



Review Paper / Derleme Makalesi
POLYMERIC NANOPARTICLES

Serap DERMAN^{*1}, Kadriye KIZILBEY², Zeynep Mustafaeva AKDESTE¹

¹*Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Esenler-İSTANBUL*

²*Yıldız Teknik Üniversitesi, Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Yıldız-İSTANBUL*

Received/Geliş: 26.11.2012 Revised/Düzeltilme: 21.01.2013 Accepted/Kabul: 18.02.2013

ABSTRACT

Nanotechnology is considered to be one of the most popular science areas in recent years which integrate engineering with the basic sciences such as biology, chemistry and physics that nanomaterials manufactured with nanotechnology exhibit superior properties when considered those produced with traditional methods. Polymeric nanoparticles are matrix systems prepared from natural or synthetic materials ranging from 10 to 1000 nm particle sizes that the active material can be leached or confined inside it, and/or adsorbed or attached to the surface of the particle.

Keywords: Nanotechnology, Nanoparticle, Poly(d,l-lactic-co-glycolic acid), Hydrolysis, Biodegradable polymer.

POLİMERİK NANOPARTİKÜLLER

ÖZET

Nanoteknoloji biyoloji, kimya ve fizik gibi temel bilimlerin mühendislik ile bütünleştirildiği, nanoteknoloji ile üretilen nanomalzemelerin geleneksel yöntemlerle üretilenlere göre daha üstün kabul edilen özellikler sergilediği, son yılların en gözde bilim alanlarından biri olarak kabul edilmektedir. Polimerik nanopartiküller; doğal ya da sentetik yapıdaki polimerler ile hazırlanan, boyutları 10-1000 nm arasında değişen ve etkin maddenin partikül içinde çözündürüldüğü, hapsedildiği ve/veya yüzeye adsorbe edildiği yada bağlandığı matris sistemlerdir.

Anahtar Sözcükler: Nanoteknoloji, Nanopartikül, Poli(d,l-laktik-ko-glikolik asit), Hidroliz, biyobozunur polimer.

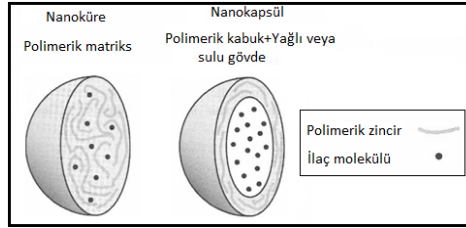
1. GİRİŞ

Nanopartiküller (bu çalışma için polimerik nanopartiküller); doğal ya da sentetik yapıdaki polimerlerle hazırlanan, boyutları 10-1000 nm arasında değişen, hazırlama yöntemine göre nanoküre veya nanokapsül (Şekil 1) olarak adlandırılan ve etkin maddenin partikül içinde çözündürüldüğü, hapsedildiği ve/veya yüzeye adsorbe edildiği yada bağlandığı matris sistemlerdir [1-5]. Polilaktik asit (PLA), Poliglikolik asit (PGA) yada bunların kopolimeri olan Poli(d,l-laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) gibi biyobozunur ve biyouyumlu polimerlerden üretilen nanopartiküller ilaç dağılım sistemleri için en yaygın olarak araştırılan sistemlerdir [6].

* Corresponding Author/Sorumlu Yazar: e-mail/e-ileti: serapacar5@gmail.com, tel: (212) 383 46 43

Son yıllarda, nanoteknoloji tıp ve biyoteknoloji alanında nanopartikül sistemlerle ilgili araştırmalara ve uygulamalara ilişkin çalışmaların sayısında önemli ölçüde artış olmuştur [4, 7]. Tıptaki uygulamalar özellekle; ilaç, gen ve antijenler için taşıyıcı olarak kullanılması, *in vitro/in vivo* diagnostiklerin uygulanması, diyet destekleyiciler, geliştirilmiş biyoyumlu materyallerin üretimi gibi konuları kapsamaktadır [4, 8-14].

Hazırlama yöntemine bağlı olarak, enkapsüle edilmiş terapötik ajanın farklı özellikler ve farklı salım karakteristikleri sergilediği nanoküreler veya nanokapsüller elde edilir. Nanokapsüller veziküler sistemlerdir, ilaç bir kaviteye hapsedilir ve bir polimer membran ile çevrelenir, nanoküreler ise matris sistemlerdir burada ilaç fiziksel olarak ve uniform olarak disperse edilmiştir (Şekil 2)



Şekil 1. Nanoküre ve nanokapsül yapısının şematik gösterimi [1, 15]

Nanopartiküller ilk defa yaklaşık olarak 40 yıl önce [16] aşıların ve kanser tedavisinde kullanılan kemoterapötik ajanların taşınması için geliştirilmiştir [2, 17-19].

Nanopartiküller, nanoboyutlu yapılarından dolayı mikropartiküler sistemlere kıyasla hücre içine daha fazla alınmaktadır. Desai ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada 100 nm boyutundaki nanopartiküllerin Caco-2 hücrelerinden; 1 µm boyutundaki mikropartiküllere oranla iki buçuk kat daha fazla, 10 µm boyutundaki mikropartiküllere oranla ise altı kat daha fazla hücre içerisine alındığını göstermişlerdir [20].

