



T.C.

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
GÜLHANE / SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TRAMADOL HİDROKLORÜR'N SÜREKLİ SALIM SAĞLAYAN
PLGA VE PEG-PLGA NANOPARTİKÜLLERİNİN HAZIRLANMASI
VE *IN VITRO* ANALİZLERİ

Nuray YILDIRIM

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ayhan SAVAŞER

Farmasötik Teknoloji

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA/2020

BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Tramadol Hidroklorür’ün Sürekli Salım Sağlayan PLGA ve PEG-PLGA Nanopartiküllerinin Hazırlanması ve *In Vitro* Analizleri” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Ayhan SAVAŞER’in sorumluluğunda tamamladığımı, tezimdaki bütün bilgilerin akademik kurallara ve etik davranış ilkelerine uygun olarak elde edip sunduğumu, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Nuray YILDIRIM

21.01.2020

ÖZET

Nanopartiküller, ilaçların kontrollü veya sürekli bir şekilde salınması istendiğinde etken maddenin polimerik materyallerle enkapsüle edilmesi veya matriks içinde dağıtılmasıyla elde edilen ilaç taşıyıcı sistemlerdir. Nanopartiküler sistemler vücut ortamında parçalanabilir özellikte olmalı ve parçalanma ürünleri toksik olmamalı, etken maddeyi çevresel etkilere karşı korumalıdır. İlaçların etkinliğinin, tolere edilebilirliğinin ve terapötik indeksinin artırılması, yan etki/toksisitenin azaltılması, stabilitenin ve hasta uyuncunun artırılmasında nanopartiküler sistemlerin olumlu etkileri vardır.

Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmış olan, orta ve şiddetli ağrı tedavisinde kullanılan Tramadol hidroklorür (Tramadol HCl) merkezi sinir sistemi üzerinde etkili olan opioid ve opioid olmayan özellikler gösteren sentetik bir analjezik ilaçtır. Yarılanma ömrü yaklaşık 6 saat olan Tramadol HCl'nin günlük dozu 100-400 mg arasında ve maksimum dozu 400 mg'dır. Her 4-6 saatte bir verilmesi gereken Tramadol HCl'nin plazma seviyesinin dip veya tepe noktalarına ulaşması, mide bulantısı, kusma, baş dönmesi ve uyuşukluk gibi merkezi etkili opioid benzeri yan etkiler ve baş ağrısı, terleme, ağız kuruluğu ve yorgunluk gibi monoaminerjik yan etkiler ortaya çıkarabilmektedir.

Tramadol HCl'nin bu yan etkilerinin azaltılması, hasta uyuncunun ve ilacın etki süresinin artırılması amacıyla intravenöz yolla uygulanması tasarlanan nanopartikül formülasyonları geliştirilerek, PLGA ve PEG-PLGA polimerleri ve stabilizan olarak Polivinil alkol (PVA), Sodyum kolat, Tokoferil polietilen glikol süksinat (TPGS), organik faz olarak Etilasetat ve Diklorometan (DCM) kullanılarak Tramadol HCl içeren nanopartiküllerin emülsiyon oluşturma-çözücü buharlaştırma yöntemiyle hazırlanması ve işlem parametrelerinin etkilerinin açıklanması, *in vitro* analizlerinin gerçekleştirilerek nanopartikül özelliklerinin belirlenmesi, hazırlanan nanopartiküllerin salım özelliklerinin belirlenerek Tramadol HCl içeren konvansiyonel enjeksiyonluk bir müstahzar ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Çözücü buharlaştırma, Nanopartikül, Tramadol hidroklorür.

ABSTRACT

Nanoparticles are drug delivery systems obtained by encapsulating the active ingredient with polymeric materials or dispersing it in the matrix when controlled or sustained release of drugs is desired. Nanoparticulate systems should be degradable in the body environment, and the disintegration products should be non-toxic and protect the active substance against environmental effects. Nanoparticulate systems have positive effects in increasing the efficacy, tolerability and therapeutic index of drugs, reducing side effect / toxicity, increasing stability and increasing patient compliance.

Tramadol hydrochloride (Tramadol HCl) is a synthetic analgesic drug with opioid and non-opioid properties acting on the central nervous system, approved by the Food and Drug Administration (FDA) for the treatment of moderate to severe pain. Tramadol HCl has a half-life of approximately 6 hours, with a daily dose of 100-400 mg and a maximum dose of 400 mg. Centrally acting opioid-like side effects, such as tramadol HCl reaching peaks and troughs in plasma levels, nausea, vomiting, dizziness and drowsiness, which should be given every 4-6 hours, and monoaminergic side effects such as headache, sweating, dry mouth and fatigue can occur.

In order to reduce these side effects of Tramadol HCl, to increase patient compliance and duration of action of the drug, nanoparticle formulations are designed to be administered intravenously and PLGA and PEG-PLGA polymers and stabilizing Polyvinyl alcohol (PVA), Sodium alginate, Tocopheryl polyethylene glycol succinate (TPGS), Preparation of nanoparticles containing Tramadol HCl using Ethylacetate and Dichloromethane (DCM) as organic phase by emulsion-solvent evaporation method and explanation of effects of process parameters, carrying out *in vitro* analysis of nanoparticle characterization by determining the release properties of the prepared nanoparticles were compared with conventional.

Keywords: Nanoparticle, Solvent evaporation, Tramadol hydrochloride.

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasında, ameliyat sonralarında, kanser ağrılarında, jinekolojik, obstetrik ve nöropatik ağrılarda, osteoartrit ve fibromiyalji gibi çeşitli akut ve kronik orta şiddetli ağruların tedavisinde oral, intramusküler veya intravenöz olarak kullanılan Tramadol HCl'nin sürekli salımını sağlayan PLGA ve PEG-PLGA nanopartikülleri hazırlanmış ve *in vitro* analizleri gerçekleştirilmiştir.

Çalışmalarım esnasında gerekli her türlü desteği sağlayan Gülhane Eczacılık Fakültesi Dekanı Prof. Dr. Yalçın ÖZKAN'A, danışman hocam Farmasötik Teknoloji AD. Başkanı Prof. Dr. Ayhan SAVAŞER'e, tez çalışmamın her aşamasında desteğini aldığım ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Cansel KÖSE ÖZKAN'a, Dr. Öğr. Üyesi Özgür EŞİM'e ve Gülhane Eczacılık Fakültesi'nin diğer tüm öğretim üyelerine ve yüksek lisans eğitimimde desteklerini gördüğüm Biy. Selahattin ŞAHİNKESEN'e, Ecz.Tek. Ali KOÇ'a, Ecz.Tek. Turgut TARİHÇİ'ye, Kim. Elif Esra FIRAT'a, Sağ. Tek. Nur Öz'e ve tüm diğer personele sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımda katkılarını esirgemeyen ve SEM analizinde hem teorik hem de pratik olarak bana yardımları olan Dr. Öğr. Üyesi Nurgül KARADAŞ BAKIRHAN'a ve çalışmalarım için mesai planlamamda katkıları olan değerli çalışma arkadaşım Uzm. Ecz. Ceren ERCAN'a ve diğer mesai arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımın laboratuvar aşamasında analizler için desteklerini gördüğüm Milli Savunma Bakanlığı'na bağlı İlaç Fabrikası Müdürlüğü'nün fabrika komutanı ve personeline çok teşekkür ederim.

Son olarak hayatım boyunca benimle olan ve karşılaştığım her zorlukta yanımda yer alıp bana güç ve moral veren sevgili anneme, babama ve tüm aileme; bana her zaman inanan, güvenen, destek olan, anlayışı ve sevgisiyle beni hiç yalnız bırakmayan değerli eşime, varlığıyla iftihar ettiğim ve bana verdiği hayat enerjisinden ötürü gözbebeğim kızıma çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	ix
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	4
2.1. Ağrı	4
2.1.1. Ağrının Tanımı ve Sınıflandırılması	4
2.1.1.1. Süresine Göre Ağrı Sınıflandırması.....	4
2.1.1.2. Kaynaklandığı Bölgelere Göre Ağrı Sınıflandırması.....	5
2.1.1.3. Mekanizmalarına Göre Ağrı Sınıflandırması.....	5
2.1.2. Ağrı İletimi ve Mekanizmaları.....	7
2.1.2.1. Ağrının İletimi.....	7
2.1.1.4. Ağrı Mekanizmaları	8
2.1.2. Ağrı Tedavisi.....	9
2.2. Tramadol Hidroklorür	9
2.2.1. Etken Maddeye Ait Genel Bilgiler ve Fizikokimyasal Özellikler	10
2.2.2. Farmakokinetik ve Farmakodinamik Özellikleri	11
2.2.3. Etki Mekanizması.....	12
2.2.4. Klinik Kullanımı ve Yan Etkiler	12
2.3. Sürekli Salım Sağlayan Parenteral Formülasyonlar.....	14
2.3.1. Sürekli Salım Sistemlerin Üstünlükleri.....	14
2.3.2. Sürekli Salım Sistemlerin Sakıncaları.....	15
2.3.3. Nanopartiküller	16
2.3.3.1. Nanopartikül Hazırlama Yöntemleri.....	18
2.3.3.1.1. Monomer Polimerizasyonu	18
2.3.3.1.2. Polimer Dispersiyonu.....	19
2.3.3.2. Nanopartikül Hazırlanmasında Kullanılan Polimerler.....	20

2.3.3.3. Nanopartikül Hazırlanmasında Kullanılan Organik Çözücüler	23
2.3.3.4. Nanopartikül Hazırlanmasında Kullanılan Stabilizan Maddeler	23
2.3.3.5. Nanopartiküllerin Özellikleri	24
GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	25
3.1. Gereçler	25
3.1.1. DeneYlerde Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	25
3.1.2. DeneYlerde Kullanılan Cihaz ve Gereçler.....	26
3.2. Yöntem	27
3.2.1. Etken Maddeye Ait Çalışmalar	27
3.2.1.1. Etken Maddenin Termal Analizi	27
3.2.1.2. Etken Maddenin Infrared (IR) Spektrumu	27
3.2.2. Yöntem Validasyonları	28
3.2.2.1. Tramadol Hidroklorür'ün Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (YPSK) ile Miktar Tayini	28
3.2.2.1.1. Mobil Faz Hazırlanması.....	29
3.2.2.1.2. YPSK için Validasyon Çalışmaları.....	29
3.2.2.1.2.1. Doğrusallık.....	29
3.2.2.1.2.2. Doğruluk	29
3.2.2.1.2.3. Kesinlik	30
3.2.2.1.2.3.1. Tekraredilebilirlik	30
3.2.2.1.2.3.2. Tekrar elde edilebilirlik.....	31
3.2.2.1.2.4. Özgünlük (Seçicilik)	31
3.2.2.1.2.5. Teşhis ve Tayin Sınırları	31
3.2.3. Polimerik Nanopartiküllerin Hazırlanması	31
3.2.3.1. Ön Formülasyon Çalışmaları	31
3.2.3.1.1. Hazırlama Yönteminin Seçimi.....	31
3.2.3.1.2. Polimer Seçimi	32
3.2.3.1.3. Organik Fazın Seçimi.....	33
3.2.3.1.4. Stabilizan Maddelerin Seçimi	33
3.2.3.1.5. Etken Madde Miktarının Seçilmesi.....	33
3.2.3.2. Formülasyon Çalışmaları	33
3.2.4. Nanopartiküllerin Özellikleri	35
3.2.4.1. Partikül Boyutu ve Dağılımı Analizi.....	35
3.2.4.2. Zeta Potansiyel Analizi	36

3.2.4.3. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DTK) Analizi.....	36
3.2.4.4. Infrared (Kızılötesi) Spektroskopisi (FT-IR) Analizi	36
3.2.4.5. Elektron Mikroskobu Analizi.....	36
3.2.4.5. Enkapsülasyon Etkinliği (EE) Hesaplamaları.....	37
3.2.5. <i>In Vitro</i> Salım Çalışmaları	37
3.2.6. Stabilite Çalışmaları	38
3.2.7. İstatistiksel Analizler.....	38
BULGULAR	39
4.1. Etken Maddeye Ait Bulgular	39
4.1.1. Etken Maddenin Termal Analizi	39
4.1.2. Etken Maddenin Infrared (IR) Spektrumu	39
4.2. Tramadol Hidroklorür'ün Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (YPSK) ile Miktar Tayini Yöntem Validasyonu	40
4.2.1. Doğrusallık.....	40
4.2.2. Doğruluk	40
4.2.3. Kesinlik	41
4.2.3.1. Tekrarlanabilirlik.....	41
4.2.3.2. Tekrar elde edilebilirlik.....	42
4.2.4. Özgünlük (Seçicilik)	42
4.2.5. Teşhis ve Tayin Sınırları	43
4.3. Polimerik Nanopartiküllerin Hazırlanması	43
4.3.1. Önformülasyon Çalışmaları	43
4.3.1.1. Hazırlama Yönteminin Seçimi.....	43
4.3.1.2. Polimer Seçimi	45
4.3.1.3. Organik Fazın Seçimi.....	46
4.3.1.4. Stabilizan Maddelerin Seçimi	48
4.3.1.5. Etken Madde Miktarının Seçilmesi.....	49
4.3.2. Formülasyon Çalışmaları	50
4.4. Nanopartiküllerin Özellikleri	51
4.4.1. Partikül Boyutu, Dağılımı ve Zeta Potansiyeli Analizi.....	51
4.4.1.1. Polimerin Partikül Boyutu, Dağılımı ve Zeta Potansiyeli Üzerine Etkileri ..	51
4.4.1.3. Yüzey Etken Maddenin Partikül Boyutu, Dağılımı ve Zeta Potansiyeli Üzerine Etkileri	54
4.4.3. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DTK) Analizi.....	55

4.4.4. Infrared (Kızılötesi) Spektroskopisi (FT-IR) Analizi	61
4.4.5. Elektron Mikroskobu Analizi.....	67
4.4.5. Enkapsülasyon Etkinliğinin Hesaplanması	68
4.5. <i>In Vitro</i> Salım Çalışmaları	69
4.6. Stabilité Çalışmaları	71
TARTIŞMA	74
5.1. Yöntemin Validasyonun Değerlendirilmesi.....	75
5.2. Etken Maddenin Özelliklerine Yönelik Bulguların Değerlendirilmesi	76
5.3. Ön Formülasyon ve Formülasyon Çalışmalarının Değerlendirilmesi	77
5.4. Nanopartiküllerin Özelliklerinin Değerlendirilmesi	79
5.4.1. Partikül Boyutu, Dağılımı ve Zeta Potansiyeli Analizi.....	79
5.4.2. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DTK) Analizi.....	81
5.4.3. Infrared (Kızılötesi) Spektroskopisi (FT-IR) Analizi	82
5.4.4. Morfolojik Özellikler	82
5.4.5. Formülasyonların Enkapsülasyon Etkinliğinin Değerlendirilmesi	82
5.4.6. Tramadol Hidroklorür'ün <i>In Vitro</i> Salımının Değerlendirilmesi.....	83
5.5. Formülasyonun Stabilitésinin İncelenmesi	84
SONUÇLAR VE ÖNERİLER	85
KAYNAKLAR	87
ÖZGEÇMİŞ	93

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge 2.1. Tramadol HCl'nin reseptörlere bağlanma aktivitesi.....	12
Çizelge 2.2. Nanopartikül hazırlama yöntemleri	18
Çizelge 2.3. Polimerlerin sınıflandırılması	21
Çizelge 3.1. Tramadol HCl yüklü nanopartiküllerde kullanılacak parametreler	35
Çizelge 4.1. Tramadol HCl'e ait YPSK yöntemi doğruluk değerleri	41
Çizelge 4.2. Tramadol HCl'e ait YPSK yöntemi tekrarelanabilirlik değerleri	41
Çizelge 4.3. Tramadol HCl'e ait YPSK yöntemi tekrar elde edilebilirlik değerleri ..	42
Çizelge 4.4. Tramadol HCl yüklü nanopartiküllere ait hazırlama parametreleri ve sonuçları	50
Çizelge 4.5. Kinetik modellere ait korelasyon katsayısı (r^2) değerleri.....	71
Çizelge 4.6. Saklama sıcaklığının partikül boyutu, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli üzerine etkisi.....	72
Çizelge 4.7. Farklı izotonik ve plazma hacim artırıcı çözeltilerin nanopartiküllerin partikül boyutu, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli üzerine etkisi.....	73
Çizelge 5.1. Tramadol HCl'e ait FT-IR titreşimleri ve dalga sayıları	71

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil 2.1. Tramadol'ün enansiyomerleri ve kimyasal yapısı	10
Şekil 2.2. Polimerik nanopartiküllerin şematik gösterimi.....	16
Şekil 2.3. PLGA'nın hidroliz reaksiyonu.....	22
Şekil 4.1. Tramadol HCl'nin termal analiz grafiği	39
Şekil 4.2. Tramadol HCl'nin FT-IR spektrumu	39
Şekil 4.3. Tramadol HCl'nin YPSK kalibrasyon doğrusu ve denklemi	40
Şekil 4.4. YPSK yöntemiyle 220 nm'de elde edilen Tramadol HCl'e ait pik	43
Şekil 4.5. Hazırlanan nanopartiküllerin homojenizatör süresine göre ortalama partikül büyüklüğü ve polidispersite indeksi değerleri	44
Şekil 4.6. Karıştırma süresi 10 dk olan nanopartiküllerin dağılım grafiği.....	44
Şekil 4.7. Karıştırma süresi 15 dk olan nanopartiküllerin dağılım grafiği.....	45
Şekil 4.8. Karıştırma süresi 20 dk olan nanopartiküllerin dağılım grafiği.....	45
Şekil 4.9. PLGA ve PEG-PLGA nanopartiküllerin ortalama partikül büyüklüğü ve polidispersite indeksi değerleri	46
Şekil 4.10. PLGA ve PEG-PLGA nanopartiküllerin ortalama zeta potansiyel değerleri	46
Şekil 4.11. Etilasetat ve DCM ile hazırlanmış nanopartiküllerin ortalama partikül büyüklüğü ve polidispersite indeksi değerleri.....	47
Şekil 4.12. Etilasetat ve DCM ile hazırlanmış nanopartiküllerin ortalama zeta potansiyel değerleri	47
Şekil 4.13. PVA, TPGS ve Sodyum kolat ile hazırlanan nanopartiküllerin ortalama partikül büyüklüğü ve polidispersite indeksi değerleri	48
Şekil 4.14. PVA, TPGS ve Sodyum kolat ile hazırlanan nanopartiküllerin ortalama zeta potansiyel değerleri.....	48
Şekil 4.15. Etken maddenin farklı miktarları ile hazırlanan nanopartiküllerin ortalama partikül büyüklüğü ve polidispersite indeksi değerleri	49
Şekil 4.16. Etken maddenin farklı miktarları ile hazırlanan nanopartiküllerin ortalama zeta potansiyel değerleri.....	49
Şekil 4.17. PLGA ile hazırlanan nanopartiküllerin ortalama partikül büyüklüğü ve polidispersite indeksi değerleri	51
Şekil 4.18. PLGA ile hazırlanan nanopartiküllerin ortalama zeta potansiyel değerleri	52
Şekil 4.19. PEG-PLGA ile hazırlanan nanopartiküllerin ortalama partikül büyüklüğü ve polidispersite indeksi değerleri.....	52

Şekil 4.20. PEG-PLGA ile hazırlanan nanopartiküllerin ortalama zeta potansiyel değerleri.....	53
Şekil 4.21. PLGA ve PEG-PLGA'nın farklı derişimleri ile hazırlanan nanopartiküllerin partikül boyutu değerleri.....	53
Şekil 4.22. PLGA ve PEG-PLGA'nın farklı derişimleri ile hazırlanan nanopartiküllerin polidispersite indeksi değerleri	54
Şekil 4.23. PLGA ve PEG-PLGA'nın farklı derişimleri ile hazırlanan nanopartiküllerin zeta potansiyel değerleri	54
Şekil 4.24. PVA'nın farklı derişimleri ile hazırlanan nanopartiküllerin partikül boyutu ve polidispersite indeksi değerleri.....	55
Şekil 4.25. PVA'nın farklı derişimleri ile hazırlanan nanopartiküllerin zeta potansiyel değerleri	55
Şekil 4.26. PEG-PLGA'ya ait DTK termogramı	56
Şekil 4.27 PLGA'ya ait DTK termogramı	56
Şekil 4.28. PVA'ya ait DTK termogramı	56
Şekil 4.29. F1 formulasyonuna ait DTK termogramı	57
Şekil 4.30. F2 formulasyonuna ait DTK termogramı	57
Şekil 4.31. F3 formulasyonuna ait DTK termogramı	57
Şekil 4.32. F4 formulasyonuna ait DTK termogramı	58
Şekil 4.33. F5 formulasyonuna ait DTK termogramı	58
Şekil 4.34. F6 formulasyonuna ait DTK termogramı	58
Şekil 4.35. F7 formulasyonuna ait DTK termogramı	59
Şekil 4.36. F8 formulasyonuna ait DTK termogramı	59
Şekil 4.37. F9 formulasyonuna ait DTK termogramı	59
Şekil 4.38. F10 formulasyonuna ait DTK termogramı	60
Şekil 4.39. F11 formulasyonuna ait DTK termogramı	60
Şekil 4.40. F12 formulasyonuna ait DTK termogramı	60
Şekil 4.41. F13 formulasyonuna ait DTK termogramı	61
Şekil 4.42. F14 formulasyonuna ait DTK termogramı	61
Şekil 4.43. PLGA'nın FT-IR spektrumu.....	61
Şekil 4.44. PEG-PLGA'nın FT-IR spektrumu	62
Şekil 4.45. PVA'nın FT-IR spektrumu	62
Şekil 4.46. F1 formulasyonuna ait FT-IR spektrumu	62
Şekil 4.47. F2 formulasyonuna ait FT-IR spektrumu	63
Şekil 4.48. F3 formulasyonuna ait FT-IR spektrumu	63

Şekil 4.49. F4 formülasyonuna ait FT-IR spektrumu	63
Şekil 4.50. F5 formülasyonuna ait FT-IR spektrumu	64
Şekil 4.51. F6 formülasyonuna ait FT-IR spektrumu	64
Şekil 4.52. F7 formülasyonuna ait FT-IR spektrumu	64
Şekil 4.53. F8 formülasyonuna ait FT-IR spektrumu	65
Şekil 4.54. F9 formülasyonuna ait FT-IR spektrumu	65
Şekil 4.55. F10 formülasyonuna ait FT-IR spektrumu	65
Şekil 4.56. F11 formülasyonuna ait FT-IR spektrumu	66
Şekil 4.57. F12 formülasyonuna ait FT-IR spektrumu	66
Şekil 4.58. F13 formülasyonuna ait FT-IR spektrumu	66
Şekil 4.59. F14 formülasyonuna ait FT-IR spektrumu	67
Şekil 4.60. PEG-PLGA nanopartiküllerin PCS sonuçları ve SEM görüntüleri	67
Şekil 4.61. PLGA nanopartiküllerin PCS sonuçları ve SEM görüntüleri	68
Şekil 4.62. PVA'nın farklı derişimlerine göre enkapsülasyon etkinliği sonuçları.....	69
Şekil 4.63. PLGA ve PEG-PLGA'nın farklı derişimlerine göre enkapsülasyon etkinliği sonuçları.....	69
Şekil 4.64. PLGA nanopartiküllere ait kümülatif salım sonuçları	70
Şekil 4.65. PEG-PLGA nanopartiküllere ait kümülatif salım sonuçları	70

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim 3.1. Diferansiyel taramalı kalorimetre (DTK) cihazı.....	27
Resim 3.2. FT-IR spektrofotometresi.....	28
Resim 3.3. YPSK cihazı.....	28
Resim 3.4. Yüksek devirli homejenizatör.....	32
Resim 3.5. Geri çeviren soğutucu (Evaporatör).....	34
Resim 3.6. Santrifüj cihazı.....	34
Resim 3.7. Foton korelasyon spektroskopisi cihazı (PCS).....	35
Resim 3.8. Taramalı elektron mikroskobu (SEM).....	36
Resim 3.9. Çalkalayıcılı su banyosu.....	38



SİMGELER VE KISALTMALAR

5-HT1, 5-HT2, 5-HT3	5-Hidroksitriptamin (Serotonin)
CGRP	Kalsitonin Geni ile İlişkili Peptid
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
DTK	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
EE	Kapsülleme (Enkapsülasyon) Etkinliği
EMA	Avrupa Tıp Ajansı
FDA	Gıda ve İlaç Dairesi
FT-IR	Fourier Transform Infrared (Kızılötesi) Spektroskopisi
IASP	Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği
ICH	Uluslararası Harmonizasyon Konferansı
<i>im</i>	<i>İntramusküler</i>
<i>iv</i>	<i>İntravenöz</i>
NSAİ	Non-Steroidal (Steroid Olmayan) Antiinflatuvar İlaçlar
PCA	Hasta Kontrollü Analjezi
PCS	Foton Korelasyon Spektroskopisi
PDI	Polidispersite İndeksi
PEG-PLGA	Poli (Etilen Glikol)-Poli (Laktik-Ko-Glikolik Asit)
PLGA	Poli (D, L-Laktik-Ko-Glikolik Asit)
PVA	Poli (Vinil Alkol)
<i>sc</i>	Subkütan
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
SS	Standart Sapma
SSS	Santral Sinir Sistemi
Tg	Camsı Geçiş Sıcaklığı
TPGS	D-Alfa Tokoferil Polietilen Glikol 1000 Süksinat
Tramadol HCl	Tramadol Hidroklorür
USP	Amerikan Farmakopesi
VK	Varyasyon Katsayısı
YPSK	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

GİRİŞ

Parenteral ilaçlar, insan veya hayvan vücuduna enjeksiyon, infüzyon veya implantasyon yoluyla uygulanan steril ürünlerdir (1). Parenteral ilaçların steril olması ve sterilitelerini koruyacak şekilde ambalajlanması, pirojen madde içermemesi ve belirli limitlerin üzerinde partiküler madde içermemesi önem taşımaktadır. Parenteral ilaçlar *intravenöz (iv)*, *intramusküler (im)*, *subkütan (sc)*, *intratekal*, *peridural*, *intraperitoneal*, *intraplevral* vb. yollarla uygulanan çözelti, süspansiyon, emülsiyon, süspande edilecek veya çözündürülecek kuru toz dozaj formlarındaki ilaçlardır (2).

Düşük biyoyararlanıma sahip ve dar terapötik aralıklı ilaçlar için parenteral yol en yaygın ve etkili yoldur. Ancak parenteral yol, sistemik ilaç düzeyinde hızlı artışla beraber hızlı düşüşleri de beraberinde getirir. Etkili bir tedavi için sistemik ilaç seviyelerinin terapötik olarak etkili derişim aralığında tutulması istenir ve bu da enjeksiyonların sık aralıklarla tekrarlanması gerektirir (3). Parenteral ilaçların invaziv uygulama şekli en büyük dezavantajı olarak kabul edilmektedir (4). Kronik durumlar söz konusu olduğunda, yıllarca hatta ömür boyu günlük veya daha sık yapılan enjeksiyonlar, hasta uyuncunun azalmasına neden olur. Bu nedenle, tedavi boyunca toplam enjeksiyon sayısını azaltabilen sürekli salım sağlayan ilaçlar, hastanın uyuncunu artırır ve maliyet etkinliği de sağlarlar (3).

Nanopartiküller ilaçların polimerik materyallerle enkapsüle edilmesi veya matriks içinde dağıtılmasıyla elde edilen 1-1000 nm boyutundaki ilaç taşıma sistemleridir (5,6). Nanopartiküler sistemler vücut ortamında parçalanabilir olmalıdır. Nanopartiküllerin parçalanma ürünleri toksik olmamalı, etken maddeyi çevresel etkilere karşı korumalı ve hedef bölgeye taşınmalıdır. Ayrıca nanopartiküllerin ilacın kontrollü veya sürekli bir şekilde salması istenen özelliklerdendir (7,8).

İlaçların etkinliğinin, tolere edilebilirliğinin ve terapötik indeksinin artırılması, yan etki/toksisitenin azaltılması, stabilitenin ve hasta uyuncunun artırılmasında nanopartiküler sistemlerin olumlu sonuçları görülmektedir (9-11).

Partikül büyüklüğü ve büyüklük dağılımı (polidispersite indeksi), yüzey morfolojisi, yüzey yükü, termogram özelliği, ilaç kapsülleme etkinliği (EE) ve ilaç salım profili gibi farmasötik özelliklerin belirlenmesi, hazırlanan nanopartiküllerin değerlendirilmesi için gereklidir (12,13).

Orta ve şiddetli ağrı tedavisinde kullanılan, merkezi sinir sistemi üzerinde etkili olan opioid ve opioid olmayan özellikler gösteren Tramadol hidroklorür (Tramadol HCl), Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmış olan sentetik bir analjezik ilaçtır (14,15).

Oral uygulamadan sonra pik plazma derişimlerine 1-2 saatte ulaşılır ve Tramadol HCl'nin yarı ömrü yaklaşık 6 saattir (14,15,17,18). Tavsiye edilen günlük dozu 100-400 mg arasında olan Tramadol HCl'ün günlük maksimum dozu 400 mg'dır. Tramadol'ün yarı ömrü yaklaşık 5-6 saat olduğundan normal salım tabletler hastaya her 4-6 saatte bir verilmektedir ve bu da ilacın plazma seviyelerinde dip ve tepe noktalara ulaşmasına neden olur (18-20).

Merkezi sinir sistemi, nöromusküler ve gastrointestinal sistem Tramadol HCl kullanımından en çok etkilenen bölgelerdir. Kardiyovasküler, dermatolojik, endokrin, genitoüriner ve görsel sistem de Tramadol HCl kullanımından etkilenir (21). Tramadol HCl'nin yan etki profili sadece opioid agonist etkileriyle değil aynı zamanda monoaminerjik aktivitesiyle de ilgilidir. Mide bulantısı, kusma, baş dönmesi ve uyuşukluk gibi merkezi etkili opioid benzeri etkiler ve baş ağrısı, terleme, ağız kuruluğu ve yorgunluk gibi monoaminerjik etkiler raporlanmıştır (22).

Tramadol HCl'nin yan etkilerinin azaltılması, hasta uyuncunun ve ilacın etki süresinin artırılması amacıyla farklı ilaç taşıyıcı sistemler (*in situ* oluşan nanojel (23), subkütan implant (24,25), suppozituar (26), transdermal yama (27,28), mikroküre (29), lipozom (30), hidrojel (31), niozom (32), mikro ve nanopartikül (33-36), nanofiber (37) vb.) geliştirilmiştir.

Bu tez çalışması ile orta ve şiddetli ağrı tedavisinde kullanılan Tramadol HCl'nin intravenöz yolla uygulanması tasarlanan nanopartikül formülasyonları geliştirilerek, PLGA ve PEG-PLGA polimerleri ile Tramadol HCl içeren

nanopartiküllerin hazırlanması ve işlem parametrelerinin etkilerinin açıklanması, *in vitro* analizlerinin gerçekleştirilerek nanopartikül özelliklerinin belirlenmesi, hazırlanan nanopartiküllerin salım profillerinin belirlenerek Tramadol HCl içeren konvansiyonel enjeksiyonluk bir müstahzar ile karşılaştırılması amaçlanmaktadır.



GENEL BİLGİLER

2.1. Ağrı

Bu bölümde ağrının tanımı, sınıflandırılması, iletimi ve mekanizmaları hakkında bilgi verilecektir.

2.1.1. Ağrının Tanımı ve Sınıflandırılması

Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği (*International Association for the Study of Pain* = IASP) 'ne göre ağrı; vücudun herhangi bir yerinden kaynaklanan, gerçek veya potansiyel doku hasarı ile birlikte seyreden, insanın geçmişteki deneyimleriyle ilgili, hoş gitmeyen duysal ve emosyonel bir duygu olarak tanımlanmıştır (38). Bununla beraber ağrı nörofizyolojik, biyokimyasal, psikolojik, etnokültürel, dinsel, bilişsel, ruhsal ve çevresel bir durumdur. Ağrıya verilen yanıt farklı zamanlarda ve kişiler arasında değişiklik göstermektedir (39).

2.1.1.1. Süresine Göre Ağrı Sınıflandırması

Süresine göre değerlendirildiğinde ağrı; akut ve kronik olarak sınıflandırılmıştır (19).

Akut ağrı: Vücuda zarar veren bir olayın varlığını gösteren, ani olarak doku hasarı ile başlayan, neden olan lezyon ile arasında yer, zaman ve şiddet açısından yakın ilişkinin olduğu, yara iyileşmesi süresince giderek azalan ve kaybolan bir ağrı şeklidir. Nedenleri arasında çeşitli kırık, yanık, travma, enfeksiyon, doku hipoksisi ve enflamasyon sayılabilir. Postoperatif akut ağrı en iyi örnektir (39,40).

Kronik ağrı: 3-6 aydan uzun süre devam eden, uzun süreli tedavi gerektiren, duysal, duygusal, davranışsal ve bilişsel bileşenleri içeren, aynı zamanda refahı ve işlevi olumsuz yönde etkileyen ağrı olarak tanımlanır (41,42). Çeşitli kanser ve kanser dışı ağrılar, nöropatik ağrı, fibromiyalji, osteoartrit ve bel ağrıları kronik ağrı olarak gösterilebilir (39,43). Kronik ağrı dünya çapında en yaygın ve en sık karşılaşılan sağlık sorunlarından biridir (44,45) ve dünyada her 5 yetişkinden 1'inde ağrı olduğu ve her yıl on yetişkinden birine kronik ağrı teşhisi konulduğu tahmin edilmektedir (46). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün Dünya Ruh Sağlığı

Araştırmaları'nda süre ile tanımlanan kronik ağrı prevalansı gelişmiş ülkelerde %37, gelişmekte olan ülkeler için %41'dir (47).

Bireylere ve topluma ciddi fiziksel, psikolojik ve ekonomik bir yük getiren kronik ağrı için yapılan harcamalar sadece sağlık hizmetlerini değil aynı zamanda işteki verimlilik kaybı, vergi gelirleri kaybı, yasal hizmetler ve maluliyet tazminatı gibi dolaylı maliyetleri de içermektedir (48,49).

2.1.1.2. Kaynaklandığı Bölgelere Göre Ağrı Sınıflandırması

Somatik ağrı: Ani başlayan, keskin, iyi lokalize edilen ve daha çok somatik sinir lifleriyle taşınan ağrı tipidir. Sinirlerin yayılım bölgesinde algılanır ve batma, sızlama, zonklama tarzındadır. Genellikle travma, kırık, çıkık gibi durumlarda görülen ağrı somatik ağrı olarak isimlendirilir (39,40).

Viseral ağrı: İç organların veya onları örten oluşumların (*pariyetal plevra, perikard, periton*) fonksiyonlarının bozulması sonucudur. Kimyasal iritanlar, organların ani gerilmesi, aşırı kasılmalar ve kan akımının azalması nedenler arasında sayılabilir. Viseral ağrı yaygın, lokalizasyonu güç, yansıyan tipte olabilir. Kan basıncı ve nabız sayısında değişme, kas rijiditesi ve hiperestezi ile birlikte. İç organlardan kaynaklanan ağrılar genellikle künttür, yavaş yavaş artar, kolay lokalize edilemez, başka bölgelere doğru yayılır; yansıma bölgeleri vardır (39,40).

Sempatik ağrı: Sempatik sinir sisteminin, aktivasyonu ile ortaya çıkan damarsal kökenli ağrılardır. Kompleks bölgesel ağrı bu ağrı tipine bir örnektir. Sempatik kökenli ağrılar diğer ağrılara göre daha farklı özellikler taşır. Primer hastalık geçtikten bir süre sonra, haftalar hatta aylar sonra başlar, şiddeti gittikçe artar. Sempatik ağrıların en önemli özelliklerinden birisi yanma tarzında olmasıdır. Ağrının yanı sıra ekstremitelerde trofik bozukluklar ortaya çıkar (39,40).

2.1.1.3. Mekanizmalarına Göre Ağrı Sınıflandırması

Mekanizmalarına göre ağrı; nosiseptif ağrı, nöropatik ağrı, deaferantasyon ağrısı, reaktif ağrı ve psikosomatik ağrı biçiminde sınıflandırılır.

