

**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI
2012-YL-022**

**ALJİNAT/KİTOSAN NANOPARTİKÜLLERİN
TAMOKSİFEN SALIMINDA KULLANILMASININ
ARAŞTIRILMASI**

Çağdaş SUNNA

**Tez Danışmanı:
Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER**

AYDIN

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE
AYDIN

Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Çağdaş SUNNA tarafından hazırlanan “Aljinat/kitosan nanopartiküllerin tamoksifen salımında kullanılmasının araştırılması” başlıklı tez 19.07.2012 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

	Ünvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan	: Prof. Dr. Mustafa BİRİNCİOĞLU	ADÜ
Üye	: Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER	ADÜ
Üye	: Yrd. Doç. Dr. Deniz Aktaş UYGUN	ADÜ

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim KurulununSayılı kararıyla tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Cengiz ÖZARSLAN
Enstitü Müdürü

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

AYDIN

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

25/06/2012

Çağdaş SUNNA

ÖZET

ALJİNAT/KİTOSAN NANOPARTİKÜLLERİN TAMOKSİFEN SALIMINDA KULLANILMASININ ARAŞTIRILMASI

Çağdaş SUNNA

Yüksek Lisans Tezi, Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER

2012, 82 sayfa

Bu çalışmada aljinat/kitosan nanopartiküllere tamoksifen yüklenerek kontrollü ilaç salım sistemi olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. Nanopartiküllerin hazırlanması için optimum koşullar saptanmış ve üretilen nanopartiküllerin fourier transform infrared spektroskopisi (FTIR), atomik kuvvet mikroskobu (AFM) ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile karakterizasyonu yapılmıştır. FTIR sonuçlarına göre tamoksifen polimer içinde kimyasal bağlanma olmaksızın tutulmaktadır. AFM ve SEM görüntülerinden ise nanopartiküllerin 50-800 nm boyutlarında olduğu saptanmıştır. Tamoksifen yüklü nanopartiküllerin üretiminin sıcaklığa bağımlılığı incelenmiş ve 25 °C'ye kadar olan sıcaklıklarda üretilen nanopartiküllerdeki tamoksifen tutuklanmasının maksimum olduğu daha yüksek sıcaklıklarda tamoksifenin daha düşük oranlarda tutulduğu tespit edilmiştir. Taklit edilmiş mide ve ince bağırsak ortamlarında nanopartiküllerden tamoksifenin salımı incelendiğinde mide ortamında 5 saat sonundaki salımın en fazla % 8 olduğu buna karşılık ince bağırsak ortamındaki salımın % 92 civarında olduğu saptanmıştır. Sonuçlar, tamoksifen yüklü aljinat/kitosan nanopartiküllerin kontrollü ilaç salım sistemi olarak kullanılabilirliğini göstermekte olup, bu çalışma son yıllarda oldukça önemli bir araştırma alanı olan kontrollü ilaç salımı üretimine katkı yapacak bir çalışma niteliğindedir.

Anahtar sözcükler: Tamoksifen, aljinat, kitosan, nanopartikül, ilaç salımı.

ABSTRACT**INVESTIGATION OF THE UTILIZATION OF ALGINATE/CHITOSAN
NANOPARTICLES FOR TAMOXIFEN DELIVERY**

Çağdaş SUNNA

M. Sc. Thesis, Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER

2012, 82 pages

In this work, usability of tamoxifen loaded alginate/chitosan nanoparticles as drug release system was investigated. Optimum conditions for the preparation of nanoparticles were determined and nanoparticles were characterized using fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), atomic force microscopy (AFM) and scanning electron microscopy (SEM). FTIR results revealed that tamoxifen immobilization in polymer matrix did not involve any chemical bonds. According to AFM and SEM images the size of the nanoparticles varied from 50 to 800 nm. Temperature dependence of tamoxifen loaded nanoparticle production was investigated and it was found that nanoparticles showed maximum tamoxifen immobilization up to 25 °C whereas the immobilization declined at higher temperatures. Tamoxifen release from nanoparticles in simulated stomach and small intestine media were investigated and it was found that after 5 hours only 8 % of the immobilized drug was released in stomach medium whereas 92 % of the drug was released in small intestines. Results reveal that tamoxifen loaded alginate/chitosan nanoparticles can be used as controlled drug release system and this study has the potential to contribute to the field of controlled drug release system production.

Key words: Tamoxifen, alginate, chitosan, nanoparticle, drug release.

ÖNSÖZ

“Aljinat/kitosan nanopartiküllerin tamoksifen salımında kullanılmasının araştırılması” konulu çalışma Adnan Menderes Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Biyokimya Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Başta çalışmanın planlanması ve yürütülmesinde her türlü maddi ve manevi desteğini esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER’e teşekkürü borç bilirim.

Laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan değerli hocalarım, Doç. Dr. Deniz AKTAŞ UYGUN’a ve Arş. Gör. Murat UYGUN’a teşekkür ederim.

Tezimin deney ve yazım aşamalarında bilgi ve tavsiyeleriyle bana yol gösteren değerli arkadaşım Arş. Gör. Rukiye YAVAŞER’e gönülden teşekkür ederim.

Ayrıca bu çalışmaya FEF- 11021 No’lu Bilimsel Araştırma Projesi olarak maddi destek sağlayan Adnan Menderes Üniversitesi Rektörlüğü’ne ve olanaklarından yararlandığım Kimya Bölümü’ne teşekkür ederim.

Son olarak her zaman karşılıksız sevgi ve desteklerini hiç eksik etmeyen aileme sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Çağdaş SUNNA

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	iii
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI	v
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
ÖNSÖZ.....	xi
SİMGELER DİZİNİ.....	xv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xix
1. GİRİŞ	1
1.1. İlaç Nedir?.....	1
1.2. İlaç İletimi	2
1.3. Tamoksifen.....	3
1.3.1. Östrojenlerin Önemi.....	5
1.3.2. Meme Kanseri	8
1.3.3. Tamoksifenin Etki Mekanizması	9
1.3.4. Tamoksifenin Türevleri.....	13
1.4. İlaç Salım Sistemleri	15
1.4.1. Oral İlaç Salım Sistemleri	15
1.4.2. Transdermal İlaç Salım Sistemleri	17
1.4.3. İntravenöz İlaç Salım Sistemleri	18
1.4.4. İntranazal İlaç Salım Sistemleri	19
1.4.5. Oküler İlaç Salım Sistemleri	20
1.4.6. Diğer İlaç Salım Sistemleri	21
1.4.6.1. Ağız İçi İlaç Salım Sistemleri	21
1.4.6.2. Rektal İlaç Salım Sistemleri.....	21
1.4.6.3. İntravajinal İlaç Salım Sistemleri.....	22
1.4.6.4. İntrauterin İlaç Salım Sistemleri	23
1.5. İlaç Salımında Doğal Polimerlerin Önemi	23
1.5.1. İlaç Salımında Kullanılan Biyopolimerler	25
1.5.1.1. Kitosan	25
1.5.1.2. Aljinat.....	27
1.5.1.3. Selüloz Türevleri.....	28
1.5.1.4. Pektin	29
1.5.1.5. Dekstran	30
1.5.1.6. Nişasta.....	30

1.5.1.7. Jelatin.....	32
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	33
2.1. İlaç Salım Sistemleri.....	33
2.2. Aljinat ve Kitosanın İlaç Salım Sistemlerinde Kullanımı	37
2.3. Tamoksifen Salım Sistemleri.....	41
2.4. Aljinat ve Kitosanın Tamoksifen Salım Sistemlerinde Kullanımı	45
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	47
3.1. Kimyasal ve Cihazlar	47
3.2. Yöntem	47
3.2.1. Tamoksifen Çalışma Grafiğinin Hazırlanması	47
3.2.2. Boş Aljinat/Kitosan Nanopartiküllerin Hazırlanması.....	48
3.2.3. Tamoksifen Yüklü Aljinat/Kitosan Nanopartiküllerin Hazırlanması	49
3.2.4. Aljinat/Kitosan Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	50
3.2.4.1. Fourier Transform Infrared Spektroskopi (FTIR) Ölçümleri	50
3.2.4.2. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Ölçümleri	51
3.2.4.3. Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) Ölçümleri	51
3.2.5. Nanopartiküller İçin Kütle/Hacim Grafiğinin Hazırlanması	51
3.2.6. Tamoksifen Yükleme Kapasitesinin Belirlenmesi	52
3.2.7. Tamoksifen Yükleme Kapasitesine Sıcaklığın Etkisi.....	52
3.2.8. Tamoksifen Salımına pH'ın Etkisinin İncelenmesi.....	52
3.2.8.1. Tamoksifenin <i>in vitro</i> Mide Ortamında Salımının İncelenmesi	52
3.2.8.2. Tamoksifenin <i>in vitro</i> İnce Bağırsak Ortamında Salımının İncelenmesi .	53
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	55
4.1. Tamoksifen İçin Çalışma Grafiği	55
4.2. Boş ve Tamoksifen Yüklü Aljinat/Kitosan Nanopartiküller	57
4.3. Tamoksifen Yükleme Kapasitesi.....	61
4.4. Tamoksifen Yükleme Kapasitesine Sıcaklığın Etkisi.....	63
4.5. Tamoksifen Salımına pH'ın Etkisi	64
4.5.1. Tamoksifenin <i>in vitro</i> Mide Ortamında Salımı	65
4.5.2. Tamoksifenin <i>in vitro</i> İnce Bağırsak Ortamında Salımı.....	69
5. SONUÇ	73
KAYNAKLAR.....	75
ÖZGEÇMİŞ.....	81

SİMGELER DİZİNİ

A549	İnsan alveol epiteli kanser hücreleri
AFM	Atomik kuvvet mikroskobu
ATDs	Antitüberküloz ilaçları
BSA	Sığır serum albümini
DES	Dietilstilbestrol
DMAB	Didodesilmetilammonyum
DMF	Dimetilformamid
DMSO	Dimetilsülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
PBS	Fosfat tamponu tuzu
ER	Östrojen reseptörü
ER+	Östrojen reseptör pozitif
ER _α	Östrojen reseptör alfa
ER _β	Östrojen reseptör beta
FDA	Food and Drug Administration
FTIR	Fourier Transform İnfrared Spektroskopisi
GC	Gaz kromatografisi
GPR30	Östrojen G protein reseptörü
HBsAg	Hepatit B virüsü yüzey antijeni
HeLa	İnsan rahim ağzı kanser hücreleri
HER2	İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü
HPLC	Yüksek performans sıvı kromatografisi
LMWP	Düşük molekül ağırlıklı protamin

MCF-7	Michigan Cancer Foundation – 7 insan meme kanseri hücreleri
MS	Kütle spektroskopisi
NAT	Natomycin
N-TMC	N,N,N-trimetil kitosan
PLG	Poli-laktik-co-glikolik
PLGA	Poli(laktik-co-glikolik asit)
PR	Progesteron reseptörü
PTX	Paclitaxel
SDS	Sodyum dodesil sülfat
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
SLN	Katı lipit nanopartiküller
SNEDDS	Self nanoemülsifiye ilaç salım sistemleri
SNES	Self nanoemülsifiye sistem
TEM	Geçirimli elektron mikroskobu
TLC	İnce tabaka kromatografisi
TMX	Tamoksifen

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Östrojenlerin Sentez Mekanizması	7
Şekil 1.2 Tamoksifenin Üç Boyutlu Yapısı	8
Şekil 1.3. Östrojen Reseptör Alfa (ER _α)'nın üç boyutlu şematik gösterimi.....	11
Şekil 1.4. Östrojen Reseptör Beta (ER _β)'nın üç boyutlu şematik gösterimi	12
Şekil 3.1. Boş aljinat/kitosan nanopartikül oluşturma işlemi.....	49
Şekil 3.2. Aljinat/kitosan nanopartiküllerer TMX yükleme işlemi.....	50
Şekil 3.3. <i>İn vitro</i> mide ortamında gerçekleştirilen, nanopartiküllerden TMX salım denemesi	53
Şekil 3.4. <i>İn vitro</i> ince bağırsak ortamında gerçekleştirilen, nanopartiküllerden tamoksifen salım denemesi.....	54
Şekil 4.1. Tamoksifen sitrat çözeltisinin (0,01 mg/mL) UV-Vis. bölgedeki absorpsiyon spektrumu.	55
Şekil 4.2. Altı ay buzdolabında +4 °C'de ışık görmeyecek şekilde saklanmış tamoksifen sitrat çözeltisinin (0,01 mg/mL) UV-Vis. bölgedeki absorpsiyon spektrumu.	56
Şekil 4.3. Tamoksifen sitrat ile hazırlanan çalışma grafiği	57
Şekil 4.4. Tamoksifen içermeyen (boş) nanopartiküllerin FTIR spektrumu.....	58
Şekil 4.5. Tamoksifen yüklü aljinat/kitosan nanopartiküllerin FTIR spektrumu...58	
Şekil 4.6. Boş aljinat/kitosan nanopartiküllerin AFM ile çekilmiş fotoğrafı	59
Şekil 4.7. Tamoksifen yüklü aljinat/kitosan nanopartiküllerin AFM ile çekilmiş fotoğrafı	59
Şekil 4.8. Boş aljinat/kitosan nanopartiküllerin SEM ile çekilmiş fotoğrafı.....	60
Şekil 4.9. Tamoksifen yüklü aljinat/kitosan nanopartiküllerin SEM ile çekilmiş fotoğrafı	60
Şekil 4.10. Boş nanopartiküller kullanılarak hazırlanan kütle/hacim grafiği	61
Şekil 4.11. Aljinat/kitosan nanopartiküllere tamoksifen yükleme kapasitesi.....	62
Şekil 4.12. Sıcaklığa bağlı olarak mg nanopartikül başına yüklenen tamoksifen miktarı.....	64
Şekil 4.13. Aljinat/kitosan nanopartiküllerden pH 1,5 ortamında zamana karşı salınan tamoksifen	66

Şekil 4.14. Aljinat/kitosan nanopartiküllerden pH 3 ortamında zamana karşı salınan tamoksifen.....	66
Şekil 4.15. Aljinat/kitosan nanopartiküllerden pH 6,8 ortamında zamana karşı salınan tamoksifen.....	70
Şekil 4.16. Aljinat/kitosan nanopartiküllerden pH 7,4 ortamında zamana karşı salınan tamoksifen.....	70

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Piyasadaki bazı tamoksifen tabletlerin içerikleri	5
Çizelge 4.1. İnsan gastrointestinal yolundaki sıvıların pH değerleri	65
Çizelge 4.2. Aljinat/kitosan nanopartiküllerden pH 1,5 ortamında zamana bağlı yüzde tamoksifen salımı	67
Çizelge 4.3. Aljinat/kitosan nanopartiküllerden pH 3,0 ortamında zamana bağlı yüzde tamoksifen salımı	68
Çizelge 4.4. Aljinat/kitosan nanopartiküllerden pH 6,8 ortamında zamana bağlı yüzde tamoksifen salımı	71
Çizelge 4.5. Aljinat/kitosan nanopartiküllerden pH 7,4 ortamında zamana bağlı yüzde tamoksifen salımı	72

1. GİRİŞ

1.1. İlaç Nedir?

İlaç, canlı hücre üzerinde meydana getirdiği etki ile bir hastalığın teşhisini, iyileştirilmesi veya semptomlarının azaltılması amacıyla tedavisini veya bu hastalıktan korunmayı mümkün kılan, canlılara değişik uygulama yöntemleri ile verilen doğal, yarı sentetik veya sentetik kimyasal preparatlardır. İlaçlar, eski tarihlerde tesadüf eseri ve deneme yanılma yöntemleriyle ortaya çıkmış ve bilimin gelişmesi ile birlikte etkisi kanıtlanmış ilaçlar geliştirilmiştir. Günümüzde neredeyse tüm hastalıkların tedavisinde ilaçlara başvurulmaktadır (Saad vd., 2005).

İlaçların kökeni tarih öncesine dayanmaktadır. Bitkilerin hastalıkların tedavisinde kullanımı bilinen en eski ilaç uygulamalarındandır. Şamanizm ve büyücülükten gelen, bitkilerin kaynatılması veya yakılmasıyla elde edilen iksir, tütsü ve solüsyonlar hastalıkları tedavi etmek amacıyla kullanılmıştır.

Milattan önce 1800 yılında yazılmış bilinen en eski tıp metni olan Kahun Tıp Papirus'ünde enfeksiyonların tedavisinde bal kullanımından bahsedilmiştir. Milattan önce 2000'li yıllarda Babil'de kremler ve haplar tedavi amaçlı kullanılmıştır. Yine milattan önce 2000'li yıllarda Hinduizm'in kutsal metni olan Atharvaveda'da hastalıklarla mücadelede kullanılan bitki temelli uygulamalardan bahsedilmiştir. Orta çağda afyon ve kinin cerrahi uygulamalarda antiseptik ve anestetik olarak kullanılmıştır. Modern tıbbın babası olarak nitelendirilen İbn-i Sina 1025 yılında kendi hekimlik deneyimlerine, orta çağ İslam tıbbına, antik Arap ve Pers tıp geleneklerine dayanarak yazdığı Tıbbın Kanunu adlı 8 ciltlik tıp ansiklopedisinde 800 denenmiş ilaç bildirmiştir (Jacquart, 2008).

On dokuzuncu yüzyıla kadar kullanılan ilaçlar deneme yanılma yöntemiyle, tesadüf eseri ya da geleneksel tarifler ile hazırlandığı için tedavide çok etkili olamamışlardır. Birinci Dünya Savaşı sırasında Fransız cerrah Alexis Carrel ve İngiliz kimyacı Henry Dakin yaraların tedavisinde, geliştirdikleri Dakin Çözeltisi ile yıkama yöntemi olan Carrel-Dakin Yöntemi'ni kullanmışlardır. Kullanılan Dakin çözeltisinin antiseptik özellikte olduğu ve kangren oluşumunu önlediği bildirilmiştir. Birinci Dünya Savaşından sonra ilk anti bakteriyel ajanlar olan sülfonamidli antibiyotikler geliştirilmiştir. İkinci Dünya Savaşı'nın baskısı

sonunda ve İngiliz bilim adamları ile Amerikan farmasötik endüstrisi işbirliğiyle Penisilin antibiyotikler geliştirilmiş ve seri üretimi gerçekleştirilmiştir. Bu üretim sayesinde antimikrobiyal tedavi uygulamaları hiç olmadığı kadar etkili ve yaygın olarak kullanılabilmiştir.

İlaçlar 1920'lerin sonlarına doğru yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Aspirin, kodein ve morfin ağrı kesici olarak; digitalis, nitrogliserin ve kinin kalp düzensizliklerinde ve insülin de şeker hastalığının tedavisinde kullanılmıştır. İlaçlar, 1930'larda sülfonamidli antibiyotikler, penisilin ve diğer antibiyotiklerin geliştirilmesiyle tıbbi uygulamaların merkezi haline gelmişlerdir. 1950'lerden itibaren enflamasyon tedavisinde kortikosteroidler, hipertansiyon tedavisinde ve sakinleştirici olarak rauwolfia alkaloidler, nazal alerji tedavisinde antihistaminikler, astım tedavisinde ksantin ve ruh hastalıklarının tedavisinde kullanılmak üzere nöroleptik ilaçlar geliştirilmiştir. Günümüze kadar tedavi şekli onaylanmış binlerce ilaç geliştirilmiştir (Mathiowitz, 1999).

1.2. İlaç İletimi

İlaç iletimi, farmasötik bir bileşiğin insan veya hayvanlar üzerinde iyileştirici etki sağlaması amacıyla uygulanan bir yöntemdir. Basit olarak bir ilacın hastaya herhangi bir yolla verilmesi ilaç iletiminin temelini oluşturur. İlaçlar hastalara birçok farklı yoldan ve farklı dozlarda verilmektedir. En çok kullanılan ve bilinen en eski ilaç iletim yöntemi oral yolla ilaç alımıdır (Wen ve Park, 2010). Bununla birlikte kastan, deriden, burundan, rektal ve vajinal ilaç uygulamaları da eskiden beri sıklıkla kullanılan ilaç iletim yöntemlerindedir.

Yeni ilaçların geliştirilmesinde yaşanan zorluklar çalışmaları ilaç iletim sistemlerinin geliştirilmesi yönüne çevirmiştir. İlk zamanlarda ilaç dozunda yapılan değişiklikler ile ilacın hasta üzerindeki etkisi arttırılmaya çalışılmıştır. Zamanla bu yöntem kontrollü ilaç iletimi ile birlikte ilaç iletim sistemlerinin temelini oluşturmuştur.

Günümüzde en yaygın olarak kullanılan ilaç iletim sistemi kontrollü salım tabletleridir. Bu uygulamaya en iyi örnek enterik kaplı tabletler ve kapsüller verilebilir. Bu tabletler gecikmeli salım tableti olup asidik mide ortamında ilacı salmazken nötral bağırsak ortamında ilacı salarlar; böylece ilacın mide asidinden korunmasını sağlarlar ve ilacın emilimini arttırmak amacıyla kullanılırlar. Bununla

birlikte ilk anda ilacın bir kısmını aniden salan ve ilacın kalan kısmını da uzun süre içerisinde yavaşça bırakan sürekli salım tabletleri de sıkça kullanılmaktadır (Wen ve Park, 2010).

Bazı ilaçların ağızdan alımında karşılaşılan problemlerden dolayı bu ilaçların deri altına veya damara enjekte edilmesi yöntemine başvurulmuştur. Deriden ilaç uygulaması uzun yıllardır kullanılan bir ilaç iletim yöntemidir. Balın enfeksiyon tedavisinde kullanımı için deriye sürülmesi bilinen en eski örneklerdendir. Bunun yanında bitki özlerinin, karışımlarının ve sularının lokal olarak deriye uygulanması da uzun yıllar yaraların ve enfeksiyonların tedavisinde kullanılmıştır. Günümüzde aşılarda başta olmak üzere birçok ilaç deri altına veya damara enjekte edilerek hastalara verilmektedir. Ayrıca deri hastalıklarında da lokal ilaç uygulama yöntemlerine sıkça başvurulmaktadır.

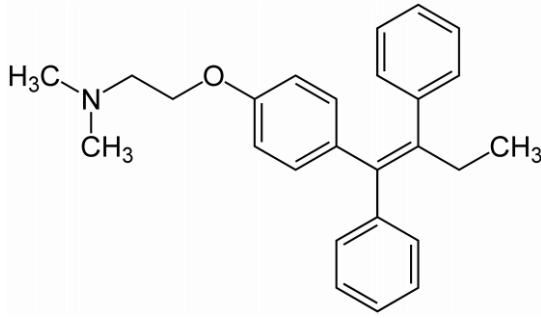
Geleneksel ilaç iletim sistemleri özellikle kanser tedavilerinde yetersiz kalmaktadır. Bu yüzden "hedeflenmiş ilaç iletim sistemleri" geliştirilmektedir. Hedeflenmiş ilaç iletim sistemlerinde ilacın vücut içindeki hastalıklı dokuya diğer dokularla etkileşmeden ulaşması sağlanmaktadır (Brown, 2004). Burada amaç ilacın diğer dokulardan zarar görmesini engellemek olduğu gibi özellikle kanser tedavisinde kullanılan kemoterapik ilaçlardan sağlıklı dokuların zarar görmesini de engellemektir. Uygulanabilirliği zor ve maliyeti yüksek olan bir yöntem olduğundan yaygın olarak kullanılamamaktadır. Bu alanda çalışmalar hızla devam etmektedir.

İlaçların tedavi yöntemlerinin merkezi olmaya devam ettiği bu günlerde ilaç iletim sistemleri üzerine yapılan çalışmalar da hızla devam etmektedir. Farmakoloji, biyokimya ve biyoteknoloji alanlarını içinde barındıran ilaç iletim sistemleri ilacın hastaya en yüksek verimle iletimini sağlayıp hastalık üzerindeki iyileştirici etkisini maksimum düzeye çıkarmayı amaçlamaktadır.

1.3. Tamoksifen

Tamoksifen (2-[4-(1,2-Diphenyl-1-bütenyl)phenoxy]-N,N-dimethylethanamine) molekül ağırlığı 371,5 olan beyaz kristalimsi yapıda ve toz olarak bulunan bir bileşiktir. $C_{26}H_{29}NO$ genel formülüne sahiptir ve erime noktası 96-98 °C'dir. Tamoksifen sentetik olarak üretilir. Tamoksifenin saflık derecesi gaz kromatografisi (GC), kütle spektroskopisi (MS), yüksek performans sıvı

kromatografisi (HPLC) ve ince tabaka kromatografisi (TLC) ile belirlenir. Tamoksifen UV bölgede 204, 238 ve 276 nm dalga boylarında göstermiş olduğu absorblanslardan dolayı spektrofotometrik olarak tayin edilebilir. Tamoksifen 2-8 °C'de 2 yıl boyunca bozulmadan saklanabilir. Bileşik suda çözünmez, metanol, etanol, 2-propanol, propilen glikol, dimetil formamid (DMF) ve dimetil sülfoksit (DMSO) gibi organik çözüenlerde iyi çözünür. DMF, metanol ve etanoldeki çözünürlüğü yaklaşık 20 mg/mL, DMSO'daki çözünürlüğü de yaklaşık 2 mg/mL'dir. Tamoksifenin yapısal formülü aşağıdaki gibidir:



Tamoksifen

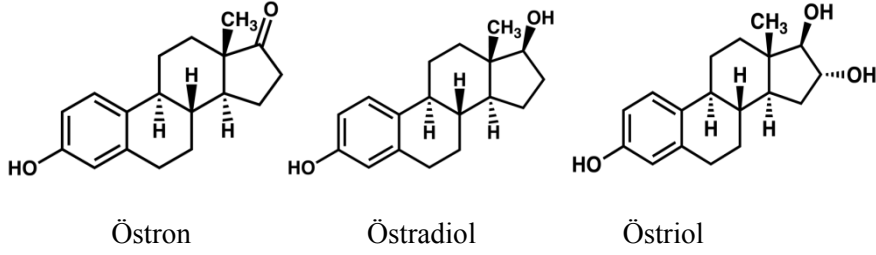
Tamoksifen aktif metaboliti hidroksitamoksifen sayesinde meme dokusundaki östrojen reseptörlerinin “antagonist”idir. Endometriyum gibi diğer dokulara agonist olarak davrandığı için hem “agonist” hem de antagonist olan bir moleküldür. Agonistler hücre reseptörlerine bağlanarak hücrede bir tepki oluşturan moleküllerdir. Antagonistler ise hücre reseptörüne bağlanarak reseptörü doğal olarak uyaran bileşiğin (agonist) yerine geçer ve oluşması gereken doğal tepkiyi engellerler. Tamoksifen özellikle meme kanseri tedavilerinde östrojen reseptörlerinin antagonisti olarak kullanılır. Tamoksifen, etkin madde olarak tamoksifen sitrat içeren 10-20 mg'lık oral tabletler halinde, Nolvadex, Apo-Tamox, Tamofen, Valodex, Tamone, Istubal ve Soltamox marka isimleri ile satılmaktadır (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1. Piyasadaki bazı tamoksifen tabletlerin içerikleri.

Marka İsmi	Tamoksifen Miktarı	Diğer Bileşikler
Nolvadex/Valodex/ Istubal	10-20 mg tamoksifen eş değerinde tamoksifen sitrat	Titanyum dioksit
Apo-Tamox	10-20 mg tamoksifen eş değerinde tamoksifen sitrat	Croscarmellose sodyum, magnezyum stearat, mannitol, mısır nişastası
Tamofen	10-20 mg tamoksifen eş değerinde tamoksifen sitrat	Kolloidal silikon dioksit, mısır nişastası, laktoz, magnezyum stearat, povidon, talk
Soltamox	10-20 mg tamoksifen eş değerinde tamoksifen sitrat	Etanol, gliserol, propilen glikol, sorbitol, meyan aroması, anason aroması
Tamone	10-20 mg tamoksifen eş değerinde tamoksifen sitrat	Diğer bileşiklerin bilgisine ulaşılamamıştır

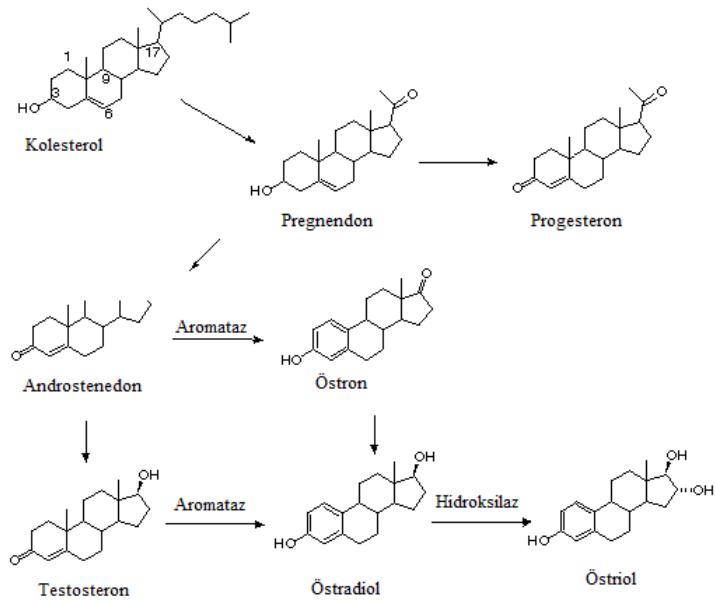
1.3.1. Östrojenlerin Önemi

Östrojenler, kadınların adet döngüsünde ve diğer memeli hayvanların dişilerinde estrus döngüsünde önemli rol oynayan steroid hormon grubudur. Bu hormonlar kadınlarda göğüs gibi ikincil cinsiyet özelliklerinin gelişimini sağlarlar ve adet döngüsüyle ilişkili olan endometriyum kalınlaşması ve diğer süreçleri düzenlerler. Kadınlarda bulunan üç ana östrojen; östradiol, östriol ve östron'dur. Bunlar vücutta enzimatik reaksiyonlar sonucu sentezlenirler; östradiol testosterondan, östron da androstenediondan sentezlenir.