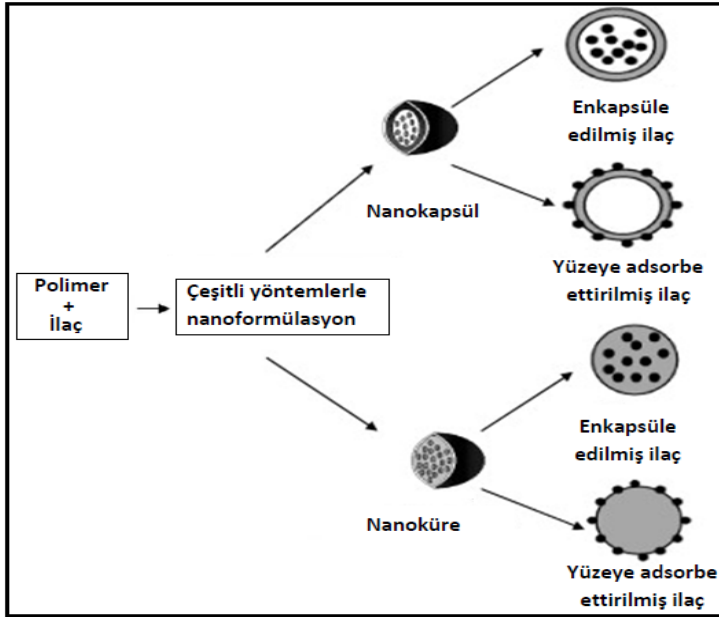
2. POLİMERİK NANOPARTİKÜLLERİN SAĞLADIĞI AVANTAJLAR

Doğal yada sentetik polimerlerin kullanılması ile elde edilen; ilaçların yanı sıra, proteinler, peptitler ve genlerin de ilgili dokuya hedeflendirilmeleri için kullanılan nanopartiküllerin sağladığı avantajlar iki temel özelliklerinden ileri gelmektedir. Bu özelliklerinden birincisi, nanopartiküllerin küçük partikül boyutlarına sahip olmasıdır. Böylece küçük kapilerlerden geçerek hücrelere alınır ve hedef bölgede etkili etkin madde akümülyasyonunu sağlarlar [2, 15, 20-23]. İkincisi ise, nanopartiküllerin hazırlanmasında biyobozunur materyallerin kullanılmasıdır. Biyobozunur malzemeler günler hatta haftalar süren periyotlarda hedef dokuda kontrollü etkin madde salımını sağlamaktadırlar. Tüm bunlara ek olarak nanopartiküller; ilaçların/proteinlerin yada peptidlerin stabilitesinin artmasını sağlarlar [24].

2.1. Polimerik Nanopartiküllerin Diğer Avantajları

- Kolaylıkla sterilize edilebilirler,
- Fizyolojik ortamda parçalanabilirler ve parçalanma ürünleri toksik değildir,
- Etkin madde yüklenme kapasiteleri yüksektir ve bu şekilde, etkin maddenin hücre içi dağılımı artar,
- Oral yolla ilaç uygulamada, nanopartikül şeklinde verilen ilacın salım ve biyoyararlanımı artar,

- Nanopartiküllerin polimerik yapıları, etkin maddenin hedeflendirilmesini, salınımının kontrolünü ve sürdürülmesini sağlar. Hedeflenen bölgede enjeksiyonlarını takiben, günler hatta haftalar süren etkin madde salımına olanak verirler. Ayrıca, nanopartiküllerin yüzeyine hedefleme bölgesindeki özel moleküler yapıları tanıyan özel ligandların tutturulması ile etkin maddenin lokalizasyonu mümkün olmaktadır,
- Diğer kolloidal taşıyıcı sistemlerle kıyaslandıklarında polimerik nanopartiküller biyolojik sıvılarda çok daha yüksek stabiliteye sahiptirler. Polimerik partiküler yapı, katı matris içine hapsedilmiş aktif maddeyi parçalanmaktan korur. Böylece etkin maddenin istenen bölgeye ulaşma olasılığı artar,
- Küçük partikül boyutları, nanopartiküllerin küçük kapillerlere penetrasyonuna imkan verir ve hücreler tarafından tutulmalarını sağlar. Böylece, vücutta hedeflenen bölgede istenen etkin madde salımı sağlanır. Mikropartiküllere kıyasla hücre içine alımları yüksektir,
- Etkin maddenin hedef bölgede salımını sağladıkları için, diğer organ ve dokular üzerindeki sistemik toksisiteyi azaltırlar,
- Nanopartikül dispersiyonları; ilacın, taşıyıcı veya ilave zararlı çözücüler içinde çözünmesine gerek kalmadan, parenteral yolla kolaylıkla uygulanabilmesini sağlar,
- Üretim teknikleri genel olarak basit ve kolaydır,
- Nanopartiküller, ilacın katı dozaj şekillerinde, uzun süre ve ilave saklama şartlarına gerek kalmaksızın saklanmasına imkan vermeleridir [1, 4, 25].



Şekil 2. Biyoparçalanabilir nanopartiküllerin çeşitleri [2, 15, 26]

3. POLİMERİK NANOPARTİKÜLLERİN UYGULAMA ALANLARI

Son yıllarda, nanopartiküller sahip oldukları avantajlardan dolayı nanoteknoloji, tıp, biyoteknoloji ve diğer alanlarda yoğun olarak araştırılmaktadırlar. Tıp alanında özellikle antikanser ilaçlar, antiinflamatuar ilaçlar [27], antiparaziter ilaçlar, peptit ve proteinler için taşıyıcı sistem olarak, ayrıca, aşılarda ve tanı maddeleri olarak kullanılırken [28]; veteriner hekimlikte de yaygın uygulama

alanı bulmaktadır [4, 29, 30]. Antijenik özellikteki molekülleri taşıyan nanopartiküllerin ise, immünolojide ümit verici sonuçlar oluşturduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [31]. Veterinerlikte özellikle, hayvanları parazitlere karşı korumak için içme suyu içinde verilen ve bağırsakta parçalanarak ilacı serbestleştiren nanopartiküller kullanılmaktadır [4, 32].

