

**T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BUPROPİON YÜKLÜ POLİLAKTİK ASİT VE POLİLAKTİK-KO-GLİKOLİK ASİT
NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZLENMESİ VE KONTROLLÜ SALIMDA
DEĞERLENDİRİLMESİ**

ASLI KARAÇELİK

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI
BİYOMÜHENDİSLİK PROGRAMI**

**DANIŞMAN
PROF. DR. SEVİL YÜCEL**

İSTANBUL, 2018

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BUPROPİON YÜKLÜ POLİLAKTİK ASİT VE POLİLAKTİK-KO-GLİKOLİK ASİT
NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZLENMESİ VE KONTROLLÜ SALIMDA
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Aslı KARAÇELİK tarafından hazırlanan tez çalışması 23.03.18 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Sevil YÜCEL
Yıldız Teknik Üniversitesi

Eş Danışman

Yrd. Doç. Dr. Müge Yeşim ŞAHİN
AREL Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Sevil YÜCEL
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. F. Seniha GÜNER
İstanbul Teknik Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Murat TOPUZOĞULLARI
Yıldız Teknik Üniversitesi



ÖNSÖZ

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyuncaengin bilgi ve deneyimlerinden her daim faydalandığım, çalışmalarımın yürütülmesi ve yönlendirilmesi sürecindeki sabrı ve hoşgörüsü ile bilim insanı kimliğini örnek aldığım çok değerli hocam Prof. Dr. Sevil YÜCEL'e;

Yüksek lisans sürecimin başından sonuna kadar her koşul altında bilgi, tecrübe ve birikimlerini benimle paylaşan, çalışmam için elinde bulunan tüm imkanlar ile destek sağlayan eş danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Müge Yeşim ŞAHİN'E;

Tez çalışmam boyunca zorluk çektiğim tüm hususlardaki yardım ve önerileri ile çalışmamın başarıyla tamamlanmasında önemli katkıları olan, bilimsel bakış açısını kendime düstur edindiğim saygıdeğer hocam Doç. Dr. Serap ACAR DERMAN'a;

Deneysel çalışmam sırasında yardımlarını bir an bile eksik etmeyen, beni daima cesaretlendiren çalışma arkadaşlarım Pelin PELİT ARAYICI, Ahmet ÇETİNKAYA ve Tayfun ACAR'a;

İçtenlikleri sayesinde enerjisi yüksek bir laboratuvar ortamı oluşturan sevgili arkadaşlarım İlkay TURHAN, Burcu KARAKUZU İKİZLER, Deniz ISMIK, Ecem TİRYAKİ, Gökay VARDAR ve Ali Can ÖZARSLAN'a;

Üniversite hayatının bana kazandırdığı iki değerli insan Birgül SAYAN ve Saliha DURAK'a;

Yıllardır varlıkları ile hayatımı güzelleştiren dostlarım Zeynep GEÇEN ve Sena ERTEM'e;

Bana olan inancını hiçbir zaman kaybetmeyip daima yanımda olan Alper MITİNCİK'a;

Hayatım boyunca hiçbir konuda desteklerini esirgemeyen, sonsuz ve koşulsuz bir sevgi ile beni yetiştiren, hayata bakış açımı ilmek ilmek işleyerek bugünkü vizyonumu kazandıran annem Ayfer KARAÇELİK'e, babam Mehmet KARAÇELİK'e ve kardeşlerime;

Sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Mart, 2018

Aslı KARAÇELİK

İÇİNDEKİLER

Sayfa

SİMGE LİSTESİ.....	viii
KISALTMA LİSTESİ.....	x
ŞEKİL LİSTESİ.....	xii
ÇİZELGE LİSTESİ	xiv
ÖZET	xv
ABSTRACT.....	xvii
BÖLÜM 1	
GİRİŞ.....	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.2 Tezin Amacı	3
1.3 Hipotez	3
BÖLÜM 2	
NANOTEKNOLOJİ	5
2.1 Nanoteknoloji ve Tarihçesi	5
2.2 Nanopartiküller	8
2.2.1 Polimerik Nanopartiküller	11
2.3 PLGA ve PLA	15
2.3.1 PLGA.....	15
2.3.2 PLA	17
2.4 PLGA ve PLA Nanopartikülleri	20
2.4.1 PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin Üretim Yöntemleri	28
2.4.1.1 Emülsiyon Temelli Yöntemler	28
Tekli Emülsiyon Yöntemi (o/w)	28
İkili Emülsiyon Yöntemi (w/o/w)	29

Yağ Faz Emülsiyonu Yöntemi (o/w/o).....	30
Katı - Yağ - Su Emülsiyon Yöntemi (s/o/w)	30
2.4.1.2 Nanoçöktürme Yöntemi.....	31
2.4.1.3 Salting-out Yöntemi	31
2.4.1.4 Sprey Kurutma Yöntemi	32
2.4.2 PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin Medikal Uygulamaları	32
2.5 İlaç Salımı	35
2.6 Bupropion HCl.....	37

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM	41
3.1 Materyal.....	41
3.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler	41
3.1.2 Kullanılan Cihazlar	41
3.1.3 Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Ölçüm Yöntemleri.....	45
3.1.3.1 Boyut ve Zeta Potansiyel Ölçümü	45
3.1.3.2 UV-Vis Spektroskopi	46
3.1.3.3 FT-IR Spektroskopi	47
3.1.3.4 SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu)	47
3.2 Yöntem.....	48
3.2.1 Stok Çözelti Hazırlanması	48
3.2.2 Nanopartiküler Sistemlerin Üretimi	48
3.2.2.1 Boş PLGA Nanopartikül Üretimi	49
3.2.2.2 Boş PLA Nanopartikül Üretimi	49
3.2.2.3 Bupropion HCl Yüklü PLGA Nanopartikülü Üretimi	49
3.2.2.4 Bupropion HCl Yüklü PLA Nanopartikül Üretimi	49
3.2.3 Nanopartiküler Sistemlerin Zeta Potansiyel ve Boyut Analizleri.....	50
3.2.4 Nanopartiküler Sistemlerin Verim Analizi	50
3.2.4.1 Reaksiyon Verimi.....	50
3.2.4.2 Enkapsülasyon Etkinliği	50
3.2.4.3 Yükleme Kapasitesi	51
3.2.5 Nanopartiküler Sistemlerin FT-IR Analizi.....	51
3.2.6 Nanopartiküler Sistemlerin SEM Analizi.....	51
3.2.7 Nanopartiküler Sistemlerin <i>In-vitro</i> Salım Çalışması	52

BÖLÜM 4

DENEYSEL ÇALIŞMA	53
4.1 Boş Nanopartiküler Sistemlerin Karakterizasyonu	53
4.1.1 Boş PLGA ve Boş PLA Nanopartiküllerinin Boyut ve Zeta Potansiyel Ölçümleri.....	53
4.1.2 Boş PLGA ve Boş PLA Nanopartiküllerinin Reaksiyon Verimleri.....	56
4.1.3 Boş PLGA ve Boş PLA Nanopartiküllerinin FT-IR Grafikleri.....	56
4.1.4 Boş PLGA ve Boş PLA Nanopartiküllerinin SEM Görüntüleri	58
4.2 Bupropion HCl Yüklü Nanopartiküler Sistemlerin Karakterizasyonu.....	60
4.2.1 Bupropion HCl Çözünürlük Çalışması	60

4.2.2	Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin Boyut ve Zeta Potansiyel Ölçümleri	61
4.2.3	Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin Reaksiyon Verimi.....	65
4.2.4	Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin Enkapsülasyon Etkinliği.....	66
4.2.5	Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin Yükleme Kapasitesi	67
4.2.6	Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin FT-IR Grafikleri.	69
4.2.7	Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin SEM Görüntüleri.....	71
4.2.8	Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin <i>In-vitro</i> Salım Çalışmaları.....	74
 BÖLÜM 5		
SONUÇLAR		78
5.1	Boş PLGA Nanopartikülü ve Boş PLA Nanopartikülü Karakterizasyonu Sonuçları	78
5.1.1	Boş PLGA ve Boş PLA Nanopartiküllerinin Boyut ve Zeta Potansiyel Ölçüm Sonuçları	78
5.1.2	Boş PLGA ve Boş PLA Nanopartiküllerinin Reaksiyon Verimi Sonuçları..	78
5.1.3	Boş PLGA ve Boş PLA Nanopartiküllerinin FT-IR Sonuçları.....	79
5.1.4	Boş PLGA ve Boş PLA Nanopartiküllerinin SEM Görüntüleme Sonuçları	79
5.2	Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin Karakterizasyon Sonuçları	79
5.2.1	Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin Boyut ve Zeta Potansiyel Ölçüm Sonuçları	79
5.2.2	Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin Reaksiyon Verimi Sonuçları.....	80
5.2.3	Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin Enkapsülasyon Etkinliği Sonuçları.....	80
5.2.4	Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin Yükleme Kapasitesi Sonuçları	80
5.2.5	Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin FT-IR Sonuçları.	81
5.2.6	Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin SEM Sonuçları..	81
5.2.7	Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin <i>In-Vitro</i> Salım Sonuçları	81
 BÖLÜM 6		
TARTIŞMA VE ÖNERİLER		82

KAYNAKLAR	85
ÖZGEÇMİŞ	97

SİMGE LİSTESİ

α	Alfa
β	Beta
ϵ	Molar Absorbsiyon Katsayısı
η	Çözücü Viskozitesi
π	Pi sabiti
μm	Mikrometre
μl	Mikrolitre
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat Derece
A	Absorbans / Optik Yoğunluk
Au	Altın
BuHCl	Bupropion Hidroklorür
CH_3	Metil
cm	Santimetre
cP	Santipua
D	Difüzyon Katsayısı
dk	Dakika
f(ka)	Henry Fonksiyonu
g	Gram
HCl	Hidroklorik Asit
I_o	Giriş Işık Şiddeti
I	Çıkış Işık Şiddeti
k	Boltzman Sabiti
kDa	Kilodalton
Kv	Kilovolt
L/lt	Litre
M	Molar
mg	Miligram
ml	Mililitre
mV	Milivolt
Mw	Molekül Ağırlığı
NaCl	Sodyum Klorür
NaH_2PO_4	Sodyum Dihidrojen Fosfat
Na_2HPO_4	Disodyum Hidrojen Fosfat
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Sodyum Dihidrojen Fosfat Dihidrat

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Disodyum Hidrojen Fosfat Heptahidrat
NaOH	Sodyum Hidroksit
nm	Nanometre
pH	Hidrojen Gücü (Power of Hydrogen)
R	Polidispersite Sabiti
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı (Revolutions Per Minute)
T	Geçirgenlik
t-BuNH ₂	Tert-bütilamin
U_E	Elektroforetik Hareketlilik
UV	Ultraviyole
W	Watt
z	Zeta Potansiyeli
ZnSO_4	Çinko Sülfat
Z-ave	Z-ort (Zeta Average)

KISALTMA LİSTESİ

Ab	Antikor (Antibody)
ABD	Amerika Birleşik Devleti
ADHD	Dikkat Eksikliği - Hiperaktivite Bozukluğu (Attention Deficit Hyperactivity Disorder)
AFM	Atomik Kuvvet Mikroskobu (Atomic Force Microscopy)
BBB	Kan Beyin Bariyeri (Blood-Brain Barrier)
BCEC	Beyin Endotel Hücreleri
BSA	Sığır Serum Albümin (Bowine Serum Albumin)
CDen	Siklodekstrin
CL	Kaprolakton
DAT	Dopamin Taşıyıcısı (Dopamine Active Transporter)
DCM	Diklorometan
DLS	Dinamik Işık Saçılması (Dynamic Light Scattering)
DMAB	Dimetil Amino Benzaldehit
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
ECM	Hücre Dışı Matris (Extracellular Matrix)
EE	Enkapsülasyon Etkinliği
FDA	Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration)
FT-IR	Faurier Dönüşümlü Infrared Spektrometre (Fourier Transform Infrared Spectroscopy)
GA	Glikolik Asit
HAP	Hidroksiapatit (Hydroxyapatite)
HCl	Hidroklorik Asit
LDE	Lazer Doppler Elektroforez
NDRI	Norepinefrin-Dopamin Geri Alım İnhibitörü (Norepinephrine Dopamine Reuptake Inhibitor)
NP	Nanopartikül
ODC	Ornitin Dekarboksilaz
PBS	Fosfat Tamponlu Tuz (Phosphate Buffered Saline)
PCL	Poli (kaprolakton)
PDI	Polidispersite İndeksi
PEG	Poli (etilen glikol)
PGA	Poli (D, L-glikolid)

PLA	Poli (D, L-laktid)
PLGA	Poli (D, L-laktid-ko-glikolid)
PVA	Poli (vinil alkol)
Q10	Koenzim Q10
RES	Retikülo-Endotelyal Sistem
SEM	Taramalı Elektron Mikroskopu (Scanning Electron Microscopy)
T80	Tween 80
THF	Tetrahidrofuran
TPGS	E Vitamini Türevi
TPP	Tripolifosfat
UCN	Urocortin
UV-Vis	UV-Görünür Bölge Spektroskopisi (UV-Visible Spectroscopy)
YK	Yükleme Kapasitesi

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1	Nanoteknolojiye devlet yatırımları 6
Şekil 2.2	Nanomalzemelerin kullanım alanları 7
Şekil 2.3	Nano-biyo materyallerde kullanılan tipik konfigürasyonlar 8
Şekil 2.4	Nanopartikül türleri ve şekilleri 10
Şekil 2.5	Biyodegradasyon mekanizması..... 13
Şekil 2.6	PLGA kimyasal formülü 15
Şekil 2.7	PLGA'nın hidrolizi 16
Şekil 2.8	PLA kimyasal formülü..... 17
Şekil 2.9	Laktidlerin stereokimyasal formları 18
Şekil 2.10	PLA'nın enzimatik biyo-degradasyon mekanizması..... 19
Şekil 2.11	Endositoz yolakları 27
Şekil 2.12	Tekli emülsiyon yöntemi 28
Şekil 2.13	İkili emülsiyon yöntemi 29
Şekil 2.14	Yağ faz emülsiyonu yöntemi 30
Şekil 2.15	Katı - Yağ -Su emülsiyon yöntemi 30
Şekil 2.16	Nanoçöktürme yöntemi..... 31
Şekil 2.17	Salting-out yöntemi 32
Şekil 2.18	Sprey kurutma yöntemi 32
Şekil 2.19	Bupropion HCl kimyasal yapısı 38
Şekil 2.20	Bupropion HCl sentez mekanizması 38
Şekil 3.1	Sartorius hassas terazi 41
Şekil 3.2	Heidolph ısıtıcılı manyetik karıştırıcı 42
Şekil 3.3	İnolab WTW pH -metre 42
Şekil 3.4	Heidolph vortex 42
Şekil 3.5	Bandelin sonikasyon cihazı 43
Şekil 3.6	Malvern Zeta-Sizer 43
Şekil 3.7	Hitachi santrifüj 43
Şekil 3.8	Shimadzu UV-Vis spektrofotometre 43
Şekil 3.9	Teistar liyofilizatör 44
Şekil 3.10	Shimadzu FT-IR cihazı 44
Şekil 3.11	Zeiss taramalı elektron mikroskobu 44
Şekil 3.12	Termolab çalkalamalı su banyosu 44

Şekil 4.1	Boş PLA nanopartikülü yoğunluk olarak boyut dağılımı ve korelasyon grafiği	54
Şekil 4.2	Boş PLA nanopartikülü zeta potansiyel dağılımı grafiği	54
Şekil 4.3	Boş PLGA nanopartikülü yoğunluk olarak boyut dağılımı ve korelasyon grafiği	55
Şekil 4.4	Boş PLGA nanopartikülü zeta potansiyel dağılımı grafiği	55
Şekil 4.5	Boş PLA nanopartikülü FT-IR grafiği	56
Şekil 4.6	PLA ve boş PLA nanopartikülü FT-IR grafiği	57
Şekil 4.7	Boş PLGA nanopartikülü FT-IR grafiği	57
Şekil 4.8	PLGA ve boş PLGA nanopartikülü FT-IR grafiği	58
Şekil 4.9	Boş PLA nanopartikülü SEM görüntüleri	59
Şekil 4.10	Boş PLGA nanopartikülü SEM görüntüleri	59
Şekil 4.11	Bupropion HCl absorbans grafiği	60
Şekil 4.12	Bupropion HCl kalibrasyon eğrisi	61
Şekil 4.13	5mg Bupropion HCl yüklü PLA nanopartikülü yoğunluk olarak boyut dağılımı ve korelasyon grafiği	62
Şekil 4.14	5mg Bupropion HCl yüklü PLA nanopartikülü zeta potansiyel grafiği	62
Şekil 4.15	10mg Bupropion HCl yüklü PLA nanopartikülü yoğunluk olarak boyut dağılımı ve korelasyon grafiği	62
Şekil 4.16	10 mg Bupropion HCl yüklü PLA nanopartikülü zeta potansiyel grafiği	63
Şekil 4.17	5 mg Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartikülü yoğunluk olarak boyut dağılımı ve korelasyon grafiği	64
Şekil 4.18	5 mg Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartikülü zeta potansiyel grafiği	64
Şekil 4.19	10 mg Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartikülü yoğunluk olarak boyut dağılımı ve korelasyon grafiği	64
Şekil 4.20	10 mg Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartikülü zeta potansiyel grafiği	65
Şekil 4.21	Bupropion HCl FT-IR grafiği	69
Şekil 4.22	Bupropion HCl yüklü PLA nanopartikülü FT-IR grafiği	70
Şekil 4.23	Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartikülü FT-IR grafiği	70
Şekil 4.24	5 mg Bupropion HCl yüklü PLA nanopartikülü SEM görüntüleri	71
Şekil 4.25	10 mg Bupropion HCl yüklü PLA nanopartikülü SEM görüntüleri	72
Şekil 4.26	5 mg Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartikülü SEM görüntüleri	72
Şekil 4.27	10 mg Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartikülü SEM görüntüleri	73
Şekil 4.28	5 mg Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartikülü salım grafiği	74
Şekil 4.29	10 mg Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartikülü salım grafiği	75
Şekil 4.30	Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartiküllerin salım grafiği	75
Şekil 4.31	5 mg Bupropion HCl yüklü PLA nanopartikülü salım grafiği	76
Şekil 4.32	10 mg Bupropion HCl yüklü PLA nanopartikülü salım grafiği	76
Şekil 4.33	Bupropion HCl yüklü PLA nanopartiküllerin salım grafiği	77

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 2. 1	PLA ve PLGA nanopartikülleri ile çalışılan sinir sistemi hedefli ilaç taşıma sistemlerinin karakteristik özeti 22
Çizelge 4. 1	Boş PLA nanopartikülü boyut ve zeta potansiyel analiz sonuçları 54
Çizelge 4. 2	Boş PLGA nanopartikülü boyut ve zeta potansiyel analiz sonuçları 55
Çizelge 4. 3	Boş PLA ve PLGA nanopartiküllerinin reaksiyon verimi 56
Çizelge 4. 4	Bupropion HCl çözünürlük çalışma veriler 61
Çizelge 4. 5	Bupropion HCl yüklü PLA nanopartiküllerinin boyut ve zeta potansiyel analiz sonuçları 63
Çizelge 4. 6	Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartiküllerinin boyut ve zeta potansiyel analiz sonuçları 65
Çizelge 4. 7	Bupropion HCl yüklü PLA ve PLGA nanopartiküllerinin reaksiyon verimi... 66
Çizelge 4. 8	Bupropion HCl yüklü PLA ve PLGA nanopartiküllerinin enkapsülasyon etkinliği 2010 yılı doktora mezun sayıları..... 67
Çizelge 4. 9	Bupropion HCl yüklü PLA ve PLGA nanopartiküllerinin yükleme kapasitesi 68

**BUPROPION YÜKLÜ POLİLAKTİK ASİT VE POLİLAKTİK-KO-GLİKOLİK ASİT
NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZLENMESİ VE KONTROLLÜ SALIMDA
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Aslı KARAÇELİK

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sevil YÜCEL

Eş Danışman: Yrd. Doç. Dr. Müge Yeşim ŞAHİN

Nanopartiküller; boyut olarak hücresel alıma imkan vermeleri, kolay optimize edilebilir olmaları, salım profillerinin kontrol edilebilirliği gibi eşsiz avantajlar sebebiyle ilaç salım sistemlerinde sıklıkla tercih edilmektedir. Doğal polimerlerin, optimizasyon zorlukları nedeniyle yaygın şekilde kullanılamaması, bu alanda sentetik polimerleri daha fazla tercih edilir kılmıştır. Bu çalışmada da sentetik polimerlerden PLGA ve PLA; yüksek biyolojik absorpsiyon kapasitesi, biyoyumluluk, biyobozunurluk, toksik olmama, sürekli ilaç salımına olanak verme ve FDA tarafından onaylanmış polimerler olma gibi önemli avantajları sebebiyle ilaç salım sistemleri olarak belirlenmiştir. Bupropion HCl, sigara bırakma tedavisinde etkin şekilde kullanılan ve etki mekanizması sinir sistemi olan bir dopamin/nöradrenalin geri alım inhibitörüdür. Mevcut ajanlara kıyasla güvenlik ve tolere edilebilirlik avantajları sunan Bupropion HCl çeşitli sinir sistemi hastalıklarının tedavisinde de etki göstermiş bir antidepresan olmakla birlikte günümüzde sigara bırakma tedavisine yönelik kullanılmaktadır. Bu tez çalışmasında istenen özelliklerde üretilen PLGA ve PLA nanopartiküllerine bupropion HCl yüklemesi yapılmıştır. Nanopartiküllerin karakterizasyonu Zeta-Sizer, FT-IR, UV-Vis ve SEM analizleri ile gerçekleştirilmiştir. Bupropion HCl yüklü nanopartiküllerin salım çalışmaları PBS

tamponunda kümülatif salım tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İlaç yükleme verimleri ve salım değerleri UV-Vis spektroskopisi ile tayin edilmiştir.

Yapılan çalışmalar sonucunda ilaç salımının PLGA nanopartiküllerinden 12. günde, aynı miktarda etken madde (5 mg) yüklü PLA nanopartiküllerinden ise 15. günde %100 e ulaştığı görülmüştür. Her iki polimerik nanopartikülün de ilaç taşıyıcısı olarak kullanımının; kandaki etken madde düzeyini kontrol altında tutarak ilaç alım sıklığını azaltacağı ve bu sayede hasta konforunu artıracakları öngörülmektedir. Hem PLGA hem de PLA nanopartiküllerinin birçok antidepresan ilaç için uzun süreli ve kontrollü salımda bir model olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Nanopartikül, polimerik nanopartikül, PLGA, PLA, bupropion HCl, ilaç salımı, sigara bırakma tedavisi

ABSTRACT

SYNTHESIS AND CONTROLLED RELEASE EVALUATION OF BUPROPION LOADED POLY LACTIC ACID AND POLY LACTIC-CO-GLYCOLIC ACID NANOPARTICLES

Aslı KARAÇELİK

Department of Bioengineering

MSc. Thesis

Adviser: Prof. Dr. Sevil YÜCEL

Co-Adviser: Assist. Prof. Dr. Müge Yeşim ŞAHİN

Nanoparticles are typically preferred in drug delivery systems because of the unique advantages they provide. For instance; they enable cellular uptake thanks to their sizes, they are easily optimized and their release profile are controllable. Since natural polymers are not commonly used due to their optimization difficulties, synthetic polymers have been much more preferred in this field. In this study, the synthetic polymer PLGA and PLA have been identified as drug delivery systems on account of their unique advantages and these advantages are high biological absorption capacity, biocompatibility, biodegradability, being non-toxic, enabling continuous drug release and being FDA-approved polymers. Bupropion HCl is a dopamine/noradrenalin reuptake inhibitor which affects neural system and actively used in treatment of smoking cessation. Bupropion HCl, which offers advantages such as safety and being tolerable when compared to the existing agents, has been also used as an antidepressant in treatment of various nervous system diseases. In this thesis study, PLGA and PLA nanoparticles produced in desirable conditions were loaded with bupropion HCl. Characterization of nanoparticles were performed by Zeta-Sizer, FT-IR, UV-Vis and SEM analysis. Release of bupropion HCl loaded nanoparticles has been performed in PBS

buffer by using cumulative release technique. Drug loading yields and release values has been determined via UV-Vis spectroscopy.

In consequence of the study, it has been seen that drug delivery reaches its full potential (%100) in 12th day from PLGA nanoparticles, while it takes 15 days to reach to %100 in PLA nanoparticles which are loaded with the same amount of active ingredient (5 mg). It is anticipated that using both polymeric nanoparticles as drug carriers will decrease the frequency of drug intake by controlling active ingredient rate in blood and so will increase patient comfort. It is considered that both PLGA and PLA nanoparticles would be a model in long-term and controlled release for many antidepressant drugs.

Keywords: Nanoparticle, polymeric nanoparticle, PLGA, PLA, bupropion HCl, drug release, smoking cessation treatment

1.1 Literatür Özeti

Nanoteknoloji on yıllardır üzerinde çok fazla araştırma yapılan bir bilim dalı olmasının yanı sıra sürekli gelişen ve değişen teknolojik sistemler içinde en dikkat çekici olanıdır. Bunun en önemli sebebi tek bir alana özgü çözümler üretmemesi; neredeyse tüm bilimler için vazgeçilmez avantajlar sunmasıdır. Aynı zamanda malzemenin nano boyuta indirgenerek çeşitli özelliklerin modifiye edilebilmesi ve böylelikle istenmeyen özelliklerin ortadan kaldırılarak yerine amaca uygun özelliklerin eklenebilmesi de bu teknolojiyi çekici kılan bir diğer etmendir.

Nanoteknoloji bu eşsiz avantajları sebebiyle tıp ve eczacılık alanlarındaki araştırmaların da odak noktasında yer edinmiştir. Gelişen ilaç endüstrisi; ilaçların kontrollü ve hedeflenmiş salımına yönelik stratejiler geliştirmektedir. Böylelikle hem ilaç istenen hedefe spesifik olarak gönderilebilecek ve bu sayede istenmeyen yan etkilerin ve hücresel tahribatların önüne geçilecek hem de ilacın teslimatı sırasında yaşanabilecek dozaj kaybı önlenmiş olacak ve ilaç hedeflenen dokuya ulaştığında maksimum etkin dozaj ile salınacaktır. Tüm bunlar başta hasta konforunu artıracak olup aynı zamanda tedavi başarı oranlarını da yükseltecektir. Son derece ilgi çekici olan bu muhtemel kazanımlar sebebiyle içinde bulunduğumuz yüzyılda kontrollü ilaç salım sistemlerinin geliştirilmesine odaklanılmıştır.

Kontrollü salım sistemlerinin etkili bir tedavi şekli olarak uygulanabilmesi adına yapılan çalışmalarda taşıyıcı olarak sıklıkla polimerik nanopartiküllerin kullanıldığı görülmektedir. Polimerlerin nanotaşıyıcı üretimi için tercih edilmesinde nispeten ucuz

ve kolay ulaşılabilir olmaları, üretim proseslerinin kolaylığı, istenilen şekilde optimize edilebilir olmaları, partikül boyutlarının hücresel geçişlere olanak sağlayan büyüklükte olması gibi avantajlar etkili olmaktadır.

Polimerik nanopartiküller üretildikleri kaynağına göre doğal ya da sentetik olabilmektedir. İlaç taşıyıcı sistem olarak en fazla tercih edilen polimerler PLA (poli laktid) ve kopolimeri olan PLGA (poli laktid-ko-glikolid)'dir. Bu tercihin en önemli sebepleri; her iki makromolekülün de FDA (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) onayına sahip oluşu, biyouyumluluk, biyobozunurluk, vücut için toksik özellik göstermeme ve salım profilinin kolay kontrol edilebilir oluşu şeklinde sıralanabilir. Özellikle PLGA ilaç salım sistemleri için bilinen en iyi taşıyıcı olarak görülmektedir.

İlaç taşıyıcısı olarak polimerik nanopartiküler sistemlerin kullanılması özellikle devamlı aralıklarla dozaj uygulaması gerektiren hastalıkların tedavisi için önem arz etmektedir. Hastaya uzun süre yetecek kadar dozaın tek bir defada verilmesi ve sonrasında ilacın kontrollü olarak vücut içerisinde gerekli dozaj aralığında salım yapması tedavinin devamlılığı için büyük bir avantaj sağlayacaktır. Böylelikle hastadan kaynaklı doz atlama ya da eksik/fazla doz ilaç alma gibi risklerin önüne geçilecek ve buna bağılı olarak tedavi etkinliği ve başarısı artacaktır.

Günümüzde sigara bağımlılığı, madde bağımlılıkları arasında sayılmakta olup görülme sıklığı açısından ilk sırada yer almaktadır. Uzun süreli sigara kullanımı başta akciğer rahatsızlıkları olmak üzere, şeker hastalığı, kalp rahatsızlıkları, erken menopoza/andropoz ve kanser gibi birçok ciddi hastalığına sebep olmaktadır. Sigara bırakma tedavisinde en sık kullanılan ilaç etken maddesi ise sinir sistemi üzerinde etki gösteren ve bir dopamin-nöradrenalin geri alım inhibitörü olan Bupropion HCl'dir. Nikotin yoksunluk belirtilerini azaltarak kişinin sigara içme isteğini bastırmaktadır. Klasik tedavisi ortalama olarak 3 ay sürmekte ve bu süre boyunca her gün belirlenen dozlarda ilacın kullanılması gerekmektedir.

PLA ve PLGA nanopartikülleri hali hazırda kontrollü ilaç salım sistemlerinde sıklıkla kullanılmaktadır. Bupropion HCl ise literatürde birçok nanoteknolojik sistem ile birlikte çalışılmaktadır.

1.2 Tezin Amacı

Yinelenen birimleri laktit asitten oluşan Polilaktik asit (PLA), mısır ve şeker pancarı gibi %100 yenilenebilir kaynaklardan elde edilebilen, biyolojik olarak parçalanabilen, alifatik bir polyesterdir. PLA yüksek biyolojik absorpsiyon, yüksek biyolojik parçalanma yeteneği ve toksik olmama özellikleri sebebiyle biyomedikal uygulamalarda çok fazla tercih edilen bir makro moleküldür. PLA bazlı polimerlerden ve kopolimerlerden sentezlenen enjekte edilebilir mikropartiküller/nanopartiküller; sitotoksikler, anti-inflamatuar ajanlar, peptidler, hormonlar, aşılarda vb. dahil olmak üzere geniş bir yelpazedeki ilaçları taşımak için başarıyla kullanılmaktadır.

PLGA, poli laktik asit (PLA) ve poli glikolik asitin (PGA) bir kopolimeridir. PLGA; fiziksel olarak güçlü ve oldukça biyouyumlu olan aynı zamanda ilaçlar, proteinler, DNA, RNA ve peptidler gibi çeşitli makromoleküller için taşıyıcı olarak çok fazla incelenen, FDA onaylı, biyolojik olarak parçalanabilir bir polimerdir.

Bupropion HCl ise dünya çapında sigara bırakma tedavisine yönelik en sık kullanılan, dopamin ve nöradrenalin geri alım inhibitörü olarak sinir sistemi üzerinde etki gösteren bir fenilaminoketon antidepresandır.

Bu çalışmada yukarıda açıklanan eşsiz biyolojik ve kimyasal özelliklere sahip PLGA ve PLA makromoleküllerinden nanopartiküllerin üretiminin karakterize edilmesi, PLGA ve PLA nanopartiküllerine Bupropion HCl etken madde yüklemesinin yapılması ve etken madde yüklü nanopartiküllerden kontrollü ilaç salımının gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

1.3 Hipotez

Bu tez çalışmada; biyouyumluluk ve biyobozunurluk özellikleri FDA tarafından onaylanan sentetik polimerlerden Polilaktik asit ve kopolimeri Poli-laktid-ko-glikolik aside, sigara bırakma tedavisinde kullanılan ve dopamin-nöradrenalin geri alım inhibitörü olarak sinir sistemi üzerinde etki gösteren Bupropion HCl etken madde yüklemesi yapılması ve üretilen bu sistemin ilaç salım sistemi olarak kullanılması hedeflenmiştir. Bu amaca yönelik olarak PLA ve PLGA nanopartiküllerinin üretimi optimize edilmiş ve belirlenen optimum koşullar altında etken madde yüklü PLA ve PLGA

nanopartikülleri üretilmiştir. Üretim sonrası nanopartiküler karakterizasyonlar yapıp seçilen örnekler ile salım çalışılmıştır.

Literatürde ne PLA ne de PLGA nanopartikülü için Bupropion HCl ile yapılmış bir kontrollü salım çalışması olmaması, bu çalışmanın Bupropion HCl ve benzeri atipik antidepresanlar için bir model niteliği taşıyabileceğini düşündürmektedir.

BÖLÜM 2

NANOTEKNOLOJİ

2.1 Nanoteknoloji ve Tarihçesi

Nanoteknoloji, nanometre ölçeğinde maddenin kontrolü yoluyla işlevsel materyallerin, cihazların ve sistemlerin oluşturulması ve bu uzunluk ölçeğinde yeni özelliklerin değerlendirilmesine odaklanan, hızla gelişen bir alandır [1].

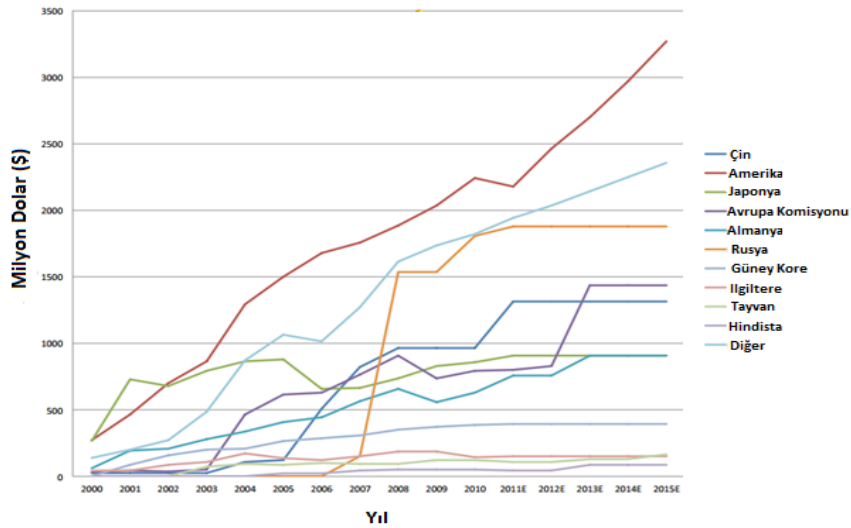
"Nanometre" kavramı, ilk olarak 1925 Nobel Kimya Ödülü sahibi Richard Zsigmondy tarafından önerilmiştir. Parçacık boyutunu karakterize etmek için nanometre terimini açıkça ortaya koymuş ve mikroskop kullanarak altın kolloidleri gibi parçacıkların boyutunu ilk ölçen kişi olmuştur. Modern nanoteknolojinin mucidi ise 1965 Nobel Fizik Ödülü sahibi Richard Feynman'dır. 1959 yılında Caltech'teki Amerikan Fizik Toplumu toplantısında, maddenin atom seviyesinde manipüle edilmesi konseptini tanıttığı "Aşağıda Oldukça Fazla Yer Var" başlıklı bir çalışma sunmuştur. Bu yeni fikir, yeni düşünme yollarını göstermiş ve Feynman'ın bu hipotezi o zamandan bu yana defalarca kez kanıtlanmıştır [2].

"Nanoteknoloji" sözcüğü bilimsel arenada ilk kez N. Taniguchi tarafından 1974 yılında Tokyo'daki endüstriyel üretim konulu uluslararası konferansta dile getirilmiş ve nanometre hassasiyetiyle süper ince materyallerin işlemesi ve nano boyutlu mekanizmaların oluşturulması işlenmiştir [3].

Drexler, 1981 yılında Ulusal Bilimler Akademisi Bildiriler Kitabı'nda yayımlanan makalesinde, ilk defa nanoteknolojinin atomik hassasiyetle reaktif grupları konumlandırabilecek moleküler makinelerin tasarımına imkan vereceğinden bahsetmiş

ve 1986 yılında yazdığı Yaratılış Motorları kitabında günümüz nanoteknolojisinde kullanılan birçok yöntemin temellerini oluşturan fikirler öne sürmüştür [4].