Nosiseptif ağrı: Latince 'Noci' zarar veya zedelenme anlamındadır. Ağrı, bedenin bir bölgesindeki doku yaralanmasında uyarının özelleşmiş sinir uçları ile alınıp SSS'ye götürülmesi, belirli nöral yapılarda integre edilmesi, bu zararlı tehditin (*noksius*) algılanması, buna karşı fizyolojik, biyokimyasal ve psikolojik önlemlerin harekete geçirilmesidir. Doku hasarına neden olan termal, mekanik ve kimyasal uyaranlara yanıt veren serbest sinir uçlarına "nosiseptör" ve doku hasarı ile ağrının algılanması arasında oluşan elektrokimyasal olaylar serisinin bütününe "nosisepsiyon" denir. Ağrı, nosisepsiyon içinde bir algılama olayıdır. Tüm nosiseptör uyarılar ağrı oluşturur, fakat tüm ağrılar nosisepsiyondan kaynaklanmaz (39,40).

Nöropatik ağrı: Periferik sinirlerde travma veya metabolik bir hastalığın sonucunda nosiseptörlerin doğrudan etki altında kalmasıyla ortaya çıkan bir ağrı çeşididir. Omurilik yaralanması, multipl skleroz, epilepsi ve inme gibi yapısal değişikliklere bağlı ağrılar örnektir. Hoş olmayan uyuşukluk hissi, yanma, elektrik çarpması, karıncalanma gibi hisler mevcuttur. Ağrı, tahribata neden olan olaydan daha sonra ortaya çıkabilir (39,40).

Deafferantasyon ağrısı: Periferik veya merkezi sinir sisteminde ağrı yolları üzerindeki sinir lifleri veya nöronlardaki bozukluğa (tümör tarafından tahrip edilme, diyabetik nöropati ve diğer nöropatiler gibi) bağlı olarak ortaya çıkar (50).

Reaktif ağrı: Vücudun çeşitli olaylara karşı bir reaksiyonu olarak, motor veya sempatik afferentlerin refleks aktivasyonu ile nosiseptörlerin uyarılması sonucu ortaya çıkan künt, derin, sızlayıcı nitelikteki ağrıdır. Halk arasında kulunç olarak bilinen miyofasyal ağrı sendromları reaktif ağrıya örnektir (39,40).

Psikosomatik ağrı: Hastanın anksiyete ve depresyon gibi psikik ya da psikososyal sorunlarını doku hasarı varmış gibi algılayarak ağrı olarak ifade etme durumudur. Bu olaya örnek olarak somatizasyon adı verilen bozukluk verilebilir. Kronik ağrıya bağlı olarak birtakım psikolojik semptomlar ortaya çıkmaktadır (39,40).

2.1.2. Ağrı İletimi ve Mekanizmaları

2.1.2.1. Ağrının İletimi

Ağrının algılanması periferde bulunan ağrıya hassas nosiseptörlerin aktivasyonu veya hasar görmüş dokudan salınan mediyatörler tarafından, medulla spinalise afferent transmisyon ve dorsal boynuz üzerinden yüksek merkezlere ileti aşamaları ile gerçekleşmektedir. Nosiseptörler mekanik, termal ya da kimyasal uyarıları elektrik sinyallerine (impuls) dönüştürür. Ağrı hissini oluşması sadece impulsun kortekse iletilmesi değil, sürecin bir sentez olduğu kabul edilir. Ağrıya sebep olan uyarı 4 aşamada üst merkezlere iletilir

Transdüksiyon: Periferde doku hasarını takiben sinirlerin sensoryel uçlarında ağırlı (mekanik, termal ve kimyasal) uyarıların elektriksel aktiviteye dönüştürüldüğü aşamadır.

Transmisyon: İmpulslarının sensoryel sinir sistemi boyunca A-delta (A- δ) ve C lifleri ile omurilik ve daha üst merkezlere iletilmesidir. Bu aşamada primer sensoryel afferent nöronların, impulsu spinal korda iletmesi, uyarının spinal kordda, assendan ileti sistemi ile beyin sapı ve talamusa iletilmesi ve talamokortikal projeksiyonu sağlanır.

Modülasyon: Nosiseptif transmisyonun omurilikte nöral etkenlerle (endojen mekanizmalarla) değişime uğraması ve düzenlenmesidir. İlk uyarının algılanmasındaki baskılanma ya da büyütme ile ilgili işlemler modülasyon kapsamındadır.

Persepsiyon: Modifiye edilmiş olarak gelen impulsun üst merkezlerde, bireyin psikolojisi ile etkileşimi ve subjektif emosyonel deneyimleri sonucunda gelişen, uyarının algılandığı son aşamadır. Başka bir deyişle ağrının emosyonel ve fiziksel olarak algılanmasıdır (39,40).

Ağrıya çoklu çıkan (aferent) ve inen (eferent) nöral yollar aracılık eder. Aferent yolun tipi, ağrının algılanma şeklini belirler: Miyelinli A δ nöronları boyunca hızlı bir şekilde iletilen sinyaller keskin ve lokalize ağrıya yol açarlar. Buna karşılık,

ağrı sinyalleri miyelinsiz C lifleri boyunca nispeten yavaş hareket eder ve tam olarak lokalize edilmesi zor olabilecek donuk bir ağrı olarak algılanır. Bu primer afferent nöronlar dorsal omuriliğe girerler ve sinyal daha sonra merkezi yollarla beyne iletilir, burada ağrı algılamaya ve hissetmeye yol açar. Ek olarak, ağrının sınırlandırılması ve normal ağrı sürecinin desteklenmesi için önemli olan inen inhibitör ağrı yolağı vardır. Hem çıkan hem de inen (inhibe edici) ağrı sinyallerine, enkefalinler ve endorfinler (endojen opioitler), nöradrenalin ve 5-hidroksitriptamin (5-HT, serotonin) dahil olmak üzere karmaşık nörotransmitter kombinasyonları aracılılık eder. Dolayısıyla, analjezik tedavi için afferent sinyallerin inhibe edilmesi ya da inhibe edici efferent sinyallerin artırılması gibi birçok potansiyel hedef vardır (51).

2.1.1.4. Ağrı Mekanizmaları

Periferik mekanizmalar: Vücutta herhangi bir bölgede doku hasarı veya inflamasyon sebebiyle nosiseptif ağrı oluşabilir. Hasarlı bölgede immün hücrelerden salınan kalsitonin geni ile ilişkili peptid (CGRP), nörokinin A, histamin, bradikinin, P maddesi ve prostaglandin gibi maddeler, periferik nosiseptörleri uyarak spinal korda ağrı impulslarının iletilmesine sebep olur. Ayrıca, ortamdaki bu kimyasal mediyatörler, kapiller permeabiliteyi etkilerler ve vazodilatasyona sebep olurlar. Bunun sonucunda dokuda dem ve hassasiyetler oluşur. Nosiseptif ağrının dem ve hassasiyet ile hatırlanması bu sebeptendir (52).

Santral mekanizmalar: Omurilik, periferik nosiseptrlerden gelen ağrı sinyallerini çıkan yollar aracılığıyla üst merkezlere iletme görevini yapar. Kortekse gelen bu sinyaller, üst merkezlerde değerlendirilir ve sonra beyin sapı vasıtasıyla spinal korda geri dönerek ağrıyı kontrol eden inen yolları oluşturur. İnen yollarda nöradrenalin, serotonin ve dopamin gibi monoaminler kullanıldığı için bu yol monoaminerjik bir yolaktır. Bu yollar sadece ağrıyı azaltan özellikte değildir, ayrıca ağrıyı reseptör alt tipi ve baskın monoamin tipine göre arttırabilmektedir. Bu yüzden, bu yolak modülasyon yolağı olarak da adlandırılır. Örneğin; serotonin 5 HT1 reseptörü üzerinden inhibitör etki sağlarken 5 HT2 ve 5 HT3 üzerinden fasilitr etki gösterir. Nradrenalin ise sadece inhibitör etkiye sahiptir (52,53).

2.1.2. Ağrı Tedavisi

Ağrı tedavisinde analjezik etkinlik sağlayan non-steroidal (steroid olmayan) antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİ) kullanılmaktadır. NSAİ ilaçlar farklı mekanizmalarla analjezik, antiinflamatuvar ve antipiretik etkiler gösterirler. Aspirin, parasetamol, metamizol, ibuprofen, naproksen, diklofenak, indometazin, ketorolak, piroksikam, tenoksikam, etodolak, meloksikam NSAİ ilaçlardan bazılarıdır (50).

Opioid analjezikler ya da narkotik analjezikler olarak da adlandırılan ilaçlar merkezi sinir sistemi (SSS)'ni opioid reseptörleri (mü (μ), delta(δ), kappa (K), sigma (σ)) etkileyerek güçlü analjezik etki gösterir ve ilaç bağımlılığı yapma potansiyeline sahiptir. NSAİ ilaçlardan farklı olarak antipiretik ve antiinflamatuvar etkileri yoktur. Kanser ağrıları, metastatik karsinom, terminal hastalıklar, kırık, çıkık, yaralanma, uzuvların kopması, ezilmesi, yanıklar, travmalar, miyokard enfarktüsü gibi akut ve şiddetli ağrılar ile postoperatif ağrılarda opioid analjezikler kullanılmaktadır (50).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) analjezik merdiveni, sağlık hizmeti sağlayıcılarının kronik ağrı çeken hastalar için tedavi planları geliştirirken kullanabilecekleri bir çerçeve sunmaktadır. Analjezik merdiven, ağrı tedavisinde Adım 1'in basit, opioid olmayan bir NSAİ ilaç ile başlamasını önermektedir. Ağrı yeterince kontrol edilemezse, 2. Adım, hafif ila orta şiddette ağrı için (örneğin, tramadol veya kodein) göz önünde bulundurulması gereken zayıf bir opioid analjezik kullanılmasını gerektirir. Aşama 2 analjezik ile tedavi yeterli değilse, Aşama 3'te ise daha güçlü bir opioid (örneğin morfin, fentanil) verilebileceğini tavsiye eder. Analjezik merdiven ayrıca nöropatik ağrı için veya kanserle ilişkili semptomlar için adjuvan tedaviler (antikonvülzan ve antidepresanlar gibi) ekleme olasılığını da içerir (19,54).

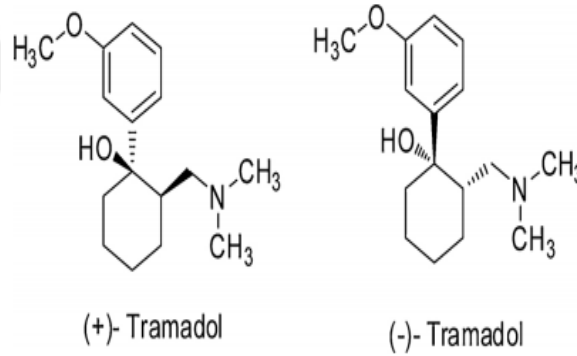
2.2. Tramadol Hidroklorür

Bu bölümde etken madde olarak seçilmiş olan Tramadol HCl'ye ait bilgiler verilecektir.

2.2.1. Etken Maddeye Ait Genel Bilgiler ve Fizikokimyasal Özellikler

Tramadol hidroklorür (Tramadol HCl), esas olarak merkezi sinir sistemi üzerinde etkili olan opioid ve opioid olmayan özellikler gösteren sentetik bir analjezik ilaçtır. 1962 yılında Almanya’da ilk kez sentezlenmiş, ancak 1995’te orta ve şiddetli ağrı tedavisi için Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmıştır (14,15). Ameliyat sonralarında, kanser ağrılarında, jinekolojik, obstetrik ve nöropatik (55,56) ağrılarda, osteoartrit (57) ve fibromiyalji (58) gibi çeşitli akut ve kronik orta şiddetli ağrıların tedavisinde oral, intramusküler veya intravenöz olarak kullanılır (24,31,55-58). Türkiye’de Tramadol HCl, enjeksiyonluk ampul (*im*, *sc*, *iv*), oral damla, konvansiyonel kapsül ve uzun salımlı tablet formlarında yeşil reçeteli ilaçlar kategorisinde temin edilebilir (20).

Kodeinin sentetik bir 4-fenil-piperidin analogu olan Tramadol, (+) ve (-) enansiyomerlerinin rasemik bir karışımıdır ve hidroklorür tuzu şeklinde bulunur (59).



Şekil 2.1. Tramadol’ün enansiyomerleri ve kimyasal yapısı (15,56).

Tramadol ilk olarak 1962 yılında Almanya’da Grünenthal GmbH ilaç firması tarafından sikloheksanon ve 3-metoksifenilmagnezyum bromürün bir Grignard reaksiyonu ile birleştirilmesiyle sentezlenmiştir (18).

(1RS,2RS) - 2 - [(dimetilamino) metil] - 1 - (3-metoksifenil) sikloheksanol hidroklorür (1:1) kimyasal yapısına sahip olan Tramadol HCl ($C_{16}H_{26}ClNO_2$), erime derecesi $180^{\circ}C-181^{\circ}C$ aralığında, molekül ağırlığı 299,84 g/mol, pKa’sı 9,41 olan hidrofilik özellikte beyaz renkte kristal toz halde bir etken maddedir (14). Suda ve metanolde kolay çözünür, asetonda çok az çözünür (60) ve n-oktanol / su ayrılma

katsayısı (logP) pH 7.0'da 1.35'tir (30). Tramadol HCl'nin kimyasal analizi için infrared spektroskopisi, kütle spektrometresi, gaz ve likit kromatografisi teknikleri kullanılabilir (18).

2.2.2. Farmakokinetik ve Farmakodinamik Özellikleri

Absorpsiyon: Tramadol HCl, oral, rektal ve im uygulamadan sonra neredeyse tamamen emilir. Ortalama biyoyararlanım mevcut gıda alımına bakılmaksızın %70'tir. Oral, rektal ve im uygulamadan sonra pik plazma derişimlerine sırasıyla 1-2 saat, 3 saat ve 45 dakikada ulaşılır. Uzun salımlı preparatlar daha düzgün bir plazma derişim profili sergiler. Tek doz oral uygulamadan sonra (100 mg) Tramadol HCl 'ün plazma doruk derişimleri 0.31 ± 0.08 mg / L'dir. O-desmetiltramadolun pik plazma derişimleri genellikle ana etken maddenin %15-25'idir (14,15,17,18).

Dağılım: Tramadol HCl'nin dağılım hacmi 100 mg'lık bir iv dozu takiben yaklaşık 2.6-2.9 L / kg vücut ağırlığıdır. Plazma proteinlerine bağlanması yaklaşık %20'dir.

Metabolizma ve Eliminasyon: Tramadol HCl, karaciğerde demetilasyon, oksidasyon ve konjugasyon (sülfatasyon ve glukuronidasyon) ile metabolize edilir. Bununla birlikte, di ve tri-desmetil türevleri dahil olmak üzere O-desmetiltramadol (M1) ve N-desmetiltramadol (M2) metabolitleri oluşur. O-demetilasyon temel olarak hepatik enzim sitokrom P450 2D6 (CYP2D6) ve N-demetilasyonu sitokrom P450 3A4 (CYP 3A4) ile meydana gelir. Tüm metabolitler sonunda idrarla atılmadan önce glukuronik asit ve sülfat ile konjuge edilir. Oral Tramadol HCl idrar (%90) ve dışkıdan (%10) elimine edilir. Oral dozun yaklaşık %30'u idrarla değişmeden ve %60'ı da serbest ve konjuge metabolitler formunda atılır.

Uygulama şekli ne olursa olsun, Tramadol HCl'nin yarı ömrü yaklaşık 6 saattir ve O-desmetiltramadol için ise yaklaşık 8 saattir. Karaciğer veya böbrek fonksiyonlarında azalma olan insanlarda yarı ömür uzayabilir (14,15,17,18).

2.2.3. Etki Mekanizması

Tramadol HCl'nin analjezik etkisinin μ -opioid sistemi, noradrenerjik ve serotonerjik sistemi içeren multimodal bir mekanizmada üretildiği görülmektedir. Tramadol, serotonin ve nöradrenalinin geri alım inhibitörü olarak hareket eder ve O-desmetiltramadol (M1) metaboliti, bir μ -opioid reseptör agonisti olarak ana etken maddeden daha aktiftir. (+)- Tramadol serotonin geri alım inhibisyonundan, (-)- Tramadol nöradrenalin geri alım inhibisyonundan ve O-desmetiltramadol (M1) metaboliti, birincil olarak μ -opioid reseptörüne agonist aktiviteden sorumludur. Bu da Tramadol HCl'nin opioid ve opioid olmayan analjezi etkinliğini açıklamaktadır (15,17,18).

Çizelge 2.1. Tramadol HCl'nin reseptörlere bağlanma aktivitesi (59,61).

İlaç adı	Opioid reseptörlere bağlanma	Geri-alım inhibisyonu	
	μ reseptör	Noradrenalin	Serotonin
+/- Tramadol	++	+++	+++
+ Tramadol	+++	++	+++
- Tramadol	+	+++	++
M1 metabolit	++++		
Morfin	+++++		
Kodein	++		

+: agonist

(+) 5–10 $\mu\text{mol.L}^{-1}$; (++) 1–5 $\mu\text{mol.L}^{-1}$; (+++) 0.1–1 $\mu\text{mol.L}^{-1}$; (++++) 0.001–0.1 $\mu\text{mol.L}^{-1}$; (+++++) 0.0001–0.001 $\mu\text{mol.L}^{-1}$.

2.2.4. Klinik Kullanımı ve Yan Etkiler

Tramadol, hidroklorür tuzu şeklinde oral (tablet, kapsül, damla) ve *iv*, *sc* ve *im* uygulama için çeşitli farmasötik formülasyonlarda piyasaya arz edilmiştir. Ayrıca parasetamol ile birlikte olan formlarına da ulaşılabilir. Türkiye'de normal salım ve uzatılmış salımlı formülasyonlar mevcuttur:

- 50 mg kapsül
- 100 mg uzatılmış salım tablet
- 37.5 mg Tramadol HCl+ 325 mg Parasetamol tablet
- 100 mg/mL oral damla

- 50 mg/mL enjeksiyonluk ampul (62).

Tramadol HCl ameliyat sonralarında hastaların ağrı hissettikçe kendilerine uygulama imkanı veren hasta kontrollü analjezi (PCA) yöntemi ile de kullanılmaktadır (17,63).

Tavsiye edilen günlük doz 100-400 mg arasındadır. Maksimum doz günde 400 mg'ı geçmemelidir. Tramadol'un yarı ömrü yaklaşık 5-6 saat olduğundan normal salım tabletler her 4-6 saatte bir verilmelidir ve bu da ilacın plazma seviyelerinde dip ve tepe noktalara ulaşmasına neden olur. Uzatılmış salım formları her 12-24 saatte bir verilmelidir (18-20).

Tramadol HCl kullanımından en çok merkezi sinir sistemi, nöromusküler ve gastrointestinal sistem etkilenir. Kardiyovasküler, dermatolojik, endokrin, genitoüriner ve görsel sistem de Tramadol HCl kullanımından etkilenir (21). Tramadol HCl'nin yan etki profili sadece opioid agonist etkileriyle değil aynı zamanda monoaminerjik aktivitesiyle de ilgilidir. Mide bulantısı, kusma, baş dönmesi ve uyuşukluk gibi merkezi etkili opioid benzeri etkiler ve baş ağrısı, terleme, ağız kuruluğu ve yorgunluk gibi monoaminerjik etkiler raporlanmıştır (22).

Tramadol HCl'nin terapötik kullanımının olumsuz reaksiyonları mide bulantısı ve baş dönmesi (hastaların %10'undan fazlası), uyuşukluk, yorgunluk, baş ağrısı, artan terleme, kusma, ağız kuruluğu, kabızlık (%1-10), kardiyovasküler düzensizlikler (çarpıntı, taşikardi, postural hipotansiyon - özellikle hızlı iv uygulamadan sonra) ve ishal (%0.1-1)dir. Solunum depresyonu, epileptik konvülsiyonlar, titreme, bradikardi, halüsinasyonlar ve anksiyete ise nadir görülen belirtilerdir (%0.01-0.1) (18,61).

Tramadol HCl'i aşırı dozda alan hastalarda, antidepresanlarla birlikte alanlarda veya epilepsi hastalarında önerilen dozda bile serotonin ve nöradrenalin geri alımının inhibisyonu, hastalarda nöbet ve serotonin sendromunun tetiklenmesine neden olabilir (14).

Tramadol HCl ile doz aşımında, en sık görülen semptomlar uyuşukluk (hastaların %30'u), bulantı (%14), taşikardi (%13), ajitasyon (%10), nöbetler (%8),

koma (%5), hipertansiyon (%5) ve solunum depresyonu (%2) olarak verilmiştir (63). Fareler için Tramadol HCl'nin öldürücü dozu LD₅₀:350 mg/kg (oral)'dir (14). Tramadol HCl'nin bağımlılık ya da kötüye kullanım riski düşüktür (7).

2.3. Sürekli Salım Sağlayan Parenteral Formülasyonlar

Sürekli salım sistemler, etken maddenin plazma ve doku seviyelerini konvansiyonel dozaj şekillerine göre çok daha uzun süre devam ettirebilen formülasyonlardır. Ancak bu sistemler ortamdaki ilaç derişiminden etkilenir ve birinci derece kinetikle uyumlu salım profili gösterirler. Amerikan Farmakopesi'nde salımı değiştirilmiş sistemler değiştirilmiş salım sistemleri (modified release systems) olarak adlandırılmış ve iki ana grup altında sınıflandırılmıştır:

- a) Geciktirilmiş salım sistemleri (delayed release systems)
- b) Uzatılmış salım sistemleri (extended release systems)
 - i. Kontrollü salım sistemleri (controlled release systems)
 - ii. Sürekli salım sistemleri (sustained release systems)

Geciktirilmiş salım sistemlerde etken madde salımı belli bir bölgede gerçekleşmektedir. Enterik kaplı tabletler bu salım sistemine örnektir. Kontrollü salım sistemlerde ise etken maddenin salımı ortam koşullarından etkilenmez ve konvansiyonel dozaj şekillerine göre çok daha uzun süre devam ettirilebilir. Sürekli salım sistemlerden farklı olarak salım hızları önceden planlanan ve sıfırıncı derece kinetiğe göre gerçekleşen formülasyonlardır (7,8).

Sürekli salım sağlayan parenteral formülasyonlar polimerik veya lipid bazlı mikro ve nanopartiküller, mikroküreler, nanoküreler, *in situ* oluşan sistemler, hidrojeller ve nanofiberler gibi çeşitli şekillerde elde edilebilirler (3,4).

2.3.1. Sürekli Salım Sistemlerin Üstünlükleri

Sürekli salım sağlayan ilaç taşıma sistemleri konvansiyonel dozaj şekillerine göre bazı üstünlüklere sahiptir:

- Sürekli salım sistemlerde bir dozun uygulanmasından sonra ilacın plazma düzeyi belirli bir süre (10-12 saat, bir gün, bir hafta veya bir yıl) sabit kalır.

Tedavi oldukça düşük dozlarla sağlanabilir ve dozlama sıklığı, tedavinin etkinliğinden ödün verilmeden azaltılabilir.

- Düşük dozlarla tedavi sağlanabildiği ve sürdürülebildiği için etken maddenin yan ve toksik etkileri azalır veya tamamen ortadan kalkar.
- İlaç kullanımı sırasında yaşanan sorunlar (gece ilaç kullanma, unutma riski, kısa zaman aralıklarında ilaç kullanma durumları) ortadan kalkar. Tedavi sırasında ilacın yan ve toksik etkilerinin görülmemesi, sık sık ilaç alınmaması hastaya ve hasta bakımı yapanlara kolaylık sağlar.
- Sürekli salım sistemlerde *in vivo* yarılanma ömrü kısa olan ilaçların parçalanmaları önlenerek yarılanma ömürleri uzatılır.
- Sürekli salım sistemler terapötik indeksi dar olan etken maddeler için uygundur.
- Terapötik bir tepkinin istendiği bölgeye, örneğin ağırlı eklemlere kortikosteroidlerin enjekte edilmesi veya göz içi uygulamalarda ilacın enjekte edilerek sistemik toksisitenin en aza indirilmesi ve etkinliğin artırılması sağlanabilir (8,64, 5).

2.3.2. Sürekli Salım Sistemlerin Sakıncaları

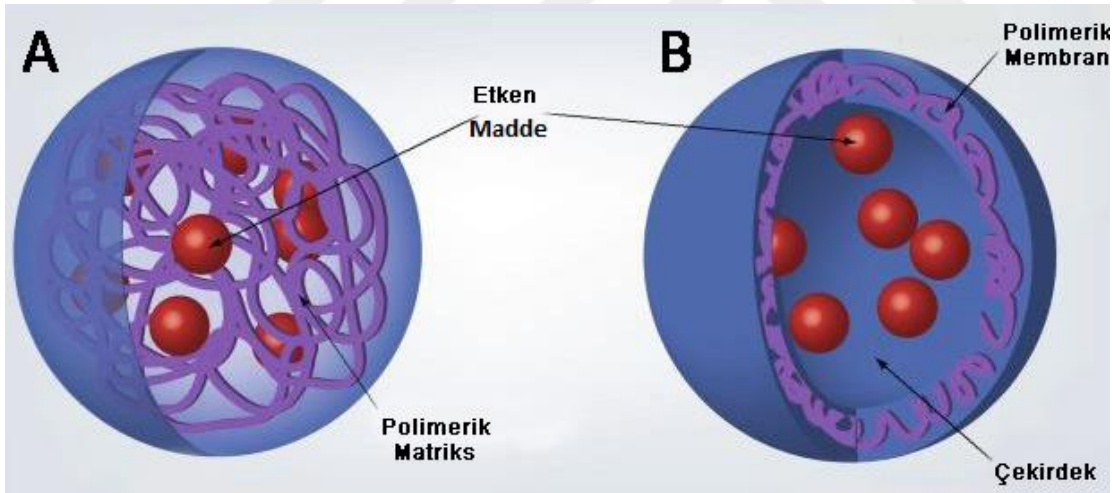
Sürekli salım sağlayan sistemlerle ilgili birtakım sakıncalar da mevcuttur:

- Sistem vücut içerisinde iken istenilen anda tedavi sonlandırılmaz.
- Sistemin hazırlanmasında kullanılan polimerlerin kendilerinin veya parçalanma ürünlerinin toksik etki veya biyolojik uyumsuzluk gösterebilir.
- Birden fazla hazırlama yönteminin bulunması optimum formülasyonun seçiminde zorluklar getirebilir.
- Her etken madde sürekli salım sağlayan formülasyonda hazırlanmaya elverişli değildir.
- Polimer veya sistemin formülasyon geliştirme maliyetleri yüksektir.
- Sistemin güvenilirliği her zaman garanti edilemez (8,65).

2.3.3. Nanopartiküller

Nanometre metrenin milyarda biridir ve Yunanca'da cüce anlamına gelen “nanos” kelimesinden gelmektedir. İlk defa 1974 yılında, Tokyo Üniversitesi'nde Norio Taniguchi tarafından nano boyuttaki materyalleri ifade etmek için nanoteknoloji terimi kullanılmıştır (12).

İlaçların genellikle polimerik materyallerle enkapsüle edilmesi veya matris içinde dağıtılmasıyla elde edilen 1-1000 nm boyutundaki ilaç taşıma sistemlerine nanopartikül denilmiştir (5,6). Nanopartikül terimi, hem nanoküreler hem de nanokapsüller için kullanılabilen ortak bir isimdir (66). Nanoküreler matris tipinde genellikle küresel yapıdaki parçacıklardır. İlaçlar, küre yüzeyinde adsorbe edilebilir veya parçacık içinde kapsüllenebilir. Nanokapsüller, ilacın, polimerik zarla çevrili bir boşluğa konulduğu sistemlerdir (5,66).



Şekil 2.2. Polimerik nanopartiküllerin şematik gösterimi A) Nanoküre B) Nanokapsül (67).

Nanopartiküller antikanser ilaçlar, immünomodülatörler ve hormonlar gibi çeşitli ilaç sınıfları ve nükleik asitler, proteinler, peptitler ve antikorlar gibi makromoleküller için potansiyel bir taşıyıcı görevi görür (68).

Nanopartiküller, çeşitli ilaçların ve biyoaktif bileşiklerin terapötik özelliklerini geliştirmek için yaygın olarak kullanılır. Nano kapsülleme, molekülleri erken bozulmadan korur, etkinliğini artırır, kontrollü veya sürekli ilaç salımı ya da ilaç hedeflemesine olanak sağlar. İlacın farmakokinetik parametreleri, nanopartiküller içine yüklendiğinde değiştirilir. Özellikle, klerensin azalmasıyla emilimde, biyoyararlanımda ve plazma dolaşım süresinde değişimler olur ve sonuçta ilacın ortalama yarı ömrü artar (69).

Nanopartiküler sistemler, ilaçların etkinliği, özgüllüğü, tolere edilebilirliği ve terapötik indeksinin artırılması, yan etki/toksisisitenin azaltılması, stabilitenin ve hasta uyuncunun artırılmasında olumlu sonuçlar vermektedir (9-11).

Nanopartiküllerin partikül büyüklüğü, yüzey yükü, hidrofobiklik gibi fizikokimyasal parametreleri ilacın farmakokinetiğini etkileyerek, ilacın biyoyararlanımını ve özellikle biyodağılımını ve nanopartikülün hedefleme kapasitesini etkiler (66,68,69). Ayrıca partikül büyüklüğü ve nanopartiküllerin yüzey yükü nedeniyle transfer edilen etken madde miktarı değişebilir (70).

Hazırlanan nanopartiküler sistemlerin vücut ortamında parçalanması, parçalanma ürünlerinin toksik olmaması, etken maddeyi çevresel etkilere karşı koruması ve hedef bölgeye taşınması, ilacı kontrollü veya sürekli bir şekilde salması istenmektedir. Bunun yanı sıra bu sistemler dayanıklı olmalı ve gerektiğinde sterilize edilebilmelidirler (7,8).

Biyolojik dokularda nanopartiküllerden ilacın salınması genellikle üç farklı fizikokimyasal mekanizma yoluyla gerçekleşir:

1. Polimerik nanopartiküllerin hidrasyonla şişerek ilacın difüzyon ile salınması.
2. Enzimatik bir reaksiyonla polimerin yırtılması, parçalanması veya bozulmasıyla ilacın tutulduğu iç kısımdan salınması.
3. Şişen nanopartiküllerde ilacın polimerden salınması/ayrılması (5).

2.3.3.1. Nanopartikül Hazırlama Yöntemleri

Nanopartiküllerin hazırlanmasında kullanılacak ilaç, polimer veya monomerin özelliklerine göre farklı yöntemler kullanılabilir. Nanopartikül hazırlama yöntemlerini Çizelge 2.2'deki gibi monomer polimerizasyonu ve polimer dispersiyonu olmak üzere iki ana başlık altında sınıflandırabiliriz.

Çizelge 2.2. Nanopartikül hazırlama yöntemleri (5,66).

Nanopartikül Hazırlama Yöntemleri	
Monomer Polimerizasyonu	Polimer Dispersiyonu
Emülsiyon Polimerizasyonu	Emülsiyon Oluşturma/Çözücü buharlaştırma (emülsifikasyon solvant evaporasyon)
Miniemülsiyon	Tuzla çöktürme (salting out)
Mikroemülsiyon	Nanoçöktürme (nanopresipitasyon)
	Diyaliz
	Süperkritik Sıvı Teknolojisi

2.3.3.1.1. Monomer Polimerizasyonu

Bu yöntemde nanopartikül oluşumu polimerlerin yapıtaşı olan monomerlerin polimerizasyonu ile sağlanır. Emülsiyon polimerizasyonu, miniemülsiyon ve mikroemülsiyon gibi farklı teknikleri vardır (66). Emülsiyon polimerizasyonu işleminde emülgatör maddelerin oluşturduğu miseller içinde polimerizasyon gerçekleşir. Misellerin içine difüze olan monomerler polimerizasyon başlatıcı moleküllerin etkisiyle polimerleşir ve nanopartiküller oluşur (67). Mini emülsiyon polimerizasyonunda kullanılan tipik formülasyon, su, monomer karışımı, ko-stabilizatör, yüzey etken madde ve başlatıcıdan oluşur. Emülsiyon polimerizasyonu ve mini emülsiyon polimerizasyonu arasındaki temel fark, ko-stabilizatör olarak düşük molekül ağırlıklı bir bileşiğin kullanılmasıdır. Mikro-emülsiyon polimerizasyonunda, suda çözünür bir başlatıcı, şişmiş misel içeren termodinamik

olarak stabil bir mikro-emülsiyonun sulu fazına ilave edilir. Her iki yöntem de yüksek molar kütleli koloidal polimer parçacıkları üretebildiği için emülsiyon ve mikro emülsiyon polimerizasyonu benzer görünse de, kinetik olarak karşılaştırıldığında tamamen farklıdır. Emülsiyon polimerizasyonu üç reaksiyon hızı aralığı sergiler, oysa mikro emülsiyon polimerizasyonunda sadece iki tanesi tespit edilir. Hem partikül büyüklüğü hem de partikül başına ortalama zincir sayısı mikro emülsiyon polimerizasyonunda oldukça küçüktür (66).

2.3.3.1.2. Polimer Dispersiyonu

Bu yöntemde nanopartikül oluşturma işleminde herhangi bir polimerizasyon aşaması yoktur. Önceden hazırlanmış veya ticari olarak temin edilmiş olan polimerler ile aşağıdaki yöntemler ve uygun çözücüler kullanılarak nanopartikül elde edilebilir.

Emülsiyon oluşturma-çözücü buharlaştırma yöntemi: Bu yöntem için ilk kez 1979 yılında ABD’de patent alınmıştır (71). Emülsiyonun oluşturulması ve çözücünün buharlaştırılması olarak iki temel aşama içerir. Emülsiyon oluşturmada ilaç ve polimerin çözünürlük özelliklerine göre tekli (yağ/su veya su/yağ) veya çoklu emülsiyonlar (su/yağ/su) yüksek enerjili homojenizasyon ve bir stabilizan madde yardımı ile oluşturulur. Organik faz, karıştırılarak uygun bir stabilizan maddenin sulu çözeltisi ile emülsifiye edilir. İkinci aşamada, polimer çözücü (organik çözücü) basınç altında sıcaklık arttırılması veya sürekli karıştırılması yoluyla buharlaştırılarak ilacın polimer matriks ağında ince bir şekilde dağıldığı nanopartiküller sulu dispersiyon halinde elde edilir (6,12,72).

Tuzla çöktürme: 1988 yılında patenti alınmış olan bu yöntemde polimer suyla karışabilen bir organik çözücüde çözülerek elektrolit ve koloidal stabilizan içeren sulu faza aktarılır ve mekanik karıştırıcı ile emülsiyon oluşumu sağlanır. Oluşan bu emülsiyon seyreltilerek organik fazın su fazına difüzyonu sağlanır ve nanopartiküller oluşturulur. Elektrolitler ve organik faz ise ortamdan uzaklaştırılır (73).

Nanoçöktürme: 1989 yılında patenti alınmış olan bu yöntem aynı zamanda çözücü yer değiştirme yöntemi olarak da adlandırılır. Suyla karışabilen bir polimerin organik çözeltilen çökertilmesini ve organik çözücünün, bir sürfaktan varlığında sulu ortama difüzyonu bu tekniğin temel prensibidir. Nanopartiküller hızlı solvent difüzyonu ile anında oluşur. Son olarak, çözücü düşük basınç altında uzaklaştırılır (5,66,72).

Diyaliz: Diyaliz yönteminde polimer organik bir çözücü içinde çözülür ve uygun molekül ağırlığı aralıklı bir diyaliz tüpünün içine yerleştirilir. Diyaliz, organik çözücü ile karışabilen ve çözücü olmayan maddeye karşı gerçekleştirilir. Çözücü zarın içinde yer değiştirir, çözünürlüğün azalmasıyla nanopartiküllerin homojen süspansiyonları oluşur. Diyaliz yöntemiyle nanopartikül elde edilme mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Nanoçöktürmeye benzer bir mekanizmaya dayanabileceği düşünülmektedir (5,66).

Süperkritik akışkan teknolojisi: Polimer ve ilacın çözeltilisini oluşturmak için süperkritik bir akışkan içinde çözülür, ardından çözelti özel bir cihaz vasıtasıyla püskürtülür. Çözeltinin çözücülüğü azaltılarak nanopartiküllerin çökmesi sağlanır. Pahalı bir yöntemdir (12).