4. POLİMERİK NANOPARTİKÜLLERİN HAZIRLANMASINDA KULLANILAN POLİMERLER

Nanopartiküllerin üretiminde doğal (proteinler, polisakkaritler) ve sentetik polimerler (üretim sırasında sentezlenenler, önceden sentezlenenler) kullanılmaktadır. İlk üretilen nanopartiküller, albumin gibi doğal proteinlerden yada poli (akrilamid), poli (metil metakrilat) gibi biyobozunur olmayan sentetik polimerlerden üretilmiştir. Nanopartikül üretiminde proteinlerin kullanımında antijenik reaksiyonların oluşması gibi olumsuz sonuçlar meydana gelirken, biyobozunur olmayan sentetik polimerlerin kullanımında ise bu polimerlerin toksisiteleri büyük risk oluşturmaktadır. Nanopartikül üretimi sırasında sentezlenen polimerlerin kullanımında ise monomerlerin tamamı ile polimerize olmayıp nanopartikül yapısında artık olarak kalabilme sakıncası bulunmaktadır [4]. Nanopartiküllerin hazırlanmasında yaygın olarak kullanılan polimerler Çizelge 1’de verilmiştir. Son zamanlarda peptit, protein ve nükleik asitlerin nanopartiküller ile taşınmasında polisakkaritlerden de yararlanılmaktadır [4, 25]. Bu tez çalışmasındaki nanopartiküller Poli(d,l-laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) kullanılarak üretildiğinden PLGA polimerine ait genel bilgiler aşağıda detaylı olarak verilmiştir.

Çizelge 1. Nanopartikül hazırlamada kullanılan polimerler [4, 15, 33, 34]

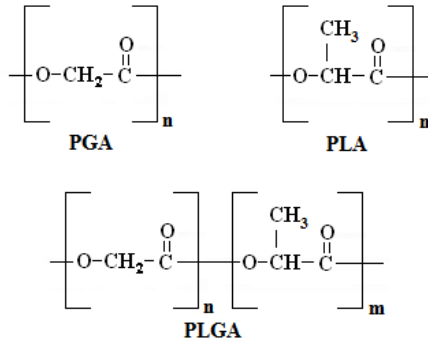
Polimer Tipleri	Polimer İsimleri
Sentetik polimerler	Poli(laktid) Poli(laktid-ko-glikolid) Poli(ϵ -kaprolakton) Poli(izobütillsiyanoakrilat) Poli(izohexsilsiyanoakrilat) Poli(n-bütillsiyanoakrilat) Poli(akrilat) Poli(metakrilat)
Doğal polimerler	Kitosan Aljinat Jelatin Albumin
Blok kopolimerler	Poli(laktid)-poli(etilen glikol) (PLA-PEG) Poli(epsilon-kaprolakton)- poli(etilen glikol) (PCL-PEG) Poli(hexsadesilsiyanoakrilat)-ko-poli(etilen glikol) (PHDCA-PEG)
Kolloidal stabilizanlar	Dekstran Poli(vinil alkol) Tween® 20 veya Tween® 80

4.1. Poli(d,l-laktik-ko-glikolik asit) (PLGA)

Toksik olmayan metabolitlere dönüşen polimerler, uzun etkili ve kontrollü salım sistemlerinin hazırlanmasında sıklıkla tercih edilmektedir [4]. Sahip olduğu avantajlarından dolayı etkin maddelerin enkapsülasyonu sonucu kontrollü salınımı için nanopartikül üretiminde en yaygın olarak kullanılan biyobozunur polimerler alifatik poliesterler olan Polilaktik asit (PLA),

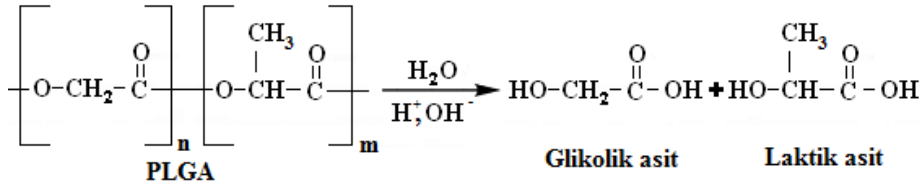
Poliglikolik asit (PGA) ve bunların kopolimeri olan Poli(d,l-laktik-ko-glikolik asit)'dir [12, 26, 35-37].

Poli(d,l-laktik-ko-glikolik asit), laktik asit ve glikolik asit monomerlerinin uygun karışımlarının polimerizasyonu sonucu elde edilmektedir. Kopolimeri oluşturan monomerlerin oranları değiştirilerek, farklı molekül ağırlığında, farklı fiziksel, kimyasal ve fizikokimyasal özelliklerde PLGA polimerleri elde edilebilmektedir. Polimerik matris olarak ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanılan PLGA'ların özelliklerine bağlı olarak, ilaç salımının uzatılması ve kontrolü gerçekleştirilebilmektedir [4, 38]. PLGA'nın kristal yapısı kopolimer zincirindeki iki monomer bileşenin molar oranına bağlıdır. PLGA'da, % 70'den az PGA içeren kopolimerler amorf ve diklorometan, etil asetat gibi organik çözücülerde kolaylıkla çözünürler. PGA hidrofilik özellikte olduğundan hücre içi koşullarda kolaylıkla çözünmektedir. PLA ise yan zincirinde PGA'ye göre fazladan bir metil grubu taşıdığından (Şekil 3) daha hidrofobik özelliktedir ve biyobozunması PGA'den çok daha uzun sürede gerçekleşmektedir [3]. Bu nedenle PLGA'nın sudaki bozunma özelliği kopolimerin molekül ağırlığına ve laktik:glikolik oranına bağlıdır. Yüksek glikolik asit içeriği ve düşük molekül ağırlığı, biyobozunma oranını artırmaktadır [4].



