

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**POLİKAPROLAKTON - POLİETİLEN GLİKOL - KİTOSAN BAZLI
MİKROKÜRECİK ÜRETİMİ VE KONTROLLÜ İLAÇ SALINIMINDA
KULLANILMASI İÇİN ÖN ÇALIŞMA**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Elif Nur HAYTA

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Kimya Mühendisliği Programı

ŞUBAT 2014

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**POLİKAPROLAKTON - POLİETİLEN GLİKOL - KİTOSAN BAZLI
MİKROKÜRECİK ÜRETİMİ VE KONTROLLÜ İLAÇ SALINIMINDA
KULLANILMASI İÇİN ÖN ÇALIŞMA**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Elif Nur HAYTA
(506111030)**

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Kimya Mühendisliği Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Yüksel AVCIBAŞI GÜVENİLİR

ŞUBAT 2014

İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü' nün 506111030 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi **Elif Nur HAYTA**, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “**POLİKAPROLAKTON - POLİETİLEN GLİKOL - KİTOSAN BAZLI MİKROKÜRECİK ÜRETİMİ VE KONTROLLÜ İLAÇ SALINIMINDA KULLANILMASI İÇİN ÖN ÇALIŞMA**” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. Yüksel AVCIBAŞI GÜVENİLİR**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Gülhayat NASÜN SAYGILI**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Ülker BEKER
Yıldız Teknik Üniversitesi

Teslim Tarihi : **16 Aralık 2013**
Savunma Tarihi : **03 Şubat 2014**

Aileme,

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tezim sırasında bilgi birikimi ve deneyimi ile beni yönlendirerek karşılaştığım sorunların üstesinden gelmeme yardımcı olan ve yapıcı tavrıyla çalışmalarımı kolaylaştıran hocam Sayın Prof. Dr. Yüksel AVCIBAŞI GÜVENİLİR' e ilgi, destek ve hoşgörüsünden dolayı teşekkür ederim. Yüksek lisans eğitimim boyunca kapısını her zaman öğrencilerine açık tutan, her konuda elinden gelen yardımı esirgemeyen hocam Sayın Prof. Dr. Dursun Ali ŞAŞMAZ' a tezim sırasında kullandığım bilgisayar programı konusundaki yardımlarından dolayı teşekkürü borç bilirim. FTIR analizindeki yardımlarından dolayı Sayın Yard. Doç. Dr. Didem OMAZ'a, partikül boyut analizi için yardımlarından dolayı Sayın Prof. Dr. Lütfi Öveçoğlu'na ve SEM görüntülemesinde yardımlarından dolayı Kimya Yüksek Mühendisi Sayın Ayşe KILIÇ' a teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim süresince yanımda olarak bana destek veren, ihtiyacım olan her anda yardımlarını esirgemeyen dostlarım Elif Betül DEMİRCİ, Ayşenur YORULMAZ, Vildan NOKTACI, Ebru ÇAYIR ve Gülsüm CİN' e bana verdikleri maddi ve manevi destek için teşekkür ederim.

Her koşulda yanımda olan en büyük destekçilerim, sevgili kardeşlerim Hayriye HAYTA ve Hüseyin HAYTA' ya çalışmalarımda gerekli motivasyonu sağlamam için gösterdikleri maddi ve manevi destekleri için teşekkür ederim.

Beni her zaman iyi, doğru ve güzele yönlendiren, en iyiye ulaşmam için bana yol gösteren ve destek olan, her durum ve koşulda destek ve yardımlarını benden esirgemeyen çok sevgili annem Nuray HAYTA ve babam Mahmut HAYTA' ya sahip olduğum ve olacağım her şey için minnet ve şükranlarımı sunarım.

Şubat 2014

Elif Nur HAYTA
(Biyomühendis)

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR	xi
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xv
ÖZET.....	vii
SUMMARY	xix
1. GİRİŞ	1
2. TEORİK BİLGİLER	5
2.1 İlaç Taşıma Sistemleri	5
2.1.1 İlaç taşıma sistemlerinde kullanılan biyopolimerler	7
2.1.1.1 Polikaprolakton	9
2.1.1.2 Polietilen glikol	10
2.1.1.3 Kitosan	12
2.1.2 Enkapsülasyon yöntemleri	15
2.1.2.1 Solvent evaporasyonu- çift emülsiyon tekniği.....	15
2.1.2.2 Su-yag (O/W) solvent ekstraksiyon/evaporsyonu.....	15
2.1.2.3 Faz ayrımı (Koaservasyon)	15
2.1.2.4 Püskürtmeli kurutma	16
2.2 İlaç Taşıma Sisteminde Kullanılan İlaç: Askorbik Asit.....	18
2.2.1 Kimyasal ve fiziksel özellikleri.....	19
2.2.2 Metabolik işlevi.....	21
2.3 Konuyla İlgili Literatür Çalışmaları	22
3.DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	25
3.1 Malzemeler.....	25
3.1.1 Polimerler.....	25
3.1.2 İlaç.....	25
3.1.3 Çözücü, tampon çözelti ve kimyasallar	25
3.2 Ekipmanlar	26
3.2.1 Püskürtmeli kurutucu	26
3.2.2 Partikül boyut analizi	28
3.2.3 Taramalı elektron mikroskobu(SEM)	28
3.2.4 Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektrometresi.....	29
3.2.5 Ultra viole(UV) – Görünür bölge spektrofotometre	29
3.2.6 Diğer ekipmanlar.....	29
3.3 DeneySEL Yöntemler	30
3.3.1 Mikrokürecik üretimi	30
3.3.2 İlaç yüklü partiküllerin üretimi	30
3.3.2.1 Doğrudan ilaç yükleme	31
3.3.2.2 Dolaylı ilaç yükleme	32
3.3.3 İlaç salınım denemeleri	32

4. SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME.....	35
4.1 Mikrokürecik Üretimi.....	35
4.2 İlaç Yüklü Partiküllerin Üretimi.....	43
4.2.1 Doğrudan ilaç yükleme	43
4.2.2 Dolaylı ilaç yükleme	45
4.3 Kontrollü İlaç Salınımı	53
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	57
KAYNAKLAR.....	61
ÖZGEÇMİŞ.....	67

KISALTMALAR

FTIR	: Fourier Transform Infrared
PCL	: Polycaprolactone
PEG	: Polietilen Glikol
PEO	: Polietilen Oksit
PGA	: Poliglikolik Asit
PKL	: Polikaprolakton
PLA	: Polilaktik Asit
POE	: Poliokso Etilen
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1	: Polikaprolaktonun fiziksel özellikleri.	10
Çizelge 2.2	: Kitosanın uygulama alanları.....	14
Çizelge 2.3	: Askorbik asidin kofaktör olduğu enzimler ve metabolik işlevleri.	21
Çizelge 3.1	: Püskürtmeli kurutucunun özellikleri	27
Çizelge 4.1	: Mikrokürecik üretim verimleri.....	35
Çizelge 4.2	: Partikül boyut analizi sonuçları.....	40
Çizelge 4.3	: İlaç yüklü partikül üretim verimleri.	44
Çizelge 4.4	: Asit çözeltisinde ölçülen ilaç miktarı.	44
Çizelge 4.5	: Suda ölçülen ilaç miktarı.....	44
Çizelge 4.6	: Yükleme süresine göre çözeltide kalan konsantrasyon miktarları.. ...	45
Çizelge 4.7	: Partikül miktarının etkisinin incelendiği deney sonuçları.....	48
Çizelge 4.8	: Sıcaklığın etkisinin incelendiği deney sonuçları.....	50
Çizelge 4.9	: Karışma hızının etkisinin incelendiği deney sonuçları.....	51
Çizelge 4.10	: Partikül boyutunun etkisinin incelendiği deney sonuçları	52
Çizelge 4.11	: Farklı ortamlarda salınan ilaç konsantrasyonları.	53
Çizelge 4.12	: Difüzyon üssü değerleri.....	55

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : İlaç taşıma sistemlerinde biyopolimer kullanılmasına ilişkin yayın sayısı.....	7
Şekil 2.2 : İlaç taşıma sistemlerinde kullanılan biyopolimerler.	9
Şekil 2.3 : Polikaprolakton zincirinin tekrar eden birimi.	9
Şekil 2.4 : Polietilen glikol zincirinin tekrar eden birimi.	11
Şekil 2.5 : Kitin ve kitosan polimerlerinin moleküler yapısı.	12
Şekil 2.6 : Püskürtmeli kurutma işlemi.	16
Şekil 2.7 : Askorbik asit yapısı.	19
Şekil 2.8 : Askorbik asit ve oksidasyon ürünleri.	20
Şekil 3.1 : Püskürtmeli kurutucunun şematik diyagramı ve parçaları.	27
Şekil 3.2 : Taramalı elektron mikroskobu.	28
Şekil 3.3 : Askorbik asit-2,6-dikloroindrofenol tepkimesi.	31
Şekil 3.4 : Dolaylı ilaç yükleme düzeneği.	32
Şekil 4.1 : Partiküllerin FTIR analizi.	36
Şekil 4.2 : 120 °C, 3 ml/dk' da elde edilen partiküllerin SEM görüntüleri.	37
Şekil 4.3 : 150 °C, 3 ml/dk' da elde edilen partiküllerin SEM görüntüleri.	38
Şekil 4.4 : 150 °C, 9 ml/dk' da elde edilen partiküllerin SEM görüntüleri.	38
Şekil 4.5 : 120 °C giriş sıcaklığında kurutulan partiküllerin boyut dağılımı.	40
Şekil 4.6 : 135 °C giriş sıcaklığında kurutulan partiküllerin boyut dağılımı.	41
Şekil 4.7 : 150 °C giriş sıcaklığında kurutulan partiküllerin boyut dağılımı.	41
Şekil 4.8 : Askorbik asit standart eğrisi.	43
Şekil 4.9 : % 5 Askorbik asit çözeltisinde konsantrasyonun zamanla değişimi.	46
Şekil 4.10 : Askorbik asit çözeltisinde konsantrasyonun zamanla değişimi.	46
Şekil 4.11 : % 15 Askorbik asit çözeltisinde konsantrasyonun zamanla değişimi.	47
Şekil 4.12 : %5 Askorbik asit çözeltisinde partikül miktarına karşı ilaç yükleme yüzdesi.	48
Şekil 4.13 : %10 Askorbik asit çözeltisinde partikül miktarına karşı ilaç yüklemeyüzdesi.	49
Şekil 4.14 : %15 Askorbik asit çözeltisinde partikül miktarına karşı ilaç yükleme yüzdesi.	49
Şekil 4.15 : Yüklenme miktarının sıcaklık ile değişimi.	50
Şekil 4.16 : pH 2.8 ortamda ilaç salınımı.	54
Şekil 4.17 : pH 7,4 ortamda ilaç salınımı.	54
Şekil 4.18 : pH 9,6 ortamında ilaç salınımı.	54

POLİKAPROLAKTON - POLİETİLEN GLİKOL - KİTOSAN BAZLI MİKROKÜRECİK ÜRETİMİ VE KONTROLLÜ İLAÇ SALINIMINDA KULLANILMASI İÇİN ÖN ÇALIŞMA

ÖZET

Biyopolimerler, üstün biyouyumlulukları ve biyobozunur özellikleri ile birçok alanda kullanılmaktadır. Kolay şekillenebilir olmaları ve uygun mekanik ve fiziksel özellikleri biyopolimerleri ilaç taşıma sistemleri için uygun aday haline getirmektedir. Bu çalışmada kullanılan Polikaprolakton (PKL), Polietilen glikol (PEG) ve kitosan ilaç taşıma sistemlerinde sıklıkla kullanılan polimerler arasındadır.

İlaç taşıma sistemi, bir terapötik maddenin vücuda alımını sağlayan ve ilacın vücutta salınım hızı, zamanı ve yerini kontrol ederek verimliliğini ve güvenliğini arttıran araç yada formülasyon olarak tanımlanır. İlaç taşıma sistemlerinin konvansiyonel ilaç alım yöntemlerine tercih edilmesinin sebebi daha düşük dozların tedavi için yeterli olması, böylece ilaç yan etkilerinin azaltılması, hassas ilaç etken maddelerin enkapsüle edilerek bozunmaya karşı korunması ve ilaç plazma konsantrasyonunun istenen süre boyunca kararlı halde kalmasıdır. Bu özellikleri bir tek polimerin sağlaması bazı durumlarda mümkün değildir. Bu nedenle birden fazla polimerin karıştırılması gerekir.

Bu çalışmanın amacı, ilaç taşıma sistemlerinde kullanılabilecek özellikte PKL-PEG-Kitosan bazlı mikrokürecik üreterek ilaç yükleme ve ilaç salınım özelliklerinin belirlenmesidir.

PEG yüksek biyouyumluluğu ve suda çözünürlüğü ile birçok ilaç taşıma sisteminde kullanılan bir polimerdir. PKL ise poröz yapısıyla çok miktarda ilaç yükleyebilir. Oldukça hidrofobik bir polimer olan PKL, suda çözünmediği için vücutta yavaş bozunur ve ilacın uzun süre mikroküreciklerde hapsolmasını sağlar. Kitosan aktif yüzeyi ile ilaç etken maddelerinin tutuklanmasını arttırmak amacıyla karışıma eklenmiştir.

İlk aşamada, PKL-PEG-Kitosan bazlı mikrokürecik elde etmek için polimer karışımı püskürtmeli kurutucu ile kurutulmuştur. Giriş sıcaklığı ve besleme debisinin üretilen mikroküreciklerin morfolojisi üzerine etkisi incelenmiştir. Bunun için farklı giriş sıcaklığı ve besleme debilerinde üretilen partiküller SEM görüntüleri ve partikül boyut analizi sonuçları ışığında değerlendirilmiştir. Üretilen mikroküreciklerin kimyasal yapısı FTIR analizi ile belirlenmiştir. En iyi mikrokürecik şekli kurutmanın 120 °C giriş sıcaklığı ve 3 ml/dk besleme debisi ile yapıldığı deneylerde elde edilmiştir.

Çalışmanın ikinci aşaması ilaç yüklü partiküllerin üretilmesidir. Bunun için iki farklı yöntem denenmiştir. Doğrudan ilaç yükleme yönteminde farklı konsantrasyonlarda askorbik asit çözeltileri ile polimer karışımları karıştırılarak kurutucuya beslenmiş ve böylece ilaç yüklü partiküller elde edilmiştir. Dolaylı yüklemede ise üretilmiş boş partiküller askorbik asit çözeltisine eklenerek ilaç yüklemesi sağlanmıştır. Her iki yöntemde de yüklenen ilaç miktarları UV analiz ile belirlenmiştir. En yüksek ilaç

yükleme miktarı, dolaylı yükleme yöntemi ile 25  C sıcaklık, 200 rpm karışma hızı ve partikül konsantrasyonunun 0,5 mg/ml olduğu koşullarda elde edilmiştir.

Çalışmanın son aşamasında ise yüklü partiküllerin kontrollü ilaç salınımı özellikleri belirlenmiştir. Kütlece %15' lik askorbik asit çözeltisiyle püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen yüklü partiküllerin üç farklı pH ortamında da iki saat sonunda ilaç salınımını tamamladıkları g r lm ştir. En yüksek ilaç salınım oranı %93 ile pH 2,8 ortamında elde edilmiştir. Üç ortamda da 2 saatten sonra ilaç miktarı azalmaya başlamıştır.

Bu çalışmayla elde edilen verilere dayanarak PKL-PEG-kitosan bazlı küreciklerin ilaç taşıma sistemlerinde kullanılmak için uygun olduğu söylenebilir. Ancak, sistemin iyileştirilmesi için  alışmalara devam edilmelidir.

PRODUCTION OF POLYCAPROLACTONE-POLYETHYLENE GLYCOL-CHITOSAN BASED MICROSPHERES AND THE PRE-STUDY OF UTILIZATION AT CONTROLLED DRUG RELEASE

SUMMARY

Biopolymers have been used at various areas due to their excellent biocompatibility and biodegradable properties. Enabling to be formed easily and having convenient mechanical and physical properties have made biopolymers appropriate candidates for drug delivery systems. Polycaprolactone (PCL), polyethylene glycol (PEG) and chitosan which are employed in this study are among the polymers frequently used at drug delivery systems.

Drug delivery system is described as a device or a formulation which provides the administration of a therapeutic agent into body and enhancing its efficiency and reliance by controlling the rate, time and place of release of drug in the body. At drug delivery systems, even low doses of drug are enough for the cure hence the side effects can be minimized, it is possible to protect sensitive active substances from degradation by encapsulation and to keep the plasma drug concentration at a steady level for a required time period. These are some of the reasons of preferring drug delivery systems to conventional drug administration methods. For some cases, it is impossible to provide these properties with only a polymer. Therefore, more than one polymers should be blended.

The aim of this study is producing PCL-PEG-chitosan based microspheres for drug delivery systems and determining drug loading and drug release properties.

PEG is a frequently employed polymer for drug delivery systems due to its biocompatibility and hydrophilicity. It is used to improve the solubility of poorly water soluble drugs.

PCL can load plenty of drug with its porous structure. As a very hydrophobic polymer, PCL slowly degrades in body and ensures encapsulation of drugs in microspheres for a long time.

Chitosan is deacylated form of chitin which is the second most abundant natural polymer. It has been added to the blend to enhance the encapsulation of activated substances due to its chemically active surface. Its antitumor, antimicrobial and immune- enhancing properties are among its advantages for employment as drug delivery devices.

At first step, PCL-PEG-chitosan microspheres have been prepared. For this purpose, three polymers have been blended at ratio of 1:1:1 and the ratio has been fixed throughout the study. Then, prepared polymer blend has been spray dried to produce PCL-PEG-chitosan based microspheres. The effects of inlet temperature and flow rate on the morphology of microspheres have been investigated. For this purpose, the inlet temperatures have been chosen as 120, 135 and 150 °C and feed flow rates have been 3, 6 and 9 ml/min according to capacity of the pump.

The particles produced at different inlet temperatures and flow rates have been morphologically evaluated by SEM images and particle size analysis results. The most appropriate particles which have the best microsphere shape and the smallest particle size, have been gained at experiments of inlet temperature of 120 °C and flow rate of 3 ml/min.

Chemical structure of microspheres has been determined by FTIR analysis. According to FTIR analysis result all of three polymers have been present in composition of the microspheres.

The second step of the study is producing drug loaded particles. In this case, two different methods have been used. In the method of direct drug loading, the mixture of ascorbic acid solutions at different concentrations (wt 5, 10, 15%) and polymer blend has fed into spray dryer and in this way drug loaded particles have been produced.

In the method of indirect drug loading, empty microspheres have been added to ascorbic acid solutions and loaded. Effects of loading time, particle concentration, particle size, agitation rate, temperature and concentration of ascorbic acid solution on drug loading have been investigated.

Dried empty particles have been loaded with ascorbic acid for four hours to determine the loading time. After 2 hours, any considerable change at loaded amount has not been observed. Hence, loading time has been settled on 2 hours.

The particle concentrations of 0.5, 1, 1.5 and 2 mg/ ml solution have been tested to specify the most convenient condition for drug loading. The most loading amount has been gained when the particle concentration was 0.5 mg/ml solution.

After the experiments which the effect of the ascorbic acid concentration was investigated, it has been clearly seen that loading amount of drug has increased with the increase of concentration of the solution. But according to water solubility of ascorbic acid, 15% (wt) is the maximum concentration level that has been tested.

Agitation rates of 150, 200 and 250 rpm have been tested. For the particles which have been loaded with 15% ascorbic acid solution, the most effective loading has been observed when agitation was 200 rpm.

Since ascorbic acid is very sensitive to heat, medium temperature higher than 25 °C has been resulted in drug degradation. Hence, it is decided to run drug loading experiments at 25 °C medium temperature.

In both methods, loaded quantity of ascorbic acid has been determined by UV analysis. The highest drug loading quantity have been reached by the indirect drug loading method when the particles obtained via spray drying at 120 °C inlet temperature and 3 ml/min feed flow rate have been loaded with the concentration of 0.5 mg/ml in 15% ascorbic acid solution at 25 °C and with 200 rpm agitation rate.

Drug loading and loading efficiency values for direct drug loading method are very low in comparison with indirect method. It has been thought that due to heat, light and air sensibility of ascorbic acid, during the spray drying process most of the drug might be degraded.

At the third and final step, drug release properties of loaded particles have been determined. Drug loaded particles with the concentration of 0.5 mg/ml have been

shaked at 50 rpm and 25 °C in pH 2.8, pH 7.4 and pH 9.6 buffer solutions for 8 hours.

The loaded particles which are produced by spray drying with 15% (wt) ascorbic acid solution have seemed to complete drug release at the end of two hours in three different pH medium. The highest cumulative drug release ratio has been 93% obtained at pH 2.8 medium.

With respect to drug release kinetic parameters, it might be said that drug release from PCL-PEG-chitosan microspheres has been as Fick diffusion.

In three mediums, drug content has started to decrease after two hours. It might be because of drug degradation due to light and air. Also, it has been observed that degradation was more than the others in alkali medium.

As conclusion, according to data obtained from this study, it can be said that PCL-PEG-chitosan based microspheres are convenient for employment at drug delivery systems. However, studies must be continued to improve the system.

For further studies, cross linker usage might enhance drug loading and loading efficiency. Also, drug loading and release properties could be arranged by changing polymer ratio.

Drug loading capacity of these microspheres should be proved by loading with other drugs. So that, employment of PCL-PEG-chitosan microspheres as drug delivery devices might be supported more strongly.

1. GİRİŞ

Polimer, monomer adı verilen küçük moleküllerin birbirlerine çok sayıda eklenmesiyle elde edilen uzun zincirli moleküller olarak tanımlanır. Biyopolimerler ise, çoğunlukla yenilenebilir doğal kaynaklardan elde edilen, biyolojik olarak bozunabilen ve toksik olmayan polimerlerdir. Biyopolimerler doğal kaynaklardan ekstrakte edilebildikleri gibi kimyasal yada biyoteknolojik monomer polimerizasyonu yoluyla da üretilirler. Mekanik ve fiziksel özelliklerinin yanı sıra biyouyumluluk ve biyobozunurluk gibi üstün özellikleriyle birçok biyoteknolojik uygulamada kullanılırlar.

Doku mühendisliği uygulamaları, tarımsal uygulamalar, ambalaj sektörü, medikal uygulamalar ve kontrollü ilaç salınım sistemleri biyopolimerlerin kullanım alanlarına örnektir. Biyopolimerlerin ilaç kapsülasyon, vücutta taşıma ve kontrollü salınımı ile ilgili sistemlerde kullanılmalarının sebepleri, ilacı taşıyıp bıraktıktan sonra kolaylıkla vücutta absorbe edilebilmeleri ve böylece vücuttan hızlı bir şekilde atılabilmeleridir [1]. Ayrıca, vücutta bozunmalarıyla ortaya çıkan bileşenlerin toksik etkisi yoktur. Bunun yanı sıra fazla dozda alımdan kaynaklanan ilaç yan etkileri azaltılırken, ilacı etkinlik bölgesine taşıyarak terapötik etkisinin artırılması oldukça önemli bir konudur [2-4]. Ayrıca, özellikle hassas ilaç etken maddelerin bozunmadan etkinlik bölgesine taşınabilmesi amacıyla enkapsülasyonu ilaç taşıma sistemlerinin avantajları arasında sayılabilir.

İlaç taşıma sistemi olarak kullanılabilmesi için herhangi bir polimerin belirli üstün yapısal özelliklerinin bulunması gerekmektedir [5-8]. İlk olarak kullanılacak olan polimer türlerinin biyobozunur ve biyouyumlu olmaları gerekmektedir. Bu tür polimerlere örnek olarak polikaprolakton (PKL), polietilen glikol (PEG), polilaktik asit (PLA), kitosan, kitin ve poliglikolik asit (PGA) gibi polimerler ve bunların karışımlarından yada kopolimerlerinden oluşan malzemeler yaygın olarak kullanılmaktadır. İkinci diğer en önemli özellik ise ilaç kapsül maddelerinin partikül boyutlarının kontrol edilebilir ve yoğunluklarının ayarlanabilir olmasıdır ki vücutta her organ ve doku için istenen özellikler değişebilmektedir [9].