Alman biyokimyager Adolf Butenandt ve Amerikalı biyokimyager Edward Adelbert Doisy 1929'da birbirlerinden bağımsız olarak östrojeni (östron) idrardan izole etmişler ve yapısını tanımlamışlardır (Tata, 2005). Bu çalışmadan sonra hormonal ilaç çalışmaları pazarda daha sık yer bulmaya başlamıştır. Östrojenler suda çözünmezler ve oral olarak uygulanamazlar. Oral olarak ilk etkili östrojen: Emmenin, hamile kadınların idrarlarından elde edilmiş ve Collip ve Ayerst Laboratuvarları tarafından tanıtılmıştır. Bu çalışmada östriol glukuronid idrardan izole edilmiştir. Bu yapı suda çözünür ve vücut içerisinde hidroliz ile aktif olur. İngiliz bilim adamları 1938'de steroid olmayan bir östrojen olan dietilstilbestrol (DES)'i bulmuşlardır. Bu yapı daha ucuz ve bundan önce üretilen östrojenlere kıyasla daha güçlüdür. Bu çalışmalar sonunda 1941 yılında FDA (Food and Drug Administration) menopoz semptomlarının tedavisinde östrojen kullanımına onay vermiştir.

Bazı kanser hücreleri çoğalmak için östrojene ihtiyaç duyarlar. Östrojen kanserli hücre reseptörlerine bağlanarak reseptörleri aktive eder böylece kanserli hücre büyümeye teşvik edilmiş olur. Tamoksifen, aktif metaboliti hidroksitamoksifen olarak östrojen reseptörlerine bağlanır fakat reseptörleri aktive etmez. Tamoksifen, yarışmalı antagonizmi sayesinde kilidin içinde kırılan anahtar gibi davranarak buraya östrojenin bağlanmasına engeller ve kanser hücrelerinin çoğalması bloke edilmiş olur.

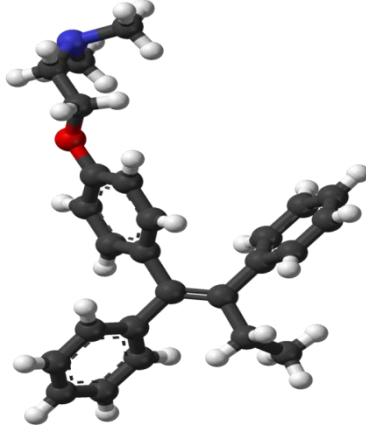


Şekil 1.1. Östrojenlerin Sentez Mekanizması.

İlaç şirketleri 1950'lerin sonlarına doğru gebelik önleyici ertesi gün hapı üretmek umidiyle yeni keşfedilmiş antiöstrojen bileşikler üzerindeki çalışmalarını yoğunlaştırmışlardı. Üreme endokrinolojisi uzmanı Arthur L. Walpole önderliğindeki Alderley Park araştırma laboratuvarından Dora Richardson ilk tamoksifeni 1966'da sentezlemiştir (Rothenberg, 2005). Walpole ve ekibi 1962'de bu bileşiğin patentini almak için harekete geçmişler fakat yapılan başvurular 1980 yılına kadar reddedilmiştir. Tamoksifen doğum kontrol tedavisi için üretilen bir ilaçtır fakat bu yönde pek başarı sağladığı söylenemez. Meme kanseri ile östrojen arasındaki bağlantı yıllarca biliniyordu fakat Walpole'un düşüncesi patentini doğum kontrolü üzerine almaktı ve bu yönde ısrarlarına devam ediyordu.

Tamoksifen için ilk klinik çalışma 1971'de Christie Hospital'da gerçekleştirilmiştir. Bu uygulama sonunda ilerlemiş meme kanseri vakalarında tamoksifenin tatmin edici bir etkisi olduğu görülmüştür. Tamoksifenin meme kanseri üzerindeki etkisi Harold W. C.'nin Queen Elizabeth Hospital'da yaptığı bir çalışma ile desteklenmiştir. Ward'ın yaptığı bu çalışma tamoksifenin yüksek dozlarda daha etkili olduğunu göstermiştir (Çelik, 2007). Bunun üzerine Walpole 1973 yılında tamoksifeni ileri meme kanseri vakalarında kullanmak üzere

pazarlamaya karar vermiştir. Ayrıca Walpole, V. Craig Jordan'a tamoksifen üzerinde çalışması için maddi destekte bulunmuştur. Amerika'da 1977 yılında onaylanmasına rağmen diğer hormonal tedaviler ile karşılaştırıldığında daha küçük bir pazar payına ve daha düşük bir klinik uygulamaya sahipti.



Şekil 1.2. Tamoksifenin Üç Boyutlu Yapısı.

1980 yılında kemoterapi uygulanan erken meme kanseri hastalarında hayat kurtarıcı olan etkisi görülmüştür. İlerlemiş hastalıklarda, tamoksifenin östrojen reseptör pozitif (ER+) hastalarda etkili olduğu kabul edilmiştir. Tamoksifen düşük yan etki profiline sahiptir ve Oxford tabanlı Erken Meme Kanseri Deneme Grubu tarafından tamoksifenin erken meme kanseri vakalarında kesin hayat kurtarıcı etkisi olduğu açıklanmıştır.

1.3.2. Meme Kanseri

Meme kanseri meme hücrelerinde başlayan ve akciğer kanserinden sonra dünyada görülme sıklığı en yüksek olan kanser türüdür. Erkeklerde de görülmekle beraber kadınlarda görülme sıklığı erkeklere oranla 100 kat daha fazladır. Kuzey Amerika ve Avrupa ülkelerinde görülme sıklığı dünyanın diğer bölgelerinde görülme sıklığından daha fazladır. Meme kanseri yayılmadan önce erken teşhis edilirse hasta % 96 yaşam şansına sahiptir. Meme kanserine karşı en iyi koruyucu yöntem erken teşhistir (Kalan, 2005).

Meme kanserinin birçok türü vardır. En sık rastlanan duktal karsinoma, memenin süt kanallarında başlar. Meme kanseri memenin dışına yayıldığında koltuk

altındaki lenfatik nodüller en sık görülen yayılım yerleridir. Kanser hücreleri memenin diğer lenf nodlarına, kemiğe, akciğer ve karaciğere yayılabilir. Her kadında meme kanseri gelişme riski vardır.

Meme kanseri riskini arttıran faktörler:

- 50 yaş üzerinde olunması
- Genetik yatkınlığının bulunması
- Daha önceden diğer memede kanser tespit edilmiş olması
- Adet görmeye 12 yaşından önce başlamış olması
- Hiç gebe kalmamış olması
- 50 yaşından sonra adet görmeye devam ediyor olması

Araştırmalar meme hücreleri içerisinde, meme kanseri riskini arttıran bazı genler olduğunu göstermektedir. Genetik değişiklikler aileden kaynaklı olabilir veya hayat boyu gelişebilirler. Meme kanseri genellikle tek bir hücrede başlar ve günümüzde meme kanserinin nedeni ve nasıl gelişim göstereceği tam olarak bilinmemektedir (Rothenberg, 2005).

Meme kanser hücrelerinin yüzeylerinde, sitoplazmasında ve çekirdeklerinde reseptörler vardır. Hormonlar gibi kimyasal haberciler bu reseptörlere bağlanarak hücre içinde değişikliğe sebep olurlar. Meme kanseri hücreleri üç önemli reseptör taşırlar; östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR) ve insan epidermal büyüme faktörü reseptörü (HER2). ER pozitif hücreler çoğalmak için östrojene ihtiyaç duyarlar ve tamoksifen gibi östrojen etkilerini bloke eden ilaçlar ile tedavi edilebilirler ve diğer türlere göre daha kolay teşhis edilirler (Rothenberg, 2005).

1.3.3. Tamoksifenin Etki Mekanizması

Östrojenler üreme fizyolojisinde merkezi bir rol oynarlar. Östrojenler etkilerini hücrel büyüme kontrolünden sorumlu gen transkripsiyonunu aktive eden östrojen reseptörlerine bağlanarak gösterirler. Östrojen reseptörleri hücre içerisinde bulunan, östrojen hormonları ile aktive olan bir protein grubudur. İki tür östrojen reseptörü vardır: biri hücre içerisinde bulunan hücre çekirdeği reseptörü sınıfında olan Östrojen Reseptörü (ER), diğeri ise hücre membranı yüzeyinde bulunan G proteini bağlı reseptör sınıfında olan Östrojen G Protein Reseptörüdür (GPR30). Bu reseptörler östrojen ile aktive edildiğinde DNA'ya bağlanma özelliği kazanırlar ve birçok genin aktivitesini ve çalışmasını etkilerler.

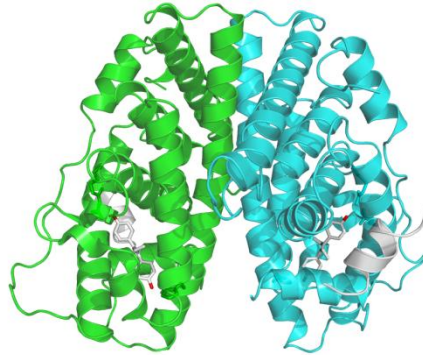
Östrojenlerin meme kanseri, rahim kanseri ve endometriyoz gibi tümörlü veya tümörsüz hastalıkların oluşmasına sebep olduğu bildirilmektedir. Tamoksifen gibi anti östrojenler meme kanseri tedavisinde çok geniş bir kullanım alanına sahiptirler. Tamoksifen ileri meme kanseri vakalarında tümör oluşumunun önlenmesi, dağılma riski taşıyan meme kanseri vakalarında tümörün dağılma olasılığının azaltılması ve yüksek risk taşıyan meme kanseri hastalarında ise ölüm riskini önlemek amacıyla kullanılmaktadır (Kalan, 2005). Ayrıca tamoksifen östrojen agonist etkisi sayesinde kolesterolü düşürerek erken menopozda görülen kemik erimesini de önlemektedir. Bu östrojen agonist etkinin rahim kanseri ve damar içi pıhtılaşmaya sebebiyet vermesi gibi önemli yan etkileri vardır. Bu alandaki çalışmalar ER pozitif kanser türlerinde kullanılacak süper etkili ve rahim kanserine sebep olma gibi önemli yan etkileri bulunmayan ilaçlar üzerinde yoğunlaşmıştır.

Östrojen reseptörlerinden alfa reseptörü (ER_{α}), hücre çekirdeği reseptörü sınıfından 66 kDa'luk bir proteindir. Bu sınıfın diğer üyeleri gibi 595 amino asit içerir ve 6 fonksiyonel kısımdan oluşur. Ligand bağlanan kısım üç adet anti paralel α -heliks oluşumunu barındırır. DNA'ya bağlanan kısmı ise östrojen ve anti östrojene bağlanmadan sorumlu iki çinko çubuk yapısı içerir. Östrojen reseptörünün birincil görevi östrojen bağlanmasını takiben gen transkripsiyonunu aktive etmesidir. Östrojen reseptörlerinden beta reseptörü (ER_{β}) daha yakın bir tarihte keşfedilmiş ve çalışılmıştır. ER_{α} ile aşırı benzerlik gösterir ve ER pozitif meme kanseri tedavilerinde ER_{α} ile neredeyse aynı etki mekanizması ile çalışır (Ascenzi vd., 2006).

Bağ yapmamış östrojen reseptörleri (ER) daha tanımlanmamış olan hsp90, hsp65 ve diğer bileşikler ile inaktif kompleks halindedir. Östrojenin reseptöre bağlanması ile hsp90 reseptörden ayrılır ve reseptör fosforillenir. Östrojen reseptörlerinde 5 tane fosforillenme bölgesi vardır; 4 serin (aa 104, 106, 118 ve 167) ve bir tirozin (aa 537). Tirozinin fosforillenmesi src kinaz ile gerçekleşir. Serinin fosforillenmesi ise östrojenin bağlanmasına cevap olarak gerçekleşir. Serinin fosforillenmesi ayrıca epidermal büyüme faktörünün reseptöre bağlanmasıyla da gerçekleşmektedir. Epidermal büyüme faktörü de normal ve kanserli meme hücrelerinin çoğalması için önemli bir rol oynamaktadır.

Hücre sitozolünde bulunan reseptörler östrojenin bağlanmasıyla çekirdeğin içine girer ve östrojen-reseptör dimeri DNA'nın belirli kısımlarına bağlanır ve DNA-

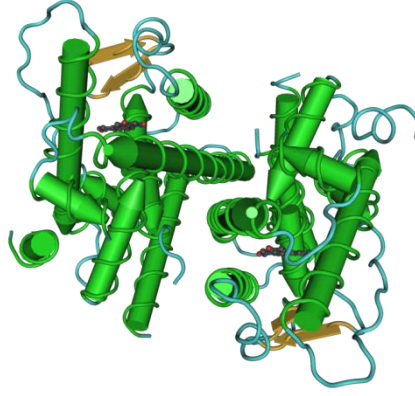
reseptör kompleksi transkripsiyon ile protein sentezini başlatır. Östrojenler, reseptörler ile homodimer ($ER_{\alpha\alpha}$) ya da heterodimer ($ER_{\alpha\beta}$) oluşturabilirler. Farklı ligantlar, yani östrojenler, reseptörler için farklı afinite gösterirler. Estradiol iki tür reseptöre de eşit afinite gösterirken, östron bağlanmak için α reseptörünü, estriol ise β reseptörünü tercih eder (Ascenzi vd., 2006).



Şekil 1.3. Östrojen Reseptör Alfa (ER_{α})'nın üç boyutlu şematik gösterimi (http://en.wikipedia.org/wiki/Estrogen_receptor).

Anti östrojenlerin östrojen antagonist etkileri, östrojeni reseptörden uzak tutma özelliği ile ifade edilebilir. Bu özellik sayesinde östrojen reseptöre bağlanamaz dolayısıyla transkripsiyon gerçekleşmez ve bu şekilde hücre çoğalması baskılanmış olur. Tamoksifen bu görevi en iyi şekilde yerine getiren anti östrojenlerden biridir.

Tamoksifen uzun süreden beri meme kanserinin hormonal tedavisinde en çok kullanılan kanser ilacıdır. Tamoksifen Nolvadex adıyla 1973 yılında İngiltere'de meme kanserinin hormonal olarak tedavisi amaçlanarak piyasaya sürülmüştür. İlaç Amerika'da 1977 yılında FDA (Food and Drug Administration) onayı almıştır ve şu an yüzden fazla ülkede milyonlarca insan tarafından meme kanseri tedavisi amacı ile kullanılmaktadır (Çelik, 2007).



Şekil 1.4. Östrojen Reseptör Beta (ER β)'nin üç boyutlu şematik gösterimi (http://en.wikipedia.org/wiki/Estrogen_receptor).

Tamoksifen kimyasal olarak bir trifeniletillen türevinin trans izomeridir. Antagonist etkisini, reseptöre bağlanmak için östrojen ile yarışarak ortaya koyar. Tamoksifenin birçok aktif metaboliti vardır. Birincil metaboliti tamoksifene çok yakın etkiye sahip olan desmetiltamoksifendir. Başka bir metaboliti ise daha az oluşan fakat etki olarak tamoksifenin üzerinde olan 4-hidroksitamoksifendir. Tamoksifen metabolize olduğunda ürünlerin % 2 kadarını hidroksitamoksifen oluşturur fakat hidroksitamoksifen tamoksifenden 100 kat daha etkilidir. Bu nedenle hidroksitamoksifen, tamoksifenin biyolojik etkisinin mimarı olan metabolit olarak görülür (Dhingra, 1999).

İlk çalışmalarda tamoksifenin premenopozal kadınların üçte birinde etkili olduğu görülmüştür. Bu oranın tümör hücrelerindeki östrojen miktarı ile arttığı, ayrıca reseptör pozitif tümörlerde tamoksifenin çok daha etkili olduğu belirtilmiştir. İlk çalışmalarda reseptör negatif kanser hücrelerinde de tamoksifenin etkili olduğu bulunmuştur. Fakat zamanla bulguların teknolojik eksikliklerden dolayı reseptörlerin algılanamamasından kaynaklı olarak yanlış olduğu saptanmış ve tamoksifenin ER pozitif hücreler için etkili olduğu kanıtlanmıştır. Reseptör negatif kanser vakalarında tamoksifen nadiren etkili olmaktadır.

Meme kanseri hastaları üzerindeki etkileyici ilk sonuçları ile birlikte nispeten az olan toksik etkisi de göz önünde bulundurularak tamoksifen destekleyici tedavi için kullanılmaya başlanmıştır. 1990 yılına kadar çeşitli kliniklere kayıtlı 30.000'den fazla kadın meme kanseri hastası tamoksifeni destek tedavi olarak

kullanmıştır. Bu tedavilerin sonuçlarını Early Breast Cancer Trialists grubu meta analiz raporunda özetlemiştir (Dhingra, 1999). Yayımlanan meta analiz sonuçları:

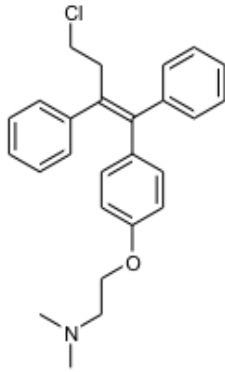
- Ortalama beş yıl tamoksifen destek tedavisi meme kanserinin tekrarlanma olasılığını % 42 azaltmaktadır.
- Ortalama beş yıl tamoksifen tedavisi meme kanserinden ölüm riskini % 22 azaltmaktadır.
- İki yıldan daha uzun süre (ortalama beş yıl) uygulanan tamoksifen destek tedavisi normal meme kanseri tedavi süresini kısaltmaktadır.
- Günlük 20 mg tamoksifen kullanımı en az yüksek dozlar kadar etkilidir.
- Tamoksifen kemoterapiden sağlanan faydaya ciddi katkı sağlamaktadır.
- Tamoksifen postmenopozal ve premenopozal kadınlarda aynı düzeyde etki göstermektedir.
- Tamoksifen ER negatif hastalarda etkili değildir.

Tamoksifen meme kanseri hücrelerini yok etmekle kalmayıp uzun süreli kullanımlarda kanser hücrelerinin tekrar oluşmasını da önlemektedir. Yapılan bir çalışmada cerrahi müdahale yapılmış ve radyoterapi uygulanmış meme kanseri hastalarına 5 yıl boyunca günlük 20 mg tamoksifen verilmesi aynı bölgede oluşabilecek kanser riskini % 30 oranında azalttığı görülmüştür (Dhingra, 1999). Diğer bir çalışmada ileri seviye meme kanseri hastalarına 55 ay süresince uygulanan günlük 20 mg tamoksifenin hastalığın tekrarlama riskini % 49 azalttığı görülmüştür (Dhingra, 1999). Yapılan çalışmalarda tamoksifen kullanan 50 yaşın altındaki hastaların 60 yaş üzeri hastalara göre tümör oluşumunun tekrarlama oranının % 10 daha fazla olduğu görülmüştür. Yapılan tüm çalışmaların sonuçlarına bakılacak olursa tamoksifenin meme kanseri hücreleri üzerindeki etkisi göz ardı edilemez.

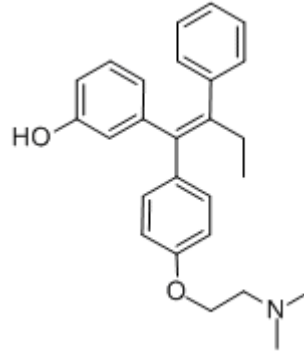
1.3.4. Tamoksifenin Türevleri

Tamoksifenin trifeniletillen yapısının çeşitli türevleri sentezlenmiş ve klinik olarak test edilmiştir. Bu yapılardan toremifenin (klorotamoksifen) fareler üzerindeki meme kanserinde aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu yapı ayrıca karaciğer kanseri tedavisinde de kısmen etkilidir. İki ilaç, tamoksifenin 20 mg, toremifenin 60 mg günlük dozu ile yapılan çalışmaların sonunda verilen cevap, etki, devamlılık ve hayat kurtarma özelliklerine göre karşılaştırılmış ve toremifenin az da olsa üstünlüğüne rağmen aralarında pek de fark olmadığı görülmüştür. Toremfen tamoksifen ile çok benzer bir moleküldür ve tamoksifen gibi uterus üzerinde

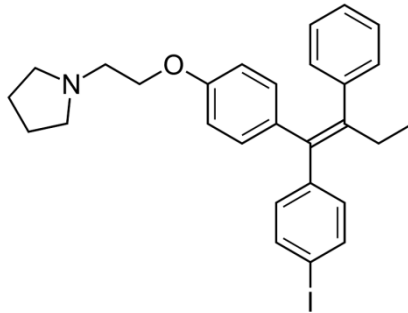
östrojen antagonist etkisi vardır. Yapılan çalışmalar sonucunda tamoksifen üzerinde belirli bir avantajının olmadığı görülmüştür. Aynı şekilde droloksifen (3-hidroksitamoksifen) de klinik uygulamalarda tamoksifene benzer etkiler göstermiştir. Fakat klinik uygulamadaki uterotopik etkilerinden dolayı meme kanseri uygulamalarındaki çalışmalarına son verilmiştir. İdoksifen ise tamoksifenin iyotlanmış formudur. İdoksifenin östrojen reseptörüne olan afinitesi tamoksifenden 2.5-5 kat daha fazladır. Yapılan çalışmalar sonunda idoksifenin de uterus üzerinde östrojen antagonist etkisi olduğu görülmüş ve meme kanseri uygulamaları sonlandırılmıştır (Dhingra, 1999).



Toremifen



Droloksifen



İdoksifen

1.4. İlaç Salım Sistemleri

İlaç salım sistemleri, ilacın belirlenen süre içerisinde kontrollü oranda salınmasını sağlamak amacıyla tasarlanmış sistemlerdir. İlaç salım sistemlerinin ana hedefi ilacın hasta üzerindeki iyileştirici etkisini arttırıp ilacın hasta bölgeye istenilen dozda ve sorunsuz ulaşmasını sağlamaktır. Başlangıçta ilaç salım sistemleri ile ilgili çalışmalar ilacın vücut sıvılarında metabolize olabilen bir taşıyıcı materyal ile karıştırılarak oral yolla alınması üzerinde yoğunlaşmıştır. Yağlar, çözünür polimerler ve mumlar gibi birçok taşıyıcı materyal kullanılmıştır. Bu uygulamalar ilaç salım sistemlerinin gelişmesi için başlangıç niteliğindedir. Fakat bu sistemlerde taşıyıcı materyal vücut sıvılarında metabolize olduğu anda ilacın tamamını ortama salmaktadır. Bu yüzden kontrollü ve sürekli salım istenilen verimde gerçekleştirilememektedir. Bu dezavantajına rağmen günümüzde dahi en çok kullanılan ilaç salım sistemlerinden biridir (Wen ve Park, 2010).

Çoğu terapötik programda ilacın vücuda belirlenen süre içerisinde kontrollü olarak salınması istenmektedir. Bu yüzden bugüne kadar bu özellikler üzerine yoğunlaşmış birçok sistem üzerinde çalışılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda ilacı, içerisinden difüze olabileceği polimerik duvarlardan oluşan bir kapsül içerisine hapseden sistemler geliştirilmiştir. Bu sistemlerde ilacın kapsülden yavaşça salınarak kontrollü bir şekilde hastaya ulaşması sağlanmıştır. Bu sistemlerin gelişmesiyle ilaç salım sistemleri bir adım öteye gitmiş ve ilacın kontrollü salımı daha verimli bir hal almıştır.

1.4.1. Oral İlaç Salım Sistemleri

Tarih boyunca, en uygun ve yaygın olarak kullanılan ilaç salım yöntemi oral yoldan ilaç alımı olmuştur. Kaplama teknolojisi 1800'lerin ortalarında jelatin ve şeker kaplamaların keşfiyle gelişmiştir. İlaç içeren boncukların mumlar ve yağlar ile kaplanması ile bu teknoloji büyük bir ilerleme göstermiştir (Wen ve Park, 2010). İlacın kontrollü salımı üzerine 1900'lerin ortalarına kadar birçok çalışma yapılmış ve bine yakın patent alınmıştır. Gerçekten etkili ilk oral ilaç salım sistemi olan katmanlı tablet (Spansule) 1950'lerde tanıtılmıştır. Bu sistem kaplanmış ilaç içeren boncukların kapsül içerisine yerleştirilmesiyle oluşturulmuştur. Farklı salım hızlarında kapsül başına 50'den 100'e ya da daha fazla ilaç içeren boncuk olacak şekilde dizayn edilmiştir. Bu sistem Smith Kline & French Laboratories tarafından pazarlanmıştır.

1960'ların sonlarına doğru dozaj şekline dayalı yeni sistemleri isimlendirmek için "kontrollü ilaç salımı" terimi kullanılmıştır. Bu sistemlerin ilacın çözünürlüğünü kontrol altında tutma görevinin yanı sıra ek görevleri de vardı. Kontrollü ilaç salım sistemlerinin birincil görevleri güvenliği geliştirmek ve ilacın etki süresini arttırmaktı. Bugün, güvenli emilim sağlamak, biyoyararlanımı ve ilaç iletim etkinliğini arttırmak amacıyla üretilmiş ve kullanılan birçok kontrollü ilaç salım sistemi vardır (Hollinger ve Ranade, 2004).

Çözünürlüğü, emilim hızını ve biyoyararlanımı arttırmak amacıyla tasarlanmış kontrollü salım ürününe örnek olarak mantar önleyici ilaç olan "griseofulvin" verilebilir. Dorsey adlı firma, griseofulvinin polietilen glikolde moleküler dispersiyonu olan ürünü Gris-Peg adıyla pazarlamıştır. Bu moleküler dispersiyon gelişmiş çözünürlük özelliklerine sahiptir ve böylece ilacın daha önce kullanılan mikroiyonize toz formuna göre % 50 daha az dozda ilaç kullanımına olanak sağlamıştır.

Modern kontrollü salım sistemleri sadece sürekli salım değil kontrollü salım kapasitesine de sahiptir. Oral kontrollü salım sistemleri çoğunlukla polimerlerden yapılırlar ve salım mekanizması genellikle difüzyon, biyorozyon ya da degradasyon, şişme ya da osmotik basınç ile düzenlenir. Difüzyon, ilaç-polimer karışımı gastrointestinal sıvı ile yüzleştğinde gerçekleşir ve ilacın tablet veya kapsülden salımı ile sonuçlanır. Biyorozyon veya degradasyon, bazı ilaç-polimer kompleksleri gastrointestinal sistemden geçerken oluşur. Bazı ilaç-polimer formülasyonları gastrointestinal sıvı ile yüzleştiklerinde şişme ya da osmotik basınç oluşur ve ilacın salınması ya da çekilmesi ile sonuçlanır (Mathiowitz, 1999).

Oral ilaç salım sistemlerinin avantajları:

- Serum konsantrasyonundaki dalgalanmayı düşürerek toksisiteyi azaltır
- Doz miktarını düşürerek hasta uyumunu artırır
- Hasta iyileşme sürecini azaltır
- Kullanılan toplam ilaç miktarını düşürür

Oral ilaç salım sistemlerinin dezavantajları:

- Terapötik kan konsantrasyonuna ulaşılmasının uzun sürmesi
- Oral uygulamanın ardından biyoyararlanımda farklılık oluşabilmesi
- Doz boşalması ve doz uygulamalarının kısıtlı olması
- Yüksek ilk geçiş etkisi ve yüksek maliyet

1.4.2. Transdermal İlaç Salım Sistemleri

Bazı ilaçların doğasında olan yan etkiler doz ayarlaması yapılarak önlenememektedir. Çoğu ilaç ise uygulama yoluna göre istenmeyen etkiler gösterebilmektedir. Geleneksel ilaç salım sistemlerinde karşılaşılan bu gibi problemlerin önlenmesini sağlamak amacıyla transdermal ilaç salım sistemleri geliştirilmiştir.

