

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

**KİTOSAN NANOPARTİKÜL BAZLI
JEL, MERHEM VE PAT
FORMÜLASYONLARININ GELİŞTİRİLMESİ**

Alican Erhan NEBİOĞLU

Danışman : Prof. Dr. Şenay HAMARAT ŞANLIER

Biyokimya Anabilim Dalı
Biyokimya Yüksek Lisans Programı

İzmir
2019

Alican Erhan NEBİOĞLU tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan “Kitosan Nanopartikül Bazlı Jel, Merhem ve Pat Formülasyonlarının Geliştirilmesi” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 27/08/19 tarihinde yapılan tez savunma sınavında oy birliği/oy çokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı

: Prof. Dr. Senay Sarıer

.....

Raportör Üye

: Prof. Dr. Hülya Ayar Kaya

.....

Üye

: Prof. Dr. Secil Dural

.....

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Kitosan Nanopartikül Bazlı Jel, Merhem Ve Pat Formülasyonlarının Geliştirilmesi” başlıklı tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite ve diğer başka bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlamasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

27.08.2019
Alican Erhan
NEBİOĞLU
A. Erhan

ÖZET**KİTOSAN NANOPARTİKÜL BAZLI JEL, MERHEM VE PAT
FORMÜLASYONLARININ GELİŞTİRİLMESİ**

NEBİOĞLU, Alican Erhan

Yüksek Lisans Tezi, Biyokimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Şenay HAMARAT ŞANLIER

Ağustos 2019, 68 Sayfa

Kitosan, kitinin deasetilasyonu ile elde edilen lineer bir aminopolisakkarittir. Yapısında bulundurduğu fonksiyonel amino grupları, katyonik polimer olma avantajı ve nanoboyutta kitosan parçacıklarının hazırlanabilmesi özellikle; biyomedikal, kozmetik, gıda, farmasötik sektöründe oldukça ilgi uyandırmıştır. Kitosan nanopartikül sentezi yüzey alanını arttırdığı için daha yüksek miktarda etken madde enkapsülasyonuna olanak sağlar. Yarı katı formülasyonlar, deriye veya ulaşılabilen mukoza yüzeylerine uygulanan preparatlardır. Yapılarına eklenen etken maddelerin deri altı girişimi, lokal etkileri, yumuşatıcı ve koruyucu özelliklerinden dolayı deriye veya mukozaya uygulanmak üzere tasarlanırlar.

Bu çalışmada, kitosan nanopartikülleri iyonik jelleşme yöntemi ile hazırlanmıştır. Asetik asit içerisinde çözülen kitosan üzerine tripolifosfat çözeltisi damlatılarak kitosan nanopartiküller elde edilmiştir. Yarı katı preparat olarak jel, merhem ve pat formülasyonları hazırlanmış ve hazırlanan formülasyonların, kitosan nanopartikül ilavesi ile yapılarında meydana gelen değişimler incelenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Kitosan nanopartikül, Jel, Pat, Merhem, Yarı Katı Formülasyon

ABSTRACT**DEVELOPMENT OF CHITOSAN NANOPARTICLE BASED GEL,
OINTMENT AND PAT FORMULATIONS**

NEBİOĞLU, Alican Erhan

Master of Science Thesis, Biochemistry Department

Supervisor: Prof. Dr. Şenay HAMARAT ŞANLIER

August 2019, 68 Pages

Chitosan is a linear amino polysaccharide that obtained from deacetylation of chitin. Chitosan can be used in biomedical, cosmetic, food and pharmaceutical industry because of functional cationic amino groups and easily preparation of nanosized chitosan particles. Since chitosan nanoparticle synthesis increases the surface area, it enables a higher amount of active substance encapsulation. Semi-solid formulations are preparations that are applied to the skin or accessible mucosal surfaces. They are designed to be applied to the skin or mucosa due to the subcutaneous interference, local effects, emollient and protective properties of the active substances added to their structures.

In this study, chitosan nanoparticles were prepared with ionic gelation method. Chitosan nanoparticles were obtained by dropping tripolyphosphate solution into chitosan solution in acetic acid. Gel, ointment and pat formulations were prepared as semi-solid preparations and the changes in the structure of the formulations by the addition of chitosan nanoparticle were examined.

Keywords: Chitosan nanoparticle, Gel, Paste, Ointment, Semi- Solid Formulation

ÖNSÖZ

Lisans hayatımın ardından bilimsel ve akademik anlamda önemli bir adım olan yüksek lisans eğitimimin sonuna gelmiş bulunuyorum. Mesleğime ait daha öğrenmem gereken onlarca bilgi ve uygulamanın farkında olmakla beraber yüksek lisans hayatımın bu bilgilere nasıl ulaşacağımı ve ulaştığım bilgileri nasıl kullanacağımı öğrettiğine inanmaktayım.

Bundan sonraki hayatımda yüksek lisans bilgi ve tecrübelerimin bana ışık tutacağına ve kariyer hedeflerimi yerine getirmek için çok yardımcı olacağına emin olmakla beraber bu süreçte birlikte iş yaptığım, beraber projeler yürüttüğüm insanlar ile yollarımızın uzun süre kesişeceğini düşünmekteyim.

Yüksek lisans serüvenim boyunca ilminden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile de örnek edindiğim, yanında çalışmaktan onur duyduğum ve ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı değerli hocam, Prof. Dr. Şenay HAMARAT ŞANLIER'e,

Ne zaman başım sıkışsa yardımına koşan Dr. Güliz AK'a; laboratuvarı samimi bir ortama dönüştüren yüksek lisans arkadaşlarım Ayşe ÜNAL ve Tuğba KARAKAYALI'ya,

Bu süreçte desteğini esirgemeyen aileme ve değerli ev arkadaşım Umut ÇETİNKAYA'ya içten teşekkürlerimi sunarım.

İZMİR

26/07/2019

Alican Erhan
NEBİOĞLU



İÇİNDEKİLER

| | |
|---|------|
| ÖZET | vii |
| ABSTRACT | ix |
| ÖNSÖZ | xi |
| ŞEKİLLER DİZİNİ..... | xv |
| TABLolar DİZİNİ..... | xvi |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ..... | xvii |
| 1. GİRİŞ..... | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER..... | 3 |
| 2.1. Nanopartiküller..... | 3 |
| 2.2. Kitin ve Kitosan | 4 |
| 2.2.1 Kitosanın özellikleri..... | 5 |
| 2.2.2 Kitosanın özelliklerine etki eden parametreler | 7 |
| 2.2.3 Kitosanın endüstriyel uygulamaları..... | 9 |
| 2.2.4 Kitosan nanopartiküller | 10 |
| 2.2.5 Kitosan nanopartiküllerin hazırlanması | 11 |
| 2.3 Formülasyon..... | 16 |
| 2.3.1. Yarı katı formülasyonlar..... | 17 |
| 2.3.2. Jel | 18 |
| 2.3.3. Pat (Pasta)..... | 20 |
| 2.3.4. Merhem..... | 21 |
| 2.3.5. Yarı katı preparatlarda yapılan kontroller..... | 25 |
| 2.3.6. Yarı katı preparatların stabiliteleri | 26 |
| 2.3.7. Yarı katı preparatların kalite kontrolü | 27 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM..... | 29 |
| 3.1. Gereç | 29 |
| 3.2 Kitosan Nanopartiküllerin Sentezlenmesi | 29 |
| 3.3 Jel Formülasyonunun Geliştirilmesi | 29 |
| 3.3.1. Sodyum aljinat konsantrasyon optimizasyonu | 30 |
| 3.3.2. Kalsiyum klorür konsantrasyon optimizasyonu | 30 |
| 3.3.3. Sodyum aljinat/ kalsiyum klorür oranının optimizasyonu | 31 |
| 3.4. Merhem Formülasyonunun Geliştirilmesi | 31 |
| 3.4.1. Gliserin merhemi | 31 |
| 3.4.2. Polietilen glikol merhemi..... | 31 |
| 3.5. Pat formülasyonunun geliştirilmesi | 32 |
| 3.5.1. Plastibaz oran denemeleri..... | 32 |

İÇİNDEKİLER (DEVAMI)

| | |
|---|----|
| 3.5.2. Orabaz oran denemeleri | 33 |
| 3.6. Oluşturulan Formülasyonlara Sodyum Benzoat İlavesi | 34 |
| 3.7. Oluşturulan Formülasyonlara Kitosan Nanopartikül İlavesi | 34 |
| 3.8 Formülasyonların Stabilite ve Viskozite Testleri..... | 34 |
| 4. SONUÇLAR..... | 35 |
| 4.1. Kitosan Nanopartiküllerin Sentezlenmesi..... | 35 |
| 4.2. Jel Formülasyonun Geliştirilmesi | 36 |
| 4.3. Merhem Formülasyonunun Geliştirilmesi | 39 |
| 4.4. Pat Formülasyonunun Geliştirilmesi | 41 |
| 4.5. Sodyum Benzoat İlavesi | 43 |
| 4.6. Kitosan Nanopartikül İlavesi..... | 43 |
| 4.7. Stabilite Testi | 44 |
| 5. TARTIŞMA..... | 45 |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER | 49 |
| KAYNAKLAR DİZİNİ..... | 51 |
| TEŞEKKÜR..... | 55 |
| ÖZGEÇMİŞ | 57 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|--|----|
| Şekil 2.1. Nanoküre ve nanokapsüllerin yapısı | 2 |
| Şekil 2.2. Kitin ve Kitosanın Kimyasal Yapıları | 4 |
| Şekil 2.3. Kitin ve kitosanın bazı türevleri | 6 |
| Şekil 2.4. Emülsiyon çapraz bağlama yöntemi ile kitosan nanopartikül sentezlenmesi..... | 10 |
| Şekil 2.5. Çöktürme/ toplama yöntemi ile kitosan nanopartikül sentezlenmesi | 11 |
| Şekil 2.6. Sprey kurutma yöntemi ile kitosan naopartikül sentezlenmesi | 11 |
| Şekil 2.7. Emülsiyon damlacık birleştirme yöntemi ile kitosan nanopartikül sentezi | 12 |
| Şekil 2.8. İyonik jelasyon yöntemi şematik gösterimi | 13 |
| Şekil 2.9. Kitosan nanopartiküllerin iyonik jelasyon ile kimyasal oluşumu | 13 |
| Şekil 2.10. Ters misel yöntemi şematik gösterimi..... | 14 |
| Şekil 2.11. Bir ilacın tek bir dozunun aynı yoldan uygulanan üç farklı formülasyonunun zamana karşı plazma konsantrasyon grafiği | 15 |
| Şekil 3.1. Aljinat içerisindeki G bloklarının Ca ⁺² divalent iyonlarınca yumurta kutu modeline uygun etkileşimi..... | 27 |
| Şekil 3.2. Oral mukoadhesif pat formülasyon geliştirilmesine dayalı üçgen diyagramı..... | 30 |
| Şekil 4.1. Sentezlenen kitosan nanopartiküllerin Zeta Sizer boyut analizi sonuçları..... | 32 |
| Şekil 4.2. Sentezlenen kitosan nanopartiküllere ait SEM görüntüleri | 33 |
| Şekil 4.3. Sodyum aljinat konsantrasyon optimizasyonu. | 33 |
| Şekil 4.4. Kalsiyum klorür konsantrasyon optimizasyonu. | 34 |
| Şekil 4.5. Sodyum aljinat/ Kalsiyum Klorür oran optimizasyonu | 36 |
| Şekil 4.6. Gliserin denemeleri sonuçları..... | 36 |
| Şekil 4.7. Polietilen glikol bazlı merhem denemeleri..... | 38 |
| Şekil 4.8. Pat formülasyonu, plastibaz optimizasyonu | 39 |
| Şekil 4.9. Orabaz optimizasyonu | 40 |
| Şekil 4.10. Nüve test kabininde bekletilen formülasyonların sonuçları | 41 |

TABLolar DİZİNİ

| | |
|--|----|
| Tablo 2.1. Kitosanın fiziksel özellikleri..... | 5 |
| Tablo 2.2. Kitosanın endüstrideki bazı kullanım alanları ve uygulamaları | 8 |
| Tablo 3.1. Sodyum aljinat/kalsiyum klorür oran optimizasyonu denemeleri | 28 |
| Tablo 3.2. PEG Merhemi denemesinde kullanılan oranlar | 29 |
| Tablo 3.3. Plastibaz ve orabaz optimizasyonunda kullanılan kimyasal oranları | 30 |

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİSimgeler

nm

 μm

kDa

mg

ml

 $^{\circ}\text{C}$

g

%

w

v

 μg

ng

Açıklamalar

nanometre

mikrometre

kilodalton

miligram

mililitre

santigrat derece

gram

yüzde

kütle

hacim

mikrogram

nanogram

Kısaltmalar

PEG

HMW

LMW

TPP

SEM

Açıklamalar

polietilenglikol

yüksek molekül kütleli

düşük molekül kütleli

tripolifosfat

taramalı elektron mikroskobu

1. GİRİŞ

Kitin, selülozdan sonra doğada en çok bulunan polimerdir. Bu kadar çok bulunmasına rağmen çözücü olarak toksik kimyasalların kullanılması ve uygulanabilirliği çok az olduğu için, çok fazla kullanılamamaktadır.

Kitinin deasetillenmesi sonucu oluşan kitosan ise zayıf asitlerin seyreltik çözeltilerinde kolayca çözünmesi, çözelti içinde doğal olarak katyonik formda bulunması ve bu sayede birçok bileşenle reaksiyona girebilmesi nedeniyle sıkça kullanılmaktadır.

Kitosan nanopartiküllerin sentezi ile yüzey alanının yüksek oranda artırılması ve oluşturulan nano boyut ile kılcalık epitellerinden bile geçiş sağlanması amaçlanmaktadır. Kitosan nanopartiküller; emülsiyon çapraz bağlama, çöktürme/ toplama, sprey kurutma, emülsiyon damlacık birleştirme, iyonik jelleşme ve ters misel olmak üzere toplamda altı farklı şekilde sentezlenebilmektedir. Bu çalışmada kitosan nanopartiküller iyonik jelasyon yöntemi kullanılarak sentezlenmiştir.

Topikal ürün olarak da adlandırılan yarı katı formülasyonlar deriye veya ulaşılabilen mukoza yüzeylerine uygulanan preparatlardır. Kendilerine has üç boyutlu yapıları bulunur ancak bu üç boyutlu yapı uygulanan kuvvet ile bu yapı kolayca bozulur. Merhem, jel, krem, pat, ilaçlı plaster ve yakılar yarı katı formülasyonlardır.

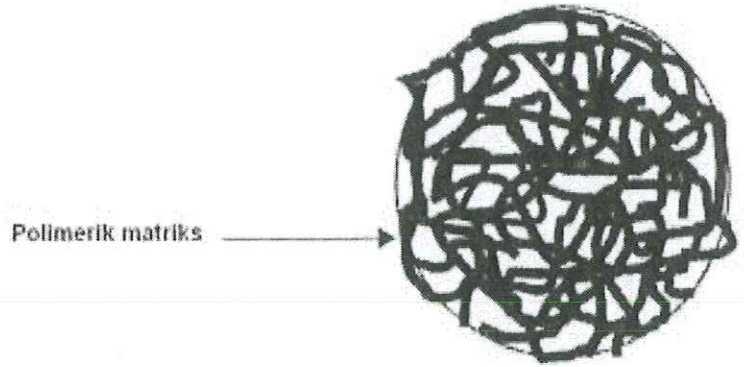
Bu çalışmada; jel, merhem ve pat formülasyonları hazırlandı. Hazırlanan bu preparatlara iyonik jelleşme yöntemi ile sentezlenen kitosan nanopartiküller eklenerek bu sistemler incelendi.

2. GENEL BİLGİLER

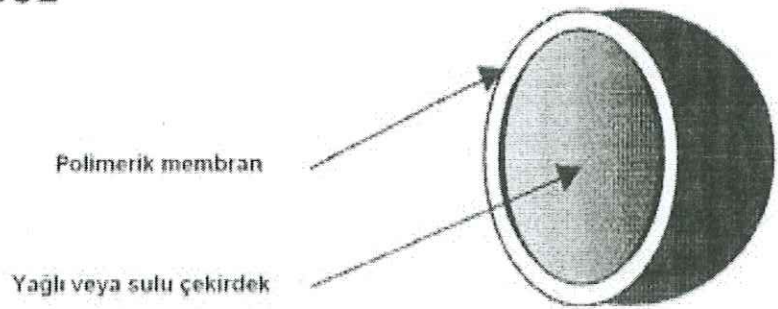
2.1. Nanopartiküller

Boyutları 10-1000 nm arasında değişen çözünen, kapsül içine hapsedilen veya yüzeye yapışan halde bulunan etken maddeyi kontrollü olarak emisyonuna olanak sağlayan, farklı kimyasal polimerlerle hazırlanan polimerik parçacık sistemlerine “nanopartiküller” denilmektedir. Nanopartikül ilaç taşıyıcı yapılar, hazırlama şekline göre “nanoküreler” ve “nanokapsüller” olarak iki türden oluşurlar. Nanoküreler, etkin maddenin polimer ana yapı içinde çözünüp, disperse edildiği veya kısmi olarak membrana tutunduğu sistemlerdir. Nanokapsüller ise etkin maddenin polimerik bir membran ile çevrelenmiş lipofil veya hidrofil bir çekirdek içinde bulundurduğu cepli sistemlerdir. (Türk ve Hasçıçek, 2009).

NANOKÜRE



NANOKAPSÜL



Şekil 2.1. Nanoküre ve nanokapsüllerin yapısı (Brigger et al., 2002)

Polimerik nanopartiküller, etken madde taşıyıcı sistem olarak diğer nanopartiküler transport sistemlere göre avantajlara sahiptir. Kendi yapılarına bağlayabildikleri etken madde miktarı fazladır ve bu sayede etken madde hücre içinde daha fazla dağılır. Bu nanopartiküllerin kompleks yapısı etken maddenin

parçalanmasını önleyerek etkinliği artırır. Böylece etken madde hedef bölgeye ulaşma şansı artar (Kreuter, 2001). Polimerik nanopartiküller etken maddenin istenilen bölgeye ulaştırılmasını ve o bölgede etken maddenin kontrollü ve uzun süre salım yapmasını sağlarlar. Bu sayede etken madde, uygulama yapıldıktan günler veya haftalar sonra bile salım yapabilmektedir (Garcia et al., 2005). Nanopartiküllerin yüzey özellikleri çeşitli ajanlarla kaplama yapılmak suretiyle değiştirilerek nanopartiküllerin retikülo endotelial sistem (RES) makrofajları tarafından tanınması engellenir. Bu şekilde nanopartiküllerin hedef bölgeye ulaşılabilirliği artırılır (Liu et al., 2005). Polimerik nanopartiküller diğer transport sistemlere göre biyolojik sıvılarda daha yüksek dayanıklılık gösterirler (Kreuter, 2005). Boyutları 10-1000 nm arasında değiştiği için kanser hücrelerine nüfuz edebilirler ve bu hücrelere tutunma kapasiteleri yüksektir. Bu da istenilen alanda etken madde salımına olanak verir. Etken madde istenilen bölgede salım yapabildiği için etken maddeden kaynaklanan zehirlenme vakalarında azalma görülür (Rao and Geckeler, 2010). Etken maddenin vücuttaki rotasını belirleyerek tedavinin etkinliğini artırır (Kreuter, 2005). Çok kolay bir şekilde steril hale getirilip yine kolay ve basit bir şekilde üretimleri gerçekleştirilir (Kaş, 2002).

2.2. Kitin ve Kitosan

Kitin, selülozdan sonra dünyada en yaygın olarak bulunan ikinci biyopolimerdir. Kabuklu deniz canlılarının ana yapısını oluştururlar. Ayrıca böceklerin iskeleti sisteminde ve mantarların membran yapısında da bulunmaktadır.

Kitinin en önemli türevi kitosandır. Kitosan, Henri Bracannot isimli bilim adamı tarafından 1811 senesinde bulunmuştur.

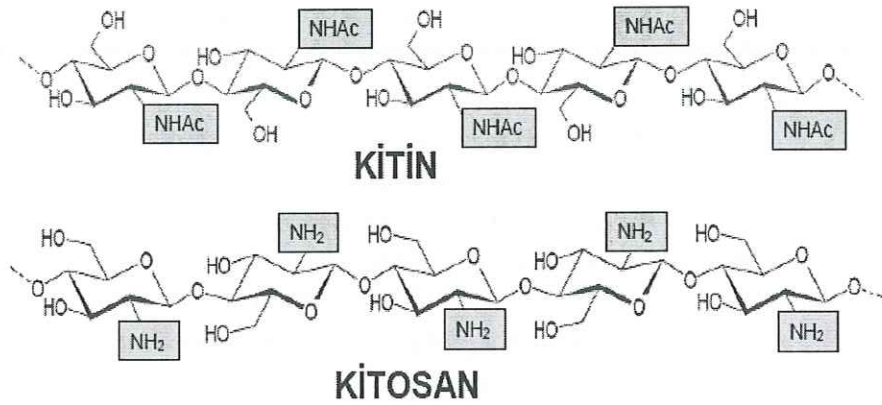
Kitin bir biyopolimerdir ve aslen poli- $[\beta-(1,4)-2\text{-asetamid-2-deoksi-}\beta\text{-D-glukopiranoz}]$ yapısında bulunur. Çok düşük oranda 2-amino-2-deoksi- β -glukopiranoz monomerlerini de içermektedir.