Günümüz ilaç endüstrisinde ve son yıllarda yapılan çalışmalarda ilaç taşıma sistemlerinde PKL, PEG, kitosan ve kitin polimerlerinin sıklıkla kullanıldıkları görülmektedir. İlaç taşıma sistemlerinde ilaç aktif maddelerinin PKL' nin gözenekli yapısına kolaylıkla emdirilebilmesi, vücutta aktif maddeyi yüksek oranda geri salabilmesi, vücuttan tamamen boşaltımının sağlanabilmesi ve uzun biyobozunma süresi sayesinde ilacı stabil tutabilmesi gibi özellikleri kullanımını arttırmıştır [10]. PKL ile üretilen mikro ve nano boyuttaki küreciklerin hidrofobik yapısı ilaç aktif maddesinin suda çözülüp dağılmasını önlemektedir.

Kitosan ise doğada en sık bulunan ikinci polimer olan kitinin deasetillenmiş formudur ve yüzeyi oldukça aktif olduğundan birçok uygulamada kullanılmaktadır. Yüksek adsorbsiyon yeteneği, antibakteriyal, antifungal ve anti tümör özelliklerinin yanı sıra hidrofobik oluşuyla ilaç taşıma sistemleri için oldukça uygun bir biyopolimerdir.

PEG, suda çözünürlüğü yüksek bir polimerdir. İlaç taşıma sistemlerinde suda çözünürlüğü düşük ilaç etken maddelerinin çözünürlüğünü arttırmak için kullanılır. Oldukça yüksek biyoyumluluğa sahiptir.

Püskürtmeli kurutucular malzemeleri akışkan formdan kuru tanecikli forma dönüştüren ve bunu püskürttüğü akışkanı sıcak bir gaz ortamında kurutan yapılardır [11]. Püskürtmeli kurutucular kurutma işlemini çok hızlı yaptıklarından ve homojen partikül boyut dağılımına sahip malzemeler üretilmesine olanak tanıdığından dolayı birçok farklı alanda kullanılabilmektedir. Kurutulacak maddelerin sıcak havaya nispeten daha kısa süre maruz kalması ve akışkanlaştırılan havanın ısı transferi kapasitesinin artmasıyla daha düşük sıcaklıklarda kurutma sağlanabilmesi dolayısıyla, ısıya hassas gıdaların ve ilaçların üretilmesinde püskürtmeli kurutucular sıklıkla kullanılmaktadır. Özellikle de son yıllarda mikropartikül ilaç taşıma sistemlerinin geliştirilmesinde tercih edilen bir yöntem olmuştur [12,13]. Ayrıca püskürtmeli kurutucular ile suda çözünürlüğü düşük olan ilaç etken maddelerinin dahi kapsülasyonu yapılabilmektedir [14].

Bu çalışmanın amacı, PKL, PEG ve kitosan polimerlerinin mikrokürecik yapısında sentezlenmesi ve ilaç taşıma sistemi olarak kullanımının incelenmesidir. Bu sayede biyobozunma, biyoyumluluk ve kapsülün stabilitesi gibi problemlerin de tekli değil de üçlü polimer kompoziti ile aşılabilmesi beklenmektedir. Bu amaçla ilk aşamada

PKL:PEG:kitosan karışımı mikrokürecikler püskürtmeli kurutucu ile üretilmiştir. Püskürtmeli kurutma işleminde giriş sıcaklığı ve besleme debisi parametrelerinin partikül üretimi üzerine etkisi incelenmiştir. Sonraki aşamada, üretilen mikroküreciklere ilaç yüklemesi için uygun koşullar belirlenmiştir. Model ilaç olarak halk arasında C vitamini olarak da bilinen ve birçok fizyolojik etkinliğe sahip askorbik asit kullanılmıştır. Son olarak ilaç yüklü mikroküreciklerin vücuttaki üç pH ortamını temsil eden asidik, nötral ve alkali ortamlarda ilaç salınım özellikleri incelenmiş ve ilaç salınım kinetiği parametreleri belirlenmiştir.

Bu çalışma, üçlü polimer karışımı mikroküreciklerin sentezlenmesi ve ilaç taşıma sistemlerinde kullanılması için bir ön çalışma olup ileriki aşamalar için yol göstericidir.

2. TEORİK BİLGİLER

2.1 İlaç Taşıma Sistemleri

İlaç uygulama yöntemleri ile ilgili çalışmalara olan ilgi son yıllarda artmıştır. Geleneksel yöntemde ilaç bir seferde ve yüksek dozda verilir ve dozun birkaç saat yada gün sonra tekrar edilmesi gerekir. Bu yöntem ekonomik olmamakla birlikte zararlı yan etkileri de beraberinde getirir [15]. Bunun yanında hedeflenmiş bölgelerdeki yetersiz ilaç konsantrasyonu, hızlı metabolize olma ve ilaç bozunumu gibi sorunlar da görülebilir. Bu nedenle ilaçların daha uzun süre boyunca devamlı olarak ve kontrollü bir şekilde verildiği yöntemlere olan ilgi giderek artmıştır [16]. Suda çözünürlüğü az olan düşük molekül ağırlıklı moleküller ve biyoaktif kısımların oluşu, dokuya kısıtlı nüfuz, ilaç bozunumu yada kaybı, ilaçların seçici olmayan dağılımı, hastayla uyumlu olmaması, ağır toksisite ve ilaç direnci gibi nedenler etkili bir ilaç taşıma sistemini gerekli kılar [17].

İlaç taşıma sistemi, bir terapötik maddenin vücuda verilmesini sağlayan ve ilacın vücutta salınım hızını, zamanını ve yerini kontrol ederek verimliliğini ve güvenliğini arttıran araç yada formülasyon olarak tanımlanır. Bu süreç terapötik ürünün kullanımı, ürün tarafından aktif bileşenlerin salınımı ve aktif bileşenlerin biyolojik membranlardan etkinlik bölgesine yeterli taşınımını içerir[18]. İlaç taşıma sistemlerinin istenen etkiyi gösterecek miktarda ilaç taşıyabilmesi ve aktif bileşenleri etkinlik bölgesine ulaştırabilmesi gerekir. Uzatılmış salınımlı dozaj formları da dâhil, geleneksel dozaj formlarının bu gereksinimi karşılaması mümkün değildir [15]. Geleneksel tedavi yöntemleri ile ilgili yukarıda bahsi geçen sorunları ortadan kaldırmanın yanı sıra ilaçların terapötik etkinliğini en üst düzeye çıkarmak ve yan etkilerini en aza indirmek için ilaç taşıma sistemleri konusunda yoğun çalışmalar yapılmaktadır [17].

İlaç taşıma sisteminin etkinliği ilaç moleküllerinin bulunduğu yer ve zamanı kontrol edebilmesi ile belirlenir [17]. Bu nedenle, ilacın uygulanma yöntemi bir ilaç taşıma sisteminin tasarlanmasında oldukça önemlidir. İlaçlar insan vücuduna çeşitli

anatomik yollarla verilebilir. Sistemik etkileri yada çeşitli organ ve hastalıklara hedeflenmiş olmaları istenebilir. Hastalık, istenen etki ve ürünün uygunluğuna göre uygulama yöntemi seçilir. İlaç hastalıktan etkilenen organa doğrudan uygulanabilir yada sistemik olarak verildikten sonra hasta organa hedeflendirilebilir. Anatomik yollarla sistemik ilaç taşınımı için çeşitli yöntemler vardır. Bunlar temel olarak gastrointestinal sistem için oral ve rektal, parenteral olarak subkutan, intramuskular, intravenöz ve intra-arterial enjeksiyon, transmukozal olarak bukkal ve diğer gastrointestinal bölgeyle ilgili mukozadan, transnazal, pulmoner, transdermal ve intraosseöz şeklinde sınıflandırılabilir [18]. Birçok ilaç uygulama yöntemi arasında oral kullanım hasta ve klinisyenler tarafından en sık tercih edilen yöntemdir. Buna karşın makromoleküllerin taşınmasında en başarılı yöntem olduğu söylenemez. Peptidler ve proteinler gibi makromoleküllerin moleküler büyüklükleri dolayısıyla intestinal absorpsiyonu kısıtlıdır. Ayrıca, midenin asidik ortamı ve gastro-intestinal bölgenin enzimatik ve probiyotik ortamı stabilite kaygısı nedeniyle oral ilaç uygulamasını kısıtlar. Bu nedenle araştırmalar daha çok parenteral, mukozal, lokal ve inhalasyon taşıma sistemlerine yoğunlaşmıştır [19-21]. Bu yöntemlerin gastro-intestinal bölgedeki presistemik eliminasyonu ortadan kaldırması ve belirli ilaçların absorpsiyonu için daha iyi bir enzimatik flora sunması gibi avantajları olmakla birlikte, hastada iritasyonlara yol açması ve hasta ile uyumluluğunun düşük olması bu yöntemlerin lokal uygulamalarla sınırlı kalmasına sebep olmuştur [20].

Tüm yöntemlerin kendine özgü avantaj ve dezavantajları vardır ve her hastalık ve ilaç için durum bazında değerlendirme yapılır. Yöntemlerin dezavantajlarını bertaraf etmek için yeni formülasyonlar ve taşıyıcılar geliştirilmeye devam etmektedir. İlaçların biyouyumluluğunu arttırmak için oral ilaç taşıma sistemlerinde hızlı çözünen tabletler, gastrointestinal kalış süresini arttırıcı ve ilaç salınım mekanizmalarını iyileştirici teknolojiler geliştirilmiş ve absorpsiyonu arttırmak için adjuvanlar kullanılmaya başlanmıştır. Penetrasyon ve çözünme hızını arttırmak ve etkinlik bölgesine ulaşmadan ilacın bozunmasını engellemek, ilacın biyouyumluluğunu arttıran yeni yöntemlerdir. Ayrıca gen terapi ve hücre terapi gibi terapötik maddenin vücutta üretildiği sistemler de biyouyumluluğu artırır [18].

Ayrıca, ilaç taşıma sistemlerini geliştirmek için polimerik taşıyıcılar [17, 19], mikrokürecikler gibi parçacıklı taşıma sistemleri, lipozomlar gibi nanokürecikleri de

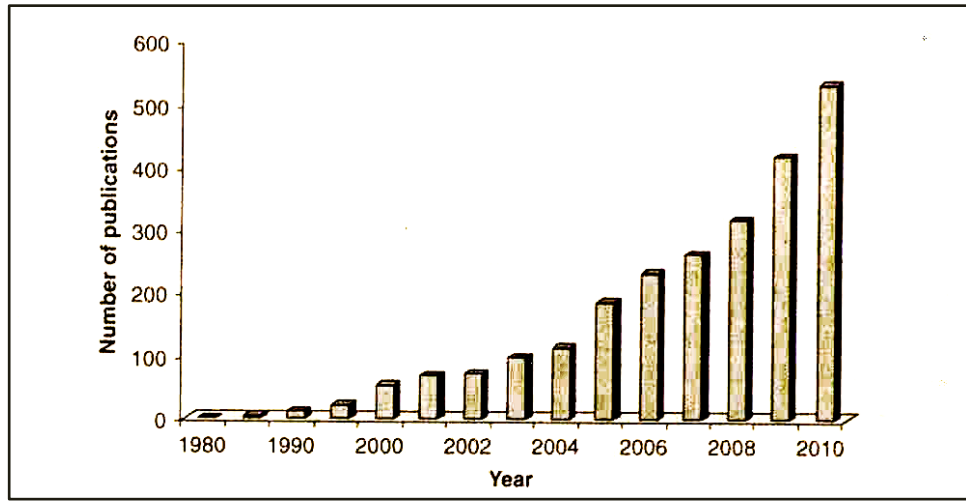
kapsayan nanobiyoteknoloji temelli yöntemler [16], camsı şeker matrisleri, kollajen, antikor-hedeflenmiş sistemler geliştirilmiştir [18].

Bunun yanında kontrollü olarak sürekli ilaç salınımı için biyobozunur implantlar kullanılmaktadır. Jel ve mikrokürecik formundaki implantlar enjekte edilirken iskeleler, köpük ve film formundaki implantlar cerrahi yöntemle yerleştirilir [18].

Bu taşıyıcılardan bazıları hali hazırda klinik arenaya taşınmışken (polimerik parçacıklar gibi), bazıları hala preklinik gelişmede (lipozomlar gibi) yada klinik araştırma safhalarının başlangıcındadır (dendrimerler ve kuantum dotlar) [16].

2.1.1 İlaç taşıma sistemlerinde kullanılan biyopolimerler

İlaç taşıma sistemlerinde biyopolimerlerin kullanılması ilk olarak 80' lerin başında bildirilmiştir fakat ancak 21.yy' da bu konudaki araştırmalar artış göstermiştir. Şekil 2.1' de son 30 yıl içinde (1980-2010) ilaç taşıma sistemlerinde biyopolimerlerin kullanılmasına ilişkin bilimsel yayın sayısı verilmiştir [22].



Şekil 2.1: İlaç taşıma sistemlerinde biyopolimer kullanılması ile ilgili yayın sayısı.

İlaç taşıma sistemlerinde kullanılacak polimerlerin toksik, kanserojen, alerjik olmaması, yüksek saflıkta ve tekrar üretilebilir olması, iyi salınım profili göstermesi, in vivo bozunumunun iyi tanımlanmış olması ve bozunmasıyla ortaya çıkan bileşiklerin vücutta halihazırda bulunuyor olması istenir [19].

Üretilen biyopolimerlerin hidrasyon hızı ve partikül büyüklüğü önemli parametreler arasındadır. Hidrasyon süresi, bir polimerin bir çözücünde en yüksek viskoziteye ulaşması için gerekli zamandır. Kontrollü ilaç salınımı için, hidrasyon süresi düşük polimerler tercih edilir çünkü hızlı jel oluşumu ilacın salınmasını kısıtlar ve böylece

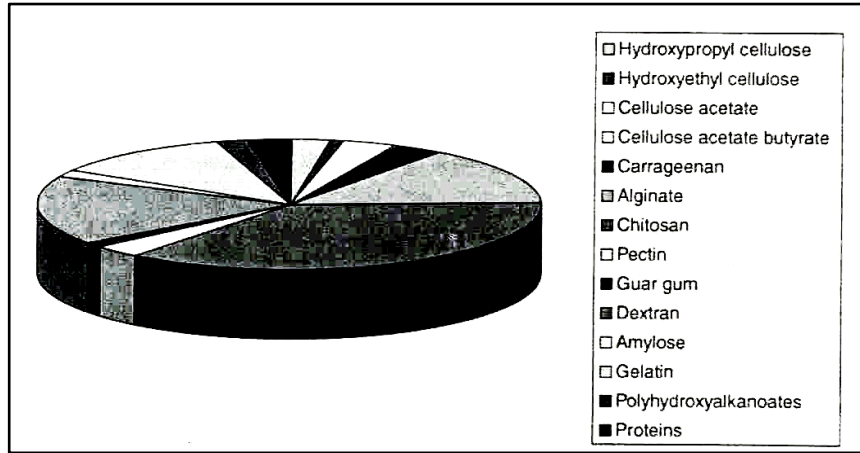
salınım periyodu uzar. Partiküler sistemlerde ise partikül boyutu önemli parametreler arasındadır. Ortalama partikül boyutu ve partikül boyut dağılımı (polidispersite) ilaç salınım kinetiğini etkiler [22].

İlaç taşıma sistemleri araştırma ve geliştirme çalışmalarında en önemli konulardan biri kontrollü ilaç salınım matrislerinin geliştirilmesidir. Kontrollü ilaç salınım matrisleri, bir terapötik ajanın vücudun belli bir bölgesinde ve/veya belirli bir süre içinde zamanla salınmasını sağlayan araçlardır. Çok çeşitli mekanik, fiziksel ve kimyasal özellikleriyle polimerler bu tür uygulamalar için oldukça uygundur [22]. Polimerik taşıma sistemlerinin konvansiyonel sistemlere karşı avantajları vardır. Bunlar:

- Daha yüksek biyouyumluluk,
- Kararlı plazma konsantrasyonu,
- Özgün vücut bölgelerine yada hücre türlerine bölgesel taşımayı mümkün kılarak yüksek dozda alım ihtiyacının ortadan kaldırılması ve yan etkilerin büyük oranda azaltılması,
- Terapötik etkinin artması,
- Kolay bozunan ilaçların korunabilmesi,
- Terapötik amaca göre bozunma süresinin birkaç günden birkaç yıla kadar ayarlanabilir olması,
- Toksik olmayan asit yada alkollere dönüşerek etkinlik bölgesinden taşınmasına gerek duyulmamasıdır [19].

İlaç taşıma sistemlerinde biyomateryal olarak kullanılan biyobozunur polimerler doğal yada sentetik olabilir. Sentetik polimerler bireysel ihtiyaçlara göre uyarlanabilmesi ile daha fazla esneklik sağlarken doğal polimerler hâlihazırda uygun, ucuz ve kimyasal olarak modifiye edilebilirdir [19]. İlaç taşıma sistemlerinde en yaygın kullanılan biyopolimerler Şekil 2.2’ de gösterilmiştir. Yayınların %36’ lık bir kısmı kitosan ile yapılan çalışmalardır. Bunu dekstran (%17), aljinat (%14) ve jelatin (%12) izlemektedir. Selüloz türevleri, karragenan, pektin, amiloz, nişasta ve polihidroksialkonatlar sıklıkla kullanılan biyopolimerler arasındadır [22].

Bu çalışmada polikaprolakton (PKL), polietilen glikol (PEG) ve kitosan polimerleri kullanıldığı için bu polimerler aşağıda ayrıntılı olarak incelenmiştir.

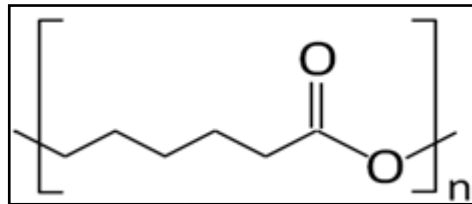


Şekil 2.2: İlaç taşıma sistemlerinde kullanılan biyopolimerler.

2.1.1.1 Polikaprolakton

PKL 1930'ların başında Carothers Group tarafından sentezlenen sentetik bir polimerdir fakat mikroorganizmalar tarafından bozunduğu için biyopolimer olarak değerlendirilir. Yüksek biyouyumluluğa sahip olması ve biyobozunur olması medikal uygulamalarda kullanılmasına olanak sağlar. Diğer polimerlerle birlikte kopolimer yapılar oluşturabilir. Biyobozunurluğu çeşitli malzeme ve kopolimer yapılarıyla değiştirilebilir. Bunun yanında kolay şekil alabilmesi ve farklı gözenek boyutlarında olabilmesi gibi çeşitliliği arttırıcı özelliklere sahip olması avantajları arasındadır [23].

PKL, ϵ -kaprolakton halkalı monomerlerinin halka açma polimerizasyonu ile sentezlenir. Molekül formülü $C_{6n}H_{10n}O_{2n}$ dir. Tekrar eden monomer yapısı Şekil 2.3'te gösterilmektedir. Hidrofobik, yarı kristalin yapıda bir homopolimerdir. Camısı geçiş sıcaklığı (T_g) $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$, erime noktası $59\text{ }^{\circ}\text{C}$ ile $64\text{ }^{\circ}\text{C}$ arasındadır. Kristal yapısı ve düşük erime sıcaklığı kolay şekil alabilmesine imkân sağlar. Molekül ağırlığı 3000 g/mol ile 100000 g/mol arasında değişmektedir. Molekül ağırlığı ile kristal yapı arasında ters orantı vardır. Polikaprolaktonun fiziksel özellikleri Çizelge 2.1' de özetlenmiştir[24].



Şekil 2.3: Polikaprolakton zincirinin tekrar eden birimi.

Oda sıcaklığında kloroform, diklorometan, karbon tetraklorür, benzen, toluen, sikloheksan ve 2-nitropropan gibi çözücülerde yüksek çözünürlüğe sahip iken aseton, 2-butanon, etil asetat, dimetilformamid ve asetonitril gibi çözücülerde düşük çözünürlüğe sahiptir. Alkol, petrol eteri ve dietil eter gibi çözücülerde ise çözünmemektedir [23].

Çizelge 2.1: Polikaprolaktonun fiziksel özellikleri.

Yoğunluk (60 °C)	1.1 g/cm ³
Viskozite (100 °C)	1500000 mPa.s
Erime noktası	59 °C -64 °C
Parlama noktası	275 °C
Parçalanma sıcaklığı	200 °C

PKL' nin önemli özelliklerinden biri de birçok farklı polimerle birlikte kullanılabilmesidir. Polimer özellikleri farklı polimerlerin bir arada kullanılmasıyla çeşitlenir. Böylece pek çok medikal uygulamada kullanılabilir [25-28].

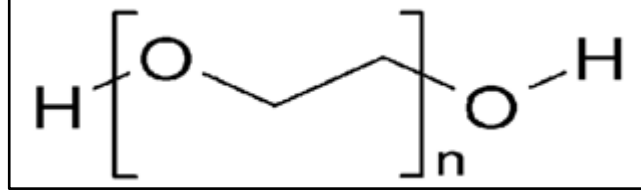
PKL, enzimatik ve mikrobiyal olarak bozunabilen bir polimerdir. Biyobozunumunun uzun ve yavaş bir süreçte gerçekleşmesi ve tek başına yada diğer polimerlerle birlikte kullanılması birçok alanda kullanılmasına olanak sağlar. Ayrıca yüksek biyouyumluluğa sahip olması biyolojik amaçlı kullanım alanlarının genişlemesine sebep olmuştur [23].

İlaç taşıma sistemlerinde, ilaç aktif maddelerinin PKL' nin gözenekli yapısına kolaylıkla emdirilebilmesi, vücutta aktif maddeyi yüksek oranda geri salabilmesi, vücuttan tamamen atılabilmesi ve uzun biyobozunma süresi gibi özellikleri ile kullanımı yaygındır. FDA' dan ilaç kullanımında onay almış belli sayıdaki polimerlerdendir. PKL ile üretilen mikro ve nano küreciklerin hidrofobik yapısı ilaç aktif maddesinin suda çözünüp dağılmasını önlemektedir. Ayrıca hedefe yönlendirilmiş nanoküreciklerin üretimi de mümkündür. Bu sayede akıllı ilaç üretimi için kullanılan polimerlerden biri olmuştur [29].

2.1.1.2 Polietilen Glikol

Polietilen glikol (PEG) etilen oksit monomerlerinden oluşan ve birçok alanda kullanılan bir poliyetidir [14]. Molekül yapısı Şekil 2.4' te gösterilmektedir. Molekül ağırlığı 200 ile 300000 g/mol arasında değişmektedir. Polimer, molekül ağırlığına

göre adlandırılmaktadır. Molekül ağırlığı 20000 g/mol' ün altında olan etilen oksit polimer yada oligomerleri polietilen glikol olarak, molekül ağırlığı 20000 g/mol' den yüksek olanlar ise polietilen oksit (PEO) yada polioksietilen (POE) olarak adlandırılmaktadır [30]. Biyouyumluluğu oldukça yüksek olan bu polimer birçok medikal uygulamada kullanılmaktadır.



Şekil 2.4: Polietilen glikol zincirinin tekrar eden birimi.

PEG, etilen oksit monomerlerinden oluşan, oldukça hidrofilik ve yarı kristalin yapıda bir polimerdir. Fiziksel özellikleri molekül ağırlığına göre değişmektedir. Polimerin moleküler ağırlığı arttıkça viskozitesi de artmaktadır. Oda sıcaklığında, 600 g/mol' e kadar olan molekül ağırlığı için polimerler viskoz sıvıdır, 800-1500 g/mol arasında olanlar vazelin benzeri olarak tanımlanır, 2000 g/mol' den 6000 g/mol' e kadar olanlar ise mumsudur. Molekül ağırlığı 20000 g/mol' den yüksek olan PEG polimerler oda sıcaklığında kırılkan kristal halindedir [14, 31].

