

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ


Polimerik Blend Nanokürelerin Hazırlanması ve İn Vitro İlaç Geçiş
Özelliklerinin İncelenmesi

Ümit Haydar EROL

ŞUBAT 2016

Kimya Anabilim Dalında ÜMİT HAYDAR EROL tarafından hazırlanan **POLİMERİK BLEND NANOKÜRELERİN HAZIRLANMASI VE İN VİTRO İLAÇ GEÇİŞ ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ** adlı Yüksek Lisans Tezinin Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

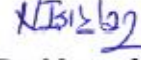
12.10.2016



Prof. Dr. Zeki ÖKTEM

Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumu ve tezin **Yüksek Lisans Tezi** olarak bütün gereklilikleri yerine getirdiğini onaylarım.



Prof. Dr. Nuran IŞIKLAN

Danışman

Jüri Üyeleri

Başkan : Doç. Dr. Metin ARSLAN

Üye (Danışman) : Prof. Dr. Nuran IŞIKLAN

Üye : Yrd. Doç. Dr. Erol ALVER

Bu tez ile Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onaylamıştır.

Prof. Dr. Mustafa YİĞİTOĞLU

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

POLİMERİK BLEND NANOKÜRELERİN HAZIRLANMASI VE İN VİTRO İLAÇ GEÇİŞ ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

EROL, ÜMİT HAYDAR

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Nuran IŞIKLAN

Şubat 2016, 123 sayfa

Tez çalışmasında, flurbiprofen içeren kitosan-hidroksipropil selüloz ve kitosan-grafen oksit blend nanoküre formülasyonlarının emülsiyon yöntemi ile hazırlanması, yapılarının karakterize edilmesi ve ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılması hedeflenmiştir. Blend nanoküre formülasyon parametreleri değiştirilerek bu parametrelerin etken madde salımını nasıl etkiledikleri incelenmiştir.

Hazırlanan nanokürelerin yapıları, ATR-Fourier Transform Infrared Spektroskopisi, Zeta Potansiyel ve Partikül Boyut Analizi, Diferansiyel Taramalı Kalorimetre, Termogravimetrik Analiz, Taramalı Elektron Mikroskobu, Atomik Kuvvet Mikroskobu ve X-Işınları Difraktometresi analizleri ile karakterize edilmiştir.

Nanokürelerden in vitro salım çalışmaları 30, 37 ve 44 °C'de 2 saat süreyle mide sıvısına benzer pH 1,2 HCl çözeltisi ve 22 saat süreyle bağırsak sıvısına benzer pH 7,4

$H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$ tamponu ortamlarında gerçekleştirilmiştir. Blend oranı, gluteraldehit derişimi, gluteraldehit ile çapraz bağlama süresi, ilaç/polimer oranı ve sürfektan madde miktarı gibi çeşitli parametrelerin flurbiprofen salımına etkisi araştırılmıştır.

Gluteraldehit ile çapraz bağlama süresi ve gluteraldehit derişiminin artması ile blend nanokürelerden flurbiprofen salımı azalmış; ilaç/polimer oranı, blend oranı ve surfektan madde miktarının artması ile ilaç salımı artmıştır. Kinetik parametreler salım sonuçlarından yararlanılarak Peppas eşitliği ile belirlenmiştir. Ayrıca, difüzyon katsayıları salım sonuçlarından hesaplanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kontrollü Salım, Kitosan (CS), Hidroksipropil Selüloz (HPC), Blend Nanoküre, Grafen Oksit (GO), Flurbiprofen, Gluteraldehit (GA)

ABSTRACT

PREPARATION OF POLYMERIC BLEND NANOSPHERES AND EXAMINATION OF IN VITRO DRUG RELEASE

EROL, ÜMİT HAYDAR

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry, M.Sc. Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Nuran IŞIKLAN

February 2016, 123 pages

In the study, it was aimed to preparation, characterization and useage of flurbiprofen containing chitosan-hydroxypropyl cellulose and chitosan-graphene oxide blend nanospheres prepared by emulsion method as drug delivery systems. The effects of parameters on active agent were investigated by changing the formulation parameters of blend nanospheres.

The structure of the prepared nanospheres was characterized by ATR-Fourier Transform Infrared Spectroscopy, Zeta Potential and Particle Size Analysis, Differential Scanning Calorimeter, Thermogravimetric Analysis, Scanning Electron Microscope, Atomic Force Microscope and X-Rays Diffractometer Analyses.

In vitro release studies of nanospheres were performed in simulated gastric fluid pH 1,2 HCl solution for 2 hours and in simulated intestinal fluid pH 7,4 $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$

buffer solution for 22 hours at 30, 37 and 44 °C. The effects of various parameters on flurbiprofen release such as blend ratio, glutaraldehyde concentration, glutaraldehyde cross-linking time, drug/polymer ratio and surfactant material were investigated.

The flurbiprofen release from blend nanospheres decreased with increasing glutaraldehyde cross-linking time and its concentration while it increased with increasing drug/polymer ratio and percentage of surfactant agent. Kinetic parameters were determined by release results utilizing Peppas equation. The diffusion coefficient was also calculated using flurbiprofen release results.

Keywords: Controlled Release, Chitosan (CS), Hydroxypropyl Cellulose (HPC), Blend Nanospheres, Graphene Oxide (GO), Flurbiprofen, Glutaraldehyde (GA)

TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans öğrenimim boyunca başından sonuna kadar emeği geçen ve beni bu konuda yönlendiren saygı değer hocam ve danışmanım, Sayın Prof. Dr. Nuran IŞIKLAN'a tüm katkılarından ve hiç eksiltmediği desteğinden dolayı teşekkür ederim.

Deney imkânlarını sonuna kadar bizlerin hizmetine sunan Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Laboratuvarlarında çalışan mesai arkadaşlarıma teőekkürlerimi sunarım.

Tezimin hazırlanması esnasında maddi manevi yardımlarını esirgemeyen aileme teőekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışma, 2014/39 nolu proje kapsamında gerçekleştirildiğinden Kırıkkale Üniversitesi BAP birimine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
KISALTMALAR DİZİNİ	xvi
1.GİRİŞ	1
1.1. Çalışmanın Amacı	2
1.2. Kontrollü Salım Sağlayan Sistemleri	3
1.2.1. Kontrollü Salım Sistemlerinin Klasik İlaç Salım Sistemlerine Göre Avantajları	5
1.2.2. Kontrollü Salım Sistemlerinin Klasik İlaç Salım Sistemlerine Göre Dezavantajları	6
1.2.3. Kontrollü Salım Sisteminin Kinetiği ve Salım Mekanizmasının Belirlenmesi	7
1.2.4. Kontrollü Salım Sistemlerinin Sınıflandırılması.....	10
1.2.4.1. Difüzyon Kontrollü Sistemler.....	11
1.2.4.2. Kimyasal Olarak Kontrollü Sistemler.....	11
1.2.4.3. Çözücünün Harekete Geçirdiği Sistemler.....	11
1.2.4.4. Magnetik Kontrollü Sistemler	12
1.2.4.5.Mekanik Kontrollü Sistemler.....	12
1.2.4.6. Ortama Duyarlı Sistemler (pH).....	12

1.2.4.7. Elektrik ve Nükleer Enerji Kullanan Sistemler	13
1.3. Nanosistemler	13
1.3.1. Nanoküreler	15
1.3.2. Nanokapsüller	15
1.3.3. Nanopartiküler Sistemlere Etken Madde Yüklenmesi	16
1.4. Emülsiyon Sistemler	17
1.5. Kitosan-Hidroksipropil Selüloz Blend Nanoküreleri	18
1.6. Kitosan	19
1.7. Hidroksipropil Selüloz	21
1.8. Grafen Oksit	22
1.9. Gluteraldehit	23
1.10. Etken Madde	24
1.10.1. Fizikokimyasal Özellikleri	25
1.10.2. Farmakolojik Özellikleri	25
1.10.3. Yan Etkileri	26
2. MATERYAL VE YÖNTEM	28
2.1. Kimyasal Maddeler	28
2.2. Cihazlar	28
2.3. Flurbiprofen Yüklü Kitosan Nanokürelerin Sentezlenmesi	30
2.4. Kitosan-Hidroksipropil Selüloz Blend Nanokürelerin Hazırlanması	31
2.5. Kitosan-Grafen Oksit Blend Nanokürelerin Hazırlanması	33
2.6. Flurbiprofenin UV Spektrumu	34
2.7. Flurbiprofenin UV Spektrofotometrik Yöntemle Kalibrasyonu	34
2.8. Tutuklanma Verim Hesabı	36
2.9. Blend Nanokürelerden Flurbiprofenin İn-vitro Salım Çalışması	36

3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	40
3.1. CS-HPC Blend Nanokürelerinin Karakterizasyonu	41
3.1.1. FTIR Sonuçlarının Değerlendirilmesi	41
3.1.2. TGA Sonuçlarının Değerlendirilmesi	43
3.1.3. DSC Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	45
3.1.4. SEM Analiz Sonuçları.....	47
3.2. Flurbiprofen Yüklü CS-HPC Blend Nanokürelerin Karakterizasyonu	49
3.2.1. FTIR Sonuçlarının Değerlendirilmesi	49
3.2.2. TGA Sonuçlarının Değerlendirilmesi	50
3.2.3. DSC Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	53
3.2.4. SEM Analiz Sonuçları.....	55
3.2.5. CS, HPC ve CS-HPC Blend Nanokürelerinin LCST Sonuçları ve Değerlendirilmesi.....	60
3.2.6. CS-HPC Blend Nanokürelerin %Tutuklanma Verimi, Parçacık Boyutu ve Zeta Potansiyel Ölçüm Sonuçları	62
3.3. CS-Grafen Oksit Blend Nanokürelerin Karakterizasyonu	65
3.3.1. FTIR Sonuçlarının Değerlendirilmesi	65
3.3.2. TGA Sonuçlarının Değerlendirilmesi	66
3.3.3. DSC Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	68
3.4. Flurbiprofen Yüklü CS-GO Blend Nanokürelerin Karakterizasyonu	70
3.4.1. FTIR Sonuçlarının Değerlendirilmesi	70
3.4.2. TGA Sonuçlarının Değerlendirilmesi	71
3.4.3. DSC Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	73
3.4.4. SEM Analiz Sonuçları.....	76

3.4.5. CS-GO Blend Nanokürelerin %Tutuklanma Verimi, Parçacık Boyutu ve Zeta Potansiyel Ölçüm Sonuçları.....	81
3.5. Nanokürelerin MTT Testi ile Sitotoksitelerinin Belirlenmesi.....	82
3.6. CS-HPC ve CS-GO Blend Nanokürelerin XRD Sonuçlarının Değerlendirilmesi	85
3.7. CS-HPC ve CS-GO Blend Nanokürelerden Flurbiprofen Salım Çalışmaları	88
3.7.1. Blend Oranının Flurbiprofen Salımına Etkisi	88
3.7.2. İlaç/Polimer (i/p) Oranının Flurbiprofen Salımına Etkisi	90
3.7.3. Gluteraldehit Derişiminin Flurbiprofen Salımına Etkisi.....	92
3.7.4. Çapraz Bağlama Süresinin Flurbiprofen Salımına Etkisi.....	94
3.7.5. Sürfaktan Madde Olarak Kullanılan Span 80 Yüzdesinin Flurbiprofen Salımına Etkisi.....	95
3.7.6. Sıcaklığın Flurbiprofen Salımına Etkisi.....	98
3.8. Kinetik Sonuçlar.....	102
4. SONUÇLAR	105
KAYNAKLAR	108

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE

Sayfa

1.1. Polimerik Sistemler İçin Salım Mekanizmasını Belirleyen n Sabit Değerleri.....	10
2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Kaynakları.....	28
2.2. Kullanılan Cihazların Marka ve Modelleri ile Hizmet Alımı Yapılan Kuruluşlar.....	29
2.3. Boş Kitosan Nanokürelerin ve CS-HPC Blend Nanokürelerin Hazırlanma Koşulları.....	37
2.4. Flurbiprofen Yüklü Kitosan Nanokürelerin ve CS-HPC Blend Nanokürelerin Hazırlanma Koşulları.....	38
2.5. Boş ve Flurbiprofen Yüklü CS-GO Blend Nanokürelerin Hazırlanma Koşulları.....	39
3.1. CS, HPC ve A ₀ Formülasyonlu Nanokürelerin T _g Değerleri.....	46
3.2. A ₃ ve B ₁ Formülasyonlu Nanokürelerin T _g Değerleri.....	54
3.3. CS-HPC Blend Nanokürelerinin Parçacık Boyutları, Zeta Potansiyelleri ve % Tutuklanma Verimleri.....	64
3.4. CS ve G ₃ Formülasyonlu Nanoküresinin T _g Değerleri.....	69
3.5. G ₃ ve G ₅ Formülasyonlu Nanokürelerin T _g Değerleri.....	74

3.6. CS-GO Blend Nanokürelerinin Parçacık Boyutları, Zeta Potansiyelleri ve % Tutuklanma Verimleri.....	82
3.7. Farklı Formülasyonlardaki CS-HPC Blend Nanokürelerinden Flurbiprofen Salımının Kinetik Parametreleri ve Difüzyon Katsayı Değerleri.....	103
3.8. Farklı Formülasyonlardaki CS-GO Blend Nanokürelerinden Flurbiprofen Salımının Kinetik Parametreleri ve Difüzyon Katsayı Değerleri.....	104



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>ŞEKİL</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Salım Sistemleri İçin Etken Madde Kan Düzeyi-Zaman Eğrileri Arasındaki Farklılık.....	4
1.2. Nanoküre ve Nanokapsüllerin Şematik Gösterimi.....	14
1.3. Nanokürelerden İlacın Salımı	15
1.4. Etken Maddelerin Nanopartikül Yüzeyine Yüklenmesi.....	16
1.5. Partiküler Sistemlerden Etken Madde Salım Mekanizmaları.....	17
1.6. Kitosanın Yapısı.....	20
1.7. Hidroksipropil Selülozun Yapısı.....	22
1.8. Grafen Oksitin Yapısı.....	23
1.9. Gluteraldehitin Yapısı.....	24
1.10. Flurbiprofen'in Yapısı	24
2.1. İlaç Yüklü Nanokürelerin Elde Edilme İşlemi.....	31
2.2. Kitosan Nanokürelerin Hazırlanma Sisteminin Şematik Gösterimi.....	31
2.3. İlaç Yüklü Kitosan-Hidroksipropil Selüloz Blend Nanokürelerin Elde Edilme İşlemi.....	32
2.4. CS-GO Blend Nanokürelerin Hazırlanma Sisteminin Şematik Gösterimi...	33
2.5. Flurbiprofenin pH7,4 H ₂ PO ₄ ⁻ / HPO ₄ ⁻² Tamponundaki UV Spektrumu.....	34
2.6. Flurbiprofenin pH 7,4 H ₂ PO ₄ ⁻ / HPO ₄ ⁻² Tamponundaki Kalibrasyon Doğrusu.....	35
2.7. Flurbiprofenin pH 1,2 HCl Tamponundaki Kalibrasyon Doğrusu.....	35

3.1. CS, HPC Ve CS-HPC Blend Nanokürelere Ait FTIR Spektrumu.....	42
3.2. CS, HPC ve CS-HPC Blend Nanokürelere Ait TGA Termogramları.....	44
3.3. CS, HPC ve CS-HPC Blend Nanokürelere Ait DTG Termogramları.....	45
3.4. CS, HPC ve CS-HPC Boş Blend Nanoküresine Ait DSC Termogramı.....	47
3.5. A ₀ Ve A ₃ Formülasyonlu Boş Nanokürelere Ait Farklı Büyütmelerdeki SEM Görüntüleri.....	48
3.6. Flurbiprofen, Boş CS-HPC Blend ve Flurbiprofen Yüklü CS-HPC Blendinin FTIR Spektrumu.....	50
3.7. Flurbiprofen, Boş CS-HPC Blend ve Flurbiprofen Yüklü CS-HPC Blendinin TGA Termogramları.....	52
3.8. Flurbiprofen, Boş CS-HPC Blend ve Flurbiprofen Yüklü CS-HPC Blendinin DTG Termogramları.....	52
3.9. Flurbiprofenin DSC Termogramı.....	54
3.10. Boş ve Flurbiprofen Yüklü Blend Nanokürelere Ait DSC Termogramı.....	54
3.11. Flurbiprofen Yüklü A ₅ Formülasyonlu Kürelerin SEM Fotoğrafları.....	55
3.12. Flurbiprofen Yüklü A ₆ Formülasyonlu Kürelerin SEM Fotoğrafları.....	56
3.13. Flurbiprofen Yüklü A ₇ Formülasyonlu Kürelerin SEM Fotoğrafları.....	56
3.14. Flurbiprofen Yüklü A ₈ Formülasyonlu Kürelerin SEM Fotoğrafları.....	57
3.15. Flurbiprofen Yüklü A ₉ Formülasyonlu Kürelerin SEM Fotoğrafları.....	57
3.16. A ₅ ve B ₁ Formülasyonlu Blend Nanokürelere Ait AFM Görüntüleri.....	59
3.17. Sıcaklık Duyarlı Polimerlerin Faz Diyagramları.....	60
3.18. CS, HPC ve Blend Nanokürelere Ait Faz Geçiş Diyagramları.....	62
3.19. CS, GO ve Boş CS-GO Blend Nanokürelere Ait FTIR Spektrumları.....	66
3.20. CS, GO ve Boş CS-GO Blend Nanokürelere Ait TGA Termogramı.....	66

3.21. CS, GO ve Boş CS-GO Blend Nanoküresinin DSC Termogramı.....	69
3.22. Flurbiprofen, Boş CS-GO Blendi ve Flurbiprofen Yüklü CS-GO Blend Nanokürelerinin FTIR Spektrumları.....	71
3.23. Flurbiprofen, Boş ve Flurbiprofen Yüklü CS-GO Blend Nanokürelerinin TGA ve DTG termogramları	73
3.24. Flurbiprofenin DSC Termogramı.....	75
3.25. Boş ve Flurbiprofen Yüklü CS-GO Blend Nanokürelerinin DSC Termogramları.....	75
3.26. Boş G ₁ Formülasyonlu CS-GO Blend Nanokürelerin SEM Fotoğrafları.....	76
3.27. Flurbiprofen Yüklü Farklı Blend Oranlarındaki G ₄ , G ₅ Formülasyonlu Blend Nanokürelerin SEM Fotoğrafları.....	75
3.28. Flurbiprofen Yüklü Farklı Blend Oranlarındaki G ₆ Formülasyonlu Nanokürelerin SEM Fotoğrafları.....	78
3.29. Grafen Oksitin AFM Görüntüsü.....	80
3.30. G ₅ Formülasyonlu CS-GO Blend Nanokürelerin AFM Görüntüsü.....	80
3.31. CS, HPC, Flurbiprofen ve CS-HPC Blend Nanoküreleri İçin % Hücre Canlılığı – Değişim Değişimi.....	84
3.32. CS, GO, Flurbiprofen ve CS-GO Blend Nanoküreleri İçin % Hücre Canlılığı – Değişim Değişimi.....	85
3.33. Flurbiprofen, Boş CS-HPC Blend Nanoküre ve Flurbiprofen Yüklü CS-HPC Blend Nanoküresinin XRD Sonuçları.....	86
3.34. Flurbiprofen, Boş CS-GO Blend Nanoküre ve Flurbiprofen Yüklü CS-GO Blend Nanoküresinin XRD Sonuçları.....	87

3.35. Blend Oranı Farklı CS-HPC Kürelerden Flurbiprofen Salımı.....	89
3.36. Blend Oranı Farklı CS-GO Kürelerden Flurbiprofen Salımı.....	90
3.37. İlaç/Polimer Oranı Farklı CS-HPC Kürelerden Flurbiprofen Salımı.....	91
3.38. İlaç/Polimer Oranı Farklı CS-GO Kürelerden Flurbiprofen Salımı.....	92
3.39. Çapraz Bağlayıcı Değişimi Farklı CS-HPC Kürelerden Flurbiprofen Salımı.....	93
3.40. Çapraz Bağlayıcı Değişimi Farklı CS-GO Kürelerden Flurbiprofen Salımı.....	94
3.41. Çapraz Bağlama Süresi Farklı CS-HPC Kürelerden Flurbiprofen Salımı.....	95
3.42. Span 80 Yüzdesi Farklı CS-HPC Kürelerden Flurbiprofen Salımı.....	97
3.43. Span 80 Yüzdesi Farklı CS-GO Blend Nanokürelerden Flurbiprofen Salımı.....	97
3.44. A ₅ Formülasyonlu İlaç Yüklü CS Nanoküresinin Farklı Sıcaklıklardaki Flurbiprofen Salımı.....	100
3.45. A ₆ Formülasyonlu CS-HPC Blend Nanoküresinin Farklı Sıcaklıklardaki Flurbiprofen Salımı.....	100
3.46. A ₈ Formülasyonlu CS-HPC Blend Nanoküresinin Farklı Sıcaklıklardaki Flurbiprofen Salımı.....	101
3.47. G ₇ Formülasyonlu CS-GO Blend Nanoküresinin Farklı Sıcaklıklardaki Flurbiprofen Salımı.....	101

KISALTMALAR DİZİNİ

CS	Kitosan
HPC	Hidroksipropil Selüloz
GO	Grafen oksit
GA	Gluteraldehit
FTIR	Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi
TGA	Termogravimetrik Analiz
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
SEM	Taramalı Electron Mikroskobu
AFM	Atomik Kuvvet Mikroskobu
XRD	X Işını Kırınımı
LCST	Üst Kritik Çözünme Sıcaklığı
UCST	Üst Kritik Çözünme Sıcaklığı
UV	Ultraviyole
ml	Mililitre
μ l	Mikrolitre
nm	Nanometre
mg	Miligram
l	Litre

1. GİRİŞ

Son yıllarda vücudun belirli hedef bölgelerine ilacı yönlendirebilen ve uzun süreli salım hızını kontrol edebilen sistemlerin geliştirilmesi üzerine olan çalışmalar hız kazanmıştır. Yeni bir ilacın geliştirilmesi ve tedavi amaçlı kullanılması 10 yıldan daha fazla süren araştırma ve geliştirme faaliyetini gerektirmektedir. Bu nedenle yeni ilaç geliştirmek yerine var olan ilaçların kullanım süresini ve etkinliğini arttırmak amacıyla kontrollü salım formülasyonları geliştirilmektedir [1].

İlacın veriliş şeklini değiştirmek için geliştirilen sistemlerin başında polimerlerin kullanıldığı kontrollü salım yapan sistemler gelir. İlacın bir polimere hapsedildiği kontrollü salım sistemleri ile ilacın salım hızı ve oranı rahatlıkla kontrol edilebilmektedir. Son on yılda polimerlerin taşıyıcı olarak kullanıldığı çalışmalarda ilaçların, çok uzun süreler (bazı durumlarda bir yıldan fazla) sürekli salınabildiği gösterilmiştir [2]. Bu sistemlerde salım hızı polimerik taşıyıcı tarafından kontrol edildiği için ilaç kullanımında hastalar arasında görülen farklılıklar azalmıştır. Değişik polimer sistemler kullanılarak veya polimer-ilaç sistemini hazırlama yöntemi değiştirilerek, çok farklı salım hızları elde edilebilmiştir. Polimerlerin ilaç verilmesini kontrol etme aracı olarak kullanıldığı salım sistemlerini içeren teknoloji dalına kontrollü ilaç salım teknolojisi adı verilmiştir [3].

Doğal polimerlerin kontrollü salım sistemlerinde kullanılmasının avantajları, kararlılıkları, molekül büyüklüğünün kontrol edilebilmesi, düşük maliyetleri, biyolojik olarak parçalanma özelliklerinin iyi olması, polimerin kendisinin ve parçalanma ürünlerinin toksik etki göstermemesi ve ilacın yüksek yükleme kapasitesinde olmasıdır [4, 5].

Kitosan farmasötik teknolojide yaygın olarak kullanılan doğal polimerlerdendir. Günümüzde, vücutta bozunma özelliği gösterdikleri için oral kontrollü salım yapan ilaç şekillerinin hazırlanmasında kullanılmaktadır. Literatürde kitosan(CS) kullanılarak yapılan kontrollü salım sistemleri ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır [6, 7, 8]. Ancak, Kitosan-Hidroksipropil Selüloz ve Kitosan-Grafen Oksit blend sistemleri kullanılarak yapılan sınırlı çalışma literatürde bulunmaktadır.

1.1. Çalışmanın Amacı

Flurbiprofen, osteoartrit, romatoid artrit gibi iskelet-kas sistemi hastalıklarında; incinme, burkulma gibi yumuşak doku zedelenmelerinde; postoperatif ağrılarda; migren ağrılarını azaltmak amacıyla kullanılmakta olan ağrı kesici bir ilaçtır [8]. Oral olarak alındıktan sonra gastrointestinal bölgeden kolayca absorbe olmakta, 1-2 saat içinde pik plazma konsantrasyonuna ulaşmaktadır. Hedeflenen çalışmanın amacı, hızlı salım profili sergileyen flurbiprofenin daha sık ve fazla miktarda kullanımını engelleyerek kontrollü salım sistemlerinin oluşturulmasıdır. Çalışmamızda kontrollü salım sisteminin destek materyalleri olarak kitosan, hidroksipropil selüloz ve grafen oksit kullanılmıştır. HPC'nin sıcaklık duyarlı polimer olmasından faydalanılarak vücutta daha uzun sürede salınması ve dolayısı ile daha az miktarlarda ilaç kullanılması hedeflenmektedir. Flurbiprofenin HPC, CS doğal polimerleri ve GO ile blend sistemleri hazırlanarak gluteraldehit çapraz bağlama çözeltisi kullanılarak emülsiyon yöntemi ile nanoküreleri hazırlanmıştır. Blend oranı, ilaç/polimer oranı, çapraz bağlayıcı derişimi, çapraz bağlama süresi, emülsifiyer

madde olan span-80 miktarı, polimer derişimi ve sıcaklık gibi salımı etkileyen parametrelerde değişiklikler yapılarak optimum çalışma koşulları belirlenmiştir.

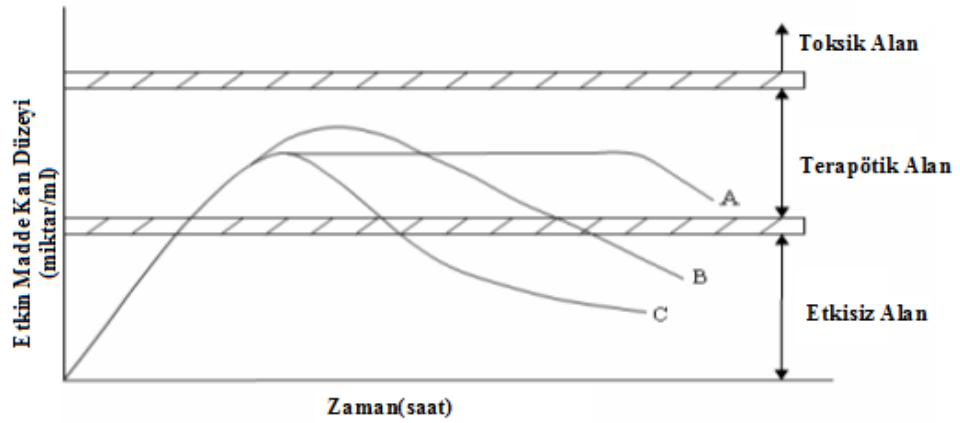
1.2. Kontrollü Salım Sağlayan Sistemleri

Farmasötik alanda yapılan çalışmalardaki amaç, klasik ilaç salım sistemlerinin dezavantajlarının giderilmesi ve hastaya daha az etken madde verilmesi ile ilaç alım sıklığının azaltılması ve böylece daha uzun aralıklarla ilaç salımı sağlayan tedavi yöntemlerinin gerçekleştirilmesidir [9]. Etken maddelerin katı polimer taşıyıcılarla birlikte kullanılması çalışmalarına 1950’lerde tarım ilaçları ile başlanmıştır. 1960’ların ortalarında bu denemeler tıp alanına da girmiştir. Bu alanda üretilen ilk ticari ürün SmithKline and French Laboratories firması tarafından piyasaya sürülmüş ve Spansules® olarak adlandırılmıştır [4, 10]. 1970’lerde çalışmalar büyük moleküllü ilaçların katı polimerlerden sürekli salınması yönünde olmuştur.

Kontrollü salım sistemleri, “Organizma için gerekli olan etken maddenin salım hızını kontrol ederek hedef hücreye, dokuya veya organa ulaştıran sistemler” olarak tanımlanmaktadır [11]. Klasik ilaç şekillerinin kullanımında görülen aksaklıkların giderilmesine yönelik yapılan araştırmalara en iyi yanıt veren sistemler kontrollü ilaç salım sistemleridir. Bu sistemler, etken maddenin fizikokimyasal, farmakolojik ve farmakokinetik özelliklerine bağlı belirli terapötik hedeflerle tasarlanmaktadır [12]. Her etken maddenin kan serumunda etkili ve tedavi edici olduğu bir plazma aralığı vardır ve “terapötik aralık” olarak tanımlanır. Kandaki miktarları bu aralık içinde kaldığı sürece tutarlı ve yararlı bir tedavi söz konusu olur. Dozaj şeklinden salım olayının hızlı veya yavaş olmasına göre, etken madde derişimleri bu aralık içinde

olabilir, taşabilir veya yetersiz kalabilir. İlaç maksimum serum derişimi üzerinde toksik etki gösterirken, minimum serum derişimi altında ise etkisiz kalmaktadır [13]. Konvansiyonel ilaç şekilleri, etken maddeyi aniden salıveren sistemlerdir. Bu ilaç şekilleri kanda kısa sürede maksimum düzeyine ulaşır ve hemen plazma düzeyine düşmeye başlar. Bu kısa zaman etken maddenin metabolize edilme, parçalanma veya etki alanından uzaklaşma hızına da bağlıdır. Bu yüzden geleneksel ilaçların ilacın yarı ömrüne bağlı olarak sık aralıklarla uygulanması gerekir. Bu şekilde hastanın günde birkaç kez ilaç alma gereksinimi, ilacın toksik düzeylere ulaşması ile bir takım yan etkilere karşı etkiyi, ilacı daha az sıklıkta ve daha az dozda alarak sağlamak üzere etken maddenin serbestleştirilmesinin yavaşlatılması yoluna gidilmiştir [14].

Kontrollü salım sistemlerinde; ilaç konsantrasyonunun kanda sabit tutularak, klasik yöntemlerle söz konusu olan doz aşımı ya da yetersizliği gibi istenmeyen sonuçların önlenmesi hedeflenmektedir. Şekil 1.1.' de kontrollü salım sistemlerinin, uzatılmış etkili ve klasik ilaç şekillerine göre farkı verilmiştir.



Şekil 1.1. Salım sistemleri için Etken Madde Kan Düzeyi-Zaman eğrileri arasındaki farklılık. (A) Kontrollü salım yapan, (B) Uzatılmış etkili, (C) Klasik salım yapan [12].

Salım karakterlerinin değişiklik göstermesi nedeniyle, kontrollü salım sistemlerini tanımlamak için çok sayıda farklı ifade kullanılmakta ve farklı kaynaklara göre değişik sınıflandırma şekillerine rastlanmaktadır. Bu sistemler değiştirilmiş salım sistemleri (modified release systems) başlığı altında verilmektedir [12]. Tanımlarda ortak olan etken maddenin klasik ilaç şekillerine göre daha uzun süre ile salınabilmesidir.

1.2.1. Kontrollü Salım Sistemlerinin Klasik İlaç Salım Sistemlerine Göre

Avantajları

-Hastanın günde birkaç kez ilaç alma gereksinimi ortadan kalkmakta, dozların sayısı ve sıklığı azalmakta; böylece hasta uyumu sağlamak ve dozların unutulmasını önlemektedir.

-Hastaneler açısından ilaç dağıtımı ve süresini minimuma indirmekte, reçete hazırlama işlemleri azalmakta, dolayısıyla ekonomik avantajlar sağlamaktadır.

-Kandaki etken madde düzeyinde iniş-çıkışları elimine etmekte ve böylece vücutta eşit düzeyde etken madde konsantrasyonu sağlamaktadır.

-Hemen salım yapan klasik preparatlar verildiğinde ortaya çıkabilen pik konsantrasyonların sebep olabildiği istenmeyen yan etkilerin şiddeti ve sıklığını azaltabilmektedir.

-Yüksek konsantrasyonlarda dokuları tahriş edebilen etken maddelerin gastrointestinal sistem mukozasındaki zararlı etkilerini azaltabilmekte veya önleyebilmektedir.

-Kullanılan toplam etken madde miktarını azaltmaktadır.

-Uzun süreli kullanımda, etken maddenin birikimini minimuma indirmektedir [15].

1.2.2. Kontrollü Salım Sistemlerinin Klasik İlaç Salım Sistemlerine Göre

Dezavantajları

-Bu tip ilaçlarla tedavi sırasında, istendiğinde veya gerektiğinde tedavi kesilememektedir.

-Dozaj seçimi, tek bir yararlı doz veya bunun katları olması nedeniyle sınırlıdır.

-Uzun süre etkili preparatların formülasyonu özellikle önemlidir. Eğer ilaç sistemi geçiş sırasında yararlanabilecek şekilde formüle edilmemişse, tedavi sağlanmayabilir.

-Bu tip ilaçların geliştirilmesi ve üretimi daha pahalı olmaktadır.

-Formülasyonlarda kullanılan etken madde miktarı yüksek olduğundan hızlı salım olduğunda, vücutta toksik düzeyler oluşabilmektedir.

-Sürekli etkili ilaçların formülasyonlarının kompleks oluşu, beklenenden daha hızlı veya yavaş salımla sonuçlanan stabilite problemlerine yol açabilmektedir.

-Aşağıdaki özelliklere sahip etken maddelerin sürekli etkili preparat şekillerinin hazırlanması sorun oluşturmaktadır [15]:

a- Kısa veya uzun eliminasyon yarı ömrü,

b- Dar terapötik indeks,

c- Büyük dozlar,

d- Zayıf absorbe edilme,

e- Güçlü absorpsiyon,

- f- Düşük veya yavaş çözünürlük,
- g- Sirkülasyondaki etken madde düzeylerinin zamana göre değişimin farmakolojik etki ile uyumlu olmaması,
- h- Yoğun ilk geçiş metabolizması.

1.2.3.Kontrollü Salım Sisteminin Kinetiği ve Salım Mekanizmasının Belirlenmesi

Kontrollü salım yapan bir sistemde salım mekanizması belirlenmelidir. Hücre dışı çözünme hızı (in vitro) testleri kontrollü salım sistemlerinin değerlendirilmesi için önem taşımaktadır.

Çözünme hızı profillerinin doğrusallaştırılması, etken madde çıkış mekanizmalarının yorumlanması ve farklı formülasyonlar arasında karşılaştırma parametrelerinin elde edilmesi için çözünme hızı verilerine farklı varsayımlara dayanan matematiksel modeller uygulanmaktadır [16].

Sıfırıncı derece kinetik: Matematiksel olarak sıfır derece hız ifadesi aşağıdaki eşitlikle verilmektedir:

$$\frac{-dC}{dT} = k_0$$

Bu eşitliğin integrali alındığı zaman;

$$C=C_0-k_0t$$

Eşitliği elde edilir.

C: t anında çözünmeden kalan etken madde miktarı

C₀: başlangıçtaki etken madde miktarı

k₀: sıfırıncı derece çözünme hız sabiti

Sıfırıncı derece kinetikte, t'ye karşı C değerleri grafiğe geçirildiğinde eğimi k₀ olan bir doğru elde edilir. Bu kinetiğe göre her bir zaman aralığında çözültüye geçen etken madde miktarı sabit olur. Salım hızının kontrol edildiği pek çok dozaj formunda, özellikle kontrollü salım yapan formlarda asıl olarak bu tip çözünme kinetiklerine uyum sağlanması hedeflenmektedir [16].

Birinci derece kinetik: Bu kinetiğe göre hız ifadesi şu şekilde verilmektedir.

$$-\frac{dC}{dT} = kC$$

Bu ifadenin integrali alınır,

$$\ln C_t = \ln C_0 - k_1 t$$

Eşitliği elde edilir.

