

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

**BİYOPOLİMERİK MİSELLERİN SENTEZİ VE
KARAKTERİZASYONU, MODİFİYE EDİLMİŞ ANTI-KANSER
İLAÇLARIN KONTROLLÜ SALIMINDA KULLANILMASI**

ÖZLEM GÖKÇE KOCABAY

**DOKTORA TEZİ
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ PROGRAMI**

**DANIŞMAN
DR. ÖĞR. ÜYESİ OSMAN İSMAİL**

İSTANBUL, 2018

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

**BİYOPOLİMERİK MİSELLERİN SENTEZİ VE
KARAKTERİZASYONU, MODİFİYE EDİLMİŞ ANTI-KANSER
İLAÇLARIN KONTROLLÜ SALIMINDA KULLANILMASI**

ÖZLEM GÖKÇE KOCABAY

**DOKTORA TEZİ
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ PROGRAMI**

**DANIŞMAN
DR. ÖĞR. ÜYESİ OSMAN İSMAİL**

İSTANBUL, 2018

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOPOLİMERİK MİSELLERİN SENTEZİ VE
KARAKTERİZASYONU, MODİFİYE EDİLMİŞ ANTİ-KANSER
İLAÇLARIN KONTROLLÜ SALIMINDA KULLANILMASI

Özlem GÖKÇE KOCABAY tarafından hazırlanan tez çalışması 08.11.2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Dr. Öğr. Üyesi Osman İSMAİL
Yıldız Teknik Üniversitesi

Eş Danışman

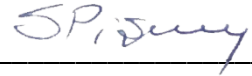
Dr. Öğr. Üyesi Zeynep AKDESTE
Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Dr. Öğr. Üyesi Osman İSMAİL
Yıldız Teknik Üniversitesi



Prof. Dr. Sabriye PİŞKİN
Yıldız Teknik Üniversitesi



Prof. Dr. Saadet Kevser PABUCCUOĞLU
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa



Prof. Dr. Tülin Banu İYİM
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa



Doç. Dr. Aysel KANTÜRK FİGEN
Yıldız Teknik Üniversitesi





Bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Araştırma Fonu'nun 2014-07-01-DOP04 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans ve doktora eğitimim boyunca öğrencisi olmaktan onur duyduğum, tecrübe veengin bilgileriyle bana yol gösteren, ihtiyacım olan araştırma ve çalışma imkanlarını sağlayıp, problemleri ve olayları etraflica sorgulamayı öğreten tez danışmanım değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Osman İSMAİL'e sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Doktora çalışmam süresince görüşlerinden faydalandığım değerli eş tez danışmanı hocam Dr. Öğr. Üyesi Zeynep AKDESTE'ye, tez izleme komitemin değerli üyeleri Prof. Dr. Sabriye PİŞKİN'e ve Prof. Dr. Saadet Kevser PABUCCUOĞLU'na teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım. Tez jüri üyelerimden Prof. Dr. Tülin Banu İYİM'e ve Doç. Dr. Aysel KANTÜRK FİGEN'e değerli düşünce ve yorumlarını paylaştıkları için çok teşekkür ediyorum. Bu tez çalışmasını gerçekleştirme olanağını sağlayan Yıldız Teknik Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü Kurucu Başkanı merhum Prof. Dr. Mehmet Mustafa AKDESTE'yi saygı ve minnetle anıyorum.

Sorularıma çözüm sunan doktora öğrencisi Tayfun ACAR'a minnettarım. Tez çalışmalarımda kıymetli katkılarından dolayı Prof. Dr. Ayfer SARAÇ'a, Doç. Dr. Ahmet GÜLEÇ'e, analizleri gerçekleştirmemi ve yorumlamamı sağlayan Uzm. Pınar ÇAĞLAR'a, Prof. Dr. Tarık EREN'e, Uzm. Duygu ERDOĞAN'a, Doç. Dr. Seyhun KIPÇAK'a, doktora öğrencisi Funda DEMİR'e, Dr. Bilge FİLİZ'e, Arş. Gör. Dr. Fatma KILIÇASLAN'a, yüksek lisans öğrencisi Mustafa Yasin ATEŞ'e, Arş. Gör. Duygu ÖZMEN'e, Arş. Gör. Meral YILDIRIM'a, Prof. Dr. Sezgin BAKIRDERE'ye, Uzm. Tuğçe UNUTKAN'a, doktora öğrencisi Pelin PELİT ARAYICI'ya, Dr. Öğr. Üyesi Murat TOPUZOGULLARI'na çok teşekkür ederim. Desteklerinden dolayı Dr. Kevser SEVİM'e, Şebnem ŞENOL'a çok teşekkür ederim. Çalıştığım kurumun müdürü sayın Ali Osman AVŞAR'a anlayışı ve yardımları nedeniyle şükranlarımı sunarım. Değerli meslektaşlarıma anlayışlarından dolayı çok teşekkür ederim.

Yıldız Teknik Üniversitesi Araştırma Fonu'na (Proje Numarası: 2014-07-01-DOP04) teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her döneminde ilgi ve desteklerini gördüğüm sevgili babam Selami GÖKÇE'ye, annem Ayten GÖKÇE'ye ve kardeşlerim Züleyha GÖKÇE ve Berna GÖKÇE'ye, sabrını ve sonsuz desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, hayatımın neredeyse yarısına dolan varlığı için sevgili eşim Serkan KOCABAY'a sonsuz teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunarım.

Kasım, 2018

Özlem GÖKÇE KOCABAY

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ.....	xi
KISALTMA LİSTESİ	xiv
ŞEKİL LİSTESİ.....	xvii
ÇİZELGE LİSTESİ	xxii
ÖZET	xxiii
ABSTRACT	xxv
BÖLÜM 1	
GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti.....	1
1.2 Tezin Amacı	4
1.3 Hipotez	5
BÖLÜM 2	
GENEL BİLGİLER	8
2.1 Kanser.....	8
2.1.1 Normal Bir Hücrenin Kansere Dönüşümü	9
2.1.2 Dünya Kanser İstatistiklerinde Türkiye'nin Durumu	11
2.2 Meme Kanseri	11
2.2.1 Meme Kanseri Çeşitleri.....	12
2.2.2 Meme Kanserinin Nedenleri	13
2.2.2.1 Önceki Meme Kanseri Öyküsü	13
2.2.2.2 Önemli Aile Geçmişi	13
2.2.2.3 Genetik Nedenler	13
2.2.2.4 Hormonal Nedenler	13
2.2.2.5 Yaşam Tarzı ve Diyet Nedeni	13
2.2.2.6 Çevresel Neden	14
2.2.3 Meme Kanseri Aşamaları.....	14
2.2.4 Meme Kanseri Tedavisi	16
2.2.4.1 Ameliyat.....	16

2.2.4.2	Radyoterapi	16
2.2.4.3	Hormon Tedavisi.....	18
2.2.4.4	Hedeflenen Tedavi	18
2.2.4.5	Kemoterapi.....	19
2.3	Çoklu İlaç Direnci Biyolojisi.....	22
2.4	Meme Kanseri için Çoklu İlaç Direnci	23
2.5	ATP-Bağlayıcı Kaset (ABC) Taşıyıcıları.....	23
2.5.1	P-Glikoprotein (P-gp)	23
2.5.1.1	P-Glikoprotein Karakterizasyonu	24
2.5.1.2	P-Glikoprotein İnhibitörlerinin Sınıflandırılması: Geçmiş ve Mevcut Perspektif	24
2.5.1.3	P-gp İnhibisyonu ile Farmakokinetik Avantajlar.....	25
2.6	Çok İlaçlı Salımla Kombinasyon Tedavisi.....	25
2.7	Kanser Tedavisi için Çoklu İlaç Polimerik Miselleri	26
2.7.1	Bölgesel İlaç Salımı için Çoklu İlaç Miselleri	26
2.8	Membran Taşınım Proteinlerinin Atılmasının Üstesinden Gelme	26
2.8.1	P-gp'nin Akış Hareketini Baypas Etme.....	26
2.8.2	Anti-kanser İlaçların ve P-gp İnhibitörlerinin Eş Salımı	27
2.8.3	P-gp Ekspresyonunu Azaltarak Düzenlemek.....	27
2.9	Mikro Dolaşım Bariyeri	27
2.10	Biyobozunur Polimerler	27
2.10.1	Yeni Kavram Kemoterapi için Biyolojik Olarak Parçalanabilir Polimerlerin Nanoparçacıkları	28
2.11	Polimer Bozunma ve Erozyonu Mekanizmaları.....	29
2.11.1	Polimer Bozunması	29
2.11.1.1	Polimer Bozunması için Kimyasal Bağ Türünün Önemi.....	29
2.11.1.2	pH'nın Polimer Bozunmasına Etkisi	29
2.11.1.3	Polimer Bileşiminin Polimer Bozunması Üzerine Etkisi.....	29
2.11.1.4	Su Tutulumunun Bozunma Üzerine Etkisi	30
2.11.2	Polimer Erozyonu.....	30
2.11.2.1	Erozyon Sırasında Morfolojik Değişiklikler.....	30
2.11.2.2	pH'daki Değişiklikler	30
2.11.2.3	Kristallikteki Değişiklikler.....	30
2.12	Blok Kopolimerler	31
2.12.1	Doğrusal A-B ve A-B-A Mimarisi ile Blok Kopolimerler	31
2.13	Kullanılan Polimer Çeşitleri	32
2.13.1	Polikaprolakton	32
2.13.2	Polietilen glikol	33
2.14	İstenen Amfifilik Kopolimerlerin Sentezi	33
2.15	PCL-PEG-PCL Amfifilik Triblok Kopolimerleri	33
2.16	Halka Açılma Polimerizasyonu (ROP).....	34
2.16.1	Halka Oluşumu	35
2.16.2	Halka Açılma Polimerizasyon Mekanizmaları	36
2.16.2.1	Radikal Halka Açılma Polimerizasyonu	36
2.16.2.2	Katyonik Halka Açılma Polimerizasyonu.....	36
2.16.2.3	Anyonik Halka Açılma Polimerizasyonu	37
2.16.2.4	Halka Açılma Metatez Polimerizasyonu (ROMP).....	38
2.16.3	Siklik Esterlerin Kontrollü Halka Açılma Polimerizasyonu.....	39
2.16.3.1	Siklik Esterlerin Katyonik Halka Açılma Polimerizasyonu	39
2.16.3.2	Siklik Esterlerin Anyonik Halka Açılma Polimerizasyonu	39

2.16.3.3	Koordinasyon-Katılma Halka Açılma Polimerizasyonu.....	39
2.17	Lakton ve Laktitlerin ROP'si için Başlatıcı Olarak Organometalik Bileşikler.....	40
2.17.1	Stannous(II) 2- etilhekzanoat	40
2.18	ϵ -Kapolakton'un (CL) Halka Açılması Polimerizasyonu	40
2.19	Kanser Nanoteknolojisi	42
2.19.1	Kanser Tedavisi için Nanotaşıyıcıların Rasyonel Tasarımı	42
2.20	Kanser Görüntüleme ve/veya İlaç Salımında Mevcut Durumda Uygulanan Nanomalzemelerin Türleri	43
2.20.1	Polimerik Nanoparçacıklar	44
2.20.1.1	Genel Özellikler ve Sentetik Yönler	44
2.20.1.2	İlaç Salımı için Polimerik Nanoparçacıklar	44
2.20.1.3	Görüntüleme için Polimerik Nanoparçacıklar	45
2.20.2	Lipozomlar	45
2.20.2.1	Genel Özellikler ve Sentetik Yönler	45
2.20.2.2	İlaç Salımı için Lipozomlar.....	45
2.20.2.3	Radyo Görüntüleme ve Tedavi için Lipozomlar.....	45
2.20.3	Dendrimerler	45
2.20.3.1	Genel Özellikler ve Sentetik Yönler	45
2.20.3.2	İlaç Salımı için Dendrimerler.....	46
2.20.3.3	Görüntüleme için Dendrimerler	46
2.20.3.4	Tedavi için Dendrimerler	46
2.20.4	Kuantum Noktaları.....	46
2.20.4.1	Genel Özellikler ve Sentetik Yönler	46
2.20.4.2	Fotodinamik Tedavi için Kuantum Noktalar	46
2.20.4.3	Floresan Görüntüleme ve Teşhis Testleri için Kuantum Noktaları.....	46
2.20.5	Demir Oksit Nanoparçacıkları	47
2.20.5.1	Genel Özellikler ve Sentetik Yönler	47
2.20.5.2	MRI ve Çok Modlu Görüntüleme için Demir Oksit Nanoparçacıkları	47
2.20.5.3	İlaç Salımı için Demir Oksit Nanoparçacıkları.....	47
2.20.5.4	Yüksek Ateşle Tedavi için Demir Oksit Nanoparçacıkları.....	47
2.20.6	Altın Nanoparçacıklar	47
2.20.6.1	Genel Özellikler ve Sentetik Yönler	47
2.20.6.2	Sıcaklık Değişim Tedavisi için Altın Nanoparçacıklar.....	47
2.20.6.3	Görüntüleme için Altın Nanoparçacıklar	48
2.20.7	Üst Dönüşüm Nanofosforları	48
2.20.7.1	Genel Özellikler ve Sentetik Yönler	48
2.20.7.2	Floresan Görüntüleme için Üst Dönüşüm Nanofosforlar (UCNP)	48
2.20.7.3	Fotodinamik Tedavi için UCNP'ler.....	48
2.20.7.4	İlaç Salımı için UCNP'ler.....	48
2.20.8	Polimerzom Nanoparçacıklar.....	48
2.20.9	Protein Nanoparçacıklar.....	49
2.20.10	Biyolojik Nanoparçacıklar	49
2.20.11	İnorganik Nanoparçacıklar.....	49
2.20.12	Hibrit Nanoparçacıklar.....	49
2.20.13	Nanokabuklar	49
2.20.14	Nanokonsol	49

2.20.15	Nanomalzemelerin Diğer Sınıfları	50
2.21	Miseller	50
2.21.1	Misel Boyutu	51
2.21.2	Boyut Popülasyon Dağılımı	51
2.21.3	İlaç Hedefleme için Misellerin Avantajları	51
2.21.4	Misellerin Dezavantajları	53
2.21.5	Miseller ile Çözünürleştirme	54
2.21.6	Polimerik Miseller	56
2.21.6.1	Polimerik Misel Türleri	57
2.21.6.2	Polimerik Misellerin Yapısı ve Bileşimi	58
2.21.6.3	Polimerik Misellerin Oluşumu	66
2.21.6.4	Misel Hazırlama Yöntemleri ve Misel Morfolojisi	66
2.21.6.5	Polimerik Misellerin Hazırlanması ve İlaç Yükleme	68
2.21.6.6	Vücuttaki Polimerik Misellerin Geleceği ve Polimerik Misellerin Farmakokinetiği	70
2.21.6.7	Polimerik Misellerin Karakterizasyonu	71
2.21.6.8	Polimerik Misellerin Biyolojik Önemi	76
2.21.6.9	İlaç Tutuklama Yolları: Kimyasal Konjugasyon ve Fiziksel Tutuklama	77
2.21.6.10	Kontrollü İlaç Salımı	78
2.21.6.11	İlaç Salımında Misellerin Uygulamaları	84
2.21.6.12	Polimerik Misellerin Farmasötik Alanda Kullanımları	92
2.21.6.13	İmmünolojide Miseller	93
2.21.6.14	Gen Terapisinde Polimerik Misellerin Kullanımı	94
2.21.6.15	Ağız Yoluyla Verilen Polimerik Miseller	94
2.21.6.16	Anti-kanser İlaç Salımında Uygulamalar	94
2.21.6.17	Tümör Hücreleriyle Anti-kanser İlaç Yüklü Misellerin Sitotoksitesi ve İn Vitro Alımı	95
2.21.6.18	Anti-kanser İlaç Yüklü Misellerin Farmakokinetiği ve Biyolojik Dağılımı	96
2.21.6.19	Anti-kanser İlaç Yüklü Misellerin İn Vivo Aktivitesi ve Toksisitesi	96
2.21.6.20	Kanser Hücreleri ile Polimerik Misellerin Etkileşimleri	96
2.21.6.21	Sol-Jel Faz Geçiş	97
2.21.6.22	Kanser Kemoterapötikleri	99
2.21.6.23	Kontrollü İlaç Salım Sistemlerinden İlaç Salımı Üzerine Kinetik Modelleme	104
BÖLÜM 3		
DENEYSEL ÇALIŞMALAR		114
3.1	Kullanılan Kimyasal Maddeler	114
3.2	Deneysel Yöntemler	115
3.2.1	Poli(ε-kaprolakton)–poli(etilen glikol)–poli(ε-kaprolakton) (PCEC) Triblok Kopolimer Sentezi	115
3.2.2	Kopolimerlerin Karakterizasyonu	116
3.2.2.1	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FT-IR) Spektroskopisi Ölçümü	116
3.2.2.2	¹ H Nükleer Manyetik Rezonans Spektrometresi (NMR) Ölçümü	116
3.2.2.3	Jel Permeasyon Kromatografisi	117
3.2.2.4	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC)	117

3.2.2.5	Flüoresans Spektroskopisinin Ölçümü.....	118
3.2.2.6	Sol-Jel-Sol Faz Geçiş Davranışı	118
3.2.3	PCEC Misellerin Sentezi	119
3.2.3.1	Parçacık Boyutunun, Polidispersitenin ve Zeta Potansiyelinin Belirlenmesi	119
3.2.3.2	Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM).....	120
3.2.4	PCL-PEG-PCL Miselleri ile DOX Yükleme Tam Faktöriyel Tasarım Optimizasyonu	120
3.2.4.1	İlaç Yükleme ve Kapsülleme Verimliliğinin Değerlendirilmesi.....	121
3.2.5	Polimerik Misellerden DOX'ın İn Vitro İlaç Salımı.....	122
3.2.6	DOX/PSC 833 ve/veya DOX/TPGS 1000 Eş-Yüklü Misellerin Hazırlanması	123
3.2.6.1	DOX/PSC 833 ve DOX/TPGS 1000 Eş-Yüklü Misellerin FT-IR Analizi.....	123
3.2.6.2	DOX/PSC 833 ve DOX/TPGS 1000 Eş-Yüklü Misellerin Boyut Dağılımı ve Zeta Potansiyeli	123
3.2.7	Polimerik Misellerden TPGS 1000 ve PSC 833'ün İn Vitro İlaç Salımı	123
3.2.7.1	TPGS 1000'in ve PSC 833'ün Kantitatif Analizi	124
3.2.8	Salım Kinetiğinin Matematiksel Modellemesi.....	124
3.2.9	Formülasyonların Stabilitesi	125
BÖLÜM 4		
SONUÇ VE ÖNERİLER		126
4.1	PCEC Triblok Kopolimerlerinin Sentezi.....	126
4.2	PCEC Triblok Kopolimerlerinin Karakterizasyonu	127
4.2.1	FTIR Analizi	127
4.2.2	¹ H NMR Analizi.....	129
4.2.3	Jel Permeasyon Kromatografisi Analizi.....	137
4.2.4	DSC	138
4.2.5	Kritik Misel Konsantrasyonu Ölçümü	141
4.2.6	Sol-Jel-Sol Geçiş Diyagramı.....	149
4.2.6.1	Sıcaklığa Bağlı Sol-Jel-Sol Geçiş Davranışı.....	149
4.3	Boş PCEC Kopolimerik Misellerin Hazırlanması ve Karakterizasyonu	157
4.3.1	Yüzey Özelliklerinin Etkisi.....	161
4.3.2	Polidispersite İndeksi	164
4.3.3	Partikül Büyüklüğü Üzerinde Proses Parametrelerinin Etkisi	165
4.3.3.1	Misel Boyutunu Kontrol Etmede PCEC Molekül Ağırlığının Etkisi	170
4.3.3.2	Misel Boyutunu Kontrol Etmede PCL/PEG Oranının Etkisi..	171
4.3.3.3	Misel Boyutunu Kontrol Etmede Çözücünün Etkisi.....	174
4.3.3.4	Misel Boyutunu Kontrol Etmede Polimer Konsantrasyonunun Etkisi	180
4.3.4	PCEC Misellerin Morfolojisi	184
4.4	DOX-Yüklü PCEC Misellerin Kapsülleme Verimliliği.....	185
4.4.1	Kapsülleme Verimliliği Üzerine Deneysel Faktörlerin Etkisi	185
4.5	DOX-Yüklü PCEC Misellerin İlaç Yükleme Verilerinin Değerlendirilmesi	201
4.6	DOX-Yüklü PCEC Misellerin Formülasyonu için Optimum Faktörler..	202

4.7	Optimum Faktörlere Sahip DOX-Yüklü PCEC Miselinin Parçacık Boyut Dağılımı ve Zeta Potansiyeli.....	202
4.8	DOX ile TPGS 1000 veya PSC 833'ün Misellere İnkorporasyonu	203
4.8.1	İlaç, Misel ve İlaç Yüklü Misellerin FTIR Analizi	204
4.8.2	DOX/TPGS 1000 veya DOX/PSC 833 Eş-Yüklü PCEC Polimerik Misellerin Enkapsülleme Verimliliği ve İlaç Yükleme İçeriği	211
4.8.3	DOX/TPGS 1000 veya DOX/PSC 833 Eş-Yüklü PCEC Polimerik Misellerin Parçacık Boyutu, Zeta Potansiyeli ve PDI Analizi	214
4.8.4	DOX Yüklü, DOX/TPGS 1000 veya DOX/PSC 833 Eş-Yüklü PCEC Polimerik Misellerden DOX'in İn Vitro Salımı	215
4.8.5	Eş-Yüklü Polimerik Misellerin Formülasyon Özellikleri	223
4.9	İlaç Salım Kinetiği	224
4.10	Polimerik Misellerin Stabilité Çalışması	247
4.11	Genel Değerlendirme ve Öneriler	249
KAYNAKLAR		254
EK-A		
KALİBRASYON EĞRİSİ		300
ÖZGEÇMİŞ		282

SİMGE LİSTESİ

A	Misellerin toplam yüzey alanı
a	Sistemin yarı kalınlığı
a/h	Hacim içindeki ağırlık
b	Çözünme eğrisi ilerlemesinin şekli
C _{fs}	Matrisi çevreleyen sıvıdaki ilaç çözünürlüğü
C _L	Sistem boyunca başlangıçtaki ilaç yükü
cm	Santimetre
C _{ms}	Matristeki ilaç çözünürlüğü
C _{polimer}	Polimer konsantrasyonu
C _s	Matris ortamındaki ilaç çözünürlüğü
C _{sm}	Polimer çekirdeğinde ilacın çözünürlüğü
C ₀	İlacın başlangıç konsantrasyonu
D	Çözücü içindeki ilaç molekülünün difüzyon katsayısı
Da	Dalton
D _{A'}	Diyalizat ve polimer arasındaki etkileşimi göz önüne alan görünür difüzyon katsayısı
DG ⁰ _s	Standart serbest enerji
[DOX] _f	Salım ortamının son olarak ölçülen Doksorubisin konsantrasyonu
[DOX] _i	t _i zamanında alınan örneğin ölçülen Doksorubisin konsantrasyonu
[DOX] ₀	Başlangıç Doksorubisin konsantrasyonu
d1	Bekleme süresi
g	Gram
I ^h , I ^a , I ^b , I ⁱ	Piklerin integral yoğunlukları
I ₃₃₃	333 nm'deki floresans emisyonu şiddeti
I ₃₃₈	338 nm'deki floresans emisyonu şiddeti
K	İlaca özgü hacim
k	Birinci dereceden hız sabiti
k _b	Bağlanma sabiti
k _{BL}	Baker-Lonsdale sabiti
kDa	Kilodalton

K_H	Higuchi çözünme sabiti
k_{HC}	Hixson-Crowell sabiti
k_{KP}	Korsmeyer-Peppas sabiti
kV	Kilovolt
K_0	Sıfırıncı dereceden salım sabiti
k_1	Birinci derece hız sabiti
L	Uzunluk
M	Molar
mg	Miligram
MHz	Megahertz
ml	Mililitre
mM	Milimolar
mm	Milimetre
M_n	Sayı-ortalama molekül ağırlığı
M_t	t zamanında salınan ilaç miktarı
M_t/M_∞	t zamanda salınan ilacın kesri
mV	Milivolt
M_w	Ağırlık ortalama molekül ağırlığı
M_w/M_n	Molekül ağırlık dağılımı
M_0	Salınan toplam ilaç miktarı
M_∞	Sonsuz zamanda salınan ilaç miktarı
n	Salım üssü
nm	Nanometre
Q	Birim alan A başına t zamanda salınan ilaç miktarı
Q_t	t zamanında çözünmüş ilaç miktarı
Q_0	Çözeltideki ilacın başlangıç miktarı
R	İdeal gaz sabiti
r_0	Küresel matrisin yarıçapı
R^2	Korelasyon katsayısı
T	Sıcaklık
t	Zaman
T_d	Çözünme zamanı
T_g	Camsı geçiş sıcaklığı
T_m	Erime noktası
$T_{vücut}$	Vücut sıcaklığı
V_f	Salım ortamının son olarak ölçülen hacmi
V_i	t_i zamanında alınan örneğin ölçülen hacmi
V_s	Çözündürme maddesinin molar hacmi
V_0	Hazırlanan formülasyonun başlangıç hacmi
W_t	t zamandaki farmasötik dozaj şeklindeki ilacın kalan miktarı
W_0	Farmasötik dozaj şeklindeki ilacın başlangıç miktarı
X	$(t) = 100$ ile bölünen t zamanında çözünmüş yüzde
X_{max}	Maksimum çözünme
α	$t = 1$ zamanında çözülmemiş oran
ΔG°	Standart serbest enerji
ΔH°	Standart entalpi değişiklikleri
ΔS°	Standart entropi değişiklikleri
δ	Çözünürlük parametreleri
δ_p	Çekirdeği oluşturan polimer bloğun Scatchard–Hildebrand çözünürlük parametresi

δ_s	Çözündürme maddesinin Scatchard–Hildebrand çözünürlük parametresi
ε	Matrisin gözenekliliği
ε_0	Başlangıç porozitesi
η	Çözelti viskozitesi
κ	Yüzey-hacim bağıntısını içeren bir sabit
λ	Dalgaboyu
μg	Mikrogram
μl	Mikrolitre
μm	Mikrometre
τ	Matrisin bükümlülüğü
χ_{sp}	Çözündürme maddesi ve çekirdeği oluşturan polimer blok (p) arasındaki etkileşim parametresi
ζ	Zeta potansiyeli
$^{\circ}C$	Santigrat derece



KISALTMA LİSTESİ

ABC	ATP bağlayıcı kaset
AR	Analitik derece
AROP	Anyonik halka açılma polimerizasyonu
BBB	Kan-beyin bariyeri
CA	Karbonik anhidraz
CAC	Kritik birleşme konsantrasyonu
Caco-2	İnsan kolon adenokarsinomu
CaH ₂	Kalsiyum hidrür
CDCl ₃	Kloroform-d
CGC	Kritik jelleşme konsantrasyonu
CMC	Kritik misel konsantrasyonu
CPX	Sefaleksine
CROP	Katyonik halka açılma polimerizasyonu
CTAB	Setil trimetil amonyum bromür
CyA	Siklosporin A
DCIS	Duktal karsinoma in situ
DL	İlaç yükleme
DLS	Dinamik ışık saçılımı
DMF	Dimetilformamit
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
DOX	Doksorubisin
DSC	Diferansiyel taramalı kalorimetre
DTX	Dosetaksel
DTZ	Diltiazem hidroklorür
EE	Kapsülleme verimliliği
EGFR	Epidermal büyüme faktör reseptörü
EPR	Arttırılmış geçirgenlik ve alıkonma etkisi
FDA	Gıda ve ilaç yönetimi
FK506	Takrolimus
FT-IR	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
GI	Sindirim sistemi ile ilgili
Gos	Goserelin
GPC	Jel permeasyon kromatografisi
HLB	Hidrofilik-lipofilik denge

HNMR	Proton nükleer manyetik rezonans
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
IARC	Uluslararası Kanseri Ajansı
Ins	İnsülin
KP	Ketoprofen
LCGT	Alt kritik jelleşme sıcaklığı
LCIS	Lobüler karsinoma in situ
LCST	Alt kritik çözelti sıcaklığı
LDD	Bölgesel ilaç salımı
LHRH	Luteinize edici hormonu salıverici hormon
LLS	Lazer ışık saçılması
Lys	Lizozim
MDR	Çoklu ilaç direnci
MePEG	Metoksi poli(etilen glikol)
MLV	Çok tabakalı kesecikler
MRI	Manyetik rezonans görüntüleme
MS	Mikrosfer
MVV	Çok kabarcıklı kesecikler
NaN ₃	Sodyum azid
NGP	Komşu grup katılımı
NLC	Nanoyapılı lipid taşıyıcıları
NP	Nanoparçacık
NS	Nanosüspansiyon
PBS	Fosfat tampon çözeltisi
PCEC	Poli(ε-kaprolakton)-poli(etilen glikol)-poli(ε-kaprolakton)
PCL	Poli(ε-kaprolakton)
PCS	Foton korelasyon spektroskopisi
PDI	Polidispersite indeksi
PDT	Fotodinamik terapi
PECE	Poli(etilen glikol)-poli(ε-kaprolakton)-poli(etilen glikol)
PEG	Poli(etilen glikol)
PEO	Poli(etilen oksit)
P-gp	P-glikoprotein
PI	İzoelektrik noktası
PIC	Poliiyon kompleksi
PICM	Poliiyon kompleks miselleri
PLA	Poli(laktik asit)
PLGA	Poli(laktik-ko-glikolik asit)
PM	Polimerik misel
ppm	Milyonda bir parçacık
PPO	Poli(propilen oksit)
PSC833	Valspodar
PVA	Polivinilalkol
QD	Kuantum noktaları
RES	Retiküloendotelial sistem
RNA	Ribonükleik asit
ROI	Reaktif oksijen ara ürünleri
ROMP	Halka açılma metatez polimerizasyonu
ROP	Halka açılma polimerizasyonu
ROS	Reaktif oksijen türleri

rpm	Dakikadaki devir sayısı
SDS	Sodyum dodesil sülfat
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
SLN	Katı lipid nanopartikülleri
Sn(Oct) ₂	Stannous(II) 2-etilhekzanoat
SPR	Yüzey plazmon rezonans
TEA	Trietilamin
TEM	Geçirimli elektron mikroskopisi
THF	Tetrahidrofuran
Thio	Tiyoridazin
TMZ	Temozolomid
TPGS 1000D- α -	Tokoferol polietilen glikol 1000 süksinat
UCGT	Üst kritik jelleşme sıcaklığı
UCNP	Üst dönüşüm nanofosforlar
ULV	Küçük ve büyük tek katmanlı kesecikler
UV-Vis	Ultraviyole-Görünür
VEGF	Damarsal endotelyal büyüme faktörü
VRP	Verapamil hidroklorür
VX-710	Birikodar
y/s	Suda yağ
α -TOS	α -tokoferil süksinat
ϵ -CL	epsilon-kaprolakton
5-FU	5-floroürasil

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2. 1	Normal büyüme kontrolünün kaybı	9
Şekil 2. 2	Duktal karsinoma ve duktal karsinomanın metastatik evresi	11
Şekil 2. 3	Anti-kanser ilaçların etki mekanizması	19
Şekil 2. 4	Sıklıkla incelenen blok kopolimerlerin mimarileri (makromoleküler konfigürasyonlar) (A ve B harfleri tekil polimer blokları içindir)	31
Şekil 2. 5	Bir nükleofilik ek reaksiyon olarak AROP	37
Şekil 2. 6	Asimetrik heterosikliklerin nükleofilik halka açılması	38
Şekil 2. 7	Laktonların anyonik halka açılma polimerizasyonu	38
Şekil 2. 8	Nanoparçacıkların serbest ilaçla karşılaştırıldığında kanser tedavisi için ilaç salım sistemi olarak kullanılmasının avantajları	42
Şekil 2. 9	Kanser tedavisi ve teşhisi için kullanılan NP örnekleri: a. polimerik nanoparçacıklar, b. lipozomlar, c. genellikle CdSe çekirdeğine sahip olan QD'ler, d. altın NP'ler, e. zeolit L, f. manyetik NP'ler, karakteristik olarak demir oksit, g. dendrimerler, h. nanotüpler, i. yükseltme nanofosforları ...	43
Şekil 2. 10	Polimerik NP'lerin ana türleri	44
Şekil 2. 11	Amfifilik moleküllerden misel oluşumunun genel şeması	51
Şekil 2. 12	İlaç taşıyıcıları olarak polimerik misellerin ayrılmış işlevselliği	53
Şekil 2. 13	İlaçların hidrofobikliğine (bir “ilaç molekülü” üzerindeki siyah renk hidrofobik alanı beyaz hidrofilik alanı gösterir) bağlı olarak bir misel ile ilacın birleşmesinin olası modelleri. Tamamen suda çözünür hidrofilik ilaç sadece misel korona bölmesinde adsorbe edilebilir (durum 1), tamamen çözünmeyen hidrofobik molekül ise sadece misel çekirdeği bölmesine dahil edilebilir (durum 5). Ara hidrofobik/hidrofilik orana sahip ilaç molekülleri misel parçacığında ara konumlara sahip olacaktır (durum 2'den 4'e)	55
Şekil 2. 14	a. Polimerik miselin şematik çizimi, b. misel bir hedefleme ligandı ile konjuge edilmiş, c. birleştirilmiş kontrast ajan veya şelatlı görüntüleme parçaları içeren misel, d. tetiklenen ilaç salımı için modifiye misel, ya hidrofilik ya da hidrofobik polimer termo/pH/ışık/ultrason duyarlı hale getirilebilir, e. anti-kanser tedavisi için optimize edilen misel, hedefleme ligandları taşıyan, kontrast ajanlar veya görüntüleme parçaları, terapötik ilaçlar ve tetiklenmiş, kontrollü salım için uygun polimerler	57
Şekil 2. 15	Miselin hem yükleme kapasitesi hem de ilacın salım kinetiği üzerindeki en büyük etkiye sahip çekirdek ve ilacın özellikleri	59
Şekil 2. 16	İlaç taşıyıcıları olarak misellerin yetenekleri açısından faktörleri ciddi etkileyen misel koronanın anahtar fiziksel özellikleri	62

Şekil 2. 17	Misel oluşturan di-blok ve triblok kopolimerlerin bazı örnekleri	63
Şekil 2. 18	Farklı amfifilik kopolimer tiplerinden misel oluşum mekanizmaları	64
Şekil 2. 19	Blok kopolimer misellerin hazırlanması için kullanılan iki temel yöntemin şematik görünümü	67
Şekil 2. 20	İlaç yüklü blok kopolimer miselleri hazırlama teknikleri: a. Kopolimerler ve ilaçlar doğrudan suda çözülür ve doğrudan çözünme yöntemi kullanılarak kendiliğinden ilaç yüklü miseller oluşturur, b. buharlaştırma yönteminde kopolimerler ve ilaçlar organik bir çözücü içinde çözülür, çözücü buharlaştırılır ve ilaç yüklü miseller sulu bir çözelti ilave edilerek oluşturulur, c. diyaliz yönteminde kopolimerler ve ilaçlar suyla karışabilen organik bir çözücü içerisinde çözülür, sonradan su ilavesi şişmiş çekirdekli misellerin oluşumunu başlatır, son olarak çözücü ilaç yüklü miselleri oluşturmak için buharlaştırma veya diyaliz yoluyla uzaklaştırılır, ilaç yüklü bir miselin yapısı da yukarıda gösterilmiştir	70
Şekil 2. 21	Arttırılmış geçirgenlik ve alıkonma etkisi, uzun devridaimli polimerik miseller 1. sızıntılı patolojik damar dizilişine ve yayılışına nüfuz eder, 2. tümör striyatum arasının içine gider, 3. serbest ilacı salarak orada bozunur, 4. ve yüksek lokal konsantrasyonunu oluşturur, pasif hedefleme için miseller daha uzun süre kanda dolaşmalı ve büyüklüğü biyolojik geleceğini belirlemektedir böylece 5 nm ve 5-10 nm'den küçük PM'ler böbreğe ait glomerüller kanalıyla kolaylıkla yok edilirken 50-100 nm boyut aralığından daha büyük miseller karaciğer ve dalak tarafından uzaklaştırılır	85
Şekil 2. 22	a. Tüp ters çevirme testini sağlayan bir jelin fotoğrafı, b. test örneği yarıçapı R ve uzunluğu L olan bir silindir olarak idealize edilir	99
Şekil 2. 23	Doksorubisinin kimyasal yapısı	100
Şekil 2. 24	MDR tersine çevrilmesinde kullanılan siklosporin analoglarının yapıları. Bu hidrofobik büyük moleküler ağırlıklı bileşikler potansiyel modülasyon aktivite sergilemektedirler	102
Şekil 2. 25	TPGS'nin kimyasal yapısı	102
Şekil 4. 1	PCEC triblok kopolimerlerinin sentez şeması	126
Şekil 4. 2	A. ϵ -CL ve B. PEG 1450 g/mol, C. PEG 3350 g/mol, D. PEG 12000 g/mol ve farklı CL/PEG ağırlık oranları kullanılarak hazırlanan PCEC kopolimerlerinin FTIR spektrumları.....	127
Şekil 4. 3	$CDCl_3$ içinde sırasıyla A. PCEC1, B. PCEC2, C. PCEC3, D. PCEC4, E. PCEC5, F. PCEC6, G. PCEC7, H. PCEC8, I. PCEC9, J. PCEC10, K. PCEC11, L. PCEC12 numaralı örneklerin 1H NMR spektrumu	129
Şekil 4. 4	Hazırlanan PCEC1 kopolimerinin GPC eğrisi.....	137
Şekil 4. 5	Farklı CL/PEG molar oranı ve PEG'e sahip PCEC triblok kopolimerlerinin DSC termogramı: A. PCEC1, B. PCEC2, C. PCEC3, D. PCEC4, E. PEG 1450.....	140
Şekil 4. 6	Farklı CL/PEG molar oranı ve PEG'e sahip PCEC triblok kopolimerlerinin DSC termogramı: A. PCEC8, B. PCEC7, C. PCEC6, D. PCEC5, E. PEG3350.....	140
Şekil 4. 7	Farklı CL/PEG molar oranı ve PEG'e sahip PCEC triblok kopolimerlerinin DSC termogramı: A. PCEC9, B. PCEC10, C. PCEC11, D. PEG12000, E. PCEC12	141
Şekil 4. 8	I_{337}/I_{334} yoğunluk oranının (piren eksitasyon spektrumundan) Log C'ye (mg/ml) karşı A. PCEC2, B. PCEC3, C. PCEC4 saf suda grafiği. Ek: Saf suda PCEC konsantrasyonuna karşı pirenin (6.0×10^{-7} M) floresans eksitasyon spektrumu (emisyon dalga boyu: 390 nm).....	143

Şekil 4. 9	I_{337}/I_{334} yoğunluk oranının (piren eksitasyon spektrumundan) Log C'ye (mg/ml) karşı A. PCEC6, B. PCEC7, C. PCEC8 saf suda grafiği. Ek: Saf suda PCEC konsantrasyonuna karşı pirenin (6.0×10^{-7} M) floresans eksitasyon spektrumu (emiyon dalga boyu: 390 nm).....	144
Şekil 4. 10	I_{337}/I_{334} yoğunluk oranının (piren eksitasyon spektrumundan) Log C'ye (mg/ml) karşı A. PCEC10, B. PCEC11, C. PCEC12 saf suda grafiği. Ek: Saf suda PCEC konsantrasyonuna karşı pirenin (6.0×10^{-7} M) floresans eksitasyon spektrumu (emiyon dalga boyu: 390 nm).....	146
Şekil 4. 11	Tüp ters çevirme yöntemi ile test edilen PCEC triblok kopolimerinin sol-jel-sol faz geçiş diyagramı: A., B., C. PCL blok uzunluğunun etkisi; D., E., F. PEG blok uzunluğunun etkisi; G., H., I. toplam molekül ağırlığının etkisi.....	150
Şekil 4. 12	PCEC kopolimer sulu çözeltisi için sıcaklık artışı ile misel agregasyon mekanizmasının şematik bir diyagramı: A. düşük sıcaklıkta küçük boyutlu miseller sulu çözeltide serbestçe akar, B. misel boyutu sıcaklık arttıkça hafifçe artar, C. hidrojel konsantrasyonu CGC'nin üzerinde olduğunda sıcaklığı sol-jel geçiş sıcaklığı civarında arttırmak misel boyutunun hızla artmasına ve sol-jel geçişine neden olur, D. miseller arasındaki agregasyon ve paketlenme daha yoğun bir jel oluşturmak üzere artan sıcaklıkla artar.....	156
Şekil 4. 13	Aseton ile hazırlanan PCEC4 miselinin parçacık boyut dağılımı ve zeta potansiyeli: A. parçacık boyut dağılımı, B. zeta potansiyeli (Çizelge 4.2'deki 9 no.lu örnek).....	169
Şekil 4.14	DMF ile hazırlanan PCEC4 miselinin parçacık boyut dağılımı ve zeta potansiyeli: A. parçacık boyut dağılımı, B. zeta potansiyeli (Çizelge 4.3'teki 9 no.lu örnek).....	170
Şekil 4. 15	PCEC4 triblok kopolimerinden aseton kullanarak elde edilen polimerik misellerin SEM görüntüsü (ölçek çubuğu = $0.2 \mu\text{m}$, 5000X büyütme).....	185
Şekil 4. 16	Karıştırma hızı X_1 'in EE'nin ortalama değerine etkisi.....	187
Şekil 4. 17	Temas süresi X_2 'nin EE'nin ortalama değerine etkisi.....	187
Şekil 4. 18	TEA miktarı X_3 'ün EE'nin ortalama değerine etkisi.....	188
Şekil 4. 19	DOX yüzdesi X_4 'ün EE'nin ortalama değerine etkisi.....	188
Şekil 4. 20	X_1 - X_2 deneysel faktörlerin kapsülleme verimliliği üzerindeki etkileşim çizimleri, düz çizgiler faktörlerin düşük seviyesine ve kesikli çizgiler yüksek seviyesine karşılık gelmektedir	198
Şekil 4. 21	X_1 - X_3 deneysel faktörlerin kapsülleme verimliliği üzerindeki etkileşim çizimleri, düz çizgiler faktörlerin düşük seviyesine ve kesikli çizgiler yüksek seviyesine karşılık gelmektedir	198
Şekil 4. 22	X_1 - X_4 deneysel faktörlerin kapsülleme verimliliği üzerindeki etkileşim çizimleri, düz çizgiler faktörlerin düşük seviyesine ve kesikli çizgiler yüksek seviyesine karşılık gelmektedir	199
Şekil 4. 23	X_2 - X_3 deneysel faktörlerin kapsülleme verimliliği üzerindeki etkileşim çizimleri, düz çizgiler faktörlerin düşük seviyesine ve kesikli çizgiler yüksek seviyesine karşılık gelmektedir	199
Şekil 4. 24	X_2 - X_4 deneysel faktörlerin kapsülleme verimliliği üzerindeki etkileşim çizimleri, düz çizgiler faktörlerin düşük seviyesine ve kesikli çizgiler yüksek seviyesine karşılık gelmektedir	200
Şekil 4. 25	X_3 - X_4 deneysel faktörlerin kapsülleme verimliliği üzerindeki etkileşim çizimleri, düz çizgiler faktörlerin düşük seviyesine ve kesikli çizgiler yüksek seviyesine karşılık gelmektedir	200

Şekil 4. 26	Optimum faktörlerin kullanılmasıyla sentezlenen ve en yüksek kapsülleme etkinliğini sağlayan miselin parçacık boyut dağılımı ve zeta potansiyeli: A. parçacık boyut dağılımı, B. zeta potansiyeli	203
Şekil 4. 27	FTIR spektrumu: A. DOX, B. TPGS 1000, C. PCEC misel, D. DOX-PCEC karışımı, E. TPGS 1000-PCEC karışımı, F. DOX-TPGS 1000-PCEC karışımı, G. DOX-PCEC, H. TPGS 1000-PCEC, I. PSC 833-PCEC, J. DOX-TPGS 1000-PCEC, K. DOX-PSC 833-PCEC	204
Şekil 4. 28	37°C'de farklı pH değerlerine sahip PBS ortamında polimerik misellerden DOX'in in vitro salım profilleri: A. DOX-PM, B. DOX/TPGS 1000-PM, C. DOX/PSC 833-PM, D. pH 7.4, E. pH 6.5, F. pH 5.0.....	216
Şekil 4. 29	DOX yüklü PCEC polimerik misellerden farklı modellerle pH 5.0'da DOX salım kinetiği: A. Sıfıncı-derece, B. Birinci-derece, C. Higuchi, D. Hixson-Crowell, E. Korsmeyer-Peppas, F. Baker-Lonsdale, G. Weibull	225
Şekil 4. 30	DOX yüklü PCEC polimerik misellerden farklı modellerle pH 6.5'te DOX salım kinetiği: A. Sıfıncı-derece, B. Birinci-derece, C. Higuchi, D. Hixson-Crowell, E. Korsmeyer-Peppas, F. Baker-Lonsdale, G. Weibull	227
Şekil 4. 31	DOX yüklü PCEC polimerik misellerden farklı modellerle pH 7.4'te DOX salım kinetiği: A. Sıfıncı-derece, B. Birinci-derece, C. Higuchi, D. Hixson-Crowell, E. Korsmeyer-Peppas, F. Baker-Lonsdale, G. Weibull	229
Şekil 4. 32	DOX/PSC 833 yüklü PCEC polimerik misellerden farklı modellerle pH 5.0'da DOX salım kinetiği: A. Sıfıncı-derece, B. Birinci-derece, C. Higuchi, D. Hixson-Crowell, E. Korsmeyer-Peppas, F. Baker-Lonsdale, G. Weibull.....	231
Şekil 4. 33	DOX/PSC 833 yüklü PCEC polimerik misellerden farklı modellerle pH 6.5'te DOX salım kinetiği: A. Sıfıncı-derece, B. Birinci-derece, C. Higuchi, D. Hixson-Crowell, E. Korsmeyer-Peppas, F. Baker-Lonsdale, G. Weibull.....	233
Şekil 4. 34	DOX/PSC 833 yüklü PCEC polimerik misellerden farklı modellerle pH 7.4'te DOX salım kinetiği: A. Sıfıncı-derece, B. Birinci-derece, C. Higuchi, D. Hixson-Crowell, E. Korsmeyer-Peppas, F. Baker-Lonsdale, G. Weibull.....	235
Şekil 4. 35	DOX/TPGS 1000 yüklü PCEC polimerik misellerden farklı modellerle pH 5.0'da DOX salım kinetiği: A. Sıfıncı-derece, B. Birinci-derece, C. Higuchi, D. Hixson-Crowell, E. Korsmeyer-Peppas, F. Baker-Lonsdale, G. Weibull.....	237
Şekil 4. 36	DOX/TPGS 1000 yüklü PCEC polimerik misellerden farklı modellerle pH 6.5'te DOX salım kinetiği: A. Sıfıncı-derece, B. Birinci-derece, C. Higuchi, D. Hixson-Crowell, E. Korsmeyer-Peppas, F. Baker-Lonsdale, G. Weibull.....	239
Şekil 4. 37	DOX/TPGS 1000 yüklü PCEC polimerik misellerden farklı modellerle pH 7.4'te DOX salım kinetiği: A. Sıfıncı-derece, B. Birinci-derece, C. Higuchi, D. Hixson-Crowell, E. Korsmeyer-Peppas, F. Baker-Lonsdale, G. Weibull.....	241
Şekil EK-A.1	Saf su içinde DOX'in standart kalibrasyon eğrisi.....	282

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2. 1	Uluslararası Kanseri Ajansı (IARC) tarafından yayınlanan Globocan 2012 verilerine göre kadınlarda en sık görülen ilk beş kanserin dağılımı	11
Çizelge 2. 2	Polimerik filmlerden difüzyonel salım mekanizmalarının açıklaması .	107
Çizelge 2. 3	Farklı geometriye sahip polimerik kontrollü salım sistemlerinden güç kanunun ve ilaç salım mekanizmasının n üssü	108
Çizelge 3. 1	Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler.....	114
Çizelge 3. 2	TPGS 1000 analizi için HPLC metod parametreleri	124
Çizelge 3. 3	PSC 833 analizi için HPLC metod parametreleri	124
Çizelge 4. 1	PCEC triblok kopolimerlerin karakterizasyonu	136
Çizelge 4. 2	Aseton ile sentezlenen misellerin parçacık boyutu, parçacık boyut dağılımı ve zeta potansiyeli değerleri	157
Çizelge 4. 3	DMF ile sentezlenen misellerin parçacık boyutu, parçacık boyut dağılımı ve zeta potansiyeli değerleri	159
Çizelge 4. 4	Deneysel tasarım ve gözlenen cevaplar	185
Çizelge 4. 5	DOX, PSC 833, TPGS 1000 yüklü ve DOX/PSC 833 ile DOX/TPGS 1000 eş-yüklü PCEC polimerik misellerin ilaç yükleme içeriği, enkapsülleme verimliliği, boyut, zeta potansiyel ve PDI değerleri.....	212
Çizelge 4. 6	DOX yüklü ve DOX/PSC 833 ile DOX/TPGS 1000 eş-yüklü PCEC polimerik misellerden pH 5.0, pH 6.5 ve pH 7.4 ortamlarında ilaç salımı için yapılan kinetik hesaplamalar sonucu elde edilen veri	243
Çizelge 4. 7	5°C’de çeşitli formülasyonların stabilitesi	249

BİYOPOLİMERİK MİSELLERİN SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU, MODİFİYE EDİLMİŞ ANTİ-KANSER İLAÇLARIN KONTROLLÜ SALIMINDA KULLANILMASI

Özlem GÖKÇE KOCABAY

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Osman İSMAİL

Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Zeynep AKDESTE

Meme kanseri, kadınlarda yüksek mortalite oranına sahip büyük bir kanser türüdür. Doksorubisinin (DOX) meme kanseri tedavisi için çok etkili olduğu kanıtlanmıştır. Bununla birlikte kalp ile ilgili toksisite, kısa yarılanma ömrü ve sulu çözelti içindeki düşük çözünürlük gibi dezavantajlar uygulamalarını engellemiştir. Çoklu ilaç direnci (MDR) kanser kemoterapisinde önemli bir engeldir. Bir hücre zarı proteini olan P-glikoprotein (P-gp) ilaçları hücrelerin dışına etkin bir şekilde taşır, hücre içi birikimini azaltır ve çoklu anti-kanser ilaçlara dirence sebep olur. P-gp'nin aşırı ekspresyonu MDR ile yakından ilişkilidir ve P-gp aracılı taşınımın bloke edilmesi MDR'yi tersine çevirmek olarak bilinmektedir. Blokaj ajanları genellikle MDR modülatörleri olarak adlandırılır ve MDR modülatörleri tarafından direncin tersine çevrilmesinin kanser kemoterapisinin sonucunu iyileştirmesi beklenir. MDR'nin üstesinden gelmek için bir kemoterapötik ajan, DOX ve bir P-gp inhibitörü, D- α -Tokoferol polietilen glikol 1000 süksinat veya valspodar (TPGS 1000 veya PSC 833), poli(ϵ -kaprolakton)-poli(etilen glikol)-poli(ϵ -kaprolakton) (PCL-PEG-PCL) (PCEC) miseline DOX/TPGS 1000 veya DOX/PSC 833 yüklü polimerik miselleri (PM) elde etmek için eş-yüklendi.

Farklı bileşimlere sahip, biyolojik olarak bozunan, biyoyumlu ve amfifilik PCEC triblok kopolimerleri, başlatıcı olarak polietilen glikol (PEG) ve katalizör olarak kalay 2-

etilhekzonoat ($\text{Sn}(\text{Oct})_2$) varlığında kaprolaktonun halka açılma polimerizasyonu yoluyla sentezlendi.

Triblok kopolimerlerin yapısı, proton nükleer manyetik rezonans (^1H NMR), fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR), jel geçirgenlik kromatografisi (GPC) ile karakterize edildi. Kopolimerlerin termal davranışı diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ile karakterize edildi.

PCEC kopolimerlerinin kendiliğinden bir araya gelmesi ve misel oluşumu bir spektrofotometre ile floresan spektrumları kullanılarak araştırıldı. Polimerlerin kritik misel konsantrasyonları (CMC) 0.000293-0.019202 mg/ml aralığında idi.

Sulu PCEC çözeltilerinin sol-jel-sol faz geçiş davranışları tüp ters çevirme yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen PCEC kopolimerlerinin sulu çözeltisi sıcaklık arttıkça sol-jel-sol geçişine maruz kalmıştır, oda sıcaklığında akan sol daha sonra vücut sıcaklığında akmayan jele dönüşmüştür.

PCEC miselleri nanoçöktürme tekniği ile hazırlandı. Kısaca, seçilen 4 proses parametresi (PEG'in molekül ağırlığı, PCL/PEG oranı, polimer konsantrasyonu ve çözücü/su oranı) aseton veya dimetilformamit (DMF) çözücüler için 2 farklı değere ayarlandı. Deneyler her bir çözücü için 36 deneysel koşul ile iki kez tekrarlanmıştır, misellerin parçacık boyutu, zeta potansiyelleri ve polidispersite indeks değerleri dinamik ışık saçılımı (DLS) ile belirlenmiştir. Aseton ile hazırlanan optimize edilmiş misel 0.75 düşük polidispersite indeksi, 225 nm dar tekil dağılımlı tek modlu boyut dağılımı ve -2.2 mV zeta potansiyeli ile kayda değerdir. Elde edilen miseller, taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile gösterildiği gibi küresel bir şekil sergiler.

Daha sonra DOX herhangi bir yüzey aktif madde ve toksik organik çözücü kullanılmadan nanoçöktürme yöntemiyle PCEC misellere yüklenmiştir. Bu çalışmada karıştırma hızı, temas süresi, trietilamin (TEA) miktarı ve %DOX 2 farklı değere ayarlanmıştır. Deneyler 16 deneysel şartın her biri için iki kez tekrarlanmıştır, misellerin ilaç kapsülleme etkinliği (EE) ve ilaç yüklemesi (DL) belirlenmiştir. Misellerin DOX miktarı ultraviyole spektrofotometre (UV-Vis) ile ölçüldü. Bu optimum koşullar altında hesaplanan kapsülleme verimliliği (EE) %78.98 olarak bulundu.

DOX ile birlikte farklı P-gp inhibitörleri misellere yüksek miktarda yüklenebildi. DOX/TPGS 1000 ve/veya DOX/PSC 833 yüklü PCEC polimerik miselleri ilk kez hazırlandı. Misellerin FT-IR analizi DOX, TPGS 1000 ve PSC 833'ün misellere kapsüllenmiş olduğunu gösterdi. TPGS 1000 ve PSC 833'ün miktarları yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılarak belirlendi. İki aktif madde içeren formülasyonlarda DOX'in tutuklama verimliliği P-gp inhibitörleri sayesinde daha yüksek bulunmuştur.

DOX'in kontrollü salımını araştırmak için 37°C'de pH 5.0, 6.5 ve 7.4 salım ortamı olarak Fosfat tampon çözeltisi (PBS) kullanılmış ve salım kinetiği hesaplanmıştır.

Çeşitli polimerik misel formülasyonlarının fiziksel ve kimyasal stabilitesi analiz edildiğinde sonuçlar misellerin kararlı olduğunu, 5°C sıcaklıkta 15 gün süreyle güvenli bir şekilde saklanabileceğini ve her iki eş-kapsüllenmiş ilacın bu zaman süresince sistemde tutulabileceğini kanıtlar.

Elde edilen sonuçlara göre DOX çözünürlüğü anti-kanser aktif maddesi ile beraber bir P-gp inhibitörü içeren misel formülasyonları ile artırılabilir. Bu sonuçlar DOX ile TPGS 1000 veya PSC 833'ün PCEC miselleri ile eş-salımının kanser tedavisi için çok umut verici olduğunu ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Biyobozunur, poli(ϵ -kaprolakton)-poli(etilen glikol)-poli(ϵ -kaprolakton), doksorubisin, P-gp, ilaç salım sistemi



ABSTRACT

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF BIOPOLYMERIC MICELLES, USING IN CONTROLLED DELIVERY OF MODIFIED ANTI-CANCER DRUGS

Özlem GÖKÇE KOCABAY

Department of Chemical Engineering

Ph.D. Thesis

Adviser: Assist. Prof. Dr. Osman İSMAİL

Co-Adviser: Assist. Prof. Dr. Zeynep AKDESTE

Breast cancer is a major form of cancer, with a high mortality rate in women. Doxorubicin (DOX) has proven very effective for the treatment of breast cancer. Nevertheless, drawbacks such as cardiac toxicity, short half-life and low solubility in aqueous solution have hindered its application. Multidrug resistance (MDR) is a major obstacle in cancer chemotherapy. P-glycoprotein (P-gp), a plasma membrane protein, actively transports drugs out of the cells and decreases their intracellular accumulation, resulting in resistance to multiple anti-cancer drugs. Overexpression of P-gp is closely associated with MDR and the blocking of P-gp-mediated transport is known to reverse MDR. Blocking agents are generally called MDR modulators and the reversal of resistance by MDR modulators is expected to improve the outcome of cancer chemotherapy. To overcome MDR a chemotherapeutic agent, DOX and a P-gp inhibitor D- α -Tocopherol polyethylene glycol 1000 succinate or valspodar (TPGS 1000 or PSC 833) were co-loaded in the poly(ϵ -caprolactone)-poly(ethylene glycol)-poly(ϵ -caprolactone) (PCL-PEG-PCL) (PCEC) micelle to obtain DOX/TPGS 1000 or DOX/PSC 833 loaded polymeric micelles (PM).

The biodegradable, biocompatible and amphiphilic PCEC triblock copolymers with different compositions were synthesized via ring opening polymerization of caprolactone

in the presence of polyethylene glycol (PEG) as an initiator and stannous 2-ethyl hexanoate ($\text{Sn}(\text{Oct})_2$) as catalyst.

The structure of triblock copolymers was characterized by proton nuclear magnetic resonance (^1H NMR), fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), gel permeation chromatography (GPC). The thermal behavior of copolymers was characterized on differential scanning calorimeter (DSC).

The self aggregation and micelle formation of the PCEC copolymers were investigated using fluorescence spectra by a spectro fluorophotometer. The critical micelle concentrations (CMC) of the polymers ranged from 0.000293-0.019202 mg/mL.

Sol–gel–sol phase transition behaviors of aqueous PCEC solutions were studied using test tube-inverting method. Aqueous solution of the obtained PCEC copolymers underwent sol–gel–sol transition as temperature increased which was flowing sol at room temperature and then turned into nonflowing gel at body temperature.

PCEC micelles were prepared by the nanoprecipitation technique. Briefly, 4 selected process parameters (molecular weight of PEG, PCL/PEG ratio, polymer concentration and solvent/water ratio) were adjusted at 2 different values for acetone or dimethylformamide (DMF) solvent. Experiments for each of the solvent with 36 experimental conditions, repeated twice, the particle size, zeta potentials and polydispersity index values of the micelles was determined by dynamic light scattering (DLS). The optimized micelle, which was prepared by acetone, with low polydispersity index of 0.75, the narrow monodispersed unimodal size distribution of 225 nm and zeta potential of -2.2 mV is significant. The micelles obtained exhibit a spherical shape as shown by scanning electron microscope (SEM).

After that DOX was loaded into PCEC micelles by nanoprecipitation method without using any surfactants and toxic organic solvent. In this work shaking speed, time of contact, amount of triethylamine (TEA) and %DOX were adjusted at 2 different values. Experiments for each of the 16 experimental conditions, repeated twice, the drug encapsulation efficiency (EE) and drug loading (DL) of the micelles was determined. The DOX amount of the micelles was measured by ultraviolet spectrophotometer (UV-Vis). The encapsulation efficiency (EE) calculated under these optimum conditions was found to be %78.98.

Different P-gp inhibitors with DOX could be loaded high into the micelles. DOX/TPGS 1000 and/or DOX/PSC 833 loaded PCEC polymeric micelles were prepared for the first time. FT-IR analysis of the micelles showed that DOX, TPGS 1000 and PSC 833 was encapsulated into the micelles. The amounts of TPGS 1000 and PSC 833 were determined using the high performance liquid chromatography (HPLC). In formulations containing two active agents, the entrapment efficiency of DOX was found to be higher due to P-gp inhibitors.

To investigate the controlled release of DOX phosphate buffered saline (PBS) was used as the release medium at pH 5.0, 6.5 and 7.4 at 37°C and the release kinetic was calculated.

When analyzed the physical and chemical stability of various polymeric micelle formulations, the results show that the micelles are stable and can be stored safely for 15 days at a temperature of 5°C, proving that both co-encapsulated drugs can be retained in the system during this time.

According to the results obtained DOX solubility can be increased with micelle formulations which contain a P-gp inhibitor together with the anti-cancer active agent. These results suggest that the co-delivery of DOX with TPGS 1000 or PSC 833 by PCEC micelles is very promising for cancer therapy.

Key words: Biodegradable, poly(ϵ -caprolactone)-poly(ethylene glycol)-poly(ϵ -caprolactone), doxorubicin, P-gp, drug delivery system



1.1 Literatür Özeti

Sadece meme kanseri tüm kanser vakalarının %25'ini ve kadınlarda tüm kanser ölümlerinin %15'ini oluşturur [1], [2]. Meme kanseri oluş sıklığı ve ölüm oranı her yıl sırasıyla %20 ve %14'ten fazla artmaya devam etmiştir [3].

Geleneksel formülasyonlar, vücut için toksik olan sistemik seviyelere ulaşılmasına rağmen terapötik konsantrasyonlara ulaşmakta başarısızdır. Ayrıca bu ilaçların artan kullanımı ilaç direncini artırır. Bu nedenle yeni, iyi-kontrollü ilaç salım sistemleri ideal olarak sadece hedef organlara ilaç salımı yapar, geleneksel formülasyonların eksikliklerini ortadan kaldırır ve sonuç olarak hastalara yönelik yaşam kalitesini iyileştirmek için ilişkili yan etkileri azaltır [4].

Kemoterapi şu anda mevcut olan terapötik yaklaşımlar arasında önemli bir tedavi yöntemidir. Antrasiklinler ileri metastatik meme kanseri için ilk basamak kemoterapötik ajanlardır. Bununla birlikte bu ajanların kullanılması kaçınılmaz olarak ilaç direncine neden olur ve meme kanserinin kötüye gitmesine yol açar. Meme kanseri MDR taşıyıcılarının aşırı ekspresyonu, kusurlu hücre apoptozisi ve kanser kök hücrelerinin varlığı dahil olmak üzere çoklu mekanizmalar vasıtasıyla kemo-direnç geliştirir. MDR taşıyıcı aşırı ekspresyonu öncelikle ilaç direncinden sorumludur ve sonuç olarak meme kanseri tedavisinin başarısızlığına yol açar. P-glikoprotein (P-gp) ilaç dışarı akışını arttıran ve tümör hücrelerinde ilaç birikimini azaltan asıl MDR taşıyıcılarından biridir. Bir dizi klinik çalışma kemoterapinin meme kanserlerinde MDR taşıyıcılarının aşırı ekspresyonuna neden olabildiğini ve tedaviye daha kötü yanıt ile ilişkili MDR taşıyıcısı aşırı ekspresyonunun ortaya çıktığını göstermiştir. Etkili klinik müdahalelerin olmayışı nedeniyle dirençli meme kanserli hastaların kötü prognozu vardır. Bu nedenle MDR'nin

üstesinden gelmek ve dirençli meme kanserini tedavi etmek için etkili tedavilere acil bir ihtiyaç vardır [5-8].

TPGS'nin çözünürlüğü arttırabildiği, P-gp aracılı çoklu ilaç direncini önleyebileceği ve anti-kanser ilaçların oral biyoyararlanımını arttırabildiği bulunmuştur [9]. Valspodar MDR1 P-glikoprotein (Pgp) aşırı ekspresyonu ile ilişkili klasik tip çoklu ilaç direncini (MDR) gösteren tümör hücrelerini kemosensitize etmek için geliştirilmiş bir kapasite sergiler [10]. Bu çalışmada bu bilgiler ışığında polimerik misel yapıları içine DOX ile birlikte TPGS 1000 ve valspodar (PSC 833) P-gp inhibitörleri de hapsedilmiştir.

Antrasiklin glikozit antibiyotik olan doksorubisin hidroklorür (DOX.HCl) akciğer kanseri, yumurtalık kanseri, kötü huylu lenfoma ve meme kanseri gibi çeşitli kanserlerin tedavisinde yaygın olarak kullanılmakta olup bu tez çalışmasında model ilaç olarak kullanıldı. Bununla birlikte uzun süreli klinik kullanım kronik kalp yetmezliği ile sonuçlanabilecek kardiyotoksisite gibi yan etkileri nedeniyle sınırlıdır. Buna ek olarak birçok tümör hücresi P-glikoprotein (P-gp) aracılık ettiği tümör hücrelerinden dışarı akış nedeniyle DOX'e duyarlı değildir [11]. Ek olarak sulu çözelti içindeki zayıf çözünürlük sorunudur ve sulu durumda stabilite için yüzey aktif maddeler gereklidir [12], [13]. Çözünürlük gerekli farmakolojik yanıtın elde edilmesi için sistemik dolaşımda ilacın istenen konsantrasyonunu elde etmede önemli parametrelerden biridir [14]. Nanopartiküller, miseller, mikrosfer veya hidrojel gibi yeni ilaç salım sistemleri ilaç stabilitesini arttırarak, çözünürlüğü iyileştirerek, devam süresinin uzamasını ve sistemik toksisiteyi azaltarak geleneksel ilaç formülasyonlarının dezavantajlarının üstesinden gelmek üzere geliştirilmiştir [15]. Hidrofobik bloğun sınırlı suda çözünürlüğü ve sulu ortamdaki suda çözünmeyen bölümler arasındaki hidrofobik etkileşimlerden dolayı amfifil blok kopolimerleri moleküller içi – ve/veya moleküller arası ayrışma yoluyla ara yüzey serbest enerjiyi en aza indirgeyerek termodinamik stabiliteyi elde etmek için misel veya misel benzeri kendiliğinden agregatlar oluştururlar [16]. Polimerik miseller hidrofobik çekirdeğinde doksorubisin gibi çeşitli suda çözünmeyen anti-kanser ilaçları kapsüller bu da onları enzimler tarafından bozunmadan korur ve suda hidrofobik ilaçların çözünürlüğünü ve biyoyararlanımını geliştirir [17], [18].

Düşük sıcaklıktaki enjekte edilebilir akışkan çözelti, normal vücut sıcaklığına sahip hayvanlara enjekte edildiğinde hızla akmayan bir jel haline dönüşebilir. Yavaş yavaş olan biyolojik bozunması ilacın devamlı ve sürdürülebilir bir şekilde salımını sağlar ve ilaç salım deposu uzaklaştırması için ikincil cerrahi ameliyat sonrası model önlenir [19], [20].

Kontrollü ilaç salım formülasyonlarında başarılı bir şekilde kullanılmak üzere bir materyal kimyasal olarak inert ve sızıntı yapabilecek safsızlıklardan arındırılmış olmalıdır. En yaygın olarak polimer bir konjugat; polimerik misel veya virütik olmayan vektörün bir inert yapısal bileşenidir. Önemli bir diğer faktör ilaç salımı için kullanılan polimerin biyolojik olarak parçalanabilmesidir. Polimerler normal metabolik yollarla vücuttan atılabilen ve metabolik olarak metabolize edilebilen biyolojik olarak kabul edilebilir moleküllere ayrılabilmelidir [21].

Poli(ϵ -kaprolakton) veya PCL, biyomedikal malzeme olarak kullanılmak üzere kapsamlı olarak araştırılan biyouyumlu bir polyesterdir, bozunma ürünü insan vücudunda doğal olarak meydana gelen 6-hidroksiheksanoik asit metabolitidir [22]. PCL, bilinen diğer biyolojik olarak parçalanabilir polimerlerden çok daha yavaş bozunur, uzun süreli ilaç salım araçlarının yapılmasını çok uygun hale getirir [23]. PEG'in toksik olmadığı ve ilaç kullanımında FDA tarafından onaylandığı bilinmektedir [24]. PEG, DOX yükleme prosesi sırasında sterik stabilite sağlayan ayrıca protein adsorpsiyonunu ve agregasyonunu önleyerek in vivo stabiliteyi sağlama potansiyeline sahip olan oldukça çözünür bir polimerdir [25].

Bu tez çalışmasında toksik olmayan, FDA onaylı, biyouyumlu ve biyobozunur polimerlerden hidrofobik özellikteki PCL ve hidrofilik özellikteki PEG kullanılarak amfifilik kopolimerler hazırlandı. İyi bir biyolojik bozunabilir malzeme olan poli(ϵ -kaprolakton)-poli(etilen glikol)-poli(ϵ -kaprolakton) (PCL-PEG-PCL) (PCEC) kopolimeri kontrollü ilaç salım sistemi olarak yaygın olarak kullanılır ve birkaç FDA onaylı üründe kullanılır [26], [27]. Doksorubisinin çözünürlüğünü ve geçirgenliğini arttırmak için amfifilik poli(ϵ -kaprolakton)-poli(etilen glikol)-poli(ϵ -kaprolakton) kopolimer (PCEC) bazlı miseller içinde kapsüllenmiştir.

Tümörlerde tercihen nanopartiküllerin lokalizasyonunun ve birikmesinin çoğu tümörde < 400 nm partiküllerinin pasif ekstravazasyonuna dayanan nanopartiküllerin daha iyi geçirgenliği ve tutulması ile elde edilebileceğine inanılmaktadır [28].

DOX, TPGS 1000 ve PSC 833 ilaçlarının kullanılacağı kanser hücresine hedefli etkin bir polimerik misel sistemi tasarlamak için polimerik taşıyıcının kimyasal yapısının yanı sıra kanserli hücreyi tespit edebilme, vücudun diğer kısımlarına göre hasta dokunun daha düşük olan pH duyarlılığı gibi kriterlerin de göz önüne alınması gerekir. Bu ilaçları hedeflenen dokulara taşıyabilecek en optimum misel yapısını oluşturmak için seçilen

PEG türünün, PCL ve PEG polimer bloklarının oranının, çözücü türünün, polimer konsantrasyonunun ve çözücü konsantrasyonunun hangisinin daha etkili olduğu belirlenerek bu taşıyıcılara fiziksel olarak yüklenen ilaçların kapsülleme verimliliği ve salım profili incelendi.

1.2 Tezin Amacı

Bu tez çalışmasının birden fazla amacı bulunmaktadır.

Bu tez çalışmasının başlıca amacı PCL ve PEG ile PCL-PEG-PCL (PCEC) amfifilik triblok kopolimerlerin halka açılma polimerizasyonu ile sentezlenmesi ve karakterize edilmesi, bu kopolimerlerin misel oluşturabilme özelliklerinin ve sol-jel-sol faz geçiş özelliklerinin belirlenmesidir.

Çalışmanın diğer bir amacı kullanılan PCEC amfifilik triblok kopolimerinin yapısında yer alan hidrofobik kısmın (PCL) sulu ortamda misel yapının çekirdeğini oluştururken, hidrofilik PEG segmentinin yüzeyde yer almasıdır. Böylece miselin yüzeyinde yer alan PEG sayesinde korunması amaçlanmakta ve RES organları tarafından sistemik dolaşımdan uzaklaştırılması engellenmeye çalışılmaktadır. PCEC misellerin salım sırasında ilacın patlama salımını en aza indirmek için misel çekirdeklerinde ilaç moleküllerinin kapsüllenmesine ve hatta dağılmasına olanak sağlaması hedeflenmektedir.

Çalışmada etkin madde olarak oral biyoyararlanımı düşük olan ve oldukça hidrofobik bir anti-kanser ilacı olan DOX kullanılması planlanmaktadır. DOX'in çözünürlüğünün artması ise hidrofobik çekirdekteki kapsüllemeyle amaçlanmaktadır.

Çalışmanın başka bir amacı tümör bölgesinde etkili EPR etkisi için partikül büyüklüğü 400 nm'den küçük olan miselleri elde etmektir bundan dolayı partikül büyüklüğü üzerinde formülasyon parametrelerinin etkisi incelenmektedir. Nanoçöktürme yöntemi PEG'in molekül ağırlığı, PCL/PEG oranı, polimer konsantrasyonu, çözücü/su oranı ve çözücü türü gibi değişen formülasyon parametreleri ile araştırılmaktadır. Daha sonra tek boyut dağılımlı parçacık boyutlu misel seçilerek ilaç bu misele yüklenecektir.

Bu tezde ayrıca karıştırma hızı, kontakt zamanı, TEA miktarı ve %DOX miktarının ilaç kapsülleme etkinliğine olan etkilerinin belirlenebilmesi hedeflenmektedir.

Tez çalışmasının diğer bir amacı ise çoklu ilaç dirençli (MDR) meme kanserlerini tedavi etmek için ilaçların bozulmamış orijinal şeklini koruyarak DOX/TPGS 1000 veya

DOX/PSC 833 eş-yüklü PCEC polimerik misel bazlı kombinasyonu tasarlamak ve optimize etmektir. Yapılan literatür taramasında lokal olarak uygulanacak, DOX/TPGS 1000 veya DOX/PSC 833 ile eş-yüklü PCEC ilaç salım sistemi ile yapılmış bir araştırmaya rastlanmamaktadır. Bu nedenle bu çalışma çoklu ilaç dirençli meme kanserlerinin tedavisinde bu etken maddeleri kullanarak kontrollü ilaç salımı sağlayacak bir formülasyon geliştirmeye yönelik ilk çalışma olma özelliğini taşımaktadır. Literatürde DOX ilacı ile ilgili kinetik çalışmalar bulunmaktadır fakat DOX/TPGS 1000 veya DOX/PSC 833 eş-yüklü etken madde taşıyan sistemler ile yapılmış bir kinetik çalışma mevcut değildir, bu tezin amaçlarından birisi de bu boşluğu doldurmaktır. Bu çalışma ile miselin anti-kanser ilaçlar olan DOX, TPGS 1000 ve PSC 833 ile yüklenmesi yoluyla enkapsülasyon veriminin artırılması ve aynı zamanda misel yapısının zaman içinde parçalanarak vücuttan atılabilen bir ilaç taşıyıcı olarak geliştirilmesi hedeflenmektedir. TPGS 1000 veya PSC 833 eklemesi belirtilen avantajlardan yararlanmak amacıyla DOX ilacı ve ilaç yüklü miselin farmasötik özelliklerini birleştirmek üzere geliştirilmektedir: (i) DOX'ın sudaki çözünürlüğünü arttırmak (ii) DOX, TPGS 1000 ve PSC 833 ajanlarının terapötik etkinliğini arttırmak (iii) artmış anti-kanser etkinliği sağlamak (iv) daha düşük ilaç direncine sebep olmak (v) yüksek dozda kemoterapiye göre azalan yan etkilere neden olmak.

Hazırlanan misel sistemlerinin DOX, TPGS 1000 ve PSC 833'ü kapsülleme verimliliğinin artırılması, in vitro ortamda yüklenen ilacın salım kinetiğinin incelenmesi ve difüzyon mekanizmalarının tespit edilmesi hedeflenmektedir. Çalışmanın başka bir amacı ortamın pH'ını değiştirerek salım hızının modülasyonunu planlamaktır.

Ayrıca uzun süreli depolama ve taşınım için uygun misel sistemlerinin tasarlanması amaçlanmaktadır.

1.3 Hipotez

Türkiye'nin de yaşadığı büyük sağlık problemlerden biri olan meme kanseri hastalığının tedavisi büyük ölçüde ilaç tedavisi ile sağlandığından bu hastalığa karşı ucuz ve basit bir teknoloji ile sentezlenen daha etkin, daha az yan etkilere sahip ve daha kararlı yapıda olan misellerin sentezlenmesi tüm sağlık sektörüne ve ekonomisine büyük katkı sağlayacağından bu tez çalışmasında bu hastalığa yönelik çalışma yapılması planlanmaktadır.

Geleneksel kemoterapilerin temel problemleri hala mevcuttur bu yüzden sürdürülebilir ilaç salım sistemi geliştirmek önemlidir. Yeni dönem ilaç tedavisi bölgesel uzun süreli ilaç salımı sağlayan kontrollü salım sistemlerini içermektedir. Bu çalışmada, meme kanserinin lokal tedavisinde kullanılmak üzere geleneksel tedavi yöntemlerinden kaynaklanan sistemik yan etkilerden ve direkt lokal enjeksiyon uygulamalarının sebep olduğu problemlerden kaçınmak için anti-kanser ilaç yüklü misellerin enjeksiyon ile uygulanabilen kontrollü salım sistemlerinin geliştirilmesi amaçlanmaktadır.

Antrasiklin bir antibiyotik olan doksorubisin (DOX) özellikle meme, yumurtalık, prostat, beyin, serviks ve akciğer kanserleri olmak üzere çeşitli kanserlerin tedavisi için DNA etkileşimli, en etkili anti-kanser ilaçlardan biridir. Kronik kalp yetmezliği, kronik kardiyomiyopati ve ilaç direnci de dahil olmak üzere kanser hücresine seçici olmayan salımdan kaynaklanan ciddi yan etkiler nedeniyle DOX'in klinik uygulamaları kısıtlanmaktadır. Sık aralıklarla DOX ajanının sistemik uygulamaları ise maliyetlidir. Bu çalışmada bahsi geçen yan etkileri ortadan kaldırmak ve DOX ile anti-kanser ilaçların kan plazmasındaki derişimini uzun süre terapötik düzeyde tutmak için ilacın kontrollü salım formlarının hazırlaması düşünülmektedir. Böylece etken maddenin dozunun düşürülmesi ve yan etkilerinin azaltılması planlanmaktadır. Bu çalışma öncelikle suda az çözünen ve sağlıklı dokular üzerinde toksisite oluşturan DOX'in kapsüllenmesine ilişkin problemlere odaklanmaktadır. Bu çalışmada DOX ile yüklenmiş PCEC misellerinin hazırlanması için olgunlaşma sürecinin verimliliğini kontrol eden en uygun faktörleri tanımlamak planlanmaktadır. Burada "tam faktöriyel tasarım" yöntemi tercih edilmektedir. Böylece farklı sentez koşulları altında elde edilen ürünlerin karakteristik özellikleri belirlenerek en yüksek enkapsülleme verimliliği için en uygun deneysel koşullar belirlenecektir. Bilindiği gibi çoğu kanser hücrelerindeki çoklu ilaç direncinden dolayı pek çok anti-kanser maddeler kemoterapide çok etkin değildir. İn vitro hücre çalışmalarında MDR'nin ana nedeni olarak P-gp'nin tanımlanmasından sonra, P-gp'nin inhibisyonu için daha etkin tedavi yöntemleri üzerinde çok yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Bu amaçla bu tezde formülasyonlara P-gp inhibitörleri eklenmektedir. Çalışmada sözü edilen anti-kanser ilaç yüklü PCEC polimerik misel sistemlerinin P-gp inhibisyonuna sebep olarak ilacın hücreden dışarı atılmasına engel olacağı ve ayrıca ilacın stabilitesinin artırılmasına da katkıda bulunacağı düşünülmektedir. Polimerik misellerle eş-zamanlı salım çoklu ilaç salım işini basitleştirecek, koruyuculuğu arttıracak ve aynı zamanda anti-kanser ajanların sinerjik ilaç etkileşimini hedefleyerek katı tümörlerde

harekete geçmesine izin verecektir. Bu çalışma ile temel ilaç DOX ile DOX'i modifiye etmek amacıyla kullanılan diğer anti-kanser ilaçlar olan TPGS 1000 ve PSC 833'ün salımını yapmak için kontrollü ilaç salım uygulamalarında kullanılabilecek nanoboyutta PCEC polimerik misellerin taşıyıcı olarak geliştirilmesi, kullanımlarına yönelik temel çalışmaların yapılması ve literatüre kazandırılması hedeflenmektedir. Bu çalışmada DOX, TPGS 1000 ve PSC 833 yüklü formülasyonların hazırlanmasında dikkat çeken yaklaşımlardan bir tanesi de PCEC misel formülasyonlarının sentezlenmesinde toksik yüzey aktif maddeler yerine kendiliğinden birleşebilen amfifilik blok kopolimerlerin kullanılarak miseller geliştirilmesidir. Tez çalışmalarında FDA onaylı, biyouyumlu ve biyobozunur polimerlerden PCL ve PEG kullanılmaktadır. FDA onaylı bileşenlerin kullanımının bu araçların klinik uygulamaya dönüştürülmesini kolaylaştırabileceği düşünülmektedir. Biyolojik olarak parçalanabilen polimerler en uygun ve en yaygın kullanılan malzemelerdir çünkü implantları çıkarmak için gerekli olan yeniden ameliyat ihtiyacını ortadan kaldırmaktadırlar ayrıca amacına ulaştıktan sonra vücutta kolayca elimine edilebilecek toksik olmayan bileşenlere metabolize edilecekleri bilinmektedir.

EPR etkisi anti-kanser ilaç sistemi geliştirilmesi sürecinde altın standart olarak kabul edilmektedir. Bu etkiye göre tümörlü bölgelerdeki kan damarları duvarlarının tümörlü hücrelere daha çok besin ve oksijen sağlamak amacıyla geçirgenliklerinin artması ile partikül büyüklüğü 400 nm'den küçük olan partiküllerin bu damarlardan tümörlü dokulara geçişine izin vereceği bilinmektedir.

Yeni geliştirilmiş DOX-PM, DOX/TPGS 1000-PM ve DOX/PSC 833-PM sistemlerinin yüzey yüklerinin belirlenmesi, partikül boyutlarının ve zeta potansiyellerinin ölçümü, UV/Vis ve HPLC yöntemi ile enkapsülleme verimliliğinin ve salımının/kararlılığının kontrol edilmesi ile bu sistemlerin ilaç endüstrisinde kullanılabilesine katkıda bulunacağı beklenmektedir.

BÖLÜM 2

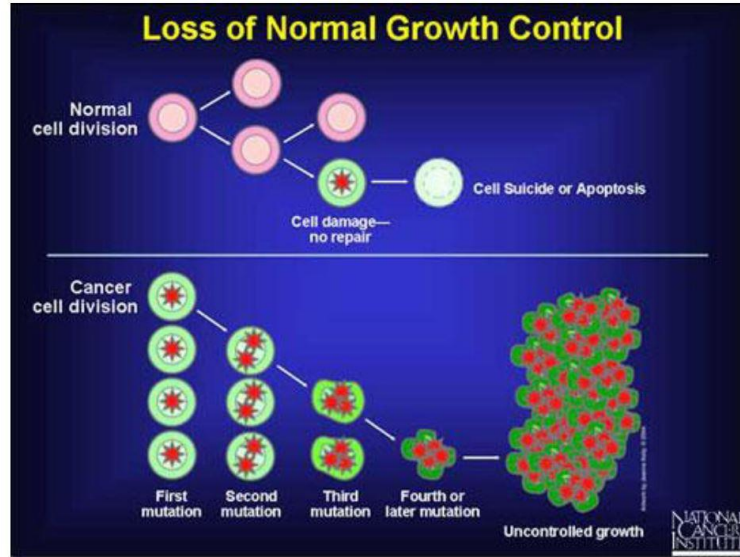
GENEL BİLGİLER

2.1 Kanser

Kelime anlamı olarak kanser, bir organ veya dokudaki hücrelerin düzensiz olarak bölünüp çoğalmasıyla beliren kötü urlara denir. Genel anlamda ise kanser vücudumuzun çeşitli bölgelerindeki hücrelerin kontrolsüz çoğalması ile oluşan 100'den fazla hastalık grubudur. Çok çeşitli kanser tipleri olmasına rağmen, hepsi anormal hücrelerin kontrol dışı çoğalması ile başlar. Tedavi edilmez ise ciddi rahatsızlıklara, hatta ölüme dahi neden olabilir.

Kanser (cancer) terimi, tıbbın babası olarak bilinen Yunan fizikçi Hippocrates (MÖ 460-370) tarafından oluşturulmuştur. Hippocrates carcinos ve carcinoma terimlerini ülser oluşturan ve ülser oluşturmayan tümörler için kullanmıştır [29].

Şekil 2.1'de büyüme kontrol mekanizması açısından normal hücreler ve kanser hücreleri arasındaki fark gösterilmektedir.



Şekil 2. 1 Normal büyüme kontrolünün kaybı [30]

2.1.1 Normal Bir Hücrenin Kansere Dönüşümü

Bütün kanser tipleri vücudun temel yaşam ünitesi olan hücrelerimizden gelişirler. Kanseri anlamak için normal hücrelerin nasıl kansere dönüştüğünü bilmek faydalı olacaktır. Vücudumuzdaki sağlıklı hücreler bölünebilme yeteneğine sahiptirler. Ancak, kas ve sinir hücrelerinde bu özellik bulunmaz. Ölen hücrelerin yenilenmesi ve yaralanan dokuların onarılması amacıyla bu yeteneklerini kullanırlar. Yaşamın ilk yıllarında hücreler daha hızlı bölünürken, erişkin yaşlarda bu hız yavaşlar. Fakat hücrelerin bu yetenekleri sınırlıdır, sonsuz bölünemezler. Her hücrenin hayatı boyunca belli bir bölünebilme sayısı vardır. Sağlıklı bir hücre ne kadar bölüneceğini bilir ve gerektiğinde ölmesini de bilir. Buna apoptosis yani hücrenin programlı ölümü denir. Normalde vücudun sağlıklı ve düzgün çalışması için hücrelerin büyümesi, bölünmesi ve daha çok hücre üretmesine gereksinim vardır. Bazen buna rağmen süreç doğru yoldan sapar, yeni hücrelere gerek olmadan hücreler bölünmeye devam eder. Bilincini kaybetmiş kanser hücreleri, kontrolsüz bölünmeye başlar ve çoğalırlar. Fazla hücrelerin kütleleri bir büyüklük veya tümör oluştururlar. Hücrelerin merkezinde çekirdek içinde hücrenin ve organizmanın genetik bilgisinin saklandığı elektron mikroskopu ile de görüntülenebilen Deoksiribonükleik asit (DNA) olarak adlandırılan mikroskopik iplikçikler mevcuttur. DNA hücrenin normal fonksiyonlarını görmesi için gereklidir. Kanserli hücreler bu DNA iplikçiğindeki hasardan dolayı oluşur. Hücrenin normal yaşam siklusunda DNA hasarı olsa da hücre ya bunu onarır ya da ölür. Kanserli hücrelerde hasarlanmış DNA onarılamaz ve kontrolsüz çoğalma başlar. DNA çevresel etkenler (kimyasallar, virüsler, tütün

ürünleri veya aşırı güneş ışını vs. gibi) nedeniyle hasar görebilir. Kanser hücreleri birikerek tümörleri oluştururlar [29].

Tüm tümörler kanserli değildir; tümörler iyi huylu veya habis olabilirler.

- İyi huylu tümörler kanserli değildir. Genellikle çıkarılabilirler ve çoğu durumda geri dönmezler. İyi huylu tümörlerdeki hücreler vücudun diğer bölgelerine yayılmaz.
- Malign tümörler kanserlidir. Bu tümörlerin içindeki hücreler, yakındaki dokuları istila edebilir ve vücudun diğer bölgelerine yayılabilir. Vücudun bir bölümünden diğerine kanser yayılımı metastaz olarak adlandırılır [31].

Kanser, dünyadaki en yaygın üçüncü hastalıktır ve ilk ikisi kalp ve damarlara ilişkin hastalıklar ile bulaşıcı hastalıklardır.

Kanser, son yıllarda dünya genelinde yaşam beklentilerinin artması ve çoğunlukla batı bölümünde yaşam biçimlerinin değişmesi nedeniyle bir artış göstermiştir. Dünya Sağlık Örgütü'nün istatistiki verilerine göre, 2008'de yaklaşık 12 milyon kişiye kanser tanısı konulmuştur ve 2030'da bu sayının en az 26 milyona yükselmesi bekleniyor; bu, 2030 yılında 13.1 milyon kişi kanser tanısı alacak anlamına gelmektedir.

Dünya genelinde bugün en yaygın üçüncü hastalık olan kanser nedeniyle yaklaşık 8.2 milyon kişinin ölümüyle ölümlerin %13'ünü oluşturuyor. Kanser ölümlerinin büyük çoğunluğu aşağıdakilerle ilgilidir:

- Akciğer (1.59 milyon ölüm/yıl)
- Mide (723.000 ölüm/yıl)
- Karaciğer (745.000 ölüm/yıl)
- Kalın bağırsak (694.000 ölüm/yıl)
- Meme (521.000 ölüm/yıl)
- Yemek borusu (400.000 ölüm/yıl).

Dünya çapında tüm ölümlerin yüzdesi oluşturulursa, kanser nedeniyle tüm ölümlerde meme kanseri yüzdesi %6.9'dur. 2012 yılında dünya çapında meme kanseri nedeniyle 522.000 kadın ölmüştür [32].

2.1.2 Dünya Kanser İstatistiklerinde Türkiye'nin Durumu

Çizelge 2.1'de kadınlarda en sık görülen ilk beş kanserin dağılımı verilmektedir.

Çizelge 2. 1 Uluslararası Kanser Ajansı (IARC) tarafından yayınlanan Globocan 2012 verilerine göre kadınlarda en sık görülen ilk beş kanserin dağılımı [33].

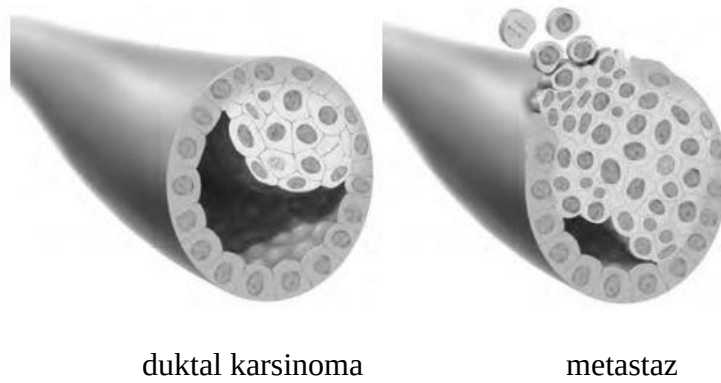
	Türkiye*	Dünya	IARC'a üye 24	AB (28 ülke)	ABD
1	Meme	Meme	Meme	Meme	Meme
2	Tiroid	Kolorektal	Kolorektal	Kolorektal	Akciğer
3	Kolorektal	Uterus serviksi	Akciğer	Akciğer	Kolorektal
4	Uterus korpusu	Akciğer	Uterus serviksi	Uterus korpusu	Tiroid
5	Akciğer	Uterus korpusu	Uterus korpusu	Uterus serviksi	Uterus

* Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2014

2.2 Meme Kanseri

Meme kanseri, meme dokusundan kaynaklanan kanserlerle, çoğunlukla süt kanallarının iç astarından veya kanallara süt sağlayan lopçuklarla ilgilidir. Genellikle kanser, orijinlendiği vücut bölümünün adını alır; bu nedenle meme kanseri meme dokusundan kaynaklanan hücrelerin dengesiz büyümesini ve çoğalmasını ifade eder [34].

İnsan meme kanseri genetik, endokrin ve besinsel faktörlerin başlatma, ilerleme ve devamlılığın önemli düzenleyicilerini temsil ettiği çok faktörlü, çok basamaklı bir hastalıktır. Meme kanserinin klinik görünümü lokal bir tümörden metastatik bir hastalığa uzanmaktadır (Şekil 2.2).



Şekil 2. 2 Duktal karsinoma ve duktal karsinomanın metastatik evresi [35]

Meme kanseri, kanser hücreleri kan veya lenf sistemine girdiğinde yayılabilir ve vücudun diğer bölgelerine taşınır. Meme kanseri hücreleri lenf damarlarına girebilir ve lenf düğümlerinde büyümeye başlarlar. Kanser hücreleri lenf düğümlerine yayılmışsa, hücrelerin lenf sistemi üzerinden dolaşıp vücudun diğer bölgelerine yayılması olasılığı

yüksektir. Meme kanseri hücreleri olan lenf düğümleri ne kadar fazla olursa, diğer organlarda da kanser bulunma ihtimali o kadar yüksektir. Bu nedenle, bir veya daha fazla lenf bezinde kanser bulma, genellikle tedavi planını etkiler. Genellikle kanserin yayılıp yayılmadığını bilmek için bir veya birden fazla lenf düğümü çıkarma ameliyatı gerekir. Yine de lenf düğümlerinde kanser hücresi bulunan kadınların tümünde metastaz gelişmediği ve bazı kadınların lenf düğümlerinde kanser hücresi olmadığı ve daha sonra metastaz geliştiği anlamına gelir [36].

Meme kanseri kadınlarda en sık rastlanan ve en yüksek mortaliteye neden olan kanser türlerinden biridir ve kadınlarda kanserle ilgili ölümlerin %15'ini ve kadınlarda tüm kanserlerin yaklaşık %25'ini oluşturmaktadır. Türkiye'de meme kanseri tanısı konan kadınların %45'inin 50-69 yaşları arasında olduğu ve %40'ının yaşının 25-49 arasında olduğu görülmektedir. Meme kanseri kadınların sadece yaşamını tehdit etmekle kalmamakta ayrıca cinsel kimlik ve fiziksel görünümünü de etkilemektedir, böylece zihinsel sağlıklarını tehlikeye atmaktadır [37].

İnsidansında artışa rağmen erken tanı yöntemleri ve etkin tedavi yaklaşımlarıyla mortalitesi azalma eğilimindedir [38].

Meme kanseri kadınlarda erkeklerle karşılaştırıldığında yaklaşık 100 kat daha fazladır ancak erkekler tanındaki gecikmelere bağlı olarak daha kötü sonuçlara sahip olma eğilimindedir.

2.2.1 Meme Kanseri Çeşitleri

Meme kanseri çeşitleri bölgeye göre aşağıdaki şekilde sınıflandırılmaktadır:

İnvazif olmayan meme kanseri hücreleri kanalları çevreler, sınırlı olan ve memeyi çevreleyen yağlı ve bağ dokuları istila etmez. Duktal karsinoma in situ (DCIS) invazif olmayan meme kanserinin en yaygın formudur (%90). Lobüler karsinoma in situ (LCIS) daha az yaygındır ve artmış meme kanseri riski için bir işaret olarak düşünülür.

İnvazif meme kanseri hücreleri, kanal ve lobüler duvarı aşar ve memenin çevresindeki yağlı ve bağ dokuları işgal eder. Kanser, lenf düğümlerine veya diğer organlara metastatik (yayılan) olmadan invazif olabilir.

2.2.2 Meme Kanserinin Nedenleri

2.2.2.1 Önceki Meme Kanseri Öyküsü

Meme kanseri geçirmiş bir kadının, diğer memede meme kanseri olma riski yüksektir.

2.2.2.2 Önemli Aile Geçmişi

Hastanın ailesinin birkaç üyesinin belirli kanser türlerine sahip olduğu hasta artan meme kanseri riskine sahip olabilir.

2.2.2.3 Genetik Nedenler

Aile öyküsü, uzun zamandır meme kanseri için bir risk faktörü olarak biliniyor. Anne ve baba yakınları da önemlidir. Risk; etkilenen akrabanın genç yaşta meme kanseri geliştirdiğinde, her iki memede kanser olduğunda veya yakın bir akrabası olması durumunda en yüksektir. Birinci derece akrabalar (anne, kız kardeş, kız) risk tahmininde en önemlisidir. Meme kanserli ikinci derece akrabalar (büyükanne, teyze) da riski artırabilir. Erkeklerde meme kanseri, yakın akraba yakınlarının riskini arttırır. BRCA1 ve BRCA2 anormal genlerdir, kalıtsal olduğunda meme kanseri riskini %40 ile %85 arasında değişen oranda ömür boyu önemli derecede arttırmaktadır. BRCA1 genine sahip kadınlar erken yaşlarda meme kanseri geliştirme eğilimindedir.

2.2.2.4 Hormonal Nedenler

Hormonal seviyesindeki değişim meme kanserini hızlandırabilir. Buna başlama ve durdurma (adet döngüsü) dönemleri, erken gebelik, hormonal replasman tedavisi, ağızdan hap kullanımı vb. sebep olabilir.

2.2.2.5 Yaşam Tarzı ve Diyet Nedeni

Hareketsiz yaşam tarzı, özellikle postmenopozal kadınlarda yağ şişmanlığının yüksek diyetle alınması meme kanserine neden olabilir. Alkol kullanımı meme kanserinin bir diğer nedenidir. Alınan alkol miktarı ile birlikte risk artar.

2.2.2.6 Çevresel Neden

Düşük doz radyasyon ile uzun süre çalışan kadınlarda (örneğin X-ray teknisyenleri) hafif bir artış olduğu bilinmektedir [34].

2.2.3 Meme Kanseri Aşamaları

Kanser tanısı konduğunda, kanser teşhisine ne kadar gelişmiş olduğuna göre bir evre atanır. Meme kanserinin evreleri genelde in situ (invazif değil) veya invazif olarak tanımlanabilir. Evreler ayrıntılı olarak tanımlanabilir ve bir sayı (0 ile IV) ile belirtilebilir.

Evre 0: İnvazif olmayan meme kanserlerinin tanımlanması için kullanılır.

Evre I: İnvazif meme kanserini tanımlar. Evre I; IA ve IB olarak bilinen alt kategorilere ayrılmıştır.

Evre IA:

- Tümör 2 santimetreye kadar ölçülür ve
- Kanser memenin dışına yayılmaz, lenf düğümleri dahil değildir.

Evre IB:

- Memede hiç bir tümör yoktur bunun yerine, 0.2 milimetreden daha büyük fakat 2 milimetreden büyük olmayan küçük kanser hücre grupları lenf düğümlerinde bulunur veya
- Memede 2 santimetreden daha büyük olmayan bir tümör vardır ve lenf düğümlerinde 0.2 milimetreden daha büyük ancak 2 milimetreden büyük olmayan küçük kanser hücre grupları vardır.

Evre II: Evre II; IIA ve IIB olarak bilinen alt kategorilere ayrılmıştır.

Evre IIA: İnvazif meme kanserini şöyle tanımlar:

- Memede hiç bir tümör bulunmaz ancak kanser (2 milimetreden büyük) 1 ile 3 aksiller lenf nodunda (kol altındaki lenf nodları) veya göğüs kemiği yakınındaki lenf düğümlerinde (öncül lenf düğümü biyopsisi boyunca bulunan) bulunur veya
- 2 santimetre veya daha küçük olarak ölçülen tümör aksiller lenf noduna yayılmıştır veya

- Tümör 2 santimetreden daha büyüktür ancak 5 santimetreden daha büyük değildir ve aksiller lenf düğümlerine yayılmamıştır.

Evre IIB: İnvazif meme kanserini şöyle tanımlıyor:

- Tümör 2 santimetreden daha büyüktür fakat 5 santimetreden büyük değildir; meme kanseri hücrelerinin küçük grupları 0.2 milimetreden daha büyüktür fakat 2 milimetreden daha büyük değildir, lenf nodlarında bulunurlar veya
- Tümör 2 santimetreden daha büyüktür fakat 5 santimetreden büyük değildir; kanser 1-3 aksiller lenf nodlarına veya göğüs kemiğine yakın lenf nodlarına yayılmıştır (öncül lenf düğümü biyopsisi sırasında bulunur) veya
- Tümör 5 santimetreden daha büyük olmakla birlikte aksiller lenf düğümlerine yayılmamıştır.

Evre III: Evre III; IIIA, IIIB ve IIIC olarak bilinen alt kategorilere ayrılmıştır.

Evre IIIA: Aşağıdakilerden biri olan invazif meme kanserini tanımlar:

- Memede hiç bir tümör bulunmaz veya tümör herhangi bir boyutta olabilir; kanser 4-9 aksiller lenf düğümlerinde veya göğüs kemiğine (görüntüleme testleri veya fizik muayene sırasında bulunur) yakın lenf düğümlerinde bulunur veya
- Tümör 5 santimetreden daha büyüktür; meme kanseri hücrelerinin küçük grupları (0.2 milimetreden daha büyük olan fakat 2 milimetreden büyük olmayan), lenf düğümlerinde bulunur veya
- Tümör 5 santimetreden daha büyüktür; kanser 1 ile 3 aksiller lenf düğümüne veya göğüs kemiğine (sentinel lenf nodu biyopsisi) yakın lenf nodlarına yayılmıştır.

Evre IIIB: İnvazif meme kanserini şöyle tanımlar:

- Tümör herhangi bir boyutta olabilir ve göğüs duvarına ve/veya meme derisine yayılır, şişme veya yaraya neden olur ve
- 9 aksiller lenf noduna kadar yayılabilir veya
- Göğüs kemiğine yakın lenf düğümlerine yayılmış olabilir.

Evre IIIC: İnvazif meme kanserini şöyle tanımlar:

- Memede kanser belirtisi olmayabilir veya bir tümör varsa herhangi bir boyutta olabilir ve göğüs duvarına ve/veya göğsün derisine yayılabilir ve

- Kanser 10 veya daha fazla aksiller lenf noduna yayılmıştır veya
- Kanser köprücük kemiğinin üstünde veya altında lenf düğümlerine yayılmıştır veya
- Kanser aksiller lenf düğümlerine veya göğüs kemiğine yakın lenf düğümlerine yayılmıştır.

Evre IV: Memeden başka vücudun diğer organları akciğerler, uzak lenf düğümleri, cilt, kemikler, karaciğer veya beyin gibi lenf nodları yakınına yayılmış olan invazif meme kanserini tanımlamaktadır [39].

2.2.4 Meme Kanseri Tedavisi

Meme kanseri hastaları için bir tedavi stratejisi belirlemede tümörün büyüklüğü, tümörün konumu, kanser evresi, yaş ve menopozal durum, hormon reseptörü durumu, ekspresyon, mutasyon ve tedaviyi etkileyen belirli genlerin gen amplifikasyonu gibi etkenler dikkate alınmalıdır [40].

2.2.4.1 Ameliyat

Meme kanserli hastaların çoğu kanseri ortadan kaldırmak için ameliyat olur. Sentinel lenf nodu biyopsisi ameliyat sırasında sentinel lenf düğümünün çıkarılmasıdır. Sentinel lenf nodu bir tümörden lenfatik süzülme alan ilk lenf nodudur. Kanserin yayılmasının muhtemel olduğu ilk lenf nodudur. Radyoaktif bir madde ve/veya mavi boya tümörün yakınına enjekte edilir. Madde veya boya lenf damarlarından lenf nodlarına akar. Maddeyi veya boyayı alacak ilk lenf düğümü kaldırılır. Bir patolog kanser hücrelerini aramak için dokuyu mikroskop altında izler. Sentinel lenf nodu biyopsisinden sonra cerrah meme koruyucu cerrahi veya mastektomi ile tümörü çıkarır. Kanser hücreleri bulunursa daha fazla lenf nodu ayrı bir kesmeyle çıkarılacaktır. Buna lenf nodu incelemesi denir [41].

2.2.4.2 Radyoterapi

Radyoterapide kanser hücrelerini yok etmek için iyonlaştırıcı radyasyon (x-ışınları, gama ışınları veya elektronlar) kullanılır. Radyoterapi ameliyattan sonra meme, göğüs duvarı veya koltuk altında kalan tümör hücrelerini yok etmek için sıklıkla kullanılır. Bazen tümör boyutunu küçültmek için ameliyattan önce radyasyon terapisi kullanılır.

Prensip olarak moleküler seviyede radyasyonun direkt etkisi hücrelerin moleküllerinde, öncelikli olarak DNA içindeki kimyasal bağların veya bağsız kayımların kırılmasıdır. Dolaylı bir etki uyarma ve iyonlaşma ile ikincil yüklü parçacıkların genellikle elektronların meydana getirilmesiyle üretilir. Radyasyona maruz kalmış dokularda moleküler serbest radikaller, hidratlaştırılmış elektronlar, hidrojen radikalleri ve hidroksi radikalleri gibi reaktif türlerin yüksek konsantrasyonları üretilir. Onlar öncelikle sudan türetilir ve oksijen radikali anyonu (süperoksit), peroksi radikalleri ve hücre moleküllerine kovalent olarak bağlanan diğer uzun ömürlü reaktif türler üretmek üzere O_2 ile tepkimeye girerler. DNA'ya bağlandıklarında tek ve çift iplik kırılmaları, temel zararlar ve eklenti oluşumu meydana gelir, radyasyon sonucu zarar büyük ölçüde onarılmaz hale gelir. Radyasyonun tümör hücreleri üzerindeki seçici etkisi tümör hücrelerinin ve vücudun normal hücrelerinin diferansiyel radyasyon duyarlılığı ile açıklanmaktadır. Yüksek proliferatif hücreler radyasyon etkilerine karşı daha duyarlıdır.

Radyasyon tedavisi eksternal ışın, dış kirış, bir implant aracılığıyla iç ışınlama veya ikisinin kombinasyonu ile iletilir. Meme kanseri için radyasyon terapisinin en yaygın türü dışarıdan gelen ışın radyasyonudur. Dışarıdan gelen ışın radyasyonu vücudun dışındaki bir kaynaktan tümör bölgesine iletilir. X-ışınları ve gama ışınları ışınlama kaynaklarıdır. X-ışınları lineer hızlandırıcılar ve giderek artan bir şekilde daha büyük enerji üreten betatronlar ile kanser bölgesine odaklanır. X ışını ışık hüzmesinin enerjisi ne kadar yüksek olursa x-ışınları hedef dokuya daha derin girebilir. Gama ışınları parçalandığı ya da bozulduğu için belirli elementler (radyum, uranyum ve kobalt 60 gibi) salınması olarak kendiliğinden üretilir. Her bir element belirli bir oranda bozunur ve gama ışınları ile diğer parçacıklar şeklinde enerji saçar. X-ışınları ve gama ışınları kanser hücreleri üzerinde aynı etkiye sahiptir.

Kanser hücrelerine radyasyon vermek için bir diğer teknik dahili radyoterapi, radyoaktif implantları doğrudan bir tümöre (brakiterapi) veya çevresindeki dokulara (interstisyel ışınlama) veya vücut boşluklarına (intrakaviter ışınlama) yerleştirmektir. Dahili radyoterapi yakın mesafeden radyasyonu iletme ve böylece diğer yapılara fazla zarar vermeden daha yüksek bir radyasyon dozu iletme avantajına sahiptir. İç radyasyon tedavisinde kullanılan radyoaktif maddelerden bazıları sezyum, iridyum, iyot, fosfor ve paladyumu içermektedir.

Bir radyoterapi süreci genellikle küçülen alan tekniği kullanılarak iletilir. Temelde radyasyonla tümör hücre öldürmesi dozun üstel bir fonksiyonudur ve belirli bir tümör

kontrol olasılığı için gereken doz, tümördeki canlı hücrelerin sayısının logaritması ile orantılıdır.

Radyoterapinin yan etkileri esas olarak tedavi edilen vücudun alanına bağlıdır. Bununla birlikte cilt tahrişi, aşırı yorgunluk ve tedavi edilen bölgede cilt renginin geçici olarak değişmesi ile yaygın bir şekilde karşılaşılır [40].

2.2.4.3 Hormon Tedavisi

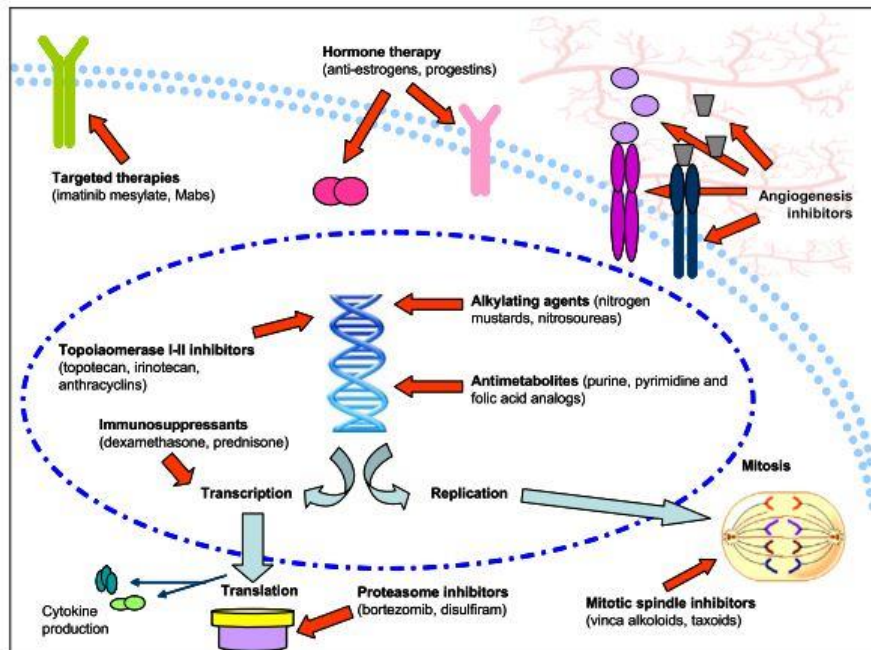
Hormon tedavisi hormonları yok eden veya eylemlerini engelleyen ve kanser hücrelerinin büyümesini durduran bir kanser tedavisidir. Hormonlar vücuttaki bezlerden yapılmış ve kan dolaşımında dolaşım yapan maddelerdir. Bazı hormonlar bazı kanserlerin çoğalmasına neden olabilir. Testler kanser hücrelerinin hormonların bağlanabileceği yerlere (reseptörlere) sahip olduğunu gösteriyorsa hormonların üretimini azaltmak veya onları çalışmaktan alıkoymak için ilaçlar, cerrahi veya radyasyon terapisi kullanılır. Bazı meme kanserlerini büyüten östrojen hormonu esas olarak yumurtalıklardan yapılır. Yumurtalıkların östrojen yapmasını durdurmasına yönelik tedaviye overlerin cerrahi yolla çıkarılması denir.

2.2.4.4 Hedeflenen Tedavi

Hedeflenen tedavi normal hücrelere zarar vermeden spesifik kanser hücrelerini tanımlamak ve saldırmak için ilaçlar veya başka maddeler kullanan bir tedavi şeklidir. Monoklonal antikorlar, tirozin kinaz inhibitörleri, siklin-bağımlı kinaz inhibitörleri, rapamisin (mTOR) inhibitörlerinin memeli hedefi ve PARP inhibitörleri meme kanseri tedavisinde kullanılan hedeflenen terapi tipleridir. Monoklonal antikor tedavisi bağışıklık sistemi hücrelerinin tekli bir türünden laboratuvarda yapılan antikorları kullanan bir kanser tedavisidir. Bu antikorlar kanser hücrelerindeki maddeleri veya kanser hücrelerinin büyümesine yardımcı olabilecek normal maddeleri tanımlayabilir. Antikorlar maddelere bağlanır ve kanser hücrelerini öldürür, büyümelerini engeller veya yayılmasını önler. Monoklonal antikorlar damara zerk etmeyle verilir. Tek başına veya kanser hücrelerine doğrudan ilaçları, toksinleri veya radyoaktif materyali taşımak için kullanılabilirler. Monoklonal antikorlar yardımcı tedavi olarak kemoterapi ile birlikte kombinasyon halinde kullanılabilir [41].

2.2.4.5 Kemoterapi

Anti-kanser ilaçları büyümeyi veya bölünmeyi önleyerek onların büyüme döngüsünde bir veya daha fazla noktada seçime bağlı olarak kanser hücrelerini yok eder. Kontrolsüz ve hızlı büyüme kanser hücrelerinin ayırt edici özelliğidir. İlaçlar normal hücrelere kıyasla kanser hücrelerine daha büyük zarar verecek şekilde tasarlanmıştır dolayısıyla genellikle bir hücrenin büyüme kabiliyetini etkileyen ilaçlar kullanılır. Kemoterapi kanser tedavisinde anti-kanser ilaçların sistemik uygulanmasıdır. Kemoterapinin amacı primer tümörleri küçültmek, tümör gelişimini yavaşlatmak, birincil tümörün bulunduğu bölgeden vücudun diğer bölgelerine yayılmış (metastaz yapmış) kanser hücrelerini yok etmek ve zaman zaman semptomları hafifletmektir. İlaçlar damara enjeksiyon ile (damar içinden) veya tablet olarak (ağızdan) verilir. Kemoterapi tedavisi damar içinden uygulandığında vücudun dinlenebilmesi için seanslarda birkaç hafta dinlenme periyodu uygulanır. Farklı etki mekanizmalarına, seçicilik ve toksisiteye sahip birçok kemoterapötik türü vardır. Doğalarına göre doğal, sentetik veya yarı sentetik olabilirler. Etki mekanizmalarına göre; alkile edici ajanlar, topoizomeraz I ve II inhibitörleri, karşı-metabolitler, mitotik içcik inhibitörleri, anjiyogenez inhibitörleri, hormon tedavisi için hormonlar veya hormon taklit eden ilaçlar, hedeflenmiş tedavinin ilaçları ve bağışıklık sistemini baskılayıcı ilaçlar kemoterapötik olarak kullanılan farklı bileşik tipleridir (Şekil 2.3).



Şekil 2. 3 Anti-kanser ilaçların etki mekanizması [40]

Alkilleyici ajanlar guaninin N7 pozisyonunda onu alkilleyen nükleik asitlere bağlanır ve DNA replikasyonu ve transkripsiyonuna engel olur. Timin ile anormal baz eşleşmesi yanlış kodlamaya yol açar, alternatif olarak depurinasyon guanin kalıntılarının eksizyonu ile zincir kırıklarına neden olur. Alkile edici ajanlar iki tiptir; nitrojen mustardları (örneğin siklofosfamidler, melfalan) ve nitrozüreler (örneğin karmustin). Mitoz sırasında kromozom yoğunlaşması ve ayırım prosesi topoizomera II'nin (topo II) aktivitesini gerektirirken DNA bozunumu gibi DNA molekülünün diğer topolojik modifikasyonları topoizomera I (topo I) ile gerçekleştirilebilir. Topoizomera I ve II inhibitörleri bu enzimleri protein-DNA kompleksinin tek yönlü stabilizasyonuna ve zincir ayrımının engellenmesine sebep olarak kovalent olarak bağlar. Topo I inhibitörlerine örnekler topotekan ve irinotekan olup topo II inhibitörleri antrasiklinler (doksorubisin) ve mitoksantrondur. Antimetabolit ilaçlar, metabolitlerin emsalsiz analogları, metabolik aktivitelere karşı çıkmak için kullanılır. Bu amaç için üç çeşit bileşik, pürin (örneğin 6-Merkaptopürin, fludarabin) ve pirimidin (örneğin 5-florourasil (5-FU) ve arabinosilsitozin) analogları ve folik asit analogları (örneğin metotreksat) kullanılır. Mitotik iğcik inhibitörleri ya destabilizasyon yönünde mitotik iğciklerin oluşumunu inhibe ederek, örneğin vinka alkaloidleri (örneğin vinkristin ve vinblastin) ya da stabilizasyon yönünde mitotik iğciklerin tersinmez stabilizasyonuna sebep olarak örneğin Taksoidler (örneğin taksol ve taksotere), mikrotubülüs dengesinin bozulmasıyla hücreler üzerinde etki yaparlar. Hormon tedavisinde kadın ya da erkek hormonlarının etkisini ya da üretimini değiştiren cinsiyet hormonları veya hormon benzeri ilaçlar kullanılır. Bunlar antiöstrojenler (örneğin tamoksifen ve toremifen), aromataz inhibitörleri (örneğin anastrozol ve eksemestan), progesteronlar, östrojenler ve antiandrojenlerdir. Anjiyogenez inhibitörleri onların etkilerini ön-anjiyogenik faktörlerin ifade edilmesi ve artmış tümör damar oluşumu örneğin talidomit (TNF- α 'nın indirgenmesi) ve bevacizumab (damarla ilgili endotelial büyüme faktörüne karşı monoklonal antikör) üzerinde kullanılır. Bağışıklıkla ilgili reaksiyonların ortaya çıkmasına engel olan anti-kanser ilaçları, kanserli beyaz kan hücrelerinin başboş büyümesini baskı altına almak için hematolojik malignitelerde yaygın olarak kullanılır. Bazı örnekler; kortikosteroidler (örneğin prednizon), siklofosfamid ve merkaptopürindir. Hedeflenen kemoterapi seçici toksisiteyi arttırarak yan etkileri azaltmak üzere yakın geçmişte meydana gelmiştir. Tümör hücrelerinde ifade edilen belirli genlerin en saldırı mutant değişkenleri veya özel genler tümör hücrelerinde bol miktarda ifade edilir. Örneğin imatinib mesilat, kronik miyeloid

lösemide philadelfiya kromozomu tarafından kodlanan bcr-abl füzyon proteinini hedefleyen sinyal iletiminin bir protein-tirosin kinaz inhibitörüdür. Meme kanserinde tirozin kinaz inhibitörlerini hedef alan HER1 ve HER2 kullanımdadır. Trastuzumab (Herceptin®) ve Lapatinib (Tykerb®) HER2/neu pozitif metastatik meme kanserlerinin tedavisinde reçete edilir. HER2 negatif metastatik meme tümörleri için epidermal büyüme faktör reseptörü (EGFR/HER1) inhibitörü olan Gefitinib (Iressa®) kullanılır. Kanser kemoterapisinde birden fazla ilacın reçetelenmesi kombine kemoterapi olarak bilinir. Anti-kanser ilaçlar çoğunlukla kombinasyon tedavisi olarak uygulanır. Kombinasyon terapisi sırasında katkı veya sinerjistik etkilere sahip iki farklı ilaç tekli uygulamalarına kıyasla nispeten daha küçük dozlarda aynı anda reçete edilir. Genel olarak kombine kemoterapi için seçilen anti-kanser ilaçları tek başına kullanıldıkları zaman tümöre karşı aktiftirler, farklı etki mekanizmalarına ve minimal örtüşen toksisitelere sahiptirler. Böylelikle tedavinin etkinliği arttıkça yan etkilerin ortaya çıkması önemli ölçüde azaltılır. Kombinasyon tedavisi ayrıca belirli bir ilacın uzun süreli kullanımı ile gelişebilen kemoterapi ilaçlarına karşı direnç geliştirme riskini azaltır [40].

Kemoterapide aşağıda belirtilen çeşitli sorunlarla karşılaşılır:

- Dozaj Formu: Çoğu anti-kanser ilaç oldukça hidrofobiktir ve bu nedenle suda ve çoğu farmasötikal çözücülerde çözünmez. Birçok anti-kanser ilacın klinik uygulanması için adjuvanlar kullanılmalıdır ve bu ciddi yan etkilere neden olabilir bunların bazısı hayati tehlike oluşturur.
- Farmakokinetik: Bir kemoterapötik maddenin dozajı başarısı için önemli bir belirleyici etkidir. Kanser hücrelerinin yeterli uzun süre için ilacın yeteri kadar yüksek bir konsantrasyonuna maruz bırakılması gereklidir. Uygun aralıklarla uygun dozların uygulanması ilaç konsantrasyonunun tedavi süresi boyunca etkinliği ve tolere edilebilirliği arasında her zaman en iyi hale getirildiğini anlamak için alışılmış bir uygulamadır. Hastanın iyileşmesine izin vermek için ardışık tedavi periyotları arasında ara vermeye ihtiyaç vardır. Kan konsantrasyonundaki kaçınılmaz dalgalanmalar tedavi edici etkinin kararsızlığına neden olur. Genel olarak ılımlı konsantrasyonlarda ilaca uzun süre maruz kalmanın ilacın yüksek bir konsantrasyonda atımlı beslemesinden çok daha iyi etkilere sahip olduğuna inanılmaktadır. Anti-kanser ilaçları hücre döngüsüne veya hücre büyümesi evresine özgü olabilir örneğin mutant hücrelere büyüme ve çoğalmanın sadece spesifik bir fazı boyunca etkili eylemler uygulayabilirler. Bu nedenle etkili kemoterapi için kanser hücresi sitokinetiği

dikkatlice düşünölmelidir ve doz programlama hücre döngüsü spesifik ilaçlarla birlikte çok önemlidir. Kemoterapi için sitokinetik stratejiler habis ve sağlıklı hücrelerin büyümesinin terapi sırasında kısmen senkronize edilebileceği ve hücre döngüsü spesifik toksinlerin uygulamasının böylece habis hücrelerin öldürölmesini maksimuma çıkarmada ve sağlıklı hücre ölümelerini minimuma indirmede zamanlanabileceği öncölüne dayanır. Kemoterapi için ideal amaç yeterince uzun bir süreye yetecek kadar yüksek konsantrasyonda, istenilen yere doğru zamanda yüksek etkinlik gösteren ilacı dağıtmaktır.

