

**T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PMDA-ÇAPRAZ BAĞLI NANOSÜNGERLERLE
KETOPROFENİN İNKLÜZYON KOMPLEKSLERİNİN
SENTEZİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Halil İbrahim ÇETİNTAŞ
(201292121107)**

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sema SALGIN

**SİVAS
ARALIK 2016**

HALİL İBRAHİM ÇETİNTAŞ'ın hazırladığı ve “PMDA-Çapraz Bağlı Nanosüngerlerle Ketoprofenin İnküzyon Komplekslerinin Sentezi” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : **Prof.Dr. Sema SALGIN**
Cumhuriyet Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof.Dr. Uğur SALGIN**
Cumhuriyet Üniversitesi

Doc.Dr. Muharrem İNCE
Munzur Üniversitesi

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. İdris ZORLUTUNA

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 20.08.2014 tarihli ve 7 sayılı kararı ile kabul edilen Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırlanmıştır.

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (CÜBAP) Komisyonu tarafından M-564 Nolu proje kapsamında desteklenmiştir.



Bütün hakları saklıdır.

Kaynak göstermek koşuluyla alıntı ve gönderme yapılabilir.

© Halil İbrahim ÇETİNTAŞ, 2016

ETİK

Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- ✓ Bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- ✓ Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- ✓ Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere, bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- ✓ Bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- ✓ Tezin herhangi bir bölümünü, Cumhuriyet Üniversitesi veya bir başka üniversitede, bir başka tez çalışması olarak sunmadığımı; beyan ederim.

29.12.2016

Halil İbrahim ÇETİNTAŞ

ÖZET

PMDA-ÇAPRAZ BAĞLI NANOSÜNGERLERLE KETOPROFENİN İNKLÜZYON KOMPLEKSLERİNİN SENTEZİ

Halil İbrahim ÇETİNTAŞ

Yüksek Lisans Tezi

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Sema SALGIN

2016, 54 sayfa + xv

Yeni nano boyutlu ilaç salım sistemi olarak önerilen siklodekstrin (CD) temelli nanosünger (NS)'ler, üç boyutlu ağ içinde bulunan nano boyutta yapıya sahip aşırı çapraz bağlı CD polimerlerdir. NS'ler küresel morfolojiye sahip katı partiküllerdir ve çözünürlüğü düşük olan moleküller için yüksek çözme gücüne sahip oldukları bilinmektedir. CD'lerin çeşitli konuk molekül/ilaç ile inklüzyon kompleksleri oluşturmaları en ilgi çekici özelliklerinden biridir. NS suda çözünürlüğü düşük moleküllerin çözünürlüğünün artırılmasında, parçalanmış maddelerin korunmasında, sürekli salım sistemlerinin elde edilmesinde veya nanotıp için yenilikçi ilaç taşıyıcı sistemlerin tasarımında kullanılabilir. Piromellitik dianhidrit (PMDA) çapraz bağlayıcı olarak kullanıldığında ester bazlı NS oluşturulmaktadır. Bu NS'ler ilaç salım hızını değiştirebilir ve hatta hızlı salım formülasyonları için güçlü bir ilaç taşıyıcısı olmasından dolayı biyolojik bariyerler arasında ilaç emilimini artırmak için kullanılabilir.

Bu çalışmanın amacı farmasötik kullanım için ilaç taşıyıcısı olarak PMDA-çapraz bağlı siklodekstrin bazlı nanosünger (CDNS) sentezlemek ve NS-ketoprofen (KP) inklüzyon komplekslerini oluşturarak sudaki çözünürlüğü düşük olan KP'nin çözünürlüğünü artırmaktır. NS sentezi üzerine katalizör trietilamin (TEA) etkisi, CD/PMDA oranı, tepkime süresi ve kurutma süresi gibi parametrelerin etkisi

incelenmiştir. İlaç yükleme etkinliği farklı yükleme koşullarında sıvı kromatografi analizleri ile değerlendirilmiştir. NS ortalama partikül boyutu ve zeta potansiyeli Zetasizer cihazı ile belirlenmiştir. NS kimyasal yapısı FTIR-ATR spektroskopisi ile belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Siklodekstrin, nanosünger, inklüzyon kompleksi, ketoprofen, PMDA



ABSTRACT

THE SYNTHESIS OF INCLUSION COMPLEXES OF KETOPROFEN WITH PMDA-CROSSLINKED NANOSPONGES

Halil İbrahim ÇETİNTAŞ

Master of Science Thesis, Department of Chemical Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Sema SALGIN

2016, 54 pages + xv

Cyclodextrin (CD)-based nanosponge (NS), which is proposed as a new nanosized delivery system, are hyper-cross-linked cyclodextrin polymers nanostructured within a three-dimensional network. They are solid particles with a spherical morphology that have been reported to have a very high solubilizing power for poorly soluble. The formation of inclusion complexes with wide variety of guest molecule/drug is one of the most interesting properties of CD. The NS could be used to improve the aqueous solubility of poorly water-soluble molecules, protect degradable substances, obtain sustained delivery systems or design innovative drug carriers for nanomedicine. Ester NSs are formed when pyromellitic dianhydrite (PMDA) is used as crosslinker. Ester NSs can modify the rate of drug release and can be used to enhance drug absorption across the biological barriers, serving as a potent drug carrier even in immediate release formulations.

The aim of this study is to synthesize PMDA-crosslinked cyclodextrin based nanosponge (CDNS) as drug carrier for pharmaceutical use and to enhance the solubility of ketoprofen (KP), which is very slightly soluble in water, by forming NS-KP inclusion complex. The effects of reaction parameters on NS synthesis such as the presence of catalyst triethylamine (TEA), the molar ratio of CD/PMDA, the reaction time and drying time were examined. The drug loading efficiency were assessed by liquid chromatography analysis at different loading conditions. The average particle

size and zeta potential of NS were determined by Zetasizer. The chemical structure of the NS was analyzed by FTIR-ATR spectrometry.

Keywords: Cyclodextrin, nanosponge, inclusion complex, ketoprofen, PMDA



KATKI BELİRTME VE TEŞEKKÜR

Bilgi ve deneyimlerinden sürekli yararlandığım, tezin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Sema SALGIN'a ayrıca bu tez çalışması süresince bilgi ve deneyimleri ile bana destek olan değerli hocam Prof. Dr. Uğur SALGIN'a çok teşekkür ederim.

Beni bu günlere getiren, benden maddi, manevi desteğini esirgemeyen sevgili ailem ve deneylerim esnasında bana yardımcı olan değerli laboratuvar çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	vi
ABSTRACT	viii
KATKI BELİRTME VE TEŞEKKÜR	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
SİMGELER DİZİNİ	xiv
KISALTMALAR DİZİNİ	xv
1.GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1 İlaç Taşıyıcı Sistemler.....	3
2.2 Nanoteknoloji Bazlı İlaç Taşıyıcı Sistemler.....	6
2.3 Siklodekstrinler.....	7
2.4 Siklodekstrin Bazlı Nanosüngerler.....	13
2.4.1 Nanosüngerler ile ilgili literatür çalışmaları.....	17
2.5 Çapraz Bağlayıcı: PMDA.....	18
2.6 Nonsteroidal Anti-İnflamatuvar İlaçlar.....	20
2.6.1 Ketoprofen.....	22
3. MATERYAL VE YÖNTEM	25
3.1 Materyaller.....	25
3.2 Nanosünger Üretimi.....	25
3.3 Nanosüngerlere Ketoprofen Yükleme.....	25
3.4 Analitik Yöntemler.....	26
3.4.1 Sıvı kromatografi analizi.....	26
3.4.2 FTIR analizi.....	27
3.4.3 Zetapotansiyeli ve hidrodinamik boyut analizi.....	28
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	30
4.1 NS Sentezi.....	30
4.1.1 NS sentezine TEA etkisi.....	31
4.1.2 NS sentezine β -CD/PMDA mol oranı etkisi.....	32
4.1.3 NS sentezine tepkime süresi etkisi.....	34
4.1.4 NS sentezine kurutma süresi etkisi.....	35
4.2 Ketoprofenin Nanosünger Taşıyıcılara Yükleme.....	35
4.2.1 KP/NS yükleme oranının etkisi.....	36
4.2.2 Sıcaklık etkisi.....	41
4.2.3 Karıştırma hızı etkisi.....	44
5. SONUÇLAR	46
KAYNAKLAR	48
EKLER	52
EK 1.....	53
ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1	İlaç taşıyıcı sistemlerin ilaç molekülleri ile etkileşimleri	3
Şekil 2.2	α , β ve γ -siklodekstrinlerin kimyasal yapısı	8
Şekil 2.3	β -CD üç boyutlu yapısı	9
Şekil 2.4	CD inklüzyon kompleksi oluşumu	12
Şekil 2.5	PMDA çapraz bağlı NS şematik gösterimi	14
Şekil 2.6	β -CD ile PMDA'nın polikondenzasyon tepkimesi şematik gösterimi	15
Şekil 2.7	PMDA kimyasal yapısı	19
Şekil 2.8	Ketoprofen üç boyutlu kimyasal yapısı	22
Şekil 3.1	UHPLC cihazı	27
Şekil 3.2	FTIR spektrofotometresi	27
Şekil 3.3	Zeta potansiyeli ve hidrodinamik boyut ölçüm cihazı	28
Şekil 4.1	PMDA, β -CD ve NS'nin FTIR spektrumları	31
Şekil 4.2	TEA içeren ve TEA içermeyen NS'lerin karşılaştırmalı FTIR spektrumları	32
Şekil 4.3	β -CD/PMDA =1/8 ve 1/12 mol oranlarının karşılaştırmalı FTIR spektrumları	33
Şekil 4.4	NS üretim tepkimesinin 15 min, 2 h ve 6 h süreleri için karşılaştırmalı FTIR spektrumları	34
Şekil 4.5	NS sentezinde kurutma öncesi ve kurutma sonrası 1 h, 2 h, 6 h sürelerinin karşılaştırmalı FTIR spektrumları	35
Şekil 4.6	NS ve KP karşılaştırmalı FTIR spektrumu	36
Şekil 4.7	Kütlece 1/2, 1/4, 1/8 oranlarında ilaç yüklenmiş ve orijinal NS'lerin karşılaştırmalı FTIR spektrumları	40
Şekil 4.8	25 °C, 35 °C, 45 °C sıcaklıkta ilaç yüklenmiş ve orijinal NS'lerin karşılaştırmalı FTIR spektrumları	43
Şekil 4.9	200 rpm ve 300 rpm karıştırma hızında ilaç yüklenmiş ve orijinal NS'lerin karşılaştırmalı FTIR spektrumları	45
Şekil E1	KP kalibrasyon eğrisi	51

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>	
Çizelge 2.1	İlaç taşıyıcı sistemlerin kullanımları	5
Çizelge 2.2	Siklodekstrinlerin özellikleri	10
Çizelge 2.3	CD'lerin farklı sıcaklıklarda suda çözünürlük değerleri	11
Çizelge 2.4	PMDA'nın fiziksel ve kimyasal özellikleri	19
Çizelge 2.5	Başlıca NSAİİ'ler	21
Çizelge 4.1	Yükleme verimlerinin, yükleme oranları ve yükleme süresi ile değişimi	38
Çizelge 4.2	Farklı oranlarda ilaç yüklü NS ve KP'nin Z_{ort} ve ZP değerlerinin yüklemeye öncesi ve sonrası değişimi	40
Çizelge 4.3	Yükleme verimlerinin, sıcaklık ve yüklemeye süresi ile değişimi	42
Çizelge 4.4	Yükleme verimlerinin, karıştırma hızı ve yüklemeye süresi ile değişimi	44
Çizelge 5.1	NS sentezi için en uygun koşullar	46
Çizelge 5.2	En yüksek KP yüklemeye verimi elde edilen koşullar	47

SİMGELER DİZİNİ

C_o	Başlangıçtaki KP derişimi (g/L)
C_s	Yükleme işlemi sonrasında sıvı fazda kalan KP derişimi (g/L)
C_Y	NS'deki yüklenen ilaç NAP derişimi (g/L)
D	Difüzyon katsayısı (cm^2sn^{-1})
k_B	Boltzmann sabiti ($1.38 \times 10^{-23} J K^{-1}$)
Z_{ort}	Hidrodinamik Boyut (nm)
ϵ	Ortamin dielektrik sabiti (Farad m^{-1})
ζ	Zeta potansiyeli (mV)
η	Ortamin viskozitesi (0.8872 cP)
κ	Elektriksel çift tabaka kalınlığının tersi
μ	Elektroforetik hareketlilik ($8.854 \times 10^{-12} F m^{-1}$)

KISALTMALAR DİZİNİ

CD	Siklodekstrin
CDI	Karbonil diimidazol
CDNS	Siklodekstrin bazlı nanosünger
COX	Siklooksijenaz
DMDC	Dimetil karbonat
DMSO	Dimetil sülfoksit
DMF	Dimetil formamid
DPC	Difenil karbonat
FTIR	Fourier dönüşümlü infrared
KP	Ketoprofen
NS	Nanosünger
NSAİİ	Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaç
PMDA	Piomellitik dianhidrit
TEA	Trietil amin
UHPLC	Ultra yüksek performans sıvı kromatografi
ZP	Zeta potansiyeli
α-CD	Alfa-siklodekstrin
β-CD	Beta-siklodekstrin
γ-CD	Gama-siklodekstrin

1. GİRİŞ

Yeni ilaç adaylarının suda yeterince çözünmemesi, beklenen tesiri gösterememesi ve toksisitesi ilaç geliştirmede her zaman en büyük darboğazları oluşturmuştur. Biyofarmasötik sınıflandırma sistemine göre, günümüzde piyasaya sürülen ilaçların %40'ı ve yeni ilaç adaylarının neredeyse %90'ı fizyolojik sıvılarda, terapötik konsantrasyonlara erişebilecek seviyede yeterince suda çözünmemektedir [1].

Bir ilacın sudaki çözünürlüğü genellikle onun klinik uygulamalarını sınırlayan ana faktörü oluşturmuştur. Bu nedenle yeni stratejiler geliştirirken uzmanlar, daima ilacın sudaki çözünürlüğünü ve aktif bileşenlerin salınım kinetiğini artırma üzerine çalışmalar yapmayı tercih etmişlerdir [2].

CD'ler siklik glukopiranozlar sınıfına dahildir ve hidrolize nişasta üzerine uygulanan enzimatik reaksiyonlar sayesinde sentezlenirler. Yaygın olarak kullanılan doğal CD'ler sırasıyla 6, 7 ve 8 glukopiranoz birim içeren α , β ve γ - CD'lerdir [3]. İlaç taşıyıcı olarak oldukça yaygın bir kullanım alanına sahip olan CD'ler, hidrofilik boşluklarına kovalent olmayan etkileşimlerle geniş ölçüde misafir molekülü hapsedebilen dikkat çekici biyomalzemelerdir. Kompleks oluşturma yeteneği, ev sahibi molekülün polaritesi ve büyüklüğüne bağlıdır. Bu önemli davranış, CD'lerin ilaç ve biyomedikal alanlarda geniş ölçüde kullanılmasını sağlamaktadır[4].

NS'ler CD'lerin karbonil, dianhidrit ya da dikarboksilat bileşikleriyle ile çapraz bağlanmasıyla oluşturulan küresel yapıdaki katı partiküllerdir [5]. Ancak birkaç nanometre genişliğindeki kavitelere sahip olan mikroskobik partiküllerin meydana getirdiği NS'ler sulu ortamlarda transfer edilebilen birçok bileşiğin enkapsülasyonunu sağlamak üzere geliştirilmiştir. İlaç taşıyıcı olarak CDNS'ler, sudaki çözünürlüğü düşük olan ilaçların biyoyoumluluğunu ve terapötik faydalarını artırmak üzere son yıllarda yaygın bir şekilde kullanılmıştır. CDNS'ler farklı tiplerdeki CD'lerin PMDA, karbonildiimidazol (CDI), dimetil karbonat (DMDC) vb. çapraz bağlayıcılarla tepkimeye sokulmasından elde edilen hiper çapraz bağlı yapılardır. Sıklıkla hidrofobik ilaç moleküllerinin salım süresini uzatmak ve çözünürlük verimini artırmak üzere

kullanılan CDNS'ler, ilaç molekülleriyle inklüzyon veya inklüzyon olmayan kompleksler oluşturabilir [6].

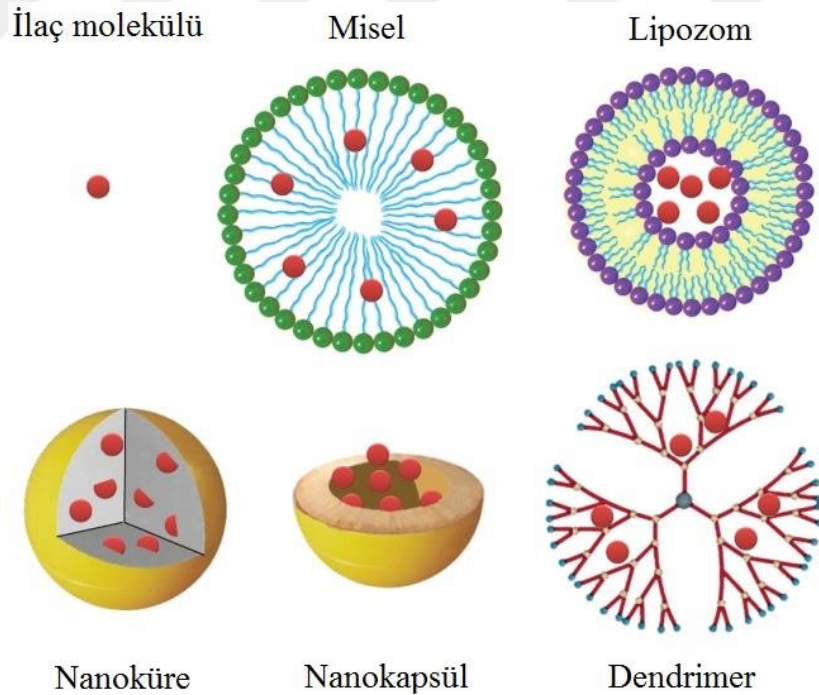
KP vücutta ateş, ağrı ve iltihapla mücadelede kullanılan non-steroidalanti-inflamatuvar bir ilaçtır. Beyaz veya kırık beyaz renkte kokusuz bir kimyasal olan KP, etanol, kloroform, aseton ve eter gibi çözücülerde kolaylıkla çözünmekte ancak sudaki çözünürlüğü (22 °C'de 51 mg/L) çok düşüktür [7].