Kitin doğada genellikle; deniz yosunları, kamçılılar, amip kirpikliler gibi tek hücreli yapılarda, selenterelerde, yumuşakçalarda, eklembacaklılar, halkalılar, solucanlar, bakteriler, mantarlar, böcekler ve bazı bitkilerde bulunur. (Kristberg, 2003)

Kitosan, kitinin deasetillenmesi ile oluşan pozitif yüklü bir polisakarittir ve $\beta-(1,4)-2\text{-asetoamido-2-deoksi-D-glikoz}$ ve $\beta-(1,4)-2\text{-amino-2-deoksi-D-glikoz}$ yapılarının bir kopolimeridir. Kitosanın yapısı selüloz yapısına benzer olarak fiber bir yapıya sahiptir. Kabuklu hayvanların ve mantarların membran yapısında doğal olarak bulunan bir polisakarittir. Kabuklu hayvanların atıkları, kuru kütle temeli üzerinden %14-35 kitosan içerir ve yenilebilir deniz ürünü işletim endüstrileri yıllık 1.2×10^5 tondan fazla atık üretirler. Kitosan çok fazla bulunur ve farklı konularda potansiyele sahiptir fakat suda çok az çözündüğünden

dolayı kullanımını kısıtlanmıştır. Suda çözünmemesine rağmen formik asit, asetik asit ve laktik asitin seyreltik çözeltilerinde iyi çözünür ve polikasyonik yapıya sahip olur. (Rao et. al. 2005-2006).

Kitosan yapısında bulunan azot oranı %5-8 arasında değişmektedir. Bu durum kitosanın Deasetilasyon Derecesine (DD) bağlıdır. Kitosanın kimyasal modifikasyona uygun olması, sahip olduğu primer alifatik amino gruplarıdır. Şekil 2.2.'de kitin ve kitosanın kimyasal yapıları verilmiştir. Şekil 2.2.'den de görüleceği gibi kitosanın kitinden farkı kitinin ikinci karbonunda asetamido; kitosanın ise ikinci karbondaki amino grubu bulunmasıdır.



Şekil 2.2. Kitin ve Kitosanın Kimyasal Yapıları (<http://www.mpikg-golm.mpg.de/kc/scripts/Polysaccharide.pdf>)

2.2.1 Kitosanın özellikleri

Kitin kimyasal modifikasyon ve diğer uygulamalar açısından oldukça düşük kullanıma sahiptir. Çünkü; kimyasal tepkimelere girme eğiliminde değildir. (Agnihotri et al. 2004). Kitin çok düşük çözünürlüğe sahiptir. LiCl, hegzaflooroaseton, hegzaflooro-2-propanol ve dimetilasetamit gibi toksik özeliği yüksek çözücülerde çözünür. Bu çözücülerin toksisitesinin yüksek olması kitinin hem laboratuvar ortamında hem de endüstriyel olarak kullanımını sınırlandıran en büyük etkidir.

Kitosanın molekül ağırlığı 50kiloDaltondan (kDa)- 2000 kiloDaltona kadar çıkabilmektedir ve buna göre düşük-orta-yüksek molekül kütleli olarak kategorize edilmektedir. Kitosan, kitinin deasetilasyonu sonucu oluştuğu için deasetilasyon derecesi de oldukça önemli olup; DD, %40-100 aralığında olmaktadır. Kitosanın sudaki çözünürlüğü yok denecek kadar azdır fakat pH 6.5'in altında oldukça iyi çözünürler. Burada dikakt edilmesi gereken durum, kitosanın sülfürik, fosforik asit gibi kuvvetli asitlerde değil; asetik, formik asit gibi zayıf asitlerin seyreltik çözeltilerinde çözüldüğüdür. Kitosanın çözünürlüğünün bağlı olduğu parametreler deasetilasyon derecesi, kitosanın

konsantrasyonu, çözücünün cinsi ve ortamın asitliğidir. Asitlik ne kadar azalırsa çözünürlük de o derecede azalmaktadır.

Kitosanın yapısında bulunan alifatik amin grubu, protonlandığı için kitosan çözüldüğünde pozitif yükü taşıyan bir polimerdir. (Lee et al. 2004). Bu durum, diğer polimerlerden farklı olarak kitosanın katyonik bir polimer olduğunu ve suyu seven bir yapıya sahip olduğunu göstermektedir (Lopez-Leon et al. 2005). Sahip olduğu bu özelliklerden dolayı kitosan; lipitlerle, aminoasitlerle bağ oluşturabilir; anyonik yapılarla matris oluşturabilir ve hyalüronik asit gibi karbohidratlarla uyumludur (Janes et al. 2001).

Kitosan endüstriyel uygulamalar için oldukça elverişli bir yapıya sahiptir. Kitosanı endüstriyel uygulamalar açısından uygun konuma getiren özellikleri;

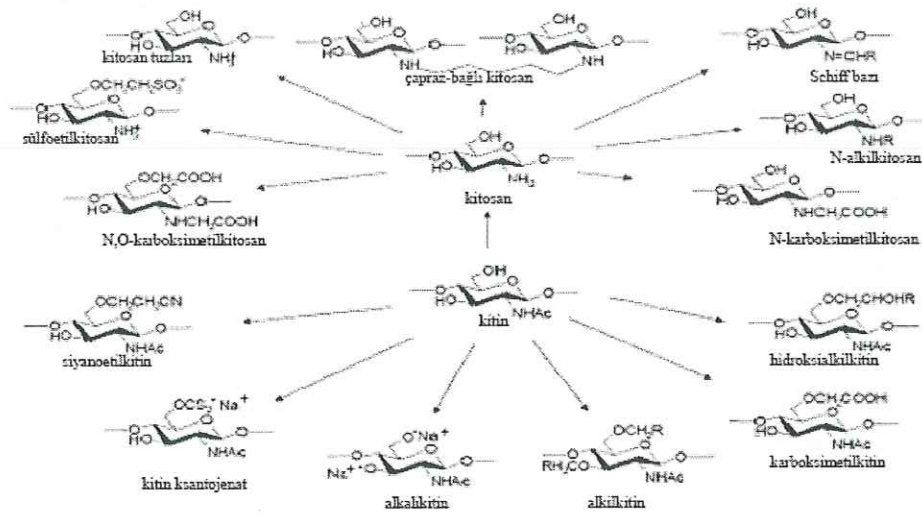
- Yenilenebilir özelliğindedir, kolay ve çok fazla elde edilirler.
- Zehirli değildir, biyoyumludur ve biyobozunurdur.
- Asit giderici, antiülser, antitümör, antimikrobiyal, antioksidant, antibakteriyel ve antifungal etki gibi biyoetkileri vardır.
- Toksik olmayan çözücülerde çözünürler.
- Pozitif yüklü polimer oldukları için diğer polimerlerin aksine negatif yüklü yüzeyler ile kolayca etkileşir.
- Kitosan mikro ve nanopartiküllerinin oluşumu oldukça kolaydır.

Tablo 2.1. Kitosanın fiziksel özellikleri

| Özellik | Değer |
|------------------------|------------------------------|
| Molekül Ağırlığı | 50-2000 kDa |
| DD | % 40- 100 |
| Viskozite | < 2000 mPaS |
| Su bağlama kapasitesi | % 450- 1150 |
| Yağ bağlama kapasitesi | %314- 535 |
| Yığın yoğunluğu | 0.06- 0.39 g/cm ³ |
| Renk | Donuk sarı- beyaz |
| Çözünürlük (Suda) | pH < 6.5 |

Bilim insanları kitosan boyut küçültme yolu ile fiziksel özelliklerini incelemiştir. 1990'lı yıllarda bu boyut küçültme çalışmaları başarıya ulaşarak kitosan mikropartikül ve kitosan nanopartiküller üretilmeye başlanmıştır. Elde edilen mikro ve nanoparçacıklarda kitosanın belirtilen fiziksel özelliklerinin iyileştiği gözlenmiştir. Özellikle kitosanın antimikrobiyal, antifungal, antitümör ve antibakteriyel etkilerinin yoğun bir şekilde arttığı belirtilmiştir (Qi et al. 2004a).

Kitosanın boyutu küçültüldükçe yüzey alanı artmaktadır. Bu da kitosan nanopartiküllerin mikropartiküllerinden veya kitosandan daha fazla aktif yüzey alanı olduğunu göstermektedir. Ayrıca bu durum kitosan nanoparçacıklarının daha fazla bağlanma kapasitesinin olmasını sağlamaktadır. Kitosanın zehirli bir yapısı olmaması, biyoyumlu ve biyobozunur olması özelliklerinin yanı sıra KNP'lerin boyutlarından dolayı sahip olduğu bu özellik, kitosanın ilaç salım sistemlerinde kullanılması sonucunu ortaya çıkarmıştır. Kitosanın nanopartiküllerin sentezlenmesi ve bu nanopartiküllere ilaç yüklenmesi ile ilacın, kitosan nanopartiküller aracılığıyla kılcal damarlara bile nüfuz etmesini sağlamaktadır. Bunların yanında, kitosan nanopartiküllerin yüzeye tutunma kapasitesi kitosana ve kitosan mikropartiküllere göre çok daha fazladır.



Şekil 2.3. Kitin ve kitosanın bazı türevleri(<http://www.mpikg-golm.mpg.de/kc/scripts/Polysaccharide.pdf>)

2.2.2 Kitosanın özelliklerine etki eden parametreler

2.2.2.1 Deasetilasyon derecesi

Kitosan, kitinden asetil moleküllerinin uzaklaştırılmasıyla elde edilen bir polisakkarittir. Bu olaya deasetilasyon denir ve %40 ile %100 arasında gerçekleşmektedir. Kitin ve kitosan arasındaki temel farklılık buradan

gelmektedir. Deasetilasyon sonucu oluşan kitoasnda sadece amin grubu kalmaktadır. Kitosanın deasetilasyon derecesi, çözünürlüğüne etki eden en büyük faktör olup, bunun yanında birçok faktörü de etkilemektedir.

Kitin kitosan arasında ki en temel fark olan deasetilasyon işlemi kitosanı avantajlı duruma getirmektedir. Öncelikle kitosanın çözünmesi için zayıf asitlerin seyreltik çözeltileri gerekirken; kitin, lityum klorür, dimetilasetamid gibi zehirli çözenlerde çözünmektedir. Bunun dışında deasetilasyon sonucu oluşan amin grubu, katyonik özellik gösterdiğinden birçok reaktif ile tepkimeye girebilmekte ve kitosanın birçok alanda kullanılmasını sağlamaktadır. (Jonathan et al., 1999, Vilchez et al., 2005)

2.2.2.2 Molekül ağırlığı

Kitosanın molekül ağırlığı uygulamalarda kullanılması açısından önem arz etmektedir. Kitosan molekül ağırlığı, kitinin hangi kaynaktan elde edildiğine ve deasetilasyon işleminde ortamın koşullarına göre değişiklik göstermektedir. Ortamdaki sıcaklık, sodyum hidroksit konsantrasyonu, deasetilasyon süresi ve çözülmüş oksijen bulunması molekül ağırlığını etkileyen parametrelerdir. Sıcaklığın çok fazla olması (280°C ve üstü) ve çözülmüş oksijenin bulunması kitosan molekülünde kopmalara neden olmakta bu yüzden molekül ağırlığı azalmaktadır. Bu durum kitosanın olumsuz etkilemektedir.

2.2.2.3 Viskozite

Kitosan viskozitesi, sıcaklık, pH derecesi gibi parametrelerden etkilenmektedir. Mineral kaybı ile kitosanın viskozitesi düşmektedir. Kitosanın akışmazlık açısından en kararlı olduğu sıcaklık 4°C'de depolanması ile sağlanmıştır.

2.2.2.4 Çözünürlük

Kitosan katyonik karakterli bir polisakkarit olduğundan asidik çözenlerle (pH<6) rahatça çözünmektedir. Sülfirik asit gibi inorganik ve kuvvetli asitler kitosan için uygun bir çözen değıllerdir. Bunun aksine asetik asit, formik asit ve laktik asit gibi organik ve zayıf asitlerin seyreltik çözeltileri kitosan için oldukça uygun çözenlerdir ve bunlar arasında en çok tercih edilen asetik asittir.

Kitosanın çözünürlüğünü birçok değışkene bağıdır. Bu değışkenler ortamın sıcaklığı, kullanılan çözücünün derişimi, kitosanın molekül ağırlığı, parçacık büyüklüğü ve deasetilasyon derecesidir. İyi bir çözünme sağlanabilmesi için kitosanın en az %70-80 aralığında deasetillenmiş olması gerekmektedir.

Asidik çözümlerde çözünen kitosanın amin grubu protonlanır ve $-NH_3^+$ şeklinde bulunur. Bu durum kitosanın negatif yüklü yapılarla tepkimeye girerek kompleks oluşturmasını sağlar. (Demir ve Seventekin, 2009)

2.2.3 Kitosanın endüstriyel uygulamaları

1990 yıllara kadar kitosanın özelliklerinin ve boyut küçültme tekniklerinin tam olarak kavranamaması nedeniyle endüstride kitosan kullanımı, çok sınırlı kalmıştır. O yıllarda sadece bitkilerin büyümesi üzerine etkileri ve su arıtım tesislerinde endüstriyel kullanıma sahipti. 1990'lı yıllarda yapılan çalışmalarla kitosanın özellikleri daha iyi kavranmış, kitosanın yenilenebilirlik, zehirsiz olması, biyoyumlu ve biyobozunur özellikleri ve antibakteriyel, antitümör, antimikrobiyel tesirleri gün yüzüne çıkmıştır. Bu özellikler sonrasında da endüstride umut vaat etmeye başlamıştır. Kitosanın kullanıldığı endüstriyel alanlar ve bu alanlardaki bazı uygulamaları Tablo 2.2'de verilmiştir. Yapısında bulundurduğu fonksiyonel gruplar, katyonik polimer olma avantajı ve nanoboyutta kitosan parçacıklarının hazırlanabilmesi özellikle; biyomedikal, kozmetik, gıda, farmasötik sektöründe oldukça ilgi uyandırmıştır.

Tablo 2.2. Kitosanın endüstrideki bazı kullanım alanları ve uygulamaları

| Endüstriyel Alan | Uygulama |
|---------------------|--|
| Atık su iyileştirme | - Metal iyonlarının uzaklaştırılması - Protein, boya, aminoasit, organik bileşikler tutulması |
| Su arıtma | - Gıda prosesleri - Meşrubat / içme suyu |
| Çevresel temizleme | - Radyo aktif atıkların uzaklaştırılması |
| Tarım | - Tohum kaplama - Gübre - Kontrollü toprak kimyasalı salınım - Böcek öldürücüler - Parazit öldürücüler |
| Kağıt- kağıt hamuru | - Yüzey iyileştirme - Fotoğrafik kağıt - Kaplama ve fiber |
| Gıda endüstrisi | - Besleyici ilaçlar - Boyar maddenin uzaklaştırılması - İçeceklerin temizlenmesi - Besin koruması - Renk dengesi - Koku ve tat dengesi - Besin dengesi - Yiyecek katkısı - Besin zar dokusu yapısı |
| Endüstriyel Alan | Uygulama |
| Kozmetik | - Nemlendirici - Saç bakımı - Cilt bakımı |

| | |
|--------------------------------------|--|
| | <ul style="list-style-type: none"> - Ağız bakımı - Banyo losyonu |
| Biyoteknoloji | <ul style="list-style-type: none"> - Enzimin immobilizasyonu - Protein ayrılması - Hücre geri kazanımı - Kromatografi - Hücre immobilizasyonu |
| Membran | <ul style="list-style-type: none"> - Geçirgenlik kontrolü - Ters osmoz |
| Ürün ayırımı ve geri kazanımı | <ul style="list-style-type: none"> - Membran ayırımı - Koagülasyon - Kromatografik kolonlar - Kapsülleme adsorbentleri |
| Biyomedikal | <ul style="list-style-type: none"> - Yara iyileştirici - Antikanser tedavi uygulamaları - Kemik iyileştirici - Cerrahi dikişler - Diş uygulamaları - İlaç salım sistemleri - Göz içi ve kontakt lensler - Pıhtılaşma etkeni - Eczacılık |

2.2.4 Kitosan nanopartiküller

Kitosan nanopartiküller yüzey alanı açısından kitosan ve kitosan mikropartiküllerden çok daha fazladır. Yüzey alanının fazlalığı ayrıca daha fazla yüzey aktif alana sahip olması anlamına gelmektedir, bu sebeple; kitosan nanopartiküllerin bağ oluşturma kapasitesi kitosan ve kitosan mikropartiküllere göre çok daha fazladır. Kitosanın toksik olmaması, biyoyumlu ve biyobozunur olması özelliklerinin yanı sıra kitosan nanopartiküllerin boyutlarından dolayı sahip olduğu bu özellik, kitosanın farmakolojide ve özellikle ilaç salım sistemlerinde kullanılmasını sağlamıştır. Kitosanın nanopartiküllerinin sentezlenmesi, ilaç-yüklü kitosanın kılcallara bile nüfuzuna neden olur, böylelikle; hedefle yönelik ilaç taşınımı gerçekleştirilebilmektedir. Ayrıca, kitosan nanoparçacıkların adsorpsiyon kapasitesi de kitosan ve kitosan mikropartiküllere kıyasla çok daha fazladır.

Deastilasyon işlemi sonrası oluşan kitosanın boyutu 0.1-10 mm aralığındadır ve bu boyutlardaki kitosan endüstriyel uygulamaların hemen hemen hepsinde kullanımı için elverişsizdir. Kitosan parçacıklarında boyutu küçültmeye gidildikçe fiziksel özelliklerinde tersi yönde artma gözlenmektedir (adsorpsiyon kapasitesi, antimikrobiyal etki, ilaç salım kapasitesi, antitümör etki, biyodagılım vs. gibi). Birçok önemli özelliğe sahip bol miktarda bulunan bu doğal biyopolimerden en verimli şekilde yararlanabilmek için araştırmacılar boyut küçültme çalışmalarına yönelmişlerdir. (Gökçe, 2008)

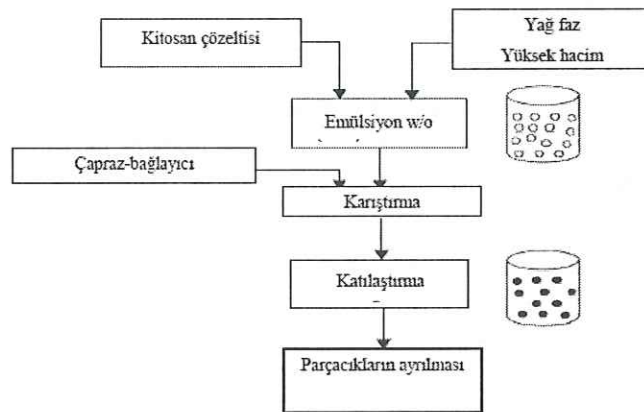
2.2.5 Kitosan nanopartiküllerin hazırlanması

Sürelî yayınlarda kitosan mikropartiküllerinin ve nanopartiküllerinin üretilmesi üzerine genellikle aşağıdaki yöntemlerin geliştirildiği ve parçacıkların kullanım alanı ve amacına göre bu yöntemlerden birinin seçildiği görülmüştür. Sürelî yayınlarda yer alan 6 farklı boyut küçültme yöntemi bulunmaktadır. Bunlar: emülsiyon çapraz bağlama yöntemi, çöktürme/ toplama yöntemi, sprey kurutma yöntemi, emülsiyon damlacık birleştirme yöntemi, iyonik jelleşme yöntemi ve ters misel yöntemidir (Agnihotri et al. 2004).

2.2.5.1 Emülsiyon çapraz bağlama yöntemi

Emülsiyon çapraz bağlama yöntemi ile kitosanın pozitif yüklü amino gruplarının çapraz-bağlayıcı kimyasalın aldehit gruplarıyla çapraz-bağlanması için kullanılması sonucu gerçekleştirilir. Bu yöntemde, kitosan çözeltisi yağ fazda emülsiyon edilerek su içinde yağ (w/o) (water-in-oil) emülsiyonu hazırlanır. Sulu damlacıklar uygun bir yüzey aktif madde kullanılarak kararlılaştırılırlar. Kararlı emülsiyon, parçacıkları katılaştırmak için glutaraldehit gibi bir çapraz-bağlayıcı kullanılarak çapraz-bağlanır. Mikrokürelere filtrasyon işlemi uygulanır ve ardından n-hegzan ile yıkama işlemi gerçekleştirilir, daha sonra ise kurutulur.