Oral ilaç uygulamaları yüzyıllar boyunca denenmiştir ve günümüzde tablet ve kapsüller olarak kullanılmaktadır. Enjekte edilebilir ilaçlar son 130 yıl içinde ortaya çıkmış ve sterilizasyonun daha iyi anlaşılır hale gelmesiyle kabul edilebilir duruma gelmiştir (Hollinger ve Ranade, 2004). Başta lokal deri hastalıklarında olmak üzere topikal uygulamalar da yüzyıllardır kullanılmaktadır. Transdermal ilaç salım sistemleri, sistemik kan seviyesini yakalamak için tasarlanmıştır ve 1950'lerden beri kullanılmaktadır. Transdermal nüfuz işlemi ya da deriden emilim, ilaç gibi moleküllerin derinin dışından nüfuz ederek derinin tabakalarını geçip kan dolaşımına ulaşması olarak tanımlanabilir. İlacın sistematik girişinde istenmeyen yan etkilerin veya toksik etkilerin oluşumu söz konusu olabilir.

Transdermal ilaç salım sistemlerinin avantajları:

- İlaç gastrointestinal çevreden korunur böylece gastrointestinal tehlike ortadan kalkar
- Oral yoldan kaynaklanabilecek fiziksel kontrendikasyonlar engellenir
- Emilimi sağlanan ilaçlar ile hasta uyumu artırılmış olur
- İlk geçiş etkisi önlenmiş olur
- Aşırı etkili ilaçların plazma seviyelerinin kontrol edilmesini sağlar ve toksik etki oluşması engellenir

Transdermal ilaç salım sistemlerinin dezavantajları:

- Yüksek kan seviyesine ihtiyaç duyulan ilaçlar uygulanamaz
- Her deriye uygulanabilirliği değişiklik gösterebilir

- İlaç deride tahriş veya hassaslığa sebep olabilir
- Bazı hastalar için ekonomik açıdan uygun olmayabilir

1.4.3. İntravenöz İlaç Salım Sistemleri

İntavenöz tedavi ilacın doğrudan damar yolu ile hastaya verilmesidir. Diğer ilaç salım sistemleri ile karşılaştırıldığında intravenöz sistem ilaç iletiminin en hızlı yoludur. İlaç tedavilerindeki hatalar ve damardan enjekte edilebilecek ilaçların keşfedilmesi 1960'ların başında intravenöz ilaç salım sistemlerinin geliştirilmesine yardımcı olmuştur. Bu süre içerisinde hastane eczacıları intravenöz doz ayarlama sorumluluğunu üzerlerine almışlardır. Bu andan itibaren, büret tipi sistemler yerini cam parçalı sistemlere bırakmıştır. Bu sistemler sırasıyla farklı türde plastik parçalı sistemler ile yer değiştirerek ilaç ile tedavi uygulamalarının kurtarıcısı haline gelmiştir.

Zamanla daha cazip özelliklere sahip ilaç salım sistemleri ortaya çıkmaya başlamıştır. Eczacılar daha ucuz sistemler ile iş gücünü ve malzeme gerekliliğini en aza indirip kolay kullanabilen uygulamaları tercih etmeye başlamışlardır. Bu da ilaç üreticilerini ilaçlarını sulandırma sonrasında hastaya uygulanabilme özelliğine sahip kaplar içinde pazarlamaya yönlendirmiştir. İlacın çözelti içinde bulunduğu ve uygulamaya hazır ilaç sistemleri iş gücünü azaltmak için tasarlanmıştı, fakat uygulamada başarısız olmuştur. Çünkü bazı ilaçlar sistem çözeltisi ile karıştırıldıktan sonra 24 saat içerisinde etkisini kaybediyordu ve hazır olarak kullanılması mümkün değildi. Bunun üzerine ilaç çözelti içine konduktan sonra üretici tarafından donduruldu fakat bu maliyetli bir uygulamaydı ve bu formda her ilaç etkili değildi (Hollinger ve Ranade, 2004).

Birçok hastanenin sağlık personeli intravenöz ilaç uygulamalarından kaynaklı sorunlardan dolayı personeline bu uygulamalar için kısıtlama getirmişti. Bu kısıtlama, programlı intravenöz ilaç uygulamalarında hacim kontrol birimleri, küçük kaplar ve küçük şişeler gibi çeşitli damar içine aralıklı olarak ilaç salan cihazların kullanımına yol açmıştır. Bu sistemler ilaç tedavisinin gerekliliklerini karşılamış ve hemşirelerin bu sistemleri uygulamasına olanak sağlamıştır.

Antibiyotiklerin bulunmasıyla 1960 ve 1970'lerde hacim kontrol birimleri hastanelerde geniş bir kullanım alanı bulmuştur. Bu sistemler % 5'lik dekstroz çözeltisi ve 50 ya da 100 mL normal tuzlu çözelti içeren kaplardır. Bu kaplar ilacın çözünmesine izin verir ve eczacılar tarafından hazırlanır. Bu sistemlerin

mikrobiyal kontaminasyon ve ilaç uyumluluk problemlerinden dolayı kullanıma hazır plastik kaplar gibi hazırlama ve çözünmeye ihtiyaç duymayan, alındığı gibi damar içine enjekte edilebilen birçok farklı sistem geliştirilmiştir (Hollinger ve Ranade, 2004).

İntravenöz ilaç salım sistemlerinin avantajları:

- Gastrointestinal tehlike yoktur
- Yüksek kan konantrasyonuna ihtiyaç duyan ilaçlar için uygundur
- İstenilen plazma seviyesine çabuk ulaşılır
- Acil müdahale gereken durumlarda hayat kurtaran bir uygulamadır

İntravenöz ilaç salım sistemlerinin dezavantajları:

- Mikrobiyal kontaminasyon tehlikesi
- İlaç uyumluluk problemleri
- Doz ayarlamasında yaşanan problemler
- Yüksek dozlarda toksik etki oluşabilmesi
- Herkes tarafından uygulanamaması

1.4.4. İntranazal İlaç Salım Sistemleri

Burun mukozasındaki damarlanmaya bakıldığında, bazı ilaçların günlük uygulamasında gastrointestinal yoldaki geçiş etkisini önlemek ve uygulamayı kolaylaştırmak için nazal yol uygun bir alternatif olarak görünmektedir. Nazal yolun ilaç uygulamasında kullanımı eski çağlardan beri insanoğlunun dikkatini çekmiştir. Nazal tedavi Batı Hindistan tıbbının Ayurvedic sisteminde kullanılan bir uygulamaydı. Psikotropik ilaçlar ve halüsinojenler Güney Amerika yerlileri tarafından buruna çekme yöntemi ile yüzyıllardır kullanılmaktadır (Mathiowitz, 1999). Son on yıldır oral olarak emilimi olanaksız olan bileşikler için İntranazal ilaç uygulamasının kullanışlı olabileceği görülmüştür.

İntranazal ilaç salım sistemlerinin avantajları:

- Düşük doz kullanımı
- Terapötik kan seviyesine hızlı ulaşım
- Farmakolojik aktiviteye hızlı başlama
- Yan etkileri az
- Kolay uygulanabilirlik ve hasta uyumu

İntranazal ilaç salım sistemlerinin dezavantajları:

- Bazı ilaçlar nazal mukozadan emilemez
- Bazı ilaçların emiliminin artırılması için yan etkileri bulunan farmasötik bileşiklere ihtiyaç vardır
- Nazal yoldan uygulanan bazı ilaçlar bazen yukarıda bahsedilen avantajlardan hiçbirini göstermeyebilir (Hollinger ve Ranade, 2004)

1.4.5. Oküler İlaç Salım Sistemleri

Göz preparatlarını oluşturan çözeltiler, süspansiyonlar ve merhemler kornea üzerine lokal olarak uygulanabilirler ya da göz küresi ile göz kapağı arasındaki boşluğa damlatılabilirler. Sulu bir çözelti kornea üzerine damlatıldığında ilaç gözün iç kısmına nüfuz etmelidir. Çözelti, gözyaşları ile yıkanıp ve gözyaşı kanalı ile atıldığından, göz damlaları göz ile uzun süre temasta kalamazlar ve sık aralıklarla düzenli olarak uygulanmalıdırlar. Süspansiyonlar daha uzun süre göz ile temas halinde olurlar fakat tanecikli yapılarından dolayı tahriş etme problemleri vardır. Tahriş aşırı göz yaşı boşalmasına ve damlatılmış dozun azalmasına sebep olabilmektedir. Merhemler de göz ile uzun süre etkileşebilme avantajına sahiptirler fakat göz üzerinde bulanık görüntü oluşmasına sebep olan bir film oluştururlar. Göz ile ilgili preparatlarda oluşabilecek dezavantajları ortadan kaldırmak için ilacı istenen hızda ve uzun süre salın kontrollü salım sistemleri kullanılmaktadır (Mathiowitz, 1999).

Oküler ilaç salım sistemlerinin kendine özgü uygulaması, ilacın puls girişini sağladıktan sonra ani bir şekilde ilaç konsantrasyonunun düşürülmesini takip eden yöntemdir. Göz damlaları ile yeterli tedaviyi sağlamak yeterli büyüklükte ve güçte bir puls girişi ile ya da az yoğun bir puls girişini sık aralıklarla uygulayarak sağlanabilir. Korneadan emilimi geliştiren bazı yeni oküler ilaç salım sistemleri bildirilmiştir. Bu sistemlerde göz damlasının ihtiyaçtan daha az sıklıkta uygulanması ile istenilen etki sağlanabilmekte fakat yan etkiler artmaktadır. Bundan dolayı, bu sistemler dozdan kaynaklı ciddi olmayan yan etkileri olan ilaçlar ile sınırlı kullanıma sahiptirler.

1.4.6. Diğer İlaç Salım Sistemleri

1.4.6.1. Ağız İçi İlaç Salım Sistemleri

Peptitler gibi makro moleküllerin mukozal dokulardan iletilmesi için doku geçirgenliğinin artırılması, proteaz aktivitesinin inhibe edilmesi ya da bağışıklık

sistemi yanıtlarını azaltmak gerekir. Bu sorunlar ağız gibi iyi sınırlandırılmış ve ulaşılması kolay bir alanda çözülebilmektedir. Oral ve mukozal dokular arasındaki anatomik ve fiziksel farkların bilinmesiyle ilaç salım sisteminin yerleştirileceği bölge dikkatlice seçilebilir.

Öncelikle çiğneme ve ezme gibi ağız fonksiyonları ile tükürük salgılanmasından dolayı bazı bölgeler elenmektedir. İkinci olarak ağız içi hücre farklılaşmaları geçirgenliği etkilemektedir, bu yüzden ilaç salım sistemi ağız içinde ilaç emiliminin en yüksek olacağı yere yerleştirilmelidir. Bununla birlikte bu epitel bölgeler geçirgenlik açısından ilaca bağımlı olmalı ve ilacın belirli hızda emilimine izin verecek bölgelere ilaç salım sistemleri yerleştirilmelidir. Ağız içi geçirgenlik ve emilim kapasitesi üzerine birçok çalışma yapılmıştır (Hollinger ve Ranade, 2004).

Yapılan bir çalışmada ağız içine uygulanan morfin ile kas içine uygulanan morfinin ağrı kesici etkisi ortopedik cerrahi müdahale sonrası ağrı çeken 40 hasta üzerinde denenmiştir. Yirmi hastaya ağız içi morfin ve kas içi plasebo uygulanmış ve diğer 20 hastaya da kas içi morfin ve ağız içi plasebo uygulanmıştır. Çalışmada kas içi uygulama sonrasında plazma morfin seviyesinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Bununla birlikte plazma morfin seviyesinin ağız içi uygulama ile daha yavaş azaldığı görülmüştür. İlacın biyoyararlanımı ağız içi yol ile alındığında % 46 daha fazla olduğu görülmüş ve ağız içi yolun kronik ağrısı olan hastalar için uygun bir yol olabileceği kararına varılmıştır.

1.4.6.2. Rektal İlaç Salım Sistemleri

Fransız eczacı Baume 18. yüzyılda kakao yağını fitil uygulamalarında kullanılması için tanıtmıştır ve bu uygulama ile ilaçların rektal yoldan uygulanabilirliği ihtimali gün yüzüne çıkmıştır. Bununla birlikte çeşitli yağların kullanıldığı uygulamalar geliştirilmiştir. Ayrıca merhem, mikroenema ve yumuşak jelatin kapsüller de rektal uygulamalarda kullanılmıştır. Rektal yol hem lokal hem de sistemik etkiler için değerlendirilebilecek bir yoldur. Fitiller ve merhemler çoğunlukla hemoroitten kaynaklı ağrı ve kaşıntının lokal tedavisinde kullanılmaktadır. Fitiller rektal ampullada yumuşak ya da erir ve buradan tüm rektuma dağılır.

İlaçlara ilaveten gliserin içerikli sabunlar fitil veya lavman aracı olarak kabızlık tedavisinde kullanılmıştır. Bu amaç için kullanılan fitiller uygulandıktan sonra karbondioksit salar bu da defekasyonu teşvik eder. Lavman ise kabızlık sorunu dışında antibiyotikler ile lokal tedavi amaçlı olarak da kullanılmıştır. Bu yöntemlere dayanarak daha kolay uygulanabilen mikroenema ve yumuşak jelatin kapsüller geliştirilmiştir. Mikroenema sistemi plastik bir kap ile ona bağlı olan uygulama kanalından oluşur. Uygulama kanalının anüse yerleştirilmesinin ardından plastik kaba uygulanacak olan basınç ile kap içindeki ilaç içeren veya içermeyen sıvı rektuma verilir. Bu sistem ilaçların sulu veya yağlı çözeltiler içerisinde canlı sisteme verilmesine olanak sağlamıştır. Kapsüller ise çoğunlukla sistemik etki yaratmak için kullanılan kapsülün ilaç ile birlikte yağ veya parafin ile doldurulduğu sistemlerdir (Hollinger ve Ranade, 2004).

Rektumdan ilaç emilimi aslında gastrointestinal yoldan çok da farklı değildir. Buradaki farklılık anatomi ve fizyolojiden ziyade spesifik membran özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Emilim mekanizmasının temelini yine pasif difüzyon oluşturmaktadır, bu yüzden çözünürlük ve dağılma parametreleri hayati önem taşımaktadır.

1.4.6.3. İnvajinal İlaç Salım Sistemleri

Steroid hormonlar gibi sistematik olarak aktif ilaçlar vajinal mukozadan emilebilirler. Vajinal emilim, progesteron emdirilmiş fitil formülasyonunun uygulanması ile ispat edilmiştir. Özellikle kontraseptif ilaçların vajinal yol ile uygulanmalarının birçok avantajı vardır. Bununla birlikte ilacın vajinal epitelden emilimi oral yol ile alınan kontraseptif ilaçların yarattığı toksisiteyi azaltmaktadır. İlacın invajinal olarak uygulanması hepatik ilk geçiş etkisini ve oluşabilecek gastrointestinal uyumsuzluğu önlemektedir (Hollinger ve Ranade, 2004).

Vajinal uygulamanın en önemli noktası ilacın etkili olacağı süre kadar ortamda kalabilmesidir. Bundan dolayı çözünürlük ve erime etkinlikleri önemlidir. Kontraseptif vajinal halkalar steroidlerin sisteme salınması için uygun bir yöntemdir. Çünkü bu sistemler vajinada 3 haftadan fazla kalabilirler. Yıllarca yapılan çalışmalar ile birçok farklı steroid yapıda hormonun çeşitli polimerden oluşan ilaç salım cihazları kullanılarak vajinal yoldan uygulanabilirliği denenmiş ve invajinal birçok ilaç salım sistemi geliştirilmiştir.

1.4.6.4. İntrauterin İlaç Salım Sistemleri

İntrauterin kontraseptif cihazların gelişimi 1920'lerde başlamıştır. İlk örnekleri ipekböceği bağırsağı ve esnek metal tel ile yapılmıştır. Bu ilk örneklerin zor uygulanma, ağrı ve kanamaya sebep olma gibi ciddi sorunları olmuştur. Bunun üzerine farklı boy ve şekillerde plastik intrauterin kontraseptif cihazlar geliştirilmiştir. Bu cihazların yapımında yaygın olarak etilen, polietilen ve silikon elastomer gibi biyouyumluluğu olan polimerik materyaller kullanılmıştır. Fakat bu cihazların da küçük boyda olanları işe yaramazken büyük boyda olanları da yine ağrı ve kanama gibi ciddi sorunları sürdürmüşlerdir (Hollinger ve Ranade, 2004).

Bunun üzerine ilaç geliştiriciler uzun yıllar boyunca bu sorunları önlemek için çalışmışlardır. Fakat boyut ve şekil üzerine yapılan çalışmalar istenilen sonucu vermemiştir. Bunun üzerine çalışmalar intrauterin kontraseptif cihazlara döllenmeyi önleyici ilaçların yerleştirilmesi yönünde değişmiştir. Bunun sonucunda ilaç içeren daha küçük ve uygulanabilirliği kolay cihazlar geliştirilmiştir.

1.5. İlaç Salımında Doğal Polimerlerin Önemi

Polimerler, monomer denilen görece küçük moleküllerin birbirlerine tekrarlar halinde eklenmesiyle oluşan uzun zincirli moleküllerdir. Yunanca *poli* (çok) ve *meros* (parça) kelimelerinden türemiş olan polimer kelimesi çok parçalı anlamındadır. Aynı monomerlerin oluşturduğu polimere homopolimer, en az iki farklı monomerden oluşan polimere ise kopolimer denir. Polimerler içerdiği monomer sayısına göre şu şekilde adlandırılır: iki monomerden oluşanlara dimer, üç monomerden oluşanlara trimer, dört monomerden oluşanlara tetramer, dört ile yüz arası monomerden oluşanlara oligomer ve yüz monomerden fazlasından oluşanlara ise polimer denir. Polimerler düşük üretim maliyetleri, kolay şekil alma ve amaca uygun üretilebilmeleri nedeniyle her alanda yaygınlaşmışlardır.

Polimerlerin ilaç iletimindeki faydası iyi bilinen bir konudur. Polimerler üzerinde yapılan araştırma ve geliştirmeler sayesinde, polimerler kontrollü ilaç salım teknolojilerinde önemli bir yer edinmişlerdir (Malsmten, 2002). Son yıllarda yapılan çalışmalar ile alınan patentler de polimerlerin ilaç salım sistemleri üzerindeki önemini doğrulamaktadır. İlk çalışmalarda sentezlenen polimerler ile ilacın canlı sisteme sorunsuzca iletimi hedefleniyordu. Buna uygun olarak ilaç

salımında kullanılabilen birçok farklı polimer sentezlenmiştir. Fakat sonra bu polimerlerin biyoyumluluk problemleri ve toksik etkileri ile karşılaşılınca yapılan çalışmalar ilaç salımında doğal polimerlerin (biyopolimer) kullanımına yönelmiştir.

Doğal ham maddeler dünya genelinde çeşitli sanayi kollarında kullanılmaktadır. Bu durum araştırmacıları, biyopolimerleri farmakoloji ve kozmetik alanlarında denemeye yönlendirmiştir. Yapılan denemelerde biyopolimerlerin kontrollü ilaç salımında ve enkapsülasyon işlemlerinde kullanımı sentetik polimerlere alternatif bir yol olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmalarda biyopolimerlerin hem hidrofilik hem de hidrofobik ilaçları hapsedebildiği ve biyoyumluluk probleminin olmadığı görülmüş ve bu özellikler biyopolimerlerin sentetik polimerler karşısında bir adım önde olduğunu göstermiştir (Hollinger ve Ranade, 2004).

Biyopolimerlerin ilaç salım sistemlerinde kullanımı ilk olarak 1980'lerde başlamıştır. İlk denemeler ilaç iletiminde en çok kullanılan yol olan oral uygulama üzerinde yoğunlaşmıştır. Hidrasyon hızının ilaç salımına etki ettiğinin düşünüldüğü o dönemde biyopolimerler hidrasyon hızındaki başarısı ile sürekli salım sistemleri için dikkat çekici bir hal almıştır. İlk zamanlar polimer matriks, polimer filmler ve enterik kaplama gibi sistemler kullanılırken daha sonraki çalışmalar biyopolimerlerden yapılmış nanopartiküller üzerinde yoğunlaşmıştır. İlaç salım kontrolü, ilaç etkinliğinin artırılması, ilaç hedefleme ve ilaç toksisitesini azaltmak gibi avantajlarından dolayı polimerik nanopartiküller farmakologlar tarafından kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır.

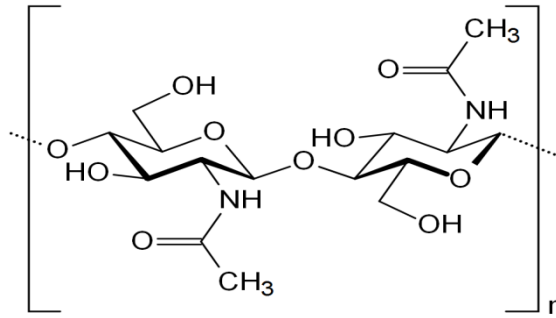
1.5.1. İlaç Salımında Kullanılan Biyopolimerler

İlaç salım sistemlerinin en büyük hedefi ilacın istenilen bölgeye sürekli veya aralıklı olarak sorunsuz ve etkili bir şekilde ulaşmasını sağlamaktır. Polimerler kimyasal, fiziksel ve mekanik özellikleri sayesinde bu görevi en iyi şekilde yerine getirebilen yapılardır. Polimerler sentetik veya doğal olabilirler. Doğal kaynaklardan elde edilen polimerler, biyopolimerler olarak adlandırılırlar ve polisakkaritler, jelatin ve selüloz gibi birçok bilinen makro molekül yapısı birer biyopolimerdir. Biyopolimerlerin kullanıldığı ilaç salım sistemleri ile ilgili ilk yayınlar 1980'lerde ortaya çıkmıştır. Bu yayınlar 2000 yılından itibaren güncel hale gelmiş ve 2005 yılından sonra daha da artmaya başlamıştır. Bu veriler ilaç salım sistemlerinde biyopolimerlerin kullanımının ne kadar büyük bir pazar

olduğunun kanıtıdır. Bu pazarın en büyük payı % 36'lık dilimle kabuklu deniz canlılarının kabuklarından elde edilen kitosana aittir. Kitosan ilaç salım sistemlerinde en çok çalışılmış biyopolimerdir. Kitosani % 17'lik oranla dekstran, % 14'lük oranla aljinat ve % 12'lik oranla jelatin takip etmektedir (Kalia ve Averous, 2011).

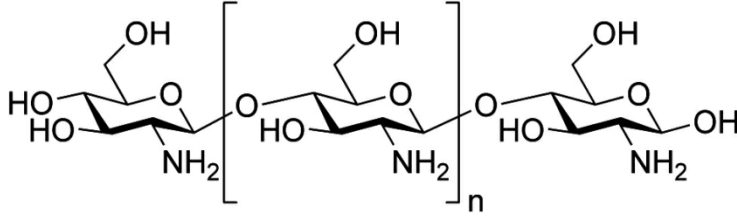
1.5.1.1. Kitosan

Kitosan [P-(1,4)-2-amino-2-deoksi-D-glukoz] doğada selülozdan sonra en çok bulunan ve ilaç salımında çok yaygın olarak kullanılan katyonik bir biyopolimerdir. Kitosan $\beta(1-4)$ bağlı D-glukozamin ve N-asetil-D-glukozamin birimlerinin lineer kopolimeridir. Kitosanın en çok elde edilen formu α -kitosan yengeç ve karides gibi canlıların kabuklarının atıkları olan kitinden elde edilir. Kitin kabuklu deniz canlılarının dış iskeletlerinin ana yapı maddesidir. Ayrıca yumuşakçalar, böcekler, algler ve fungusların da yapılarında bulunur.



Kitin

Kitosan, kabuklu deniz canlılarının kabuklarının baz ve asitler ile aşındırılması ile elde edilen kitinin yüksek sıcaklıkta baz hidrolizi sonunda deasetillenmesi ile elde edilir. Kitosanın bu şekilde elde edilmesi kolay ve masrafsız bir işlemdir. Ayrıca kitosan bazı funguslardan fermentasyon yolu ile de elde edilebilmektedir.



Kitosan

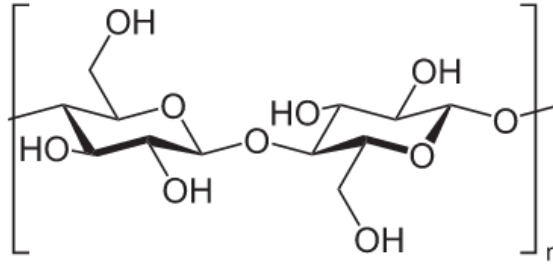
Kitosan zayıf asitte çözünür ve pH 7'nin üzerinde çöker. Düşük pH değerlerindeki çözünürlüğü sayesinde kitosan kolon spesifik ilaç salım sistemlerinin üzerinin enterik kaplanarak kullanılması koşulu ile etkili bir uygulama olacağı düşünülmüştür (Kalia ve Averous, 2011). İlaç enterik kaplama sayesinde mide asidinden korunur ve kolona ulaştığı zaman enterik tabaka çözünerek kitosan kaplı ilaç ortama salınır. Son olarak kitosan bağırsakta yavaşça çözünerek ilacın ortama salınmasını sağlar.

Kitosan glukozamin birimleri içerdiğinden nişasta gibi diğer karbohidratlara benzer bir degradasyon mekanizması vardır. Kitosan *in vitro* olarak insan serumunda, insan sütündeki lizozimler ile, bazı lipaz ve proteaz enzimleri ile, papain enzimi ile, kitinaz ve kitosanaz enzimleri ile degrade olabilir. İnsan vücudunda ise kitosan lizozimler ile degrade olarak hiçbir toksik ürün oluşmaksızın metabolize olur.

Asetik asit, formik asit ve laktik asit gibi organik asit çözeltileri kitosanı çözmek için kullanılır fakat çoğunlukla % 1'lik asetik asit çözeltisi çözgen olarak kullanılır. Kitosanın inorganik asit çözeltilerindeki çözünürlüğü azdır. Kitosan % 1'lik hidroklorik asit çözeltisinde çözünür fakat sülfürik ve fosforik asit çözeltilerinde çözünmez. Alkali pH değerlerinde oluşan çökme ve jelleşme özelliklerinden dolayı bu pH değerlerinde çözünürlüğü azdır. Kitosan çözeltileri anyonik kolloid ile poli-iyon kompleks oluşturarak jelleşir (Brown, 2004).

Kimyasal yapısından dolayı kitosan, selüloz ve kitine çok benzer. Kitin asetilamin gruplarının lineer zincirinden oluşurken kitosan bu yapıdan yeterince asetil grubunun uzaklaştırılması ile oluşur. Bu işleme deasetilasyon denir. Kitin ile kitosan arasındaki fark polimerin asetil içeriğinden kaynaklanır. Kitosan kitinden farklı olarak serbest bir amino grubu içerir ki bu durum kitosanı kullanıma daha uygun yapmaktadır. Kitosan ayrıca yapısal olarak selüloza da çok benzer.

Aralarındaki tek fark kitosanın amin grubunun bulunduğu yerde selülozun hidroksil grubu bulundurmasıdır. Selülozdan farklı olarak kitosan pozitif iyonik yüke sahiptir bu da onun negatif yüklü yağlara, lipitlere, kolesterole, metal iyonlarına, proteinlere ve makro moleküllere bağlanmasına olanak tanır.

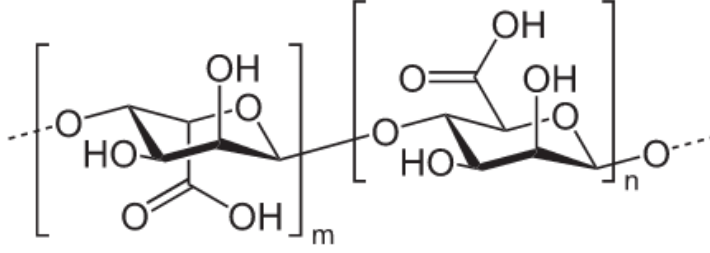


Selüloz

Kitosan toksik olmayan ve biyoyumluluğu yüksek olan bir polimerdir ve biyomedikal alanlarda sıkça kullanılır. Aljinata benzer şekilde kitosan, biyolojik olarak metabolize olabilen, antitümör etkisi bulunan ve jel oluşturabilme özelliğine sahip bir biyopolimerdir. Ayrıca bakteriyostatik ve fungistatik özellikleri sayesinde yaraların tedavisinde kullanıma da uygundur. Sonuç olarak kitosan ve kitin biyoyumluluk, biyolojik olarak metabolize olabilme, adsorpsiyon ve jel oluşturabilme özelliklerden dolayı ilaç salım sistemleri için vazgeçilmez biyopolimerlerdir (Kalia ve Averous, 2011).

1.5.1.2. Aljinat

Aljinat ya da aljinik asit kahverengi alglerin bazı türlerinin hücre duvarlarından elde edilen lineer bir polisakkarittir. D-mannuronik asit ve L-glukuronik asitten oluşan bir kopolimerdir. Aljinat sulu çözeltilisine divalent katyonların eklenmesi ile iyonik olarak çapraz bağlanır. Aljinatın oral yol ile alındığında toksik olmadığı ve biyolojik olarak metabolize olduğu rapor edilmiştir (Kalia ve Averous, 2011). Aljinat kullanımı özellikle ilaç salım sistemleri gibi farmakolojik uygulamalarda aşırı dikkat gerektirmektedir. Aljinatın hidrasyonu sırasında oluşan jel tabakası ilaç için difüzyon bariyeri oluşturmaktadır. Enkapsülasyon işleminde ortam pH değeri düşük ise aljinat bu ortamda büzülme ve tutuklanmış ilacı salmamaktadır. Aljinatın kalsiyum ile çapraz bağlandığı enkapsülasyon uygulamalarında ilacın biyolojik aktivitesi korunmaktadır.