2.3.3.2. Nanopartikül Hazırlanmasında Kullanılan Polimerler

Polimerler monomer olarak adlandırılan küçük moleküllerin polimerizasyon işlemi ile bir araya getirilerek çok sayıda tekrarlayan birimden oluşmuş makromoleküllerdir (12). Polimerik ilaç taşıyıcıları, aktif maddenin orijinal farmakokinetiğini ve biyo-dağılımını değiştirebilir, böylece etkinliği artırırken ve sistemik yan etkileri azaltırken, hedeflenen dokudaki ilaç konsantrasyonunu yükseltir (74). Bu önemli hedeflere ulaşmak için, nanopartikül hazırlanmasında ilaç taşıyıcı olarak kullanılacak polimerler biyoçözünür/biyouyumlu olmalı; toksik, trombojenik, immünojenik ve mümkünse pahalı olmamalıdır. Polimerler elde edilmişlerine göre doğal veya sentetik polimerler olarak sınıflandırılırlar (75,76).

Polimerlerin biyolojik ortamda parçalanması, hidrolitik veya enzimatik mekanizmalarla veya her iki mekanizmanın da etkisiyle gerçekleşmektedir (7).

Biyoparçalanır maddeler doğal veya sentetik kaynaklıdır ve *in vivo* ortamda enzimatik veya enzimatik olmayan yollarla biyoyumlu, toksikolojik açıdan güvenli yan ürünlere indirgenir (77). Biyoparçalanabilen ve biyoparçalanamayan polimerler Çizelge 2.3'te belirtilmiştir.

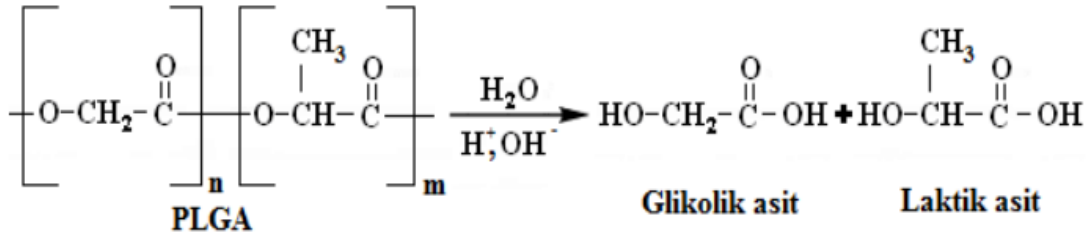
Çizelge 2.3. Polimerlerin sınıflandırılması (12).

Polimerlerin Sınıflandırılması					
Doğal Polimerler		Sentetik Polimerler			
		Biyoparçalanabilen Polimerler		Biyoparçalanamayan Polimerler	
Protein bazlı polimerler	Kollajen, Albumin, Jelatin	Poliesterler	Poli (hidroksi bütirat), Poli (laktik asit), Poli (glikolik asit), Poli (laktik-ko-glikolik asit), Poli (ϵ -kaprolakton), Poli (β -malik asit)	Akrilik Polimerler	Poli (hidroksi-etil-metakrilat), Poli (hidroksietoksi-etilmetakrilat), Poli (metoksi-etil-metakrilat), Poli (metakrilik asit)
Polisakkaritler	Agaroz, Aljinat, Hiyaluronik Asit, Dekstran, Kitin ve Kitozan	Polianhidritler	Poli (sebazik asit), Poli (adipik asit), poli (terftalik asit)	Selüloz Türevleri	Selüloz asetat, Selüloz asetat bütirat, Etil selüloz.
		Poliamiditler	Poli (amino asitler), Poli (imino karbonatlar)	Silikonlar	Polidimetilsiloksan, Kolloidal silika
		Fosfor bazlı polimerler	Polifosfatlar, Polifosfonatlar,	Diğerleri	Poli vinil pirolidon, Etil vinil asetat, Poloksamerler
		Diğerleri	Poli (siyano akrilatlar), Poliüretanlar, Poli orto esterler,		

Poli (D, L-laktik-ko-glikolik asit) (PLGA): PLGA, Poli laktik asit (PLA) ve Poli glikolik asitin (PGA) bir kopolimeridir (77). Biyobozunurluk ve biyoyumluluğu sayesinde PLGA'nın, insanlarda çeşitli ilaç dağıtım sistemlerinde kullanılması Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) ve Avrupa Tıp Ajansı (EMA) tarafından onaylanmıştır (78).

PLGA kopolimerlerinin biyobozunurluk hızı, polimer zincirindeki laktik ve glikolik asitlerin molar oranına, polimerin moleküler ağırlığına, kristallik derecesine ve polimerin molekül ağırlığına bağlıdır. PLGA'nın biyolojik ortamda dağılımı ve

farmakokinetiği doğrusal olmayan ve doza bağlı bir profil izler (77). PLGA polimeri, vücutta laktik ve glikolik asitlere ayrışır. Laktik asit, trikarboksilik asit döngüsüne girer ve metabolize edilir (Şekil 2.3) ve daha sonra karbon dioksit ve su olarak vücuttan atılır (79,80). Bu asidik yan ürünlerin toksik olmaması ve normal metabolik yollar ile uzaklaştırılabilmesi dikkat çekicidir (81).



Şekil 2.3. PLGA'nın hidroliz reaksiyonu (82).

Poli (etilen glikol)-poli (laktik-ko-glikolik asit) (PEG-PLGA): PEG ve PLGA'nın kopolimerleri olan PEG-PLGA, mükemmel biyobozunurluk ve biyouyumlulukları nedeniyle FDA tarafından onaylanmıştır ve vücutta hidrolizden sonra açığa çıkan ürünler toksik olmadığı için insanlarda ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanımı güvenlidir (83,84). PEG-PLGA kopolimerleri sürekli salım ilaç taşıyıcı sistemlerinde yaygın şekilde kullanılmaktadır (83-85).

PLGA / PEG blok kopolimerleri, hem üçlü blok moleküller ABA (PLGA-PEG-PLGA) ve BAB (PEG-PLGA-PEG) tiplerinde veya ikili blok (PLGA-PEG) tiplerinde olabilir. İki bloklu tiplerde, PEG zincirleri kendilerini misellerin dışındaki harici sulu faza doğru yönlendirir, böylece bir dış PEG tabakası oluşturur. Bu PEG katmanı bir bariyer görevi görür ve yabancı moleküllerle etkileşimi azaltır, daha fazla raf stabilitesi sağlar. Ancak, PEG'nin sisteme eklenmesi, en uygun imalat teknikleriyle bile, ilaçlar ve proteinler için kapsülleme etkinliğinin azalmasına yol açar. İlaç yüklemesinin azalması, ilaç / protein-polimer etkileşimine PEG zincirleri tarafından sterik bir engel oluşturulması neden olabilir (77).

2.3.3.3. Nanopartikül Hazırlanmasında Kullanılan Organik Çözücüler

Nanopartikül hazırlama yöntemlerinde işlemler bir organik çözücü içinde çözülen polimer ile başlamaktadır. Ancak polimerler suda çözünür olmadığından bir

organik çözücüye ihtiyaç vardır (64). Nanopartikül hazırlamada kullanılacak organik çözücülerde yüksek buharlaşma potansiyeli ve uygun bir polimer etkileşimi beklenir. Bu şartları sağlayan Etilasetat, Aseton ve Diklorometan düşük kaynama noktası ile mikrokapsül morfolojisini belirleyici şekilde etkilemektedir (66,86). Polimerizasyon çözücüsü olarak ise asetonitril, toluen ve kloroform kullanılabilir (34).

2.3.3.4. Nanopartikül Hazırlanmasında Kullanılan Stabilizan Maddeler

Nanopartiküllerin hazırlanmasında emülsiyon oluşturma aşamasında en önemli parametrelerden biri yüzey aktif madde olarak gerekli olan stabilizan maddenin kullanılmasıdır. Emülsifiye edici olan stabilizanlar, emülsiyon oluşturmak için iki (yağ / su) fazın ayrılmasında kilit bir rol oynar. Stabilizanlar emülsiyonlaştırma sırasında lipofilik ve hidrofilik fazları arasındaki ara yüzey gerilimini azaltır ve emülsiyon stabilitesi elde ederek nanopartiküllerin oluşumunu kolaylaştırır; ayrıca parçacık boyutunu, boyut dağılımını, morfolojik özelliklerini ve oluşan nanopartiküllerin enkapsülasyon etkinliğini ve ilaç salımını etkiler. Stabilizanlar, aynı molekül içinde bir hidrofobik ve bir hidrofilik gruba sahip bir tür amfifilik bileşik olmalıdır. Bir makromolekül olan Poli (vinil alkol) (PVA), geleneksel ve en popüler noniyonik stabilizandır (87-90). PVA'nın emülsiyonlaştırıcı olarak en önemli avantajı, nispeten küçük boyutlu ve homojen bir boyut dağılımına sahip parçacıkların oluşmasına olanak sağlamasıdır (13,91).

E vitamininin suda çözünür bir türevi olan TPGS (d-alfa tokoferil polietilen glikol 1000 süksinat) hem hidrofilik bir kısım hem de bir lipofilik kısım içerir ve bu nedenle geleneksel yüzey aktif maddelere benzer. TPGS'nin nanopartikül formülasyonlarında ideal ve etkili bir emülgatör olabileceği belirtilmiştir (74,88). Yine yüzey aktif madde olarak bir safra tuzu türevi olan Sodyum kolat nanopartikül hazırlamada başarılı sonuçlar vermektedir (80).

2.3.3.5. Nanopartiküllerin Özellikleri

Hazırlanan nanopartiküllerin partikül büyüklüğü ve büyüklük dağılımı (polidispersite indeksi), yüzey morfolojisi, yüzey yükü, termogram özelliği, ilaç

kapsülleme etkinliği (EE) ve ilaç salım profili dahil olmak üzere farmasötik özelliklerinin açık bir şekilde anlaşılması gereklidir (12,13).

Partikül büyüklüğü ve büyüklük dağılımı (polidispersite indeksi) nanopartiküllerin biyolojik membranlardan geçişini etkiler; yarılanma ömrü, ilaç yükleme kapasitesi, ilaç salım profili gibi birçok parametre üzerinde etkili bir rol oynar. Partikül büyüklüğü ve dağılımı ölçümünde birçok yöntem vardır; dinamik ışık saçılımı ve foton korelasyon tekniği bu alanda sıklıkla kullanılan hızlı ve kolay bir yöntemdir (12,67).

Nanopartiküllerin yüzey yükünün ölçülmesi için zeta potansiyeli değerlerine bakılır. Kolloidal partiküller disperse olduğu ortamından iyon adsorbe ederler. Partiküller pozitif veya negatif yüzey yüküne göre, aksi yöndeki iyonlarla çevrilebilir ve partikülün etrafında tek tabaka halinde moleküler bir iyon bulutu oluşur. Bu tabakanın etrafında ise difüze çift tabaka denilen hareketli ikinci bir iyon tabakası yer alır. Dispersiyon ortamında bu çift tabakanın dışında pozitif ve negatif iyonların eşit olduğu nötral bir alan vardır ve partikül yüzeyi ile bu nötral alan arasındaki potansiyel farkına zeta potansiyel denir. Zeta potansiyel zetametre ile ölçülür ve birimi milivolt'tur. Zeta potansiyel değeri kolloidal dağılımlarda stabilitenin değerlendirilmesi açısından önemlidir (67,92).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Gereçler

Bu bölümde tezin laboratuvar çalışmalarında kullanılan kimyasal maddeler ve cihazlar yazılmıştır.

3.1.1. Deneyleerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Asetonitril	Merck, Almanya
Diklorometan	Merck, Almanya
Dipotasyum Hidrojen Fosfat	Merck, Almanya
Etilasetat	Merck, Almanya
Madol Ampul	Koçak, Türkiye
Metanol	Merck, Almanya
Poli (D, L-laktik-ko-glikolid) (PLGA) (lactide:glycolide 50:50, ester terminated, Mw:30000-60000)	Sigma, ABD
Poli (etilen glikol) metil eter-blok- poli (laktik-ko-glikolid) (PEG-PLGA) (PEG average Mn 5000, PLGA Mn 55000)	Sigma, ABD
Potasyum Dihidrojen Fosfat	Merck, Almanya
Polivinil Alkol (PVA) (Mowiol 4-88)	Sigma, ABD
Sodyum Klorür	Merck, Almanya
Sodyum Kolat	Serva, Almanya
Tramadol Hidroklorür	Sigma, ABD
Vitamin E Polietilen Glikol Süksinat (TPGS)	BASF, Almanya

3.1.2. DeneYlerde Kullanılan Cihaz ve Gereçler

Çalkalayıcı (Su Banyosu)	Nüve, Türkiye
Derin Dondurucu	Nüve, Türkiye
Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DTK)	Perkin Elmer, ABD
Foton Korelasyon Spektrometresi/Zetametre	PSS Nicomp, ABD
FT-IR Spektrofotometresi	Perkin Elmer, ABD
Hassas Terazı	Sartorius, Almanya
Liyofilizatör	Christ, Almanya
Manyetik Karıştırıcı Isıtıcı	Julabo EM, Almanya
Otomatik Pipet	Boeco, İtalya
pH Metre	Metrohm, İsviçre
Santrifüj (Soğutmalı)	IEC Centra, ABD
Solvant Evaporasyon Cihazı	Buchi, İsviçre
Taramalı Elektron Mikroskobu	Zeiss, Almanya
Ultra Saf Su Cihazı (Tip1)	ELGA, İngiltere
Ultrasonik Banyo Cihazı	Branson, ABD
Vorteks Cihazı	Herdolph, Almanya
Yüksek Devirli Homejenizatör	IKA, Almanya
Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (YPSK)	Agilent, ABD

3.2. Yöntem

Bu bölümde yapılan tüm laboratuvar çalışmalarında kullanılan analiz ve yöntemler açıklanmıştır.

3.2.1. Etken Maddeye Ait Çalışmalar

Tramadol HCl'ün kimyasal özelliklerinin ve saflığının saptanması için aşağıdaki çalışmalar yapılmıştır.

3.2.1.1. Etken Maddenin Termal Analizi

Tramadol HCl'nin termal analizi Resim 3.1'deki Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DTK) cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Örnek alüminyum pan üzerinde 30-300°C arasında değerlendirilmiştir. Alüminyum analog boş pan referans olarak kullanılmıştır. Termal analiz işlemleri 20°C/dk sıcaklık artışı ve 20 mL/dk azot akış hızında gerçekleştirilmiştir.



Resim 3.1. Diferansiyel taramalı kalorimetre (DTK) cihazı

3.2.1.2. Etken Maddenin Infrared (IR) Spektrumu

Tramadol HCl'nin infrared spektrumu için Resim 3.2'deki cihaz ile 450-4000 cm⁻¹ dalga aralığında FT-IR analizi gerçekleştirilmiştir.



Resim 3.2. FT-IR spektrofotometresi.

3.2.2. Yöntem Validasyonları

3.2.2.1. Tramadol Hidroklorür'ün Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (YPSK) ile Miktar Tayini

Tramadol HCl'nin miktar tayini için Resim 3.3'deki Agilent 1100 YPSK cihazı ve sisteme entegre bir UV dedektör kullanılmıştır. Tayin için C18 (ACE 5 C18 150 × 4,6 mm, 5µm, UK) ters faz kolonu ile 25°C'de, 1,0mL/dk akış hızında, UV dedektör 220 nm dalga boyunda, 20 µL enjeksiyon hacmi kullanılarak çalışılmıştır. Her bir örnek için analiz süresi 8 dk olarak belirlenmiştir.



Resim 3.3. YPSK cihazı.

3.2.2.1.1. Mobil Faz Hazırlanması

Mobil faz olarak pH 7,5 0,01 M Potasyum fosfat tamponu ve Asetonitril 70:30 (h/h) kullanılmıştır. Tampon çözelti 1,281 g Dipotasyum hidrojen fosfat ve 0,36 g Potasyum dihidrojen fosfatın 1000 mL bidistile suda çözündürülmesiyle hazırlanmıştır. Yöntemin güvenilirliğinin belirlenmesi için validasyon çalışmaları yapılmıştır (93-96).

3.2.2.1.2. YPSK için Validasyon Çalışmaları

3.2.2.1.2.1. Doğrusallık

Bir analitik yöntemin doğrusallığı, numunedeki analitin derişimi (miktarı) ile doğru orantılı olan belirli bir aralık dahilindeki test sonuçlarını elde etme kabiliyetidir. Doğrusallık analizi, etken maddenin farklı derişimlerinin YPSK'daki pik alanları ile doğru orantılı şekildeki kalibrasyon doğrusu kullanılarak yapılır.

Tramadol HCl için kalibrasyon doğrusunun ve denkleminin belirlenmesi amacıyla etken maddenin saf sudaki 10mg/10mL derişimli çözeltisi hazırlanarak stok çözelti olarak kullanılmıştır. Bu çözeltiden 0,5, 1, 5, 10, 50, 100, 500, 1000 µg/mL olarak 8 farklı derişimde seyreltmeler yapılmıştır. Hazırlanan bu çözeltilerin YPSK analizleri yapılmış ve her bir derişime ait pik alanları elde edilerek kalibrasyon doğru denklemi hesaplanmıştır. Her ölçüm 3 defa tekrarlanarak, hesaplamalarda her bir nokta için ölçülen değerlerin ortalaması kullanılmıştır.

3.2.2.1.2.2. Doğruluk

Analitik bir yöntemin doğruluğu, gerçek değer olarak kabul edilen değer veya kabul edilen bir referans değer ile deney yolu ile bulunan değer arasındaki yakınlığı ifade eder. Doğruluk için gerçek değer farklı yollardan elde edilebilmektedir. Bu yollardan biri; doğruluğun derişimleri bilinen örneklerin analizleriyle kontrol edilmesidir. Validasyonun doğruluğunun hesaplanması için %geri kazanım, standart sapma (SD) veya varyasyon katsayısı (VK) hesaplanır.

YPSK validasyonunun doğruluğunun hesaplanması için Tramadol HCl'nin saf suda farklı derişimlerde (50, 100, 500 µg/mL) 3 seri çözeltisi hazırlanmıştır. Bu

çözeltilerin YPSK'daki pik alan değerleri okunarak kalibrasyon denkleminde yerine konarak elde edilen derişimlerle Eşitlik 3.1 kullanılarak %geri kazanım değerleri hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Geri kazanım} = (K_{\text{pratik}} / K_{\text{teorik}}) \times 100 \quad 3.1$$

K_{pratik} : Etken maddelerin kalibrasyon denkleminde elde edilen derişim değerleri.

K_{teorik} : Etken maddelerin hazırlanan derişim değerleri (94).

3.2.2.1.2.3. Kesinlik

Kesinlik, geliştirilmiş olan yöntemin normal çalışma koşullarında tekrarlanabilme kabiliyeti veya bireysel test sonuçlarının birbirine yakınlığının ölçüsüdür. Bir analitik yöntemde kesinlik, istatistiksel olarak yeterli değerlendirmenin yapılabileceği sayıda örnekle standart sapma (SS) ve varyasyon katsayısı (VK) değerlerinin hesaplanmasıyla gerçekleştirilir. Bu amaçla Tramadol HCl'nin 100 µg/mL derişimindeki çözeltisi ile analiz gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.1.2.3.1. Tekraredilebilirlik

Tekraredilebilirlik (Tekrarlanabilirlik), kısa zaman aralığı içerisindeki aynı deney koşulları altında yapılan ölçümler arasındaki kesinliği ifade eder. Numune hazırlamadan kaynaklanabilecek hataları (örn. tartım, seyreltme, homojenizasyon) gösteren bir kesinlik parametresidir.

Tek derişimdeki etken madde çözeltisinden art arda yapılan ölçümlerin pik alan değerlerinden elde edilen derişim değerlerinin birbirlerine yakınlığı standart sapma (SS) ve varyasyon katsayısı (VK) değerleri hesaplanarak bulunur. Tekraredilebilirlik için varyasyon katsayısı (VK) %2'den küçük olması gerekmektedir.

Tramadol HCl'nin 100 µg/mL derişimindeki çözeltisinden art arda 6 enjeksiyon yapılarak pik alanlarına karşılık gelen derişimleri hesaplanmıştır.

3.2.2.1.2.3.2. Tekrar elde edilebilirlik

Analizi yapılacak etken maddenin aynı yöntemle farklı deney zamanlarında farklı analizciler tarafından analizlerinin gerçekleştirilmesiyle elde edilen sonuçların kesinliğini gösterir. Tekrar elde edilebilirlik için varyasyon katsayısı (VK) %2'den küçük olması gerekmektedir.

Tramadol HCl'nin 50 µg/mL derişimindeki çözeltisinden farklı günlerde yapılan 6 enjeksiyon sonucu pik alanlarına karşılık gelen derişimleri bulunmuştur.

3.2.2.1.2.4. Özgünlük (Seçicilik)

Geliştirilen yöntemle tayin edilecek etken maddeye ait piklerle, formülasyona girecek diğer maddelerin piklerinin girişim olmadan saptanabilmesidir. Formülasyona ait diğer bileşenler tek başına analiz edilir ve etken maddeye ait pikle girişim yapmadığı gösterilir.

3.2.2.1.2.5. Teşhis ve Tayin Sınırları

Analitik yöntemde teşhis sınırı, analizi yapılan örneğin belirlediği fakat nicel sınırlar içerisine girmediği en küçük derişimdir. Bu sınırlar düşük derişimdeki bir seri örneğin analiz edilmesiyle belirlenir. Teşhis sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ), en düşük derişimin pik alanlarının standart sapması (σ) ve kalibrasyon doğrularının eğimi kullanılarak Eşitlik 3.2 ve Eşitlik 3.3' teki formüllerle hesaplanmıştır.

$$\text{LOD} = 3,3 \times (\sigma/\text{eğim}) \quad 3.2$$

$$\text{LOQ} = 10 \times (\sigma/\text{eğim}) \quad (96). \quad 3.3$$

3.2.3. Polimerik Nanopartiküllerin Hazırlanması

3.2.3.1. Ön Formülasyon Çalışmaları

3.2.3.1.1. Hazırlama Yönteminin Seçimi

Bölüm 1.3.3.1'de anlatılan nanopartikül hazırlama yöntemlerinden tekli y/s ve çoklu s/y/s emülsiyon oluşturma-çözücü buharlaştırma yöntemleri, polimerik

nanoküre ve nanokapsüllerinin hazırlanmasında sıklıkla kullanılan yöntemlerdir. Bu yöntem için bölümümüzde de bulunan Resim 3.4'teki yüksek devirli homojenizatör cihazı kullanılmaktadır. Bizim çalışmamızda hazırlama yöntemi olarak çoklu s/y/s emülsiyon oluşturma-çözücü buharlaştırma yöntemi seçilmiştir.



Resim 3.4. Yüksek devirli homejenizatör.

Nanopartiküller literatürdeki farklı emülsiyon oluşturma-çözücü uçurma yöntemlerinin modifiye edilmesiyle su/yağ/su emülsiyonu şeklinde hazırlanmıştır (97-99).

3.2.3.1.2. Polimer Seçimi

Nanopartiküllerin hazırlanmasında kullanılacak polimerlerin toksik olmaması, biyoyumlu olması, biyoparçalanabilir olması, nanopartikül hazırlama yöntemlerine uygun olması ve FDA tarafından insanda tıbbi amaçlı kullanımı onaylı olması nedeniyle PLGA ve PEG-PLGA kopolimerleri seçilmiştir. Her iki polimerin de nanopartikül hazırlamasında kullanıldığı çalışmalar literatürde mevcuttur (90,100-105).

3.2.3.1.3. Organik Fazın Seçimi

Bölüm 1.3.3.3'te anlatılmış olan nanopartikül hazırlamada kullanılan organik çözücülerden Etilasetat ve Diklorometan (DCM) kullanılarak çoklu s/y/s emülsiyon oluşturma-çözücü buharlaştırma yöntemi ile nanopartiküller hazırlanmıştır.

3.2.3.1.4. Stabilizan Maddelerin Seçimi

Nanopartikül hazırlamada kullanılan stabilizan maddelerden PVA, TPGS ve Sodyum kolat kullanılarak Bölüm 3.2.3.1.1'de anlatıldığı gibi emülsiyon oluşturma-çözücü buharlaştırma yöntemi ile nanopartiküller hazırlanmıştır.

3.2.3.1.5. Etken Madde Miktarının Seçilmesi

Tramadol HCl yüklü nanopartiküllerin hazırlanmasında kullanılacak etken madde miktarının seçilmesi amacıyla etken maddenin farklı miktarları ile nanopartiküller hazırlanmıştır.

3.2.3.2. Formülasyon Çalışmaları

Tramadol HCl'nin polimerik nanopartikülleri PLGA ve PEG-PLGA polimerleri kullanılarak çift emülsiyon oluşturma-çözücü uçurma yöntemi ile su/yağ/su emülsiyonu şeklinde hazırlanmıştır. Belirli miktardaki polimer (PLGA ve PEG-PLGA), 2,5 mL organik faz (Etilasetat) içinde çözündürülerek yağ fazı oluşturulmuştur. İç su fazı ise belirli orandaki stabilizan madde (PVA) ve Tramadol HCl 1 mL ultrasaf su içinde çözündürülerek hazırlanmıştır. Dış su fazı da 12,5 mL ultrasaf su içinde stabilizan madde konularak hazırlanmıştır (97). İç su fazı, yağ fazına aktarılarak buz banyosu içinde yüksek devirli homojenizatör aracılığıyla 20 dakika süreyle 15000, 20000 ve 25000 rpm dönüş hızlarıyla karıştırılmıştır. Elde edilen birincil emülsiyon dış su fazına aktarılarak 20 dk süreyle ve belirlenen hızda homojenizatörde karıştırılmıştır. Su/yağ/su emülsiyonunun elde edildiği ikincil emülsiyon organik fazının uçurulması için Resim 3.5'teki geri çeviren soğutucu (evaporatör)ya konularak organik fazı uçurulmuştur. Elde edilen nanopartikül süspansiyonları 10000 rpm'de 15 dk ve 4°C'de Resim 3.6'daki santrifüj cihazı ile santrifüjleme işlemine tabi tutulmuştur. Santrifüjden sonra üst kısımda kalan

süpernatant kısmı ayrılmış ve kalan çökeltiye aynı miktarda ultrasaf su ilave edilerek tekrar süspansiyon edilmiş ve santrifüj edilmiştir. Bu işlem 3 kez tekrar edilmiş ve en son elde edilen süspansiyonlar liyofilizasyon işlemi için 12 saat derin dondurucuda bekletilerek -80°C 'de 0,0005 mbar basınçta 48 saat süresince liyofilize edilmiştir.



Resim 3.5. Geri çeviren soğutucu (Evaporatör).



Resim 3.6. Santrifüj cihazı.

Nanopartiküllerin özellikleri üzerinde farklı polimer, stabilizan ve organik fazın etkilerinin anlaşılabilmesi amacıyla ön formülasyon ve formülasyon

aşamalarında farklı parametreler denenmiştir. Formülasyonlarda kullanılacak bu parametreler Çizelge 3.1’de verilmiştir.

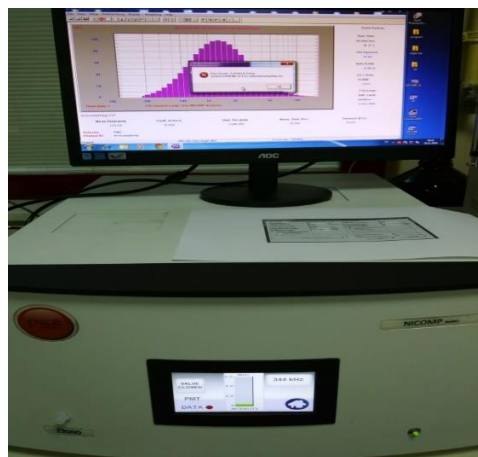
Çizelge 3.1. Tramadol HCl yüklü nanopartiküllerde kullanılacak parametreler.

Yöntem	Emülsiyon oluşturma-çözücü buharlaştırma
Organik faz	Etilasetat-DCM
Polimer	PLGA ve PEG-PLGA
Stabilizan	PVA-TPGS-Sodyum kolat
Karıştırma hızı (rpm)	15000-20000-25000
Karıştırma süresi	10-15-20 dk

3.2.4. Nanopartiküllerin Özellikleri

3.2.4.1. Partikül Boyutu ve Dağılımı Analizi

Elde edilen nanopartiküller partikül büyüklüğü ve dağılımı ile polidispersite indeksinin ölçülmesi amacıyla, Resim 3.7’de foton korelasyon spektroskopisi cihazı (PCS) ile oda sıcaklığında 90°’lik açı ile değerlendirilmiştir. Her örnekten 3’er kez ölçüm yapılmıştır. Örnekler ultrasaf su (pH=7) ile seyreltilerek ölçülmüştür.



Resim 3.7. Foton korelasyon spektroskopisi cihazı (PCS).

3.2.4.2. Zeta Potansiyel Analizi

Nanopartiküllerin agregat oluşumu açısından değerlendirilebilmesi için zeta potansiyel değerleri ölçülmüştür. Elde edilmiş olan nanopartiküller ultrasaf su ile seyreltilerek Resim 3.7'deki zeta potansiyel ölçüm cihazında oda sıcaklığında 0,4 cm elektrot aralığında 15 V/cm olacak şekilde değerlendirilmiştir. Deneyler 3 kez tekrarlanarak ortalama zeta potansiyel değerleri belirlenmiştir.

3.2.4.3. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DTK) Analizi

Hazırlanan nanopartiküllerin ve diğer maddelerin (PLGA, PEG-PLGA, PVA) termal analizi Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DTK) cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Örnekler alüminyum pan üzerinde 30-300°C arasında değerlendirilmiştir. Alüminyum analog boş pan referans olarak kullanılmıştır. Termal analiz işlemleri 20°C/dk sıcaklık artışı ve 20 mL/dk azot akış hızında gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.4. Infrared (Kızılötesi) Spektroskopisi (FT-IR) Analizi

Hazırlanan nanopartiküllerin ve diğer yardımcı maddelerin (PLGA, PEG-PLGA, PVA) infrared spektrumu için Resim 3.2'deki cihaz ile 450-4000 cm⁻¹ dalga aralığında FT-IR analizi gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.5. Elektron Mikroskobu Analizi

Seçilen nanopartiküllerin morfolojik analiz çalışmaları için Resim 3.8'deki Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) kullanılmıştır. Nanopartikül örnekleri 30000 kat büyütme ile görüntülenmiştir.



Resim 3.8. Taramalı elektron mikroskobu (SEM).

3.2.4.5. Enkapsülasyon Etkinliği (EE) Hesaplamaları

Enkapsülasyon etkinliği, formülasyona konulan toplam etken madde miktarı üzerinden nanopartiküllere hapsedilen etken madde oranının hesaplanmasıyla bulunur. Bu amaçla Tramadol HCl nanopartiküllerinin santrifüj işleminde elde edilen süpernatantlardan YPSK yöntemiyle yüklenmemiş etken madde miktarları ölçülmüştür. Bu miktarlar formülasyona ilave edilen başlangıç etken madde miktarından çıkarılarak Eşitlik 3.5'e göre %Enkapsülasyon etkinliği değerleri elde edilmiştir.

$$\%EE = \frac{(\text{Başlangıç etken madde miktarı} - \text{Serbest etken madde miktarı})}{\text{Başlangıç etken madde miktarı}} \times 100 \quad (106) \quad 3.5$$

3.2.5. *In Vitro* Salım Çalışmaları

Tramadol HCl yüklü nanopartikül formülasyonları için *in vitro* etken madde salım profilinin incelenmesinde diyaliz membranı yöntemi kullanılmıştır. Salım çalışmaları Resim 3.9'daki çalkalayıcı su banyosunda $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ 'de 30 salınım/dakikada gerçekleştirilmiştir. Tramadol HCl içeren nanopartiküller 12000-14000 kDa por çapındaki diyaliz membranlarına konularak, 30 mL Fosfat Tuz Tamponu (PBS pH:7,4) çözeltisi içeren kaplara yerleştirilmiştir. 0,5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 18, 24 ve 30. saatlerde kaplardan 1'er mL örnekler alınmış ve yerlerine 1'er mL PBS çözeltisi eklenmiştir. Alınan örneklerin miktar analizleri YPSK ile gerçekleştirilmiştir.



Resim 3.9. Çalkalayıcı su banyosu.

3.2.6. Stabilite Çalışmaları

Stabilite çalışmalarında nanopartiküllerin saklandığı farklı sıcaklıklardaki partikül büyüklüğü ve polidispersite indeksi ile zeta potansiyeli açısından değerlendirilmesi yapılmıştır (104). Bu amaçla liyofilize edilmiş olan nanopartikül formülasyonu 25°C oda sıcaklığı, +4°C buzdolabı ve -20°C derin dondurucuda 3 ay süreyle muhafaza edildikten sonra partikül büyüklüğü, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

Ayrıca nanopartiküllerin biyolojik ortam stabilitesinin incelenmesi amacıyla formülasyonlar %0,9 Sodyum klorür, %5 Dekstroz, %20 Mannitol, %10 Dekstran, %6 Hidroksietil nişasta ve %4 Süksinil jelatin solüsyonları içerisine konulduğunda ve 24 saat süreyle 37°C'de su banyosunda bekletme sonrasında partikül büyüklüğü, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli açısından değerlendirilmiştir.

3.2.7. İstatistiksel Analizler

Çalışmanın sonuçlarına ait istatistiksel analizler GraphPad Prism 6 yazılımı kullanılarak kullanılarak değerlendirilmiştir.

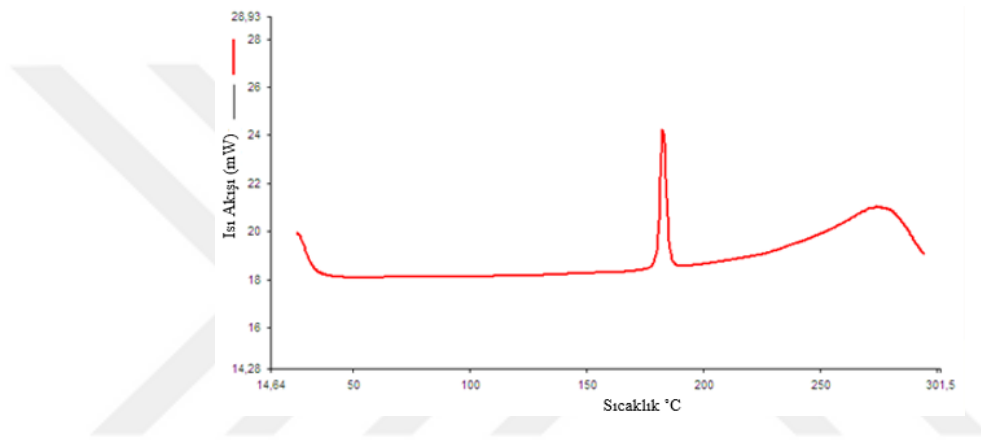
BULGULAR

4.1. Etken Maddeye Ait Bulgular

Bu bölümde etken maddeyle yapılmış olan laboratuvar sonuçlarına ait bulgular verilmiştir.

4.1.1. Etken Maddenin Termal Analizi

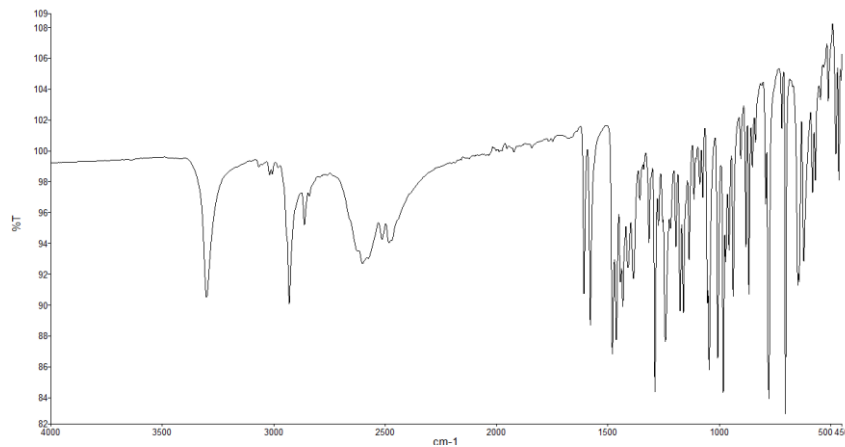
Tramadol HCl için Yöntem 3.2.4.3 bölümünde belirtilmiş şekilde yapılan DTK analizi sonucu elde edilen termal analiz grafiği Şekil 4.1’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Tramadol HCl’nin termal analiz grafiği.