C_t: t anında çözünmeden kalan etken madde miktarı

C₀: Başlangıçtaki etken madde miktarı

k₁: Birinci derece çözünme hız sabiti

Yukarıdaki eşitlikte, $\ln C$ değerleri t' ye karşı grafiğe geçirildiğinde eğimi k olan bir doğru elde edilir. Birinci derece kinetikte, zamana bağlı olarak çözünen etken madde miktarı üssel şekilde azalmaktadır. Klasik dozaj formlarının çoğu bu çözünme mekanizmasını göstermekte ve bu tip çözünme işlemine uyum sağlamaktadır [16].

Peppas eşitliği: Polimerik yapılardan etken maddelerin kontrollü salım mekanizmalarını inceleyen modellerin çoğu, Fick difüzyon eşitliğinin çözümlerine dayanmaktadır. Ancak değişik geometrik şekillere sahip polimerik sistemlerden kontrollü salım verileri pek çok araştırmacı tarafından yanlış yorumlandığı için, analizleri basitleştirmek amacıyla Peppas tarafından deneysel olarak üslü bir eşitlik önerilmiştir:

$$M_t/M_\infty = kt^n$$

Eşitliğin logaritmik formu ise aşağıda verilmiştir.

$$\log (M_t/M_\infty) = \log k + n \log t$$

M_t : t zamanında salınan etken madde miktarı

M_∞ : ∞ zamanda salınacak etken madde miktarı

M_t/M_∞ : t zamanında salınan etken madde kesri

k : Salım yapan sistemin yapısal ve geometrik özelliklerini birleştiren sabit

n : Salım mekanizmasını gösteren difüzyonal sabit

Bu eşitlik salım mekanizması göz önüne alınmaksızın tabaka, silindir, küre ve disk gibi farklı geometrik şekillere sahip sistemlerden etken madde salımını tanımlamaktadır. Şişen ve şişmeyen polimerik kontrollü salım yapan sistemlerde "n" değerinin ne olduğu saptanmış; bu "n" değerine karşılık gelen salım mekanizmaları belirlenmiştir. Şişmeyen polimerik sistemlerde $n = 1$ olduğu zaman sıfırıncı derece salım yaptığı anlaşılmaktadır.

Çizelge 1.1. Polimerik sistemler için salım mekanizmasını belirleyen n sabit değerleri

n değeri	İlaç taşınma mekanizması	Zamanın fonksiyonu olarak hız (dM_t/dt)
0,5	Fick difüzyonu (Durum I)	$t_{0,5}$
$0,5 < n < 1,0$	Fick difüzyon yasasına uymayan (anormal geçiş)	t_{n-1}
1,0	Durum II	Zamandan bağımsız (sıfır derece)
$n > 1,0$	Özel durum II	t_{n-1}

1.2.4. Kontrollü Salım Sistemlerinin Sınıflandırılması

Bu sistemler uygulama yerine göre (örn: oküler, nazal, oral, transdermal, implant sistemleri v.s.) sınıflandırılabilirler gibi etken madde salım mekanizmalarına göre de sınıflandırılabilirler.

1.2.4.1. Difüzyon Kontrollü Sistemler

Depo (membran) sistemler: Bu sistemlerde etken madde çekirdeği şişen ya da şişmeyen bir polimer filmle çevrilmiştir ve polimerden etken maddenin difüzyonu hız sınırlayıcı adımdır.

Matriks sistemler: Bu sistemlerde etken madde, bir polimer içinde çözülmüş ya da partiküller şeklinde disperse edilmiştir [17].

1.2.4.2. Kimyasal Olarak Kontrollü Sistemler

Vücutta aşınan sistemler: Etken madde polimer içinde homojen olarak dağıtılmıştır. Etken madde difüzyonla salınırken polimer faz kütlesi erozyon nedeniyle azalmaktadır.

Polimer zincire takılı sistemler: Etken madde polimer zincirine kimyasal olarak bağlanmıştır ve aradaki bağın hidrolitik ya da enzimatik olarak kopması sonucunda etken madde salınmaktadır [18].

1.2.4.3. Çözücünün Harekete Geçirdiği Sistemler

Şişme kontrollü sistemler: Etken maddelerin şişme kontrollü salımı, bir penetrantın varlığında polimerlerin camsı/ kağıuçugumsu geçişlerini ve bu geçişle birlikte gevşemelerini kullanarak sağlanmaktadır.

Ozmotik kontrollü sistemler: Ozmotik kontrollü sistemlerde etken madde yarıgeçirgen bir membran içindedir ve genellikle konsantrasyonu, doygunluk sınırının

üstündedir. Ozmotik sistem su veya biyolojik sıvı ile temas ettiğinde, su yarıgeçirgen membranın gözeneklerinden içeriye girmekte ve böylece etken madde çözünmekte ve oluşan hidrostatik basınç nedeni ile etken madde sistemden dışarıya salınmaktadır [18].

1.2.4.4. Magnetik Kontrollü Sistemler

Magnetik etken madde taşıyıcılarına dıştan bir magnetik alan uygulandığında istenilen zamanda hedef bölgeye etrafındaki dokulara hiç zarar vermeden yüksek konsantrasyonlarda salım yapabilmektedir [17].

1.2.4.5. Mekanik kontrollü sistemler

Ultrasonik sistemler: Gen tedavilerinde, antikanser ilaçların taşınmasında ve transdermal etken madde taşınması uygulamalarında kullanılmaktadır. Ultrasonik enerji vasıtasıyla ajanların istenilen dokuya penetrasyonunun gerçekleştirilmesinde, dokunun permeabilitesinin artırılması veya etken maddenin kimyasal özelliğinin değiştirilmesi rol oynamaktadır [18].

1.2.4.6. Ortama duyarlı sistemler (pH)

Vücudun ince bağırsak, üreme organları, kan vezikülleri, kolon gibi farklı bölgelerinde pH farklılığı görülmektedir. Bu da bize pH'ya duyarlı partiküllerden

bölgesel etken madde salımı amacıyla yararlanmamız için gereken koşulları sağlamaktadır. pH'ya duyarlı salım sistemlerinin, peroral alınan kontrollü etken madde salımında, tad maskelemede, kalp defektlerinde damar içi salımlarda uygulamaları görülmüştür [19]. İyonik partiküller $-\text{COOH}$, $-\text{SO}_3\text{H}$ gibi asidik yan gruplar içerdiğinde ortam pH'sı iyonlaşabilir grubun pKa'sı üzerinde ise yan gruplar iyonlaşır ve jel üzerinde negatif yükler oluşmasına neden olur. Elektrostatik itmenin sonucu olarak ağ içine çözücü girişi artar, çünkü bu durum hidrofiliğin artmasına neden olur. Sekonder veya tersiyer amin gibi bazik yan grupları içeren hidrojeller ise bu maddelerin pKa'sının altındaki pH değerlerinde şişme gösterir.

1.2.4.7. Elektrik ve nükleer enerji kullanan sistemler

Kanser tedavisinde sıkça kullanılan yeni sistemlerdir. Özellikle etken madde salımı yapan cihazlarda elektrik enerjisi kullanılmaktadır. Bu amaçla son yıllarda mikroelektro mekanik sistemler geliştirilmiştir (MEMS), bu sistemler sayesinde polimerik taşıyıcılara nazaran dozlama aralıklarında daha etkin bir zamanlama elde edilmiştir [20].

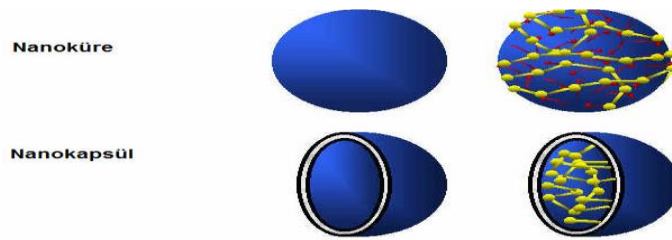
1.3. Nanosistemler

Yeni nesil tedavi edici uygulamalar nanoteknoloji ürünü olan kolloidal ilaç taşıyıcı sistemler ya da akıllı ilaç taşıyıcı sistemlerle gerçekleştirilmektedir. Söz konusu taşıyıcılar genellikle uygun polimerik matrikslerden üretilen nano ölçekli partiküllerden oluşan sistemlerdir. Bu sistemleri akıllı kılan belirtilen taşıyıcıların

hazırlanmasından sonra hedeflenecekleri tümöral bölgede yer alan uygun reseptörleri tanıyacak olan ligandlar ile donatılmış olmalarıdır. Bu mantık ile tasarlanan taşıyıcılar hücrenel mekanizmayla hareket edecekleri için özellikle çoklu ilaç direnci gibi önemli bir sorunun üstesinden gelebilecek ve lokal tedavi etkinliği ile sağlıklı hücre ve dokulara herhangi bir zarar vermeden etkinlik gösterebilecektir [21].

Öte yandan burada sözü edilen nano taşıyıcıların uygun büyüklük ve yüzey özelliklerine sahip olması da onları akıllı kılan diğer özellikler olacaktır. Kullanılan nanokürelerin her ne kadar boyutları hücre spesifik yönlendirme ve hücre içine alım prosedürlerinde önemli rol oynasa da, bu işlemi daha kolaylaştıracak ve verimi arttıracak bir diğer önemli parametre de kullanılacak nanokürelerin yüzeylerinde elverişli fonksiyonel grup ve moleküllerin barınmasıdır. Nanoparçacık ya da diğer deyişle nanopartiküller mikron ölçeği altında genellikle biyobozunabilen cinsten polimerlerden oluşturulmuş yapılardır. Nanoparçacıkların sınıflandırılmasında nanoküre ve nanokapsül olarak iki alt sınıf sayılabilir (Şekil 1.2).

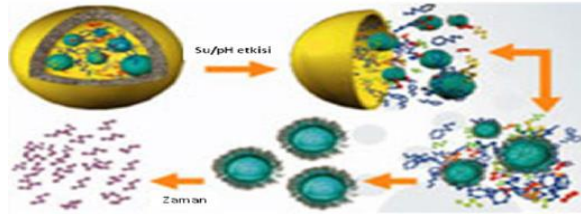
Bunlardan nanokapsül diye tabir edilen alt sınıfta, ilaç dış bir polimerik kabuk tarafından çevrelenmiş olarak, özelliğine göre yağ ya da su içerisinde çözelti halinde yer alır. Nanoküre olarak adlandırılan diğer tipte ise, parçacık çekirdekten dış kabuğa kadar aynı malzemeden oluşmuştur ve ilaç molekülleri bu polimerik zincirler üzerinde ya kovalent ya da fiziksel olarak bağlanmış durumdadır.



Şekil 1.2. Nanoküre ve Nanokapsüllerin Şematik Gösterimi [22]

1.3.1. Nanoküreler

Polimerik matriksten oluşan nanokürelerde, etken madde matriks sisteminin içinde homojen bir şekilde dağıtılmıştır. Nanoküre hazırlanmasında genellikle polilaktik asit (PLA), poli(laktik-ko-glikolik) asit, (PLGA) gibi sentetik ya da proteinler (albumin, jelatin) ve polisakkaritler (aljinat, kitosan, dekstran) gibi doğal polimerler kullanılır. Polimerizasyon, çözücü buharlaştırma, koaservasyon yöntemleri ile hazırlanan nanoküreler antikanserojen ilaçların, protein-peptit yapılarının taşınması, beyine ilaç hedeflenmesi, transdermal ve oküler uygulamalar için uygun yapılardır [23]. Nanokürelerde yer alan etken maddeler öncelikle su ve/veya ortam pH'ında değişiklikler gibi etkilerle salınmaya başlar ve bu salım işlemi zamanla kontrollu bir şekilde devam etmektedir (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Nanokürelerden İlacın Salımı [23]

1.3.2. Nanokapsüller

Polimerik kabuk ve sıvı bir çekirdekten oluşan nanokapsüllerde; etken madde yüzeye adsorbe edildiği gibi çekirdekte çözülmüş halde de bulunabilir.

1.3.3. Nanopartiküler Sistemlere Etken Madde Yüklenmesi

Nanopartiküllere etken madde yüklenmesinde iki farklı yöntem kullanılmaktadır.

1. İlaç, nanopartikülün hazırlanması sırasında ilave edilir; böylece polimer içinde dağıtılmış şekilde taşınır.

2. Boş nanopartiküller hazırlandıktan sonra ilaç, nanopartikül yüzeyine adsorbe ettirilir.



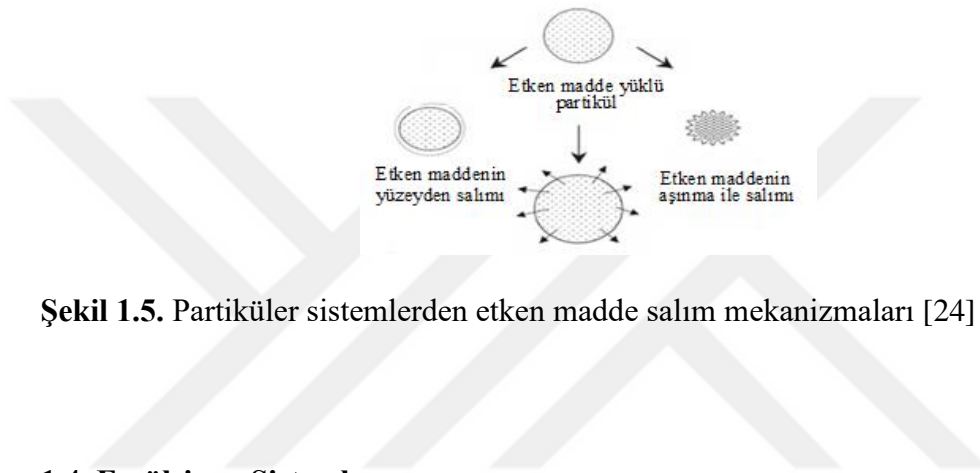
Şekil 1.4. Etken maddelerin nanopartikül yüzeyine yüklenmesi [22]

Nanopartiküler sistemlerden etken madde salımını etkileyen çeşitli parametreler söz konusudur :

- Partiküler sistemin büyüklüğü,
- Partiküler sistemin yoğunluğu,
- Etken maddenin fizikokimyasal özellikleri,
- Yardımcı maddelerin etkisi,
- pH, Polarite.

Partiküler sistemlerden etken madde salımı üç farklı mekanizma ile gerçekleşmektedir (Şekil 1.5);

1. Partiküllerin yüzeyinden salım,
2. Şişen elastik matriksten difüzyon,
3. Polimer aşınmasından kaynaklanan salım ile gerçekleşir [24].



Şekil 1.5. Partiküler sistemlerden etken madde salım mekanizmaları [24]

1.4. Emülsiyon Sistemler

Emülsiyonlar, birbiriyle karışmayan en az iki sıvıdan birinin diğeri içinde bir emülgatör yardımıyla damlacıklar halinde dağılması ile oluşan, homojen görünümlü heterojen dispers sistemlerdir [25]. Emülsiyon sistemler; iç ve dış faz olarak adlandırılan, bir hidrofilik bir de lipofilik iki fazdan oluşur.

Emülsiyonlar dış fazlarına göre 3 gruba ayrılırlar; eğer yağlı fazın damlacıkları sulu faz içinde dağılırsa Y/S emülsiyonlar, sulu fazın damlacıkları yağlı faz içinde dağılırsa S/Y emülsiyonlar ve emülsiyonun emülsiyonu olarak tanımlanan iki emülsiyon tipini bir arada bulunduran çoklu emülsiyonlardır. Emülsiyonun iç fazını oluşturan damlacıkların boyutu emülsiyonların sınıflandırılması açısından önem taşımaktadır.

-Misel emülsiyonlar; ortalama çapı 10 nm'den küçük

-Mikroemülsiyon; ortalama çapı 10-100 nm arasında

-Makroemülsiyon; ortalama çapı 100 nm'den daha büyük olan sistemlerdir

[26].

Mikroemülsiyonlar; boyutlarının küçük olması, etken maddenin çözünürlüğünü artırma potansiyelleri, yüksek stabilite göstermeleri ve uygulama kolaylıklarından dolayı diğer ilaç taşıyıcı sistemlere nazaran daha avantajlı sistemlerdir. Çoklu emülsiyonlar da; bir biri ile karışmayan iki etken madde aynı formülasyonda taşıma ve bunların salım sürelerini uzatmayı mümkün kılmaktadır [27].

1.5. Kitosan-Hidroksipropil Selüloz Blend Nanoküreleri

Genel bir tanım olarak nanoküreler 10-1000 nm boyutundadırlar [28]. Biyoparçalanabilen 100 nm boyutlarındaki nanoküreler ilaç salımında önemli avantajlar sağlamaktadır. Nanoküreler küçük kapillerlere penetre olabilir, nanopartiküller ile hedeflenen alanlarda nanoküre kaplı ilacın birikimi artırılabilir. Nanoküreler permeasyon (nüfuz etme) ve retensiyon (tutulma) etkileri sayesinde hedeflenen tümör hücrelerine pasif olarak etki edebilir. Nanoküreler uzak hedeflere, lokalize kataterli infüzyon ile iletilebilir veya nanoküre yüzeyi doku-spesifik hedefleme ile etiketlenerek uzak hedeflere ulaştırılabilir. Ayrıca nanoküre gadolinium gibi bir görüntüleme ajanı ile kaplanabilir. Nanopartiküller hem görüntüleme hem de terapötik ajanlar ile doldurulabilir ve ilaç salımında ve görüntüleme uygulamalarında kullanılabilir [28].

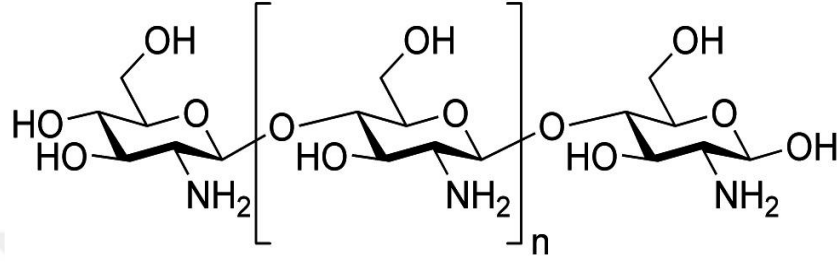
Kitosan gibi polimerler biyoyumlu ve biyoparçalanabilir olarak tanımlanmış, kontrollü salınım cihazların tasarlanmasını içeren bazı biyomedikal uygulamalara izin vermektedir.

Kitosan, deniz eklembacaklılarının dış iskeletinden elde edilen kitinin (poli- β -(1-4)-N-asetil-D-glukozamin) katyonik deasetillenmiş formudur. Kitosan nanoküreler oral dağılım araçları için ilgi odağıdır çünkü transepitelyal elektrik rezistansını azaltabilmekte ve geçici olarak epitelial hücreler arasındaki sıkı bağlantıları açabilmektedir [29]. Kitosan nanopartiküller, ilacın oral alıma başvurulduğunda midenin agresif çevresinden korunması için tasarlanmaktadır. Bağırsak pH'ında daha yaygın salım gözlenirken, gastrik pH' da kısmen 24 saate kadar tutulabilir [30].

1.6. Kitosan

Kitosan kabuklu deniz hayvanlarının ve böceklerin iskeletinin önemli bir kısmını oluşturan kitinin deasetilizasyonu ile elde edilen bir polisakkarittir [31]. Deasetile edilmemiş form olan kitin ayrıca bakteri ve mantarların hücre duvarında da bulunur. Kitosan büyük miktarda yengeç, karides, ıstakoz gibi canlıların kabuklarından derişik alkali muamelesi ile elde edilir; fakat mantar hücresi kültürü aracılığı ile kitosan üretimi de sağlanmıştır. Kitin suda çözünmeyen, dallı olmayan $\beta_1 \rightarrow 4$ -N-asetil-D-glukozamin zinciri içeren mukopolisakkarit ailesine dahil olan ve $1,0 \times 10^6$ D üzeri moleküler ağırlığa sahip bir moleküldür. Kitosanın saflığı, polimorföz yapısı, deasetilasyon derecesi (genellikle % 70-95) ve molekül ağırlığı ($1,0 \times 10^5$ D – $1,2 \times 10^6$ D) büyük değişiklikler gösterebilir çünkü üretim aşamasındaki pek çok basamak bu yapısal özelliklere etki eder. Kitosan suda çözünmeyen, alkali bir

moleküldür fakat $pH < 6,0$ olduğu uygun ortamlarda çözünebilir ve viskoz yapı oluşturabilir. Düşük molekül ağırlığına sahip ve suda çözünebilir kitosan üretmek için pek çok metot kullanılmıştır [32].



Şekil 1.6. Kitosan (CS)' ın yapısı

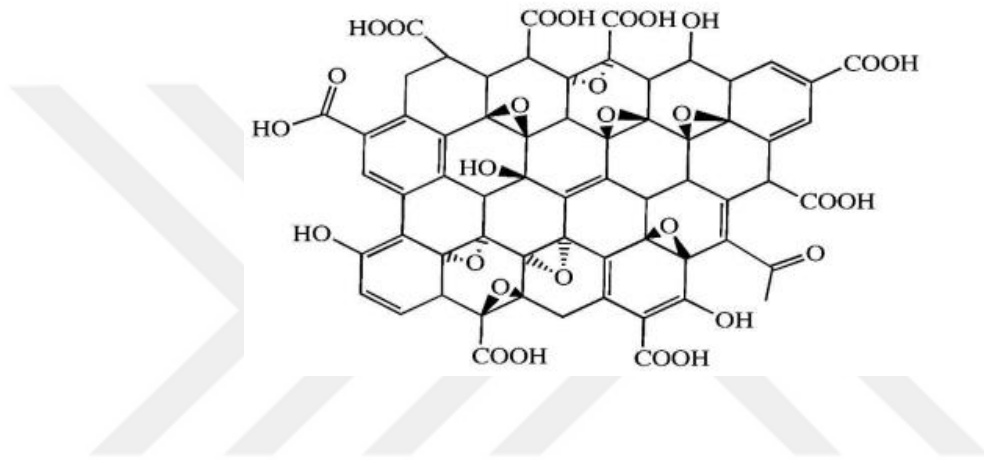
Kitosanın, lamilin (tümör invazyonunda görev yapar) gibi proteinlere afinitesi olduğu, tümör hücrelerini inhibe eden antimikrobiyal aktiviteye sahipliğinin yanı sıra yara iyileşmesinin hızlanmasında ve immün sistem stimülasyonunda görev aldığı öne sürülmüştür. Kitosanın oral yoldan uygulanması ile serum ve mezenterik lenf nodlarındaki IgA, IgG ve IgM konsantrasyonlarında artışı stimüle ettiği gösterilmiştir [32]. Kitosan hücre migrasyonunu, konnektif dokunun reformasyonunu, ve anjiyogenezi muhtemelen İnterlökin-8'in indüksiyonu aracılığı ile stimüle eder. Ayrıca kitosanın nazal veya intestinal ilaç emilimi ve kan-beyin bariyeri ilaç molekül geçiş özellikleri üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir [33]. Kitosanın biyomedikal uygulamaları arasında bandajlar, yara üzerini kapatmak için kullanılan sünger yapıdaki ürünler (hemostatik özelliklerinden yararlanılarak), yapay kan damarları, hücre enkapsülasyonu için matriksler sıralanabilir. Ayrıca oral kontrollü ilaç salınım

mekanizmaları, kozmetik ürünler ve özellikle saç şekillendiricileri gibi ürünlerde de kullanılmaktadır. Polikatyonik kitosan ve diğer polimerler arasındaki makromoleküler kompleksler oluşturularak farklı özelliklere sahip yapılar elde edilebilir. Kollajen ve hiyaluronik asit gibi diğer biyopolimerlerle karşılaştırıldığında kitosanın ısıya daha dirençli olduğu ve elektrolitlere karşı daha az duyarlı olduğu görülmektedir [33].

1.7. Hidroksipropil Selüloz

Doğal polimerler, doğada kendiliğinden oluşan polimerlerdir ve insanlar her dönem bu polimerleri değişik alanlarda kullanmışlardır [32]. Çok farklı doğal polimerler vardır. Selüloz doğada en bol bulunan polimerdir. Selüloz bitkilerin temel yapı taşıdır. Odun hamuru, pamuk ve samanın başlıca bileşenidir. Tamamen hidroliz edilirse, glukoz verir. Selülozun molekül kütlesi 300000–500000 akb arasında olup, bu da 1800 – 3000 glukoz birimine karşılık gelir. İnsan dahil, pek çok hayvan β bağını koparacak enzime sahip değildir. Bu nedenle, selülozu sindiremez. Geviş getiren hayvanlarda ve termitlerde bulunan bazı bakteriler selülozu hidroliz edebilir ve yiyecek olarak kullanılmasını sağlarlar [33]. Şekil 1.7’de hidroksipropil selülozun kimyasal yapısı verilmiştir.

GO'in yapısı ile ilgili farklı modellemeler önerilmesine rağmen, bunlardan en çok Lerf- Klinowksi modeli ilgi görmektedir. Şekil 1.8'de verilen modelde, GO hegzagonal karbon ağlarından oluşur ve temel düzlemde sp² ve sp³ hibritli karbon atomları, hidroksit ve epoksit gibi fonksiyonel gruplar taşır. Bununla birlikte yapının köşelerinde daha çok karboksil ve karbonil grupları yer almaktadır [34].

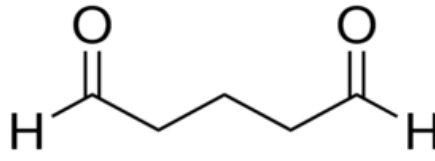


Şekil 1.8. Grafen Oksitin Yapısı

1.9. Gluteraldehit

Gluteraldehit biyolojik olarak fonksiyonel bir bileşik olup temel olarak protein ve polimerlerin kimyasal modifikasyonunda kullanılır. Bu biyolojik olarak kullanışlı bileşik protein molekülündeki lizinin veya hidrosilizinin amin gruplarını kovalent olarak bağlamakta ve tuzlar, organik çözücüler veya non-iyonik polimerlerin sebep olduğu protein moleküllerinin fiziksel agregasyonu ile ulaşılan yapıdan daha sağlam bir yapı elde edilmektedir [35]. Bu katı agregatlar non-kovalent bağlar ile birbirine

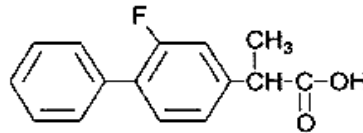
tutunmakta ve kolayca büzüşebilir veya tekrar çözülebilir. Bu sebeple proteinlerin çapraz bağlı ajanlarla kimyasal modifikasyonu pH inaktivasyonuna karşı protein stabilizasyonunu sağlar, tripsin, α -kimotripsin ve stabilizin gibi proteazların termostabilitesini arttırmak için kullanılabilir [36]. Gluteraldehitin molekül ağırlığı 100.12 g/mol olup; molekül yapısı Şekil 1.8’de gösterilmiştir.



Şekil 1.9. Gluteraldehitin yapısı

1.10. Etken Madde

Bu çalışmada model etken madde olarak seçilen flurbiprofenin ((±)2-florobifenil-4-il propiyonik asit) açık formülü Şekil 1.9’da gösterilmiştir [37].



Şekil 1.10. Flurbiprofen’in (C₁₅H₁₃FO₂) yapısı [37]

1.10.1. Fizikokimyasal Özellikleri

Molekül ağırlığı 244,3 g/mol olan flurbiprofen, beyaz ya da beyaza yakın renkte kristal bir tozdur. Pratik olarak suda çözünmez, alkolde, eterde, asetonunda, metilen klorürde ve metil alkolde kolay çözünür. Alkali hidroksitlerin ve karbonatların sulu çözeltilerinde çözünür. Flurbiprofen, ince tabaka kromatografisi, gaz kromatografisi, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi, UV spektrofotometresi, IR spektroskopisi ve kütle spektrometresi ile teşhis edilebilmektedir. Flurbiprofenin miktar tayini UV spektrofotometresi, ince tabaka kromatografisi, gaz kromatografisi, gaz kromatografisi-kütle spektrometresi, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ve titrimetrik analiz ile yapılabilmektedir [38].

1.10.2. Farmakolojik Özellikleri

Flurbiprofen, fenilpropionik asit türevidir. Analjezik, anti-inflamatuar ve antipiretik etkili nonsteroidal anti-inflamatuar bir etken maddedir. Molekülünde kiral bir merkezi vardır, rasemat (S+ ve R- izomerlerinin karışımı) şeklinde bulunur. Safrada az aktif R(-) formundan daha aktif olan S(+) formuna döner [39]. Flurbiprofen dokularda, inflamasyon bölgesinde, araziidonik asitten prostaglandinlerin ve diğer bazı eikozanoidlerin oluşmasını katalize eden siklooksijenaz enzimlerini (COX-1 ve COX-2) inhibe eder. Prostaglandin sentetaz enziminin inhibisyonunu sağlar [37]. Siklooksijenaz enzimi, prostaglandin (proinflamatuar) sentezinde hız sınırlayıcı enzimdir, COX 1 ve COX 2 olmak üzere iki izoform halindedir [38]. Nonsteroidal antiinflamatuar maddelerin esas antiinflamatuar aktivitesi COX 2'yi inhibe etmeleridir. COX 1'in inhibisyonu, gastrik

ve renal toksisite ve kanamalar gibi istenmeyen yan etkilerin ortaya çıkmasına neden olur [39].

Ankilozan spondilit, osteoartrit, romatoid artrit gibi iskelet-kas sistemi hastalıklarında; incinme, burkulma gibi yumuşak doku zedelenmelerinde; postoperatif ağrılarda; dismenore ve migren ağrılarını azaltmak amacıyla kullanılmaktadır [38, 40].

Flurbiprofen oral olarak alındıktan sonra gastrointestinal bölgeden kolayca absorbe olmakta, 1-2 saat içinde pik plazma konsantrasyonuna ulaşmaktadır. Rektal absorpsiyonu daha hızlıdır. Büyük çoğunluğu karaciğerde sitokrom P450 izoenzim CYP2C9 yoluyla hidroksilasyonla metabolize olmakta ve idrarla vücuttan atılmaktadır [40, 41].

Flurbiprofenin plazma klirensi ve dağılım hacmi sırasıyla $0,65 \pm 0,24$ ml dak^{-1} kg^{-1} ve $0,160 \pm 0,0931$ kg^{-1} 'dir. Sinoviyal sıvı konsantrasyonu ise plazma konsantrasyonundan daha düşüktür. Flurbiprofenin oral kullanımından 48 saat sonra sinoviyal sıvıda etken madde kalmaz. Flurbiprofen sinoviyal sıvıda proteinlere bağlanmaz. Oral biyoyararlanımı yaklaşık olarak %92'dir [42].

Flurbiprofenin plazma yarı ömrü 3-6 saattir, plazma proteinlerine bağlanma oranı ise %99'dur. Ağrı ve enflamasyon için günde 150-200 mg dozda kullanılır. Maksimum günlük dozu 300 mg'dır [40, 43, 44].

1.10.3. Yan Etkileri

Flurbiprofen kullanımı sonucunda bazı istenmeyen etkiler oluşabilir. Bunlardan bazıları şöyle sıralanabilmektedir [40]:

- Böbrekler üzerindeki etkisi: Akut ağrılar ve reversibl renal disfonksiyon.
- Santral Sinir Sistemi Üzerine etkisi: Parkinson benzeri durum.
- Karaciğer Üzerine Etkisi: Kolestatik sarılık.
- Cilt Üzerine Etkisi: Kütan vaskülit görülmesi.
- Rektal kullanım sonucu: Lokal irritasyon.



2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Kimyasal Maddeler

Kullanılan kimyasal maddeler ve temin edildikleri firmalar Çizelge 2.1’ de belirtilmiştir.

Çizelge 2.1. Kullanılan kimyasal maddeler ve temin edildiği firmalar

No	Kimyasal Maddeler	Firma
1	Kitosan (Orta moleküler ağırlıkta, %1’lik çözeltisinin 25 °C’deki viskozitesi 200.000 cps, deasetilasyon derecesi %75-85), Hidroksipropil Selüloz (Orta moleküler ağırlıkta), Span 80	Sigma Aldrich
2	Paraffin oil	Fluka
3	Flurbiprofen	Sigma Aldrich
4	Parafin liquid BP/USP	Aklar Kimya
5	Etil alkol, petrol eteri, heksan, gluteraldehit ($\text{HOC}(\text{CH}_2)_3\text{COH}$) %25 (v/v) sulu çözeltisi, monohidrojen fosfat (Na_2HPO_4), monosodyum dihidrojen fosfat (NaH_2PO_4), hidroklorik asit, asetik asit %100’lük.	Merck

2.2. Cihazlar

Kullanılan cihazların marka ve modelleri ile hizmet alımı yapılan kuruluşlar Çizelge 2.2’ de belirtilmiştir.

Çizelge 2.2. Kullanılan cihazların marka ve modelleri ile hizmet alımı yapılan kuruluşlar

No	Cihaz Adı	Marka, Model	Analizin Yapıldığı Yer
1	Homojenizatör	IKA marka, RW 20.n model, GER	Kırıkkale Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı
2	IR spektrofotometresi	Bruker marka, Vertex 70v model, USA	Kırıkkale Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı
3	Termogravimetrik Analiz	TA marka, TGA Q 500 model, USA	Kırıkkale Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı
4	Diferansiyel Taramalı Kalorimetri	TA marka, DSC Q 2000 model, USA	Kırıkkale Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı
5	UV Spektrofotometresi	Perkin Elmer marka, Lambda 35 model, USA	Kırıkkale Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı
6	ZETA Potansiyel ve Parçacık Boyutu Ölçüm Cihazı	Malvern marka, Zeta-Sizer Nano model, UK	Kırıkkale Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı
7	X-Işını Difraksiyonu (XRD)	Rigaku marka, Ultima IV model, USA	ODTÜ Merkez Laboratuvarı
8	Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM)	Veeco marka, MultiMode V model, USA	ODTÜ Merkez Laboratuvarı
9	Taramalı Elektron Mikroskobu	Jeol marka, JSM 5600 model, JAP	Kırıkkale Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı

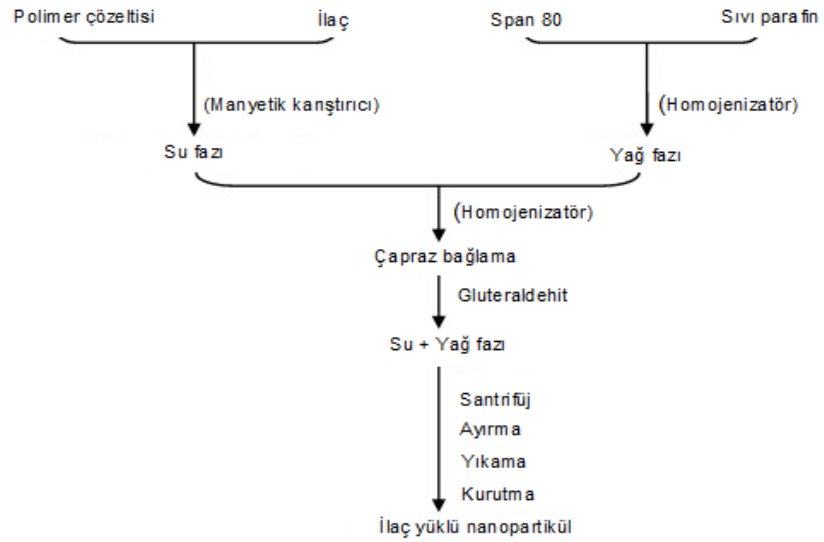
Yukarıdaki temel cihazlara ek olarak aşağıdaki cihazlar da kullanılmıştır;

- Çalkalamalı su banyosu (MEMMERT WNB 10)
- Manyetik karıştırıcı (Corning PC-420)
- pH metre (Hanna instruments HI 221)
- Vakum Etüvü (Vacucell VUS-B2V)
- Analitik terazi (Pioneer PA214C)

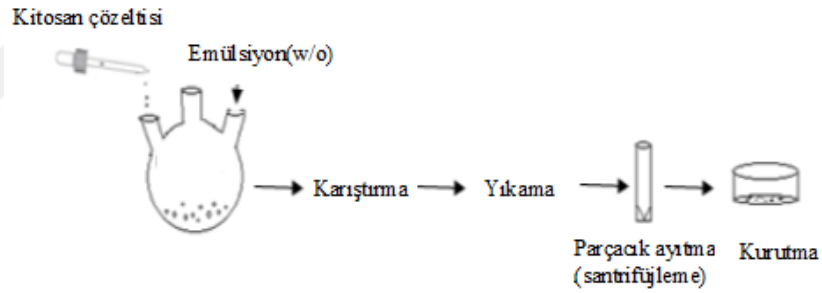
2.3. Flurbiprofen Yüklü Kitosan Nanokürelerin Sentezlenmesi

Kitosan nanoküreler aktif maddenin, suyun sürfaktan madde içeren bir yağ fazı içinde dağılmış olduğu heterojen sistemde tutulması esasına dayanan emülsiyon yöntemi ile hazırlanmıştır [45]. Bu amaçla yağ fazı oluşturmak için sıvı parafin ve sürfaktan madde olarak da span 80 kullanılmış ve farklı oranlarda hazırlanarak homojenizatör yardımıyla 15 dk. karıştırılmıştır. Su fazı için belli yüzdede kitosan çözeltisi % 1 lik asetik asit çözeltisinde oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırılarak elde edilmiştir. Bu faz 15 dk. boyunca karışmış bulunan yağ fazına damla damla ilave edilerek emülsiyon oluşturulup homojenizatör aracılığıyla 2000 rpm'de 30 dk. karıştırılıp ve karışım etkisiyle oluşan nano boyuttaki yağ damlacıklarına polimer hapsedilmiştir. Daha sonra bunları kararlı hale getirmek için çapraz bağlayıcı olarak gluteraldehit hazırlanmış ve aynı şekilde 30 dk.'lık süre boyunca karışmış olan emülsiyona damla damla ilave edilerek oluşan partiküllerin çapraz bağlama çözeltisi ile sürekli temasını sağlamak için homojenizatörle 1 saat karıştırılmıştır. Süre sonunda karışım tüplere doldurularak +4 °C de 10000 devirde 5 dk. santrifüj edilmiş, santrifüj sonrası süpernatant alınarak çökelti kısmında yağı uzaklaştırmak ve polimeri ayrıştırmak için petrol eteri, etanol, hekzan ile yıkanarak, petri kabına dökülmüş ve etüvde 40 °C sıcaklıkta sabit tartıma gelene kadar kurutularak boş nanoküreler elde edilmiştir.