Bu yöntem ile sulu damlacıkların boyutu kontrol edilerek parçacık boyutu da kontrol edilmiş olur. Son ürünün parçacık büyüklüğü çapraz-bağlayıcının derecesine bağlıdır. (Gökçe, 2008)

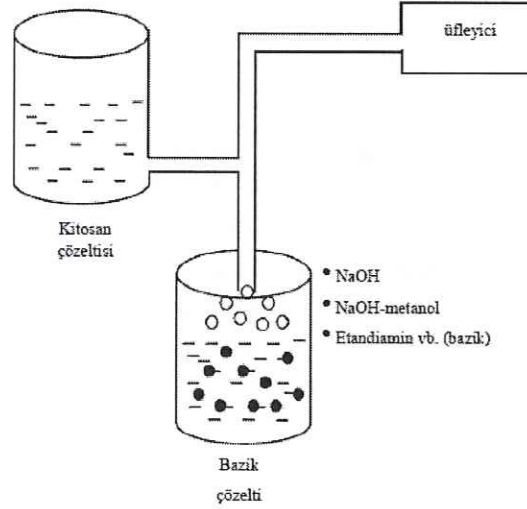


Şekil 2.4. Emülsiyon çapraz bağlama yöntemi ile kitosan nanopartikül sentezlenmesi

2.2.5.2. Çöktürme / toplanma yöntemi

Kitosanın fizikokimyasal özelliklerinden yola çıkılan bu yöntemde kitosan, baz karakterli çözelti ile karıştırılır. Kitosan bu bazik çözelti çözünmez ancak

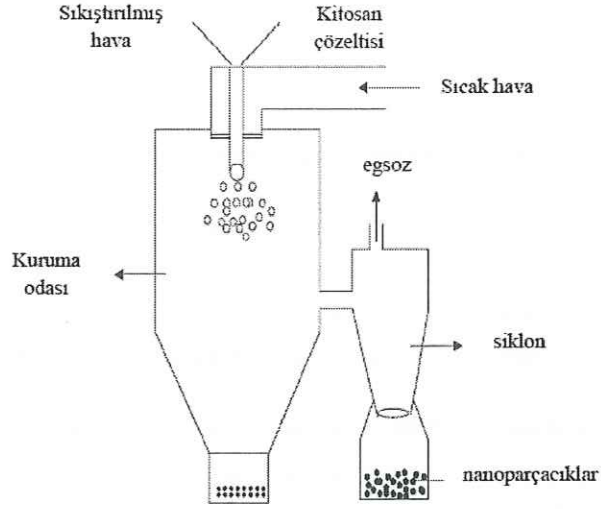
ortamda çökerek toplanır. Bu uygulamada kitosan çözeltisi bir başlık yardımıyla sodyum hidroksit veya etandiamin gibi bazik çözeltiliye püskürtülür. Çökerek oluşan kitosan partiküllerinin ortamdan uzaklaştırılması, sıcak ve soğuk ile yıkama işleminden sonra filtrasyon ve santrifügasyon işlemleri sonucunda gerçekleşmektedir. Başlığın çapı ve hava basıncı oluşan partiküllerin boyutunu belirlemektedir. Bu yöntem kullanılarak genellikle kitosan-DNA nanoparçacıkları hazırlanmaktadır. Parçacıkların katılaştırılması için çapraz-bağlayıcı kullanımı, ilaç salımını kontrol eder. (Gökçe, 2008)



Şekil 2.5. Çöktürme/ toplama yöntemi ile kitosan nanopartikül sentezlenmesi (Agarwal et al., 2015)

2.2.5.3. Sprey kurutma yöntemi

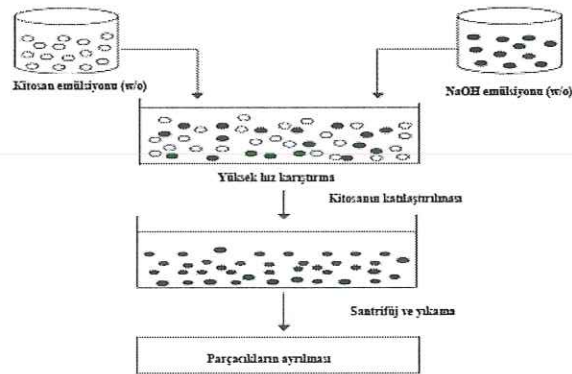
En çok uygulanan yöntemlerden biridir ve endüstriyel olarak çok rahat uyarlanır. Bu yöntemde hazırlanan kitosan çözeltisi bir başlık içerisinde yüksek basınç ve sıcaklık yardımıyla püskürtülerek oluşturulan hava akımında kurutulmasına dayanmaktadır. Bu yöntemde genellikle, ilaç yüklü kitosan parçacıklarının sentezi gerçekleştirilir. (Gökçe, 2008)



Şekil 2.6. Sprey kurutma yöntemi ile kitosan nanopartikül sentezlenmesi (Agarwal ve ark., 2015)

2.2.5.4. Emülsiyon damlacık birleştirme yöntemi

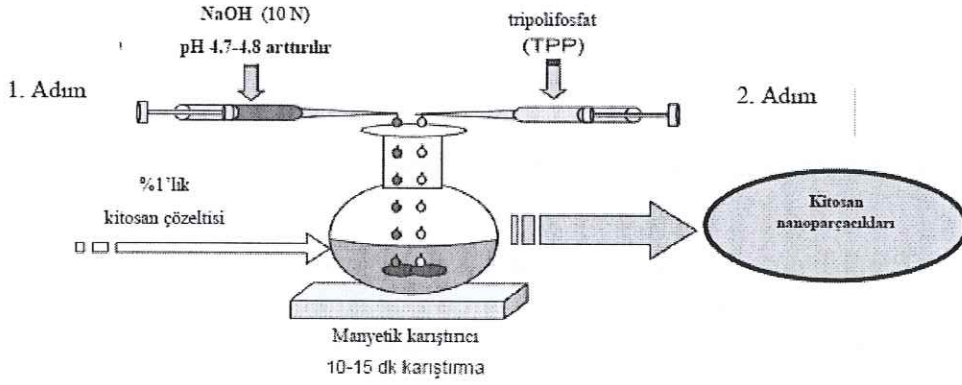
Emülsiyon çapraz bağlama ve çöktürme/toplama yöntemlerinin tekniklerinin bir arada kullanılmasıyla ortaya çıkan bir yöntemdir. Bu yöntemde; kararlı emülsiyon damlacıkların çapraz-bağlanması yapılmaz, bunun yerine hazırlanan kitosan çözeltisi ile NaOH çözeltisi birlikte kullanılarak çökme olayı azaltılır. Yöntemde, önce parafin içerisinde kitosan çözeltisini içeren bir emülsiyon hazırlanır, sonra da kitosan çözeltisi içeren NaOH çözeltisinin emülsiyonu aynı şekilde hazırlanır. Yüksek karıştırma hızında her iki emülsiyon birleştirilir; böylelikle, her iki taraftaki damlacıklar rastgele bir şekilde şiddetle çarpışırlar. Bu işlemler sonucunda nanopartiküller sentezlenmiş olur. (Gökçe, 2008)



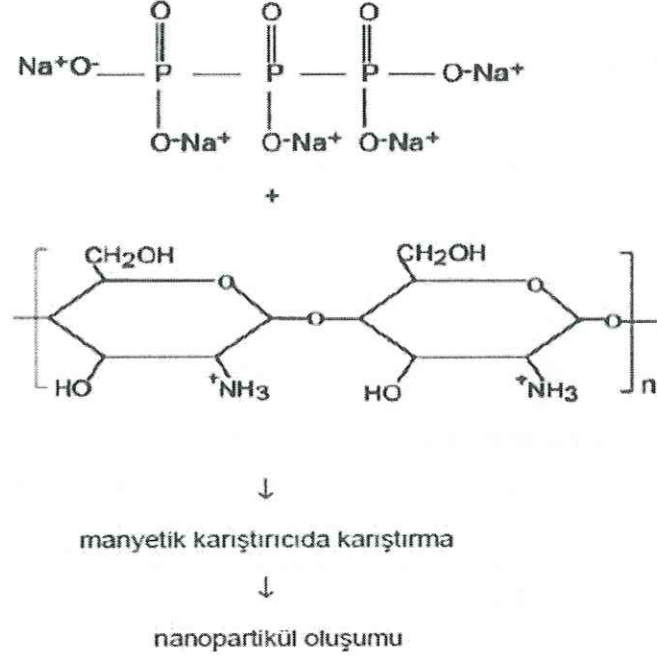
Şekil 2.7. Emülsiyon damlacık birleştirme yöntemi ile kitosan nanopartikül sentezi (Gökçe, 2015)

2.2.5.5. İyonik jelleşme yöntemi

Yöntemin diğer yöntemlere nazaran daha kolay uygulanabilirliği ve kullanılan kimyasalların toksik olmadan, daha kolay ulaşılabilir olması; bu yöntemi en çok kullanılan yöntem haline getirmiştir. Bu yöntemde kimyasal çapraz- bağlayıcıların olası istenmeyen reaksiyonlarını ortadan kaldırmak adına, elektrostatik etkileşimler ile çapraz bağlanma sağlayan fiziksel çapraz bağlayıcılar kullanılmaktadır. Tripolifosfat (TPP) bu uygulamada en çok kullanılan çapraz bağlayıcıdır. Yöntem kitosanın asetik asitte çözünmesi üzerine sürekli karışım altında, başlık yardımıyla TPP damlatılmasına dayanmaktadır. Bu eklenme ile kitosan nanoparçacıkları kendiliğinden oluşur. Oluşan bu parçacıklar küresel yapıdadır ve zayıf mekanik kuvvete sahiptirler. Şekil 1.4'te iyonik jelleşme yönteminin şematik gösterimi verilmiştir. (Gökçe, 2008)



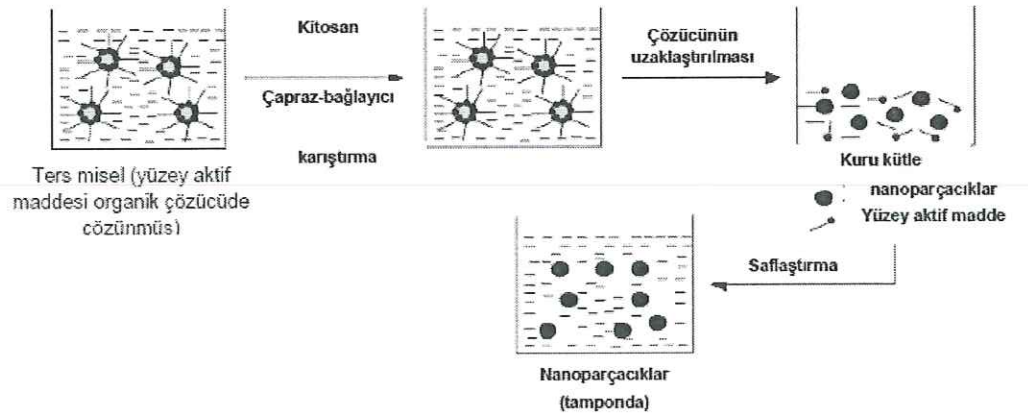
Şekil 2.8. İyonik jelyasyon yöntemi şematik gösterimi (Agarwal ve ark., 2015)



Şekil 2.9. Kitosan nanopartiküllerin iyonik jelasyon ile kimyasal oluşumu.

2.2.5.6. Ters misel yöntemi

Bu yöntemde hidrofilik yüzey aktif maddesi organik bir solventte çözünerek ters misel oluşturulur. Çözelti sürekli karıştırılarak kitosan çözeltisi ve kullanılan çapraz bağlayıcı ortama eklenir. Karışım tamamlandıktan sonra çözgen buharlaştırılır ve buharlaşma sonucu oluşan yapı yüzey aktif maddesi ve nanopartikülleri içermektedir. Daha sonra saflaştırma işlemi uygulanarak yüzey aktif maddesi de uzaklaştırılır ve ortamda sadece nanopartiküller kalır. Ters misel yöntemi kullanılarak 1-10 nm aralığında damlacıklar üretilebilir ve bu damlacıklar iyi dağılmış durumdadırlar. (Gökçe, 2008)

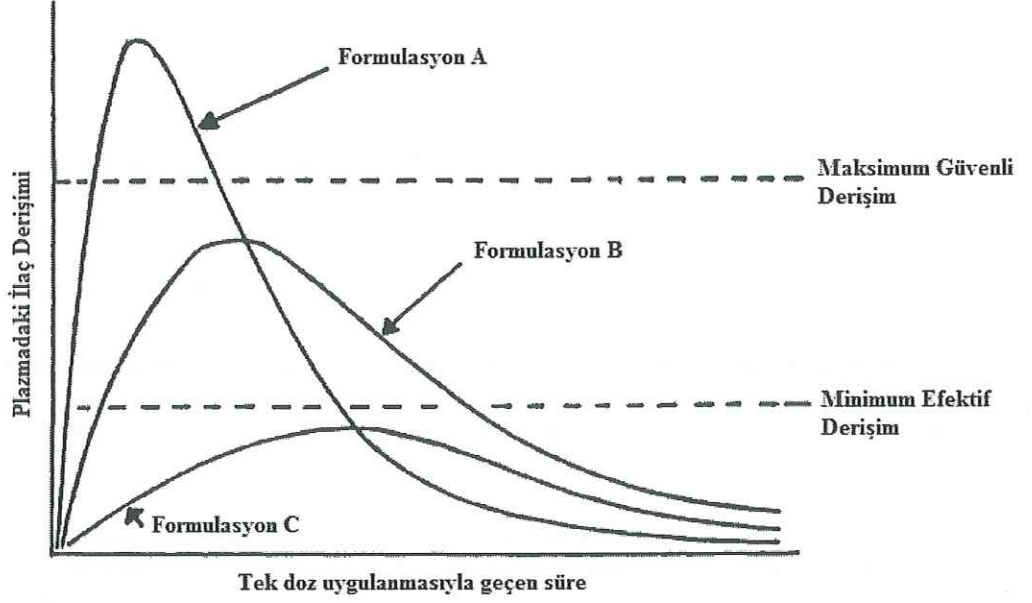


Şekil 2.10. Ters misel yöntemi şematik gösterimi (Gökçe, 2015)

2.3 Formülasyon

Bilimin temel hedefi yaşam standartlarını yükseltip, ömrü uzatmasıdır. Farmakoloji bilimi bu amaçla var olan ilaçların geliştirilmesi, yeni ilaçların keşfi, tedavi süreçlerinin daha etkin ve daha az yan etkili geçmesi üzerine çalışmalar yapmaktadır. Bu konuda en büyük pay yeni formülasyonların ve bu formülasyonların nasıl etkin kullanılacağına araştırılmasına düşmektedir. Bugün gelinen noktada her geçen gün yeni etken maddeler veya zaten kullanılan ilaçların türevleri piyasaya sürülmektedir. Keşfedilen veya modifiye edilen bu aktif maddelerin uygulama anına kadar stabil kalabilmesi, uygulanmak istenen hedefe ulaşabilmesi ve vücuda en uygun şekilde aktarılabilmesi için farmasötik endüstrisi formülasyon çalışmalarını yürütür. Formülasyon geliştirilmesi sırasında biyokimya, fizyoloji, ilaç kinetiği, proses mühendisliği ve regülasyonu gibi alanlarla beraber multidisipliner çalışmalar gerekir.

Etken maddelerin etkilerini gösterebildikleri aralıklar vardır ve bu maddeler bu aralıkların altında işlevsiz, üstünde ise toksik etki göstermektedirler. Bunların çoğunluğunun toksik dozları miligram hatta mikrogramla tanımlanır (Kulkarni et al., 2016). Tedavi sırasında formülasyonun minimum etken dozunu altına düşmemeli ancak maksimum güvenli dozun üstüne de çıkılmamalıdır (Ashford, 2002). Bu noktada formülasyonun bir diğer amacı bu maddelerin etkin dozun üstünde ve toksik dozun altında kalacak şekilde vücuda geçişini sağlamaktır. Uygulanacak formülasyonun stabil kalmasını sağlamak amacıyla katkı maddeleri ile kaplanması yapılmaktadır. Son zamanlarda formülasyonların daha etkili kullanımını sağlamak amacıyla kontrollü salım yapan ve hedefe yönelik çalışmalar ivme kazanmıştır. (Rowland ,1972; Russo et al., 2016)



Şekil 2.11. Bir ilacın tek bir dozunun aynı yoldan uygulanan üç farklı formülasyonunun zamana karşı plazma konsantrasyon grafiği (Ashford, 2002)

2.3.1. Yarı katı formülasyonlar

Topikal ürün olarak da adlandırılan yarı katı formülasyonlar deriye, epitel dokuya veya ulaşılabilen mukoza yüzeylerine uygulanan preparatlardır. Avrupa Farmakopesi'ne göre yarı katı preparatlar, etken maddelerin deri altı girişimi, lokal etkileri, yumuşatıcı ve koruyucu özelliklerinden dolayı deriye veya mukozaya uygulanmak üzere tasarlanmış ve homojen bir görünüme sahip olan dozaj şekilleri olarak tanımlanmaktadır. Hazırlanmaları temel olarak etken maddelerin sıvağ ile çözünmesi veya karışım haline getirilmesi ile oluşturulurlar. Bazı uygulamalar için steril olmaları gerekmektedir. Üç boyutlu yapıya sahip olan yarı katı preparatlar yapılarını korurlar ancak küçük bir kuvvet altında yapıları kolaylıkla bozular. Bu durum uygulanmaları açısından önemli bir avantajdır. Yarı katı preparatlar formüle edilirken yapılarında; etken madde, sıvağ, antimikrobiyal koruyucular, şelat yapıcı ajanlar, nemlendiriciler ve esanslar kullanılmaktadır.

Bir yarı katı preparatta aranan ideal özellikler;

- Pürüzlü dokuya sahip olmamaları,
- Güzel görünmeleri,
- Kurumayan bir yapıya sahip olmaları,
- Leke ve izler barındırmamaları,
- Tahriş etmemeli,
- Hücre zarı ve derinin işlevinde bir bozukluğa, değişikliğe neden olmamalı,
- Epitel dokunun salgılama sistemine zarar vermemeli,

- Hassasiyet tepkimelerine yol açmamalı,
- Etkili ilaç salımıyla beraber kolay uygulanabilir olmaları,
- Suyla kolay uzaklaştırılabilmeleridir (Ege Üniversitesi, 2016).

Yarı formülasyonlar jeller, merhemler, kremler ve patlar gibi en az yarı yarıya çözgen bazlı ilaç formlarıdır. Sentezlenirken kıvamlaştırıcı ajan varlığında etken maddelerin bu ajan içerisinde hapsolması yolu izlenir. Bu tür ilaçlar mukozal yüzeylere lokal veya sistematik etki elde etmek için çoğunlukla topikal yolla uygulanırlar. Mukozal yüzeylerden emilim sayesinde özellikle bukkal, dilaltı, nasal bölgeler gibi emilim hızı yüksek dokularda ilk geçiş etkisi atlatılabilir ve dolaşım sistemine hızlı emilim sayesinde hızlı cevap alınabilir. Enjeksiyon tipleriyle karşılaştırıldığında hastaya kolaylık ve tercih edilebilirlik sağlanır.

Farklı tiplerde yarı katı preparatlar bulunur. Merhemler, yağlı ya da yağimsı yapıya sahiptir; kremler ise, genellikle yumuşak ve sulu emülsiyon tipinde bulunan kozmetik preparatlarda daha sıklıkla kullanılan formülasyonlardır. Jeller, üç boyutlu yapıyı oluşturan jelleştirici ajan ile yoğun jel oluşturan bir maddenin birleşiminden oluşan mat görünümlü formülasyonlardır. Patlar (pasta) daha fazla katı molekülü içinde barındıran daha yoğun formülasyonlar olup %50'ye varan katı maddeyi kendi yağlı yapısında barındırabilir. Bunların dışında yakılar ve ilaçlı flasterler de yarı katı preparatlara örneklerdir (Fishburn, 1965).

2.3.2. Jel

1800'li yıllarda telaffuz edilmeye başlanan jel terimi küçük katı madde veya çözünmeyen parçacıkların sıvı ortamda dağılması ile oluşmuşlardır. Jeller, küçük inorganik partiküllerin süspansiyonu veya aralarına su molekülü girmiş büyük moleküllerin oluşturduğu yarı katı sistemler olarak tanımlanmaktadır. Tıbbi amaçlarla kullanılacak olan jeller, bölgesel yüzeylerden deri, göz, burun, vajina ve rektuma uygulanabilirler. Jeller sentezlenirken kullanılan sürekli fazlarına göre iki grupta sınıflandırılabilir: hidrojel, sürekli fazın su olduğu jellerdir; organojellerde ise sürekli faz organik çözücüdür.