4.1.2. Etken Maddenin Infrared (IR) Spektrumu

Tramadol HCl için Yöntem 3.2.1.2 bölümündeki gibi FT-IR analizi gerçekleştirilmiş ve elde edilen FT-IR spektrumu Şekil 4.2’de gösterilmiştir.

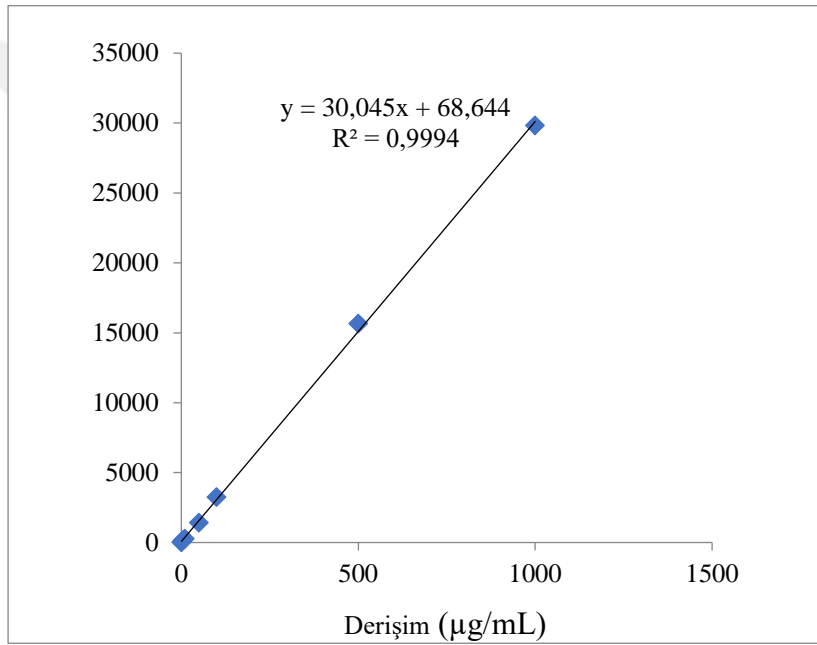


Şekil 4.2. Tramadol HCl’nin FT-IR spektrumu (%T: %Transmitans, cm^{-1} : Dalga sayısı).

4.2. Tramadol Hidroklorür'ün Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (YPSK) ile Miktar Tayini Yöntem Validasyonu

4.2.1. Doğrusallık

Tramadol HCl'nin saf su içerisindeki çözeltisinden elde edilen farklı derişimlerdeki örneklerinin kalibrasyon doğrusu çizilmiş ve regresyon analizi yapılarak doğru denklemleri elde edilmiştir. Doğrusallığın kontrol edilmesi için "r" (regresyon katsayısı) ve doğru denklemi Şekil 4.3'te gösterilmiştir.



Şekil 4.3. Tramadol HCl'nin YPSK kalibrasyon doğrusu ve denklemi (n=8).

4.2.2. Doğruluk

Yöntem doğruluğunun saptanabilmesi için 3 farklı derişimde hazırlanan Tramadol HCl çözeltisinin eğri altındaki alan değerleri elde edilerek kalibrasyon doğru denkleminde yerine konarak edilen % geri kazanım değerleri hesaplanmış ve Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Tramadol HCl'e ait YPSK yöntemi doğruluk değerleri (n=3).

Eklenen Derişim ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Hesaplanan Derişim ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	% Geri Kazanım	Ortalama	SS	VK
50	44,56	89,11			
50	44,46	88,92	44,49	0,045	0,102
50	44,46	88,92			
100	106	106			
100	106	106	105,96	0,042	0,039
100	105,9	105,9			
500	519,4	103,9			
500	519,8	104	519,19	0,591	0,114
500	518,4	103,7			

4.2.3. Kesinlik

4.2.3.1. Tekrarlanabilirlik

Hazırlanan Tramadol HCl çözeltilerinin ölçümleri arasındaki kesinliği belirlemek için 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ derişimindeki çözeltiden 6 kez enjeksiyon yapılmış ve pik alanlarına karşılık gelen derişimler için ortalama, SS ve VK değerleri hesaplanarak yöntemin tekrarlanabilir olduğu Çizelge 4.2'deki verilerle gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. Tramadol HCl'e ait YPSK yöntemi tekrarlanabilirlik değerleri (n=6).

Eklenen Derişim ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Hesaplanan Derişim ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Ortalama	SS	VK
100	105,983	105,957	0,036	0,034
	105,986			
	105,983			
	105,976			
	105,916			
	105,896			

4.2.3.2. Tekrar elde edilebilirlik

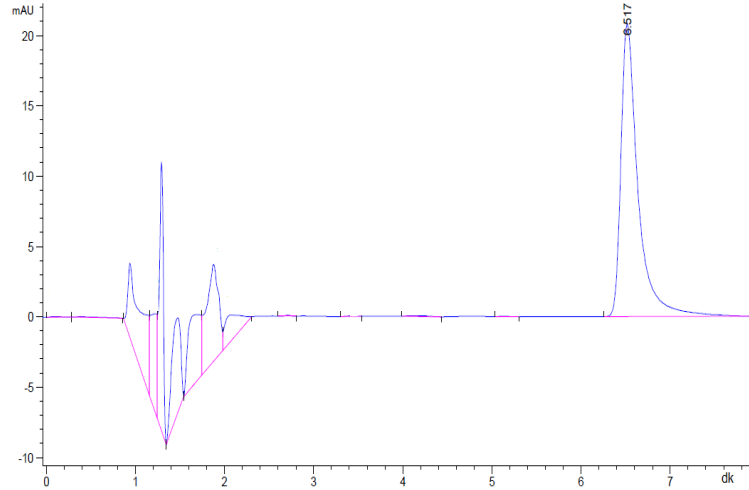
Farklı deney zamanlarında yapılan enjeksiyonlar arasındaki kesinliğin belirlenmesi için Tramadol HCl'nin 50 µg/mL derişimindeki çözeltilisinden farklı günlerde 6 farklı enjeksiyon yapılmış ve pik alanlarına karşılık gelen derişimler için ortalama, SS ve VK değerleri Çizelge 4.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. Tramadol HCl'e ait YPSK yöntemi tekrar elde edilebilirlik değerleri (n=6).

	Eklenen Derişim (µg/ mL)	Hesaplanan Derişim (µg/ mL)	Ortalama	SS	VK
1. Gün	50	44,555	44,5195	0,079	0,177
		44,459			
		44,602			
		44,622			
		44,405			
		44,475			
2. Gün	50	44,615	44,8723	0,26	0,579
		45,031			
		44,698			
		45,377			
		44,785			
		44,728			

4.2.4. Özgünlük (Seçicilik)

Nanopartiküllerin hazırlanmasında kullanılmış olan çözücülerin, polimerlerin, stabilizan maddelerin YPSK'ne enjekte edildiğinde, 1mL/dk akışta, C18 kolonunda ve 25°C sıcaklığında Tramadol HCl'nin miktar tayinini etkileyecek bir pik vermediği gözlenmiştir. Tramadol HCl'e ait özgün pik Şekil 4.4'te verilmiştir.



Şekil 4.4. YPSK yöntemiyle 220 nm’de elde edilen Tramadol HCl’e ait pik.

4.2.5. Teşhis ve Tayin Sınırları

Tramadol HCl’e ait kalibrasyon denkleminde eğim ve pik alan değerlerinin SS değerleri kullanılarak LOD değeri 0,25 µg/ mL ve LOQ değeri 0,77 µg/ mL olarak hesaplanmıştır.

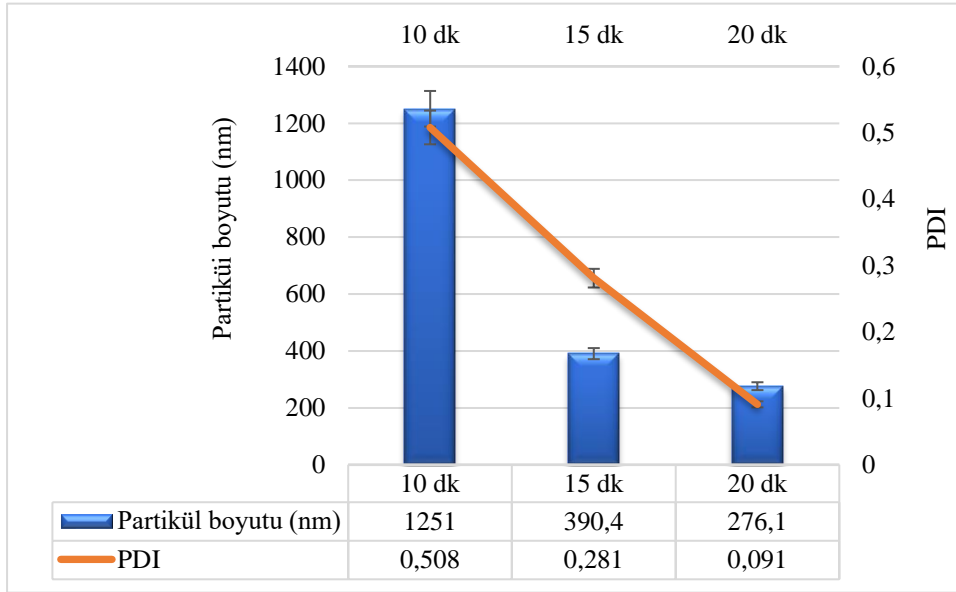
4.3. Polimerik Nanopartiküllerin Hazırlanması

Bu bölümde laboratuvar çalışmalarında yapılan önformülasyon ve formülasyon çalışmaları açıklanmıştır.

4.3.1. Önformülasyon Çalışmaları

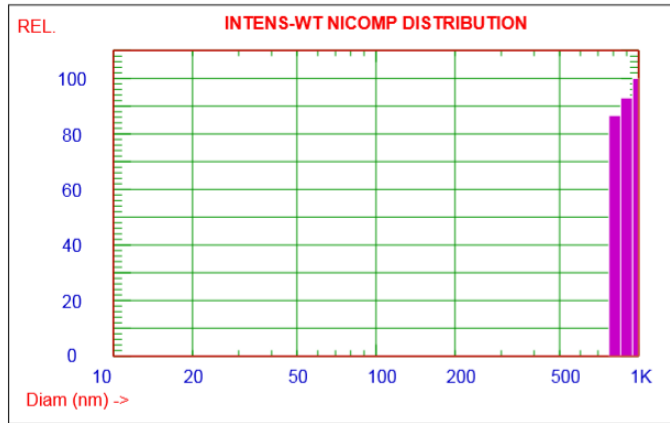
4.3.1.1. Hazırlama Yönteminin Seçimi

PLGA ve PEG-PLGA nanopartikülleri Bölüm 1.3.3.1’de anlatılan nanopartikül hazırlama yöntemlerinden çoklu s/y/s emülsiyon oluşturma-çözücü buharlaştırma yöntemi ile hazırlanmıştır. Hazırlanan nanopartiküllerin homojenizatör karıştırma süresine göre partikül büyüklüğü ve polidispersite indeksi (Şekil 4.5) karakteristik özellikleri incelenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda hazırlanan nanopartiküllerin partikül büyüklükleri ve polidispersite indeksleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) bir fark vardır ve nanopartiküllerin homojenizatörde 20 dk karıştırma süresinde hazırlanmasına karar verilmiştir.

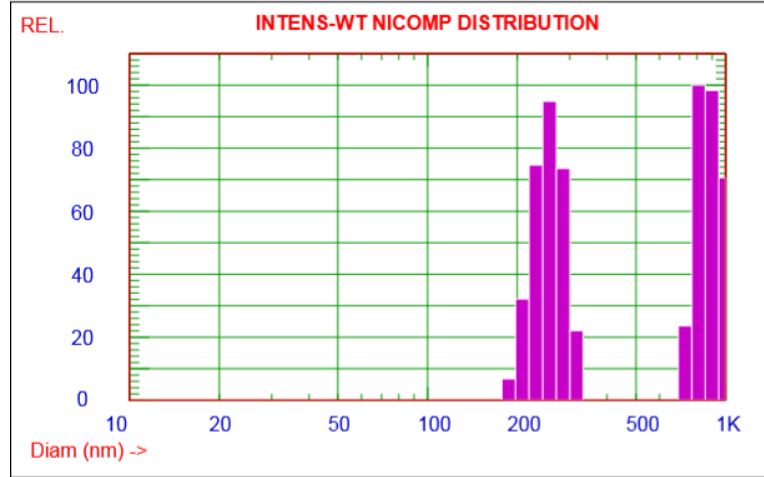


Şekil 4.5. Hazırlanan nanopartiküllerin homojenizatör süresine göre ortalama partikül büyüklüğü ve polidispersite indeksi değerleri (n=3).

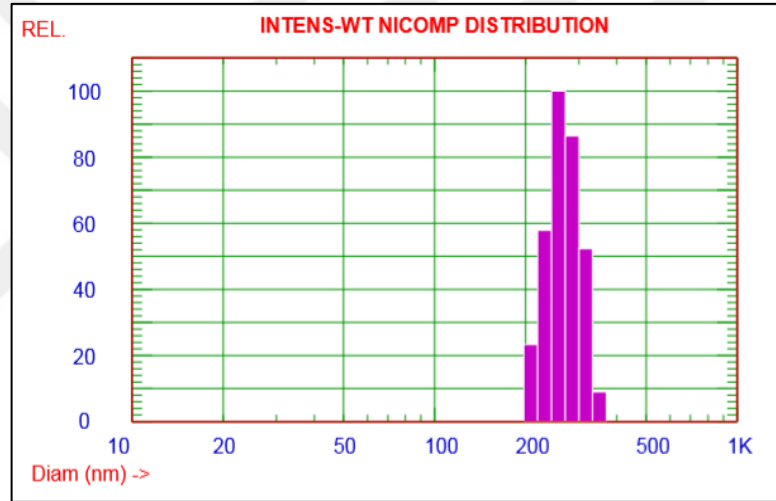
Ayrıca farklı karıştırma sürelerinde hazırlanmış nanopartiküllerin Bölüm 3.2.4.1’de anlatılan PCS sonuçlarına göre homojen partikül dağılımı için ve uygun nanopartikül boyutu için uygun süre 20 dk olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 4.6. Karıştırma süresi 10 dk olan nanopartiküllerin dağılım grafiği.



Şekil 4.7. Karıştırma süresi 15 dk olan nanopartiküllerin dağılım grafiği.

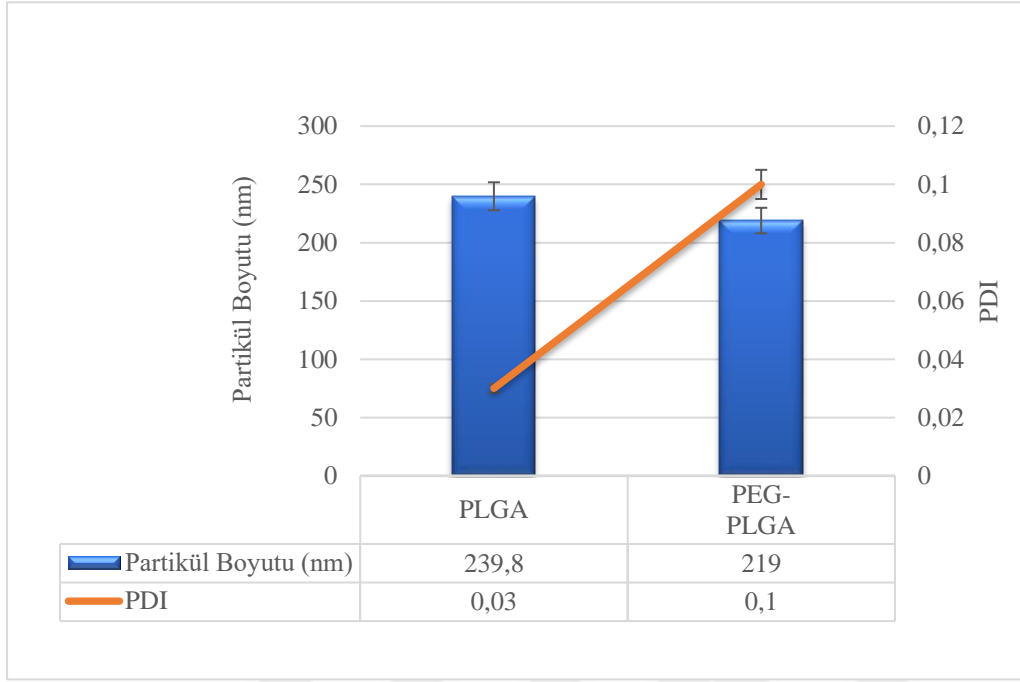


Şekil 4.8. Karıştırma süresi 20 dk olan nanopartiküllerin dağılım grafiği.

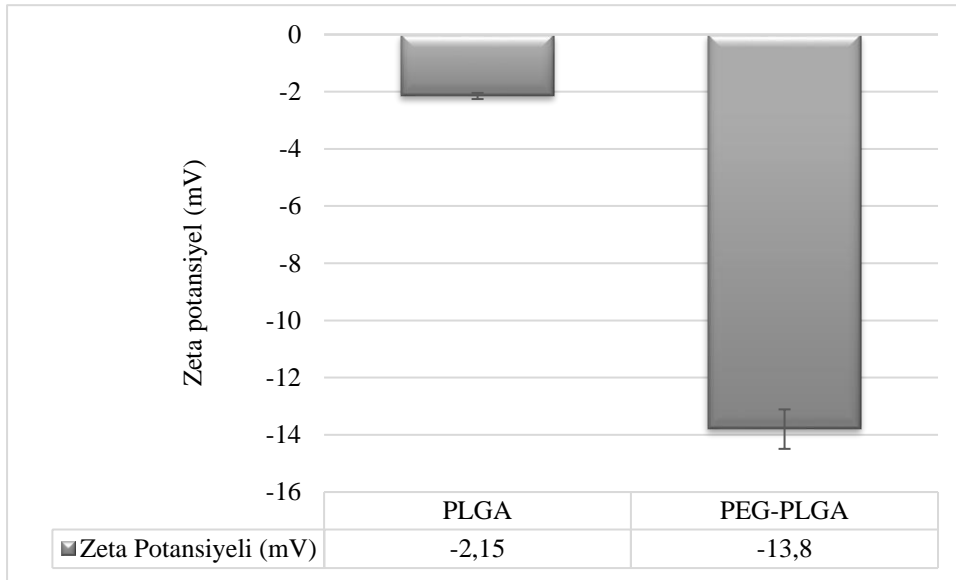
4.3.1.2. Polimer Seçimi

PLGA ve PEG-PLGA polimerleri yapılan kapsamlı literatür çalışması sonucunda ve Bölüm 2.3.3.2’de özetlenen avantajları nedeniyle nanopartikül formülasyonlarında kullanılmasına karar verilmiştir. Yapılan çalışmalarda PLGA ile hazırlanan nanopartiküllerin büyüklükleri 238-243 nm arasında, PEG-PLGA nanopartiküllerin büyüklükleri ise 212-227 nm bulunmuştur. Her iki polimer ile hazırlanan nanopartiküllerin partikül büyüklüğü, polidispersite indeksi (Şekil 4.9) ve zeta potansiyeli (Şekil 4.10) değerleri incelenmiştir. Nanopartiküllerin partikül boyutu ve polidispersite indeksleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p > 0,05$) bir

fark yoktur. Bu nedenle her iki polimerin de formülasyon çalışmalarında kullanılmasına karar verilmiştir.



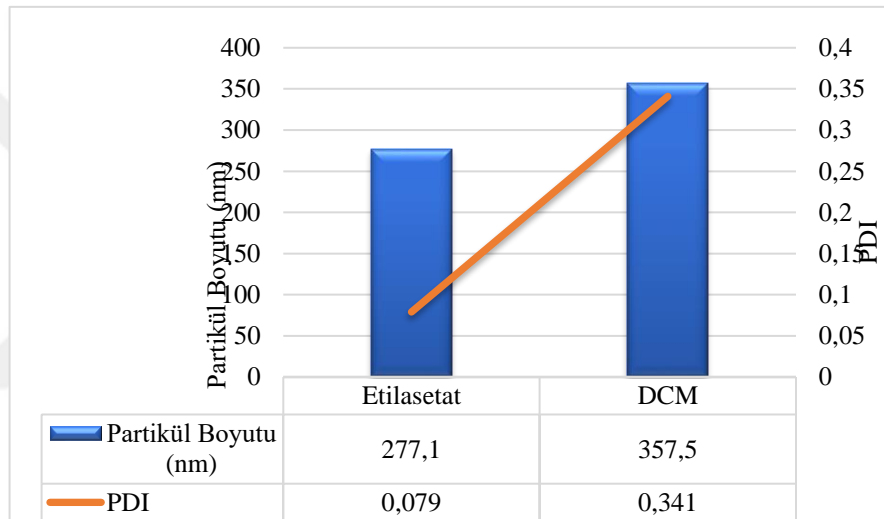
Şekil 4.9. PLGA ve PEG-PLGA nanopartiküllerin ortalama partikül büyüklüğü ve polidispersite indeksi değerleri (n=3).



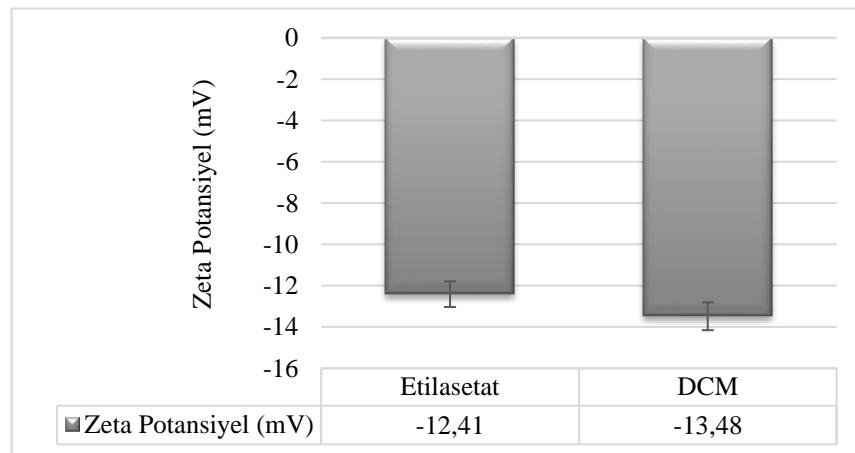
Şekil 4.10. PLGA ve PEG-PLGA nanopartiküllerin ortalama zeta potansiyel değerleri (n=3).

4.3.1.3. Organik Fazın Seçimi

Organik fazın seçimi için Etilasetat ve DCM emülsiyon oluşturma-çözücü buharlaştırma yöntemiyle nanopartiküller hazırlanmıştır. Hazırlanan nanopartiküllerinin partikül büyüklüğü ve polidispersite indeksi (Şekil 4.11) gibi karakteristik özellikleri incelenmiştir. Elde edilen nanopartiküllerin polidispersite indeksleri arasında anlamlı ($p>0,05$) bir fark yoktur ancak partikül büyüklükleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Etilasetat ile hazırlanan nanopartiküllerin boyutu ve polidispersite indeksi de DCM'ye göre daha küçük olduğu için organik faz olarak Etilasetat kullanılmasına karar verilmiştir.



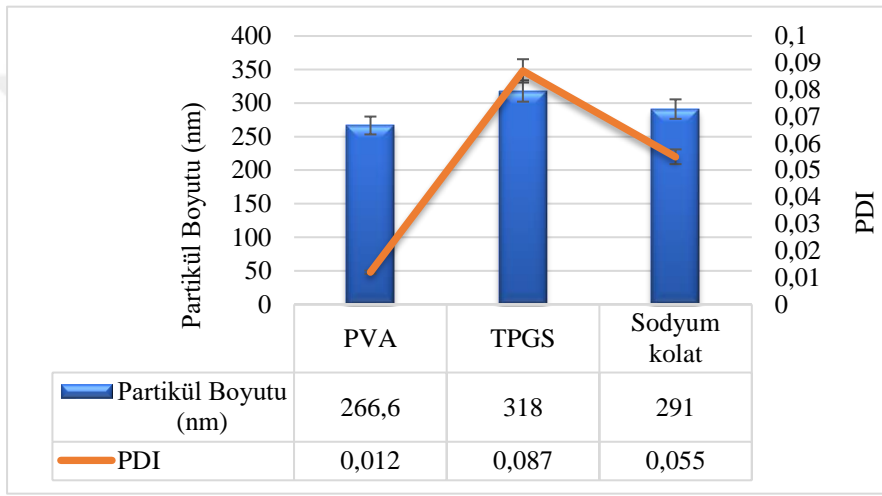
Şekil 4.11. Etilasetat ve DCM ile hazırlanmış nanopartiküllerin ortalama partikül büyüklüğü ve polidispersite indeksi değerleri (n=3).



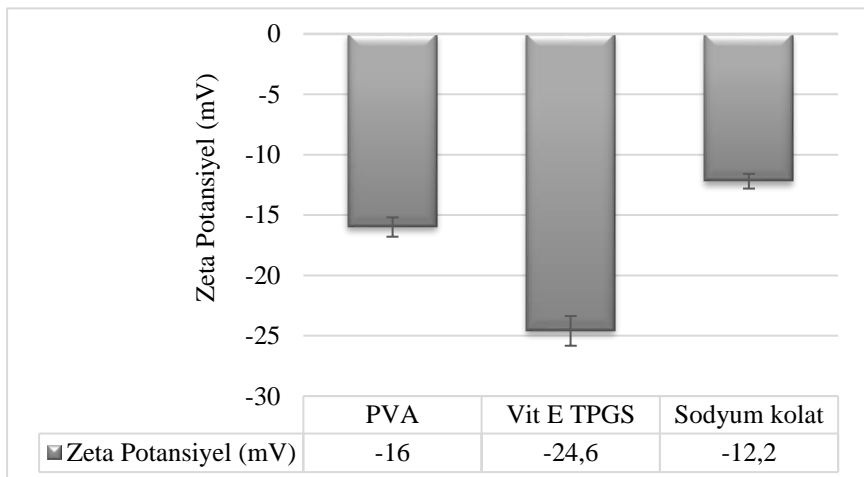
Şekil 4.12. Etilasetat ve DCM ile hazırlanmış nanopartiküllerin ortalama zeta potansiyel değerleri (n=3).

4.3.1.4. Stabilizan Maddelerin Seçimi

PVA, TPGS ve Sodyum kolat ile Bölüm 3.2.3.1.1'de anlatıldığı gibi emülsiyon oluşturma-çözücü buharlaştırma yöntemi ile hazırlanan nanopartiküllerde partikül büyüklüğü ve polidispersite indeksi (Şekil 4.13) değerleri incelenmiştir. PVA ve TPGS ile hazırlanmış nanopartiküllerin partikül büyüklükleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$). Ancak polidispersite indeksleri arasındaki fark anlamlı değildir ($p > 0,05$). En küçük partikül boyutu ve polidispersite indeksi PVA ile elde edilmiştir.



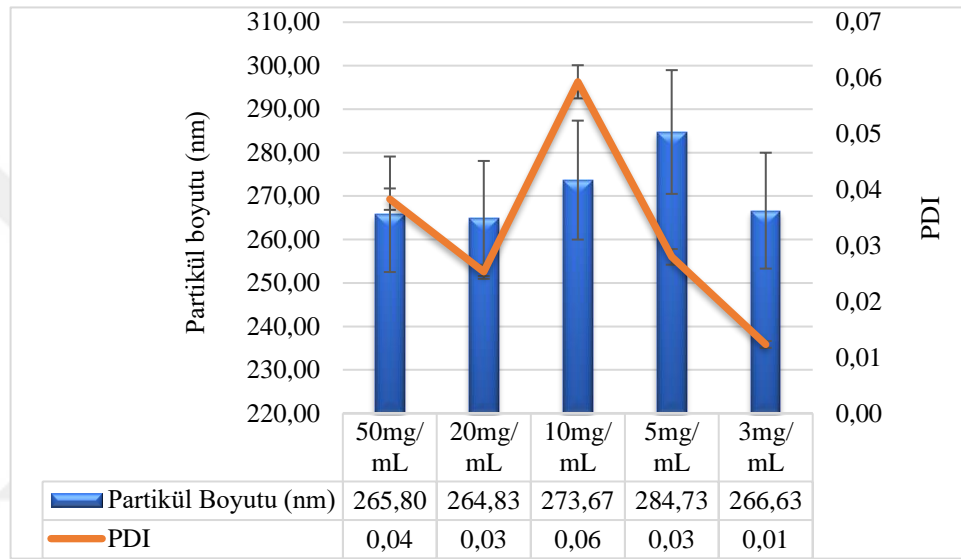
Şekil 4.13. PVA, TPGS ve Sodyum kolat ile hazırlanan nanopartiküllerin ortalama partikül büyüklüğü ve polidispersite indeksi değerleri (n=3).



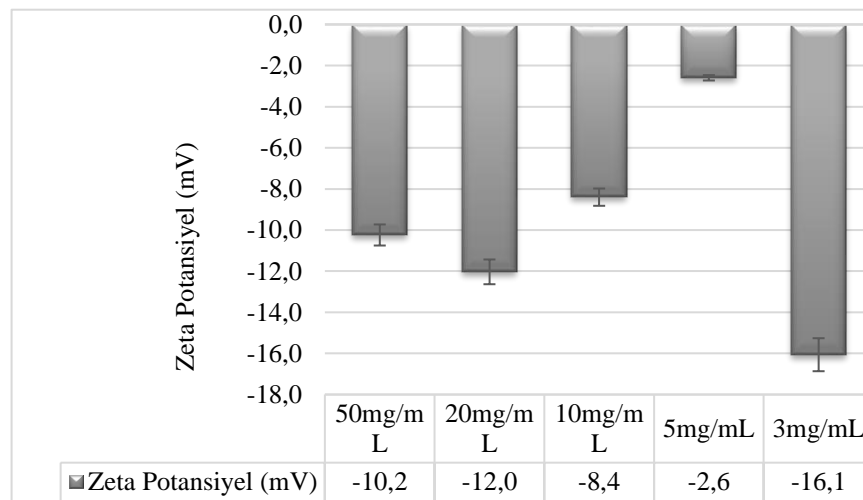
Şekil 4.14. PVA, TPGS ve Sodyum kolat ile hazırlanan nanopartiküllerin ortalama zeta potansiyel değerleri (n=3).

4.2.3.1.5. Etken Madde Miktarının Seçilmesi

Tramadol HCl'nin 50, 20, 10, 5 ve 3 mg miktarları ile Bölüm 3.2.3.1.1'de anlatıldığı gibi emülsiyon oluşturma-çözücü buharlaştırma yöntemi ile hazırlanan nanopartiküllerde partikül büyüklüğü, polidispersite indeksi (Şekil 4.15) ve zeta potansiyeli (Şekil 4.16) değerleri incelenmiştir. Nanopartiküllerin partikül büyüklükleri, polidispersite indeksleri ve zeta potansiyeli değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 4.15. Etken maddenin farklı miktarları ile hazırlanan nanopartiküllerin ortalama partikül büyüklüğü ve polidispersite indeksi değerleri (n=3).



Şekil 4.16. Etken maddenin farklı miktarları ile hazırlanan nanopartiküllerin ortalama zeta potansiyel değerleri (n=3).

4.3.2. Formülasyon Çalışmaları

Tramadol HCl nanopartikülleri Bölüm 3.2.3.2’de anlatıldığı gibi emülsiyon oluşturma-çözücü buharlaştırma yöntemi ile hazırlanmıştır. Yapılan ön formülasyon çalışmaları sonucunda stabilizan olarak PVA, polimerler PLGA ve PEG-PLGA, organik faz olarak Etilasetat kullanılmasına karar verilmiştir. Homojenizatör devir süresi 20 dk olarak belirlenmiştir. Ön formülasyon çalışmaları sonucunda karar verilmiş olan parametrelere göre hazırlanan nanopartiküllere ait sonuçlar Çizelge 4.4’te verilmiştir.

Çizelge 4.4. Tramadol HCl yüklü nanopartiküllere ait hazırlama parametreleri ve sonuçları.

S.Nu.	Etken Madde Miktarı (mg)	PLGA Derişimi	PEG-PLGA Derişimi	PVA Oran	Karıştırma Hızı (rpm)	Partikül Boyutu (nm)	PDI	Zeta Potansiyeli (mV)	%EE
F1	10	1	3	20000	239,8±0,86	0,03±0,015	-2,1±0,9	30,06±0,19	
F2	10	2	3	20000	266,6±2,55	0,01±0,002	-16,1±0,42	31,04±0,2	
F3	10	3	3	20000	320,6±0,83	0,03±0,005	-5,8±0,4	34,3±0,1	
F4	10	2	1	20000	348,6±6,37	0,03±0,015	-11,1±1,1	18,86±0,23	
F5	10	2	2	20000	302,5±1,48	0,03±0,01	-9,45±0,85	26,05±0,1	
F6	10	2	3	15000	339,3±1,77	0,04±0,004	-3,2±1,1	33,09±0,15	
F7	10	2	3	25000	237,2±7,84	0,05±0,01	-3±1,2	35,35±0,29	
F8	10	3	3	25000	266,2±1,92	0,05±0,02	-5,7±2,4	35,84±0,08	
F9	10	1	3	20000	219±4,40	0,1±0,07	-13,8±0,7	30,98±0,38	
F10	10	2	3	20000	252,4±4,24	0,03±0,01	-14,2±0,56	34,87±0,37	
F11	10	3	3	20000	312,4±1,94	0,06±0,01	-13,9±0,89	31,26±0,45	
F12	10	2	3	15000	308,5±15,71	0,07±0,03	-19,1±1,29	31,68±0,51	
F13	10	2	3	25000	223,6±0,68	0,06±0,004	-13,7±1,37	32,02±0,4	
F14	10	3	3	25000	284,5±0,61	0,06±0,02	-11,3±4,14	23,68±0,14	

4.4. Nanopartiküllerin Özellikleri

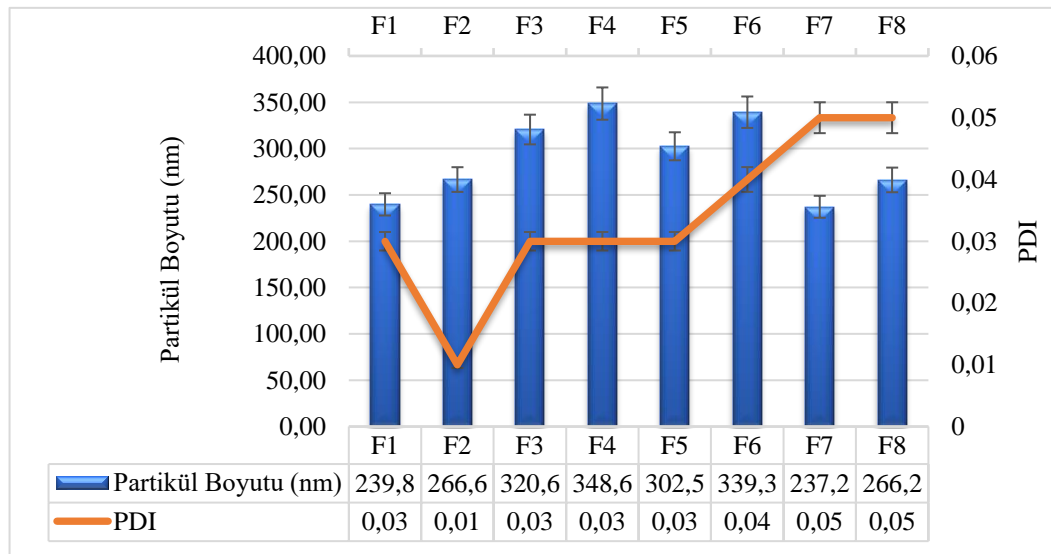
Bu bölümde hazırlanmış olan Tramadol HCl yüklü nanopartiküllere yapılan analizler açıklanmıştır.