- Toksisite: Anti-kanser ilaçlar sağlıklı hücreleri de etkileyebilir. Genel olarak kanser kemoterapisindeki toksik ilaçlar normal hücrelere kıyasla hücre döngüsü boyunca daha hızlı taşınması olan kanser hücreleri için genellikle daha etkilidir. Bununla birlikte kemik iliğı hücreleri ve bağırsak epitel hücreleri gibi hızlı dönüşümlü belirli hücreler de ciddi oranda etkilenebilir. Destekleyici tedavi kemoterapinin devamı için önem kazanmaktadır. Şiddetli trombositopeni pıhtı hücrelerinin enfüzyonları ile etkisiz hale getirilebilir. İlaç metabolizması ve boşaltımında önemli rol oynayan karaciğer ve böbrek kemoterapi ile zarar görebilir.
- İlaç Direnci: Kemoterapinin artan başarısına rağmen özellikle ilk tepkileri elde etmede kanser hücreleri tarafından ilaç direncinin gelişmesi nedeniyle uzun vadeli sonuçlar açısından başarısız olmaktadır. Dirençli hücrelerin bir tümörde bulunması olasılığı mevcut hücre sayısıyla birlikte artar. Tek başına kemoterapi ile bir milyondan fazla hücreye (~1 mg doku) sahip katı tümörleri tedavi etmek zordur. İlaç direnci oluş biçimine göre üç kategoriye ayrılabilir: tümördeki ilacın düşük konsantrasyonuna bağı farmakokinetik direnç, duyarlı bir durumda hücrelerin yalnızca küçük bir bölümünün varlığına bağı olarak kinetik direnç ve tümör hücrelerinin ilacın biyokimyasal direncine bağı olarak genetik direnç [42].

2.3 Çoklu İlaç Direnci Biyolojisi

Çoklu ilaç direnci (MDR) geniş bir hidrofobik kemoterapi ilaç sınıfını aktif olarak kanser hücrelerinden pompalayan ATP bağılayıcı kaset (ABC) taşıyıcılarının aşırı ekspresyonu ile karakterize edilir [43]. MDR ilaca dirençli tümörlerin bazı yapısal ve fonksiyonel olarak ilişkilendirilmemiş kemoterapötik ajanlara karşı eşzamanlı direnç gösterme özelliğı ile karakterize edilen fenomeni tanımlamak için kullanılan bir terimdir [44].

MDR'nin ana mekanizması P-glikoprotein (P-gp, MDR1, ABCB1 olarak da bilinir) aşırı ekspresyonudur [45].

2.4 Meme Kanserinde Çoklu İlaç Direnci

Çok ilaçla yapılan kemoterapinin ölüm oranını geciktirdiği ve sağkalımı geliştirdiği gösterilmiş olsa da başlangıçta duyarlı meme tümörleri bir MDR fenotipi elde eder. İlaç direnci tedavi başarısızlığının ana nedenidir ve meme kanserinin (özellikle ileri evrede) genellikle iyileştirilemeyen bir hastalık olarak görülmesinin nedeni de budur. MDR fenotipi yapısal olarak ilgisiz çeşitli sitotoksik ilaçlara karşı çapraz dirençle karakterize edilir [6].

2.5 ATP-Bağlayıcı Kaset (ABC) Taşıyıcıları

ATP-bağlayıcı kaset (ABC) taşıyıcıları temel olarak hücre membranı boyunca çeşitli substratlara gidip gelmek için ATP hidrolize edildiğinde transmembran enerjisi kullanan proteinlerdir. ABC taşıyıcısının temel işlevi ilacın ve toksinlerin hücreden dışarı atılmasıdır. Bugüne kadar ABC ailesinde 49 iyi bilinen taşıyıcı vardır. En iyi tanımlanmış ABC taşıyıcısı ve MDR tümör hücrelerinin plazma zarında eksprese edilen P-glikoproteindir (P-gp) [46].

2.5.1 P-Glikoprotein (P-gp)

ATP'ye bağlı membran taşıma proteinlerinin bir üst familyasının üyesi olan P-gp bir plazma zar proteinidir. Tek yönlü bir biçimde ATP'ye bağlı mekanizma yoluyla substratları tümör hücrelerinden dışarı pompaladığı gösterilmiştir. P-gp'yi eksprese eden tümör hücrelerinde antrasiklinler (örneğin DOX), vinka alkaloidleri (örneğin Vinkristin), podofilotoksinler (örneğin Etoposid) ve taksanlar (örneğin Taksol) içeren geniş bir antitümör ilaç spektrumunun sitotoksitesini azaltan hücre içi ilaç konsantrasyonlarına neden olur. Memeli P-gp için gen dizilimi analizi her biri 6 varsayılan transmembran bölüm içeren iki benzer yarı varlığını ve bir ATP-bağlama konsensüs motifi olduğunu ortaya çıkarmıştır [44]. Dolayısıyla bu molekül anti-kanser tedavisini etkiler ve anti-kanser ilaçlara dirençli hale getirir. Örneğin birçok türde tümör hücrelerinin P-gp substratı olan doksorubisin (DOX) direnci olduğu rapor edilmiştir [47].

2.5.1.1 P-Glikoprotein'in Karakterizasyonu

Yapısı ve Fonksiyonu

P-gp MDR1 geninin bir ürünüdür ve taşıyıcı olarak işlev gören 170 kDa'lık bir transmembran glikoproteinidir [48]. P-glikoprotein eşit uzunluktaki iki homolog bölümü içeren tek bir polipeptit zinciri olarak ifade edilen 1280 amino asitlik bir proteindir. İki sitoplazmik nükleotit bağlama bölgesi zar içerisindeki P-glikoprotein'in karboksi-terminal bölümünün yakınında bulunur, ATP bağlanması ve hidrolizi ile ilgilidir. P-glikoprotein'in polipeptit bileşeninin moleküler ağırlığı 120 ile 140 kDa arasındadır. P-glikoprotein'in tahmini amino asit dizilimi ve yapısı bakteri taşıyım protein hemolizin B gibi diğer membrana bağlı taşıyım proteinlerinininkine benzerdir. Bunun gibi bulgular P-glikoprotein'in enerji bağlı ilaç akışı pompası olarak rolünü daha da desteklemiştir. Tahmini protein dizilimine dayanarak P-glikoprotein'in topolojisinin 6 hücre dışı döngü ve 2 sitoplazmik ATP bağlama alanı ile 12 transmembran alan içerdiği önerilmiştir [49].

P-gp Aracılı MDR'nin Modülasyonu

Kemosensitizasyon işlemi P-gp işlevine zarar vererek arttırılmış hücre içi anti-kanser ilaç birikimine neden olmak için bir P-gp inhibitörünün (MDR modülatörü) bir anti-kanser ilaç ile birlikte uygulanmasını içerir. Çok sayıda bileşiğin P-gp'nin ilaç akışı işlevini inhibe ettiği ve dolayısıyla hücrenin direnci tersine çevirdiği gösterilmiştir [44].

2.5.1.2 P-Glikoprotein İnhibitörlerinin Sınıflandırılması: Geçmiş ve Mevcut Perspektif

P-gp çıkışını bloke eden veya baypas eden adaylara P-gp inhibitörleri/P-gp modülatörleri/kemoduyarlaştırıcılar/tersinim ajanlar denir. P-gp substrat-terapötiklerinin bu P-gp inhibitörleri ile birlikte/eşzamanlı olarak uygulanması P-gp tarafından substratın dışarı atılmasını önleyebilir/üstesinden gelebilir ve substrat ilaçlarının planlanan terapötik faydalarını oluşturabilir.

Birinci Nesil İnhibitörleri

Verapamil bir antihipertansif kalsiyum kanal blokeridir, trifluoperazin bir kalmodulin antagonistidir, siklosporin bir immünosüpresandır, kinidin ve rezerpin, yohimbin, antihipertansifler, antiöstrojenik tamoksifen ve toremifen ve antineoplastik vinkristin gibi

diğer antihipertansif ilaçlar bu kategoriye girer. Bu bileşiklerin çoğu kendiliğinden P-gp substratları oldukları için protein ile etkileşime girdiler, diğer substratlar ile yarıştılar ve rekabetçi inhibitörler gibi davrandılar. Tüm birinci nesil inhibitörler bu şekilde tanımlandıklarından seçici olmadıkları ve daha az etkili oldukları açıktır. Bu inhibitörlerin birçoğu klinik çalışmalarda başarısız oldu çünkü P-gp inhibe edici konsantrasyonları yüksek toksik seviyelere ulaştı [50].

İkinci Nesil İnhibitörleri

İkinci nesil P-gp modülatörleri deksverapamil, deksniguldipin, valspodar (PSC 833) ve birikodan (VX-710) içerir. Bu ajanlar öncekilerden daha güçlü ve aynı zamanda daha az zehirlidir. Bu ajanlar arasında en iyi tanımlananı ve en çok çalışılanı valspodardır [51]. Bu modülatörlerin kemoterapi ajanları ile birlikte uygulanması tedaviye cevap vermeyen kanserlerin başarılı bir şekilde tedavisi ve MDR'nin tersine çevrilmesi ile mümkün olmuştur [52].

Üçüncü Nesil İnhibitörleri

P-gp fonksiyonunu spesifik ve potansiyel olarak inhibe eden üçüncü nesil moleküller ikinci nesil P-gp modülatörlerinin sınırlamalarını aşmak için yapı-aktivite ilişkileri ve kombinasyonel kimya kullanarak geliştirildi. Kemoterapi doz azaltımları gereksizdir [51]. Bunun yanı sıra diğer birçok yeni üçüncü nesil P-gp blokerleri esasen çoklu ilaca dirençli tümörlerin tedavisini iyileştirmek ve P-gp'yi yüksek özgünlük ve toksisite ile inhibe etmek amacıyla geliştirilmektedir.

2.5.1.3 P-gp İnhibisyonu ile Farmakokinetik Avantajlar

P-gp inhibitörleri farmakokinetiğin iyileştirilmesi sürecinde P-gp substratlarının emilimini, dağılımını, metabolizmasını ve eliminasyonunu da etkileyebilir [53].

2.6 Çok İlaçlı Salımla Kombinasyon Tedavisi

İki veya daha fazla farmakolojik olarak aktif ajanların farklı etki mekanizmalarıyla eşzamanlı olarak uygulanması olarak tanımlanan "kombinasyon tedavisi" kavramı daha etkili bir çözüm olarak kabul edilmektedir. Kombinasyon kemoterapisinin kanser tedavisinde özellikle etkili olduğu bulunmuştur. Sadece tümör bölgelerinde verilen tek bir ilaca dayanan tedaviyi kullanan klasik kemoterapinin yetersiz olduğu doğrulanmış ve

sıklıkla ciddi yan etkilerle ilişkilendirilmiştir. Dolayısıyla farklı hedeflere ulaşan ve farklı toksisite profilleri gösteren farmasötik ajanların kombinasyonunun uygulanması terapötik indeksi ya daha iyi etkinlik veya en azından benzer etkinlik ve azaltılmış toksisite şeklinde iyileştirebilir.

2.7 Kanser Tedavisi için Çoklu İlaç Polimerik Miselleri

Çoklu ilacın yüklenmesinin avantajı çoklu ilaç moleküllerinin polimerik miseller gibi belirli ilaç nanotaşıyıcılarda sabit olarak kapsüllenebilmesidir. Başarılı durumlarda birden fazla ilacın tek bir misel içerisinde kapsüllemesi hücre içi dağılımını değiştirmez. Tekli ilaç yüklü misellere kıyasla çoklu ilaç polimerik misellerden ilaçların salım hızı daha iyi ilaç tutma özelliğinden dolayı daha uzun yapılabilir.

2.7.1 Bölgesel İlaç Salımı için Çoklu İlaç Miselleri

Sistemik olmaktan ziyade bölgesel olarak hastalıkları iyileştirmek daha kolay olacaktır. Bölgesel ilaç salımı (LDD) kanserler gibi kompleks hastalıklar için hızlı hücre bölünmesi ve metastaz yoluyla hastalıkların vücudun en uzak bölgelerine yayılmasına yol açtığı için çok büyük bir sorun olabilir. Bununla birlikte LDD kanser ve bulaşıcı hastalıklarla mücadelede özellikle başlangıç yeri ile sınırlı olduğunda kombinasyon tedavisi için sistemik yollardan daha etkili olabilir. LDD sistemlerini kullanırken belirli bir hastalığın etkili bir şekilde tedavisi için gereken ilacın zamanı ve miktarı taşıyıcının tasarımında zahmetli bir hassaslık gerektiren sistemik bir rota için gereken süre ve miktardan çok daha az olacaktır [54].

2.8 Membran Taşınım Proteinlerinin Atılmasının Üstesinden Gelme

Nanoparçacık bazlı ilaç salım sistemi ilacın tümör hücrelerinden dışarı mikro çevre içinde eliminasyona karşı korunması ve hücre içi ilaç birikiminin artması için en yaygın ve geniş bir biçimde kullanılan yaklaşımdır.

2.8.1 P-gp'nin Akış Hareketini Baypas Etme

P-gp aşırı eksprese edilen kanser hücrelerinde uygun bir süre boyunca yüksek bir hücre içi anti-kanser ilaç seviyesini korumak çok zordur. P-gp'nin akış hareketini baypas etmek için nanoparçacık temelli ilaç salım sisteminin kurulması ilaçların birikimini arttırmak için etkili araçlardan biri haline geldi.

2.8.2 Anti-kanser İlaçların ve P-gp İnhibitörlerinin Eş Salımı

Aynı anda iki veya daha fazla sayıda kemoterapi ajanı aynı hedefe ulaştırma kabiliyetine sahip olan nano taşıyıcılar birlikte uygulama için idealdir. Anti-kanser ilaçların P-gp inhibitörleri ile birlikte eş salımının birçok nanoformülasyonlarının MDR hücrelerini aktif olarak hedeflediği ve MDR'nin üstesinden gelmek için kemoterapi ajanlarının hücre içi birikimini arttırdığı gösterilmiştir. Anti-kanser ilaçların ve kemoduyarlaştırıcıların aynı hücresel bölgeye aynı anda verilmesi bu anti-kanser ilaç-kemoduyarlaştırıcı kombinasyonun terapötik etkinliği için kritik önem taşıyordu. Optimize edilmiş P-gp inhibitörleri ve anti-kanser ilaçların ikili ajan nanoparçacıklarının eş salımının kullanılması MDR'nin üstesinden gelmek için çok umut verici bir yaklaşımdır.

2.8.3 P-gp Ekspresyonunu Azaltarak Düzenlemek

İlaç çıkışını engellemek için bir diğer yaklaşım da P-gp ekspresyonunun azaltarak düzenlemesidir. P-gp'yi kodlayan MDR-1 geninin aşırı ekspresyonu MDR'nin nedenlerinden biridir. Birlikte ele alındığında ilaç yüklü nanoparçacıklar hücre içi ilaç birikimini çoğaltabilir ve kemoterapötik ilacın sitotoksitesini artırabilir [45].

2.9 Mikro Dolaşım Bariyeri

Kemoterapide bir diğer problem kan dolaşımli tedavisel ajanların bir tümör içindeki kanser hücrelerine ulaşması için geçmesi gereken mikro dolaşım bariyeridir. Terapötik moleküller tümörün kan damarlarına girmeli, damar duvarından interstisyum içine girmeli ve kanser hücrelerine ulaşmak için interstisyumdan tamamen taşınmalıdır. Ne yazık ki tümörler sıklıkla bu adımların her birinin engellendiği yollarla gelişirler [42].

2.10 Biyobozunur Polimerler

Gilding, “biyolojik olarak bozunabilir polimer” ifadesinin in vivo bozunmaya uğrayan herhangi bir polimer için yaygın olarak kullanıldığını bildirmektedir [55].

Polimerler günlük yaşamın vazgeçilmez bir parçası haline gelmiştir. Biyolojik olarak bozunabilir polimerler özel ilgi konusudur çünkü çevrede birikmezler veya zarar vermezler ve bu nedenle "yeşil" olarak düşünülebilirler. Biyolojik olarak parçalanabilir polimerlerin kullanımı geniş bir uygulama yelpazesinde artmıştır ancak biyomedikal uygulamalarda kullanımında şaşırtıcıdır. Gerçekleştirdiği işlevler ayrıca biyolojik olarak

bozunmayan aygıtlar tarafından da yürütülebilir ancak bu tür aygıtlar cerrahi olarak çıkartılmadıkça biyolojik dokularda kalıcı olarak kalacaktır. Dokulardan küçük ölçekli cihazların alınmasında doğasında var olan zorluk nedeniyle istenen süre zarfında dokularda doğal olarak bozunan ve yok olan biyolojik olarak parçalanabilir polimerlerin kullanılması avantajlıdır [56].

Biyolojik olarak bozunabilir polimerik malzemelerin mevcut biyomedikal uygulamaları şunları içermektedir: (1) kemik vidaları, kemik plakaları ve gebelik önleyici rezervuarlar gibi büyük implantlar, (2) zımba, sütürler ve nano- veya mikro boyutlu ilaç salım araçları gibi küçük implantlar, (3) güdümlü doku rejenerasyonu için düz membranlar ve (4) doku mühendisliği için gözenekli yapılar veya çok filamentli kafesler. Sentetik biyomalzemeler genelde biyolojik olarak inert olup daha öngörülebilir özelliklere sahiptir ve doğal polimerlerin dezavantajlarının çoğundan yoksun olan, spesifik uygulamalar için uygun hale getirilmiş özellik profillerine sahip benzersiz bir avantaja sahiptir [57].

Biyolojik olarak parçalanabilen bir ilaç salım sisteminde kullanılacak olan bir polimer birtakım spesifik gereklilikleri karşılamak üzere uygun hale getirilmelidir. Doku tahrişi en aza indirilecekse polimer yumuşak ve esnek olmalıdır. Bu kristallik azlığı veya hiç olmaması ve vücut sıcaklığından daha yüksek olmayan bir camsı geçiş sıcaklığı anlamına gelir. Plastikleştiricinin kullanımı permeasyon özelliklerinin eş zamanlı olarak değişmesi ile kontrol edilemeyen kaybı nedeniyle uzun süreli uygulamalar için uygun değildir. Polimer ilaca (örneğin reaktif olmayan) ve vücuda (örneğin toksik olmayan) uyumlu olmalıdır. İkinci durum olası metabolitler kadar tüm degradasyon ürünlerini içerir. En önemlisi ilaca geçirgenlik ve biyolojik bozunma hızı düşüncedeki uygulama ile uyumlu olmalıdır [58].

2.10.1 Yeni Kavram Kemoterapi için Biyolojik Olarak Parçalanabilir Polimerlerin Nanoparçacıkları

Biyolojik olarak parçalanabilir polimerlerin nanoparçacıkları farmakokinetik, ilaç toksisitesi ve ilaç direnci gibi kemoterapideki diğer sorunları çözmek için kullanılabilir [59].

Biyolojik olarak parçalanabilir polimerlerin nanoparçacıkları sürdürülebilir kemoterapi, kontrollü ve hedeflenmiş kemoterapi, kişiselleştirilmiş kemoterapi, oral kemoterapi için sindirim sistemi ile ilgili (GI) bariyer gibi ve beyin tümörleri için kan-beyin bariyeri

(BBB), zamanla evde kemoterapi gibi çeşitli fizyolojik ilaç bariyerleri boyunca kemoterapiyi içeren yeni bir kavram kemoterapiyi desteklemek için kullanılabilir [60].

2.11 Polimer Bozunma ve Erozyonu Mekanizmaları

2.11.1 Polimer Bozunması

Polimer bozunması erozyonun anahtar sürecidir. Polimer bağlarının ayrılabilirdiği iki ana yol vardır: pasif olarak hidroliz veya aktif olarak enzimatik reaksiyon. İkinci seçenek yalnızca uygun enzimlerin bulunduğu doğal olarak oluşan biyopolimerler için etkili bir şekilde mevcuttur.

Çoğu biyolojik olarak bozunabilir materyal için özellikle yapay polimerler pasif hidroliz bozunmanın en önemli şeklidir. Bu reaksiyonun hızını etkileyen çeşitli faktörler vardır: kimyasal bağ tipi, pH, kopolimer bileşimi ve su alımı en önemlisidir. Kimyasal ve fiziksel değişiklikler oligomerlerin ve monomerlerin kristalleştirilmesi veya pH değişimleri gibi biyolojik olarak parçalanabilir polimerlerin parçalanması ile birlikte hareket eder. Bu faktörlerden bazıları bozunma hızı üzerinde önemli bir geribildirim etkisi oluşturabilir. Parçalanmanın izlenmesi için en önemli parametre molekül ağırlığıdır. Bununla birlikte bozunmanın ilerlemesine ve bozunmanın nasıl etkilendiğine göre temel ilkeler vardır.

2.11.1.1 Polimer Bozunması için Kimyasal Bağ Türünün Önemi

Esas olarak polimer omurgasında hidroliz oranını belirleyen bağın türüdür.

2.11.1.2 pH'nın Polimer Bozunmasına Etkisi

pH kataliz yoluyla reaksiyon hızlarını etkiler. Asidik veya bazik ara maddeler kullanarak polimer hidrolizinin bozunma hızı kontrollü bir şekilde değiştirilebilir. Dolayısıyla iç pH polimerlerin bozunma hızını etkilemek için etkili bir şekilde kullanılabilir.

2.11.1.3 Polimer Bileşiminin Polimer Bozunması Üzerine Etkisi

Polimer zincirine ikinci bir monomer uygulanarak orijinal polimerin kristallik veya camsı geçiş sıcaklığı gibi bir çok özelliği etkilenebilir.

2.11.1.4 Su Tutulumunun Bozunma Üzerine Etkisi

Hidroliz, su ve kararsız bağa sahip işlevsel grubun dahil olduğu iki moleküllü bir reaksiyondur. Reaksiyon hızı her iki reaksiyon ortağının konsantrasyonu ile belirlenir.

2.11.2 Polimer Erozyonu

Tüm bozunabilir polimerler parçalanma üzerine erozyonun özelliklerini paylaşır. Bozunma ve erozyon bu tür malzemelerden yapılmış bir aracın belirleyici performans parametreleridir. Bozunabilir polimerleri sınıflandırmak için yüzey (veya heterojen) ile hacim (veya homojen) erozyon malzemeleri arasında bir ayırım yapılır. Bir uygulama sırasında yüzey erozyon polimerleri sadece yüzeyden madde kaybederler. Daha küçük olurlar ancak orijinal geometrik şekillerini korurlar [61]. Yüzey erozyonunda suyun polimer matrisine difüzyon hızı, makromoleküllerin bozunma hızından daha yavaştır [62]. Hacim erozyon polimerler için bozunma ve erozyon aracın yüzeyi ile sınırlı değildir. Bu nedenle bir aracın boyutu uygulama sırasında zamanın önemli bir kısmı için sabit kalacaktır [61]. Hacim bozunma sürecinde su polimer matrisine polimerin parçalanmasından daha hızlı difüze olur [62].

Polimer erozyonu bozunmadan çok daha karmaşıktır çünkü bozunma, şişme, oligomerlerin ve monomerlerin çözünmesi ve difüzyonu ve morfolojik değişiklikler gibi birçok başka prosese bağlıdır.

2.11.2.1 Erozyon Sırasında Morfolojik Değişiklikler

Erozyon sırasında ilk morfolojik değişiklikler polimer yüzeyiyle sınırlandırılır.

2.11.2.2 pH'daki Değişiklikler

Bozunma hızı şiddetle pH'ya bağlıdır. Zincir bölünmesi yoluyla polimerler polimerden farklı işlevsel gruplara sahip oligomerlere ve monomerlere dönüştürülür.

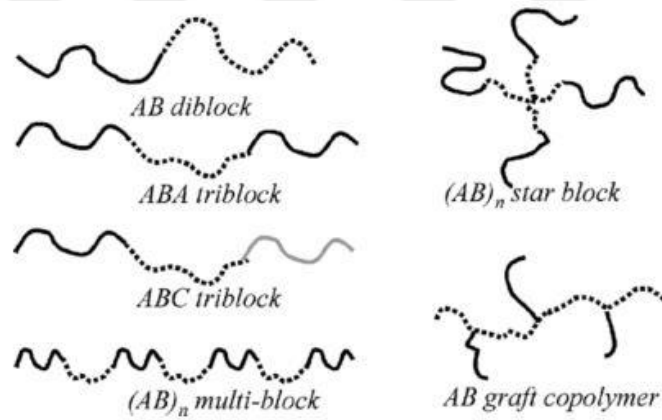
2.11.2.3 Kristallikteki Değişiklikler

Polimer erozyonunda kristallik değişimlerinin iki genel kaynağı vardır. Birincisi kristalleştirilmiş oligomerler ve monomerlerin üretilmesidir. Diğer erozyon sırasında kısmen kristalimsi polimerlerin davranışından kaynaklanmaktadır [61].

2.12 Blok Kopolimerler

İki farklı monomerden oluşan polimerler genellikle kopolimerler olarak adlandırılır [63].

Blok kopolimerlerde iki veya daha fazla homopolimer zinciri tekli makromoleküllerde bulunan blokları oluşturur. Mikrofaz ayrımına bağlı olarak çok büyük çeşitlilikte farklı blokların ve morfolojinin düzenlemeleri, çeşitleri, boyutları vardır. Sıkça incelenen blok kopolimerlerin bazı temel mimarileri Şekil 2.4'te gösterilmiştir. Moleküler konfigürasyona bağlı olarak iki çeşit blok kopolimer bulunur: doğrusal ve dallanmış. Doğrusal olanlarda iki homopolimer A ve B (AB di-blok, ABA triblok ve AB çokbloklu kopolimerler) veya üç homopolimerin (ABC triblok kopolimer) doğrusal bir düzeni vardır. Birkaç kollu (yıldız-blok kopolimerleri) yıldız-benzeri bir düzenleme veya bir polimer omurgasına (aşılı kopolimerler) aşılanmış polimerler dallanmış blok kopolimerleri verir.



Şekil 2. 4 Sıklıkla incelenen blok kopolimerlerin mimarileri (makromoleküler konfigürasyonlar) (A ve B harfleri tekil polimer blokları içindir) [64]

2.12.1 Doğrusal A-B ve A-B-A Mimarisi ile Blok Kopolimerler

Doğrusal di-blok, triblok veya parçalı blok kopolimerlere yol açan polimerizasyon yöntemleri iki genel reaksiyon şemasına dayanır. Birincisinde α veya ω aktif bölgeleri daha sonra bir ikinci monomer B'nin polimerizasyonunu başlatan poli A polimer zincirinde üretilir. Böyle bir polimerizasyon serbest radikal, anyonik veya katyonik tipte olabilir. Genellikle kondensasyon veya kenetlenme olarak adlandırılan ikinci yöntem farklı polimerlerin sonundaki kimyasal fonksiyonel gruplar arasındaki reaksiyondur [65].

2.13 Kullanılan Polimer Çeşitleri

Misel oluşturan amfifilik kopolimerler blok kopolimerler (di, tri veya tetra) veya aşı kopolimerleri olabilir [66]. Bu kopolimerlerin her biri ilaç salımı için eşsiz avantajlara sahiptir bu nedenle uygun bir polimer ilaç salım profilini değiştirmek, dolaşım süresini uzatmak veya hedefleme kısımları uygulamaya koymak için kritik amaçlar elde etmek üzere seçilebilir [67].

2.13.1 Polikaprolakton

PCL, ϵ -kaprolakton monomeri ve çeşitli anyonik, katyonik ve koordinasyon katalizörleri kullanılarak halka açılma polimerizasyon yöntemi ile sentezlenir [68].

Poli(ϵ -kaprolakton) (PCL); erime noktası (T_m) $\sim 60^\circ\text{C}$ ve camsı geçiş sıcaklığı (T_g) $\sim -60^\circ\text{C}$ olan, yarı kristal, biyolojik olarak parçalanabilir bir polimerdir. PCL homopolimerinin tekrar eden molekül yapısı beş polar olmayan metilen grubundan ve nispeten polar bir ester grubundan oluşur [69]. Polimer hidrolitik olarak kararsız alifatik ester bağlarının varlığına bağlı olarak hidrolitik bozunmaya uğrar ancak bozunma hızı oldukça yavaştır (2-3 yıl) [57]. Oldukça hidrofobiktir, yarı kristal yapısı ve düşük camsı geçiş sıcaklığı nedeniyle basit hidrolizle çok yavaş bozunur [70]. İn vivo degradasyon da fagositoz ile açıkça belirlenir [71].

Birçok tedavi edici ilaç yüksek geçirgenlik ve toksisitesizlik ile birleşince PCL ve türevlerini kontrollü ilaç verme için çok uygun yapar [72].

Alifatik poliestерler, özellikle FDA onaylı poli(ϵ -kaprolakton) (PCL) artan ilginin olduğu cerrahide geçici terapötik uygulamalar alanında, sürdürülebilir ilaç salımında ve doku mühendisliğinde biyomedikal materyallerin bir sınıfını oluşturur [73].

Daha önce PCL nanoparçacıkları halihazırda anti-kanser ilaçları vermek için kullanılıyordu. Bununla birlikte yüksek kristallik ve güçlü hidrofobiklik nedeniyle PCL oldukça yavaş bozunur. Damar içi uygulama sonrasında hidrofobik PCL nanoparçacıkları anti-kanser ilaç salım sistemi olarak PCL nanoparçacıklarının klinik uygulamasını kısıtlayan retiküloendotelial sistem (RES) ile hızla temizlenir. Bu arada saf hidrofobik PCL nanoparçacıkları kolayca toplanır böylece sudaki zayıf kararlılık ortaya çıkar. Bu sorunları çözmek için PCL nanoparçacıkları için birçok modifikasyon protokolü önerildi. Bunlar arasında poli(etilen glikol) (PEG) zincirleri ile polimerin yüzey modifikasyonu en çok çalışılmıştır [74].

2.13.2 Polietilen glikol

Polietilen glikol (PEG) uzun sirkülasyon süresi, arttırılmış geçirgenlik ve alıkonma etkisi (EPR etkisi) geliştirilmiş ilaç toleransı ve benzeri gibi birçok ilginç özelliği nedeniyle hidrofilik kısım olarak en iyi seçimlerden biridir [75].

PEG protein adezyonunun önlenmesi vasıtasıyla uzun süreli sirkülasyona neden olan biyoyoumlu bir polimerdir [76].

Polietilen glikol toksik değildir, esnektir ve insan vücudunda dahili kullanım için Amerikan Gıda ve İlaç Kurumu tarafından onaylanmıştır [77].

PEG antijenlik ve immünojenisite yokluğu gibi mükemmel özellikler sunar [78].

PEG protein emilimini önleyebilen ve kanla temas eden bileşiğin biyoyoumluluk derecesini iyileştiren bir polimer olarak düşünülür [79].

2.14 İstenen Amfifilik Kopolimerlerin Sentezi

Polimerik misellerin (PM) istenen özellikleri farklı polimer tiplerine bağlanarak ayarlanabilir ayrıca pH duyarlılığı, termoduyarlılık ve reseptör hassasiyeti gibi çeşitli fonksiyonellikler kopolimerin hidrofilik ucunda çeşitli fonksiyonel grupların aşılmasıyla başarılabılır. Hidrofilik ve hidrofobik blokların uzunlukları ortamdaki polimerlerin konformasyonunu etkiler; polimerin daha uzun hidrofilik blokları suda monomerik kalmasına neden olurken çok kuvvetli hidrofobik bloklar yapıları oluşturur. PM'lerin kendiliğinden bir araya getiren polimerleri, sentezin tamamlanması için birkaç adım gerektirir [67].

2.15 PCL-PEG-PCL Amfifilik Triblok Kopolimerleri

Poli(ϵ -kaprolakton)-poli(etilen glikol)-poli(ϵ -kaprolakton); poli(ϵ -kaprolakton) (PCL) segmenti ve poli(etilen glikol) (PEG) segmenti içeren bir triblok kopolimerdir. Biyolojik olarak uyumludur ve birkaç Gıda ve İlaç Yönetimi (FDA) onaylı üründe kullanılmıştır [80].

PEG'nin hidrofilikliği ve PCL'nin hidrofobikliğine bağlı olarak elde edilen PCEC kopolimeri amfifiliktir [73].

Çekirdek-kabuk yapısına sahip nanoparçacıklara (NP) kendiliğinden oluşan PCL-PEG-PCL kopolimerleri bir hidrofobik PCL çekirdeği ve bir hidrofilik PEG kabuğunu içerir.

Kontrollü ilaç salımı elde etmek için biyolojik olarak bozunabilir polimerik nanopartiküller ileri düzeyde anti-kanser ilaç salım sistemlerinde sıklıkla kullanılır. Anti-kanser ajanları salan nanoparçacıklar gibi biyolojik olarak parçalanabilir polimer kullanan bazı ilaç salım sistemleri ticari olarak mevcuttur [81].

Son zamanlarda polyesterler ve PEG kopolimerlerinden türetilen biyolojik olarak parçalanabilir polimerik miseller biyolojik olarak tekrar emilimi, geliştirilmiş biyoyumluluğu ve ilaç salımında potansiyel uygulamaları nedeniyle çok dikkat çekmektedir [78].

PCL-PEG-PCL; Piao vd., Gou vd. ile Wei vd. tarafından başarıyla sentezlendi ve karakterize edildi. Bu araştırmalar PCEC triblok kopolimerinin karakterize edilen çekirdek-kabuk yapısı nedeniyle ilaç salım sisteminde mantıklı bir potansiyel uygulama olduğunu ortaya çıkarmıştır [82].

Optimum özellikler ortada bir PEG bloğu ve her iki ucunda PCL blokları ihtiva eden triblok kopolimerleri (genellikle PCEC olarak belirtilmiştir) hazırlanarak elde edildi. Biyolojik bozunma tek PCL'den daha hızlıdır ve artıklar böbrekler tarafından kolaylıkla süzülür. Bu nedenle biyomedikal ve farmakolojik uygulamalar alanında büyük bir ilgi sunmaktadır [83].

Vücut sıcaklığı civarında sol-jel-sol geçişi uzun süre ilaç salımı ve ortam sıcaklığında katı halde olduğundan tartılması ve aktarımında kolaylık gibi birçok fayda gösterdiğinden yerinde jel oluşturan kontrollü ilaç salım sistemleri için poli(ϵ -kaprolakton)-b-poli(etilen glikol)-b-poli(ϵ -kaprolakton) (PCEC) kopolimerleri önemli bir maddedir [84].

PCL-PEG-PCL kopolimerleri; amfifilik, biyolojik olarak parçalanabilir, düşük toksik ve üretilmesi kolay olduğundan dolayı biyomedikal alanda geniş bir uygulama alanı bulmaktadırlar [85].

Poli(ϵ -kaprolakton)-poli(etilen glikol)-poli(ϵ -kaprolakton) (PCL-PEG-PCL) kopolimerleri nanoteknoloji, doku mühendisliği, eczacılık ve tıbbi kimya gibi farklı alanlarda mükemmel biyoyumluluk, kontrollü biyolojik bozunabilirlik ve uygun ilaç salım davranışı özelliklerine sahip oldukları için yaygın biçimde incelenmiştir [86].

2.16 Halka Açılma Polimerizasyonu (ROP)

Halka açılma polimerizasyonu (ROP); bir başlatma, çoğalma ve sonlandırma dizisinden oluşan bir zincir polimerizasyonudur. Sadece monomer çoğalmada büyüyen zincirlere

Halka açılma polimerizasyonu siklik monomerlerin polimerleşmesini ifade eden bir terimdir. Bu mekanizma ile tepkimeye giren ve polimer oluşturan halkasal monomere örnek olarak; halkalı eterler, halkalı esterler, halkalı asetaller, halkalı amitler, halkalı aminler ve siloksanlar verilebilir. Bir halkalı monomerin polimerleşebilmesi termodinamik ve kinetik faktörlere bağlıdır. Polimerleşebilme için en önemli etkenlerden biri termodinamik faktördür ve bu faktör; halka monomerle doğrusal polimerin göreceli kararlılıklarının oranıdır. Polimer kararlı ise polimerizasyon görülür monomer kararlı ise polimerizasyon görülmez.

2.16.1 Halka Oluşumu

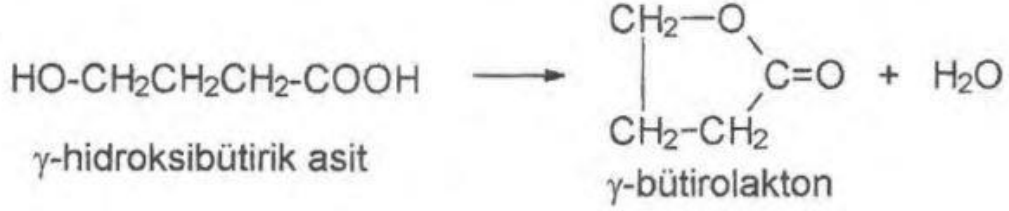
$n \text{ HO-R-COOH}$
 ω -hidroksi
 karboksilik asit

$\rightarrow \text{H} \left[\text{O-R-CO} \right]_n \text{OH} + (n-1) \text{H}_2\text{O}$
 doğrusal poliester

$\rightarrow n \text{ R} \begin{array}{c} \diagup \text{O} \diagdown \\ | \\ \text{C=O} \end{array} + n \text{H}_2\text{O}$
 lakton

Hidroksi karboksilik asitlerin halka oluşturma eğilimleri oluşacak halka büyüklüğüne yakından bağlıdır. Gerginliğin yüksek olduğu 3'lü ve 4'lü halkalar oluşmazlar.

Genelde 5, 6 ve 7'li halkalar kararlıdır. Beşli halkalarda gerginlik söz konusu olmadığı için γ -hidroksibütirik asit gibi bir bileşğin kondensasyonu doğrusal polimer zinciri yerine her zaman lakton oluşumuna yol açar.



Gerginlik 6 ve 7'li halkalarda kısmen artar ve halkalaşma yanında doğrusal polimer zincirleri de oluşur.

Halka gerginliği 8, 9, 10 ve 11'li halkalarda yüksektir ancak daha büyük halkalarda azalır. Teorik olarak çok uzun bir polimer molekülünün kendi zincir uçlarındaki grupların verdiği tepkimeyle halkalı yapıya geçmesi olası ise de bu tür büyük halkaların oluşumu pek gözlenmez.

Halkalı bileşiklerin polimerizasyonu yukarıdaki değerlendirmelerin tersi göz önüne alınarak yorumlanabilir. Gerginliğin yüksek olduğu 3 ve 4'lü halkalar kolayca açılarak halka açılması polimerizasyonu ile polimerleşirler. Gerginliğin gözlenmediği 5'li halkalı bileşiklerin polimerizasyonu söz konusu değildir. Çoğu 6 ve 7'li halkalar doğrusal polimer verecek şekilde polimerleşirler [89].

2.16.2 Halka Açılma Polimerizasyon Mekanizmaları

2.16.2.1 Radikal Halka Açılma Polimerizasyonu

Bir halka açılma polimerizasyonu özellikle radikal ROP (RROP) vasıtasıyla monomerlerle aynı veya daha düşük yoğunlukta polimerler üretmek mümkündür. Bu, polimerizasyon sırasında sabit bir hacmin muhafaza edilmesinin istendiği uygulamalar için ilginçtir.

2.16.2.2 Katyonik Halka Açılma Polimerizasyonu

Pozitif yüklü bir ara maddeyi (katyonik ROP veya CROP) içeren halka açılma polimerizasyonları önemli birkaç endüstriyel polimeri sağlar.

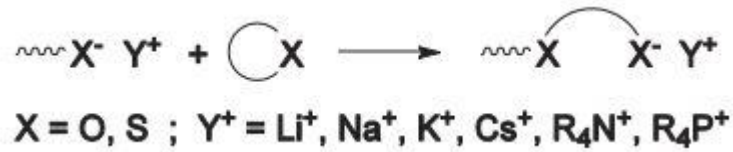
Literatürde CROP için tartışılan iki mekanizma vardır: birincisi bir S_N1 veya S_N2 mekanizması vasıtasıyla bir monomer molekülüne katkıda bulunan zincir ucunda katyonik bir merkezi olan artan bir zinciri içerir onun vasıtasıyla X bir oksijen, bir azot veya bir sülfür atomunu temsil etmektedir.

Polimer yapısı uygun yan gruplar kullanılarak daha da kontrol edilebilir. Böylece bir ester veya karbamat (sözde NGP: komşu grup katılımı) için bir eter yan grubunun değişimi, monomer izomerleşmesinin etkili bir şekilde baskılaması ve ester (karbamat) kısmı yoluyla büyüyen zincirin stabilizasyonuna bağlı olarak metil triflat başlatıcı ile halkalı ditiyokarbonatların CROP boyunca farklı, iyi tanımlanmış bir mikroyapısına neden olur. CROP'nin çoğalması için önerilen alternatif bir üçüncü mekanizma monomerin aktive edildiği ve katyonik merkezi taşıdığıdır; büyüme reaksiyonu zincir ucundaki aktive edilmiş monomerin elektrofilik bir saldırısıdır [90].

Laktonların ROP'sinde kullanılan ana katyonik başlatıcılar dört alt gruba ayrılabilir: a) protonik asitler (HCl, RCO_2H , RSO_3H , vb.), b) Lewis asitleri ($AlCl_3$, BF_3 , $FeCl_2$, $ZnCl_2$, vb.), c) alkilleyici ajanlar (stabilize karbokatyonlar örneğin $CF_3SO_3CH_3$, $Et_3O^{(+)}BF_4^{(-)}$) ve d) açile edici ajanlar (örneğin $CH_3CO^{(+)(-)}OCl_4$) [91].

2.16.2.3 Anyonik Halka Açılma Polimerizasyonu

Anyonik ROP (AROP) büyüyen zincir ucunun heterosiklik bir monomer molekülü üzerindeki nükleofilik saldırısı olarak tanımlanabilir (Şekil 2.5).



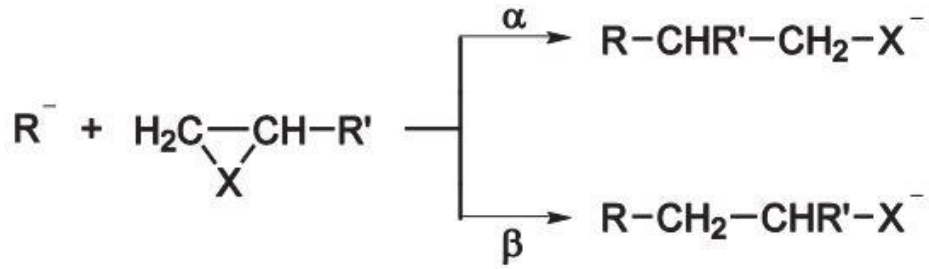
Şekil 2. 5 Bir nükleofilik ek reaksiyon olarak AROP [90]

Başlatma

AROP için daha önemli başlatıcılardan bazıları ϵ -kaprolakton, etilen oksit, propilen oksittir.

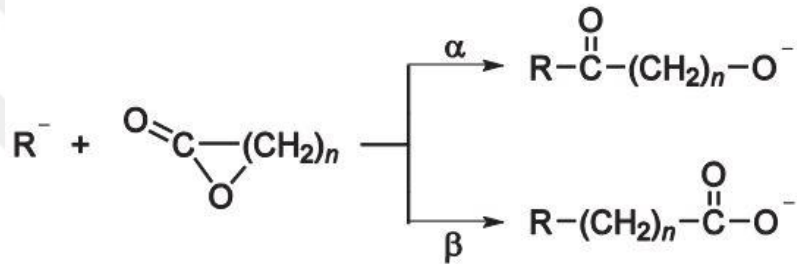
Çoğalma

Simetrik olmayan bir şekilde yerine konulmuş halkalar için Şekil 2.6'da gösterildiği gibi monomer halkasının açılabilirdiği şeklen iki yol vardır.



Şekil 2. 6 Asimetrik heterosikliklerin nükleofilik halka açılması [90]

Dikkatli mikroyapı ve uç grup analizi ile tercih edilen reaksiyon yolu tanımlanabilir. Ayrıca reaksiyon ara ürünlerinin kararlılığının basit bir şekilde düşünülmesi yararlı olabilir. Dolayısıyla laktonlar için bile karboksilat iyonu (rota β) tercih edilir (Şekil 2.7) ve nükleofilik saldırı en az ikame edilmiş karbon atomunda gerçekleşir.



Şekil 2. 7 Laktonların anyonik halka açılma polimerizasyonu [90]

Aktarma ve Sonlandırma

Ek monomer mevcut olduğu sürece zincir sonlandırma reaksiyonları transfer reaksiyonları olarak daha doğru tarif edilmiştir. AROP'nin aktif merkezleri örneğin alkolatlar veya karboksilatlar sadece nükleofilik değildir, bazlar gibi hareket ederler ve yeni zincirleri başlatmak için monomerden protonları alabilirler. Serbest iyon/iyon-çifti dengesi serbest iyon tarafına kaydırılır serbest iyonlar tercihen bir protonu almak yerine monomer üzerine katkıda bulunurlar.

2.16.2.4 Halka Açılma Metatez Polimerizasyonu (ROMP)

ROMP için itici güç halka gerilme entalpisinin salınmasıdır ve moleküllerin sayısı polimerizasyon ile önemli ölçüde azalır [90].

2.16.3 Siklik Esterlerin Kontrollü Halka Açılma Polimerizasyonu

Halka açılma polimerizasyonu ya kütle polimerizasyonu ya da çözelti, emülsiyon veya dispersiyon polimerizasyonu olarak gerçekleşir. Pratikte laktonların ve laktiklerin halka açılma polimerizasyonunun uygun koşullarda devam edebilmesi ve kontrollü özelliklere sahip polimerlerin sentezlenebilmesi için uygun katalizör gerekir [88].

Başlatıcıya bağlı olarak polimerizasyon üç farklı ana reaksiyon mekanizmasına yani katyonik, anyonik veya koordinasyon- katılma mekanizmasına göre ilerlemektedir. Ek olarak radikal, zwitteriyonik veya aktif hidrojen başlatma da mümkündür ancak bu tür teknikler büyük ölçüde kullanılmamaktadır.

2.16.3.1 Siklik Esterlerin Katyonik Halka Açılma Polimerizasyonu

Siklik esterler arasında, 4-, 6- ve 7- üyeli halkalar katyonik katalizörler ile reaksiyona girdiklerinde poliester oluştururlar. Katyonik halka açılma polimerizasyonu daha sonra bir monomer tarafından saldırıya uğrayan pozitif yüklü bir türün oluşumunu içerir.

2.16.3.2 Siklik Esterlerin Anyonik Halka Açılma Polimerizasyonu

Siklik ester monomerlerinin anyonik halka açılma polimerizasyonu negatif yüklü bir başlatıcının karbonil karbon üzerindeki veya açıl-oksijene komşu karbon atomunun nükleofilik saldırısı ile gerçekleşir ve sonuç olarak doğrusal bir poliester elde edilir. Çoğalan türler negatif yüklüdür ve pozitif bir iyonla dengelenmiştir. İyonik çoğalma zincir ucunun ve çözücünün doğasına bağlı olarak reaksiyona giren kompleks tamamen iyonikten neredeyse kovalent arasında değişir.

ε-kaprolakton veya laktit gibi daha büyük laktonlar sadece karbonil karbon atomundaki anyonun bir açıl oksijen bölünmesi ve büyüyen tür olarak bir alkoksit oluşumu ile reaksiyona girer.

2.16.3.3 Koordinasyon-Katılma Halka Açılma Polimerizasyonu

Çoğalmanın aktif türe monomerin koordine edilmesi ve daha sonra elektronların yeniden düzenlenmesiyle metal oksijen bağına monomerin katılmasıyla ilerlediği düşünüldüğünden psödo anyonik halka açılma polimerizasyonu koordinasyon-katılma ROP olarak ifade edilir [92].

2.17 Lakton ve Laktitlerin ROP'si için Başlatıcı Olarak Organometalik Bileşikler

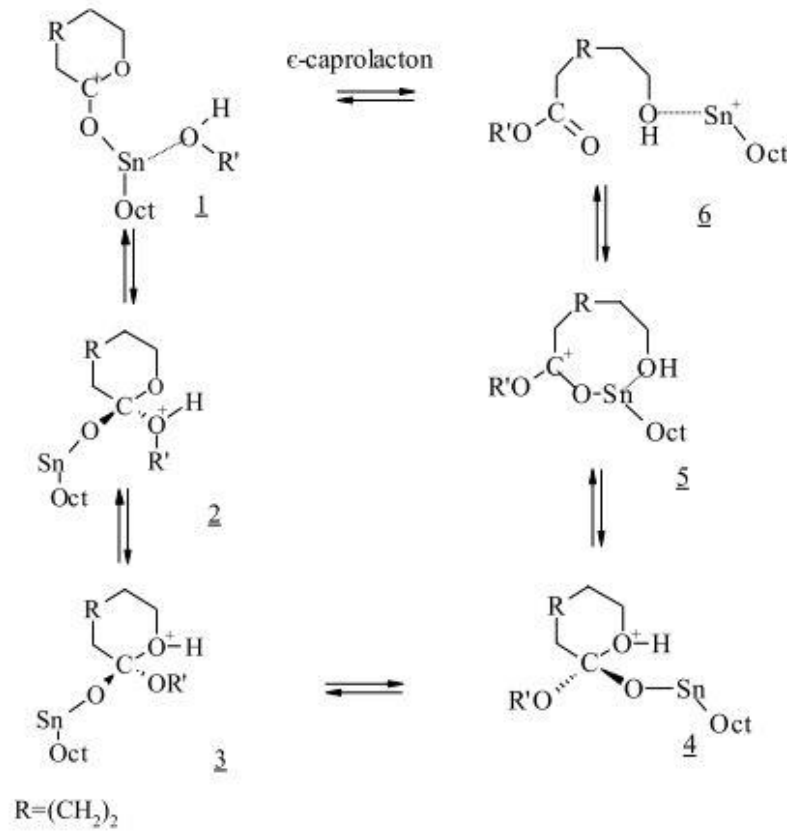
Etkin bir polimer sentezi elde etmek için çok çeşitli organometalik bileşikler yani metal alkoksitleri ve metal karboksilatlar incelenmiştir. Metal kompleksleri tarafından katalize edilen bir çok reaksiyon çok özeldir, metal ve ligandların dikkatle seçilmesi ile reaksiyonlar istenen bir polimer yapısını oluşturmak üzere üretilebilir.

2.17.1 Stannous(II) 2- etilhekzanoat

Stannous(II) 2-etilhekzanoat olarak adlandırılan $[\text{Sn}(\text{Oct})_2]$ laktonların ve laktitlerin polimerizasyonu için en sık kullanılan katalizörlerden biri olarak önerilmektedir [93]. Stannous oktanoat Amerikan Gıda ve İlaç Kurumu (FDA) tarafından bir gıda katkı maddesi olarak onaylanmıştır. Polimerizasyon mekanizması geniş bir şekilde tartışılmıştır ve birkaç öneriye rağmen ROP mekanizması belirsizliğini korumaktadır. SnOct_2 , moleküler ağırlık monomer- SnOct_2 molar oranına bağlı olmadığından gerçek başlatıcı olarak düşünülmemektedir. En gelecek vaat eden mekanizma bir hidroksil fonksiyonel grubun SnOct_2 ile koordine ettiği düşünülen ve başlatıcı kalay kompleksini oluşturan bir koordinasyon ekleme mekanizmasıdır [92].

2.18 ϵ -Kapolakton'un (CL) Halka Açılması Polimerizasyonu

Metal halojenürler, oksitler ve karboksilatlar ROP'de Lewis asidi gibi davranırlar. Aslında su, alkol gibi hidroksil grubu içeren bileşikler tarafından başlatılırlar. Polimerizasyonun ekleme mekanizması boyunca ilerlediği kabul edilir. Lewis asidi katalizörü olarak Stannous Oktanoat $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ kullanılır.



Hidroksil grubu içeren $R'OH$ bileşiğinin lakton/ $Sn^+(Oct)_2$ kompleksi ile reaksiyona girmesiyle kompleks karbona nükleofilik atak yapar ve böylece polimerizasyon başlar (yapı 1 ve 2). Koordinasyon kompleksi 6'nın şekil almasından sonra tekrar ϵ -kaprolakton içeren yeni koordinasyon türü meydana gelir. Burada R' büyüyen polimer zinciridir. Katalizör büyüyen zincirin sonuna bağlı değildir (yapı 6). Böylelikle bu yapılar bir zincirden fazlasını aktive edebilir. Sonuç olarak ortalama polimerizasyon derecesi direkt olarak monomer katalizör mol oranı tarafından kontrol edilemez. Moleküler ağırlık monomer/başlatıcı mol oranı kullanılarak tahmin edilebilir ve molekül ağırlığı dağılımı dardır. Monomer çözeltisi içerisinde katalizin iyi çözünebilmesi çok önemlidir. Düşük konsantrasyon kullanıldığında $Sn(Oct)_2$ yüksek molekül ağırlıklı PCL ürünleri verir [94].

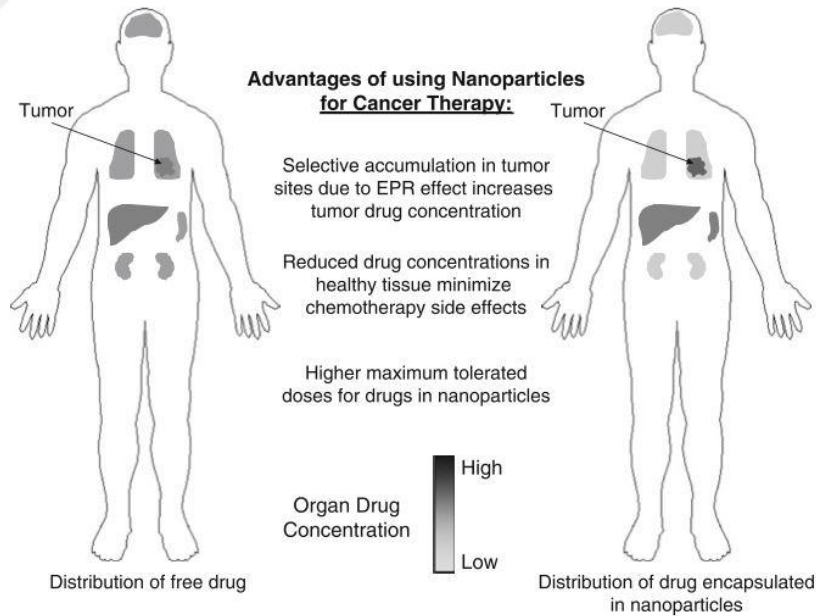
ϵ -kaprolakton gibi laktonlar yaklaşık 50 yıl önce Carothers tarafından incelenen en erken halka açılma polimerizasyonlarından biriydi [95]. Laktonlar da halka açılması polimerizasyonu ile anyonik mekanizma üzerinden polimerleştirilebilirler. Bu tür polimerler genelde biyokimyasal bozunmaya uğrayan plastikler veya poliüretan köpüklerin üretiminde kullanılır [89].

2.19 Kanser Nanoteknolojisi

Kanser nanoteknolojisi; biyoloji, kimya, mühendislik ve tıp disiplinlerini kesen, disiplinlerarası araştırmanın yeni bir alanı olarak ortaya çıkıyor ve kanser tespiti, teşhisi ve tedavisinde önemli gelişmelere yol açması bekleniyor [96].

Nanoteknolojik araçların resmi tanımlamaları tipik olarak aracın kendisinin veya temel bileşenlerinin insan yapımı olması ve en az bir boyutta 1-100 nm aralığında olması gerekliliğidir. Kanserle ilgili nano teknolojilerin örnekleri meme kanseri tedavisi için lipozomlar gibi enjekte edilebilir ilaç salım nanovektörleri, nöro-onkolojik müdahaleler bağlamında intraoperatif görüntüleme için biyolojik olarak hedeflenen nano boyutlu manyetik rezonans görüntüleme (MRI) kontrast maddeler ve DNA ve proteinin yüksek özgüllük tespiti için yeni, nanoparçacık bazlı yöntemleri içermektedir [97].

Herhangi bir ilaç salım sistemini tasarlarken birincil düşünce terapötik penceredeki ilaç konsantrasyonunun kontrol edilmesi, sitotoksik etkilerin azaltılması ve hasta uyumluluğunun artırılması yoluyla daha etkin tedavi elde etmektir (Şekil 2.8). Bu, sağlıklı hücrelere verilen zararı azaltarak ve iyileşme süresini en aza indirerek etkili tedavi döngülerinin sürdürülmesini sağlar.



Şekil 2. 8 Nanoparçacıkların serbest ilaçla karşılaştırıldığında kanser tedavisi için ilaç salım sistemi olarak kullanılmasının avantajları [98]

2.19.1 Kanser Tedavisi için Nanotaşıyıcıların Rasyonel Tasarımı

Nanotaşıyıcılar serbest ilaçlara kıyasla birçok avantaj sağlayabilir:

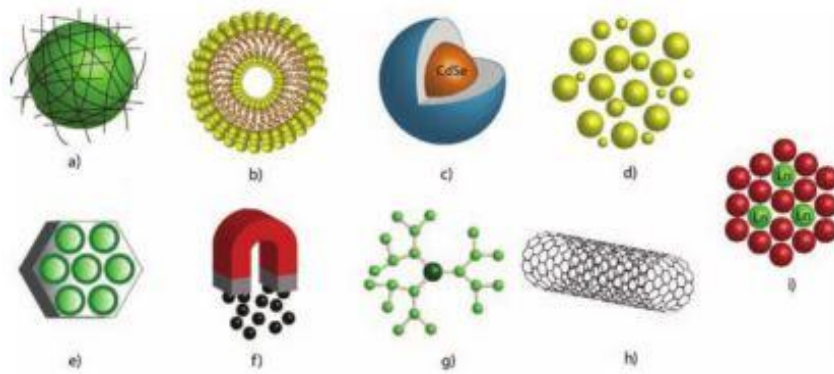
- İlacın zamanından önce bozulmasından korurlar.
- İlaçların biyolojik çevre ile zamanından önce etkileşim kurmalarını engellerler.
- İlaçların emilimini seçilen bir dokuda (örneğin katı tümör) arttırmaları.
- Farmakokinetik ve ilaç doku dağılım profilini kontrol eder.
- Hücre içi penetrasyonu arttırmaları.

Hızlı ve etkili klinik dönüştürüm için nanotaşıyıcılar şunları yapmalıdır:

- Biyouyumlu, iyi karakterize edilmiş ve kolaylıkla işlevselleştirilen bir materyalden yapılmalıdır.
- Normal hücrelere (veya dokuya) kıyasla hedef hücrelerde yüksek diferansiyel alım etkinliği sergilemelidir.
- Etkinliği arttırmak için sulu koşullar altında çözülebilir veya kolloidal olmalıdır.
- Uzatılmış dolaşım yarılanma ömrüne, düşük bir toplanma oranına ve uzun bir raf ömrüne sahip olmalıdır [99].

2.20 Kanser Görüntüleme ve/veya İlaç Salımında Mevcut Durumda Uygulanan Nanomalzemelerin Türleri

Lipozomlar, kuantum noktalar (QD), polimerler/dendrimler, metaller ve metal oksitler de dahil olmak üzere tümörlere ulaşmak için çok çeşitli NP'ler tasarlanmıştır (Şekil 2.9).



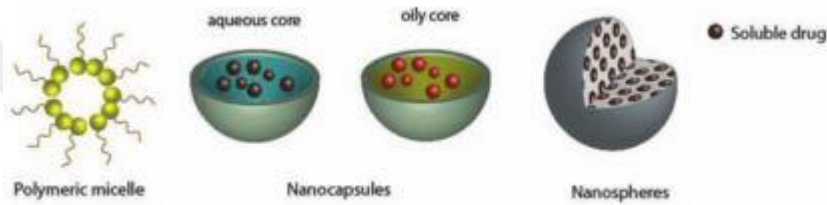
Şekil 2. 9 Kanser tedavisi ve teşhisi için kullanılan NP örnekleri: a. polimerik nanoparçacıklar, b. lipozomlar, c. genellikle CdSe çekirdeğine sahip olan QD'ler, d. altın NP'ler, e. zeolit L, f. manyetik NP'ler, karakteristik olarak demir oksit, g. dendrimler, h. nanotüpler, i. yükseltme nanofosforları [100]

2.20.1 Polimerik Nanoparçacıklar

2.20.1.1 Genel Özellikler ve Sentetik Yönlere

Çoğu durumda polimerik NP'ler, anti-kanser ajanı içeren bir hidrofobik çekirdekten ve sulu ortamdaki NP'lerin stabilizasyonu için bir hidrofilik yüzey tabakasından oluşur.

Yapısal özelliklerine dayanarak polimerik NP'ler ayrıca nanokapsüller ve nanoküreler olarak sınıflandırılabilir (Şekil 2.10). Nanokapsüller içerisinde kabuklar genellikle çözünür bir ilaç içerebilen sulu veya yağlı bir çözelti ile doldurulur. Nanoküreler katı bir kitle içerirler, bu bir anti-kanser ajanı ile emdirilmiş olabilir. Polimerik NP'lerin diğer sınıfları sulu çözeltilerde kendi kendini oluşturan amfifilik blok kopolimerlerden meydana gelen polimerik miselleri ve dendrimerleri içerir.



Şekil 2. 10 Polimerik NP'lerin ana türleri [100]

2.20.1.2 İlaç Salımı için Polimerik Nanoparçacıklar

İlaçlar polimerik NP'lere fiziksel tutuklama veya kimyasal konjugasyon ile yüklenebilir. Nanokapsüllerde ilaç nanokapsül içerisindeki sıvı fazda çözünürse içeriye fiziksel olarak veya polimer zincirlerine konjugasyon yoluyla yüklenebilir. Nanokürelerde ilaç dağıtılabilir veya polimer matrisine kovalent olarak bağlanabilirken misellerde hidrofobik ilaçlar genellikle hidrofobik iç kısımlarda kapsüllenir. Potansiyel kombinasyon terapileri için dört tip kovalent ilaç-polimer konjugatı tanımlanmıştır (eş zamanlı olarak iki veya daha fazla ilaç ya da iki tedavi kombinasyonunun kullanımı): i) bir polimer ilaç konjugatı ile konjuge edilmemiş serbest ilaç, ii) bir polimer ilaç konjugatı ile bir ikinci polimer-ilaç konjugatı, iii) ilaçların kombinasyonunun tek bir polimerik taşıyıcısı, iv) polimer yönlendirilmiş enzim ön ilaç tedavisi.

2.20.1.3 Görüntüleme için Polimerik Nanoparçacıklar

Polimerik NP'ler manyetik rezonans görüntüleme (MRI) ile kanseri görüntüleyebilmek için gadolinyum kompleksleri veya manyetik NP'ler ile yüklenmiştir. Geleneksel olarak manyetik NP'ler (manyetit) polimerik misellerin çekirdeğinde kapsüllenmiştir.

2.20.2 Lipozomlar

2.20.2.1 Genel Özellikler ve Sentetik Yönlere

Lipozomlar iç kısımlarında suyu tutuklayan bir veya daha fazla fosfolipid katmanından oluşan küresel keseciklerdir. Fosfolipidler hidrofobik kuyruklarını sudan korumak için kapalı bir küre oluşturacak şekilde düzenlenir böylece lipozom içinde su bırakır. İlaçlar lipozomlar içerisinde sadece sulu hacimde değil aynı zamanda iki katman içinde kapsüle edilebilir ve bu da farklı hidrofilik ilaçların taşınmasına izin verir. Üç tip lipozom tanımlanmıştır: i) birkaç konsentrik iki tabakadan oluşan çok tabakalı kesecikler (MLV'ler), ii) bir lipid çift katmanında birçok küçük, konsentrik olmayan keseciklerden oluşan çok kabarcıklı kesecikler (MVV'ler) ve iii) sadece tek bir lipid çift katmana sahip küçük ve büyük tek katmanlı kesecikler (ULV'ler).

2.20.2.2 İlaç Salımı için Lipozomlar

Lipozomlar hücre membranları ve lipid çift tabakaları geçme yetenekleri, hazırlanma kolaylığı, biyolojik bozunabilirlik ve genellikle düşük toksisite nedeniyle salım sistemleri olarak yaygın şekilde uygulanır.

2.20.2.3 Radyo Görüntüleme ve Tedavi için Lipozomlar

Lipozomlar ayrıca tümör görüntüleme ve radyoterapi için radyoaktif çekirdek taşıyıcılar olarak çalışılmıştır.

2.20.3 Dendrimerler

2.20.3.1 Genel Özellikler ve Sentetik Yönlere

Dendrimerler merkez çekirdekten çıkan yinelenen dallanma birimlerini kapsayan bir polimerik makromolekül sınıfıdır. Bu hemen hemen tek dağılımlı polimerlerin benzersiz özellikleri solvent ortamı tarafından etkilenmiş iç ve dış moleküler işlevlerin bir

düzenlenmesini sağlayarak kompakt, ağaç benzeri moleküler yapılarını yansıtmaktadır. Dendrimerlerin üç yapısal bileşenden oluştuğu kabul edilebilir: i) büyük dendrimerlerde dendritik dal tarafından dıştan neredeyse tamamen korunan çekirdek, ii) iyi tanımlanmış bir mikro çevreye sahip olan ve bununla korunan dış kabuk, (iii) genellikle çok sayıda reaktif bölge taşıyan çok değerlikli yüzey.

2.20.3.2 İlaç Salımı için Dendrimerler

Dendrimerlerin ilginç bir uygulaması ilacın kapsüllenmesi ve kontrollü salınmasıdır.

2.20.3.3 Görüntüleme için Dendrimerler

Dendrimerler MR kontrast ajan olarak yaygın şekilde çalışılmıştır.

2.20.3.4 Tedavi için Dendrimerler

Dendrimerlerin yapısı ve üretimi transfeksiyon verimliliğini etkiler. Dendrimerler artık fotodinamik terapi (PDT) için geniş çapta incelenmektedir.

2.20.4 Kuantum Noktaları

2.20.4.1 Genel Özellikler ve Sentetik Yönlere

QD'ler genellikle 1 ile 10 nm arasında değişen büyüklükte yüksek derecede floresan yarı iletken nanokristallerdir. QD'ler geniş emilim ve dar emisyon spektrumlarına sahiptir.

2.20.4.2 Fotodinamik Tedavi için Kuantum Noktalar

QD'ler reaktif oksijen ara ürünlerinin/türlerinin (ROI/ROS) üretim verimliliğinin düşük olması nedeniyle PDT için zayıf ışık duyarlı (PS) olmasına rağmen QD-PS konjugatları ROI üretmek için etkili bir yol sağlayabilir.

2.20.4.3 Floresan Görüntüleme ve Teşhis Testleri için Kuantum Noktaları

QD'ler kanserin floresan görüntülemesi için geniş çapta incelenmiş ve hatta kişiselleştirilmiş tıp için önerilmiştir.

2.20.5 Demir Oksit Nanoparçacıkları

2.20.5.1 Genel Özellikler ve Sentetik Yönler

Demir oksit NP'leri kataliz, veri depolama, biyoayırıcılar ve MRI dahil olmak üzere geniş bir uygulama yelpazesinde potansiyel kullanımlarından dolayı büyük ilgi gören manyetik NP olarak adlandırılan daha kapsamlı bir sınıfın en yaygın araştırılan üyeleridir.

2.20.5.2 MRI ve Çok Modlu Görüntüleme için Demir Oksit Nanoparçacıkları

Demir oksit NP'leri MRI ile tümörlerin görüntülenmesi için kontrast ajanlar olarak geniş çapta çalışılmıştır.

2.20.5.3 İlaç Salımı için Demir Oksit Nanoparçacıkları

Demir oksit NP'leri yüzeyleri ilaçların ve hedefleme ajanlarının ayrıca modifikasyonunu ve sonraki inkorporasyonunu sağladığından dolayı ilaç salım sistemleri olarak da kullanılabilir.

2.20.5.4 Yüksek Ateşle Tedavi için Demir Oksit Nanoparçacıkları

Demir oksit NP'ler kanserin yüksek ateşle tedavisinde kullanımı için önemli bir potansiyele sahiptir. Bu tedavide NP'ler salınan bir manyetik alana maruz bırakıldığında üretilen ısı tümör hücrelerini öldürmek için kullanılır.

2.20.6 Altın Nanoparçacıklar

2.20.6.1 Genel Özellikler ve Sentetik Yönler

Metal NP'ler arasında altın NP'ler büyük ilgi görmektedir çünkü bunların özellikleri kendilerinin birçok uygulamaya katkıda bulunmalarını sağlar örneğin işaretleme, salım, ısıtma ve algılama gibi.

2.20.6.2 Sıcaklık Değişim Tedavisi için Altın Nanoparçacıklar

Altın NP'ler ile ışıkla indüklenen yüksek ateşle tedavi görünür ve infrared ışığın dokuya sınırlı düzeyde nüfuz etmesi nedeniyle cilde yakın dokular için daha iyi çalışır; manyetik NP'ler ile uyarılmış yüksek ateşle tedavi ile dokulardaki derin tedaviler daha iyi çalışır.

2.20.6.3 Görüntüleme için Altın Nanoparçacıklar

Altın NP'ler asal metal NP'lerin lokalize yüzey plazmon rezonans (SPR) frekanslarında ışığı çok güçlü bir şekilde saçma kabiliyeti nedeniyle basit yöntemlerle (örneğin, karanlık alan kondenseri ile donatılmış bir optik mikroskop kullanılarak) tespit edilebildiğinden tümörlerin görüntülenmesi için uygun bir yol sağlar.

2.20.7 Üst Dönüşüm Nanofosforları

2.20.7.1 Genel Özellikler ve Sentetik Yönlere

Üst dönüşüm nanofosforlar temelde lantanit (nadir element)-katkılı seramik malzemeler olan biyomedikal görüntüleme için floresan propların heyecan verici yeni bir sınıfıdır.

2.20.7.2 Floresan Görüntüleme için Üst Dönüşüm Nanofosforlar (UCNP)

UCNP'lerin tümör görüntülemedeki en büyük çekiciliği nispeten ucuz düşük güçlü NIR diyet lazerlerinin uyarım kaynağı olarak kullanılabilmesidir; bu hem geleneksel floresan görüntülemeye kıyasla daha derin doku penetrasyonuna hem de otofloresansın yokluğuna ve azalmış ışık saçılmasına bağlı olarak daha yüksek kontrast optik görüntülemeye izin verir.

2.20.7.3 Fotodinamik Tedavi için UCNP'ler

UCNP'lerin düşük enerjili radyasyonu yüksek enerjili emisyonlara dönüştürme kabiliyeti yüksek enerjili ışığın kullanımına dayanan tedavilerin doku penetrasyon aralığını genişletmek için mükemmel bir araç sağlar.

2.20.7.4 İlaç Salımı için UCNP'ler

UCNP'lerin son uygulamalarının diğer bir alanı floresan görüntüleme ve siRNA'nın kanser hücrelerine hedeflenmiş olarak verilmesidir [100].

2.20.8 Polimerzom Nanoparçacıklar

Polimerzomlar sentetik polimer/polipeptit amfifillerden oluşur, hidratlaştırıldığında ve haddeden çekildiğinde polimer kabuğu keseciklerini (~100 nm) oluşturmak için kendiliğinden bir araya getirilir.

2.20.9 Protein Nanoparçacıklar

Protein bazlı ilaç salım sistemleri son zamanlarda albumin bağlı ilaç nanoparçacıkları (~130 nm) ile büyük bir etki yaptı. Albumin hücre içinde işlenmeden doğrudan kana taşınma aracılı bir mekanizmayla (kaveoleler kesecik) endotelyal engelleri boyunca moleküllerin doğal, kovalent olmayan fizyolojik bir taşıyıcısıdır.

2.20.10 Biyolojik Nanoparçacıklar

Biyolojik nanoparçacıklar örneğin bakteriler sitoplazmanın temel bileşenlerini hem hidrofobik hem de hidrofilik molekülleri enkapsülleyen farklı şekil ve boyutlarda tek hücreli mikroorganizmalardır.

2.20.11 İnorganik Nanoparçacıklar

İnorganik nanoparçacıklar öncelikli olarak metal bazlıdır ve yakın monodispersite ile sentezlenme potansiyeline sahiptir.

2.20.12 Hibrit Nanoparçacıklar

Hibrit nanoparçacıklar son zamanlarda geliştirilen nanotaşıyıcılardır, lipit polimer nanoparçacıkları ve katı lipozomal nanoparçacıkları oluşturmak için iyi karakterize edilmiş varolan sistemlerin avantajlarını birleştirirler. Hibrit nanoparçacıklar çekirdek ve korona yapısını oluşturmak için en az iki farklı malzemeden oluşur. Genel olarak metalik ve polimerik malzemeler çekirdeği oluşturur ve bir lipozom veya miselle benzer bir koruyucu membran (korona) oluşturmak için tekli veya çoklu lipid katmanları ile kaplanır [98].

2.20.13 Nanokabuklar

Di-blok kopolimerlerin polimerik nanokabukları (20 ile 60 nm) bir çekirdek/kabuk yapısı içine bir araya getirilebilir. Bu nanokabuklar ince bir çok tabakalı yapı oluşturan karşı yüklü polimerlerin kendiliğinden bir araya getirilmesiyle hazırlanabilir [101].

2.20.14 Nanokonsol

Spesifik biyomoleküler etkileşimlerin saptanmasını kullanan mikrodizilim yöntemleri artık hastalık tanısı, genom araştırması ve ilaç keşfi için vazgeçilmez bir araçtır. Bir uçta

bağlı küçük çubuklar kansere bağlı moleküllere bağlanmak üzere tasarlanabilir. Bu moleküller belirli kanser türlerinde bulunan değiştirilmiş DNA proteinlerine bağlanabilir [102].

2.20.15 Nanomalzemelerin Diğer Sınıfları

Karbon nanotüpleri (tek ve çok duvarlı) düşük sitotoksikite, yüksek yüzey alanı ve kolay yüzey değişikliği nedeniyle ilaç salım sistemleri olarak araştırılmaktadır.

Küçük silikon NP'ler (1-10 nm) ayarlanabilir ışık yayılımı, yüksek parlaklık, foto-ağartmaya karşı stabilite ve düşük toksisite gibi benzersiz özelliklerinden ötürü ortaya çıkan teşhisle ilgili görüntülemelerde büyük potansiyel taşıyor.

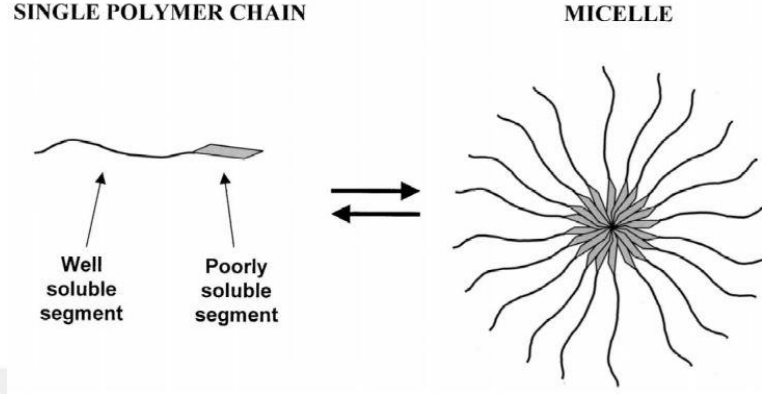
Zeolit L temelinde nanokonteynerler kanser teşhis ve tedavisinde potansiyel olarak kullanılabilecek yeni bir NM'ler sınıfını temsil eder çünkü durdurucu parçalarla kilitledikten sonra sızıntı olmadan ışıldayan moleküller, fotoduyarlaştırıcı ve/veya radyometaller ile ciddi ölçüde yüklenebilirler [100].

2.21 Miseller

Miseller, sürekli bir faz veya dağılım ortamında dağıtılan, parçacık halindeki madde veya dağıtılan fazdan oluşan geniş bir dağıtılan sistemi ailesine ait olan kolloidal dispersiyonları temsil eder. Boyut bakımından kolloid dispersiyonlar, 1 nm'nin altındaki parçacık boyutlu molekül dağılımları ile parçacık boyutu 0.5 mm'den büyük iri taneli dispersiyonlar arasında bir konuma sahiptir. Daha belirgin bir biçimde miseller normalde 5 ile 50-100 nm aralığında parçacık boyutuna sahiptir. Normal olarak üç temel gruba ayrılmış kolloidal dispersiyonlar arasında -liyofilik, liyofobik ve birleşik kolloidler-miseller, birleşme grubuna veya amfifilik kolloidlere aittir. Belirli koşullar altında (konsantrasyon ve sıcaklık) bu tür kolloidler amfifilik veya yüzey aktif maddeler (surfaktanlar) ile kendiliğinden oluşur, bunun molekülleri bilinen bir çözücüye karşı zıt afinitelere sahip açıkça iki ayrı bölgeden meydana gelir.

Sıvı bir ortamda düşük konsantrasyonlarda bu amfifilik moleküller ayrı ayrı bulunur bununla birlikte konsantrasyonları arttıkça topaklanma oldukça dar bir konsantrasyon aralığında (Şekil 2.11'de sulu bir ortamda bir amfifilik molekülden misel oluşumunun başlıca düzeni gösterilmektedir) gerçekleşir. Bu agregalar bağımsız düzinelerce amfifilik molekül içerir, bunlar genelde küreye yakın bir şekle sahiptir ve bunlar misel olarak

bilinirler. Misellerin oluştuğu tek parçalı bir amfifilin konsantrasyonu kritik misel konsantrasyonu (CMC) olarak adlandırılırken, bir misel oluşturan tek moleküllerin sayısına miselin bir araya toplanma sayısı denir. Sulu  zeltelerde belirli bir amfifil için CMC değeri elektrolitler varlığında düşürülebilir.



şekil 2. 11 Amfifilik moleküllerden misel oluşumunun genel şeması [103]

2.21.1 Misel Boyutu

Kan dolaşımı aracılığıyla hedeflemek için taşıyıcıların uygun boyutunun yaklaşık 10 nm ile 200 nm çap aralığında olduğu genellikle bilinir. Boydaki alt limit böbrek atılımı ile belirlenir. Taşıyıcılar böbrekteki filtreyi kolayca geçerse hızla kan dolaşımından uzaklaştırılır ve daha sonra hızlı uzaklaştırma yüzünden ilaç hedefleme verimliliği büyük ölçüde azalır. Üst boyut karaciğer ve dalakta yakalanarak belirlenir. Bilindiği gibi yaklaşık 400 nm'den büyük parçacıklar 5  m çapında kılcal kan damarlarını geebilmelerine rağmen hızla bu organlarda yakalanır. Polimerik miseller en tipik olarak 20 nm ile 100 nm arasında bir çap aralığında oluşturulur [104].

Misellerin boyutu çekirdeği oluşturan bloğun uzunluğu ve koronayı oluşturan bloğun uzunluğu gibi çeşitli faktörler tarafından kontrol edilir.

2.21.2 Boyut Popülasyon Dağılımı

Bimodal bir popülasyon dağılımı bir ilaç salım sistemi için elverişsiz olabilir ancak bu, topaklanmaların kararlılığına bağlıdır [105].

2.21.3 İlaç Hedefleme için Misellerin Avantajları

Birinci avantajı çok küçük boyutlarıdır. Polimerik miseller tipik olarak 10 ile 100 nm arasında bir çap aralığında ve önemli miktarda dar bir dağılımla oluşturulmaktadır.

Retiküloendotelyal sistemin alımı ve renal atılımdan kaçındığı için bu boyut aralığı taşıyıcı sistemin kan dolaşımında sabit, uzun süreli dolaşımını sağlamak için ideal kabul edilir. Alternatif olarak küçük boyutlu polimerik miseller farmasötik üretimle ilişkili sterilizasyon işlemlerinde büyük fayda sağlamaktadır. Polimerik miseller 0.45 veya 0.22 mm gözenekli tipik sterilizasyon filtreleri kullanılarak filtrasyon ile kolayca ve ucuz şekilde sterilize edilir.

Polimerik misellerin ilaç taşıyıcılarına sunduğu ikinci avantaj yüksek yapısal kararlılıktır. Polimerik misellerin iç çekirdekte polimer zincirlerinin birbirine dolanmasıyla sağlanan yüksek yapısal kararlılığa sahip olduğu bilinmektedir. Bu kararlılık iki yöne sahiptir: statik ve dinamik. Statik kararlılık kritik bir misel konsantrasyonu (CMC) ile tanımlanır. Genel olarak polimerik miseller 1 ila 10 $\mu\text{g} = \text{ml}$ aralığında çok düşük CMC değerleri gösterir. Bu değerler düşük molekül ağırlıklı yüzeyaktif maddelerden oluşan misellerin tipik CMC değerlerinden çok daha küçüktür. İkinci yönü olan dinamik kararlılık misellerin düşük ayrışma hızları ile tanımlanır ve bu yön denge dışı koşullardaki fizyolojik çevrelerde in vivo ilaç salımı için birinciden daha önemli olabilir. Polimerik misellerin yüksek yapısal kararlılığı misel formlarında in vivo salım için önemli bir anahtardır ve eşzamanlı olarak tek polimer zincirlerinin ilaç salımına olası katkısını ortadan kaldırır.

Üçüncü avantaj, hidrofobik ilaçları içeren polimerik misel ilaç taşıyıcı sisteminin yüksek su çözünürlüğüdür. Alternatif olarak polimerik miseller misel içi topaklanmaya karşı bir bariyer görevi gören hidrofilik bir dış kabuk katmanı kullanarak hidrofobik çekirdeklerin misel içi topaklanmasını engelleyerek suda çözünürlüklerini koruyabilirler. Aslında misel sistemlerin geleneksel polimerik taşıyıcı sistemlere kıyasla çok daha büyük bir hidrofobik ilaç içeriği sergilediği bildirilmiştir.

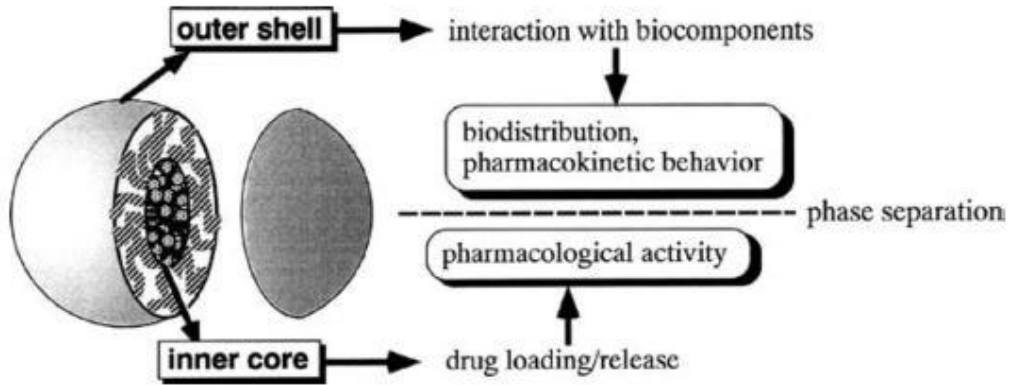
Düşük toksisitenin yararlı özelliği dördüncü avantaj olarak tanımlanabilir.

Ayrıca polimerik misellerin kronik toksisite ile ilişkili olarak çok güvenli olduğu düşünülmektedir. Böbrekte kritik filtrasyon değerlerinden çok daha büyük bir boyuta sahip olarak, blok kopolimeri oluşturanın molekül ağırlığı böbrek filtrasyonu için kritik molekül ağırlığından daha düşük olsa bile polimerik miseller böbrek filtrasyonundan kaçabilir.

Ek olarak, polimerik miseller moleküller arası kovalent olmayan etkileşimler yoluyla oluşur ve bu nedenle tüm polimer zincirleri uzun bir zaman periyodu boyunca misellerden

salınabilir (tekli polimer zincirleri olarak). Bu fenomen polimer zincirlerinin böbrek filtrasyonu için kritik değere göre daha düşük bir moleküler ağırlık ile tasarlanması durumunda blok kopolimerlerin böbrek yolundan tamamen boşaltılmasına neden olur. Böyle bir sonuç polimerik misellerin geleneksel (misel olmayanı oluşturan) ve biyolojik olarak bozunmayan polimerik ilaç taşıyıcı sistemler üzerinde bir avantaj oluşturmalarını sağlamaktadır.

Beşinci avantaj ayrılmış fonksiyonelliktir. Polimerik miseller iki fazdan oluşur: iç çekirdek ve dış kabuk. İlaç salım sistemleri için gerekli olan çeşitli fonksiyonlar bu yapısal olarak ayrılmış fazlar tarafından paylaşılabilir. Her faz ilaç salımında farklı roller oynayabilir. Şekil 2.12'de gösterildiği gibi dış kabuk proteinler ve hücreler gibi biyolojik bileşenlerle etkileşimlerden sorumludur. Bu etkileşimler farmakokinetik davranışı ve ilaçların biyolojik dağılımını belirler dolayısıyla ilaçların in vivo salımı, ilaç yüklemesi ve salımı yoluyla farmakolojik aktivitelerden sorumlu olan iç çekirdekten bağımsız olarak dış kabuk bölümü tarafından kontrol edilebilir. Bu heterojen yapı geleneksel (misel olmayanı oluşturan) polimerik taşıyıcı sistemlere kıyasla oldukça işlevselleştirilmiş taşıyıcı sistemlerin oluşturulmasında daha elverişlidir çünkü her iki fazın özellikleri blok kopolimerlerin her bir bölümü için uygun olan polimer zincirlerinin seçimi yoluyla serbestçe ve bağımsız olarak kontrol edilir.



Şekil 2. 12 İlaç taşıyıcıları olarak polimerik misellerin ayrılmış işlevselliği [106]

2.21.4 Misellerin Dezavantajları

Çoğu misel taşıyıcının en büyük dezavantajı dolaşımdan hızlı temizlenmesidir.

Misellerin bir diğer dezavantajı da DNA ve Ribonükleik asiti (RNA) ayırmak ve iletmek için uygun bir yöntemleri bulunmamasıdır. Dolayısıyla gen iletiminde potansiyel kullanımları az veya belki de mevcut değildir [107].

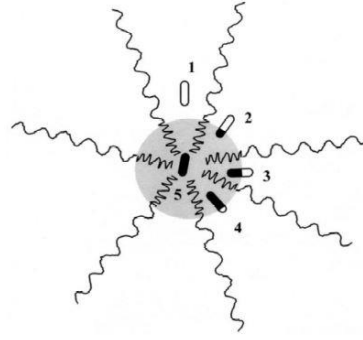
Bir polimerik misel salım sisteminin dezavantajı in vivo bir ilaç taşıyıcısı olarak uygulamalarını sınırlayan, kritik misel konsantrasyonu (CMC) tarafından temsil edilen konsantrasyon ile ilgili özelliklere bağlı olarak kan akışındaki düşük yapısal stabildir. Termodinamik olarak miseller CMC'den daha düşük konsantrasyonda unimerlere ayrılır [108].

Polimerik misellerin başlıca dezavantajları arasında kararlılık eksikliği, kullanım için sınırlı polimerler ve büyük ölçekli üretim için uygun yöntemlerin olmaması sayılabilir [109].

2.21.5 Miseller ile Çözünürleştirme

Eczacılıkta özel bir önemi olan misellerin önemli bir özelliği eser miktarda çözünür maddelerin çözünürlüklerini artırma kabiliyetidir.

Elektrik yükü olmayan surfaktanlardan (en sık kullanılan farmasötik miseller) oluşan misellerin yapılarının içinde izotropik olmayan bir su dağılımına sahip oldukları bilinir-su konsantrasyonu yüzeyden miselin çekirdeğine doğru azalır. Bu anizotropi nedeniyle bu tür miseller son derece sulu yüzeyden hidrofobik çekirdeğe polarite gradyanı göstermektedir. Sonuç olarak belirli bir çözündürülen maddenin (ilacın) bir misel içindeki boyutsal konumu polaritesine bağlı olacaktır. Sulu sistemlerde polar olmayan moleküller misel çekirdeği içerisinde çözünür hale getirilir, polar moleküller misel yüzeyine adsorbe edilecek ve ara polariteye sahip maddeler bazı ara konumlarda yüzey aktif madde molekülleri boyunca dağıtılacaktır (Şekil 2.13). İlaçlar için surfaktanların kapasitesi; bir ilacın ve yüzey aktif maddenin kimyasal yapısı, bir ilacın polaritesi, bir ilacın misel içindeki yeri, sıcaklık, pH, vs. gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Dolayısıyla yüzey aktif bir maddenin hidrofobik bölgesinin uzunluğunda bir artış misel çekirdeği içinde hidrofobik bir ilacın çözünmesini kolaylaştırır. Eşzamanlı olarak bir misel çekirdeğinin boyutundaki artış arayüz kavislenmesinden kaynaklanan Laplace basıncını düşürmekte ve aynı zamanda hidrofobik çözünürleştiricinin misel çekirdeğine dahil edilmesini kolaylaştırmaktadır.



Şekil 2. 13 İlaçların hidrofobikliğine (bir “ilaç molekülü” üzerindeki siyah renk hidrofobik alanı beyaz hidrofilik alanı gösterir) bağlı olarak bir misel ile ilacın birleşmesinin olası modelleri. Tamamen suda çözünür hidrofilik ilaç sadece misel korona bölmesinde adsorbe edilebilir (durum 1), tamamen çözünmeyen hidrofobik molekül ise sadece misel çekirdeği bölgesine dahil edilebilir (durum 5). Ara hidrofobik/hidrofilik orana sahip ilaç molekülleri misel parçacığında ara konumlara sahip olacaktır (durum 2’den 4’e) [103]

Termodinamik açıdan çözünürleştirme ilacın iki faz arasındaki normal bölümlere ayrılması olarak incelenebilir-miseler ve sulu ve çözünürlüğün standart serbest enerjisi (DG^0_s) ilgili bölme katsayısı ile aşağıdaki eşitlikle ifade edilebilir:

$$DG_s^0 = -RT \ln K \quad (2.1)$$

Çeşitli ilaç dozaj formlarının ısıtma, stabilite, biyoyararlanım gibi özelliklerini kontrol etmek için yaygın olarak kullanıldıklarından dolayı genel olarak surfaktanlar modern farmasötik biyoteknolojide önemli bir rol oynamaktadır. Yakın zamanda yaygın bir şekilde farmasötik formülasyonlar olarak kullanılan liyofobik kolloidlerin oluşumu için belirli bir enerji uygulanması gerektirdiğini, termodinamik bakış açısından oldukça kararsız olduğunu ve sıklıkla büyük topaklanmalar oluşturduğunu fark etmek önemlidir. Aynı zamanda belirli koşullar altında misel de dahil olmak üzere liyofilik kolloidler kendiliğinden oluşurlar (kendiliğinden oluşan sistemler olarak adlandırılırlar) ve termodinamik olarak hem ayrışma hem de agregasyona karşı daha kararlıdırlar. Buna göre “ideal” kendiliğinden birleşen ilaç salım sistemleri ilaç molekülleri, taşıyıcı bileşenleri ve hedefleme kısımlarından kendiliğinden oluşmalıdır; çeşitli dokulara ve hatta hücrelere nüfuz etme yeteneği sağlamak için boyutları yaklaşık 10 nm olmalıdır; in vivo olarak yeterince uzun süre stabil kalmalı ve herhangi bir biyolojik reaksiyona neden olmamalıdır; hedef dokular veya hücrelerle temas üzerine serbest ilacı bırakmalı ve en sonunda terapötik fonksiyon tamamlandığında taşıyıcının bileşenleri vücuttan kolaylıkla çıkarılmalıdır [103].

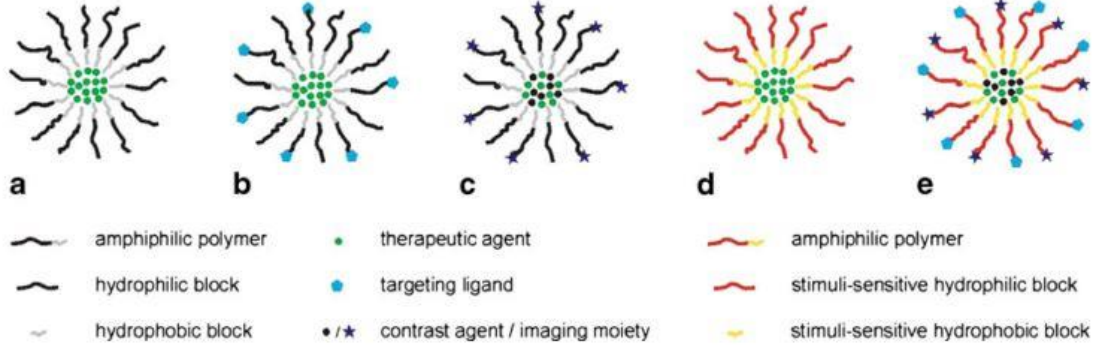
2.21.6 Polimerik Miseller

Polimerik miseller bir çekirdek ve kabuk yapısından oluşur; iç çekirdek sudaki az çözünen ilacı kapsülleyen blok kopolimerin hidrofobik kısmıdır, kopolimerin hidrofilik bloğunun dış kabuğu ya da koronası ilacı sulu ortamdan korur ve PM'leri retiküloendotelial sistem (RES) ile in vivo olarak tanımaya karşı stabilize eder. PM'lerle ilgili olan bu konuların hepsi onları anti-kanser ilaçlar ve tümör hedeflemesi için ideal taşıyıcılar yapar. PM'ler suda az çözünen ilaçlar, genler ve görüntüleme maddeleri için bir taşıyıcı olarak dikkat çekti. Aslında hidrofobik ajanların oral yolla verilmesinde de kullanılırlar.

PM'ler EPR etkisi olarak adlandırılan bir pasif hedefleme mekanizması ile tümör hedeflemesi için fizikokimyasal özellikler gibi birçok güçlü avantaja sahiptir. Tümörü ulaşamaz bölgelerde hedeflemek için ilaç bağırsak dışı yolla uygulanmalıdır ve plazmada ilaç taşıyan farmasötik ilaç taşıyıcıları biyolojik olarak parçalanabilirlik, küçük partikül boyutu, yüksek yükleme kapasitesi, uzun süreli dolaşım ve vücutta gerekli patolojik bölgedeki birikim gibi özelliklere sahip olmalıdır. Tüm bu özellikler PM'ler tarafından tatmin edici şekilde uygulanır.

Suda az çözünen hidrofobik ajanların zayıf absorpsiyon ve biyoyararlanım gibi terapötik uygulamalardaki problemlerle ve bunun yanı sıra damar tıkanıklığı gibi ilaç agregasyonuna bağlı komplikasyonlar ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Öte yandan zayıf su çözünürlüğü birçok ilaç özellikle de kanser ilaçlarıyla ilişkilidir. PM'ler sözü geçen ilaçların suda çözünürlüğünü umut verici bir şekilde 10 ile 5000 kat arttırmaktadır. Bununla birlikte ilacın bir hücre membranına nüfuz edebilmesi için yeterli hidrofobikliğe ve hedef reseptöre karşı yeterli afinite için hidrofobik gruplara sahip olması gerekir. Bu problemlerin üstesinden gelmek için PM'lerde suda az çözünen anti-kanser ilaçları kapsüllemeye amfifilik kopolimerler kullanılır. Bunlar ilacın tutuklandığı hidrofobik blok kopolimerden oluşan bir iç çekirdeğe ve ilaçları sabit tutan dış sulu ortam ile ilaçların etkileşimlerini azaltan hidrofilik blok kopolimer dış kabuğuna sahiptir. İlginç bir şekilde hidrofilik misel korona PM'yi daha uzun süre plazmada dengede tutar aynı zamanda opsonizasyonunu önler ve sonuçta RES'den kaçır [67].

Şekilde, kanser tedavisi için nanoboyutlu bir ilaç taşıyıcı sistem olarak miseller ve bunların tümör hedeflemesi, çoklu modalite görüntüleme ve tetiklenmiş salımdaki modifikasyonları görülmektedir (Şekil 2.14).



Şekil 2. 14 a. Polimerik miselin şematik çizimi, b. misel bir hedefleme ligandı ile konjuge edilmiş, c. birleştirilmiş kontrast ajan veya şelatlı görüntüleme parçaları içeren misel, d. tetiklenen ilaç salımı için modifiye misel, ya hidrofilik ya da hidrofobik polimer termo/pH/ışık/ultrason duyarlı hale getirilebilir, e. anti-kanser tedavisi için optimize edilen misel, hedefleme ligandları taşıyan, kontrast ajanlar veya görüntüleme parçaları, terapötik ilaçlar ve tetiklenmiş, kontrollü salım için uygun polimerler [110]

2.21.6.1 Polimerik Misel Türleri

Çekirdek kısmının sulu ortamdan ayrılmasını yöneten molekül içi kuvvetlerin türüne dayanarak polimerik miseller üç ana kategoride yani hidrofobik etkileşimlerle oluşan miseller, elektrostatik etkileşimlerden (poliion kompleks miselleri) oluşan miseller ve metal kompleks oluşturmalarından meydana gelen miseller olarak sınıflandırılabilir.

Geleneksel

Bu miseller sulu ortamda çekirdek kısmı ve korona bölgesi arasındaki hidrofobik etkileşimlerle oluşturulur.

Poliiyon Kompleks Miselleri

Polielektrolitler gibi iki karşıt yüklü kısım arasındaki elektrostatik etkileşimler de polimerik misellerin oluşmasına izin verir. Karşıt yüklü polimerler çözeltiye ilave edildiğinde bunlar miselin koronası içine nüfuz edebilir ve poliiyonik misel oluşturabilirler. Bu şekilde oluşan miseller poliiyon kompleks miselleri (PICM'ler) olarak adlandırılır. Elektrostatik kuvvetler ve etkileşimin van der Waals kuvveti yüklü misel koronalarının yapısını ve boyutunu kontrol eder. PICM'ler basit sentetik yol, sulu ortamda kolayca kendi kendine toplanma, yapısal kararlılık, yüksek ilaç yükleme kapasitesi ve kanda uzun süreli dolaşım gibi bazı benzersiz özelliklere sahiptir. Misellerin hazırlanması herhangi bir organik çözücü olmadan sulu ortamda gerçekleştirilmekte böylece artık organik çözücüler tarafından üretilen ilgili yan etkiler ortadan kaldırılmaktadır.

PICM'lerin çekirdeği hidrofobik bileşikler, hidrofilik bileşikler, metal kompleksleri ve yüklü makromoleküller gibi bir çok terapötik ajanı elektrostatik, hidrofobik, hidrojen bağ etkileşimleri yoluyla tutuklayabilir ve uygun tetikleyiciyi aldıktan sonra salabilir. Bu nedenlerden dolayı PICM'ler özellikle antisens oligonükleotidleri, DNA ve enzimler ile birlikte yüklü ilaçların salımı için büyük bir potansiyele sahiptir.

Kovalent Bağlı Olmayan Olarak Bağlanmış Polimerik Miseller

Polimerik misellerin hazırlanması için yeni bir "blok kopolimer içermeyen" teknik kullanılabilir. Burada polimerik miseller homopolimerin, rasgele kopolimerin, graft kopolimerin veya oligomerin kendi içlerinde birleştirilmesiyle elde edilir bunun için polimerler arası hidrojen bağ kompleksleşmesi itici güç olarak işlev görür. Çekirdek ve kabuk meydana gelen yapılarda H-bağlanması veya metal-ligand etkileşimleri gibi spesifik moleküllerarası etkileşimlerle homopolimer zincir ucunda kovalent olmayan şekilde bağlanır ve dolayısıyla bunlar kovalent bağlı olmayan olarak bağlanmış miseller olarak adlandırılır [66].

2.21.6.2 Polimerik Misellerin Yapısı ve Bileşimi

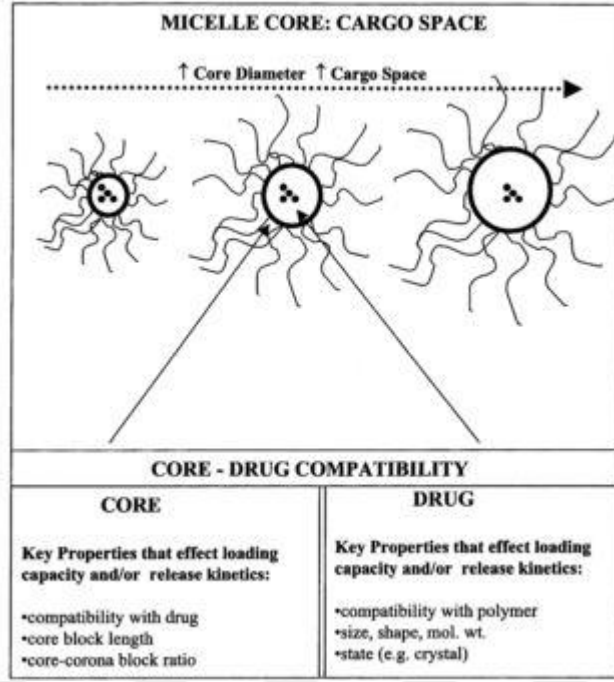
Misel Çekirdeği

Hidrofobik çekirdeğin bileşimi açısından uygun hidrofobik segmenti seçmede biyouyumluluk ve nontoksiklik ön şartlardır.

İlaç salımı için yaygın olarak kullanılan çekirdeği oluşturan hidrofobik polimerler aşağıdaki gruplara sınıflandırılabilir: Pluronic® olarak poli(propilen oksit) (PPO); poli(laktik asit) (PLA) ve poli(ϵ -kaprolakton) (PCL) gibi poli(esterler); Poli(L-lizin) gibi poli(L-amino asitler) ve fosfolipidler ve fosfatidil etanolamin gibi lipid türevleri [109].

Yükleme Kapasitesi

Misel çekirdeği çeşitli lipofilik ilaçlar için yük hacmi olarak işlev görür (Şekil 2.15).



Şekil 2. 15 Miselin hem yükleme kapasitesi hem de ilacın salım kinetiği üzerindeki en büyük etkiye sahip çekirdek ve ilacın özellikleri [105]

Blok kopolimer misellerin hem yükleme kapasitesini hem de yükleme verimliliğini etkileyen başlıca faktörlerin birçoğu; çözünen maddenin doğası, çekirdeği oluşturan bloğun doğası, çekirdek blok uzunluğu, toplam kopolimer molekül ağırlığı, çözünen madde konsantrasyonu ve daha az bir oranda koronanın doğası ve blok uzunluğudur. Birçok çalışma her şeyden önemli olan faktörün çözünen madde ile çekirdeği oluşturan blok arasındaki uyumluluk olduğunu gösterdi.

i. Çözünen ile Çekirdeği Oluşturan Blok Arasındaki Uyumluluk

Birçok çalışma çözünebilir maddenin özelliklerinin blok kopolimer miseller içerisine birleştirmenin büyüklüğüne etkisini araştırmıştır. Çözünebilir maddenin önemli özelliklerinden birkaçı: moleküler hacim, suya karşı arayüzey gerilimi, polarite, hidrofobiklik, yük ve iyonlaşma derecesi olarak belirlenmiştir.

Birleştirilen çözündürme miktarı çözünen maddenin moleküler hacminde bir artış ile azalır. Çözünen maddenin suya karşı arayüzey gerilimi ve blok kopolimer miseller içerisine birleştirmenin büyüklüğü arasında bir korelasyon da bulunmuştur. Aromatik hidrokarbonlar suya karşı daha düşük arayüzey gerilimlerinden ötürü alifatik hidrokarbonlara kıyasla daha büyük miktarda birleştirilir.

Polarite, hidrofobiklik, yük ve iyonlaşma derecesini içeren çözünen maddenin doğasının birleştirmeyi büyük ölçüde etkilediği bulunmuştur; bununla birlikte bu tamamen çekirdeği oluşturan bloğun doğasına bağlıdır. Birleşimi en verimli şekilde geliştirmek için kullanılabilen çözünen madde ve çekirdeği oluşturan blok arasındaki uyumluluktur. Polimer ile çözünen madde arasındaki uyumluluğu değerlendirmek için kullanılan bir parametre Flory-Huggins etkileşim parametresidir. Çözünme maddesi ve çekirdeği oluşturan blok arasındaki bu etkileşim parametresi (χ_{sp}) aşağıdaki denklemle tanımlanmıştır:

$$\chi_{sp} = (\delta_s - \delta_p)^2 \frac{V_s}{RT} \quad (2.2)$$

Burada χ_{sp} = çözünme maddesi ve çekirdeği oluşturan polimer blok (p) arasındaki etkileşim parametresi, δ_s = çözünme maddesinin Scatchard-Hildebrand çözünürlük parametresi, δ_p = çekirdeği oluşturan polimer bloğun Scatchard-Hildebrand çözünürlük parametresi ve V_s = çözünen maddenin molar hacmidir.

Etkileşim parametresinin (χ_{sp}) pozitif değeri ne kadar düşükse çözünme maddesi ve çekirdek oluşturuıcı blok arasındaki uyumluluk o kadar büyüktür. En yüksek uyumluluk derecesine $\delta_s = \delta_p$ olduğunda ulaşılabacaktır. Spesifik etkileşimler varsa örneğin iyonik etkileşimler χ 'in değeri negatif bile olabilir. Polimer ilaç etkileşimlerinin muhtemel karmaşıklığı çekirdeği oluşturan blok en uygun şekilde yüklenecek ilaç ile eşleştirildiğinde misel başına yüklenen ilacın en fazla miktarına ulaşabileceğini önermektedir. Her bir ilacın eşsiz olması gerçeğine bağlı olarak bu herhangi bir çekirdeği oluşturan bloğun tüm ilaçlar için maksimum yükleme düzeyine ulaşmasını sağlayacağını önermektedir. Bu nedenle herhangi bir misel sisteminin tüm ilaçlar için evrensel bir salım aracı olarak işlev göreceği olası değildir. Aynı şekilde herhangi bir ilacın tüm blok kopolimer misel sistemleri tarafından verimli bir şekilde salınacağı da olası değildir.

ii. İlaç Yüklemesini Etkileyen Diğer Faktörler

- **Çekirdeği Oluşturan Bloğun Uzunluğu**

Sabit bir hidrofilik blok uzunluğuna sahip olan bir kopolimer için çekirdeği oluşturan bloğun uzunluğundaki bir artışın misel ile dış ortam arasındaki çözünme maddesinin bölme katsayısını arttırdığı bulunmuştur.

Çekirdeği oluşturan bloğun uzunluğundaki bir artışın kritik misel konsantrasyonunu (CMC) düşürdüğü, aynı zamanda misel başına çekirdek boyutunda bir artışa neden olduğu ve bunun da misel başına artan yükleme kapasitesiyle sonuçlandığı bulunmuştur.

- **Koronayı Oluşturan Bloğun Uzunluğu**

Hidrofilik bloğun uzunluğunda önemli bir artış hem kritik misel konsantrasyonunu arttırabilir hem de topaklanma sayısını azaltabilir. CMC'deki artış miseller olarak az sayıda zincirin bulunmasına ve dolayısıyla ilaç yüklemesi için elverişli olmasına neden olacaktır. Misel formunda kopolimer zincirlerin daha küçük kesri daha küçük bir hidrofobik hacim olduğundan çözünme derecesini düşürür.

- **Koronayı Oluşturan Bloğun Doğası**

Eğer koronayı oluşturan blok ve ilaç arasındaki etkileşim olumlu ise sadece çok az olsa bile ilacın bir kısmı dış kabukta mevcut olabilir.

- **Kopolimer Konsantrasyonu**

Xing vd. teorik çalışmalarında çözünme kapasitesinin kopolimer konsantrasyonunda bir artış ile doyumluk seviyesine (maksimum yükleme seviyesine) yükseldiğini bulmuştur. Doyumluk seviyesine ulaşılan kopolimer konsantrasyonu çözünen madde ve çekirdeği oluşturan blok arasındaki etkileşimden büyük ölçüde etkilenir burada daha güçlü etkileşimler daha düşük polimer konsantrasyonlarında doyumluğa ulaşmayı mümkün kılar. Birçok çalışma çözünme derecesinin kopolimer konsantrasyonu ile arttığı ve çözünme derecesinin kopolimer konsantrasyonundan bağımsız olduğu iki çözünürleştirme modelinin bulunduğunu göstermektedir.

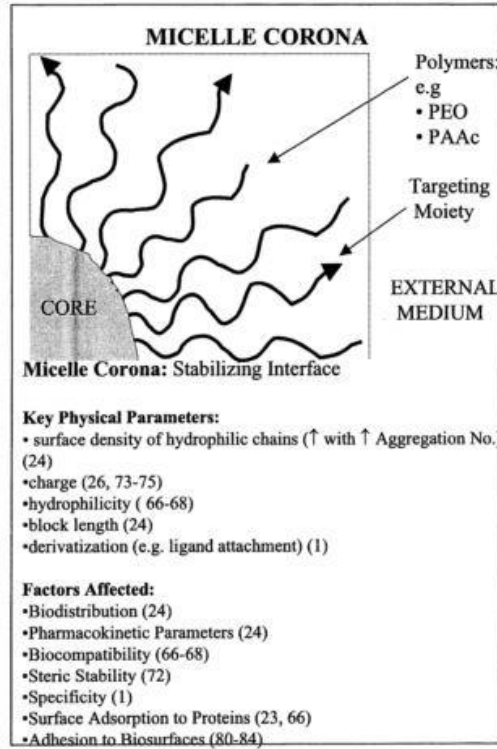
- **Çözünen Madde Konsantrasyonu**

Hidrofobik bir çözünme maddesinin mevcudiyetinin amfifilik kopolimer moleküllerinin toplanmasını arttırdığı bulunmuştur. Toplamanın çoğalması CMC değerini düşürür bu da çözeltide bulunan misel sayısının artmasına neden olur. Çözünen madde konsantrasyonunun arttırılmasının da daha büyük misellerin üretilmesine neden olan kopolimerin topaklanma sayısını arttırdığı bulunmuştur [105].

Polimerik Misellerin Kabuğu

Polimerik misel kabuğu amfifilik polimerin hidrofilik kısmından oluşur [109].

Misel kabuğu hidrofobik misel çekirdeği ve yabancı ortam arasında dengeleyici bir ara yüzey görevi görür (Şekil 2.16).

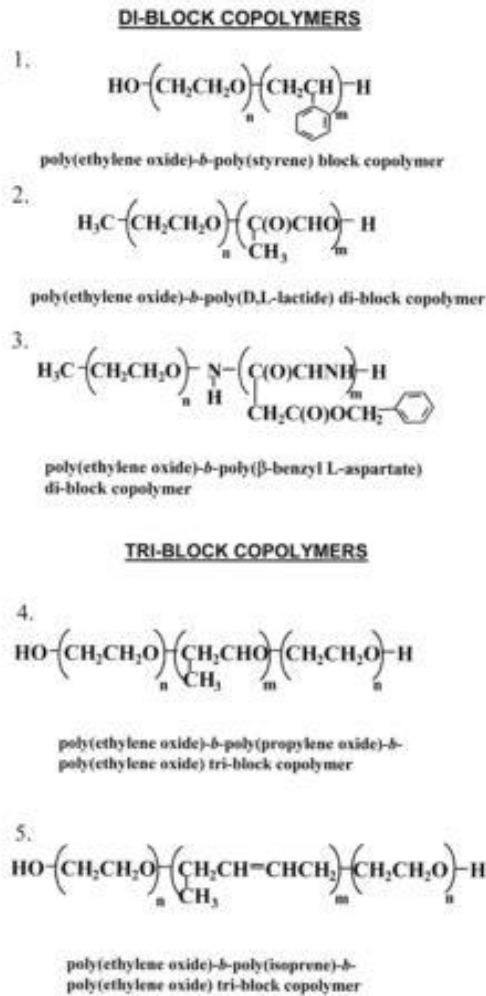


Şekil 2. 16 İlaç taşıyıcıları olarak misellerin yetenekleri açısından faktörleri ciddi etkileyen misel koronanın anahtar fiziksel özellikleri [105]

İncelenen hemen hemen tüm durumlarda poli(etilen glikol) (PEG) her zaman tercih edilen kabuk oluşturuucu polimerdir. Polimer misel ilaç salım sistemlerinde PEG'in kullanılmasının birkaç nedeni vardır. İlk olarak toksik değildir ve FDA tarafından ilaç ürünlerinde kullanım için halihazırda onaylanmış birkaç sentetik polimerden biridir. İkincisi sulu ortamda PEG yüksek derecede su ile birleşmiştir ve büyük bir çıkarma hacmini süpürmek için hızla hareket edebilir. Misellerde PEG yoğun, çekirdekten uzanan fırça benzeri bir kabuk oluşturur. Bu özellikler mononükleer fagositik sistem tarafından alım ve çıkarmayı destekleyen diğer misellerle (agregasyona yol açan) ve proteinlerle (opsonin) misel etkileşimini sınırlamak için etki yapar. Üçüncüsü PEG hedeflenen ilaç salımı için ligandları bağlamak için kolaylıkla işlevselleştirilebilir. Bu özel özellik hem etkinlik hem de güvenlik profilleri bakımından son derece fayda sağlayacak olan anti-kanser ajanları gibi son derece güçlü bileşiklerin salımında heyecan yaratmıştır. Yukarıda

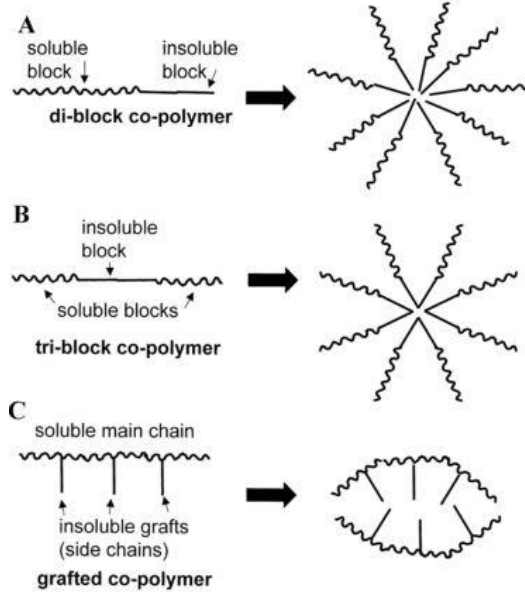
bahsedilen nedenlerin hepsi PEG'i içeren polimer miseller üzerine çok sayıda çalışmaya katkıda bulunur [109].

Hidrofilik bloklar olarak hem di-blok hem de triblok-kopolimerler sıklıkla poli(etilen oksit) veya PEO zincirleri (bu polimer ayrıca yaygın olarak poli-kDa olarak anılır; normal korona oluşturuç bloklardır ve etilen glikol veya PEG uzunluğundadır) içerir çünkü bu polimer biyolojik ortamda çeşitli mikroparçacıklar (örneğin: miseller, lipozomlar, nanoparçacıklar ve nanokapsüller) için etkili bir sterik koruyucusu olarak hizmet edebilir, oldukça hidratlaştırılmıştır, çok iyi çözünebilir. Di-blok kopolimerlerde PEG zincirleri basitçe çeşitli hidrofobik bloklarla konjuge edilirken, triblok kopolimerlerde hidrofilik veya hidrofobik bloğun her iki ucu ikinci bileşen ile birleştirilebilir. Farmasötik di ve triblok kopolimerlerin bazı yapıları Şekil 2.17'de sunulmuştur.



Şekil 2. 17 Misel oluşturan di-blok ve triblok kopolimerlerin bazı örnekleri [103]

Farklı blok kopolimerlerden oluşan misel tipleri Şekil 2.18'de gösterilmektedir.



Şekil 2. 18 Farklı amfifilik kopolimer tiplerinden misel oluşum mekanizmaları [103]

1 ile 15 kDa arasındaki bir molekül ağırlığına sahip PEG blokları normal korona oluşturan bloklardır ve hidrofobik çekirdeği oluşturan bloğun uzunluğu bir hidrofilik bloğunkine yakın veya biraz daha düşüktür. Korona blokları yapmak için bazı diğer hidrofilik polimerler kullanılsa da yine de PEG tercih edilen hidrofilik blok olarak aynen kalır. Misel koronası hidrofilik blokların yeterli yoğunluğunu ve kalınlığını sağlayan misel için etkili sterik bir koruma oluşturmalıdır. Daha genel anlamda misel korona; misel hidrofilikliğini, yükü, hidrofilik blokların uzunluğunu, bu blokların yüzey yoğunluğunu ve ileride misel türetilmesi için uygun reaktif grupların varlığını belirlemelidir [103].

Termodinamik ve Kinetik Kararlılık

Amfifilik polimerlerin kendiliğinden bir araya getirilmesinin arkasındaki en büyük itici güç hidrofobik kısımları sulu ortamdan uzaklaştırarak sistemin serbest enerjisini düşüren hidrofobik etkileşimlerdir. Unimerlerin (bir araya getirilmemiş amfifilik polimer molekülü) polimerik misellerde birleşmeye başladığı eşik değeri kritik misel konsantrasyonu (CMC) olarak adlandırılır. Sulu ortamda CMC'nin altında amfifilik moleküller ayrı ayrı bulunur, CMC üzerinde unimerler polimer miselleri ile dengede bulunur. Misel koloidal solüsyonlarını tanımlayan en iyi modellerden biri kapalı birleşme modelidir. Bu modelde her bir miselin n amfifilik unimerden (M) oluştuğu ve her bir miselin tek bir adımda oluştuğu varsayılır. Yani:



Bu yol için denge sabiti bu nedenle:

$$K_{micellation} = \frac{[M_n]}{[M]^n} \quad (2.4)$$

Yukarıdaki denklemden miselizasyon oranının unimer M konsantrasyonuna ciddi ölçüde bağlı olduğu kolayca görülür. Denklemden muhtemelen daha az açık ancak daha sezgisel olan durum K'nın sıcaklığa bağımlılığıdır. Sıcaklığın miselizasyon üzerindeki etkisi aşağıdaki denklemlerden türetilir, bu misel oluşumu ile bağlantılı standart serbest enerjiyi ΔG° tanımlar:

$$\Delta G^\circ = RT \ln(CMC) \quad (2.5)$$

Burada CMC mol kesri olarak ifade edilir, R gaz sabitidir ve T Kelvin cinsinden sıcaklıktır. Bundan dolayı:

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ \quad (2.6)$$

Burada ΔH° ve ΔS° sırasıyla standart entalpi ve entropi değişikliklerini temsil eder, birinci denklemden yerine koyulur ve $\ln(CMC)$ için çözülürse şu ifadeyi verecektir:

$$\ln(CMC) = \frac{\Delta H^\circ}{RT} - \frac{\Delta S^\circ}{R} \quad (2.7)$$

$\ln(CMC)$ $1/T$ 'ye karşılık çizilirse, ΔH° 'nin sıcaklıktan bağımsız olduğu varsayılarak eğimi $\Delta H^\circ/R$, kesimi $-\Delta S^\circ/R$ olan düz bir çizgi elde edilir. Pratik uygulama, sıcaklıkta artma CMC'yi düşürür, bu unimerlerin daha düşük konsantrasyonda oluşması için CMC'ye olanak verir. İlaç salımında uygulandığı gibi daha düşük bir CMC değerine sahip polimer misel ilaç salım sistemleri fizyolojik ortama dahil edildiğinde seyreltme yoluyla ayrışmaya daha fazla direnç anlamına gelir. CMC üzerinde sıcaklığın zıt etkisi negatif ΔH° li polimerler için söylenebilir burada artan T ile CMC artmaktadır.

Termodinamik kararlılığın yanı sıra kinetik kararlılık da ilaç salımı için birçok önemli çıkarıma sahiptir. Dengede polimerik miseller ayrışma ve farklı polimerik miseller arasındaki unimerlerin değişimi bakımından düzensiz kinetik kararlılık sergilerler. Polimerik misel bazlı ilaç salımı için sonuçlar şunlardır: (i) polimer misellerin hazırlanması ortam sıcaklığında suda doğrudan çözünerek bazı polimerler için mümkün olmayabilir ve (ii) kan bileşenleri miseller arasındaki değişimin büyüklüğünü modifiye

edebilir ve CMC'nin çok ötesinde uygulandıklarında bile polimerik misellerin ayrışmasına katkıda bulunabilir [109].

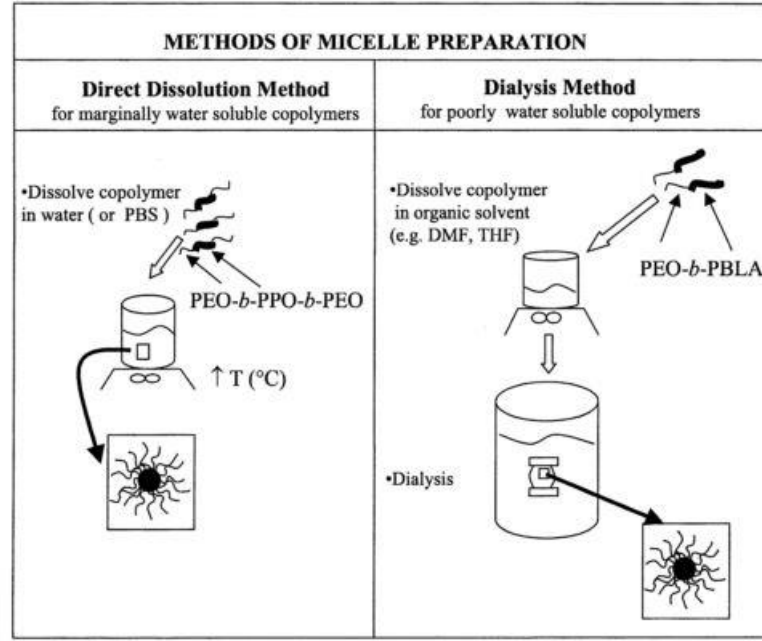
2.21.6.3 Polimerik Misellerin Oluşumu

Misellerin oluşumu iki ana aşamadan oluşur: istenen amfifilik blok kopolimerin sentezi ve çeşitli teknikler kullanılarak CMC'de misel haline dönüştürülmesi. Amfifilik blok kopolimerler suda az çözünen anti-kanser ilaçlarını kapsülleyen PM'leri oluşturmak için ilaç içeren sulu ortamda kendiliğinden bir araya gelirler ancak ilaç ve blok kopolimerler arasındaki basit denge daha büyük kapsülasyonla sonuçlanmayabilir.