PEG moleküllerinin suda çözünürlüğü oldukça iyidir ancak molekül ağırlığı arttıkça suda çözünürlüğü azalır. Polietilen glikolün organik çözücülerde çözünürlüğünün yüksek olması katı dispersiyonların hazırlanmasında büyük avantaj sağlar [31].

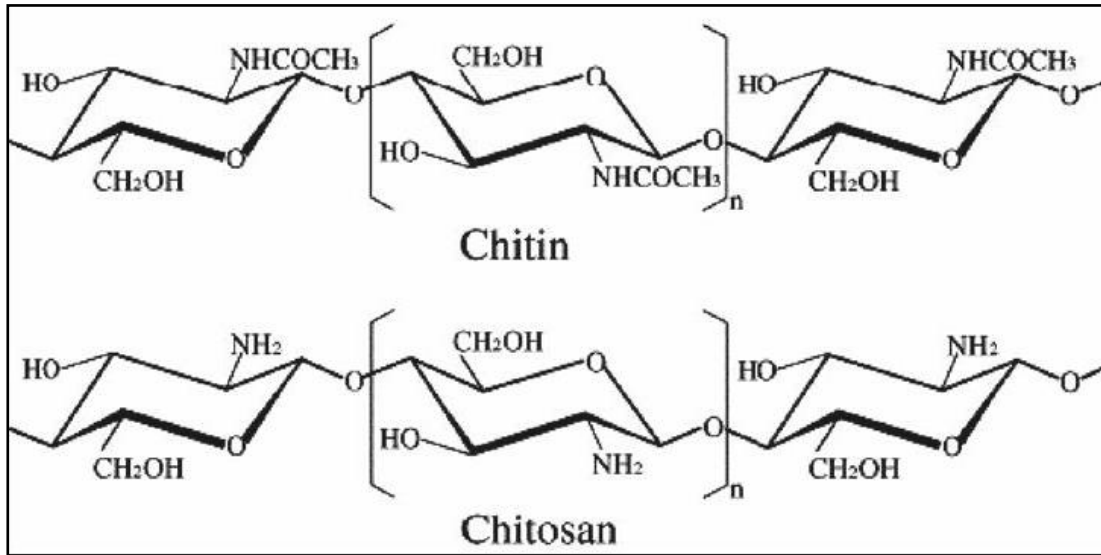
Molekül ağırlığı ne olursa olsun Polietilen glikolün erime noktası 65 °C'nin altındadır. PEG 1000 için erime noktası 30-40 °C, PEG 4000 için 50-58 °C ve PEG 20000 için 60-63 °C' dir. Düşük erime noktası eritme yöntemi ile katı dispersiyonların hazırlanmasında avantaj sağlar [31]. Yarı kristalin katı PEG, camı geçiş sıcaklığı düşük amorf yapıda bir polimerdir [14].

Taylor ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda ise su tutma yeteneğinin ilaç stabilitesine etkileyen en önemli faktör olduğunu belirtmişlerdir. Nemin kompozit tarafından tutulması, polimerik yapı içerisinde faz ayrımlarının oluşmasına ve böylece ilaç etken maddesinin havayla ve suyla temas ederek işlevsiz hale gelmesine ve ilaçtan erkenden salınmasına sebep olur [32]. PEG için, su tutma yeteneği molekül ağırlığı ile ters orantılıdır [14]. Katı dispersiyonların hazırlanmasında en çok kullanılanlar molekül ağırlığı 4000 ile 6000 arasında olan PEG' lerdir. Bu molekül

ağırlığında suda çözünürlüğü oldukça yüksek olmakla birlikte su tutma yeteneği sorun olmaz ve erime noktası 50 °C' nin üzerindedir [31].

2.1.1.3 Kitosan

Kitin, yengeç, karides, istakoz ve böcekler gibi eklembacaklıların kabuklarının temel bileşimidir ve ayrıca funguslar ve kahverengi algler tarafından ekstraselüler olarak üretilir [33]. Selülozdan sonra doğada en çok bulunan ikinci organik bileşik olan kitinin deasetilenmiş formu olan kitosan doğal bir karbonhidrat yapıda polimerdir. Kuvvetli baz uygulaması ile kitinin asetil grupları uzaklaştırılarak kitosan (2- amino-2- deoksi- β - D- glukoz) elde edilir. Şekil 2.5' te kitin ve kitosanın moleküler yapısı gösterilmiştir. Kitin ve kitosan arasında N-deasetilasyon derecesine göre keskin bir adlandırma ayrımı yoktur. Genelde %70' in üzerinde deasetilasyon derecesine sahip kitin, kitosan olarak adlandırılır [34].



Şekil 2.5: Kitin ve kitosan polimerlerinin moleküler yapısı.

Kitosan, suda çözünmez iken pH'ı 6' dan düşük asidik çözeltilerde çözünür. Asetik asit, formik asit ve laktik asit gibi organik asitler kitosanı çözdürmek için kullanılır. Kitosanın inorganik asit çözeltilerinde çözünürlüğü oldukça sınırlıdır. pH 7' den yüksek olduğunda, presipitasyon ve jelleşmeye bağlı olarak kitosan çözeltilerinin stabilitesi düşer [34].

Kitosan, pozitif iyon yüklerine sahiptir ve böylece negatif yüklenmiş yağlar, lipidler, kolesterol, metal iyonları, proteinler ve makromoleküllere kimyasal olarak bağlanabilir. Bu açıdan, kitin ve kitosan biyouyumluluk, biyobozunurluk,

adsorbsiyon, film oluşturabilme ve metal iyonlarını şelatlama gibi üstün özellikleriyle ticari olarak oldukça ilgi görmektedir [34].

Toksik olmayan ve yüksek molekül ağırlıklı biyobozunur kitosan polimerleri birçok biyomedikal alanında sıklıkla kullanılmaktadır. Doku mühendisliğı uygulamalarında iskele olarak kullanıldığı birçok çalışma mevcuttur. Kemik rejenerasyonunda kitosan ve türevleri temelli birçok enjekte edilebilen malzeme kullanılmaktadır. Ayrıca, kıkırdak doku mühendisliğı için sentetik hücre iskelelerine iyi bir alternatif olabilir. Gen terapi uygulamalarında vektör olarak kullanılması mümkündür. Bunun yanında enzim immobilizasyonu için kullanılır [34].

Yapılan klinik ve hayvan çalışmalarında kitosan diyeti uygulamasının plazma kolesterol miktarını etkili şekilde düşürdüğü görülmüştür. Bağırsakta jelleşen kitosan, diyetle alınan kolesterol ve lipidlerin emilimini azaltır. Aynı sebeple, yağda çözünen vitaminlerin (A, D, E, K) emiliminin azaldığı görülmüştür. Kitosanın bağırsak sistemi üzerindeki tek etkisi jel oluşumu değıldir. Antimikrobiyal özellik gösteren kitosan, bağırsak florasının değışmesine ve böylece birincil safra asitlerinden olan kolik asit ve kemodeksoikolik asidin fekal boşaltımında artışa neden olur. Safra asidi bileşimindeki değışim yağ emulsifikasyonu, sindirilebilirliğı ve absorpsiyonunun engellenmesine katkıda bulunabilir [33].

Kitosan granülasyonu, doku oluşumunu ve reepitelizasyonu stimule ederek yara iyileşmesini hızlandırabilir. Düşük moleküler büyüklüğe sahip kitosanın in vitro vasküler düz kas hücreleri üzerinde yassı-türetilmiş büyüme faktörünün mitojenik aktivitesini arttırdığı düşünölmektedir. Kitosan ne mitojen ne de sitokindir; ancak, çeşitli büyüme faktörlerinin hücre çoğaltıcı aktivitesini arttırabilirler [33].

Kitosanın immün sistem üzerinde etkili olduğı belirtilmiştir. Adjuvan etkisiyle antikor üretimini arttırdığı ve sitokin üretimini başlattığı görülmüştür. Yine immün sistem üzerindeki etkisine bağılı olduğı düşünölen bir diğeri etkisi de antitümör etkinliğıdir. İntravenöz uygulama ile farelerde 7 gün içinde tümör büyümesinde yaklaşık %80-95 inhibisyon görülmüştür [33].

Kitosanın uygulama alanları Çizelge 2.2' de özetlenmiştir [34].

Kitosan bu çalışmalarda tek başına kullanılabileceğı gibi diğeri polimerlerle kompozitlenerek de kullanılabilir. Kitosan-PKL kopolimerlerinin farklı yöntemlerle üretimine dair örnekler mevcuttur [35, 36].

Çizelge 2.2: Kitosanın uygulama alanları.

Gıda ve Beslenme
• Gıda saklanması, su saflaştırılması • Biyoteknoloji (immobilizasyon matrisi) • Diyet desteği, işlevsel gıdalar • Hipokolesterolemik • Antioksidan • Prebiyotik
Malzeme Bilimi
• Hidrokolloid • Elektrokimya (Biyosensörler) • Kozmetikler (nemlendirici, cilt bakım ürünleri) • Ambalaj filmleri/ kompozit kaplama formülasyonları • Tekstil son işlemleri (Boya bağlama) • Polimereik membranlar
Medikal (İlaçlar ve farmasötikler)
• Hemostasis • Kontrollü ilaç salınımı • Ağız bakımı, periodontal kullanım • Antitümör, antiülser • Antikoagülant • Yara iyileştirici, yara örtüsü • Ameliyat ipliği, kontakt lensler
Mikrobiyolojik
• Antibakteriyal • Antifungal
İmmunolojik
• Biyolojik yanıt düzenleyici • Gene terapötikleri • Polimerik iskeleler (hücre kültürü için) • İmmüno artırıcı
Diğer
• Ziraat (toprak zenginleştirme) • Bozunma ürünleri (düşük molekül ağırlıklı kitosan, kitooligomerler, monomerler) • Hayvan yemi • Flokülasyon ajanı • Ters osmos membranları • Polimerik nanopartiküller • Sentetik polimer karışımları

2.1.2 Enkapsülasyon yöntemleri

Kontrollü ilaç salınımı için mevcut teknoloji ağırlıklı olarak ilacın enkapsüle edildiği, dağıtıldığı, adsorblandığı yada yüzeye kimyasal olarak bağlandığı polimerlerin mikron yada submikron matrislerinin kullanımına dayanır [16].

Çoklu emülsiyon, faz ayrımı yada püskürtmeli kurutucu gibi teknikler kullanılarak ilaçlar enkapsüle edilebilir.

2.1.2.1 Solvent evaporasyonu- çift emülsiyon tekniği

Bu yöntemde çeşitli moleküler ağırlıktaki polimerler metilen klorid veya diklorometan gibi organik solventlerde çözündürülür. Ardından aktif bileşen ile birlikte diğer ilaç katkı maddelerini de içeren sulu faz, yağ/su emülsiyonu oluşturmak üzere polimerik çözeltiye eklenir. Emulsifikasyon homojenizatör yada sonikatörler ile sağlanır [19].

Polivinil alkol (PVA) gibi bir stabilizatör içeren sulu faz ile birincil emülsiyonun homojenizasyonu ile su/yağ/su emülsiyonu oluşturulur. Özgün koruyucular biyoaktif maddeleri korumak için eklenebilir. Çift emülsiyon, fazla organik solventi uzaklaştırmak için yeterli bir süre karıştırılır. Daha sonra partiküller ayrılır ve organik solvent kalıntılarını uzaklaştırmak için su ile yıkanır [19].

2.1.2.2 Su-yağsolvent ekstraksiyon/evaporsyonu

Bu teknikte, emülgatör (örneğin diklorometan içinde çözündürülmüş Span 60) organik solüsyonu biyoaktif molekül içeren sulu çözelti ile emülsifiye edilir. Farklı konsantrasyonlarda polimer çözeltileri bu birincil emülsiyona yüksek hızda karıştırılarak eklenir. Oluşan yağ/su emülsiyonu, genellikle PVA yada jelatin gibi koalesans ve koagülasyonu önleyen emülsiyon stabilizatörlerini içeren metanol gibi sürekli faz ile karıştırılır. Son yağ/su/yağ emülsiyonu solventin buharlaşması ve polimerlerin presipite olması için 3-5 saat karıştırılır. Daha sonra partiküller ayrılır ve uygun yöntemle saflaştırılır [19].

2.1.2.3 Faz ayrımı (Koaservasyon)

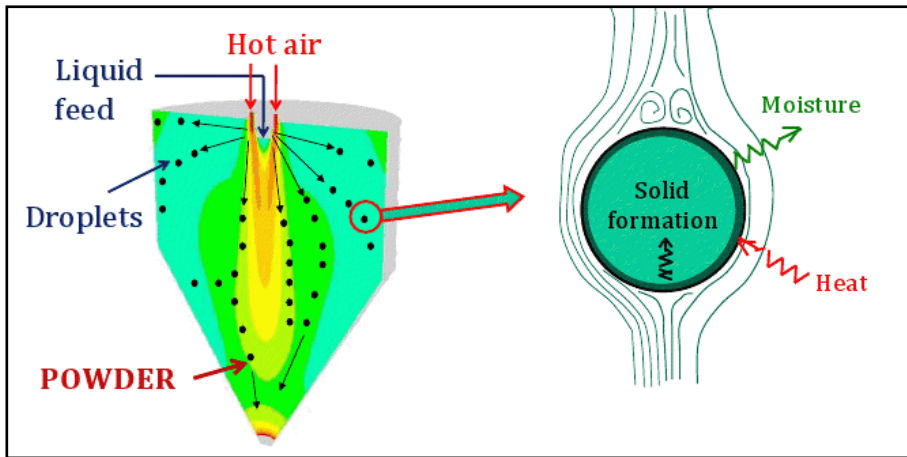
Bu teknik, polimerin çözünmeyen ilacın askıda kaldığı bir çözeltide çözündürülmesi ve bir tuz eklenmesi yada pH/sıcaklık değiştirilmesi gibi etkilerle polimerin

presipitasyonu ve böylece mikroküreciklerin oluşumunu içerir. Bu yöntem sıvı ve yağların enkapsülasyonunu için uygundur, sıklıkla kullanılır [19].

2.1.2.4 Püskürtmeli kurutma

Püskürtmeli kurutma katı içeren sıvı beslemeyi katı partiküllere çeviren bir temel işlemdir. Özellikle biyomalzemenin ağır hazırlama prosedürleri ile bozunabileceği koşullarda, püskürtmeli kurutma konvansiyonel yöntemlere iyi bir alternatiftir. Endüstriyel çaplı üretim için ölçek büyütme işlemlerinde doğrusal bir prosedür izlenir. Birçok farmasötik üretim biriminde püskürtmeli kurutucu cihazları kullanılır [19].

Püskürtmeli kurutucu, sıvının buharlaştırılması için gerekli ısıyı sağlamak üzere büyük miktarda sıcak gaz debisi ile kurutulmak istenen çözeltinin küçük damlacıklar halinde beslendiği dik, büyük bir silindir şeklindeki kurutma odasından oluşmaktadır. Sıvı besleme kurutma odasına bir atomizer yardımıyla üstten püskürterek sıcak hava ile temas etmesi sağlanır. Damlacıktaki nem buharlaşır ve beslemedeki orijinal katı küresel partiküller halinde elde edilir. Isı ve kütle transferi, dağılan damlacıklar ile sıcak gaz arasında doğrudan temasın sağlanması ile gerçekleşir. Kurutma tamamlandıktan sonra, soğuyan gaz ile katı partiküller birbirinden ayrılır. Şekil 2.6’ da püskürtmeli kurutma prosesi şematize edilmiştir [37].



Şekil 2.6: Püskürtmeli kurutma işlemi.

Püskürtmeli kurutucuların çalışması, su içeren çözelti ve karışımlara uygulanan basit kurutma prensibine dayanır. Püskürtmeli kurutucunun avantajlı yönü sadece kurumanın çok hızlı olması değil aynı zamanda düzgün küreciklerden oluşan bir ürün elde edilmesine imkân sağlamasıdır. Püskürtmeli kurutucuların diğer bir avantajı ise,

sıcak gazları kurutma için kullanabilmeleri ve maddeyi, gazların yaş termometre sıcaklığının pek fazla üstüne ısıtamamalarıdır. Bu durum, gıda ürünlerinin bir zarara uğramadan kurutulmalarına olanak sağlar. Bunun nedeni kurumanın düşük sıcaklıkta meydana gelmesi ve ürünün kurutucu içinde çok kısa bir süre kalmasıdır. Genellikle mekanik olarak kurutulamayan, ısıya hassas veya yüksek sıcaklıkta kohesif özellik gösteren maddelere uygulanır [37].

Operasyon değişkenlerinin püskürtmeli kurutucudan elde edilen ürünün özelliklerine etkisi

Atomizerde kullanılan enerji, atomizer türü, besleme akımının hızı, sıcaklığı ve viskozitesi gibi fiziksel özellikleri, hava akımının hızı ve kurutma sırasındaki giriş ve çıkış sıcaklıkları ürün özelliklerini etkileyen parametrelerdir.

Atomizasyonda kullanılan enerji

Atomizasyonda enerji kullanımının artışıyla, sabit besleme hızında daha küçük damlacıklar oluşturulur.

Kullanılan atomizerin hızındaki artışla birlikte sprey damlacıklarının boyutu azalır. Püskürtme sırasında damlacık boyutunun yayılımında kayda değer bir değişim olmayacaktır. Büyük miktarda ince tanecikler üretmek, sık sık yüksek bulk yoğunluğunda ürün oluşturur [38].

Besleme akımı özellikleri

Besleme sıcaklığında azalma ya da beslemedeki katı miktarının artışı doğrultusunda besleme akımında viskozite artışı, atomizasyonda daha iri taneciklere yol açacaktır. Besleme akımında katının artışı, genelde tanecik ve bulk yoğunluğunu arttıracak şekilde, evaporasyon kinetiğini etkiler.

Atomizasyon süresince ve başlangıç kurutma fazında, beslemede non-newtonian davranış son tanecik özelliklerini etkilemektedir [38].

Besleme hızı

Atomizasyon sırasında besleme hızının artışıyla daha iri püskürtme ve daha iri kuru ürün elde edilir [38].

Atomizer ekipmanının seçimi

Rotary atomizerler ve lüleler farklı püskürtme karakteristiği gösterirler. Atomizer seçimi ürün özelliklerini referans alarak yapılır. Rotary atomizerler ince-orta irilikte taneciklerin üretimini sağlarken, basınçlı lülelerde iri tanecikler üretilir [38].

Hava akımı

Hava akımı hızı, ürünün kurutma haznesinde kalma süresini etkiler. Taneciklerin kurutucuda kalma süresinin artması, tanecik üzerinden daha fazla nemin uzaklaşmasına yol açar.

Hava akışının hızının azaltılması ürünün kurutma haznesinden geri kazanımını kolaylaştırır. Hava akışı elde edilen ürün ve bu ürünün kurutma özellikleriyle ilgilidir [38].

Kurutma sıcaklıkları

- **Giriş sıcaklığı**

Giriş sıcaklığındaki artış, sabit hızdaki kurutma havasının buharlaştırma kapasitesini arttırır. Daha yüksek giriş sıcaklıkları, kurutma işleminden daha yüksek termal verim elde etmemizi sağlar. Sıcaklık artışı genellikle, bulk yoğunluğunda azalmaya neden olur ve ürün daha porlu ya da parçalanmış yapıya kurutulmuş olur [38].

- **Çıkış sıcaklığı**

Sabit nem içeriği ve kurutucu tasarımı için çıkış sıcaklığı geniş bir yelpazede seçilmelidir. Böylece akış ve ürün paketleme gerekliliklerini sağlanmış olacaktır.

Sabit hava akışı ve sabit giriş sıcaklığı durumunda çıkış sıcaklığındaki artış nem içeriğini azaltır.

Yüksek miktarda nem içeriğine sahip taneciklerin üretimi için düşük çıkış sıcaklıklarının kullanıldığı sistemler aglomere (yığın halinde) taneciklerin üretilmesini gerektiren sistemlerdir [38].

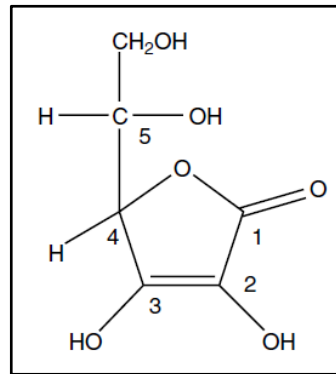
2.2İlaç Taşıma Sisteminde Kullanılan İlaç: Askorbik Asit

İskorbüt hastalığı, 17. ve 18. yüzyıllar boyunca birçok bölgede endemik olmuştur. Meyve ve sebzece fakir askeri diyetler, milyonlarca askerin iskorbüt hastalığı nedeniyle ölümü ile sonuçlanmıştır [39].

İlk olarak 1747 yılında James Lind isimli bir İngiliz deniz kuvvetleri hekimi turunçgillerin iskorbüt hastası İngiliz denizcilerin tedavisindeki etkisini belgelemiştir. 1907 yılında Holst ve Frohlich tarafından Gine domuzunun da iskorbüt hastası olabileceğini bildirinceye dek önemli bir gelişme kaydedilememiştir [39, 40]. Daha sonra primatların da iskorbüt hastası olabileceği kanıtlanmıştır [39]. 1917 yılında Gine domuzu ile yapılan bir çalışmada yiyeceklerin antiskorbütik etkinliği araştırılmıştır [40]. Zilva ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ham limon parçasından antiskorbütik aktivite izole etmişler, aktivitenin oksidasyon ile bozulduğunu ve redükleyici ajanlar ile korunduğunu göstermişlerdir. Daha önce bulunan sağlık ve büyüme faktörleri “A ve B faktörü/vitamini” şeklinde adlandırıldığı için yeni bulunan antiskorbütik faktör “C vitamini yada faktör C” olarak adlandırılmıştır [39]. Szent- Gyorgyi grubu ve Haworth ve King tarafından, 1930’ ların başında C vitamini doğal kaynaklardan izole edilmiş, antiskorbütik etkisi kanıtlanmış ve yapısal özellikleri belirlenmiştir. 1930’ lu yıllar boyunca birçok gıdada C vitamini olduğu belirlenmiştir. 1933’te Reichstein vitamini sentezlemiştir. 1937 yılında Szent- Gyorgyi ve Haworth C vitamini üzerine yaptıkları araştırma ile, sırasıyla, tıp ve kimya alanında Nobel Ödülü kazanmışlardır [39, 40].

