidal drug carriers, *International Journal of Pharmaceutics*, 196, 227- 230, **2000**.
- [34] Ahlin, P., Kristl, J., Smid-Kobar, J., Optimization of procedure parameters and physical stability of solid lipid nanoparticles in dispersions, *Acta Pharmaceutica*, 48, 257-267, **1998**.
- [35] Phipps, L.W., *The High Pressure Dairy Homogenizer*, National Institute for Research in Dairying, Reading, **1985**.
- [36] Müller, R.H., Mehnert W., Lucks, J.S., Schwarz, C., zur Muhlen, A., Weyhers, H., Freitas, C., Ruhl, D., Solid lipid nanoparticles (SLN) – An alternative colloidal carrier system for controlled drug delivery, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 41, 62-69, **1995**.
- [37] Siekmann, B., Westesen, K., Melt-homogenized solid lipid nanoparticles stabilized by the nonionic surfactant tyloxapol I. Preparation and particle size determination, *Pharmaceutical and Pharmacological Letters*, 3, 194-197, **1994**.
- [38] Cavalli, R., Caputo, O., Marengo, E., Pattarino, F., Gasco, M.R., The effect of the components of microemulsions on both size and crystalline structure of lipid nanoparticles (SLN) containing a series of model molecules, *Pharmazie*, 53, 392-396, **1998**.
- [39] Kalaycioglu G.D., Aydogan, N., Preparation and investigation of solid lipid nanoparticles for drug delivery, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering*, 510, 77-86, **2016**.
- [40] Hou, D.Z., Xie, C.S., Huang, K.J., Zhu, C.H., The production and characteristics of solid lipid nanoparticles (SLNs), *Biomaterials*, 24, 1781-1785, **2003**.

- [41] Wissing, S.A., Kayser, O., Müller, R.H., Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56, 1257-1272, **2004**.
- [42] Battaglia, L., Gallarate, M., Panciani, P.P., Ugazio, E., Sapino, S., Peira, E., Chirio, D., Techniques for the preparation of solid lipid nano and microparticles. *Application of Nanotechnology in Drug Delivery*, (ed: Sezer, A.D.), Intech, Rijeka, 51-75, **2014**.
- [43] Cavalli, R., Bargoni, A., Podio, V., Muntoni, E., Zara, G.P., Gasco, M.R., Duodenal administration of solid lipid nanoparticles loaded with different percentages of tobramycin, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 92, 1085-1094, **2003**.
- [44] Jennings, V., Gohla, S., Comparison of wax and glyceride solid lipid nanoparticles (SLN), *International Journal of Pharmaceutics*, 196, 219-222, **2000**.
- [45] Schwarz, C., Mehnert, W., Freeze drying of drug-free and drug loaded solid lipid nanoparticles (SLN), *International Journal of Pharmaceutics*, 157, 171-179, **1997**.
- [46] Freitas, C., Müller, R.H., Spray drying of solid lipid nanoparticles (SLN), *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 46, 145-151, **1998**.
- [47] Hu, L.D., Tang, X., Cui, F.D., Solid lipid nanoparticles (SLNs) to improve oral bioavailability of poorly soluble drugs, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 56, 1527-1535, **2004**.
- [48] Kaş, H.S., İlaç taşıyıcı sistemler. *Kontrollü Salım Sistemleri*, (ed: Gürsoy, A.Z.), Kontrollü Salım Sistemleri Derneği, İstanbul, **2002**.
- [49] Cavalli, R., Gasco, M.R., Chetoni, P., Burgalassi, S., Saettone, M.F., Solid lipid nanoparticles (SLN) as ocular delivery system for tobramycin, *International Journal of Pharmaceutics*, 238, 241-245, **2002**.
- [50] Kwon, O.S., Jang, J., Bae, J., A Review of Fabrication Methods and Applications of Novel Tailored Microcapsules, *Current Organic Chemistry*, 17, 3-13, **2010**.