Hem yüzey aktif madde hem de PM'lerin kendiliğinden birleşmesi yüzey aktif maddenin veya polimer konsantrasyonunun CMC olarak adlandırılan eşik konsantrasyonuna ulaştığında başlar. CMC'nin altında hava/su arayüzeyindeki amfifilik polimer sayısı konsantrasyon arttıkça artmaktadır, CMC'de hem hacim hem de ara yüzey monomerlerle doyurulur. Hem yüzey aktif madde hem de yüksek molekül ağırlıklı blok kopolimer için sıralı su moleküllerinin hacim sulu faza çıkarılması entropik olarak yönlendirilen misel birleşmesini meydana getirir. Kopolimerin hidrofobik bloğunun uzunluğu arttıkça CMC düşerken kopolimerin hidrofilik bloğunun uzunluğundaki değişikliklerin CMC üzerinde belirgin bir etkiye sahip olmadığı bulunmuştur [67].

2.21.6.4 Misel Hazırlama Yöntemleri ve Misel Morfolojisi

Şekil 2.19'da özetlendiği gibi blok kopolimer misellerin hazırlanması için iki temel yöntem: doğrudan çözündürme yöntemi ve diyaliz yöntemidir.



Şekil 2. 19 Blok kopolimer misellerin hazırlanması için kullanılan iki temel yöntemin şematik görünümü [105]

Hangi yöntemin kullanılacağına karar vermek çoğunlukla blok kopolimerin sudaki çözünürlüğüne bağlıdır. Eğer kopolimer suda çok az olarak çözünürse doğrudan çözündürme yöntemi kullanılır oysa kopolimer suda az çözünür ise genellikle diyaliz yöntemi kullanılır.

Doğrudan çözündürme basit bir şekilde kopolimerin suya veya fosfat tampon tuzu gibi başka bir sulu ortama ilave edilmesini içerir.

Diyaliz yöntemi misel suda kolayca çözünmeyen bir kopolimerden oluşturulduğu zaman sıklıkla kullanılır. Bu durumda kopolimer önce dimetilformamit, tetrahidrofur veya dimetilasetamid gibi su ile karışabilir ortak bir organik çözücü içerisinde çözülür. Kopolimer çözücü karışımı karıştırılır ve daha sonra damıtılmış suya karşı diyaliz edilir. Diyaliz işlemi sırasında misel oluşumu başlatılır ve organik çözücü uzaklaştırılır. Diyaliz yöntemi kullanılarak üretilen misellerin boyut ve boyut popülasyon dağılımı kullanılan organik çözücüye bağlı olarak değişebilir. Buna ek olarak elde edilen misellerin ağırlık kesrinin veya veriminin de organik çözücünün seçimi ile değiştiği bulunmuştur [105].

Genellikle misellerin çekirdek ve korona bölmeleri arasında net bir ayrımı bulunan küresel parçacıklar olduğu kabul edilir. Bununla birlikte blok kopolimer agregatları küreler, çubuklar, büyük bileşik çubuklar, dallı kısa çubuklar, süreksiz çubuklar, çeşitli kesecikler, tübüller, dallanmış tübüller, baroklinik tüpler, iğneler, büyük bileşik miselleri,

ince levha, altıgen şeklinde paketlenmiş oyuk halkalar, çeşitli karışık ve birleştirilmiş morfolojiler farklı morfolojide mevcut olabilir çemberler, kombine ve daha birçokları gibi birçok farklı morfolojilerde bulunabilir [103].

2.21.6.5 Polimerik Misellerin Hazırlanması ve İlaç Yükleme

Polimer sentezinden sonra polimerlerin çift fazlı sistemlerde kendi kendine birleştirilmesine ardından yoğun bir saflaştırmaya izin verilir, bunun için çeşitli teknikler kullanılabilir. İlaç yükleme; kimyasal konjugasyon veya fiziksel tutuklama ile yapılabilir [67].

Diyaliz Yöntemi

Diyaliz en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir [111]. Diyaliz yöntemi dimetilformamit gibi su ile karışabilir organik bir çözücü içerisinde polimer ve ilaç çözeltisine az miktarda suyun karıştırarak eklenmesini ardından bir kaç saat süreyle fazla miktarda suya karşı organik çözücünün uzaklaştırılması için bir diyaliz torbası kullanılarak diyaliz edilmesini içerir.

Su İçinde Yağ Emülsiyonu Çözücü Buharlaştırma Yöntemi

Polimer ile birlikte olan ilaç tetrahidrofuran, kloroform, aseton veya kloroform ve etanol gibi çözücülerin karışımı gibi su içinde karışmayan organik bir çözücü içerisinde çözündürülür ve bu çözelti iç organik faz ve sürekli sulu faz ile birlikte bir emülsiyon oluşturmak için kuvvetli karıştırma altında damıtılmış suya yavaş yavaş ilave edilir bu, polimeri yeniden düzenleyerek miseller oluşturur. Bazen sulu çözeltide polivinil alkol gibi yüzey aktif maddeler kullanılır. Bu emülsiyon daha sonra bütün organik çözücüyü buharlaştıracak şekilde karıştırılarak havaya açık tutulur.

Katı Dispersiyon Yöntemi

Bu yöntemde ilaç polimer ile birlikte organik çözücü içinde çözündürülür ve indirgenmiş basınç altında çözücünün buharlaştırılmasından sonra katı bir polimer matrisi elde edilir. İlaç yüklü PM'ler önceden ısıtılmış polimer matrisine su ilave edildikten sonra elde edilir.

Mikrofaz Ayırma Yöntemi

Bu yöntemde ilaç ve polimer (organik çözücü) tetrahidrofuran içerisinde çözündürülür ve çözelti manyetik karıştırma altında su içine damla damla ilave edilir. PM'ler kendiliğinden oluşur ve ilaçlar misellerin iç kısmında tutuklanır. Organik çözücü azaltılmış basınç altında uzaklaştırılır ve mavi renkli bir PM çözeltisi oluşur [67].

Çözücü Buharlaştırma Yöntemi

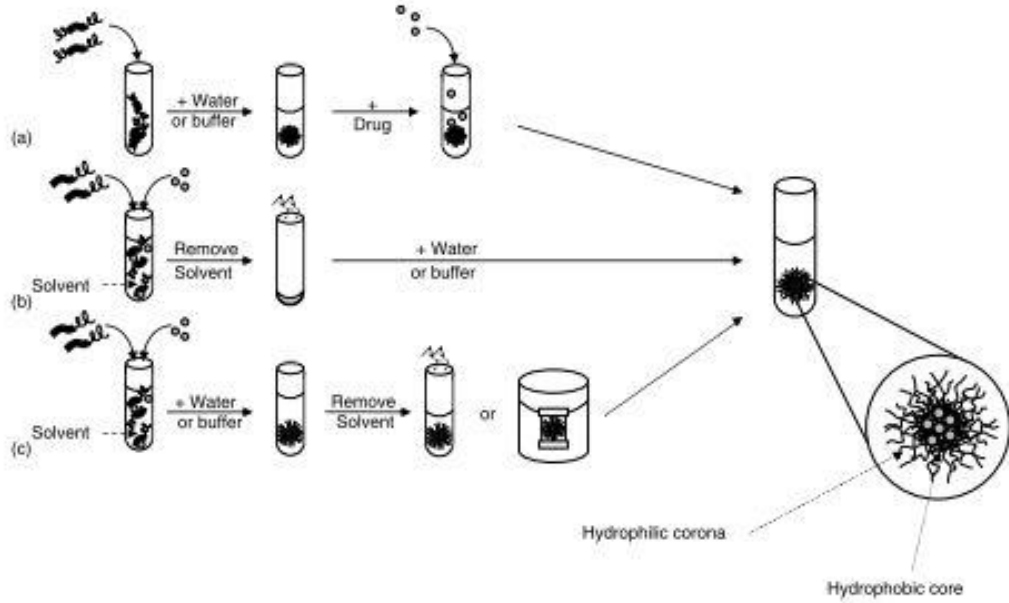
İlacın ve polimerin uçucu bir organik çözücü madde içinde dağılmasına ve çözücünün buharlaştırılmasına böylece ilaç emprenye edilmiş bir polimer filmin oluşumuna dayanır. Sulu faz ilave edildikten ve şiddetli çalkalandıktan sonra ilaç yüklü polimerik miseller oluşturulur. Misel oluşumundan sonra kapsül içine alınmamış ilaç diyaliz ile uzaklaştırılır.

Kosolvent Buharlaştırma Yöntemi

Kosolvent buharlaştırma yöntemi ortak uçucu suyla karışabilir bir organik çözücü (kosolvent) içinde ilaç ve polimer çözünmesine dayanır. Bu çözeltiye şiddetli çalkalama altında sulu faz eklemeyi organik faz buharlaştırma (veya organik çözücü/su azeotrop buharlaştırma) takip eder ve ilaç yüklü miseller oluşturulur. Bu teknik kapsüllenmemiş ilacın diyaliz yoluyla bertaraf edilmesini gerektirir.

Dondurarak Kurutma Yöntemi

Dondurarak kurutma yöntemi polimer ve ilacın tert-bütanol gibi dondurularak kurutulabilir organik bir çözücü içerisinde çözünmesine dayanır. Çözelti su ile karıştırılır, dondurularak kurutulur ve sulu ortam ile yeniden yapılandırılır. Kapsüllenmeyen ilacı uzaklaştırmak için diyaliz kullanılır [111]. Şekil 2.20'de ilaç yüklü blok kopolimer miselleri hazırlama teknikleri gösterilmektedir.



Şekil 2. 20 İlaç yüklü blok kopolimer miselleri hazırlama teknikleri: a. Kopolimerler ve ilaçlar doğrudan suda çözülür ve doğrudan çözünme yöntemi kullanılarak kendiliğinden ilaç yüklü miseller oluşturur, b. buharlaştırma yönteminde kopolimerler ve ilaçlar organik bir çözücü içinde çözülür, çözücü buharlaştırılır ve ilaç yüklü miseller sulu bir çözelti ilave edilerek oluşturulur, c. diyaliz yönteminde kopolimerler ve ilaçlar suyla karışabilen organik bir çözücü içerisinde çözülür, sonradan su ilavesi şişmiş çekirdekli misellerin oluşumunu başlatır, son olarak çözücü ilaç yüklü miselleri oluşturmak için buharlaştırma veya diyaliz yoluyla uzaklaştırılır, ilaç yüklü bir miselin yapısı da yukarıda gösterilmiştir [112]

2.21.6.6 Vücuttaki Polimerik Misellerin Geleceği ve Polimerik Misellerin Farmakokinetiği

Kullanılan kopolimerlerin çoğu biyolojik olarak parçalanabilir ve biyolojik olarak uyumludur bu nedenle vücut bileşenleri ile herhangi bir uyumsuz tepki oluşturmadan spesifik bir süre sonra vücuttan kolayca uzaklaştırılırlar. Ancak PM'ler tümör bölgesinde birikmeden vücuttan çıkartılmama ve vücuttan atılmadan önce tümör bölgesinde ilacı saldıktan sonra hiçbir etki yaratmama özelliklerine sahip olmalıdır. Bunlar 42-50 kDa'dan daha büyük olmalı ve dolaşımda kalabilmek için 70.000 g/mol'den daha büyük bir molekül ağırlığına sahip olmalıdır. 70.000 g/mol'den daha büyük molekül ağırlığına sahip protein molekülleri glomerüler filtrasyon yoluyla bertaraf edilir ancak polimerik misellerin molekül ağırlığı 10^6 g/mol kadardır böbrekten tasfiyeyi önlerken amfifilik kopolimerler glomerüler filtrasyon için kesim sınırından daha düşük bir moleküler ağırlığa sahiptir ayrışma ile vücuttan çıkartılır. Dağılım hacmi ve kopolimerlerin vücuttan

çıkartılma oranı kopolimerin kandaki konsantrasyonunu etkiler ve CMC'nin altına düşebilir.

Uygulamadan sonra polimer-protein veya ilaç-protein etkileşimleri meydana gelebilir ve bu da ilacın salım oranındaki değişiklikleri beraberinde getirir. Bununla birlikte ilacın PM'ler ve sulu ortam içeren proteinler arasında bölünmesinin PM'lerin geleceğini in vivo daha iyi resmetmesi önerilir [67].

2.21.6.7 Polimerik Misellerin Karakterizasyonu

Misel Oluşumunun Mekanizmaları

Misel oluşumu iki kuvvetin sonucunda ortaya çıkar. Biri moleküllerin birleşmesine neden olan etkili bir kuvvet, diğeri itici bir kuvvet misellerin farklı makroskopik faza sınırsız büyümesini engellemektedir. Amfifilik kopolimerler hidrofilik veya hidrofobik polimer için seçici olan bir çözücüye bulunduğu kendiliğinden birleşirler.

Çok düşük konsantrasyonlarda polimerler sadece tek zincir halinde bulunurlar. Konsantrasyon kritik misel konsantrasyonu (CMC) olarak adlandırılan kritik bir değere ulaşana kadar arttıkça polimer zincirleri misel oluşturmak üzere polimerin seyreltildiği sulu ortam ile kopolimerin hidrofobik kısmının temas etmesini önleyecek şekilde birleşmeye başlarlar. CMC'de misel çekirdeğinin içinde önemli miktarda çözücü bulunabilir ve miseller daha yüksek konsantrasyonlarda oluşan misellerden daha büyük boyut sergileyen gevşek yığınlar olarak tanımlanmaktadır. Bu konsantrasyonlarda denge misel oluşumunu kolaylaştıracak, miseller düşük enerji durumu konfigürasyonunu benimseyecek ve geri kalan çözücü yavaş yavaş hidrofobik çekirdekten salınarak misel boyutunda bir azalmaya neden olacaktır. Yüksek CMC'ye sahip olan amfifiller sulu bir ortamda kararsız oldukları ve seyreltme ile kolaylıkla ayrıştığından ilaç hedefleme araçları olarak uygun olmayabilir [113].

Polimerik Misellerin CMC Değerlerinin Boya Çözünürleştirme Yöntemi ile Belirlenmesi

CMC'nin saptanması için boya çözünürleştirme yöntemi kullanılabilir burada 1,6-difenil-1,3,5-heksatrien veya piren gibi floresan propları kullanılabilir [67].

Piren, yüksek miktarda hidrofobik ve çevredeki ortamın polaritesine duyarlı yoğunlaştırılmış bir aromatik hidrokarbondur. CMC'nin altında piren yüksek kutupluluk ortamında su içerisinde çözülür. Miseller oluştuğunda piren bölmeleri misel çekirdek tarafından tercihen hidrofobik bölgeye doğru yönlendirilir ve böylece polar olmayan bir çevreye maruz kalır. Sonuç olarak floresan yoğunluğundaki bir artış, emisyon spektrumlarının titreşimsel ince yapısındaki bir değişiklik ve uyarma spektrumundaki (0,0) bandının kırmızı bir kayması gibi birçok değişiklik gözlemlenir. Görünür CMC; pirenin floresansının emisyon spektrumundaki I_1/I_3 oranının veya uyarılma spektrumundaki I_{333}/I_{338} oranının konsantrasyona karşı çiziminden elde edilebilir: eğimde büyük bir değişiklik miselleşmenin başlangıcını gösterir. I_1/I_3 oranı birinci ve üçüncü en yüksek enerji emisyon pikleri arasındaki yoğunluk oranıdır ve sabit bir uyarım dalga boyunda ve I_1 ve I_3 'e karşılık gelen değişken emisyon dalga boylarında ölçülür. Bazıları uyarımın dalga boyundan etkilendiğini ve hatalı bir CMC'ye neden olabileceği için I_1/I_3 oranının polaritenin değerlendirilmesi için ayrılması gerektiğini iddia eder. Böylece CMC; I_{333}/I_{338} oranı ile daha iyi belirlenebilir. Floresan teknikleriyle belirlenen CMC iki nedenden dolayı dikkatlice yorumlanmalıdır. İlk olarak pirenin konsantrasyonu son derece düşük tutulmalıdır (10^{-7} M) böylece eğimde bir değişiklik miselleşmenin gerçekleştiği şekilde tam olarak tespit edilebilir. İkincisi floresan spektrumundaki kademeli bir değişiklik bazen hidrofobik safsızlıkların varlığına veya probun münferit polimer zincirleri veya önmiseler yığınlar ile ilişkilendirilmesine bağlanabilir. Floresan problemlerinin anizotropisindeki değişiklikler de miselleşmenin başlangıcı ile ilişkilendirilmiştir.

Misel Çekirdeğinin İçsel Viskozitesi

Misel çekirdeğinin viskozitesi ilaç salımı gibi misellerin fiziksel kararlılığını etkileyebilir. Hidrofobik çekirdeğin içsel viskozitesi veya mikro viskozite bis(1-pirenil-metil)eter, 1,2-(1,1'-dipirenil)propan veya 1,6-difenil-1,3,5-heksatrien gibi floresan problemler kullanılarak belirlenebilir.

Polimerik Misellerin Kararlılığı

Polimerik misellerin tekli zincirlere ayrılması oranı ve plazma bileşenleri ile etkileşimi CMC ve misel boyutu kadar önemlidir. Bir kez enjekte edilen polimerik miseller ilacın etki alanına taşınması için yeterli bir süre boyunca bütünlüğünü korumalıdır [113].

Aşağıdaki genel düzenlilikler farklı blokların misel kararlılığındaki rolünü karakterize etmek için uygulanabilir: (a) belirli bir hidrofilik blok uzunluğunda hidrofobik bir bloğun uzunluğundaki artış CMC değerinde dikkate değer bir azalmaya ve misel kararlılığında artışa neden olur, (b) belirli bir hidrofobik blok uzunluğunda bir hidrofilik bloğun uzunluğundaki artış CMC değerinin sadece biraz yükselmesine neden olur, (c) verilen bir hidrofilik/hidrofobik orandaki unimerin moleküler ağırlığındaki artış CMC değerinde bir miktar azalmaya neden olur, (d) genel olarak triblok kopolimerler için CMC değeri aynı molekül ağırlığı ve hidrofilik/hidrofobik orandaki di-blok kopolimerlerden daha yüksektir [103].

Misel Yapısının Karakterizasyonu

Misel yapısının karakterizasyonu; boyut, boyut dağılımı, mikroyapı, çekirdeğin boyutu, misellerin toplanma sayısı ve misel yoğunluğu hakkında bilgi verir. PM'nin boyutu ve boyut dağılımı statik ve dinamik ışık saçılması (DLS) ile mikroskopik tekniklerle belirlenebilir.

Parçacık Boyutu Ölçümü-Statik ve Dinamik Işık Saçılımı

DLS ayrıca foton korelasyon spektroskopisi ve yarı-elastik ışık saçılımı olarak da adlandırılır. DLS'de bir lazer ışığı parçacığa brown hareketi ile vurduğunda parçacığın boyutu ile ilgili gelen ışığın dalga boyunda bir değişikliğe sebep olarak bir Doppler kayması meydana gelir. Böylece parçacık büyüklüğü ve boyut dağılımı analiz edilebilir. Bununla birlikte Stokes-Einstein denklemini kullanarak misellerin hidrodinamik yarıçapını verir. Statik ışık saçılımı numunenin parçacıkları tarafından saçılmış lazer ışığının zaman ortalamasının yoğunluğunun açısız bağımlılığını ölçer. Dedektör açısının bir fonksiyonu olarak saçılmış ışığın yoğunluğundaki değişiklikler parçacıkların boyutu ve yapısı hakkında bilgi verir, aynı zamanda misellerin toplanma sayısını ve her bir tekli polimer zincirinin yüzey alanını tespit eder. Küçük-açı nötron saçılımı miselin toplanma sayısı ve şeklini ölçmek için kullanılır.

Zeta Potansiyelinin Ölçümü

Zeta potansiyelinin ölçümü PM yüzeyindeki değişiklikler için hesaplanır ve bir elektrik alanındaki parçacıklar tarafından saçılan ışıktan kaynaklanan sinyaldeki salınımları fark

ederek belirlenir. Zeta potansiyeli; η çözelti viskozitesi ve ϵ dielektrik sabiti olmak üzere elektroforetik hareketlilikten (U) hesaplandı.

$$(\zeta), U = \epsilon \zeta / \eta \quad (2.8)$$

Morfolojik Değerlendirme

Mikroskopik teknik nanoparçacıkların morfolojisini ortaya koymaktadır. Geçirimli elektron mikroskopisi (TEM), taramalı elektron mikroskobu (SEM), atomik kuvvet mikroskopisi, konfokal mikroskopi ve diğerlerini içerir.

Elektroforetik Ölçümler

Elektroforez molekülleri yükleri ve büyüklükleri temelinde ayırır. Yüklü makro moleküller bir elektrik alana yerleştirildiğinde bir dizi jel boyunca göç ederler. Jel, büyüklüklerine ve yüklerine göre moleküllerin geçişini geciktirmek için bir elek görevi görür. Bu teknik PM'leri yüzey kapsamının kesin doğasına göre değerlendirir dolayısıyla in vivo temizleme ve biyolojik dağılımlarını bildirir. Bunun için izoelektrik odaklama ve iki boyutlu poliakrilamid jel elektroforezi gibi analitik araçlar kullanılır.

Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC)

Nanomiseller içindeki kristalliğin doğası ve çeşitlemesi camsı ve erime noktası sıcaklığı ve DSC'deki entalpileri ölçümü ile belirlenir. PM'lerin çekirdeğinin çeşitli durumları ve ilaç ile polimerler arasındaki etkileşimlerin derecesi DSC ile belirlenir.

Tamamlayıcı Aktivasyonu (CH50 Testi)

Bu test insan serum proteinlerinin (tamamlayıcı proteinler) miseller üzerindeki adsorpsiyonunun niceliğini belirtir. Tamamlayıcı sisteminin aktivasyonu opsonizasyon yoluyla gerçekleşir bunun aracılığıyla bağışıklık sistemi yabancı cisimcikleri bertaraf eder.

Nükleer Manyetik Rezonans

Nükleer manyetik rezonans PM'lerin üretilmesi için sentezlenen polimerlerin yapısını ve bileşimini ortaya çıkarmak için çoğunlukla kullanılır. Ayrıca polimerin ortalama molekül ağırlığını belirlemek için kullanılır.

Kromatografi

Buna boyut dışlama kromatografisi ve jel permeasyon kromatografisi (GPC) dahildir. GPC analitleri boyuta göre ayıran ayırma tekniği (boyut dışlama kromatografisi) polimerlere uygulandığında kullanılan bir terimdir. GPC analitlerin boyutuna veya hidrodinamik hacimlerine dayalı polimerleri ayırır. Yöntem farklı gözenek boyutlarının dağılımına sahip ve eleme eylemiyle bir polimer numunesinin moleküler hacimleriyle belirlenen fraksiyonlara ayrılmasını etkileyen, mekanik olarak kararlı yüksek çapraz bağlanmış jellerin kullanımına bağlıdır. Polimerlerin sayı ve ağırlık ortalama moleküler ağırlığı GPC ile belirlenir.

Optik Geçirgenlik Ölçümü ve Alt Kritik Çözelti Sıcaklığı (LCST) Belirlemesi

Polimer karışımlarında LCST polimer polimerizasyon derecesine, polidispersiteye ve dallanmaya bağlıdır. LCST kritik bir sıcaklıktır bunun altında bir karışım her oranda karışabilir. Burada optik geçirgenlik ölçümü polimerin LCST'sini belirleyebilir. Çeşitli sıcaklıklarda sulu polimer çözeltisinin optik geçirgenliği optik geçirgenlikteki değişimleri bilmek suretiyle termoduyarlı polimer üzerinde sıcaklığın etkisini bilmek için ultraviyole ışığı altında spesifik dalga boyunda ölçülmüştür.

Akış Sitometrisi Analizi

Akış sitometrisi tek bir dalga boyundaki bir ışık demetinin hidrodinamik olarak odaklanmış akış akımına yönlendirildiği mikroskopik parçacıkları saymak ve incelemek için kullanılan bir tekniktir. Akımın ışık demetinden geçtiği noktaya yönelik birkaç dedektör hedeflenmektedir. Burada ligand bağlı PM'ler için PM'lerin reseptörlere bağlanma kapasitesini değerlendirmelerinde özellikle uygulanır.

İn Vitro Sitotoksite Ölçümü

İn vitro sitotoksite testlerinin tahmini değeri toksik kimyasalların tüm hücreler için ortak olan hücrelerin temel işlevlerini etkilediği ve toksisitenin hücrel hasarı değerlendirerek ölçülebileceği fikrine dayanmaktadır. İn vitro sitotoksite analizlerinin geliştirilmesi çok sayıdaki bileşiğin potansiyel toksisitesini hızla değerlendirmenin gereği ile harekete geçirildi. İlaç yüklü PM'lerin in vitro sitotoksite ölçümü için farklı hücre türleri kullanılır [67].

Misel Sistemlerinin Dinamiği

Çözeltideki blok kopolimerlerinin dinamiği ile ilgili olarak bir taraftan misel sistemlerinde hibritleşme problemi yanı sıra misel dengesi unimerler ↔ miseller dinamiğine karşılık gelen miselizasyon kinetiği ve diğer taraftan misel çekirdeği ve koronası içindeki zincir dinamikleri düşünülmelidir [65].

2.21.6.8 Polimerik Misellerin Biyolojik Önemi

Biyodağılım

Polimerik miselleri ilaç aracı olarak kullanmanın temel amacı daha iyi terapötik etkinlik doğrultusunda vücut yönlendirmede ilaç düzenini ayarlamaktır. Başarılı bir ilaç hedeflemesi için polimerik taşıyıcıların uzun süreli kan dolaşımını sağlamasının başarılması birincil önem olabilir çünkü polimerik taşıyıcılar kan dolaşımı yoluyla hedef dokuya verilir ve ekstrasvazasyon işleminin genellikle yavaş ve pasif bir tarzda olduğu göz önünde bulundurulur. Bununla birlikte polimerik taşıyıcıların uzun süre dolaşımı için böbrekler tarafından glomerüler boşaltım ve karaciğer, dalak ve akciğerde bulunan retiküloendotelyal sistem (RES) tarafından tanınması gibi çeşitli engeller bulunmaktadır. Öte yandan 200 nm'den daha küçük bir boyuta sahip olan polimerik taşıyıcıların yanı sıra mükemmel bir biyoyumluluk sağlamaları ile RES tanıma işlemi önlenabilir. Biyolojik olarak uyumlu olmayan nanoparçacıkların tamamlayıcı aktifleştirme yoluyla RES tarafından tanınması, ardından dolaşımdan uzaklaştırılması bununla birlikte PEG gibi hidrofilik ve biyoyumlu polimerler ile nanoparçacıkların yüzey modifikasyonunun RES tanımayı bozabildiği hatta önleyebildiği bilinmektedir.

Polimerik miseller önemli bir biçimde düşük (10^{-6} - 10^{-7} M) C.A.C. değerlerine sahiptir bu, yüzey aktif maddelerden 1000 kat daha düşüktür ve çözünmeleri kinetik olarak yavaştır. Bu özellik misellerin hedef dokularda birikene kadar kan dolaşımında dolaşımını sağlar. Bundan başka kurucu blok kopolimerlerin moleküler ağırlığının glomerüler filtrasyon eşiğinden düşük olması nedeniyle en sonunda idrar içine atılabileceği ortaya çıkmış ve bu da vücutta düşük riskli kronik birikim ile polimerik misellerin güvenliğini göstermiştir.

Katı Tümörlerde Birikim

Uzun devridaimli polimerik taşıyıcıların katı tümörlerde tercihli olarak ve etkili bir şekilde birikebileceği ispat edilmiştir. Bu fenomen dolaşımdaki makromoleküllere mikrovasküler aşırı geçirgenlikle ve katı tümörlerde bozulmuş lenfatik süzülme ile açıklanır ve "Arttırılmış Geçirgenlik ve Alıkonma Etkisi (EPR)" olarak adlandırılır.

Bugüne kadar muhtemelen yukarıda belirtilen EPR etkisinden dolayı polimerik taşıyıcıların çeşitli tümör türlerinde biriktiğine dair kesin kanıtlar vardır. EPR etkisi malign tümörlerde evrensel olarak gözlemlenen bir olay olarak gözükmektedir. Gerçekten polimerik misel nanotaşıyıcıların katı tümörlerde artmış birikim sergilediği gösterilmiştir [114].

2.21.6.9 İlaç Tutuklama Yolları: Kimyasal Konjugasyon ve Fiziksel Tutuklama

İlaçlar hem kimyasal konjugasyon hem de fiziksel tutuklama yoluyla polimerik misellerin iç çekirdeğine dahil edilmiştir. Birçok ilaç molekülü hidrofobik bir parçaya (suda çözünen ilaçlarda bile) sahip olduğundan ve kimyasal konjugasyon için gerekli olan fonksiyonel grupların fiziksel tutuklama için gerekli olmadığından dolayı fiziksel tutuklama kullanan hidrofobik etkileşimler birçok ilaca uygulanabilir.

Kimyasal konjugasyon için bir kimyasal bağın bölünmesiyle ilaç salınması önemli bir konudur. Bu bölünme için ortak bir reaksiyon hidrolizdir. İç çekirdeğin hem dış kabuk hem de dış ortamdan faz ayrımı sayesinde ilacın su moleküllerine, hidrojen iyonlarına, hidroksil iyonlarına ve hidrolitik enzimlere erişimi önemli ölçüde engellenir. Bu nedenle bölünme oranının geleneksel polimer-ilaç konjugatlarına göre çok daha düşük olması beklenir. Dolayısıyla misel oluşumu için iç çekirdek birleşmesine bağlı ilaç hidrofobikliği katkıda bulunursa misel yapıları bir ilacın hızlı bir şekilde salımı için kullanılabilir. İlaç molekülleri salındıkça iç çekirdek hidrofobikliğinde bir azalma nedeniyle ilaç salımı hızlandırılabilir.

Fiziksel olarak tutuklanan bir sistemde salım sistemleri tüm vücudun dağılımını ve hücre içi dağılımını değiştirse bile sadece salınan ilaçların farmakolojik aktiviteyi ifade etmeleri beklenir. Kimyasal konjugasyon durumunda bir ilaç hem salınan hem de konjuge bir biçimde aktivite gösterebilir. Konjuge form etkinliği ifade edebiliyorsa P-glikoprotein polimer-ilaç konjugatlarını hücrelerin dış yüzeylerine atması beklenmediğinden P-glikoprotein tarafından uyarılan çoklu ilaç direncinin üstesinden gelebilirler [106].

2.21.6.10 Kontrollü İlaç Salımı

Amfifilik blok kopolimer miselini kullanan kontrollü ilaç salımı tıbbi teknolojiye en hızlı gelişen alanlardan biridir. En ilgi çekici özellik hidrofobik çekirdeğidir ve normal olarak formüle edilmesi zordur, hidrofob katkı maddeleri almak için nispeten büyük bir kapasiteye sahiptir. Hidrofilik PEO içeren polimerin opsonizasyonu ve retiküloendotelial sistemin (RES) makrofajları tarafından daha sonra tanınmasını önlediği bunun misellerin daha uzun süre dolaşımına ve ilaçların istenen bölgelere daha etkili bir şekilde iletilmesine olanak sağladığı gösterildi. İlaç salım sistemi olarak blok kopolimerin büyük ilgi alanı performansı optimize etmek için blok kopolimerin kimyasal doğasını ve moleküler özelliklerini (moleküler ağırlık, bileşim, aktif hedefleme için fonksiyonel grup) ayarlayabilmesidir [47].

Polimerik Misellerden İlacın Salımı ve Polimerik Misellerin Hücresel Alımı

Kimyasal olarak konjuge edilmiş ilaçta salım polimer matrisinin yığın bozunması veya yüzey erozyonu ile gerçekleşirken fiziksel olarak tutuklanan ilaç için ilaç salımında difüzyon temel olaydır. İlaç salımını etkileyen diğer faktörler; bölme katsayısı, yüklenen ilacın miktarı, polimerin çekirdeği oluşturan bölümünün uzunluğu, çekirdekte çapraz bağlanmanın varlığı ve miktarıdır [67]. İlaç salımı için polimerik misellerin anahtar fizikokimyasal değerlendirmelerinde nanoskopik boyutlar, salım kinetiği ve ilaç çökmesine karşı fiziksel kararlılık yer alır [115].

Yüzey modifiye PM'ler yerine ulaştıktan sonra ilaçlarını belirli bir bölgede salırlar örneğin folat ile konjuge PM'ler ilacın hücrede serbest bırakılması için reseptör aracılı endositoza uğrar. Reseptör aracılı endositozu takip eden reseptör-ligand çiftleri transferrin reseptör-transferrin ve folat reseptör-folik asittir [67].

Blok Kopolimer Misellerden İlaç Salımı

İn Vitro İlaç Salım Kinetiği

Genellikle profil ilk birkaç saat boyunca ortaya çıkan ve daha önce belirtildiği gibi çekirdek-korona arayüzeyinde veya korona içerisinde bulunan ilacın bölümüne katkıda bulunan bir patlama salım fazı içerir [116]. Çoğu durumda patlama salımından sonra genellikle daha uzun bir süre (genellikle günler ile aylarca) süren daha yavaş ve daha uygun bir salım gözlenir [117].

Bugüne kadar fiziksel olarak tutuklanmış ilacın misellerden salımı için genel mekanizma tam olarak aydınlatılamamıştır. Yine de çoğu polimer esaslı nano boyutlu salım sisteminde olduğu gibi difüzyon ve polimer bozunmasının ilaç salımının ana mekanizmaları olduğu varsayılmıştır. Salım sistemi kararlıysa ve ilgi süresi boyunca dokunulmadan kalması durumunda sadece difüzyon ve bozunmanın ilaç salım hızını kontrol ettiği düşünülmektedir. Blok kopolimer misellerin kararlılığı hem termodinamik hem de kinetik bileşenlere bağlıdır.

Blok kopolimer miseller için ilacın difüzyonu ilaç salımında baskın mekanizma olarak düşünülebilir. İlacın bir polimer matrisindeki difüzyonu Fick'in birinci yasasıyla açıklanabilir. Özellikle Eşitlik 2.9'da gösterildiği gibi belirli bir alanı kaplayan diyalizat miktarı konsantrasyon için uzaysal gradyan ve diyalizatın difüzyon katsayısı ile orantılıdır.

$$\frac{dM_t}{dt} = \frac{ADC_{sm}}{x} \quad (2.9)$$

Burada M_t t zamanında salınan ilaç miktarı, A misellerin toplam yüzey alanı, D ilacın difüzyon katsayısı ve C_{sm} polimer çekirdeğinde ilacın çözünürlüğüdür.

Bir ilacın difüzyon katsayısı ilacın belirli bir sistemden salımını göstermek için bir araç olarak yaygın bir şekilde elde edilir. Difüzyon katsayısı doğrudan veya dolaylı yöntemlerle elde edilebilir. Polimer matrislerindeki küçük moleküller için difüzyon katsayısının doğrudan belirlenmesinde permeasyon yöntemi, sorpsiyon ve desorpsiyon yöntemleri gibi çeşitli yöntemler oluşturulmuştur. Difüzyon katsayılarının doğrudan ölçümünün daha az varsayım yapıldığı için dolaylı yöntemler kullanılarak belirlenenden daha doğru olduğu düşünülür. Bununla birlikte blok kopolimer misel sistemlerinde ilaçlar gibi küçük moleküller için difüzyon katsayılarının doğrudan belirlenmesi parçacıkların küçük boyutu ve çoğu saptama yönteminin sınırlı hassasiyeti nedeniyle zorlayıcıdır. Matematiksel modeller difüzyon katsayısının ölçülmesinde dolaylı bir araç olarak kullanılabilir. Farklı misel sistemlerinde ilaçlar için difüzyon katsayılarının elde edilmesinde in vitro ilaç salım deneylerinden elde edilen deneysel verileri uydurmak için çeşitli modeller kullanılır.

Belli bir ilacın bir misel sistemine girip çıkma oranı kapsamlı olarak incelenmiş ve çok çeşitli faktörler tarafından belirlendiği gösterilmiştir.

i. Misel Çekirdeğinin Özelliklerinin İlaç Salımına Etkisi

Hidrofobiklik derecesi ayrıca misel çekirdeğinin boyutu ve durumu gibi özellikler misellerden ilaç salım oranı üzerinde önemli bir etkiye sahiptir.

• Çekirdeği Oluşturan Bloğun Moleküler Ağırlığı ve Hidrofobiklik Derecesi

Yüklenen ajanların salım hızının hidrofobik bloğun moleküler ağırlığında veya misel çekirdeğinin boyutunda bir artış ile azaldığı bulunmuştur [116]. Bununla birlikte çekirdek-korona arayüzünde veya dış kabuğunda bulunan ilaçların salımı çekirdeğe doğru nüfuz etmek zorunda değildir ve dolayısıyla çekirdeğin yarıçapı veya çekirdeği oluşturan bloğun uzunluğu tarafından etkilenmez [105].

Çekirdeğin doğası ilacın miselden salım oranını da etkiler. Çekirdeğin hidrofobikliği ve/veya polaritesi sulu ortama geçirgenliğini belirleyecektir. Sıvının çekirdeğe girişi veya nüfuz etmesi ilacın misellerden difüzyonunu kolaylaştırmak için etki gösterebilir. Bu şekilde daha kutupsal veya hidrofilik olan çekirdeği oluşturan bloklardan oluşan misellerin akışkan girişine ve sonuç olarak hızlandırılmış ilaç salımına izin veren daha açık bir yapıya sahip olduğu düşünülür.

• Misel Çekirdeğinin Fiziksel Durumu

Misel çekirdeğinin durumu çekirdeği oluşturan bloğun camsı geçiş ve erime (eğer varsa) sıcaklığı ile polimer omurgasında büyük grupların bulunmasıyla belirlenecektir. Bir ilacın bir matristeki difüzyon katsayısı matrisin sertliği veya esnekliğinden etkilenir. Nispeten sert omurgalı polimerler ve yerel serbest hareket etmenin düşük derecesi uygulanan büyük yeniden oryantasyonda daha fazla zorluğa sahiptir. Çalışmalar polimer omurgasının sertliğinde bir artışın küçük molekül için difüzyon katsayısında belirgin bir azalmaya neden olduğunu göstermiştir [116]. Daha hidrofilik polimerlerden oluşan misel çekirdekleri önemli miktarda su içerebilir. Bu nitelikteki çekirdeklerden ilaçların salımının hızla devam ettiği tespit edildi [105].

ii. İlaç Özelliklerinin İlaç Salımına Etkisi

• İlacın Molekül Ağırlığı ve Molekül Hacmi

Küçük moleküllerin veya ilaçların bir polimer matrisinde difüzyonu diyalizatın moleküler ağırlığına ve moleküler hacmine duyarlıdır. Bu, diyalizatın molekül ağırlığındaki bir artış ile molekülün bir yerden diğerine geçmesine izin vermek için daha fazla polimer segmentinin yeniden yön verilmesi gerçeğine bağlıdır. Buna izin verecek kadar büyük bir ortak hareket nispeten nadirdir ve molekül boyut olarak arttıkça olasılık da azalır.

• İlacın Kristallliği

Bir misel sisteminde kapsüllenmiş bir hidrofobik kristal ilaç için ilacın şu hallerde bulunabileceği varsayılmaktadır: moleküler olarak çözünmüş, kristal halde moleküler olarak dağıtılmış ve/veya polimerden tamamen faz ayrılmış olarak.

İlaç ve çekirdeği oluşturan blok arasında önemli bir etkileşim bulunmadığında ilaç çekirdekte moleküler olarak çözünürken salım hızı ilacın misellerden difüzyon hızıyla belirlenir. Bu durumda sistemden ilaç salım hızının nispeten hızlı olduğu bulunmuştur. Buna karşılık eğer ilaç kristal halde ve/veya polimerden ayrılmış fazda moleküler olarak dağıtılmışsa salım hızı ilacın hem çözünme hem de difüzyon hızına bağlı olacaktır. Bazı sistemlerde çekirdekte kristal ilacın varlığının salım hızını düşürdüğü bulunmuştur.

İlacın misel çekirdeği içinde kristalleşmesinin ilaçla çekirdeği oluşturan blok arasındaki temas alanında bir düşüşe neden olabileceğini farkında olmak önemlidir. Bu şekilde ilacın kristalleştirilmesi ilaçla polimer çekirdeği arasındaki etkileşim derecesini önemli ölçüde azaltabilir. Bu nedenle ilaç ve çekirdeği oluşturan blok arasındaki etkileşimlerin yaygın olduğu bir sistemde ilacın kristalleşmesi ilaç salım hızında bir artışa neden olabilir.

• Yüklü İlacın Düzeyi

Genel olarak misellerden ilaç salım hızının yüklenen ilaç düzeyindeki bir artış ile azaldığı gözlemlenmiştir. Yüklenen ilacın miktarındaki bir artışın formülasyonun kararlılığı bozularsa ilaç salım hızının da artmasına neden olabileceği belirtilmelidir.

iii. İlaç Salımına Polimer-İlaç Uyumluluğunun Etkisi

İlaç ile çekirdeği oluşturan blok arasındaki karışabilirlik derecesinin misellerden ilacın salım hızını etkilediği bilinmektedir. İlaç ve çekirdeği oluşturan blok arasında yüksek oranda karışabilirlik varsa ilacın çekirdeğin içinde moleküler olarak çözünmesi muhtemeldir. Bu şekilde ilaç kristalin bir formda bulunmaz ve dolayısıyla ilacın misellerden difüzyon aracılı salımından önce çözünmeye ihtiyaç duyulmaz. Bu nedenle çekirdek boyunca homojen olarak dağılmış olan moleküler olarak çözünmüş ilacın misellerden daha çabuk salımı beklenebilir. Bununla birlikte ilacın salım profili üzerinde ilaç ve çekirdek arasındaki yüksek oranda karışabilirliğin gerçek etkisinin belirli çekirdek-ilaç çifti arasında mevcut etkileşimlerin kapsamı ve gücüne büyük ölçüde bağlı olduğu gözlenmektedir.

Genel olarak ilaç ile polimer matris arasındaki özel etkileşimlerin ilacın sistemden difüzyon katsayısını veya salım kinetiğini önemli ölçüde değiştirdiği bilinmektedir. Diyalizat ile polimer arasında etkileşim veya bağlanma mevcutsa difüzyon katsayısı aşağıdaki denklemle açıklanabilir:

$$D_A' = \frac{D_A}{k_b + 1} \quad (2.10)$$

burada D_A' diyalizat ve polimer arasındaki etkileşimi göz önüne alan görünür difüzyon katsayısıdır ve k_b bağlanma sabitidir. Eşitlik 2.10'a göre diyalizat ile polimer arasındaki etkileşim boyutundaki bir artış diyalizat için difüzyon katsayısında bir azalmaya neden olur. Bu şekilde etkileşimlerin kapsamı ve gücü ilacın sistemden salım profilinin ince ayarı için bir araç olarak kullanılabilir. Buna ek olarak güçlü etkileşimlerin varlığı ilacın verilmesinden sonra in vivo olarak ilacın tutulması için bir vasıta sağlayabilir.

İlaç Salımının İn Vitro Değerlendirilmesi

Misel formülasyonu in vivo değerlendirmeye ilerletilmeden önce tamamen optimize edilebilir.

i. Modifiye Diyaliz Metodu

Değişiklikler in vivo salım kinetiğini etkileyen faktörleri dikkate almak için dış ortamda bir değişikliği içerir.

ii. Bölme Yöntemi

Liu vd. ilacın farklı konsantrasyonlarda albumin içeren bir dış ortam ve miseller arasındaki bölünme davranışını inceledi. i.v. uygulamasını takiben miseller seyreltmeye tabi tutulur ve büyük miktarda proteine maruz bırakılır. Miseller kan dolaşımına dağıldığında her bir miselle temas halinde bulunan protein moleküllerinin sayısı artabilir.

iii. Multilameler Vezikül (MLV) Bazlı Yöntem

Shabbits vd. in vitro salım ve in vivo ilaç tutma arasındaki zayıf ilişkiyi çeşitli doku/organlarda bulunan biyolojik ilaç havuzları veya rezervuarlarının dikkate alınmamasına atfetmiştir. Bu nedenle ilaçların dağıtılabileceği "havuz" olarak multilameler veziküller (MLV) kullanan ilaç salımının değerlendirilmesi için in vitro bir analiz geliştirilmiştir. "MLV bazlı yöntem" kullanılarak elde edilen in vitro salım profilleri ve geleneksel diyaliz yöntemi bu formülasyon için in vivo ilaç salım profili ile karşılaştırılmıştır. MLV bazlı yöntem bu formülasyonun diyaliz yöntemi kullanılarak elde edilen sonuçlarıyla karşılaştırıldığında in vivo olarak ilaç tutma özelliklerinin çok daha doğru bir şekilde öngörüldüğü bulunmuştur.

Blok Kopolimer Misellerden İlaçların İn Vivo Salım Kinetiği

Misel salım sistemlerinin uygulamayı takiben çeşitli zorluklarla karşılaştığı öne sürülmüştür. İlk olarak özellikle yüzey yüklü veya hidrofobik olduğunda proteinlerin maruziyetin ilk birkaç dakikası içinde bir salım aracının yüzeyine adsorbe olabileceği gösterilmiştir. İlaç yüklü misellere adsorbe edilen protein dolayısıyla opsonizasyona neden olabilir ve hem taşıyıcının hem de kapsül içine alınmış ilacın retiküloendotelial sistem (RES) tarafından çabucak temizlenmesine yol açabilir. İkincisi eğer ilaç kan proteinleri için yüksek afiniteye sahipse protein bir rezervuar görevi görebilir ve ilacın misellerden salımını hızlandırabilir. Protein bağlı ilaç dolaşımdan taşıyıcı yüklü ilaçtan daha hızlı temizlenir.

i. İn Vivo İlaç Salımına Biyolojik Bileşenlerin Etkisi

Damar içinden uygulanan koloidal taşıyıcılar ve diğer ajanlar plazma lipoproteinleri ve proteinleri ve hücreleri ile temas ve/veya etkileşime girme şansına sahiptir. Her bir ilacın plazma dağılımı ilacın fiziksel ve kimyasal özellikleri ile aynı zamanda belirli proteinler

ve/veya lipoproteinlerin alt sınıfları için olan bileşiklerin afinitesi ile belirlendiğinden bileşiğe spesifiktir.

ii. Blok Kopolimer Misellerde Formülasyon Nedeniyle İlaçların Farmakokinetiğinde Değişiklik

Blok kopolimer misellerde uygulanan bir ilacın farmakokinetik parametrelerindeki değişiklik serbest ilaç ile karşılaştırıldığında in vivo olarak misellerden ilaç salım profilinin bir göstergesi olmaktadır [116].

2.21.6.11 İlaç Salımında Misellerin Uygulamaları

Suda Zayıf Çözünen İlaçların Çözündürülmesi

Nanomiseller hidrofobik ilaçları çözünür hale getirmek için umut verici taşıyıcılar olarak düşünülebilir. Nanomiseller amfifilik moleküller oldukları için hidrofobik çekirdek hidrofobik ilaçları alabilir ve koronanın oldukça hidrofilik olması berrak bir sulu çözelti üretir. Bu yaklaşım nanomisellerin lipofilik ilaçların çözünürlüğünü birkaç kat arttırdığını (10 ile 8400 kat) ispat etmiştir.

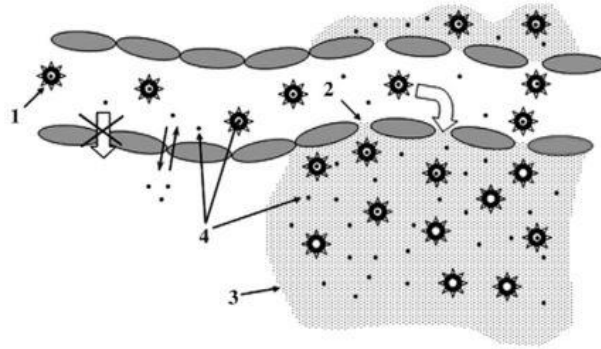
Hedeflenen Miseller

Pasif Hedeflendirme

Başlangıçta anti-kanser ilaçları terapötik bölgelere hedefleyen tek yolun reseptör aracılı hedefleme olduğu düşünülmektedir bu nedenle birçok araştırmacı PM'lere çeşitli ligandların bağlandığı tasarlanmış PM konjugatları geliştirmiştir. Bununla birlikte birçok yeni araştırma polimerle konjuge edilmiş ilaçların ve nanoparçacıkların kanda uzun süreli dolaşım ve bunu takiben hedeflenen ligandların yokluğunda bile tümörlerde pasif birikim göstererek pasif bir tutma mekanizmasının varlığını ortaya koyduğunu göstermiştir.

PM'lerin katı tümöre pasif hedeflenmesi EPR etkisi ile başarılabılır. Katı tümörlü dokularda patolojik, farmakolojik ve biyokimyasal çalışmalar katı tümörün genellikle hipervasküler yapı, eksik damar diziliş ve yayılımı mimarisi, damarla ilgili geçirgenlik faktörlerinin uyarıcı ekstrasvazyon salgılaması ve gelişmemiş lenfatik kılcal damarlar gibi patofizyolojik özelliklere sahip olduğunu göstermektedir. Tümör damar yayılımı çoğalan tümörlere oksijen ve besin sağlamak için gerekli hızlı damar oluşumundan

kaynaklı proliferatif endotelial hücrelerin yüksek oranına, artmış dolaşıklığa, perisit yetersizliğine ve anormal temel membran oluşumu özelliklerine sahiptir. Bu özellikler tümör kan damarlarını makromoleküllere geçirimli hale getirir. Ayrıca tümör lenfatik boşaltma sistemi gelişmemiş lenfatik kılcal damarların bir sonucu olarak etkili bir şekilde çalışmaz bu nedenle makromoleküller tümör interstisyumunda uzun süre seçime bağlı olarak tutulur. Bu nedenle sayısız çalışma EPR etkisinin katı tümörde makromoleküllerin ve nanoparçacıkların pasif bir şekilde birikmesine neden olduğunu, yan etkileri azaltırken terapötik indeksi arttırdığını gösterdi. Ayrıca insan tümörlerinin çoğunda damar dizilişinde ve yayılışında etkili gözenek boyutu çaplarının 200 ile 600 nm arasında değişmekte olduğu ve bunun da tümörlere pasif hedeflemeye olanak tanıdığı belirtilmiştir. Nitrik oksit, prostaglandinler, bradikinin ve bazik fibroblast büyüme faktörü gibi çeşitli faktörlerin tümör dokularında salımının ve damarsal geçirgenlik faktörü veya damarsal endotelial büyüme faktörü (VEGF) gibi genlerin aşırı ekspresyonunun tümör mikro damar dizilişinin ve yayılışının aşırı geçirgenliğine neden olduğu dikkate alınmıştır. Bununla birlikte tümördeki damarların geçirgenliğinin ilerleme, tümör tipi ve tümörün anatomik konumu sırasında değişkenlik gösterdiği halde kullanılan polimerin fiziko kimyasal özelliklerinin polimerik nanoparçacıkların ekstravazasyonlarını etkilediği dikkate alınabilir (Şekil 2.21).



Şekil 2. 21 Arttırılmış geçirgenlik ve alıkonma etkisi, uzun devridaimli polimerik miseller 1. sızıntılı patolojik damar dizilişine ve yayılışına nüfuz eder, 2. tümör striyatı arasında içine gider, 3. serbest ilacı salarak orada bozunur, 4. ve yüksek lokal konsantrasyonunu oluşturur, pasif hedefleme için miseller daha uzun süre kanda dolaşmalı ve büyüklüğü biyolojik geleceğini belirlemektedir böylece 5 nm ve 5-10 nm'den küçük PM'ler böbreğe ait glomerüller kanalıyla kolaylıkla yok edilirken 50-100 nm boyut aralığından daha büyük miseller karaciğer ve dalak tarafından uzaklaştırılır [67]

Aktif Hedeflendirme

Aktif hedefleme antijen-antikor bağlanması ya da sonikasyon veya ısıtma gibi lokal olarak uygulanan sinyaller gibi biyolojik olarak spesifik etkileşimler kullanarak ilaç salımının hedefe taşınmasını arttırmayı amaçlar. Burada taşıyıcı, ligand eşleşmesi veya tümör dokusunun biyolojik özelliklerine göre pH duyarlı bir kısım eklenmesi vasıtasıyla tasarlanabilir. Aktif hedefleme normal doku hücrelerinde düşük seviyelerde bulunan hücre yüzeyi tümör ilişkili antijenlerin aşırı ekspresyonunun yanı sıra tümör spesifik antijenlerinden ve tümörün (pH 7.0) normal dokuya (pH 7.4) oranla nispeten daha asidik doğası gibi tümör hücreleri tarafından gösterilen özelliklerden faydalanır. Hedef dokular üzerinde görüntülenen antijenler ile birlikte hedef bileşenleri arasındaki spesifik etkileşimler ilacın hedef dokuda seçici olarak birikmesine neden olur. Aktif hedefleme kötü yan etkileri azaltır çünkü ilaç sadece tümör bölgelerinde birikir ve ilacın hücrelerde endositoz yoluyla tutulmasına izin verir [67].

i. Ligand Aracılı Hedeflendirme

Polimerik misellerin ilaç salım potansiyeli hedefleyici ligandların misel yüzeyine diğer bir deyişle hidrofilik blokların suya maruz kalan ucuna bağlanmasıyla daha da artırılabilir [118]. PM'lerin veya diğer nanoparçacıkların monoklonal antikorlar (mAb'ler), folat, transferrin, luteinize edici hormonu salıverici hormon, epidermal büyüme faktörü (EGF) veya $\alpha 2$ - glikoprotein ile birleştirilmesini içerir.

• Polimerik İmmünomiseller

Yüzeye bağlı spesifik antikorlu immünomiseller olarak da adlandırılan miseller hedeflerin çeşitliliği ve etkileşimlerin spesifikliği açısından hedeflendirme için bir fırsat sağlar. Misel bağlı antikorlar onların antijenleriyle özel olarak etkileşime girme yeteneklerini sürdürürler. Son zamanlarda nükleozom-sınırlı özgünlüklü (mAb 2C5 aralarında olmak üzere) bazı hastalık yapmayan monoklonal antinükleer otoantikorların çok sayıda tümör yüzeyini tanıdığını ancak tümör hücreleri yüzey bağlı nükleozomlar yoluyla normal hücreleri tanımadığını gösterdi. Bu antikorlar çok çeşitli kanser hücrelerine bağlandığından dolayı ilaçların ve ilaç taşıyıcıların tümörlere taşınması için spesifik ligandlar olarak hizmet ederler. MAb 2C5 immünomisellerinin kanserli hücrelere in vitro bağlanmasının ölçümü için flüorışma mikroskopisi kullanılır.

- **Folat Aracılı İlaç Salımı**

Folat ligandları ile donatılmış olan miseller esas olarak ilacın hücre içi taşınması için kullanılır. Folatla donatılmış misellerin hücre içi taşınmasından sonra miseller tarafından taşınan ilaç da hücre içinde salınabilir bu problem pH'ı 5-6 olan endozomların hücre içi asidik bölümünde seçici ilaç salımını sağlayan PM'lerin pH duyarlılığı ile çözülür. Bu tür miseller hücrenin içine girdikten sonra farmakolojik olarak etkili olacak maddelerin salımında taşıyıcılar için çok önemlidir. Folat; kanser hücrelerinin yüzeyinde seçici olarak aşırı eksprese olan reseptörlere, folat bağlayıcı proteinlere yüksek afiniteye sahip bir ligand gibi davranmaktadır. Folat reseptörlerinin yüksek seviyeleri kolon, akciğer, prostat, yumurtalıklar, meme bezleri ve beyin gibi çeşitli organların epitel tümörleri üzerinde eksprese edilir. Böylece uygun bir tasarıma sahip folat konjugatları vücuttaki tümör hücrelerine yönlendirilebilir ve reseptör aracılı endositoz yoluyla hedef hücrelerde içselleştirilebilir. Ayrıca folat konjugatlarının kanser hücrelerinin çoklu ilaç dışarı akış pompalarından kaçtığı ve geri çevirim endozomlarında (pH 5-6) kaldığı veya sitoplazmaya sızdığı gösterilmiştir. Böyle özellikler ilacın hücre tarafından hücre içi alımını arttırmak ve lizozomal enzim hareketinin muhtemel yan etkilerini önlemek için önemli bir rol oynamaktadır. Folat yüklemesinin misellerin hücre alımını arttırdığını doğrulamak için akım sitometrik analizi hücrelere örnek maruz kalma süresini değiştirerek gerçekleştirildi.

- **Transferrin**

Transferrin tümör dokusunu hedeflemek için uygun bir ligand olarak da görev yapar çünkü transferrin için reseptörler malignite derecesi ile korelasyon içinde kanser hücreleri üzerinde aşırı eksprese edilir. Transferrin plazmada endojen demirin bağlandığı karaciğer tarafından sentezlenen 80 kDa'lık bir glikoproteindir. Transferrin yüzey reseptörleri ile etkileşimden sonra asidik bölmede endositoza maruz kalır. Asidik bir ortamda demir transferrinden ayrılır ve ayrışan transferrin hücrelerden salındıktan sonra geri çevrilir.

- **Luteinize Edici Hormonu Salıverici Hormon (LHRH)**

LHRH misellere konjugasyon için bir ligand olarak da kullanılır. LHRH reseptörleri sağlıklı insan hücrelerinin çoğunun yüzeyinde bulunur ancak yumurtalıkta ve bazı diğer kanser hücrelerinde aşırı eksprese edilir.

- **Epidermal Büyüme Faktörü**

EGF-bağılı PM'ler tümörlere hedeflemeye bir diğer yaklaşımdır. EGF nükleer yer değiştirme özelliklerine sahip bir ligandır.

- **α 2-Glikoprotein**

α 2-Glikoprotein-konjuge miseller kanserli hücreleri özellikle beyin gliyal hücrelerini hedeflemeye kullanılır.

- **Anjiyogenez Düzenleyiciler**

Kanser kemoterapisi için potansiyel olarak umut vadeden bir diğer hedef tümör anjiyogenezidir burada tümör damarsal kılcal damarların yenilenmesine maruz kalır. Hemen hemen tüm dokularda damarsal ağ önemli bir damar dizilişinin ve yayılışının yenilenmesi olmayan dengeli bir sistemdir özel durumlar; yumurtlama, embriyonik gelişim ve yara iyileşmesi vakalarıdır. Bununla birlikte kanser tümörleri 2 mm'den daha yüksek kritik bir hacme ulaştıktan sonra tümöre ait anjiyogeneze maruz kalır. Tümörler küçük olduklarında ve sağlıklı doku ile çevrelendiklerinde anjiyogenez geçirmezler çünkü besinler ve oksijen bunlara nüfuz edebilir. Bununla birlikte büyümenin belirli bir noktadan sonra besin maddeleri, oksijen ve büyüme faktörleri onlara ulaşmadığında tümör hücreleri daha fazla büyüme için kan akışını gerektirir bu nedenle tümör anjiyogenezi başlatır. Tümördeki anjiyogenez kanser tedavisinde önemli bir kontrol noktasıdır çünkü birçok araştırmacı tümörün anjiyogenez olmadan tümörün kritik bir boyutundan etkili şekilde büyüemeyeceğini ortaya koymuştur. Anjiyogenez uyarılmayı etkileyen faktörler ve kan damarı oluşumunun engellenmesi arasındaki kritik denge tarafından düzenlenir ancak oksijen yetmezliği kanserli hücreleri büyüme faktörleri gibi preanjiyogenik ajanları salmaya neden olduğu zaman denge anjiyogenez tarafına kayar. Ardından daha önceden beri varolan kan kılcal damarlarının endotelial hücreleri VEGF'ler, EGF ve anjiogenin gibi anjiyogenik ajanlara yanıt olarak farklılaşma, göçme ve çoğalmaya maruz kalırlar. Anjiyogenez birçok bileşen hücre türü, sitokinler, büyüme faktörleri, reseptörler, proteazlar ve adezyon molekülleri içeren karmaşık bir süreçtir. Tümör anjiyogenezi kanser kemoterapisinin ve aynı zamanda gen nanoparçacıklı tedavisinin potansiyel olarak umut verici bir hedefidir. Anjiyogeneziye yönelik kanser tedavisinde kullanılan ilaçlar oksijen ve besin maddelerinin kanser hücrelerine verilmesini durduracak olan anjiyogenik kan damarlarının büyümesini engelleyen ya da

uzaklaştıran kavrama dayanır. Kullanılan çeşitli yaklaşımlar endojen anjiyogenik faktörlerin engellenmesi ve farklılaşma, göçme ve çoğalma gibi endotel hücre prosesleridir. Rejenere kan damarları VEGF'ler için alıcıları aşırı yayarlar böylece mAb'leri VEGF reseptörlerine karşı kullanarak kanser tedavi edilebilir. Birçok araştırmacı kemoterapötik ajanların tümör yeni damarlanma bölgesine veya tümördeki çoğalma kılcal damarların engellemesi için tümöre hedefleme anjiyogenez engelleyici ilaçların hedefli tedavisini çalışmıştır.

PM'ler ilacı kanserli hücelere seçici olarak hedefleyebilen nanotaşıyıcılardan biridir. Ayrıca anti-kanser ilaçların çoğu suda az çözünür olduğundan PM'ler bu ilaçların tümörlere hedeflenmesinin yanı sıra taşınması için uygun ilaç taşıyıcılarıdır [67].

- **Tümör Hedeflendirme Peptitleri**

Tümör hedefleyen ligandların bir diğer yoğun incelenmiş sınıfı integrinleri tanıyan RGD içeren peptitlerdir çok çeşitli katı tümörlerin yanı sıra anjiyogenik tümör endotelial hücrelerinde aşırı üretilen reseptör protein ailesidir [119].

Uyarı Cevap Hedeflendirme

İdeal ilaç hedeflendirmesi için dolaşım sırasında miselden herhangi bir ilaç salımı olmamalıdır. İlaç ancak polimerik misellerin pH, özel enzim vb. bazı iç tetikleyiciler veya sıcaklık, ışık, ultrason veya manyetik alan içeren dış bir tetikleyici yoluyla hedeflenen dokuda birikmesinden sonra salınmalıdır [66].

İç Uyarılar

i. pH-Duyarlı Polimerik Miseller

Sağlıklı doku ile tümör dokusu arasındaki pH farklılıklarının yanı sıra endozomal ve lizozomal bölmelerdeki asidik ortam tetiklenen ilaç salımı için bir iç uyarıcı olarak kullanılabilir [110].

Normal doku pH'larından biraz daha düşük olan tümör hücre dışı pH'ı çoğu katı tümörlerin ayırt edici özelliğidir. Tümör hücre dışı pH'ı, invazif mikroeletrotlar ile ölçüldüğünde ortalama 7.0 değerinde olup ölçülen pH 5.7 ile 7.8 aralığındadır ancak pH değerlerinin çoğu pH 7.2'nin altındadır ve normal kan pH'ı pH 7.4'te sabit kalır. Tümörün

asidik ortamı pH duyarlı PM'ler gibi pH'ya hassas anti-kanser DDS'lerin gelişimi için temel oluşturur. Yaklaşık pH 7.0'lık bir faz geçişine sahip olan miseller tümör hedeflendirmesi için yararlıdır çünkü katı tümörlerin pH'ı yaklaşık 7.0'dır ancak hücre içi hedeflendirme için 5.0 ile 6.0 (endozomal-lizozomal pH) arasında değişen pH değerlerine yanıt veren miseller faydalıdır [67].

Dış Uyarılar

i. Termoduyarlı Polimerik Miseller

Çevrenin sıcaklık farkı CMC üzerinde bir etkiye sahip olabilir [120]. Tümörleri hedefleyen anti-kanser ilaçları yüksek ateşlilik ile tetiklenebilir. Bu yöntem uygulama kolaylığı ve kemoterapinin yan etkilerinin azalması nedeniyle klinik uygulamalarda önemli avantajlara sahiptir. Bu gibi hedeflendirme türleri için ilaçlar 37 ve 42°C arasında düşük kritik çözelti sıcaklığı (LCST) olan yerel ısıtıcı ile bölge-spesifik olarak ilaçları salmak için termoduyarlı polimer matrikse yüklenir. Bununla birlikte çoğu termoduyarlı maddenin LCST'si 37°C'nin altında olduğu için bu tür materyallere sahip PM'ler 37°C'lik normal bir vücut sıcaklığı ile insan vücuduna enjekte edildiğinde çökelir ve böylece termal hedeflendirme fonksiyonunu kaybeder.

ii. Sonikasyon

Tümöre ilaç hedeflendirmenin yeni bir yöntemi tümör alanında ultrason odaklama ile lokalize ilaç salımına dayanır burada ultrason yalnızca tümörün ısınması için deri yoluyla odaklanır. Bu uygulamada ultrason ilacın misellerden alımının yanı sıra membranın ayrıştırmasını tetikler ve dolayısıyla hem kapsüllenmiş hem de salınan ilacın hücresel alımını artırır. Bu yaklaşımda dönüştürücü deride su bazlı bir jel veya su tabakası ile temas halinde yerleştirilir ve ekleme veya ameliyat gerekmez. Kavitasyon eşiğinin üzerindeki ultrason uygulaması hücre sonolizine neden olur ancak misellerden ultrasonla uyarılmış ilaç salımı güç yoğunluğu eşiği olmaksızın devam eder bu nedenle bu süreç geçici kavitasyon gerektirmez. Bu fark güç yoğunlukları penceresini sağlar burada hücrelere herhangi bir mekanik hasar vermeden ultrason odaklama yoluyla misellerden etkili ilaç salımına erişilebilir. Bu nedenle bu pencere klinik uygulamada ultrasonla anti-kanser ilaç hedeflendirmek için faydalı olabilir. Ultrason ışınlaması tümör tedavisinde çoklu rol oynayabilir.

Ultrason termal etkileri başlatabilir, ilaç kapsüllü misellerin tümör içine ekstrasvazasyonunu arttırabilir, tümör interstisyumuyla ilaç difüzyonunu arttırabilir, tümör volümünde misellerden ilacı serbest bırakılabilir ve aynı zamanda ısınlama bölgesinde hem salınan hem de kapsüllenmiş ilacın hücre içi alımını arttırır tüm bu etkiler tümör hücrelerinde arttırılmış bir ilaç birikimi ile sonuçlanır. İlaç yüklü PM'ler ve tümörün ultrasonla ısınlanmasının kombinasyonu etkili tümör hedeflendirmesine ve tümör büyümesinin bastırılmasına neden olur. Bununla birlikte in vivo bir çalışma ultrasonun PM'leri katı tümörlere hedeflendirmedeğini ortaya koymuştur bunun yerine ultrason uygulamasından sonra tümörde geliştirilmiş ilaç birikimi pasif mekanizma yoluyla tümöre ilaç yüklü misellerin başlangıçta biriktirilmesini gerektirir [67].

iii. Ultrasonik Tümör Görüntülemeyi ve Kemoterapiyi Birleştirmek için Polimerik Miseller

Ultrason da dahil olmak üzere herhangi bir fiziksel uyarının terapötik uygulanması tedaviden önce tümör görüntülemeyi gerektirir. Tıpta ultrason daha önce tanı veya tedavi amaçlı olarak kullanılmıştır. Son on yılda tanı ve terapötik ultrasonun bir araya getirilmesi artan bir ilgi çekti ve birbirine bağlı enstrümantasyon piyasaya girdi. Bu alandaki ilerleme hedeflendirilmiş çok fonksiyonlu ultrason kontrast madde/ilaç taşıyıcı sistemleri geliştirerek önemli ölçüde hızlandırılabilir [111].

iv. Fotodinamik Hedeflendirme

Fotodinamik tedavide (PDT) hastalıklı bölgelerde ilacı etkinleştirmek için ışık kullanılır. Tümör alanı ilacı aktive eden belirli bir dalga boyu ışığına maruz bırakılır ve reaktif oksijen türlerinin üretimi veya diğer mekanizmalar yoluyla tümör hücrelerinin ve proksimal tümör damar dizilişinin ve yayılışının tahrip edilmesine yol açar. PDT ajanlarının tümör hücrelerini yok etmede etkili olabilmesi için ilacın toplanması gerekmez. Bununla birlikte sulu ortamda hidrofobik ışık duyarlılar toplanmaya yönelir ve bu da azalan potansiyele neden olur [112]. PM'ler polimerik moleküllerin nanoboyutlu suda dağılabilen kümeleridir ve bu nedenle PDT ilaçları için mükemmel nanotaşıyıcılardır [67].

v. Işık-Duyarlı Polimerik Miseller

Miselizasyon/misel bozunma süreçlerini kontrol etmek için bir dış uyarı olarak ışığın kullanımı yeni başlamış durumdadır. Işık altında ters miselizasyon/bozunmaya maruz kalan polimerik sistemlerin geliştirilmesi ilacın kapsüllenmesi ve salımının dış kontrolüne izin veren ilgi çekici bir fikirdir [111].

vi. Diğerleri

Enzim ve redoks cevap sistemlerini de içeren diğer uyarı-cevap nanomisel sistemleri incelenmiştir. Enzimlerin tümör hücrelerinde aşırı üretildiği bilinmektedir. Oksidatif ve indirgeyici enzim ifadeleri hücre içi ve hücre dışı ortamlar arasında değişir. Bu farklılıklar ilaçları hedefe ulaştırmak için nanomisel taşıyıcı geliştirilmesinde kullanılır [120].

Çok Fonksiyonlu Polimerik Miseller

Günümüzde misel bazlı anti-kanser tedavisinde artan ilgi hedefleyen ligandlar, görüntüleme ajanları veya tetiklenmiş salım ile ilgili üç özellikten en az ikisini içeren çok fonksiyonlu misellere verilmektedir. Aktif hedefleme ve tetiklenen salım birleştirildiğinde daha etkili ilaç salımı ile sonuçlanırken görüntüleme ajanları ve tetiklenen salım kombinasyonu vücutta misel takibine ve misel hedef alana ulaştığında komuta tetiklemeli salıma olanak vermektedir [110].

2.21.6.12 Polimerik Misellerin Farmasötik Alanda Kullanımları

Tıbbi Teşhis Amaçlı Görüntülemede Polimerik Miseller

Teşhis Görüntüleme ve Görüntüleme Yöntemleri

Her ne görüntüleme yöntemi kullanılırsa tıbbi teşhis görüntüleme çevre dokulardan bu alanı ayırt etmek için ilgilenilen bölgeden gelen ilgili sinyalin yeterli yoğunluğunu gerektirir. Genellikle çeşitli patolojilerin erken tespiti ve lokalizasyonu için farklı organların ve dokuların görüntülenmesi farklı görüntüleme prosedürlerinde uygun kontrast ajanlarının bulunmamasından dolayı başarıyla elde edilemez. Kontrast ajanlar her görüntüleme modeli için spesifiktir ve ilgili görüntüleme yerlerinde birikimlerinin bir sonucu olarak bu görüntüleme alanları uygun görüntüleme yöntemi uygulandığında kolaylıkla görselleştirilebilir.

Bir kontrast ajanın gerekli lokal konsantrasyonuna ulaşmak için kontrast ajanların seçici olarak istenen alanlara verimli bir şekilde verilmesinde mikro parçacıklı taşıyıcıların kullanılması doğal bir ilerlemedir.

Gama ve Manyetik Rezonans Görüntüleme için Tanılayıcı Ajanlarla Misellerin Yüklenebilirliği

Şelatlı paramanyetik metal kısımları (Gd, Mn veya Dy sulu iyonlar) MR pozitif (T1) kontrast madde tasarımında büyük ilgi sunmaktadır. Bu amaçla kontrast misellerin hazırlanması için farklı yollar kullanılmıştır. Aynı veya benzer şelatlar gama görüntüleme için ağır radyometaller (örneğin ¹¹¹In) ile misel yüklemek için kullanılabilir.

Misel Görüntüleme Ajanları ile İn Vivo Gama ve Manyetik Rezonans Görüntüleme

Boyutları ve yüzey özellikleri nedeniyle misel parçacıkları lenfatik yol boyunca enjeksiyon yerinden lenf akışıyla sistemik dolaşıma kolayca taşınabilir. Lenfatik yol ile hızla ilerleyebilirler. Sintigrafi veya MR görüntüleme için hızlı ve etkili lenfanjiografik ajanlar olarak görev yapabilirler.

Kan Havuzunun Bilgisayarlı Tomografiyle Görüntülenmesi için Tanılayıcı İyot İçeren Polimerik Miseller

Kan havuzu görüntülenmesi kontrast ajanların dolaşımının uzamasını gerektirir ve genellikle kontrast özellikli sterik olarak korunmuş polimer modifiye mikroparçacıkların kullanımına dayanır.

Bununla birlikte şu anda önerilen parçacık kontrast maddeler nispeten büyük parçacık boyutuna (0.25-3.5 mm) sahiptir ve fagositoz ile aktif olarak temizlenirler. Böylece dağılımı kan havuzuyla sınırlı olan bir madde hazırlamak için bazı basit özellikler yerine getirilmelidir: kılcal damarlardan (>10 nm) daha büyük bir boyut, fagositoza direnç ve parçacık içinde yapısal olarak tutuklanan radyoopak kısım.

2.21.6.13 İmmünolojide Miseller

İyonik olmayan blok kopolimerler immün yanıtın modülasyonu, yeni ve etkili aşılarda hazırlanması için immünolojik katkıları olarak kullanılmaktadır. Genellikle doğrusal triblok kopolimerler bu amaçla kullanılır [103].

2.21.6.14 Gen Terapisinde Polimerik Misellerin Kullanımı

Polimerik misellerin ilaç taşınmasında kullanıldığı bir diğer alan da gen terapisi [121]. PEG/poliamin blok kopolimerlerinin elektrostatik etkileşim yoluyla negatif yüklü DNA ile poliyon kompleksi (PIC) miselleri oluşturduğu ve PIC misellerinin 100 nm'den daha küçük bir boyuta sahip olduğu bildirildi. PIC miselleri sulu ortamda mükemmel çözünürlük, enzimatik bozunmaya karşı tolerans ve PIC çekirdeğini çevreleyen yüksek yoğunluklu PEG koronanın sterik stabilizasyonu nedeniyle hücre zarı ve serum bölmesi ile minimal etkileşim sergiledi. Bu nedenle PIC miselleri gen terapisi için viral olmayan vektörler olarak çok dikkat çekmektedir [106].

2.21.6.15 Ağız Yoluyla Verilen Polimerik Miseller

Polimerik miseller suda zayıf çözünen ilacın çözünürlüştürülmesi yoluyla biyoyararlanımı olumlu yönde etkileyebilir aksi takdirde sindirim yolunun sulu sıvıları içinde çökelecektir. Buna ek olarak ilacın polimerik miselin çekirdeği içine kapsüllenmesi dolaşımdan hızlı temizlenmeye karşı koruma sağlayabilir ve bu da emilim için mevcut ilaç miktarının azalmasına neden olabilir.

2.21.6.16 Anti-kanser İlaç Salımında Uygulamalar

Polimerik miseller birçok nedenden dolayı anti-kanser tedavisinde kullanım için muhtemelen kapsamlı şekilde araştırılmıştır. Bu nedenlerden biri anti-kanser ilaçların polimer miseller içine kapsüllenmesi ile ilaçların bozunumunun ve kaybının en aza indirilmesidir. Bir diğer neden polimer misel kabuğu normal hücrelere etki eden oldukça kuvvetli anti-kanser ajanlardan kaynaklanan zararlı yan etkilerin önlenmesinde özellikle yararlı olan PMDDS hücreye özgü etkileşimlerini arttırmak için spesifik ligandlar eklenerek değiştirilebilir [109].

Amfifilik blok kopolimerler sulu ortamda kendiliğinden çekirdek-kabuk tipi polimerik miselleri oluştururlar. Polimerik miseller hidrofobik bileşiklerin etkili bir nanotaşıyıcısı olarak çalışan katı benzeri bir iç çekirdeğe sahiptir. Misel çekirdeğini oluşturan blokların kimyasal yapıları ve özellikleri ilaç yükleme verimliliğini ve ilaç salım oranını önemli ölçüde etkiler. Gerçekten de amfoterisin B ve uzun zincirli yağ asidine (KRN5500) sahip spikamisin türevi gibi çok hidrofobik bileşiklerin yan zincirde yağlı asit esterleri olan PEG-b-P (Asp) türevlerinden polimerik misellere başarıyla tutuklandığı bildirilmiştir [114].

Son zamanlarda bir anti-kanser ilacı olan cisplatin taşıyan PEG-b-PGlu blok kopolimer miseller tümör taşıyan farelere uygulandığında serbest ilaca karşı uzatılmış dolaşım süreleri ve arttırılmış terapötik etkinlik göstermiştir. Sistem kan dolaşımında uzun süreli dolaşımı sağlamak için hem yeterli kararlılığı hem de EPR efekti yoluyla salım bölgesinde birikim üzerine yeterli ilaç salım kinetiğini birleştirir.

Polimerik miseller toksikliğin azalması ve geliştirilmiş biyouyumluluk açısından noniyonik, düşük molekül ağırlıklı yüzeyaktif maddelerin kullanılmasına umut verici alternatifler haline gelmiştir [122].

2.21.6.17 Tümör Hücreleriyle Anti-kanser İlaç Yüklü Misellerin Sitotoksitesi ve İn Vitro Alımı

Kovalent Olmayan DNA Bağlayıcı İlaçlar

Fiziksel olarak tutuklanan doksorubisin olsun veya olmasın PEO-b-P[Asp(DOX)] polimerik misellerin in vitro ilaç kararlılığını arttırdığı ve bovin serum albumine bağlanmasını azalttığı gösterilmiştir.

Kovalent DNA Bağlayıcı İlaçlar

Siklofosfamid polimerik misellere konjuge edilen ilk anti-kanser ilaçtır. İn vitro PEO-b-PLL-Palm-siklofosfamid L1210 lenfositik lösemi hücrelerinde siklofosfamid için bir hücre içi depo gibi davranır. En yüksek DNA çapraz bağlama dizisi sürdürülebilir siklofosfamidin salımını önererek siklofosfamid miselleri ve serbest ilaç ile inkübasyonundan sırasıyla 8 ve 4-5 saat sonra elde edildi.

Kromatin Fonksiyon İnhibitörleri

Topoizomeraz İnhibitörleri

Cortesi vd. polisorbata 80 ve/veya 85 veya poloksamer 407 misellerinde formüle edilmiş kamptotesinin serbest kamptotesin, lipozomlar veya mikroemülsiyonlar içindeki kamptotesine kıyasla K562 kronik miyeloid lösemi hücrelerinde biraz daha düşük sitotoksite sergilediğini göstermiştir.

Mikrotubulüs İnhibitörleri

1990'ların ortalarında PEO-b-PDLLA miselleri paklitaksel için taşıyıcılar olarak değerlendirildi. Bu formülasyonlar farklı kanser hücre hatları içinde paklitaksel kadar kuvvetlidir.

2.21.6.18 Anti-kanser İlaç Yüklü Misellerin Farmakokinetiği ve Biyolojik Dağılımı

Polimerik miseller içerisine tutuklanan ilaçlar serbest ilaçla karşılaştırıldığında tümörler içinde büyük çapta birikebilir ve ayrıca hedeflenmemiş alanlarda azalmış dağılım gösterir.

2.21.6.19 Anti-kanser İlaç Yüklü Misellerin İn Vivo Aktivitesi ve Toksisitesi

Polimerik miseller lösemiye ve katı tümörleri iyileştirmektedir [123].

2.21.6.20 Kanser Hücreleri ile Polimerik Misellerin Etkileşimleri

İlaç Difüzyonu

Serbest bir ilaç misellerin ayrışmasını ya da bozunmamış misellerden ilacın salımını takiben hücre zarı boyunca yayılabilir. Çalışmalar serbest bir ilacın hücre alım hızının misel içerisine tutuklanan ilacınkinden daha hızlı olduğunu göstermiştir. Bu şekilde ilacın misellerden salım profili ilacın hücresel alım hızı üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir. İlaç misellerden salındığı için hücrenin dış ve iç kısımlarındaki serbest ilaç konsantrasyonları arasındaki gradyanda bir artış olur ve bu da ilacın hücre içi bölmeye difüzyonunu tetikler. Yavaş bir ilaç salım profiline sahip bir misel sistemi hücrenin içine difüzyon için kullanılabilen serbest ilacın sınırlı miktarda havuzuna sahip olacaktır.

Hücresel İçselleştirme

Hücreye girmek için ilaç salım araçları fagositoz veya pinositoz gibi bir içselleştirme mekanizması gerektirir. Fagositik hücreler (makrofajlar, nötrofiller) olarak adlandırılan bazı hücre türleri fagositoza uğrayabilir. Çapları 1 mm'den küçük parçacık malzemeleri fagozomlar adı verilen membrana bağlı veziküllerde bu hücrelere içselleştirilebilir. Tersine, pinositozun hücre olmayan türe özgü olduğu bilinmektedir. Bu mekanizma fagositozdaki mekanizmaya benzer hücre zarının invajinasyonu ile oluşur. Bununla birlikte hücre zarından sıkışan pinositik vezikülleri genellikle fagozomlardan daha

küçüktür ve çapları 100 ile 200 nm arasında değişir. Pinositoz mekanizması akışkan fazlı ve soğuran olarak sınıflandırılabilir. Akışkan fazlı pinositoz sürekli hücre zarı buruşması sırasında çözünür malzemelerin ve hücre dışı sıvının sindirimini içerir. Bu, içselleştirmeden önce hücre zarı bileşenleri ile partiküllü materyallerin ilişkisini içeren soğuran pinositoza karşıdır.

İn Vitro Sitotoksite

İlaç yüklü misellerin hücre içi lokalizasyonu ve salım profili ilaçların sitotoksik etkilerini etkileyebilir. Bir çok durumda serbest ilaçların misellerde formüle edilen ilaçlardan daha düşük IC₅₀ değerlerine sahip olduğu bulunmuştur. Misel-formüle edilen ilaçların IC₅₀'sindeki böyle bir artış muhtemelen ilaçların misel çekirdeğinden geciktirilmesinden kaynaklanmaktadır. Kopolimer misellerin kanser hücrelerinde kemoterapötik ilaçların etkisini arttırdığı da bulunmuştur.

Çoklu İlaç Direnci Üzerine Tesir ya da Etki

Çoklu ilaç direnci (MDR) kemoterapide en önemli engellerden biridir ve genellikle cevap vermeyen kanserlerde bulunur. MDR hücre içi bölmeden bir ilacın istenmeyen dışarı atılmasının bir sonucu olabilir. Bazı kanser hücrelerinin hücre zarı üzerinde aşırı üretilen taşıyıcı proteinler ilaç akışı için sorumludur. En yaygın şekilde incelenen ilaç atılım proteini ATP'ye bağımlı P-glikoproteindir (P-gp). Bu ilaç taşıyıcı madde bağırsağın epitel hücreleri ve kan-beyin bariyerindeki endotelial hücreleri gibi sağlıklı dokularda da ifade edilir. P-gp'nin normal fizyolojik fonksiyonu moleküler taşınımı düzenlemek ve hücrenin korunması veya detoksifikasyonunu sağlamaktır.

Burt'un grubu insan kolon adenokarsinomunda (Caco-2) P-gp dışarı akışının inhibisyonu için bir dizi düşük molekül ağırlıklı PEG-b-PCL sentezini rapor etmiştir. İlginç biçimde CMC'nin üzerindeki konsantrasyonlarda PEG-b-PCL kopolimerlerinin P-gp substratının birikimini arttırdığı ve CMC'nin altındaki konsantrasyonlarda ise az aktivite gözlemlendiği bulunmuştur [112].

2.21.6.21 Sol-Jel Faz Geçişi

Enjekte edilebilir jel oluşturan matrisler implantasyondan önce nihai şekli ile şekillendirilmiş sistemlere kıyasla birçok avantaj sağlar [124].

Sıcaklık değişimiyle sol-jel geçişi gösteren polimerler özellikle enjekte edilebilir ilaç salım deposu için önerilmiştir [125].

Kim vd. PEG ve çeşitli alifatik polyesterlerden oluşan di- ve triblok kopolimerlerin sıcaklık duyarlı faz geçişi hakkında rapor verdi. Bu hidrojeller artan sıcaklıkla sol-jel (alt) ve jel-sol (üst) geçişler sergilemiştir. Çözelti oda sıcaklığında serbestçe aktığı ve vücut sıcaklığında jel oluşturduğu için alt geçiş ilaç salım uygulamaları için önemlidir [126].

Oda sıcaklığında veya sol-jel geçiş sıcaklığının altında farmasötik ajan içeren polimer sulu çözeltisi sol halde karıştırılabilir buna karşılık 37°C'de fizyolojik ısıya bağlı olarak derialtı veya kas içi enjeksiyon yoluyla jele dönüşür ve ilacın yavaş salım deposu veya çoğalan hücre matrisi gibi davranır [127].

Kopolimer kimyasal bileşimini ve misel çözelti konsantrasyonunu düzenleyerek ters termo-duyarlı misel sistemleri oluşturulabilir [128].

Enjeksiyon gereksinimini karşılamak için termoduyarlı hidrojeller her zaman iki faza sahiptir: sol ve jel, sıcaklık değişimlerinde faz geçişi oluşabilir. Genellikle ilaç belirli bir sıcaklıkta (T_1) ilaç yüklü sol oluşturmak için ex vivo (canlı/organizma dışında) sulu sol matriste öncelikle çözülür. Daha sonra ilaç yüklü sol vücuda enjekte edildikten sonra T_1 vücut sıcaklığına ($T_{vücut}$) dönüştüğünden dolayı ilaç yüklü sol jelleşir ve in situ (doğal yerinde) sürdürülebilir ilaç salımı için bir depo görevi görür [129].

Bu nedenle bu polimerlerle ilaçları sol halde ve oda sıcaklığında karıştırmak mümkündür ve çözelti bir hedef dokuya enjekte edilebilir. Vücut sıcaklığında bir in situ jel deposu oluşturur ve kontrollü ilaç salımı sağlar. Oda sıcaklığında enjekte edilebilir sıvı formunda olan ancak vücut sıcaklığında jel haline dönüşen nötraliteye yakın bir pH ile belirli bir biyouyumluluğa ve biyolojik bozunurluğa sahip olan bir formülasyon kuşkusuz ideal bir sistemi temsil eder [130].

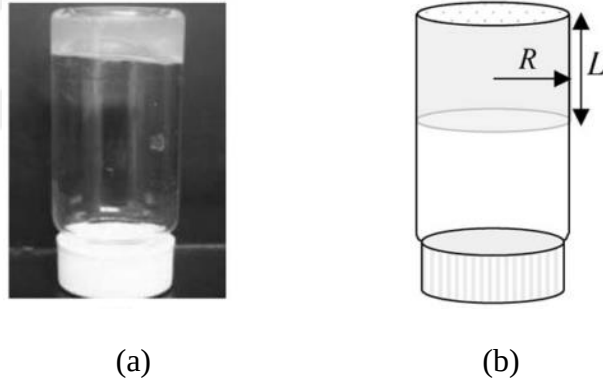
Daha önce bahsedilen fiziksel olarak termojelleşen polimerler arasında PLGA-PEG-PLGA triblok kopolimerleri ilaç salımı için cazip bir sistem olarak geniş çapta çalışılmıştır. Ne yazık ki poli(laktik-ko-glikolik asit) PLGA bazlı termoduyarlı kopolimerler yapışkan bir macun morfolojisine sahiptir ve bu nedenle taşıma veya tartım yapmak zorlaşmaktadır. Özellikle PLGA-PEG-PLGA triblok kopolimerlerinin su içinde çözünmesi için birkaç saat gerekliydi ve çok yavaş yeniden çözünme/yeniden oluşturulma ile muzdaripti. Bahsedilen sorunu çözmek için termo-duyarlı hidrojellerin hidrofobik polyester omurgasında PLGA'nın PCL ile yer değişimi

denendi. Bae vd. PCL-PEG-PCL triblok kopolimerinin oda sıcaklığında toz morfolojisine sahip olduğunu belirtmiştir. PCL-PEG-PCL triblok kopolimeri basitçe taşınır veya tartılır aynı zamanda suda kolaylıkla çözünür. Yeniden düzenleme/yeniden çözme polimerin erime noktasının üstünde polimer sulu süspansiyonun ısıtılması ardından bir buz banyosu içinde hızlı soğutma ile birkaç dakika içinde yapılabilir. Daha önce bahsedilen avantajlara dayanarak PCL-PEG-PCL triblok kopolimeri termojel sistemlerinde önemli bir ilerleme olarak düşünülebilir [131].

Sol-Jel Geçişinin Saptanması

Tüp Ters Çevirme Yöntemi

Jelleşmenin en yaygın teşhis testi bir test tüpü veya örneği içeren tüpün ters çevrilip daha sonra kendi ağırlığının altında akıp akmadığının belirlenmesidir (Şekil 2.22). Jelin akmayacağı ancak solün önemli miktarda akış göstereceği varsayılır. Bu testin basitliği molekül jelleri ile faz davranış çalışmalarında onu seçme metodu haline getirir.



Şekil 2. 22 a. Tüp ters çevirme testini sağlayan bir jelin fotoğrafı, b. test örneği yarıçapı R ve uzunluğu L olan bir silindir olarak idealize edilir [132]

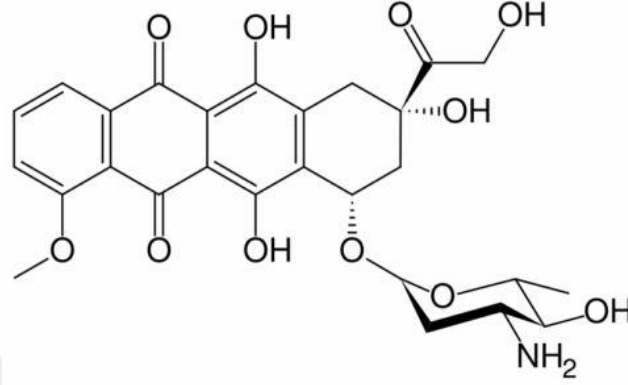
Bu testi faz davranışının belirlenmesi için kullanırken aynı numune kütlesi ve flakon türünü (geometri, boyut) kullanmak çok önemlidir [132].

2.21.6.22 Kanser Kemoterapötikleri

Doksorubisin

Doksorubisin (DOX) en yaygın kullanılan kemoterapik anti-kanser ilaçlarından biridir [133]. DOX bir toprak bakteri olan *Streptomyces peucetius*'tan izole edilen bir antrasiklin ilaçtır [134]. DOX'in kanser tedavisinde en yaygın kullanımı çeşitli testis kanseri, lösemi,

Ewing sarkomu, Hodgkin hastalığı ve Kaposi sarkomu içindir. DOX kimyasal olarak 5,12-Naftasendion,10-[(3-amino-2,3,6-trideoksi-a-Llyxo-heksopiranosil) oksi]-7,8,9,10-tetrahidro-6,8,11-trihidroksi-8-(hidroksiasetil)-l-metoksi, hidroklorürdür. Ampirik formülü $C_{27}H_{29}NO_{11}$ 'dir. DOX tüm antrasiklinler gibi DNA enterkalasyonu ile çalışır [135]. Yapısal formülü Şekil 2.23'te gösterilmektedir.



Şekil 2. 23 Doksorubisinin kimyasal yapısı [136]

Doksorubisin bir glikozid antibiyotiktir. Bu amino-şeker daunosamine bağlı tetrasiklik kinoid aglikon adriamisinondan (14-hidroksidaunomisinon) oluşur [137]. Doksorubisin kapsülleme ve misel salımına seçilen hedefe yönelik ilacı koruyup taşıyabileceği için çok dikkatli yoğunlaştırılmıştır [138]. DOX'e dayalı tedavi rejimleri 1982'den beri meme kanseri hastaları için rutin kombine kemoterapi olarak doğrulanmıştır [139]. Ne yazık ki ciddi yan etkilere neden olur hem sağlıklı hem de normal doku için yüksek sistemik toksisiteye sebep olur [133]. Kısa yarılanma ömrü ve düşük seçici sitotoksitesi tümör tedavisinde kullanımını sınırlar [140]. Potansiyeline rağmen DOX konjestif kalp yetmezliği, kronik kardiyomiyopati ve tümör hücre direncinin gelişimi gibi doz bağımlı biçimde ciddi yan etkilere neden olur. Ek olarak DOX intravenöz uygulama sonrasında hızla parçalanır ve yok edilir [141]. Bununla birlikte kısa yarılanma ömrü ve sulu çözeltide düşük çözünürlük gibi dezavantajlar uygulamasını engelledi. Buna ek olarak bazı tümör hücreleri plazma zarında P-glikoprotein (P-gp) dışarı akış pompasına atfedilen çoklu ilaç direnci (MDR) gösterdi [142]. Ayrıca doksorubisinin hücre içi seviyesi MDR etkileri ile azaltılabilir [136].

Doksorubisinin Etki Mekanizmaları

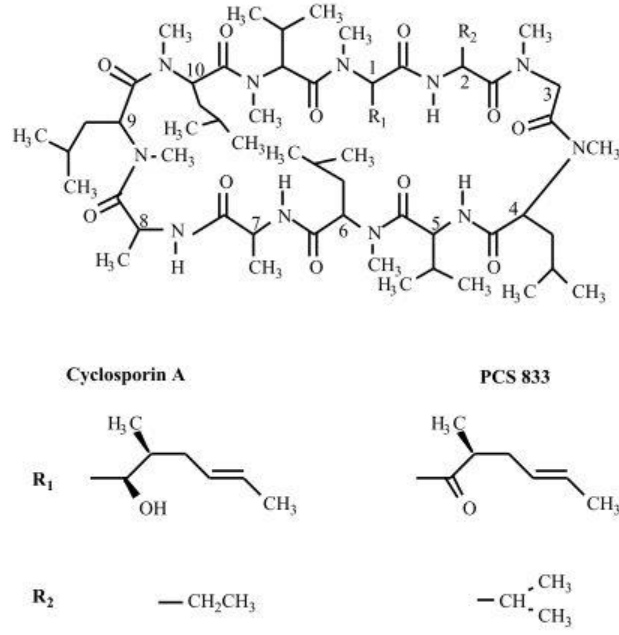
Doksorubisinin sitostatik ve sitotoksik etkileri için çeşitli mekanizmalar önerilmiştir. Bunlar: makromoleküler biyosentezin inhibisyonu sonucunda DNA enterkalasyonunu,

DNA hasarı veya lipid peroksidasyonu sonucu başlatma ile serbest radikal oluşumunu, DNA bağlanmasını ve alkilemeyi, DNA çapraz bağlanmasını, DNA çözülme ile karışmayı veya DNA sarmal ayrımını ve helikaz aktivitesini, doğrudan membran etkilerini ve topoizomeraz II inhibisyonu yoluyla DNA hasarının başlatılmasını içermektedir. Son olarak antrasiklinlerin apoptotik hücre ölümünü indüklediği gösterilmişse de bu muhtemelen topoizomeraz II'nin inhibisyonu gibi gelişen olaylara nihai hücre sel yanıt olacaktır [143]. DOX'in bu enzimi bölünme bölgesine tuzaklayarak topoizomeraz II zehirlenmesini tetiklediği bunun da çift sarmallı DNA kopmalarına ve dolayısıyla hücre ölümüne neden olduğu gösterilmiştir. Gerçekten de DNA'daki kopmaları onarma girişiminde başarısız olunca apoptoz yolu tetiklenir, G1 ve G2 fazlarındaki hücre sel büyüme engellenir [134].

Valspodar

Valspodar (PSC 833) hücre zarındaki Pgp'ye spesifik olarak bağlanarak MDR'yi tersine çeviren ikinci nesil Pgp modölatörlerinden biridir. PSC 833 ve doksorubisin kombinasyonunun fare ksenograft MDR meme tümörlerinin boyutunu önemli ölçüde azalttığı ve MDR lösemi taşıyan farelerin ömrünü %80'in üzerine çıkardığı bildirildi [144]. Krishna vd. valspodarı lipozomal DOX ile birleştirmenin kapsüllenmeyen DOX ve MDR modölatörü ile elde edilene kıyasla antitümör aktivitesinde önemli gelişmelere yol açtığını belirtmiştir [145]. CsA'nın bağışıklığı baskılayıcı olmayan analogu olan PSC 833 birçok deneysel hücre hattında in vitro olarak üstün MDR tersinim etkinliği göstermiştir. PSC 833'ün MDR P388 lösemik hücre hatlarında 0.5-2 mM'lik in vitro konsantrasyonlarda MDR'yi daunorubisin, DOX, vinkristin, vinblastin, taksol veya mitoksantron ile birlikte tersine çevirdiği gösterilmiştir [44]. Bununla birlikte PSC 833'te nefrotoksik ve hemodinamik yan etkilerin yanı sıra bağışıklığı baskılayıcı aktivite bulunmamaktadır [146]. PSC'nin kemoterapötik bir ajanla kombinasyonu anti-kanser ilaçların farmakokinetiğinde belirgin değişikliklere neden olmuştur. Klinik çalışmalarda PSC'nin uygulanması nötropeni artışına ve doksorubisin, paklitaksel ve etoposidin kan konsantrasyonlarında önemli artışlara neden oldu [147].

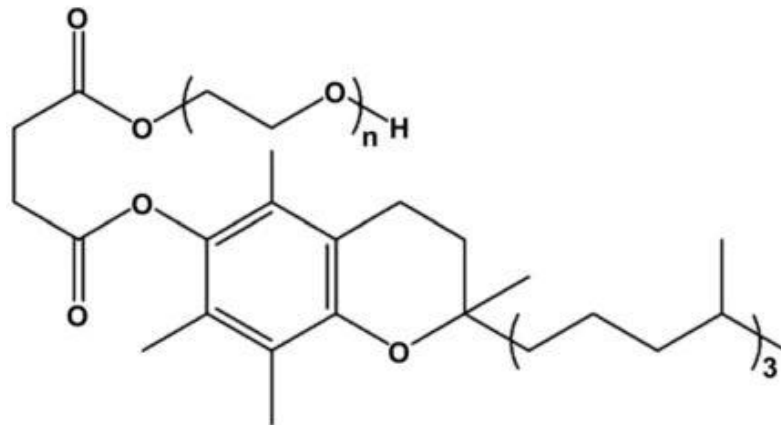
Valspodar bir P-gp substratı değildir, P-gp'ye bağlanarak ve konformasyonunu değiştirerek yarışmasız bir şekilde hareket ettiği düşünülmektedir. Şekil 2.24'te MDR tersine çevrilmesinde kullanılan siklosporin analoglarının yapıları gösterilmektedir.



Şekil 2. 24 MDR tersine çevrilmesinde kullanılan siklosporin analoglarının yapıları. Bu hidrofobik büyük moleküler ağırlıklı bileşikler potansiyel modülasyon aktivite sergilemektedirler [148]

α -Tokoferol-Polietilenglikol-1000-Süksinat

D- α -tokoferil polietilen glikol 1000 süksinat (TPGS 1K) hidrofobik α -TOS (α -tokoferil süksinat, bir vitamin E türevidir) ve moleküler ağırlığı 1 kDa olan hidrofilik poli(etilen glikol) (PEG) molekülü içeren iyonik olmayan bir amfifilik moleküldür [149]. Lipofilik alkil kuyruğu ve hidrofilik polar başı içeren amfifilik yapısı hacimlidir, etkili bir emülsiyonlaştırıcı ve çözünürleştirici olmasını sağlayan geniş yüzey alanlarına sahiptir [150]. Vitamin E süksinatın polietilen glikol (PEG) ile esterleşmesi ile oluşan doğal E vitamininin suda çözünür bir türevidir (Şekil 2.25).



Şekil 2. 25 TPGS'nin kimyasal yapısı [151]

Şimdiye kadar PEG-1000 ile sentezlenen TPGS en güçlü akış pompa inhibitörüdür [152]. Ortalama molekül ağırlığı 1.513'tür [153]. Suda çözünür bir E vitamini formudur (E vitamini içeriği 260 mg g⁻¹'dir). Bu mumsu bir katı olup suyla tamamen karışabilir [hidrofilik-lipofilik denge (HLB) değeri yaklaşık 13'tür]. Kritik misel konsantrasyonu (CMC) 37°C'de %0.02 a/a'dır [154]. TPGS'nin erime noktası 37-41°C civarında olup 199°C'ye kadar olan sıcaklıklarda ısıya dayanıklıdır. Bu termal olarak sabit sıcaklıklarda bozunmaya uğramadan işlenebildiğinden farmasötik endüstrisinde uygulamalar için çok önemlidir. TPGS pH 4.5-7.5'te kararlıdır bununla birlikte ester bağlarının hidrolize olduğu alkali ya da aşırı asitli ortamlarda bozunur [152].

TPGS'nin Anti-kanser Etkisi

TPGS'nin MDR-1 proteini olarak da adlandırılan P-glikoprotein (P-gp) fonksiyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu iyi bilinen taşıyıcı MDR'li kanser hücrelerine aracılık eder, hücre dışı ve hücre içi membranlar boyunca taşınım yoluyla hücre içi ilaç birikimini düşüren ATP'ye bağımlı bir ilaç salım pompasıdır. TPGS MDR-1 dirençli hücrelerde DOX, vinblastin ve PTX sitotoksitelerini arttırdı bunlar bu ilaçlara parental NIH3T3 hücrelerinden 27-135 kat daha dirençliydi. P-gp üzerindeki TPGS özelliği aktif taşınımın P-gp enerji kaynağının P-gp ATPazının allosterik modülasyonu yoluyla inhibisyonuna bağlı olabilir. TPGS P-gp akış nakli taşınımında bir substrat ya da yarışmalı bir inhibitör değildir. TPGS'nin kendine özgü anti-kanser faaliyetleri olduğu bildirildi. TPGS birçok zayıf çözünür ilaç için farmasötik bir çözündürücü ve emilim arttırıcı olarak kabul edildi. TPGS emülsiyonlaştırıcı, çözücü, katkı, permeasyon arttırıcı ve stabilizör olarak kullanılmıştır. TPGS ayrıca anti-kanser ilaç salımı için uygundur: (i) toksik değildir ve biyouyumludur, (ii) güvenli bir farmasötik adjuvan olarak FDA onayına sahiptir, (iii) anti-kanser aktivitesi gösterir, TPGS bir P-gp inhibitörü gibi davranır ve MDR'nin üstesinden gelmek için bir yardımcı madde olarak kullanılır, (iv) çözünürleştirici, emülsiyonlaştırıcı ve stabilizör olarak kullanılır ve (v) TPGS bazlı nanoilaçlar: (a) yüksek ilaç kapsülleme etkinliği, (b) in vitro yüksek hücresel alım ve (c) damar içi enjeksiyona ve EPR efektine uyarlanmış boyutuna bağlı olarak in vivo yüksek iyileştirici etkiler sunmaktadır [155]. TPGS içeren nanoparçacıklarla inkübe edildikten sonra ilaca dirençli meme kanseri hücrelerinde P-gp aktivitesinin düştüğü ve doksorubisin çekirdek birikimi ve sitotoksitesinin önemli derecede arttığı rapor edilmiştir [156]. Yakın tarihli araştırmalar TPGS'nin kemoterapötik ajanlarla birlikte uygulanmasının hücresel giriş ve

tutulmalarını arttırarak, sinerjik bir şekilde hareket ederek ilaç direncinin üstesinden gelebileceğini göstermektedir. DOX ile yüklenmiş bir nanotaşıyıcıda TPGS'nin (%0.03 (a/a)) ilavesi MCF-7/ADR hücrelerinde P-gp aktivitesini azaltmıştır, ilacın çekirdek birikimini arttırmıştır ve dirençli hücre hattına karşı terapötik etkinliği arttırmıştır [152].

2.21.6.23 Kontrollü İlaç Salım Sistemlerinden İlaç Salımı Üzerine Kinetik Modelleme

Modele Bağlı Yöntemler

İlaç salım sistemlerinde matematiksel modelleme önemli ilaç salım mekanizmalarının aydınlatılmasında anlamlı bir rol oynar ve böylece deneme yanılma yönteminden ziyade sistematik bir yaklaşımla yeni farmasötik ürünlerin geliştirilmesini kolaylaştırır [157]. Yeni farmasötik ürünler geliştirirken veya ilaç salım mekanizmalarını açıklarken uygun matematiksel modelin seçimi modelin istenen veya gerekli tahmini yeteneğine ve doğruluğuna son derece bağlıdır. Çoğu durumda basit ampirik veya yarı ampirik model kullanımı tamamen yeterlidir [158].

Sıfıncı Dereceden Model

Ayrışmayan ve yavaş yavaş ilaç salan dozaj şekillerinden ilaç salımı aşağıdaki denklemle açıklanabilir:

$$Q_0 - Q_t = K_0 t \quad (2.11)$$

Eşitlik 2.11'in yeniden düzenlenmesi ile Eşitlik 2.12 elde edilir:

$$Q_t = Q_0 + K_0 t \quad (2.12)$$

burada Q_t t zamanda çözünmüş ilaç miktarı, Q_0 çözeltideki (çoğu kez $Q_0 = 0$) ilacın başlangıç miktarı ve K_0 konsantrasyon/zaman birimleri cinsinden ifade edilen sıfıncı dereceden salım sabitidir.

Salım kinetiğini çalışmak için in vitro ilaç salım çalışmalarından elde edilen veriler zamana karşı salınan ilacın kümülatif miktarı olarak çizilmiştir.

Uygulama: Bu bağıntı bazı deri içinden geçen sistemlerde olduğu gibi hem çeşitli türde modifiye salımlı farmasötik dozaj şekillerinin ilaç çözünmesini hem de kaplanmış

formlarda düşük çözünür ilaçlarla matris tabletleri, ozmotik sistemleri tanımlamak için kullanılabilir.

Birinci Dereceden Model

Bu model bazı ilaçların emilimini ve/veya yok edilmesini tanımlamak için de kullanılmaktadır ancak teorik olarak bu mekanizmanın kavramsallaştırılması zordur. Birinci dereceden kinetiği izleyen ilaç salımı aşağıdaki denklemle ifade edilebilir:

$$\frac{dC}{dt} = -K_c \quad (2.13)$$

burada K zaman⁻¹ biriminde ifade edilen birinci dereceden hız sabitidir.

Eşitlik (2.13) şu şekilde ifade edilebilir:

$$\log C = \log C_0 - Kt / 2.303 \quad (2.14)$$

burada C₀ ilacın başlangıç konsantrasyonu, K birinci dereceden hız sabiti ve t zamandır. Elde edilen veriler zamana karşılık kalan ilacın logaritma kümülatif yüzdesi olarak çizilir bu da eğimi -K/2.303 ile düz bir çizgi oluşturur [159].

Uygulamalar: Bu bağıntı gözenekli matrislerde suda çözünür ilaçlar içeren farmasötik dozaj şekillerindeki ilaç çözünmesini tanımlamak için kullanılabilir [160].

Higuchi Model

Bir matris sisteminden ilaç salımını tanımlamayı amaçlayan bir matematiksel modelin ilk örneği Higuchi tarafından 1961'de önerildi. Başlangıçta düzlemsel sistemler için tasarlanmış olan bu model daha sonra farklı geometrilere ve gözenekli sistemlere kadar genişletildi.

Bu model şu hipotezlere dayanmaktadır: (i) matristeki başlangıç ilaç konsantrasyonu ilaç çözünürlüğünden daha yüksektir, (ii) ilaç difüzyonu yalnızca bir boyutta gerçekleşir (kenar etkisi ihmal edilmelidir), (iii) ilaç parçacıkları sistem kalınlığından çok daha küçüktür, (iv) matris şişmesi ve çözünmesi ihmal edilebilir, (v) ilaç difüzivitesi sabittir ve (vi) salım ortamında daima mükemmel çökme koşullarına ulaşılır. Buna göre model ifadesi aşağıdaki denklemle verilir:

$$f_t = Q = A \sqrt{D(2C - C_s) C_s t} \quad (2.15)$$

burada Q birim alan A başına t zamanda salınan ilaç miktarı, C başlangıç ilaç konsantrasyonu, C_s matris ortamındaki ilaç çözünürlüğü ve D matris maddesindeki ilaç moleküllerinin difüzyon katsayısıdır (difüzyon katsayısıdır).

Bu bağıntı ilacın terapötik sistemde toplam tükenmesi haricinde her zaman geçerlidir. Matristeki ilaç konsantrasyonunun çözünürlüğünden daha düşük olduğu ve salımın matristeki gözenekler vasıtasıyla meydana geldiği düzlemsel bir heterojen matris sisteminden çözünmeyi incelemek için ifade Eşitlik (2.16) ile verilir:

$$f_t = Q = \sqrt{\frac{D \delta}{\tau} (2C - \delta C_s) C_s t} \quad (2.16)$$

burada D çözücü içindeki ilaç molekülünün difüzyon katsayısı, δ matrisin gözenekliliği, τ matrisin bükümlülüğü ve Q, A, C_s ve t yukarıda verilen anlamlara sahiptir. Bükümlülük yarıçapın boyutları ile matristeki gözeneklerin ve kanalların dallanması olarak tanımlanır. Genel olarak Higuchi modelini basitleştirmek mümkündür (genelde basitleştirilmiş Higuchi modeli olarak bilinir):

$$f_t = Q = K_H \times t^{1/2} \dots\dots \quad (2.17)$$

burada K_H Higuchi çözünme sabitidir.

Elde edilen veriler zamanın kareköküne karşı kümülatif yüzde ilaç salımı olarak çizilmiştir.

Uygulama: Bu bağıntı bazı deri içinden uygulanan sistemler ve suda çözünür ilaçlarla matris tabletlerde olduğu gibi çeşitli modifiye edilmiş salım farmasötik dozaj formlarından ilacın çözünmesini tanımlamak için kullanılabilir.

Hixson-Crowell Model

Hixson ve Crowell (1931) parçacıkların kuramsal alanının hacminin küp kökü ile orantılı olduğunu fark ettiler. Aşağıdaki eşitliği türettiler:

$$W_0^{1/3} - W_t^{1/3} = \kappa t \dots\dots \quad (2.18)$$

burada W_0 farmasötik dozaj şeklindeki ilacın başlangıç miktarı, W_t t zamandaki farmasötik dozaj şeklindeki ilacın kalan miktarı ve κ (kappa) yüzey-hacim bağıntısını içeren bir sabittir. Denklem parçacıkların veya tabletlerin yüzey alanlarında ve çaplarında bir değişiklik olduğunda sistemlerden salımı açıklar. Salım kinetiğini çalışmak için in

vitro ilaç salım çalışmalarından elde edilen veriler zamana karşı matriste kalan ilaç yüzdesinin küp kökü olarak çizilmiştir.

Uygulama: Bu ifade tabletler gibi farmasötik dozaj şekilleri için geçerlidir, tablet boyutları orantılı olarak azalıyorsa başlangıç geometrik şeklinin her zaman sabit kalacağı şekilde çözünme ilaç yüzeyine paralel olan düzlemlerde gerçekleşir.

Korsmeyer-Peppas Model

Korsmeyer ve arkadaşları (1983) bir polimerik sistem denkleminde ilaç salımını tanımlayan basit bir bağıntı türetmiştir. İlaç salımının mekanizmasını bulmak için ilk %60 ilaç salım verileri Korsmeyer-Peppas modeline uydurulmuştur.

$$M_t / M_\infty = Kt^n \dots\dots (2.19)$$

burada M_t/M_∞ t zamanda salınan ilacın bir kesri, k salım hız sabiti ve n salım üssüdür. n değeri silindirik şekilli matrisler için farklı salımı karakterize etmek için kullanılır.

Bu modelde n değeri ilacın salım mekanizmasını Çizelge 2.2'de açıklandığı şekilde karakterize etmektedir. Silindirik tabletler için $0.45 \leq n$ Fickian difüzyon mekanizmasına, $0.45 < n < 0.89$ non-Fickian taşınım, $n = 0.89$ Durum II (relaksasyonal) taşınım ve $n > 0.89$ süper durum II taşınım karşılık gelir. Salım eğrisinin n üssü bölümünü bulmak için burada sadece $M_t/M_\infty < 0.6$ kullanılmalıdır. Salım kinetiğini çalışmak için in vitro ilaç salım çalışmalarından elde edilen veriler logaritma zamana karşı logaritma kümülatif yüzde ilaç salımı olarak çizilmiştir.

Çizelge 2. 2 Polimerik filmlerden difüzyonel salım mekanizmalarının açıklaması [159]

Release exponent (n)	Drug transport mechanism	Rate as a function of time
0.5	Fickian diffusion	$t^{-0.5}$
$0.45 < n < 0.89$	Non -Fickian transport	t^{n-1}
0.89	Case II transport	Zero order release
Higher than 0.89	Super case II transport	t^{n-1}

Eşitlik 2.19'dan görüldüğü gibi üs n 1.0 değerini aldığı anda ilaç salım hızı zamandan bağımsızdır. Bu durum sıfırıncı derece salım kinetiğine karşılık gelir. Levhalar için sıfırıncı derece salımı oluşturan mekanizma polimer bilim adamları arasında durum-II taşınımı olarak bilinir. Burada sisteme su emme üzerinde oluşan makromoleküllerin relaksasyon süreci hız belirleyici basamaktır. Su akışkanlaştırıcı olarak işlev görür ve

polimerin camsı geçiş sıcaklığını düşürür. Bir kere T_g sistemin sıcaklığına eşit olduğunda makromoleküllerin hareketliliğinin artması ve hacim genişlemesi ile polimer zincirleri camsıdan lastik haline dönüşüme uğrar. Böylece Eşitlik (2.19) iki özel durumda $n = 0.5$ (difüzyon kontrollü ilaç salımını belirten) ve $n = 1.0$ (şişme kontrollü ilaç salımını belirten) iki farklı fiziksel gerçekçi anlama sahiptir. n 'nin 0.5 ile 1.0 arasındaki değerleri her iki fenomenin (Anomalous taşıma) de üst üste binmesi için bir gösterge olarak görülebilir. Üs n için iki uç değer olan 0.5 ve 1.0'ın yalnızca levha geometrisi için geçerli olduğu unutulmamalıdır. Küreler ve silindirler için Çizelge 2.3'te listelendiği gibi farklı değerler türetilmiştir. Ne yazık ki bu gerçek her zaman dikkate alınmamaktadır bu da deney sonuçlarının yanlış yorumlanmasına yol açmaktadır.

Çizelge 2. 3 Farklı geometriye sahip polimerik kontrollü salım sistemlerinden güç kanunun ve ilaç salım mekanizmasının n üssü [158]

Exponent, n			Drug release mechanism
Thin Film	Cylinder	Sphere	
0.5	0.45	0.43	Fickian diffusion
$0.5 < n < 1.0$	$0.45 < n < 0.89$	$0.43 < n < 0.85$	Anomalous transport
1.0	0.89	0.85	Case-II transport

Baker-Lonsdale Model

Bu model Baker ve Lonsdale (1974) tarafından Higuchi modelinden geliştirilmiştir ve aşağıdaki denkleme göre küresel matrislerden ilaç salımını tanımlamıştır:

$$f_1 = \frac{3}{2} \left[1 - \left(1 - \frac{M_t}{M_\infty} \right)^{\frac{2}{3}} \right] - \frac{M_t}{M_\infty} = \frac{3D_m C_{ms}}{r_0^2 C_0} t \quad (2.20)$$

burada M_t t zamandaki salınan ilaç miktarı ve M_∞ sonsuz zamanda salınan ilaç miktarı, D_m difüzyon katsayısı, C_{ms} matristeki ilaç çözünürlüğü, r_0 küresel matrisin yarıçapı ve C_0 matristeki ilacın başlangıç konsantrasyonudur.

Matris homojen değilse ve ilaç salımına katkıda bulunabilecek kırıklar veya kılcal damarlar gösterirse aşağıdaki denklem kullanılır:

$$f_1 = \frac{3}{2} \left[1 - \left(1 - \frac{M_t}{M_\infty} \right)^{\frac{2}{3}} \right] - \frac{M_t}{M_\infty} = \frac{3D_f C_f \varepsilon}{r_0^2 C_0 \tau} t \quad (2.21)$$

burada D_f difüzyon katsayısı, C_{fs} matrisi çevreleyen sıvıdaki ilaç çözünürlüğü, τ kapiler sistemin bükümlülük faktörü ve ε matrisin gözenekliliğidir. Matris gözenekliliği şu şekilde tanımlanabilir:

$$\varepsilon = \varepsilon_0 + KC_0 \quad (2.22)$$

Burada ε_0 başlangıç porozitesi ve K ilaca özgü hacimdir. ε_0 küçük ise Eşitlik (2.21) aşağıdaki gibi yeniden düzenlenebilir:

$$f_1 = \frac{3}{2} \left[1 - \left(1 - \frac{M_t}{M_\infty} \right)^{\frac{2}{3}} \right] - \frac{M_t}{M_\infty} = \frac{3D_f KC_{fs}}{r_0^2 \tau} - t \quad (2.23)$$

Dolayısıyla Baker-Lonsdale modeli aşağıdaki denklemle verilebilir:

$$f_1 = \frac{3}{2} \left[1 - \left(1 - \frac{M_t}{M_\infty} \right)^{\frac{2}{3}} \right] - \frac{M_t}{M_\infty} = kt \quad (2.24)$$

Burada k salım sabitidir ve eğime karşılık gelir.

Burada denklemin sol tarafının zamana karşı grafik gösterimi varolan koşullar yerine getirildiğinde doğrusal olacaktır [161].

Uygulama: Bu eşitlik mikrokapsüllerin veya mikrokürelerin çeşitli formülasyonlarından salım verilerinin doğrusallaştırılması için kullanılmıştır.

Weibull Model

Bu model farklı çözünme işlemleri için aşağıdaki eşitlikte tanımlanmıştır:

$$M = M_0 \left[1 - e^{-\left(\frac{t-T}{a} \right)^b} \right] \quad (2.25)$$

Bu denklemde M t zamanının bir fonksiyonu olarak çözünen ilaç miktarıdır. M_0 salınan toplam ilaç miktarıdır [160]. T çözünme sürecinin bir sonucu olarak ölçülen gecikme süresini açıklamaktadır. a parametresi zaman bağımlılığını tanımlayan bir ölçek parametresini, b ise çözünme eğrisi ilerlemesinin şeklini tanımlar [162]. $b = 1$ için eğrinin şekli sabit $k = 1/a$ (Eşitlik 2.26) ile bir üstel profilin şekline tam olarak karşılık gelir.

$$M = M_0 \left(1 - e^{-k(t-T)} \right) \quad (2.26)$$

b 1'den daha yüksek bir değere sahipse eğrinin şekli bir dönüm noktası ile s biçimli olurken, b değeri 1'den daha düşük olan eğrinin şekli b = 1 olana kıyasla daha dik bir artış gösterecektir.

Zaman her bir formülasyonda olan ilacın %50'si (a/a) ve %90'ı (a/a) salındığı zaman Weibull denkleminin ters fonksiyonu kullanılarak hesaplandı:

$$t_{(50\% \text{ resp. } 90\% \text{ dissolved})} = \left(-a \ln \frac{M - M_0}{M_0} \right)^{1/b} + T \quad (2.27)$$

Eşitlik (2.25) logaritmik forma yeniden düzenlenebilir:

$$\log[-\ln(1 - m)] = b \log (t - T_i) - \log a \quad (2.28)$$

Bu denklemden $-\ln(1 - m)$ 'in t zamana karşı log-log grafiği için doğrusal bir ilişki elde edilebilir. Şekil parametresi (b) çizginin eğiminden elde edilir ve ölçek parametresi a $t = 1$ zamanında düşey koordinat değerinden $(1/a)$ hesaplanır [160]. Parametre a, $a = (T_d)^b$ ile tanımlanan ve düşey koordinat $-\ln(1 - m) = 1$ değerine karşılık gelen zaman değeri olarak grafikten okunan daha bilgilendirici çözünme zamanı T_d ile değiştirilebilir. $-\ln(1 - m) = 1$ $m = 0.632$ 'ye eşdeğer olduğundan T_d farmasötik dozaj formunda mevcut olan ilacın %63.2'sini çözmek veya salımını yapmak için gerekli zaman aralığını temsil eder. Bu modeli takip eden farmasötik sistemlerde zamanın logaritmasına karşı ilacın çözünmüş miktarının logaritması doğrusal olacaktır [163].

Uygulama: Weibull modeli matris tipi ilaç salımının salım profillerini karşılaştırmak için daha kullanışlıdır [159].

Hopfenberg Model

Çeşitli geometrilere sahip yüzey aşındırma aygıtlarından ilaçların salınması heterojen erozyonu gösteren levhalar, küreler ve sonsuz silindirlerden ilaç salımını tanımlayan genel bir matematiksel denklem geliştiren Hopfenberg tarafından analiz edildi [163].

t zamanda salınan ilacın kümülatif kesri şu şekilde tanımlanmıştır:

$$M_t / M_\infty = 1 - [1 - k_0 t / C_L a]^n \quad (2.29)$$

burada k_0 polimer bozunması (yüzey erozyonu) prosesini tanımlayan sıfırıncı dereceden hız sabiti, C_L sistem boyunca başlangıçtaki ilaç yükü, a sistemin yarı kalınlığı (örneğin

bir küre veya silindirin yarıçapı) ve n geometri ile değişen, levha (düz), silindirik ve küresel geometri için n = 1, 2 ve 3 olan bir üsteldir.