Şekil 3. Poli(Laktik asit) (PLA), Poli(Glikolik asit) (PGA) ve Poli(d,l-laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) polimerlerinin kimyasal yapıları [15]

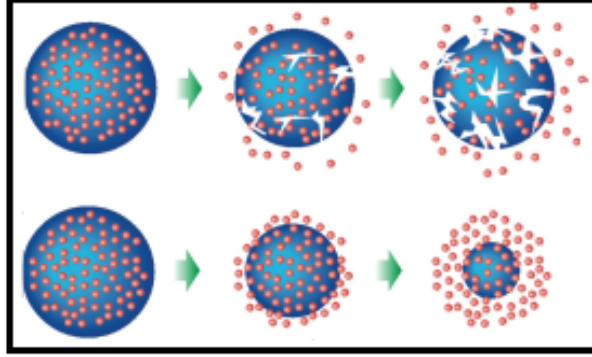
PLGA; fizyolojik ortamda inert olması, biyolojik olarak parçalanabilmesi, biyoyumlu olması ve toksik olmayan ürünlere parçalanabilmesi nedeniyle, yeni ilaç taşıyıcı sistemlerde yaygın olarak kullanılan ve FDA tarafından da onaylanmış bir biyopolimerdir. PLGA kopolimerleri gerek yağda, gerekse suda çözünen etkin maddeler ile nanopartiküler sistemlerin hazırlanmasında uygun taşıyıcılardır [4]. PLGA vücutta laktik asit ve glikolik asit monomerlerine parçalanmakta (Şekil 4), bunlar da sitrik asit döngüsüne girerek metabolize olarak karbondioksit (CO₂) ve suya (H₂O) parçalanmaktadır [4].



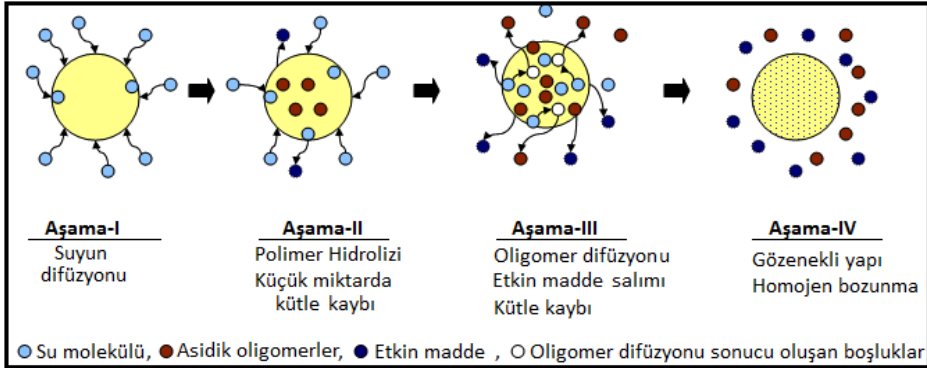
Şekil 4. PLGA polimerinin hidrolizi [15]

PLGA nanopartikülleri bulk erzyon (yığın erzyonu) yada yüzey (surface) erzyonu sonucu parçalanmaktadır (Şekil 5) ve etkin madde salımı polimerin hidrolizi sonucu bozunmasına bağlı olarak dört aşamadan meydana gelmektedir (Şekil 6). Birinci aşamada suyun difüzyonu

gerçekleşmekte bunu takip eden ikinci aşamada ise asidik uç gruplara sahip oligomerlerin hidroliz reaksiyonunu otokatalizlemesi sonucu hidroliz hızlanmaktadır. Üçüncü aşamanın başında kritik molekül ağırlığına ulaşmakta ve oligomerler partikülden dışarıya difüze olmaktadır. Su molekülleri oluşan boşluklardan difüze olmakta bu da oligomerlerin daha fazla difüzyonunu teşvik etmektedir. Polimerin belirgin kütle kaybı ve etkin madde salımındaki keskin artış üçüncü aşamada meydana gelmektedir. Dördüncü aşamada ise polimerik matris yüksek oranda gözenekli bir yapıya dönüşmekte, bozunma daha yavaş ve homojen bir şekilde ilerlemektedir [39].



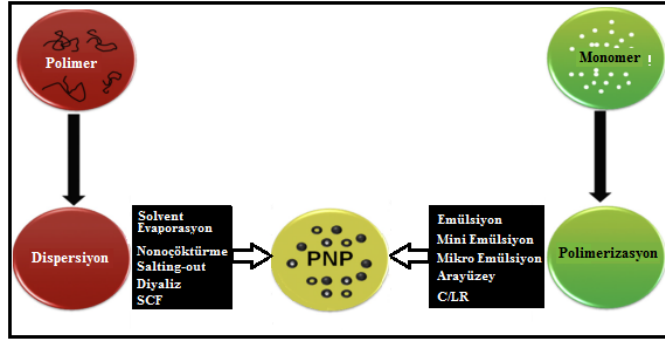
Şekil 5. Biyobozunur polimerik nanopartiküllerin Yığın erazyonu (a) ve Yüzey erazyonu (b) sonucu bozunması [40]



Şekil 6. PLGA nanopartikülünün hidrolizi ve etkin madde salımının aşamaları [39]

5. POLİMERİK NANOPARTİKÜL HAZIRLAMA YÖNTEMLERİ

Hazırlama yönteminin seçimi, kullanılan polimerin yapısına ve etkin maddenin çözünürlük özelliğine göre belirlenmektedir. Nanopartikül hazırlama yöntemleri olarak önceleri monomerlerin çeşitli ortamlarda in situ polimerizasyonuna dayanan yöntemler kullanılmıştır [1].



Şekil 7. Polimerik nanopartiküllerin hazırlanmasında kullanılan çeşitli tekniklerin şematik gösterimi (SCF: Süperkritik Akışkan, C/LR: Kontrollü/Yaşayan radikal) [5].

Günümüzde ise, tam olarak karakterize edilmiş, önceden sentezlenmiş polimer veya doğal makromoleküllerin dispersiyonuna dayalı yöntemler daha fazla kullanılmaktadır. Monomerlerin polimerizasyonu yada önceden sentezlenen polimerlerin dispersiyonuna dayalı nanopartikül oluşturma yöntemleri Şekil 7'de şematik olarak gösterilmiştir. Bu çalışmada önceden sentezlenmiş ve tam olarak karakterize edilmiş polimerlerin kullanılmasına dayalı yöntemler detaylı olarak anlatılmıştır.