İlaç yüklü kitosan nanoküreler elde etmek için ise ilaç/polimer oranı (1/1, 1/2 ve 1/4) olacak şekilde kitosan çözeltisine ilaç ilave edilerek oluşacak karışım, manyetik karıştırıcıyla homojen bir karışım elde edinceye kadar oda sıcaklığında karıştırılmıştır. İlaç yüklü nanokürelerin elde edilmesi işlemi Şekil 2.1 ve 2.2'de şematize edilmiştir.



Şekil 2.1. İlaç yüklü nanokürelerin elde edilme işlemi



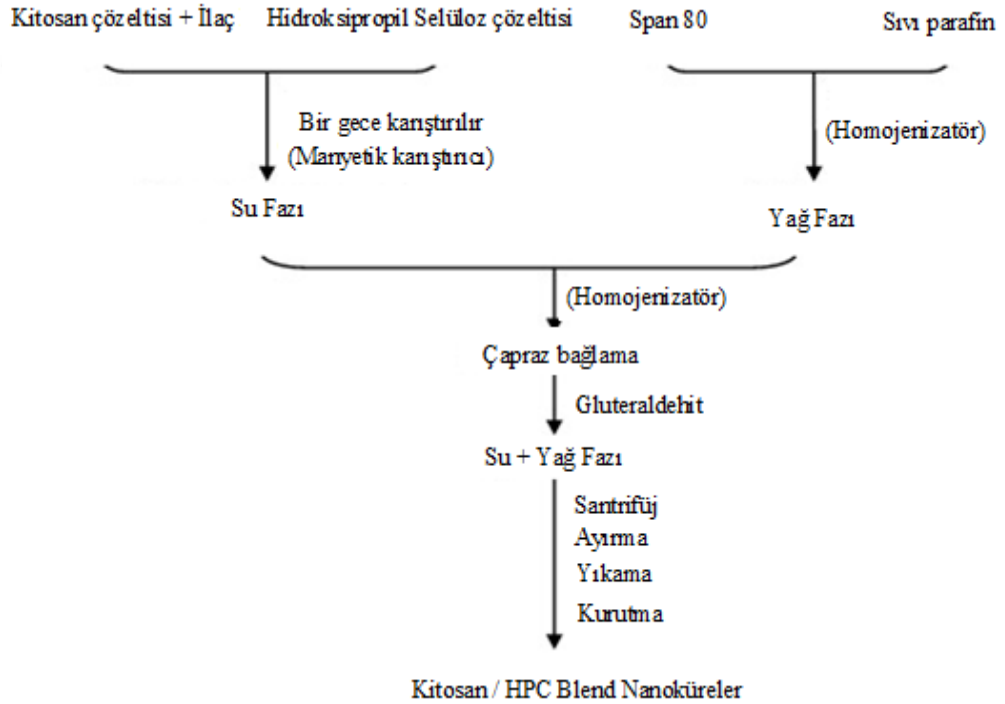
Şekil 2.2. Kitosan nanokürelerin hazırlanma sisteminin şematik gösterimi

2.4. Kitosan-Hidroksipropil Selüloz Blend Nanokürelerin Hazırlanması

İlaç yüklü nanoküreleri sentezlemek amacıyla kitosan nanokürelerin elde edilmesi sırasında izlenen yol, kitosan-hidroksipropil selüloz nanokürelerin eldesi için de aynı şekilde uygulanmıştır.

%1'lik hidroksipropil selüloz çözeltisi distile su içerisinde manyetik karıştırıcı vasıtasıyla karıştırılarak elde edilmiştir. Bu karışım kitosan çözeltisiyle, hidroksipropil selüloz/kitosan 1/1, 1/2, 1/3 ve 1/4 olacak şekilde bir gece oda sıcaklığında karıştırılarak polimer blendi hazırlanmıştır. İlaç yüklü hidroksipropil selüloz-kitosan blend nanoküreleri elde etmek için, ilaç/polimer oranı sabit olacak şekilde hidroksipropil selüloz/kitosan çözeltisine ilaç ilave edilerek oluşacak karışım, manyetik karıştırıcıyla homojen bir karışım elde edinceye kadar oda sıcaklığında karıştırılmıştır.

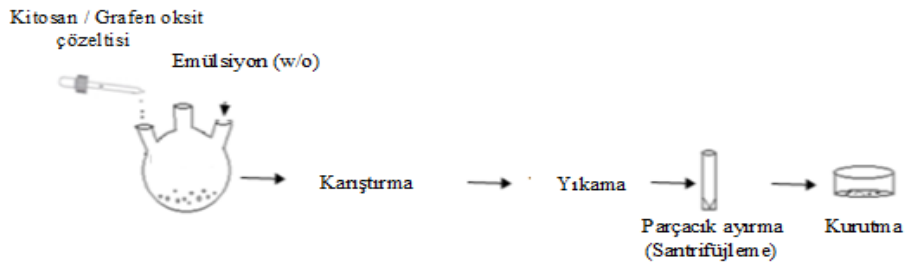
Bu yöntemle ilaçlı ve boş blend nanoküreler elde etmek için ise bölüm 2.3'te önerilen yol izlenmiştir. Boş ve ilaç yüklü kitosan-hidroksipropil selüloz blend nanokürelerin hazırlanma koşulları Şekil 2.3'te sunulmuştur.



Şekil 2.3. İlaç yüklü kitosan-hidroksipropil selüloz blend nanokürelerin elde edilme işlemi

2.5. Kitosan-Grafen Oksit Blend Nanokürelerin Hazırlanması

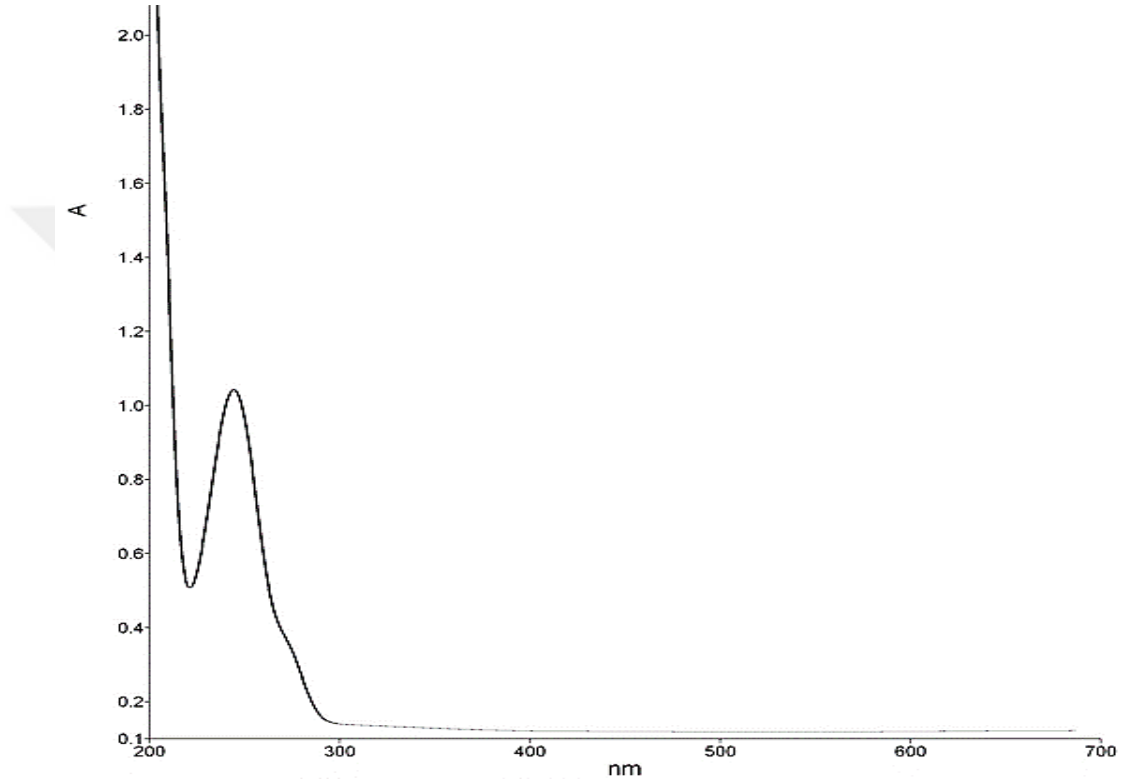
Kitosan çözeltisi % 1'lik asetik asit çözeltisinde içerisinde oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırılarak elde edilmiştir. Bu karışıma 1, 2 ve 4 mg grafen oksit eklenerek farklı oranlarda olacak şekilde bir gece oda sıcaklığında karıştırılarak CS-GO blendi hazırlanmıştır. İlaç yüklü kitosan-grafen oksit blend nanoküreleri elde etmek için ise ilaç/polimer oranı farklı olacak şekilde kitosan-grafen oksit çözeltisine ilaç ilave edilerek oluşacak karışım, manyetik karıştırıcıyla homojen bir karışım elde edinceye kadar oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Karışıma gluteraldehit çapraz bağlama çözeltisi ile muamele edilip tüplere doldurularak +4°C de 10000 devirde 5 dk. santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatant alınarak çökelti kısmında yağı uzaklaştırmak ve polimeri ayrıştırmak için petrol eteri, etanol, hekzan ile yıkanarak, petri kabına dökülmüş ve etüvde 40 °C sıcaklıkta sabit tartıma gelene kadar kurutularak boş nanoküreler elde edilmiştir. CS-GO blend nanokürelerinin hazırlanma koşulları Şekil 2.4'te verilmiştir.



Şekil 2.4. CS-GO blend nanokürelerin hazırlanma sisteminin şematik gösterimi

2.6. Flurbiprofenin UV Spektrumu

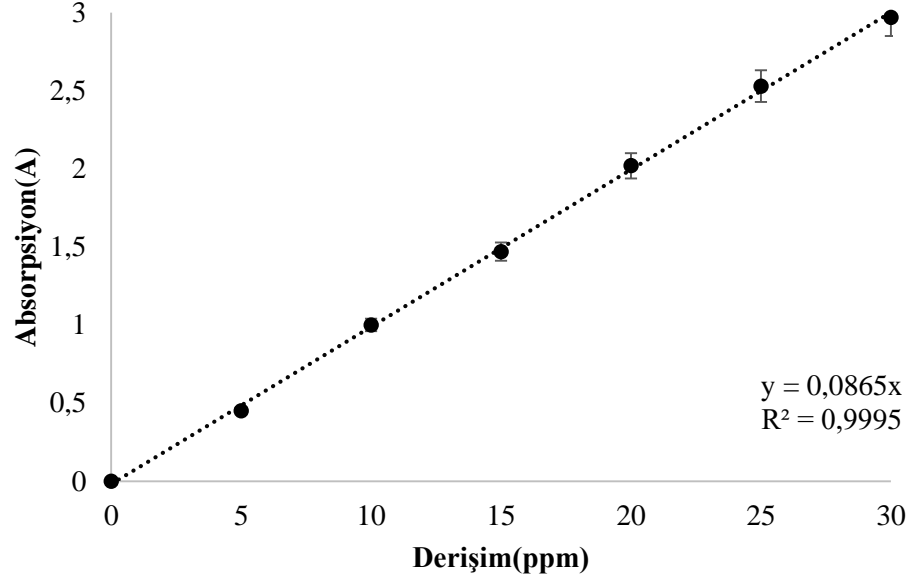
Şekil 2.5’ de flurbiprofenin UV spektrumu verilmiştir. Flurbiprofenin pH=7,4 $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$ ve pH=1,2 HCl çözeltisi içindeki maksimum absorbans verdiği dalga boyu 247 nm olarak belirlenmiştir. Bu değer literatür verileriyle de uyumludur [46].



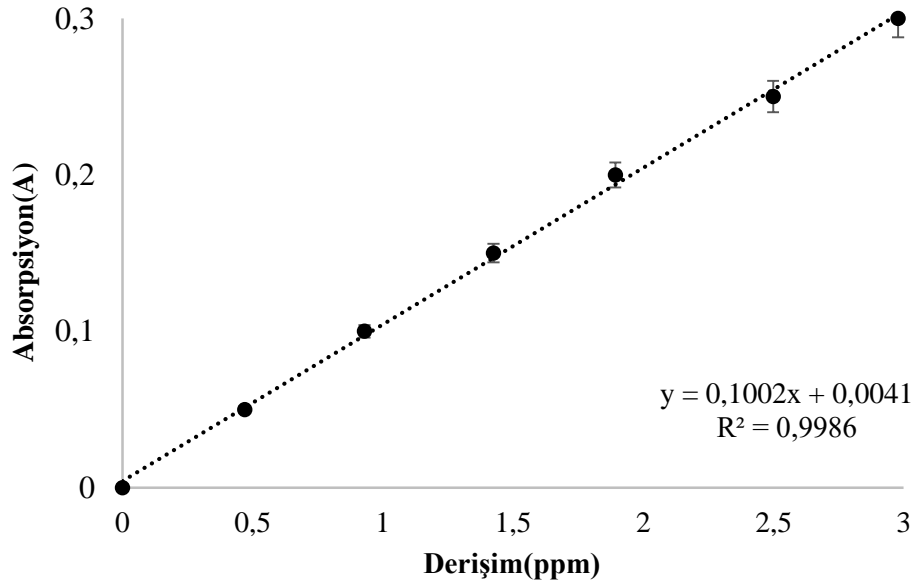
Şekil 2.5. Flurbiprofenin pH=7,4 $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$ tamponundaki UV spektrumu

2.7. Flurbiprofenin UV Spektrofotometrik Yöntemle Kalibrasyonu

Şekil 2.6’da ve Şekil 2.7’de pH 7,4 $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$ ve pH 1,2 HCl tamponu içinde yapılan ölçümler sonucu elde edilen kalibrasyon doğruları sırasıyla verilmiştir.



Şekil 2.6. Flurbiprofenin pH 7,4 H₂PO₄⁻/ HPO₄²⁻ tamponundaki kalibrasyon doğrusu



Şekil 2.7. Flurbiprofenin pH 1,2 HCl tamponundaki kalibrasyon doğrusu

2.8. Tutuklanma Verim Hesabı

Tutuklanma verimi; teorikte yüklenmesi gereken ilacın gerçekte ne kadar yüklendiğinin göstergesidir. İlaç yüklü nanopartiküllerden 10 mg alınarak agat havanında toz haline getirilip 4 saat süreyle geri soğutucu altında 50 ml, pH 7,4 H₂PO₄⁻ / HPO₄⁻² tamponunda ekstrakte edildi. 4 saat sürenin sonunda elde edilen ekstrakt süzülerek Flurbiprofen' in içeriği UV spektrofotometresi ile flurbiprofenin maksimum absorpsiyon gösterdiği dalgaboyu olan 247 nm'de tayin edildi.

$$\%TV = \frac{\text{Deneysel Flurbiprofen Miktarı}}{\text{Teorik Flurbiprofen miktarı}} \times 100$$

2.9. Blend Nanokürelerden Flurbiprofenin *İn-vitro* Salım Çalışması

Değişik formülasyonlarda hazırlanan CS-HPC ve CS-GO blend nanokürelerin in vitro salım profillerini incelemek için 10 mg ilaç içeren blend nanoküre örnekleri, 50 ml salım ortamı içeren 100 ml hacimli erlen içerisine konularak 100 devir/dakika hızındaki çalkalamalı su banyosuna yerleştirildi. Salım çalışmaları farklı sıcaklıklarda (30, 37, 44 °C) sırasıyla pH 1,2 HCl ve pH 7,4 H₂PO₄⁻/HPO₄⁻² tamponları içerisinde gerçekleştirildi. Nanoküreden salınan flurbiprofen miktarını belirlemek için her 30 dakikada 1ml örnekler alınarak yerine 1ml salım ortamı ilave edildi. Salım ortamından alınan örneklerin 247 nm'de absorbans değerleri kullanılarak derişimleri hesaplanmıştır. Salım deneyleri üç kez tekrarlanmış ve standart sapmaları hesaplanmıştır.

Çizelge 2.3. Boş Kitosan Nanokürelerin ve CS-HPC Blend Nanokürelerin Hazırlanma Koşulları

Kod	Blend Adı	Blend Oranı	% GA (v/v)	GA İle Olgunlaştırma Süresi(dk.)	% Span 80 (v/v)
A ₀	CS	-	1,25	60	1,54
A ₁	CS-HPC	1/1	1,25	60	1,54
A ₂	CS-HPC	2/1	1,25	60	1,54
A ₃	CS-HPC	3/1	1,25	60	1,54
A ₄	CS-HPC	4/1	1,25	60	1,54

Çizelge 2.4. Flurbiprofen Yüklü Kitosan Nanokürelerin ve CS-HPC Blend

Nanokürelerin Hazırlanma Koşulları

Kod	Blend Adı	Blend Oranı	% GA (v/v)	GA İle Olgunlaştırma Süresi (dk.)	% Span 80 (v/v)	i/p Oranı (m/m)
A ₅	CS	-	1,25	60	1,54	1/1
A ₆	CS-HPC	1/1	1,25	60	1,54	1/1
A ₇	CS-HPC	2/1	1,25	60	1,54	1/1
A ₈	CS-HPC	3/1	1,25	60	1,54	1/1
A ₉	CS-HPC	4/1	1,25	60	1,54	1/1
B ₁	CS-HPC	3/1	1,25	60	1,54	1/2
B ₂	CS-HPC	3/1	1,25	60	1,54	1/4
C ₁	CS-HPC	3/1	0,5	60	1,54	1/2
C ₂	CS-HPC	3/1	1,88	60	1,54	1/2
C ₃	CS-HPC	3/1	2,75	60	1,54	1/2
D ₁	CS-HPC	3/1	1,25	15	1,54	1/2
D ₂	CS-HPC	3/1	1,25	30	1,54	1/2
D ₃	CS-HPC	3/1	1,25	90	1,54	1/2
E ₁	CS-HPC	3/1	1,25	60	0,9	1/2
E ₂	CS-HPC	3/1	1,25	60	2,72	1/2
E ₃	CS-HPC	3/1	1,25	60	4,54	1/2

Çizelge 2.5. Boş ve Flurbiprofen Yüklü CS-GO Blend Nanokürelerin Hazırlanma

Koşulları

Kod	Blend Adı	Blend Oranı	% GA (v/v)	GA İle Olgunlaştırma Süresi (dk.)	% Span 80 (v/v)	i/p Oranı (m/m)
G ₁	CS-GO	240/1	1,25	60	1,54	-
G ₂	CS-GO	120/1	1,25	60	1,54	-
G ₃	CS-GO	60/1	1,25	60	1,54	-
G ₄	CS-GO	240/1	1,25	60	1,54	1/1
G ₅	CS-GO	120/1	1,25	60	1,54	1/1
G ₆	CS-GO	60/1	1,25	60	1,54	1/1
G ₇	CS-GO	120/1	1,25	60	1,54	1/2
G ₈	CS-GO	120/1	1,25	60	1,54	1/4
G ₉	CS-GO	120/1	0,5	60	1,54	1/2
G ₁₀	CS-GO	120/1	1,88	60	1,54	1/2
G ₁₁	CS-GO	120/1	2,75	60	1,54	1/2
G ₁₂	CS-GO	120/1	1,25	60	0,9	1/2
G ₁₃	CS-GO	120/1	1,25	60	2,72	1/2

3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Çalışmanın ilk aşamasında, emülsiyon yöntemi ile kitosan ve hidroksipropil selüloz doğal polimerlerinin nanoküreleri sentezlenmiştir. Hidroksipropil selüloz polimerinin jel oluşumu nedeniyle nanoküreleri sentezlenemeyip, kitosan ile blend nanoküreleri sentezlenmiştir. Nanokürelere ilaç yükleme işlemi yapılarak farklı i/p oranlarında blend nanoküreler elde edilmiştir. Çapraz bağlayıcı derişimi ve süresinin etkisi, sıcaklığın etkisi, sürfektan miktarının etkisi gibi parametreler göz önünde bulundurularak nanokürelerin in-vitro salım profilleri incelenmiştir. Ayrıca sentezlenen bu nanoküreler ATR-FTIR, DSC, TGA, Zeta Sizer, SEM, AFM ve XRD ile karakterize edilmiştir.

Çalışmanın ikinci aşamasında ise, kitosan ve grafen oksitin blend nanoküreleri sentezlenmiştir. GO miktarı, çapraz bağlayıcı derişimi, span 80 yüzdesi değiştirilerek farklı formülasyonlar elde edilmiş ve in vitro flurbiprofen salımına etki eden faktörler incelenmiştir. Sentezlenen CS-GO blend nanokürelerin termal davranışları DSC/TGA, yüzey yükleri ve boyutları Zeta Sizer, fonksiyonel grup analizi ATR-FTIR, yüzey morfolojileri SEM ve AFM, kristal yapıları XRD ile incelenmiştir.

3.1. Kitosan-HPC Blend Nanokürelerinin Karakterizasyonu

3.1.1. FTIR Sonuçlarının Değerlendirilmesi

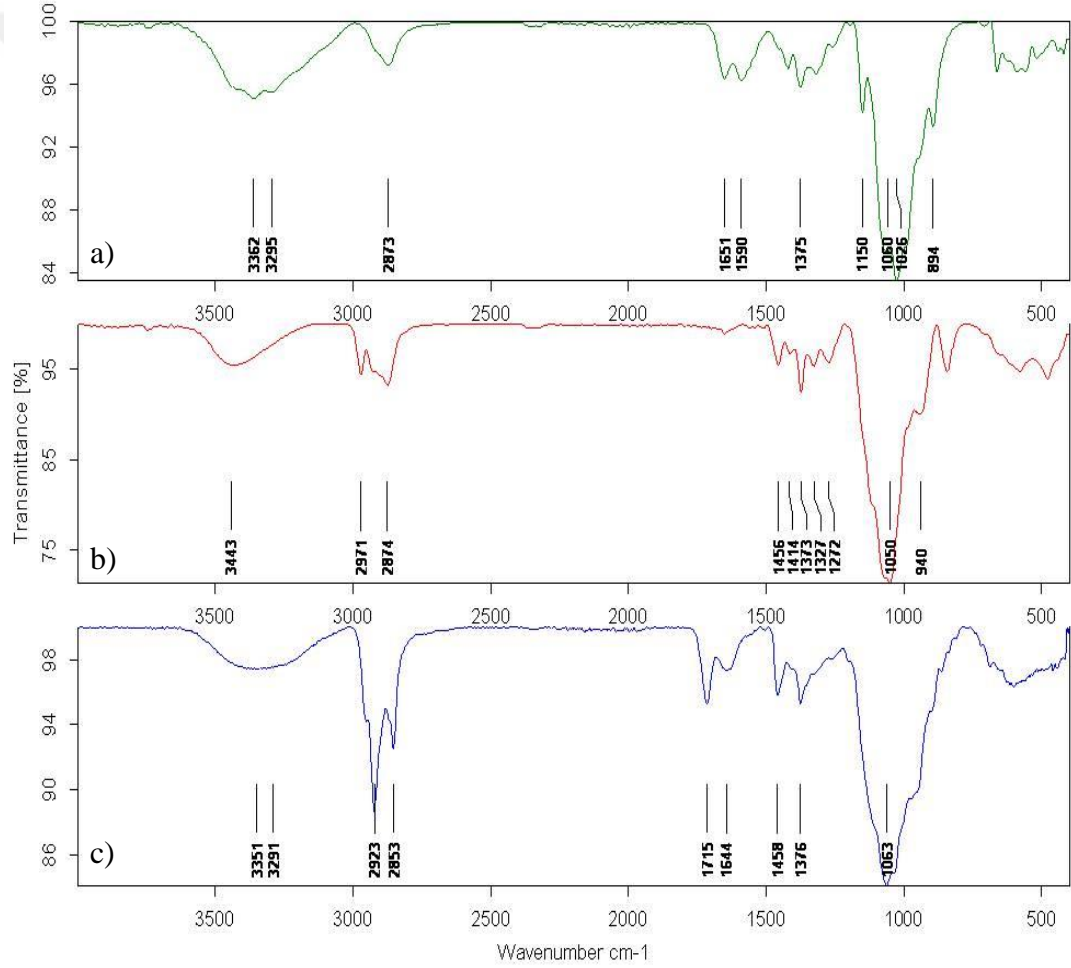
Şekil 3.1’de kitosan, hidroksipropil selüloz ve kitosan-hidroksipropil selüloz blend nanokürelerinin Bruker marka, Vertex 70v model IR spektrofotometresinde 400-4000 cm^{-1} dalga sayısı aralığında alınmış FTIR spektrumları görülmektedir.

Kitosanın FTIR spektrumunda, 3362 cm^{-1} ’de gözlenen geniş bant (N-H) gerilmesine, 3295 cm^{-1} ’de gözlenen bandın (O-H) gerilmesine ait olduğu belirlenmiştir [46, 47]. 2873 ve 1375 cm^{-1} ’deki piklerin sırasıyla (-C-H) gerilmesini ve (-CH₃)’ün simetrik deformasyonunu, 1651 ve 1590 cm^{-1} ’deki bandın sırasıyla sekonder amid grubuna bağlı karbonil (C=O) ve amin gruplarına ait (N-H) gerilme titreşimlerini, 1307 cm^{-1} ’deki bandın (O-H) eğilmesine [48], 1150 cm^{-1} ’deki pikin asimetrik köprü oksijen gerilmesine ait olduğu belirlenmiştir. 1064 ve 1025 cm^{-1} ’de gözlenen bantların eter gruplarının (C-O) gerilmelerine [49, 50] ve 894 cm^{-1} ’deki pikinin ise (C-O) halka titreşimine ait olduğu belirlenmiştir [47].

Hidroksipropil selülozun FTIR spektrumunda, 3443 cm^{-1} ’de görülen geniş bandın (O-H) gerilme titreşimlerine ait olduğu, 2971 ve 2874 cm^{-1} ’deki pikler alifatik (C-H) gerilme titreşimlerine, 1456 ve 1373 cm^{-1} ’deki pikler ise (-CH₃)’ün simetrik gerilme titreşimlerine, 1050 cm^{-1} ’deki bandın (C-O) eğilmesine ve 940 cm^{-1} ’deki pikin ise (C-C) gerilmesine ait olduğu belirlenmiştir [51, 46].

A₃ formülasyonlu boş CS-HPC blend nanokürelerinin FTIR spektrumunda 3351 ve 3291 cm^{-1} ’de gözlenen geniş bant sırasıyla, kitosan üzerindeki amin grubuna ait (N-H) gerilme pikine ve her iki polimere ait (O-H) gerilmelerine ait olmakla birlikte bandın genişlemesi hidrojen bağ oluşumunu göstermektedir. 2923 ve 2853 cm^{-1} ’de gözlenen bandın CS ve HPC üzerindeki alifatik (C-H) gerilmelerine, 1715 cm^{-1} ve

1644 cm^{-1} 'deki bantlar, sırasıyla GA ile çapraz bağlı CS-HPC blendindeki CS'nin sekonder amid grubuna ait karbonil ve amin bağ titreşimlerine karşılık geldiği belirlenmiştir. CS üzerindeki amid grubuna ait piklerin çapraz bağlanmayla birlikte bir miktar kaydığı görülmektedir. 1063 cm^{-1} 'de gözlenen bant CS üzerindeki eter gruplarının (C-O) gerilmelerine, 944 cm^{-1} civarındaki bantların HPC üzerindeki (C-C) gerilmesine ve CS üzerindeki (C-O) halka titreşimine ait olduğu belirlenmiştir.



Şekil 3.1. a) CS, b) Hidroksipropil selüloz, c) A₃ formülasyonlu CS-HPC selüloz blend nanokürelere ait FTIR spektrumları

3.1.2. TGA Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Şekil 3.2 ve 3.3'te CS, HPC ve A₃ formülasyonlu CS-HPC blend nanokürelerinin TGA sonuçları verilmiştir. Bütün formülasyonların termogramları TA marka Q500 model TGA cihazında, 10 °C/dk. sıcaklık artışı ile 25-900 °C sıcaklıklar arasında alınmıştır.

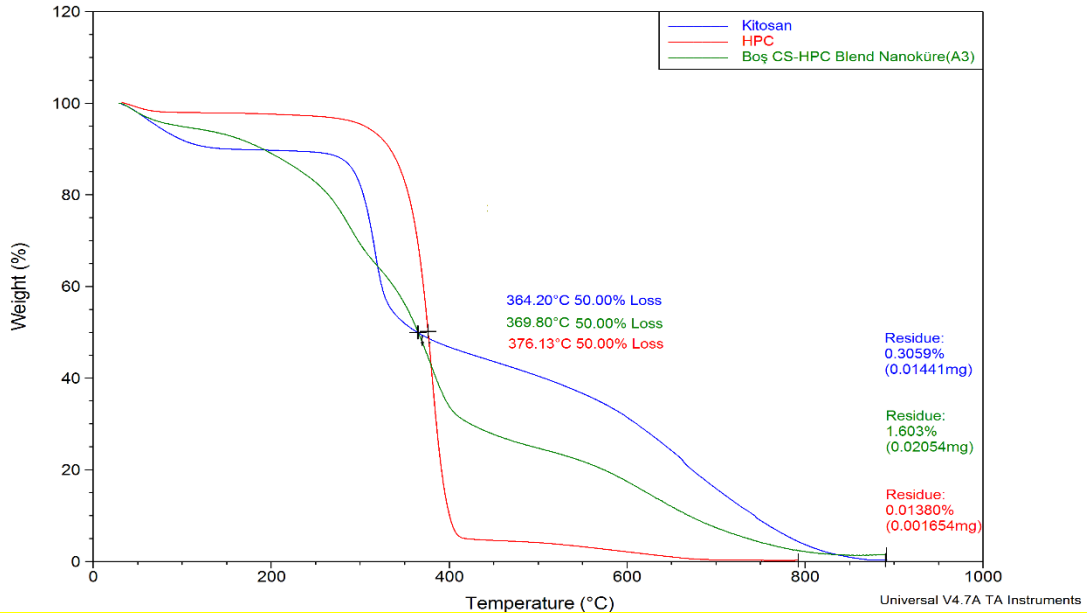
Kitosanın TGA termogramında, iki aşamada ısıl bozunmaya uğradığı gözlenmiştir. 25-180 °C sıcaklık aralığında % 9,12'lik kütle kaybı CS içerisindeki adsorbe olan suyun uzaklaşmasına atfedilebilir. 240 - 380 °C sıcaklık aralığında CS zincirlerinin degradasyonu gözlenmiştir. Çiftçi ve arkadaşları kitosanın TGA bozunma termogramını incelerken iki aşamalı bozunma grafiği elde etmiş ve ilk bozunmayı su kaybı ikinci bozunmayı ise zincirler arasındaki degradasyon olarak yorumlamışlardır [53]. CS'nin maksimum bozunmaya uğradığı sıcaklık 316,31 °C olarak ölçülmüş ve Şekil 3.3'te sunulmuştur.

Hidroksiopropil selüloz'un TGA termogramında da, iki aşamalı ısıl bozunma gözlenmiştir. 25 - 100 °C sıcaklık aralığında %2,6'lık kütle kaybının HPC içerisindeki suyun uzaklaşmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. 220 - 425 °C sıcaklık aralığında HPC içindeki selüloz eterlerinin degradasyonu gözlenmiştir. 380,46 °C, HPC'un maksimum bozunma hızının olduğu sıcaklık olarak ölçülmüştür. Literatürde de benzer sonuçlara rastlanmaktadır [54, 55, 56].

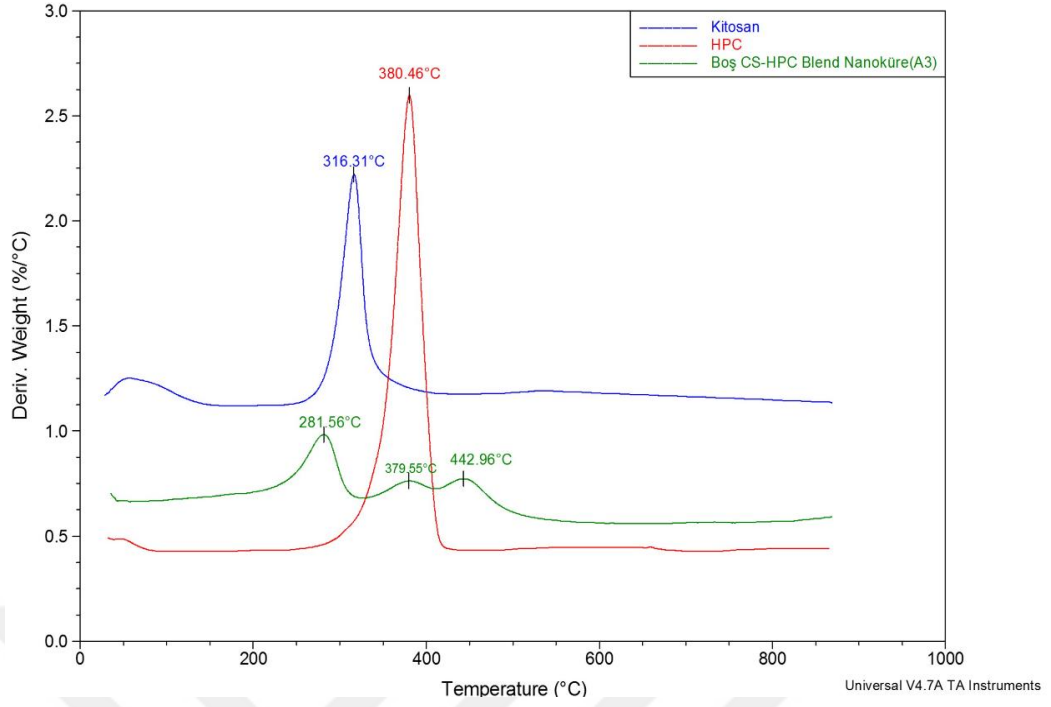
Şekil 3.2'de A₃ formülasyonlu CS-HPC blend nanokürelerinin termogramında 4 basamaklı bozunma gözlenmektedir. Birincisi 25-100 °C aralığındaki %10,9'luk kütle kaybının adsorbe suyun uzaklaşmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. İkinci kütle kaybının 200-300 °C sıcaklık aralığında CS birimlerinin bozunmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Kitosan birimleri 281,56 °C sıcaklıkta maksimum

bozunma hızı göstermiştir. HPC'un eter gruplarının degradasyonunun gerçekleştiği sıcaklık aralığı 310-400 °C'dir. 379,55 °C sıcaklıkta HPC birimleri maksimum bozunma hızına ulaşmıştır. Son kütle kaybı 400 - 550 °C sıcaklık aralığında, 442,96 °C'de çapraz bağlanma yoğunluğu daha fazla olan CS-HPC guruplarının bozunmasına atfedilebilir.