Bu yüksek lisans tez projesinin amacı farmasötik kullanım için ilaç taşıyıcısı olarak PMDA çapraz bağlı β CD-NS sentezlemek ve NS-KP inklüzyon komplekslerini oluşturarak sudaki çözünürlüğü düşük olan KP'nin çözünürlüğünü artırmaktır. Bu amaç doğrultusunda NS sentezi üzerine katalizör TEA etkisi, β -CD/PMDA mol oranı etkisi, reaksiyon süresi ve kurutma süresi etkileri incelenmiştir. Ayrıca KP inklüzyon kompleksi oluşumuna NS/KP (w/w) yükleme oranı, yükleme sıcaklığı ve karıştırma hızı etkileri incelenmiş her bir koşuldaki yükleme verimleri ultra yüksek performans sıvı kromatografi (UHPLC) cihazı ile belirlenmiştir. Sentezlenen NS'lerin kimyasal yapıları Fourier dönüşümlü infrared (FTIR) spektrofotometresi ile belirlenirken, ortalama hidrodinamik çap (Z_{ort}) ve zeta potansiyeli (ZP) değerleri Zetasizer cihazında belirlenmiştir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1 İlaç Taşıyıcı Sistemler

İlaç taşıyıcı sistemler “bir bileşenin bir diğer kimyasal ile bir ilaç uygulama cihazıyla veya ilaç uygulama zamanı ile salım hızını, dokulara salımını veya her ikisini de kontrol eden sistemler” olarak tanımlanırlar. Konvansiyonel ürünlerin veya yeni moleküllerin güvenlik ve etkinliğini artırmak için, istenmeyen yan etkileri azaltıp, biyoyararını ve terapötik indeksi artırarak daha iyi bir hasta uyumu elde etmek, ilaç taşıyıcı sistemler üzerinde çalışmaların yapılmasının en önemli sebeplerindedir. Günümüzde pek çok yeni ilaç taşıyıcı sistem geliştirilmiştir. Lipozomlar, niozomlar, miseller, mikrokapsüller, mikroküreler, nanoküreler, lipit nanopartiküller, mikrosüngerler ve nanosüngerler üzerlerinde en fazla çalışma yapılan ilaç taşıyıcı sistemler arasında yer almaktadır [8, 9]. Günümüzde yaygın olarak kullanılan bazı ilaç taşıyıcı sistemlerin ilaç molekülleri ile etkileşimleri Şekil 2.1’de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.1 İlaç taşıyıcı sistemlerin ilaç molekülleri ile etkileşimleri.

İlaç taşıyıcı sistemler, partikül boyutlarına göre değişik doku veya organları hedef almaktadır. Bu sayede yan etki ve istenmeyen reaksiyonların azaltılması kolaylaşmaktadır. Ancak ilaç hedeflendirmede bazen etki yetersizliği, bazen hedef bölgeye geçişin istenilen seviyede olmaması, bazen de reseptör bölge ile zayıf etkileşimlerden dolayı bazı problemler ortaya çıkmaktadır. Çizelge 2.1’de ilaç taşıyıcı sistemlerinde partikül büyüklüğünün, hedef bölge ile etkin madde arasındaki spesifik etkileşimlerde doğrudan etkili olduğu gösterilmiştir [10].



Çizelge 2.1 İlaç taşıyıcı sistemlerin kullanımları [10]

Hedef bölge / Amaç	Hastalık / Tedavi (Partikül boyutu)
Farklı kompartmanlara direkt verilmiş (0.005 — 100 µm)	
Göz	Enfeksiyon
Akciğer	Allerji
Eklemler	Artrit
Gastrointestinal kanal	Crohn hastalığı
Lezyon içi	Tümör
İdrar kesesi	Enfeksiyon
Beyin ventrikülleri	Enfeksiyon
Dokular arasında sübkütan verilmiş (0.005 — 100µm)	
Lenf nodülleri	Bazı kanserler
Dokulararası intramüsküler verilmiş (0.005 — 100 µm)	
Depo	Anestezikler, proteinler
İntravasküler hedefler (0.1 — 1 µm)	
Hastalanmış makrofajlar	Parazitler, fungal, viral ve enzim depolanmasına ait hastalıklar, otoimmün hastalıklar, gen terapisi
Diğer kan hücreleri	Kanserler, plateletler, gen terapisi (Kemik iliği eritroblastları) İmmün hücreler (aşılama/ adjuvant), antivirüsler
Dolaşan depo ilaçlar	Anti enfektifler, antilösemiler, antitrombositler, antiviraller, polipeptitler ve proteinlerin salımı
İntravasküler (> 10 µm)	
Kapiller filtrasyon	Kanser, trombus, lokal endotelde ilaçların rolü
Ekstravasküler hedefler (0.1 — 1 µm)	
Makrofaj aktivasyon	Anormal hücreler (örneğin kanserli ve viral enfeksiyonlu hücreler)
Devamlılığı bozulmuş veya zedelenmiş endotele doğru geçiş	Romatoid artrit, malign hipertansiyon, miyokardial enfarktüs, transluminal anjioplasti

Son yıllarda yapılan ilaç araştırmalarında, tanımlanan yeni ilaç adaylarının suda çözünlüklerinin çok düşük olduğu görölmektedir. İlaçların suda çözünlüğünün düşük olması bu araştırmalar esnasında bazı sorunları da beraberinde getirmektedir. Çözünme derecesi ilaç için çok önemli bir belirleyicidir. Çünkü oral kullanımlarda bu ilaçların absorplanması sınırlı olacağından için biyoyararı da nispeten düşecektir. Bu sorunu çözmek için doz artırımı yapıldığında ise damarda mevcut tedavi derişimi elde edilmiş olmasına rağmen mide ve bağırsak için toksik bir etki gösterebilmektedir [11].

Günümüzde gelişen teknolojiyle beraber çeşitli tekniklerle üretilen ilaç taşıyıcı sistemlerin sayısı her geçen gün artmaktadır. Daha önceleri mikro boyutta üretilmekte olan bu sistemler son yıllarda nano boyutlarda geliştirilmeye başlanmıştır. Nano ilaç taşıyıcı sistemlerin faydalarının ortaya çıkması ile beraber bu yapıların üretilmesi ve geliştirilmesi çalışmaları giderek hız kazanmıştır [12].

2.2 Nanoteknoloji Bazlı İlaç Taşıyıcı Sistemler

“Nano” kelimesi Yunancadan ve Latince “nannos” kelimesinden alınmış bir sözcüktür ve küçük, yaşlı adam, cüce anlamlarına gelmektedir. Ayrıca kısaltma olarak bir birimin milyarda biri olarak kullanılır. Buna göre nano, metrik sistemin içinde bir metrenin milyarda biri veya bir milimetrenin milyonda biridir. Nanoteknoloji terimi ise 29 Aralık 1959’da Amerikan Fizik Derneği’nde Richard Feynman’ın “Aşağıda Daha Çok Yer Var” adlı konuşmasında nanoteknolojide yapılabilecek teknolojilere değinmesi, nanoteknolojinin başlangıcı kabul edilmektedir [13]. Ancak Nanoteknoloji terimi ilk kez 1974 yılında Norio Taniguchi tarafından “Temel Nano-Teknoloji Konseptleri” adlı makalede dile getirilmiştir. Bu makalede Taniguchi nanoteknolojiyi: “Atom, atom ya da molekül molekül ayırma, birleştirme, bozma süreci” olarak tanımlamaktadır [14].

Partikül boyutları 10-1000 nm arasında değişen, çözünmüş, hapsedilmiş veya adsorbe haldeki etkin maddeyi kontrollü olarak açığa çıkaran, doğal ya da sentetik yapıdaki polimerlerle hazırlanan katı kolloidal polimerik partiküler sistemlere “nanopartiküller” denilmektedir. Nanopartiküller sahip oldukları çeşitli avantajlar ile diğer taşıyıcı sistemlerden ayrılmaktadırlar. Bunlar;

- Polimerik partiküler yapı katı matriks içine hapsedilmiş etkin maddeyi degradasyondan koruyarak etkin maddenin hedef dokuya ulaşma olasılığı artırır.
- Nanopartiküllerin polimerik yapıları etkin maddenin hedeflendirilmesini, salımının kontrolünü ve sürdürülmesini temin eder. Hedeflenen bölgede uygulandıktan sonra günler, hatta haftalar süren bir etkin madde salımına imkan verirler.
- Diğer koloidal taşıyıcı sistemlerle kıyaslandıklarında polimerik nanopartiküller biyolojik sıvılarda çok daha yüksek stabiliteye sahiptirler.
- Nanopartiküller kolaylıkla sterilize edilebilen koloidal partiküllerdir.
- 10-1000 nm'lik küçük partikül boyutları, nanopartiküllerin tümöral hücre içine penetrasyonuna imkan verir ve hücreler tarafından tutulmalarını sağlar. Böylece, vücutta etki etkmesi hedeflenen bölgede istenen etkin madde salımını gerçekleştirirler.
- Taşıdıkları etkin maddenin hedef bölgede salımına imkan sağladıkları için etkin maddenin sistemik toksisitesini düşürürler.
- Etkin maddenin vücuttaki dağılımını ve terapötik etkinliğini düzenlerler.
- Üretim teknikleri genellikle basit ve kolaydır [15].

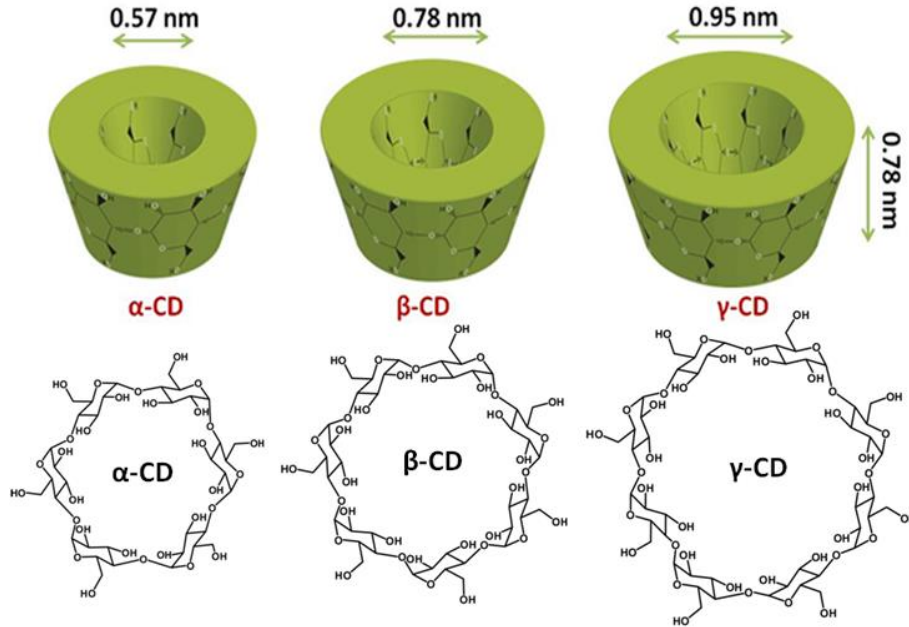
2.3 Siklodekstrinler

Siklodekstrinler ile ilgili ilk belge 1891'de Villiers tarafından yayımlanmıştır. Villiers, Bacillus amylobacter ile 1000 g nişastadan 3 g kristalize madde sentezlemiş, bileşimini $(C_6H_{10}O_5)_2 \cdot 3H_2O$ olarak belirleyerek bu maddeye selülozin adını vermiştir. Bundan 12 yıl sonra gıda proseslerinde canlı kalan ve gıda zehirlenmesine sebep olan bakteri türleri üzerine sıklıkla çalışma yapan Schardinger, nişastayı parçalayarak düşük miktarda iki farklı kristalize ürün oluşumuna sebep olan mikroorganizmalarla ilgili bir rapor yayımlamıştır. Schardinger kristalize dekstrinler üzerine çalışmalarına devam etmiş ve bu maddelerin iyot veya iyot çözeltisi eklenmesi ile karakteristik iyot bileşikleri oluşturduklarını gözlemlemiştir. Tüm bu çalışmaların sonucunda meydana gelen ana bileşiğe α -dekstrin adını vermiştir. α ve β -dekstrin arasındaki fark ise iyot reaksiyonu olmuştur. İnce katman halinde kristalize α -dekstrin/iyot kompleksi yaşken

mavi, kuruyken gri-yeşil renkte, β -dekstrin/iyot kompleksi ise yaşken de kuruyken de kırmızı-kahverengimsi renkte gözlemlenmiştir. Bu nedenle siklodekstrin kimyasının esası Schardinger ile başlamıştır denilebilir.

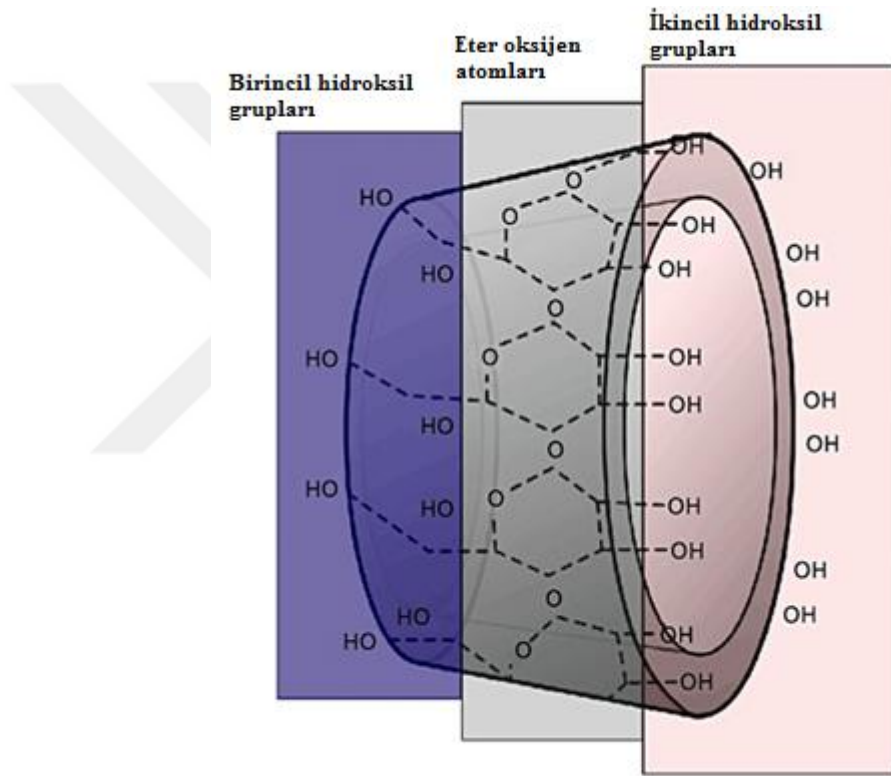
1930’larda Freudenberg ve arkadaşları, Schardinger’in bulunduğu dekstrinlerin maltoz üniteleri ve α -1,4 glikozit bağlarından oluştuğu sonucuna varmışlardır. Bu maddelerin homojen ve saf halde izolasyonu için ilk düzeneği oluşturmuşlar ve 1936’da kristalize dekstrinlerin siklik yapılarını belirlemişlerdir. 1948-1950 yılları arasında γ -siklodekstrin keşfedilerek yapısı açıklanmıştır [16].

CD’ler, nişasta ve türevlerinin siklodekstrin glikoziltransferaz enzimi ile parçalanmasıyla sentezlenen α (1-4) glikozidik bağlı, indirgen olmayan, siklik maltooligosakkaritlerdir. Bunlar aynı zamanda, sikloamilozlar, siklomaltozlar ve Schardinger dekstrinleri olarak da isimlendirilmektedirler. 6-12 glikoz ünitesinden oluşan CD’lerin varlığı bilinmektedir, ancak bunlardan sadece α , β ve γ -CD olarak isimlendirilen, sırası ile 6, 7 ve 8 glikoz ünitelerinden oluşan CD’ler endüstriyel olarak üretilmekte ve kullanılmaktadır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 α , β ve γ -siklodekstrinlerin kimyasal yapısı.

Yapısındaki glikopiranoz ünitelerinin sandalye formunda olmasından dolayı CD'lerin 3 boyutlu yapılarının konik silindir biçiminde olduğu belirlenmiştir (Şekil 2.3) [17]. Sandalye formu ile bütün hidroksil grupları molekülün yüzeyinde toplanmıştır. Bunlarda sekonder hidroksil grupları (C2 ve C3) halkanın geniş kenarında, primer hidroksil (C6) grupları ise diğer kenarda bulunmaktadır. Bu özellik CD'lerin suda çözünmesini (hidrofilik) sağlamaktadır [18]. Kavitenin iç kısmında ise C3 ve C5 hidrojen atomları ile glikozidik oksijen köprüleri bulunmakta ve böylece kaviteye hidrofobik (apolar) bir özellik kazandırmaktadır [19].



Şekil 2.3 β -CD üç boyutlu yapısı [20].

CD molekülünde bir glikopiranoz ünitesinin C-2 hidroksil grupları bitişiğindeki C-3 hidroksil grupları ile hidrojen bağları oluşturabildiği ve bu hidrojen bağları ile molekülde sekonder bir hidrojen kemerinin oluştuğu ve bunun da β -CD'e oldukça sağlam bir yapı kazandırdığı belirtilmiştir. β -CD'nin çözünürlüğünün düşük olmasının bu molekül içi hidrojen bağlarından kaynaklanabileceği bildirilmiştir. Bu hidrojen bağları β -CD'nin ortamda bulunan su molekülleri ile hidrojen bağı oluşturabilme

yeteneğini azaltmaktadır. Bu özelliğinden dolayı β -CD sulu çözeltide kolaylıkla çöktürülüp ayrılabilir ve CD'ler içinde en ucuz, en çok bulunan ve en çok kullanılan CD'dir. α , β ve γ -CD'lerin genel özellikleri aşağıdaki Çizelge 2.2'de ayrıntılı bir şekilde verilmiştir [21].

