



**T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ**

ASTIM TEDAVİSİNDE KULLANILMAK ÜZERE *PLANTAGO MAJOR* ÖZÜTÜ İÇEREN LİPOZOMLARIN SENTEZİ VE İN VİTRO BİYUYUMLULUĞUNUN ARAŞTIRILMASI

ALEYNA ÇAVDAR

BIYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Mustafa TÜRK**

KIRIKKALE-2023



**T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ**

**ASTİM TEDAVİSİNDE KULLANILMAK ÜZERE *PLANTAGO
MAJOR* ÖZÜTÜ İÇEREN LİPOZOMLARIN SENTEZİ VE İN
VİTRO BİYUYUMLULUĞUNUN ARAŞTIRILMASI**

ALEYNA ÇAVDAR

BIYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Mustafa TÜRK**

KIRIKKALE-2023

ONAY SAYFASI

Aleyna ÇAVDAR tarafından hazırlanan “ASTİM TEDAVİSİNDE KULLANILMAK ÜZERE *PLANTAGO MAJOR* ÖZÜTÜ İÇEREN LİPOZOMLARIN SENTEZİ VE İN VİTRO BİYUYUMLULUĞUN ARAŞTIRILMASI” adlı tez çalışması, aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Mustafa TÜRK

İmza:

Biyomühendislik Anabilim Dalı, Kırıkkale Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak yüksek lisans tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.

Başkan: Prof. Dr. Ayten ÇELEBİ KESKİN

İmza:

Biyomühendislik Anabilim Dalı, Kırıkkale Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak yüksek lisans tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Arzu KAYA KOÇDOĞAN

İmza:

Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, İstanbul Gelişim Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak yüksek lisans tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.

Tez Savunma Tarihi:/...../.....

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Prof. Dr. Recep ÇALIN

Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYANI

Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

ÖZET

ASTIM TEDAVİSİNDE KULLANILMAK ÜZERE *PLANTAGO MAJOR* ÖZÜTÜ İÇEREN LİPOZOMLARIN SENTEZİ VE İN VİTRO BİYOUYUMLULUĞUNUN ARAŞTIRILMASI

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyomühendislik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Mustafa TÜRK

Eylül 2023, 75 sayfa

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre dünyada 339 milyon kişinin astım hastası olduğu tahmin edilmektedir. Astım hastalığı, akciğerde mikrobik olmayan bir tür iltihap nedeniyle hava yolu duvarının daralması sonucunda ortaya çıkan bir akciğer hastalığıdır.

Astım; nefes darlığı, hırıltı/hışıltı ve ıslık sesi, göğüste baskı hissi ve öksürük gibi belirtiler vermektedir. Astımı tetikleyen faktörler arasında korku, öfke, heyecan, ani sevinç gibi duygusal değişimler ile soğuk hava, toz, duman, sigara, hava koşulları, polenler, tüy yer almaktadır.

Lipozomlar toksik olmayan, kararlı, suda ve yağda çözünen etkin maddeleri içeren, biyouyumlu bir fosfolipit yapısında olup antikanser ilaç tasarımında, gen aktarımında, aşı formülasyonunda, yara iyileşmesinde ve ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanılmaktadır.

Plantago major bitkisi, Türkiye'de solunum yolları tedavisinde sıklıkla kullanılan yaygın bir bitki türüdür. Öksürük, nefes darlığı ve bronşit tedavisinde, göğsü yumuşatma etkisine sahiptir.

Bu çalışmanın amacı *Plantago major* bitkisinden elde edilen ekstraktın lipozomun yapılarıyla enkapsülasyonu sonucu oluşan formülasyonun kimyasal karakterizasyonunu ve sitotoksik etkilerini değerlendirmektir.

Çalışmada *Plantago major* (Sinir otu) bitkisinden ekstrakt elde edilmiş, ince film hidrasyon yöntemi ile lipozomlar üretilmiştir. Elde edilen sinir otu ekstraktı üretilen lipozomla birleştirilmiştir. Lipozomların kimyasal ve morfolojik karakterizasyonları belirlenmiş ve Trakea hücreleri üzerindeki sitotoksite testleri

yapılmıştır. Lipozomun Trakea hücrelerinde sitotoksik etkiye sahip olmadığı tespit edilmiştir.

Bu çalışmanın sonucuna göre; boş lipozomların ortalama boyutunun $99,12 \pm 24$ nm iken sinir otu yüklü lipozomlarının $105,7 \pm 14$ nm olduğu belirlenmiştir. Analiz sonuçlarına göre ortalama boyut ($148,4$) nm ve polidispersite indeksi ($0,38$) değeri saptanmıştır. Lipozomların yüzey yükü ise $-37,2$ mV olarak ölçülmüştür. Sinir otu yüklü lipozomun Trakea hücreleri üzerinde olan sitotoksikite testi ($100 \mu\text{g/mL}$, $50 \mu\text{g/mL}$, $25 \mu\text{g/mL}$, $12,5 \mu\text{g/mL}$, $6,25 \mu\text{g/mL}$) yapılmıştır. Sonuçlara göre; en yüksek konsantrasyon olan $100 \mu\text{g/mL}$ 'de $\%56,47$ ve en düşük konsantrasyon olan $6,25 \mu\text{g/mL}$ 'de ise $\%99,68$ hücre canlılığı tespit edilmiştir. Hemotoksilen ve eozin boyama sonuçları da negatif kontrol ile karşılaştırıldığında çekirdek ve sitoplazmada morfolojik bir değişme olmadığını göstermiştir. İkili boyama sonucuna göre ise; en yüksek konsantrasyon olan $100 \mu\text{g/mL}$ 'de apoptoz oranının $20 \pm 1,5$ iken nekroz oranının $28 \pm 1,52$ olarak, en düşük konsantrasyon olan $25 \mu\text{g/mL}$ 'de apoptoz oranının 9 ± 2 , nekroz oranının ise $7 \pm 2,3$ olduğu bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: *Plantago major*, lipozom, enkapsülasyon, sitotoksikite, MTT, SEM

ABSTRACT

SYNTHESIS AND INVESTIGATION OF IN VITRO BIOCOMPATIBILITY OF LIPOSOMES CONTAINING *PLANTAGO MAJOR* EXTRACT FOR USE IN THE TREATMENT OF ASTHMA

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Bioengineering, Master's Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Mustafa TÜRK

September 2023, 75 pages

According to the World Health Organization, it is estimated that 339 million people in the world suffer from asthma. Asthma is a lung disease that occurs as a result of narrowing of the airway wall due to a type of non-microbial inflammation in the lung. Asthma; It causes symptoms such as shortness of breath, wheezing/wheezing and whistling, feeling of pressure in the chest and cough. Factors that trigger asthma include emotional changes such as fear, anger, excitement, sudden joy, and cold air, dust, smoke, cigarettes, weather conditions, pollens, and feathers. Liposomes have a biocompatible phospholipid structure containing non-toxic, stable, water- and fat-soluble active ingredients and are used in anticancer drug design, gene transfer, vaccine formulation, wound healing and drug delivery systems.

Plantago major plant is a common plant species frequently used in respiratory tract treatment in Turkey. It has a chest softening effect in the treatment of cough, shortness of breath and bronchitis.

In the study, extract was obtained from the *Plantago major* plant and liposomes were produced by the thin film hydration method. The obtained plantain extract was combined with the produced liposome. Chemical and morphological characterizations of liposomes were determined and cytotoxicity tests on tracheal cells were performed. It was determined that the liposome did not have a cytotoxic effect on tracheal cells.

According to the results of this study, it was determined that the average size of empty liposomes was 99.12 ± 24 nm, while the plantain-loaded liposomes were 105.7 ± 14 nm.

According to the analysis results, the average size (148.4) nm and polydispersity index (0.38) value were determined. The surface charge of liposomes was measured as -37.2 mV. Cytotoxicity test of plantain-loaded liposome on Trachea cells (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 6.25) was performed. According to the results, 56.47% cell viability was determined at the highest concentration of 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and 99.68% at the lowest concentration of 6.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Hematoxylin and eosin staining results also showed that there was no morphological change in the nucleus and cytoplasm compared to the negative control. According to the results of double staining; At the highest concentration of 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, the rate of apoptosis was 20 ± 1.5 and the rate of necrosis was 28 ± 1.52 . At the lowest concentration of 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$, the rate of apoptosis was 9 ± 2 and the rate of necrosis was 7 ± 2.3 . has been found.

Key words: Plantago major, liposome, encapsulation, cytotoxicity, MTT, SEM

TEŞEKKÜR

Lisans eğitimimden başlayıp lisansüstü eğitimimle devam eden bu süreçte ilk günden itibaren yalnız bırakmayan, bana her zaman yol gösteren, akademik tecrübesini ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli tez danışmanım Sayın Prof.Dr. Mustafa TÜRK'e en derinden saygı, sevgi ve minnetlerimi sunarım.

Her zaman anlayış ve sabrı ile yaklaşan, hem akademik hem manevi olarak her türlü olanak ve desteği ile sorunları çözen, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşmayı esirgemeyen kıymetli hocam Prof. Dr. Ayten Çelebi KESKİN'e en içten saygı, sevgi ve minnetlerimi sunarım.

Çalışmalarım süresince karşılaştığım deneysel problemlerde yanımda olan, çalışmanın kimyasal karakterizasyon deneylerini kapsayan kısımlarında sonsuz bilgi, tecrübe ve emeği olan Öğr.Gör. Dr. Ogün BOZKAYA'ya teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım boyunca analizlerimin yapılmasında emeği geçen Prof. Dr. Siyami Karahan, Öğr.Gör. Dr. Aytuna Çerçi, Dr.Öğr.Üyesi Esra Bozkaya, Öğr.Gör. Dr Canan Çakır Çoban, Öğr.Gör. Dr. Büşra Moran Bozer'e ve her sorunumda rahatlıkla aradığım Dr.Öğr.Üyesi Arzu Kaya Koçdoğan'a teşekkürlerimi sunarım.

Sabırla, sevgiyle, fedakarlıkla beni büyütüp bugünlere getiren, hayatımın her anında yanımda olan, canım babam Orhan Sayim ÇAVDAR ve biricik annem Hilal ÇAVDAR'a beni dünyadaki en şanslı abla yapan, moral ve motivasyon kaynağım canım kardeşim Tuana ÇAVDAR'a teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca Proje numarası 2022/106 bu tez KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNASYON BİRİMİ tarafından desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı Kırıkkale Üniversitesi Rektörlüğü'ne teşekkür ederiz.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
KISALTMALAR	xvi
1. GİRİŞ	1
1.1. Astımda Risk Faktörleri	3
1.1.1. Astımda Tütün Kullanımı	3
1.1.2. Astımda Kirlilik	3
1.1.3. Astımda Obezite.....	3
1.1.4. Astımda Mikroplar	4
1.1.5. Astımda Hijyen Faktörü.....	4
1.1.6. Astımda Stres	5
1.1.7. Astımda Genetik	5
1.1.8. Cinsiyet	6
1.1.9. Alerjenler	6
1.1.10. Diyet.....	7
1.1.11. Mesleki Maruziyet	7
1.2. Astım Hastalığının Belirtileri.....	7
1.3. Astım Tanı Yöntemleri	8
1.3.1. Anamnez	8
1.3.1. Solunum Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi	8
1.3.2. Deri Delme Testi	9
1.3.3. Laboratuvar Teknikleri	10
1.4. Nanopartikül.....	10
1.5. Lipozom	11
1.6. Lipozomların Fizikokimyası	13
1.7. İlaç Dağıtımında Lipozomlar	13
1.8. Lipozomların Sınıflandırılması	14

1.9. Lipozom Hazırlama Yöntemleri	14
1.9.1. İnce Film Hidrasyon Yöntemi.....	15
1.9.2. Enjeksiyon Yöntemleri	15
1.9.3. Sonikasyon Yöntemi	16
1.9.4. Yüksek Basıncılı Ekstrüzyon Yöntemi	16
1.9.5. Ters Fazlı Buharlaştırma Yöntemi	16
1.9.6. Kalsiyum Kaynaklı Füzyon Yöntemi	17
1.9.6. Dehidrasyon-Rehidrasyon Yöntemi.....	17
1.9.7. Donma-Çözülme Yöntemi	17
1.9.8. Mikroakışkanlaştırma.....	17
1.9.10. Lipozomların Hazırlanmasında Süperkritik Sıvılar (SCF)	17
1.2. Lipozomların Avantajları ve Dezavantajları	18
1.3. Lipozom Oluşum Mekanizmaları	19
1.3.1. Yapısal Bileşenleri	19
1.3.1.1. Fosfolipidler	19
1.3.1.2. Sfingolipitler	19
1.3.1.3. Steroller.....	19
1.3.2. Polimerik Malzeme	20
1.3.3. Polimer Taşıyan Lipitler	20
1.3.4. Katyonik Lipidler	20
1.4. Lipozomların Değerlendirilmesi	20
1.5. Lipozom Uygulamaları	21
1.5.1. Sistemik Lipozomal İlaçlar	21
1.5.2. Topikal Lipozomal İlaçlar.....	21
1.5.3. Lipozomlarda Kozmetik Uygulamalar.....	21
1.5.4. Lipozomlarda Gıda Uygulaması	21
1.5.5. Lipozomlarda Antikanser Tedavisi	22
1.5.6. Lipozomlarla Tıp ve Farmakoloji	22
1.6. Sınır Otu	22
1.6.1. Plantago major'un ana kimyasal bileşenleri	23
1.6.1.1. Flavonoidler	23
1.6.1.2. Alkaloidler	24
1.6.1.3. Terpenoidler	24
1.6.1.4. Kafeik asit türevleri	24

1.6.1.5. İridoid glikozitler	24
1.6.1.6. Yağ asitleri	24
1.6.2. Polisakkaritler	25
1.6.3. Vitaminler	25
1.7. Plantago major'un kısımları	25
1.7.1. Kök ve Yaprakları	25
1.7.2. Çiçeklenmesi	25
1.7.3. Meyveleri ve Tohumları	26
1.8. Çalışmanın Amacı	26
2. MATERYAL VE YÖNTEM	28
2.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar	28
2.1.1. Cihazlar	28
2.1.2. Kimyasallar	29
2.1.2. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Çözeltiler ve Solüsyonların Hazırlanışı	29
2.1.3.1. Besiyeri Hazırlanması	29
2.1.3.2. Double Staining Çalışma Solüsyonu	29
2.1.3.3. MTT Solüsyonunun Hazırlanması	30
2.1.3.4. PBS Hazırlama	30
2.1.3.5. Solüsyonlar	30
2.2. Yöntem	30
2.2.1. Sinir Otu Ekstraksiyonu	30
2.2.2. Boş Lipozomların Hazırlanması	31
2.2.3. Sinir Otu Yüklü Lipozomların Hazırlanması	32
2.2.4. Enkapsülasyon Etkinliği ve Ürün Verimi	33
2.3. Hücre Kültürü Testleri (In Vitro Testler)	33
2.3.1. Hücre Üremesi	33
2.3.2. Hücre Sayımı	34
2.3.3. Hazırlanan Lipozomların Toksisitesinin Belirlenmesi	34
2.3.3.1. MTT Testi	34
2.3.3.2. İkili Boyama Metodu ile Apoptoz ve Nekrozun Belirlenmesi	35
2.3.3.3. Hematoksilin Eozin Testi	36
2.4. Hazırlanan Lipozomların Karakterizasyon Testleri	37

2.4.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi	37
2.4.2. FTIR (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi)	37
2.4.3. Lipozomların Boyut Dağılımı ve Zeta Potansiyeli	37
2.5. İstatiksel Analiz.....	37
3. BULGULAR.....	38
3.1. Sinir Otu Yüklü Lipozomların Enkapsülasyon Etkinliği ve Ürün Veriminin Hesaplanması.....	38
3.2. Taramalı Elektron Mikroskobu ile Morfolojik Karakterizasyonun Yapılması	39
3.3. Hazırlanan Lipozomların FT-IR Karakterizasyonu	41
3.4. Lipozomların Boyut Dağılımı ve Zeta Potansiyeli Sonuçları	43
3.5. Hemotoksilen Eozin Testi	44
3.6. Boş Lipozom ve Sinir Otunun Lipozomların İçine Hapsolması.....	46
3.7. MTT ile Toksisitenin Belirlenmesi	47
3.8. İkili Boyama Metodu İle Apoptotik ve Nekrotik İndeks Sonuçları.....	50
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	55
KAYNAKÇA.....	61
ÖZGEÇMİŞ.....	75

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
1.1. Astım hastalığının tekrarlama riski.....	6
1.2. Lipozomların avantajları ve dezavantajları	18
3.1. Sinir Otunun Trakea hücrelerinde 24 saatlik sitotoksisite sonuçları	48
3.2. Boş lipozomun Trakea hücrelerinde 24 saatlik sitotoksisite sonuçları.....	49
3.3. Sinir Otu Yüklü Lipozomların Trakea hücrelerinde 24 saatlik sitotoksisite sonuçları.....	49
3.4. Sinir otu ekstraktının Trakea hücrelerine ait apoptotik-nekrotik indeks sonuçları.....	50
3.5. Boş lipozomun Trakea hücrelerine ait apoptotik-nekrotik indeks sonuçları.....	52
3.6. Sinir otu yüklü lipozomun Trakea hücrelerine ait apoptotik-nekrotik indeks sonuçları	53

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>ŞEKİL</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Akciğer Anatomisi	2
1.2. Astımda solunum fonksiyonunun değerlendirilmesi.....	9
1.3. Astım hastalarında deri delme testi	10
1.4. Nanopartiküller (Sono Mekanik. Nanopartiküller	11
1.5. Lipozomun yapısı.....	12
1.6. Lipozomların boyutları.....	14
1.7. Sinir otu (Milliyet. Sinir Otunun Faydaları	23
2.1. Kuru Sinir otu fotoğrafı.....	31
2.2. Çalışmada kullanılan Evaporatör	32
2.3. İnce film tabakasıyla lipozom oluşumu	32
2.4. Lipozom oluşumu.....	33
2.5. Trakea hücresi	34
3.1. Sinir otu yüklenmeyen boş lipozomların görüntüsü	39
3.2. Sinir otu yüklü lipozomların görüntüsü	40
3.3. Boş lipozomun FT-IR spektrum okunmasındaki pik değerleri.....	41
3.4. Sinir otu yüklü lipozomun FT-IR spektrum okunmasındaki pik değerleri	41
3.5. Sinir otu yüklü lipozom ve boş lipozomun karşılaştırılması.....	42
3.6. Lipozomların boyut dağılımı.....	43
3.7. Lipozomların zeta grafiği	43
3.8. Boş lipozomun Trakea hücrelerinde hemotoksilen ve eozin ile boyanması ...	45
3.9. Boş lipozomların ve sinir otu yüklü lipozomların ışık mikroskobu görüntüsü.....	47
3.10. Hoechst 33342 ve Propidyum iyodür boyaları kullanılarak yapılan ikili boyamadan elde edilen Trakea hücresine ait apoptotik ve nekrotik hücre fotoğrafları.....	51
3.11. Hoechst 33342 ve Propidyum iyodür boyaları kullanılarak yapılan ikili boyamadan elde edilen Trakea hücresine ait apoptotik ve nekrotik hücre fotoğrafları.....	52

3.12. Hoechst 33342 ve Propidyum iyodür boyaarı kullanılarak yapılan ikili boyamadan elde edilen Trakea hüresine ait apoptotik ve nekrotik hücre fotoğrafları.....	54
---	----



KISALTMALAR

mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
PBS	Phosphate buffered saline
PI	Propidyum iyodür
Rpm	Dakikada devir sayısı
%	Yüzde
°C	Santigrat Derece
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
cm	Santimetre
cm²	Santimetre Kare
g	Gram

1. GİRİŞ

Akciğerlerin temel görevi, burun ve ağız yolu ile alınan havanın etkili biçimde dağıtılarak, akciğerlerdeki kanın oksijen karbondioksit gazı değişimini sağlayıp vücut dengesini korumaktır. Akciğer hacminin %85'ini gaz değişiminden sorumlu parankima yapıları (alveolar keseler, alveollar ve alveol keseleri bağlayan yapılar) ve % 6-10 civarında hacmini ise bronş ve bronşiyoller, geri kalan kısmını da sinir ağları ve vasküler dokular oluşturup, vücut dengesini solunum yolu ile korur (Gehr, 1984; Plopper, 1996). İki işlevsel bölgeye sahip olan insan solunum sistemi, havanın iletimini sağlayan iletim bölgesi ile solunumu sağlayan solunum bölgesinden oluşur. İletimi sağlayan; burun boşluğu ve bağlantılı sinüsler, yutak, gırtlak, soluk borusu, bronş ve bronşiyollerden oluşup ve solunan havanın filtrelenmesini sağlar (Crystal, 1997). İletimi sağlayan hava yolları ise soluk borusu ve terminal bronşiyollerden oluşur (Plopper, 1996).

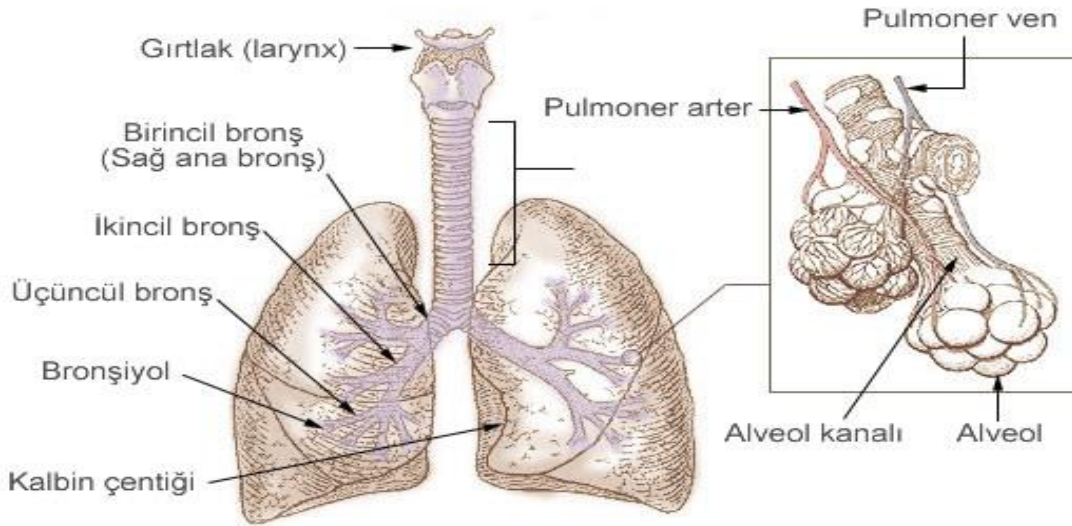
Akciğerlerde bir ilacın optimal absorpsiyon özellikleri, ilacın etki yerine bağlıdır. Belli bir bölgeye etkili olan ilaçlar için, ilaç absorpsiyon süreci, ilacın akciğerlerdeki etkisinin ortadan kaldırılmasını ve sonuç olarak sonlandırılmasının yanı sıra yan etkilerin başlamasını da belirleyebilir. Pulmoner dağıtım için ilaçlar geliştirildiğinde, etki bölgesine bakılmadan hem akciğer dokusunda tutulmasına hem de geçirgenliği dikkate alınmalıdır. Üst solunum yollarının temel işlevi alveollere hava sirkülasyonunu sağlamak, alınan havayı nemlendirmek ve gerekirse ısıtmak, yabancı maddelerden arındırmaktır (Kimoff, 2005).

Astım, göğüste daralma, hırıltı, öksürük ve nefes darlığı şeklinde kendini gösterip hastalarının yaklaşık %75'inde atopinin eşlik ettiği ve çok faktörlü zemine sahip kronik bir solunum rahatsızlığıdır (Amerika Akciğer Derneği 2014;DSÖ,2007). Araştırmalar; solunum bozukluğu olan astımın, kadınlarda erkeklerden daha yaygın olduğunu, çocuklarda ise astım prevalansının erkeklerde kızlara göre daha yüksek olduğu saptanmıştır (Vozoris, 2011). Çocukluk döneminin en sık görülen kronik rahatsızlığıdır. Astım, işe ve okula devamsızlığın ana sebeplerinden olup, 15 yaşın

altındaki çocukların hastaneye yatırılmasındaki önde gelen nedenlerdendir (Amerika Akciğer Derneği, 2014).

Atopik fertler astımı geliştirmeye daha eğilimlidirler ve astım yaygınlığının çoğu özel alerjilerle ilişkilendirilebilir (Amerika Akciğer Derneği, 2008. Alerjik hastalığa genetik yatkınlığı olan tüm bireyler astım geliştirmez bununla birlikte tüm astım hastaları da algılanabilir şekilde yüksek alerjik tepkilere sahip değildir. Astım gelişiminde; normalinden yüksek immünoglobulin E (IgE) seviyesi, mast hücrelerindeki yüksek alerjik mediatör salgılanması, akciğerlere eoizonofillerin sızması, hava yollarında iltihaplanma rol oynamaktadır.

Akciğerlerdeki kronik iltihaplanmanın azaltılması, iltihaplanma önleyici ajanların kullanımı astımın uzun vadeli kontrolünün bir parçasıdır. Yapılan çalışmalarda hem aile temelli hemde ikizlik durumu astımın karmaşık bir genetik hastalık olduğunu göstermektedir (Allen, 2003). Astım hastalığında genellikle gen ve çevre etkileşimlerinden kaynaklandığı düşünülür. Astımın tetiklenmesinde birkaç risk faktörü vardır (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Akciğer Anatomisi (<https://ahmetalpman.com/akcigerin-anatomisi/>)

1.1. Astımda Risk Faktörleri

1.1.1. Astımda Tütün Kullanımı

Düzenli sigara içiminin astım gelişiminde risk faktörü taşıdığı ve sigara içen kadınların özellikle risk altında olduğu gözlemlenmiştir. Sigara içen bireylerde astım kontrolünün sağlanması, sigara içmeyen bireylere göre daha zor olduğu gözlemlenmiştir (Rabe vd., 2004; Vozoris vd., 2011, Cerveri vd., 2012; To vd., 2012). Sigara içmek ile astımın arasında açık bir ilişki olduğu düşünülmektedir. (Flodin vd. 1995; Toren vd.,1999; Plaschke vd., 2000; Chen vd., 2002; Piipari vd., 2004).

Doğum öncesinde ve doğum sonrasında pasif dumana maruz kalmanın etkisini inceleyen 76 kişilik çalışmanın sistematik incelenmesi ve meta-analizi, doğan çocuklarda astım riskinin %21 ila %85 arasında arttığını bildirmiştir. Çocuklukta pasif dumana maruz kalıp yetişkinliğe gelindiğinde astım gelişme riskinin arttığıyla ilişkilendirilmiştir (Skorge vd., 2005).

1.1.2. Astımda Kirlilik

Dışardaki ve içerdeki hava kirliliğine maruz kalmak hem astımın gelişiminde hem de astım semptomlarının tetiklenmesinde ciddi bir risk faktörü olmaya devam etmektedir (Jung vd., 2012). Akut veya kronik hava kirliliğine maruz kalmanın, pulmoner sistemin küçük tahrişinden, kronik solunum morbiditesini etkileyerek olumsuz sağlık durumlarına (astım, KOAH, kalp hastalığı, akciğer kanseri ve ölüm) neden olmaktadır (Burnett vd., 1998; Andersen vd., 2012; Souza vd., 2012; Ko vd., 2012; Lavigne vd., 2012; Wellenius vd., 2012).