1999 yılında ABD’de Bill Clinton hükümeti nanoteknoloji alanında yürütülen araştırma, geliştirme ve ticarileştirme faaliyetlerinin hızını artırma amacını taşıyan ilk resmi hükümet programını, Ulusal Nanoteknoloji Adımını (National Nanotechnology Initiative) başlatmıştır. 2001 yılında Avrupa Birliği, nanoteknoloji çalışmalarını öncelikli alan olarak ilan etmiştir. Japonya, Tayvan, Singapur, Çin, İsrail, İsviçre, Norveç, İrlanda ve Rusya benzer programlar başlatarak 21. yüzyılın küresel teknoloji yarışında ön sıralarda yer almak için çalışmalarına hız vermişlerdir [5].

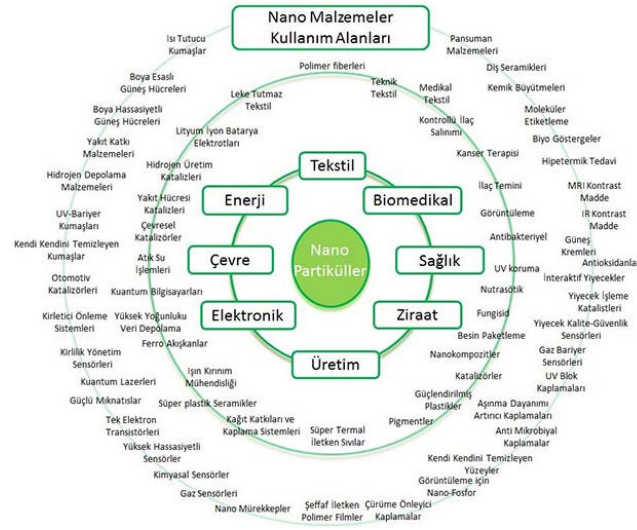


Şekil 2.1 Nanoteknolojiye devlet yatırımları [6]

Nanomalzemesler; metal, seramik, organik moleküler topluluk, polimerik ya da kompozit yapıda olabilir. Nanomalzemesler, yalnızca minyatürizasyonda yeni bir aşama olarak düşünülmemelidir. Geleceğin teknolojilerinin atom, molekül ve nanoküme boyutlarında, malzemenin şeklinin kontrol edilmesi, nanoyapıların organize edilmesi, aygıtlara dönüştürülmesi, malzemenin ve yüzeylerin tasarlanması-işlenmesi üzerine inşa edileceği öngörülmektedir. Nanomalzemesler boyutlarından dolayı, elektronik, fotonik, manyetik, reolojik, yapısal ve mekanik niteliklerinde olumlu yönde farklılık gösterirler. Bu farklılığın nedenleri ise, yüksek yüzey-hacim oranları, hacimsel davranışlar ortaya çıkmadan sınırlı

sayıda atom ya da molekül arasındaki kooperatif fenomenler ve nano-boyutlu yapılarda ortaya çıkan kuantum etkileridir [7].

Nanoteknoloji atomik ve/veya moleküler seviyedeki etkileşimlerden yararlanarak elektronik, ilaç, tekstil, çevre, tıp, kozmetik vb. endüstri alanlarında ürünleri tasarlamayı, üretmeyi ve kullanmayı içermesi sebebiyle disiplinler arası bir alan olarak karşımıza çıkmaktadır. Nanoteknoloji sayesinde maddeyi nanometre düzeyinde işleyerek ve ortaya çıkan değişik özellikleri kullanarak nano ölçekte teknolojik aygıtlar ve malzemeler yapmak mümkün olmuştur [8].

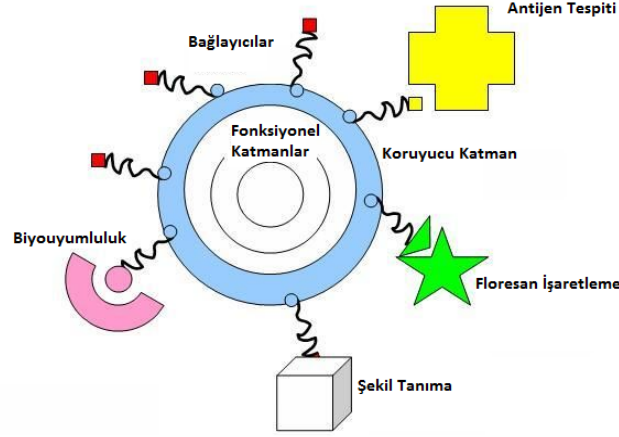


Şekil 2.2 Nanomalzemelerin kullanım alanları [9]

Nanomalzemelerin biyoloji ve/veya tıp alanındaki güncel bazı uygulamaları aşağıdaki gibi listelenebilir [10]:

- o Biyolojik etiketleme (floresan ile)
- o İlaç ve gen taşıma (hedefe yönelik/genel)
- o Patojenlerin biyolojik olarak tespiti
- o Proteinlerin tespiti
- o DNA yapısının araştırılması
- o Doku mühendisliği
- o Isıtma yoluyla tümör yok edilmesi (hipertermi)

- o Biyolojik moleküllerin ve hücrelerin ayrılması ve saflaştırılması
- o Manyetik-rezonans kontrast geliştirme
- o Fagokinetik çalışmalar



Şekil 2.3 Nano-biyo materyallerde kullanılan tipik konfigürasyonlar [10]

Nanoteknoloji sayesinde sağlık alanında moleküler robotik, tanı ve görüntüleme ajanları, yapay reseptörler, DNA dizileme ajanları, gen terapisi, doku mühendisliği, yeni nesil ilaç taşıma sistemleri gibi eşsiz teknolojik devrimler öngörülmektedir [11].

2.2 Nanopartiküller

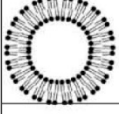
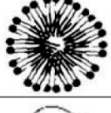
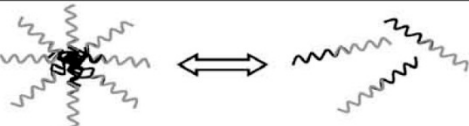
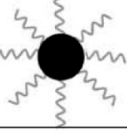
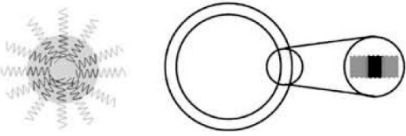
Nanopartiküller boyutları 10-1000 nm aralığında değişebilen malzemelerdir [12]. Bu malzemeler diğer ticari malzemelerden genellikle farklı ve üstün görülen özellikler sergilemektedir. Sıkça vurgulanan nanopartikül özelliklerinin çekiciliğinin günümüzde bilinen sebepleri ise; kuantum boyut etkileri, elektronik yapısının boyut bağımlılığı, yüzey atomlarının benzersiz karakterleri ve yüksek yüzey/hacim oranı olarak göze çarpmaktadır [13].

Nanoteknolojik malzemelerin çıkış noktasını oluşturan nanopartiküller geniş bir kimyasal aralık ve morfolojide üretilebilirler. Günümüzde çekirdek-kabuk, misel, sandviç, boşluklu, küresel, çubuk benzeri ve çok yüzlü gibi farklı morfolojilere sahip metal, metal

alaşımı, seramik ve polimer esaslı veya bunların karışımından istenilen özelliklere sahip nanopartiküller hazırlanabilmektedir [14].

Nanopartiküller; proteinler, polisakkaritler ve sentetik polimerler gibi çeşitli malzemelerden retilerler. Matris malzemelerinin seçiminde ise; nanopartikül için istenen boyut, ilacın suda nrlk veya yüksek stabilite gibi kendine özgü özellikleri, yüzey yükü ve geçirgenlik, biyolojik olarak parçalanabilirlik derecesi, biyouyumluluk, toksisite derecesi, ilaç için arzu edilen salım profili, son ürünün antijenikliği gibi birçok faktör etkilidir [15].

Nanopartiküller temelde organik ve inorganik olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar. Organik nanopartiküller; miseller, hidrojeller, dendrimerler, karbon nanotüpler, nanoküreler, nanokapsüller, lipozomlar ve polimerik nanopartikülleri kapsarken inorganik nanopartiküller; kristalik nanopartiküller, metalik nanopartiküller ve kuantum noktalarını kapsamaktadır [16].

Partikül Türü ve Şekli	Açıklama
'Kıatı' Nanopartiküller	
	<i>Küresel veya kompakt partiküller</i> Kompozisyon olarak homojen
	<i>Çubuk şekilli partiküller</i> Kompozisyon olarak homojen
	<i>Kompleks küresel olmayan partiküller</i> Kompozisyon olarak homojen
	<i>Kompozisyon olarak heterojen partiküller</i> Çekirdek - yüzey ayrımlı bileşimler
	<i>Kompozisyon olarak heterojen partiküller</i> Dağılmış bileşimler
	<i>Homojen agregatlar/ aglomeratlar</i> Tek tip partikül içeren
	<i>Heterojen agregatlar/ aglomeratlar</i> Farklı tipte partikül içeren
Nano taşıyıcı sistemler: Lipit esaslı	
	<i>Nanolipozomlar/ Arkeozomlar</i> Çift katmanlı lipit veziküller
	<i>Misel</i> Tek katmanlı lipit veziküller
	<i>Nanokleat</i> Spiral halde yuvarlanmış lipit katman tabakası
Nano taşıyıcı sistemler: Polimer esaslı	
	<i>Misel</i> Kümelenmiş kopolimerler
	<i>Nanoküre</i> Kıatı bir çekirdek etrafında kümelenmiş kopolimerler
	<i>Nanokapsül / Polimerzom</i> Merkezi boşluğu çevreleyen polimer zar; Nanokapsül: Yağ fazlı boşluk, tek katmanlı membran Polimerzom: su fazlı boşluk, iki katmanlı membran (nanolipozoma benzer)

Şekil 2.4 Nanopartikül türleri ve şekilleri [17]

“Büyük Devrim” olarak nitelendirilen nanoteknolojinin temel taşı olan nanopartiküller; elektronik ve iletişimden optik, kimya, ekoloji, tıp, enerji ve biyolojiye kadar uzanan çeşitli alanlarda uygulamaları bulunan nano-araçlar olarak da tanımlanabilir [18]. Nanoteknolojinin sağlık alanına uygulanması olarak tanımlanan nanotıp; yüksek kaliteli görüntüleme, daha hızlı teşhis, yeni nesil akıllı ilaç taşıyıcı sistemler, teknolojik doku yenileme tedavileri gibi birçok dikkat çekici vaatle bulunmaktadır. Nitekim nanometrik boyuttaki malzeme ve cihazların klinik kullanımları onaylanmış ve nanopartiküller klinik araştırmalarda en çok değerlendirilen malzemelerden olmuştur [19].

İlaç taşıyıcı sistem olarak nanopartikülleri kullanmanın ön plana çıkan avantajları şu şekilde sıralanabilir [15]:

- Parantral uygulamada hem pasif hem de aktif ilaç hedeflemesi için nanopartiküllerin boyutu ve yüzey özellikleri kolayca optimize edilebilir.
- Taşıma sırasında ilaç korunur, hedef bölgeye ulaştıktan sonra ilaç salımı kontrol altında tutulur, böylelikle ilaç ilgili doku ve organa ulaştıktan sonra artmış bir terapötik etki gösterir ve muhtemel yan etkiler azaltılmış olur.
- Partiküllerin bozunma özellikleri ve salım profilleri, matris bileşenlerinin doğru seçilmesi ile kontrol edilebilir.
- Nanopartiküllerin ilaç yükleme kapasitesi muadillerine oranla daha yüksektir ve ilaçların sisteme dahil olması için kimyasal bir reaksiyon gerçekleşmesi şart değildir; bu özellik ilaç etkinliğini korumak için çok önemli bir faktördür.
- Bölgeye özgü hedefleme, partiküllerin yüzeyine hedefleme ligandları ilave edilerek veya manyetik işaretleyicilerin kullanımıyla başarılabılır.
- Nanopartiküler ilaç taşıyıcı sistemler oral, nazal, parenteral, direkt göz içine uygulama gibi çeşitli şekillerde metabolizmaya dahil edilebilirler.

2.2.1 Polimerik Nanopartiküller

Polimerik nanopartiküller, bir polimerik matriste kapsüllenebilen veya yüzeye adsorbe edilebilen mikron altı boyutlu koloidal parçacıklardır [20]. Polimerik nanopartikülleri hazırlamak için doğal veya sentetik polimerler kullanılabilir. Protein ve polisakkaritler

gibi doğal polimerler, hazırlanışlarındaki sorunlar nedeniyle yaygın şekilde kullanılmamıştır. Bu sebeple, bu alanda sentetik polimerler daha fazla tercih edilir olmuştur [21]. İlaç taşıyıcısı olarak kullanılan biyobozunur polimerler için;

Sentetik Polimerler:

- o *Poliesterler*: Poli(hidroksi bütirat), poli(laktik asit), poli(glikolik asit), poli(laktik-ko-glikolik asit), poli(ϵ -kaprolakton), poli(β -malik asit)
- o *Poliamidler*: Poli(amino asitler), poli(imino karbonatlar)
- o *Polianhidritler*: Poli[bis(p-karboksifenoksi propan-ko-sebasik asit)], poli(yağ asidi dimer-kosebasik asit)

Doğal Polimerler:

- o *Polisakkaritler*: Kitosan, kitin, agaroz, dekstran, aljinat, hiyaluronik asit.
- o *Protein yapısında olan polimerler*: Albümin, jelatin, kollajen

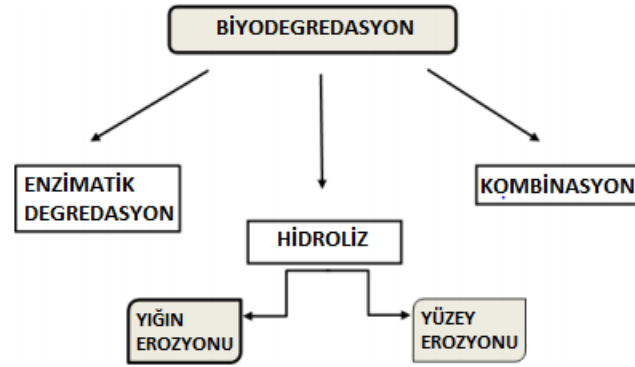
şeklinde temel bir gruplandırma yapılabilir [22].

Nanopartikül üretimi için en yaygın kullanılan sentetik polimerler, poli (laktik asit) (PLA), poli (glikolik asit) (PGA) ve bunların kopolimerleri olan poli (laktid-ko-glikolik asit) (PLGA) 'tir. Bu polimerler biyolojik olarak uyumludur ve doğal koşullarda metabolize edilebilirler [21]. Polimerin seçiminde ise , formülasyonun terapötik uygulaması, hedeflenen ilaç salım profili, biyouyumluluk gibi sistemsel özellikler etkilidir [23]. Biyolojik olarak parçalanabilen polimerler; doku mühendisliği, rejeneratif tıp, gen terapisi, yeni nesil ilaç taşıma sistemleri ve implant teknolojisi gibi birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır [24].

Kontrollü ilaç taşıma sistemleri, biyolojik olarak bozunabilir polimerlerin en yaygın kullanıldığı alanlardan biridir. Biyolojik olarak parçalanabilen polimerler vücut tarafından emilebilme yeteneği sebebiyle kontrollü salım teknolojisinde uzun süredir çalışılmaktadır [25].

Biyolojik olarak parçalanabilir polimerler doğal veya sentetik olabileceği gibi sentetik polimerler doğal polimerlerden daha avantajlıdır [26]. Sentetik biyobozunur polimerler genellikle biyolojik olarak inerttirler. Sentetik polimerler; sahip oldukları gruplar arası

devamlılık, spesifik uygulamalar için uygun profil sergileme ve doğal polimerlerin birçok dezavantajından mahrum edilebilmeleri gibi özellikler sayesinde daha ön plandadır [12]. Biyolojik olarak parçalanabilir polimerlerin biyodegradasyon mekanizmaları Şekil 2.5'te gösterilmektedir.



Şekil 2.5 Biyodegradasyon mekanizması [27]

Biyolojik olarak bozunabilir nanoparpartiküller, ilacın hedef bölgeye etkili bir şekilde ulaştırılmasıyla terapötik yararı arttırmakta ve yan etkileri en aza indirmektedir. Öte yandan, optimal oranda doz rejimiyle spesifik bölgeye farmakolojik olarak aktif maddelerin kontrollü olarak salınmasını sağlamaktadır [12].

Biyolojik olarak parçalanabilir polimerik nanopartiküllerin hazırlanması için birçok yöntem kullanılmaktadır. Nanopartikül formülasyonu, bir polimerizasyon reaksiyonu gerektirebilir veya doğrudan bir makromolekül veya önceden oluşturulmuş polimerden sentezlenebilir [28]. Uygulanması planlanan tasarım ve uygulama faktörlerine göre polimer seçilir. Hedef nanopartiküllerin boyutu, polimere kapsüllenecek aktif maddenin özellikleri (çözünürlük, stabilite, vb.), yüzey özellikleri ve işlevselliği, elde edilen ürünün biyolojik olarak parçalanabilirlik-biyouyumluluk durumu ve ilaç salım profili gibi birçok etkili faktör vardır. Bu kriterlere göre yöntemler, (i) önceden oluşturulmuş polimerlerin dispersiyonu, (ii) monomerlerin polimerizasyonu ve (iii) iyonik jelleştirme yöntemi gibi üç temel şekilde sınıflandırılabilir [20].

- Polimer Dispersiyonu: Önceden sentezlenmiş polimerlerden nanopartikül hazırlama yöntemleri temelde dört kategoriye ayrılabilir: emülsiyon buharlaştırma, çözücü yer değiştirme, salting-out ve emülsifikasyon difüzyonu. Bu teknikler, hazırlama sırasında dahili bir faz olarak işlev gören nanopartikül

bileşenleri içeren bir organik çözeltiyi içerdiği ve nanopartiküller için dağılım maddesi oluşturan stabilizatörler içeren sulu bir çözeltiyi içerdikleri için benzerdir. Teknikler arasındaki bir diğer benzerlik ise suda çözünebilen ilaçlar için düşük enkapsülasyon etkinliğidir. Kayda değer girişimlere rağmen teknikler hala lipofilik ilaçlarda daha etkili olmaktadır [29]. Tüm teknikler nanosferlerin hazırlanması için uygun görüldüğü halde sadece çözücü yer değiştirme ve emülsifikasyon difüzyonu tekniği nanosferlerin hazırlanmasına olanak sağlamaktadır [30].

- Monomer Polimerizasyonu: Nanopartiküllerin monomerlerin polimerizasyonu ile hazırlanması da mümkündür [28]. Aşılar veya ilaçlar; ilacın polimerizasyon ortamında eritilmesi ve terapötik maddenin polimerize edilmiş nanopartiküllere adsorpsiyonu/konjugasyonu gibi iki teknikle nanopartiküllerin içerisinde kapsülendir. Elde edilen nanopartikül süspansiyonu, stabilizatörlerden temizlenerek arındırılır. Kullanılan yüzey aktif maddeler, takip eden polimerizasyon için geri dönüştürülebilir [20]. Biyolojik olarak bozunabilir polimerik nanopartiküllerin hazırlanması için basit ve etkili bir yöntemdir [31]. Bu teknikte, organik solvent konsantrasyonu, sürfaktan türü ve polimerizasyonda kullanılan monomer miktarı gibi değişkenlerin etkisi değerlendirilmelidir [32].
- İyonik Jelleşme Metodu: Daha önce jelatin, aljinat, kitosan ve agaroz gibi biyolojik olarak bozunabilir birçok makromolekül; polimerik nanopartiküllerin hazırlanması için kullanılmıştır. Bu hidrofilik doğal makromoleküller iyonik jelleştirme yöntemi ile nanopartikül hazırlamak için uygun polimerlerdir [20]. İyonik jelleştirme yöntemi, bir çapraz bağlama maddesinin ve hidrofilik polimerin negatif ve pozitif yükleri arasında belirlenmiş bir pH değerinde bir kompleksleşme içerir [33]. Oda sıcaklığında farklı yükler arasındaki iyonik etkileşim, malzemelerin sıvıdan jele geçişine olanak verir. Tripolifosfat (TPP) ile iyonik jelasyon ile kitosan nanopartiküllerinin hazırlanması sık kullanılan bir yöntemdir [34]. Diop ve arkadaşları, çapraz bağlantı ajanı olarak sodyum tripolifosfat kullanarak insülin yüklü kitosan nanopartiküllerini iyonik jelasyon yöntemi ile hazırlamışlardır. Çalışma, diyabetik sıçanlarda insülin yüklü polimerik nanoparçacıkların biyo-etkililiğini göstermiştir [35].

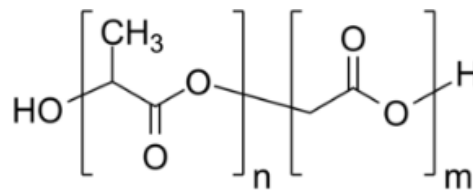
Bu tez çalışmasında nanopartikül üretimi için PLA ve kopolimeri PLGA kullanılmıştır. Bu nedenle sonraki bölümlerde bu polimerlere ait daha kapsamlı bilgiler sunulmuştur.

2.3 PLGA ve PLA

2.3.1 PLGA

PLGA, poli laktik asit (PLA) ve poli glikolik asitin (PGA) bir kopolimeridir. Glikolik asidin siklik dimerleri (1,4-dioksan-2,5-dion) ve laktik asidin ortak halka açma polimerizasyonu vasıtasıyla sentezlenir. Polimerler rasgele veya blok kopolimerler şeklinde sentezlenebilir, böylece polimere ilave özellikler kazandırılabilir. Bu polimerin hazırlanmasında kullanılan yaygın katalizörler arasında kalay (II) 2-etilheksanoat, kalay (II) alkoksitler veya alüminyum izopropoksittir. Polimerizasyon esnasında, ardışık monomerik üniteler (glikolik veya laktik asit) ester bağları vasıtası ile birbirine bağlanır ve böylelikle doğrusal, alifatik bir polyester olan PLGA elde edilir [36].

Tasarım ve performans açısından ilaç taşınmasında kullanılabilen en iyi tanımlanmış biyomateryaldir. Poli laktik asit tipik olarak bazen R veya S formunda bazen ise D veya L formunda tanımlanan bir asimetric α -karbon içerir. Polimer haldeki PLA'nın enantiyomerik formları, poli D-laktik asit (PDLA) ve poli L-laktik asittir (PLLA). PLGA, D- ve L-laktik asit formlarının eşit oranda bulunduğu poli D, L-laktid-ko-glikolik asidin kısaltmasıdır [37].



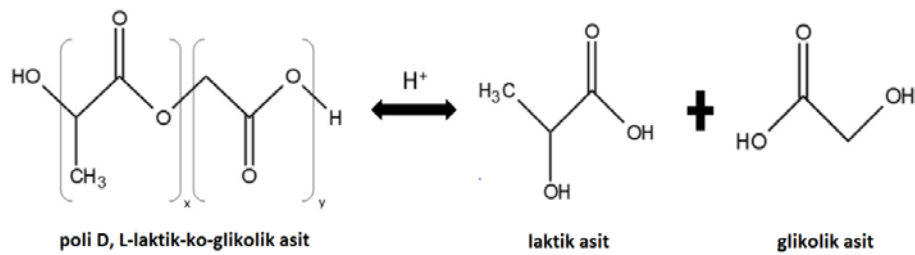
Şekil 2.6 PLGA kimyasal formülü [37]

PLGA; fiziksel olarak güçlü ve oldukça biyouyumlu olan aynı zamanda ilaçlar, proteinler, DNA, RNA ve peptidler gibi çeşitli makromoleküller için taşıyıcı olarak çok fazla incelenen, FDA onaylı, biyolojik olarak parçalanabilir bir polimerdir [38].

PLGA, uzun süreli klinik tecrübesi, olumlu bozunum özellikleri ve sürekli ilaç salımına imkan verme avantajları nedeniyle biyobozunur polimerler arasında en popüleridir. Yakın tarihli literatür çalışmaları, PLGA'nın bozunma profilinin arzu edilen dozlarda sürekli ilaç salınımı için optimize edilebileceğini göstermiştir. Ek olarak; polimer molekül ağırlığı, laktitin glikolid'e oranı ve ilaç türüne bağlı arzu edilen bir dozaj ve salım aralığını elde etmek için ilaç konsantrasyonu gibi ilgili parametreleri kontrol ederek polimer-ilac matrisinin genel fiziksel özelliklerinin ayarlanması mümkündür [39], [40].

İyi kontrol edilebilen bir ilaç taşıma sistemi tasarlamak için, PLGA'nın fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini iyi anlamak esastır. Optik olarak aktif PDLA ve PLLA'nın fiziko-kimyasal özellikleri hemen hemen aynıdır. PLA genel olarak, düzensiz polimer zincirlerinden dolayı yüksek derecede kristal bçimde (PLLA) veya tamamen amorf bçimde (PDLA) olabilir. PGA ise; herhangi bir metil yan grubunu içermediğinden PLA'nın aksine oldukça kristal bir yapı gösterir. PLGA herhangi bir şekil ve boyuta işlenebilir ve molekülleri hemen hemen her boyutta enkapsüle edebilir. Klorlu çözücüler, tetrahidofuran, aseton veya etil asetat da dahil olmak üzere geniş bir yelpazedeki solventlerde iyi oranda çözünür [41], [42].

PLGA, suda ester bağının hidrolize olmasıyla Şekil 2.7'de gösterildiği gibi biyolojik olarak parçalanır. PLA'daki metil yan gruplarının varlığı onu PGA'ya kıyasla daha hidrofobik yapar ve dolayısıyla laktid açısından zengin PLGA kopolimerleri daha az hidrofilik olur, daha az su emer ve ardından daha yavaş bozunur [43].



Şekil 2.7 PLGA'nın hidrolizi [37]

PLGA'nın mekanik mukavemeti; molekül ağırlığı ve polidispersite indeksi gibi fiziksel özelliklerden etkilenir. Bu özellikler ayrıca bir ilaç taşıma aracı olarak formüle edilebilme özelliğini etkiler ve bu nedenle bozunum hızını ve hidrolizi değiştirebilir. Ancak son

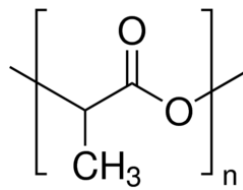
zamanlarda yapılan araştırmalar, ilacın türünün salım üzerinde daha etkili olduğunu ortaya koymuştur [44].

PLGA'nın biyolojik dağılımı ve farmakokinetiği lineer olmayan ve doza bağlı bir profil izler [45]. PLGA taşıyıcılarının bozunması başlangıç aşamasında (yaklaşık % 30) hızlıdır ve sonrasında yavaşlar [46]. Bu kısıtlılıkları gidermek için, yüzey değişikliklerinin rolü araştırılmış ve yüzey düzenleyici ajanın dahil edilmesinin kan dolaşımı yarılanma ömrünü önemli ölçüde artırabileceğini düşünölmüştür [47].

2.3.2 PLA

Laktik asitten alifatik bir makromolekül olarak sentezlenen PLA, 1954 yılında DuPont tarafından patentlenmiş ve sonrasında iyileştirme çalışmalarına devam edilerek 1972de biyoyoumlu bir polimer olduğu kanıtlanarak piyasaya sürölmüştür [48].

PLA normalde düzlemsel bir polimerdir ancak işlevselliği artırmak için genellikle epoksileştirme işlemi uygulanır. Bu işlem sonrasında polimer zincirinde dallanma sağlandığı için, doğal PLA'nın zayıf dayanım, düşük elastisite modölü gibi dezavantajları ortadan kaldırılmış olur. Yüksek mukavemet gerektiren uygulamalarda PLA buna benzer şekillerde modifiye edilerek kullanılmaktadır [49].



Şekil 2.8 PLA kimyasal formölü [49]

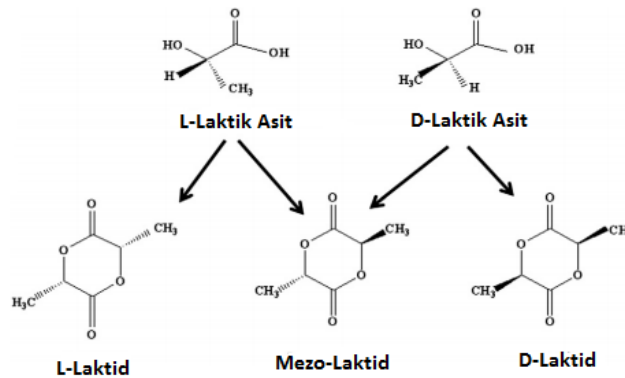
PLA'nın monomeri olan laktik asit (2-hidroksi propiyonik asit), fermentasyon veya kimyasal sentez yolu ile üretilebilmektedir. Laktik asidin 2 tip optik olarak aktif konformasyonu mevcuttur. L (+) ve D (-) stereoizomerler karbondhidratların bakteriyel (homofermentatif ve heterofermentatif) fermentasyonu ile üretilir. Sınai laktik asit üretiminde kimyasal sentez yerine genellikle fermentasyon prosesi kullanılmaktadır. Bunun en önemli sebepleri; sentetik üretimin üretim kapasitesini sınırlaması, arzu edilen

L-laktik asit stereoizomerinin üretilmemesi ve kimyasal imalat maliyetinin çok yüksek olmasıdır [50]. Homofermentatif fermantasyon ise endüstriyel üretimde en çok tercih edilen yöntemdir. Bu metot ile muadillerine oranla daha yüksek laktik asit üretim verimi elde edilirken oluşan yan ürün miktarı oldukça azdır. İşlem genellikle; *L. amylophilus*, *L. bulgaricus* ve *L. leichmanii*, *L. delbrueckii* gibi *Lactobacillus* cinsi mikroorganizmalar kullanılarak, 5.4-6.4'lük bir pH aralığı, 38-42 ° C'lik bir sıcaklık aralığı ve düşük oksijen konsantrasyonunda gerçekleştirilir. Bu yöntemle PLA üretiminde kullanılmak üzere saf laktik asit sentezlenmiş olmaktadır [51].

PLA hem laktik asitin doğrudan kondenzasyonu hem de siklik laktit dimerinin halka açılması polimerizasyonu ile hazırlanabilir. Doğrudan kondensasyon yolu bir denge reaksiyonu olduğundan, polimerizasyonun son evrelerinde eser miktarda suyun giderilmesinin güç olmaması genelde bu yaklaşımla elde edilebilecek nihai moleküler ağırlığı sınırlar. Mitsui Toatsu Chemicals, yüksek molekül ağırlıklı PLA elde etmek için doğrudan esterifikasyon işleminde suyun giderilmesini sağlamak için yüksek kaynama noktalı bir çözücü kullanarak bir azeotropik damıtma yöntemini patent altına aldığı halde, çoğu çalışma halka açılması polimerizasyonuna odaklanmış durumdadır [49].

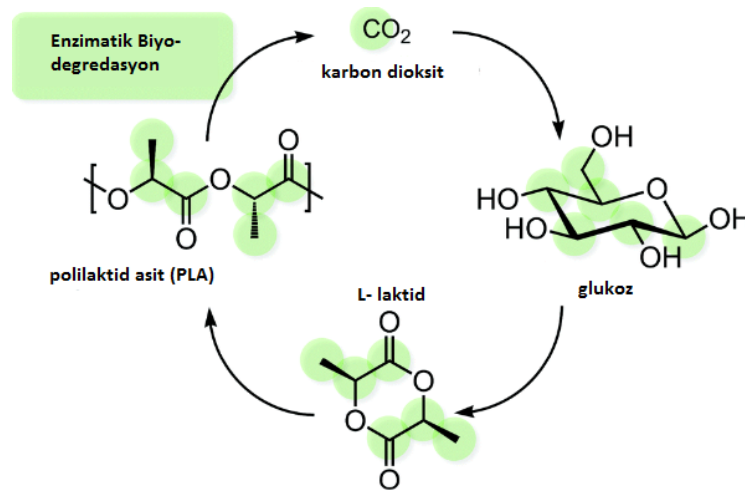
Polilaktik asit (PLA), mısır ve şeker pancarı gibi %100 yenilenebilir kaynaklardan elde edilebilen, biyolojik olarak parçalanabilen, alifatik polyesterdir. PLA, çok çeşitli uygulamalarda denenmekte ve başarılı sonuçlar elde edilmektedir [52].

PLA, üç stereokimyasal formda mevcut olabilir: poli (L-laktid) (PLLA), poli (D-laktid) (PDLA) ve poli (DL-laktit) (PDLLA). PLA'nın kristallik derecesi gibi birçok önemli özellik, kullanılan D'den L'ye kadar olan enantiyomerlerin oranı ile kontrol edilebilmektedir [53].



Şekil 2.9 Laktidlerin stereokimyasal formları [53]

PLA'nın bozunma mekanizmasının; molekül ağırlığı, kristallik, saflık, sıcaklık, pH, terminal karboksil veya hidroksil gruplarının varlığı, su geçirgenliği ve enzimler, bakteriler veya inorganik dolgu maddeleri içerebilen katalitik olarak etki eden katkı maddeleri gibi bir dizi faktöre bağlı olduğu bulunmuştur [54]. Biyolojik bozunabilirlik ile ilgili olarak, PLA'nın; polikaprolakton (PCL) gibi diğer alifatik biyolojik olarak parçalanabilir polimerlere göre bozunmaya karşı daha az duyarlı olduğu bilinse de, gübre veya toprak gibi doğal ortamlarda kolaylıkla bozunduğu doğrulanmıştır [55]. PLA'nın hidrolitik bozunumunun ürünlerinin mantar veya bakteri gibi mikroorganizmalar tarafından tamamen nötralize edildiği bildirilmiştir [56]. PLA ve kopolimerlerinin doğada biyolojik olarak parçalanması genellikle mikroorganizmalardan salgılanan esterazlar, proteazlar ve lipazlar aracılığı ile gerçekleşir [57].



Şekil 2.10 PLA'nın enzimatik biyo-degradasyon mekanizması [58]

PLA yüksek biyolojik absorpsiyon, yüksek biyolojik parçalanma yeteneği ve toksik olmama özellikleri sebebiyle biyomedikal uygulamalarda çok fazla tercih edilen bir makro moleküldür. PLA'nın glikolik asit (GA), kaprolakton (CL) ve poli (etilen glikol) (PEG) gibi farklı substratlar ile di- veya triblok kopolimerlerinin hazırlanması yakın zamanda çok dikkat çekmektedir. Bu materyallerin sentezi; laktidlerin ve glikolitlerin diğer substratlar ile kopolimerleştirilmesinin homopolimerlere kıyasla daha kısa sürelerde bozunabilen biyolojik olarak parçalanabilir materyallere (polyesterlere) dönüşmesi sebebiyle tıbbi uygulamalarla ilişkilendirilir [59].

2.4 PLGA ve PLA Nanopartikülleri

PLA biyolojik absorpsiyon, yüksek biyolojik parçalanma yeteneği ve toksik olmama özellikleri sebebiyle biyomedikal uygulamalarda çok fazla tercih edilen bir makromoleküldür [59]. Makromolekül formu dışındaki yapılar için ise sınıflandırma boyutları ve hazırlanma şekilleri baz alınarak yapılabilir. Mikro parçacık terimi 1 µm'den büyük sistemleri belirtirken, nanopartikül mikron altı parçacıkları tanımlamak için kullanılır. Parçacık büyüklüğü, ilacın uygulanma şekli ile ilgili temel bir parametredir. Örneğin literatürde, PLA bazlı polimerlerden ve kopolimerlerden enjekte edilebilir mikropartiküllerin; sitotoksikler, anti-inflamatuar ajanlar, peptidler, hormonlar vb. dahil olmak üzere geniş bir yelpazedeki ilaçları taşımak için başarıyla kullanıldığı yaygın bir şekilde bildirilmektedir [60]. Bununla birlikte, ilacın sistemik sirkülasyon yoluyla veya mukozal membran boyunca hedef dokulara yönlendirilmesi gerektiği zaman (ve oral uygulama vakalarında), 500 nm'den küçük parçacıklar gereklidir [61].