Çizelge 2.2 Siklodekstrinlerin özellikleri [22]

Özellik	α-CD	β-CD	γ-CD
<i>Glikoz ünitesi sayısı</i>	6	7	8
<i>Molekül ağırlığı (g/mol)</i>	972	1135	1297
<i>25 °C'de Suda çözünürlük (% w/v)</i>	14.5	1.85	23.2
<i>Dış çap (Å)</i>	14.6	15.4	17.5
<i>Kavite çapı (Å)</i>	4.7-5.3	6.0-6.5	7.5-8.3
<i>Yüksekliği (Å)</i>	7.9	7.9	7.9
<i>Kavite hacmi (Å³)</i>	174	262	427

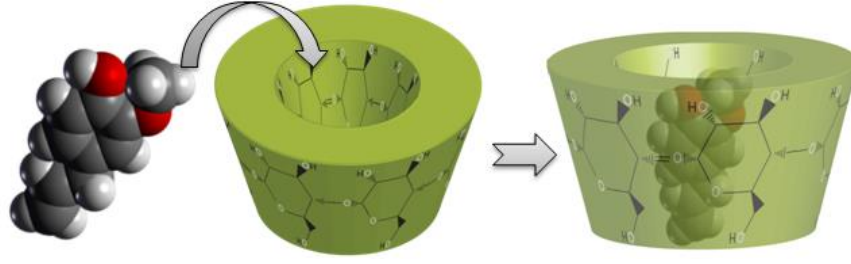
CD uygulamalarında çözünürlük çok önemli bir etkidir. Tüm CD'ler için 50 °C'deki çözünürlük değerleri 20 °C'deki çözünürlük değerlerinden yaklaşık olarak 3 kat daha fazladır. CD'lerin ve CD türevlerinin çözünürlüğü, sıcaklıkla beraber değişiklik göstermektedir. Saf CD'lerin çözünürlüğü sıcaklıkla artarken, metillenmiş CD'nin çözünürlüğü sıcaklık artışı ile azalmaktadır. Çizelge 2.3'te bazı sıcaklık değerlerinde α , β ve γ -CD'lerin farklı çözünürlük değerleri gösterilmiştir [23].

Çizelge 2.3 CD'lerin farklı sıcaklıklarda suda çözünürlük değerleri [24]

Sıcaklık (°C)	Çözünürlük (mg/mL su)		
	<i>α-CD</i>	<i>β-CD</i>	<i>γ-CD</i>
20	90	16,4	185
30	165	22,8	320
40	242	34,9	460
50	347	52,7	651

CD'ler suda çözünebilirken, CD kompleksleri oldukça kararlı olup, sulu çözeltilerde çözünürlükleri hızla azalmakta ve böylece kristalizasyonla ortamdan kolaylıkla ayrılmaktadırlar. Alifatik bileşenler, heterosiklik bileşenler, konjuge bileşenler ve fenil türevleri gibi çok çeşitli organik bileşenler CD'ler ile kompleks oluşturabilirler. CD'lerin kavite yükseklikleri aynı olduğu için glikoz ünitesi sayısı sadece kavitenin çapını ve hacmini belirlemektedir. Kavite çapındaki farklılıklardan dolayı α -CD'ler düşük moleküllü veya alifatik yan zincirli bileşiklerle, β -CD'ler aromatik ve heterosiklik bileşiklerle, γ -CD'ler ise makrosiklik ve steroidler gibi daha büyük moleküllerle kompleks oluşturabilmektedirler. Konuk moleküller siklodekstrinlerle inklüzyon kompleksi oluşturduğunda, konuk molekül konakçı kavitesinde geçici olarak hapsedildiği için molekülün fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinde önemli değişiklikler oluşur [25].

İnküzyon kompleksleri, CD molekülünün içindeki boşluğun başka bir molekül tarafından doldurulmasıyla meydana gelmektedir. CD kavitesi arttıkça apolar kavitede tutlabilecek su molekülü miktarı da artmaktadır. İnküzyon kompleksi oluşumu sırasında ise su molekülleri kavitelere geçmektedir. Şekil 2.4'te inklüzyon kompleksi oluşumu şematik olarak gösterilmiştir [24].



Şekil 2.4 CD inklüzyon kompleksi oluşumu.

CD'ler organik ya da inorganik bileşenler, nötr ya da iyonik moleküller ve soygazları da içeren geniş bir aralıktaki konakçı molekül ile inklüzyon kompleksi oluşturabilme yeteneğine sahiptirler. Ancak konakçı molekülün, kavite içerisine sığacak boyutta olması şarttır. Kompleks yapının meydana gelmesinde yürütücü kuvvetler; konakçı molekülün hidrofobik parçası ile CD kavitesi arasında oluşan van der Waals etkileşimleri ve konakçı molekülün polar fonksiyonel grupları ile CD'nin hidroksil grupları arasında oluşan hidrojen bağlarıdır. Kompleks oluşumu sırasında su moleküllerine kaviteden yüksek enerji geçişi olmaktadır. Hidrojen bağlanmasının rolü ise çok kayda değer değildir [26].

CD'lerin katı, sıvı veya gaz formdaki bileşiklerle katı inklüzyon kompleksi oluşturabilme yeteneklerini etkileyen faktörler arasında ilk sırayı çözelti dinamiği almaktadır. Kristal formdaki CD'lerin sadece yüzey molekülleri inklüzyon kompleksi oluşturmaya uygunken, çözelti haline geldiklerinde ise daha fazla CD molekülü kompleks oluşturabilmektedir. Isıtma işlemi hem CD'lerin, hem de konakçı molekülün çözünürlüğünü artırarak kompleks oluşma olasılığını artırırken, konakçı molekül çözünür formdaysa veya ince partiküller halinde disperse olmuşsa kompleks oluşumu daha hızlı gerçekleşebilmektedir.

Sıcaklık kompleks oluşumunu etkileyen ikinci faktör olarak sayılabilir ve inklüzyon kompleksinin çözünürlüğünü artırırken stabilitesini düşürür. Bundan dolayı sıcaklık etkisinin dengelenmesi gerekmektedir. Kompleksin sıcaklığa karşı dayanımı, konakçı moleküle bağlı olarak değişiklik gösterir. Genellikle inklüzyon kompleksleri 50-60 °C'de parçalanmaya başlarken, konakçı molekülün güçlü bağlar yaptığı kompleksler

veya çözünürlüğü düşük olan kompleksler daha yüksek sıcaklıklarda parçalanmaktadırlar.

Kompleks oluşumunda çözücü kullanımı da önemli faktörlerden biridir. Ne kadar çok çözünmüş CD molekülü varsa o kadar çok molekül kompleks oluşturabilir. Eğer çözücü içermeyen kompleksler oluşturmak isteniyorsa kolay uzaklaştırılabilir çözücüler kullanılmalıdır. Kompleksleşme tepkimelerinde en yaygın kullanılan çözücü sudur. Eğer konakçı molekül suda çözünmüyorsa, o zaman organik çözücü kullanmak gerekebilmektedir. Ancak kullanılan bu çözücü CD ile kompleks oluşturmamalı ve buharlaşma ile kolaylıkla uzaklaştırılabilmelidir.

İnklüzyon kompleksi oluşumunda suyun etkisi de önemlidir. Su, CD'lerin ve konuk molekülün çözünürlüğünü artırarak kompleks oluşumunu kolaylaştırmaktadır. Ancak su miktarı aşırı derecede artırılırsa çözelti, CD molekülleri ile konuk moleküllerin birbirleriyle temas etmesini zorlaştıracak kadar seyreltilmiş olabilir. Su miktarının doğru ayarlanması bu açıdan önemlidir ve mümkün olduğunca düşük tutulmalıdır [27].

2.4 Siklodekstrin Bazlı Nanosüngerler

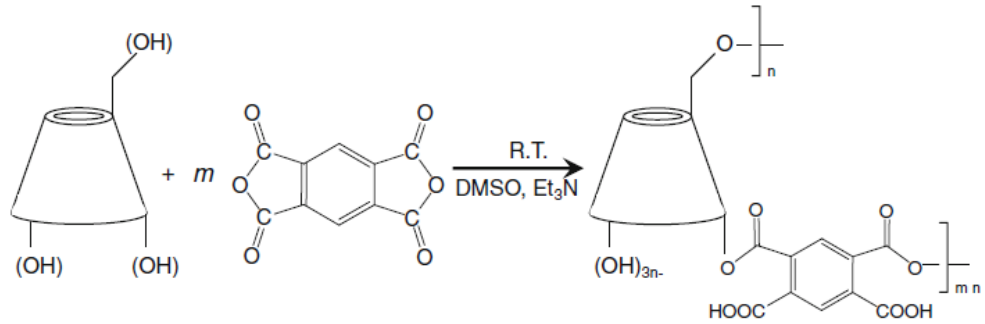
CDNS'ler temel olarak uzun polimer yapıda üç boyutlu ya da iskelet yapıdadırlar. Çapraz bağlayıcı denilen ajanlar yardımıyla polimer parçaları birbirine bağlanmaktadır. Bu yapının en göze çarpan etkisi, küresel formdaki partikülleri yapısında meydana gelen kaviteelerde hapsedebilmesidir. Bu yapı biyoyumlu ve vücut içerisinde düzenli bir şekilde dağılabilmektedir [23].

CDNS'ler henüz yakın bir zamandan itibaren ilaç taşıyıcı olarak kullanılmaya başlamıştır. Suda az çözünen ilaçların biyoyumluluğunu artırması ve terapötik etkilerini geliştirilmesi CDNS'lerin en önemli özelliklerinin başında gelmektedir [28]. CDNS'ler farklı tiplerdeki CD'lerin PMA, CDI, DMDC, epiklorhidrin (EPI) vb. çapraz bağlayıcılarla tepkimeye sokulmasından elde edilen hiper çapraz bağlı yapılarıdır [29, 30]. Çoğunlukla hidrofobik ilaç moleküllerinin salım süresini uzatmak ve çözünürlük verimini artırmak üzere kullanılan CDNS'ler, ilaç molekülleriyle inklüzyon veya inklüzyon olmayan kompleksler oluşturabilir [30].

NS'ler genellikle suda çözünebilmektedir fakat bu, moleküllerin suda kimyasal olarak parçalandığı anlamına gelmez. Bunun anlamı şudur: NS partikülleri suya karışır ve onu bir taşıma sıvısı olarak kullanır. Kimyasal bağlayıcılar nanosüngerleri hedef bölgeye yönlendirebilirler. NS'ler biyolojik olarak bozunabilen protein ve enzimleri korur ve değişik rotalarda hareket etmelerine olanak verir. Diğer birçok nano ilaç taşıyıcı sistem ise yalnızca çok fazla yan etkiye sahip çeşitli kimyasallar içerisinde kullanılabilir.

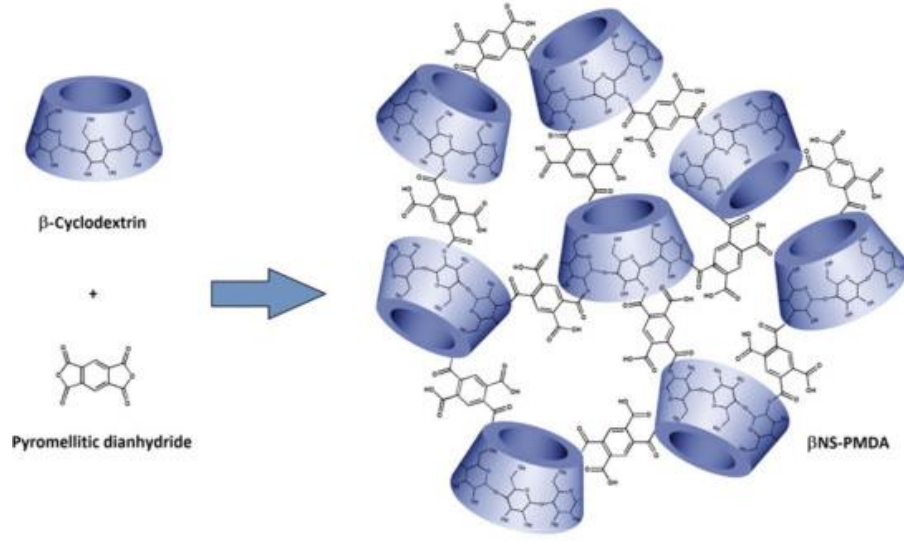
Birçok araştırmacı NS'leri farklı şekillerde ve geometrilere tanımlamaktadır. NS'nin verimi, onun partikül boyutuna doğrudan olarak bağlıdır. NS'lerin partikül boyutu ise üretim metodlarına göre çeşitlilik göstermektedir. Daha önceleri NS'lerin boyutu ile ilgili 150-400 nm aralığında olabilecekleri düşünülürken; bilim adamlarının son yıllarda geliştirdiği tekniklerle bu rakam 50 nm'ye kadar düşürülmüştür [32].

Suda çözünür formda hidrofilik NS'lerin sentezlenmesi, β -CD ile PMDA'nın polikondenzasyon tepkimesi sonucu gerçekleşmektedir (Şekil 2.5). Çapraz bağlayıcı olarak PMDA'nın kullanımıyla elde edilen bazı NS'ler suda aşırı derecede şişerek jel halini alabilir [34].



Şekil 2.5 β -CD ile PMDA'nın polikondenzasyon tepkimesi şematik gösterimi [33].

Şekil 2.6'da tepkime sonucu oluşan NS'nin üç boyutlu ağ yapısı şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.6 PMDA çapraz bağlı NS şematik gösterimi [31].

NS'ler diğer nanopartiküllerle kıyaslandığında suda ve birçok organik çözücüde çözünebilirler. Gözenek açısından oldukça zengindir ve daha çok molekül taşıyabilirler. 300 °C'ye kadar yapısını korur ve stabil özellik gösterirler. Vücutta toksik etki göstermezler. Değişik tedaviler için yeniden düzenlenebilir, sıcak inert gazlar ile soyulabilir ve pH ayarlamaları yapılabilir. Bu özellikler NS'lerin kozmetik ve paramedikal uygulamalarda kullanılabilmesine imkan sağlamaktadır [26].

İlaç taşıyıcı sistemler olarak CDNS'ler şu avantajları sunmaktadır:

- Hedeflenen ilaç taşıyıcı sistemlerde kontrollü bir şekilde kullanılabilirler.
- Geliştirilen diğer nano ilaç taşıyıcı sistemlere kıyasla daha öngörülebilir bir ilaç salım profili sunarlar.
- Hidrofobik ilaçlar için de kullanılabilirler.
- Suda çözünmeyen ilaçların çözünürlüğünü yüksek derecede artırabilirler.
- Kolay ve basit şekilde hazırlanabilirler.
- Vücutta iltihap oluşturmaz, allerji yapmaz, mutajen ve zehirli değildirler.
- 1-11 pH aralığında ve 130 °C'ye kadar bozunmazlar.
- Gözenek çapları bakteri boyutundan küçük olduğu için kendiliğinden sterildirler [32, 23].

NS'lerin farklı üretim yöntemleri bulunmaktadır. Bunlar:

- ***Emülsiyon çözücü difüzyonu yöntemi***

NS'ler etil selüloz ve polivinil alkolün farklı oranlarında hazırlanabilir. Disperse faz diklorometan içinde çözülmüş etil selüloz ve ilaç içerir. Polivinil alkolün sulu çözeltisi ile karıştırılır. Böylece NS'ler meydana gelir ve filtrasyon yöntemi ile toplanarak kurutulur. Çözücünün ayrılması için vakum desikatöründe bekletilir.

- ***Hiper çapraz bağlı CD'lerden oluşturulan NS'ler***

Farklı türlerde CD'lerin karbonil ya da karboksilat grubu çapraz bağlayıcılar ile bağlanmasıyla elde edilirler. Hazırlanma aşamasında ilaç yükleme kapasitesini arttırmak ve istenilen salım profilini elde edebilmek için çapraz bağlayıcı miktarı ayarlanabilir. Kısaca hazırlanma şekli; dimetil sülfoksit (DMSO) üzerine kuru β -CD eklenir. Tamamen çözüldükten sonra PMDA eklenir ve tepkime tamamlandıktan sonra etanol ile Soxhlet ekstraksiyonu yapılarak reaksiyona girmeyen CD ve PMDA kalıntıları temizlenir. Elde edilen NS'ler kurutulur. Beyaz toz formdaki NS'ler ilaç yükleme için hazır olur.

- ***Çözücü metodu***

Bu yöntemde dimetilformamid (DMF) ya da DMSO gibi polar bir çözücü ile CD'ler karıştırılır ve çapraz bağlayıcı ilave edilir. Düşük sıcaklıkta tepkime gerçekleştirilir ve elde edilen NS'ler vakum altında toplanarak etanol ile Soxhlet ekstraksiyonu yapılır. Vakum altında kurutulan NS'ler homojen bir toz şeklinde elde edilirler.

- ***Ultrases yardımlı sentez***

NS'ler çözücü bulunmayan ortamlarda, sonikasyon altında da oluşturulabilirler. Elde edilen NS'ler 5 mikrometreden küçük ve uniform yapıdadır. Bu yöntemde difenil karbonat (DPC) ya da PMDA çapraz bağlayıcı olarak kullanılır. Susuz CD ile DPC reaksiyonu sonucunda katı NS kabın dibinde birikir ve etanol ile Soxhlet ekstraksiyonu yapılarak reaksiyona girmemiş DPC temizlenir. NS'ler kullanılana kadar 25 °C sıcaklıkta saklanır [23].