Farklı bir sınıflandırma olarak jeller, üç boyutlu temel yapılarının oluşumuna göre kimyasal ve fiziksel jeller olarak ikiye ayrılmaktadır. Kimyasal jeller güçlü kovalent bağlar içerirken fiziksel jeller; hidrojen bağları, elektrostatik kuvvetler ve Van der Waals etkileşimleri içermektedirler (Ege Üniversitesi, 2016).

Jelin temel yapısını oluşturan çok çeşitli jel oluşturucu ajan bulunmaktadır. Bu ajanlar yüksek derecede su bağlayabilen organik materyaller veya hidrofilik inorganik materyaller olabilir. Sodyum aljinat, pektin, nişasta, selüloz türevleri, karbomer ve polivinil alkol bunlara örnek verilebilir.

Jel formülasyonu hazırlanırken genel olarak şu bileşenleri içermektedir; jel oluşturucu ajan ve su, etken madde, yardımcı çözügen, antimikrobiyal koruyucu ve stabilizatör.

Jel formülasyonları kolay elde edilir ve uygulamaları kolaydır. Bu özelliklerinden dolayı daha kapsamlı kullanılmaları için sürekli olarak yürütülen çalışmalar ışığında yeni nesil jel formülasyonları kullanılmaya başlanmıştır. Bu jel tipleri;

- Kontrollü salım yapan jel formülasyonları, etken maddesini belirli aralıklarla ve uzun süre absorpsiyon bölgesindeki etkileşim alanına bırakırlar. Jel formülasyonu oluştururken, jel içine etken madde taşıyan miseller, nanopartiküller veya lipozomlar eklenerek kontrollü salım gerçekleştirilir.
- Organojeller, ilaç ve antijenler için potansiyel taşıyıcı sistemlerdir.
- Amfifilik jeller, katı jelleştirici ajan (sorbitan monostearat veya palmitat) ile sıvı fazın (sıvı sorbitan esterleri veya polisorbitat) karışımı ile oluşturulurlar. Normalde katı halde bulunan amfifilik jeller, deri sıcaklığında uygun kıvama gelirler.
- Biyoadhezif jeller, epitel dokuya ve mukoza tabakasına yapışabilen jellerdir. Nazal yollarla kullanılan insülin jeli bu jel tipine örnek verilebilir.
- Susuz jeller, etil selüloz ve propilen glikol dikaprilat ile hazırlanan jeller bu gruba girmektedir.
- Hidrofilik jeller, hidrojeller olarak bilinirler. Kolay hazırlanabildiklerinden ve yapılarında kullanılan kimyasalların ucuz ve zararsız olmalarından dolayı sıklıkla seçilirler. Hidrofilik polimerlerin, uygun derişim ve koşullarda jelleşmesiyle oluşurlar. Uzun süreli ve kontrollü ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesinde, ümit verici formülasyonlardır (Kulkuarni, 2016).

Hidrojeller, hidrofilik yapıya sahip ve bünyelerinde çok fazla su veya diğer sıvıları barındırabilen, genellikle çapraz bağlama ile oluşturulan ağsı yapıdaki jellerdir. Kullanılan polimerler, suyu içine hapsederek şişer ve kendine özgü üç boyutlu yapısını oluşturur. Bu üç boyutlu yapıyı sağlayan temel olay polimerin zincirleri ile çapraz bağlanmadır. Bu çapraz bağlanma; kovalent bağlar, hidrojen bağları, Van der Waals etkileşimleri veya fiziksel geçişler şeklinde olabilir. Hidrojeller, kolay bir şekilde hazırlanabildikleri ve hazırlanan hidrojellerin fiziksel yapısını kolaylıkla koruyabilmelerinden dolayı pek çok kullanıma sahiptir. Bunların dışında biyoyumlu yapıları, kolay parçalanabilir olmaları ve çözücülerin zararsız kimyasallar olması ilaç salım sistemlerinde sıklıkla kullanılırlar. Hidrojellerin en büyük yararı, ilacı vücut içerisinde karşılayabileceği ortam değişikliklerinden koruyabilmesidir.

Hidrojellerin yapısında algılayıcı olarak adlandırılan kimyasal gruplar bulunur. Bu gruplar uygulanan bölgenin üzerinde gerçekleşen değişimlere karşı hızlı bir şekilde tepki vermeye olanak sağlarlar. Bu özelliğinden dolayı bu tür polimerlere “akıllı polimerler” denmektedir.

Hidrojellerde hacimsel değişimler meydana gelerek etken maddenin salımı sağlanmaktadır. Hacimsel değişimler, fiziksel ve kimyasal uyarılar sayesinde gerçekleşir. Fiziksel uyarıcılar; sıcaklık, elektriksel alan, çözücü bileşimi, ışık, basınç, ses ve manyetik alandır. Kimyasal veya biyokimyasal uyarıcılar; pH, iyonlar ve spesifik moleküler etkileşimlerdir. Hidrojeller çevreden gelen çeşitli uyarılara karşı şişerek veya büzüşerek, yani hacimsel değişikliklere tepki verirler. Hidrojeller hacimsel değişikliklerle kontrollü ilaç salım sistemlerinde ilacın salım periyodunu belirlerler.

Sıcaklık, birçok polimerin suda çözünürlüğünü etkilemekte ve artışıyla birlikte çözünürlüğü de arttırmaktadır. Bazı polimerlerde ise bu durum tam tersidir ve sıcaklık artışı ile suda çözünürlüğü azalmaktadır (Raymond et al., 2009).

Boyutları 1 mikrometre ile 1 nanometre arasında değişen Nanojeller, çözgen içerisinde şişen ve eşit bir şekilde dağılan, intramoleküler çapraz bağlarla oluşan jel sistemleri olarak tanımlanırlar. Kontrollü etken madde salımı yaparlar. Nanojeller, makrojellere nazaran ortamdaki değişikliklere daha hızlı verirler. Ayrıca partikül büyüklükleri çok daha küçük olduğu için deriye ve hücre içine nüfuzları çok daha kolaydır (Phatak and Praaven, 2012).

2.3.3. Pat (Pasta)

Merhem tipinde olan ancak merhemlerden daha fazla katı madde içeren preparatları. Bünyelerinde %50-70 oranında katı partikül ihtiva ederler. Dahilen veya haricen kullanılabilirler. İçlerinde bulunan katı partiküller kurutucu özellik sağlamaktadır. Bu durum pat içerisindeki etken maddenin daha geç emilimine neden olur. Bundan dolayı çoğu antiseptik ve astrenjan etkili ilaçlar bu şekilde kullanılır. Sıvağ olarak çoğunlukla hidrokarbon sıvağlar seçilir, bazı durumlarda pektin, kitre zambkı, jelatin, nişasta gibi suda çözünebilen müsilaj içerikli maddeler de kullanılabilir (WONG et al., 1999).

Patlar dahilen ve haricen kullanılabilir. Dahilen kullanılanlar macun ismi ile de anılır ve daha yumuşak bir yapıya sahiptirler. Katı partiküllerin yoğun sıvılar ile karıştırılıp pasta formuna getirilmesi ile oluşturulur. Viskoz sıvı olarak şurup, bal gliserin kullanılabilir. Pat formülasyonları hazırlanırken havanlar kullanılır. Yüksek oranda katı madde içerdiklerinden çok çabuk kururlar ve bu kuruluğun önüne geçebilmek için en fazla %2,5 (w/w) olacak şekilde gliserin eklenir. Haricen kullanılan patlar ise pomatlara oldukça benzerler. Pomatlar ile aralarındaki tek fark ihtiva ettikleri katı madde miktarıdır. Yağlı olarak hazırlanan

patlar katı maddelerin; sıvı ve katı vazelin, lanolin, domuz yağı veya mum gibi yağlı sıvağlarla karıştırılması ile elde edilir. Yağsız patlar ise, nişasta, gliserin, jelatin, pektin, kitre zankı içerirler (Porter SR, 1996).

Patların hazırlanması çok fazla katı madde içerdikleri için eritme yoluyla gerçekleştirilir. Formülasyondaki tozlar eritilen sıvağ ile veya diğer sıvı yağlar ile iyice karıştırılır. Yapının homojen bir hale gelmesi için karıştırılan sıvağ melaksör adı verilen ezici cihazlardan geçirilmelidir. Patlar saçlı ve yoğun kıl bulunan deriye uygulanmamalıdır. Burada birikerek temizlenmeyi önlerler. Yoğun katı içeriklerinden dolayı suyu tutabilirler ve bu yüzden sulu yarıalarda kullanılırlar.

Patlar, muhafaza edilecekleri zaman hava almayacak şekilde, cam veya porselen kaplarda saklanmalıdır. Hava alması durumunda yağlı patlar yumuşama gösterir, yağsız patlar ise kururlar. Raf ömrünü uzatmak için formülasyon hazırlanırken sodyum benzoat gibi katkı maddeleri ilave edilebilir.

U.S.P.'de "Jelatinli Pat" adında bir örnek vardır. Bu preparat varislerde, sargı üzerine sıcak ve akışkan halde sürülür daha sonra varis sarılır. Bu da elastik çorap gibi vazife görür (Ege Üniversitesi, 2016).

2.3.4. Merhem

Merhemler, deri üzerine topikal olarak uygulanan hem yağlı hem de yağsız sıvağlarla hazırlanabilen yarı katı preparatlardır. Kendi üç boyutlu yapısı bulunur ancak bu yumuşak üç boyutlu yapı deriye uygulandığında yumuşayarak kolay bir uygulama sağlar. Yağ oranı yüksek olan merhemlerde bulunur ve bu oran %70'lere kadar çıkmaktadır ve bu tip preparatların deride erimeleri veya suyla uzaklaştırılmaları gerekmez. Uygulanan tabakayı yumuşatıcı ve muhafaza edici etkisi bulunmaktadır. Ayrıca etken madde içeren merhemler terapötik amaçlarla da kullanılabilir. Deriye penetre olurlar ancak deri gözeneklerini tıkamazlar. Pomat olarak bilinen preparatlar aslında merhemlerdir ve pomat merhemin Fransızcasından gelmektedir.

Merhemler tarihçe olarak eskilere dayanır. M.Ö. 3000-5000 senelerinde merhem reçete örneklerinde rastlanmıştır. Sümer (M.Ö. 2100) ve Mısır medeniyetlerinde (M.Ö. 1600) yara tedavisinde merhemler kullanılmıştır. M.S. 200 yıllarında Claudius Galenus, zeytinyağı, gül yağı, balmumu ve su ile krem yapmış, daha sonraları bu formül "Cold Cream" adını almıştır.

Modern zamanda ise ilk merhem formülüne 1820'de rastlanmıştır. Bu formülde domuz yağı, mum, iç yağı, spermaseti ve toz maddeler bulunmaktadır. 19. Yüzyıl'a gelindiğinde doğal sıvağlar yerini sentetik sıvağlara bırakmış ve merhem kullanım sıklığı artmıştır. Gliserin ve nişasta merhemlerde sıklıkla kullanılmıştır. 1920'li yıllardan itibaren merhemler yeni bir döneme girerek hidrojene yağlar, stearik asit, sülfon yağları, polimer glikoller kullanılmaya

başlanmıştır. 1945'ten sonra ise yüzey etken maddeler, silikon, veegum merhem sıvağı veya sıvağ yardımcısı olarak kullanılmıştır.

Merhemler, yapı olarak sadece etken madde ve sıvağ adı verilen ara maddeden oluşmaktadırlar. Merhemler sürülecekleri yüzeylere göre, derinin farklılaşması kaynaklı, kullanılan sıvağlarda farklılık gösterirler. Terapötik amaçla kullanılan bu merhemlerin etkin bir şekilde kullanılabilmesi için uygulanacak alanın özelliği, sıvağ ve etken madde önemlidir (Ege Üniversitesi, 2016).

Sıvağlar, merhemlerin veya diğer yarı katı formülasyonlarda etken maddeyi taşıyan kısım olarak belirtilir. Kullanılacak olan sıvağ sisteme uygun olmakla beraber belirli özellikleri de taşıması da gerekmektedir. Öncelikle topikal bölgelere uygulanacak yarı katı preparatlar için sıvağın hava, ışık, ısı ve nem gibi fiziksel faktörlere karşı uzun süre stabil kalması gerekmektedir. Tekrarlanabilirliği koruması açısından sabit bir bileşene sahip olmalıdır. Deriye veya ulaşılabilen mukozal tabakaya uygulanacağından iritasyona sebep olmamalı, nem çekmemeli ve kurutucu özellikte olmamalıdır. Kullanım kolaylığı açısından kötü kokulu olmayıp deri üzerinde leke bırakmamalıdır. Uygulanan bölgede etkin olabilmesi için, deriye tutunabilmeli ve erime sıcaklığı vücut sıcaklığının üstünde olmalıdır. Etken madde salımını yapabilmek için etken madde ile uyumlu olmalıdır. Yine deride tahrişe sebep olmamak ve etken madde ile kompleks oluşturabilmek için uygun pH'ya sahip olmalıdır. Bileşiminde bulunan madde miktarı fazla olmamalı ve etken madde ve diğer maddelerle bileşik yapma eğiliminde olmalıdır. Stabilitesini uzun süre koruyabilmelidir. Deriye nüfuz özelliği yüksek olmalı ancak bazı kullanımlar dışında yıkanabilir özellikte olmalıdır. Ayrıca maliyet açısından da ucuz olmalıdır. Göz merhemleri için kullanılacak olan sıvağlar tüm bu özelliklerle beraber steril olmalı, göze zarar verecek büyük partiküller içermemeli, yumuşatıcı etkili olmalı ve gözyaşı ile karışabilir olması gerekmektedir.

Merhemler yüzeysel veya sistemik etki sağlamak amacıyla haricen uygulanan preparatlardır. Uygulanan bölgeye olan etkileri açısından incelendiğinde merhemlerin 3 ana görevinin olduğu görülmektedir. Bunlar;

- Zarar görmüş alanı dışarıdan gelecek olan etkilere karşı muhafaza etmek. Bunu sağlarken aynı zaman hasarlı bölgenin rejenerasyonunu sağlamak.
- Uygulanan alanda nemlendirici etki sağlamak. Bu tarz merhemler kuru ciltlerin onarımında kullanılmaktadır.
- İçerdiği etken maddeler aracılığıyla uygulama bölgesinde özgül bir etki bırakmaktır.

Sıvağlar sınıflandırılırken ya deriden nüfuz olup olmamalarına göre ya da sıvağın su ile olan etkileşimine göre ayrılırlar. Deriden geçişine göre; deriden penetre olmayanlar (epidermik sıvağlar), epidermis tabakasına kadar penetre olanlar (endodermik sıvağlar) ve yüksek penetrasyona sahip olanlar (diadermik

sıvağlar) olarak ayrılırlar. Su etkileşimine göre olan ayırım ise; yağlı ve yağimsı sıvağlar, absorpsiyon sıvağları, emülsiyon sıvağları ve suda çözünen sıvağlar olarak ayrılırlar.

Yağlı veya yağimsı sıvağlar suda çözünmeyen, su ile uzaklaştırılmayan ve suyu yapılarında hapseden sıvağlardır. Su tutma kapasiteleri oldukça düşüktür ve oluşturulan preparatlarda ekstradan kimyasallar eklenerek bu oran artırılır. Yağlı yapılarından dolayı deri üzerine yapışır ve uzun süre etkinlik gösterirler. Deriyi örten bir tabaka halinde yer alırlar ve yine yağlı yapılarından ve yağlı görüntülerinden dolayı kozmetik kullanımına uygun olmayan sıvağlardır. Bu sıvağlara ; sabit yağlar, hidrojene yağlar, hidrokarbon sıvağları ve silikonlar misal olarak verilebilir. Beyaz veya sarı vazelin, domuz yağı, iç yağı, tek değerli ve düz zincirli alkollerin esterleri yağlı ve yağimsı sıvağlardandır. En yaygın kullanılanı vazelinidir. Katı parafin ise sıvağların için kıvam arttırıcı özellik göstermektedir (Değim, 2009).

Absorpsiyon sıvağları yağlı merhemlerin hidrofobik kısımlarından meydana gelen sıvağlardır. Suda çözünmezler ve su varlığında uzaklaştırılmazlar. Hidrofilik özellikleri su içinde yağ emülgatörleri ile bir miktar da olasa arttırılabilir. Absorpsiyon sıvağları bununan yere su veya sulu çözelti eklendiğinde yoğunluklarında ve biçimlerinde bir değişim olmaz ve suyun emilimini sağlarlar. Bu özelliklerinden dolayı sıvı etken madde içeren merhem hazırlanacağı zaman bu sıvağlar tercih edilir. Uygulandıkları alanda kurumadıklarından koruyucu etkileri vardır. Absorpsiyon yağlarına örnek olarak, susuz lanolin ve diğer lanolin türevleri verilebilir.

Emülsiyon sıvağları, emülsiyonun cinsine göre yağ içinde su (S/Y) veya su içinde yağ (Y/S) tipi olarak 2 grupta toplanırlar. Yağ bazlı emülsiyon sıvağları yağlı ve yağimsı sıvağlarla ortak özellikler gösterirler; suda çözünmezler, su ile uzaklaştırılmamazlar. İç taraflarında su içeriği bulunduğundan suyu absorbe ederler. Bu sıvağlar, absorpsiyon sıvağlarına su ilavesi yoluyla elde edilebilir. Bu sıvağlar uygulama alanı üzerinde yayılırlar ve bu nedenle kozmetikte kullanım için yağlı sıvağlar ve absorpsiyon sıvağlarına nazaran daha çok tercih edilirler. Deriyi kolayca kaplar ve epidermisten su kaybını önlerler. İçerdikleri yağ oranı fazlılığında yağlı bir doku oluştururlar. Kold kremler bu sıvağ tiplerine örnektir.

Su bazlı sıvağlar, dış bölgelerinde su içermektedirler. Suyu emerler ve su tarafından bölgeden uzaklaştırılabilirler. İçerdikleri yüksek oranda su sayesinde deri içine emilirler. Bu sıvağların bu özelliklerinden yararlanılarak etken maddeler deri içine geçirilmektedir. Sulu dış bölgeleri iyi korunmazsa suyu kaybeder ve yapılarında bozunma meydana gelir. Ayrıca mikrobiyal kontaminasyona karşı hassastırlar ve iyi saklanmaz küf oluşumu gerçekleşir. Bu nedenlerle bu sıvağlarla hazırlanan merhemlere koruyucu madde eklemek gerekmektedir. Kozmetikte yoğunlukla kullanılırlar. Stearat merhemleri bu sıvağlarla yapılan merhemlerdir ve dermatolojik merhemlerde sıkça kullanılırlar.

Suda çözünen sıvağlar suyla yıkanabilen sıvağlardır ve yapılarında suda çözünmeyen hiç molekül bulundurmazlar. Genellikle su içermezler ancak bazı durumlarda su bulundurabilirler. Her iki halde de çözünürlük derecesine kadar su absorbe ederler. Deride çok çabuk kururlar. Bu kuruluğu engellemek için formülasyon hazırlanırken gliserin eklemek gerekir. Bu tip sıvağlara örnek olarak; polietilen glikoller, veegum, metilselüloz, mikrokristalize selüloz, karboksimetil selüloz, pektin ve sodyum aljinat verilebilir.

Polietilen glikoller (PEG), suda çözünen sıvağlar arasında en çok kullanılanıdır. Suda çözünen polimerik glikoller karışımıdır. Moleküler ağırlığı 200-6000 kilodalton aralığındadır. Bu aralıkta moleküler ağırlığı 700 kDa'ya kadar olanlar oda sıcaklığında sıvıdır ve 1000 kDa'dan yukarıya doğru çıkıldıkça kıvrımları vazelin kıvrımından mum sertliğine kadar artar. PEG 400, 1500, 4000, 6000 merhem formülasyonu hazırlanmasında en çok kullanılan tipleridir. Eğer hazırlanacak merhem preparatı enzim ihtiva ediyorsa dehidrate PEG tercih edilmelidir. PEG'ler hidrolize olmaz. Mikrobiyal kontaminasyona uğramaları zordu, bu da onları tercih etme sebeplerinden biridir. Bu sıvağlar etken madde salımına göre diğer sıvağlardan daha etkilidir. Bu nedenle etken madde konsantrasyonu daha az olmalıdır. PEG'lerin nem çekme özellikleri bulunur. Deriyi kurutucu ve kanamayı durdurucu özelliği vardır. Eğer bu özellikleri hazırlanan preparatın kullanımı kısıtlıyorsa %5-10 alkol veya %10 oranında su eklenerek bu özellikleri bertaraf edilebilir. İyot, potasyum iyodür, gümüş nitrat, salisilik asit, penisilin, anestezin, tanen, rezorsin, sülfonamit, fenol, aspirin, barbitürik asit ve türevleri ile geçimsizdir. Deriye kolayca uygulanabilir ve kolayca uzaklaştırılabilirler. Ayrıca mumlar, yağ alkoller, vazelin ve yağlarla sıcakta karışıp merhem terkiplerine girerler (Acartürk, 2009).