PLGA (poli-d,l-laktid-ko-glikolid), vücutta hidroliz geçirerek biyolojik olarak parçalanabilir metabolit monomerlere, laktik asit ve glikolik asit, dönüşmesi sebebiyle biyolojik olarak parçalanabilir nanosistemlerden en başarılı şekilde kullanılanlardan biridir. Vücut bu iki monomeri rahatlıkla metabolize edebildiği için ilaç taşıma sistemlerinde ve biyomateryal olarak kullanımda sistemik toksisite riski yok denecek kadar azdır [62].

PLGA Nanopartikülleri; protein ve peptid nano sistemleri, nano-aşılar, Nanopartikül temelli gen taşıma sistemleri, nano-antijen ve büyüme faktörü sistemleri gibi birçok nanoteknolojik uygulamada sıklıkla kullanılmaktadır [12]. PLGA'nın yüzey modifikasyonu, kullanılan ilaç kapsülleme yöntemi ve partikül boyutu, formülasyon sırasında eklenen katkı maddeleri, ilacın molekül ağırlığı, laktitin glikolide oranı formülize edilen nanopartiküllerin salınması ve istenen şekilde metabolize olması üzerinde güçlü bir etkiye sahiptir [63].

Poli (laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) ve poli (laktik asit) (PLA) gibi biyolojik olarak parçalanabilir polimerik nanopartiküller, ilaç taşıyıcısı olarak çok fazla çalışılmaktadır. Lipozomlar, miseller ve dendrimerler gibi diğer nano taşıyıcılar ile kıyaslandığı zaman polimerik nanopartiküler sistemler geliştirilmiş stabilite, yüksek yükleme kapasitesi, sürekli ilaç salımı, immünojenik olmama, azalmış ilaç toksisitesi, artmış biyoyararlanım,

enkapsüle edilen ilacın terapötik etkinliğinin arttırılması ve çok yönlü yüzey modifikasyonuna imkan vermesi gibi eşsiz avantajlara sahiptir [64].

Li ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, PLA ve PLGA nanopartikülleri ile sinir sistemine yönelik tasarlanan ilaç taşıma sistemlerinin karakteristikleri incelenmiş ve varılan sonuçlar Çizelge 2.1 'de sunulmuştur [65].

Çizelge 2.1 PLA ve PLGA nanopartikülleri ile çalışılan sinir sistemi hedefli ilaç taşıma sistemleriniz karakteristik özeti [50]

Polimer	Emülgatör	Yüzey Modifikasyonu	Yüklenen İlaç	Floresans İşaretleyici	Boyut (nm)	Zeta Potansiyel (mV)	Deney	Sonuç
PLGA (50:50, 5-15kDa)	PVA		Curcumin		163	-12,5	In vivo: erkek Sprague-Dawley sıçanlar ve In-vitro	Serebral korteks ve hipokampusta Curcumin'in tutulma süreleri önemli ölçüde artmıştır
PLGA (50:50, 35-40 kDa)	DMAB	1% T80	Estradiol		134.7	68.5, pH 4.1	In vitro: simüle mide sıvısı ve bağırsak sıvısı In vivo: erkek Sprague-Dawley fareleri, oral uygulama	T-80 kaplaması simüle mide sıvısı ve bağırsak sıvısı içinde kararlıydı. Ağızdan uygulanan T80 kaplı nanopartiküller, kaplanmamış ilaçlardan 24 saat daha fazla organizmada kaldı.
		2% T80			138.8	19.2, pH 5.6		
		3% T80			141.8	7.7		
		4% T80			153.1	-1.1		
		5% T80			157	-3.6		
					172.4	-6.5		
PLGA (50:50)	PVA		Doxorubicin		238.6	11.8	In vivo: tümörlü erkek Wistar sıçanları, yüksek ve uzun süreli anti-tümör (glioblastom) etkisini kanıtladı	Poloxamer ile kaplı Loperamide yüklü PVA ile dengelenmiş PLGA nanoparçacıkları sıçanlarda en etkili anti-tümör (glioblastom) etkisini kanıtladı
	PVA	F68	Loperamide		243.4	6		
	PVA	T80			239.9	8.2		
	HSA	F68			401.7	9.5		
	HSA	T80			408.6	8.1		
	HSA	T80			412	16.2		
	PVA	F68			177.7	-11.4		
	PVA	T80			168.5	-17.9		
	PVA	T80			166.9	-25		
	HSA	F68			288.9	-11.9		
	HSA	T80			287.7	-17.5		
PLA (5 kDa)					292.4	-18.9		
		T80			162.1	-29.5	In vivo: fareler, kuyruk damar enjeksiyonu	Beyin hedeflemesi için T80 kaplaması gerekiyordu. Beyin dokularında serbest FITC, T80 ve boş NP'ler gözlemlenmedi.
				FITC	194.2	-13.4		
				FITC	202.6	-10.17		
	PVA		Docetaxel		227.7	-27.5	In vitro: C6 glioma hücre dizisi, sitotoksitesite çalışmaları	En düşük IC50, F68-PVA-NP'ler tarafından 72 saat sonra elde edildi.
PLGA (50:50, 40-75 kDa)	TPGS				222.3	-41.3		
	PVA	F68			235.5	-23.8		
	PVA	T80			250.2	-21.3		
	PVA	F127			242.5	-22.4		
	PVA				177	-31.1	In vitro: MDCK hücreleri üzerindeki çalışmalar	TPGS kaplı PLGA NP'leri, PVA ile emülsiyonlaşmış NP'lere göre 1.5 kat daha yüksek hücresel alıma sahipti. F68 kaplı PLGA NP'ler, T80 ve F127 kaplı NP'lere kıyasla en yüksek alım miktarını gösterdi. F68 kaplı PLGA nanoparçacıkları, beyin yüzeyi üzerinde T80 ve F127 olanlara kıyasla en yüksek birikimi gösterdi.
	TPGS				165	-38.5	In vivo: erkek Sprague-Dawley sıçanları, kuyruk damarı enjeksiyonu	
	PVA	F68	Coumarin-6		196	-20.2		
	PVA	T80			194	-23.1		
	PVA	F127			188	-20.6		

Çizelge 2.1 PLA ve PLGA nanopartikülleri ile çalışılan sinir sistemi hedefli ilaç taşıma sistemleriniz karakteristik özeti (devamı)

PVA	T80 F68	269.3 231.7 252.2	-21.2 -20.3 -19.8	In vivo: erkek Wistar sıçanları, karotis arteri / jugular uygulama	Tüm NP'lerin karotid arter uygulaması, juguler damar uygulamasından sonra olduğundan daha fazla beyin dağılımı gösterdi. T80-PLGA NP'lerden daha yüksek beyin dağılımı sağlanmıştır. CS-PLGA NP ve F68 kaplı NP'lerden daha fazla beyin dağılımı sağlanmıştır. CLSM çalışmaları sadece T80-PLGA'nın beyin bariyerini geçtiğini ve parankim içinde yer aldığını göstermiştir.
PLGA (75:25, 20 kDa)	CS	396.2	6.1		
PLGA (50:50, 40–75 kDa)	TPGS			Loperamide	
		173.5	-24.9	In vitro: sıçan beyin endotel hücreleri ve C6 ko-kültürleri	P188 kaplı NP'ler, P80 kaplı NP'lere göre daha iyi geçirgenlik (1.47 kat) gösterdi; Toksisite yoktur.
PLGA-PEG-PLGA (PEG 2 kDa)	P80 P188 P80 P188	152.3 149 147 224.2	-0.5 1.5 3.1 -22.4	In vivo: erkek ICR fareleri, kuyruk damarı enjeksiyonu	P188 NPs P80 NPs den daha iyi etki gösterdi, bunu boş NP izledi.
PLGA		196.5	-0.4	In vivo: erkek SD fareleri, kuyruk damarı enjeksiyonu	P188 kaplı NP'ler beyinde P80 kaplı NP'lerden daha fazla dağıldı.
PLGA-PEG-PLGA	TPGS	190 200	1.2 2.4	Coumarin-6	Surfactant kaplı NP'ler, kaplanmamış NP'lerden daha fazla beyin bariyerini aştı; PEG'lenmiş NP'lerde, boş NP'lere göre daha fazla hücre alım gözlemlendi.
PLGA	PEG TPGS P80 F127	215 225 248 256 234 239 245 251	n/r n/r n/r n/r n/r n/r n/r n/r	Coumarin-6	P80 ve TPGS'nin sentez esnasındaki ilavesi, nanoparçacıklara kaplama yapıldığı halden daha çok hücre alımına teşvik etti; P80 ile emülsiyonlaşmış NP'ler en düşük hücre canlılığını gösterdi.
PLA-b-PEG	TPGS	120 120 94.7	n/r n/r -22.3	Amphotericin B (AmB)	T80, kararlı ve verimli bir şekilde beyin hedeflemesini geliştirdi.
PLGA (75:25, 10 kDa)	TMC	136.8	17.7	Coenzyme Q10	Önemli sitotoksik etkiler Korteks ve üçüncü ventrikül periventriküler bölgede biriken mekanizmada gözlemlendi; davranış testleri, senil plak ve biyokimyasal parametreler, boş NP'lardan daha iyi olarak doğrulandı.
	TMC	99.6 146.7	-18.3 21		

Çizelge 2.1 PLA ve PLGA nanopartikülleri ile çalışılan sinir sistemi hedefli ilaç taşıma sistemleriniz karakteristik özeti (devamı)

PLGA (50:50)	TPGS		250	n/r	In vitro: PC 12 hücre hattı	Sitotoksiklik yok, yüzeydeki TPGS ne kadar fazla ise o kadar yüksek terapötik etki görüldü.
PLGA (50:50, 153 kDa)	PVA	CS	267.7	-7.6	In vitro: polarize MDCK hücre katmanları	Hücre içi Ab antijenini seçici olarak hedefledi.
		CS, anti-Aβ antibody	217.3	32.0		
			265	16.8		
Sodium Cholate		Sulpiride	218	-39	In vivo: erkek Sprague-Dawley fareleri, kaudal ven içinde enjeksiyon	Plazmadan daha hızlı temizlenme ve beyinde yüksek biyolojik dağılım gözlemlendi.
PEG-PLA		Alexa Fluor 488-labeled CBSA	329	-19		
			308	n/r		
PEG-PLA (43-44 kDa)		BSA	100	-16.8	In vitro: beyin endotel hücrelerinin (BCEC'ler) ve astrositlerin birlikte kültürü	CBSA-NP'lerin geçirgenliği, boş NP'lerden daha yüksek ve serbest CBSA ile inkübe edilirken azaldı.
		CBSA	97.5	-16.2		
		Coumarin-6	105	-12.8	In vivo: erkek BALB / c fareleri, kuyruk damar enjeksiyonu	
F68		Fluorescein (f)-linked	212	-17.1	In vivo: sıçan beyin perfüzyon tekniği; sıçan femoral ven enjeksiyonu	Kan damarlarına lokalize olan BBB'yi geçemez, Sistemik uygulamadan sonra serebral parankim içine nüfuz CNS'e ulaşır,
		Peptide 1	170	-6.9		Sistemik uygulamadan sonra CNS'e ulaşan Beyin parankim içine nüfuz ile beyin bariyerini geçemiyor,
		Peptide 2	162	-8.6		Serebral parankima nüfuz ediyor.
PLGA (11 kDa)		Peptide 2	211	-14.6		
		Peptide 3	178	-15.2		
		Peptide 4	191	-6.1		
		Peptide 5	185	-9.9		
PEG-PLGA (25:75)		12-amino acid peptide	109.3	-23.4	In vitro: Beyin bariyerinin bir modeli olan bEnd.3 hücreleri	Önemli ölçüde yüksek bEnd.3 hücrel alımı ve verimi
			121.5	-18.3	In vivo: erkek fareler intravenöz enfeksiyonlu	Belirgin derecede yüksek beyin bariyerinden geçiş verimi
PVA		H-ritonavir	300	-19.3	In vitro: Aşırı eksprese MDCK hücreleri (MDCK-MDR1) ve non-P-gp eksprese (MDCK-wt) hücreleri	TAT-NP'ler, serbest ritonavirden 40 kat daha fazla difüze edilirken, MDCK-MDR1 hücrelerindeki konjuge olmayan NP ile benzer şekilde, serbest ritonavirden 800 kat daha fazla beyin ritonavir seviyesi ve konjuge edilmemiş NP'den 7 kat daha yüksek parankima difüzyonu gözlemlendi.
PLA (40 kDa)		3H-ritonavir	340	2.4		
		TAT peptide	n/r	n/r	In vivo: erkek fareler, kuyruk örtüsü	

Çizelge 2.1 PLA ve PLGA nanopartikülleri ile çalışılan sinir sistemi hedefli ilaç taşıma sistemlerinin karakteristik özeti (devamı)

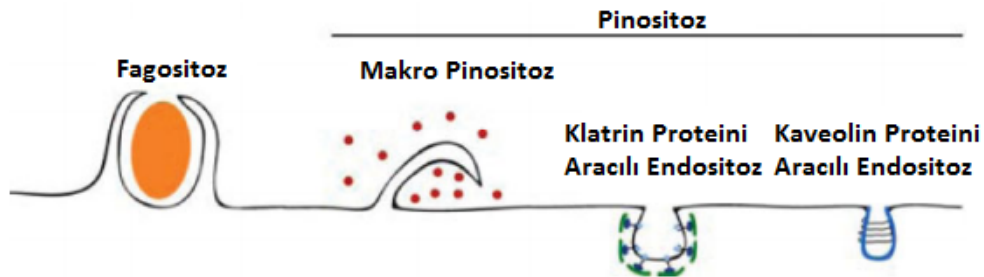
F68	SA-g7 g7	180	-22.8	In vivo: erkek albino Wistar-Hannover sıçanları, kuyruk damarı enjeksiyonu	Loperamide yüklü NP'ler diğerlerinden 24 saat daha fazla dolaşımda kaldı.
PLGA (50:50, 7-17 kDa)	SA-g7 g7	155	15.2		SA-g7 NP'ler beyin bariyerini geçebilir, uzun süre alkonma sağlanabilir.
	Rhodamine-123	187	-21.7		
	Loperamide	197	-15.9		
	Rhodamine-123	169	-18.9		
	TMR-linked	154	-24.2		
PLGA (50:50, 7-17 kDa)	Tet-1 peptide	150-200	-30 to -20	In vitro: LAG hücrelerinde sitotoksiste; GI-1 glioma hücrelerinde hücreölüm	Önemli bir sitotoksik etki yok; Tet-1 konjuge NP'leri, konjuge edilmemiş NP'lere kıyasla daha fazla hücreölüm sağladı.
PEG- PLGA (50:50)	2% glutathione	168	n/r	In vitro: RG2 glioma hücreleri	Mikrotübül stabilizasyonunun artması nedeniyle RG2 hücrelerinde kaplanmamış NP'den daha yüksek sitotoksiste görüldü.
	PTX	237.6	n/r		
PLGA (50:50, 24-38 kDa)	Tween 20	79.2	-44.2	In vitro: BCEC'lerin ve astrositlerin ortak kültürü	Tf-NP'lerin hücreölüm endositozu boş NP'lerden 20 kat daha fazladır; BSA-NP'lerden 2 kat daha yüksektir. T20-NP'ler daha yüksek toksiste gösterdi.
	BSA	80.9	-21.4		
	FITC-Tf	80.8	-33.1		
		90.2	-32.5		
TPGS	Coumarin-6	228.6	-30	In vitro: C6 glioma hücre hattı	Tf-konjuge NP'lerin aktif reseptör aracılı Tf / TfR endositozu, Beyinde, konjuge olmayan NP'lerden çok daha yüksek konsantrasyonda Coumarin-6 hücre yaşayabilirliği ve IC50 açısından, Tf-TPGS-PLA en verimli ilaç verme yolu olarak belirlendi.
	Docetaxel	245.8	-29	In vivo: erkek Sprague-Dawley sıçanları	
	Docetaxel	121.6	-36.5	In vitro: C6 hücreleri	
	Tf	137.6	-31.1		
PLGA (50:50, 20 kDa)	Tf	112.9	-35.3	In vitro: altı farklı kanser dokusundan sekiz insan kanser hücre hattı	Tf-PEG-PLGA NP'leri ve PEG-PLGA NP'leri, PLGA NP'lerinden daha yüksek sitotoksiste gösterdi.
PEG-PLGA	Tf	121	-4.3	In vivo: albino sıçanlar	Tf-PEG-PLGA, beyin parankimi içine yerleşmişti.
	Coumarin-6	n/r	n/r		
DODAB and P80	Nevirapine	170-200	30-40	In vitro: HBMEC'ler ile, sitotoksiste ve geçirgenlik	Tf ve DODAB, hücre yaşayabilirliği ve Tf-NP'lerin geçirgenliği üzerinde etkili oldu,
PLGA (85:15)	Fluorescein conjugated dextran 7000			In vitro: HBMEC'ler ile, hücreölüm	Tf-PLGA NP'leri, konjuge edilmemiş NP'lere göre daha fazla hücreölüm verimi gösterdi.
PEG-PLGA (50:50)	Tf antibody (OX 26)	92	n/r	In vitro: RG2 glioma hücreleri	Konjuge edilmemiş NP'ler ve serbest Tempol ile karşılaştırıldığında artırılmış hücreölüm
	Tempol	105	n/r		görüldü.

Çizelge 2.1 PLA ve PLGA nanopartikülleri ile çalışılan sinir sistemi hedefli ilaç taşıma sistemleriniz karakteristik özeti (devamı)

PVA	Glycopeptides	ZnSO4	TMR-linked	In vitro: nöronlar / glial kültürler	PLGA NP'leri toksik değildi.
PLGA (50:50, 7-17 kDa)	NCAM1 antibody		TMR-linked	In vitro: NCAM1 etiketli mikrotübüle bağlı protein pozitif hücreler ve CD44 etiketli glial hücreler	Glikopeptidlerle konjuge NP'ler endositozu artırdı.
	CD44 antibody		TMR-linked		NCAM-NP'ler, nöronları daha fazla hedef aldı, CD44-NP'ler glial hücreleri daha fazla hedeflerken, nöronlarda rastlanmadı.
Sodium cholate	Lactoferrin			In vitro: Beyin bariyerinin bir modeli olan bEnd.3 hücreleri	BEnd.3 hücrelerinde önemli miktarda endositoz artışı, NP'ler ile birlikte verildiğinde beyinde 2.49 kat Coumarin-6 birikimi, Lf-NP'lere yüklenen UCN'nin artırılmış terapötik etkisi gözlemlendi.
PEG-PLGA		Urocortin (UCN)	Coumarin-6	In vivo: Fare, kuyruk damanna enjeksiyon	
				In vivo: PD'nin 6-OHDA sıçan modeli, kuyruk damanna enjeksiyon	
PLGA	DDAB	Poly-(γ-glutamic acid) (γ-PGA) (6 kDa)		In vitro: insan astrosit (HA) ile HBMEC'lerin tek katmanlı hattı	γ-PGA'nın daha yüksek aşılama verimi ve düşük molekül ağırlığı, SQV'nin geçirgenliğini artırarak beyin bariyerini geçti, endositozu ve ornitin dekarboksilaz (ODC) ekspresyonunu artırdı.
		Saquinavir (SQV)			
Sodium cholate	AS1411(AP)	PTX	Coumarin-6	In vitro: C6 glioma hücreleri	Geliştirilmiş hücresel ilişki AP ile konjuge NP'nin, sitotoksitesi belirlendi, beyin tümörü başıyla hedeflendi, geliştirilmiş ilaç verimliliği ile glioma taşıyan gücülerin ömrünün uzayacağı öngörüldü.
PEG-PLGA (50:50, 15 kDa)	AP	PTX		In vivo: glioma ksenograftı sıçanlar ve kafatası altı C6 glioma taşıyan sıçanlar	
-n / r, rapor edilmedi;					
-FITC, floresein izotiyosyanat;					
-CLSM, konfokal lazer tarama mikroskopisi;					
-MTT, 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür;					
-Dil, 3', 3', 3'-tetrametilindo-karboksishanat perklorat;					
-DMAB, didodesil dimetil amonyum bromür;					
-PD, Parkinson hastalığı;					
SD, Sprague-Dawley sıçanı					

Plazma membranı, hücrenin sınırını belirleyen ve temel hücre içi ortamını muhafaza eden seçici olarak geçirgen bir membrandır. O₂ ve CO₂ gibi küçük ve polar olmayan moleküller lipid çift katmanında kolaylıkla yayılabilir, bununla birlikte iyonlar ve daha büyük nanomalzemeler gibi polar moleküller plazma zarını kendi başlarına geçemezler [66]. Doğada, önemli iyonlar ve nanometre boyutlu proteinler, özel taşıma kanalları vasıtasıyla lipid çift tabakası boyunca taşınır [67]. Nanomalzemelerin vücut içine girdikten sonra hücreler ve lipid çift katmanlar ile etkileşimi, fototerapi, görüntüleme ve ilaç / gen taşınması gibi birçok uygulamada kritik önem taşır. Bu uygulamalar çoğunlukla nanopartiküllerin yüzey özellikleri ile belirlenen nanopartikül-hücre etkileşimleri üzerinde sağlam bir kontrol gerektirir [66].

Çoğu nano ölçekli molekül ve molekül grubu, Şekil 2.11’de gösterildiği üzere, endositoz (makromoleküllerin, hücre zarı ile temas ettikten sonra zar veziküllerine alınarak hücrelere taşınma süreci) yoluyla hücre içine alınır. Endosite edilecek molekül endolizozomlar (membrana bağlı veziküller) içinde tutulur ancak hücre sıvısıyla temas edemez [68]. Nanomalzemelerin bu endositik hareketi, literatürde çeşitli örneklerle gösterilmiştir. Bir örnek olarak, 3-4 nm boyutundaki altın nanopartiküllerinin, pinositoz içeren bir mekanizma yoluyla makrofaj hücrelerine çekildiği atomik kuvvet mikroskobu (AFM) ölçümleri ile gösterilmiştir [69].



Şekil 2.11 Endositoz yolları [66]

Fagositöz; değişebilen boyutlardaki bakteri veya maya gibi katı parçacıkların özelleşmiş hücreler tarafından membran çıkıntısı oluşturularak içe alınmasıdır. *Pinositoz*; hücre dışı sıvı fazdaki moleküllerin farklı pinositik yollardan uygun olanı ile hücre içine alınmasıdır. Pinositoz çeşitlerinden *Makropinositoz*; sıvı moleküllerinin 1µm’den daha

büyük boyutlarda membran çıkıntısı oluşturularak tutulmasıdır. *Klatrin proteini aracılı endositoz*; ana birimi Klatrin olan membran proteinlerinin bir araya gelerek reseptörler ve bunlara bağlı ligandlar ile çevrelenmiş, yaklaşık olarak 100-120 nm boyutunda membran girintileri oluşturup moleküllerin alımına olanak sağlayan pinositoz türüdür. Son olarak *Kaveolin proteini aracılı endositoz* ise; plazma membranında Kaveolin proteinini de içeren hücreye özgü moleküllerin, spesifik reseptör bağlanması yoluyla yaklaşık olarak 50-60 nm boyutunda balon şeklinde kılıfa benzer girintiler oluşturularak moleküllerin hücre içine alınmasına aracılık eden pinositoz türüdür [68].

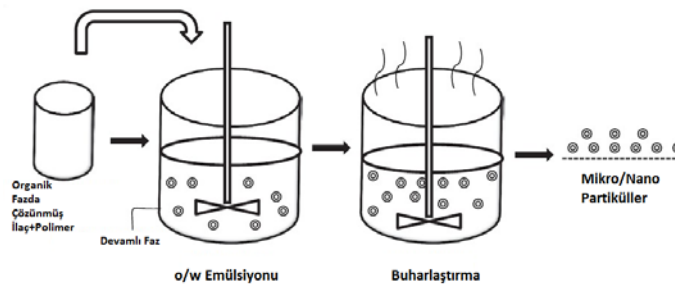
2.4.1 PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin Üretim Yöntemleri

2.4.1.1 Emülsiyon Temelli Yöntemler

Biyolojik olarak bozunabilir PLA/PLGA bazlı polimerik parçacıkların hazırlanması için birçok yöntem mevcuttur. Seçilen yöntem üretilecek olan küresel yapıların boyutları da dahil olmak üzere en önemli özelliklerini belirler. Kullanılan ilaç formülasyonundaki bağlanma bölgesi de seçilecek olan yöntem üzerinde etkilidir [70].

Tekli Emülsiyon Yöntemi (o/w)

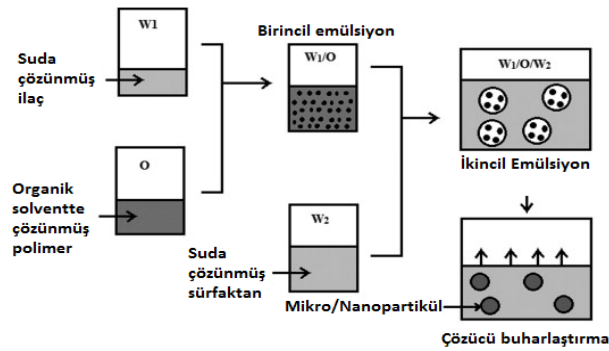
Bu yöntemde, polimer ve aktif bileşen içeren organik faz stabilize edici bir ajan içeren sulu fazda emülsiyonlaştırılır. Daha sonra organik çözücü buharlaştırılarak, elde edilen nano- ve mikro-küreler kurutulup sertleştirilir [71].



Şekil 2.12 Tekli emülsiyon yöntemi [72]

İkili Emülsiyon Yöntemi (w/o/w)

Bu yöntem tekli emülsiyon yönteminin modifiye edilmiş bir türevidir. Burada aktif madde suda çözünür (sulu faz) ve polimer bir organik solventte (organik faz) çözülür. Her iki çözeltinin karışımı bir emülsiyon verir (o / w). Ortaya çıkan emülsiyon daha sonra yavaş yavaş bir dengeleyici ajan ihtiva eden sulu bir ortama ilave edilir (w/o/w). Organik çözücü uzaklaştırılarak nano ve mikrokürelerin oluşumu sağlanır. Elde edilen bu mikro ve nanoküreler kurutularak sertleştirilir [59].

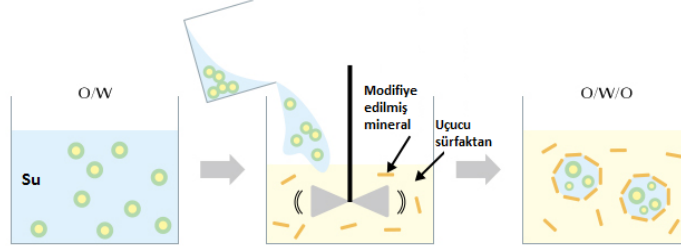


Şekil 2.13 İkili emülsiyon yöntemi [73]

Gao ve arkadaşları (D,L)PLA ve [6-(2-aminoetil)amino-6-deoksi]-b-siklodekstrin(CDen)'den N,N-disikloheksilkarbodiimid'i katalizör olarak kullanarak polimerik parçacıklar üretmek için bu tekniği kullanmışlardır. Temel olarak prosedür, bir diklorometan / aseton çözücü karışımı içinde CDen ve PLA'nın askıya alınmasından sonra sonikasyon altında su ilave edilip, bir w / o emülsiyonu üretmektir. Bundan sonra, w / o / w emülsiyonu sonikasyon altında bir poli (vinil alkol) çözeltisine (PVA) ilave edilir. Son olarak, organik çözgen düşük basınç altında buharlaştırma ile ayrılır ve nanoparçacıklar ultra-santrifüj ile geri kazanılır. Elde edilen parçacıklar protein yapılı sığır serum albümini (BSA) yüklemek için başarıyla kullanılmıştır [74]. Burada DCM organik fazı PVA ise sürfaktanı temsil eder. Sonikasyon ve organik çözücü türü gibi yöntemle ilişkili bazı parametrelerin etkisinin parçacıkların performansında için çok önemli olduğunu vurgulanmıştır [75].

Yağ Faz Emülsiyonu Yöntemi (o/w/o)

Bu yöntem, tekli emülsiyonun bir başka modifikasyonu olup, burada devamlılık fazı bir mineral yağı gibi organik bir sıvı ile oluşturulmuştur. Bu teknik hidrofilik aktif maddeleri kapsüllemek için özellikle uygundur [70].

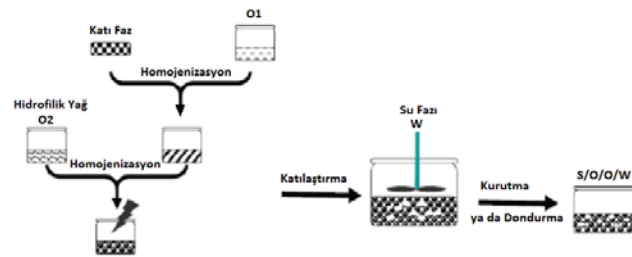


Şekil 2.14 Yağ faz emülsiyonu yöntemi [76]

Katı - Yağ - Su Emülsiyon Yöntemi (s/o/w)

Bu emülsiyon tipi diğer yöntemler kadar yaygın kullanılmamaktadır. Yöntem, ilk emülsiyonlaşma sırasındaki su-organik çözücü arayüzünden kaçınmak için çift emülsiyona bir alternatif olarak ortaya çıkmıştır [70]. Katı hal proteinlerinin organik çözelti içerisinde çok kararlı olabilmeleri sebebiyle bu yöntem proteinler için çok kullanışlıdır [77].

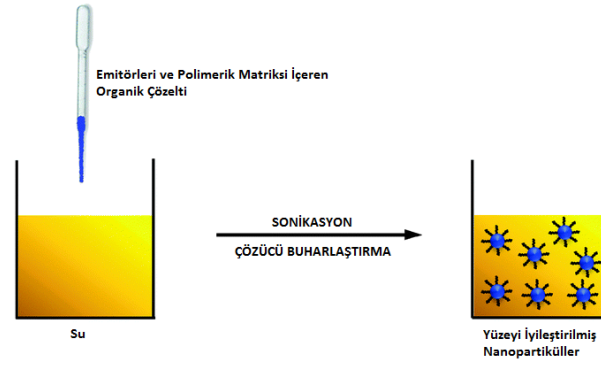
Morita ve arkadaşları BSA'yı enkapsüle etmek için bu yöntemi kullanmışlardır. Özellikle, s/o/w ile hazırlanan rezervuar-mikroküresel sistemden protein salımının kinetiğini çeşitli amfifilik polimerler için çalışmışlardır [78].



Şekil 2.15 Katı – Yağ -Su emülsiyon yöntemi [79]

2.4.1.2 Nanoçöktürme Yöntemi

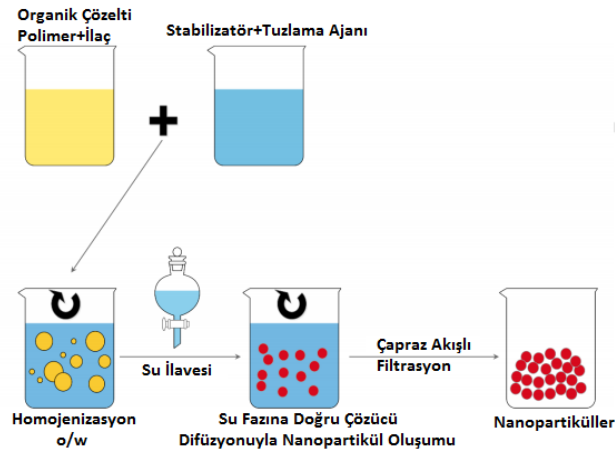
İlk olarak Fessi ve arkadaşları tarafından tanımlanan bu yöntem; lipofilik çözeltiden suyla karışabilen yarı-polar bir çözücünün yer değiştirmesinden sonra polimerlerin ara yüzlerde depolanması üzerine kuruludur [80]. PLA ve PLGA nanoparçacıkların hazırlanmasında yaygın olarak kullanılan kolay ve tekrarlanabilir bir tekniktir [80], [81]. Nanoçöktürmenin suda çözünür moleküllerin kapsüllenmesi için uygun olmadığı kanıtlandığından; çoğu ilaç kapsülasyon çalışması suda az çözünür ve amfifilik bileşikler üzerinde yoğunlaşmıştır [82].



Şekil 2.16 Nanoçöktürme yöntemi [83]

2.4.1.3 Salting-out Yöntemi

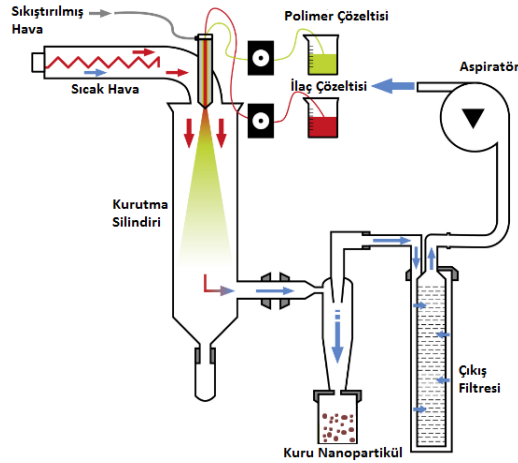
Yaygın olarak uygulanan emülsiyon ve nanoçöktürme prosedürlerinin bir alternatifi salting-out metodudur. Bu yöntemde ilacın aseton veya tetrahidrofuran (THF) gibi su ile karışabilir bir çözücüdeki çözeltisi ve polimer içeren bir solüsyonun kullanılması söz konusudur. Solüsyon, kuvvetli karıştırma altında tuzlama ajanı ve gerekirse bir sabitleyici ihtiva eden bir sulu jel içerisinde emülsiyon haline getirilir. o/w emülsiyonuna yüksek miktarda su ilavesi, çapraz akış filtrasyonu ile saflaştırılabilen ve geri kazanılabilen nanokürelerin oluşumuna izin verir. Tuzlama maddeleri olarak yaygın olarak kullanılan bileşikler; magnezyum klorür, sodyum klorür veya magnezyum asetat gibi elektrolitler ve sukroz gibi elektrolit olmayan maddelerdir. Elde edilen nanokürelerin yoğun şekilde arıtılması ve biyoaktif bileşiklerle kullanılan çoğu tuzun uyumsuzluğu bu tekniğin temel dezavantajlarıdır [29].



Şekil 2.17 Salting-out yöntemi [84]

2.4.1.4 Sprey Kurutma Yöntemi

Nano ve mikroküreleri elde etmenin diğer bir yolu; ilacın, sıcak hava akışı içinde nebulize olan polimerin organik bir solüsyonunda çözünürleştirildiği veya dağılmış olduğu sprej kurutma yöntemidir. Çözücü anında buharlaştırılır, nano- ve mikropartiküller kurumuş olarak elde edilir. Bu yöntem, daha önce tarif edilen yöntemlere kıyasla, polimer ve ilaç çözünürlük parametreleri açısından daha çok yönlü görülmektedir [85].



Şekil 2.18 Sprey Kurutma Yöntemi [86]

2.4.2 PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin Medikal Uygulamaları

Herhangi bir medikal tedavinin başarısı yalnızca terapötik maddenin farmakokinetik / farmakodinamik aktivitesine değil, insan metabolizmasındaki biyoyararlanımına da bağlıdır. PLA, PLGA ve diğer çeşitli kopolimer türevleri; biyoyumluluk / biyolojik olarak

parçalanabilirlik ve enjeksiyon yolu ile vücuda verilebilme kolaylığının yanında, gün, hafta veya aylara kadar uzatılabilen kontrollü salım profili sergileyebilmesi gibi birçok önemli avantaj sayesinde terapötik ilaçların kapsüllenebildiği nano / mikropartiküllerin geliştirilmesi için odak noktası haline gelmiştir. Piyasada mevcut olan ticari formülasyonlara rağmen, sağladığı bu önemli avantajlar nedeniyle bu alandaki araştırmalar büyük ölçüde gelişmiştir [87].