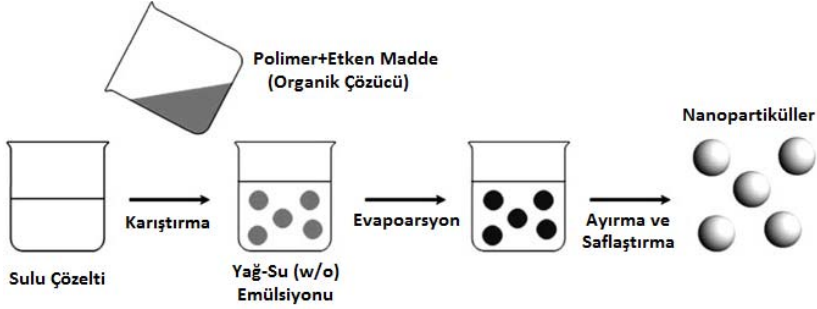
5.1. Çözücü Difüzyon Difüzyon/Evaporasyon Yöntemi

Çözücü Difüzyon/Evaporasyon yöntemi polimerik nanopartiküllerin oluşturulması için ilk geliştirilen yöntemdir [5, 41]. Bu yöntemde polimer çözeltisi uçucu solvent içerisinde hazırlanarak emülsiyon oluşturulur. Önceki çalışmalarda diklorometan ve kloroform daha sık kullanılırken yeni yapılan çalışmalarda bu kimyasalların yerini etil asetat almıştır. Emülsiyon, çözücünün evapoarsyonu sonucu nanopartikül süspansiyonuna dönüştürülmektedir [5, 42, 43].

Çözücü Difüzyon/Evaporasyon yöntemi polimerik nanopartiküllerin oluşturulmasında en sık çalışılan yöntemdir. Geleneksel yöntemde tekli emülsiyon (yağ/su) yada ikili emülsiyon (yağ/su/yağ) olmak üzere iki temel strateji tercih edilmektedir. Bu yöntem yüksek hızda homojenizasyon yada ultrasonikasyonu takiben çözücünün; evaporason, oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda devamlı karıştırma yada düşük basınç altında uçurulması ile gerçekleştirilmektedir.

5.1.1. Tekli Emülsiyon (w/o) Çözücü Difüzyon/Evaporasyon Yöntemi

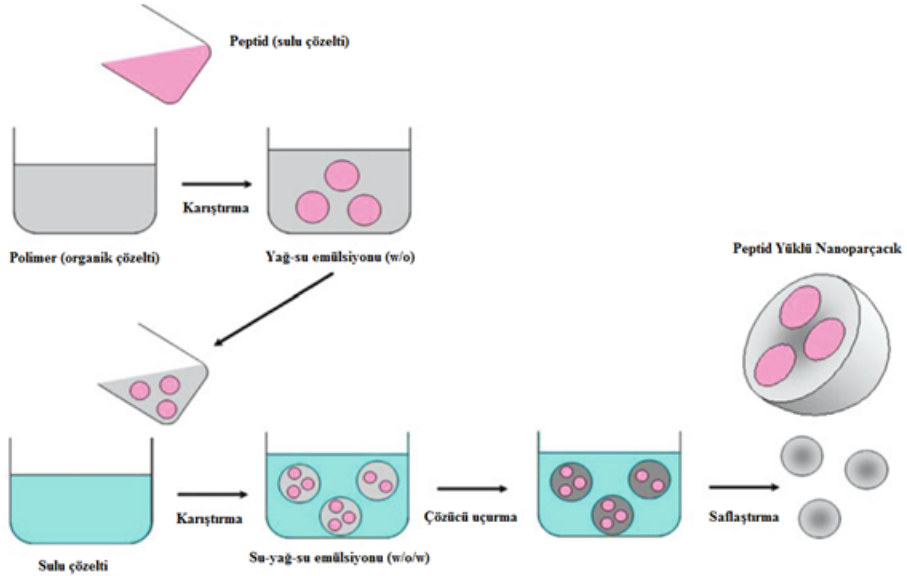
Bu yöntemde suda çözünmeyen etkin madde ve polimer için ortak olan çözücü seçilir ve her ikisi de ortak organik çözücüde çözündürülür. Yüzey aktif madde içeren sulu ortama karıştırılarak nanopartiküller üretilirler (Şekil 7) [1, 44, 45].



Şekil 7. Tekli emülsiyon w/o çözücü evaporasyon yöntemi ile nanopartiküllerin üretimi [12]

5.1.2. İkili Emülsiyon (w/o/w) Çözücü Buharlaştırma Yöntemi

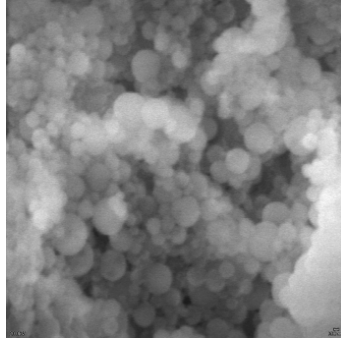
Peptid yada protein gibi hidrofilik moleküllerin yüklü olduğu nanopartiküllerin üretiminde en yaygın olarak ikili emülsiyon (w/o/w=su/yağ/su) çözücü buharlaştırma yöntemi (homojenizasyon yada ultrasonikasyon destekli) kullanılmaktadır (Şekil 8).



