



T.C.  
KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
İLERİ TEKNOLOJİLER ANABİLİM DALI

**DOKSİSİKLİN-GENTAMİSİN KOMBİNASYONU  
YÜKLÜ MİKROKÜRE HAZIRLANMASI VE  
KARAKTERİZASYONU**

**İSMİGÜL ÜNLÜEL**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**KIRŞEHİR / 2020**



T.C.  
KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
İLERİ TEKNOLOJİLER ANABİLİM DALI

**DOKSİSİKLİN-GENTAMİSİN KOMBİNASYONU  
YÜKLÜ MİKROKÜRE HAZIRLANMASI VE  
KARAKTERİZASYONU**

**İSMİGÜL ÜNLÜEL**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**  
Dr. Öğr. Üyesi Özlem AYDIN

**KIRŞEHİR / 2020**

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

İSMİGÜL ÜNLÜEL



20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi’nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.



## ÖNSÖZ

Yüksek Lisansa başlamamda ve yüksek lisans ders sürecinde kendisini tanıdığım günden bu yana gösterdiği sakin ve sabırlı hali ile her zaman bana örnek olmasının yanı sıra bir bilim adamının nasıl çalışması gerektiğini kendisinden öğrendiğim ve öğrencisi olmaktan gurur duyduğum değerli danışmanım Dr. Özlem AYDIN'a teşekkürü bir borç bilirim. Tezimin her aşamasında sorularıyla tezin şekillenmesinde ve nihai hale gelmesinde katkıları olan değerli jüri üyelerim Doç. Dr. Mecit Halil ÖZTOP ve Doç. Dr. İlkay AÇIKGÖZ ERKAYA'ya teşekkürlerimi içtenlikle sunarım.

Çalışmam süresince desteklerini esirgemeyen, tez yazma sürecimde sorularına verdikleri cevaplar ile bana destek olan Dr. Meltem BAYRAKTAR ve Araş. Gör. Selen GÜNER'e teşekkür ederim.

Tezimi, aileme ithaf ederim.

Ağustos, 2020

İSMİGÜL ÜNLÜEL

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖNSÖZ.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
TABLO LİSTESİ.....	ix
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ.....	x
ÖZET.....	xi
ABSTRACT .....	xiii
<b>1.GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
1.1.Amaç.....	2
1.2.Önem.....	3
<b>2. GENEL KISIMLAR.....</b>	<b>4</b>
2.1.Geleneksel İlaç Taşıyıcıları.....	4
2.2.İlaç Salım Sistemleri.....	4
2.2.1.Kontrollü İlaç Salım Sistemleri.....	4
2.2.2. Polimer Esaslı İlaç Salım Sistemleri .....	8
2.2.3. İlaç Salım Sistemlerinde Polimer Seçimi.....	9
2.2.3. Polimer Çeşitleri.....	9
2.2.4.1.Doğal Polimerler.....	9
2.2.4.2.Sentetik Polimerler.....	10
2.2.4.2.1.Polieterler.....	10
2.2.4.2.2.Poliesterler.....	10
2.3.Enkapsülasyon.....	11
2.3.1.Kullanılan Kaplama Materyalleri.....	12
2.4. Aktif Bileşenlerin Kontrollü Salımı için Polimerik Mikro- ve Nanoparçacıklar.....	12
2.4.1.Mikro ve Nanopolimer Parçacıkları Yapım Formülasyonları.....	14
2.4.2.En Yaygın Kullanılan Teknikler.....	15
2.4.2.1. Termal Faz Ayırma (Koservasyon).....	16
2.4.2.2. Eriyik Dispersiyon.....	16
2.4.2.3. Çözücü Buharlaştırma Tekniği.....	17
2.4.2.4. Sprey Kurutma.....	18
2.4.2.5. Sprey Dondurma ve Sprey Soğutma.....	18

2.5. Çözücü Buharlaştırma Tekniğinin Esasları ve Mikro/Nanoküre Yapımında Kullanılması.....	18
2.6. Mikro/Nanoküre Yapımında Kullanılan Malzemeler.....	23
2.6.1. Poli-ε-kaprolakton (PCL).....	23
2.6.2. Doksisisiklin.....	26
2.6.3. Gentamisin Sülfat.....	27
2.7. Gıda Kaynaklı Enfeksiyonlar.....	28
2.7.1. Brusella.....	28
2.8. :Gelecek Çalışmalar.....	30
<b>3.MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>31</b>
3.1. Materyal.....	31
3.2. Yöntem.....	31
3.2.1. Boş Mikrokürelerin Hazırlanması.....	31
3.2.2. İlaçlı Mikrokürelerin Hazırlanması.....	32
3.2.3. İlaçlı Nanokürelerin Hazırlanması.....	33
3.3. Mikro/Nanokürelerin Karakterizasyonu.....	34
3.3.1. Parçacık Büyüklüğü Ölçümü.....	34
3.3.2. Mikroskopik İncelemeler.....	34
3.3.3. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Çalışmaları.....	34
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>35</b>
4.1. Boş Mikrokürelerin Hazırlanması ve Optimizasyonu.....	35
4.2. Doksisisiklin ve Doksisisiklin&Gentamisin Yüklü Mikro/Nanokürelerin Hazırlanması ve Optimizasyonu.....	35
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....</b>	<b>48</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>53</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>68</b>

## ŞEKİL LİSTESİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Şekil 2.1.</b> Kontrollü ilaç iletim sistemlerinin tasarımında önemli olan faktörler	<b>7</b>
<b>Şekil 2.2.</b> Uygulamadan sonra ilacın plazma konsantrasyonu.....	<b>8</b>
<b>Şekil 2.3</b> Mikroparçacık Yapılarına ait Çeşitler 1. Katı çekirdekli mikrokapsül 2. Katı olmayan çekirdekli mikrokapsül 3. Katı mikro- ve nano alanlı mikrokapsül 4. Katı olmayan mikro- ve nano alanlı mikrokapsül 5. Polimerik matriks ile aktif bileşen karışımı.....	<b>12</b>
<b>Şekil 2.4</b> Mikroparçacık yapılarına ait çeşitler.....	<b>14</b>
<b>Şekil 2.5.</b> Enkapsüle edilmiş aktif bileşen içeren mikroparçacık.....	<b>16</b>
<b>Şekil 2.6</b> Çözücü buharlaştırma metodu (PVA, polivinil alkol).....	<b>19</b>
<b>Şekil 2.7.</b> PCL ve onun $\epsilon$ -polikaprolakton olarak adlandırılan halkalı formdaki monomerinin kimyasal yapısı.....	<b>25</b>
<b>Şekil 2.8.</b> Doksisisiklin hyclate'in kimyasal yapısı.....	<b>26</b>
<b>Şekil 2.9.</b> Gentamisin sülfat'ın kimyasal yapısı.....	<b>27</b>
<b>Şekil 3.1.</b> Mikroküre hazırlanma aşamaları.....	<b>32</b>
<b>Şekil 3.2.</b> Nanoküre hazırlanma aşamaları.....	<b>33</b>
<b>Şekil 4.1.</b> A) % 2 PVA ile hazırlanmış boş mikrokürelere (10X büyütme) B) % 4 PVA ile hazırlanmış boş mikrokürelere ait mikroskop görüntüleri (40X büyütme).....	<b>35</b>
<b>Şekil 4.2.</b> % 4 PVA ile hazırlanmış A) Doksisisiklin-Gentamisin kombinasyonu B) Doksisisiklin yüklü mikrokürelere ait mikroskop görüntüleri (10X büyütme).....	<b>36</b>
<b>Şekil 4.3.</b> 7200 rpm'lik karıştırma uygulanmış, % 2 PVA ile hazırlanmış A) Doksisisiklin B) Doksisisiklin-Gentamisin kombinasyonu yüklü; % 4 PVA ile hazırlanmış C) Doksisisiklin D) Doksisisiklin-Gentamisin kombinasyonu yüklü parçacıklara ait mikroskop görüntüleri (100X büyütme).....	<b>37</b>
<b>Şekil 4.4.</b> % 2 PVA ile hazırlanmış doksisisiklin yüklü parçacıklar (sırasıyla 1000X, 500X, 250X büyütme).....	<b>40</b>
<b>Şekil 4.5.</b> % 2 PVA ile hazırlanmış doksisisiklin+gentamisin yüklü parçacıklar (sırasıyla 1000X, 500X, 250X büyütme).....	<b>40</b>

<b>Şekil 4.6.</b>	% 4 PVA ile hazırlanmış doksisisiklin yüklü parçacıklar (sırasıyla 1000X, 500X, 250X büyütme).....	<b>41</b>
<b>Şekil 4.7.</b>	% 4 PVA ile hazırlanmış doksisisiklin+gentamisin yüklü parçacıklar (sırasıyla 2000X, 500X, 250X büyütme).....	<b>41</b>
<b>Şekil 4.8.</b>	% 2 PVA ile hazırlanmış, homojenizatörde 3400 rpm ile karıştırılmış doksisisiklin yüklü parçacıklar (5000X, 2000X, 1000X).	<b>42</b>
<b>Şekil 4.9.</b>	% 2 PVA ile hazırlanmış, homojenizatörde 7200 rpm ile karıştırılmış doksisisiklin yüklü parçacıklar (5000X, 2000X, 1000X)	<b>42</b>
<b>Şekil 4.10.</b>	% 2 PVA ile hazırlanmış, homojenizatörde 3400 rpm ile karıştırılmış doksisisiklin-gentamisin yüklü parçacıklar (5000X, 2000X, 1000X).....	<b>43</b>
<b>Şekil 4.11.</b>	% 2 PVA ile hazırlanmış, homojenizatörde 7200 rpm ile karıştırılmış doksisisiklin-gentamisin yüklü parçacıklar (5000x, 2000x, 1000x).....	<b>44</b>
<b>Şekil 4.12.</b>	% 4 PVA ile hazırlanmış, homojenizatörde 3400 rpm ile karıştırılmış doksisisiklin yüklü parçacıklar (5000x, 2000x, 1000x)	<b>44</b>
<b>Şekil 4.13.</b>	% 4 PVA ile hazırlanmış, homojenizatörde 7200 rpm ile karıştırılmış doksisisiklin yüklü parçacıklar (5000x, 2000x, 1000x)	<b>45</b>
<b>Şekil 4.14.</b>	% 4 PVA ile hazırlanmış, homojenizatörde 3400 rpm ile karıştırılmış doksisisiklin-gentamisin yüklü parçacıklar (5000x, 2000x, 1000x).....	<b>45</b>
<b>Şekil 4.15.</b>	% 4 PVA ile hazırlanmış, homojenizatörde 7200 rpm ile karıştırılmış doksisisiklin-gentamisin yüklü parçacıklar (5000x, 2000x, 1000x).....	<b>46</b>

## TABLO LİSTESİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 4.1.</b> Homojenizatör kullanılmadan hazırlanmış parçacıkların boyutları...	<b>37</b>
<b>Tablo 4.2.</b> Homojenizatör kullanılarak hazırlanmış parçacıkların boyutları.....	<b>38</b>



## SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
$\epsilon$	: Epsilon
w/o/w	: Su içinde yağ içinde su emülsiyonu
o/w	: Su içinde yağ emülsiyonu
o/o	: Yağ içinde yağ emülsiyonu
w/o	: Yağ içinde su emülsiyonu

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
<b>PCL</b>	: Poli- $\epsilon$ -kaprolakton
<b>PVA</b>	: Polivinil Alkol
<b>PEG</b>	: Polietilen Glikol
<b>PEO</b>	: Polietilenoksit
<b>PLA</b>	: Polilaktid
<b>PLLA</b>	: Poli(L-laktid)
<b>PDLLA</b>	: Poli(D-laktid) ve Poli(D,L,-laktid)
<b>PGA</b>	: Poliglükolid veya Poli(glikolik asit)
<b>PLGA</b>	: Poli(laktik asit-koglikolik asit)
<b>WHO</b>	: Dünya Sağlık Örgütü
<b>FDA</b>	: Gıda ve İlaç Dairesi
<b>EPA</b>	: Çevre Koruma Ajansı
<b>DSNC</b>	: Disodium Norcantharidate
<b>BSA</b>	: Bovine Serum Albumin- Sığır Serum Albumini
<b>MMP</b>	: Matriks Metalloproteinaz
<b>HIE</b>	: Hipoksik-İskemik Ensefalopati
<b>SPAN</b>	: Parçacık Boyutu Dağılım Genişliği
<b>SEM</b>	: Taramalı Elektron Mikroskopisi

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

## DOKSİSİKLİN-GENTAMİSİN KOMBİNASYONU YÜKLÜ MİKROKÜRE HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONU

İSMİGÜL ÜNLÜEL

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
İleri Teknolojiler Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Özlem AYDIN

Kontrollü ilaç salım sistemleri son yıllarda hak ettiği ilgiyi fazlasıyla görmektedir. Bu sebeple yapılan çalışmalar her geçen gün artmaktadır. Gıda kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde antibiyotikler kullanılmaktadır. Antibiyotiklerin etkinliğini arttırmak amacıyla enkapsüle edilmesi giderek yaygınlaşmıştır. Bu amaçla uzun süreli salıma uygun oluşu, yüksek biyoyumluluğu ve bozunma esnasında asidik ortam oluşturmaması sebebiyle poli-ε-kaprolakton (PCL) taşıyıcı olarak tercih edilmiştir. Küçük boyutlu parçacıkların elde edilebilmesi için sürfaktan olarak polivinil alkol (PVA) kullanılmıştır. Çalışmada, doksisisiklin tek başına ve doksisisiklin ile gentamisin birlikte kombine edilmek suretiyle tekli emülsiyon-çözücü buharlaştırma tekniği kullanılarak enkapsülasyon gerçekleştirilmiştir. Yapılan denemeler sonucu PVA konsantrasyonu % 2 ve % 4 olarak belirlenmiştir. Emülsiyon hem homojenizatör kullanılarak, hem de kullanılmadan hazırlanmış, böylece parçacık boyutlarının karşılaştırılması amaçlanmıştır. Homojenizatörde 3400 ve 7200 rpm'lik karıştırma hızları kullanılmıştır. Doksisisiklin tek başına ve doksisisiklin ile gentamisin beraber olacak şekilde yüklenen parçacıkların yüzey morfolojisi ve boyut özellikleri incelenmiştir. Buna göre yüzey, morfolojik ve parçacık boyutları bakımından

homojenizatör kullanmadan hazırlanan mikrokürelerde % 4 PVA ile hazırlanan, homojenizatör kullanılarak hazırlanan mikrokürelerde ise % 2 PVA ile hazırlananlar gelecek çalışmalarda kullanılabilir özelliktedir. Buna ilaveten homojenizatörde 3400 rpm'lik karıştırma hızının uygulanabilir olduğu tespit edilmiştir.

Ağustos 2020, 85 Sayfa

**Anahtar Kelimeler:** doksisisiklin, gentamisin, poli-ε-kaprolakton, enkapsülasyon, mikroküre



## **ABSTRACT**

**M.Sc. THESIS**

# **DOXYCYCLINE-GENTAMICIN COMBINATION LOADED MICROSPHERE PREPARATION AND CHARACTERIZATION**

**İSMİGÜL ÜNLÜEL**

**Kırsehir Ahi Evran University**

**Graduate School of Natural and Applied Sciences**

**Advanced Technologies Department**

**Supervisor: Assist. Prof. Dr. Özlem AYDIN**

Controlled drug delivery systems have received the attention they deserve in recent years. For this reason, studies are increasing day by day. Antibiotics are used in the treatment of foodborne infections. It has become increasingly common to encapsulate antibiotics to increase their effectiveness. For this purpose, poly- $\epsilon$ -caprolactone (PCL) is preferred as a carrier due to its suitability for long-term release, high biocompatibility and not producing an acidic environment during degradation. Polyvinyl alcohol (PVA) is used as surfactant in order to obtain small size particles. In the study, encapsulation is performed using a single emulsion-solvent evaporation technique by doxycycline alone and combining doxycycline and gentamicin together. As a result of the experiments, the PVA concentration is determined as 2 % and 4 %. The emulsion is prepared both with and without a homogenizer, so it is aimed to compare the size of particles. Stirring rate of 3400 and 7200 rpm are used in the homogenizer. Surface morphology and size properties of the particles loaded with doxycycline alone and doxycycline and gentamicin are investigated. Accordingly, in terms of surface, morphology and particle sizes, microspheres prepared with 4 % PVA without using a homogenizer, and microspheres prepared with 2 % PVA using a homogenizer, are suitable to be used in future studies. In addition, it is accepted

that stirring rate of 3400 rpm is applicable for preparing microspheres by using the homogenizer.

August 2020, 85 Pages.

**Keywords:** doxycycline, gentamicin, poly- $\epsilon$ -caprolactone, encapsulation, microsphere



## 1. GİRİŞ

Kontrollü salım sistemleri 80'lerden itibaren özellikle eczacılık alanında kullanılmaya başlanmıştır. Gıda, kimya, ziraat gibi alanlarda da yakın zaman içinde hızla yaygınlaşmaya başlamıştır. Kullanılan ilacın yan etkilerini ortadan kaldırmak, hedeflenen doku dışında başka bölgelere gitmesini önlemek, ilacın stabilitesini korumak için tercih edilirler. Ayrıca, kan dolaşımı olmayan bölgelere kan yoluyla ilacın ulaşması mümkün olmadığından lokal ilaç tedavisi her zaman daha çok tercih edilmektedir. En yaygın olanları ise deri hastalıklarında transdermal adı verilen salım sistemleri ve kırık hastalıklarında ise intraartiküler enjeksiyon yapılarak direkt ekleme ilaç verilmesi yoluyla olmaktadır. Kullanılacak ilacın tedavi esnasında var olan etkinliğini korumak ve doz ayarlamasını sadece bir kere yapmak kontrollü salım sayesinde mümkün olmaktadır. İlacın kandaki seviyesi tedavi boyunca aynı düzeyde tutulmuş olunacağından, geleneksel tedavi sırasında kandaki ilaç seviyesinin sık değişmesine bağlı olarak ortaya çıkan değişimlerin ve olumsuzlukların önlenmesi sağlanacaktır. Gıdalarda da enkapsülasyon tekniği çok yaygınlaşmıştır. Gıda bileşenleri, probiyotikler, aroma bileşenleri gibi özellikle yapıları çabuk bozulmaya yatkın bileşenler koruma amacıyla enkapsüle edilmektedir.

Enkapsülasyon, genel anlam olarak bir aktif bileşenin uygun bir kaplama materyali tarafından kaplanması suretiyle koruma altına alınmasıdır. Aktif bileşenin aynı zamanda uygun koşullarda ve istenilen dozda ortama salınması amacıyla yapılmaktadır. Ancak kaplanacak aktif bileşenin hangi malzeme tarafından kaplanması gerektiği ve de hangi işlem basamaklarına göre kaplanacağı önemlidir. Kaplama için kullanılan malzemenin biyoyumlu ve biyobozunur olması yanı sıra aktif bileşenin stabilitesini sağlaması bakımından da önemlidir. Ayrıca kaplanan malzemenin (aktif bileşen) de istenilen düzeyde (dozda) ortama çıkışını sağlaması önemlidir. Kaplanan malzemenin ortama çıkışı yani salımı difüzyonla gerçekleşmektedir. Difüzyon, bir maddenin çok yoğun olduğu formülasyon ortamından daha az bulunduğu veya hiç bulunmadığı ortama yayılmasıdır. Moleküllerin difüzyonu kinetik bir olaydır ve Fick Kanunları ile matematiksel olarak ifade edilir. İlaç salım sistemlerinde polimer tarafından enkapsüle edilmiş malzemelerin salımının temeli difüzyona dayanmaktadır. Salım mekanizmasını etkileyen faktörler

difüzyon ile beraber başka mekanizmaların da devreye girmesini sağlamaktadır. İlaç çözünürlüğü, ilacın hidrofobik veya hidrofilik olması gibi faktörler de ilacın salımında difüzyonla birlikte söz sahibi olmaktadır. O zaman çözünürlük (dissolution) ile birlikte difüzyon beraber salım davranışını (profili) etkilediğinden hapsedilen aktif bileşenin salımı difüzyon-çözünürlük ile gerçekleşmektedir. Matematiksel olarak salım davranışı difüzyon ile beraber çözünürlük esasına dayalı formül ve denklemler vasıtasıyla ifade edilmektedir.

## 1.1. Amaç

Çalışmanın amacı; stabil özelliği olan, istenilen boyutta ve morfolojide, boyut dağılımı homojen antibiyotik yüklü mikroküre ve/veya nanoküre eldesi ve optimizasyonudur. Optimizasyon sonucu elde edilen bu parçacıklardan beklenen daha sonraki çalışmalarda da kullanılabilir olmasıdır. Bu sebeple elde edilecek parçacıkların öncelikle boyut dağılımı önemlidir. Boyut dağılımı optimize edildikten sonra gelecekteki diğer çalışmalarda kullanılabilir olacaktır. Bu sebeple de hazırlanan parçacıkların mikro- ya da nanoküre olma durumu değerlendirilecektir.

Burada hazırlanan antibiyotik yüklü parçacıkların belirlenmiş kriterlere göre birkaç tanesi seçilip kontrollü salım sistemi denemelerinde kullanılacaktır. Bu bağlamda bu çalışma gelecek çalışmaların alt yapısı niteliğindedir. Bu amaçla hazırlanmış olan parçacıklar ile kontrollü salım yaptırılacağı için bunların stabilizasyonunun sağlanması gerekmektedir. Bu sebeple seçilen polimer de uzun süreli salıma uygun olmalıdır. Bu yüzden geç bozunan ve de hidrofobik özellikte olan poli-ε-kaprolakton (PCL) tercih edilmiştir. Boyut dağılımını etkileyen faktörlerden bir diğeri de kullanılan polimerin molekül ağırlığıdır. Molekül ağırlığı düşük olduğunda küçük boyutlu mikroparçacık elde etmemiz mümkün olabilmektedir. Ayrıca seçmiş olduğumuz emülsifiye edici ajan da boyut dağılımı için önemli bir parametredir. PCL ile hazırlanmış mikroküreler polivinilalkol (PVA) kullanıldığında daha küçük hazırlanabilmiştir ve literatür de bu yönde sonuçları desteklemektedir (Kim ve diğ., 2005). PCL'un hidrofobik olması ve kullanılacak antibiyotiklerin (doksisisiklin ve gentamisin) suda çözünür olmaları nedeniyle tekli emülsiyon tekniği antibiyotik yüklü PCL mikroküreler hazırlamak için en uygun tekniktir. Emülsiyon oluşturmada karıştırma hızı da önemlidir. Emülsiyon damlacıklarının boyutlarını karıştırma hızı etkilemektedir. Bu çalışmada yüzey morfolojisi ve parçacık boyutu homojen dağılım gösteren doksisisiklin ve doksisisiklin-gentamisin kombinasyonu yüklü PCL mikro/nanoküre eldesi amaçlanmıştır.

Gıda kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde antibiyotikler kullanılmaktadır. Bunlardan en çok sorun oluşturanlardan biri *Brucella* spp. türünden kaynaklanan enfeksiyonlardır. Bu enfeksiyonların tedavisinde karşılaşılan zorluklar nedeniyle yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle öncelikle hedeflenen istenilen düzeyde dozun salındığı mikro/nanokürelerin eldesidir.

*Brucella* enfeksiyonu tedavisinde kullanılan iki antibiyotiğin (doksisisiklin ve gentamisin) enkapsülasyonu yapılarak bu elde edilen parçacıkların karakterize ve optimize edilmesi ve bundan sonra gelecek çalışmalarda kullanılması amaçlanmıştır. O nedenle çok sayıda farklı özellikli parçacık denemeleri yapılarak uygun özellikli parçacık tespiti hedeflenmiştir.

## **1.2. Önem**

Çalışmadaki biyoaktif malzeme olan iki çeşit antibiyotik klinikte farklı amaçlar için kullanılmaktadır. Çalışmada doksisisiklin ve doksisisiklin-gentamisin kombinasyonu olan biyoaktif malzeme enkapsüle edilerek mikro/nanoküreler yapılmıştır. Burada benzer özellik gösteren antibiyotikleri tek başına veya birlikte kullanmak yani sahip oldukları özellikleri birleştirmek ve etki alanlarını değiştirmek ve genişletmek mümkün olabilecektir. Ayrıca enkapsülasyon ile stabilitesini arttırmak hem bilimsel hem de ekonomik olarak katkı sağlamaktadır.

Elde edilen mikrokürelerden istenen özelliğe ve hedefe uygun olarak seçilenler, salım sisteminde kullanılacağı için, gelecek çalışmalar açısından oldukça önemlidir. Burada canlı dışı koşullarda (in vitro) optimize edilmesi sağlanacaktır. Bu çalışmadan elde edilebilecek en uygun özellikli parçacık veya parçacıklar tespit edilecektir. Boyut ve yüzey morfolojisi değerlendirmeleri yapılacak ve elde edilen parçacıkların mikroküre ve/veya nanoküre olma durumları değerlendirilecektir. Zoonotik bir hastalık olan bruselloz, tedavilere direnç göstermektedir. Yineleyen ve kronik formları bulunan bu hastalığın henüz net ve kesin bir tedavisi bulunamamıştır. Burada enkapsüle edilmiş doksisisiklin ve doksisisiklin-gentamisin kombinasyonu mikro/nanoküreler ile gelecekte bu tedaviye alternatif olma potansiyelinin araştırılması bakımından önemlidir.

## **2. GENEL KISIMLAR**

### **2.1. Geleneksel İlaç Taşıyıcıları**

Geleneksel ilaç tedavilerinde ilaçların periyodik uygulamaları haplar, intravenöz infüzyonlar, aerosoller, vb formlarda gerçekleşmektedir. Bu yöntemlerin asıl dezavantajları kontrolsüz ve hedefsiz olmalarıdır. İlaç, hedef bölgesine ulaşana kadar kan dolaşımı vasıtasıyla tüm vücuda dağılarak, vücudun farklı yerlerinde toksik seviyelere ulaşabilmektedir. Metabolizma nedeniyle ilk olarak keskin konsantrasyon pikleri görülürken, atılımla birlikte ani düşüş görülmektedir. Terapötik (tedavi edici) doz için ikinci bir dozun gerekliliği yetersiz, maliyetli ve toksisite sebebiyle yan etki riskleri taşımaktadır. Bu nedenle de son yıllarda alternatif ilaç salım teknolojileri olarak kontrollü ve/veya hedeflenmiş salım önerilmektedir (Lynch ve Dawson, 2004; Bayat ve Nasri, 2019).

### **2.2. İlaç Salım Sistemleri**

İlaç salım sistemleri, ilacın güvenli ve en iyi terapötik etkisini sağlayacak şekilde taşınmasının sağlandığı sistemlere verilen addır. İlacın miktarı ve hasta dokuda kalma süresi önemlidir. Pek çok ilaç, özellikle antienflamatuar ilaçların yarı ömrü kısa olduğu için, hedef dokuya giderken sağlıklı doku ve organlara yan etki yaparlar (Gilani ve diğ., 2018; Baek ve diğ., 2017). Uygun salım sistemiyle verilen ilaçlar, yan etkileri önler, etkinliği yüksektir ve ilk geçiş etkisinden korur (Varshosaz ve diğ., 2017). İlaç salım sistemleri bir taşıyıcıya hapsedilen ilacın spesifik aktif bölgeye veya hedefe kontrollü ve sürekli salacak şekilde yönlendirmesini sağlar (Baek ve diğ., 2017; Raja ve diğ., 2019).