Şekil 3.2'de %50 bozunma sıcaklıkları verilen CS, HPC ve CS-HPC blend nanokürelerinin TGA termogramlarından termal davranışlarının değiştiği açıkça görülmektedir. Elde edilen TGA sonuçlarından CS-HPC blend nanokürelerinin kitosana göre termal dayanımının daha yüksek olduğu söylenebilir. Bu da yapıdaki çapraz bağlanmalara ve hidrojen bağ etkileşimlerine atfedilebilir [57]. CS, HPC ve CS-HPC blend nanokürelerinin %50 bozunma gösterdikleri sıcaklıklar sırasıyla 364,20, 376,13 ve 369,80 °C olarak bulunmuştur. Bozunmadan kalan polimerlerin ve blend nanokürenin miktarları Şekil 3.2'de sunulmuştur.



Şekil 3.2. CS, HPC ve CS-HPC blend nanokürelerinin TGA termogramları



Şekil 3.3. CS, HPC ve CS-HPC blend nanokürelerinin DTG termogramları

3.1.3. DSC Sonuçlarının Değerlendirilmesi

DSC analizleri blend nanokürelerin termal davranışlarını incelemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. CS, HPC ve CS-HPC blend nanokürelerinin ve bütün formülasyonların termogramları TA marka Q2000 model DSC cihazında, oda sıcaklığından 60 °C'ye kadar ısıtılmış, 20 dk. izotermal bekletilmiş ve 400 °C' ye tekrar ısıtılarak alınmıştır. Termogramlar Şekil 3.4'te görülmektedir. Nanokürelerin DSC termogramlarından elde edilen T_g değerleri Çizelge 3.1'de verilmiştir.

DSC termogramından CS'nın T_g değerinin 81,53 °C olduğu bulunmuştur. T_g değeri HPC için 84,49 °C olarak gözlenirken A₃ formülasyonlu blend nanoküre için 89,52 °C olarak belirlenmiştir. Benzer sonuçlara literatürde rastlanmaktadır [58].

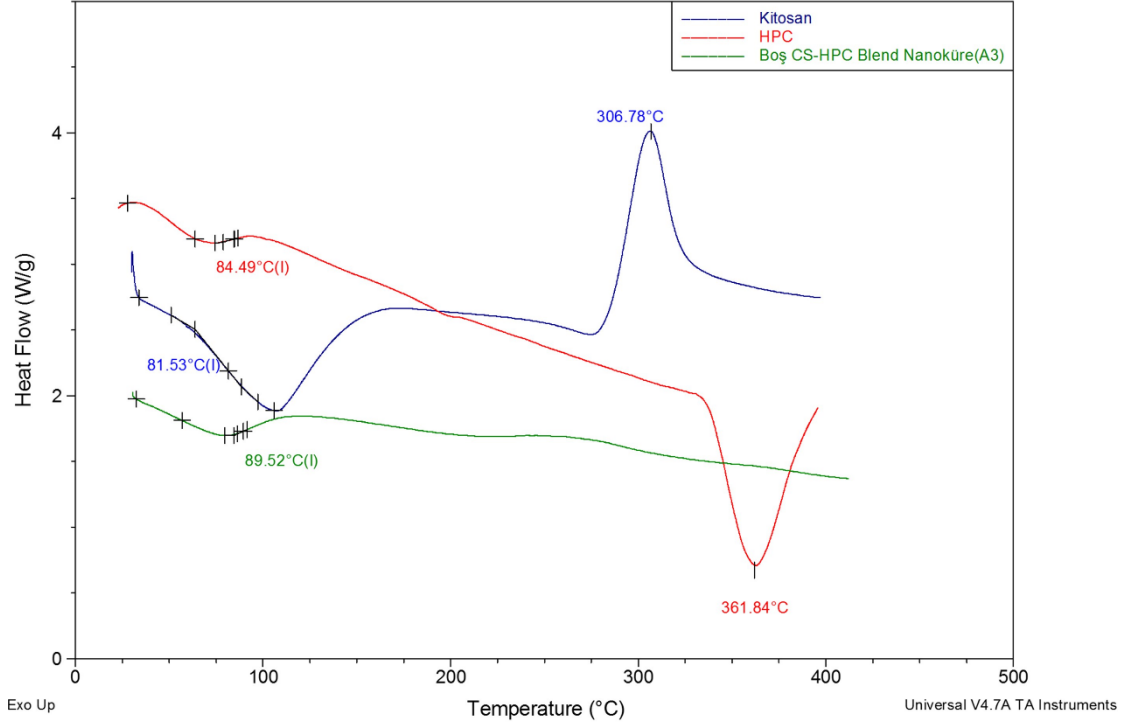
Osiris ve arkadaşları HPC'un DSC termogramında T_g değerini 83,90 °C olarak bulmuşlardır. Ayrıca HPC'nin DSC termogramında 361,84 °C sıcaklıkta endotermik bir bozulma piki gözlenmiştir.

Çizelge 3.1. CS, HPC ve A₃ formülasyonlu kürelerin T_g değerleri

Kod	Polimer	T_g (°C)
CS	CS polimeri	81,53
A ₃	CS-HPC blend nanoküresi	89,52
HPC	HPC polimeri	84,49

CS'nin DSC termogramında 81,53 °C'deki T_g değerinden başka bir de 306,78 °C'de ekzotermik bozunma piki gözlenmiştir. Literatürde Barış ve arkadaşları da yüksek lisans tez çalışmasında kitosanın T_g değerini 81°C olarak belirlemişlerdir [59].

Optimum koşullarda sentezlenen A₃ formülasyonlu CS-HPC blend nanokürelerinde T_g değerinin CS'dan ve HPC'dan yüksek olarak bulunmuştur. Bunun nedeni olarak polimerlerin karışarak çapraz bağlayıcı tarafından bağlandığı düşünülmüştür.

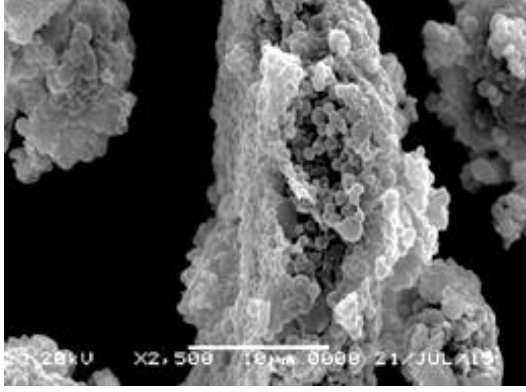


Şekil 3.4. CS, HPC ve CS-HPC boş blend nanoküresine ait DSC termogramı

3.1.4. SEM Analiz Sonuçları

Şekil 3.5’ te kitosan nanokürelerin HPC ile blend oluşturmadan önceki ve blend oluşumu sonrası yüzey özelliklerinde meydana gelen değişiklikler hakkında bilgi sahibi olmak amacıyla farklı büyütme ölçekleri kullanılarak JSM 5600 model taramalı elektron mikroskopunda çekilen SEM fotoğrafları sunulmuştur.

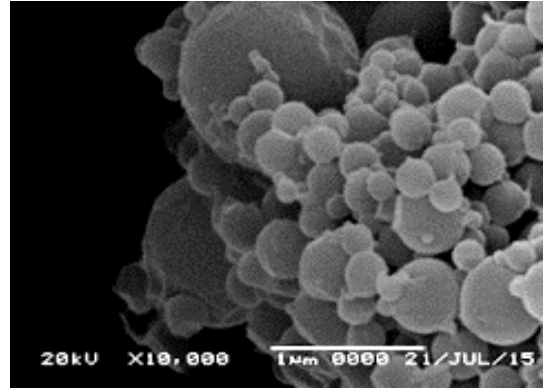
CS’ın HPC polimeri ile blend oluşturması ile yüzeydeki pürüzlülüğün ve küre boyutunun arttığı gözlenmektedir.



(a) A₀ formülasyonlu nanoküreye ait

SEM görüntüsü

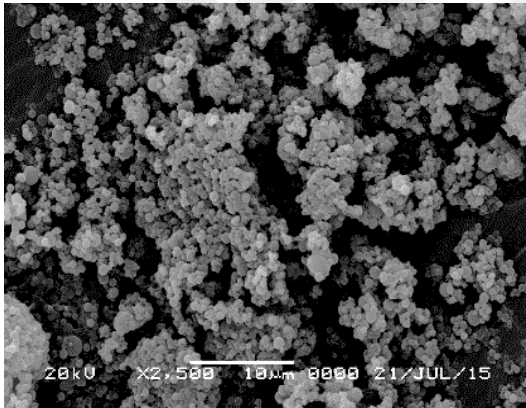
(x2500)



(b) A₀ formülasyonlu nanoküreye ait

SEM görüntüsü

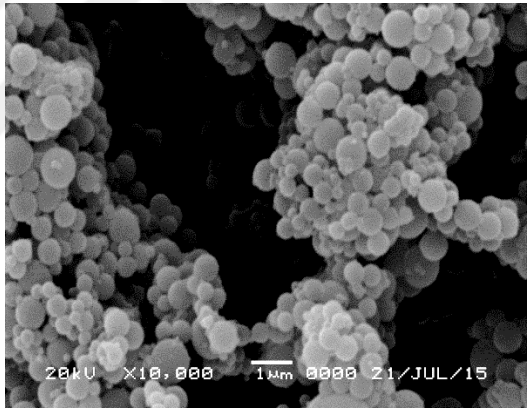
(x10000)



(c) A₃ formülasyonlu nanoküreye ait

SEM görüntüsü

(x2500)



(d) A₃ formülasyonlu nanoküreye ait

SEM görüntüsü

(x10000)

Şekil 3.5. A₀ ve A₃ formülasyonlu boş nanokürelere ait farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri

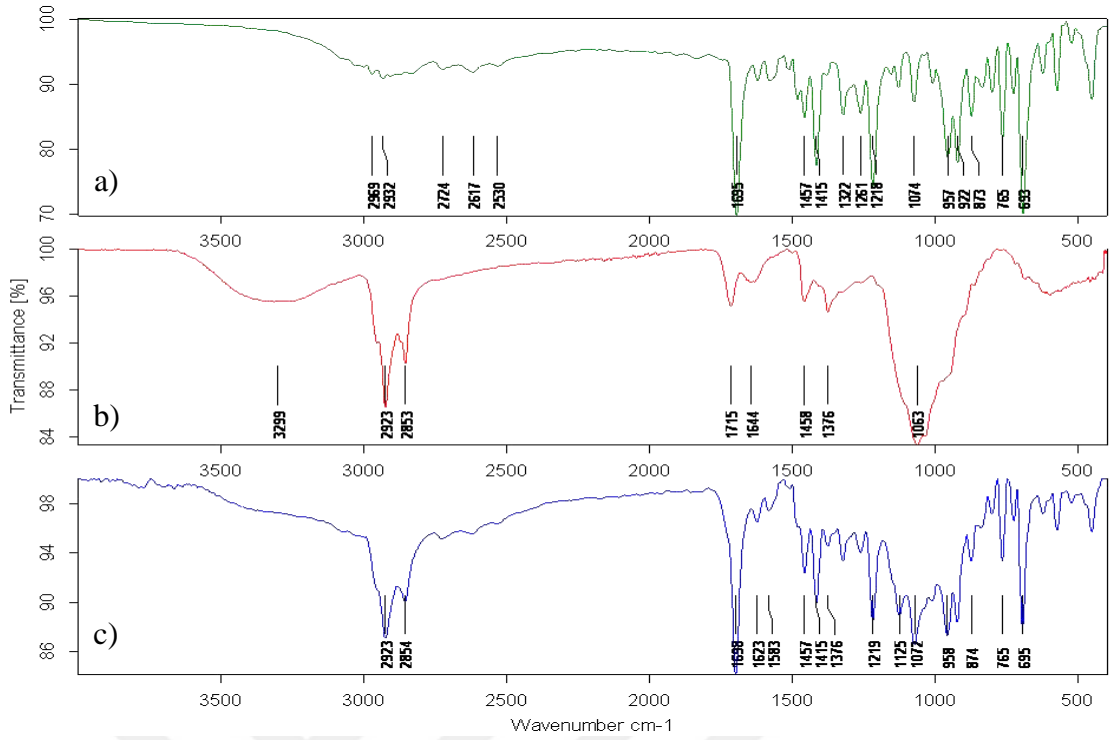
3.2.Flurbiprofen Yüklü CS-HPC Blend Nanokürelerin Karakterizasyonu

3.2.1. FTIR Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Şekil 3.6’ da flurbiprofen, blend oranı 3/1 olan A₃ formülasyonlu boş CS-HPC blend nanoküresi ve B₁ formülasyonlu flurbiprofen yüklü CS-HPC blend nanokürelerinin FTIR spektrumları görülmektedir. Flurbiprofenin FTIR spektrumunda 1695 cm⁻¹’de görülen pikin (C=O) gerilmesine, 1415 cm⁻¹’de görülen pikin düzlem içi C-H (-CF=CH-) gerilmesine ve 874 cm⁻¹’de görülen pikin ise düzlem dışı C-H (-CF=CH-) gerilmesine ait olduğu belirlenmiştir [61]. 1218 cm⁻¹’de görülen pikin spesifik (C-F) gerilme titreşimlerine karşılık geldiği görülmüştür [62].

Boş CS-HPC blend nanokürelerinin FTIR spektrumunda 3299 cm⁻¹’de gözlenen geniş bandın birbirini kapatmış (-N-H) ve (-O-H) gerilmelerinden kaynaklanmaktadır. 2923 ve 2853 cm⁻¹’deki alifatik(-C-H) gerilme titreşimlerini, 1063 cm⁻¹’de gözlenen keskin bant (-C-O-C-) gerilmesini, 1715 cm⁻¹ ve 1644 cm⁻¹’deki bantlar, sırasıyla GA ile çapraz bağlı CS-HPC blendindeki CS’ın sekonder amid grubuna ait karbonil ve amin bağ titreşimlerine karşılık geldiği belirlenmiştir. 1458 ve 1376 cm⁻¹’de alifatik (-C-H) titreşimlerini göstermektedir. Literatürde benzer sonuçlara rastlanmıştır [61].

B₁ formülasyonlu flurbiprofen yüklü CS-HPC blend nanoküre FTIR spektrumunda 1698 cm⁻¹’deki (-C=O) gerime titreşimi ile 1219 cm⁻¹’deki spesifik (C-F) gerilmesinin bulunması ilacın blend nanoküre başarıyla yüklendiğini göstermektedir. Ayrıca ilacın spesifik piklerinin blend nanoküre içinde de aynı bölgede olması ilacın kristalin yapısını koruduğunu göstermektedir [62].



Şekil 3.6. a) Flurbiprofen, b) A₃ formülasyonlu boş CS-HPC blendi ve c) B₁ formülasyonlu flurbiprofen yüklü CS-HPC blendinin FTIR spektrumu

3.2.2. TGA Sonuçlarının Değerlendirilmesi

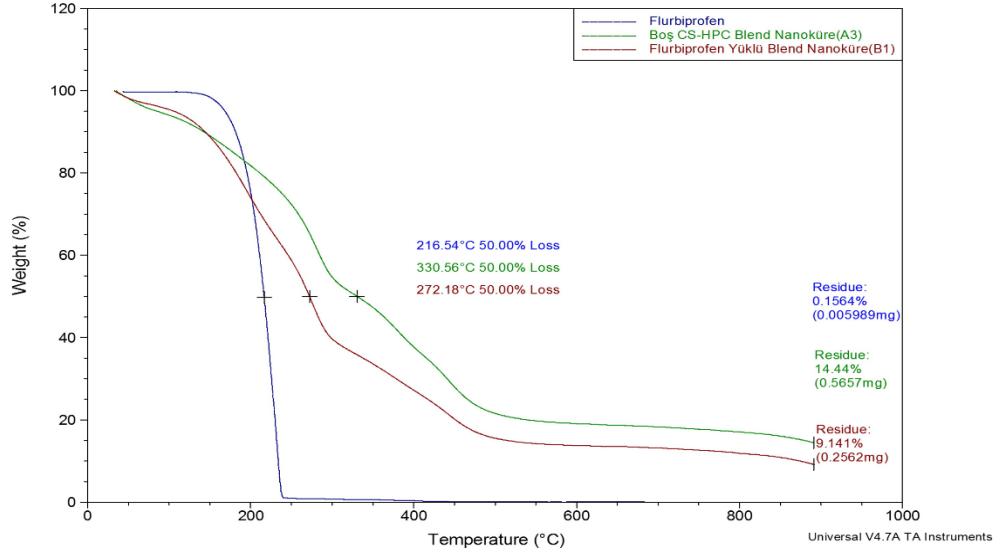
Şekil 3.7 ve Şekil 3.8’de, flurbiprofen, A₃ formülasyonlu boş CS-HPC blend nanoküreleri ve B₁ formülasyonlu flurbiprofen yüklü CS- HPC blend nanokürelerinin TGA analiz sonuçları verilmiştir.

Flurbiprofenin TGA termogramında, tek aşamada ısıl bozunmaya uğradığı gözlenmiştir. 100 - 250 °C sıcaklık aralığında %99,11’ lik kütle kaybına neden olan flurbiprofenin bozunmasını göstermektedir. 230,96 °C’de ilacın maksimum degradasyonu gözlenmiştir.

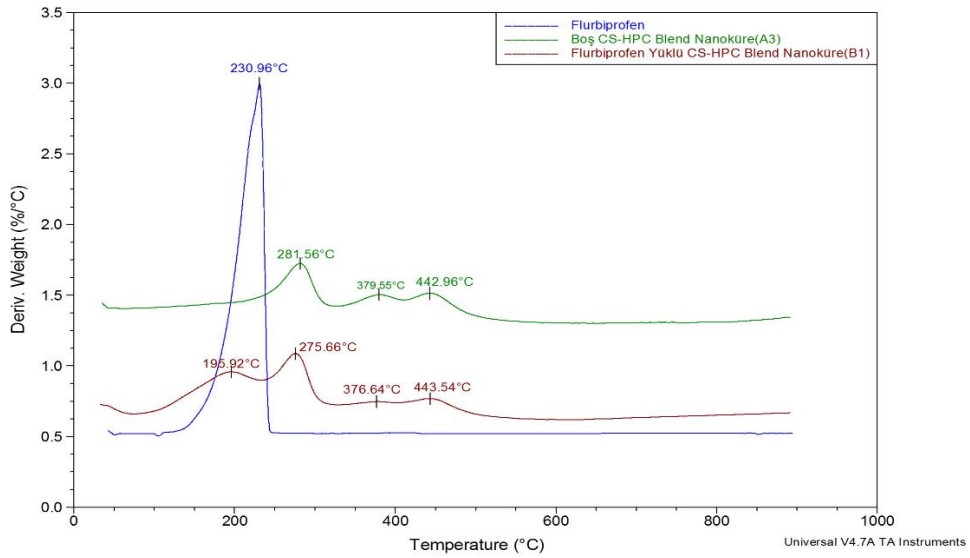
A₃ formülasyonlu boş CS-HPC blend nanokürelerinin TGA termogramında 4 basamaklı bozunma gözlenmektedir ve Bölüm 3.1.2’de ayrıntılı olarak bahsedilmiştir.

B₁ formülasyonlu flurbiprofen yüklü CS-HPC blend nanokürelerinin TGA termogramında ise beş aşamalı ısıl bozunma gözlenmiştir. 25 - 95 °C aralığında blend nanoküreler içerisindeki suyun uzaklaştığı, 100-250 °C aralığında blend nanopartikül içerisindeki flurbiprofenin bozunmaya uğradığı ve maksimum bozunmayı 195,92 °C’de gerçekleştirdiği düşünülmektedir. Üçüncü bozunma basamağını kitosan gruplarının bozunduğu 250-320 °C sıcaklık aralığı oluşturmaktadır. 275,66 °C’de blend nanoküre içerisindeki kitosan grupları maksimum degradasyon hızına ulaşmıştır. Dördüncü bozunma basamağını oluşturan HPC gruplarından selüloz eterlerinin uzaklaşması ise 320-410 °C sıcaklık aralığında gözlenmiş ve maksimum kütle kaybının gözleendiği sıcaklık 376,64 °C olarak tespit edilmiştir. Beşinci ve son bozunma basamağı, polimer sistem içerisinde CS-HPC gruplarının bozunması ile gerçekleşmiştir. Bu basamakta 410-490 °C aralığında bozunma işlemi gerçekleşmiş olup, maksimum bozunma hızı 443,54 °C sıcaklıkta gerçekleşmiştir.

Şekil 3.7’de %50 bozunma sıcaklıkları verilen flurbiprofen, A₃ formülasyonlu boş CS-HPC blend nanokürelerinin ve B₁ formülasyonlu flurbiprofen yüklü CS-HPC blend nanokürelerinin TGA ve DTG termogramlarından termal davranışlarının değiştiği açıkça görülmektedir. %50 bozunma gösterdikleri sıcaklıklar sırasıyla 216,54, 330,56 ve 272,18 °C’dir. Boş ve flurbiprofen yüklü CS-HPC blend nanokürelerinin %50 bozunma gösterdikleri sıcaklıklardan da anlaşıldığı gibi yapıya flurbiprofenin girmesiyle termal davranışlarda belirgin bir değişiklik vardır. Bu sonuçlara göre termal dayanımın azaldığı açıkça görülmektedir.



Şekil 3.7. Flurbiprofen, boş CS-HPC blendi ve flurbiprofen yüklü CS-HPC blendinin TGA termogramları



Şekil 3.8. Flurbiprofen, boş CS-HPC blendi ve flurbiprofen yüklü CS-HPC blendinin DTG termogramları

3.2.3. DSC Sonuçlarının Değerlendirilmesi

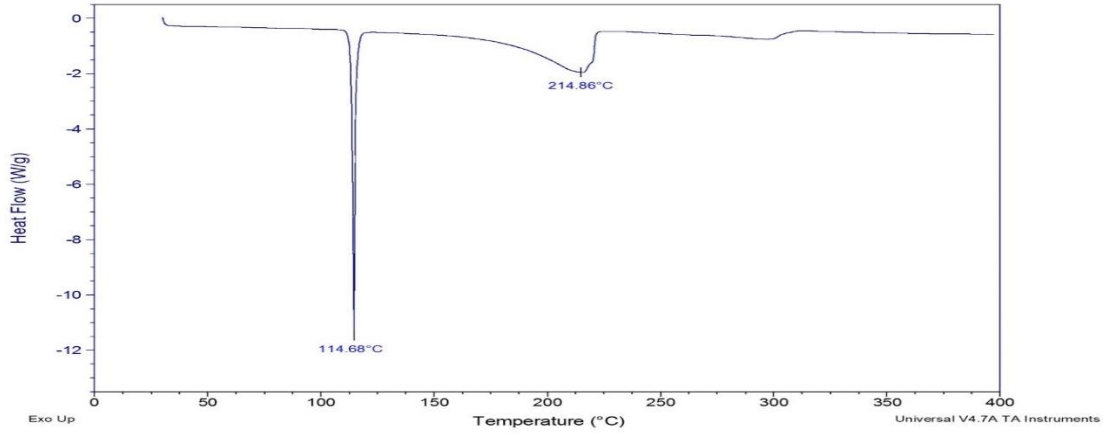
Şekil 3.9 ve Şekil 3.10'da sırasıyla flurbiprofen, A₃ formülasyonlu boş CS-HPC blend nanoküresi ve B₁ formülasyonlu flurbiprofen yüklü CS-HPC blend nanoküresinin DSC termogramları görülmektedir.

Termogramlarda endotermik camsı geçiş ve sonrasında bozunmalar görülmektedir. DSC termogramlarında B₁ formülasyonlu ilaçlı blend nanokürenin T_g değeri 95,79 °C, A₃ formülasyonlu boş blend nanokürelerin T_g değeri ise 89,67 °C olarak belirlenmiştir. Nanokürelere ilaç yüklenmesiyle birlikte polimer ağ yapısındaki amorf bölgelerdeki serbest hacimler ilaç kristalleriyle dolmaktadır. Böylece polimer zincirlerinin esnekliğinin azaldığı ve T_g değerinin arttığı görülmektedir. Ayrıca yapıdaki CS ve HPC polimerlerine ait bozunmalar görülmektedir.

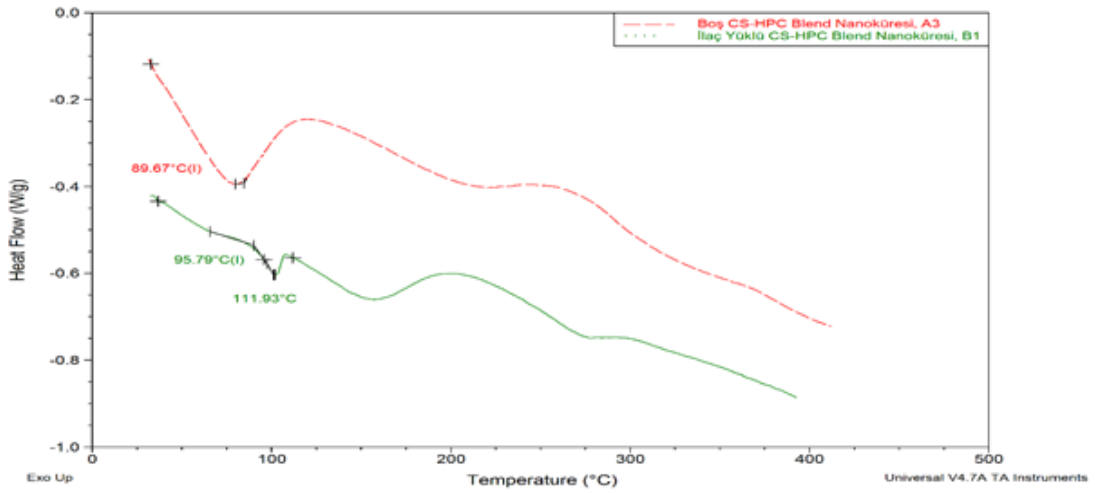
Şekil 3.9'da ilacın erime sıcaklığı 114,68 °C olarak görülmektedir. Ozeki ve arkadaşları çalışmasında ilacın erime noktasını 116 °C olarak tespit etmişlerdir [61]. İlaç yüklü blend nanokürelerin termogramında ilacın erime noktasının 111,93 °C'ye kaydığı görülmektedir. Bu sonucun H bağı etkileşimlerinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Ayrıca CS ve HPC'a ait bozunma pikleri termogramda yer almaktadır. Elde edilen sonuçlardan flurbiprofenin blend nanokürelere başarılı bir şekilde yüklendiği söylenebilir.

Çizelge 3.2. A₃ ve B₁ formülasyonlu nanokürelerin T_g değerleri

Kod	Nanoküre	T _g (°C)
A ₃	Boş CS-HPC Blend	89,67
B ₁	İlaç Yüklü CS-HPC Blend	95,79



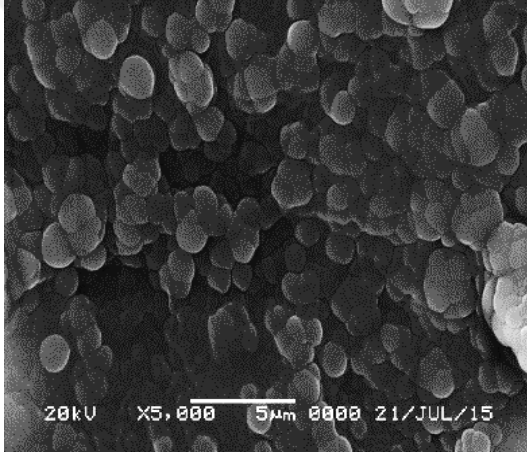
Şekil 3.9. Flurbiprofenin DSC termogramı



Şekil 3.10. Boş ve flurbiprofen yüklü blend nanokürelerin DSC termogramı

3.2.4. SEM Analiz Sonuçları

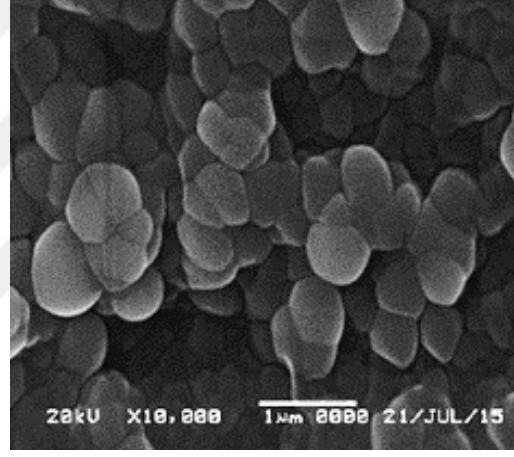
Şekil 3.11’de i/p oranı 1/1 olan A₅ formülasyonlu CS nanoküresinin elektron mikroskop görüntüleri; Şekil 3.12, 3.13, 3.14 ve 3.15’de sırasıyla i/p oranı 1/1 olan ve CS/HPC blend oranları sırasıyla 1/1, 2/1, 3/1 ve 4/1 olan blend nanokürelerin elektron mikroskop görüntüleri yüzey morfoloji değişimlerinin incelenmesi amacıyla farklı büyütmelerde çekilerek sunulmuştur.



(a) A₅ formülasyonlu nanoküreye ait

SEM görüntüsü

(x5000)

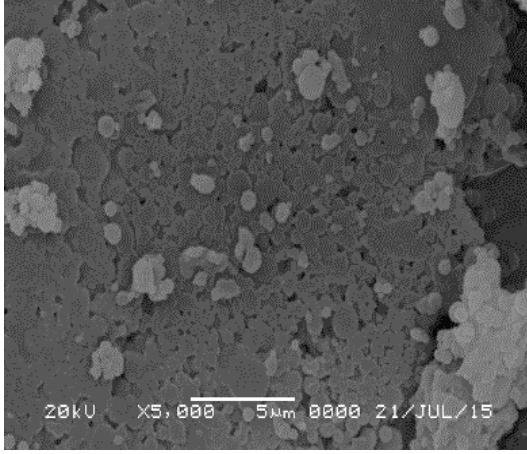


(b) A₅ formülasyonlu nanoküreye ait

SEM görüntüsü

(x10000)

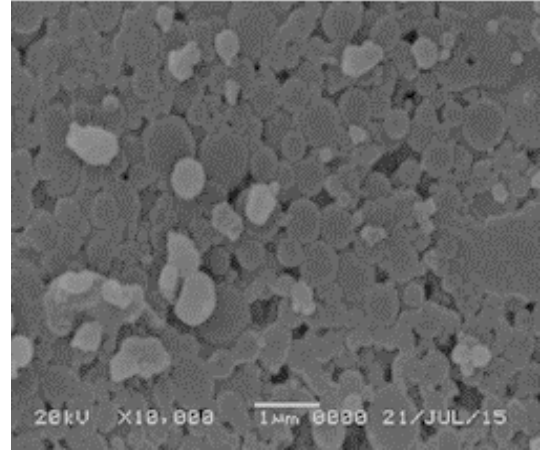
Şekil 3.11. Flurbiprofen yüklü A₅ formülasyonlu nanokürelerin SEM fotoğrafları



(c) A₆ formülasyonlu nanoküreye ait

SEM görüntüsü

(x5000)

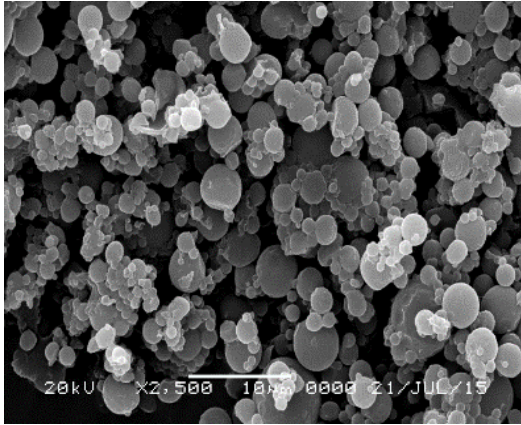


(d) A₆ formülasyonlu nanoküreye ait

SEM görüntüsü

(x10000)

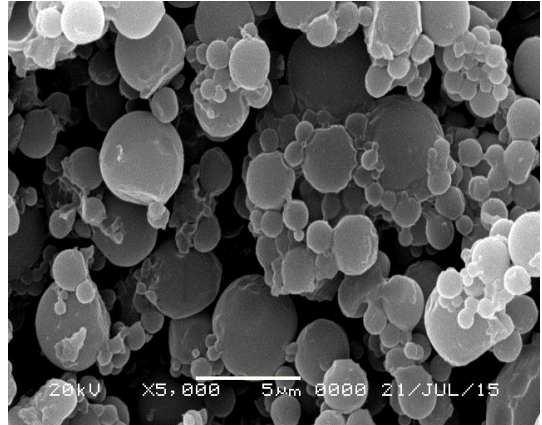
Şekil 3.12. Flurbiprofen yüklü A₆ formülasyonlu nanokürelerin SEM fotoğrafları



(e) A₇ formülasyonlu nanoküreye ait

SEM görüntüsü

(x2500)

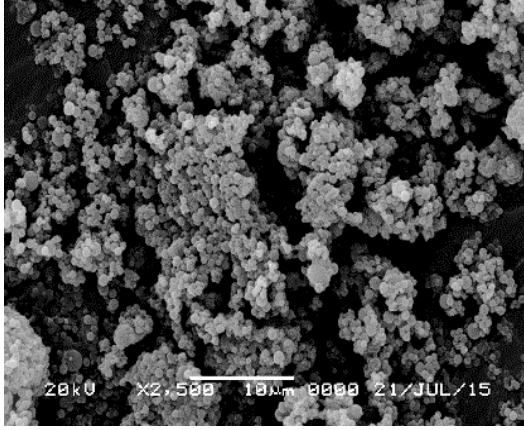


(f) A₇ formülasyonlu nanoküreye ait

SEM görüntüsü

(x5000)

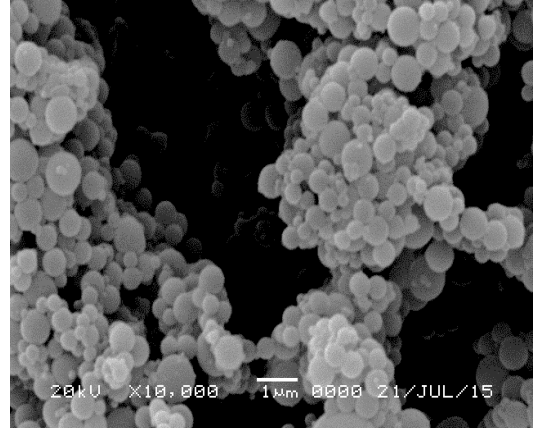
Şekil 3.13. Flurbiprofen yüklü A₇ formülasyonlu nanokürelerin SEM fotoğrafları



(g) A₈ formülasyonlu nanoküreye ait

SEM görüntüsü

(x2500)

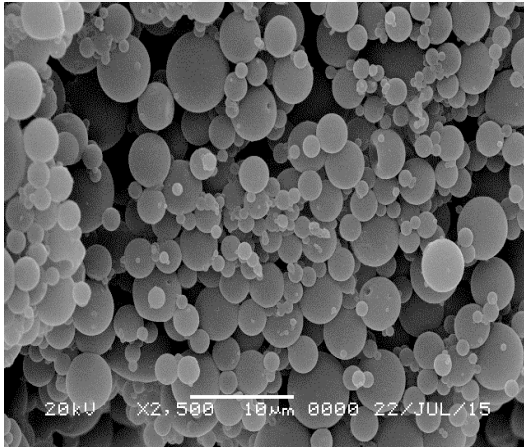


(h) A₈ formülasyonlu nanoküreye ait

SEM görüntüsü

(x10000)

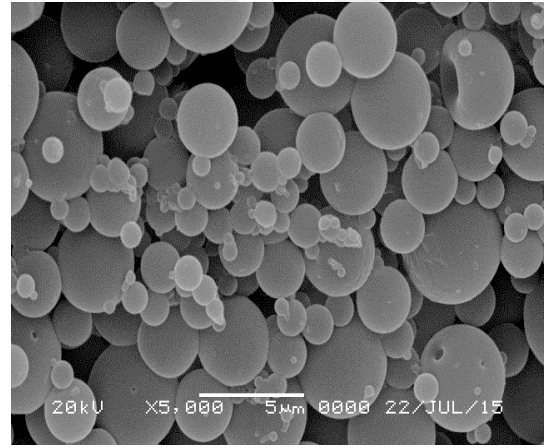
Şekil 3.14. Flurbiprofen yüklü A₈ formülasyonlu nanokürelerin SEM fotoğrafları



(i) A₉ formülasyonlu nanoküreye ait

SEM görüntüsü

(x2500)



(j) A₉ formülasyonlu nanoküreye ait

SEM görüntüsü

(x5000)

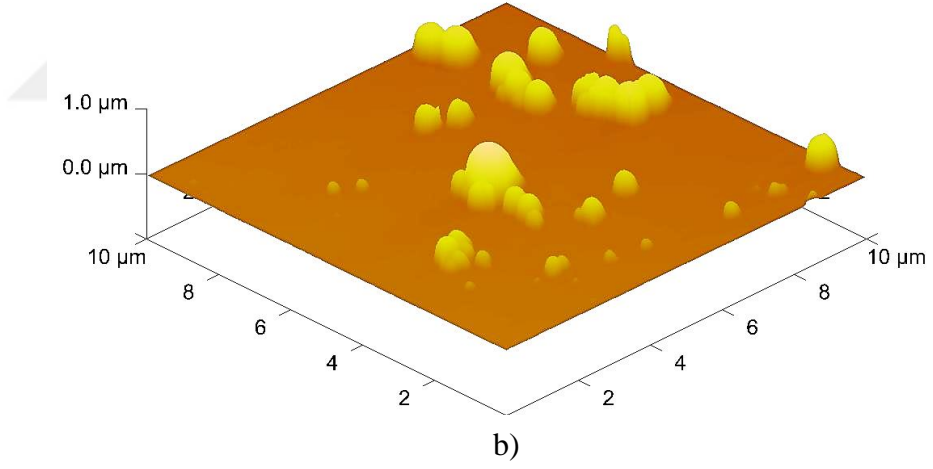
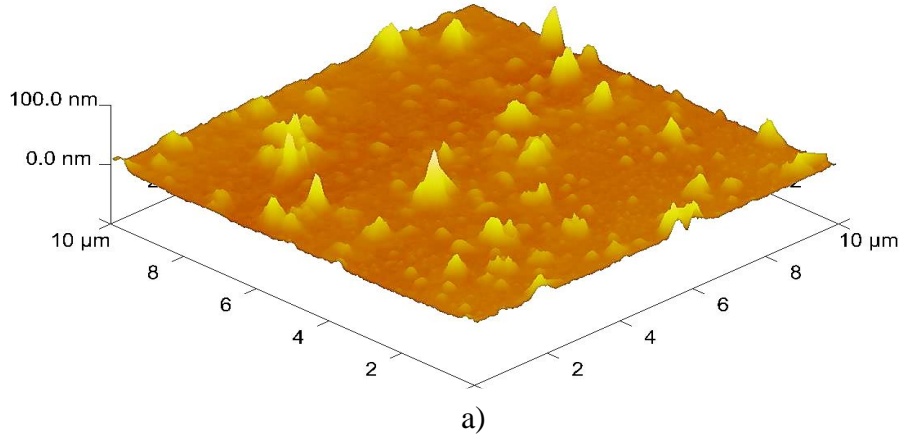
Şekil 3.15. Flurbiprofen yüklü A₉ formülasyonlu nanokürelerin SEM fotoğrafları

Şekil 3.12, Şekil 3.13, Şekil 3.14 ve Şekil 3.15'te verilen farklı formülasyonlardaki flurbiprofen yüklü blend nanokürelerde CS/HPC oranı 1/1'den 4/1'e arttıkça yüzeylerdeki pürüzlülüğün azaldığı ve küreselliğin arttığı gözlenmektedir. Shih ve arkadaşları selüloz/kitosan blend filmlerin SEM ile görüntüleme çalışmasında, kitosan oranındaki artış ile partikül boyutunun ve yüzey pürüzlülüğünün azaldığını benzer şekilde gözlemişlerdir [63].