Uygulama: Bu model temelde bölgeye özel iki fazlı salım kinetiği sergileyen kompozit profilden türetilen verileri kullanarak optimize edilen oili-kürelerden salım mekanizmasını tanımlamak için kullanılır.

Gompertz Model

İn-vitro çözünme profili genellikle Gompertz modeli olarak bilinen aşağıdaki denklemle ifade edilen daha basit bir üstel model ile tanımlanır:

$$X(t) = X_{\max} \exp \left[-\alpha e^{\beta \log t} \right] \quad (2.30)$$

burada $X(t) = 100$ ile bölünen t zamanda çözünmüş yüzde, $X_{\max}$ = maksimum çözünme, α t = 1 zamanında çözünmemiş oranı belirler ve konum veya ölçek parametresi olarak tanımlanır, β = şekil parametresi olarak tanımlanan birim zaman başına çözünme oranıdır. Bu model başta dik bir artışa sahiptir ve asimptotik maksimal çözünmeye yavaşça yakınsar [159].

Literatürde tezde çalışılan konular ile ilgili yapılmış pek çok çalışma mevcuttur. Bunlardan bazıları şöyledir:

Zhang vd. yaptıkları çalışmada polimerik misellerin suda az çözünür anti-kanser ilaçlar için etkili bir uygulama sistemi temsil ettiğini belirtmiştir. Küçük boyutlu (10-100 nm) ve hidrofilik polietilen glikol kabuğuyla polimerik miseller kanda dolaşımı uzatmıştır ve tümör birikiminin artmasına neden olmuştur. Geliştirilmiş ilaç yükleme kapasitesi ve ilaç/taşıyıcı etkileşimini güçlendirmek için yeni stratejilere ağırlık verilmiştir. Ek olarak hem ilaç yükleme fonksiyonuna hem de antitümör aktiviteye sahip olan misel oluşturan ilaç-polimer konjugatları da tartışmışlardır [164].

Yüksel vd. yaptıkları çalışmanın amacının Pluronik ve polietilen glikol-distearoyilfosfadiletanolamin (PEG-DSPE) polimerik miseller içinde bulunan zayıf suda çözünen anti-kanser ilaçların oktaetilporfin (OEP), meso-tetrafenil porfin (mTPP) ve kamptotesinin (CPT) çözünürlüğünü tespit etmek olduğunu belirtmiştir. Üç farklı Pluronik ve çeşitli zincir uzunluklarında PEG-DSPE polimerleri seçilmiş ve çeşitli ilaç:polimer oranları kullanılarak misel formülasyonları hazırlanmıştır. Formülasyonlar kopolimerlerin kritik misel konsantrasyon (CMC) değeri, misel parçacık boyutu ve

dağılımı, zeta potansiyeli, yükleme verimliliği ve kararlılığı ile karakterize edilmiştir. Oluşan polimerlerin çok kararlı olduğunu, boyutlarının 100 nm'den daha küçük olup düşük CMC'li miseller olduğunu belirtmişlerdir. İlaç yükleme verimliliği yüksek oranda polimer türüne, ilaç çeşidine ve onların oranına bağlıydı. En etkin ilaç yükleme mTPP'yi PEG2000-DSPE ve Pluronik F127 içine yükleyerek elde edilmiştir. Bu sonucun mTPP içindeki fenil gruplarının polimer içinde alkil grupları arasında çekime sebep olmasından kaynaklandığını ve ilacın tutunmasını arttırdığını tespit etmişlerdir. PEG-DSPE formülasyonlarının daha yüksek zeta potansiyel değerlerine sahip olduğunu bunun da agregasyona karşı Pluronik misellerden çok daha kararlı olduğunu gösterdiğini ifade etmişlerdir. İlaç analiz sonucundan Pluronik misellerin 3 aylık kararlılık testinde daha kararlı kaldığını gözlemlemişlerdir. Bu sonuçlar ile çözebilirlik etkilerinin yanı sıra polimerik misellerin hidrofobik ilaçlar için yeni ilaç taşıyıcıları olarak kullanılabilir olduğunu belirtmişlerdir [165].

Li vd. yaptıkları çalışmada pH-duyarlı ve biyobozunur amfifilik polipeptit-bazlı blok kopolimer metoksi-poli(etilen glikol)2K-poli(ε-kaprolakton)4K-poli(glutamik asit)1K (mPEG2K-PCL4K-PGA1K) sentezlemiştir. mPEG2K-PCL4K-PGA1 düşük kritik agregasyon konsantrasyonuna sahipti ve transmisyon elektron mikroskopuyla sulu çözeltide polimerzomlara kendiliğinden birleştiği doğrulandı. Böylece iki hidrofilik ilaç olan doksorubisin hidroklorür (DOX) ve verapamil hidroklorür (VER) poli(DOX+VER) eş salım sistemini oluşturmak, DOX'in anti-kanser etkisini geliştirmek ve P-glikoprotein ekspresyonunu önleyerek çoklu ilaç direncini tersine çevirmek için mPEG2K-PCL4K-PGA1K polimerzomları içine enkapsüle edilmiştir. İn vitro sitotoksikite deneyleri poli(DOX+VER)'in serbest DOX çözeltisiyle ve poliDOX ile karşılaştırıldığında MCF-7/ADR dirençli hücrelere karşı açıkça daha yüksek önleme oranına sahip olduğunu göstermiştir. İki ilacın poli(DOX+VER)'den salımı serbest ilaç çözeltileri formundan daha yavaş bulunmuş ve salım davranışları yüksek pH duyarlı karakter sergilemiştir. Ayrıca mPEG2K-PCL4K-PGA1K'nın düşük alyuvar yıkımı oranı kopolimerin damar içi enjeksiyonunun güvenli bir şekilde uygulanabileceğini göstermiştir. Böylece bütün bu sonuçlar DOX ve VER'in mPEG2K-PCL4K-PGA1K polimerzomları ile eş salımının kanser tedavisi için gelecek vaadeden bir sistem olduğunu göstermiştir [166].

Gou vd. bu çalışmada biyobozunur poli(ε-kaprolakton)/poli(etilen glikol) (PCL/PEG) kopolimer nanoparçacıkların ilaç salım sistemlerinde potansiyel uygulama gösterdiğini ifade etmiştir. Tekil dağılımlı ≈ 40 nm boyutlu poli(ε-kaprolakton)/poli(etilen

glikol)/poli(ε-kaprolakton) (PCL/PEG/PCL, PCEC) nanoparçacıkları organik çözücü olarak aseton kullanılarak çözücü ekstraksiyon yöntemiyle hazırlanmıştır. PCL/PEG/PCL nanoparçacıkları in vitro hemolize neden olmamıştır, in vitro ve in vivo toksiklik göstermemiştir. Hazırlanan PCL/PEG/PCL nanoparçacıkları doksorubisini pH-uyarılmış kendiliğinden birleştirme yöntemiyle yüklemede kullanmışlardır. İn vitro salım çalışmasında nanoparçacıklardan doksorubisin salımı pH 5.5'te pH 7.0'dan daha hızlıydı. Doksorubisinin PCL/PEG/PCL nanoparçacıklarına enkapsülasyonunun doksorubisinin in vitro C-26 hücre hattı üzerinde sitotoksitesini geliştirdiğini belirtmişlerdir. Doksorubisin yüklü PCL/PEG/PCL nanoparçacıklarının kanser tedavisinde yeni bir doksorubisin formülasyonu olabileceği ifade edilmiştir [167].

Zhao vd. yaptıkları çalışmada bir kemoterapötik ilacın bir P-glikoprotein inhibitörüyle kombinasyonunun çoklu ilaç direnç (MDR) kanseri tedavisinde gelecek vadeden bir stratejiye yol açtığını belirtmiştir. İki ilacın tümör bölgesine eş dağıtılmasını ve tümör hücrelerine hızlıca salınmasını sağlamak için, tümör hedefli ve pH-duyarlı polimerik miseller dizayn etmişler ve 2-etil-2-oksazolinin (Eoz) katyonik halka-açılma polimerizasyonu ile D,L-laktitin (LA) anyonik halka-açılma polimerizasyonunu birleştirerek hazırlamışlardır, daha sonra doksorubisini (DOX) ve D-alfa-tokoferil polietilen glikol 1000 süksinatı (TPGS1000) misellerin içinde poli(2-etil-2-okzalin)-poli(D,L-laktit) (PEOz-PLA) ve DSPEPEG-folat vasıtasıyla kendiliğinden birleştirmişlerdir. PEOz-PLA düşük kritik misel konsantrasyonu ve ihmal edilebilir sitotoksite sergilemiştir. Miseller pH 7.4'ten 5.0'a düştüğünde DOX'ın hızlı salımını sağlamıştır. Misellerin hedefleme yeteneğini in vitro KBv hücrelerinde akış sitometrisiyle ve in vivo KBv tümörlü farelerde gerçek zamanlı yakın-infrared floresan görüntüleme ile kanıtlamışlardır. Miseller için MDR'nin eski haline dönmesinin verimliliğini hücre içi DOX birikimi ile ve sitotoksitesinin gelişimiyle kanıtladıklarını ifade etmişlerdir. Miseller vasıtasıyla etkin ilaç dağıtımının folat-aracılı hedeflendirmenin, pH- tetiklemeli ilaç salımının ve TPGS1000-başlatmalı P-gp inhibisyonunun sinerjik etkilerine atfedilebileceğini belirtmişlerdir. Dizayn edilen çok fonksiyonlu polimerik miseller MDR kanserin tedavisel uygulaması için önemli bir söze sahiptir [168].

BÖLÜM 3

DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasal maddeler ve genel özellikleri Çizelge 3.1’de verilmektedir.

Çizelge 3. 1 Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler

Kimyasal Madde	Firma Katalog Numarası	Uygulanan İşlem
Poli(etilen glikol) ortalama mol ağırlığı 1450	Aldrich P5402	Toluen ile kurutuldu.
Poli(etilen glikol) ortalama Mn 3350, toz	Aldrich 202444	Toluen ile kurutuldu.
Poli(etilen glikol) 12000	Aldrich 81285	Toluen ile kurutuldu.
ϵ -Kapolakton %97	Aldrich 704067	CaH ₂ ile saflaştırıldı.
Toluen EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur	Merck 108325	Herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı.
Kalsiyum hidrür reaktif derecesinde, %95 (gaz-hacimsel)	Sigma-aldrich 208027	Herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı.
Kalay(II) 2-etilhekzanat %92.5-100.0	Aldrich S3252	Herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı.
Diklormetan	Merck 106050.2500	Herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı.
Petrol eteri	Merck 100921.5000	Herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı.
Piren %98	Aldrich 185515	Herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı.
Aseton	Merck 100014.2511	Herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı.
Dimetilformamit (DMF)	Sigma	Herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı.
10 ml’lik şırınga (iğne/needle 21 G x 1 1/2" 0.80 x 38 mm)	Germany	Herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı.

Çizelge 3. 1 Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler (devamı)

Kimyasal Madde	Firma Katalog Numarası	Uygulanan İşlem
0.45 µm selüloz asetat şırınga filtre	Sigma	Herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı.
20 ml amber flakon	Sigma	Herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı.
Trietilamin (TEA)	Merck 808352	Herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı.
DOX.HCL	Sigma-aldrich D2975000	Herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı.
Fosfat tamponlu tuz çözeltisi BioPerformance sertifikalı, pH 7.4	Sigma P5368	Herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı.
Tampon çözelti 5.0-6.5	Sigma	Herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı.
Tween 80	Merck 822187.0500	Herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı.
Sodyum azid	Merck 106688.0100	Herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı.
Selüloz Diyaliz Membranı [MWCO = 3,500, ortalama düz genişliği 10 mm (0.4 in.)]	Sigma-Aldrich, USA	Herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı.
Valspodar (PSC 833) ≥ %98 (HPLC)	Sigma SML0572	Herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı.
D-α- Tokoferol polietilen glikol 1000 süksinat BioXtra, suda çözünür E vitamini konjugatı	Sigma 57668	Herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı.
Tüp 4 ml	Ependorf	Herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı.
Manyetik balık	Isolab 1 cm	Herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı.

3.2 DeneySEL Yöntemler

3.2.1 Poli(ε-kaprolakton)–poli(etilen glikol)–poli(ε-kaprolakton) (PCEC) Triblok Kopolimer Sentezi

Poli(etilen glikol) ($M_n = 1450, 3350$ ve 12000 g/mol) susuz toluen kullanılarak azeotropik damıtma ile kurutuldu. ε-Kaprolakton (CL) vakum damıtma vasıtasıyla CaH_2 ile saflaştırılmıştır. PCEC triblok kopolimeri makrobaşılatıcı olarak PEG ve katalizör olarak $Sn(Oct)_2$ 'nin varlığında ε-kaprolaktonun azot atmosferi altında halka açılma polimerizasyonu ile sentezlenmiştir [169]. Bu yöntemin avantajı elde edilen kopolimerlerde toksik maddelerin kullanılmamasıydı. Kısaca PCEC kopolimeri azot atmosferi altında bir karıştırıcı, bir termometre ve bir gaz giriş tüpü ile donatılmış iki boyunlu bir cam reaktöre bilinen bir miktarda ε-kaprolakton, PEG [hassas terazi

(Sartorius, CP225D) kullanılarak ϵ -CL/PEG sırasıyla 0.5, 1, 2 ve 24 ağırlık oranlarında tartılarak] ve $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ (%0.1 a/a) ilave edilmesiyle sentezlenmiştir. Reaktör 130°C'de ısıtıcıda (IKA C-MAG HS7) tutuldu. Polimerizasyon sırasında sistem yavaşça karıştırıldı ve viskozite zamanla arttı. 6 saat sonra reaksiyon sistemi 180°C'ye bir diğer 20 dakika için vakum (KNF, LAB, LABOPORT) altında hızla ısıtıldı. Azot atmosferi altında oda sıcaklığına soğutulduktan sonra PCEC kopolimeri önce diklormetan içinde çözündü ve AR derecede aşırı soğuk petrol eteri kullanılarak filtrattan tekrar çöktürüldü. Daha sonra karışım süzüldü ve sabit ağırlığa kadar vakum etüvde (Nüve EV 018, Türkiye) kurutuldu. Elde edilen saflaştırılmış PCEC kopolimerleri kullanılmadan önce desikatörlerde hava geçirmez çantalarda saklandı [170]. PCEC1, PCEC2, PCEC3, PCEC4, PCEC5, PCEC6, PCEC7, PCEC8, PCEC9, PCEC10, PCEC11 ve PCEC12 sırasıyla PEG1450, ϵ -CL/PEG = 24, PEG1450, ϵ -CL/PEG = 2, PEG1450, ϵ -CL/PEG = 1, PEG1450, ϵ -CL/PEG = 0.5, PEG3350, ϵ -CL/PEG = 24, PEG3350, ϵ -CL/PEG = 2, PEG3350, ϵ -CL/PEG = 1, PEG3350, ϵ -CL/PEG = 0.5, PEG12000, ϵ -CL/PEG = 24, PEG12000, ϵ -CL/PEG = 2, PEG12000, ϵ -CL/PEG = 1 ve PEG12000, ϵ -CL/PEG = 0.5'i belirtmektedir.

3.2.2 Kopolimerlerin Karakterizasyonu

3.2.2.1 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FT-IR) Spektroskopisi Ölçümü

PEG ve PCL'nin yapısını doğrulamak, PCEC triblok kopolimerinin sentez ve yapısını doğrulamak üzere FTIR ölçümleri Universal ATR örnekleme aksesuarı olan Diamond/ZnSe Crystal ile Perkin Elmer marka Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) tekniği kullanılarak gerçekleştirildi. Ölçüm aralığı 4000-650 cm^{-1} 'e, tarama sayısı 4'e ve çözünürlük 4 cm^{-1} 'e set edilmiştir.

3.2.2.2 ^1H Nükleer Manyetik Rezonans Spektrometresi (NMR) Ölçümü

^1H NMR spektrumları (CDCl_3 içinde) bir dahili referans standardı olarak %0.03 (v/v) tetrametilsilan kullanılarak 500 MHz'de Bruker Avance III 500 MHz Spektrometresi (Bruker, Germany) üzerinde kaydedildi. d1 bekleme süresi 2 s'ye set edildi ve tarama sayısı 128 idi. Spektrum -4 ile 16 milyonda bir parçacık (ppm) arasında kaydedildi. Pik pozisyonları ve alanları blok kopolimerlerin bileşimlerini belirlemek için MestReNova Pro yazılımı kullanılarak analiz edildi. PEG'in sayı-ortalama molekül ağırlığı (M_n) bilindiğinden her iki polimere atfedilen spektrumdaki pik yoğunluklarından hesaplanarak

PCL bloğun ve kopolimer bileşiminin sayı-ortalama moleküler ağırlıkları öngörülmüştür. Sayı ortalama molekül ağırlığı ve PEG/PCL oranı etilen glikolün CH₂'si ve PCL'nin CH₂'sinden kaynaklanan pikler gibi her bir monomerle ilgili sinyallerin integralini alarak hesaplanmıştır. Üç bloklu ürünlerin moleküler ağırlıkları aşağıda verilen Eşitlik 3.1 kullanılarak ¹H NMR uç grup analizi ile saptanmıştır [171]:

$$M_n^{NMR} = \frac{I^h / 2 \times 114}{(I^a + I^b + I^c) / 4 \times 44} \times M_n^{DHPEG} + M_n^{DHPEG} = \left[\frac{I^h / 2 \times 114}{(I^{a,b,i}) / 4 \times 44} + 1 \right] \times M_n^{DHPEG} \quad (3.1)$$

burada M_n^{NMR} (g/mol) ve M_n^{DHPEG} (g/mol) sırasıyla PCEC ve PEG'nin moleküler ağırlığıdır ve I^h , $I^{a,b,i}$ PCEC kopolimerlerinin ¹H NMR spektrumunda sırasıyla yaklaşık 4.09 ve 3.66 ppm'de piklerin integral yoğunluklarıdır.

3.2.2.3 Jel Permeasyon Kromatografisi

Viscotek GPCmax VE2001 GPC cihazı Viscotek VE 3580 kırılım indisi dedektörü, Shodex KF-805L GPC kolonu ve 300 mm uzunluğunda ve 8.0 mm çaplı Viscotek T3000 Org kolon Jel permeasyon kromatografisi (GPC) PCEC kopolimerlerinin sayı-ortalama molekül ağırlıklarını (M_n), ağırlık ortalama molekül ağırlıklarını (M_w) ve molekül ağırlık dağılımını (M_w/M_n polidispersite indeksi: PDI) belirlemek için kullanılmıştır. Polimer örnekleri 1-2 mg/ml'lik bir konsantrasyonda HPLC derecesinde tetrahidrofur (THF) içinde çözülmüştür. THF iki Shodex KF-805L GPC kolonu ve bir Viscotek T3000 Org kolonu vasıtasıyla 1.0 ml/dakikalık hızda ayrıştırılmıştır. Dış ve kolon sıcaklığı 35°C'de tutuldu. Kalibrasyon molekül ağırlığı 1050 ile 4.200.000 Da arasında değişen tekil dağılımlı polistiren standartlarıyla gerçekleştirildi. Örneklerin molekül ağırlığı dar molekül ağırlık dağılımlı polistirenlerin yıkama hacminden hesaplandı.

3.2.2.4 Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC)

Triblok kopolimerlerin kristalleşme davranışlarını incelemek için DSC analizi gerçekleştirilmiştir. Numunelerin termal özellikleri diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) (Perkin Elmer Diamond) cihazı ile ölçülmüştür. DSC ölçümlerini gerçekleştirmek için 5 mg numune kapaklı standart alüminyum terazi kefelerinde kapatılmıştır. Numune 20 ml/dakika akış hızında saf kuru nitrojen ile temizlendi. Sıcaklık rampası hızı 10°C/dakikaya ayarlandı ve ısı akışı 0°C'den 250°C'ye kaydedildi. İndiyum DSC

cihazının sıcaklık ve enerji ölçeklerini kalibre etmek için standart referans malzemesi olarak kullanılmıştır.

3.2.2.5 Flüoresans Spektroskopisinin Ölçümü

Piren molekülü güçlü bir hidrofobik karaktere ve suda çok düşük bir çözünürlüğe sahiptir. Piren misellerin hidrofobik bölgesinde kendisini tercihli olarak çözünür hale getirdiği için floresans yoğunluğu piren civarındaki çevresel değişimden büyük ölçüde etkilenmiştir [172]. Blok kopolimerlerin kritik misel konsantrasyonlarını hesaplamak için hidrofobik prob olarak piren kullanıldı [173-176]. PCEC triblok kopolimerlerinin CMC'sinin floresans spektroskopisinin ölçümü ile çekirdek-kabuk tipi misel oluşum potansiyelini ispatladığı tahmin edildi (Floresans eksitasyon ve emisyon spektrumu oda sıcaklığında 1 cm yol uzunluğu olan küvetler kullanılarak bir Varian Eclipse spektrofotometrede kaydedildi). Numune çözeltileri elde etmek için aseton içerisindeki bilinen bir miktardaki piren 20 ml amber flakon serisinin her birine ilave edildi ve aseton da vakum altında uzaklaştırıldı. Pirenin son konsantrasyonu 6.0×10^{-7} M idi. Blok kopolimer çözeltilerinin çeşitli konsantrasyonlarının (3.16×10^{-6} - 1 mg/ml) 10 ml'lik hacimleri her bir şişeye eklendi, daha sonra piren ve blok kopolimer çözeltisini dengeye getirmek için 65°C'de 3 saat ısıtıldı, gece boyunca oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Eksitasyon spektrumları için emisyon dalga boyu 390 nm idi. Eksitasyon ve emisyon bant genişlikleri sırasıyla 1.5 ve 1.5 nm idi. 334 ve 337 nm'de (I_{337}/I_{334}) floresans yoğunluğunun oranı hesaplandı ve kopolimer konsantrasyonlarının logaritmasına karşı çizildi.

3.2.2.6 Sol-Jel-Sol Faz Geçiş Davranışı

Sol-jel geçişi hidrofiliklik ve hidrofobiklik arasında hassas dengeye sahip olan bir polimer için gözlemlenir [177]. Faz geçiş davranışı testi kopolimerlerin termo-duyarlılığının doğrulanması için zorunludur [178]. Sulu PCEC kopolimer çözeltilerinin farklı konsantrasyonlarında (%15, %18, %20, %23, %25, %28, %30 ve %33 mg/ml) hazırlanan sol-jel-sol faz geçiş diyagramı 10 mm'lik bir iç çapa sahip 4 ml sıkı olarak vidalı kapaklı bir şişe ile tüp ters çevirme yöntemi kullanılarak kaydedildi. Belirli bir konsantrasyonda her bir numune PCEC kopolimerinin deiyonize suyun (Millipore Milli-Q Gradient) içinde belirlenmiş bir sıcaklıkta çözülmesiyle hazırlanmıştır. Sol-jel-sol geçişi şişelerin ters çevrilmesiyle görsel olarak gözlemlendi, sol ve jel koşulları sırasıyla 1 dakika içinde “akış” ve “akış olmayan” olarak tanımlandı. PCEC kopolimerinin hacmi konsantrasyona

bakılmaksızın toplam 1 ml'de tutulmuştur. Sulu numuneler 0°C'den çökeltilinin olduğu sıcaklığa kadar 1°C dk⁻¹ ısıtma hızında ısıtıldı [179].

3.2.3 PCEC Misellerin Sentezi

PCL-PEG-PCL (PCEC) miselleri vorteks (Heidolph Reax top) ve manyetik karıştırıcı (IKA, RO 15) ile sırayla vortekslenerek ve karıştırılarak ilgili konsantrasyonu sağlayacak su ile karışabilir organik çözücüde [aseton veya dimetilformamit (DMF)] çözölmüş 90 miligram kopolimer ile nanoçöktürme yöntemi ile hazırlandı [180], [181]. Çözelti 1 saat 600 rpm'de (dakikadaki devir sayısı) karıştırılmıştır. Bu teknikle nanoparçacıkların oluşum mekanizması çözücü yer değıştirmesi boyunca oluşan arayüzey türbölansıyla açıklanmıştır [182]. Daha sonra elde edilen çözelti bir şırınga (G = 22) vasıtasıyla 25°C'de ılımlı karıştırma altında 96 ml saf suya damla damla ilave edilerek 1 saat 1000 rpm'de karıştırılmıştır [79], [183], [184]. Asetonun suya difüzyonuyla PCEC kendi kendine miselleri oluşturmuştur [170]. Daha sonra aseton azalan basınç altında döner vakum buharlaştırıcı (BÜCHI, Rotavapor R-200 and BÜCHI Vacuum Controller V-800) ile tamamen uzaklaştırılmıştır. Elde edilen mavimtrak çözelti agregalar ve kümeleri uzaklaştırmak için 0.45 µm selölöz asetat şırınga filtre ile filtrelenmiş, 2 ml şişelere koyulmuş, daha sonra daha ileri uygulama ve karakterizasyon için liyofilizatörde (Christ Alpha 1-4 LD plus) -55°C'de dondurularak kurutulmuştur [183]. Misellerin dondurularak kurutulmuş tozları 48 saatlik dondurularak kurutulma işleminden sonra elde edilmiştir [185].

Bu çalışmada seçilmiş 4 işlem parametresinden 2'si (PEG türü ve PCL/PEG oranı) 3 farklı değere diğeri 2'si (organik çözücü konsantrasyonu ve polimer konsantrasyonu) 2 farklı değere ayarlanmıştır. Bu araştırmanın amacı polimerik misellerin geliştirilmesi ve bahsi geçen parametrelerin misel boyutu, zeta potansiyeli ve polidispersite indeksi üzerindeki etkisinin incelenmesi idi. Aseton ve DMF için sırasıyla $3^2 \times 2^2 = 36$ 'şar deneysel koşulu için toplam 72 adet misel sentezlenmiştir. Polimer konsantrasyonu olarak termoduyarlılık deneyleri sırasında sol-jel geçişi sağlayan %15 ile %25 değeri seçilmiştir.

3.2.3.1 Parçacık Boyutunun, Polidispersitenin ve Zeta Potansiyelinin Belirlenmesi

PCEC nanoparçacıkları ilk olarak dispersiyon kullanılarak saf su içerisinde dağıtıldı ve hazırlanan misellerin parçacık boyutu (Z-Ave), polidispersite indeksi (PDI) ve zeta

potansiyeli (ζ) foton korelasyon spektroskopisi (PCS) ile birlikte 4.0 mV He-Ne lazer (633 nm) ile donatılan bir Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Worcestershire, UK) kullanılarak belirlendi. Parçacık boyutu 90° saçılım açısında 25°C 'de tespit edildi. Polimerik misellerin konsantrasyonu 1 mg/ml'de tutuldu. Kısaca özetlemek gerekirse kurutulmuş miseller saf su içinde süspanse edildi, parçacık agregasyonunu önlemek ve misellerin üniform dağılımını oluşturmak için vorteks yapıldı. Veriler yoğunluk dağılımı baz alınarak değerlendirildi. Numuneler 25°C 'de üç kez analiz edildi ve ortalama değer sunuldu.

3.2.3.2 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

PCEC misellerinin yüzey morfolojisini araştırmak için taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanıldı. Misel numunesi incelemeye önce altın ile kaplandı. Bu çalışmada hazırlanmış parçacıkların yüzey morfolojisi Zeiss Marka EVO® LS 10 Model SEM cihazı kullanılarak incelendi. Daha sonra tüm numuneler 5 kV hızlandırıcı gerilimde incelendi.

3.2.4 PCL-PEG-PCL Miselleri ile DOX Yükleme Tam Faktöriyel Tasarım Optimizasyonu

DOX-yüklü polimerik miseller bütün prosedür karanlıkta gerçekleştirilirken nanoöktürme metoduyla daha önce anlatıldığı gibi hazırlanmıştır [13]. Bu çalışmanın amacı DOX ile yüklenmiş PCEC misellerinin hazırlanması için olgunlaşma sürecinin verimliliğini kontrol eden en uygun faktörleri tanımlamaktır. Bu çok faktörlü optimizasyon için "bir seferde bir faktör değiştirme" geleneksel yöntemi uygulanmış olabildi ancak zahmetli olduğundan dolayı ve optimum parametre setine ulaşmayı garanti etmediğinden bu şekilde kaçınılmıştır. Bunun yerine burada "tam faktöriyel tasarım" yöntemi tercih edildi. İşlem faktörlerinin birleşik etkisinin matematiksel bir modeli baz alınarak bu yaklaşımın çok daha güvenilir olduğu bilinmektedir [83]. Bu çalışmada seçilen 4 proses parametresi (karıştırma hızı (rpm) X_1 , kontakt zamanı (saat) X_2 , TEA miktarı (μl) X_3 , %DOX X_4) 2 farklı değere ayarlandı. Her biri 16 deneysel koşulun her biri için iki kere tekrarlanmıştır ve misellerin ilaç kapsülleme verimliliği belirlenmiştir. Değişkenlerin değerleri Çizelge 4.4'te verilmiştir. "DOX konsantrasyonu" (bu çalışmada parametre #4) bu çözümlerde DOX kütlesinin PCEC'nin kütlesine oranı olarak tanımlandı. %2'ye (alternatif olarak %5) ayarlandı. DOX-yüklü miselleri üretmek

için DOX.HCl ilk önce nötrale edildi, Çizelge 4.4'te verilen miktardaki Dokсорubisin hidroklorür (DOX.HCl) 2 ml aseton içerisinde Çizelge 4.4'te belirtilen miktardaki trietilamin (TEA) ile 100 rpm'de bütün gece manyetik karıştırma altında nötr hale getirildi. Bu çözeltideki "TEA miktarı" (bu çalışmada parametre #3) 22.5 µl'ye (alternatif olarak 45 µl) eşitti. Daha sonra 4 ml aseton içinde 90 mg PCEC triblok kopolimeri 600 rpm'de 1 saat çözölmüş, elde edilen bu çözelti ilaçlı çözeltiye ilave edilmiştir. Elde edilen bu organik çözelti Çizelge 4.4'te verilen kontakt zamanında ve karıştırma hızında manyetik karıştırma altında 1000 rpm'de 15 ml saf suya 25°C'de şırınga ile damlatarak ilave edildi. "Karıştırma hızı" (bu çalışmadaki parametre #1) 600 rpm'e (alternatif olarak 1000 rpm) eşit olarak ayarlandı. "Temas süresi" adı verilen süre (bu çalışmada parametre #2) 1 saate (alternatif olarak 3 saat) eşit olacak şekilde ayarlanmıştır. Tutuklanmamış DOX ile TEA'nın uzaklaştırılması ve misel üretmek için karışım daha sonra 24 saat boyunca karıştırılmıştır. Aseton 35°C'de azalan basınç altında rotary vakum evaporatör ile uzaklaştırıldı. Yukarıdaki prosedür belirli bir DOX miktarının yüklendiği PCEC misellerinin oluşumuna neden olur. Bu nedenle 2⁴ = 16 kesikli partikül bu deneysel tasarıma göre hazırlandı ve her bir deney iki kez gerçekleştirildi. İşlem faktörlerinin her bir seti için "enkapsölasyon verimi" belirlenmiştir. Bu veri eşitlik 3.3 ile belirlenmiştir.

3.2.4.1 İlaç Yükleme ve Kapsölleme Verimliliğinin Değerlendirilmesi

Misellerin EE ve DL'si ultraviyole spektrofotometre (UV-Vis) (WTW Photolab) ile 480 nm'de ölçölmüştür [186], [187]. DOX yüklü polimerik misellerin hazırlanması kısmında formüle edilen karışım 12000 rpm'de 30 dakika santrifüj (Thermo Scientific Heraeus Multifuge X3 FR Centrifuge Series) edilmiştir. Süpernatant (süzüntü, yüklenmeyen ilacın olduğu çözelti) ilaç yüklü miselden ayrılmış oldu. Süpernatant 4°C'de buzdolabında saklandı. DOX-PCEC'nin ilaç yükleme ve enkapsölasyon verimi bir çıkarma yöntemi ile belirlendi [183]. 2 ml'lik bir miktar filtreden geçirildi. Serbest DOX geçmesine rağmen dokсорubisin ile kapsölennmiş PCEC nanoparçacıkları filtreden geçemedi. İlaç yükleme (DL) ve enkapsölasyon verimi (EE) aşağıdaki eşitliklere göre hesaplanmıştır [188]:

$$DL (\%) = \left([Toplam \text{ İlaç}] - [Serbest \text{ İlaç}] \right) / \left([Polimer] + [Toplam \text{ İlaç}] - [Serbest \text{ İlaç}] \right) * 100 \quad (3.2)$$

$$EE (\%) = \left([Toplam \text{ İlaç}] - [Serbest \text{ İlaç}] \right) / \left([Toplam \text{ İlaç}] \right) * 100 \quad (3.3)$$

DOX içeriği 2 ile 50 µg/ml doğrusal aralıkta kalibrasyon eğrisinden hesaplandı (Şekil EK-A. 1). Elde edilen korelasyon katsayısı değeri $y = 0.0185x + 0.0044$ regresyon denklemi ile 0.9988 idi.

3.2.5 Polimerik Misellerden DOX'in İn Vitro İlaç Salımı

DOX'in misellerden in vitro salımı diyaliz tekniği kullanılarak incelendi [189]. İlaç salımının pH bağımlılığının incelenmesi için 37°C'de pH 5.0, 6.5 ve 7.4'te salım ortamı olarak PBS (%0.02 (a/h) Tween 80 ve bakteriyel gelişimi önlemek için %0.025 (a/h) sodyum azid (NaN₃) içeren PBS) ile çalışılmıştır. Kontrol olarak serbest DOX salımı pH 7.4 olan PBS'de incelendi. Dondurarak kurutulmuş 40 mg doksorubisin yüklü polimerik misel (DOX-PM) (optimizasyon sonucu elde edilen numune) 2 ml istenen salım tamponunda yeniden dağıtıldı. Dispersiyon selüloz diyaliz membranına aktarılmıştır. Sonra diyaliz tüpü 6 ml salım tamponu içine batırılmıştır ve 100 rpm'lik çalkalama ile 37°C'lik su banyosu (NÜVE ST 30, Türkiye) içerisinde inkübe edilmiştir. Her bir süre sonra (3. dakika, 1., 2., 4., 8., 12. ve 24. saatler) 3 ml'lik bir numune alındı ve 3 ml taze ortam ile değiştirildi. DOX miktarı Bölüm 3.2.4.1'de belirtildiği gibi ultraviyole spektrofotometre (UV-Vis) ile 480 nm'de ölçülmüştür. Aynı konsantrasyonda serbest bir DOX çözeltisi de diyaliz tüpüne koyuldu ve salım kontrol olarak aynı koşullar altında incelendi. İlaç salım davranışının değerlendirilmesinde salınan DOX'in kümülatif miktarı hesaplandı ve yüklenen ilacın miktarı ile misellerden DOX'in kümülatif salım yüzdeleri zamana karşı çizildi. İn vitro ilaç salım deneyleri her pH değerinde üç kez gerçekleştirildi ve bu değerlerin ortalaması alınarak %salım oranları hesaplandı. Salınan DOX'in kümülatif fraksiyonu aşağıdaki denklemlere göre hesaplandı [133], [166], [190], [191]:

$$\text{Kümülatif salınan \%DOX } (t_n) = \frac{\text{toplam salınan DOX}}{\text{hazırlamadaki başlangıç DOX}} \times 100 \quad (3.4)$$

$$= \frac{\sum_{i=1}^{i=n-1} [\text{DOX}]_i V_i + [\text{DOX}]_f V_f}{[\text{DOX}]_0 V_0} \times 100 \quad (3.5)$$

burada $[\text{DOX}]_i$ ve V_i t_i zamanında alınan örneğin ölçülen DOX konsantrasyonu ve hacmidir, $[\text{DOX}]_f$ ve V_f salım ortamının son olarak ölçülen DOX konsantrasyonunu ve hacmini temsil eder ve $[\text{DOX}]_0$ ve V_0 çalışma altındaki hazırlanan formülasyonun başlangıç DOX konsantrasyonunu ve hacmini temsil eder [192]. Tüm salım deneyleri tüpleri alüminyum folyo ile kaplayarak karanlıkta gerçekleştirildi.

3.2.6 DOX/PSC 833 ve/veya DOX/TPGS 1000 Eş-Yüklü Misellerin Hazırlanması

İkili-ilâç yüklü DOX/PSC 833 ve DOX/TPGS 1000 yüklü miseller Bölüm 3.2.4'te belirtilen yöntemle göre ancak misel bileşenlerine PSC 833 ya da TPGS 1000 ilave edilerek hazırlanmıştır. PSC 833 ve TPGS 1000 asetonda çözündü daha sonra bu çözelti ılımlı karıştırma altında saf suya damla damla ilave edildi. İlaç kapsüllenmesini optimize etmek için optimize edilen DOX yüklü PCEC miseli ile farklı ilaç oranlarında PSC 833 ve TPGS 1000 (DOX:PSC 833 ve/veya DOX:TPGS 1000 oranı 1:30 ile 1:10 olmak üzere) kullanılarak çalışmalar yapılmıştır (Çizelge 4.5).

3.2.6.1 DOX/PSC 833 ve DOX/TPGS 1000 Eş-Yüklü Misellerin FT-IR Analizi

DOX, TPGS 1000, PCEC misel, DOX-PCEC karışımı, TPGS 1000-PCEC karışımı, DOX-TPGS 1000-PCEC karışımı, DOX-PCEC, TPGS 1000-PCEC, PSC 833-PCEC, DOX-TPGS 1000-PCEC, DOX-PSC 833-PCEC ürünlerinin moleküler yapısı 4000-400 cm^{-1} dalga boyu bölgesinde KBr peletlerini kullanarak fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR, Shimadzu Corporation, IRPrestige21, Kyoto, JAPAN) ile karakterize edildi.

3.2.6.2 DOX/PSC 833 ve DOX/TPGS 1000 Eş-Yüklü Misellerin Boyut Dağılımı ve Zeta Potansiyeli

DOX-PM, TPGS 1000-PM, PSC 833-PM, DOX/TPGS 1000-PM ve DOX/PSC 833-PM'lerin boyut dağılımı ve zeta potansiyeli Bölüm 3.2.3.1'de anlatıldığı şekilde dinamik ışık saçılması (DLS) yöntemi ile ölçülmüştür.

3.2.7 Polimerik Misellerden TPGS 1000 ve PSC 833'ün İn Vitro İlaç Salımı

TPGS 1000 ve PSC 833'ün polimerik misellerden in vitro ilaç salımı Bölüm 3.2.5'te belirtilen şekilde gerçekleştirilmiştir. Dondurarak kurutulmuş 40 mg Doksorubisin/TPGS 1000 yüklü polimerik misel (DOX/TPGS 1000-PM) ve Doksorubisin/PSC 833 yüklü polimerik misel (DOX/PSC 833-PM) misel kullanılmıştır. TPGS 1000 ve PSC 833 miktarı Bölüm 3.2.7.1'de belirtildiği gibi ölçülmüştür.

3.2.7.1 TPGS 1000 ve PSC 833'ün Kantitatif Analizi

Salım ortamındaki TPGS 1000 ve PSC 833 miktarı valide edilmiş bir HPLC metodu kullanılarak belirlendi ve zamana karşı mevcut toplam TPGS 1000 ve PSC 833 yüzdesi olarak ifade edildi. Ölçümler kromatografik analiz pompa (LC-20AT), oto-enjektör (SIL-20A HT), çevrimiçi gaz giderici (DGU-20A₅) ve kolon ısıtıcı (CTO-10AS VP) ile donatılmış bir HPLC sistemi (Shimadzu, Kyoto, Japan) üzerinde gerçekleştirildi. TPGS 1000 ve PSC 833 analizi için HPLC metod parametreleri sırasıyla Çizelge 3.2 ve 3.3'te gösterilmektedir.

Çizelge 3. 2 TPGS 1000 analizi için HPLC metod parametreleri

Kolon	Inertsil ODS 3V C18 (250*4.6 5µm)
Mobil Faz	ACN(%65)-IPA(%35)
Akış Hızı	1.5 ml/dak
Kolon Sıcaklığı	35°C
Dalga Boyu	220 nm
Enjeksiyon Hacmi	10 µl

Çizelge 3. 3 PSC 833 analizi için HPLC metod parametreleri

Kolon	Inertsil ODS 3V C18 (250*4.6 5µm)
Mobil Faz	ACN(%50)-MeOH(%50)
Akış Hızı	1.5 ml/dak
Kolon Sıcaklığı	50°C
Dalga Boyu	220 nm
Enjeksiyon Hacmi	50 µl

3.2.8 Salım Kinetiğinin Matematiksel Modellemesi

Polimerik misel matrislerden ilaç salım mekanizmasını incelemek için in vitro salım deneylerinin sonuç verileri farklı kinetik denklemlere yerleştirildi. Salım kinetiği; sıfırıncı-derece, birinci-derece, Higuchi, Hixson-Crowell, Korsmeyer-Peppas, Baker-Lonsdale ve Weibull olmak üzere yedi farklı model dikkate alınarak değerlendirildi. Veriye en iyi uyan en iyi salım modelinin seçimi için korelasyon katsayı değerleri karşılaştırıldı.

3.2.9 Formülasyonların Stabilitesi

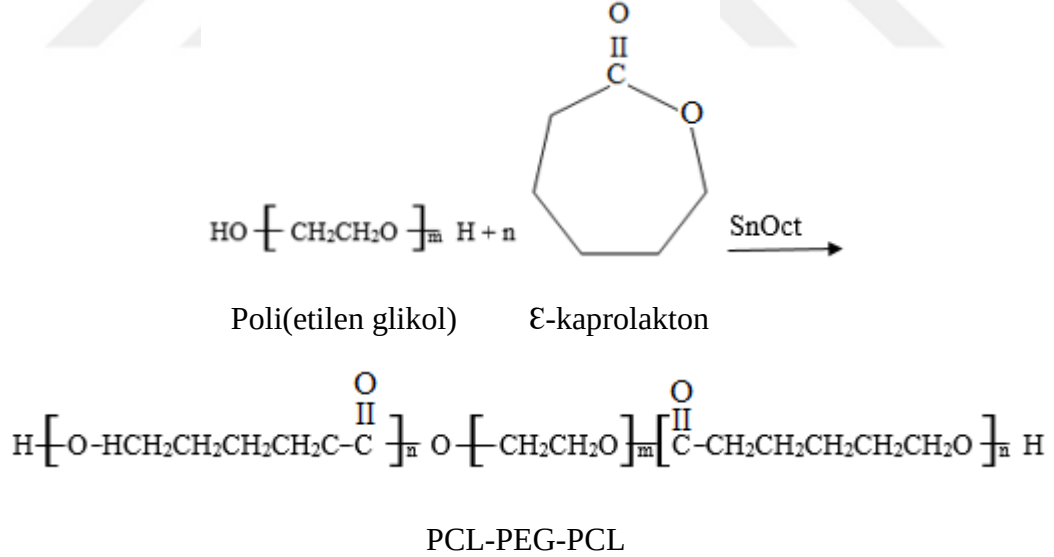
DOX-PM, DOX/PSC 833-PM ve DOX/TPGS 1000-PM'lerin (40 mg) depolama kararlılığını değerlendirmek için miseller saf su [%0.025 (a/h) NaN₃ içeren] içine yerleştirildi ve 15 günlük bir süre boyunca buzdolabı sıcaklığında (5°C) saklandı [193]. Önceden belirlenmiş zaman aralıklarında örneklerin sıvı bölüntüleri çekildi ve misellerin %EE, partikül büyüklüğü ve zeta potansiyeli belirlendi. Ayrıca saklamadan sonraki partikül büyüklüğünün başlangıç partikül büyüklüğüne oranı hesaplandı.



SONUÇ VE ÖNERİLER

4.1 PCEC Triblok Kopolimerlerinin Sentezi

PCEC triblok kopolimerleri herhangi bir başka katalizör olmadan PEG varlığında ϵ -CL monomerinin halka açılma polimerizasyonu ile hazırlandı. PEG zincirlerinin bir ucundaki bir aktif hidrojen atomu başlatıcı olarak hareket etmiştir ve ϵ -CL'nin seçici bir açıl-oksijen bölünmesini başlatmıştır (Şekil 4.1).

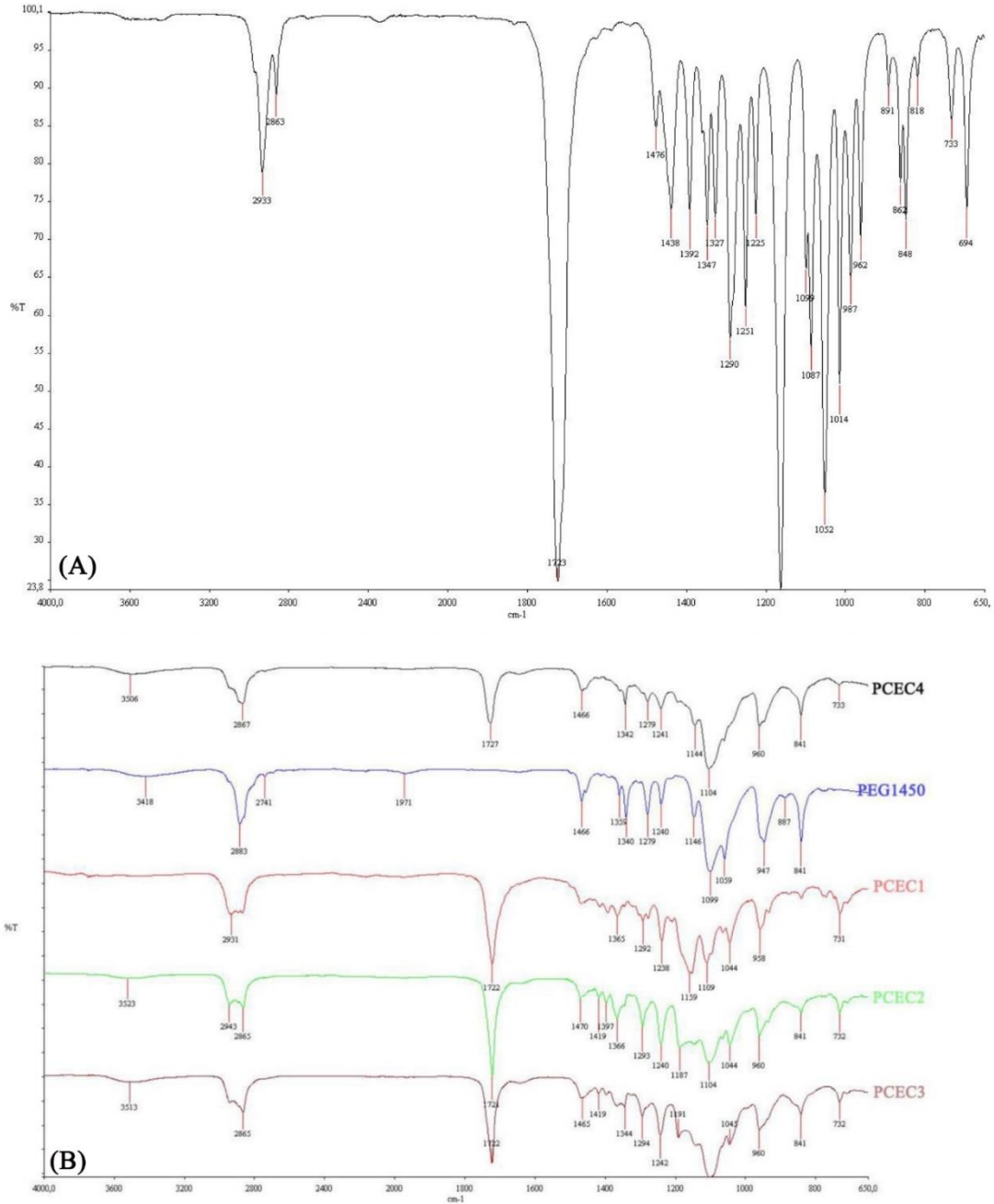


Şekil 4. 1 PCEC triblok kopolimerlerinin sentez şeması

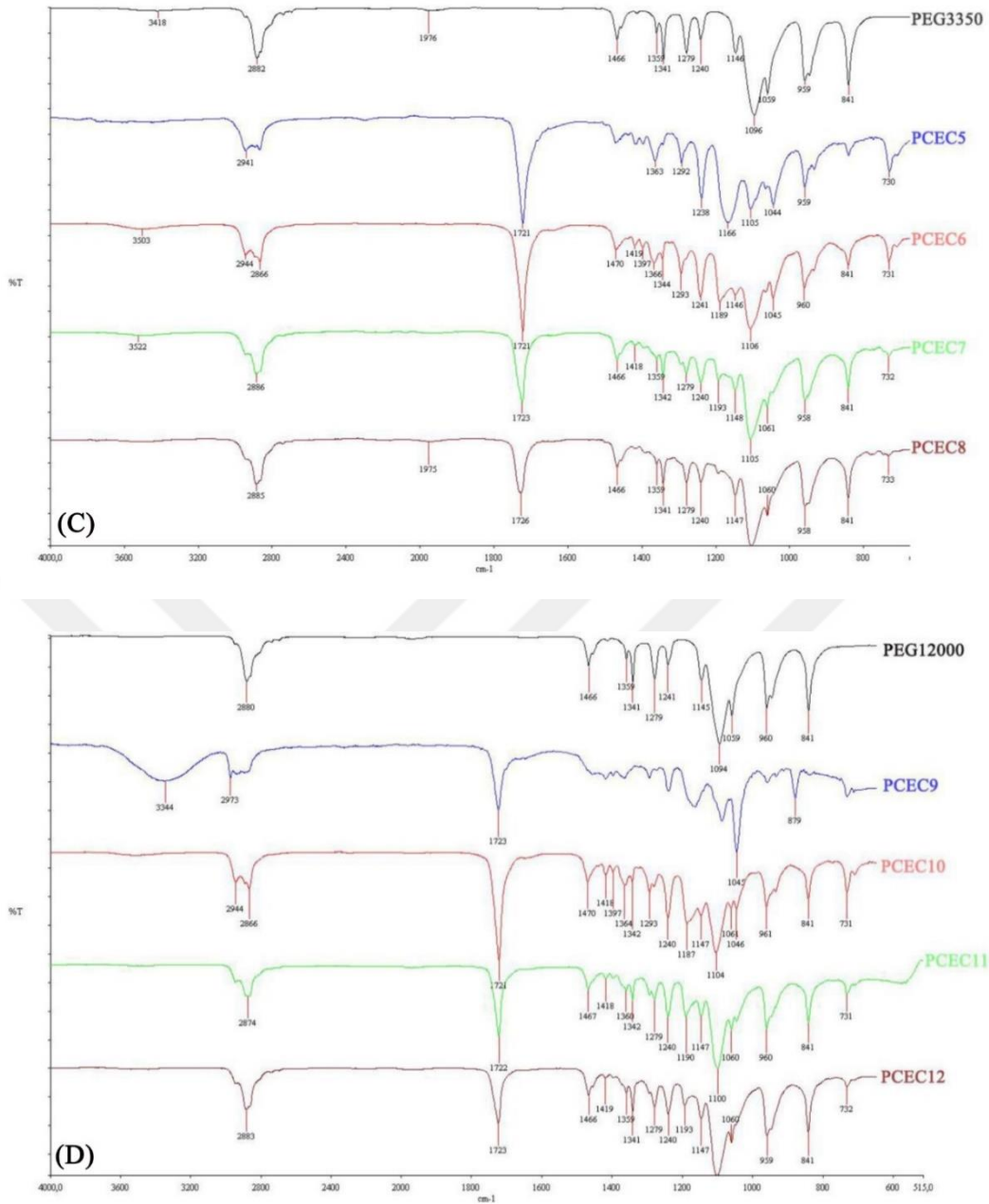
4.2 PCEC Triblok Kopolimerlerinin Karakterizasyonu

4.2.1 FTIR Analizi

Saf PCL ve PEG homopolimerlerinin FTIR spektrumları PCEC triblok kopolimerinin spektrumu ile birlikte Şekil 4.2'de gösterilmektedir.



Şekil 4. 2 A. ϵ -CL ve B. PEG 1450 g/mol, C. PEG 3350 g/mol, D. PEG 12000 g/mol ve farklı CL/PEG ağırlık oranları kullanılarak hazırlanan PCEC triblok kopolimerlerinin FTIR spektrumları



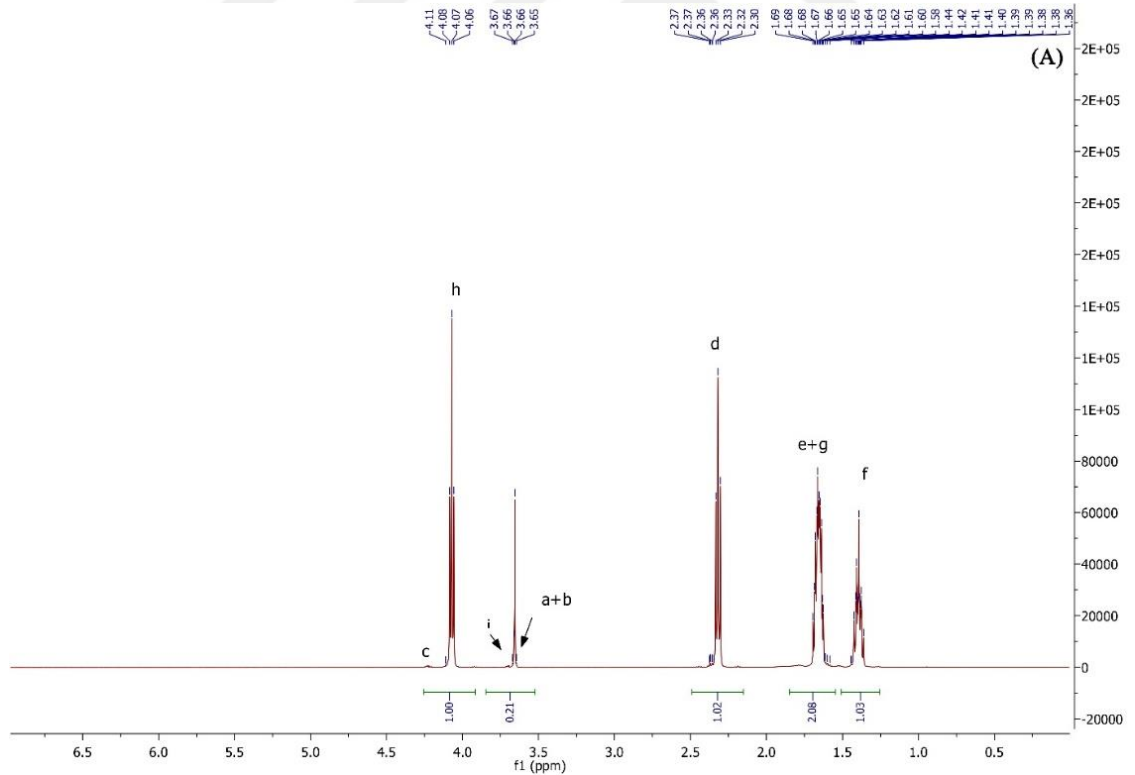
Şekil 4. 2 A. ϵ -CL ve B. PEG 1450 g/mol, C. PEG 3350 g/mol, D. PEG 12000 g/mol ve farklı CL/PEG ağırlık oranları kullanılarak hazırlanan PCEC triblok kopolimerlerinin FTIR spektrumları (devamı)

Bu şekilde PCEC triblok kopolimeri hem PEG hem de PCL bloklarının karakteristik piklerini açıkça sergiledi. Ester bağına atfedilen 1721 cm^{-1} 'de güçlü bir C=O gerilme bandı ortaya çıktı (Şekil 4.2A) [194], [195]. PEG spektrumunda gözlenmeyen bu bant kopolimer oluşumunu doğrulayan karbonil grubunun gerilme titreşimiyle ilişkili olabilir [196]. 2865 cm^{-1} 'deki pik PEO'nun C-H gerilme bandına karşılık gelirken, 2943 cm^{-1} 'deki pik PCL bloklarından CH_2 'nin C-H gerilmesinin absorpsiyonuna karşılık gelir [184]. Farklı molekül ağırlığına sahip PCEC kopolimerleri serisinde (Şekil 4.2)

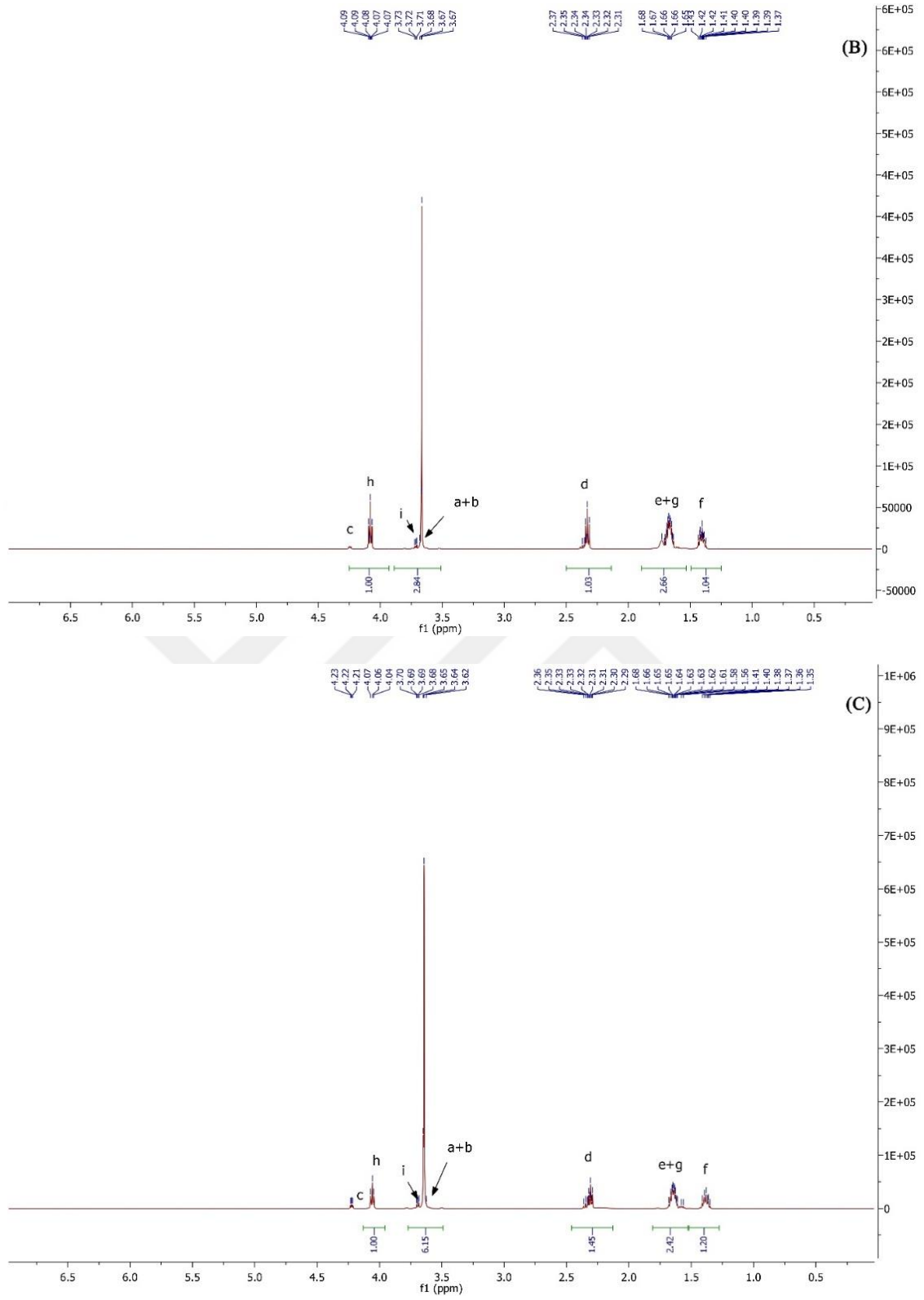
kaprolakton/etilen glikol molar oranı arttıkça 2943 cm^{-1} 'de kaprolaktonun CH gerilme bandının yoğunluğu artarken, 2865 cm^{-1} 'de PEG'in CH gerilme bandı azalmıştır [197], [198]. Görülebileceği üzere bu iki absorpsiyon bandının yoğunluğu kopolimerlerde CL/PEG ağırlık oranına bağlıdır. 1104 cm^{-1} 'deki absorpsiyon bandları PEG'nin tekrarlanan $-\text{OCH}_2\text{CH}_2$ birimlerinin karakteristik C-O-C gerilme titreşimlerine atfedildi [182], [194]. 3508 cm^{-1} 'deki absorpsiyon bandı kopolimerde uç hidroksil gruplarına ($-\text{OH}$) atfedilir [77], [199]. 1238 cm^{-1} 'de absorpsiyon bandları $-\text{COO}-$ band gerilme titreşimlerine atfedilir [200]. Farklı PCL/PEG oranlarına sahip tüm PCEC kopolimerleri benzer FTIR özelliklerine sahipti. Çalışmadaki FTIR sonuçları diğer çalışmalarla karşılaştırıldı ve güçlü veri benzerliği gösterdi.

4.2.2 ^1H NMR Analizi

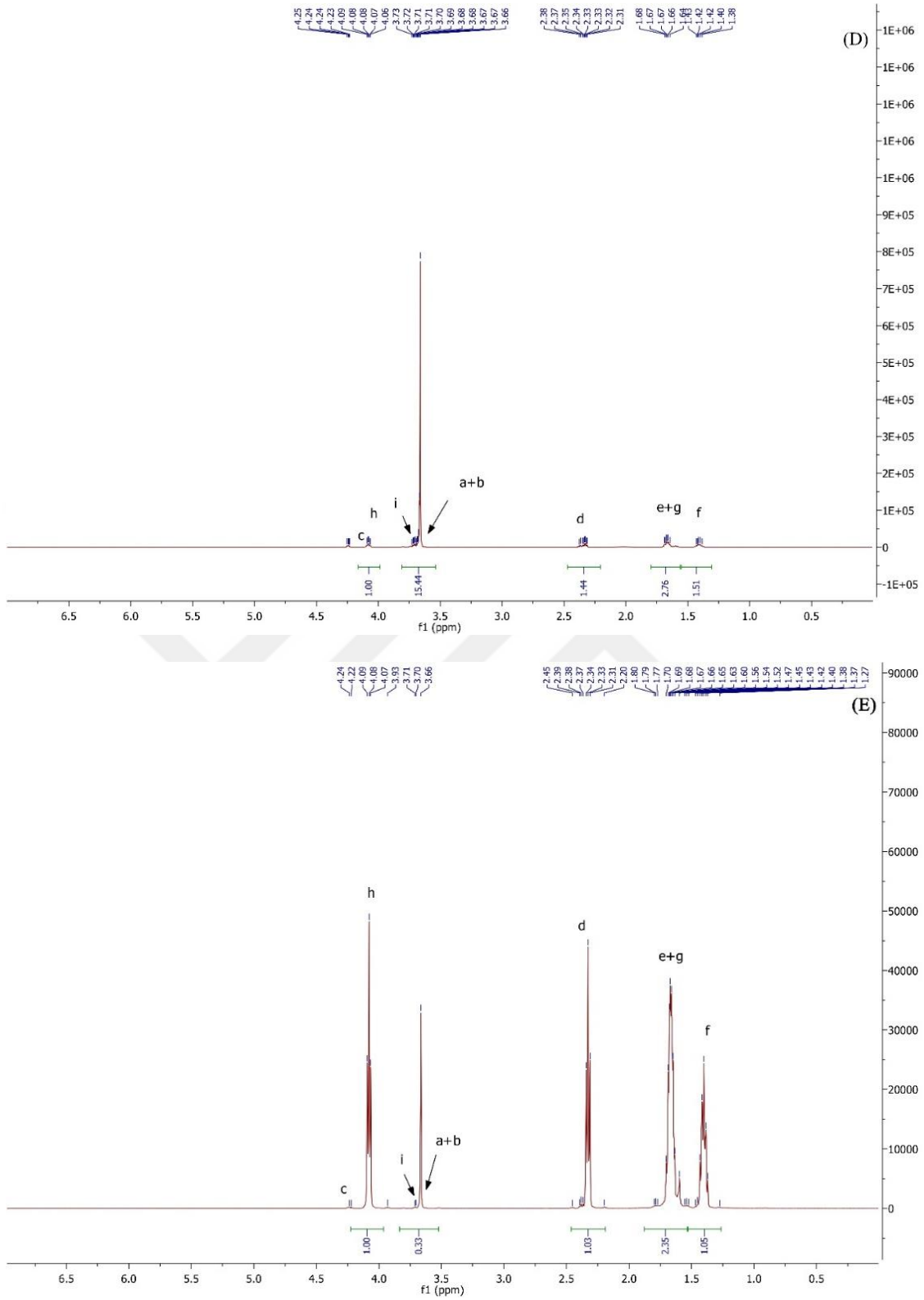
Triblok mimarisi NMR spektrumlarıyla ayrıntılarıyla karakterize edildi. PCEC'lerin ^1H NMR spektrumuna göre kimyasal yapısı belirlendi. CDCl_3 içinde PCEC'lerin ^1H NMR spektrumları Şekil 4.3'te verilmiştir.



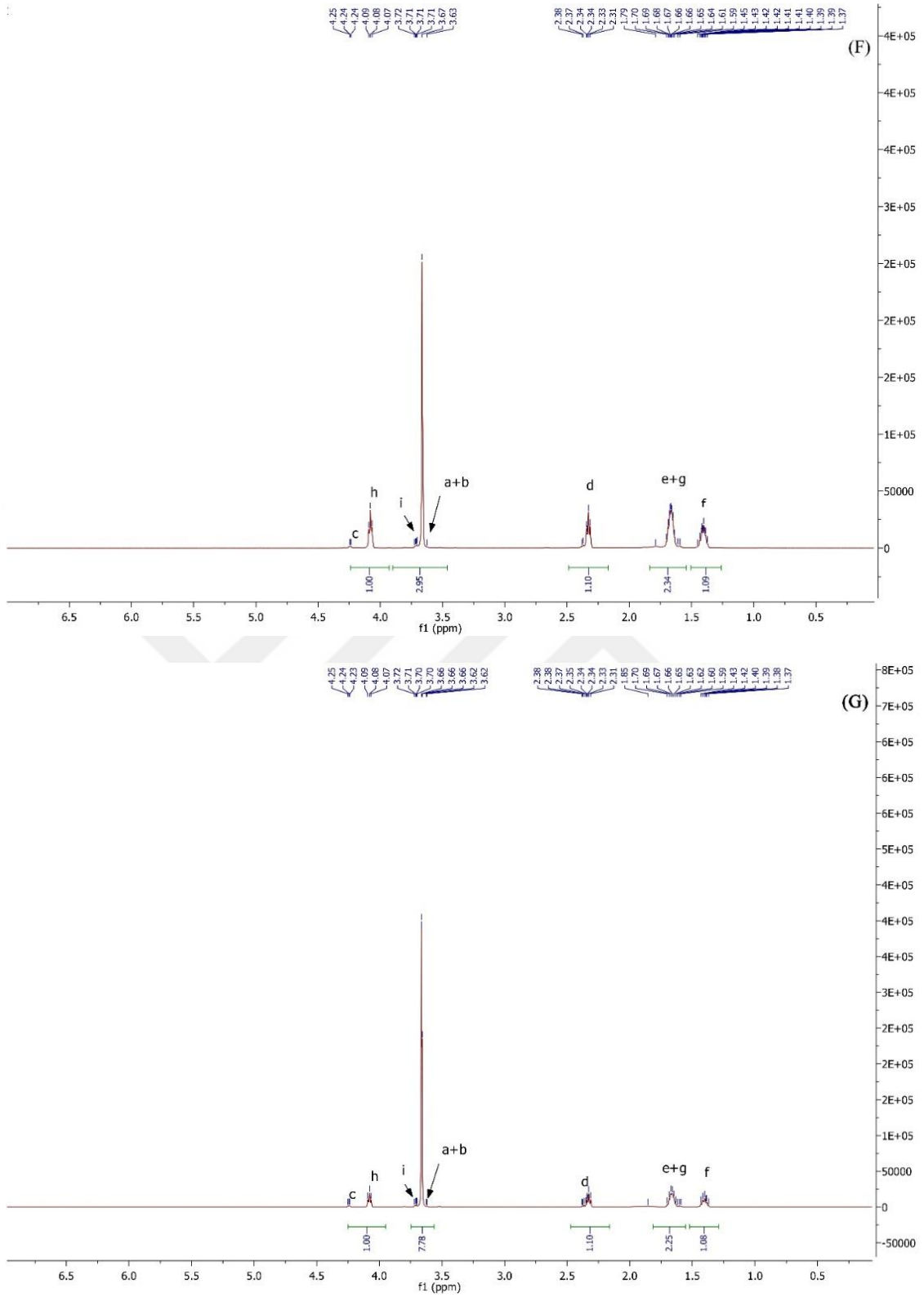
Şekil 4. 3 CDCl_3 içinde sırasıyla A. PCEC1, B. PCEC2, C. PCEC3, D. PCEC4, E. PCEC5, F. PCEC6, G. PCEC7, H. PCEC8, I. PCEC9, J. PCEC10, K. PCEC11, L. PCEC12 numaralı örneklerin ^1H NMR spektrumu



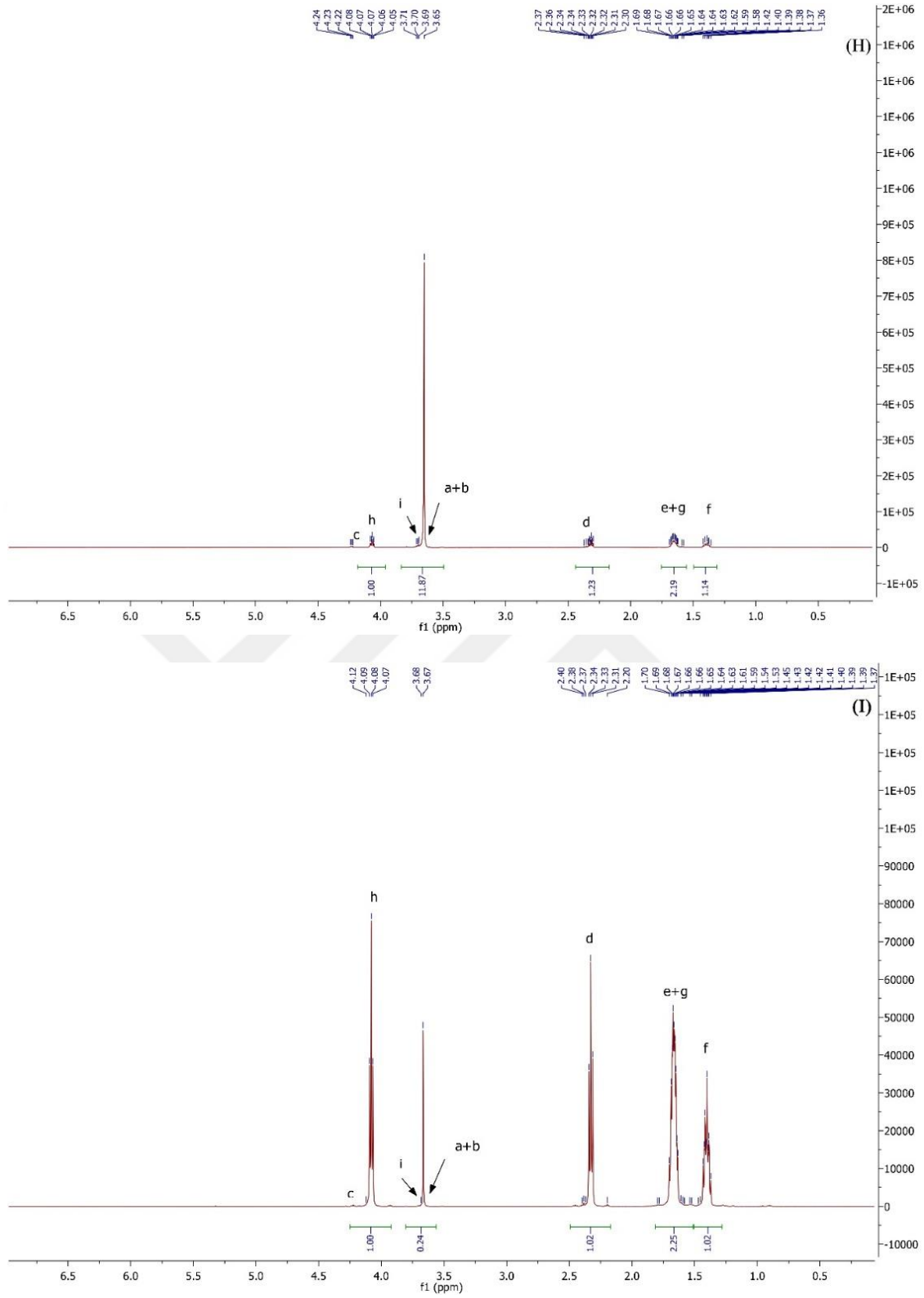
Şekil 4. 3 CDCl₃ içinde sırasıyla A. PCEC1, B. PCEC2, C. PCEC3, D. PCEC4, E. PCEC5, F. PCEC6, G. PCEC7, H. PCEC8, I. PCEC9, J. PCEC10, K. PCEC11, L. PCEC12 numaralı örneklerin ¹H NMR spektrumu (devamı)



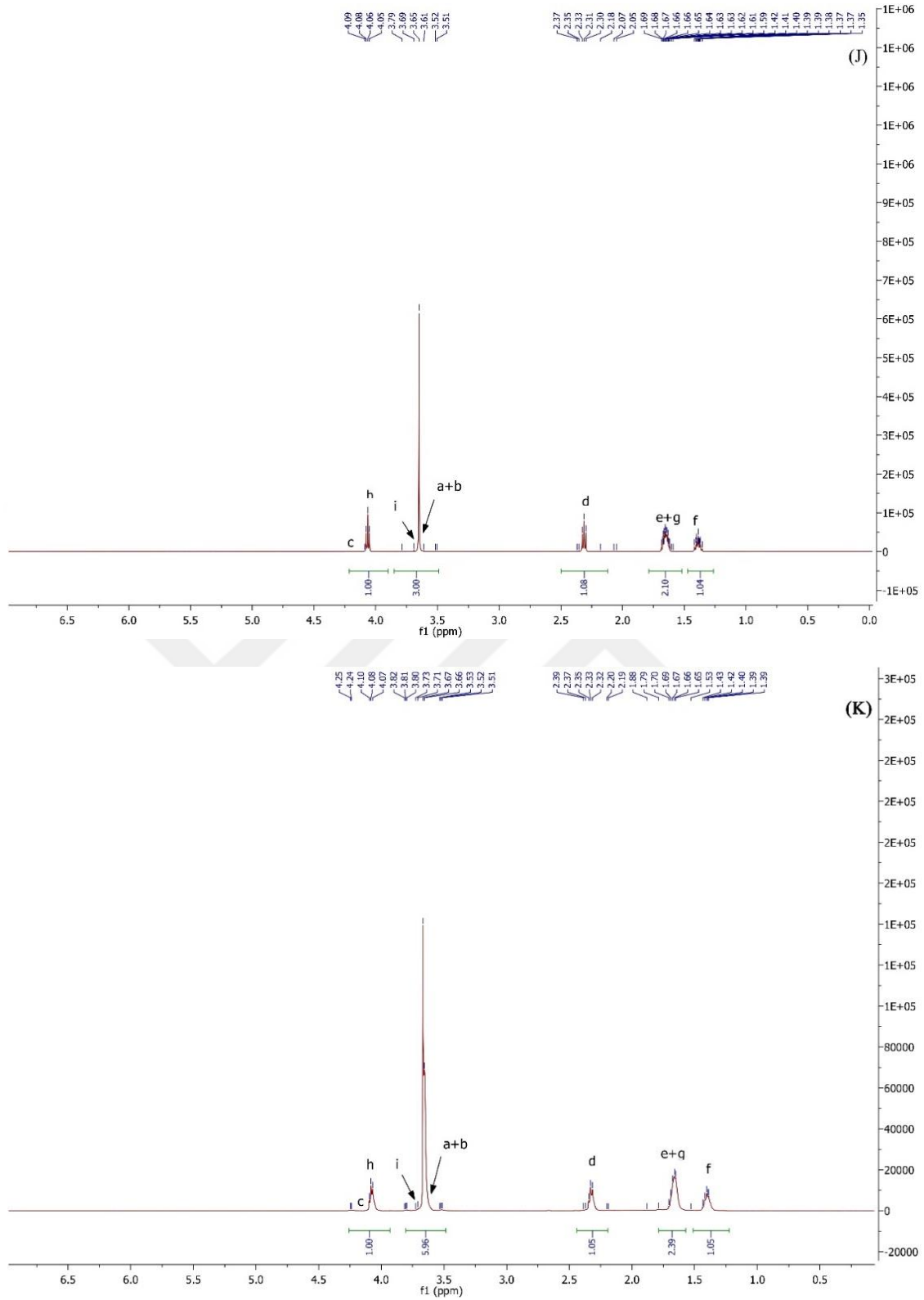
Şekil 4. 3 CDCl₃ içinde sırasıyla A. PCEC1, B. PCEC2, C. PCEC3, D. PCEC4, E. PCEC5, F. PCEC6, G. PCEC7, H. PCEC8, I. PCEC9, J. PCEC10, K. PCEC11, L. PCEC12 numaralı örneklerin ¹ H NMR spektrumu (devamı)



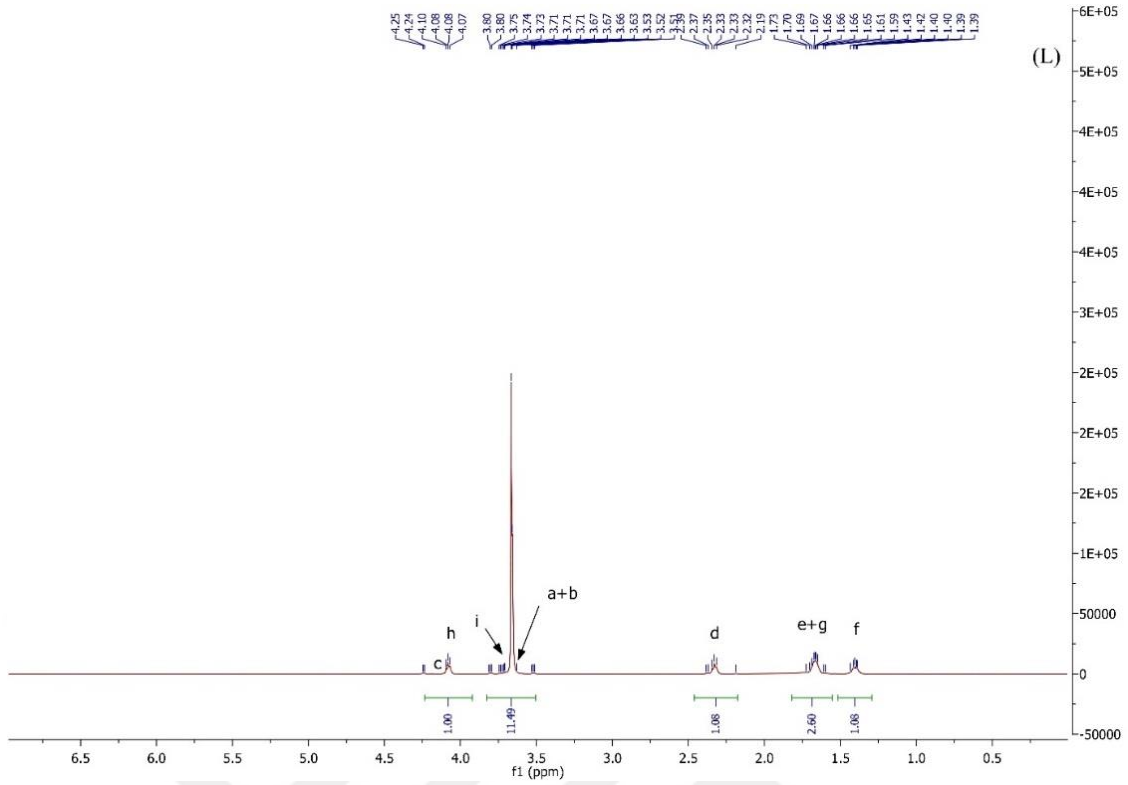
Şekil 4. 3 CDCl_3 içinde sırasıyla A. PCEC1, B. PCEC2, C. PCEC3, D. PCEC4, E. PCEC5, F. PCEC6, G. PCEC7, H. PCEC8, I. PCEC9, J. PCEC10, K. PCEC11, L. PCEC12 numaralı örneklerin ^1H NMR spektrumu (devamı)



Şekil 4. 3 CDCl_3 içinde sırasıyla A. PCEC1, B. PCEC2, C. PCEC3, D. PCEC4, E. PCEC5, F. PCEC6, G. PCEC7, H. PCEC8, I. PCEC9, J. PCEC10, K. PCEC11, L. PCEC12 numaralı örneklerin ^1H NMR spektrumu (devamı)



Şekil 4. 3 CDCl₃ içinde sırasıyla A. PCEC1, B. PCEC2, C. PCEC3, D. PCEC4, E. PCEC5, F. PCEC6, G. PCEC7, H. PCEC8, I. PCEC9, J. PCEC10, K. PCEC11, L. PCEC12 numaralı örneklerin ¹H NMR spektrumu (devamı)



Şekil 4. 3 CDCl₃ içinde sırasıyla A. PCEC1, B. PCEC2, C. PCEC3, D. PCEC4, E. PCEC5, F. PCEC6, G. PCEC7, H. PCEC8, I. PCEC9, J. PCEC10, K. PCEC11, L. PCEC12 numaralı örneklerin ¹H NMR spektrumu (devamı)

PEG ve ϵ -kaprolaktonun birim oranı sırasıyla PEG zincirinin metilen protonunun ve ϵ -kaprolakton birimlerinde metilen protonunun pik yoğunluklarından elde edildi. ¹H NMR spektrumuna göre 1.42, 1.62, 2.34 ve 4.09 ppm'deki pikler PCL birimlerinde sırasıyla - (CH₂)₃-, -OCCH₂- ve -CH₂OOC-'nin metilen protonlarına atfedilir. 3.66 ppm'deki keskin tek pik PEG oksietilen birimlerinin homodizilerinin metilen protonlarına atfedilir [201], [202]. NMR spektrumları reaksiyona girmemiş monomerlerin veya yan reaksiyon ürünleri gibi ilave bileşiklerin hiçbir kanıtını göstermedi. Polimerizasyon derecesi besleme stokundaki ϵ -kaprolaktan ile PEG oranının değiştirilmesiyle kontrol edilebilir. ¹H NMR spektroskopisinden saptanan yüzde bileşimleri sentez sırasında tam monomer/polimer dönüşümünü onaylayarak komonomer besleme oranları temelinde teorik olarak beklenenlere yakındı. Blok kopolimerlerin ¹H NMR'dan elde edilen molekül ağırlıkları ve bileşimi Çizelge 4.1'de özetlenmiştir.

Çizelge 4. 1 PCEC triblok kopolimerlerin karakterizasyonu

Örnek	M_{nPCL}^1	M_{nPCEC}^1	M_{nPCEC}^2	M_{nPCEC}^3	M_{wPCEC}^3	PDI ³	CMC ⁴	Hidrofobik/ Hidrofilik ⁵
	(g/mol)	(g/mol)	(g/mol)	(g/mol)	(g/mol)		(mg/ml)	(g/mol)
PCEC 1	35779	37229	36250	20375	27528	1.35	*	24.68
PCEC 2	2645	4095	4350	4503	6543	1.45	0.002081	1.82
PCEC 3	1218	2671	2900	3830	4441	1.16	0.010000	0.84
PCEC 4	486	1936	2175	2521	2909	1.15	0.019202	0.34
PCEC 5	52595	55953	83750	11335	19643	1.73	*	15.70
PCEC 6	5583	9234	10050	5388	15652	2.90	0.000841	1.76
PCEC 7	2231	5581	6700	5272	6327	1.20	0.002818	0.67
PCEC 8	1461	4812	5025	5242	6106	1.16	0.004467	0.44
PCEC 9	259080	271090	300000	28021	47853	1.71	*	21.59
PCEC10	20724	32727	36000	11472	28194	2.46	0.000293	1.73
PCEC11	10428	22433	24000	8872	25923	2.92	0.000457	0.87
PCEC12	5412	17411	18000	4640	17262	3.72	0.001000	0.45

¹ 1H nükleer manyetik rezonans spektroskopisinden (1H NMR) elde edilmiştir.

² Teorik olarak hesaplanmıştır.

³ M_nPCEC , M_wPCEC ve PDI (polidispersite indeksi) jel permeasyon kromatografisinden elde edilmiştir.

⁴ Hidrofobik prob olarak pireni kullanarak floresans spektroskopisi ölçümünden hesaplanmıştır.

⁵ Deneysel olarak hesaplanmıştır.

* Oluşum yoktur.

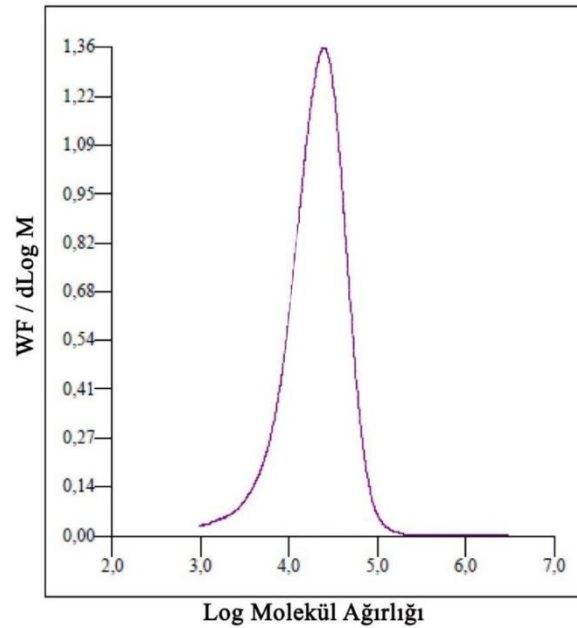
PCL blok molekül ağırlıkları 1H NMR ile belirlenmiştir ve sentezlenen PCEC1, PCEC2, PCEC3, PCEC4, PCEC5, PCEC6, PCEC7, PCEC8, PCEC9, PCEC10, PCEC11 ve PCEC12 triblok kopolimerleri için sırasıyla 35779, 2645, 1218, 486, 52595, 5583, 2231, 1461, 259080, 20724, 10428 ve 5412 g/mol olarak hesaplanmıştır. Sentezlenen PCEC1, PCEC2, PCEC3, PCEC4, PCEC5, PCEC6, PCEC7, PCEC8, PCEC9, PCEC10, PCEC11

ve PCEC12 triblok kopolimerlerine karşılık gelen ^1H NMR ile saptanan PCEC molekül ağırlıkları sırasıyla 37229, 4095, 2671, 1936, 55953, 9234, 5581, 4812, 271090, 32727, 22433 ve 17411 g/mol olarak hesaplanmıştır. Polimerizasyon sırasında bazı PCL homopolimerleri oluşmuş olabilir bu da elde edilen PCEC triblok kopolimerlerinin molekül ağırlığını düşürmüştür [180].

Bu çalışmada miselleri anti-kanser tedavisinde potansiyel bir salım sistemi olarak tasarlamak istenmektedir. Hızlı bozunma hızı PCEC'nin istenmeyen bir özelliğidir. Ayrıca düşük molekül ağırlığına sahip PCEC'nin kararlı miseller halinde kontrol edilmesi zordur. Bu doğrultuda yapılan ^1H NMR analizi sonucu bu çalışmada sentezlenen PCEC'lerin çalışmanın devamında kullanılabileceğine karar verilmiştir.

4.2.3 Jel Permeasyon Kromatografisi Analizi

GPC ile ölçülen molekül ağırlıkları Çizelge 4.1'de özetlenmiştir. GPC analizinde geleneksel standart (polistiren) kullanıldığı için sayı ortalama molekül ağırlığı (M_n) ve ortalama molekül ağırlığı (M_w) teorik değerlerden sapmıştır [203]. Bununla birlikte PCEC'lerin polidispersite indeksleri PCEC1, PCEC2, PCEC3, PCEC4, PCEC5, PCEC6, PCEC7, PCEC8, PCEC9, PCEC10, PCEC11 ve PCEC12 için sırasıyla 1.35, 1.45, 1.16, 1.15, 1.73, 2.90, 1.20, 1.16, 1.71, 2.46, 2.92 ve 3.72'dir. Bu, özellikle PCEC1, PCEC2, PCEC3, PCEC4, PCEC7 ve PCEC8 için PCEC'lerin moleküler ağırlığının dar bir şekilde dağıldığını gösterir. PCEC1'in tipik GPC eğrisi Şekil 4.4'te gösterilmiştir.



Şekil 4. 4 Hazırlanan PCEC1 kopolimerinin GPC eğrisi

Şekil 4.4'e göre sadece tekli bir pik mevcuttur bu da moleküler ağırlığın tekli-dağılımını ve herhangi bir ϵ -CL veya PEG homopolimerinin bulunmadığını ispatlamaktadır. Polimerizasyon sırasında hiçbir transesterifikasyon veya yan reaksiyon oluşmamıştır [81], [181], [204-208]. PCL makromonomerine veya homopolimerine karşılık gelen omuz pikleri tespit edilmemiştir [209].

PCEC'lerin sayı ortalama molekül ağırlıkları PCEC1, PCEC2, PCEC3, PCEC4, PCEC5, PCEC6, PCEC7, PCEC8, PCEC9, PCEC10, PCEC11 ve PCEC12 için sırasıyla 20375, 4503, 3830, 2521, 11335, 5388, 5272, 5242, 28021, 11472, 8872 ve 4640 g/mol'dür. PCEC'lerin ağırlık ortalama molekül ağırlıkları PCEC1, PCEC2, PCEC3, PCEC4, PCEC5, PCEC6, PCEC7, PCEC8, PCEC9, PCEC10, PCEC11 ve PCEC12 için sırasıyla 27528, 6543, 4441, 2909, 19643, 15652, 6327, 6106, 47853, 28194, 25923 ve 17262 g/mol'dür.

Kromatogramın simetrik pik noktası triblok kopolimerin düşük polidispersitesini doğrulamıştır. GPC analizi sonucu GPC eğrisinde sadece bir pikin ortaya çıkması saflaştırmanın ardından tüm safsızlıkların giderildiğini göstermiştir.

GPC sonuçları triblok kopolimerlerin ortalama moleküler ağırlığının beslemede artan ϵ -CL/PEG oranı ile arttığını açıkça göstermiştir. Hu vd. GPC verilerinin polistiren standartlarına dayalı göreceli değerler olduğundan ^1H NMR spektrumlarından hesaplanan M_n değerlerinin GPC değerlerinden daha yüksek olduğunu belirtmiştir [184]. Bu sonuç bu çalışmada sentezlenen ürünlerin değerleriyle genellikle uyumluydu.

Ayrıca hem ^1H NMR hem de GPC'den elde edilen deneysel sonuçlar açıkça teorik değerlerle tutarlıydı. Bu sonuçlar farklı PCL/PEG oranları olan PCEC triblok kopolimerlerinin başarıyla sentezlendiğini göstermiştir.

4.2.4 DSC

Triblok kopolimerlerin yapısını ayrıca doğrulamak için DSC ölçümü kullanılmıştır.

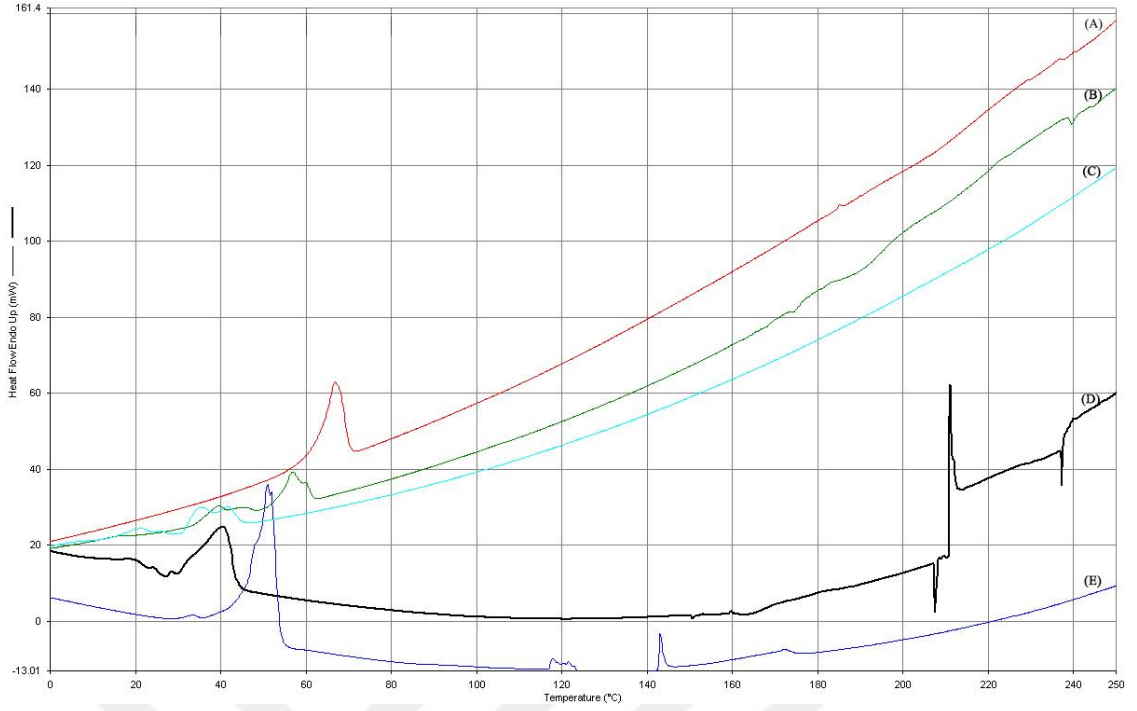
Farklı molekül ağırlıklı PEG ve CL/PEG molar oranına sahip PCEC triblok kopolimerlerinin DSC termogramları Şekil 4.5-4.7'de gösterilmektedir. PEG-PCL kopolimerlerinin iki çeşit termal eğrisi vardır. İlki tek tepeli erime pikini gösteren termal eğridir ve ikincisi iki tepeli erime pikine neden olan termal eğridir [79].

PEG1450'nin termal eğrisinde (Şekil 4.5E) 51.1°C 'de erime piki görülmektedir. PEG3350'nin termal eğrisinde (Şekil 4.6E) 61.9°C 'de erime piki görülmektedir. Bu değer

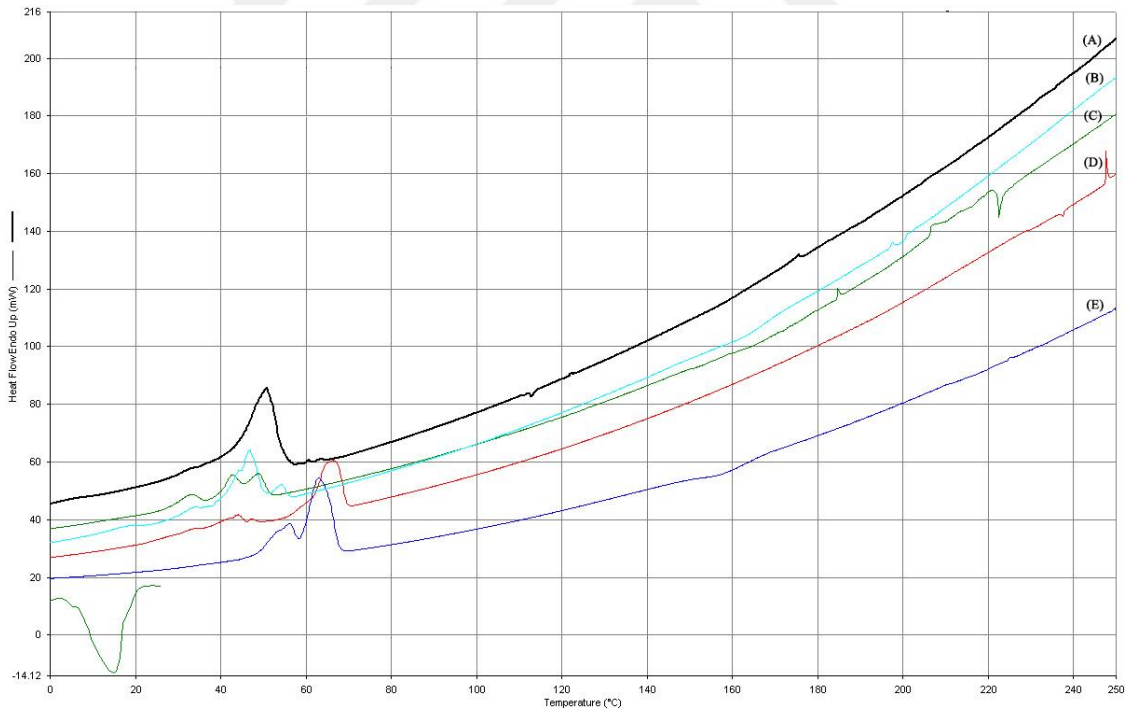
Barghi vd. tarafından yapılan çalışmada elde edilen değerle benzer bulunmuştur [68]. PEG12000'in termal eğrisinde (Şekil 4.7D) 66.8°C'de erime piki görülmektedir. PEG3350 için gözlemlenen iki tepeli erime piki büyük bir olasılıkla farklı kat sayısına sahip katlanmış zincirli lamellerin varlığına bağlıdır [210].

Daha yüksek sıcaklıktaki erime pikleri PCL alanına ve daha düşük sıcaklıklar PEG alanına atfedilmiştir [78]. PCEC2 için DSC termogramı sırasıyla PEG ve kaprolakton bloklarının erimesiyle ilgili 39.8°C ve 57.2°C ve iki endoterm gösterir. PCEC3 için DSC termogramı sırasıyla PEG ve kaprolakton bloklarının erimesiyle ilgili 34.8°C ve 41.5°C ve iki endoterm gösterir. PCEC5 için DSC termogramı sırasıyla PEG ve kaprolakton bloklarının erimesiyle ilgili 43.3°C ve 65.4°C ve iki endoterm gösterir. PCEC6 için DSC termogramı sırasıyla PEG ve kaprolakton bloklarının erimesiyle ilgili 42.2°C ve 48.4°C ve iki endoterm gösterir. PCEC7 için DSC termogramı sırasıyla PEG ve kaprolakton bloklarının erimesiyle ilgili 46.2°C ve 53.5°C ve iki endoterm gösterir. PCEC9 için DSC termogramı sırasıyla PEG ve kaprolakton bloklarının erimesiyle ilgili 39.3°C ve 57.9°C ve iki endoterm gösterir. PCEC10 için DSC termogramı sırasıyla PEG ve kaprolakton bloklarının erimesiyle ilgili 60.7°C ve 69.1°C ve iki endoterm gösterir. PCEC11 için DSC termogramı sırasıyla PEG ve kaprolakton bloklarının erimesiyle ilgili 33.7°C ve 58.4°C ve iki endoterm gösterir. Bu kopolimerdeki PEG segmentinin erime noktası PEG homopolimerinkinden daha düşüktür [68], [79]. PCEC triblok kopolimerlerinde PEG bölümünün erime noktasının daha düşük sıcaklığa kayması Bogdanov vd. tarafından daha önce rapor edilmiştir [210].

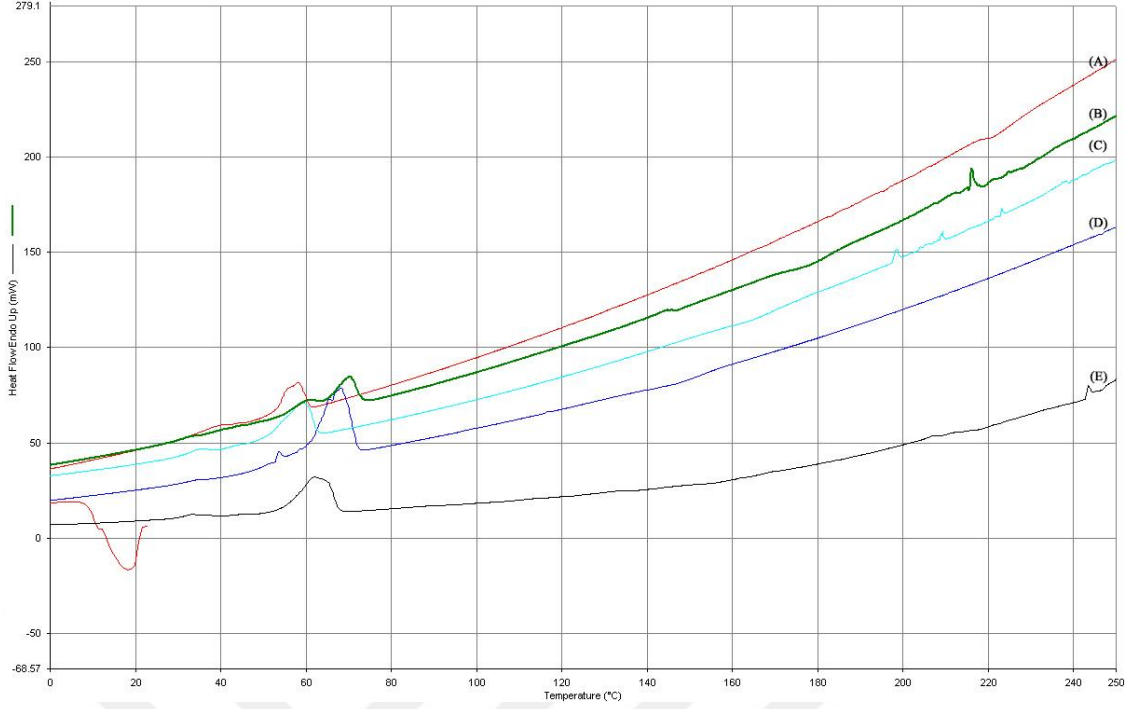
Önceki çalışmalarda da bahsedildiği gibi PCL ve PEG blokları birbirleriyle karışmaz bu nedenle DSC termogramlarında iki iyi ayrılmış erime piklerinin varlığı ile kanıtlandığı üzere iki ayrı mikro faz oluştururlar [197]. Buna karşılık bazı PCEC örnekleri sadece bir erime geçişi sunmuştur. Bu bulgu geçici olarak PEG ve PCL bloklarının geçişlerinin yakınlığına ve düşük PEG içeriğine (%20) bağlı olabilir [182]. PEG bloğu ancak yeterince uzun olduğunda kristalleşebilir [171]. Çalışmada daha yüksek CL/PEG molar oranına sahip triblok kopolimerlerin DSC eğrileri CL blokların erime noktasına bağlı olan endotermik bir pik gösterir [203]. PCEC4, PCEC8 ve PCEC12 için DSC termogramları incelendiğinde Şekil 4.5-4.7'de gösterilen PEG ve PCL'nin birleştirilmiş pikleri içeren endotermik pik gözlenmektedir. Bu değerler PCEC4, PCEC8 ve PCEC12 için sırasıyla 40.4, 50.1 ve 61.2°C'dir. Bu nedenle triblok kopolimerlerin PCL bloğu içerdiği sonucuna varılabilir [178].



Şekil 4. 5 Farklı CL/PEG molar oranı ve PEG'e sahip PCEC triblok kopolimerlerinin DSC termogramı: A. PCEC1, B. PCEC2, C. PCEC3, D. PCEC4, E. PEG 1450



Şekil 4. 6 Farklı CL/PEG molar oranı ve PEG'e sahip PCEC triblok kopolimerlerinin DSC termogramı: A. PCEC8, B. PCEC7, C. PCEC6, D. PCEC5, E. PEG 3350



Şekil 4. 7 Farklı CL/PEG molar oranı ve PEG'e sahip PCEC triblok kopolimerlerinin DSC termogramı: A. PCEC9, B. PCEC10, C. PCEC11, D. PEG12000, E. PCEC12

Elde edilen sonuçlar termal özellikler ve morfolojinin triblok kopolimerlerin PCL ve PEG bileşenlerinin zincir uzunluğu ile önemli ölçüde etkilendiğini ortaya koymuştur. PEG bloğunun ağırlık kesri %20'nin altında olduğunda sadece PCL bloğunun kristalleşebilir olduğu tespit edildi [210].

Bu nedenle DSC analizlerinden PCL/PEG/PCL triblok kopolimerleri içinde birbirine bağlı PCL ve PEG alanı oluşturmak için faz ayrılmasının gerçekleştiği sonucuna varılmıştır [78].

4.2.5 Kritik Misel Konsantrasyonu Ölçümü

CMC'nin altında amfifilik moleküller hava-su arayüzünde güçlü bir adsorbe olma eğilimine sahiptirler. Sistemdeki amfifil konsantrasyonunun artmasıyla hem ara yüzün hem de çözücünün (su) hacmi monomerik amfifiller ile doyurulduğunda bir noktaya ulaşır. Bu noktada (CMC noktası) amfifil konsantrasyonunda herhangi bir daha çok artış yığın fazda misellerin oluşumuna ve sistemin serbest enerjisinde sonradan ortaya çıkan azalmaya yol açar. CMC'nin altında amfifil konsantrasyonundaki artış yüzey geriliminin azalmasına neden olurken CMC'nin üstünde yüzey gerilimi bir amfifilin artan konsantrasyonlarında sabit kalır ve bu da yığın fazında bir amfifil ve misel oluşumu ile arayüzün doygunluğunu gösterir. CMC'de ve bunun biraz üstünde miseller hala gevşektir

ve çekirdekte biraz su içerir. Ortamdaki amfifil konsantrasyonunda daha fazla artış ile unimer:misel dengesi misel oluşumuna doğru kayar, miseller daha sıkı ve kararlı hale gelir, çekirdekten kalan çözünüyü kaybeder ve boyutlarını düşürür [103].

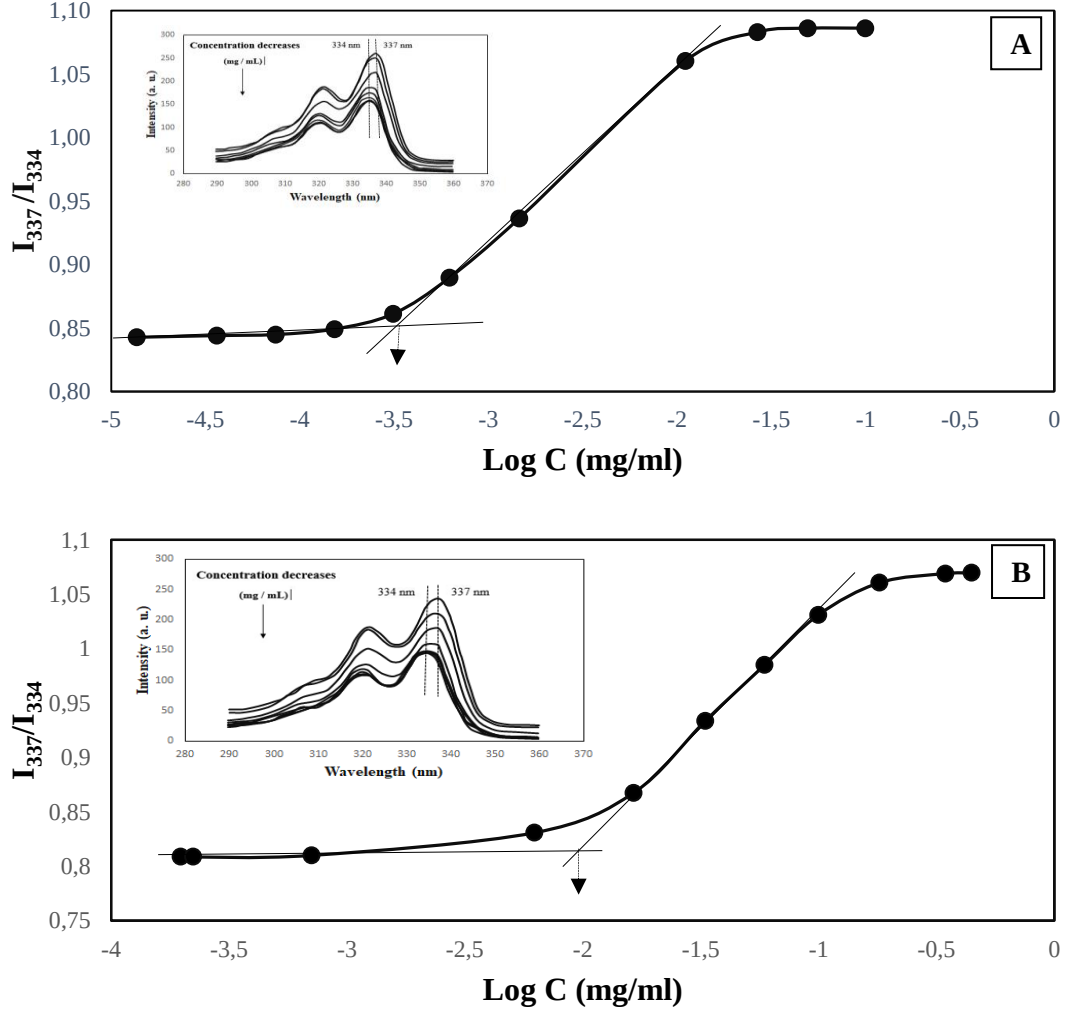
CMC misel kararlılığının etkin bir parametresidir ve düşük kritik bir değeri istenir [206]. CMC sudaki misellerin en düşük oluşum konsantrasyonunu hesaplamak için kullanılır. CMC kan dolaşımında enjeksiyonla patlamayı önlemek için misel bazlı ilaç salım sistemleri için özellikle önemli bir parametredir [203]. Kopolimerin CMC'si misellerin hangi noktada seyrilmeye bağlı olarak çözüleceğini belirtir [194].

Bir kopolimerin CMC'si floresans prob piren kullanılan yöntemlerle saptanabilir [211]. Piren 50 yıldan fazla süredir miseller, polimerler, proteinler, peptitler ve biyolojik membranlar gibi mikroheterojen sistemler için floresans prob mükemmelliği olarak kullanılmaktadır. Piren floresan yoğunluğunun çözücü polaritesine duyarlılığı misel sistemlerin CMC'sinin belirlenmesi için yaygın olarak kullanılmaktadır [212].

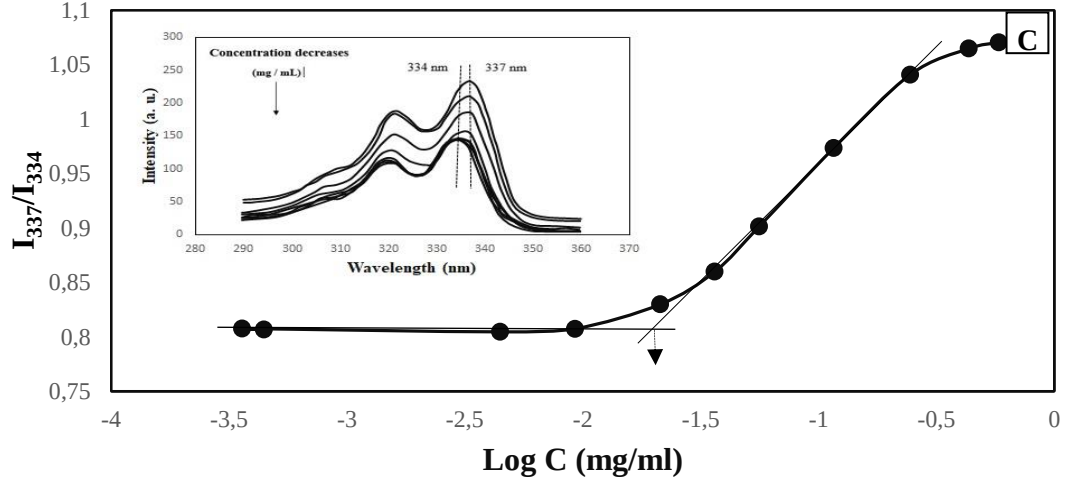
Polimerik misellerin kritik birleşme konsantrasyonunu (CAC) piren floresansı ile belirlemek için iki yöntem mevcuttur. Kalyanasundaram vd. tarafından önerilen orijinal yöntem piren emisyonunun vibronik ince yapısındaki değişikliklerden yararlanır ve [0,0] ile [0,2] bantlarının I_1 ve I_3 yoğunluklarının oranındaki değişiklikleri gözlemler. Çok yakın geçmişte CAC'nin daha kesin bir şekilde belirlenmesinin sudaki piren için $\lambda = 333$ nm'de ve hidrofobik bir ortamdaki piren için $\lambda = 336$ nm'de piren eksitasyon spektrum yoğunluklarının oranındaki değişiklikleri izleyerek elde edilebileceği önerilmiştir. Miseller sulu bir ortamda oluşturulduğunda piren kendisini hidrofobik çekirdeğin içinde bulma eğilimi gösterir ve I_3 yoğunluğunu artırır. I_{336}/I_{333} yoğunluk oranlarını kopolimerin sulu çözeltilerinin konsantrasyonunun logaritmasına karşı çizerek s biçimli eğriler elde edilir burada CAC'de polimer konsantrasyonu arttıkça floresans yoğunluğu oranında (I_{336}/I_{333}) keskin bir artış gözlenir [213-215]. Luo vd. PMAA₂₅-b-PNIPAAm₄₈'in misellerinde pirenin (0,0) bandında 337 nm'ye kayma bildirmiştir [216]. Bu çalışmada PCEC triblok kopolimerlerin CMC'sini hesaplamak için ikinci yöntem kullanılmıştır.

PCEC kopolimerlerinin farklı konsantrasyonları ile kopolimer çözeltilerinde pirenin eksitasyon spektrumları elde edildi ve 337 (I_3) ve 334 (I_1) nm'deki absorpsiyonların yoğunlukları çözeltide polimer konsantrasyonuna karşılık I_3/I_1 oranı olarak çizildi (Şekil 4.8-4.10). Log C'ye karşılık I_{337}/I_{334} miselizasyonun tüm prosesini yansıtan bir s eğrisi sunar. Her bir PCEC triblok kopolimeri için düşük konsantrasyon aralığında I_{337}/I_{334} 'ün

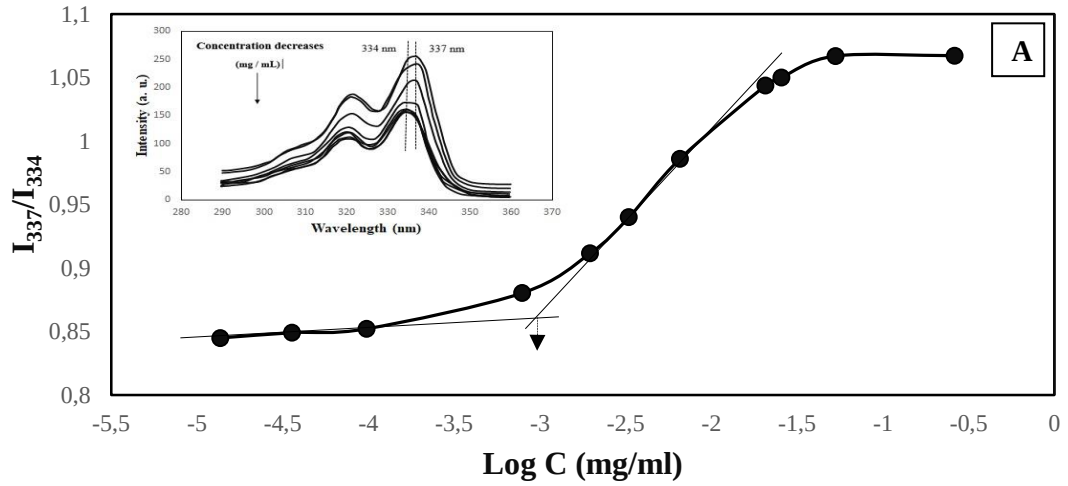
yoğunluk oranının ihmal edilebilir bir değişimi gözlemlendi. Kopolimer konsantrasyonunda bir artış ile yoğunluk oranı belirli bir konsantrasyonda önemli bir artış sergilemiştir bu, pirenin misellerin hidrofobik çekirdek bölgesine dahil edildiğini yansıtmıştır. Alt yatay teğet ve eğim teğetinin kesişimi Şekil 4.8, 4.9 ve 4.10'da her bir misel için CMC'ye karşılık gelir.