4.4.1. Partikül Boyutu, Dağılımı ve Zeta Potansiyeli Analizi

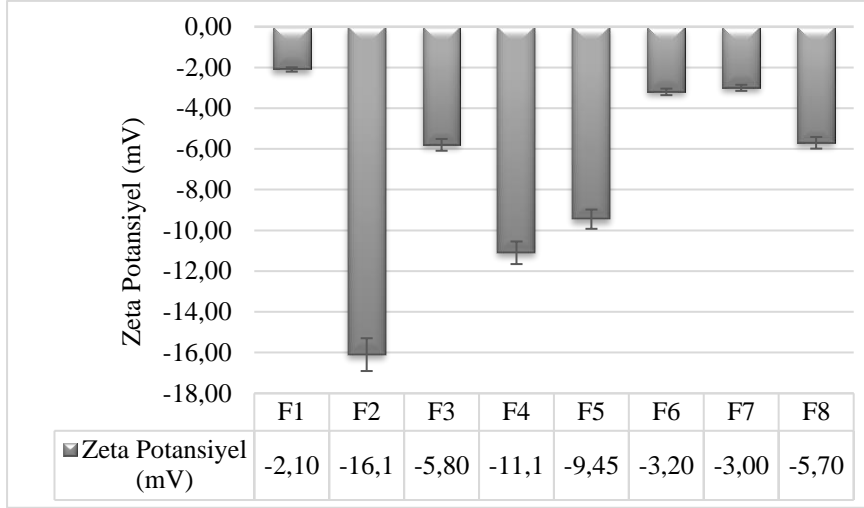
Hazırlanan Tramadol HCl nanopartiküllerine ait partikül boyutu ve polidispersite indeksi değerleri ile zeta potansiyeline ait sonuçlar Çizelge 4.4'te verilmiştir.

4.4.1.1. Polimerin Partikül Boyutu, Dağılımı ve Zeta Potansiyeli Üzerine Etkileri

Tramadol HCl'nin PLGA ile hazırlanmış nanopartiküllerine ait partikül boyutu ve polidispersite indeksi değerleri Şekil 4.17'de, zeta potansiyeli değerleri Şekil 4.18'de verilmiştir. Nanopartiküllerin partikül boyutları 237-349 nm arasında ve polidispersite indeksleri 0,01-0,05 arasındadır. Zeta potansiyeli değerleri -2,1 ile -16,1 mV arasındadır. Nanopartiküllerde partikül boyutu açısından F1 ile F3, F4, F5, F6 arasında, F2 ile F3, F4, F6 arasında, F3 ile F2, F7, F8 arasında, F4 ile F2, F5, F7, F8 arasında, F5 ile F1, F4, F7 arasında, F6 ile F1, F2, F7 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Ancak polidispersite indeksleri ve zeta potansiyeli değerleri arasındaki farklar anlamlı değildir ($p > 0,05$).

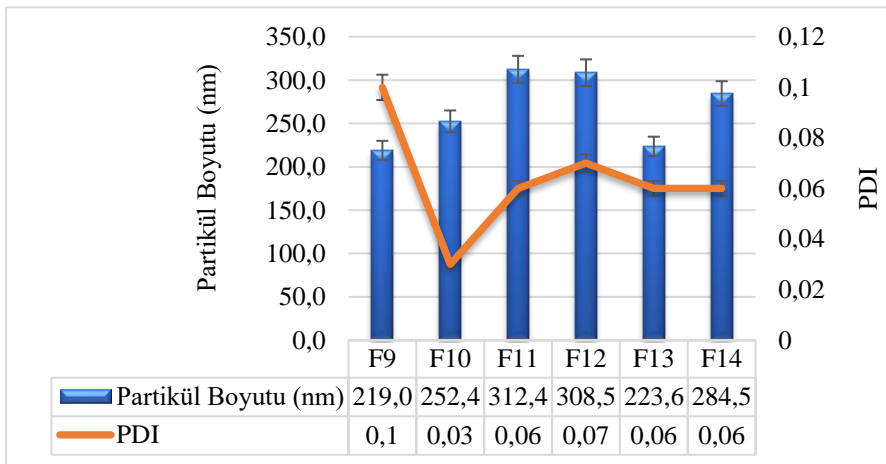


Şekil 4.17. PLGA ile hazırlanan nanopartiküllerin ortalama partikül büyüklüğü ve polidispersite indeksi değerleri (n=3).

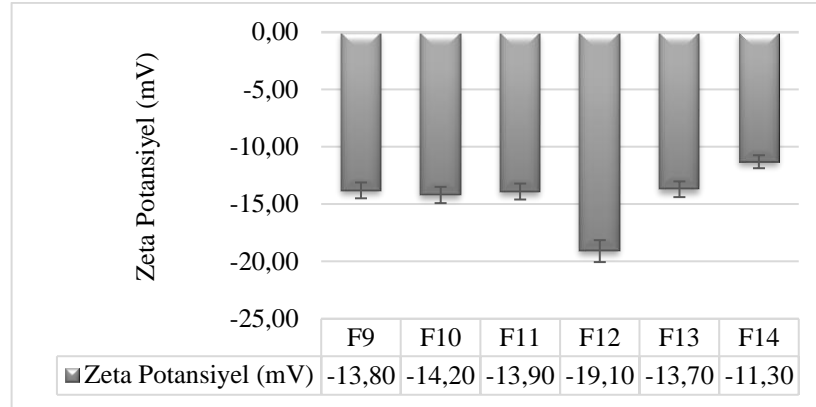


Şekil 4.18. PLGA ile hazırlanan nanopartiküllerin ortalama zeta potansiyel değerleri (n=3).

Tramadol HCl'nin PEG-PLGA ile hazırlanmış nanopartiküllerine ait partikül boyutu ve polidispersite indeksi değerleri Şekil 4.19'da, zeta potansiyeli değerleri Şekil 4.20'de verilmiştir. Nanopartiküllerin partikül boyutları 219-313 nm arasında ve polidispersite indeksleri 0,03-0,1 arasındadır. Zeta potansiyeli değerleri -11 ile -20 mV arasındadır. Nanopartiküllerde partikül boyutu açısından F9 ile F11, F12, F14 arasında, F10 ile F11, F12 arasında, F11 ile F13 arasında, F12 ile F13, F14 arasında, F13 ile F14 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Ancak polidispersite indeksleri ve zeta potansiyeli değerleri arasındaki farklar anlamlı değildir ($p > 0,05$).

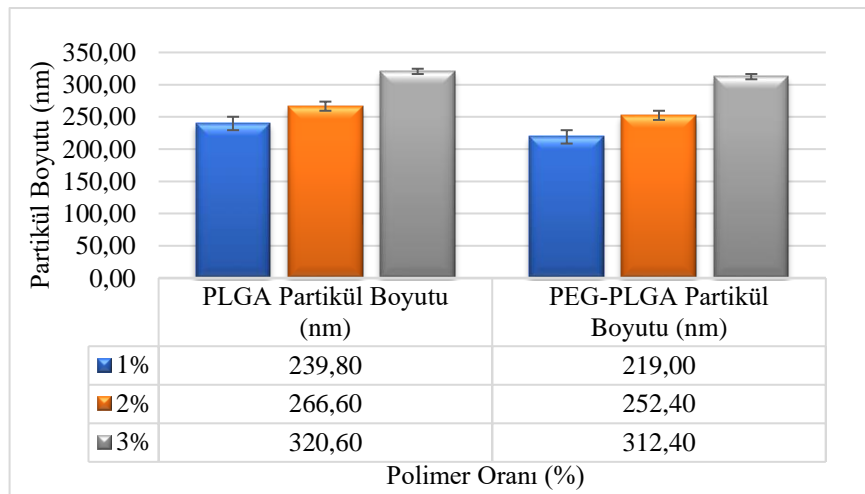


Şekil 4.19. PEG-PLGA ile hazırlanan nanopartiküllerin ortalama partikül büyüklüğü ve polidispersite indeksi değerleri (n=3).

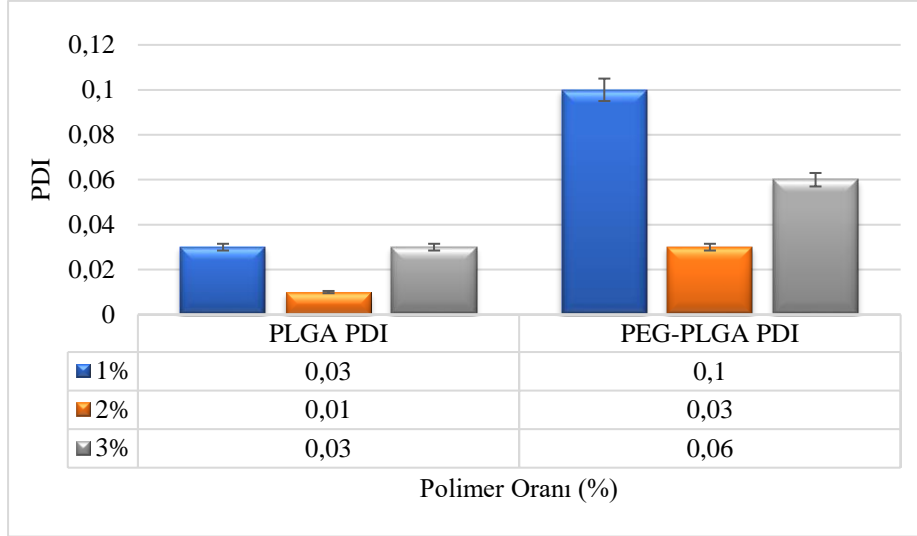


Şekil 4.20. PEG-PLGA ile hazırlanan nanopartiküllerin ortalama zeta potansiyel değerleri (n=3).

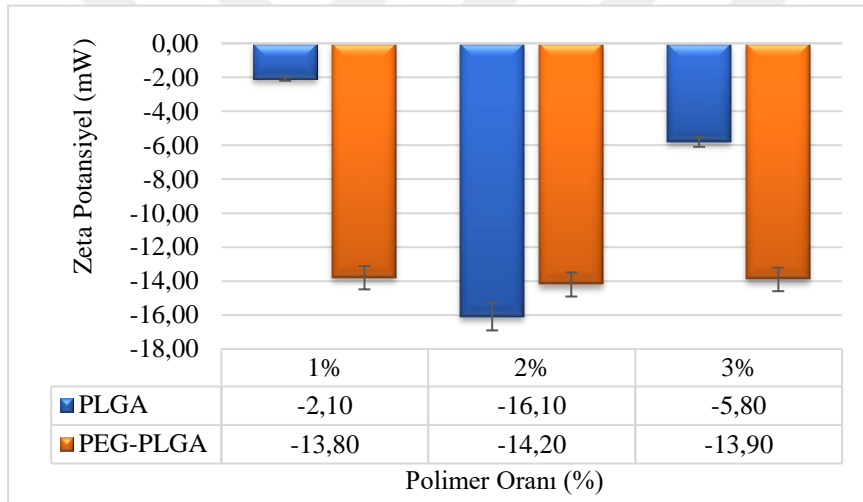
Tramadol HCl'nin PLGA ve PEG-PLGA'nın %1, %2 ve %3 ile hazırlanmış nanopartiküllerine ait partikül boyutu değerleri Şekil 4.21'de, polidispersite indeksi değerleri Şekil 4.22'de ve zeta potansiyeli değerleri Şekil 4.23'te verilmiştir. Nanopartiküllerin partikül boyutları 219-321 nm arasında ve polidispersite indeksleri 0,01-0,1 arasındadır. Zeta potansiyeli değerleri -2 ile -17 mV arasındadır. Nanopartiküllerde partikül boyutu açısından %3 polimer oranı ile hazırlanan nanopartiküller ile %1 ve %2 polimer oranı ile hazırlanan nanopartiküller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Ancak %1 ve %2 polimer oranı ile hazırlanan nanopartiküllerin partikül boyutları arasındaki; nanopartiküllerin polidispersite indeksleri ve zeta potansiyeli değerleri arasındaki farklar anlamlı değildir ($p > 0,05$).



Şekil 4.21. PLGA ve PEG-PLGA'nın farklı derişimleriyle hazırlanan nanopartiküllerin partikül boyutu değerleri (n=3).



Şekil 4.22. PLGA ve PEG-PLGA'nın farklı derişimleriyle hazırlanan nanopartiküllerin polidispersite indeksi değerleri (n=3).

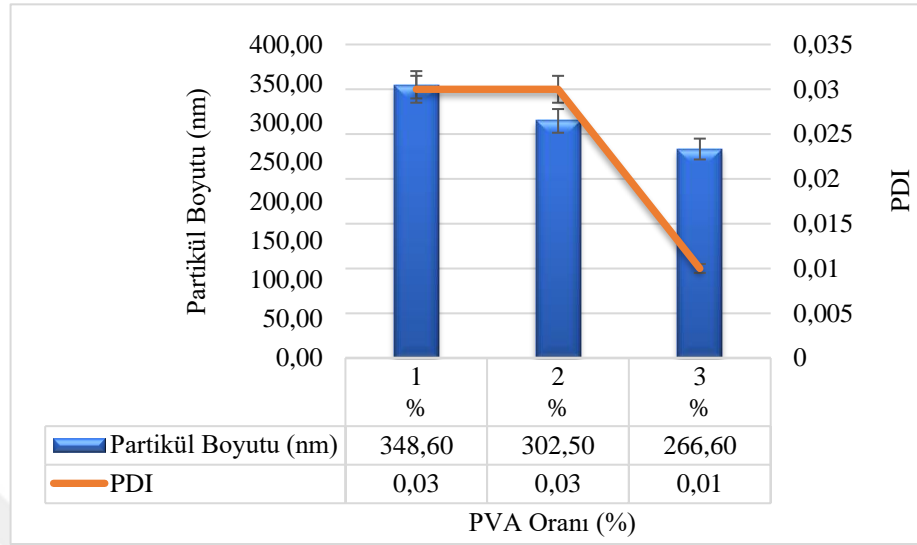


Şekil 4.23. PLGA ve PEG-PLGA'nın farklı derişimleriyle hazırlanan nanopartiküllerin zeta potansiyel değerleri (n=3).

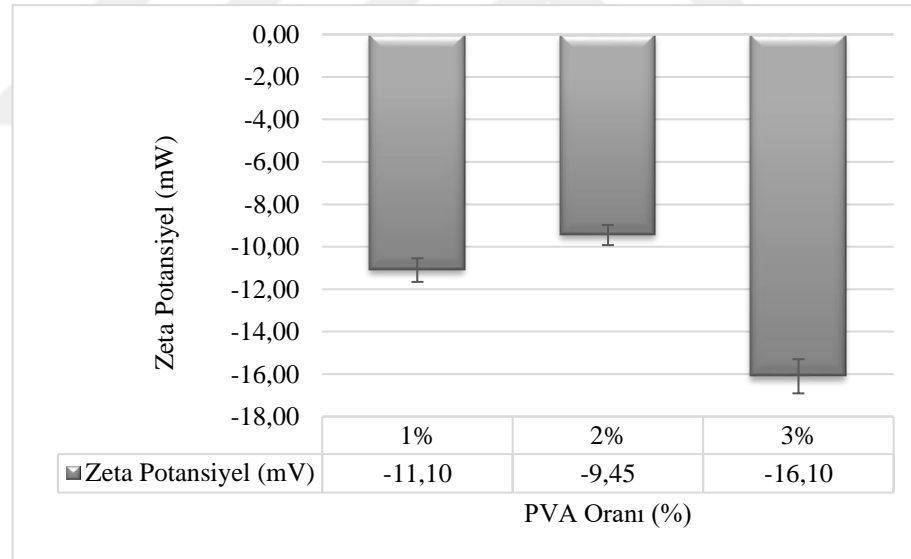
4.4.1.3. Yüzey Etken Maddenin Partikül Boyutu, Dağılımı ve Zeta Potansiyeli Üzerine Etkileri

Nanopartikül hazırlamada kullanılan stabilizan maddelerden PVA'nın farklı derişimleriyle (%1, %2, %3) hazırlanan nanopartiküllerin partikül büyüklüğü ve polidispersite indeksi (Şekil 4.24) ve zeta potansiyeli (Şekil 4.25) gibi karakteristik özellikleri incelenmiştir. Partikül boyutları değerlendirildiğinde %1 PVA ile hazırlanmış nanopartiküller ile %2 ve %3 PVA oranı ile hazırlananlar arasında anlamlı ($p < 0.05$) bir fark bulunmuştur. Ancak polidispersite indeksleri arasındaki

fark anlamlı değildir ($p>0.05$). En küçük partikül boyutu ve polidispersite indeksi %3 PVA oranı ile elde edilmiştir.



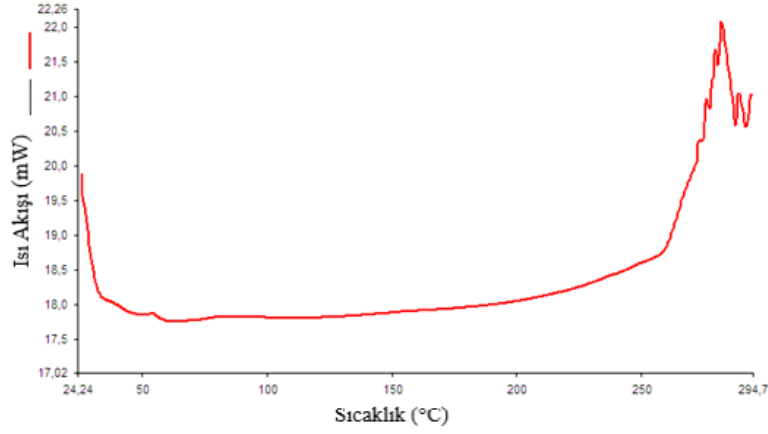
Şekil 4.24. PVA'nın farklı derişimleriyle hazırlanan nanopartiküllerin partikül boyutu ve polidispersite indeksi değerleri (n=3).



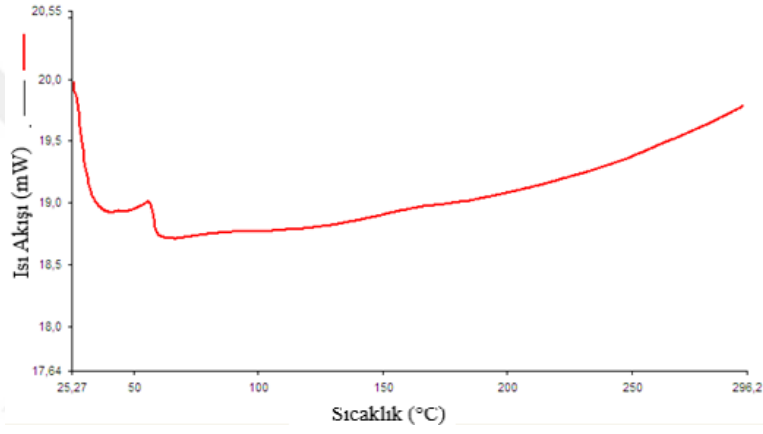
Şekil 4.25. PVA'nın farklı derişimleriyle hazırlanan nanopartiküllerin zeta potansiyel değerleri (n=3).

4.4.3. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DTK) Analizi

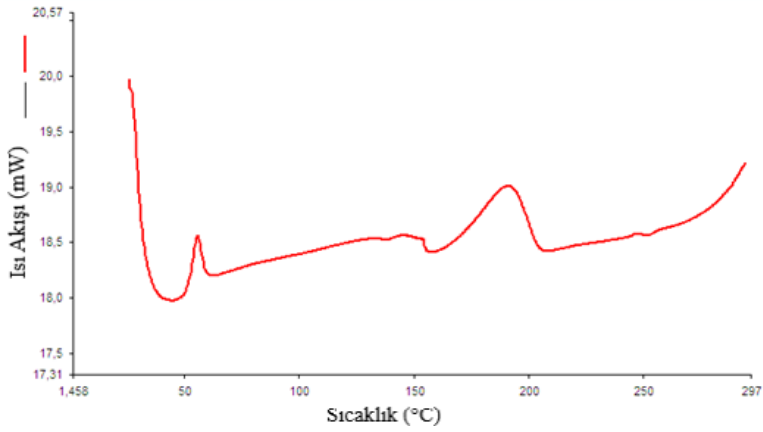
Tramadol HCl ile hazırlanan nanopartiküller ve yardımcı maddelere ait DTK termogramları Şekil 4.26-4.42'de gösterilmiştir.



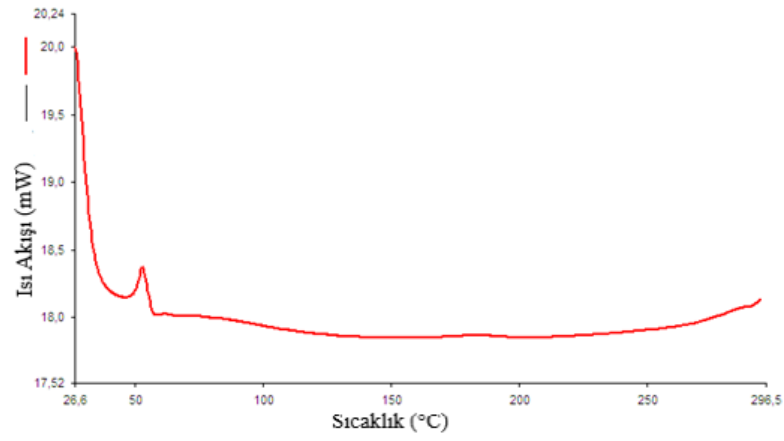
Şekil 4.26. PEG-PLGA'ya ait DTK termogramı.



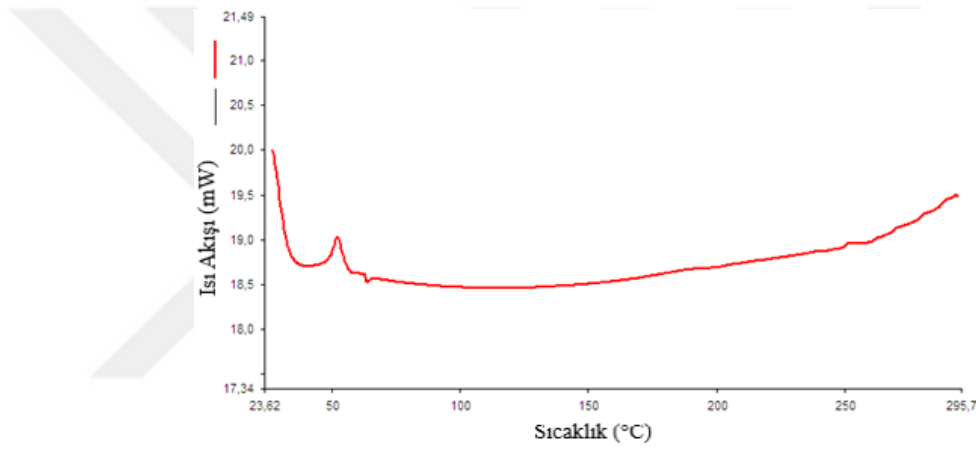
Şekil 4.27 PLGA'ya ait DTK termogramı.



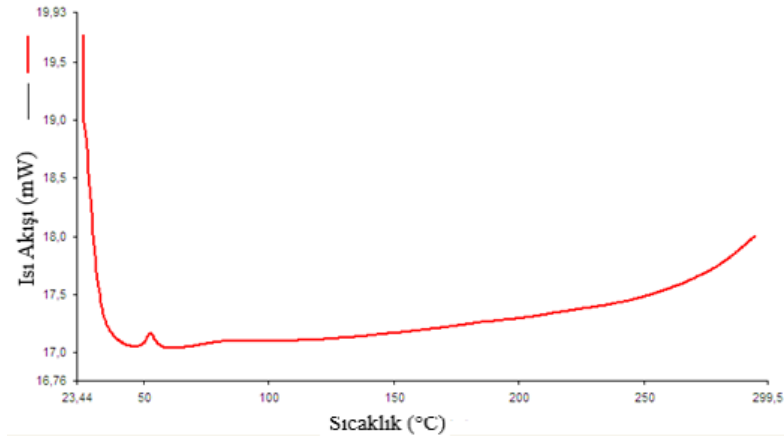
Şekil 4.28. PVA'ya ait DTK termogramı.



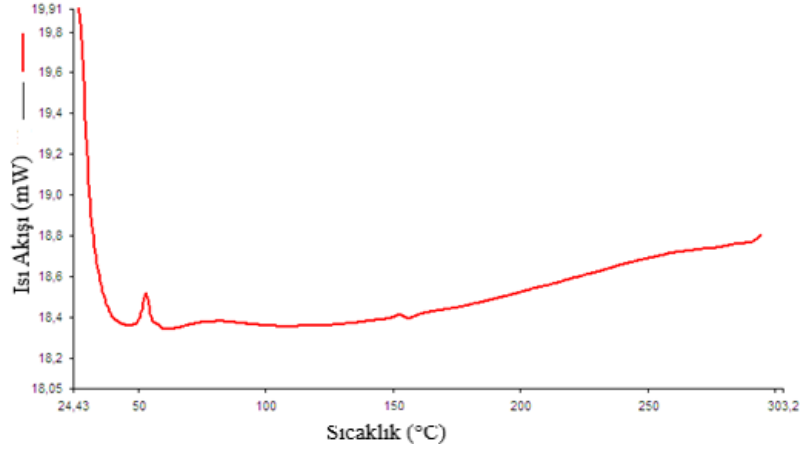
Şekil 4.29. F1 formülasyonuna ait DTK termogramı.



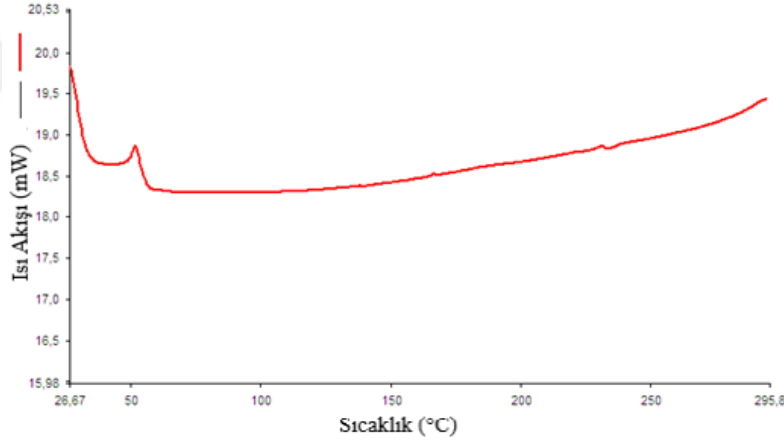
Şekil 4.30. F2 formülasyonuna ait DTK termogramı.



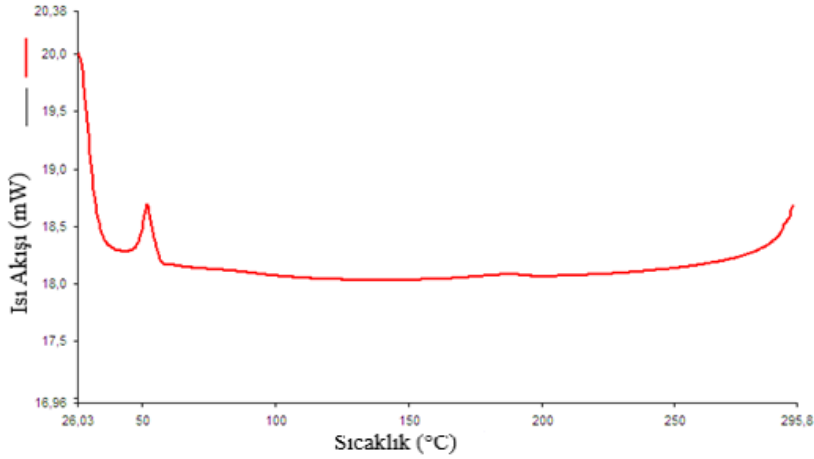
Şekil 4.31. F3 formülasyonuna ait DTK termogramı.



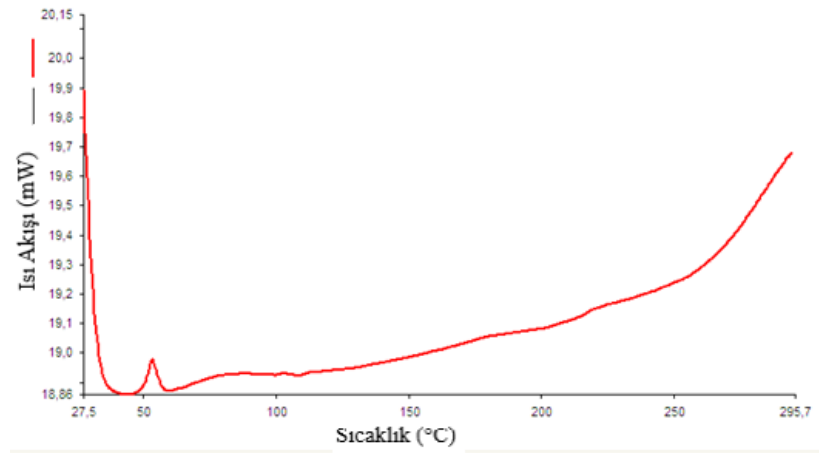
Şekil 4.32. F4 formülasyonuna ait DTK termogramı.



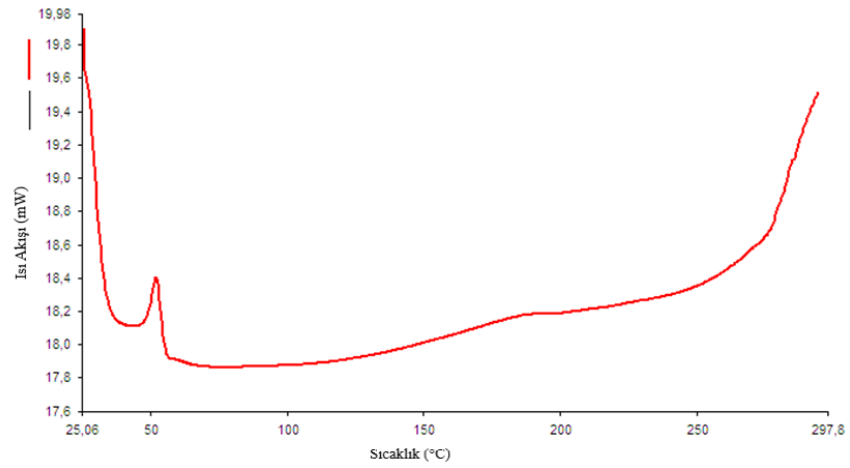
Şekil 4.33. F5 formülasyonuna ait DTK termogramı.



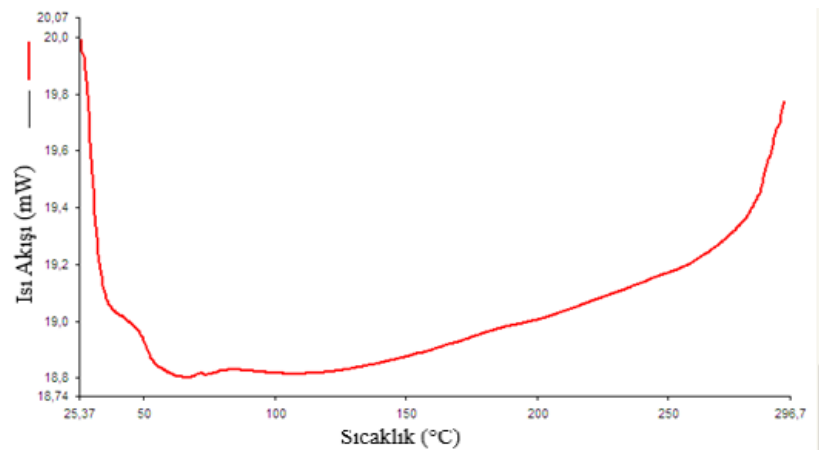
Şekil 4.34. F6 formülasyonuna ait DTK termogramı.



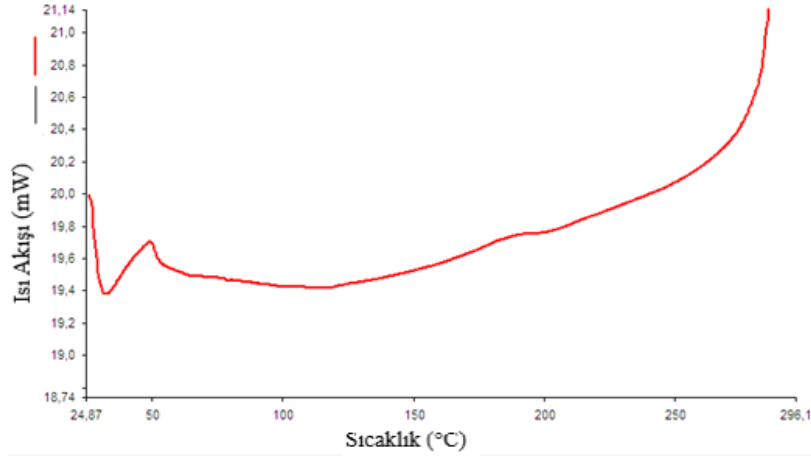
Şekil 4.35. F7 formülasyonuna ait DTK termogramı.



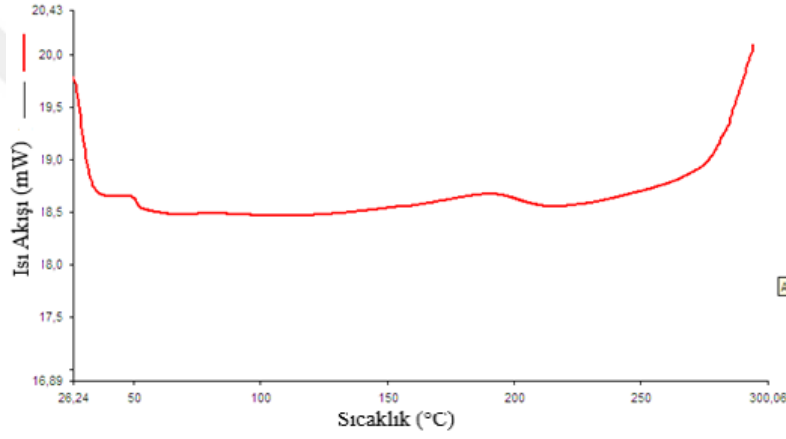
Şekil 4.36. F8 formülasyonuna ait DTK termogramı.



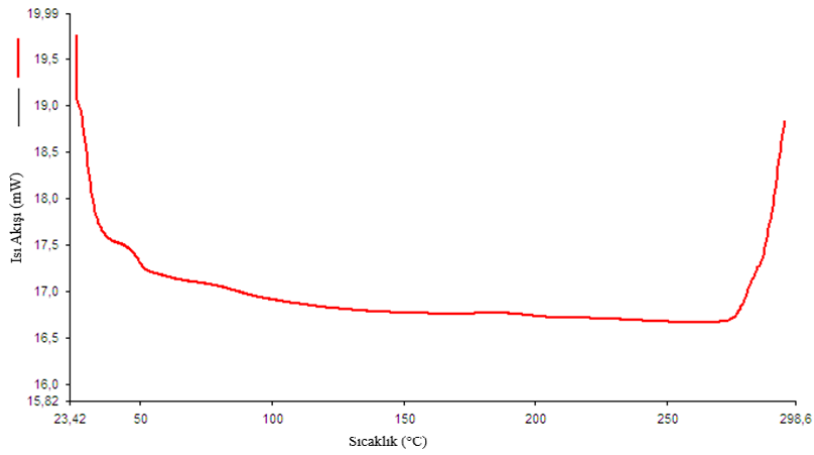
Şekil 4.37. F9 formülasyonuna ait DTK termogramı.



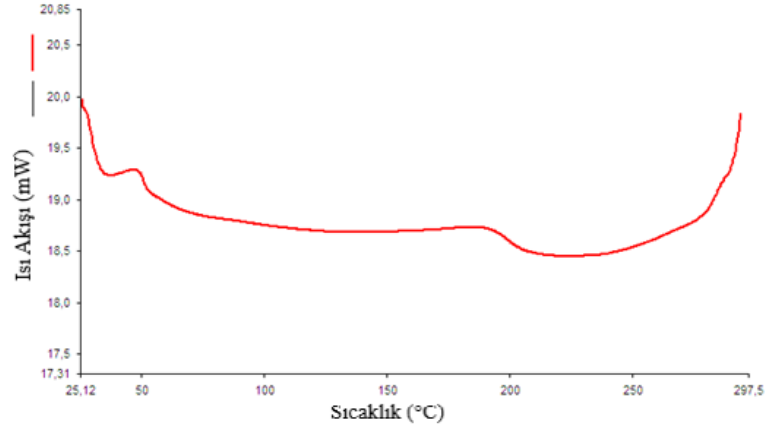
Şekil 4.38. F10 formülasyonuna ait DTK termogramı.