Son yirmi yıldır Poli-L-Laktik Asit, Poli-D-Laktik Asit ve Poli Lakti-ko-Glikolik Asit gibi alifatik polyesterler terapötik peptidler / proteinler için geniş çapta incelenmiştir [88]. Bununla birlikte, polimerik sistemlerin; olumsuz protein-polimer etkileşimleri, bozunma sırasında matrisin asitleştirilmesi, kapsüllenmiş proteinlerin asilasyonu ve salım profilini tercihe göre uyarılmanın zor oluşu gibi bir takım dezavantajlar iyi performans gösteren sistemlerin geliştirilmesinin uygulanabilir olup olmadığını sorgulatmaktadır [89].

PLA ve PLGA doku mühendisliği çalışmalarında da sıklıkla denenen polimerlerdir. PLA, PGA ve bunların kopolimer poli (DL-laktik asit-ko-glikolik asit) (PLGA) doku mühendisliği çalışmalarında genellikle iskele üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Luu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; PLGA nanofiberlerin bir PLGA yüzeyine elektro-püskürtmesi ile imal edilen iskele, iyi bir mekanik dayanım ve iç hiyerarşik yapı oluşturmuştur. İskele içindeki nanofiberler hücre çoğalmasını ve yeni ECM birikimini kolaylaştırmıştır. Plazmid DNA, PLGA ve PLA-PEG blok kopolimerinden imal edilmiş nano-fiber yapıdaki bir iskeleye başarıyla yerleştirilmiş ve gen terapisinin terapötik uygulaması için kullanılmıştır [90].

Laurencin ve arkadaşları PLGA iskelelerinin osteokondüktivitesini arttırmak ve mekanik özelliklerini iyileştirmek için HAP ile harmanlayarak kullanmıştır. PLGA / HAP kompozit matriksteki osteoblast kültürü 21 günde hücre sayısında artış ve mineral oluşumu sergileyerek, HAP içeren matrisin umut verici bazı özelliklerini göstermiştir [91].

Polilaktik / glikolik asit grubu, biyouyumluluk ve molekül ağırlığı ya da PLGA için L/G oranı gibi birtakım parametrelerin değiştirilmesiyle optimize edilebilen degradasyon özellikleri sebebi ile medikal uygulamalarda çok fazla dikkat çekmektedir. Degradasyon mekanizması; ayrışma bölgesinden glikolik asitin laktik asitten daha hızlı hidrolize olmasıyla gerçekleşen bir reaksiyon dizinidir. Bu sebeple degradasyon oranı genellikle

PGA>PLGA>PLA şeklindedir. Optimize edilebilen degradasyon davranışı sebebiyle doku mühendisliği uygulamalarında bu polimerlerin kullanılmasıyla istenen özellikte iskeleler tasarlanabilmektedir. Bu sebeple çoğu polilaktik / seramik iskele, polimerin iskele malzemesi olarak kullanılmasıyla üretilmektedir [92].

Navarro ve arkadaşları; cam-seramiğin PLA çözeltisine homojen bir şekilde karıştırılmasıyla bir cam-seramik / PLA iskelesi oluşturduktan sonra iskelede makroporozite yaratmak için suda çözülebilir NaCl parçacıkları ilave etmiş, PLA'nın mekanik davranışları cam-seramik eklenmesinden sonra %40 oranında iyileşmiştir [93]. Bu çalışmanın aksine; Niemela ve arkadaşları poli-L,DL-laktid (70/30) taşıyıcıya biyoaktif cam eklediklerinde mukavemette ciddi bir düşüş gözlemlemiştir [94].

Nanopartiküller, nanometre boyut aralığındaki kolloidal parçacıklardır ve polimer matrislerinde plazmid DNA'yı içeren nanopartiküler sistemler son dönemlerde ilgi odağı haline gelmiştir [95]. Matris tipli nanoparçacıklar farklı polimerler kullanılarak formüle edilebiliyor olsalar da, PLGA ve PLA'dan formüle edilen nanopartiküller, biyouyumluluk, biyobozunurluk ve sürekli salıma imkan tanıyan özellikleri nedeniyle gen iletimi için özellikle ilgi çekicidirler [96]. Prabha ve arkadaşları hem PLA hem de PLGA ile *in-vitro* ve *in-vivo* gen transferi çalışmaları yapmış; PLGA matrislerinden DNA transferinin daha başarıyla sonuçlandığını rapor etmiştir [97].

DNA'nın enkapsüle edildiği PLGA ve PLA Nanopartiküller daha avantajlı görülmektedir çünkü enkapsülasyon işlemi DNA'yı korumakta ve polimer matris bozulduğunda DNA'nın yavaş yavaş salımını sağlamakta böylece gen ekspresyonunu devam ettirmektedir [97]. DNA salım hızını modüle edip PLGA/PLA nanoparçacıklarını kullanarak gen ekspresyonunun seviyesini ve süresini ayarlamak muhtemel gen terapileri için oldukça kullanışlı bulunmaktadır. Nanopartiküllerin aracılık ettiği gen ekspresyonunun; salınan DNA'nın, sitoplazmada bulunan ve DNA'yı çekirdeğe taşıyacak olan belirli hücresel proteinlerle etkileşimi yoluyla gerçekleştiği düşünülmektedir [98].

80'lerin başından bu yana, elektro eğrilmiş polimer nanofiberler medikal uygulamalar için sıklıkla çalışılmaktadır [99]. Buna dayanarak, Zong ve arkadaşları; elektro eğirme ile üretilen antibiyotik emdirilmiş biyolojik olarak metabolize edilebilen poli (laktid-koglikolid) (PLGA) bir yapışkan membran üretmiş ve *in-vivo* olarak sıçanlarda denemişlerdir

ve PLGA membranının ameliyat sonrası adezyonu azalttığı, fiziksel bir bariyer görevi görmesinin yanı sıra lokal bir ilaç taşıyıcı olarak da kullanılabileceği sonucuna varmışlardır [100].

2.5 İlaç Salımı

Yaygın inanışın aksine insanlar; yaprakların veya köklerin çiğnenmesi ve tıbbi bitkilerin yakılmasıyla oluşan duman partiküllerinin teneffüs edilmesi gibi çeşitli denemeler ile başlayarak, antik zamanlardan beri ilaç taşıma stratejileri geliştirmektedir [101]. Yüzyıllar boyunca, taşıma mekanizmaları, tabletler ve kapsüller gibi daha güvenilir dozaj formlarının geliştirilmesine kadar revize edilmiştir [102].

20. yüzyılın son yıllarında, devamlı fakat esasen kontrol edilemeyen salım sistemlerinden (örneğin balmumları ve diğer polimerik matrisler) transdermal yamalar, iyileştirilmiş oral soluma formülasyonları ve aşınabilir implantlar gibi kontrollü salım sistemlerine geçmek için önemli bir çaba gösterilmiştir. 1990'lı yıllarda, daha büyük molar boyutlardaki, daha fazla doza duyarlı olan ve biyolojik ortamlarda daha düşük kararlılık sergileyen yeni ilaçların keşfedilmesi, etkin kapsülleme ve kontrollü salım teknolojilerinin geliştirilmesine yönelik daha güçlü bir isteğe yol açmıştır [101].

Daha iyi klinik etkinlik ve hasta uyumluluğuna ilaveten; ilacın verilmesinde hem sıklığın hem de maliyetin azalması gibi ekonomik hususların yanı sıra kontrollü salınan formülasyonlar kullanılarak ürün ömrünün uzatılması da çok yönlü ve yüksek performanslı kontrollü salım sistemlerinin geliştirilmesine yönelik ciddi bir talep artışına neden olmuştur. Bu durum da ilaç salım sistemlerini ilaç endüstrisinin en hızlı büyüyen bölümlerinden biri haline getirmiştir [103].

Misel solüsyonlar, vesikül ve sıvı kristal dispersiyonları gibi kolloidal ilaç taşıyıcı sistemler ve aynı zamanda 10-400 nm çapındaki küçük partiküllerden oluşan nanopartikül dispersiyonları, ilaç taşıyıcı sistemler olarak Önemli ölçüde gelecek vaat etmektedirler. Bu formülasyonları geliştirirken, amaç; en iyi hale getirilmiş ilaç yükleme ve salım özellikleri, uzun raf ömrü ve düşük toksisiteli sistemleri elde etmektir. Yüklenen ilaç, sistemin mikroyapısına katılır ve özellikle de ilacın amfifilik ve / veya mezojenik

özelliklere sahip olması durumunda moleküler etkileşimler nedeniyle tasarlanan ilaç salım sistemini etkiler [104].

Teknik açıdan, kontrollü ilaç salımı terapötik ajanların dağılımını hem mekanda hem de zaman içinde kontrol edebilme yeteneğini ifade eder. Başka bir deyişle, kontrollü ilaç salımı, hem bir ilacın salım hızının kontrolü hem de bu ilacın vücudun belirli bir organına veya yerine (yani, hedefleme) yönlendirilmesini kapsar. Kontrollü salım sistemleri, vücudun ilaç konsantrasyonunu optimum terapötik aralıkta ve toksisite eşiğinin altında tutarak ilacın genel etkinliğini artırır (diğer bir deyişle, terapötik etkinlik). Modern ilaçların büyük bir kısmı için, ayırım gözetmeden doğumdan kaynaklanan anahtar organlara (örn: karaciğer, kalp, böbrekler) karşı toksiklik, önemli ve bazen ölümcül yan etkilere yol açabilir ve böylece terapötik değerlerini sınırlandırabilir. İlacın sağlıklı ve hastalıklı hücreler arasında böylesi seçici olmayan bir şekilde dağılması sorunu, pasif veya aktif hedef stratejilerini kullanarak hastalıklı bölgelerin seçici olarak hedeflenmesi ile ortadan kaldırılabilir. Pasif hedefleme, vücudun belirli bölgelerini hedeflemek için genellikle dağıtım sistemlerinin fizikokimyasal özellikleri (yük, hidrofobiklik ve boyut dahil) ile ilişkili non-spesifik etkileşimleri kullanır [105]. Buna karşılık, aktif hedefleme, hücresel hedefi bulmak için antijen-antikor ve ligand-reseptör bağlanması gibi spesifik taşıyıcı bölge etkileşimlerini kullanır. Aktif veya pasif olmak üzere başarılı hedefleme, ilaç taşıma sisteminin belirlenmiş hedeflerine ulaşmak için biyolojik bariyerleri aşabilen parçacıklar halinde üretilmesini gerektirir. Optimum parçacık boyutu, hem uygulama yoluna (örn., Oral, soluma, göz, vajina intravenöz, vs.) hem de hedeflenen organa veya hücrelere bağlıdır. Bu çeşitli taşıma seçeneklerini karşılamak için çok çeşitli ilaç taşıma sistemleri tasarlanmıştır [101].

Her sistemin farklı avantajları olmasıyla birlikte, ilaç taşıma sistemi olarak uygulanabilirliklerini etkileyen birkaç önemli faktör vardır. Lipozomlar [106] ve miseller [107], hem uygulama şekillerini hem de raf ömrünü sınırlayan zayıf kimyasal kararlılığa sahiptir. Kanda lipozomların ve misellerin, yüksek yoğunluklu lipoproteinlerin biyokimyasal saldırısı ile parçalanmaya duyarlı olduğu bilinmektedir [101]. Terapötik maddelerin salınım hızları üzerinde kontrolü sağlamak için miselleri ve lipozomları "tasarlamak" da yetersizdir. Sentetik polimerlerin *in-vivo* bozunması, toksisite problemleri ortaya çıkarabilmekle birlikte kitosan ve agar gibi doğal polimerler için,

monomer saflığı üzerindeki kontrol eksikliği, salınma profillerinde tekrarlanabilirlik yetersizliğine yol açmaktadır [108]. Dendrimerler, düşük kan stabilitesine sahip olmalarının yanı sıra böbrekler ve karaciğer yoluyla çabuk eliminasyona maruz kalırlar ve son derece küçük boyutları (tipik olarak <10 nm) küçük hücrelerin arasındaki boşluklardan geçmelerine ve bu sebeple sağlıklı dokulara spesifik olmayan şekilde dağılmalarına neden olur [109].

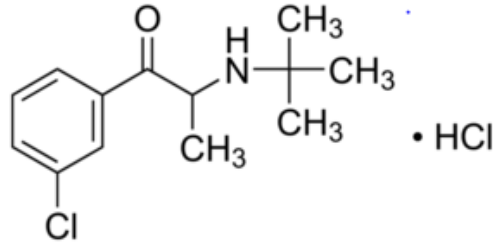
Organik sistemlerin aksine metal oksitler, kendilerini hidrofilik hale getiren hidroksil grupları ile çevrelenmiş yüzeylere sahiptir. Bu doğal hidrofiliklik, RES (retikülo-endotelyal sistem) ile oksit parçacık temizlenmesini azaltacak ve böylece kan içindeki dolaşım sürelerini artıracaktır. İmplantlar veya kaplamalar gibi sayısız uygulamalarının gösterdiği gibi metal oksitler de oldukça biyouyumludurlar. Daha spesifik olarak, amorf silika parçacıkları (kristalin silisyumun aksine) toksik değildir ve düzenli olarak gıda katkı maddeleri ve vitamin takviyelerinin bileşenleri (koloidal süspansiyonlar) olarak kullanılır. Silika ile enkapsülasyonun, enzimlerin raf ömrünü uzattığı da bulunmuştur [107].

Nanopartiküllerden ilaç salımı ve bunu takiben biyolojik bozunmanın olabilmesi için sistemi hassas geliştirmek oldukça önemlidir. Nanopartiküler sistemlerde salım oranı i) yüzeye bağlanan/adsorbe edilen ilacın desorpsiyon kapasitesine, ii) nanopartiküler matris boyunca gerçekleşen difüzyon oranına, iii) nanokapsül formları için polimer duvar boyunca gerçekleşen difüzyon oranına, iv) nanopartiküler matristeki erozyon miktarına ve v) erozyon/difüzyon prosesinin kombinasyonuna bağlıdır [12].

Nanopartiküller ve nanoformülasyonlar hali hazırda başarılı bir şekilde ilaç dağıtım sistemi olarak uygulanmaktadır. Nanopartiküler ilaç taşıyıcı sistemler; anti-tümör tedavisi, gen terapisi, radyoterapi, protein, antibiyotik ve virostatiklerin kontrollü taşınımı, aşıların ve kan-beyin bariyerini geçmek için veziküllerin tasarlanması gibi birçok uygulama için potansiyel bir yöntem olarak görülmektedir [110].

2.6 Bupropion HCl

Bupropion Hidroklorid $(\pm)$ -1-(3-klorofenil)-2-[(1,1-dimetiletil)aminol]-1-propanon hidroklorid kimyasal formüllü bir fenilaminoketon antidepresandır [111].

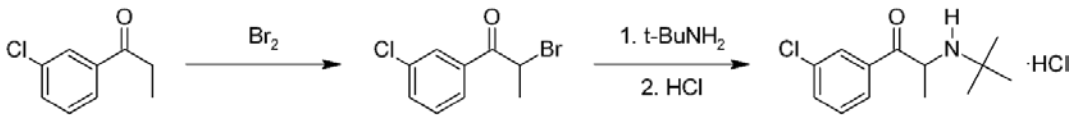


Şekil 2.19 Bupropion HCl kimyasal yapısı

Nariman Mehta tarafından keşfedilmiş ve daha sonra GlaxoSmithKline'in parçası olan Burroughs Wellcome tarafından 1969'da patentlenmiştir [112].

Bupropionun kimyasal formülü $C_{13}H_{18}ClNO$, molekül kütlesi 239.74 g/mol ve yarılanma ömrü salım formuna göre 12-30 saat aralığındadır [113]. Suda çözünürlüğü 312 mg/ml, alkolde çözünürlüğü 193 mg/ml, protein bağlayıcılık oranı %84' tür ve sürekli salım formu için plazmada maksimum konsantrasyona 3 saatte ulaşmaktadır [114],[115].

Bupropion, modifiye edilmiş bir katinon (uyarıcı tuz)dur. 3'-kloro-propifofenondan başlayarak iki kimyasal adımda sentezlenir. Ketona komşu olan alfa pozisyonu önce bromlanır, bunu takiben elde edilen alfa-bromoketonun t-butokamin ile tübütilamin ile yer değiştirmesi ve hidroklorür tuzu olarak bupropion vermek üzere hidroklorik asit ile muamele edilmesiyle son form elde edilir [116].



Şekil 2.20 Bupropion HCl sentez mekanizması [116]

Terapötik etkinlik bakımından klasik antidepresanlara benzerlik göstermesine rağmen Bupropion tarafından oluşturulan akut presinaptik nörokimyasal değişimler klasik antidepresanlar tarafından oluşturulan değişimlerden farklıdır. Bupropion, monoamin oksidaz inhibitörleri A veya B'yi inhibe etmez ve monoaminlerin sinir terminallerinden salınmasını kolaylaştırmaz. Buna karşılık; klasik psiko-stimülanlar ile yapısal, nörokimyasal ve davranışsal anlamda benzerlik gösterdiği noktalar mevcuttur. Örneğin; bir fenilettilamin iskelet içermesi bakımından amfetamin ile benzerlik göstermektedir [117].

Bupropionun antidepresan etkilerine aracılık eden nörokimyasal mekanizmaların, dopamin ve nöradrenalin taşıyıcılarının inhibisyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda; Bupropionun, sıçan striatal sinaptik salgı keselerinde dopamin alımını, hipotalamik salgı keselerinde nöradrenalin alımı ile birlikte diğer iki hormona oranla çok düşük seviyede serotonin alımını inhibe ettiği gösterilmiştir [118].

Bupropion sigara bırakma tedavisine yönelik kullanılan atipik bir antidepresandır [119]. Wellbutrin ve Zyban ticari isimleri ile sigara bırakma tedavisinde yardımcı ilaç olarak satışı yapılmaktadır. Tek başına etkili bir antidepresan olmasının yanı sıra, birinci basamak uzun süreli antidepresanlara eksik tepki verildiğinde ilave ilaç olarak da kullanımı popülerdir [120]. Bupropion tablet formunda alınır ve bir çok ülkede sadece reçeteyle kullanılabilir [121].

Bupropion, mevcut ajanlara kıyasla güvenlik ve tolere edilebilirlik avantajları sunan benzersiz bir farmakolojik profil ile bir antidepresan olarak tasarlanmıştır. Bupropion'un güvenliği ve etkinliği birçok klinik araştırma ile teyit edilmiş ve 1989'da ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) onayı ile majör depresif bozukluk için bir tedavi olarak tanıtılmıştır [120].

Bupropion yirmi yılı aşkın süredir iyi bilinen bir antidepresandır [120]. Daha yakın zamanlarda, hem kokain hem de metamfetamin bağımlılığı için alternatif bir tedavi olarak kayda değer bir şekilde dikkat çekmiştir [122]. Birçok diğer antidepresanın aksine serotonin geri alımına çok az etkisi vardır. Bunun yerine, Bupropion geleneksel olarak dopamin taşıyıcısına (DAT) bağlanmak için sekiz kat seçicilik gösteren bir norepinefrin-dopamin geri alım inhibitörü (NDRI) olarak tarif edilir [123].

Ramon ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; bupropionun duygu durum bozukluğu ve Dikkat Eksikliği - Hiperaktivite Bozukluğu (ADHD) tedavisinde de etkili bir ilaç olduğu ortaya konulmuştur [124].

Nutt ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; bupropionun melankolik depresyon tedavisine yönelik kullanımının önemli avantajlar sağladığı belirtilmiştir [125].

Levin ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; bupropionun yetişkinlerde görülen kokain bağımlılığının tedavisine yönelik kullanılabileceği öngörülmüş, 20 kokain kullanıcısı

yetişkin ile yapılan deneylerde düzenli dozajda uygulanan tedavi ile kokain kullanımının azaldığı ortaya konulmuştur [126].

Erfurth ve arkadaşlarının 13 bipolar depresyonlu hasta üzerinde yaptıkları çalışma ile; bupropionun bipolar depresyondaki hastaların tedavisinde iyi bir yardımcı antidepresan olduğu gösterilmiştir [127].

Nikotin bağımlılığı tedavisinde de, bupropionun sürekli salım formülasyonu, sigarayı bırakma ajanı olarak önemli faydalar sağlamaktadır [128]. Bupropionun hem depresyon geçmişi olan hem de olmayan sigara kullanıcılarında, sigara bırakma tedavisinde eşit derecede etkili olduğu da kanıtlanmıştır ve bu sonuç bupropionun sigara bırakma tedavisindeki etkisinin antidepresan olarak gösterdiği etkiden bağımsız olduğunu göstermektedir [129].

Bupropionun sigara bırakma tedavisindeki etki mekanizması en ana hatlarıyla bağımlılıkta rol oynayan dopaminerjik ve noradrenerjik sistemlerin modülasyonunu içermektedir [117]. Bupropion metabolizmaya girdikten sonra nikotin almaçlarını inhibe etme yoluyla nikotinin periferik ve merkezi etkilerini bloke etmektedir. Bunun sonucunda sigara kullanan kişi nikotin ihtiyacı hissetmemektedir [130].

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Laktid:Glikolid oranı (50:50) lik 30000-60000 kDa molekül ağırlıklı Poly(D,L-lactide-co-glycolide) (ürün kodu: P2191) Sigma'dan; ortalama 20000 kDa molekül ağırlığına sahip Poly(D,L-lactide) (ürün kodu: 767344) Aldrich'den; toz formunda 31000-50000 kDa molekül ağırlıklı Poly(vinyl alcohol) (ürün kodu: 363138) ≥ 98 saflıkta Sigma'dan; 84,93 g/mol molekül ağırlıklı DCM(Dichloromethane) (ürün kodu: 270997) Aldrich'den; 276,20 g/mol molekül ağırlıklı Bupopion hydrochloride (ürün kodu: B102) ≥ 98 saflıkta Sigma'dan temin edilmiştir.

3.1.2 Kullanılan Cihazlar

- Hassas Terazi: Sartorius markasının CP225D modelidir.



Şekil 3.1 Sartorius hassas terazi

- Manyetik Karıştırıcı: Heidolph markasının ısıtıcılı manyetik karıştırıcısıdır.



Şekil 3.2 Heidolph ısıtıcılı manyetik karıştırıcı

- pH -metre: İnoLab WTW markasının Ph3110(ph315i) modelindeki pH-metresi, Si-Analytics ph elektrodudur.



Şekil 3.3 İnoLab WTW pH-metre

- Vortex: Heidolph markasının Reax Control modelindeki vortex cihazıdır.



Şekil 3.4 Heidolph vortex

- Sonikatör: Bandelin Sonopuls markasının HD2200 modelindeki ultrasonik homojenizatörüdür.



Şekil 3.5 Bandelin ultrasonikasyon cihazı

- Zeta-Sizer: Malvern markasının NanoZS modelidir.



Şekil 3.6 Malvern Zeta-Sizer cihazı

- Santrifüj: Hitachi markasının CF16RN modelindeki hızlı soğutmalı santrifüjüdür.



Şekil 3.7 Hitachi santrifüj cihazı

- UV-Vis Spektrofotometre: Shimadzu markasının PharmaSpec UV-1700 modelindeki çift ışın yolaklı UV-Vis spektrofotometresidir.



Şekil 3.8 Shimadzu UV-Vis spektrofotometre

- Liyofilizatör: Teistar markasının Cryodos modelindeki liyofilizatördür.



Şekil 3.9 Teistar liyofilizatör

- FT-IR: Shimadzu markasının IRPrestige21 modelindeki IR spektroskopudur.



Şekil 3.10 Shimadzu FT-IR cihazı

- SEM (Taramalı Elektron Mikroskopu): Zeiss markasının EVOLS10 modelindeki taramalı elektron mikroskopudur.



Şekil 3.11 Zeiss taramalı elektron mikroskobu

- Çalkalamalı Su Banyosu: Thermolab markasının GFL1086 modelindeki hassas ayarlı çalkalamalı su banyosudur.



Şekil 3.12 Thermolab çalkalamalı su banyosu

3.1.3 Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Ölçüm Yöntemleri

3.1.3.1 Boyut ve Zeta Potansiyel Ölçümü

Kolloid genellikle, iki bileşenli bir sistemin dağınık fazı olup, dağınık fazın elemanları optik bir mikroskop ile kolaylıkla gözlenemeyecek kadar küçüktür. Kolloidler yüksek oranda homojen bir görüntüye sahiplerdir ancak geleneksel mikroskoplar ile dahi görülmeyecek kadar küçük pek çok parçacık ihtiva ederler. Bu parçacıkların profili karışıma yoğun bir ışın bombardımanı yapılarak tespit edilebilir [131].

Polimer çözeltilerinin boyut ölçümü için kullanılan zetasizer cihazı dinamik ışık saçılımı tekniği ile analiz yapmaktadır. Foton korelasyon spektroskopisi olarak da bilinen Dinamik ışık saçılması (DLS) tekniği; lazer ışığı tarafından indüklenen Brown hareketi ve Doppler kayması neticesinde boyut, boyut dağılımı ve süspansiyon içindeki partiküllerin şeklini saptamakta sıklıkla kullanılan etkili bir metoddur [132].

Zetasizer Nano ZS cihazında; 633 nm dalga boyunda 4,0 mV He-Ne lazer kullanılarak ölçüm yapılmaktadır. Viskozite 0,8872 cP ve kırılma indisi 1.33 alınarak tüm çözeltiler analiz edilir. Bir korelatör tarafından kayıt altına alınan zaman ölçümleri ile saçılma şiddetine ait fonksiyondan difüzyon katsayısı D ve polidispersite sabiti hesaplanır; boyut değeri, Stokes-Einstein denklemi kullanılarak bulunur [133].

$$D = \frac{k.T}{3.\pi.\eta.R}$$

(k: Boltzman sabiti, T: Mutlak sıcaklık, η : Çözücü viskozitesi)

Polimer çözeltilerinin Zeta Potansiyel analizlerinde ise Zetasizer Nano ZS cihazında bir kapiler hücre içerisinde Lazer Doppler Elektroforez (LDE) tekniği uygulanarak ölçüm yapılmaktadır. Viskozite 0,8872 cP, dielektrik sabiti 79; f(ka) 1.50 (Smoluchowski) olarak alınıp tüm çözeltiler oda sıcaklığında analiz edilir. Zeta potansiyeli Henry denklemi yardımıyla hesaplanır [133].

$$U_E = \frac{2.\varepsilon.z.f(ka)}{3.\eta}$$

(U_E : Elektroforetik hareketlilik, ε : Ortam dielektrik sabiti, f(ka): Henry fonksiyonu, η : Ortam viskozitesi)

3.1.3.2 UV-Vis Spektroskopisi

UV-VIS spektroskopisi, moleküler spektroskopide en eski yöntemlerden biridir. 1852'de Bouguer-Lambert Beer yasasının kesin formülasyonu absorpsiyon ölçümlerinin nicel olarak değerlendirilmesi için bir temel oluşturmuştur. Bu temel, önce kolimetreye, daha sonra fotometreye ve nihayet spektrofotometreye evrilmiştir. Bu evrim, tüm spektrumların aynı anda ölçülmesine olanak tanıyan fotografik plakalı silikon diod detektörden fotomultiplikatöre(ışık çoğaltıcı) doğru ilerleyen, ışık yoğunluğu ölçümü için detektörlerin gelişimine paralel olmuştur. Kuantum kimyasının gelişmesiyle birlikte, ışığın absorpsiyonu ile madde yapısı arasındaki korelasyonun keşfi dikkat çekmiş ve son yıllarda elektronik spektroskopi teorisinin (UV-VIS ve lüminesans spektroskopisi) çok sayıda mükemmel müzakeresi yayınlanmıştır [134].

Tek renkli ve I_0 şiddetindeki ışık demeti kalınlığı 1 cm olan bir tüpte bulunan çözeltideki moleküller tarafından absorplandığında şiddeti azalır ve tüpü I şiddetinde terk eder. Bu azalma Lambert-Beer eşitliği ile ifade edilir:

$$\log I_0 / I = \epsilon bc = A$$

Burada c mol/lit cinsinden derişimi, ϵ lt/mol.cm cinsinden molar absorblama katsayısını ve b cm cinsinden örnek kabının kalınlığını temsil etmektedir. A'ya ise absorbans ya da optik yoğunluk denir.

Geçirgenlik;

$$T = I/I_0$$

Absorbans;

$$A = \log I_0/I$$

Absorbans ile derişim arasındaki ilişkiden analitik olarak yararlanılmaktadır[135]. Bu çalışmada Shimadzu markasının çift ışın yolaklı cihazı konsantrasyon tayini amacıyla kullanılmıştır. Konsantrasyon hesaplamalarında yukarıda temel ilkeleri açıklanan Lambert-Beer yasasından faydalanılmıştır.

3.1.3.3 FT-IR Spektroskopi

FT-IR spektroskopisi, moleküler değişiklikleri optik olarak analiz etmek için kullanılan titreşimsel spektroskopik bir tekniktir [136]. Bu yöntem; fonksiyonel grupların, bağlanma tiplerinin ve moleküler konformasyonların doğru ve hassas bir şekilde ölçülmesine olanak sağladığı için sıklıkla tercih edilmektedir. Titreşim spektrumlarındaki spektral bantlar, moleküllere özgü olup, biyokimyasal kompozisyon hakkında doğrudan bilgi sağlar. FT-IR pikleri nispeten dardır ve birçok durumda molekül içindeki belirli bir kimyasal bağın (veya tek bir fonksiyonel grubun) titreşimiyle ilişkilendirilebilir [137], [138].

Çalışmada Shimadzu markalı FT-IR spektroskobu kullanılmış, çözünürlük değeri 4 cm^{-1} e ayarlanmış, $600\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ frekans aralığında ölçüm alınmıştır. Ölçümler kuru haldeki örneklerle yapılmıştır.

3.1.3.4 SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu)

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM); katı numunelerin yapısal karakteristiğini analiz etmeye ve yüzey kontrolüne olanak sağlayan çok yönlü kullanışlı bir cihazdır. SEM'in kullanışlı oluşunun en önemli sebebi; kompleks numunelerde dahi 10nm 'ye kadar küçük alanların yüksek çözünürlüklü görüntüsünü verebilmesidir. SEM'in bir diğer önemli özelliği ise numunede istenilen bölgeden yüksek netlik derinliği ile üç boyutlu görüntüleme alabilmesidir [139].

Taramalı elektron mikroskobunda; hareketli bir tabla üzerine numune monte edilir ve elektron tabancası tarafından yayılan elektronlar bir dizi elektromanyetik lens vasıtasıyla numune yüzeyine odaklanır. Elektronlar numune yüzeyine çarptığında atom yapısıyla etkileşir. Olay elektronlarından etkilenen hacim "etkileşim hacmi" dir. Etkileşim sırasında yayılan radyasyon; ikincil elektronlar, geri saçılan elektronlar ve görünür ışık, auger elektronlar ve X-ışınları gibi ek bileşenler içerir. Tüm bu bileşenler aynı anda üretilmekle birlikte, arzu edilen bilgileri üretmek için bağımsız olarak analiz edilirler [140].

3.2 Yöntem

3.2.1 Stok Çözelti Hazırlanması

PVA'dan %3'lük ve %0,01'lik olmak üzere 2 farklı sulu çözelti hazırlanmıştır. PVA'nın su içerisinde tam olarak çözünebilmesi ve homojen olarak dağılabilmesi için çözeltiler manyetik karıştırıcıda 50°C'ye ısıtılarak 2 saat karıştırılmıştır. Çözeltiler 0,40'lık filtreden geçirilerek süzölmüştür.

Salım çalışması için ise; tampon olarak %0,01lik PBS (ph=7,4) seçilmiş ve stok çözelti hazırlanmıştır. Çözelti için; 2,6807 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ($M_w=268,07$ g/mol) tartılarak 1 L'lik balon joje içerisinde 450 ml ultra saf suda çözölmüştür. Eş zamanlı olarak 1,56 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ($M_w=156,01$ g/mol) tartılarak 450 ml ultra saf suda çözölmüştür. Hazırlanan NaH_2PO_4 çözeltisi balon jojedeki Na_2HPO_4 çözeltisinin üzerine eklenmiş ve karıştırılmıştır. Bu karışıma son olarak 8,766 g NaCl eklenmiş ve tekrar karıştırılmıştır. Karışımın ph'ı ölçölmüş ve 1 M NaOH ve 1 M HCl ile ph 7,4'e ayarlanmıştır. Son hacim ultra saf su ile 1L'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan tampon çözelti 0,40'lık filtreden geçirilerek süzölmüştür.

3.2.2 Nanopartiköler Sistemlerin Üretimi

PLGA nanopartiköleri ve PLA nanopartiköleri ikili emölsiyon çözöcü buharlaştırma yöntemi ile üretilmiştir. Bu yöntem hidrofilik molekülerin yüklö olduğu nanopartiköler sistemlerin üretilmesinde sıklıkla kullanılan bir sistemdir. Bu yöntemde ilk olarak etkin maddenin sulu çözeltisi polimer içeren organik faz içerisinde dağıtılır. Elde edilen w/o emölsiyonu dış sulu faz içerisinde emölsifiye edilerek w/o/w ikili emölsiyonu elde edilir. Elde edilen w/o/w emölsiyonu, etkin madde çözeltisini içeren polimer çözeltisi damlacıklarını oluşturur ve çözöcü difüzyon ya da evaporasyon ile uzaklaştırıldıktan sonra, etkin maddenin sulu çözeltisini içeren nanopartiköl süspansiyonu oluşturulur. Bu süspansiyon santriföjlenerek nanopartiköler elde edilir, su ile yıkama yapıldıktan sonra kurutulan nanopartiköler liyofilize olarak kurutulur ve kullanılmak üzere dondurulur [141].

3.2.2.1 Boş PLGA Nanopartikül Üretimi

75 mg PLGA 2,5 ml DCM içerisinde vortekslenerek çözülür. Bu organik faza 1 ml saf su oda sıcaklığında, sonikatör altında 80W güçte 3 dk boyunca bir enjektör yardımıyla damla damla eklenir. Oluşan süspansiyon yine oda sıcaklığında, sonikatör altında 80W güçte 3dk boyunca bir enjektör yardımıyla damla damla %3'lük 10 ml PVA çözeltisine eklenir. Ardından oluşan son karışım %0,01'lik 35 ml PVA çözeltisine manyetik karıştırıcı üzerinde eklenir. PLGA nanopartiküllerini ihtiva eden bu bulanık süspansiyon manyetik karıştırıcıda 1 gece bekletilerek içeriğindeki DCM nin buharlaşması sağlanır. Bu aşamada konsantrasyon tespiti için 252 nm dalga boyunda UV-Vis ölçümü alınmıştır. Ardından elde edilen süspansiyon 10000 rpm de +4°C de 30 dk (3 kez) santrifüj edilir. Her defasında süpernatant uzaklaştırılıp yıkama yapılır. Elde edilen çökelek saf su ile süspanse edilerek dondurulurduktan sonra 24 saat boyunca liyofilize edilmiştir.

3.2.2.2 Boş PLA Nanopartikül Üretimi

75 mg PLA'nın 2,5 ml DCM içerisinde vortekslenerek çözülmesi dışında boş PLA nanopartiküllerinin hazırlanması 3.2.2.1'deki metodun aynen tekrarlanması ile gerçekleştirilir.

3.2.2.3 Bupropion HCl Yüklü PLGA Nanopartikülü Üretimi

75 mg PLGA'nın 2,5 ml DCM içerisinde vortekslenerek çözülmesinden sonra üzerine 1 ml saf suda çözünmüş ilgili konsantrasyondaki (5mg/ml veya 10mg/ml) Bupropion HCl; oda sıcaklığında, sonikatör altında 80 W güçte 3 dk boyunca bir enjektör yardımıyla damla damla eklenir ve organik faz hazırlanmış olur. Organik fazın hazırlanması dışında Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartiküllerin hazırlanması 3.2.2.1'deki metodun aynen tekrarlanması ile gerçekleştirilir.

3.2.2.4 Bupropion HCl Yüklü PLA Nanopartikül Üretimi

75 mg PLA'nın 2,5 ml DCM içerisinde vortekslenerek çözülmesi dışında Bupropion HCl yüklü PLA nanopartiküllerinin hazırlanması 3.2.2.3'deki metodun aynen tekrarlanması ile gerçekleştirilir.