3.2.5. CS-HPC Blend Nanokürelerin AFM Analiz Sonuçları

Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) nanometre seviyelerinde topografik yüzey analizini gerçekleştirmek amacıyla kullanılmaktadır. SEM fotoğraflarını ve yüzey morfolojisini desteklemek amacıyla A₅ formülasyonlu ilaç yüklü CS nanokürelerin ve B₁ formülasyonlu ilaç yüklü CS-HPC blend AFM görüntüleri alınmıştır.

AFM sonuçlarını değerlendirmek amacıyla verilerin RMS değerlerine bakılmıştır. Şekil 3.16'da A₅ formülasyonlu CS nanokürelerin RMS değeri 4,58 nm olarak ölçülmüştür. Şekilde yüzey pürüzlülüğünün az olduğu görülmektedir. RMS değeri 68,5 nm olarak hesaplanan B₁ formülasyonlu CS-HPC blend nanokürelerin yüzey pürüzlülüğünün daha fazla olduğu AFM görüntülerinden anlaşılmaktadır. Literatürde benzer çalışmalara rastlanmaktadır [64].

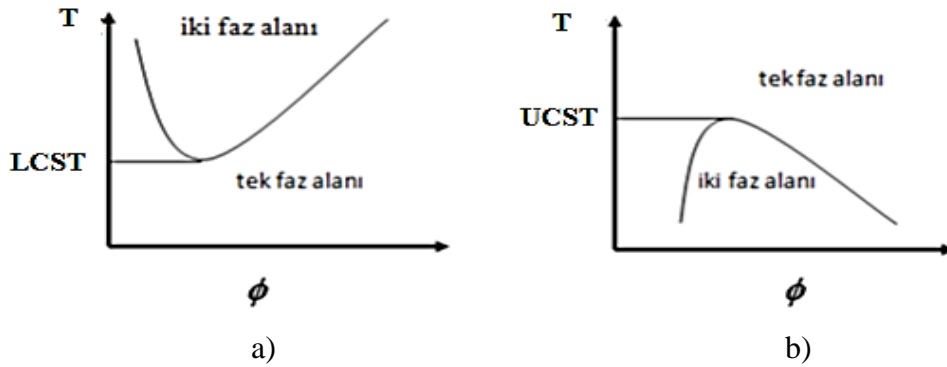


Şekil 3.16. A₅ ve B₁ formülasyonlu nanokürelerin AFM görüntüleri

a) A₅ formülasyonlu CS nanoküre, b) B₁ formülasyonlu CS-HPC blend nanokürelerin AFM görüntüleri

3.2.6. CS, HPC ve CS-HPC Blend Nanokürelerinin LCST Sonuçları ve Değerlendirilmesi

Sıcaklığa duyarlı polimerler sıcaklık artışı karşısında yapılarında tersinir bir değişim gösterirler. Bu değişim yavaş olabildiği gibi, ani bir değişim de olabilmektedir. Polimer çözeltisinin bir fazdan ikinci bir faza geçtiği sıcaklık kritik çözelti sıcaklığı olarak tanımlanır [65]. Geçişin gerçekleştiği bu sıcaklık ise hacimsel faz geçişi olarak tanımlanır. Kritik sıcaklığın altında gerçekleşen bu sıcaklık, alt kritik çözelti sıcaklığı 'LCST', bu sıcaklığın üzerinde gerçekleşen sıcaklık ise, üst kritik çözelti sıcaklığı 'UCST' olarak adlandırılmaktadır. Sıcaklığa duyarlı polimerler kritik çözelti sıcaklığının altında veya üstünde ani değişiklik göstermektedir [66].



Şekil 3.17. Sıcaklık duyarlı polimerlerin faz diyagramları [65].

a) LCST sıcaklığı, b) UCST sıcaklığı

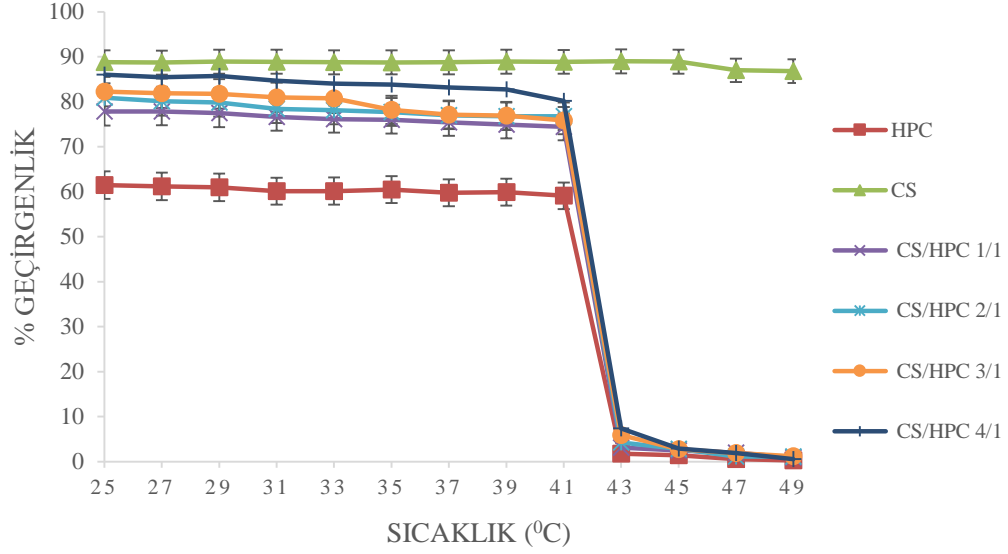
LCST sıcaklığına sahip bir polimer, sıcaklığın artması ile hidrofilik özellik göstermekten hidrofobik özellik göstermeye geçiş gösterirken; UCST özelliğine bir

polimer bunun tam tersi özellik gösterir. UCST özelliğe sahip polimerler ilaç salım sistemlerinde ilaç moleküllerine ve biyomalzemelere zarar getirebileceğinden tercih edilmemektedir [66].

Sıcaklığa duyarlı polimerler LCST değerinin altındaki sıcaklıklarda, polimer ve su arasındaki termodinamik dengeden dolayı suda çözünmektedir [67]. Çapraz bağlı sıcaklığa duyarlı polimerler ise oda sıcaklığında suda çözünmeksizin su adsorplarlar, fakat ısıtıldıklarında LCST değerinin üzerinde aldıkları suyu bırakırlar [68].

HPC polimeri sıcaklığa duyarlı bir polimerdir [69]. Bu polimerler düşük sıcaklıklarda sulu çözeltide çözünür fakat sıcaklık artması ile LCST değerinin üstünde hidrofobik etkileşimler artar ve polimer çökme eğilimi gösterir [70].

CS, HPC ve CS-HPC blend nanokürelerinin LCST değerlerinin analizi için 0.01 g numuneler alınıp 10 ml su içinde çözülmüş 2 °C'lik sıcaklık artışı ile 400 nm dalga boyunda geçirgenlikleri ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar Şekil 3.18'de gösterilmiştir. Sonuçlardan CS'ın LCST değerinin olmadığı, CS-HPC blendlerinin ise yaklaşık 42°C'de geçirgenliklerinin hızlı bir azalma eğilimi gösterdiği görülmektedir. Elde edilen sonuçlardan sentezlenen blendlerin sıcaklığa duyarlı blend nanoküreler olduğu ve blend oranı 1/1 den 1/4'e azaldıkça LCST değerlerinin çok fazla değişmediği görülmüştür. Benzer sonuçlara literatürde de rastlanmıştır [69]. Chen ve arkadaşları HPC'nin LCST değerlerini 400 nm dalga boyunda ölçmüşler ve 42°C olarak rapor etmişlerdir [70].



Şekil 3.18. CS, HPC ve blend nanokürelerin faz geçiş diyagramları

3.2.7. Kitosan-HPC Blend Nanokürelerin %Tutuklanma Verimi, Parçacık Boyutu ve Zeta Potansiyel Ölçüm Sonuçları

Değişik formülasyonlarda hazırlanan CS ve CS-HPC blend nanokürelerin tutuklanma verimleri, parçacık boyutları ve zeta potansiyelleri Çizelge 3.3'te sunulmuştur. Hem CS nanokürelerde hem de CS-HPC blend nanokürelerde çapraz bağlayıcı derişimi ve çapraz bağlama süresi arttıkça parçacık boyutunda azalmalar olduğu açık şekilde görülmektedir. Benzer sonuçlar literatürde bulunmaktadır [72]. Partikül boyutlarındaki azalmanın, nanokürelerdeki çapraz bağ oranının artmasından ve daha sıkı bir ağ yapısı oluşturmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Blend nanokürelerde CS-HPC oranın 1/1'den 4/1'e artmasıyla partikül boyutunun 1089

nm'den 917 nm'ye azaldığı ve i/p oranının 1/1'den 4/1'e artması ile partikül boyutunun 963 nm'den 913 nm'ye azaldığı görülmüştür.

Zeta potansiyelin, blend küre yapısında CS-HPC oranının 1/1'den 4/1'e artmasıyla 37,20'den 62,30'a; i/p oranının 1/1'den 4/1'e artışı ile de 57,12'dan 60,30'a arttığı gözlenmiştir.

% Tutuklanma verimi değerlerinin; CS nanokürede 42,53 olduğu, blend nanokürelerde 43,32 ile 28,05 arasında değiştiği ve blend yapıda HPC miktarının artışı ile azalma gösterdiği bulunmuştur [73].

Çapraz bağlama derişiminin %0,5'ten %2,75'e artması ile ve çapraz bağlama süresinin 15dk.'dan 90dk.'ya artması ile tutuklanma veriminin azaldığı, i/p oranının 1/1'den 4/1'e artmasıyla tutuklanma veriminin arttığı belirlenmiştir. Thanoo ve arkadaşları, kitosanı destek materyali olarak kullandıkları çalışmalarında i/p oranının artması ile tutuklanma veriminin arttığını belirtmişlerdir [74].

Çizelge 3.3. CS-HPC blend nanokürelerinin parçacık boyutları, zeta potansiyelleri ve % tutuklanma verimleri

Kod	Parçacık Boyutu (nm)	Zeta Potansiyeli (mV)	% Tutuklanma Verimi
A ₀	875±1,16	72,10±2,19	-
A ₁	987±0,98	58,32±1,67	-
A ₂	974±2,19	60,13±0,88	-
A ₃	961±3,71	65,78±1,24	-
A ₄	938±2,27	68,85±0,19	-
A ₅	897±1,65	70,40±0,78	42,53±1,19
A ₆	1089±2,14	37,20±0,09	28,05±2,07
A ₇	997±3,09	56,60±0,73	31,51±3,13
A ₈	963±1,81	57,12±3,34	38,76±1,10
A ₉	917±0,91	62,30±3,07	42,32±1,18
B ₁	939±1,54	58,10±3,34	35,35±0,74
B ₂	913±3,15	60,30±1,16	31,14±0,99
C ₁	895±4,16	69,90±0,78	37,98±1,87
C ₂	902±2,10	65,30±1,12	36,29±2,19
C ₃	911±1,29	63,70±0,71	33,60±0,78
D ₁	1097±2,16	23,00±2,09	38,85±1,16
D ₂	913±1,57	41,57±1,46	37,92±0,99
D ₃	894±3,17	60,30±0,65	31,14±1,02
E ₁	1140±1,88	61,20±1,02	22,50±0,79
E ₂	1020±2,11	60,30±0,94	32,06±0,64
E ₃	895±4,16	49,30±0,81	36,84±1,82

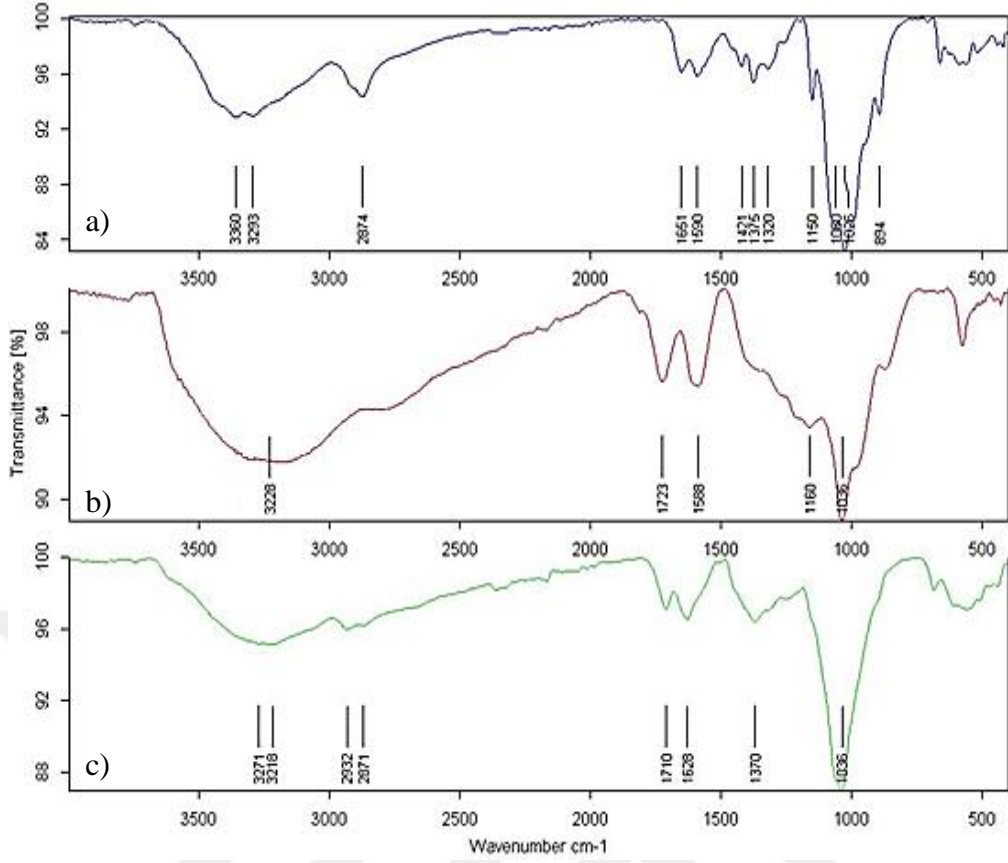
3.3.Kitosan-Grafen Oksit Blend Nanokürelerin Karakterizasyonu

3.3.1. FTIR Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Şekil 3.19’da CS, GO ve CS-GO blend nanokürelerinin FTIR spektrumları görülmektedir. Kitosanın FTIR spektrumu, Bölüm 3.1.1’de ayrıntılı olarak verilmiştir.

Grafen oksit (GO)’in FTIR spektrumunda, 3228 cm^{-1} ’de görülen geniş bandın (O-H) gerilme titreşimine ait olduğu, 1723 cm^{-1} ’deki bant (C=O) gerilme titreşimine, 1588 cm^{-1} ’deki band ise (C-C) gerilmelerine ve 1036 cm^{-1} ’deki bandın (C-O-C) bağ gerilmesine ait olduğu belirlenmiştir [75].

CS-GO blend nanokürelerinin FTIR spektrumunda 3271 ve 3218 cm^{-1} ’de gözlenen geniş bant (O-H) gerilme titreşimlerine, 2932 cm^{-1} ’de ve 2871 cm^{-1} ’de gözlenen bandların CS üzerindeki alifatik (C-H) gerilme titreşimlerine, 1710 ve 1628 cm^{-1} ’deki bantların sırasıyla CS’nin sekonder amid grubuna bağlı karbonil (C=O) ve amin (NH₂) gruplarına ait (N-H) gerilmesi, 1036 cm^{-1} ’de gözlenen bant GO üzerindeki (C-O) gerilmesine ait olduğu belirlenmiştir. Blend nanokürenin FTIR spektrumunda CS ve GO bantlarının görülmesi blend nanoküre sentezinin gerçekleştiğini doğrulamıştır.



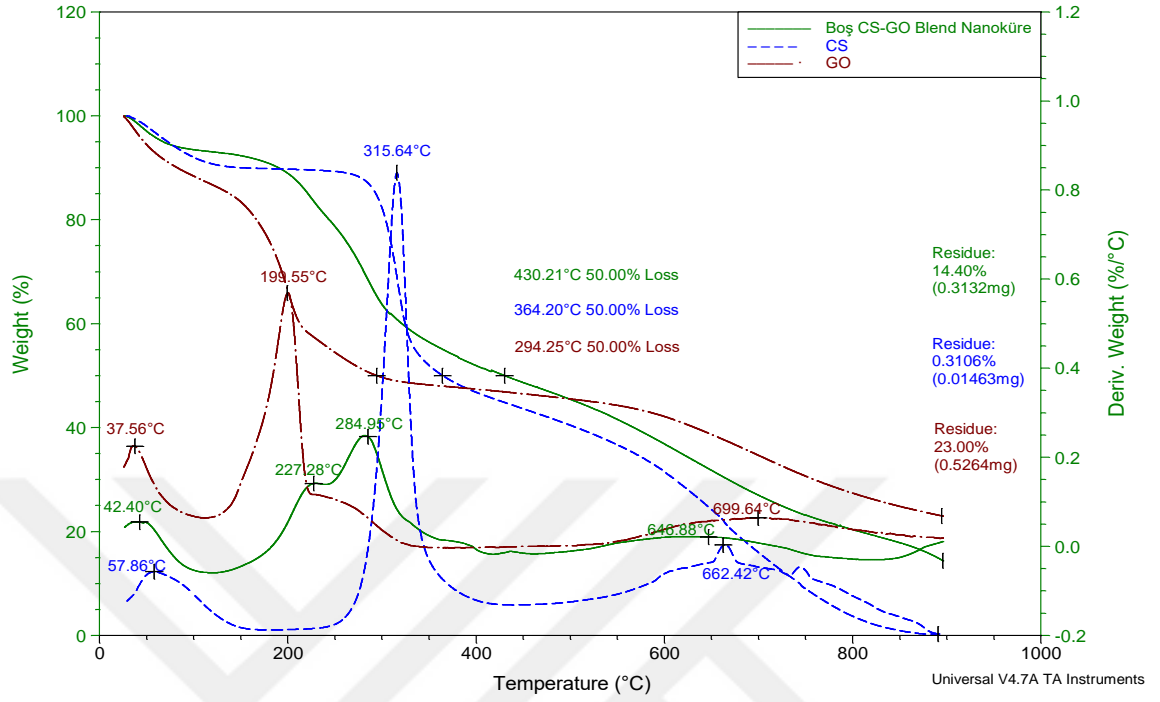
Şekil 3.19. a) CS, b) GO ve c) boş CS-GO blend nanokürelerinin FTIR spektrumları

3.3.2. TGA Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Şekil 3.20' de CS, GO ve boş CS-GO blend nanokürelerinin TGA sonuçları verilmiştir. Kitosanın TGA termogramında, iki aşamada ısıl bozunmaya uğradığı gözlenmiştir. 25-180 °C sıcaklık aralığında % 9,12'lik kütle kaybı CS içerisindeki adsorbe olan suyun uzaklaşmasına atfedilebilir. 240-380 °C sıcaklık aralığında CS zincirlerinin degradasyonu gözlenmiştir [54].

Grafen oksitin TGA termogramında da, üç aşamalı ısıl bozunma gözlenmiştir. 25-100 °C sıcaklık aralığında %14.70'lik kütle kaybı GO' in yapısındaki suyun uzaklaşmasını göstermektedir. 200 °C civarında oksijenli grupların uzaklaştığı gözlenmiştir [76]. 600 °C civarında gözlenen üçüncü bozunma basamağı, GO içerisindeki karbon yapıların uzaklaşmasıyla ilgilidir.

Şekil 3.20'de %50 bozunma sıcaklıkları verilen CS, GO ve CS-GO blend nanokürelerinin TGA termogramlarından termal davranışlarının değiştiği açıkça görülmektedir. %50 bozunma gösterdikleri sıcaklıkları sırasıyla 364,20, 264,25 ve 430,21 °C olarak verilen CS-GO blend nanokürelerinin oluşumuyla termal dayanımlarının arttığı tespit edilmiştir. Bozunmadan kalan CS, GO ve CS-GO blend nanokürelerin yüzdeleri sırayla %0,31, %23,01 ve %14,37 olarak Şekil 3.20'de sunulmuştur.



Şekil 3.20. CS, GO ve boş CS-GO blend nanokürelerine ait TGA ve DTG termogramı

3.3.3. DSC Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Şekil 3.21’de CS, GO ve CS-GO blend nanokürelerinin DSC termogramları gösterilmiştir. Kitosanın DSC termogramında 81,53 °C’de camsı geçiş sıcaklığı gözlenmiş ve 306,78 °C’de ise ekzotermik bir bozunma gözlenmiştir. Termogravimetrik analiz sonuçları da elde edilen verileri doğrulamaktadır.

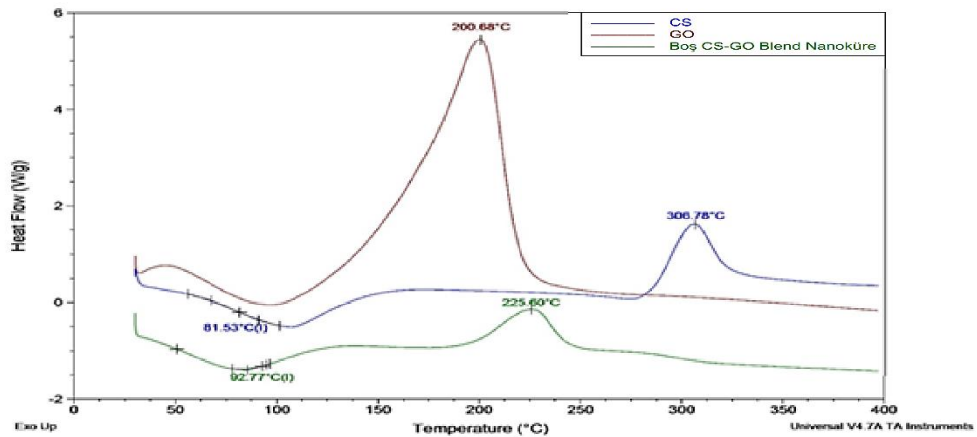
Grafen oksitin DSC termogramında ise 200 °C’de ekzotermik bir bozunmanın gerçekleştiği görülmektedir. Zhang ve arkadaşları da yaptıkları çalışmada grafen

oksitein termal özelliklerini incelerken, DSC analizinde yaklaşık 200 °C’de ekzotermik bir bozunmayı bildirmişlerdir [77].

Sentezlenen CS-GO blend nanokürenin DSC ile termal analizinde, 92,77 °C’de endotermik bir T_g geçişi ile 225 °C’de GA ile çapraz bağlanmış CS-GO blend nanoküresinin ekzotermik bozunma piki elde edilmiştir. DSC sonuçlarından, CS-GO nanokürelerinin camı geçiş sıcaklıklarının artması ve bozunma sıcaklıklarının daha yüksek sıcaklıklara kayması çapraz bağlanmayı doğrulamaktadır. Çizelge 3.4’te kitosanın ve sentezlenen CS-GO blendinin T_g değerleri sunulmuştur.

Çizelge 3.4. CS ve G3 formülasyonlu nanoküresinin T_g değerleri

KOD	Nanoküre	T_g (°C)
CS	CS polimeri	81,53
G ₃	CS-GO Blend	92,77



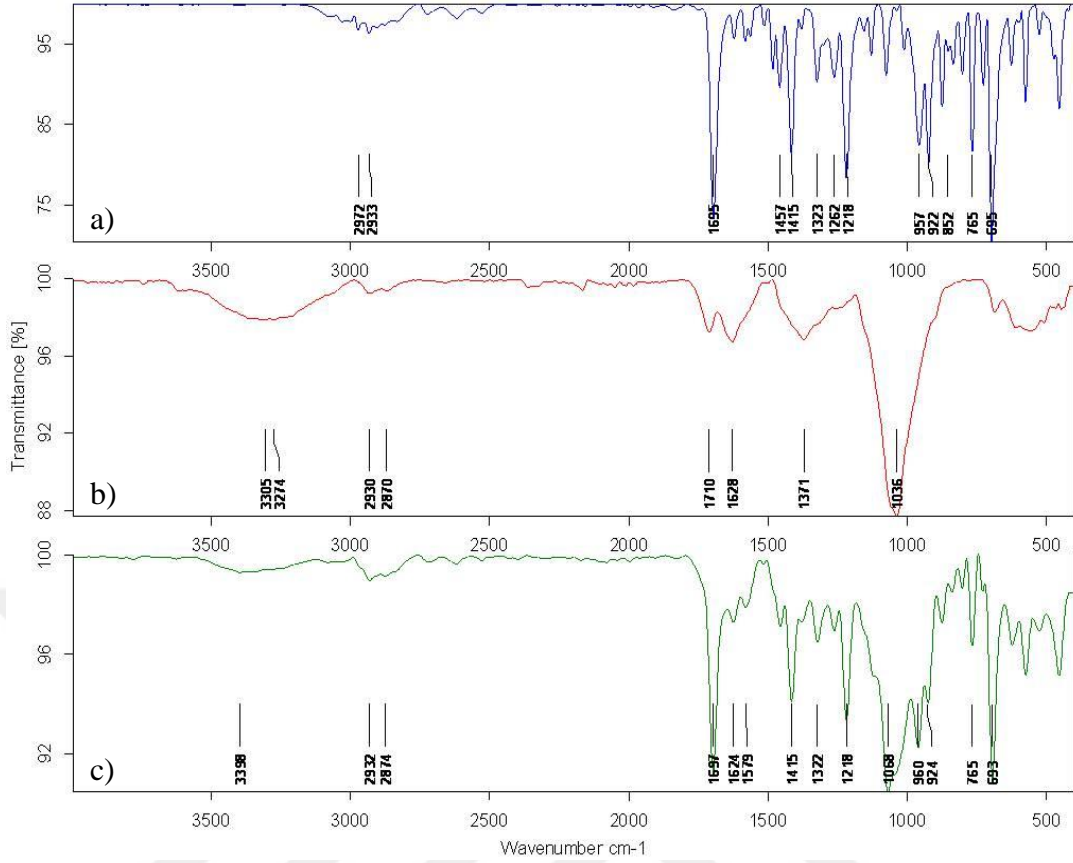
Şekil 3.21. CS, GO ve boş CS-GO blend nanoküresinin DSC termogramı

3.4.Flurbiprofen Yüklü CS-GO Blend Nanokürelerin Karakterizasyonu

3.4.1. FTIR Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Şekil 3.22’de flurbiprofen, boş CS-GO blend nanoküresi ve flurbiprofen yüklü CS-GO blend nanokürelerinin FTIR spektrumları verilmiştir. Flurbiprofen’in FTIR spektrumunda 1699 cm^{-1} ’de (C=O) gerilme titreşimine, 1216 cm^{-1} ’de görülen bandın spesifik (C-F) gerilme titreşimine karşılık geldiği düşünülmüştür .

Boş CS-GO blend nanokürelerinin FTIR spektrumunda 3271 cm^{-1} ’de gözlenen geniş bandın CS ve GO’ye ait (O-H) gerilmelerine, 2932 cm^{-1} ’de ve 2871 cm^{-1} ’de gözlenen bantların CS üzerindeki alifatik (C-H) gerilme titreşimine, 1710 ve 1628 cm^{-1} ’deki bantların sırasıyla CS’nın sekonder amid grubuna bağlı karbonil (C=O) ve amin gruplarına ait (N-H) gerilmesi, 1036 cm^{-1} ’de gözlenen bant GO üzerindeki (C-O) gerilmesine ait olduğu belirlenmiştir. Flurbiprofen yüklü CS-GO blend nanokürenin FTIR spektrumunda 1696 cm^{-1} ’deki (C=O) gerime bandı, 1036 cm^{-1} ’deki bandı, GO’ye ait (C-O) gerilme bandı ile 1216 cm^{-1} ’deki spesifik C-F gerilmesinin bulunması ilacın blend nanoküreye başarıyla yüklendiğini göstermektedir. Ayrıca ilacın spesifik piklerinin blend nanoküre içinde de aynı dalga sayısında olması ilacın kristalin yapısını koruduğunu göstermektedir.



Şekil 3.22. a) Flurbiprofen, b) boş CS-GO blendi c) flurbiprofen yüklü CS-GO blend nanokürelerinin FTIR spektrumları

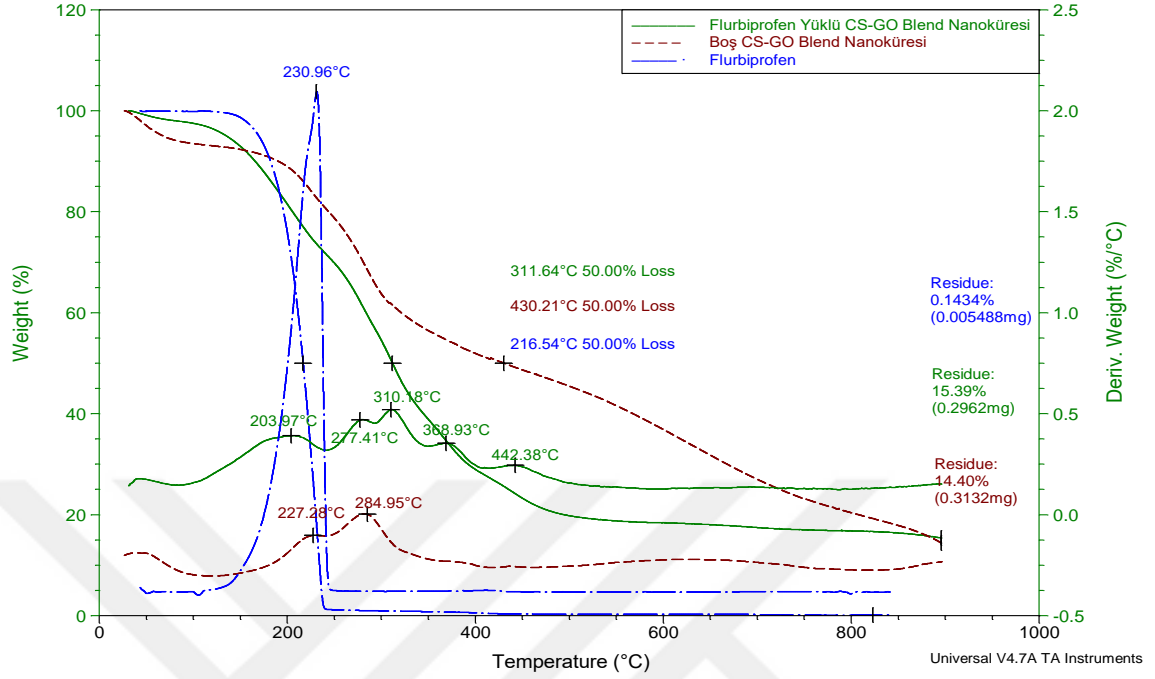
3.4.2. TGA Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Şekil 3.23'te flurbiprofen, boş CS-GO blend nanoküreleri ve flurbiprofen yüklü CS-GO blend nanokürelerinin TGA analiz sonuçları verilmiştir. Flurbiprofenin TGA termogramında, tek aşamada ısıl bozunmaya uğradığı gözlenmiştir. 100 - 250 °C sıcaklık aralığında kütle kaybına neden olan flurbiprofen kristalleridir. 230,56 °C' de ilacın maksimum hızla degradasyonu gözlenmiştir [77].

Boş CS-GO blend nanokürelerinin termogramında 3 basamaklı bozunma gözlenmektedir. Birincisi 25-100 °C sıcaklık aralığında adsorbe suyun uzaklaşmasından kaynaklanmaktadır. İkinci bozunmasını 200-350 °C sıcaklık aralığında CS birimlerinin ve GO'ye ait C-O bağlarının bozunmasıyla gerçekleşmektedir [78].

Flurbiprofen yüklü CS-GO blend nanokürelerinin TGA termogramında ise dört aşamalı ısıl bozunma gözlenmiştir. 25-95 °C aralığında blend nanoküreler içerisindeki adsorbe suyun uzaklaştığı, 100-250 °C aralığında blend nanopartikül içerisindeki flurbiprofenin bozunmaya uğradığı ve maksimum bozunmayı 225 °C'de gerçekleştirdiği görülmektedir. Üçüncü bozunma basamağını kitosan gruplarının ve grafen oksitin oksijenli yapılarının uzaklaştığı 250-320 °C aralığı oluşturmaktadır. 268,45 °C'de blend nanoküre içerisindeki kitosan grupları maksimum degradasyon hızına ulaşmıştır. Dördüncü ve son bozunma basamağını oluşturan polimer sistem içerisinde çapraz bağlanma yoğunluğu daha fazla olan CS-GO gruplarının bozunması ile gerçekleşmiştir. Bu basamakta 400-590 °C aralığında bozunma işlemi gerçekleşmiştir.