2.4.1 Nanosüngerler ile ilgili literatür çalışmaları

Liang vd. (2012) oda sıcaklığındaki TEA içeren DMSO çözeltisi içerisinde β -CD ile PMDA'yı tepkimeye sokarak bir madde üretmişlerdir. Daha sonra bu maddeyi aseton ile Soxhlet ekstraksiyonu ile saflaştırmış, elde edilen çapraz bağlı polimer yapıyı nanogözenekli yapısından ve suda gösterdiği şişme eğiliminden ötürü nanosünger olarak tanımlamışlardır. CD/çapraz bağlayıcı oranının elastik özellikleri ve çapraz bağlanma derecesini tanımlayıcı olarak kullanılabileceğini öne sürmüşler; Raman ve Brillouin saçılması deneyleri ile PMDA/CD oranı arttıkça çapraz bağlanma derecesinin arttığını bulmuşlardır. Ayrıca üretilen CDNS'lerin kıvamının, kullanılan CD tipinden ziyade PMDA/CD oranı ile daha çok ilgili olduğunu bildirmişlerdir [35].

Crupi vd. (2013) PMDA çapraz bağlayıcısı kullanarak β -CD'nin polimerizasyon tepkimesi ile nanosünger üretmişlerdir. Elde ettikleri bu ağ yapıyı β -CD moleküllerindeki hidrofobik kavite ve CD birimleri üzerindeki hidrofilik kanallar ile karakterize etmişlerdir. CDNS'lerin katı halde olduğunu, suda ve diğer birçok organik çözeltide çözünmediğini ve 300 °C'ye kadar kararlı yapısının bozulmadığını belirtmişlerdir. Ancak farklı yöntemlerle ürettikleri bazı NS'lerin sulu çözeltilerde hidrojele benzer bir şişme davranışı gösterdiğini gözlemlemişlerdir [36].

Wajs vd. (2014) β -CD/PMDA = 1/8 mol oranında ve amonyak varlığında tepkime gerçekleştirerek serbest karboksilik gruplar içeren CDNS üretmişlerdir. Daha sonra üretilen bu NS'leri fazla miktarda Anti-IgG antibadi ile tepkimeye sokarak CDNS-Ab biyokonjuge nanosüngerleri elde etmişler ve karakterizasyon çalışmalarını gerçekleştirmişlerdir [37].

Trotta vd. (2014) β -CD ve PMDA'yı tepkimeye sokarak jelleşme eğilimi gösterebilen ve suda çözünebilen aşırı dallanmış bir polimer sentezlemişlerdir. Monomerler arasındaki molar oranın jelleşme prosesine etki eden en önemli etken olduğunu belirtmişlerdir. β -CD/PMDA mol oranının maksimum 1/6 olabileceğini söylemiş, mol oranının bu değer üstünde olduğunda çapraz bağlayıcının CD polimere yalnızca bir taraftan bağlanacağını; böylece NS yapısı üzerindeki dallanmış yapıların artış göstereceğini söylemişlerdir. Ancak yaptıkları bu çalışmada, sınırlı seyreltme koşulları

altında ve yüksek β -CD/PMDA mol oranında (1:12) çalışıldığında sentezlenen polimerin viskozitesinin uzun saatler boyunca değişmediğini; böylece istenilen kararlı bir dallanmış polimerin şekillendirilebileceğini belirtmişlerdir [38].

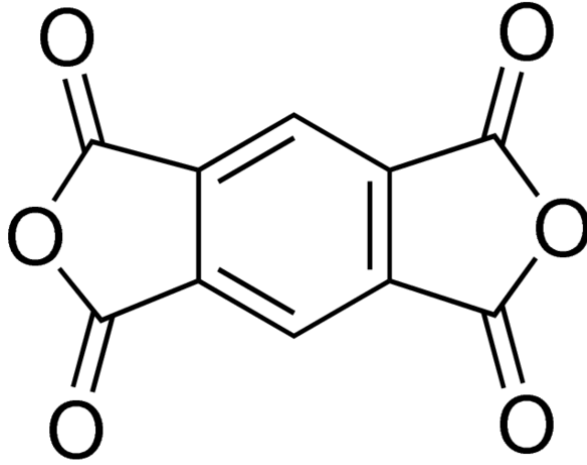
Rossi vd. (2015) β -CD/PMDA = 1/2, 1/4, 1/8 mol oranlarında PMDA çapraz bağlayıcısını DMSO içerisinde 3 h boyunca tepkimeye sokarak ester köprülü CDNS'ler sentezleyerek bu NS'lerin termal stabilitelerini değerlendirmişler; 60 °C'nin üzerinde yüksek sıcaklıklardaki asidik koşullarda malzemenin degradasyon gösterdiğini belirtmişlerdir. NS'lerdeki termal dalgalanma seviyesinin saf β -CD'ye oranla kayda değer bir şekilde geniş olduğunu söylemişlerdir [39].

2.5 Çapraz Bağlayıcı: PMDA

Etkin çapraz bağlayıcılar, moleküler düzeydeki nano boşluğu üç boyutlu nano gözenekli polimerlere çevirirler. CD kafesinin ortamı lipofiliktir ve küçük organik molekülleri hapseder. Ayrıca van der Waals etkileşimlerini optimize eder. Oysa su hidrojen bağları oluşturma eğilimindedir ve hidrofildir. Böylece organik moleküller için afiniteli bir ortam sağlanır [40].

Çapraz bağlanma polimerin kristal yapısına etki ederek kristal yapının değişmesine ve dolayısıyla polimerin özelliklerinin de değişimine sebep olmaktadır [41]. Polimerlerin çapraz bağlanma derecesi, inklüzyon kompleksi oluşturma özelliklerinde değişimler meydana getirmekte ve inklüzyon oluşturma yeteneği, çapraz bağlanma derecesinin artışıyla bir düşüş göstermektedir [42].

CDNS'ler farklı tiplerdeki CD'lerin PMDA, CDI, DMDC, EPI gibi çapraz bağlayıcılarla tepkimeye sokulmasından elde edilmektedir. PMDA, CD bazlı ilaç taşıyıcı NS'lerin sentezinde kullanılan birçok çapraz bağlayıcıdan yalnızca biridir. Beyaz renkte katı bir organik bileşiktir ve kimyasal formülü $C_6H_2(C_2O_3)_2$ ile gösterilir (Şekil 2.7). Genellikle kapton gibi poliimid polimerlerin hazırlanmasında kullanılırlar.



Şekil 2.7 PMDA kimyasal yapısı.

Çapraz bağlayıcı ajan olarak kullanılan PMDA, 1,2,4,5-tetrametilbenzen ya da diğer dört yerleştirmeli benzen türevlerinin gaz-faz oksidasyonu yoluyla elde edilir. PMDA'nın ideal sentez denklemi " $C_6H_2(CH_3)_4 + 6 O_2 \rightarrow C_6H_2(C_2O_3)_2 + 6 H_2O$ " şeklinde gösterilmektedir [43]. PMDA'nın bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 2.4'te sunulmuştur.

Çizelge 2.4 PMDA'nın fiziksel ve kimyasal özellikleri

Formül	$C_{10}H_2O_6$
Molekül ağırlığı (g/mol)	218,12
Erime noktası (°C-L)	283-286
Kaynama noktası (°C-L)	397-400
Parlama noktası (°C-kapalı kap)	380
Fiziksel hali	Katı
Renk	Beyaz
Koku	Yok

2.6 Nonsteroidal Anti-İnflamatuvar İlaçlar

Nonsteroidal anti-inflamatuvar ilaçlar (NSAİİ)'lerin kısa tarihçesine bir göz atıldığında ilk kez 1820'de kolşisin, 1860'da salisilik asitin tanımlandığı ve ilk Aspirin tabletinin 1898'de sentezlendiği görülmektedir. NSAİİ isminin 1949'da ilk kullanımı fenilbutazon'un sentezlenmesi ile eş zamanlıdır. 1971'de bu serüven Dr. John Wyane'in etki mekanizmaları konusunda yaptığı çalışmalar ve ilk siklooksijenaz (COX) emilimini tanımlaması ile yeni bir boyut kazanırken, John Wayne'e de Sir ünvanı ve Nobel yolu açılmıştır. 1976'da ise serüvende yeni bir durak olan prostoglandin endoperoksit sentaz (siklooksijenaz=COX) enzimi elde edilmiş, böylece NSAİİ'nin etki mekanizmaları, yan etkileri ve güvenlik profili üzerine olan çalışmalar hız kazanmıştır. Bu konudaki son gelişme 1990'lı yılları başında COX'in tek bir molekül olmadığı ve birden fazla izomerlerinin farklı işlevlerde olduğunun gösterilmesi olmuş ve böylece klinik çalışmalarda yeni bir boyut kazanmıştır [44].

Uzun süredir kullanımda olan nonsteroidal anti-inflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) muskuloskeletal, romatolojik, onkolojik ve iskemik kalp hastalığı dahil birçok klinik hastalıkta kullanım alanına sahip, anti-inflamatuvar, anti-piretik, aneljezik ve anti-neoplastik etkileri olan ilaçlardır [45]. Başlıca kullanılan NSAİİ'ler Çizelge 2.5'te sunulmuştur.

Çizelge 2.5 Başlıca NSAİİ'ler [46]

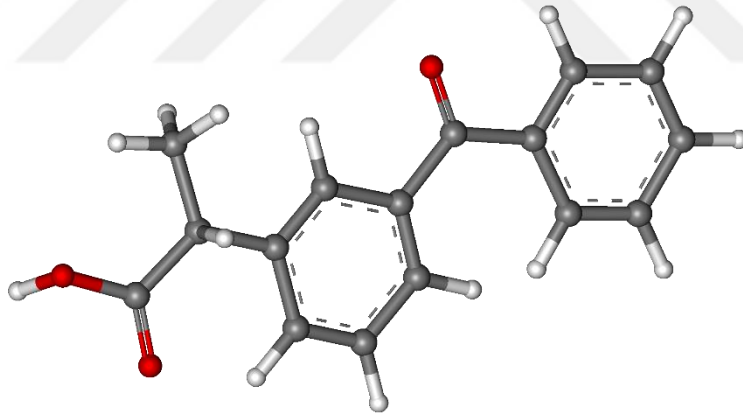
Salisilik Asitler	Propionik Asitler	Asetik Asitler	Fenomatlar	Oksikamlar	Pirazolonlar	Diğer NSAİİ'ler
Asetilsalisilik asit	Fenbufen	Asetmetasin	Entofenamam	Lornoksikam	Azopropazon	Benzidamin
Diflünisal	Fenoprofen	Diklofenak	Mefenamik asit	Piroksikam	Fenilbutazon	Prasetamol
Metilsalisilat	Flurbiprofen	İndometazin	Meklofenamat	Tenoksikam	Metamizol	Prokuazon
Sodyum salsilat	İbuprofen	Ketorolak			Oksifenbutazon	
	Ketoprofen	Naburmeton			Propifenazon	
	Naproksen	Sulindak				
	Oksaprozin	Tolmetin				
	Pranoprofen					
	Tiaprofenik asit					

NSAİİ'lere narkotik olmayan analjezikler veya anti-inflamatuvar analjezikler de denmektedir. Bu ilaçlar çok yaygın olarak kullanılan önemli bir ilaç grubunu teşkil eder. Bu grup analjeziklerin anti-inflamatuvar etkinliği, doğal veya sentetik en güçlü anti-inflamatuvar steroid ilaçlar olan glukokortikoidlerinkine göre daha zayıftır. Analjezik etkinlikleri de, güçlü analjezikler olan fakat anti-inflamatuvar etkisi bulunmayan narkotik analjeziklerinkine göre genellikle daha zayıftır. Ancak ilaç bağımlılığı yapmadıklarından ve uyuşukluk veya bilinç bulanıklığı şeklinde nitelendirilen narkoz hali oluşturmadıklarından ağrılı hastalıkların çoğunda kullanımları tercih edilir. NSAİİ'lerin pek çoğu hem analjezik (ağrı kesici), hem antipiretik (ateş düşürücü), hem de anti-inflamatuvar (iltihap giderici) özellik gösterir. Anti-inflamatuvar etkileri nedeniyle iltihabın dört ana belirtisi olan ağrı, ödem, kızarıklık ve yanma gibi bölgesel semptomları giderebilirler. Genelde çok çeşitli kimyasal yapıda olmakla birlikte, zayıf organik asit yapısında olmaları, terapötik özelliklerinin ve yan etkilerinin benzer olmaları ortak özellikleri olarak sıralanabilir. NSAİİ ilaçlar, hastalığın altında yatan nedeni gidermekten veya hastalığın ilerlemesini durdurmaktan ziyade, semptomatik tedavi sağlarlar [47].

Bu yüksek lisans tez çalışmasında model ilaç olarak seçilen ketoprofen; analjezik, antipiretik ve anti-inflamatuvar aktivite gösteren ilaçların arilasetik asit türevleri grubunun fenilpropiyonik asit/profen sınıfında yer almaktadır.

2.6.1 Ketoprofen

Ketoprofen (2-[3-benzoil fenil] propionik asit), asit yapısında olup analjezik, antipiretik ve antiinflamatuvar etkili ve yan etkisi oldukça az olan bir NSAİİ'dir (Şekil 2.8). Etkisini prostaglandin sentezini durdurarak gösterir. Beyaz, kristal bir toz şeklinde bulunan KP'nin erime sıcaklığı 93-96 °C arasındadır. Etanol, metanol, kloroform, aseton ve eterde çözünürken suda ise çok az bir miktarda çözünebilmektedir. Asidik özelliktedir ve oldukça lipofildir. Seyreltik asit çözeltisi içindeki UV spektrumunda maksimum absorpsiyon dalga boyu 260 nm'dir. IR spektrumundaki karakteristik pikleri ise 1656, 1693, 1284, 714, 690, 1226 cm^{-1} dalga sayılarına sahiptir [48].



Şekil 2.8 Ketoprofen üç boyutlu kimyasal yapısı.

KP daha çok romatoid artrit, osteoartrit, ankilozan, spondilit, akut gut artriti, bursit, tendinit, travmatik sinovit gibi hastalıkların akut ve uzun süreli tedavisinde ve ağrıların giderilmesinde kullanılmaktadır. Ayrıca 6 aylıktan büyük bebek ve çocuklarda (6 ay-11 yaş) ateşin semptomatik tedavisinde kullanılır. KP cilt üzerinden

uygulandığında ağrıda, tutuklukta, ödemde gerileme gibi yararlı sonuçlar elde edildiği klinik sonuçlarla gösterilmiştir [49].

KP ile tedavi süresince diğer non-steroidal antiinflatuvar ilaçlarda görüldüğü gibi ciddi peptik ülserasyon ve gastrointestinal kanamalar meydana gelebilir. Özgeçmişinde ülser ya da gastrointestinal kanama öyküsü bulunanlar kişilerde tedavi çok dikkatli ve kontrol altında uygulanmalıdır. Uzun süreli tedavi gerektiren durumlarda ise karaciğer ve böbrek fonksiyonlarıyla hematolojik incelemeler yapılmalıdır. Tedavinin devam ettiği süre içerisinde antikoagülan maddeler, aspirin, digoksin ve diüretik alması gereken hastalar dikkatle izlenmelidir. KP ya da diğer non-steroidal antiinflatuvar ilaçların uzun süreli ve devamlı kullanılmalarında interstisyel nefrit ya da nefrotik sendrom oluştuğunu belirten raporlar mevcuttur. Ayrıca, bu gibi vakalarda, uygulanan doz ile ilgili prostaglandin sentez inhibisyonuna bağlı renal kan akımı azalması nedeniyle böbrek yetmezliği oluşabilmesi de gözönünde bulundurulmalıdır.

Bulantı, karın ağrısı, diyare ya da kabızlık, gaz, anoreksi, kusma, stomatit, iştah artması, ağız kuruluğu, geğirme, gastrit, rektal kanama, melena, tükürük artması, peptik ülserasyon, gastrointestinal perforasyon, hematemez ve barsak ülserasyonu gibi sindirim sistemiyle ilgili yan etkiler; baş ağrısı, uykusuzluk ya da uyku hali, bitkinlik ya da eksitasyon, depresyon, rüya görme, amnezi, migren, konfüzyon, impotans, vertigo, parestezi gibi santral sinir sistemiyle ilgili; ödem, irritasyon, menometroraji, hematüri, nefrit, nefrotik sendrom gibi ürogenital sistemle ilgili; dispne, hemoptizi, epistaksis, larenks ödemi, bronkospazm, rinit, farenjit gibi solunum sistemiyle ilgili; hipertansiyon, palpitasyon, taşikardi, kalp yetmezliği, vazodilatasyon gibi kardiyovasküler sistemle ilgili; alopesi, ekzema, prurit, purpura, döküntü, ürtiker, terleme, ekzfoliyatif dermatit, renk değişmesi, fotosensitivite ve onkoliz gibi deriyle ilgili yan etkiler görülebilir. Genel olarak konjonktivit, göz ağrısı, işitme bozukluğu, retinal kanama ve pigmentasyon değişikliği, tat bozukluğu, titreme, miyalji, yüz ödemi, hiperkoagülasyon, agranülositoz, anemi, hemoliz, susama, trombositopeni, kilo alma ya da kaybetme, hepatik disfonksiyon, hiponatremi gibi yan etkiler de görülebilir [50].