3.2.3 Nanopartiküler Sistemlerin Zeta Potansiyel ve Boyut Analizleri

Oluşan tüm nanopartiküllerin zeta potansiyelleri ve boyutları Malvern ZetaSizer NanoNS kullanılarak ölçülmüştür.

Zeta potansiyel ölçümleri cihaza özgü kapiler hücre ile yapılmıştır. Hücre içine Nanopartikül solüsyonundan 770 µl yüklenerek Lazer Doppler Mikroelektroforez yöntemi yardımı ile zeta potansiyel ölçümü yapılmıştır.

Boyut ölçümleri cihaza özgü küvet ile yapılmıştır. Küvet içine Nanopartikül solüsyonundan 600 µl yüklenerek Dinamik Işık Saçılması yöntemi yardımı ile boyut ölçümü yapılmıştır.

Hem zeta potansiyeli hem de boyut analizinde her bir ölçüm 3 kez tekrarlanmış ve ortalamaları alınmıştır.

3.2.4 Nanopartiküler Sistemlerin Verim Analizi

3.2.4.1 Reaksiyon Verimi

Sentezlenen tüm nanopartiküller 50 ml'lik falcon tüplerde Hitachi yüksek hızlı soğutmalı santrifüj cihazında 10000 rpm'de +4°C'de 30 dk boyunca 3 kez santrtifüje tabi tutulmuştur. Her defasında süpernatant uzaklaştırılmış ve yıkama işlemi yapılmıştır. Son durumda dibe çöken Nanopartiküller 5 ml 'lik beherlere alınıp dondurulmuştur. Liyofilizatör kullanılarak donuk Nanopartiküller bir gün süreyle kurutulmuştur. Tamamen kuruyan Nanopartiküller hassas terazi ile tartılmış ve verim hesaplaması için;

$$\text{Reaksiyon verimi (\%)} = \frac{\text{Nanopartikül Ağırlığı}}{\text{Toplam Madde Miktarı}} \times 100$$

formülü kullanılmıştır.

3.2.4.2 Enkapsülasyon Etkinliği

Bupropion HCl standart eğrisi çizimi için Bupropion HCl başlangıç konsantrasyonu 0.5 mg/ml olacak şekilde saf su içinde çözülmüştür. Daha sonrasında her bir ölçüm için konsantrasyon yarıya düşürülerek 252 nm de absorbans okuması yapılmış ve kalibrasyon eğrisi çizilmiştir.

Sentezlenen tüm nanopartiküller 50 ml'lik falcon tüplerde Hitachi yüksek hızlı soğutmalı santrifüj cihazında 10000 rpm'de +4°C'de 30 dk boyunca 3 kez santrtifüje tabi tutulmuştur. Her defasında uzaklaştırılan süpernatant bir beherde toplanmış ve serbest Bupropion konsantrasyonu tespiti için kullanılmıştır.

Süpernatanttan 252 nm'de okunan absorbans değeri; kalibrasyon eğrisinde yerine konularak serbest ilaç miktarı tayin edilmiş ve enkapsülasyon etkinliği (EE) hesaplaması için;

$$EE(\%) = \frac{\text{Toplam Bupropion HCL Miktarı} - \text{Serbest Bupropion HCL Miktarı}}{\text{Toplam Bupropion HCL Miktarı}} \times 100$$

formülü kullanılmıştır.

3.2.4.3 Yükleme Kapasitesi

Bupropion HCl yüklü nanopartiküllerin yükleme kapasitesi (YK) hesaplanırken süpernatanttan 252 nm'de okunan absorbans değeri kalibrasyon eğrisinde yerine konularak serbest ilaç miktarı tayin edilmiş ve hesaplama için;

$$YK(\%) = \frac{\text{Toplam Bupropion HCL Miktarı} - \text{Serbest Bupropion HCL Miktarı}}{\text{Toplam Nanopartikül Ağırlığı}} \times 100$$

formülü kullanılmıştır.

3.2.5 Nanopartiküler Sistemlerin FT-IR Analizi

Boş nanopartiküllerin, Bupropion HCl yüklü nanopartiküllerin, Bupropion HCl'in, PLGA ve PLA'nın karakterizasyonu için FT-IR spektroskopisi kullanılmıştır. Cihazda 600-4000 cm⁻¹ frekans aralığında ölçüm alınmıştır.

3.2.6 Nanopartiküler Sistemlerin SEM Analizi

Tüm boş ve Bupropion yüklü nanopartiküllerin morfolojik analizi taramalı elektron mikroskopu ile yapılmıştır. Sentez sonrasında kurutularak solid forma getirilen nanopartiküllerin yüzeyi Au ile kaplanmıştır. Görüntüleme 10.00 kV enerji altında yapılmıştır.

3.2.7 Nanopartiküler Sistemlerin *In-vitro* Salım Çalışması

In-vitro salım çalışması için tampon olarak PBS seçilmiştir. %0,01'lik PBS hazırlanıp $\text{pH}=7,4$ 'e ayarlanmıştır. Tampon çözelti için; 2,6807 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ($\text{Mw}=268,07$ g/mol) tartılarak 1 L'lik balon joje içerisinde 450 ml ultra saf suda çözülmüştür. Eş zamanlı olarak 1,56 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ($\text{Mw}=156,01$ g/mol) tartılarak 450 ml ultra saf suda çözülmüştür. Hazırlanan NaH_2PO_4 çözeltisi balon jojedeki Na_2HPO_4 çözeltisinin üzerine eklenmiş ve karıştırılmıştır. Bu karışıma son olarak 8,766 g NaCl eklenmiş ve tekrar karıştırılmıştır. Karışımın pH 'ı ölçülmüş ve 1 M NaOH ve 1 M HCl ile pH 7,4'e ayarlanmıştır. Son hacim ultra saf su ile 1L'ye tamamlanmıştır.

Kurutulan Bupropion HCl yüklü Nanopartiküllerden 4'er mg tartılarak 50 ml lik falcon tüplere alınmış üzerlerine 4'er ml PBS tamponu eklenmiştir. Örnekler vortekslelendikten ağzları sıkıca kapatıldıktan sonra bir beher içerisinde konularak çalkalamalı su banyosuna yerleştirilmiştir. Su banyosu 37°C ve 100rpm'e ayarlanıp çalkalama işlemi başlatılmıştır. Salım çalışmasında ilk 3 saatte her saat başı, 2-5 gün boyunca her gün bir defa, devam eden 6-40 gün boyunca ise birer gün ara ile örnek alınarak UV-Vis absorbans okuması yapılmıştır.

UV-Vis okuma işleminde; her ölçüm için mediumdan 4'er ml örnek alınmış, örnekler 20dk 10000 rpm'de $+4^\circ\text{C}$ 'de santrifüjlenmiş, santrifüj sonrası süpernatant UV okuması için ayrılırken salım ortamına temizlenen miktarda taze PBS konulmuştur. Salınan Bupropion HCl miktarı UV-Vis 'de 252nm dalga boyu için okunan absorbans değerinin kalibrasyon eğrisi denkleminde yerine konulmasıyla tespit edilmiştir. Salım değerleri kümülatif (%) olarak hesaplanıp grafikler halinde sunulmuştur.

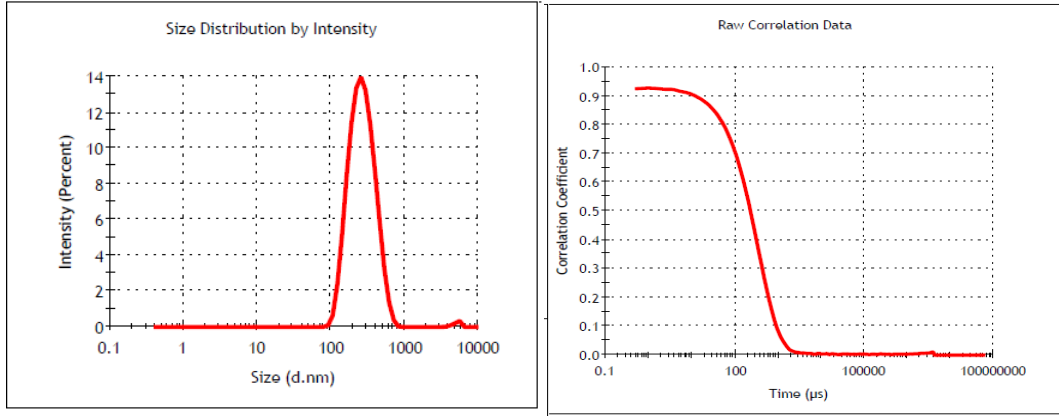
BÖLÜM 4

DENEYSEL ÇALIŞMA

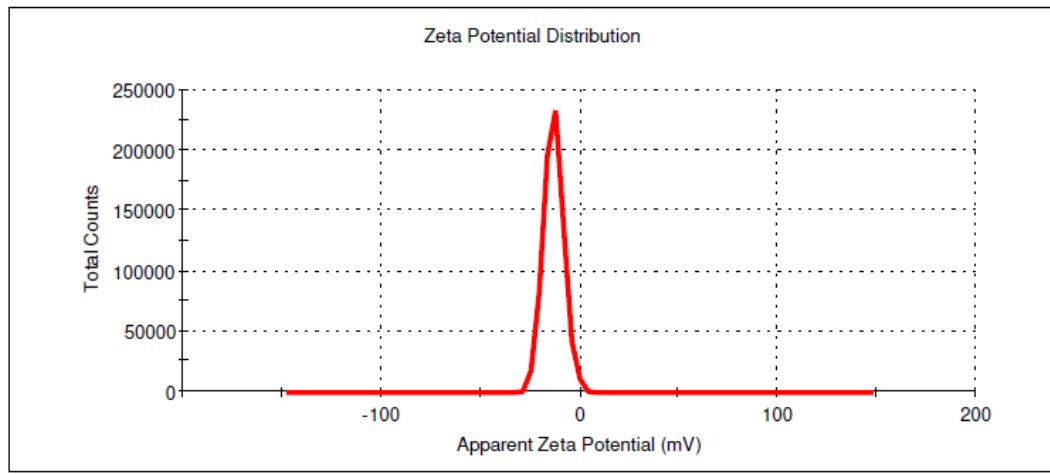
4.1 Boş Nanopartiküler Sistemlerin Karakterizasyonu

4.1.1 Boş PLGA ve Boş PLA Nanopartiküllerinin Boyut ve Zeta Potansiyel Ölçümleri

Optimum koşullar altında üretilen nanopartiküllerin oda koşullarında Zeta-Sizer cihazı ile hem boyut analizi yapılmış hem de partikül büyüklüğü dağılımını ifade eden polidispersite indeksleri ve yüzey yükünü ifade eden zeta potansiyelleri tespit edilmiştir. Analizde dinamik ışık saçılımı tekniği kullanılmış; örnekler ışık saçılımına tabi tutularak hem yüzey yükleri hem de yoğunlukça, hacimce ve ortalama olarak boyutları belirlenmiştir. Bu analiz sırasında nanopartikül çözeltilerinden direkt alınan örnekler 600 µl hacimli küvete yüklenip cihaza yerleştirilmiş ve her örnek için tüm ölçümler üçer kere tekrarlanmıştır.



Şekil 4.1 Boş PLA nanopartikülü yoğunluk olarak boyut dağılımı ve korelasyon grafiği

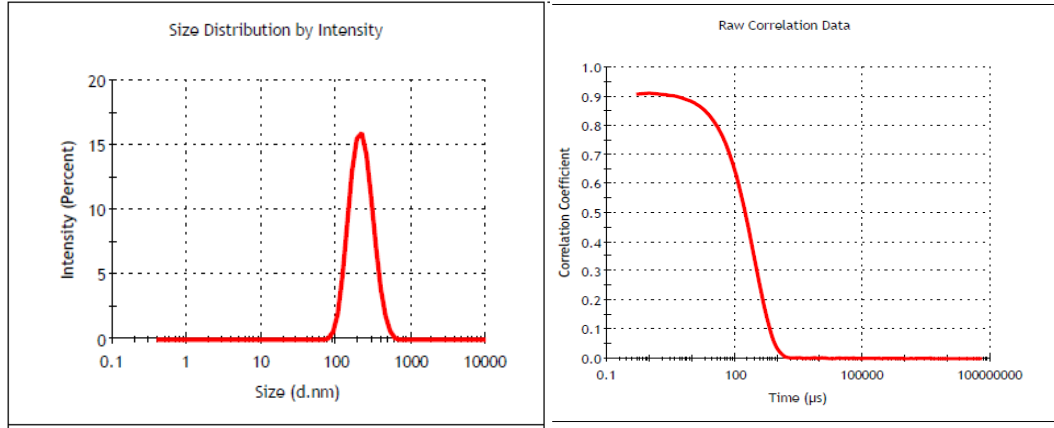


Şekil 4.2 Boş PLA nanopartikülü zeta potansiyel dağılımı grafiği

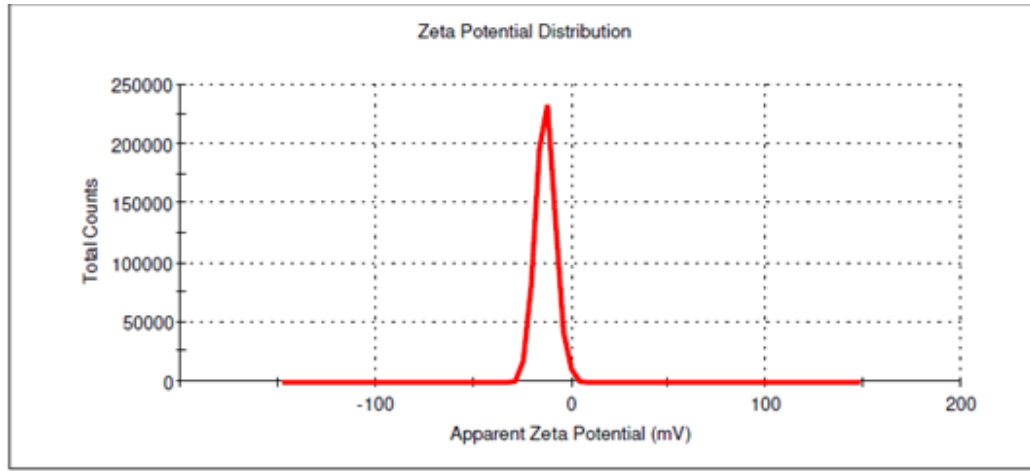
Üretilen Boş PLA nanopartiküllerinin Z-ave değerleri 249,9 nm ile 340,8 nm arasında değişmektedir. Polidispersite indeksleri 0,165 ile 0,350 arasında değişirken, zeta potansiyellerinin -3,5 ile -2.08 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Zambaux ve arkadaşları ikili emülsiyon yöntemi ile ürettikleri PLA nanopartikülleri için ortalama boyutları 197 ile 345 nm, polidispersite indeksini 0.02 ile 0.31 ve zeta potansiyelini -7.9 ile -4.0 aralığında değişen değerlerde hesaplamışlardır [142].

Çizelge 4.1 Boş PLA nanopartikülü boyut ve zeta potansiyel analiz sonuçları

	Z-ave (nm)	PDI	Zeta Potansiyel (mV)
Boş PLA	251	0,179	-3,5



Şekil 4.3 Boş PLGA nanopartikülü yoğunluk olarak boyut dağılımı ve korelasyon grafiği



Şekil 4.4 Boş PLGA nanopartikülü zeta potansiyel dağılımı grafiği

Üretilen Boş PLGA nanopartiküllerinin Z-ave değerleri 191,7 nm ile 368,9 nm arasında değişmektedir. Polidispersite indeksleri 0,111 ile 0,295 arasında değişirken, zeta potansiyellerinin -13,6 ile -12.51 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Pal ve arkadaşlarının yürüttüğü çalışmada ikili emülsiyon yöntemi ile PLGA nanopartiküllerinin optimizasyonu ve karakterizasyonu çalışılmış; ortalama boyutları 200 ile 440 nm, polidispersite indeksi 0.1 ile 0.5 ve zeta potansiyelleri -11.5 ile -30.7 arasında değişen çok çeşitli nanopartikül formülasyonları üretilmiştir [143].

Çizelge 4.2 Boş PLGA nanopartikülü boyut ve zeta potansiyel analiz sonuçları

	Z-ave (nm)	PDI	Zeta Potansiyel (mV)
Boş PLGA	201,8	0,111	-13,2

4.1.2 Boş PLGA ve Boş PLA Nanopartiküllerinin Reaksiyon Verimleri

Boş PLA ve PLGA nanopartiküllerinin reaksiyon verimleri Bölüm 3.2.4.1’de verilen denklem kullanılarak hesaplanmıştır. Kullanılan toplam polimer miktarı her bir deney için ilgili polimerden tartılan katı kütlesini temsil ederken, üretilen nanopartikül ağırlığı üretim prosesinin son aşaması olan liyofilizatör ile kurutma işleminden sonra hassas terazi ile tartılan katı kütlesini temsil etmektedir.

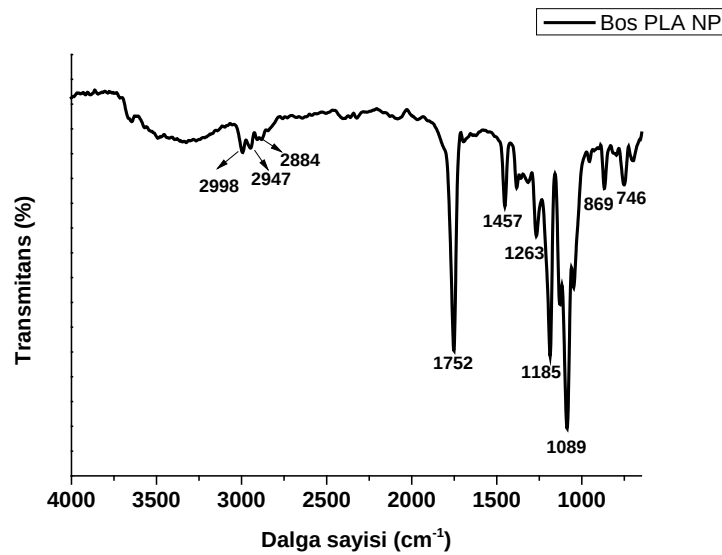
Boş PLA nanopartikülü için verim %57,5 olarak hesaplanırken, boş PLGA nanopartikülü için verim oranı %21,2 olarak hesaplanmıştır. Literatürdeki diğer çalışmalarda reaksiyon veriminin PLA için %50-85 , PLGA için ise %10-70 arasında değiştiği görülmüştür [144],[145].

Çizelge 4.3 Boş PLA ve PLGA nanopartiküllerinin reaksiyon verimi

	Kullanılan Polimer Miktarı (mg)	Üretilen Nanopartikül Ağırlığı (mg)	Reaksiyon Verimi (%)
Boş PLA	75	43,12	57,5
Boş PLGA	75	15,91	21,2

4.1.3 Boş PLGA ve Boş PLA Nanopartiküllerinin FT-IR Grafikleri

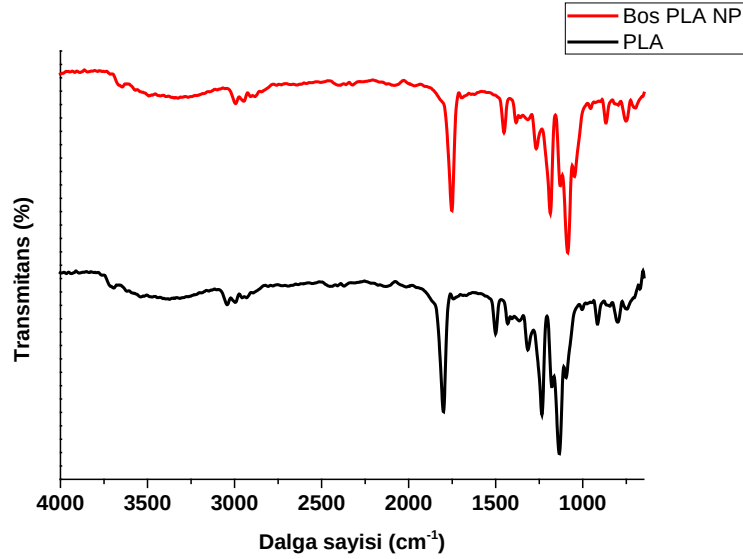
Boş PLA ve boş PLGA nanopartiküllerinin moleküler analizinde FT-IR spektroskopisi kullanılmıştır.



Şekil 4.5 Boş PLA nanopartikülü FT-IR grafiği

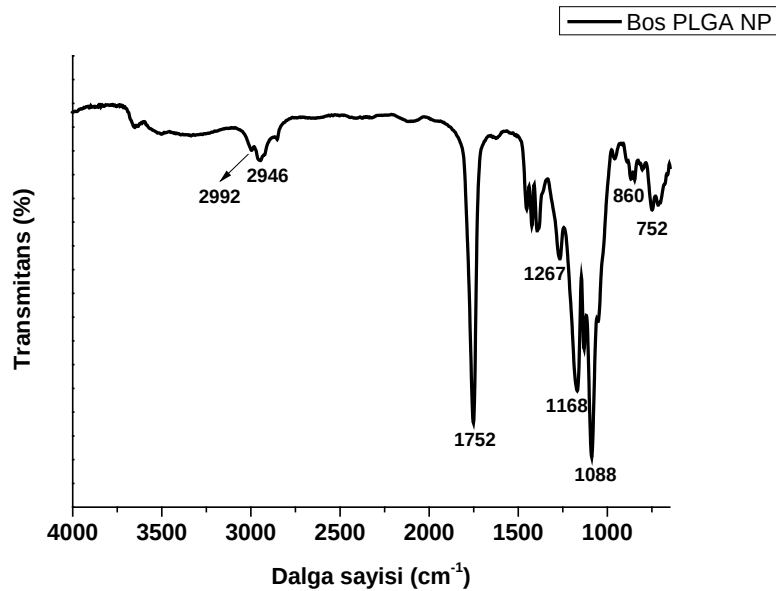
PLA için karakteristik FT-IR pikleri 1746 cm⁻¹, 2995 cm⁻¹, 2946 cm⁻¹ ve 1080 cm⁻¹ bantları olarak kabul edilmektedir. Bu pikler PLA'nın kimyasal yapısı gereği, sırası ile C=O,

asimetrik CH_3 , simetrik CH_3 ve C-O gerilmelerinden meydana gelmektedir. Simetrik ve asimetrik CH_3 için bükülme titreşiminin ise 1361 cm^{-1} ve 1452 cm^{-1} bantları ile temsil edildiği düşünülmektedir [146].



Şekil 4.6 PLA ve boş PLA Nanopartikülü FT-IR grafikleri

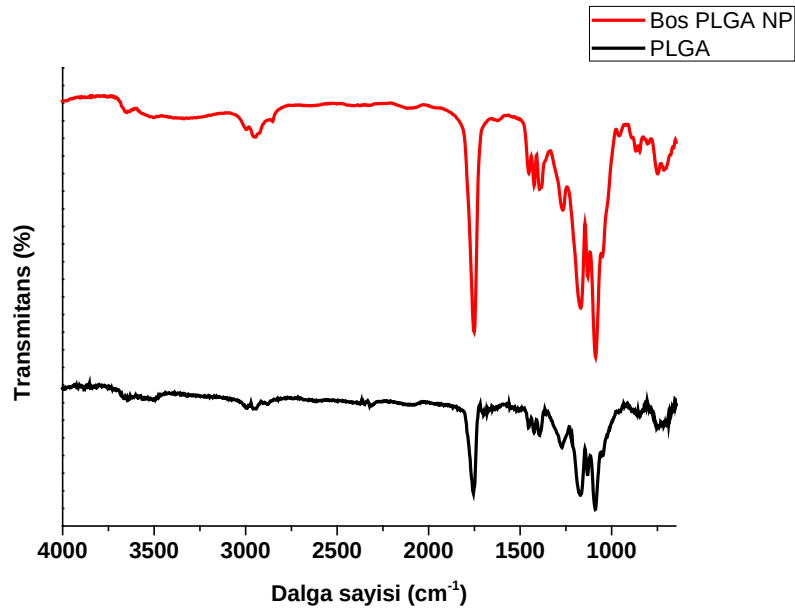
Şekil 4.6'da PLA ve PLA nanopartikülüne ait FT-IR grafikleri verilmiştir. Polimer ve polimerden üretilen nanopartiküllerin aynı spektrumu verdiği görülmüştür.



Şekil 4.7 Boş PLGA nanopartikülü FT-IR grafiği

PLGA için karakteristik FT-IR pikleri; karbonil gruplarının gerilmesinden dolayı $1760\text{-}1750 \text{ cm}^{-1}$ arasındaki bölgedeki güçlü bantlar, 1300 ve 1150 cm^{-1} arasındaki asimetrik ve

simetrik C-C (= O) -O titreşimleri nedeniyle meydana gelen gerilme bantları, 3700 ve 3459 cm^{-1} arasında ise OH grubuna ait bantlar şeklinde kabul edilmektedir [147].

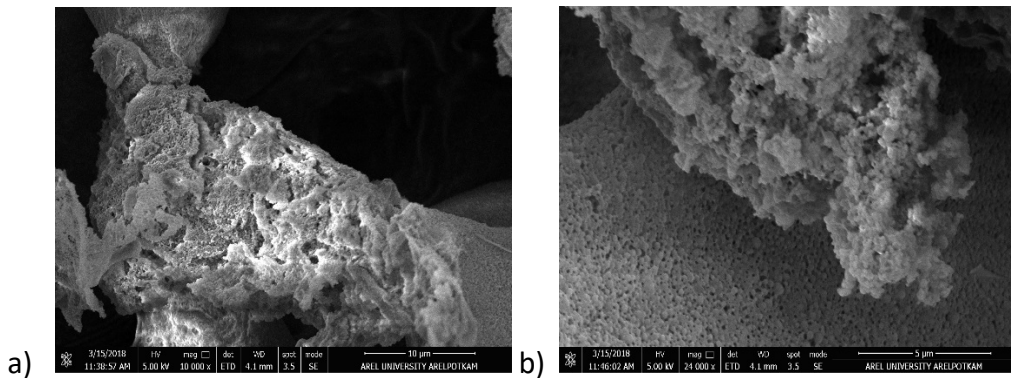


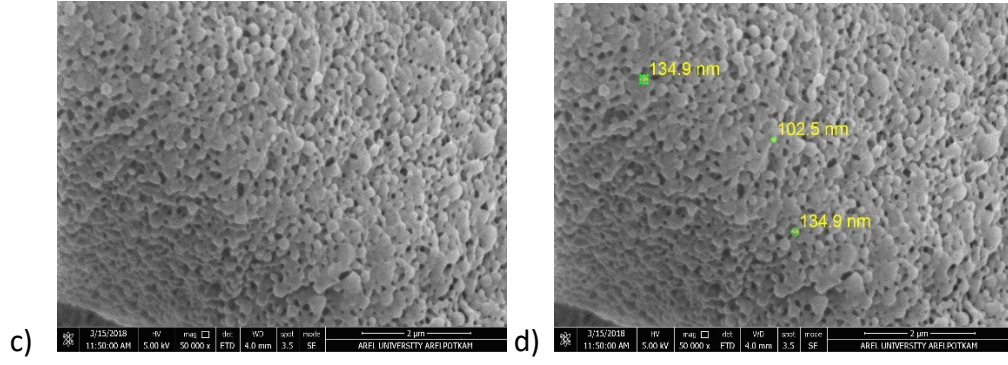
Şekil 4.8 PLGA ve boş PLGA Nanopartikülü FT-IR grafikleri

Şekil 4.8’de PLGA ve PLGA nanopartikülüne ait FT-IR grafikleri verilmiştir. Polimer ve polimerden üretilen nanopartiküllerin aynı spektrumu verdiği görülmüştür.

4.1.4 Boş PLGA ve Boş PLA Nanopartiküllerinin SEM Görüntüleri

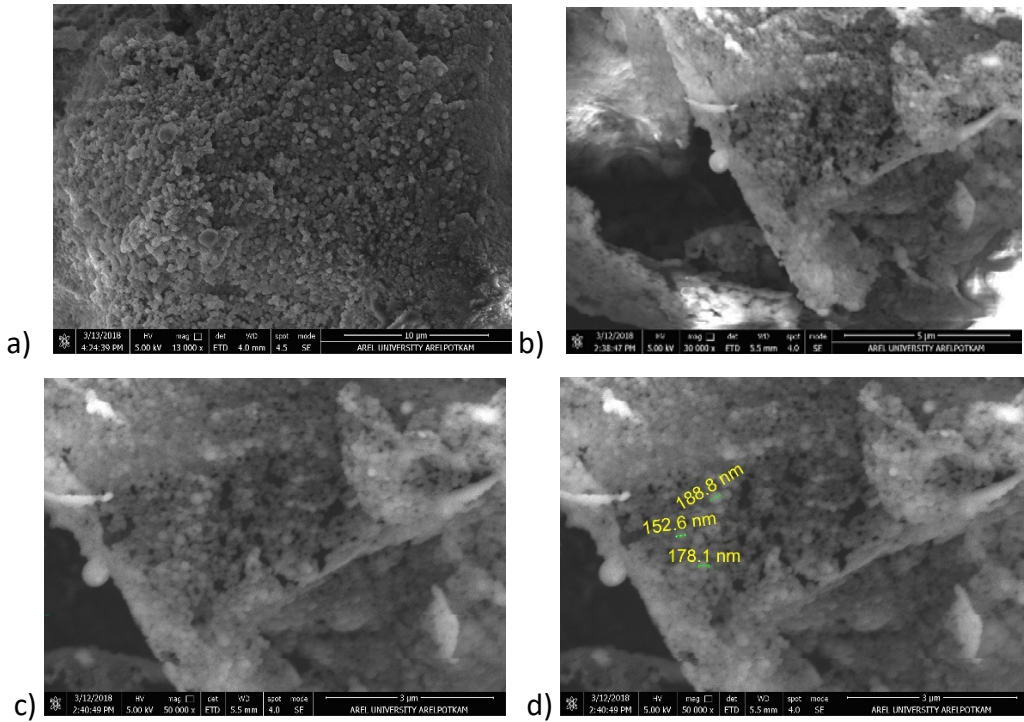
Boş PLA ve boş PLGA nanopartiküllerinin morfolojik analizi SEM cihazı gerçekleştirilmiştir. Örnekler Au kaplaması yapılarak, farklı enerji değerlerinde farklı büyütme oranları ile görüntülenmiştir.





Şekil 4.9 Boş PLA nanopartikülü SEM görüntüleri

Şekil 4.9’da boş PLA nanopartikülüne ait 5.00 kV enerjide a)10.000, b)24.000 ve c,d)50.000 büyütme oranlarındaki görüntülemeler sunulmuştur. Nanopartiküllerin düzenli bir dağılım gösterdiği ve tamamen küresel yapıda oldukları gözlenmiştir. Görüntülerde sunulan partikül büyüklüklerinin boyut analizi sonuçları ile örtüştüğü görülmektedir.



Şekil 4.10 Boş PLGA nanopartikülü SEM görüntüleri

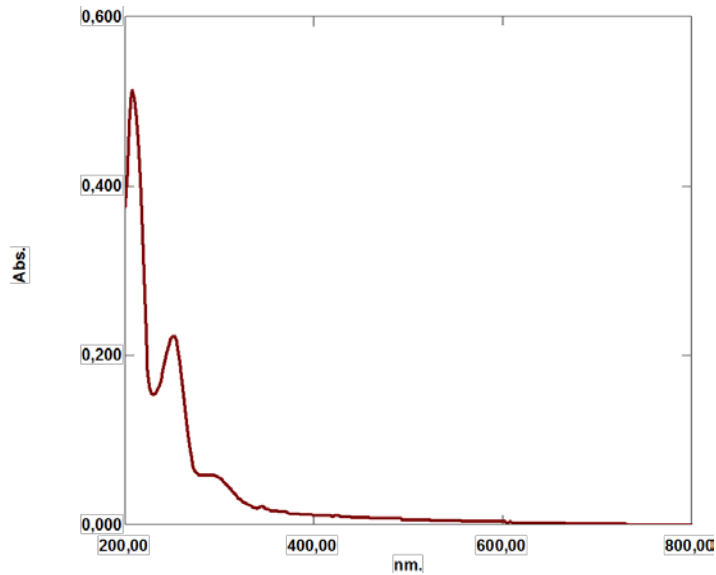
Şekil 4.10’da boş PLGA nanopartikülüne ait 5.00 kV enerjide a)13.000, b)30.000 ve c,d)50.000 büyütme oranlarındaki görüntülemeler sunulmuştur. Nanopartiküllerin

nispeten düzenli bir dağılım gösterdiği ve tamamen küresel yapıda oldukları gözlenmiştir. Görüntülerde sunulan partikül büyüklüklerinin boyut analizi sonuçları ile uyumlu olduğu görülmektedir.

4.2 Bupropion HCl Yüklü Nanopartiküler Sistemlerin Karakterizasyonu

4.2.1 Bupropion HCl Çözünürlük Çalışması

Bupropion HCl karakteristik olarak 252 nm de absorbans vermektedir [148]. Bupropionun çözünürlük çalışmasında, UV-Vis spektrofotometresinde 252 nm değeri için absorbans okumaları yapılmış; elde edilen örnek bir absorbans grafiği Şekil 4.11’de sunulmuştur.



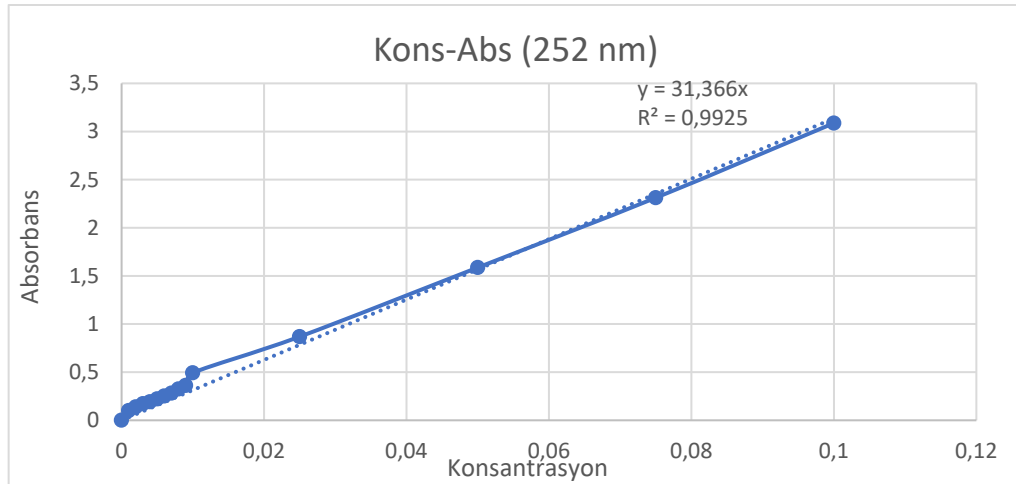
Şekil 4.11 Bupropion HCl absorbans grafiği

Bupropion HCl suda serbest olarak çözünebilen, hidrofilik bir ilaçtır [149]. Çözünürlük çalışması için Bupropion HCl suda çözülerek 0,1 mg/ml konsantrasyonlu stok çözelti hazırlanmış ve yarı yarıya aşamalı seyreltmeler yapılarak tüm çözelti örnekleri absorbans ölçümü için uygun hale getirilmiştir. UV-Vis spektrofotometresi ile tüm çözeltilerin 252 nm’deki absorbans okumaları yapılmış ve sonuçlar çizelge 4.4’te sunulmuştur.