Aljinat

Bu özelliklerinin yanında aljinat su tutucu özelliğinden dolayı kağıt ve tekstil sanayinde sıkça kullanılmaktadır. Ayrıca jel oluşturma özelliği ile içeceklerde, dondurmalarda, çorbalarda ve kozmetikte kıvamlaştırıcı olarak ve gaviscon, rennie gibi ilaçlarda destek maddesi olarak kullanılmaktadır. Aljinat bir divalent katyon olan kalsiyum ile kolayca jel oluşturabilmektedir. Oluşan kalsiyum aljinat birçok hücre immobilizasyonu ve enkapsülasyon işlemlerinde kullanılmaktadır. Ayrıca kalsiyum aljinat yanık kaplama tedavilerinde geleneksel yöntemlere kıyasla daha az acı hissettirdiği için ve biyoyoumluluğu sayesinde sıkça kullanılmaktadır (Kalia ve Averous, 2011).

Aljinik asidin sodyum tuzu olan sodyum aljinat toz bir reçinedir. Bu özelliği ile gıda endüstrisinde emülgatör olarak kullanılır. Ana kullanım alanı aktif boya baskılamadır. Burada tekstil ve halı boyamada kullanılan boyalarda kıvamlaştırıcı etkisinden yararlanır ve boyama sonrası ortamdan kolayca uzaklaştırılabilir. Ayrıca sodyum aljinat özellikle jöleli gıdalarda sıkça kullanılmaktadır. Aljinik asidin potasyum tuzu olan potasyum aljinat da birçok gıdada kıvamlaştırıcı ve emülgatör olarak kullanılmaktadır.

1.5.1.3. Selüloz Türevleri

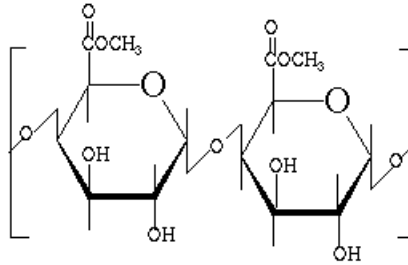
Selüloz türevleri mukus yapışkanlık özelliklerinden ve pH' a bağlı olmayan çözünürlüklerinden dolayı gastrointestinal yolu kullanan ilaç salım sistemleri için uygun biyopolimerlerdir. Bu özellikleri sayesinde selüloz türevleri ilacın istenilen bölgede salınmasını sağlayabilmektedir. Hidroksipropil selüloz iyonik olmayan suda çözünür selüloz eteridir. Organik çözücülerde çözünme, termal esneklik ve yüzey aktivitesi özelliklerinden dolayı farmasötik ürünlerde bağlayıcı madde olarak, film kaplama ve kontrollü salım matrislerinde kullanılmaktadır. Hidroksietil selüloz ya da Natrosol™ iyonik olmayan suda çözünür bir selüloz

türevidir. Hidroksietil selüloz farmasötik uygulamalarda biyobağlayıcı olarak, deriden uygulamalarda kıvamlaştırıcı olarak ve tabletlerde bağlayıcı ve kaplama maddesi olarak kullanılmaktadır. Sodyum karboksimetil selüloz anyonik suda çözünür bir polimerdir ve viskozite arttırıcı özelliğinden dolayı oral ve deriden uygulamalarda sıkça kullanılmaktadır (Kalia ve Averous, 2011).

Selüloz asetat selülozun asetat esteridir ve diyaliz, ultrafiltrasyon ve ters ozmos uygulamaları için yarı geçirgen membran hazırlanmasında en çok kullanılan biyopolimerdir. Ayrıca farmasötik endüstrisinde adsorban boncuklar ve membranlar için matris olarak ve vitaminlerle farmasötik ürünlerin iletilmesi için taşıyıcı olarak da sıkça kullanılmaktadır. Selüloz asetat bütirat suda çözünmez ve ozmotik pompa sistemleri için yarı geçirgen membran yapımında kullanılır.

1.5.1.4. Pektin

Pektin bitkilerin hücre duvarından sulu ekstraksiyon ile elde edilen lineer bir polisakarittir. Pektin ortalama molekül ağırlığı 50,000 ile 150,000 arasında olan yaklaşık 1000 şeker birimi içeren bir biyopolimerdir. Pektinin en önemli özelliği asit, kalsiyum iyonları veya şeker ile jel oluşturmasıdır. Bu özelliğinden dolayı gıda ve farmasötik endüstrisinde sıkça kullanılmaktadır.



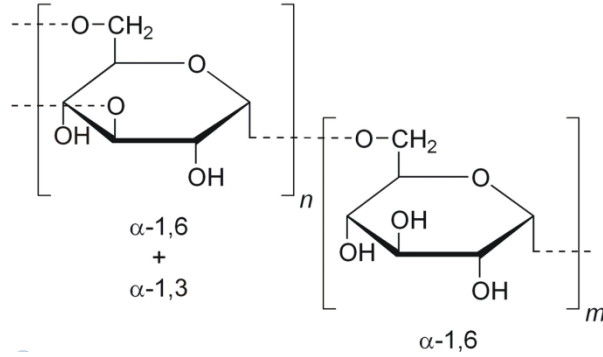
Pektin

Pektin intravenöz olarak uygulandığı zaman kanın pıhtılaşmasını hızlandırmaktadır, bu özelliği sayesinde kan kaybının kontrolü ve lokal kanamalarda kullanılabilir. Ayrıca kan kolesterolünü düşürdüğü rapor edilmiştir (Kalia ve Averous, 2011). Pektin insan mide ortamında çok fazla çözünmese de kolondaki bakteriler pektinin çözünmesine sebep olurlar. Bu yüzden pektin mide ve kolonda ilacı çok fazla koruyabilme kapasitesine sahip değildir ve

ilacın *in vivo* ortamlarda çalışılabilmesi için kalın bir pektin kaplamaya ihtiyaç vardır.

1.5.1.5. Dekstran

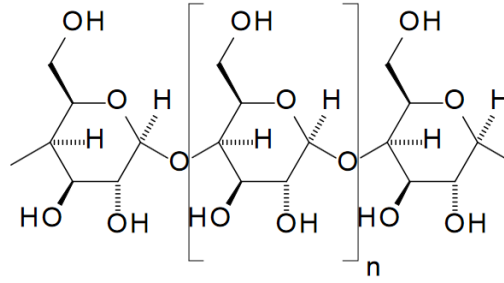
Dekstranlar genellikle 1,6-D-glukopiranosidik bağlanmalar içeren lineer polimer iskelete sahip bir polisakkarit sınıfıdır. Dekstranlar *Leuconostoc mesenteroides* bakteri kültüründen elde edilen ve kitosandan sonra ilaç salım sistemlerinde en çok kullanılan biyopolimerlerdir. Yapmış olduğu glikozidik bağlar bakteri memeli hücreleri tarafından hidroliz olurlar. Bu bağları hidroliz eden enzimler dekstranazlar olarak adlandırılırlar. Bu sayede ilaç yüklenmiş olan dekstran sistemi mide ortamından geçerken korunur ve kolona ulaştığında bakteriler tarafından hidroliz olan dekstran ilacı kolona salar.



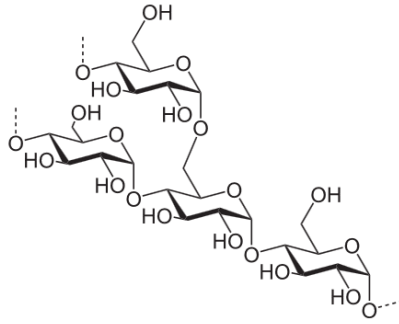
Dekstran

1.5.1.6. Nişasta

Nişasta, amiloz ve amilopektin isimli iki polimerik polisakkaritin birleşimidir. Amiloz, glikoz monomer birimlerinin $\alpha-1,4$ bağlar uç uca eklenmesinden oluşur. Amilopektin de ise amilozdan farklı olarak $\alpha-1,6$ bağlar ile dallanma vardır ve her 24-30 glikoz monomerinden birinde yan zincir başlar. Amiloz lineer bir moleküldür ancak sarmal şeklindedir. Amilopektin bir çalı gibi merkezden dallandıkça genişleyen bir şekle sahiptir. Dallanma noktalarında molekül düzensizdir ve kristal bir yapı oluşturur. Bu molekül yapısından dolayı amilopektin nişastanın depo polimeri olmasından sorumlu olan yapıdır.



Amiloz



Amilopektin

Nişasta uygulanması aşırı zor olan bir biyopolimerdir, özellikle yumuşaticı bir ajan kullanılmadığı durumlarda aşırı kırılabilirlik gösterir. Birçok uygulamada yarı kristal nişasta yapısı bozulmakta veya yok olmaktadır. Su nişasta için iyi bir yumuşaticıdır ve nişastanın fiziksel özellikleri uygulamada kullanılan su miktarıyla değişmektedir. Uzun yıllar boyunca nişasta, uygulanabilirliğinin artırılabilmesi için polietilen, polietilen-co-vinil alkol, poli(hidroksibütirat-co-valerat), polisakkaritler ve proteinler ile beraber kullanılmıştır. Nişasta kapsamlı olarak kanser tedavisinde, insülinin nazal yoldan uygulanmasında, kemik dokusu mühendisliği uygulamalarında ve ilaç salım sistemlerinde kullanılmıştır (Kalia ve Averous, 2011).

1.5.1.7. Jelatin

Jelatin, kollajenin geri dönüşümsüz olarak hidrolizlenmesiyle elde edilen doğal bir polimerdir. Biyoyumluluk ve biyobozunum özellikleri sayesinde jelatin, farmasötik, medikal ve gıda endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Jelatinin ilaç uygulamalarında ve damar protezlerinde kullanımı ile plazma expander etkisi kanıtlanmıştır. Bununla birlikte toksik olmama, kolay uygulanabilme, biyoyumluluk, biyobozunum ve çığraz bağlama özellikleri ile jelatin, ilaç salım uygulamalarının vazgeçilmez biyopolimeridir (Brown, 2004).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. İlaç Salım Sistemleri

Son yıllarda, yeni ilaç salım sistemlerinin sentezi ve büyük ölçekli üretimi ile ilgili çalışmaların sayısı giderek artmaktadır. Bu çalışmalardan bazı örnekler aşağıda sıralanmıştır.

Pandey ve Khuller (2006) poli-laktit-co-glikolit (PLG, sentetik polimer) nanopartiküller ile antitüberküloz ilaçlarının (ATDs) (rifampicin, izoniazid, pyrazinamide, ethambutol) oral yol ile alınmasının ardından beyine iletimini amaçlamışlardır. ATDs yüklü PLG nanopartiküller çoklu emülsiyon ve solvent buharlaştırma tekniği ile hazırlanmıştır. Nanopartikül boyutları zetasizer ölçümleri ile yapılmış ve tanecik boyutu 186-290 nm aralığında bulunmuştur. Yapılan tüm denemelerde ilaç derişimi HPLC ile saptanmıştır. *İn vivo* çalışmalar için ATDs yüklü nanopartiküller farelere oral yoldan verilmiştir. Sonuç olarak farelere uygulanan tek oral doz ile plazmada 5 ile 8 gün boyunca ilaç derişimine ve beyinde ise 9 gün boyunca ilaç derişimine rastlanmıştır. Nanopartiküllerde tutuklu ilacın, serbest ilaca göre daha iyi biyoyararlanım gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca tüberküloz bakterisi ile enfekte edilmiş farelere uygulanan 5 oral doz ile 10 günün sonunda farelerde tüberküloz bakterisine rastlanmadığı rapor edilmiştir.

Alsarra (2009) antienflamatuar ilaç olan “piroxicam”ın transdermal iletimi için niozomların kullanımını araştırmıştır. Etanol, sürfaktan, lesitin, kolesterol ve pH 7,4 fosfat tamponu karışımına polimerik jel eklenmesi ile ilaç içeren proniozomal jel elde edilmiştir. Tutuklanma etkinliği jelin fosfat tamponunda çözülmesinin ardından santrifüjlenmesiyle elde edilen süpernatanda HPLC analizi ile piroxicam tayini yapılarak hesaplanmıştır. Proniozom jelin morfolojisi SEM ölçümleri ile belirlenmiştir. *İn vitro* salım çalışması 37 °C’de pH 7,4 fosfat tamponunda diyaliz yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. *İn vitro* permeasyon çalışması 37 °C’de Franz difüzyon hücreleri kullanılarak yapılmıştır. Tüm çalışmaların sonunda proxicam için başarılı bir transdermal iletim sisteminin geliştirildiği ve ilacın salımının ve sistemin geçirgenliğinin çoğunlukla sürfaktanlara bağlı olduğu rapor edilmiştir.

Bhardwaj vd. (2010) ilaç dirençli kanserlerde “paclitaxe”ın polimer nanopartiküller ile oral olarak kullanılabilirliğini araştırmışlardır. Nanopartiküller poli(laktik-co-glikolik asit) (PLGA) ve didodesilmetillammonyum (DMAB) ile

hazırlanmıştır. Paclitaxe etil asetatta çözülmüş ve çözelti içerisine PLGA eklenerek 2 saat karıştırılmıştır. Sürenin sonunda ortama DMAB eklenmiş ve 5 dakika karıştırmanın ardından çözelti santrifüjlenerek nanopartiküller elde edilmiştir. *İn vitro* çalışmalar ilaç direnci olan A 2780 varyantını içeren insan ovaryum kanser hücreleri ile gerçekleştirilmiştir. *İn vivo* çalışmalar da ise ilaç yüklü nanopartiküller farelere oral yoldan verilmiştir. Sonuç olarak nanopartiküllerin hücreler üzerinde toksik etkisi olmadığı görülmüş ve fareler üzerinde yapılan denemelere dayanarak oluşturulan sistemin paclitaxe iletiminde intravenöz uygulamaya alternatif bir yol olabileceği rapor edilmiştir.

Xia vd. (2011) merkezi sinir sistemi rahatsızlıklarında önemli olan beyine ilaç iletimini geliştirmek amacıyla “düşük molekül ağırlıklı protamin”in (LMWP) kullanımını araştırmışlardır. Coumarin-6 yüklü modifiye olmamış nanopartiküller metoksi-poli(etilen glikol)-poli(laktik asit) ve maleimid-poli(etilen glikol)-poli(laktik asit) kullanılarak emülsiyon/solvent buharlaştırma yöntemi ile hazırlanmıştır. Modifiye olmuş nanopartiküller LMWP kullanılarak maleimid-tiyol bağlama reaksiyonu ile hazırlanmıştır. *İn vitro* salım çalışmaları 37 °C’de ve 100 rpm karıştırma hızında pH 4,0 ve pH 7,4 fosfat tamponunda gerçekleştirilmiştir. *İn vivo* çalışmalar ise farelere modifiye olmuş ve olmamış nanopartiküllerin nazal yoldan verilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak *in vitro* çalışmalarda modifiye olmuş ve olmamış nanopartiküllerin 24 saat süre sonunda yalnızca yüklenen ilacın % 5’ini saldıdığı belirtilmiştir. *İn vivo* çalışmalarda coumarin-6 derişimini saptamak için floresans mikroskopi yöntemi kullanılmıştır. Modifiye olmuş nanopartiküllerin verildiği farelerin beyin, beyincik ve nazal yolunda modifiye olmamış nanopartiküllerin verildiği farelere göre daha yüksek coumarin-6 derişimine rastlandığı rapor edilmiştir.

Li vd. (2011) çözünürlüğü zayıf olan proferol adlı anestetik ilacın poli(etilen glikol)-poli(laktit) ve polioksietilen-660-12-hidroksi stearat polimerlerinden oluşan biyouyumlu miseller ile intravenöz olarak uygulanabilirliğini araştırmışlardır. Boş miselleri rotatif buharlaştırma yöntemi ile elde etmişlerdir. Boş misel çözeltisi ile proferol çözeltisinin oda sıcaklığında karışması ile ilaç yüklü miseller elde edilmiştir. Yüklenen ilaç derişimi ve tutuklanma etkinliği bir miktar jelin metanolde çözülmesi ardından HPLC ile proferol analizi yapılarak hesaplanmıştır. *İn vitro* salım çalışmaları 37 °C’de 100 rpm karıştırma hızında, % 30 alkol içeren pH 7,4 fosfat tamponunda gerçekleştirilmiştir. Ayrıca miseller 37 °C ve 100 rpm karıştırma hızındaki sığır serum albümini içerisinde inkübe

edilerek stabilite denemesi yapılmıştır. Sonuç olarak *in vitro* çalışmalarda 48 saatin sonunda misellere yüklenen ilacın yaklaşık % 75'inin salındığı görülmüştür. Ayrıca misellerin sığır serum albümini içerisinde 48 saat boyunca stabilitelelerini korudukları rapor edilmiştir.

Liang vd. (2011) bir mitotik inhibitör olan “paclitaxel”in (PTX) stabilitesini, terapötik etkisini ve güvenilirliğini arttırmak için Tween 80 ve soya fasülyesi fosfolipitlerinden yapılmış misellerin intavenöz iletim için kullanımını araştırmışlardır. Soya fasülyesi fosfolipitleri etanolde çözülmüş ve Tween 80 eklenmiştir. Bu karışıma PTX eklenmiş ve 30 dakika vorteks uygulamasının ardından 10 dakika sonikasyon uygulanarak PTX içeren miseller elde edilmiştir. Misel morfolojileri zetasizer ve TEM ölçümleri ile belirlenmiştir. *In vitro* hücre kültürü çalışmaları ve hücre toksisitesi çalışmaları HeLa ve A549 hücreleri kullanılarak 37 °C’de gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak yapılan çalışmada paclitaxelin yüksek antitümör etkinliği gösterdiği, toksik etkisinin az olduğu ve biyoyararlanımının arttığı belirtilmiştir.

Rao vd. (2011) ilaç iletim sistemlerinin en büyük sorunu olan ilk geçiş etkisini önlemek amacıyla yeni bir ağız içi iletim sistemi geliştirmişlerdir. Üç tabakalı yapışkan banta kuru ilaç içeren yapışkan film tabakası eklenerek sistem hazırlanmış ve karakterize edilmiştir. Model ilaç olarak nikotin kullanılmıştır. *Ex vivo* çalışmalarda yapışkanlık ve ilaç geçirgenlik özellikleri uygun olduğu için domuz ağız içi mukozası kullanılmıştır. *In vivo* çalışmalar ise gönüllü kişiler ile gerçekleştirilmiştir. Bu kişilerin ağızlarının içerisine belirli aralıklarla nikotin içeren bantlar yapıştırılmıştır. *In vitro* ilaç salım çalışmaları krebs bikarbonat ringer tamponunda 37 °C’de gerçekleştirilmiştir. Tüm nikotin derişimleri HPLC ölçümleri ile saptanmıştır. Sonuç olarak *in vitro* salım çalışmalarında ilacın ilk 5 dakikada % 30’unun salındığı, 20 dakikada bu oranın % 78,84 olduğu ve 30 dakikada % 83,82’sinin salındığı görülmüştür. *In vivo* çalışmaların sonucunda ağız içi mukozada hiçbir tahrişe rastlanmadığı ve geliştirilen sistemin birçok ilacın ağız içine uygulanması için uygun bir sistem olduğu rapor edilmiştir.

Ahmad vd. (2011) yaptıkları bir çalışmada sudaki çözünürlüğü zayıf olan ve hipertansiyon tedavisinde kullanılan “telmisartan”ın çözünürlüğünü ve oral olarak emilimini arttırmak için self nanoemülsifiye sistem (SNES) geliştirmişlerdir. Yağ, sürfaktan ve kosürfaktan olarak Sefol-218, Tween-20, Transcutol P ve ilacın çözünürlüğünü arttırmak için sodyum hidroksit kullanılmıştır. SNES’in

morfolojisi TEM ölçümleri ile belirlenmiştir. *İn vitro* salım çalışmaları 37 °C'de 100 rpm karıştırma hızındaki pH 1,2 ve pH 6,8 ortamlarında diyaliz yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. *İn vivo* çalışmalar ise dişi albino fareler üzerinde yapılmıştır. *İn vitro* çalışmalar sonunda pH 1,2 ve pH 6,8 ortamlarında en yüksek salım oranının % 98 olduğu görülmüş ve SNES'den salımın pH'tan bağımsız olduğu belirtilmiştir. *İn vivo* çalışmalar da ise SNES'in fareler üzerinde yeterli düzeyde biyoyararlanım gösterdiği rapor edilmiştir.

Subbiah vd. (2012) Hepatit B virüsü yüzey antijeni (HBsAg) yüklü N,N,N-trimetil kitosan (N-TMC) nanopartiküllerin intranasal iletimini gerçekleştirmişlerdir. N-TMC iki basamaklı metilasyon ile sentezlenmiştir. Sentezlenen N-TMC fosfat tamponunda çözülmüş ve HBsAg ve Tween 80 çözeltileri ile karıştırılmıştır. Ardından ortama tripoli fosfat (TPP) eklenmiş ve oluşan HBsAg yüklü N-TMC nanopartiküller santrifüjleme sonrasında ortamdan alınmıştır. HBsAg yükleme etkinliği, yükleme sonrası süpernatandaki protein miktarı ilk protein miktarından çıkarılarak hesaplanmıştır. *İn vitro* salım çalışması 37 °C'de pH 7,4 fosfat tamponunda 100 rpm karıştırma hızı ile gerçekleştirilmiştir. Salınan miktar süpernatanda yapılan protein tayini ile belirlenmiştir. *İn vivo* çalışmalar farelere HBsAg yüklü nanopartiküllerin nasal yoldan verilmesi ile gerçekleştirilmiştir. *İn vitro* salım çalışmalarında 42 gün boyunca nanopartiküllerden sürekli salım olduğu ve yüklenen HBsAg'nin %92,1'inin salındığı belirtilmiştir. *İn vivo* çalışmalarda ise HBsAg'nin adjuvant etkinliğinin yüksek ve standartına göre daha iyi olduğu bildirilmiştir.

Yun vd. (2012) ısı duyarlı hidrojel kullanarak transdermal bir ilaç iletim sistemi hazırlamışlardır. Hidrojel poli(vinil alkol) ve N-izopropilakrilamid kullanılarak serbest radikal polimerizasyonu ile sentezlenmiş ve model ilaç bu basamakta ortama eklenmiştir. Nitrik asit ve sülfürik asit ile okside olan grafit, hidrojin termal hassasiyetini arttırmak için hidrojel matriksi içine eklenmiştir. *İn vitro* salım çalışmaları kılız fare derisi kullanılarak pH 7,4 fosfat tamponunda gerçekleştirilmiştir. Bu işlem esnasında ısı duyarlı olan hidrojin şişme özellikleri mikro ısıtıcı ile kontrol edilmiştir. Salınan ilaç miktarı spektrofotometrik olarak (290 nm) belirlenmiştir. Ayrıca fare fibroblastları ile inkübe edilen hidrojin toksik etkisi de incelenmiştir. Denemeler sonunda ilacın ilk 150 dakikada hızlı bir şekilde sonraki 450 dakikada daha yavaş salındığı gözlenmiştir. En yüksek ilaç salım oranının 600 dakika sonunda yaklaşık % 95 olduğu görülmüştür. Ayrıca hidrojin fibroblast hücreleri üzerinde toksik bir etkisi olmadığı rapor edilmiştir.

Oliveria vd. (2012) yaptıkları bir çalışmada 1990'lerden beri kronik ağrı tedavisinde kullanılan hız kontrollü membran transdermal bantının *in vitro* olarak permeasyon etkinliğini incelemişlerdir. Denemede iki bayan donörün estetik ameliyat ile alınan derileri kullanılmıştır. Ortam olarak pH 7,4 fosfat tamponu kullanılmış ve derilerin yüzey sıcaklığının 34 °C olduğu belirtilmiştir. Salımı incelenecek ilaç olan “fentanil”in derişimi HPLC analizi ile belirlenmiştir. Sonuç olarak *in vitro* insan derisi ile gerçekleştirilen çalışmada daha önceki çalışmalar ile benzer sonuçlar elde edildiği rapor edilmiştir.

Bhatta vd. (2012) yapışkan lesitin/kitosan nanopartiküllere yüklenmiş “natomycin”in (NAT) oküler olarak sürekli salımını gerçekleştirmişlerdir. NAT yüklü nanopartiküller iyonik jelleşme yöntemi ile hazırlanmıştır. İlaç yükleme kapasitesi ve tutuklanma etkinliği HPLC ölçümleri ile hesaplanmıştır. *İn vitro* salım çalışmaları pH 7,4 fosfat tamponunda 37 °C’de gerçekleştirilmiştir. *İn vitro* antifungal etkinlik çalışmaları *Candida albicans* ve *A. fumigatus* kullanılarak yapılmıştır. *İn vivo* olarak tavşanlar üzerinde oküler tahriş denemesi, oküler tutulma çalışması ve farmakokinetik çalışmalar gerçekleştirilmiştir. *İn vitro* çalışmalarda yüklenen NAT’ın 2 saatte % 42,23’ünün, 7 saatte % 64,22’sinin salındığı rapor edilmiştir. *İn vivo* çalışmaların sonunda ise, kornea, iris ve konjonktiva üzerinde hiçbir tahriş etkisine ve anormal duruma rastlanmadığı ve NAT’ın farmakokinetik profilinin bu sistemin oküler olarak kullanımına olanak sağladığı belirtilmiştir.

2.2. Aljinat ve Kitosanın İlaç Salım Sistemlerinde Kullanımı

Rajaonarivony vd. (1992) aljinat merkezli yeni bir ilaç taşıyıcı sistem geliştirmişlerdir. Bu amaçla ilaç iletim sistemlerinde taşıyıcı olarak kullanılmak üzere aljinat nanopartiküller hazırlamışlardır. Aljinat nanopartiküller sodyum aljinate kalsiyum klorür ile jelleşmesiyle hazırlanmıştır. Ardından polielektrolit kompleks oluşturmak için ortama poli-L-lizin eklenmiştir. Model ilaç olarak “doxorubicin” kullanılmıştır. Doxorubicin aljinate çözeltisi içerisine eklendikten sonra yukarıda bahsedilen nanopartikül oluşturma işlemi gerçekleştirilmiştir. Nanopartikül boyutları Nanosizer N4 MD cihazı ölçümleri ile belirlenmiştir. Nanopartikül boyutlarının 280-850 nm aralığında olduğu görülmüş ve boyutların aljinate derişimine bağlı olduğu belirtilmiştir. İlaç yükleme kapasiteleri çöktürme sonrası süpernatanda HPLC ile doxorubicin analizi yapılarak hesaplanmıştır. Sonuç olarak geliştirilen nanopartiküllerin ilaç iletim sistemlerinde taşıyıcı olarak

kullanılabilecek özelliklere sahip olduğu ve canlı sistem üzerinde toksik etki göstermediği belirtilmiştir.

Ahmad vd. (2005) tüberküloz tedavisinde kullanılan 4 önemli ilaç olan rifampicin, izoniazid, pyrazinamide ve ethambutol için aljinat nanopartiküllerin taşıyıcı olarak kullanılmasını hedeflemişlerdir. İlaç yüklü aljinat nanopartiküller kontrollü katyon indüklenmiş jelleşme yöntemi ile kitosan varlığında oluşturulmuşlardır. Oral yol ile farelere ilaç yüklü nanopartiküller verilmiş ve belirli süre sonunda plazma ve dokulardaki ilaç seviyesi HPLC ile analiz edilmiştir. Çalışmada % 70-90 arasında ilaç tutunma etkinliği elde edilmiştir. Tek oral doz ile plazmada 7-11 gün, organ ve dokularda 15 gün terapötik ilaç derişimine rastlanmıştır. Plazma/organ ilaç seviyesi 12/24 olan serbest ilaçlara göre, geliştirilen bu sistemin tutuklanmış ilaçların terapötik olarak varlığını arttırdığını göstermektedir. Ayrıca tüberküloz bakterisi ile enfekte edilen farelerin serbest ilaç ile 45 dozda iyileştiği görülürken aljinat nanopartiküllerde tutuklanmış ilaçlar ile 3 dozda iyileştiği gözlemlenmiştir.

Sarmiento vd. (2007) yaptıkları çalışmada insülinin yapısal bütünlüğünü bozmadan aljinat/kitosan nanopartiküllere yüklemeyi amaçlamışlardır. Aljinat/kitosan nanopartiküller kalsiyum klorür ile iyonotropik ön jelleşmeyi takiben polikasyonik çapraz bağlama yöntemi ile iki adımda hazırlanmıştır. Nanopartikül morfolojisi zetaziser, partikül analizörü ve FTIR ölçümleri ile belirlenmiştir. Yüklenen insülin miktarı yükleme sonrası yapılan santrifüjden elde edilen süpernatanda HPLC ile insülin analizi yapılarak hesaplanmıştır. İnsülin salım çalışmaları pH 1,2 HCl ortamında ve pH 6,8 fosfat tamponunda gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak insülinin nanopartiküllere yüklendikten sonra yapısının korunduğu gözlenmiştir. İnsülinin pH 1,5 ortamında düşük, pH 6,8 ortamında daha yüksek salım oranına sahip olduğu belirtilmiştir.