Çevresel müdahalelerle iç mekanlardaki alerjen ve kirletici maruziyetlerin azaltıldığında astımda da belirgin bir düzeyde iyileşme olduğu ilişkilendirilmiştir (Morgan vd., 2004; Eggleston vd., 2005). Çocukluk astımında diğer risk faktörleri olarak ise diyet ve beslenme faktörü, aşırı beslenme, yetersiz D vitamini çocuklarda hem astımı hemde astım morbidite riskini arttırdığı gözlemlenmiştir (Keet vd., 2011, Matsui vd., 2009; Wu vd., 2012).

1.1.3. Astımda Obezite

Obezite insanların astım riski, fenotip ve hastalığın tahmini üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Çalışmalar obez hastalarda astımın görülme riskinin daha yüksek olduğunu

ve astımlı obez hastalarda sağlık durumunun bozulduğunu göstermektedir. Hem obez hem de astım olan bireylerde daha fazla semptom gözlenir, yaşam kalitesi kötüleşir ve artan sağlık sorunları, şiddetli astım atakları görülür (McCormack vd., 2009; Sousa vd., 2012).

1.1.4. Astımda Mikroplar

Astım patogenezinde bakteriyel ve viral enfeksiyonlar önemli faktörler olup, astım hastalarının mukozal ve sistemik bağışıklık savunmasının bir sonucu olarak bu tür enfeksiyonlara karşı daha duyarlı olduğu belirlenmiştir. Hava yolundan gelen bakteri ve bağırsak mukozal bakteriyel kolonizasyonu, hastanın savunma mekanizmasında önemli bir rol oynamaktadır. Hem konakçı faktörler hem de enfeksiyonlar nedeniyle astımın ilerlemesine neden olurlar (Fuchs vd., 2013). Çocuklarda solunum yollarında görülen ve enfeksiyonlara neden olan en yaygın virüsler insan rinovirsleri (HRV'ler), solunum sinsityal virüsü (RSV), grip ve parainfluenza virüsleri, koronavirüs, adenovirüs, insan metapnmovirs ve son olarak da bokavirsdr (Kieninger vd., 2013; Xepapadaki vd., 2012; Sly vd., 2008). Fuchs ve von Mutius tarafından yapılan son incelemede, çocuklukta oluşan astım gelişiminde virüs ve bakterilerin rolü için bir kuram önerilmektedir (Fuchs vd., 2013). Astımın gelişimine neden olan 4 önemli bileşen şöyle tanımlanır:

1. Değiştirilmiş hava yolu fonksiyonu ve mekaniği
2. Bozulmuş mukozal bağışıklık tepkileri
3. Bozulmuş sistemik bağışıklık tepkileri
4. Atopik duyarlılaşma

Bu nedenler, annenin ve yavrularının genetik arka planını etkileyip, tütün dumanı, antibiyotik kullanımının fazlalığı, enfeksiyonlar, mikrobiyal ortamlar gibi çevresel maruziyetlere bağlı olarak doğum öncesi astım hastalığını oluşturabilirler (Fuchs vd., 2013).

1.1.5. Astımda Hijyen Faktörü

Astımda hijyen hipotezi ilk olarak 1989'da Strachan tarafından ele alınmıştır (Strachan, 1989). Bu hipotez son birkaç on yılda sanayileşmiş dünyada ilerleyen astım ve alerjik hastalık sıklığı gösteren büyük epidemiyolojik verilere dayanmaktadır. Buna ek olarak, daha önce yaygın olarak görülen enfeksiyonlar ve çeşitli çevresel

mikroorganizmalara karşın artan antibiyotik kullanımı, hijyen ve kentleşme ile birlikte çocuklarda oluşan maruziyetler azaltılmıştır. Hijyen hipotezi ile yapılan araştırmaların dikkat çeken bulgularından biri, vücuttaki patojenler tarafından immun sistemin tekrar tekrar uyarılmasının, alerjik hastalıkların gelişiminde önemli bir role sahip olmasıdır. Bakteriyel antijenlere erken maruz kalmanın koruyucu bir rolü olsa da, hassas bireylerde hem Gram-negatif (LPS) hem de Gram pozitif (süperantijen) bakteriyel antijenlere maruz kalıp inflamatuvar yanıtları destekleyerek hastalığın şiddetinde artışa neden olabileceği de görülmüştür. Patojenlere karşı bağışıklık yanıtının sonucunu belirleyen faktörler arasında antijenlere maruz kalma yolu ve süresi, hastanın genetik geçmişi ve doz miktarları vardır (Edwards, Barlett, Hussel, Openshaw ve Johnston, 2012; Bufford, Gern, 2005).

1.1.6. Astımda Stres

Elde edilen kanıtlarda psikososyal stres ile astım ya da astım morbiditesi arasında bir ilişki olduğu bilinmektedir. Mevcut bulgular; davranışsal, otonom, nöroendokrin ve strese yanıt veren immünolojik tepkileri düzenleyen genlerin metilasyonunda ve ekspresyonundaki değişmeleri dahil ederek bu sorunların altında yatan potansiyel nedenleri de göstermektedir. Kronik strese sahip olan gençler travma öncesi ve sonrası stres bozukluğuna ve de astıma eğilimli duyarlılık genlerinin var olduğunu gösteren kanıtlar da vardır. (Rosenberg, Miller, Brehm ve Celedon, 2014).

1.1.7. Astımda Genetik

Astım kompleks bir genetik bozukluktur. Çevresel maruziyetlere ilave olarak genetik faktörlerin astımın başlangıcında, şiddetlenmesinde ve tedavisi üzerinde önemli bir rolü vardır (Duffy, Martin, Battistutta, Hopper ve Mathews, 1990; Koppelman, Los ve Postma 1999). Son yıllarda astımda dahil olmak üzere yaygın olan kompleks hastalıkların genetik bazlarını araştırmak üzere genom çapında ilişki çalışmaları (GWAS'lar) yapılmıştır (Altshuler, Daly ve Lander, 2008; McCharty, Abecasis ve Cardon, 2008). Bir kişinin yaşadığı popülasyona bakmak astım hastalığının kalıtsal bir özellik olduğu hakkında ipuçları verir. İlk olarak hastalığın oluşumunda coğrafı ve ırksal farklılıklar vardır. İkinci olarak ise astımlı ebeveynlerin yavrularında da astım riski taşınmasıdır (Asher, Montefort, Björkstén, Lai, Strachan ve Weiland, 2006).

Astım şiddetini semptom sıklığı, akciğer fonksiyonun işlevi ve hava yolu iltihabı parametreleri etkiler. Bir kişinin ailesinde şiddetli astım hastalığı var ise o kişide de şiddetli astım gelişme olasılığının yüksek olduğunu gösterir (Thomsen, Vander Sluis, Kyvik ve Backer, 2012; Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1. Astım hastalığının tekrarlama riski (Thomsen, 2015)

Etkilenen akraba	Kişinin kendi astım riski (%)
Aile geçmişi yok	5
Amca/yeğen/kuzen	10
Üvey kardeş	10
Kardeş	225
Bir ebeveyn	25
Çift yumurta ikizi	35
İki ebeveyn	50
Tek yumurta ikizi	75

1.1.8. Cinsiyet

Astım hastalığının yaygınlığı çocukluk döneminde erkek çocuklarında kız çocuklarından 2 katı daha fazla görülmektedir. Çocukluk döneminden ergenlik ve yetişkinliğe doğru gidildikçe farkın kapandığını yetişkin kadınlarda daha sık görüldüğü bilinmektedir. Astım hastalarının hastaneye yatma durumunun kadınlarda erkeklere göre 3 kat fazla olduğu bilinmektedir ve menapozda hastalığın azaldığı görülmektedir. American Lung Association, 2020; Astım Tanı ve Tedavi Rehberi, 2020; GINA, 2021; Olgun ve diğerleri, 2007; Türkiye Kronik Hava Yolu Hastalıkları Önleme ve Kontrol Programı, 2018-2023).

1.1.9. Alerjenler

Astım hastalığında kuvvetli bir risk faktörü olarak alerjenler yer almaktadır. Bu risk faktörü; alerjene, alerjenin dozuna, alerjenin maruziyet süresine, kişinin yaşına bağlı olduğu bilinmektedir. Alerjenlerin yaş ilerledikçe astım görülme sıklığının arttırdığı ve astım ataklarına neden olduğu bilinmektedir. American Lung Association, 2020;

Astım Tanı ve Tedavi Rehberi, 2020; GINA, 2021; Olgun ve diğeri, 2007; Türkiye Kronik Hava Yolu Hastalıkları Önleme ve Kontrol Programı, 2018-2023).

1.1.10. Diyet

Astım hastalığında anne sütü ve kişinin yaptığı diyet ile astım hastalığının ilişkisi araştırılmıştır. İnek sütü ile beslenen çocukların, anne sütü ile beslenen çocuklara göre astım prevalansı incelendiğinde inek sütü ile beslenen çocukların erken çocukluk dönemlerinde hışıltılı solunum yaşadıkları belirlenmiştir. Diyeti omega-3 yağ asiti tarafından zengin olan insanlarda astım belirtilerinin daha az olduğu görülmüştür. Yüksek meyve ve sebze tüketen insanların da astım hastalığına daha az yakalandığı bilinmektedir (Amerikan Akciğer Derneği, 2014).

1.1.11. Mesleki Maruziyet

Endüstri olarak ilerlemiş ülkelerde en yaygın hastalıklardan biri mesleki solunum sistemidir. İş ortamında maruz kalınan etmenler nedeniyle oluşan bu astıma mesleki astım denir. Mesleki astıma neden olan dört yüzden fazla alerjen olduğu bilinmektedir. Tozlara, kimyasal dumana, buhara, küflere maruz kalınması astımın ilk gelişme basamağı olup insanların hobileri ve yaptığı meslekler nedeniyle hastalığın tanısı koyulabilmektedir (Çelik, Soyer ve Aydın, 2020)

1.2. Astım Hastalığının Belirtileri

Astım hastalığına neden olan iki temel faktör vardır. Konakçı faktörler ve bağışıklık sisteminin gelişiminde rol oynayan çevresel faktörlerdir. Astım bu iki faktörün etkileşimine dayanan karmaşık bir hastalık olarak bilinmektedir (Anonim, 2007). Astım hastalığının bir yaş dilimi yoktur hayatın herhangi bir aşamasında meydana gelebilir. İlk astım belirtileri erken çocukluk döneminde görülebilir (The Global Asthma Report (TGAR), 2018). Semptomlar kişiden kişiye farklılık göstermektedir. Hastalığın ilerlemesi ve belirtileri bireyin yaşamına, çevresel faktörlere, genetiğine bağlı olarak değişebilir.

Astım belirtisi olarak hırıltı, nefes darlığı, göğüste sıkışma ve öksürük vardır. Astım hastalığı, hava yolunun tıkanması, hava yolu duvarlarının daralması ve balgam artışı ile sonuçlanır. Astım birçok faktöre göre tetiklenebilir ve şiddetlenebilir. Astım

hastaları uygun ilaç dozlarıyla herhangi bir kısıtlama getirmeden hayatlarına devam edebilirler. Astım hastalığında doktorların önerdiği şekilde ilaç kullanmak, sigarayı bırakmak, düzenli egzersiz yapmak ve sağlıklı beslenmek astım hastalığının kontrolünü kolaylaştırabilmektedir (Dünya Astım Günü Basın Bildirisi, 2019).

1.3. Astım Tanı Yöntemleri

Astım hastalığındaki bulgular genellikle Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH) veya yaşlılıkta gözlemlenen solunum sıkıntıları ile karıştırılmaktadır. Astım tedavisinin başarılı bir şekilde gerçekleşmesi için tanının doğru zamanda konulması önemlidir. Astım ataklarının sıklığı ve şiddeti kişiden kişiye değişmektedir. Astım tanısı; anamnez, fizik muayene, solunum fonksiyonlarının değerlendirilmesi, deri delme testi ve laboratuvar tetkikleri ile konulmaktadır (Biol ve Sütçü, 2020).

1.3.1. Anamnez

Astım atakları kişiden kişiye büyük ölçüde değiştiği için hastanın detaylı bir şekilde ailesi, çevresi ve iş öyküsü ele alınmalıdır. Anamnezde, hastanın atak yaşarken nefes darlığı, hırıltısı, göğüste baskı hissi ve öksürük gibi bulguların varlığı sorgulanmalıdır. Ailede astım öyküsünün olması hastalarda tanıyı koymaya yardımcı olmaktadır. Astım hastalarında atakların gün içinde veya mevsimsel değişiklik gösterdiği, dış ortamlarda ki hava kirliliği, egzersizler ve rahatsız edici kokular gibi faktörlerin geceleri artması astım tedavisini etkileyebilir. Tetikleyici etkenlere maruz kalındığında artan semptomlar, gece ya da sabaha karşı atakların alevlenmesi olarak bilinmektedir (Biol vd., ve Olgun vd., 2017).

1.3.1. Solunum Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi

Astım hastalığının tanı ve takibinde solunum fonksiyon testleri en önemli araçlardır. Solunum fonksiyonlarının ölçülmesi astım hastalığının tanısının desteklenmesini sağlar. Hastada tıkanıklık her zaman olmayabilir ve test sonuçları da normal çıkabilir. Bu durum astım olmadığını göstermez. Solunum fonksiyonları testlerinin amacı hastanın astım seviyesini ve tanısını belirlemektir (Şekil 1.2). Testin düzenli olarak yapılması önerilmektedir ve belirtiler görüldüğünde yılda birkaç kez tekrarlanmalıdır (Çelik vd., 2020).



Şekil 1.2. Astımda solunum fonksiyonunun değerlendirilmesi

(<https://www.medicana.com.tr/saglik-rehberi-detay/12541/solunum-fonksiyon-testi-sft/>)

1.3.2. Deri Delme Testi

Deri delme testi, alerjik astımda şüphelenilen alerjenlerin tanımlanması amacıyla yapılan bir testtir. Deri delme testinde negatif ve pozitif kontroller kesinlikle kullanılmalıdır. Test yapılmadan önce steroid, antihistaminik ve antidepresan kullanıp kullanılmadığı sorgunlanmalıdır eğer kullanılıyorsa belli bir zaman önceden bırakılmalıdır. Deri delme testi her yaştaki hastaya yapılabilir (Şekil 1.3). Deri delme testlerinde negatif kontrolde kabarıklık gözükmez. Kabarıklığın çapı >3 mm veya daha fazla ise test pozitif olarak kabul edilir (Eigenman, Atanaskovic-Markovic, O'B Hourihane, Lack, Lau ve Matricardi, 2013; Norrman, 2009).



Şekil 1.3. Astım hastalarında deri delme testi

(<https://www.koruhastanesi.com/yetiskin-alerji-testi-deri-prick-testi-1684-5/>)

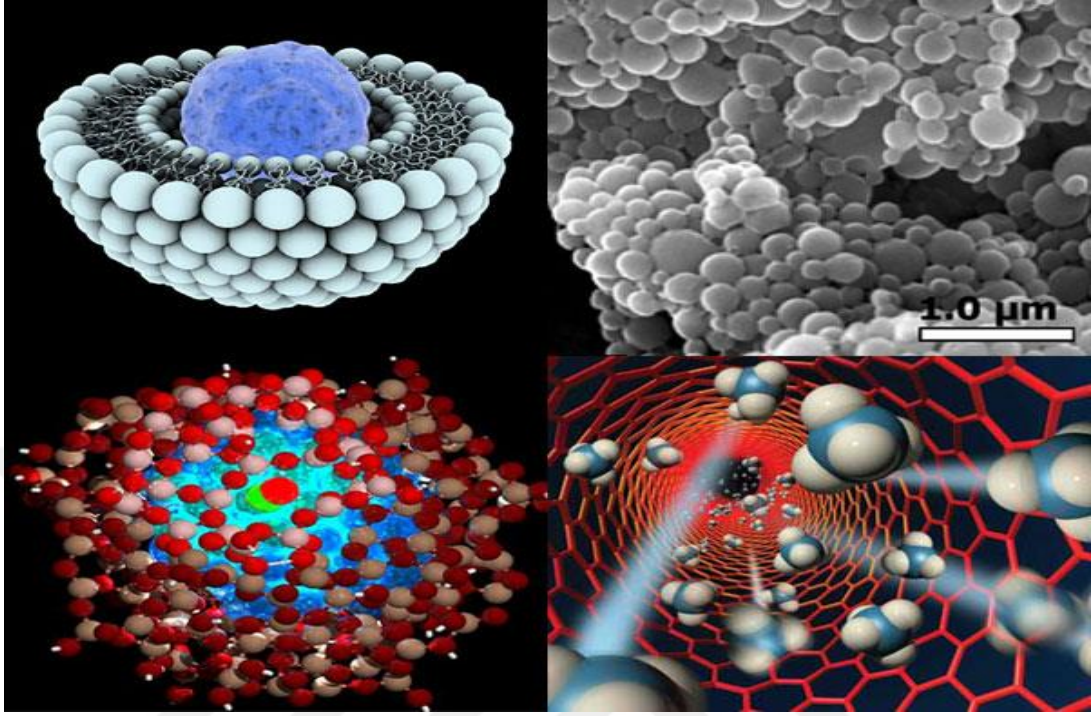
1.3.3. Laboratuvar Teknikleri

Hastada astım şiddeti arttıkça Immunoglobulin E miktarı artmaktadır. Hastadan alınan kan ve balgam örneklerinde ki eozinofil sayısındaki artış astım tanısını destekler. Kandaki Immunoglobulin E miktarı astım hastalığının fenotipinin belirlenmesinde yardımcı olur (Biol vd.,, 2020).

1.4. Nanopartikül

Nanopartiküller; boyutları 10-1000 nm aralığında bulunan partiküllerdir. Nanopartiküller ilacı hapsedebilir, kapsülleyebilir veya bir nanoparçacık matrisine bağlayabilir (Langer, 2020; Bhadra, Bhadra, Jain ve Jain, 2002; Kommareddy, Tiwari ve Amiji, 2005; Lee ve Kim, 2005). Elyaf ve tekstil, adli tıp, uzay, hastalık tedavileri, elektronik, nanoteknoloji ve tarımda geniş ölçüde kullanılmaktadır. Nanoteknolojinin tıpta kullanılması nanotıp kavramının kullanılmasına neden olmuştur. Şimdiye kadar nanopartiküller, nanokapsüller, misel sistemler gibi nanotıp kavramları geliştirilmiştir. Bu kavramlar ilacın biyoyararlanımını, ilacın yarı ömrünü uzatır. En büyük

avantajlarından biri ise nanoteknoloji ile hedeflenen ilaç salımı yapılabilmesidir (Suphiya, Ranjita, Sanjeeb ve Sahoo, 2012, Şekil 1.4.).



Şekil 1.4. Nanopartiküller (Sono Mekanik. Nanopartiküller)

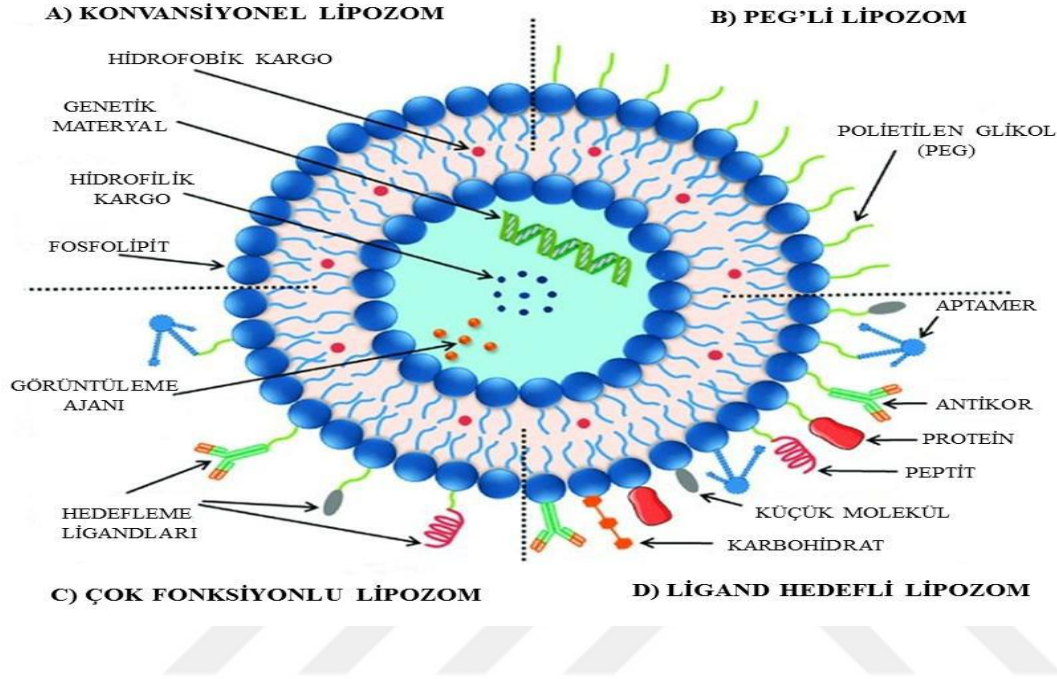
https://www.sonomekanik.com/ultrasonik_nano_boyutta_dagitmak.php / Erişim Tarihi: 25.02.2023

Hedeflenen ilaç dağıtımı ya pasif hedefleme yöntemi ile ya da aktif hedefleme yöntemiyle gerçekleşir. Pasif hedefleme yöntemi genellikle tümör veya iltihaplı dokular gibi hastalıklı dokuların tedavisinde kullanılır. Aktif hedeflemede ise reseptöre özgü ligandların konjugasyonu gereklidir. Konjuge nanotaşıyıcılar; fizyolojik sorunların üstesinden gelebilir, farklı dokulara erişebilir. Nanopartiküllerin dağıtım sistemi olarak kullanılmasındaki temel amaç; parçacık boyutunu, yüzey özelliklerini ve aktif ajan salınımını kontrol etmesidir (Maeda, Bharate ve Daruwalla, 2009; Gulloti ve Yeo, 2009).

1.5. Lipozom

Lipozomlar ilk olarak Alec Bangham ve arkadaşları tarafından keşfedilip elektron mikroskobu ile incelenmiştir (Bangham ve Horne, 1964). Keşfedildikten 10 yıl sonra

Gregory Gregoriadis biyoterapötik ilaçların lipozomlara hapsedilebileceğini göstermiştir (Gregoriadis, 1976; Gregoriadis, 1974, Gregoriadis 1973). Lipozom kelimesi Yunanca bir kelime olup yağ anlamına gelen ‘lipos’ ve vücut anlamına gelen ‘soma’ dan türemiştir (Gujrati, Sharma, Pandit ve Mahajan, 2019, Şekil 1.5).



Şekil 1.5. Lipozomun yapısı (Nizam, 2021)

Lipozomlar yapay veya doğal fosfolipidlerden oluşan çeşitli boyutlara sahip yapay veziküllerdir (Akbarzadeh,2013). Lipit çift tabakasına ve sulu çekirdekten oluşan hücre zarına benzer bir yapıya sahiptir. Lipozomların formülasyonlarına bağlı olarak boyut, lipit bileşimi ve yük bakımından farklılık gösterebilirler. Biyolojik olarak uyumludurlar ve az toksikdirler bu sebeple tüm bu özellikler lipozomları ideal ilaç taşıyıcıları yapar (Allen, 1997). Lipozomlar, morfolojik olarak hücre zarlarına benzediğinden ve çeşitli maddeleri birleştirebildiklerinden ideal ilaç taşıyıcı sistem olarak görünmektedirler. İn vitro ve in vivo çalışmalarda da hem biyolojik hem de teknolojik avantajları nedeniyle bugüne kadar bilinen en başarılı ilaç taşıyıcı sistem olarak kabul edilirler (Felice, Prabhakaran, Rodriquez ve Ramakrishna, 2014).

İki katmanlı yapılara lipozom, tek katmanlı yapılara ise misel denir (Vyas ve Khar, 2007). Lipozomların boyutları değişebilir fakat ilaç verme hedefindekiler için genelde 40-500 nm boyutu tercih edilir (Etheridge, 2013). İlaç yüklenen lipozomların

boyutlarına dikkat edilmelidir çünkü boyutları tedavi boyunca ilaç taşıyıcısının salınımını ve başarısını etkiler (Nagayasu, Uchiyama ve Kiwada, 1999). Yakın geçmişte, lipozomlar; antibiyotiklerde (Marchianoa, Matosb, Pertierraa, Gutierrezb ve Blancolopeza, 2020; Cha, Son ve Ryu, 2019), genlerde (Chunyan, Zhang, Zhu, Guo, Sun, Chen ve Deng,2020; Rodrigues, Kanekio ve Singh, 2020). Antifungallarda (Bezerra, Alencar Junior, Honorato ve Santos, 2020; Oliveira, Nakamura, Correa, Petrilli, Vianne Lopez, Nakamura ve Velty,2020) anti-enflamatuar (Zhang, Wei Du, Ying, Zhao, Zhang, Zhang, Yin ve Xinsong,2020; Zhang ve Michniak-Kohn, 2020). Anti-kanser ilaçlarında (Bai, Fei, Ying, Miao, Du, Zhang, Yang ve Liu, 2020; Li, Tan, Liu, Liu, Fank, Rao, Yuanyuan, Yang ve Liu, 2020). Farmasötik ve biyoloji gibi tıbbi alanlarda kullanılmaktadır.

1.6. Lipozomların Fizikokimyası

Lipozomlar içerdiği bileşenlerin doğası, boyutlarına, yüzeydeki yüklerine ve lipid organizasyonuna bağlıdır (Euliss, DuPont, Gratton ve DeSimone, 2006). Lipozomlar fosfolipidlerden, hidrofilik bir başlığa ve iki apolar hidrofobik zincire sahip amfifilik moleküllerden oluşur. Lipozomdaki fosfolipidler amfipatik oluşları nedeniyle sulu çözeltilerin içinde dağılırlar ve zar oluşturmaya yönelik güçlü bir eğilim gösterirler (Papahadjopoulos ve Kimelberg, 1973).

1.7. İlaç Dağıtımında Lipozomlar

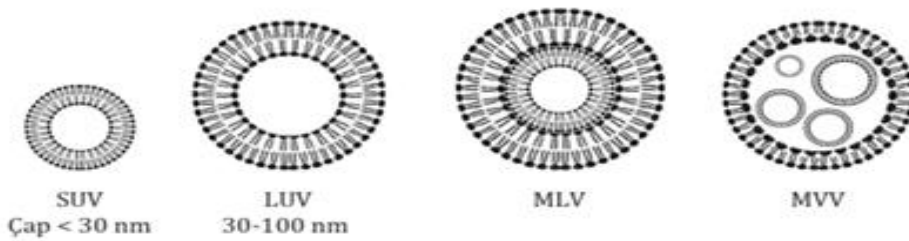
Lipozomlar ilk kez 1960'da tanımlanmalarından bu yana, uzun süredir ilaç dağıtım araçları olarak tanınmaktadır. Lipozomlar biyoyumlulukları ve biyobozunurlukları nedeniyle ilaç dağıtımını için uygundur ve güvenli nano-taşıyıcılar olarak kabul edilirler. Lipozomlar biyoyumlu olmalarına ek olarak, lipozomlar hem hidrofilik hem de hidrofobik ilaçları içermeye yeteneğine sahiptirler. Lipozomdaki bir molekülün kapsüllenme etkinliği, polaritesine ve lipozomal zardaki yerini belirleyen bölünme katsayısına bağlıdır. İlaç eğer doğası gereğince hidrofobik ise lipozomda asil hidrokarbon zincirinde bulunur. Eğer polar/hidrofilik ise sulu çekirdekte veya lipozomun polar baş gruplarının yakınında, su-lipit arayüzünün bitişiğinde olma eğilimindedir (Mohan, Narayanan, Sethuraman ve Krishnan, 2014).