Çizelge 4.4 Bupropion HCl çözünürlük çalışması verileri

Konsantrasyon(mg/ml)	Absorbans 252 nm	Konsantrasyon(mg/ml)	Absorbans 252 nm
0,1	3,087	0,006	0,251
0,075	2,312	0,005	0,222
0,05	1,587	0,004	0,191
0,025	0,869	0,003	0,171
0,01	0,493	0,002	0,139
0,009	0,361	0,001	0,1
0,008	0,324	0	0
0,007	0,281	0	0

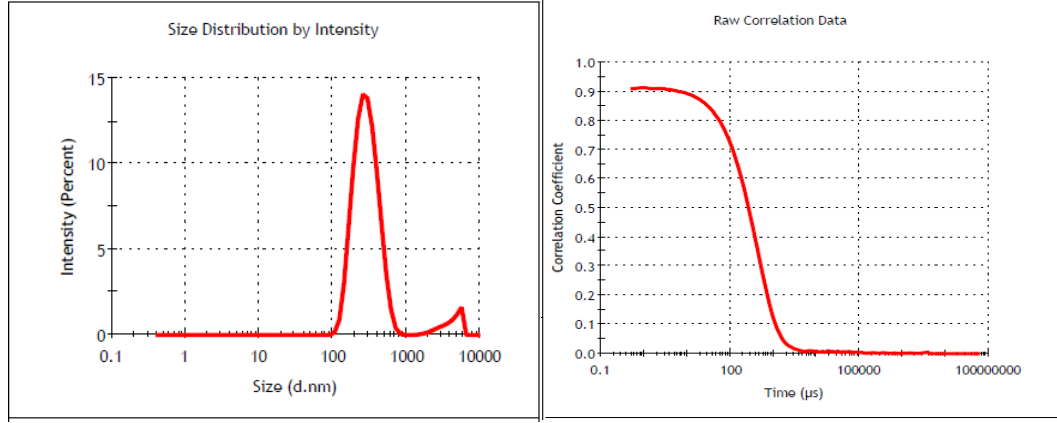
Çözünürlük çalışması verilerine göre Bupropion HCl için Şekil 4.12’de görüldüğü üzere kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Çizilen kalibrasyon eğrisine göre molar absorpsiyon katsayısı 31,366 ml/mg.cm, regresyon katsayısı ise 0,9925 olarak bulunmuştur. Enkapsülasyon etkinliği ve yükleme kapasitesi hesaplamalarında elde edilen kalibrasyon eğrisinin denklemi kullanılmıştır.



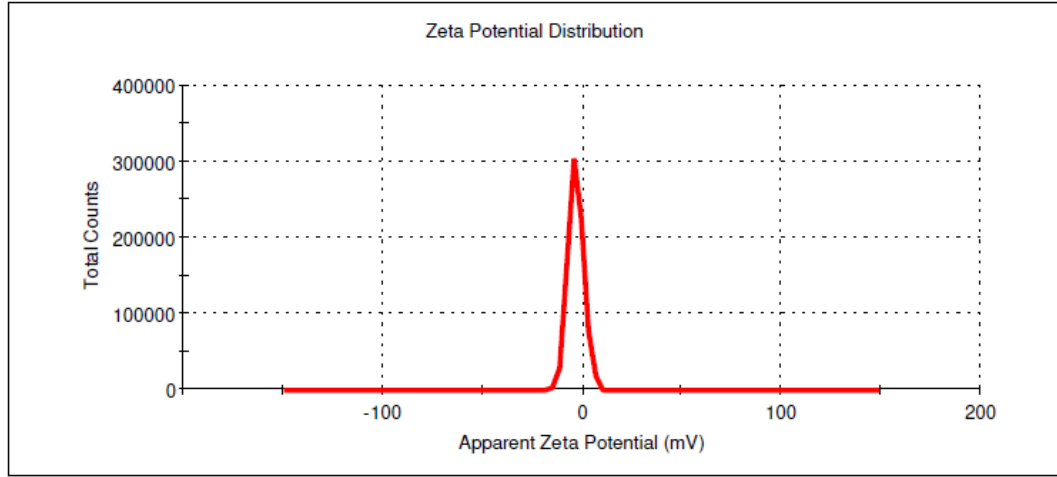
Şekil 4.12 Bupropion HCl kalibrasyon eğrisi

4.2.2 Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin Boyut ve Zeta Potansiyel Ölçümleri

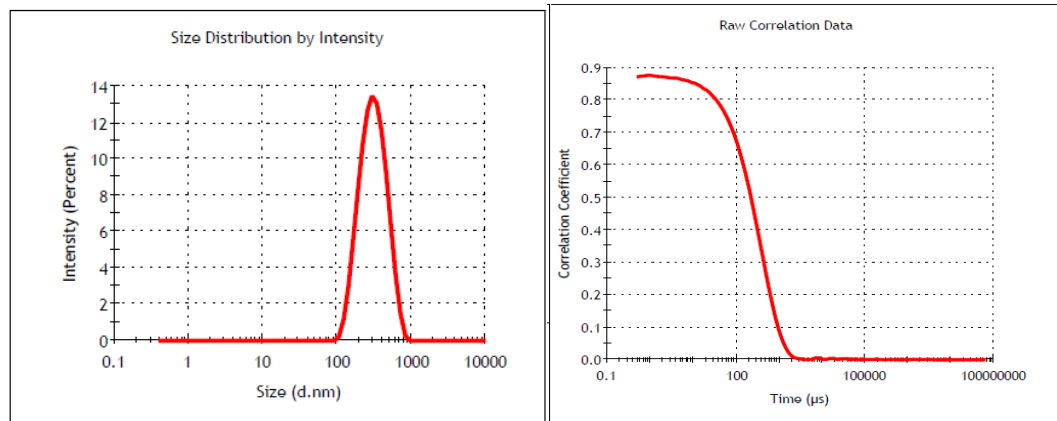
Boş PLA ve PLGA nanopartikülleri ile aynı yöntem kullanılarak üretilen Bupropion HCl yüklü polimerik nanopartiküllerin boyut ve zeta potansiyel analizleri de yine Zeta-Sizer ile gerçekleştirilmiştir.



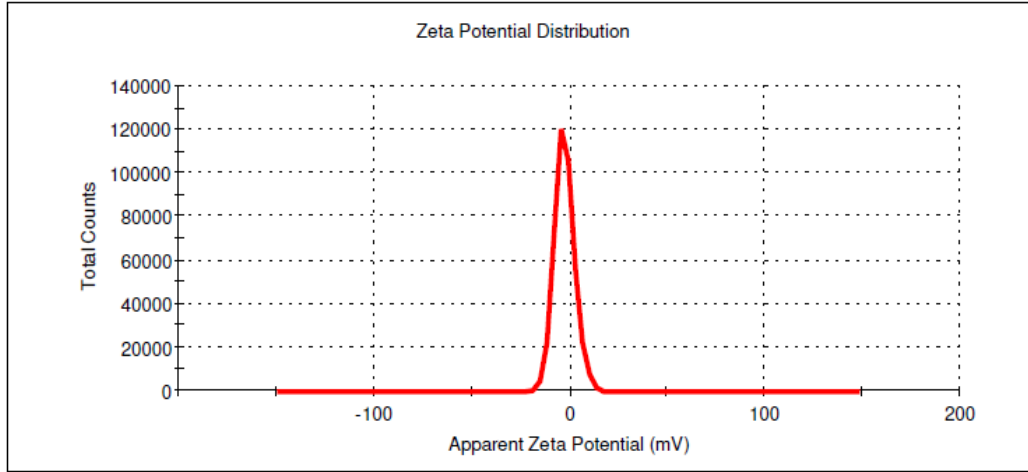
Şekil 4.13 5mg Bupropion HCl yüklü PLA nanopartikülü yoğunluk olarak boyut dağılımı ve korelasyon grafiği



Şekil 4.14 5mg Bupropion HCl yüklü PLA nanopartikülü zeta potansiyel grafiği



Şekil 4.15 10mg Bupropion HCl yüklü PLA nanopartikülü yoğunluk olarak boyut dağılımı ve korelasyon grafiği

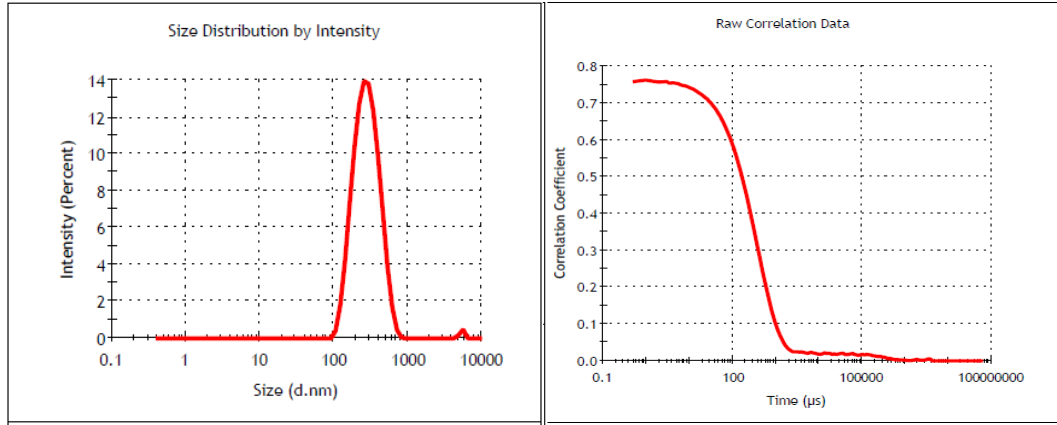


Şekil 4.16 10mg Bupropion HCl yüklü PLA nanopartikülü zeta potansiyel grafiği

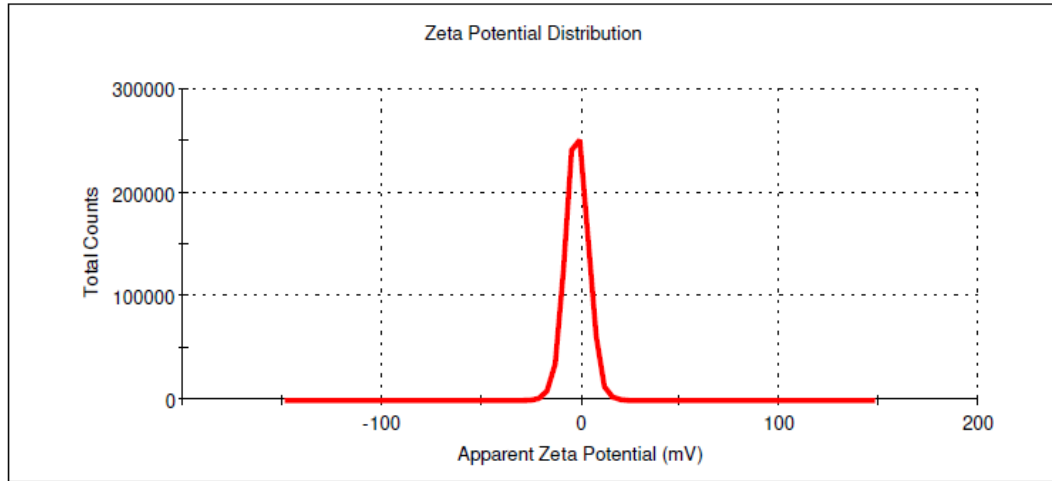
Etken maddde yüklü PLA nanopartikülleri 5 mg ve 10 mg olmak üzere iki farklı Bupropion HCl miktarı içerecek şekilde üretilmiştir. Üretilen 5 mg Bupropion HCl yüklü PLA nanopartiküllerinin Z-ave ortalama boyut büyüklükleri 262,9 nm ile 324,1 nm arasında değişirken, zeta potansiyel değerleri -3,22 ile -1,28 aralığında değişmektedir. Üretilen 10 mg Bupropion HCl yüklü PLA nanopartiküllerinin ise Z-ave ortalama boyut büyüklükleri 254,4 nm ile 275,6 nm arasında değişirken, zeta potansiyel değerleri -2,68 ile -0,912 aralığında değişmektedir. Literatürde PLA nanopartiküllerine yüklenen etken maddeler ile ortalama partikül boyutunun 594 nm seviyesine kadar artabildiği, polidispersite indeksi ve zeta potansiyelinin ise çok geniş bir aralıkta değişkenlik gösterebildiği raporlanmıştır [150]. Bu bulgular ışığında; sonuçların literatür ile örtüştüğü görülmüştür.

Çizelge 4.5 Bupropion HCl yüklü PLA nanopartiküllerinin boyut ve zeta potansiyel analiz sonuçları

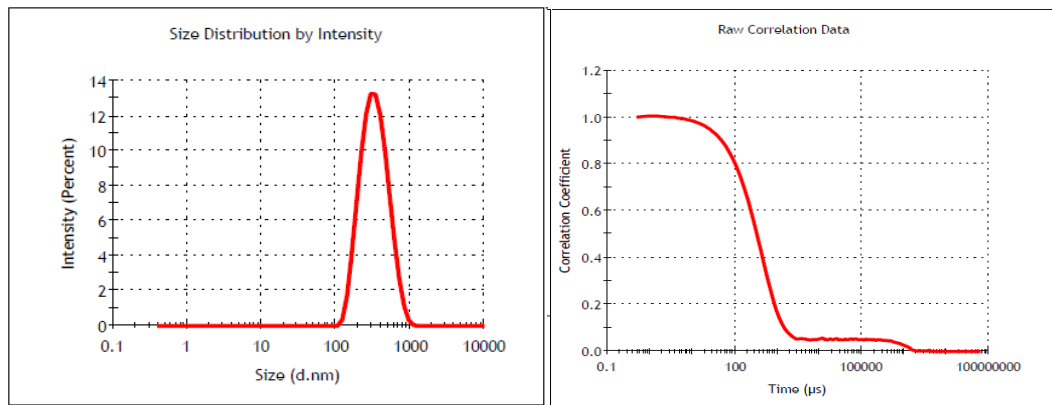
	Z-ave (nm)	PDI	Zeta Potansiyel (mV)
PLA-5mg BuHCl	262,9	0,201	-3,22
PLA-10mg BuHCl	270,2	0,163	-2,68



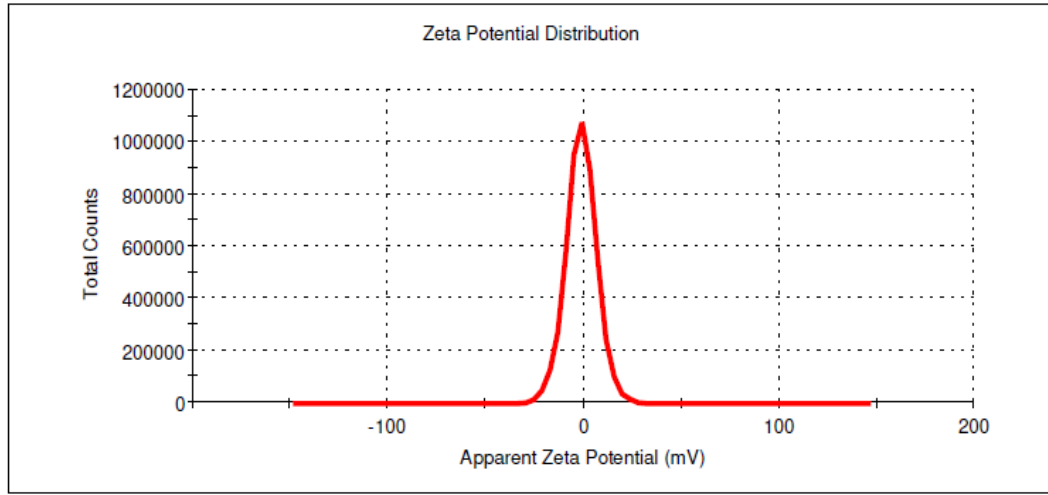
Şekil 4.17 5mg Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartikülü yoğunluk olarak boyut dağılımı ve korelasyon grafiği



Şekil 4.18 5mg Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartikülü zeta potansiyel grafiği



Şekil 4.19 10mg Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartikülü yoğunluk olarak boyut dağılımı ve korelasyon grafiği



Şekil 4.20 10mg Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartikülü zeta potansiyel grafiği

Etken maddde yüklü PLGA nanopartikülleri de yine PLA nanopartikülleri gibi 5 mg ve 10 mg olmak üzere iki farklı Bupropion HCl miktarı içerecek şekilde üretilmiştir. Üretilen 5 mg Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartiküllerinin Z-ave ortalama boyut büyüklükleri 261,1 ile 358,6 arasında değişirken, zeta potansiyel değerleri -1,96 ile -0,95 aralığında değişmektedir. Üretilen 10 mg Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartiküllerinin ise Z-ave ortalama boyut büyüklükleri 299,3 ile 370,9 arasında değişirken, zeta potansiyel değerleri -1,56 ile -0,984 aralığında değişmektedir. İlaç bileşimi ile partikül boyutu arasındaki ilişkinin incelendiği bir çalışmada ikili emülsiyon yöntemi ile üretilen etken madde yüklü PLGA nanopartikülleri için ortalama boyutun 300 nm ile 1000 nm aralığında değişebildiği gösterilmiştir [151]. Sonuçların literatür ile örtüştüğü gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.6 Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartiküllerinin boyut ve zeta potansiyel analiz sonuçları

	Z-ave (nm)	PDI	Zeta Potansiyel (mV)
PLGA-5mg BuHCl	261,1	0,263	-1,96
PLGA-10mg BuHCl	299,3	0,178	-1,13

4.2.3 Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin Reaksiyon Verimi

Bupropion HCl yüklü PLA ve PLGA nanopartiküllerinin reaksiyon verimleri Bölüm 3.2.4.1’de verilen denklem kullanılarak hesaplanmıştır. Kullanılan Bupropion HCl miktarı

her bir örnek için sentez aşamasında kullanılan etken madde miktarını, toplam polimer miktarı her bir örnek için ilgili polimerden tartılan katı kütlesini, üretilen nanopartikül ağırlığı ise üretim prosesinin son aşaması olan liyofilizatör ile kurutma işleminden sonra hassas terazi ile tartılan katı kütlesini temsil etmektedir.

5 mg Bupropion HCl yüklü ve 10 mg Bupropion HCl yüklü PLA nanopartikülleri için reaksiyon verimi sırasıyla %80,3 ve %79,5 olarak hesaplanırken; 5 mg Bupropion HCl yüklü ve 10 mg Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartikülleri için reaksiyon verimi sırasıyla %44,7 ve %44,4 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.7 Bupropion HCl yüklü PLA ve PLGA nanopartiküllerinin reaksiyon verimi

	Kullanılan BuHCl Miktarı (mg)	Kullanılan Polimer Miktarı (mg)	Toplam Miktar (mg)	Üretilen Nanopartikül Ağırlığı (mg)	Reaksiyon Verimi (%)
PLA-5 mg BuHCl	5	75	80	64,24	80,3
PLA-10 mg BuHCl	10	75	85	67,59	79,5
PLGA-5 mg BuHCl	5	75	80	35,75	44,7
PLGA-10 mg BuHCl	10	75	85	37,78	44,4

Aynı miktarda polimer ve etken madde kullanılarak üretilen PLA ve PLGA nanopartiküllerinin reaksiyon verimleri arasında belirgin bir fark gözlemlenmiştir. Bu farkın polimerlerin yapısından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Öte yandan aynı polimer türü için yüklenen etken madde miktarında artış olmasına karşın reaksiyon veriminin düştüğü gözlemlenmiştir. Ancak bu fark çok küçük bir oranda olduğu için deneysel koşullardan kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

4.2.4 Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin Enkapsülasyon Etkinliği

Bupropion HCl yüklü PLA ve PLGA nanopartiküllerinin enkapsülasyon etkinlikleri Bölüm 3.2.4.2’de verilen denklem kullanılarak hesaplanmıştır. Kullanılan Bupropion HCl miktarı her bir örnek için sentez aşamasında kullanılan etken madde miktarını, üstfazda bulunan Bupropion HCl miktarı santrifüj işleminden sonra süpernatantta kalan serbest etken madde miktarını, yüklenen Bupropion HCl nanopartiküllerin içerisinde enkapsüle edilen total etken madde miktarını, üst faz absorbans değeri santrifüj işlemi sonrasında

toplanan süpernatant mediumundan alınarak analiz edilen örneklere ait absorbansı ve üst faz toplam hacmi 3'er kez santrifüjlenen örneklerin her biri için uzaklaştırılarak biriktirilen total süpernatant hacmini ifade eder.

5 mg Bupropion HCl yüklü ve 10 mg Bupropion HCl yüklü PLA nanopartikülleri için enkapsülasyon etkinliği sırasıyla %83,2 ve %83,5 olarak hesaplanırken; 5 mg Bupropion HCl yüklü ve 10 mg Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartikülleri için enkapsülasyon etkinliği sırasıyla %90,6 ve %81,8 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.8 Bupropion HCl yüklü PLA ve PLGA nanopartiküllerinin enkapsülasyon etkinliği

	Kullanılan BuHCl Miktarı (mg)	Üst Fazdaki BuHCl Miktarı (mg)	Yüklenen BuHCl Miktarı (mg)	Üst Faz Absorbans Değeri (252 nm)	Üst Faz Toplam Hacmi (ml)	Enkapsülasyon Etkinliği (%)
PLA-5 mg BuHCl	5	0,84	4,16	0,239	120	83,2
PLA-10 mg BuHCl	10	1,68	8,348	0,458	118	83,5
PLGA-5 mg BuHCl	5	0,472	4,528	0,127	118	90,6
PLGA-10 mg BuHCl	10	1,821	8,179	0,476	120	81,8

PLA nanopartikülleri için yüklenen etken madde miktarı artışına paralel olarak enkapsülasyon etkinliğinde de bir artış gözlenirken, PLGA nanopartikülleri için yüklenen etken madde miktarı artışının aksine verimde bir azalma gözlemlenmiştir.

4.2.5 Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin Yükleme Kapasitesi

Bupropion HCl yüklü PLA ve PLGA nanopartiküllerinin enkapsülasyon etkinlikleri Bölüm 3.2.4.3'te verilen denklem kullanılarak hesaplanmıştır. Kullanılan Bupropion HCl miktarı her bir örnek için sentez aşamasında kullanılan etken madde miktarını, üstfazda bulunan Bupropion HCl miktarı santrifüj işleminden sonra süpernatantta kalan serbest etken

madde miktarını, yüklenen Bupropion HCl nanopartiküllerin içerisinde enkapsüle edilen total etken madde miktarını ve üretilen nanopartikül ağırlığı ise üretim prosesinin son aşaması olan liyofilizatör ile kurutma işleminden sonra hassas terazi ile tartılan katı kütlesini temsil etmektedir.

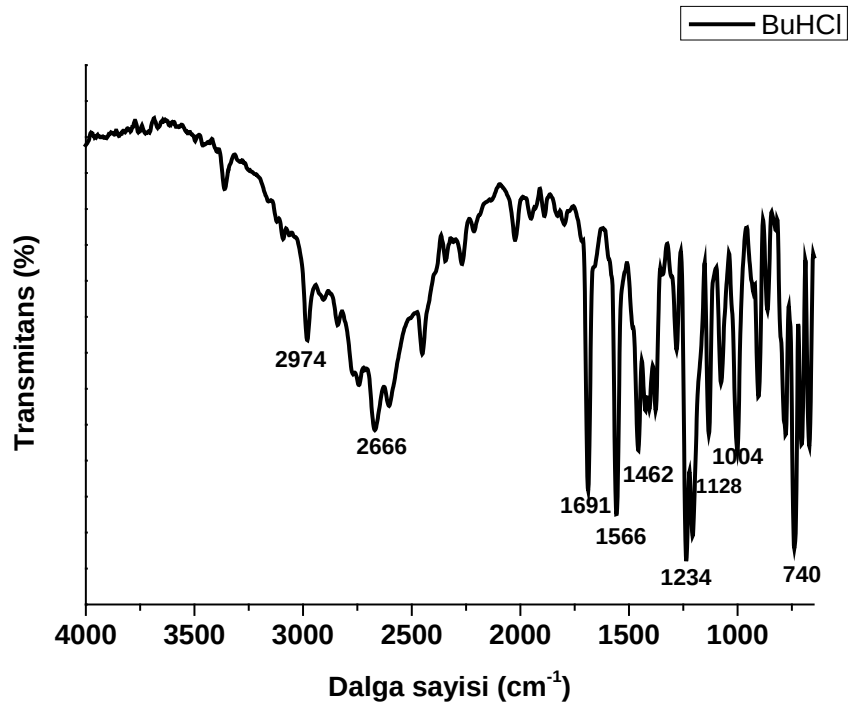
5 mg Bupropion HCl yüklü ve 10 mg Bupropion HCl yüklü PLA nanopartikülleri için yükleme kapasitesi sırasıyla %6,47 ve %12,35 olarak hesaplanırken; 5 mg Bupropion HCl yüklü ve 10 mg Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartikülleri için yükleme kapasitesi sırasıyla %12,66 ve %21,64 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.9 Bupropion HCl yüklü PLA ve PLGA nanopartiküllerinin yükleme kapasitesi

	Kullanılan BuHCl Miktarı (mg)	Üst Fazdaki BuHCl Miktarı (mg)	Yüklenen BuHCl Miktarı (mg)	Üretilen Nanopartikül Ağırlığı (mg)	Yükleme Kapasitesi (%)
PLA-5 mg BuHCl	5	0,84	4,16	64,24	6,5
PLA-10 mg BuHCl	10	1,68	8,348	67,59	12,4
PLGA-5 mg BuHCl	5	0,472	4,528	35,75	12,7
PLGA-10 mg BuHCl	10	1,821	8,179	37,78	21,7

Hem PLA hem de PLGA nanopartiküllerinde yüklenen etken madde miktarındaki artışa paralel olarak yükleme kapasitesinin de arttığı gözlemlenmiştir.

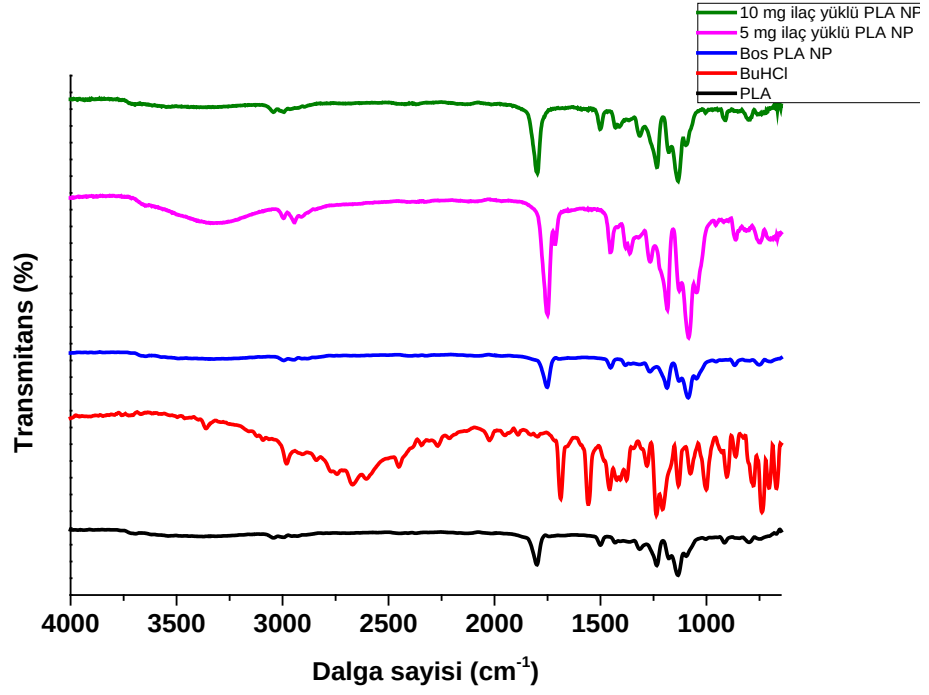
4.2.6 Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin FT-IR Grafikleri



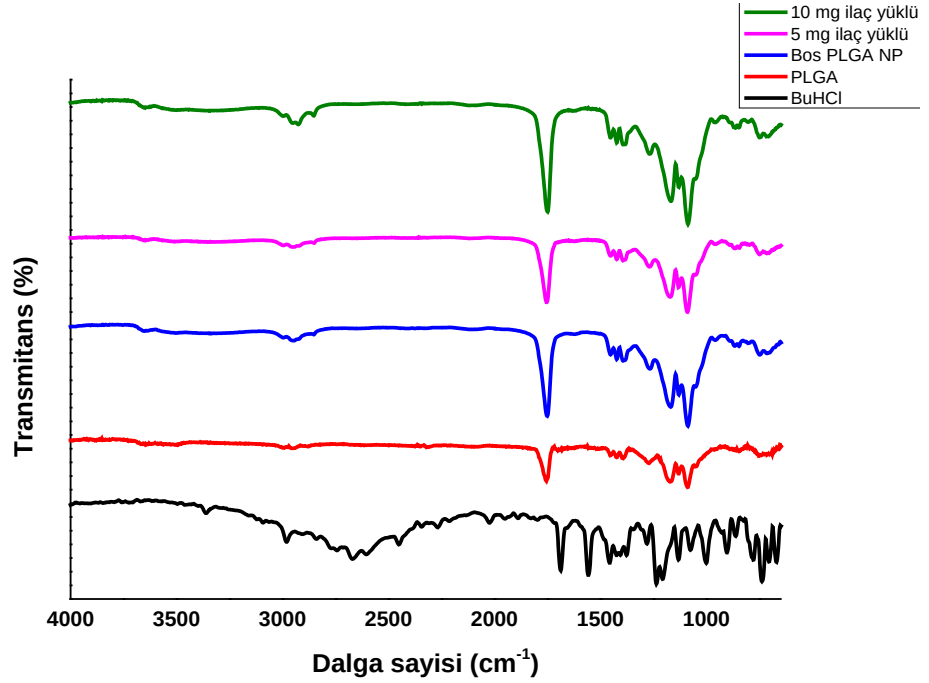
Şekil 4.21 Bupropion HCl FT-IR grafiği

Bupropion HCl için karakteristik FT-IR pikleri 3093 cm^{-1} (aromatik C-H gerilmesinden kaynaklı), 2982 cm^{-1} (aromatik C-H gerilmesinden kaynaklı), $2840\text{-}2450\text{ cm}^{-1}$ (N-H gerilmesinden kaynaklı), 1688 cm^{-1} (C=O gerilmesinden kaynaklı), 1558 cm^{-1} (aromatik C-H gerilmesinden kaynaklı), 1403 cm^{-1} (asimetrik CH_3 bükülmesi kaynaklı), 1382 cm^{-1} (simetrik CH_3 bükülmesi kaynaklı) ve 1079 cm^{-1} (C-Cl gerilmesinden kaynaklı) şeklindedir [114].

Yapılan FT-IR analizi sonucunda elde edilen piklerin literatür ile uyumlu olduğu görülmektedir.



Şekil 4.22 Bupropion HCl yüklü PLA nanopartiküllerinin FT-IR grafiği



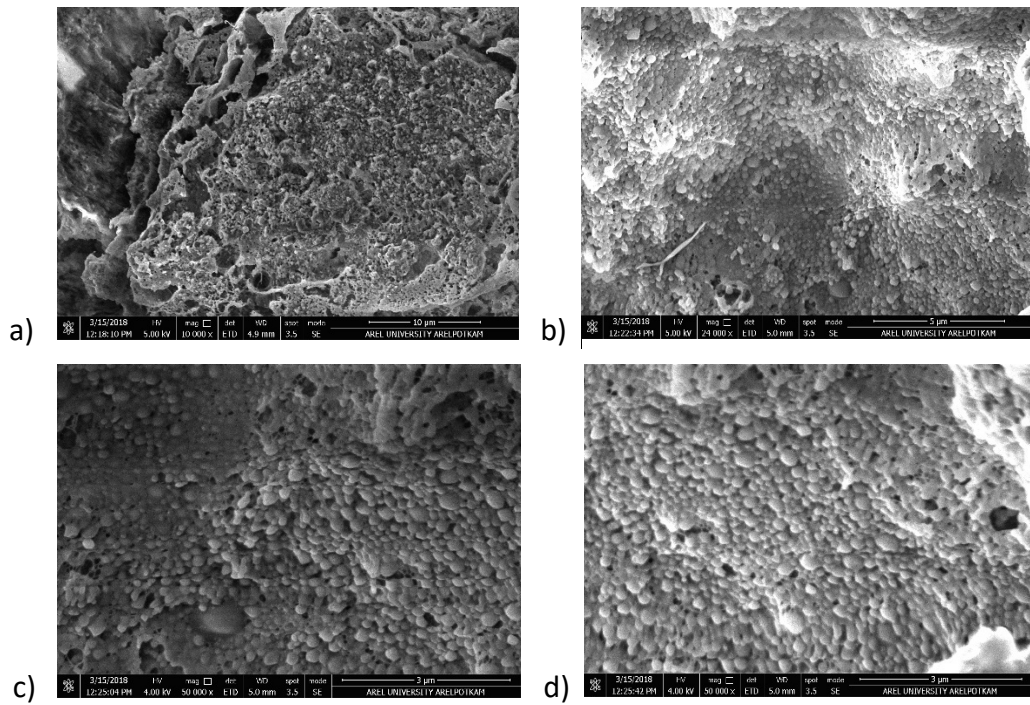
Şekil 4.23 Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartiküllerinin FT-IR grafiği

10 mg etken madde yüklü hem PLA nanopartikülünde hem de PLGA nanopartikülünde ve 5 mg etken madde yüklü PLGA nanopartikülünde üretim sonrası Bupropion HCl in

karakteristik piklerine rastlanmamış, sadece polimerlere ait karakteristik pikler görülmüştür. Bu durum; etken maddenin başarılı bir şekilde enkapsüle edildiği gösterilmiştir. Literatürdeki pek çok çalışmada da nanopartikül üretiminden sonra etken maddeye ait karakteristik FT-IR piklerinin kayboluşu bu sonucu destekler niteliktedir. Ancak 5 mg etken madde yüklü PLA nanopartikülünde 3300-3400 cm^{-1} bölgesinde Bupropion HCl e ait bir pik görülmüştür. Bu sonuç; nanopartikül yüzeyinde enkapsüle olmamış bir miktar ilacın var olduğunun göstergesidir.

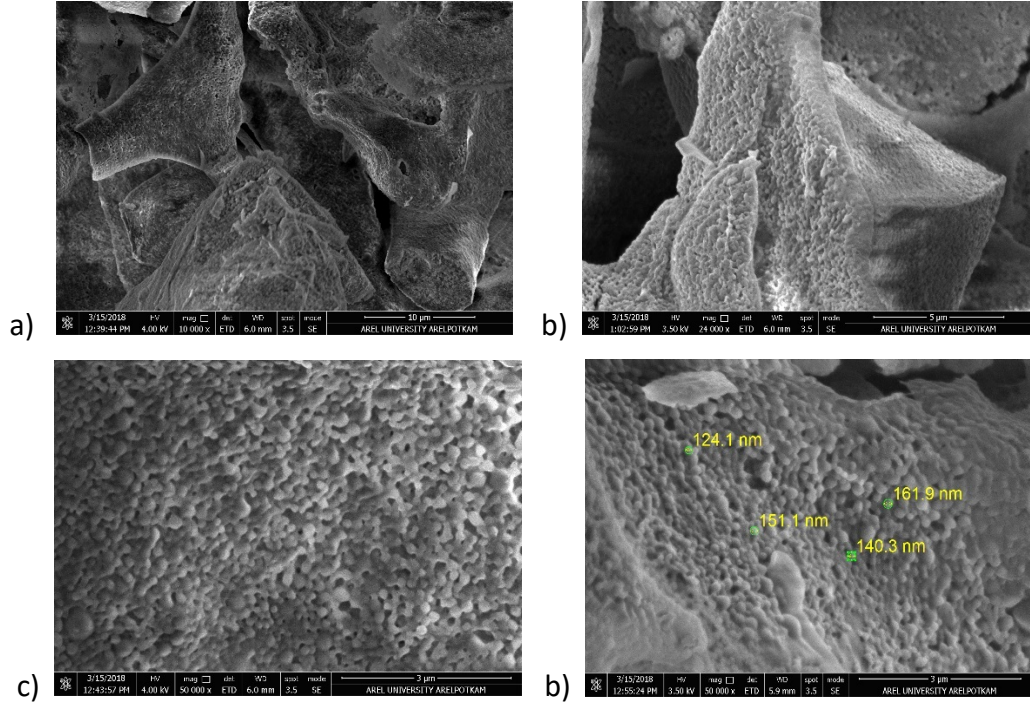
4.2.7 Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin SEM Görüntüleri

Bupropion HCl yüklü PLA ve PLGA nanopartiküllerinin morfolojik analizi SEM cihazı gerçekleştirilmiştir. Örnekler Au kaplaması yapılarak, farklı enerji değerlerinde farklı büyütme oranları ile görüntülenmiştir.