Elzatahry vd. (2008) biyoyapışkan aljinat/kitosan boncukların, astım ve solunum rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılan “theophylline”in kolon spesifik iletiminde kullanılabilirliğini araştırmışlardır. Kalsiyum aljinat boncuklar iyonotropik hidrojelasyon yöntemi kullanılarak kitosan ile kaplanmıştır. Salım çalışmaları pH 7,4 tuzlu fostat tamponu ortamında Sprague-Dawley farelerinden alınan jejenuma boncukların yapıştırılması ile gerçekleştirilmiştir. Salınan theophylline spektrofotometrik olarak (272 nm) analiz edilmiştir. Boncukların morfolojileri SEM ölçümleri ile belirlenmiş ve boncuk boyutunun 200-400 µm olduğu belirtilmiştir. Sonuç olarak theophylline salımının yüksek oranda tanecik

morfolojisine bağı olduğu belirtilmiş ve 24 saat süresince theophylline salımı gerçekleştiren biyoyapışkan aljinat/kitosan boncukların gelecek vaat ettiği rapor edilmiştir.

Li vd. (2008) aljinat kaplı kitosan mikropartiküllere sığır serum albümini (BSA) yükleyerek aşı iletim sistemi olarak kullanılabilirliğini araştırmışlardır. Kitosan mikropartiküller, kitosan çözeltisinin anyonik tripolifosfat ile iyonik jelleşmesiyle hazırlanmıştır. Bu jel saf su ile seyreltilmiş ve farklı derişimlerdeki BSA çözeltisi jel ortamına eklenerek hafif karıştırma ile BSA mikropartiküllere yüklenmiştir. BSA yüklenmiş kitosan mikropartikül süspansiyonu damla damla sodyum aljinat çözeltisine eklenmiş ve 10 dakika karıştırmanın ardından santrifüjlenerek aljinat kaplı BSA yüklü kitosan nanopartiküller elde edilmiştir. Mikropartiküllerin morfolojileri SEM, zetaseizer ve partikül boyut analizörü ölçümleri ile belirlenmiştir. *İn vitro* salım çalışmaları 37 °C'de pH 7,4 tuzlu fosfat tamponunda gerçekleştirilmiştir. BSA salımı gerçekleştikten sonra ortam santrifüjlenerek süpernatanda BCA kiti ile BSA analizi yapılmıştır. Sonuçlar aljinat kaplı kitosan mikropartiküllerden BSA salımının ilk 8 saatte % 40 ve sonraki 48 saatte % 50 oranında olduğunu göstermiştir. Aljinat kaplı olmayan kitosan mikropartiküllerden ise BSA salımı ilk 30 dakikada % 84 ve sonraki 48 saatte ise % 95,5 oranında olmuştur. Sonuç olarak kitosan nanopartiküllerin aljinat ile kaplanması sistemin fosfat tamponundaki stabilitesini arttırdığı ve mide ortamı gibi asidik ortamlarda taşınan proteinin zarar görmeden istenilen dokuya ulaşmasını sağladığı rapor edilmiştir.

Gazori vd. (2009) yaptıkları bu çalışmada antisens oligonükleotidlerin (ODNs) epidermal büyüme faktörü reseptörüne iletimi için aljinat/kitosan polimerlerinin kullanımı araştırmışlardır. Çeşitli derişimlerdeki CaCl₂ çözeltileri sodyum aljinat çözeltisi içerisine damlatılarak ön jelleşme sağlanmış ve ardından kitosan/antisens çözeltisi bu jele eklenerek nanopartiküller oluşturulmuştur. Partikül morfolojileri zetaseizer, particule size analyser ve SEM ölçümleri ile belirlenmiştir. SEM sonuçlarında partikül boyutlarının 194 nm ile 1435 nm aralığında olduğu gözlenmiştir. Denemeler sonucunda yapılan optimizasyonlar ile nanopartikül boyutunun azaltılması durumunda yükleme etkinliğinin % 95,6'ya kadar çıktığı rapor edilmiştir.

Desai vd. (2009) bir tüberküloz ilacı olan rifampicin'in oral yol ile iletimi için aljinat merkezli mikroküreler üretmişlerdir. Çalışmanın amacının hasta uyumunu

arttırmak ve doz tekrarını azaltmak olduğu bildirilmiştir. Mikropartiküller CaCl_2 varlığında aljinatın katyon indüklenmiş kontrollü jelleşmesi ile elde edilmiştir. Mikropartiküllere yüklenen ilacın salım çalışmaları pH 7,4 fosfat tamponunda 72 saat boyunca gerçekleştirilmiştir. Sürenin sonunda mikropartiküller santrifüjlenmiş ve süpernatanda spektrofotometrik olarak (457 nm) rifampicin analizi yapılmıştır. Çalışmanın sonunda en yüksek tutuklanma etkinliğinin % 80, en iyi salım oranının da % 88,5 olduğu belirtilmiştir. Aljinat mikropartiküllerin rifampicinin oral yol ile kullanımında başarılı olduğu rapor edilmiştir.

Chen vd. (2011) poli(L-histidin)-kitosan/aljinat mikrokapsüllerinin biyobozunur bir ilaç iletim sistemi olarak uygulanabilirliğini araştırmışlardır. Model ilaç olarak protein yapıda olan hemoglobin molekülünü seçmişler ve tüm denemeleri mikrokapsüllere hemoglobin yükleyerek gerçekleştirmişlerdir. Denemelerde üç farklı molekül ağırlığında kitosan kullanılmıştır. Enkapsülasyon etkinlikleri düşük, orta ve yüksek molekül ağırlıklı kitosan kullanılarak oluşturulan sistemler için sırasıyla % 91,3; % 85,9 ve %94,2 olarak bulunmuştur. Aynı şekilde yükleme etkinlikleri de sırasıyla % 47,8; % 44,3 ve %39,7 olarak bulunmuştur. İlaç salım çalışmaları pH 6,8 fosfat tamponunda 72 saat süre ile yapılmıştır. Sonuçlar düşük, orta ve yüksek molekül ağırlıklı kitosan kullanılan sistemler için sırasıyla % 84,8; % 71,4 ve % 87,3 olarak bulunmuştur. Sonuç olarak geliştirilen sistemin protein yapıdaki ilaçlar için uygun bir taşıyıcı olduğu belirtilmiştir.

Ghaffari vd. (2011) “ciprofloxacın” için nanoteknoloji kullanarak kontrollü ilaç iletim sistemi geliştirmişlerdir. Taşıyıcı olarak aljinat/kitosan nanopartiküller ve katı lipit nanopartiküller (SLN) kullanmışlardır. Partikül boyutu SLN’ler için ortalama 291 nm, alj/kit nanopartiküller için ortalama 521 nm olarak bildirilmiş ve morfolojileri SEM ölçümleri ile belirlenmiştir. İlaç yükleme etkinlikleri SLN’ler için $88 \pm \% 4,5$ ve aljinat/kitosan nanopartiküller için $68,95 \pm \% 5,5$ olarak bulunmuştur. İlaç salım denemelerinde 2 saatin sonunda SLM’lerden % 100 ilaç salımı ve alj/kit nanopartiküllerden % 65 ilaç salımı olduğu rapor edilmiştir.

Memnini vd. (2012) çoğunlukla osteoartrit, romatoid artrit ve akut ağrı tedavisinde kullanılan “celecoxib” için yeni bir kolon spesifik iletim sistemi geliştirmeyi amaçlamışlardır. Öncelikle ilacın çözünürlüğünü ve vektörasyonunu arttırmak için ilaç, hidroksipropil- β -siklodekstran ve polivinilprolidon (PVP) ile üçlü kompleks oluşturmuşlar ve daha sonra bu kompleksi aljinat-Ca-kitosan mikrokürelelere yüklemişlerdir. İlaç salım denemeleri pH 1,1 HCl ortamında, pH 6,8 ve pH 7,4

fosfat tamponunda gerçekleştirilmiştir. İlaç çözünürlüğünü arttırmak için tüm ortamlara sodyum lauril sülfat (% 0,17 w/v) eklenmiştir. Sonuç olarak ilaç salım denemeleri ve mikrokürelerin morfolojileri göz önünde bulundurularak geliştirilen sistemin kolon spesifik uygulamalar için kullanışlı olduğu rapor edilmiştir.

2.3. Tamoksifen Salım Sistemleri

Chawla ve Amiji (2002) tamoksifenin (TMX) biyobozunur nanopartiküller kullanarak östrojen reseptörlerindeki lokal konsantrasyonunu arttırmayı hedeflemişlerdir. Biyobozunur poli(ϵ -kaprolakton) nanopartiküller solvent yerdeğiştirme yöntemi ile aseton-su sistemi kullanılarak üretilmiştir. Biyobozunurluk denemesi 37 °C'de pH 7,4 fosfat tamponunda *Pseudomonas* lipaz enzimi varlığında gerçekleştirilmiştir. *In vitro* çalışmalar 37 °C'de tuzlu fosfat tamponu içeren sodyum lauril sülfat ortamında yapılmıştır. *In vivo* çalışmalarda MCF-7 meme kanseri hücreleri kullanılmıştır. Sonuç olarak biyobozunurluk denemesinde 36 saat sürenin sonunda neredeyse polimerin tamamı lipaz tarafından parçalanmıştır. Yüz mg polimere ortalama 5,1 mg TMX yüklenmiştir. İlaç salım denemesinde ise 1 saatin sonunda ilacın % 68'inin salındığı, 24 saatin sonunda ise neredeyse tamamının salındığı belirtilmiştir. *In vivo* denemelerde TMX yüklü polimerin MCF-7 hücreleri tarafından kayda değer bir emilimi olduğu rapor edilmiştir.

Bilensoy vd. (2005) 6 C alifatik esterler ile modifiye edilmiş amfilik β -siklodekstrin nanoküre ve nanokapsüllerin (β -CDC6) TMX iletiminde kullanılmasını araştırmışlardır. TMX yüklü nanopartiküller nanoçökeltme tekniği ile hazırlanmıştır. Nanopartiküllerin karakterizasyonu nanosizer ve partikül analizörü ölçümleri ile yapılmıştır. Yükleme kapasitesi, tutuklama işleminin ardından yapılan santrifüj ile elde edilen süpernatanda yapılan spektrofotometrik TMX analizi ile belirlenmiştir. *In vitro* ilaç salım çalışması % 1'lik Tween 80 içeren pH 7,4 fosfat tamponunda 37 °C'de ve 100 rpm karıştırma hızında gerçekleştirilmiştir. Ayrıca MCF-7 hücreleri kullanılarak nanopartiküllerin hücre toksisitesi özellikleri araştırılmıştır. *In vitro* salım çalışmalarında TMX'in nanopartiküllerden 6 saatin sonunda neredeyse tamamının salındığı gözlenmiştir. Ayrıca yapılan hücre kültürü çalışmasında nanopartiküllerin toksik etkisine rastlanmamıştır.

Sehra ve Dhake (2005) bu çalışmada TMX yüklü poli-laktit-co-glikolit mikrokürelerini o/w emülsifikasyonu ve solvent buharlaştırma yöntemi ile hazırlamışlardır. Mikrokürelerin partikül boyutu mikroskop ile morfolojileri de SEM ölçümleri ile belirlenmiştir. İlaç salım çalışmaları 0,02 N HCl ortamında USP-1 cihazı kullanılarak yapılmıştır. Sonuç olarak bu çalışmada partikül boyutuna ve ilaç tutuklanma etkinliğine polimer, ilaç ve PVA derişiminin etkisi incelenmiştir. İlaç salım denemeleri sonucunda tutuklanan TMX'in 12 saatte ortalama % 90'ının salındığı rapor edilmiştir.

Reddy vd. (2006) katı lipid nanopartikülleri (SLN) emülsifikasyon ve yüksek basınç homojenizasyon yöntemi ile hazırlamışlardır. SLN'lerin karakterizasyonu boyut analizi ve ayrımsal taramalı kalorimetri ile yapılmıştır. SLN'lere TMX yüklenerek *in vitro* ve *in vivo* denemeler gerçekleştirilmiştir. TMX miktarı spektrofotometrik olarak (260 nm) belirlenmiştir. *İn vitro* deneme % 1 etanol içeren pH 7,4 fosfat tamponunda diyaliz yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. *İn vivo* çalışmalarda ise TMX içeren SNL'lerin pH 7,4'deki çözeltisi farelere enjekte edilmiş ve belirli süre sonrasında farelerden alınan serum örneklerinde spektrofotometrik olarak (260 nm) TMX analizi yapılmıştır. Sonuç olarak *in vitro* çalışmalarda 2 saat sonunda TMX'in % 97,11'inin salındığı görülmüştür. *İn vivo* çalışmalarda ise SNL'lerden salınan TMX'in serbest TMX'e göre daha uzun süre kan plazma seviyesini koruduğu ve daha etkili olduğu rapor edilmiştir.

Elnaggar vd. (2009) self-nanoemülsifiye ilaç salım sistemini (SNEDDS) tamoksifen sitrat (TMX) iletimi için kullanmışlardır. SNEDDS farklı oranlarda kaproil, maisin, kremofor ve propilen glikol kullanılarak hazırlanmıştır. TMX sürfaktan/ko-sürfaktan içeren karışımda çözülmüş ve 60 °C'de 5 dakika boyunca karıştırılmıştır. Sonra yağ fazı eklenerek TMX içeren SNEDDS'ler elde edilmiştir. İlaç salım çalışmaları pH 2 HCl ortamında ve pH 7,4 fosfat tamponunda 37 °C'de ve 100 rpm karıştırma hızında gerçekleştirilmiştir. Deney sonucunda SNEDDS'lere yüklenen TMX'in pH 2 ortamında 24 saatte % 40 ve pH 7,4 ortamında 4 saatte % 100 salındığı rapor edilmiştir.

Blanco vd. (2010) TMX yüklenmiş folik asit konjugatı poli [(p-nitrofenil akrilat)-co-(N-izopropilakrilamid)] sub mikro jelinin antitümoral ilaç iletim sistemi olarak kullanılmasını amaçlamışlardır. TMX yüklemek için, 4-nitrofenil akrilat, 4-metilpiridin, etilamin, N-izopropilakrilamid ve folik asit içeren sub mikrojel örneği kullanılmıştır. Bunun için sub mikro jel, TMX'in dimetilsülfoksitteki (DMSO)

çözeltisi içerisinde 66 saat karanlıkta bekletilmiştir. Hazırlanan sub mikro jel DMSO'da şişer ve TMX'in de DMSO'daki çözünürlüğü yüksektir. Bu yüzden yüklenen TMX miktarının bulunması için bir miktar sub mikro jel DMSO çözeltisinde 66 saat bekletilmiştir ve süre sonunda santrifüjlenerek süpernatanda HPLC ile TMX analizi yapılmıştır. *In vitro* hücre kültürü denemeleri için MCF-7 ve HeLa hücreleri ile TMX yüklü sub mikro jel inkübe edilmiştir. *In vivo* denemeler için ise % 0,9'luk tuzlu çözelti içerisinde dağılan jel şırınga ile dişi farelere enjekte edilmiştir. Belirli sürenin ardından farelerden alınan plazma örneklerinde HPLC ile TMX analizi yapılmıştır. Tüm denemelerin sonunda düşük miktarda TMX yüklenen sub mikro jelden 48 saat boyunca 1,18 µg/sa TMX salındığı, yüksek miktarda TMX yüklenen sub mikro jelden ise 168 saat boyunca 30,02 µg/sa TMX salındığı gözlenmiştir. Sub mikro jelin kullanılan hücreler üzerinde toksik etkisinin olmadığı ve jel enjekte edilen farelerde hiçbir inflamatuvar etki ve rejeksiyon gözlenmediği belirtilmiştir.

Sarmah vd. (2011) yaptıkları bir çalışmada yağ-su emülsiyonu ve polimer çapraz bağlama yöntemi ile guar gum nanopartiküller oluşturmuşlardır. Çapraz bağlayıcı olarak gluteraldehit kullanmışlar ve bu nanopartiküllere TMX yüklemişlerdir. Nanopartikül morfolojileri SEM ve TEM kullanılarak belirlenmiştir. *In vitro* ilaç salım çalışmaları 37 °C'de ve 50 rpm karıştırma hızındaki pH 7,4 fosfat tamponu ortamında gerçekleştirilmiştir. Ayrıca dişi albino farelere oral yoldan TMX yüklü nanopartiküller verilerek fareler üzerindeki etkileri incelenmiştir. *In vitro* çalışmalar sonucunda en yüksek tutuklanma oranı % 15 ve ortalama salım oranı da % 87,36 olarak bulunmuştur. *In vivo* çalışmalarda ise en yüksek TMX emiliminin meme dokusunda olduğu görülmüştür.

Adhyapak ve Deasi (2011) TMX iletimi için, eugragit-RL100, hidroksipropil metil selüloz (HPML-K15) ve etil selüloz (EC) kullanarak çözgen buharlaştırma tekniği ile matriks benzeri transdermal ilaç iletim sistemi geliştirmişlerdir. Transdermal filme yüklenen TMX miktarı, film metanolde çözüldükten sonra çözeltinin 274 nm'de spektrofotometrik analizi ile belirlenmiştir. *In vitro* geçirgenlik çalışmasında dişi albino farelerden alınan deri (epidermis) kullanılmıştır. Farelerden alınan epidermis tabakasına yapıştırılan transdermal film pH 7,4 fosfat tamponuna bırakılarak epiderminin membran filmi gibi davranması sağlanmış ve belirli zaman aralıklarında ortamdan alınan çözeltilerde spektrofotometrik olarak TMX analizi yapılmıştır. Bu çalışmanın sonunda geliştirilen transdermal ilaç

sisteminin klasik tablet uygulamalarına göre daha etkili ve kabul edilebilir bir uygulama olduğu görülmüştür.

Ravikumara ve Madhusudhan (2011) TMX yüklü ve boş nanopartiküller iyonik jelleşme yöntemi ile hazırlanmıştır. Nanopartiküllerin morfolojileri SEM ölçümleri ile, partikül boyutları zetaseizer ölçümleri ile ve TMX'in tutuklanıp tutuklanmadığı FTIR ölçümleri ile belirlenmiştir. İlaç salım denemesi diyaliz yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Diyaliz torbası pH 7,4 fosfat tamponu içeren ortamda 37 °C'de ve 50 rpm karıştırma hızında 48 saat boyunca izlenmiştir ve belirli zaman aralıklarında ortamdaki çözeltide spektrofotometrik olarak TMX analizi yapılmıştır. Sonuç olarak TMX'in diyaliz torbasından 1 saat içerisinde % 35'inin salındığı görülmüştür. Sonraki 12 saat içerisinde bu oran % 35,94'e, sonraki 48 saat içerisinde de % 47,34'e yükselmiştir. Hücre toksisitesi çalışmalarında nanopartiküllerin yüksek oranlarda dahi çalışılan hücreler üzerinde toksik etkisinin olmadığı görülmüştür.

Cavalli vd. (2011) yeni bir poli(amidoamin)-kolesterol (PAA-kolesterol) konjugatı sentezlemişlerdir ve bu konjugatı karakterize ederek elektro spreyleme tekniği ile boş ve TMX yüklü nanopartiküller oluşturmuşlardır. Nanopartiküllerin morfolojisini SEM ölçümleri ile, boyutlarını fotokorelasyon spektrofotometrisi ölçümleri ile belirlemişlerdir. Partiküllerin boyutları 500 nm'nin altında; şekilleri ise dairesel olarak bulunmuştur. *İn vitro* salım denemeleri selüloz diyaliz torbası kullanılarak pH 5,5 0,1 M sitrat tamponunda gerçekleştirilmiştir. Hücre üzerindeki toksik etkisini gösteren inkübasyon denemesi ise MCF-7 hücreleri kullanılarak yapılmıştır. Çalışmanın sonunda TMX tutuklanma etkinliğinin % 40 ve 6 saat sonundaki ilaç salım oranının % 26 olduğu görülmüştür. Ayrıca nanopartiküllerin hücreler üzerinde toksik etki göstermediği rapor edilmiştir.

Jain vd. (2011) TMX yüklenmiş PLGA nanopartiküllerin oral olarak uygulanması hedeflemişlerdir. Nanopartiküllere yüklenecek olan TMX miktarı polimer miktarına oranlanarak (w/w) % 5, % 10 ve % 15 olarak belirlenmiş ve emülsiyon buharlaştırma yöntemi kullanılarak elde edilmiştir. Nanopartiküllerin karakterizasyonu AFM ve zeta potansiyeli ölçümleri ile yapılmıştır. TMX'in tutuklanma etkinliği de HPLC ölçümleri ile hesaplanmıştır. *İn vitro* salım denemesi pH 7,4 tuzlu fosfat tamponunda diyaliz torbası kullanılarak 37 °C'de ve 100 rpm karıştırma hızında yapılmıştır. Fare kanser hücre kültürü kullanılarak *in vitro* anti kanser aktivitesi denemesi ve hücre emilim çalışması gerçekleştirilmiştir.

Ayrıca yine fareler kullanılarak *in vivo* doz ayarlaması ve plazma örneklerinde HPLC ile TMX analizi yapılmıştır. Sonuç olarak TMX *in vitro* salım denemesinde Higuchi modeli göstererek 20 gün aralıksız salım yaptığı gözlenmiştir. *In vitro* kanser hücrelerinde de nanopartiküllerden başarılı bir şekilde salınmış ve serbest TMX'e göre 11,19 kat daha fazla biyoyararlanım göstermiştir. Bununla beraber *in vivo* olarak da tutuklanmış TMX yüksek biyoyararlanım ve anti tümör etkisi göstermiştir.

Kapse vd. (2012) yaptıkları bir çalışmada nanoçökme yolu ile TMX yüklü nanopartiküllerin kendi kendine oluşumunu amaçlamışlardır. Sulu seyreltik ortam içerisine TMX, polimer (Kolloidan SR), ve sürfaktanlar eklenerek oluşan çökme esnasında TMX yüklü nanopartikül oluşumu gerçekleştirilmiştir. Tamoksifenin salım denemeleri 37 °C'de ve 100 rpm hızında karışan pH 1,2 HCl ortamı içerisinde gerçekleştirilmiştir. Bununla birlikte sistemin *in vivo* olarak fareler üzerinde oral biyoyumluluğu araştırılmıştır. Sonuç olarak bu çalışma, oluşturulan sistemden yüklenen TMX'in bir saat sonunda tamamının salındığını ve fareler üzerinde yüksek biyoyumluluk gösterdiğini kanıtlamıştır.

2.4. Aljinat ve Kitosanın Tamoksifen Salım Sistemlerinde Kullanımı

Coppi ve Iannuccelli (2009) TMX'in lenf sistemine iletimi, oral biyoyumluluğunun artırılması ve yan etkilerinin giderilmesi amacıyla çapraz bağlı aljinat mikrokapsüllerin kullanılabilirliğini araştırmışlardır. Metanolde çözülmüş TMX, aljinat çözeltisine eklenmiş ve spray-drying yöntemi ile çapraz bağlı olmayan mikropartiküller elde edilmiştir. Bu mikro partiküller CaCl₂ çözeltisine eklenerek 5 dakika karıştırılmış ve ardından ortama kitosan çözeltisi eklenmiştir ve 10 dakika karışmanın ardından oluşan çapraz bağlı mikropartiküller santrifüj ile ortamdan alınmıştır. Mikropartiküllerin morfolojileri SEM ve AFM ölçümleri ile belirlenmiştir. Yüklenen TMX miktarı mikropartiküllerin sodyum sitrat ve Tween 80 içeren karışımda çözülmesinin ardından santrifüjlenerek süpernatanda spektrofotometrik olarak (278 nm) yapılan TMX analizi sonuçları ile hesaplanmıştır. *In vitro* ilaç salım çalışmaları pH 3,0 tuzlu çözelti ortamında ve pH 7,4 ve Tween 80 içeren ortamda gerçekleştirilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatanda spektrofotometrik (278 nm) TMX analizi yapılmıştır. Deney sonunda TMX yükleme değerleri 8,44 ± % 0,33 (w/w) ve 6,63 ± % 0,64 (w/w) olarak bulunmuştur. *In vitro* salım çalışmalarında ise TMX'in pH 3,0'de 1 saatte % 40, pH 7,4'de ise 2 saatte % 80 oranında salındığı görülmüştür.

Martinez vd. (2012) sığır serum albümini ve tiyollenmiş aljinat (aljinat-sistein konjugatı) ile koaservasyon yöntemini kullanarak nanopartiküller hazırlamışlar ve bu nanopartiküllere tamoksifen (TMX) yüklemişlerdir. Yüklenmiş TMX miktarını belirlemek için; nanopartikül oluşturma ortamındaki ilk ve son TMX miktarını kullanarak dolaylı olarak hesaplama yöntemini, TMX yüklü nanopartiküllerin enzimatik sindirimi ve ardından uygulanan organik solvent ile ekstraksiyon yöntemini ve metanol ile doğrudan ekstraksiyon yöntemini kullanmışlardır. İlaç salım denemelerinde 37 °C'de ve 100 rpm'de karışan % 1'lik sodyum dodesil sülfat (SDS) içeren pH 7,4 fosfat tamponunu ortam olarak kullanmışlardır. Ayrıca MCF7 ve Hela hücreleri içeren *in vitro* hücre kültürü ortamlarında TMX yüklü nanopartiküllerin ne kadar etkili olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda oluşturulan sistemin TMX'i % 45-52 oranında saldığı ve polisakkarit içeriği sayesinde *in vitro* kanser hücreleri ile iyi etkileştiği görülmüştür.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Kimyasal ve Cihazlar

Etil alkol (absolute, % 99), kitosan (low molecular weight), kalsiyum klorür (CaCl_2) ve tamoksifen sitrat Sigma-Aldrich (Steinheim, Almanya)'dan; Tween 80 ve hidroklorik asit (HCl) Merck (Dramstadt, Almanya)'dan; sodyum hidroksit (NaOH) ve sodyum asetat trihidrat ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) Riedel-de Haen (Seelze, Almanya)'dan; asetik asit (glacial, % 99) ve potasyum klorür (KCl) Carlo Erba (Ronado, İtalya)'dan; potasyum fosfat tampon tuzu (PBS) Oxoid (Hampshire, İngiltere)'dan; sodyum aljinat (low viscosity) MP Biomedicals (Illkirch, Fransa)'dan temin edildi.

Deneylerde Ohaus-Pioneer (PA214C) 0,0001 duyarlıkta terazi, Hanna (pH 211) pH metre, Shimadzu (UV-1601) spektrofotometre, Brand (Transferpette) otomatik pipetler, Velp (Multistirrer 15) manyetik karıştırıcı, Vestel (White FR 540) buzdolabı, GFL (2001/4) saf su cihazı, Labconco (Freezone 6) liyofilizatör, Heraeus (Fuktion Line) etüv, Hettich (Universal 32R) satrifüj cihazı kullanıldı.

Sentezlenen nanopartiküllerin karakterizasyonu için ADÜ Bilim Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde bulunan FTIR spektrofotometresi (Varian FTS 7000), İzmir İleri teknoloji Enstitüsü-Malzeme Araştırma Merkezi'nde bulunan taramalı elektron mikroskobu (SEM, Philips XL-30S FEG) ve atomik kuvvet mikroskobu (AFM, Digital Instruments-MMSPM nanoscope IV) kullanıldı.