Yapısında KP içeren ilaçlar: Arveles, Fastjel, Ketesse (İbrahim Etem Ulugay İlaç Sanayi Türk A.Ş.), Profenid, Bi-profenid (Eczacıbaşı İlaç Ticaret A.Ş.), Dex-forte, Dexpas, Dexplus, Dexfull, Destiyo (Neutec İlaç San. Tic. A.Ş.), Rastel, Proflam, Vanceryl (Abdi İbrahim İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş.), Elektra (Santa Farma İlaç Sanayi A.Ş.), Dexofen (Atabay İlaç Fabrikası A.Ş.), Deksalgin, Tiyokas (Nobel İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş.), Dexmol (Nuvomed İlaç San. Tic. A.Ş.), Leodex, Leodex Plus (Bilim İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş.), Dexday (Salutis İlaç San. Tic. Ltd. Şti.), Dexiren (İlko İlaç San. Ve Tic. A.Ş.), Ketavel, Arvetix (Deva Holding A.Ş.), Keto Jel (Koz İlaç San. Ve Tic. A.Ş.), Pexpro (Arma İlaç San. Ve Tic. Ltd. Şti.), Darkin (Sanovel İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş.), Dexfull (Opto İlaç San. Tic. Ltd. Şti.), Varles, Dexpas (Mentis İlaç San. Tic. Ltd. Şti.), Toria (Tripharma İlaç Sanayi ve Tic. A.Ş.), Dexcoril, Longdex, Dexpaduo (Celtis İlaç Sanayi Ticaret A.Ş.), Grot (HELBA İlaç İç ve Dış San. Tic. Ltd. Şti.), Supremil (Generica İlaç Sanayi ve Ltd. Şti.), Zirven (Ulkar İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş.), Axepta (Gürel İlaç Ticaret A.Ş.), Dexnac (İnventim İlaç San. Tic. Ltd. Şti.), Justus (Abdica İlaç San. ve Tic. A.Ş.), Velores (Pharmactive İlaç Sanayi ve Tic. A.Ş.), Ketober (Berko İlaç ve Kimya Sanayi Ltd. Şti.), Indexpa (Vitalis Sağlık Danışmanlık ve Ticaret Ltd. Şti.), Metadem (Vem İlaç Sanayi), Sertofen (World Medicine İlaç Sanayi ve Tic. A.Ş.).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyaller

Deneyleerde β -siklodekstrin (β -CD; C4767, Sigma-Aldrich), dimetilsülfoksit (DMSO; SU01502500, Scharlab), trietilamin (TEA; T0886, Sigma-Aldrich), piromellitik dianhidrid (PMDA; A12712, Alfa Aesar), dietil eter (100921, Merck), etanol (111727, Merck), asetonitril (100030, Merck), izopropil alkol (IPA; 101040, Merck) ve ketoprofen (KP; K1751, Sigma-Aldrich) kullanılmıştır. Sulu çözeltilerin hazırlanmasında ultrasaf su sisteminden (Milli-Q Gradient, Millipore) alınan ve iletkenlik değeri 18.2 M Ω .cm (25 °C) olan deiyonize su kullanılmıştır.

3.2 Nanosünger Üretimi

β -CD, oda sıcaklığında ve 600 rpm karıştırma hızı koşullarında DMSO içinde çözüldükten sonra çözelti üzerine TEA eklenerek kısa bir süre daha karıştırılmaya devam edilmiştir. Daha sonra β -CD/PMDA mol oranı 1/12 olacak şekilde ortama çapraz bağlayıcı ajan PMDA eklenerek karıştırma hızı 1500 rpm değerine çıkarılmış ve tepkimeye belirli (1, 2, 3 ve 6 h) sürelerde devam edilmiştir. Sentezlenen NS'ler tepkimeye girmeyen kimyasalları uzaklaştırmak amacıyla dietil eter ile yıkandıktan sonra dietil eteri uzaklaştırmak ve katı bir form elde etmek için 24 h boyunca 90 °C'deki etüvde (UM 400, Memmert) kurumaya bırakılmıştır. Kurutulan NS'ler etanol içinde sonikatör (Elmasonic S 30 H, Elma) yardımı ile dağıtıldı ve ardından bir gün boyunca 4 °C'de buzdolabında bekletildi. Bu sürenin sonunda etanol uzaklaştırıldı ve NS'ler 50 °C etüvde belirli sürelerde kurumaya bırakıldı. Bu işlemin sonunda şeffaf bir görünüm alan NS'ler üretildi.

NS üretiminde β -CD/PMDA mol oranı, katalizör TEA etkisi, tepkime süresi ve kurutma süresi etkisi gibi parametreler incelenmiştir.

3.3 Nanosüngerlere Ketoprofen Yükleme

NS üretimi için Bölüm 3.2'de belirtilen en uygun koşullarda sentezlenen ilaç taşıyıcı NS'lere model ilaç olarak seçilen KP yüklemesi orbital karıştırıcıda (MaxQ 4000, Labline) yapılmış ve çeşitli parametrelerin etkisi incelenmiştir. 25 °C ve 300 rpm

koşullarında KP/NS yükleme oranının yükleme verimi üzerine etkisi kütlece 1/2, 1/4 ve 1/8 değerlerinde incelenmiştir. Ayrıca yükleme verimi üzerine karıştırma hızı (200 rpm) ve sıcaklık (35 ve 45 °C) etkileri incelenmiştir. İncelenen her bir koşulda KP'in NS'lere yükleme verimi Eşitlik 3.1 ile hesaplanmıştır. Bu verim değerlerine göre en uygun yükleme koşulları belirlenmiştir.

$$\% \text{ Yüklemeverimi} = \frac{C_o - C_Y}{C_o} \times 100 \quad [3.1]$$

Eşitlik 3.1'de C_o ; başlangıçtaki KP derişimi (g/L), C_Y ; NS'deki yüklenen ilaç KP derişimi (g/L)'ni göstermektedir. C_Y , Eşitlik 3.2'de belirtilen şekilde kütle korunum denkleminde hesaplanmıştır.

$$C_Y = C_o - C_S \quad [3.2]$$

Eşitlik 3.2'deki C_S ; yükleme işlemi sonrasında sıvı fazda kalan KP derişimi (g/L)'ni göstermektedir.

3.4. Analitik Yöntemler

3.4.1 Sıvı kromatografi analizi

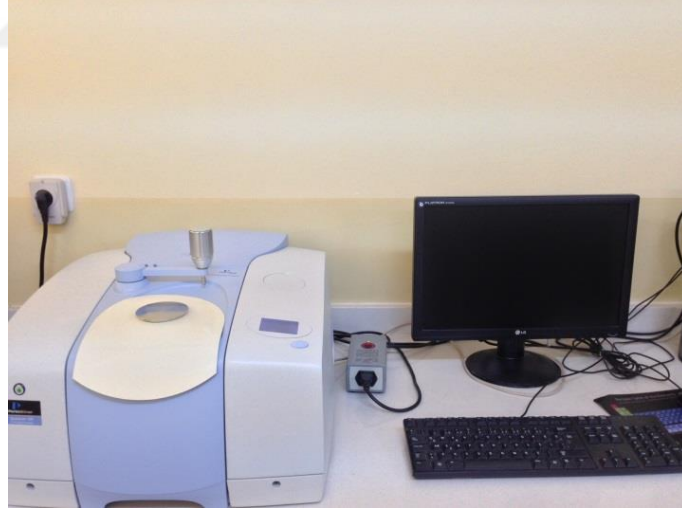
Farklı koşullarda üretilen NS'lere KP yükleme verimini belirlemek için KP analizleri Ultra Yüksek Performans Sıvı Kromatografi (UHPLC Dionex UltiMate 3000, ThermoScientific) sisteminde yapılmıştır. Analizler Acclaim™ 120 C18 (ThermoScientific) kolon kullanılarak 254 nm dalga boyunda UV dedektörle 1 mL/min akış hızında 135 bar basınç altında yapılmıştır. Mobil faz olarak %70 asetonyitril-%30 deiyonize su (v/v) kullanılmıştır. KP hacimce IPA/deiyonize su oranı 1/2 olan çözelti içinde çözülerek kalibrasyon hazırlanmıştır. Hazırlanan kalibrasyon doğrusu EK 1'de sunulmuştur.



Şekil 3.1 UHPLC cihazı.

3.4.2 FTIR analizi

NS ve KP'in kimyasal yapı tayini FTIR-ATR (Attenuated Total Reflectance) spektrofotometresi (Perkin Elmer, Spektrum 100) ile analizlenmiştir. Analizler $400-4000\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı aralığında ve 4 cm^{-1} spektral çözünürlükte yapılmıştır.



Şekil 3.2 FTIR spektrofotometresi.

3.4.3 Zetapotansiyeli ve hidrodinamik boyut analizi

Sentezlenen NS'lerin ilaç yüklemesi öncesi ve sonrasında, zeta potansiyelleri (ZP) ve hidrodinamik ortalama çapları (Z_{ort}) Zetasizer (NanoZS, Malvern Instruments) cihazında analizlenmiştir. Ölçülen Z_{ort} ve ZP değerleri, NS'lerdeiyonize su ortamında çözülerek ve 1/10 oranında seyreltilerek belirlenmiştir. Analizler 25 °C sıcaklıkta ve 633 nm dalga boyunda 4.0 mV He-Ne lazer kullanılarak yürütülmüştür. Ölçüm ortamının viskozite değeri 0.8872 cP ve kırılma indisi 1.33 olarak alınmıştır.



Şekil 3.3 Zeta potansiyeli ve hidrodinamik boyut ölçüm cihazı.

Dinamik ışın saçılımı ile ölçülen Z_{ort} değeri bir partikülün sıvı içerisinde nasıl hareket ettiğini göstermektedir. Z_{ort} değeri, Eşitlik 3.3 ile verilen Stokes-Einstein denkleminde hesaplanmaktadır.

$$Z_{ort} = \frac{k_B T}{3\pi\eta D} \quad [3.3]$$

Eşitlik 2.1'de Z_{ort} ; hidrodinamik çapı (nm), k_B ; Boltzmann sabiti ($1.38 \times 10^{-23} \text{ JK}^{-1}$), T; sıcaklık (K), η ; viskozite, D; difüzyon katsayısını göstermektedir. Zetasizer NanoZS cihazında ZP ölçümü faz analizi ışın saçılımı yöntemine göre yapılmaktadır. Partiküllerin ZP değerleri, ölçülen elektroforetik hareketlilik yardımı ile Henry denklemi kullanılarak Eşitlik 3.4 ile hesaplanmaktadır:

$$\mu_E = \frac{2\varepsilon\zeta f(\kappa a)}{3\eta} \quad [3.4]$$

Eşitlik 2.2’de μ ; elektroforetik hareketlilik ($8.854 \times 10^{-12} \text{ F m}^{-1}$), ε ; ortamın dielektrik sabiti (78.5), ζ ; zeta potansiyeli (mV), η ; ortamın viskozitesi (0.8872 cP) ve $f(\kappa a)$; Henry fonksiyonudur. κ ; elektriksel çift tabaka kalınlığının/Debye uzunluğunun tersi, a ; partikül yarıçapıdır. Çift tabaka kalınlığının partikül boyutundan daha küçük olduğu varsayımını kullanan Smoluchowski yaklaşımı ile $f(\kappa a)=1.5$ değeri alınarak zeta potansiyeli değeri polar çözücüler için hesaplanabilmektedir [51].

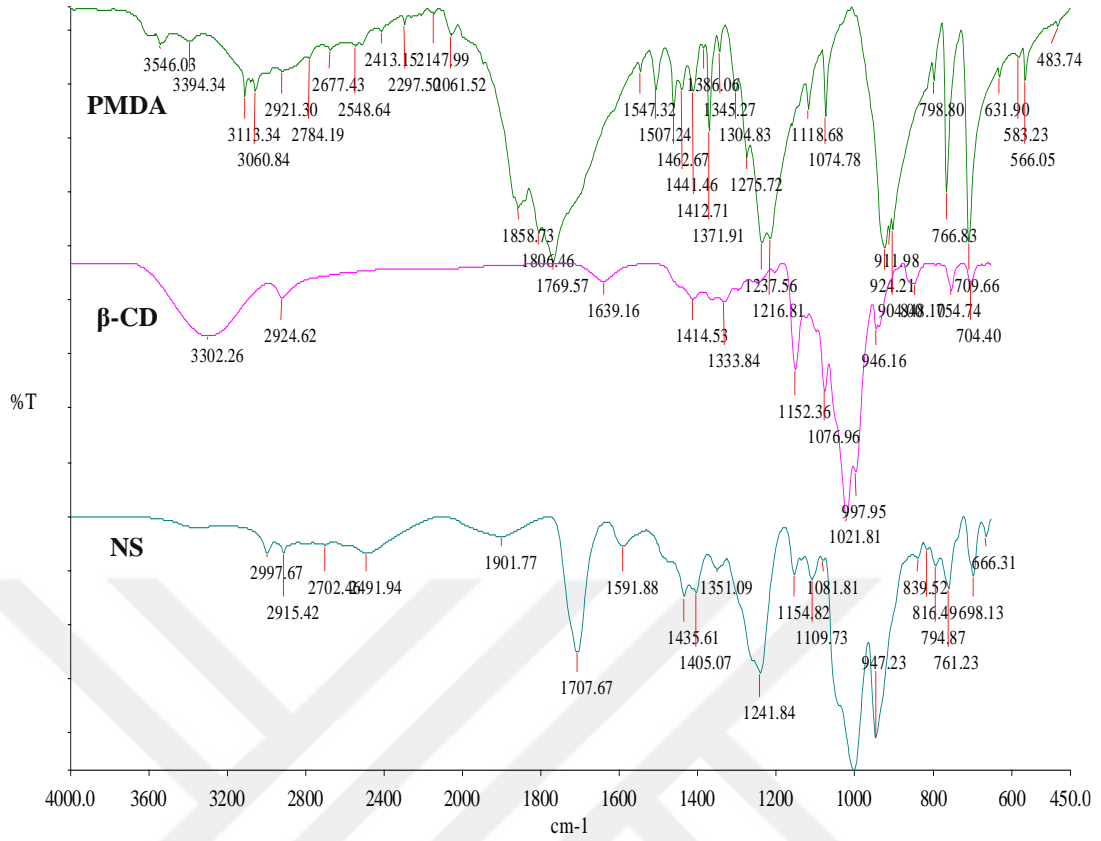


4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 NS Sentezi

NS sentez tepkimesinin temel girdisi olan β -CD, çapraz bağlayıcı PMDA ve tepkime sonucu oluşan NS'nin FTIR spektrumları karşılaştırmalı olarak Şekil 4.1'de sunulmuştur. β -CD'nin spesifik pikleri 3302 cm^{-1} , 1639 cm^{-1} , 1414 cm^{-1} , 1152 cm^{-1} , 1076 cm^{-1} ve 1021 cm^{-1} dalga sayılarında gözlemlenmiştir [52, 53]. 3302 cm^{-1} 'de gözlenen geniş absorpsiyon bandı moleküller arası hidrojen bağlarıyla ilişkilendirilen birincil hidroksil grupları (C-6-OH) veya ikincil hidroksil gruplarındaki O-H bağlarının titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte 2924 cm^{-1} 'de C-H ve $-\text{CH}_2$ gruplarındaki C-H bantlarının titreşimlerine ait bir diğer absorpsiyon bandı gözlenmiştir. $1400\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ dalga boyları arasındaki absorpsiyon bantları β -CD'nin birincil ve ikincil hidroksil gruplarındaki C-H bağlarının deformasyon titreşimlerinden kaynaklanırken, $1200\text{-}1021\text{ cm}^{-1}$ dalga boyları arasındaki pikler C-O bağlarının titreşimlerine aittir. Ayrıca $950\text{-}700\text{ cm}^{-1}$ dalga boyları arasındaki absorpsiyon bantları glukopiranoz halkasındaki titreşimler ve C-H bağlarının bozunma titreşimlerine ait piklerdir [54].

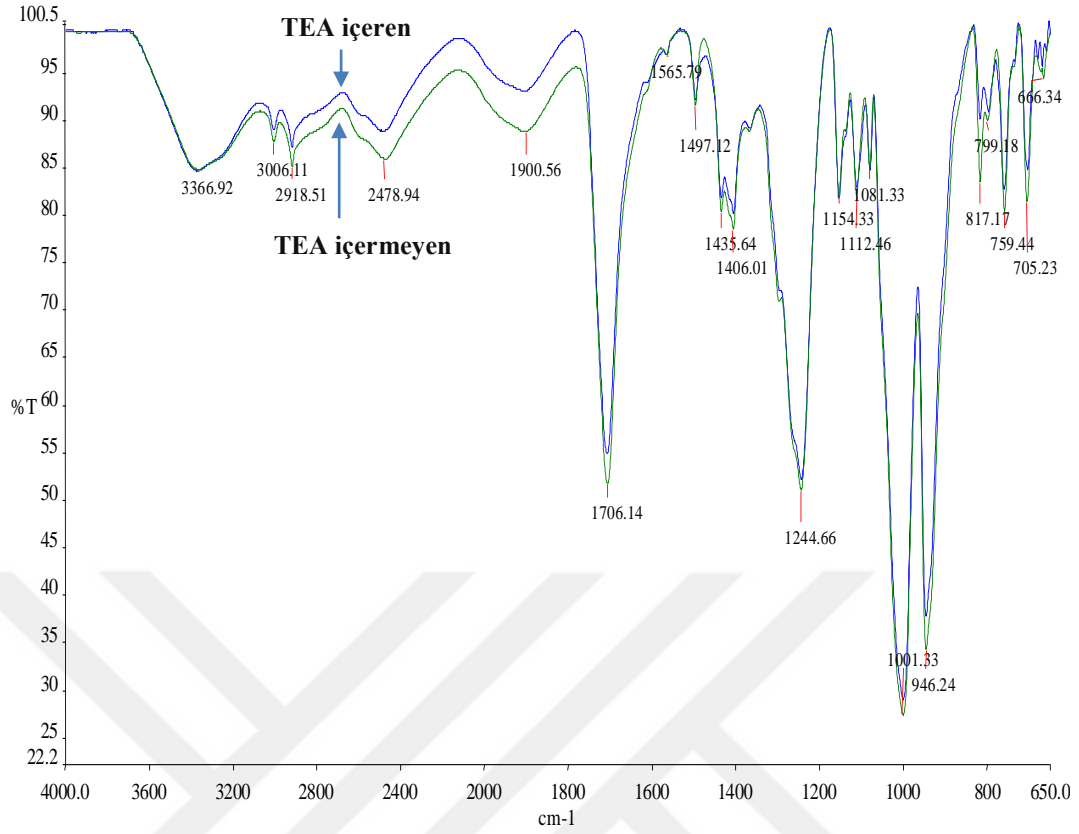
PMDA'nın karbonil grubuna (C=O gerilme titreşimi) ait olan absorpsiyon bandı 1769 cm^{-1} dalga sayısında gözlenmiştir. 1769 cm^{-1} 'deki bu absorpsiyon bandının sentezlenen NS yapısında 1707 cm^{-1} dalga sayısına kayması, ester köprülerinin oluşumunu ve siklik dianhidritin halka açılma polimerizasyonunun gerçekleştiğini göstermektedir. Ayrıca NS yapısında $2500\text{-}2700\text{ cm}^{-1}$ ve $1300\text{-}1440\text{ cm}^{-1}$ deki absorpsiyon bantları reaksiyona girmeyen karboksil gruplarının O-H eğilme ve C-O gerilme titreşimlerine işaret etmektedir [38].