Şekil 3.23' de %50 bozunma sıcaklıkları verilen flurbiprofen, boş CS-GO blend nanokürelerinin ve flurbiprofen yüklü CS-GO blend nanokürelerinin TGA termogramlarından termal davranışlarının değiştiği açıkça görülmektedir. %50 bozunma gösterdikleri sıcaklıklar flurbiprofen, boş ve flurbiprofen yüklü blend nanoküreler için 216,54, 430,21 ve 311,64 °C'dir. Boş ve flurbiprofen yüklü CS-GO blend nanokürelerinin %50 bozunma gösterdikleri sıcaklıklardan da anlaşıldığı gibi yapıya flurbiprofen girmesiyle termal davranışlarda belirgin bir değişiklik meydana gelmiştir. Bu sonuçlara göre termal dayanımın azaldığı görülmektedir.



Şekil 3.23. Flurbiprofen, boş ve flurbiprofen yüklü CS-GO blend nanokürelerinin TGA ve DTG termogramları

3.4.3. DSC Sonuçlarının Değerlendirilmesi

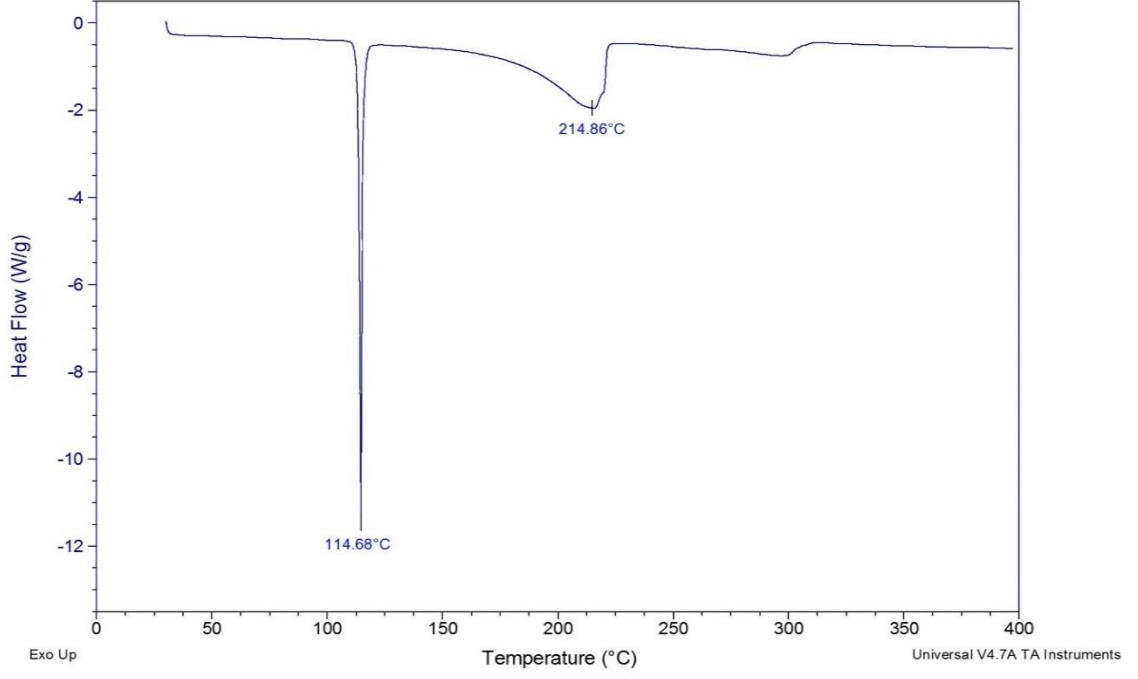
Şekil 3.24 ve Şekil 3.25'te flurbiprofen, boş CS-GO blend nanoküresi ve flurbiprofen yüklü CS-GO blend nanoküresinin DSC termogramları sunulmuştur.

Şekil 3.24'te flurbiprofenin DSC termogramında 114,68 °C'de erime gözlenmiş ve 214,86 °C'de ise endotermik bir bozunma piki gözlenmiştir.

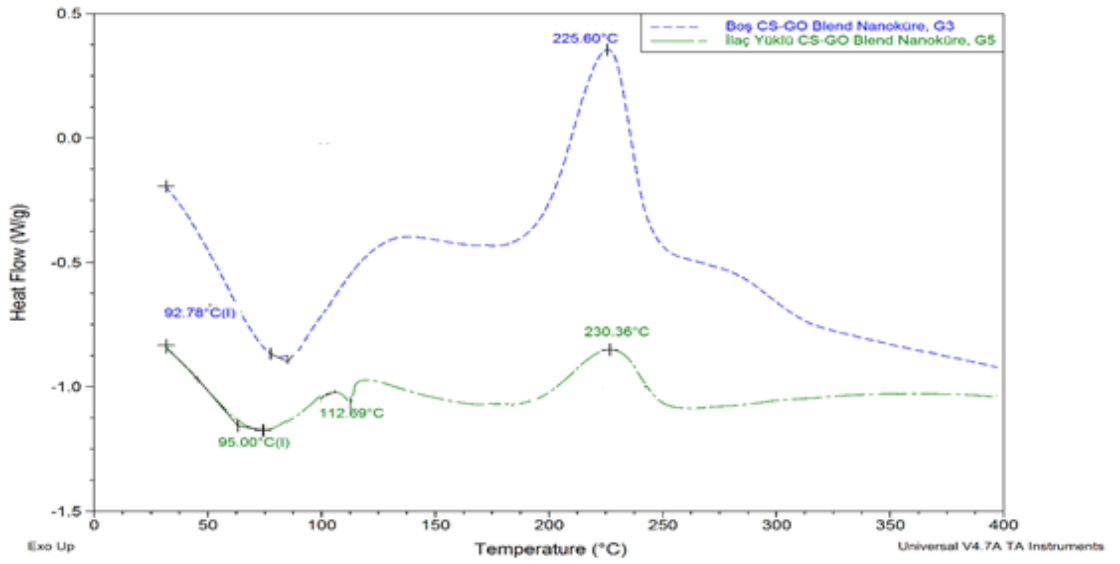
Şekil 3.25'te boş ve flurbiprofen yüklü CS-GO blend nanokürelerinin DSC ile termal analizinde, 92,78 °C ve 95,00 °C'de endotermik T_g geçişleri ve sırasıyla 225,60 °C ve 230,36 °C sıcaklıklarda ekzotermik bozunma pikleri görülmüştür. Ayrıca flurbiprofen yüklü CS-GO blend nanoküresinde 112,69 °C'de ilacın endotermik erime piki görülmüştür [79]. Yapıya ilacın girmesi ile T_g geçişlerinde bir artmanın meydana geldiği gözlenmiştir. Bu sonuçlar, TGA analizlerinde elde edilen veriler ile uyumlu olmakla birlikte, ilacın yapıya girmesiyle termal dayanımın arttığını göstermektedir.

Çizelge 3.5. G₃ ve G₅ formülasyonlu nanokürelerin T_g değerleri

KOD	Nanoküre	T_g (°C)
G ₃	CS-GO Blend	92,78
G ₅	CS-GO Blend	95,00



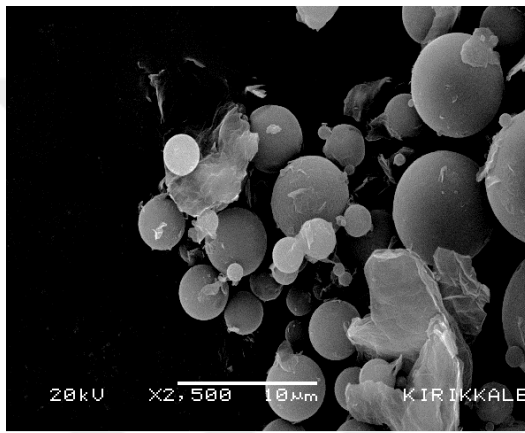
Şekil 3.24. Flurbiprofenin DSC termogramı



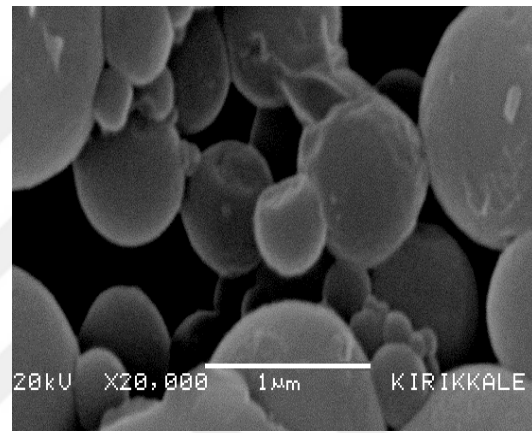
Şekil 3.25. Boş ve flurbiprofen yüklü CS-GO blend nanokürelerinin DSC termogramları

3.4.4. SEM Analiz Sonuçları

Şekil 3.26'da blend oranı 1/1 olan boş CS-GO blend nanokürelerin ve Şekil 3.27 ve Şekil 3.28'de i/p oranı 1/1, blend oranı sırasıyla 240/1, 120/1 ve 60/1 olan CS-GO blend nanokürelerinin elektron mikroskop görüntüsü yüzey morfoloji değişimlerinin incelenmesi amacıyla farklı büyütmelerde çekilerek sunulmuştur.

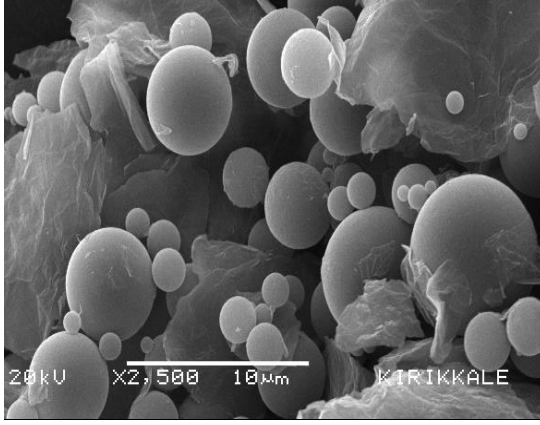


(a) G_1 formülasyonlu nanoküreye ait SEM görüntüsü (x2500)



(b) G_1 formülasyonlu nanoküreye ait SEM görüntüsü (x20000)

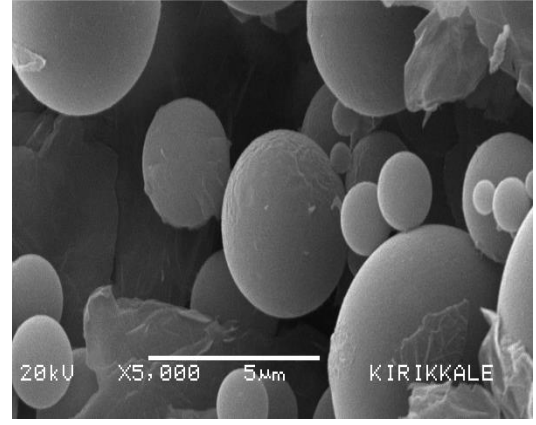
Şekil 3.26. Boş G_1 formülasyonlu CS-GO blend nanoküresinin SEM fotoğrafları



(c) G₄ formülasyonlu nanoküreye ait

SEM görüntüsü

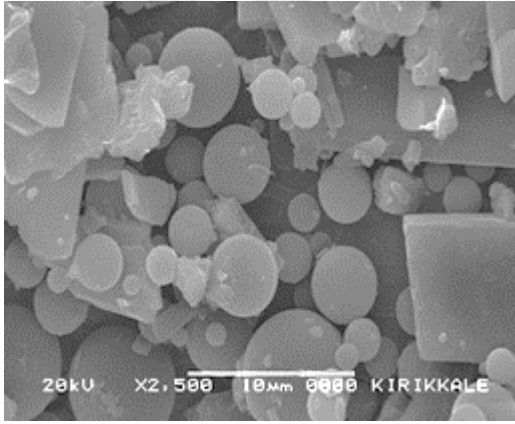
(x2500)



(d) G₄ formülasyonlu nanoküreye ait

SEM görüntüsü

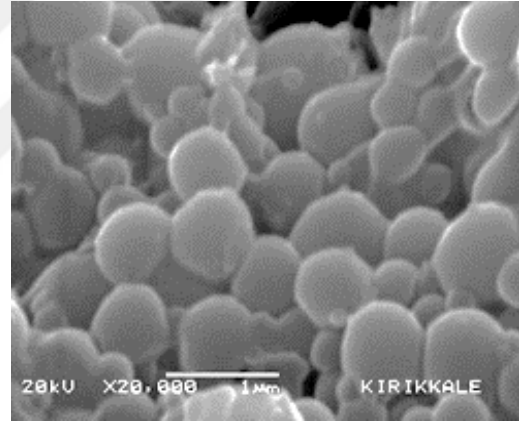
(x5000)



(e) G₅ formülasyonlu nanoküreye ait

SEM görüntüsü

(x2500)

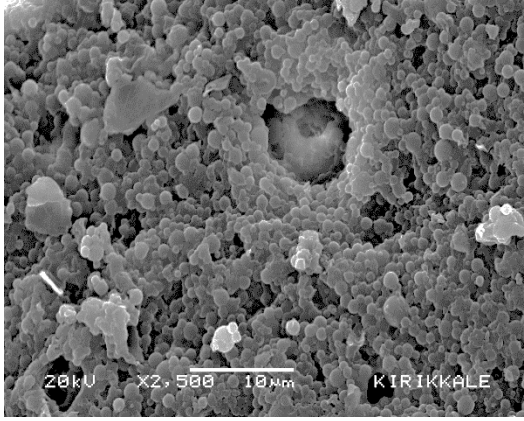


(f) G₅ formülasyonlu nanoküreye ait

SEM görüntüsü

(x20000)

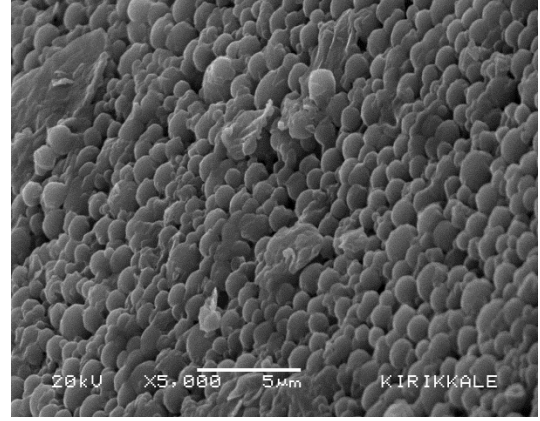
Şekil 3.27. Flurbiprofen yüklü farklı blend oranlarındaki G₄ ve G₅ formülasyonlu blend nanokürelerin SEM fotoğrafları



(g) G₆ formülasyonlu nanoküreye ait

SEM görüntüsü

(x2500)



(h) G₆ formülasyonlu nanoküreye ait

SEM görüntüsü

(x5000)

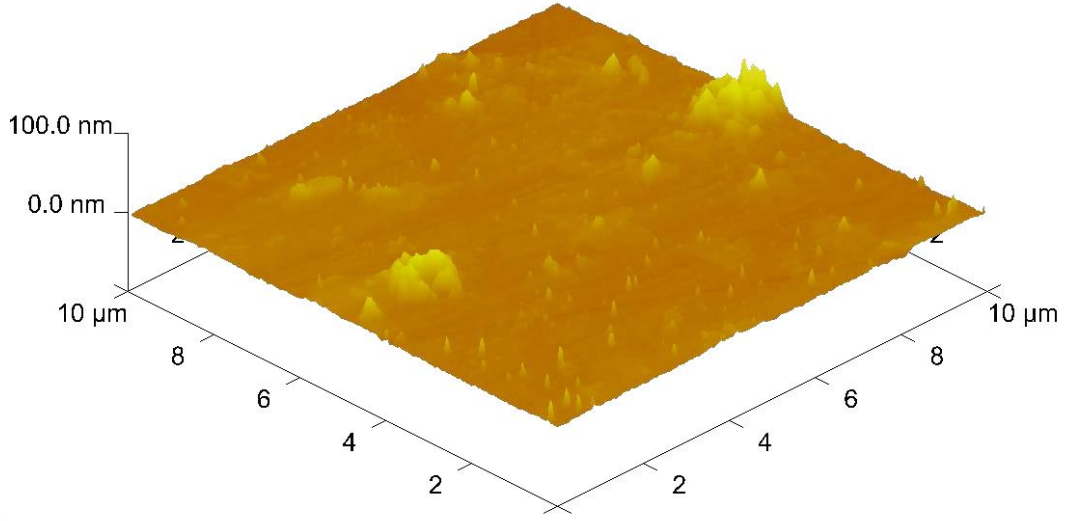
Şekil 3.28. Flurbiprofen yüklü farklı blend oranlarındaki G₆ formülasyonlu blend nanokürelerin SEM fotoğrafları

CS-GO blend nanokürelerde CS/GO blend oranı 240/1 (G₁)'den 60/1 (G₃)'e azaldıkça yüzey pürüzlülüğünün azaldığı ve küreselliğin arttığı görülmüştür. Blend yapısına ilacın girmesi ile nanoküre boyutlarının azaldığı ve daha pürüzsüz bir yüzey morfolojisine sahip olduğu belirlenmiştir. Benzer SEM görüntülerine literatürde de rastlanmıştır [80].

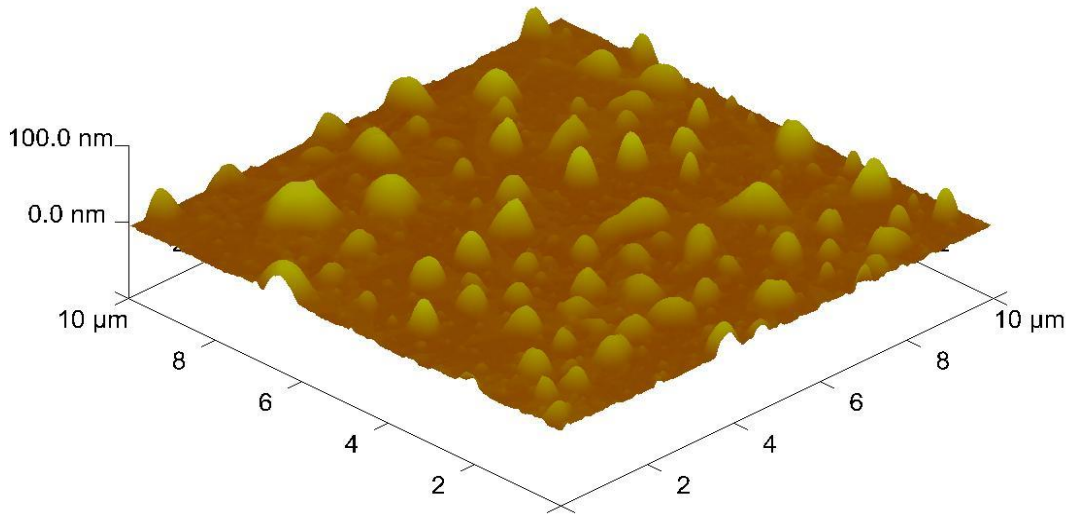
3.4.5. CS-GO Blend Nanokürelerin AFM Analiz Sonuçları

SEM fotoğraflarını ve yüzey morfolojisini desteklemek amacıyla GO'in ve G₅ formülasyonlu ilaç yüklü CS-GO blend nanokürelerin AFM görüntüleri alınmıştır.

Şekil 3.29'da RMS değeri 1,48 nm olarak ölçülmüştür. Şekil 3.30'da ise CS/GO oranı 120/1 ve i/p oranı 1/1 olan G₅ blend nanokürelerin AFM görüntüsü sunulmuştur. G₅ formülasyonlu blend nanokürelerin küresel şekilde yapıda bulunduğu görülmüştür. RMS değeri 2,96 nm olarak ölçülmüştür. GO'in tabakalı yapısı blend oluşumu ile küreselleşmiştir. Blend oluşumu ile RMS değerlerinde ufak artış gözlenmekte ancak partikül boyutu çok fazla değişmemektedir. Şekillerde yüzey pürüzlülüğünün az olduğu görülmektedir. Literatürde benzer çalışmalara rastlanmaktadır [64].



Şekil 3.29. Grafen oksitin AFM görüntüsü



Şekil 3.30. G₅ formülasyonlu CS-GO blend nanokürelerin AFM görüntüsü

3.4.6. CS-GO Blend Nanokürelerin %Tutuklanma Verimi, Parçacık Boyutu ve Zeta Potansiyel Ölçüm Sonuçları

Değişik formülasyonlarda hazırlanan CS ve CS-GO blend nanokürelerin tutuklanma verimleri, parçacık boyutları ve zeta potansiyelleri Çizelge 3.6'da sunulmuştur. Hem CS nanokürelerde hem de CS-GO blend nanokürelerde çapraz bağlayıcı derişimi arttıkça parçacık boyutunda azalmalar olduğu açık şekilde görülmektedir. Benzer çalışmalara ait sonuçlara literatürde rastlanmaktadır [81]. Çapraz bağlama derişiminin %0,5'den %2,75'e artmasıyla patikül boyutları 664 nm'den 601 nm'ye düşmüştür. Partikül boyutlarındaki azalmanın, kürelerdeki çapraz bağ oranının artmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Blend nanokürelerde GO miktarı arttıkça partikül boyutunun azaldığı ve i/p oranı arttıkça da partikül boyutunun arttığı görülmüştür.

Zeta potansiyel; blend nanoküre yapısında GO oranı arttıkça, GO'in eksi yük yoğunluğun fazla olması nedeniyle azalmıştır. Yapıdaki kitosan ve ilaç oranının artması zeta potansiyeli artırmıştır. Kitosan ve ilacın pozitif yük yoğunluğunun fazla olması nedeniyle zeta potansiyelin arttığı düşünülmüştür.

% Tutuklanma verimi değerlerinin; kitosan nanokürede % 42,5 olduğu, CS-GO blend nanokürelerde 21,8 ile 28,15 arasında değiştiği ve blend yapıda GO miktarının artışı ile azalma gösterdiği belirlenmiştir. Çapraz bağlama derişiminin artması ile tutuklanma veriminin azaldığı belirlenmiştir. İ/p oranının artmasıyla % tutuklanma veriminin artış gösterdiği görülmüştür. Justin ve arkadaşları kitosan ve grafen oksit ile nanokompozit materyal oluşturmuşlar ve kontrollü ilaç salım profilini incelemişlerdir. İ/p oranının artması ile tutuklanma veriminin arttığını rapor etmişlerdir [82].

Çizelge 3.6. CS-GO blend nanokürelerinin parçacık boyutları, zeta potansiyelleri ve % tutuklanma verimleri

Kod	Parçacık Boyutu (nm)	Zeta Potansiyeli (mV)	% Tutuklanma Verimi
G ₁	615±1,24	-16.24±0,76	-
G ₂	607±0,87	-22.71±1,56	-
G ₃	586±0,18	-27.93±2,26	-
G ₄	718±2,21	-10.8±3,14	28.29±0,15
G ₅	651±0,85	-18.3±0,87	25.75±1,06
G ₆	613±0,67	-26.7±1,45	21.28±2,13
G ₇	633±1,76	-13,1±1,25	23.75±0,97
G ₈	611±2,11	-8,9±0,49	21.05±1,46
G ₉	664±1,89	-18.73±3,05	27.97±0,99
G ₁₀	611±0,73	-12.94±2,82	22.12±1,71
G ₁₁	601±2,17	-7.67±4,16	19.12±2,12

3.5. Nanokürelerin MTT Testi ile Sitotoksitelerinin Belirlenmesi

Sitotoksiteyi belirlemek için MTT testi kullanılmıştır. MTT testi ISO 10993-5 standartlarına uygun şekilde yapılmıştır. Bu test hücre proliferasyonunun ölçülmesi için [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] tetrazolyum tuzunun (MTT) kullanıldığı hassas bir metoddur. Eğer canlılık %70 in altında

hesaplanırsa numune sitotoksik potansiyele sahip demektir [83]. Dondurulmuş L929 Fibroblast hücreleri çözdürülerek well platalere her bir kuyucuğa 1.0×10^4 hücre olacak şekilde ekimi yapılmıştır. Hücreler 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. CS, HPC, GO, flurbiprofen, boş ve flurbiprofen yüklü CS-HPC ve CS-GO blendlerinden 1 mg/ml derişimde serumsuz antibiyotiksiz besiyerinde 37°C 'de %5 CO_2 gazlı ortamda 72 saat bekletilerek ekstre hazırlanmıştır. Hazırlanan ekstrelerden belirlenen konsantrasyonlarda (1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32) 100 μl hücrelere uygulanarak 24 saat inkübe edilmiştir. Örnekler 3 tekrarlı çalışılmıştır. Kontrol olarak sadece besi ortamı hücrelere uygulanmıştır. 24 saat sonunda her kuyucuğa 100 μl besiyeri ve 10 μl MTT çözeltisi ilave edilmiştir. 37°C 'de 3,5 saat inkübasyondan sonra kuyucuklara 150 μl DMSO eklenerek 15 dakika inkübe edilmiştir. Hücre canlılığının tespiti için 96 kuyucuklu plate'in absorbans değerleri ELİSA plate okuyucuda 570 nm'de okutulup, kontrol grupları baz alınarak % canlılık aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Canlılık} = \frac{100 \times OD_{570e}}{OD_{570b}}$$

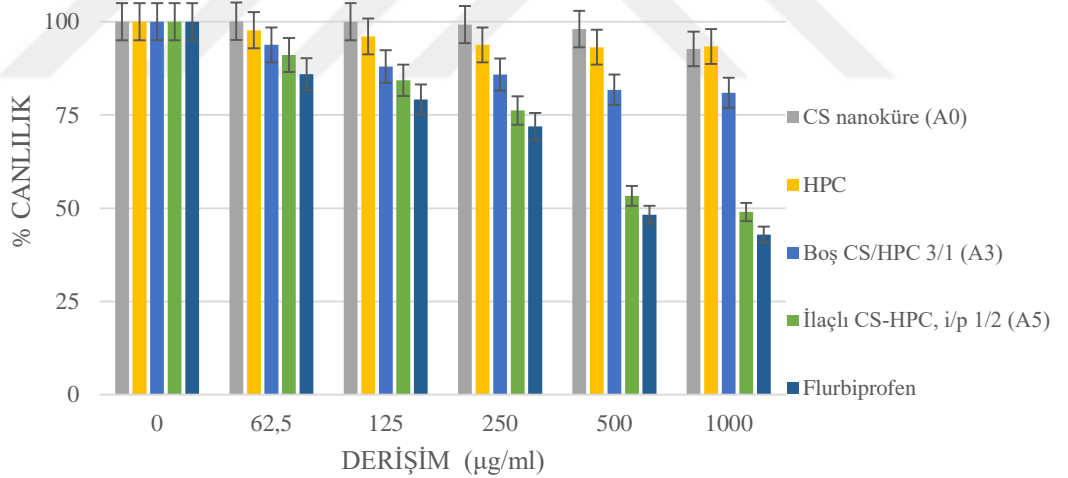
OD_{570e} : numunenin optik yoğunluğunun değeri

OD_{570b} : kontrol grubunun optik yoğunluğu

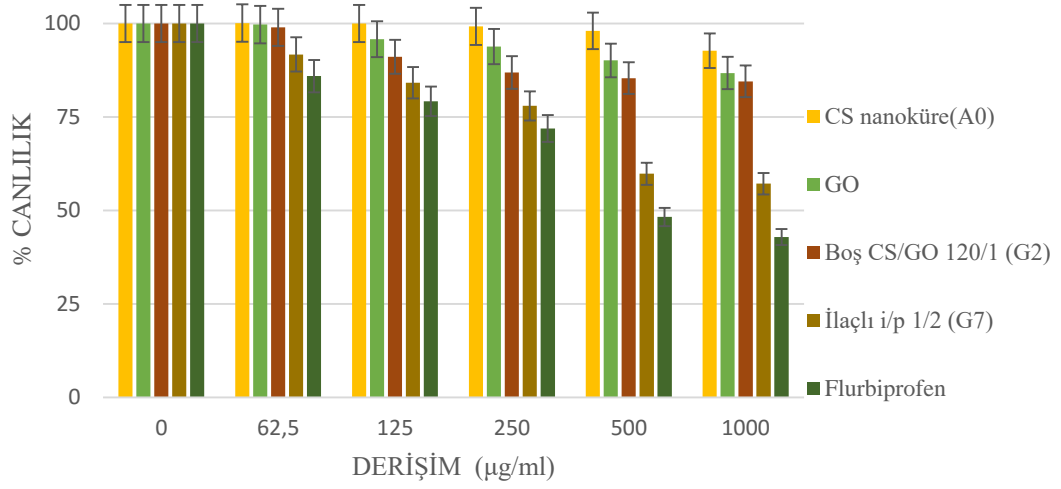
CS, HPC, GO, flurbiprofen ve A_0 , A_1 , A_8 , G_2 ve G_7 formülasyonlu blend nanoküreler ile sitotoksisite çalışması MTT yöntemi ile yapılmış ve elde edilen sonuçlar Şekil 3.31 ve Şekil 3.32'de verilmiştir.

Flurbiprofen hariç HPC, GO ve A_0 , A_1 formülasyonlu blend nanokürelerde düşük derişimde (62,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) en yüksek hücre canlılığı yaklaşık %100 olup, G_2 ve G_7

blend nanokürelerde yaklaşık % 98 hücre canlılığı görülmüştür. Flurbiprofen yüksek derişimlerde (1000 µg/ml) % 42 canlılık gösterip toksik etki gösterirken, düşük derişimde toksik etkiye sahip değildir. Flurbiprofen yüklü A₈ formülasyonlu CS-HPC blend nanokürelere ve G₇ formülasyonlu CS-GO blend nanokürelere de yüksek derişimlerde % 55'e yakın canlılık göstererek toksik etkiye sahiptirler. Ancak yaklaşık 250 µg/ml derişimin altından itibaren toksik etkisini kaybetmektedirler. Boş CS-HPC ve boş CS-GO blend nanokürelere yüksek derişimlerde dahi toksik etki göstermeyip biyoyumlu bir yapıya sahiptirler. Hazırlanan bütün formülasyonlarda düşük derişimden yüksek derişime doğru gidildikçe hücre canlılığında azalmalar gözlenmiştir.



Şekil 3.31. CS, HPC, flurbiprofen ve CS-HPC blend nanokürelere için % hücre canlılığı – derişim değişimi



Şekil 3.32. CS, GO, flurbiprofen ve CS-GO blend nanoküreleri için % hücre canlılığı – derişim değişimi

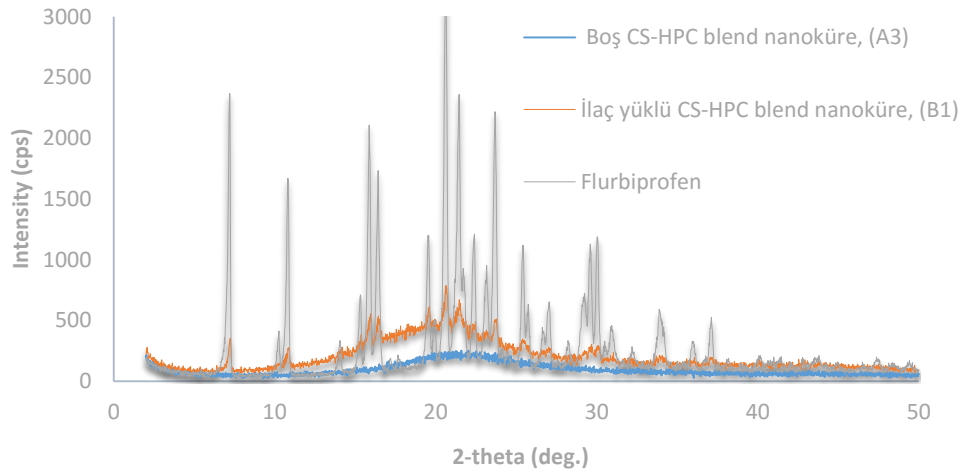
3.6. CS-HPC ve CS-GO Blend Nanokürelerin XRD Sonuçlarının

Değerlendirilmesi

Kristal yapılarının belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen X-ışını kırınım sonuçları Şekil 3.33 ve Şekil 3.34'te verilmiştir. Flurbiprofen, boş CS-HPC blend nanoküresi ve flurbiprofen yüklü CS-HPC blend nanoküresinin XRD diyagramında $2\theta=2-50^\circ$ arasındaki X-ışını kırınım çıktıları elde edilmiştir. Flurbiprofenin X-ışını kırınım deseninde $2\theta= 5,12, 9,73, 15,88, 20,58$ ve $21,5^\circ$ 'de keskin pikler ve $10,60, 29,98$ ve $37,18^\circ$ 'de pikler gözlenmesi kristalin yapıda olduğunu göstermektedir. Kawadkar ve arkadaşları, genipin ve kitosanın çapraz bağlı olduğu mikroküre sistemleri çalışmasında, flurbiprofene ait benzer kırınım deseni sonuçları rapor etmişlerdir [84].

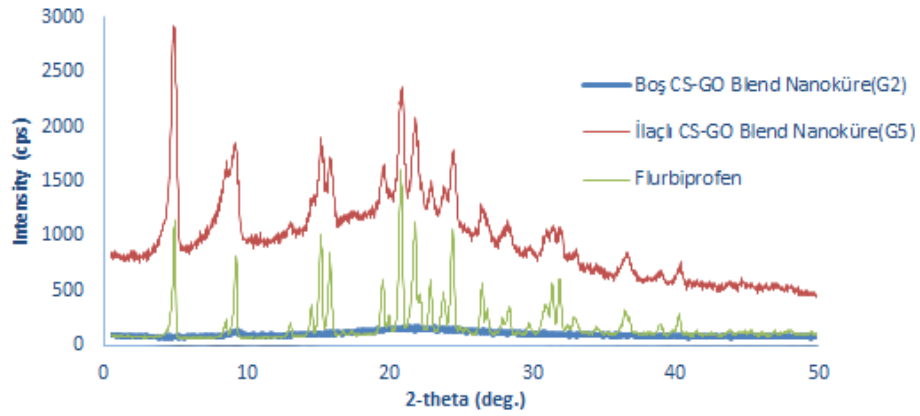
Boş CS-HPC blend nanoküresinin X- ışını kırınım deseninde $2\theta = 22,19^\circ$ de yayvan bir pik vermiştir ve amorf yapı göstermektedir. Boş nanoküredeki bu amorf oluşum polimerler arasında iyonik etkileşimlerden kaynaklanmaktadır. Bu etkileşimler sayesinde kristalite azalmakta ve amorf yapılar meydana gelmektedir. Benzer sonuçlara literatürde de rastlanmıştır [85, 86].

Flurbiprofen yüklü CS-HPC blend nanokürelerin XRD diyagramında ise flurbiprofeninkine benzer şekilde $2\theta = 5,12, 9,73, 20,58, 21,14, 30,24^\circ$ de keskin kristalin pikler gözlenmiştir. Bu ilacın polimer yapıları içerisinde kristalin yapıda kaldığını göstermektedir.



Şekil 3.33. Flurbiprofen, boş CS-HPC blend nanoküre ve flurbiprofen yüklü CS-HPCblend nanoküresinin XRD sonuçları

Boş CS-GO blend nanoküresinin X- ışını kırınım deseninde $2\theta = 22,16^\circ$ de yayvan bir pik vermiştir ve amorf yapı göstermektedir. Bu amorf oluşum polimerler arasındaki etkileşimlerden kaynaklanmaktadır. Bu etkileşimlerden dolayı kristalite azalmakta ve amorf yapılar meydana gelmektedir. Benzer analiz sonuçlarına literatür çalışmalarında rastlanmıştır [87]. Flurbiprofen yüklü CS-GO blend nanokürelerin XRD diyagramında ise flurbiprofeninkine benzer şekilde $2\theta = 5,12, 9,73, 20,58, 21,14, 30,07, 34,24^\circ$ de keskin kristalin pikler gözlenmiştir. DSC ve TGA analiz sonuçlarına da bakılarak yapıdaki ilacın polimer yapılı nanoküreler içerisinde kristalin olarak kaldığını söyleyebiliriz.