3.2. Yöntem

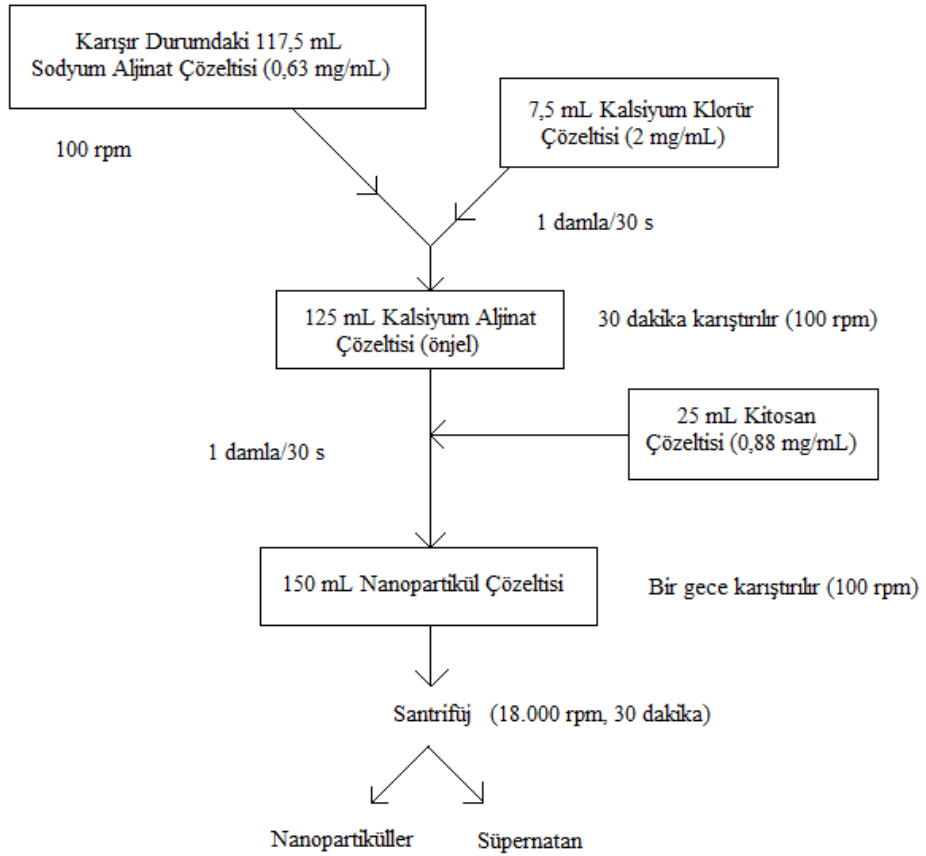
3.2.1. Tamoksifen Çalışma Grafiğinin Hazırlanması

Tüm denemelerden önce 0,01 mg/mL derişimde tamoksifen sitrat çözeltisi hazırlanarak bu çözeltinin UV-Vis. spektrofotometrede 800-200 nm aralığında spektrumu alındı. Spektrumda 276, 238 ve 204 nm dalga boylarında 3 pik görüldü ve bundan sonraki absorbans ölçümlerinin 276 nm dalga boyunda yapılmasına karar verildi. Nanopartiküllere tamoksifen yükleme ve tamoksifen salım denemelerinin tümünde tamoksifen derişimi çöktürme sonrası süpernatandaki tamoksifen dikkate alınarak hesaplanacağından, çalışılacak derişim aralığını kapsayan çalışma grafiği aşağıdaki gibi hazırlandı:

Bir mg saf tamoksifen sitrat 100 mL saf etanolde çözülerek 0,01 mg/mL'lik stok çözelti hazırlandı. Bu stok çözülden son derişimler sırasıyla 0,001; 0,002; 0,003; 0,004; 0,005; 0,006; 0,007; 0,008; 0,009 ve 0,01 mg/mL olacak şekilde 0,3; 0,6; 0,9; 1,2; 1,5; 1,8; 2,1; 2,4; 2,7 ve 3,0 mL tüpe alınarak son örnek hariç diğerleri saf etanol ile 3,0 mL'ye tamamlandı. Hazırlanan çözeltilerin 276 nm dalga boyunda absorbanları ölçüldü. Absorbans değerleri tamoksifen sitrat derişimlerine karşı grafiğe geçirildi. Bu çalışmanın ve bundan sonraki çalışmaların tüm denemeleri 3 tekrarlı gerçekleştirildi.

3.2.2. Boş Aljinat/Kitosan Nanopartiküllerin Hazırlanması

Aljinat/Kitosan nanopartiküller Sarmiento vd. (2007)'e göre hazırlandı. Karışır durumdaki (100 rpm) 117,5 mL aljinatın sudaki çözeltisine (0,63 mg/mL) 7,5 mL kalsiyum klorürün sudaki çözeltisi (2 mg/mL) bir saat boyunca bir damlalık yardımı ile 1 damla/30 s olacak şekilde eklendi. Kalsiyum klorür eklendikten yarım saat sonra kitosanın %1'lik asetik asitteki çözeltisinin (0,88 mg/mL) 25 mL'si iki saat boyunca bir damlalık yardımı ile 1 damla/30 s olacak şekilde kalsiyum aljinat çözeltisine (önjel) eklendi. Bu süreler içerisinde karıştırma işlemi devam etti. Kitosan ekleme işlemi tamamlandıktan sonra çözelti bir gece oda sıcaklığında hava ve ışık almayacak şekilde düşük devirde (100 rpm) karışmaya bırakıldı. Nanopartikül hazırlama süreci aşağıda şematize edilmiştir:

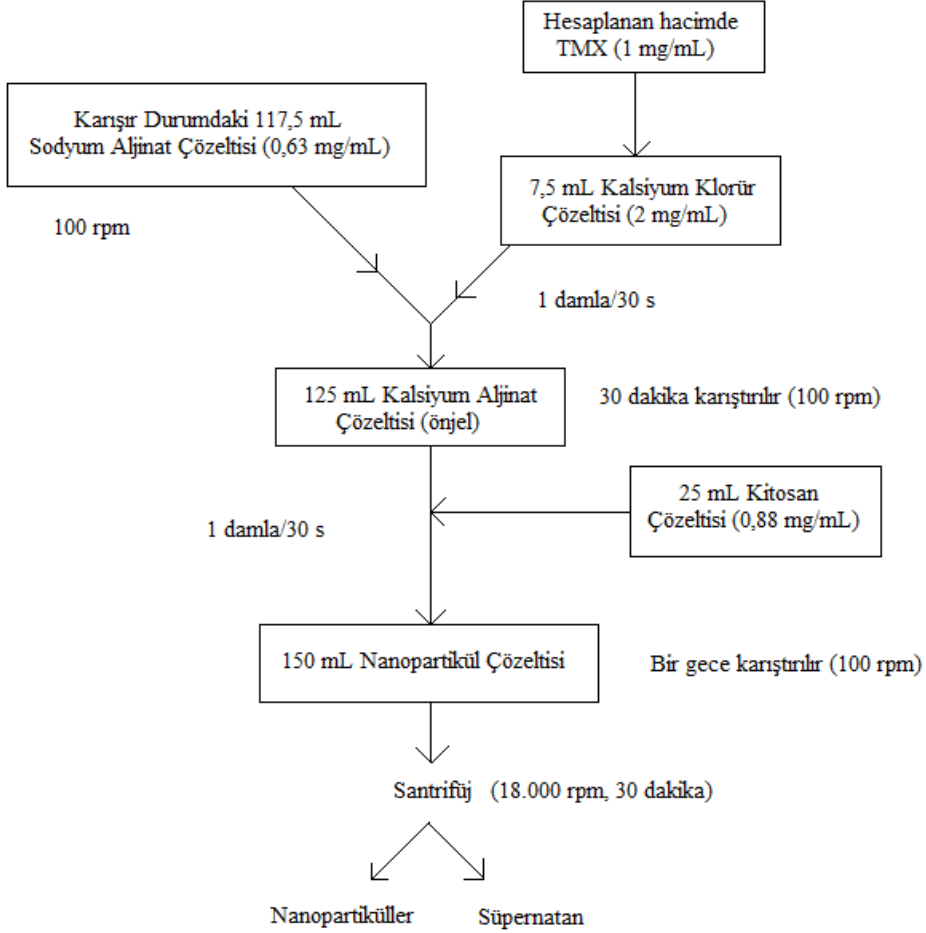


Şekil 3.1. Boş aljinat/kitosan nanopartikül oluşturma işlemi.

3.2.3. Tamoksifen Yüklü Aljinat/Kitosan Nanopartiküllerin Hazırlanması

Derişimi 1 mg/mL olacak şekilde tamoksifen sitrat saf etanolde çözülerek tamoksifen sitrat stok çözelti hazırlandı. Bu çözeltiden hesaplanan hacimde alınarak 7,5 mL kalsiyum klorürün sudaki çözeltisine (2 mg/mL) eklendi. Tamoksifen (TMX) içeren kalsiyum klorür çözeltisi karıştır durumdaki 117,5 mL aljinatın sudaki çözeltisine (0,63 mg/mL) bir saat boyunca bir damlalık yardımı ile 1 damla/30 s olacak şekilde eklendi. İşlem tamamlandıktan yarım saat sonra 25,0 mL kitosanın %1'lik asetik asitteki çözeltisi (0,88 mg/mL) karıştır durumdaki tamoksifen içeren kalsiyum aljinat çözeltisine (önjel) iki saat boyunca bir damlalık yardımı ile 1 damla/30 saniye olacak şekilde eklendi. Tüm işlemler

tamamlandıktan sonra çözelti bir gece oda sıcaklığında hava ve ışık almayacak şekilde düşük devirde (100 rpm) karışmaya bırakıldı. Nanopartiküllere tamoksifen yükleme süreci aşağıda şematize edilmiştir:



Şekil 3.2. Aljinat/kitosan nanopartiküllere TMX yükleme işlemi.

3.2.4. Aljinat/Kitosan Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

3.2.4.1. Fourier Transform Infrared Spektroskopi (FTIR) Ölçümleri

Aljinat, kitosan, tamoksifen sitrat, boş aljinat/kitosan nanopartiküller ve tamoksifen yüklü aljinat/kitosan nanopartiküllerin FTIR spektrumları alındı. Boş ve tamoksifen yüklü aljinat/kitosan nanopartikül örneklerini toz halde elde etmek

için bölüm 3.2.2. ve 3.2.3'de anlatıldığı şekilde hazırlanan nanopartiküller çöktürüldü ve süpernatant ayrıldı. Böylece nanopartikül oluşumuna katılmayan aljinat, kitosan ve kalsiyum klorür, ayrıca tutuklanmayan tamoksifen örnekten uzaklaştırılmış oldu. Çöken nanopartiküller spatül yardımıyla toplanarak donduruldu ve $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de, 90×10^{-3} mPa basınçta 24 saat liyofilize edilerek toz hale getirildi. Liyofilize örneklerden bir miktar alındı ve örneğin on katı olacak şekilde potasyum bromür ile karıştırılarak pellet haline getirildi ve FTIR spektrumu alındı.

3.2.4.2. Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) Ölçümleri

Bölüm 3.2.2. ve 3.2.3'de anlatıldığı şekilde hazırlanan boş ve tamoksifen yüklü aljinat/kitosan nanopartiküller, yapılarının bozulmaması için çöktürülmeden çözelti halinde dondurulup liyofilize ($-50\text{ }^{\circ}\text{C}$, 90×10^{-3} mPa) edildi. Toz haline getirilen örneklerin taramalı elektron mikroskopu ile fotoğrafları çekildi.

3.2.4.3. Atomik Kuvvet Mikroskopu (AFM) Ölçümleri

Bölüm 3.2.2. ve 3.2.3'de anlatıldığı şekilde hazırlanan boş ve tamoksifen yüklü nanopartikül çözeltileri saf su ile 100 kat seyreltildi ve seyreltilmiş çözeltilerden birer damla $1\text{ cm} \times 1\text{ cm}$ boyutlarında temiz bir cam yüzeye yayıldı ve etüvde $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de kurutuldu. Bu şekilde hazırlanan örneklerin atomik kuvvet mikroskopu ile fotoğrafları çekildi.

3.2.5. Nanopartiküller İçin Kütle/Hacim Grafiğinin Hazırlanması

Hazırlanan boş aljinat/kitosan nanopartiküller kullanılarak kütle/hacim grafiği aşağıdaki gibi hazırlandı. Nanopartikül çözeltisinin çöktürülmesinde kullanılacak olan ependorflar tartıldı. Nanopartikül çözeltisinden sırasıyla 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0 ve 8,0 mL alınarak çöktürüldü. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra çöken nanopartiküller ependorflar ile birlikte $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de etüvde bir gece kurumaya bırakıldı. Kuru nanopartikülleri içeren ependorflar tartıldı. Boş ependorfların kütleleri kuru nanopartikülleri içeren ependorfların kütlelerinden çıkarıldı ve kuru nanopartiküllerin kütlesi hesaplandı. Hesaplanan kuru nanopartikül kütleleri alınan çözelti hacimlerine karşı grafiğe geçirildi.

3.2.6. Tamoksifen Yükleme Kapasitesinin Belirlenmesi

Nanopartiküllere yüklenecek olan tamoksifen miktarı nanopartikül yapımında kullanılan aljinat miktarına oranlanarak belirlendi. On mg aljinata karşılık 0,05; 0,06; 0,07; 0,08; 0,09; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; 1,0; 1,1; 1,2; 1,3; 1,4 ve 1,5 mg tamoksifen olacak şekilde bölüm 3.2.3.'de anlatıldığı şekilde nanopartikül oluşturma işlemi gerçekleştirildi. Bir gece karıştırma işleminin ardından ertesi gün nanopartiküller çöktürülerek süpernatantların UV-Vis. spektrofotometrede 276 nm'de absorbansları ölçüldü ve önceden hazırlanmış olan tamoksifen çalışma grafiğinden yararlanılarak süpernatantlardaki tutuklanmamış tamoksifen derişimi belirlendi. Süpernatant derişim değerleri reaksiyon ortamındaki toplam tamoksifen derişiminden çıkarılarak tutuklanmış tamoksifen miktarları hesaplandı.

3.2.7. Tamoksifen Yükleme Kapasitesine Sıcaklığın Etkisi

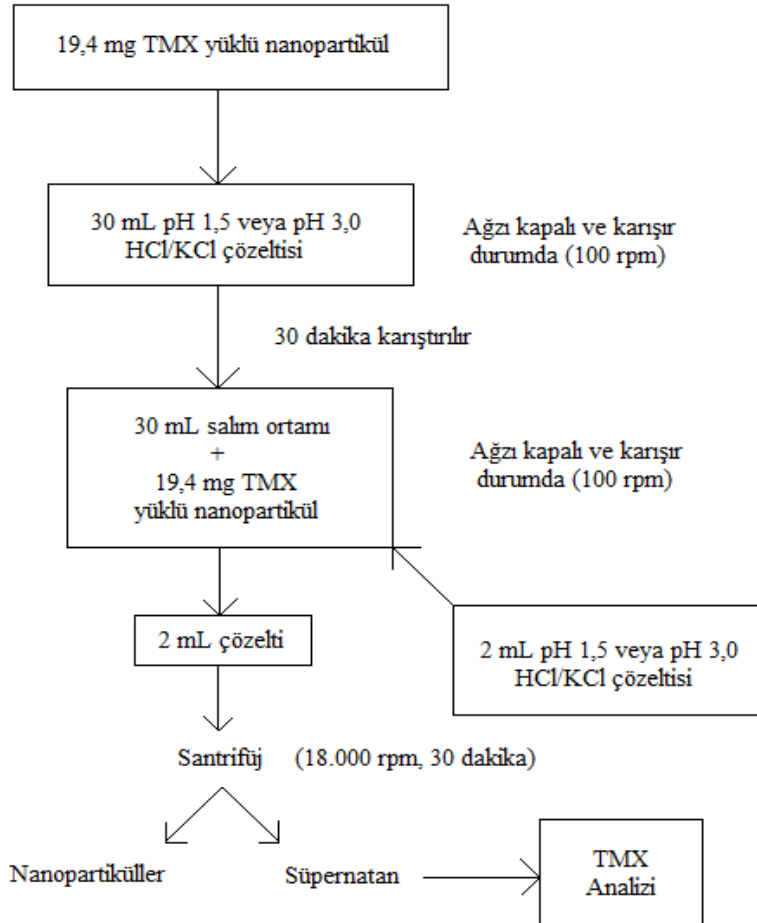
Tüm tamoksifen derişimleri ile yükleme denemeleri gerçekleştirildikten sonra tamoksifen salım denemelerinde kullanılacak olan tamoksifen miktarı belirlendi. Belirlenen 10 mg aljinat/0,6 mg tamoksifen oranı için yükleme kapasitesine sıcaklığın etkisi incelendi. Çalışılacak sıcaklıklar 5, 15, 25, 35, 45, 55 °C olarak belirlendi. Yükleme denemesinde kullanılan tüm çözeltiler çalışılacak sıcaklığa getirildi ve bölüm 3.2.3'de anlatılan nanopartiküllere tamoksifen yükleme denemesi ilgili sıcaklıkta gerçekleştirildi. Çalışılan sıcaklıkta bir gece düşük devirde (100 rpm) hava ve ışık almayacak şekilde karışan nanopartiküller ertesi gün santrifüjlenerek süpernatanda tamoksifen analizi yapıldı.

3.2.8. Tamoksifen Salımına pH'ın Etkisinin İncelenmesi

3.2.8.1. Tamoksifenin *in vitro* Mide Ortamında Salımının İncelenmesi

Mide ortamını *in vitro* olarak taklit etmek için kullanılacak olan pH 1,5 ve pH 3 ortamları hidroklorik asit (HCl) ve potasyum klorür (KCl) çözeltileri kullanılarak hazırlandı. Bir beher içerisinde 37 °C'de ve ağzı kapalı durumdaki 30 mL karışan ortam (pH 1,5 veya pH 3) içerisine tamoksifen tutuklanmış 19,4 mg nanopartikül eklendi. Her 30 dakikada ortamdan 2 mL çözelti alınarak santrifüjlendi. Her seferinde alınan çözelti kadar behere kullanılan ortam çözeltisinden (pH 1,5 veya pH 3) eklendi. Bu işlem 5 saat boyunca tekrarlandı. Süpernatantlarda tamoksifen analizi yapıldı ve geçen süre içerisinde nanopartiküllerden ortama ne kadar

tamoksifen salındığı hesaplandı. Nanopartiküllerden TMX salım denemesi aşağıda şematize edilmiştir:

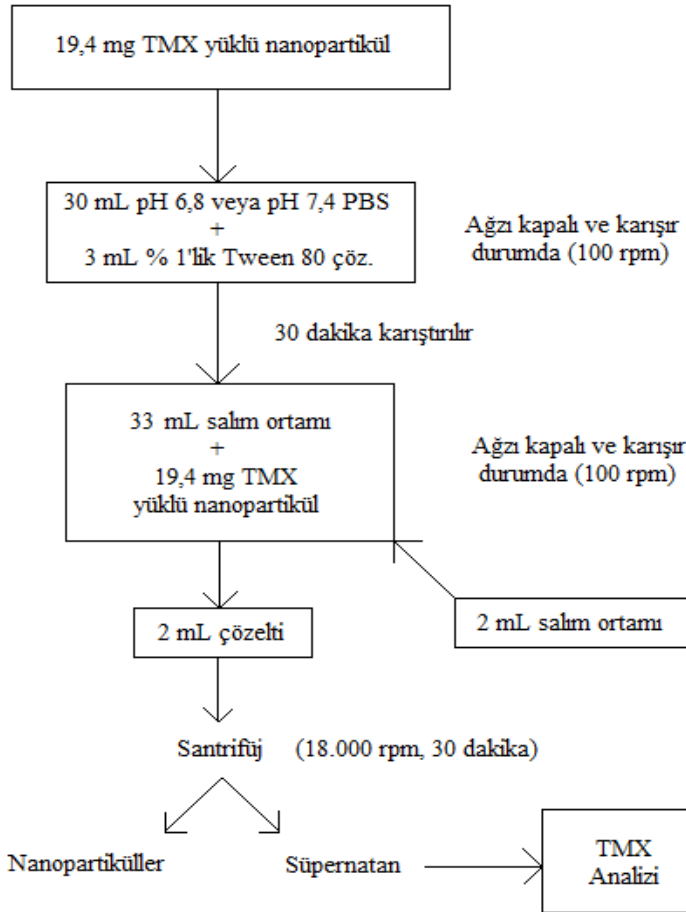


Şekil 3.3. *In vitro* mide ortamında gerçekleştirilen, nanopartiküllerden TMX salım denemesi.

3.2.8.2. Tamoksifenin *in vitro* İnce Bağırsak Ortamında Salımının İncelenmesi

İnce bağırsak ortamını *in vitro* olarak taklit etmek için kullanılacak olan pH 6,8 ve pH 7,4 ortamları potasyum fosfat tabletlerinin (PBS) saf suda çözülmesi ile hazırlandı. Bir beher içerisinde 37 °C’de ve ağzı kapalı durumdaki 30 mL pH 6,8 ve pH 7,4 potasyum fosfat tamponları içerisine 3 mL % 1’lik Tween 80 çözeltisi

eklenerek bir müddet karıştırıldı. Son pH değerleri HCl veya NaOH kullanılarak 6,8 ve 7,4'e ayarlandı. Karışan ortam içerisine tamoksifen tutuklanmış 19,4 mg nanopartikül eklendi ve her 30 dakikada ortamdan 2 mL çözelti alınarak santrifüjlendi. Her seferinde alınan çözelti kadar behere kullanılan ortam çözeltisinden (% 1'lik Tween 80 içeren pH 6,8 veya pH 7,4 tuzlu potasyum fosfat tamponu) eklendi. Bu işlem 5 saat boyunca tekrarlandı. Süpernatantlarda tamoksifen analizi yapıldı ve bu süre içerisinde nanopartiküllerden ortama ne kadar tamoksifen salındığı hesaplandı. Nanopartiküllerden TMX salım denemesi aşağıda şematize edilmiştir:

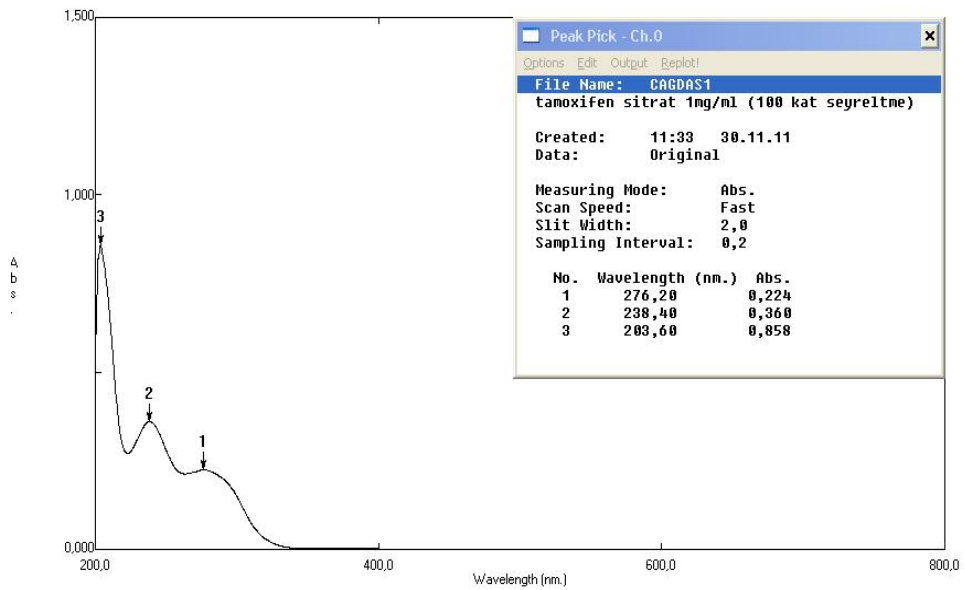


Şekil 3.4. *İn vitro* ince bağırsak ortamında gerçekleştirilen, nanopartiküllerden tamoksifen salım denemesi.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

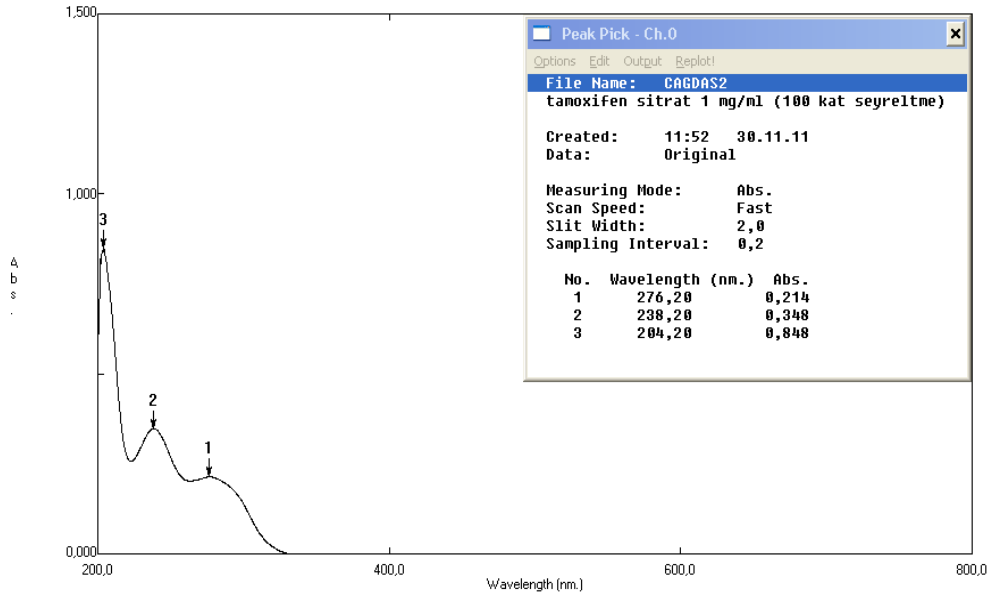
4.1. Tamoksifen İçin Çalışma Grafiği

Tamoksifen sitrat derişim tayin yönteminin belirlenebilmesi için öncelikle UV-Vis. bölgede absorbans verdiği dalga boyu tespiti yapıldı. Bunun için saf su ile hazırlanan 0,01 mg/mL tamoksifen sitrat çözeltisinin 800-200 nm aralığında spektrumu alındı. Şekil 4.1'de görüldüğü gibi tamoksifen sitrat 276, 238 ve 204 olmak üzere üç dalga boyunda absorbans yapmaktadır.



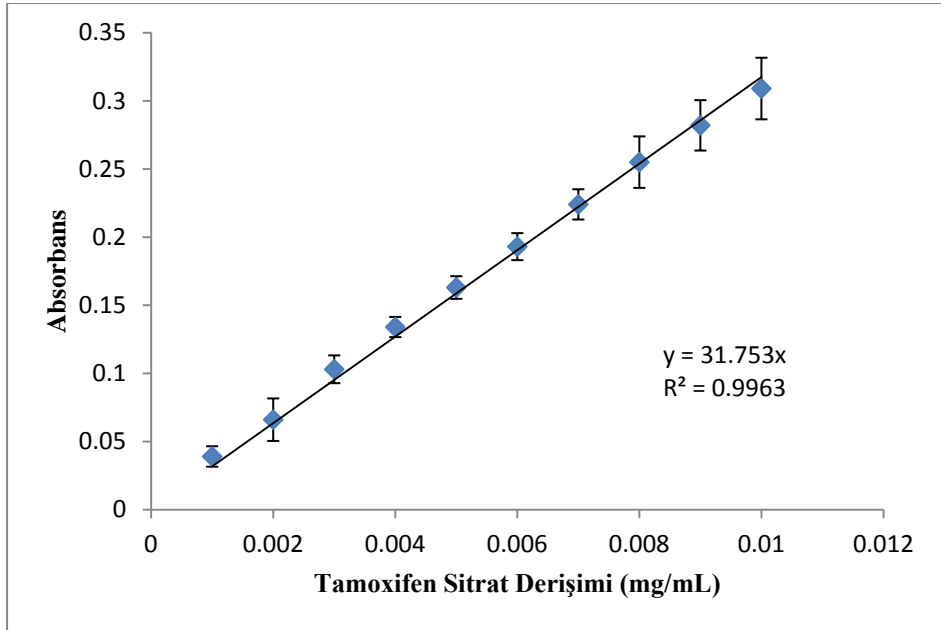
Şekil 4.1. Tamoksifen sitrat çözeltisinin (0,01 mg/mL) UV-Vis. bölgedeki absorpsiyon spektrumu.

Düşük dalga boylarında girişim olasılığı daha yüksek olduğundan ve literatüre de uyumlu olmak üzere 276 nm dalga boyunun kullanılmasına karar verildi. Tamoksifen sitrat çözeltisinin dayanıklılığının tespiti için, +4 °C'de ve ışıktan korunarak buzdolabında saklanmış 6 aylık çözeltisinin de spektrumu aynı koşullarda alındı ve absorbanslarında kayda değer bir düşme tespit edilmedi (Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. Altı ay buzdolabında +4 °C’de ışık görmeyecek şekilde saklanmış tamoksifen sitrat çözeltisinin (0,01 mg/mL) UV-Vis. bölgedeki absorpsiyon spektrumu.

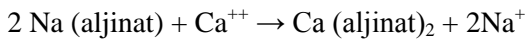
Bu çalışmanın ardından tamoksifen sitrat çözeltisinin çalışma grafiği hazırlandı. Bunun için 0,001-0,01 mg/mL derişim aralığı seçildi ve buna göre grafik hazırlandı. Tüm yükleme ve salım çalışmalarında Şekil 4.3’de görülen çalışma grafiği kullanıldı.



Şekil. 4.3. Tamoksifen sitrat ile hazırlanan çalışma grafiği.

4.2. Boş ve Tamoksifen Yüklü Aljinat/Kitosan Nanopartiküller

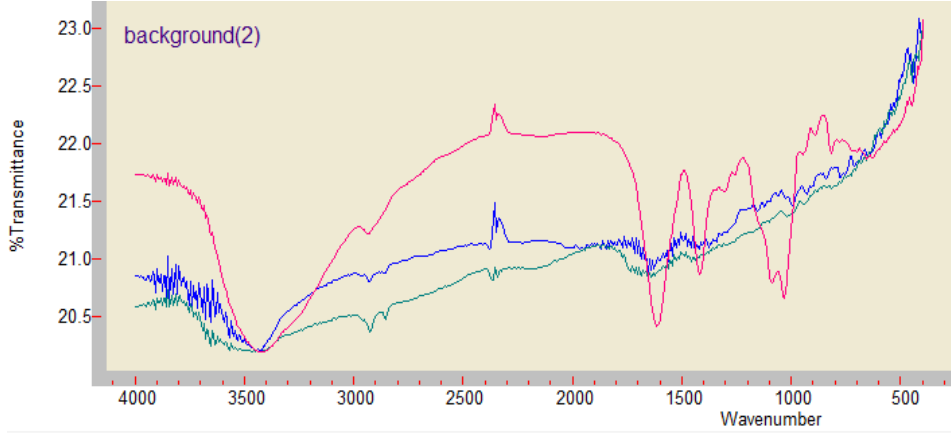
Nanopartikül oluşumunun ilk basamağında gerçekleşen önjel oluşumu ılımlı koşullar altında sodyum iyonlarının kalsiyum iyonları ile basitçe yer değiştirmesiyle gerçekleşir. İkinci basamakta, oluşan kalsiyum aljinat önjelinin kitosan ile kaplanmasıyla nanopartiküller oluşur.