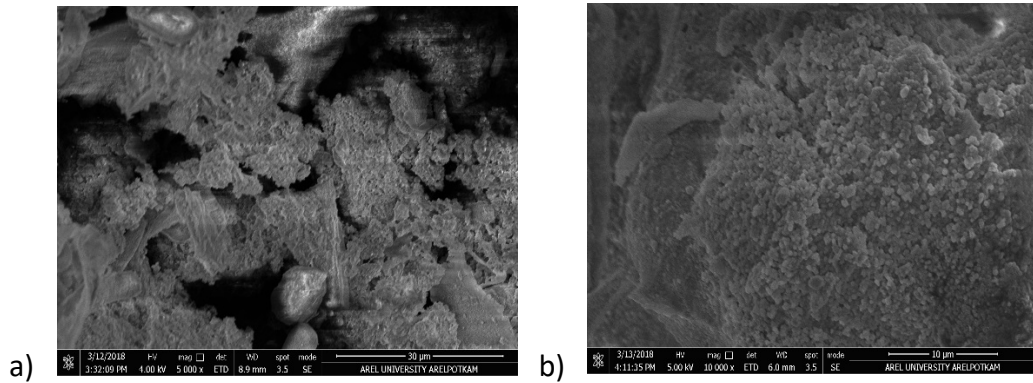
Şekil 4.24 5 mg Bupropion HCl yüklü PLA nanopartikülü SEM görüntüleri

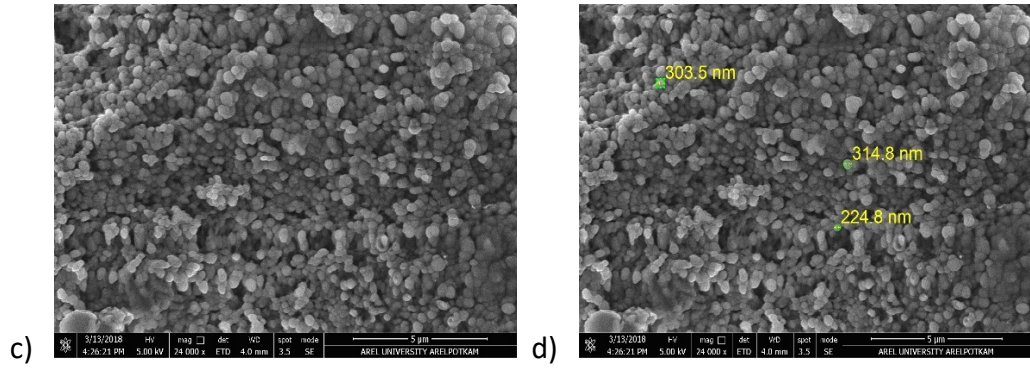
5 mg etken madde yüklü PLA nanopartiküllerinin 5.0 kV enerjide a)10.000, b)24.000 ve c,d)50.000 büyütme oranı ile görüntülenmesi yapılmıştır. Nanopartiküllerin düzenli bir dağılım gösterdiği ve yüksek oranda küresel bir yapıda olduğu görülmüştür.



Şekil 4.25 10 mg Bupropion HCl yüklü PLA nanopartikül SEM görüntüleri

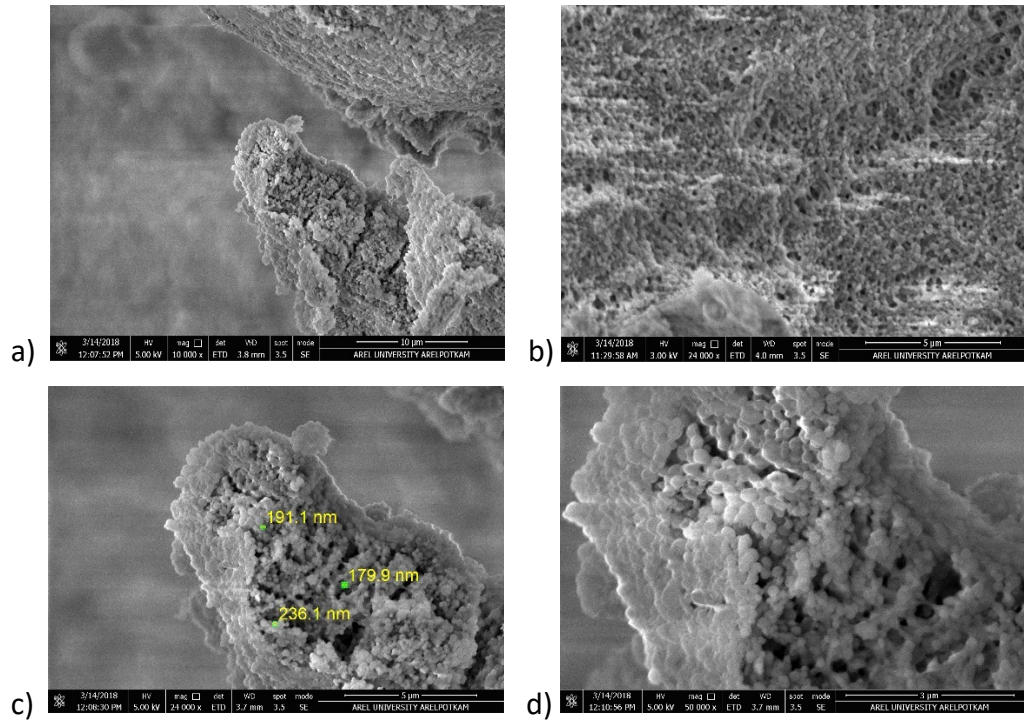
10 mg etken madde yüklü PLA nanopartiküllerinin 3,50 kV enerjide a)10.000, b)24.000 ve c,d)50.000 büyütme oranı ile görüntülemesi yapılmıştır. Nanopartiküllerin düzenli bir dağılım gösterdiği ve yüksek oranda küresel bir yapıda olduğu görülmüştür. Aynı zamanda görüntülerde sunulan ortalama partikül boyutlarının da Zeta-Sizer ile ölçülen boyutlarla uyumlu olduğu tespit edilmiştir.





Şekil 4.26 5 mg Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartikülü SEM görüntüleri

5 mg etken madde yüklü PLGA nanopartiküllerinin 5.0 kV enerjide 5.000, 10.000 ve 24.000 büyütme oranı ile görüntülemesi yapılmıştır. Nanopartiküllerin düzenli bir dağılım gösterdiği ve yüksek oranda küresel bir yapıda olduğu görülmüştür. Aynı zamanda görüntülerde sunulan ortalama partikül boyutlarının da Zeta-Sizer ile ölçülen boyutlarla uyumlu olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.27 10 mg Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartikülü SEM görüntüleri

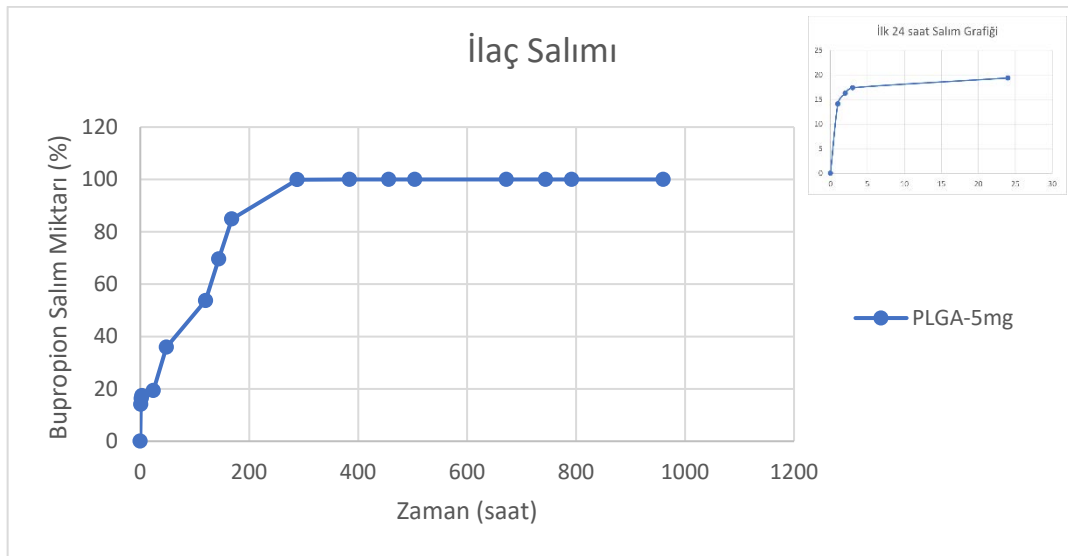
10 mg etken madde yüklü PLGA nanopartiküllerinin 5.0 kV enerjide a)10.000, b,c)24.000 ve d)50.000 büyütme oranı ile görüntülemesi yapılmıştır. Nanopartiküllerin düzenli bir

dağılım gösterdiği ve yüksek oranda küresel bir yapıda olduğu görülmüştür. Aynı zamanda görüntülerde sunulan ortalama partikül boyutlarının da Zeta-Sizer ile ölçülen boyutlarla uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

4.2.8 Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin *In-vitro* Salım Çalışmaları

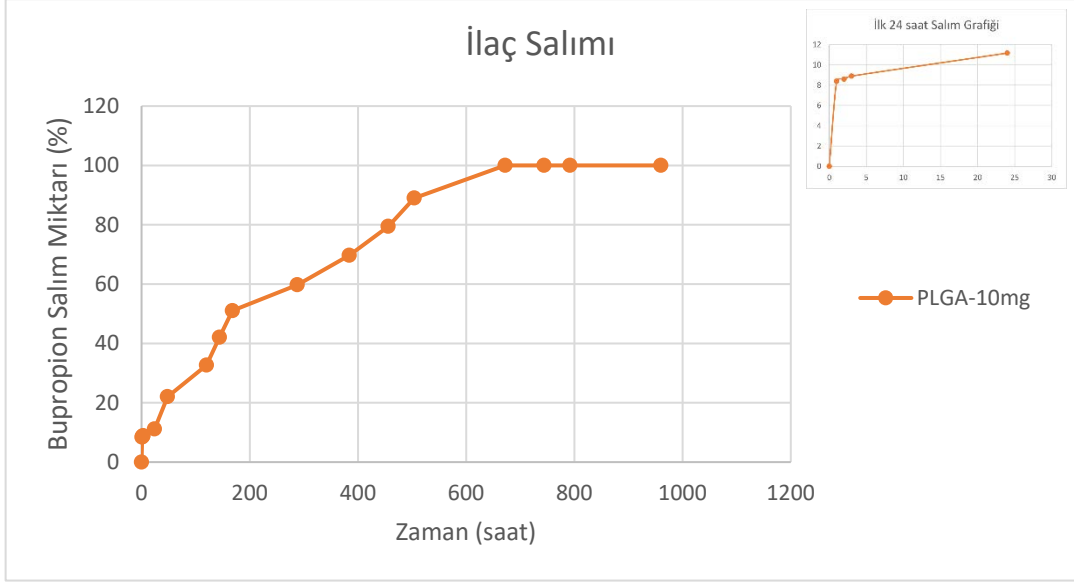
Bupropion HCl yüklü PLGA ve PLA nanopartiküllerinden salım çalışması PBS tamponunda, kümülatif salım tekniği kullanılarak ısıtmalı ve çalkalamalı su banyosunda gerçekleştirilmiştir. Her iki polimer için de iki farklı miktarda etken madde yüklü örneğin salım çalışması yürütülmüş ve hem PLA'nın hem de kopolimeri olan PLGA'nın salım profili incelenerek birbirleri ile kıyaslanmıştır. Her bir polimer için 2 paralel çalışma yaklaşık olarak 45 gün boyunca gerçekleştirilmiştir.

Belirlenen zaman aralıklarında eş zamanlı olarak alınan UV ölçümleri neticesinde çözünen etken maddenin konsantrasyonu hesaplanmış ve buradan mg cinsinden miktar hesaplamasına geçilerek ilaç etken maddesinin yüzde bazında ne kadarının salındığı tespit edilmiştir.



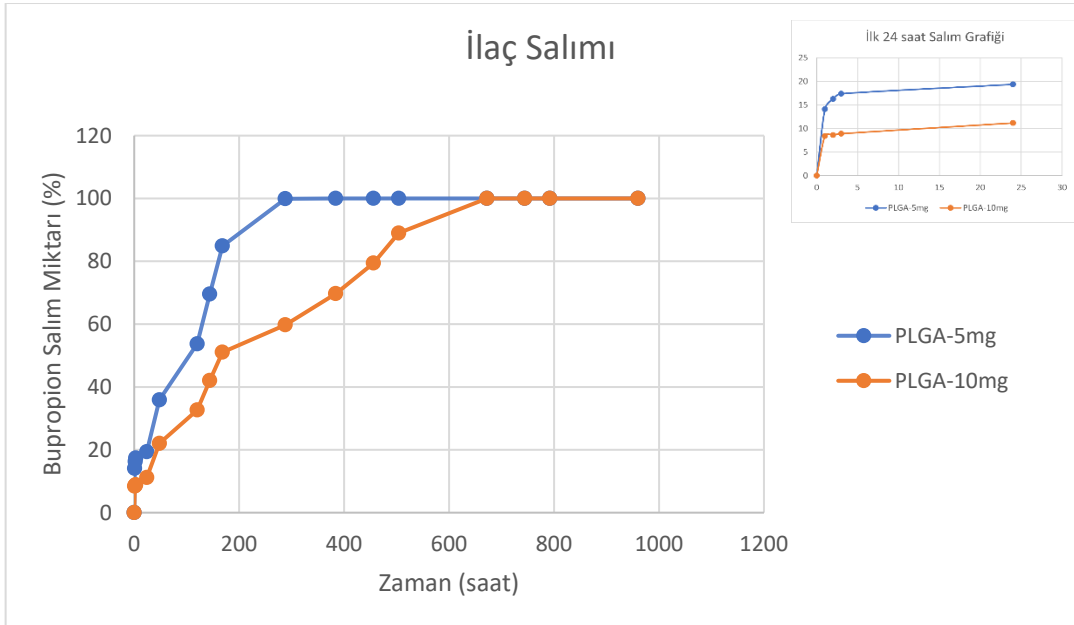
Şekil 4.28 5 mg Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartikülü salım grafiği

5 mg Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartikülünün salım grafiği Şekil 4.28'de verilmiştir. Bu grafiğe göre 24 saatin sonunda yüklü etken maddenin %19,56'sı salınmış ardından ilaç salımı aşamalı olarak yavaşlamış ve 12. günün sonunda yüklü etken maddenin tamamının salınmış olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.29 10 mg Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartikülü salım grafiği

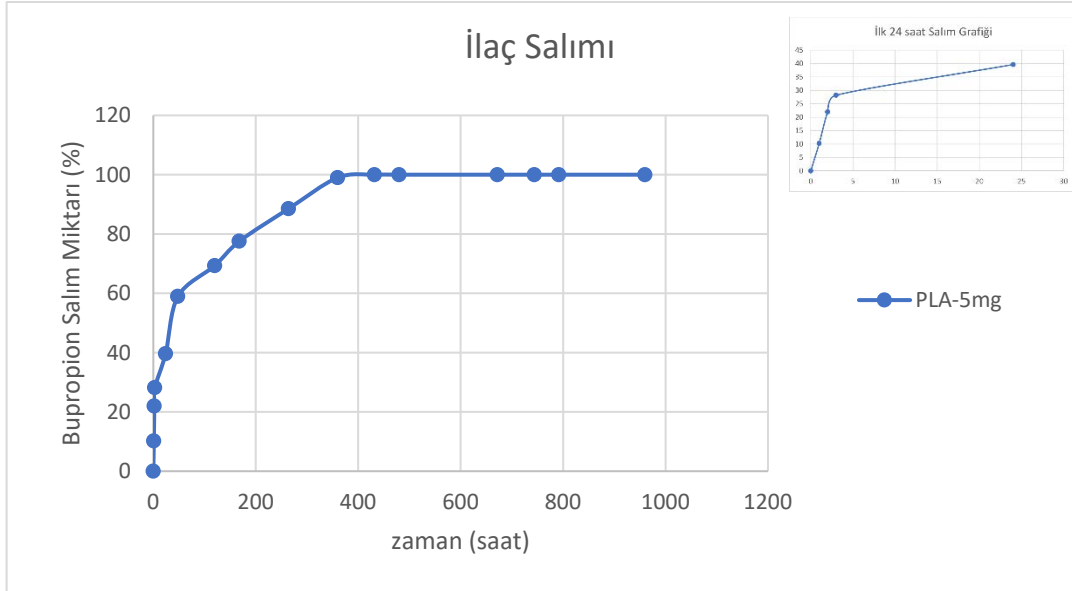
10 mg Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartikülünün salım grafiği Şekil 4.29’da verilmiştir. Bu grafiğe göre 24 saatin sonunda yüklü etken maddenin %11,17’si salınmış ardından ilaç salımı asimetrik bir yavaşlama göstermiş ve 21. günün sonunda etken maddenin tamamının salınmış olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.30 Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartiküllerin salım grafiği

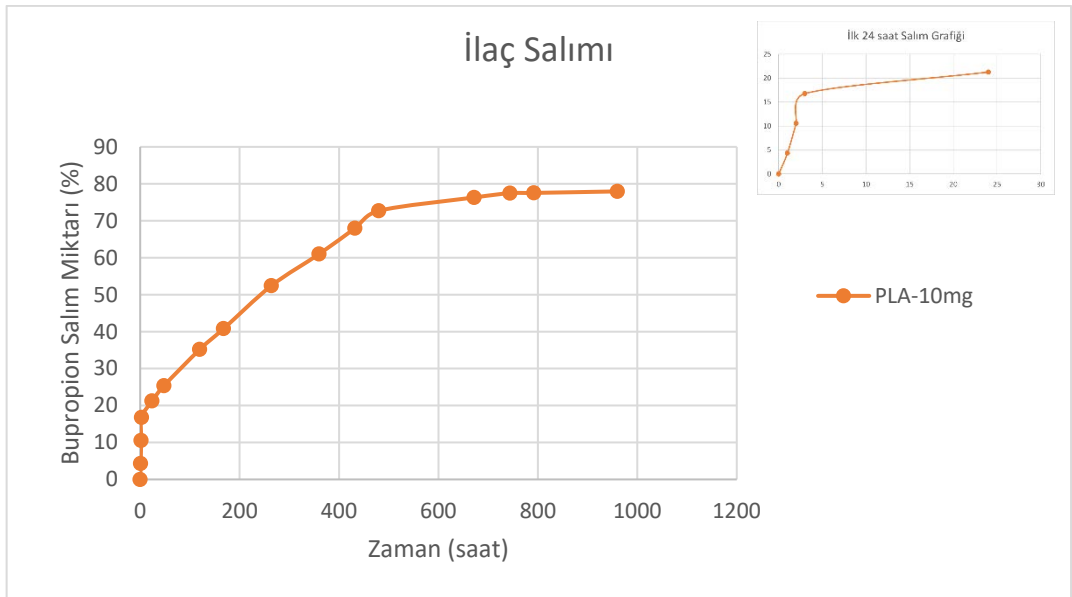
Farklı iki miktarda etken madde yüklü PLGA nanopartikülü için salım grafikleri ortak olarak incelendiğinde 5 mg Bupropion HCl yüklü nanopartiküllerin 10 mg Bupropion HCl

yüklü nanopartiküllere göre daha kısa sürede %100 salıma ulaştığı görülmektedir. Bu sonuç beklenen sonuç ile uyuşmakta olup sebebi artan etken madde miktarına bağlı olarak salım süresinin de doğru orantılı bir şekilde artmasıdır.



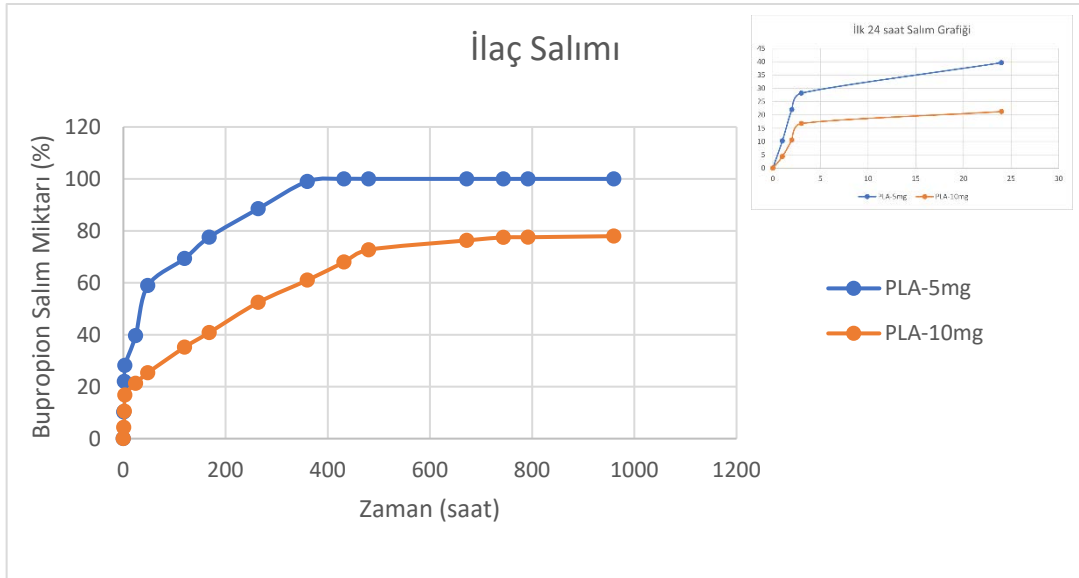
Şekil 4.31 5 mg Bupropion HCl yüklü PLA nanopartikülü salım grafiği

5 mg Bupropion HCl yüklü PLA nanopartikülünün salım grafiği Şekil 4.31’de verilmiştir. Bu grafiğe göre 24 saatin sonunda yüklü etken maddenin %39,63’ü salınmış ardından ilaç salımı aşamalı olarak yavaşlamış ve 15. günün sonunda yüklü etken maddenin tamamının salınmış olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.32 10 mg Bupropion HCl yüklü PLA nanopartikülü salım grafiği

10 mg Bupropion HCl yüklü PLA nanopartikülünün salım grafiği Şekil 4.32’de verilmiştir. Bu grafiğe göre 24 saatin sonunda yüklü etken maddenin %21,26’sı salınmış ardından ilaç salımı yavaşlamış ve etken maddenin %77,49’a kadar salınabildiği görülmüştür.



Şekil 4.33 Bupropion HCl yüklü PLA nanopartiküllerin salım grafiği

Farklı iki miktarda etken madde yüklü PLA nanopartikülü için salım grafikleri ortak olarak incelendiğinde 5mg Bupropion HCl yüklü nanopartiküller için salımın %100'e ulaştığı ancak 10 mg Bupropion HCl için salımın 20. günde %77 bandına ulaştığı ve salımın burada sonlandığı görülmektedir.

BÖLÜM 5

SONUÇLAR

5.1 Boş PLGA Nanopartikülü ve Boş PLA Nanopartikülü Karakterizasyonu Sonuçları

5.1.1 Boş PLGA ve Boş PLA Nanopartiküllerinin Boyut ve Zeta Potansiyel Ölçüm Sonuçları

Yapılan deneyler sonucunda boş PLA nanopartiküllerinin ortalama boyutlarının 249,9 nm ile 340,8 nm arasında, zeta potansiyellerinin ise -3,5 ile -2.08 arasında değiştiği görülmüştür. Boş PLGA nanopartikülleri için ise ortalama boyutların 191,7 nm ile 368,9 nm arasında değişen değerlerde olduğu ve zeta potansiyel değerlerinin -13,6 ile -12.51 arasında değişim gösterdiği tespit edilmiştir.

PLGA nanopartiküllerinin ortalama boyutlarının PLA nanopartiküllerinden daha küçük olması daha önceki literatür çalışmaları ile örtüşmektedir. Zeta potansiyel değerlerinin her iki nanopartikül için de değişen değerlerde ancak negatif ölçülmesi polimerden nanopartikül üretimi sürecinin başarılı bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir.

5.1.2 Boş PLGA ve Boş PLA Nanopartiküllerinin Reaksiyon Verimi Sonuçları

Yapılan deneyler sonucunda boş PLA nanopartikülü için verim %57,5 olarak hesaplanırken, boş PLGA nanopartikülü için verim oranı %21,2 olarak hesaplanmıştır. Aynı miktarda polimer kullanılmasına rağmen verim oranları arasındaki farkın fazla olmasının öncelikli sebebi, polimerlerin kimyasal yapılarının birbirinden farklı olmasıdır.

5.1.3 Boş PLGA ve Boş PLA Nanopartiküllerinin FT-IR Sonuçları

Moleküler görüntüleme için kullanılan FT-IR analizi sonuçlarına göre PLA polimeri ile PLA nanopartikülü ve PLGA polimeri ile PLGA nanopartikülü birebir eşleşmektedir. Polimerlerin nanopartiküller ile aynı FT-IR piklerini göstermesi polimerden nanopartikül sentezinin başarılı bir şekilde gerçekleştiğinin göstergesidir.

5.1.4 Boş PLGA ve Boş PLA Nanopartiküllerinin SEM Görüntüleme Sonuçları

Boş PLGA nanopartiküllerinin homojen bir dağılım göstermesi ve küresel yapıda olmasının yanı sıra boyutlarının Zeta-Sizer cihazı ile tespit edilen boyut aralığında olması nanopartikül üretiminin başarılı bir şekilde gerçekleştirildiğinin göstergesidir.

5.2 Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin Karakterizasyon Sonuçları

5.2.1 Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin Boyut ve Zeta Potansiyel Ölçüm Sonuçları

Yapılan deneyler sonucunda 5 mg Bupropion HCl yüklü PLA nanopartiküllerinin ortalama boyutlarının 262,9 nm ile 324,1 nm arasında değiştiği, 10 mg Bupropion HCl yüklü PLA nanopartiküllerinin ortalama boyutlarının ise 254,4 nm ile 275,6 nm arasında değiştiği görülmüştür. Zeta potansiyel değerleri ise 5 mg etken madde yüklü PLA için -3,22 ile -1,28 aralığında, 10 mg etken madde yüklü PLA için ise -2,68 ile -0,912 aralığındadır.

Aynı zamanda 5 mg Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartiküllerinin ortalama boyutlarının 261,1 nm ile 358,6 nm arasında değiştiği, 10 mg Bupropion HCl yüklü PLA nanopartiküllerinin ortalama boyutlarının ise 299,3 nm ile 370,9 nm arasında değiştiği tespit edilmiştir. 5 mg etken madde yüklü PLGA nanopartikülleri için zeta potansiyel değerleri -1,96 ile -0,95 arasında değişirken 10 mg etken madde yüklü PLGA nanopartikülleri için -1,56 ile -0,984 arasında değişim göstermektedir.

Yüklenen etken madde miktarı arttıkça nanopartiküllerin boyutlarının da büyüdüğü görülmüştür. Zeta potansiyel değerleri ise etken madde yüklemesinden sonra azalsa bile negatif değerlerde ölçülmüştür. Nanopartiküller pH'sı 9 olan PVA çözeltisi ile

hazırlanırken, karboksil grupları (PLGA'dan) ve hidroksil grupları (PVA'dan) nanopartikül yüzeyine yakın yerleşir ve yüksek zeta potansiyel değeri ölçülür. Ancak, PVA çözeltisinin pH değeri düştükçe (pH 7 civarında) zeta potansiyel değeri de düşerek sıfıra yaklaşır [152]. Buna göre, bizim çalışmamızda elde edilen zeta potansiyel değerleri literatürle uyumlu sonuçlar göstermiştir.

5.2.2 Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin Reaksiyon Verimi Sonuçları

Yapılan deneyler neticesinde farklı miktarlarda etken madde yüklü PLA nanopartiküllerinin reaksiyon veriminin PLGA nanopartiküllerine oranla çok daha yüksek olduğu hesaplanmıştır. Ayrıca 5 mg ve 10 mg etken madde yüklü PLA nanopartiküllerinde verim oranı arasında çok az miktarda bir fark görülmüştür. Aynı sonuç PLGA nanopartikülleri için de geçerlidir. Bu sonuçlar her iki polimerden de nanopartikül sentezi işleminin korelasyonunun yüksek olduğunun göstergesidir.

5.2.3 Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin Enkapsülasyon Etkinliği Sonuçları

PLA nanopartikülleri için yüklenen etken madde miktarı artışına paralel olarak enkapsülasyon etkinliğinde de bir artış gözlenirken, PLGA nanopartikülleri için yüklenen etken madde miktarı artışının aksine verimde bir azalma gözlemlenmiştir. Buradaki farkın yıkamalar sırasında oluşan hacim kayıplarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

5.2.4 Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin Yükleme Kapasitesi Sonuçları

Hem PLA hem de PLGA nanopartiküllerinde yüklenen etken madde miktarındaki artışa paralel olarak yükleme kapasitesinin de arttığı gözlemlenmiştir. Bu sonuç sentez aşamasında eklenen etken maddenin yüksek bir verimle nanopartiküllerin içerisine hapsedildiğinin göstergesidir.

5.2.5 Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin FT-IR Sonuçları

FT-IR analizi sonuçlarında boş PLA nanopartikülleri ile Bupropion HCl yüklü PLA nanopartikülleri aynı karakteristik pikleri göstermiştir. Aynı sonuç Bupropion HCl yüklü PLGA nanopartiküllerinde de gözlemlenmiştir. Bu sonuç PLGA ve PLA nanopartiküllerine etken madde enkapsülasyonunun başarılı bir şekilde sonuçlandığını göstermektedir.

5.2.6 Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin SEM Sonuçları

Bupropion HCl yüklü PLA ve PLGA nanopartiküllerinin çeşitli yakınlaştırma oranlarıyla çekilen SEM görüntülerinde, oldukça homojen bir dağılım, düzenli ve küresel partikül yapıları gözlemlenmiştir. Elde edilen partikül boyutları Zeta-Sizer ile ölçülen partikül boyutları ile uyumlu olup; yüklenen etken madde miktarındaki artışın partikül boyutunda da bir artışa sebep olduğu bu analiz ile de tespit edilmiştir. Bu sonuçlar nanopartikül üretiminin başarıyla gerçekleştirildiğine bir kanıttır.

5.2.7 Bupropion HCl Yüklü PLGA ve PLA Nanopartiküllerinin *In-Vitro* Salım Sonuçları

Salım oranlarının PLA nanopartikülü ile PLGA nanopartikülünde oldukça farklı olduğu gözlemlenmiştir. %100 oranında salımın gerçekleştiği; 5 mg etken madde yüklü PLA nanopartiküllerinde ilk günün sonundaki salım oranı %39,63 ve toplam salım süresi 15 gün iken PLGA nanopartiküllerinde ilk günün sonundaki salım oranı %19,56 ve toplam salım süresi 12 gündür. 10 mg etken madde yüklü PLGA nanopartikülleri 21.günde ilacın tamamını salarken; PLA nanopartiküllerinde salım 30.günde %77,49'a ulaşmış ve sonrasında salım gözlemlenmemiştir. 5 mg etken madde yüklü PLA nanopartiküllerinde ilk 24 saatteki salım oranı 10 mg etken madde yüklü PLA nanopartiküllerine kıyasla oldukça yüksektir.

TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Bupropion HCl; nikotin bağımlılığı tedavisinde en fazla tercih edilen ve oral yolla tablet formunda kullanılan atipik bir antidepresandır. Bupropion HCl kullanımdan yaklaşık 3 saat sonra kan plazmasında maksimum konsantrasyona ulaşmakta ve 48 saat içerisinde kandan temizlenerek vücuttan atılmaktadır. İlacın tavsiye edilen kullanımı; tedavinin ilk 3 gününde günde 2 kez, devam eden günlerde ise günde 1 kez şeklindedir. Tedavi yaklaşık olarak 3 ay sürmekte ve etkin bir sonuç alabilmek için hastaların tedavi boyunca her gün belirlenen miktarda ilacı aksatmadan kullanmaları gerekmektedir. Dozlama sıklığının azalması veya ilacın düzensiz kullanılması tedaviyi olumsuz etkilemekte bu sebeple de ilacın kandaki konsantrasyonunun belirlenen aralıkta sabit tutulması ciddi ölçüde önem arz etmektedir.

Bu tez çalışmasında; Bupropion HCl'in PLA ve PLGA nanopartiküllerine enkapsüle edilmesi ve akabinde *in-vitro* salım çalışmalarının gerçekleştirilerek her iki polimer için kontrollü salım profillerinin belirlenmesi ve birbiri ile kıyaslanması amaçlanmıştır. Bu amaca yönelik yürütülen çalışmanın genel sonuçları şu şekildedir:

- Boş PLA nanopartiküllerinin boyutlarının boş PLGA nanopartiküllerine oranla daha büyük olduğu saptanmış. Bunun sebebinin; laktik asit yoğunluğuna paralel olarak artan viskozite sonucunda organik fazın sulu faz içerisinde zayıf bir dağılım özelliği göstermesi olduğu düşünülmektedir.
- Boş PLA nanopartikülü için reaksiyon verimi %57,5 iken bu oran boş PLGA nanopartikülü için %21,2 olarak hesaplanmıştır. FT-IR analizinde polimerlere ait

karakteristik piklerin tamamı nanopartiküllerde de gözlemlenmiştir. SEM görüntüleri sonucunda partiküllerin oldukça homojen bir dağılım sergilediği, çok yüksek oranda küresel yapıda olduğu saptanmıştır. Tüm bu sonuçlar boş nanopartikül üretiminin başarılı bir şekilde gerçekleştirildiğinin kanıtıdır.

- Hem PLA hem de PLGA nanopartikülleri için; artan Bupropion HCl yükleme miktarına bağlı olarak partikül boyutunun da arttığı görülmüştür. Bu sonuç etken maddenin partiküllerin içerisine etkin şekilde yüklendiğinin bir göstergesidir.
- Bupropion HCl yüklü PLA nanopartiküllerinin reaksiyon verimi PLGA nanopartiküllerine kıyasla çok daha yüksek iken; yükleme kapasitesi ve enkapsülasyon etkinliğinin yakın değerlerde olduğu görülmüştür.
- Hem 10 mg etken madde yüklü PLA ve PLGA nanopartiküllerinde hem de 5 mg etken madde yüklü PLGA nanopartikülünde FT-IR analizinde etken maddeye ait herhangi bir karakteristik pike rastlanmaması ilacın başarılı bir şekilde nanopartiküllerce hapsedildiğini, yüzeyde enkapsüle olmamış ilaç kalıntılarının bulunmadığını göstermiştir. Ancak 5 mg etken madde yüklü PLA nanopartikülünün FT-IR analizinde etken maddeye ait karakteristik bir pik bölgesi tespit edilmiştir. Bu da az miktarda ilacın yüzeyde kaldığının bir göstergesi kabul edilmiştir.
- SEM analizinde partiküllerin homojen dağılımı ve küresel yapılarını koruduğu gözlemlenmiştir. Aynı zamanda SEM analizi ile tespit edilen ortama partikül boyutlarının, Zeta-Sizer ile ölçülen ortalama partikül boyutları ile uyumlu olduğu görülmüştür. Tüm bu sonuçlar nanopartiküllere etken madde enkapsülasyonunun başarılı bir şekilde gerçekleştirildiğinin kanıtıdır.
- Her iki nanopartikülden de Bupropion'un, literatürdeki diğer ilaç salım çalışmaları ile uyumlu bir şekilde, ilk 24 saat sonunda yüksek oranda salındığı ve salım oranının giderek azaldığı görülmüştür. 5 mg ve 10 mg etken madde yüklü PLGA nanopartiküllerinde salım 12. ve 21. gün sonunda %100'e ulaşmıştır. 5 mg etken madde yüklü PLA nanopartikülünde salım 15. gün sonunda %100'e ulaşırken 10 mg etken madde yüklü PLA nanopartikülünde salım 30.gün sonunda %77,49'a ulaşmıştır.