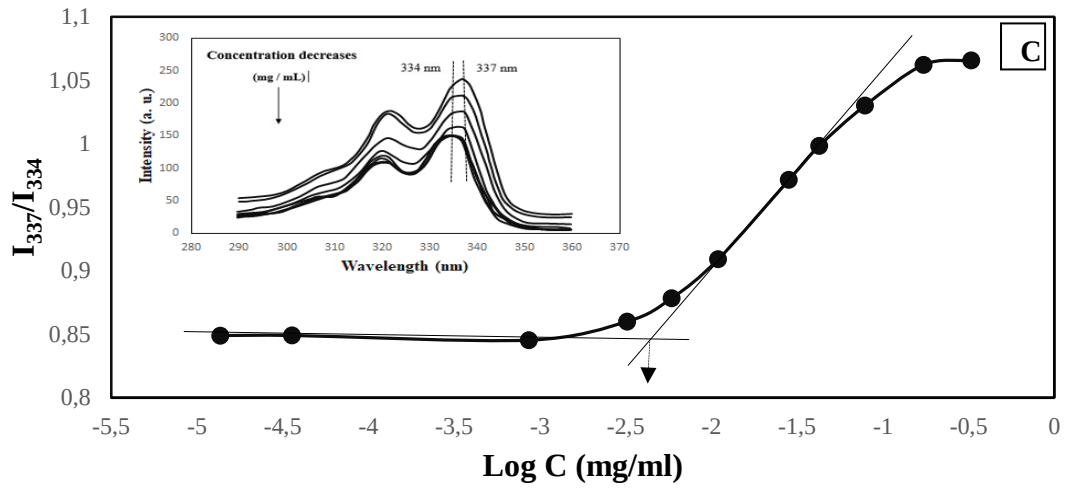
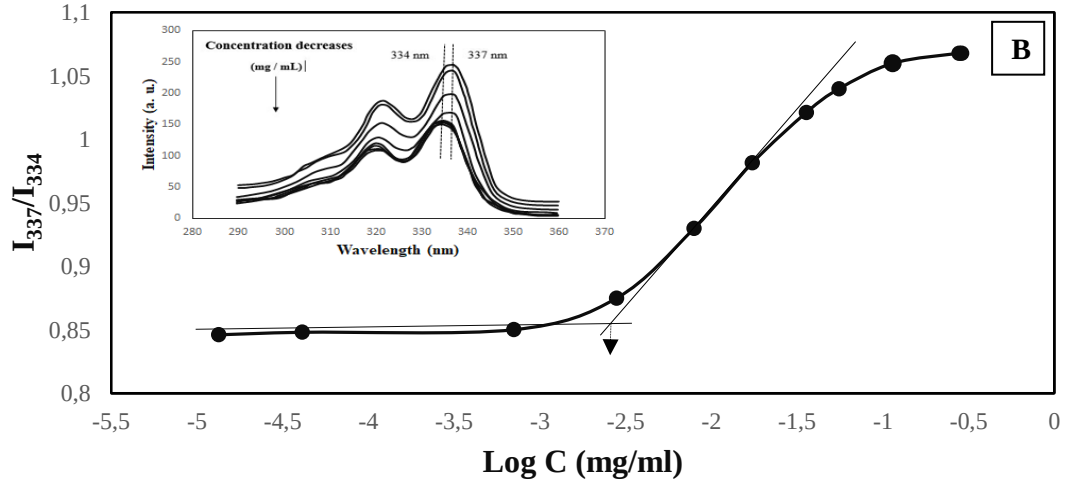
Şekil 4. 8 I_{337}/I_{334} yoğunluk oranının (piren eksitasyon spektrumundan) $\text{Log } C$ 'ye (mg/ml) karşı A. PCEC2, B. PCEC3, C. PCEC4 saf suda grafiği. Ek: Saf suda PCEC konsantrasyonuna karşı pirenin (6.0×10^{-7} M) floresans eksitasyon spektrumu (emisyon dalga boyu: 390 nm)



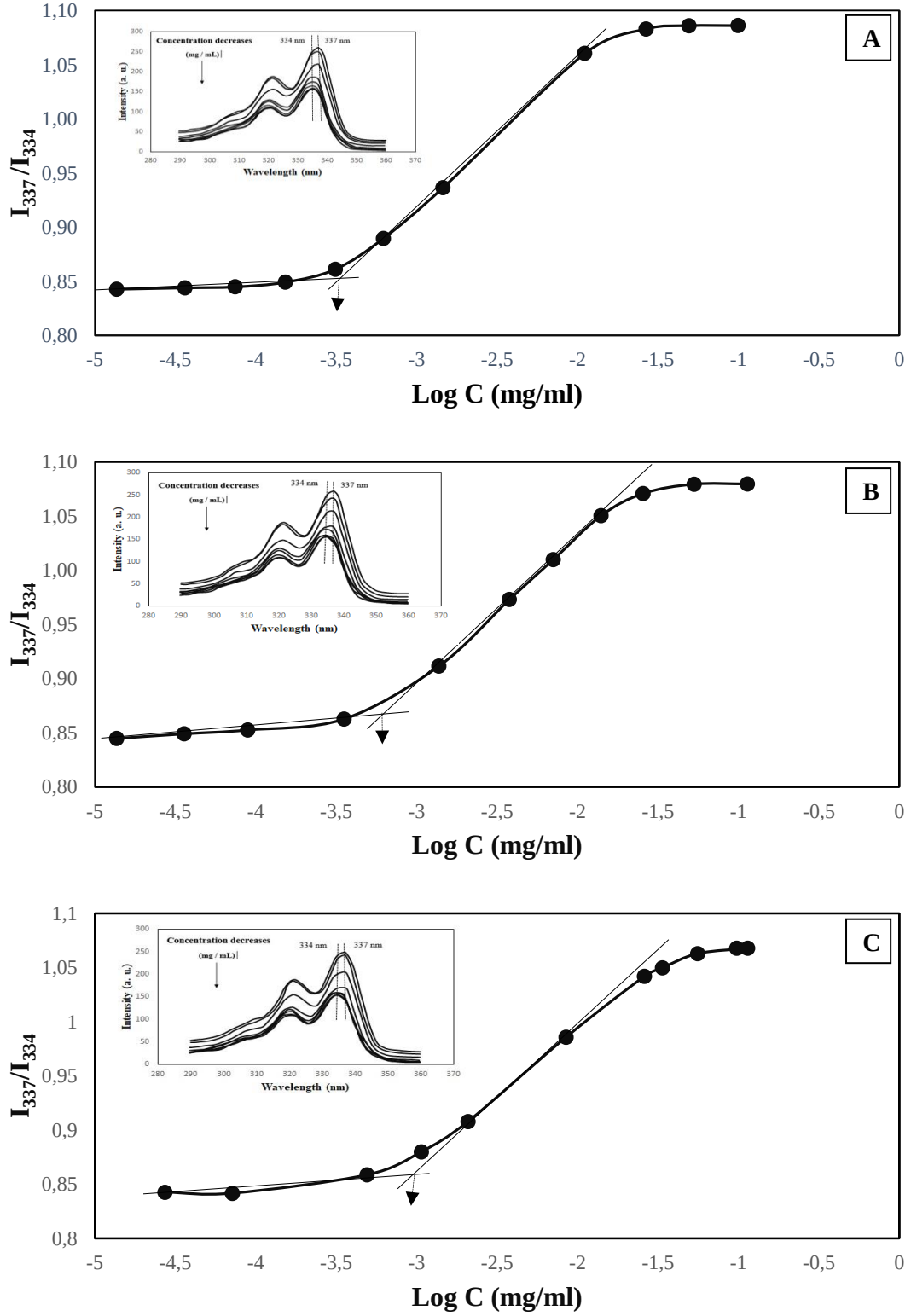
Şekil 4. 8 I_{337}/I_{334} yoğunluk oranının (piren eksitasyon spektrumundan) Log C'ye (mg/ml) karşı A. PCEC2, B. PCEC3, C. PCEC4 saf suda grafiği. Ek: Saf suda PCEC konsantrasyonuna karşı pirenin (6.0×10^{-7} M) floresans eksitasyon spektrumu (emiyon dalga boyu: 390 nm) (devamı)



Şekil 4. 9 I_{337}/I_{334} yoğunluk oranının (piren eksitasyon spektrumundan) Log C'ye (mg/ml) karşı A. PCEC6, B. PCEC7, C. PCEC8 saf suda grafiği. Ek: Saf suda PCEC konsantrasyonuna karşı pirenin (6.0×10^{-7} M) floresans eksitasyon spektrumu (emiyon dalga boyu: 390 nm)



Şekil 4. 9 I_{337}/I_{334} yoğunluk oranının (piren eksitasyon spektrumundan) $\text{Log } C$ 'ye (mg/ml) karşı A. PCEC6, B. PCEC7, C. PCEC8 saf suda grafiği. Ek: Saf suda PCEC konsantrasyonuna karşı pirenin ($6.0 \times 10^{-7} \text{ M}$) floresans eksitasyon spektrumu (emisyon dalga boyu: 390 nm) (devamı)



Şekil 4. 10 I_{337}/I_{334} yoğunluk oranının (piren eksitasyon spektrumundan) $\text{Log } C$ 'ye (mg/ml) karşı A. PCEC10, B. PCEC11, C. PCEC12 saf suda grafiği. Ek: Saf suda PCEC konsantrasyonuna karşı pirenin (6.0×10^{-7} M) floresans eksitasyon spektrumu (emiyon dalga boyu: 390 nm)

Şekil 4.8-4.10'daki ek grafik su çözeltisi içindeki numune PCEC için polimer konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak pirenin floresans eksitasyon spektrumlarını göstermektedir. Yoğunluk artan polimer konsantrasyonu ile artmıştır, polimer konsantrasyonu 3.16×10^{-6} 'dan 1 mg/ml'ye arttığında pirenin karakteristik (0,0) bandı 334'ten 337 nm'ye kaymıştır ve bu da sulu bir çözelti içinde iç-ve/veya moleküllerarası birleşme vasıtasıyla PCEC misellerinin kendi agregasyonunun eşik konsantrasyonunu göstermiştir. PCEC için daha önce aynı kayma gözlemlenmiştir [131]. Piren probu hidrofobisitesinden ve pirenin mikroçevresinin yüksek-polar sudan daha az polar misele değişmesinden dolayı bu süreç boyunca su fazdan misele taşınır. Açıkçası floresans yoğunluğu son derece artar ve misel çekirdeğinin daha fazla hidrofobisitesi daha büyük bir maksimum pik kaymasına neden olabileceği örneği gibi misel çekirdeklerinin ilgili hidrofobik doğasına yoğunlukla bağlı olarak artan polimer konsantrasyonu ile en büyük pik konumuna kayar [217]. Blok kopolimer moleküllerin konsantrasyonu arttıkça denge durumu misel formuna kayar. Misel çekirdeklerinde çözünmeyen bloklar düşük enerjili konformasyonlarını bulmak için yeniden düzenlenir ve çözücü molekülleri kademeli olarak misel çekirdeklerinden çıkarılır. Daha yüksek polimer konsantrasyonlarında birçok çözünmeyen bloktan oluşan geniş çökmüş misel çekirdekleri mevcuttur çözünür bloklardan meydana gelen dış kabukların (koronalar) difüze olması ile çevrilmiştir [218].

Çizelge 4.1'de gösterildiği gibi polimerlerin kritik misel konsantrasyonları 0.000293-0.019202 mg/ml aralığında idi. PCEC1, PCEC5 ve PCEC9 triblok kopolimerleri için piren piklerinde herhangi bir kayma gözlenmemiştir bu yüksek hidrofobik/hidrofilik oranına bağlı olarak misel oluşumunun görülmediği anlamına gelmektedir bu nedenle diğer ölçümler bu triblok kopolimerler kullanılarak gerçekleştirilmemiştir.

Çizelge 4.1'de gösterildiği gibi PCEC triblok kopolimerlerinin CMC değerleri PCL bloğun zincir uzunluğunun artması ile azalmıştır, örneğin daha kısa PCL zincir uzunluğu daha yüksek CMC değerlerine neden olmuştur. Bu sonuçlar önceki raporlara benzer bir eğilim sergilemiştir [131], [197], [206], [219], [220]. Çizelge 4.1'e göre CMC değerleri şu sırada yer almaktadır: PCEC10 < PCEC11 < PCEC6 < PCEC12 < PCEC2 < PCEC7 < PCEC8 < PCEC3 < PCEC4. Deneysel sonuçlarda CMC değerlerinin molekül ağırlığından değil hidrofobik PCL bloğun zincir uzunluğundan etkilendiği gözlenmiştir (Çizelge 4.1).

Amfifilik kopolimerlerin CAC'si; çekirdeği oluşturan bölümlerin doğası, uzunluğu ve hidrofilik zincir uzunluğu gibi birçok faktör tarafından belirlenir. Oldukça hidrofobik

kalıntılar içeren amfifilik kopolimerler daha az hidrofobik kalıntı içerenlere kıyasla su içinde daha düşük CAC değerlerine sahiptir. Bir dizi kopolimer için eğer koronayı oluşturan zincir sabit tutulursa çekirdeği oluşturan bölümün molekül ağırlığındaki bir artış CAC'yi düşürecektir. Bunun sebebi PCL zincir uzunluğu arttıkça PCL'nin hidrofobik bölümleri daha verimli bir şekilde paketlenabilir ve misellerin çekirdeğindeki hidrofobik etkileşimler artar. Bu nedenle PCEC kopolimerleri nispeten daha düşük konsantrasyonlarda sulu çözeltilerde artmış misel kararlılığına neden olan miselleri oluşturmak için sulu çözeltide daha kolayca kendiliğinden bir araya getirilebilir. Daha az ölçüde, çekirdeği oluşturan bölümün uzunluğu sabit bir uzunlukta tutulursa hidrofilik zincir uzunluğundaki bir artış CAC değerinde bir artışa neden olacaktır [203], [213]. Daha yüksek PCL/PEG blok oranları için CMC azalır. Düşük CMC kopolimer bileşimsel oranlarını değiştirmek suretiyle elde edilebilir bu; misel kararlılığını geliştirmek, kan dolaşımında misellerin ayrışmasını ve hedeflenmeyen ilaç salımını önlemek, ilacın toksisitesini azaltmak için önemlidir [216].

Çekirdeği oluşturan bloğun uzunluğundaki bir artış ayrıca misel başına çekirdek boyutunda bir artışa neden olur bu da misel başına artan yükleme kapasitesi ile sonuçlanır. Örneğin herhangi bir blok kopolimer sistemi için çekirdeği oluşturan bloğun uzunluğu arttırılırsa agregasyon sayısı artmaktadır böylece daha büyük bir çekirdek boyutuna ve misel başına daha büyük bir yük hacmine neden olmaktadır. Bununla birlikte misel başına agregasyon sayısındaki artış nedeniyle çözeltideki toplam misel sayısı polimerin birim kütlesi başına azalacaktır [105]. PCEC triblok kopolimerleri için CMC değeri birleştirilmiş hidrofobik PCL'nin oranı arttıkça 0.019202'den 0.000293 mg/ml'ye düşmüştür (Çizelge 4.1). PCL blok uzunluğundaki ılımlı artışlar halen CMC'yi düşürmektedir ve önceki raporlar da hidrofobik blok uzunluğunun CMC'yi belirleyen birinci derecede faktör olduğunu onaylamaktadır [194]. Deneyisel veriler bu triblok kopolimerlerin hepsinin düşük CMC değerlerine sahip olduğunu, misellerin görünür bir kararlılığı ve vücut sıvısı gibi çok seyreltik sulu ortamda kullanılmalarını sağladığını göstermektedir. Bu CMC değerleri PCEC (2-3.89 µg/ml) için bildirilenlerle benzerdir [197]; PCL₁₀₀₀-PEG₆₀₀₀-PCL₁₀₀₀, PCL₁₂₅₀-PEG₆₀₀₀-PCL₁₂₅₀ ve PCL₁₃₅₀-PEG₆₀₀₀-PCL₁₃₅₀ için sırasıyla 6.35×10^{-3} , 2.54×10^{-3} ve 3.53×10^{-3} mg ml⁻¹ idi [178]; PCEC-1, PCEC-2, PCEC-3 ve PCEC-4 için sırasıyla 11.3, 7.71, 6.23 ve 1.44 mg/L idi [206]; çekirdek çapraz bağlı PCEC miselleri 1×10^{-3} ile 2×10^{-3} mg/ml aralığında CMC değeri gösterdi [221]; PCL-PEG-PCL kopolimerinin CMC değeri 0.0002 g/L olarak tespit edildi [131]; PC₂₀-

E₄₀-C₂₀, PC₅₀-E₄₀-C₅₀ ve PC₁₀₀-E₄₀-C₁₀₀ için CMC değerleri sırasıyla 4.94×10^{-3} , 4.33×10^{-3} ve 2.63×10^{-3} %a idi [220]; PC₂₀-E₄₀-C₂₀, PC₅₀-E₄₀-C₅₀ ve PC₁₀₀-E₄₀-C₁₀₀ için sırasıyla 5.43×10^{-3} , 4.17×10^{-3} ve 2.16×10^{-3} %a idi [203]. Bu değerler düşük molekül ağırlıklı yüzey aktif maddelerden çok daha düşüktür örneğin sudaki sodyum dodesil sülfat (SDS) için 2.3 g/L idi [176] ayrıca PCEC'lerin CMC'si 1.0×10^3 mg L⁻¹ CMC'ye sahip deoksikolik asit ve 2.3×10^3 mg L⁻¹ CMC'ye sahip sodyum dodesil sülfat gibi düşük molekül ağırlıklı yüzey aktif madde misellerinden genel olarak daha düşüktür [172].

Düşük bir CMC değerine sahip kopolimer sisteminin kullanılması misellerin in vivo kararlılığını arttırabilir. Bununla birlikte birçok yayında misellerin tekli zincirlere ayrılmasının avantajlı olduğu belirtilmektedir çünkü bu kopolimer malzemenin böbrekler yoluyla vücuttan atılmasını kolaylaştıracaktır. Bu nedenle ideal misel sistemi enjeksiyon ile karşılaşılan sink koşullara karşı kararlı olacaktır ve en sonunda olan tek zincirlere ayırma yoluyla eliminasyonu kolaylaştıracaktır [105].

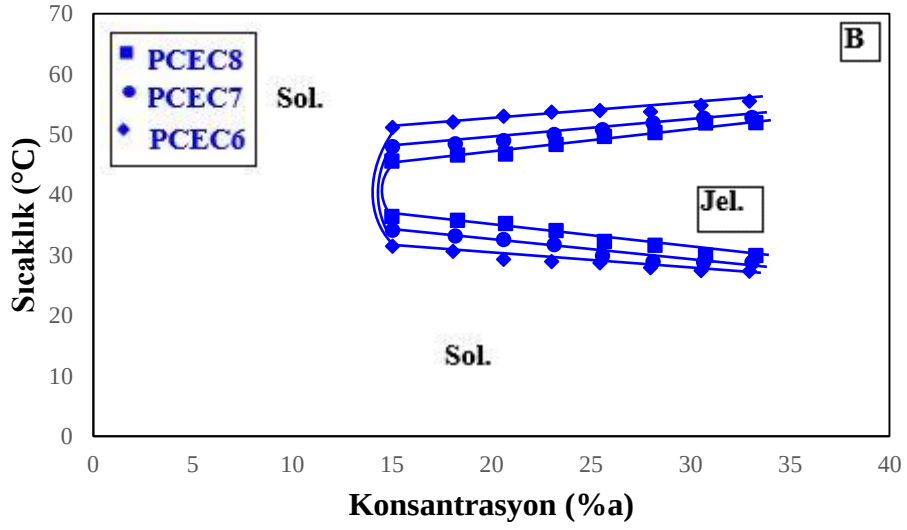
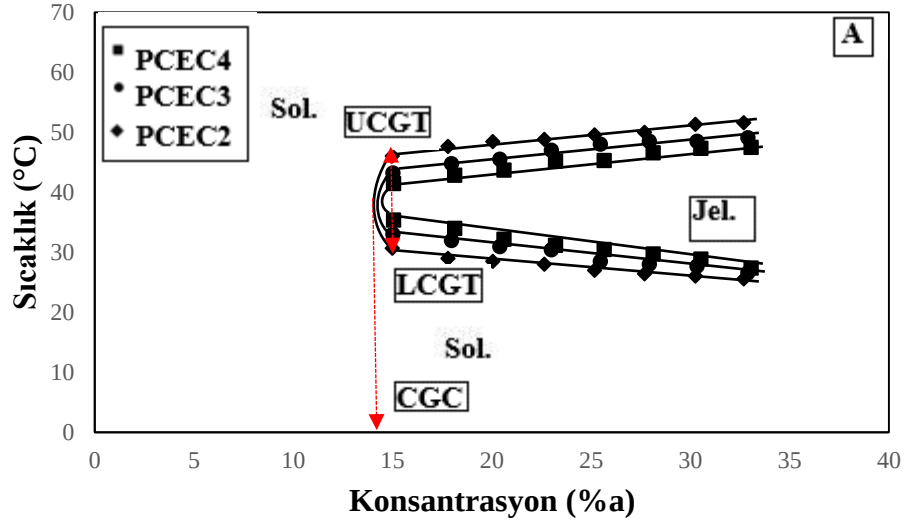
4.2.6 Sol-Jel-Sol Geçiş Diyagramı

4.2.6.1 Sıcaklığa Bağlı Sol-Jel-Sol Geçiş Davranışı

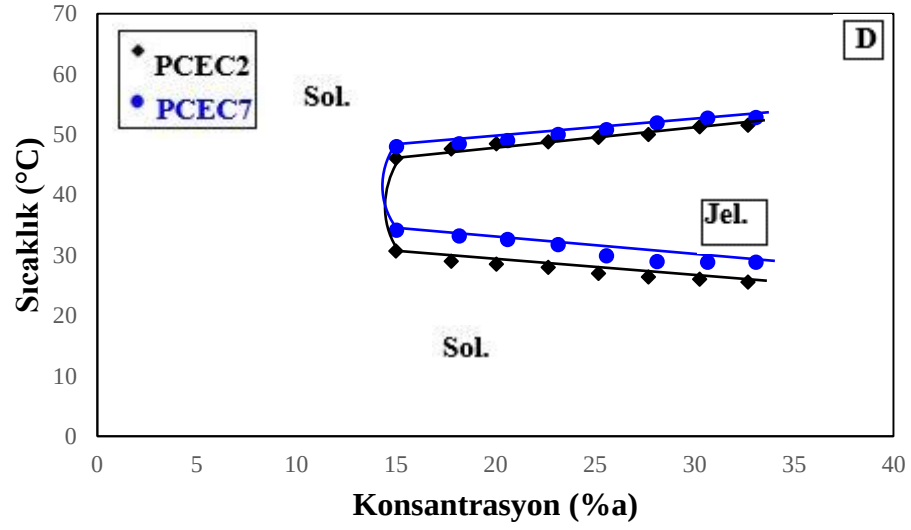
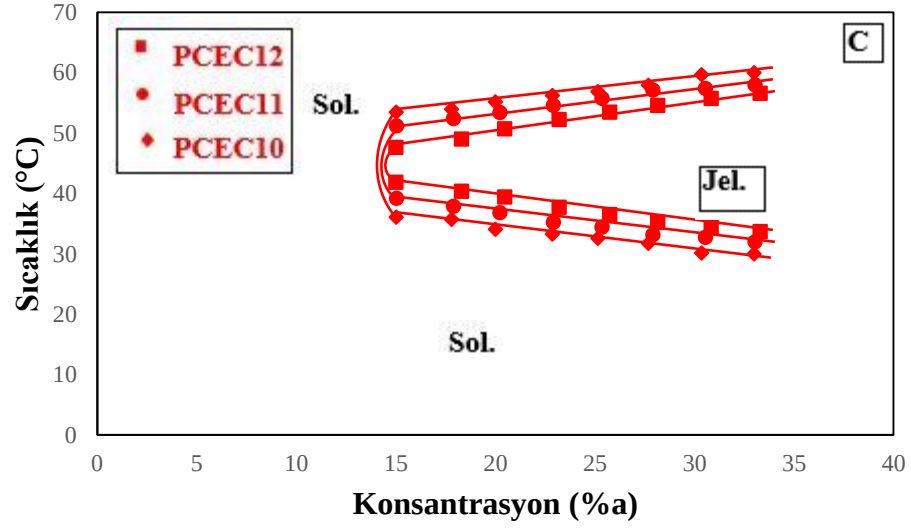
LCST altındaki sıcaklıklarda (alt kritik çözelti sıcaklığı) hidrofilik PEG blokları ve su molekülleri arasında hidrojen bağı olduğu için sistem sol durumdadır ve misel içerir. Sıcaklık LCST'nin üzerine çıkarılırsa hidrojen bağlarının zayıflaması ve PCL segmentleri vasıtasıyla miseller arasındaki hidrofobik köprü oluşumu sistemin jel haline gelmesine neden olur [222].

Çizelge 4.1'de verildiği gibi merkezi PEG bloklarına ($M_n = 1450, 3350$ ve 12000 g/mol) ve uç PCL bloklarına dayanan PCEC triblok kopolimerlerinden PCEC2, PCEC3, PCEC4, PCEC6, PCEC7, PCEC8, PCEC10, PCEC11 ve PCEC12 suda sıcaklık bağımlı sol-jel geçişi (alt geçiş) ve jel-sol geçişi (üst geçiş) göstermiştir ancak PCEC1, PCEC5 ve PCEC9 çok hidrofobik olduğundan 0-60°C sıcaklık aralığında suda çözünmemiştir [179].

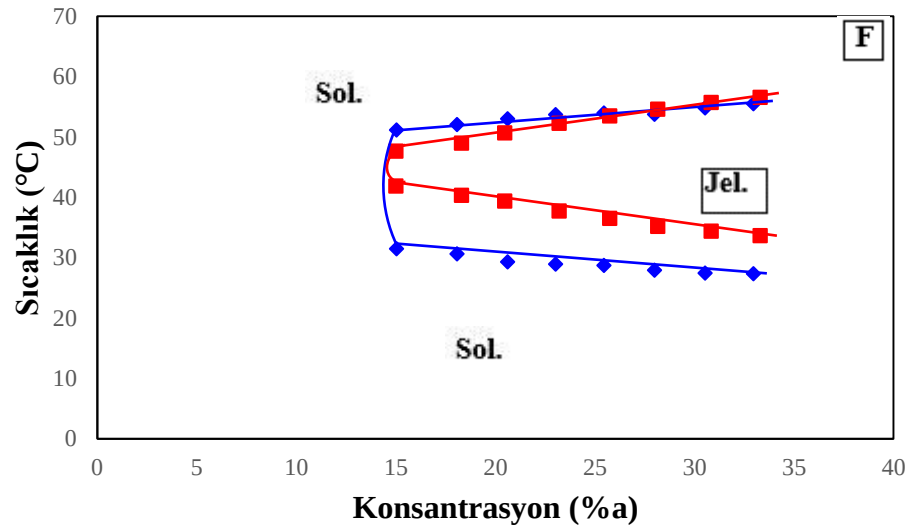
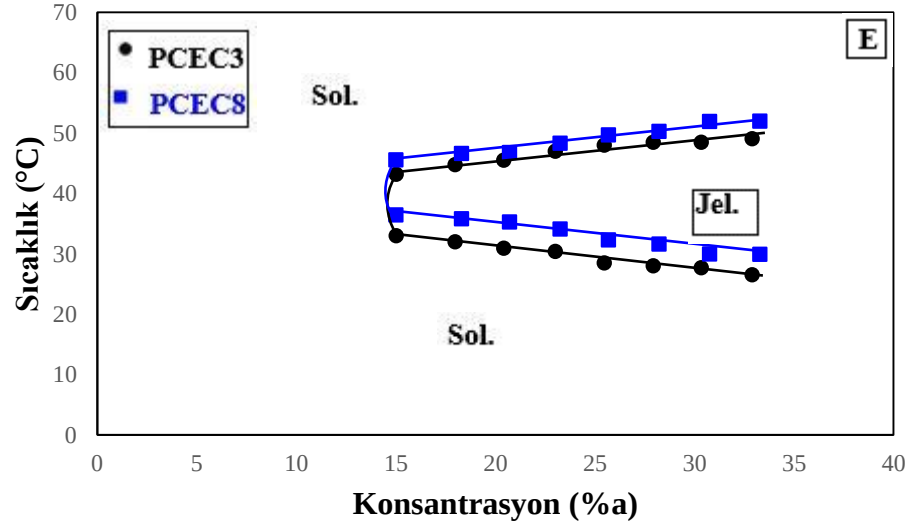
Şekil 4.11 tüp ters çevirme yöntemi ile test edilen PCEC triblok kopolimerlerinin sulu çözeltilerinin sol-jel-sol faz geçiş diyagramlarını göstermektedir.



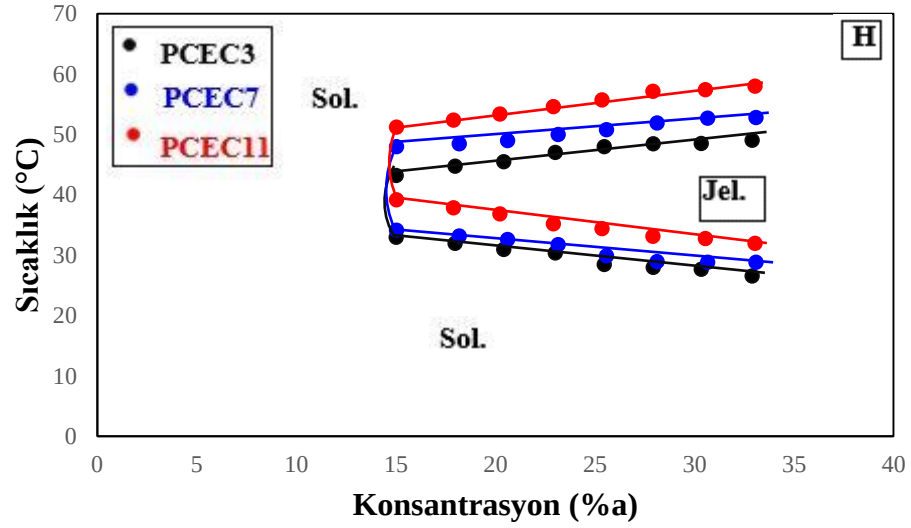
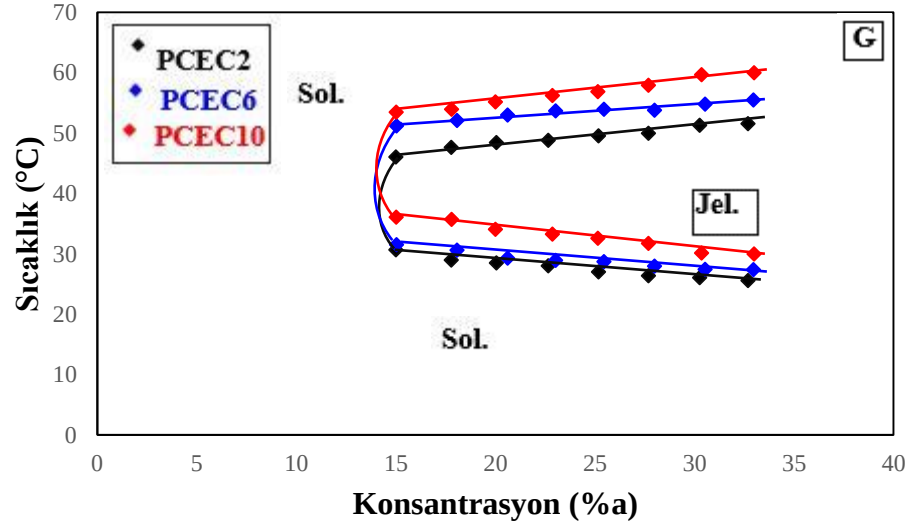
Şekil 4. 11 Tüp ters çevirme yöntemi ile test edilen PCEC triblok kopolimerinin sol-jel-sol faz geçiş diyagramı: A., B., C. PCL blok uzunluğunun etkisi; D., E., F. PEG blok uzunluğunun etkisi; G., H., I. toplam molekül ağırlığının etkisi



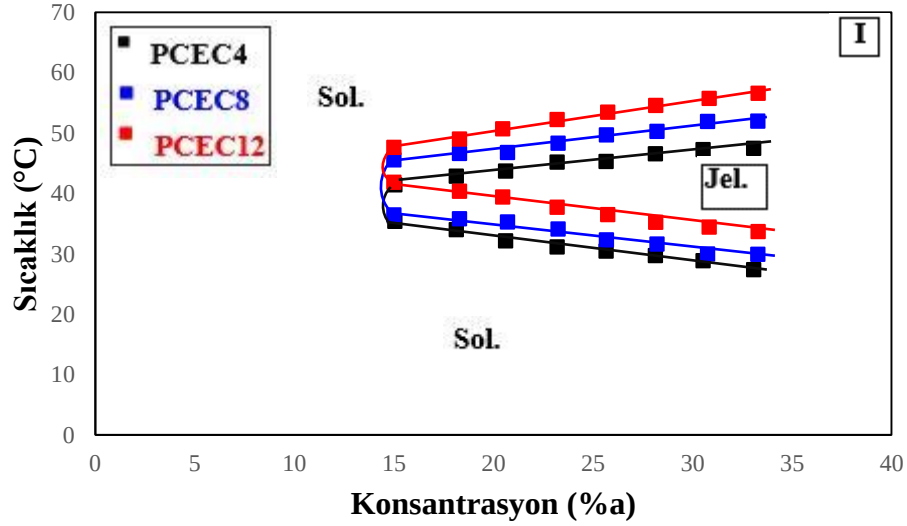
Şekil 4. 11 Tüp ters çevirme yöntemi ile test edilen PCEC triblok kopolimerinin sol-jel-sol faz geçiş diyagramı: A., B., C. PCL blok uzunluğunun etkisi; D., E., F. PEG blok uzunluğunun etkisi; G., H., I. toplam molekül ağırlığının etkisi (devamı)



Şekil 4. 11 Tüp ters çevirme yöntemi ile test edilen PCEC triblok kopolimerinin sol-jel-sol faz geçiş diyagramı: A., B., C. PCL blok uzunluğunun etkisi; D., E., F. PEG blok uzunluğunun etkisi; G., H., I. toplam molekül ağırlığının etkisi (devamı)



Şekil 4. 11 Tüp ters çevirme yöntemi ile test edilen PCEC triblok kopolimerinin sol-jel-sol faz geçiş diyagramı: A., B., C. PCL blok uzunluğunun etkisi; D., E., F. PEG blok uzunluğunun etkisi; G., H., I. toplam molekül ağırlığının etkisi (devamı)



Şekil 4. 11 Tüp ters çevirme yöntemi ile test edilen PCEC triblok kopolimerinin sol-jel-sol faz geçiş diyagramı: A., B., C. PCL blok uzunluğunun etkisi; D., E., F. PEG blok uzunluğunun etkisi; G., H., I. toplam molekül ağırlığının etkisi (devamı)

PCEC triblok kopolimer sulu çözeltilerinin hepsi konsantrasyona bağlı kritik jelleşme konsantrasyonu (CGC), bir alt kritik jelleşme sıcaklığı (LCGT) ve bir üst kritik jelleşme sıcaklığına (UCGT) sahiptir. PCEC triblok kopolimerlerinin sulu çözeltileri kopolimer konsantrasyonu CGC'nin üstündeyken artan sıcaklık ile sol fazdan jel fazına değişmiştir bunun da misel paketleme ve agregasyon tarafından yürütüldüğü gözükmemektedir [127]. Artan sıcaklık ile sol faz tekrar oluşur bu da PCL bloğundaki moleküler hareket artışı ve misel yapının yıkılmasına bağlı olabilir [179]. Zhang vd. PCL-PEG-PCL konsantrasyonu kritik jelyasyon konsantrasyonunun (CGC) üzerindeyken misellerin sıcaklığa bağlı bir sol-jel-sol faz geçişi gösterdiğini belirtmiştir [223].

PCEC triblok kopolimer sulu çözeltilerinin sol-jel-sol geçiş davranışı kimyasal bileşime oldukça bağlıdır. Ayrıntılı sonuçlar aşağıda gösterilmiştir.

PCL Molekül Ağırlığının Etkisi

Şekil 4.11.A - 4.11.C PEG molekül ağırlığı sabit tutulurken PCL molekül ağırlığının sol-jel-sol geçiş davranışı üzerine etkisini göstermektedir. PCL bloğun molekül ağırlığı arttıkça UCGT de bu doğrultuda artmıştır ancak hem LCGT hem de CGC azalmıştır. Toplamda PCL molekül ağırlığı arttıkça jel bölgesi daha geniş hale gelmiş ve CGC daha da düşmüştür. Sol-jelin yapı-özellik ilişkisi triblok kopolimerlerin hidrofobikliğinin artmasıyla sol-jel geçiş sıcaklığının azaldığını göstermiştir [130].

PEG Molekül Ağırlığının Etkisi

Şekil 4.11.D - 4.11.F'de PCL molekül ağırlığı sabit tutulduğunda PEG molekül ağırlığının artırılmasıyla hem LCGT hem de UCGT artmıştır ve kopolimer sulu çözeltisinin CGC'si de artmıştır. PCEC kopolimerinde hidrofilik PEG miktarındaki bir artış misel oluşumunu engellemiştir. Bundan dolayı jel penceresi PEG molekül ağırlığı arttıkça daha yüksek bir sıcaklık ve daha yüksek bir konsantrasyona kaymıştır.

Toplam Molekül Ağırlığının Etkisi

Şekil 4.11.G - 4.11.I PEG/PCL oranı sabit tutulduğunda toplam molekül ağırlığının sol-jel-sol geçiş diyagramı üzerindeki etkisini göstermektedir. PCEC2 için 4095 g/mol'den PCEC6 için 9234 g/mol'e ve PCEC10 için 32727 g/mol'e artan toplam molekül ağırlığı ile LCGT ve UCGT üç kopolimerin sulu çözeltilerinin CGC'si sabit tutulurken önemli ölçüde artmıştır. Aynı durum PCEC3, PCEC7, PCEC11 ile PCEC4, PCEC8, PCEC12'de de gözlemlenmiştir. PCEC kopolimerinin artan molekül ağırlığı ile jel penceresi daha yüksek bir sıcaklığa kaymıştır [179]. Bunlar her bir molekülde PCL ve PEG bloklarının artan sayısına bağlı olarak artmış faz ayrışmasıyla ilişkili olabilir [199].

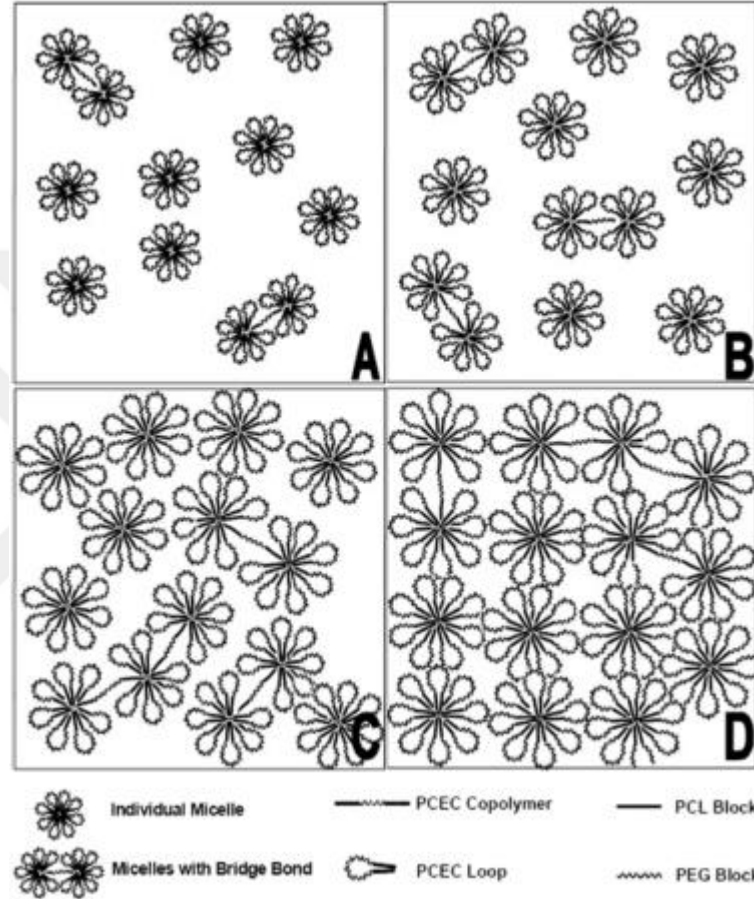
PCEC sulu çözeltilerinin faz geçiş davranışı PCL molekül ağırlığı, PEG molekül ağırlığı ve toplam molekül ağırlığından son derece etkilenmiştir. Çok daha yüksek bir PCL/PEG oranına (örneğin > 2.5) sahip olan kopolimerler oldukça hidrofobiktir ve suda kısmen çözünürler çok daha düşük bir PCL/PEG oranına sahip kopolimerler çok hidrofiliktir ve suda serbestçe çözünürler. Dolayısıyla yukarıda bahsedilen faktörlerin hepsi vücut sıcaklığı civarında jel bölgesi olan sıcaklığa duyarlı bir kopolimer sisteminin tasarımı için kritiktir ve bu onun, yerinde jel oluşturan kontrollü bir ilaç salım sistemi olarak uygulanması için son derece önemlidir.

Bu çalışmada incelenen triblok kopolimerlerin faz geçiş davranışı sol-jel-sol geçişidir.

Kopolimer konsantrasyonunun ağırlıkça %15 mg/ml'den %33 mg/ml'ye olan artışı sol-jel geçişlerini düşük sıcaklığa önemli ölçüde kaydırmıştır.

Sıcaklığa bağlı misel agregasyon mekanizması şematik bir biçimde Şekil 4.12'de gösterilmektedir. Sulu çözeltide PCEC kopolimerindeki hidrofobik PCL blokları hidrofobik etkileşim nedeniyle miselin çekirdeğini oluşturmaya eğilimli olup hidratlaştırılmış PEG blokları dış hidrofilik kabuğa yerleştirilmiştir. PCEC triblok kopolimeri bir misel içinde döngüler oluşturmuş ve farklı miseller arasında miseller arası

köprüler oluşturmıştır. Sol-jel geçiş sıcaklığından daha düşük bir sıcaklıkta küçük miseller sulu çözeltide serbestçe akar (Şekil 4.12.A). Misel boyutu sıcaklık arttıkça hafifçe yükselir ancak çözelti sol halde kalır (Şekil 4.12.B). Daha sonra sıcaklığın sol-jel geçiş sıcaklığı civarında artmasıyla misel boyutu hızla artar ve sol-jel geçişine neden olur (Şekil 4.12.C). Sıcaklık arttıkça miseller arasındaki agregasyon ve paketleme artar daha yoğun bir jel oluşur (Şekil 4.12.D).



Şekil 4. 12 PCEC kopolimer sulu çözeltisi için sıcaklık artışı ile misel agregasyon mekanizmasının şematik bir diyagramı: A. düşük sıcaklıkta küçük boyutlu miseller sulu çözeltide serbestçe akar, B. misel boyutu sıcaklık arttıkça hafifçe artar, C. hidrojel konsantrasyonu CGC'nin üzerinde olduğunda sıcaklığı sol-jel geçiş sıcaklığı civarında arttırmak misel boyutunun hızla artmasına ve sol-jel geçişine neden olur, D. miseller arasındaki agregasyon ve paketleme daha yoğun bir jel oluşturmak üzere artan sıcaklıkla artar [179]

PCL-PEG-PCL kopolimeri baz alınan termal duyarlı hidrojellere göre Martini vd. sulu çözeltide bu triblok kopolimerlerin miselleşme ve jelasyon özelliklerini araştırmış ve verilen konsantrasyonda kopolimer sulu çözeltisini soğutmada sol-jel geçişini bulmuşlardır. Bununla birlikte An vd. PCL-PEG-PCL sisteminin herhangi bir bileşimde ve soğutmada sol-jel geçişinde daha düşük jel-sol geçişi göstermediğini bildirmiştir. Bae

vd. PCL-PEG-PCL triblok kopolimer sulu çözeltisinin ($> 15\%$ a) sıcaklık 10°C 'den 60°C 'ye yükseldiğinde sol-jel-sol geçişine uğradığını bulmuştur [27].

Fizyolojik açıdan ilgili sıcaklıklarda (örneğin 37°C) jelleşme özellikle etkilidir, tıbbi ve ilaç salım amaçları ile sistemlerin faydası için temel oluşturmuştur [224]. Bununla birlikte daha yüksek sıcaklıklarda jelasyonun insan vücudundaki biyomedikal uygulamalarla ilgisi bulunmamaktadır [225].

Guo vd. çalışmalarında P3 ($\text{PCL}_{1500}\text{PEG}_{1500}\text{PCL}_{1500}$) kopolimerinin oda sıcaklığı altında kendiliğinden jelleştiğini ve böylece elle kullanmada ve enjekte etmede zorluğa yol açtığını belirtmişlerdir [131]. Ancak bu çalışmada sentezlenen ve yukarıda sol-jel-sol geçişi gösterdiği belirtilen bütün kopolimerlerin sol-jel geçiş sıcaklıkları oda sıcaklığı ile fizyolojik sıcaklık arasındadır ve bu nedenle enjekte edilebilir bir biyomateryal olarak ilaç salımı için uygundur. Bu çalışma biyolojik olarak parçalanabilir PCEC triblok kopolimerinin yerinde jel oluşturan kontrollü ilaç salım sistemleri alanında umut verici olduğunu ortaya koymaktadır. Bu kopolimerlerin termoduyarlılığı ve biyolojik olarak bozunurluğu temelinde kontrollü bir ilaç taşıyıcısı olarak çözücü içermeyen (organik olmayan bir çözücü) enjekte edilebilir sistem tasarlanabilir [200].

4.3 Boş PCEC Kopolimerik Misellerin Hazırlanması ve Karakterizasyonu

Bu çalışmada birçok çeşit PCEC misel başarıyla sentezlenmiş ve parçacık boyutu, zeta potansiyeli ve PDI sonuçları Çizelge 4.2 ile 4.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 4. 2 Aseton ile sentezlenen misellerin parçacık boyutu, parçacık boyut dağılımı ve zeta potansiyeli değerleri

Deney No	PEG türü	PCL/PEG oranı	çözücü türü	C _{polimer} (mg/ml)	çözücü/su (ml/ml)	parçacık boyutu (nm)	PDI	ζ potansiyel (mV)
1	1450	12:6	Aseton	15	0.08	388	0.386	-44.1
2	1450	12:6	Aseton	15	0.40	396	0.381	-38.3
3	1450	12:6	Aseton	25	0.08	393	0.345	-32.6
4	1450	12:6	Aseton	25	0.40	405	0.302	-32.1
5	1450	12:12	Aseton	15	0.08	365	0.495	-11.5
6	1450	12:12	Aseton	15	0.40	375	0.493	-11.3

Çizelge 4. 2 Aseton ile sentezlenen misellerin parçacık boyutu, parçacık boyut dağılımı ve zeta potansiyeli değerleri (devamı)

Deney No	PEG türü	PCL/PEG oranı	çözücü türü	C _{polimer} (mg/ml)	çözücü/su (ml/ml)	parçacık boyutu (nm)	PDI	ζ potansiyel (mV)
7	1450	12:12	Aseton	25	0.08	374	0.482	-11.1
8	1450	12:12	Aseton	25	0.40	380	0.481	-11.0
9	1450	12:24	Aseton	15	0.08	225	0.750	-2.2
10	1450	12:24	Aseton	15	0.40	309	0.648	0.4
11	1450	12:24	Aseton	25	0.08	295	0.639	2.1
12	1450	12:24	Aseton	25	0.40	363	0.630	9.4
13	3350	12:6	Aseton	15	0.08	522	0.468	-21.9
14	3350	12:6	Aseton	15	0.40	549	0.464	-20.1
15	3350	12:6	Aseton	25	0.08	546	0.461	-18.7
16	3350	12:6	Aseton	25	0.40	568	0.450	-16.6
17	3350	12:12	Aseton	15	0.08	439	0.535	-10.6
18	3350	12:12	Aseton	15	0.40	487	0.520	-10.1
19	3350	12:12	Aseton	25	0.08	463	0.511	-9.9
20	3350	12:12	Aseton	25	0.40	505	0.509	-8.8
21	3350	12:24	Aseton	15	0.08	405	0.627	-6.4
22	3350	12:24	Aseton	15	0.40	414	0.613	-5.9
23	3350	12:24	Aseton	25	0.08	412	0.597	-4.2
24	3350	12:24	Aseton	25	0.40	421	0.584	-3.9
25	12000	12:6	Aseton	15	0.08	786	0.441	-31.1
26	12000	12:6	Aseton	15	0.40	842	0.410	-25.4
27	12000	12:6	Aseton	25	0.08	828	0.393	-24.9
28	12000	12:6	Aseton	25	0.40	959	0.388	-24.7
29	12000	12:12	Aseton	15	0.08	668	0.480	-15.7
30	12000	12:12	Aseton	15	0.40	694	0.476	-14.6

Çizelge 4. 2 Aseton ile sentezlenen misellerin parçacık boyutu, parçacık boyut dağılımı ve zeta potansiyeli değerleri (devamı)

Deney No	PEG türü	PCL/PEG oranı	çözücü türü	C _{polimer} (mg/ml)	çözücü/su (ml/ml)	parçacık boyutu (nm)	PDI	ζ potansiyel (mV)
31	12000	12:12	Aseton	25	0.08	670	0.472	-12.2
32	12000	12:12	Aseton	25	0.40	697	0.469	-11.9
33	12000	12:24	Aseton	15	0.08	583	0.583	-8.8
34	12000	12:24	Aseton	15	0.40	625	0.559	-8.5
35	12000	12:24	Aseton	25	0.08	616	0.539	-8.4
36	12000	12:24	Aseton	25	0.40	655	0.538	-8.3

Çizelge 4. 3 DMF ile sentezlenen misellerin parçacık boyutu, parçacık boyut dağılımı ve zeta potansiyeli değerleri

Deney No	PEG türü	PCL/PEG oranı	çözücü türü	C _{polimer} (mg/ml)	çözücü/su (ml/ml)	parçacık boyutu (nm)	PDI	ζ potansiyel (mV)
1	1450	12:6	DMF	15	0.08	434	0.424	-61.7
2	1450	12:6	DMF	15	0.40	472	0.418	-54.3
3	1450	12:6	DMF	25	0.08	439	0.397	-50.7
4	1450	12:6	DMF	25	0.40	492	0.383	-45.5
5	1450	12:12	DMF	15	0.08	335	0.538	-17.8
6	1450	12:12	DMF	15	0.40	396	0.532	-16.8
7	1450	12:12	DMF	25	0.08	363	0.520	-15.4
8	1450	12:12	DMF	25	0.40	433	0.515	-15.0
9	1450	12:24	DMF	15	0.08	233	0.842	-4.9
10	1450	12:24	DMF	15	0.40	297	0.760	5.8
11	1450	12:24	DMF	25	0.08	243	0.737	10.1
12	1450	12:24	DMF	25	0.40	324	0.662	10.3
13	3350	12:6	DMF	15	0.08	615	0.503	-36.3
14	3350	12:6	DMF	15	0.40	620	0.502	-31.7

Çizelge 4. 3 DMF ile sentezlenen misellerin parçacık boyutu, parçacık boyut dağılımı ve zeta potansiyeli değerleri (devamı)

Deney No	PEG türü	PCL/PEG oranı	çözücü türü	C _{polimer} (mg/ml)	çözücü/su (ml/ml)	parçacık boyutu (nm)	PDI	ζ potansiyel (mV)
15	3350	12:6	DMF	25	0.08	619	0.494	-29.8
16	3350	12:6	DMF	25	0.40	623	0.484	-28.7
17	3350	12:12	DMF	15	0.08	540	0.547	-14.5
18	3350	12:12	DMF	15	0.40	566	0.543	-13.5
19	3350	12:12	DMF	25	0.08	558	0.541	-10.9
20	3350	12:12	DMF	25	0.40	581	0.541	-10.4
21	3350	12:24	DMF	15	0.08	513	0.640	-8.5
22	3350	12:24	DMF	15	0.40	519	0.630	-8.0
23	3350	12:24	DMF	25	0.08	519	0.589	-6.5
24	3350	12:24	DMF	25	0.40	522	0.585	-5.3
25	12000	12:6	DMF	15	0.08	917	0.466	-41.2
26	12000	12:6	DMF	15	0.40	1059	0.450	-39.7
27	12000	12:6	DMF	25	0.08	923	0.444	-38.5
28	12000	12:6	DMF	25	0.40	1211	0.430	-37.4
29	12000	12:12	DMF	15	0.08	683	0.512	-28.7
30	12000	12:12	DMF	15	0.40	737	0.512	-23.1
31	12000	12:12	DMF	25	0.08	717	0.509	-20.8
32	12000	12:12	DMF	25	0.40	737	0.504	-19.6
33	12000	12:24	DMF	15	0.08	623	0.570	-10.3
34	12000	12:24	DMF	15	0.40	648	0.561	-10.1
35	12000	12:24	DMF	25	0.08	624	0.554	-9.9
36	12000	12:24	DMF	25	0.40	656	0.548	-8.9

Parçacık boyutu, zeta potansiyeli ve PDI sonuçları kopolimerlerin molekül ağırlığı, PCL/PEG oranı, organik çözücü türü ve organik çözücü konsantrasyonundan etkilenmiş olup aşağıda ayrıntılı olarak tartışılmıştır.

4.3.1 Yüzey Özelliklerinin Etkisi

Boyutun yanı sıra yüzey özellikleri nanoparçacıkların biyolojik uyumluluğunu etkileyen en önemli özellik olarak düşünülür. Yüzey yükü; aglomerasyon, kan ikameti ve opsonizasyon ve hücrel alım gibi çoklu davranışları etkileyen başka bir anahtar parametre olarak bilinmektedir [47]. NP'lerin yüzey yükleri hem süspansiyondaki kolloidal kararlılıkları hem de hücrelerle olan etkileşimleri üzerinde etkili olmaktadır [226].

Katyonik bir yüke sahip nanoparçacıkların nötr ve anyon muadillerine göre daha fazla bağışıklık tepkisi ve sitotoksite oluşturacağı, tümörlerde transvasküler taşınım için avantajlı olduğu kabul edilirken, nötr bir yüke sahip partiküllerin tümörlerde oldukça uzun dolaşım süreleri ve interstisyel taşınım gösterdikleri belirtilmiştir [227-229]. Pozitif yüklü parçacıklar hücrelere spesifik olmayan yapışmalara neden olurken negatif yüklü parçacıklar karaciğerdeki radikal temizleyici endotelial hücreleri tarafından alınabilir [230]. Plazma ve kan hücreleri daima negatif bir yüke sahiptir hafif negatif yüzey yüklü nanoparçacıklar elektrostatik etkileşimler yoluyla bu bileşenlerle özgül olmayan etkileşimleri en aza indirebilir [181]. Gao vd. yaptıkları çalışmada pozitif bir nanoparçacık yüzey yükünün nanotaşıyıcılar ve tümör hücreleri arasındaki bağlanmayı ayrıca destekleyebileceğini belirtmiştir. Örneğin katyonik lipozomların genellikle nötr veya anyonik lipozomlardan daha yüksek bir hücre alımı gösterdiğini ifade etmişlerdir. Bununla birlikte katyonik taşıyıcı sistemlerin böbrekler tarafından anyonik ve nötr sistemlerden daha hızlı uzaklaştırılacağını göstermişlerdir. Katyonik taşıyıcıların negatif yüklü serum proteinleriyle agregasyona neden olacak güçlü bir elektrostatik etkileşime sahip olabildiklerini belirtmişlerdir. Katyonik taşıyıcıların agregasyonunun in vivo olarak daha az etkili bir salıma ve tahmin edilemez farmakokinetik özelliklere neden olduğunu gözlemlemişlerdir [231].

Dikkate alınan sisteme göre ζ pozitif (katyonik) veya negatif (anyonik) olabilir. Mutlak değeri bir kolloidin kararlılığı hakkında değerli bilgiler verir. $|\zeta|$ için 30 mV'dan genellikle büyük olduğunda başlangıç aşamasında olan damlacıkların yüzeyinde oluşan yüksek elektrik yükü aralarında daha kuvvetli itici kuvvetlere neden olur böylece daha fazla

parçacık agregasyonunu önler ve sonuç olarak sisteme iyi veya mükemmel bir kararlılık sağlar. Buna karşılık $|\zeta| < 30$ mV ise kararlılık zayıftır ve sistem mikro parçacıkların koagülasyonunu kolaylıkla sağlar [83], [100], [180], [233-238]. Ayrıca zeta potansiyeli yüklü aktif materyallerin partiküllerin içine mi hapsedildiği yoksa yüzeyine mi adsorbe olduğu hakkında bilgi verir [232], [239].

Etkin madde içermeyen misellerin zeta potansiyeli Bölüm 3.2.3.1’de anlatıldığı şekilde ölçülmüştür. Her bir formülasyona ilişkin tayin edilen zeta potansiyel değerleri Çizelge 4.2 ile 4.3’te verilmiştir. Bu çalışmada sentezlenen misellerin genelinin zeta potansiyel değeri ± 30 mV arasında bulunmuştur.

Çizelge 4.2 ile 4.3’te verilen zeta potansiyel değerlerine göre aseton ve DMF ile sentezlenen PCEC serilerinde PCEC2 daha kararlı gözükmetedir ve bu sonuç negatif yüklü daha uzun PCL bloğuna atfedilmektedir. Benzer bir sonuç Zamani vd. tarafından elde edilmiştir.

Saf PCL - 57 mV ve - 36 mV arasında negatif bir yüzey yüküne sahiptir. PEG blokları PCL zincirlerine girdiğinde negatif yük bu doğrultuda düşer ve pozitif değerlere doğru eğilim gösterir.

PCEC2 ile PCEC12 karşılaştırılırsa PCL blok uzunluğu PCEC12’de iki katına çıkmıştır, PEG bloğunun uzunluğu da yaklaşık sekiz katına çıkmıştır. PCEC3 ile PCEC7 karşılaştırılırsa PCL blok uzunluğu PCEC7’de yaklaşık 1.8 katına çıkmıştır, PEG bloğunun uzunluğu da 2.3 katına çıkmıştır. PCEC6 ile PCEC11 karşılaştırılırsa PCL blok uzunluğu PCEC11’de 1.87 katına çıkmıştır, PEG bloğunun uzunluğu da 3.6 katına çıkmıştır. Dolayısıyla düşük zeta potansiyeli PEG zincirlerinin koruyucu etkisine bağlı olabilir. Daha uzun PEG blokları nanoparçacık yüzeyini daha etkili şekilde kaplayabilir ve bu da yüzeyin negatif yükünün azalmasına neden olur. PCEC7 PCEC2 ile ve PCEC8 PCEC3 ile karşılaştırılırsa PEG blok uzunluğu 2.3 katına, PCEC12 PCEC6 ile karşılaştırılırsa PEG blok uzunluğu 3.6 katına çıkmaktadır ve bu nedenle zeta büyüklüğü daha az olur. Zamani ve Khoei yaptıkları çalışmada PCEC 2-4-2 ile PCEC 2-2-2’nin zeta potansiyellerini karşılaştırmıştır, PEG blok uzunluğu iki katına çıkarılınca değerin azaldığını belirtmişlerdir [197].

PCEC2 ve PCEC6 göz önüne alındığında hem PCL hem de PEG blok uzunluğu iki katına çıkarılmıştır ancak PEG bloğun daha etkili olduğu gözükmetedir. Aynı sonuç PCEC3 ile PCEC7’de de gözlenmektedir. PCEC2’de PCL blok uzunluğu tekrar artar ve böylece

PCEC3'e kıyasla zeta potansiyeli daha negatif hale gelir. Aynı sonuç PCEC6 ile PCEC7'yi ve PCEC10 ile PCEC11'i kıyaslarken elde edilmiştir.

Sulu çözeltide PEG ve PCL arasındaki hidrofobiklikteki göreceli fark PCL çekirdeği ve PEG kabuğu ile kendiliğinden oluşan misel oluşumuna izin vermektedir. Misellerin yüzeyinde bulunan PEG zinciri agregat oluşumunu önlemek için partiküller arasında sınırlı çekim kuvveti sağlayabilir. Bu nedenle misellerin kararlılığı misellerin yüzeyinde bulunan hidrofilik PEG zincirinin oluşturduğu stereospesifik blokaja büyük oranda katkıda bulunabilir [240]. Genel olarak PCL bloğu arttırılırsa zeta potansiyel değeri daha negatif hale gelir ve PEG blok uzunluğunun arttırılması zeta potansiyel değerini daha az negatif yapar. Sonuç olarak PEG blok uzunluğu artışı PCL blok uzunluğunu arttırmaktan daha etkilidir [197]. Amfifilik blok kopolimer miseller için misellerin dış kabuğundaki hidrofilik zincir parçalarının (örneğin PEG) uzun zincir blokların zeta potansiyelini azaltmada kısa zincir bloklara göre daha etkili olmakla birlikte misel çekirdeğindeki yükleri koruyabileceği öngörülmektedir [241]. Buna göre sentezlenen kopolimerik miseller için zeta potansiyeli değerleri $PCEC2 > PCEC10 > PCEC6 > PCEC11 > PCEC3 > PCEC7 > PCEC12 > PCEC8 > PCEC4$ olarak bulunmuştur.

Bu çalışmadaki miseller dağılma durumunda kararlı bulunmuştur zeta potansiyelinin yüksek mutlak değerlerine ve negatif yüzey yüklerine sahipti (Çizelge 4.2 ve 4.3). Durum hücre içine alınması açısından değerlendirildiğinde aseton ve DMF ile hazırlanan PCEC misellerinin büyük bir çoğunluğu negatif yüklü olduğu için ve negatif yüklü olmayan çok az sayıdaki misellerin ise genellikle sıfıra yakın yükte olması nedeniyle zeta potansiyel değerleri açısından uygun bulunmuştur.

PCL-PEG-PCL misellerin zeta potansiyelleri aseton ve DMF ile hazırlanan örnekler için sırasıyla 9.4 - (-44.1) ile 10.3 - (-61.7) mV olarak bulundu. Bu negatif yüklü NP'ler genellikle plazma makromoleküler protein adsorpsiyonuna karşı daha dirençli olup in vivo ilaç salımı tercih eden pozitif yüklü olanlara kıyasla kan dolaşımında daha kolay dağılırlar [242]. Bu elektronegativite parçacıkların hücreler tarafından etkili bir şekilde alınacağını önermektedir [204]. Negatif yüklü kopolimer miseller kan bileşenleri ile olan etkileşimlerin azalması nedeniyle iyi kan uyumluluğu ve uzun süreli dolaşım gösterecektir [75].

Sonuçlar polimer konsantrasyonu, çözücü türü ve konsantrasyonunun misellerde zeta değerlerini önemli ölçüde etkilemediğini göstermiştir.

4.3.2 Polidispersite İndeksi

Parçacık boyutu dağılımı boyut dağılımının genişliği için bir ölçüt olan PDI kullanılarak karakterize edilmiştir.

PCEC misellerin PDI aralığı; aseton ile hazırlanan örnekler için 0.302 - 0.750, DMF ile hazırlanan örnekler için ise 0.383 - 0.842 aralığında bulunmuştur. Çalışmada elde edilen polidispersite indeksi değerleri PCEC misellerin tek dağılımlı olduğunu ve suda agrega oluşturmadığını ortaya koymuştur. Sıfıra yakın (minimum okuma) polidispersite indeksi değeri homojen bir parçacık popülasyonunu temsil ederken, 1.0 (maksimum okuma) heterojen bir popülasyona işaret etmektedir. Polidispersitenin artması parçacık yoğunluğunun varlığı ile gözlemlendiği gibi dispersiyonun zayıf kararlılığını gösterir [235]. PDI değeri ne kadar düşükse boyut dağılımı daralır veya nanopartikül numunesi daha üniform olur [243].

Shin vd. yaptıkları çalışmada nanosüspansiyonları (NS'ler) suda çözünürlüğü, çözünme oranını ve suda çözünmeyen kurkuminin ağızdan alınan adsorpsiyonunu arttırmak için sonoçökeltme yöntemini kullanarak üretmiştir. İyi bir dengeleyici olarak ve kurkumin-TPGS NS'lerin (Kur-TPGS NS'ler) kararlılığını arttırmak için D- α -Tokoferol polietilen glikol 1000 süksinatı (TPGS) kullanmışlardır. Daha yüksek PDI değerine sahip nanosüspansiyonların daha heterojen olduğunu daha küçük PDI değerine sahip nanosüspansiyonların daha homojen olduğunu belirtmişlerdir [234].

Hu vd. yaptıkları çalışmada 2000, 6000 ve 10000 g/mol moleküler ağırlığına sahip PEG içeren PCL-PEG-PCL miselleri sırasıyla P2K, P6K ve P10K olarak adlandırmışlardır. P2K, P6K ve P10K miselleri için PEG blok uzunluğunun artmasıyla polidispersite boyutu artmıştır. Buna göre P2K, P6K ve P10K miselleri için polidispersite değerleri sırayla 0.119 ± 0.008 , 0.136 ± 0.018 ve 0.251 ± 0.022 olarak bulunmuştur [184].

Chan vd. PLGA-lesitin-PEG çekirdek kabuk NP'lerin sistematik hazırlanması ve karakterizasyonu üzerine çalışmalarını sunmuştur. THF gibi çok polar olmayan organik çözücüler kullanıldığında ortalama olarak ~ 0.100 civarında son derece düşük polidispersiteler elde ettiklerini oysa DMF gibi çok polar organik çözücüler kullanıldığında polidispersitelerin ~ 0.300 'den daha yüksek olduğunu asetonitril ve asetonun yaklaşık ~ 0.200 civarında orta derecede polidispersiteler verdiğini belirtmiştir [244]. Bu çalışmada da DMF ve aseton kullanarak sentezlenen misellerin ortalama polidispersite değerleri sırasıyla 1.05 ve 0.98 olarak hesaplanmıştır.

Damar içi uygulama küçük polidispersite indeksi olan küçük parçacıkları gerektirir ve bunların sifıra yakın olması arzu edilir [47].

4.3.3 Partikül Büyüklüğü Üzerinde Proses Parametrelerinin Etkisi

Partikül boyutu çok önemli bir parametredir çünkü in vivo uygulamadan sonra nanoparçacıkların fizikokimyasal özelliklerini ve biyolojik geleceğini etkiler [235].

Misellerin büyüklüğü, morfolojisi ve kararlılığı; değişen kimyasal bileşim, toplam molekül ağırlığı, blok uzunluk oranları ve çapraz bağlanabilir gruplar tarafından kontrol edilebilir. Boyut, şekil ve yüzey özellikleri ilaç salım sistemlerinin etkinliğini etkileyen ana faktörlerden bazılarıdır. Parçacık boyutu; bozunma, damarlı dinamikler, hedefleme, kan dolaşımından temizleme ve parçacıkların alım süreçleri gibi etkinliğin kontrolünde önemli bir rol oynamaktadır. Farklı büyüklükteki parçacıklar farklı Brownian hızları, difüzyon yetenekleri ve yapışma özellikleri sergiler ve bu da alım etkinliklerinde fark yaratır. Nano taşıyıcıların şekil, boyut ve yüzey yükü gibi kimyasal ve fiziksel özellikleri farmakokinetiğini ve biyolojik dağılımını belirleyen önemli faktörlerdir. Bu parametreler kan dolaşımını uzatmak ve terapötik etkinliği arttırmak için manipüle edilebilir. Partikül boyutu formülasyonun toksisitesini doğrudan etkiler. Parçacık boyutunu azaltarak arttırılmış toksikliği temin eden maddenin kimyasal, optik, elektriksel ve fiziksel özelliklerinde değişiklikler elde etmek mümkündür. Buna ek olarak yüzey alanındaki bir artış toksisitenin artması ile doğrudan bağlantılı olmayabilecek daha büyük bir reaktiviteye yol açabilir. İn vitro toksisitenin ötesinde parçacıkların boyutu in vivo toksisite ile ilgilidir ve özellikle uygulama yolu konusuyla ilgilidir. Polimerik misellerin EPR aracılı ilaç salımı; boyut, hidrofobik-hidrofilik denge ve yüzey yükü gibi misellerin fiziko kimyasal özelliklerinden etkilenir [47].

MSN'lerin (tekil dağılımlı küçük gözenekli silika nanoparçacık) biyotranslokasyonu için Mou vd. Hela hücreleri tarafından MSN'lerin hücresel alımında parçacık boyutunun etkisini araştırmıştır. Hücresel alım miktarı $50\text{ nm} > 30\text{ nm} > 110\text{ nm} > 280\text{ nm} > 170\text{ nm}$ şeklinde boyuta bağlı olarak bulunmuştur. 50 nm nanopartiküllerin hücresel alım miktarı 30 nm partiküllerden yaklaşık olarak 2.5 kat daha yüksekti. 50 nm MSN'nin ilaç salımında hücresel alım yönünden en etkili olabileceği önerilmiştir [245].

Shi vd. tarafından yapılan başka bir araştırmada damar içi uygulama ile 80, 120, 200 ve 360 nm boyutlarında küresel MSN'lerin in vivo biyolojik dağılımı ve üriner boşaltımı

incelenmiştir. Araştırmada parçacık boyutunun; in vivo salım, kan dolaşımı ömrü ve boşaltma için belirleyici faktörlerden biri olduğu belirtilmiştir. Damar içi enjeksiyondan sonra bütün boyutlardaki MSN'ler karaciğer ve dalakta, azınlıkları akciğerde, bir kısmı da böbrekte ve kalpte salınmıştır. Enjeksiyondan 30 dakika sonra parçacık boyutlarının 80, 120'den 200 nm'ye artmasıyla karaciğer ve dalaktaki salımın arttığı ancak 360 nm büyüklüğündeki parçacığın dalakta farklı eğilim sergilediği belirtilmiştir. Önemli biçimde daha küçük boyuttaki parçacıkların daha uzun kan dolaşımı ömrü vardı. İdrardan atılım partikül boyutunun artması ile belirgin biçimde artmıştır bu da in vivo bozunma hızlarını ve bozunma ürünlerinin atılım miktarını yansıtmıştır [246].

He vd. yaptıkları çalışmada küresel mezogözenekli silika (MS) nano- ve mikroparçacıkların sitotoksitesini değerlendirmiş ve sitotoksite üzerinde parçacık büyüklüğü, konsantrasyon, MS'nin biyolojik bozunma ürünleri, artık yüzey aktif maddenin ve ekstraksiyon ve kalsinasyon ile yüzey aktif maddenin giderilmesinin etkilerini araştırmıştır. Buna göre 190, 420 ve 1220 nm parçacık boyutlarına sahip küresel MSN'lerin sitotoksitesi üzerine bir araştırma sitotoksitenin partikül boyutlarıyla büyük oranda ilişkili olduğunu göstermiştir. 190 ve 420 nm MSN'ler 25 mg/ml'nin üzerindeki konsantrasyonlarda kayda değer sitotoksite gösterirken 1220 nm'lik küçük ölçek parçacıkları azalmış endositoz nedeniyle hafif sitotoksite göstermiştir [247].

Başka bir araştırmada çeşitli boyutlardaki gözeneksiz ve gözenekli silika nanopartiküllerin toksisitesini değerlendirmek için hemolizin ölçümü kullanılmış ve gözenekli yapı ve bütünlüğün nanopartikül-hücre etkileşimi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada, ~25 ila ~250 nm çap aralığında değişen boyutlara sahip gözeneksiz Stöber ve mezogözenekli silika nanoparçacıkları hazırlanmıştır. Gözenekli silika parçacıklarının (25, 42, 93, 155 ve 225 nm) konsantrasyon ve boyuta bağlı olarak hemolitik aktiviteye neden olduğu bulunmuştur. Daha küçük parçacıkların, daha büyük olanlardan daha yüksek hemolitik aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir. Bununla birlikte, bu in vitro sonuçların in vivo çalışmalarla doğrulanmadığı ifade edilmiştir [248].

Doktorovova vd. katı lipid nanopartikülleri (SLN) ve nanoyapılı lipid taşıyıcıları (NLC) diğer kolloidal taşıyıcılara alternatif olarak geliştirmiştir. Bunlar kararlılıkta lipid nanoemülsiyonlar ve lipozomların üstesinden gelmek, enkapsüle maddenin salımını kontrol edebilme yeteneği sağlamak ve aynı zamanda polimerik nanopartiküllerden daha iyi tolere edilebilmeleri için tasarlanmıştır. Boyutun toksite üzerindeki öneminin diğer

kolloidal taşıyıcı türleri için bildirildiğini burada birkaç veri mevcutken henüz bir sonuç çıkarılamayacağını belirtmiştir [249].

Parçacık büyüklüğü ve yüzey alanı toksikolojik bir perspektiften önemli malzeme özellikleridir. Bir parçacık boyutu düştükçe yüzey alanı artar ve atomların veya moleküllerin büyük bir bölümünün malzemenin içinden ziyade yüzeyde görüntülenmesine olanak tanır [250]. Yüzey alanı arttıkça partikülün yüzeyindeki potansiyel reaktif grupların sayısı da yani toksikolojik etkilere yol açabilecek grupların sayısı artmaktadır. Bu nedenlerle nanopartiküllerde partikül büyüklüğünün gereksiz küçültülmesi güvenilirlik açısından istenmeyen bir durum olarak düşünülmektedir [251].

Geliştirilmiş etkinlik için bir neden EPR etkisi olarak düşünülmüştür yani birkaç düzine 400 nm'lik çapa ve yüzeyde hidrofilik moleküllere sahip nanopartiküllerin uzun plazma ikameti sergileme eğilimi gösterdikleri, daha geçirgen kılcal damarlara ve lenfatik süzülme olmamasından dolayı katı bir tümör gibi hastalıklı kısımlara daha kolay biriktikleri, katı bir tümöre karşı daha iyi sonuç verdikleri belirtilmiştir [252].

Enjekte edilebilir nanopartiküler taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesinde partikül büyüklüğünün sistemin etkinliğini etkileyen en önemli parametrelerden biri olması nedeniyle partikül büyüklüğü uygun boyutta (< 400 nm) olan ve bu şekilde makrofaj alımı azaltılarak kan dolaşımında kalma süreleri uzatılmış ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesi önem kazanmaktadır [253].

Şu bir gerçek ki nanopartiküllü taşıyıcı sistemlerde az çözünen anti-kanser ilaçların kullanımı bu salım sistemlerinin azaltılmış boyutundan (< 400 nm) dolayı avantajlı görünmektedir bu retiküloendotelial sistem RES alımından kaçmaya yardımcı olur ve çözündürücü olarak Cremophor'dan kaçınılması ile birlikte tümör bölgesinin sızıntılı damar düzeni karakteristiği yoluyla damar dışına kaçmayı kolaylaştırır. Bunun yan etkileri azalttığı, anti-kanser ilacın doku dağılımı ve farmakokinetiğini değiştirirken terapötik etkinliği arttırdığı düşünülmektedir [251].

İstenilen yere sirküle ettikten sonra nanoparçacıklar damar düzeninden katı tümör dokusunun dokular arasında bulunan boşluğuna dışarıya akıtmaya ihtiyaç duyar. Tümörün anormal vasküler yapısı pasif tümör hedeflemesinde yaklaşık 30 ila 400 nm arasında değişen boyutlara sahip nanoparçacık ilaç salım sistemleri için önemli avantajlara sahiptir. Blok kopolimerik misellerde blok uzunlukları ve bölümlerin her

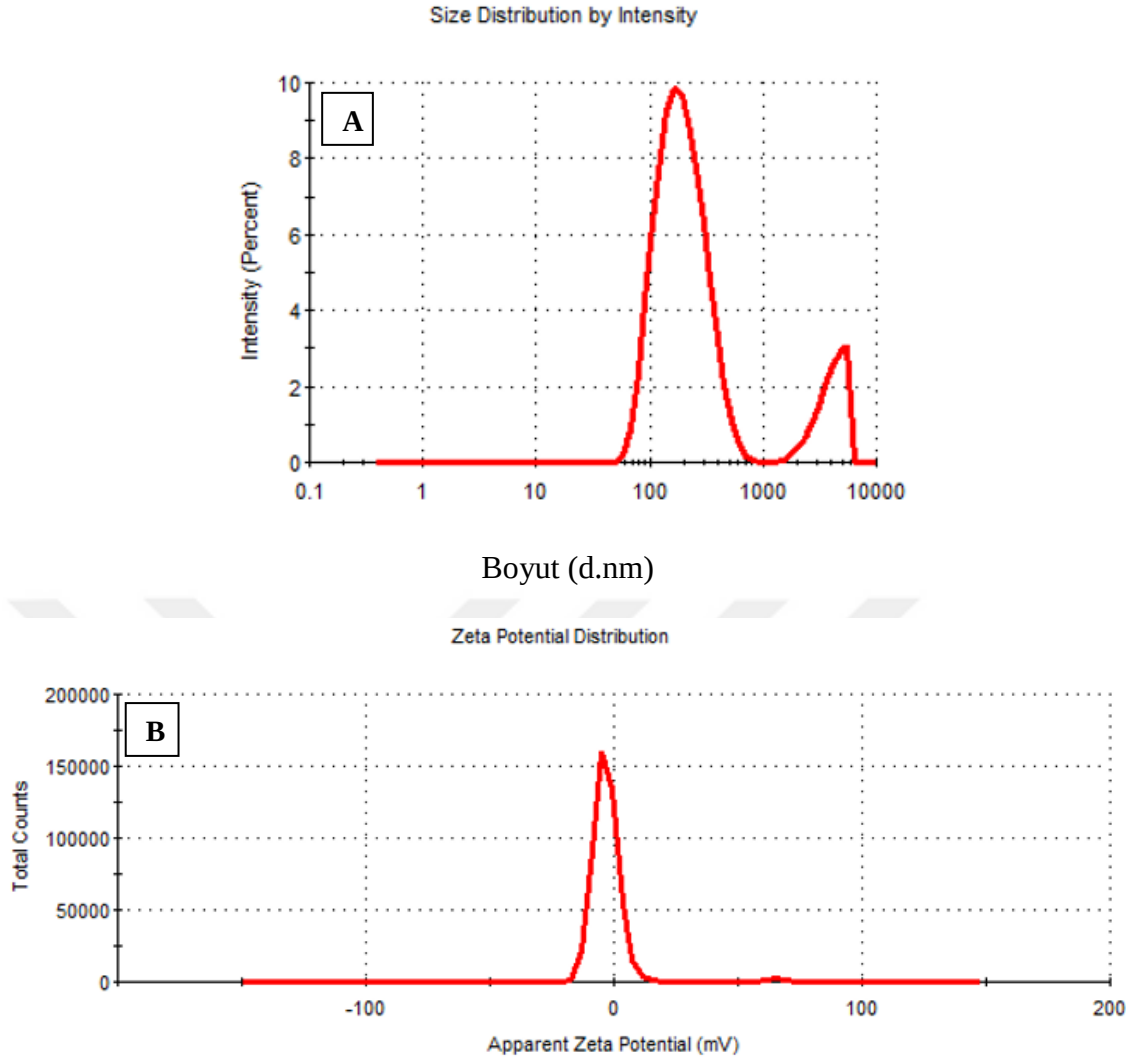
birinin bileşimi kritik misel konsantrasyonu, misel büyüklüğü, agregasyon sayısı, misel kararlılığı ve şekil gibi misel özelliklerini etkiler [198].

Nanoparçacıkların boyutunun biyolojik hücrelere yapışmalarında ve etkileşiminde önemli bir rol oynadığı, endositotik alımda parçacıkların endositoz (parçacık boyutu < 500 nm) yoluyla bağırsak enterositleri tarafından emildiği, lenfatik alımda parçacıkların Peyer plakalarının (parçacık boyutu < 500 μ) M hücreleri tarafından emildiği belirtilmiştir [226], [243]. Teorik olarak bu nanoparçacıkların hepsinin NP'lerin EPR etkisi ile tümörlere nüfuz etmesinin yanı sıra yüksek hücresel alım etkinliği için de uygun olduğu ifade edilmiştir.

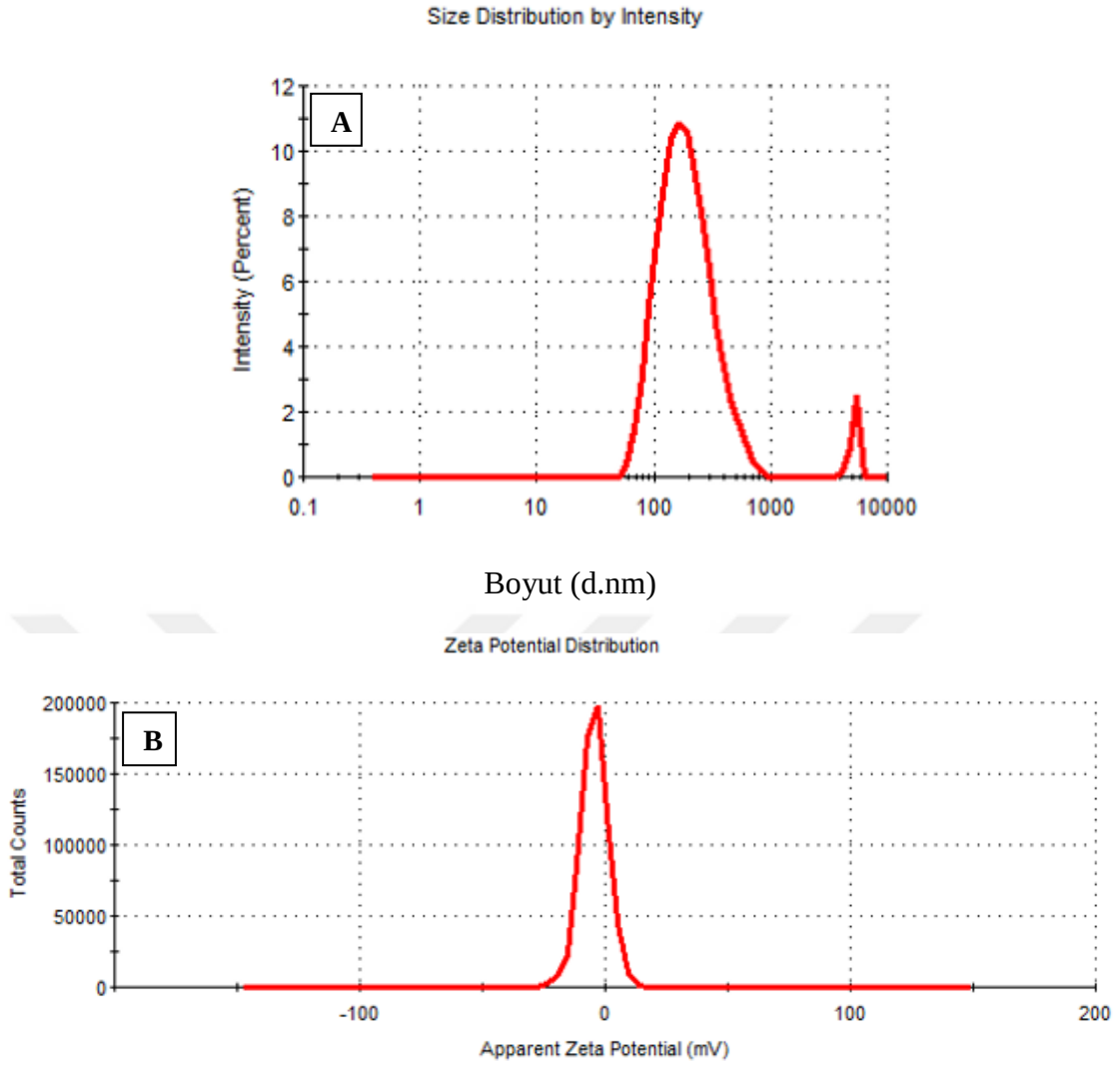
Tekil dağılımlı PCEC miselleri bu çalışmada nanoçöktürme yöntemi ile sentezlenmiştir. Aseton ve DMF suda çözünür organik çözücüler iken PCEC suda çözünmeyen amfifilik kopolimerdir. Aseton ve DMF'deki PCEC organik çözeltisi karıştırma altında suya damlatıldığında PCEC organik fazı mekanik karıştırmaya ve aseton ile DMF'nin difüzyonuna bağlı olarak küçük damlalara dağıtılmıştır. Daha sonra aseton ve DMF'nin devam eden difüzyonu olarak PCEC su içerisinde çökeltilmiş ve PCEC'nin amfifilik özelliğinden dolayı çekirdek-kabuk yapısına sahip olarak misel haline kendiliğinden meydana gelmiştir.

Bu çalışmada boyut dağılımı çeşitli boyut sınıflarındaki parçacıklar tarafından saçılmış olan ışığın bağıl yoğunluğunun bir çizimi olarak elde edilmekte ve bu nedenle yoğunluk boyut dağılımı olarak bilinmektedir.

Parçacık boyutu misellerin geleceğini in vivo olarak büyük ölçüde etkilediğinden ve ilaç vektörlerinin en önemli parametrelerinden biri olduğundan dolayı bu çalışmada işlem parametrelerinin misellerin parçacık boyutu üzerindeki etkileri incelenmiştir. Şekil 4.13 ve 4.14'te sırasıyla aseton ve DMF ile hazırlanan PCEC4 miseline ait parçacık boyut dağılımı ve zeta potansiyeli gösterilmektedir.



Şekil 4. 13 Aseton ile hazırlanan PCEC4 miselinin parçacık boyut dağılımı ve zeta potansiyeli: A. parçacık boyut dağılımı, B. zeta potansiyeli (Çizelge 4.2'deki 9 no.lu örnek)



Şekil 4.14 DMF ile hazırlanan PCEC4 miselinin parçacık boyut dağılımı ve zeta potansiyeli: A. parçacık boyut dağılımı, B. zeta potansiyeli (Çizelge 4.3'teki 9 no.lu örnek)

4.3.3.1 Misel Boyutunu Kontrol Etmede PCEC Molekül Ağırlığının Etkisi

Bu çalışmada PCEC misellerin partikül büyüklüğünün PCEC'nin molekül ağırlığı ile değiştirilebileceği tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre parçacık boyutu sıralaması $PCEC_{10} > PCEC_{11} > PCEC_{12} > PCEC_6 > PCEC_7 > PCEC_8 > PCEC_2 > PCEC_3 > PCEC_4$ şeklinde bulunmuştur.

Ryu vd. yaptıkları çalışmada poli(ϵ -kaprolakton)/poli(etilen glikol)/poli(ϵ -kaprolakton) (CEC) blok kopolimerinin çekirdek-kabuk tipi nanopartiküllerini bir diyaliz tekniği ile hazırlamıştır. PCEC misellerin partikül büyüklüğünün PCEC'nin molekül ağırlığı ile değiştirilebileceği belirtilmiştir [254].

Zamani ve Khoe PCL ve PEG bazlı bir dizi ABA ve BAB tipi nanoparçacıkları sentezlemiş ve bütün yanlarıyla araştırmıştır. Buna göre Poli(etilen glikol)-poli(ε-kaprolakton)-poli(etilen glikol) PECE 1.1-2-1.1, PECE 1.1-4-1.1 ve PECE 2-8-2 için partikül boyutu sırasıyla 34.6 ± 2.4 , 35.6 ± 2.1 ve 47.7 ± 3.1 nm olarak bulunurken PCEC 1-2-1, PCEC 2-2-2, PCEC 2-4-2 ve PCEC 4-4-4 için sırasıyla 22.2 ± 4.4 , 35.3 ± 2.6 , 41.6 ± 3.3 ve 59.5 ± 2.5 nm olarak bulunmuştur. Beklendiği gibi hem hidrofobik hem de hidrofilik kısımların moleküler ağırlığının artırılması ilgili parçacık boyutunu arttırmıştır [197]. Benzer sonuç bu çalışmada da elde edilmiştir.

4.3.3.2 Misel Boyutunu Kontrol Etmede PCL/PEG Oranının Etkisi

Blok kopolimerlerin solvofobik (çözgen-iter) bölümünün solvofobik özelliği arttıkça blok kopolimerlerin CMC'si azalmış ve çözücü ile misel çekirdeğinin yüzeyi arasındaki arayüzey gerilimi arttığından ve solvofobik bloğun çözücü itme kuvvetinden dolayı ortalama agregasyon sayısı ve misel boyutu artmıştır [198].

Boş miseller için PCL segmentinin zincir uzunluğu ne kadar büyükse misellerin ortalama parçacık boyutu da o kadar büyüktür. Bu çalışmada da PEG1450 ile sentezlenen PCEC2, PCEC3 ve PCEC4 misellerinin boyutu üzerine PCL/PEG oranının etkisi incelendiğinde boyut sıralaması PCEC2 > PCEC3 > PCEC4 şeklinde bulunmuştur. PEG3350 için bu sıralama PCEC6 > PCEC7 > PCEC8'dir. PEG12000 için ise bu sıralama PCEC10 > PCEC11 > PCEC12'dir.

Tran vd. Poli(etilen glikol) (PEG, $M_n = 4000$) kullanarak farklı molekül ağırlığında PC₂₀E₄₀C₂₀, PC₅₀E₄₀C₅₀ ve PC₁₀₀E₄₀C₁₀₀ nano-boyutlu miseller sentezlemiş ve bunları sırasıyla MC₂₀, MC₅₀ ve MC₁₀₀ olarak adlandırmıştır. Buna göre ortalama parçacık boyutları MC₂₀, MC₅₀ ve MC₁₀₀ için sırasıyla 50, 78 ve 198 nm olarak bulunmuştur [203]. Misellerin ortalama boyutlarının kopolimer bileşimine bağlı olduğu Zhang vd. tarafından yapılan çalışmada da belirtilmiştir [255].

Xu vd. amfilik biyolojik olarak parçalanabilir poli(ε-kaprolakton)-poli(etilen glikol)-poli(ε-kaprolakton) (PCEC) triblok kopolimerleri katalizör olarak SnOct ve makro-başlatıcı olarak ikili-hidroksil başlıklı PEG (DHPEG) kullanarak ε-kaprolaktonun halka açılma polimerizasyonu ile başarıyla sentezlemiştir. Polimer miselleri hazırlamak için membran diyaliz yöntemi kullanılmıştır. Buna göre PCEC-1a, PCEC-2a, PCEC-3a ve PCEC-4a için misel boyutu sırasıyla 47 ± 3.1 , 55 ± 4.2 , 73 ± 6.8 ve 81 ± 6.7 nm olarak

bulunmuştur. Burada ϵ -CL/EO molar oranı PCEC-1, PCEC-2, PCEC-3 ve PCEC-4 için sırasıyla 0.94, 1.50, 1.81 ve 2.30 olarak hesaplanmıştır. PCEC misellerin boyutunun hidrofobik PCL blok uzunluğunun artması ile kademeli olarak arttığı diğer bir deyişle hidrofobik PCL bloğu ne kadar uzun olursa misel boyutunun da o kadar büyük olduğu gözlenmiştir. Hidrofobik PCL bloğun agregasyonu misellerin çekirdeğini oluşturmuştur. Misellerin çekirdeğinin PCL blokların uzunluğunun artmasıyla daha da büyüdüğü böylece misel boyutunun daha büyük olduğu belirtilmiştir [206].

Fu vd. nispeten yüksek molekül ağırlığına sahip PEG6000'i kullanarak bir dizi poli(ϵ -kaprolakton)-poli(etilen glikol)-poli(ϵ -kaprolakton) triblok kopolimerleri sentezlemiştir. M_n 'i 1000, 1250 ve 1350 olan PCL içeren PCEC'lerin kendi kendine meydana gelme yoluyla enjekte edilebilir çözeltiler oluşturabileceği ve fizyolojik sıcaklıklarda otomatik olarak akışkan olmayan jellere dönüştüğü doğrulanmıştır. PCEC miselleri için PCL bloğun molekül ağırlığı arttıkça parçacık boyutunun arttığını belirtmişlerdir [178].

Lin vd. yaptıkları çalışmada misellerin verimi ve salım davranışı üzerinde lakton monomer türünün, lakton/PEG'in besleme molar oranlarının ve PEG'nin moleküler ağırlığının etkilerini araştırmıştır. Bu çalışmanın amacının bir dizi karakterize edilmiş biyouyumlu amfifilik kopolimerlerin bir ilaç taşıyıcısı olarak kapasitesini değerlendirme olduğu belirtilmiştir. Hidrofobik poli(lakton) ve hidrofilik poli(etilen glikol) bölümlerini içeren amfifilik kopolimerler toksik katalizör veya başlatıcı yokluğunda bir halka açılma kopolimerizasyonu yoluyla daha önce laboratuvarında sentezlenmiştir. CL/PEG₄₀₀₀/CL; 99/1/99, 70/1/70, 27/1/27 ve 18/1/18 oranlarında sentezlendiğinde kopolimerik parçacıkların ortalama parçacık boyutu sırasıyla 84.4, 75.5, 72.6 ve 60.8 nm olarak bulunmuştur. CL/PEG₁₀₀₀₀/CL; 92/1/92, 63/1/63, 33/1/33 ve 15/1/15 oranlarında sentezlendiğinde ise kopolimerik parçacıkların ortalama parçacık boyutu sırasıyla 132.2, 96.7, 99.7 ve 93.9 nm olarak bulunmuştur. İki hidrofobik poli(lakton) ucu miselin çekirdeğine eklendiğinde daha uzun hidrofobik zincir uzunluğu miselin boyutunu büyütülmüştür [256].

Ryu vd. hidrofobik kısım olarak poli(-kaprolakton) (PCL) ve hidrofilik kısım olarak molekül ağırlığı 8000 olan poli(etilen glikol) (PEG) bazlı bir triblok kopolimeri başlatıcı olarak her iki uçta da bir hidroksil grubu içeren PEG ile ϵ -kaprolaktonun halka açılma mekanizması ile hazırlamıştır. Daha sonra diyaliz yöntemiyle CEC nanoparçacıkları sentezlemiştir. Buna göre CEC blok kopolimerin partikül büyüklüğü sonuçlarda gösterildiği gibi PCL'nin artan blok uzunluğu ile artmıştır. Bu sonuçlar parçacık

boyutlarının CEC blok kopolimerindeki PCL bloğun zincir uzunluğu ve moleküler ağırlığına bağlı olduğunu göstermiştir [198].

Men vd. yaptıkları çalışmada biyolojik olarak parçalanabilir poli(ϵ -kaprolakton)-poli(etilen glikol)-poli(ϵ -kaprolakton) (PCEC) triblok kopolimerleri halka açılma polimerizasyon yöntemi ile sentezlemiştir. Beslemedeki ϵ -CL/PEG ağırlık oranı ayarlanarak farklı blok oranı olan PCEC kopolimerleri elde edilmiştir. Yeni bir modifiye edilmiş çözücü difüzyon yöntemi manyetik nanoparçacıkları içeren manyetik PCEC kompozit mikroküreleri hazırlamak üzere tanımlanmıştır. PCEC-1, PCEC-2 ve PCEC-3; molekül ağırlığı sırasıyla 8000, 4000 ve 1000 g/mol olan PEG kullanarak sentezlenmiştir. Beslemedeki ϵ -CL/PEG ağırlık oranı PCEC-1, PCEC-2 ve PCEC-3 için sırasıyla 4/1, 9/1 ve 39/1 idi. GPC ile elde edilen sayı ortalama ağırlık değerleri PCEC-1, PCEC-2 ve PCEC-3 için sırasıyla 20600, 18853 ve 25047 g/mol'dür. PCEC-1, PCEC-2 ve PCEC-3 için ortalama parçacık boyutları sırasıyla 1057, 3021 ve 6768 nm'dir. PCEC kopolimerleri yaklaşık molekül ağırlıklarına sahipken hazırlanan manyetik kompozit mikrokürelerin ortalama parçacık boyutu PEG bloğun molekül ağırlığıyla ve PEG/PCL blok oranının azalmasıyla artmıştır. Bunun muhtemelen polimer çözeltisi ile su arasındaki yüzey etkileşiminden kaynaklandığı ifade edilmiştir. PEG'nin molekül ağırlığındaki artış PCEC kopolimerinin hidrofobikliğin yanı sıra PCL/PEG oranının azalmasına yol açmış böylece polimer çözeltisi ile su arasındaki ara yüzey gerilimi azalmış ve elde edilen parçacıkların ortalama parçacık boyutu daha küçük olmuştur [257].

Hu vd. çalışmalarında çekirdek-kabuk nanoparçacıkları metoksi poli(etilen glikol)-polikaprolaktonun (MePEG-PCL) di-blok kopolimerinden ve polikaprolakton-poli(etilen glikol)-polikaprolaktonun (PCL-PEG-PCL) triblok kopolimerinden sentezlemiştir. MePEG-PCL kopolimerlerinin yüzeylerinde PEG "fırça" bulunan nanoparçacıkları ve PCL-PEG-PCL kopolimerlerinin sulu çözeltide yüzeylerinde "mantar benzeri" yapıya sahip nanoparçacıkları oluşturmuşlardır. PCL5K-MePEG5K (MP55), PCL10K-PEG5K (MP510), PCL2K-PEG6K-PCL2K (P262), PCL3K-PEG6K-PCL3K (P363) ve PCL22K-PEG6K-PCL22K (P50K) ürünleri sentezlenmiştir. Tüm nanopartiküller küresel şekildedeydi ve boyutları 200 nm'den daha küçüktü. Sentezlenen bu nanoparçacıkların çapı PCL blokların uzunluğunda bir artış ile artmıştır [180].

Hu vd. Poli(ϵ -kaprolakton)-b-poli(etilen glikol)-b-poli(ϵ -kaprolakton) triblok kopolimerlerini kalay oktoat katalizörü kullanarak hidroksil uçlu farklı moleküler ağırlıklı poli(etilen glikol) varlığında ϵ -kaprolaktonun halka açılma polimerizasyonu ile

sentezlemiştir. Bu triblok kopolimerlerle çöktürme yöntemi ile hazırlanan misellerin çekirdek-kabuk yapısı sergilediği belirtilmiştir. Sentezlenen P2K, P6K ve P10K miselleri için ¹H NMR ile CL/EO oranları sırasıyla 8.80, 2.84 ve 1.55 olarak hesaplanmıştır. P2K, P6K ve P10K miselleri için çaplar sırasıyla 124.7 ± 1.6 , 106.8 ± 1.0 ve 96.2 ± 0.2 nm olarak bulunmuştur. Yaptıkları çalışmada genellikle amfifilik blok kopolimer miseller için hidrofobik bloğun hidrofilik bloğa olan uzunluk oranı arttırılınca misel boyutu artmıştır. Misel çapı P2K, P6K ve P10K miselleri için hidrofilik bloğun uzunluğunun azalması ile gerçekten artmıştır [184].

Misellerin boyutu amfifilik polimerin makromoleküllerinde hidrofobik parçanın uzunluğu tarafından kontrol edilebilir [47].

Barghi vd. CL/PEG molar oranları (70, 280, 560 ve 840) olan çeşitli polikaprolakton-polietilen glikol-polikaprolakton (PCEC) kopolimerleri halka açılma polimerizasyonu yoluyla sentezlemiştir. Elde edilen polimerik nanoparçacıkların fizikokimyasal özellikleri kullanılan kopolimerlerin bileşimine bağlıydı. Partikül boyutu kopolimerlerde CL/PEG molar oranının düşürülmesi ile azalmıştır [68].

4.3.3.3 Misel Boyutunu Kontrol Etmede Çözücünün Etkisi

Sonuçlar ilk önce misellerin ortalama boyutu üzerinde organik çözücünün etkisi ile analiz edilmiştir. Daha sonraki sonuçlar ise farklı çözücü türü ve polimer konsantrasyonlarında elde edilen misel ortalama boyutlarının karşılık gelen değerleri arasındaki ilişkiye odaklanmıştır.

Misel Boyutunu Kontrol Etmede Çözücü Türünün Etkisi

Önceki araştırmalar sudaki organik çözücünün karışabilirliğinin belirli bir çözücü:su sistemi için NP büyüklüğünü etkileyebileceğini önermektedir. Genellikle karışabilirlik hem çözücünün hem de suyun çözünürlük parametrelerini (δ) karşılaştırarak nicel olarak ifade edilebilir. Çözücüler daha karışabilir olduklarından çözücüler arasındaki çözünürlük parametrelerindeki fark ($\Delta\delta$) en aza indirilir [258].

Çizelge 4.2 ve 4.3'te gösterildiği gibi PCEC'lerin boyutları ile bu çalışmada kullanılan iki farklı organik çözücünün suda karışabilirliği genel olarak ilişkilendirilir; suda karışabilirliğin artması ($\Delta\delta$ 'da azalma) diğer tüm formülasyon parametreleri sabit tutulduğunda ortalama misel büyüklüğünde bir düşüşe neden olmuştur. Bu çalışmada

misel boyutu ve su ile çözücü karışabilirliği arasındaki ilişkiyi iki farklı organik çözücü türü kullanarak araştırma seçilmiştir. Misel boyutunun çözünürlük parametrelerine bağlı olduğu gözlenmiştir. Aseton nanoçöktürme yönteminde en yaygın kullanılan çözücülerden biri olduğundan dolayı analize dahil edilmiştir. Aseton içinde hazırlanan miseller, bu çalışma için denenmiş en fazla oranda suyla karışabilir çözücü, muhtemelen daha etkili çözücü difüzyonu ve suya polimer dağılımına bağlı olarak en küçük parçacıklarla sonuçlandı. PCEC misellerin Z-ortalama değerleri asetona ile hazırlanan örnekler için 225-959 nm, DMF ile hazırlanan örnekler için 232-1211 nm olarak bulundu.

Yapılan başka bir çalışmada PCL-PEG-PCL nanoparçacıkları hazırlamak için nanoçöktürme yöntemi kullanılmıştır. Nanopartiküller dört çözücü içinde üretilmiştir: asetona, asetonitril, N,N-dimetilformamit (DMF) ve tetrahidrofuran (THF). Çeşitli çözücülerin nanoparçacıkların toplam boyutu üzerindeki etkileri denenmiştir. Triblok kopolimerin nanopartikül boyutları DMF, asetona, asetonitril ve THF için sırasıyla 70, 59.4, 72.6 ve 92.2 nm idi. Triblok kopolimerin boyutu ve organik çözücünün suda karışabilirliğinin genellikle ilişkilendirildiği, su karışabilirliğindeki bir azalmanın ortalama nanopartikül boyutunda bir artışa neden olduğu belirtilmiştir. Bunların arasında THF ve asetonun sırasıyla en büyük ve dar boyut dağılımına sahip en küçük parçacık boyutuyla sonuçlandığı ve diyaliz prosedürünün ardından kararlı bir nanopartikül çözeltisi devam ettirdiği ifade edilmiştir. DMF ve asetonitril ile nanoparçacıkların iki popülasyonu gözlemlenmiştir bunlar: 20 ila 40 nm arasında değişen boyutlarda daha küçüğü DMF'li nanopartikül ve 45 ila 120 nm arasında değişen büyüklükte daha büyük bir nanopartikül idi. Aksine asetonitril ile 40-120 nm aralığında daha küçük ve 120-180 nm aralığında daha büyük olana ulaşılmıştır. Diğer kopolimerlerde de benzer değişiklikler gözlenmiştir. Bu nedenle nanopartiküllerin dinamik sistemler olduğu, seyreltme ve organik çözücü su karışabilirliği ile kararlı oldukları ve bunun damar içi enjeksiyon için büyük önem arzettiği belirtilmiştir [79].

Ryu vd. nano parçacıkların su içinde hazırlanmasında başlangıç çözücüsü olarak asetona kullanıldığında parçacık boyutlarının diğer çözücülerinkinden nispeten daha küçük olduğunu, DMF kullanılmasının artan bir parçacık boyutuna neden olduğunu belirtmiştir [254].

Galindo-Rodriguez vd. yaptıkları çalışmada metakrilik asit kopolimeri ve poli(vinil alkolü) (PVAL) sırasıyla NP polimer ve emülsiyon haline getirici madde olarak seçmiştir. Tuzla çökeltme ve emülsifikasyon-difüzyon NP dizileri sulu fazda PVAL içeriği

değiştirilerek hazırlanmıştır. Nanoçöktürme ile NP organik fazdaki polimer içeriği ve çözücü türü değişimiyle üretilmiştir. Polimer-çözücü ve su-çözücü etkileşimlerindeki farklılıklar nedeniyle difüzyon-büküm sürecinin değişebildiği ve bu nedenle ortalama boyutta değişiklikler meydana geldiği belirtilmiştir. Agregasyonun belirgin olmadığı polimer konsantrasyonlarında ortalama büyüklük açıkça çözücünün yapısına bağlıdır. Difüzyon-büküm süreci boyunca çözücü-su etkileşimlerinin önemli bir rol oynadığı göz önüne alınarak çözücülerin çözünürlük parametreleri başlangıçta bu eğilimi açıklamak için kullanılmıştır. Çözünürlük parametrelerinin en çok kullanılan uygulamasının bir çözücüde bir maddenin çözünürlüğünün tahmini için olduğu bilinmektedir. Galindo-Rodriguez vd. çözücü-su etkileşiminin difüzyon-büküm olayında ve dolayısıyla nanoçöktürme ile NP oluşumunda önemli bir rol oynadığını doğruladıklarını belirtmiştir. Buna ek olarak NP'yi hazırlamak için farklı çözücüler kullanarak sadece parçacık ortalama boyutu değil aynı zamanda NP'nin iç ve dış yapısını (örneğin gözeneklilik ve pürüzlülük) değiştirmenin de mümkün olduğu belirtilmiştir. Bu NP özelliklerinin hepsinin ilaç yüklemesini iyileştirdiği, salım kinetiğini kontrol ettiği ve sonuç olarak NP'nin biyolojik davranışını değiştirdiği ifade edilmiştir. "İyi bir çözücü" içinde polimer zincirleri birbirinden daha çok çözünür ve bu nedenle kapsamlı şekilde çözülür. Tersine "zayıf çözücü" içinde polimer zincirleri daha büzülmektedir ve bunların çözünürlüğü sınırlıdır. Bununla birlikte ne NP ortalama boyutu ne de farklı organik çözücüler kullanarak nanoçöktürmeyle elde edilen NP'lerin ortalama boyut aralığı ile ilgili yeterli bir korelasyon bulunmamıştır [259].

Blok kopolimer misellerde blok kopolimeri çözmek için kullanılan çözücü çözücüdeki polimer çözünürlüğüne bağlı olarak misel özelliklerini, sulu ortamda çözücünün difüzyon oranının farklılığını, çözücü/su karışımları içinde kopolimerin her bloğunun farklılıklarını ve ilacın çözünürlüğünü vs. etkileyebilir. Bu parametrelerin aynı zamanda CEC blok kopolimer nanopartiküllerin parçacık boyutu ve ilaç yükleme içeriğini etkileyebileceği belirtilmiştir [198], [254].

Çözücülerin kendiliğinden difüzyonuna bağlı olarak ara yüzey türbülansı meydana gelir. Triblok kopolimerin boyutu ve organik çözücü su karışabilirliği genellikle ilişkilidir: su karışabilirliğindeki bir azalma ortalama nanopartikül boyutunda bir artışa neden olmuştur [232]. Misellerin partikül büyüklüğünün başlangıçtaki çözücüler ile değiştirilebildiği gözlenmiştir.

Bu deneysel sonuçlar her bir temel bileşenin (çözücüler, polimerler ve tuzlar) sulu ve organik fazların (viskozite, yüzey gerilimi ve çözünürlük) fizikokimyasal özellikleri üzerindeki rolünü değil aynı zamanda NP oluşumu üzerinde bu özelliklerin etkisini göstermiştir. NP oluşumunu etkileyen parametreler veya değişkenlerin rasyonel bir kontrolü hücrelerin ve organların hedeflenmesi için spesifik karakteristiklere (boyut, yüzey özellikleri, ilaç yüklemesi) sahip NP'nin tasarımına yol açtığından bu bilginin çok önemli olduğuna dikkat etmek gerekir [259].

Misel Boyutunu Kontrol Etmede Çözücü Konsantrasyonunun Etkisi

Cheng vd. yaptıkları çalışmada karboksi ile sonlandırılmış poli(D,L-laktit-ko-glikolid)-blok-poli(etilen glikol) (PLGA-b-PEG-COOH) polimerinden NP'ler geliştirmiş ve NP'lerin boyutu üzerinde aşağıdaki formülasyon parametrelerini değiştirmenin etkilerini incelemiştir: (1) polimer konsantrasyonu, (2) ilaç yüklemesi, (3) çözücünün suda karışabilirliği ve (4) suyun çözücüye oranı. Çözücü-su karışabilirliğinin etkisinin incelenmesiyle bağlantılı olarak NP formülasyonu hazırlanması sırasında çözücü:su oranının değiştirilmesinin etkisini araştırmıştır. Çözücü:su oranları sabit bir polimer konsantrasyonu (10 mg/ml) için değiştirildiğinde partikül boyutunun çözücü/su oranı ile belirgin bir korelasyonu gözlenmemiştir. Oran 0.1-0.5 aralığında iken NP büyüklüklerinin çoğu nispeten değişmemiştir. Örneğin asetonda $V_{\text{çözücü}}/V_{\text{su}}$ oranı sırasıyla 0.1'den 0.5'e arttığında NP boyutları 115.3 ± 5.1 'den 120.9 ± 6.9 nm'ye yükselmiştir. THF için oran 0.1'den 0.5'e değiştiği zaman boyut 130 ± 0.5 ve 129 ± 15.5 nm olarak tutarlı kalmıştır. Çözücü:su oranı 1 olduğunda muhtemelen zayıf faz ayrılması nedeniyle partikül boyutunda büyük bir artış gözlenmiştir [258].

Çizelge 4.2 ve 4.3 incelendiğinde çözücü konsantrasyonu artmasıyla misel boyutunun da arttığı tespit edilmiştir. Buna göre asetonla hazırlanan PCEC2 miselleri için PEG molekül ağırlığı 1450'de, PCL/PEG oranı 12:6'da, polimer konsantrasyonu 15 mg/ml'de sabit tutulduğunda çözücü konsantrasyonu 0.08'den 0.40 ml/ml'ye arttırılınca misel boyutu 388'den 396 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 434'ten 472 nm'ye yükselmiştir. Asetonla hazırlanan PCEC2 miselleri için PEG molekül ağırlığı 1450'de, PCL/PEG oranı 12:6'da, polimer konsantrasyonu 25 mg/ml'de sabit tutulduğunda çözücü konsantrasyonu 0.08'den 0.40 ml/ml'ye arttırılınca misel boyutu 393'ten 405 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 439'dan 492 nm'ye yükselmiştir. PCEC3 miselleri için PEG molekül ağırlığı 1450'de,

PCL/PEG oranı 12:12'de, polimer konsantrasyonu 15 mg/ml'de sabit tutulduğunda çözücü konsantrasyonu 0.08'den 0.40 ml/ml'ye arttırılınca misel boyutu 365'ten 375 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 335'ten 396 nm'ye yükselmiştir. Asetonla hazırlanan PCEC3 miselleri için PEG molekül ağırlığı 1450'de, PCL/PEG oranı 12:12'de, polimer konsantrasyonu 25 mg/ml'de sabit tutulduğunda çözücü konsantrasyonu 0.08'den 0.40 ml/ml'ye arttırılınca misel boyutu 374'ten 380 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 363'ten 433 nm'ye yükselmiştir. PCEC4 miselleri için PEG molekül ağırlığı 1450'de, PCL/PEG oranı 12:24'te, polimer konsantrasyonu 15 mg/ml'de sabit tutulduğunda çözücü konsantrasyonu 0.08'den 0.40 ml/ml'ye arttırılınca misel boyutu 225'ten 309 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 232'den 297 nm'ye yükselmiştir. Asetonla hazırlanan PCEC4 miselleri için PEG molekül ağırlığı 1450'de, PCL:PEG oranı 12:24'te, polimer konsantrasyonu 25 mg/ml'de sabit tutulduğunda çözücü konsantrasyonu 0.08'den 0.40 ml/ml'ye arttırılınca misel boyutu 295'ten 363 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 243'ten 324 nm'ye yükselmiştir.

PCEC6 miselleri için PEG molekül ağırlığı 3350'de, PCL/PEG oranı 12:6'da, polimer konsantrasyonu 15 mg/ml'de sabit tutulduğunda çözücü konsantrasyonu 0.08'den 0.40 ml/ml'ye arttırılınca misel boyutu 522'den 549 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 615'ten 620 nm'ye yükselmiştir. Asetonla hazırlanan PCEC6 miselleri için PEG molekül ağırlığı 3350'de, PCL/PEG oranı 12:6'da, polimer konsantrasyonu 25 mg/ml'de sabit tutulduğunda çözücü konsantrasyonu 0.08'den 0.40 ml/ml'ye arttırılınca misel boyutu 546'dan 568 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 619'dan 623 nm'ye yükselmiştir. PCEC7 miselleri için PEG molekül ağırlığı 3350'de, PCL/PEG oranı 12:12'de, polimer konsantrasyonu 15 mg/ml'de sabit tutulduğunda çözücü konsantrasyonu 0.08'den 0.40 ml/ml'ye arttırılınca misel boyutu 439'dan 487 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 540'dan 566 nm'ye yükselmiştir. Asetonla hazırlanan PCEC7 miselleri için PEG molekül ağırlığı 3350'de, PCL/PEG oranı 12:12'de, polimer konsantrasyonu 25 mg/ml'de sabit tutulduğunda çözücü konsantrasyonu 0.08'den 0.40 ml/ml'ye arttırılınca misel boyutu 463'ten 505 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 558'den 581 nm'ye yükselmiştir. PCEC8 miselleri için PEG molekül ağırlığı 3350'de, PCL/PEG oranı 12:24'te, polimer konsantrasyonu 15 mg/ml'de sabit

tutulduğunda çözücü konsantrasyonu 0.08'den 0.40 ml/ml'ye arttırılınca misel boyutu 405'ten 414 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 513'ten 519 nm'ye yükselmiştir. Asetonla hazırlanan PCEC8 miselleri için PEG molekül ağırlığı 3350'de, PCL/PEG oranı 12:24'te, polimer konsantrasyonu 25 mg/ml'de sabit tutulduğunda çözücü konsantrasyonu 0.08'den 0.40 ml/ml'ye arttırılınca misel boyutu 412'den 421 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 519'dan 522 nm'ye yükselmiştir.

PCEC10 miselleri için PEG molekül ağırlığı 12000'de, PCL/PEG oranı 12:6'da, polimer konsantrasyonu 15 mg/ml'de sabit tutulduğunda çözücü konsantrasyonu 0.08'den 0.40 ml/ml'ye arttırılınca misel boyutu 786'dan 842 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 917'den 1059 nm'ye yükselmiştir. Asetonla hazırlanan PCEC10 miselleri için PEG molekül ağırlığı 12000'de, PCL/PEG oranı 12:6'da, polimer konsantrasyonu 25 mg/ml'de sabit tutulduğunda çözücü konsantrasyonu 0.08'den 0.40 ml/ml'ye arttırılınca misel boyutu 828'den 959 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 923'ten 1211 nm'ye yükselmiştir. PCEC11 miselleri için PEG molekül ağırlığı 12000'de, PCL/PEG oranı 12:12'de, polimer konsantrasyonu 15 mg/ml'de sabit tutulduğunda çözücü konsantrasyonu 0.08'den 0.40 ml/ml'ye arttırılınca misel boyutu 668'den 694 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 683'ten 737 nm'ye yükselmiştir. Asetonla hazırlanan PCEC11 miselleri için PEG molekül ağırlığı 12000'de, PCL/PEG oranı 12:12'de, polimer konsantrasyonu 25 mg/ml'de sabit tutulduğunda çözücü konsantrasyonu 0.08'den 0.40 ml/ml'ye arttırılınca misel boyutu 670'den 697 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 717'den 737 nm'ye yükselmiştir. PCEC12 miselleri için PEG molekül ağırlığı 12000'de, PCL/PEG oranı 12:24'te, polimer konsantrasyonu 15 mg/ml'de sabit tutulduğunda çözücü konsantrasyonu 0.08'den 0.40 ml/ml'ye arttırılınca misel boyutu 583'ten 625 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 623'ten 648 nm'ye yükselmiştir. Asetonla hazırlanan PCEC12 miselleri için PEG molekül ağırlığı 12000'de, PCL/PEG oranı 12:24'te, polimer konsantrasyonu 25 mg/ml'de sabit tutulduğunda çözücü konsantrasyonu 0.08'den 0.40 ml/ml'ye arttırılınca misel boyutu 616'dan 655 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 624'ten 656 nm'ye yükselmiştir.

Chan vd. yaptıkları çalışmada PLGA-lesitin-PEG çekirdek-kabuk NP'leri PLGA, soya lesitini ve DSPE-PEG-COOH'den kendi kendine meydana gelme ile birlikte modifiye

nanoçöktürme tekniği kullanarak sentezlemiştir. Değişen çözücü/su oranlarının NP'lerin boyut ve zeta potansiyelleri üzerindeki etkisi test edilmiştir. Karakteristik çözücü-su oranı 0.33 iken 0.1'den 1'e değiştirilmiş ve NP boyutlarının hafif bir artış eğilimi ile ~65 nm'de hemen hemen sabit olduğu gözlemlenmiştir. Ancak çözücü/su oranı 5 ve 10'a yükseltildiğinde NP boyutları sırasıyla 88.1 ± 0.4 ve 105.3 ± 2.2 nm'ye yükselmiştir.

4.3.3.4 Misel Boyutunu Kontrol Etmede Polimer Konsantrasyonunun Etkisi

Çizelge 4.2 ve 4.3 incelendiğinde asetonla hazırlanan PCEC2 miselleri için PEG molekül ağırlığı 1450'de, PCL/PEG oranı 12:6'da, çözücü konsantrasyonu 0.08 ml/ml'de sabit tutulduğunda polimer konsantrasyonu 15'ten 25 mg/ml'ye arttırılınca misel boyutu 388'den 393 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 434'ten 439 nm'ye yükselmiştir. Asetonla hazırlanan PCEC2 miselleri için PEG molekül ağırlığı 1450'de, PCL/PEG oranı 12:6'da, çözücü konsantrasyonu 0.40 ml/ml'de sabit tutulduğunda polimer konsantrasyonu 15'ten 25 mg/ml'ye arttırılınca misel boyutu 396'dan 405 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 472'den 492 nm'ye yükselmiştir. Asetonla hazırlanan PCEC3 miselleri için PEG molekül ağırlığı 1450'de, PCL/PEG oranı 12:12'de, çözücü konsantrasyonu 0.08 ml/ml'de sabit tutulduğunda polimer konsantrasyonu 15'ten 25 mg/ml'ye arttırılınca misel boyutu 365'ten 374 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 335'ten 363 nm'ye yükselmiştir. Asetonla hazırlanan PCEC3 miselleri için PEG molekül ağırlığı 1450'de, PCL/PEG oranı 12:12'de, çözücü konsantrasyonu 0.40 ml/ml'de sabit tutulduğunda polimer konsantrasyonu 15'ten 25 mg/ml'ye arttırılınca misel boyutu 375'ten 380 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 396'dan 433 nm'ye yükselmiştir. Asetonla hazırlanan PCEC4 miselleri için PEG molekül ağırlığı 1450'de, PCL/PEG oranı 12:24'te, çözücü konsantrasyonu 0.08 ml/ml'de sabit tutulduğunda polimer konsantrasyonu 15'ten 25 mg/ml'ye arttırılınca misel boyutu 225'ten 295 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 232'den 243 nm'ye yükselmiştir. Asetonla hazırlanan PCEC4 miselleri için PEG molekül ağırlığı 1450'de, PCL/PEG oranı 12:24'te, çözücü konsantrasyonu 0.40 ml/ml'de sabit tutulduğunda polimer konsantrasyonu 15'ten 25 mg/ml'ye arttırılınca misel boyutu 309'dan 363 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 297'den 324 nm'ye yükselmiştir.

Asetonla hazırlanan PCEC6 miselleri için PEG molekül ağırlığı 3350'de, PCL/PEG oranı 12:6'da, çözücü konsantrasyonu 0.08 ml/ml'de sabit tutulduğunda polimer konsantrasyonu 15'ten 25 mg/ml'ye arttırılınca misel boyutu 522'den 546 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 615'ten 619 nm'ye yükselmiştir. Asetonla hazırlanan PCEC6 miselleri için PEG molekül ağırlığı 3350'de, PCL/PEG oranı 12:6'da, çözücü konsantrasyonu 0.40 ml/ml'de sabit tutulduğunda polimer konsantrasyonu 15'ten 25 mg/ml'ye arttırılınca misel boyutu 549'dan 568 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 620'den 623 nm'ye yükselmiştir. Asetonla hazırlanan PCEC7 miselleri için PEG molekül ağırlığı 3350'de, PCL/PEG oranı 12:12'de, çözücü konsantrasyonu 0.08 ml/ml'de sabit tutulduğunda polimer konsantrasyonu 15'ten 25 mg/ml'ye arttırılınca misel boyutu 439'dan 463 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 540'dan 558 nm'ye yükselmiştir. Asetonla hazırlanan PCEC7 miselleri için PEG molekül ağırlığı 3350'de, PCL/PEG oranı 12:12'de, çözücü konsantrasyonu 0.40 ml/ml'de sabit tutulduğunda polimer konsantrasyonu 15'ten 25 mg/ml'ye arttırılınca misel boyutu 487'den 505 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 566'dan 581 nm'ye yükselmiştir. Asetonla hazırlanan PCEC8 miselleri için PEG molekül ağırlığı 3350'de, PCL/PEG oranı 12:24'te, çözücü konsantrasyonu 0.08 ml/ml'de sabit tutulduğunda polimer konsantrasyonu 15'ten 25 mg/ml'ye arttırılınca misel boyutu 405'ten 412 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 513'ten 519 nm'ye yükselmiştir. Asetonla hazırlanan PCEC8 miselleri için PEG molekül ağırlığı 3350'de, PCL/PEG oranı 12:24'te, çözücü konsantrasyonu 0.40 ml/ml'de sabit tutulduğunda polimer konsantrasyonu 15'ten 25 mg/ml'ye arttırılınca misel boyutu 414'ten 421 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 519'dan 522 nm'ye yükselmiştir.

Asetonla hazırlanan PCEC10 miselleri için PEG molekül ağırlığı 12000'de, PCL/PEG oranı 12:6'da, çözücü konsantrasyonu 0.08 ml/ml'de sabit tutulduğunda polimer konsantrasyonu 15'ten 25 mg/ml'ye arttırılınca misel boyutu 786'dan 828 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 917'den 923 nm'ye yükselmiştir. Asetonla hazırlanan PCEC10 miselleri için PEG molekül ağırlığı 12000'de, PCL/PEG oranı 12:6'da, çözücü konsantrasyonu 0.40 ml/ml'de sabit tutulduğunda polimer konsantrasyonu 15'ten 25 mg/ml'ye arttırılınca misel boyutu 842'den 959 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 1059'dan 1211 nm'ye

yükselmiştir. Asetonla hazırlanan PCEC11 miselleri için PEG molekül ağırlığı 12000'de, PCL/PEG oranı 12:12'de, çözücü konsantrasyonu 0.08 ml/ml'de sabit tutulduğunda polimer konsantrasyonu 15'ten 25 mg/ml'ye arttırılınca misel boyutu 668'den 670 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 683'ten 717 nm'ye yükselmiştir. Asetonla hazırlanan PCEC11 miselleri için PEG molekül ağırlığı 12000'de, PCL/PEG oranı 12:12'de, çözücü konsantrasyonu 0.40 ml/ml'de sabit tutulduğunda polimer konsantrasyonu 15'ten 25 mg/ml'ye arttırılınca misel boyutu 694'ten 697 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için değişmeyerek 737 nm'de sabit kalmıştır. Asetonla hazırlanan PCEC12 miselleri için PEG molekül ağırlığı 12000'de, PCL/PEG oranı 12:24'te, çözücü konsantrasyonu 0.08 ml/ml'de sabit tutulduğunda polimer konsantrasyonu 15'ten 25 mg/ml'ye arttırılınca misel boyutu 583'ten 616 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 623'ten 624 nm'ye yükselmiştir. Asetonla hazırlanan PCEC12 miselleri için PEG molekül ağırlığı 12000'de, PCL/PEG oranı 12:24'te, çözücü konsantrasyonu 0.40 ml/ml'de sabit tutulduğunda polimer konsantrasyonu 15'ten 25 mg/ml'ye arttırılınca misel boyutu 625'ten 655 nm'ye yükselmiştir. Aynı koşullarda DMF ile hazırlanan miseller için 648'den 656 nm'ye yükselmiştir.

Elde edilen misellerin partikül boyutu üzerinde aseton ve DMF'deki PCEC konsantrasyonu ortalama derecede bir etkiye sahipti. Benzer bir sonuç Mei vd. tarafından yapılan çalışmada elde edilmiştir. Bu çalışmada PCEC nanoparçacıkları dengeleyici olarak Setil trimetil amonyum bromür (CTAB) kullanılarak modifiye edilmiş emülsiyon çözücü buharlaştırma yöntemi ile bir adımda hazırlanmıştır. Y/S emülsiyonundaki organik fazın polimer konsantrasyonunun PCEC nanopartiküllerinin özellikleri üzerinde anlamlı bir etkiye sahip olduğu belirtilmiştir. Partikül boyutu organik fazın polimer konsantrasyonundaki artışla hemen hemen lineer olarak artmıştır. Çeşitli boyutlarda katyonik PCEC nanopartiküllerinin emülsiyon çözücü buharlaştırma metodu kullanılarak polimer konsantrasyonunun değiştirilmesi ile elde edilebileceği ifade edilmiştir [205].