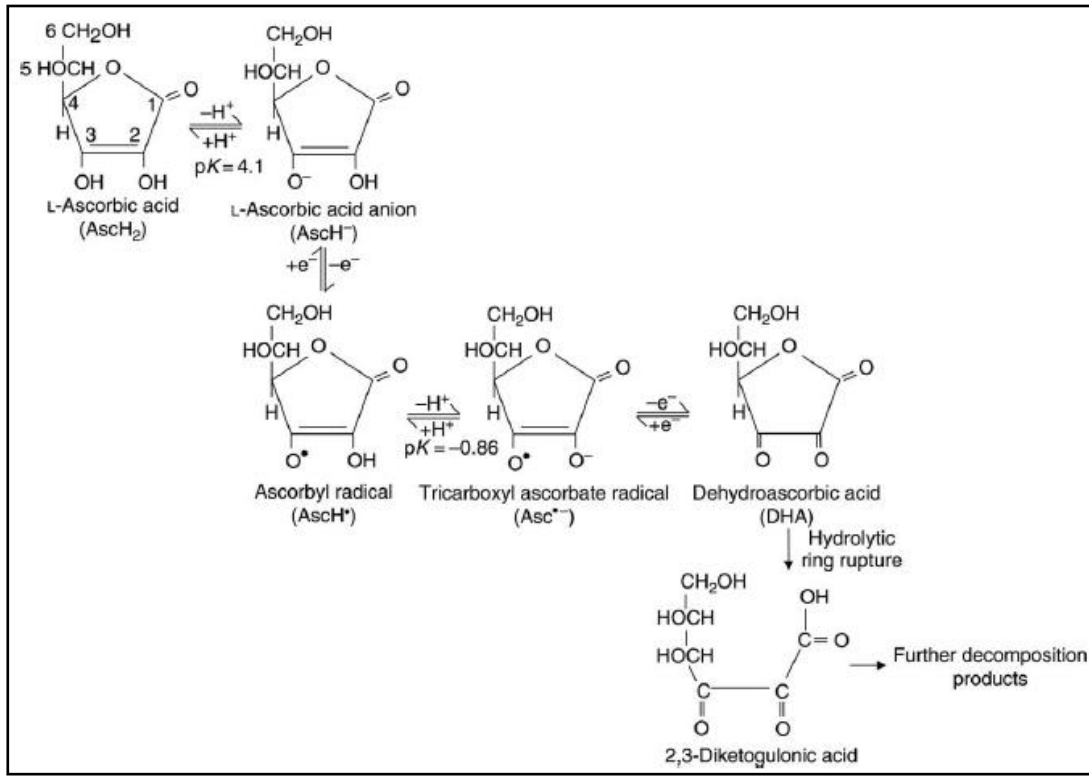
2.2.1 Kimyasal ve fiziksel özellikleri

IUPAC-IUB Biyokimyasal Adlandırma Komisyonu 1965 yılında C vitaminini (2-oxo-L-theo-hexono-1,4-lactone-2,3-enediol yada 2,3-enediol-L-gluconic acid-γ-lactone) askorbik asit yada L-askorbik asit olarak adlandırmıştır [39]. Kimyasal yapısı Şekil 2.7’ de gösterilmiştir [40]. 2. ve 3. karbonlarında bulunan iyonize olabilen iki -OH grubu bileşiğe asidik özellik kazandırır. Asimetrik 5. karbon iki enantiomerik formun oluşmasına sebep olur. Doğal olarak oluşan form L formudur [41].



Şekil 2.7: Askorbik asit yapısı.

L-Askorbik asit C vitamininin aktif formudur. Bu molekülün oksidasyonu iki adımlı tek elektron transferi yada askorbil radikalinin oluşmadığı tek adımlı iki elektron transferi şeklinde olabilir. Askorbik asitin L-dehidroaskorbik aside (DHA) oksidasyonu geri dönüşümlüdür ve bu nedenle DHA, insan vücudunda kolayca askorbik aside dönüşebildiği için, biyolojik olarak aktiftir ancak çok daha dayanıksızdır. DHA'nın 2,3-diketogulonik asite geri dönüşümsüz hidrolizi C vitamini kaybına yol açar. Daha fazla katabolik faaliyet L-ksilonik asit, L-liksonik asit, L-ksiloz, oksalik asit ve L-threonik asit gibi besinsel açıdan etkin olmayan moleküllerin oluşumuyla sonuçlanır. Askorbik asit oksidasyonu ve sonuçta oluşan ürünler Şekil 2.8' de verilmiştir [41].



Şekil 2.8: Askorbik asit ve oksidasyon ürünleri.

Askorbik asidin çeşitli iyon formlarının oksidasyon duyarlılığı farklı olduğu için, vitaminin oksidatif degradasyon hızı, pH' ın nonlinear fonksiyonudur. Çoğu biyolojik sistemle ilgili koşullar altında oksidasyonun pH bağılılığı, L-askorbik asit ve L-askorbik asit anyonunun bağıl konsantrasyonu tarafından, bu da pH (pK_{a1} 4.17) tarafından kontrol edilir. Askorbik asidin oksidasyon hızının genellikle L-askorbik asit anyonu, moleküler oksijen ve metal iyonu konsantrasyonu göre birinci dereceden olduğu görülmüştür [41].

2.2.2 Metabolik işlevi

C vitamini iskorbüt hastalığını tedavi edebildiği ve önlediği için askorbik asit olarak adlandırılır. Askorbik asit, çok çeşitli biyokimyasal reaksiyon ve proseslerde katalist ve redoks kofaktörü olarak görev alır [39]. Metabolik işlevlerinin çoğu çeşitli biyokimyasal reaksiyonlar için indirgen olmasıyla ilintilidir. Bilinen metabolik işlevleri arasında, enzim kofaktörü (örn., hidroksilasyon enzimlerinin aktif bölgelerinde), koruyucu antioksidan (hücre içi ve dışı sulu fazda etkin) ve metal iyonlarının değiştirildiği reaksiyonlarda askorbil radikali olarak görev almak sayılabilir [41, 42].

Askorbik asit kolayca elektron verebilmesi ve askorbil radikaline geri dönüşümlü monovalant oksidasyonu nedeniyle biyokimyasal redoks sistemidir. 8 insan enzimi için özgün elektron donörü olarak bilinir. 3 enzim kollajen hidroksilasyonunda, 2 enzim karnitin biyosentezinde ve 3 enzim hormon ve aminoasit biyosentezinde yer alır [41]. Çizelge 2.3’ te askorbik asidin kofaktör olduğu enzimler ve metabolik işlevleri verilmiştir [42].

Çizelge 2.3: Askorbik asidin kofaktör olduğu enzimler ve metabolik işlevleri.

Metabolik işlev	Enzim
Kollajen sentezi	Prolyl 4-hydroxylase
	Prolyl 3-hydroxylase
	Lysine hydroxylase
Katekolamin sentezi	Dopamine β -monooxygenase
Peptid hormon sentezi	Eptidylglycine α -amidating monooxygenase
Karnitin sentezi	γ -Butyrobetaine 2-oxoglutarate 4-dioxygenase
	Trimethyllysine 2-oxoglutarate dioxygenase
İlaç ve steroid metabolizması	Cholesterol-7 α -hydroxylase
Tirozin metabolizması	4-Hydroxyphenylpyruvate dioxygenase
	Homogentisate 1,2-dioxygenase

Ayrıca, kollajen transkripsiyonunun gen ekspresyonundan ilgili enzimlerin düzenlenmesine çeşitli aşamalarında, hücrel prokollajen salgılanması ve elastin, proteoglikanlar, kemik matrisi ve elastin-bağılı fibrilinlerin biyosentezinde rol oynadığına dair kanıtlar vardır[41, 42]. C vitamini eksikliği olarak tanımlanan İskorbüt hastalığı, bağ dokusu bozuklukları ile karakterize edilir [41].

Katekolamin metabolizmasında yer aldığı bildirilen askorbik asit, dopamin yan zincirinin hidroksilasyonunu gerçekleştiren dopamine- β -monooxygenase enziminin kofaktörü olarak noradrenalin (norepinefrin) sentezinde önemli rol oynar [41, 42]. İskorbüt hastalarında sıklıkla görülen depresyon, hipokondria ve ruh hali değişimleri yetersiz dopamin hidroksilasyonu ile ilgili olabilir [41].

Özellikle çizgili kaslar ve kalp kası dokuları için hücrelerin enerji ihtiyacını karşılamak üzere uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondriyal membranı geçmesinde önemli rol oynayan karnitin' in sentezlenmesinde askorbik asitle birlikte Fe^{+2} iyonları, B6 vitamini ve niacin çeşitli enzimlerin kofaktörü olarak görev alır [41, 42]. Sınırlı karnitin biyosentezi dolayısıyla yağ asidi temelli enerji üretiminin azalması askorbik asit yersizliği olan insanlardaki yorgunluk ve kas güçsüzlüğü durumlarının açıklayabilir [41].

Askorbik asit, antioksidan etkisiyle hücrede yağların, proteinlerin, nitrik oksit ve DNA' nın reaktif oksijenler tarafından oksidaysonunu engelleyerek hücre metabolizmasında önemli rol oynar [42].

Cholesterol-7 α -hydroxylase enzimi, safra asitlerinin sentezinde rol alır ve yüksek C vitamini diyeti ile beslenen Gine domuzlarında enzimin stimule edildiği görülmüştür. Epidemiyolojik çalışmalarda serum HDL ile askorbik asit arasında pozitif korelasyon olduğu ortaya konmuştur. Ayrıca ilaçlar ve diğer ksenobiyotik bileşenlerin vücuttaki yarı ömürlerinin C vitamini ile ters orantılı olduğu saptanmıştır [42].

Bu metabolik etkilerinin yanı sıra askorbik asitin kanserden koruyucu etkisi olduğunu işaret eden bazı epidemiyolojik çalışmalara rastlanmaktadır [41, 42].

2.3 Konuyla İlgili Literatür Çalışmaları

Düşük erime noktası, sulu ve organik fazda çözünebilmesi ve biyoyumluluğu ile PEG polimerleri ilaç taşıma sistemlerinde özellikle suda çözünmeyen ilaçların katı dispersiyonlarının hazırlanmasında kullanılır [14, 31]. Ayrıca birçok ilacın yarı ömrünü uzatmak amacıyla formülasyonlarına eklenmiştir [43].

Bitkilerde su noksanlığı çalışmalarında nutrient çözeltisinin su potansiyelini düşürerek dehidrasyonu indüklemesi amacıyla PEG 6000 en çok kullanılan polimerdir [44].

Takami ve Murakami, yaptıkları çalışmada PEG ve PLA polimerlerinden elde edilen PLGA kopolimeri püskürtmeli kurutucuda mikrokapsül haline getirilerek akciğer hastalıklarının tedavisinde kullanılacak ilaçlar için taşıyıcı araçlar elde etmişlerdir. Bu çalışmada kopolimer farklı oranlarda diklorometan ve toluen organik çözücülerinden hazırlanan karışımlarda çözündürülmüş ve çözücünün oluşan partikül üzerindeki morfolojik etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda akciğer hastalıklarının tedavisinde gerekli olan 1-5 µm partikül boyutuna sahip mikrokürecikler elde edilebilmiştir [9].

PKL-kitosan kopolimer sistemlerinin doku mühendisliği uygulamalarında doku iskelelerinin mekanik özelliklerini iyileştirdiği ve hücre çoğalmasını olumlu yönde etkilediği görülmüştür [26, 45]

Sahoo ve arkadaşları, ofloxacin ilacının kontrollü salınımı için PKL-kitosan kopolimerlerini denemiş ve kopolimer sisteminin kontrollü ilaç salınımında kullanılım için uygun olduğunu göstermişlerdir [28].

Ribeiro Rattes ve Pereira Oliveira' nın, Sodyum diklofenak mikropartiküllerinin üretiminde enkapsüle edici bileşim ve püskürtmeli kurutma koşullarının mikropartikül üretimi ve ilaç salınımı üzerine etkisini araştırdığı çalışmada, ürün nemi, boyut dağılımı, partikül morfolojisi, akış özellikleri, toplam ilaç yüklenmesi, in vitro çözünme ve enkapsülasyon etkinliği püskürtmeli kurutucunun giriş sıcaklığı, besleme akış hızı ve mikroenkapsüle edici formülasyonun bileşiminin bir fonksiyonu olarak belirlenmiştir. Mikropartiküllerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin, püskürtmeli kurutma parametreleri ve mikroenkapsüle edici formülasyon değiştirilerek ayarlanabileceği gösterilmiştir. In vitro çözünme hızını etkileyen en önemli faktörün besleme akış hızı olduğu görülmüştür[11].

Shedenge ve Sayyad, budesonide ilacının kolonda salınması amacıyla püskürtmeli kurutuma yöntemiyle budesonide yüklü kitosan mikrokürecikler üretmişlerdir. Mikrokürecikler salınım ortamında 5 saat sonunda toplam ilacın %20' sini salmıştır [46].

Alhalaweh ve arkadaşları, nazal taşınım için püskürtmeli kurutma yöntemi ile kitosan-zolmitriptan mikrokürecikler üretmişlerdir. Çalışmalarında kitosanın özelliklerinin dispersiyon ve ilaç salınımı üzerinde etkili olduğunu ve püskürtmeli

kurutmanın nazal taşınım amaçlı mikrokürecik üretimi için uygun olduğunu göstermişlerdir [47].

C vitamini enkapsülasyonu için püskürtmeli kurutma ile elde edilmiş Eudragit mikropartiküllerinin kullanıldığı çalışmada, C vitaminin Eudragit ile enkapsülasyonu, serbest forma göre salınım hızını yavaşlatamazken mikropartiküllerin morfolojisi ve boyut dağılımı ileriki çalışmalar için ümit verici görülmüştür [48].

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1 Malzemeler

3.1.1 Polimerler

- Polikaprolakton (Sigma-Aldrich):

Polikaprolakton ($C_{6n}H_{10n}O_{2n}$) sayıca ortalama molekül ağırlığı (M_n): 10000 g/mol; ağırlıkça ortalama molekül ağırlığı (M_w): 14000 g/mol. Mikroküreciklerin üretiminde kullanılmıştır.

- Polietilen glikol (Sigma-Aldrich):

Polietilen glikol ($H(OCH_2CH_2)_nOH$), molekül ağırlığı 300 g/mol'den 1.10^7 g/mol'e kadar değişen bir moleküldür. Mikroküreciklerin üretiminde PEG-6000 türü ($M_n=6000$ g/mol) kullanılmıştır.

- Kitosan (Sigma-Aldrich, Medium Molecular Weight):

Molekül formülü ($C_{12}H_{24}N_2O_9$) %75-80 oranında deasetiledir. Mikroküreciklerin üretiminde kullanılmıştır.

3.1.2 İlaç

L-Askorbik asit (Sigma-Aldrich, ACS reagent, $\geq 99\%$):

C vitamin olarak da bilinen L-askorbik asit ($C_6H_8O_6$) molekül ağırlığı 176.12 g/mol'dür. Deneysel çalışmalarda model ilaç olarak, suda çözülürülerek kullanılmıştır.

3.1.3 Çözücü, tampon çözelti ve kimyasallar

- Asetik Asit (Merck, %100):

Asetik asit (CH_3COOH) molekül ağırlığı 60.05 g/mol' dür. Kitosan biyopolimerinin çözülürülmesinde ve ilaç salınım ortamlarından biri olan 0,1 M Asetik Asit pH 2.8 tampon çözeltisinin hazırlanmasında kullanılmıştır.

- Formik Asit (Merck, %98):

Formik asit (CH_2O_2) molekül ağırlığı 46.03 g/mol' dür. Kitosan biyopolimerinin çözdürülmesinde asetik asitle birlikte kullanılmıştır.

- 2,6 dikloroindofenol, Na tuz hidrat (Sigma-Aldrich):

2,6 dikloroindofenol, Na tuz hidrat ($\text{C}_{12}\text{H}_6\text{Cl}_2\text{NNaO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$) molekül ağırlığı (anhidro)290.08 g/mol'dür. L-askorbik asidin UV analizi için boya çözeltisi hazırlamak amacıyla kullanılmıştır.

- Oksalik Asit (Merck, %99)

Oksalik asit ($\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) molekül ağırlığı 120.07 g/mol'dür. L-askorbik asidin UV analizi için stabilizan çözelti hazırlamak amacıyla kullanılmıştır.

- 10mM PBS pH 7.4 Tampon Çözeltisi:

İlaç salınım deneylerinde kullanılmıştır. 0.26 g potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4 , Merck), 2.17 g di-sodyum hidrojen fosfat heptahidrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) ve 8.71 g sodyum klorür (NaCl) tartılarak 1 litrelik balon jojeye alınmış ve üzerine yaklaşık 800 ml saf su eklenmiştir. 1M HCl ve 1N NaOH çözeltileri kullanılarak pH 7.4' e ayarlandıktan sonra hacim 1 litreye tamamlanmıştır.

- 0.1 M Asetik Asit pH 2.8 Tampon Çözeltisi:

2,86 ml glacial asetik asit 500 mililitrelik balon jojeye alınmış ve üzerine yaklaşık 350 ml saf su eklenmiştir. 1M HCl ve 1N NaOH çözeltileri kullanılarak pH 2.8' e ayarlandıktan sonra hacim 500ml' ye tamamlanmıştır.

- M NaHCO_3 pH 9.6 Tampon Çözeltisi:

4.2 g NaHCO_3 500 mililitrelik balon jojeye alınmış ve üzerine yaklaşık 350 ml saf su eklenmiştir. 1M HCl ve 1N NaOH çözeltileri kullanılarak pH 9.6' ya ayarlandıktan sonra hacim 500ml' ye tamamlanmıştır.

3.2 Ekipmanlar

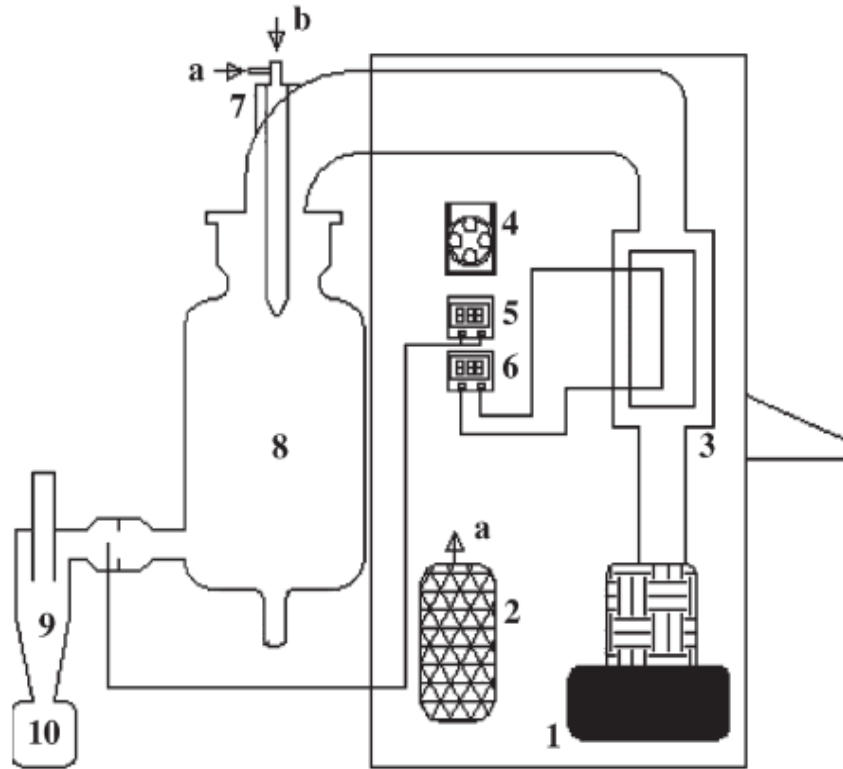
3.2.1 Püskürtmeli kurutucu

Çalışmalarda kullanılan püskürtmeli kurutucu Yamato GB210(CE) modeldir ve laboratuvar ölçekli bir cihazdır. Şekil 3.1' de bir püskürtmeli kurutucunun grafiksel

gösterimi ve püskürtmeli kurutucuda olan yapılar görülmektedir.Çizelge 3.1’ de kullanılan püskürtmeli kurutucu ile ilgili bazı özellikler verilmiştir.

Çizelge 3.1:Püskürtmeli kurutucunun özellikleri.

Evaporasyon Kapasitesi	Maksimum 1300 mL/h
Sıcaklık Kontrol Aralığı	40 °C-200 °C
Kuru Hava Akış Oranı	Maksimum 0.7 m ³ /min
Çözelti Besleme Akış Hızı	Maksimum 28 mL/min
Sprey Nozul	Sıvı ve Hava için



Şekil 3.1:Püskürtmeli kurutucunun şematik diyagramı ve parçaları: (1) hava üfleyici+hava filtresi; (2) hava kompresörü; (3) ısıtıcı; (4) peristaltik pompa; (5) sıcaklık kontrolü; (6) iç ısıl-çiftler; (7) atomizer: a. sıkıştırılmış hava, b. besleme; (8) kurutma bölmesi; (9) siklon; (10) kuru ürün toplama kabı [11].

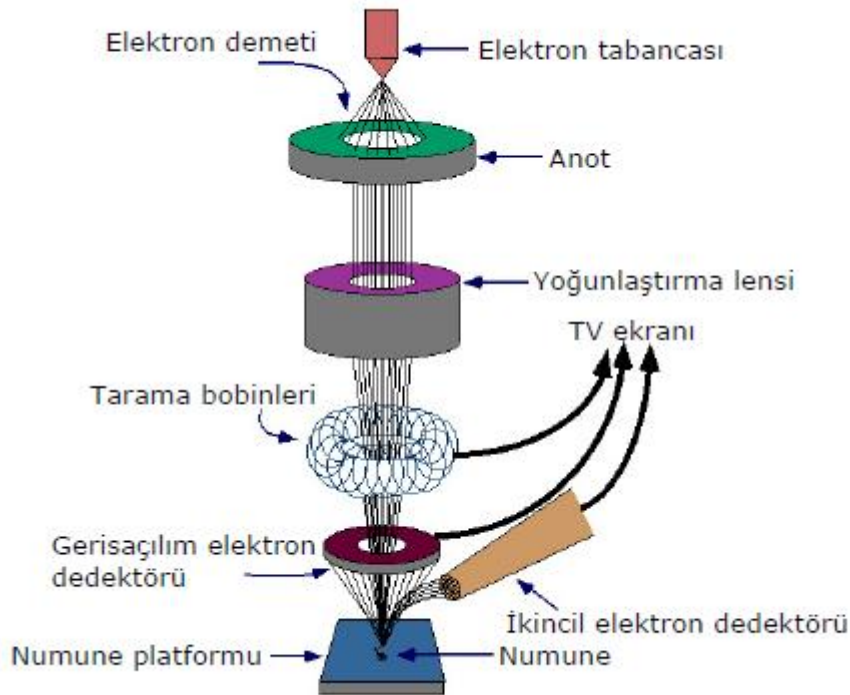
3.2.2 Partikül boyut analizi

Küçük partiküllerin boyutlarını ölçmek için Mie Teorisi kullanılır. Mie Teorisi ışığın ortam içerisinde tane boyu etrafındaki hem kırılmasını hem de geçirgenliğini dikkate alır. Mie saçılması olarak tabir edilen ışık saçılması, askıdaki katı maddenin büyüklüğü ile ışığın dalga boyu aynı olduğunda oluşur. Bu prensibe dayanarak Mastersizer cihazı ile püskürtmeli kurutucu ile elde edilen numunelerin partikül boyutları ve dağılımı belirlenmiştir.

Partikül boyut analizi için Malvern markalı, Mastersizer 2000 modeli cihaz kullanılmıştır. Cihaz, her numune için üç ölçüm yapmış, bu ölçüm sonuçlarını ve ortalamalarını doküman halinde vermiştir.

3.2.3 Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

Taramalı elektron mikroskobu, yüksek çözünürlüklü görüntü elde etmek için vakum ortamında oluşturulan ve aynı ortamda elektromanyetik lenslerle inceltilebilen elektron demeti ile incelenecek malzemeyi analiz etme imkânı sunar. Örneklerin 3 boyutlu olarak incelenmesi ve yüzey özelliklerinin belirlenmesi mümkündür. Şekil 3.2' de taramalı elektron mikroskobu diyagramı gösterilmektedir.



Şekil 3.2: Taramalı elektron mikroskobu.

Deneysel çalışmalar sırasında püskürtmeli kurutucu ile elde edilen numunelerin morfolojik analizi için kullanılmıştır. Elde edilen partiküllerin mikrokürecik yapısında olup olmadığı SEM ile belirlenmiştir.

3.2.4 Fourier dönüşüm kızılötesi (FTIR) spektrometresi

Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FTIR) spektroskopisi incelenmek istenen örnek makromoleküllerin fonksiyonel gruplarının titreşimlerinden kaynaklanan yapısal, bileşimsel ve fonksiyonel bilgilerin elde edilmesini sağlayan bir tekniktir. FTIR analizi ile numune yapısındaki bağların dalga boylarına karşılık ışığın geçirgenlik değerleri %T ölçülür. Bu değer her bağ için kendine özgüdür.

Püskürtmeli kurutucu ile elde edilen örneklerin FTIR analizi yapılarak polimer yapısı incelenmiş, PEG, PKL ve kitosanın mikrokürecik yapısına katılıp katılmadığı belirlenmiştir. FTIR cihazı, Perkin Elmer Spectrum One modeldir ve numune ölçümlerinde cihazın ATR kiti kullanılmıştır.