#### **2.2.1. Kontrollü İlaç Salım Sistemleri**

Kontrollü ilaç salım sistemleri geleneksel ilaç taşıyıcı sistemlerle karşılaştırıldığında multidisipliner bir alana dâhil olduğu görülmektedir. Bu sebeple de sayısız avantaja sahiptirler. Örneğin, gelişmiş etkinlik, enkapsüle veya immobilize edilmiş bileşenlerin enzimatik vb. degradasyona karşı yüksek stabilitesi, azaltılmış toksisite, kolay uygulama vb. bu avantajların en önemlileridir (Feng ve diğ., 2004; Kumar ve diğ., 2004; Langer, 2001; Mu ve Feng, 2003; Ratnam ve diğ., 2006). Polimerler, aktif bileşenlerin taşıyıcısı olarak sıklıkla tercih edilirler. En başarılı enkapsülasyonun sağlandığı polimerler,

poliesterler, polisakkaridler vb'dir. Aktif bileşenlerin kontrollü salımı, enkapsüle veya immobilize materyalin performansını biyolojik aktivite ya da kabul edilebilir degradasyon ürünlerinin aktivitesi olarak korumayı gerektirmektedir (Besenbache ve diğ., 2007; Moghimi ve diğ., 2005; Sahoo ve diğ., 2007; Stevanovic' ve Uskokovic', 2009a,b; Sumer ve Gao, 2008; Wong ve diğ., 2007).

Mikro- ve nanoparçacıklar çok çeşitli sayıda aktif bileşenler için, örneğin hidrofilik veya hidrofobik ilaçlar, vitaminler, mineraller ve farklı besinler vb. taşıyıcı olarak kullanılabilirler. Her birinin vücuda alım şekli farklıdır. Polisakkaridler, lipozomlar, sentetik polimerler vb. gibi çeşitli malzemelerden üretilirler. Taşıyıcıların doğası ve matriksi çok çeşitli malzemelerden, örneğin polisakkaridler, liposomlar, sentetik polimerler arasından genel olarak güvenilir (GRAS) farmasötik veya gıda endüstrisi malzeme listesi arasından uygulamanın ihtiyaçlarını hem de düzenleyici talepleri karşılayacak şekilde (örneğin biyobozunurluk) seçilir. (D'Emanuele ve diğ., 2004; Kozubek ve diğ., 2001; Lian ve Ho, 2001; Liu ve Frechet, 1999; Medina ve diğ., 2004; Nafee ve diğ., 2007; Stevanovic' ve diğ., 2007a,b; Yoo, 2006; Rados, 2004). Polikaprolakton (PCL), Polilaktid (PLA) ve Poli(laktid-ko-glikolit) (PLGA) polimerleri kullanılarak kemik implantlarının geliştirilmesi de büyük ilgi görmüştür. Bu polimerlerin yeni dozaj formlarının araştırılması ise günümüzün yeni trendi olmuştur.

Kontrollü ilaç salım sistemleri; ya ilacın etki edeceği alanı ya da ilacın oranını kontrol ederek canlı organizmaya biyouyumlu bariyer içerisinde ilaçları (ya da biyoaktif ajanları) iletmeyi amaçlamaktadır. Uygulama bölgesinde kontrol, vücudun yaralı bölgesine ilaç hedeflenmesi (aktif ya da pasif) ile sağlanabilmektedir. Literatürde polimerik ilaç iletim sistemleri ile ilgili bir çok çalışma bulunmaktadır (Slots ve Rams, 1990; Sendil ve diğ., 1999; Keskin ve diğ., 2005; Dhanaraju ve diğ., 2006; Shukla ve diğ., 2007; Hnaien ve diğ., 2011; Jiang ve diğ., 2011). İlaç iletim sistemlerinin formu küre, kapsül, çubuk, membran, slab vb. olabilmektedir. Boyutları amacına bağlı olarak nano, mikro veya mili seviyeler arasında değişebilmektedir.

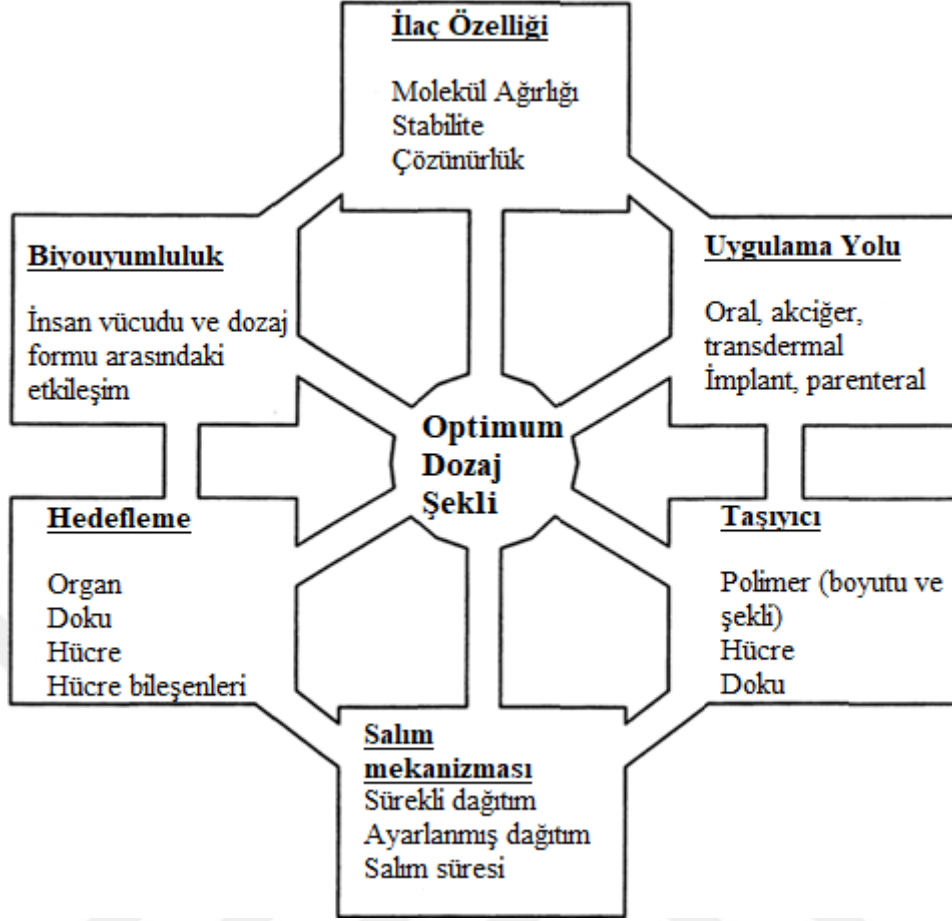
Kontrollü salım formülasyonlarından biyoaktif maddelerin salımında üç mekanizma vardır: "Polimer matrisinden Fick difüzyonu, matriksteki gözenekler yoluyla difüzyon ve polimer erozyonu ile ilaçların serbest bırakılması" (Jeong ve diğ., 2003). Burada Fick difüzyonu olarak bilinen 1855 yılında Adolf Fick tarafından belirlenmiş Fick'in difüzyon yasaları difüzyonu tanımlar ve bu da Fick Kanunu adıyla literatürde yer almaktadır. Ancak

kontrollü salım formülasyonları, sistemle ilgili birkaç faktöre daha (polimer ve ilaç özellikleri ve oranları, büyüklüğü ve şekli) bağlı olduğundan bunlar için genel bir salım profili sağlamak zordur. Polimerle ilgili faktörler moleküler ağırlık, kristallik ve hidrofilik olma vb.'dir. İlaça bağlı olan faktörler ise ilacın çözünürlüğü, moleküler ağırlıktaki polimer-ilaç etkileşimleri, vb.'dir. Sistem ile ilişkili faktörler arasında ilaç yükleme etkinliği, fiziksel durum, matriksteki ilaç, partikül büyüklüğü ve dağılımı, gözeneklilik ve iç yapı parçacıkları bulunmaktadır (Jeong ve diğ., 2003).

“Salımı kontrol etmek, ilaç iletim sistemleri için ulaşılabilir ve arzu edilen bir özelliktir. İlaç salım oranını etkileyen faktörler, ilacın bulunduğu matriksin yapısı ve hem polimer hem de ilaçla ilişkili kimyasal özellikler etrafında döner” (Freiberg ve Zhu, 2004). Kontrollü salım dozaj şekli konunun en önemli kavramıdır. İlaç özelliği, iletim yolu, iletim aracı özelliği, ilaç salım mekanizması, hedefleme yeteneği ve biyouyumluluk ilaç salım dozunu belirler (Şekil 2.1). İletim sistemleri; ilaçlar dışında gen ve protein iletim amaçları için de tasarlanabilir. İdeal bir gen iletimi, diğer ilaç formlarından daha spesifik hücresel hedefleme gerektirir (Park ve Mrsny; 2000). Çünkü genler, hedef hücre ve dokuya ulaşana kadar salınmamalıdır.

İlaç iletim çalışmalarında genellikle güvenli olarak kabul edilen (GRAS) polimerler kullanılır. Gıda ve İlaç İdaresi (FDA), klinik çalışmalarda sınırlı sayıda polimerin kullanımını onaylamıştır.

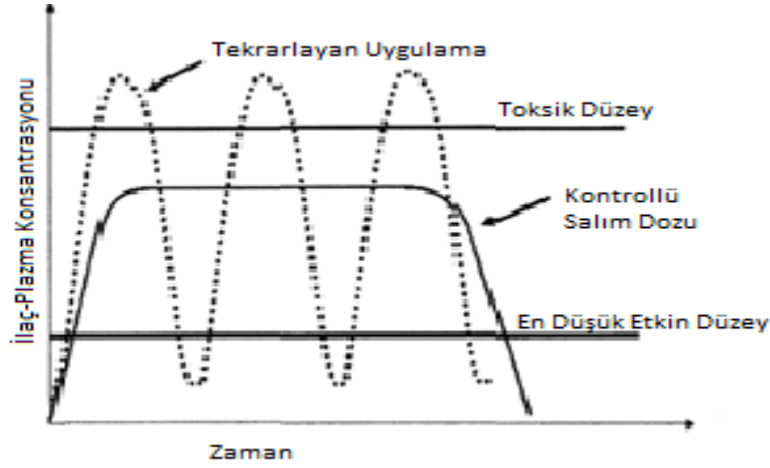
İlaçların önemli bir kısmı, terapötik (tedavi edici) ajanlarının etkisini arttırmak veya kolaylaştırmak için ilaç iletim teknolojisindeki gelişmelerden faydalanmak zorundadır. Uygun iletim sistemlerini seçmek, her bir ilaç adayının potansiyel terapötik etkisini maksimize etmek için önemlidir.



**Şekil 2.1.** Kontrollü ilaç iletim sistemlerinin tasarımında önemli olan faktörler (Park ve Msrny, 2000).

Farmakolojik tedavinin başlamasından bu yana, yan etkileri en aza indirirken aynı zamanda terapötik ilaç konsantrasyon seviyelerinin sabit tutulması büyük bir zorluk olmuştur. Geleneksel ilaç iletim sistemleri, tipik olarak tabletler veya intravenöz enjeksiyonlar için, tüm ilaç dozunun bir kısımda uygulanması, advers (yan etki) yani beklenmedik reaksiyonlara yol açarak yüksek bazen de toksik plazma konsantrasyonlarına neden olur.

Doz büyüklüğünün ve doz sıklığının etkili bir şekilde yönetimi ile ilacın terapötik sabit durum seviyelerinin elde edilmesi mümkündür. Bununla birlikte plazmadaki ilaç konsantrasyonu; ilaç seviyesi maksimum seviyenin altına düşerse toksik yan etkilere, ilaç seviyesi minimum seviyenin altına düşerse etkinlik eksikliğine neden olabilir (Şekil 2.2). Bu nedenle, kontrollü bir şekilde ilaçların serbest bırakılmasıyla uzun süreli uygun terapötik plazma konsantrasyonunu koruyabilen uzun bir ilaç iletim sistemine sahip olma fikri çekici ve popüler hale gelmiş ve kontrollü salım uygulamalarının artmasına neden olmuştur.



**Şekil 2.2.** Uygulamadan sonra ilacın plazma konsantrasyonu (Aydın, 2011).

Kontrollü salım terimi, belirtildiği gibi, ilaçların salımını, tekrarlanabilir ve öngörülebilir kinetiklerle uzun süre boyunca nispeten sabit, etkili bir plazma seviyesini koruyacak şekilde kontrol etme tekniğidir. Başarılı bir kontrollü iletim sistemi, yaşlılar ve kronik hastalar dâhil birçok hasta için bir rahatlama olacak olan uygulama sıklığını azaltmalıdır. Ek olarak, ilaç seviyesindeki dalgalanmaları azaltarak yan etkileri en aza indirmek için ilacın sabit-durum seviyesi korunabilir (Langer, 1993).

### 2.2.2. Polimer Esaslı İlaç Taşıyıcı Sistemleri

Kontrollü ilaç salımında kullanılan polimerler genellikle tedavi amaçlı olarak kullanılan polimerler olarak adlandırılırlar. Bu kullanımlarda ilaçlar polimer matrislerine hapsedilir veya karıştırılır (Vilar ve diğ., 2012; Bayat ve Nasri, 2019).

Polimer esaslı ilaç salım sistemlerinin avantajları:

- (1) Plazma ilaç seviyelerinin optimal terapötik (tedavi edici) aralıkta tutulabilmesi,
- (2) Kontrollü salım sistemi tarafından ilaçların lokal uygulanması ile sistemik ilaçların sebep olduğu yan etkileri azaltmak veya yok etmek,
- (3) İyi tıbbi gözetim altında olamayan organlar için ilaç uygulaması geliştirilebilir ve kolaylaştırılabilir.
- (4) Vücudun içinde yarılanma ömrü kısa olan ilaçların uygulanması muhtemelen oldukça kolay hale gelmiştir.

(5) Hastalar için ilacın sabit küçük dozları birkaç büyük doz ile karşılaştırıldığında daha az ağırlı olabilir.

(6) Hasta memnuniyetinin iyileştirilmesi,

(7) İlaç salım sistemi uygulamaları nispeten daha ucuz ürün eldesi ve daha az ilaç atığına sebep olmaktadır (Paolino ve diğ., 2006; Kost ve Langer, 2012; Bayat ve Nasri, 2019).

### **2.2.3. İlaç Salım Sistemlerinde Polimer Seçimi**

Uygun polimer seçimi kritik düzeyde önemlidir, çünkü kullanılan polimer, ilaç enkapsülasyon verimi, ilaç salım oranı, ilacın biyoaktivitesi ve hücre içi etki alanları ile ilaç etkileşimini etkilemektedir. İlaç verimini arttırmak için, beklenen iyileştirici etkiye bağlı olarak ve ilacın fizikokimyasal özellikleri baz alınarak, polimer esaslı formülasyonlar seçilmektedir (Raja ve diğ., 2019).

Polimer seçimini etkileyen en kritik faktör ilaç-polimer etkileşimi, polimerin özellikleri (molekül ağırlığı, degrade olabilmesi, yükü, vb.) olduğu kadar ilaç çözünürlüğü ve stabilitesi ile salım sisteminin kontrollü mü yoksa hedeflenmiş salım olmasıdır. Burada çeşitli polimerlerle birlikte yardımcı bazı maddelerin de varlığı ve yokluğu da hedeflenen amaca ulaşmada etkili rol oynamaktadır (Raja ve diğ., 2019).

### **2.2.4. Polimer Çeşitleri**

Polimerler; sentetik, doğal ve her ikisinin kombinasyonu şeklinde olabilir. Doğal ve sentetik polimerler de ilaç salım sistemlerinde sıkça kullanılmaktadır.

#### **2.2.4.1. Doğal Polimerler**

Doğada bulunan polimerlerdir. Polisakkaridler, proteinler ve polinukleotidler doğal polimerler olarak sınıflandırılmışlardır. Bunlara örnek verilecek olursa, kitin, selüloz, alginat, amiloz, guar gam, ksantan gam, pektin, nişasta, dekstran, siklodekstrin, ipek, elastin, jelatin, kazein, kolajen, hiyaluronik asit, vb'dir. Doğal polimerler genellikle in vivo koşullarda zararsız olarak nitelendirilmektedir. Farmasötik ve Biyoteknoloji endüstrilerinde yardımcı bileşen, medikal ve dental ekipman olarak kullanılmaktadırlar (Gaspar ve Duncan, 2009). Mükemmel biyoyum ve enzimatik olarak bozunur özellik gösterirler.

Bu polimerlerin avantajları arasında bol bulunmaları ve kolay saflaştırılabilmelerinin yanı sıra gerekli olan tedaviye yönelik ihtiyaçlar doğrultusunda etki düzeylerinin kimyasal olarak modifiye edilebilmeleri gelmektedir. Fakat doğal polimerlerin bazı sakıncaları da ne yazık ki bulunmaktadır. Bunlar, alınan kaynağa bağlı olan materyal özelliklerinin varyasyonu, mikrobiyel kontaminasyon, kontrol edilemeyen su alımı, zayıf mekanik dayanım, tahmin edilemeyen degradasyon tipidir. Bu sorunla başa çıkmak için doğal polimerler yarı-sentetik doğal polimerlere; örneğin, kitin, dekstran, alginat vb. türevleri olarak modifiye edilirler (Raja ve diğ., 2019).

#### **2.2.4.2. Sentetik Polimerler**

##### **2.2.4.2.1. Polieterler**

Poliyeten glikol (PEG) veya diğer adıyla poliyetenoksit (PEO) ilaç salım sistemlerinde en çok tercih edilen polimerlerdendir (Knop ve diğ., 2010; Liu ve diğ., 2011). PEG nispeten ucuz bir polimer olup, çok çeşitli molekül ağırlıklı ticari formlara sahiptir.

##### **2.2.4.2.2. Poliesterler**

Polilaktid (PLA) biyobozunur alifatik bir poliesterdir. Ortaya çıkan yan ürünler, insan vücudunun zaten ürettiği doğal bir metabolik atık olan laktik asittir. Son derece biyouyumlu ve biyolojik uygulamalar için uygun olmasının sebebi içerdiği laktik asittendir (Alsaheb ve diğ., 2015). PLA olarak kiral bileşenler içerir, bunlar da çeşitli formlarda bulunmaktadır. Bulunan en yaygın formları da Poli(L-laktid) (PLLA), poli(D-laktid) ve poli(D,L,-laktid) (PDLLA)'dir (Tan ve diğ., 2016).

Poliglikolid veya poli(glikolik asit) (PGA) biyomedikal uygulamalarda kullanılan ilk biyobozunur polimerlerdendir (Ulery ve diğ., 2011). Bu alanda en çok kullanılan biyobozunur polimerler poli(laktik asit), poli(glikolik asit) ve kopolimerleri poli(laktik asit-koglikolik asit) (PLGA) gibi poli( $\alpha$ -ester)lerdir (Astete ve Sabliov, 2006; Yilgor ve diğ., 2009 ).

Poli(laktid-ko-glikolit) (PLGA) rastgele polimerizasyon yoluyla PLA (PLLA ve PDLLA ile birlikte) ve PGA'den üretilmiştir (Kaihara ve diğ., 2007). PGA ve PLA'in birbirlerinden farklı özellikleri olmasına rağmen kopolimer bileşeni ile kristalinite ve degradasyon zamanı gibi bazı özelliklerini ayarlama ile son PLGA ürününün eldesi mümkün olabilmektedir (Makadia ve Siegel, 2011). PLGA biyomedikal uygulamalar için araştırmalarda en çok kullanılan polimerdir. Nispeten kısa sürede (birkaç ay) degrade

olması sayesinde PLGA'in kullanım sıklığını arttırmaktadır. Örnek olarak, kanser tedavileri (Mirakabad ve diğ., 2014; Roullin ve diğ., 2002; Mu ve Feng, 2003), antiinflamatuvar ilaçlar (Hermans ve diğ., 2014; Parra ve diğ., 2015), proteinler (Feczko' ve diğ., 2011; Allahyari ve Mohit, 2016), ve siRNA (Pantazis ve diğ., 2012; Cun ve diğ., 2011) verilebilir.

Polikaprolakton (PCL),  $\epsilon$ -kaprolakton monomerinden halka açılma polimerizasyonu vasıtasıyla sentezlenmiştir (Oshimura ve diğ., 2009). Yarı-kristal polimer olup erime sıcaklığı  $T_m = 60^\circ\text{C}$ , camsı geçiş sıcaklığı  $T_g = -60^\circ\text{C}$  civarındadır. Kristallik özellik, PCL'a yüksek hidrofobisite vermekte, bu sayede degradasyon oranını yavaşlamaktadır (Lam ve diğ., 2007). Degradasyon prosesi molekül ağırlığına bağlı olarak 3 yıl civarında gerçekleşir (Woodruff ve Hutmacher, 2010). PCL'ın abiyotik hidrolize karşı nispeten stabil olmakla birlikte, biyotik bozulmaya duyarlı olduğu gösterilmiştir (Fukushima ve diğ., 2013).

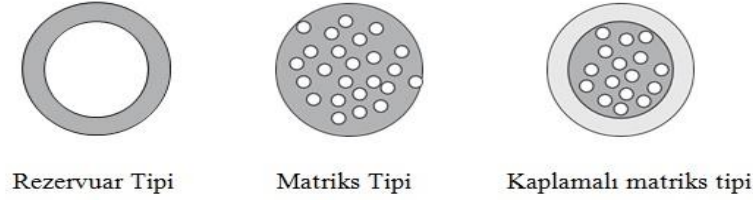
### 2.3. Enkapsülasyon

Enkapsülasyon; 40-50 yıl öncesine dayanan ve araştırmalara bakıldığında zaman İsrail'in başı çektiği bir teknolojidir. Gıda bileşenleri enkapsülasyonunda ise ABD ile İngiltere'nin ön planda olduğu görülmektedir (Gökmen ve diğ., 2012).

Kapsülleme, bir maddeyi diğerinin içinde tutacak ve böylece birkaç nm ile birkaç mm çapa sahip parçacıklar üretilen bir proses olarak tanımlanabilir. Kapsüllenen maddeye çekirdek malzeme, aktif madde, dolgu veya iç faz; kapsülleyen maddeye ise kaplama, membran, kabuk, taşıyıcı malzeme, duvar malzemesi, dış faz veya matriks denilebilir. Bu teknikte temel amaç; ilaçlar, gıda maddeleri, aroma maddeleri gibi pek çok aktif bileşenin stabilitesini sağlamak ve kontrollü olarak kullanımını gerçekleştirmektir (Açu ve diğ., 2014).

İki ana kapsülleme tipi vardır. Bunlar rezervuar tipi ve matriks tipidir. Şekil 2.3'te basitleştirebilmek için küresel enkapsülantlar gösterilmiştir. Küresel enkapsülantların yanı sıra silindirik, oval ya da düzensiz şekilli enkapsülantlar bulunabilmektedir. Rezervuar tipi enkapsülant aktif ajanın etrafında bir kabuğa sahiptir. Ayrıca bu tip; kapsül, tek çekirdekli veya çekirdekli kabuk tipi olarak da adlandırılır. Bir parçacıkta birkaç tane haznesi olan çoklu çekirdek tipi kapsüller de bulunmaktadır. Matriks tipindeki aktif madde, taşıyıcı malzeme üzerinde çok daha fazla dağılır. Böylece küçük damlacıklar halinde ya da

enkapsülant üzerine homojen bir şekilde dağılmış şekilde olabilmektedir. Matris tipi enkapsülanttaki aktif maddeler rezervuar tipindekilerin aksine genel olarak yüzeyde bulunur (Zuidam ve Nedovic, 2010).



Şekil 2.3. Küresel enkapsülantlar (Zuidam ve Nedovic, 2010).

### 2.3.1. Kullanılan Kaplama Materyalleri

İdeal bir kaplama materyali aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır (Koç ve diğ., 2010):

- Reolojik özellikleri çok iyi olmalı ve kolay işlenebilmelidir.
- Emülsiyon ve dispersiyon özellikleri iyi olmalıdır.
- Emülsiyon stabilitesinin yüksek olması gerekmektedir.
- Çekirdek materyali ile hiçbir şekilde reaksiyona girmemesi istenmektedir.
- Kaplama işlemi sırasında çekirdek materyali kaplamalı ve depolama sırasında çekirdek materyali koruyabilmelidir.
- İstedığımız çözücüde çözünmelidir.
- Maliyeti düşük olmalıdır.

### 2.4. Aktif Bileşenlerin Kontrollü Salımı için Polimerik Mikro- ve Nanoparçacıklar

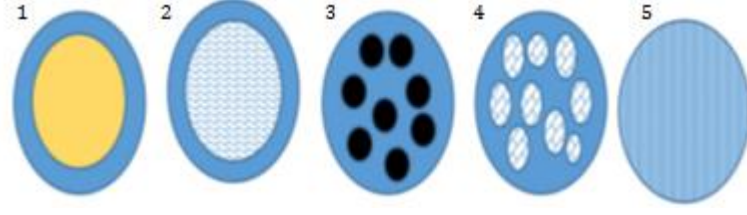
Mikroparçacıklar ve nanoparçacıklar, ilaç dağıtımı, görüntüleme ve temel araştırma dâhil olmak üzere çok çeşitli biyomedikal uygulamalar üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Mikroparçacıklar ve nanoparçacıklar üzerine geniş bir veri tabanı olmasına rağmen, literatürde nano ve mikroboyut arasında açık bir evrensel sınır yoktur. Ancak yine de, mikron (1–1000  $\mu\text{m}$ ), alt mikron (100-1000 nm) ve nanometre (1-100 nm) ölçekleri olarak belirlendiğini söylemek yanlış olmaz. (George ve diğ., 2005).

Mikro ve nano bilimlerdeki uzman görüşleri, 1-100 nm'nin optimum nano ölçekli aralık olduğunu vurgulamıştır; ancak, biyoteknoloji ve tıpta, “nano” tanımı daha az katıdır (Ferrari, 2005). Herhangi bir minyatür sistemin tasarımı uç nokta uygulamasına bağlıdır.

Örneğin, sistemik (damar içi) uygulama, çapı 500 nm'den küçük parçacıkların kullanılmasını gerektirirken, kas içi uygulama veya bazı durumlarda oral uygulamalarda 1 mikrondan büyük ve 125 µm'den küçük parçacıklar kolayca uygulanabilir (Jain, 2000). Boyuttan başka, bu parçacıkların işlevini önemli ölçüde modüle edebilen bir başka kritik parametre şekil olup; şekil, bağışıklık hücreleri tarafından hücre alımını, biyomoleküllerin salım davranışını ve hücre hedeflemesini etkileyebilir (Champion ve diğ., 2007). Çoğunlukla hormonlar, aşı antijenleri ve adjuvanlar, peptitler ve anti-enflamatuar ajanlar gibi terapötik biyomoleküllerin görüntülenmesi veya hedefli verilmesi için çeşitli materyaller mikro ve nanopartiküller olarak sentezlenmiştir (Aukunuru ve diğ., 2003; Kim ve diğ., 2004). Ek olarak, bu parçacıklar biyosensör olarak ve afinite biyoayrıştırıcılarında, immünolojik analizlerde, hücre etiketlemede ve hücre sınıflandırmasında kullanılmıştır.

Özellikle eczacılık ve gıda endüstrisinde polimerler aktif bileşenlerin taşıyıcısı olarak yaygın olarak çalışılmaktadır (Legrand ve diğ., 1999). Kontrollü salım için, biyobozunur ve biyoaşınır polimerler bu materyallerin en önemli çeşidini temsil etmektedir. Vitamin ve diğer aktif bileşenler polyester ve polisakkaridlere başarıyla enkapsüle edilebilmektedir. Polyesterler ester bağları olan sentetik polimerlerdir. Polyesterler, örneğin; polilaktid, poliglikolid, poli(laktid-ko-glikolit) (PLGA'ler), poli(ε-kaprolakton) Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından ilaç ve tedavi amaçlı kullanım için onaylanmışlardır. Bunlar, biyobozunur polimerler olup, mükemmel işleme özelliği, biyoyumluluğu ve amaçlanan uygulama için uyarlanabilecek oranlarda biyolojik bozunma gibi sayısız avantajlara sahiptirler.

Poliester mikro ve nanoparçacıklar çeşitli sınıflardan ilaçların kontrollü salımı için kullanılmaktadır. Bu ilaçlara örnek olarak antikanser ajanları, büyüme faktörleri, antibiyotikler, antimikrobiyal ajanlar vb. verilebilir. Mikroküre olarak adlandırılan sistemin polimer ve aktif ajanlarının oldukça homojen karışması yaygın olarak kabul görmekte olup, mikropartiküllerin en az bir ve birden çok ayrık aktif ajan alanı bulunmaktadır. Şekil 2.4'te mikroparçacık yapılarının farklı çeşitleri gösterilmektedir.