1.8. Lipozomların Sınıflandırılması

Lipozomların hazırlanması için kullanılan birçok farklı yöntem vardır. Uygun yöntemin seçimi birkaç faktöre bağlıdır: (Gomez-Hens ve Fernandez-Romero, 2006; Mozafari, Johnson, Hatziantonioo ve Demetzos,2008; Wagner ve Vorauer-Uhl, 2011).

- 1) Lipozomu oluşturan bileşenlerin ve yüklenecek ilacın fizikokimyasal özellikleri,
- 2) Yüklenen maddenin toksisitesi ve konsantrasyonu,
- 3) Lipozomların dağıldığı ortam tipi,
- 4) Lipozomların uygulanması veya teslimi sırasında ilave işlemler
- 5) Başarılı uygulama için istenen boyut ve yarılanma ömrü,
- 6) Klinik amaçlı büyük ölçekli üretim ve iyi üretim uygulamaları gibi birkaç faktöre bağlıdır

Lipozomların hazırlanma yöntemlerine göre bir veya daha fazla katman içeren farklı tipleri vardır. Lipozomlar yapılarına göre çok lamelli veziküller (MLV'ler, 0,1–15 µm), küçük tek lamelli veziküller (SUV'ler, 25–50 nm), büyük tek lamelli veziküller (LUV'ler, 100 nm–1 µm), dev tek lamelli veziküller (GUV'ler, 1,0–200 µm) ve multivesiküler veziküller (MVV'ler, 1,6–10,5 µm) olarak sınıflandırılır (Agustina ve Juan, 2005) (Şekil 1.6). Vezikül boyutu lipozomların hedef bölgedeki dolaşım yarı ömrünün belirlenmesinde önemli bir parametredir, çift tabakaların hem boyutu hem de sayısı ilaç kapsülleme miktarını etkileyen parametrelerdendir.



Şekil 1.6. Lipozomların boyutları (Kırtıl, Öztop; 2014)

1.9. Lipozom Hazırlama Yöntemleri

Uygun bir lipozom formülasyonu yönteminin en temel amacı, ilaç yakalayabilme veriminin yüksekliği ve ürünlerin uzun vadeli stabilitesi olduğundan küçük boyutta

lipozomlar elde edilmelidir. Lipozom hazırlama yöntemlerinde genel prosedür ilk olarak lipidin hidratlanması, daha sonra partiküller boyutlandırılarak kapsüllenmiş ilacın çıkarılmasını içerir. Lipozomların hazırlanmasında iki yöntem vardır: Pasif yükleme ile mekanik dispersiyon yöntemleri ve aktif yükleme yöntemidir. Lipozom hazırlanmasında sık kullanılan yöntemler; ince film hidrasyon yöntemi, mikroemülsifikasyon, sonikasyon, membran ekstrüzyonu, dondurarak çözme yöntemi, eter enjeksiyon yöntemi, etanol enjeksiyon yöntemi, ters fazlı buharlaştırma yöntemi, dehidrasyon-rehidrasyon ve kalsiyum kaynaklı füzyon yöntemidir (Nidhal ve Athmar, 2012; Anwecar ve Patel, 2011; Sirisha ve Bhavaniharika, 2012; Sipai ve Vandana, 2012).

1.9.1. İnce Film Hidrasyon Yöntemi

İnce film prosedürü en yaygın lipozom oluşturma yöntemidir. Bu yöntemde; diklorometan (Chanda ve Das, 2011) kloroform (Aukunuru ve Joginapally, 2009; Devi ve Kumar, 2011; Jadhav ve Nagarsenker, 2011) etanol (Achim ve Precup, 2009) ve kloroform-metanol karışımı (2:1 v/v; 9:1 v/v; 3:1 v/v) (Bhatia, 2004; Da Costa ve Moraes, 2003; Ghanbarzadeh ve Valizadeh, 2013) gibi organik çözücüler kullanılır. Çözücü eklenip 45-60 °C sıcaklıkta vakum altında buharlaştırılarak ince ve homojen bir lipid filmi oluşturulur (Chanda vd., 2011; Channarong ve Chaicumpa, 2011).

Hidrasyon adımı sırasında damıtılmış su (Chanda vd., 2011; Hwang ve Lee, 2007), fosfat tamponu çözeltisi (Divakar ve Kumar, 2013), fosfat salin tamponu (Devi ve Kumar, 2011; Kumar ve Badde, 2010) veya normal salin tamponu kullanılır (Achim vd., 2009; Bhatia, 2004) Hidrasyon sırasında süre 60-70 °C sıcaklıkta 1 saatten 2 saate kadar değişebilir (Chanda vd., 2011; Channarong vd., 2011).

1.9.2. Enjeksiyon Yöntemleri

Eter Enjeksiyon Yöntemi:

Eter enjesiyon yönteminde lipit çözeltisi, kapsüllenecek malzemenin sulu bir çözeltisine eter veya dietil eter/metanol karışımı içinde çözülmesiyle yapılır. Düşük basınç altında organik çözücü uzaklaştırılması sonucunda lipozomlar oluşur (Kumar vd., 2010; Sipai vd., 2012).

Etanol Enjeksiyon Yöntemi:

Etanol enjeksiyon yönteminde, lipit çözeltisi önceden hazırlanmış damıtılmış su veya TRİS-HCl tamponuna hızla enjekte edilir. Etanol enjeksiyonunda ilacın lipozom vezikülünün içine dahil olması hidrofilik/hidrofobik karakterine bağlıdır (Da Costa ve Moraes, 2003; Kumar vd., 2010).

1.9.3. Sonikasyon Yöntemi

Lipozom hazırlanmasında sonikasyon yöntemi, boyut değişimine dayanır. Sonikasyon yöntemi ile banyo tipi veya prob tipi sonikatör kullanılarak küçük veziküllerin homojen dağılımı sağlanır. Lipit süspansiyonunun aşırı ısınma olasılığı deprede olmasına neden olur (Hwang vd., 2007; Prabhu ve Kumar, 2010; Lopes ve Scarpa, 2006). Banyo sonikatörleri SUV (Da Costa vd., 2003; Jadhav ve Nagarsenker, 2011; Makhmalzadeh ve Azh, 2011; Hathout ve Mansour, 2007; Rathod ve Deshpande, 2010; Channarong vd., 2011)'un hazırlanmasında en yaygın kullanılan aletlerdir. Sonikasyon yöntemi büyük hacimli seyreltik lipitler için kullanılır.

1.9.4. Yüksek Basıncılı Ekstrüzyon Yöntemi

İnce film hidrasyon yöntemiyle hazırlanan lipozomlar filtreden geçirilerek polikarbonat membranlarla yüksek basınçlı ekstrüzyon yönteminde lipozom boyutu azaltılır (Nidhal vd., 2012; Raman vd., 2010).

1.9.5. Ters Fazlı Buharlaştırma Yöntemi

Ters fazlı buharlaştırma yönteminde dietil eter/ izopropil eter veya dietil eter/ kloroform (1: 1 v / v) (Da Costa vd., 2003) gibi organik çözücülerle, fosfolipit içeren kloroform/metanol (2: 1 v / v) (Hathout vd., 2007) karışımı kullanılır. Organik faz ile su karışmamalı böylece bir yağ/su emülsiyonu oluşmalıdır. Lipozom verimliliğini arttırmak için sulu faza fosfat tampon salin (Hathout vd., 2007; Mishra ve Gupta, 2007) veya sitrik-Na₂HPO₄ tampon (Da Costa vd., 2003) eklenir. Lipozomların oluşması için organik çözücülerin vakum altında sürekli döner buharlaştırıcıyla buharlaşması gerekir (Da Costa vd., 2003; Niu ve Lu, 2011; Hathout vd., 2007; Mishra vd., 2007).

1.9.6. Kalsiyum Kaynaklı Füzyon Yöntemi

Bu yöntem lipozomların oluşumu sırasında kalsiyum eklenmesine dayanır ve sonucunda çok tabakalı veziküller oluşur. Etilendiamintetraasetik asit (EDTA) ilavesi ile LUV lipozomlarının oluşumunu sağlar (Mulye ve Mishra, 2013). LUV lipozomlarının oluşması asidik fosfolipitlerden meydana gelir (Nidhal vd., 2012; Mulye vd., 2013).

1.9.6. Dehidrasyon-Rehidrasyon Yöntemi

Bu yöntemde fosfatidilkolin, 1,2-diöleoil-3- (trimetilamonyum) propan ve kolesterol kullanılarak sonikasyon yöntemiyle küçük tek tabanlı veziküller oluşur. Elde edilen lipozomlar dondurulur ve gece boyunca kurutulur (Perrie ve Frederik, 2001).

1.9.7. Donma-Çözülme Yöntemi

Lipozomun içindeki hapsolmuş ilacın hacmini artırmak için dondurma ve çözme yöntemi kullanılmıştır. Dondurma-çözme yöntemi, fosfolipidin konsantrasyonuna ve ortamın iyonik gücüne bağlıdır (Gaurav ve Tejal, 2011). Tek lamelli veziküllerin oluşumuna yol açarken lamelli yapının fiziksel olarak bozulmasını da etkileyebilir. Tek lamelli veziküller hızla donduktan sonra yavaş yavaş çözünmeye (Gaurav vd.,2011; Traikia ve Warschawski, 2000) başlar ve donma-çözünme döngüleri tekrarlanır (Shazly, 2013; Sipai vd., 2012).

1.9.8. Mikroakışkanlaştırma

Mikroakışkanlaştırma, lipozomların büyük ölçekli üretimi için mikroemülsifikasyona dayalı bir yöntemdir. Boltič ve ark. antibiyotik yüklü lipozomların ince tabaka hidrasyon yöntemi ile hazırlandıktan sonra banyo tipi bir sonikatörle sonike edip kısmi homojenizasyon elde etmek için mikroakışkanlaştırma yöntemini kullanmışlardır (Boltic ve Petkovska, 2003).

1.9.10. Lipozomların Hazırlanmasında Süperkritik Sıvılar (SCF)

Lipozomların üretilmesinde süperkritik sıvılar, yüksek miktarda toksik organik çözücü gerektirdiğinden, sınırlı laboratuvar ölçekli üretim (Chang ve Yeh, 2012; Karn ve Cho, 2013; Cocero ve Marin, 2009; Zhong ve Dai, 2011) gibi geleneksel yöntemlerle mevcut sorunların üstesinden gelmek için kullanılır. Lipozomların hazırlanmasında

farmasötik alanda en yaygın kullanılan süperkritik sıvı, süperkritik karbon dioksittir (Zhong vd., 2011). Bu sıvılar toksik olmamasıyla, yanmazlığıyla, geri dönüştürülebilirliğiyle, optimum sıcaklıklarda çalışılabilirliği ile diğer sıvılara göre avantajları vardır (Karn vd., 2013; Zhong, 2011; Darani ve Mozafari, 2009).

1.2. Lipozomların Avantajları ve Dezavantajları

Çizelge. 1.2. Lipozomların avantajları ve dezavantajları

AVANTAJLAR	DEZAVANTAJLAR
Hidrofobik, amfipatik ve hidrofilik ilaçlarda kullanılabilir.	Boyutlarının büyüklüğünden dolayı çeşitli dokularda hedefleme sorunu ortaya çıkabilir.
Biyolojik olarak uyumludurlar.	Alerjik reaksiyonlar meydana gelebilir.
Tamamen parçalanabilirler.	Düşük çözünürlük
Toksik ve immünojenik değildir.	Yarılanma ömrünün kısalığı.
Tümör dokularına seçici pasif hedefleme sağlarlar.	Maaliyeti yüksektir.
İlacın kapsüllenmesiyle kararlılık artar.	Kapsüllenen ilacın/molekülün sızıntısı veya füzyonu
Hassas dokuların toksik ilaca maruz kalması azaltılır.	Daha az kararlılık
Protein stabilizasyonu sağlanır.	Retiküloendotelial hücrelerde hızlı alım sağlanır.
Kapsüllenmiş ilaç dış ortamdan korunur.	
İlaçların farmakokinetiği ve farmakodinamiğini değiştirir.	
Sürekli salım gerçekleştirilebilir.	

1.3. Lipozom Oluşum Mekanizmaları

1.3.1. Yapısal Bileşenleri

1.3.1.1. Fosfolipidler

Fosfolipitler, fosfatidik asitden meydana gelir. Lipozomda kullanılan fosfolipitlerin omurgası gliserol parçalarıdır. Lipozomların ve biyolojik zarların %50'den fazlasını lipitler meydana getirir. Fosfolipitlere örnek verilirse;

- ❖ Fosfatidil kolin (Lesitin)
- ❖ Fosfatidil etanolamin (Sefalin)
- ❖ Fosfatidil serin (PS)
- ❖ Fosfatidil inositol (PI)
- ❖ Fosfatidilgliserol (PG)

Lipozomların kararlılığını etkileyen parametrelerden biri de doymuş yağ asitleridir. Doymamış yağ asitleri lipozom üretiminde genellikle tercih edilmez.

1.3.1.2. Sfingolipitler

Sfingolipitler, sfingonizin yapı taşlarından biridir. Bitki ve hayvan hücrelerinin önemli bileşenlerindedir. Sfingolipitler yağ asidi, sfingozin ve basit bir ana grup alkol içerir. En yaygın sfingolipitler; sfingomiyelin, glikosfingolipidler ve gangliosidler olarak sıralanır.

1.3.1.3. Steroller

Lipozomlara eklenen sterollerden kolesterol ve türevlerinin;

- Lipozomlarda oluşan çift tabakanın akışkanlığını veya mikro vizkozitesini azaltmak.
- Zardan geçebilecek moleküllerin geçirgenliğini suda çözünür hale getirmek.
- Biyolojik sıvıların varlığında zarı stabilize eder.

Lipozomlar kolesterol içermediğinde; albümin, transferrin ve makroglobulin gibi plazma proteinleri ile etkileşime girer. Bu plazma proteinleri, lipozomlardan fosfolipitleri çıkartma eğilimindedir ve bu nedenle lipozomların tek tabakalarını

kaybederek fiziksel kararsızlığa yol açarlar. (Thulasirammaraju vd., 2012; Shashi vd., 2012).

1.3.2. Polimerik Malzeme

Sentetik fosfolipitler, hidrokarbon zincirinde diasetilenik gruplara sahip olduğundan Uv'ye maruz kaldığında polimerleşirler. Bu polimerleşme lipozomlarda daha yüksek geçirgenlik bariyerlerine sahip olan polimerize lipozom oluşumuna neden olur (Sarazwathi ve Umansakar, 2014).

1.3.3. Polimer Taşıyan Lipitler

Makromoleküller genellikle itici elektrostatik kuvvetlerle kararlılığını sağlar buna da itme kuvveti denir. Bu itme kuvveti, lipozom yüzeyinin yük polimerleri ile kaplanmasını indükler. Polietilen oksit, non-iyonik ve su ile uyumlu olmasından polivinil alkol ve polioksazolidinden daha yüksek çözünürlük sağlar. Hidrofilik başın, hidrofilik segmentleri içerdiği kopolimerlerin adsorpsiyonu lipozomlarda sızıntıya yol açar. Polimerler fosfolipidlere kovalent olarak bağlanmasıyla daha iyi sonuçlar elde edilir (Thulasirammaraju vd., 2012).

1.3.4. Katyonik Lipidler

Katyonik lipitlere: Dioktadesil dimetil amonyum bromür veya klorür (DODAB/C), DOTAP- Dioleoil propil trimetil amonyum klorür ve DOTAP'ın ve diğer katyonik lipitlerin türevleri olarak örnek verilebilir (Thulasirammaraju vd., 2012).

1.4. Lipozomların Değerlendirilmesi

Lipozomlar hazırlandıktan sonra in vivo ve in vitro öngörülebilirliklerini sağlayacak şekilde karakterize edilirler. Karakterizasyon parametreleri; fiziksel, kimyasal ve biyolojik parametreler olmak üzere 3 aşamada sınıflandırılabilir. Fiziksel karakterizasyon değerlendirme parametreleri boyut, şekil, kimyasal ve biyolojik parametreler olmak üzere üç grupta sınıflandırılabilir. Kimyasal karakterizasyon parametrelerinde lipofilik içeriklerin saflığı ve gücünü belirler. Son olarak biyolojik karakterizasyon da terapötik uygulama için formülasyonunun güvenliğini ve uygunluğunu belirlemede yardımcı olur (Sarazwathi ve Umansakar, 2014).

1.5. Lipozom Uygulamaları

1.5.1. Sistemik Lipozomal İlaçlar

Genellikle intravenöz uygulamalardan sonra lipozomlar yabancı parçacıklar olarak tanınırlar ve mononükleer fagosit sistemi hücreleri tarafından endositozlanan hücreler karaciğer ve dalakta Kuppfer hücrelerini sabitlerler. Lipozomlar iyi bir ilaç dağıtım aracı olarak kullanılırlar (Dapergolas, Gregoriadis ve Hypoglycaemic, 1976).

1.5.2. Topikal Lipozomal İlaçlar

Lipid veziküllerinin iki katmanlı yapısı arasındaki benzerlik ve doğal zar lipid vezikülünün yeteneği lipozomların cilt bakımı uygulamalarında kullanılmasına olanak sağlar. Lipozomlar nemlendirici veya onarıcı etkileri sebebiyle de kullanılırlar (Betz, Aeppli, Menshutina ve Leuenberger, 2005).

1.5.3. Lipozomlarda Kozmetik Uygulamalar

Lipozomlar, yaşlanmanın birincil nedeni olan cilt kuruluğunu azaltıp, cildin nemli kalması gibi avantajlar sunar. Ayrıca lipozomlar ciltteki lipitleri, daha da önemlisi linoleik asidi yeniler. Piyasaya çıkan ilk lipozomal kozmetik ürün 1986 yılında Christian Dior tarafından piyasaya sürülen yaşlanma karşıtı kremdir. Saç dökülmesini önlediği veya azalttığı bilinen regain lipozomlarda saç tedavisi sektöründe kullanılmıştır. Lipozomun içine yüklediğimiz boş veya nem yüklü cilt bakım ürünleri transdermal olarak su kaybını en aza indirerek kuru ciltlerin tedavisinde kullanılır. Derinin dış katmanlarından biri olan stratum korneum tabakasının lipid ve su tedarikini arttırırlar (Müller-Goymann, 2004; Patravale ve Mandawgade, 2008).

1.5.4. Lipozomlarda Gıda Uygulaması

Lipozomlar son yıllarda gıda sektöründe önem kazanmaya başlamıştır. Lipozomlar gıda endüstrisinde kullanılan mikrokapsülleme tekniklerinin çoğunda kullanılan şeker, nişasta, sakız, protein, sentetik, dekstrin ve aljinatlardan oluşan biyopolimer matrikslere dayanır. (Taylor, Weiss, Davidson ve Bruce, 2005; Reza, Johnson, Hatziantoniou ve Demetzos, 2008).

1.5.5. Lipozomlarda Antikanser Tedavisi

Çeşitli antikanser ajanlarının farklı lipozom formülasyonlarında, serbest ilaca göre daha az toksik olduğu gözlemlenmiştir. Bölünen hücrelerin büyümesini durduran ilaçlara antrasiklin ilaç denir. Bu ilaçlar DNA'yı birleştirir ve bu nedenle bölünen hücreler ilaç sayesinde hızlı bir şekilde öldürülür. Tümörlerdeki bölünen bu hücreler mide-bağırsak mukozası, saç ve kan hücrelerinde bulunur, Antrasiklin ilaç sınıfı oldukça toksik olup en çok kullanılan ve üzerinde çalışılanı ise Adriamisin'dir (Gabizon, 1989; Storn, Roerding, Steerenberg, De Jong ve Crommelin, 1987; Lasic, Martin, Gabizon, Huang ve Papahadjopoulos, 1991).

1.5.6. Lipozomlarla Tıp ve Farmakoloji

Lipozomlar, tıp ve farmakolojide tanısall ve terapötik uygulamaları, bunların hücre etkileşimi, tanıma süreci ve maddelerin etki şekli ile ilgili temel çalışmalarda model ve reaktif olarak kullanılması olarak sınıflandırılabilir. Lipozomlarda yüklenen ilacın zamansal ve mekânsal dağılımı ilacın verimliliğini artırabilir bununla birlikte biyodağılımı ve farmakokinetiği gibi birçok prelinik ve klinik çalışmalarda o ilacın kalıcı etkinliğide yükselebilir. Lipozomdaki gelişmeler antisens oligonükleotit, klonlanmış gen ve rekombinant protein gibi yeni biyoteknolojik ürünlerin üretiminde ilk sıralarda yer almaktadır. Lipozomlar geniş kapsamlı formüle edilebilirliği ve serbest ilaca kıyasla terapötik aktivitenin artmasına ve toksisitenin azalmasına neden olmaktadır (Banerjee, Tyagi, Li ve Huang, 2004; Parthasarathy, Sacgks, Harris, Brock ve Mehta, 1994, Mehta, Sadeghi, McQueen ve Lopez-Brestein, 1994).

1.6. Sibir Otu

Plantago major, Plantaginaceae familyasına ait çok yıllık bir bitki türüdür. Yaprakları rozet şeklinde büyür ve paralel damarlanma görülür. Yaprakları tüsüzdür, çiçekleri ise dallanmamış uzun uçlarında küçük ve kahverengimsi yeşildir (Andary, Wylde, Laffite, Privat ve Winternitz, 1982; Anderson, 1986; Angelo, Lambev, Markov, Yakimova, Leseva ve Yakimov; 1980; Aspinall, 1973, Şekil 1.7.). *Plantago major* L. rüzgârla tozlanır ve 20.000 e kadar tohum üretir (Faegri, 1970).

Tohumlar küçük, oval bir şekile sahiptir ve hafif acı tadları vardır. Tohumlarının endospermi yağ ve protein ile dolu hücre lümeni ile kalın selülozik duvarlara sahiptir.

Bitkinin tohumları kapsül içinde bulunur ve kapsülde bulunan polisakkaritlerin şişmesi nedeniyle nemli havalarda yapışkan hala gelmektedir. Yapışkan olması nedeniyle insana ve hayvana yapışarak etrafa yayılmaktadır (Kadro, 1963). *Plantago major* L. bitkisinin dünyaya dağılmış 265 türü vardır. Bu bitkinin adı ‘‘ayak tabanı’’ anlamına gelen Latince ‘‘planta’’ sözcüğünden gelir (Feinbrun- Dothan ve Flora, 1978).



Şekil 1.7. Sınır otu (Milliyet. Sınır Otunun Faydaları)

<https://www.milliyet.com.tr/pembenar/sinir-otunun-faydalari-nelerdir-sinir-otu-cayi-nasil-yapilir-6299162/> Erişim Tarihi: 01.03.2023)

1.6.1. Plantago major’un ana kimyasal bileşenleri

Plantago major önemli bir terapötik bitkidir. Bu bitki; flavonoidler, alkaloidler, terpenoidler, fenolik bileşikler (kafeik asit türevleri), iridoid glikozitler, yağ asitleri, polisakkaritler ve vitaminler dahil olmak üzere çeşitli biyoaktif bileşikler içerir. *Plantago major*ün içinde bulunan bileşikler bitkinin tohumunda, yaprağında, çiçek ve kök kısmında bulunur.

1.6.1.1. Flavonoidler

Plantago major bitkisinde flavonoidlerin varlığı yaygın olarak bilinmektedir ve luteolin ve apigen en sık görülen flavonoidlerdir (Kawashty, 1994; Nishibe;1995) Yuting ve arkadaşları da baicalein, hispidulin ve plantagin (1990) tespitini, Kawashty (1994) ve arkadaşları luteolin 7-glucoside, hispidulin 7-glucuronide, luteolin 7-diglucoside, apigenin 7-glucoside, nepetin 7-glucoside ve luteolin 6-hidroksi 4'-metoksi 7-galaktoside izole etmiştir.

1.6.1.2. Alkaloidler

Schneider, indicain ve plantagonin alkaloidlerini izole etmiş ancak bitkiden kimyasal bileşenleri çıkarmak için kullanılan işlem belirtilmemiştir.(Schneider ve Arzneidrogen, 2009).

1.6.1.3. Terpenoidler

Terpenoidler, *Plantago major* bitkisinin yapraklarından (Pailer ve Haschke-Hofmeister, 1969) ve yaprak mumlarından izole edilmiştir. Pailer ve Haschke-Hofmeister yapraklarından loliolid, Hiltibran ve arkadaşları(1953) %95 etanol içinde içinde yaprak mumu ekstresinden ursolik asit, oleanolik asit, sitosterol asit ve 18 β -glisirretinik izole etmişlerdir. Ringbom ve arkadaşları (1998) aynı terpenoidleri bitkinin heksan ekstraktından da elde etmiştir. *Plantago major*'un yaprak mumu diklorometan, kloroform ve tolüen ile kolayca ekstrakte edilmiştir (Bakker, 1998).

1.6.1.4. Kafeik asit türevleri

Noro ve arkadaşları (1991) plantamajoside ve acteoside olmak üzere iki adet kafeik asit türevi bulmuşlardır.

1.6.1.5. İridoid glikozitler

Long ve arkadaşları (1995) *Plantago major* bitkisinin yapraklarından iridoid glikozitlerden ucubini, Bianco ve arkadaşları (1995) ise bitkinin çiçek kısmından asperülosid izole etmişlerdir. Handjieva ve arkadaşları (1991), *Plantago major* bitkisinin toprak üstü kısmının n-butanol ekstraktı içinde majoroside rastlamıştır. Taskova ve arkadaşları (1999) ise 10-hidroksimajorosid ve 10-asetoksimajorosid elde etmiştir. Son olarak Murai ve arkadaşları literatüre katapol, gardoside, geniposidik asit ve melittosidi eklemiştir (Murai, 1995).

1.6.1.6. Yağ asitleri

Plantago major in tohum ve yapraklarından yağ asitleri izole edilmiştir. Pailer ve Haschke-Hofmeister (1969) bitkinin tohumlarından lignoserik asidi izole etmişlerdir. Bu bitkide palmitik asit, stearik asit, oleik asit, linoleik asit ve linolenik asit gaz-sıvı kromatografisi ile tespit edilmiştir (Ahmed, 1968).Guil ve arkadaşları (1977) ise bitkinin yapraklarından araşidik asit ve behenik asit elde etmiştir.

1.6.2. Polisakkaritler

Ahmet ve arkadaşları (1968) *Plantago major* bitkisinin tohumlarından ana polisakkaritler olan ksiloz, arabinoz ve galakturonik asiti elde etmişlerdir. Samuelsen ve arkadaşları (1999) anti-tamamlayıcı ile asidik arabinogalaktan, arabinoz, galaktoz, rhamnoz ve galakturonik asit elde etmişlerdir.

1.6.3. Vitaminler

Plantago major bitkisi iyi bir C vitamini ve karotenoid kaynağıdır. Zenni ve Ogzwealla (1997) tarafından yapılan çalışmada askorbik asit ve β -karoten (provitamin A) izole ederek iyi bir C vitamini ve karotenoid kaynağı olduğunu doğrulamışlardır.