- [51] Patra, D., Sanyal, A., Rotello, V.M., Colloidal microcapsules: self-assembly of nanoparticles at the liquid-liquid interface, *Chemistry an Asian Journal*, 5, 2442-2453, **2010**.
- [52] Sato, K., Yoshida, K., Takahashi, S., Anzai, J., pH- and sugar-sensitive layer-by-layer films and microcapsules for drug delivery, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63, 809-821, **2011**.
- [53] Lensen, D., Vriezema, D.M., van Hest, J.C.M., Polymeric microcapsules for synthetic applications, *Macromolecular Bioscience*, 8, 991-1005, **2008**.
- [54] Bedard, M.F., de Geest, B.G., Skirtach, A.G., Möhwald, H., Sukhorukov, G.B., Polymeric microcapsules with light responsive properties for encapsulation and release, *Advances in Colloid and Interface Science*, 158, 2-14, **2010**.
- [55] Tong, W., Gao, C., Multilayer microcapsules with tailored structures for biorelated applications, *Journal of Materials Chemistry*, 18, 3799-3812, **2008**.
- [56] Bae, J., Fabrication of carbon microcapsules containing silicon nanoparticles for anode in lithium ion battery, *Colloid and Polymer Science*, 289, 1233-1241, **2011**.
- [57] Jutz, G., Böker, A., Bio-inorganic microcapsules from templating protein- and bionanoparticle stabilized Pickering emulsions, *Journal of Materials Chemistry*, 20, 4299-4304, **2010**.
- [58] Zhang, J., Coulston, R.J., Jones, S.T., Geng, J., Scherman, O.A., Abell, C., One-Step Fabrication of Supramolecular Microcapsules from Microfluidic Droplets, *Science*, 335, 690-694, **2012**.
- [59] Holmberg, K., Joensson, B., Kronberg, B., Lindman, B., *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution*, John Wiley and Sons, West Sussex, **2003**.
- [60] Yin, W., Yates, M.Z., Effect of interfacial energy on the formation of polymer microcapsules by emulsification/free drying, *Langmuir*, 24, 701-708, **2008**.
- [61] Chen, W., Liu, X., Liu, Y., Kim, H., Synthesis of microcapsules with polystyrene/ZnO hybrid shell by Pickering emulsion polymerization, *Colloid and Polymer Science*, 288, 1393-1399, **2010**.

- [62] Dinsmore, A.D., Hsu, M.F., Nikolaides, M.G., Marquez, M., Bausch, A.R., Weitz, D.A., Colloidosomes: selectively permeable capsules composed of colloidal particles, *Science*, 298, 1006-1009, **2002**.
- [63] Ao, Z., Yang, Z., Wang, J., Zhang, G., Ngai, T., Emulsion template liquid core polymer shell microcapsule formation, *Langmuir*, 25, 2572-2574, **2009**.
- [64] Liu, L., Yang, J.P., Ju, X.J., Xie, R., Yang, L., Liang, B., Chu, L.Y., Microfluidic preparations of monodisperse ethyl cellulose hollow microcapsules with not-toxic solvent, *Journal of Colloid and Interface Science*, 336, 100-106, **2009**.
- [65] He, Q., Cui, Y., Li, J., Molecular assembly and application of biomimetic microcapsules, *Chemical Society Reviews*, 38, 2292-2303, **2009**.
- [66] Decher, G., Fuzzy nanoassemblies: toward layered polymeric multicomposites, *Science*, 277, 1232-1237, **1997**.
- [67] Saurer, E.M., Flessner, R.M., Buck, M.E., Lynn, D.M., Fabrication of covalently crosslinked and amine-reactive microcapsules by reactive layer-by-layer assembly of azlactone containing polymer multilayers on sacrificial microparticle templates, *Journal of Materials Chemistry*, 21, 1736-1745, **2011**.
- [68] Zhu, Y., Tong, W., Gao, C., Möhwald, H., Assembly of polymeric micelles into hollow microcapsules with extraordinary stability against extreme pH conditions, *Langmuir*, 24, 7810-7816, **2008**.
- [69] Becker, A.L., Zelikin, A.N., Johnston, A.P.R., Caruso, F., Tuning the formation and degradation of layer-by-layer assembled polymer hydrogel microcapsules. *Langmuir*, 225, 14079-14085, **2009**.
- [70] Liu, J., Zhang, Y., Wang, C., Xu, R., Chen, Z., Gu, N., Magnetically sensitive alginate-templated polyelectrolyte multilayer microcapsules for controlled release of doxorubicin, *Journal of Physical Chemistry C*, 114, 7673-7679, **2010**.
- [71] Zhang, L., Shi, J., Jiang, Z., Jiang, Y., Meng, R., Zhu, Y., Liang, Y., Zheng, Y., Facile Preparation of Robust Microcapsules by Manipulating Metal-Coordination Interaction Between Biomineral Layer and Bioadhesive Layer, *ACS Applied Materials and Interfaces*, 3, 597-605, **2011**.