Şekil 8. Peptid yüklü nanopartiküllerin ikili emülsiyon w/o/w çözücü buharlaştırma yöntemi ile üretimi [12]

Bu yöntemde ilk olarak etkin maddenin sulu çözeltisi polimer içeren organik faz içerisinde dağıtılır. Elde edilen w/o emülsiyonu dış sulu faz içerisinde emülsifiye edilerek w/o/w ikili emülsiyonu elde edilir. Elde edilen w/o/w emülsiyonu, etkin madde çözeltisini içeren polimer çözeltisi damlacıklarını oluşturur ve çözücü difüzyon yada evaporasyon [46, 47] ile uzaklaştırıldıktan sonra, etkin maddenin sulu çözeltisini içeren nanopartikül süspansiyonu oluşturulur [1, 48]. Bu süspansiyon santrifüjlenerek nanopartiküller elde edilir, su ile yıkama

yapıldıktan sonra kurutulmuş nanopartiküller liyofilize olarak kurutulur ve kullanılmak üzere dondurulur [49, 50]. Tarafımızdan; PLGA polimeri kullanılarak, ikili emülsiyon w/o/w çözücü buharlaştırma yöntemi ile hazırlanan, peptid yüklü polimerik nanopartiküllere ait taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü Şekil 9'da verilmiştir.



Şekil 9. İkili emülsiyon w/o/w çözücü buharlaştırma yöntemi ile hazırlanan peptid yüklü nanopartiküllerin SEM görüntüsü

5.2. Salting-Out Yöntemi

Polimer ve etkin madde ilk olarak aseton gibi bir çözücüde çözünürler ve sonrasında salting-out ajanı (magnezyum klorür, kalsiyum klorür gibi elektrolitler) içeren polivinilpiroldon gibi koloidal stabilizatörlerin sulu jel çözeltisi içerisinde emülsifiye edilirler. Bu yağ/su emülsiyonu çözücünün difüzyonu için yeterli hacime kadar seyreltilir ve difüzyon sonucu nanopartiküller elde edilir [48, 51].

5.3. Nanoçöktürme Yöntemi

Polimerik nanopartiküllerin hazırlanması için kullanılan nanoçöktürme yöntemi Fessi ve arkadaşları [52] tarafından geliştirilmiştir ve çözücü yer değişimi olarak da adlandırılmaktadır. Bu yöntemin temel prensibi; lipofilik çözeltideki, suyla karışabilen, yarıpolar çözücünün yer değişimi sonucu polimerin arayüzeyde çökmesidir.

Bu yöntemde polimer aseton içerisinde çözünür aynı ortama etkin madde de eklenerek çözünmesi sağlanır. Bu organik çözelti manyetik karıştırıcı ile karıştırılan ve stabilizatör içeren distile su içerisine enjekte edilir. Aseton ve bir miktar suyun vakum altında uzaklaştırılması ile süspansiyonun son hacmi gerekli miktara ayarlanır [48, 53]. Bu yöntemde aynı zamanda etkin maddenin nanopartikül hazırlanmadan önce polimere yada sonrasında nanopartikülün yüzeyine kovalent bağlanması (1), etkin maddenin polimerik taşıyıcı sisteme adsorpsiyonu (2), yada nanopartikül hazırlanırken etkin maddenin polimerik matris içerisinde hapsedilmesi gibi farklı çalışma stratejileri geliştirilmiştir [48, 54, 55].

5.4. Diyaliz

Diyaliz küçük ve dar dağılımlı nanopartiküllerin oluşturulmasında kullanılan basit ve etkili bir yöntemdir [5, 52, 56-58].

Acknowledgments / Teşekkür

Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik kurucu Bölüm Başkanı rahmetli hocamız Prof.Dr. **Mehmet Mustafaev AKDESTE**'ye teşekkür ederiz. Bu çalışma Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nün **2011-07-04-DOP01** numaralı projesi ile desteklenen "Canine Parvovirus'e Ait Antijenik Özellikli Sentetik Peptidlerin Sentezi Ve Biyokonjugatlarının Geliştirilmesi" isimli doktora tezi kapsamındadır.

REFERENCES / KAYNAKLAR

- [1] Özcan, İ., "Kemiğe Hedeflemek İçin Sentezlenen Biyolojik Parçalanabilen Polimerler Kullanılarak Hazırlanan Nanopartiküler İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Tasarımı Ve In Vitro – In Vivo Değerlendirilmesi", Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, 2008.
- [2] Öztürk, K., "Serbest Radikal Temizleyici Madde İçeren Nanopartiküler Taşıyıcı Sistemlerin Tasarımı Ve Değerlendirilmesi", Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, 2010.
- [3] Kutlu, C. "Çift Etkili Doku İskelesi - Nanopartikül Sistemlerinin Geliştirilmesi Ve Beyin Tümörlerinin Tedavisinde Kullanımı", Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, 2008.
- [4] Çırpanlı, Y., "Kamptotesin İçeren Polimerik Ve Oligosakkarit Bazlı Nanopartiküler Formülasyonların Geliştirilmesi Ve İn Vitro-İn Vivo Değerlendirilmesi", Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, 2009.
- [5] Rao, J.P., and Geckeler, K.E., "Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters", Progress in Polymer Science, 36, 887-913, 2011.
- [6] Cohen-Sela, E., Chorny, M., Koroukhov, N., Danenberg, H.D., and Golomb, G., "A new double emulsion solvent diffusion technique for encapsulating hydrophilic molecules in PLGA nanoparticles", J Control Release, 133, 90-95, 2009.
- [7] Chan, W.C., "Bionanotechnology progress and advances", Biol Blood Marrow Transplant, 12, 87-91, 2006.
- [8] Kreuter, J., "Influence of the surface properties on nanoparticle-mediated transport of drugs to the brain", Journal of nanoscience and nanotechnology, 4, 484-488, 2004.
- [9] Govender, T., Riley, T., Ehtezazi, T., Garnett, M.C., Stolnik, S., Illum, L., and Davis, S.S., "Defining the drug incorporation properties of PLA-PEG nanoparticles", International journal of pharmaceuticals, 199, 95-110, 2000.
- [10] Chen, Y., Mohanraj, V.J., and Parkin, J.E., "Chitosan-dextran sulfate nanoparticles for delivery of an anti-angiogenesis peptide", International Journal of Peptide Research and Therapeutics, 10, 621-629, 2003.
- [11] Panyam, J., Williams, D., Dash, A., Leslie-Pelecky, D., and Labhasetwar, V., "Solid-state solubility influences encapsulation and release of hydrophobic drugs from PLGA/PLA nanoparticles", Journal of pharmaceutical sciences, 93, 1804-1814, 2004.
- [12] Akagi, T., Baba, M., and Akashi, M., "Biodegradable Nanoparticles as Vaccine Adjuvants and Delivery Systems: Regulation of Immune Responses by Nanoparticle-Based Vaccine". Advanced Polymer Science, 1-34, 2011.
- [13] Freitas, R.A., "What is nanomedicine?", Nanomedicine, 51, 325-341, 2005.
- [14] Kunzmann, A., Andersson, B., Thurnherr, T., Krug, H., Scheynius, A., and Fadeel, B., "Toxicology of engineered nanomaterials: Focus on biocompatibility, biodistribution and biodegradation", Biochim Biophys Acta, 1810, 361-373, 2011.
- [15] Derman, S. "Canine Parvovirus'e Ait Antijenik Özellikli Sentetik Peptidlerin Sentezi Ve Biyokonjugatlarının Geliştirilmesi", Doktora Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, 2012.
- [16] Kumar, M., "Nano and microparticles as controlled drug delivery devices", J. Pharm. Pharm. Sci, 3, 234-258, 2000.