**Şekil 2.4.** Mikroparçacık Yapılarına ait Çeşitler 1. Katı çekirdekli mikrokapsül 2. Katı olmayan çekirdekli mikrokapsül 3. Katı mikro- ve nano alanlı mikrokapsül 4. Katı olmayan mikro- ve nano alanlı mikrokapsül 5. Polimerik matriks ile aktif bileşen karışımı (Stevanović, 2017).

Aktif bileşenlerin polimer taşıyıcıların içine hapsedilmesi için farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin en önemlileri; termal faz ayrımı, eriyik dispersiyonu, solvent buharlaştırma, sprey kurutmadır. Su ve organik fazların homojenizasyonu da kullanılan diğer teknikler arasında bulunmaktadır (Stevanović, 2017).

#### **2.4.1. Mikro ve Nanopolimer Parçacıkları Yapım Formülasyonları**

Seçilen materyale bağlı olacak şekilde, aktif bileşenlerin salımında kullanılacak polimerik parçacıkların yapımında kullanılan teknikler çeşitli gruplar halinde incelenebilir. Örneğin, literatürde, polyester polimer PLGA'den parçacıkların yapılabilmesi için birçok yaklaşım önerilmektedir. Emülsifikasyon-buharlaştırma metodu (Astete ve diğ., 2007; Prabha ve Labhasetwar, 2004; Sahoo ve Labhasetwar, 2005; Song ve diğ., 2006), emülsifikasyon-çözücü difüzyon methodu (Lee ve diğ., 2005; Zhang ve diğ., 2006), nanopresipitasyon (Bilati ve diğ., 2005; Govender ve diğ., 1999), ve sprey-kurutma (Atuah ve diğ., 2003; Rivera ve diğ., 2004; Takashima ve diğ., 2007) yöntemleri yaygın olarak çeşitli boyutlarda PLGA mikro- ve nanoparçacıkların yapımında kullanılmaktadır. Bu yöntemler, bir su / yağ dispersiyonu oluşturmak için organik bir çözelti içinde sulu bir ilaç çözeltisinin emülsifiye edildiği karşılaştırılabilir birincil aşamalara sahiptir. İlaç ayrıca organik polimerik çözelti içinde bir toz (katı parçacıklar) halinde dağıtılabilir veya bir çözücü içinde polimer ile birlikte çözülebilir. Daha sonra çözelti veya dispersiyon, yukarıda belirtilen tekniklerden birine göre işleme tabi tutulur.

Çözücü (solvent) ekstraksiyon veya buharlaştırma prosedürü kullanıldığında, polimer, bir organik çözücü; örneğin, diklorometan, aseton, asetonitril, kloroform veya etil asetat içinde çözdürülür. Bu çözücüler, aynı zamanda hidrofobik ilaçlar için de çözücü olarak kullanılırlar. Polimer ve ilaç karışımı, suda çözünen yüzey aktif madde (sümfaktan), stabilizatör, veya emülsifiye edici ajan ile emülsifiye edilmek suretiyle su içinde yağ

emülsiyonu yapılırlar. Stabil emülsiyon oluştuğunda, organik çözücü, ya basınç düşürülerek ya da sürekli karıştırılarak buharlaştırılır. Parçacık boyutu ve morfoloji üzerinde farklı parametrelerin etkisi bulunmaktadır. Bunlara örnek; stabilizatörün çeşidi ve konsantrasyonu, homojenizasyon hızı ve polimer konsantrasyonudur (Kwon ve diğ., 2001). Küçük parçacık boyutu elde etmek için yüksek hızlı homojenizasyon veya santrifüjleme kullanılabilir (Stevanovic' ve diğ., 2007a,b,c,d; Zambaux ve diğ., 1998).

Solvent-difüzyon tekniği solvent-buharlaştırma prosesinin uyarlanmış versiyonudur. Bu prosedürde, su ile karışabilen çözücü (solvent) ile birlikte su ile karışmayan organik çözücü beraber kullanılarak yağ fazı oluştururlar. Çözücülerin spontane difüzyonu sayesinde, iki faz arasında küçük parçacıkların oluşumunu tetikleyen ara yüzey türbülansı artar. Çözücü buharlaşması yanı sıra çözücü difüzyonu, yöntemler hidrofobik veya hidrofilik ilaçlar için kullanılabilir. Hidrofilik ilaçlar olduğu durumda, iç sulu fazda ilacın çözünmesine ihtiyaç duyulduğundan çoklu su/yağ/su emülsiyonu ihtiyacı ortaya çıkar.

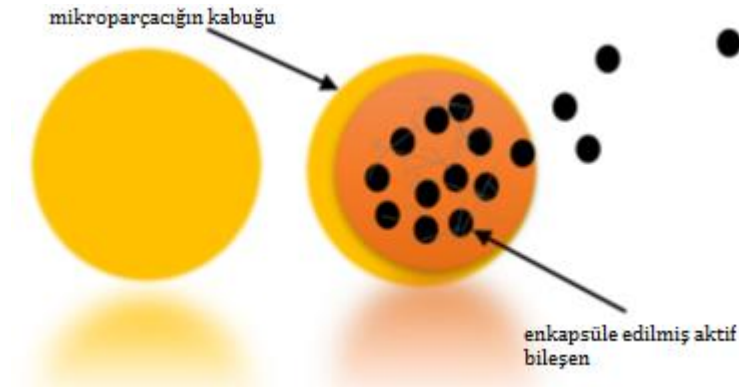
Koaservasyon metodu sürekli çalkalama altında 3 kısımdan oluşan bir tekniktir. Birinci kısımda, çözelti üç birbirine karışmayan fazdan oluşmalıdır. Çekirdek malzeme (aktif bileşen), kaplama malzemesi (polimerik malzeme) ve çözücü; sıvı kaplamanın çekirdek materyalin etrafına yerleştirildiği ikinci kısım; bu, kaplama fazının çözücü fazı (aktif maddelerin içinde bulunduğu) ile karıştırılmasıyla elde edilir; ve üçüncü kısım ise, kaplama termal olarak veya desolvasyon ile sertleştirildiğinde elde edilir (Thomasin ve diğ., 1998a,b).

#### **2.4.2. En Yaygın Kullanılan Teknikler**

Eczacılık, tıp ve gıda endüstrilerinde enkapsülasyon ve immobilizasyon teknikleri yaygın olarak kullanılmaktadır (Kumar, 2000; Stupar ve ark., 2014; Wieland-Berghausen ve ark., 2002). Enkapsülasyon, çevreye duyarlı bileşenleri korur veya aktif maddelerin zamanla salınmasını sağlar (Şekil 2.5). Bazı bileşenlerin geleneksel teknikler kullanılarak enkapsüle edilmesi kolaydır. C vitamini gibi hassas suda çözünür bileşenlerin enkapsülasyonu çok zordur, bu nedenle kontrollü koruma ve kontrollü salım gereklidir (Stevanović, 2017).

Mikro veya nanopartiküller içindeki vitaminler, mineraller veya diğer besinler gibi aktif maddelerin enkapsülasyonu için yaygın olarak kullanılan teknikler termal faz ayırma (koaservasyon), sprey soğutma ve dondurma, eriyik dağılımı, çözücü buharlaşması,

akışkan yatak kaplaması, sprey kurutma, su ve organik fazların homojenizasyonu, d6nel s6spansiyon ayırma, ekstr6zyon ve inkl6zyon kompleksi, vb.'dir (Stevanovi6, 2017).



**şekil 2.5.** Enkaps6le edilmiş aktif bileşen i6eren mikropar6acacık (Stevanovi6, 2017).

#### **2.4.2.1. Termal Faz Ayırma (Koaservasyon)**

Koaservasyon (termal faz ayrımı) kullanılarak, aktif madde mikrokaps6l oluşumuna yol a6an bir polimer kabuğu ile kaplanır (Wieland-Berghausen ve ark., 2002). Etil sel6loz, koaservasyon işleminde en yaygın olarak kullanılan polimerdir (Benita ve Donbrow, 1982; Miller ve Anderson, 1964; Uddin ve diğ., 2001; Yalabik-Kas, 1983; Yoshiyuki ve diğ., 1983). Homojenizasyon hızı, soğutma hızı, faz ayrımı ind6kleme maddesinin konsantrasyonu ve etil sel6lozun viskozitesi / molek6ler ağırlığı gibi 6eşitli fakt6rler kaps6lleme etkinliği ve kaps6llenmiş ilacın salım davranışı 6zerinde bir etki g6sterir. Uddin ve diğ. (2001) bu tekniği kullanarak vitaminleri enkaps6le etmiştir. Duvar oluşturan malzeme olarak etil sel6loz kullanılmıştır. Etil sel6lozun molek6l ağırlığı değiştirilmiş ve etil sel6lozun molek6l ağırlığının ve poliizob6tilen ilave edilmesinin askorbik asit i6eren mikrokaps6llerin birikmesini ve salım hızını 6nemli 6l66de etkilediği belirlenmiştir. Etil sel6lozun molek6l ağırlığı arttık6a mikroenkaps6lasyon 6r6n6n6n boyutunun azaldığı tespit edilmiştir (Stevanovi6, 2017).

#### **2.4.2.2. Eriyik Dispersiyon**

Eriyik dispersiyon tekniğinde, ila6 i6eren erimiş mum fazı, ısıtılmış, em6lgat6r i6eren bir dış faza em6lsifiye edilir. İlacın 66z6n6rl6đ6ne bağlı olarak, harici faz sulu (suda 66z6nmeyen ila6lar i6in) veya susuz (suda 66z6n6r ila6lar i6in) olabilir. Em6lsiyonun soğutulması 6zerine, sıvı damlacıkları katılaşır ve balmumu mikropartik6llerinin bir s6spansiyonu oluşur. Mikropartik6ller daha sonra 6oğunlukla filtrasyon veya santrif6j ile

ayrılır, bazen serbest ilaç kristallerini ve yüzey aktif cisimlerini çıkarmak için yıkanır, kurutulur ve boyutlandırılır. Askorbik asidin enkapsüle edilmesinde eriyik dispersiyon yönteminde karnauba mumu kullanılmıştır (Uddin ve diğ., 2001). Yapılan başka bir çalışmada ise, "sıcakta eriyen" mikroenkapsülasyon; kapsüllenmiş boyalar (asit-turuncu), p-nitroanilin veya insülin ile polianhidrit mikrokürelerin elde edilmesi için bir yöntem olarak tarif edilmiştir (Mathiowitz ve Langer 1987).

#### **2.4.2.3. Çözücü Buharlaştırma Tekniği**

Emülsifikasyon-buharlaştırma yöntemi (Astete ve ark., 2007; Prabha ve Labhasetwar, 2004; Sahoo ve Labhasetwar, 2005; Song ve ark., 2006), spontane emülsifikasyon-çözücü difüzyon yöntemi (Lee ve ark., 2005; Zhang ve ark., 2006), nanopresipitasyon yöntemi (Bilati ve diğ., 2005; Govender ve diğ., 1999), çözücü buharlaştırma ve sprey kurutma yöntemi (Atuah ve diğ., 2003; Rivera ve diğ., 2004; Takashima ve diğ., 2007) çeşitli boyutlarda mikro ve nanoparçacıklar hazırlamak için yaygın olarak kullanılır. Bu yöntemlerin her biri benzer bir ilk adımı kullanır, burada sulu bir ilaç çözeltisi, bir yağ içinde su dispersiyonu (w/o) oluşturmak için bir organik polimer çözeltisi içinde emülsifiye edilir (O'Donnell ve McGinity, 1997). Uygun olduğu takdirde, bileşen ayrıca bir organik polimer çözeltisi içinde bir katı madde olarak dağıtılabılır veya polimer ile birlikte ortak bir çözücü içinde çözülebilir. Çözücü buharlaştırma tekniğinde, ilaç maddesi polimer içinde homojen olarak dağıtılır. Partikül boyutu, stabilizör tipi ve konsantrasyonu, homojenizasyon hızı ve polimer konsantrasyonundan etkilenir (Kwon ve diğ., 2001). Bununla birlikte, bu teknik suda çözünür ilaçlar için düşük enkapsülasyon verimine yol açar (Bodmeier ve diğ., 1994; Wieland-Berghausen ve diğ., 2002).

Emülsifikasyon, emülsifikasyon çözücü buharlaşma yönteminin ana ve ilk adımıdır (Rosca ve ark., 2004). Bununla birlikte, emülsiyon damlacıklarından çözücü taşınması olan ikinci adım, parçacıkların morfolojisi ve mikropartiküllerin enkapsülasyonu ve salım davranışı üzerinde büyük etkiye sahiptir. Rosca ve ark. (2004), emülsiyon damlacıklarından çözücü eliminasyon mekanizmasını ve parçacık morfolojisi, kapsülleme ve salım davranışı üzerindeki etkisini incelemiştir. Çözücü oldukça uçucu olduğundan, çözücü uzaklaştırmayı gözlemlemek, bu aşama hızlı olduğundan zordur (Stevanović, 2017). Bu aşamada bazı durumlar ortaya çıkmaktadır. Çözücünün yoğun buharlaştırılması sırasında, enkapsüle edilmiş ilacın kendiliğinden ortama boşalması görülür. Mikropartikül yüzeyinin yakınında

yoğunlaşan ilacın ani salımı patlama (initial burst release) şeklinde ortaya çıkar. Bundan dolayı bu durum da ilaç yükleme verimini etkilemektedir.

#### **2.4.2.4. Sprey Kurutma**

Spreyle kurutma, bir çözüldüden veya süspansiyondan katı formülasyonlar üreten ve ilaç ve gıda endüstrisinde özel uygulamalara sahip iyi bilinen bir tekniktir (Stevanović, 2017). Spreyle kurutma, daha sonra sıcak hava veya azot içeren bir kurutma odasına enjekte edilen sıvı beslemenin atomizasyonunu içeren tek aşamalı bir işlemdir. Damlacıklar anında kurutma bölgesinde toplanan katı partiküller halinde kurutulur. Çıktı malzemesinin özelliklerini etkileyebilecek iki faktör, püskürtülerek kurutulmuş parçacık formülasyon faktörleri ve püskürtmeyle kurutma parametreleridir (Seville, 2007). C vitamini için bir hazırlama yöntemi olarak spreyle kurutma kullanılan çalışmalar literatürde mevcuttur (Esposito ve diğ., 2002; Finotelli ve Rocha-Leao, 2005).

#### **2.4.2.5. Sprey Dondurma ve Sprey Soğutma**

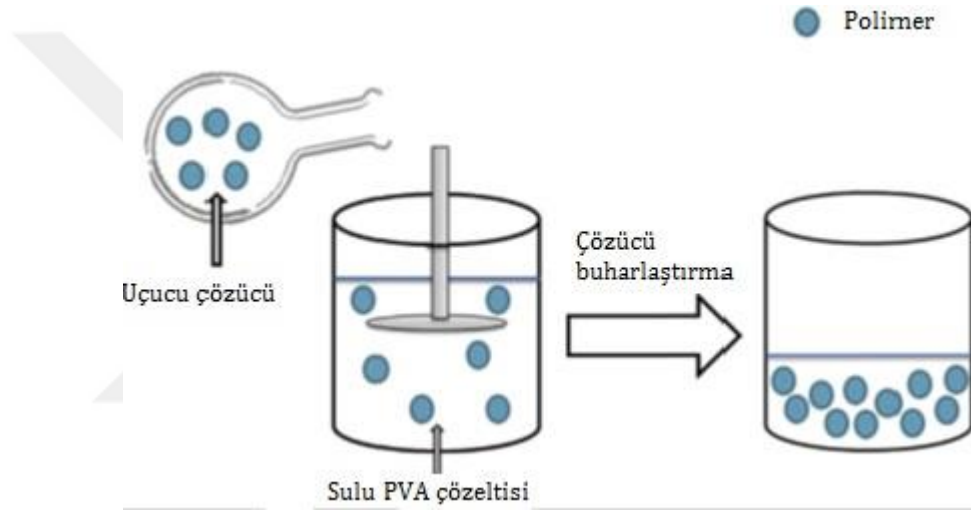
Spreyle dondurma ve spreyle soğutma, çekirdek malzemenin sıvılaştırılmış bir kaplama veya duvar malzemesi içinde dağıldığı ve atomize edildiği, ancak genellikle buharlaştırılacak su olmadığı için spreyle kurutmaya benzer yöntemlerdir. Çekirdek ve duvar karışımı, duvarın çekirdeğin etrafında katılaşmasına neden olan soğuk havaya atomize edilir (Risch ve Reineccius, 1995). Spreyle dondurmada, kaplama tipik olarak fraksiyone veya hidrojene bir yağdır. Spreyle soğutmasında, duvar tipik olarak yağdır, ancak başka malzemeler de kullanılabilir. Bu yöntemler aslında sadece kullanılan duvar malzemesinin erime noktasında farklılık gösterir ve çoğunlukla vitaminler, mineraller veya asitleştiriciler gibi katı malzemeleri kapsüllemek için kullanılır (Stevanović, 2017).

### **2.5. Çözücü Buharlaştırma Tekniğinin Esasları ve Mikro/Nanoküre Yapımında Kullanılması**

Kontrollü salımı yapılan ilaçları elde edebilmek için ilaç endüstrisinde yaygın olarak kullanılan bir mikroenkapsülasyon tekniğidir. İçinde hapsolmuş ilaca sahip olan elde edilen polimer mikrokürecikler, enkapsüle edilmiş ilacı, spesifik bir salma profiliyle yavaşça bozabilir ve salıverebilir. Kontrollü ilaç salımının çeşitli klinik yararları vardır; dozaj sıklığını azaltma, hastalar için daha kolay ve kabul edilebilir hale getirme, özel bir

bölgeye daha yüksek etkinlik için ilaç hedeflemesi gibi. (Berkland ve diğ., 2002; Freiberg ve Zhu, 2004).

Bu metotta polimer ile ilaç uçucu solvent ile karıştırılmak suretiyle emülsiyon oluşturulur (Şekil 2.6). Buharlaştırma aşamasına gelindiğinde, solvent emülsiyonu süspansiyona dönüştürmüş olur. Bundan sonra katı parçacıklar santrifüj/ultrasantrifüj yoluyla safsızlık ve katkı maddelerinden ayrılırlar. Sonraki aşamada kurutma ile katı parçacıklar elde edilir. Kurutma işleminde, en çok da kullanılan ilaca bağlı olarak, liyofilizasyon yöntemi tercih edilebilir. Sprey kurutucuda, vakum ortamında vb. şekilde kurutarak katı parçacıkları elde etmek mümkündür (Nagavarma ve diğ., 2012).



Şekil 2.6. Çözücü buharlaştırma metodu (PVA, polivinil alkol) (Yadav ve diğ., 2019).

Birçok farklı mikroenkapsülasyon tekniği bulunmaktadır. Bir ilaç enkapsülasyon tekniğinin etkinliğini artıran metot seçimi; ilacın hidrofilik veya hidrofobik olmasına bağlıdır.

Sulu çözeltide kısmen çözünen ya da çözünmeyen ilaçlar için suda yağ(o/w) metodu sıklıkla kullanılmaktadır. Bu metot en basit metoddur ve bu özelliği ile diğer metotlardan ayrılır. Dört ana basamak içerir (Li, ve diğ., 2008):

- (1) Polimer içeren bir organik çözücünde hidrofobik ilacın çözünmesi.
- (2) Sürekli faz olarak adlandırılan sulu fazda, dispers (dağılmış) faz olarak adlandırılan bu organik fazın emülsifikasyonu.

(3) Çözücünün dispers (dağılmış) fazdan sürekli faz ile ekstrakte edilmesi, çözücünün buharlaştırılması ile birlikte dağılmış fazın damlacıklarının katı parçacıklara dönüştürülmesi;

(4) Kalıntı çözücüyü ortadan kaldırmak suretiyle mikrokürelerin geri kazanılması ve kurutulması.

Bahse konu metot aşırı hidrofilik ilaçların enkapsülasyonu için uygun değildir. Bunun iki ana sebebi bulunmaktadır. Birinci sebep; hidrofilik ilaç organik çözücüde çözünmez. İkinci sebep ise ilaç emülsiyon sırasında sürekli faza dağılır ve bu da büyük ilaç kayıplarına neden olur. Hidrofilik ilaçları enkapsüle etmek için dört farklı alternatif yöntem önerilmektedir (Li, ve diğ, 2008):

1- w/o/w-çift emülsiyon yöntemi: Hidrofilik ilacın sulu çözeltisi organik faz ile emülsifiye edilir (w/o emülsiyonu), bu emülsiyon daha sonra ikinci bir emülsiyon oluşturan ikinci bir sulu çözeltiye dağıtılır (w/o/w);

2- o/w-yardımcı çözücü yöntemi: Ana organik çözücüde ilaç çözünmediği zaman ilacı dağıtmak için yardımcı çözücü olarak adlandırılan ikinci bir çözücü gerekmektedir.

3- o/w-dağılma yöntemi: İlaç, polimer ve organik çözücü çözeltisinde katı toz halinde dağılır.

4- o/o-susuz çözücü buharlaştırma yöntemi: Sulu faz yağ ile (örn: mineral yağ) yer değiştirilir.

Aynı ilaç için ilaç enkapsülasyon etkinliği, kullanılan metoda göre değişebilmektedir (Herrmann ve Bodmeier, 1998). Elde edilen mikrokürelerin fiziksel özellikleri, malzemelerin doğasına ve ayrıca mikrokürelerin imalatı sırasındaki parametrelere bağlıdır (Izumikawa ve diğ., 1991; O'Donnell ve McGinity, 1997; André-Abrant ve diğ., 2001).

Çözücü buharlaştırma yöntemiyle mikroenkapsülasyonda uygun bir çözücü seçebilmek için izlenmesi gereken yol ve kriterler şunlardır:

- 1- Seçilen polimeri çözebilir olması,
- 2- Sürekli fazda oldukça az çözünür olmak,
- 3- Yüksek uçuculuğa ve düşük kaynama noktasına sahip olmak,

#### 4- Düşük toksisiteye sahip olmak.

Kloroform eskiden daha sıklıkla kullanılırdı. Ancak toksisitesi ve düşük buhar basıncı nedeniyle son zamanlarda metilen klorür daha sık kullanılmaktadır. Metilen klorür; yüksek uçuculuğu, düşük kaynama noktası ve suyla karışmazlığı nedeniyle çözücü buharlaştırma tekniği kullanılarak enkapsülasyon için en yaygın olarak kullanılan çözücüdür. Diğer çözücülere kıyasla yüksek doymuş buhar basıncı (en az iki kat daha yüksek), mikrokürelerin oluşum süresini kısaltan yüksek bir buharlaşma hızı sunmaktadır. Bununla birlikte, bu çözücünün EPA (Çevre Koruma Ajansı) verilerine göre kanserojen olduğu onaylanmıştır ve araştırmacılar daha az toksik çözücü bulmak için büyük çaba sarf etmektedir.

Etil asetat, metilen klorüre göre daha az toksiktir. Bu nedenle umut verici bir potansiyel göstermektedir. Ancak etil asetatın suya kısmi olarak karışması nedeniyle (metilen klorürün 4.5 katı kadar), organik faz (dağılan faz) doğrudan sürekli faza dâhil edilirse, mikroküreler oluşmamaktadır. Organik fazdan büyük miktarda etil asetatın aniden çıkarılması, polimerin lif benzeri topaklara dönüşüp çökmesine neden olur (Freytag ve diğ., 2000). Çözücülerin suyla karışmasının yarattığı bu sorunu çözmek için üç yöntem kullanılabilir:

- 1- Sulu çözelti çözücü ile önceden doyurulur (Bahl ve Sah, 2000);
- 2- Organik faz önce az miktarda sulu çözelti içerisinde emülsiyon haline getirilir; damlaların oluşumundan sonra bu emülsiyon büyük miktarda sulu çözeltiye dökülür (Freytag ve diğ., 2000);
- 3- Organik faz az miktarda sulu çözeltide emülsifiye edilir, çözelti yüksek hızla çalkalanır ve çözücü buharlaşarak mikrokürelerin katılaşmasına neden olur (Sah, 1997).

Yukarıdaki metotlarla etil asetat kullanılarak mikroküreler başarıyla elde edilir. Bununla birlikte, metilen klorür tarafından hazırlanan mikroküreler daha küresel ve homojendir, ancak etil asetat kullanımı kısmen parçalanmış gibi görünen parçacıklar oluşturur (Herrmann ve Bodmeier, 1998). İlaç kapsülleme etkinliği, Herrmann ve Bodmeier'e (1998) göre metilen klorür tarafından yapılan mikrokürelere karşı önemli ölçüde azalır. Bu durumun su içinde etil asetatın yüksek çözünürlüğüne bağlı olduğunu ve sonuç olarak ilaç kaybına yol açtığını varsaymıştır.

Özetle; daha az toksik çözücüler test edilmekte ve gelecek vaat etmektedir. Ancak farklı çözücüler kullanılarak hazırlanan mikrokürelerin kalitesini karşılaştırabilecek yeterli sonuçlar bulunmamaktadır. Metilen klorür; hızlı buharlaşması, yüksek ilaç kapsülleme verimi, küresel ve daha tekdüze bir formda mikroküreler elde edilebilmesi gibi sebeplerle hala en çok kullanılan çözücü durumundadır.

Tensioaktif madde olarak da adlandırabildiğimiz yüzey aktif madde, bir fazın başka bir karışmayan fazda dispersiyonu ve elde edilen emülsiyonun stabilizasyonu için sıklıkla kullanılmaktadır. Sürekli fazın yüzey gerilimini azaltarak damlaların birikmesini ve birleşmesini engeller böylelikle emülsiyonu stabilize eder. Uygun bir yüzey aktif madde, düzenli/tekdüze ve küçük boyutta mikroküre dağılımı verebilmelidir. Böylece daha öngörülebilir ve kararlı bir ilaç salımı garanti edilebilir.

Yüzey aktif maddenin tipini ve konsantrasyonunu seçmeden önce, iki karışmayan fazın polaritesini, istenen mikroküre büyüklüğünü ve küresellik isteğini tam olarak bilmek önemlidir.

Emülsiyonlar için yüzey aktif maddeler amfifiliktir. Bunun anlamı; bu molekülün bir kısmının, su (hidrofilik) gibi polar çözünenlere daha fazla çekim gücüne sahip olduğu ve diğer kısmının, hidrokarbonlar (hidrofobik) gibi polar olmayan çözünenlere daha fazla çekim gücüne sahip olduğu anlamına gelir. Bir emülsiyon içinde olduğunda yüzey aktif madde; damladaki hidrofobik kısmı ve sudaki hidrofilik kısmı ile damla yüzeyini kaplar.

Molekülün hidrofilik kısmının doğası ile sınıflandırılmış dört farklı yüzey aktif madde tipi vardır. Bunlar; anyonik, katyonik, amfoterik ve iyonik olmayan yüzey aktif madde olarak isimlendirilmektedir. Yüzey aktif maddeler arasında özellikle hidrolize PVA (Polivinil alkol) en sık kullanılanıdır. Çünkü bu yüzey aktif madde ile en küçük mikroküreler elde edilebilmektedir (Jeffery ve diğ., 1991).

Yüzey aktif maddenin konsantrasyonunun artması mikrokürelerin boyutunu küçültmektedir (Jeffery ve diğ., 1993; Sansdrap ve Moes, 1993; Carrio ve diğ., 1995; Yang ve diğ., 2001). Yüzey aktif madde ilave edildikçe sürekli fazın yüzey gerilimini düşer ve böylece taneciklerin boyutu küçülür.

Polimer konsantrasyonunun veya polimerin moleküler ağırlığının arttırılması, organik (dağılan) fazın viskozitesini arttırır (André-Abrant ve diğ., 2001). Viskozitenin artması ile de mikroküre boyutları katlanarak artar. Viskozitenin arttırılması, ilaç kapsülleme verimini

de arttırmaktadır. Ayrıca, polimerin daha yüksek molekül ağırlığı, ilacın enkapsülasyon etkinliğini artırır.