- [72] Jiang, Y., Yang, D., Zhang, L., Sun, Q., Sun, X., Li, J., Jiang, Z., Preparation of protamine–titania microcapsules through synergy between layer-by-layer assembly and biomimetic mineralization, *Advanced Functional Materials*, 19, 150-156, **2009**.
- [73] Wang, Z., Feng, Z., Gao, C., Stepwise assembly of the same polyelectrolytes using host-guest interaction to obtain microcapsules with multiresponsive properties, *Chemistry of Materials*, 20, 4194-4199, **2008**.
- [74] Sukhorukov, G.B., Antipov, A.A., Voigt, A., Donath, E., Möhwald, H., pH controlled macromolecule encapsulation in and release from polyelectrolyte multilayer nanocapsules, *Macromolecular Rapid Communications*, 22, 44-46, **2001**.
- [75] Dokoutchaev, A., James, J.T., Koene, S.C., Pathak, S., Prakash, G.K.S., Thompson, M.E., Colloidal Metal Deposition onto Functionalized Polystyrene Microspheres, *Chemistry of Materials*, 11, 2389-2399, **1999**.
- [76] Georgieva, R., Moya, S., Hin, M., Mitlöhner, R., Donath, E., Kiesewetter, H., Permeation of macromolecules into polyelectrolyte microcapsules, *Biomacromolecules*, 3, 517-524, **2002**.
- [77] Johnston, A.P.R., Cortez, C., Angelatos, A.S., Caruso, F., Layer-by-layer, engineered capsules and their applications, *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 11, 203-209, **2006**.
- [78] Caruso, F., Trau, D., Möhwald, H. Renneberg, R., Enzyme encapsulation in layer-by-layer engineered polymer multilayer capsules, *Langmuir*, 16, 1485-1488, **2000**.
- [79] Caruso, F. Yang, W., Trau, D., Renneberg, R., Microencapsulation of uncharged low molecular weight organic materials by polyelectrolyte multilayer self-assembly, *Langmuir*, 16, 8932-8936, **2000**.
- [80] Trau, D., Yang, W., Seydack, M., Caruso, F., Yu, N.T., Renneberg, R., Nanoencapsulated microcrystalline particles for superamplified biochemical assays, *Analytical Chemistry*, 74, 5480-5486, **2002**.
- [81] Harrison, T.S., Goa, K.L., Long-acting risperidone – a review of its use in schizophrenia, *CNS Drugs*, 18, 113-132, **2004**.