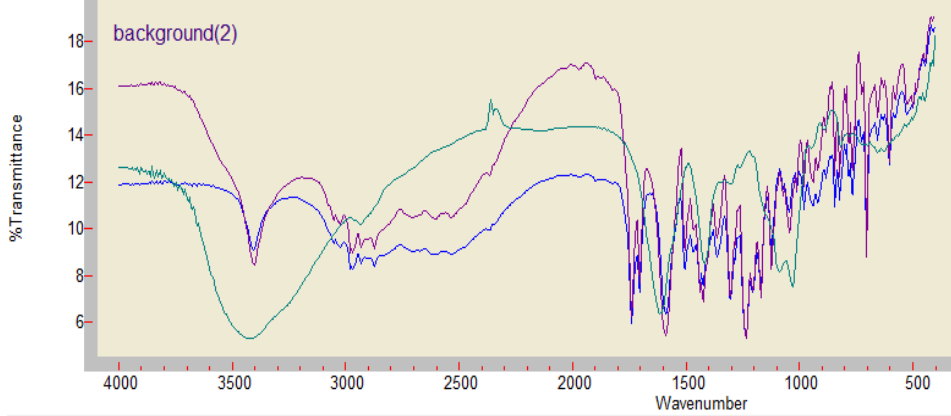
Hem karakterizasyon hem de karşılaştırma çalışmalarında kullanılmak üzere boş nanopartiküllerin sentezi gerçekleştirildi. Bu nanopartiküller daha sonra tamoksifen sitrat yüklü nanopartiküller ile karşılaştırmak için kullanıldı. Karakterizasyon işlemi için FTIR, SEM ve AFM teknikleri ile elde edilen spektrumlar ve forograflar Şekiller 4.4-4.9'da görülmektedir.

Tamoksifenin FTIR spektrumu 1216 cm^{-1} 'de N-H gerilme, $1630-1582 \text{ cm}^{-1}$ 'de aromatik C-C (gerilme), 700 cm^{-1} 'de monosübstitüye aromatik benzen ve 1728 cm^{-1} 'de sitratın karbonil bandını gösterir. Tamoksifenin karakteristik piklerinin tamoksifen tutuklanmış aljinat/kitosan nanopartiküllerde de bir kayma olmaksızın gözlenmesi ilacın polimer içinde kimyasal veya iyonik bir etkileşime girmeksizin

tutulduğunu göstermektedir. Bu durum ilaç salım sistemleri için bir avantaj olup istenen bir özelliktir (Ravikumara ve Madhusudhan, 2011). Boş ve tamoksifen yüklü aljinat/kitosan nanopartiküllerin FTIR spektrumları Şekil 4.8. ve 4.9'da görülmektedir.



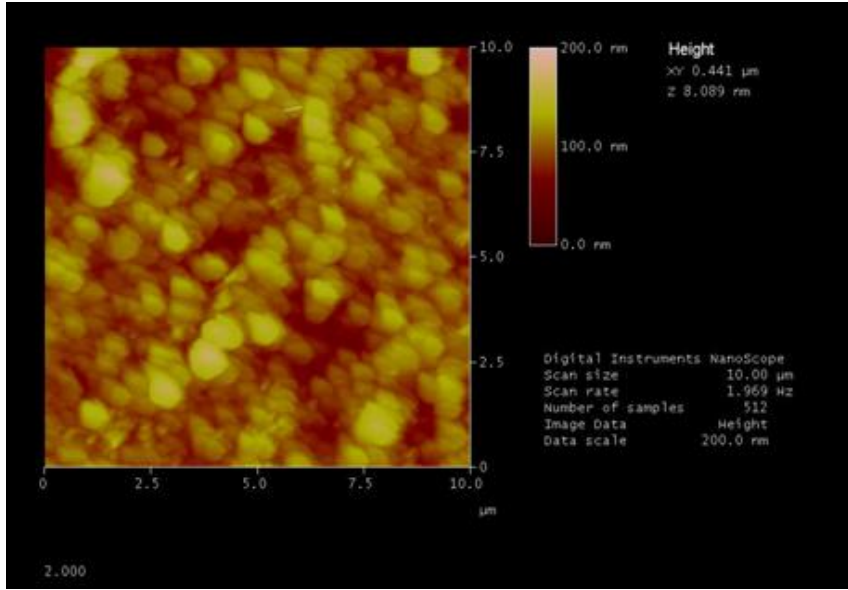
Şekil 4.4. Tamoksifen içermeyen (boş) nanopartiküllerin FTIR spektrumu (Kırmızı: Boş nanopartiküller; Mavi: Kitosan; Yeşil: Aljinat).



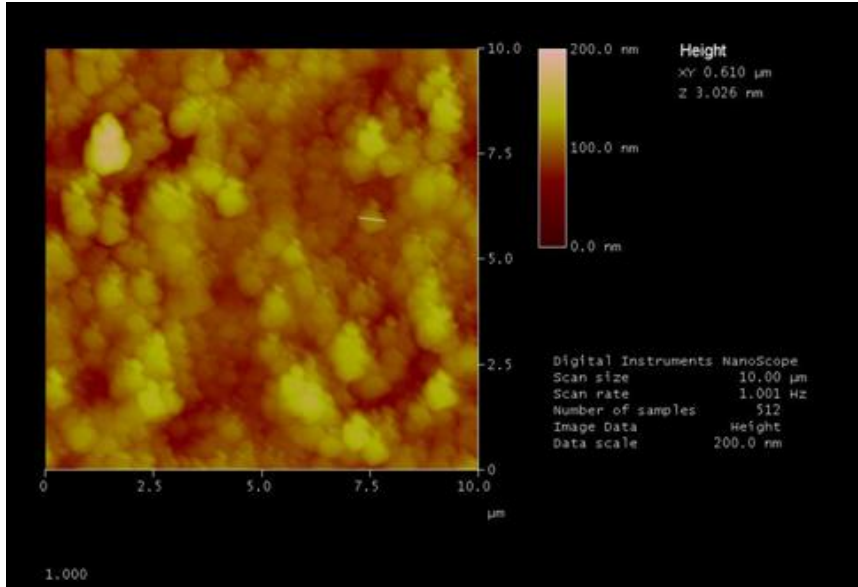
Şekil 4.5. Tamoksifen yüklü aljinat/kitosan nanopartiküllerin FTIR spektrumu (Yeşil: Boş nanopartiküller; Mor: Tamoksifen yüklü nanopartiküller; Mavi: Tamoksifen).

AFM ve SEM görüntülerinden nanopartikül boyutlarının ortalama 500 nm olduğu ve düzenli bir yapıda olmadığı görülmektedir. Ayrıca boş ve tamoksifen yüklü nanopartiküllerin morfolojileri arasında kayda değer bir fark olmadığı

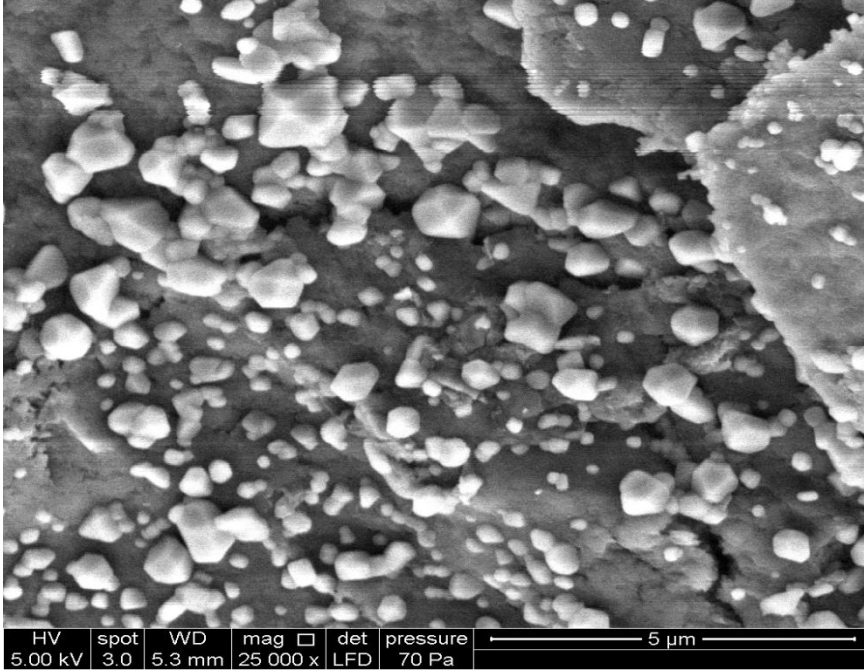
görülmektedir. Bu bilgilerden yola çıkarak tamoksifen yüklemesi sırasında nanopartiküllerin morfolojilerinde değişim meydana gelmediği söylenebilir.



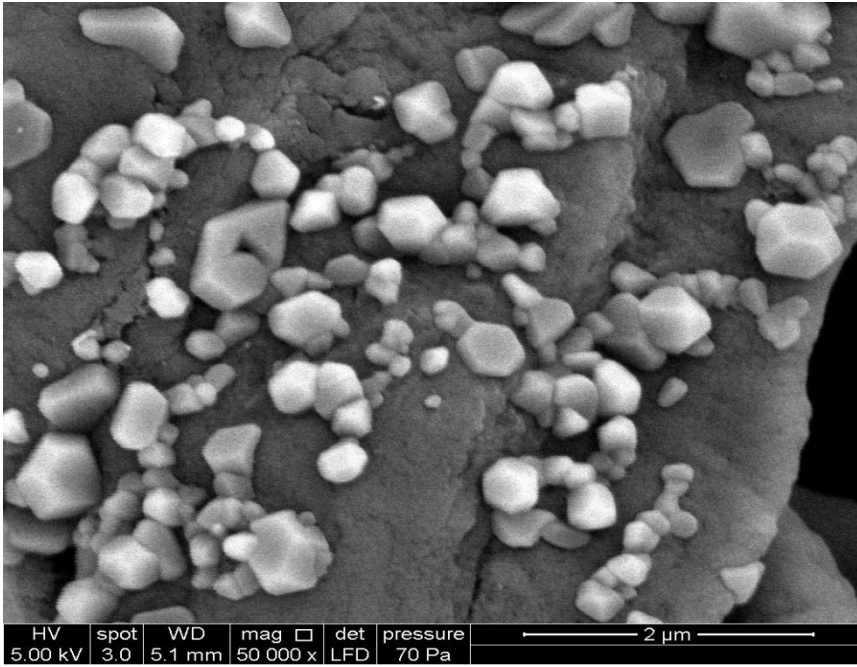
Şekil 4.6. Boş aljinat/kitosan nanopartiküllerin AFM ile çekilmiş fotoğrafı.



Şekil 4.7. Tamoksifen yüklü aljinat/kitosan nanopartiküllerin AFM ile çekilmiş fotoğrafı.

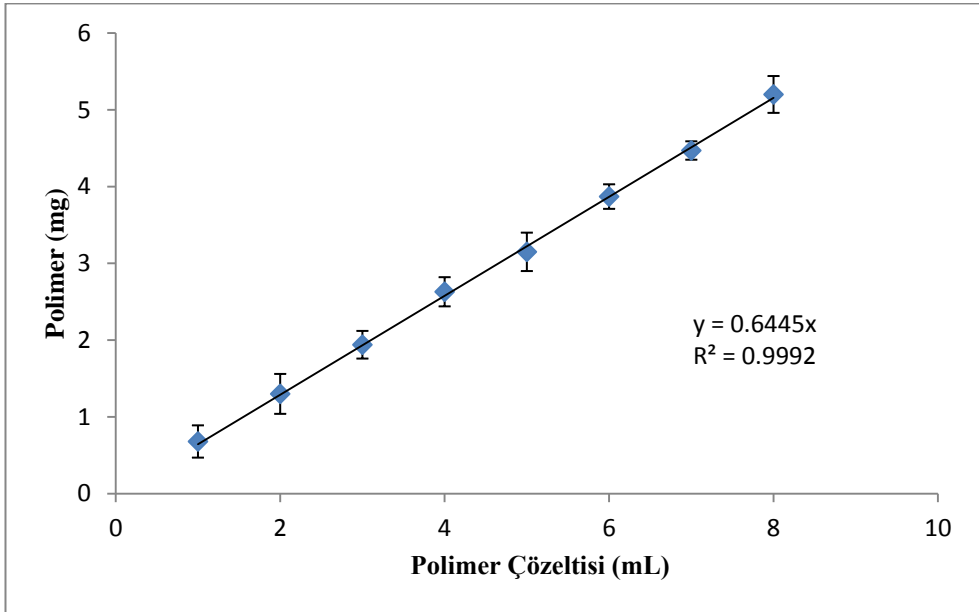


Şekil 4.8. Boş aljinat/kitosan nanopartiküllerin SEM ile çekilmiş fotoğrafı.



Şekil 4.9. Tamoksifen yüklü aljinat/kitosan nanopartiküllerin SEM ile çekilmiş fotoğrafı.

Nanopartikül oluşturma işleminin ne kadar verimle gerçekleştiğini belirlemek için kütle/hacim grafiği oluşturuldu. Boş nanopartiküller kullanılarak hazırlanan kütle/hacim grafiği Şekil 4.10'da görülmektedir. Buradan anlaşıldığı gibi belirtilen yöntemle hazırlanan polimer çözeltisinin 1 mL'si 0,645 mg nanopartikül içermektedir. Başlangıçta reaksiyon ortamının 1 mL'sinde bulunan aljinat, kitosan, CaCl₂ kütleleri toplamı 0,740 mg olarak hesaplanmıştır. Bu sonuç nanopartikül oluşturma işleminin % 87 verimle gerçekleştiğini göstermektedir. Çalışma boyunca yükleme ve salım hesaplamalarında bu sonuç kullanılmıştır.



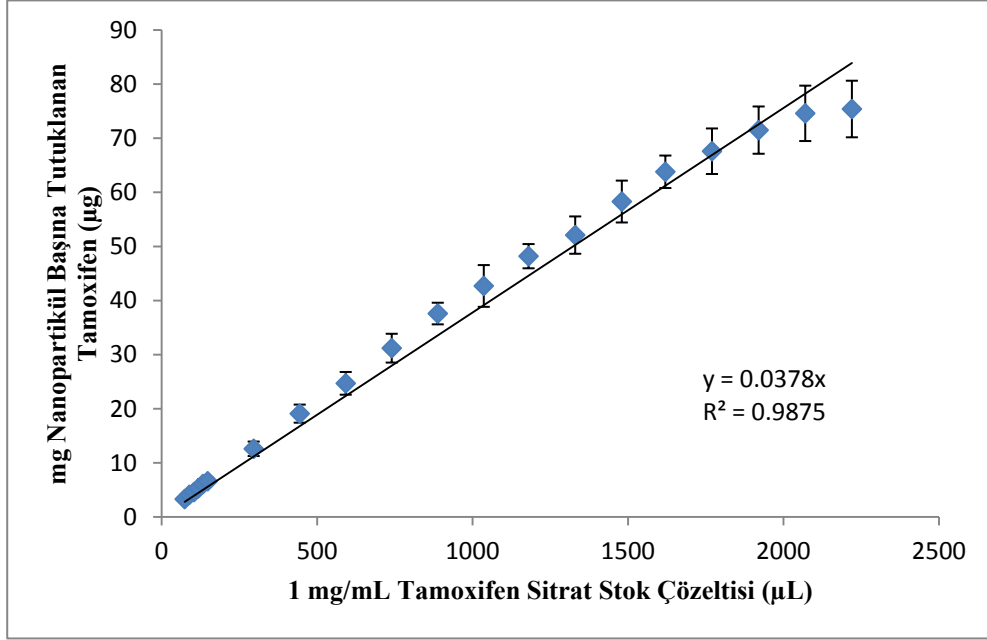
Şekil 4.10. Boş nanopartiküller kullanılarak hazırlanan kütle/hacim grafiği.

4.3. Tamoksifen Yükleme Kapasitesi

On mg aljinata karşılık bölüm 3.2.6'da belirtilen tamoksifen miktarları kullanılarak bölüm 3.2.3'de anlatıldığı şekilde nanopartikül oluşturma işlemi gerçekleştirildi. Miligram nanopartikül başına yüklenmiş tamoksifen miktarı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$\frac{1 \text{ mL reaksiyon ort. TMX miktarı } (\mu\text{g}) - 1 \text{ mL süpernatandaki TMX miktarı } (\mu\text{g})}{1 \text{ mL reaksiyon ortamındaki nanopartikül miktarı (mg)}}$$

Tamoksifen sitrat stok çözeltisinden alınan miktarlar ve hesaplama sonucunda elde edilen değerler ile grafik oluşturuldu. Bu grafik Şekil 4.11’de görülmektedir.



Şekil 4.11. Aljinat/kitosan nanopartiküllere tamoksifen yükleme kapasitesi.

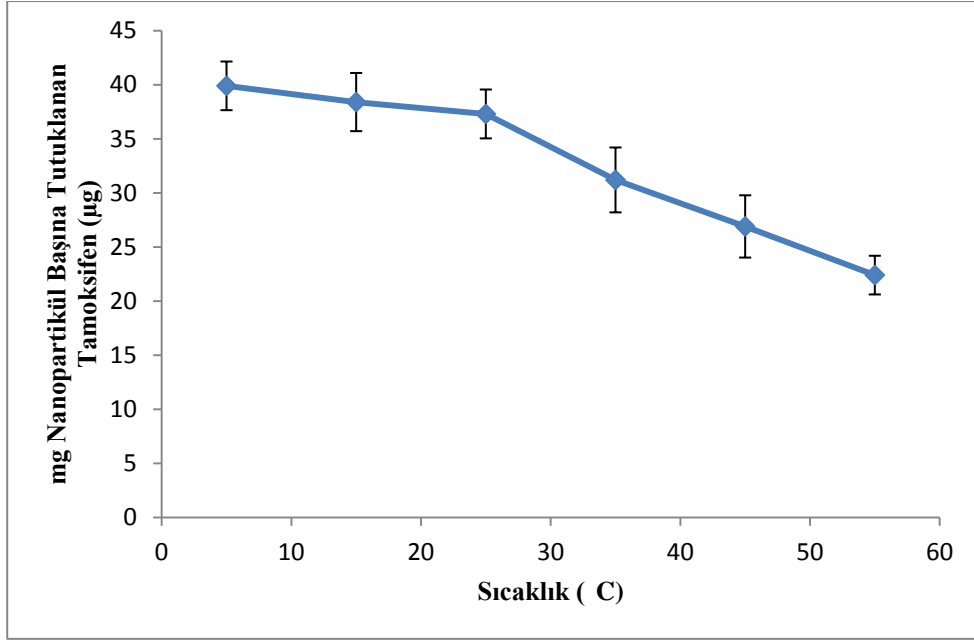
Şekil 4.11’den görüldüğü gibi tamoksifen miktarı arttıkça nanopartiküllere ilaç yüklemesi artmaktadır. Buradan mg nanopartikül başına yüklenebilecek tamoksifen miktarının en fazla 75 µg olduğu görülmektedir. Ancak, nanopartikül oluşturma ortamında 10 mg aljinata ilave edilen tamoksifen miktarı arttıkça belirli bir değerden sonra reaksiyon ortamında agregatlaşma ve çökelti oluşumu gözlenmektedir. Bu nanopartikül oluşumunda istenmeyen bir durumdur. Bu nedenle yüksek tamoksifen derişimlerinin homojen ve nano boyutta olması istenen ilaç salım sistemi üretiminde kullanılmasının uygun olmadığına karar verildi. Düşük tamoksifen miktarlarında ise spektrofotometrik olarak TMX analizi zorlaşmaktadır. Bu sonuçlara dayanarak salım denemelerinde kullanılacak olan tamoksifen miktarı 10 mg aljinata karşılık 0,6 mg tamoksifen olarak belirlendi. Bu oranda nanopartiküllere 37,6 µg tamoksifen yüklendiği belirlendi. Bundan sonraki denemelerde bu oran korundu.

4.4. Tamoksifen Yükleme Kapasitesine Sıcaklığın Etkisi

Belirlenen 10 mg aljinat/0,6 mg tamoksifen oranı kullanılarak yükleme kapasitesine sıcaklığın etkisi incelendi. Şekil 4.12’de sıcaklığın tamoksifen yükleme kapasitesi üzerine olan etkisi görülmektedir. Şekilden anlaşılacağı üzere sıcaklık ile yükleme kapasitesi azalmaktadır. Yükleme kapasitesi üzerine olan etki 5-25 °C aralığında çok değişkenlik göstermezken 25 °C’den yüksek sıcaklıklarda ani ve sürekli bir azalma göstermektedir.

Tüm diğer endüstriyel üretimlerde olduğu gibi ilaç üretiminde de üretimin yapıldığı ortamın sıcaklığı önemlidir. Bu sıcaklığın kontrolü ve sürekliliğinin sağlanması maliyetlere etki eden bir parametredir. Bu nedenle nanopartiküllerin üretimi sırasında ortam sıcaklığının tamoksifen tutuklama kapasitesine etkisi incelenmiştir. İlaç salım sistemlerinin üretimleri ile ilgili literatür bulgularına bakıldığında ilaç salım sırasında ortam sıcaklığının salım hızına ve oranına etkisi sıklıkla incelenirken üretim ortamının sıcaklığı genellikle incelenecek bir parametre olarak görülmemiştir. Bu açıdan bakıldığında bu çalışmada yapılan üretim sıcaklığı deneyleri literatüre önemli bir katkı sağlayacaktır.

Öte yandan sıcaklık çalışmasının sonucuna göre 5-25 °C arasında mg nanopartikül başına tutuklanan tamoksifen miktarlarında önemli bir farkın olmaması; 25-55 °C aralığında ise giderek azalan bir profil göstermesi tutuklama çalışmalarının oda sıcaklığını temsil etmek üzere 25 °C’de yapılmasının isabetli olacağını göstermektedir. Oda sıcaklığında çalışmak ilaç üretim maliyetini de düşüreceğinden büyük miktarlardaki üretimlerde bir avantaj olacaktır.



Şekil 4.12. Sıcaklığa bağlı olarak mg nanopartikül başına yüklenen tamoksifen miktarı.

4.5. Tamoksifen Salımına pH'ın Etkisi

Tamoksifen tedavisi uzun süreli (3-5 yıl) kronik bir uygulama olduğundan ilacın ağız yoluyla verilmesi genellikle tercih edilen yöntemdir. Tamoksifen kendi başına sudaki çözünürlüğü çok az olan bir bileşiktir, bu problem tamoksifenin sitrat tuzu halinde kullanılmasıyla aşılmıştır. Ticari olarak tamoksifen sadece tablet veya tamoksifen sitrat içeren ve ağız yoluyla alınan çözelti olarak bulunur. Öte yandan midenin asidik ortamı nedeniyle tamoksifen sitrat serbest baz olarak çöker ve biyoyararlanımı (% 20-30) düşüktür.

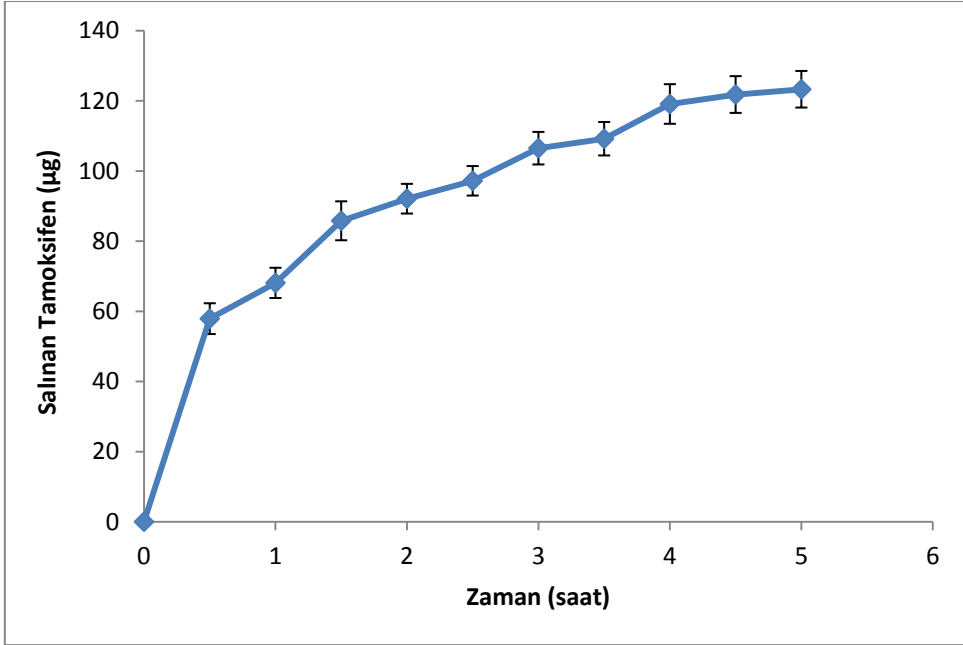
İnsan gastrointestinal yolundaki sıvıların pH değerleri Çizelge 4.1'de verilmiştir. Tamoksifen salımına pH'ın etkisi iki farklı ortamı taklit etmek amacıyla dört farklı pH değerinde gerçekleştirildi. Nanopartiküllerden tamoksifenin salınacağı ortamlar göz önünde bulundurularak *in vitro* olarak mide ortamını taklit etmek için pH 1,5 ve pH 3,0 çözeltileri, ince bağırsak ortamını taklit etmek için ise % 1'lik Tween 80 çözeltisi içeren pH 6,8 ve pH 7,4 potasyum fosfat tamponları kullanıldı. Tüm denemeler daha önce belirlenen 10 mg aljinat/0,6 mg tamoksifen oranı kullanılarak hazırlanan nanopartiküller ile gerçekleştirildi.

Çizelge 4.1. İnsan gastrointestinal yolundaki sıvıların pH değerleri (Grassi vd., 2007).

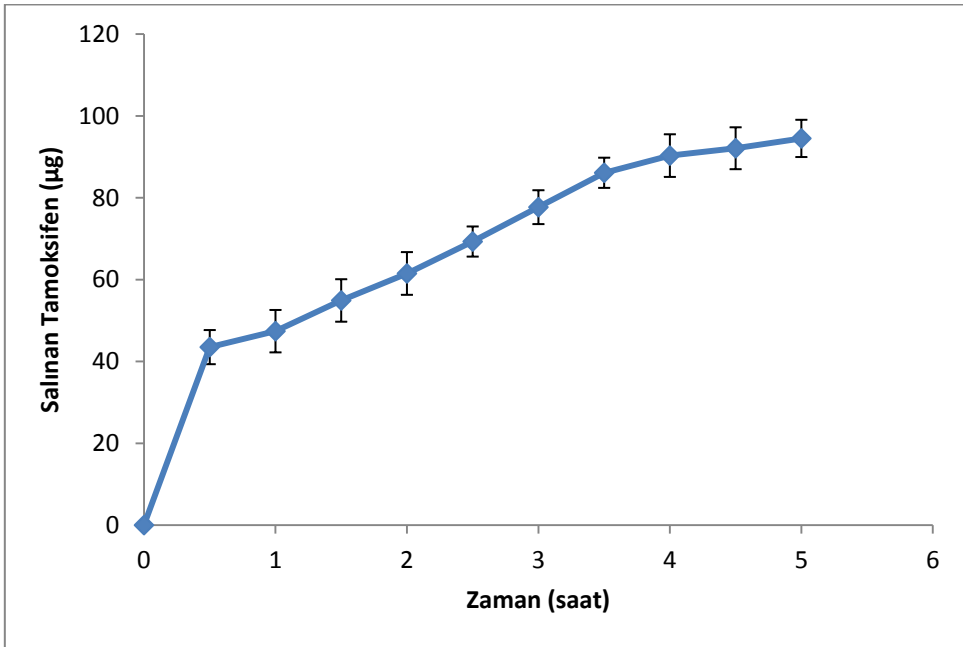
Anatomik Bölge	pH Değeri
Mide	1,5-3,5
Duodenum	5,0-7,0
Jejenum	6,0-7,0
İleum	7,0
Kolon	5,5-7,0
Rektum	7,0

4.5.1. Tamoksifenin *in vitro* Mide Ortamında Salımı

Mide ortamı literatürde pH 1,0-3,0 aralığındaki ortamlar kullanılarak taklit edilmektedir (Sarmiento vd., 2007; Coppi ve Lannucelli, 2009; Elnaggar vd., 2009; Ahmad vd., 2012; Memnini vd., 2012). Buna dayanarak salım çalışmaları pH 1,5 ve pH 3,0 ortamlarında gerçekleştirildi. Bunun için 5 saat boyunca 30 dakikada bir ortamdan alınan çözelti santrifüjlendi ve süpernatanda spektrofotometrik olarak tamoksifen analizi yapıldı. Süpernatantların absorbans değerleri tamoksifen çalışma grafiğinde yerine konarak bu süre içerisinde salınan tamoksifen miktarı belirlendi. Aljinat/kitosan nanopartiküllerden pH 1,5 ve pH 3,0 ortamlarında zamana karşı salınan tamoksifen miktarını gösteren grafikler sırasıyla Şekil 4.13 ve 4.14'de görülmektedir. Ayrıca salım ortamına eklenen nanopartiküllerde tutuklu toplam tamoksifen miktarı ve salınan tamoksifen miktarları kullanılarak her 30 dakikanın sonundaki yüzde tamoksifen salımı belirlendi. Aljinat/kitosan nanopartiküllerden pH 1,5 ve pH 3,0 ortamlarında zamana karşı yüzde tamoksifen salımları sırasıyla Çizelge 4.2 ve 4.3'te görülmektedir.