## **2.6. Mikro/Nanoküre Yapımında Kullanılan Malzemeler**

### **2.6.1. Poli-ε-kaprolakton (PCL)**

Biyouyumluluk ve biyobozunurluk farmakolojik uygulamalar için kullanılan polimerler için önemli bir özelliktir. Biyobozunurluk, bileşenin metabolize olduğu ya da zararsız bileşenlere dönüştürülerek vücuttan atıldığı anlamına gelmektedir. Biyouyumluluk ise bileşenin fizyolojik olarak tolere edilebilir olması ve uygulamadan sonra olumsuz bir yerel ya da sistematik soruna yol açmaması gerektiği anlamına gelmektedir.

Laktik ve glikolik asitlerin polimerleri / kopolimerleri insanlarda güvenli ve FDA (Gıda ve İlaç İdaresi) onaylı uygulamaları nedeniyle ilaç salım sistemlerini geliştirmek için kullanılan en yaygın malzemelerdir (Chulia ve diğ., 1994).

Doğal metabolik ürünler olan bileşenlerinin hidrolizi ile bozulabilirler. İyi biyouyumluluğa sahip ancak biyobozunur olmayan etil selüloz (bozunur ancak biyobozunur değil) ve polimetil metakrilat (biyouyumlu ancak bozunur değil) gibi polimerler de kaplama materyali olarak kullanılabilirler.

PCL, 1930'lerde Carother's Şirketi tarafından sentezlenmiştir (Woodruff ve Hutmacher 2010). Bu biyobozunur polimer; anyonik, katyonik ve koordinasyon kullanılarak ε-kaprolaktonun halka açma polimerizasyonu, katalizörler veya 2-metilen-1-3-dioksepan gibi serbest radikalleri kullanılarak hazırlanabilir. PCL hidrofobik ve molekül ağırlığı arttıkça kristalitesi azalan yarı kristal yapıda bir polimerdir. PCL'un camsı geçiş sıcaklığı ( $T_g$ ) yaklaşık  $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'dir. Bu sebeple vücut ısısında lastik kıvamında olması beklenmektedir. Erime noktası ( $T_m$ )  $59-64\text{ }^{\circ}\text{C}$  arasındadır. PCL'un bu özellikleri düşük sıcaklıklarda kolay şekillenebilmesine olanak sağlamaktadır.

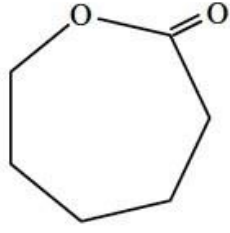
1970'ler ve 1980'ler esnasında, PCL ve onun polimerleri PCL'un çeşitli avantajlarından dolayı ilaç salım aracı olarak yaygın olarak kullanılmıştır. Bu avantajlar arasında tekrarlanabilir bozunma kinetiği ve mekanik özellikler, esnek şekillendirme özellikleri, yüksek biyouyumluluk ve işlevsel gruplar ekleme kolaylığı ve polimerlerin daha hidrofilik hale getirilmesini sağlamak örnek verilebilir. PCL bozunma oranı, salım teknolojisinde

sıkça kullanılan poliglikolid (PGA), poli-D,L-laktid (PDLLA) ve onun polimerleri gibi diğer polimerlerden daha yavaştır. PCL'un yavaş bozunma özelliği, özellikle 1 yıldan fazla süren salım sistemi uygulamalarında kullanılmasına olanak vermektedir (Woodruff ve Hutmacher 2010). Hidrolitik olarak kararsız alifatik ester bağlarına sahiptir. Hidrolitik bozunma, bozunma oranını yavaşlatmaktadır. Tam bozunma sulu ortamda yaklaşık 2-3 yıl sürer. PCL'un mekanik özelliklerinin güçlü olmamasına rağmen ko-polimerizasyon ve diğer polimerlerle karıştırarak onun bu özelliği geliştirilebilir (Sinha ve diğ., 2004). Biyobozunma esnasında, PCL'un asidik bir ortam oluşturmadığı bilinmektedir. Bu nedenle, eklem kıkırdağının sinoviyal bölgesinde ilaç taşıyıcısı olarak kullanılması uygundur. PCL, stabilite, düşük fiyat ve bulunabilirlik gibi çeşitli avantajlar nedeniyle kemik ve kıkırdak onarımlarında en yaygın kullanılan polimerdir (Luciani ve diğ., 2008; Hutmacher, 2000).

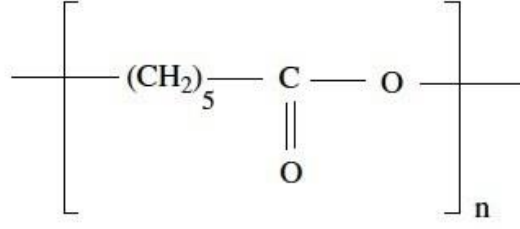
Ayrıca PCL; çatlak, yapışma, direnç gibi özellikleri geliştirmek için karışımlarda kullanılabilir. Mikropartiküllerin ilaç salımını modifiye etmek için selüloz propiyonat, selüloz asetat bütirat, polilaktik asit ve polilaktik asit ko-glikolik asit ile karıştırılabilir (Woodruff ve Hutmacher 2010).

PCL mikroküre/nanoküreler, ilacın tipine göre suda yağ (o/w) dispersiyonu ve yağda su (w/o) dispersiyonu gibi farklı tip metotlar kullanılarak hazırlanabilmektedir (Freiberg ve Zhu, 2004). Kontrollü şartlardaki emülsiyon tekdüze küreler oluşturabilir. Mikroküre/nanoküre formları hazırlanmasında tekli emülsiyon (Pérez ve diğ., 2000), çift emülsiyon solvent evaporasyon (Dhanaraju ve diğ., 2006) ve püskürtmeyle kurutma (Chu ve diğ., 2006) teknikleri kullanılabilir (Wang ve diğ., 2009).

Çoğu ilaç ve toksik olmayan bozunma ürününün; bozunma oranı, yüksek geçirgenliği uzun süreli ilaç/aşı taşıma aracı olarak PCL'un kullanılmasının ana faktörlerindedir. Capronor®, polimer olarak PCL'in kullanıldığı uzun süreli bir koruyucu taşıma aracıdır ve Levonorgestre'nin uzun vadeli sıfır salım sürümü için kullanılmıştır (Nair ve Laurencin, 2007; Nair ve Laurencin, 2006). Şekil 2.7'de PCL ve onun  $\epsilon$ -polikaprolakton olarak adlandırılan halkalı formdaki monomeri gösterilmektedir.



**Kapolakton**



**Poli (kapolakton)**

**Şekil 2.7.** PCL ve onun  $\epsilon$ -polikaprolakton olarak adlandırılan halkalı formdaki monomerinin kimyasal yapısı (Nair ve Laurencin, 2007).

PCL tabanlı taşıma sistemleri üzerine çeşitli araştırmalar vardır. Örneğin; mide-bağırsak yolu taşınması için Papaverine yüklü PCL mikroküreleri hazırlanmıştır (Jeong ve diğ., 2003). Bu sistem mikrokürelerin ağız yoluyla alınarak kolon bölgesindeki ilaç salımını geciktirmek için kullanılmıştır. PCL aynı zamanda koruyucu hormon salımı için yukarıda belirtildiği gibi mükemmel bir taşıyıcı olarak kullanılır (Dhanaraju ve diğ., 2003; Dhanaraju ve diğ., 2004). Levonorgestrel ve etinil estradiol PCL içine enkapsüle edilmiş ve bu formülasyon koruyucu terapiye uygun bulunmuştur (Dhanaraju ve diğ., 2006). Hipertansiyon tedavisinde kullanılan bir ilaç olan felodipine ile yüklü PCL mikroküreler hazırlanmıştır (Kim ve diğ., 2005). Malign lenfoma, beyin sapı gliomaları, küçük hücreli akciğer kanseri ve yumurtalık kanseri gibi hastalıklarda kullanılan etoposide (Vivek ve diğ., 2007) ve primer hepatik karsinom, meme kanseri ve karın kanserinde kullanılan disodium norkantharidate (DSNC) gibi ilaçların yan etkilerini en aza indirmek için PCL anti-kanser ilaçlarıyla yüklenmiştir (Wang ve diğ., 2008).

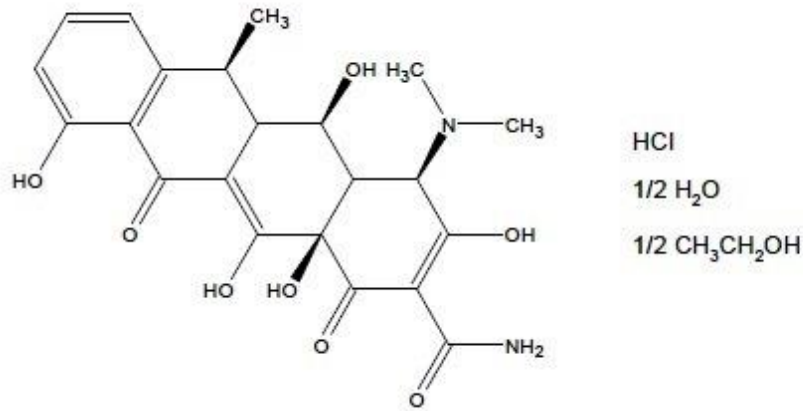
Uzun süreli tedavide, seçici bir östrojen reseptörü modülatörü (SERM; Jordan, 1998) olan tamoksifen, endometrial kanser gibi bazı önemli yan etkilere sahiptir (Johnston, 1997; Munster ve Hudis, 1999; Osborne ve Fuqua, 1994). Yan etkileri nedeniyle, tümör bölgesine hedefe yönelik teslimat gereklidir. Tamoksifen PCL nanopartiküllerine hapsedilmiş (Chawla ve Amiji, 2002) ve tümör tarafından emilen tamoksifen oranı tedavinin seçiciliği tarafından geliştirilmiştir.

Son yıllarda, protein yüklü polimerik yapılar cazibe kazanmıştır. Cheng ve diğ. (2010) PCL partiküllerinin içine lizozimi enkapsüle etmiştir. Diğer polyester bazlı sistemlerde, protein / peptid salımı genellikle 1-4 ay sürmüştür (Jiang ve diğ., 2005). Bununla birlikte PLGA'nın hızlı bozunması ve bozunma esnasında asidik ortam oluşturması bir dezavantaj olarak bildirilmektedir. Bu avantajlardan dolayı sürekli protein salımlarında PCL'un

kullanımı PLGA'den daha uygundur (Sinha ve diğ., 2004; Tang ve diğ., 2007). Enkapsülasyon sonrası konformasyonel değişikliklerin değerlendirilmesi, sığır serum albumini (BSA-Bovine Serum Albumin) ve lizozim ile karşılaştırmak için miyoglobin, bir model protein olarak PCL içerisine enkapsüle edilmiştir (Hnaïen ve diğ., 2011).

### 2.6.2. Doksisisiklin

Doksisisiklin, tetrasiklin grubunun en kararlı olarak bilinen üyesidir. Gram negatif ve pozitif bakteriler, protozoalar ve anaeoroblar için kullanılan geniş spektrumlu bir antibiyotiktir (Bokor-Bratic ve Brkanic, 2000). Monohidrat ve hyclate formlarının her ikisi için de uygundur. Açık sarı renkli kristal tozları şeklindedir. Asla erimez ancak 209 °C'de kömürleşir. Doksisisiklin hyclate formundayken suda kolayca çözünürken monohidrat formunda çok az çözünmektedir (Tamimi ve diğ., 2007). Aynı zamanda metanolde çözünmediği, etanolde az miktarda çözündüğü ve kloroform ve eterde hiç çözünmediği bildirilmektedir. Şekil 2.8'de Doksisisiklin hyclate'in kimyasal yapısı verilmiştir (Kogawa ve Salgado, 2012).



Şekil 2.8. Doksisisiklin hyclate'in kimyasal yapısı (Kogawa ve Salgado, 2012).

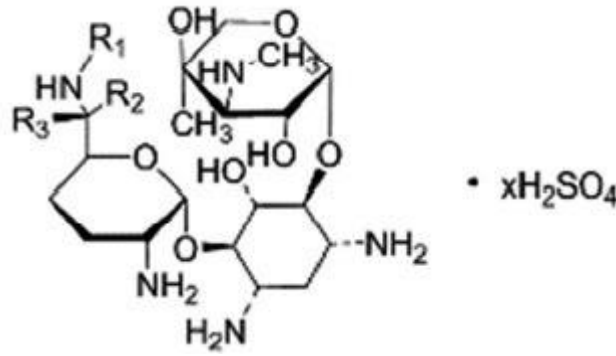
*Actinobacillus actinomycetemcomitans* (A.a.), *Porphyromonas gingivalis* (P.g) ve *Bacteroides frosthytur* (B.f.) gibi periodontal patojenlere karşı aktiviteye sahiptir. Tamimi vd., (2007) periodontal hastalıklar için sürekli salım sistemlerinde Doksisisiklin monohidrat ve Doksisisiklin hyclate ile çalışmış ve klinik çalışmalarda, Doksisisiklin hyclate en iyi sonucu göstermiştir (Choi ve diğ., 2004).

Antibakteriyel aktivitesinin yanı sıra periodontal hastalıklarda matriks metaproteinaz aktivitesini (MMP) ve sitokinezi inhibe eder (Choi ve diğ., 2004). Eklem iltihabı

hastalıklarında, periodontitiste (Gapski ve diğ., 2004) ve aort anevrizmasında (Manning ve diğ., 2003) MMP aktivitesini azaltır. Ayrıca, yara iyileşmesinde MMP'lerin bir inhibitörü olarak görev yaptığı da gösterilmiştir (Chin ve diğ., 2003; Shanmuganathan ve diğ., 2008).

### 2.6.3. Gentamisin Sülfat

Gentamisin sülfat, geniş bir spektrum aktivitesine sahip olan aminoglikozit sınıfından bir antibiyotiktir. Mikobakteriyel, enterokokal ve şiddetli gram negatif bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek ve önlemek için kullanılan bir bakteri öldürücü ajandır (Naveed ve diğ., 2014). Su içinde kolayca çözünebilir. Ancak metanol içerisinde çözünmez. En güçlü asidik durumda gentamisin sülfatın KK4 değerleri 12.55 ve bazık durumda 10.18'dir ve 218-237 ° C'de erir. Şekil 2.9'da gentamisin sülfatın kimyasal yapısı görülmektedir.



Şekil 2.9. Gentamisin sülfat'ın kimyasal yapısı (Fiolet ve diğ., 2018).

Stafilokok, psödomonas, klebsiella, enterobacter ve serratinin neden olduğu enfeksiyonlara karşı aktiftir. Çok çeşitli insan bakteri enfeksiyonlarına, çoğunlukla Pseudomonas, Proteus, Serratia'yı içeren gram negatif ve Staphylococcus gibi gram pozitif bakterilere karşı aktiftir. Ayrıca hipoksik-iskemik ensefalopati (HIE) yenidoğanlarda varsayılan enfeksiyonun deneysel tedavisi için de yaygın olarak kullanılmaktadır. (Naveed ve diğ., 2014). Kemik ve yumuşak doku enfeksiyonunun tedavisinde de yaygın olarak kullanıldığı bildirilmektedir (Chang ve diğ., 2006).

Yüksek oranda çözülebilir bir ilaçtır. Fakat hücre zarlarını verimli bir şekilde geçemez (Tulkens, 1986). Bu da bruselloz gibi hücre içi enfeksiyonların tedavisi için önemli bir dezavantaj olmaktadır (Prior ve diğ., 2004). Yapılan bazı çalışmalar gentamisinin in vitro olarak steptomisine göre daha aktif olduğunu bildirmektedir (Hall, 1990; Gargani ve Pacetti, 1986).

Prior ve diğ. (2004) çalışmalarında; enfekte olmuş monositlerdeki *Brusella abortus* yükünü azaltabilmek için gentamisin yüklü mikroküreler yapmışlardır. Çalışmada, polimer olarak PLGA kullanılmış ve enfekte olmuş hücrelerde 24 saat sonraki tedavi etkinliği ölçülmüştür. Sonuç olarak PLGA ile enkapsüle edilmiş gentamisin sülfatın, hücre içi Brucella enfeksiyonlarını azaltmada etkin ilaç hedeflemesi ve iletimi için uygun olabileceği görülmüştür (Prior ve diğ., 2004).

Solera ve diğ. (1997) tarafından insan brusellası tedavisi üzerine doksisisiklin ve gentamisin kombinasyonları ile ilgili bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışma, 45 gün boyunca doksisisiklin ve 7 gün boyunca gentamisin kombinasyonunun bruselloz için etkili ve iyi tolere edilen bir terapi olduğunu göstermiştir (Solera ve diğ., 1997).

Tetrasiklin ve streptomisin kombinasyonu, insanlarda bruselloz tedavisinde etkilidir; Ancak, nüks önemli bir problem olmaya devam etmektedir (Solera ve diğ., 1997). Ancak; Lubani ve diğ. (1989) 1100 bruselloz hastası tedavi etmişlerdir ve gentamisin ile doksisisiklin ya da oksitetrasiklin kombinasyonları alan 89 çocukta hastalık tekrar nüksetmemiştir.

## **2.7. Gıda Kaynaklı Enfeksiyonlar**

Gıdalar çok sayıda mikroorganizmaya konukçu olabilmektedir. Bu enfeksiyonların kaynağı durumunda pek çok sayıda bakteri bulunmaktadır. Gıda kaynaklı enfeksiyonlar çoğunlukla yeterli oranda hijyen sağlanamamasından kaynaklanmaktadır. Bu enfeksiyonlara ait tedaviler de genellikle etkili olamamaktadır. En yaygın enfeksiyonların pek çoğu kısa süreli olumsuz etkiye neden olur. Bu enfeksiyonlardan uzun süreli olumsuz etkiye neden olan süt ve süt ürünlerinde yeterli ısıl işlem uygulanmaması neticesinde ortaya çıkan *Brucella* spp. türlerinin kontaminasyonunda görülmektedir. *Brucellaceae* familyasında bulunan *Brucella* cinsine ait türlerden meydana gelen gıda kaynaklı bir enfeksiyon olup brusella veya bruselloz da denilen hastalığa yol açarlar.

### **2.7.1.Brusella**

Hastalık; halsizlik, anoreksi, ateş ve derin kas zayıflığı ile karakterize zayıflatıcı bir hastalık olarak, 1860 yılında Marston tarafından tanımlanmıştır ve Bruselladan sorumlu olan mikroorganizma da 1887'de David Bruce tarafından izole edilmiştir (Doğanay ve Aygen, 2003).

Brusella, koyun, sığır, keçi, domuz gibi enfekte hayvanlardan gelen sıvılarla temas yoluyla bulaşır. *Brucella* spp. gram negatif, fakültatif ve hücre içi bakterilerdir. *Brucella* spp.'de *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ovis* ve *B. neotomalar* bulunmaktadır. Bunların hepsi *B. ovis* ve *B. neotoma* hariç, insan patojeni olarak bilinir (Cengiz ve Dolapçı, 1997). *B. ovis* koyunlara özgü bir enfeksiyona neden olur ve sonuç olarak insan hastalığına dahil edilmemiştir. *B. neotom* birkaç kez izole edilmiştir ve insan hastalığına asla rastlanmamıştır (WHO, 2006). Ayrıca deniz memelilerinden izole edilen belirgin bir *Brucella* suşuna geçici olarak *Brucella maris* ismi verilmiştir (Doğanay ve Aygen, 2003). Sonrasında bu suşun kara memelilerinden farklı olduğu tespit edilmiştir.

Bruselloz dünya genelinde büyük bir halk sağlığı sorunudur (Young, 1995; Colmenero ve diğ., 1996). Tüm yaş grupları bruselloz ile enfekte olabilir. Endemik bölgelerdeki hastaların dörtte birinin 14 yaşından küçük çocuklar olduğu tahmin edilmektedir (Bosilkovski ve diğ., 2015). Kuluçka süresi bir hafta ile birkaç ay arasındadır (Kaplan Bulut ve diğ., 2005). Brusella, dünyada en yaygın zoonozdur. Yıllık bildirilen 500.000 yeni vaka vardır. Bu nedenle; birçok ülkede başlıca ekonomik zararın nedeni brusella olabilmektedir (Vilchez ve diğ., 2015). Sığırlardaki *B. melitensis*, özellikle Orta Doğu ve Akdeniz ülkelerinde ciddi sorun olabilmektedir (Eskandari-Nasab ve diğ., 2013). Son zamanlarda brusellaya olan bilimsel ilgi, dünyanın birçok yerinde yeniden görülmesi, gözetiminin artması ve B sınıfı bir biyo-terörist ajan olmasından kaynaklanmaktadır (Franco, 2007).

Brusella bakterileri 4 derecede uzun süre hayatta kalabilir ve insanlara temas, solunum, sindirim sistemi ve cinsel yolla bulaşabilir (Cengiz ve Dolapçı, 1997). En büyük bruselloz kaynağı pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin tüketimidir. Özellikle taze peynir; Fransa, İtalya, Yunanistan ve Orta Asya'da brusella için önemli bir enfeksiyon kaynağıdır. Sütteki brusella pastörizasyonla hayatta kalamaz. Bu nedenle, hastalığa karşı korunmak için, süt tüketilmeden önce pastörize edilmelidir. Pastörizasyon mümkün değilse, süt minimum 80-85 °C sıcaklığa ısıtılmalı ve sıcaklık en az birkaç dakika tutulmalıdır. Süt ve süt ürünlerinin yanı sıra et de önemli bir brusella kaynağıdır (WHO, 2006).

Dünya Sağlık Örgütü, brusellanın çift veya üçlü uygulanan kombine antibiyotik ile tedavi edilmesini önermektedir. Tetrasiklin grubu antibiyotiklerinden olan doksisisiklin özellikle etkili olarak tespit edilmiştir. Diğer antibiyotiklerden, rifampin, streptomisin ve gentamisin gibi antibiyotiklerle uygun kombinasyonlarının kullanılması önerilmektedir (Gezgen ve

Şeker, 2014). Gentamisin ve doksisisiklin sırasıyla 7 ve 45 gün kullanıldığında, bu çalışmanın başarısının % 86-94.8 arasında olduğu tespit edilmiştir (Hasanjani Roushan ve diğ., 2006; Solera ve diğ., 2004; Solera ve diğ., 1997b). Çocuklarda 5 gün gentamisin+8 hafta doksisisiklin uygulaması % 100 etkin tedavi olmuştur. (Lubani ve diğ., 1989). Bu uygulamanın etkinliği yetişkin brusellozunda henüz belirlenmemiştir (Roushan ve diğ., 2010). Yapılan bir araştırmada 5 gün gentamisin+8 hafta doksisisiklin uygulamasının 2 hafta streptomisin+45gün doksisisiklin uygulamasından daha üstün olmadığını bulunmuştur (Chen ve diğ., 2014).

Brusella tedavisi, hücre içinde hayatta kalma ve fagositik hücrelerde çoğalması nedeniyle zordur. Çünkü çoğu antibiyotik, in vitro olarak aktif olmasına rağmen, aktif olarak hücre zarlarından geçmez. En azından iki ajanın bulunduğu kombinasyonlar ile uzun süreli bir ilaç tedavisi gerektirmektedir (Hall, 1990). Gentamisin veya netilmisin ile doksisisiklin kombinasyonlarının etkili ve de daha az olumsuz reaksiyona neden oldukları kanıtlanmıştır (Solera ve diğ., 1996; Solera ve diğ., 1997a). Ancak, kronik hale gelmesi ihtimali sebebiyle brusella halk sağlığı için büyük bir tehdittir.

## **2.8. Gelecek Çalışmalar**

Bu çalışmada Türkiye'nin de içinde olduğu birçok ülke için ciddi sorun oluşturan Brusella'nın tedavisinde kullanılan doksisisiklin ve gentamisin antibiyotikleri; tekli emülsiyon ve çözücü buharlaştırma tekniği kullanılarak enkapsüle edilmiş ve optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Bahsi geçen antibiyotiklerin enkapsüle edilerek etkinliklerinin artırılması amaçlanmıştır. Ancak salım profilleri incelenememiştir. Sonraki çalışmalarımızda bu veriler kullanılarak salım profilleri de incelenecektir ve ona bağlı olarak salım miktarı belirlenecektir. Buna bağlı olarak da brusella tedavisinde kullanım olanakları araştırılabilecektir.

### 3. MATERİYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Kullanılacak materyaller doksisisiklin ve gentamisin antibiyotikleri olup, Sigma-Aldrich firmasından (Steinhein, Almanya) temin edilmiştir. Enkapsülasyonda kaplama materyali olarak kullanılacak olan polimer Poli-ε-kaprolakton ( $M_w=14$  kDa) (PCL), çözeltilerimizde kullanacağımız kloroform ve emülsifiye edici ajan olarak kullanılan PVA ( $M_w=27$  kDa) (Polivinil Alkol) da Sigma-Aldrich (Steinhein, Almanya) firmasından alınmıştır.

#### 3.2. Yöntem

##### 3.2.1. Boş Mikrokürelerin Hazırlanması

Morfoloji ve büyüklükleri gibi özelliklerini standardize edebilmek için mikroküreler ilk etapta boş olarak hazırlanmıştır. Tekli emülsiyon-çözücü buharlaştırma tekniği kullanılmıştır. Mikroküre yapımı için öncelikle kullanılacak sulu fazın (sürekli faz) hazırlanması gerekmektedir. Bunun için farklı konsantrasyonlarda PVA (Polivinil Alkol) çözeltileri ile denemeler yapılmıştır. Manyetik karıştırıcının (Schott-Instruments, Germany) sıcaklığı 80 °C'ye ayarlandıktan sonra mikroküre yapımında kullanacağımız PVA çözeltisi hazırlanmıştır. PVA'nın iyice çözünmesi ve karışmasının sağlanabilmesi için yaklaşık 2-3 saat karıştırma işlemine devam edilmiştir. Daha sonra çözelti oda sıcaklığına gelinceye kadar bekletilmiştir. Bu sırada organik faz hazırlamak için 3 ml kloroform içerisine 0,2 gram poli-ε-kaprolakton eklenmiştir. Orbital karıştırıcı (IKA KS 130 basic)'da 240 rpm (devir/dak) hızda 15 dakika karıştırılarak PCL'un çözünmesi sağlanmıştır.

Hazırlanan PVA çözeltisi oda sıcaklığına geldiğinde köpürtmek için manyetik karıştırıcıya (Schott-Instruments, Germany) alınmıştır. Köpükler oluştuğundan sonra önceden hazırlanmış PCL çözeltisi, 1100 rpm hızda karışmaya devam eden PVA çözeltisine cam pastör pipet yardımıyla yavaş yavaş damlatılmıştır. Mikrokürelerin oluşmasına kadar geçen sürede sıcaklık termometre probu vasıtasıyla 27°C'de sabit tutulmuştur. Kloroform uçuncaya kadar (yaklaşık 18 saat) çeker ocak altında karıştırma işlemine devam edilmiştir.

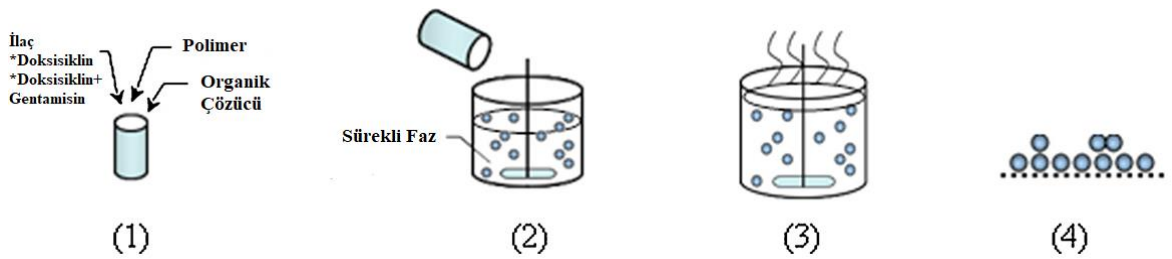
Kloroform (organik faz) uçtuğundan sonra santrifüj işlemine geçilmektedir. Santrifüj tüplerine konulan sulu faz (supernatan) 6000 rpm hızda 15 dakika santrifüj edilir (Nüve NF 500).