Merhemler genel olarak 3 yolla hazırlanırlar:

1. Basit karıştırma ile hazırlama (Incorporation); yumuşak yapıda olan sıvağlar kullanılacağı zaman tercih edilen bu yöntemde, merheme eklenecek tüm toz partiküller karıştırılır. Homojen hale gelen toz madde ile eşit oranda sıvağ eklenir ve karıştırma işlemi homojenite sağlanana kadar devam ettirilir. Son olarak da kalan sıvağ karışıma eklenerek karıştırılır. Hazırlanan merhem preparatında toz partikül miktarı fazla ve çözünmüyorsa sıvağ önce eritilip sonra bu işlemler aynı şekilde devam ettirilir. Bu hazırlama yönteminde önemli olan merhemin pürüzsüz bir yapıya sahip olmasıdır. Pürüzsüz yapının sağlanması amacıyla karışıma sıvı parafin, badem yağı, gliserin gibi incelticiler eklenebilir. Preparatta bulunan toz maddeler hidrofilikse öncelikle çok az miktarda su içerisinde çözündürülür sonra sıvağ içerisine eklenir. Merhem formülasyonu içerisinde alkol barındıracaksa önce partiküller alkolde çözündürülmeli sonrasında ise alkol ortamdaki uzaklaştırılmalıdır.

2. Erime, eritme (Fusion) yöntemi birçok farklı sebepten dolayı kullanılabilir. Kullanılacak sıvağın kendisi yüksek derecede eriyen mumlar, setil alkol, gliseril monostearat gibi maddelerse bu yöntem kullanılmaktadır. Ayrıca sıvağ, mum,

parafin gibi sert maddelerle yumuşak maddelerin karışımından meydana gelmişse merhem preparatını oluşturmak için erime, eritme yönteminin kullanılması gerekir. Bunların dışında formülasyonda yer alacak etken maddeler sıvağın erimiş halinde çözünebiliyorsa bu yöntem kullanılabilir. Sıvağın eritilerek hazırlanmasında önce erime derecesi en yüksek olandan başlanır.

3. Kimyasal reaksiyonla merhem hazırlama yönteminde ise bileşimdeki tüm maddelerin karıştırılması oluşan reaksiyonlara dayanmaktadır (Çelebi, 2009).

2.3.5. Yarı katı preparatlarda yapılan kontroller

Hazırlanan preparatların etkinliğinin kontrol edilmesi için farklı kontroller yapılmaktadır;

1. Formülasyon içerisinde kullanılan etken maddenin hangi düzeyde formülasyon içerisinde barındığını belirlemek için etken madde tayini yapılmaktadır.

2. Yarı katı preparatlar için en önemli parametrelerden biri de yapının homojen olmasıdır. Homojenite kontrolü iki şekilde yapılır. Gözlemleyerek formülasyonun homojen dağılıp dağılmadığı nicel olarak belirlenir veya mikroskop varlığında incelenerek etken maddenin sıvağ içinde homojen dağılıp dağılmadığı kontrol edilebilir.

3. Sıvağın kendi fiziksel özelliklerine dayalı kontroller yapılmaktadır. Bu kontroller kapsamında sıvağın sabunlaşma ve asitlik indislerine, pH'nın kullanılacak bölge için uygun olup olmadığına bakılır. Ayrıca sıvağ su içeriyorsa ise su tayini yapılmaktadır.

4. Hazırlanan preparatın fizyolojik kontrolleri yapılabilir. Formülasyonun uygulanan bölgede tahrişe sebep olup olmadığı ve deri üzerinden geçişi tayin edilir.

5. Yarı katı preparatın dayanıklılığını ölçmek adına stabilite testleri yapılmaktadır.

6. Mukozaya uygulanan bazı özel merhemlerde, örneğin oftalmik merhemlerde ya da yara ve yanıklarda uygulanacak merhemler gibi preparatlarda sterilite önemli olduğundan sterilite testi yapılır.

7. Yarı katı preparatın reolojisinin uygunluğu kontrol edilir.

8. Kozmetik veya tedavi amaçlı herhangi bir merhemde zararlı mikroorganizmaların hiç bulunmaması istenir. Bu nedenle mikrobiyolojik testler uygulanır.

9. Göz için kullanılacak preparatlarda, göze zarar vermemesi için büyük partiküllerin bulunmaması gerekir. Bu preparatlar için partikül içeriği kontrolü yapılmaktadır. Partikül içeriği kontrolü: Göz merhemleri için önemlidir. Göz merhemleri, kesinlikle metal parçası veya 20 mikrometreden büyük partikül içermemelidir (İnal,2018).

2.3.6. Yarı katı preparatların stabiliteleleri

Hazırlanacak olan formülasyonların kararlılığı en önemli konularından biridir. Raf ömrü, ürünün hazırlanması ile başlayıp son kullanma tarihine kadar süren zaman aralığıdır ve uzun olması gerekmektedir. Stabilite testleri de ürünlerin raf ömrünü öğrenmek amaçlı etken maddeler ve preparatların yardımcı maddeleri üzerinden yapılan uygulamalardır. Ürün gelişimi için çeşitli aşamaları kapsarlar. Erken evrelerde hızlandırılmış stabilite testleri bozunma ürünlerinin tipini belirlemede uzun süreli depolama için kullanılabilir. FDA tarafından yayımlanan taslak kılavuzda yarı katı formülasyonlarda bakılması gereken değişkenler listelenmiştir. Bu listeye göre;

- Görünüş, berraklık, renk, homojenite, koku,
- pH,
- İçerik tek düzeliği,
- Viskozite,
- Partikül büyüklüğü, dağılımı,
- Bozunma ürünleri, koruyucu, antioksidan içeriği,
- Mikrobiyal limitler/sterilite,
- Ağırlık kaybı parametreleri incelenir.

Stabilite testleri yapıldıktan sonra bir preparatın kararlı ve raf ömrünün uzun olduğunu kabul etmek için, yapılan testler sonucunda ve geçen süre içinde de aynı tipik özelliklerini göstermesi gerekmektedir. Ürün, üretim tarihinden itibaren depolandığı süre boyunca stabil kalmalıdır.

Stabilite testleri yapılırken öncelikle hızlandırılmış depolama şartları belirlenmelidir, bu süreçten sonra hazırlanan preparatın ne şekilde saklanacağı seçilir. Depolama şekli seçildikten sonra testin tüm süresi ve hangi aralıklarla örnek alınacağı belirlenerek testin nasıl yapılacağı belirlenir. Yapılan testler normal şartlar altında yapılıyorsa oda sıcaklığı (25°C) ve normal basınç kullanılır; test yoğunlaştırılmış olarak yapılacaksa 50°C veya 40°C'de ve yüksek basınçta yapılır. Yoğunlaştırılmış testler, test süresini kısaltma amacıyla yapılır. Yapılan testlerde süreç belirli zamanlara ayrılır ve her döngünün sonucunda örnekler alınarak yapılacak test yapılır. Bakılacak kimyasal ve fiziksel testler dışında ürünün genel durumu ve paketlenildiği materyalin durumu da kontrol edilir.

Stabilite testlerinde asıl amaç, preparatı stres koşullarına maruz bırakarak, bu süreçte ne denli değişime uğrayacağını görmektir. Ayrıca bu sayede ürünün raf ömrünün belirlenmesi de sağlanır. Yarı katı preparatlar, bu stres koşullarına karşı çok fazla dayanıklı değildir. Bu nedenle yarı katı formülasyonları hazırlarken koruyucu maddelerin ve stabiliteyi artırıcı yardımcı maddelerin ilavesi gerekmektedir (İnal,2018).

2.3.7. Yarı katı preparatların kalite kontrolü

Tüketiciye daha kaliteli ve daha uzun ömürlü ürün sunabilmek için, hazırlanan preparatların daha önceden kalite kontrol çalışmalarının yapılması gerekmektedir. Kalite kontrol, işlem içi (in proses) testler ve bu testlerin kontrollerinin yanı sıra bileşen testlerinin ve son ürün testlerini içeren geniş bir yelpazeyi kapsamaktadır. Bu kapsamda amaç, birbirinden farklı zamanlarda üretilmiş veya farklı makinelerde üretilmiş ürünlerin aynı özelliklerini olduğunu göstermektir. Yani bir nevi üretilen ürünün tekrarlanabilirliğine bakılır. Kalite kontrol yapılırken bakılan değişkenler şu şekildedir: preparatta kullanılacak ham maddelerin özellikleri, hazırlık süresince devam eden kontroller ve ürün hazırlandıktan sonra yapılan testler.

Yarı katı preparatlar için temel parametre, hazırlanan formülasyonun uygulama esnasında gösterdiği aktivitesidir. Ürün ve ürünün bileşenlerinde uygulanan fiziksel ve kimyasal testlerin çeşitliliği ürünün devam eden performansı için geçerliliği olan bilgileri sağlamaktadır (İnal,2018).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Kitosan (deasetilasyon derecesi >85%), Sigma Aldrich; Trifolifosfat, Merck; asetik asit, Tekkim; firmalarından sağlandı. Kahverengi alglerden elde edilmiş aljinik Asitin sodyum tuzu (SIGMA life Science, A2033), PEG 600 Sigma Aldrich Kalsiyum Klorür Dihidrat (J.T.Baker), Sodyum Benzoat, Asetik Asit (Merck), Tekkim firmasından sağlandı. NaOH (Merck), Tekkim firmasından sağlandı. pH-indikatör strip (MColorpHast™ pH 0-14 Universal indicator), Karboksimetilselüloz(CMC), Polietilen(PE) wax ve sıvı parafin AcarChemicals firmasından temin edildi. Pektin ve jelatin ise Alfasol firmasından temin edildi.

Çalışmada kullanılan cihazlar; santrifüj (Hettich Zentrifugen, Universal 320 R), orbital karıştırıcı (IKA, KS 130 basic), hassas terazi (Denver Instrument, SI-234A), manyetik karıştırıcı (IKA, RCT basic) (Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyokimya Bölümü.); Nüve test kabini, Brookfield DV-II + Pro Viskometre (Ege Üniversitesi İlaç Geliştirme ve Farmakokinetik Araştırma- Uygulama Merkezi/ ARGEFAR birimi)

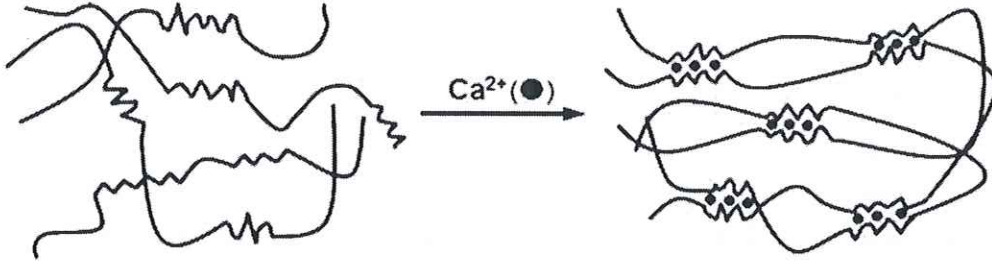
3.2 Kitosan Nanopartiküllerin Sentezlenmesi

İyonik jelasyon yöntemi, Bulmer ve arkadaşları, 2012, Garg ve arkadaşları, 2012, Derakhshandeh ve arkadaşları, 2012, tarafından kullanılan yöntemlerin modifikasyonları ile gerçekleştirildi (Bulmer et. al. , 2012, Garg et. al. , 2012, Derakhshandeh et. al. , 2012). %0,2 (w/v) kitosan %1(v/v) asetik asit çözeltisinde çözüldü.

Hazırlanan çözeltinin pH'ı 10 N sodyum hidroksit (NaOH) ile 4,6-4,8 aralığına ayarlandı. 5 ml kitosan çözeltisine 4 ml TPP (1 mg/ml) çözeltisi eklenecek şekilde orbital çalkalayıcıda 480 rpm'de sürekli karışma ile damlalar halinde 20 dk'da eklendi ve 20 dakika karıştırma sonrası 30 dakika, 13.000 rpm'de santrifüjlenerek üst faz ayrıldı ve nanopartiküllerin bulunduğu pellet 5 ml distile su ile yıkandı daha sonra iki kez daha aynı işlem yapılarak üst faz ayrılıp, oluşan pelletler petri kabına alındı ve etüvde kurumaya bırakıldı.

3.3 Jel Formülasyonunun Geliştirilmesi

Jel preparatları hazırlanırken "Essential Chemistry for Formulators of Semisolid and Liquid Dosages" kitabında bulunan jel hazırlama teknikleri baz alındı (Kulkuarni, 2016). Jelleştirici ajan olarak sodyum aljinat, çapraz bağlayıcı olarak kalsiyum klorür kullanıldı ve bu maddelerin optimizasyon çalışmaları yapıldı.



Şekil 3.1. Aljinat içerisindeki G bloklarının Ca^{2+} divalent iyonlarınca yumurta kutu modeline uygun etkileşimi (Lee, Kuen, 2011)

3.3.1. Sodyum aljinat konsantrasyon optimizasyonu

İyonik jelleşme metodu iyonik çapraz bağlayıcı ajanların özellikle Ca^{2+} gibi divalent katyonların, aljinat çözeltisindeki glukoronik asit bloklarıyla yüksek dereceden koordinasyonuna dayanır. Bu koordinasyonda çapraz bağlayıcı ajan glukoronik asit blokları arasında iyonik köprüler kurarak yumurta kutu modeliyle jel yapısını oluşturur.

Sodyum aljinat çözeltileri farklı konsantrasyonlarda hazırlanarak farklı amaçlar için kullanılabilir. Oluşturulmak istenen jel formülasyonuna uygun jel konsantrasyonunun bulunabilmesi için 3 farklı konsantrasyonda aljinat çözeltisi hazırlandı. %1; %2; %3 konsantrasyonlarda olacak şekilde tartılan sodyum aljinat çözeltileri hazırlandı. Çözeltiler hazırlanırken yığılma ve topaklaşma olmaması için yavaş yavaş eklendi. %3'lük sodyum aljinatın çözünmesi için $50^{\circ}C$ ısı kullanıldı. Hazırlanan çözeltiler kalsiyum klorür miktarı ve konsantrasyonu aynı kalmak koşulu ile jelleştirme denemeleri yapıldı. Jelleşmenin istenilen formda olduğu sodyum aljinat konsantrasyonu seçildi.

3.3.2. Kalsiyum klorür konsantrasyon optimizasyonu

Divalent katyonlar kullanıldığında jelasyon hızı homojen ve güçlü jel yapısının eldesi için önemlidir. Hız yavaşladıkça daha homojen ve mekanik anlamda daha kararlı jeller elde edilebilir. İyonik jelasyon metodunda aljinatı jelleştirmek için en sık kullanılan tuz $CaCl_2$ 'dir.

Kalsiyum klorür yüksek çözünürlüğe sahip olduğu için sodyum aljinatı hızlı bir şekilde jelleştirir ve bu durum istenilenden sert jel yapısına sebep olur. Bu olumsuzluğun ortadan kalkması için seçilen sodyum aljinat konsantrasyonu üzerinden gidilerek farklı konsantrasyona sahip kalsiyum klorür çözeltileri hazırlandı ve jelleşme bu konsantrasyonlarda denendi. Kalsiyum klorür optimizasyonu için %3, %1, %0,3, %0,25, %0,2, %0,1 kalsiyum klorür çözeltileri hazırlandı.

3.3.3. Sodyum aljinat/ kalsiyum klorür oranının optimizasyonu

Sodyum aljinat ve kalsiyum klorür konsantrasyonları belirlendikten sonra jelleşmenin en üst düzeyde gerçekleşmesi için sodyum aljinat ve kalsiyum klorürü çözeltileri oran denemeleri yapıldı. Denemede kullanılan oranlar Tablo 3.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1.Sodyum aljinat/kalsiyum klorür oran optimizasyonu denemeleri.

| Deneme sayısı | Sodyum Aljinat Oranı | Kalsiyum Klorür Oranı |
|---------------|----------------------|-----------------------|
| 1 | 2 | 1 |
| 2 | 4 | 1 |
| 3 | 5 | 1 |
| 4 | 8 | 1 |

3.4. Merhem Formülasyonunun Geliştirilmesi

3.4.1. Gliserin merhemi

Gliserin merhemi hazırlanırken gliserin, buğday nişastası, mısır nişastası ve patates nişastaları kullanılarak denemeler yapıldı. Tüm sistem içerisinde kütlece %7'lik nişasta tartıldı ve üzerine aynı miktarda su dekante edilerek karıştırıldı. Karışım homojen bir yapı aldığı anda üzerine kütlece %93 gliserin damlatılarak karıştırılma işlemi devam etti ve karışım ısıtılmaya başlandı. Su tamamen buharlaşana kadar karıştırma işlemi devam etti. Su tamamen buharlaşınca merhem karışımı uygun bir kaba aktarılıp saklandı.

3.4.2. Polietilen glikol merhemi

Polietilen glikol merhemi, Amerikan Farmakopesinde (USP-NF) kayıtlı bulunan reçete baz alınarak hazırlanmıştır. Preparat hazırlanırken ana madde olarak PEG 4000 ve PEG 600 kullanıldı. Bazı formülasyonlarda merhem kurumaması için gliserin ilave edildi. Kullanılan formülasyon oranları Tablo 3.2'de gösterildiği gibidir.

Tablo3.2. PEG Merhemi denemesinde kullanılan oranlar.

| Kodları/İçerdiği | PEG4000 | PEG 600 | Gliserin |
|------------------|---------|---------|----------|
| | | | |

| Kimyasallar | | | |
|-------------|-----|-----|--------|
| MF1 | 3 g | 7 g | 2,5 g |
| MF2 | 2 g | 8g | 2,5 g |
| MF3 | 3 g | 7 g | 5 g |
| MF4 | 4 g | 6 g | 3 g |
| MF5 | 4 g | 6 g | 5 g |
| MF6 | 3 g | 7 g | 1 g |
| MF7 | 2 g | 8 g | 1 g |
| MF8 | 2 g | 8 g | 0,25 g |
| MF9 | 4 g | 6 g | - |
| MF10 | 3 g | 7 g | - |

3.5. Pat formülasyonunun geliştirilmesi

Pat formülasyonunun geliştirilmesi HAGERSTRÖM ve arkadaşlarının (HÄGERSTRÖM et al., 2003) yaptığı denemelerden yola çıkılarak yapıldı. Formülasyonda önce yağlı bir ara yapı olan plastibaz hazırlandı. Sonrasında formülasyonun katı(toz) bileşenleri de eklenerek orabaz hazırlandı. Plastibaz için polietilen wax ve sıvı parafin kullanıldı; orabaz için de karboksimetil selüloz, pektin ve jelatin kullanıldı.

3.5.1. Plastibaz oran denemeleri

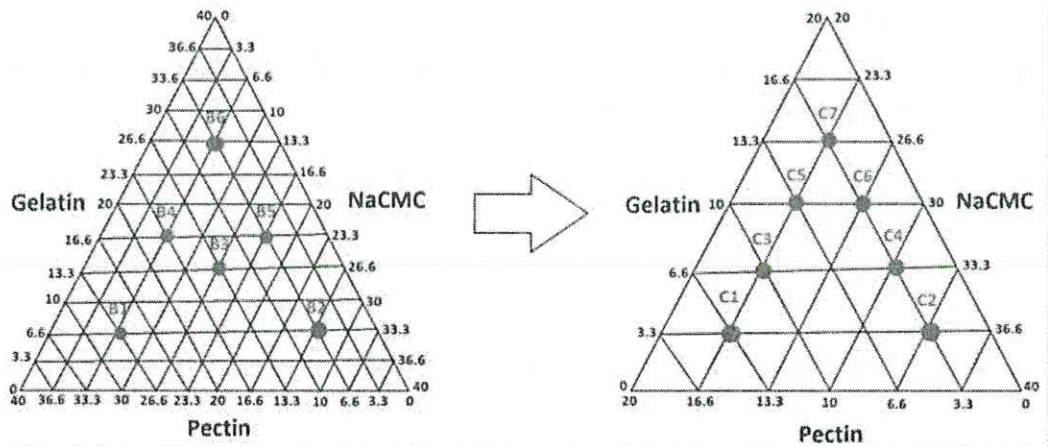
Plastibaz hazırlanırken kütlece %42,5 ile 47,5 aralığında değişen polietilen wax ve %2,5 ile %7,5 arasında değişen sıvı parafin aynı behere eklendi ve 125 °C'de ısıtılarak karıştırıldı. Polietilen wax eridikten sonra karışım daha önceden

buza bekletilen behere aktarıldı. Soğuk yüzeyle temas eden karışım iyice karıştırılarak plastibaz oluşması sağlandı.

3.5.2. Orabaz oran denemeleri

Plastibaz hazırlanıp soğutulduktan sonra sırasıyla karboksimetil selüloz, jelatin ve pektin yavaşça karışıma ilave edildi. Orabaz hazırlanırken ortam homojen yapının sağlanması için sürekli olarak karıştırıldı.