1.7. Plantago major'un kısımları

1.7.1. Kök ve Yaprakları

Plantago major kısa, köklü ve dik otsu bir gövdeye sahiptir. Yaprakları rozet şeklinde olup 30 cm uzunluğa ulaşır. Yapraklarında paralel damarlanma (5-9 damar) görülüp oval veya eliptik şekilde bulunurlar. Yaprakları tüylü veya tüsüz olabilir, mor ve yeşil renkte gözlemlenebilir. Toplam yaprak sayısı ve bitkinin büyüme durumu biyokütle miktarını etkiler. (Sagar ve Harper, 1964; Samuelsen, 2000) *Plantago major* beyazımsı renkte kökler üretirler ve 1 m uzunluğa kadar büyürler (Sagar, 1964). Bu bitkinin yatay halinde olanları, dik halinde olanlara göre daha az sayıda kök üretildiği belirtilmiştir.

1.7.2. Çiçeklenmesi

Plantago major bitkisinin çiçeklenmesi nerede yetiştiğine bağlı olarak genelde ılıman bölgelerde Mayıs'tan Eylül'e kadar yetişir (Long, 1938). İlk çiçeklenmesi 13. haftayı bulur fakat bitkiler 0,çimlenmeden sadece 6 hafta sonra çiçek açabilir ve tohum verebilir (Sagar, 1964). Yaprakları yumuşak yapraklara göre sert olduğundan otlayan hayvanlar tarafından tüketilmezler. *Plantago major* bitkisinin çiçek kısmı 2-4 mm çapında sivri uçlara sahip olup sarımsı beyaz çiçekler taşır (Sharma, Koul ve Koul, 1992).

1.7.3. Meyveleri ve Tohumları

P. major bitkisinin meyvesi kapsül şeklindedir ve ortalama 5 mm büyüklüğündedir. Bir başak üzerinde çok sayıda kapsüle sahiptir. Bir başaktaki ortalama kapsül sayısı 23-26 arasındadır. Tohumlar bu kapsüllerden üretilir ve kapsül başına düşen tohum sayısı 4-15 arasındadır (Şekil 1.8). *Plantago major* bitkisinin yatay halinde olanları dikey halinde olanlara göre daha az sayıda tohum üretir. *Plantago major* bitkisi bitki başına 20.000 kadar tohum üretirler ve tohumlar çok küçüktür (0,4–0,8 × 0,8–1,5 mm). Tohumların kabuğunda bulunan polisakkitler nemlendiğinde tohumlar büyür ve hayvanlara yapışabilir böylece geniş alanlara kadar yayılabilir (Samuelsen, 2000).



Şekil 1.8. Sinir otunun tohumları (Lezzet. Sinir Otunun Faydaları Nelerdir?)

<https://www.lezzet.com.tr/lezzetten-haberler/sinir-otunun-faydalari-nelerdir/> Erişim Tarihi: 03.03.2023)

1.8. Çalışmanın Amacı

P. major (sinir otu) tıbbi açıdan önemli etkilere sahip bir bitkidir. *P. major* bitkisi kullanılarak sağlık alanında farklı çalışmalar yapıp gelişmeler elde edilmiştir. Çeşitli hücre hatlarında yapılmış olup umut verici sonuçlar alınmıştır. Ancak bu bitki ile

yapılan çalışmalara göre daha önce solunum rahatsızlıklarından astım hastalığında kesin bir bilgi elde edilememiştir. Bu çalışmanın amacı; P.major'un Trakea hücre hattında MTT ile sitotoksisite analizi yaparak hücre canlılığını, hemotoksilen eozin ile sitoplazma ve çekirdekteki morfolojik yapısını incelemek, SEM ile boyutlandırma, ikili boyama testi ile % apoptotik, nekrotik indeksi hesaplayarak hücre ölüm oranını belirlemektir. Buna ek olarak lipozomların boyutunu ve zeta potansiyelini (yüzey yükünü) lerek lipozomların stabilitesini belirlemektir. Çalışmanın sonucunda; bitkinin bitkisel bir ilaç potansiyeli ile ilgili bir fikir vermesi ve ileride yapılacak çalışmalara alt yapı oluşturması hedeflenmiştir.



2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar

2.1.1. Cihazlar

- Santrifüj (Nüve, NF-400)
- Laminar Flow Kabin (ESCO class II BSC Laminar Flow Cabinet Labor İldam)
- pH metre (Mettler Toledo)
- Buzdolabı (Beko-9621 NE)
- Su banyosu
- Vorteks (Heidolph-Reax top)
- Saf su cihazı (Purelab Option R15)
- Etüv (BINDER)
- Mikropipet (ependorf)
- Mikropipet (GILSON)
- Hassas Terazı (Mettler Toledo)
- Işık mikroskobu (Leica, Germany)
- Otoklav (Hirayama)
- Soğutmalı Santrifüj (Hettich Rotina 380 R)
- İnverted Mikroskop (Leica, Germany)
- Rotary Evaporatör (Hettich Zentrifugen)
- Elisa Plate Okuyucu (ALLSHENG AMR-100 Microplate Reader)
- Hemositometri (Invitrogen Countess Automated cell counter)
- -80 derin dondurucu (GFL)
- Zeta-Size (Malvern NS)
- FTIR (Bruker Vertex 70 V)

2.1.2. Kimyasallar

- Dulbecco's Modified Eagles Medium (DMEM, SIGMA)
- Fetal Bovine Serum (FBS, CAPRICORN)
- Penicilin- Streptomycin (Pen-Strep Solution-Biological Industries)
- Trypsin EDTA Solution C (Biological Industries-İsrail)
- Dulbecco PBS (1x, CAPRICORN)
- 3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium-bromide (SERVA)
- DMEM (High Glucose, Phenol Redsiz)
- Ribonükleaz A
- Propidium Iodide
- Hoechst
- Tripan Blue (NanoEnTek)
- Hemotoksilen (Merck)
- Eozin (Merck)
- Kloroform (sigma)
- Lecitin (Sigma)
- Dimetil Sülfoksit (SERVA)

2.1.2. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Çözeltiler ve Solüsyonların Hazırlanışı

2.1.3.1. Besiyeri Hazırlanması

%89 Dulbecco's Modified Eagles Medium

%10 Fetal Bovin Serum

%1 Penicillin- Streptomycin

2.1.3.2. Double Staining Çalışma Solüsyonu

Hoechst 1 ml PBS'de 200 mikrogram olacak şekilde hazırlanmıştır. Propidium Iodide 1 mL PBS'de 100 mikrogram olacak şekilde hazırlanmıştır. Ribonükleaz A'dan 1 ml PBS'de 10 mg olacak şekilde hazırlanmıştır. Solüsyonlar +4 °C'de saklanmıştır.

Double staining çalışma solüsyonunun hazırlanmasında 10 ml PBS içine RNAaz stoktan 100 mikrolitre Hoechst stoktan 500 mikrolitre ve Propidium Iodide stoktan 100 mikrolitre ilave edilerek hazırlanmıştır.

2.1.3.3. MTT Solüsyonunun Hazırlanması

1 mg MTT tozunu 1 mL fenol redsiz besiyeri içerisinde çözdürülmüştür. 0,2 mikronluk filtreden geçirilmiştir. +4 °C’de folyoya sarılı bir şekilde ışık geçirmesi engellenerek saklanmıştır.

2.1.3.4. PBS Hazırlama

1 mL Dulbecco’s Phosphate Buffered Saline ile 9 ml Molecular Grade Water toplamı 10 ml olacak şekilde hazırlanmıştır.

2.1.3.5. Solüsyonlar

Deneysel çalışmalarda sinir otu, boş lipozom ve sinir otuna ait solüsyonlar hazırlandı. Solüsyonlar:

1 mL kurutulmuş sinir otu ekstraktı: 0,0475 g sinir otu özütü bulunmaktadır.

1 mL kurutulmuş boş lipozom ağırlığı: 0,00061 g lipozom bulunmaktadır.

1 mL kurutulmuş sinir otu yüklü lipozom ağırlığı: 0,00152 g sinir otu yüklü lipozom bulunmaktadır.

2.2. Yöntem

2.2.1. Sinir Otu Ekstraksiyonu

Sinir otu bitkisi, yaprakları kuru ve paketli bir şekilde satın alınmıştır (Şekil 2.1). Ekstraksiyonun daha verimli olması için yapraklar ufalanarak küçültülmüştür. Ufalanmış yapraklardan 0,1 g tartılarak üzerine otaklavlanmış 100 ml su eklenmiştir (Koçancı, Dolanbay, Aslım, 2022). Hazırlanan karışım evaporatörün yardımı ile ekstrakte edilmiştir. Ekstrakte edilen sinir otu süzgeç kağıdı ile süzülüp PBS ile (1:10) seyreltilmiştir. Sitotoksite de kullanılmak üzere 0,22 mikrometrelik filtreden geçirilmiştir.



Şekil 2.1. Kuru Sinir otu fotoğrafı

2.2.2. Boş Lipozomların Hazırlanması

Lipozomları hazırlamak için gerekli malzemeler, kimyasallar bölümünde listelenip firmalardan temin edilmiştir. Bu tez kapsamında lipozomlar ince film hidrasyon yöntemi ile sentezlenmiştir. Lesitin kloroform içerisinde 5 mg/mL olacak şekilde dağıtıldı. Karışım homojenliğin sağlanmasıyla amacıyla 20 dk manyetik karıştırıcıya alındı. Yuvarlak tabanlı balon joje döner buharlaştırıcıya yerleştirildi (Şekil 2.2). Karışım 80 rpm, 40 °C ve 200 m bara ayarlandı. Karışım buharlaşana kadar evaporatörde döndürüldü. Sıvı uçtuktan sonra 10 mL PBS ile hızlı bir şekilde yarım saat çalkalanarak lipozomlar oluşturuldu (Şekil 2.3; Sayıt, 2015).



Şekil 2.2. Çalışmada kullanılan Evaporatör

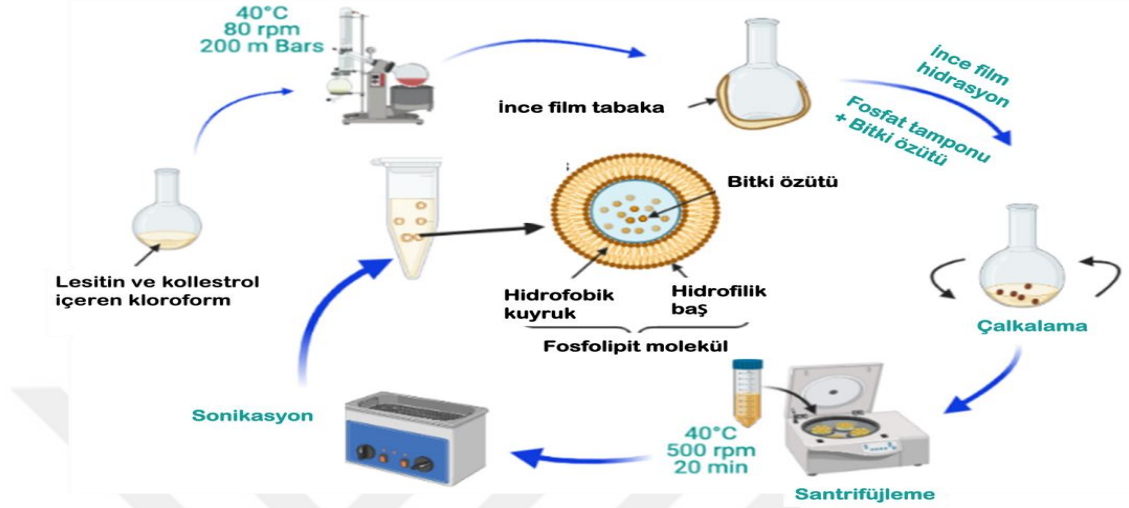


Şekil 2.3. İnce film tabakasıyla lipozom oluşumu

2.2.3. Sinir Otu Yüklü Lipozomların Hazırlanması

Formülasyonu hazırlamak için ilk olarak boş lipozomlar; Lesitin kloroform içerisinde 5 mg / mL olacak şekilde hazırlanarak evaporatörde 40 C’de 80 rpm ve 200 m Barda ince film hidrasyon yöntemi yapıldı. Balon jojenin içine 10 mL PBS

ve 4 mL sinir otu eklenerek hızlıca çalkanarak lipozomlar oluşturuldu (Şekil 2.4). Mikroskop yardımı ile lipozomların içine bitki alımı yapıp yapılmadığı gözlemlendi.



Şekil 2.4. Lipozom oluşumu

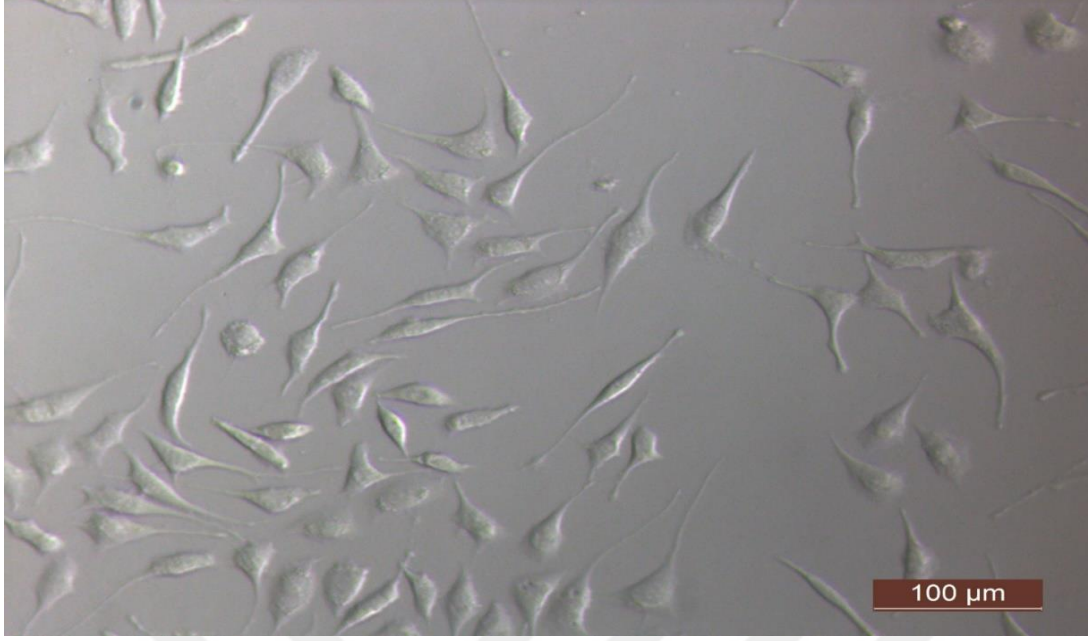
2.2.4. Enkapsülasyon Etkinliği ve Ürün Verimi

Sinir otu yüklü lipozomların enkapsülasyon etkinliği ve enkapsüle edilen ürün verimi hesaplanmıştır. Enkapsülasyon etkinliği ve enkapsüle edilen ürün verimini hesaplamak için ilk olarak enkapsüle edilemeyen madde miktarı bulunmuştur. Bunun için sinir otu yüklü lipozomların 3000 rpm'de 1 saat boyunca 4°C'de santrifüj edilmiştir ve enkapsüle olmayan kısmın çökmesi sağlanmıştır. Çökme sağlandıktan sonra süpernatant kısmı atılmıştır, pellette kalan sıvı kısmın etüv yardımıyla kurutulması sağlanmıştır (Ramana vd., 2010; Trif vd., 2008).

2.3. Hücre Kültürü Testleri (İn Vitro Testler)

2.3.1. Hücre Üremesi

Hücre kültürü çalışmaları için Trakea hücreleri azot tankından çıkartılarak kademeli bir şekilde çözdürüldü. Çözdürülen hücrenin üstüne 2 ml besiyeri eklenerek falcon tüpe alındı ve 2000 rpm de 2 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında süpernatant döküldü ve pellet kaldırıldı. Kaldırılan pellete taze hazırlanmış besiyeri eklenerek 25 cm² 'lik flaslara ekildi. 48 saatte bir konfluentlik durumuna göre pasajlandı.



Şekil 2.5. Trakea hücresi (Büyütme: 20X- LeicaDM6000 İverted Mikroskop ile görüntülenmiştir.)

2.3.2. Hücre Sayımı

Hücre sayımı hemositometri cihazı ile yapıldı. Üremesi için inkübasyona bırakılan flastaki hücreler etüvden alındı, steril kabinde flastaki besiyeri uzaklaştırıldı. 1 mL PBS ile yıkandı. Daha sonra 1 mL tripsin-EDTA ilave edilerek flastlar 3-4 dakika etüvde bekletildi. Tripsin-EDTA içeren flastlar mikroskopik incelemeden sonra hücrelerin yapışık olduğu flasttan ayrılıp ayrılmadığı kontrol edildi. Mikroskopta hücrelerin flasttan ayrıldığı gözlemlendikten sonra içine besiyeri eklenerek falkon tüplere aktarıldı. 2000 rpm hızında 2 dakika santrifüj edildi. Falkon tüpte santrifüj edilen hücrelerin süpernatantları atıldıktan sonra hücrelerin pellet kısmına 1 mL DMEM eklendi. Pipet yardımıyla pellet ve DMEM homojonize edildi. Karıştırıldıktan sonra 10 µL hücreden, 10 µL tripan blue boyasından alınarak ependorfa koyulup süspanse edildi. Elde edilen karışımdan 10 µL alınarak hücre sayım lamına aktarıldı. Lam hücre sayım cihazına yerleştirildikten sonra hücre sayımı gerçekleştirildi.

2.3.3. Hazırlanan Lipozomların Toksisitesinin Belirlenmesi

2.3.3.1. MTT Testi

MTT testi ISO 10993-5 standartına uygun olarak yapılmıştır. Pasajlanarak çoğaltılan Trakea hücrelerinin içindeki vasatlar uzaklaştırıldı. Flastın içi 1 mL PBS ile yıkandı.

Yıkanan flaskın içine 1 mL Tripsin–EDTA eklendi. Tripsin içinde 3-4 dakika inkübe edildi. İnkübe edildikten sonra mikroskopta hücrelerin yüzeyden ayrılmaları gözlemlendi ve besiyeri eklenerek hücreler falkon tüplere alındı. Falkon tüplere alınan hücreler 2000 rpm de, 2 dakika santrifüj edildi. Santrifüj edilen falkonların süpernatant kısımları dökülerek pellete 1 mL besiyeri ile eklendi ve süspanse edildi. Süspanse edilen karışımdan 10 µL alınarak 10 µL tripan blue ile karıştırıldı. Elde edilen karışımdan 10 µL hücre sayım lamına koyuldu. Hücre sayım lamı cihaza yerleştirilerek sayım yapıldı. Her bir kuyucuk başına 10.000 hücre olacak şekilde üzerlerine %10 FBS,%1 penisilin içeren DMEM eklenerek 96 well plate ekildi. Hücreler 37 °C’de %5 CO2’li inkübatörde 24 saat inkübe edildi. 24 saat sonunda ekstrakt ve formülasyon için 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL, 12,5 µg/mL, 6,25 µg/mL konsantrasyonları hazırlanmıştır. 5 konsantrasyon ve 4 tekrar olacak şekilde uygulandı. 24 saat inkübasyonun sonunda platelerin içindeki vasatlar atıldı. Her kuyucuk başını 50 µL MTT solüsyonu eklendi. Folyoya sarılarak 2 saat etüvde bekletildi. 2 saatin sonunda MTT solüsyonu atılarak her kuyucuğu 100 µL izopropanol alkol eklendi ve ELİSA okuyucuda 570 nm dalga boyunda okutuldu.

2.3.3.2. İkili Boyama Metodu ile Apoptoz ve Nekrozun Belirlenmesi

Hücre ölümleri morfolojik ve biyolojik olarak ele alındığında apoptotik ve nekrotik olarak iki sınıfta incelenir. Nekroz hasar yolu ile ölüm anlamına gelirken, apoptoz programlı hücre ölümü anlamına gelir. Normal hücreler, apoptotik olmayan hücrelerde çekirdek sönük mavi vezikül oluşmamışken apopotoza uğramış hücre çekirdekleri normal hücre çekirdeklerine göre daha parlak görünür, çekirdekte homojenlik kaybolmuştur ve DNA parçalanmış şekilde gözükür. Nekroz ise toksik madde varlığı ve oksijen yetersizliği gibi sebeplerden kaynaklanabilir ve hücrede şişme görülür.

İkili boyama için 48 well plate kullanıldı. Pasajlanarak çoğaltılan Trakea hücrelerini flasktan kaldırmak için vasat uzaklaştırıldı ve 1 mL PBS (1 X) ile yıkandı. 1 mL Tripsin-EDTA eklenip 3-4 dakika etüvde bekletildi. İnkübasyon sonrasında hücrelerin yüzeyden ayrılmaları mikroskop yardımı ile gözlemlendi. Flaskın içine besiyeri eklenerek falkona alındı. Falkona alınan hücreler 2000 rpm de 2 dakika santrifüj edildi. Yapılan santrifüj işleminden sonra süpernatant atılarak pellet kısmına besiyeri konuldu. Süspanse edilen karışımdan 10 µL, 10 µL de tripan blue dan alınarak hücre sayım lamına yerleştirildi. Hücre sayıldıktan sonra her bir kuyucuk başına 20.000 hücre

düŖecek Ŗekilde 48 well plate ekildi. Hücresler 37 °C ‘de %CO₂ ‘ li inkübatörde 24 saat inkübe edildi. 24 saatlik inkübasyondan stok solüsyonlardan 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL boş lipozom, bitki yüklü lipozom ve sinir otu eklendi. Kuyucukların bir kısmına pozitif kontrol (%20’lik DMSO), bir kısmına negatif kontrol için sadece besiyeri eklenip inkübasyona kaldırıldı. Üzerlerine her kuyucuk için 70 µL double staining solüsyonu eklendi. Folyoya sarılıp 15 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında floresan mikroskopta DAPI filtresi kullanılarak apoptoza uğrayan hücreleri FITC filtresi kullanılarak nekroza uğramıŖ hücrelerin analizi yapıldı. İkili boyama metodunda; Ribonükleaz A, Hoechst ve Propidium Iodide kullanıldı. Hoechst boyası apoptotik hücreleri boyar bu sayede gerçek apoptotik hücreler belirlenir. Propidium Iodide DNA ve RNA’yı boyayarak nekrozu gösterir

2.3.3.3. Hematoksilen Eozin Testi

Hematoksilen eozin boyama için 24 well plate kullanıldı. Pasajlanarak çoğaltılan Trakea hücreleri flasktan kaldırmak için vasat uzaklaştırıldı ve 1 ml PBS ile yıkandı. 1 ml Tripsin-EDTA eklenip 3-4 dakika etüvde bekletildi. İnkübasyon sonrasında hücrelerin yüzeyden ayrılmaları mikroskop yardımı ile gözlemlendi. Flaskın içine taze besiyeri eklenerek falkona alındı. Falkona alınan hücreler 2000 rpm de 2 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra süpernatant uzaklaştırıldı ve pellet kısmına besiyeri ilave edildi. Süspanse edilen karışımdan 10 µL, 10 µL de tripan blue dan alınarak hücre sayım lamına yerleştirildi. Her kuyucuğa 30.000 hücre olacak Ŗekilde ekildi. Hücresler 37 °C‘de %CO₂ ‘li inkübatörde 24 saat inkübe edildi. 24 saatlik inkübasyondan sonra 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL, 12,5 µg/mL, boş lipozom, bitki yüklü lipozom ve sinir otu eklendi. Kuyucukların bir kısmına pozitif kontrol (%20’lik DMSO), bir kısmına negatif kontrol için sadece besiyeri eklenip inkübasyona kaldırıldı. İnkübasyondan sonra vasatlar atıldı her kuyucuk PBS ile yıkandı. Sırasıyla %96, %80, % 70 ve %50’lik alkollerden geçirildi. Her kuyucuk 3 kere PBS ile yıkandı. Hematoksilen eozin damlatıldı. Hematoksilen eozin uzaklaştırıldıktan sonra PBS ile 3 kere yeniden yıkandı. Eozin damlatıldı ve yeniden yıkandı. %50, % 70, %80 ve %96 ‘lık alkollerden geçirildi. Son olarak PBS eklenerek mikroskopik görüntüleri alındı.

2.4. Hazırlanan Lipozomların Karakterizasyon Testleri

2.4.1 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi

Boş lipozom ve bitki yüklü lipozomların morfolojik yapıları SEM (FEI Quanta FEG 450, Çek Cumhuriyeti) ile görüntülenmiştir. Hazırlanan lipozomların zarar görmemesi ve kontamine olmamasına dikkat edilmiştir ve boyutlandırılması (FEI Quanta FEG 450, Çek Cumhuriyeti) ile incelenmiş ve boyutlandırılmıştır.

2.4.2. FTIR (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi)

Boş lipozom ve sinir otu yüklenmiş lipozomların fonksiyonel grup analizinde Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi (Breker Vertex 70V, USA) kullanılmıştır.

2.4.3. Lipozomların Boyut Dağılımı ve Zeta Potansiyeli

Lipozomların partikül büyüklüğünü, dağılımını ve potansiyelini tespit etmek için Zeta-Size analizinde Malvern NS cihazı kullanılmıştır. İlk olarak evaporatör yardımıyla, lipozomları üretme yöntemlerinden olan ince film tabakası ile lipozomlar oluşturuldu. Daha sonra PBS ile çalkalandı. Lipozomların Zeta-Sizer ile parçacık boyutuna ve lipozomların yüzey yüküne bakıldı. Lipozomların ölçülmesi oda sıcaklığında gerçekleşti. Ölçülen küvette hava kabarcığının olmamasına dikkat edildi ve tek kullanımlık küvetler kullanıldı. Yüzey yüküne bağlı olan zeta potansiyeli, süspansiyondaki nanopartiküllerin stabilitesi için önemli olduğu öğrenildi.

2.5. İstatiksel Analiz

Çalışmada farklı konsantrasyonlarda uygulanan *Plantago major* (sinir otu), boş lipozom ve sinir otu yüklü lipozom örneklerinin Trakea hücresi üzerinde % canlılık oranları hesaplanmıştır. % canlılıkların karşılaştırılmasında OneWay ANOVA, gruplar arası farkın önemlilik kontrolü için Duncan testi uygulanmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Sinir Otu Yüklü Lipozomların Enkapsülasyon Etkinliği ve Ürün Veriminin Hesaplanması

Sinir otu yüklü lipozomların % Enkapsülasyon etkinliği ve % ürün verimi, enkapsüle olmayan kısmın 3000 rpm 4°C’de 1 saat boyunca santrifüjde çöktürülüp kurutulduktan sonra tartılmasıyla bulunmuştur ve hesaplamalar için Denklem 3.1a ve 3.1b’de belirtilen formüller kullanılmıştır.

% Enkapsülasyon Etkinliği (Baranauskaite ve diğ., 2018):

$$(M1-M2 / M1) \times 100 \text{ (3.1a)}$$

M1: Sinir otu yüklü lipozomlara koyulan ekstrakt miktarı, M2: Enkapsüle edilmeyen ekstrakt miktarı

M1 yani sinir otu yüklü formülasyon için kullanılan ekstrakt 0,191 gr’dır. Enkapsüle edilmeyen kısmın ağırlığı 0,0382 gr olarak bulunmuştur. Formülasyonun enkapsülasyon etkinliği %80 olarak hesaplanmıştır.