Mikrokürelerin tüplerin dibinde toplandığı görülür. Supernatandan PVA tamamen ayrılıncaya kadar çözeltiye su eklenerek santrifüj işlemine devam edilir. Santrifüj işlemi bittikten sonra santrifüj tüplerinin dibinde bulunan mikroküreler plastik pastör pipet yardımıyla cam petriye alınır. Etüvde yaklaşık 37 °C’de kurumaya bırakılır. Kuruyan mikroküreler spatülle kazınarak ependorf tüplerine alınır. +4 °C’de desikatörde muhafaza edilir (Aydın, 2011).

### 3.2.2. İlaçlı Mikrokürelerin Hazırlanması

İlaçlı mikroküre hazırlanması için boş mikrokürelerin hazırlanmasında tarif edildiği gibi tekli emülsiyon-çözücü buharlaştırma tekniği kullanılarak mikroküreler oluşturulmuştur. Şekil 3.1 ‘de bu tekniğe ait detaylar bulunmaktadır. Doksisisiklin içeren mikroküreler elde etmek için PCL çözeltisine ilaç polimer madde oranı 1:2 (w/w) olacak şekilde doksisisiklin eklenmiş ve homojen şekilde karışması sağlanmıştır. Doksisisiklin ve Gentamisin içeren mikroküreler elde etmek için ise PCL çözeltisine gentamisin:doksisisiklin oranı 1:9 (w/w) olacak şekilde eklenmiş ve ilaç polimer oranı yine 1:2 (w/w) olması sağlanarak homojen şekilde karıştırılmıştır.

Önceden hazırlanmış ilaç içeren (doksisisiklin veya doksisisiklin+gentamisin) PCL çözeltisi, 1100 rpm hızda karışmaya devam eden PVA çözeltisine cam pastör pipet yardımıyla yavaş yavaş damlatılmıştır. Mikrokürelerin oluşmasına kadar geçen sürede sıcaklık termometre probu vasıtasıyla 27°C’de sabit tutulmuştur. Kloroform uçuncaya kadar (yaklaşık 18 saat) çeker ocak altında karıştırma işlemine devam edilmiştir. Boş mikrokürelerde olduğu gibi santrifüjlenip, kurutulup, +4°C’de desikatörde muhafaza edilmiştir (Aydın, 2011).



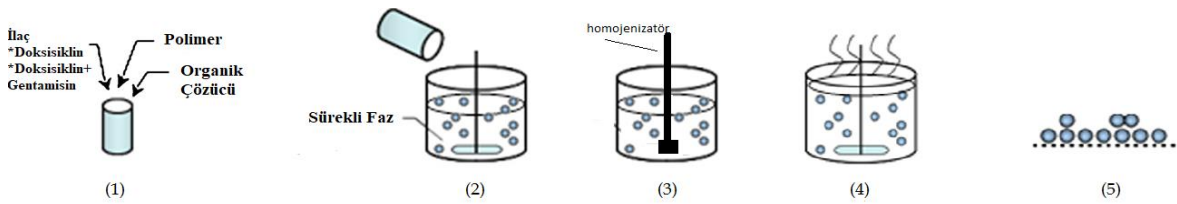
Şekil 3.1. Mikroküre hazırlanma aşamaları.

### 3.2.3. İlaçlı Nanokürelerin Hazırlanması

Mikroküre hazırlanmasında olduğu gibi tekli emülsiyon-çözücü buharlaştırma tekniği kullanılmıştır. Burada parçacıkların boyutlarını nanoya getirmek amacıyla Şekil 3.2’de görülen damlatma aşamasından (2.) sonra ve çeker ocak altında karıştırma (4.) aşamasından önce homojenizatör ile yüksek hızda karıştırma işlemi yapılmıştır.

Hazırlanan PVA çözeltisi oda sıcaklığına geldiğinde bu çözeltden 40 ml alınmıştır. Homojenizatör (IKA-Ultraturrax T-25, Germany) kullanılarak bu köpürtülen çözeltiliye, önceden hazırlanmış olan doksisisiklin veya doksisisiklin ve gentamisin içeren PCL çözeltisi, karıştırma işlemi yapılmaksızın cam pastör pipet yardımıyla damlatılmıştır. Damlatma işlemi bittikten sonra homojenizatörle karıştırılmıştır. Daha sonra PVA miktarı 75 ml’ye tamamlanmış ve kloroform uçuncaya kadar (yaklaşık 18 saat) 1100 rpm’de manyetik karıştırıcıda karıştırma-solvent buharlaştırma işlemi uygulanmıştır. Bu karıştırma esnasında termometre probu vasıtasıyla sıcaklık 27°C’de sabitlenmiştir.

Doksisisiklin içeren nanoküreler elde etmek için PCL çözeltisine ilaç polimer madde oranı 1:2 olacak şekilde (0.1 gram doksisisiklin) eklenmiş ve homojen şekilde karışması sağlanmıştır. Doksisisiklin ve Gentamisin içeren nanoküreler elde etmek için ise PCL çözeltisine ise 0.09 gram doksisisiklin, 0.01 gram gentamisin eklenmiş ve homojen şekilde karışması sağlanmıştır. Kloroform uçuncaya kadar (yaklaşık 18 saat) çeker ocak altında karıştırma işlemine devam edilmiştir. Boş mikrokürelerde olduğu gibi 6000 rpm hızda 15 dakika santrifüj edilir. 37°C’de kurutulup, +4°C’de desikatörde muhafaza edilmiştir (Aydın, 2011).



Şekil 3.2. Nanoküre hazırlanma aşamaları.

### **3.3. Mikro/Nanokürelerin Karakterizasyonu**

#### **3.3.1. Parçacık Büyüklüğü Ölçümü**

Parçacık büyüklüğü dağılımı, ıslak metod ile yapılmıştır. Ölçüm prensibi Mie Teoriye dayanan metotta, parçacıklar sıvıda disperse edilmiş ve ölçümleri, Malvern Mastersizer 2000 ile ODTÜ Gıda Mühendisliği Laboratuvarında yapılmıştır. Parçacık boyutu dağılım genişliği (SPAN), aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır (Aydın ve diğ., 2014):

$$SPAN = \frac{d [0.9] - d[0.1]}{d[0.5]}$$

#### **3.3.2. Mikroskopik İncelemeler**

Mikro/nanokürelerin ilk görüntüleri için mikroskop (Olympus BX53F) kullanılarak fotoğraflar çekilmiştir.

#### **3.3.3. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Çalışmaları**

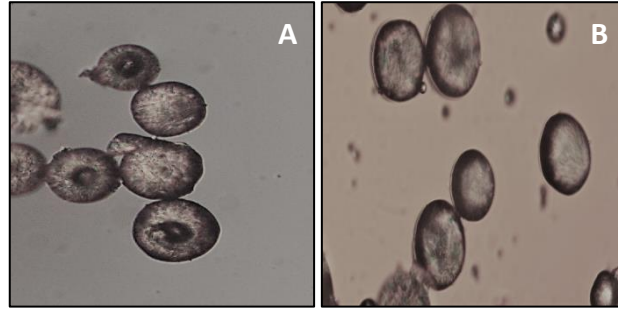
Parçacıkların yüzey ve morfolojik özellikleri için ODTÜ Merkezi Laboratuvarı bünyesinde bulunan SEM Laboratuvarı'nda QUANTA 400F Field Emission SEM cihazı kullanılmıştır. SEM'e uygun iletken yüzeyler sağlamak için, parçacıklar bakır disk üzerine serpmek suretiyle dağıtılmış ve üstleri incelemeden önce altınla kaplanmıştır.

## 4.BULGULAR

### 4.1. Boş Mikrokürelerin Hazırlanması ve Optimizasyonu

İlaç yüklü mikroküre yapılmadan önce mikroküreler boş olarak yapılarak uygun sürfaktan/emülsifikasyon ajanı konsantrasyonu belirlenmiştir. Polimerik ilaç salım sistemlerinde tekli emülsiyon-solvent buharlaştırma tekniği kullanıldığında en çok tercih edilen sürfaktan polivinil alkoldür. Bunun için farklı konsantrasyonlarda PVA çözeltileri ile denemeler yapılmıştır. Bu denemeler sonucunda en uygun konsantrasyon olarak % 2 ve % 4'lük PVA'ün mikroküre yapımında kullanılmasına karar verilmiştir.

Ayrıca, mikrokürelerin morfolojileri ve büyüklükleri gibi özelliklerini standardize edebilmek için de mikrokürelerin öncelikle boş olarak yapılması gerekmektedir. Parçacıkların morfolojisini görebilmek için mikroskop (Olympus BX53F) görüntüleri alınmıştır. Şekil 4.1'de % 2 PVA ile hazırlanmış parçacıklar ile % 4 PVA ile hazırlanmış parçacıkların küre şeklinde olduğu görülmektedir. Bu parçacıklardan % 2 PVA ile hazırlanmış olanların çapı, % 4 PVA ile hazırlananlardan daha büyük olduğu görülmektedir.

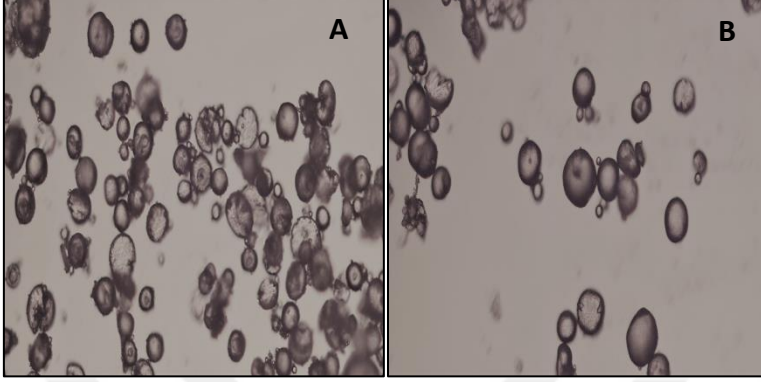


**Şekil 4.1.** A) % 2 PVA ile hazırlanmış boş mikroküreler (10X büyütme) B) % 4 PVA ile hazırlanmış boş mikrokürelere ait mikroskop görüntüleri (40X büyütme).

### 4.2. Doksisisiklin ve Doksisisiklin&Gentamisin Yüklü Mikro/Nanokürelerin Hazırlanması ve Optimizasyonu

Mikro/nanoküre oluşturmak için tek başına doksisisiklin veya doksisisiklin ile gentamisin beraber olarak yüklenmiş ve onların boyut ve morfolojileri değerlendirilmiştir. Bunun için

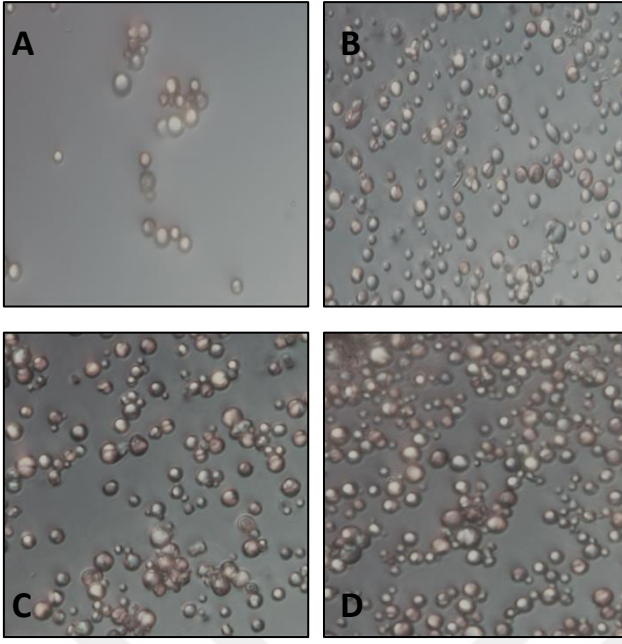
sulu faz olarak % 2 ve % 4'lük PVA kullanılmıştır. Öncelikle yapılan malzemenin morfolojisini görebilmek için mikroskop (Olympus BX53F) görüntüleri alınmıştır. Şekil 4.2 ve 4.3'te hazırlanan parçacıklardan bazılarının ait mikroskop görüntüleri bulunmaktadır.



**Şekil 4.2.** % 4 PVA ile hazırlanmış A) Doksisisiklin-Gentamisin kombinasyonu B) Doksisisiklin yüklü mikrokürelere ait mikroskop görüntüleri (10X büyütme).

Şekil 4.2'de sürfaktan olarak % 4 PVA kullanılarak hazırlanan parçacıklar görülmektedir. Doksisisiklin ve doksisisiklin-gentamisin kombinasyonu yüklenerek hazırlanan parçacıkların küre şeklinde olduğu tespit edilmiştir.

Şekil 4.3'te ise, % 2 ve % 4'lük PVA ile hazırlanmış ve nano boyutlu hale getirebilmek için homojenizatör ile damlacıkların 7200 rpm ile kırıldığı, doksisisiklin ve doksisisiklin-gentamisin kombinasyonu yüklenerek hazırlanmış parçacıklar görülmektedir. Bu parçacıkların da küre şeklinde olduğu ve homojenizatör kullanılmadan yapılan parçacıklardan oldukça küçük oldukları görülmektedir. Ancak, incelenen mikroskop görüntülerinde % 2 ve % 4 PVA ile hazırlanan küreciklerin çapları arasında belirgin boyut farkı tespit edilememiştir.



**Şekil 4.3.** 7200 rpm'lik karıştırma uygulanmış, % 2 PVA ile hazırlanmış A) Doksisisiklin B) Doksisisiklin-Gentamisin kombinasyonu yüklü; % 4 PVA ile hazırlanmış C) Doksisisiklin D) Doksisisiklin-Gentamisin kombinasyonu yüklü parçacıklara ait mikroskop görüntüleri (100X büyütme).

Hazırlanmış parçacıkların boyut dağılımlarının değerlendirilmesi için parçacık boyutları ölçülmüştür. Bu ölçümlere ait sonuçlar Tablo 4.1, ve 4.2'de görülmektedir.

**Tablo 4.1.** Homojenizatör kullanılmadan hazırlanmış parçacıkların boyutları.

Sürekli Faz	Aktif Bileşen	D <sub>x</sub> (10)	D <sub>x</sub> (50)	D <sub>x</sub> (90)	D [3,2]	D [4,3]	Span
% 2 PVA	Doksisisiklin	47	87,4	193	50	112	1,67
% 2 PVA	Doksisisiklin+Gentamisin	47,1	86,1	175	46,7	107	1,49
% 4 PVA	Doksisisiklin	48,1	76,3	167	43,4	143	1,56
% 4 PVA	Doksisisiklin+Gentamisin	43,6	72,4	125	35	96,4	1,12

Tablo 4.1.'de homojenizatör kullanılmaksızın ve % 2 ile % 4 PVA kullanılarak hazırlanan doksisisiklin ve doksisisiklin-gentamisin kombinasyonu yüklü parçacıkların boyut ölçümleri görülmektedir. % 2 PVA ile hazırlanan doksisisiklin içeren mikrokürelerin parçacık boyutu ölçümlerine göre mikrokürelerin ortalama boyutları 87,4µm'dir ve % 90'ı 193 µm'den küçüktür. % 2 PVA ile doksisisiklin-gentamisin kombinasyonu yüklü mikrokürelerin

parçacık boyutu ölçümlerine göre mikrokürelerin ortalama boyutları 86,1  $\mu\text{m}$ 'dir ve % 90'ı 175  $\mu\text{m}$ 'den küçüktür. % 4 PVA ile hazırlanan doksisisiklin içeren mikrokürelerin parçacık boyutu ölçümlerine göre mikrokürelerin ortalama boyutları 76,3  $\mu\text{m}$ 'dir ve % 90'ı 167  $\mu\text{m}$ 'den küçüktür. % 4 PVA ile doksisisiklin-gentamisin kombinasyonu yüklü mikrokürelerin parçacık boyutu ölçümlerine göre mikrokürelerin ortalama boyutları 72,4  $\mu\text{m}$ 'dir ve %90'ı 125  $\mu\text{m}$ 'den küçüktür.

**Tablo 4.2.** Homojenizatör kullanılarak hazırlanmış parçacıkların boyutları.

Sürekli Faz	Aktif Bileşen	rpm	D <sub>x</sub> (10)	D <sub>x</sub> (50)	D <sub>x</sub> (90)	D [3,2]	D [4,3]	Span
% 2 PVA	Doksisisiklin	3400	6,98	17,5	54,7	7,89	30,2	2,73
% 2 PVA	Doksisisiklin	7200	8,6	93,8	206	15	103	2,10
% 2 PVA	Doksisisiklin+Gentamisin	3400	10,3	38,1	175	14,1	69	4,32
% 2 PVA	Doksisisiklin+Gentamisin	7200	9,71	87,3	232	16,4	107	2,55
% 4 PVA	Doksisisiklin	3400	9,88	40,9	124	13,6	57,1	2,79
% 4 PVA	Doksisisiklin	7200	49,3	229	913	80,5	391	3,77
% 4 PVA	Doksisisiklin+Gentamisin	3400	43,2	145	427	48,7	217	2,65
% 4 PVA	Doksisisiklin+Gentamisin	7200	150	330	631	254	410	1,46

Tablo 4.2'de ise homojenizatör kullanılmak suretiyle ve % 2 ile % 4 PVA kullanılarak hazırlanan doksisisiklin ve doksisisiklin-gentamisin kombinasyonu yüklü parçacıkların boyut ölçümleri görülmektedir. % 2 PVA ile hazırlanan parçacıkların boyut ölçümleri için:

3400 rpm ile homojenize edilen ve tek başına *doksisisiklin* içeren parçacıkların sadece % 10'u 6,98  $\mu\text{m}$ 'den küçüktür. Ortalama boyutları 17,5 $\mu\text{m}$ 'dir ve % 90'ı 54.7  $\mu\text{m}$ 'den küçüktür.

7200 rpm ile homojenize edilen ve tek başına *doksisisiklin* içeren parçacıkların sadece % 10'u 8,6  $\mu\text{m}$ 'den küçüktür. Ortalama boyutları 93,8 $\mu\text{m}$ 'dir ve % 90'ı 206  $\mu\text{m}$ 'den küçüktür.

3400 rpm ile homojenize edilen ve *doksisiklin-gentamisin* kombinasyonu içeren parçacıkların sadece % 10'u 10,3 µm'den küçüktür. Ortalama boyutları 38,1µm'dir ve % 90'ı 175 µm'den küçüktür.

7200 rpm ile homojenize edilen ve *doksisiklin-gentamisin* kombinasyonu içeren parçacıkların sadece % 10'u 9,71 µm'den küçüktür. Ortalama boyutları 87,3µm'dir ve % 90'ı 232 µm'den küçüktür.

#### % 4 PVA ile hazırlanan parçacıkların boyut ölçümleri için ise:

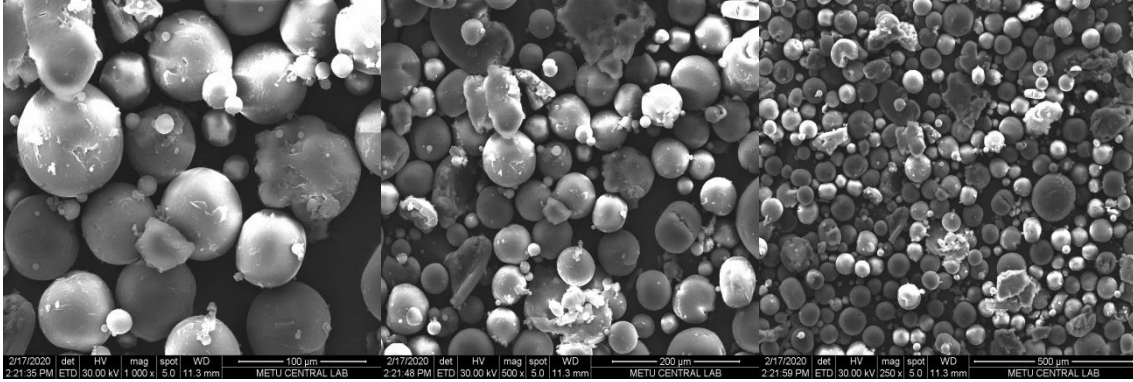
3400 rpm ile homojenize edilen ve tek başına *doksisiklin* içeren parçacıkların sadece % 10'u 9,88 µm'den küçüktür. Ortalama boyutları 40,9µm'dir ve % 90'ı 124 µm'den küçüktür.

7200 rpm ile homojenize edilen ve tek başına *doksisiklin* içeren parçacıkların sadece % 10'u 49,3 µm'den küçüktür. Ortalama boyutları 229µm'dir ve % 90'ı 913 µm'den küçüktür.

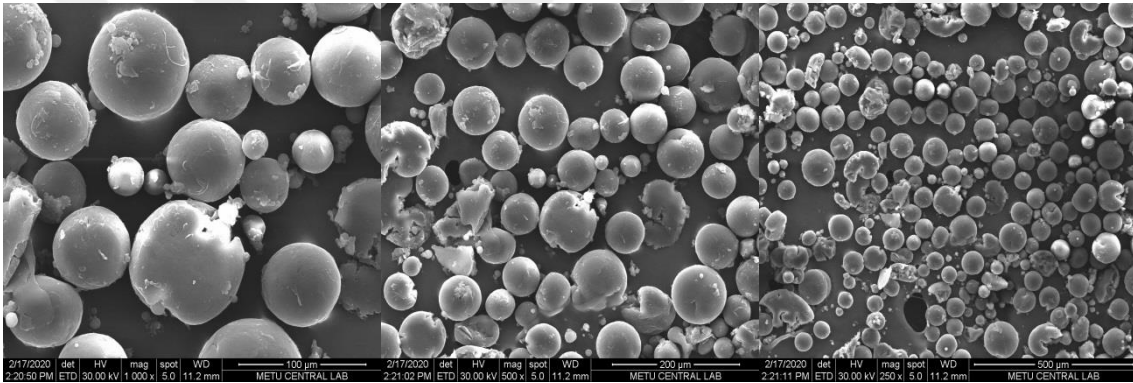
3400 rpm ile homojenize edilen ve *doksisiklin-gentamisin* kombinasyonu içeren parçacıkların sadece % 10'u 43,2 µm'den küçüktür. Ortalama boyutları 145µm'dir ve % 90'ı 427 µm'den küçüktür.

7200 rpm ile homojenize edilen ve *doksisiklin-gentamisin* kombinasyonu içeren parçacıkların sadece % 10'u 150 µm'den küçüktür. Ortalama boyutları 330µm'dir ve % 90'ı 631 µm'den küçüktür.

Homojenizatör kullanılmadan hazırlanmış parçacıkların SEM görüntüleri Şekil 4.4- Şekil 4.7 arasında bulunmaktadır. Burada parçacıkların yüzey morfolojileri, küreselliği ve boyut dağılımı ile ilgili tespitler yapılmıştır. Öncelikle küre şeklini alabildiği doğrulanmıştır. Parçacıkların boyut ölçümü (Tablo 4.1) ile birlikte bu parçacıkların mikroküre sınıflandırmasına dahil olduğu görülmüştür. Buna göre % 4 PVA kullanılarak hazırlanan bu mikroküreler, yüzey morfolojisi bakımından % 2 PVA ile hazırlanan mikrokürelerden daha pürüzsüzdür. Yüzeyde por oluşumu gözlemlenmemiştir. Doksisiklin tek başına ve doksisiklin-gentamisin kombinasyonu yüklü mikrokürelerin hiçbirinde por ve morfoloji bakımından önemli bir fark tespit edilmemiştir.



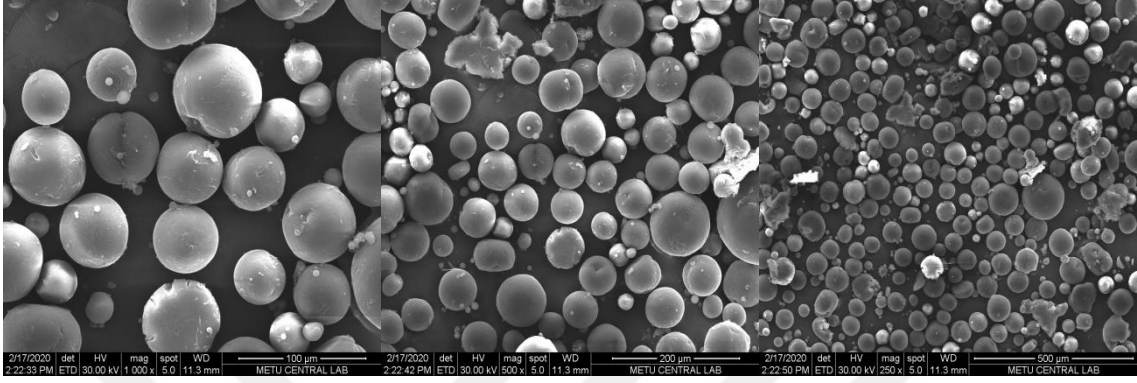
**Şekil 4.4.** % 2 PVA ile hazırlanmış doksisiklin yüklü parçacıklar (sırasıyla 1000X, 500X, 250X büyütme).



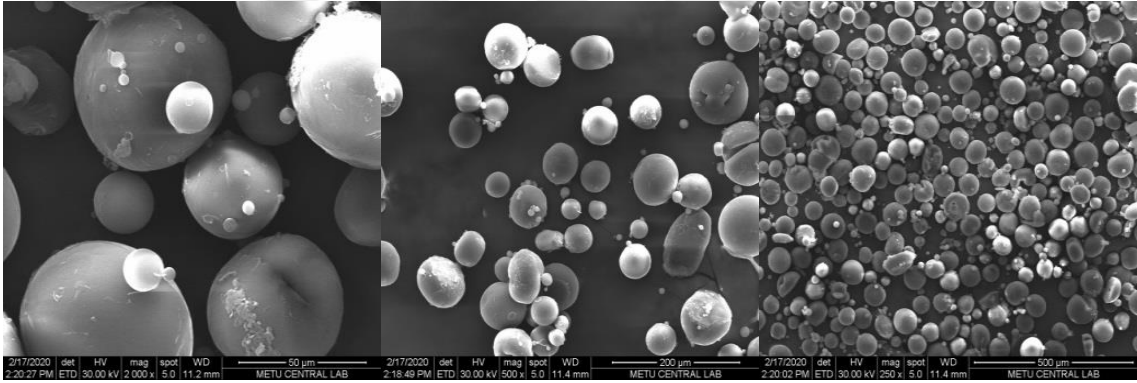
**Şekil 4.5.** % 2 PVA ile hazırlanmış doksisiklin+gentamisin yüklü parçacıklar (sırasıyla 1000X, 500X, 250X büyütme).

Ancak, % 2 PVA ile hazırlanmış mikroküreler (Şekil 4.4 ve Şekil 4.5) ve % 4 PVA ile hazırlanmış mikroküreler (Şekil 4.6 ve Şekil 4.7) arasında önemli bir boyut farkı görülmemektedir. Aynı zamanda doksisiklin yüklü ve doksisiklin-gentamisin kombinasyonu yüklü mikrokürelerin de aralarında boyut farkı bakımından önemli bir değişiklik görülmemiştir. Parçacık boyutu dağılımı tümünde genel olarak homojendir. Karıştırma sırasında damlacıkların kırılmasından kaynaklandığı düşünülen oldukça küçük küremsi parçacıklar homojenliği az da olsa bozmaktadır. SEM fotoğraflarına göre mikrokürelerin ortalama çapının yaklaşık 50-70 µm civarında olduğu görülmektedir. Parçacık boyutu ölçümüne göre ise, ortalama parçacık çapı 73-88 µm arasındadır. % 2 PVA ile yapılan parçacıklar incelendiğinde kırılan damlacıkların küre yapısı kazanamadığı görülmektedir. Ayrıca küre oluşumu sırasında başka küreden koptuğu düşünülen parçacıklar bulunmaktadır; çünkü bazı kürelerde sonradan koptuğu izlenimi veren bölgeler

görülmektedir. Yani küre oluşumu tamamlandıktan sonra kürelerin bütünlüğünün bozulduğunu düşündürmektedir. Bu durum % 4 PVA ile yapılanlarda ise tersi olup, kırılan damlacıkların küre yapısı kazandığını göstermektedir. Ayrıca oluşan kürelerde bütünlüğü bozucu kısımlar olmadığı görülmektedir.