Hazırlanan formülasyonlarda önce uygun plastibaz yapısının bulunması üzerine denemeler yapıldı ve polietilen wax ve sıvı parafin oranları değiştirilerek; CMC, jelatin ve pektin miktarları sabit tutuldu. Plastibaz optimizasyonu tamamlandıktan sonra orabaz optimizasyonu için plastibaz sabit tutulup; CMC, jelatin ve pektin oranlarında değiştirildi. Optimizasyon için kullanılan oranlar Tablo 3.3.'te gösterilmektedir.



Şekil 3.2. Oral mukoadhesif pat formülasyon geliştirilmesine dayalı üçgen diyagramı (Ungphaiboon S, 2001).

Tablo3.3. Plastibaz ve orabaz optimizasyonunda kullanılan kimyasal oranları.

| Kodları/Oluşturulan Yapı | Plastibaz | | Orabaz | | |
|--------------------------|----------------|--------------|--------|---------|--------|
| | Polietilen wax | Sıvı Parafin | CMC | Jelatin | Pektin |
| PF1 | %47,5 | %2,5 | %25 | %15 | %10 |
| PF2 | %45 | %5 | %25 | %15 | %10 |
| PF3 | %43,5 | %6,5 | %25 | %15 | %10 |
| PF4 | %42,5 | %7,5 | %25 | %15 | %10 |
| PF5 | %45 | %5 | %25 | %20 | %5 |
| PF6 | %45 | %5 | %25 | %10 | %15 |
| PF7 | %45 | %5 | %20 | %20 | %10 |
| PF8 | %45 | %5 | %30 | %10 | %10 |

3.6. Oluşturulan Formülasyonlara Sodyum Benzoat İlavesi

Sodyum benzoat, gıda, ilaç ve kozmetik ürünlerinde koruyucu olarak kullanılır. Bazı ürünlerde ise tat verici madde olarak kullanılır. Ürünlerde kullanılma oranı en fazla %0,1 olmalıdır. Sodyum benzoatın değişik gıdalarda genel kullanım oranı %0,05-0,1 arasında değişmektedir. Fakat konsantrasyonu genelde %0,1'i aşmaması ile sınırlıdır çünkü zehirlidir. Sadece asit gıdalarda etki göstermekte olup düşük asitli (pH'ı 5'den büyük) gıdalarda koruyucu etkisini kaybetmektedir. Yapılan formülasyonlarda sodyum benzoat çözeltisi %0,05 (w/w) olacak şekilde yapıldı.

3.7. Oluşturulan Formülasyonlara Kitosan Nanopartikül İlavesi

İyonik jelyasyon yöntemi ile hazırlanan kitosanlar etüvde bekletilerek kurutuldu ve kurutulma sonrası havanda ezilerek toz haline getirildi.

Toz haline getirilen kitosan nanopartiküller; merhem ve jel formülasyonu için %1(v/v) asetik asitte çözünerek tüm formülasyonda %0,05 (w/w) olacak şekilde eklendi. Pat formülasyonu için, toz haline getirilen kitosan nanopartiküller toz formunda %0,05 (w/w) olacak şekilde direk eklendi.

3.8 Formülasyonların Stabilite ve Viskozite Testleri

Formülasyonların stabilite testleri Ege Üniversitesi İlaç Geliştirme ve Farmakokinetik Araştırma- Uygulama Merkezi (ARGEFAR) biriminde gerçekleştirildi. Stabilite testi için "Nüve Test Kabini" kullanıldı. Ortam stresli koşulları sağlaması için iklimlendirme kabini 40°C - %40 nem ve yüksek basınç olacak şekilde ayarlandı. Hazırlanan preparatlar iklimlendir kabininde 180 gün bekletildi ve süre sonunda faz ayrımı olup oluşmadığına bakıldı.

Formülasyonların viskozitesi ARGEFAR biriminde Brookfield DV-11 + Pro vizkozimetresi ile TD spindle 200 rpm'de ve asitliği pH indikatörü ile ölçülerek gerçekleştirildi.

4. SONUÇLAR

4.1. Kitosan Nanopartiküllerin Sentezlenmesi

Kitosan nanopartiküller iyonik jelasyon metodu kullanılarak hazırlandı. Kitosanda amin gruplarının protonasyon derecesi yüksek olduğu zaman, spesifik anyonların varlığında hidrojel oluşturma kapasitesine sahiptir. Anyonik moleküller tarafından molekül içi ve moleküller arası çapraz bağlar oluşturulur ve bu prosesle iyonik jelasyon metodu kullanılarak kitosan nanopartiküller oluşturulur. Kitosan katyonlarını elde etmek için kitosan asetik asit çözeltisinde çözülür. Bir polianyon olan ve kitosan çapraz bağlayıcı olarak davranan TPP ile elektrostatik etkileşimlere girerek küresel şekilli nanopartiküller kendiliğinden oluşur. Bu yöntem ile oda sıcaklığında ve ılıman koşullarda nanopartikül oluşturulması iyonik jelasyon yönteminin en önemli avantajlarından biridir.

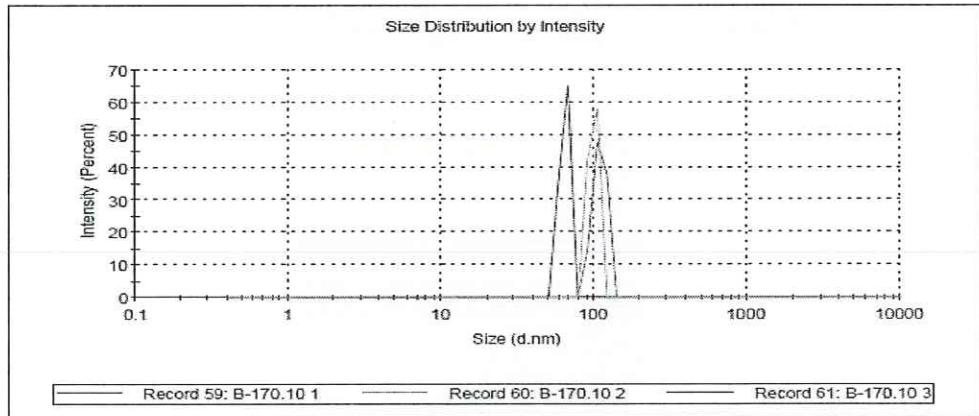
Kitosanın biyobozunurluğu, biyoyumluluğu, non-toksikliği ve kimyasal modifikasyonunun kolaylığı kitosan nanopartikülleri taşıyıcı sistemler oluşturulması için kullanışlı hale getirir.

Sentezlenen kitosan nanopartiküllerin boyut ve şekil analizlerinin yapılması için Zeta Sizer ve SEM cihazları kullanıldı.

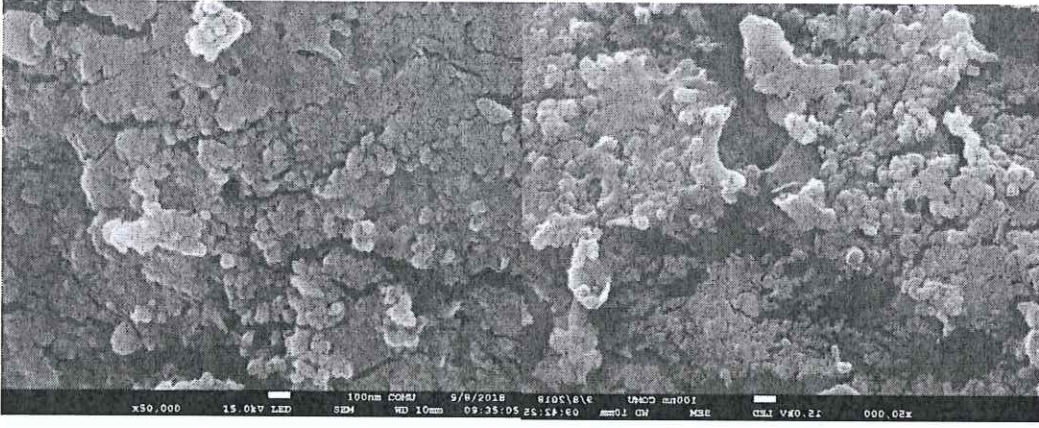
Results

| | Size (d.n... | % Intensity: | St Dev (d.n... |
|------------------------|---------------|--------------|----------------|
| Z-Average (d.nm): 3495 | Peak 1: 64,80 | 100,0 | 4,436 |
| Pdl: 1,000 | Peak 2: 0,000 | 0,0 | 0,000 |
| Intercept: 0,697 | Peak 3: 0,000 | 0,0 | 0,000 |

Result quality Refer to quality report



Şekil 4.1. Sentezlenen kitosan nanopartiküllerin Zeta Sizer boyut analizi sonuçları.

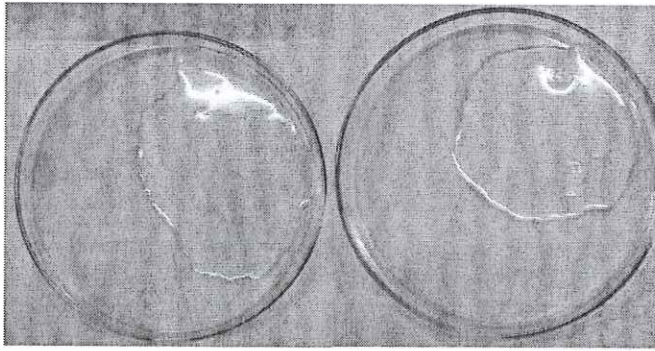


Şekil 4.2. Sentezlenen kitosan nanopartiküllere ait SEM görüntüleri.

Şekil 4.1. ve Şekil 4.2.'de kitosan nanopartiküllerin 40-70 nm aralığında ve küresel yapıda olduğu gözlenmektedir. pH 4,6- 4,8 aralığında en küçük boyutta kitosan nanopartiküllerin sentezlendiği süreli yayınlarda belirtilmiştir (Zhang et al. 2004). Bulunan sonuçlar da yayınlar ile örtüşmektedir.

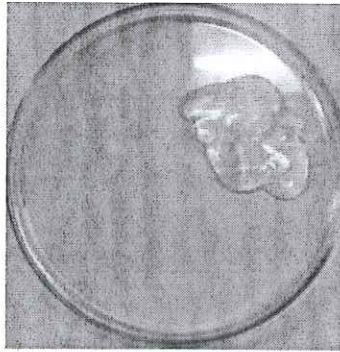
4.2. Jel Formülasyonun Geliştirilmesi

Jel formülasyonu geliştirilirken ilk olarak sodyum aljinat konsantrasyon optimizasyonu yapıldı. Oluşturulan jellerde optimal sodyum aljinat konsantrasyonunun %3 olduğu belirlendi.



(a)

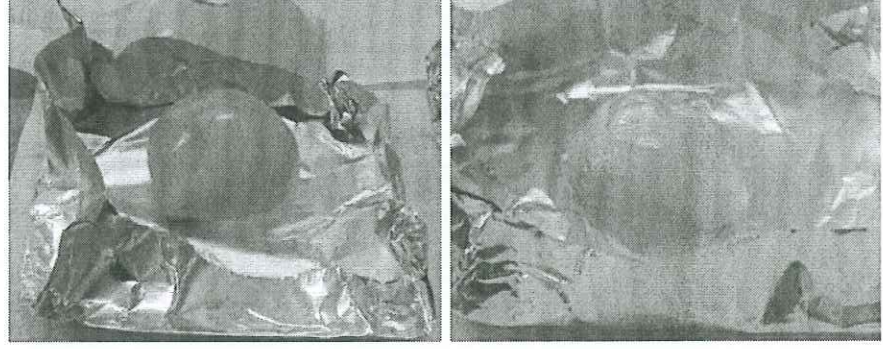
(b)



(c)

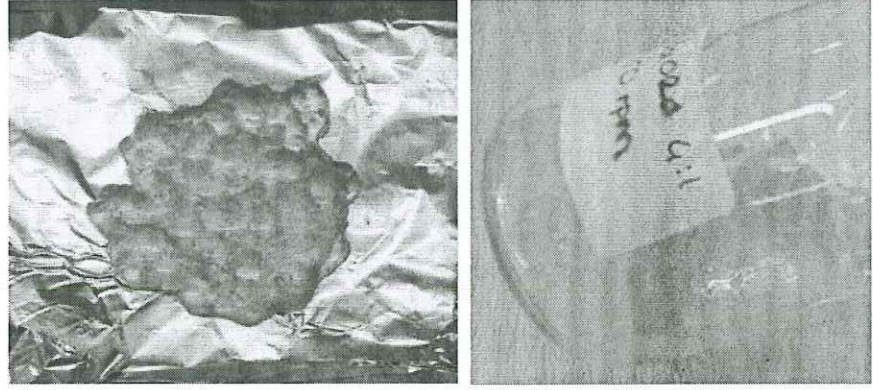
Şekil 4.3. Sodyum aljinat konsantrasyon optimizasyonu.

Şekil 4.3.'te bulunan (a) %1 sodyum aljinat içeren jel denemesini, (b) %2 sodyum aljinat içeren jel denemesini, (c) %3 sodyum aljinat içeren jel denemesini göstermektedir.



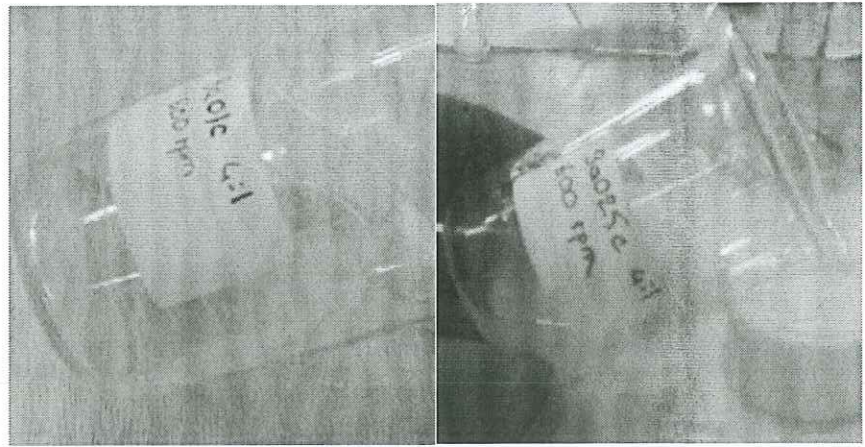
(a)

(b)



(c)

(d)



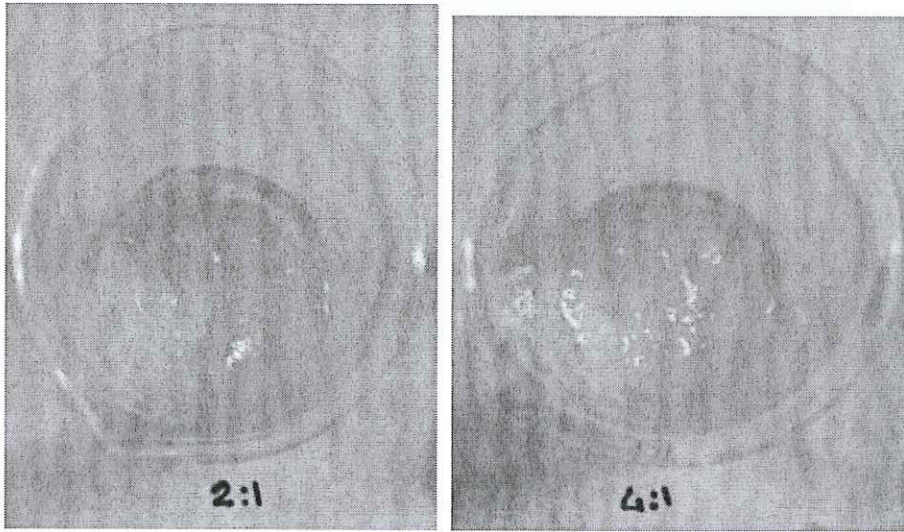
(e)

(f)

Şekil 4.4. Kalsiyum klorür konsantrasyon optimizasyonu.

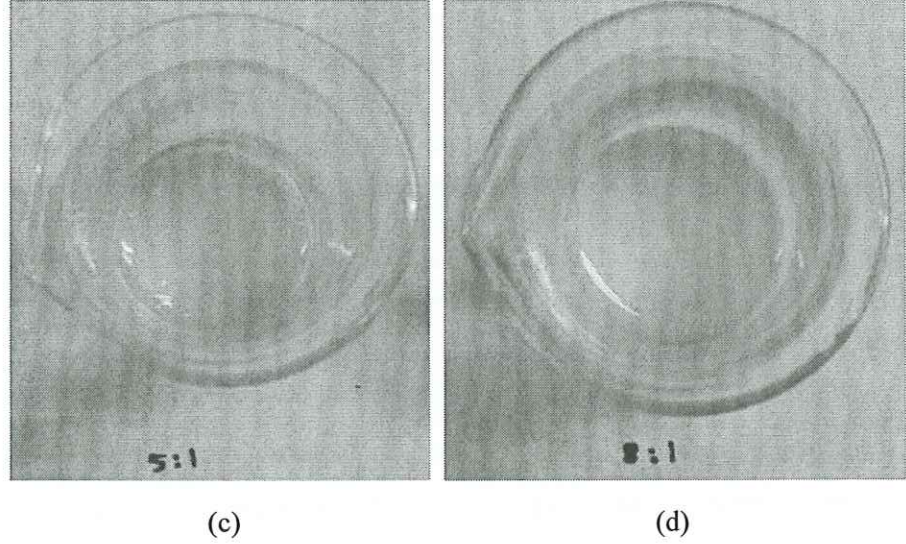
Şekil 4.4'te (a) %3 CaCl₂ içeren jel denemesini, (b) %1 CaCl₂ içeren jel denemesini, (c) %0,3 CaCl₂ içeren jel denemesini, (d) %0,2 CaCl₂ içeren jel denemesini, (e) %0,1 CaCl₂ içeren jel denemesini, (f) %0,25 CaCl₂ içeren jel denemesini göstermektedir.

Şekil 4.4'te görüldüğü üzere %3 Aljinatın %3 ve %1'lik kalsiyum klorür derişimlerine karşı jelleşme dışı su kaldığı görülmüştür. 0,3% CaCl₂ derişiminde istenenden viskoz ama su salmayan bir jel elde edilmiştir. Jel içindeki çapraz bağlayıcı ajan olan CaCl₂ derişiminin azalmasıyla jelleşme dışı kalan su miktarının azalmasının sebebi Ca⁺⁺ azaldıkça aljinat birimlerinin daha seyrek bağlanarak daha büyük odacıklara imkân vermesidir (Lee, Kuen, 2011). Bu odacıklar büyüdükçe su tutabilme kapasitesi artar. Bu durumda formülasyon için uygun homojen ve su tutma kabiliyeti fazla olan jelin seçimi için jelleştirici ajanın az olduğu ölçüler denemelidir. Jelin mekanik özelliklerinin istenene biraz daha yakın olabilmesi ve viskozitesinin düşmesi için daha düşük derişimde CaCl₂ denenmiştir. 3% ve 1% CaCl₂ derişimlerine karşı oluşan jel manyetik barın (karıştırma noktasının) etrafında toplanmış ve akışkan özelliği göstermeyip su salarak yüzmeye başlamıştır. 0,3% CaCl₂'e karşı oluşan jel yapısı benzer şekilde öbikleşip bu sefer daha az olmak üzere yine su bırakmıştır. Oluşan jellere el yardımıyla basınç uygulandığında 3% ve 1% çapraz bağlayıcı ajan kullanılan örneklerde tamamen katı bir jel gözlenirken 0,3%'lük CaCl₂ kullanılan jel kabuğu içinde hapsolmuş kısmi jelleşmiş viskoz bir aljinat yapısı olduğu görülmüştür. Bu jellerden 0,1% CaCl₂ eklenen jelin viskozitesi çok düşükken, aranan jelin viskozitesinin 0,2% ise 0,3% arasında olması gerektiğine karar verilmiştir. 0,25% CaCl₂ tuzunun istenen jel yapısını oluşturmakta yeterliliğinin gösterilmesini hedeflenmiştir. Tüm jellerin görüntü ve temas itibariyle homojen oldukları görünmüştür. Bu denemede 3% Aljinatın 0,25% CaCl₂'e karşı formülasyon için uygun olduğu tespit edilmiştir.



(a)

(b)



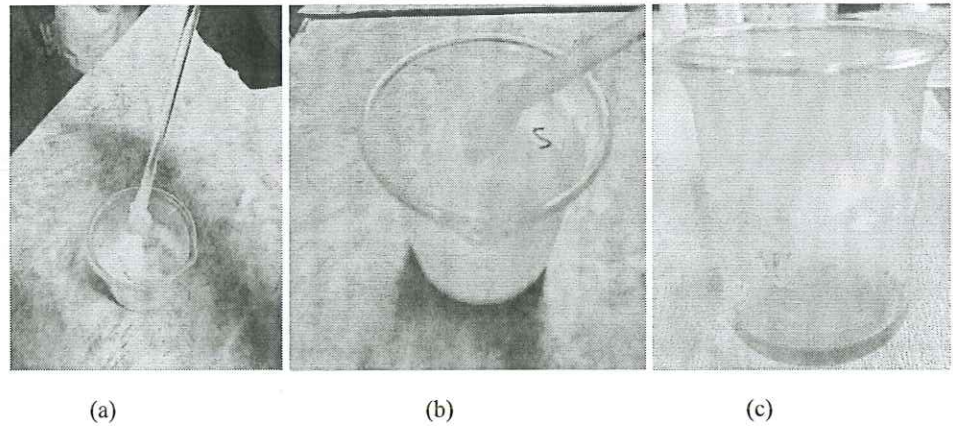
Şekil 4.5. Sodyum aljinat/ Kalsiyum Klorür oran optimizasyonu.