Şekil 4.1 PMDA, β -CD ve NS'nin FTIR spektrumları.

4.1.1 NS sentezine TEA etkisi

β -CD/PMDA = 1/8 molarında katalizör olarak kullanılan TEA'nın NS sentezine etkisi Bölüm 3.2'de verilen koşullarda incelenmiş ve Şekil 4.2' de TEA içeren ve içermeyen ortamlarda üretilen NS' lerin karşılaştırmalı FTIR spektrumu sunulmuştur. Tepkime, her iki ortam için 2 h boyunca sürdürülmüştür.

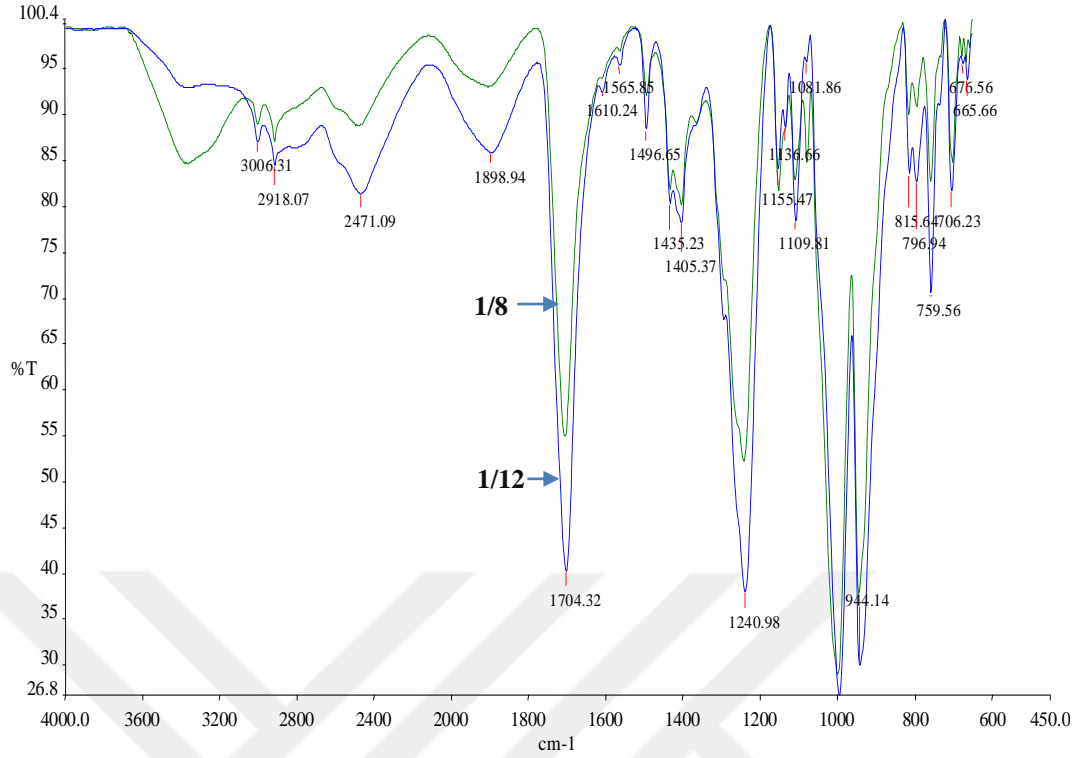


Şekil 4.2 TEA içeren ve TEA içermeyen NS'lerin karşılaştırmalı FTIR spektrumları.

Şekil 4.2' de görüldüğü üzere NS üretiminde tepkime ortamına TEA eklenmesinin NS'nin kimyasal yapısı üzerine bir etkisi yoktur. TEA'nın sadece tepkime hızı üzerine etkisi deneysel olarak gözlenmiş, TEA içeren ortamda tepkime ortamının viskozitesi daha hızlı bir şekilde artmıştır.

4.1.2 NS sentezine β -CD/PMDA mol oranı etkisi

NS sentezine β -CD/PMDA mol oranı etkisi; oda sıcaklığında ve katalizör olarak TEA kullanılarak gerçekleştirilen tepkimede NS sentezi Bölüm 3.2'deki detaylı olarak tanımlanan koşullarda gerçekleştirilmiş ve β -CD/PMDA mol oranı 1/8 ve 1/12 olacak şekilde iki ayrı tepkime 6 h süresince yürütülmüştür. 1/8 ve 1/12 mol oranlarında üretilen NS'lere ait FTIR spektrumları karşılaştırmalı olarak Şekil 4.3'te verilmiştir.

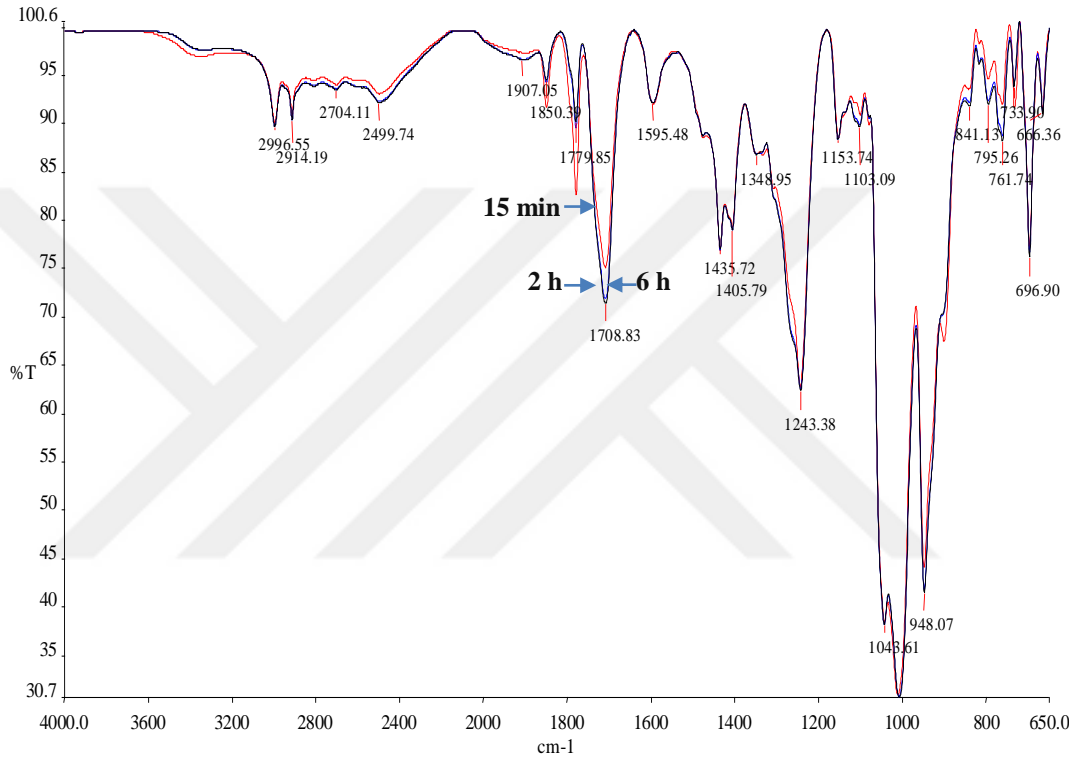


Şekil 4.3 β -CD/PMDA'nın farklı mol oranlarının karşılaştırmalı FTIR spektrumları.

Mol oranının 1/8 den 1/12'ye artırılması ile hemen hemen tüm pik şiddetlerinde artışlar gözlenmiştir. Trotta vd. çalışmalarında optimum β -CD/ PMDA mol oranını 1/6 olarak bildirmişlerdir. PMDA miktarının bu değerden yüksek olması durumunda PMDA'nın β -CD üzerine sadece bir taraftan bağlanacağını bu durumun NS yapısında dallanmış grupların artışına sebep olacağını bildirmiştir. Ancak 1/12 mol oranında da oluşan NS'nin vizkozitesinin uzun sürelerde değişmediğini ve böylece oluşan dallanmış polimerin stabilitesinin korunduğunu bildirmişlerdir [38]. NS oluşumuna ait 1704 cm^{-1} 'de gözlenen spesifik pik şiddeti değerinin β -CD/ PMDA mol oranının 1/12 olarak alındığı ölçümlerde daha yüksek çıkması üzerine daha fazla NS sentezlendiği düşünülerek bir sonraki denemeler bu mol oranı üzerinden yürütülmüştür.

4.1.3 NS sentezine tepkime süresi etkisi

NS sentezine tepkime süresi etkisi; Bölüm 3.2’de belirtilen yöntem esas alınarak TEA içeren DMSO çözeltisinde NS oluşumuna ait spesifik pik şiddeti değerinin daha yüksek olduğu 1/12 mol oranında NS sentezi tepkimesi 15 min, 2 h ve 6 h sürelerinde gerçekleştirilmiş ve FTIR analizleri ile yapıda meydana gelen değişimler belirlenmiştir (Şekil 4.4).

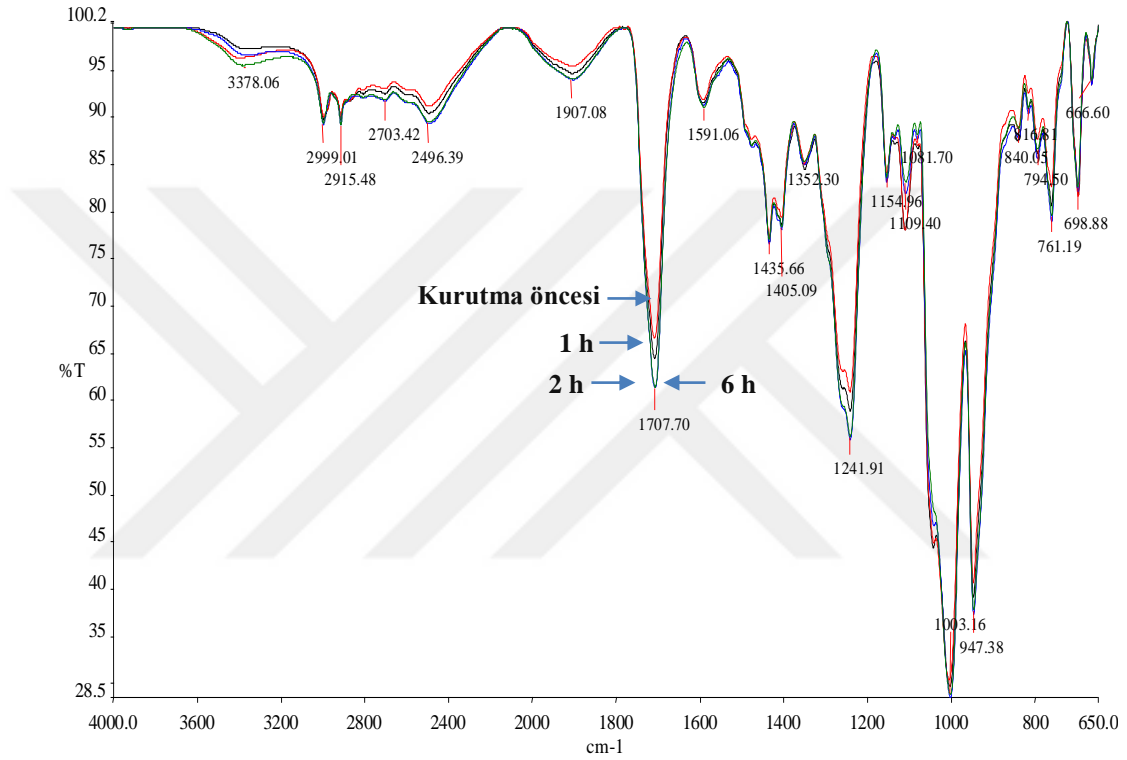


Şekil 4.4 NS üretim tepkimesinin farklı süreleri için karşılaştırmalı FTIR spektrumları.

Sürenin 15 min'dan 2 h'e arttırılmasıyla NS'ye ait temel pik olan karbonil grubuna (C=O gerilme titreşimi) ait 1708 cm⁻¹'deki pik şiddeti artmış, sürenin 6 h'e çıkarılmasıyla 2 h süre sonunda sentezlenen NS yapısına benzer pik gözlenmiş ve pik şiddetinin değişmediği belirlenmiştir. Bu analiz sonucunda tepkimenin 2 h içerisinde tamamladığına karar verilmiştir.

4.1.4 NS sentezine kurutma süresi etkisi

Kurutma süresi etkisi Bölüm 3.2’de verilen koşullara göre TEA içeren DMSO çözeltisinde, β -CD/ PMDA =1/12 mol oranında, 2 h tepkime sonucunda elde edilen NS’ler kullanılarak incelenmiştir. Sentezlenen NS’ler dietil eter ile yıkanmış ve 90 °C’deki etüvde 6 h boyunca kurutulmuş ve saat başı numune alınmış ve FTIR analizi gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5 NS sentezinde kurutma öncesi ve farklı kurutma sürelerinin karşılaştırmalı FTIR spektrumları.

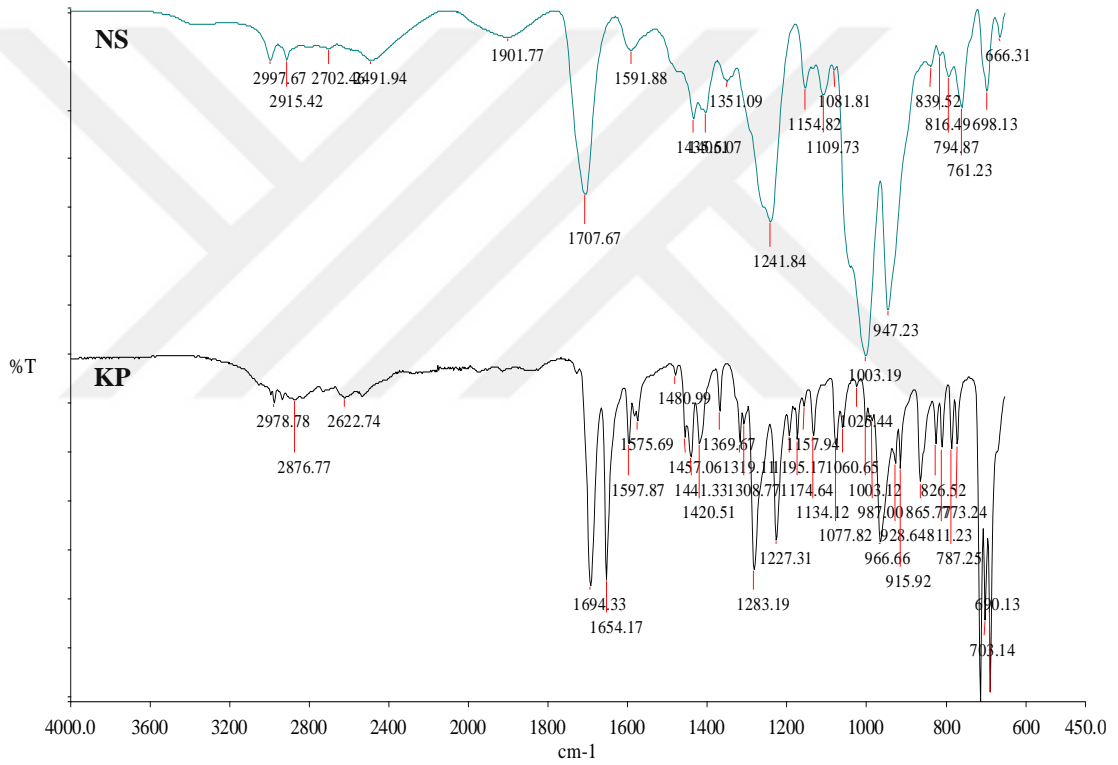
1707 cm⁻¹ dalga boyunda gözlenen NS’ye ait spesifik pik şiddetinin 2 h ve 6 h süreleri arasında hiçbir farklılık göstermediği saptanmış, bu veriye dayanarak NS sentezi için en uygun kurutma süresine 2 h olarak karar verilmiştir.

4.2 Ketoprofenin Nanosünger Taşıyıcılara Yüklenmesi

En uygun sentez koşulları olarak belirlenen β -CD/PMDA=1/12 mol oranı 2 h tepkime süresi, 2 h kurutma süresi ve katalizör olarak TEA kullanılarak sentezlenen NS’lere model ilaç olarak seçilen KP yüklemesi orbital karıştırıcıda yapılmıştır. KP/NS (w/w)

yükleme oranı, yükleme süresi, yükleme sıcaklığı ve karıştırma hızı parametrelerinin yükleme verimi üzerine etkisi incelenmiştir.

KP ve NS ye ait FTIR spektrumları Şekil 4.6'da verilmiştir. KP'nin karakteristik pikleri, karboksilik asitteki karbonil grubundan kaynaklanan 1694 cm^{-1} dalga sayısındaki gerilme titreşimine ait absorpsiyon bandı ve ketonik grupta bulunan karbonil grubundan kaynaklanan gerilme titreşimine ait 1654 cm^{-1} dalga sayısında gözlenen absorpsiyon bandıdır [55]. NS'nin yapısal karakterizasyonu Bölüm 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.6 NS ve KP karşılaştırmalı FTIR spektrumu.

4.2.1 KP/NS yükleme oranının etkisi

Model ilaç KP'nin ilaç taşıyıcı NS'lere yüklemesi $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ve 300 rpm karıştırma hızında KP/NS = $1/2$, $1/4$ ve $1/8$ (w/w) yükleme oranlarında 4 h süresince gerçekleştirilmiştir. Farklı miktarlarda KP yüklemesi yapılan ilaç taşıyıcı sistemlerin bulunduğu ortamdan yükleme işlemi boyunca örnek alınarak KP derişimleri UHPLC cihazında belirlenmiştir. Bütün ilaç yükleme işlemlerinde başlangıç KP derişimi 5 mg/mL

değerinde sabit tutulmuştur. Yükleme verimleri Eşitlik 3.1 kullanılarak hesaplanmış ve sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

NS’lere kütlece farklı oranlardaki KP yükleme verimleri incelendiğinde; yükleme süresinin artması ile her bir yükleme oranında yükleme veriminin arttığı gözlenmiştir. Yükleme oranının 1/2’den 1/4’e çıkarılması ile yükleme verimi artarken, yükleme oranının 1/8’e çıkarılması ile yükleme verimlerinde düşüş gözlenmiştir.