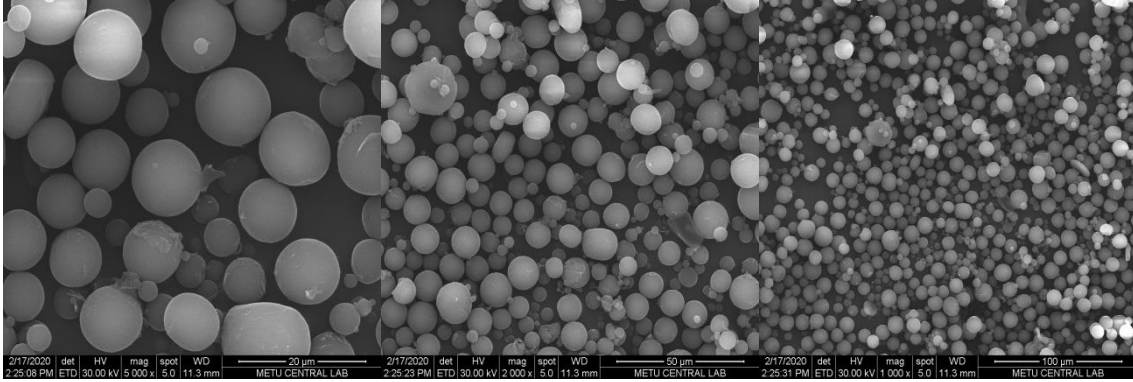


**Şekil 4.6.** % 4 PVA ile hazırlanmış doksisisiklin yüklü parçacıklar (sırasıyla 1000X, 500X, 250X büyütme).



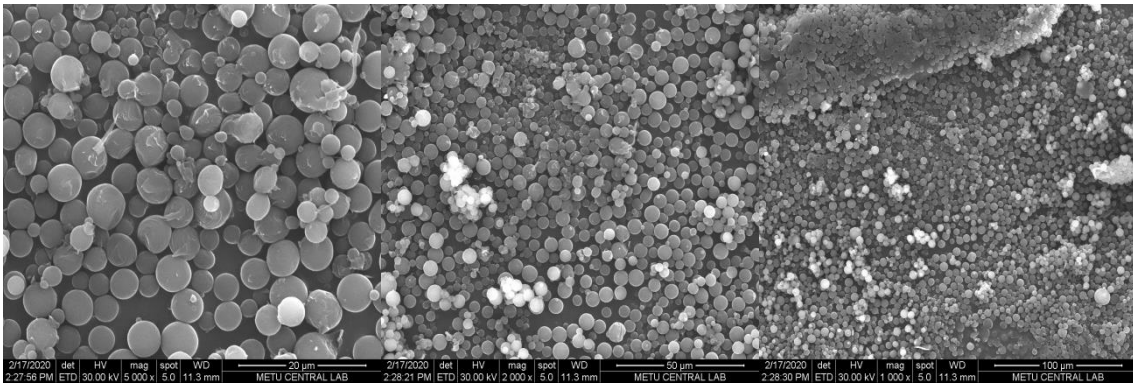
**Şekil 4.7.** % 4 PVA ile hazırlanmış doksisisiklin+gentamisin yüklü parçacıklar (sırasıyla 2000X, 500X, 250X büyütme).

Homojenizatör kullanılarak 3400 ve 7200 rpm’de hazırlanan parçacıkların SEM fotoğrafları Şekil 4.8 ile Şekil 4.15 arasındadır. Buna göre bu parçacıkların homojenizatör kullanılmadan yapılan parçacıklardan daha küçük boyutlu oldukları görülmektedir. Ancak bu parçacıklar da Tablo 4.2 ve SEM fotoğraflarında görüldüğü gibi nano boyutta olamadığından mikroküre sınıflandırmasına tabidir. 2000x ve 1000x büyütme vasıtasıyla genel dağılım görülmektedir. Bu SEM fotoğraflarındaki genel dağılıma bakarak nano boyutlu küreciklerin de varlığı görülmektedir.



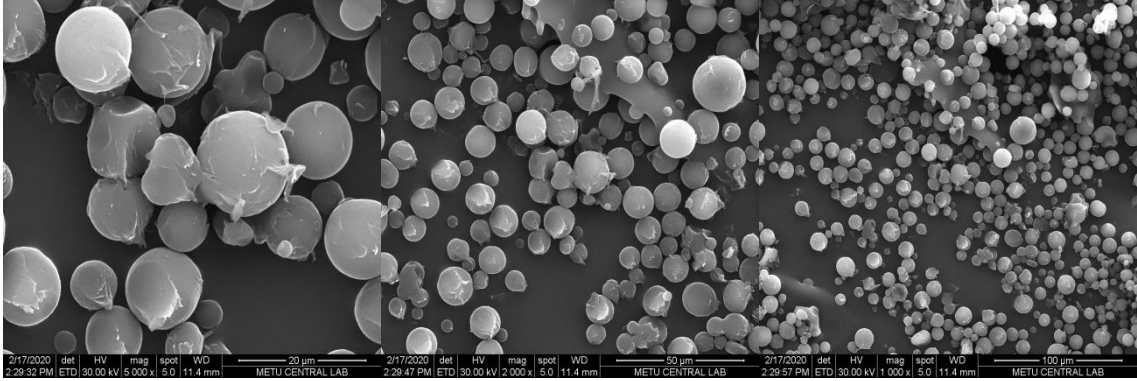
**Şekil 4.8.** % 2 PVA ile hazırlanmış, homojenizatörde 3400 rpm ile karıştırılmış doksisisiklin yüklü parçacıklar (5000X, 2000X, 1000X).

% 2 PVA ile hazırlanmış 3400 rpm’de homojenize edilmiş doksisisiklin yüklü kürecikler (Şekil 4.8) ile % 4 PVA ile hazırlanmış 3400 rpm’de homojenize edilmiş doksisisiklin yüklü kürecikleri (Şekil 4.12) karşılaştırdığımızda, daha pürüzsüz ve homojen kürelerin % 2 PVA ile elde edildiği görülmektedir. Ancak, çok küçük parçacıkların da oluştuğu görülmektedir. Daha pürüzlü yüzey morfolojisine sahip % 4 PVA ile hazırlanan küreciklerde bazı büyük damlacıklar sebebiyle oluşan büyük kürecikler olmasaydı, boyut dağılımı bakımından daha homojen olan parçacıkların bu konsantrasyonda oluştuğunu söylemek doğru olacaktı. SEM fotoğraflarına göre parçacık boyutları, % 2 PVA için 5µm ve altı iken, % 4 PVA ile 3-5 µm civarında yoğunlaşmaktadır. Büyük kürecikler ise 10 µm civarında görülmektedir. Burada, pürüzsüz yüzey % 2 PVA ile; homojene en yakın dağılımı ise % 4 PVA ile elde edilmiştir.



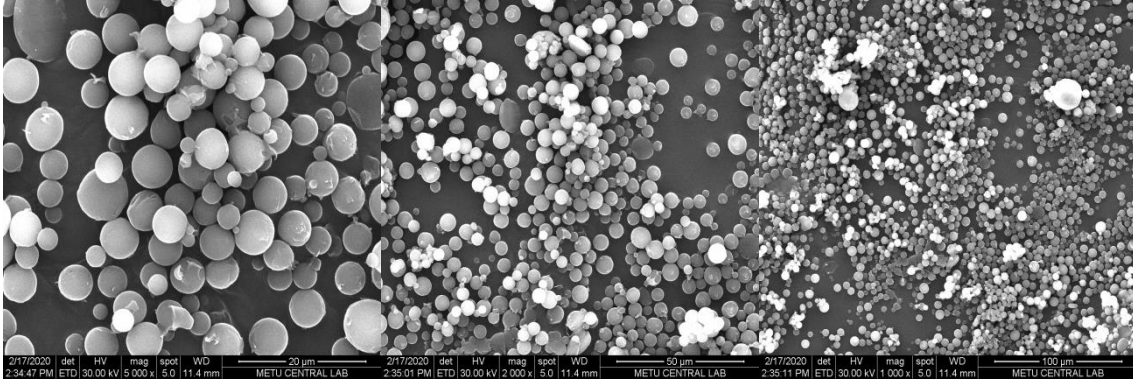
**Şekil 4.9.** % 2 PVA ile hazırlanmış, homojenizatörde 7200 rpm ile karıştırılmış doksisisiklin yüklü parçacıklar (5000X, 2000X, 1000X).

% 2 PVA ile hazırlanmış 7200 rpm’de homojenize edilmiş doksisisiklin yüklü kürecikler (Şekil 4.9) ile % 4 PVA ile hazırlanmış 7200 rpm’de homojenize edilmiş doksisisiklin yüklü küreciklerin (Şekil 4.13) karşılaştırılmasında yüzey morfolojileri bakımından benzerlikleri göze çarpmaktadır. Ayrıca boyut dağılımı bakımından homojen olarak görülmelerine rağmen, % 4 PVA ile hazırlanan küreciklerde yer yer yapışma ve agregat oluşma durumu görülmektedir. Parçacık boyutu (Tablo 4.2)’de boyut ölçümlerinin de yüksekliği bundan ileri gelmektedir. Bu durumun bir sebebi olarak PVA’nın yıkanma ile ayrılmamasından kaynaklandığını düşündürse de, tek sebep bu değildir. Yapım esnasında 7200 rpm ile kırılan damlacıkların daha sonra organik fazı uçurma aşamasında çeker ocak altında 1100 rpm ile karıştırılması sonucunda, ayrılan yoğun içerikli damlacıklar PVA tarafından yeterince kaplanamadığından tekrar birleşmişlerdir. Bu durum % 2 PVA kullanımında daha düşük olmuştur. Konsantrasyon artınca viskozite de artmıştır, dolayısıyla köpürme de artmış olduğundan, küçülen damlacıkları etkin şekilde saramadığı için % 4 PVA ile uygun parçacık eldesi sağlanamamıştır.



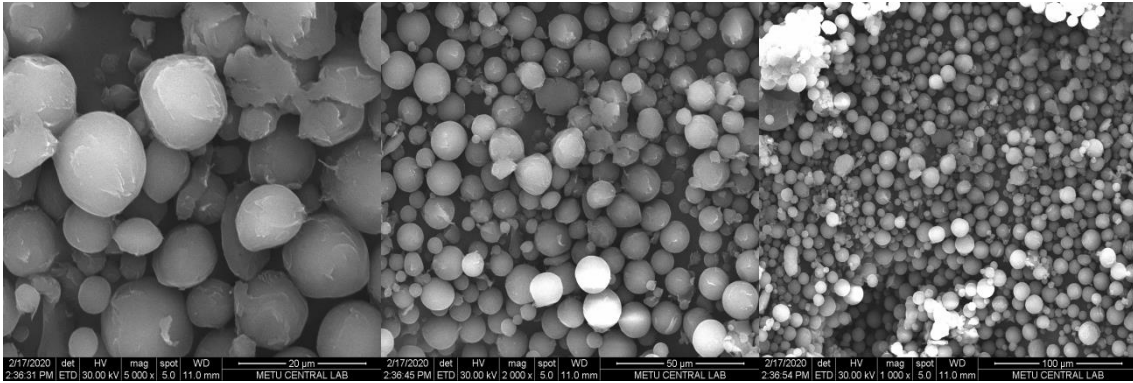
**Şekil 4.10.** % 2 PVA ile hazırlanmış, homojenizatörde 3400 rpm ile karıştırılmış doksisisiklin-gentamisin yüklü parçacıklar (5000X, 2000X, 1000X).

Şekil 4.10 ve Şekil 4.14 ‘te doksisisiklin-gentamisin yüklü ve 3400 rpm’de homojenize edilmiş parçacıklar görülmektedir. Şekil 4.14’teki parçacıkların birbirine yapışık oldukları görülmektedir. Bu parçacıklar da % 4 PVA ile hazırlanmıştır. Şekil 4.10’da görüldüğü üzere, % 2 PVA ile hazırlanan parçacıklarda az da olsa bir yapışma durumu görülmektedir. Bu yapışma görünümüne rağmen parçacık boyutları ölçüm sonuçları (Tablo 4.2) ile SEM fotoğrafı (Şekil 4.10) vasıtasıyla gözlemlenen boyutlar yaklaşık da olsa örtüşmektedir. Şekil 4.10 incelendiğinde, ortalama çapı 5-10 µm civarında parçacıklar olduğu görülmektedir.



**Şekil 4.11.** % 2 PVA ile hazırlanmış, homojenizatörde 7200 rpm ile karıştırılmış doksisisiklin-gentamisin yüklü parçacıklar (5000x, 2000x, 1000x).

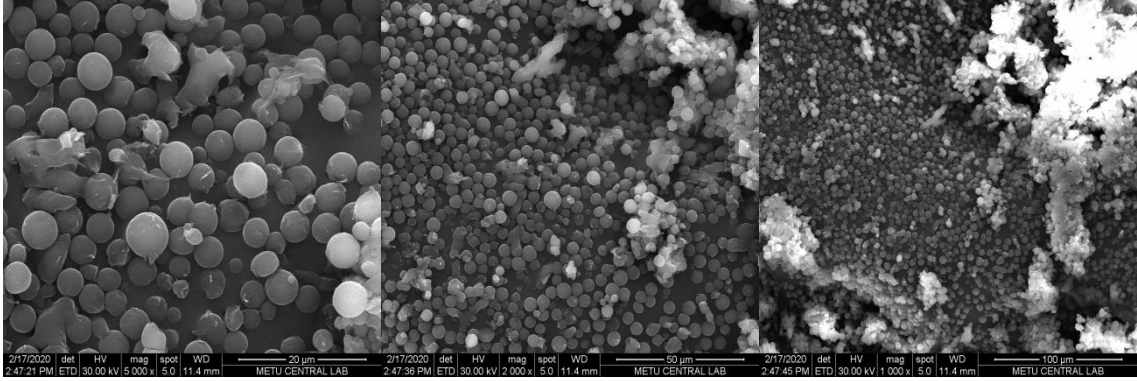
Şekil 4.11 ve Şekil 4.15'te doksisisiklin-gentamisin yüklü ve 7200 rpm'de homojenize edilmiş parçacıklar görülmektedir. % 2 PVA ile hazırlanan parçacıkların oldukça pürüzsüz yüzey morfolojileri vardır ve 5 µm civarında parçacık boyutuna sahip oldukları görülmektedir (Şekil 4.11). Ancak, % 4 PVA ile hazırlanmış parçacıklar agregat oluşturmuşlardır. O yüzden Tablo 4.2'de ölçülen değerler de gerçek sonuçları yansıtmamaktadır.



**Şekil 4.12.** % 4 PVA ile hazırlanmış, homojenizatörde 3400 rpm ile karıştırılmış doksisisiklin yüklü parçacıklar (5000x, 2000x, 1000x).

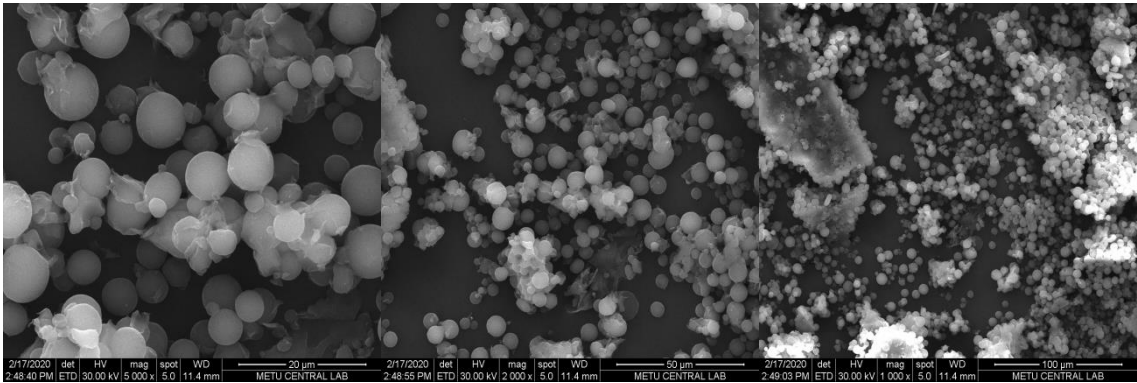
Sürfaktan olarak % 4 PVA ile hazırlanmış, 3400 rpm ve 7200 rpm ile homojenize edilen doksisisiklin yüklü parçacıkların az da olsa yapışmış oldukları Şekil 4.12 ve 4.13 'te görülmektedir. SEM fotoğrafları küre oluşumunun gerçekleştiğini göstermektedir. Ancak parçacık boyut ölçümleri (Tablo 4.2) incelendiğinde, 7200 rpm ile karıştırılan parçacıkların

yapışması sonucu boyutların arttığını göstermektedir. Gelecek çalışmalarda kullanılması mümkün olmayacaktır.

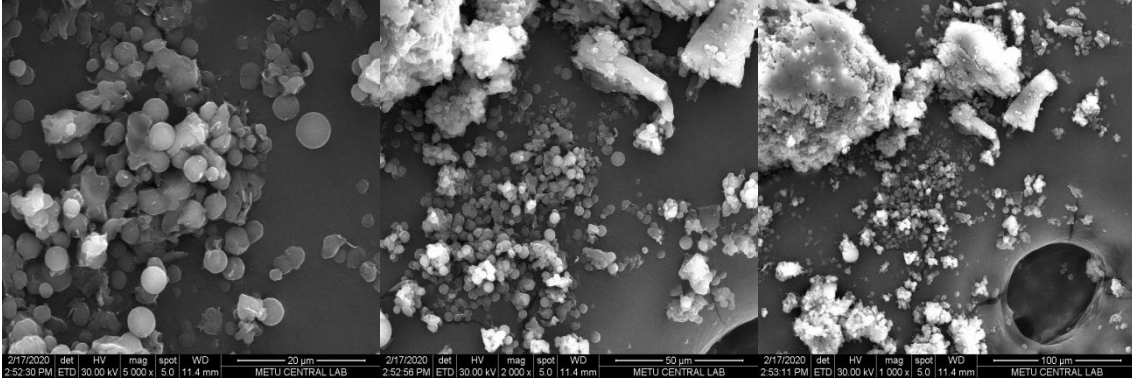


**Şekil 4.13.** % 4 PVA ile hazırlanmış, homojenizatörde 7200 rpm ile karıştırılmış doksisiklin yüklü parçacıklar (5000x, 2000x, 1000x).

Sümfaktan olarak % 4 PVA ile hazırlanmış, 3400 rpm ve 7200 rpm ile homojenize edilen doksisiklin-gentamisin kombinasyonu yüklü parçacıkların birbirine yapışmış oldukları Şekil 4.14 ve 4.15 'te görülmektedir. Bunlarda da küre oluşumu gerçekleşemediğinden gelecek çalışmalarda kullanılamayacaktır.



**Şekil 4.14.** % 4 PVA ile hazırlanmış, homojenizatörde 3400 rpm ile karıştırılmış doksisiklin-gentamisin yüklü parçacıklar (5000x, 2000x, 1000x).



**Şekil 4.15.** % 4 PVA ile hazırlanmış, homojenizatörde 7200 rpm ile karıştırılmış doksisisiklin-gentamisin yüklü parçacıklar (5000x, 2000x, 1000x).

Bu bilgiler ışığında, hem % 2 PVA, hem de % 4 PVA ile hazırlanan parçacıklar için şu genellemeyi yapmak mümkündür: 3400 rpm ile hazırlanmış küreler boyut olarak 7200 rpm ile hazırlanmış olanlardan daha büyüktür. Homojenizatörün damlacıkların küçültülmesine ve artan hızın da damlacık boyutlarının küçültülmesine olumlu etkisi olduğu aşikârdır. Ayrıca bu sonuçlar literatürle de uyumludur. Homojenizatör kullanımı damlacıkların küçültülmesinde etkilidir ancak % 2 PVA ve % 4 PVA ile yapılan parçacıklarda bu boyut farklılığı SEM fotoğraflarında görülmemektedir. Parçacık boyutu ölçümlerinde ise % 2 PVA ile daha küçük çaplı küreler elde edilmiştir (Tablo 4.2). Halbuki % 4 PVA ile daha küçük çaplı kürelerin elde edilmesi gerekiyordu. Homojenizatör kullanmadan yapılan mikrokürelerde bu etkiyi görmek mümkündür (Tablo 4.1). Sürfaktan konsantrasyonu artınca mikrokürelerin çapları artmıştır.

Sürfaktan olarak % 2 PVA ile hazırlanmış doksisisiklin ve doksisisiklin-gentamisin kombinasyonu yüklü olan kürelerin yüzey morfolojileri incelendiğinde pürüzsüz ve gözeneksiz oldukları görülmektedir. Homojenizatörde 3400 rpm ile karıştırılan doksisisiklin-gentamisin kombinasyonu yüklü olan kürelerin yüzeyi incelendiğinde damlacıkların kırılması esnasında biraz pürüzlü hale geldiği düşünülse de, kırıldığı düşünülen damlacıkların küre şekli aldığı görülmektedir. Dağılımın homojen olduğu görülen 3400 rpm ile homojenize edilen doksisisiklin-gentamisin kombinasyonu yüklü olan küreler ile doksisisiklin yüklü küreler arasında tek fark yüzey pürüzlülüğüdür. Ayrıca doksisisiklin yüklü kürelerin 8-10 µm civarı parçacık boyutuna sahip olduğu; doksisisiklin-gentamisin kombinasyonu yüklü olan kürelerin ise 5-10 µm civarı parçacık boyutuna sahip olan

kürelerden oluştuğu görülmektedir. Homojenizatörün 7200 rpm ile karıştırılması ile yapılan doksisisiklin ve doksisisiklin-gentamisin kombinasyonu yüklü olan mikrokürelerin de yüzeyi pürüzsüzdür. Parçacık boyutlarının ise, 5 µm ve altı olduğu görülmektedir.

Sürfaktan olarak % 4 PVA ile hazırlanmış doksisisiklin-gentamisin kombinasyonu yüklü olan mikrokürelerin hem 3400 hem de 7200 rpm ile homojenize edilmiş olanları birbirine yapışmış olduklarından kullanılması mümkün değildir. Sadece sürfaktan olarak % 4 PVA ile hazırlanmış ve doksisisiklin yüklü 3400 ile 7200 rpm ile homojenize edilmiş parçacıkların küre oluşumu gerçekleşmiştir. Homojenizasyon hızı 7200 rpm kullanılarak hazırlanan parçacıklarda az da olsa yapışmalar vardır. SEM fotoğraflarına bakıldığında % 4 PVA ile hazırlanmış ve 3400 rpm ile karıştırılmış doksisisiklin yüklü parçacıklar boyut olarak 10 µm civarındadır. Dağılım homojen sayılabilir. Sürfaktan olarak % 4 PVA ve homojenizasyon hızı olarak 7200 rpm olan parçacıklar ise 3-5 µm'dur. 100 nm ve altı boyutların nanoküre olarak kabul edilmesi nedeniyle, yaklaşık 5 µm çapa sahip kürelerin mikroküre düzeyinde oldukları söylenebilir.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Optimizasyon çalışmalarında öncelikle boş mikroküreler hazırlanmıştır. Farklı konsantrasyonlarda PVA çözeltileri (% 0.75, 1.5, 2, 3, 4 ve 5, w/v) hazırlanarak yapılan denemelerde oluşan parçacıkların morfolojisini incelemek için öncelikle mikroskop kullanıldı. Mikroskopla inceleme sonucunda küre oluşumu, yüzey morfolojisi ve parçacık dağılımı bakımından uygun olmayan PVA konsantrasyonları % 0.75 ve % 1.5 olarak tespit edilmiştir. O yüzden ilaç yüklenmemiştir. PVA konsantrasyonunu artırarak bu özelliklerin daha da geliştirilebileceği düşünülmüş olup, yapılan denemeler sonucu % 2 ve daha yüksek konsantrasyon içeren PVA çözeltisinin küre oluşumunu desteklediği görülmüştür. Aynı şekilde literatürde de benzer çalışmalar olması, sonucu destekler niteliktedir. PVA konsantrasyonunu artırarak bu özelliklerin daha da geliştirilebileceği düşünülmüştür. Aynı tespit literatürde de görülmektedir. SEM fotoğraflarına bakıldığında 5-100 µm arasında değişen çaplara sahip daha yumuşak küresel yapılar % 4 ve % 6 PVA çözeltileri ile elde edilmiştir. Mikrokürelerin SEM fotoğrafları incelendiğinde, % 2 PVA çözeltisi kullanıldığında, % 4'lük ve % 6'lık PVA ile hazırlanan mikrokürelerden daha büyük boyutlu parçacıkların elde edildiğini göstermiştir (Aydın, 2011). Aynı şekilde % 5 PVA kullanılarak yumuşak küresel daha küçük boyutlu yapılar elde edilmiştir.

Emülsiyon stabilizatörünün mikrokürelerin büyüklüğü üzerindeki etkisi literatürde diğer araştırmacılar tarafından da gösterilmiştir. Polimer olarak PCL, sürfaktan olarak da PVA kullanılarak mikroküreler hazırlandığında daha küçük mikrokürelerin elde edildiği tespit edilmiştir (Kim ve diğ., 2005). PVA'nın partikül büyüklüğü üzerindeki etkisi esas olarak amfifilik davranışından kaynaklanmaktadır. PVA molekülleri, damlacıkları stabilize etmek için damlacıkların yüzeyinden uzaklaşır. İki fazın ara yüzündeki serbest enerjiyi azaltarak ve mikrokürelerin birleşmesini ve topaklanmasını önleyerek damlacıkları stabilize eder. Bu da mikroküre damlacıklarının daha küçük boyutlarda stabil hale gelmesine neden olur.

PVA konsantrasyonu arttığında, sulu fazın viskozitesi artar, bu da birleşmeyi önler ve homojen damlacıklarla stabil bir emülsiyon oluşturur. Bunun aksine, düşük PVA viskozitesinin mikrokürelerin topaklanmasına ve daha büyük parçacıklar oluşturmalarına izin verdiği gösterilmiştir (Shukla ve diğ., 2007). Başka bir deyişle, dış faz, yüksek PVA konsantrasyonlarında damlacıkların birleşmesini önleyecektir (Aishwarya ve diğ., 2008).

Aishwarya ve diğ. (2008) doksisisiklin yüklü PCL mikrokürelerini hazırlamak için ağırlıkça % 1 ile % 5 arasında farklı PVA konsantrasyonları kullanmış ve bu çalışmada PVA konsantrasyonunun benzer etkisini gözlemlemişlerdir. Başka bir çalışmada, PVA konsantrasyonu % 0.25'ten 2'ye değiştirildiğinde, mikroküre boyutları da azalmıştır (Vivek ve diğ., 2007).

Mikropartikül oluşumu sırasında PVA'nın, polimer yüzeyleri arasında nüfuz ederek partikül yüzeyini stabilize ettiği bilinmektedir. PVA hidrofilik bir polimerdir ve yüksek PVA konsantrasyonu yüksek miktarda artık PVA'ya neden olabilir. PVA yıkama ile sistemden uzaklaştırılsa bile, PVA'nın en az % 8-12'si hala mikroküreler üzerinde kalmaktadır (Vivek ve diğ., 2007). Bu özellik PVA kullanımını sınırlamaktadır. Bu nedenle, optimizasyon çalışmaları sırasında, PVA konsantrasyonu daha fazla arttırılmamıştır.