Cheng vd. NP formülasyonu hazırlanması sırasında polimer konsantrasyonlarını sabit çözücü:su oranında değiştirmiş artan polimer konsantrasyonu ile birlikte NP büyüklüğü artma eğilimi göstermiştir. Örneğin polimer konsantrasyonu 5'ten 50 mg/ml'ye 10 kat artınca NP boyutları DMF'de 69.0'dan 165.0 nm'ye yükselmiştir. Araştırılan diğer tüm çözücülerde benzer eğilimler gözlemlenmiştir [258].

Mainardes ve Evangelista kontrollü boyutta poli(D,L-laktit-ko-glikolid) asitten yapılmış küresel nanopartiküllü ilaç taşıyıcıları tasarlamıştır. PLGA içeriği 12.5 ila 50 mg arasında değiştirilmiş ve ilk polimer kütlesinin parçacık boyut dağılımı üzerindeki etkisi araştırılmıştır. PLGA miktarı 25'den 50 mg'a ikiye katlandığında partikül çapı 260'dan 359 nm'ye yükselmiştir. PLA ve PLGA polimerleri için artan polimer konsantrasyonuyla parçacık boyutundaki artış diğer yazarlar tarafından da gözlemlenmiştir. Emülsiyonun iç fazındaki polimer konsantrasyonu bir başka önemli faktördür çünkü polimer konsantrasyonu arttıkça nanopartiküllerin boyutu artmıştır. Muhtemelen dağıtılan fazın (polimer çözeltisi) viskozitesinin artması PLGA çözeltisinin sulu faza dağılmasının daha düşük olmasına neden olmuştur. Emülsifikasyon sırasında sıyırma kuvvetlerine karşı yüksek viskoz bir direnç vardır. Kaba emülsiyonlar daha yüksek polimer konsantrasyonlarında elde edilir bu da difüzyon işlemi sırasında daha büyük partiküllerin oluşmasına neden olur. Bu gerçek çözücüsü çıkarılmış makromoleküllerin (veya bu moleküllerden oluşan küçük agregalar) daha konsantre bir çözeltide birleşmesiyle daha büyük koaservatlar veya partiküller oluşturması olasılığı ile açıklanmaktadır [260].

Demir yaptığı çalışmada PLGA ile çalışmış, polimer konsantrasyonu arttıkça partikül boyutunun arttığını belirtmiştir [239].

Gou vd. in vitro honokiol salımı için poli(ε-kaprolakton)-poli(etilen glikol)-poli(ε-kaprolakton) (PCL-PEG-PCL, PCEC) nanopartikülleri başarıyla hazırlamıştır. Boş veya honokiol yüklü PCL-PEG-PCL nanoparçacıklar herhangi bir yüzey aktif madde kullanılmadan çözücü difüzyon yöntemiyle dimetil sülfoksitte (DMSO) orta dereceli koşulda sentezlenmiştir. Hazırlanan boş PCL-PEG-PCL nanoparçacıkları tek dağılımlı ve 200 nm'den küçüktür. Partikül boyutu polimer konsantrasyonundaki artışla birlikte artmıştır [261].

Chan vd. hazırlama esnasında polimer konsantrasyonunda bir değişiklik ile NP'lerin boyut ve zeta potansiyellerini kontrol edebildiklerini belirtmiştir. Polimer konsantrasyonu asetonitril içinde 1'den 25 mg/ml'ye (sulu faza eklenen lipidin karşılık gelen artması) arttırıldığında NP boyutu 65'ten 160 nm'ye yükselme eğilimi göstermiştir [244].

Öcal yaptığı çalışmada bir çeşit amfifilik triblok kopolimer olan PEG-PPG-PEG'i kullanarak yüzeyi modifiye edilmiş kanser tedavisine yönelik 5-FU yüklü PLA/PEG-PPG-PEG ve PLGA/PEG-PPG-PEG nanopartikülleri hazırlamış ve nanopartiküllerin partikül büyüklüklerini değerlendirmiştir. Nanopartikül formülasyonlarının partikül

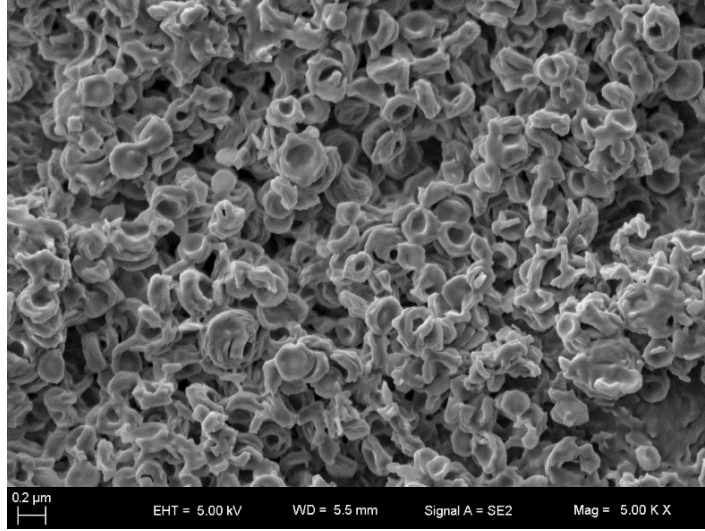
büyükliğü düşük molekül ağırlıklı PLA₁ polimeri için kullanılan blok kopolimer konsantrasyonu iki katına çıkınca etkin madde içermeyen nanopartikül formülasyonlarında 178'den 182 nm'ye, etkin madde içeren nanopartikül formülasyonlarında ise 193'ten 197 nm'ye çıkmıştır. PLGA polimeri için kullanılan blok kopolimer konsantrasyonunun iki katına çıkmasıyla birlikte etkin madde içermeyen nanopartikül formülasyonlarında 156'dan 159 nm'ye, etkin madde içeren nanopartikül formülasyonlarında ise 167'den 171 nm'ye çıktığını ifade etmiştir. PLA₂ polimeri için ise kullanılan blok kopolimer konsantrasyonunun iki katına çıkmasıyla birlikte etkin madde içermeyen nanopartikül formülasyonlarında 145'ten 147 nm'ye, etkin madde içeren nanopartikül formülasyonlarında ise 153'ten 155 nm'ye çıktığını belirtmiştir [262].

Elde edilen verilere bakıldığında bu çalışmada kullanılan amfifilik triblok kopolimer miktarı değişiminin partikül büyüklüğü üzerinde anlamlı bir fark yaratmadığı görölmüştür. Bu nedenle daha az konsantrasyondaki polimerin kullanılmasına karar verilmiştir.

PCL-PEG-PCL kopolimer miselleri için dar tekil dağılımlı tek modlu boyut dağılımı ile boyutu küçük, zeta potansiyeli istenilen aralıkta ve polidispersite indeksi daha düşük olduğu için bundan sonraki çalışmalarımız ortalama partikül boyutu 225 nm, PDI değeri 0.75 ve zeta potansiyeli -2.2 mV olan aseton ile hazırlanmış PCEC4 triblok kopolimerinin miselleri üzerinde odaklanmıştır (Çizelge 4.2).

4.3.4 PCEC Misellerin Morfolojisi

Şekil 4.15'te PCEC4 triblok kopolimeri kullanılarak nanoçöktürme yöntemi ile sentezlenen polimerik miselin SEM görüntüsü verildi.



Şekil 4. 15 PCEC4 triblok kopolimerinden aseton kullanarak elde edilen polimerik misellerin SEM görüntüsü (ölçek çubuğu = 0.2 µm, 5000X büyütme)

Bu görüntülerden triblok kopolimerin küresel ve boyutları 200-350 nm arasında değişen genellikle polidispers miseller oluşturduğu görüldü. Bu küresel şekil literatür ile iyi bir uyum içindedir [83], [263]. Şekil 4.15'te gösterildiği gibi misellerin çapı DLS sonuçları ile oldukça uyumludur. SEM sonuçları misellerin başarıyla hazırlandığını ileri sürmüştür. Hazırlanan tüm misellerin yüzeyleri nispeten düzgündü.

4.4 DOX-Yüklü PCEC Misellerin Kapsülleme Verimliliği

4.4.1 Kapsülleme Verimliliği Üzerine Deneysel Faktörlerin Etkisi

Çizelge 4.4'teki veriler seçilen 4 faktörün her kombinasyonu için gerçekleştirilen iki deneyden ölçülen EE'nin ortalama değerini vermektedir.

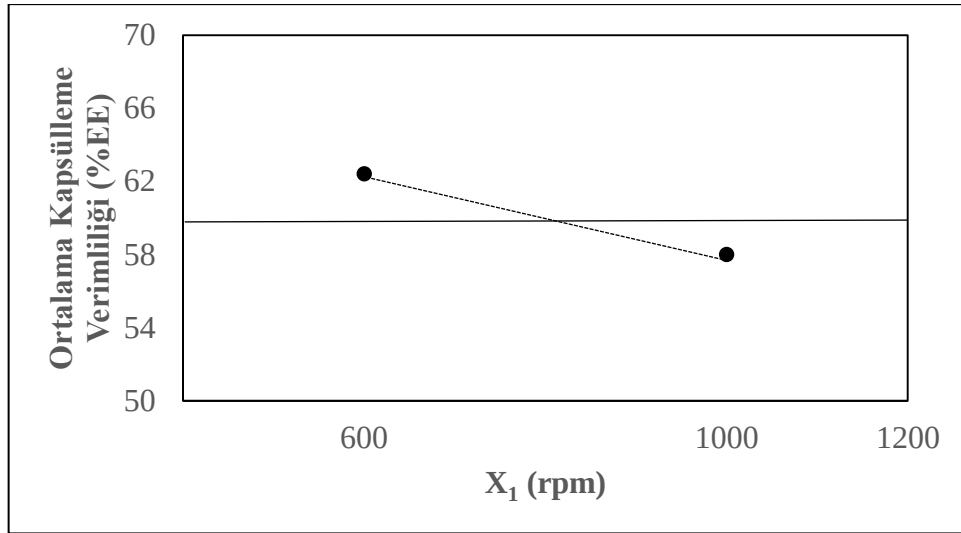
Çizelge 4. 4 Deneysel tasarım ve gözlenen cevaplar

Deneme no.	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	Kapsülleme verimliliği (%EE)	İlaç yükleme (%)
1	600	1	22.5	2:100	43.49	0.97
2	1000	1	22.5	2:100	50.27	1.12
3	600	3	22.5	2:100	52.90	1.18
4	1000	3	22.5	2:100	41.71	0.93

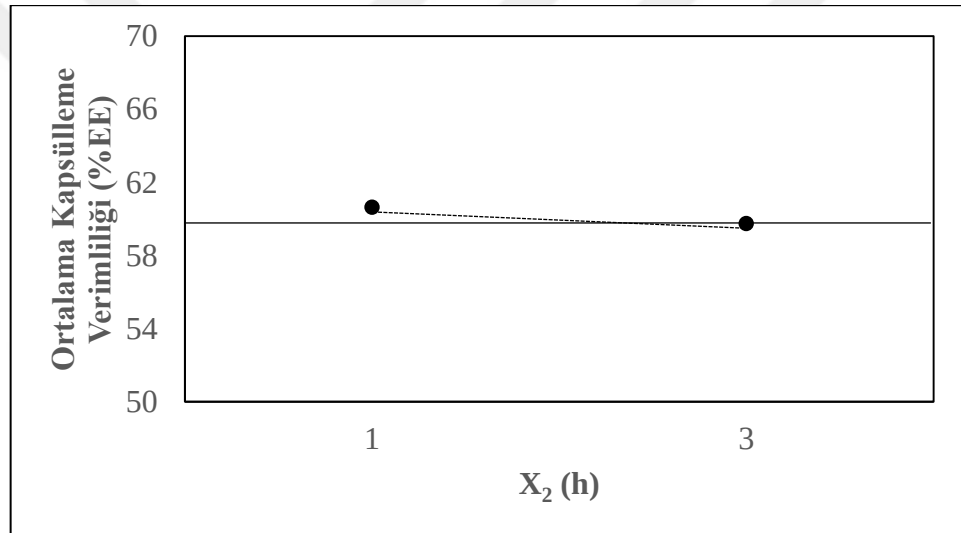
Çizelge 4. 4 Deneysel tasarım ve gözlenen cevaplar (devamı)

Deneme no.	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	Kapsülleme verimliliği (%EE)	İlaç yükleme (%)
5	600	1	45	2:100	60.09	1.33
6	1000	1	45	2:100	54.05	1.20
7	600	3	45	2:100	47.17	1.05
8	1000	3	45	2:100	63.69	1.41
9	600	1	22.5	5:100	78.98	4.25
10	1000	1	22.5	5:100	73.92	3.99
11	600	3	22.5	5:100	77.89	4.20
12	1000	3	22.5	5:100	65.39	3.55
13	600	1	45	5:100	67.76	3.67
14	1000	1	45	5:100	56.67	3.09
15	600	3	45	5:100	70.97	3.84
16	1000	3	45	5:100	58.34	3.18

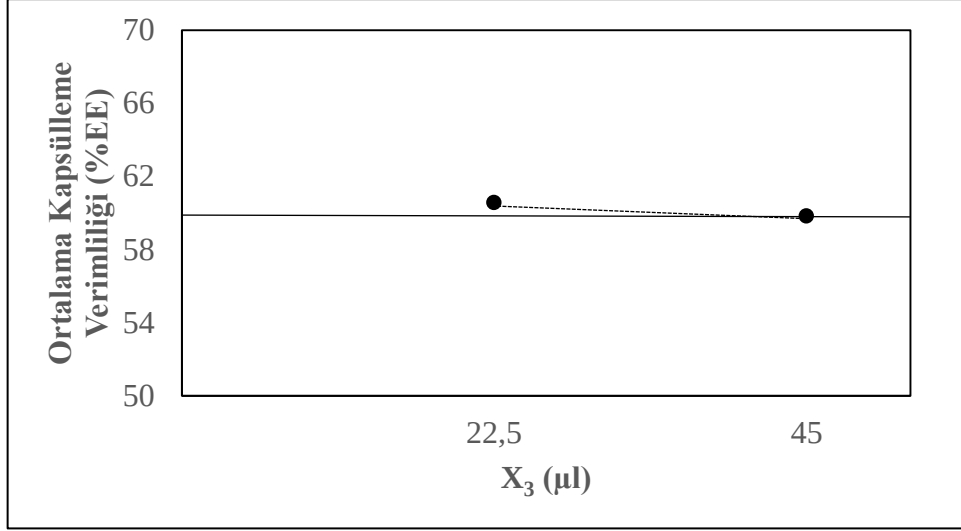
Şekil 4.16-4.19'daki grafikler bu faktörlerin minimumdan maksimuma olan değerleri ile ilişkili olarak EE'nin ortalama değerinin değişimini göstermektedir.



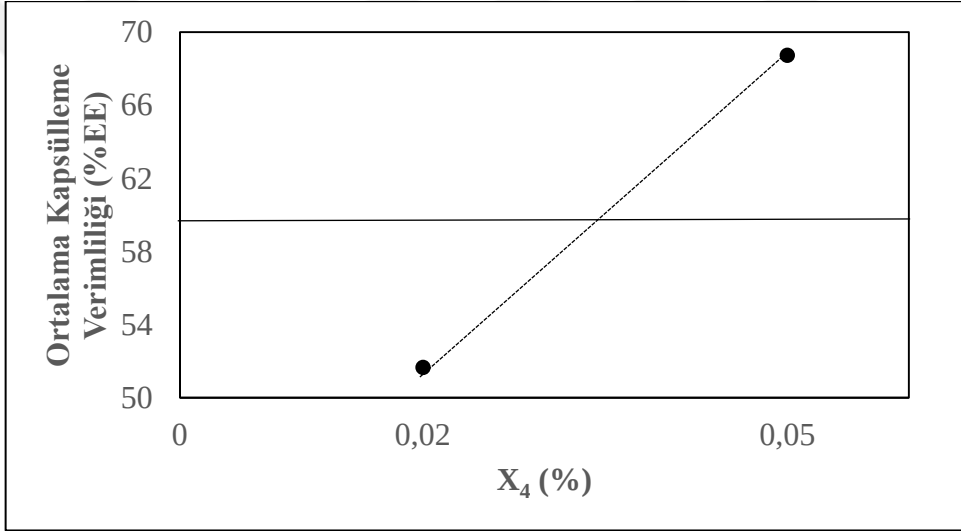
Şekil 4. 16 Karıştırma hızı X_1 'in EE'nin ortalama değerine etkisi



Şekil 4. 17 Temas süresi X_2 'nin EE'nin ortalama değerine etkisi



Şekil 4. 18 TEA miktarı X_3 'ün EE'nin ortalama değerine etkisi



Şekil 4. 19 DOX yüzdesi X_4 'ün EE'nin ortalama değerine etkisi

İlk grafik (Şekil 4.16) EE (X_1) karıştırma hızının artmasıyla kapsülleme verimliliğinin genellikle önemli ölçüde düştüğünü göstermektedir. Kontakt zamanının 1 saat, TEA miktarının 22.5 µl, %DOX'in 2:100 olduğu deney şartlarında karıştırma hızı 600'den 1000 rpm'e çıktığında kapsülleme verimliliği %43.49'dan %50.27'ye artmıştır. Kontakt zamanının 3 saat, TEA miktarının 22.5 µl, %DOX'in 2:100 olduğu deney şartlarında karıştırma hızı 600'den 1000 rpm'e çıktığında kapsülleme verimliliği %52.90'dan %41.71'e düşmüştür. Kontakt zamanının 1 saat, TEA miktarının 45 µl, %DOX'in 2:100 olduğu deney şartlarında karıştırma hızı 600'den 1000 rpm'e çıktığında kapsülleme verimliliği %60.09'dan %54.05'e düşmüştür. Kontakt zamanının 3 saat, TEA miktarının 45 µl, %DOX'in 2:100 olduğu deney şartlarında karıştırma hızı 600'den 1000 rpm'e

çıkıldığında kapsülleme verimliliği %47.17'den %63.69'a artmıştır. Kontakt zamanının 1 saat, TEA miktarının 22.5 µl, %DOX'in 5:100 olduğu deney şartlarında karıştırma hızı 600'den 1000 rpm'e çıktığında kapsülleme verimliliği %78.98'den %73.92'ye düşmüştür. Kontakt zamanının 3 saat, TEA miktarının 22.5 µl, %DOX'in 5:100 olduğu deney şartlarında karıştırma hızı 600'den 1000 rpm'e çıktığında kapsülleme verimliliği %77.89'dan %65.39'a düşmüştür. Kontakt zamanının 1 saat, TEA miktarının 45 µl, %DOX'in 5:100 olduğu deney şartlarında karıştırma hızı 600'den 1000 rpm'e çıktığında kapsülleme verimliliği %67.76'dan %56.67'ye düşmüştür. Kontakt zamanının 3 saat, TEA miktarının 45 µl, %DOX'in 5:100 olduğu deney şartlarında karıştırma hızı 600'den 1000 rpm'e çıktığında kapsülleme verimliliği %70.97'den %58.34'e düşmüştür.

Dağıtıcı sürecinin karıştırma hızı misellerin morfolojisini etkileyen önemli bir faktördür. Bu nedenle bu çalışmada Çizelge 4.4'te gösterildiği gibi farklı karıştırma hızlarının DOX'in kapsülleme verimliliği üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Dahası Wang vd. karıştırma hızının artmasıyla mikro-partikül boyutunun yavaş yavaş azaldığını göstermiştir. Bu sonuçları ilişkilendirince daha büyük mikroparçacıklar daha büyük EE'ye sahipti. Bunun nedeni kayma kuvvetini sağlayan daha yüksek karıştırma hızının mikrokürelerin küresel yapısını yok etmesi ve mikro küre matrisinde kapsüllenmiş bazı ilaçların dış sulu faza difüzyonuna neden olmasıdır [264]. Bu nedenle Çizelge 4.4'te gösterildiği gibi optimize edilmiş üretim parametreleri 600 rpm karıştırma hızında elde edilebilir. Denklem sonucu elde edilen veri X_4 'ün (ilaç:polimer oranı) X_1 'den (karıştırma hızı) daha önemli olduğunu göstermiştir.

Dey vd. yaptıkları çalışmada karıştırma hızının ilaç tutuklama verimi (diğer bir deyişle karıştırma hızı arttıkça parçacık boyutu azalmış ve dolayısıyla ilaç tutuklama verimi azalmıştır) üzerinde negatif bir etkiye sahip olduğunu belirtmiştir. Buna göre karıştırma hızı 800'den 1200 rpm'e arttıkça ilaç tutuklama verimi %70'ten %47'ye azalmıştır [265].

Kushwaha vd. yaptıkları çalışmada parçacık büyüklüğü ve EE üzerinde homojenizasyon hızının etkisini 5000, 10000 ve 15000 rpm olmak üzere üç farklı homojenizasyon hızı ile gözlemlemiştir. Elde edilen sonuçlardan homojenizasyon hızının parçacık büyüklüğü ve EE üzerinde önemli bir rol oynadığı bulunmuştur. Sonuçlar homojenizasyon hızı 5000'den 15000 rpm'e yükseltildiğinde partikül boyutunun düşük devirde yani 5000 rpm'de parçacıkları küçültmek için verimsiz hızdan dolayı yavaş yavaş düştüğünü göstermiştir. Yüksek hızda homojenizasyon durumunda partikül boyutu parçacıklara etki eden iç kuvvetlerin üstesinden gelen parçacıklara etki eden kayma kuvvetinin yüksek

yoğunluğu nedeniyle düşüş göstermiştir. Homojenizasyon hızının tutuklama verimi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Düşük homojenizasyon hızında EE yüksekti, yüksek hızdayken EE düşüktü. Tutuklama veriminin azalması yeni üretilen parçacıklara göre yüzey aktif madde molekülünün bulunmamasına bağlıydı bu, lipid matrisinden ilaç difüzyonuna neden oldu veya küçük parçacıklar daha büyük yüzey alanı/hacim oranına sahipti ve SLN dispersiyonu içine daha fazla ilaç kaybına neden oldu [188].

Kukut yaptığı çalışmada diğer koşulları sabit tutarak homojenleştirme hızının mikro küre özelliklerine etkisini araştırmıştır. Mikrosferlerin boyutu polimerin viskozitesi, iç su fazı, homojenleştirme hızı, dış fazda Polivinilalkol (PVA) konsantrasyonu ve polimerin moleküler ağırlığı tarafından etkilenmiştir. Fakat bunun yanında ana faktör homojenizasyon hızıydı çünkü yağ fazını suya dağıtma enerjisi sağladı. Deneysel verilere göre imatinib mesilatın salımı artarken karıştırma hızı arttıkça EE azalmıştır. Bu, mikrokürelerin boyutlarındaki azalma ile açıklanmıştır [266].

Zhou vd. 600, 700, 800, 900 ve 1000 rpm karıştırma hızları kullanarak interferon alfa-2b (IFN-a-2b) içeren manyetik poli(laktik asit) (PLA) ve poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) mikrosferleri modifiye edilmiş su içinde yağ içinde su çözücü buharlaştırma prosedürü ile hazırlamıştır. Ayrıca mikrosferlerdeki interferonun EE'sinin karıştırma hızı 800 rpm'den düşük olduğunda artan karıştırma hızı ile arttığını da gözlemlemiştir. Bununla birlikte EE karıştırma hızı 800 rpm'den yüksek olduğunda azalmıştır. Çok yüksek karıştırma hızından kaynaklanan pek çok kabarcık oluşmuştur bu da meydana gelen mikrosferlerin nispeten gevşek bir kabuk katmanına neden olmuştur. Bu durum EE düşüşünden sorumlu olabilir [267].

Thirupathy vd.'nin yaptıkları çalışmanın amacı PLGA kullanarak bir ay boyunca düzgün bir şekilde ilaç salımı yapmak, temozolomid (TMZ) için sürdürülebilir salım modelinin formüle edilmesi ve değerlendirilmesidir. Karıştırma hızı arttırılınca PLGA mikrosferlerinin yüzde ilaç tutuklama verimi hafifçe düşmüştür. Hız 400'den 600 rpm'e çıktığında ilaç yüklemesi azalmıştır bunun ilacın dış faza difüzyonuna bağlı olabileceği ve çözücü ekstraksiyonu sırasında daha yüksek hızda hızlı difüzyonun gerçekleşmesi olabileceği belirtilmiştir [268].

Kashif vd. daha küçük partikül boyutu ve geniş yüzey alanı nedeniyle ilacın sürekli faza biraz daha kayması nedeniyle artan karıştırma hızıyla EE'nin (%) anlamlı olmayan bir düşüş gösterdiğini tespit etmiştir [191].

Abdallah vd. ketoprofen (KP) yüklü ERS100 mikrosferlerinin hazırlanmasında karıştırma hızının artırılmasının %EE'de önemli bir düşüş gösterdiğini belirtmiştir. Muhtemel bir açıklama büyük parçacıkların yüzey alanının daha küçük olması ve bunun da ilacın dış sulu faza daha az taşınmasına yol açmasıdır [269].

Chaisri vd. yaptıkları çalışmanın amacının süt meme iltihaplanmasının tedavisinde uygun salım sistemlerini elde etmek için emülsiyon tipi ve işlem parametrelerinin sefaleks (CPX)-yüklü PLGA mikrokürelerin özelliklerine olan etkilerini değerlendirme olduğunu ifade etmiştir. Elde ettikleri sonuçlara göre karıştırma hızının düşürülmesi ile kapsülleme verimliliği artma eğilimindeydi. Buna göre 10000, 8000 ve 4000 rpm karıştırma hızı için kapsülleme verimliliği (%) sırasıyla 18.3 ± 1.2 , 18.6 ± 0.3 ve 19.1 ± 0.5 olarak bulundu. Muhtemel açıklama büyük parçacıkların yüzey alanının daha düşük olması ve bunun sefaleksinin dış sulu faza daha az taşınmasına yol açmış olmasıdır [270].

İkinci grafik (Şekil 4.17) EE (X_2) kapsülleme verimliliğinin temas zamanı arttıkça genellikle küçük olmakla beraber önemli bir azalma izlediğini göstermektedir. Karıştırma hızının 600 rpm, TEA miktarının 22.5 μ l, %DOX'in 2:100 olduğu deney şartlarında kontakt zamanı 1 saatten 3 saate çıktığında kapsülleme verimliliği %43.49'dan %52.90'a artmıştır. Karıştırma hızının 1000 rpm, TEA miktarının 22.5 μ l, %DOX'in 2:100 olduğu deney şartlarında kontakt zamanı 1 saatten 3 saate çıktığında kapsülleme verimliliği %50.27'den %41.71'e düşmüştür. Karıştırma hızının 600 rpm, TEA miktarının 45 μ l, %DOX'in 2:100 olduğu deney şartlarında kontakt zamanı 1 saatten 3 saate çıktığında kapsülleme verimliliği %60.09'dan %47.17'ye düşmüştür. Karıştırma hızının 1000 rpm, TEA miktarının 45 μ l, %DOX'in 2:100 olduğu deney şartlarında kontakt zamanı 1 saatten 3 saate çıktığında kapsülleme verimliliği %54.05'ten %63.69'a artmıştır. Karıştırma hızının 600 rpm, TEA miktarının 22.5 μ l, %DOX'in 5:100 olduğu deney şartlarında kontakt zamanı 1 saatten 3 saate çıktığında kapsülleme verimliliği %78.98'den %77.89'a düşmüştür. Karıştırma hızının 1000 rpm, TEA miktarının 22.5 μ l, %DOX'in 5:100 olduğu deney şartlarında kontakt zamanı 1 saatten 3 saate çıktığında kapsülleme verimliliği %73.92'den %65.39'a düşmüştür. Karıştırma hızının 600 rpm, TEA miktarının 45 μ l, %DOX'in 5:100 olduğu deney şartlarında kontakt zamanı 1 saatten 3 saate çıktığında kapsülleme verimliliği %67.76'dan %70.97'ye az bir farkla artmıştır. Karıştırma hızının 1000 rpm, TEA miktarının 45 μ l, %DOX'in 5:100 olduğu deney şartlarında kontakt zamanı 1 saatten 3 saate çıktığında kapsülleme verimliliği %56.67'den %58.34'e az bir farkla artmıştır. Literatüre göre bu muhtemelen daha uzun temas süresine

sahip bir işlemin daha küçük mikropartiküllere yol açtığı anlamına gelmektedir. Bununla birlikte Chang vd. büyük parçacıkların daha büyük bir ilaç yüklemesine ev sahipliği yapabileceğini göstermiştir [271].

Li vd. yaptıkları araştırmanın amacının düşük çözünür ve kararsız problemleri çözmek ve Hohenbuehelia serotina polisakkaritleri kapsüllemek için yeni W1/O/W2 nanoemülsiyonları geliştirmek olduğunu belirtmiştir. H. serotina polisakkarit nano emülsiyonlarının hazırlanan parametreleri (PVA içeriği, polisakkarit konsantrasyonu, karıştırma hızı ve karıştırma süresi) tepki yüzeyi metodolojisine göre optimize edilmiştir. Karıştırma süresi nanoemülsiyonların özellikle partikül boyutu üzerinde kapsülleme verimliliği üzerinde önemli bir etkiye sahipti. Tüm kapsülleme verimliliği zaman artışı ile birlikte düşme eğilimi göstermiştir [272].

Alex ve Bodmeier oldukça suda çözünür bir ilaç olan psödoefedrin HCl'yi su/yağ/su emülsifikasyonu - çözücü buharlaştırma yöntemi ile poli(metil metakrilat) mikrosferleri içine tutuklamıştır. Üç polimer konsantrasyonunda karıştırma süresinin ilaç içeriğine etkisi şu şekilde düşünülmüştür: ilaç mikro kürelerden dış sulu faza çeşitli şekillerde kaybedilebilir. Birincisi ilacın ikinci emülsifikasyon aşamasında dış faz ile temas eden iç su damlacıklarından sonra ilacın organik polimer çözeltisi yoluyla difüzyonu sonucu kaybolmasıdır. İlacın organik polimer çözeltisinde düşük çözünürlüğü nedeniyle difüzyon muhtemelen ihmal edilebilir. Damlacık arayüzü boyunca difüzyon ve ilaç kaybının sadece geleneksel çözücü buharlaştırma yönteminde emülsifikasyondan sonraki ilk dakikalar boyunca gerçekleştiği gösterilmiştir. Polimer dış yüzeyde hızla çökelmiş ve sulu faz içine herhangi bir ilacın yayılmasını engellemiştir. Dış fazdaki ilaç çözünürlüğü minimumdu ve karıştırma süresinin ilaç içeriği üzerinde bir etkisi yoktu. Geleneksel yöntemin aksine ilacın dış sulu fazdaki çözünürlüğü bu modifiye edilmiş teknik ile yüksekti ve ilaç çözücü buharlaştırma, polimer çöktürme ve iç faz tarafından oluşturulan gözenekler yoluyla difüzyon ile ya da polimerik matris aracılığıyla mikro-küre oluşumundan sonra kayboldu. Bunun sonucu olarak ilaç içeriği artan karıştırma süresi ile azalmıştır [273].

Jyothi vd. yaptıkları çalışmada farklı mikrokapsülleme tekniklerinin ve mikrokapsülleme tekniğinin kapsülleme verimliliğini etkileyen farklı faktörlerin literatür taramasını sağlamıştır. Mikrosferlerin ilaç içeriğinin artan karıştırma süresi ile azaldığı belirtilmiştir [274].

Kong vd. damlacık mikroakışkanlarını kullanarak aktif maddelerin taşıyıcıları olarak tasarımcı mikro parçacıkları üretmiştir. Rifampisin yüklü PLGA mikropartiküllerinin ilaç kapsüllemesi karıştırma süresine ciddi derecede bağlıydı. Karıştırma süresi arttıkça mikropartiküller parçalara ayrılmış, mikropartiküller içerisinde kapsüllenen ilaçlar parçalanmış mikropartiküllerden çevreye yavaş yavaş salınmıştır. Böylece meydana gelen PLGA mikro parçacıklarının etkinliği azalmıştır. 46 saat boyunca karıştırılan mikropartiküllerin süspansiyonları için ilaç kapsülleme verimi mikropartiküllerin 2.5 saat karıştırıldığı zaman ile karşılaştırılırsa %50 oranında azalma olduğu belirtilmiştir [275].

Chopra vd. streptomisin yüklü kitosan-aljinat nanopartiküllerden oluşan nanoformülasyonu iyonotropik pregelasyon yöntemi kullanarak hazırlamış ve polimer konsantrasyonu, çapraz bağlayıcı konsantrasyonu ve karıştırma süresi açısından optimizasyon yapmıştır. Kapsülleme verimliliği karıştırma süresi 90, 120 ve 180 dakika için sırasıyla %93.32, %70 ve %62.33 olarak bulunmuştur [276].

Singh vd. yaptıkları bu çalışmanın amacının asetazolamid içeren poli(ϵ -kaprolakton) (PCL) mikrokürelerini hazırlama ve değerlendirme olduğunu belirtmiştir. Karıştırma zamanı 1, 2 ve 4 saat için ortalama kapsülleme verimi sırasıyla 69.14 ± 0.91 , 75.28 ± 0.97 ve 67.22 ± 2.01 idi. 2 saatlik karıştırma süresi seçilmiştir çünkü tutuklama verimi 4 saat sonrakinden daha yüksekti [277].

Mesnad vd. diltiazem hidroklorür (DTZ) içeren sürekli salım kazein-kitosan mikroküreleri tamamen sulu ortamda kolloidal koaservasyon tekniği ile hazırlamıştır. Kazein ve kitosan konsantrasyonları, başlangıç ilaç konsantrasyonu ve karıştırma süresi hazırlanan mikrokürelerin özelliklerini ve verimini etkileyen ana parametreler olarak bulundu. Karıştırma süresinin mikrosferlerdeki ilaç içeriğini etkilediği gözlenmiştir. Kazein-kitosan mikrosferlerinin oluşumu için gereken minimum karıştırma süresi 40 dakika idi. Mikrosferlerdeki toplam ilaç içeriğinin saptanması karıştırma süresinin kısalmasıyla ilaç içeriğinin daha yüksek olduğunu ortaya çıkarmıştır. Kapsülleme verimi 120 ve 40 dakika karıştırma süresi için sırasıyla %42.2 ve %53.7 olarak bulundu [278].

Yin ve Yates yaptıkları bu çalışmada gözenekli kabuk duvarlara sahip içi boş biyolojik olarak parçalanabilir poli(DL-laktit) (PLA) parçacıkları emülsifikasyon veya püskürtme ile oluşturulan PLA çözeltisinin küçük damlacıklarının dondurularak kurutulmasıyla hazırlamıştır. Kapsüllemiş ilaç içeriği diklorometan ile karıştırma süresi 1.5 saatten 3 saate çıkarıldığında azalmıştır. Diklorometana daha uzun süre maruz kalındığında

çekirdek kabuk yapılandırılmış polimer parçacıklarının daha düşük ara yüzey serbest enerjili katı partiküllere geri dönmesine yeterli zaman sağlanmış ve kapsüllenmiş ilaç miktarı azalmıştır [279].

Herrmann ve Bodmeir bir peptit ilacı olan somatostatin asetat içeren biyolojik olarak parçalanabilir polyester mikroküreleri çoklu W/O/W-emülsiyonlarının oluşumuna dayanan modifiye edilmiş bir çözücü buharlaştırma yöntemi ile hazırlamıştır. Karıştırma süresinin arttırılması ilacın dış sulu ortama bölünmesine bağlı olarak kapsülleme verimliliğini azaltmıştır. Maksimum kapsülleme verimliliği elde etmek için karıştırma süresinin minimumda tutulması gerektiği söylenmiştir [280].

Üçüncü grafik (Şekil 4.18) EE (X₃) TEA miktarının değişmesinin kapsülleme verimliliği üzerinde çok önemli bir etkiye sahip olmadığını göstermektedir. Karıştırma hızının 600 rpm, kontakt zamanının 1 saat, %DOX'in 2:100 olduğu deney şartlarında TEA miktarı 22.5'ten 45 µl'ye arttırıldığında kapsülleme verimliliği %43.49'dan %60.09'a artmıştır. Karıştırma hızının 1000 rpm, kontakt zamanının 1 saat, %DOX'in 2:100 olduğu deney şartlarında TEA miktarı 22.5'ten 45 µl'ye arttırıldığında kapsülleme verimliliği %50.27'den %54.05'e az bir farkla artmıştır. Karıştırma hızının 600 rpm, kontakt zamanının 3 saat, %DOX'in 2:100 olduğu deney şartlarında TEA miktarı 22.5'ten 45 µl'ye arttırıldığında kapsülleme verimliliği %52.90'dan %47.17'ye az bir farkla düşmüştür. Karıştırma hızının 1000 rpm, kontakt zamanının 3 saat, %DOX'in 2:100 olduğu deney şartlarında TEA miktarı 22.5'ten 45 µl'ye arttırıldığında kapsülleme verimliliği %41.71'den %63.69'a artmıştır. Karıştırma hızının 600 rpm, kontakt zamanının 1 saat, %DOX'in 5:100 olduğu deney şartlarında TEA miktarı 22.5'ten 45 µl'ye arttırıldığında kapsülleme verimliliği %78.98'den %67.76'ya düşmüştür. Karıştırma hızının 1000 rpm, kontakt zamanının 1 saat, %DOX'in 5:100 olduğu deney şartlarında TEA miktarı 22.5'ten 45 µl'ye arttırıldığında kapsülleme verimliliği %73.92'den %56.67'ye düşmüştür. Karıştırma hızının 600 rpm, kontakt zamanının 3 saat, %DOX'in 5:100 olduğu deney şartlarında TEA miktarı 22.5'ten 45 µl'ye arttırıldığında kapsülleme verimliliği %77.89'dan %70.97'ye düşmüştür. Karıştırma hızının 1000 rpm, kontakt zamanının 3 saat, %DOX'in 5:100 olduğu deney şartlarında TEA miktarı 22.5'ten 45 µl'ye arttırıldığında kapsülleme verimliliği %65.39'dan %58.34'e düşmüştür.

Zhu vd. yaptıkları çalışmada antrasiklin anti-kanser ilacı olan doksorubisini (DOX) poli(ε-kaprolakton)-poli(etilen glikol)-poli(ε-kaprolakton) (PCL-PEG-PCL) amfifilik triblok kopolimer bazlı polimerik nanopartiküllere (NP'ler) ince film hidrasyon ve

ultrasonik dispersiyon yöntemi ile başarıyla tutuklamıştır. DOX'in kapsülleme verimliliği (EE) artan TEA miktarı ile birlikte artmıştır. DOX.HCl TEA kullanmadan NP'ler içine kapsüllendiğinde protonlu formun hidrofilitesi nedeniyle NP'lere az miktarda DOX (%0.60 a/a) tutuklanmıştır. TEA ilave hacmi arttıkça DOX.HCl'den hidroklorür gidermesi arttırılmış bu nedenle DOX'in daha yüksek hidrofobiklik özelliğinin hidrofobik etkileşim yoluyla daha etkili bir şekilde fiziksel olarak tutuklamaya imkan verdiği düşünülmüştür. Buna göre TEA miktarı 20, 50, 100 ve 165 µl kullanıldığında kapsülleme verimliliği sırasıyla 15.44 ± 1.11 , 49.30 ± 1.75 , 70.07 ± 1.62 ve 86.71 ± 2.05 olarak bulunmuştur [242].

Hubbell vd. ters emülsiyon fotopolimerizasyonu ile poli(etilen glikol) ve poloksamer 407'den (Pluronic® F127) oluşan kararlı polimerik nanopartikülleri hazırlamıştır. DOX konsantrasyonu ile pH'nın arttığı kolayca gösterilmiştir çünkü baz miktarı DOX'inkiyle orantılıydı ve aynı zamanda protondan arındırılmış/hidrofobik ve protonlu/hidrofilik DOX arasındaki oran da gösterilmiştir. Bu etkinin önemli derecede düşük konsantrasyonlarda önemli olduğunu göstermek kolaydı bu nedenle daha yüksek yükleme DOX trietilaminin 3 eşdeğeri yerine 5 eşdeğeri ile çözündürüldüğünde elde edilmiştir [281].

Dördüncü grafik (Şekil 4.19) EE (X₄) DOX konsantrasyonu arttırıldığında kapsülleme verimliliğinin çok önemli bir artış sergilediğini göstermektedir. Ayrıca misellerin ortalama boyutunun da arttığı gözlenmiştir. Karıştırma hızının 600 rpm, kontakt zamanının 1 saat, TEA miktarının 22.5 µl olduğu deney şartlarında %DOX 2:100'den 5:100'e arttırıldığında kapsülleme verimliliği %43.49'dan %78.98'e artmıştır. Karıştırma hızının 1000 rpm, kontakt zamanının 1 saat, TEA miktarının 22.5 µl olduğu deney şartlarında %DOX 2:100'den 5:100'e arttırıldığında kapsülleme verimliliği %50.27'den %73.92'ye artmıştır. Karıştırma hızının 600 rpm, kontakt zamanının 3 saat, TEA miktarının 22.5 µl olduğu deney şartlarında %DOX 2:100'den 5:100'e arttırıldığında kapsülleme verimliliği %52.90'dan %77.89'a artmıştır. Karıştırma hızının 1000 rpm, kontakt zamanının 3 saat, TEA miktarının 22.5 µl olduğu deney şartlarında %DOX 2:100'den 5:100'e arttırıldığında kapsülleme verimliliği %41.71'den %65.39'a artmıştır. Karıştırma hızının 600 rpm, kontakt zamanının 1 saat, TEA miktarının 45 µl olduğu deney şartlarında %DOX 2:100'den 5:100'e arttırıldığında kapsülleme verimliliği %60.09'dan %67.76'ya artmıştır. Karıştırma hızının 1000 rpm, kontakt zamanının 1 saat, TEA miktarının 45 µl olduğu deney şartlarında %DOX 2:100'den 5:100'e arttırıldığında

kapsülleme verimliliği %54.05'ten %56.67'ye artmıştır. Karıştırma hızının 600 rpm, kontakt zamanının 3 saat, TEA miktarının 45 µl olduğu deney şartlarında %DOX 2:100'den 5:100'e arttırıldığında kapsülleme verimliliği %47.17'den %70.97'ye artmıştır. Karıştırma hızının 1000 rpm, kontakt zamanının 3 saat, TEA miktarının 45 µl olduğu deney şartlarında %DOX 2:100'den 5:100'e arttırıldığında kapsülleme verimliliği %63.69'dan %58.34'e azalmıştır.

Qian vd. Takrolimus (FK506) yüklü miselleri biyolojik olarak bozulan poli(ε-kaprolakton)-poli(etilen glikol)-poli(ε-kaprolakton) (PCEC) kopolimerleri baz alarak sentezlemiştir. Misellerin hazırlanması sürecinde ilaç yükleme ve kapsülleme veriminin Takrolimus/PCEC ağırlık oranının değiştirilmesi ile ayarlanabileceği belirtilmiştir. Takrolimus miktarındaki artışla birlikte ilaç yüklemesi uygun bir artış göstermiş ve kapsülleme verimi daima yüksek seviyede bulunmuştur. Buna göre FK506/PCEC (a/a) oranı 5:95, 5:45, 5:28, 5:20 ve 5:15 olduğunda enkapsülleme verimliliği (%) sırasıyla 95.83 ± 1.54 , 98.20 ± 0.73 , 97.90 ± 0.16 , 94.34 ± 1.09 ve 95.53 ± 1.23 olarak hesaplanmıştır [82].

Dey vd. yaptıkları çalışmanın amacının mikrokürenin in vitro performansı temelinde formülasyonu formüle ve optimize etmek olduğunu ifade etmiştir. İlaç-polimer oranı arttıkça kapsülleme etkinliği artmıştır bunun nedeni yüzey alanının azalmasıyla birlikte büyük boyutlu damlacıkların üretilmiş olmasıydı öyle ki bu tür mikroküreden ilacın yayılımı yavaş olacak ve böylece daha yüksek kapsülleme etkinliği elde edilecektir [265].

Öcal yaptığı çalışmada polimer:ilaç oranı 10:1'den 10:2'ye düştükçe kapsülleme etkinliğinin yaklaşık olarak iki katına (%23.34'ten %51.33'e) çıktığını belirtmiştir. Bununla birlikte polimer:ilaç oranı 10:2'den 10:4'e düştüğünde kapsülleme verimliliğinin daha düşük oranda arttığını (%51.33'ten %70.56'ya) ifade etmiştir [282].

Demetçi yaptığı çalışmada ilaç/polimer oranındaki değişimin ilaç içeriğinin miktarını etkilediğini gözlemlemiştir. All-trans-Retinoik asit yüklü mikropartiküllerin (MP2, MP3, MP4 ve MP5) ve tamoksifen sitrat yüklü mikropartiküllerin (MP7 ve MP8) kapsülleme verimleri hazırlamada kullanılan ilaç konsantrasyonunun artmasıyla kapsülleme verimliliğinin arttığını ortaya koymuştur [283].

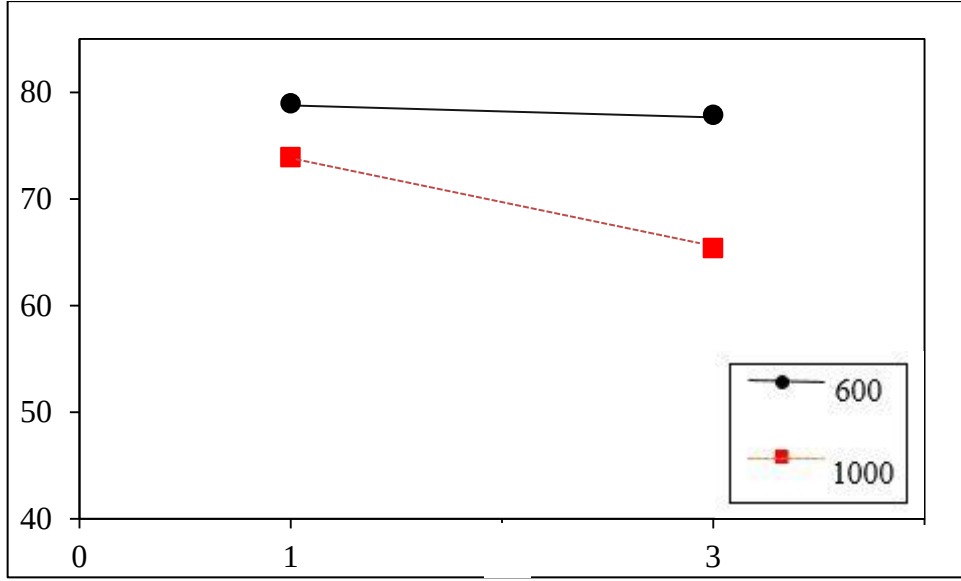
Qian vd. yaptıkları çalışmanın amacının kamptotesini hidrolizden korumak, salım süresini uzatmak ve farelerde kolorektal peritoneal karsinomatozis ve tümör büyümesi üzerindeki tedavi etkinliğini arttırmak için PCL-PEG-PCL (PCEC) mikrokürelerini

hazırlamak olduğunu belirtmiştir. CPT yüklemesinin 1:40, 2:40 ve 3:40 (Mikrosfer) MS'ler için sırasıyla %1.8, %4.1 ve %6.1 olduğunu ve üç tip PCEC mikrosferinin her birinin kapsülleme etkinliğinin sırasıyla %70.9, % 81.3 ve % 85.7 olduğunu hesaplamıştır [284].

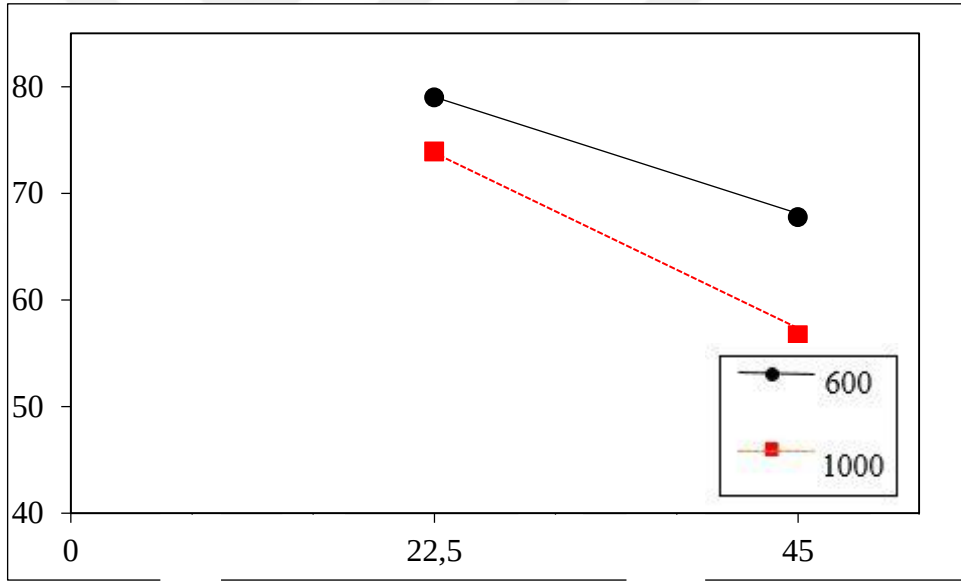
Kılıçarslan ve Baykara verapamil hidroklorür (VRP) içeren mikroküreleri çözücü buharlaştırma yöntemi ve Eudragit RS 100 ile hazırlamıştır. Çözücü buharlaştırma yönteminde mikrokürelerin oluşumu ve özelliklerini etkileyen parametrelerden birinin ilaç/polimer oranlarının varyasyonu olduğunu bildirmiştir. Çalışmanın amacının bu parametrenin VRP yüklü mikroküreler üzerindeki etkilerini incelemek olduğunu ifade etmiştir. F1, F2, F3, F4 ve F5 formülasyonları için ilaç/polimer oranı sırasıyla 1/2, 1/3, 1/4, 1/5 ve 1/6 idi. Ortalama ilaç kapsüllemesi ise 27.4 ± 1.49 , 18.0 ± 0.654 , 14.7 ± 0.179 , 12.9 ± 0.164 ve 10.6 ± 0.295 olarak hesaplanmıştır. F1 formülasyonunun en yüksek inkorporasyon verimi birim polimer başına ilacın diğer formülasyonlardan daha fazla olmasıyla açıklanabilmiştir [285].

Bolourtchian vd. yaptıkları çalışmada ibuprofeni y/s emülsiyon çözücü buharlaştırma tekniği kullanarak Eudragit RS ile mikrokapsüllemiştir. İlaç:polimer oranının tutuklama verimi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu belirtilmiştir. İç fazdaki ilaç konsantrasyonunun arttırılmasının mikrosferlerdeki ilaç içeriğinin önemli ölçüde artmasına neden olduğu ifade edilmiştir. Buna göre ilaç:polimer oranı 0.9:2, 1:2, 1.1:2, 1.3:2, 1.5:2 ve 1.7:2 olduğunda kapsülleme verimliliği sırasıyla %84.30, %84.13, %84.55, %89.00, %88.15 ve %93.60 olarak hesaplanmıştır [286].

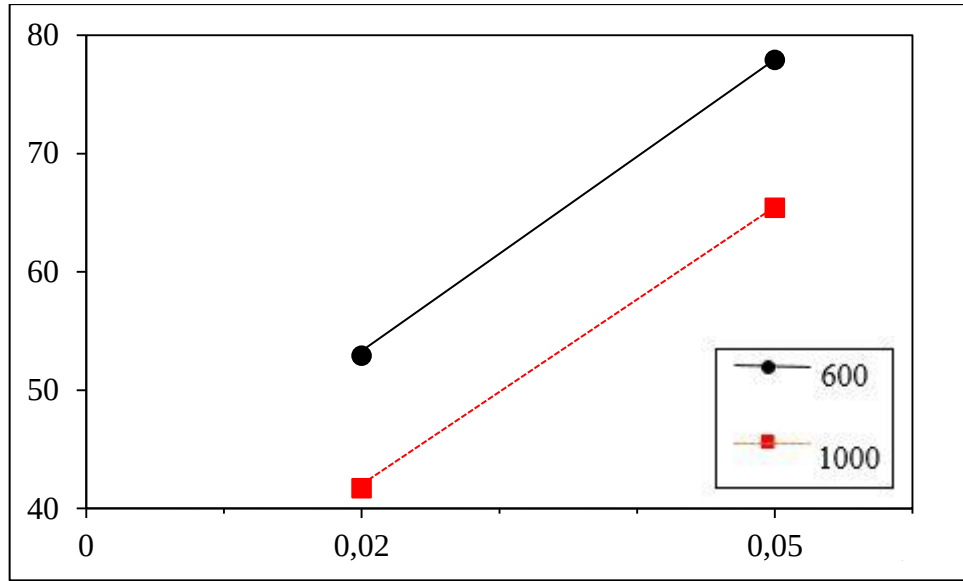
Şekil 4.20-4.25'te karıştırma hızı, temas süresi, TEA miktarı ve DOX yüzdesinin kapsülleme etkinliği üzerindeki etkileşim grafikleri verilmiştir.



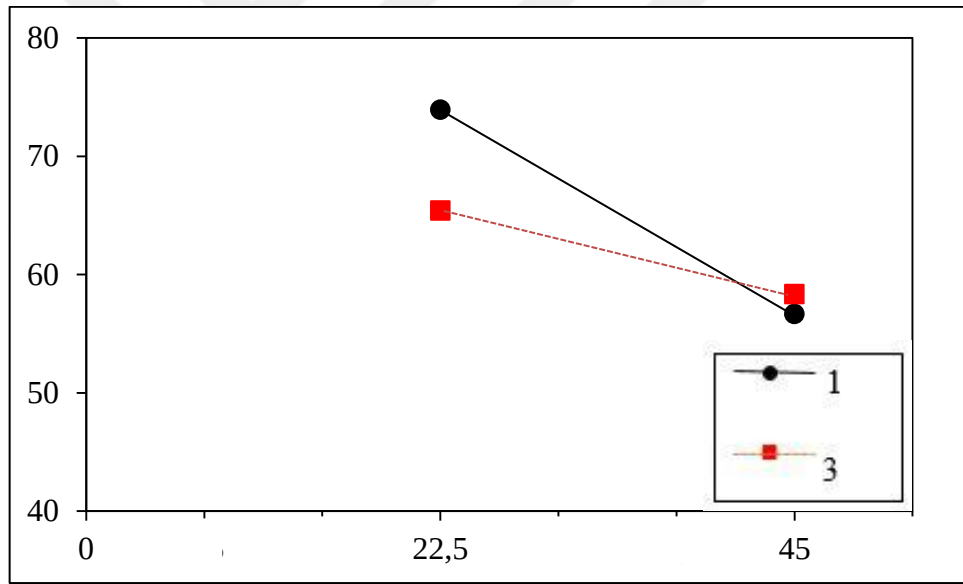
Şekil 4. 20 X_1 - X_2 deneysel faktörlerin kapsülleme verimliliği üzerindeki etkileşim çizimleri, düz çizgiler faktörlerin düşük seviyesine ve kesikli çizgiler yüksek seviyesine karşılık gelmektedir



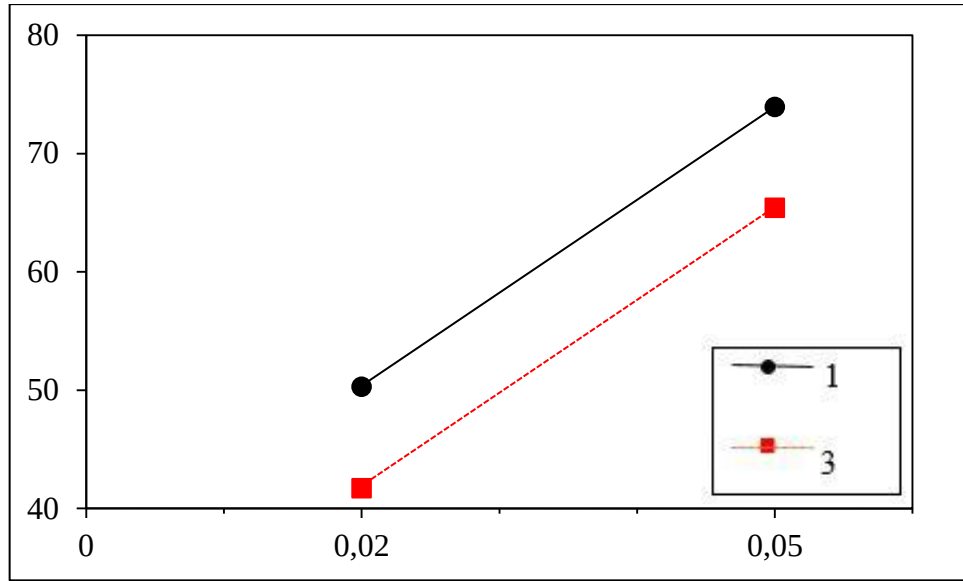
Şekil 4. 21 X_1 - X_3 deneysel faktörlerin kapsülleme verimliliği üzerindeki etkileşim çizimleri, düz çizgiler faktörlerin düşük seviyesine ve kesikli çizgiler yüksek seviyesine karşılık gelmektedir



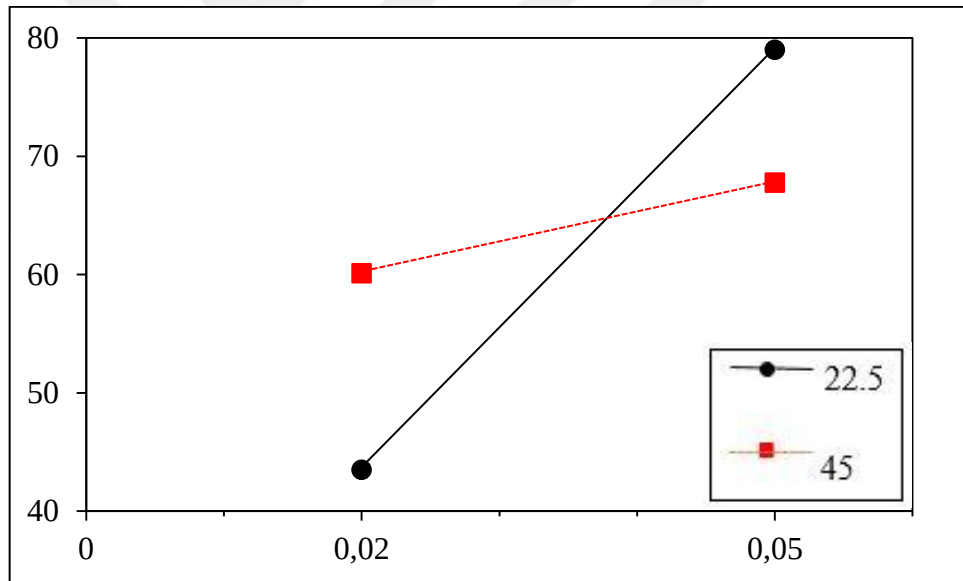
Şekil 4. 22 X_1 - X_4 deneysel faktörlerin kapsülleme verimliliği üzerindeki etkileşim çizimleri, düz çizgiler faktörlerin düşük seviyesine ve kesikli çizgiler yüksek seviyesine karşılık gelmektedir



Şekil 4. 23 X_2 - X_3 deneysel faktörlerin kapsülleme verimliliği üzerindeki etkileşim çizimleri, düz çizgiler faktörlerin düşük seviyesine ve kesikli çizgiler yüksek seviyesine karşılık gelmektedir



Şekil 4. 24 X_2 - X_4 deneysel faktörlerin kapsülleme verimliliği üzerindeki etkileşim çizimleri, düz çizgiler faktörlerin düşük seviyesine ve kesikli çizgiler yüksek seviyesine karşılık gelmektedir



Şekil 4. 25 X_3 - X_4 deneysel faktörlerin kapsülleme verimliliği üzerindeki etkileşim çizimleri, düz çizgiler faktörlerin düşük seviyesine ve kesikli çizgiler yüksek seviyesine karşılık gelmektedir

Şekil 4.20-4.25'te görüldüğü üzere karıştırma hızı ile temas süresi arasında, karıştırma hızı ile TEA miktarı arasında, temas süresi ile TEA miktarı arasında ve temas süresi ile DOX yüzdesi arasında önemli bir etkileşim yoktur. Buna karşılık karıştırma hızı ile DOX yüzdesi arasında ve DOX yüzdesi ile TEA miktarı arasında anlamlı bir etkileşim gözlenmiştir. DOX yüzdesine karşı karıştırma hızı ile DOX yüzdesine karşı TEA miktarı arasındaki etkileşimler anlamlıydı çünkü DOX yüzdesi kapsülleme etkinliği üzerinde

büyük bir etkiye sahipti. Karıştırma hızı ile DOX yüzdesi arasındaki etkileşim incelendiğinde EE cevabı DOX yüzdesinin yüksek seviyesinde karıştırma hızı düşük seviyeden yüksek seviyeye çıkarıldığında önemli ölçüde azalmıştır. Ancak DOX yüzdesinin daha düşük seviyesinde bu düşüş daha az belirgin olmuştur. DOX yüzdesine karşı TEA miktarı arasındaki etkileşim incelendiğinde EE cevabı DOX yüzdesinin yüksek seviyesinde TEA miktarı düşükten yüksek seviyeye çıkarıldığında önemli ölçüde azalmıştır. Bununla birlikte DOX yüzdesinin daha düşük seviyesinde EE cevabı önemli oranda artmıştır.

4.5 DOX-Yüklü PCEC Misellerin İlaç Yükleme Verilerinin Değerlendirilmesi

Eşitlik 3.2 baz alınarak DL içeriği şu şekilde hesaplanmıştır (Çizelge 4.4): kontakt zamanının 1 saat, TEA miktarının 22.5 µl, %DOX'in 2:100 olduğu deney şartlarında karıştırma hızı 600'den 1000 rpm'e çıktığında ilaç yükleme değeri %0.97'den %1.12'ye artmıştır. Kontakt zamanının 3 saat, TEA miktarının 22.5 µl, %DOX'in 2:100 olduğu deney şartlarında karıştırma hızı 600'den 1000 rpm'e çıktığında ilaç yükleme değeri %1.18'den %0.93'e düşmüştür. Kontakt zamanının 1 saat, TEA miktarının 45 µl, %DOX'in 2:100 olduğu deney şartlarında karıştırma hızı 600'den 1000 rpm'e çıktığında ilaç yükleme değeri %1.33'ten %1.20'ye düşmüştür. Kontakt zamanının 3 saat, TEA miktarının 45 µl, %DOX'in 2:100 olduğu deney şartlarında karıştırma hızı 600'den 1000 rpm'e çıktığında ilaç yükleme değeri %1.05'ten %1.41'e artmıştır. Kontakt zamanının 1 saat, TEA miktarının 22.5 µl, %DOX'in 5:100 olduğu deney şartlarında karıştırma hızı 600'den 1000 rpm'e çıktığında ilaç yükleme değeri %4.25'ten %3.99'a düşmüştür. Kontakt zamanının 3 saat, TEA miktarının 22.5 µl, %DOX'in 5:100 olduğu deney şartlarında karıştırma hızı 600'den 1000 rpm'e çıktığında ilaç yükleme değeri %4.20'den %3.55'e düşmüştür. Kontakt zamanının 1 saat, TEA miktarının 45 µl, %DOX'in 5:100 olduğu deney şartlarında karıştırma hızı 600'den 1000 rpm'e çıktığında ilaç yükleme değeri %3.67'den %3.09'a düşmüştür. Kontakt zamanının 3 saat, TEA miktarının 45 µl, %DOX'in 5:100 olduğu deney şartlarında karıştırma hızı 600'den 1000 rpm'e çıktığında ilaç yükleme değeri %3.84'ten %3.18'e düşmüştür.

Hızın 600'den 1000 rpm'e çıkmasıyla ilaç yüklemesi genel olarak azalmıştır bunun nedeni ilacın dış faza difüzyonu ve çözücünün uzaklaştırılması sırasında daha yüksek bir hızda hızlı difüzyonun gerçekleşebileceği olasılığıdır (Çizelge 4.4).

Bu çalışmada teorik ilaç yüklemesi %2 ve %5 olarak seçilmiştir. Misellerin hazırlanması sürecinde ilaç yüklemesi DOX/PCEC ağırlık oranının değiştirilmesi ile ayarlanabilmiştir. Doksorubisin oranındaki artışla ilaç yüklemesi makul bir artış göstermiştir (Çizelge 4.4).

Huang vd. yaptıkları çalışmada biyolojik olarak parçalanabilir dosetaksel yüklü kendiliğinden oluşan nanopartikülleri geliştirmek için poli (D,L-laktit-koglikolid)/hiyalüronik asit blok kopolimerleri başarıyla sentezlemiştir. Dosetaksel (DTX)/polimer ağırlık oranındaki artışa bağlı olarak DTX/polimer oranı 0.2:10'dan 0.5:10'a arttıkça DTX/SANP'lerin ilaç yüklemesi aşama aşama %1.67'den %3.11'e yükselmiştir [287].

Biswas vd. yaptıkları çalışmanın amacının kemoterapötik ilaçların salımı için halihazırda kullanılan çeşitli polimerik misellerin tartışılmasına odaklanmak olduğunu belirtmiştir. İlaç yükleme içeriğinin ilacın kopolimerin hidrofobik kısmı ile etkileşimine bağlı olmasından dolayı kopolimer:ilacın 1:0.075-1:0.2 aralığında olan farklı besleme oranları denenmiştir. İlaç yükleme içeriği kopolimer/ilaç besleme oranları 1:0.075'ten 1:0.15'e arttığında artmış ve oran 1:0.15'i aştığında ise azalmıştır [18].

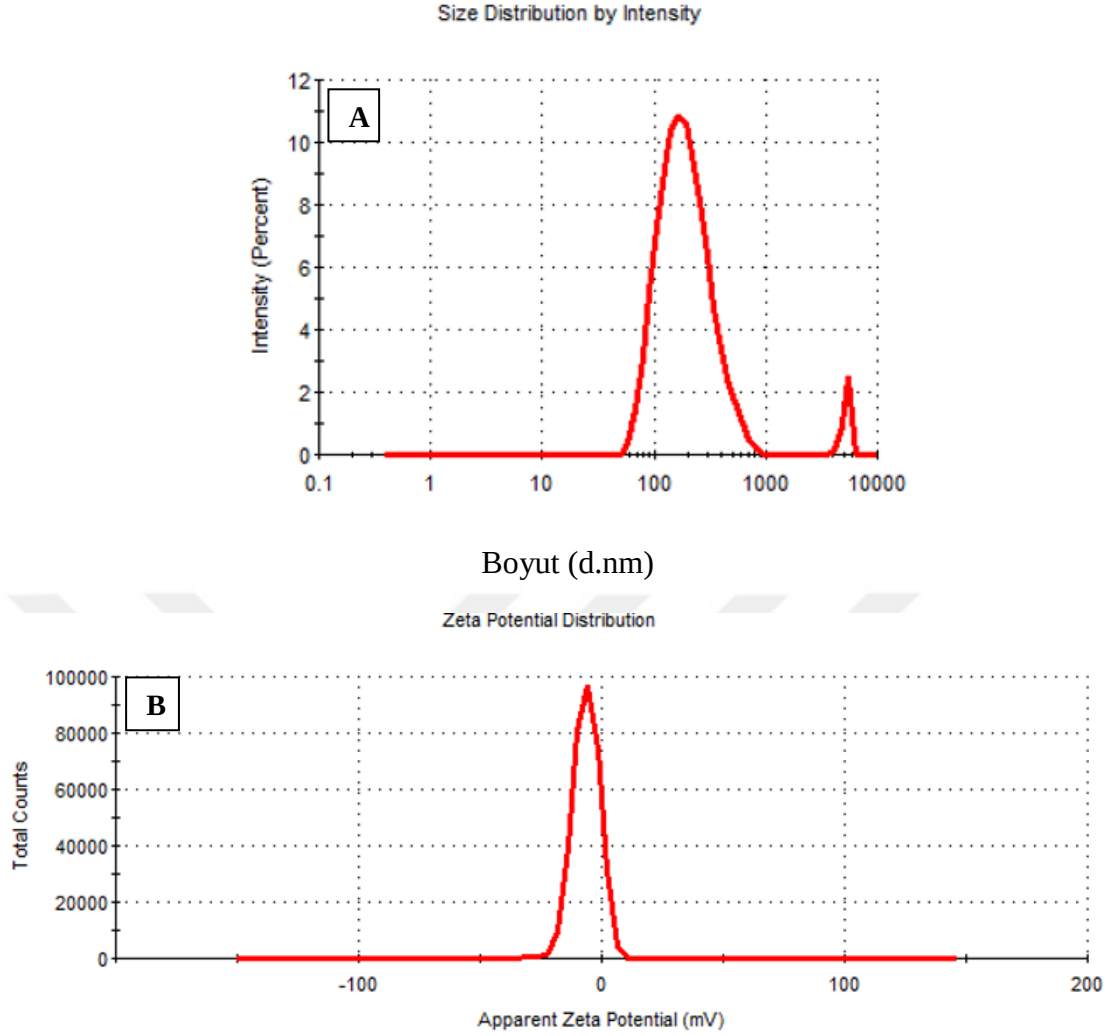
Qian vd. yaptıkları çalışmada FK506/PCEC'i (a/a) 5:95, 5:45, 5:28, 5:20 ve 5:15 olarak çalıştırdıklarında ilaç yükleme (%) değerlerini sırasıyla 4.64, 9.74, 14.62, 19.02 ve 22.51 olarak hesaplamıştır [82].

4.6 DOX-Yüklü PCEC Misellerin Formülasyonu için Optimum Faktörler

Yukarıdaki modelin temel faydası DOX yüklü misellerin kapsülleme verimliliğini optimize eden faktörleri belirlemektir. Elde edilen sonuçlara göre $X_1 = 600$ rpm, $X_2 = 1$ saat, $X_3 = 22.5$ µl ve $X_4 = \%5$ optimum faktörler olarak belirlenmiştir. Bu optimum koşullar altında hesaplanan kapsülleme verimi EE ise %78.98'dir.

4.7 Optimum Faktörlere Sahip DOX-Yüklü PCEC Miselinin Parçacık Boyut Dağılımı ve Zeta Potansiyeli

Optimum faktörlerin kullanılmasıyla sentezlenen ve en yüksek kapsülleme etkinliğini sağlayan miselin parçacık boyutu 232 nm, zeta potansiyeli değeri -6.5 mV ve PDI değeri 0.383 olarak bulunmuştur. Buna ek olarak DOX yüklemesi misellerin boyutlarını anlamlı olarak etkilememiş ve misellerin boyut dağılımlarını değiştirmemiştir (Şekil 4.26). Benzer bir sonuç Zhang vd.'nin yaptığı çalışmada da gözlenmiştir [221].



Şekil 4. 26 Optimum faktörlerin kullanılmasıyla sentezlenen ve en yüksek kapsülleme etkinliğini sağlayan miselin parçacık boyut dağılımı ve zeta potansiyeli: A. parçacık boyut dağılımı, B. zeta potansiyeli

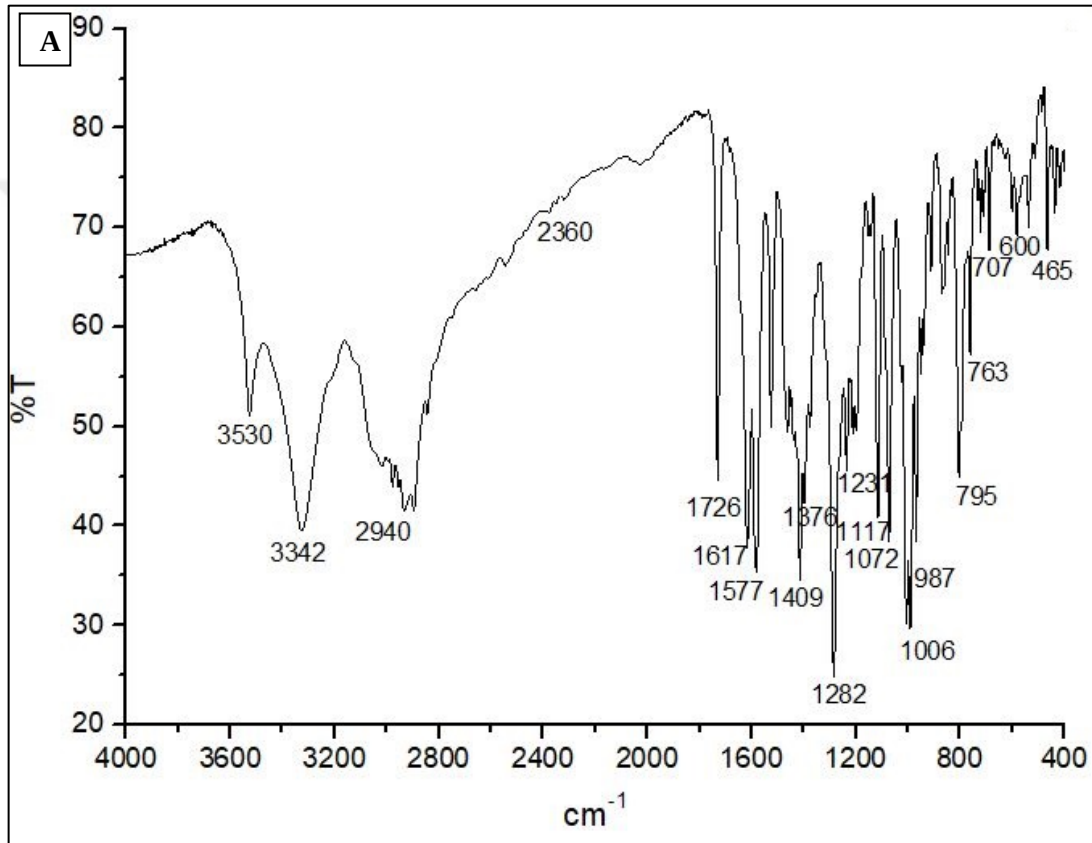
4.8 DOX ile TPGS 1000 veya PSC 833'ün Misellere İnkorporasyonu

Kanser kemoterapisinde yapılan klinik araştırmalar farklı mekanizmalarla hareket eden çeşitli ilaçların kullanıldığı kombinasyon terapisinin monoterapiye kıyasla terapötik etkiyi artırabildiğini kanıtlamıştır [288]. Bu çalışmada en yüksek EE'ye sahip DOX ile TPGS 1000 veya PSC 833 yüklü miselleri elde etmek için bu iki ajan polimerik misellere yüklenmiştir. Bu çalışmada TPGS 1000 veya PSC 833'ün DOX ile sinerjik etkisi yoluyla kemoterapide gereken DOX dozunun azaltılmasına odaklanılmıştır.

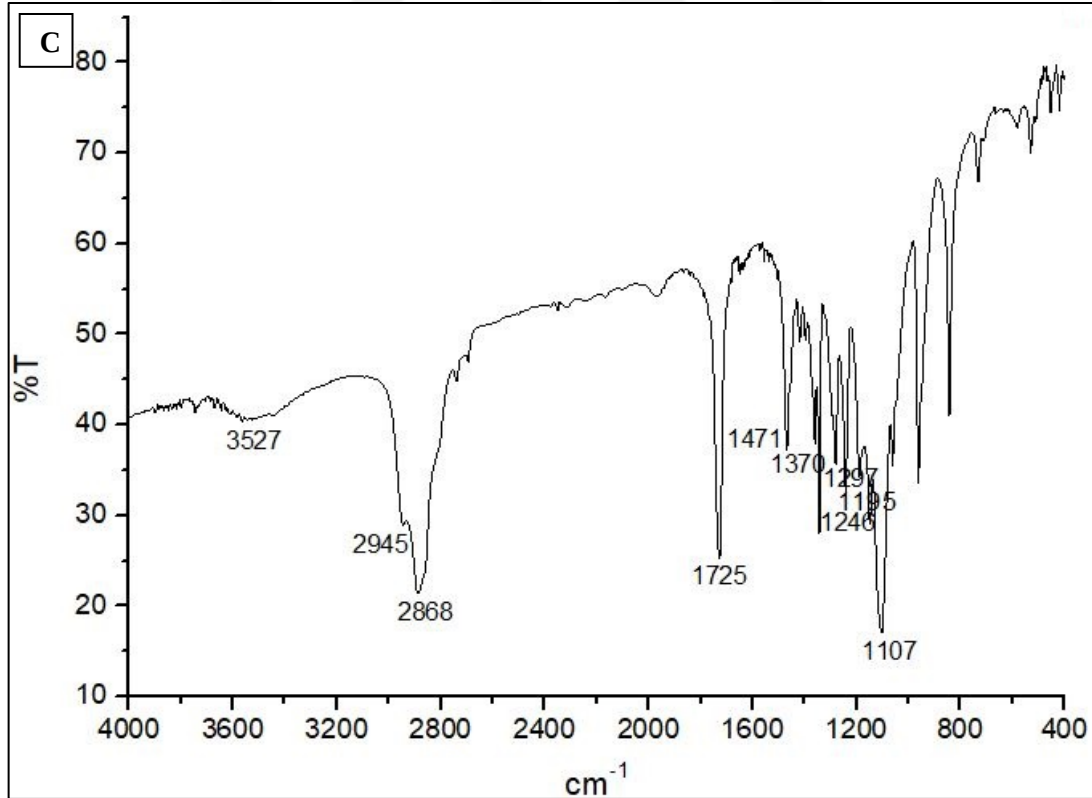
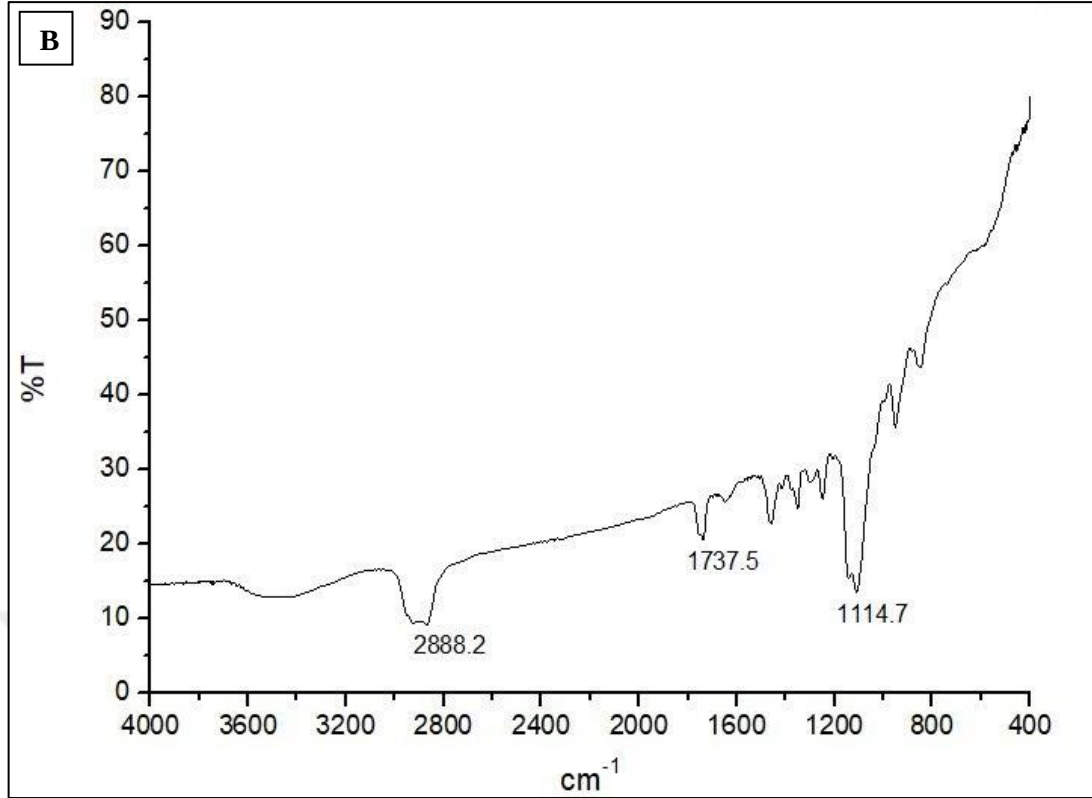
4.8.1 İlaç, Misel ve İlaç Yüklü Misellerin FTIR Analizi

DOX-PM, DOX/PSC 833-PM ve DOX/TPGS 1000-PM'lerin kimyasal yapıları ile kimyasal ve fiziksel etkileşimlerin olasılıkları FTIR spektroskopisi ile araştırılmıştır.

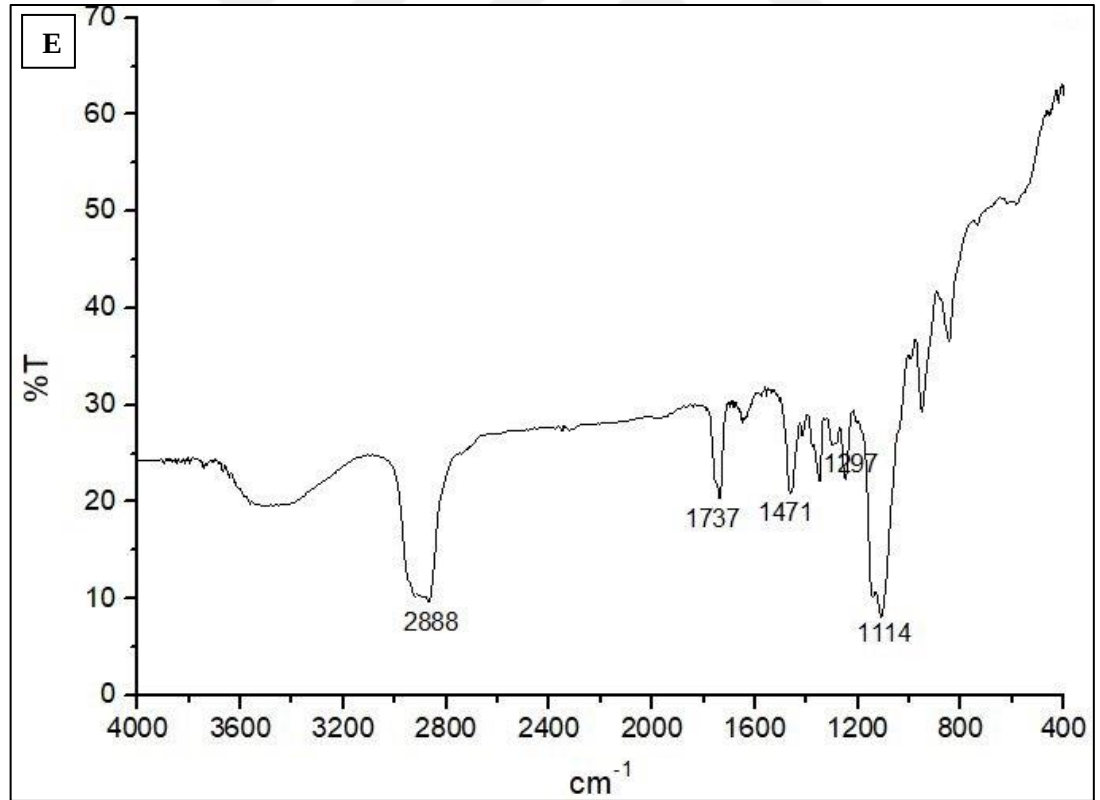
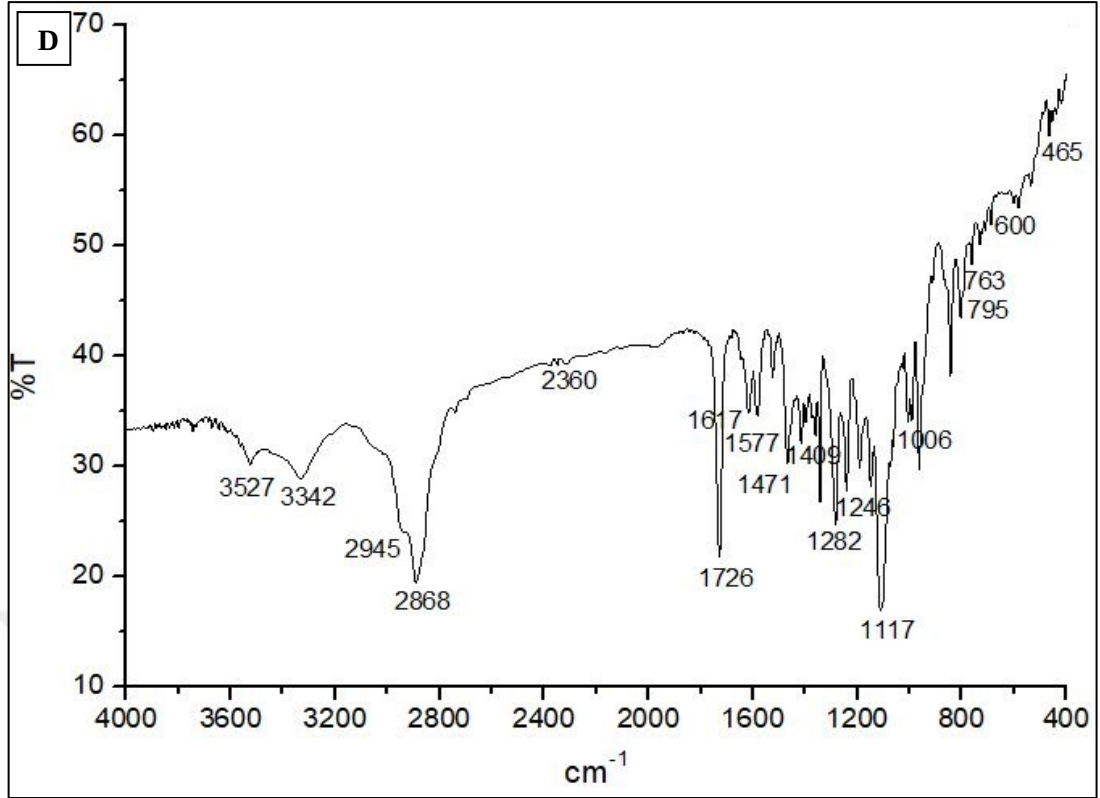
Şekil 4.27; DOX, TPGS 1000, PCEC misel, DOX-PCEC karışımı, TPGS 1000-PCEC karışımı, DOX-TPGS 1000-PCEC karışımı, DOX-PCEC, TPGS 1000-PCEC, PSC 833-PCEC, DOX-TPGS 1000-PCEC, DOX-PSC 833-PCEC'nin FTIR spektrumlarını göstermektedir.



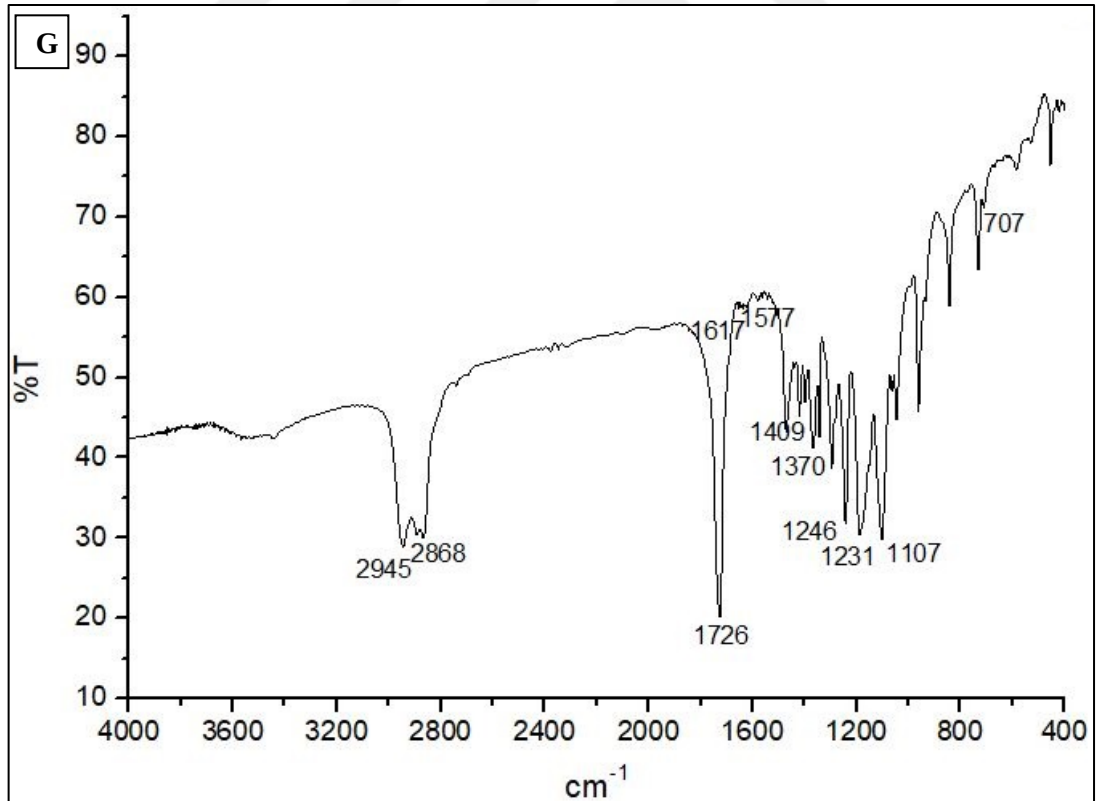
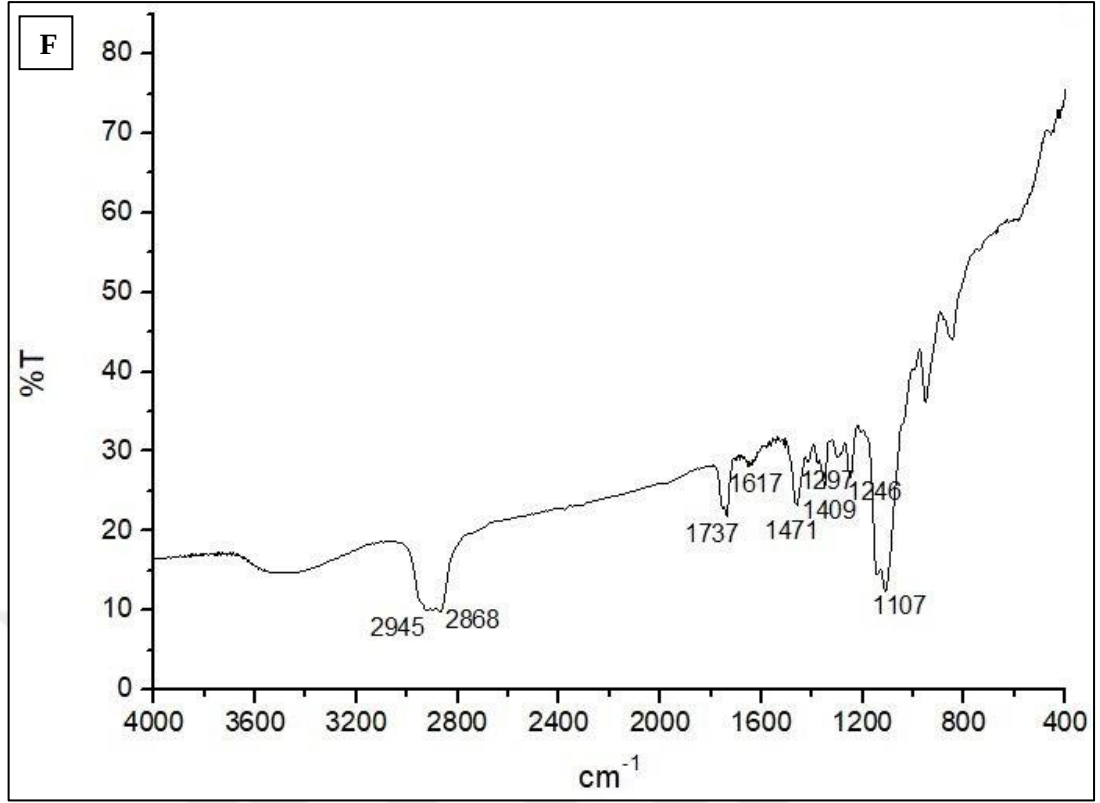
Şekil 4. 27 FTIR spektrumu: A. DOX, B. TPGS 1000, C. PCEC misel, D. DOX-PCEC karışımı, E. TPGS 1000-PCEC karışımı, F. DOX-TPGS 1000-PCEC karışımı, G. DOX-PCEC, H. TPGS 1000-PCEC, I. PSC 833-PCEC, J. DOX-TPGS 1000-PCEC, K. DOX-PSC 833-PCEC



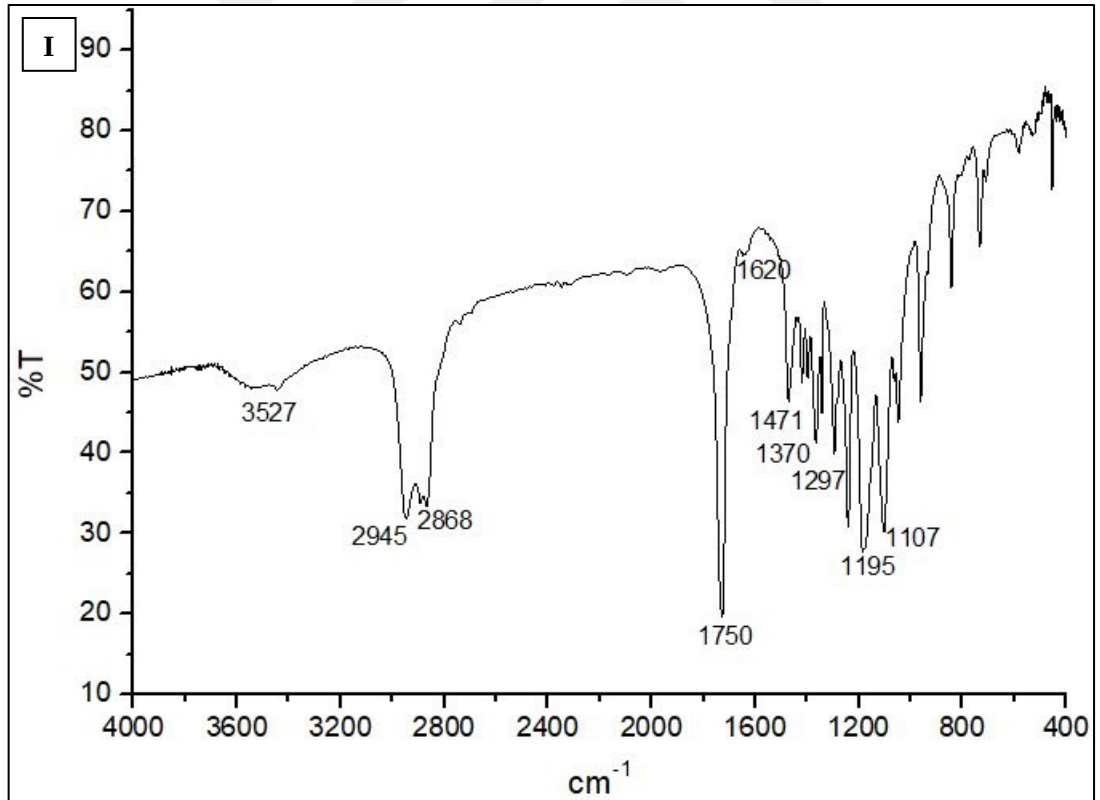
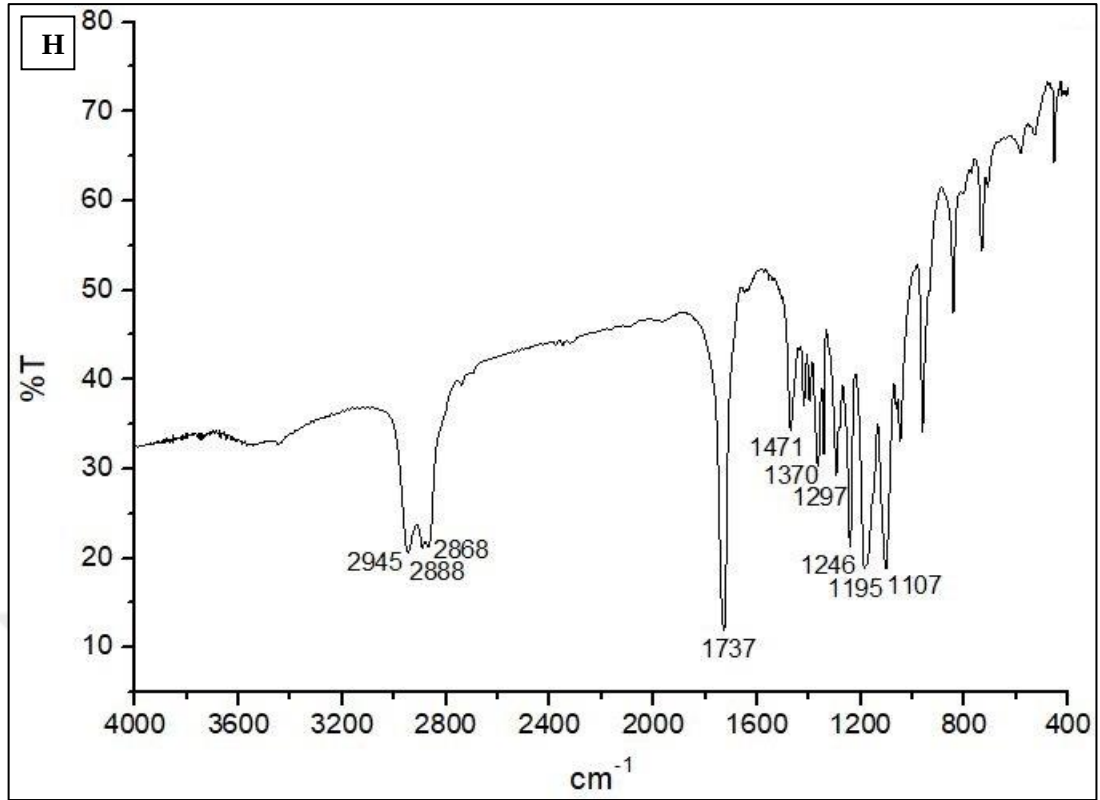
Şekil 4. 27 FTIR spektrumu: A. DOX, B. TPGS 1000, C. PCEC misel, D. DOX-PCEC karışımı, E. TPGS 1000-PCEC karışımı, F. DOX-TPGS 1000-PCEC karışımı, G. DOX-PCEC, H. TPGS 1000-PCEC, I. PSC 833-PCEC, J. DOX-TPGS 1000-PCEC, K. DOX-PSC 833-PCEC (devamı)



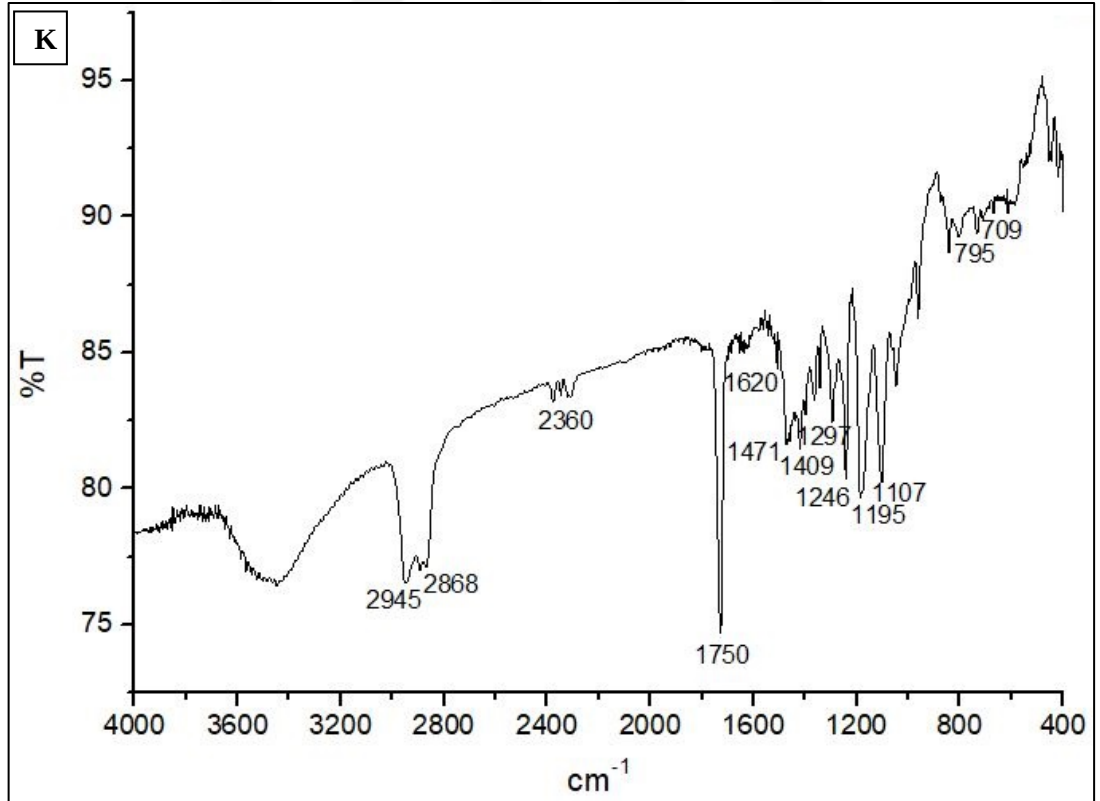
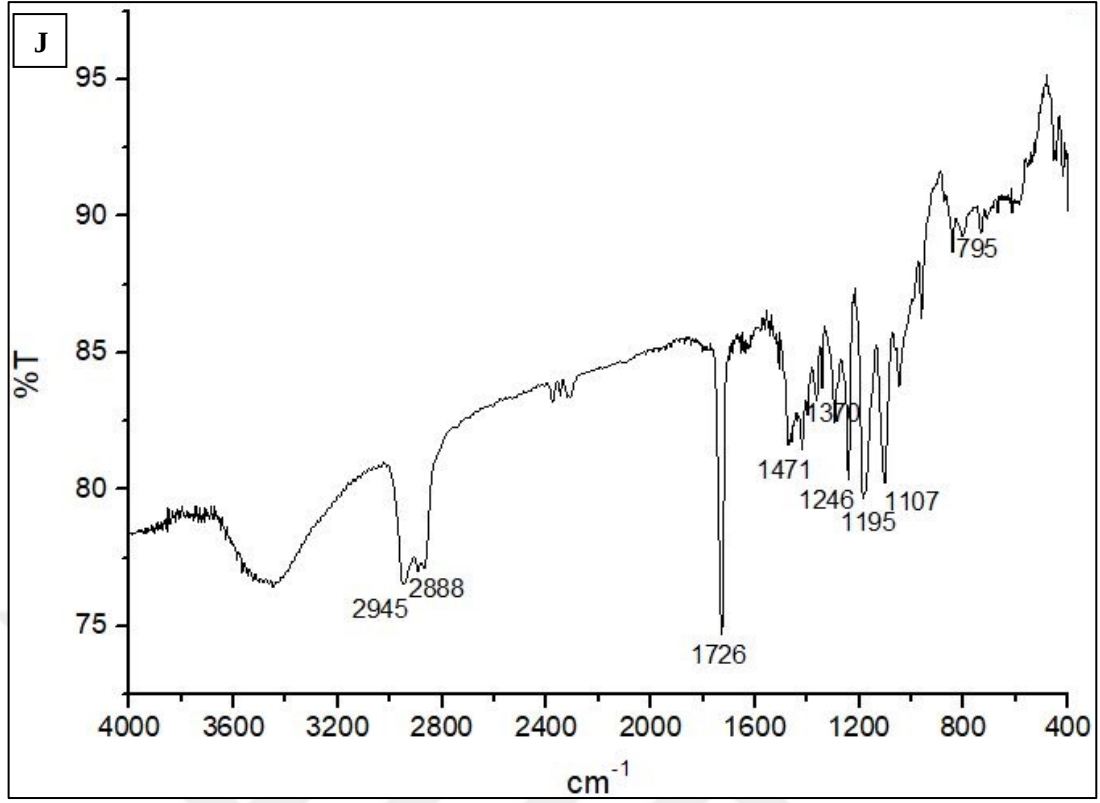
Şekil 4. 27 FTIR spektrumu: A. DOX, B. TPGS 1000, C. PCEC misel, D. DOX-PCEC karışımı, E. TPGS 1000-PCEC karışımı, F. DOX-TPGS 1000-PCEC karışımı, G. DOX-PCEC, H. TPGS 1000-PCEC, I. PSC 833-PCEC, J. DOX-TPGS 1000-PCEC, K. DOX-PSC 833-PCEC (devamı)



Şekil 4. 27 FTIR spektrumu: A. DOX, B. TPGS 1000, C. PCEC misel, D. DOX-PCEC karışımı, E. TPGS 1000-PCEC karışımı, F. DOX-TPGS 1000-PCEC karışımı, G. DOX-PCEC, H. TPGS 1000-PCEC, I. PSC 833-PCEC, J. DOX-TPGS 1000-PCEC, K. DOX-PSC 833-PCEC (devamı)



Şekil 4. 27 FTIR spektrumu: A. DOX, B. TPGS 1000, C. PCEC misel, D. DOX-PCEC karışımı, E. TPGS 1000-PCEC karışımı, F. DOX-TPGS 1000-PCEC karışımı, G. DOX-PCEC, H. TPGS 1000-PCEC, I. PSC 833-PCEC, J. DOX-TPGS 1000-PCEC, K. DOX-PSC 833-PCEC (devamı)



Şekil 4. 27 FTIR spektrumu: A. DOX, B. TPGS 1000, C. PCEC misel, D. DOX-PCEC karışımı, E. TPGS 1000-PCEC karışımı, F. DOX-TPGS 1000-PCEC karışımı, G. DOX-PCEC, H. TPGS 1000-PCEC, I. PSC 833-PCEC, J. DOX-TPGS 1000-PCEC, K. DOX-PSC 833-PCEC (devamı)

HCl uzaklaştırıldıktan sonra DOX.HCl, amfifilik kopolimer PCL-PEG-PCL'den oluşan polimerik misellerin lipofilik çekirdeğinde tutuklanan lipofilik bir moleküle dönüşür.

İlaç ve misel arasındaki etkileşim FT-IR spektrumları ile araştırılmıştır. Bu sonuçlardan serbest DOX, TPGS 1000 ve PCEC'e kıyasla DOX, DOX/TPGS 1000 ve DOX/PSC 833 yüklü misellerde (DOX-PM, DOX/TPGS 1000-PM ve DOX/PSC 833-PM) yeni kimyasal bağlar olmadığı görülmüştür. İlaç-misel etkileşimleri ilaç ve polimerin karakteristik piklerinde sadece bazı küçük kaymalar yapmıştır, bu sonuç etkileşimlerin Van Der Waals ya da hidrofobik etkileşimler gibi fiziksel etkileşimler olduğu anlamına gelmektedir. İlaç ve misel arasındaki fiziksel etkileşim ilaç moleküllerinin kimyasal yapısında ve dolayısıyla ilacın kalan potansiyelinde bir değişiklik yapmamıştır. Bu sonuçlar ilacın kimyasal stabilitesini, biyolojik aktivitelerinin sürekliliğini ve ilacın sürekli salım sistem profilinin olasılığını doğrulamıştır.

Şekil 4.27C'de 1107 ve 1246 cm^{-1} 'deki pikler sırasıyla PEG'in tekrarlanan $-\text{OCH}_2\text{CH}_2$ birimlerinin karakteristik C-O-C gerilme titreşimine ve $-\text{COO}-$ bağ-gerilme titreşimlerine atfedilir. Benzer bir sonuç Feng vd.'nin yaptıkları çalışmada elde edilmiştir. Aynı çalışmada $\epsilon\text{-CL}$ 'ye benzer olan 2944 ve 2866 cm^{-1} 'deki sinyallerin $-\text{CH}_2\text{CH}_2$ 'nin C-H gerilme bağlarının karakteristik absorpsiyonuna karşılık geldiği belirtilmiştir. Bu çalışmada bu piklere karşılık gelen pik değerleri sırasıyla 2945 ve 2868 cm^{-1} olarak bulunmuştur. Benzer şekilde 1470 cm^{-1} 'deki zayıf bir pik $-\text{CH}_2$ eğilme titreşimine bağlı olabilir. 1725 cm^{-1} 'deki kuvvetli pik C=O adsorpsiyonuna bağlıdır [208]. Bu çalışmada bu pik değerleri sırasıyla 1471 ve 1725 cm^{-1} olarak gözlenmiştir.

Cao Na yaptığı çalışmada doksorubisinin FT-IR spektrumunun doksorubisinde farklı kinin ve keton karbonillerine karşılık gelen 3346, 2940, 2354 ve 1072 cm^{-1} 'de çoklu pik sergilediğini bununla birlikte her ikisinin de karbonil gruplarına sahip olmalarından dolayı spesifik kinin ve keton arasındaki spesifik bağların çizilerek açıklanamayacağını belirtmiştir [136]. Yapılan bu çalışmada ise bu pikler sırasıyla 3342, 2940, 2360 ve 1072 cm^{-1} 'ye karşılık gelmektedir. DOX'in 1630 cm^{-1} 'de N-H bükülme titreşimlerine karşılık gelen karakteristik bandı 1617 cm^{-1} 'de, 1427 cm^{-1} 'de C-C gerilme titreşimlerine karşılık gelen karakteristik bandı 1409 cm^{-1} 'de, 1010 cm^{-1} 'de C-O gerilme titreşimine karşılık gelen karakteristik bandı ise 1006 cm^{-1} 'de gözlenmiştir [141]. Unsoy vd.'nin yaptığı çalışmada DOX'in FTIR spektrumunun 1730 cm^{-1} 'de (C-O) ve 1577 cm^{-1} 'de (N-H) çoklu pikler gösterdiği ifade edilmiştir [289]. DOX için 707 ve 795 cm^{-1} 'deki önemli pikler

aromatik kısımların sırasıyla C=C ve C-H düzlem dışı eğilmesine atfedilir [290]. Yapılan bu çalışmada da bu pikler elde edilmiştir.

Bu pikler ayrıca DOX yüklü misellerin FTIR spektrumunda da bulunur. Bu karakteristik bantların görünümü DOX'in PCEC misel (Şekil 4.27D), DOX'in TPGS 1000 ve PCEC misel (Şekil 4.27F) ile karışabilirliğini ayrıca DOX'in DOX-PM (Şekil 4.27G), DOX/TPGS 1000-PM (Şekil 4.27J) ve DOX/PSC 833-PM (Şekil 4.27K) sistemine başarılı bir biçimde yüklendiğini kanıtlamıştır. 1726, 1409 ve 707 cm^{-1} 'de DOX'e ait olan üç pik DOX-PM spektrumunda, 1726 ve 795 cm^{-1} 'de DOX'e ait olan iki pik DOX/TPGS 1000-PM spektrumunda, 1409 ve 795 cm^{-1} 'de DOX'e ait olan iki pik DOX/PSC 833-PM spektrumunda gözlenmiş ancak yoğunlukları azalmıştır.

TPGS 1000'in FT-IR spektrumu Şekil 4.27B'de gösterilmiştir. TPGS 1000 spektrumu 2888.2 cm^{-1} (C-H gerilme bandı), 1737.5 cm^{-1} (ester C=O gerilme bandı) ve 1114.7 cm^{-1} 'de (C-O-C gerilme bandı) karakteristik pikleri göstermiştir. Benzer bir sonuç Li vd.'nin yaptığı çalışmada elde edilmiştir [291]. 400 ila 4000 cm^{-1} aralığında DOX/TPGS 1000-PM'nin FT-IR spektrumu saf TPGS 1000'inkine benzerdi. 2888 cm^{-1} 'de TPGS 1000'e ait olan pik TPGS 1000-PM'nin FT-IR spektrumunda da gözlenmiştir ancak yoğunluğu azalmıştır.

Yapılan bu çalışmada mevcut valspodar miktarı yetersizdir. Ancak valspodar siklosporin türevidir [292], [293]. 1620 cm^{-1} 'deki siklosporin A (CyA) bantları karbonil grubuna karşılık gelir [294]. Mansur vd. CyA'nın amidlerin varlığıyla bağlantılı olarak 1750 cm^{-1} 'de ana karakteristik bantlar gösterdiğini ifade etmiştir [295]. Yürütülen bu çalışmada da PSC 833 ile DOX/PSC 833 yüklü polimerik miselde 1620 ile 1750 cm^{-1} 'deki pikler gözlenmiştir.

DOX yüklü polimerik misele karşılık gelen FT-IR spektrumları her iki bandda da herhangi bir spektral kayma olmadan her iki içeriğin (ilaç ve misel) karakteristik bandlarını sergilemiştir. Aynı sonuçlar DOX/TPGS 1000-PM ve DOX/PSC 833-PM ile de elde edilmiştir.

4.8.2 DOX/TPGS 1000 veya DOX/PSC 833 Eş-Yüklü PCEC Polimerik Misellerin Enkapsülleme Verimliliği ve İlaç Yükleme İçeriği

Bu çalışmada ilaçların inkorporasyon verimi üzerindeki rolünü araştırmak için farklı ilaç türleri ve miktarları kullanılmıştır. Çizelge 4.5'te DOX, PSC 833, TPGS 1000 yüklü ve

DOX/PSC 833 ile DOX/TPGS 1000 eş-yüklü PCEC polimerik misellerin ilaç yükleme içeriği, enkapsülleme verimliliği, boyut, zeta potansiyel ve PDI değerleri verilmiştir.

Çizelge 4. 5 DOX, PSC 833, TPGS 1000 yüklü ve DOX/PSC 833 ile DOX/TPGS 1000 eş-yüklü PCEC polimerik misellerin ilaç yükleme içeriği, enkapsülleme verimliliği, boyut, zeta potansiyel ve PDI değerleri

İlaç türü	DOX miktarı (mg)	2. İlaç miktarı (mg)	İlaç yükleme içeriği (%)	Enkapsülleme verimliliği (%)	Parçacık boyutu (nm)	Zeta potansiyel (mV)	PDI
DOX-PM	4.5	-	DOX: 4.25	78.98	232	-6.5	0.383
PSC 833-PM	-	0.15	PSC833:0.12	65.47	237	-4.3	0.291
	-	0.45	PSC 833: 0.39	69.82	246	-4.0	0.264
DOX/PSC833-PM	4.5	0.45	DOX: 4.28	79.47	277	-5.5	0.298
			PSC 833: 0.40	70.54			
TPGS 1000-PM	-	0.15	TPGS 1000: *	*	230	-7.1	0.379
	-	0.45	TPGS 1000: *	*	235	-8.6	0.382
DOX/TPGS 1000-PM	4.5	0.45	DOX: 4.43	82.36	227	-9.7	0.383
			TPGS 1000: *	*			

Çizelge 4.5'ten EE'nin ilaç türü ve miktarı ile yakından ilişkili olduğu kolaylıkla fark edilebilir. Gözlenen cevaplar tekrarlanabilir ve tahmin edilen değerler ile uyumluydu (Çizelge 4.5).

UV ile ölçülen DOX ile HPLC ile ölçülen PSC 833 ve TPGS 1000 yüklemesi Çizelge 4.5'te gösterilmektedir. 4.5 mg DOX kullanıldığında DOX yüklemesi DOX-PM, DOX/PSC 833-PM ve DOX/TPGS 1000-PM için sırasıyla %4.25, %4.28 ve %4.43 olarak hesaplanmıştır. PSC 833 yüklemesi PSC 833-PM'de 0.15 ve 0.45 mg yükleme için sırasıyla %0.12 ve %0.39 olarak bulunmuştur. PSC 833 yüklemesi DOX/PSC 833-PM'de 4.5 mg DOX ve 0.45 mg PSC 833 yüklemesi için %0.40 olarak bulunmuştur. TPGS 1000'in süpernatantta kalan miktarı çok düşüktür. Sonuç olarak TPGS 1000 yükleme içeriği ve kapsülleme verimliliği yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile doğru şekilde ölçülememiştir.

PSC 833 CyA'nın daha hidrofobik bir türevidir ve bu yüzden hidrofobik misel çekirdek (PCL) ile uyumludur [296]. PSC 833 ve PCL arasında daha iyi bir uyumluluğa dayanarak PSC 833'ün PCEC miselleriyle daha yüksek oranda ilişkide kalması beklenir. 0.45 mg

PSC 833 ve 4.5 mg DOX içeren formülasyonda DOX ve PSC 833'ün EE'si sırasıyla %79.47 ve %70.54'tür. 0.15 ve 0.45 mg PSC 833 içeren PSC 833-PM formülasyonunda PSC 833'ün EE'si sırasıyla %65.47 ve %69.82'dir.

Deney ve sonuçlar DOX ve TPGS 1000'in besleme konsantrasyonu değiştirilerek ilaç yüklemesinin kolaylıkla kontrol edilebildiğini göstermiştir. Sonuç olarak oranları tam olarak kontrol edilebilir. İki ilacın ayarlanabilir oran ile yükleme kapasitesi bu salım sisteminin kansere karşı esnek çok modluluk tedavisi olduğunu göstermiştir. TPGS 1000'in çözünürleştirilmesi olmadan polimerik misellerin çekirdeğindeki DOX'in EE'si %78.98'dir ve bu değer TPGS 1000 modifikasyonuna sahip olan misellerden biraz daha düşüktür. TPGS 1000 ve DOX içeren formülasyonda DOX'in EE'si %82.36'dır. Bu sonuç TPGS 1000'in fiziksel olarak inkorporasyonunun misellerde DOX'in kapsüllemesini önemli derecede etkilemeyeceği anlamına gelmektedir.

Lipofilik bir alkil kuyruğu ve hidrofilik bir PEG zinciri ile TPGS amfifildir [297], [298]. TPGS α -tokoferil süksinatın (α -TS) polietilen glikol 1000 (PEG) ile esterleştirilmesiyle sentezlenen ve ilaç formülasyonunda kullanılan güvenli bir farmasötik yardımcı madde olarak FDA tarafından onaylanan doğal E Vitamini'nin suda çözünebilir bir türevidir [152], [299], [300]. Alfa tokoferol süksinatın aromatik halkası ve yığın lipofil kısmı daha küçük parçacık boyutuna ve polimerik miselden ilacın salımını kontrol etmeye yol açan daha stabilize ve sıkı misel çekirdek oluşumunu arttıran ilaç ve misel çekirdeği arasındaki hidrofobik etkileşimin artmasına neden olabilir [288]. Ouahab vd. yaptıkları çalışmada polimerik misellerde hidrofobik ilaçların fiziksel olarak tutuklanmasının mPEG-PLA polimerinin hidrofobik bölümleri ve ilaçlar arasındaki hidrofobik etkileşimler tarafından yönlendirildiğini gözlemlemiştir. Genel olarak ilaç yükleme işleminde ilaç hidrofobikliğinin belirleyici rol oynadığı belirtilmiştir. Benzer bir sonuç bu çalışmada da elde edilmiştir. Daha yüksek yükleme ve stabilite ayrılma katsayısına göre çekirdek içindeki ilaçların dağılımındaki farklılıktan kaynaklanmıştır [301].

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar DOX/TPGS 1000-PM ile DOX/PSC 833-PM için yüksek kapsülleme verimliliği ve yükleme verimliliği değerleri göstermiştir. DOX, TPGS 1000 ve PSC 833'ün yüksek kapsülleme etkinliği polimerik misellere olan yüksek afinite ile ilgili olabilir. Ayrıca yüksek yükleme verimliliği değerleri bu gelişmiş salım sisteminin diğer avantajlarına işaret etmektedir yani etkili ilaç salımı için düşük miktarda taşıyıcıya ihtiyaç duyulmaktadır.

4.8.3 DOX/TPGS 1000 veya DOX/PSC 833 Eş-Yüklü PCEC Polimerik Misellerin Parçacık Boyutu, Zeta Potansiyeli ve PDI Analizi

DOX ve TPGS 1000 ile DOX ve PSC 833 eş-yüklü misellerin boyutu, zeta potansiyeli ve PDI değerleri üzerinde farklı miktarlarda TPGS 1000 ve PSC 833'ün etkileri Çizelge 4.5'te listelenmiştir. Hem DOX-PM hem de DOX/TPGS 1000-PM ile DOX/PSC 833-PM tek modlu dağılım ve dar boyut dağılımı göstermiştir. İlaç yüklü misellerin boyutu pasif hedeflemeye ulaşmak için EPR etkisine uygundur. 0.15 ve 0.45 mg PSC 833 içeren PSC 833-PM'nin PDI değeri sırasıyla 0.291 ve 0.264'tür. 0.45 mg PSC 833 ve 4.5 mg DOX içeren DOX/PSC 833-PM'nin PDI değeri 0.298'dir. 0.15 ve 0.45 mg TPGS 1000 içeren TPGS 1000-PM'nin PDI değeri sırasıyla 0.379 ve 0.382'dir. 0.45 mg TPGS 1000 ve 4.5 mg DOX içeren DOX/TPGS 1000-PM'nin PDI değeri 0.383'tür. Parçacık boyutu analiz edici cihaz ile ölçüldüğü üzere farklı ilaç türleri ve miktarlarına sahip polimerik misellerin ortalama parçacık boyutu oldukça geçirgen tümör kan damarları içinde bulunan boşluklar aracılığıyla kötü huylu dokuya difüzyona izin veren kabul edilebilir şekilde iyi bir polidispersiteye sahipti. Zeta potansiyel değerleri (-4.0) - (-9.7) mV değerleri arasındaydı. 0.15 ve 0.45 mg TPGS 1000 içeren TPGS 1000-PM'nin partikül büyüklüğü sırasıyla 230 ve 235 nm'dir. DOX yüklü miselin ortalama büyüklüğü 232 nm olarak bulunmuştur. DOX ve TPGS 1000'in eş-yüklemesiyle meydana gelen misellerin boyutu 227 nm olarak bulunmuştur. DOX/TPGS eş-yüklü misellerin partikül büyüklüğü DOX yüklü misellerden daha küçük bulunmuştur bu sonuç DOX ve misel çekirdeği arasındaki daha hidrofobik etkileşime bağlı olabilir [288].