- [82] Radt, B., Smith, T.A., Caruso, F., Optically addressable nanostructured capsules, *Advanced Materials*, 16, 2184-2189, **2004**.
- [83] Park, M.K., Deng, S.X., Advincula, R.C., Sustained release control via photocross-linking of polyelectrolyte layer-by-layer hollow capsules, *Langmuir*, 21, 5272-5277, **2005**.
- [84] Antipov, A.A., Sukhorukov, G.B., Möhwals, H., Influence of the ionic strength on the polyelectrolyte multilayer's permeability, *Langmuir*, 19, 2444-2449, **2003**.
- [85] Bhowmik, D., Gopinath, H., Kumar, B.P., Duraivel, S., Kumar, K.P.S., Controlled Release Drug Delivery Systems, *The Pharma Innovation*, 1, 24-32, **2012**.
- [86] Jain, N.K., Sharma, S.N., *A Text Book of Professional Pharmacy*, Vallabh Publications, Delhi, **1995**.
- [87] Fredenberg, S., Wahlgren, M., Reslow, M., Axelsson, A., The mechanisms of drug release in poly(lactic-co-glycolic acid)-based drug delivery systems – A review, *International Journal of Pharmaceutics*, 415, 34-52, **2011**.
- [88] Wang, J., Wang, B.M., Schwendeman, S.P., Characterization of the initial burst release of a model peptide from poly(D,L-lactide-co-glycolide) microspheres, *Journal of Controlled Release*, 82, 289-307, **2002**.
- [89] Maroni, A., Zema, L., Loreri, G., Palugan, L., Gazzaniga, A., Film coatings for oral pulsatile release, *International Journal of Pharmaceutics*, 457, 362-371, **2013**.
- [90] Ueda, S., Hata, T., Asakura, S., Yamaguchi, H., Kotani, M., Ueda, Y., Development of a novel drug release system, time-controlled explosion system (TES), *Journal of Drug Targeting*, 2, 35-44, **1994**.
- [91] Gazzaniga, A., Palugan, L., Foppoli, A., Sangalli, M.E., Oral pulsatile delivery systems based on swellable hydrophilic polymers, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 68, 11-18, **2008**.
- [92] Narisawa, S., Nagata, M., Danyoshi, C., Yoshino, H., Murata, K., Hirakawa, Y., Noda, K., An organic acid-induced sigmoidal release system for oral controlled release preparations, *Pharmaceutical Research*, 11, 111-116, **1994**.

- [93] Verma, R.K., Krishna, D.M., Garg, S., Formulation aspects in the development of osmotically controlled oral drug delivery systems, *Journal of Controlled Release*, 79, 7-27, **2002**.
- [94] Ebrahimi, H.A., Javadzadeh, Y., Hamidi, M., Jalal, M.B., Repaglinide-loaded solid lipid nanoparticles: effect of using different surfactants/stabilizers on physicochemical properties of nanoparticles, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 3, 23-46, **2015**.
- [95] Mulye, N.V., Turco, S.J., A Simple Model Based on First Order Kinetics to Explain Release of Highly Water Soluble Drugs from Porous Dicalcium Phosphate Dihydrate Matrices, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 21, 943-953, **1995**.
- [96] Dash, S., Murthy, P.N., Nath, L., Chowdhury, P., Kinetic Modeling On Drug Release From Controlled Drug Delivery Systems, *Acta Poloniae Pharmaceutica ñ Drug Research*, 67, 217-223, **2010**.
- [97] Fadhel, D.H., Spectrophotometric Determination of Ascorbic Acid in Aqueous Solutions, *Journal of Al-Nahrain University*, 15, 88-94, **2012**.
- [98] Sau, T.K., Murphy, C.J., Room Temperature, High-Yield Synthesis of Multiple Shapes of Gold Nanoparticles in Aqueous Solution, *Journal of American Chemical Society*, 126, 8648-8649, **2004**.
- [99] Butt, H., Graf, K., Kappl, M., *Physics and Chemistry of Interfaces*, Wiley Verlag GmbH & Co. **2004**.
- [100] Han, F., Li, S., Yin, R., Liu, H., Xu, L., Effect of surfactants on the formation and characterization of a new type of colloidal drug delivery system: nanostructured lipid carriers, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 315, 210-216, **2008**.
- [101] Battaglia, L., Gallarate, M., Lipid Nanoparticles: State of the Art, New Preparation Methods and Challenges in Drug Delivery, *Expert Opinion Drug Delivery*, 9, 497-508, **2012**.
- [102] Grabnar, P.A., Kristl, J., Smid-Korbar, J., Optimization procedure and physical stability of solid lipid nanoparticles in dispersions, *Acta Pharmaceutica*, 48, 259-267, **1998**.