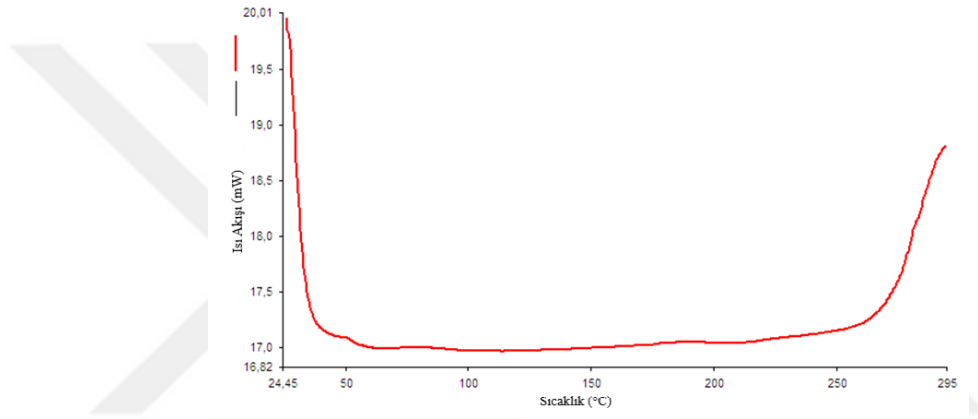
Şekil 4.39. F11 formülasyonuna ait DTK termogramı.



Şekil 4.40. F12 formülasyonuna ait DTK termogramı.



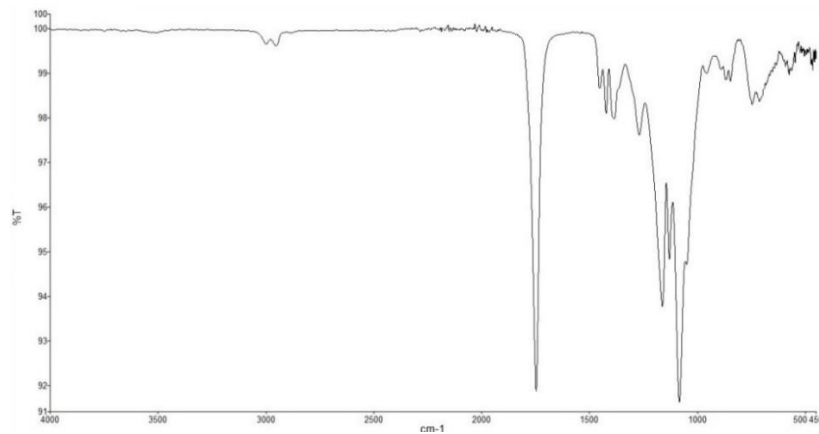
Şekil 4.41. F13 formülasyonuna ait DTK termogramı.



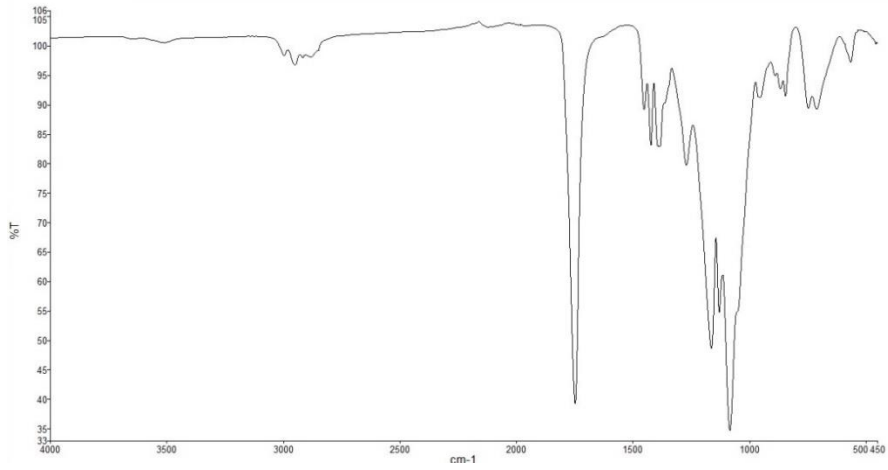
Şekil 4.42. F14 formülasyonuna ait DTK termogramı.

4.4.4. Infrared (Kızılötesi) Spektroskopisi (FT-IR) Analizi

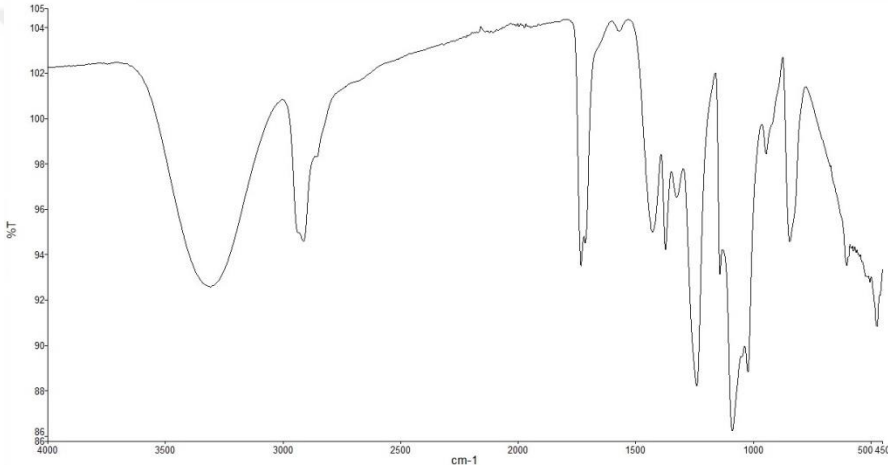
Tramadol HCl ile hazırlanan nanopartiküller ve yardımcı maddelere ait FT-IR spektrumları Şekil 4.43-4.59'da gösterilmiştir.



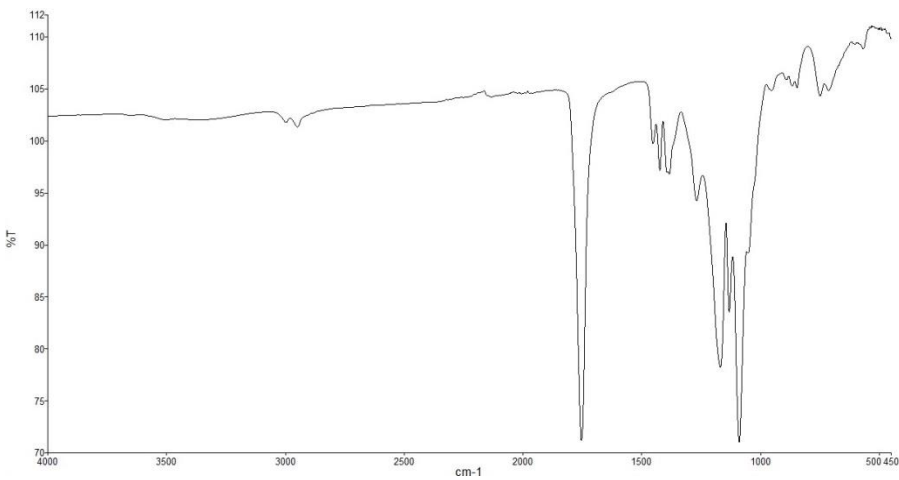
Şekil 4.43. PLGA'nın FT-IR spektrumu (%T: %Transmitans, cm⁻¹: Dalga sayısı).



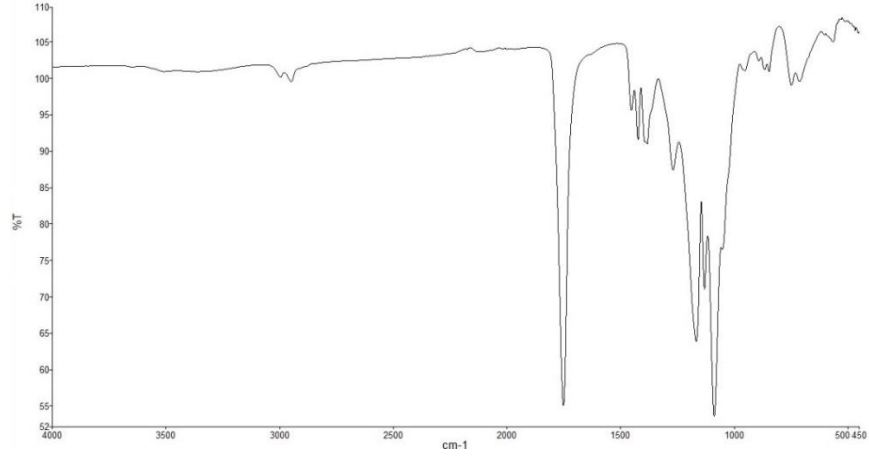
Şekil 4.44. PEG-PLGA'nın FT-IR spektrumu (%T: %Transmitans, cm⁻¹: Dalga sayısı).



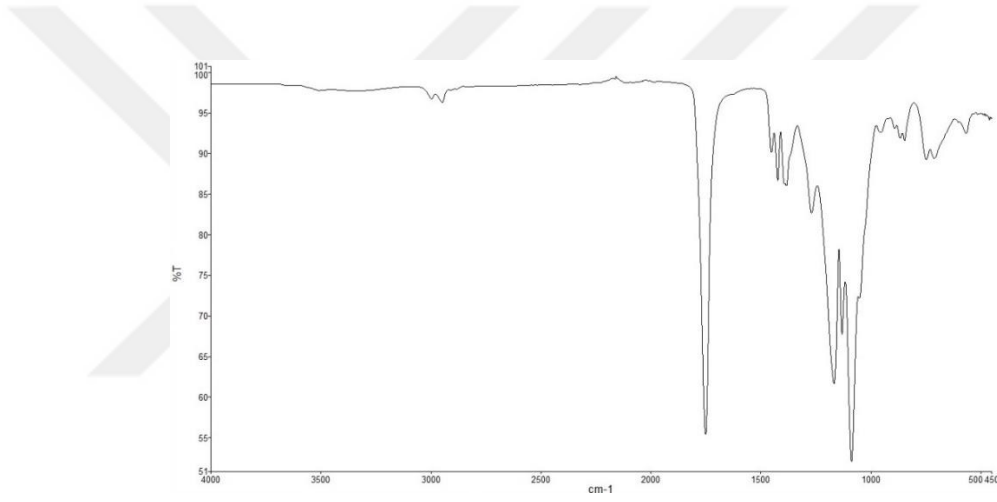
Şekil 4.45. PVA'nın FT-IR spektrumu (%T: %Transmitans, cm⁻¹: Dalga sayısı).



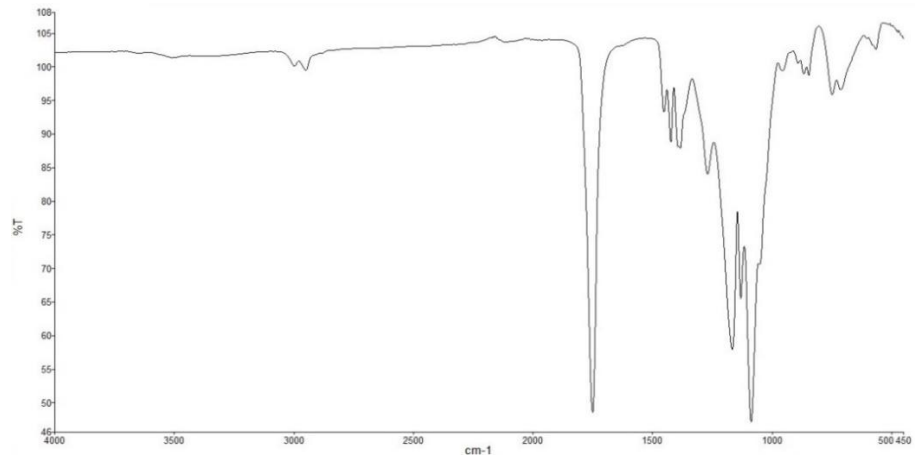
Şekil 4.46. F1 formülasyonuna ait FT-IR spektrumu (%T: %Transmitans, cm⁻¹: Dalga sayısı).



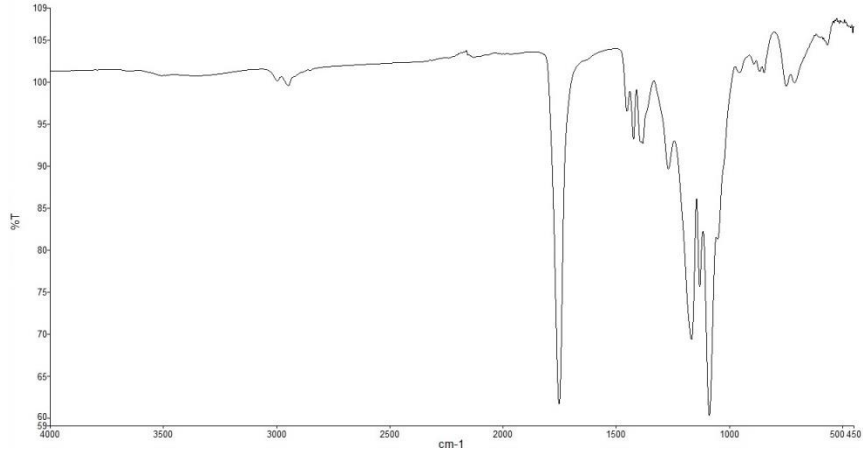
Şekil 4.47. F2 formulasyonuna ait FT-IR spektrumu (%T: %Transmitans, cm^{-1} : Dalga sayısı).



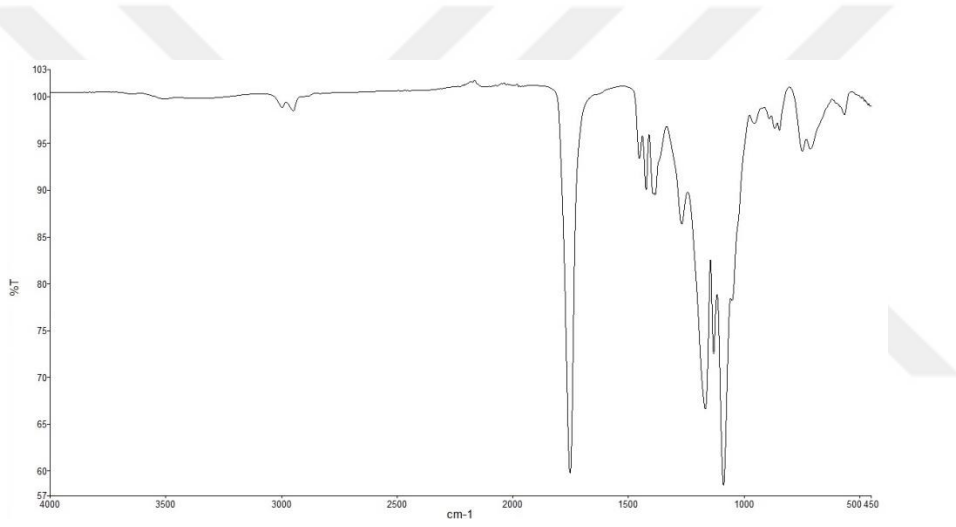
Şekil 4.48. F3 formulasyonuna ait FT-IR spektrumu (%T: %Transmitans, cm^{-1} : Dalga sayısı).



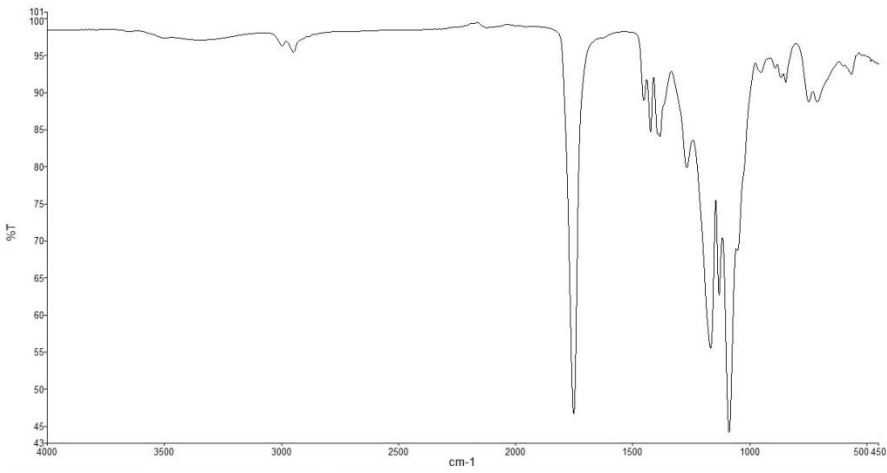
Şekil 4.49. F4 formulasyonuna ait FT-IR spektrumu (%T: %Transmitans, cm^{-1} : Dalga sayısı).



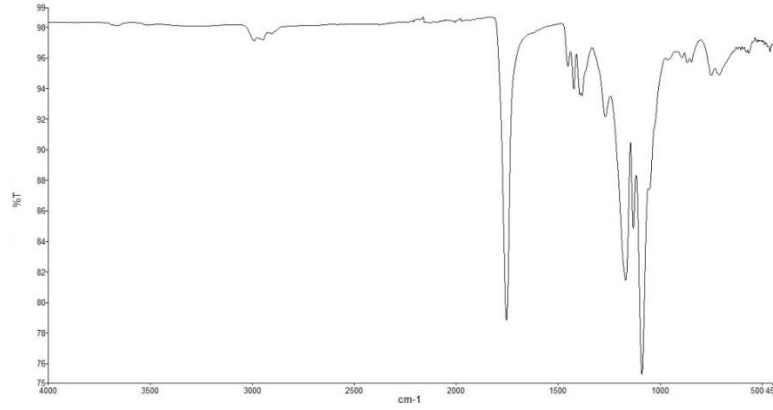
Şekil 4.50. F5 formulasyonuna ait FT-IR spektrumu (% T: %Transmitans, cm⁻¹: Dalga sayısı).



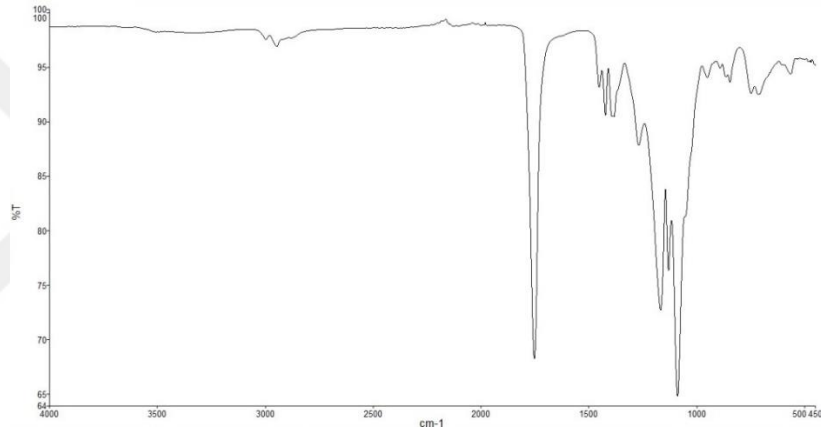
Şekil 4.51. F6 formulasyonuna ait FT-IR spektrumu (% T: %Transmitans, cm⁻¹: Dalga sayısı).



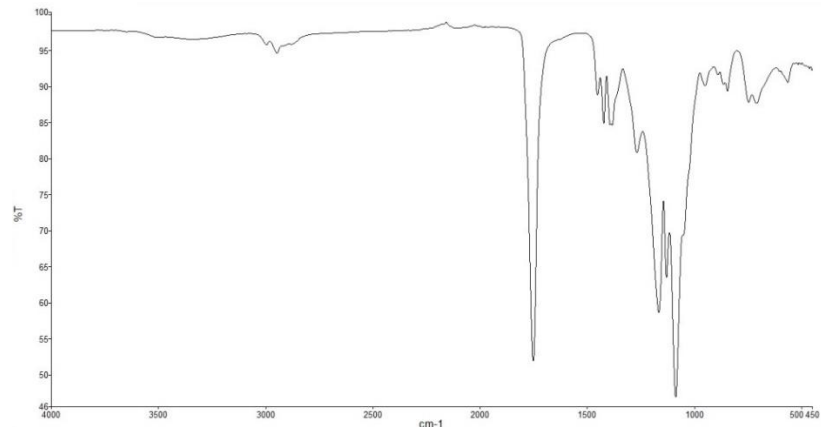
Şekil 4.52. F7 formülasyonuna ait FT-IR spektrumu (%T: %Transmitans, cm^{-1} : Dalga sayısı).



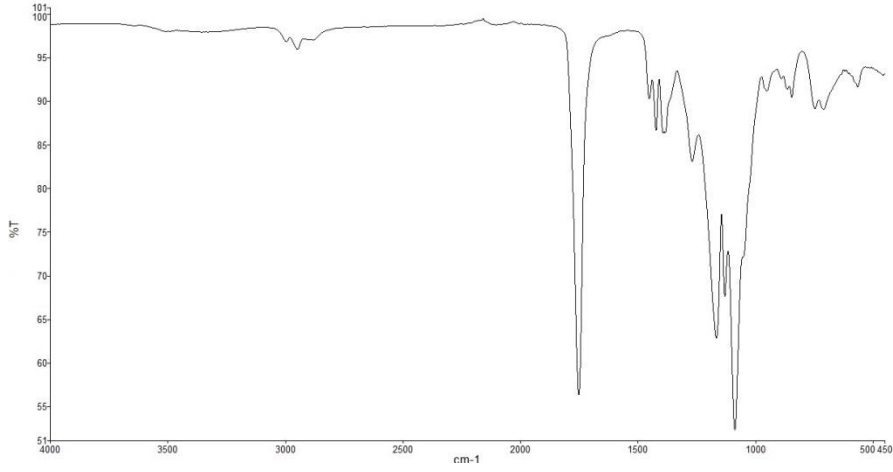
Şekil 4.53. F8 formülasyonuna ait FT-IR spektrumu (%T: %Transmitans, cm^{-1} : Dalga sayısı).



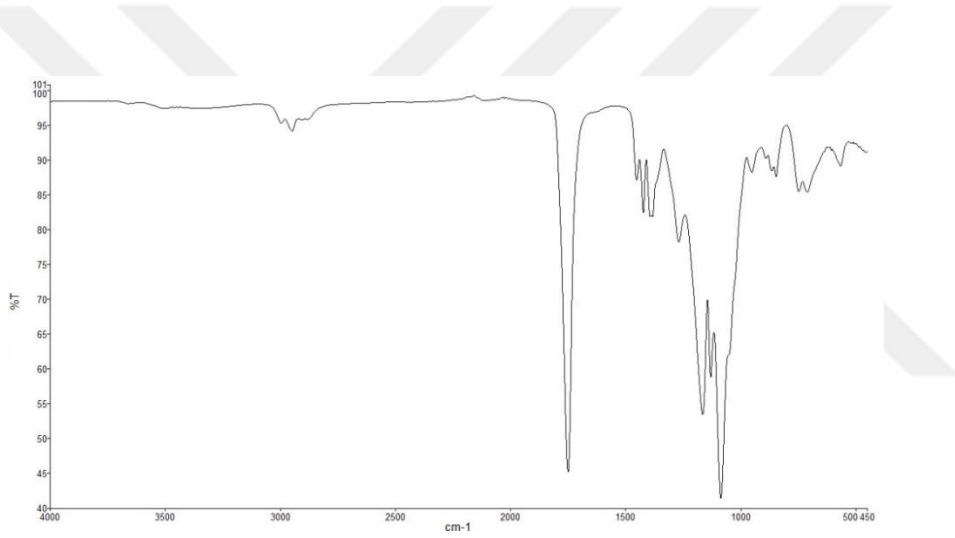
Şekil 4.54. F9 formülasyonuna ait FT-IR spektrumu (%T: %Transmitans, cm^{-1} : Dalga sayısı).



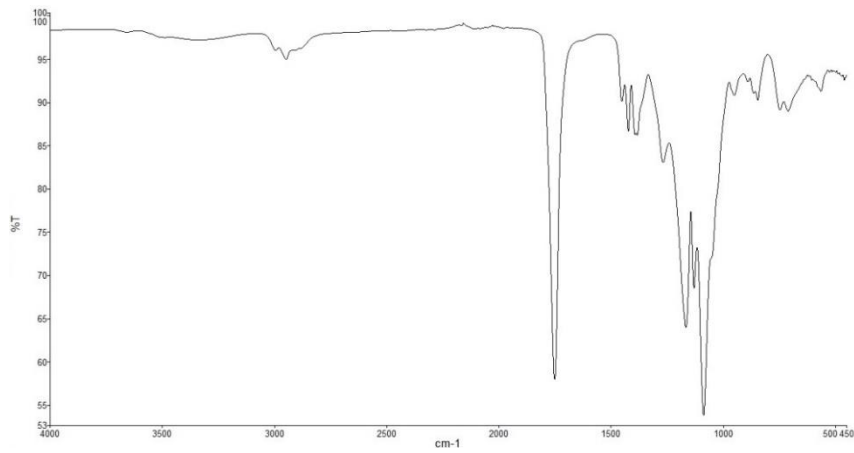
Şekil 4.55. F10 formülasyonuna ait FT-IR spektrumu (%T: %Transmitans, cm^{-1} : Dalga sayısı).



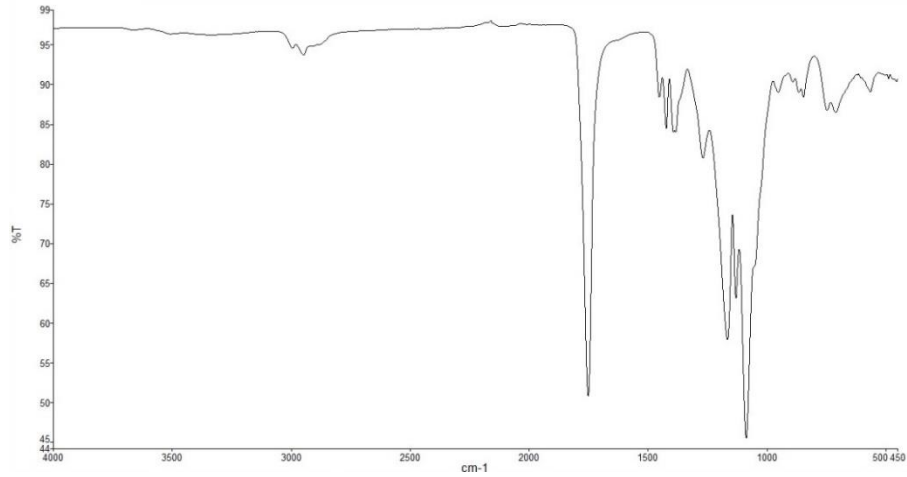
Şekil 4.56. F11 formülasyonuna ait FT-IR spektrumu (% T: % Transmittans, cm⁻¹: Dalga sayısı).



Şekil 4.57. F12 formülasyonuna ait FT-IR spektrumu (% T: % Transmittans, cm⁻¹: Dalga sayısı).



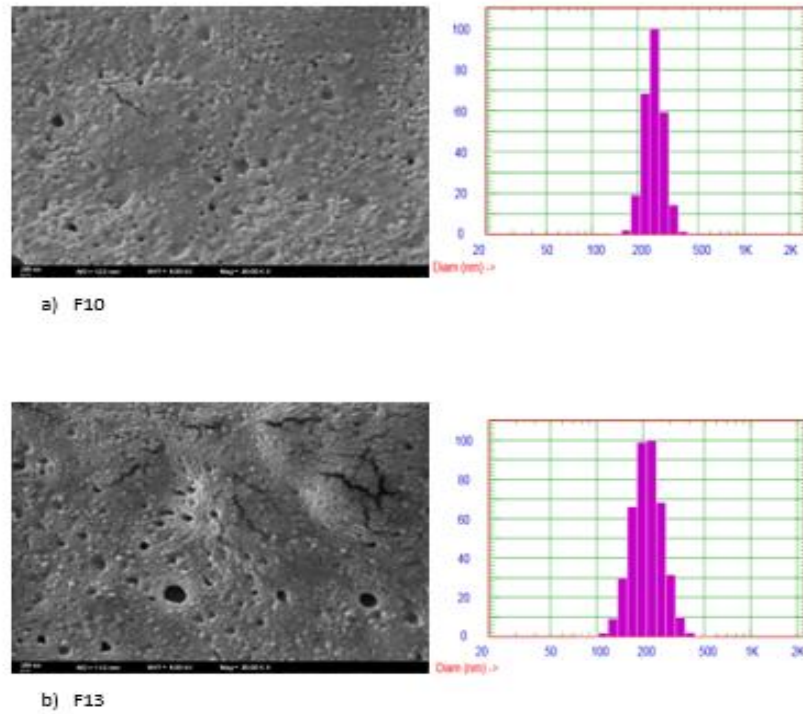
Şekil 4.58. F13 formülasyonuna ait FT-IR spektrumu (% T: % Transmittans, cm⁻¹: Dalga sayısı).



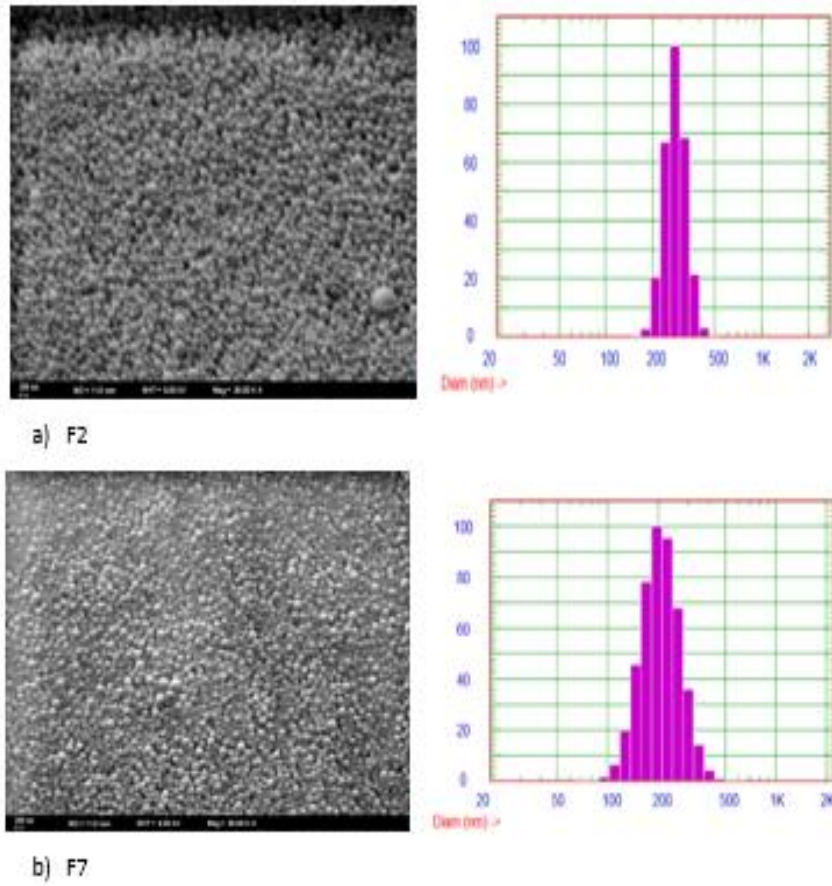
Şekil 4.59. F14 formülasyonuna ait FT-IR spektrumu (%T: %Transmitans, cm^{-1} : Dalga sayısı).

4.4.5. Elektron Mikroskobu Analizi

Hazırlanan nanopartiküllerin yüzey karakterizasyonları için SEM görüntüleri ve PCS sonuçları Şekil 4.60 ve 4.61’de gösterilmiştir.



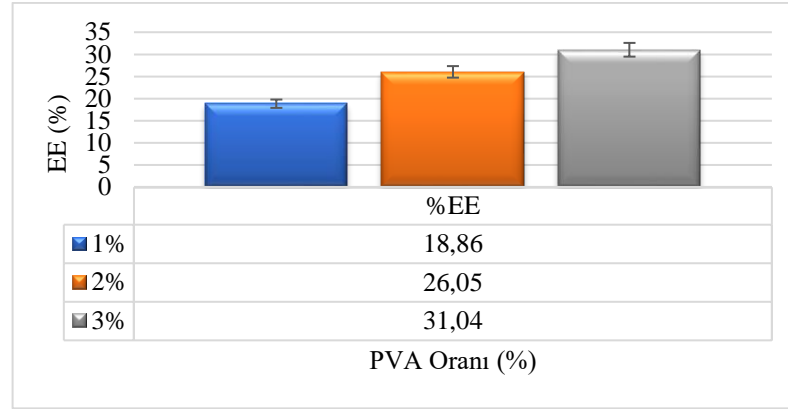
Şekil 4.60. PEG-PLGA nanopartiküllerin PCS sonuçları ve SEM görüntüleri.



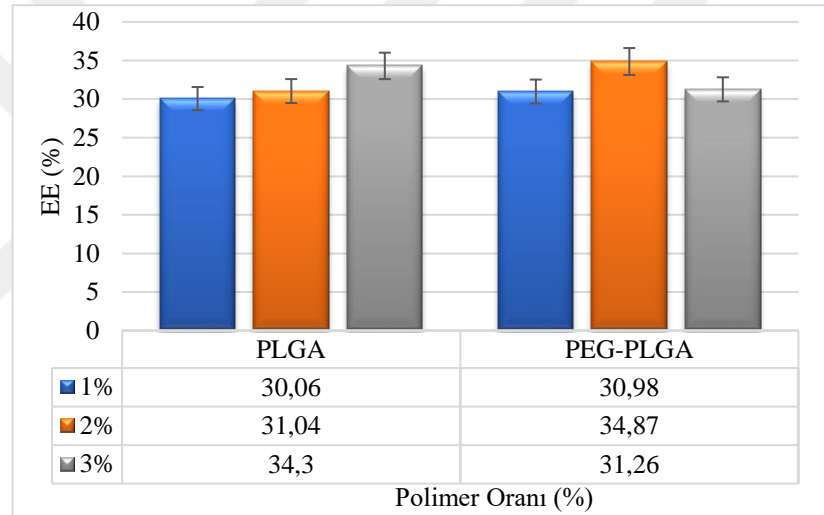
Şekil 4.61. PLGA nanopartiküllerin PCS sonuçları ve SEM görüntüleri.

4.4.5. Enkapsülasyon Etkinliğinin Hesaplanması

Tramadol HCl'nin PLGA ve PEG-PLGA ile hazırlanan nanopartiküllerinin enkapsülasyon etkinliğinin hesaplanması Bölüm 3.2.4.6 'da özetlendiği gibi gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Şekil 4.62-4.63'te gösterilmiştir. Yapılan enkapsülasyon etkinlik çalışmaları sonucunda formülasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç yoktur ($p > 0.05$). Ancak en küçük %EE değeri %1 PVA oranı ile en yüksek %EE değeri ise %3 PVA oranı ile elde edilmiştir (Şekil 4.43). PLGA için %3, PEG-PLGA için ise %2 polimer oranlarında en yüksek %EE elde edilmiştir (Şekil 4.44).



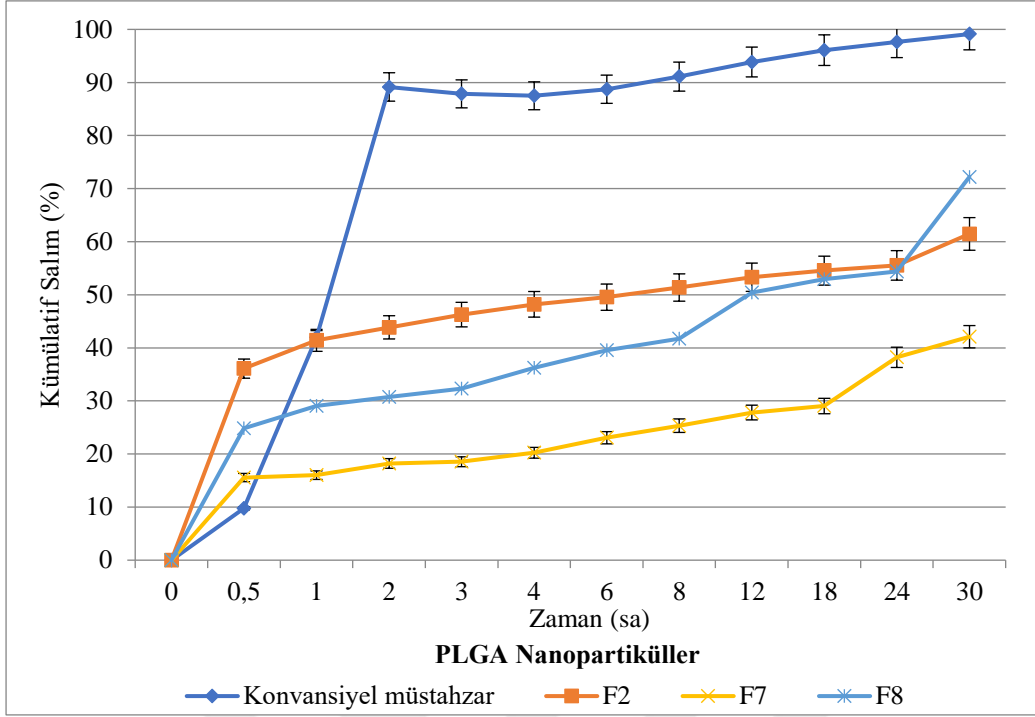
Şekil 4.62. PVA'nın farklı derişimlerine göre enkapsülasyon etkinliği sonuçları (n=3).