Şekil 3.34. Flurbiprofen, boş CS-GO blend nanoküre ve flurbiprofen yüklü CS-GO blend nanoküresinin XRD sonuçları

3.7. CS-HPC ve CS-GO Blend Nanokürelerden Flurbiprofen Salım Çalışmaları

Nanokürelerden flurbiprofen salımı 37 °C’de pH 1,2 HCl çözeltisi ve pH 7,4 H₂PO₄⁻ / HPO₄⁻² tamponlarına konularak 24 saatte gerçekleştirilmiştir. Küreler bütün formülasyonlar için pH 1,2 HCl çözeltisinde düşük salım gösterip, pH 7,4 H₂PO₄⁻ / HPO₄⁻² tamponunda yüksek salım göstermiştir.

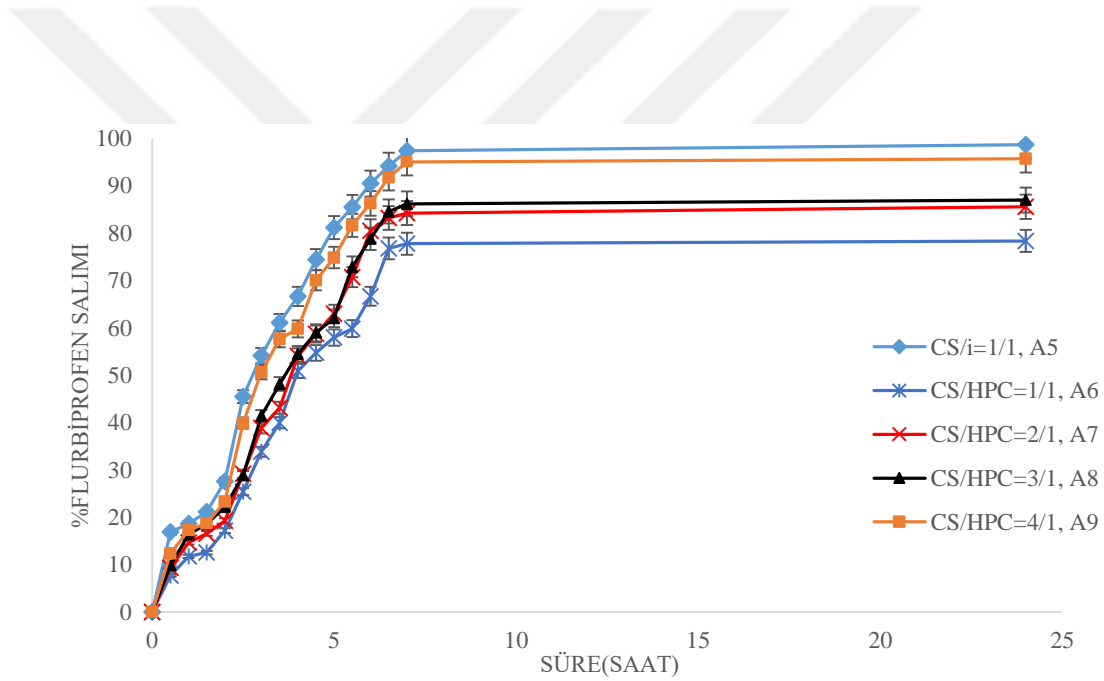
3.7.1. Blend Oranının Flurbiprofen Salımına Etkisi

CS-HPC blend nanoküreleri için, CS-HPC oranının nanokürelerin salımı üzerine etkisini araştırmak amacıyla CS-HPC oranı 1/1, 2/1, 3/1 ve 4/1 olan (A₆, A₇, A₈ ve A₉) blend nanoküreleri (%1.25 GA derişimi, çapraz bağlama süresi 1 saat, % 1,54 Span 80 (v/v), %0,54 %37’lik HCl (v/v)) oluşturulmuş, flurbiprofenin bu nanokürelerden salımı aynı i/p (w/w) 1/1 oranı için incelenmiştir. Ayrıca i/p oranı 1/1 olacak şekilde aynı koşullarda hazırlanan CS nanoküreleri, blend nanokürelerle karşılaştırılmak üzere incelenmiştir. Blend nanokürelerden ilaç salımının süre ile değişimi Şekil 3.35’de gösterilmiştir. Şekil incelendiğinde blend oranının 1/1’den 4/1’e artması ile ilaç salımının % 71’den % 89’a arttığı görülmüştür. Bu sonucun yapıya giren CS miktarının artması ile hidrofilik karakterin artmasından ve flurbiprofenin polimerik nanokürelerden difüzyonunun kolaylaşmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Çalışmada en yüksek salım CS/HPC oranı 4/1 olan formülasyonda belirlenmiştir. Salım hızının daha yavaş olması, % tutuklanma veriminin düşük ve partikül boyutunun küçük olmasından dolayı blend oranı 3/1 olan CS-HPC blend nanoküreleri çalışmanın devamı için seçilmiştir.

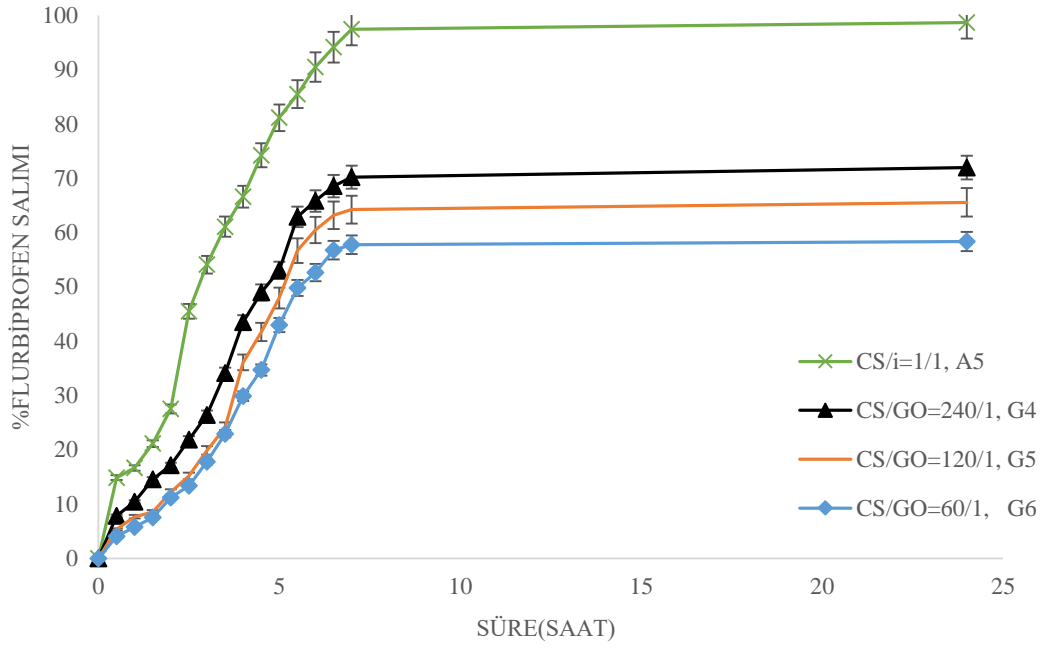
CS-GO nanoküreleri için, CS-GO oranının nanokürelerden flurbiprofenin salımı üzerine etkisini araştırmak amacıyla CS/GO oranları; 240/1, 120/1 ve 60/1 (G₄, G₅ ve G₆) olacak şekilde blend nanoküreleri (%1,25 GA derişimi, çapraz bağlama

süresi 1 saat, % 1,54 Span 80 (v/v), % 0,54 %37'lik HCl (v/v)) oluşturularak, flurbiprofenin bu nanokürelerden salımı aynı i/p (w/w)=1/1 oranı için incelenmiştir. Şekil 3.36'da salım sonuçları sunulmuştur.

GO ile oluşturulan blend nanokürelerin salım yüzdeleri HPC ile oluşturulan blendlerin yüzdelerinden daha düşük çıkmıştır. CS-HPC blend nanokürelerde blend oranı 4/1'den 1/1'e azaldıkça salım yüzdesi %89'dan %71'e düşmüştür. CS-GO blend nanokürelerinde ise blend oranı 240/1'den 60/1'e düştükçe salım yüzdeleri %69'dan %52'ye düşmüştür. Bunun nedeninin grafen oksitin hidrofobik karakterinden kaynaklandığı düşünülmüştür [88].



Şekil 3.35. Blend oranı farklı CS-HPC kürelerden flurbiprofen salımı



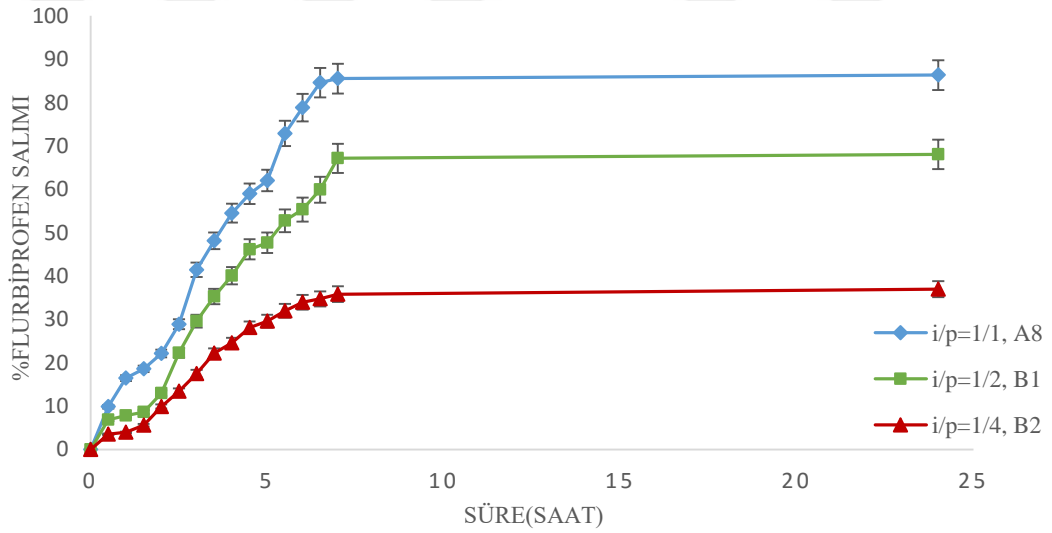
Şekil 3.36. Blend oranı farklı CS-GO kürelerden flurbiprofen salımı

3.7.2. İlaç/Polimer (i/p) Oranının Flurbiprofen Salıma Etkisi

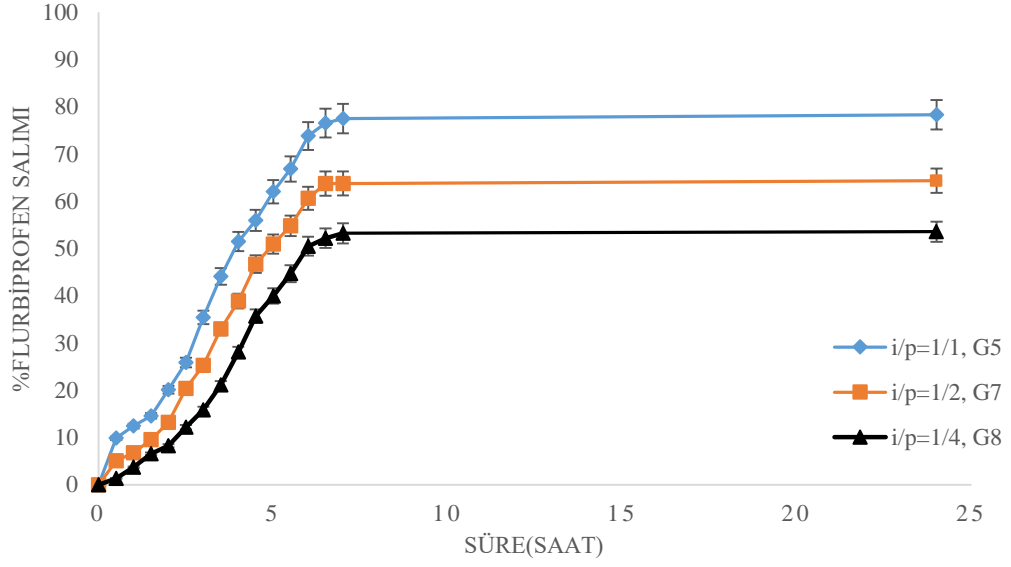
CS/HPC blend oranı 3/1 olacak şekilde hazırlanan blend nanokürelerden flurbiprofen salımına i/p oranının etkisi Şekil 3.37’de verilmiştir. İ/p oranının flurbiprofen salımına etkisini incelemek amacıyla nanoküreler, i/p oranları 1/1, 1/2 ve 1/4 (A₈, B₁, B₂) olacak şekilde emülsiyon ortamında (CS/HPC oranı 3/1 olmak üzere, % 1,25 GA çapraz bağlama çözeltisinde, % 1,54 Span 80 (v/v), %0,54 %37’lik HCl çözeltilerinde 1 saat karıştırılarak) hazırlanmıştır. Şekil 3.37. incelendiğinde i/p oranının 1/4’ten 1/1’e doğru artmasıyla kümülatif ilaç salımının %32’den %86’ya arttığı görülmektedir. 24 saat süreyle gerçekleştirilen salım çalışması sonucunda en yüksek ilaç salımı, i/p oranı 1/1 olan blend nanopartiküllerde %86 olarak bulunmuştur.

Benzer sonuçlar literatürde de yer almaktadır [64]. Ajit Rokhade ve arkadaşlarının 2007 yılında yaptıkları çalışmada CS-Metil selüloz yapıdaki mikrokürelerden etken madde salımının ilaç miktarının fazla olması halinde arttığını bildirmişlerdir [89]. % tutuklanma veriminin yüksek olması, ilaç salım yüzdesinin düşük olması ve partikül boyutlarının küçük olması göz önünde bulundurularak optimum i/p oranı 1/2 olarak belirlenmiştir.

CS-GO blend nanokürelerde i/p oranının kümülatif ilaç salımına etkisini incelemek için i/p oranları 1/1, 1/2 ve 1/4 (G5, G7, G8) olan blend nanoküreler aynı şartlarda hazırlanmıştır. Salım çalışması yapılarak Şekil 3.38’te sunulmuştur. Şekil 3.38 incelendiğinde i/p oranı 1/4’den 1/1’e arttıkça, % ilaç salımı %51’den %74’e artmıştır.



Şekil 3.37. İlaç/Polimer oranı farklı CS-HPC kürelerden flurbiprofen salımı



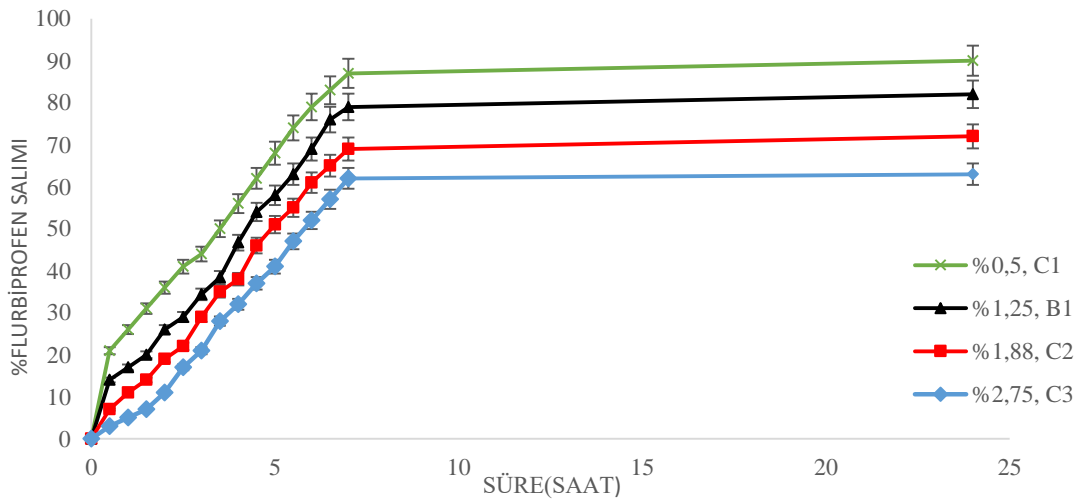
Şekil 3.38. İlaç/Polimer oranı farklı CS-GO kürelerden flurbiprofen salım grafiği

3.7.3. Gluteraldehit Derişiminin Flurbiprofen Salımına Etkisi

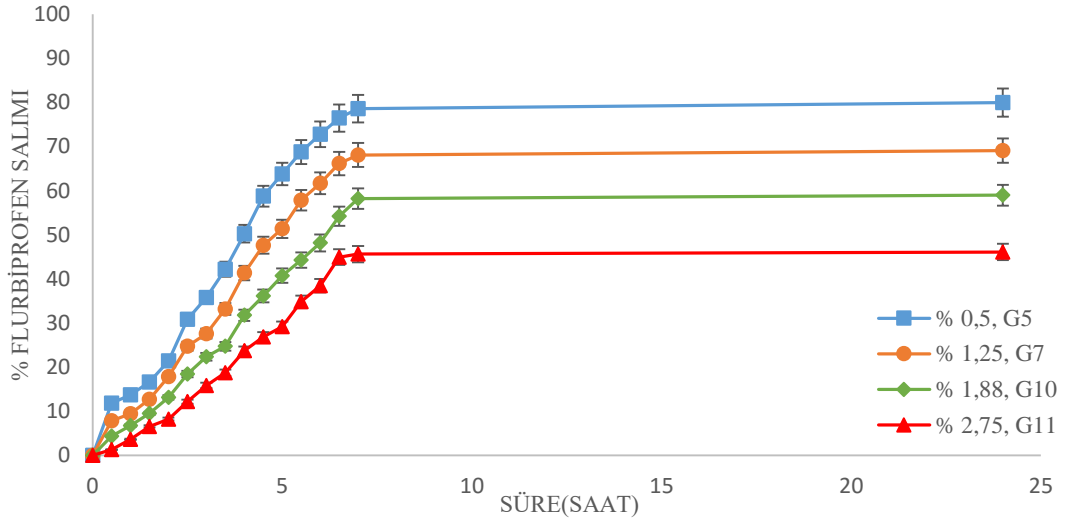
Çapraz bağlanma derecesi nanokürelerden ilaç salımında önemli bir parametredir. Bu da çapraz bağlayıcı derişiminin ya da bağlanma süresinin değiştirilmesi ile farklılaştırılabilir. Nanokürelerden flurbiprofen salımına GA derişiminin etkisini incelemek üzere nanoküreler diğer parametreler sabit tutularak GA derişiminin %0,5 - %2,75 aralığında değiştirilmesiyle hazırlanmış ve flurbiprofen salım sonuçları Şekil 3.39’da verilmiştir. GA derişiminin %0,5’den %2,75’e artmasıyla, ilaç salımının 24 saat sonunda %88’den %70’e azaldığı görülmektedir. Şekil 3.39 incelendiğinde çapraz bağlayıcı derişiminin arttıkça ilaç salımının azaldığı görülmektedir. Bu durumun çapraz bağlayıcı derişimi arttıkça CS ve HPC birimlerine bağlanan GA miktarının artmasıyla çapraz bağ yoğunluğunun artmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Çapraz bağlama yoğunluğunun artması ile ilacın

difüzyonu için gerekli serbest hacim azalmaktadır [90]. Çalışmada en yüksek salım %88 ile çapraz bağlayıcı derişimi % 0,5 olan B₁ kodlu kürelerde görülmüştür. Ancak tutuklanma verimleri ve partikül boyutları dikkate alındığında GA derişimi % 1,25 olan C₁ kodlu blend nanoküreler seçilmiştir. Benzer sonuçlar literatürde bulunmaktadır. Rokhade ve Shelke'nin 2007 yılında yaptıkları çalışmada; kitosan ve metil selüloz mikrokürelerinden teofilin salımına çapraz bağlama miktarının etkisini incelemişlerdir. Yüksek düzeyde çapraz bağlı mikrokürelerden, etken maddenin sadece %25'i 36 günde salınabilmiştir [91].

İ/p oranı optimize edilmiş CS-GO blend nanoküreleri için çapraz bağlayıcı derişimi CS-HPC nanokürelerinde olduğu gibi uygulanmış çapraz bağlayıcı derişimi %0,5'den %2,75'e arttıkça salım %78'den %46'ya azalmıştır. G₇, G₉, G₁₀ ve G₁₁ kodlu blend nanoküreler için yüzde salım yüzdeleri sırayla %81, %69, %56 ve %41 olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar Şekil 3.40'da sunulmuştur.



Şekil 3.39. Çapraz bağlayıcı derişimi farklı CS-HPC kürelerden flurbiprofen salımı

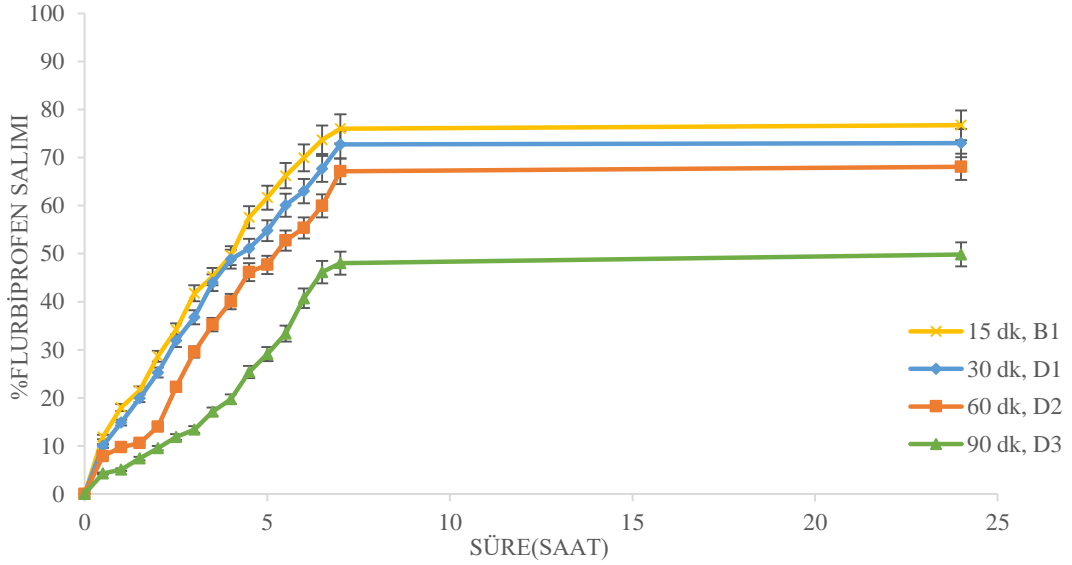


Şekil 3.40. Çapraz bağlayıcı derişimi farklı CS-GO blend nanokürelerden flurbiprofen salımı

3.7.4.Çapraz Bağlama Süresinin Flurbiprofen Salımına Etkisi

CS-HPC blend nanokürelerin ilaç salımı üzerine çapraz bağlama süresinin etkisini incelemek için optimize edilen şartlarda (CS/HPC oranı 3/1, i/p oranı 1/2, %0,54 %37'lik HCl, GA derişimi %1,25) 15, 30, 60 ve 90 dk. çapraz bağlama süreleri ile ilaç salımının değişimi incelendi. Çapraz bağlama süresinin flurbiprofen salımı üzerine etkisi Şekil 3.41'de gösterilmiştir. Çapraz bağlama süresinin 15 dk.'dan 90 dk.'ya artırılmasıyla 24 saat sonundaki salım miktarının %76'dan %49'a azaldığı görülmektedir. Bunun nedeninin çapraz bağlama süresi arttıkça nanopartiküllerde çapraz bağ yoğunluğunun artmasıyla nanokürelerin daha sıkı hale gelmesi olarak düşünölmüştür. Çapraz bağlama süresinin 60 dk. olduğu nanokürelerde partiköl

boyutunun daha küçük olması ve ilaç salımının daha kontrollü olarak gerçekleşmesi sebebiyle çapraz bağlama süresi 60 dk. olarak seçilmiştir.



Şekil 3.41. Çapraz bağlama süresi farklı CS-HPC blend nanokürelerden flurbiprofen salımı

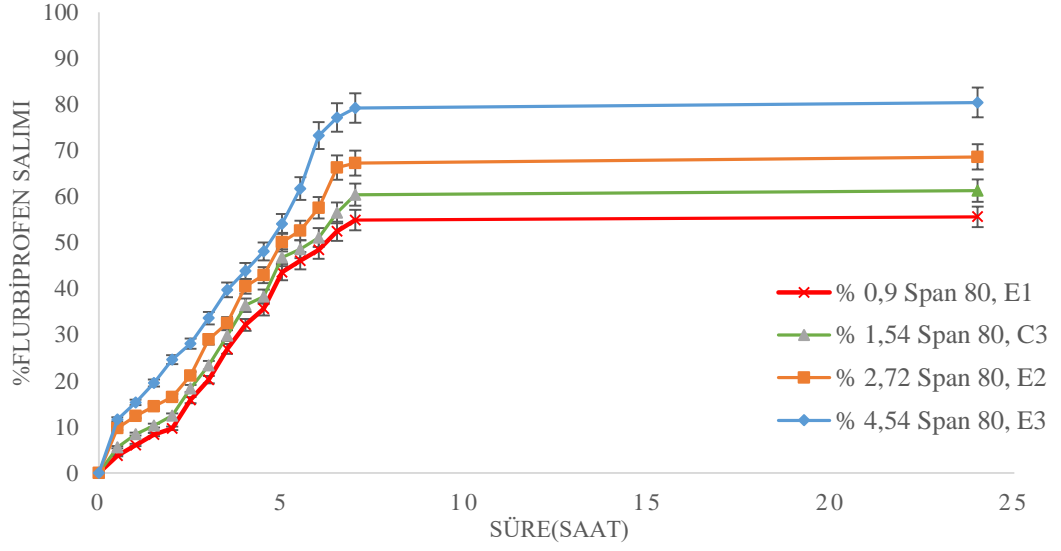
3.7.5. Sürfactan Madde Olarak Kullanılan Span 80 Yüzdesinin Flurbiprofen

Salımına Etkisi

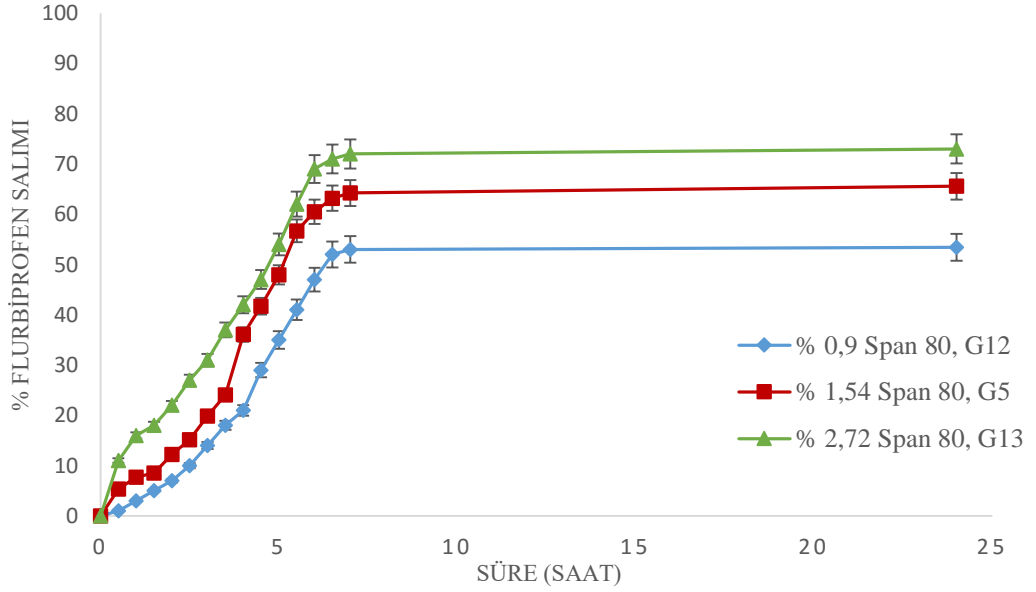
Sürfactan olarak kullanılan span 80 yüzdesinin ilaç salımına ve nanoküre boyutuna etkisini incelemek için diğer parametreler sabit tutularak (CS/HPC oranı 3/1, %0,54 %37'lik HCl, GA derişimi %1,25, çapraz bağlama süresi 60 dk.) farklı miktarlarda (%0,9, %1,54, %2,72 ve %4,54) alınan span 80'in salımı etkilediği görülmüştür. C₃, E₁, E₂ ve E₃ kodlu hazırlanan blend nanokürelerde span 80 yüzdesi

% 0,9'dan % 4,54'e arttıkça % flurbiprofen salımı %56'dan %80'e artmış ve partikül boyutunun span 80 yüzdesi arttıkça azaldığı belirlenmiştir. Bu etkenin sebebi, yağ fazı içine hapsolan polimer gruplarının parçalayıcı etkiye daha fazla maruz kalması olarak söylenebilir. Benzer sonuçlar literatürde de rapor edilmiştir. [92]. Span 80 yüzdesi % 1,54 olan C₃ kodlu CS-HPC blend nanoküresi, salım hızının daha yavaş olması, % tutuklanma veriminin yüksek ve partikül boyutunun daha küçük olması sebebiyle tercih edilmiştir. CS-HPC blend nanoküreleri hazırlanırken kullanılmak üzere seçilmiştir.

CS-GO blend nanokürelerinin hazırlanması aşamalarında optimum span 80 yüzdesinin belirlenmesi amacıyla % 0,9, %1,54 ve %2,72 span 80 eklenerek G₅, G₁₂ ve G₁₃ kodlu blend nanoküreler hazırlanmıştır. Span 80 yüzdesinin % 0,9'dan % 2,72'ye artması ile ilaç salımı %52'den %72'ye artmıştır. Sürfaktan olarak kullanılan span 80 yüzdesinin artışı ile partikül büyüklükleri azalmış ve % tutuklanma verimleri artmıştır. % 2,72 span 80 kullanılarak hazırlanan G₁₃ blend nanoküresinin partikül büyüklüğünün küçük olmasına rağmen % salım hızının yüksek olması nedeniyle, % 1,54 span 80 kullanılarak sentezlenen G₅ blend nanokürelerin hazırlanma koşulları tercih edilmiştir. Şekil 3.43'te salım grafikleri sunulmuştur.



Şekil 3.42. Span 80 oranı farklı CS-HPC blend nanokürelerden flurbiprofen salımı



Şekil 3.43. Span 80 oranı farklı CS-GO blend nanokürelerden flurbiprofen salımı

3.7.6. Sıcaklığın Flurbiprofen Salımına Etkisi

CS-HPC blend nanokürelerden flurbiprofen salımını farklı sıcaklıklarda incelemek üzere i/p oranı 1/2 olan CS (A₅) ve 2 farklı formülasyonda CS-HPC blend nanoküreleri (A₆ ve A₈) için 30, 37 ve 44 °C’de ilaç salımları incelenmiştir. Elde edilen salım sonuçları Şekil 3.44, Şekil 3.45 ve Şekil 3.46’da gösterilmiştir.

Salım profilleri incelendiğinde CS-HPC blend nanoküreleri için CS yüzdesi arttıkça flurbiprofen salımı artmıştır. Daha önceki veriler bu artmayı destekler niteliktedir. Formülasyonlar en yüksek ilaç salımını 30 °C’de, en düşük flurbiprofen salımını da 44 °C’de göstermiştir. Literatürde sıcaklık artması ile ilaç salımının azaldığı çalışmalar mevcuttur [93].

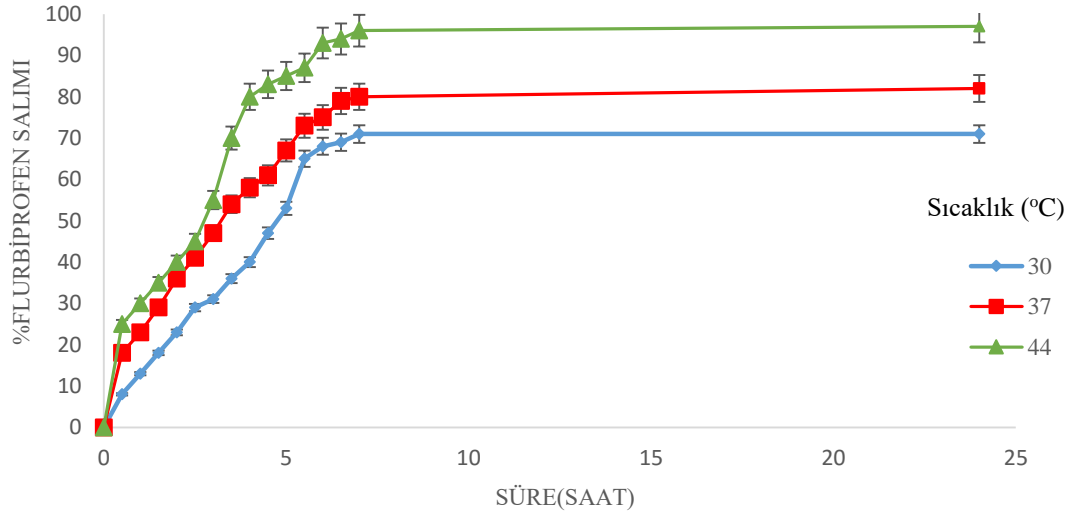
İlaç salımlarına bakıldığında HPC polimerinin LCST değerinin altında bir sıcaklık olan 37 °C’ de yüksek salım görülmektedir. Ancak sıcaklığın ilaç salımına etkisinin incelendiği bu parametrede ise 44 °C gibi yüksek sıcaklıklarda düşük salım gerçekleşmesi nanokürelerin şişmesinin HPC gruplarından dolayı azalmasına ve büzülme davranışına atfedilebilir [94]. Düşük sıcaklıklarda HPC grupları ile su molekülleri arası etkileşim artacak, bundan dolayı şişme dereceleri artacak ve flurbiprofen salımı daha fazla gerçekleşecektir.

Bagheri ve arkadaşları hidroksipropil selüloz bazlı nano boyutta taşıyıcı sistemlerden antikanser ilacının salımını gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sıcaklığının 30 °C’ den 42 °C’ ye artırılmasıyla HPC zincirlerinin hidrofobik grupları etkin hale gelmesi ile şişme kapasitesinde azalma olduğu tespit edilmiştir. HPC’un LCST değerinin altında kalan sıcaklıkta (30 °C) % kümülatif salım 90 iken, LCST değerindeki sıcaklıkta (42 °C) bu değer % 45’ lere ulaştığı bildirilmiştir [95].

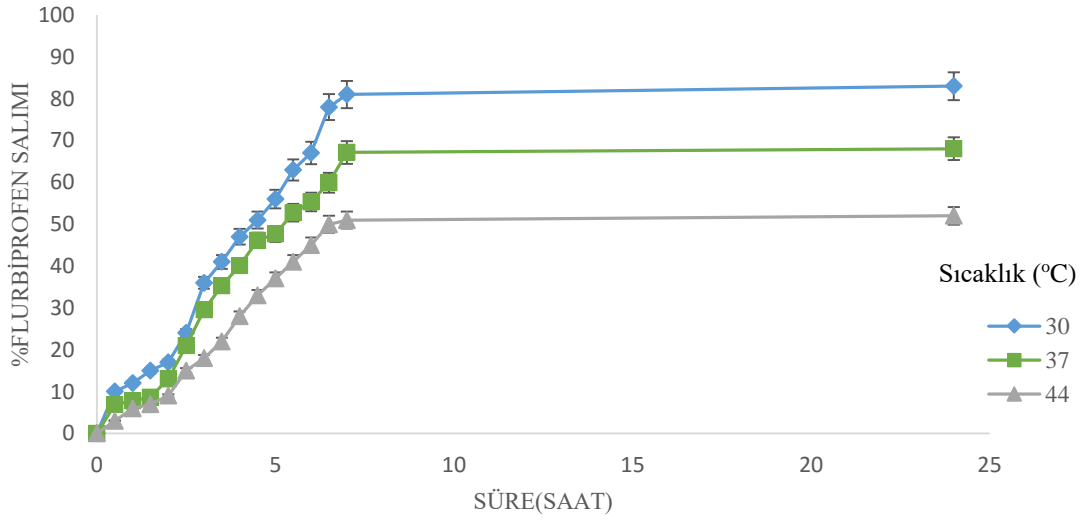
Şekil 3.44'te A₅ formülasyonlu CS nanoküresinin üç sıcaklıktaki flurbiprofen salım profilleri gösterilmiştir. A₅ nanoküresi sıcaklıkla artan bir salım profili sergilemiştir. CS'ın LCST değerinin olmayışı ve hidrofilik karakter göstermesi nedeniyle bu sonuç literatürle uyumaktadır. Şekil 3.45'te ise A₆ formülasyonlu CS-HPC blend nanoküresinin her üç sıcaklıktaki salım grafiği görülmektedir. A₆ blend nanoküresi 30 °C'de en yüksek (%80) salımı gösterirken, 37 °C' de %65 ve 44 °C' de ise en düşük (%45) salımı göstermektedir. Şekil 3.46'da A₈ formülasyonlu blend nanokürenin 30 °C'de %88, 37 °C'de % 77 ve 44 °C'de ise %60 salım gösterdiği grafik gösterilmiştir. Blend nanokürelerde LCST değerinin altındaki sıcaklıklarda kümülatif ilaç salımı artarken, bu sıcaklığın üzerindeki değerlerde salım azalmaktadır. Ayrıca blend yapısındaki HPC yüzdesinin değişmesi ve sıcaklığın da etkisi ile salım miktarı değişmektedir.