Su fazının özellikleri mikroküre boyut dağılımı ve morfolojisinin optimizasyonu üzerinde tek başına etkili ve yeterli değildir. Karıştırma hızı parçacık boyutu üzerinde etkilidir. Organik fazın suda dağılması için enerji verir. Yüksek hızlı karışırmalarda oluşan yüksek miktarda köpük mikroküre stabilizasyonunu olumsuz etkilemektedir. Köpük, parçacıkların yüzeyinin kayganlığını azaltmaktadır. Karıştırma hızı artınca mikroküre boyutları küçülmektedir; damlacıkların küçülmesi daha iyi emülsiyon oluşumunu desteklemektedir (Aishwarya ve diğ., 2008, Wang ve diğ., 2008). Ancak köpürme kayganlığı azaltığından, 7200 rpm ile karıştırma sonucu parçacıklar stabilizasyonunu tamamlayamayıp, birbirlerine yeniden yapışmışlardır. PVA konsantrasyonu yükseldikçe köpürme arttığı için % 4 PVA ile hazırlanan 7200 rpm'de homojenize edilen parçacıkların küre oluşumunun gerçekleşmediği görülmektedir.

Homojenizatör kullanılmadan hazırlanan mikroküreleri incelediğimizde, parçacık boyut ölçümleri ile SEM fotoğrafları birbirini destekler niteliktedir. PVA konsantrasyonu arttıkça, ortalama parçacık çapı düşmektedir (Wei ve diğ., 2004; Bolourchian ve diğ., 2005; Kemala, ve diğ., 2010);.

% 2 PVA ile yapılmış mikrokürelerin ortalama çapları, Dx(50); sırasıyla, doksisisiklin ve doksisisiklin-gentamisin yüklü olanlar için 87,4 ve 86,1 µm iken, % 4 PVA ile yapılmış mikrokürelerin ortalama çapları, Dx(50); sırasıyla, doksisisiklin ve doksisisiklin-gentamisin yüklü olanlar için 76,3 ve 72,4 µm'dir. Burada, konsantrasyonu düşük olan sürfaktanla hazırlanan mikroküreler daha büyük olmuştur. Yüzey morfolojisi bakımından % 4 lük PVA ile yapılan mikroküreler daha pürüzsüzdür. Doksisisiklin ve doksisisiklin-gentamisin

kombinasyonunun yüzey ve boyutla ilgili özelliklere herhangi bir olumlu veya olumsuz etkisi görülmemektedir.

Parçacık boyutu ve SEM sonuçlarına göre, homojenizatör kullanılmadan yapılan mikrokürelerin % 4 PVA kullanılarak hazırlananları, boyut, şekil ve morfolojik özellikleri dikkate alındığında daha uygun oldukları tespit edilmiştir. Buna karşın % 2 PVA ile yapılanlarda dağılmış bazı parçacıklar göze çarpmaktadır. Küre oluşumu sırasında veya daha sonrasında bütünlüklerinin bozuldukları düşünülmektedir. Doksisisiklin yüklü PCL mikroküreler hazırlanırken % 4 PVA konsantrasyonunun mikropartikül geri kazanımını arttırdığı da belirtilmektedir (Aishwarya ve diğ., 2008). Boyut dağılımı eşit ve homojen olduğu görülen % 4 PVA ile hazırlanmış mikrokürelerdir.

İlaç yüklü mikrokürelerin de boş olanlara göre daha az gözenekli ve daha kaba olduğu, kabalık ve gözenekliliğin, işleme sırasında çözücünün uzaklaştırılmasına bağlı olduğu ileri sürülmüştür (Dash, 1997; Wang ve diğ., 2008). Disodyum norkantheride (DSNC) yüklü PCL mikrokürelerin enine kesiti, boş olanlara kıyasla oldukça gözenekliydi. Morfolojideki farklılıklar, ilaçların fizikokimyasal yapısının bir sonucu olarak kabul edilmektedir. İlacın tuz formunda olması halinde mikroküre içinde ozmotik basınca neden olabileceği ve polimer koaservasyonu sırasında bir faz ayrılması elde edilebileceği bildirilmiştir (Weidenauer ve diğ., 2003; Wang ve diğ., 2008). Bu hipotezin en iyi kanıtı, ilaçtan ziyade NaCl enkapsüle edilirken elde edildi. NaCl enkapsüle edilmiş mikroküreler kaba yüzey ve gözenekli yapıya sahiptir. Bununla birlikte, mikroküreler 5-florourasil veya diğer model ilaçlarla, norkantheridin (DSNC'nin asit anhidrit formu) gibi tuz olmayan formda enkapsüle edildiğinde, pürüzsüz yüzeylere ve daha az gözenekli yapıya sahiptirler (Wang ve diğ., 2008). Bu çalışmada, daha az gözenekli doksisisiklin yüklü mikrokürelerin elde edilmesinin temel nedeni doksisisiklinin kimyasal yapısıdır. Mikrokürelerin düzgün yapısına katkıda bulunan diğer faktör, organik çözücünün buharlaşma hızıdır. Araştırmacılar, düşük buharlaşma oranlarının kürelerin yüzeyinde düşük gözenekliliğe neden olduğunu belirtmişlerdir (Izumikawa ve diğ., 1991; Chung ve diğ., 2001; Freiberg ve Zhu, 2004).

Homojenizatör kullanılmadan % 2 PVA ile hazırlanmış doksisisiklin-gentamisin kombinasyonu yüklü mikrokürelerde bazı parçacıklarda şekil oluşumunun tam gerçekleşmediği veya oluşan şekilde bütünlüğün korunamadığı tespit edilmiştir. Bunun sebebi olarak gentamisinin, çözücü buharlaştırma sırasında su fazına erken dağıldığı tahmin edilmektedir. Bu durumun gentamisinin pik düzeyine hızla erişmesinden

kaynaklandığı düşünülmektedir. Gentamisin çözünürlüğü doksisisiklinle aynıdır ancak doksisisiklin serumda en üst seviyeye 2-4 saatte gelmektedir. Gentamisin ise damar yoluyla verildiğinde 30-90 dakikada serumda pik değerine ulaşmaktadır (medicines.org.uk).

PVA oranı arttıkça daha küçük küreler elde edilebilmiştir. Karıştırma hızı arttıkça da damlacıkların küçülmesi beklenmektedir. Karıştırma hızı arttıkça parçacık boyutu azalmaktadır (Lee ve diğ., 1999). Ancak homojenizatör kullanılarak yapılan parçacıklarda beklenmeyen sonuçlar ortaya çıkmıştır. Parçacık boyutu ölçümü sonuçlarının ifade edildiği Tablo 4.2'den görüldüğü üzere elde edilmek istenen nano boyutlu parçacıklar elde edilememiştir. Damlacıkların SEM fotoğraflarında küçüldüğü, fakat küçülen damlacıkların birbirlerinden ayrılamadığı görülmektedir. SEM fotoğrafları incelendiğinde, çok küçük ve çok büyük boyutlu kürelerin aynı anda oluştuğu ve de oluşan kürelerde yer yer yapışmaların olduğu görülmüştür. Yapışmalar yüzünden parçacık boyutu ölçümlerinde kürelerin ölçüm değerleri oldukça yüksek bulunmuştur. Homojenizatörle karıştırma sonucu PVA çözeltisinde meydana gelen aşırı köpürme neticesinde parçacıklar kayganlığın azalması sonucu birbirlerine yapışmaktadır. Burada bu yapışmanın diğer nedeni olarak yıkama ile yeterince uzaklaşamayan PVA olarak da görülmektedir.

Homojenizasyon hızı 7200 rpm ve sürfaktan olarak % 4 PVA kullanıldığında homojenizerde yüksek oranda köpürme görülmüştür. Aşırı köpürme damlacıkların kayganlığını azalttığından birbirine neredeyse tamamen yapışık damlacıkların oluşmasına sebep olmuştur. O yüzden de parçacık boyut dağılımı homojen dağılım göstermemektedir. Hem çok küçük, hem de çok büyük parçacıkların bir arada olduğu SEM fotoğraflarında açıkça görülmektedir.

Sonuç olarak, homojenizatör kullanıldığında, doksisisiklin ve doksisisiklin ile gentamisin kombinasyonu yüklü küreciklerin sürfaktan olarak % 2 PVA ile yapılmış olanları yüzey ve morfolojik özellikler bakımından % 4 PVA olanlara göre daha üstün bulunmuştur. Karıştırma hızınının 7200 rpm olması parçacıkların kırılmasına ancak yapışık olmasına neden olmuştur. Karıştırma hızı etkisiyle yüksek miktarda oluşan köpük yüzünden parçacıkların birbirinden ayrılamadığı görülmüş, boyut ölçümü sağlıklı olamamıştır. Homojenizatörde 3400 rpm ile karıştırma hızı uygun bulunmuştur. Homojenizatör kullanılmadığında ise, doksisisiklin ve doksisisiklin-gentamisin kombinasyonu yüklü küreciklerin sürfaktan olarak % 4 PVA ile yapılmış olanları yüzey ve morfolojik özellikler bakımından daha üstündür. Homojenizatör kullanılmadığında % 2 PVA ile yapılan

mikrokürelerin ortalama parçacık boyutu daha büyük olmuştur. Bütün parçacıklar mikroküre boyutlarındadır. Nanoküre eldesi sağlanamamıştır. Parçacıklar homojenizatör sayesinde küçültülebilmiş olsa da yeterli olamamıştır. Nanoküre yapımı için başka çalışmalar, yöntemler veya sürfaktan denemeleri yapılmalıdır.



## KAYNAKLAR

- Açu, M., Kınık, Ö., ve Yerlikaya, O., 2014, Mikroenkapsülasyon ve Süt Teknolojisindeki Yeri, *Akademik Gıda*, 12(1), 97-107.
- Aishwarya, S., Mahalakshmi, S., Sehgal, P.K., 2008, Collagen-coated polycaprolactone microparticles as a controlled drug delivery system, *Journal of Microencapsulation*, 25(5), 298–306.
- Allahyari, M. ve Mohit E., 2016, Peptide/protein vaccine delivery system based on PLGA particles, *Hum Vaccines Immunother*, 12(3), 806-828.
- Alsaheb, R.A.A., Aladdin, A., Othman, N.Z., Malek, R.A., Leng, O.M., Aziz, R., Enshasy, H., 2015, Recent applications of polylactic acid in pharmaceutical and medical industries, *J Chem Pharm Res.*, 7, 51-63.
- André-Abrant, A., Taverdet, J.-L., Jay, J., 2001, Microencapsulation par évaporation de solvant, *Eur. Polym. J*, 37, 955–967.
- Astete, C.E., Kumar, C.S.S.R., Sabliov, C.M., 2007, Size control of poly(d,l-lactide-co-glycolide) and poly(d,l-lactide-co-glycolide)-magnetite nanoparticles synthesized by emulsion evaporation technique, *Colloids Surf. A*, 299, 209–216.
- Astete, C.E., ve Sabliov, C.M., 2006, Synthesis and Characterization of PLGA Nanoparticles. *J. Biomaterials Sci Polymer Ed.*, 17, 247-289.
- Atuah, K.N., Walter, E., Merkle, H.P., Alpar, H.O., 2003, Encapsulation of plasmid DNA in PLGA-stearylamine microspheres: a comparison of solvent evaporation and spray-drying methods, *J. Microencapsul*, 20 (3), 387–399.
- Aukunuru, J.V., Ayalasomayajula, S.P., Kompella, U.B., 2003, Nanoparticle formulation enhances the delivery and activity of a vascular endothelial growth factor antisense oligonucleotide in human retinal pigment epithelial cells, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 55(9), 1199-1206.
- Aydın, Ö., 2011, *In situ, in vitro, and in vivo evaluation of effectiveness of new treatment approaches involving controlled drug delivery systems in cartilage degenerations*, Doktora, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Aydın, Ö., Aydın, B., Tezcaner, A., ve Keskin, D., 2015, Study on physiochemical structure and in vitro release behaviors of doxycycline-loaded PCL microspheres, *Journal Of Applied Polymer Science*, 132(14), 1-13.
- Baek, J.S., Yeo, E.W., Lee, Y.H., Tan, N.S., Loo, S.C., 2017, Controlled-release nanoencapsulating microcapsules to combat inflammatory diseases, *Drug Design Dev Ther.*, 11,1707.
- Bahl, Y. ve Sah, H., 2000, Dynamic changes in size distribution of emulsion droplets during ethyl acetate-based microencapsulation process, *AAPS PharmSciTech.*, 1, 41-

- Bayat, M. ve Nasri, S., 2019, *Injectable microgel-hydrogel composites “plum pudding gels”*: new system for prolonged drug delivery, *Nanomaterials for Drug Delivery and Therapy*, In: Grumezescu, A.M.(ed.), Bölüm 12, Elsevier, New York, ISBN: 978-0-12-816505-8, 343-372.
- Benita, S. ve Donbrow, M., 1982, Effect of polyisobutylene on ethylcellulose-walled microcapsules: wall structure and thickness of salicylamide and theophylline microcapsules, *J. Pharmaceut. Sci.*, 71 (2), 205–210.
- Berkland, C., King, M., Cox, A., Kim, K.K., Pack, D.W., 2002, Precise control of PLG microsphere size provides enhanced control of drug release rate, *Journal of Controlled Release*, 82(1), 137–147.
- Besenbache, F., Sutherland, D.S., Hovgaard, M.B., 2007, From nanoscience to nanotechnology: utilizing the nanoscale, *Toxicol. Lett.*, 172 (1), S34.
- Bilati, U., Allémann, E., Doelker, E., 2005, Development of a nanoprecipitation method intended for the entrapment of hydrophilic drugs into nanoparticles, *Eur. J. Pharmacol.*, 24, 67–75.
- Bodmeier, R., Wang, H., Hermann, J., 1994, Microencapsulation of chlorpheniramine maleate, a drug with intermediate solubility properties, by a non-aqueous solvent evaporation technique, *STP Pharma. Sci.*, 4 (4), 275–281.
- Bokor-Bratic, M. ve Brkanic, T., 2000, Clinical use of tetracycline in the treatment of periodontal diseases, *Med Pregl.*, 53, 266-271.
- Bolourtchian, N., Karimi, K., Aboofazeli, R., 2005, Preparation and characterization of ibuprofen microspheres, *Journal of Microencapsulation*, 22(5), 671-682.
- Bosilkovski, M., Krteva, L., Caparoska, S., Labacevski, N., Mile Petrovski, M., 2015, Childhood brucellosis: Review of 317 cases, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 8(12), 1027–1032.
- Carrio, A., Schwach, G., Coudane, J., Vert, M., 1995, Preparation and degradation of surfactant-free PLAGA microspheres, *J. Contr. Rel.*, 37, 113–121.
- Cengiz, A.T. ve Dolapçı, G.İ., 1997, Brucella'ların Özellikleri Ve Brüsellozda Tanı Yöntemleri, *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 50(1), 41-46.
- Champion, J.A., Katare, Y.K., Mitragotri, S., 2007, Making polymeric micro- and nanoparticles of complex shapes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104(29), 11901–11904.
- Chang, H.-I., Perrie, Y., Coombes, A.G.A., 2006, Delivery of the antibiotic gentamicin sulphate from precipitation cast matrices of polycaprolactone, *Journal of Controlled Release*, 110, 414-421.

- Chawla, J.S. ve Amiji, M.M., 2002, Biodegradable poly( $\epsilon$ -caprolactone) nanoparticles for tumor-targeted delivery of tamoxifen, *International Journal of Pharmaceutics*, 249, 127-138.
- Chen, C., Chen, Y., Wu, P., Chen, B., 2014, Update on new medicinal applications of gentamicin: Evidence-based review, *Journal of the Formosan Medical Association*, 113(2), 72-82.
- Cheng, X., Liu, R. ve He, Y.A., 2010, Simple method for the preparation of monodisperse protein-loaded microspheres with high encapsulation efficiencies, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 76, 336-341.
- Chin, G.A., Thigpin, T.G., Perrin, K.J., Moldawer, L.L. ve Schultz, G.S., 2003, Treatment of chronic ulcers in diabetic patients with a topical metalloproteinase inhibitor, doxycycline, *Wounds*, 15, 315-323.
- Choi, D. H., Moon, I. S., Choi, B. K., Paik, W., Kim, Y. S., Choi, S. H., Kim, C.K., 2004, Effects of sub-antimicrobial dose doxycycline therapy on cervicular fluid MMP-2, and gingival tissue MMP-9, TIMP-1 and IL-6 levels in chronic periodontitis, *Journal of Periodontal Research*, 39, 20–26.
- Chu, M. Zhou, L., Song, X., Pan, M., Zhang, L., Sun, Y., Zhu, J, ve Ding, Z., 2006, Incorporating quantum dots into polymer microspheres via a spray-drying and thermal-denaturizing approach, *Nanotechnology*, 17, 1791-1796.
- Chulia, D., Deleuil, M., Pourcelot, Y., 1994, *Powder Technology and Pharmaceutical Processes*, Elsevier Science Publishing Company, New York.
- Chung, T.W., Huang, Y.Y., Liu, Y.Z., 2001, Effects of the rate of solvent evaporation on the characteristics of drug loaded PLLA and PDLLA microspheres, *International Journal of Pharmaceutics*, 212, 161-169.
- Colmenero, J.D., Reguera, J.M., Martos, F., Sa´nchez-De-Mora, D., Delgado, M., Causse, M., Martı´n-Farfán, A., Juárez, C., 1996, Complications associated with *Brucella melitensis* infection: a study of 530 cases, *Medicine*, 75(4), 195-211.
- Cun, D., Jensen, D.K., Maltesen, M.J., Bunker, M., Whiteside, P., Scurr, D., Foged, C., Nielsen, H.M., 2011, High loading efficiency and sustained release of siRNA encapsulated in PLGA nanoparticles: quality by design optimization and characterization, *Eur J Pharm Biopharm*, 77(1), 26-35.
- D'Emanuele, A., Attwood, D., Abu-Rmaileh, R., 2004, The use of a dendrimer-propranolol prodrug to bypass efflux transporters and enhance oral bioavailability, *J. Control. Rel.*, 95, 447–453.
- Dash, A., 1997, Determination of the physical state of drug in microcapsule and microsphere formulations, *Journal of Microencapsulation*, 14(1), 101-112.
- Dhanaraju, M.D., Gopinath, D., Ahmed, M.R., Jayakumar, R., ve Vamsadhara, C., 2006, Characterization of polymeric poly( $\epsilon$ -caprolactone) injectable implant delivery

system for the controlled delivery of contraceptive steroids, *Wiley Periodicals, Inc. J Biomed Mater Res*, 76A, 63-72.

Dhanaraju, M.D., Jayakumar, R., ve Vamsadhara, C., 2004, Influence of manufacturing parameters on development of contraceptive steroid loaded injectable microspheres, *Chem Pharm Bull*, 52, 976-979.

Dhanaraju, M.D., Kiran, V Jayakumar, R., ve Vamsadhara, C., 2003, Preparation and characterization of injectable microspheres of contraceptive hormones, *Int J Pharm*, 268, 23-29.

Doğanay, M. ve Aygen, B., 2003, Human Brucellosis: an overview, *International Journal of Infectious Diseases*, 7(3), 173-182.

Eskandari-Nasab, E., Moghadampour, M., Hasani, S., Hadadi-fishani, M., Mirghanizadeh-Bafghi, S.A., ve diğ., 2013, Relationship Between  $\gamma$ -Interferon Gene Polymorphisms And Susceptibility To Brucellosis Infection, *Microbiology and Immunology*, 57(11), 785-791.

Esposito, E., Cervellati, F., Menegatti, E., Nastruzzi, C., Cortesi, R., 2002, Spray dried Eudragit microparticles as encapsulation devices for vitamin C, *Int. J. Pharm.*, 242, 329-334.

Feczko, T., Toth, J., Do'sa, G., Gyenis, J., 2011, Optimization of protein encapsulation in PLGA nanoparticles, *Chem Eng Process*, 50(8), 757-765.

Feng, S.S., Mu, L., Yin Win, K., Huang, G., 2004, Nanoparticles of biodegradable polymers for clinical administration of paclitaxel, *Curr. Med. Chem.*, 11, 413-424.

Ferrari, M., 2005, Cancer nanotechnology: Opportunities and challenges, *Nature Reviews Cancer*, 5(3), 161-171.

Finotelli, P.V. ve Rocha-Leao, M.H.M., 2005, Microencapsulation of ascorbic acid in maltodextrin and capsul using spray-drying, *2nd Mercosur Congress on Chemical Engineering and 4th Mercosur Congress on Process Systems Engineering*, 14-18 Ağustos 2005, Rio de Janeiro, Brezilya, 1-11.

Fiolet, A.-S., Jandot, E., Doucey, P., Crétet, C., Brunel, C., Pivot, C., Pirot, F., 2018, Long-term stability of gentamicin sulfate-ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt (EDTA-Na<sub>2</sub>) solution for catheter locks, *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 8(6), 386-393.

Franco, M.P., Mulder, M., Gilman, R.H., Smits, H.L., 2007, Human Brucellosis, *The Lancet Infect Dis*, 7(12), 775-786.

Freiberg, S ve Zhu, X.X., 2004, Polymer microspheres for controlled drug release, *International Journal of Pharmaceutics*, 282, 1-18.

Freytag, T., Dashevsky, A., Tillman, L., Hardee, G.E., Bodmeier, R., 2000, Improvement of the encapsulation efficiency of oligonucleotide-containing biodegradable

microspheres, *J. Contr. Rel*, 69, 197–207.

Fukushima, K., Feijoo, J.L., Yang, M-C., 2013, Comparison of abiotic and biotic degradation of PDLA, PCL and partially miscible PDLA/PCL blend, *Eur Polym J*, 49(3), 706-717.

Gapski, R., Barr, J. L., Sarment, D. P., Layher, M. G., Socransky, S. S., Giannobile, W. V., 2004, Effect of systemic matrix metalloproteinase inhibition on periodontal wound repair: A proof of concept trial, *Journal of Periodontology*, 75, 441–452.

Gargani, G. ve Pacetti, A. M., 1986, Sensitivity of 115 strains of the genus *Brucella* to some antibiotics (cephalosporins, ureidopenicillins and aminoglycosides), *Chemioterapia*, 5(1), 7–13.

Gaspar, R. ve Duncan, R., 2009, Polymeric carriers: preclinical safety and the regulatory implications for design and development of polymer therapeutics, *Adv Drug Deliv Rev.*, 61(13), 1220-1231.

George, P.M., Lyckman, A.W., LaVan, D.A., Hegde, A., Leung, Y., ve diğ., 2005, Fabrication and biocompatibility of polypyrrole implants suitable for neural prosthetics, *Biomaterials*, 26(17), 3511–3519.

Gezgen, C. ve Şeker, E., 2014, Brusellozis: Güncel Yaklaşımlar, *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 12(1), 28-66.

Gilani, S., Mir, S., Masood, M., Khan, A.K., Rashid, R., Azhar, S., Rasul, A., Ashraf, M.N., Waqas, M.K., Murtaza, G., 2018, Triple-component nanocomposite films prepared using a casting method: its potential in drug delivery, *J Food Drug Anal.*, 26, 887-902.

Govender, T., Stolnik, S., Garnett, M.C., Illum, L., Davis, S.S., 1999, PLGA nanoparticles prepared by nanoprecipitation: drug loading and release studies of a water-soluble drug, *J. Control. Rel.*, 57, 171–185.

Gökmen, S., Palamutoğlu, R., ve Sarıçoban, C., 2012, Gıda Endüstrisinde Enkapsülasyon Uygulamaları, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 7(1), 36-50.

Hall, W. H., 1990, Modern Chemotherapy for Brucellosis in Humans, *Reviews Of Infectious Diseases*, 12(6), 1060-1099.

Hasanjani Roushan, M.R., Mohraz, M., Hajiahmadi, M., Ramzani, A., Valayati, A.A., 2006, Efficacy of gentamicin plus doxycycline versus streptomycin plus doxycycline in the treatment of brucellosis in humans, *Clinical Infectious Diseases*, 42(8), 1075-1080.

Hermans, K., Van den Plas, D., Schreurs, E., Weyenberg, W., Ludwig, A., 2014, Cytotoxicity and anti-inflammatory activity of cyclosporine A loaded PLGA nanoparticles for ocular use, *Die Pharm*, 69(1), 32-37.

Herrmann, J., ve Bodmeier, R., 1998, Biodegradable somatostatin acetate containing

microspheres prepared by various aqueous and non-aqueous solvent evaporation methods, *Eur. J. Pharm. Biophar.*, 45, 75–82.

Hnaïen, M., Ruffin, E., Bordes, C., Marcillat, O., Lagarde, F., Jaffrezic-renault, N. ve Briançon, S., 2011, Integrity characterization of myoglobin released from poly( $\epsilon$ -caprolactone) microspheres using two analytical methods: UV/Vis spectrometry and conductometric bi-enzymatic biosensor. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 78(2), 298-305

Hutmacher, D.W., 2000, Scaffold in tissue engineering bone and cartilage, *Biomaterials*, 21, 2529-43.

Izumikawa, S., Yoshioka, S., Aso, Y., Takeda, Y., 1991, Preparation of poly(l-lactide) microspheres of different crystalline morphology and effect of crystalline morphology on drug release rate, *J. Contr. Rel.* 15, 133–140.

Jain, R.A., 2000, The manufacturing techniques of various drug loaded biodegradable poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) devices, *Biomaterials*, 21(23), 2475–2490.

Jeffery, H., Davis, S.S., O'Hagan, D.T., 1991, Preparation and degradation of poly(lactide-co-glycolide) microspheres, *J. Contr. Rel.*, 77, 169–175.

Jeffery, H., Davis, S.S., O'Hagan, D.T., 1993, The preparation and characterization of poly(lactide-co-glycolide) microparticles: II. The entrapment of amodel protein using a (water-in-oil)-inwater emulsion solvent evaporation technique, *Pharm. Res.*, 10, 417–423.

Jeong, J.C., Jaeyoung, L. ve Cho, K., 2003, Effects of crystalline microstructure on drug release behavior of poly( $\epsilon$ -caprolactone) microspheres, *Journal of Controlled Release*, 92, 249-258.

Jiang, T., Petersen, R.R., Call, G., Ofek, G., Gao, J. ve Yao, J.Q., 2011, Development of chondroitin sulfate encapsulated PLGA microsphere delivery systems with controllable multiple burst releases for treating osteoarthritis, *J. Biomed Mater Res. Part B: Appl Biomater*, 97, 355-363.

Jiang, W., Gupta, R.K., Deshpande, M.C., Schwendeman, S.P., 2005, Biodegradable poly(lactic-co-glycolic acid) micro-particles for injectable delivery of vaccine antigens, *Adv Drug Delivery Rev*, 57(3), 391–410.

Johnston, S.R., 1997, Acquired tamoxifen resistance in human breast cancer potential mechanisms and clinical implications, *Anticancer Drugs*, 8, 911-930.

Jordan, V.C., 1998, Designer estrogens. *Sci. Am.*, 279, 60-67.

Kaihara, S., Matsumura, S., Mikos, A.G., Fisher, J.P., 2007, Synthesis of poly(L-lactide) and polyglycolide by ring-opening polymerization, *Nat Protoc.*, 2(11), 2767-2771.

Kaplan Bulut, İ., Bulut, M.O., Büyükkayhan, D., İçağasıoğlu, D., Kara, S., Tanzer, F., Gültekin, A., Cevit, Ö., 2005, Çocukluk Çağında Bruselloz: Takip Edilen Olguların

İncelenmesi, *Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 27 (4), 133-136.