3.2.5 Ultra viole(UV) – görünür bölge spektrofotometre

UV analizin temel prensibi hazırlanan çözeltiden belirli spektrumlarda ışık geçirilmesi ve bu ışının ne kadarının çözeltili tarafından absorblandığının bulunması esasına dayanır. Çözeltinin içerdiği madde miktarı ne kadar fazla ise daha fazla ışın, çözeltili tarafından absorblanır. Spektrofotometre, çözeltinin içinden geçebilen - çözeltili tarafından absorblanmayan- ışığın yoğunluğu tespit ederek çözeltili içeriğindeki aranan maddenin miktarı hakkında kantitatif bilgi verir. Bu çalışmada, askorbik asit tayini için UV analizi yapılmıştır. Deneysel çalışmalar sırasında Shimadzu UV Mini 1240 UV-VIS Spektrofotometre kullanılmıştır.

3.2.6 Diğer ekipmanlar

- Manyetik karıştırıcı (ısıtıcı), Heidolph MR 3001, IKA RCT ve Yellowline MSH basic
- Hassas terazi, And, Gr-200
- Karıştırıcı su banyosu, Juloba SW 22 ve Yamato BW 400
- pH metre, Inolab WTW
- Santrifüj, Jouan BR4

3.3 Deneysel Yöntemler

3.3.1 Mikrokürecik üretimi

Deneylerin ilk aşamasında püskürtmeli kurutucu ile polietilen glikol (PEG), polikaprolakton (PKL) ve kitosan polimerlerinden oluşan mikrokürecikler üretilmiştir. Tüm denemelerde kütlece PEG:PKL:kitosan oranı 1:1:1 olarak sabit tutulmuştur. 2 gram Kitosan, kütlece %2'lik asetik asit çözeltisinde çözündürülmek üzere 60°C' de 1250 rpm karışma hızı ile 1 gün karıştırılmıştır. 2' şer gram PEG ve PKL 40 ml hacimce 3:7 oranında asetik asit:formik asit çözeltisinde çözündürülmüştür. Bu iki çözelti birbirine eklenerek bir süre daha karıştırılmıştır.

Mikrokürecik üretimine başlamadan önce hazırlanan karışım ile püskürtmeli kurutucunun peristaltik pompası kalibre edilmiştir. Kalibrasyon sonucunda, deneylerde 3, 6 ve 9 ml/dk debi ile çalışılmasına karar verilmiştir.

Polimer karışımı, 3, 6 ve 9 ml/dk besleme debisi ve 120, 135 ve 150°C giriş sıcaklığı ile püskürtmeli kurutucuya beslenmiştir. Elde edilen numuneler SEM, FTIR spektrometresi ve partikül boyut analizi ile değerlendirilmiştir. Üretim verimi Denklem 3.1 ile hesaplanmıştır.

$$\text{ÜretimVerimi \%} = \frac{\text{Partikülmiktarı}}{\text{Beslenentoplamkatımiktarı}} \times 100 \quad (3.1)$$

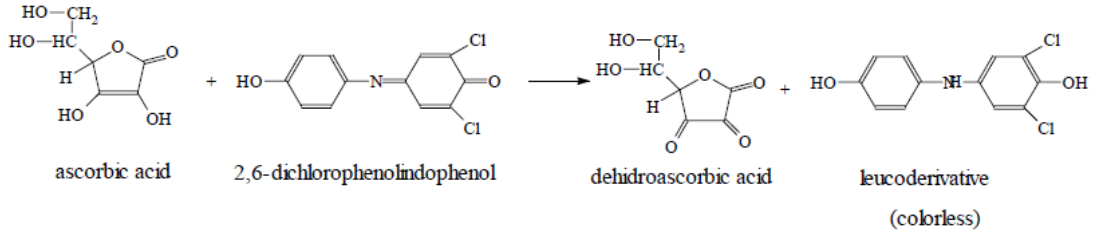
3.3.2 İlaç yüklü partiküllerin üretimi

İlaç yükleme işlemi için iki farklı yöntem denenmiştir. İlk olarak ilaç çözeltisi polimer karışımına eklenmiş ve püskürtmeli kurutucuya beslenmiştir. Diğer yöntemde ise püskürtmeli kurutucu ile elde edilen partiküller ilaç çözeltisi ile karıştırılarak dolaylı yükleme yapılmıştır.

Yüklenen ilaç miktarı UV spektroskopisi ile belirlenmiştir. Bunun için ilk olarak, askorbik asit standart eğrisini oluşturmak amacıyla %0,1' lik askorbik asit stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bu amaçla 100 mg askorbik asit, 4 gr oksalik asit 1 litre suda çözündürülerek hazırlanan stabilizan çözeltinin 100 ml' sinde çözündürülmüştür. 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 ml stok askorbik asit çözeltisini 100 ml' ye tamamlamak için yine stabilizan çözelti kullanılmıştır. 12 mg 2,6 dikloroindofenol, Na tuzu 1 litre suda çözündürülerek boya çözeltisi hazırlanmıştır. Referans değeri belirlemek için iki deney tüpüne 1 ml

stabilizan çözelti eklendikten sonra birine 9 ml su diğerine 9 ml boya çözeltisi eklenerek karıştırılmıştır.

518 nm’ de, su ile tamamlanan deney tüpündeki çözeltiyle UV spektrofotometre sıfırlandıktan sonra boya çözeltisiyle tamamlanan deney tüpündeki çözeltinin absorbansı (L) okunmuştur. Bu değer, diğer ölçümler için referans olarak kabul edilmiştir. Örnek çözeltinin absorbansını belirlemek için seyreltme miktarına göre, alınan örnek çözelti 10 ml’ ye stabilizan çözelti ile tamamlanmış ve karıştırılmıştır. İstenilen seyreltmeye ulaşıldığında 1 ml çözelti bir deney tüpünde su ile, diğerinde boya çözeltisi ile 10 ml’ ye tamamlanmış ve karıştırılmıştır. Su ile tamamlanan çözelti ile spektrofotometre sıfırlanmış ve boya çözeltisi ile tamamlanan çözeltinin absorbans değeri (L’) okunmuştur. Askorbik asit konsantrasyonu, referans değerinden ölçülen absorbansın çıkarılmasıyla elde edilen (L-L’) nicelik ile hesaplanmıştır. Bunun sebebi askorbik asidin 2,6 dikloroindorfenol ile tersinmez bir tepkimeye girerek dehidroaskorbik asit ve renksiz bir molekül oluşturmaktadır [49]. Kimyasal tepkime Şekil 3.3’ te verilmiştir. Bu nedenle, askorbik asit miktarı arttıkça boya çözeltisinin rengi açılmış ve okunan absorbans değeri azalmıştır.



Şekil 3.3: Askorbik asit-2,6-dikloroindorfenol tepkimesi.

Konsantrasyonları bilinen stok çözelti örnekleri ile oluşturulan standart eğrinin regresyon eğrisinin denklemi yardımıyla konsantrasyonu bilinmeyen örneklerin absorbansı kullanılarak konsantrasyonları belirlenmiştir.

3.3.2.1 Doğrudan ilaç yükleme

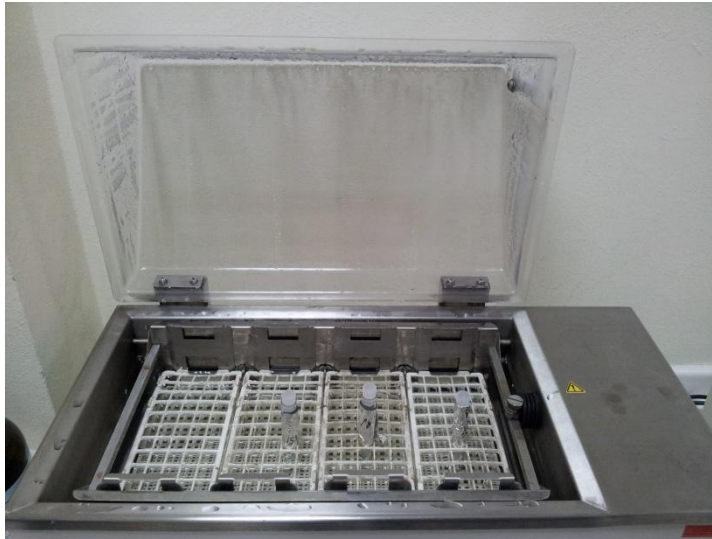
Bu yöntem ile, kütlece %5, 10 ve 15’ lik L-askorbik asit çözeltileri hazırlanmış ve polimer çözeltisi ile karıştırılmıştır. Karışım 120 °C hava giriş sıcaklığı ve 3 ml/dak besleme debisi ile kurutulmuştur. Kurutulan partiküller asit çözeltisinde ve suda çözündürülerek askorbik asit miktarı UV spektroskopisi ile belirlenmiştir. Partikül üretim verimi, ilaç yükleme verimliliği ve ilaç yükleme yüzdesi sırasıyla Denklem 3.1, Denklem 3.2 ve Denklem 3.3 ile hesaplanmıştır.

$$\text{Yükleme Verimliliği \%} = \frac{\text{Yüklenen L - askorbikasit}}{\text{Eklenen L - askorbikasit}} \times 100 \quad (3.2)$$

$$\text{İlaçYükleme \%} = \frac{\text{L - askorbikasitmiktarı}}{\text{Mikrokürecikmiktarı}} \times 100 \quad (3.3)$$

3.3.2.2 Dolaylı ilaç yükleme

Bu yöntemde püskürtmeli kurutucu ile elde edilen polimerler kütlece %5, 10 ve 15' lik L-askorbik asit çözeltileri ile yüklenmiştir. Yükleme süresi, sıcaklığı, karışma hızı, partikül miktarı ve partikül boyutunun yüklenen ilaç miktarı üzerine etkisi incelenmiştir. Partiküller belirlenen koşullarda yüklendikten sonra 3000 rpm' de 10 dakika santrifüjlenerek yüklü katı partiküller sıvı fazdan ayrılmış ve süpernatantın L-askorbik asit içeriği UV analizi ile belirlenmiştir. Başlangıçtaki askorbik asit miktarından süpernatanttaki askorbik asit miktarı çıkarılarak yüklenen miktar belirlenmiştir. Yükleme verimi, yükleme verimliliği ve ilaç yükleme yüzdesi sırasıyla Denklem 3.1, Denklem 3.2 ve Denklem 3.3 ile hesaplanmıştır. Şekil 3.4' te dolaylı ilaç yükleme düzeneği gösterilmektedir.



Şekil 3.4: Dolaylı ilaç yükleme düzeneği.

3.3.3 İlaç Salınım Denemeleri

Kütlece %15' lik askorbik asit çözeltisiyle karıştırılmış polimer çözeltisinin, giriş sıcaklığının 120 °C ve besleme debisinin 3 ml/dk olduğu operasyon koşullarında kurutulmasıyla üretilen ilaç yüklü partiküller, 100' er ml' lik asidik (pH 2,8), nötral (pH 7,4) ve alkali (pH 9,6) ortamlara 0,5 mg partikül/ml çözelti olacak şekilde

eklenerek 25 °C’ de 50 rpm hızla karıştırılmıştır. 8 saat boyunca 2 saat arayla 5 ml örnek alınmış ve taze tampon çözelti ile ortam yeniden 100 ml’ ye tamamlanmıştır. Alınan örnek 3000 rpm’ de 10 dakika santrifüjlenerek askıda kalması muhtemel katı partiküllerin sıvı fazdan ayrılması sağlanmıştır. Örneğin askorbik asit konsantrasyonu UV analizi ile belirlenmiştir. Belirli zaman aralıklarında alınan örneklerin konsantrasyonları hesaplanarak ilaç salınım kinetik parametreleri ve ilaç salınım profili belirlenmiştir.

4. SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME

4.1 Mikrokürecik Üretimi

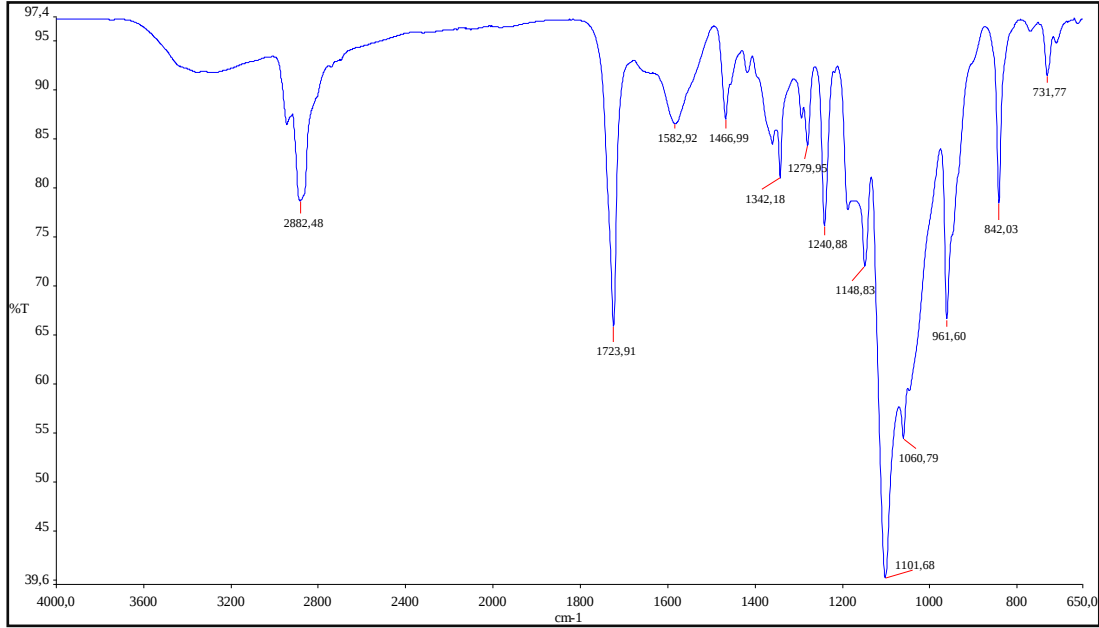
Püskürtmeli kurutucu ile Bölüm 3.3.1’ de verilen operasyon koşullarında mikrokürecik üretimi için verim değerleri Denklem 3.1 ile hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1’ de verilmiştir.

Çizelge 4.1: Mikrokürecik üretim verimleri.

Sıcaklık (°C)	Besleme Debisi (ml/dk)	Verim (%)
120	3	54,73
	6	48,42
	9	48,23
135	3	65,67
	6	56,18
	9	50,03
150	3	54,70
	6	51,32
	9	50,43

Minitab 14.1 istatistik programı kullanılarak, giriş sıcaklığı ve besleme debisinin mikrokürecik üretim verimine etkisi incelenmiştir. Çift yönlü ANOVA testi sonucunda giriş sıcaklığı için p değeri 0,109, besleme debisi için p değeri 0,054 olarak hesaplanmıştır. ANOVA testinde elde edilen $p < 0,05$ ise test edilen parametreler sonuç üzerinde etkilidir, $p > 0,05$ ise test edilen parametreler sonuç üzerinde etkili değildir. Buna göre, giriş sıcaklığı ve besleme debisinin mikrokürecik üretim verimi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olmadığı ortaya konmuştur.

150 °C giriş sıcaklığı ve 3 ml/dk besleme debisi ile kurutulmuş partiküllerin yapısal ve bileşimsel özelliklerinin belirlenmesi için FTIR analizi yapılmıştır. Analiz sonucu Şekil 4.1’ de verilmiştir.



Şekil 4.1: Partiküllerin FTIR analizi.

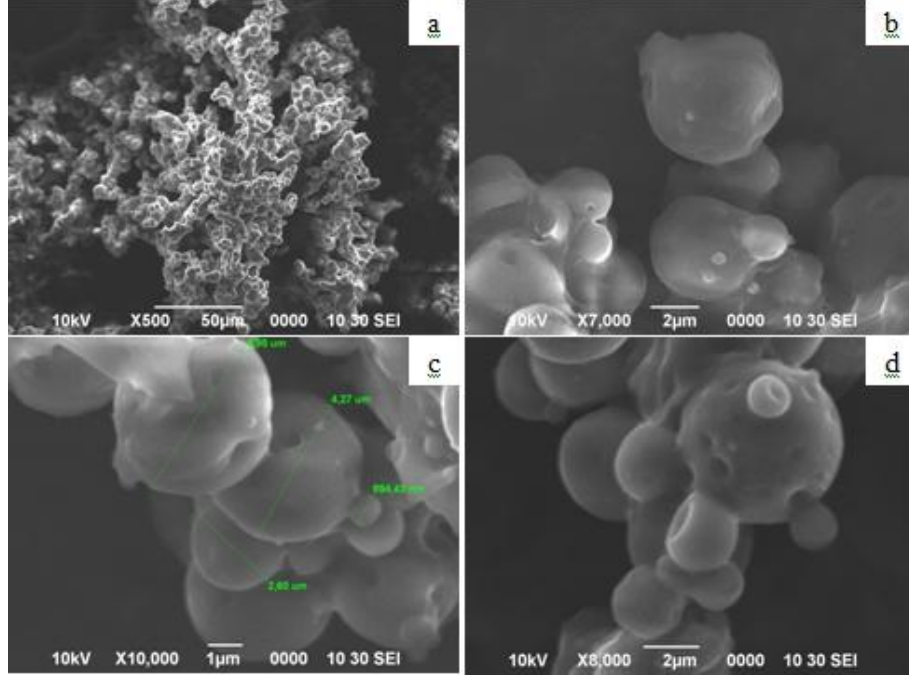
FTIR analizi, her molekül için özgün bant değerleri verir. Şekil 4.1’ de görülen bant değerlerinden 2882 cm^{-1} simetrik CH_2 bağı varlığını gösterir ki bu da PKL ve kitosan için özgün bantlardandır [50, 51]. 1582 cm^{-1} ’ de görülen bant amino grubu varlığını belirtir ve kitosanın partikül yapısında olduğunu gösterir [51]. 1723 cm^{-1} karbonil grubu varlığını gösterir ki bu bağ üç polimer arasından yalnızca PKL’ da bulunmaktadır [50]. 842, 1240, 1279, 1342 ve 1466’ da görülen pikler PEG’ e özgü piklerdir [51].

Üç ayrı polimere özgü bantların Şekil 4.1’ de görülmesi üç polimerin de karışıma katıldığını gösterir. Polimerle birlikte görünmesi gereken fakat görünmeyen özgün bantların da polimerler arası kimyasal etkileşimle dolayısıyla yok olduğu söylenebilir.

Püskürtmeli kurutma yöntemiyle üretilen partiküllerin biçimsel incelemesi taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılmıştır. 120 °C giriş sıcaklığı ve 3 ml/dk besleme debisi ile elde edilen partiküllerin SEM görüntüleri Şekil 4.2’ de verilmiştir.

Şekil 4.2’ de de görüldüğü gibi giriş sıcaklığının 120 °C ve besleme debisinin 3 m/dk olduğu çalışma koşullarında üretilen partiküller küresel şekilde ve poröz yapıdadır. Şekil 4.2.c’ de büyük, orta büyüklükte ve küçük partiküllerin boyutları verilmiştir.

Görüntüdeki en küçük partikülün boyutu 894,43 nm, en büyük partikülün boyutu ise 4,95 μm olarak ölçülmüştür.

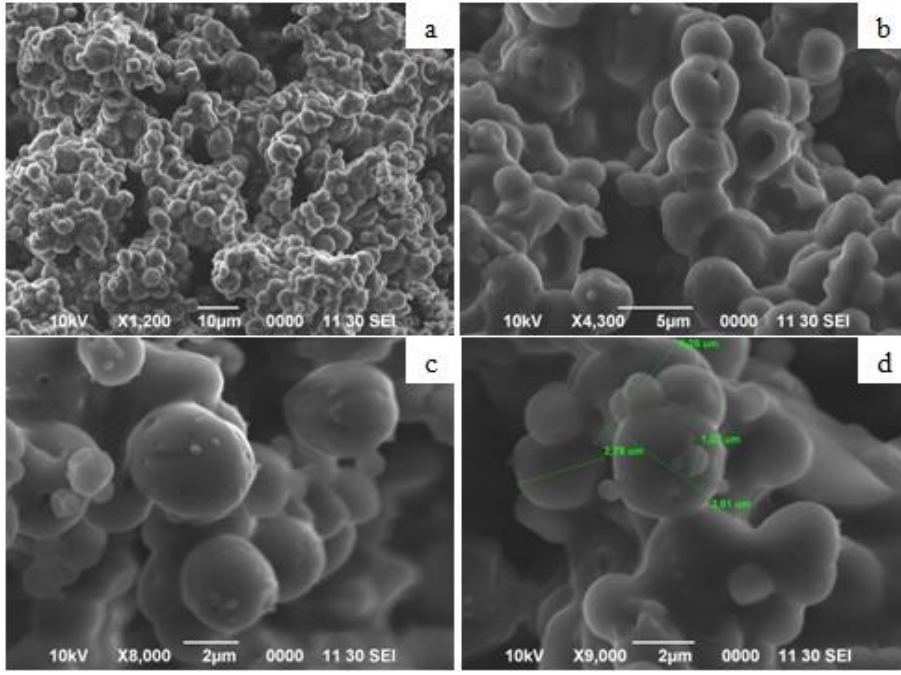


Şekil 4.2:120 °C, 3 ml/dk’ da elde edilen partiküllerin SEM görüntüleri. a) 500 kat büyütme oranı, b) 7000 kat büyütme oranı, c)10 000 kat büyütme oranı, boyut ölçümlü, d) 8000 kat büyütme oranı

Pulmoner ilaç taşıma sistemlerinde kullanılacak partiküller için uygun çap literatürde 1-5 μm olarak verilmiştir [9]. Buna göre, bu koşullarda üretilen partiküller, boyutları ve porlu yüzey yapılarıyla ilaç taşıma sistemlerinde kullanılmaya elverişlidir.

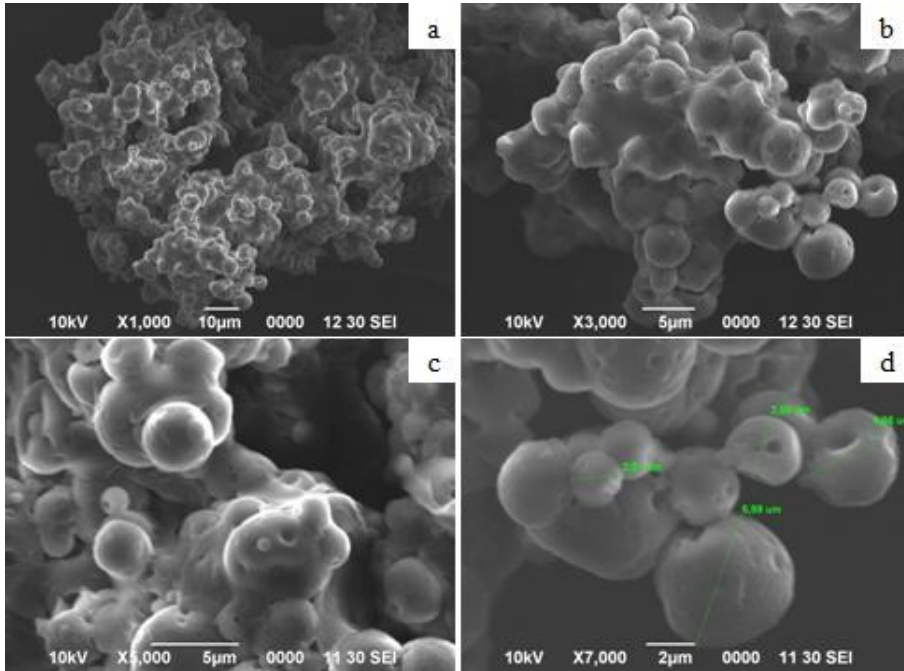
Şekil 4.3’ te 150 °C giriş sıcaklığı ve 3 ml/dk besleme debisi ile elde edilen partiküllerin SEM görüntüleri verilmiştir. Püskürtmeli kurutma işlemlerinde giriş sıcaklığındaki artışın üretilen partiküllerin porluluğunu arttırdığı yada son ürünün parçalanmış yapıda olmasına sebep olduğu bildirilmiştir [46].