- [103] Helgason, T., Awad, T.S., Kristbergsson, K., McClements, D.J., Weiss, J., Effect of surfactant surface coverage on formation of solid lipid nanoparticles (SLN), *Journal of Colloid and Interface Science*, 334, 75-81, **2009**.
- [104] Terech, P., Method for preparing organic nanotubes of lithocholic acid, nanotubes derived there from, and uses thereof, *U.S. Patent No. 2004/0171188 A1*. U.S. Patent Application Publication, **2004**.
- [105] Dai, J., Kim, J., Photo and Thermal Properties of Cinnamoyl Pluronic F-127, *Polymer International*, 63, 501-506, **2014**.
- [106] Gasco, M.R., Solid Lipid Nanospheres from Warm Microemulsions, *Pharmaceutical Technology Europe*, 9, 52-58, **1997**.
- [107] Subedi, R.K., Kang, K.W., Choi, H.K., Preparation and characterization of solid lipid nanoparticles loaded with doxorubicin, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 37, 508-513, **2009**.
- [108] Latimer, P., Light scattering vs. microscopy for measuring average cell size and shape, *Biophysical Journal*, 27, 117-126, **1979**.
- [109] Makino, K., Ohshima, H., Electrophoretic mobility of a colloidal particle with constant surface charge density, *Langmuir*, 26, 18016-18019, **2010**.
- [110] Mirmehrabi, M., Rohani, S., Measurement and prediction of the solubility of stearic acid polymorphs by the UNIQUAC equation, *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 82, 335-342, **2004**.
- [111] Carbone, A., Campisi, A., Musumeci, T., Raciti, G., Bonfanti, R., Puglisi, G., FA-loaded lipid drug delivery systems: preparations, characterization and biological studies, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 52, 12-20, **2014**.
- [112] Lagaly, G., Energetische Wechselwirkungen in Dispersionen und Emulsionen, *Technologie von Salben, Suspensionen und Emulsionen* (eds: Asche, H., Essig, D., Schmidt, P.C.), Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, **1984**.
- [113] Farjami, E., Clima, L., Gothelf, K.V., Ferapontova, E.E., DNA interactions with a methylene blue redox indicator depend on the DNA length and are sequence specific, *Analyst*, 135, 1443-1448, **2010**.

- [114] Verrax, J., Taper, H., Calderon, P.B., Targeting Cancer Cells by an Oxidant-based Therapy, *Current Molecular Pharmacology*, 1, 80-92, **2008**.
- [115] Lawson, S., The Trials and Tribulations of Vitamin C, *Journal of Orthomolecular Medicine*, 18, 173-186, **2003**.
- [116] Prabakaran, M., Mano, J.F., Chitosan-Based Particles as Controlled Drug Delivery Systems, *Journal of Drug Delivery*, 12, 41-57, **2004**.
- [117] An, Z., Lu, G., Möhwald, H., Li, J., Self-Assembly of Human Serum Albumin (HSA) and α -Dimyristoylphosphatidic Acid (DMPA) Microcapsules for Controlled Drug Release, *Chemistry, A European Journal*, 10, 5848-5852, **2004**.

EKLER

EK 1: Yüzey yük yoğunluğu hesaplaması

Çalışmamız kapsamında hazırlanan KLNlerin “yüzey yük yoğunluğu” değerleri, küresel partiküller için olan Poisson-Boltzmann eşitliğinden faydalanılarak hesaplanmıştır. Hesaplamalar yapılırken, KLNlerin küresel olduğu kabul edilmiştir.

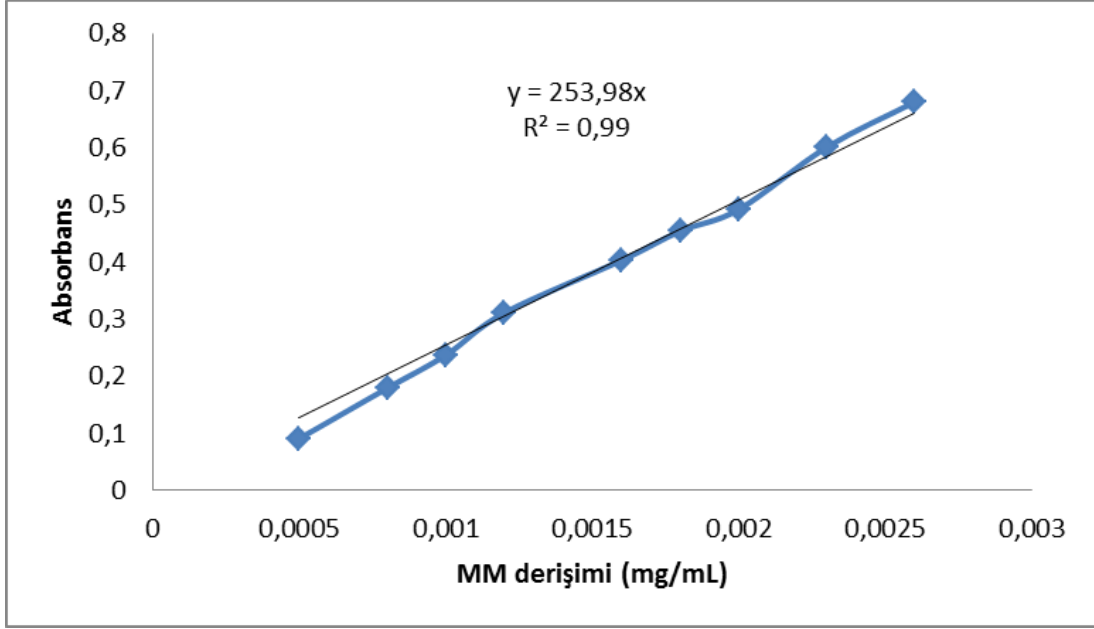
Debye-Hückel parametresi κ , Eşitlik E1’de verildiği gibi hesaplanmaktadır;