- [17] Couvreur, P., Kante, B., Grislain, L., Roland, M., and Speiser, P., "Toxicity of polyalkylcyanoacrylate nanoparticles II: Doxorubicin-loaded nanoparticles", *Journal of pharmaceutical sciences*, 71, 790-792, 1982.
- [18] Beck, P., Kreuter, J., Reszka, R., and Fichtner, I., "Influence of polybutylcyanoacrylate nanoparticles and liposomes on the efficacy and toxicity of the anticancer drug mitoxantrone in murine tumour models", *Journal of microencapsulation*, 10, 101-114, 1993.
- [19] Conway, M.A., Madrigal-Estebas, L., McClean, S., Brayden, D.J., and Mills, K.H.G., "Protection against *Bordetella pertussis* infection following parenteral or oral immunization with antigens entrapped in biodegradable particles: effect of formulation and route of immunization on induction of Th1 and Th2 cells", *Vaccine*, 19, 1940-1950, 2001.
- [20] Desai, M.P., Labhasetwar, V., Walter, E., Levy, R.J., and Amidon, G.L., "The mechanism of uptake of biodegradable microparticles in Caco-2 cells is size dependent", *Pharmaceutical Research*, 14, 1568-1573, 1997.
- [21] Thomas, M., and Klibanov, A.M., "Conjugation to gold nanoparticles enhances polyethylenimine's transfer of plasmid DNA into mammalian cells", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100, 9138-9143, 2003.
- [22] Desai, M.P., Labhasetwar, V., Amidon, G.L., and Levy, R.J., "Gastrointestinal uptake of biodegradable microparticles: effect of particle size", *Pharmaceutical Research*, 13, 1838-1845, 1996.
- [23] Panyam, J., Sahoo, S.K., Prabha, S., Bargar, T., and Labhasetwar, V., "Fluorescence and electron microscopy probes for cellular and tissue uptake of poly (D, L-lactide-co-glycolide) nanoparticles". *International journal of pharmaceutics*, 262, 1-11, 2003.
- [24] Soppimath, K.S., Aminabhavi, T.M., Kulkarni, A.R., and Rudzinski, W.E., "Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices", *Journal of controlled release*, 70, 1-20, 2001.
- [25] Şengel-Türk, C.T., Haşçelik, C., and Gönül, N., "Nanoparticulate Drug Delivery Systems For Targeting The Drugs To The Brain", *Journal of Neurological Sciences*, 24, 254-263, 2007.
- [26] Kumari, A., Yadav, S.K., and Yadav, S.C., "Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 75, 1-18, 2010.
- [27] Roco, M.C., "Nanotechnology: convergence with modern biology and medicine", *Curr Opin Biotech*, 14, 337-346, 2003.
- [28] Panyam, J., and Labhasetwar, V., "Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue", *Adv Drug Deliv Rev*, 55, 3329-347, 2003
- [29] Bozkir, A., and Saka, O.M., "Formulation and investigation of 5-FU nanoparticles with factorial design-based studies", *II Farmaco*, 60, 840-846, 2005.
- [30] Calvo, P., Remuñan-López, C., Vila-Jato, J.L., and Alonso, M.J., "Chitosan and chitosan/ethylene oxide-propylene oxide block copolymer nanoparticles as novel carriers for proteins and vaccines", *Pharmaceutical Research*, 14, 1431-1436, 1997.
- [31] Alonso, M.J., "Nanoparticulate drug carrier technology", *Drugs and the pharmaceutical sciences* 77, 203-242, 1996.
- [32] Kaş, H., "İlaç taşıyıcı partiküler sistemler", *Kontrollü Salım Sistemleri*. Ed's, Gürsoy A, 82-88, 2002.
- [33] Mohanraj, V., and Chen, Y., "Nanoparticles-a review", *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 5, 561-573, 2007.
- [34] Parveen, S., Misra, R., and Sahoo, S.K., "Nanoparticles: a boon to drug delivery, therapeutics, diagnostics and imaging", *Nanomed-Nanotechnol*, 8, 147-166, 2012.