Şekil 4.5.'te; a) 2x sodyum aljinat/ x kalsiyum klorür, b) 4x sodyum aljinat/ x kalsiyum klorür, c) 5x sodyum aljinat/ x kalsiyum klorür, d) 8x sodyum aljinat/ x kalsiyum klorür denemelerini göstermektedir.

Şekil 4.5'te 0,25% CaCl_2 tuzunun istenen jel yapısını oluşturmakta yeterliliğinin gösterilmesini hedeflenmiştir. 3% Aljinata karşı 2:1, 4:1, 5:1, 8:1 oranları denenmiştir. Tüm jellerin görüntü ve temas itibariyle homojen oldukları, 4:1 jellerin akışkanlığının denk ve viskozitesinin 5:1'lik olandan fazla olduğu görülmüştür. 5:1'lik ve 8:1'lik jel incelendiğinde viskozitenin istenenden düşük olduğu görülmektedir. Bu denemede 3% Aljinatın 0,25% CaCl_2 'e karşı 4:1 oranının formülasyon için uygun olduğu tespit edilmiştir.

4.3. Merhem Formülasyonunun Geliştirilmesi

Gliserin merhemi denemeleri Hacettepe üniversitesi farmasötik teknoloji ders kitabından alınan tekniklerin modifiye edilmesi sonucunda yapıldı. Nişasta, su belirli oranlarda karıştırıldı ve üzerine gliserin eklenerek su tamamen buharlaşana kadar ısıtıldı (Ege Üniversitesi, 2016).



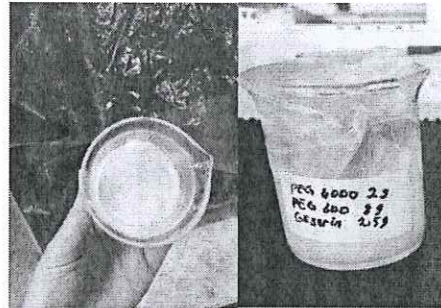
Şekil 4.6. Gliserin denemeleri sonuçları.

Şekil 4.6.'da (a) buğday nişastası bazlı gliserin merhemi, (b) mısır nişastası bazlı gliserin merhemi, (c) patates nişastası bazlı gliserin merhemi olarak verilmiştir. Bu örneklerde patates nişastası bazlı gliserin merhemi aşırı düşük viskoziteye sahip olup istenilen yoğunlukta elde edilememiştir. Mısır nişastası bazlı yapılan gliserin merheminde ise viskozite istenilen aralıkta bulundu fakat mısır nişastası merhem içerisinde homojen olarak dağılmadığı için pürüzlü bir yapı oluşturmuştur. Buğday nişastası bazlı gliserin merhemi uygun viskoziteye sahiptir. Ayrıca buğday nişastasının homojen bir şekilde dağılması ile merhemde pürüzsüz bir yapı oluşmuştur.

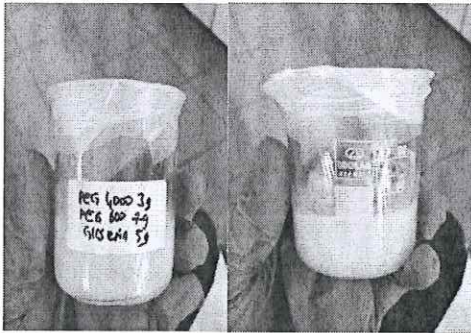
Gliserin merhemi denemeleri sonrasında polietilen glikol (PEG) denemeleri yapıldı. PEG denemeleri Amerikan Farmakopesi reçeteleri baz alınarak PEG 4000 ve PEG 600 ün değişik oranlarda denenmesi ve gliserin eklenmesi ile gerçekleştirildi.



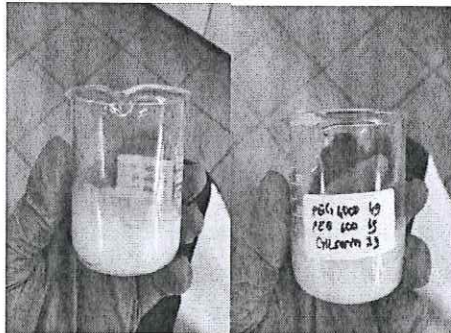
(MF1)



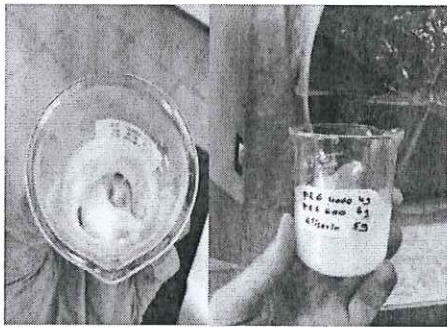
(MF2)



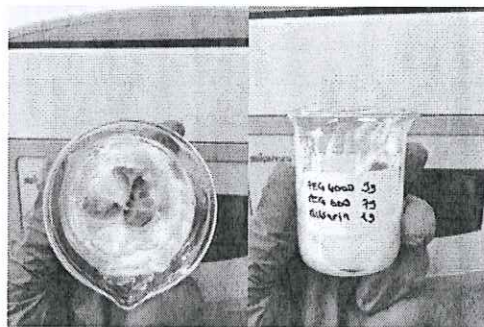
(MF3)



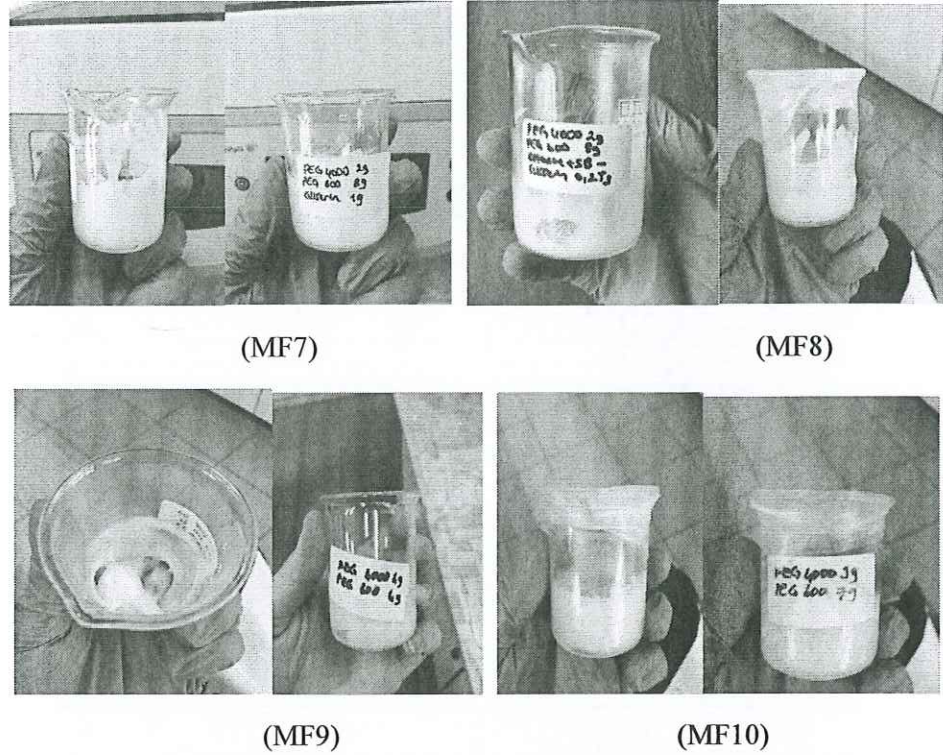
(MF4)



(MF5)



(MF6)

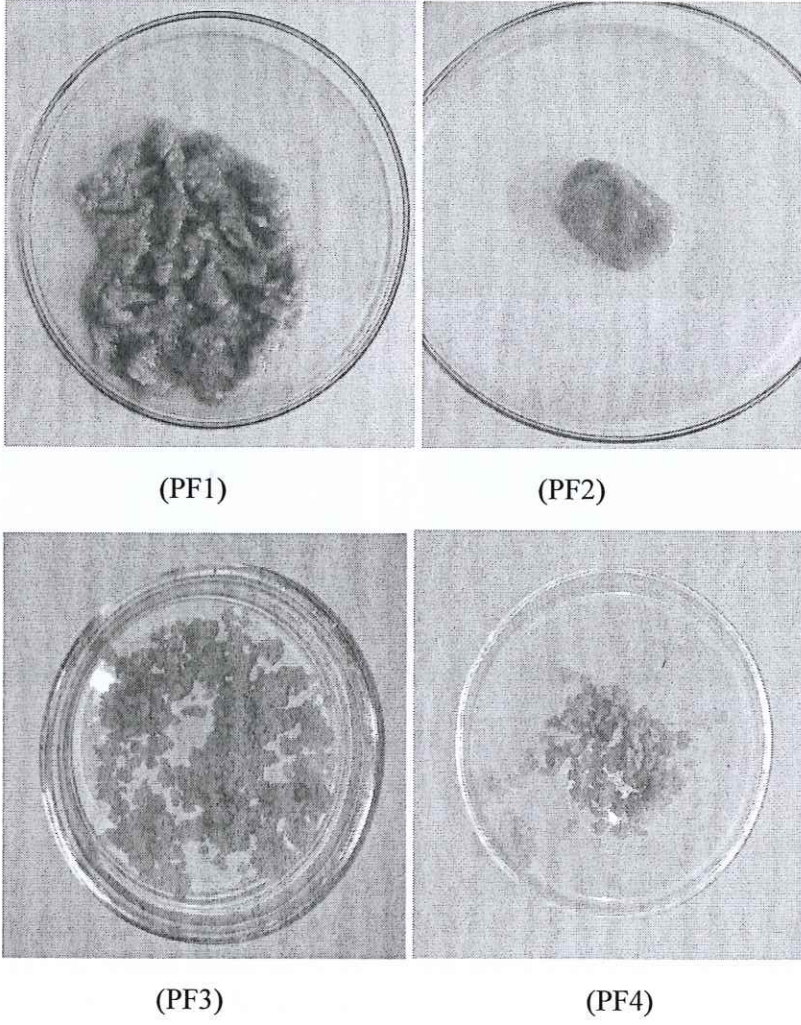


Şekil 4.7. Polietilen glikol bazlı merhem denemeleri.

Şekil 4.7.'de denemesi yapılan polietilen glikol bazlı merhem denemelerinin sonuçları verilmiştir. Denemelerde daha yüksek moleküler ağırlığa sahip olan PEG4000'in oranı PEG600'ün oranından daha az tutularak merheme yarı katı yapıyı elde edilmek amaçlandı (Der Pharmacia Lettre, 2012). MF4, MF6 ve MF9 da kullanılan PEG4000 derişimi fazla geldiğinden merhem istenilenden daha viskoz bir yapıya sahip oldu. Bu nedenle MF1, MF3, MF6, MF10 formülasyonlarında PEG oranı %30'a düşürüldü ancak bu oran da istenilen akışkan yapıyı sağlamadı. MF2, MF7 ve MF8'de ise PEG4000 oranı %20'ye düşürüldü. %20 PEG4000 oranıyla hazırlanan merhemler yarı katı yapının oluşmasını sağlayarak istenilen akışkanlığı sağladı. Merhem'in yeterince yağlı yapıya sahip olabilmesi için farklı konsantrasyonlarda gliserin eklendi ve MF8 ideal yağlı yapı ve akışkanlığı sağladığı için ileri denemeler için bu formülasyon seçildi.

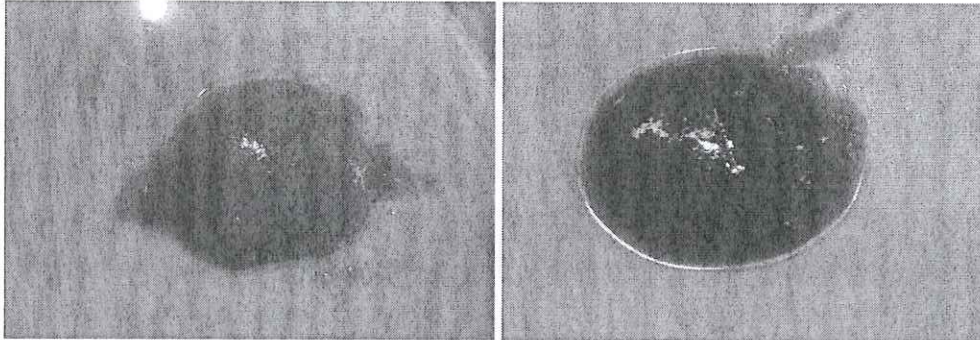
4.4. Pat Formülasyonunun Geliştirilmesi

Pat formülasyonu hazırlamasında uygulanan yöntemde kimyasal oran optimizasyonu yapıldı. Öncelikle pat formülasyonun plastibaz kısmı yani ana yapının optimizasyonu yapıldı.



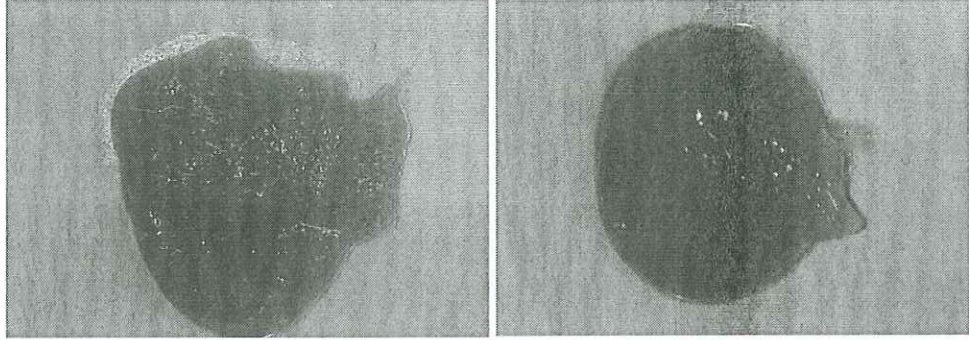
Şekil 4.8. Pat formülasyonu, plastibaz optimizasyonu.

Şekil 4.8.'de pat formülasyonunun plastibaz optimizasyonu görülmektedir. Bu denemelerde pat içerisindeki sadece polietilen wax ve sıvı parafin miktarları değiştirilerek ideale yakın bir pat elde edilmesi amaçlandı. PF1 %47,5 ile en çok polietilen içeren formülasyondur. Bu formülasyonda yapı istenilenden daha sıvı formda ve daha yağlı oluştu. PF3 ve PF4 te ise polietilen wax oranı sırasıyla %87 ve %85'e düşürüldü ve formülasyonlar tekdüze yapı almadan dağıldı. PF2'de %90 polietilen wax, %10 sıvı parafin kullanıldı ve plastibaz uniform bir yapı kazandı.



(PF5)

(PF6)



(PF7)

(PF8)

Şekil 4.9. Orabaz optimizasyonu.

Plastibaz optimizasyonu sonucunda seçilen formülasyonda ideal akışkanlık ve formülü belirlemek için orabaz yapısında değişiklikler yapıldı. Bu değişikliklerin pat yapısında nelere sebep olduğu gözlemlendi. Karboksimetil selüloz miktarının sabit bırakılıp jelatin ve pektin miktarlarında değişiklik yapılan PF5 ve PF6 formülasyonlarında ve yapı biraz daha yağlı bir form oluşturdu. PF7 numaralı pat ise CMC azaltılıp jelatinin artırıldığı formülasyondur ve bu formülasyon normalden pürüzlü bir yapı edindi. PF8 formülasyonunda ise CMC artırılıp jelatin miktarı azaltıldı. Yapı görünüş olarak istenilen formda dursa da kararlı bir yapı oluşturmayarak hızlı bir şekilde tekdüze yapısını yitirdi.

Bu denemeler sonucunda PF2 numaralı pat formülasyonu; şekil, nem/yağlılık oranı ve tekdüze yapıya sahip olması nedeniyle ileride kullanılacak çalışmalar için seçildi. HÄGERSTRÖM ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda da uygun plastibaz formülasyonu bu oranlara eşdeğer bulunmuştur.

4.5. Sodyum Benzoat İlavesi

Sodyum benzoat tüm formülasyonlar için %0,05 (w/w) konsantrasyonunda eklendi. 500 mg sodyum benzoat tartılarak 1 ml su içerisinde çözüldü. Çözünen sodyum benzoat, 10 gram formülasyon başına 10 µl çözelti eklendi. Böylece formülasyonlarda sodyum benzoat konsantrasyonu %0,05 olarak ayarlandı. Sodyum benzoat kullanımı için üst kullanım sınırı %0,1'dir ve bu düzeyden sonrası zehirli etki yaratmaktadır (Kalyoncu, 2008).

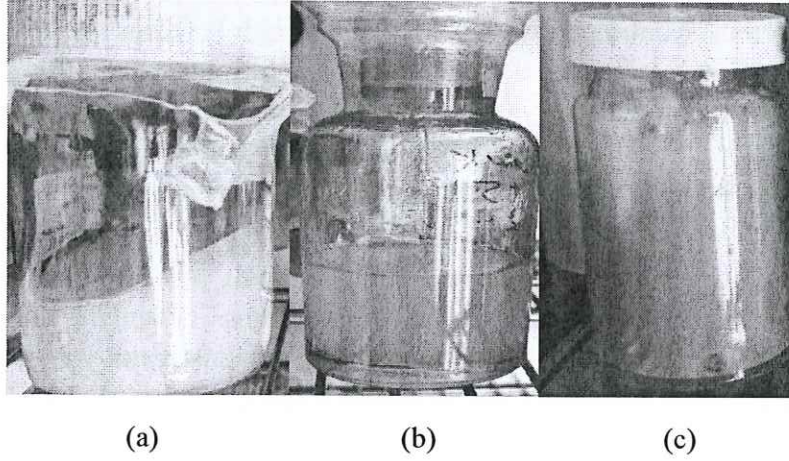
4.6. Kitosan Nanopartikül İlavesi

Kitosan nanopartiküller iyonik jelasyon yöntemi ile sentezlendikten sonra etüvde 40-50°C'de kurutuldu. Kuruyan nanopartiküller havanda ezilerek toz hale getirildi.

Kitosan nanopartikül tüm formülasyonlara %0,05 (w/w) olacak şekilde eklendi. Pat formülasyonu için toz haline getirilen nanopartiküller toz formunda kullanıldı. Merhem ve jel formülasyonları için 500mg kitosan nanopartikül %1'lik asetik asitte çözüldü ve formülasyonların viskozitesine çok etkisi olmaması için 10 µl eklendi.

4.7. Stabilite Testi

Formülasyonların dayanıklılıklarını denemek için Nüve Test Kabini kullanıldı. İklimlendirme kabini olarak adlandırılan bu kabin ortam şartlarını ayarlayarak raf ömrünün belirlenmesi için kullanılır. Kabinde koşullar yoğun programa göre 40°C ve %40 nem oranına ayarlandı. Bu şartlar altında yapılan test hızlandırılmış test olarak adlandırılmaktadır ve 1 gün üç gün olarak sayılır. Formülasyonlar hızlandırılmış test şartlarında Nüve Test Kabinine bırakıldı ve 60 gün boyunca jel, pat ve merhem yapısında bir bozulma gerçekleşmedi.



Şekil 4.10. Nüve test kabininde bekletilen formülasyonların sonuçları.

Şekil 4.10.'da Nüve test kabininde stres koşulları altında 60 gün boyunca bekletilen preparatlar görünmektedir. Süre sonunda merhem, jel ve pat formülasyonunda faz ayrımı görünmemekle beraber yapılarında bir bozulma meydana gelmemiştir.