Şekil 4.13. Aljinat/kitosan nanopartiküllerden pH 1,5 ortamında zamana karşı salınan tamoksifen.



Şekil 4.14. Aljinat/kitosan nanopartiküllerden pH 3 ortamında zamana karşı salınan tamoksifen.

Çizelge 4.2. Aljinat/kitosan nanopartiküllerden pH 1,5 ortamında zamana bağlı yüzde tamoksifen salımı.

Zaman (saat)	Salınan Tamoksifen (%)
0,5	7,9
1,0	9,4
1,5	11,8
2,0	12,7
2,5	13,4
3,0	14,6
3,5	15,1
4,0	16,4
4,5	16,8
5,0	16,9

Çizelge 4.2'den görüldüğü gibi pH 1,5 ortamında ilk 30 dakikada nanopartiküllere yüklenmiş olan toplam tamoksifenin % 7,9'unun (57,9 µg), 5 saatin sonunda ise % 16,9'unun (123,3 µg) salındığı tespit edildi. Bununla birlikte Çizelge 4.3'ten ise pH 3,0 ortamında ilk 30 dakikada nanopartiküllere yüklenmiş olan toplam tamoksifenin % 5,9'unun (43,5 µg), 5 saatin sonunda ise % 12,9'unun (94,5 µg) salındığı görülmektedir.

Çizelge 4.3. Aljinat/kitosan nanopartiküllerden pH 3,0 ortamında zamana bağlı yüzde tamoksifen salımı.

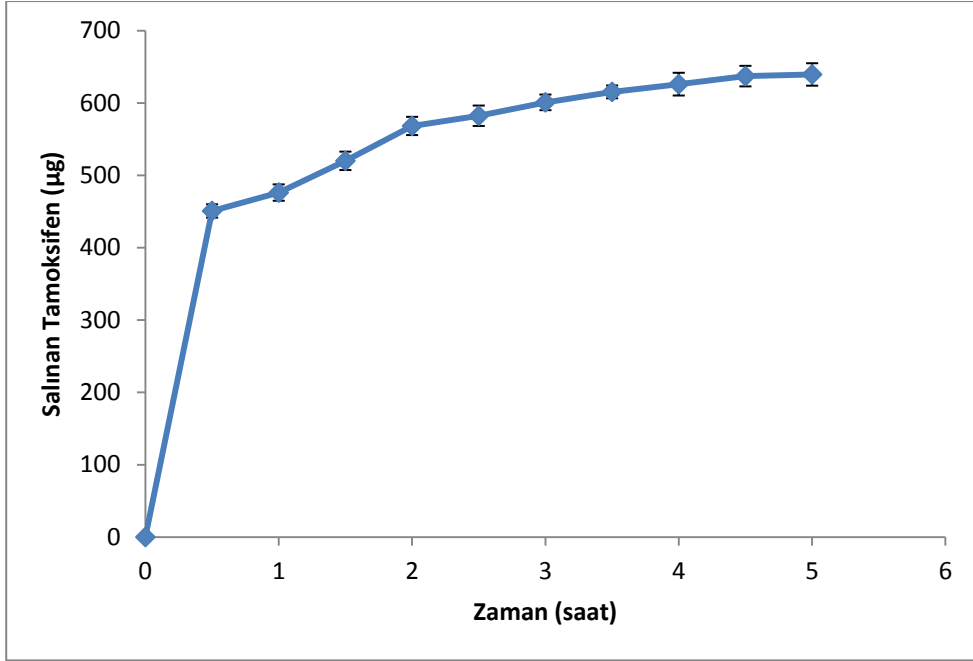
Zaman (saat)	Salınan Tamoksifen (%)
0,5	5,9
1,0	6,5
1,5	7,5
2,0	8,4
2,5	9,5
3,0	10,7
3,5	11,6
4,0	12,4
4,5	12,7
5,0	12,9

Bu sonuçlara göre mide ortamını temsil eden pH 1,5-3,0 aralığında nanopartiküllere yüklenmiş tamoksifenin çok küçük bir kısmı ilk yarım saatin içinde salınmakta, 5 saatin sonunda ise bu oran yaklaşık 2 katına çıkmaktadır. Tamoksifen temel olarak ince bağırsaktan emildiği için mide etabını ilk bir saatin içinde en fazla % 10'luk bir kayıpla geçiyor olması nanopartiküllere yüklenmiş ilacın yaklaşık % 90'ının ince bağırsağa ulaşabileceğini göstermektedir.

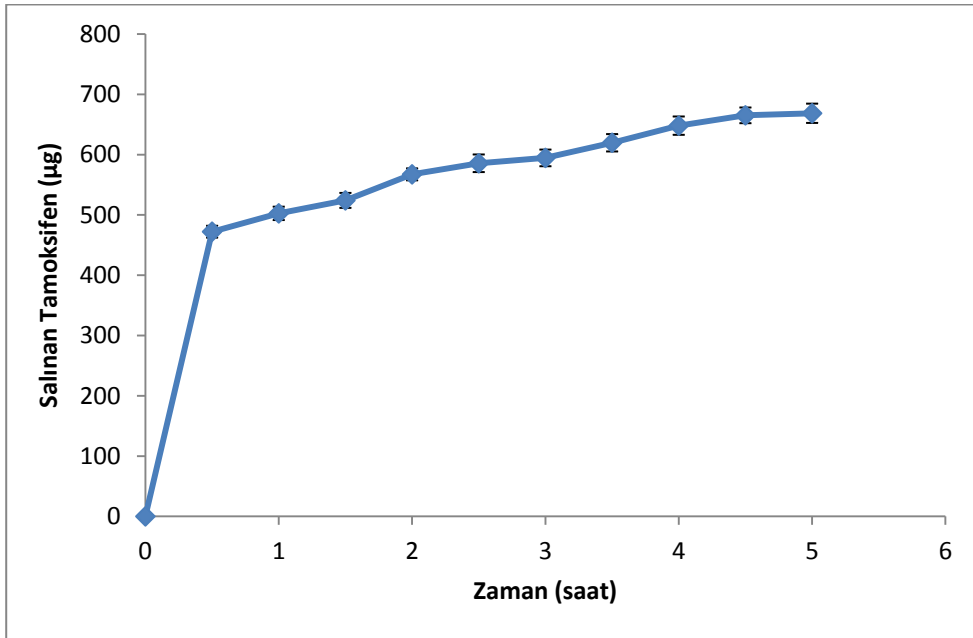
4.5.2. Tamoksifenin *in vitro* İnce Bağırsak Ortamında Salımı

İnce bağırsak ortamı literatürde pH 6,8 veya pH 7,4 fosfat tamponları kullanılarak taklit edilmektedir (Sarmiento vd., 2007; Elnaggar vd., 2009; Ahmad vd., 2011; Memnini vd., 2012). Buna dayanarak salım çalışmaları her iki pH değerindeki ortamlarda da yapıldı. İnce bağırsak ortamının yoğun olan mukoza yapısını taklit etmek için çoğunlukla sürfaktanlar kullanılmaktadır. Tamoksifen denemelerinde özellikle toksik etki göstermemesi ve tamoksifenin çözünürlüğünü arttırması sebebiyle çoğunlukla sürfaktan olarak Tween 80 kullanılır (Bilensoy vd., 2005; Coppi ve Iannuccelli, 2009; Jain vd., 2011; Liang vd., 2011).

Bu bilgilerin ışığında *in vitro* ince bağırsak ortamını sağlamak için 30 mL potasyum fosfat tamponuna (PBS) 3 mL % 1'lik Tween 80 çözeltisi eklendi ve tamoksifen salım denemeleri 33 mL pH 6,8 veya pH 7,4 fosfat tamponu çözeltisinde gerçekleştirildi. Beş saat boyunca 30 dakikada bir ortamdan alınan çözelti santrifüjlendi ve süpernatanda spektrofotometrik olarak tamoksifen analizi yapıldı. Süpernatanların absorbans değerleri tamoksifen çalışma grafiğinde yerine konarak bu süre içerisinde salınan tamoksifen miktarı belirlendi. Aljinat/kitosan nanopartiküllerden pH 6,8 ve pH 7,4 ortamlarında zaman karşı yüzde tamoksifen salımını gösteren grafikler sırasıyla Şekil 4.15 ve 4.16'da görülmektedir. Ayrıca salım ortamına eklenen nanopartiküllerde tutuklu toplam tamoksifen miktarı ve salınan tamoksifen miktarları kullanılarak her 30 dakikadanın sonundaki yüzde tamoksifen salımı belirlendi. Aljinat/kitosan nanopartiküllerden pH 6,8 ve pH 7,4 ortamlarında zamana karşı yüzde tamoksifen salımları sırasıyla Çizelge 4.4 ve 4.5'te görülmektedir.



Şekil 4.15. Aljinat/kitosan nanopartiküllerden pH 6,8 ortamında zamana karşı salınan tamoksifen.



Şekil 4.16. Aljinat/kitosan nanopartiküllerden pH 7,4 ortamında zamana karşı salınan tamoksifen.

Çizelge 4.4. Aljinat/kitosan nanopartiküllerden pH 6,8 ortamında zamana bağlı yüzde tamoksifen salımı.

Zaman (saat)	Salınan Tamoksifen (%)
0,5	62,1
1,0	65,6
1,5	71,5
2,0	78,2
2,5	80,1
3,0	82,7
3,5	84,6
4,0	85,7
4,5	87,6
5,0	87,9

Şekil 4.15 ve 4.16’de dikkate değer nokta ilacın ilk 30 dakikada hızlı bir şekilde salıverildiği daha sonra bu hızın yavaşladığı yani zamana karşı salınan tamoksifen grafiğinin 2 fazlı bir yapı göstermesidir. Bu durum literatürdeki bazı çalışmalar ile benzerlik göstermektedir. Reddy vd. (2006) hazırladıkları katı lipit nanopartiküllerden pH 7,4 ortamında tamoksifen salımının ilk 10 saatte % 50 civarında olduğunu ve 70 saatin sonunda salımın % 80’e ulaştığını bildirmişlerdir. Diğer bir çalışmada Coppi ve Iannuccelli (2009) aljinat/kitosan mikropartiküllerden pH 7,4 ortamında ilk 5 dakikada tamoksifen salımının % 40 civarında olduğunu ve bu değer 120 dakikanın sonunda % 90’ ulaştığını bildirmiştir. Elnaggar vd. (2009) geliştirdikleri self-nanoemülsifiye sistemden pH 7,4 ortamında tamoksifenin ilk bir saat içerisinde hızlı bir şekilde yaklaşık %

70'inin salındığını ve daha sonra bu hızın yavaşlayıp 5 saatin sonunda % 100'e ulaştığını rapor etmişlerdir.

Çizelge 4.5. Aljinat/kitosan nanopartiküllerden pH 7,4 ortamında zamana bağlı yüzde tamoksifen salımı.

Zaman (saat)	Salınan Tamoksifen (%)
0,5	64,9
1,0	69,1
1,5	72,1
2,0	78,1
2,5	80,6
3,0	81,7
3,5	85,2
4,0	89,1
4,5	91,5
5,0	91,9

Çizelgelerden görüldüğü gibi pH 6,8 ortamında ilk 30 dakikada nanopartiküllere yüklenmiş olan toplam tamoksifenin hızlı bir şekilde % 62'sinin (450,8 µg) salındığı, 5 saatin sonunda ise % 88'inin (639,5 µg) salındığı tespit edildi. Aynı şekilde pH 7,4 ortamında ise ilk 30 dakikada nanopartiküllere yüklenmiş olan toplam TMX'in % 65'inin (472,2 µg) salındığı, 5 saatin sonunda ise % 92'sinin (668,6 µg) salındığı görülmektedir. Bu bilgiler ışığında sentezlenen aljinat/kitosan nanopartiküllerin tamoksifen salımında başarılı bir şekilde kullanılabilceği söylenebilir. Ayrıca tamoksifen yükleme ve salım verilerinin literatür ile uyumlu olduğu görülmektedir.

5. SONUÇ

Elde edilen bulgulardan yola çıkılarak bu çalışmanın sonuçları aşağıdaki gibi özetlenebilir:

- Aljinat/kitosan nanopartiküller, polianyonun (aljinat) divalent katyon (CaCl_2) ile önjel oluşumunu takiben polikatyon (kitosan) ile kaplanması yöntemiyle hazırlandığında nano boyutta elde edilebilmiştir ve karakterizasyonu yapılmıştır.
- Sentezlenen aljinat/kitosan nanopartiküllerin 1 mg'ına en fazla 75,4 μg tamoksifen yüklenebilmiştir. Fakat yüksek tamoksifen derişimlerinde karşılaşılan agregatlaşma ve çökelti oluşumu problemleri ilaç salım sisteminin homojen ve nano boyutta olmasını engellediğinden 1 mg nanopartiküle en fazla 37,6 μg tamoksifen yüklenecek şekilde optimizasyon yapılmıştır.
- Nanopartiküllere tamoksifen yükleme çalışmaları 5-55 °C aralığında gerçekleştirilmiş ve sıcaklığın tamoksifen yükleme kapasitesine etkisi incelenmiştir. İlaç endüstrisindeki uygulamalar göz önünde bulundurularak yapılan bu çalışmaya literatürde sık rastlanmamaktadır; bundan dolayı yapılan sıcaklık çalışmasının ilaç salım sistemlerinin sentez aşamasında üretim maliyetine katkı sağlayarak yol gösteren bir çalışma olduğu düşünülmektedir.
- Mideyi taklit eden çözelti ortamında nanopartiküllerden tamoksifen salımının % 8 civarında olduğu görülmüştür. Bu sonuç bize ince bağırsaktan emildiği bilinen tamoksifenin en fazla % 8 kayıp ile emileceği ortama ulaşacağını göstermektedir.
- İnce bağırsağı taklit eden çözelti ortamında, hazırlanan tamoksifen yüklü aljinat/kitosan nanopartiküllerden salımın % 90 civarında olduğu belirlenmiştir ve bu bulgunun ince bağırsaktan emilmesi istenen bir ilaç için oldukça iyi bir sonuç olduğu düşünülmektedir.
- Hazırlanan nanopartiküllerin mevcut verilerle ilaç iletim sistemi olarak kullanılabilme potansiyeli olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle *in vitro* olarak elde edilen bu sonuçların *in vivo* ortamlarda da denenmesine ihtiyaç vardır. Bundan sonraki çalışmalarda hazırlanan bu sistemin *in vivo* etkileri ticari olarak mevcut tamoksifen tabletleriyle karşılaştırmalı olarak incelenebilir. *In vivo* deneylerin olumlu sonuç vermesi durumunda nanopartikül preparatlarının büyük ölçekte üretimi ve bu preparatların hastaya verilebilir/uygulanabilir forma sokulması için farmakolojik ve mühendislik çalışmalarına da ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

Adhyapak, A., Desai, B.G., 2011. Preparation and *in vitro* characterization of the transdermal drug delivery system containing tamoxifen citrate for breast cancer. **Asian Journal of Pharmaceutics**, 5: 41-45.

Ahmad, J., Kohli, K., Mir, R.S., Amin, S., 2011. Formulation of self-nanoemulsifying drug delivery system for telmisartan with improved dissolution and oral bioavailability. **Journal of Dispersion Science and Technology**, 32 (7): 958-968.

Ahmad, Z., pandey, R., Sharma, S., Khuller, G.K., 2005. Alginate nanoparticles as antituberculosis drug carriers: formulation development, pharmacokinetics and therapeutic potential. **The Indian Journal of Chest Diseases&Allied Sciences**, 48: 171-176.

Alsarra, I.A., 2009. Evaluation of proniosomes as an alternative strategy to optimize piroxicam transdermal delivery. **Journal of Microencapsulation**, 26 (3): 272-278.

Ascenzi, P., Bocedi, A., Marino, M., 2006. Structure-function relationship of estrogen receptor alpha and beta: impact on human health. **Molecular Aspects of Medicine**, 27 (4): 299-402.

Bhardwaj, V., Plumb, J.A., Cassidy, J., Kumar, M.N.V.R., 2010. Evaluating the potential of polymer nanoparticles for oral delivery of paclitaxel in drug-resistant cancer. **Cancer Nano**, 1: 29-34.

Bhatta, R.S., Chandasana, H., Chhonker, Y.S., Rathi, C., Kumar, D., Mitra, K., Shukla, P.K., 2012. Mucoadhesive nanoparticles for prolonged ocular delivery of natamycin: *In vitro* and pharmacokinetics studies. **International Journal of Pharmaceutics**, 432: 105-112.

Bilensoy, E., Vural, I., Bochot, A., Renoir, J.M., Duchene, D., Hincal, A.A., 2005. Tamoxifen citrate loaded amphiphilic β -cyclodextrin nanoparticles: *In vitro* characterization and cytotoxicity. **Journal of Controlled Release**, 104: 489-496.

Blanco, M.D., Guerrero, S., Benito, M., Teijon, C., Olmo, R., Muniz, E., Katime, I., Teijon, J.M., 2010. Tamoxifen-loaded folate-conjugate poly[(p-nitrophenyl acrylate)-co-(N-isopropylacrylamide)] sub-microgel as antitumoral drug delivery system. **Journal of Biomedical Materials Research**, 95 (4): 1028-1040.

Brown, D.M., 2004. Drug Delivery Systems in Cancer Therapy. Humana Press Inc., pp. 48-82, New Jersey.

Cavalli, R., Bisazza, A., Bussano, R., Trotta, M., Civra, A., Lembo, D., Ranucci, E., Ferruti, P., 2011. Poly(amidoamine)-cholesterol conjugate nanoparticles obtained by electrospraying as novel tamoxifen delivery system. **Journal of Drug Delivery**, 2011: 1-9.

Chawla, J.S., Amiji, M.M., 2002. Biodegradable poly(ϵ -caprolactone) nanoparticles for tumor-targeted delivery of tamoxifen. **International Journal of Pharmaceutics**, 249: 127-138.

Chen, A., Chen, M., Wang, S., Huang, X., Liu, Y., Chen, Z., 2011. Poly(L-histidine)-chitosan/alginate complex microcapsule as a novel drug delivery agent. **Journal of Applied Polymer Science**, 124: 3728-3736.

Coppi, G., Iannuccelli, V., 2009. Alginate/chitosan microparticles for tamoxifen delivery to the lymphatic system. **International Journal of Pharmaceutics**, 367: 127-132.

Çelik, S., 2007. Tamoksifen Kullanan Meme Kanserli Olguların Endometrium Patolojileri Açısından Değerlendirilmesinde Transvajinal Ultrasonografi ve Endometrial Biyopsinin Yeri. Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 1. Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, Uzmanlık Tezi, ss. 5-25, İstanbul.

Desai, J.V., Patil, J.S., Kulkarni, R.V., Marapur, S.C., Dalavi, V.V., 2009. Alginate-based microparticulate oral drug delivery system for rifampicin. **Research Journal of Pharmacy and Technology**, 2 (2): 301-303.

Dhingra, K., 1999. Antiestrogens: tamoksifen, SERMs and beyond. **Investigational New Drugs**, 17: 285-311.

Elnaggar, Y.S.R., El-Massik, M.A., Abdallah, O.Y., 2009. Self-nanoemulsifying drug delivery systems of tamoxifen citrate: Design and optimization. **International Journal of Pharmaceutics**, 380: 133-141.

Elzatahry, A.A., Eldin, M.S., Soliman, E.A., Hassan, E.A., 2008. Evaluation of alginate-chitosan bioadhesive beads as a drug delivery system for the controlled release of theophylline. **Journal of Applied Polymer Science**, 111: 2452-2459.

Gazori, T., Khoshayand, M.R., Azizi, E., Yazdizade, P., Normani, A., Haririan, I., 2009. Evaluation of alginate/chitosan nanoparticles as antisense delivery vector: formulation, optimization and *in vitro* characterization. **Carbohydrate Polymers**, 77: 599-606.

Ghaffari, S., varshosaz, J., Haririan, I., Khoshayand, M.R., Azarmi, S., Gazori, T., 2011. Ciprofloxacin loaded alginate/chitosan and solid lipid nanoparticles, preparation, and characterization. **Journal of Dispersion Science and Technology**, 33 (5): 685-689.

Grassi, M., Grassi, G., Lapasin, R., Colombo, I., 2007. Understanding Drug Release and Adsorption Mechanisms: A Physical and Mathematical Approach. CRC Press. 46 p., New York.

Hollinger, V.V., Ranade, M.A. 2004. Drug Delivery Systems: Second Edition. CRC Press LLC., pp. 72-390, Florida.

http://en.wikipedia.org/wiki/Estrogen_receptor, Erişim Tarihi: 22.06.2012.

Jacquart, D. 2008. Islamic pharmacology in middle ages: theories and substances. **European Review**, 16 (2): 219-227.

Jain, A.K., Swarnakar, N.K., Godugu, C., Singh, R.P., Jain, S., 2011. The effect of the oral administration of polymeric nanoparticles on the efficacy and toxicity of tamoxifen. **Biomaterials**, 32: 503-515.

Kalan, A., 2005. Tamoksifen Kullanan Meme Kanseri Hastalarının Endometrium Patolojileri Açısından Değerlendirilmesinde Transvajinal Ultrasonografi, Histeroskopi ve Endometrial Biyopsinin Yeri. Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma

Hastanesi, I. Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, Uzmanlık Tezi, ss. 5-22, İstanbul.

Kalia, S., Averous, L., 2011. Biopolymers: Biomedical and Environmental Applications. Scrivener Publishing LLC., pp. 559-573, Massachusetts.

Kapse, S.V., Gaikwad, R.V., Samad, A., Deavarajan, P.V., 2012. Self nanoprecipitating preconcentrate of tamoxifen citrate for enhanced bioavailability. **International Journal of Pharmaceutics**, 429: 104-112.

Li, X., Zhang, Y., Fan, Y., Zhou, Y., Wang, X., Fan, C., Liu, Y., Zhang, Q., 2011. Preparation and evaluation of novel mixed micelles as nanocarriers for intravenous delivery of propofol. **Nanoscale Research Letters**, 6: 275.

Li, X., Kong, X., Shi, S., Zheng, X., Guo, G., Wei, Y., Qian, Z., 2008. Preparation of alginate coated chitosan microparticles for vaccine delivery. **BMC Biotechnology**, 8: 89.

Liang, H., Yang, Q., Deng, L., Lu, J., Chen, J., 2011. Phospholipid-Tween 80 mixed micelles as an intravenous delivery carrier for paclitaxel. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, 37 (5): 597-605.

Malmsten, M., 2002. Surfactants and Polymers in Drug Delivery. Marcel Dekker Inc., 1 p., New York.

Martinez, A., Benito-Miguel, M., Iglesias, I., Teijon, J.M., Blanco, M.D., 2012. Tamoxifen-loaded thiolated alginate-albumin nanoparticles as antitumoral drug delivery systems. **Society For Biomaterials**, 100: 1467-1476.

Mathiowitz, E., 1999. Encyclopedia of Controlled drug Delivery: Volumes 1&2. John Wiley&Sons, Inc., pp. 546-740, New York.

Mennini, N., Furlanetto, S., Cirri, M., Mura, P., 2012. Quality by design approach for developing chitosan-Ca-alginate microspheres for colon delivery of celecoxib-hydroxypropyl- β -cyclodextrin-PVP complex. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 80: 67-75.

Oliveria, G., Hadgraft, J., Lane, M.E., 2012. Toxicology implications of the delivery of fentanyl gel extracted from a commercial transdermal reservoir patch. **Toxicology in Vitro**, 26: 645-648.

Pandey, R., Khuller, G.K., 2006. Oral nanoparticle-based antituberculosis drug delivery to the brain in an experimental model. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 57: 1146-1152.

Rajaonarivony, M., Vauthier, C., Couarraze, F., Puisieux, F., Couvreur, P., 1992. Development of a new drug carrier made from alginate. **Journal of Pharmaceuticals Sciences**, 82 (9): 912-917.

Rao, S., Song, Y., Peddie, F., Evans, A.M., 2011. A novel tri-layered buccal mucoadhesive patch for drug delivery: assessment of nicotine delivery. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, 63: 794-799.

Ravikumara, N.R., Madhusudhan, B., 2011. Chitosan nanoparticles for tamoxifen delivery and cytotoxicity to MCF-7 and Vero cells. **Pure Appl. Chem.**, 83 (11): 2027-2040.

Reddy, L.H., Vivek, K., Bakshi, N., Murthy, R.S.R., 2006. Tamoxifen citrate loaded solid lipid nanoparticles (SLN): preparation, characterization, *in vitro* drug release, and pharmacokinetic evaluation. **Pharmaceutical Development and Technology**, 11: 167-177.

Rothenberg, C.J., 2005. The Rise and Fall of Estrogen Therapy: The History of HRT, Harvard Law School, Class of 2005, pp. 5-60, Boston.

Saad, B., Azaizeh, H., Said, O., 2005. Tradition and perspectives of arab herbal medicine: a review. **Evidence Based Complementary and Alternative medicine**, 2 (4): 475-479.

Sarmah, J.K., Mahanta, R., Bhattacharjee, S.K., Mahanta, R., Biswas, A., 2011. Controlled release of tamoxifen citrate encapsulated in cross-linked guar gum nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, 49: 390-396.

Sarmiento, B., Ferreira, D.C., Jorgensen, L., Weert, M., 2007. Probing insulin's secondary structure after entrapment into alginate/chitosan nanoparticles. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 65: 10-17.

Sehra, S., Dhake, A.S., 2005. Formulation and evaluation of sustained release microspheres of poly-lactide-co-glycolide containing tamoxifen citrate. **Journal of Microencapsulation**, 22 (5): 521-528.

Subbiah, R., Ramalingam, P., Ramasundaram, S., Kim, D.Y., Park, K., Ramasamy, M.K., Choi, K.J., 2012. N,N,N-Trimethyl chitosan nanoparticles for controlled intranasal delivery of HBV surface antigen. **Carbohydrate Polymers**, 89: 1289-1297.

Tata, J.R., 2005. One Hundred Years of Hormones. **Embo Reports**, 6 (6): 490-496.

Wen, H., Park, K., 2010. Oral Controlled Release Formulation Design and Drug Delivery. John Wiley&Sons, Inc., pp. 1-29, New Jersey.

Xia, H., Gao, X., Gu, G., Liu, Z., Zeng, N., Hu, Q., Song, Q., Yao, L., Pang, Z., Jiang, X., Chen, J., Chen, H., 2011. Low molecular weight protamine-functionalized nanoparticles for drug delivery to the brain after intranasal administration. **Biomaterials**, 32: 9888-9898.

Yun, J., Lee, D.H., Im, J.S., Kim, H., 2012. Improvement in transdermal drug delivery performance by graphite oxide/temperature-responsive hydrogel composites with micro heater. **Materials Science and Engineering C**, 32: 1564-1570.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Çağdaş SUNNA
Doğum Yeri ve Tarihi : Torbalı/İZMİR, 1986

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Ege Üniversitesi,
Fen Edebiyat Fakültesi Biyokimya Bölümü
Yüksek Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi,
Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Yayınlar

-SCI

-Diğer

b) Bildiriler

-Uluslar arası

1- Uygun M., Uygun D.A., Sunna Ç., Karagözler A.A. Antioxidant activity of *Phlomis lycia* D.Don leaf extracts. 6th CMAPSEEC (6th Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries), Gazi Üniversitesi, Antalya, 18-22 Nisan 2010, (Poster).

-Ulusal

1- Sunna, Ç., Uygun, M., Karagözler, A.A. Aljinat/kitosan hibrit polimerlerin sentezi ve alfa-amilaz immobilizasyonunda kullanımının araştırılması. 25. Ulusal Kimya Kongresi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, 27 Haziran-2 Temmuz 2011, (Poster).

c) Katıldığı Projeler

1- Aljinat/kitosan nanopartiküllerin tamoksifen salımında kullanımının araştırılması (ADU FEF-11021 No'lu Bilimsel Araştırma Projesi).

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl : -

İLETİŞİM

E-posta Adresi : cagdassunna@hotmail.com

Tarih : 24.06.2012