- [35] Lemoine, D., Francois, C., Kedzierewicz, F., Preat, V., Hoffman, M., and Maincent, P., "Stability study of nanoparticles of poly (ϵ -caprolactone), poly (d, l-lactide) and poly (d, l-lactide-co-glycolide)", *Biomaterials*, 17, 2191-2197, 1996.
- [36] Jiang, W., Gupta, R.K., Deshpande, M.C., and Schwendeman, S.P., "Biodegradable poly (lactic-co-glycolic acid) microparticles for injectable delivery of vaccine antigens", *Advanced drug delivery reviews*, 57, 391-410, 2005.
- [37] Mohamed, F., and Van Der Walle, C.F., "Engineering biodegradable polyester particles with specific drug targeting and drug release properties", *Journal of pharmaceutical sciences*, 97, 71-87, 2008.
- [38] Parveen, S., and Sahoo, S.K., "Nanomedicine - Clinical applications of polyethylene glycol conjugated proteins and drugs", *Clin Pharmacokinet*, 45, 965-988, 2006.
- [39] Engineer, C., Parikh, J., and Raval, A., "Review on Hydrolytic Degradation Behavior of Biodegradable Polymers from Controlled Drug Delivery System", *Trends in Biomaterials and Artificial Organs*, 25, 79-85, 2011.
- [40] Dinarvand, R., Sepehri, N., Manoochehri, S., Rouhani, H., and Atyabi, F., "Polylactide-co-glycolide nanoparticles for controlled delivery of anticancer agents", *International journal of nanomedicine*, 6, 877-895, 2011.
- [41] Vanderhoff, J.W., El-Aasser, M.S., and Ugelstad, J., "Polymer emulsification process", Google Patents., 1979.
- [42] Allemann, E., Gurny, R., and Doelker, E., "Drug-loaded nanoparticles: preparation methods and drug targeting issues", *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics*, 39, 173-191, 1993.
- [43] Anton, N., Benoit, J.-P., and Saulnier, P., "Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates", *Journal of Controlled Release* 128, 185-199, 2008.
- [44] Konan, Y.N., Gurny, R., and Allémann, E., "Preparation and characterization of sterile and freeze-dried sub-200 nm nanoparticles", *International journal of pharmaceuticals*, 233, 239-252, 2002.
- [45] Murakami, H., Kobayashi, M., Takeuchi, H., and Kawashima, Y., "Further application of a modified spontaneous emulsification solvent diffusion method to various types of PLGA and PLA polymers for preparation of nanoparticles", *Powder technology*, 107, 137-143, 2000.
- [46] Julienne, M., Alonso, M., Gomez Amoza, J., and Benoit, J., "Preparation of poly (D, L-lactide/glycolide) nanoparticles of controlled particle size distribution: application of experimental designs", *Drug development and industrial pharmacy*, 18, 1063-1077, 1992.
- [47] Yoo, H.S., Oh, J.E., Lee, K.H., and Park, T.G., "Biodegradable nanoparticles containing doxorubicin-PLGA conjugate for sustained release", *Pharmaceutical research*, 16, 1114-1118, 1999.
- [48] Muthu, M., "Nanoparticles based on PLGA and its co-polymer: An overview". *Asian Journal of Pharmaceutics* 3, 266-273, 2009.
- [49] Akmal Nazir, K.S., Remko Boom, "Premix emulsification: A review", *Journal of Membrane Science*, 362, 1-11, 2010.
- [50] Wei, X., Gong, C., Gou, M., Fu, S., Guo, Q., Shi, S., Luo, F., Guo, G., Qiu, L., and Qian, Z., "Biodegradable poly(epsilon-caprolactone)-poly(ethylene glycol) copolymers as drug delivery system", *Int J Pharm*, 381, 1-18, 2009.
- [51] Allémann, E., Leroux, J.C., Gurny, R., and Doelker, E., "In vitro extended-release properties of drug-loaded poly (DL-lactic acid) nanoparticles produced by a salting-out procedure", *Pharmaceutical research*, 10, 1732-1737, 1993.
- [52] Fessi, H., Puisieux, F., Devissaguet, J.P., Ammoury, N., and Benita, S., "Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement", *International journal of pharmaceuticals*, 55, R1-R4, 1989.

- [53] Fessi, C., Devissaguet, J.P., Puisieux, F., and Thies, C., "Process for the preparation of dispersible colloidal systems of a substance in the form of nanoparticles". (Google Patents), 1992.
- [54] Jung, T., Breitenbach, A., and Kissel, T., "Sulfobutylated poly (vinyl alcohol)-graft-poly (lactide-co-glycolide)s facilitate the preparation of small negatively charged biodegradable nanospheres", *J Control Release*, 67, 157-169, 2000.
- [55] Dreis, S., Rothweiler, F., Michaelis, M., Cinatl, J., Kreuter, J., and Langer, K., "Preparation, characterisation and maintenance of drug efficacy of doxorubicin-loaded human serum albumin (HSA) nanoparticles", *International journal of pharmaceutics*, 341, 207-214, 2007.
- [56] Jeong, Y.I., Cho, C.S., Kim, S.H., Ko, K.S., Kim, S.I., Shim, Y.H., and Nah, J.W., "Preparation of poly (DL-lactide-co-glycolide) nanoparticles without surfactant". *Journal of applied polymer science*, 80, 2228-2236, 2001.
- [57] Kostag, M., Köhler, S., Liebert, T., and Heinze, T., "Pure cellulose nanoparticles from trimethylsilyl cellulose", In *Macromolecular Symposia*, 294, 96-106, 2010.
- [58] Jeon, H.-J., Jeong, Y.-I., Jang, M.-K., Park, Y.-H., and Nah, J.-W., "Effect of solvent on the preparation of surfactant-free poly (DL-lactide-co-glycolide) nanoparticles and norfloxacin release characteristics", *International journal of pharmaceutics*, 207, 99-108, 2000.
- [59] Sun, Y.P., Meziani, M.J., Pathak, P., and Qu, L., "Polymeric nanoparticles from rapid expansion of supercritical fluid solution", *Chemistry-A European Journal*, 11, 1366-1373, 2004.
- [60] Thote, A.J., and Gupta, R.B., "Formation of nanoparticles of a hydrophilic drug using supercritical carbon dioxide and microencapsulation for sustained release", *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 1, 85-90, 2005.

Pdf Source: [Sigma](#)