5. TARTIŞMA

Bu yüksek lisans çalışması kapsamında iyonik jelleşme yöntemi kullanılarak kitosan nanopartiküller sentezi gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen nanopartiküller; hazırlanan jel, merhem ve pat preparatlarına ilave edilerek sonuçlar gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlar aşağıda sırasıyla özetlenmiştir:

- Kitosan nanopartikül sentezi, prosedürün kolay olması ve çapraz bağlayıcı olarak toksik olmayan TPP'nin kullanılabilmesi nedeniyle iyonik jelleşme metodu ile gerçekleştirilmiştir.
- TPP'nin fosfat grubu kitosanın amonyum grubu ile çapraz bağ yapmaktadır.
- Kitosan nanopartiküller sentezlendikten sonra etüvde 50°C sıcaklıkta kurutulmaya bırakılmış, kurutan nanopartiküller havan yardımıyla toz hale getirilmiştir.
- Sentezlenen nanopartiküllerin zeta sizer cihazı ile boyut analizi yapılmış ve ortalama nanopartikül boyutu 64,80 nanometre olarak bulunmuştur (Bkz. Şekil 4.1.).
- Daha sonra SEM analizine gönderilen örneklerin sem görüntüsü çekilmiştir. SEM görüntüsünde (Şekil 4.2.) nanopartiküllerin boyutu 40-70 nm aralığında değişmektedir. Bu durum zeta boyut ölçümü sonuçları ile bağdaşmaktadır. Ayrıca SEM görüntüsünde sentezlenen kitosan nanopartiküllerin küresel yapıda olduğu görülmektedir. Bu da sentezin başarılı olduğunu göstermektedir.
- Jel formülasyonu yapılırken öncelikle kullanılacak jelleştirici ajan olan Sodyum aljinatın hangi konsantrasyonda kullanılacağı belirlendi. %1, %2 ve %3 konsantrasyonlarında denenen sodyum aljinatın optimal jelleşmesi için %3 olması gerektiği gözlemlendi (Bkz. Şekil 4.2.).
- Sodyum aljinat kalsiyum klorürle ideal çapraz bağ oluşturmaktadır. Çapraz bağlanmanın maksimum olabilmesi ve jelin kıvamının oluşması için aljinat içine ilave edilen kalsiyum klorürün konsantrasyonu belirlendi. Bu deneme için %3; %1; %0,3; %0,25; %0,20 ve %0,10 olacak şekilde altı farklı kalsiyum klorür hazırlandı. Bu konsantrasyonlardan en uygun jel yapısını oluşturan CaCl_2 derişimi %0,25 olarak bulunmuştur (Bkz. Şekil 4.4.).

- Jelleşmeyi sağlayacak optimal CaCl_2 derişimi bulunduktan sonra sodyum aljinat ve kalsiyum klorürün oranlarının jelleşme yapısına etkisine bakıldı. Bu kapsam 4 farklı oran denendi; 2/1, 4/1, 5/1, 8/1. Deneme sonucunda en uygun oranın 4 birim sodyum aljinat ve 1 birim CaCl_2 olduğu tespit edildi (Bkz. Şekil 4.5.)
- Merhem preparatları hazırlanırken 2 farklı maddeden yola çıkılarak denemeler yapılmıştır.
- Gliserin merhemi preparatında gliserin, nişasta ve su kullanılmaktadır. Patates, buğday ve mısır nişastasını ile denemeler yapıldı ancak mısır ve patates nişastasında tekdüze bir yapı oluşmadı. Buğday nişastasında ise uniform ve istenilen kıvamda bir yapı oluştu (Bkz. Şekil 4.6.)
- Polietilen glikol merhemi denemelerinde 2 farklı moleküler ağırlığa sahip olan PEG polimerleri karıştırılarak ısıtıldı ve homojen bir yapı alan preparatlar soğumaya bırakıldı. Bazı preparatlarda yapının bozulmasını engellemek amacıyla gliserin eklenmiştir. Denemeler sonucunda MF8 kodlu preparat en uygun yapıyı oluşturmuştur. Bu preparatta PEG4000 bir kat, PEG600 4 kat kullanılmıştır. Ayrıca preparatın toplam kütlelerinin %0,25'i kadar gliserin eklenmiştir.
- Pat formülasyon hazırlık aşamaları iki adımda sürmüştür. Önce yağlı ara yapı olan plastibaz sentezlenmiş sonra da sentezlenen plastibaz üzerine formülasyonun kuru maddeleri eklenmiştir. Plastibaz polietilen wax ve sıvı parafin içermektedir ve bu kimyasalların oranları üzerine denemeler yapılmıştır. Yapılan denemeler sonunda %45 PE wax ve %5 sıvı parafin kullanılan preparat seçilmiştir (Bkz. Şekil 4.8.).
- Plastibaz hazırlandıktan sonra sisteme eklenecek olan kuru maddeler üzerinden optimizasyon yapılmış ve uygun karışımın %25 CMC, %15 jelatin, %10 pektin olarak bulunmuştur (Bkz. Şekil 4.9.).
- Yarı katı formülasyonlar hazırlandıktan sonra daha önceden sentezlenen kitosan nanopartiküller sisteme ilave edilmiştir.
- Jel ve merhem formülasyonu için nanopartiküller %1'lik asetik asitte çözülmüş daha sonra sisteme %0,05 olacak şekilde eklenmiştir.
- Pat formülasyonu için ise kitosan nanopartiküller yine %0,05 olacak şekilde ancak bu sefer toz olarak eklenmiştir.

- Ayrıca preparatlara koruyucu aktivitesi bulunan sodyum benzoat eklenmiştir. Sodyum benzoat gıda ve farmakolojik preparatlarda koruyucu olarak görev yapmaktadır ve en fazla kütlece %0,1 olacak kadar ilave edilmektedir. Biz çalışmada sodyum benzoat %0,05 olarak kullanılmıştır.
- Preparatların hazırlıkları bittikten sonra Nüve test kabinlerine alınarak yoğun stres koşullarında bekletildiler. Yoğun stres koşullarında 60 günün sonunda preparatların yapısında bir deformasyon meydana gelmemiştir. Yoğun stres koşullarında bir gün üç gün olarak kabul edilir ve bu nedenle hazırlanan preparatlar 180 gün yapılarını bozmadan bekletilebilmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

“Kitosan Nanopartikül Bazlı Jel, Merhem ve Pat Formülasyonlarının Geliştirilmesi” isimli yüksek lisans tez çalışmamda öncelikle iyonik jelleşme yöntemi ile kitosan nanopartiküller sentezlenmiş ve bu sentezlenen kitosan nanopartiküllerin boyut ve şekil analizleri yapılmıştır. Analizler sonucunda kitosan nanopartiküllerin boyut ve şekil olarak uygun olduğu saptanmıştır.

Kitosan nanopartikül sentezi sonrasında yarı katı preparatların hazırlık aşamasına geçilmiştir. Sırası ile jel, merhem ve pat formülasyonları optimizasyonları yapılmış, her üç farklı yarı katı formülasyon için birer ideal ürün ortaya çıkartılmıştır.

Preparat hazırlanması tamamlandıktan sonra, asıl amaçlanılan nokta; yani sentezlenen kitosan nanopartiküllerin hazırlanan yarı katı formülasyonlara ilavesi gerçekleştirilmiştir. Kitosan nanopartikül içeren yarı katı preparatların yapısında bir değişim gözlenmemiştir. Ayrıca ürünlerin kararlıklarının denenmesi için Nüve test kabiniinde 180 güne denk gelen teste tabi tutulmuş ve test sonucunda yapılarında bir deformasyon, faz ayrımı, oluşmamıştır.

Bu denemeler başarıya ulaşarak kitosan nanopartikül bazlı jel, merhem ve pat formülasyonları geliştirilmiş, ayrıca daha ileriye yönelik çalışmaların önünü açmıştır. Daha ileride yapılacak çalışmalarda kitosan nanopartiküller etken madde ile enkapsüle edilerek spesifik kullanımlar için preparatlar hazırlanabilecektir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Acartürk F., 2009. Modern Farmasötik Teknoloji, Reaksiyon Kinetiği ve Stabilité, Türk Eczacılar Birliği Eczacılık Akademisi, 2009, s170-174

Agarwal Megha, Nagar DP, Srivastava Nalini and Agarwal MK., 2015. Chitosan Nanoparticles based Drug Delivery: an Update, International Journal of Advanced Multidisciplinary Research (IJAMR), 2(4): (2015): 1–13

Agnihotri, S.A., Mallikarjuna, N.N. and Aminabhavi, T.M., 2004. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery, Journal of Controlled Release, 100, 5–28.

Ashford, Marianne, 2002. 'Assessment of biopharmaceutical properties', in Aulton, M. E. (ed.) *Pharmaceutics The Science of Dosage Form Design* Second Edition. Edinburgh ; New York : Churcill Livingstone, pp. 262-271.

Brigger, I., Dubernet, C., Couvreur, P., 2002, Nanoparticle in Cancer Therapy and Diagnosis, *Adv. Drug Del. Rev.*, 54, 631-651.

Bulmer, C., Margaritis, A., Xenocostas, A., 2012, Production and characterization of novel chitosan nanoparticles for controlled release of rHu-Erythropoietin, *Biochemical Engineering Journal*, 68, Canada, 9p.

Çelebi N., 2009. Modern Farmasötik Teknoloji, Emülsiyonlar, Türk Eczacılar Birliği Eczacılık Akademisi, 2009, s.286-287

Demir, A., Seventekin, N., 2009, Kitin, Kitosan ve Genel Kullanım Alanları, Derleme, *Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi*, Cilt: 3, No: 2, (92-103).

Derakhshandeh, K., Fathi, S., 2012, Role of chitosan nanoparticles in the oral absorption of Gemcitabine, *International Journal of Pharmaceutics*, 437, Iran, 6p

Der Pharmacia Lettre, 2012, Study on permeation enhancement of sparfloxacin from certain selected ointment bases.

Ege Üniversitesi, 2016, Farmasötik Teknoloji 2, Ege Üniversitesi yayınları eczacılık fakültesi yayın no:2 3. Baskı, 2016 shf. 137-139

Fishburn, A. G., 1965 'Chapter 1 Background', in Fishburn, A. G. (ed.) *AN Introduction To Pharmaceutical Formulation*. Oxford · London · Edinburgh · New York Paris · Frankfurt: Pergamon Press, pp. 1-14.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAMI)

Garcia-Garcia, E., Andrieux, K., Gil, S., Couvreur, P., 2005, Colloidal carriers and blood-brain barrier (BBB) translocation: a way to deliver drugs to the brain?, *Int. J. Pharm.*, 298, 274-292.

Garg, N. K., Dwivedi, P., Campbell, C., Tyagi, R. K., 2012, Site specific/targeted delivery of gemcitabine through anisamide anchored chitosan/poly ethylene glycol nanoparticles: An understanding of lung cancer therapeutic intervention, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, India, 9p.

Gökçe, Y., 2008, Kitosan Nanoparçacıkların Sentezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.

HÄGERSTRÖM, H., EDSMAN, K., & STRÖMME, M., 2003. Low-Frequency Dielectric Spectroscopy as a Tool for Studying the Compatibility between Pharmaceutical Gels and Mucus Tissue. *J. Pharm. Sci.*, 1869-1881.

İnal Özge, 2018, 'KOZMETİK ÜRÜNLERDE FORMÜLASYON TASARIMI VE KALİTE KONTROL ÇALIŞMALARI' Ankara Üniversitesi, 2018

Janes, K.A., Calvo, P. and Alonso, M.J. 2001. Polysaccharide colloidal particles as delivery systems for macromolecules, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 47, 83-97.

Jonathan Z. Knaul, Samuel M. Hudson, Katherine A. M., 1999, Creber, Crosslinking of Chitosan Fibers with Dialdehydes: Proposal of a New Reaction Mechanis, *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics*, Vol. 37, 1079–1094.

Kalyoncu 2008, Gıda Sanayinde Sıklıkla Kullanılan Antifungal Katkı Maddeleri: ISSN:1306-3111 e-Journal of New World Sciences Academy 2008, Volume: 3, Number: 3 Article Number: A0087

Kaş, H.S., 2002, İlaç Taşıyıcı Partiküler Sistemler` in Kontrollü Salım Sistemleri, Gürsoy, A.Z. (Ed.), *Elma Bilgisayar Basım ve Amb. San. Tic. Ltd. Sti.,* İstanbul, 82.

Kreuter, J. , 2001, Nanoparticulate systems for brain delivery of drugs, *Adv. Drug Del. Rev.*, 47,65-81.

Kreuter, J., 2005, Application of nanoparticles for the delivery of drugs to the brain, *Int. Cong. Ser.*, 1277, 85-94.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAMI)

Kulkarni, Vitthal S. and Shaw, Charles, 2016. Kulkarni, Vitthal S. and Shaw, Charles (ed.) Essential Chemistry for Formulators of Semisolid and Liquid Dosages. Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo: Academic Press, pp. 1-4.

Kristberg, 2003, ([Http://vefur.rf.is/TAFT2003/PPtskjol/Fyrirlestrar/L70%20-%20Kristberg.pdf](http://vefur.rf.is/TAFT2003/PPtskjol/Fyrirlestrar/L70%20-%20Kristberg.pdf))

Lee, D.W., Powers, K. and Baney, R. 2004. Physicochemical properties and blood compatibility of acylated chitosan nanoparticles, Carbohydrate Polymers, 58, 371-377.

Lee, Kuen Yong , Mooney, David J., 2011. 'Alginate: Properties and biomedical applications', Progress In Polymer Science, 37(2012), pp. 106-126.

Liu, G., Garrett, M., Men, P., Zhu, X., Perry, G., Smith, M.A., 2005, Nanoparticle and other metal chelation therapeutics in Alzheimer disease, Bioch. Et Bioph. Acta, 1741, 246-252.

Lopez-Leon, T., Carvalho, E.L.S., Seijo, B., Ortega-Vinuesa, J.L. and Bastos-Gonzalez, D. 2005. Physicochemical Characterization of Chitosan Nanoparticles: Electrokinetic and Stability Behavior, Journal of Colloid and Interface Science, 283, 344-351.

Qi, L., Xu, Z., Jiang, X., Hu, C. and Zou, X. 2004a. Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles, Carbohydrate Research, 339, 2693-2700.

Phatak Atul A.*, Chaudhari Praveen D., 2012. Development and Evaluation of Nanogel as a Carrier for Transdermal Delivery of Aceclofenac, Asian J. Pharm. Tech. 2012; Vol. 2: Issue 4, Pg 125-132

Porter SR, H. A., 1996. Recurrent aphthous stomatitis. Clin Dermatol, 141.

Rao, M.S., Kanat, S.R., Chander, R. and Sharma, A. Dec 2005-Jan 2006. What makes radiation processed chitosan a novel food preservative, Times Food Processing Journal.

Rao, J.P., Geckeler, K.E., 2010, Polymer nanoparticles: preparation techniques and size-control parameters, Prog. Polym. Sci., 36, 887-913.

Raymond C Rowe, Paul J Sheskey, Marian E Quinn, (2009) Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6 edn., UK, USA: Pharmaceutical Press, Apha

Rowland, Malcolm 1972. 'Influence of Route of Administration on Drug Availability', Journal of Pharmaceutical Sciences, 61(1), pp. 70-74.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAMI)

Russo E., Selmin F., Baldassaria S., Gennari C.G.M, Cavigliolia G., Cilurzo F., Minghetti P., Parodi B., 2016. 'A focus on mucoadhesive polymers and their application in buccal dosage forms', *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 32(Part B), pp. 113-125.

Şengel Türk, C., Haşçıçek, C., 2009, Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dergisi, 38 (2) 137-154.

Ungphaiboon S, M. Y., 2001. In vitro permeation studies of triamcinolone acetone mouthwashes. *int.j.pharm*, 111-117.

Vilchez, S., Jovancic, P., Manich, A.M., Julia M. R., Erra P., 2005, Chitosan Application on Wool Before Enzymatic Treatment, *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 98, p. 1938-1946.

WONG, C. F., YUEN, K. H., & PEH, K. K., 1999. An in-vitro method for buccal adhesion studies. *Int. J. Pharm*, 47-57.

Zhang et al., 2004, Zhang, H., Oh, M., Allen, C. and Kumacheva, E. 2004. Monodisperse chitosan nanoparticles for mucosal drug delivery, *Biomacromolecules*, 5, 2461-2468.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmalarımı yaptığım dönem boyunca ilminden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile de örnek edindiğim, yanında çalışmaktan onur duyduğum ve ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı değerli danışman hocam Prof. Dr. Şenay ŞANLIER'e; her soruma özenle, ilgiyle yaklaşan her daim yardım etmeye açık sevgili Dr. Güliz AK'a ; laboratuvar ortamını daha samimi daha sıcak bir ortam haline getiren arkadaşlarım Ayşe ÜNAL ve Tuğba KARAKAYALI'ya; bu günlere gelene kadar her konuda desteklerini hissettiğim, verdiğim tüm kararları sonuna kadar destekleyen babam Şahap NEBİOĞLU'na, annem Songül NEBİOĞLU'na ve ablam Didem NEBİOĞLU TAŞKAYA'ya ; eğitim hayatım boyunca hep farklı bir açıdan bakmamı sağlayıp zorlukları aşmamda en büyük paya sahip olan değerli ev arkadaşım Umut ÇETİNKAYA'ya ve buraya yazamadığım ve beni düşünüp benimle endişelerimi paylaşan tüm arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma Nanovet Nanobiyoteknoloji Arge ve Danışmanlık Şirketi tarafından desteklenmiştir.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : ALİCAN ERHAN NEBİOĞLU

Doğum Tarihi : 01.01.1993

Unvanı:

Öğrenim Durumu :

| Derece | Alan | Üniversite | Yıl |
|-----------|-----------|-------------------------|--------------|
| Lisans | Biyokimya | Ege Üniversitesi, İzmir | 2016 |
| Y. lisans | Biyokimya | Ege Üniversitesi, İzmir | Devam ediyor |

A. MAKALELER

A1. Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler (SCI & SSCI & Arts and Humanities)

-

A2. SCI ve uluslararası indekslerce taranan dergiler dışında hakemli ve süreli dergilerde yayımlanan makaleler

-

B. KİTAPLAR

-

C. BİLDİRİLER

C.1. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler

-

C2. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

-

D. EDITÖRLÜK, YAYIN KURULU ÜYELİĞİ, HAKEMLİK

-

E. YAPILAN ATIFLAR

E.1. SCI Kapsamındaki Dergilerde Yapılan Atıflar

-

E.2. Uluslararası Kitaplarda Yapılan Atıflar

-

F. EĞİTİM-ÖĞRETİM VE ARAŞTIRMA FAALİYETLERİ

F1. Son beş yılda verilmiş lisans dersleri

-

F2. Doktora tezi yöneticiliği

-

F3. Yüksek lisans tezi yöneticiliği

-

F4. Ulusal kuruluşlarca desteklenen araştırma projeleri

F4.1. “Nanoteknoloji Temelli Gıda Katkı Takviyelerinin Geliştirilmesi” İzmir Ekonomi Üniversitesi BİLİMPARK Projesi,2017.

F4.2. “Köpek Visceral Leishmaniosisin Sağaltımında Nanotize Curcumin İçeren Fonksiyonel Yem Katkı Maddesinin Geliştirilmesi”, İzmir Ekonomi Üniversitesi BİLİMPARK Projesi, 2017-2018.

F4.3. “Biyoyararlanımı Arttırılmış Glukozamin İçeren Mukoadezif Jelin Hazırlanması” İzmir Ekonomi Üniversitesi BİLİMPARK Projesi, 2018- devam ediyor.

F5. Alanında ulusal bilimsel nitelikli ödüller

-

F6. Alanında uluslararası bilimsel nitelikli ödüller

-

G. BİLİMSEL TOPLANTI DÜZENLEMEK

G1. Ulusal sempozyum, kongre, kollokyum ve sanatsal etkinlik düzenlemede üye olarak çalışmak

G1.1. “Ege Üniversitesi Bilim Teknoloji Topluluğu 5. Geleneksel Bilim ve Teknoloji Sempozyumu- Kanser Biyolojisi ve Genetiği”, Organizasyon, Ege Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Topluluğu, 31 Mart 2013

G1.2. “1. Ege Nanoteknoloji Günleri”, Organizasyon, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, 18 Nisan 2013,

G1.3. “Ege Üniversitesi 6. Geleneksel Bilim ve Teknoloji Sempozyumu- Nörodejeneratif Hastalıklar ve Moleküler Mekanizması”, Organizasyon Başkanı, Ege Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Topluluğu, 29 Mart 2014,

G1.4. “Ege Üniversitesi 7. Geleneksel Bilim ve Teknoloji Sempozyumu- Kişiyeye Özgü İlaç Tedavisi”, Organizasyon Başkanı, Ege Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Topluluğu, 28 Mart 2015,

G1.5. “Kişiselleştirilmiş kanser tedavisinde hücre kültürü, proteomik & genomik uygulamalar kursu”, Sekreteryaya, Ege Üniversitesi İlaç Geliştirme ve Farmakokinetik Araştırma Uygulama Merkezi, 1-4 Şubat 2016.

G2. Ulusal Bilimsel Toplantılar (Seminerler)

-

G3. Katılınan Ulusal ve Uluslararası Yaz Okulları, Eğitimler ve Yarışmalar

G3.1. Ege Üniversitesi Bilim Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi “Girişimcilik Elçileri” programı, 2014-2016,

G3.2. Ege Üniversitesi Yaratıcı Girişimcilik Oyunları, 2014

H. DİĞER GÖREVLER

H1. İdari Görevler

-

H2. Bilimsel Kuruluşlara Üyelikler

Biyokimyagerler Derneği

I. PATENT/FAYDALI MODEL BAŞVURULAR