$$\kappa = \frac{2e^2 N_A C}{\epsilon_R \epsilon_0 k T} \quad \text{Eşitlik E1}$$

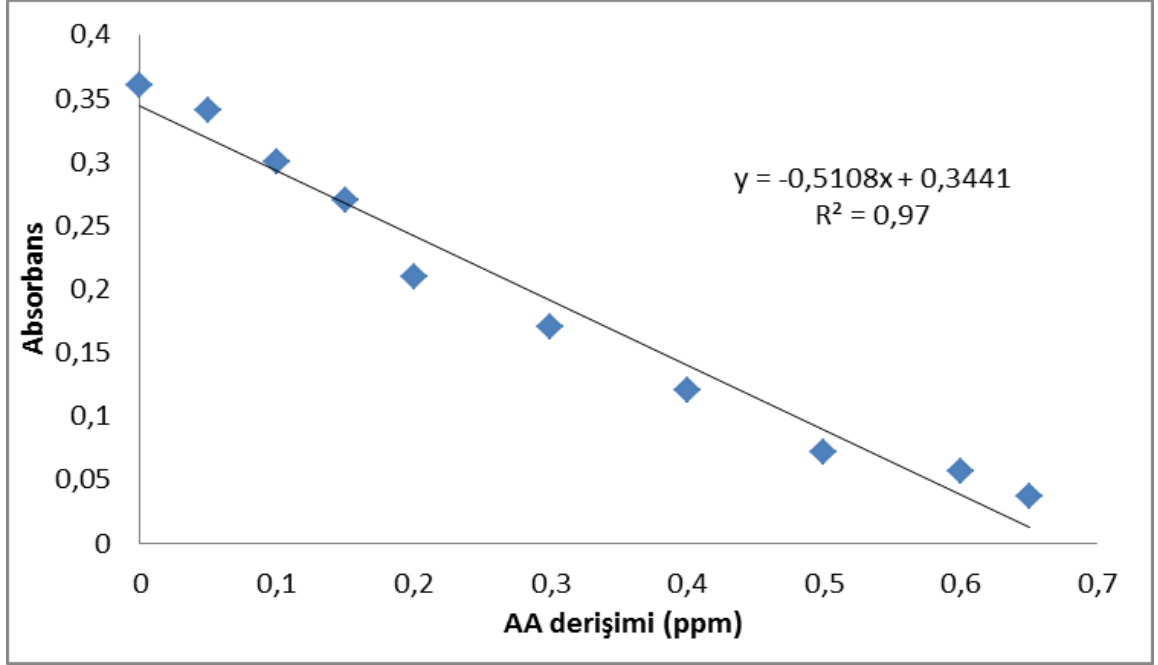
Eşitlik E1’de verilen e , temel elektrik yükünü, C yapı içinde bulunan iyonik malzemenin derişimini, ϵ_r çözeltinin bağıl elektriksel geçirgenliğini, ϵ_0 vakum ortamındaki elektriksel geçirgenliğini, k Boltzmann sabitini, N_A Avogadro sayısını ve T de sıcaklığı göstermektedir. Hesaplanan Debye-Hückel parametresi ve Eşitlik 2.15 kullanılarak partiküllere ait yüzey yük yoğunluğu değerleri hesaplanmıştır.