Şekil 4.3’ te görüldüğü gibi sıcaklık artışı partiküllerin bir kısmının şekilsel olarak küresellikten sapmasına sebep olmuştur. Şekil 4.3.a’ da hem büyük partiküller hem de oldukça küçük partiküller bir aradadır. Şekil 4.3.b’ de artan por çapı dolayısıyla küresel şekillerini kaybeden partiküller görülmektedir. Şekil 4.3.d partiküllerin boyut ölçümlerini göstermektedir. Görüntüde ölçülen en küçük partikülün çapı 1,02 μm , en büyük partikülün çapı ise 4,25 μm ’ dir. Aynı besleme debisinde 120 °C giriş sıcaklığında kurutulan partiküllerle kıyaslandığında boyut olarak aynı olduğu fakat partiküllerin bir kısmının küreselliğini yitirdiği söylenebilir.



Şekil 4.3: 150 °C, 3 ml/dk’ da elde edilen partiküllerin SEM görüntüleri. a) 1200 kat büyütme oranı, b) 4300 kat büyütme oranı, c) 8000 kat büyütme oranı, d) 9000 kat büyütme oranı boyut ölçümlü

150 °C giriş sıcaklığı ve 9 ml/dk besleme debisi ile elde edilen partiküllerin SEM görüntüleri Şekil 4.4’ te verilmiştir.



Şekil 4.4: 150 °C, 9 ml/dk’ da elde edilen partiküllerin SEM görüntüleri. a) 1000 kat büyütme oranı, b) 3000 kat büyütme oranı, c) 5000 kat büyütme oranı, d) 7000 kat büyütme oranı boyut ölçümlü

150 °C giriş sıcaklığı ve 9 ml/dk besleme debisi ile kurutularak elde edilen partiküllerin yukarıda bahsi geçen diğer partiküllere kıyasla küresel şekillerini daha da kaybettiği Şekil 4.4’ te açıkça görülmektedir. Şekil 4.4’ te verilen boyut ölçümlerine bakıldığında, ölçülen en küçük partikülün çapı 2,01 µm, en büyük partikülün çapı ise 5,59 µm’ dir. Bu değerler, besleme debisi artışının partikül boyutunda artışa neden olacağı bilgisiyle uyumludur.

Püskürtmeli kurutma ile elde edilen mikroküreciklerin boyutunu tayin etmek amacıyla partikül boyut analizi yapılmıştır. Cihaz, her numune için 3 kez ölçüm almıştır. Analiz sonuçları, hacim ağırlıklı ortalama boyut değerleri dikkate alınarak Çizelge 4.2’ de özetlenmiştir.

Çizelge 4.2: Partikül boyut analizi sonuçları.

Sıcaklık (°C)	Besleme Debisi (ml/dk)	Hacim Ağırlıklı Ortalama Boyut (µm)				
		Analiz 1	Analiz 2	Analiz 3	Standart sapma	Ortalama
120	3	19,140	19,167	19,121	0,023	19,143 ± 0,023
	6	43,503	44,555	44,454	0,580	44,171 ± 0,580
	9	777,313	697,560	561,231	109,268	678,701±109,268
135	3	28,268	26,748	28,269	0,878	27,762 ± 0,878
	6	41,871	39,902	39,385	1,312	40,386 ± 1,312
	9	58,111	57,776	57,619	0,251	57,835 ± 0,251
150	3	253,336	316,301	149,149	84,419	239,596 ± 84,419
	6	361,708	143,130	175,399	117,989	226,745±117,989
	9	46,844	46,573	46,045	0,406	46,487 ± 0,406

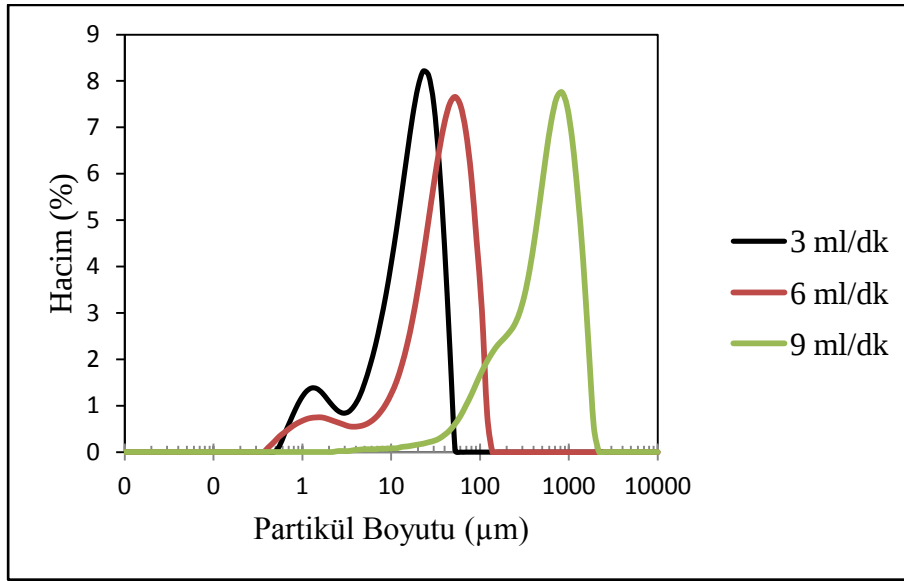
Çizelge 4.2’ de verilen bilgilere göre en düşük boyutlu partiküller, 19,143 ± 0,023 µm hacimsel ağırlıklı ortalama partikül boyutu ile giriş sıcaklığının 120 °C ve besleme debisinin 3 ml/dk olduğu kurutma koşullarında elde edilen partiküllerdir. 135 °C’ de kurutulan partiküllerin partikül boyutu verileri, besleme debisinin artışıyla partikül boyutunun arttığı bilgisiyle uyumludur. 120 °C’ de 9 ml/dk debi sonucunun ve 150 °C sonuçlarının beklenenden farklı olduğu görülmektedir.

Minitab 1.4 istatistik programı ile besleme debisi ve giriş sıcaklığının partikül boyutu üzerine etkisi incelendiğinde, çift yönlü ANOVA testi sonucunda giriş sıcaklığı için p değeri 0,632, besleme debisi için p değeri 0,685 olarak hesaplanmıştır. Bu

değerlere göre, giriş sıcaklığı ve besleme debisinin partikül boyutuna etkisi istatistiksel olarak anlamlı değildir. Ancak bu bulgu gerçeği yansıtmamaktadır.

Bu durum, SEM görüntüleri ve partikül boyut dağılımı verileri ele alınarak değerlendirilmelidir.

Tüm denemelerden elde edilen numuneler için yapılan üç ölçümün ortalaması alınarak partikül boyut dağılımı grafikleri oluşturulmuştur. 120 °C, 135 °C ve 150 °C giriş sıcaklığında 3, 6 ve 9 ml/dk besleme hızı ile kurutulan partiküllerin partikül boyut dağılımı sırasıyla Şekil 4.5, Şekil 4.6 ve Şekil 4.7’ de verilmiştir.

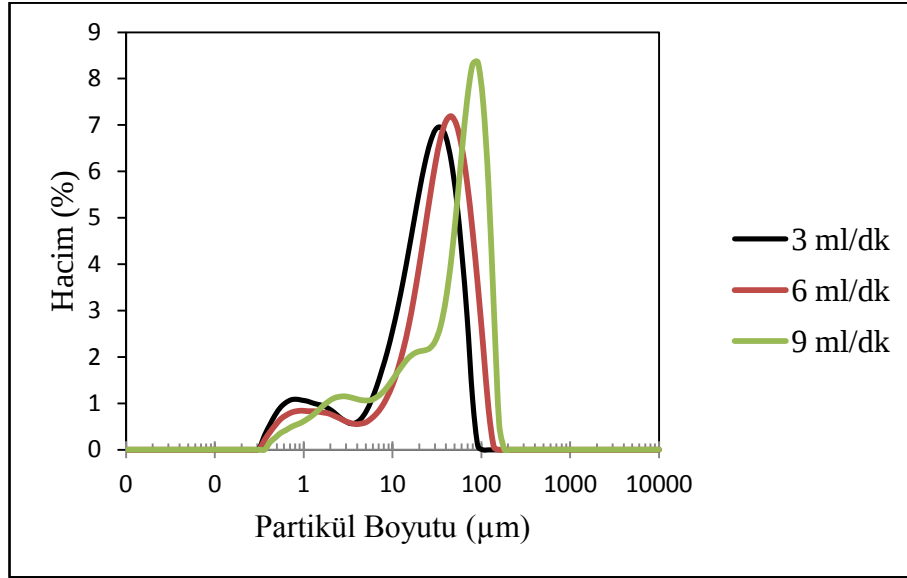


Şekil 4.5: 120 °C giriş sıcaklığında kurutulan partiküllerin boyut dağılımı.

Şekil 4.5’ e göre, 3 ml/dk besleme debisi ile kurutulan partiküllerin hacimsel olarak neredeyse %1.5’ i yaklaşık 1,4 µm partikül boyutuna sahipken, yaklaşık %8’inin boyutu 20 µm civarındadır. Bu debide partiküller iki popülasyonlu bir dağılım göstermiştir. 6 ml/dk’ da da benzer bir dağılım fakat daha büyük boyutlu partiküller elde edilmiştir. 9 ml/dk’ da tek popülasyonlu homojen bir dağılım görülse de partikül boyutu oldukça büyüktür.

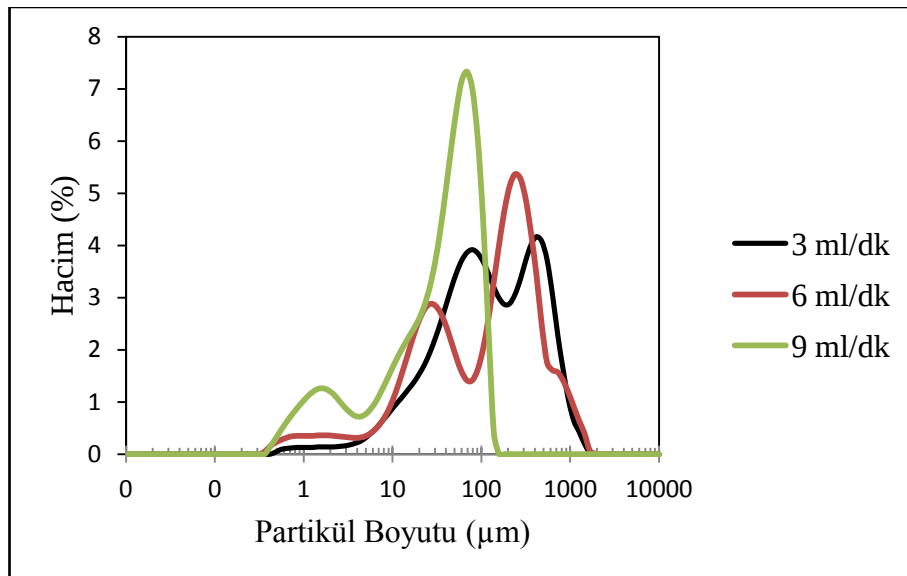
Şekil 4.6 ve Çizelge 4.2’ de görüldüğü gibi 135 °C’ de kurutulan partiküllerin boyutları ve boyut dağılımları birbirine yakındır. 3 ml/dk’ debi ile kurutucuya beslenmiş partiküllerin yaklaşık %7’ sinin çapı 30 µm civarında, yaklaşık %1,2’ sinin çapı 1 µm’ den küçüktür. 135 °C ve 3 ml/dk’ da partiküller iki popülasyonlu geniş bir dağılım göstermiştir. Aynı sıcaklıkta 6 ml/dk besleme debisi için de benzer

bir durum söz konusudur. Partiküllerin %1 kadarı 1 μm ' den küçük çapa sahipken %7,5' e yakınının çapı 40 μm ' den büyüktür.



Şekil 4.6: 135 °C giriş sıcaklığında kurutulan partiküllerin boyut dağılımı.

Besleme debisinin 9 ml/dk olduğu koşullarda üretilen partiküller, aynı debi ile 120 °C giriş sıcaklığında elde edilen partiküllere benzer şekilde, aynı sıcaklıkta daha düşük debi ile üretilenlere kıyasla daha büyük partikül boyutuna sahiptir. 135 °C' de 9 ml/dk besleme debisi ile üretilen partiküller, 120 °C' de e kıyasla daha geniş bir partikül dağılımı göstermişlerdir. Bu partiküllerin çapı 2 μm ile 200 μm arasında değişmekle birlikte % 8,5' inden fazlasının çapı 100 μm kadardır.



Şekil 4.7: 150 °C giriş sıcaklığında kurutulan partiküllerin boyut dağılımı.

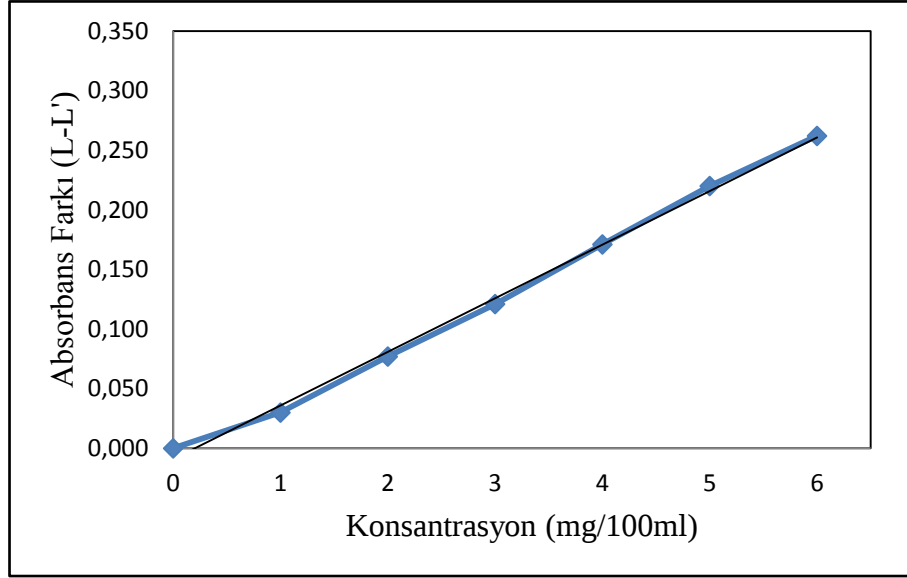
Şekil 4.7’ de görüldüğü gibi, 150 °C giriş sıcaklığı ile çalışılan denemelerde, üç ayrı besleme debisi koşulunda da partiküllerin iki popülasyonlu ve geniş boyut dağılımına sahip olduğu görülmüştür. 3 ml/dk debi ile beslenen partiküllerin boyut dağılımı 3 µm ile 2000 µm arasında iken yaklaşık 70 µm ve 600 µm çapa sahip partiküllerin hacimce yüzdesi 4’ ün üzerindedir. 6 ml/dk debi ile beslenen partiküllerin boyut dağılımı 3 ml/dk’ da olduğu gibi 3 µm ile 2000 µm arasında değişmektedir. Bu partiküllerin hacimce %3’ ünün çapı 20 µm kadar iken yaklaşık %6’ sının çapı 250 µm civarındadır. Bu sıcaklıkta besleme debisinin 3 ve 6 ml/dk olduğu denemelerden elde edilen partiküllerin boyut dağılımları, aynı debiler ile 120 °C ve 135 °C’ de elde edilenlerden oldukça farklıdır. Aynı şekilde 9 ml/dk besleme debisi ile üretilen partiküllerin boyut dağılımı da yukarıda belirtilen diğer sıcaklıklardaki dağılımlardan farklıdır. 150 °C’ de 9 ml/dk debi ile beslenen partiküllerin boyutu 3 µm ile 200 µm arasında değişmekle birlikte %1,5’ inin çapı yaklaşık 1,5 µm iken % 7,5’ inin çapı 70 µm civarındadır.

Şekil 4.5, Şekil 4.6 ve Şekil 4.7’ de verilen partikül boyut dağılımları, Çizelge 4.2’ de verilen hacim ağırlıklı ortalama partikül boyutu verileri ve Şekil 4.2, Şekil 4.3 ve Şekil 4.4’ te verilen SEM görüntüleri bir arada değerlendirildiğinde veriler arasında tutarsızlık olduğu görülmektedir. Hacim ağırlıklı ortalama partikül boyutu verilerinin istatistiksel olarak incelenmesiyle elde edilen bilgiye göre besleme debisi ve giriş sıcaklığının partikül boyutu üzerine etkisi yoktur. Ancak bu parametrelerin partikül boyutunu etkilediği bilinmektedir. Şekil 4.5, Şekil 4.6 ve Şekil 4.7’ de verilen partikül boyut dağılımı grafiklerinde görülen iki popülasyonlu dağılımların, analiz sırasında küçük partiküllerin bir araya gelme eğilimi sonucu oluşan aglomerasyonlardan kaynaklandığı fikrini güçlendirmektedir. Hem istatistiksel analiz sonucuna hem de SEM görüntülerine dayanarak, yapılan partikül boyut analizinin partiküller hakkında güvenilir bilgi vermediği sonucuna ulaşılmıştır.

SEM görüntülerinde en küçük ve en düzgün şekilli küreciklerin 120 °C giriş sıcaklığı ve 3 ml/dk besleme debisi ile kurutularak elde edildiği görülmüştür. Bu nedenle, ilaç yükleme çalışmalarında bu koşullarda üretilen partiküllerin kullanılmasına karar verilmiştir.

4.2 İlaç Yüklü Partiküllerin Üretimi

Yüklenen ilaç miktarı, UV analizi ile hesaplanmıştır. Bunun için ilk aşamada askorbik asit standart eğrisi oluşturulmuştur. Konsantrasyonu belli olan askorbik asit çözeltilerinin 518 nm’ de absorbans değerleri Bölüm 3.3.2.’ de belirtildiği gibi ölçülmüş ve konsantrasyona karşı absorbans farkı grafiği elde edilmiştir. Şekil 4.8’ de L askorbik asit standart eğrisi verilmiştir.



Şekil 4.8: Askorbik asit standart eğrisi

Bu grafiğe eklenen regresyon eğrisinin denklemi Denklem 4.1’ de verilmiştir. Bu regresyon eğrisinin R^2 değeri 0,9969’ dur. Bu değer 1,000’ e yakın olduğu için Denklem 4.1 askorbik asit konsantrasyonunu hesaplamada kullanılabilir.

$$y = 0,045x - 0,0091 \quad (4.1)$$

Denklem 4.1’ de x g/100 ml cinsinden konsantrasyonu, y ise sıfırlama çözeltisinin absorbansı (L) ile örnek çözeltinin absorbansı (L’) arasındaki farkı (L-L’) temsil etmektedir.

4.2.1 Doğrudan ilaç yükleme

Bölüm 3.3.2.1’ de belirtildiği gibi ilaç yükleme işlemi gerçekleştirilmiştir. İlaç yüklü partikül üretim verimi, ilaç yükleme verimliliği ve ilaç yükleme yüzdesi sırasıyla Denklem 3.1, Denklem 3.2 ve Denklem 3.3 ile hesaplanmıştır.İlaç yüklü partikül üretim verimi Çizelge 4.3’ te verilmiştir.

Çizelge 4.3: İlaç yüklü partikül üretim verimleri.

Askorbik Asit Miktarı (%)	Verim (%)
5	51,34
10	57,05
15	74,23

İlaç yükleme verimliliğin hesaplanmasında, yüklü partiküllerin çözücüde çözdürülerek yüklenen ilaç miktarının belirlendiği yöntem kullanılmıştır. Hem suda hem de asetik asit:formik asit çözeltilerinde 0,5 mg partikül/ml çözelti olacak şekilde partiküller çözdürülmüş ve elde edilen değerler çözücünün asit ve su olduğu durumlar için sırasıyla Çizelge 4.4 ve 4.5’ te verilmiştir.

Çizelge 4.4: Asit çözeltisinde ölçülen ilaç miktarı.

Askorbik Asit Miktarı (%)	Yüklenen Miktar (mg/100ml)	Yükleme Verimliliği (%)	İlaç Yükleme (%)
5	12,5	0,25	19,96
10	27,8	0,28	35,73
15	34,9	0,23	41,11

Çizelge 4.5: Suda ölçülen ilaç miktarı.

Askorbik Asit Miktarı (%)	Yüklenen Miktar (mg/100ml)	Yükleme Verimliliği (%)	İlaç Yükleme (%)
5	20,0	0,40	28,59
10	30,5	0,30	37,86
15	35,8	0,24	41,72

Çizelge 4.3’ te verilen üretim verimleri makul değerlerdir. Ancak Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5’ te bu üretim verimlerinde beklenenden çok daha düşük yükleme verimliliği ve ilaç yükleme yüzdesi olduğu görülmektedir. Bu durumun sebebi ısıya oldukça duyarlı olan ve havadaki oksijenle hızlıca reaksiyona girerek indirgenen askorbik asidin püskürtmeli kurutma sırasında yada kurutma ile ölçüm arasında geçen sürede bozunmuş olmasıdır. Kütle korunumu yasasına göre Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.3’ teki üretim verimleri göz önüne alınarak mikroküreciklere yüklenebilecek miktarlar tahmin edilebilir. Örneğin, verim değerleri ve üretimden elde edilen partikül kütleleri ile hesaplanan tahminlerde %15’lik askorbik çözeltisi ile yapılan üretimde toplam 6,152 g askorbik asidin mikrokürecikler tarafından tutuklanması beklenmektedir. Bu durumda yükleme verimliliği %82,03 olacaktır.

Ancak Çizelge 4.5’ te verilen değer tahmin edilenin oldukça altında kalmıştır. Bu da kurutma işlemi sırasında yada sonrasında ilacın bozulduğu anlamına gelmektedir.

Suda ölçülen ilaç miktarının asitte çözünenden fazla olması, çözünme için beklenen süre içerisinde mikroküreciklerin suda daha çabuk çözünmesinden kaynaklanmaktadır. Bu nedenle, kontrollü ilaç salınımı denemeleri için Çizelge 4.5’ te verilen değerler kullanılmıştır.

4.2.2 Dolaylı ilaç yükleme

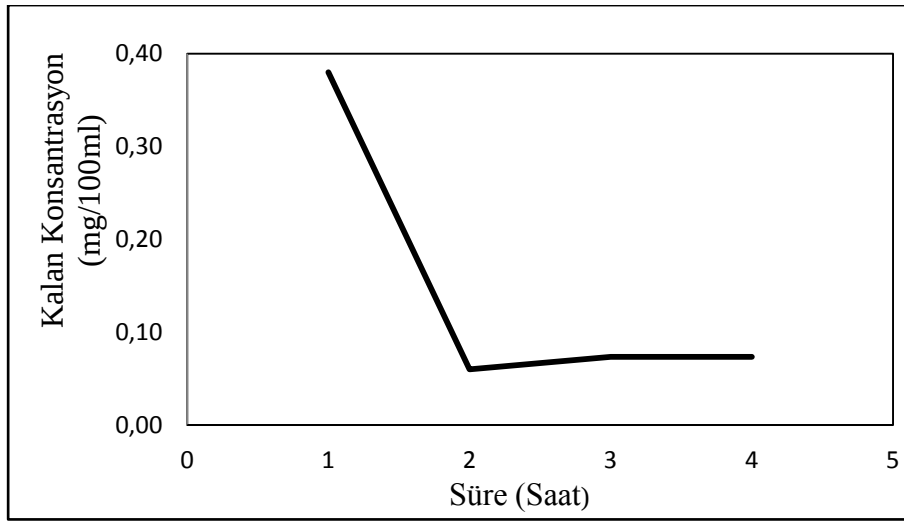
İlk olarak en iyi yüklemeyi elde etmek için gerekli sürenin belirlenmesi amacıyla denemeler yapılmıştır. %5-10-15’ lik askorbik asit çözeltilerine 120 °C’ de 3 ml/dk debi ile hazırlanan boş partiküller 0,5 mg partikül/ml çözelti olacak şekilde eklenmiş ve 25 °C’ de 200 rpm’ de karıştırılmıştır. 1, 2, 3 ve 4. saatler sonunda örnek alınarak UV analizleri yapılmıştır. Okunan absorbans değerleri Denklem 4.1’ de yerine konarak çözeltilerin konsantrasyonu hesaplanmıştır. Hesaplanan değerler, çözeltide kalan yani mikrokürecikler tarafından tutuklanmayan ilaç konsantrasyonunu g/100 ml cinsinden vermektedir. 1, 2, 3 ve 4. saatler sonunda ölçülen absorbans değerleri ile hesaplanan, süpernatantta kalan konsantrasyon miktarı Çizelge 4.6’ da verilmiştir

Çizelge 4.6: Yükleme süresine göre çözeltide kalan konsantrasyon miktarları.