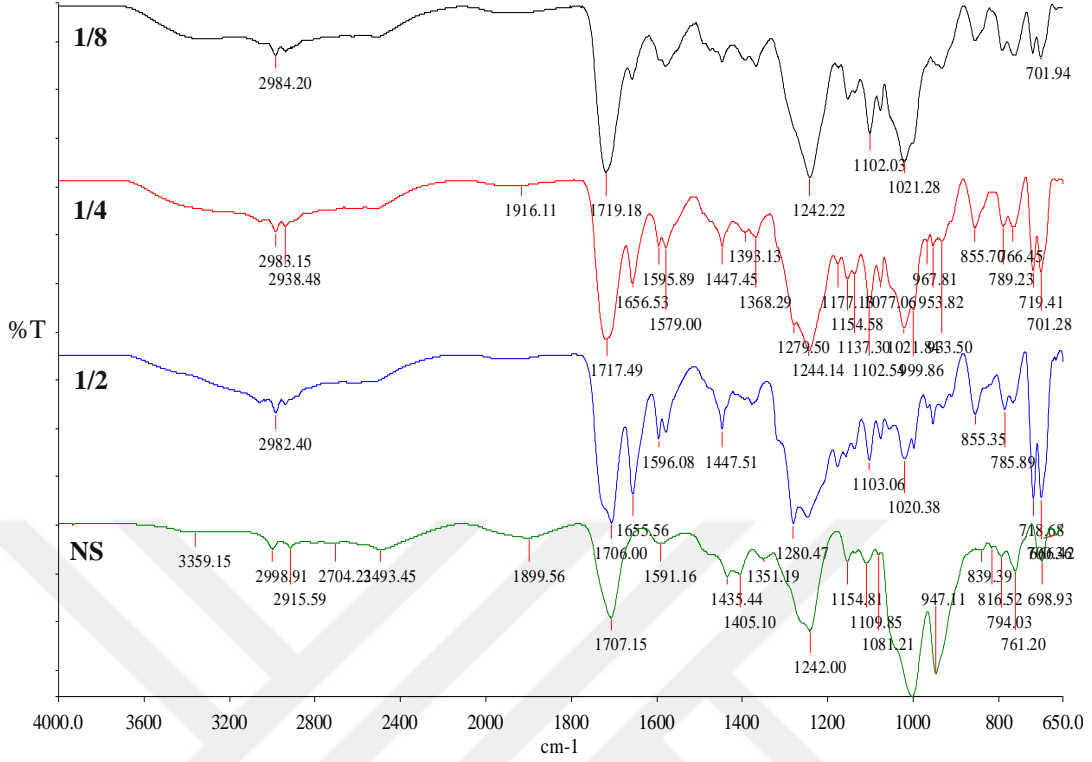


Çizelge 4.1 Yükleme verimlerinin, yükleme oranları ve yükleme süresi ile değişimi

t=h	1 h			2 h			3 h			4 h		
KP/NS, (w/w)	1/2	1/4	1/8	1/2	1/4	1/8	1/2	1/4	1/8	1/2	1/4	1/8
KP yükleme verimi, %	6,81	16,11	4,14	11,92	24,57	9,75	18,98	33,81	10,41	22,38	35,28	15,60

Farklı oranlarda ilaç yüklenen NS'ler ile ilaç yüklenmemiş orijinal NS spektrumları Şekil 4.8 de sunulmuştur. KP'nin karakteristik piklerinden biri olan 1654 cm^{-1} dalga sayısında gözlenen absorpsiyon bandı, farklı oranlarda ilaç yüklenen NS yapılarında 1655 ve 1656 cm^{-1} dalga sayılarında gözlenmiştir. Ayrıca KP'nin diğer karakteristik piki olan 1694 cm^{-1} dalga sayısındaki pik doğrudan NS yapısında gözlenmemiş ancak orijinal NS yapılarındaki 1707 cm^{-1} dalga sayısındaki pikin 1717 - 1719 cm^{-1} dalga sayısına kaydığı belirlenmiştir. Bu kaymanın sebebi kristal ilaç molekülleri arasındaki hidrojen bağlarının ve kompleksteki CD ile KP arasındaki hidrojen bağlarının diziliminin bozulmasıdır. Bu kayma geçmişte konvensiyonel yöntemlerle elde edilen KP/ β -CD komplekslerini inceleyen literatür çalışmalarında daha yüksek dalga sayılarında gözlenmiştir [56].

KP'ye ait iki temel pikin NS yapılarında bu şekilde gözlenmesi yükleme işleminin $1/2$, $1/4$ ve $1/8$ oranlarında gerçekleştiğini kanıtlamaktadır. Ancak, $1/8$ oranındaki ilaç yüklenen NS yapısındaki 1656 cm^{-1} 'deki pik şiddetinin $1/2$ ve $1/4$ oranında yükleme yapılan NS'lere kıyasla düşük olması $1/8$ oranında düşük yükleme verimi elde edilmesini de açıklamaktadır.



Şekil 4.7 Farklı oranlarda ilaç yüklenmiş ve yüklenmemiş NS'lerin karşılaştırmalı FTIR spektrumları

Sentezlenen NS'lere Bölüm 4.2'de belirtilen yöntem ile KP yüklemesi kütlece 1/2, 1/4, 1/8 oranlarında yapılmış ve yükleme öncesi ve sonrası NS'erin Z_{ort} ve ZP değerleri Çizelge 4.2'de sunulmuştur.

Çizelge 4.2 Farklı oranlarda ilaç yüklenmiş NS ve saf KP'nin Z_{ort} ve ZP değerlerinin yükleme öncesi ve sonrası değişimi

KP/NS (w/w)	Z_{ort} (nm)		ZP (mV)	
	t=0	t=4	t=0	t=4
1/2	993	1184	-19,1	-28,5
1/4	536	1121	-25,4	-18,3
1/8	2354	1483	-27,2	-22,4
KP	1608		-23,6	

Hem yükleme öncesinde hem de yükleme sonrasında ZP değerlerinin negatif olduğu gözlenmektedir. Negatif ZP, suyla çevrili ortamda yüzey hidrofiliğini sağlayan CD'in substitüe olmayan –OH gruplarından kaynaklanmaktadır [23]. Bununla beraber çapraz bağlı NS'lerin dallanmış yapısından dolayı partikül boyutunun farklı ölçümlerde değişiklik gösterdiği görülmektedir.

4.2.2 Sıcaklık etkisi

NS'lere model ilaç olarak seçilen KP'in 25 °C sıcaklıkta ve 300 rpm karıştırma hızında KP/NS (w/w) yükleme oranının yükleme verimine etkisi incelenmiş ve elde edilen veriler ışığında en yüksek verimin 4 h sonunda KP/NS = 1/4 (w/w) yükleme oranında %35,28 olarak gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Tüm karıştırma hızları 300 rpm olacak şekilde 25 °C, 35 °C ve 45 °C sıcaklık değerleri için KP/NS = 1/4 (w/w) oranında 4 h ilaç yüklemesi yapılmış, yükleme boyunca ortamdan örnek alınarak KP derişimleri UHPLC cihazında belirlenmiştir. Yükleme verimleri Eşitlik 3.1 kullanılarak hesaplanmış ve elde edilen sonuçlar karşılaştırmalı olarak Çizelge 4.3'de sunulmuştur.

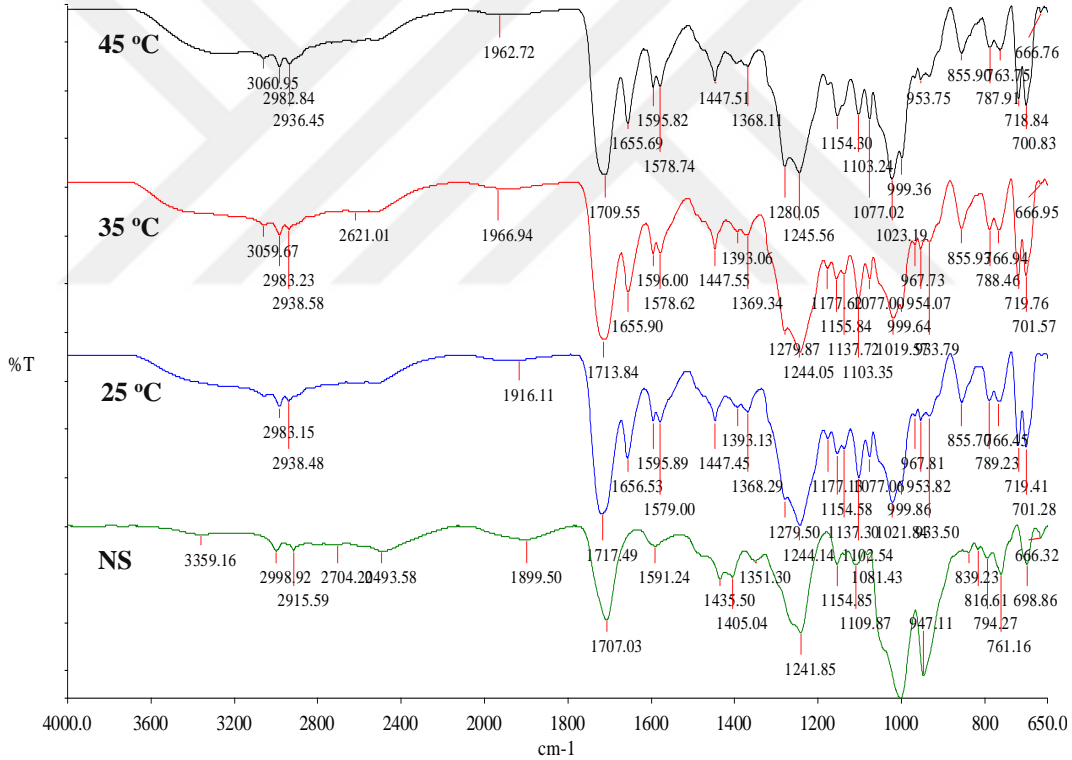
Farklı sıcaklıklarda gerçekleştirilen NS'lere KP yükleme verimleri incelendiğinde, yükleme veriminin tüm sıcaklıklarda zamanla artış gösterdiği görülmektedir. Sıcaklık 35 °C'ye yükseltildiğinde yükleme veriminin 4 h sonunda en yüksek verime ulaştığı gözlenirken, en düşük yükleme verime 45 °C'de ulaşılmıştır.

Çizelge 4.3 Yükleme verimlerinin, sıcaklık ve yükleme süresi ile değişimi

t=h	1 h			2 h			3 h			4 h		
Sıcaklık, (°C)	25 °C	35 °C	45 °C	25 °C	35 °C	45 °C	25 °C	35 °C	45 °C	25 °C	35 °C	45 °C
KP yükleme verimi, %	16,11	18,18	11,19	24,57	26,78	19,38	33,81	34,27	22,73	35,28	39,57	27,33

Farklı sıcaklık değerlerinde ilaç yüklenen NS'ler ile yüklenmemiş NS spektrumları karşılaştırmalı olarak Şekil 4.8'de sunulmuştur. 1654 cm^{-1} dalga sayısında gözlenen KP'e ait spesifik pikin yüklenme sonrasında 1655-1656 cm^{-1} dalga sayılarına kaydığı ve üç sıcaklık değeri için de yüklenme işleminin gerçekleştiği gözlenmiştir. Ketonik grupların C-O gerilme titreşimlerine ait bu pikin, sıcaklığın artmasıyla şiddetinin azalması, yüksek sıcaklıklarda inklüzyon kompleksi oluşumunun daha düşük olduğunu göstermektedir.

Yine farklı sıcaklıklarda gerçekleştirilen yüklenme işlemi sonrasında orjinal NS'ye ait 1707 cm^{-1} 'deki pikin farklı dalga sayılarında gözlenmesi, üç sıcaklık değeri için de NS-KP inklüzyon komplekslerinin oluştuğunu kanıtlar niteliktedir.



Şekil 4.8 Farklı sıcaklıklarda ilaç yüklenmiş ve yüklenmemiş NS'lerin karşılaştırmalı FTIR spektrumları.

4.2.3 Karıştırma hızı etkisi

İlaç yükleme verimine karıştırma hızının etkisi, yükleme veriminin en yüksek olduğu KP/NS = 1/4 (w/w) yükleme oranında ve 35 °C'deki orbital karıştırıcıda 200 rpm ve 300 rpm karıştırma hızları için 4 h süresince incelenmiştir. Yükleme boyunca belirli sürelerde ortamdan örnek alınarak NS'lere yüklenmiş KP derişimi UHPLC cihazı ile belirlenmiştir. Yükleme verimleri Eşitlik 3.1 kullanılarak hesaplanmış ve elde edilen sonuçlar karşılaştırmalı olarak Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Model ilaç olarak seçilen KP'nin NS'lere yükleme verimi, farklı karıştırma hızlarında değişiklik göstermektedir. 300 rpm karıştırma hızında gerçekleştirilen yükleme işleminde yükleme verimi, 200 rpm karıştırma hızında gerçekleştirilen yüklemeye oranla her saatin sonunda daha yüksek hesaplanmıştır. Ayrıca en yüksek ilaç yükleme verimine 4 h sonunda ulaşıldığı görülmüştür.

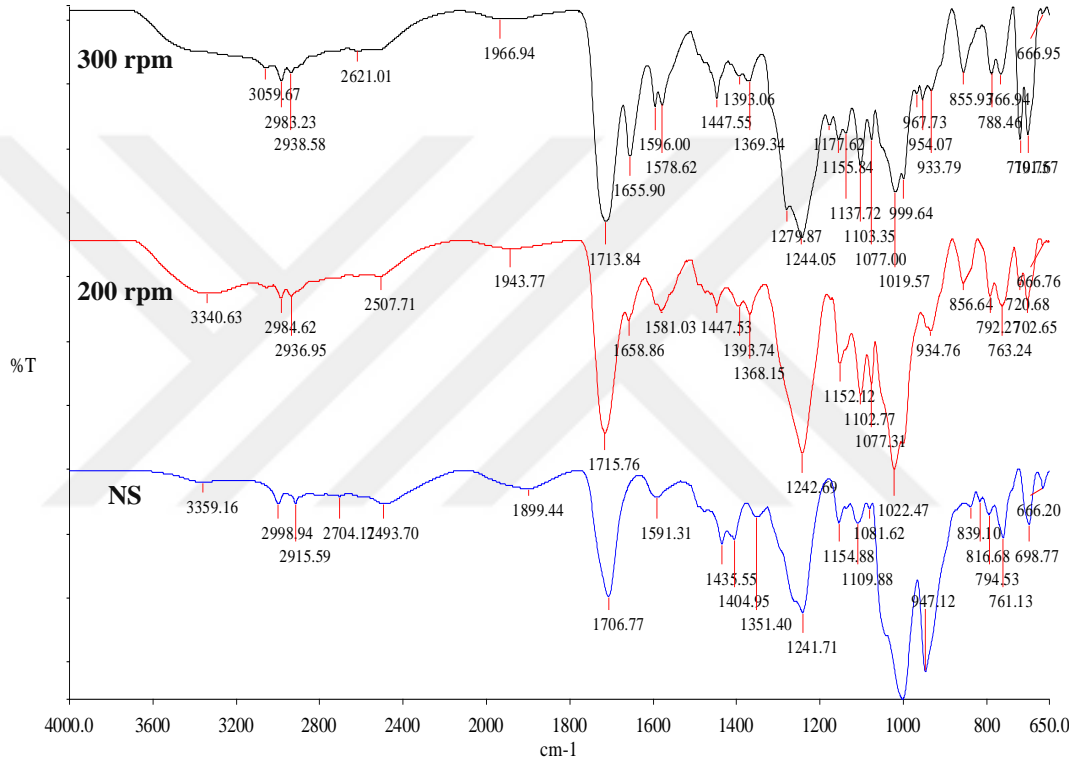
Çizelge 4.4 Yükleme verimlerinin, karıştırma hızı ve yükleme süresi ile değişimi

t=h	1 h		2 h		3 h		4 h	
Karıştırma hızı, (rpm)	200	300	200	300	200	300	200	300
KP yükleme verimi, (%)	16,36	18,18	21,74	26,78	32,27	34,27	34,58	39,57

200 rpm ve 300 rpm karıştırma hızlarında ilaç yüklenen NS'ler ile yükleme yapılmamış orijinal NS spektrumları karşılaştırmalı olarak Şekil 4.9'da sunulmuştur. Yüklemenin gerçekleştiğini gösteren 1706 cm⁻¹ dalga sayısındaki KP yüklü NS'lere ait spesifik pik 300 rpm için 1713 cm⁻¹ dalga sayısında gözlenirken, karıştırma hızının

200 rpm olarak gerçekleştirildiği yükleme işleminde bu pikin 1715 cm^{-1} dalga boyuna kaydığı gözlenmiştir.

KP'ye ait spesifik piklerden biri olan 1654 cm^{-1} dalga sayısındaki absorpsiyon bandı 200 rpm karıştırma hızında gerçekleştirilen yükleme sonunda 1658 cm^{-1} dalga sayısına kayarken bir diğer spesifik pik olan 1694 cm^{-1} dalga sayısındaki absorpsiyon bandı NS yapının içerisinde ayrı olarak gözlenememiştir.



Şekil 4.9 Farklı karıştırma hızlarında ilaç yüklenmiş ve yüklenmemiş NS'lerin karşılaştırmalı FTIR spektrumları.

5. SONUÇLAR

Yeni nano boyutlu ilaç salım sistemi olarak önerilen CDNS'ler, üç boyutlu ağ içinde bulunan nano boyutta yapıya sahip aşırı çapraz bağlı CD polimerlerdir. Giderek yaygın bir kullanım alanına sahip olan NS'ler, inklüzyon ve non-inklüzyon kompleksler oluşturarak hem hidrofobik hem de hidrofilik ilaçları taşıyabilmektedir. CDNS'ler genellikle suda çözünürlüğü düşük olan moleküllerin çözünürlüğünü artırma ve bozulan maddeleri koruma amaçlı kullanılmaktadır. Biyouyumlu olan bu polimerler tıptan çevreye, kozmetikten tarıma kadar çok geniş bir kullanım alanına sahiptir.