% Ürün verimi (Baranauskaite ve diğ., 2018):

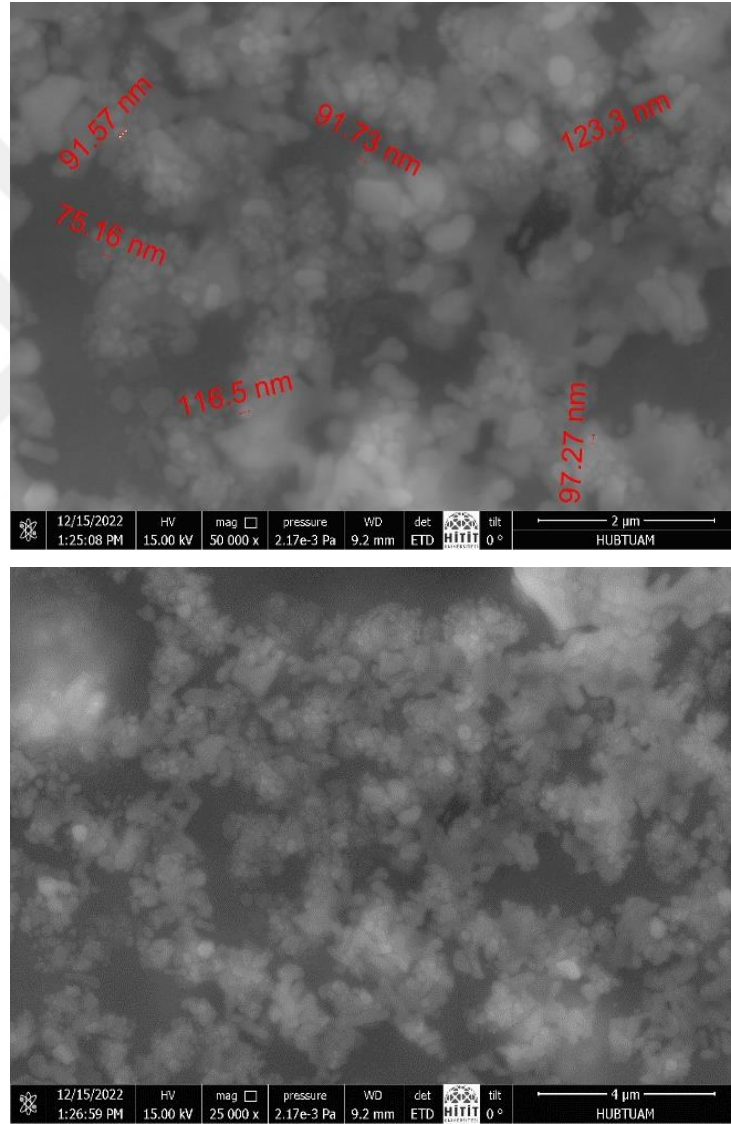
$$M3 / M4 \times 100 \text{ (3.1b)}$$

M3: Enkapsülasyondan sonra sinir otu yüklü lipozomların kuru ağırlığı, M4: Enkapsülasyondan önce eklenen boş lipozomun ve ekstraktın kuru ağırlığının toplamı.

Enkapsülasyondan önce eklenen lipozomun kuru ağırlığı 0.00060 gr ve ekstraktın kuru ağırlığı 0.191 gr’dır. Enkapsüle olan kısmın ağırlığı toplam konulan madde miktarından enkapsüle olmayan kısmın ağırlığı çıkartılarak bulunmuştur ve enkapsüle edilen kısmın ağırlığı 0.1528 gr’dır. % Ürün verimi, %79,7 olarak hesaplanmıştır.

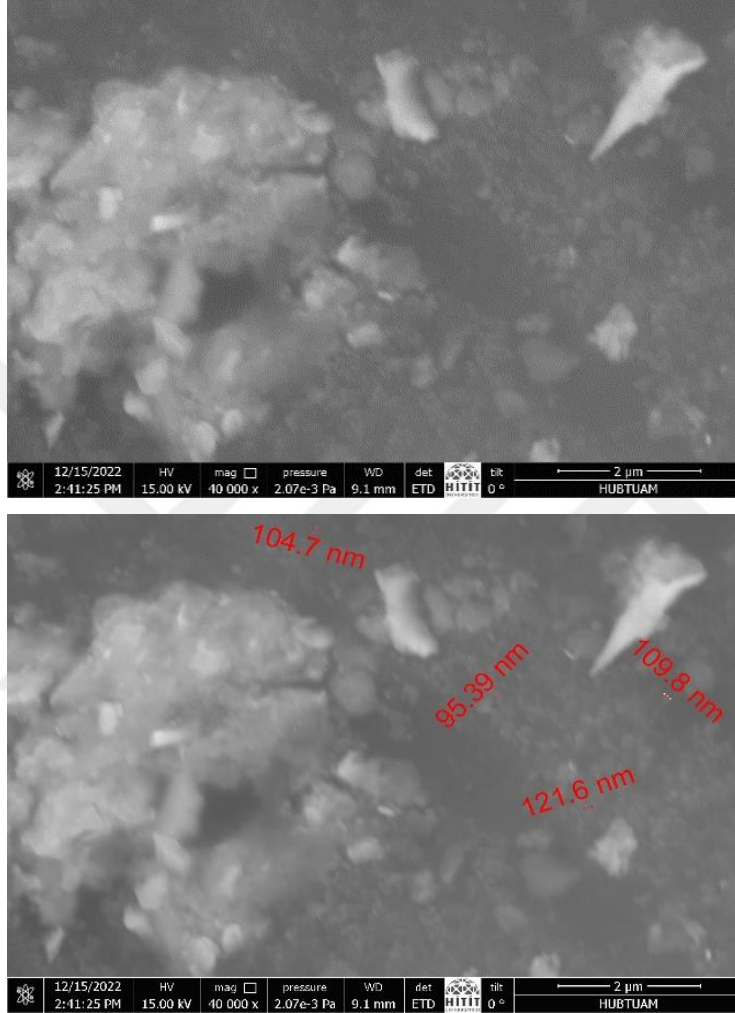
3.2. Taramalı Elektron Mikroskobu ile Morfolojik Karakterizasyonun Yapılması

Oluşturulan lipozomların boyutlandırılması için Quanta FEG 450 SEM cihazı ile görüntü alınmıştır. Görüntüler yüksek vakum altında 15.00 KV 'da gerçekleştirilmiştir. Lipozomlarda ki gözenek ve yapılar SEM cihazı ile 50.000 büyütme aralığında yapılmıştır. Boş lipozomun ve sinir otu yüklü lipozomun SEM görüntüleri sırasıyla Şekil 3.1 ve Şekil 3.2 verilmiştir.



Şekil 3.1. Sinir otu yüklenmeyen boş lipozomların görüntüsü

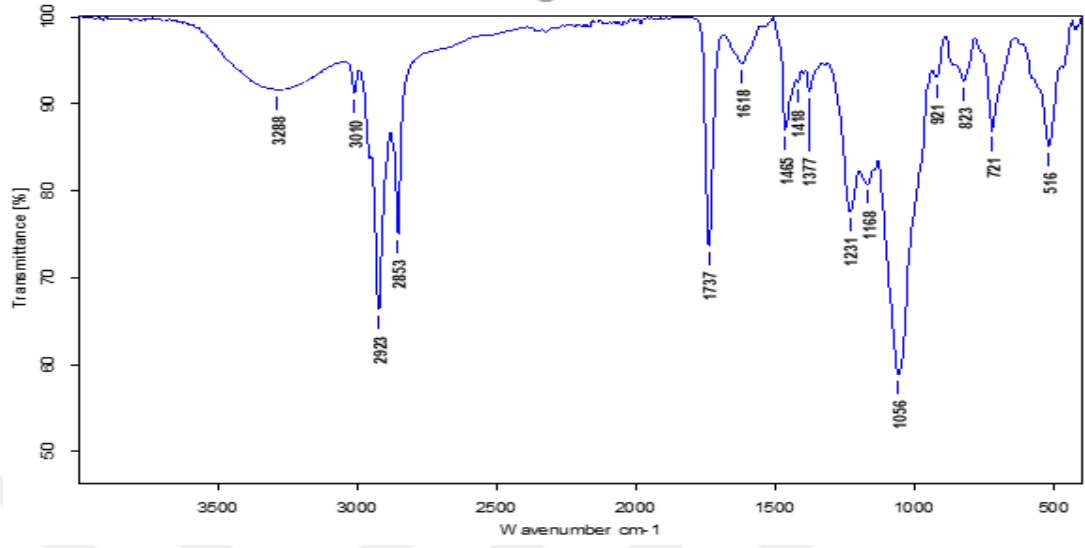
Bitki yüklenmeyen boş lipozomların boyutları $99,12\pm 24$ nm olarak belirlenmiştir. SEM görüntülerinde bitki yüklenmeyen diğer lipozom görüntülerinde farklı olmadığı ortalama aynı boyutta olduğu gözlemlenmiştir.



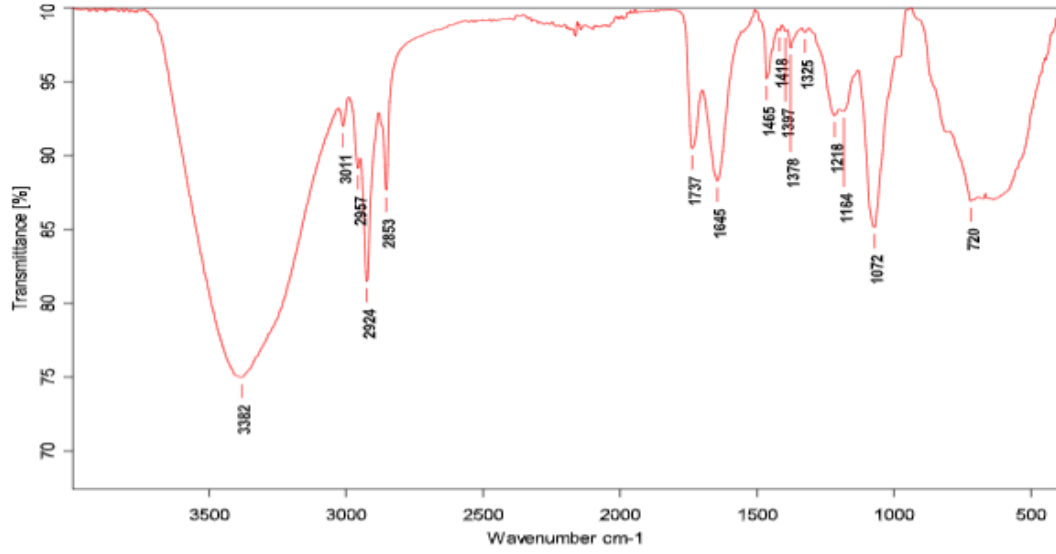
Şekil 3.2. Sinir otu yüklü lipozomların görüntüsü

Sinir otu bitkisi uygulanan dolu lipozomların morfolojik yapısı ve boyutlandırılması SEM cihazı ile yapılmıştır. Kürelerin farklı alanlarda aynı morfolojik yapıya sahip olduğu gözlemlenmiştir. Sinir otu ile yüklü lipozomlardan alınan görüntülerde, lipozomların boyutları $105,7\pm 14$ nm olarak belirlenmiştir.

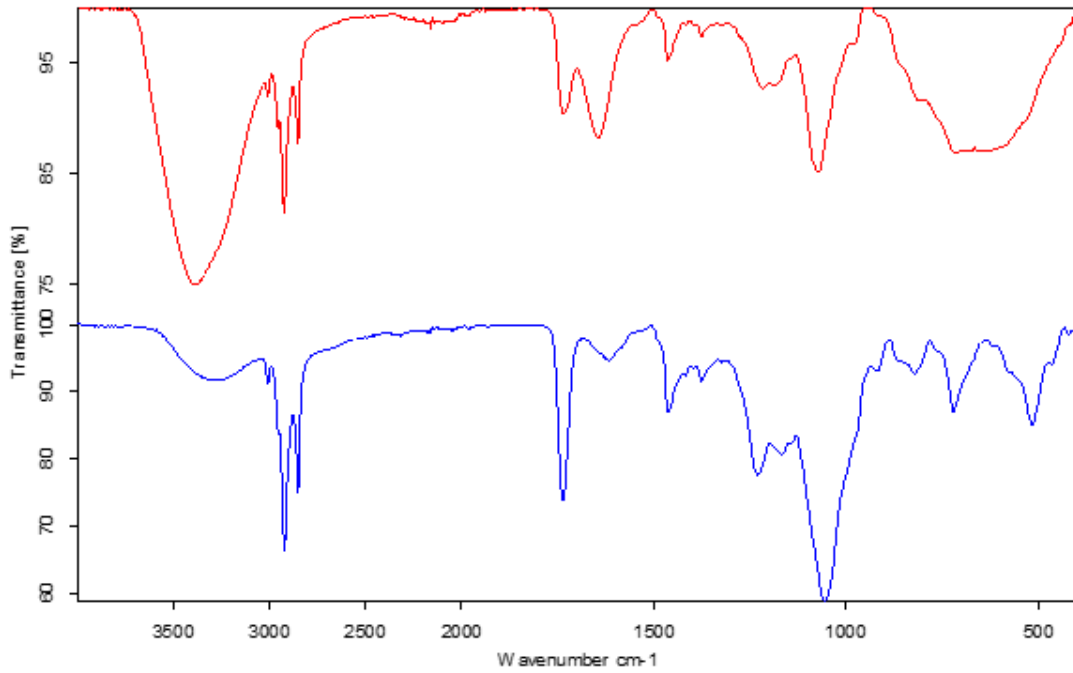
3.3. Hazırlanan Lipozomların FT-IR Karakterizasyonu



Şekil 3.3. Boş lipozomun FT-IR spektrum okunmasındaki pik değerleri



Şekil 3.4. Sınırlı otu yüklü lipozomun FT-IR spektrum okunmasındaki pik değerleri



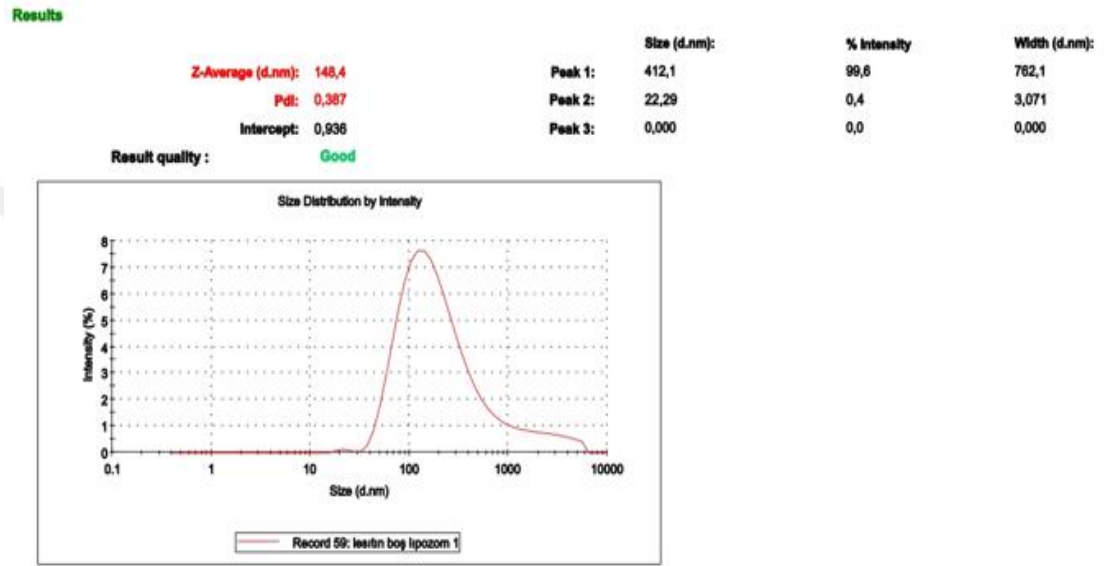
Şekil 3.5. Sinir otu yüklü lipozom ve boş lipozomun karşılaştırılması

Boş lipozomların FTIR spektrumu Şekil 3.3’de, sinir otu yüklü lipozomların FTIR spektrumu Şekil 3.4’de, sinir otu yüklü ve boş lipozomların karşılaştırmalı FTIR spektrumu Şekil 3.5’de verilmiştir. Boş lipozomların FTIR spektrumuna baktığımızda, 3288 cm^{-1} ’de OH gerilmelerinden dolayı bir pik görülmektedir. 2853 ve 2923 cm^{-1} ’de lesitinin uzun zincirli yağ asitlerinde bulunan C-H gruplarından kaynaklanan pikler görülmektedir (Michał, Ewa Tomasz, 2015). Bu piklere ek olarak, 1737 cm^{-1} ’de bulunan pik karbonil gruplarının, 1377 1.377 cm^{-1} ’de C-O gruplarının, 1200 ile 970 cm^{-1} arasındaki 1056 cm^{-1} civarında bölgede ortalanmış geniş pik ise PO_2 ve P-O-C kızılötesi aktif titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (Kuligowski, Quintas, Esteve-Turrillas, Garrigues, Guardia, 2008). Lesitinin $\text{N}(\text{CH}_3)_3$ gruplarından dolayı 921 cm^{-1} ’de ve P-O gruplarından dolayı da 821 cm^{-1} ’de pikler oluşmuştur (Setiadi, Hidayah, 2018).

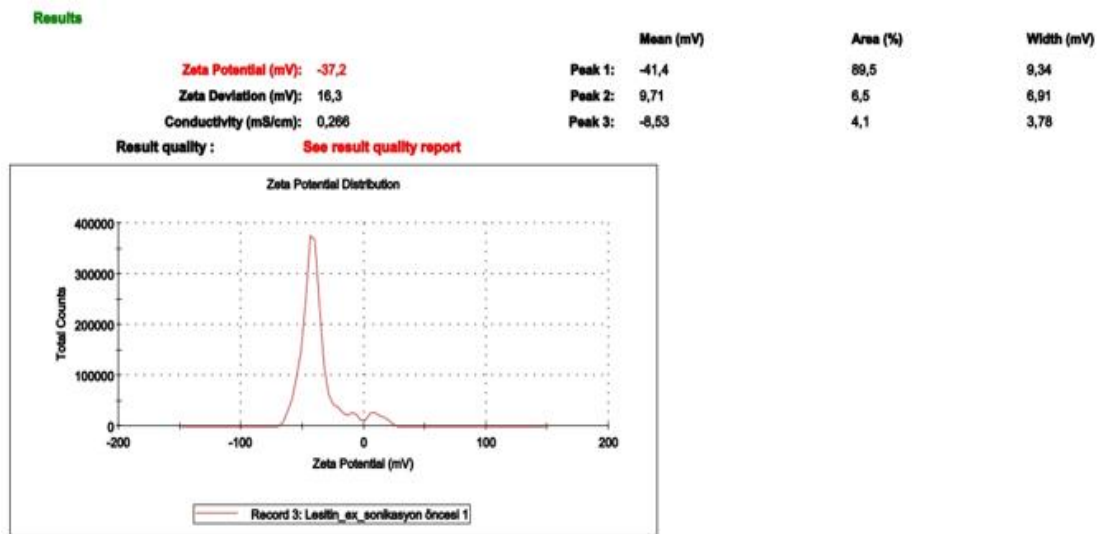
Sinir otu yüklü lesitin lipozomlarının FTIR spektrumlarına baktığımızda, boş lipozoma ait O-H, CH_2 , C=O, C-O, P-O, $\text{N}(\text{CH}_3)_3$ gruplarından kaynaklı piklerin hepsi görülmektedir. Bitki özütünde bulunan fenolik bileşiklerden bitki özütü yüklü lesitin lipozomlarının FTIR spektrumunda 3000 ile 3500 cm^{-1} civarında geniş bir tepe noktası oluşmuştur. Bunun yanı sıra, bitki özütünde olabilecek aromatik ve alifatik aminlerin

işareti olabilen C–N bağları için de 1645 cm^{-1} 'de yeni geniş bir pik oluştuğu görülmektedir (Sukweenadhi, Setiawan, Avanti, Kartini, Rupa, Yang, 2021). Bitki özütü yüklü lipozom kürelerinin FTIR spektrumunda gözlemlenen bu değişiklikler, bitki özütü içerdiğinin kanıtıdır.

3.4. Lipozomların Boyut Dağılımı ve Zeta Potansiyeli Sonuçları



Şekil 3.6. Lipozomların boyut dağılımı

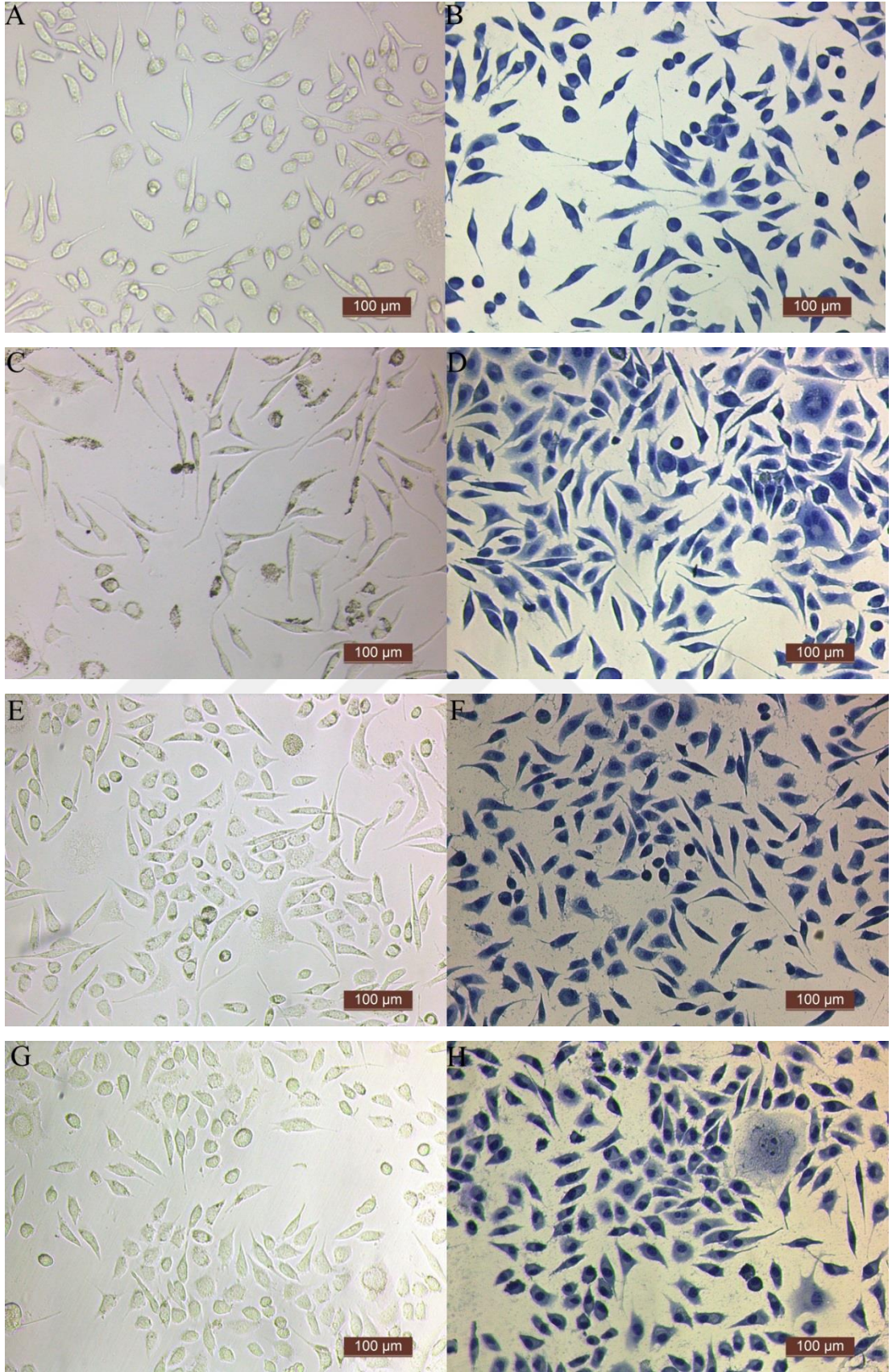


Şekil 3.7. Lipozomların zeta grafiği

Lesitin ile kaplanmış lipozomların partikül büyüklüğü ve dağılımını değerlendirmek için ölçümleri bölüm 2.4.3'de açıklandığı şekilde yapılmıştır. Zeta ve Size sonuçları **Şekil 3.6.** ve **Şekil 3.7.** de gösterilmiştir. Analiz sonuçlarına göre ortalama boyut (148,4) nm ve PDI (0,38) değerleri saptanmıştır. Zeta potansiyeli ve büyüklüğü nanoparçacık toksisitesini etkilediği öğrenilmiştir. Lipozomların yüzey yükü ise -37,2 mV olarak ölçülmüştür. Zeta potansiyeli ölçümleri lipozomların stabilitesi hakkında bilgi vermektedir. Lipozomların zeta potansiyellerinin genelde negatif çıkmasının nedeni hazırlanırken kullanılan fosfolipitlerin fonksiyonel gruplarının negatif değerde olmasıdır.

3.5. Hemotoksilen Eozin Testi

Sinir otu, boş lipozom ve sinir otu yüklü lipozomların Trakea hücrelerinin morfolojisindeki değişikliklerinin incelenmesi için hematoksilin-eozin boyası kullanılmıştır. Hematoksilin eozin boyama çekirdek ve sitoplazmayı boyayarak hücre zarındaki parçalanma, vakuol oluşumu gibi morfolojik değişiklikleri gösterir. Trakea hücreleri Şekil 3.8. de sinir otu bitkisinin uygulandığı, boş lipozomların uygulandığı, ve sinir otu yüklü lipozomların uygulanan hücreler gösterilmiştir. Kontrol grubu olarak sadece besiyeri içeren Trakea hücreleri şekilde gösterilmiştir. Boş lipozom, sinir otu ve sinir otu yüklü lipozom uygulandığı Trakea hücre morfolojilerinde, kontrol grubundan farklı olarak herhangi bir morfolojik değişiklik ve vakuol oluşumu gibi değişiklikler gözlenmemiştir.