Askorbik Asit Miktarı (%)	Süre (h)	Kalan Konsantrasyon (g/100ml)
5	1	0,380
	2	0,060
	3	0,074
	4	0,074
10	1	4,244
	2	0,125
	3	0,122
	4	0,087
15	1	4,467
	2	0,131
	3	0,191
	4	0,202

Çizelge 4.6’ da görüldüğü gibi ilaç yükleme işlemi ilk iki saat içinde gerçekleşmektedir. % 5, 10 ve 15’ lik askorbik asit çözeltileri ile yüklenen mikroküreciklerin 2. saatten sonra tuttıkları ilacın bir kısmını tekrar çözeltiye saldıkları görülmektedir. Çizelge 4.6’ daki veriler %5, 10, 15’ lik askorbik asit çözeltileri için ayrı ayrı grafiğe dökülmüş ve yükleme süresine karşı kalan konsantrasyon grafikleri sırasıyla Şekil 4.9, Şekil 4.10 ve Şekil 4.11’ de verilmiştir.

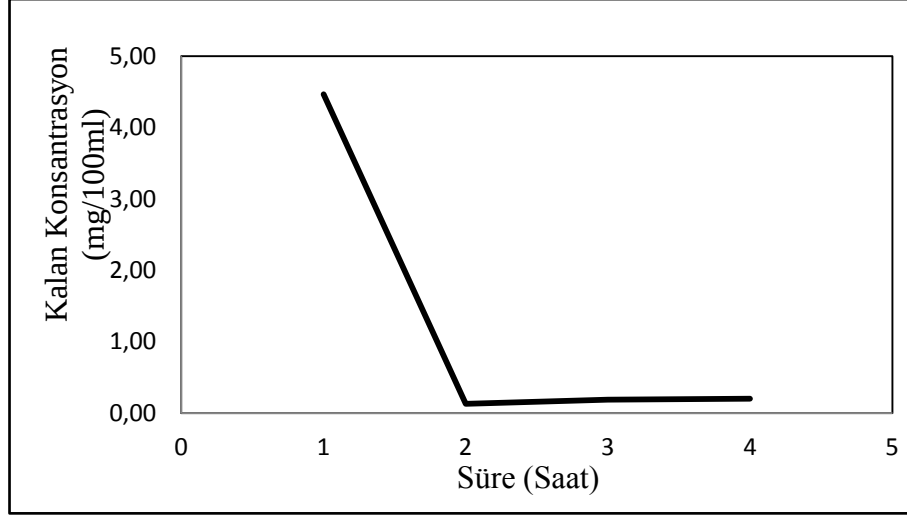
Şekil 4.9, Şekil 4.10 ve Şekil 4.11’ de mikroküreciklere ilaç yükleme işleminin 2 saatte tamamlandığı açıkça görülmektedir. Bu nedenle bundan sonraki denemelerde yükleme süresi 2 saat olarak alınmıştır.



Şekil 4.9: % 5 Askorbik asit çözeltisinde konsantrasyonun zamanla değişimi.



Şekil 4.10: Askorbik asit çözeltisinde konsantrasyonun zamanla değişimi.



Şekil 4.11: % 15 Askorbik asit çözeltisinde konsantrasyonun zamanla değişimi.

Askorbik asit çözeltisine eklenecek partikül miktarının ilaç yüklenmesine etkisi araştırılmış ve %5, 10, 15' lik askorbik asit çözeltilerine 0,5, 1, 1,5 ve 2 mg partikül/ml çözelti olacak şekilde 25 °C' de 200 rpm' de 2 saat boyunca karıştırılmıştır. Yükleme işlemi bittikten sonra mikrokürecik eklenmiş çözeltiler 3000 rpm' de 10 dakika santrifüjlenerek askıdaki katı partiküllerin sıvı fazdan ayrılması sağlanmıştır. 518 nm' de spektrofotometrik ölçüm yapılarak çözeltilerde kalan askorbik asit konsantrasyonu Denklem 4.1 ile hesaplanmış ve başlangıçtaki konsantrasyondan çıkarılarak yüklenen miktar belirlenmiştir. Denklem 3.2 ve Denklem 3.3 kullanılarak yükleme verimliliği ve ilaç yükleme yüzdesi hesaplanmıştır. Çözeltideki partikül konsantrasyonunun yüklenen ilaç miktarı üzerine etkisi yükleme verimliliği ve ilaç yükleme yüzdesi terimleriyle değerlendirilmiş ve bu değerler Çizelge 4.7' de özetlenmiştir.

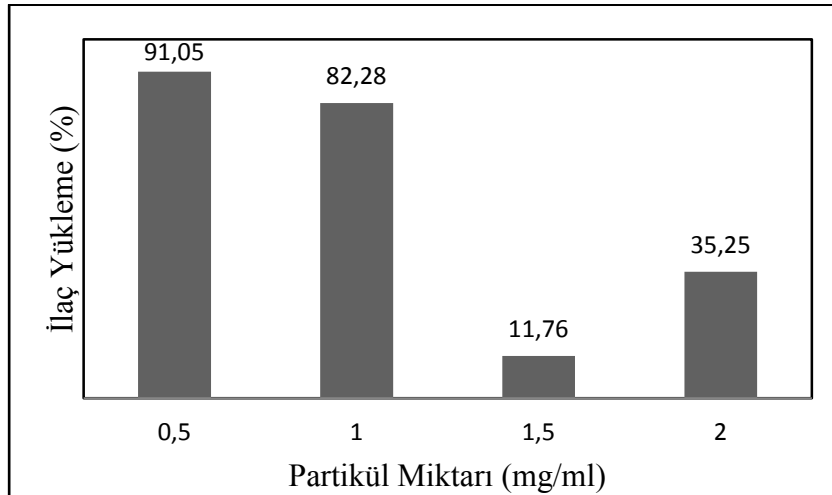
Çizelge 4.7' deki değerlere bakıldığında her üç ilaç konsantrasyonunda da 0,5 mg partikül/ ml çözelti olduğu koşulların daha verimli olduğu görülmektedir. En yüksek yükleme verimliliği değerine kütlege %10' luk askorbik asit çözeltisinde 0,5 mg/ml partikül ile çalışılan koşullarda erişilmiştir. En yüksek ilaç yükleme yüzdesi ise kütlege %15' lik askorbik asit çözeltisinde partikül konsantrasyonunun 0,5 mg/ ml olduğu denemede elde edilmiştir.

%10 ve 15' lik çözeltilerde elde edilen sonuçlar birbirine yakinken % 5' lik askorbik asit çözeltisinde yüklenen ilaç miktarı oldukça düşüktür. Özellikle 0,5 mg/ml partikül konsantrasyonunda bu fark daha açıkça görülmektedir.

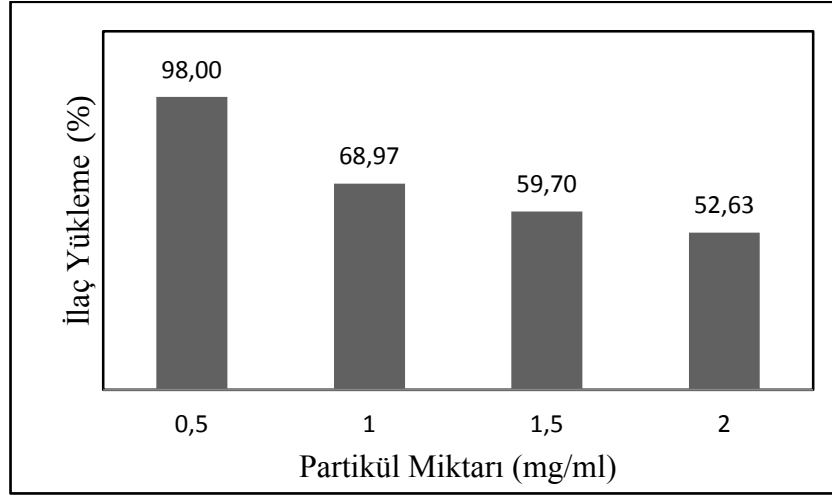
Çizelge 4.7: Partikül miktarının etkisinin incelendiği deney sonuçları.

Askorbik				
Asit Miktarı (%)	Partikül miktarı (mg/ml)	Yüklenen miktar (g/ml)	Yükleme Verimliliği(%)	İlaç Yükleme (%)
5	0,5	0,0051	9,09	91,05
	1	0,0046	8,29	82,28
	1,5	0,0002	0,36	11,76
	2	0,0011	1,94	35,25
10	0,5	0,0244	20,37	98,00
	1	0,0022	1,85	68,97
	1,5	0,0022	1,85	59,70
	2	0,0022	1,85	52,63
15	0,5	0,0346	19,52	98,57
	1	0,0012	0,69	55,00
	1,5	0,0190	10,73	92,68
	2	0,0012	0,69	37,93

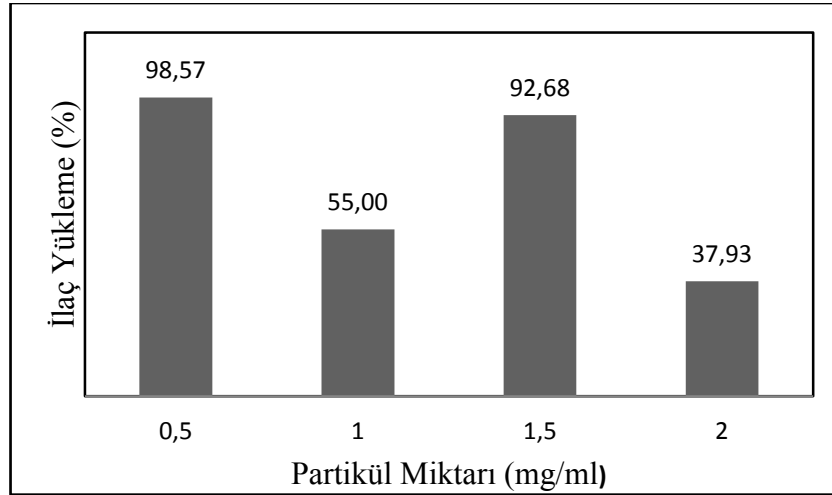
Kütlece %5, 10 ve 15' lik askorbik asit çözeltilerinde partikül miktarına karşı ilaç yükleme yüzdesi grafikleri sırasıyla Şekil 4.12, Şekil 4.13 ve Şekil 4.14' te verilmiştir. Görüldüğü gibi en iyi ilaç yükleme, partikül miktarının 0,5 mg/ml çözelti olduğu koşulda elde edilmiştir. Bu nedenle deneylerin bundan sonraki aşamalarında partikül miktarı 0,5 mg/ml olarak sabit kalmıştır.



Şekil 4.12: %5 Askorbik asit çözeltisinde partikül miktarına karşı ilaç yükleme yüzdesi.



Şekil 4.13: %10 Askorbik asit çözeltisinde partikül miktarına karşı ilaç yükleme yüzdesi.



Şekil 4.14: %15 Askorbik asit çözeltisinde partikül miktarına karşı ilaç yükleme yüzdesi.

En verimli ilaç yükleme kütlege %15' lik askorbik asit çözeltilerinde elde edildiğinden sıcaklığın etkisinin incelendiği denemeler yalnızca bu çözelti ile yapılmıştır. Sıcaklığın mikroküreciklere ilaç yüklenmesi üzerine etkisi incelenmek amacıyla 0,5 mg/ml konsantrasyonunda boş mikrokürecik 20, 25 ve 28 °C' de 200 rpm karıştırma hızı ile 2 saat boyunca ilaç yüklenmiştir. UV analizi ile askorbik asit konsantrasyonu belirlenmiş ve farklı sıcaklıklardaki yüklem işlemlerinin yükleme verimliliği ve ilaç yükleme yüzdesi Çizelge 4.8' de verilmiştir.

Askorbik asit ısıya oldukça duyarlı bir ilaçtır. Askorbik asidin mikroküreciklere yüklenmesi sırasında 28 °C' de bozunmaya uğrayıp uğramadığını görmek amacıyla

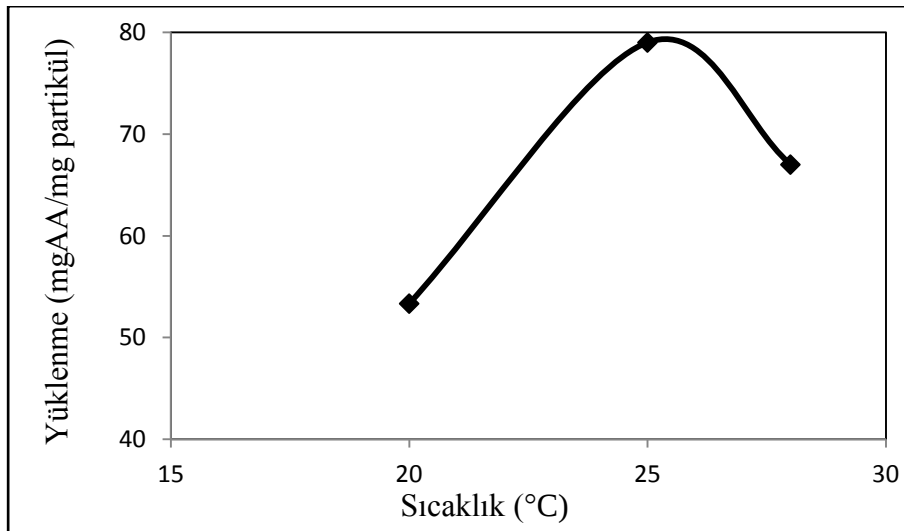
aynı miktar mikrokürecik içermeyen %15' lik askorbik asit çözeltisi de 2 saat boyunca 28 °C' deki su banyosunda bekletilmiştir. Başlangıç anında alınan örnekte konsantrasyonu %14,7 olan çözeltinin 2 saat sonunda konsantrasyonu %13,6' ya düşmüştür. Yani askorbik asit 28 °C' de ısı bozunmaya uğramıştır. Bu nedenle, Çizelge 4.8' de 28 °C' için başlangıç değeri %13,6 kabul edilmiştir. Böylece, başlangıçtaki konsantrasyondan süpernatant konsantrasyonunu çıkararak yapılan yüklenen ilaç miktarı hesaplamalarında süpernatantta ısı bozunma dolayısıyla oluşan azalma miktarı elemine edilmiştir.

Çizelge 4.8: Sıcaklığın etkisinin incelendiği deney sonuçları.

Sıcaklık (°C)	Yüklenen miktar (g/ml)	Yükleme Verimliliği (%)	İlaç Yüklemesi (%)
20	0,027	18,15	98,16
25	0,040	26,93	98,75
28	0,033	22,69	98,52

Sıcaklık etkisinin ilaç yüklemesi üzerine etkisinin daha iyi gösterilmesi için partikül birim kütlesi başına yüklenen ilaç miktarı grafiği Şekil 4.15' te verilmiştir.

Şekil 4.15 ve Çizelge 4.8' e göre ilaç yüklemesi verimliliği ve ilaç yüklemesi yüzdesi için en yüksek değerler 25 °C' de görülmüştür. 25 °C' den sonra yüklenen ilaç miktarındaki düşüş ısı bozunma dolayısıyladır. Bu nedenle, oda sıcaklığı olan 25 °C' nin üzerinde çalışmak askorbik asit için uygun değildir.



Şekil 4.15: Yüklenme miktarının sıcaklık ile değişimi.

Yükleme işlemi sırasında karışma hızının ilacın mikroküreciklere tutunmasına etkisi incelenmiştir. Bu amaçla kütlece %5, 10 ve 15' lik askorbik asit çözeltilerinde 0,5 mg/ml partikül miktarı ile 25 °C sıcaklıkta 2 saat süreyle 150, 200 ve 250 rpm' de yükleme yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.9' da özetlenmiştir.

Çizelge 4.9: Karışma hızının etkisinin incelendiği deney sonuçları.

Askorbik Asit Miktarı (%)	Karışma Hızı (rpm)	Yüklenen miktar (g/ml)	Yükleme Verimliliği (%)	İlaç Yüklemesi (%)
5	150	0,003	4,09	84,10
	200	0,005	9,16	91,09
	250	0,009	13,12	94,61
10	150	0,016	12,70	96,89
	200	0,024	20,37	98,00
	250	0,020	16,30	97,56
15	150	0,024	12,21	98,00
	200	0,035	19,52	98,57
	250	0,013	7,39	96,38

Çizelge 4.9' da görüldüğü gibi karışma hızının ilaç yükleme işlemi üzerine etkisi ilaç konsantrasyonu ile bağıntılıdır. Askorbik asit konsantrasyonunun düşük olduğu %5' lik çözeltide karışma hızı arttıkça mikroküreciklere yüklenen miktar artmıştır. %10 ve 15' lik çözeltilerde ise karışma hızının artması 200 rpm' e kadar ilaç yüklenmesini olumlu etkilerken karışma hızı 250 rpm' e çıkarıldığında yüklenen ilaç miktarlarında azalma görülmüştür. Bu durum, bu konsantrasyonlarda mikroküreciklerin en fazla ilaç tutuklayabileceği miktara 200 rpm' de ulaştığını ve karışma hızının artmasıyla tutunan partiküllerin mikroküreciklerden ayrılmaya başladığını göstermektedir.

Yüklenen ilaç miktarları göz önüne alındığında, Çizelge 4.6, Çizelge 4.7 ve Çizelge 4.9' daki verilere dayanarak en yüksek ilaç yükleme yüzdesine % 15' lik çözelti ile ulaşıldığı görülmüştür. Bu nedenle uygun karışma hızının seçilmesinde %15' lik askorbik asit çözeltisinde elde edilen veriler dikkate alınmış ve 200 rpm en uygun karışma hızı olarak belirlenmiştir.

Son olarak, farklı koşullarda üretilen partiküllere yüklenen ilaç miktarları incelenmiştir. Partikül boyut analizi sonuçlarına en küçük, en büyük ve orta boyutlu partiküller seçilmiştir. 120 °C’ de 3 ve 9 ml/dk besleme debisi, 135 °C’ de 9 ml/dk besleme debisi ve 150 °C’ de 3 ve 9 ml/dk besleme debisi ile kurutularak elde edilen partiküllere yüklenen ilaç miktarları, yükleme verimliliği ve ilaç yükleme yüzdesi Çizelge 4.10’ da verilmiştir.

Çizelge 4.10:Partikül boyutunun etkisinin incelendiği deney sonuçları

Partikül (Sıcaklık- Debi)	Ortalama Partikül Boyutu (µm)	Yüklenen Miktar (g/ml)	Yükleme Verimliliği (%)	İlaç Yükleme (%)
120-3	19,143	0,0356	20,75	98,61
120-9	678,701	0,0156	9,08	96,89
135-9	57,835	0,0089	5,19	94,67
150-3	239,596	0,0133	7,78	96,39
150-9	46,487	0,0111	6,49	95,69

Kontrollü ilaç salınımı çalışmaları için kullanılacak mikroküreciklerin boyutları oldukça önemli bir parametredir. İlacın tutunacağı ve salınacağı yüzey alanı, tutunma miktarı ve salınım hızını önemli ölçüde etkiler. Ancak Çizelge 4.10’ da görüldüğü gibi bu çalışmada mikrokürecik çapı ile ilaç yükleme arasında bağlantı kurulamamıştır. Bu durum ise yukarıda açıklandığı gibi partikül boyut analizi verilerinin aglomerasyonlar dolayısıyla gerçekçi sonuç vermemesi ile açıklanabilir. Şekil 4.3 ve Şekil 4.4’ te görüldüğü gibi giriş sıcaklığının 150 °C, besleme debisinin 3 ve 9 ml/dk olduğu koşullarda üretilen partiküllerin bir kısmı küresel şekillerini yitirmiştir. Şekilsel deformasyon, yüzey özelliklerini değiştirdiğinden partiküllere yüklenen ilaç miktarını etkilemiştir. Şekil 4.2’ de verilen 120 °C’ de 3 ml/dk besleme debisi ile kurutularak elde edilen partiküller düzgün küresel şekillidir ve Çizelge 4.10’ da görüldüğü gibi en yüksek yükleme verimliliği ve ilaç yükleme yüzdesi bu partiküller ile elde edilmiştir.

4.3 Kontrollü İlaç Salınımı

En iyi ilaç yüklemenin %15' lik askorbik asit çözeltisinde elde edilmesi dolayısıyla kontrollü ilaç salınımı denemelerinde % 15' lik askorbik asit çözeltisi ile 120 °C' de 3 ml/dk besleme debisi ile üretilen partiküller kullanılmıştır.

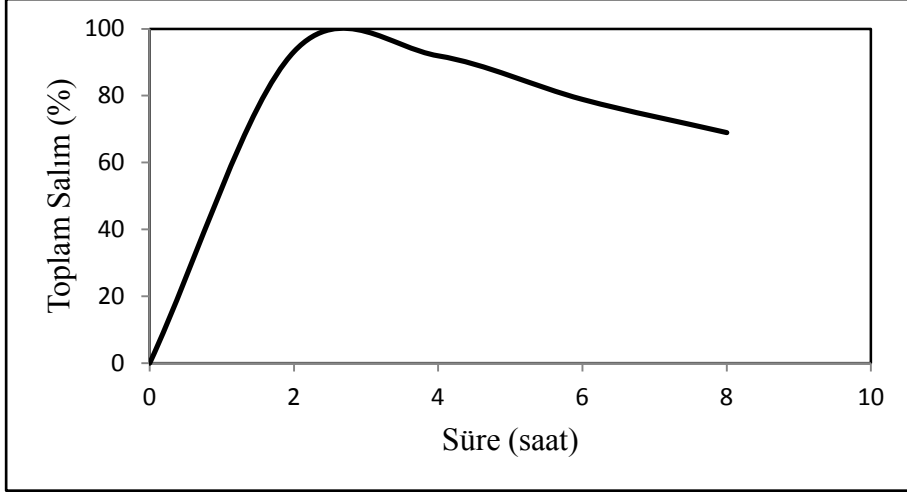
Üç farklı pH ortamında 8 saat boyunca belirli aralıklarla ölçüm yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.11' de verilmiştir.

Çizelge 4.11: Farklı ortamlarda salınan ilaç konsantrasyonları.