0.15 ve 0.45 mg PSC 833 içeren PSC 833-PM'nin partikül büyüklüğü sırasıyla 237 ve 246 nm'dir. 4.5 mg DOX ve 0.45 mg PSC 833 eş-yüklemesiyle meydana gelen misellerin boyutu 277 nm olarak bulunmuştur. İkili ilaç yüklemesinin bu küçük boyut büyümesinden sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Parçacık büyüklüğündeki artış aynı zamanda polimerik misellerde başarılı ilaç yüklemesini de göstermiştir.

Aynı zamanda ikili ilaç yüklü partikül özelliklerinin tek ajan yüklü polimerik misellere (Çizelge 4.5) benzer olduğu gösterilmiştir bu polimerik misel içinde küçük miktarlarda kemoduyarlaştırıcıya (örneğin 0.15 ya da 0.45 mg yükleme) atfolunabilir.

4.8.4 DOX Yüklü, DOX/TPGS 1000 veya DOX/PSC 833 Eş-Yüklü PCEC Polimerik Misellerden DOX'in İn Vitro Salımı

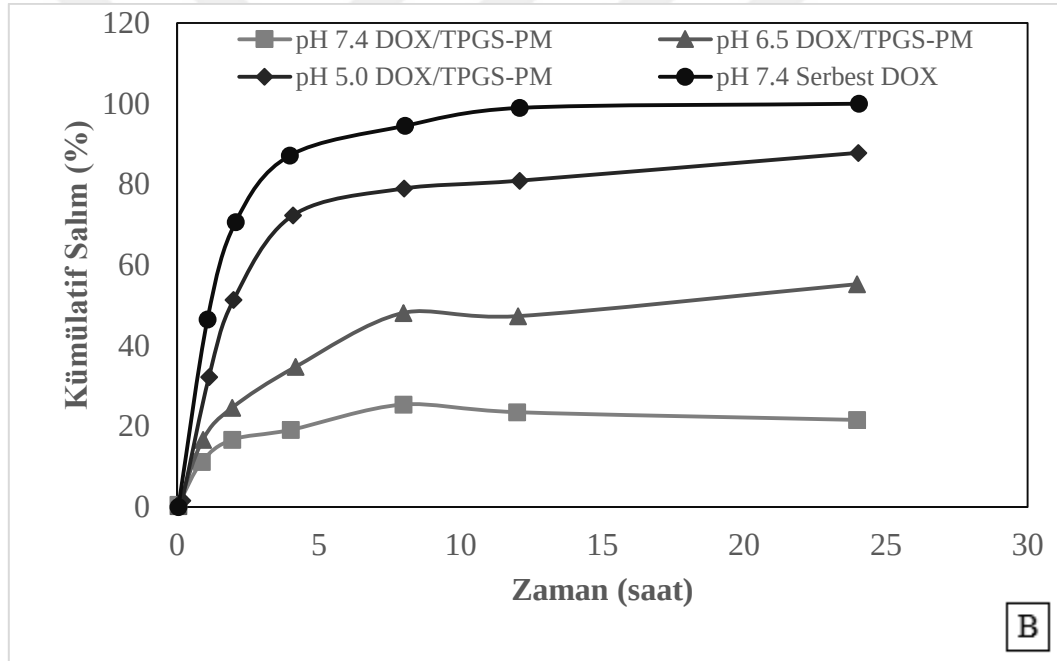
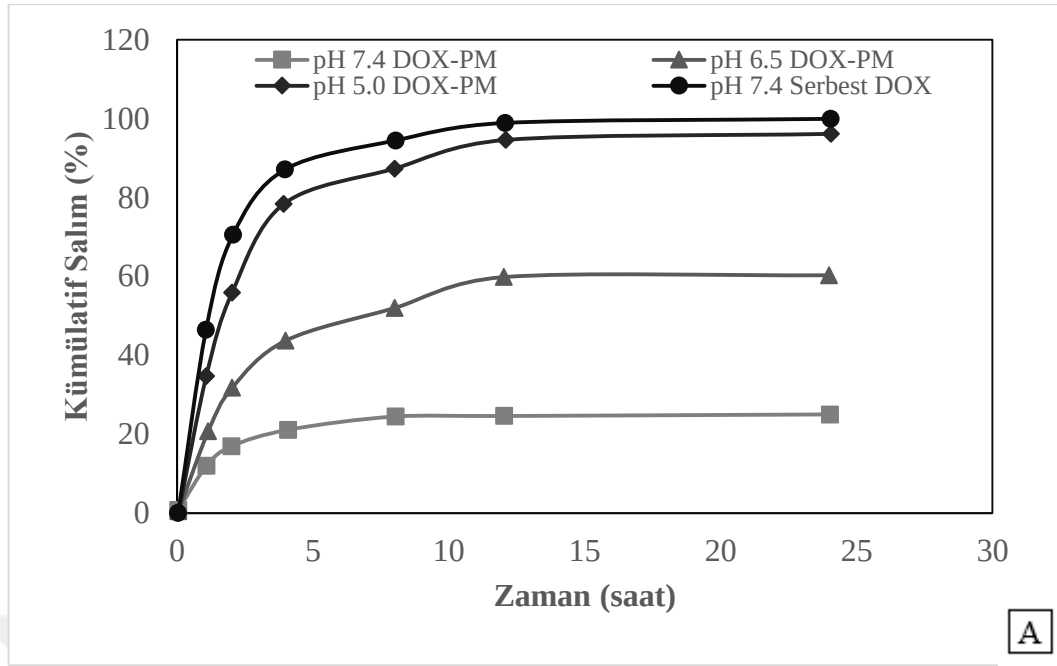
Kontrollü salım yöntemi polimerik ilaç salım sisteminin önemli bir avantajıdır [302]. Kapsüllenmiş ilacın nanotaşıyıcıdan salım profili ilaçların sinerjisi için çok önemlidir [303].

Suksiriworapong vd. ve Kim vd. yaptıkları çalışmada ilaç moleküllerinin dış sulu faza difüzivitesindeki farklılıklardan dolayı ilaç salım kinetiğinin ilaç yükleme içeriğinden etkilendiğini belirtmiştir [185], [198].

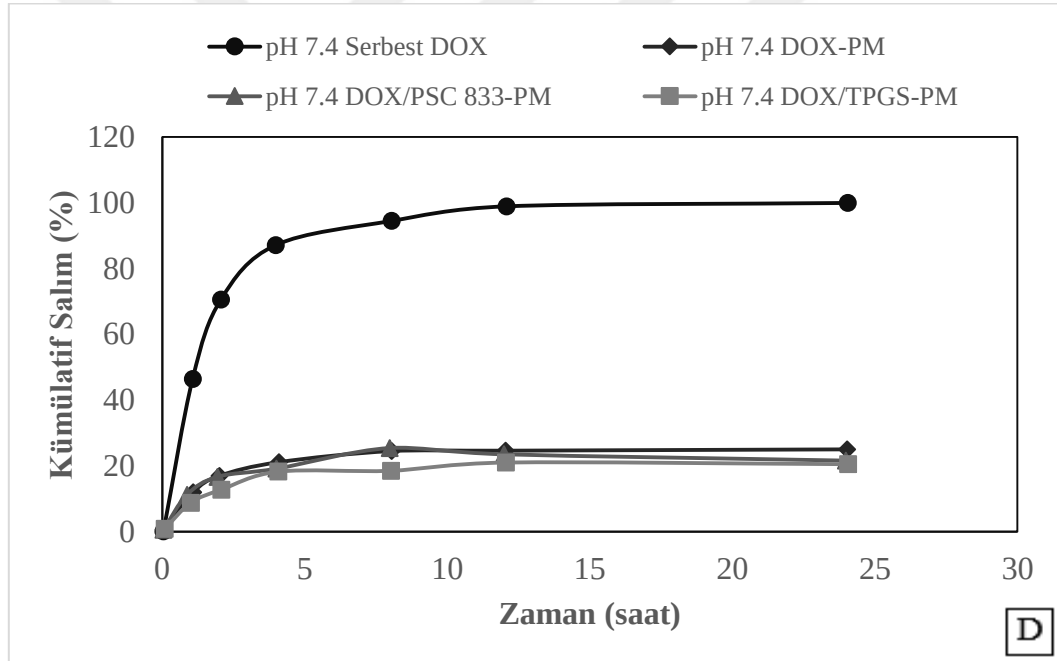
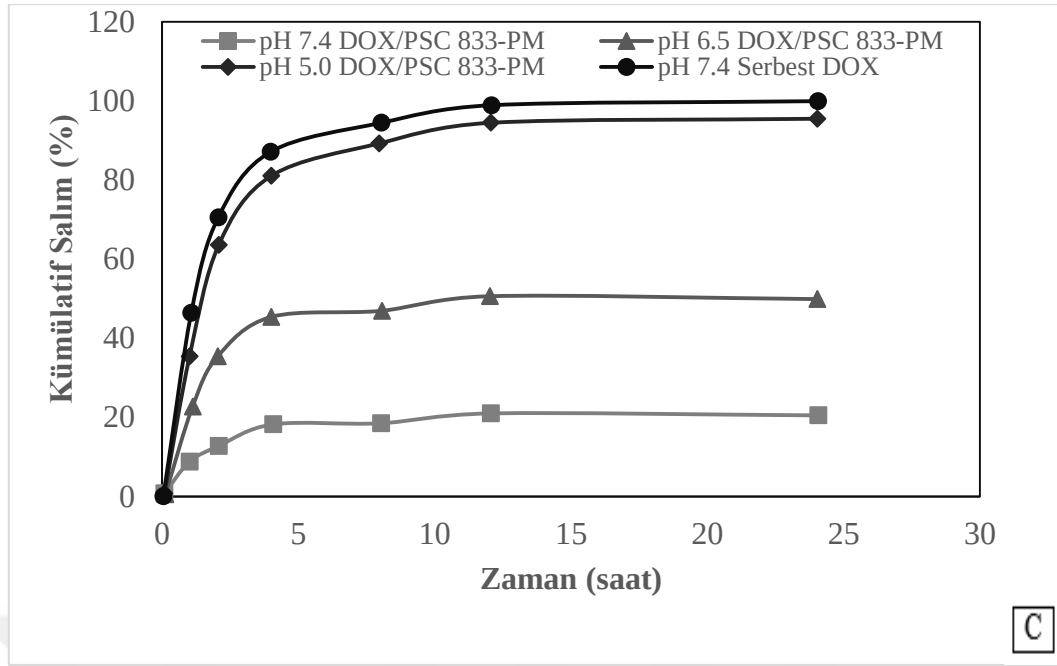
Ye vd. tarafından yürütülen bir çalışmada stearik asit, miselleri stabilize etmek ve doksorubisin patlama salımını azaltmak için stearik asit-aşılı kitosan polimerik misellerin çekirdeğinde fiziksel olarak çözünür hale getirilmiştir [304].

Emami vd. yaptıkları çalışmada α -TS'nin TS-CS miseller içerisine inkorporasyonunun sıkıca paketlenmiş bir hidrofobik çekirdeği oluşturmak üzere PTX ile misellerin çekirdeği arasındaki hidrofobik etkileşimi geliştirdiğini belirtmiştir [288]. Benzer bir şekilde bu çalışma TPGS 1000 veya PSC 833'ün DOX ile birlikte PCEC misellere eş-enkapsülasyonu ile elde edilmiştir.

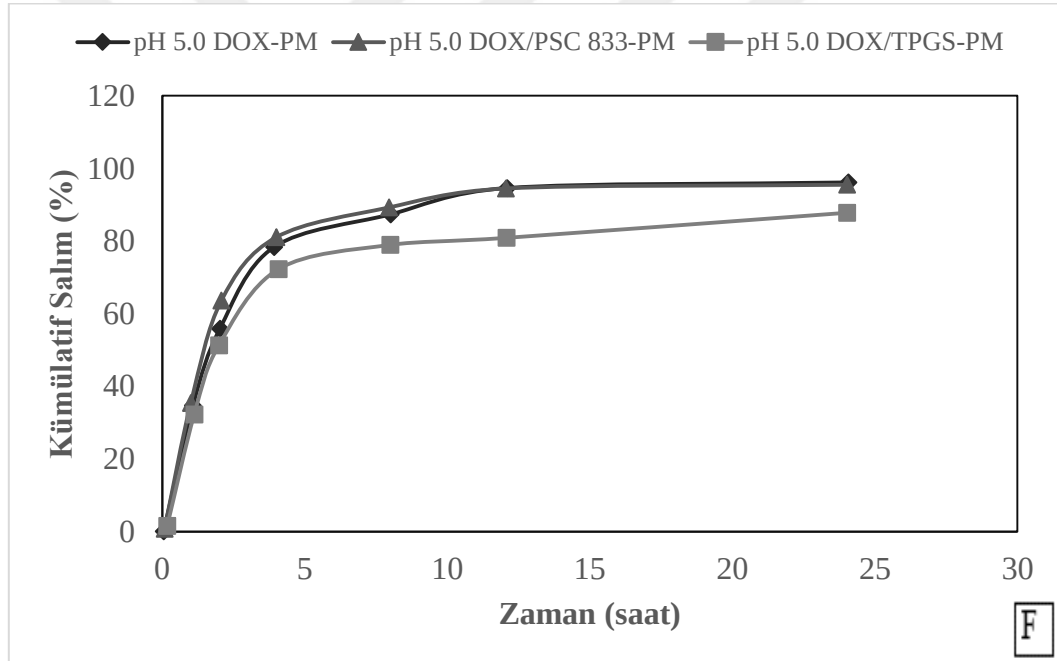
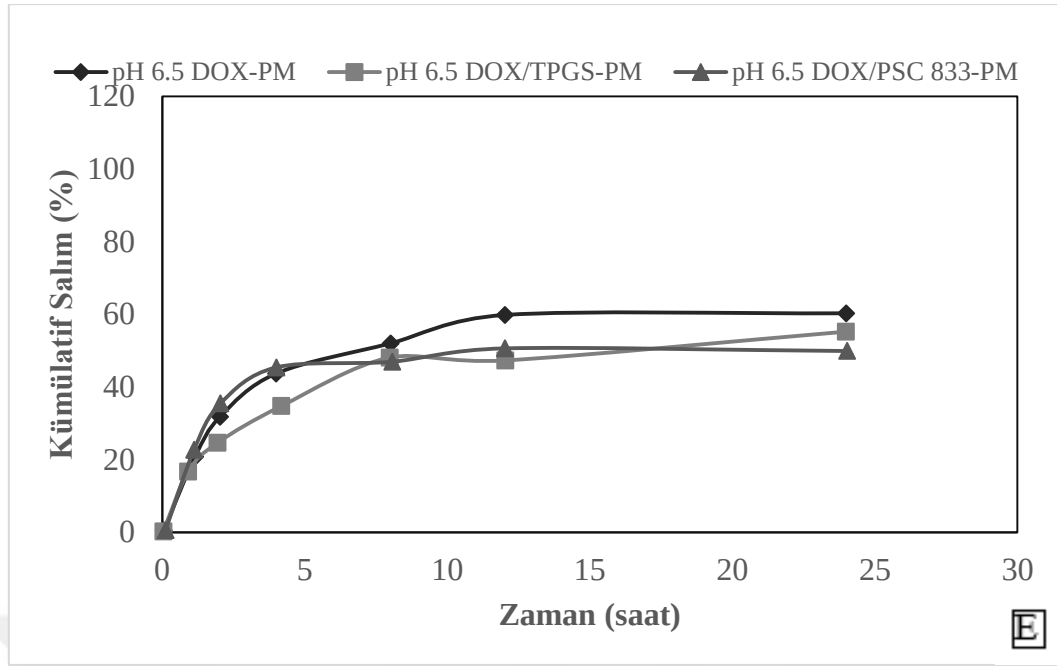
Mevcut çalışmada PCEC misellerin sırasıyla DOX ile PSC 833 veya TPGS 1000'in verimli eş-enkapsülasyonu ve eşzamanlı kontrollü salımı için formüle edilebileceği kanıtlanmıştır. Polimerik misel sistemin bu çok yönlülük özelliği kombinasyonel tedavilerin salımında yararlı olacaktır. Bu çalışma ile DOX yüklü, DOX/TPGS 1000 ve DOX/PSC 833 eş-yüklü PCEC polimerik miselleri DOX için sürekli ve yavaş bir salım davranışı göstermiştir. Şekil 4.28'de 24 saat için DOX'in DOX.HCl, DOX-PM, DOX/TPGS 1000-PM ve DOX/PSC 833-PM'den in vitro ilaç salım modeli gösterilmektedir.



Şekil 4. 28 37°C'de farklı pH değerlerine sahip PBS ortamında polimerik misellerden DOX'in in vitro salım profilleri: A. DOX-PM, B. DOX/TPGS 1000-PM, C. DOX/PSC 833-PM, D. pH 7.4, E. pH 6.5, F. pH 5.0



Şekil 4. 28 37°C'de farklı pH değerlerine sahip PBS ortamında polimerik misellerden DOX'ın in vitro salım profilleri: A. DOX-PM, B. DOX/TPGS 1000-PM, C. DOX/PSC 833-PM, D. pH 7.4, E. pH 6.5, F. pH 5.0 (devamı)



Şekil 4. 28 37°C'de farklı pH değerlerine sahip PBS ortamında polimerik misellerden DOX'in in vitro salım profilleri: A. DOX-PM, B. DOX/TPGS 1000-PM, C. DOX/PSC 833-PM, D. pH 7.4, E. pH 6.5, F. pH 5.0 (devamı)

DOX'in DOX-PM, DOX/TPGS 1000-PM ve DOX/PSC 833-PM'lerden in vitro salım profili çok küçük bir ilk patlama salımı ile 24 saate kadar sürdürülebilir bifazik bir salım göstermiştir (Şekil 4.28A-C). Geciktirme DOX/TPGS 1000-PM'lerde DOX-PM ve DOX/PSC 833-PM'lere göre daha belirgindi. Patlama etkisi burada toplam salınan DOX'e nazaran ilk 2 saatte salınan yüzde oran olarak tanımlanmıştır çünkü tüm misel numuneleri ilk 2 saatte bariz bir DOX salımı göstermiştir. Tüm numuneler misellerin

yüzey absorpsiyonundan ötürü patlama salım etkisine sahipti. DOX-PM, DOX/TPGS 1000-PM ve DOX/PSC 833-PM'nin pH 7.4'te patlama etkisi sırasıyla %17, %17 ve %13 idi ve bunlar genellikle pH'nın azalması ile artmıştır. Bu durum ilaç yüklü PCEC miselleri ile uzatılmış salım süresi ve azaltılmış uygulama sıklığı elde edilebileceğini göstermektedir.

37°C'de polimerik misellerden DOX'in in vitro salım davranışları; kan ortamını taklit eden pH 7.4'te ve tümörle ilgili hücre dışı ortamda (pH 6.5) ve endo/lizozom taklit şartları altında (pH 5.0) diyaliz yöntemi ile araştırılmıştır. PBS (pH = 6.5) tümör mikro ortamını taklit edebilir çünkü tümörlerdeki hücre dışı pH normal dokudan daha düşüktür. pH = 5.0 lizozom ortamını taklit etmek için kullanılır ve nanoparçacıkların endositozunu araştırabilir [305].

pH 7.4'te (Şekil 4.28D) miseller sıkıydı, DOX salımı yavaş ve sürdürülebilirdi daha sonra DOX salım profilleri bir platoya ulaşmıştır. Ortamda DOX serbest bırakılmadığından 24 saatlik salım çalışmasından sonraki örnek almalar ile plato fazına ulaşıldığı varsayılmıştır. Bu, DOX yüklü polimerik misellerin fizyolojik koşullar altında misel yapısını koruduğunu ve sistematik dolaşım sırasında uygun kararlılık sergilediğini göstermiştir. Şekil 4.28D'de gösterildiği gibi DOX'in başlangıçtaki 2 saat boyunca yaklaşık %17, %13 ve %17'si sırasıyla DOX-PM, DOX/TPGS 1000-PM ve DOX/PSC 833-PM'den salınmıştır. Bundan sonra DOX salım profilleri bir platoya ulaşmıştır. 24 saat için ise DOX'in yaklaşık %25'i (DOX-PM), %21'i (DOX/TPGS 1000-PM) ve %22'si (DOX/PSC 833-PM) misellerden salınmıştır. Bununla birlikte bu koşullar altında DOX'in hidrofobikliği ilacın çoğunun misellerin içinde kalmasına katkıda bulunmuştur [306].

Bununla birlikte pH 6.5'te DOX salımı pH 7.4'e nazaran hızlanmıştır. Şekil 4.28E'de gösterildiği gibi başlangıçtaki 2 saat boyunca DOX'in yaklaşık %32, %25 ve %35'i sırasıyla DOX-PM, DOX/TPGS 1000-PM ve DOX/PSC 833-PM'den salınmıştır. Bundan sonra DOX salım profilleri bir platoya ulaşmıştır. 24 saat için ise DOX'in yaklaşık %60'ı (DOX-PM), %55'i (DOX/TPGS 1000-PM) ve %50'si (DOX/PSC 833-PM) misellerden salınmıştır.

İlaç salım hızı pH 6.5'e kıyasla çok daha hızlı olmasına rağmen benzer bir durum pH 5.0'da gözlenmiştir (Şekil 4.28F). Bu durum düşük pH koşullarında polimerik misellerin gevşek ve/veya kararsız hale geldiğini ve DOX salımının son derece hızlandığını ispat

etmiştir. Başlangıçtaki 2 saat boyunca DOX'in yaklaşık %56, %51 ve %64'ü sırasıyla DOX-PM, DOX/TPGS 1000-PM ve DOX/PSC 833-PM'den salınmıştır. Bundan sonra DOX salım profilleri bir platoya ulaşmıştır. 24 saat sonra misellerden salınan ilaç yüzdesi pH 5.0'da DOX-PM ve DOX/PSC 833-PM için sırayla %96 ve 95'i bulurken DOX/TPGS 1000-PM'den (%88) salınan DOX'tan daha yüksek oranlarda çıkmıştır.

Asit-duyarlı DOX salımı için iki yararlı etki olacaktır: (1) tümör hücrelerinin çevresinde biriktirildikten sonra DOX pasif hücre salım için asidik katı tümör mikro ortamında seçici olarak misellerden ayrılabilir ve salınabilir, (2) ve daha da önemlisi bozunmamış miseller nonspesifik endositoz yoluyla tümör hücreleri tarafından alınacak ve tercihen DOX'in ayrılabilmesi, endozomdan kaçabileceği ve hücre sıvısından salınabileceği asidik endozom bölmelerinde bulunacaktır [307].

Tuguntaev vd. yaptığı çalışmada DOX'in izoelektrik noktasının (PI) 9.06 olduğunu bu nedenle pH'ı 7.4'ten 5.5'e düşürmenin DOX moleküllerinin pozitif yükünde bir artışa ve dolayısıyla aralarında elektrostatik itmeye yol açtığını bunun da ilacın misellerden salımına neden olduğunu ifade etmiştir [149]. Bununla birlikte asit halindeki DOX'in hidrofilitesinin artması DOX'in hızlı bir şekilde salımına neden olmuştur [308].

Beklendiği gibi üç misel sisteminden DOX'in salımı belirgin olarak pH bağımlılığı göstermiştir ve azalan pH ile kademeli olarak hızlandırılmıştır (Şekil 4.28A-C). Tüm miseller için aynı pH'da benzer salım modelleri gözlenmiştir (Şekil 4.28D-F).

Eş-salım sisteminin DOX salım profilleri tek başına DOX'in salım sistemindeki salım profiline benzerdi. DOX-PM ile karşılaştırıldığında PSC 833 (DOX/PSC 833-PM) eklemesiyle elde edilen karışım pH 5.0-7.4'te DOX salımını etkilememiştir (Şekil 4.28D-F). TPGS 1000'in (DOX/TPGS 1000-PM) karıştırılması pH 6.5'te (Şekil 4.28E) ve pH 7.4'te (Şekil 4.28D) misel kararlılığını korurken pH 5.0'da (Şekil 4.28F) miselin stabilizasyonunu yavaşça zayıflatmıştır. PCEC polimerik miseli DOX salımını kontrol edebilmiş ve DOX, TPGS 1000 ve PSC 833 birbirlerinin salım davranışlarını etkilememiştir.

DOX yüklü misellerin büyük bir bölümünün damar içi uygulamadan sonra plazmada oldukça çok sürede misel çekirdeğinde kalacağı ve kan dolaşımında DOX tutulma süresini uzatma potansiyeline sahip olacağı beklenmektedir [13]. İlaç salımının gecikmesi, tümör alanındaki terapötik ilacın birikimi artarken sağlıklı dokuların maruz kalma durumunu en aza indirmek için ilaç taşıyıcı olarak potansiyel uygulamasını ima

etmektedir [15]. Bu sonuçlar, tümöre ait ve endo/lizozomal asidik pH hedefleme ilaç salımının hedef tümör dokusundaki ve endo/lizozomlardaki hızlı DOX salımını tetikleyebileceği sonucunu güçlendirmiştir. Bu pH-tetiklemeli hızlı ilaç salımı hücre içi serbest ilaç konsantrasyonunu önemli ölçüde arttırabilir ve bu nedenle iki ajanın sinerjik etkisi ile tümör hücrelerini etkili bir şekilde öldürebilir [306]. Kısacası yürütülen bu çalışmadaki polimerik misellerin bu salım davranışı kan dolaşımında zamanından önce salınan ilaç miktarı önemli ölçüde en aza indirilebileceğinden ve böylece misellerin endositoz yoluyla bir kez içselleştirildiğinde kanser hücrelerini etkili bir şekilde öldürmek için yeterli miktarda ilaç sağladığından dolayı son derece avantajlıdır böylece normal dokudaki spesifik olmayan DOX salımını en aza indirecek ve serbest DOX kan dolaşımı sırasında istenmeyen yan etkiler ile kalp sitotoksitesine neden olmayacaktır.

İlacın salım sisteminden kontrollü salımı tedaviye ait etkinliğini belirleyen önemli bir durumdur. İlaç kontrollü salım vücudun dışına ilaç eliminasyonuna yol açan enzimlerden ilacı korumaya yardımcı olur. Bu çalışma pH 7.4'te 24 saatte DOX'in yaklaşık %20-25'inin DOX-PM, DOX/TPGS 1000-PM ve DOX/PSC 833-PM'lerden salındığını ve en az %75-80 oranında DOX'in enzim bozunmasından veya hidrolitik bozunmadan korunabildiğini önermiştir. İlaç salım hızı ilacın tümörde yerleştikten sonra ilacın biyolojik etkilerini de belirler. DDNS'ler ilaç içeriğini doku birikimi hızına kıyasla hızlı bir şekilde serbest bırakırsa terapötik etkinlikleri bozulabilir [141].

Shuai vd. yaptığı çalışmada Kataoka vd.'nin DOX yüklü PEG-PBLA kopolimer miselleri ile DOX'in asidik koşullarda daha hızlı salındığını gözlemlediklerini belirtmiştir bunun muhtemelen DOX'in amino grubunun yeniden protonasyonuna ve düşük pH'da misel çekirdeğinin daha hızlı bozunmasına bağlı olduğu ifade edilmiştir [309].

Jin vd. meme kanseri tedavisi için doksorubisin (Dox)- ve tiyoridazin (Thio)- eşyüklü metoksi poli(etilen glikol)-poli(L-laktik asit) (MPEG-PLA) nanopartikülleri hazırlamıştır. Thio ve Dox'in her ikisi de NP'lerden pH 7.4'te pH 5.5'e göre daha yavaş salınmıştır. pH-bağlı salım davranışı Dox'in amino grubunun deprotonasyonuna ve düşük pH'da MPEG-PLA NP'lerin daha hızlı bozunmasına bağlıydı [310].

Oliveira vd. yaptığı çalışmada doksorubisin ve α -Tokoferol süksinatı (TS) eş-yükleyen katı lipid nanopartikülleri (SLN) geliştirmeyi amaçlamış ve düşük pH'da SLN'den doksorubisin salımının arttığını belirtmiştir [311].

Charrois ve Allen farklı ilaç salım hızlarına sahip pegile lipozomal doksorubisin formülasyonlarının sıçan meme kanserinde farklı farmakokinetik, biyodağılım ve terapötik aktivite başlattığını bildirmiştir [312]. Bununla birlikte yalnızca in vitro ilaç salım verilerine dayanan uygun bir ilaç salım hızının saptanması zordur. Her türlü ilaç salım sistemi ve her hastalık türü için klinik verilere dayanmalıdır [141].

Kontrol olarak serbest DOX'in salımı ilaç moleküllerinin diyaliz membranı boyunca difüzyonunun salım işlemi boyunca hız sınırlayıcı bir adım olmadığını doğrulamak için incelenmiştir. Serbest DOX'in hızlı bir şekilde salındığı ve pH 7.4'te ilk 2 saatte toplam %71'e ulaştığı gözlenmiştir. Şekil 4.28A'dan görülebileceği gibi DOX'in DOX-PM, DOX/TPGS 1000-PM ve DOX/PSC 833-PM'den in vitro ilaç salımı serbest DOX çözeltisinden daha fazla sürdürülebilirdi. Serbest doksorubisin ile karşılaştırıldığında PCEC polimerik misellerden çok daha yavaş doksorubisin salımı polimerik misellerin moleküler yapısal özelliklerine atfedilebilir. Örneğin serbest DOX 24 saat içerisinde hemen hemen tamamen salınırken DOX-PM, DOX/TPGS 1000-PM ve DOX/PSC 833-PM'ler DOX'in sırasıyla sadece %25, %22 ve 21'ini serbest bırakmıştır.

Bu çalışmada en düşük salım hızındaki numune olan DOX/TPGS 1000-PM ile bile toplam yüklenen ilacın yaklaşık %22'si 24 saat içinde misellerden ayrılmıştır. PCL ve onun kopolimerlerinin bozunmasının hem in vitro hem de in vivo koşullarda 2 yıldan uzun sürdüğü bilinmektedir [23], [198], [313], [314] bu nedenle bu polimerik miselin bu çalışmanın zaman dilimi içinde önemli ölçüde bozunması beklenmemektedir. Bu yüzden salımın bozunmaya nazaran ağırlıklı olmak üzere başka mekanizmalar tarafından yürütüldüğü varsayılmaktadır. Bu nedenle polimerik misellerden ilaç difüzyonu ana salım mekanizması olabilir [68]. Bir ester grubunu içeren amfifilik kopolimer misellerden ilacın salımı ester bağlarının hidroliz parçalanması ve ilacın difüzyonuna bağlıydı [208]. Hidroliz ve ilacın difüzyonu hidrofobik veya hidrofilik zincir uzunluğu ile pH veya ortam sıcaklığı tarafından kontrol edildi [180], [206], [315].

Bu çalışmada DOX ilk iki saat hızlı bir salım yapmıştır. Bu aşamada difüzyon mekanizması büyük rol oynayabilir. Benzer şekilde çözünme prensibine göre miseller hidrofilik bir PEG kabuğuyla çevrelenmiş bir hidrofobik çekirdeğe sahip bir çekirdek-kabuk morfolojisi sergilemiştir. Hidrofobik bir ilaç olan DOX hidrofobik çekirdek içinde daha fazla yükleme göstermiş ancak misellerin yüzeysel tabakalarında bulunan kısmı çözünmüş ve daha kolaylıkla difüze olmuş ilk hızlandırılmış salıma neden olmuştur [11], [316]. Daha sonra DOX'in salım hızı yavaşlamıştır bunun da difüzyondan ziyade

misellerin bozunmasının bu aşamada rol oynaması nedeniyle olabileceği düşünülmüştür. PCL-PEG-PCL nanoparçacıklarının bozunmasının yüzey erozyonu ve yığın patlamasının kombinasyon etkilerinden kaynaklandığı ve canlı ortamda birkaç ay alabileceği bildirilmiştir [317]. Bu nedenle DOX'in 12 saat sonra salım hızı çok yavaştı ancak salım yine de devam etmiştir. Daha sonraki salım çekirdek içindeki daha güçlü yüklemeye, çözelti permeasyonuna ve kopolimer bozunmasına bağlı olarak içindeki DOX'in kolayca çözünmediğini göstermiştir, bu durum şişmeyi ve dolayısıyla ilacın difüzyonunu engellemiştir. Daha sonraki sürdürülebilir salım DOX'in ilaç difüzyonuyla yavaş salımından önce misel çekirdeğinde dengeli biçimde tutulabildiğini göstermiştir. Benzer bir sonuç Chen vd.'nin yaptığı bir çalışmada elde edilmiştir [318]. Bu nedenle kopolimerik miseller farklı terapötik hedeflere ulaşmada hidrofobik ilaçların kontrollü salımı için son derece hassas ve seçici nano sistemler olarak kalabilirler.

4.8.5 Eş-Yüklü Polimerik Misellerin Formülasyon Özellikleri

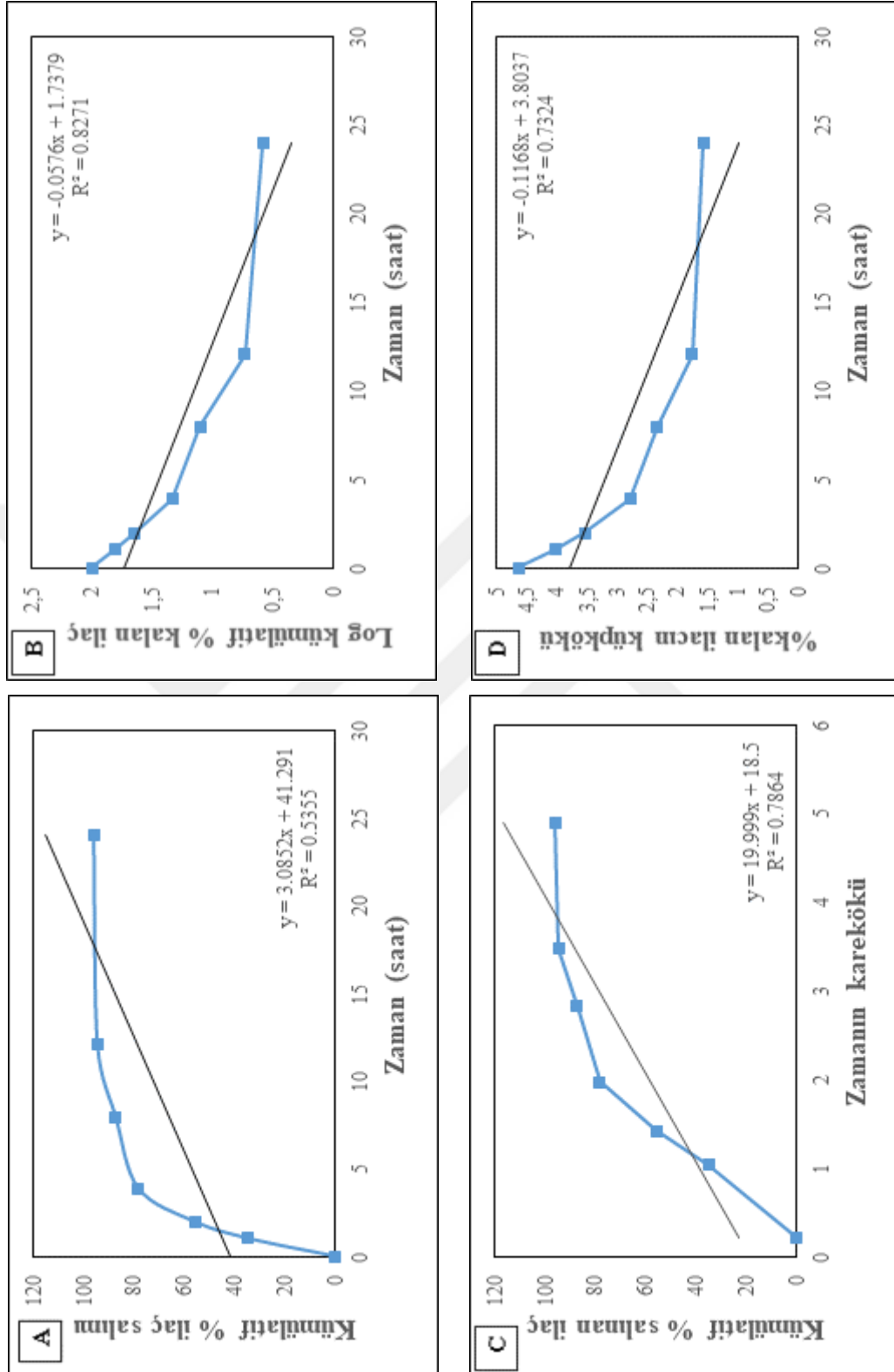
Birleştirilmiş formülasyon (DOX/TPGS 1000-PM ve/veya DOX/PSC 833-PM) kapsülleme içeriğini tek ilaç yüklü formülasyonunkilere yakın olarak sunmuştur. Formülasyonun tek bir ajandan ikili ajana değiştirilmesi parçacığın boyut veya zeta potansiyelinde herhangi bir anlamlı değişikliğe neden olmamıştır (Çizelge 4.5). Mevcut çalışmada polimerik misellerin DOX ve PSC 833 veya DOX ve TPGS 1000'in etkin eş-yüklemesi için formüle edilebileceği kanıtlanmıştır.

Gao vd. yaptıkları çalışmada hem CsA hem de DOX'in P-gp'lerin substratları olduğunu ve P-gp'ler ile taşınabileceğini belirtmiştir. CsA'nın P-gp'lere rekabetçi bir şekilde bağlanarak DOX'in çıkışını engellediğini ifade etmiştir. CsA'nın DOX ile tümör hücrelerine eşzamanlı olarak yerleştiğinde sadece DOX birikimini arttırabileceği belirtilmiştir. Böylece CsA ve DOX'in lipozomlarda tutulması ve iki ilacın benzer salım özellikleri her iki ilacın da aynı anda tümör alanına ulaşacağını ve serbest bırakılacağını garanti etmektedir [319]. Bu çalışmada da CsA türevi olan PSC 833 için aynı sonuçlar gözlenmiştir.

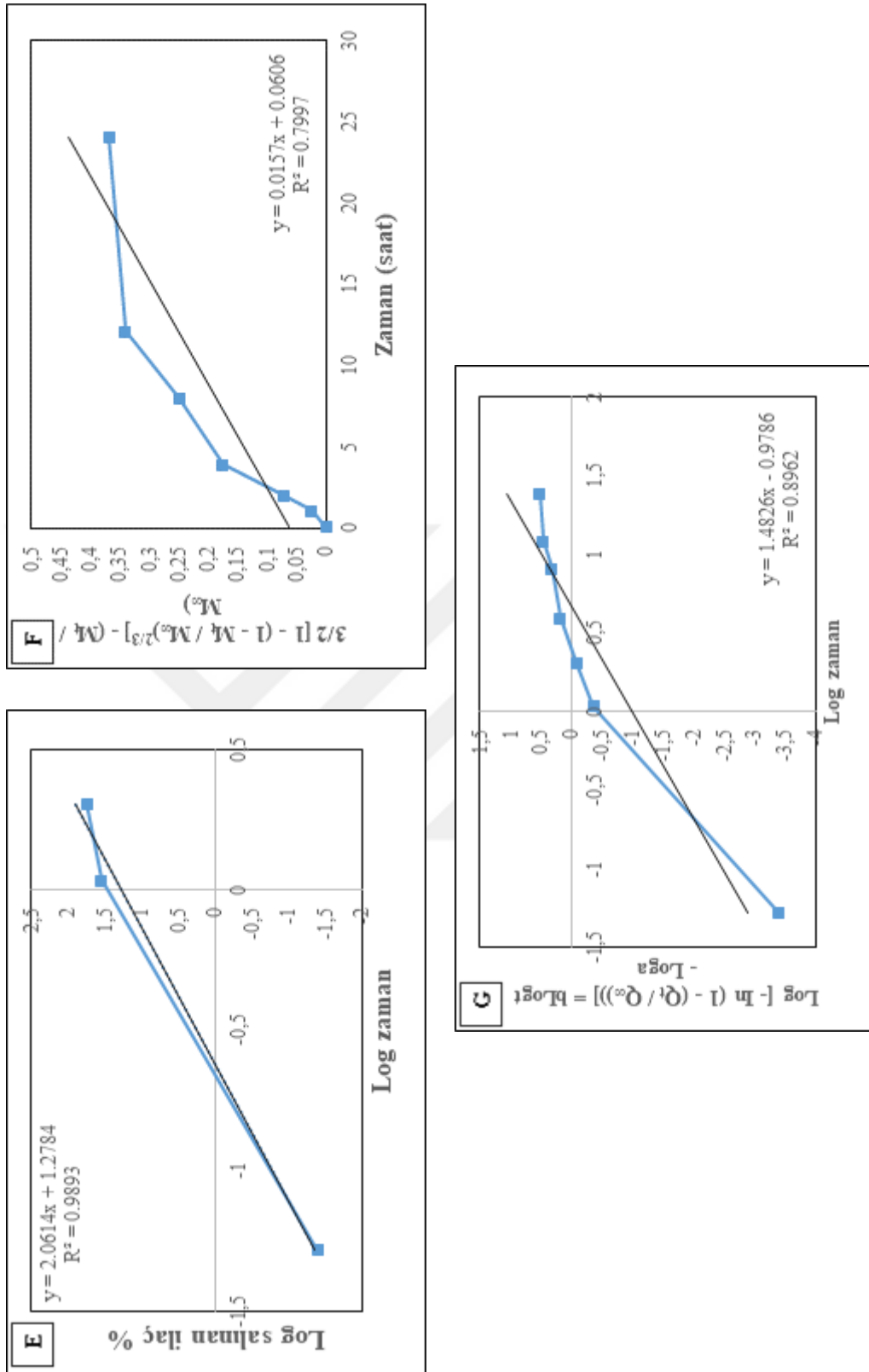
Mevcut çalışmada PCEC'nin DOX ile TPGS 1000 veya PSC 833'ün etkin eş-yüklemesi ve aynı zamanda eşzamanlı salımı için formüle edilebileceği ispat edilmiştir. Ek olarak polimerik misel sistemine çok yönlülük kazandıran bir polimerin kullanılmasıyla farklı su-çözünürlükleri ve yapıları olan çeşitli kemoduyarlaştırıcılar ve sitotoksik bileşiklerin polimerik miselde eş-yüklenilmesinin mümkün olacağı gösterilmiştir.

4.9 İlaç Salım Kinetiği

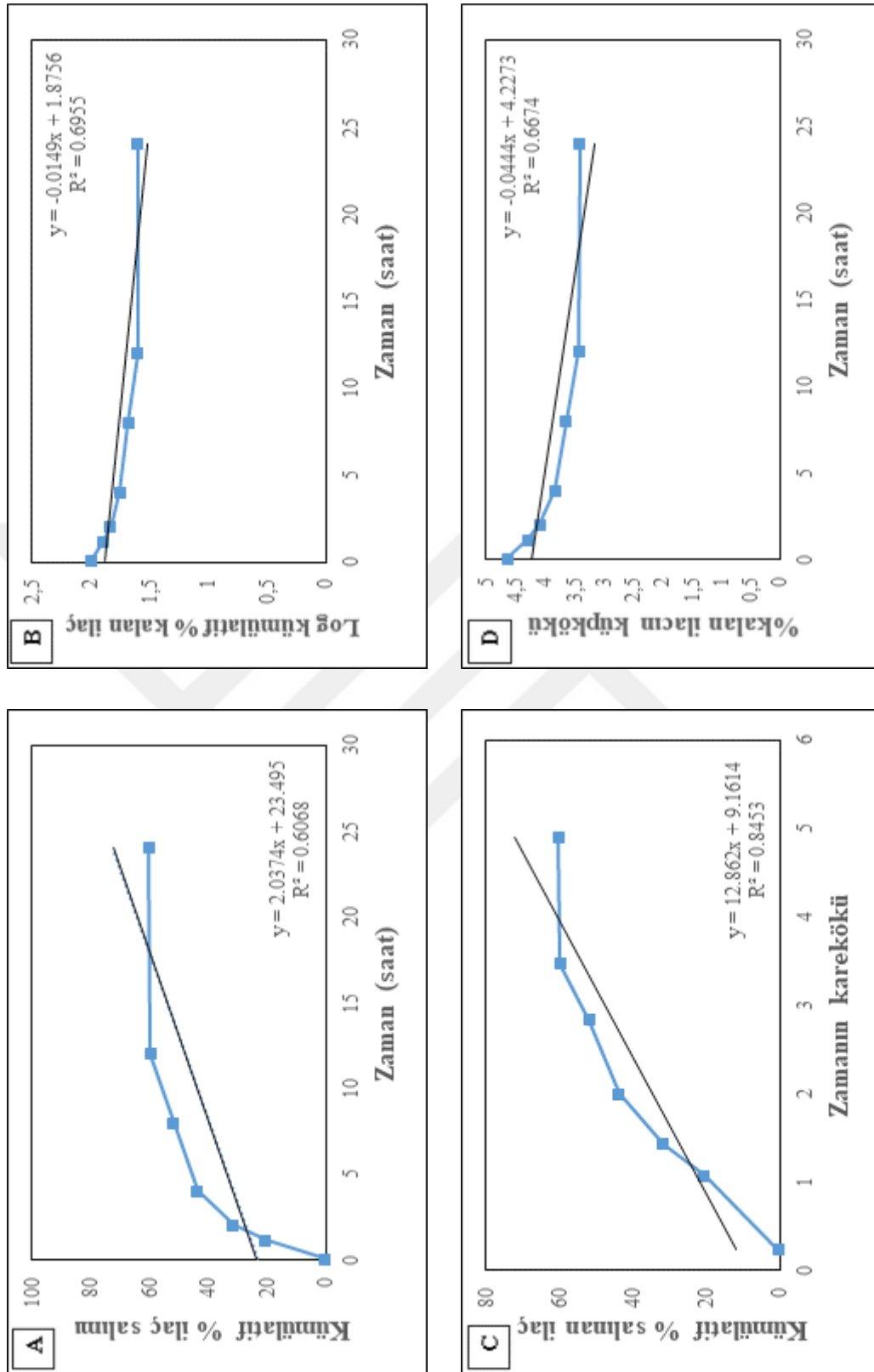
Matematiksel modeller bir dozaj formundan ilaç salım mekanizmasının açıklanmasında hayati bir rol oynamaktadır. Bir dozaj formunun ilaç salım kinetiğini anlamak için önemli bir araçtır. İlaç salım mekanizmasını daha kesin olarak tanımlamak için sıfırıncı-derece kinetiği, birinci-derece kinetiği, Higuchi, Hixson-Crowell ve Korsmeyer-Peppas güç kanunu olarak adlandırılan daha kapsamlı ama yine de çok basit yarı deneysel formülasyonlar vardır [320], [321]. Ana araç ve en iyi tanımlayıcı ilaç salım fenomenlerinin birlikte olduğu salım modelleri genel olarak Higuchi, sıfırıncı-derece, Weibull ve Korsmeyer-Peppas modelidir [163]. Böylece salım kinetiği ve polimerik ilaçlardan salım mekanizmasını analiz etmek için ilaç salım verileri bu kinetik modellere yerleştirilmiştir. İlacın salım davranışını açıklamak için en iyi korelasyon katsayısı değerleri baz alınarak en uygun model seçilmiştir. İlaç salım kinetikleri Şekil 4.29-4.37'de görüldüğü gibi pH 5.0, pH 6.5 ve pH 7.4 ortamlarında farklı kinetik modellerle gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlar R^2 , k_0 , k_1 , k_H , k_{HC} , k_{KP} , k_{BL} , b , T_d ve n değerleri ile birlikte Çizelge 4.6'da listelenmiştir.



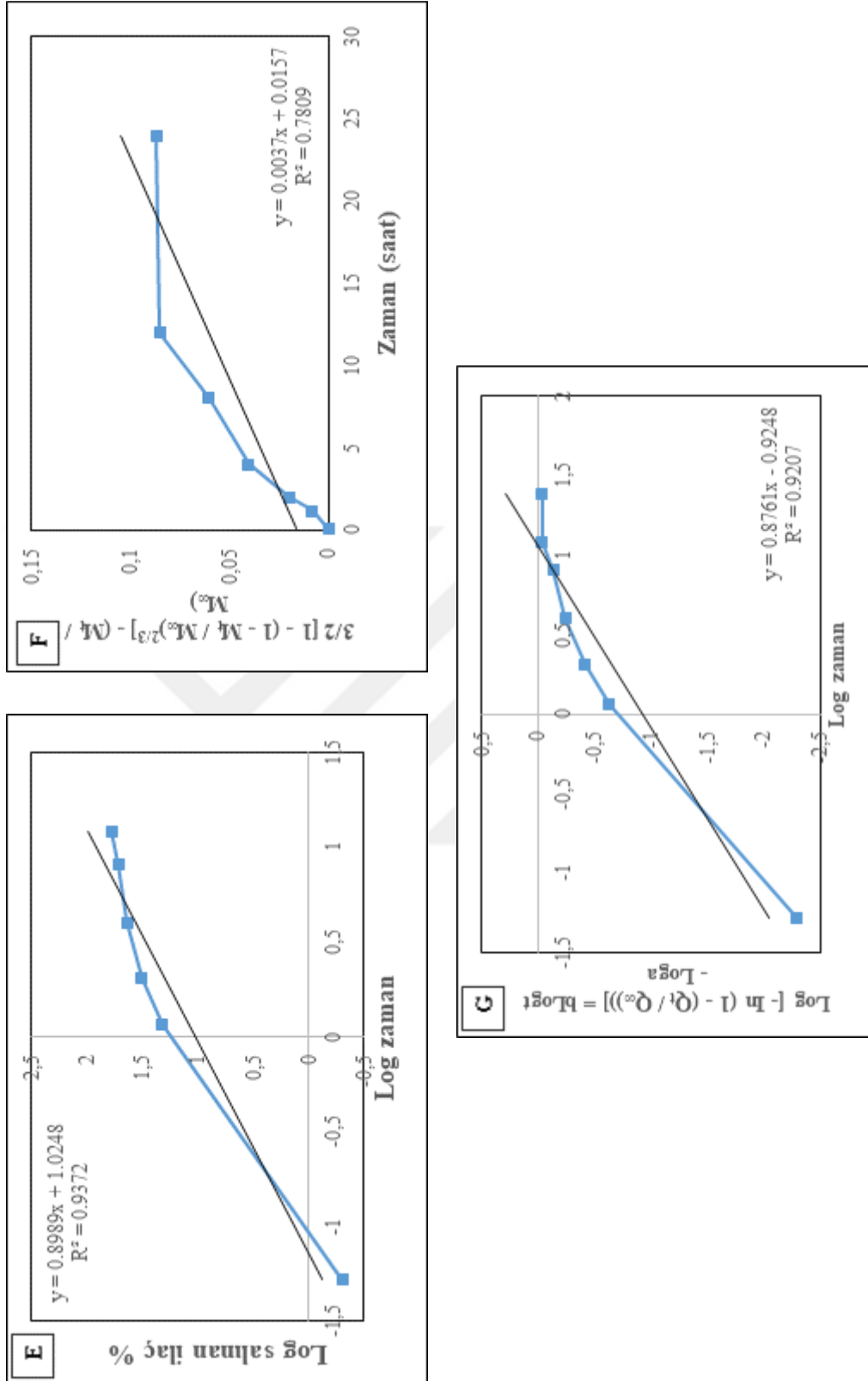
Şekil 4. 29 DOX yüklü PCEC polimerik misellerden farklı modellerle pH 5.0'da DOX salım kinetiği: A. Sıfırıncı-derece, B. Birinci-derece, C. Higuchi, D. Hixson-Crowell, E. Korsmeyer-Peppas, F. Baker-Lonsdale, G. Weibull



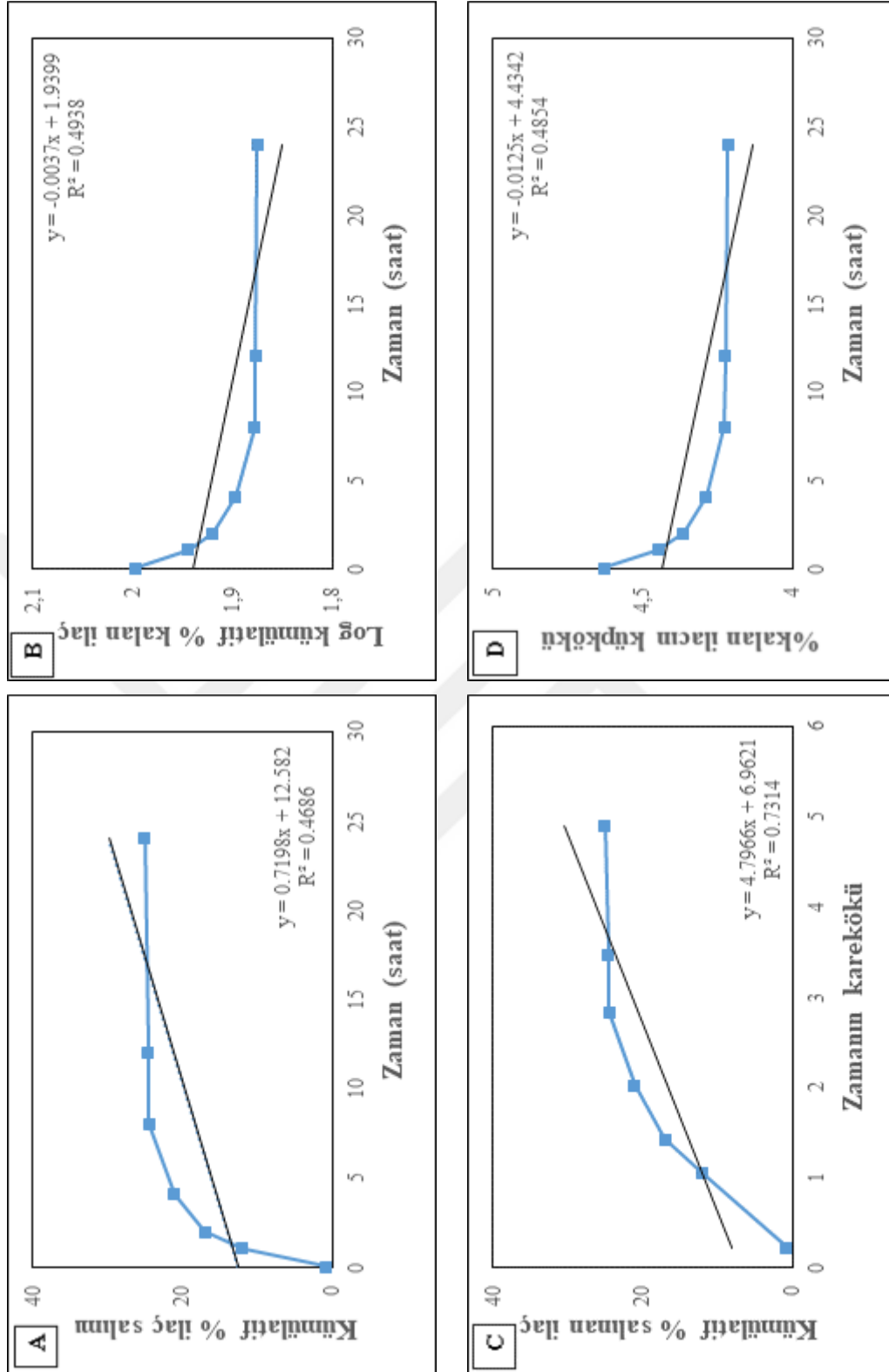
Şekil 4. 29 DOX yüklü PCEC polimerik misellerden farklı modellerle pH 5.0’da DOX salım kinetiği: A. Sıfırıncı-derece, B. Birinci-derece, C. Higuchi, D. Hixson-Crowell, E. Korsmeyer-Peppas, F. Baker-Lonsdale, G. Weibull (devamı)



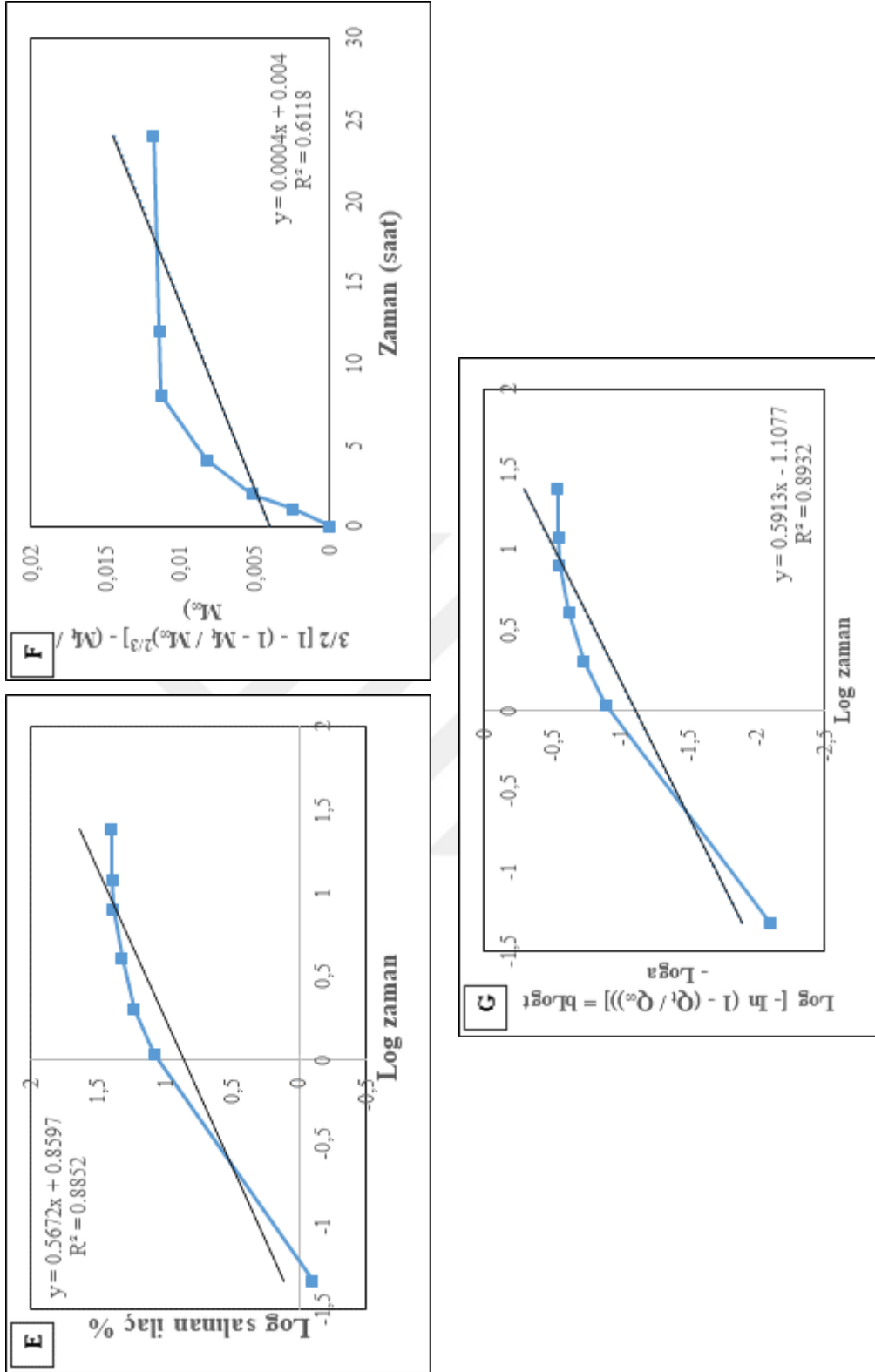
Şekil 4. 30 DOX yüklü PCEC polimerik misellerden farklı modellerle pH 6.5'te DOX salım kinetiği: A. Sıfırıncı-derece, B. Birinci-derece, C. Higuchi, D. Hixson-Crowell, E. Korsmeyer-Peppas, F. Baker-Lonsdale, G. Weibull



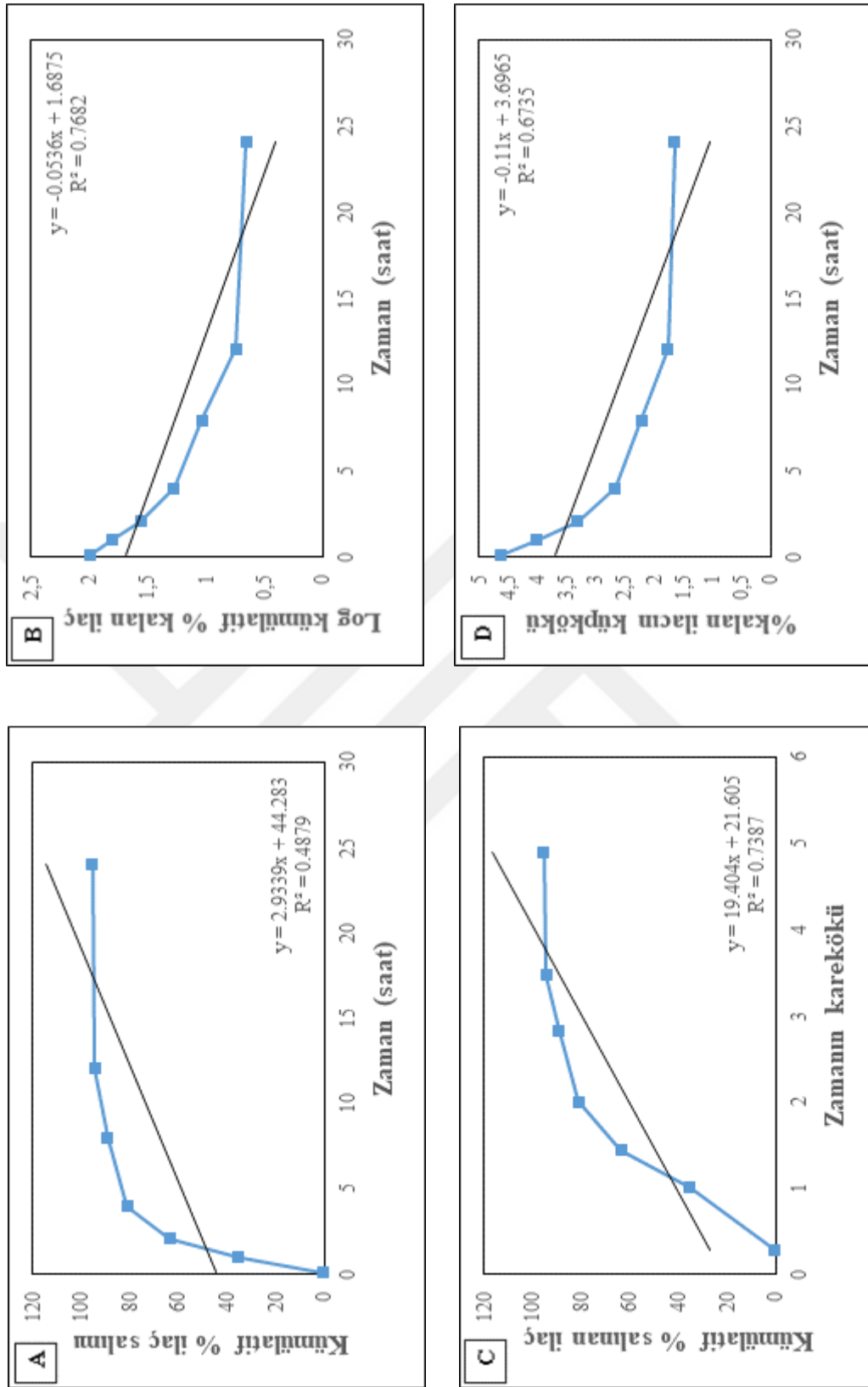
Şekil 4. 30 DOX yüklü PCEC polimerik misellerden farklı modellerle pH 6.5'te DOX salım kinetiği: A. Sıfırıncı-derece, B. Birinci-derece, C. Higuchi, D. Hixson-Crowell, E. Korsmeyer-Peppas, F. Baker-Lonsdale, G. Weibull (devamı)



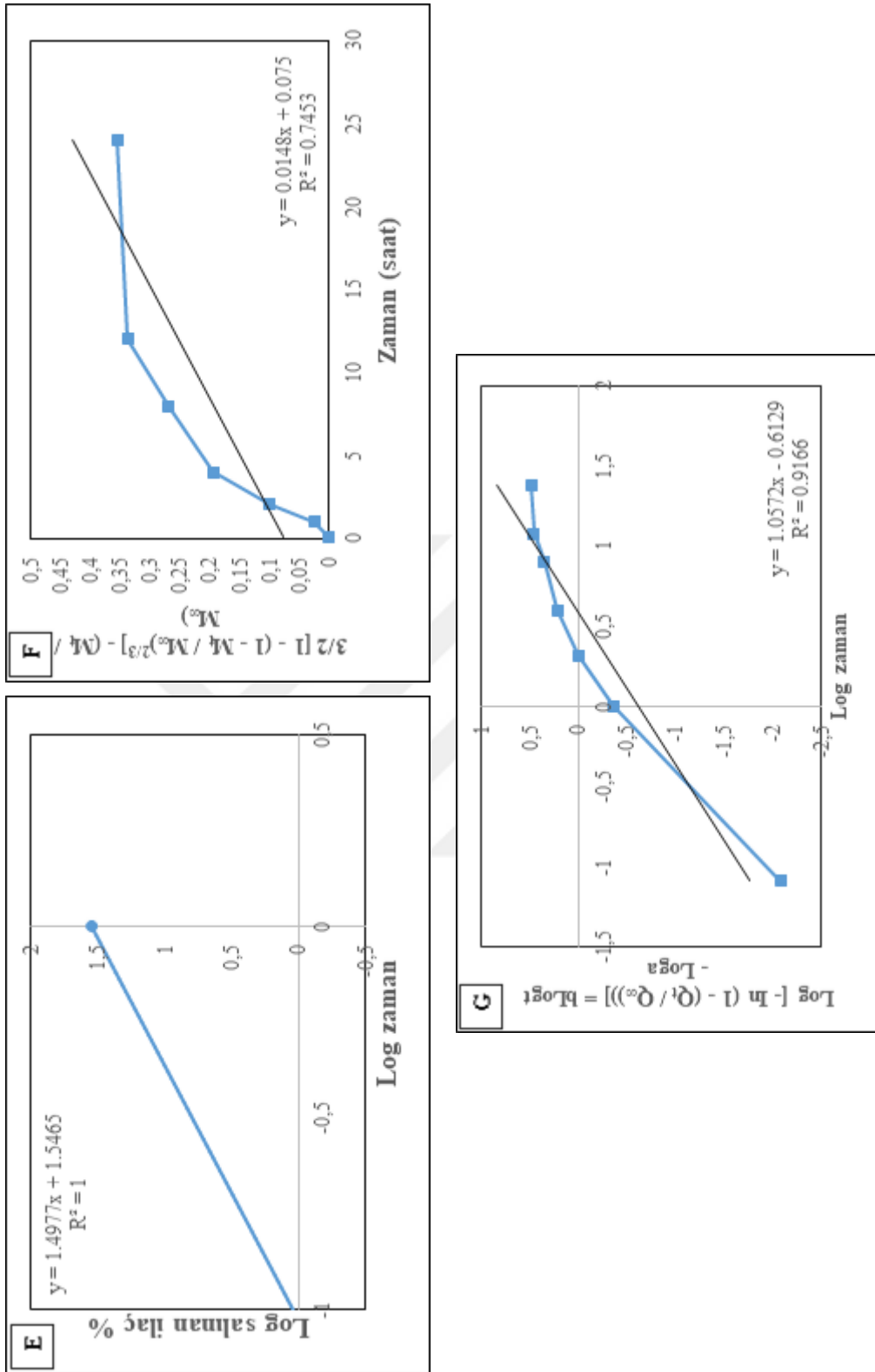
Şekil 4. 31 DOX yüklü PCEC polimerik misellerden farklı modellerle pH 7.4'te DOX salım kinetiği: A. Sıfırıncı-derece, B. Birinci-derece, C. Higuchi, D. Hixson-Crowell, E. Korsmeyer-Peppas, F. Baker-Lonsdale, G. Weibull



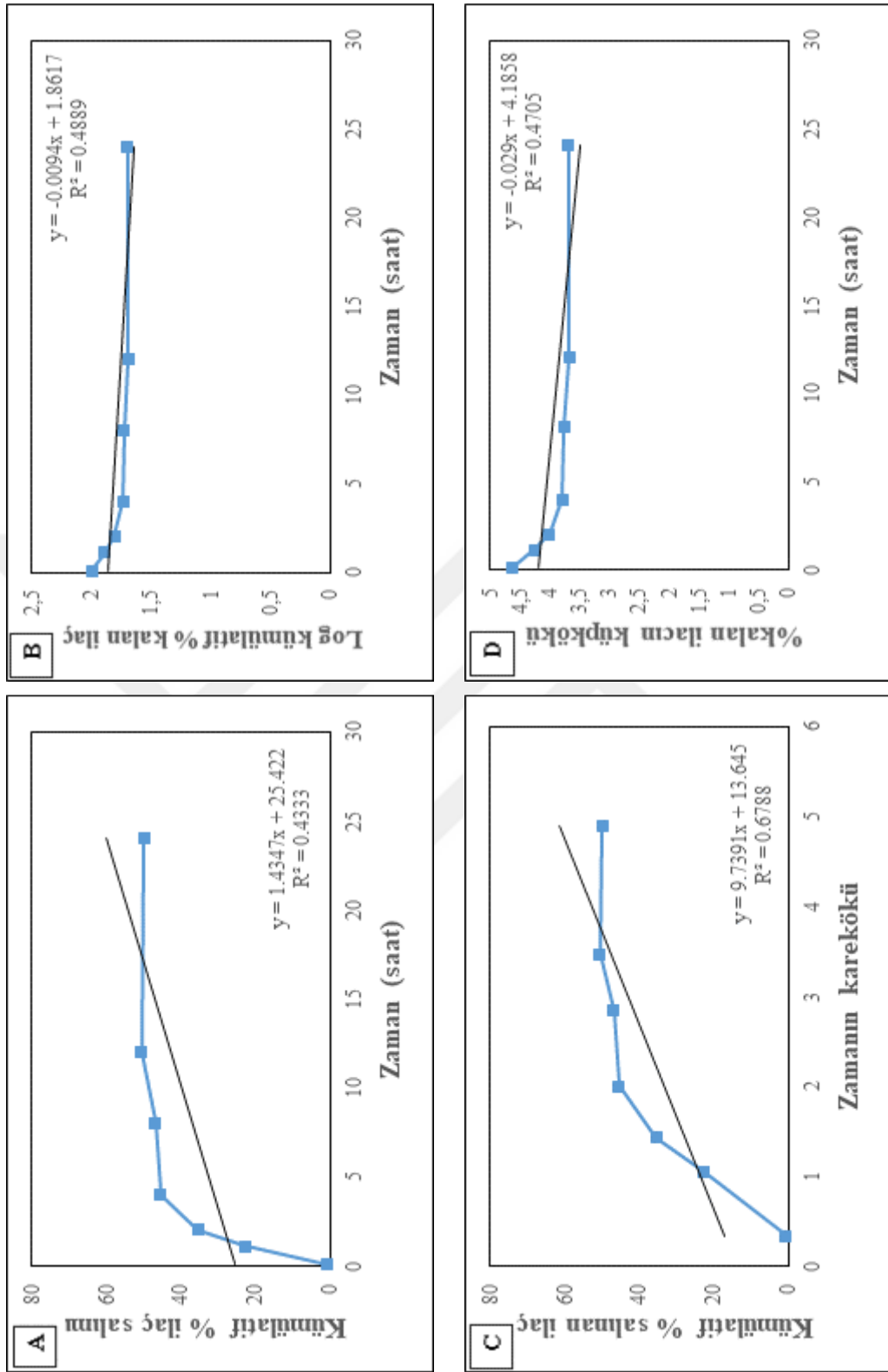
Şekil 4. 31 DOX yüklü PCEC polimerik misellerden farklı modellerle pH 7.4'te DOX salım kinetiği: A. Sıfırıncı-derece, B. Birinci-derece, C. Higuchi, D. Hixson-Crowell, E. Korsmeyer-Peppas, F. Baker-Lonsdale, G. Weibull (devamı)



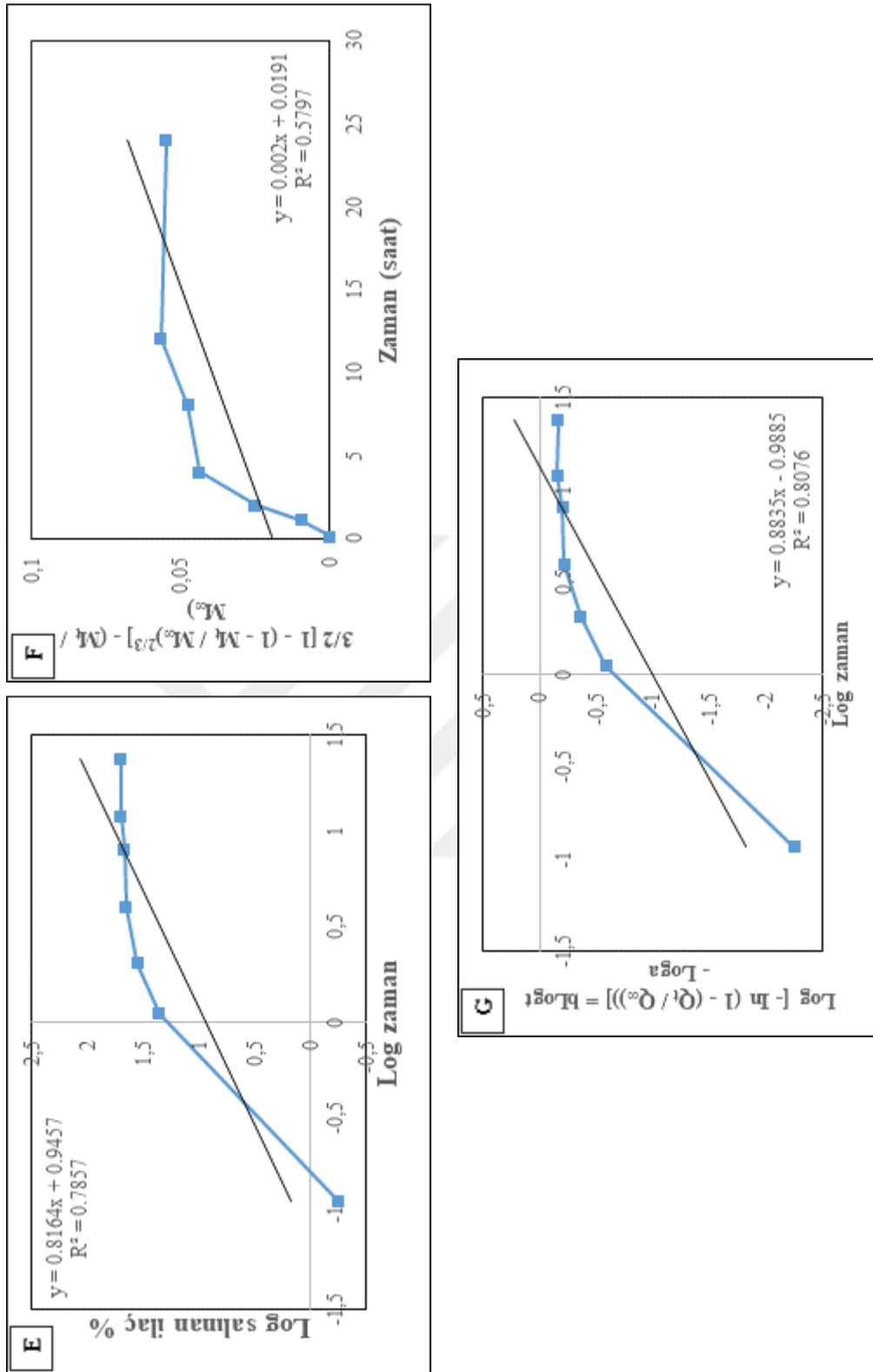
Şekil 4. 32 DOX/PSC 833 yüklü PCEC polimerik misellerden farklı modellerle pH 5.0'da DOX salım kinetiği: A. Sıfırıncı-derece, B. Birinci-derece, C. Higuchi, D. Hixson-Crowell, E. Korsmeyer-Peppas, F. Baker-Lonsdale, G. Weibull



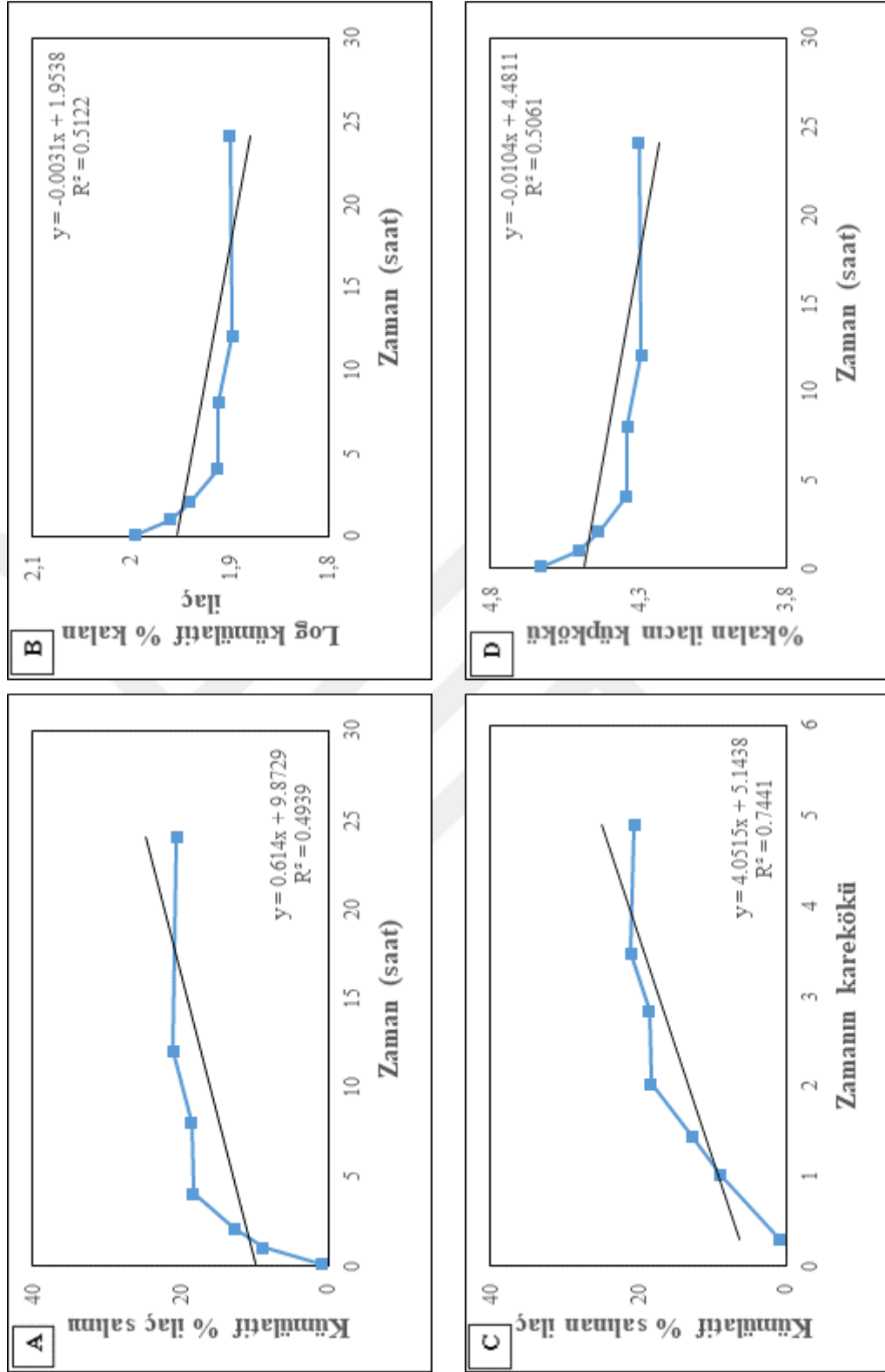
Şekil 4. 32 DOX/PSC 833 yüklü PCEC polimerik misellerden farklı modellerle pH 5.0’da DOX salım kinetiği: A. Sıfırıncı-derece, B. Birinci-derece, C. Higuchi, D. Hixson-Crowell, E. Korsmeyer-Peppas, F. Baker-Lonsdale, G. Weibull (devamı)



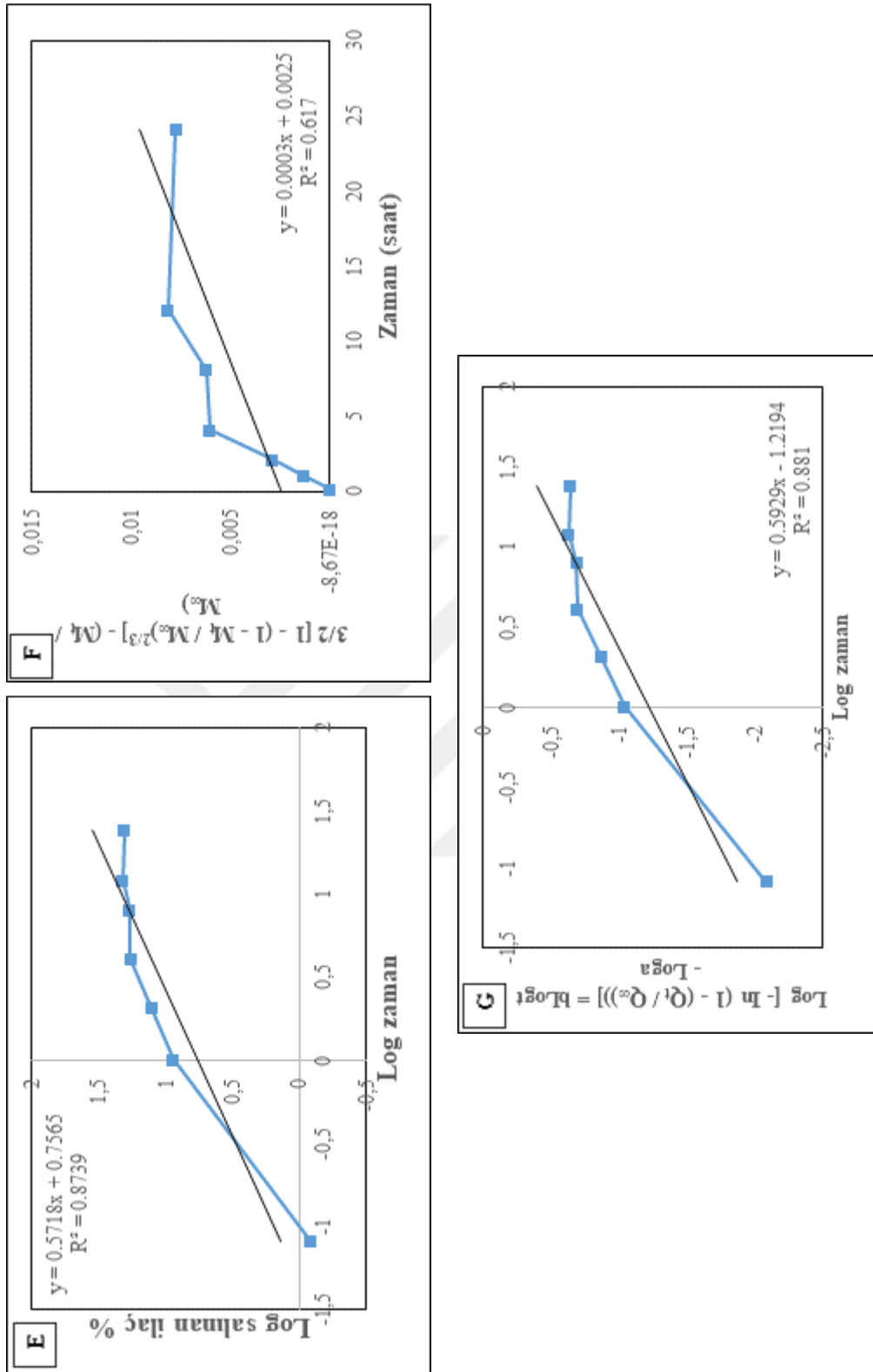
Şekil 4. 33 DOX/PSC 833 yüklü PCEC polimerik misellerden farklı modellerle pH 6.5'te DOX salım kinetiği: A. Sıfırıncı-derece, B. Birinci-derece, C. Higuchi, D. Hixson-Crowell, E. Korsmeyer-Peppas, F. Baker-Lonsdale, G. Weibull



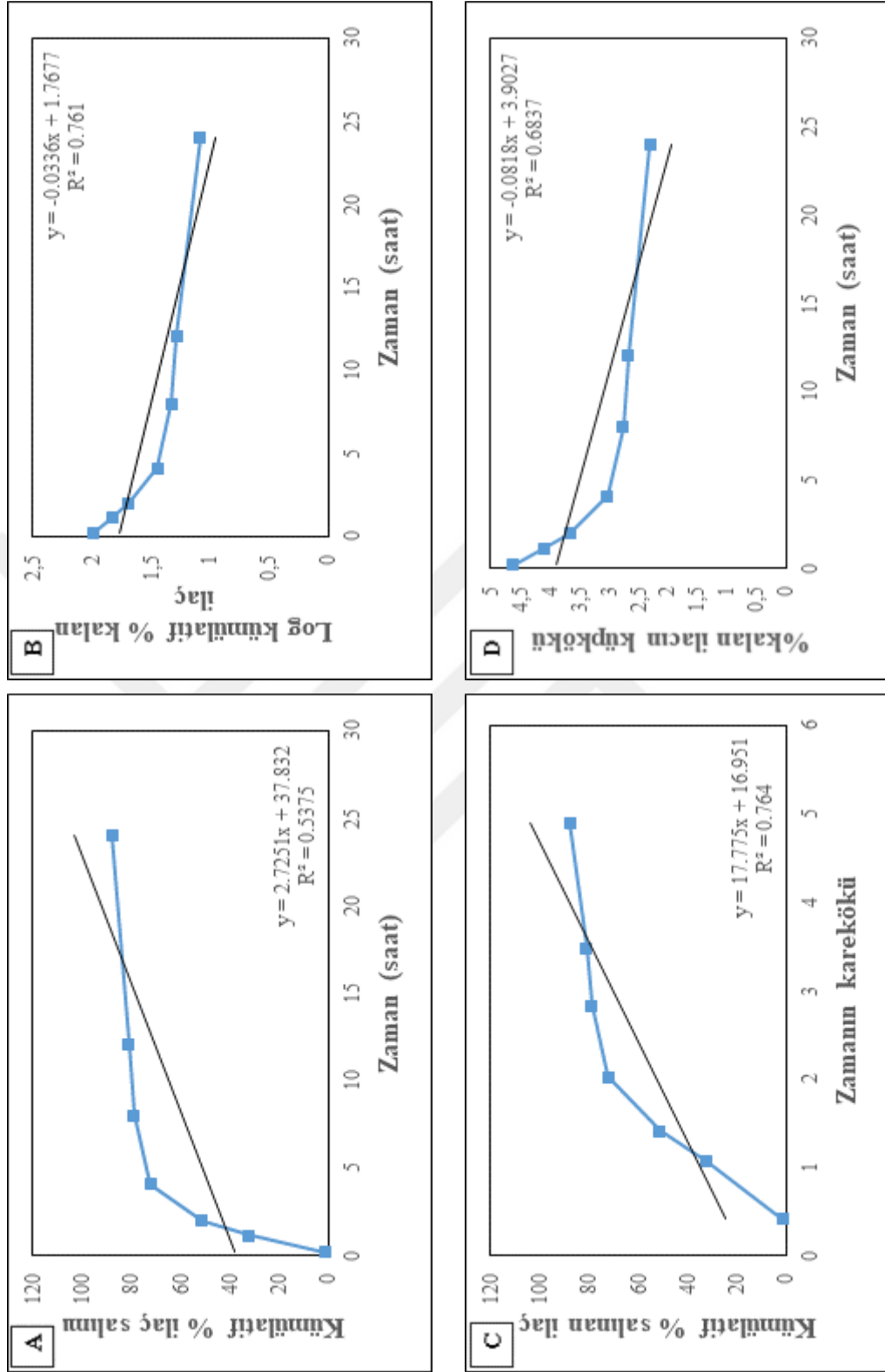
Şekil 4. 33 DOX/PSC 833 yüklü PCEC polimerik misellerden farklı modellerle pH 6.5'te DOX salın kinetiği: A. Sıfırıncı-derece, B. Birinci-derece, C. Higuchi, D. Hixson-Crowell, E. Korsmeyer-Peppas, F. Baker-Lonsdale, G. Weibull (devamı)



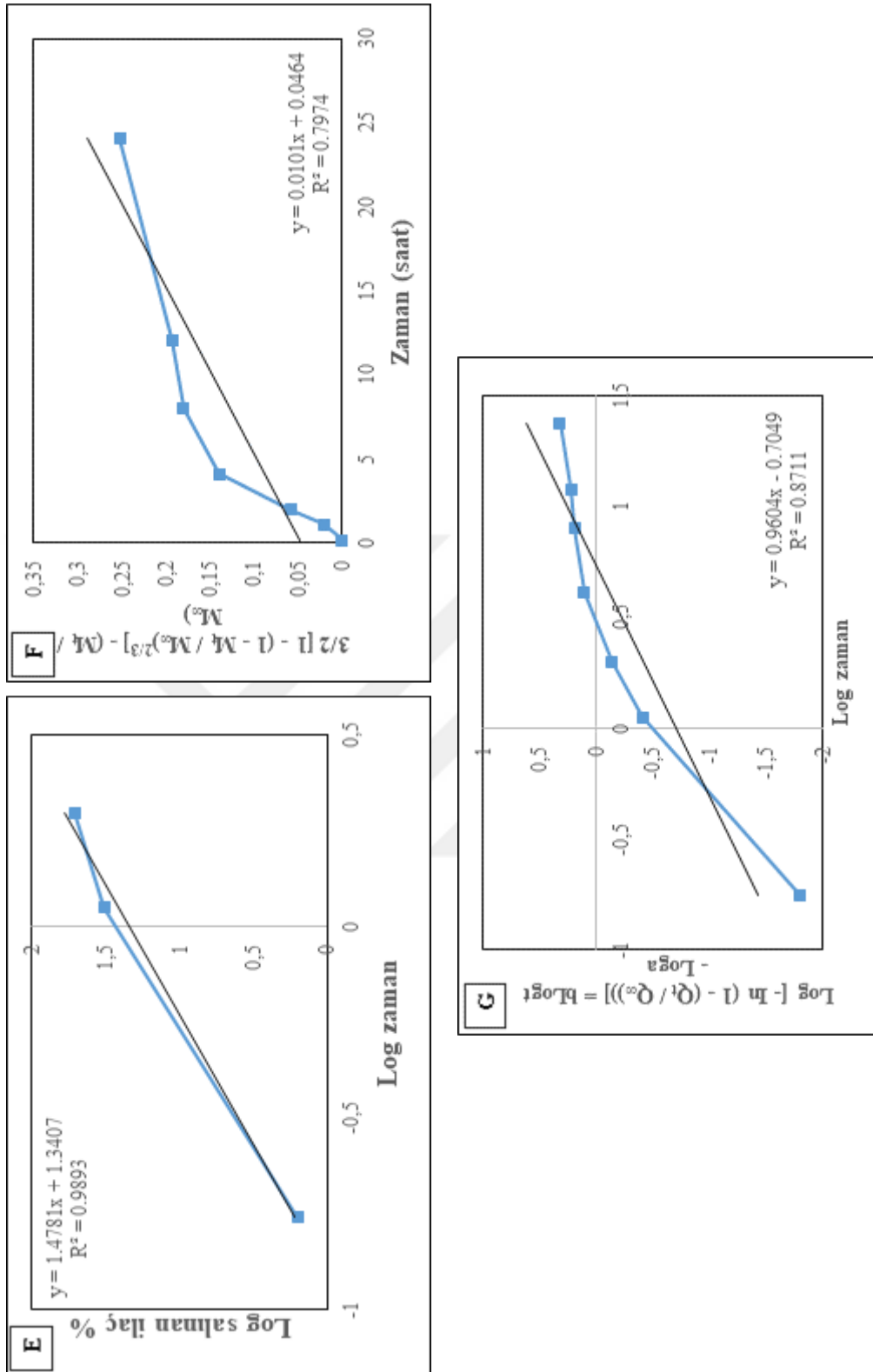
Şekil 4. 34 DOX/PSC 833 yüklü PCEC polimerik misellerden farklı modellerle pH 7.4'te DOX salım kinetiği: A. Sıfırıncı-derece, B. Birinci-derece, C. Higuchi, D. Hixson-Crowell, E. Korsmeyer-Peppas, F. Baker-Lonsdale, G. Weibull



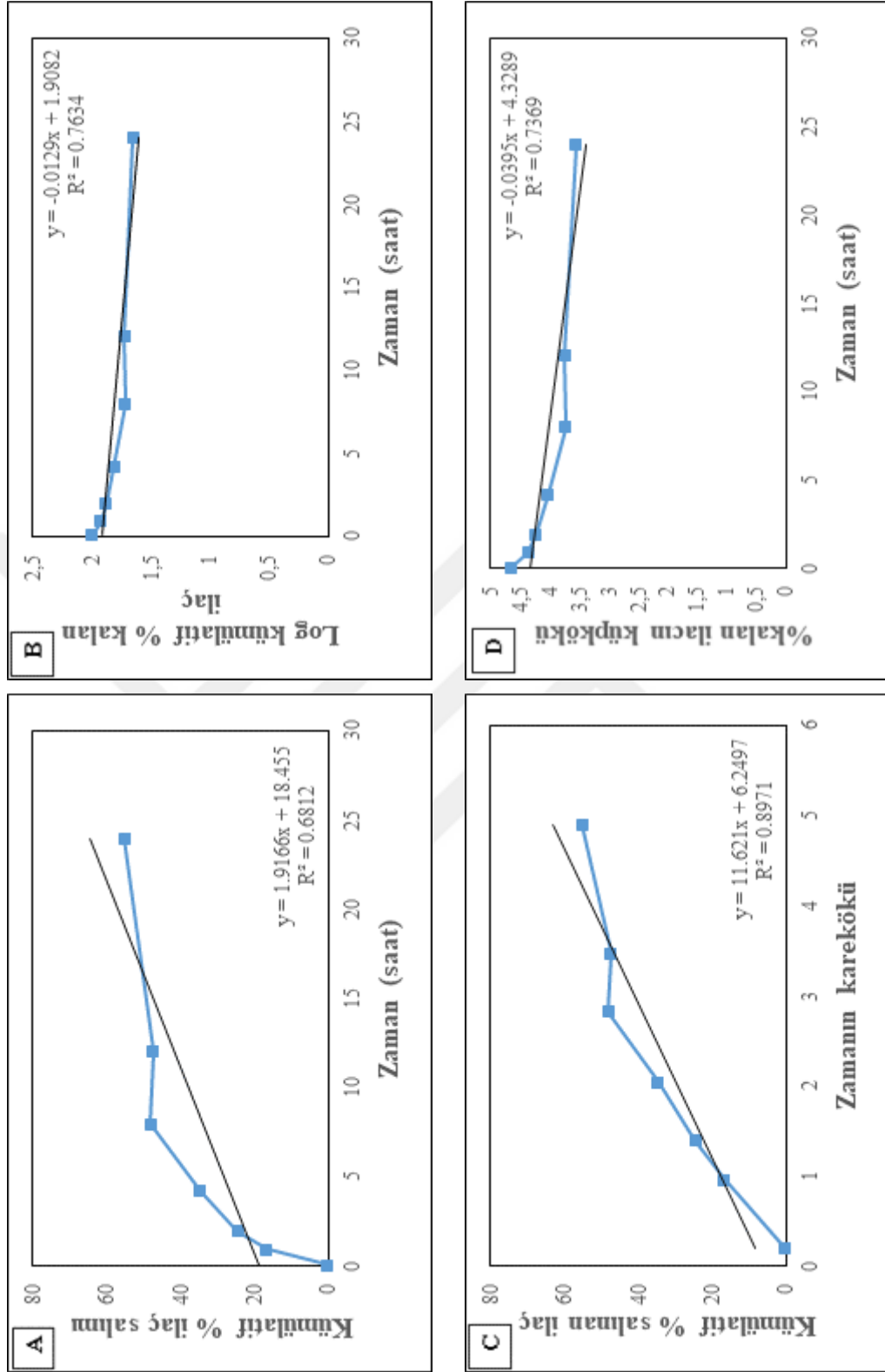
Şekil 4. 34 DOX/PSC 833 yüklü PCEC polimerik misellerden farklı modellerle pH 7.4'te DOX salım kinetiği: A. Sıfırıncı-derece, B. Birinci-derece, C. Higuchi, D. Hixson-Crowell, E. Korsmeyer-Peppas, F. Baker-Lonsdale, G. Weibull (devamı)



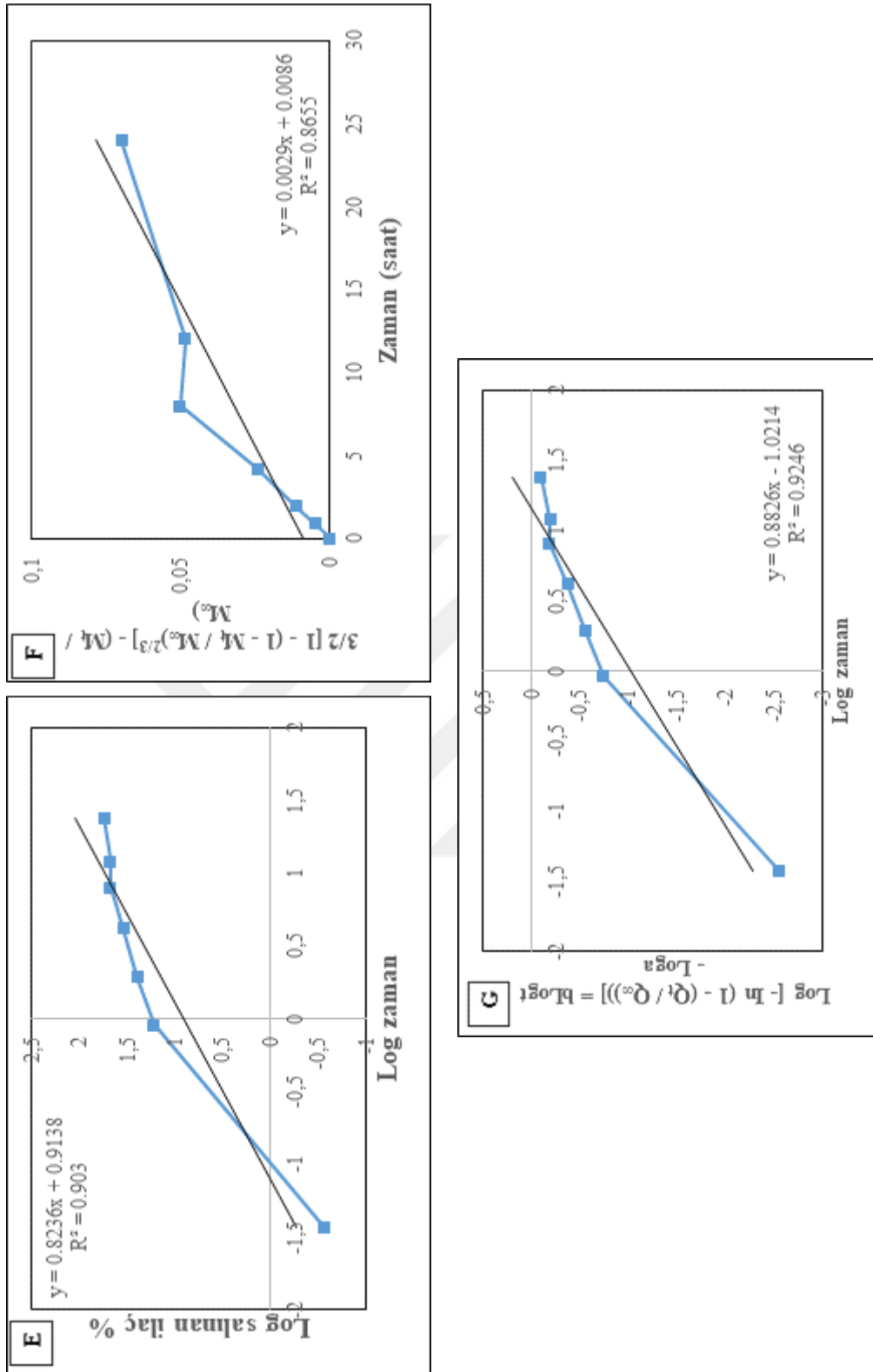
Şekil 4. 35 DOX/TPGS 1000 yüklü PCEC polimerik misellerden farklı modellerle pH 5.0'da DOX salım kinetiği: A. Sıfırıncı-derece, B. Birinci-derece, C. Higuchi, D. Hixson-Crowell, E. Korsmeyer-Peppas, F. Baker-Lonsdale, G. Weibull



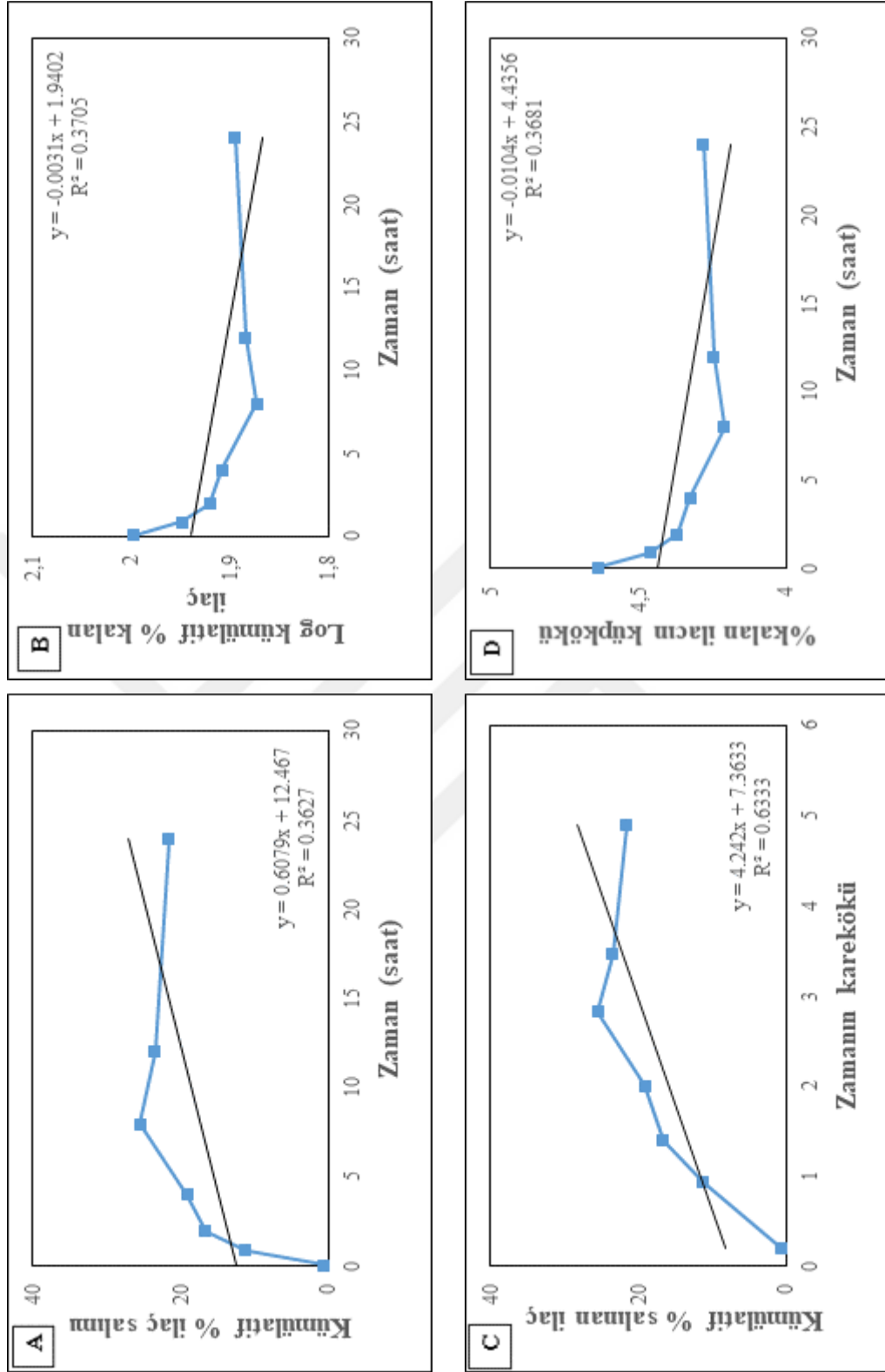
Şekil 4. 35 DOX/TPGS 1000 yüklü PCEC polimerik misellerden farklı modellerle pH 5.0'da DOX salım kinetiği: A. Sıfırıncı-derece, B. Birinci-derece, C. Higuchi, D. Hixson-Crowell, E. Korsmeyer-Peppas, F. Baker-Lonsdale, G. Weibull (devamı)



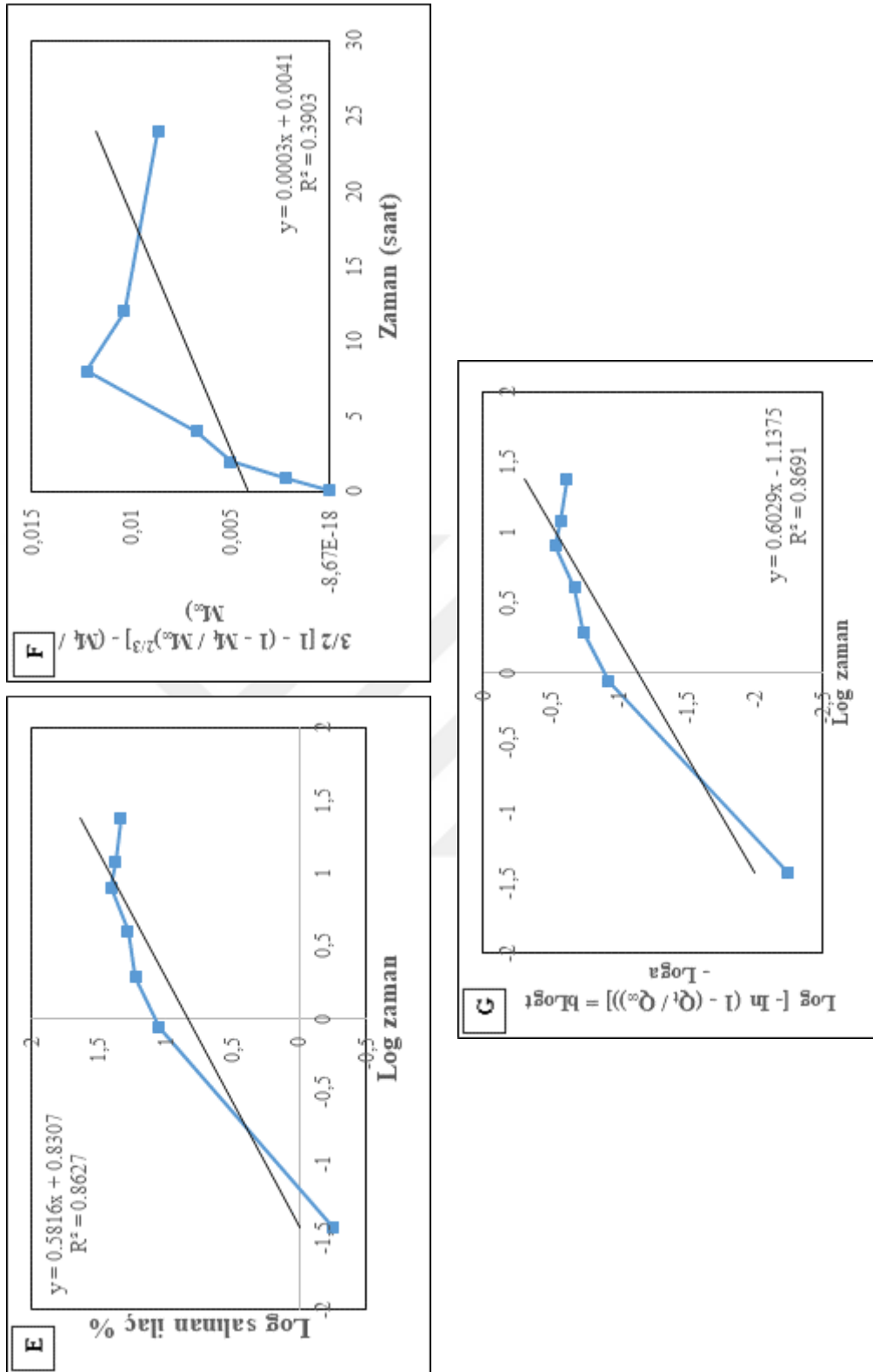
Şekil 4. 36 DOX/TPGS 1000 yüklü PCEC polimerik misellerden farklı modellerle pH 6.5'te DOX salım kinetiği: A. Sıfırıncı-derece, B. Birinci-derece, C. Higuchi, D. Hixson-Crowell, E. Korsmeyer-Peppas, F. Baker-Lonsdale, G. Weibull



Şekil 4. 36 DOX/TPGS 1000 yüklü PCEC polimerik misellerden farklı modellerle pH 6.5'te DOX salım kinetiği: A. Sıfırıncı-derece, B. Birinci-derece, C. Higuchi, D. Hixson-Crowell, E. Korsmeyer-Peppas, F. Baker-Lonsdale, G. Weibull (devamı)



Şekil 4. 37 DOX/TPGS 1000 yüklü PCEC polimerik misellerden farklı modellerle pH 7.4'te DOX salım kinetiği: A. Sıfırıncı-derece, B. Birinci-derece, C. Higuchi, D. Hixson-Crowell, E. Korsmeyer-Peppas, F. Baker-Lonsdale, G. Weibull



Şekil 4. 37 DOX/TPGS 1000 yüklü PCEC polimerik misellerden farklı modellerle pH 7.4'te DOX salım kinetiği: A. Sıfırıncı-derece, B. Birinci-derece, C. Higuchi, D. Hixson-Crowell, E. Korsmeyer-Peppas, F. Baker-Lonsdale, G. Weibull (devamı)

Çizelge 4. 6 DOX yüklü ve DOX/PSC 833 ile DOX/TPGS 1000 eş-yüklü PCEC polimerik misellerden pH 5.0, pH 6.5 ve pH 7.4 ortamlarında ilaç salımı için yapılan kinetik hesaplamalar sonucu elde edilen veri

	DOX-PM			DOX/PSC 833-PM			DOX/TPGS 1000-PM		
	pH 5.0	pH 6.5	pH 7.4	pH 5.0	pH 6.5	pH 7.4	pH 5.0	pH 6.5	pH 7.4
Sfırncı-derece	k_0 (h ⁻¹)	2.0374	0.7198	2.9339	1.4347	0.6140	2.7251	1.9166	0.6079
	R ²	0.5355	0.4686	0.4879	0.4333	0.4939	0.5375	0.6812	0.3627
Birinci-derece	k_1 (h ⁻¹)	-0.0576	-0.0037	-0.0536	-0.0094	-0.0031	-0.0336	-0.0129	-0.0031
	R ²	0.8271	0.4938	0.7682	0.4889	0.5122	0.7610	0.7634	0.3705
Higuchi	k_H (h ^{-1/2})	19.999	4.7966	19.4040	9.7391	4.0515	17.7750	11.6210	4.2420
	R ²	0.7864	0.8453	0.7387	0.6788	0.7441	0.7640	0.8971	0.6333
Hixson-Crowell	k_{HC} (h ^{-1/3})	-0.1168	-0.0444	-0.1100	-0.0290	-0.0104	-0.0818	-0.0395	-0.0104
	R ²	0.7324	0.6674	0.6735	0.4705	0.5061	0.6837	0.7369	0.3681
Korsmeyer-Peppas	n	2.0614	0.8989	1.4977	0.8164	0.5718	1.4781	0.8236	0.5816
	R ²	0.9893	0.9372	1.0000	0.7857	0.8739	0.9893	0.9030	0.8627
	k_{KP} (h ⁻ⁿ)	18.9845	10.5877	35.1965	8.8247	5.7082	21.9129	8.1997	6.7717
Baker-Lonsdale	k_{BL} (h ⁻¹)	0.0157	0.0037	0.0148	0.0020	0.0003	0.0101	0.0029	0.0003
	R ²	0.7997	0.7809	0.7453	0.5797	0.6170	0.7974	0.8655	0.3903
Weibull	b	1.4826	0.8761	1.0572	0.8835	0.5929	0.9604	0.8826	0.6029
	T _d	1.5875	31.4835	2.1541	12.8197	2.2005	4.1404	9.3689	2.8256
	R ²	0.8962	0.9207	0.8932	0.8076	0.8810	0.8711	0.9246	0.8691

İlaç salım modelini belirlemek için kinetik hesaplamalar ile elde edilen korelasyon katsayısı (R^2) değerleri karşılaştırılarak en yüksek R^2 değerine sahip olan ilaç salım modeli tespit edilmiştir. İn vitro salım verilerinin matematiksel modellemesi pH 5.0 ortamındaki salım (yapılan hesaplamalar sonucu DOX-PM, DOX/PSC 833-PM ve DOX/TPGS 1000-PM için R^2 değerleri sırasıyla 0.9893, 1.000 ve 0.9893 olarak bulunmuştur) için en iyi uygunluğun Korsmeyer-Peppas modeli ile sağlandığını ve ilaç salım kinetiğinin hem anomalous taşınım (non-Fickian) hem de Süper durum II taşınım olduğunu göstermiştir. Korsmeyer-Peppas modeli çeşitli salım mekanizmaları arasında ayırım yapmak için çeşitli farmasötik formülasyonların in vitro ilaç salımı davranış analizinde kullanılmıştır: Fickian salımı (difüzyon-kontrollü salım), non-Fickian salım (anomalous taşınım) ve durum II taşınım (gevşeme kontrollü salım). Korsmeyer-Peppas modelinin öncelikli olduğu ancak Weibull modeline de uygun olan DOX-PM'nin pH 6.5 ortamındaki salımı için yapılan hesaplamalarda Korsmeyer-Peppas modeli için R^2 değeri 0.9372, Weibull modeli için ise 0.9207 olarak hesaplanmıştır. Bununla birlikte Weibull modelinin öncelikli olduğu ancak Korsmeyer-Peppas modeline de uygun olan DOX-PM'nin pH 7.4 ortamındaki salımı için yapılan hesaplamalarda Weibull ve Korsmeyer-Peppas modeli için R^2 değerleri sırasıyla 0.8932 ve 0.8852; DOX/PSC 833-PM'nin pH 6.5 ortamındaki salımı için yapılan hesaplamalarda Weibull ve Korsmeyer-Peppas modeli için R^2 değerleri sırasıyla 0.8076 ve 0.7857; DOX/PSC 833-PM'nin pH 7.4 ortamındaki salımı için yapılan hesaplamalarda Weibull ve Korsmeyer-Peppas modeli için R^2 değerleri sırasıyla 0.8810 ve 0.8739; DOX/TPGS 1000-PM'nin pH 6.5 ortamındaki salımı için yapılan hesaplamalarda Weibull ve Korsmeyer-Peppas modeli için R^2 değerleri sırasıyla 0.9246 ve 0.9030; DOX/TPGS 1000-PM'nin pH 7.4 ortamındaki salımı için yapılan hesaplamalarda Weibull ve Korsmeyer-Peppas modeli için R^2 değerleri sırasıyla 0.8691 ve 0.8627 olarak hesaplanmıştır. Bahsi geçen formülasyonlarda R^2 değerleri yaklaşık olarak aynı olduğundan dolayı ilaç salımının hem Korsmeyer-Peppas hem de Weibull modeline uyduğu düşünülmüştür. Buna göre salım süresince salınan DOX'in salımı birden fazla tiptedir.

Korsmeyer-Peppas yarı deneysel modeliyle belirlenen “n” değerleri Çizelge 4.6'da gösterildiği gibi 0.5672-2.0614 aralığında değişmiştir. DOX-PM, DOX/PSC 833-PM, DOX/TPGS 1000-PM'nin pH 5.0 ve DOX-PM'nin pH 6.5 ortamındaki salımı için yapılan hesaplamalar sonucunda n değerleri sırasıyla 2.0614, 1.4977, 1.4781 ve 0.8989 olarak elde edilmiştir bu ise formülasyonların Süper Durum II taşınım mekanizması ($n >$

0.85) sergilediğini böylece ilaç salımının non-Fickian difüzyon tarafından yönetildiğini, ilaç taşınımı için dominant mekanizmanın polimer matris gevşemesinden kaynaklandığını göstermiştir [322].

DOX/PSC 833-PM ile DOX/TPGS 1000-PM'nin pH 6.5 ve DOX-PM, DOX/PSC 833-PM, DOX/TPGS 1000-PM'nin pH 7.4 ortamındaki salımı için yapılan hesaplamalar sonucunda n değerleri sırasıyla 0.8164, 0.8236, 0.5672, 0.5718 ve 0.5816 olarak elde edilmiştir bu ise formülasyonların non-Fickian difüzyon (anomalous taşınım) mekanizması ($0.43 < n < 0.85$) sergilediğini göstermiştir. Bu durum Fickian difüzyonu ve polimer matriks gevşemesinin birleştirilmesine, ilaç salımının birden fazla proses tarafından kontrol edilmesine atfedilmiştir [323-325].

Zamani ve Khoeve yaptıkları çalışmada PCL ve PEG bazlı bir dizi ABA- ve BAB- tipi nanopartikülleri sentezlemiştir. Cs/PECE ve Cs/PCEC nanopartiküllerinde salımın ilk aşaması Fickian difüzyonundan sapmış ve anomalous bir difüzyon mekanizması başka bir deyişle erozyon ile birlikte difüzyon göstermiştir [197].

Stanković vd. yaptıkları çalışmada 0.45 ve 0.89 arasındaki n değerleri için non-Fickian veya anomalous taşınımın salımın baskın mekanizması olduğunu burada hem ilaç difüzyonu ve polimer şişmesinin hem de erozyonun rol oynadığını ifade etmiştir. 50[PCL-PEG₁₅₀₀]-50[PCL]'ye yönelik goserelin (Gos) ve hem 30[PCL-PEG₁₅₀₀]-70[PCL] hem de 50[PCL-PEG₁₅₀₀]-50[PCL]'den insülin (Ins) için nispeten yüksek R^2 (0.934-0.957) değerlerinin Korsmeyer-Peppas modeline iyi uyum gösterdiğini belirtmiştir. n değerinin 0.45'ten daha düşük olmasının salımın difüzyon kontrollü olduğunu gösterdiğini ifade etmiştir. Her iki polimerden lizozim (Lys) salımının R^2 0.913 ve 0.861 olmak üzere daha düşük değerler gösterirken, n değerinin 30[PCL-PEG₁₅₀₀]-70[PCL] için 0.239 ve 50[PCL-PEG₁₅₀₀]-50[PCL] için 0.474 olmasının sırasıyla difüzyon bazlı salım ve anomalous taşınımı önerdiğini belirtmiştir. 30[PCL-PEG₁₅₀₀]-70[PCL]'nin aksine 50[PCL-PEG₁₅₀₀]-50[PCL] Lys'nin %60'ının salındığı süre boyunca belirli bir bozunma göstermiştir. Su alımı ve dolayısıyla şişmenin salım deneyi sırasında sabit kaldığı bu nedenle difüzyonun yanı sıra muhtemelen bozunmanın da 50[PCL-PEG₁₅₀₀]-50[PCL]'den Lys'nin salımına katkıda bulunduğu ifade edilmiştir. Karbonik anhidrazın (CA) aynı polimerden ($n = 0.597$) salımı için n değerlerinin Lys'ye benzer anomalous bir taşınım önerdiğini burada salımın difüzyonun yanı sıra polimer bozunmasına da bağlı olduğunu göstermiştir [322].

Shavi vd. yaptıkları çalışmada n -değerlerinin $0.5 < n < 1.0$ aralığında olduğunu, üç grup nanopartikülün non-Fickian taşınımı takip ettiğini ifade etmiştir. Verilerden takip eden muhtemel mekanizmaların varsayılabilirliği belirtilmiştir: sisteme su katılması, ilaç çözünmesi, polimer zincir bölünmesi, polimer bozunması ve anastrozolun konsantrasyon gradyanına bağlı olarak polimer matrisinden difüzyonu [235].

Wang vd. yaptıkları çalışmada iki uç durum (Fickian difüzyonu ve non-Fickian durum - II taşınımı) arasında ara özelliklere sahip “anomalous taşınım”ı tanımlamıştır. İlaç salımının “anomalous” taşınımının genellikle şişme kontrollü sistemlerde tanımlandığını çünkü hem difüzyonun hem de çözünmenin tamamen meydana geldiğini ve bunların tam olarak ayırt edilemeyeceğini belirtmiştir [157].