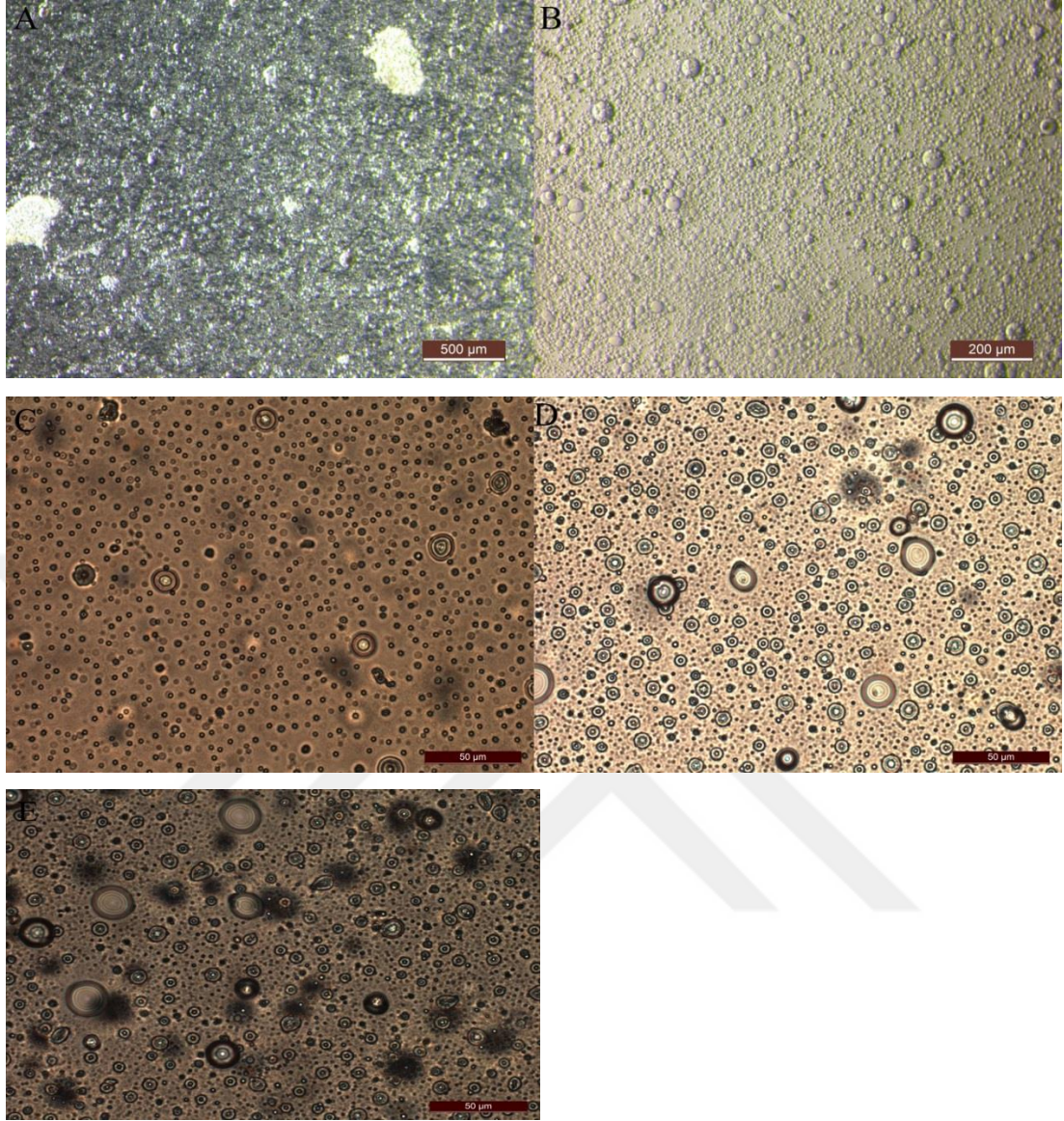


Şekil 3.8. Boş lipozomun Trakea hücrelerinde hemotoksilen ve eozin ile boyanması

Hemotoksilen ve Eozin boyaları kullanılarak yapılan boyamadan elde edilen Trakea hücrelerine ait hücre fotoğrafları; A: Trakea hücrelerinde boş lipozom (50 µg/mL) solüsyonuna ait boyanmamış hücrelerin fotoğrafı, B: Trakea hücrelerinde boş lipozom (50 µg/mL) solüsyonuna ait hemotoksilen ve eozin ile boyanmış hücrelerin fotoğrafı, C: Trakea hücrelerinde sinir otu solüsyonuna (50 µg/mL) ait boyanmamış hücrelerin fotoğrafı, D: Trakea hücrelerinde sinir otuna (50 µg/mL) ait hemotoksilen ve eozin ile boyanmış hücrelerin fotoğrafı, E: Trakea hücrelerinde sinir otu yüklü lipozom solüsyonuna (50 µg/mL) ait boyanmamış hücrelerin fotoğrafı, F: Trakea hücrelerinde sinir otu yüklü lipozom (50 µg/mL) solüsyonuna ait hemotoksilen ve eozin ile boyanmış hücrelerin fotoğrafı, G: Negatif kontrole ait boyanmamış hücrelerin fotoğrafı H: Negatif kontrole ait hemotoksilen eozin ile boyanmış hücrelerin fotoğrafı (Fotoğraflar Leica inverted mikroskobu ile 20X büyütmede çekilmiştir. Ölçek, 200 µm mesafeyi göstermektedir).

3.6. Boş Lipozom ve Sinir Otunun Lipozomların İçine Hapsolması

Lipozomlar için lesitin eklenip ve kloroform ile birlikte evaporatöre konulduktan sonra ince film tabaka oluşturuldu. PBS ve sinir otu ile çalkalandıktan sonra mikroskopta görüntüleri alındı.



Şekil 3.9. Boş lipozomların ve sinir otu yüklü lipozomların ışık mikroskobu görüntüsü

A: Boş lipozom görüntüsü (4X Büyütme), B: Boş lipozom görüntüsü (10X Büyütme) C; 2 mL sinir otu yüklenmiş lipozom görüntüsü (50X Büyütme), D: 4 mL sinir otu yüklenmiş lipozom görüntüsü (50X Büyütme), E:6 mL sinir otu yüklenmiş lipozom görüntüsü (50X Büyütme),(Fotoğraflar Leica inverted mikroskobu ile çekilmiştir).

3.7. MTT ile Toksisitenin Belirlenmesi

Çalışmada *Plantago Major* bitkisine ait ekstrakt, boş lipozom ve sinir otu yüklü lipozom formülasyonlarına ait standartın Trakea hücre hattı üzerindeki toksisitesi MTT ile belirlenmiştir. Kontrol olarak hücreler üzerine sadece besiyeri eklenmiştir. 570 nm'deki spektroskopik ölçümden sonra, örneklerden elde edilen absorbans

değerleri ile kontrol grubundan elde edilen absorbands değeri kullanılarak % canlılık değerler elde edilmiştir. Çizelge 3.1-3.3’de gösterilmiştir.

Elde edilen verilere göre boş lipozom, sinir otu ve sinir otu yüklü lipozomlar Trakea hücreleri üzerindeki toksisite sonuçları çizelgelerde belirtilmiştir.

Çizelge. 3.1. Sinir Otunun Trakea hücrelerinde 24 saatlik sitotoksisite sonuçları

SİNİR OTU			
Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans (570 nm)	% Canlılık	Standart Sapmalar
100	0,115	* 44,599 ±	1,716
50	0,144	*56,183 ±	1,461
25	0,181	*70,218 ±	2,696
12,5	0,196	*76,371 ±	1,309
6,25	0,207	*80,559 ±	1,922
POZİTİF KONTROL	0,105	*30,28±	5,4
NEGATİF KONTROL	0,257	*100 ±	5,38

Trakea hücreleri üzerinde sinir otuna ait ekstrenin farklı konsantrasyonlarda sitotoksik etkisi incelenmiş olup en yüksek konsantrasyonda %44,59 canlılık gözlenmiştir. 50 µg/ml dozdaki canlılık 100 µg/ml konsantasyondaki canlılıktan %27 daha fazladır. 25 µg/ml canlılık 50 µg/ml konsantasyondaki canlılıktan %24 fazladır. 12.5 µg/ml ve 6.25 µg/ml konsantrasyonlardaki canlılıklar ise yüksek konsantrasyonlara göre dah canlılık oranı göstermektedir.

Çizelge. 3.2. Boş lipozomun Trakea hücrelerinde 24 saatlik sitotoksisite sonuçları

BOŞ LİPOZOM			
Konsantrasyon (mg/ml)	Absorbans (570 nm)	% Canlılık	Standart Sapmalar
100	0,131	*50,674±	2,139
50	0,171	*66,607±	1,624
25	0,196	*76,279±	2,632
12,5	0,209	*81,36±	1,053
6,25	0,238	*92,678±	2,440
POZİTİF KONTROL	0,105	*30,28±	5,4
NEGATİF KONTROL	0,257	*100 ±	5,38

Trakea hücreleri üzerinde boş lipozoma ait ekstrenin farklı konsantrasyonlarda sitotoksik etkisi incelenmiş olup en yüksek konsantrasyonda %50,67 oranında canlılık gözlenmiştir. 50 µg/mL dozdaki canlılık 100 µg/mL konsantrasyondaki canlılıktan %32 daha fazladır. 25 µg/mL canlılık 50 µg/mL konsantrasyondaki canlılıktan %15 fazladır. 12.5 µg/mL ve 6.25 µg/mL konsantrasyonlardaki canlılıklar ise yüksek konsantrasyonlara göre canlılık göstermektedir Boş lipozomun 6.25 µg/mL de ki konsantrasyonundaki canlılık oranı negatif kontrol değerine yakın olduğu gözlemlenmiştir.

Çizelge. 3.3. Sinir Otu Yüklü Lipozomların Trakea hücrelerinde 24 saatlik sitotoksisite sonuçları

SİNİR OTU YÜKLÜ LİPOZOM			
Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans (570 nm)	% Canlılık	Standart Sapmalar
100	0,145	*66,47	2,616
50	0,199	*77,723	2,957
25	0,222	*86,422	1,247
12,5	0,254	*92,918	2,463
6,25	0,256	*99,684	2,504
POZİTİF KONTROL	0,105	*30,28±	5,4
NEGATİF KONTROL	0,257	*100 ±	5,38

(*: Gruplar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir. (P< 0,05)

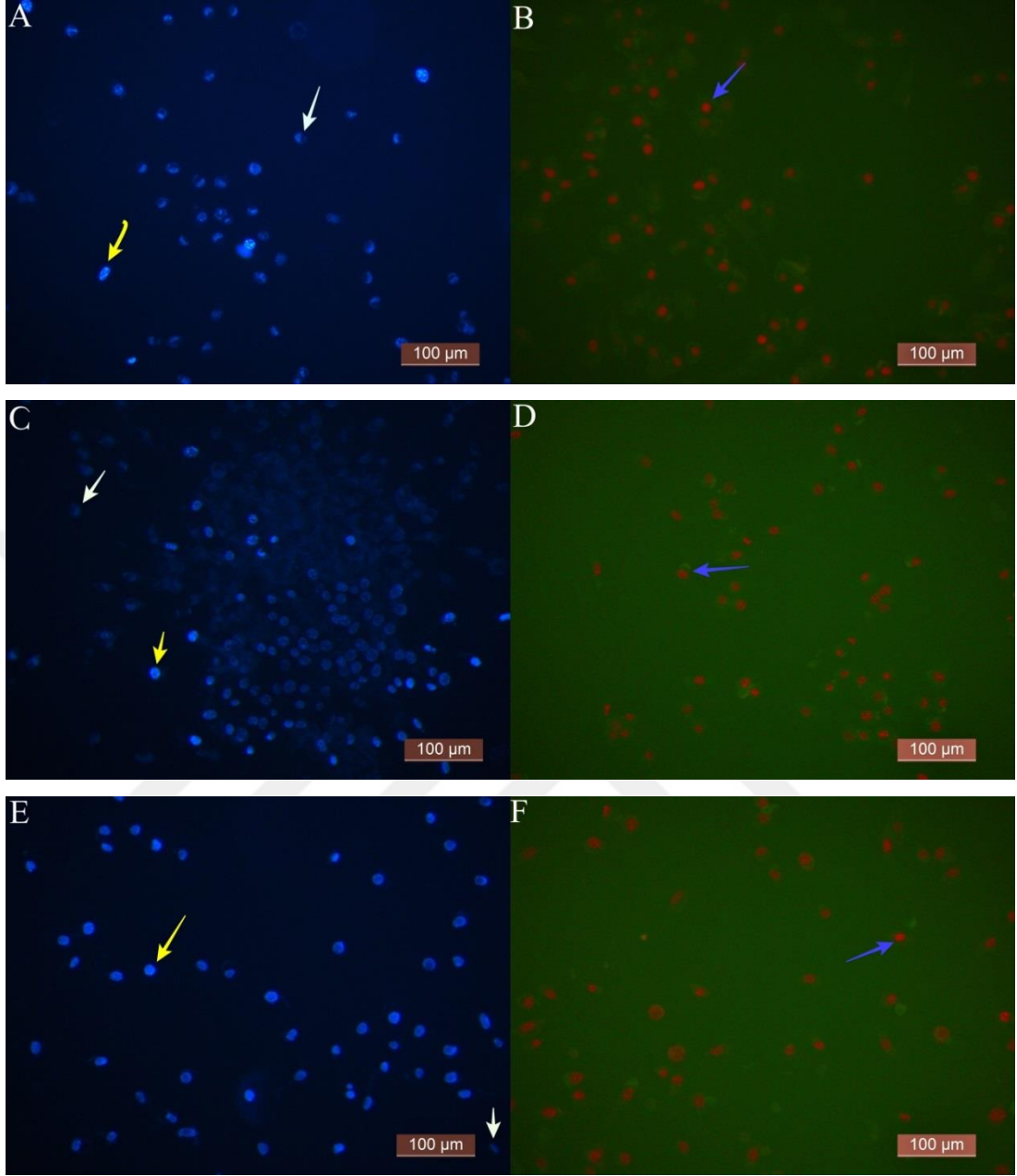
Trakea hücreleri üzerinde boş lipozoma ait ekstrenin farklı konsantrasyonlarda sitotoksik etkisi incelenmiş olup en yüksek konsantrasyonda %66,47 oranında canlılık gözlenmiştir 50 µg/mL dozdaki canlılık 100 µg/mL konsantrasyondaki canlılıktan % 15 daha fazladır. 25 µg/mL canlılık 50 µg/mL konsantrasyondaki canlılıktan %11 daha fazladır. 12.5 µg/mL ve 6.25 µg/mL konsantrasyonlardaki canlılıklar ise yüksek konsantrasyonlara göre canlılık göstermektedir Sinir otu yüklü lipozomun 6.25 µg/mLde ki konsantrasyonundaki canlılık oranı negatif kontrol değeri ile neredeyse aynıdır. En yüksek konsantrasyon ile negatif kontrol absorbans verileri karşılaştırıldığında F>Fölçüt bulunduğundan gruplar arasında anlamlı fark olduğu bulunmuştur.

3.8. İkili Boyama Metodu İle Apoptotik ve Nekrotik İndeks Sonuçları

Hazırlanan ikili boyama solüsyonu içinde Hoescht (33342) flouresan boyası DNA'ya bağlanarak mavi ışık altında hücre çekirdeklerinin maviye boyanmasını sağlar. Maviye boyanan hücreler, apoptotik parçacıklar ve DNA fragmentasyonları ışığa ile parlak gözlemlenebilir. Hazırlanan ikili boyama solüsyonunda bulunan propodium iyodid flouresan boyası ile boyandığında nekroza uğramış hücrelerin çekidekleri kırmızı floresan ışık altında kırmızı olarak görülmekte olup hücrelerin nekroza uğradığını göstermektedir (Çizelge 3.5-3.7 ve Şekil 3.9-3.11'de gösterilmiştir).

Çizelge. 3.4. Sinir otu ekstraktının Trakea hücrelerine ait apoptotik-nekrotik indeks sonuçları

Ekstraksiyon Konsantrasyonları (Sinir Otu)	Apoptoz (%)	Nekroz (%)
100µg/ml	21±0,2	35±1
50µg/ml	16±2,1	23±1,5
25µg/ml	10±0,3	15±1,6

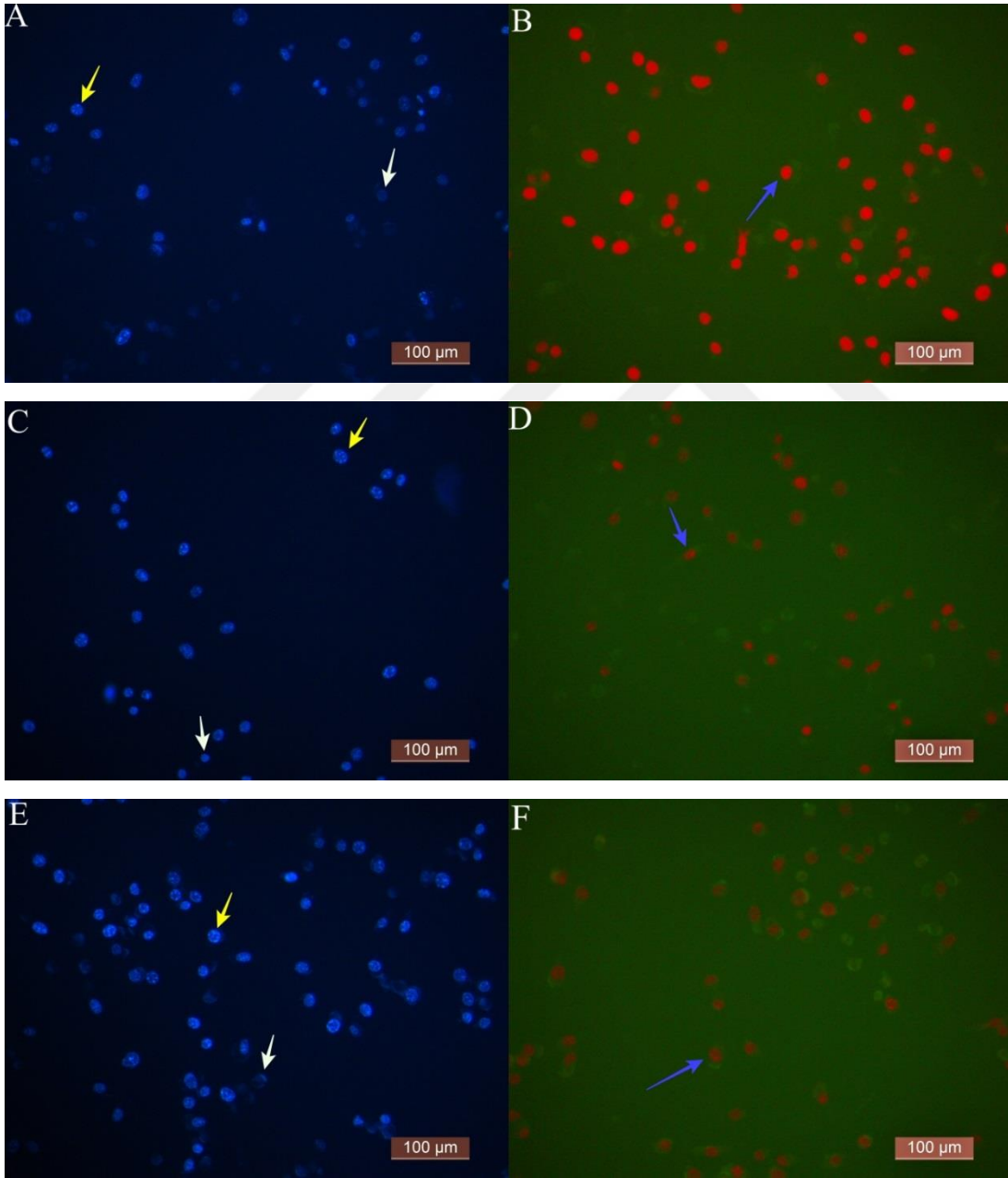


Şekil 3.10. Hoechst 33342 ve Propidyum iyodür boyaları kullanılarak yapılan ikili boyamadan elde edilen Trakea hüresine ait apoptotik ve nekrotik hücre fotoğrafları

A) Trakea hücrelerinde sinir otu ekstraktına ait 100 µg/mL konsantrasyonda apoptotik hücrelerin fotoğrafı, B) Trakea hücrelerinde Sinir otuna ait 100 µg/mL konsantrasyonda nekrotik hücrelerin fotoğrafı, C) Trakea hücrelerinde sinir otu ekstraktına ait 50 µg/mL konsantrasyonda apoptotik hücrelerin fotoğrafı, D) Trakea hücrelerinde Sinir otuna ait 50 µg/mL konsantrasyonda nekrotik hücrelerin fotoğrafı E) Trakea hücrelerinde sinir otu ekstraktına ait 25 µg/mL konsantrasyonda apoptotik hücrelerin fotoğrafı F) Trakea hücrelerinde Sinir otuna ait 25 µg/mL konsantrasyonda nekrotik hücrelerin fotoğrafı (Fotoğraflar Leica inverted floresan mikroskobu ile 20X büyütmede çekilmiştir. Beyaz oklar; sağlıklı hücreleri, sarı oklar; apoptotik hücreleri, mavi oklar nekrotik hücreleri göstermektedir Ölçek, 200 µm mesafeyi göstermektedir).

Çizelge. 3.5. Boş lipozomun Trakea hücrelerine ait apoptotik-nekrotik indeks sonuçları

Ekstraksiyon Konsantrasyonları (Boş Lipozom)	Apoptoz	Nekroz
100µg/ml	27±0,3	34±2,3
50µg/ml	18±1,2	23±1,7
25µg/ml	11±2,3	12±1,2

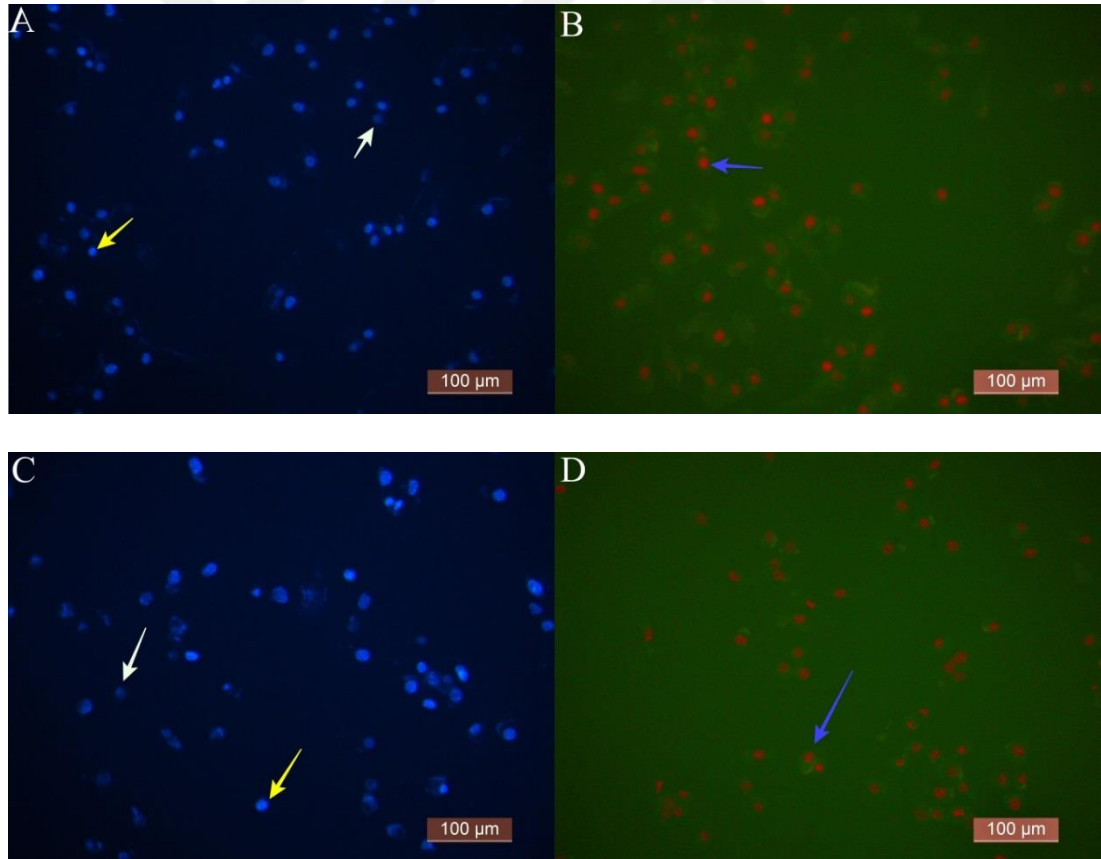


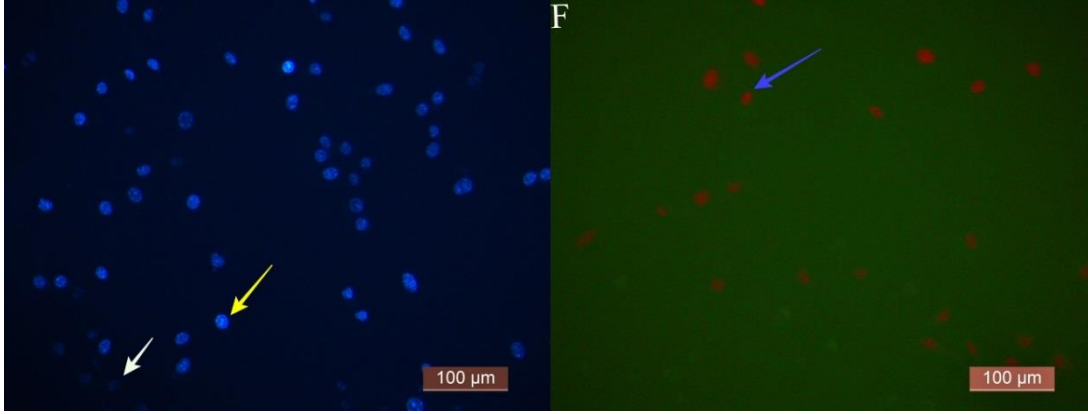
Şekil 3.11. Hoechst 33342 ve Propidyum iyodür boyaarı kullanılarak yapılan ikili boyamadan elde edilen Trakea hücresine ait apoptotik ve nekrotik hücre fotoğrafları

A) Trakea hücrelerinde boş lipozom solüsyonuna ait 100 µg/mL konsantrasyonda apoptotik hücrelerin fotoğrafı, B) Trakea hücrelerinde boş lipozom solüsyonuna ait 100 µg/mL konsantrasyonda nekrotik hücrelerin fotoğrafı, C) Trakea hücrelerinde boş lipozom solüsyonuna ait 50 µg/mL konsantrasyonda apoptotik hücrelerin fotoğrafı, D) Trakea hücrelerinde boş lipozom solüsyonuna ait 50 µg/mL konsantrasyonda nekrotik hücrelerin fotoğrafı E) Trakea hücrelerinde boş lipozom solüsyonuna ait 25 µg/mL konsantrasyonda apoptotik hücrelerin fotoğrafı F) Trakea hücrelerinde boş lipozom solüsyonuna ait 25 µg/mL konsantrasyonda nekrotik hücrelerin fotoğrafı (Fotoğraflar Leica inverted floresan mikroskobu ile 20X büyütmede çekilmiştir. Beyaz oklar; sağlıklı hücreleri, sarı oklar; apoptotik hücreleri, mavi oklar nekrotik hücreleri göstermektedir Ölçek, 200 µm mesafeyi göstermektedir).