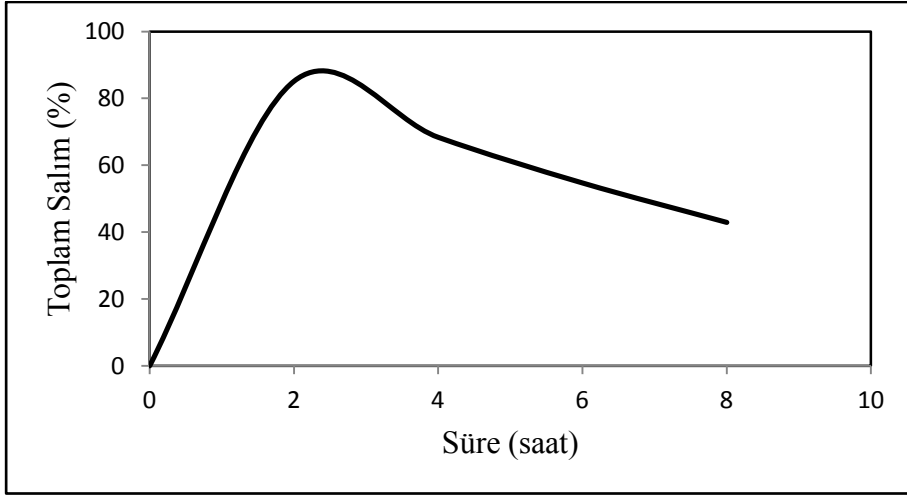
pH	Süre (Saat)	Konsantrasyon (mg/100 ml)
2,8	2	33,36
	4	32,91
	6	28,24
	8	24,69
7,4	2	30,47
	4	24,47
	6	19,58
	8	15,36
9,6	2	24,24
	4	16,69
	6	12,47
	8	7,13

Çizelge 4.11' de görüldüğü gibi ortamdaki ilaç miktarı ilk iki saat içinde artmış, fakat sonra zamanla azalmaya başlamıştır. Çizelge 4.5' te gösterildiği gibi partiküllere yüklenen ilaç miktarı 35,8 mg/100 ml' dir. pH 2,8 tampon çözeltisinde ilk iki saat içinde mikroküreciklere yüklenmiş olan ilacın %93' ü, pH 7,4 tampon çözeltisinde %85'i ve pH 9,6 tampon çözeltisinde ise %67' si ortama salınmıştır. İlaç miktarının zamanla azalmasının nedeni, ortam pH' ı, ışık ve havayla askorbik asidin bozunmasıdır.

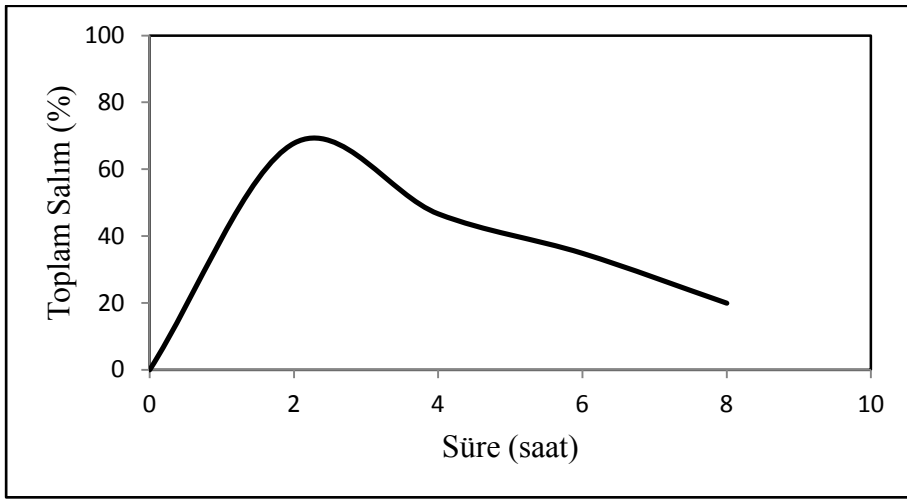
Çizelge 4.11' ve Çizelge 4.5' te verilen değerler ile her pH ortamı için toplam salınım yüzdesinin zaman karşı grafikleri elde edilmiştir. pH 2,8, pH 7,4 ve pH 9,6 tampon çözeltilerinde elde edilen salınım grafiği Şekil 4.16, Şekil 4.17 ve Şekil 4.18' de verilmiştir.



Şekil 4.16: pH 2.8 ortamda ilaç salınımı.



Şekil 4.17: pH 7,4 ortamda ilaç salınımı.



Şekil 4.18: pH 9,6 ortamında ilaç salınımı

Şekil 4.16, Şekil 4.17 ve Şekil 4.18 ‘de görüldüğü gibi ilk iki saat içerisinde mikroküreciklerden ilaç salınımı gerçekleşmekte ve daha sonra ilaç miktarı giderek azalmaktadır. Bu durumda ilaç salınımı için kinetik parametrelerin belirlenmesinde ilk iki saatte elde edilen verilerin kullanılması daha uygun görülmüştür.

İlaç salınım kinetik parametreleri ve ilaç salınım profilinin belirlenmesi için Denklem 4.2’ den yararlanılmıştır.

$$\frac{C_t}{C_0} = kt^n \quad (4.2)$$

Denklem 4.2’ de, C_t herhangi bir t anındaki konsantrasyonu, C_0 başlangıç konsantrasyonunu temsil etmektedir. k ve n ise ilaç taşıma sisteminin karakteristik sabitleridir. Difüzyon üssü olan n , ilaç salınım mekanizmasını belirler. $n < 0,5$ olduğu durumda ilaç salınımı Fick difüzyonu, $n=1$ olduğunda tip II transport ve $0,5 < n < 1$ olduğunda ise düzensiz transport şeklindedir [52].

n değerlerini hesaplamak için Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.11’ deki veriler kullanılarak, ilk iki saat için $\log(C_t/C_0)-\log(t)$ grafiği elde edilmiştir. Grafiğin eğimi n değerini vermektedir. Üç ayrı pH ortamı için n değerleri Çizelge 4.12’ de verilmiştir.

Çizelge 4.12: Difüzyon üssü değerleri.

pH	N
2,8	0,0337
7,4	0,0148
9,6	0,0814

Çizelge 4.12’de de görüldüğü gibi farklı pH’lardaki üç ortamda da n değeri 0,5’ ten küçüktür ve ilaç salınımı Fick difüzyonu ile gerçekleşmiştir.

5.SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmanın ilk aşamasında PEG-PKL-kitosan bazlı mikrokürecik üretimi gerçekleştirilmiştir. Püskürtmeli kurutma yöntemi ile polimer çözeltisi kurutulmuş ve mikrokürecik formunda partiküller elde edilmiştir. FTIR analizi sonuçlarına göre, üretilen mikroküreciklerin yapısında üç polimer de mevcuttur.

Püskürtmeli kurutma ile mikrokürecik üretilmesi işleminde en yüksek verim %65,67 ile giriş sıcaklığının 135 °C ve besleme debisinin 3 ml/dk olduğu operasyon koşullarında elde edilmiştir. Ancak üretim veriminin giriş sıcaklığı ve besleme debisinden etkilenmediği ortaya konmuştur. Püskürtmeli kurutma ile üretilen mikroküreciklerde arzu edilen özellikler düzgün küresel şekilli olmaları, çaplarının küçük olması ve partikül boyut dağılımlarının geniş olmamasıdır. Arzu edilen bu özelliklere sahip partiküller 120 °C giriş sıcaklığı ve 3 ml/dk besleme debisi ile çalışıldığında elde edilmiştir. SEM görüntülerine göre en düzgün kürecikler bu koşullarda üretilmiştir. Bu mikroküreciklerin boyutları da ilaç taşıma sistemlerinde kullanılmasına imkân sağlamaktadır. Diğer çalışma koşullarında elde edilen küreciklerin aglomere olma eğilimi gösterdiği görülmüştür.

İlaç yüklü partiküllerin üretilmesi aşamasında iki yöntem denenmiştir. Doğrudan ilaç yükleme işleminde verim %74' lere kadar çıkmıştır. Ancak yüklü partikülleri çözücüde çözdürürerek yükledikleri askorbik asit miktarının belirlenmesiyle, kütsel olarak verim elde edilse de aktif ilaç miktarının dolaylı yöntemle göre neredeyse 100 kat daha düşük olduğu görülmüştür. Bunun nedeni, kullanılan ilaç etken maddesi askorbik asidin ısıya, ışığa ve havaya karşı oldukça duyarlı olmasıdır. Kurutuma işlemi sırasında sıcak havayla temas eden askorbik asidin büyük oranda bozulduğu düşünülmektedir. Ancak kütle kaybı olmadığı için yüksek verim değerleri elde edilmiştir.

Doğrudan ilaç yükleme deneylerinde kütlece %5, 10, 15' lik 50 g askorbik asit çözeltisi ile 120 gr polimer çözeltisi karıştırılmıştır. Askorbik asit çözeltisi/polimer çözeltisi oranı artırılarak denemeler yapılırsa ilaç yükleme miktarının artacağı düşünülmektedir. Çünkü dolaylı ilaç yükleme deneylerinde mikroküreciklerin çok daha fazla ilaç tutuklayabildiği görülmüştür.

Dolaylı ilaç yükleme yönteminde en yüksek verimin 120°C' de 3 ml/dk besleme debisi ile kurutulmuş partiküllerin 0,5 mg partikül/ml çözelti olacak konsantrasyonda %15' lik askorbik asit çözeltisinde 25 °C' de 200 rpm karışma hızıyla 2 saat yüklenmesiyle elde edildiği görülmüştür. Bu koşullarda partikül birim kütlesi başına yüklenen ilaç miktarı 70 mg askorbik asit/mg partikül, ilaç yükleme yüzdesi 98,6, yükleme verimliliği ise %19,7' dir. İlaç yükleme yüzdesinin bu kadar yüksek olmasının sebebi mikroküreciklerin poröz yapısı olabilir.

İlaç yükleme verimlilik değerleri literatürde görülen değerlerden düşüktür [46,53]. Bunun yükseltilmesi için çapraz bağlayıcı ajan kullanılabilir. Ayrıca denemelerde PEG:PKL:kitosan oranı 1:1:1 olarak sabit tutulmuştur. Bu oran değiştirilerek ilaç yükleme kapasitesi artırılabilir.

Kontrollü ilaç salınımı çalışmalarında ise en yüksek ilaç salınımı %93 ile asidik ortamda ilk iki saat sonunda görülmüştür. Diğer pH ortamlarında da en yüksek salınım değerlerine 2 saat sonunda ulaşılmıştır. 2 saatin ardından ortamlardaki askorbik asit konsantrasyonu zamanla azalmıştır. Bu, salınan askorbik asidin ortamda ışıık, ısı yada havaya maruz kalarak bozunduğu anlamına gelmektedir. En yüksek bozunma alkali ortamda meydana gelmiştir. Bu durum askorbik asidin alkali ortamda daha çabuk bozunduğu bilgisiyle uyumludur.

Bu konudaki çalışmaların devamında başka bir ilaç etken maddeyle yükleme denenerek mikroküreciklerin farklı ilaçları tutuklama kapasitesi belirlenmelidir.

Ayrıca polimer karışımındaki oranlar değiştirilerek polimerde meydana gelecek değişimler gözlenmelidir. Özellikle PKL oranı artırılarak ilaç salınım süresinin uzatılabileceği düşünülmektedir.

İlaç tutuklama kapasitesini arttırmak için çapraz bağlayıcı ajan kullanımı da ileriki aşamalarda denenmesi gereken hususlardan biridir.

Yapılan literatür araştırmalarında daha önce PKL-PEG-kitosan karışımı polimerler üretildiği bilgisine rastlanmamıştır. Bu çalışmaya, PKL, PEG ve kitosan üçlü polimer karışımlarından püskürtmeli kurutma ile düzgün mikrokürecikler elde edilebildiği ve üretilen bu mikroküreciklerin kontrollü ilaç salınımı uygulamalarında kullanılabilir olduğu görölmüştür.

Bu çalışma PKL-PEG-kitosan bazlı mikrokürecik üretimi için ilk adım olmuştur. Bundan sonraki aşamalarda, çalışma koşulları üzerinde yapılacak iyileştirmeler ile daha verimli ve kontrollü ilaç salınımı için daha iyi özelliklere sahip mikroküreciklerin üretimi için çalışılmalıdır.

KAYNAKLAR

- [1] **Dev, A., Binulal, N.S., Anitha, A., Nair, S.V., Furuike, T., Tamura, H., Jayakumar, R.** (2010). Preparation of poly(lactic acid)/chitosan nanoparticles for anti-HIV drug delivery applications, *Carbohydrate Polymers*, **80**, 833-838.
- [2] **Chai, S., Zhang, J., Yang, T., Yuan, J., Cheng, S.** (2010). Thermoresponsive microgel decorated with silica nanoparticles in shell: biomimetic synthesis and drug release application, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **356**, 32-39.
- [3] **Pavelic, Z., Skalko-Basnet, N., Schubert, R.** (2001). Liposomal gels for vaginal drug delivery, *International Journal of Pharmaceutics*, **219**, 139-149.
- [4] **Torchilin, V.P., Lukyanov, A.N., Gao, Z., Papahadjopoulos-Sterberg, B.** (2003). Immunomicelles: targeted pharmaceutical carriers for poorly soluble drugs, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **100**, 6039-6044.
- [5] **Kleinstreuer, C., Zhang, Z., Li, Z.** (2008). Modeling airflow and particle transport/deposition in pulmonary airways. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, **163**, 128-138.
- [6] **Beck-Broichsitter, M., Gauss, J., Packhaeuser, G.B., Lahnstein, K., Schmehl, T., Seeger, W., Kissel, T., Gessler, T.** (2009). Pulmonary drug delivery with aerosolizable nanoparticles in an ex vivo lung model, *International Journal of Pharmaceutics*, **367**, 169-178.
- [7] **Park, S.S., Wexler A.S.** (2008). Size-dependent deposition of particles in the human lung at steady-state breathing, *Journal of Aerosol Science*, **39**, 266-276.
- [8] **Yang, W., Peters, J.I., Williams III, R.O.** (2008). Inhaled nanoparticles—A current review, *International Journal of Pharmaceutics*, **356**, 239-247.
- [9] **Takami, T., Murakami, Y.** (2011). Development of PEG–PLA/PLGA microparticles for pulmonary drug delivery prepared by a novel emulsification technique assisted with amphiphilic block copolymers, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **87**, 433–438.
- [10] **Gaucher, G., Dufresne, M.H., Sant, V.P., Kang, N., Maysinger, D., Leroux, J.C.** (2005). Block copolymer micelles: preparation, characterization and application in drug delivery, *Journal of Controlled Release*, **109**, 169-188.
- [11] **Rattes, A.L.R., Oliveira, W.P.** (2007). Spray drying conditions and encapsulating composition effects on formation and properties of sodium diclofenac microparticles, *Powder Technology*, **171**, 7-14.

- [12] **Ré, M.I.** (1998). Microencapsulation by spray-drying, *Drying Technology*, **16**, 1195-1236.
- [13] **Palmieri, G.F., Bonacucina, G., Martino, P., Martelli, S.** (2001). Spray-Drying a method for microparticulate controlled release systems preparation: advantages and limits. I. Water-soluble drugs, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, **27**, 195-204.
- [14] **Paudel, A., Worku, Z.A., Meeus, J., Guns, S., Van den Mooter, G.** (2013). Manufacturing of solid dispersions of poorly water soluble drugs by spray drying: Formulation and process considerations, *International Journal of Pharmaceutics*, **453**, 253-284.
- [15] **Nanjwade, B. K., Singh, J., Ahmad, K., Manvi, F. V.** (2011). Bio-Pharmaceuticals: Emerging Proniosomes Drug Delivery. In G. P. Felton (Ed.), *Biodegradable Polymers: Processing, Degradation and Applications* (sf. 639-654). New York: Nova Science Publishers, Inc.
- [16] **Murillo-Cremaes, N., López-Periago, A. M., Saurina, J., Roig, A., Domingo, C.** (2013). Nanostructured silica-based drug delivery vehicles for hydrophobic and moisture sensitive drugs. *Journal of Supercritical Fluids*, **73**, 34-42.
- [17] **Vyas, S. P., Gupta, M., Mishra, N., Dube, D.** (2011). Block Copolymer Based Nanostructures: Importance in Drug Delivery. In G. P. Felton (Ed.), *Biodegradable Polymers: Processing, Degradation and Applications* (sf. 273-324). New York: Nova Science Publishers, Inc.
- [18] **Jain, K. K.** (2008). Drug Delivery Systems- An Overview. In K. K. Jain (Ed.), *Methods in Molecular Biology vol. 437: Delivery Systems* (sf. 1-50). Humana Press.
- [19] **Seyfoddin, A., Al-Kassas, R.** (2011). Biodegradable Polymers For Controlled Delivery of Bioactive Macromolecules. In G. P. Felton (Ed.), *Biodegradable Polymers: Proccesing, Degradation and Applications* (sf. 472-499). New York: Nova Science Publishers, Inc.
- [20] **Shojaei, A. H.** (1998). Buccal Mucosa As A Route For Systemic Drug Delivery: A Review. *J Pharm Pharmaceut Sci*, **1**, 15-30.
- [21] **Kwon, I. K., Kim, S. W., Chaterji, S., Vedantham, K., Park, K.** (2008). Drug Delivery Systems. In M. Schwartz (Ed.), *Smart Polymers* (sf. 13-1-13-14). CRC Press.
- [22] **Zanetti Ramos, B. G.** (2011). Biopolymers Employed in Drug Delivery. In S. Kalia, and L. Averous (Eds.), *Biopolymers: Biomedical and Environmental Applications* (sf. 559-574). Scrivener Publishing LLC.
- [23] **Woodruff, M. A., Hutmacher, D. W.** (2010). The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century. *Progress in Polymer Scinece*, **35**, 1217-1256.
- [24] **Chasin, M., Langer, R.** (1990). *Biodegradable Polymers as Drug Delivery Systems*, Marcel Dekker, New York.

- [25] **Ashton, H., Mertz, J.A.M, Harper, J.L., Slepian M.J., Mills, J.L., McGrath, D.V. Vande Geest, J.P.** (2011). Polymeric endoaortic paving: Mechanical, thermoforming and degradation properties of polycaprolactone/polyurethane blends for cardiovascular applications, *Acta Biomaterialia*, **7**, 287-294.
- [26] **Sarasam, A., Madihally, S.V.** (2005). Characterization of chitosan-polycaprolactone blends for tissue engineering applications, *Biomaterials*, **26**, 5500-5508.
- [27] **Neves, S.C., Teixeira, L.S.M., Moroni, L., Reis, R.L., Van Blitterswijk, C.A., Alves, N.M., Karperien, M., Mano, J.F.** (2011). Chitosan/poly (ϵ -caprolactone) blend scaffolds for cartilage repair, *Biomaterials*, **32**, 2068-2079
- [28] **Sahoo, S., Sasmal, A., Nanda, R., Phani, A. R., Nayak, P. L.** (2010). Synthesis of chitosan-polycaprolactone blend for control delivery of ofloxacin drug. *Carbohydrate Polymers*, **79**, 106-113.
- [29] **Gaucher, G., Dufresne, M.H., Sant, V.P., Kang, N., Maysinger, D., Lrroux, J.C.** (2005). Block copolymer micelles preparation, characterization and application in drug delivery, *Journal of Controlled Release*, **109**, 169-188.
- [30] **Url-1** <http://en.wikipedia.org/wiki/Polyethylene_glycol>, alındığı tarih: 8.12.2013.
- [31] **Leuner, C., Dressman, J.** (2000). Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **50**, 47-60.
- [32] **Rumondor, A. C., Taylor, L. S.** (2009). Effect of polymer hygroscopicity on the phase behavior of amorphous solid dispersions in the presence of moisture. *Molecular Pharmaceutics*, **7**, 477-4930.
- [33] **Koide, S. S.** (1998). Chitin-Chitosan: Properties, benefits and risks. *Nutrition Research*, **18**, 1091-1101.
- [34] **Sahoo, D., Nayak, P. L.** (2011). Chitosan: The most valuable derivative of chitin. In S. Kalia, & L. Averous (Eds.), *Biopolymers: Biomedical and Environmental Applications* (sf. 129-166). Scrivener Publishing LLC.
- [35] **Liu, L., Li, Y., Liu, H., Fang, Y.** (2004). Synthesis and characterization of chitosan-graft-polycaprolactone copolymers. *European Polymer Journal*, **40**, 2739-2744.
- [36] **Wu, C.S.** (2005). A comparison of the structure, thermal properties, and biodegradability of polycaprolactone/chitosan and acrylic acid grafted polycaprolactone/chitosan. *Polymer*, **46**, 147-155.
- [37] **Özdemir, E., Nasün-Saygılı, G.** (2009). Püskürtmeli Kurutucuda Disodyum Oktaborat Tetrahidrat Üretimi ve Modelleme Çalışmaları. Kimya Mühendisliği, İstanbul Teknik Üniversitesi.
- [38] **Masters, K.** (1991). *Spray Drying Hanbook* (5. baskı). New York: John Wiley and Sons Inc.

- [39] **Johnston, C. S., Steinberg, F. M., Rucker, R. B.** (2007). Ascorbic Acid. In J. Zempleni, R. B. Rucker, D. B. McCormick, and J. W. Suttie (Eds.), *Handbook of Vitamins* (4. Baskı), (sf. 490-510). CRC Press.
- [40] **Ye, L., Eitenmiller, R. R., Landen, W. O.** (2007). *Vitamin Analysis for the Health and Food Sciences* (2. baskı). CRC Press.
- [41] **Morrissey, P. A., Hill, T. R.** (2011). Vitamins: Vitamin C. In J. W. Fuquay (Ed.) , *Encyclopedia of Dairy Sciences* (2. Baskı), (sf. 667-674). Academic Press.
- [42] **Combs, G. F.** (2011). *Vitamins* (4. baskı). Elsevier Inc.
- [43] **Guilleminault, L., Rigal, E., Carré, P., Hoarau, C.** (2012). Positive skin test to pegylated drug in a patient with anaphylaxis to polyethylene glycol. *Revue Française d'Allergologie*, **52**, 45-57.
- [44] **Ali, M. B., Hahn, E. J., Paek, K.-Y.** (2006). Protective role of Panax ginseng on lipid peroxidation and antioxidant status in polyethylene glycol induced. *Biochemical Engineering Journal*, **32**, 143-148.
- [45] **Malheiro, V. N., Caridade, S. G., Alves, N. M., Mano, J. F.** (2010). New poly(e-caprolactone)/chitosan blend fibers for tissue engineering applications. *Acta Biomaterialia*, **6**, 418-428.
- [46] **Shendge, R. S., Sayyad, F. J.** (2013). Formulation development and evaluation of colonic drug delivery system of budesonide microspheres by using spray drying technique. *Journal of Pharmacy Research*, **6**, 456-461.
- [47] **Alhalaweh, A., Andersson, S., Velaga, S. P.** (2009). Preparation of zolmitriptan–chitosan microparticles by spray drying for nasal delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **38**, 206–214.
- [48] **Esposito, E., Cervellati, F., Menegatti, E., Nastruzzi, C., Cortesi, R.** (2002). Spray dried Eudragit microparticles as encapsulation devices for vitamin C. *International Journal of Pharmaceutics*, **242**, 329–334.
- [49] **Maria, C., Mihaela, M., Romica, C.** (2009). Spectrophotometric evaluation for the stability of the ascorbic acid from the sweet briar extract (*rosa canina*) and white sea buckthorn (*hyppophae rhamnoides*). *Internation symposium Euro* , (sf. 35-40).
- [50] **Elzein, T., Nasser-Eddine, M., Delaite, C., Bistae, S., Dumas, P.**(2004). FTIR study of polycaprolactone chain organization at interfaces. *Journal of Colloid and Interface Science*, **273**, 381-387.
- [51] **George, T.S, Senthil Guru, K.S., Vasanthi, N.S., Kannan, K.P.** (2011). Extraction, purification and characterization of chitosan from endophytic fungi isolated from medicinal plants, *World Journal of Science and Technology*,**4**, 43-48.
- [52] **Yu, H., Xiao, C.** (2008). Synthesis and properties of novel hydrogels from oxidized konjacglucomannan crosslinked gelatin for in vitro drug delivery, *Carbohydrate Polymers*, **72**, 479-489.

- [53] **Stevanovic, M., Savic, J., Jordovic, B., Uskokovic, D.** (2007). Fabrication, in vitro degradation and the release behaviours of poly(dl-lactide-co-glycolide) nanospheres containing ascorbic acid, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **59**, 215-223.

ÖZGEÇMİŞ



Ad Soyad:Elif Nur HAYTA

Doğum Yeri ve Tarihi: İzmir/ 27.09.1988

E-Posta: elifnurhayta@gmail.com

Lisans: Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomühendislik Bölümü 2010