- 5 mg etken madde yüklü PLA nanopartikülünün ilk 24 saatlik dilimdeki salım oranının 10 mg etken madde yüklü PLA nanopartikülüne kıyasla oldukça yüksek olduğu görülmüştür. Bunun sebebi; 5 mg etken madde yüklü nanopartiküler sistemde yüzeyde kalan az miktardaki ilacın PBS tamponunda çok hızlı bir şekilde çözünmesidir.
- Deneysel bulgular PLA'nın PLGA'ya kıyasla daha uzun süreli bir salım profili sergilediğini göstermiştir. Bu farklılık; PLGA'nın bozunma hızının, yapısında bulunan glikolik asit sebebiyle PLA'dan daha yüksek olmasından kaynaklanmaktadır.
- Tüm bu bulgular ışığında; hem PLGA hem de PLA nanopartiküllerinin uzun süreli Bupropion HCl tedavisinde kontrollü salım sistemi olarak kullanılabileceği ancak PLA nanopartiküllerinin salım profilinin daha uzun süreli olması sebebiyle PLGA'ya kıyasla daha tercih edilir olabileceği düşünülmektedir.
- Bu tez çalışması ile üretilen Bupropion HCl yüklü PLA ve PLGA nanopartiküler taşıyıcı sistemlerin etkisinin hayvan deneyleri yapılarak detaylı incelenmesi ve ilaç konsantrasyonu ile salım miktarı arasındaki ilişkinin daha ayrıntılı ele alınması adına çok daha yüksek miktarda etken madde yüklü nanopartiküller ile salım çalışmalarının gerçekleştirilmesi önerilebilir.

KAYNAKLAR

- [1] Mnyusiwalla, A. Daar, A.S. ve Singer, P.A., (2003). "‘Mind the gap’: science and ethics in nanotechnology", *Nanotechnology*, 14: R9.
- [2] JE Hulla, S.S., AW Hayes, (2015). "Nanotechnology: History and future", *Human and Experimental Toxicology*, 34(12): 1318–1321
- [3] Tolochko, N., (2009). "History of nanotechnology", *Nanoscience and nanotechnology. Encyclopaedia of life Support Systems (EOLSS)*, Developed under the auspices of the UNESCO, SEolss Published, Oxford.
- [4] Fanfair, D. Desai, S. ve Kelty, C., "The Early History of Nanotechnology".
- [5] Özdoğan, E. Demir, A.G.A. ve Seventekin, N., (2006). "Nanoteknoloji Ve Tekstil Uygulamaları", *Tekstil ve Konfeksiyon*, 3: 2006.
- [6] Cientifica, "20th Asia Pacific Nanotechnology Congress", <https://nanotek.conferenceseries.com/>, 8 Ocak 2018.
- [7] Grubu, N.S., (2004). *Nanobilim ve Nanoteknoloji Stratejileri*, Ankara.
- [8] Karataş, F.Ö. ve Ülker, N., (2014). "Kimya öğrencilerinin nanobilim ve nanoteknoloji konularındaki bilgi düzeyleri", *Journal of Turkish Science Education*, 11: 103-118.
- [9] ErteknoMaterials, <http://www.enteknomaterials.com/nano-malzemeler>., 9 Ocak 2018.
- [10] Salata, O.V., (2004). "Applications of nanoparticles in biology and medicine", *Journal of nanobiotechnology*, 2: 3.
- [11] Emerich, D.F. ve Thanos, C.G., (2003). "Nanotechnology and medicine", *Expert Opinion on Biological Therapy*, 3: 655-663.
- [12] Soppimath, K.S. Aminabhavi, T.M. Kulkarni, A.R. ve Rudzinski, W.E., (2001). "Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices", *Journal of controlled release*, 70: 1-20.
- [13] Turco Liveri, V., (2006). "Controlled Synthesis of Nanoparticles in Microheterogeneous Systems", *Controlled Synthesis of Nanoparticles in*

Microheterogeneous Systems, by V. Turco Liveri, Vincenzo. 2006 XVII, 167 p. 0-387-26427-2. Berlin: Springer, 2006.: 0-387.

- [14] Gürmen, S. ve Ebin, B., (2008). "Nanopartiküller ve üretim yöntemleri-1", Metalurji Dergisi, 150: 31-38.
- [15] Mohanraj, V. ve Chen, Y., (2006). "Nanoparticles-a review", Tropical journal of pharmaceutical research, 5: 561-573.
- [16] Caban, S. Aytekin, E. Sahin, A. ve Capan, Y., (2014). "Nanosystems for drug delivery", Drug Delivery, 2: 2.
- [17] Bouwmeester, H. Dekkers, S. Noordam, M.Y. Hagens, W.I. Bulder, A.S. De Heer, C. Ten Voorde, S.E. Wijnhoven, S.W. Marvin, H.J. ve Sips, A.J., (2009). "Review of health safety aspects of nanotechnologies in food production", Regulatory toxicology and pharmacology, 53: 52-62.
- [18] Sanvicens, N. ve Marco, M.P., (2008). "Multifunctional nanoparticles–properties and prospects for their use in human medicine", Trends in biotechnology, 26: 425-433.
- [19] Zhang, L. Gu, F. Chan, J. Wang, A. Langer, R. ve Farokhzad, O., (2008). "Nanoparticles in medicine: therapeutic applications and developments", Clinical pharmacology & therapeutics, 83: 761-769.
- [20] Mahapatro, A. ve Singh, D.K., (2011). "Biodegradable nanoparticles are excellent vehicle for site directed in-vivo delivery of drugs and vaccines", Journal of nanobiotechnology, 9: 55.
- [21] Hans, M. ve Lowman, A., (2002). "Biodegradable nanoparticles for drug delivery and targeting", Current Opinion in Solid State and Materials Science, 6: 319-327.
- [22] Tunçay, M. ve Çalış, S., (1999). "İlaç taşıyıcı sistemlerde kullanılan biyoparçalanabilir sentetik ve doğal polimerler", FABAD Journal Pharmaceutical Sciences, 24: 109-123.
- [23] Labhasetwar, V. Song, C. ve Levy, R.J., (1997). "Nanoparticle drug delivery system for restenosis", Advanced Drug Delivery Reviews, 24: 63-85.
- [24] Heller, J. ve Domb, A.J., (2003). "Recent developments with biodegradable polymers", Advanced Drug Delivery Reviews, 55: 445-446.
- [25] Brannon-Peppas, L., (1995). "Recent advances on the use of biodegradable microparticles and nanoparticles in controlled drug delivery", International Journal of Pharmaceutics, 116: 1-9.
- [26] Lu, Y. ve Chen, S., (2004). "Micro and nano-fabrication of biodegradable polymers for drug delivery", Advanced Drug Delivery Reviews, 56: 1621-1633.
- [27] Gültekin, H.E. ve Değim, Z., (2013). "Biodegradable Polymeric Nanoparticles are effective Systems for Controlled Drug Delivery", FABAD J. Pharm. Sci, 38: 107-118.

- [28] Reis, C.P. Neufeld, R.J. Ribeiro, A.J. ve Veiga, F., (2006). "Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles", *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2: 8-21.
- [29] Quintanar-Guerrero, D. Allémann, E. Fessi, H. ve Doelker, E., (1998). "Preparation techniques and mechanisms of formation of biodegradable nanoparticles from preformed polymers", *Drug development and industrial pharmacy*, 24: 1113-1128.
- [30] Quintanar-Guerrero, D. Fessi, H. Doelker, E. ve Allemann, E., (1997). "Procede de preparation de nanocapsules de type vesiculate utilisable notamment comme vecteurs collo'idaux de principes actifs pharmaceutiques ou autres", *French Patent*, 97: 672.
- [31] Zhang, Y. Zhuang, X. Gu, W. ve Zhao, J., (2015). "Synthesis of polyacrylonitrile nanoparticles at high monomer concentrations by AIBN-initiated semi-continuous emulsion polymerization method", *European Polymer Journal*, 67: 57-65.
- [32] Puglisi, G. Fresta, M. Giammona, G. ve Ventura, C., (1995). "Influence of the preparation conditions on poly (ethylcyanoacrylate) nanocapsule formation", *International Journal of Pharmaceutics*, 125: 283-287.
- [33] Fàbregas, A. Miñarro, M. García-Montoya, E. Pérez-Lozano, P. Carrillo, C. Sarrate, R. Sánchez, N. Tico, J. ve Suñé-Negre, J., (2013). "Impact of physical parameters on particle size and reaction yield when using the ionic gelation method to obtain cationic polymeric chitosan–tripolyphosphate nanoparticles", *International Journal of Pharmaceutics*, 446: 199-204.
- [34] Almalik, A. Donno, R. Cadman, C.J. Cellesi, F. Day, P.J. ve Tirelli, N., (2013). "Hyaluronic acid-coated chitosan nanoparticles: molecular weight-dependent effects on morphology and hyaluronic acid presentation", *Journal of controlled release*, 172: 1142-1150.
- [35] Diop, M. Auberval, N. Viciglio, A. Langlois, A. Bietiger, W. Mura, C. Peronet, C. Bekel, A. David, D.J. ve Zhao, M., (2015). "Design, characterisation, and bioefficiency of insulin–chitosan nanoparticles after stabilisation by freeze-drying or cross-linking", *International Journal of Pharmaceutics*, 491: 402-408.
- [36] Astete, C.E. ve Sabliov, C.M., (2006). "Synthesis and characterization of PLGA nanoparticles", *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 17: 247-289.
- [37] Makadia, H.K. ve Siegel, S.J., (2011). "Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier", *Polymers*, 3: 1377.
- [38] Jain, R.A., (2000). "The manufacturing techniques of various drug loaded biodegradable poly (lactide-co-glycolide)(PLGA) devices", *Biomaterials*, 21: 2475-2490.
- [39] Mohamed, F. ve van der Walle, C.F., (2008). "Engineering biodegradable polyester particles with specific drug targeting and drug release properties", *Journal of pharmaceutical sciences*, 97: 71-87.

- [40] Allison, S.D., (2008). "Effect of structural relaxation on the preparation and drug release behavior of poly (lactic-co-glycolic) acid microparticle drug delivery systems", *Journal of pharmaceutical sciences*, 97: 2022-2035.
- [41] Uhrich, K.E. Cannizzaro, S.M. Langer, R.S. ve Shakesheff, K.M., (1999). "Polymeric systems for controlled drug release", *Chemical reviews*, 99: 3181-3198.
- [42] Wu, X.S. ve Wang, N., (2001). "Synthesis, characterization, biodegradation, and drug delivery application of biodegradable lactic/glycolic acid polymers. Part II: biodegradation", *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 12: 21-34.
- [43] Houchin, M. ve Topp, E., (2009). "Physical properties of PLGA films during polymer degradation", *Journal of applied polymer science*, 114: 2848-2854.
- [44] Siegel, S.J. Kahn, J.B. Metzger, K. Winey, K.I. Werner, K. ve Dan, N., (2006). "Effect of drug type on the degradation rate of PLGA matrices", *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, 64: 287-293.
- [45] Yang, Y.-Y. Chung, T.-S. ve Ng, N.P., (2001). "Morphology, drug distribution, and in vitro release profiles of biodegradable polymeric microspheres containing protein fabricated by double-emulsion solvent extraction/evaporation method", *Biomaterials*, 22: 231-241.
- [46] Bazile, D. Ropert, C. Huve, P. Verrecchia, T. Mariard, M. Frydman, A. Veillard, M. ve Spenlehauer, G., (1992). "Body distribution of fully biodegradable [14 C]-poly (lactic acid) nanoparticles coated with albumin after parenteral administration to rats", *Biomaterials*, 13: 1093-1102.
- [47] Esmaeili, F. Ghahremani, M.H. Esmaeili, B. Khoshayand, M.R. Atyabi, F. ve Dinarvand, R., (2008). "PLGA nanoparticles of different surface properties: preparation and evaluation of their body distribution", *International Journal of Pharmaceutics*, 349: 249-255.
- [48] Lunt, J., (1998). "Large-scale production, properties and commercial applications of polylactic acid polymers", *Polymer degradation and stability*, 59: 145-152.
- [49] Drumright, R.E. Gruber, P.R. ve Henton, D.E., (2000). "Polylactic acid technology", *Advanced materials*, 12: 1841-1846.
- [50] Datta, R. ve Henry, M., (2006). "Lactic acid: recent advances in products, processes and technologies—a review", *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 81: 1119-1129.
- [51] Mehta, R. Kumar, V. Bhunia, H. ve Upadhyay, S., (2005). "Synthesis of poly (lactic acid): a review", *Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews*, 45: 325-349.
- [52] Lipinsky, E. ve Sinclair, R., (1986). "Is lactic acid a commodity chemical", *Chemical Engineering Progress*, 82: 26-32.

- [53] Nampoothiri, K.M. Nair, N.R. ve John, R.P., (2010). "An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research", *Bioresource technology*, 101: 8493-8501.
- [54] Park, K. ve Xanthos, M., (2009). "A study on the degradation of polylactic acid in the presence of phosphonium ionic liquids", *Polymer degradation and stability*, 94: 834-844.
- [55] Ghorpade, V.M. Gennadios, A. ve Hanna, M.A., (2001). "Laboratory composting of extruded poly (lactic acid) sheets", *Bioresource technology*, 76: 57-61.
- [56] Tsuji, H., (2002). "Autocatalytic hydrolysis of amorphous-made polylactides: effects of L-lactide content, tacticity, and enantiomeric polymer blending", *Polymer*, 43: 1789-1796.
- [57] Tokiwa, Y. Konno, M. ve Nishida, H., (1999). "Isolation of silk degrading microorganisms and its poly (L-lactide) degradability", *Chemistry letters*, 28: 355-356.
- [58] Martin, R.T. Camargo, L.P. ve Miller, S.A., (2014). "Marine-degradable polylactic acid", *Green Chemistry*, 16: 1768-1773.
- [59] Lassalle, V. ve Ferreira, M.L., (2007). "PLA nano-and microparticles for drug delivery: an overview of the methods of preparation", *Macromolecular bioscience*, 7: 767-783.
- [60] Ike, O. Shimizu, Y. Wada, R. Hyon, S.-H. ve Ikada, Y., (1992). "Controlled cisplatin delivery system using poly (d, l-lactic acid)", *Biomaterials*, 13: 230-234.
- [61] Avgoustakis, K., (2004). "Pegylated poly (lactide) and poly (lactide-co-glycolide) nanoparticles: preparation, properties and possible applications in drug delivery", *Current drug delivery*, 1: 321-333.
- [62] Kumari, A. Yadav, S. ve Yadav, S., (2010). "Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 75: 1-18.
- [63] Mittal, G. Sahana, D. Bhardwaj, V. ve Kumar, M.R., (2007). "Estradiol loaded PLGA nanoparticles for oral administration: effect of polymer molecular weight and copolymer composition on release behavior in vitro and in vivo", *Journal of controlled release*, 119: 77-85.
- [64] Patel, T. Zhou, J. Piepmeier, J.M. ve Saltzman, W.M., (2012). "Polymeric nanoparticles for drug delivery to the central nervous system", *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64: 701-705.
- [65] Li, J. ve Sabliov, C., (2013). "PLA/PLGA nanoparticles for delivery of drugs across the blood-brain barrier", *Nanotechnology Reviews*, 2: 241-257.
- [66] Verma, A. ve Stellacci, F., (2010). "Effect of surface properties on nanoparticle–cell interactions", *Small*, 6: 12-21.
- [67] Alberts, B. Johnson, A. Lewis, J. Ra, M. ve Roberts, K., (2002). "Molecular Biology of the Cell. Garland Science Taylor & Francis Group", City.

- [68] Conner, S.D. ve Schmid, S.L., (2003). "Regulated portals of entry into the cell", *Nature*, 422: 37.
- [69] Shukla, R. Bansal, V. Chaudhary, M. Basu, A. Bhonde, R.R. ve Sastry, M., (2005). "Biocompatibility of gold nanoparticles and their endocytotic fate inside the cellular compartment: a microscopic overview", *Langmuir*, 21: 10644-10654.
- [70] Ramos Picos, D. Gómez Carril, M. ve Fernández Mena, D., (2001). "Métodos de obtención de microesferas biodegradables", *Revista Cubana de Farmacia*, 35: 126-135.
- [71] Jeffery, H. Davis, S. ve O'hagan, D., (1991). "The preparation and characterisation of poly (lactide-co-glycolide) microparticles. I: Oil-in-water emulsion solvent evaporation", *International Journal of Pharmaceutics*, 77: 169-175.
- [72] Kurrey, A. Kumaran Suresh, P. ve Rawat Singh, M., (2014). "Hollow microspheres as a drug carrier: An overview of fabrication and in vivo characterization techniques", *Chronicles of young scientists*, 5.
- [73] Giri, T.K. Choudhary, C. Alexander, A. Badwaik, H. ve Tripathi, D.K., (2013). "Prospects of pharmaceuticals and biopharmaceuticals loaded microparticles prepared by double emulsion technique for controlled delivery", *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21: 125-141.
- [74] Gao, H. Wang, Y. Fan, Y. ve Ma, J., (2005). "Synthesis of a biodegradable tadpole-shaped polymer via the coupling reaction of polylactide onto mono (6-(2-aminoethyl) amino-6-deoxy)- β -cyclodextrin and its properties as the new carrier of protein delivery system", *Journal of controlled release*, 107: 158-173.
- [75] Zambaux, M. Bonneaux, F. Gref, R. Dellacherie, E. ve Vigneron, C., (1999). Preparation and characterization of protein C-loaded PLA nanoparticles, eds. *Journal of controlled release*. 179-188.
- [76] Technology, S.F., "Interface Chemistry (Emulsification) Technology", <https://www.shiseidogroup.com/rd/development/formulation.html>, 10 Ocak 2018.
- [77] Putney, S.D. ve Burke, P.A., (1998). "Improving protein therapeutics with sustained-release formulations", *Nature biotechnology*, 16: 153-157.
- [78] Morita, T. Horikiri, Y. Suzuki, T. ve Yoshino, H., (2001). "Applicability of various amphiphilic polymers to the modification of protein release kinetics from biodegradable reservoir-type microspheres", *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, 51: 45-53.
- [79] Liu, G. Hong, X. Jiang, M. ve Yuan, W., (2012). "Sustained-release G-CSF microspheres using a novel solid-in-oil-in-oil-in-water emulsion method", *International journal of nanomedicine*, 7: 4559.
- [80] Fessi, H. Puisieux, F. Devissaguet, J.P. Ammoury, N. ve Benita, S., (1989). "Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement", *International Journal of Pharmaceutics*, 55: R1-R4.

- [81] Molpeceres, J. Guzman, M. Aberturas, M.R. Chacon, M. ve Berges, L., (1996). "Application of central composite designs to the preparation of polycaprolactone nanoparticles by solvent displacement", *Journal of pharmaceutical sciences*, 85: 206-213.
- [82] Chorny, M. Fishbein, I. Danenberg, H.D. ve Golomb, G., (2002). "Lipophilic drug loaded nanospheres prepared by nanoprecipitation: effect of formulation variables on size, drug recovery and release kinetics", *Journal of controlled release*, 83: 389-400.
- [83] Li, K. ve Liu, B., (2014). "Polymer-encapsulated organic nanoparticles for fluorescence and photoacoustic imaging", *Chemical Society Reviews*, 43: 6570-6597.
- [84] Tarhini, M. Greige-Gerges, H. ve Elaissari, A., (2017). "Protein-based nanoparticles: From preparation to encapsulation of active molecules", *International Journal of Pharmaceutics*, 522: 172-197.
- [85] Atkins, T. Peacock, S. ve Yates, D., (1998). Incorporation and release of vancomycin from poly (D, L-lactide-co-glycolide) microspheres, eds. *Journal of microencapsulation*. 31-44.
- [86] Vorbeck, C., "Spray drying: Perfect dosing thanks to drug capsules", <https://www.fraunhofer.de/en/press/research-news/2017/september/spray-drying--perfect-dosing-thanks-to-drug-capsules.html>, 10 Ocak 2018.
- [87] Mundargi, R.C. Babu, V.R. Rangaswamy, V. Patel, P. ve Aminabhavi, T.M., (2008). "Nano/micro technologies for delivering macromolecular therapeutics using poly (D, L-lactide-co-glycolide) and its derivatives", *Journal of controlled release*, 125: 193-209.
- [88] Ye, M. Kim, S. ve Park, K., (2010). "Issues in long-term protein delivery using biodegradable microparticles", *Journal of controlled release*, 146: 241-260.
- [89] Seyednejad, H. Ghassemi, A.H. van Nostrum, C.F. Vermonden, T. ve Hennink, W.E., (2011). "Functional aliphatic polyesters for biomedical and pharmaceutical applications", *Journal of controlled release*, 152: 168-176.
- [90] Luu, Y. Kim, K. Hsiao, B. Chu, B. ve Hadjiargyrou, M., (2003). "Development of a nanostructured DNA delivery scaffold via electrospinning of PLGA and PLA-PEG block copolymers", *Journal of controlled release*, 89: 341-353.
- [91] Laurencin, C.T. Attawia, M.A. Elgendy, H.E. ve Herbert, K.M., (1996). "Tissue engineered bone-regeneration using degradable polymers: the formation of mineralized matrices", *Bone*, 19: S93-S99.
- [92] Habraken, W. Wolke, J. ve Jansen, J., (2007). "Ceramic composites as matrices and scaffolds for drug delivery in tissue engineering", *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59: 234-248.
- [93] Navarro, M. Ginebra, M. Planell, J. Zeppetelli, S. ve Ambrosio, L., (2004). "Development and cell response of a new biodegradable composite scaffold for guided bone regeneration", *Journal of materials science: Materials in medicine*, 15: 419-422.

- [94] Niemelä, T. Niiranen, H. Kellomäki, M. ve Törmälä, P., (2005). "Self-reinforced composites of bioabsorbable polymer and bioactive glass with different bioactive glass contents. Part I: Initial mechanical properties and bioactivity", *Acta Biomaterialia*, 1: 235-242.
- [95] Prabha, S. Zhou, W.-Z. Panyam, J. ve Labhasetwar, V., (2002). "Size-dependency of nanoparticle-mediated gene transfection: studies with fractionated nanoparticles", *International Journal of Pharmaceutics*, 244: 105-115.
- [96] Roy, K. Mao, H.-Q. Huang, S.-K. ve Leong, K.W., (1999). "Oral gene delivery with chitosan–DNA nanoparticles generates immunologic protection in a murine model of peanut allergy", *Nature medicine*, 5: 387.
- [97] Prabha, S. ve Labhasetwar, V., (2004). "Critical determinants in PLGA/PLA nanoparticle-mediated gene expression", *Pharmaceutical research*, 21: 354-364.
- [98] Rexach, M. ve Blobel, G., (1995). "Protein import into nuclei: association and dissociation reactions involving transport substrate, transport factors, and nucleoporins", *Cell*, 83: 683-692.
- [99] Zhang, Y. Lim, C.T. Ramakrishna, S. ve Huang, Z.-M., (2005). "Recent development of polymer nanofibers for biomedical and biotechnological applications", *Journal of materials science: Materials in medicine*, 16: 933-946.
- [100] Zong, X. Kim, K. Fang, D. Ran, S. Hsiao, B.S. ve Chu, B., (2002). "Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes", *Polymer*, 43: 4403-4412.
- [101] Barbe, C. Bartlett, J. Kong, L. Finnie, K. Lin, H.Q. Larkin, M. Calleja, S. Bush, A. ve Calleja, G., (2004). "Silica particles: a novel drug-delivery system", *Advanced materials*, 16: 1959-1966.
- [102] Park, K., (1997). *Controlled drug delivery: challenges and strategies*: Amer Chemical Society.
- [103] Sahoo, S.K. ve Labhasetwar, V., (2003). "Nanotech approaches to drug delivery and imaging", *Drug discovery today*, 8: 1112-1120.
- [104] Bae, Y. Fukushima, S. Harada, A. ve Kataoka, K., (2003). "Design of environment-sensitive supramolecular assemblies for intracellular drug delivery: Polymeric micelles that are responsive to intracellular pH change", *Angewandte Chemie International Edition*, 42: 4640-4643.
- [105] Brannon-Peppas, L. Birnbaum, D.T. ve Kosmala, J.D., (1997). "Polymers in controlled release", *Polymer news*, 22: 316-317.
- [106] Martini, A. ve Ciocca, C., (2003). "Drug delivery systems for cancer drugs", *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 13: 1801-1807.
- [107] Kataoka, K. Harada, A. ve Nagasaki, Y., (2001). "Block copolymer micelles for drug delivery: design, characterization and biological significance", *Advanced Drug Delivery Reviews*, 47: 113-131.

- [108] Couvreur, P. Dubernet, C. ve Puisieux, F., (1995). "Controlled drug delivery with nanoparticles: current possibilities and future trends", *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, 41: 2-13.
- [109] Abu-Rmaileh, R. Attwood, D. ve D Emanuele, A., (2003). "Dendrimers in cancer therapy", *Drug Delivery Systems and Sciences*, 3: 65-70.
- [110] Rangasamy, M. ve Parthiban, K.G., (2010). "Recent advances in novel drug delivery systems", *IJRAP*, 1: 316-326.
- [111] Dufresne, R.L. Weber, S.S. ve Becker, R.E., (1984). "Bupropion hydrochloride", *Drug intelligence & clinical pharmacy*, 18: 957-964.
- [112] Geneva, W.H.O., (2000). *Drug Information: International Nonproprietary Names for Pharmaceutical Substances List 83* 2.
- [113] Gilman, A.G., (1985). "Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics".
- [114] Brittain, H.G., (2013). *Profiles of drug substances, excipients, and related methodology*: Academic Press.
- [115] DrugBank, "Bupropion-DrugBank", <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01156>. 12 Ocak 2018.
- [116] Perrine, D.M. Ross, J.T. Nervi, S.J. ve Zimmerman, R.H., (2000). "A short, one-pot synthesis of bupropion (Zyban, Wellbutrin)", *Journal of Chemical Education*, 77: 1479.
- [117] Ascher, J. Cole, J. Colin, J. Feighner, J. Ferris, R. Fibiger, H. Golden, R. Martin, P. Potter, W. ve Richelson, E., (1995). "Bupropion: a review of its mechanism of antidepressant activity", *The Journal of clinical psychiatry*, 56: 395.
- [118] Ferris, R. ve Beaman, O., (1983). "Bupropion: a new antidepressant drug, the mechanism of action of which is not associated with down-regulation of postsynaptic β -adrenergic, serotonergic (5-HT₂), α 2-adrenergic, imipramine and dopaminergic receptors in brain", *Neuropharmacology*, 22: 1257-1267.
- [119] Morton, I. ve Hall, J.M., (2012). *Concise dictionary of pharmacological agents: properties and synonyms*: Springer Science & Business Media.
- [120] Fava, M. Rush, A.J. Thase, M.E. Clayton, A. Stahl, S.M. Pradko, J.F. ve Johnston, J.A., (2005). "15 years of clinical experience with bupropion HCl: from bupropion to bupropion SR to bupropion XL", *Primary care companion to the Journal of clinical psychiatry*, 7: 106.
- [121] PubMedHealth, "Bupropion (By mouth)", <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmedhealth/PMHT0009361/?report=details>. 12 Ocak 2018.
- [122] Elkashef, A.M. Rawson, R.A. Anderson, A.L. Li, S.-H. Holmes, T. Smith, E.V. Chiang, N. Kahn, R. Vocci, F. ve Ling, W., (2008). "Bupropion for the treatment of methamphetamine dependence", *Neuropsychopharmacology*, 33: 1162-1170.

- [123] Carroll, F.I. Blough, B.E. Abraham, P. Mills, A.C. Holleman, J.A. Wolckenhauer, S.A. Decker, A.M. Landavazo, A. McElroy, K.T. ve Navarro, H.A., (2009). "Synthesis and biological evaluation of bupropion analogues as potential pharmacotherapies for cocaine addiction", *Journal of medicinal chemistry*, 52: 6768-6781.
- [124] Solhkhah, R. Wilens, T.E. Daly, J. Prince, J.B. Patten, S.L.V. ve Biederman, J., (2005). "Bupropion SR for the treatment of substance-abusing outpatient adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder and mood disorders", *Journal of Child & Adolescent Psychopharmacology*, 15: 777-786.
- [125] Nutt, D. Demyttenaere, K. Janka, Z. Aarre, T. Bourin, M. Canonico, P.L. Carrasco, J.L. ve Stahl, S., (2007). "The other face of depression, reduced positive affect: the role of catecholamines in causation and cure", *Journal of Psychopharmacology*, 21: 461-471.
- [126] Levin, F.R. Evans, S.M. McDowell, D.M. Brooks, D.J. ve Nunes, E., (2002). "Bupropion treatment for cocaine abuse and adult attention-deficit/hyperactivity disorder", *Journal of Addictive Diseases*, 21: 1-16.
- [127] Erfurth, A. Michael, N. Stadtland, C. ve Arolt, V., (2002). "Bupropion as add-on strategy in difficult-to-treat bipolar depressive patients", *Neuropsychobiology*, 45: 33-36.
- [128] Wilkes, S., (2008). "The use of bupropion SR in cigarette smoking cessation", *International journal of chronic obstructive pulmonary disease*, 3: 45.
- [129] Hayford, K.E. Patten, C.A. Rummans, T.A. Schroeder, D.R. Offord, K.P. Croghan, I.T. Glover, E.D. Sachs, D.P. ve Hurt, R.D., (1999). "Efficacy of bupropion for smoking cessation in smokers with a former history of major depression or alcoholism*", *The British Journal of Psychiatry*, 174: 173-178.
- [130] Slemmer, J.E. Martin, B.R. ve Damaj, M.I., (2000). "Bupropion is a nicotinic antagonist", *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 295: 321-327.
- [131] Mewis, J. ve Wagner, N.J., (2012). *Colloidal suspension rheology*: Cambridge University Press.
- [132] El Hadji Mamour Sakho, E.A. ve Oluwafemi, O.S., (2017). "Dynamic Light Scattering (DLS)", *Thermal and Rheological Measurement Techniques for Nanomaterials Characterization*, 3: 37.
- [133] Derman Acar, S., (2012). Canine parvovirus'e ait antijenik özellikli sentetik peptidlerin sentezi ve biyokonjugatlarının geliştirilmesi, ed^eds.: YTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [134] Perkampus, H.-H., (2013). *UV-VIS Spectroscopy and Its Applications*: Springer Science & Business Media.
- [135] Çimen, N.S., (2006). Proteinlerin poliakrilik asit ile suda çözünmyen kompleksleri, YTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü.

- [136] Kidder, L.H. Colarusso, P. Stewart, S.A. Levin, I.W. Appel, N.M. Lester, D.S. Pentchev, P.G. ve Lewis, E.N., (1999). "Infrared spectroscopic imaging of the biochemical modifications induced in the cerebellum of the Niemann-Pick type C mouse", *Journal of Biomedical Optics*, 4: 7-14.
- [137] Kang, G.-S. Ko, H.-J. Choi, C.-K. ve Chang, C.S., (2003). "Chemical bond structure of aC: F films with a low dielectric constant deposited by using CH₄/CF₄ ICPCVD", *Journal of the Korean Physical Society*, 42: 676-681.
- [138] Hofman, M. Pasieczna, S. Wachowski, L. ve Ryczkowski, J., (2006). "Speciation of functional groups formed on the surface of carbonaceous materials modified by NO": *EDP sciences*.
- [139] Goldstein, J., (2012). *Practical scanning electron microscopy: electron and ion microprobe analysis*: Springer Science & Business Media.
- [140] Sutton, M. Li, N. Joy, D. Reynolds, A. ve Li, X., (2007). "Scanning Electron Microscopy for Quantitative Small and Large Deformation Measurements Part I: SEM Imaging at Magnifications from 200 to 10,000", *Experimental Mechanics*, 47: 775-787.
- [141] Derman, S. Kizilbey, K. ve Akdeste, Z.M., (2013). "Polymeric nanoparticles", *Sigma*, 31: 107-120.
- [142] Zambaux, M. Bonneaux, F. Gref, R. Maincent, P. Dellacherie, E. Alonso, M. Labrude, P. ve Vigneron, C., (1998). "Influence of experimental parameters on the characteristics of poly (lactic acid) nanoparticles prepared by a double emulsion method", *Journal of controlled release*, 50: 31-40.
- [143] Pal, S. Jana, U. Mohanta, G. ve Manna, P., (2013). "Antihypertensive drug loaded PLGA nanoparticles: Impact of formulation variables on particle size distribution", *Der Pharmacia Sinica*, 4: 40-46.
- [144] Wagh, V.D. ve Apar, D.U., (2014). "Cyclosporine a loaded PLGA nanoparticles for dry eye disease: in vitro characterization studies", *Journal of Nanotechnology*, 2014.
- [145] Legrand, P. Lesieur, S. Bochot, A. Gref, R. Raatjes, W. Barratt, G. ve Vauthier, C., (2007). "Influence of polymer behaviour in organic solution on the production of polylactide nanoparticles by nanoprecipitation", *International Journal of Pharmaceutics*, 344: 33-43.
- [146] Chieng, B.W. Azowa, I.N. Zin, W.M. Yunus, W. ve Hussein, M.Z., (2014). "Effects of Graphene Nanoplatelets on Poly (Lactic Acid)/Poly (Ethylene Glycol) Polymer Nanocomposites": *Trans Tech Publ*.
- [147] Erbetta, C.D.A.C. Alves, R.J. Resende, J.M. de Souza Freitas, R.F. ve de Sousa, R.G., (2012). "Synthesis and characterization of poly (D, L-lactide-co-glycolide) copolymer", *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 3: 208.
- [148] Almeida, N.M.G. Lima, R. Alves, T.F.R. Rebelo, M.d.A. Severino, P. ve Chaud, M.V., (2015). "A novel dosage form for buccal administration of bupropion", *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 51: 91-100.

- [149] Kumar, V. ve McGuffy, K.S., (2001). Methods and formulations for making bupropion hydrochloride tablets using direct compression, Google Patents.
- [150] Hou, Z. Wei, H. Wang, Q. Sun, Q. Zhou, C. Zhan, C. Tang, X. ve Zhang, Q., (2009). "New method to prepare mitomycin C loaded PLA-nanoparticles with high drug entrapment efficiency", *Nanoscale research letters*, 4: 732.
- [151] Budhian, A. Siegel, S.J. ve Winey, K.I., (2007). "Haloperidol-loaded PLGA nanoparticles: systematic study of particle size and drug content", *International Journal of Pharmaceutics*, 336: 367-375.
- [152] Feng, S.-s. ve Huang, G., (2001). "Effects of emulsifiers on the controlled release of paclitaxel (Taxol®) from nanospheres of biodegradable polymers", *Journal of controlled release*, 71: 53-69.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Aslı KARAÇELİK
Doğum Tarihi ve Yeri : 17.03.1992 / Malatya
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : aslikaracelikk@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Biyomühendislik	Yıldız Teknik Üniversitesi	2018
Lisans	Biyomühendislik	Yıldız Teknik Üniversitesi	2016
Lise	Sayısal	Malatya Fen Lisesi	2010

İŞ TECRÜBESİ

Yıl	Firma/Kurum	Görevi
2015	Bilim İlaç	Stajyer
2014	İnönü Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi	Stajyer

YAYINLARI

Bildiri

1. Karacelik, A., Maharramov, A., Hasanova, U., Ramazanov, B., Hasanova, I., Huseynzada, A., Aliyev, A., Imamgulyeva, L., Imanzade, G., (2017). " Synthesis of supramolecular ensembles on the basis of nano layers of graphene oxide", 6th Rostocker International Conference: "Thermophysical Properties for Technical Thermodynamics", 17-18 July 2017, Rostock, GERMANY
2. Karacelik, A., Arayıcı Pelit, P., Yücel, S., Derman, S., Akdeste, Z., Sahin, Y.M., (2017). "Sigara Bırakma Tedavisine Yönelik Etken Madde Yüklü PLGA Nanopartiküllerinin Hazırlanması Ve Karakterizasyonu", 4. Biyomalzeme Günleri, 19-20 Ekim 2017 Yalova, TÜRKİYE