- Kemala, T., Budianto, E., Soegiyono, B., 2012, Preparation and characterization of microspheres based on blend of poly(lactic acid) and poly( $\epsilon$ - caprolactone) with poly(vinyl alcohol) as emulsifier, *Arabian Journal of Chemistry*, 5(1), 103-108.
- Keskin, D.S., Tezcaner, A., Korkusuz, P., Korkusuz, F., Hasırcı, V., 2005, Collagenchondroitin sulfate-based PLLA-SAIB-coated rhBMP-2 delivery system for bone Repair, *Biomaterials*, 26, 4023-4034.
- Kim, B.K., Hwang, S.J., Park, J.B. ve Park, H.J., 2005, Characteristics of felodipine-located poly( $\epsilon$ -caprolactone) microspheres, *Journal of Microencapsulation*, 22(2), 193-203.
- Kim, S., Lim, Y. T., Soltész, E. G., De Grand, A. M., Lee, J., et al., 2004, Near-infrared fluorescent type II quantum dots for sentinel lymph node mapping. *Nat. Biotechnol.*, 22(1), 93–97.
- Knop, K., Hoogenboom, R., Fischer, D., Schubert, U.S., 2010, Poly(ethylene glycol) in drug delivery:pros and cons as well as potential alternatives, *Angew Chem.*, 49(36), 6288-6308.
- Koç, M., Sakin, M., ve Kaymak-Ertekin, F., 2010, Mikroenkapsülasyon ve Gıda Teknolojisinde Kullanımı, *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16(1), 77-86.
- Kogawa, A.C., ve Salgado H.R.N., 2012, Doxycycline Hyclate: A Review Of Properties, Applications And Analytical Methods, *International Journal of Life Science & Pharma Research*, 2(4), 11-25.
- Kost, J. ve Langer, R., 2012, Responsive polymeric delivery systems, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 64, 327-341.
- Kozubek, A., Gubernator, J., Przeworska, E., Stasiuk, M., 2001, Liposomal drug delivery, a novel approach: PLARosomes, *Acta Biochim. Pol.*, 47 (3), 639–649.
- Kumar, R.M.N.V., 2000, Nano and microparticles as controlled drug delivery devices, *J. Pharm. Pharm. Sci.*, 3 (2), 234–258.
- Kumar, R.M.N.V., Bakowsky, U., Lehr, C.M., 2004, Preparation and characterization of cationic PLGA nanospheres as DNA carriers, *Biomaterials*, 25, 1771–1777.
- Kwon, H.Y., Lee, J.Y., Choi, S.W., Jang, Y., Kim, J.H., 2001, Preparation of PLGA nanoparticles containing estrogen by emulsification-diffusion method, *Colloids Surf. A*, 182, 123–130.
- Lam, C.X.F., Teoh, S.H., Hutmacher, D.W., 2007, Comparison of the degradation of polycaprolactone and polycaprolactone (b-tricalcium phosphate) scaffolds in alkaline medium, *Polym Int*, 56(6), 718-728.

- Langer, R., 1993, Polymer-controlled drug delivery systems, *American Chemical Society*, 26, 10, 537-542.
- Langer, R., 2001, Perspectives: drug delivery, *Drugs on target Science*, 293, 58–59.
- Lee, S.C., Oh, J.T., Jang, M.H., Chung, S.I., 1999, Quantitative analysis of polyvinyl alcohol on the surface of poly(D,L-lactide-co-glycolide) microparticles prepared by solvent evaporation method: effect of particle size and PVA concentration, *Journal of Controlled Release*, 59, 123–132.
- Lee, S.J., Jeong, J.R., Shin, S.C., Kim, J.C., Chang, Y.H., Lee, K.H., Kim, J.D., 2005, Magnetic enhancement of iron oxide nanoparticles encapsulated with poly(D,L-lactide-co-glycolide), *Colloids Surf. A*, 255, 19–25.
- Legrand, P., Barratt, G., Mosqueira, V., Fessi, H., Devissaguet, J.D., 1999, Polymeric nanocapsules as drug delivery systems, A review. S. T. P., *Pharma. Sci.*, 9, 411–418.
- Li, M., Rouaud, O., Poncelet, D., 2008, Microencapsulation by solvent evaporation: State of the art for process engineering approaches, *International Journal of Pharmaceutics*, 363(1-2), 26–39.
- Lian, T. ve Ho, R.J.Y., 2001, Trends and developments in liposome drug delivery systems, *J. Pharmaceut. Sci.*, 90 (6), 667–680.
- Liu, K.L., Widjaja, E., Huang, Y., Ng, X.W., Loo, S.C.J., Boey, F.Y.C., Venkatraman, S.S., 2011, A new insight for an old system: protein-PEG colocalization in relation to protein release from PCL/PEG blends, *Mol Pharm.*, 8(6), 2173-2182.
- Liu, M. ve Frechet, J.M., 1999, Designing dendrimers for drug delivery, *Pharm. Sci. Technol. Today* 10, 393–401.
- Lubani, M.M., Dudin, K.I., Sharda, D.C., Ndhari, D.S., Araj, G.F., Hafez, H.A., ve diğ, 1989, A multicenter therapeutic study of 1100 children with brucellosis, *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 8(2), 75-78.
- Luciani, A., Coccoli, V., Orsi, S., Ambrosio, L. ve Netti, P.A., 2008, PCL microspheres based functional scaffolds by bottom-up approach with predefined microstructural properties and release profiles, *Biomaterials*, 29, 4800-4807.
- Lynch, I., Dawson, K.A., 2004, Release of model compounds from “plum-pudding”-type gels composed of microgel particles randomly dispersed in a gel matrix, *J. Phys. Chem. B*, 108(30), 10893-10898.
- Makadia, H.K. ve Siegel, S.J., 2011, Poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery carrier, *Polymers*, 3(3), 1377-1397.
- Manning, M. W., Cassis, L. A., Daugherty, A., 2003, Differential effects of doxycycline, a broad spectrum matrix metalloproteinase inhibitor, on angiotensin II-induced atherosclerosis and abdominal aortic aneurysms, *Arteriosclerosis, Thrombosis and*

*Vascular Biology*, 23, 483–488.

- Mathiowitz, E. ve Langer, R., 1987, Polyanhydride microspheres as drug carriers I. Hot-melt microencapsulation, *J. Control. Rel.*, 5 (1), 13–22.
- Medina, O.P., Zhu, Y., Kairemo, K., 2004, Targeted liposomal drug delivery in cancer, *Curr. Pharm. Des.*, 10 (24), 2981–2989.
- Miller, R.E. ve Anderson, J.L., 1964, Encapsulation process and its products, US Patent, 3,155,590.
- Mirakabad, F. S.T., Nejati-Koshki, K., Akbarzadeh, A., Yamchi, M.R., Milani, M., Zarghami, N., Zeighamian, V., Rahimzadeh, A., Alimohammadi, S., Hanifehpour, Y., 2014, PLGA-based nanoparticles as cancer drug delivery systems, *Asian Pac J Cancer Prev.*, 15(2), 517-535.
- Moghimi, S.M., Hunter, A.C., Murray, J.C., 2005, Nanomedicine: current status and future prospects, *FASEB J.*, 19, 311–330.
- Mu, L. ve Feng, S.S., 2003, A novel controlled release formulation for the anticancer drug paclitaxel (Taxol(R)): PLGA nanoparticles containing vitamin E TPGS, *J Control Release*, 86(1),33-48.
- Munster, P.N. ve Hudis, C.A., 1999, Adjuvant therapy for resectable breast-cancer. *Hematol, Oncol. Clin. North An.*, 13, 391-413.
- Nafee, N., Taetz, S., Schneider, M., Schaefer, U.F., Lehr, C.-M., 2007, Chitosan-coated PLGA nanoparticles for DNA/RNA delivery: effect of the formulation parameters on complexation and transfection of antisense oligonucleotides, *Nanomedicine*, 3 (3), 173–183.
- Nagavarma, B.V.N., Yadav, H.K.S., Ayaz, A., Vasudha, L.S., Shivakumar, H.G., 2012, Different techniques for preparation of polymeric nanoparticles- a review, *Asian J Pharm Clin Res.*,5(3),16-23.
- Nair, L.S. ve Laurencin, C.T., 2006, Polymers as biomaterials for tissue engineering and controlled drug delivery. In: Lee K, Kaplan D. editors. *Tissue engineering I. Advances in biochemical engineering/biotechnology*. Berlin: Springer Verlag Review Series, 47-90.
- Nair, L.S. ve Laurencin, C.T., 2007, Biodegradable polymers as biomaterials. *Prog. Polym. Sci.*, 32, 762-798.
- Naveed, S., Dilshad, H., Shah, S.N., Waheed, N., Nazeer, S., Qamar, F., 2014, Manufacturing Of New Formulation Of Gentamicin Capsule, *Indian Research Journal of Pharmacy and Science*, 1(3), 23-27.
- O'Donnell, P.B. ve McGinity, J.W., 1997, Preparation of microspheres by the solvent evaporation technique, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 28 (1), 25–42.

- Osborne, C.K. ve Fuqua, S.A., 1994, Mechanism of tamoxifen resistance, *Breast Cancer Res. Treat*, 32, 49-55.
- Oshimura, M., Takasu, A., Nagata, K., 2009, Controlled ring-opening polymerization of  $\epsilon$ -caprolactone using polymer-supported scandium trifluoromethanesulfonate in organic solvent and ionic liquids, *Macromolecules*, 42(8), 3086-3091.
- Pantazis, P., Dimas, K., Wyche, J.H., Anant, S., Houchen, C.W., Panyam, J., Ramanujam, R.P., 2012, Preparation of siRNA-encapsulated PLGA nanoparticles for sustained release of siRNA and evaluation of encapsulation efficiency, *Meth Mol Biol (Clifton NJ)*, 906, 311-319.
- Paolino, D., Sinha, P., Fresta, M. Ferrari, M., 2006, Drug delivery systems, *Encyclopedia of Medical Devices and Instrumentation*.
- Park, K., ve MRSNY, R.J., 2000, Bölüm 1, *Controlled Drug Delivery: Present and Future, In Controlled Drug Delivery*; ACS Symposium Series, American Chemical Society, Washington.
- Parra, A., Mallandrich, M., Clares, B., Egea, M.A., Espina, M., Garcí'a, M.L., Calpena, A.C., 2015, Design and elaboration of freeze-dried PLGA nanoparticles for the transcorneal permeation of carprofen: ocular anti-inflammatory applications, *Colloids Surf B Biointerfaces*, 136, 935-943.
- Pérez, M.H., Zinutti, C., Lamprecht, A., Ubrich, N., Astier, A., Hoffman, M., Bodmeier, R., Maincent, P., 2000, The preparation and evaluation of poly( $\epsilon$ -caprolactone) microparticles containing both a lipophilic and a hydrophilic drug, *Journal of Controlled Release*, 65(3), 429-438.
- Prabha, S. ve Labhasetwar, V., 2004, Nanoparticle-mediated wild-type p53 gene delivery results in sustained antiproliferative activity in breast cancer cells, *Mol. Pharmacol.*, 1, 211–219.
- Prior, S., Gander, B., Concepción, L., Irache, J. M., ve Gamazo, C., 2004, Gentamicin-loaded microspheres for reducing the intracellular *Brucella abortus* load in infected monocytes, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53, 981–988.
- Rados, C., 2004, GRAS: time-tested and trusted food ingredients, *FDA Consumer*, 38, 2.
- Raja, M.M., Lim, P. Q., Wong, Y. S., Xiong, G. M., Zhang, Y., Venkatraman, S., Huang, Y., 2019, *Polymeric Nanomaterials: Methods of Preparation and Characterization*, Nanocarriers for Drug Delivery, In: Mohapatra, S.S., Ranjan, S., Dasgupta, N., Mishra, R.K., Thomas, S.(ed.), Bölüm 18, Elsevier, New York, ISBN: 978-0-12-814033-8, 557-653.
- Ratnam, V.D., Ankola, D., Bhardwaj, V., Sahana, D.K., Ravi Kumar, M.N.V., 2006, Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: a pharmaceutical perspective, *J. Control. Rel.*, 113 (3), 189–207.
- Risch, S.J. and Reineccius, G.A., 1995, *Encapsulation: overview of uses and techniques*,

Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients, Bölüm 1, American Chemical Society, Washington, 2-7.

- Rivera, P.A., Martinez-Oharriz, M.C., Rubio, M., Irache, J.M., Espuelas, S., 2004, Fluconazole encapsulation in PLGA microspheres by spray-drying, *J. Microencapsul.*, 21 (2), 203–211.
- Rosca, I.D., Watari, F., Uo, M., 2004, Microparticle formation and its mechanism in single and double emulsion solvent evaporation, *J. Control. Rel.*, 99 (2), 271–280.
- Roullin, V.G., Deverre, J.R., Lemaire, L., Hindre, F., Venier-Julienne, M.C., Vienet, R., Benoit, J.P., 2002, Anti-cancer drug diffusion within living rat brain tissue: an experimental study using [3H](6)-5-fluorouracil-loaded PLGA microspheres, *Eur J Pharm Biopharm.*, 53(3), 293-299.
- Roushan, M.R., Amiri, M.J., Janmohammadi, N., Hadad, M.S., Javanian, M., Baiani, M., Bijani, A., 2010, Comparison of the efficacy of gentamicin for 5 days plus doxycycline for 8 weeks versus streptomycin for 2 weeks plus doxycycline for 45 days in the treatment of human brucellosis: a randomized clinical trial, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(5), 1028-1035.
- Sah, H., 1997, Microencapsulation techniques using ethyl acetate as a dispersed solvent: effects of its extraction rate on the characteristics of PLGA microspheres, *J. Contr. Rel.*, 47, 233–245.
- Sahoo, S.K. ve Labhasetwar, V., 2005, Enhanced antiproliferative activity of transferrin-conjugated paclitaxel-loaded nanoparticles is mediated via sustained intracellular drug retention, *Mol. Pharmacol.*, 2, 373–383.
- Sahoo, S.K., Parveen, S., Panda, J.J., 2007, The present and future of nanotechnology in human health care, *Nanomedicine*, 3 (1), 20–31.
- Sansdrap, P. ve Moës, A.J., 1993, Influence of manufacturing parameters on the size characteristics and the release profiles of nifedipine from poly(dl-lactide-co-glycolide) microspheres, *Int. J. Pharm.*, 98, 157–164.
- Sendil, D., Gürsel, İ., Wise, D.L., Hasırcı, V., 1999, Antibiotic Release From Biodegradable PHBV Microparticles, *Journal of Controlled Release*, 59, 207-217.
- Seville, P.C., 2007, Spray-dried powders for pulmonary drug delivery, *Crit. Rev. Therapeut. Drug Carrier Syst.*, 24 (4), 307–360.
- Shanmuganathan, S., Shanmugasundaram, N., Adhirajan, N., Lakshmi, T.S.R., Babu, M., 2008, Preparation and characterization of chitosan microspheres for doxycycline delivery, *Carbohydrate Polymers*, 73, 201–211.
- Shukla, J., Bandopadhyaya, G.P., Varma, I.K., Kumar, R. ve Maulik, S. K., 2007, Morphology and release kinetics of technetium-99m(V) dimercaptosuccinic acid loaded, poly(lactic-co-glycolic) acid microspheric delivery system, *An experimental approach that may be used for targeted radiation treatment. Hell J Nucl Med*, 10(1),

9-13.

- Sinha, V.R., Bansal, K., Kaushik, R., Kumria, R., Trehan, A., 2004, Poly- $\epsilon$ - Caprolactone microspheres and nanospheres: an overview, *Int. J. of. Pharmaceutics*, 278, 1-23.
- Slots, J., ve Rams, T.E., 1990, Antibiotics in periodontal therapy: advantages and Disadvantages, *J Clin Periodontal*, 17, 479-493.
- Solera, J., Espinosa, A., Geijo, P., Martinez-Alfaro, E., Saez, L., Sepulveda, M.A., Maria Dolores Ruiz-Ribo, M.D., 1996, Treatment of Human Brucellosis with Netilmicin and Doxycycline, *Clinical Infectious Diseases*, 22(3), 441-445.
- Solera, J., Espinosa, A., Martı́nez-Alfaro, E., Sa´nchez, L., Geijo, P., Navarro, E., ve diğ., 1997a, Treatment of human brucellosis with doxycycline and gentamicin, *Antimicrob Agents Chemotherapy*, 41(1), 80-84.
- Solera, J., Martı́nez-Alfaro, E., Espinosa, A., 1997b, Recognition and optimum treatment of brucellosis, *Drugs*, 53, 245–256.
- Solera, J., Geijo, P., Largo, J., Rodriguez-Zapata, M., Gijo´n, J., Martinez-Alfaro, E., Navarro, E., Macia, M.A., 2004, A Randomized, Double-Blind Study to Assess the Optimal Duration of Doxycycline Treatment for Human Brucellosis, *Clinical Infectious Diseases*, 39(12), 1776–1782.
- Song, K.C., Lee, H.S., Choung, I.Y., Cho, K.I., Ahn, Y., Choi, E.J., 2006, The effect type of organic phase solvents on the particle size of poly(d,l-lactide-co-glycolide) nanoparticles, *Colloids Surf. A*, 276, 162–167.
- Stevanović, M., 2017, *Polymeric micro- and nanoparticles for controlled and targeted drug delivery*, Nanostructures for Drug Delivery, In: Andronescu, E., Grumezescu, A.M.(ed.), Bölüm 11, Elsevier, New York, ISBN: 978-0-323-46143-6, 355-378.
- Stevanovic´, M. ve Uskokovic´, D., 2009a, Poly(d,l-lactide-co-glycolide) for controlled drug delivery of vitamins, *Curr. Nanosci*, 5 (1), 1–15.
- Stevanovic´, M. ve Uskokovic´, D., 2009b, Influence of different degradation medium on release of ascorbic acid from poly(d,l-lactide-co-glycolide) nano- and microspheres, *Russ. J. Phys. Chem. A*, 83 (9), 1457–1460.
- Stevanovic´, M.M., Jordovic´, B., Uskokovic´, D.P., 2007a, Preparation and characterization of poly(d,l-lactide-co-glycolide) nanoparticles containing ascorbic acid, *J. Biomed. Biotechnol.*, 8.
- Stevanovic´, M., Savic´, J., Jordovic´, B., Uskokovic´, D., 2007b, Fabrication, in vitro degradation and the release behaviours of poly(d,l-lactide-co-glycolide) nanospheres containing ascorbic acid, *Colloids Surf. B*, 59 (2), 215–223.
- Stevanovic´, M., Ignjatovic´, N., Jordovic´, B., Uskokovic´, D., 2007c, Stereological analysis of the poly(d,l-lactide-co-glycolide) submicron sphere prepared by solvent/non-solvent chemical methods and centrifugal processing, *J. Mater. Sci.*

*Mater. Med.*, 18 (7), 1339–1344.

- Stevanovic', M., Jordovic', B., Nedic', Z., Milic'evic', D., 2007d, The stabilizer influence on morphological characteristics of poly(d,l-lactide-co-glycolide) nanospheres, *Mater. Sci.*, 555, 447–452.
- Stupar, P., Pavlovic', V., Nunic', J., Cundric', S., Filipic', M., Stevanovic', M., 2014, Development of lyophilized spherical particles of poly(epsilon-caprolactone) and examination of their morphology, cytocompatibility and influence on the formation of reactive oxygen species, *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, 24 (2), 191–197.
- Sumer, B. ve Gao, J., 2008, Theranostic nanomedicine for cancer, *Nanomedicine*, 3 (2), 137–140.
- Takashima, Y., Saito, R., Nakajima, A., Oda, M., Kimura, A., Kanazawa, T., Okada, H., 2007, Spray-drying preparation of microparticles containing cationic PLGA nanospheres as gene carriers for avoiding aggregation of nanospheres, *Int. J. Pharm.*, 343 (1–2), 262–269.
- Tamimi, F., Torres, J., Bettini, R., Ruggrea, F., Rueda, C., Lopez-Ponce, M. ve Lopez-Cabarcos, E., 2007, Doxycycline sustained release from brushite cements for the treatment of periodontal diseases, *J. Biomed Mater Res*, 85(A), 707–714.
- Tan, B.H., Muiruri, J.K., Li, Z., He, C., 2016, Recent progress in using stereocomplexation for enhancement of thermal and mechanical property of polylactide, *ACS Sustainable Chem Eng.*, 4(10), 5370–5391.
- Tang, Z.G., Rhodes, N.P. ve Hunt, J.A., 2007, Control of the domain microstructures of PLGA and PCL binary systems. Importance of morphology in controlled drug release. *Chemical Engineering Research and Design. Trans IChemE*, 85(A7), 1044–1050.
- Thomasin, C., Merkle, H.P., Gander, B., 1998a, Drug microencapsulation by PLA/PLGA coacervation in the light of thermodynamics. 2. Parameters determining microsphere formation, *J. Pharmaceut. Sci.*, 87 (3), 269–275.
- Thomasin, C., Nam- Tran, H., Merkle, H.P., Gander, B., 1998b, Drug microencapsulation by PLA/PLGA coacervation in the light of thermodynamics. 1. Overview and theoretical considerations, *J. Pharm. Sci.*, 87 (3), 259–268.
- Tulkens, P.M., M.D., Ph. D., 1986, Experimental studies on nephrotoxicity of aminoglycosides at low doses: Mechanisms and perspectives, *The American Journal of Medicine*, 80, 105–114.
- Uddin, M.S., Hawlader, M.N.A., Zhu, H.J., 2001, Microencapsulation of ascorbic acid: effect of process variables on product characteristics, *J. Microencapsul.*, 18 (2), 199–209.
- Ulery, B.D., Nair, L.S., Laurencin, C.T., 2011, Biomedical applications of biodegradable Polymer, *J Polym Sci B Polym Phys.*, 49(12), 832–864.

- Varshosaz, J., Taymouri, S., Hamishehkar, H., Vatankhah, R., Yaghubi, S., 2017, Development of dry powder inhaler containing tadalafil-loaded PLGA nanoparticles, *Res Pharm Sci.*, 12(3), 222.
- Vilar, G., Tulla-Puche, J., Albericio, F., 2012, Polymers and drug delivery systems, *Curr. Drug. Deliv.*, 9(4), 367-394.
- Vilchez, G., Espinoza, M., D'Onadio, G., Saona, P., Gotuzzo, E., 2015, Brucellosis in pregnancy: clinical aspects and obstetric outcomes, *International Journal of Infectious Diseases*, 38, 95–100.
- Vivek, K., Harivardhan Reddy, L. ve Murthy, R.S.R., 2007, Comparative Study of Some Biodegradable Polymers on the entrapment Efficiency and Release Behavior of Etoposide from Microspheres, *Pharmaceutical Development and Technology*, 12, 79-88.
- Wang, S., Guo, A. ve Cheng, L., 2008, Disodium norcantharidate loaded poly( $\epsilon$ -caprolactone) microspheres I Preparation and evaluation, *International Journal of Pharmaceutics*, 350, 130–137.
- Wang, X and Wang, Y., Wei, K. Zhao, N. Zhang, A. ve Chen, J., 2009, Drug distribution within poly( $\epsilon$ -caprolactone) microspheres and in vitro release, *Journal of Materials Processing Technology*, 209, 348-354.
- Wei, G., Pettway, G.J., McCauley, L.K., Ma, P.X., 2004, The release profiles and bioactivity of parathyroid hormone from poly(lactic-co-glycolic acid) microspheres, *Biomaterials*, 25(2), 345–352.
- Weidenauer, U., Bodmer, D., Kissel, T., 2003, Microencapsulation of hydrophilic drug substances using biodegradable polyesters. Part I. Evaluation of different techniques for the encapsulation of Pamidronate di-sodium salt, *Journal of Microencapsulation*, 20(4), 509-524.
- Wieland-Berghausen, S., Schote, U., Frey, M., Schmidt, F., 2002, Comparison of microencapsulation techniques for the water-soluble drugs nitenpyram and clomipramine HCl, *J. Control. Rel.*, 85 (1–3), 35–43.
- Wong, S.Y., Pelet, J.M., Putnam, D., 2007, Polymer systems for gene delivery-past, present and future, *Prog. Polym. Sci.*, 32 (8–9), 799–837.
- Woodruff, M.A. ve Hutmacher, D.W., 2010, The return of a forgotten polymer Polycaprolactone in the 21st century, *Progress in Polymer Science*, 35(10), 1217-1256.
- Yadav, H.K.S., Almokdad, A.A., Shaluf, S.I.M., Debe, M.S., 2019, *Polymer-Based Nanomaterials for Drug-Delivery Carriers*, Nanocarriers for Drug Delivery, In: Mohapatra, S.S., Ranjan, S., Dasgupta, N., Mishra, R.K., Thomas, S.(ed.), Bölüm 17, Elsevier, New York, ISBN: 978-0-12-814033-8, 531-556.
- Yalabik-Kas, H.S., 1983, Microencapsulation and in vitro dissolution of oxazepam from

ethylcellulose microcapsules, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 9 (6), 1047–1060.

Yang, Y.Y., Chung, T.S., Ng, N.P., 2001, Morphology, drug distribution, and in vitro release profiles of biodegradable polymeric microspheres containing protein fabricated by double emulsion solvent extraction/evaporation method, *Biomaterials*, 22, 231–241.

Yilgor, P., Hasirci, N., Hasirci, V., 2010, Sequential BMP-2/BMP-7 Delivery from Polyester Nanocapsules, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 93(2), 528-536.

Yoo, H.S., 2006, Preparation of biodegradable polymeric hollow microspheres using O/O/W emulsion stabilized by Labrafil, *Colloids Surf. B*, 52, 47–51.

Yoshiyuki, K., Hirata, G., Samejima, M., 1983, Studies on microcapsules II: influence of molecular weight of ethylcellulose in the microencapsulation of ascorbic acid, *Chem. Pharmaceut. Bull.*, 31, 4476–4482.

Young, E.J., 1995, An overview of human brucellosis, *Clinical Infectious Diseases*, 21(2), 283-289.

Zambaux, M., Bonneaux, F., Gref, R., Maincent, P., Dellacherie, E., Alonso, M., Labrude, B., Vigneron, C., 1998, Influence of experimental parameters on the characteristics of poly(lactic acid) nanoparticles prepared by double emulsion method, *J. Control. Rel.*, 50, 31–40.

Zhang, H., Cui, W., Bei, J., Wang, S., 2006, Preparation of poly(lactide-co-glycolide-co-caprolactone) nanoparticles and their degradation behaviour in aqueous solution, *Polym. Degrad. Stabil*, 91 (9), 1929–1936.

Zuidam, N.J. ve Nedovic, V., 2010, *Overview of Microencapsulates for Use in Food Products or Processes and Methods to Make Them*, Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing, In: Zuidam, N.J. ve Shimoni, E. (ed.), Bölüm 2, Springer, New York, ISBN: 978-1-4419-1008-0, 3-29.

## ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	İsmigül ÜNLÜEL
Doğum Yeri	Çankırı
Doğum Tarihi	07.06.1988
Uyruğu	<input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
Telefon	90 386 262 25 25
E-Posta Adresi	ismiguul@gmail.com
Web Adresi	



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Ankara Üniversitesi
Fakülte	Mühendislik Fakültesi
Bölümü	Gıda Mühendisliği
Mezuniyet Yılı	2011

Yüksek Lisans	
Üniversite	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	İleri Teknolojiler A.D.
Programı	İleri Teknolojiler Tezli Yüksek Lisans
Mezuniyet Tarihi	2020

Doktora	
Üniversite	
Enstitü Adı	
Anabilim Dalı	
Programı	Program Adı
Mezuniyet Tarihi	

Makale ve Bildiriler
<p><b>Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler</b></p> <p>Aydın, Ö., <b>Ünlüel, İ.</b> “Brucellosis: An Overview” <i>International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies (ICAFOF)</i>, Cappadocia, Nevşehir-Turkey, May 15-17, 2017, 732 (Sözlü)</p>
<p><b>Ulusal hakemli dergilerde yayınlanan makaleler</b></p> <p><b>Ünlüel, İ.</b>, Aydın, Ö. Bir Zeytin Fenolojisi Olan Oleuropeinin Sağlığımız Üzerine Etkileri. <i>Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Dergisi</i>, 2016. 6(2): 77-81.</p>
<p><b>Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler</b></p> <p>Sur, Ö., <b>Ünlüel, İ.</b>, Aydın, Ö. “Gıda Güvenliği, İzlenebilirlik ve Yasal Mevzuatlar” <i>10. Gıda Mühendisliği Kongresi</i>, Side-Antalya, 9-11 Kasım 2017, 110. (Poster)</p>

**Ünlüel, İ.**, Aydın, Ö. “Süt Endüstrisinde Bir Yenilik: Mikroenkapsülasyon Teknolojisi” *10. Gıda Mühendisliği Kongresi, Side-Antalya, 9-11 Kasım 2017*, 163. (Poster)

Mağara, G., **Ünlüel, İ.**, Aydın, Ö. “Süt ve Süt Ürünlerinin Sağlığımıza Katkıları”, *6. Ulusal Tarım Öğrenci Kongresi, Ankara, 4-6 Mayıs 2016*, 251. (Poster)