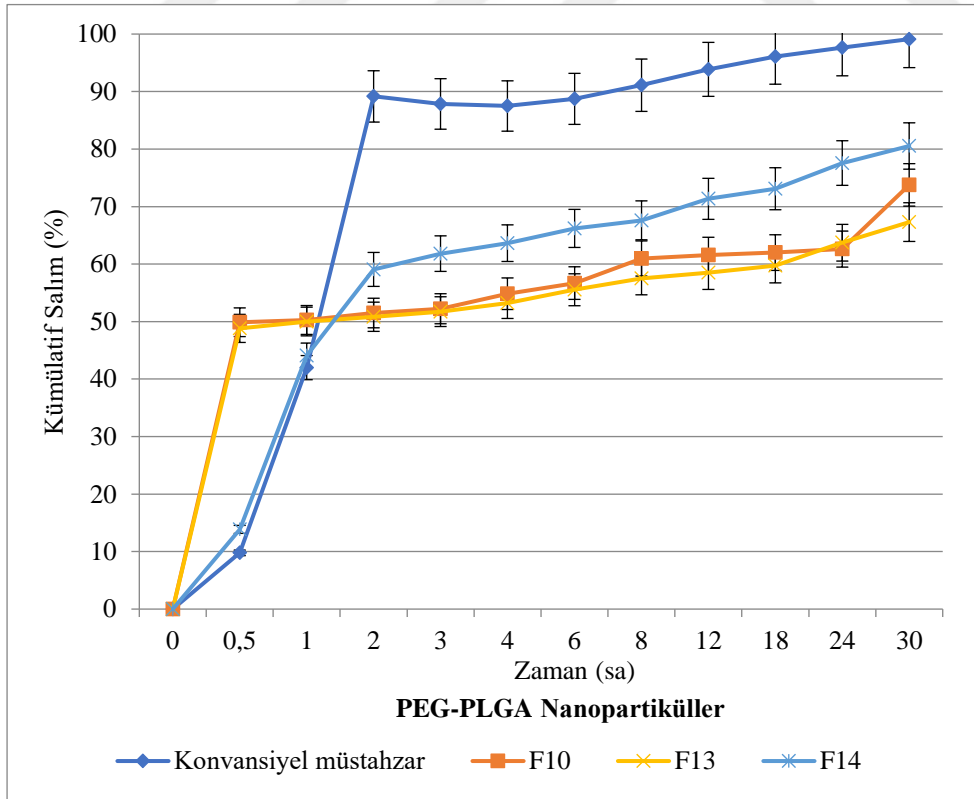
Şekil 4.63. PLGA ve PEG-PLGA'nın farklı derişimlerine göre enkapsülasyon etkinliği sonuçları (n=3).

4.5. *In Vitro* Salım Çalışmaları

Tramadol HCl'nin PLGA ve PEG-PLGA ile hazırlanan nanopartiküllerinin ve karşılaştırma için konvansiyonel parenteral bir müstahzarın *in vitro* ilaç salım profili pH 7,4 Fosfat-tuz tamponunda Bölüm 3.2.5'te anlatıldığı gibi yapılmıştır. Hazırlanan formülasyonlar salım ortamına konulduktan sonra 0,5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 18, 24 ve 30. saatlerde örnekler alınmış ve YPSK ile miktar tayini yapılarak kümülatif salım değerleri hesaplanmıştır. Formülasyonların salım profilleri Şekil 4.64 ve Şekil 4.65'te verilmiştir.



Şekil 4.64. PLGA nanopartiküllere ait kümülatif salım sonuçları (n=3).



Şekil 4.65. PEG-PLGA nanopartiküllere ait kümülatif salım sonuçları.

PLGA ve PEG-PLGA nanopartiküllerinin *in vitro* salım sonuçları kullanılarak hesaplanan salım kinetik sonuç değerleri Çizelge 4.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.5. Kinetik modellere ait korelasyon katsayısı (r^2) değerleri.

Nanopartikül Formülasyonları	Kinetik Model			
	Sıfır Derece $F=kt+F_0$	Birinci Derece $F=F_0 e^{-kt}$	Higuchi $F=k\sqrt{t}$	Hixon Crowell $F^{1/3}=kt+F_0^{1/3}$
F2	0,8056	0,8533	0,9161	0,8387
F7	0,9734	0,9614	0,9755	0,9754
F8	0,9375	0,921	0,9504	0,9326
F10	0,8754	0,8664	0,8969	0,8721
F13	0,95	0,9651	0,9791	0,9611
F14	0,4826	0,6408	0,7096	0,6332

4.6. Stabilite Çalışmaları

Tramadol HCl ile yüklü PLGA nanopartiküllerinin 3 aylık süre içinde partikül büyüklüğü, PDI ve zeta potansiyelindeki değişikliklerin incelenmesi amacı ile kısa süreli fiziksel stabilite çalışması yapılmıştır. Bu çalışma için F7 nanopartikül formülasyonundan başlangıçta ve 3 ay sonra örnekler alınmış, ortalama partikül büyüklüğü, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli değerleri (Çizelge 4.6) ölçülmüştür.

Yapılan kısa süreli fiziksel stabilite çalışmalarında PLGA nanopartiküllerde -20°C'de ortalama partikül büyüklüğünde 42 nm'lik bir artış, 4°C'de 41 nm'lik bir artış ve 25°C'de ise 7045 nm'lik bir artış görülmüştür. Partikül boyutları değerlendirildiğinde -20°C ve 4°C'de saklanan nanopartiküllerde istatistiksel olarak bir fark yoktur ancak 25°C'de saklanan nanopartiküllerin ortalama partikül büyüklüğü arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,05$). Polidispersite indeksi değerlendirildiğinde partiküller arasında sadece 25°C'deki formülasyonda anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,05$).

Çizelge 4.6. Saklama sıcaklığının partikül boyutu, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli üzerine etkisi (n=3).

	Başlangıç	-20°C	4°C	25°C
Partikül boyutu (nm)	237,2±7,84	278,53±6,67	309,26±2,32	7285,6±2022
PDI	0,05±0,01	0,034±0,018	0,038±0,021	2,02±0,39
Zeta Potansiyeli (mW)	-3±1,2	-6,79±0,61	-17,91±1,36	-2,21±0,97

Nanopartiküllerin farklı izotonik ve plazma hacmini artırıcı çözeltiler içindeki stabilitesinin incelenmesi amacıyla F7 formülasyonu %0,9 Sodyum klorür, %5 Dekstroz, %20 Mannitol, %10 Dekstran 40, %6 Hidroksietil nişasta ve %4 Süksinil jelatin çözeltileri içerisine konularak 24 saat süreyle 37°C'de su banyosunda bekletme sonrasında partikül büyüklüğü, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli değerleri ölçülmüştür (Çizelge 4.7). Buna göre nanopartikülün ilk ölçülen partikül boyutu ile çözelti içindeki başlangıç partikül boyutları değerlendirildiğinde %6 Hidroksietil nişasta, %4 Süksinil jelatin ve %10 Dekstran 40 solüsyonları ile nanopartikülün boyutu anlamlı derecede farklıdır ($p<0.05$). 24 saat 37°C'de bekletme sonrasında saf suyla 17,53±0,71 nm'lik artış, %0,9 Sodyum klorür ile 11,77±2,42 nm'lik azalış, %5 Dekstroz ile 10,46±0,79 nm'lik artış, %20 Mannitol ile 173,63±60 nm'lik artış, %10 Dekstran 40 ile 3120,27±5260,36 nm'lik artış, %6 Hidroksietil nişasta ile 28,7±4,49 nm'lik artış, %4 Süksinil jelatin ile 26456,63±23,37 nm'lik azalış hesaplanmıştır. %6 Hidroksietil nişasta, %20 Mannitol, %10 Dekstran 40 ve %4 Süksinil jelatin ile seyreltilen nanopartiküllerin 24 saat 37°C'de bekletme sonrasında partikül boyutlarında anlamlı ($p<0.05$) bir fark bulunmuştur. Polidispersite indeksleri ve zeta potansiyeli değerleri açısından farklı çözeltilerdeki nanopartiküller arasında anlamlı ($p>0.05$) bir fark bulunamamıştır.

Çizelge 4.7. Farklı izotonik ve plazma hacmini artırıcı çözeltilerin nanopartiküllerin partikül boyutu, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli üzerine etkisi (n=3).

İzotonik ve Plazma hacmini artırıcı çözeltiler	Partikül boyutu (nm)		PDI		Zeta Potansiyeli (mW)	
	0. sa	24.sa	1. sa	24.sa	2. sa	24.sa
SAF SU	279,1±6,67	296,63±0,71	0,034±0,034	0,055±0,05	-6,79±0,61	-7,87±0,32
SERUM FİZYOLOJİK	297,47±0,83	285,7±2,42	0,062±0,019	0,158±0,021	-12,55±6,20	-7,05±2,09
%5 DEKSTROZ	300,67±2,38	311,13±0,79	0,094±0,017	0,071±0,026	-7,57±0,51	-7,13±0,29
%20 MANNİTOL	324,27±4,27	497,9±60	0,119±0,027	0,691±0,12	-10,24±2,87	-6,01±2,49
%4 SÜKSİNİL JELATİN	27488,53±2683	1031,9±23,37	5,51±3,53	2,25±0,21	7,52±4,13	2,47±1,04
%10 DEKSTRAN 40	22983,03±2931	26103,3±8191,36	1,985±0,43	2,147±0,5	-5,58±2,26	-3,42±1,48
%6 HİDROKSİETİL NİŞASTA	358,37±5,8	387,07±4,49	0,148±0,005	0,072±0,003	14,13±4,04	-6,68±2,85

TARTIŞMA

Tramadol HCl, Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmış, merkezi sinir sistemi üzerinde etkili, opioid ve opioid olmayan özellikler gösteren sentetik bir analjezik ilaçtır. Çeşitli akut ve kronik orta ve şiddetli ağrıların tedavisinde oral, intramusküler veya intravenöz olarak kullanılır. Tramadol HCl'nin günlük dozu 100-400 mg arasında ve maksimum dozu 400 mg'dır. Yarılanma ömrü yaklaşık 6 saat olduğundan dolayı konvansiyonel ilaç şekillerinde etkin bir tedavi için her 4-6 saatte bir verilmesi gerekir. Tekrarlanan uygulamalardan sonra Tramadol HCl'nin plazma seviyelerinde dip ve tepe noktalara ulaşması, mide bulantısı, kusma, baş dönmesi ve uyuşukluk gibi merkezi etkili opioid benzeri yan etkiler ve baş ağrısı, terleme, ağız kuruluğu ve yorgunluk gibi monoaminerjik yan etkiler ortaya çıkarabilmektedir. Tramadol HCl ile doz aşımında uyuşukluk, bulantı, taşikardi, ajitasyon, nöbetler, koma, hipertansiyon ve solunum depresyonu en sık görülen semptomlar arasındadır. Bu yan etkilerin ortadan kaldırılması ve hastaların kullanımını kolaylaştırmak için çeşitli uzun salımlı tabletler piyasaya sürülmüştür. Türkiye'de Tramadol HCl, enjeksiyonluk ampul (*im, sc, iv*), oral damla, konvansiyonel kapsül ve uzun salımlı tablet formlarında yeşil reçeteli ilaçlar kategorisinde temin edilebilmektedir. Ayrıca klinik uygulamalarda, Tramadol HCl ameliyat sonralarında hastaların ağrı hissettikçe kendilerine uygulama imkanı veren hasta kontrollü analjezi (PCA) yöntemi ile de kullanılmaktadır.

Tramadol HCl'nin söz edilen yan etkilerinin azaltılması, hasta uyuncunun ve ilacın etki süresinin artırılması hedeflenerek intravenöz yolla uygulanması için tasarlanan nanopartikül formülasyonları geliştirilerek, PLGA ve PEG-PLGA polimerleri ve stabilizan olarak PVA, Sodyum kolat, TPGS, organik faz olarak Etilasetat ve DCM kullanılarak Tramadol HCl içeren nanopartiküllerin emülsiyon oluşturma-çözücü buharlaştırma yöntemiyle hazırlanması ve işlem parametrelerinin etkilerinin açıklanması, *in vitro* analizlerinin gerçekleştirilerek nanopartikül karakterizasyonunun sağlanması, hazırlanan nanopartiküllerin salım özelliklerinin belirlenerek konvansiyonel parenteral bir müstahzar ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Literatürde Tramadol HCl içeren *in situ* oluşan nanojel, subkütan implant, transdermal yama, mikroküre, lipozom, hidrojel, niozom, nanofiber, mikro ve nanopartikül gibi farklı ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir. Ancak Tramadol HCl'nin emülsiyon oluşturma-çözücü buharlaştırma yöntemiyle hazırlanmış nanopartikül formülasyonuna literatürde rastlanmamıştır.

5.1. Yöntemin Validasyonun Değerlendirilmesi

Tramadol HCl'nin *in vitro* miktar tayini ve yöntemin validasyonu Bölüm 3.2.2'de özetlendiği şekilde YPSK cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Yapılan literatür taramasında Tramadol HCl'nin YPSK ile miktar tayinine yönelik yapılan çalışmalarda en yüksek absorbans değeri 220 nm olarak tespit edilmiştir (107,108). Bu tez kapsamında dalga boyu olarak 220 nm seçilmiştir. Bölüm 4.2'de ve Şekil 4.4'te verilmiş olan Tramadol HCl'e ait kromatogramda da görüldüğü gibi etken maddeye ait pik 6,2 dakikada düzgün bir şekilde elde edilmiştir.

Tramadol HCl'nin miktar tayini için Bölüm 3.2.2.1.2'de anlatıldığı şekilde bir kalibrasyon doğrusu hazırlanmış ve yöntemin validasyonu yapılmıştır. Yöntemin validasyonunda doğrusallık (linearity), doğruluk (accuracy), kesinlik (precision), duyarlılık (sensitivity), özgünlük (specificity) gibi parametreler incelenmiştir.

Doğrusallık parametresinde kalibrasyon doğrusunun korelasyon katsayısından (r^2) yararlanılmış ve 0.9994 olarak bulunmuştur. Bu değer 1'e çok yakın olması 0,5-1000 $\mu\text{g/mL}$ derişim aralığındaki çözeltilerden elde edilen pik alanları arasında doğrusal bir ilişki olduğunu ve kalibrasyon doğrusunun doğrusal olduğunu göstermektedir.

Doğruluk parametresi için kalibrasyon sınırları içinde bulunan düşük, orta ve yüksek yoğunlukta 3 farklı derişim için varyasyon katsayısı (VK) değerleri Çizelge 4.1'de verilmiştir. Uluslararası Harmonizasyon Konferansı (ICH) ve Amerikan Farmakopesi (USP) validasyon kılavuzlarında varyasyon katsayısının %2'den daha küçük olması gerektiği bildirilmiştir (93,109,110). Çalışmamızda VK değerleri %2'nin altında olduğu görülmüştür ve bu da yöntemin doğruluğunu göstermektedir.

Kesinlik parametresinin Bölüm 4.2.3'te sonuçları verilmiş ve tekrar edilebilirlik, tekrar elde edilebilirlik için ayrı ayrı elde edilen VK değerleri %2'nin altında olduğu görülmüştür. Bu da yöntemin tekrar edilebilir olduğu, verilerin tekrar elde edilebilir olduğu ve günler arası analiz sonuçlarında herhangi bir değişim olmadığını göstermektedir.

Özgünlük parametresi Bölüm 3.2.2.1.2.4'te özetlendiği şekilde incelenmiş ve Tramadol HCl'e ait özgün pik Şekil 4.4'te verilmiştir. Nanopartiküllerin hazırlanmasında kullanılmış olan çözücülerin, polimerlerin, stabilizan maddelerin Tramadol HCl'nin pik verdiği zaman aralığında (6,1-6,6 dakika aralığında) herhangi bir pik vermediği görülmüştür. Kullanılan YPSK yöntemi Tramadol HCl için özgündür.

Tramadol HCl'e ait kalibrasyon denkleminde ait eğim ve pik alan değerleri kullanılarak Teşhis (LOD) değeri ve Tayin (LOQ) değeri 0,25 µg/ mL ve 0,77 µg/ mL olarak hesaplanmıştır. Bu veriler yöntemin uygun duyarlılığa sahip olduğunu göstermektedir.

Yapılan bu validasyon çalışmaları sonucunda kullanılmış olan yöntemin Tramadol HCl'nin nanopartikül formülasyonları için *in vitro* deneylerde miktar tayini için uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

5.2. Etken Maddenin Özelliklerine Yönelik Bulguların Değerlendirilmesi

Tramadol HCl'nin erime noktasının belirlenmesi amacıyla Bölüm 3.2.1.1'de anlatıldığı şekilde termal analizi DTK ile gerçekleştirilmiş ve Şekil 4.1'de termogramı verilmiştir. Etken maddeye ait termogram incelendiğinde 180°C'de gözlenen pikin Tramadol HCl'nin erime noktasını ifade ettiği belirlenmiştir. Literatür bilgisi incelendiğinde Tramadol HCl'nin erime noktası 180–184°C arasında olduğu ifade edilmiştir (14,111).

Çizelge 5.1. Tramadol HCl'e ait FT-IR titreşimleri ve dalga sayıları.

Dalga Sayısı	Titreşim Tipi
3307	Alkol (O-H) gerilimi
3018	Aromatik (C-H) gerilimi
2930, 2861	Alifatik (C-H) gerilimi
2632, 2514, 2482	Amonyum (N ⁺ -H) gerilimi
1607, 1579, 1481	Aromatik zincir gerilimi
1289, 1243	Alkol (C-O) gerilimi, Asimetrik eter (C-O-C) gerilimi
1045	Simetrik eter (C-O-C) gerilimi
777, 703	Aromatik (C-H) bükülmesi

Çalışmamızda etken madde olarak kullanılan Tramadol HCl'nin Bölüm 3.2.1.2'de anlatıldığı şekilde FT-IR analizi gerçekleştirilmiş ve FT-IR spektrumları bulgular bölümünde verilmiştir. Tramadol HCl'e ait infrared spektrumunda 702, 777, 1045, 1241, 1288, 1461, 1479, 1578, 1607, 2600, 2861, 2929, 3300 cm⁻¹ absorpsiyon bantları Çizelge 5.1'de verilen literatür bilgileri ile uyumludur (111).

5.3. Ön Formülasyon ve Formülasyon Çalışmalarının Değerlendirilmesi

Ön formülasyon çalışmaları formülasyon parametrelerinin nanopartikül büyüklüğü, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli üzerine etkisini ölçmek ve en uygun sonuçlar veren nanopartikül formülasyonları ile çalışabilmek amacıyla farklı parametrelerin denenmesi ile yürütülmüştür. Kullanılacak olan polimerin, yöntemin, organik fazın, stabilizan maddenin seçilmesi amacı ile Bölüm 3.2.3.1'de ifade edilen ön formülasyon çalışmaları yapılmıştır.

Tramadol HCl'nin nanopartiküllerinin hazırlanması için emülsiyon oluşturma-çözücü uçurma yöntemi seçilmiştir. Özellikle su/yağ/su çoklu emülsiyonları hidrofilik etken maddelerin enkapsüle edilmesinde en uygun yöntemdir (112). Tramadol HCl suda kolay çözünebilen bir madde olduğundan, farklı emülsiyon oluşturma-çözücü uçurma yöntemlerinin modifiye edilmesiyle su/yağ/su emülsiyonu şeklinde hazırlanmıştır (97-99). %1, %2 ve %3 oranındaki polimer, 2,5 mL organik faz içinde çözündürülerek yağ fazı oluşturulmuştur. İç su

fazı ise %1, %2 ve %3 oranındaki stabilizan madde ve Tramadol HCl 1 mL ultrasaf su içinde çözündürülerek hazırlanmıştır. Dış su fazı da 12,5 mL ultrasaf su içinde stabilizan madde konularak hazırlanmıştır. İç su fazı, yağ fazına aktarılarak buz banyosu içinde yüksek devirli homojenizatör aracılığıyla 20 dakika süreyle 15000, 20000 ve 25000 rpm dönüş hızlarıyla karıştırılmıştır. Elde edilen birincil emülsiyon dış su fazına aktarılarak 20 dk süreyle ve belirlenen hızda homojenizatörde karıştırılmıştır.

Nanopartiküllerin hazırlanması için Bölüm 2.3.3.2’de belirtilen avantajları nedeniyle PLGA ve PEG-PLGA kopolimerleri çalışmamızda kullanılmak için seçilmiştir. Her iki polimer de nanopartikül oluşturmak için uygun polimerlerdir ve bu alanda birçok çalışma mevcuttur (74,112-115). Ayrıca farklı polimerler ile yapılmış bir çalışmada PLGA’nın PCL ve PLA’ya göre en küçük partikül boyutlu partiküllerin elde edilmesini sağladığı gösterilmiştir (102). Tramadol HCl’nin PLGA polimeri ile nanoçöktürme yöntemi kullanılarak hazırlanmış 141-159 nm boyutlarındaki nanopartikül çalışması literatürde mevcuttur (33).

Stabilizan maddelerin seçimi için PVA, TPGS ve Sodyum kolat ile nanopartiküller hazırlanmış ve sonuçlar Bölüm 4.3.1.4’te verilmiştir. PVA, TPGS ve Sodyum kolat ile Bölüm 3.2.3.1.1’de anlatıldığı gibi emülsiyon oluşturma-çözücü buharlaştırma yöntemi ile hazırlanan nanopartiküllerde partikül büyüklüğü ve polidispersite indeksi değerleri incelenmiştir. PVA ve TPGS ile hazırlanmış nanopartiküllerin partikül büyüklükleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Ancak polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli değerleri arasındaki fark anlamlı değildir ($p>0,05$). En küçük partikül boyutu ve polidispersite indeksi PVA ile elde edildiğinden stabilizan olarak PVA formülasyon çalışmalarında kullanılmıştır. Nanopartikül hazırlamada stabilizan olarak PVA kullanımını diğer maddelere göre daha küçük ve monodispers partikül elde edilmesinde ön plana çıkarmaktadır (9,13,73).

Ayrıca farklı karıştırma sürelerinde hazırlanmış nanopartiküllerin Bölüm 4.3.1.1’de anlatılan PCS sonuçlarına göre partikül boyutu ve polidispersite indeksleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,05$). Homojen bir partikül

dağılımı için ve uygun nanopartikül boyutu için uygun karıştırma süresi 20 dk olarak değerlendirilmiştir.

Organik fazın seçimi için Etilasetat ve DCM ile hazırlanan nanopartiküllerin partikül büyüklüğü, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli gibi özellikleri Bölüm 4.3.1.3'te incelenmiştir. Elde edilen nanopartiküller arasında polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli açısından anlamlı bir fark yoktur ($p>0,05$) ancak partikül büyüklükleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Etilasetat ile hazırlanan nanopartiküllerin boyutu ve polidispersite indeksi DCM'ye göre daha küçük olduğundan, ayrıca DCM'nin toksik yan etkilerinin belirtilmesi (66), Etilasetatın yüksek buharlaşma potansiyeli ve nanokapsüllemeye olan katkısından dolayı (86) organik faz olarak Etilasetat kullanılması kararlaştırılmıştır.

Etken madde miktarının seçilmesi için farklı miktarlarda (50, 20, 10, 5, 3 mg) etken madde ile nanopartiküller hazırlanmış ancak nanopartiküller arasında partikül boyutu, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$). Etken maddenin derişiminin artırılması partikül boyutu ve dağılımı üzerinde anlamlı bir değişiklik oluşturmamaktadır.

Özetle ön formülasyon çalışmalarında elde edilen sonuçlar doğrultusunda PLGA ve PEG-PLGA'nın farklı oranları, stabilizan olarak PVA'nın farklı oranları ve organik faz olarak etilasetat kullanılmış, nanopartiküller farklı karıştırma hızlarında hazırlanmıştır.

5.4. Nanopartiküllerin Özelliklerinin Değerlendirilmesi

5.4.1. Partikül Boyutu, Dağılımı ve Zeta Potansiyeli Analizi

Nanopartiküllerde partikül boyutu, diğer kolloidal sistemlerde de salım ve biyoyararlanım parametrelerini etkileyen en önemli faktörlerdendir. Tercihen partiküler sistemlerin monodispers olması istenir ancak nanopartiküllerde monodispersite pratikte çok zor sağlanır. Partikül boyutunun tekdüzeliği polidispersite indeksi değeri ile ifade edilir ve polidispersite indeksinin 0,1'in altında olduğu sistemler monodispers sistemler olarak kabul edilir (89,116).

Bu çalışmamızda hazırlanan nanopartiküllerin partikül boyutu ve dağılımları foton korelasyon spektroskopisi ile ölçülmüş ve veriler bulgular kısmında verilmiştir. Formülasyon çalışmaları bölümünde incelen parametrelerden birisi polimer derişimidir.

Nanopartiküllerde polimer oranının artmasıyla partikül boyutu da artış göstermekte olup, %3 polimer oranı ile hazırlanan nanopartiküllerin, %1 ve %2 polimer oranı ile hazırlanan nanopartiküllere göre partikül boyutu anlamlı anlamlı derecede artmıştır ($p<0,05$). Ancak polidispersite indeksi değerleri arasında anlamlı bir fark yoktur ($p>0,05$). Emülsiyon oluşturma aşamasında viskoz direnç oluşumu, polimer derişiminin artmasıyla partikül boyutunun da artmasını açıklamaktadır (113,117).

Stabilizanlar emülsiyonlaştırma sırasında lipofilik ve hidrofilik fazları arasındaki ara yüzey gerilimini azaltır ve emülsiyon stabilitesi elde ederek nanopartiküllerin oluşumunu kolaylaştırır; ayrıca parçacık boyutunu, boyut dağılımını, morfolojik özelliklerini ve oluşan nanopartiküllerin enkapsülasyon etkinliğini ve ilaç salımını etkiler (89, 90). Partikül boyutları değerlendirildiğinde %1 PVA ile hazırlanmış nanopartiküller ile %2 ve %3 PVA oranı ile hazırlananlar arasında anlamlı ($p<0.05$) bir fark bulunmuştur. Ancak polidispersite indeksleri arasındaki fark anlamlı değildir ($p>0.05$). En küçük partikül boyutu ve polidispersite indeksi %3 PVA oranı ile elde edilmiştir ve literatür bilgisiyle uyumludur (70). Ayrıca çalışmamızda olduğu gibi artan PVA derişimiyle birlikte nanopartiküllerin partikül boyutunda azalma gözlenmektedir (103) ve bu stabilizan maddenin su ve organik faz arasındaki damlacık oluşturma ve birleştirici etkisiyle emülsiyonlaştırma özelliğiyle açıklanabilir (13).

Hazırlama yönteminde nanopartiküllere uygulanan enerji miktarının artması partikül boyutu ve polidispersite indeksinde düşüğe neden olmaktadır (118). Çalışmamızda nanopartiküller yüksek hızlı homojenizatör ile hazırlanmış, ön formülasyon çalışmalarında uygun nanopartikül hazırlama süresi 20 dk olarak belirlenmiştir. Karıştırma hızı olarak 15000, 20000, 25000 rpm devir sayıları ile nanopartiküller hazırlanmış ve partikül boyutları arasında anlamlı ($p<0.05$) bir fark bulunmuştur. Karıştırma hızı arttıkça partikül boyutu azalmaktadır.

Zeta potansiyeli değeri nanopartiküllerin stabilitesi hakkında fikir verir. Nanopartikül yüzeyinde var olan yüksek elektrik yükü partiküller arasında itme sağlayarak agregasyonu önler (119). Negatif veya pozitif yüksek zeta potansiyeli değerleri nanopartiküller için stabilitenin uygunluğunu ifade eder (120). Nanopartiküllerde ± 30 mV üzerindeki zeta potansiyeli değerlerinin iyi, ± 60 mV üzerindeki zeta potansiyeli değerlerinin ise mükemmel stabiliteyi gösterdiği genel bir kuraldır (121). Ancak yüksek molekül ağırlıklı yüzey etken madde kullanıldığında partiküller arası mesafe arttığından ölçülen zeta potansiyeli değeri azalır ve düşük zeta potansiyeline rağmen partiküller stabil haldedir (122).

Çalışmamızda hazırlanmış olan nanopartiküllerin yüzey yüklerinin belirlenebilmesi amacıyla elde edilen nanopartiküllerin zeta potansiyeli analizleri Bölüm 3.2.4.2’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiş ve zeta potansiyeli değerleri en düşük $-2,1 \pm 0,9$ mV ve en yüksek $-19,1 \pm 1,29$ mV olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.4). Zeta potansiyeli değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0.05$). Ayrıca değişen hazırlama parametreleri ile zeta potansiyeli değerleri arasında bir ilişki olduğu sonucuna varılamamıştır. Nanopartiküllerin stabiliteyi hızlandırılmış stabilite testleri ile incelenmiştir.

5.4.2. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DTK) Analizi

Tramadol HCl’e ait DTK termogramı Şekil 4.1’de; PLGA, PEG-PLGA, stabilizanlar ve nanopartikül formülasyonlarına ait DTK termogramları ise Şekil 4.26-4.42’de verilmiştir. Etken maddenin 180°C ’de göstermiş olduğu keskin pik, erime noktasının $180\text{--}184^\circ\text{C}$ arasında olduğunu ifade eden literatür bilgisi ile doğrulanmıştır (14,111). Çalışmamızda PLGA’nın 55°C ’de görülen piki, literatürdeki PLGA’nın $40\text{--}60^\circ\text{C}$ arasında T_g camsı geçiş sıcaklığı gösterdiği bilgisi ile doğrulanmıştır (97). PEG-PLGA’nın da T_g camsı geçiş sıcaklığı literatürde $51,91^\circ\text{C}$ olarak ölçülmüş (74) ve bu da elde ettiğimiz DTK termogramındaki $52\text{--}54^\circ\text{C}$ ’de görülen pik ile uyumludur. Hazırlanan nanopartiküllerin DTK termogramlarındaki pikler incelendiğinde benzer termogramlar elde edilmiş ve polimerlere ait karakteristik piklerin varlığı gözlenmiştir. Nanopartiküllere ait DTK termogramlarında etken maddeye ait pikler maddenin kristal yapısının değişmiş olmasından ve enkapsüle formda olmasından dolayı gözlenememiştir.

5.4.3. Infrared (Kızılötesi) Spektroskopisi (FT-IR) Analizi

Tramadol HCl'e ait FT-IR spektrumu Şekil 4.2'de; PLGA, PEG-PLGA, stabilizanlar ve nanopartikül formülasyonlarına ait FT-IR spektrumları Şekil 4.43-4.59'da verilmiştir. Hazırlanan nanopartiküllerin FT-IR spektrumlarında, PLGA ve PEG-PLGA polimerlerinin 1400-1500 cm^{-1} aralığındaki laktik ve glikolik asit transmisyon pikleri, 1050-1250 cm^{-1} aralığındaki C-O gerilimleri, 1700-1800 cm^{-1} aralığındaki C=O gerilimi ve 2850-3000 cm^{-1} aralığındaki C-H, CH₂, CH₃ gerilimlerine benzer absorpsiyon bantlarının varlığı gözlenmiş ve literatür ile uyumu bulunmuştur (89,123).

5.4.4. Morfolojik Özellikler

Hazırlanan nanopartiküllerin morfolojik özelliklerinin değerlendirilebilmesi için taramalı elektron mikroskobu ile çekilmiş görüntüleri Şekil 4.60-4.61'de gösterilmiştir. PLGA ve PEG-PLGA ile hazırlanan nanopartiküllerin SEM görüntülerinde morfolojik özellikleri başarılı bir şekilde gözlemlenebilmektedir. Ayrıca SEM görüntüleri PCS sonuçları ile uyumludur.

5.4.5. Formülasyonların Enkapsülasyon Etkinliğinin Değerlendirilmesi

Tramadol HCl'nin PLGA ve PEG-PLGA ile hazırlanan nanopartiküllerinin enkapsülasyon etkinliğinin hesaplanması Bölüm 3.2.4.6 'da özetlendiği gibi gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.63'te gösterilmiştir. Yapılan enkapsülasyon etkinlik çalışmaları sonucunda formülasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$). Ancak en küçük %EE değeri %1 PVA oranı ile $18,86\pm 0,23$ olarak, en yüksek %EE değeri ise %3 PVA oranı ile $35,84\pm 0,08$ olarak elde edilmiştir (Şekil 4.43). Literatürde farklı stabilizanlar ile hazırlanmış nanopartiküllerde en yüksek %EE PVA ile elde edilmiş (74), PLGA derişiminin %1'den %3'e yükseltilmesiyle %EE'nin önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir (72,113). PLGA'nın %3 derişimiyle, PEG-PLGA'nın ise %2 derişimiyle hazırlanan nanopartiküllerinde en yüksek %EE'ye ulaşılmıştır (Şekil 4.44). Bu sonuç literatür bilgisi ile uyumlu olup polimer yoğunluğu ile birlikte artan viskozitenin etken

maddenin difüzyonunu azaltarak enkapsülasyonunu artırdığı sonucuna varılmıştır (113).

Çalışmamızda hazırlanan nanopartiküllerin %18-35 aralığındaki düşük enkapsülasyon etkinliğine sahip olması, Tramadol HCl'nin suda kolay çözünen bir madde olduğu göz önünde bulundurulduğunda hidrofilik ilaçların enkapsüle edilmesinin zorluğu ile açıklanmaktadır (113). Ayrıca PLGA bazlı nanopartiküllerin tasarımında bazı ilaçlar için düşük ilaç yüklemesi büyük bir sorun teşkil etmektedir (78). PEG-PLGA nanopartiküllerde de ilaç-polimer etkileşiminin, PEG zincirlerinin sterik engel oluşturması nedeniyle azaldığı tahmin edilmektedir (77).

5.4.6. Tramadol Hidroklorür'ün *In Vitro* Salımının Değerlendirilmesi

Tramadol HCl yüklü PLGA ve PEG-PLGA nanopartiküllerinin *in vitro* ilaç salım profili Bölüm 3.2.5'te anlatıldığı gibi yapılmış ve sonuçlar Bölüm 4.5'te verilmiştir. PLGA formülasyonları için 30 saatlik salım çalışması sonunda benzer formülasyonların sırasıyla yüzde kümülatif salım oranları %42,10; %61,47; %72,2 olarak, PEG-PLGA formülasyonları için ise %67,30; %73,77; %80,54 olarak bulunmuştur. Konvansiyonel müstahzarın yüzde kümülatif salım oranı ise %99,12 olarak bulunmuştur. Konvansiyonel parenteral müstahzar ile karşılaştığımızda PLGA ve PEG-PLGA polimerleri ile hazırlanan nanopartiküller ile 30 saat süre boyunca sürekli salım sağlayan formülasyonlar elde edilmiş olduğu sonucuna varılmıştır. Konvansiyonel müstahzar ile 2. saatte etken maddenin tamamına yakını salınırken, PLGA nanopartiküllerde %20-45 ve PEG-PLGA nanopartiküllerde ise %50-60 oranında salım gözlenmiştir. Bu sonuca göre PEG'in, nanopartikülün polimerik yüzeyinin ve matriksin ıslanabilirliğini artırarak ilaç salımında artışa katkıda bulunduğu tahmin edilmektedir (69).

Tramadol HCl yüklü PLGA ve PEG-PLGA nanopartiküllerinin *in vitro* ilaç salım sonuçlarının matematiksel olarak değerlendirilebilmesi için seçilen Sıfırıncı derece, Birinci derece, Hixon Crowell ve Higuchi kinetik modelleri ile hesaplanan salım kinetik sonuç değerleri Çizelge 4.5'te verilmiştir. Formülasyonlarımız için en yüksek korelasyon katsayıları (r^2) Higuchi modelinde görülmüş ve salımın Higuchi kinetik modeline uygun şekilde gerçekleştiği belirlenmiştir. Buna bağlı olarak, ilaç

salımının zamanın kareköküne bağlı olarak değişim gösterdiği ve difüzyon mekanizması ile gerçekleştiği sonucuna varılmıştır (124).