Çizelge. 3.6. Sinir otu yüklü lipozomun Trakea hücrelerine ait apoptotik-nekrotik indeks sonuçları

Ekstraksiyon Konsantrasyonları (Sinir Otu Yüklü Lipozom)	Apoptoz	Nekroz
100µg/ml	20±1,5	28±1,52
50µg/ml	15±3,05	17±1,7
25µg/ml	9±2	7±2,3





Şekil 9. Hoechst 33342 ve Propidyum iyodür boyaarı kullanılarak yapılan ikili boyamadan elde edilen Trakea hücrelerine ait apoptotik ve nekrotik hücre fotoğrafları

A) Trakea hücrelerinde sinir otu yüklü lipozom solüsyonuna ait 100 µg/mL konsantrasyonda apoptotik hücrelerin fotoğrafı, B) Trakea hücrelerinde sinir otu yüklü lipozom solüsyonuna ait 100 µg/mL konsantrasyonda nekrotik hücrelerin fotoğrafı, C) Trakea hücrelerinde sinir otu yüklü lipozom solüsyonuna ait 50 µg/mL konsantrasyonda apoptotik hücrelerin fotoğrafı, D) Trakea hücrelerinde sinir otu yüklü lipozom solüsyonuna ait 50 µg/mL konsantrasyonda nekrotik hücrelerin fotoğrafı E) Trakea hücrelerinde sinir otu yüklü lipozom solüsyonuna ait 25 µg/mL konsantrasyonda apoptotik hücrelerin fotoğrafı F) Trakea hücrelerinde sinir otu yüklü lipozom solüsyonuna ait 25 µg/mL konsantrasyonda nekrotik hücrelerin fotoğrafı (Fotoğraflar Leica inverted floresan mikroskobu ile 20X büyütmede çekilmiştir. Ölçek, 200 µm mesafeyi göstermektedir. Beyaz oklar; sağlıklı hücreleri, sarı oklar; apoptotik hücreleri, mavi oklar nekrotik hücreleri göstermektedir).

Apoptoz-nekrozun belirlenmesi için ikili boyama metodu yapılmıştır. Boş lipozom, Sinir otu ve Sinir otu yüklü lipozomların apoptotik-nekrotik indeks sonuçları Çizelge 6., Çizelge 7. Ve Çizelge 8.'de belirtilmiş ve floresan mikroskop görüntüleri de gösterilmiştir. Bu metotta çekirdeğin morfolojik yapısı değerlendirilmiştir. Normal sağlıklı hücreler açık mavi boyanırken, apoptotik hücreler parlak mavi ve nekrotik olan hücreler kırmızıya boyanmıştır.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre dünyada 339 milyon kişinin astım hastası olduğu tahmin edilmektedir. Astım hastalığı, akciğerde mikrobik olmayan bir tür iltihap nedeniyle hava yolu duvarının daralması sonucunda ortaya çıkan bir akciğer hastalığıdır. (Closing Gaps In Asthma Care; World Asthma Day; May,2022)

Astım; nefes darlığı,hırıltı/hışıltı ve ıslık sesi, göğüste baskı hissi ve öksürük, gibi belirtiler vermektedir. Astımı tetikleyen faktörler arasında korku,öfke, heyecan, ani sevinç gibi duygusal değişimler ile soğuk hava, toz,duman,sigara, hava koşulları, polenler,tüy yer almaktadır. Astım hastalığı sık karşılaşılan, tedavi seçeneklerinin olduğu halde kesin bir iyileşmenin mümkün olmadığı bir sağlık sorunudur. (Memorial. "Alerjik Astımın 5 Belirtisine Dikkat". Erişim: 17 08 2023. <https://www.memorial.com.tr/saglik-rehberi/alerjik-astimin-5-belirtisine-dikkat.>)

Astım tedavisinde bir çok ilaç kullanılmaktadır. Örneğin kullanılan inhale steroidler güvenli ilaçlardır, ancak uzun süre kullanıldığında özellikle çocuklarda ve yaşlılarda ciddi yan etkilere neden olabilmektedir. Temel yan etkileri bölgesel (ağız içi, boğaz ve gırtlak) veya sistemik (tüm vücudu etkileyecek şekilde) olabilir. Bu nedenle son yıllarda terapötik bitkisel ilaçlara olan ilgi giderek artmaktadır. (Astım Tanı ve Tedavi Rehberi, 2020)

Plantago major bitkisi, Türkiye'de solunum yolları tedavisinde sıklıkla kullanılan yaygın bir bitki türüdür. Öksürük, nefes darlığı ve bronşit tedavisinde, göğsü yumuşatma etkisine sahiptir. Yaprakları karın ağrısı, kaşıntı, astım, kanser ve diyabet tedavisinde kullanılır.

Lipozomlar ise toksik olmayan, kararlı, suda ve yağda çözünen etkin maddeleri içeren,biyoyumlu bir fosfolipit yapısında olup antikanser ilaç tasarımında, gen aktarımında, aşı formülasyonunda, yara iyileşmesinde ve ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanılmaktadır (Nizam, 2021).

Örneğin, Pinilla ve arkadaşları buğday ekmeğinde çevresel mantarlara karşı *Allium sativum* (sarımsak) özütü içeren fosfatidilkolin-oleik asit lipozomlarını sentezleyerek antifungal özelliklerini araştırmışlardır (Pinilla vd., 2019).

Gortzi ve arkadaşları (2008), *Myrtus communis* (mersin bitkisi) özütünün lipozomlarda kapsülmeden önce ve sonra biyoaktivitesinin ve antioksidan aktivitelerini araştırmışlardır.

Aynur ve arkadaşları (2016), diyabetik ratlarda *Plantago major* bitkisinin, kan glikoz düzeyi düşürdüğü ve immun sistemi düzenlediğini araştırmışlardır.

Lin ve Kan (1990), *Plantago major* ailesinin yara iyileşmesi, enfeksiyon ve antikanser tedavilerinde kullanıldığını araştırmışlardır.

Lithander (1992), *Plantago major* bitkisinin ekstraktlarının farelerde meme kanserinin profilaktik bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir.

Maria ve arkadaşları (1997), *Plantago major*'un sulu ekstraktının oral yoldan uygulanmasının antiinflamatuvar ve analjezik aktiviteler gösterdiğini göstermiştir.

Samuelsen (1999), *Plantago major* bitkisinin tohum ve yapraklarının yara, ülser ve enfeksiyonların tedavisinde kullanıldığını belirtmiştir. Araştırmalar, yaprakların anti-komplementer aktiviteye sahip pektin ve arabinogalaktan içerdiğini göstermiştir.

Nathan ve Hibbs (1988), *Plantago major* yapraklarını; antiinflamatuvar, antimikrobiyal ve antitümörden yara iyileşmesine kadar çeşitli biyolojik özelliklerle ilişkilendirilmiştir. Yaprak ekstraktları tarafından indüklenen bağışıklık parametrelerinin düzenlenmesi, kronik viral enfeksiyonlar, tüberküloz, AIDS ve kanser dahil olmak üzere çok sayıda hastalıkta klinik olarak görülmektedir.

Türelet vd., bir çalışmada, deneysel bir sıçan karbon tetraklorid (CCl₄) modelinde *P. major* tohum ekstraktının hepatoprotektif aktivitesi değerlendirilmiştir. Kontrol ve referans grupları sırasıyla izotonik salin solüsyonu, ve silibinin eklenmiştir. *P. major* gruplarına yedi gün boyunca sırasıyla 10, 20 ve 25 mg/kg dozlarında ekstrakt enjekte edilmiştir. 8. gün kan ve karaciğer örnekleri toplanmış ve ardından hepatik hasarın plazma belirteç enzimlerindeki değişiklikler ve histopatolojik değişiklikler kaydedilmiştir. Karaciğerlerin mikroskopik incelemesinde aynı grupta önemli iyileşme ve nekrobiyotik değişikliklerin en aza indirildiği gösterilmiştir. Bu

çalışmaların sonuçları, *P. major* ekstraktının potansiyel hepatoprotektif etkisini göstermektedir (2009).

Atta ve arkadaşları (2005), *P. majör* bitkisinin metanol ekstresi, sıçan modellerinde etanol ve aspirin kaynaklı gastrik ülserasyonlar kullanarak çalışmışlardır. Farmakolojik etkilerindeki farkı gözlemek için yaprak ve tohum ekstraktları ayrı ayrı hazırlanmıştır. Alkol ile indüklenen ülser modellerinde, yaprak ekstraktı %87.50'lik iyileştirici oran ile ülser indeksini önemli ölçüde azaltmış ancak tohum ekstraktının aynı modelde önemli bir etkisi olmamıştır. Her iki ekstrakt da toplam mide asitliği azaltmıştır.

Atta ve Mouneir (2005), *P.major* etanolik ekstraktının, sıçanlarda hint yağı kaynaklı ishal ve gastrointestinal hareketler ve yeni kesilmiş tavşanlardan izole edilen duodenum motilitesi üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir. En az 4 saat boyunca belirgin ishal önleyici etki gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Atta ve Abo EL-Soou (2004), yaprakların ve tohumların metanolik ekstraktlarının, anti-nosiseptif etkilerini araştırmak için asetik asit kaynaklı kıvranan ve tailflicktestin fareleri üzerinde ayrı ayrı inceleme yapmışlar ve tohum ekstraktının oral uygulamasının, %62.3'lük bir koruma ile asetik asit kaynaklı kıvranmalara karşı önemli nosiseptif aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir.

Başka bir çalışmada, Gálvezet ve ark. (2003), *P. major*'un geleneksel tıpta kullanılan yedi türünden elde edilen metanolik ekstraktlar, üç insan kanser hücre hattına İnsan renal adenokarsinomu (TK-10), insan meme adenokarsinomu (MCF-7) ve insan melanomu (UACC62) karşı sitotoksik aktivite açısından değerlendirilmiştir: *P. major* ve diğer altı *Plantago* türü, önerilen NCI (ABD) dozlarında meme adenokarsinomu (MCF-7) ve melanom (UACC-62) tümöral hücre hatları üzerinde konsantrasyona bağlı bir şekilde sitotoksik aktivite göstermişlerdir. Yaprak ve tohumların *Plantago* etanollü, sıcak ve soğuk su ekstraktları üzerinde ayrı ayrı bir in vitro çalışma yapmışlar ve test edilen tüm ekstraktlar için doza bağlı bir inhibisyon gözlenmiştir. *P. Major* yapraklarının etanolik ekstraktı, tümör hücresi büyümesi üzerinde en büyük etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir. *Plantago*'nun tüm türlerinde bulunan başlıca flavonoid olan Luteolin-7-O- β -glukozidin bitkinin anti-kanser aktivitesinden sorumlu ajan olduğu bildirmişlerdir.

Ozaslanet vd.(2009), *P. majör* metanol ekstraktının insan transforme hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi: RPMI-1640 ortamında kültürlenmiş HCT-15 (kolon karsinomu), SQC-UIISO (servikal karsinom), OVCAR (yumurtalık karsinomu) ve KB (nazofarenks karsinomu) üzerinde in vitro olarak değerlendirilmiştir. *P.majör*'ün metanolik ekstresini % 80-100 oranında sitotoksik etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak *P. Major* bitkisinin kanseri önlenmesinde etkili bir ajan olarak önerilebileceği gösterilmiştir.

Lezama vd. (2005), *P. major*'ün toprak üstü kısımlarının sulu ve metanolik ekstraktlarının, hematopoitik potansiyellerini araştırmak için kemik iliği ve dalak hücre ortamına eklemiş ve sonuç olarak kemik iliği kültürlerinde sulu ve metanolik ekstraktların, 0.4 ve 0.2 gr/mL'lik bir dozlarının hücre proliferasyonunu uyardığı metanolik ekstraktın (Velasco) 0.1 ve 0.05 g/mL dozlarında ise maksimum hematopoitik aktivite gözlemlendiği tespit edilmiştir.

Mao-yeand ve Li-guo (2011), *P. major* tohumlarının etanol ekstraktı, fiziksel güç üzerindeki etkisini belirlemek için kırk sekiz erkek fare üzerinde çalışılmıştır. Zorla yüzmeye testi ve kanın biyokimyasal tahlilleri yapılmış ve belirteç faktörleri kaydedilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, ekstraktın doku glikojenini (enerji kaynağı olarak) artırarak ve serum üre nitrojeni ve kan laktatını (yorgunluk ajanları olarak) azaltarak yüzmeye süresini arttırdığı görülmüştür. Bu nedenle ekstraktın yorgunluk önleyici etkilere sahip olduğu ve dayanıklılığı artırabileceği öne sürülmüştür.

Çalışmanın temel prensibinde lipozom sentezi ve karakterizasyonu, kültür ile hücrelerin eldesi, in vitro testler yer almaktadır. İlk olarak lipozomlar sentezlendi. Lipozomların çok farklı sentez yöntemleri giriş kısmında detaylı bir şekilde anlatılmıştır. Yapılan çalışmada sentezi kolay, uygun pH, sıcaklık ve konsantrasyonda lipozomlar sentezlendi. Lipozomların eşit boyutlarda olması için belli başlı faktörler vardır bunlar; evaporatör kuvvetinin sıcaklığı, karıştırma derecesi, çözücü madde, çözünen madde, tamponların pH ve çalkalama hızıdır.

Lipozomların enkapsülasyon etkinliği ve ürün veriminin tespiti yapılmıştır. Bitki ekstraktlarından 2 mL, 4 mL ve 6 mL lipozoma yüklenmiştir. 2 mL yüklendiğinde lipozomların içinde bitki ekstraktı seyrek olarak gözükürken, 6 mL yüklendiğinde ise lipozomda kalıntı bırakılmaktadır. Bir çok deneme sonucunda 4 mL bitki ekstraktının ideal olduğu tespit edilmiştir. Enkapsülasyon etkinliği %80 iken, ürün verimi ise

%79,7 olarak bulunmuştur. FT-IR ile yapılan karakterizasyon testinde lesitin ve sinir otu haricinde herhangi bir bileşen saptanmamıştır.

Hazırlanan lipozomların morfolojik ve kimyasal karakterizasyonu için FT-IR ve SEM analizleri literatür ile karşılaştırıldığında benzerlik göstermektedir. SEM cihazı ile hazırlanan ve kurutulan lipozomların boyutlarında homojen bir şekilde benzerlik gösterip göstermediği ve por yapıları değerlendirildi. SEM analiz sonuçlarına göre; Sinir otu yüklü lipozomların boyutlarının $105,7\pm 14$ nm ve boş lipozomların boyutlarının $99,12\pm 24$ olduğu tespit edilmiştir. Lipozomların yapısının homojene yakın olduğu, yapının farklı alanlarından alınan SEM görüntüleri ile tespit edildi. Boş lipozomların, sinir otu yüklü lipozomlar ile karşılaştırıldığında çok az bir fark olduğu gözlemlenmiştir.

Hemotoksilen ve eozin ile Trakea hücrelerine yapılan boyamada hücre çekirdeklerinin mor sitoplazmaları açık pembe tonlarında görünmektedir. Bu boyama ile hücrelerin morfolojik değişiklikleri belirlenmektedir. Trakea hücrelerinde; sinir otu, boş lipozom ve sinir otu yüklü lipozomlarda morfolojik bir değişme olmadığı, vakuol oluşmadığı, sitoplazma ve çekirdeğin neredeyse negatif kontrol ile aynı görüldüğü tespit edilmiştir.

FT-IR ile yapılan analizde, yapıdaki bağların durumu ve bağlandıkları yerler tespit edilir, bulunan verilerle karşılaştırılarak kullanılan materyaller değerlendirilir. FT-IR kısa sürede sonuç vermekle birlikte ön hazırlık istememektedir. Hazırlanan lipozomların içerisinde sinir otu olup olmadığı bu yöntem ile tayin edildi.

Zetasizer analizine göre, elde edilen lipozomların ortalama parçacık boyutunun $148,4$ nm olduğu bulunmuştur. Polidispersite (heterojenlik) indeksi (PDI) ise $0,38$ olarak belirlenmiştir. Lipozomların yüzey yükü ise $-37,2$ mV olarak ölçülmüştür.

İn vitro testler için ilk olarak Trakea hücreleri çoğaltıldı, sinir otu ve lipozom konsantrasyonlarının belirlenmesi için literatür araştırması yapıldı. Yapılan araştırmalarda sinir otu için net olarak belirlenen bir konsantrasyonun olmadığı çalışmalar arasında farklılık olduğu tespit edildi. Sitotoksosite test yöntemi olarak MTT çalışması yapıldı.

Literatür verileri incelendiğinde sinir otunun Trakea hücrelerinde etkisini araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Elde edilen Trakea hücrelerinde MTT

sonuçlarının literatür ile karşılaştırılamaması yapılan bu tez çalışmasının literatürde ilk olduğunu göstermektedir. MTT sonuçları incelendiğinde sinir otu yüklü lipozomların 50 µg/ml, 25 µg/ml, 12,5 µg/ml, 6,25 µg/ml konsantrasyonlarında canlılığı negatif yönde etkilememektedir. Sinir otunun direkt uygulanması ve lipozomun içinde uygulanması arasında MTT testi ile %50'lik bir fark gözlemlenmiştir. Sinir otunun doğrudan uygulanmasının aksine lipozom içinde verilmesinin daha etkili olduğu gözlenmiştir.

Tez alışması için yapılan in vitro test sonuçları birbirlerini desteklemektedir. Bu alışma ile ilk defa astım tedavisi için sinir otu yüklü lipozom formülasyonu kullanılmış ve başarılı sonuç elde edilmiştir. Astım tedavisinde; hem sinir otunun hem de sinir otu yüklü lipozomların kullanılabilceği öngörülmektedir. Ancak sinir otunun direkt uygulandığı in vitro testlerde görüldüğü gibi, lipozom içinde uygulanmasının daha etkili yanıt verdiği gözlemlendiğinden lipozomun içine aktarılarak verilmesi önerilmektedir.

KAYNAKÇA

Achim, M., Precup, C., Nitu, D.G., Barbutudoran, L., Porfire, A.S., Scurtu, R., and Cuice, C. (2009). Thermosensitive liposomes containing doxorubicin. Preparation and in vitro evaluation. *Farmacia*, 57(6), 703-710.

Agustina GH., Juan, MFR (2005). The Role of Liposomes in Analytical Processes. *TrAC Trends Anal. Chemistry*, 24, 9 – 19.

Ahmet Alpmann. Akciğer Anatomisi. <https://ahmetalpman.com/akcigerin-anatomisi/>
Erişim Tarihi: 18.02.2023

Akbarzadeh, A., Rezai-Sadabady, R., Davaran, S., Joo, S.W., Zarghami, N., Hanifehpour, Y., Samiei, M., Kouhi, M., Kazem, N.K. (2013). Liposome: classification, preparation, and applications. *Nanoscale Res Lett*, 8(1), 102.

Allen, M., Heinzmann, A., Noguchi, E., (2003). Positional cloning of a novel gene affecting asthma from chromosome 2q14. *Nat Genet*, 35, 258–263.

Allen, T.M., (1997). Liposomes. Opportunities in drug delivery. *Drugs*, 54(4), 8-14.

Altshuler, D., Daly, M.J., Lander, E.S., (2008). Genetic mapping in human disease. *Science*. 322, 881 – 888.

Amerikan Akciğer Derneği, 2020; Astım Tanı ve Tedavi Rehberi, 2020; GINA, 2021; Olgun ve diğerleri, 2007; Türkiye Kronik Hava Yolu Hastalıkları Önleme ve Kontrol Programı, 2018-2023).

Amerikan Akciğer Derneği, 2020; Astım Tanı ve Tedavi Rehberi, 2020; GINA, 2021; Türkiye Kronik Hava Yolu Hastalıkları Önleme ve Kontrol Programı, 2018- 2023.

Amerikan Akciğer Derneği (2008). Akciğer Hastalığı Verileri. Erişim adresi: http://www.lung.org/assets/documents/publications/lung-disease-data/LDD_2008.pdf.

Amerikan Akciğer Derneği (2012). Yetişkinlerde Astım Bilgi Sayfası.Erişim adresi: <http://www.lung.org/lung-disease/asthma/resources/facts-and-figures/asthma-in-adults.html>

Amerikan Akciğer Derneği (2014). Astım ve Çocuklar Bilgi Formu.Erişim adresi: <http://www.lung.org/lung-disease/asthma/resources/facts-and-figures/asthma-children-fact-sheet.html>

Andary, C., Wylde, R., Laffite, C., Privat, G., Winternitz F. (1982). Verbascoside and orobanchoid structures, caffeic acid sugar esters *Orobancha rapum-genistae*. *Phytochemistry*. 21.1123 – 1127.

Andersen, Z.J., Raaschou-Nielsen, O., Ketzler, M., Jensen, S.S., Hvidberg, M., S, Tjønneland A, Overvad, K., Sørensen. M., (2012). Diabetes incidence and long-term air pollution exposure: a cohort study. *Diabetes Care*, 35, 92–98.

Anderson, E.F., (1986). Ethnobotany of the hill tribes of northern Thailand. II. Lahu medicinal plants. *Economic Botany*. 40, 442 – 450.

Angelov, A., Lambev, I., Markov M., Yakimova, K., Leseva, M., Yakimov, A., (1980). Study of acute and chronic toxicity of *Dispergus Plantago major*. *Medical Archives*. 18.47 – 52.

Anwekar H, Patel S, et al (2011). Liposome-as drug carriers. *Int J of Pharm & Life Sci*, 2 (7), 945-951.

Asher, M.I., Montefort, S., Björkstén, B., Lai, C.K., Strachan, D.P., Weiland, S.K., et al. (2006). Worldwide time trends in the prevalence of childhood asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema symptoms: ISAAC Phases One and Three replicate multi-country cross-sectional studies. *Lancet*. 368, 733 – 43.

Aspinall, G.O., (1973). Carbohydrate polymers of plant cell walls.

Asthma NAE and PP Third Expert Panel on the Diagnosis and Management of. Expert Panel Report 3: Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma. National Heart, Lung, and Blood Institute (US); 2007.

Astım Tanı ve Tedavi Rehberi, 2020; Birol ve Sütçü, 2020; GINA, 2021; Olgun ve diğeri, 2017.

Astım Tanı ve Tedavi Rehberi, 2020; Birol ve Sütçü, 2020; GINA, 2021.

Astım Tanı ve Tedavi Rehberi, 2020; Birol ve Sütçü, 2020; GINA, 2021; Olgun ve diğeri, 2017; Türkiye Kronik Hava Yolu Hastalıkları Önleme ve Kontrol Programı, 2018-2023.

Astım Tanı ve Tedavi Rehberi, 2020; Dünya Sağlık Örgütü, 2013; GINA, 2021; Olgun ve diğeri, 2017; Türkiye Kronik Hava Yolu Hastalıkları Önleme ve Kontrol Programı, 2018-2023.

Astım Tanı ve Tedavi Rehberi, 2020; Türkiye Kronik Hava Yolu Hastalıkları Önleme ve Kontrol Programı, 2018-2023.

Akunuru, J., Joginapally, S., et al (2009). Preparation, characterization and evaluation of hepatoprotective activity of an intravenous liposomal formulation of bis-demethoxy curcumin analogue (BDMCA). *Int J Drug Dev & Res.*, 1(1), 37-46.

B. Samuelsen., et al., (1999). Structural features & anti-complementary activity of some heteroxylan polysaccharide fractions from the seeds of *Plantago major* L, *Carbohydr. Polym.* 38, 133–143.

Bai, L., Fei, WD., Ying, Y.G., Miao, H., Du, F., Zhang, WY, Yang., LL ve Liu, YJ (2020). Iridium(III) polypyridyl complexes encapsulated in liposomes enhance anticancer activity in vitro and in vivo. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 205, 111014.

Banerjee, R., Tyagi, P., Li, S., Huang, L. (2004). Anis amide targeted stealth liposomes: A potent carrier for targeting doxorubicin to human prostate cancer cells. *International journal of cancer*. 112(4),693-700.

Bangham, A.D. and R.W. Horne, (1964). *Negative Staining Of Phospholipids And Their Structural Modification By Surface-Active Agents As Observed In The Electron Microscope*. *J Mol Biol.*, 8, 660-668.

Betz, G., Aeppli, A., Menshutina, N., Leuenberger H. (2005). In vivo comparison of various liposome formulations for cosmetic application. *International journal of pharmaceutics*. 296(1), 44-54.

Bezerra, CF., Alencar, Junior., JG, Honorato., RL ve Santos, ATL (2020). Antifungal activity of furesol incorporated into liposomes and associated with fluconazole. *Chemistry and Physics of Lipids*, 233, 104987

Bhadra, D., Bhadra, S., Jain, P., Jain, NK., (2002). Pegnology: a review of PEG-ylated systems. *Pharmazie*, 57, 5-29.

Bhatia, A.,. (2004). Tamoxifen in topical liposomes: development, characterization and in vitro evaluation. *J Pharm Pharmaceut Sci*, 7(2), 252-259.

Bianco (1984). Iridoid & phenylpropanoid glycosides from new sources, *J. Nat. Prod.* 47 (5) 901–902.

Boltič, Z., Petkovska, M., et al. (2003). In vitro evaluation of the controlled release of antibiotics from liposomes. *Chem Ind*, 57(12), 589-595.

Bufford, J. D., Gern, J.E. (2005). The hygiene hypothesis revisited. *Immunol Allergy Clinic North Am.*, 25, 247–262.

Burnett, R.T., Kakmak, S., Brook, J.R. (1998). Effect of urban ambient air pollution mix on daily mortality rates in 11 Canadian cities. *Can J Public Health*, 89, 152–156.

C. Long, et al., (1995). L'aucuboside et le catalpol dans les feuilles de *Plantago lanceolata* L.,

C. Yuting, et al., (1990). Flavonoids as superoxide scavengers & antioxidants. *Free Radic. Biol. Med.* 9(1),19–21

- Cerveri, I., Cazzoletti, L., Corsico, A., et al. (2012). Sigara içmenin astım üzerindeki etkisi: popülasyona dayalı uluslararası bir kohort çalışması. *Int Arch Allergy Immunol*, 158, 175–183.
- Cha, Y., Son, B., ve Ryu, S. (2019). Effective removal of staphylococcal biofilms on various food contact surfaces by Staphylococcus aureus phage endolysin LysCSA13. *Food microbiol*, 84, 3245
- Chanda, H., Das, P., et al (2011). Development and evaluation of liposomes of fluconazole. *JPBMS*, 5 (27), 1-9.
- Chang, H.I., Yeh, M.K., (2012). Clinical development of liposomebased drugs: formulation, characterization, and therapeutic efficacy. *Int J Nanomedicine*, 7, 49-60.
- Channarong, S., Chaicumpa, W., et al (2011). Development and evaluation of chitosan-coated liposomes for oral DNA vaccine: the improvement of Peyer's patch targeting using a polyplex-loaded liposomes. *AAPS PharmSciTech.*, 12(1), 192-200.
- Chen, Y., Dales, R., Tang, M., et al.(2002). Sigara içmenin ve evcil hayvanların astım insidansı üzerindeki cinsiyete bağlı etkileşimli etkisi. *Eur Respir J*, 20, 1162–1166.
- Chunyan, L., Zhang, L., Zhu, W., Guo, R., Sun, H., Chen, X., & Deng, N. (2020). Obstacles and Strategies of Cationic Liposomes in Cancer Gene Therapy. *Molecular Therapy-Methods & Clinical Development*, 18, 751–764.
- Cocero, M.J., Martin, A., et al. (2009). Encapsulation and coprecipitation processes with supercritical fluids: fundamentals and applications. *J Supercrit Fluid*, 47, 546-555.
- Crystal, R.G. (1997). *The Lung: Scientific Foundations*: Lippincott-Raven.
- Da Costa, CAM., Moraes, A.M. (2003). Encapsulation of 5-fluorouracil in liposomes for topical administration. *Maringá*, 25(1), 53-61.
- Dapergolas, G., Gregoriadis G. (1976). Hypoglycaemic effect of liposome-entrapped insulin administered intragastrically into rats. *The Lancet*. 308, 824-827.
- Darani, K.K., Mozafari, M.R. (2009). Supercritical fluids technology in bioprocess industries: a review. *J Biochem Tech*, 2(1), 144-152.
- Devi, M., Kumar, M.S., et al. (2011). Amphotericin-B loaded vesicular systems for the treatment of topical fungal infection. *IJRAPR*, 4:37-46.
- Divakar,P., Kumar, D.P., et al. (2013). Formulation and in vitro evaluation of liposomes containing metformin hydrochloride. *IJRPBS*, 4(2), 479-485.
- Duffy, D.L., Martin, N.G., Battistutta, D., Hopper, J.L., Mathews, J.D. (1990). Genetics of asthma and hay fever in Australian twins. *Rev Respiratory Disc*. 142(1), 1351 – 1358

Dünya Astım Günü Basın Bildirisi - 7 Mayıs 2019 [İnternet]. Türkiye Ulusal Alerji ve Klinik İmmünoloji Derneği. Erişim adresi: <https://www.aid.org.tr/dunya-astim-gunu-basin-bildirisi-7-mayis-2019>

Dünya Sağlık Örgütü (2007). Küresel sörveyans, kronik solunum yolu hastalıklarının önlenmesi ve kontrolü: kapsamlı bir yaklaşım. Erişim adresi: http://whqlibdoc.who.int/publications/2007/9789241563468_eng.pdf.