CS-GO blend nanokürelerin kümülatif salım değerlerinin sıcaklığın etkisi ile nasıl değiştiğini incelemek amacıyla, CS/GO oranı 120/1 ve i/p oranı 1/2 olan G₇ kodlu CS-GO blend nanoküresi seçilip 30, 37 ve 44 °C'de salım profilleri incelenmiştir. Elde edilen salım sonuçları Şekil 3.47'de gösterilmiştir.

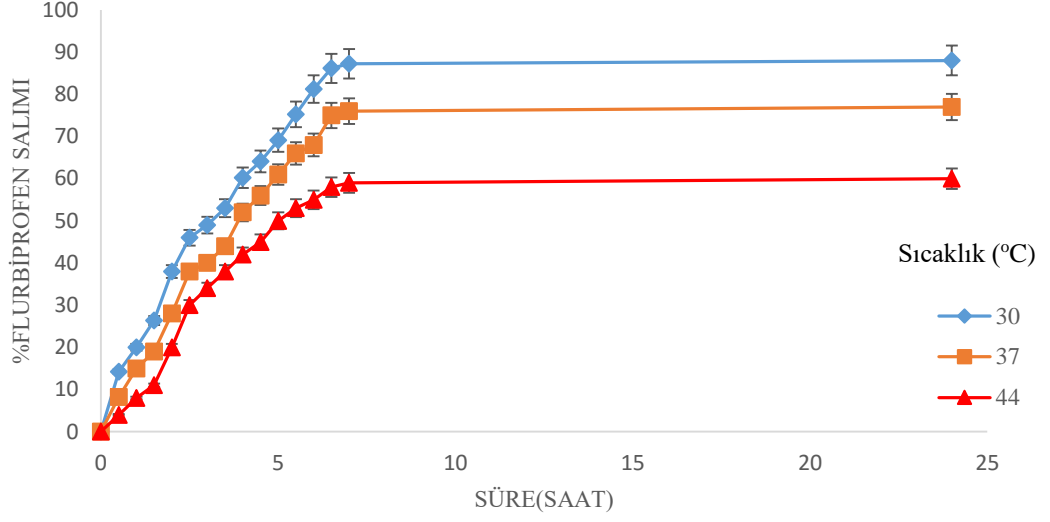
Salım profilleri incelendiğinde CS-GO blend nanoküreleri için sıcaklığın 30 °C'den 44 °C'ye artması ile blend nanoküreden salınan ilacın yüzdesinin %48'den %69'a arttığı belirlenmiştir. Bunun nedeninin GO'in HPC gibi LCST değerinin olmayışı ve sıcaklıkla artan CS'nın hidrofilik özelliğinden kaynaklandığı düşünülmüştür.



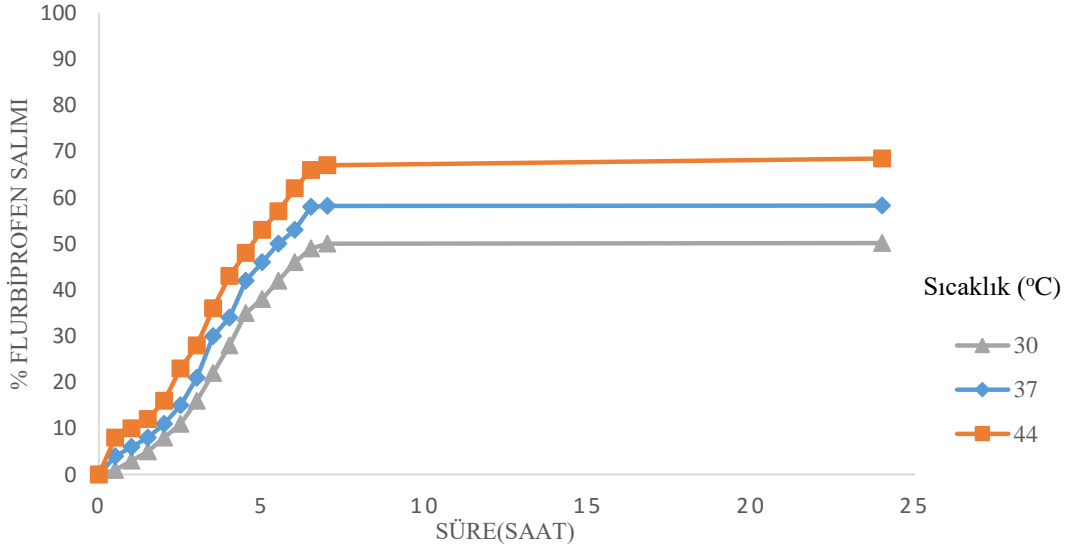
Şekil 3.44. A₅ formülasyonlu ilaç yüklü CS nanoküresinin farklı sıcaklıklardaki flurbiprofen salımı



Şekil 3.45. A₆ formülasyonlu CS-HPC blend nanoküresinin farklı sıcaklıklardaki flurbiprofen salımı



Şekil 3.46. A₈ formülasyonlu CS-HPC blend nanoküresinin farklı sıcaklıklardaki flurbiprofen salımı



Şekil 3.47. G₇ formülasyonlu CS-GO blend nanoküresinin farklı sıcaklıklardaki flurbiprofen salımı

3.8. Kinetik Sonuçlar

CS-HPC ve CS-GO blend nanoküreleri için kinetik değerler Peppas eşitliği kullanılarak hesaplanmıştır. Değişik formülasyonlarda hazırlanan nanokürelerin salım sonuçlarının kinetik değerlendirmesi ile elde edilen salım mekanizmasını belirleyen difüzyonel sabit (n), salım hız sabiti (k) ve korelasyon sabiti (r) değerleri Çizelge 3.7 ve 3.8’de verilmiştir.

Bu değerler bölüm 1.2.3’de verilen eşitlikler kullanılarak hesaplanmıştır. Sonuçlar incelendiğinde flurbiprofen salımının CS-HPC ve CS-GO blend nanokürelerinde Fick yasasına uymadığı, salım mekanizmalarının genelde Durum II olduğu görülmüştür. CS-HPC blend nanoküreleri için n değerleri 0,7121 ile 1,1497 aralığında değişirken, CS-GO blend nanokürelerinde ise 0,6412 ile 1,2547 aralığındadır. İki blend nanoküre formları için salım değerlerinin azalmasıyla difüzyonel sabit olan n değerlerinin azaldığı gözlenmiştir. Bunun salımın azalmasıyla ilacın nanokürelerden difüzyonunun azalmasına bağlı olduğu düşünülmüştür [95, 96].

Kürelerden ilaç salımı aynı zamanda difüzyon katsayısı (D) değerlerinin hesaplanması ile karakterize edilmiştir. D değerleri (t) zamanı sonunda kürelerden salınan ilaç miktarlarından (Mt) yararlanarak aşağıdaki eşitlik ile hesaplanmıştır [97].

$$D = \left(\frac{r\theta}{6M_{\infty}} \right)^2 \pi$$

Burada teta değeri, $M_t/M_{\infty} \cdot t^{1/2}$ grafiğinin eğimi, r nanokürelerin yarıçapı, M_{∞} ise nanokürelerdeki salınabilecek maksimum ilaç miktarıdır. D değerleri CS-HPC blend nanoküreleri için $0,91 \times 10^{-14}$ ile $10,36 \times 10^{-14}$ cm²/s arasında, CS-GO blend nanoküreleri için ise $0,117 \times 10^{-14}$ ile $5,422 \times 10^{-14}$ cm²/s aralığında değiştiği

bulunmuştur. İlaç salımının azaldığı formülasyonlarda D değerleri azalırken, salımın fazla olduğu formülasyonlarda D değerleri daha yüksektir.

Çizelge 3.7. Farklı formülasyonlardaki CS-HPC blend nanokürelerinden flurbiprofen salımının kinetik parametreleri ve difüzyon katsayı değerleri

Kod	$D \times 10^{14}$ (cm^2/s)	$k \times 10^3$ (min^{-n})	n	r	pH	Sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$)	Difüzyon Mekanizması
A ₅	10,36	10,15	0,9841	0,9612	7,4	37	Fick'e Uymayan
A ₆	5,84	7,14	0,8672	0,9724			Fick'e Uymayan
A ₇	7,56	5,27	0,8725	0,9811			Fick'e Uymayan
A ₈	7,92	4,11	0,8909	0,9714			Fick'e Uymayan
A ₉	12,74	8,74	0,9711	0,9679			Fick'e Uymayan
B ₁	5,47	3,34	0,7924	0,9563			Fick'e Uymayan
B ₂	2,75	1,18	0,7736	0,9814			Fick'e Uymayan
C ₁	9,02	5,98	0,9091	0,9796			Fick'e Uymayan
C ₂	4,05	2,84	0,8124	0,9836			Fick'e Uymayan
C ₃	1,84	0,86	0,7412	0,9878			Fick'e Uymayan
D ₁	7,18	4,13	0,8691	0,9688			Fick'e Uymayan
D ₂	4,72	3,94	0,9633	0,9723			Fick'e Uymayan
D ₃	3,45	2,34	1,0129	0,9789			Durum II
E ₁	0,91	0,44	1,1255	0,9781			Durum II
E ₂	2,52	1,89	0,7859	0,9613			Fick'e Uymayan
E ₃	8,33	5,37	0,7121	0,9730	Fick'e Uymayan		
A ₅	19,64	10,72	1,1024	0,9845	30	Durum II	
A ₅	4,07	2,97	0,8288	0,9812	44	Fick'e Uymayan	
A ₆	8,71	5,99	0,7862	0,9534	30	Fick'e Uymayan	
A ₆	1,59	0,67	1,1497	0,9798	44	Durum II	
A ₈	6,08	6,32	0,8811	0,9803	30	Fick'e Uymayan	
A ₈	2,84	1,26	1,0926	0,9711	44	Durum II	

Çizelge 3.8. Farklı formülasyonlardaki CS-GO blend nanokürelerinden flurbiprofen salımının kinetik parametreleri ve difüzyon katsayı değerleri

Kod	$D \times 10^{14}$ (cm^2/s)	$k \times 10^3$ (min^{-n})	n	r	pH	Sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$)	Difüzyon Mekanizması	
G ₄	2,781	2,70	0,8176	0,9502	7,4	37	Fick'e Uymayan	
G ₅	5,422	0,96	1,0635	0,9673			Durum II	
G ₆	1,993	0,57	0,7123	0,9557			Fick'e Uymayan	
G ₇	1,484	0,80	0,7098	0,9612			Fick'e Uymayan	
G ₈	0,986	0,08	0,6945	0,9948			Fick'e Uymayan	
G ₉	0,117	6,50	0,6412	0,9737			Fick'e Uymayan	
G ₁₀	0,391	1,02	0,6776	0,9842			Fick'e Uymayan	
G ₁₁	0,296	0,14	0,6425	0,9964			Fick'e Uymayan	
G ₁₂	0,783	4,15	0,9487	0,9926			Fick'e Uymayan	
G ₁₃	1,525	3,14	1,0298	0,9749			Durum II	
G ₇	1,994	0,88	1,2547	0,9886			44	Durum II
G ₇	0,872	1,47	1,0015	0,9536			30	Durum II

4. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

1. CS-HPC ve CS-GO blend nanoküreleri sentezlenmiş, farklı yöntem ve parametreler ile karakterizasyon ve optimizasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir.
2. CS-HPC blend nanokürelerinin FTIR ile karakterizasyonunda, imin bağlarının oluşması GA ile çapraz bağlanmayı gösterirken; hidroksil grubu bandının genişlemesi H bağ etkileşimlerini göstermektedir. CS-GO blend nanokürelerde hidroksil grubu etkileşimlerinin artması ile H bağı etkileşimlerinin arttığı görülmüştür.
3. Blend oluşumu ile her iki blend nanoküre sisteminin termal dayanımının arttığı DSC ve TGA analizleri ile belirlenmiştir.
4. CS-HPC ve CS-GO blend nanokürelerinin partikül boyut analizleri SEM ve Zeta-Sizer analiz cihazları ile yapılmıştır. CS-GO blend nanokürelerin partikül boyutları ortalama 635 nm olarak ölçülmüştür ve CS-HPC blend nanokürelere göre daha küçüktür.
5. Sentezlenen CS-HPC blend nanokürelerin tutuklanma verimlerinin CS-GO blend nanokürelere oranla daha yüksek olduğu görülmüştür. A₈ formülasyonlu CS-HPC blend nanoküresinden en yüksek %82 flurbiprofen salımı gerçekleşmiştir. G₅ formülasyonlu CS-GO blend nanoküresinden ise en yüksek %64 salım gerçekleşmiştir.
6. Blend nanokürelerden ilaç salımının ortamın pH'sından ve sıcaklık değişiminden etkilendiği görülmüştür. pH arttıkça ilacın salımının arttığı gözlenmiş ve sentezlenen nanokürelerin pH duyarlı olduğu bulunmuştur. CS-HPC blend nanokürelerden flurbiprofen salımının sıcaklığın artması ile azaldığı belirlenmiştir.

CS-GO blend nanokürelerin sıcaklık artışıyla artan bir ilaç salım profillerinin olduğu görülmüştür.

7. CS-HPC blend nanokürelerde CS/HPC oranlarının artması ile % tutuklanma verimlerinde artışların olduğu tespit edilmiştir. CS-HPC blend nanokürelerde blend oranı 1/1'den 4/1'e arttıkça % tutuklanma verimi % 28,05'den % 42,32'e artmıştır. Flurbiprofen salım değerlerinin ise % 71'den % 89'a arttığı görülmüştür. CS-GO blend nanokürelerde ise CS/GO oranının 240/1'den 60/1'e düşmesi ile % tutuklanma veriminin %28,15'ten %21,8'e azaldığı belirlenmiştir.

8. Blend nanoküreler oluşturulurken çalışılan çapraz bağlayıcı derişimi ve çapraz bağlama sürelerinin artışı ile flurbiprofen salımının azaldığı bulunmuştur.

9. CS-HPC blend nanokürelerinde i/p oranının 1/4'ten 1/1'e doğru artmasıyla kümülatif ilaç salımının %32'den %86'ya arttığı görülmektedir. CS-GO blend nanokürelerde de aynı eğilim görülmüştür. İ/p oranı 1/4'den 1/1'e arttıkça, % ilaç salımı %51'den %74'e artmıştır.

10. CS-HPC blend nanokürelerinde sıcaklığın 30°C'den 37 ve 44 °C'ye artması ile flurbiprofen salımının azaldığı ve kürelerin sıcaklığa duyarlı olduğu belirlenmiştir. HPC'un 42 °C olarak tespit edilen LCST değerinin üstündeki sıcaklıklarda salımın önemli ölçüde azaldığı görülmüştür.

11. CS-HPC blend nanoküreler için en yüksek tutuklanma veriminin olduğu, % ilaç salımının yüksek ve partikül boyutunun küçük olduğu formülasyon B₁ olarak belirlenmiştir. Bu formülasyon koşulları CS-HPC blend nanoküreleri için optimum koşullar olarak kabul edilmiştir. CS-GO blend nanoküreleri için ise G₅ formülasyonu optimum çalışma koşulları olarak belirlenmiştir.

12. Çalışmada sentezlenen blend nanokürelerin mideye rahatsızlık veren ve yarılanma ömrü kısa olan ilaçların kontrolü salım çalışmalarında kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

13. Blend nanokürelerden flurbiprofenin salım davranışlarının Fick kanununa uymayan bir durum gösterdiği belirlenmiştir.



KAYNAKLAR

- [1] Eskici A., Kontrollü ilaç salımı, Bilim ve Teknik Dergisi, 2, 15, 2001.
- [2] N., Sözmen, Biyomedikal uygulamalarında akıllı polimer kullanılması ve karakterizasyon yönteminin kuartz kristal mikro dengeleyici sistemler ile geliştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2008.
- [3] Gürsoy, A., Pişkin, E., Dortunç, B., Peppas, N., Kontrollü ilaç serbestleştirilen sistemler, Journal of Applied Polymer Science, 1, 3, 1989.
- [4] Gürsoy, A.Z., Kontrollü salım sistemler, Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayınları, İstanbul, 3, 7, 2002.
- [5] O., Dursun, İndometasinin gluteraldehit ile çapraz bağlanmış sodyum aljinat ve poli(vinil alkol)/sodyum aljinat mikrokürelerden kontrollü salımı, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 44-45, 2005.
- [6] Karaca, İ., Preparation, characterization and salicylic acid release behavior of chitosan/poly(vinyl alcohol) blend microspheres, Journal of Applied Polymer Science, 111, 2731-2740, 2009.

- [7] Gupta, K.C., Jabrail, F.H., Glutaraldehyde cross-linked chitosan microspheres for controlled release of centchroman, Carbohydrate Research, 342(15), 2244-2252, 2007.
- [8] Teng X. W., Wang S. W., Davies N. M, Stereospecific high-performance liquid chromatographic analysis of flurbiprofen: application to pharmacokinetic studies, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 33, 95-100, 2003.
- [9] İ., Karaca, Poli(vinil alkol)/sodyum aljinat ve poli(vinil alkol)/kitosan mikrokürelerden salisilik asitin kontrollü salımı, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2006.
- [10] H.M., Başar, Organik kökenli doğal adsorbantlarla kontrollü ilaç salınımı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 17-18, 2006.
- [11] M., İnal, Sodyum aljinat ve vinil pirolidon aşılınmış sodyum aljinat kürelerden indomethasinin kontrollü salımı, Yüksek Lisans Tezi, Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kırıkkale, 2007.
- [12] L., Beba, Oral kontrollü salım sistemi olarak hidrojellerin karakterizasyonu, etken madde yüklü matrislerinin hazırlanması ve in vitro salım çalışmaları, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2007.

- [13] Mantripragade, S., Depofoam technology for sustained release injectable drug delivery, *Drug Delivery and System Science*, 1, 13-16, 2001
- [14] Z., Nart, İvers-süspansiyon polimerizasyon yöntemiyle hazırlanan mikrokürelerin karakterizasyonu ve ilaç salınımı çalışmaları, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2008.
- [15] Robinson, J.R., Lee, V.H., Controlled drug delivery—fundamentals and applications, New York, Marcel Dekker, 2, 433-480, 1987.
- [16] Kayaalp, O., Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, Feryal Matbaacılık San. Tic. Ltd, Ankara, 2002.
- [17] Hu, F.X., Neoh, K.G., Kang, E.T., Synthesis and in vitro anti-cancer evaluation of tamoxifen-loaded magnetic PLLA composite nanoparticles, *Biomaterials*, 27, 5725-5733, 2006.
- [18] Liu, Y., Miyoshi, H., Nakamura, M., Encapsulated ultrasound microbubbles: Therapeutic application in drug/gene delivery, *Journal Control Release*, 114, 89-99, 2006.
- [19] Qiu, Y., Park, K., Environment-sensitive hydrogels for drug delivery, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 53, 321-339, 2001.

- [20] Voskerician, G., Shive, M.S., Shawgo, R.S., Recum, H., Anderson, J.M., Cima, M.J., Langer, R., Biocompatibility and biofouling of MEMS drug delivery devices, *Biomaterials*, 24, 1959-1967, 2002.
- [21] Vasir J.K., Labhasetwar V., Targeted drug delivery in cancer therapy, *Technology in Cancer Research & Treatment*, 4, 363, 2005.
- [22] Letchford K., Burt H., *European Journal Of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 65, 259-269, 2007.
- [23] Gunbas, I., Sezer, U., Hasirci, N., Semi-IPN Chitosan/PEG Microspheres and Films for Biomedical Applications: Characterization and Sustained Release Optimization, *Industrial and engineering chemistry research*, 51, 11946-11954, 2012.
- [24] O., Pınarbaşı, Alfa-fenil-N-tert-butil nitron (PBN) yüklü nanopartiküler taşıyıcı sistemlerin hazırlanması ve in vitro olarak değerlendirilmesi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2008.
- [25] Gönül N., Süspansiyon ve Emülsiyon Sistemler, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Yayın no: 2, Ankara, 2000.
- [26] Jayakrisnan A., Kalaiarasi K., Shah D.O., Microemulsions evolving technology for cosmetic applications, *Journal of the Society of Cosmetics Chemists*, 3(4), 335-350, 1983.

- [27] Yazan Y., Seiller M., Puisieux F., Multiple Emulsions, *Bollettino Chimico Farmaceutico*, 132(6), 187-196, 1993.
- [28] Chavanpatil, Y., Handa, H., Mao, G., Panyam, J., Polymers surfactant nanoparticles for sustained release of water-soluble drugs, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 96, 3379-3389, 2007.
- [29] Hosseinzadeh, H., Atyabi, F., Dinarvand, R., Ostad, S. N., Chitosan–Pluronic nanoparticles as oral delivery of anticancer gemcitabine: preparation and in vitro study, *International Journal of Nanomedicine*, 7, 1851-1863, 2012.
- [30] Sarmiento, B., Ferreira, D.C., Jorgensen, L., Weert, M., Probing insulin's secondary structure after entrapment into alginate/chitosan nanoparticles *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 65, 10-17, 2007.
- [31] Antonio, R., Massimiliano, B., Paolo, B., Barbara, B., Attilio, C., Chitosan nanoparticles: Preparation, size evolution and stability, *International Journal of Pharmaceutics*, 455, 219-228, 2013.
- [32] Sinha, V.R., Singla, A.K., Wadhawan, S., Kaushik, R., Kumria, R., Bansal, K., Dhawan, S., Chitosan microspheres as a potentiel carrier for drugs, *International Journal of Pharmaceutics*, 274(1-2), 1-33, 2004.
- [33] Friess, W., Technologies Available for use in cancer drug delivery, *Drug Delivery Systems in Cancer Therapy*, 71, 76, 2004.

- [34] Kim, H., Abdala, A.A., and Macosko, C.W., Graphene/polymer nanocomposites, *Macromolecules*, 43, 6515-6530, 2010.
- [35] Kumbar S. G., Soppimath K. S., Aminabhavi T. M., Synthesis and characterization of polyacrilamide-grafted chitosan hydrogel microspheres for the controlled release of indomethacin, *Journal of Applied Polymer Science*, 87, 1525-1536, 2003.
- [36] Silva, C., Sousa, F., Gübitz, G., Chemical modifications on proteins using glutaraldehyde, *Food Technology of Biotechnology*, 42, 51-56, 2004.
- [37] Moffat, A.J., Jackson, J.V., Moss, M.S., Larke's isolation and identification of drugs, *The Pharmaceutical Pres.*, London, 1986.
- [38] Aarons, L., Salisbury, R., Alam-siddiqi, M., Plasma and synovial fluid kinetics of flurbiprofen in rheumatoid arthritis, *Journal of Clinical Pharmacology*, 21, 155-163, 1986.
- [39] Van, A.A., Van, J.L., Bodelier, M.W., Specificity of flurbiprofen and enantiomers for inhibition of prostaglandin synthesis in bovine iris/ciliary body, *Prostaglandins and Other Lipid Mediators*, 55, 169-177, 1998.
- [40] Aarons, L., Salisbury, R., Alam-Siddiqi, M., Plasma and synovial fluid kinetics of flurbiprofen in rheumatoid arthritis, *Journal of Clinical Pharmacology*, 21, 155-163, 1986.

- [41] Martindale, The Complete Drug Reference, Ed: Sean C. S., Pharmaceutical Pres, London, 35, 53, 2007.
- [42] Davies, N.M., Clinical pharmacokinetics of flurbiprofen and its enantiomers. Clinical Pharmacokinetics, 28, 100-114, 1995.
- [43] Matsuda, S., Iwata, H., Se, N., Ikada, Y., Bioadhesion of gelatin films crosslinked with glutaraldehyde, Journal of Biomedical Materials Research, 45, 20, 2009.
- [44] N., Ay, Poli (vinil alkol)/sodyum aljinat ve akrilamid-aşı-poli (vinil alkol)/sodyum aljinat mikrokürelerden diklofenak sodyumun kontrollü salımı, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1-10, 2004.
- [45] Ge, Y., Chen, D., Xie, L., Optimized preparation of diadzein-loaded chitosan microspheres and in vivo evaluation after intramuscular injection in rats, International Journal of Pharmaceutics, 338, 142-151, 2007.
- [46] Wang, Q., Zhang, N., Hu, X., Yang, J., Du, Y., Chitosan/polyethylene glycol blend fibers and their properties for drug controlled release, Journal of Biomedical Materials Research, 85, 881, 2008.
- [47] Roeges, N.P.G., A guide to the complete interpretation of Infrared spectra of organic structures, Wiley Chichester, 1994

- [48] Paluszkiewicz, C., Stodolak, E., FT-IR study of montmorillonite-chitosan nanocomposite materials, *Spectrochimica Acta Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 79, 784-788, 2011.
- [49] Kuptsov, A. H. and Zhizhin, G. N., *Handbook of fourier transform raman and infrared spectra of polymers*, Elsevier, Amsterdam, 1998.
- [50] Tokura, S., Nishi, N.S., Nishimura, Y., Ikeuchi, I., and Nishimura, K., *Chitin, chitosan and related enzymes*, Academic Press, London, 303, 1934.
- [51] Pearson, F.G., Marchessault, R.H. and Liang, C.Y., Infrared spectra of crystalline polysaccharides, Effect of orientation on the tilting spectra of chitin films, *Biochimica et Biophysica Acta*, 45, 499-507, 1960.
- [52] Edwards H.G.M., Farwell D.W. and Williams A.C., Properties of microcrystalline cellulose and powder cellulose after extrusion/spheronization as studied by fourier transform raman spectroscopy and environmental scanning electron microscopy, *AAPS PharmSciTech Journal*, 5(4), 77-89, 2003.
- [53] Çiftci Ş., Özek S., Nanokil Katkılı PVA/Kitosan Nanolif Sentezi ve Karakterizasyonu, *SDU Journal of Science*, 10(1), 118-128, 2015.

- [54] Langkilde, F.W., Svantesson, A., Identification of celluloses with Fourier-Transform (FT) mid-infrared, FT-Raman and near-infrared spectrometry, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 13, 409-414, 1995.
- [55] NETTO, C.G.T., Thermal analysis of chitosan based networks, *Carbohydrate Polymers*, 62, 97-103, 2005.
- [56] Zohurıaan, M.J.; Shokroları, F., Thermal studies on natural and modified gums, *Polymer Testing*, 23, 575-579, 2004.
- [57] Kim, J.H., Kim, J.Y., Lee, Y.M., Kim, K.Y., Properties and swelling characteristics of cross-linked poly(vinyl alcohol)/chitosan blend membrane, *Journal of Applied Polymer Science*, 45, 1711-1717, 1992.
- [58] Osiris W.G., Manal T.H.M., Thermal and structural studies of poly(vinyl alcohol) and hydroxypropyl cellulose blends, *Natural Science*, 57-67, 2012.
- [59] S.M., Barış, Antikolinesteraz ilaç piridostigmin bromürün kitosan/sodyum aljinat emulsiyon çapraz bağlı ve kitosan/metil selüloz i ie gemiş ağ yapılı mikrokürelerden salımı, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara, 2011.
- [60] Chil, J., Cardenas, G., FTIR and TGA studies of chitosan composite films, *Journal of the Chilean Chemical Society*, 49-4, 2004.

- [61] Ozeki, T., Yuasa, H., Application of the solid dispersion method to the controlled release of medicine: Difference in the release of flurbiprofen from solid dispersions with poly(ethylene oxide) and hydroxypropylcellulose and the interaction between medicine and polymers, *International Journal of Pharmaceutics*, 155(2), 209-217, 1997.
- [62] Vega, E., Gamisans, F., PLGA Nanospheres for the Ocular Delivery of Flurbiprofen: Drug Release and Interactions, *Journal of Pharmaceutical Sciences, France*, 97, 2008.
- [63] Shih, C.M., Preparation and characterization of cellulose/chitosan blend films, *Carbohydrate Polymers*, 78, 169-174, 2009.
- [64] Montwani, S., K., Chopra, S., Talegaonkar, S., Chitosan–sodium alginate nanoparticles as submicroscopic reservoirs for ocular delivery: Formulation, optimisation and in vitro characterisation, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 68(3), 513-525, 2008.
- [65] Gandhi, A., Paul, A., Sen, S.O., Sen, K.K., Studies on thermoresponsive polymers: Phase behaviour, drug delivery and biomedical applications, *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences* 10, 99-107, 2015.
- [66] Jain, S., Sandhu, P.S., Cellulose Derivatives as Thermoresponsive Polymer: An Overview, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3 (12), 139-144, 2013.

- [67] Altay, A., Okudan, A., NIPAAm/MMA/X Hidrojelinin Faz Geçiş Sıcaklığı (LCST) ve Termal Özelliklerine NTBA ve AA monomerlerinin Etkisinin İncelenmesi, *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi*, 4(2), 31-34, 2011.
- [68] Cai, T., Hu, Z.B., Synthesis and study of and controlled release from nanoparticles and their networks based on functionalized hydroxypropylcellulose, *Macromolecules*, 32, 581-584, 1999.
- [69] Lu, X.H., Hu, Z.B., Gao, J., Synthesis and light scattering study of hydroxypropyl cellulose microgels, *Macromolecules*, 33, 8698-8702, 2000.
- [70] Chen, Y., Ding, D., Mao, Z.Q., He, Y.F., Hu, Y.Y., Synthesis of hydroxypropylcellulose-poly(acrylic acid) particles with semi-interpenetrating polymer network structure, *Biomacromolecules*, 9, 2609-2614, 2008.
- [71] Gao J., Haidar G., Lu X., Hu Z., Self-association of hydroxypropylcellulose in water, *Macromolecules*, 34, 2242-2247, 2001.
- [72] Shu, X.Z., Zhu, K.J., Controlled drug release properties of ionically crosslinked chitosan beads: the influence of anion structure, *International. Journal of Pharmacology*, 233, 217-225, 2002.
- [73] Feng, W., Nie, W., He, C., Zhou, X., Effect of pH-Responsive Alginate/Chitosan Multilayers Coating on Delivery Efficiency, *Cellular*

Uptake and Biodistribution of Mesoporous Silica Nanoparticles Based Nanocarriers, *ACS Application Mater. Interfaces*, 6 (11), 8447-8460, 2014.

[74] Thanoo, B.C., Sunny, M.C., Cross-linked Chitosan Microspheres: Preparation and Evaluation as a Matrix for the Controlled Release of Pharmaceuticals, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 44, 283-286, 1992.

[75] Han, D., Preparation of chitosan/graphene oxide composite film with enhanced mechanical strength in the wet state, *Carbohydrate Polymers*, 83, 653-658, 2011.

[76] Chen, W. F., Yan, L. F., & Bangal, P. R. (2010). Preparation of graphene by the rapid and mild thermal reduction of graphene oxide induced by microwaves, *Carbon*, 48(4), 1146-1152, 2010.

[77] Long Z., Jiajie L., Yi H., Yanfeng M., Yan W., Yongsheng C., Size-controlled synthesis of graphene oxide sheets on a large scale using chemical exfoliation, *Carbon*, 47(14), 3365-3368, 2009.

[78] Arora, S., Lal, S., Sharma, C., Synthesis, thermal and antimicrobial studies of chitosan/starch/poly(vinyl alcohol) ternary blend films, *Pelagia Research Library*, 2(5), 75-86, 2011.

- [79] Bhaskar, K., Anbu, J., Lipid nanoparticles for transdermal delivery of flurbiprofen: formulation, in vitro, ex vivo and in vivo studies, *Lipids in Health and Disease*, 8, 6, 2009.
- [80] Zhang, X.Y., Yin, J.L., Peng, C., Hu, W.Q., Distribution and biocompatibility studies of graphene oxide in mice after intravenous administration, *Carbon*, 49, 986-995, 2011.
- [81] Depan, D., Shah, J., Misra, R.D., Controlled release of drug from folate-decorated and graphene mediated drug delivery system: Synthesis, loading efficiency, and drug release response, *Materials Science and Engineering*, 31(7), 1305-1312, 2011.
- [82] Justin, R., Chen, B., Characterisation and drug release performance of biodegradable chitosan-graphene oxide nanocomposites, *Carbohydrate Polymers*, 103, 70-80, 2014.
- [83] Gupta, A.K., Surface-modified superparamagnetic nanoparticles for drug delivery: preparation, characterization, and cytotoxicity studies, *IEEE Transactions on Nanobioscience*, 3-1, 2004.
- [84] Kawadkar J., Chauhan M.K., Intra-articular delivery of genipin cross-linked chitosan microspheres of flurbiprofen: preparation, characterization, in vitro and in vivo studies, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 81(3), 563-572, 2012.

- [85] Ray, M., Pal, K., Anis, A., Development and Characterization of Chitosan based Polymeric Hydrogel Membranes, *Designed Monomers & Polymers*, 13, 193-206, 2010.
- [86] Kahya, S., Kondolot S.E., Şanlı, O., Sodium alginate/poly(vinyl alcohol) alloy membranes for the pervaporation, vapour permeation and vapour permeation with temperature difference separation of dimethylformamide/water mixtures: A comparative study, *Vacuum*, 84, 1092-1102, 2010.
- [87] Anonim, Graphene oxide XRD spectrum, [http:// http://www.nanoinnova.com](http://www.nanoinnova.com) (Erişim tarihi : 14.10.2014).
- [88] Luciano Mengatto, Julio Luna, María Graciela Ferreyra, Hydrophilic and hydrophobic interactions in cross-linked chitosan membranes, *Materials Chemistry and Physics*, 139(1), 181-186, 2013.
- [89] Çetin M., Vural İ., Çapan Y., Hıncal A.A., Preparation and characterization of BSA-oated alginate microspheres, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 32, 103-107, 2007.
- [90] Ko, J.A., Park, H.J., Hwank S.J., Preparation and characterization of chitosan microparticles intended for controlled drug delivery, *International Journal of Pharmaceutics*, 246, 165-174, 2002.

- [91] Rokhade A.P, Shelke N.B., Patil S.A., Aminabhavi T.M., Novel interpenetrating polymer network microspheres of chitosan and methylcellulose for controlled release of theophylline, *Carbohydrate Polymers*, 69(4), 678-687, 2007.
- [92] Sansdrap P., Moe's A.J., Influence of additives on the release profile of nifedipine from poly (DL-lactide-co-glycolide) microspheres, *Journal of Microencapsulation*, 15, 545-553, 1998.
- [93] Chen, J., Liu, M., Jin, S., Liu, H., Synthesis and characterization of K-carrageenan/poly(N,N-diethylacrylamide) Semi-interpenetrating polymer network hydrogels with rapid response to temperature, *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics*, 19, 1656-1663, 2008.
- [94] Bagheri, M., Shateri, S., Niknejad, H., Entezami, A., Thermosensitive biotinylated hydroxypropyl cellulose-based polymer micelles as a nano-carrier for cancer-targeted drug delivery, *Journal of Polymer Research*, 21, 567, 2014.
- [95] Kumar, M.T., Rajeswari, C., Balasubramaniam, J., In vitro and in vivo characterization of scleral implant of indomethacin: role of plasticizer and cross-linking time, *Journal of Polymer Research*, 10, 269, 2003.
- [96] Işıklan. N., İnal. M., Yiğitoğlu. M., Synthesis and characterization of Poly(N-Vinyl-2-Pyrrolidone) grafted sodium alginate hydrogel beads for controlled

release of indomethacin, *Journal of Applied Polymer Science*, 11, 481-493, 2008.

- [97] Kulkarni, A.R., Soppimath, K.S., Aminabhavi, T.M., Glutaraldehyde crosslinked sodium alginate beads containing liquid pesticide for soil application, *Journal of Controlled Release*, 63, 97, 2000.