$$\sigma = \frac{2\epsilon_r \epsilon_0 \kappa k T}{ze} \sinh\left(\frac{ze\xi}{2kT}\right) \left[1 + \frac{1}{\kappa a} \frac{2}{\cosh^2\left(\frac{ze\xi}{4kT}\right)} + \frac{1}{\kappa a^2} \frac{8 \ln[\cosh(ze\xi/4kT)]}{\sinh^2\left(\frac{ze\xi}{2kT}\right)} \right]^{1/2} \quad \text{Eşitlik 2.15}$$

EK 2: MM için UV-vis yöntemi kullanılarak hazırlanan kalibrasyon doğrusu



EK 3: AA analizi için UV-vis yöntemi kullanılarak hazırlanan kalibrasyon doğrusu



EK 4: KLN ve AuNPlar için “partikül/ml” olarak derişim hesabı

Literatürde, altın nanopartiküllerle (AuNP) yapılan çalışmaya göre [E1] 1,5 nm çapına sahip bir partikülün ~140 tane altın atomundan oluştuğu söylenmektedir.

Bu bilgi esas alınarak çalışma kapsamında hazırlanan KLNler ve AuNPlar içinde aynı hesaplama yapılarak partikül/ml olarak derişimleri hesaplanmıştır. KLNler için örnek hesaplama aşağıdaki gibidir;

$$D_{KLN}=100 \text{ nm}$$

$$m_{\text{stearic acid}}=0,4 \text{ g}$$

$$MW_{\text{stearic acid}}=284,772 \text{ g/mol}$$

$$0,4 \text{ g} \times \frac{1 \text{ mol}}{284,772 \text{ g}} = 1,41 \times 10^{-3} \text{ mol}$$

D=100 nm olan küresel bir partikülün iç hacmi;

$$\frac{4}{3} \pi r^3 = \frac{4}{3} \pi 50^3 = 523598,78 \text{ nm}^3$$

Çapı 1.5 nm olan bir partikülü oluşturan atom sayısı → 140

$$V_{AuNP} = 1,77 \text{ nm}^3 \rightarrow 140 \text{ atom}$$

$$V_{KLN} = 523598,78 \text{ nm}^3 \rightarrow ? \rightarrow 41414592,77 \text{ atom} \rightarrow 1 \text{ partikül içindeki atom miktarı}$$

Atom sayısından mol sayısına geçmek için;

$$\text{Avogadro sayısı } 6,02 \times 10^{23} \text{ atom} \rightarrow 1 \text{ mol}$$

$$41414592,77 \text{ atom} \rightarrow ? \rightarrow 6,88 \times 10^{-17} \text{ mol}$$

$$1,41 \times 10^{-3} \text{ mol} \times \frac{6,02 \times 10^{23} \text{ atom}}{1 \text{ mol}} = 8,49 \times 10^{20} \text{ atom}$$

$$8,49 \times 10^{20} \text{ tane atom} \rightarrow 2,05 \times 10^{13} \text{ partikül}$$

KLN sentezinin ilk basamağını oluşturan sıcak ME hazırlanma aşamasında ortama eklenen çözücü miktarı → 13 ml

$$\frac{2,05 \times 10^{13}}{13 \text{ ml}} = 1,577 \times 10^{12} \text{ partikül}$$

İkinci basamakta, ilk basamakta oluşturulan sıcak ME 20 ml soğuk su ile karıştırıldıktan sonra, son ürün olarak ortamdaki partikül derişimi;

$$\frac{1,577 \times 10^{12}}{20} = 7,89 \times 10^{10}$$

[E1] Gibson, J.D., Khanal, B.P., Zubarev, E.R., Paclitaxel-functionalized gold nanoparticles, Journal of American Chemical Society, 129, 11653-11661, **2004**.