Edwards, M.R., Bartlett, N.W., Hussell, T., Openshaw, P., Johnston, S.L. (2012). Microbiology of asthma. *Nat Rev Mikrobiyol.*, 10, 459–471.

Eggleston, P.A., Butz, A., Rand, C., (2005). Home environmental intervention for urban asthma: a randomized controlled clinical trial. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 95, 518 – 524.

Eigenmann, P.A., Atanaskovic-Markovic, M., O’B, Hourihane J., Lack, G., Lau, S., Matricardi, P.M., et al. (2013). Testing children for allergies: Why, how, who and when: An updated statement of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) Section on Pediatrics and the EAACI-Clemens von Pirquet Foundation. *Pediatric Allergy and Immunology*, 24, 195–209.

Kırtıl E, Mecit H. Oztop., (2014). Enkapsülasyon Maddesi Olarak Lipozom ve Gıdalarda Kullanımı: Yapısı, Karakterizasyonu, Üretimi ve Stabilitesi

Etheridge, M.L., et al., (2013). The big picture on nanomedicine: the state of investigational and approved nanomedicine products. *Nanomedicine*, 9(1), 1-14.

Euliss, L.E., DuPont, J.A., Gratton, S., DeSimone, J. (2006). Giving size, shape and composition control of materials for nanomedicine. *Chem Soc Rev.* 2006; 35, 1095–1104.

Fægri, K., Norges, Ekici. (1970). Blomster og Trær i Naturen. Cappelen; Oslo, Norveç
Felice B, Prabhakaran MP, Rodríguez AP, Ramakrishna S. (2014). Drug delivery vehicles in nanoengineering perspective. *Materials Science Eng C Mater Biol Appl.* 41, 178–195.

Flodin, U., Jonsson, P., Ziegler, J. ve ark. (1995). An epidemiological study on bronchial asthma and smoking. *Epidemiology*, 6, 503–505.

Fuchs, O., von, M.E. (2013). Prenatal and childhood infections: implications for the development and treatment of childhood asthma. *Lancet Resp Med.*, 1, 743 – 754.

G, Schneider., Arzneidrogen, (2009). Ein Kompendium für Pharmazeuten, Biologen und Chemiker, Wissenschaftsverlag, Mannheim, Germany, p. 131.

Gabizon, A. (1989). Liposomes as a drug delivery system in cancer chemotherapy. *Horizons in biochemistry and biophysics.* 9, 185

Gaurav, R., Tejal, S. (2011). Liposomal drug delivery system: an overview. *IJPBA*, 2(6), 1575-1580.

- Gehr, P. (1984). Respiratory tract structure and function. *J Toxicol Environ Health*, 13(2-3), 235-249. doi:10.1080/15287398409530496
- Ghanbarzadeh, S., Valizadeh, H., et al (2013). Application of response surface methodology in development of sirolimus liposomes prepared by thin film hydration technique. *BioImpacts*, 3(2), 75-81.
- Gómez-Hens, A., Fernández-Romero, JM. (2006). Analytical methods for control of liposomal delivery systems. *Trends Analysis Chemistry*. 25, 167- 168
- Gregoriadis, G., (1973). Drug entrapment in liposomes. *FEBS Lett*, 36(3), 292-296.
- Gregoriadis, G., (1976). *The carrier potential of liposomes in biology and medicine (first of two parts)*. *N Engl J Med.*, 295(13), 704-710.
- Gregoriadis, G., (1976). *The carrier potential of liposomes in biology and medicine (second of two parts)*. *N Engl J Med.*, 295(14), 765-770.
- Gregoriadis, G., et al., (1974). Drug-carrier potential of liposomes in cancer chemotherapy. *Lancet*, 7870,1313-1316.
- Gullotti E, Yeo Y. (2009). Extracellularly activated nanocarriers: a new paradigm of tumor targeted drug delivery. *Mol Pharm*, 6, 1041-1051.
- Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri. Ulusal Sağlık İstatistikleri Merkezi. Hızlı İstatistikler. Sağlık Durumu ve Risk Faktörleri. Alkol ve Uyuşturucu Kullanımı. sigara içmek 8Nisan2015. <http://www.cdc.gov/nchs/fastats/Smoking.htm>
- Hathout, R.M., Mansour, S., et al. (2007). Liposomes as an ocular delivery system for acetazolamide: in vitro and in vivo studies. *AAPS PharmSciTech*, 8(1), E1-E12.
- Hoffmann, B., Luttmann-Gibson, H., Cohen, A., Zanobetti, A., de Souza, C, Foley, C, Suh HH, Coull BA, Schwartz J, Mittleman M, ve diğ. (2012). Opposing effects of particle pollution, ozone, and ambient temperature on arterial blood pressure. *Environmental Health Perspective*, 120, 241–246.
- Hwang, T.L., Lee, W.R, et al. (2007). Cisplatin encapsulated in phosphatidylethanolamine liposomes enhances the in vitro cytotoxicity and in vivo intratumor drug accumulation against melanomas. *J Dermatol Sci*, 46,11-20.
- J.L. Guil, et al., (1997). Nutritional & toxic factors in selected wild edible plants, plant foods, *Hum. Nutr.* 51 (2),99–107.
- Jadhav, M.P., Nagarsenker, M.S., et al. (2011). Formulation and evaluation of long circulating liposomal amphotericin B: a scinti-kinetic study using 99mTc in BALB/C mice. *Indian J Pharm Sci*, 73(1): 57-64.
- Jung, K.H., Hsu, S. - I, Moors KM, et al.(2012). Childhood exposure to fine particulate matter and black carbon and the development of new wheezing at age 5–7 years in an urban prospective cohort. *Environ Int.*, 45, 44 – 50.

K.P. Skari, et al., 1999. Radical scavengers & inhibitors of enzymatic lipid peroxidation from plantago major, A Medicinal Plant. Poster 495 at 2000 Years of NaturalProducts Research — Past, Present and Future, Amsterdam, The Netherlands,

Kadro S.M.J.S. (1963). A note Plantago major seeds: substitute for ispaghula. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 15, 552 – 555.

Karn, P.R., Cho, W., et al. (2013). Characterization and stability studies of a novel liposomal cyclosporin A prepared using the supercritical fluid method: comparison with the modified conventional Bangham method. *Int J Nanomedicine*, 8, 365-377.

Keet, C.A., McCormack, M.C., Peng, R.D., Matsui, E.C. (2011). Age- and atop-dependent effects of vitamin D on wheezing and asthma. *J Allergy Clinic Immunol*. 128,414 – 416.

Kieninger, E., Fuchs, O., Latzin, P., Frey, U., Regamey, N. (2013). Rhinovirus infections in infancy and early childhood. *Eur Respir J.*, 41, 443 – 452.

Kimoff, R.J., Hamit, Q., Shonnon, J., Martin J (eds). (2005). Physiology of the upper airway and upper airway obstruction in disease. In: *Physiologic Basis of Respiratory Disease*. Chapter 50. 1st ed. Hamilton, Ontario: BC Decker Inc, 581-96.

Kommareddy S, Tiwari SB, Amiji MM. Long-circulating polymeric nanovectors for tumor-selective gene delivery. *Technol Cancer Res Treat* 2005; 4: 615- 25

Ko, F.W., Hui, D.S. (2012). Air pollution and chronic obstructive pulmonary disease. *Respirology*, 17, 395–401.

Koçancı, F. G., Niğdelioğlu Dolanbay, S. & Aslım, B. (2022). Comparison of three different protocols of alkaloid extraction from *Glaucium corniculatum* plant. *International Journal of Secondary Metabolite*, 9 (1), 43-51. DOI: 10.21448/ijsm.980171

Koppelman, G.H., Los, H., Postma, D.S. (1999). Genetics and environment in asthma: the answer from twin studies. *Eur Respir J.*, 13, 2-4.

Koru Hastanesi. Yetişkin Deri Testi. <https://www.koruhastanesi.com/yetiskin-alerji-testi-deri-prick-testi-1684-5/> Erişim Tarihi: 20.02.2023

Kumar, A., Badde, S., et al. (2010). Development and characterization of liposomal drug delivery system for nimesulide. *Int J Pharm Pharm Sci*, 2 (4), 87- 89.

Langer R. (2000) Biomaterials in drug delivery and tissue engineering: one laboratory's experience. *Acc Chem Res* 33, 94-101.

Lasic, D.D., Martin, F.J., Gabizon, A., Huang, S.K., Papahadjopoulos, D. (1991). Sterically stabilized liposomes: a hypothesis on the molecular origin of the extended circulation times. *Biochemical et Biophysical Acta (BBA)- Bio membranes*. 1070(1), 187-92.

Lautenschläger, H. Liposomes, (2010). Handbook of Cosmetic Science and Technology (AO Barel, M. Paye and HI Maibach), 155-163

Lavigne, E., Villeneuve, P.J., Kakmak S. Windsor (2012). Air pollution and asthma emergency room visits in Canada. *Can J Public Health*, 103, 4–8.

Lee, M., Kim, S.W. (2005). Polyethylene glycol-conjugated copolymers for plasmid DNA delivery. *Pharm Res.* 22: 1-10.

Li, Y., Tan, X., Liu, X., Liu, L., Fang, Y., Rao, R., Yuanyuan, R., Yang, X., & Liu, W. (2020). İlaç direncinin ikili baskılanması için Bcl-2 siRNA-korona ile TPGS kaplı lipozomlar tarafından doksorubisinin geliştirilmiş antikanser etkisi. *Asya Eczacılık Bilimleri Dergisi*, 15(5), 646–660.

Long H.C. (1938) Weeds of arable land. MAFF Bulletin 108, 2nd edition. HMSO, London, UK.

Loewus, F. (Ed.). Biogenesis of Plant Cell Wall Polysaccharides. Academic Press, New York. 95 – 115.

Lopes, L.B, Scarpa, M.V, et al. (2006). Interaction of sodium diclofenac with freeze-dried soya phosphatidylcholine and unilamellar liposomes. *Braz J Pharm Sci*, 42(4), 497-504.

M. Murai, et al., (1995). Phenylethanoids in the herb of *Plantago lanceolata* & inhibitory effect on arachidonic acid-induced mouse ear edema, *Planta Med.* 61 (5), 479–480.

M. Pailer., E. Haschke-Hofmeister(1969). Contents from *Plantago major*, *Planta Med.* 17 (2) 139–145.

M.I. Bakker, et al., (1998). Leaf wax of *Lactuca Sativa* & *Plantago major*, *Phytochemistry* 47 (8) 1489–1493.

Mikrokapsül ve lipozom teknolojisi kullanarak kozmetik-tekstil üretimi / Production of cosmetic-textile by using microcapsule and liposome technology, Ege Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Tekstil Mühendisliği Ana Bilim Dalı, GÜNEŞ SAYIT (Memorial. "Alerjik Astımın 5 Belirtisine Dikkat". Erişim: 17 08 2023.

M.J. Sanz, et al., (1994). Influence of a series of natural flavonoids on free-Radical generating systems & oxidative stress, *Xenobiotica* 24, 689–699.

M.S. Ahmad, et al., (1980).A new hydroxyolefinic acid from *Plantago major* seed oil, *Phytochemistry* 19 (10),2137–2139.

Maeda, H., Bharate, G.Y., Daruwalla, J. (2009). Polymeric drugs for efficient tumor-targeted drug delivery based on EPR-effect. *Eur J Pharm Biopharm*, 71,409-419.

- Makhmalzadeh, B.S., Azh,Z., et al. (2011). Preparation and evaluation of mafenide acetate liposomal formulation as eschar delivery system. *Int J Drug Dev & Res*, 3(4), 129-140.
- Marchianoa, V., Matosb, M., Pertierraa, ES, Gutiérrezzb, G., & Blanco-Lópeza, MC (2020). Vesicles as antibiotic carriers: State of the art. *International Journal of Pharmacy*, 585, 119478.
- Matsui EC, Matsui W. (2009). Higher serum folate levels are associated with a lower risk of atopy and wheezing. *J Allergy Clinic Immunol*. 123, 1253 – 1259.
- McCarthy, M.I., Abecasis, G.R., Cardon, L.R., vd.(2008). Genom - Large association studies for complex traits: consensus, uncertainty, and challenges. *Nat Rev Genet.*, 9, 356 – 369.
- McCormack, M.C., Breyse, P.N., Matsui, E.C. ve ark. (2009). Home particle concentrations and childhood asthma morbidity. *Environmental Health Perspective*. 117, 294 – 298.
- Medicana. Solunum Fonksiyon Testi. <https://www.medicana.com.tr/saglik-rehberidetay/12541/solunum-fonksiyon-testi-sft> / Erişim Tarihi:20.02.2023
- Mehta, K., Sadeghi, T., McQueen, T., Lopez-Berestein, G. (1994). Liposome encapsulation circumvents the hepatic clearance mechanisms of all-trans-retinoic acid. *Leukemia research*. 18(8), 587-96
- Mishra, N., Gupta, P.N., et al. (2007). Liposomes as adjuvant for combination vaccines. *Indian J Exp Biol*, 45, 237- 241.
- Mohan A, Narayanan S, Sethuraman S, Krishnan UM. (2014). Novel resveratrol and 5-fluorouracil encapsulated in pegylated nanoliposomes enhance the chemotherapeutic efficacy of the combination against head and neck squamous cell carcinoma. *Biomed Res Int*. 424239.
- Morgan, W.J., Crain, E.F., Gruchalla, R.S., et al. (2004). Results of a home-based environmental intervention among urban children with asthma. *N Engl J Med.*, 351, 1068 – 1080.
- Mozafari, M.R., Johnson, C., Hatziantoniou, S., Demetzos, C., (2008). Nanoliposomes and their applications in food nanotechnology. *J Liposome Res*. 18, 309-327
- Mulye, C., Mishra, R., et al. (2013). Formulation and evaluation of liposome mediated drug delivery. *UJP*, 2(2), 156- 160.
- Müller-Goymann CC. (2004). Physicochemical characterization of colloidal drug delivery systems such as reverse micelles, vesicles, liquid crystals and nanoparticles for topical administration. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 58(2), 343-56.
- N. Feinbrun-Dothan (1978). *Flora Palestina: Part 3 Ericaceae to Compositae*, Israel Academy of Sciences and Humanities (IASH). *Jerusalem*, 2.

N. Handjieva, et al., (1991). Majoroside, an iridoid glucoside from *Plantago major*, *Phytochemistry* 30 (4),1317–1318.

Nagayasu, A., K. Uchiyama, and H. Kiwada (1999). The size of liposomes: a factor which affects their targeting efficiency to tumors and therapeutic activity of liposomal antitumor drugs. *Adv Drug Deliv Rev.*, 40(1-2), 75-87.

Nidhal, K.M., Athmar, D.H. (2012). Preparation and evaluation of salbutamol liposomal suspension using chloroform film method. *Mustansiriya Medical Journal*, 11(2), 39-44.

Niu, M., Lu, Y., et al. (2011). Liposomes containing glycocholate as potential oral insulin delivery systems: preparation, in vitro characterization, and improved protection against enzymatic degradation. *Int J Nanomedicine*, 6, 1115-1166.

Norrman, G., F.-M. K. (2009). Adverse reactions to skin prick testing in children - prevalence and possible riskfactors. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 85(6), 457–460. of ohio & Kentucky, *Econ. Bot.* 31 (1),76–79.

Oliveira, J.K., Nakamura, T.U., Correa, A.G., Petrilli, R., Vianna, Lopez., RF, Nakamura, C.V., ve Vely, RA (2020). Liposome-based nanocarrier loaded with a novel quinoxaline derivative for the treatment of cutaneous leishmaniasis. *Materials Science and Engineering*, 110, 110720.

Papahadjopoulos, D., Kimelberg, H.K. (1973). Phospholipid vesicles (liposomes) as models for biological membranes: their properties and interactions with cholesterol and proteins. *Progress in Surface Science*, Oxford: Pergamon; 141–149.

Parthasarathy, R., Sacks P.G., Harris D., Brock H, Mehta,K. (1994). Interaction of liposome-associated all-trans-retinoic acid with squamous carcinoma cells. 34(6), 527-34.

Patravale, V.B., Mandawgade, S.D. (2008). Novel cosmetic delivery systems: an application update. *International journal of cosmetic science*. 30(1), 19-33.

Perrie,Y., Frederik, P.M. et al. (2001). Liposome-mediated DNA vaccination: the effect of vesicle composition. *Vaccine*, 19, 3301-3310.

Piipari, R., Jaakkola, J,J,K., Jaakkola, N., et al. (2004). Smoking and asthma in adults. *Eur Respir J*, 24, 734–739.

Plantago major L. et *Plantago media* L, *J. Pharm. Belg.* 50 (6),484–488.

Plaschke PP, Janson C, Norrman E, et al. (2000). Onset and remission of allergic rhinitis and asthma and its association with atopic sensitization and smoking. *Am J Respir Crit Care Med*, 162, 920–924.

Plopper, C. G. (1996). Structure and Function of the Lung. In T. C. Jones, D. L. Dungworth, & U. Mohr (Eds.), *Respiratory System* (pp. 135-150). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

Prabhu, P., Kumar, N., et al (2010). Preparation and evaluation of liposomes of brimonidine tartrate as an ocular drug delivery system. *Int J Res Pharm Sci*, 1(4), 502-508.

R. Taskova, et al., (1999). Iridoid glucosides from *Plantago cornuti*, *Plantago*

R.C. Hiltibran, et al., (1953). The distribution of triterpenes in rugel's plantain, *J. Am. Rabe KF, Adachi M, Lai CKW ve ark* (2004).

Ramana, L.N., Sethuraman, S., et al. (2010). Development of a liposomal nanodelivery system for nevirapine. *J Biomed Sci*, 17,1-9.

Rathod S, Deshpande SG. (2010). Design and evaluation of liposomal formulation of pilocarpine nitrat. *Indian J Pharm Sci*, 72(2), 155-160.

Reza, Mozafari, M., Johnson, C., Hatziantoniou, S., Demetzos C.(2008). Nanoliposomes and their applications in food nanotechnology. *Journal of liposome research*. 18(4), 309-327

Rodrigues, B,S., Kanekiyo, T. ve Singh, J. (2020). In vitro and in vivo characterization of CPP and transferrin-modified liposomes encapsulating pDNA. *Nanomedicine: Nanotechnology. Biology and Medicine*, 28, 102225

Rosenberg, S,L., Miller, G,E., Brehm, JM., Celedon JC.(2014). Stress and asthma: new insights into genetic, epigenetic and immunological mechanisms. *J Allergy Clinic Immunol*. 134, 1009 – 1015.

S. Nishibe, et al., (1995). A phenylethanoid glycoside from *Plantago asiatica*, *Phytochemistry*. 38 (3),741–743

S.A. Kawashty, et al., (1994). Flavonoids of plantago species in Egypt. *Biochem. Syst. Ecol.*, 22 (7), 729–733.

Sagar G.R., Harper J.L. (1964) *Plantago major* L., *P. media* L. and *P. lanceolata* L. *The Journal of Ecology*, 52,189–221.

Samuelson, A,B. (2000) The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. *Journal of Ethnopharmacology*,71,1– 21

Saraswathi, Marripati., K. Umasankar (2014). A Review on Liposome. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Nano Sciences*, 3(3), 159-169.

Sharma, N., Koul, P., Koul, A,K,. (1992) Genetic system of six species of *Plantago* (plantaginaceae). *Plant Systematics and Evolution* 181,1–9.

Shashi, K., Satinder, K., Bharat P. A complete review on: Liposome. *International Research Journal of Pharmacy*. 2012; 3(7):10-6.

Shazly, G,A. (2013). Propranolol liposomes: formulation, characterization, and in vitro release. *J Optoelectron Biomed Mater*, 5 (1), 17-25.

Sipai, ABM, Vandana,Y., et al. (2012). Liposomes: an overview. *JPSI*, 1(1), 13-21.

Sirisha VNL, BhavaniHarika I, et al (2012). Liposomes-the potential drug carriers. *J Pharm*, 2(5), 26-38.

Skorge T, Eagan T, Eide G ve ark. (2005). Adult incidence of asthma and respiratory symptoms due to passive smoking in utero or in childhood. *Am J Respir Crit Care Med*, 172, 61-66

Sly PD, Boner AL, Bjorksten B, et al. (2008). Çocuklarda kalıcı astım tahmininde atopinin erken tanımlanması. *Lancet*. 372, 1100 – 1006.

Sousa SI, Ferraz C, Alvim - Ferraz MC, Vaz LG, Marques AJ, Martins FG. (2012). Kreşler ve ilkokullarda iç mekan hava kirliliği: çocukluk astımı üzerindeki etki - çalışma protokolü. *BMC Halk Sağlığı*. 12,435.

Storm G, Roerdink FH, Steerenberg PA, De Jong WH, Crommelin DJ. (1987). Influence of lipid composition on the antitumor activity exerted by doxorubicin-containing liposomes in a rat solid tumor model. *Cancer research*. 47(13), 3366-72

Strachan DP. (1989). Saman nezlesi, hijyen ve ev tipi. *BMJ*. 299, 1259 – 60.

Stryer S. (1981). Kimball's Biology Pages, "Cell Membranes." *Biochemistry*, 213.

Suphiya Parveen, MS, Ranjita Misra, MS, Sanjeeb K. Sahoo. (2012). Nanoparticles: a boon to drug delivery, therapeutics, diagnostics and imaging. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 8,147–166.

T. Ringbom, et al., (1998). Ursolic acid from *Plantago major*, a selective inhibitor of cyclooxygenase-2 catalyzed prostaglandin biosynthesis, *J. Nat. Prod*. 61,1212–1215.

T.M. Zennie, D. Ogzewalla, (1977) Ascorbic acid & vitamin a content of edible wild plants

Taylor TM, Weiss J, Davidson PM, Bruce BD. (2005). Liposomal nanocapsules in food science and agriculture. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 45(7-8), 587-605.

The Global Asthma Report 2018 [İnternet]. Erişim adresi: <http://www.globalasthmareport.org> Erişim Tarihi: 03 Ekim 2019

Thomsen SF, van der Sluis S, Kyvik KO, Backer V. (2012). Yetişkin bir ikiz örnekte astım şiddeti çalışması. *Clin Respir J.*, 6, 228 – 37.

Thulasiramraju TV, Babu AS, Arunachalam A, Prathap M, Srikanth S, Sivaiah P. (2012). Liposome: A novel drug delivery system. *International Journal of Biopharmacuties*, 2229:7499.

- To T, Stanojevic S, Moores G ve diğerleri (2012). Global prevalence of asthma in adults: findings from a cross-sectional world health survey. *BMC Public Health*, 12, 204.
- Toren K, Hermansson BA. (1993). Incidence of adult-onset asthma in relation to age, sex, atopy and smoking: a Swedish population-based study of 15813 adults. *Int J Tuberc Lung Dis*, 3, 192–197.
- Traïkia M, Warschawski DE, et al. (2000). Formation of unilamellar vesicles by repetitive freeze-thaw cycles: characterization by electron microscopy and ³¹P-nuclear magnetic resonance. *Eur Biophys J*, 29, 184-195.
- Vozoris NT, Stanbrook MB (2011). KOAH veya astımı olan bireylerde sigara içme prevalansı, davranışları ve bırakma. *Solunum Med*, 105, 477–484.
- Vyas S.P. & Khar R.K. (2007). “Targeted & controlled drug delivery: Novel carrier system”. CBS publishers and distributors.
- Wagner A, Vorauer-Uhl K. (2011). Liposome technology for industrial purposes. *J Drug Distribution*, 591325.
- Warwick S.I. (1980) The genecology of lawn weeds. VII. The response of different growth forms of *Plantago major* L. and *Poa annua* L. to simulated trampling. *New Phytologists*, 85, 461–469.
- Wellenius, GA, Burger, MR, Coull BA, Schwartz J, Suh HH, Koutrakis P, Schlaug G, Altın DR, Mittleman MA. (2012). Ambient air pollution and risk of acute ischemic stroke. *Arch Intern Med*, 172, 229–234.
- Wu, A.C., Tantisira, K., Li L, Fuhlbrigge, A.L., Weiss, S.T., Litonjua A. (2012). Effect of vitamin D and inhaled corticosteroid treatment on lung function in children. *Am J Respir Crit Care Med.*, 186, 508 – 513.
- Xepapadaki, P., Skevaki, C.L., Papadopulos, N.G. (2012). The role of viral and bacterial infections in the development and exacerbations of asthma. In: Carlsen K-H, Gerritsen J, eds. *Pediatric Asthma.*, 116 – 128.
- Y. Noro, et al., (1991). Pharmacognostical studies of plantaginis herbs (VII). on the phenylethanoid
- Z.F. Ahmed, et al., (1965). Phytochemical studies of egyptian plantago species (Glucides), *J. Pharm. Sci.* 54, 1060–1062.
- Z.F. Ahmed, et al., (1968). Phytochemical studies of egyptian plantago species. (Lipids), *Planta Med.* 16 (4),404.
- Zhang, Y., Wei, H., Du, Y., Ying, D., Zhao, C., Zhang, Y., Zhang, H., Yin, L., & Xinsong, L. (2020). Dimeric artesunate phospholipid-conjugated liposomes as promising anti-inflammatory therapy for rheumatoid arthritis. *International Journal of Pharmacy*, 576, 119178.

Zhang, Z.J., Michniak-Kohn, B. (2020). Flavosomes, novel deformable liposomes for co-delivery of anti-inflammatory compounds into the skin. *International Journal of Pharmacy*, 585, 119500.

Zhong, J., Dai, L.C. (2011). Liposomal preparation by supercritical fluids technology. *Afr J Biotechnol*, 10(73), 16406- 16413.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : ALEYNA ÇAVDAR

Doğum Tarihi :

Yabancı Dil :

Eğitim Durumu

Lisans

Yüksek Lisans : KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ MÜHENDİSLİK FAKÜLTESİ
BİYOMÜHENDİSLİK A.B.D

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl/Yıllar:

Yayımları (SCI):

Yayımları (Diğer): Cytotoxic and antiproliferative effects of hellebrin on breast and lung cancer cells

Araştırma Alanları: Hücre kültürü, biyoyumluluk testleri, deney hayvanları