Bu yüksek lisans tez çalışmasında farmasötik kullanım için ilaç taşıyıcısı olarak PMDA-çapraz bağlı CDNS'ler sentezlenmiş ve NS-KP inklüzyon kompleksleri oluşturarak sudaki çözünürlüğü düşük olan KP'nin çözünürlüğünü artırmak hedeflenmiştir. Bu doğrultuda NS sentezi üzerine katalizör TEA etkisi, β -CD/PMDA mol oranı etkisi, reaksiyon süresi ve kurutma süresi etkileri incelenmiştir. Sentezlenen NS'lerin kimyasal yapıları FTIR spektrofotometresi ile analizlenmiştir. NS'lere ait spesifik pikler incelenerek NS sentezi için en uygun koşullar belirlenmiş ve Çizelge 5.1'de sunulmuştur.

Çizelge 5.1 NS sentezi için en uygun koşullar

Parametreler	En uygun koşullar
β -CD/PMDA mol oranı	1/12
Reaksiyon süresi	2 h
Kurutma süresi	2 h

Ayrıca KP inklüzyon kompleksi oluşumuna NS/KP (w/w) yükleme oranı, yükleme sıcaklığı ve karıştırma hızı etkileri belirli süreler için incelenmiş olup, her bir koşuldaki yükleme verimleri hesaplanmıştır. KP yüklemesi için en uygun koşullar Çizelge 5.2'de sunulmuştur.

Çizelge 5.2 En yüksek KP yükleme verimi elde edilen koşullar

Parametreler	En uygun koşullar
NS/KP (w/w)	1/4
Yükleme süresi	4 h
Yükleme sıcaklığı	35 °C
Karıştırma hızı	300 rpm

Yapılan deneyler sonunda nonsteroidal antiinflamatuvar bir ilaç olan KP'nin suda çözünürlüğü 22 °C'de 51 mg/L iken, üretilen CDNS formülasyonlarında bu değer 1764 mg/L olarak belirlenmiş ve KP'nin çözünürlük değeri 35 kat artırılmıştır. KP'nin suda çözünür formdaki aşırı çapraz bağlı CDNS'lere yükleme verimi Çizelge 5.2'de belirtilen en uygun koşullar altında %39.57 olarak bulunmuştur.

KAYNAKLAR

- [1]Ortega, M. D., Lorenzo, C., Concheiro, A., Loftson, T., (2012).Cyclodextrin-based nanogels for pharmaceutical and biomedical applications, *International Journal of Pharmaceutics*, 428, 152-163.
- [2]Trotta, F., Tumiatti, V., Cavalli, R., Roggero, C. M., Mognetti, B., Berta, G. N., (2009).Cyclodextrin-based nanosponges as a vehicle for antitumoral drugs, *World Intellectual Property Organization (Patent)*,WO/2009003656.
- [3]Trotta, F., Zanetti, M., Cavalli, R., (2012). Cyclodextrin-based nanosponges as drug carriers, *Beilstein Journal of Organic Chemistry*,8: 2091-2099..
- [4]Akyürek, E., (2010). β -siklodekstrin içeren biyobozunur hidrojelilerin sentezi ve ilaç salım özelliklerinin incelenmesi, *Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Sayfa 5.
- [5]Backhar, B. A., Gadhe, L. T., Battase, P., Mahajan, N., Wagh, R.,(2015).Nanosponges: a potential nanocarrier for targeted drug delivery, *World Journal of Pharmaceutical Research*, 4:751–768.
- [6]Vavia, P. R., Darandale, S. S., (2013). Cyclodextrin-based nanosponges of curcumin: formulation and physicochemical characterization, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 75(3): 315-322.
- [7]Lu, W. L., Zhang, Q., Xheng, L., Wang, H., Li, R. Y., Zhang, L. F., Shen, W. B., Tu, X. D.,(2004)Antipyretic, analgesic and anti-inflammatory activities of ketoprofen β -siklodekstrin inclusion complexes in animals,*Pharmaceutical Society of Japan*,10: 1515-1520.
- [8]Cavalli, R., Trotta, F., Tumiatti, W.,(2006). Cyclodextrin-based Nanosponges for Drug Delivery, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 56: 209–213.
- [9]Liko, F., (2011). Tümör Teşhis ve Tedavisi İçin Geliştirilen Nanoboyutta Lipozomal İlaç Taşıyıcı Sistemler Üzerinde İn Vitro Çalışmalar, *Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Sayfa 5.
- [10]Davis, S.S., (1986). Drug Targeting. M.F.G. Chemical, 42-45.
- [11]Kawabata, Y., Wada, K., Nakatani, M., Yamada, S., Onoue, S., (2011).Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: Basic approaches and practical applications, *International Journal of Pharmaceutics*, 420: 1-10.
- [12]Kocaefe, Ç., (2007).Nanotıp: Yaşam bilimlerinde nanoteknoloji uygulamaları, *Hacettepe Tıp Dergisi*,38: 33-38.
- [13]Feynman, R.P., (1960).There's plenty of room at the bottom. *Sci.*, 23: 22-36
- [14]Taniguchi, N.,(1974)On the Basic Concept of 'Nano-Technology' Conference, Part II, *Japan Society of Precision Engineering*, 18-23.
- [15]Şengel, T.C., Hasçıçek, C.,(2009). Polimerik nanopartiküler ilaç taşıyıcı sistemlerde yüzey modifikasyonu, *Ankara Ecz. Fak. Derg.*,38 (2): 137-154.
- [16]Szejtli, J., (1998). Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry, *Chemical Reviews*, 98(5): 1743-1753.
- [17]Magnusdottir, A., Mason, M., Loftsson, T., (2002). Cyclodextrins, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 44: 213-218.
- [18]van de Manakker, F., Vermonden, T., van Nostrum, C.F., Hennink, W.E., (2009). Cyclodextrin-based polymeric materials: synthesis, properties, and pharmaceutical/biomedical applications, *Biomolecules*, 10(12): 3157-3175.

- [19] **Song, L.X., Bai, L., Xu, X.M., He, J., Pan, S.Z.,** (2009). Inclusion complexation, encapsulation interaction and inclusion number in cyclodextrin chemistry, *Coordination Chemistry Reviews*, 253: 1276-1284.
- [20] **Jesus, M. B., Fraceto, L. F., Martini, M. F., Pickholz, M., Ferreira, C. V., Paula, E.,** (2012). Non-inclusion complexes between riboflavin and cyclodextrins, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 64: 832-842.
- [21] **Ayluhtarhan, M.,** (2015). Siklodekstrin nanoküreler kullanılarak ultrafiltrasyon membranlar ile su arıtımı için etkin bir teknolojinin geliştirilmesi, *Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, Sivas, Sayfa 7.
- [22] **Del Valle, E.M.M.,** (2004). Cyclodextrins and their uses, *Process Biochemistry*, 39: 1033- 1046.
- [23] **Eke, H. H.,** (2014). Farmasötik kullanım için siklodekstrin temelli hidrofilik nanosünger sentezi, *Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, Sivas, Sayfa 8.
- [24] **Bhoi, I.,** (2012) Synthesis and characterization of cyclodextrin based polimers for novel applications (Master of Science Thesis), *University of Baroda Gujarat Faculty of Technology and Engineering*, 193p, India.
- [25] **Çetin, H.,** (2014). Karanfil uçucu yağının siklodekstrinler ile mikroenkapsülasyonu, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, Ankara, Sayfa 26.
- [26] **Vesole, S. M.,** (2011). Affinity-Based Delivery of Retinoids (Master of Science Thesis), *Case Western Reserve University Department of Biomedical Engineering*, 157p, Cleveland.
- [27] **Akçakoca, P.E., Atav, R.,** (2006). Siklodekstrinlerin inklüzyon kompleksleri, *Tekstil ve Konfeksiyon Dergisi*, 2.
- [28] **Swaminathan, S., Vavia, P. R., Trotta, F., Torne, S.J.,** (2007). Formulation of beta cyclodextrin based nanosponges of itraconazole, *Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, 57: 89-94.
- [29] **Mallard, I., Baudalet, D., Castiglione, F., Ferro, M., Panzeri, W., Ragg, E., Mele, A.,** (2015). Polydisperse methyl β -cyclodextrin-epichlorohydrin polymers: variable contact time ^{13}C CP-MAS solid-state NMR characterization, *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 11: 2785-2794.
- [30] **Cavalli, R., Trotta, F., Tumiatti, W.,** (2006). Cyclodextrin-based nanosponges for drug delivery, *Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, 56(1), 209-213.
- [31] **Shende, P. K., Kulkarni, Y. A., Gaud, R. S., Deshmukh, K., Cavalli, R., Trotta, F., Tumiatti, W., Caldera, F.,** (2015). Acute and repeated dose toxicity studies of different β -cyclodextrin-based nanosponge formulations, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 104 (5): 1856-1863.
- [32] **Singh, S.P.,** (2013). A mini review on nanosponge drug delivery system, *Vaagdevi College of Pharmacy Department of Pharmaceutics*, 4p, India.
- [33] **Shende, P. K., Trotta, F., Gaud, R. S., Deshmukh, K., Cavalli, R., Biasizzo, M.,** (2012). Influence of different techniques on formulation and comparative characterization of inclusion complexes of ASA with β -cyclodextrin and inclusion complexes of ASA with PMDA cross-linked β -cyclodextrin nanosponges, *J Incl Phenom Macrocycl Chem*, 74: 447-454.
- [34] **Liang, W., Yang, C., Zhou, D., Haneoka, H., Nishijima, M., Fukuhara, G., Mori, T., Castiglione, F., Mele, A., Caldera, F., Trotta, F., Inoue, Y.,** (2013).

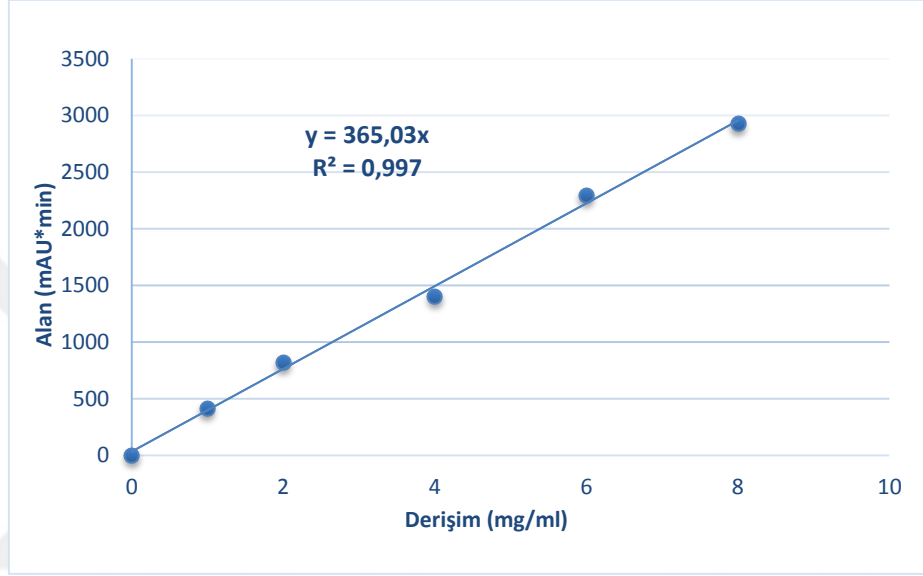
- Phase-controlled supramolecular photochirogenesis in cyclodextrin nanosponges, *Chemical Communications (Camb.)*, 49: 3510-3512.
- [35] **Liang, W., Yang, C., Nishijima, M., Fukuhara, G., Mori, T., Mele, A., Castiglione, F., Caldera, F., Trotta, F., Inoue, Y.,** (2012). Cyclodextrin nanosponge-sensitized enantiodifferentiating photoisomerization of cyclooctene and 1,3-cyclooctadiene, *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 8: 1305-1311.
- [36] **Crupi, V., Majolino, D., Mele, A., Rossi, B., Trotta, F., Venuti, V.,** (2013). Modelling the interplay between covalent and physical interactions in cyclodextrin-based hydrogel: effect of water confinement, *The Royal Society of Chemistry*, 9: 6457-6464.
- [37] **Wajs, E., Caldera, F., Trotta, F., Fragoso, A.,** (2014). Peroxidase-encapsulated cyclodextrin nanosponge immunconjugates as a signal enhancement tool in optical and electrochemical assays, *The Royal Society of Chemistry*, 139: 375-380.
- [38] **Trotta, F., Caldera, F., Cavalli, R., Mele, A., Punta, C., Melone, L., Castiglione, F., Rossi, B., Ferro, M., Crupi, V., Majolino, D., Venuti, V., Scalarone, D.,** (2014). Synthesis and characterization of a hyper-branched water-soluble β -cyclodextrin polymer, *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 10: 2586-2593.
- [39] **Rossi, B., Venuti, V., Paciaroni, A., Mele, A., Longeville, S., Natali, F., Crupi, V., Majolino, D., Trotta, F.,** (2015). Thermal fluctuations in chemically cross-linked polymers of cyclodextrins, *The Royal Society of Chemistry*, 11: 2183-2192.
- [40] **Li, D. Q., Ma, M.,** (2000). Nanosponges for water purification, *Clean and Product Processes*, 112-116.
- [41] **Crini, G.,** (2005). Recent developments of in polysaccharide-based materials used as adsorbents in waste water treatment, *Prog. Polym. Sci.*, 30: 38-70.
- [42] **Mohamed, H. M.,** (2010). Sorption of naphthenic acids using β -cyclodextrin-based polyurethanes, *Department of Chemistry University of Saskatchewan*, PhD. Thesis, 339p, Saskatoon.
- [43] **Röhrscheid, F.,** (2012) Carboxylic acids, aromatic, *Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Weinheim, 10: 1002.
- [44] **Haşçelik, Z.,** (2001). Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi (Ocak Sayısı)*, Ankara.
- [45] **Ninomiya, I., Nagai, N., Oyama, K., Hayashi, H., Tajima, H., Kitagawa, H., Fushida, S., Fujimura, T., Ohta, T.,** (2012) Antitumor and anti-metastatic effects of cyclooxygenase-2 inhibition by celecoxib on human colorectal carcinoma xenografts in nude mouse rectum, *Oncol Rep.*, 28: 777-784.
- [46] **Süzer, Ö.,** (2002) Farmakolojinin temelleri: Analjezik, antipiretik, anti-inflamatuvar ve spazmolitik ilaçlar, *Nobel Tıp Kitapevleri*, 205-225, İstanbul.
- [47] **Kayaalp, O.** (2006). Tıbbi Farmakoloji, *Hacettepe Taş*, 367s, Ankara.
- [48] **Greenfield, E. S.,** (1986). Isolation and identification of drugs, *The Pharmaceutical Press*, 697-698, London.
- [49] **Cagnie, B., Vinck, E., Rimbaut, S., Vanderstraeten, G.,** (2003) Phonophoresis versus topical application of ketoprofen: comparison between tissue and plasma levels, *Phys. Ther.*, 8: 701-712.
- [50] <<https://tr.wikipedia.org/wiki/Ketoprofen>> alındığı tarih 28.11.2016.

- [51] **Ceylan, S.**, (2015). Kimyasal indirgenme yöntemi ile gümüş nanopartikül sentezinde partikül boyutuna tepkime parametrelerinin etkisi, *Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Yüksek Lisans Tezi, Sivas, Sayfa 25.
- [52] **Dua, K., Pabreja, K., Ramana, M. V., Lather, V.**, (2011). Dissolution behavior of β -cyclodextrin molecular inclusion complexes of aceclofenac, *J Pharm Bioallied Sci.*, 3 (3): 417-425.
- [53] **Rabadiya, B., Thakkar, V., Rabadiya, P.**, (2013). Drug-excipients interaction and solubility enhancement study of simvastatin, *International Journal of Pharmaceutical Research and Bio-Science*, 2 (1): 168-185.
- [54] **Roik, N. V., Belyakova, L. A.**, (2011). IR spectroscopy, X-Ray diffraction and thermal analysis studies of solid “ β -cyclodextrin-para-aminobenzoic acid” inclusion complex, *Physics and Chemistry of Solid State*, 12 (1): 168-173.
- [55] **Mura, P., Faucci, M. T., Parrini, P. L., Furlanetto, S., Pinzauti, S.**, (1999). Influence of the preparation method on the physicochemical properties of ketoprofen-cyclodextrin binary systems, *International Journal of Pharmaceutics*, 179 (1): 117–128.
- [56] **Banchero, M., Ronchetti, S., Manna, L.**, (2013). Characterization of ketoprofen/methyl- β -cyclodextrin complexes prepared using supercritical carbon dioxide, *Journal of Chemistry*, 2013: 8.



EK-1 KP Kalibrasyon Eğrisi

KP ilaç aktif maddesinin çözeltisi 2-propanol çözücüsü kullanılarak 5 mg/mL derişiminde hazırlanmıştır. Daha sonra çözücü ile seyreltmeler yapılarak UHPLC cihazında KP için kalibrasyon eğrisi hazırlanmıştır. Kalibrasyon eğrisi (Şekil E1) CDNS'lere KP yükleme veriminin hesaplanması için kullanılmıştır.

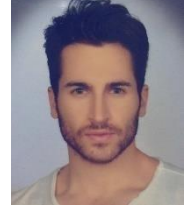


Şekil E1 KP kalibrasyon eğrisi.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Adı Soyadı	Halil İbrahim Çetintaş
Doğum Yeri ve Tarihi	Keşan 01.03.1988
Medeni Hali	Bekar
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Alibaba Mh. Eras Sitesi No:101/15 Merkez/Sivas
E-posta Adresi	halilibrahimcetintas@yahoo.com



Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	Sivas Selçuk Anadolu Lisesi, 2005
Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, 2012
Yüksek Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği A.B.D., 2016

Proje deneyimi: M-564 Nolu "PMDA-Çapraz Bağlı Nanosüngerlerle Ketoprofenin İnkluzyon Komplekslerinin Sentezi" konulu CÜBAP projesi (Yardımcı Araştırmacı).