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı : Gökçe Dicle Kalaycıoğlu

Doğum Yeri : Ankara

Medeni Hali : Evli

E-posta : gokcedicle.demir@hacettepe.edu.tr

Adresi : Konutkent 2 Sitesi 22/5 Çayyolu ankaya/Ankara

Eğitim

Lisans : 2003-2008 Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Ankara, Türkiye

Yüksek Lisans : 2008-2011 Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Ankara, Türkiye

Doktora: :2011-2017 Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Ankara, Türkiye

Yabancı Dil ve Düzeyi

İngilizce, iyi derecede

İş Deneyimi

2008-2009 Proje Asistanı, Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü

2009-2017, Araştırma Görevlisi, Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü

Deneyim Alanları

Metal, lipit ve mineral bazlı nanopartikül sentezi ve karakterizasyonu (optik ve floresan mikroskop, dinamik-statik ışık saçılımı, UV-vis, DSC, AFM, TEM, SEM, zeta-potansiyel ölçümü)

Nanopartiküllerin yüzey modifikasyonu ve model hücre membranları ile etkileşimi

Nanopartiküllerden ilaç alım/salımı

Kendiliğinden kümeleşmiş yapıların oluşturulması ve karakterizasyonu

Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

“Katı Lipit Nanopartikül Kullanılarak Kolloidal Mikrokapsül Üretimi”, *TÜBİTAK 215M759*, Proje bütçesi: 513736 TL

Tezden Üretilmiş Yayınlar

Kalaycıoğlu, G.D., Aydoğan, N., “Preparation and investigation of solid lipid nanoparticles for drug delivery”, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 510, 2016, 77-86.

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar

Kalaycıoğlu, G.D., Aydoğan, N., (2016) “Preparation of Self Assembled Microspheres by Using Solid Lipid Nanoparticles”, 30. Avrupa Kolloid ve Arayüzey Topluluğu Konferansı, Poster sunumu, Roma, İtalya.

Korkmaz, G.S., Kalaycıoğlu, G.D., Aydoğan, N., (2016) “Solid Lipid Nanoparticles (SLN) vs. Vegetable Oils Consist Nanostructured Lipid Carriers (NLC) for Drug Delivery Application”, 30. Avrupa Kolloid ve Arayüzey Topluluğu Konferansı, Poster sunumu, Roma, İtalya.

Kalaycıoğlu, G.D., Aydoğan, N., (2016) “Katı Lipit Nanopartiküller Kullanılarak Kendi-Kendine Kümeleşme Yoluyla Mikroküre Oluşturulması ve İlaç Taşınımında Kullanılabilirliğinin Araştırılması”, 12. Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi, Sözlü sunum, İzmir, Türkiye.

Kalaycıoğlu, G.D., Aydoğan, N., (2016) “Preparation of Colloidal Microcapsules for Controlled Drug Delivery Systems” 2016 Amerikan Kimya Mühendisleri Enstitüsü Geleneksel Buluşması (AIChE Annual Meeting), Sözlü sunum, San Francisco, CA, USA.

Kalaycıoğlu, G.D., Aydoğan, N., (2017) “Preparation, Characterization and Self-Assembly of Solid Lipid Nanoparticles for Drug Delivery” 22. Uluslararası Biyomedikal Bilim ve Teknoloji Sempozyumu, Poster sunumu, Ankara, Türkiye.



HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
..... Kimya Mühendisliği ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA

Tarih: 07/06/2017

Tez Başlığı / Konusu: Katı Lipit Nanopartiküller Kullanılarak Kolloidal
..... Mikrokapsül Üretimi

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Giriş, c) Ana bölümler ve d) Sonuç kısımlarından oluşan toplam 176..... sayfalık kısmına ilişkin, 30./05./17... tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin..... adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 5... 'tür.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kaynakça hariç
- 2- Alıntılar hariç/dâhil
- 3- 5 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Çalışması Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

Tarih ve İmza

Adı Soyadı: Gökçe Dicle Kılıyıcıoğlu
Öğrenci No: N10244148
Anabilim Dalı: Kimya Mühendisliği
Programı: Doktora
Statüsü: Y.Lisans Doktora Bütünleşik Dr.
07.06.2017
Gökcedicle

DANIŞMAN ONAYI

UYGUNDUR.

Prof. Dr. Nilval Aydoğan

(Unvan, Ad Soyad, İmza)