Singh vd. yaptıkları çalışmada RPEG6-%50 formülasyonunun non-Fickian davranış sergilediğini göstermiştir. L127 ve PEG 6000 kullanılarak formüle edilen dispersiyonların non-Fickian davranışının birincinin jelleşme özelliğine ve ikincisi ile birlikte polimer gevşemesine atfedilebileceğini belirtmiştir [326].

Kim vd. polimerik sistemlerde non-Fickian taşınım prosesinin uç bir durumunun gevşeme yönetim prosesi olduğunu burada bir polimer matrisinde çözünen taşınımın çözünen konsantrasyon gradyanından daha ziyade makromoleküler gevşeme ile yürütüldüğünü ifade etmiştir [327].

Ricardo vd. de yaptıkları çalışmada elde ettikleri eşitliklerin Süper durum II taşınımı gösterdiğini bunun da ilaç salımının difüzyon, gevşeme olayı ve erozyon anlamına geldiğini ama ağırlıklı olmak üzere erozyon ile yönetildiğini belirtmiştir [320].

Madni vd. yaptıkları çalışmada Korsmeyer-Peppas modeline ilaç salım verisinin yerleştirilmesiyle elde edilen önemli sayıda detayın n değerlerinin salım mekanizması olarak ilacın bir anomalous (non-Fickian) taşınımı gösterdiğini bildirmiştir [191].

Jain vd. yaptıkları çalışmada iyonik olarak çapraz-bağlı dosetaksel (DTX) yüklü kitosan nanopartikülleri (DTX-CH-NP) üretmiştir. Korsmeyer-Peppas modelinin nanopartiküllerden ilaç salımı mekanizması olarak Fickian difüzyonu gösteren en uygun model olduğu belirtilmiştir. Ayrıca Korsmeyer-Peppas'ın salım üssü olan ‘ n ’ ($0.45 \leq n \leq 0.89$) değerinin nanopartiküllerin ilacı hem polimer boyunca ilacın difüzyonu hem de polimerin çözünmesi ile birlikte serbest bıraktığını gösterdiğini ifade etmiştir [328].

Bu çalışmada yukarıda da anlatıldığı şekilde Korsmeyer-Peppas modeli ile birlikte daha yüksek determinasyon katsayıları çözünme profillerinin türlerini ve çözünme sürelerini tanımlayan parametreleri ile Weibull dağılımından elde edilmiştir. Buna göre b parametre değerleri DOX-PM ve DOX/PSC 833-PM'nin pH 5.0'da salım kinetiği hariç 1'den küçüktür. Zaman parametresi DOX-PM formülasyonunun pH 6.5'teki salım kinetiği için 31.4835 değerinde olup en yüksek değere sahiptir.

Yang vd. yaptıkları çalışmada taşıyıcı malzeme olarak kullanılan poli(ϵ -kaprolakton)-poli(etilen glikol)-poli(ϵ -kaprolakton) triblok kopolimerleri (PCEC) sentezlemiş ve kurkumin salımını incelemiştir. Weibull modelinin sürdürülebilir salım matrisinden (en büyük R^2 değeri ile birlikte, diğer bir deyişle 0.992) çözünme/salım için kanıt sağlayan ilaç salımıyla en iyi uyumu gösterdiğini belirtmiştir [204].

Sonuçlar ilaç yüklü misel hazırlamada farklı ilaç türlerinin bir arada kullanılmasının salım kinetiğini değiştirmedığını göstermiştir.

4.10 Polimerik Misellerin Stabilite Çalışması

Degradasyon davranışının anlaşılması önemlidir çünkü misellerin gerçekleştirebileceği zaman ölçeklerinin bir göstergesini verecektir. Misel degradasyonunun anlaşılması misellerin salım karakteristikleri kadar biyolojik dağılımda da önemli sonuçlara neden olabilir [329].

Bu çalışmada sentezlenen miseller sulu çözelti içinde hazırlandığından ve muhafaza edildiğinden dolayı bu triblok kopolimer misellerin bozunması sulu ortamda enzimsiz olarak gerçekleştirilmiştir [184].

NP formülasyonunun farmasötik uygulamalar için potansiyel faydası göz önüne alındığında uzun süreli depolama, taşıma ve ölçeklenebilir proses için EE, boyut ve zeta potansiyel stabilite önemlidir [330]. Bu nedenle bu çalışmada parçacıkların boyut stabilitesi 15 günlük bir süre için belirlenmiştir. Buzdolabı sıcaklığında (5°C) çeşitli polimerik misel formülasyonların fiziksel ve kimyasal stabilite verileri Çizelge 4. 7'de gösterilmiştir.

Çizelge 4. 7 5°C’de çeşitli formülasyonların stabilitesi

Formülasyon	%EE (DOX)		%EE (PSC 833) / (TPGS 1000)		Parçacık boyutu (nm)		Zeta potansiyel (mV)	
	0. gün	15. gün	0. gün	15. gün	0. gün	15. gün	0. gün	15. gün
DOX-PM	78.98	75.47	-	-	232	245	-6.5	-3.5
TPGS 1000-PM	-	-	*	*	235	247	-8.6	-7.7
DOX/TPGS 1000-PM	82.36	78.63	*	*	227	240	-9.7	-8.6
PSC 833-PM	-	-	69.82	65.93	246	256	-4.0	-4.3
DOX/PSC 833-PM	79.47	75.12	70.54	66.02	277	292	-5.5	-3.7

Çizelge 4. 7’de verildiği gibi DOX-PM, DOX/TPGS 1000-PM ve DOX/PSC 833-PM’nin DOX kapsülleme verimliliği sırasıyla %78.98’den %75.47’ye, %82.36’dan %78.63’e ve %79.47’den %75.12’ye hafif bir azalma gözlenmesine rağmen önemli bir değişiklik göstermemiştir. Benzer bir şekilde PSC 833-PM ve DOX/PSC 833-PM’nin PSC 833 kapsülleme verimliliği sırasıyla %69.82’den %65.93’e ve %70.54’ten %66.02’ye hafif bir azalma gözlenmesine rağmen önemli bir değişiklik göstermemiştir.

DOX-PM, TPGS 1000-PM, DOX/TPGS 1000-PM, PSC 833-PM ve DOX/PSC 833-PM’nin ortalama çapları sırasıyla 232 nm’den 245 nm’ye, 235 nm’den 247 nm’ye, 227 nm’den 240 nm’ye, 246 nm’den 256 nm’ye ve 277 nm’den 292 nm’ye yükselmiştir. Saklamadan sonra misellerin partikül boyutunun başlangıç boyutuna olan oranı 1.0 ± 0.3 aralığındaysa stabil bir misel sisteminin korunduğu tespit edilir bu aralığın dışında ise önemli bir agregasyon veya ayrışmanın meydana gelmesi olasıdır [256]. Tüm polimerik misellerin büyüklüğü ölçüm periyodu boyunca hafifçe artmıştır. Saklama sırasında sistemde gözle görülebilen bir agregasyon meydana gelmemiştir. Bu gözlem bir agregasyon belirtisi olamaz, bu genellikle birkaç kat artışa yol açar. Bu olaydan muhtemelen bir tür kopolimer şişmesi ve/veya hidrasyonu (misel yüzeylerinde hidrofilik PEG kısımlarının varlığının bir sonucu olarak) sorumlu olabilir [331].

Sonuçlar parçacık boyutu ve zeta potansiyelinin 15 gün içinde önemli ölçüde değişmediğini ve misellerin mükemmel bir fiziksel stabiliteye sahip olduğunu göstermiştir. Miseller 5°C sıcaklıkta 15 gün süreyle saklandığında stabil kalmış ve güvenli bir şekilde saklanmıştır. Bu süre içinde sistemde eş-kapsüllenmiş her iki ilaç da tutuklu kalmıştır.

4.11 Genel Değerlendirme ve Öneriler

Bu çalışmanın yeniliği, DOX ile P-gp inhibitörleri olan TPGS 1000 veya PSC 833 eş-yüklü amfifilik PCEC misellerinin ilk kez enjekte edilebilir bir sistem için geliştirilmiş ve değerlendirilmiş olmasıdır.

Bu tezde anlatılan deneysel çalışmaların çıktıları aşağıdaki gibi özetlenebilir:

- PCEC triblok kopolimerleri FTIR spektrumunda hem PEG hem de PCL bloklarının karakteristik piklerini açıkça sergilemiştir.
- Sentezlenen PCEC1, PCEC2, PCEC3, PCEC4, PCEC5, PCEC6, PCEC7, PCEC8, PCEC9, PCEC10, PCEC11 ve PCEC12 triblok kopolimerleri için PCL blok molekül ağırlıkları sırasıyla 35779, 2645, 1218, 486, 52595, 5583, 2231, 1461, 259080, 20724, 10428 ve 5412 g/mol olarak hesaplanmıştır. Hazırlanan PCEC1, PCEC2, PCEC3, PCEC4, PCEC5, PCEC6, PCEC7, PCEC8, PCEC9, PCEC10, PCEC11 ve PCEC12 triblok kopolimerlerine karşılık gelen ¹H NMR ile saptanan molekül ağırlıkları sırasıyla 37229, 4095, 2671, 1936, 55953, 9234, 5581, 4812, 271090, 32727, 22433 ve 17411 g/mol'dür.
- GPC analizi sonucu PCEC'lerin polidispersite indeksleri PCEC1, PCEC2, PCEC3, PCEC4, PCEC5, PCEC6, PCEC7, PCEC8, PCEC9, PCEC10, PCEC11 ve PCEC12 için sırasıyla 1.35, 1.45, 1.16, 1.15, 1.73, 2.90, 1.20, 1.16, 1.71, 2.46, 2.92 ve 3.72'dir. PCEC'lerin sayı ortalama molekül ağırlıkları PCEC1, PCEC2, PCEC3, PCEC4, PCEC5, PCEC6, PCEC7, PCEC8, PCEC9, PCEC10, PCEC11 ve PCEC12 için sırasıyla 20375, 4503, 3830, 2521, 11335, 5388, 5272, 5242, 28021, 11472, 8872 ve 4640 g/mol'dür. PCEC'lerin ağırlık ortalama molekül ağırlıkları PCEC1, PCEC2, PCEC3, PCEC4, PCEC5, PCEC6, PCEC7, PCEC8, PCEC9, PCEC10, PCEC11 ve PCEC12 için sırasıyla 27528, 6543, 4441, 2909, 19643, 15652, 6327, 6106, 47853, 28194, 25923 ve 17262 g/mol'dür.
- PEG-PCL kopolimerlerinin iki çeşit termal eğrisi vardır. İlki tek tepeli erime pikini gösteren termal eğri ve ikincisi iki tepeli erime pikine neden olan termal eğridir.
- Polimerlerin kritik misel konsantrasyonları 0.000293-0.019202 mg/ml aralığında idi. PCEC1, PCEC5 ve PCEC9 ürünleri ile ilgili olarak piren piklerinde herhangi bir kayma gözlenmemiştir bu nedenle diğer ölçümler bu ürünler için gerçekleştirilmemiştir. Elde edilen CMC değerleri bu triblok kopolimerlerin hepsinin

düşük CMC değerlerine sahip olduğunu, misellerin görünür bir kararlılığı ve vücut sıvısı gibi çok seyreltik sulu ortamda kullanılmalarını sağlayacağını göstermiştir.

- Kopolimerlerin farklı molekül ağırlığı değerlerinde sol-jel faz geçiş özellikleri tüp ters çevirme yöntemi ile incelendi. PCEC2, PCEC3, PCEC4, PCEC6, PCEC7, PCEC8, PCEC10, PCEC11 ve PCEC12 triblok kopolimerlerinin sulu çözeltisi (> 15a%) sıcaklık 10°C'den 60°C'ye yükseldiğinde suda sıcaklık bağımlı sol-jel geçişi (alt geçiş) ve jel-sol geçişi (üst geçiş) göstermiştir ancak PCEC1, PCEC5 ve PCEC9 çok hidrofobik olduğundan dolayı 0-60°C sıcaklık aralığında suda çözünmemiştir. Triblok kopolimerlerin blok uzunlukları ayarlanarak kopolimer çözeltisinin oda sıcaklığında enjekte edilebilmesi, fizyolojik koşullarda ise jel oluşturabilmesi için gereken koşullar belirlenmiştir. Bu kopolimerlerin ısıya duyarlılığı ve biyo-bozunabilirliği baz alınarak kontrollü bir ilaç taşıyıcı olarak enjekte edilebilir bir sistem tasarlanabilir.
- Bu çalışmada sentezlenen misellerin genelinde zeta potansiyel değerleri ± 30 mV arasındadır. Sentezlenen kopolimerik miseller için zeta potansiyel değerleri PCEC2 > PCEC10 > PCEC6 > PCEC11 > PCEC3 > PCEC7 > PCEC12 > PCEC8 > PCEC4 olarak bulunmuştur. PCEC misellerin zeta potansiyel değerleri aseton ve DMF ile hazırlanan örnekler için sırasıyla (9.4)-(-44.1) ile (10.3)-(-61.7) mV arasında bulunmuştur.
- PCEC misellerin PDI değerleri aseton ile hazırlanan örnekler için 0.302-0.750, DMF ile hazırlanan örnekler için ise 0.383-0.842 aralığındadır.
- Bu çalışmada PCEC misellerin partikül büyüklüğünün PCEC'nin molekül ağırlığı ile değiştirilebileceği tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre parçacık boyutu sıralaması PCEC10 > PCEC11 > PCEC12 > PCEC6 > PCEC7 > PCEC8 > PCEC2 > PCEC3 > PCEC4 şeklinde bulunmuştur.
- PEG1450 ile sentezlenen PCEC2, PCEC3 ve PCEC4 misellerinin boyutu üzerine PCL/PEG oranının etkisi incelendiğinde boyut sıralaması PCEC2 > PCEC3 > PCEC4 şeklinde bulunmuştur. PEG3350 için bu sıralama PCEC6 > PCEC7 > PCEC8'dir. PEG12000 için ise bu sıralama PCEC10 > PCEC11 > PCEC12 şeklinde bulunmuştur.
- En küçük parçacık boyutu aseton içinde hazırlanan miseller ile elde edilmiştir. PCEC misellerin Z-ortalama değerleri aseton ile hazırlanan örnekler için 225-959 nm, DMF ile hazırlanan örnekler için ise 232-1211 nm aralığında bulunmuştur.

- Çözücü konsantrasyonunun artmasıyla misel boyutunun da arttığı tespit edilmiştir.
- Polimer konsantrasyonu arttıkça misel boyutu da artmıştır.
- PCEC kopolimer miselleri için dar tekil dağılımlı tek modlu boyut dağılımı ile boyutu küçük, zeta potansiyeli istenilen aralıkta ve polidispersite indeksi daha düşük olduğu için sonraki çalışmalarımız ortalama partikül boyutu 225 nm, PDI değeri 0.75 ve zeta potansiyel değeri -2.2 mV olan aseton ile sentezlenmiş PCEC4 triblok kopolimer miselleri üzerine odaklanmıştır.
- SEM sonuçlarına göre hazırlanan tüm misellerin yüzeyleri nispeten düzgündü. Parçacık morfolojisi küreseldi. Miseller küçük boyutludur ve çok iyi bir homojenlik içermektedir.
- Karıştırma hızının artmasıyla kapsülleme verimliliği genellikle önemli ölçüde düşmüştür. Kapsülleme verimliliği temas zamanı arttıkça genellikle küçük olmakla beraber önemli bir azalma izlemiştir. TEA miktarının değişmesi kapsülleme verimliliği üzerinde çok önemli bir etkiye sahip değildi. DOX konsantrasyonu arttıkça kapsülleme verimliliği çok önemli bir artış sergilemiştir.
- Elde edilen sonuçlara göre $X_1 = 600$ rpm, $X_2 = 1$ saat, $X_3 = 22.5$ μ l ve $X_4 = \%5$ optimum faktörler olarak belirlenmiştir. Bu optimum koşullar altında kapsülleme verimi $EE = \%78.98$ olarak hesaplanmıştır. Optimum faktörlerin kullanılmasıyla sentezlenen en yüksek kapsülleme etkinliğini sağlayan miselin parçacık boyutu 232 nm, zeta potansiyel değeri -6,5 mV ve PDI değeri ise 0.383 olarak bulunmuştur.
- Misel yapılarının içerisine iki farklı P-gp inhibitörü enkapsüle edilebilmiştir. Anti-kanser etkin madde olan DOX ile birlikte bir P-gp inhibitörü içeren misellerin kullanılması ile ana etken madde olan DOX'in çözünürlüğü artmıştır.
- İlaç/ilaçlar ile misel arasındaki etkileşim FT-IR spektrumları ile araştırılmıştır. Bu sonuçlardan serbest DOX, TPGS 1000 ve boş PCEC'ye kıyasla DOX yüklü ile DOX/TPGS 1000 ve DOX/PSC 833 eş-yüklü misellerde (DOX-PM, DOX/PSC 833-PM ve DOX/TPGS 1000-PM) yeni kimyasal bağlar olmadığı görülmüştür.
- DOX yüklemesi DOX-PM, DOX/PSC 833-PM ve DOX/TPGS 1000-PM için sırasıyla %4.25, %4.28 ve %4.43'tür. PSC 833 yüklemesi 0.15 ve 0.45 mg yükleme için sırasıyla %0.12 ve %0.39 olarak bulunmuştur. TPGS 1000 ve DOX eş-yüklü formülasyonda DOX'in EE'si %82.36'dır. DOX ve TPGS 1000 ile DOX ve PSC 833

ile miselin eş-yüklenmesiyle meydana gelen misellerin boyutu sırasıyla 227 ve 277 nm olarak bulunmuştur. PSC 833'ün 0.15 ve 0.45 mg ilaç yüklemesi için kapsülleme verimliliği sırasıyla %65.47 ve %69.82 idi. TPGS 1000 ilaç yükleme seviyeleri süpernatant içinde yeterli miktarda TPGS 1000 tespit edilemediği için hesaplanamamıştır.

- 24 saat için pH 7.4 salım ortamında DOX'in yaklaşık %25'i (DOX-PM), %21'i (DOX/TPGS 1000-PM) ve %22'si (DOX/PSC 833-PM) misellerden salınmıştır. pH 6.5'te DOX salımı pH 7.4'e nazaran hızlanmıştır. 24 saat için ise DOX'in yaklaşık %60'ı (DOX-PM), %55'i (DOX/TPGS 1000-PM) ve %50'si (DOX/PSC 833-PM) misellerden salınmıştır. pH 5.0 salım ortamında 24 saat sonra misellerden salınan ilaç yüzdesi DOX-PM ve DOX/PSC 833-PM için sırasıyla %96 ve 95'i bulurken DOX/TPGS 1000-PM'den (%88) salınan DOX'ten daha yüksek oranlarda çıkmıştır.
- Buzdolabı sıcaklığında çeşitli polimerik misel formülasyonların fiziksel ve kimyasal stabilitesi incelendiğinde sonuçlar misellerin 5°C sıcaklıkta 15 gün süreyle saklandığında stabil olduğunu ve güvenli bir şekilde saklanabileceğini göstermiştir ve bu süre içinde sistemde eş-yüklü her iki ilacı da tutabildiğini ispatlamıştır.
- İn vitro salım verilerinin matematiksel modellemesi DOX-PM, DOX/PSC 833-PM ve DOX/TPGS 1000-PM'nin pH 5.0 ortamındaki salımı için yapılan hesaplamalarda en iyi uygunluğun Korsmeyer-Peppas modeli ile sağlandığını göstermiştir.
- DOX-PM'nin pH 6.5 ortamındaki salımının Korsmeyer-Peppas modelinin öncelikli olduğu ancak Weibull modeline de uygun olan salım olduğu düşünülmüştür. Bununla birlikte Weibull modelinin öncelikli olduğu ancak Korsmeyer-Peppas modeline de uygun olan DOX-PM'nin pH 7.4, DOX/PSC 833-PM'nin pH 6.5, DOX/PSC 833-PM'nin pH 7.4, DOX/TPGS 1000-PM'nin pH 6.5 ve DOX/TPGS 1000-PM'nin pH 7.4 ortamındaki salımıdır.
- Bu tür çekirdek-kabuk misellerin ilginç avantajlarından biri ikili salım sistemlerinde kullanılabilmesidir. Sonuç olarak elde edilen deneysel veriler PCEC triblok kopolimer bazlı misellerin DOX, TPGS 1000 ve PSC 833 için ilaç taşıyıcısı olarak iyi bir aday olabileceğini ve diğer antikanser/antitümör ilaçları da taşıyabileceğini göstermiştir.
- Elde edilen ilaç salım sistemi DOX gibi zayıf çözünür ilaçların lokal olarak uygulanması için büyük bir potansiyel uygulamaya sahip olabileceğini göstermiştir.

- Sentezlenen PCEC polimerik misellerin özellikleri hücre davranışını yönlendiren biyoaktif moleküller ile fonksiyonelleştirme yoluyla geliştirilebilir.
- Geliştirilen bu misel sistemlerin özellikle suda çözünürlüğü düşük olan, yüksek toksisiteye sahip ve P-gp substratı olan farklı anti-kanser etkin maddeler için ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.
- Spesifik ilaç salım davranışı ve DOX ile TPGS 1000 ya da DOX ile PSC 833'ün eşzamanlı yüksek yükleme kapasitesi ve kapsülleme etkinliği ile birlikte mevcut misel-ikili ilaç salım sistemleri ilaçların geleneksel yüklemesindeki ve kontrolsüz ilaç salımındaki zorlukları çözebilir. Her üç ilaç için uzatılmış ve sabit salım modeli sık aralıklı ilaç uygulamaları olmaksızın bir kanser tedavisi sunmaktadır.
- Anti-kanser ilaç kapsüllenmiş biyobozunur miseller ilaç etkinliğini arttırmada ve yan etkileri azaltmada yararlı bir yaklaşım olarak kabul edilir. Böylece gelecekte daha etkin tedaviler in vivo çalışmalarda elde edilebilir.
- Genel olarak bu çalışmadan elde edilen deneysel sonuçlar PCEC polimerik misellerin DOX'in çözünmesi ve TPGS 1000 ya da PSC 833 ile güvenli bir şekilde eş-uygulanması için büyük bir vaatte bulunduğunu göstermektedir.
- PCEC polimerik misellerin aynı deneysel tasarımı diğer hidrofilik ve hidrofobik ilaçların hedeflenen eş-salımı için de uygulanabilir.
- Sonuç olarak bu yeni birleşimsel strateji etkin cevabı temsil edecek ve ilaç dozajını düşürerek DOX ile ilişkili yan etkileri azaltacaktır.

KAYNAKLAR

- [1] Torre, L.A., Bray, F., Siegel, R.L., Ferlay, J., Lortet-tieulent, J. ve Jemal, A., (2015). "Global Cancer Statistics, 2012", CA: A Cancer Journal of Clinicians, 1-22.
- [2] Xu, P., Yin, Q., Shen, J., Chen, L., Yu, H., Zhang, Z. ve Li, Y., (2013). "Synergistic Inhibition of Breast Cancer Metastasis by Silibinin-Loaded Lipid Nanoparticles Containing TPGS", International Journal of Pharmaceutics, 454(1): 21-30.
- [3] Jin, X., Li, M., Yin, L., Zhou, J., Zhang, Z. ve Lv, H., (2017). "Tyroservatide-TPGS-Paclitaxel Liposomes: Tyroservatide as a Targeting Ligand for Improving Breast Cancer Treatment", Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine, 13(3): 1105-1115.
- [4] Wu, Z., Zou, X., Yang, L., Lin, S., Fan, J., Yang, B., Sun, X., Wan, Q., Chen, Y. ve Fu, S., (2009). "Thermosensitive Hydrogel Used in Dual Drug Delivery System with Paclitaxel-Loaded Micelles for In Situ Treatment of Lung Cancer", Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 122(2014): 90-98.
- [5] Wang, H., Li, F., Du, C., Wang, H., Mahato, R.I. ve Huang, Y., (2014). "Doxorubicin and Lapatinib Combination Nanomedicine for Treating Resistant Breast Cancer", Molecular Pharmaceutics, 11(8): 2600-2611.
- [6] Clarke, R., Leonessa, F. ve Trock, B., (2005). "Multidrug Resistance/P-Glycoprotein and Breast Cancer: Review and Meta-Analysis", Seminars in Oncology, 32: 9-15.
- [7] Dehghan Kelishady, P., Saadat, E., Ravar, F., Akbari, H. ve Dorkoosh, F., (2014). "Pluronic F127 Polymeric Micelles for Co-delivery of Paclitaxel and Lapatinib against Metastatic Breast Cancer: Preparation, Optimization and In Vitro Evaluation", Pharmaceutical Development and Technology, 1-9.
- [8] Ke, X.-Y., Lin Ng, V.W., Gao, S.-J., Tong, Y.W., Hedrick, J.L. ve Yang, Y.Y., (2014). "Co-delivery of Thioridazine and Doxorubicin using Polymeric Micelles for Targeting both Cancer Cells and Cancer Stem Cells", Biomaterials, 35(3): 1096-1108.
- [9] Dou, J., Zhang, H., Liu, X., Zhang, M. ve Zhai, G., (2014). "Preparation and Evaluation In Vitro and In Vivo of Docetaxel Loaded Mixed Micelles for Oral Administration", Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 114: 20-27.

- [10] Loor, F., (1999). "Valspodar: Current Status and Perspectives", *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 8(6): 807-835.
- [11] Ma, W., Wang, J., Guo, Q. ve Tu, P., (2015). "Simultaneous Determination of Doxorubicin and Curcumin in Rat Plasma by LC-MS/MS and its Application to Pharmacokinetic Study", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 111: 215-221.
- [12] Kang, G.D., Cheon, S.H. ve Song, S-C., (2006). "Controlled Release of Doxorubicin from Thermosensitive Poly(organophosphazene) Hydrogels", *International Journal of Pharmaceutics*, 319(1-2): 29-36.
- [13] Cuong, N.-V., Chen, Y.-T. ve Hsieh, M.-F., (2013). "Doxorubicin-Loaded Micelles of Y-Shaped PEG-(PCL)₂ Against Drug-Resistant Breast Cancer Cells", *Biomedical Engineering: Applications, Basis and Communications*, 25(5): 1340009.
- [14] Savjani, K.T., Gajjar, A.K. ve Savjani, J.K., (2012). "Drug Solubility: Importance and Enhancement Techniques", *ISRN Pharmaceutics*, 2012: 195727.
- [15] Liu, L., Wu, Q., Ma, X., Xiong, D., Gong, C., Qian, Z., Zhao, X. ve Wei, Y., (2013). "Camptothecine Encapsulated Composite Drug Delivery System for Colorectal Peritoneal Carcinomatosis Therapy: Biodegradable Microsphere in Thermosensitive Hydrogel", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 106: 93-101.
- [16] Choi, C., Chae, S.Y. ve Nah, J.-W., (2006). "Thermosensitive Poly(N-isopropylacrylamide)-b-poly(ϵ -caprolactone) Nanoparticles for Efficient Drug Delivery System", *Polymer*, 47(13): 4571-4580.
- [17] Lee, S.Y., Lee, H., In, I. ve Park, S.Y., (2014). "pH/Redox/Photo Responsive Polymeric Micelle via Boronate Ester and Disulfide Bonds with Spiropyran-Based Photochromic Polymer for Cell Imaging and Anticancer Drug Delivery", *European Polymer Journal*, 57: 1-10.
- [18] Biswas, S., Kumari, P., Lakhani, P.M. ve Ghosh, B., (2016). "Recent Advances in Polymeric Micelles for Anti-cancer Drug Delivery", *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 83: 184-202.
- [19] Lei, N., Gong, C.Y., Qian, Z., Luo, F., Wang, C., Wang, H. ve Wei, Y., (2012). "Therapeutic Application of Injectable Thermosensitive Hydrogel in Preventing Local Breast Cancer Recurrence and Improving Incision Wound Healing in a Mouse Model", *Nanoscale*, 4(18): 5686-5693.
- [20] Garripelli, V.K., Kim, J.K., Namgung, R., Kim, W.J., Repka, M.A. ve Jo, S., (2010). "A Novel Thermosensitive Polymer with pH-Dependent Degradation for Drug Delivery", *Acta Biomaterialia*, 6(2): 477-485.
- [21] Sinha, R., Kim, G.J., Nie, S. ve Shin, D.M., (2006). "Nanotechnology in Cancer Therapeutics: Bioconjugated Nanoparticles for Drug Delivery", *American Association for Cancer Research*, 5(8): 1909-1917.
- [22] Wu, Y.L., Chen, X., Wang, W. ve Loh, X.J., (2016). "Engineering Bioresponsive Hydrogels toward Healthcare Applications", *Macromolecular Chemistry and Physics*, 217: 175-188.

- [23] Sun, H., Mei, L., Song, C., Cui, X. ve Wang, P., (2006). "The In Vivo Degradation, Absorption and Excretion of PCL-Based Implant", *Biomaterials*, 27(9): 1735-1740.
- [24] Agrawal, H., Thacker, N. ve Misra, A., (2011). "Parenteral Delivery of Peptides and Proteins", *Challenges in Delivery of Therapeutic Genomics and Proteomics*, 531-622.
- [25] Lee, B.S., Yip, A.T., Thach, A.V., Rodriguez, A.R., Deming, T.J. ve Kamei, D.T., (2015). "The Targeted Delivery of Doxorubicin with Transferrin-Conjugated Block Copolypeptide Vesicles", *International Journal of Pharmaceutics*, 496(2): 903-911.
- [26] Kehoe, S., Zhang, X.F. ve Boyd, D., (2012). "FDA Approved Guidance Conduits and Wraps for Peripheral Nerve Injury: A Review of Materials and Efficacy", *Injury*, 43(5): 553-572.
- [27] Wei, X.W., Gong, C.Y., Gou, M.L., Fu, S.Z., Guo, Q.F., Shi, S., Luo, F., Guo, G., Qiu, L.Y. ve Qian, Z.Y., (2009). "Biodegradable Poly(ϵ -caprolactone)-poly(ethylene glycol) Copolymers as Drug Delivery System", *International Journal of Pharmaceutics*, 381(1): 1-18.
- [28] Kim, K.Y., (2007). "Nanotechnology Platforms and Physiological Challenges for Cancer Therapeutics", *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 3(2): 103-110.
- [29] T.C. Sağlık Bakanlığı, Kanser, <http://kanser.gov.tr/kanser/kanser-nedir/4-kanser-nedir.html>, 25 Temmuz 2017.
- [30] NCI, National Cancer Institute, Cancer, <http://www.cancer.gov/>, 28 Temmuz 2017.
- [31] Zeybek, A., (2012). The Effect of Doxorubicin-Albumin Magnetic Nanoparticles on Prostate and Lung Cancer Cells, Master of Science, The Graduate School of Engineering and Sciences of İzmir Institute of Technology, İzmir.
- [32] Ada, K., (2014). A Simulation Model for Breast Cancer Epidemiology in Turkey, Master of Science, The Graduate School of Engineering and Science of Bilkent University, Ankara.
- [33] T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Kanser İstatistikleri, <http://kanser.gov.tr/>, 31 Temmuz 2017.
- [34] Sharma, G.N., Dave, R., Sanadya, J., Sharma, P. and Sharma, K.K., (2010). "Various Types and Management of Breast Cancer: An Overview", *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 1(2): 109-126.
- [35] Rouf, A., (2007). Development of Rapamycin Drug Delivery Systems, Their Characterization and Investigation of the Antiproliferative Effect on Cell Cultures, Ph.D. Thesis, Hacettepe University Health Sciences Institute, Ankara.
- [36] American Cancer Society, About Breast Cancer, <https://www.cancer.org/content/dam/CRC/>, 1 Ağustos, 2017.
- [37] Turk, R., Eroglu, K., Terzioğlu, F. ve Taskin, L., (2017). "An Example from the Rural Areas of Turkey: Women Breast Cancer Risk Levels and Application and

- Knowledge Regarding Early Diagnosis-Scan of Breast Cancer”, *Journal of Breast Health*, 13(2): 67-73.
- [38] Aktaş, S.H., (2010). Kemoterapinin Kolon Kanseri, Meme Kanseri ve Mide Kanserinde VEGF Düzeylerine Etkisinin İn Vivo ve İn Vitro İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara.
- [39] Breastcancer.org, Breast Cancer Stages, <http://www.breastcancer.org/symptoms/diagnosis>, 3 Ağustos 2017.
- [40] Darcansoy İşeri, Ö., (2009). Investigation of Docetaxel and Doxorubicin Resistance in MCF-7 Breast Carcinoma Cell Line, Ph.D. Thesis, The Graduate School of Natural and Applied Sciences of Middle East Technical University, Ankara.
- [41] National Cancer Institute, Breast Cancer Treatment, <https://www.cancer.gov/types/breast/patient/breast-treatment>, 5 Ağustos 2017.
- [42] Feng, S.-S. ve Chien, S., (2003). “Chemotherapeutic Engineering: Application and further Development of Chemical Engineering Principles for Chemotherapy of Cancer and other Diseases”, *Chemical Engineering Science*, 58(18): 4087-4114.
- [43] Kievit, F.M., Wang, F.Y., Fang, C., Mok, H., Wang, K., Silber, J.R., Ellenbogen, R.C. ve Zhang, M., (2011). “Doxorubicin Loaded Iron Oxide Nanoparticles Overcome Multidrug Resistance in Cancer In Vitro”, *Journal of Controlled Release*, 152(1): 76-83.
- [44] Krishna, R. ve Mayer, L.D., (2000). “Multidrug Resistance (MDR) in Cancer Mechanisms, Reversal using Modulators of MDR and the Role of MDR Modulators in Influencing the Pharmacokinetics of Anticancer Drugs”, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 11(4): 265-283.
- [45] Bu, H., Gao, Y. ve Li, Y.P., (2010). “Overcoming Multidrug Resistance (MDR) in Cancer by Nanotechnology”, *Science China Chemistry*, 53(11): 2226-2232.
- [46] Singh, D., (2015). “Formulation Strategies to Overcome Multidrug Resistance in Cancer”, *Asian Journal of Pharmaceutical Technology & Innovation*, 3(13): 20-30.
- [47] Fikai, A. ve Grumezescu, A.M., (2017). *Nanostructures for Cancer Therapy, Nanostructures in Therapeutic Medicine Series*, First Edition, Elsevier, Cambridge.
- [48] Davis, M.E., Chen, Z.G. ve Shin, D.M., (2008). “Nanoparticle Therapeutics: An Emerging Treatment Modality for Cancer”, *Nature Reviews Drug Discovery*, 7(9): 771-782.
- [49] Bellamy, W.T., (1996). “P-glycoproteins and Multidrug Resistance”, *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 36: 161-183.
- [50] Srivalli, K.M.R. ve Lakshmi, P.K., (2012). “Overview of P-glycoprotein Inhibitors: A Rational Outlook”, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 48(3): 353-367.
- [51] Thomas, H. ve Coley, H.M., (2003). “Overcoming Multidrug Resistance in Cancer: An Update on the Clinical Strategy of Inhibiting P-glycoprotein”, *Cancer Control*, 10(2): 159-165.

- [52] Kapse-Mistry, S., Govender, T., Srivastava, R. ve Yergeri, M., (2014). "Nanodrug Delivery in Reversing Multidrug Resistance in Cancer Cells", *Frontiers in Pharmacology*, 5: 1-22.
- [53] Varma, M.V.S., Ashokraj, Y., Dey, C.S. ve Panchagnula, R., (2003). "P-glycoprotein Inhibitors and Their Screening: A Perspective from Bioavailability Enhancement", *Pharmacological Research*, 48(4): 347-359.
- [54] Aw, M.S., Kurian, M. ve Losic, D., (2013). "Polymeric Micelles for Multidrug Delivery and Combination Therapy", *Chemistry-A European Journal*, 19(38): 12586-12601.
- [55] Holland, S.J., Tighe, B.J. ve Gould, P.L., (1986). "Polymers for Biodegradable Medical Devices. 1. The Potential of Polyesters as Controlled Macromolecular Release Systems", *Journal of Controlled Release*, 4(3): 155-180.
- [56] Jain, J.P., Ayen, W.Y., Domb, A.J. ve Kumar, N., (2011). "Biodegradable Polymers in Drug Delivery", *Biodegradable Polymers in Clinical Use and Clinical Development*, 3-58.
- [57] Nair, L.S. ve Laurencin, C.T., (2007). "Biodegradable Polymers as Biomaterials", *Progress in Polymer Science*, 32(8-9): 762-798.
- [58] Pearce, E., (1977). *Contemporary Topics in Polymer Science*, 2, First Edition, Plenum Press, New York.
- [59] Feng, S.-S., (2004). "Nanoparticles of Biodegradable Polymers for New-Concept Chemotherapy", *Expert Review of Medical Devices*, 1(1): 115-125.
- [60] Feng, S.-S., (2006). "New-Concept Chemotherapy by Nanoparticles of Biodegradable Polymers: Where are We Now?", *Nanomedicine*, 1(3): 297-309.
- [61] Göpferich, A., (1996). "Mechanisms of Polymer Degradation and Erosion", *Biomaterials*, 17(2): 103-114.
- [62] Lendlein, A. ve Sisson, A., (2011). *Handbook of Biodegradable Polymers Synthesis, Characterization and Applications*, First Edition, Wiley-VCH, Weinheim.
- [63] Arslan, H., (2012). "Block and Graft Copolymerization by Controlled/Living Radical Polymerization Methods", *Polymerization*, 279-320.
- [64] Michler, G.H., (2016). *Atlas of Polymer Structures Morphology, Deformation and Fracture Structures*, First Edition, Hanser Publishers, Munich.
- [65] Riess, G., (2003). "Micellization of Block Copolymers", *Progress in Polymer Science*, 28(7): 1107-1170.
- [66] Mourya, V.K., Inamdar, N., Nawale, R.B. ve Kulthe, S.S., (2011). "Polymeric Micelles: General Considerations and Their Applications", *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 45(2): 128-138.
- [67] Kedar, U., Phutane, P., Shidhaye, S. ve Kadam, V., (2010). "Advances in Polymeric Micelles for Drug Delivery and Tumor Targeting", *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 6(6): 714-729.
- [68] Barghi, L., Asgari, D., Barar, J., Nakhband, A. ve Valizadeh, H., (2014). "Synthesis, Characterization and In Vitro Anti-tumoral Evaluation of Erlotinib-

- PCEC Nanoparticles”, *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(23): 10281-10287.
- [69] Domb, A.J., Kost, J. ve Wiseman, D.M., (1998). *Handbook of Biodegradable Polymers*, First Edition, CRC Press, London.
- [70] Chang, K.-L., Chen, C.-H., Hsieh, M.-F., Yuan, C. ve Huang, C.-M., (2010). “The Nanoparticles for Combating Acne Vulgairs: In-Vitro Efficacy of Lauric Acid-Loaded PCL-PEG-PCL on *Propionibacterium Acne*”, 2010 International Conference on Nanotechnology and Biosensors, 30 December 2010, Hong Kong.
- [71] Sáez-Fernández, E., Ruiz, M. ve Arias, J., (2009). “Drug Delivery Systems Based on Poly(ϵ -caprolactone) for Cancer Treatment”, *ARS Pharmaceutica*, 50: 83-96.
- [72] Chasin, M. ve Langer, R., (1990). *Biodegradable Polymers as Drug Delivery Systems*, First Edition, Marcel Dekker, Inc., New York.
- [73] Jia, W.J., Gu, Y.C., Gou, M.L., Dai, M., Li, X.Y., Kan, B., Yang, J.L., Song, Q.F., Wei, Y.Q. ve Qian, Z.Y., (2008). “Preparation of Biodegradable Polycaprolactone/Poly(ethylene glycol)/Polycaprolactone (PCEC) Nanoparticles”, *Drug Delivery*, 15(7): 409-416.
- [74] Gou, M.L., Wei, X.W., Men, K., Wang, B.L., Luo, F., Zhao, X., Wei, Y.Q. ve Qian, Z.Y., (2011). “PCL/PEG Copolymeric Nanoparticles: Potential Nanoplatforms for Anticancer Agent Delivery”, *Current Drug Targets*, 12: 1131-1150.
- [75] Li, Y.-M., Jiang, T., Lv, Y., Wu, Y., He, F. ve Zhuo, R.-X., (2015). “Amphiphilic Copolymers with Pendent Carboxyl Groups for High-Efficiency Loading and Controlled Release of Doxorubicin”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 132: 54-61.
- [76] Suwandi, J.S., Toes, R.E., Nikolic, T. ve Roep, B.O., (2015). “Inducing Tissue Specific Tolerance in Autoimmune Disease with Tolerogenic Dendritic Cells”, *Clinical and Experimental Rheumatology*, 33: 97-103.
- [77] Eatemadi, A., Daraee, H., Aiyelabegan, H.T., Negahdari, B., Rajeian, B. ve Zarghami, N., (2016). “Synthesis and Characterization of Chrysin-Loaded PCL-PEG-PCL Nanoparticle and its Effect on Breast Cancer Cell Line”, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 84: 1915-1922.
- [78] Piao, L., Dai, Z., Deng, M., Chen, X. ve Jing, X., (2003). “Synthesis and Characterization of PCL/PEG/PCL Triblock Copolymers by using Calcium Catalyst”, *Polymer*, 44(7): 2025-2031.
- [79] Anh Nguyen, T.H. ve Nguyen, V.C., (2010). “Formation of Nanoparticles in Aqueous Solution from Poly(ϵ -caprolactone)-poly(ethylene glycol)-poly(ϵ -caprolactone)”, *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 1(2): 25012-25016.
- [80] Zhang, Z., Xu, L., Chen, H. ve Li, X., (2013). “Rapamycin-Loaded Poly(ϵ -caprolactone)-poly(ethylene glycol)-poly(ϵ -caprolactone) Nanoparticles: Preparation, Characterization and Potential Application in Corneal Transplantation”, *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 66: 557-563.

- [81] Danafar, H., (2016). "Study of the Composition of Polycaprolactone/Poly(Ethylene Glycol)/Polycaprolactone Copolymer and Drug-to-Polymer Ratio on Drug Loading Efficiency of Curcumin to Nanoparticles", Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products, 1-9.
- [82] Wang, Y., Wang, C., Fu, S.Z., Liu, Q., Dou, D.Y., Lv, H., Fan, M., Guo, G., Luo, F. ve Qian, Z.Y., (2011). "Preparation of Tacrolimus Loaded Micelles Based on Poly(ϵ - caprolactone)-poly(ethylene glycol)-poly(ϵ -caprolactone)", International Journal of Pharmaceutics, 407(1-2): 184-189.
- [83] Azouz, L., Dahmoune, F., Rezgui, F. ve G'Sell, C., (2016). "Full Factorial Design Optimization of Anti-inflammatory Drug Release by PCL-PEG-PCL Microspheres", Materials Science and Engineering C, 58: 412-419.
- [84] Lin, X., Deng, L., Xu, Y. ve Dong, A., (2012). "Thermosensitive In Situ Hydrogel of Paclitaxel Conjugated Poly(ϵ -caprolactone)-poly(ethylene glycol)-poly(ϵ -caprolactone)", Soft Matter, 8(12): 3470-3477.
- [85] Gao, X., Kan, B., Gou, M.L, Zhang, J., Guo, G., Huang, N., Zhao, X. ve Qian, Z.Y., (2011). "Preparation of Anti-CD40 Antibody Modified Magnetic PCL-PEG-PCL Microspheres", Journal of Biomedical Nanotechnology, 7(2): 285-291.
- [86] Khodaverdi, E., Akbari, A., Tekie, F.S.M., Mohajeri, S.A., Zohuri, G. ve Hadizadeh, F., (2013). "Sustained Delivery of Amphotericin B and Vancomycin Hydrochloride by an Injectable Thermogelling Tri-Block Copolymer", PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology, 67(2): 135-145.
- [87] Balcan, S., (2011). Synthesis and Characterization of Polylactides (PLA) by means of Ring Opening Polymerization using Initiators Containing Silver, Master Thesis, Ege University Graduate School of Natural and Applied Sciences, İzmir.
- [88] Şahin, H., (2011). Halka Açılma Metatez Polimerizasyonu ve Çift Click Reaksiyonları ile Blok-Fırça Kopolimerlerin Sentezi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [89] Saçak, M., (1998). Polimer Kimyasına Giriş, A.Ü.F.F. Döner Sermaye işletmesi Yayınları, 50, Ankara.
- [90] Nuyken, O. ve Pask, S.D., (2013). "Ring-Opening Polymerization-an Introductory Review", Polymers, 5(2): 361-403.
- [91] Löfgren, A., Albertsson, A.-C., Dubois, P. ve Jérôme, R., (1995). "Recent Advances in Ring-Opening Polymerization of Lactones and Related Compounds", Journal of Macromolecular Science Part C, 35(3): 379-418.
- [92] Stridsberg, K.M., Ryner, M. ve Albertsson, A.-C., (2002). "Controlled Ring-Opening Polymerization: Polymers with Designed Macromolecular Architecture", Degradable Aliphatic Polyesters, 157: 41-65.
- [93] Dubois, P., Coulembier, O. ve Raquez, J.-M., (2009). Handbook of Ring-Opening Polymerization, First Edition, WILEY-VCH, Weinheim.
- [94] Özyürek, Z., (2004). Yıldız Kopolimerlerin Atom Transfer ve Kararlı Serbest Radikal Polimerizasyonu ve Halka Açılması Polimerizasyonu ile Sentezi,

Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

- [95] McGrath, J.E., (1985). "Ring-Opening Polymerization: Introduction", ACS Symposium Series, 286(1): 1-22.
- [96] Nie, S., Xing, Y., Kim, G.J. ve Simons, J.W., (2007). "Nanotechnology Applications in Cancer", Annual Review of Biomedical Engineering, 9: 257-88.
- [97] Ferrari, M., (2005). "Cancer Nanotechnology: Opportunities and Challenges", Nature Reviews Cancer, 5: 161-171.
- [98] Alexis, F., Pridgen, E.M., Langer, R. ve Farokhzad, O.C., (2010). "Nanoparticle Technologies for Cancer Therapy", Handbook of Experimental Pharmacology, 197: 55-86.
- [99] Peer, D., Karp, J.M., Hong, S., Farokhzad, O.C., Margalit, R. ve Langer, R., (2007). "Nanocarriers as an Emerging Platform for Cancer Therapy", Nature Nanotechnology, 2(12): 751-760.
- [100] Barreto, J.A., O'Malley, W., Kubeil, M., Graham, B., Stephan, H. ve Spiccia, L., (2011). "Nanomaterials: Applications in Cancer Imaging and Therapy", Advanced Materials, 23(12): H18-40.
- [101] Alexis, F., Rhee, J.-W., Richie, J.P., Radovic-Moreno, A.F., Langer, R. ve Farokhzad, O.C., (2008). "New Frontiers in Nanotechnology for Cancer Treatment", Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations, 26(1): 74-85.
- [102] Misra, R., Acharya, S. ve Sahoo, S.K., (2010). "Cancer Nanotechnology: Application of Nanotechnology in Cancer Therapy", Drug Discovery Today, 15(19-20): 842-850.
- [103] Torchilin, V.P., (2001). "Structure and Design of Polymeric Surfactant-Based Drug Delivery Systems", Journal of Controlled Release, 73(2-3): 137-172.
- [104] Yokoyama, M., (2014). "Polymeric Micelles as Drug Carriers: Their Lights and Shadows", Journal of Drug Targeting, 22(7): 576-583.
- [105] Allen, C., Maysinger, D. ve Eisenberg, A., (1999). "Nano-Engineering Block Copolymer Aggregates for Drug Delivery", Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 16(1-4): 3-27.
- [106] Crommelin, D., Bezemer, J.Z., Hennink, W.E. ve Van Nostrum, C., (2005). "Hydrogels for the Controlled Release of Proteins", ResearchGate, 148: 1-653.
- [107] Hussein, G.A. ve Pitt, W.G., (2008). "Micelles and Nanoparticles for Ultrasonic Drug and Gene Delivery", Advanced Drug Delivery Reviews, 60(10): 1137-1152.
- [108] Cha, E.-J., Kim, J.E. ve Ahn, C.-H., (2009). "Stabilized Polymeric Micelles by Electrostatic Interactions for Drug Delivery System", European Journal of Pharmaceutical Sciences, 38(4): 341-346.
- [109] Lu, Y. ve Park, K., (2013). "Polymeric Micelles and Alternative Nanonized Delivery Vehicles for Poorly Soluble Drugs", International Journal of Pharmaceutics, 453(1): 198-214.

- [110] Oerlemans, C., Bult, W., Bos, M., Storm, G., Nijsen, J.F.W. ve Hennink, W.E., (2010). "Polymeric Micelles in Anticancer Therapy: Targeting, Imaging and Triggered Release", *Pharmaceutical Research*, 27(12): 2569-2589.
- [111] Rapoport, N., (2007). "Physical Stimuli-Responsive Polymeric Micelles for Anti-cancer Drug Delivery", *Progress in Polymer Science*, 32(8-9): 962-990.
- [112] Lee, H., Soo, P.L., Liu, J., Butler, M. ve Allen, C., (2007). "Polymeric Micelles for Formulation of Anti-cancer Drugs", *Nanotechnology for Cancer Therapy*, 17: 317-355.
- [113] Jones, M.-C. ve Leroux, J.-C., (1999). "Polymeric Micelles-a New Generation of Colloidal Drug Carriers", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 48(2): 101-111.
- [114] Nishiyama, N. ve Kataoka, K., (2006). "Current State, Achievements, and Future Prospects of Polymeric Micelles as Nanocarriers for Drug and Gene Delivery", *Pharmacology & Therapeutics*, 112(3): 630-648.
- [115] Cho, H., Lai, T.C., Tomoda, K. ve Kwon, G.S., (2015). "Polymeric Micelles for Multi-Drug Delivery in Cancer", *American Association of Pharmaceutical Scientists*, 16(1): 10-20.
- [116] Liu, J., Lee, H. ve Allen, C., (2006). "Formulation of Drugs in Block Copolymer Micelles: Drug Loading and Release", *Current Pharmaceutical Design*, 12(36): 4685-4701.
- [117] Lee, H., Soo, P.L., Liu, J., Butler, M. ve Allen, C., (2006). "Polymeric Micelles for Formulation of Anti-cancer Drugs", *Nanotechnology for Cancer Therapy*, 317-355.
- [118] Torchilin, V.P., (2007). "Micellar Nanocarriers: Pharmaceutical Perspectives", *Pharmaceutical Research*, 24(1): 1-16.
- [119] Tan, C., Wang, Y. ve Fan, W., (2013). "Exploring Polymeric Micelles for Improved Delivery of Anticancer Agents: Recent Developments in Preclinical Studies", *Pharmaceutics*, 5(1): 201-219.
- [120] Mitra, A.K., Cholkar, K. ve Mandal, A., (2017). *Emerging Nanotechnologies for Diagnostics, Drug Delivery, and Medical Devices*, First Edition, Elsevier, United States.
- [121] Sezgin, Z., Yüksel, N. ve Baykara, T., (2003). "İlaç Taşıyıcı Sistemler Olarak Polimerik Misellerin Hazırlanması ve Karakterizasyonu", 32(2): 125-142.
- [122] Gaucher, G., Dufresne, M.-H., Sant, V.P., Kang, N., Maysinger, D. ve Leroux, J.-C., (2005). Block Copolymer Micelles: Preparation, Characterization and Application in Drug Delivery", *Journal of Controlled Release*, 109(1-3): 169-188.
- [123] Le Garrec, D., Ranger, M. ve Leroux, J.-C., (2004). "Micelles in Anticancer Drug Delivery", *American Journal of Drug Delivery*, 2(1): 15-42.
- [124] Ruel-Gariépy, E. ve Leroux, J.-C., (2004). "In Situ-forming Hydrogels-Review of Temperature-Sensitive Systems", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 58(2): 409-426.

- [125] Jeong, B., Bae, Y.H. ve Kim, S.W., (1999). "Thermoreversible Gelation of PEG-PLGA-PEG Triblock Copolymer Aqueous Solutions", *Macromolecules*, 32, 7064-7069.
- [126] Shim, W.S., Kim, S.W. ve Lee, D.S., (2006). "Sulfonamide-Based pH- and Temperature-Sensitive Biodegradable Block Copolymer Hydrogels", *Biomacromolecules*, 7(6): 1935-1941.
- [127] Bae, S.J., Suh, J.M., Sohn, Y.S., Bae, Y.H., Kim, S.W. ve Jeong, B., (2005). "Thermogelling Poly(caprolactone-b-ethylene glycol-b-caprolactone) Aqueous Solutions", *Macromolecules*, 38(12): 5260-5265.
- [128] Wei, X., Lv, X., Zhao, Q. ve Qiu, L., (2013). "Thermosensitive β -cyclodextrin Modified Poly(ϵ -caprolactone)-poly(ethylene glycol)-poly(ϵ -caprolactone) Micelles Prolong the Anti-inflammatory Effect of Indomethacin Following Local Injection", *Acta Biomaterialia*, 9(6): 6953-6963.
- [129] Gou, M.L., Gong, C.Y., Zhang, J., Wang, X.H., Wang, X.H., Gu, Y.C., Guo, G., Chen, L.J., Luo, F., Zhao, X., Wei, Y.Q. ve Qian, Z.Y., (2010). "Polymeric Matrix for Drug Delivery: Honokiol-Loaded PCL-PEG-PCL Nanoparticles in PEG-PCL-PEG Thermosensitive Hydrogel", *Journal of Biomedical Materials Research-Part A*, 93(1): 219-226.
- [130] Bonacucina, G., Cespi, M., Mencarelli, G., Giorgioni, G. ve Palmieri, G.F., (2011). "Thermosensitive Self-Assembling Block Copolymers as Drug Delivery Systems", *Polymers*, 3(2): 779-811.
- [131] Ma, G., Miao, B. ve Song, C., (2010). "Thermosensitive PCL-PEG-PCL Hydrogels: Synthesis, Characterization, and Delivery of Proteins", *Journal of Applied Polymer Science*, 116: 1985-1993.
- [132] Raghavan, S.R. ve Cipriano, B.H., (2005). "Gel Formation: Phase Diagrams using Tabletop Rheology and Calorimetry", *Molecular Gels: Materials with Self-Assembled Fibrillar Networks*, 233-244.
- [133] Naruphontjirakul, P. ve Viravaidya-Pasuwat, K., (2011). "Development of Doxorubicin-Core Shell Chitosan Nanoparticles to Treat Cancer", 2011 International Conference on Biomedical Engineering and Technology, Singapore.
- [134] Danhier, F., Kouhé, T.T.B., Duhem, N., Ucakar, B., Staub, A., Draoui, N., Feron, O. ve Pr  at, V., (2014). "Vitamin E-Based Micelles Enhance the Anticancer Activity of Doxorubicin", *International Journal of Pharmaceutics*, 476(1): 9-15.
- [135] Pradhan, N., Rajkhowa, H., Giri, H. ve Shrestha, B., (2015). "Simultaneous Spectrophotometric Estimation of Moxifloxacin Hydrochloride and Doxorubicin Hydrochloride", *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(11): 21-26.
- [136] Na, C., (2007). Doxorubicin Conjugated to D- α -Tocopheryl Polyethylene Glycol 1000 Succinate (TPGS): In Vitro Cytotoxicity, In Vivo Pharmacokinetics and Biodistribution, a Thesis Submitted for the Degree of Master, Department of Chemical and Biomolecular Engineering National University of Singapore, Singapore.

- [137] Carter, S.K., Marco, A.D., Ghione, M., Krakoff, I.H. ve Mathe, G., (1972). "International Symposium on Adriamycin", International Symposium on Adriamycin, 1-251.
- [138] Bagheri, S., Hassani, S.M. ve Ghahremani, H., (2012). "Computational Procedure for Determining Physicochemical Properties of Doxorubicin-TPGS and Daunorubicin-TPGS as Anticancer Agents", Oriental Journal of Chemistry, 28(2): 835-840.
- [139] Alibolandi, M., Sadeghi, F., Abnous, K., Atyabi, F., Ramezani, M. ve Hadizadeh, F., (2015). "The Chemotherapeutic Potential of Doxorubicin-Loaded PEG-b-PLGA Nanopolymersomes in Mouse Breast Cancer Model", European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 94, 521-531.
- [140] Wu, W., Dong, Y., Gao, J., Gong, M., Zhang, X., Kong, W., Li, Y., Zeng, Y., Si, D., Wei, Z., Ci, X., Jiang, L., Li, W., Li, Q., Yi, X. ve Liu, C., (2015). "Aspartate-Modified Doxorubicin on its N-Terminal Increases Drug Accumulation in LAT1-Overexpressing Tumors", Cancer Science, 106(6): 747-756.
- [141] Nguyen, H.N., Hoang, T.M.N., Mai, T.T.T., Nguyen, T.Q.T., Do, H.D., Pham, T.H., Nguyen, T.L. ve Ha, P.T., (2015). "Enhanced Cellular Uptake and Cytotoxicity of Folate Decorated Doxorubicin Loaded PLA-TPGS Nanoparticles", Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology, 6(2): 025005-025012.
- [142] Cuong, N.V., Jiang, J.-L., Li, Y.-L., Chen, J.-R., Jwo, S.-C. ve Hsieh, M.-F., (2011). "Doxorubicin-Loaded PEG-PCL-PEG Micelle using Xenograft Model of Nude Mice: Effect of Multiple Administration of Micelle on the Suppression of Human Breast Cancer", Cancers, 3(1): 61-78.
- [143] Gewirtz, D.A., (1999). "A Critical Evaluation of the Mechanisms of Action Proposed for the Antitumor Effects of the Anthracycline Antibiotics Adriamycin and Daunorubicin", Biochemical Pharmacology, 57(7): 727-741.
- [144] Shen, F., Bailey, B.J., Chu, S., Bence, A.K., Xue, X., Erickson, P., Safa, A.R., Beck, W.T. ve Erickson, L.C., (2009). "Dynamic Assessment of Mitoxantrone Resistance and Modulation of Multidrug Resistance by Valspodar (PSC833) in Multidrug Resistance Human Cancer Cells", The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 330(2): 423-429.
- [145] Krishna, R., McIntosh, N., Riggs, K.W. ve Mayer, L.D., (1999). "Doxorubicin Encapsulated in Sterically Stabilized Liposomes Exhibits Renal and Biliary Clearance Properties That are Independent of Valspodar (PSC 833) under Conditions that Significantly Inhibit Nonencapsulated Drug Excretion", Clinical Cancer Research, 5(10): 2939-2947.
- [146] Kusunoki, N., Takara, K., Tanigawara, Y., Yamauchi, A., Ueda, K., Komada, F., Ku, Y., Kuroda, Y., Saitoh, Y. ve Okumura, K., (1998). "Inhibitory Effects of a Cyclosporin Derivative, SDZ PSC 833, on Transport of Doxorubicin and Vinblastine via Human P-glycoprotein", Japanese Journal of Cancer Research, 89(11): 1220-1228.
- [147] Fischer, V., Rodríguez-Gascón, A., Heitz, F., Tynes, R., Hauck, C., Cohen, D. ve Vickers, A.E.M., (1998). "The Multidrug Resistance Modulator Valspodar

(PSC 833) is Metabolized By Human Cytochrome P450 3A”, *Drug Metabolism and Disposition*, 26(8): 802-811.

- [148] Krishna, R. ve Mayer, L.D., (2001). “Modulation of P-glycoprotein (PGP) Mediated Multidrug Resistance (MDR) using Chemosensitizers: Recent Advances in the Design of Selective MDR Modulators”, *Current Medicinal Chemistry - Anti-Cancer Agents*, 1(2): 163-174.
- [149] Tuguntaev, R.G., Chen, S., Eltahan, A.S., Mozhi, A., Jin, S., Zhang, J., Li, C. ve Liang, X.-J., (2017). “P-gp Inhibition and Mitochondrial Impairment by Dual-Functional Nanostructure Based on Vitamin E Derivatives to Overcome Multidrug Resistance”, *ACS Applied Materials and Interfaces*, 1-33.
- [150] Cao, N. ve Feng, S.-S., (2008). “Doxorubicin Conjugated to D- α -tocopheryl Polyethylene Glycol 1000 Succinate (TPGS): Conjugation Chemistry, Characterization, In Vitro and In Vivo Evaluation”, *Biomaterials*, 29(28): 3856-3865.
- [151] Zhang, Z., Tan, S. ve Feng, S.-S., (2012). “Vitamin E TPGS as a Molecular Biomaterial for Drug Delivery”, *Biomaterials*, 33(19): 4889-4906.
- [152] Neophytou, C.M. ve Constantinou, A.I., (2015). “Drug Delivery Innovations for Enhancing the Anticancer Potential of Vitamin E Isoforms and Their Derivatives”, *BioMed Research International*, 2015: 1-16.
- [153] Guo, Y., Luo, J., Tan, S., Otieno, B.O. ve Zhang, Z., (2013). “The Applications of Vitamin E TPGS in Drug Delivery”, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 49(2): 175-186.
- [154] Constantinides, P.P., Han, J. ve Davis, S.S., (2006). “Advances in the use of Tocols as Drug Delivery Vehicles”, *Pharmaceutical Research*, 23(2): 243-255.
- [155] Duhem, N., Danhier, F. ve Préat, V., (2014). “Vitamin E-Based Nanomedicines for Anti-cancer Drug Delivery”, *Journal of Controlled Release*, 182(1): 33-44.
- [156] Alqahtani, S. ve Kaddoumi, A., (2015). “Vitamin E Transporters in Cancer Therapy”, *American Association of Pharmaceutical Scientists*, 17(2): 313-322.
- [157] Arifin, D.Y., Lee, L.Y. ve Wang, C.-H., (2006). “Mathematical Modeling and Simulation of Drug Release from Microspheres: Implications to Drug Delivery Systems”, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58: 1274-1325.
- [158] Siepmann, J. ve Peppas, N.A., (2001). “Modeling of Drug Release from Delivery Systems Based on Hydroxypropyl Methylcellulose (HPMC)”, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 48: 139-157.
- [159] Dash, S., Murthy, P.N., Nath, L. ve Chowdhury, P., (2010). “Kinetic Modeling on Drug Release from Controlled Drug Delivery Systems”, *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*, 67(3): 217-223.
- [160] Ramteke, K.H., Dighe, P.A., Kharat, A.R. ve Patil, S.V., (2014). “Review Article Mathematical Models of Drug Dissolution: a Review”, *Scholars Academic Journal of Pharmacy*, 3(5): 388-396.
- [161] Chime Salome, A., Onunkwo Godswill, C. ve Onyishi Ikechukwu, I., (2013). “Kinetics and Mechanisms of Drug Release from Swellable and Non Swellable Matrices: a Review”, *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 4(2): 97-103.

- [162] Pedersen, P.V. ve Myrick, J.W., (1978). "Versatile Kinetic Approach to Analysis of Dissolution Data", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 67(10): 1450-1455.
- [163] Costa, P. ve Lobo, J.M.S., (2001). "Modeling and Comparison of Dissolution Profiles", *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13, 123-133.
- [164] Zhang, Y., Huang, Y. ve Li, S., (2014). "Polymeric Micelles: Nanocarriers for Cancer-Targeted Drug Delivery", *American Association of Pharmaceutical Scientists*, 15(4): 862-871.
- [165] Sezgin, Z., Yüksel, N. ve Baykara, T., (2006). "Preparation and Characterization of Polymeric Micelles for Solubilization of Poorly Soluble Anticancer Drugs", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 64(3): 261-268.
- [166] Li, N., Zhang, P., Huang, C., Song, Y., Garg, S. ve Luan, Y., (2015). "Co-delivery of Doxorubicin Hydrochloride and Verapamil Hydrochloride by pH-Sensitive Polymersomes for the Reversal of Multidrug Resistance", *RSC Advances*, 1-39.
- [167] Gou, M., Zheng, X., Men, K., Zhang, J., Zheng, L., Wang, X., Luo, F., Zhao, Y., Zhao, X., Wei, Y. ve Qian, Z., (2009). "Poly(ϵ -caprolactone)/Poly(ethylene glycol)/Poly(ϵ -caprolactone) Nanoparticles: Preparation, Characterization, and Application in Doxorubicin Delivery", *The Journal of Physical Chemistry B*, 113(39): 12928-12933.
- [168] Zhao, Y., Zhou, Y., Wang, D., Gao, Y., Li, J., Ma, S., Zhao, L., Zhang, C., Liu, Y. ve Li, X., (2015). "pH-Responsive Polymeric Micelles Based on Poly(2-ethyl-2-oxazoline)- poly(D,L-lactide) for Tumor-Targeting and Controlled Delivery of Doxorubicin and P-glycoprotein Inhibitor", *Acta Biomaterialia*, 17, 182-192.
- [169] Abandansari, H.S., Aghaghafari, E., Nabid, M.R. ve Niknejad, H., (2013). "Preparation of Injectable and Thermoresponsive Hydrogel Based on Penta-block Copolymer with Improved Sol Stability and Mechanical Properties", *Polymer*, 54(4): 1329-1340.
- [170] Huang, Y., Gao, H., Gou, M., Ye, H., Liu, Y., Gao, Y., Peng, F., Qian, Z., Cen, X. ve Zhao, Y., (2010). "Acute Toxicity and Genotoxicity Studies on Poly(ϵ -caprolactone)-poly(ethylene glycol)-poly(ϵ -caprolactone) Nanomaterials", *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 696(2): 101-106.
- [171] Zhu, W., Xie, W., Tong, X. ve Shen, Z., (2007). "Amphiphilic Biodegradable Poly(CL-b-PEG-b-CL) Triblock Copolymers Prepared by Novel Rare Earth Complex: Synthesis and Crystallization Properties", *European Polymer Journal*, 43(8): 3522-3530.
- [172] Li, W., Peng, H., Ning, F., Yao, L., Luo, M., Zhao, Q., Zhu, X. ve Xiong, H., (2014). "Amphiphilic Chitosan Derivative-Based Core-Shell Micelles: Synthesis, Characterisation and Properties for Sustained Release of Vitamin D3", *Food Chemistry*, 152: 307-315.
- [173] Lee, K.Y., Jo, W.H., Kwon, I.C., Kim, Y.-H. ve Jeong, S.Y., (1998). "Structural Determination and Interior Polarity of Self-Aggregates Prepared from Deoxycholic Acid-Modified Chitosan in Water", *Macromolecules*, 31(2): 378-383.

- [174] Kim, S.Y., Shin, I.G., Lee, Y.M., Cho, C.S. ve Sung, Y.K., (1998). "Methoxy poly(ethylene glycol) and ϵ -caprolactone Amphiphilic Block Copolymeric Micelle Containing Indomethacin. II. Micelle Formation and Drug Release Behaviours", *Journal of Controlled Release*, 51(1): 13-22.
- [175] Yoo, H.S. ve Park, T.G., (2001). "Biodegradable Polymeric Micelles Composed of Doxorubicin Conjugated PLGA-PEG Block Copolymer", *Journal of Controlled Release*, 70(1-2): 63-70.
- [176] Kim, C., Lee, S.C., Shin, J.H., Yoon, J.-S., Kwon, I.C. ve Jeong, S.Y., (2000). "Amphiphilic Diblock Copolymers Based on Poly(2-ethyl-2-oxazoline) and Poly(1,3-trimethylene carbonate): Synthesis and Micellar Characteristics", *Macromolecules*, 33(20): 7448-7452.
- [177] Bae, S.J., Joo, M.K., Jeong, Y., Kim, S.W., Lee, W.-K., Sohn, Y.S. ve Jeong, B., (2006). "Gelation Behavior of Poly(ethylene glycol) and Polycaprolactone Triblock and Multiblock Copolymer Aqueous Solutions", *Macromolecules*, 39(14): 4873-4879.
- [178] Fu, J., Lv, X. ve Qiu, L., (2015). "Thermo-Responsive Triblock Copolymer Micelles Containing PEG6000 for either Water-Soluble or Water-Insoluble Drug Sustained Release and Treatment", *RSC Advances*, 5(47): 37451-37461.
- [179] Gong, C.Y., Shi, S., Wu, L., Gou, M.L., Yin, Q.Q., Guo, Q.F., Dong, P.W., Zhang, F., Luo, F., Zhao, X., Wei, Y.Q. ve Qian, Z.Y., (2009). "Biodegradable In Situ Gel-Forming Controlled Drug Delivery System Based on Thermosensitive PCL-PEG-PCL Hydrogel. Part 2: Sol-Gel-Sol Transition and Drug Delivery Behavior", *Acta Biomaterialia*, 5(9): 3358-3370.
- [180] Hu, Y., Xie, J., Tong, Y.W. ve Wang, C.-H., (2007). "Effect of PEG Conformation and Particle Size on the Cellular Uptake Efficiency of Nanoparticles with the HepG2 Cells", *Journal of Controlled Release*, 118(1): 7-17.
- [181] Manjili, H.K., Sharafi, A., Danafar, H., Hosseini, M., Ramazani, A. ve Ghasemi, M.H., (2016). "Poly(caprolactone)-poly(ethylene glycol)-poly-(caprolactone) (PCL-PEG-PCL) Nanoparticles: a Valuable and Efficient System for In Vitro and In Vivo Delivery of Curcumin", *RSC Advances*, 6(17): 14403-14415.
- [182] Lapi, A.M., Altomare, A., Alderighi, M., Corti, A., Dessy, A., Chiellini, F., Solimando, A. ve Solaro, R., (2013). "Multiblock Copolymers of ϵ -Caprolactone and Ethylene Glycol Containing Periodic Side-Chain Carboxyl Groups: Synthesis, Characterization, and Nanoparticle Preparation", *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry*, 51(18): 3800-3809.
- [183] Dhahi, R.M., Jasim, H.M., Hateem, M.C. ve Elfick, A., (2016). "Therapeutic Targeting of Anti-cancer Drug Loaded PCL-PEG-PCL Triblock Copolymer Nanoparticles toward MCF-7 Breast Cancer Cell Line", *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 7(5): 1238-1244.
- [184] Hu, Y., Zhang, L., Cao, Y., Ge, H., Jiang, X. ve Yang, C., (2004). "Degradation Behavior of Poly(ϵ -caprolactone)-b-poly(ethylene glycol)-b-poly(ϵ -caprolactone) Micelles in Aqueous Solution", *Biomacromolecules*, 5: 1756-1762.

- [185] Suksiriworapong, J., Sripha, K., Kreuter, J. ve Junyaprasert, V.B., (2012). "Functionalized (poly(ϵ -caprolactone))2-poly(ethylene glycol) Nanoparticles with Grafting Nicotinic Acid as Drug Carriers", *International Journal of Pharmaceutics*, 423(2): 562-570.
- [186] Sutton, D., Wang, S., Nasongkla, N., Gao, J. ve Dormidontova, E.E., (2007). "Doxorubicin and β -lapachone Release and Interaction with Micellar Core Materials: Experiment and Modeling", *Society for Experimental Biology and Medicine*, 232(8): 1090-1099.
- [187] Shieh, M.-J., Hsu, C.-Y., Huang, L.-Y., Chen, H.-Y., Huang, F.-H. ve Lai, P.-S., (2011). "Reversal of Doxorubicin-Resistance by Multifunctional Nanoparticles in MCF-7/ADR Cells", *Journal of Controlled Release*, 152(3): 418-425.
- [188] Kushwaha, A.K., Vuddanda, P.R., Karunanidhi, P., Singh, S.K. ve Singh, S., (2013). "Development and Evaluation of Solid Lipid Nanoparticles of Raloxifene Hydrochloride for Enhanced Bioavailability", *BioMed Research International*, 2013: 1-10.
- [189] Xiao, W., Hou, J., Ma, J., Yu, B., Ren, J., Jin, W., Wu, J., Zheng, D. ve Fan, K., (2014). "Mangiferin Loaded Magnetic PCEC Microspheres: Preparation, Characterization and Antitumor Activity Studies In Vitro", *Archives of Pharmacal Research*, 1-7.
- [190] Salehi, R., Rasouli, S. ve Hamishehkar, H., (2015). "Smart Thermo/pH Responsive Magnetic Nanogels for the Simultaneous Delivery of Doxorubicin and Methotrexate", *International Journal of Pharmaceutics*, 487(1-2): 274-284.
- [191] Kashif, P.M., Madni, A., Ashfaq, M., Rehman, M., Mahmood, M.A., Khan, M.I. ve Tahir, N., (2016). "Development of Eudragit RS 100 Microparticles Loaded with Ropinirole: Optimization and In Vitro Evaluation Studies", *American Association of Pharmaceutical Scientists*, 18(5): 1810-1822.
- [192] Dinan, N.M., Atyabi, F., Rouini, M.-R., Amini, M., Golabchifar, A.-A. ve Dinarvand, R., (2014). "Doxorubicin Loaded Folate-Targeted Carbon Nanotubes: Preparation, Cellular Internalization, In Vitro Cytotoxicity and Disposition Kinetic Study in the Isolated Perfused Rat Liver", *Materials Science and Engineering C*, 39(1): 47-55.
- [193] Bajelan, E., Haeri, A., Vali, A.M., Ostad, S.N. ve Dadashzadeh, S., (2012). "Co-delivery of Doxorubicin and PSC 833 (Valspodar) by Stealth Nanoliposomes for Efficient Overcoming of Multidrug Resistance", *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 15(4): 568-582.
- [194] Gong, C.Y., Dong, P.W., Shi, S., Fu, S.Z., Yang, J.L., Guo, G., Zhao, X., Wei, Y.Q. ve Qian, Z.Y., (2009). "Thermosensitive PEG-PCL-PEG Hydrogel Controlled Drug Delivery System: Sol-Gel-Sol Transition and In Vitro Drug Release Study", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 98: 3707-3717.
- [195] Eatemadi, A., Darabi, M., Afraidooni, L., Zarghami, N., Daraee, H., Eskandari, L., Mellatyar, H. ve Abolfazl, A., (2016). "Comparison, Synthesis and Evaluation of Anticancer Drug-Loaded Polymeric Nanoparticles on Breast Cancer Cell Lines", *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 44(3): 1008-1017.

- [196] Barghi, L., Asgari, D., Barar, J. ve Valizadeh, H., (2015). "Synthesis of PCEC Copolymers with Controlled Molecular Weight using Full Factorial Methodology", *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 5(1): 51-56.
- [197] Zamani, S. ve Khoee, S., (2012). "Preparation of Core-Shell Chitosan/PCL-PEG Triblock Copolymer Nanoparticles with ABA and BAB Morphologies: Effect of Intraparticle Interactions on Physicochemical Properties", *Polymer*, 53(25): 5723-5736.
- [198] Ryu, J.-G., Jeong, Y.-H., Kim, Y.-H., Kim, I.-S., Kim, D.-H. ve Kim, S.-H., (2001). "Preparation of Core-Shell Type Nanoparticles of Poly(ϵ -caprolactone)/poly(ethylene glycol)/Poly(ϵ -caprolactone) Triblock Copolymers", *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 22(5): 467-475.
- [199] Liu, C.B., Gong, C.Y., Huang, M.J., Wang, J.W., Pan, Y.F., Zhang, Y.D., Li, G.Z., Gou, M.L., Wang, K., Tu, M.J., Wei, Y.Q. ve Qian, Z.Y., (2008). "Thermoreversible Gel-Sol Behavior of Biodegradable PCL-PEG-PCL Triblock Copolymer in Aqueous Solutions", *Journal of Biomedical Materials Research. Part B, Applied Biomaterials*, 84(1): 165-175.
- [200] Gong, C.Y., Qian, Z.Y., Liu, C.B., Huang, M.J., Gu, Y.C., Wen, Y.J., Kan, B., Wang, K., Dai, M., Li, X.Y., Gou, M.L., Tu, M.J. ve Wei, Y.Q., (2007). "A Thermosensitive Hydrogel Based on Biodegradable Amphiphilic Poly(ethylene glycol)-polycaprolactone-poly(ethylene glycol) Block Copolymers", *Smart Materials and Structures*, 16(3): 927-933.
- [201] Zareie, S., Gharipour, F. ve Rostamizadeh, K., (2012). "Preparation and Characterization of Poly(ϵ -caprolactone)-poly(ethylene glycol)-poly(ϵ -caprolactone) Nanoparticles for Sustained Release of Tamoxifen", *Research in Pharmaceutical Sciences*, 7(5): 239.
- [202] Askari, S., Salehi, R., Zarghami, N., Akbarzadeh, A. ve Rahmati-yamchi, M., (2016). "The Anticancer Effects of Biodegradable Nanomagnetic Dual Natural Components on the Leptin Gene Expression in Lung Cancer", *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 44(7): 1753-1763.
- [203] Tran, T.-Q.-M., Hsieh, M.-F., Chang, K.-L., Pho, Q.-H., Nguyen, V.-C., Cheng, C.-Y. ve Huang, C.-M., (2016). "Bactericidal Effect of Lauric Acid-Loaded PCL-PEG-PCL Nano-Sized Micelles on Skin Commensal *Propionibacterium Acnes*", *Polymers*, 8(9): 1-19.
- [204] Guo, F., Guo, D., Zhang, W., Yan, Q., Yang, Y., Hong, W. ve Yang, G., (2017). "Preparation of Curcumin-Loaded PCL-PEG-PCL Triblock Copolymeric Nanoparticles by a Microchannel Technology", *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 99, 328-336.
- [205] Huang, M.J., Gou, M.L., Qian, Z.Y., Dai, M., Li, X.Y., Cao, M., Wang, K., Zhao, J., Yang, J.L., Lu, Y., Tu, M.J. ve Wei, Y.Q., (2008). "One-Step Preparation of Poly(ϵ -caprolactone)-poly(ethylene glycol)-poly(ϵ -caprolactone) Nanoparticles for Plasmid DNA Delivery", *Journal of Biomedical Materials Research-Part A*, 86(4): 979-986.
- [206] Xu, B., Yuan, J., Ding, T. ve Gao, Q., (2009). "Amphiphilic Biodegradable Poly(ϵ -caprolactone)-poly(ethylene glycol)-poly(ϵ -caprolactone) Triblock Copolymers: Synthesis, Characterization and Their use as Drug Carriers for Folic Acid", *Polymer Bulletin*, 64(6): 537-551.

- [207] Guo, G., Fu, S., Zhou, L., Liang, H., Fan, M., Luo, F., Qian, Z. ve Wei, Y., (2011). "Preparation of Curcumin Loaded Poly(ϵ -caprolactone)-poly(ethylene glycol)-poly(ϵ -caprolactone) Nanofibers and Their In Vitro Antitumor Activity Against Glioma 9L Cells", *Nanoscale*, 3(9): 3825-3832.
- [208] Feng, R., Song, Z. ve Zhai, G. (2012). "Preparation and In Vivo Pharmacokinetics of Curcumin-Loaded PCL-PEG-PCL Triblock Copolymeric Nanoparticles", *International Journal of Nanomedicine*, 7: 4089-4098.
- [209] Khodaverdi, E., Gharechahi, M., Alibolandi, M., Tekie, F.S.M., Khashyarmanesh, B.Z. ve Hadizadeh, F., (2016). "Self-Assembled Supramolecular Hydrogel Based on PCL-PEG-PCL Triblock Copolymer and γ -cyclodextrin Inclusion Complex for Sustained Delivery of Dexamethasone", *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 6(2): 78-85.
- [210] Bogdanov, B., Vidts, A., Bulcke, A.V.D., Verbeeck, R. ve Schacht, E., (1998). "Synthesis and Thermal Properties of Poly(ethylene glycol)-poly(ϵ -caprolactone) Copolymers", *Polymer*, 39(97): 1631-1636.
- [211] Letchford, K., Zastre, J., Liggins, R. ve Burt, H., (2004). "Synthesis and Micellar Characterization of Short Block Length Methoxy Poly(ethylene glycol)-block-poly(caprolactone) Diblock Copolymers", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 35(2): 81-91.
- [212] Piñeiro, L., Novo, M. ve Al-Soufi, W., (2015). "Fluorescence Emission of Pyrene in Surfactant Solutions", *Advances in Colloid and Interface Science*, 215: 1-12.
- [213] Francis, M.F., Cristea, M. ve Winnik, F.M., (2004). "Polymeric Micelles for Oral Drug Delivery: Why and How", *Pure and Applied Chemistry*, 76(7-8): 1321-1335.
- [214] Varshosaz, J., Hassanzadeh, F., Sadeghi-aliabadi, H., Larian, Z. ve Rostami, M., (2014). "Synthesis of Pluronic® F127-poly (methyl vinyl ether-alt-maleic acid) Copolymer and Production of its Micelles for Doxorubicin Delivery in Breast Cancer", *Chemical Engineering Journal*, 240: 133-146.
- [215] Wang, D., Peng, Z., Liu, X., Tong, Z., Wang, C. ve Ren, B., (2007). "Synthesis and Micelle Formation of Triblock Copolymers of Poly(methyl methacrylate)-b-poly(ethylene oxide)-b-poly(methyl methacrylate) in Aqueous Solution", *European Polymer Journal*, 43(7): 2799-2808.
- [216] Luo, Y.-L., Huang, R.-J., Zhang, L.-L., Xu, F. ve Chen, Y.-S., (2013). "Dual-Responsive Polyacrylate Copolymer Micelles with PMAA and PNIPAAm Graft Brushes: Physicochemical Properties and Prednisone Release", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 436: 1175-1185.
- [217] Chansuna, M., Pimpha, N. ve Vao-soongnern, V., (2014). "Mesoscale Simulation and Experimental Studies of Self-Assembly Behavior of a PLA-PEG-PLA Triblock Copolymer Micelle for Sustained Drug Delivery", *Journal of Polymer Research*, 21(452): 1-9.
- [218] Kim, S.Y., Shin, I.G., Lee, Y.M., Cho, C.S. ve Sung, Y.K., (1998). "Methoxy poly(ethylene glycol) and ϵ -caprolactone Amphiphilic Block Copolymeric Micelle Containing Indomethacin. II. Micelle Formation and Drug Release Behaviours", *Journal of Controlled Release*, 51(1): 13-22.

- [219] Zhang, L., He, Y., Ma, G., Song, C. ve Sun, H., (2012). "Paclitaxel-Loaded Polymeric Micelles Based on Poly(ϵ -caprolactone)-poly(ethylene glycol)-poly(ϵ -caprolactone) Triblock Copolymers: In Vitro and In Vivo Evaluation", *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 8(6): 925-934.
- [220] Chang, K.-L., Chen, C.-H., Hsieh, M.-F. ve Huang, C.M., (2011). "The Nanoparticles for Combating Acne Vulgairs : In-Vitro Efficacy of Lauric Acid-Loaded PCL-PEG-PCL on Propionbactrium Acne", 2010 International Conference on Nanotechnology and Biosensors, 2: 157-161, Singapore.
- [221] Zhang, J., Men, K., Gu, Y., Wang, X., Gou, M., Guo, G., Luo, F. ve Qian, Z., (2011). "Preparation of Core Cross-Linked PCL-PEG-PCL Micelles for Doxorubicin Delivery In Vitro", *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 11(6): 5054-5061.
- [222] Khodaverdi, E., Golmohammadian, A., Mohajeri, S.A., Zohuri, G., Tekie, F.S.M. ve Hadizadeh, F., (2012). "Biodegradable In Situ Gel-Forming Controlled Drug Delivery System Based on Thermosensitive Poly(ϵ -caprolactone)-Poly(ethylene glycol)-Poly(ϵ -caprolactone) Hydrogel", *ISRN Pharmaceutics*, 2012: 976879.
- [223] Zhang, W., Wu, Q., Li, L., Cui, T., Sun, L., Wang, N., Liu, L., Li, X. ve Gong, C., (2014). "Prevention of Desiccation Induced Postsurgical Adhesion by Thermosensitive Micelles", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 122: 309-315.
- [224] Zentner, G.M., Rathi, R., Shih, C., McRea, J.C., Seo, M.-H., Oh, H., Rhee, B.G., Mestecky, J., Moldoveanu, Z., Morgan, M. ve Weitman, S., (2001). "Biodegradable Block Copolymers for Delivery of Proteins and Water-Insoluble Drugs", *Journal of Controlled Release*, 72(1-3): 203-215.
- [225] Holmgren, J. ve Fagerland, J., (2013). "Gelation Properties of Thermosensitive Hydrogels", *Research Academy for Young Scientists*, 1-14.
- [226] Zhao, J. ve Feng, S.-S., (2014). "Effects of PEG Tethering Chain Length of Vitamin E TPGS with a Herceptin-Functionalized Nanoparticle Formulation for Targeted Delivery of Anticancer Drugs", *Biomaterials*, 35(10): 3340-3347.
- [227] Verma, A. ve Stellacci, F., (2010). "Effect of Surface Properties on Nanoparticle-Cell Interactions", *Small*, 6(1): 12-21.
- [228] Nel, A.E., Mädler, L., Velegol, D., Xia, T., Hoek, E.M.V., Somasundaran, P., Klaessig, F., Castranova, V. ve Thompson, M., (2009). "Understanding Biophysicochemical Interactions at the Nano-Bio Interface", *Nature Materials*, 8(7): 543-557.
- [229] Sunderland, C.J., Steiert, M., Talmadge, J.E., Derfus, A.M. ve Barry, S.E., (2006). "Targeted Nanoparticles for Detecting and Treating Cancer", *Drug Development Research*, 67: 70-93.
- [230] Alexis, F., Pridgen, E., Molnar, L.K. ve Farokhzad O.C., (2008). "Factors Affecting the Clearance and Biodistribution of Polymeric Nanoparticles", *Molecular Pharmaceutics*, 5(4): 505-515.
- [231] Gao, Z., Zhang, L. ve Sun, Y., (2012). "Nanotechnology Applied to Overcome Tumor Drug Resistance", *Journal of Controlled Release*, 162(1): 45-55.

- [232] Mohanraj, V.J. ve Chen, Y., (2006). "Nanoparticles-a Review", *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 5(1): 561-573.
- [233] Peltonen, L. ve Strachan, C., (2015). "Understanding Critical Quality Attributes for Nanocrystals from Preparation to Delivery", *Molecules*, 20(12): 22286-22300.
- [234] Shin, G.H., Li, J., Cho, J.H., Kim, J.T. ve Park, H.J., (2016). "Enhancement of Curcumin Solubility by Phase Change from Crystalline to Amorphous in Cur-TPGS Nanosuspension", *Journal of Food Science*, 81(2): N494-N501.
- [235] Shavi, G.V., Nayak, U.Y., Maliyakkal, N., Deshpande, P.B., Raghavendra, R., Kumar, A.R., Reddya, M.S., Udupa, N. ve Shrawan, B., (2015). "Nanomedicine of Anastrozole for Breast Cancer: Physicochemical Evaluation, In Vitro Cytotoxicity on BT-549 and MCF-7 Cell Lines and Preclinical Study on Rat Model", *Life Sciences*, 141: 143-155.
- [236] Singh, R. ve Lillard, J.W., (2009). "Nanoparticle-Based Targeted Drug Delivery", *Experimental and Molecular Pathology*, 86(3): 215-223.
- [237] Tuomela, A., Hirvonen, J. ve Peltonen, L., (2016). "Stabilizing Agents for Drug Nanocrystals: Effect on Bioavailability", *Pharmaceutics*, 8(2): 1-18.
- [238] Li, Y., Dong, L., Jia, A., Chang, X. ve Xue, H., (2006). "Preparation and Characterization of Solid Lipid Nanoparticles Loaded Traditional Chinese Medicine", *International Journal of Biological Macromolecules*, 38(3-5): 296-299.
- [239] Demir, D., (2013). *Dosetaksel İçeren Nanopartiküllerin Formülasyonu ve İn Vitro Değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.*
- [240] Gong, C.Y., Wang, Y.J., Wang, X.H., Wei, X.W., Wu, Q.J., Wang, B.L., Dong, P.W., Chen, L.J., Luo, F. ve Qian, Z.Y., (2011). "Biodegradable Self-Assembled PEG-PCL-PEG Micelles for Hydrophobic Drug Delivery, Part 2: In Vitro and In Vivo Toxicity Evaluation", *Journal of Nanoparticle Research*, 13(2): 721-731.
- [241] Cruz, L.J., Tacke, P.J., Fokkink, R. ve Figdor, C.G., (2011). "The Influence of PEG Chain Length and Targeting Moiety on Antibody-Mediated Delivery of Nanoparticle Vaccines to Human Dendritic Cells", *Biomaterials*, 32(28): 6791-6803.
- [242] Zhang, L., Chen, Z., Wang, H., Wu, S., Zhao, K., Sun, H., Kong, D., Wang, C., Leng, X. ve Zhu, D., (2016). "Preparation and Evaluation of PCL-PEG-PCL Polymeric Nanoparticles for Doxorubicin Delivery Against Breast Cancer", *RSC Advances*, 6: 54727-54737.
- [243] Win, K.Y. ve Feng, S.-S., (2005). "Effects of Particle Size and Surface Coating on Cellular Uptake of Polymeric Nanoparticles for Oral Delivery of Anticancer Drugs", *Biomaterials*, 26(15): 2713-2722.
- [244] Chan, J.M., Zhang, L., Yuet, K.P., Liao, G., Rhee, J.-W., Langer, R. ve Farokhzad, O.C., (2009). "PLGA-lecithin-PEG Core-Shell Nanoparticles for Controlled Drug Delivery", *Biomaterials*, 30(8): 1627-1634.

- [245] Lu, F., Wu, S.-H., Hung, Y. ve Mou, C.-Y., (2009). "Size Effect on Cell Uptake in Well-Suspended, Uniform Mesoporous Silica Nanoparticles", *Small*, 5(12): 1408-1413.
- [246] He, Q., Zhang, Z., Gao, F., Li, Y. ve Shi, J., (2011). "In Vivo Biodistribution and Urinary Excretion of Mesoporous Silica Nanoparticles: Effects of Particle Size and PEGylation", *Small*, 7(2): 271-280.
- [247] He, Q., Zhang, Z., Gao, Y., Shi, J. ve Li, Y., (2009). "Intracellular Localization and Cytotoxicity of Spherical Mesoporous Silica Nano- and Microparticles", *Small*, 5(23): 2722-2729.
- [248] Lin, Y.-S. ve Haynes, C.L., (2010). "Impacts of Mesoporous Silica Nanoparticle Size, Pore Ordering, and Pore Integrity on Hemolytic Activity", *Journal of the American Chemical Society*, 132(13): 4834-4842.
- [249] Doktorovova, S., Souto, E.B. ve Silva, A.M., (2014). "Nanotoxicology Applied to Solid Lipid Nanoparticles and Nanostructured Lipid Carriers - a Systematic Review of In Vitro Data", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 87(1): 1-18.
- [250] Nel, A., Xia, T., Mädler, L. ve Li, N., (2006). "Toxic Potential of Materials at the Nanolevel", *Science*, 311(5761): 622-627.
- [251] Bilensoy, E., Gürkaynak, O., Şen, M., Hıncal, A.A., (2007). "Development of Nonsurfactant Cyclodextrin Nanoparticles Loaded with Anticancer Drug Paclitaxel", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97(4): 1519-1529.
- [252] Kunii, R., Onishi, H. ve Machida, Y., (2007). "Preparation and Antitumor Characteristics of PLA/(PEG-PPG-PEG) Nanoparticles Loaded with Camptothecin", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 67(1): 9-17.
- [253] Çırpanlı, Y., (2009). Kamptotesin İçeren Polimerik ve Oligosakkarit Bazlı Nanopartiküler Formülasyonların Geliştirilmesi ve İn Vitro-İn Vivo Değerlendirilmesi, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [254] Ryu, J., Jeong, Y.I., Kim, I.S., Lee, J.H., Nah, J.W. ve Kim, S.H., (2000). "Clonazepam Release from Core-Shell Type Nanoparticles of Poly(epsilon-caprolactone)/poly(ethylene glycol)/poly(epsilon-caprolactone) Triblock Copolymers", *International Journal of Pharmaceutics*, 200(2): 231-242.
- [255] Zhang, X., Liu, B., Yang, Z., Zhang, C., Li, H., Luo, X., Luo, H., Gao, D., Jiang, Q., Liu, J. ve Jiang, Z., (2014). "Micelles of Enzymatically Synthesized PEG-poly(amine-co-ester) Block Copolymers as pH-responsive Nanocarriers for Docetaxel Delivery", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 115: 349-358.
- [256] Lin, W.-J., Juang, L.-W. ve Lin, C.-C., (2003). "Stability and Release Performance of a Series of Pegylated Copolymeric Micelles", *Pharmaceutical Research*, 20(4): 668-673.
- [257] Men, K., Zeng, S., Gou, M., Guo, G., Gu, Y.C., Luo, F., Zhao, X., Wei, Y. ve Qian, Z., (2010). "Preparation of Magnetic Microspheres Based on Poly(epsilon-caprolactone)-poly(ethylene glycol)-poly(epsilon-caprolactone) Copolymers by Modified Solvent Diffusion Method", *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 6(3): 287-292.

- [258] Cheng, J., Teply, B.A., Sherifi, I., Sung, J., Luther, G., Gu, F.X., Levy-Nissenbaum, E., Radovic-Moreno, A.F., Langer, R. ve Farokhzad, O.C., (2007). "Formulation of Functionalized PLGA-PEG Nanoparticles for In Vivo Targeted Drug Delivery", *Biomaterials*, 28(5): 869-876.
- [259] Galindo-Rodriguez, S., Allemann, E., Fessi, H. ve Doelker, E., (2004). "Physicochemical Parameters associated with Nanoparticle Formation in the Salting-out, Nanoprecipitation Methods", *Pharmaceutical Research*, 21(8): 1428-1439.
- [260] Mainardes, R.M. ve Evangelista, R.C., (2005). "PLGA Nanoparticles Containing Praziquantel: Effect of Formulation Variables on Size Distribution", *International Journal of Pharmaceutics*, 290(1-2): 137-144.
- [261] Gou, M.L., Zheng, L., Peng, X.Y., Men, K., Zheng, X.L., Zeng, S., Guo, G., Luo, F., Zhao, X., Chen, L., Wei, Y.Q. ve Qian, Z.Y., (2009). "Poly(ϵ -caprolactone)-poly(ethylene glycol)-poly(ϵ -caprolactone) (PCL-PEG-PCL) Nanoparticles for Honokiol Delivery In Vitro", *International Journal of Pharmaceutics*, 375(1-2): 170-176.
- [262] Öcal, H., (2010). Amfifilik Blok Kopolimerler Kullanılarak Nanopartikül Formülasyonlarının Geliştirilmesi ve İn Vitro Değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [263] Zhou, S., Deng, X. ve Yang, H., (2003). "Biodegradable Poly(ϵ -caprolactone)-poly(ethylene glycol) Block Copolymers: Characterization and Their use as Drug Carriers for a Controlled Delivery System", *Biomaterials*, 24(20): 3563-3570.
- [264] Wang, W., Zhou, S., Sun, L. ve Huang, C., (2010). "Controlled Delivery of Paracetamol and Protein at Different Stages from Core-Shell Biodegradable Microspheres", *Carbohydrate Polymers*, 79(2): 437-444.
- [265] Dey, S., Pramanik, S. ve Malgope, A., (2011). "Formulation and Optimization of Sustained Release Stavudine Microspheres using Response Surface Methodology", *ISRN Pharmaceutics*, 2011: 1-7.
- [266] Kukut, S.M., (2012). Design and Synthesis of Complex Biomacromolecules and Their use in Various Applications, Ph. D. Thesis, Istanbul Technical University Graduate School of Science Engineering and Technology, İstanbul.
- [267] Zhou, S., Sun, J., Sun, L., Dai, Y., Liu, L., Li, X., Wang, J., Weng, J., Jia, W. ve Zhang, Z., (2008). "Preparation and Characterization of Interferon-Loaded Magnetic Biodegradable Microspheres", *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 87 B: 189-196.
- [268] Thirupathy, A., Srinivas, P., Babu, D.S.R. ve Mamidi, S., (2011). "Formulation and Evaluation of Sustained Release Implantable Microspheres of Temozolomide for Brain Targeting Prepared by a Novel Technique, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* , 3(4): 187-194.
- [269] Abdallah, M.H., Sammour, O.A., El-ghamry, H.A., El-nahas, H.M. ve Barakat, W., (2012). "Development and Characterization of Controlled Release Ketoprofen Microspheres", *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(3): 60-67.

- [270] Chaisri, W., Hennink, W.E. ve Okonogi, S., (2009). "Preparation and Characterization of Cephalexin Loaded PLGA Microspheres", *Current Drug Delivery*, 6(1): 69-75.
- [271] Chang, L., Liu, J., Zhang, J., Deng, L. ve Dong, A., (2013). "pH-Sensitive Nanoparticles Prepared from Amphiphilic and Biodegradable Methoxy poly(ethylene glycol)-block-(polycaprolactone-graft-poly(methacrylic acid)) for Oral Drug Delivery", *Polymer Chemistry*, 4: 1430-1438.
- [272] Li, X., Wang, L. ve Wang, B., (2017). "Optimization of Encapsulation Efficiency and Average Particle Size of Hohenbuehelia serotina Polysaccharides Nanoemulsions using Response Surface Methodology", *Food Chemistry*, 1-25.
- [273] Alex, R. ve Bodmeier, R., (1990). "Encapsulation of Water-Soluble Drugs by a Modified Solvent Evaporation Method. I. Effect of Process and Formulation Variables on Drug Entrapment", *Journal of Microencapsulation*, 7(3): 347-355.
- [274] Jyothi, N.V.N., Prasanna, P.M., Sakarkar, S.N., Prabha, K.S., Ramaiah, P.S. ve Srawan, G.Y., (2010). "Microencapsulation Techniques, Factors Influencing Encapsulation Efficiency", *Journal of Microencapsulation*, 27(3): 187-197.
- [275] Kong, T., Wu, J., To, M., Yeung, K.W.K. ve Shum, H.C., (2012). "Droplet Based Microfluidic Fabrication of Designer Microparticles for Encapsulation Applications", *Biomicrofluidics*, 6(3): 034104-9.
- [276] Chopra, M., Kaur, P., Bernela, M. ve Thakur, R., (2012). "Synthesis and Optimization of Streptomycin Loaded Chitosan-Alginate Nanoparticles", *International Journal of Scientific & Technology Research*, 1(10): 31-34.
- [277] Singh, N., Gadoria, J., Arora, S.C., Khatkar, A. ve Saraf, S.A., (2011). "Development and Characterization of Poly (ϵ -caprolactone) Microspheres Containing Acetazolamide", *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(8): 2080-2090.
- [278] Bayomi, M.A., Al-Suwayeh, S.A., El-Helw, A.M. ve Mesnad, A.F., (1998). "Preparation of Casein-Chitosan Microspheres Containing Diltiazem Hydrochloride by an Aqueous Coacervation Technique", *Pharmaceutica Acta Helveticae*, 73(4): 187-192.
- [279] Yin, W. ve Yates, M.Z., (2009). "Encapsulation and Sustained Release from Biodegradable Microcapsules Made by Emulsification/Freeze Drying and Spray/Freeze Drying", *Journal of Colloid and Interface Science*, 336(1): 155-161.
- [280] Herrmann, J. ve Bodmeier, R., (1995). "Somatostatin Containing Biodegradable Microspheres Prepared by a Modified Solvent Evaporation Method Based on W/O/W Multiple Emulsions", *International Journal of Pharmaceutics*, 126: 129-138.
- [281] Missirlis, D., Kawamura, R., Tirelli, N. ve Hubbell, J.A., (2006). "Doxorubicin Encapsulation and Diffusional Release from Stable, Polymeric, Hydrogel Nanoparticles", *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 29: 120-129.
- [282] Öcal, Y., (2011). Development and Characterization of Cortisone Derivative Drug Carrying Polymeric Microspheres, Master of Science, The Graduate School of Natural and Applied Sciences of Middle East Technical University, Ankara.

- [283] Demetçi, D., (2007). Preparation and Evaluation of Polymer Based Microcarriers for Hydrophobic Anti-Cancer Drugs, Master of Science, The Graduate School of Natural and Applied Sciences of Middle East Technical University, Ankara.
- [284] Dai, M., Xu, X., Song, J., Fu, S., Gou, M., Luo, F. ve Qian, Z., (2011). "Preparation of Camptothecin-Loaded PCEC Microspheres for the Treatment of Colorectal Peritoneal Carcinomatosis and Tumor Growth in Mice", *Cancer Letters*, 312(2): 189-196.
- [285] Kılıçarslan, M. ve Baykara, T., (2003). "The Effect of the Drug/Polymer Ratio on the Properties of the Verapamil HCl Loaded Microspheres", *International Journal of Pharmaceutics*, 252(1-2): 99-109.
- [286] Bolourtchian, N., Karimi, K. ve Aboofazeli, R., (2005). "Preparation and Characterization of Ibuprofen Microspheres", *Journal of Microencapsulation*, 22(5): 529-538.
- [287] Huang, J., Zhang, H., Yu, Y., Chen, Y., Wang, D., Zhang, G., Zhou, G., Liu, J., Sun, Z., Sun, D., Lu, Y. ve Zhong, Y., (2014). "Biodegradable Self-Assembled Nanoparticles of Poly (D,L-lactide-co-glycolide)/hyaluronic acid Block Copolymers for Target Delivery of Docetaxel to Breast Cancer", *Biomaterials*, 35(1): 550-566.
- [288] Emami, J., Rezazadeh, M., Rostami, M., Hassanzadeh, F., Sadeghi, H., Mostafavi, A., Minaian, M. ve Lavasanifar, A., (2015). "Co-delivery of Paclitaxel and α -tocopherol succinate by Novel Chitosan-Based Polymeric Micelles for Improving Micellar Stability and Efficacious Combination Therapy", *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 41(7): 1137-1147.
- [289] Unsoy, G., Khodadust, R., Yalcin, S., Mutlu, P. ve Gunduz, U., (2014). "Synthesis of Doxorubicin Loaded Magnetic Chitosan Nanoparticles for pH Responsive Targeted Drug Delivery", *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 62: 243-250.
- [290] Liu, J., Zhang, Y., Wang, C., Xu, R., Chen, Z. ve Gu, N., (2010). "Magnetically Sensitive Alginate-Templated Polyelectrolyte Multilayer Microcapsules for Controlled Release of Doxorubicin", *Journal of Physical Chemistry C*, 114(17): 7673-7679.
- [291] Hao, T., Chen, D., Liu, K., Qi, Y., Tian, Y., Sun, P., Liu, Y. ve Li, Z., (2015). "Micelles of d- α -Tocopheryl Polyethylene Glycol 2000 Succinate (TPGS 2K) for Doxorubicin Delivery with Reversal of Multidrug Resistance", *ACS Applied Materials and Interfaces*, 7(32): 18064-18075.
- [292] Darby, R.A.J., Callaghan, R. ve McMahon, R.M., (2011). "P-glycoprotein Inhibition: the Past, the Present and the Future", *Current Drug Metabolism*, 12: 722-731.
- [293] Binkhathlan, Z., Hamdy, D.A., Brocks, D.R. ve Lavasanifar, A., (2010). "Development of a Polymeric Micellar Formulation for Valspodar and Assessment of its Pharmacokinetics in Rat", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 75(2): 90-95.
- [294] Zidan, A.S., Habib, M.J. ve Khan, M.A., (2008). "Process Analytical Technology: Nondestructive Evaluation of Cyclosporine A and Phospholipid

- Solid Dispersions by Near Infrared Spectroscopy and Imaging", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97(8): 3388-3399.
- [295] Saliba, J.B., Faraco, A.A.G., Yoshida, M.I., Vasconcelos, W.L., Silva-Cunha, A. ve Mansur, H.S., (2008). "Development and Characterization of an Intraocular Biodegradable Polymer System Containing Cyclosporine-A for the Treatment of Posterior Uveitis", *Materials Research*, 11(2): 207-211.
 - [296] Binkhathlan, Z., (2011). Development of Block Copolymer Based Nanocarriers for the Solubilization and Delivery of Valspodar, Doctor of Philosophy, Pharmaceutical Sciences of University of Alberta, Alberta.
 - [297] Liu, B.-Y., Wu, C., He, X.-Y., Zhuo, R.-X. ve Cheng, S.-X., (2016). "Multi-Drug Loaded Vitamin E-TPGS Nanoparticles for Synergistic Drug Delivery to Overcome Drug Resistance in Tumor Treatment", *Science Bulletin*, 61(7): 552-560.
 - [298] Mi, Y., Zhao, J. ve Feng, S.-S., (2013). "Targeted Co-delivery of Docetaxel, Cisplatin and Herceptin by Vitamin E TPGS-Cisplatin Prodrug Nanoparticles for Multimodality Treatment of Cancer", *Journal of Controlled Release*, 169(3): 185-192.
 - [299] Emami, J., Rezazadeh, M., Mashayekhi, M., Rostami, M. ve Jahanian-Najafabadi, A., (2017). "A Novel Mixed Polymeric Micelle for Co-delivery of Paclitaxel and Retinoic Acid and Overcoming Multidrug Resistance: Synthesis, Characterization, Cytotoxicity, and Pharmacokinetic Evaluation", *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 1-12.
 - [300] Sonali, A.P., Singh, R.P., Rajesh, C.V., Singh, S., Vijayakumar, M.R., Pandey, B.L. ve Muthu, M.S., (2016). "Transferrin Receptor-Targeted Vitamin E TPGS Micelles for Brain Cancer Therapy: Preparation, Characterization and Brain Distribution in Rats", *Drug Delivery*, 23(5): 1788-1798.
 - [301] Ouahab, A., Shao, C., Shen, Y. ve Tu, J., (2014). "Development and Characterization of Stabilized Double Loaded mPEG-PDLLA Micelles for Simultaneous Delivery of Paclitaxel and Docetaxel", *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 40(7): 860-868.
 - [302] Zhang, Y., Xiao, C., Li, M., Ding, J., Yang, C., Zhuang, X. ve Chen, X., (2014). "Co-delivery of Doxorubicin and Paclitaxel with Linear-Dendritic Block Copolymer for Enhanced Anti-Cancer Efficacy", *Science China Chemistry*, 57(4): 624-632.
 - [303] Desale, S.S, Raja, S.M., Kim, J.O., Mohapatra, B., Soni, K.S., Luan, H., Williams, S.H., Bielecki, T.A., Feng, D., Storck, M., Band, V., Cohen, S.M., Band, H. ve Bronich, T.K., (2015). "Polypeptide-Based Nanogels Co-encapsulating a Synergistic Combination of Doxorubicin with 17-AAG Show Potent Anti-Tumor Activity in ErbB2-Driven Breast Cancer Models", *Journal of Controlled Release*, 208: 59-66.
 - [304] Ye, Y.-Q., Yang, F.-L., Hu, F.-Q., Du, Y.-Z., Yuan, H. ve Yu, H.-Y., (2008). "Core-Modified Chitosan-Based Polymeric Micelles for Controlled Release of Doxorubicin", *International Journal of Pharmaceutics*, 352(1-2): 294-301.
 - [305] Shen, J., Yin, Q., Chen, L., Zhang, Z. ve Li, Y., (2012). "Co-delivery of Paclitaxel and Survivin shRNA by Pluronic P85-PEI/TPGS Complex

- Nanoparticles to Overcome Drug Resistance in Lung Cancer", *Biomaterials*, 33(33): 8613-8624.
- [306] Wang, C.-H., Wang, C.-H. ve Hsiue, G.-H., (2005). "Polymeric Micelles with a pH-Responsive Structure as Intracellular Drug Carriers", *Journal of Controlled Release*, 108(1): 140-149.
 - [307] Lee, Y., Park, S.Y., Mok, H. ve Park, T.G., (2008). "Synthesis, Characterization, Antitumor Activity of Pluronic Mimicking Copolymer Micelles Conjugated with Doxorubicin via Acid-Cleavable Linkage", *Bioconjugate Chemistry*, 19: 525-531.
 - [308] Sanson, C., Schatz, C., Le Meins, J.F., Thevenot, J., Garanger, E. ve Lecommandoux, S., (2010). "A Simple Method to Achieve High Doxorubicin Loading in Biodegradable Polymersomes", *Journal of Controlled Release*, 147: 428-435.
 - [309] Shuai, X., Ai, H., Nasongkla, N., Kim, S. ve Gao, J., (2004). "Micellar Carriers Based on Block Copolymers of Poly(ϵ -caprolactone) and Poly(ethylene glycol) for Doxorubicin Delivery", *Journal of Controlled Release*, 98: 415-426.
 - [310] Jin, X., Zou, B., Luo, L., Zhong, C., Zhang, P., Cheng, H., Guo, Y. ve Gou, M., (2016). "Codelivery of Thioridazine and Doxorubicin using Nanoparticles for Effective Breast Cancer Therapy", *International Journal of Nanomedicine*, 11: 4545-4552.
 - [311] Oliveira, M.S., Aryasomayajula, B., Pattni, B., Mussi, S.V., Ferreira, L.A.M. ve Torchilin, V.P., (2016). "Solid Lipid Nanoparticles Co-loaded with Doxorubicin and α -Tocopherol succinate are Effective Against Drug-Resistant Cancer Cells in Monolayer and 3-D Spheroid Cancer Cell Models", *International Journal of Pharmaceutics*, 1-33.
 - [312] Charrois, G.J.R. ve Allen, T.M., (2004). "Drug Release Rate Influences the Pharmacokinetics, Biodistribution, Therapeutic Activity, and Toxicity of Pegylated Liposomal Doxorubicin Formulations in Murine Breast Cancer", *Biochimica et Biophysica Acta*, 1663: 167-177.
 - [313] Ali, S.A.M., Zhong, S.-P., Doherty, P.J. ve Williams, D.F., (1993). "Mechanisms of Polymer Degradation in Implantable Devices", *Biomaterials*, 14(9): 648-656.
 - [314] Ge, H., Hu, Y., Jiang, X., Cheng, D., Yuan, Y., Bi, H. ve Yang, C., (2002). "Preparation, Characterization, and Drug Release Behaviors of Drug Nimodipine-Loaded Poly(ϵ -caprolactone)-Poly(ethylene oxide)-Poly(ϵ -caprolactone) Amphiphilic Triblock Copolymer Micelles", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 91: 1463-1473.
 - [315] Zhang, L., Hu, Y., Jiang, X., Yang, C., Lu, W. ve Yang, Y.H., (2004). "Camptothecin Derivative-Loaded Poly(caprolactone-co-lactide)-b-PEG-b-poly(caprolactone-co-lactide) Nanoparticles and Their Biodistribution in Mice", *Journal of Controlled Release*, 96(1): 135-148.
 - [316] Zhu, R.R., Qin, L.L., Wang, M., Wu, S.M., Wang, S.L., Zhang, R., Liu, Z.X., Sun, X.Y. ve Yao, S.D., (2009). "Preparation, Characterization, and Anti-tumor Property of Podophyllotoxin-loaded Solid Lipid Nanoparticles", *Nanotechnology*, 20(5): 055702.

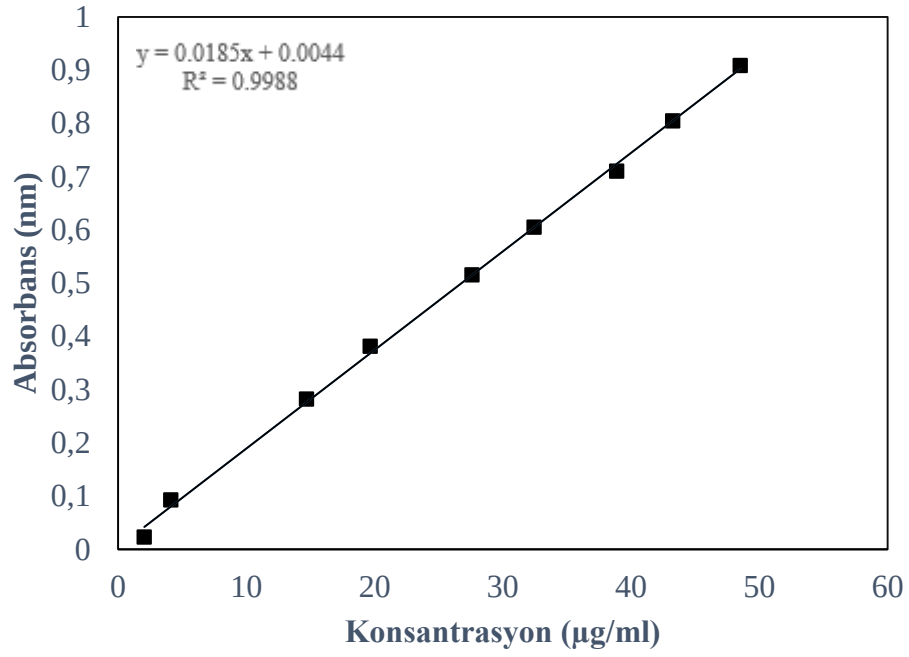
- [317] Gou, M.L., Li, X.Y., Dai, M., Gong, C.Y., Wang, X.H., Xie, Y., Deng, H.X., Chen, L.J., Zhao, X., Qian, Z.Y. ve Wei, Y.Q., (2008). "A Novel Injectable Local Hydrophobic Drug Delivery System: Biodegradable Nanoparticles in Thermo-sensitive Hydrogel", *International Journal of Pharmaceutics*, 359(1-2): 228-233.
- [318] Chen, C.-C., Tsai, T.-H., Huang, Z.-R. ve Fang, J.-Y., (2010). "Effects of Lipophilic Emulsifiers on the Oral Administration of Lovastatin from Nanostructured Lipid Carriers: Physicochemical Characterization and Pharmacokinetics", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 74: 474-482.
- [319] Gao, W., Lin, Z., Chen, M., Yang, X., Cui, Z., Zhang, X., Yuan, L. ve Zhang, Q., (2014). "The Co-delivery of a Low-Dose P-glycoprotein Inhibitor with Doxorubicin Sterically Stabilized Liposomes Against Breast Cancer with Low P-glycoprotein Expression", *International Journal of Nanomedicine*, 9(1): 3425-3437.
- [320] Almeida, R.R., Magalhães, H.S., Souza, J.R.R., Trevisan, M.T.S., Vieira, Í.G.P., Feitosa, J.P.A., Araújo, T.G. ve Ricardo, N.M.P.S., (2015). "Exploring the Potential of Dimorphandra Gardneriana Galactomannans as Drug Delivery Systems", *Industrial Crops & Products*, 69: 284-289.
- [321] England, C.G., Miller, M.C., Kuttan, A., Trent, J.O. ve Frieboes, H.B., (2015). "Release Kinetics of Paclitaxel and Cisplatin from Two and Three Layered Gold Nanoparticles", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 92: 120-129.
- [322] Stanković, M., Tomar, J., Hiemstra, C., Steendam, R., Frijlink, H.W. ve Hinrichs, W.L.J., (2014). "Tailored Protein Release from Biodegradable Poly(ϵ -caprolactone-PEG)-b-poly(ϵ -caprolactone) Multiblock-Copolymer Implants", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 87(2): 329-337.
- [323] Apu, A.S., Pathan, A.H., Shrestha, D., Kibria, G. ve Jalil, R., (2009). "Investigation of In Vitro Release Kinetics of Carbamazepine from Eudragit® RS PO and RL PO Matrix Tablets", *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 8(2): 145-152.
- [324] Lowalekar, R. ve Chauhan, L.S., (2016). "In-Vitro Release Kinetics, In-Vitro Buoyancy Studies and In-Vivo Floating Behaviour of Gastro-Retentive Tablets of Ciprofloxacin and Metronidazole", *Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences*, 3(4): 67-72.
- [325] Crank, J., (1975). *The Mathematics of Diffusion*, Second Edition, Clarendon Press, Oxford.
- [326] Ahuja, N., Katare, O.P. ve Singh, B., (2007). "Studies on Dissolution Enhancement and Mathematical Modeling of Drug Release of a Poorly Water-Soluble Drug using Water-Soluble Carriers", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 65: 26-38.
- [327] Kim, S.Y., Kim, J.H., Kim, D., An, J.H., Lee, D.S. ve Kim, S.C., (2001). "Drug-Releasing Kinetics of MPEG/PLLA Block Copolymer Micelles with Different PLLA Block Lengths", *Journal of Applied Polymer Science*, 82: 2599-2605.

- [328] Jain, A., Thakur, K., Sharma, G., Kush, P. ve Jain, U.K., (2016). "Fabrication, Characterization and Cytotoxicity Studies of Ionically Cross-Linked Docetaxel Loaded Chitosan Nanoparticles", *Carbohydrate Polymers*, 137: 65-74.
- [329] Godbout, C., (2006). Poly(ethylene glycol-co-lactic acid) Block Copolymer Micelles: Synthesis, Physicochemical Characterization, and Degradation, Master of Science, Department of Chemistry of McGill University, Montreal.
- [330] Wang, H., Zhao, Y., Wu, Y., Hu, Y.L., Nan, K., Nie, G. ve Chen, H., (2011). "Enhanced Anti-Tumor Efficacy by Co-delivery of Doxorubicin and Paclitaxel with Amphiphilic Methoxy PEG-PLGA Copolymer Nanoparticles", *Biomaterials*, 32(32): 8281-8290.
- [331] Danafar, H., (2016). "Preparation and Characterization of PCL-PEG-PCL Polymersomes for Delivery of Clavulanic Acid", *Cogent Medicine*, 3(1): 1-11.



KALİBRASYON EĞRİSİ

EK-A'da DOX'in standart kalibrasyon eğrisi verilmiştir.



Şekil EK-A. 1 Saf su içinde DOX'in standart kalibrasyon eğrisi

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Özlem GÖKÇE KOCABAY
Doğum Tarihi ve Yeri : 26.01.1984, Ankara
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : ozlemmgokce@hotmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Kimya Mühendisliği	Yıldız Teknik Üniversitesi	2012
Lisans	Kimya Mühendisliği	Gazi Üniversitesi	2008
Hazırlık Sınıfı	İngilizce	Gazi Üniversitesi	2004
Lise	Fen Bilimleri	Ankara Cumhuriyet A. L.	2002

İŞ TECRÜBESİ

Yıl	Firma/Kurum	Görevi
2012-Devam	Kültür ve Turizm Bakanlığı	Kültür ve Turizm Uzmanı Kimya Yüksek Mühendisi

2009	Kültür ve Turizm Bakanlığı	Kültür ve Turizm Uzman Yardımcısı Kimya Mühendisi
2014	Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı	İş Güvenliği Uzmanı (C)



YAYINLARI

Makale (SCI, SSCI, AHCI)

1. **Gökçe Kocabay, O.** ve İsmail, O., (2018). “Synthesis and Characterization of Poly(ε-caprolactone)-poly(ethylene glycol)-poly(ε-caprolactone) Copolymers: Investigation of the Effect of Blocks on Micellization”, *Revue Roumaine de Chimie*.
2. İsmail, O. ve **Kocabay, O.G.**, (2018). “Drying Kinetics of Hot-Air Dried Beef Meat: Application of Mathematical Models, Energy Consumption, and Color Characteristics”, *Heat Transfer Research*, 49: 1353-1366.
3. İsmail, O. ve **Kocabay, O.G.**, (2018). “Infrared and Microwave Drying of Rainbow Trout: Drying Kinetics and Modelling”, *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 18: 259-266.
4. **Kocabay, O.G.** ve İsmail, O., (2017). “Investigation of Rehydration Kinetics of Open-Sun Dried Okra Samples”, *Heat and Mass Transfer*, 53: 2155-2163.
5. İsmail, O. ve **Kocabay O.G.**, (2016). “Evaluation of the Drying Methods and Conditions with respect to Drying Kinetics, Colour Quality and Specific Energy Consumption of Thin Layer Pumpkins”, *Bulgarian Chemical Communications*, 48: 480-491.

Bildiri (Uluslararası)

1. **Gökçe Kocabay, O.** ve İsmail, O., (2018). “Synthesis, Absorption and Adsorption Studies of Polyacrylamide-Sodium Alginate Hydrogel”, VII. Polymer Science & Technology Congress with International Participation (Polymer 2018), 09-12 September 2018, Eskisehir.
2. **Gökçe Kocabay, O.**, İsmail, O. ve Akdeste, Z., (2017). “Poly(ε-caprolactone)-poly(ethylene glycol)-poly(ε-caprolactone) (PCL-PEG-PCL) Micelles for Anti-cancer Drug Delivery In Vitro”, 8th International Advanced Technologies Symposium (IATS’17), 19-21 October 2017, Elazığ.
3. **Gökçe Kocabay, O.** ve İsmail, O., (2017). “Preparation and Characterization of Poly(ε-caprolactone)-poly(ethylene glycol)-poly(ε-caprolactone) Triblock Copolymers”, 8th International Advanced Technologies Symposium (IATS’17), 19-21 October 2017, Elazığ.

Bildiri (Uluslararası-Tam Metin)

1. **Gökçe Kocabay, O.** ve İsmail, O., (2018). “Effect of Pretreatment and Temperature on Drying of Rainbow Trout”, 2nd International Congress on Fisheries and Aquatic Research (ICFAR 2018), 12-15 July 2018, Nevşehir.

Proje

1. Biyopolimerik Misellerin Sentezi ve Karakterizasyonu, Modifiye Edilmiş Anti-kanser İlaçların Kontrollü Salımında Kullanılması, Yıldız Teknik Üniversitesi (DOP), Proje no: 2014-07-01-DOP04, 2014-2018, Araştırmacı.