5.5. Formülasyonun Stabilitesinin İncelenmesi

Nanopartikül formülasyonunun (F7) liyofilize toz halindeki formunun -20°C , 4°C ve 25°C 'de 3 ay bekletilmesi ile yapılan kısa süreli fiziksel stabilite çalışmalarında elde edilen Çizelge 4.6'daki veriler incelendiğinde sadece -20°C ve 4°C 'de bekletilen formülasyonun partikül büyüklüğü arasında anlamlı bir fark bulunmadığı, 25°C 'de bekletilen formülasyonun ise partikül büyüklüğünün anlamlı derecede değiştiği tespit edilmiştir ($p<0,05$). Polidispersite indeksleri açısından değerlendirildiğinde ise üç aylık stabilite testi sonucunda 25°C 'de bekletilen formülasyonda anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,05$). Hazırladığımız nanopartikül formülasyonunun 25°C 'de bekletilmesi ile partikül yapısında sıcaklığın etkisiyle agregasyon meydana geldiği ve partikül boyutunun arttığı, partikül boyutu dağılımını yaygınlaştırdığı ve polidispers bir dağılım oluştuğu gözlenmiştir. Çalışmamızda -20°C ve 4°C 'de bekletmenin formülasyonda en iyi stabiliteyi göstermesinin nedeni PLGA polimerinin saklama koşulunun bu sıcaklıkta olmasıdır. PLGA'nın farklı sıcaklıklardaki stabiliteleri incelenmiş ve bir yılın sonunda polimer degradasyonunun -16°C 'de en az olduğu belirlenmiştir (125).

Nanopartiküllerin farklı izotonik ve plazma hacmini artırıcı çözeltiler içindeki stabilitesinin incelenmesi %0,9 Sodyum klorür, %5 Dekstroz, %20 Mannitol, %10 Dekstran 40, %6 Hidroksietil nişasta ve %4 Süksinil jelatin çözeltileri ile gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.7'de verilmiştir. Buna göre %6 Hidroksietil nişasta, %20 Mannitol, %10 Dekstran 40 ve %4 Süksinil jelatin ile seyreltilen nanopartiküllerin 24 saat 37°C 'de bekletme sonrasında partikül boyutlarında anlamlı ($p<0,05$) bir fark bulunduğundan bu çözeltilerde nanopartiküllerin stabil olmadığı değerlendirilmiştir. Nanopartiküllerin saf suda ve %0,9 Sodyum klorür, %5 Dekstroz çözeltilerinde partikül boyutu ve polidispersite indekslerinde anlamlı bir fark tespit edilemediğinden ($p>0,05$) stabil olduğu varsayılmıştır.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez kapsamında ağrı tedavisinde kullanılması amacıyla Tramadol HCl yüklü PLGA ve PEG-PLGA nanopartikül formülasyonları geliştirilmiştir.

- Nanopartikül formülasyonlarının geliştirilmesinde 2 farklı polimer (PLGA ve PEG-PLGA) kullanılmış ve her iki polimer ile nanopartiküller başarılı bir şekilde hazırlanmıştır.
- Polimer oranının artmasıyla partikül boyutunda da artış olduğu tespit edilmiştir.
- Stabilizantlardan PVA'nın TPGS ve Sodyum kolata göre en küçük boyuta sahip nanopartiküllerin elde edilmesini sağladığı görülmüştür.
- Artan PVA oranı ile nanopartiküllerin partikül boyutlarında azalma tespit edilmiştir.
- Organik faz olarak Etilasetat ile DCM'ye göre daha küçük boyutlu nanopartiküller elde edilmiştir.
- Emülsiyon oluşturma-çözücü buharlaştırma yöntemi ile yüksek devirli homojenizatör kullanılarak hazırlanan nanopartiküller 20 dk karıştırıldığında tekdüze bir dağılım sağlanmıştır.
- Taramalı elektron mikroskopu görüntülemeleri ile PLGA ve PEG-PLGA ile nanopartikül formülasyonlarının küresel ve düzgün bir yapıya sahip olduğu ve PCS sonuçları ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir.
- Enkapsülasyon etkinliği çalışmaları sonucunda formülasyonların yükleme etkinlikleri %18-35 arasında bulunmuştur. En az yükleme %1 PVA oranı ve en fazla yükleme %3 PVA kullanılarak hazırlanan nanopartiküllerde gözlenmiştir. PLGA'nın %3 derişimiyle, PEG-PLGA'nın ise %2 derişimiyle hazırlanan nanopartiküllerinde en yüksek %EE'ye ulaşılmıştır. Düşük enkapsülasyonun Tramadol HCl'nin suda kolay çözünen bir madde olduğu göz önünde bulundurulduğunda hidrofilik ilaçların enkapsüle edilmesinin zorluğu ile açıklanmaktadır. Ayrıca PLGA bazlı nanopartiküllerin tasarımında bazı ilaçlar için düşük ilaç yüklemesi büyük bir sorun teşkil etmekte ve PEG-PLGA nanopartiküllerde de ilaç-polimer etkileşiminin, PEG zincirlerinin sterik engel oluşturması nedeniyle azaldığı tahmin edilmektedir.

- Nanopartiküllerin salım profillerini konvansiyonel parenteral müstahzar ile karşılaştırdığımızda PLGA ve PEG-PLGA polimerleri ile hazırlanan nanopartiküller ile 30 saat süre boyunca sürekli salım sağlayan formülasyonlar elde edilmiş olduğu sonucuna varılmıştır. Konvansiyonel müstahzar ile 2. saatte etken maddenin tamamına yakını salınmışken, PLGA nanopartiküllerde %20-45 ve PEG-PLGA nanopartiküllerde ise %50-60 oranında salım gözlenmiştir.
- Kısa süreli fiziksel stabilite çalışmalarında Tramadol HCl yüklü nanopartiküllerin 3 ay boyunca -20°C ve 4°C'de muhafaza edildiğinde herhangi bir agregasyon oluşturmadan stabil bir şekilde kalabildiği gözlenmiştir. 25°C'de ise nanopartiküllerin stabil kalmadığı ve agregasyon oluşturduğu tespit edilmiştir.
- Nanopartiküllerin farklı izotonik ve plazma hacmini artırıcı çözeltiler içindeki stabilitesinin incelenmesi sonucunda saf suda ve %0,9 Sodyum klorür, %5 Dekstroz çözeltilerinde stabil oldukları, %6 Hidroksietil nişasta, %20 Mannitol, %10 Dekstran 40 ve %4 Süksinil jelatin çözeltilerinde ise nanopartiküllerin agregat oluşturdukları ve stabil olmadıkları belirlenmiştir. Bu sonuç *in vivo* uygulamalarda liyofilize nanopartiküllerin seyreltilmesinde kullanılacak çözeltilerin belirlenmesine ışık tutacaktır.

Bu tez ile Tramadol HCl'nin başarılı bir şekilde PLGA ve PEG-PLGA nanopartiküllere yüklenmesi sağlanmıştır. Ayrıca geliştirilen formülasyonlar sayesinde ilacın salım süresi de uzatılmıştır. Geliştirilecek farklı hazırlama yöntem ve teknikleri ile ilaç enkapsülasyon etkinliği ve salım süreleri artırılmaya çalışılabilir. *In vitro* çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda geliştirilen formülasyonlar uzun süreli ağrı tedavisinin sağlanmasında umut vadetmekte ve *in vivo* çalışmalara geçilmesi için uygunluk göstermektedir. Geliştirilen bu nanopartikül formülasyonları uygun çözücüler ile hazırlanarak deney hayvanlarına verilebilir ve *in vivo* etkinlikleri incelenebilir. Böylece Tramadol HCl içeren nanopartiküllerin, ağrı hisseden deney hayvanlarında ağrı tedavisinin etkinliğini ve etki süresini artıracığı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. European Pharmacopoeia 6.0; Parenteral Preparations, 01/2008:0520.
2. Murat, Ş. Parenteral Preparatlar Teknolojisi. Hacettepe Üniversitesi Yayınları. 2009, Ankara.
3. Bari, H. A Prolonged Release Parenteral Drug Delivery System-an Overview (2010) 3(1):1-11.
4. Shi, Y, Li, L.C. Current Advances in Sustained Release Systems for Parenteral Drug Delivery. *Expert Opinion Drug Delivery* (2005) 2(6):1039-1058.
5. Nagavarma B.V.N, Hemant K.S.Yadav, Ayaz, A, Vasudha, L.S, Shivakumar, H.G. Different Techniques for Preparation of Polymeric Nanoparticles-A Review. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* (2012) 5(3):16-23.
6. Pinto Reis, C, Neufeld, R.J, Ribeiro, A.J, Veiga, F. Nanoencapsulation I. Methods for Preparation of Drug-loaded Polymeric Nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* (2006) 2:8–21.
7. Gürsoy, A.Z. Kontrollü Salım Sistemleri. Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayınları No:1. 2002, İstanbul.
8. Özakar, E. Etkin Madde Yüklü PLGA Nanopartiküllerinin Hazırlanması ve *In Vitro* Değerlendirilmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, 2014, Erzurum.
9. Mandal, D, Shaw, TK, Dey, G, Pal, MM, Mukherjee, B, Bandyopadhyay, AK, Mandal, M. Preferential Hepatic Uptake of Paclitaxel-loaded Poly (D, L-lactide-co-glycolide) Nanoparticles — A Possibility for Hepatic Drug Targeting: Pharmacokinetics and Biodistribution. *International Journal of Biological Macromolecules* (2018) 112:818–830.
10. Kumari, A, Yadav, S.K, Yadav, S.C. Biodegradable Polymeric Nanoparticles Based Drug Delivery Systems. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* (2010) 75:1–18.
11. Couvreur, P, Kante, B, Grislain, L, Roland, M, Speiser, P. Toxicity of Polyalkylcyanoacrylate Nanoparticles II: Doxorubicin-loaded Nanoparticles. *Journal of Pharmaceutical Sciences* (1982) 71: 790-792.
12. Gürsoy, A. Nanofarmasötikler ve Uygulamaları. Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayınları No:3. 2014, İstanbul.
13. Mu, L, Feng, S. PLGA/TPGS Nanoparticles for Controlled Release of Paclitaxel: Effects of the Emulsifier and Drug Loading Ratio. *Pharmaceutical Research* (2003) 20(11):1864-1872.
14. Vazzana, M, et al. Tramadol hydrochloride: Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, Adverse Side Effects, Co-administration of Drugs and New Drug Delivery Systems. *Biomedicine & Pharmacotherapy* (2015) 70:234-238.
15. Subedi, M, Bajaj, S, Kumar, M.S, Mayur Y.C. An Overview of Tramadol and Its Usage in Pain Management and Future Perspective. *Biomedicine & Pharmacotherapy* (2019) 111:443–451.
16. Tramadol Update Review Report Agenda item 6.1. Expert Committee on Drug Dependence Thirty-sixth Meeting Geneva, 16-20 June 2014.
17. Lee, C.R, McTavish, D, Sorkin, E.M. Tramadol. A Preliminary Review of its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties, and Therapeutic Potential in Acute and Chronic Pain States. *Drugs* (1993) 46(2): 313-340.
18. Tramadol Update Review Report Agenda Item 6.1. Expert Committee on Drug Dependence Thirty-sixth Meeting Geneva, 16-20 June 2014.
19. Kizilbash, A, Ngô-Minh, C. Review of Extended-release Formulations of Tramadol for the Management of Chronic Non-cancer Pain: Focus on Marketed Formulations. *Journal of Pain Research* (2014) 7:149–161.
20. Contains Nonbinding Recommendations, Draft Guidance on Tramadol Hydrochloride. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs.pdf adresinden 08.07.2019 tarihinde erişildi.
21. Dhese M, Maani CV. Tramadol. [Updated 2019 Jan 6]. StatPearls [Internet]. 02.05.2019 tarihinde <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537060/> adresinden erişildi.
22. Budd, K. Review Article: The Role of Tramadol in Acute Pain Management. *Acute Pain* (1999) 2(4):189-196.

23. Barati, M, Samani, S, Jahromi, L, Ashrafi, H, Azadi, A. Controlled-Release *In-situ* Gel Forming Formulation of Tramadol Containing Chitosan-based Pro-nanogels. *International Journal of Biological Macromolecules* (2018) 118:1449-1454.
24. Mabrouk, M, Beherei, H, ElShebiney, S, Tanaka, M. Newly Developed Controlled Release Subcutaneous Formulation for Tramadol Hydrochloride. *Saudi Pharmaceutical Journal* (2018) 26:585–592.
25. Iqbal, M, Gupta, S, Sagar, S, Ibrahim, M. Design and Evaluation of Subcutaneous Implantable Drug Delivery System of Tramadol Using Natural Biodegradable Polymer. *Annals of Phytomedicine* (2012) 1(2):30-38.
26. Saleem, M.A et al. Formulation and Evaluation of Tramadol Hydrochloride Rectal Suppositories. *Indian Journal of Pharmaceutical Science* (2008) 70(5): 640–644.
27. Ahad, H.A, Ishaq, B.M, Shaik, M, Bandagisa, F. Designing and Characterizing of Tramadol Hydrochloride Transdermal Patches Prepared with Ficus Carica Fruit Mucilage and Povidone. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Science* (2016) 29(3):945-51.
28. Shinde, A.J, Garala, K.C, More, H.N. Development and Characterization of Transdermal Therapeutics System of Tramadol Hydrochloride. *Asian Journal of Pharmaceutics* (2008) 2(4):265-269.
29. Gonjari, I.D, Hosmani, A.H, Karmarkar, A.B, Kadam, S.B, Godage, A.S, Khade, T.S. Microspheres of Tramadol Hydrochloride Compressed Along with A Loading Dose: A Modified Approach for Sustaining Release. *Drug Discoveries & Therapeutics* (2009) 3(4):176-180.
30. He, S, Zhu, J, Xie, F. Preparation and Characterization of Tramadol PEG-Coated Multivesicular Liposomes for Sustained Release. *Pharmazie* (2010) 65:467–470.
31. Santos, A, Akkari, A, Ferreira, S. Poloxamer-based Binary Hydrogels for Delivering Tramadol Hydrochloride: Sol-gel Transition Studies, Dissolution-release Kinetics, *In Vitro* Toxicity, and Pharmacological Evaluation. *International Journal of Nanomedicine* (2015) 10:2391–2401.
32. Ibrahim, M, Shehata, T. Tramadol HCl Encapsulated Niosomes for Extended Analgesic Effect Following Oral Administration. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* (2018) 46:14-18.
33. Lalani, J et al. Comparative Receptor Based Brain Delivery of Tramadol-Loaded Poly (lactic-co-glycolic acid) Nanoparticles. *Journal of Biomedical Nanotechnology* (2012) 8:918–927.
34. Seifi, M, Moghadam, M, Hadizadeh, F, Ali-Asgari, S, Aboli, J, Mohajeri, S. Preparation and Study of Tramadol Imprinted Micro-and Nanoparticles by Precipitation Polymerization: Microwave Irradiation and Conventional Heating Method. *International Journal of Pharmaceutics* (2014) 471:37–44.
35. Aamir, M.N et al. Development and *In Vitro–In Vivo* Relationship of Controlled-release Microparticles Loaded with Tramadol Hydrochloride. *International Journal of Pharmaceutics* (2011) 407:38–43.
36. Morales, M.E, Ruiz, M.A, López, G, Gallardo, V. Development of Oral Suspensions of Microparticles of Ethylcellulose with Tramadol. *Drug Development and Industrial Pharmacy* (2010) 36(8):885–892.
37. Olatunji, G.A, Kola-Mustapha, A.T, Saliu, O.D, Alabi, A.B, Abiodun, O.I, Obisesan, N.O. Tramadol Hydrochloride Delivery by Regenerated Cellulose Nanofiber-TiO₂-ZnO Composites. *Korean Journal of Chemical Engineering* (2018) 35(3):784-791.
38. Merskey, H. Classification of Chronic Pain. Bogduk (eds): 2nd ed. IASP Task Force on Taxonomy, IASP Press, Seattle, WA,1994.
39. Ü. Köse, A. Sıçanlarda Tramadol ve Deksketoprofenin Analjezik Etkileri. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Selçuk Üniversitesi, Farmakoloji (Tıp) Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, 2011, Konya.
40. Aydın, O.N. Derleme: Ağrı ve Ağrı Mekanizmalarına Güncel Bakış. Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi (2002) 3(2):37–48.
41. Gonzales, V.A, Martelli, M.F, Baker, J.M. Psychological Assessment of Persons with Chronic Pain. *NeuroRehabilitation* (2000) 14(2):69-83.
42. Rosenberg, M.T. Review Article: The Role of Tramadol ER in the Treatment of Chronic Pain. *International Journal of Clinical Practice* (2009) 63(10):1531–1543.

43. Fayaz, A, Croft, P, Langford, R, Donaldson, L, Jones, G. Prevalence of Chronic Pain in the UK: A Systematic Review and Meta-analysis of Population Studies. *BMJ Open* (2016) 6: e010364.
44. Babul, N, Noveck, R, Chipman, H, Roth, S.H, Gana, T, Albert, K. Efficacy and Safety of Extended-Release, Once-daily Tramadol in Chronic Pain: A Randomized 12-week Clinical Trial in Osteoarthritis of the Knee. *Journal of Pain and Symptom Management* (2004) 28:59-71.
45. Dzau, V.J, Pizzo, P.A. Relieving Pain in America: Insights from an Institute of Medicine Committee. *The Journal of American Medical Association* (2014) 312(15):1507–1508.
46. Goldberg, D.S, McGee, S.J. Pain as a Global Public Health Priority. *BMC Public Health* 2011, 11:770.
47. Tsang A, Von Korff M, Lee S, et al. Common Chronic Pain Conditions in Developed and Developing Countries: Gender and Age Differences and Comorbidity with Depression-anxiety Disorders. *The Journal of Pain* (2008) 9(10):883–891.
48. Dansie, E.J, Turk, D.C. Assessment of Patients with Chronic Pain. *British Journal of Anaesthesia* (2013) 111(1):19–25.
49. Miljanich, G, Rauck, R, Saulino, M. Review article: Spinal Mechanisms of Pain and Analgesia. *Pain Practice* (2013) 13(2):114-30.
50. Kayaalp, O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 10.baskı. Hacettepe-Taş Yayınları. 2002, Ankara.
51. Raffa R. Pharmacological Aspects of Successful Long-term Analgesia. *Clinical Rheumatology* (2006) 25(1):9-15.
52. Uyar, M, Köken, İ. Kronik Ağrı Nörofizyolojisi. *Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği Dergisi* (2017) 16:70-76.
53. Bamigbade, T.A, Davidson C, Langford R.M, Stamford J.A. Actions of Tramadol, Its Enantiomers and Principal Metabolite, O-desmethylTramadol, on Serotonin (5-HT) Efflux and Uptake in the Rat Dorsal Raphe Nucleus. *British Journal of Anaesthesia* (1997) 79: 352–356.
54. World Health Organization. WHO's Pain Ladder for Adults. Geneva: World Health Organization; 2014. 02.05.2019 tarihinde <http://www.who.int/cancer/palliative/painladder/en/adresinden> erişildi.
55. Duehmke, RM, Derry, S, Wiffen, PJ, Bell, RF, Aldington, D, Moore, RA. Tramadol for Neuropathic Pain in Adults (Review). *Cochrane Database of Systematic Reviews* (2017) Issue 6. Art. No: CD003726.
56. Keskinbora, K, Aydınli, I. Derleme: Ağrı (2006) 18(1):5-19.
57. Arafa, M.H, Atteia, H.H. Genetic Polymorphisms of Cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) are Associated with Long Term Tramadol Treatment-Induced Oxidative Damage and Hepatotoxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology* (2018) 346:37-44.
58. Kaneko, K, Umehara, M, Homan, T, Okamoto, K, Oka, M, Oyama, T. The Analgesic Effect of Tramadol in Animal Models of Neuropathic Pain and Fibromyalgia. *Neuroscience Letters* (2014) 562:28-33.
59. Bozkurt, P. Review Article. Use of Tramadol in Children. *Pediatric Anesthesia* (2005) 15:1041-1047.
60. Türk Farmakopesi-II Monograflar (Avrupa Birliği Adaptasyonu) 1.Baskı 2016, Ankara.
61. Beakley, B.D, Kaye, A.M, Kaye, A.D. Tramadol, Pharmacology, Side Effects, and Serotonin Syndrome: A Review. *Pain Physician* (2015) 18:395-400.
62. RxMediaPharma İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı rxmediapharma.com adresinden 08.07.2019 tarihinde erişildi.
63. Scott, L.J, Perry, C.M. Tramadol A Review of Its Use in Perioperative Pain. *Drugs* (2000) 60(1):139-176.
64. Senior, J, Radomsky M. Sustained-Release Injectable Products. 2000 by Taylor & Francis Group, LLC CRC Press is an imprint of Taylor & Francis Group, an Informa business. International Standard Book Number-13: 978-1-4200-2608-5 (eBook-PDF).
65. Çetin, E.M. Periodontal Hastalıkların Tedavisinde Kullanılan Lokal Kontrollü Salım Sistemlerinin İncelenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ege Üniversitesi, Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Bilim Dalı. Doktora Tezi, 2008, İzmir.
66. Rao, J.P, Geckeler, K.E. Polymer Nanoparticles: Preparation Techniques and Size-Control Parameters. *Progress in Polymer Science* (2011) 36:887-913.

67. Varan, C. Beyin Glioma Tedavisinde Doseksel Yüklü Katyonik Nanopartiküllerin Tasarımı ve *In Vitro* Değerlendirilmesi. Hacettepe Üniversitesi, Nanoteknoloji ve Nanotıp Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, 2013, Ankara.
68. Bala, I, Hariharan, S, Kumar, M.N. PLGA Nanoparticles in Drug Delivery: The State of the Art. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems* (2004)21(5):387–422.
69. Khalil, N.M. et al. Pharmacokinetics of Curcumin-loaded PLGA and PLGA–PEG Blend Nanoparticles After Oral Administration in Rats. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* (2013) 101:353–360.
70. Öztürk, K, Caban, S, Kozlu, S, Kadayıfçı, E, Yerlikaya, F, Çapan, Y. The Influence of Technological Parameters on the Physicochemical Properties of Blank PLGA Nanoparticles. *Pharmazie* (2010) 65:665-669.
71. Vanderhoff, J. W, El-Aasser, M. S, Ugelstad, J. Polymer Emulsification Process. US. Patent 4 177 177 (1979).
72. Astete, C.E, Sabliov, C.M. Review: Synthesis and Characterization of PLGA Nanoparticles. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* (2006) 17(3):247-289.
73. Quintanar-Guerrero, D, Allémann, E, Fessi, H, Doelker, E. Preparation Techniques and Mechanisms of Formation of Biodegradable Nanoparticles from Preformed Polymers. *Drug Development and Industrial Pharmacy* (1998) 24(12):1113-1128.
74. Saadati, R, Dadashzadeh, S. Marked Effects of Combined TPGS and PVA Emulsifiers in the Fabrication of Etoposide-loaded PLGA-PEG Nanoparticles: *In Vitro* and *In Vivo* Evaluation. *International Journal of Pharmaceutics* (2014) 464:135-144.
75. Tunçay, M, Çalış, S. İlaç Taşıyıcı Sistemlerde Kullanılan Biyoparçalanabilir Sentetik ve Doğal Polimerler. *FABAD Journal Pharmaceutical Sciences* (1999) 24:109-123.
76. Tosi, G, Costantino, L, Ruozi, B, Forni, F, Vandelli, M.A. Polymeric Nanoparticles for the Drug Delivery to the Central Nervous System. *Expert Opinion Drug Delivery* (2008) 5(2):155-174.
77. Makadia, H.K, Siegel, S.J. Poly (lactic-co-glycolic acid) (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier. *Polymers* (2011) 3(3):1377-1397.
78. Danhier, F, Ansorena, E, Silva, J.M, Coco, R, Breton, A.L, Prétat, V. PLGA-based Nanoparticles: An Overview of Biomedical Applications. *Journal of Controlled Release* (2012) 161:505–522.
79. Jain, RA. The Manufacturing Techniques of Various Drug Loaded Biodegradable Poly (lactide-co-glycolide) (PLGA) Devices. *Biomaterials* (2000) 21:2475-2490.
80. Jeong, J.H et al. Protective Effects of Poly (lactic-co-glycolic acid) Nanoparticles Loaded with Erythropoietin Stabilized by Sodium Cholate Against Glutamate-Induced Neurotoxicity. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* (2014) 14:8365-8371.
81. Mohammadi-Samani, S, Taghipour, B. Review Article: PLGA Micro and Nanoparticles in Delivery of Peptides and Proteins; Problems and Approaches. *Pharmaceutical Development and Technology* (2015) 20(4):385–393.
82. Derman, S, Kızılbey, K, Akdeste, Z.M. Review Paper: Polymeric Nanoparticles. *Journal of Engineering and Natural Sciences Sigma* (2013) 31:107-120.
83. Zhang, K et al. PEG–PLGA copolymers: Their Structure and Structure-Influenced Drug Delivery Applications. *Journal of Controlled Release* (2014) 183:77–86.
84. Wang, H et al. Enhanced Anti-tumor Efficacy by Co-delivery of Doxorubicin and Paclitaxel with Amphiphilic Methoxy PEG-PLGA Copolymer Nanoparticles. *Biomaterials* (2011) 32:8281-8290.
85. Moraes Moreira Carraro, T.C, Altmeyer, C, Maissar Khalil, N, Mara Mainardes, R. Assessment of *In Vitro* Antifungal Efficacy and *In Vivo* Toxicity of Amphotericin B-loaded PLGA and PLGA-PEG Blend Nanoparticles. *Journal de Mycologie Médicale* (2017) 27:519-529.
86. Zhang, Z, Pinga, Q, Bin Xiao, B. Microencapsulation and Characterization of Tramadol–Resin Complexes. *Journal of Controlled Release* (2000) 66:107–113.
87. S. Türk, C.T, S. Bayındır, Z, Badıllı, U. Preparation Of Polymeric Nanoparticles Using Different Stabilizing Agents. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi* (2009) 38(4):257-268.
88. Gaonkar, R.H et al. Garcinol Loaded Vitamin E TPGS Emulsified PLGA Nanoparticles: Preparation, Physicochemical Characterization, *In Vitro* and *In Vivo* Studies. *Nature: Scientific Reports* (2017) 7(530).

89. Mu, L, Feng, S.S. Vitamin E TPGS Used as Emulsifier in the Solvent Evaporation/Extraction Technique for Fabrication of Polymeric Nanospheres for Controlled Release of Paclitaxel. *Journal of Controlled Release* (2002) 80:129–144.
90. Hoda, M, Sufi, S.A, Cavuturu, B, Rajagopalan, R. Stabilizers Influence Drug–Polymer Interactions and Physicochemical Properties of Disulfiram-loaded Poly-lactide-co-glycolide Nanoparticles. *Future Science OA.* (2018) 4(2): FSO263.
91. Scholes, P.D, Coombes, A.G.A, Illurn, L, Davis, S.S, Vert, M, Davies, M.C. The Preparation of Sub-200 nm Poly (lactide-co-glycolide) Microspheres for Site-specific Drug Delivery. *Journal of Controlled Release* (1993) 25:145-153.
92. Gürsoy, A.Z. *Farmasötik Teknoloji Temel Konular ve Dozaj Şekilleri. Kontrollü Sağlık Sistemleri Derneği Yayınları No:2. 2004, İstanbul.*
93. Guideline, I.H.T., *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. Q2 (R1), (2005).*
94. Eşim, Ö. Beyine Nazal Yolla İlaç Taşıyıcı Bir Formülasyon Geliştirilmesi, *In Vitro ve Rat Hayvan Modelinde Değerlendirilmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi, 2018, Ankara.*
95. Özkan, Y, Savaşer, A, Taş, Ç, K. Özkan, C, Bayrak, Z, Eşim, Ö, A. Özkan, S. İlaçların Analiz ve Kalite Kontrollerinde Kullanılan Analitik Yöntemlerin Geçerliliği (Validasyon). *Gülhane Askeri Tıp Akademisi Basımevi. 2011, Ankara.*
96. Timur, S.S. Meme Kanseri Tedavisinde Aktif Hedeflendirme Amacıyla Kullanılmak Üzere Nano Boyutlu İlaç Taşıyıcı Sistemlerin (Nanofarmasötikler) Tasarımı, *In Vitro / In Vivo Değerlendirilmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara Üniversitesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi, 2017, Ankara.*
97. Amjadi, I, Rabiee, M, Hosseini, M.S, Mozafari, M. Synthesis and Characterization of Doxorubicin-Loaded Poly (Lactide-co-glycolide) Nanoparticles as a Sustained-Release Anticancer Drug Delivery System. *Applied Biochemistry and Biotechnology* (2012) 168:1434–1447.
98. Tamilselvan, N, Raghavan, C.V, Balakumar, K, Karthik, S. Preparation of PLGA Nanoparticles for Encapsulating Hydrophilic Drug: Modifications ff Standard Methods and It's *In Vitro* Biological Evaluation. *Asian Journal of Research in Biological and Pharmaceutical Sciences* (2014) 2(3):121-132.
99. Cohen-Sela, E, Chorny, M, Koroukhov, N, Danenberg, H.D, Golomb, G. A New Double Emulsion Solvent Diffusion Technique for Encapsulating Hydrophilic Molecules in PLGA Nanoparticles. *Journal of Controlled Release* (2009) 133:90–95.
100. Betancourt, T et al. PEGylation Strategies for Active Targeting of PLA/PLGA Nanoparticles. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* (2009) 91(1):263-76.
101. Gref, R, Minamitake, Y, Peracchia, MT, Trubetskoy, V, Torchilin, V, Langer, R. Biodegradable Long-Circulating Polymeric Nanospheres. *Science* (1994) 263:1600-1603.
102. Musyanovych, A, Schmitz-Wienke, J, Mailänder, V, Walther, P, Landfester, K. Preparation of Biodegradable Polymer Nanoparticles by Miniemulsion Technique and Their Cell Interactions. *Macromolecular Bioscience* (2008) 8:127-139.
103. D. Lemoine, D, Preat, D. Polymeric Nanoparticles as Delivery System for Influenza Virus Glycoproteins. *Journal of Controlled Release* (1998) 54:15-27.
104. Jain, S, Mittal, A, Jain, A.K, Mahajan, R, Singh, D. Cyclosporin A Loaded PLGA Nanoparticle: Preparation, Optimization, *In Vitro* Characterization and Stability Studies. *Current Nanoscience* (2010) 6(4):1-10.
105. Feng, S et al. Vitamin E TPGS-Emulsified Poly (lactic-co-glycolide acid) Nanoparticles for Cardiovascular Restenosis Treatment. *Nanomedicine* (2007) 2(3):333-344.
106. Dhal, C, Mishra, R. Formulation Development and *In Vitro* Evaluation of Gentamicin Sulphate-loaded PLGA Nanoparticles Based Film for the Treatment of Surgical Site Infection by Box-Behnken Design. *Drug Development and Industrial Pharmacy* (2019) 45(5):805-818.
107. Dahshan, H.E, Helal, M.A, Mostafa, S.M, Elgawish, M.S. Development and Validation of an HPLC-UV Method for Simultaneous Determination of Sildenafil and Tramadol in Biological Fluids: Application to Drug-drug Interaction Study. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 168 (2019) 201-208.

108. Belal, T, Awad, T, Clark, C.R. Determination of Paracetamol and Tramadol Hydrochloride in Pharmaceutical Mixture Using HPLC and GC-MS. *Journal of Chromatographic Science* (2009) 47:849-854.
109. S. Ertaş, Ö, Kayalı, A. Analitik Yöntem Geçerliliğine Genel Bir Bakış. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi* (2005) 34(1):37-57.
110. Shabir, G.A. Validation of High-Performance Liquid Chromatography Methods for Pharmaceutical Analysis Understanding the Differences and Similarities between Validation Requirements of the US Food and Drug Administration, the US Pharmacopeia and the International Conference on Harmonization. *Journal of Chromatography A* (2003) 987:57-66.
111. Smyj, R, Wang, X, Han, F. Chapter Eleven: Tramadol Hydrochloride. *Profiles of Drug Substances, Excipients, and Related Methodology* (2013) 38:464-490.
112. Bilati, U, Allemann, E, Doelker, E. Sonication Parameters for the Preparation of Biodegradable Nanocapsules of Controlled Size by the Double Emulsion Method. *Pharmaceutical Development And Technology* (2003) 8:1-9.
113. Warsi, M.H et al. Dorzolamide-loaded PLGA/Vitamin E TPGS Nanoparticles for Glaucoma Therapy: Pharmacoscintigraphy Study and Evaluation of Extended Ocular Hypotensive Effect in Rabbits. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* (2014) 122:423-431.
114. Mainardes, R.M, Evangelista, R. C. Praziquantel-Loaded PLGA Nanoparticles: Preparation and Characterization. *Journal of Microencapsulation* (2005) 22(1):13-24.
115. Karp, F, Busatto, C, Turino, L, Luna, J, Estenoz, D. PLGA Nano- and Microparticles for the Controlled Release of Florfenicol: Experimental and Theoretical Study. *Journal of Applied Polymer Science* (2019) 136(12):47248-47252.
116. McClements, D.J. *Nanoparticle and Microparticle-Based Delivery Systems: Encapsulation, Protection and Release of Active Compounds.* (2014) CRC Press.
117. Ravivarapu, H.B, Burton, K, DeLuca, P.P. Polymer and Microsphere Blending to Alter the Release of a Peptide from PLGA Microspheres. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* (2000) 50(2):236-270.
118. Iwata, M, McGinity, J. Preparation of Multi-phase Microspheres of Poly (D, L-lactic acid) and Poly (D, L-lactic-co-glycolic acid) Containing a W/O Emulsion by a Multiple Emulsion Solvent Evaporation Technique. *Journal of Microencapsulation* (1991) 9(2):201-214.
119. Sawant, K.K, Dodiya, S.S. Recent Advances and Patents on Solid Lipid Nanoparticles. *Recent Patents on Drug Delivery and Formulation* (2008) 2(2):120-135.
120. Kumar, M et al. Cationic Silica Nanoparticles As Gene Carriers: Synthesis, Characterization and Transfection Efficiency *In Vitro* and *In Vivo*. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* (2004) 4(7):876-881.
121. Varshosaz, J et al. Optimization of Freeze-Drying Condition of Amikacin Solid Lipid Nanoparticles Using D-optimal Experimental Design. *Pharmaceutical Development and Technology* (2012) 17(2):187-194.
122. Quanglia, F et al. The Intracellular Effects on Non-ionic Amphiphilic Cyclodextrin Nanoparticles in the Delivery of Anticancer Drugs. *Biomaterials* (2009) 30(3):374-382.
123. Liu, M et al. Characterization and Release of Triptolide-loaded Poly (D, L-lactic acid) Nanoparticles. *European Polymer Journal* (2005) 41(2):375-382.
124. Aydın, N.E. Hidroksiapatit-Jelatin ve Hidroksiapatit-Kitosan Biyokompozitlerin Yapay Vücut Sıvısı Ortamında Üretimi Sırasında 5-FU İlacının Yüklenmesi ve İlaç Salım Çalışmaları. *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* (2018) 11(3):587-605.
125. Lemoine, D et al. Stability Study of Nanoparticles of Poly (ϵ -caprolactone), Poly (D, L-lactide) and Poly (D, L-lactide-co-glycolide). *Biomaterials* (1996) 17(22):2191-2197.

ÖZGEÇMİŞ

I. Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : Nuray YILDIRIM
Doğum yeri ve tarihi : Kadıköy 17.04.1988
Uyruğu : Türkiye Cumhuriyeti
Medeni durumu : Evli
İletişim adresi ve telefonu : Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Eczanesi
Ankara 03123046127
Yabancı dili : İngilizce



II. Eğitimi

Lisans : Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (Mezuniyet yılı 2011)
Lise : Bolu Fen Lisesi (Mezuniyet yılı 2006)
İlköğretim : Ertuğrulgazi İlköğretim Okulu (Mezuniyet yılı 2002)

III. Mesleki Deneyimi

Görev yeri	Görev yılı
Gülhane Askeri Tıp Akademisi	2014-2015
Afganistan Kabil Atatürk Asker Hastanesi	2015
Gülhane Askeri Tıp Akademisi	2015-2016
Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi	2017'den beri