

POLİMERİK NANOPARTİKÜLER İLAÇ TAŞIYICI SİSTEMLERDE YÜZEY MODİFİKASYONU

SURFACE MODIFICATION OF POLYMERIC NANOPARTICULATE DRUG CARRIER SYSTEMS

C. Tuba ŞENGEL-TÜRK, Canan HASÇİÇEK

Ankara University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology, 06100
Tandoğan-Ankara, TURKEY

ÖZET

Yüzey modifikasyonu, nano-boyuttaki ilaç taşıyıcı sistemlerin yüzey özelliklerinin iyileştirilmesi ve değiştirilmesi olarak tanımlanabilmektedir. Farmasötik teknoloji alanında, başta polimerik nanopartiküller olmak üzere pek çok nano-boyuttaki taşıyıcının fizikokimyasal özelliklerinin ve farmakolojik etkinliklerinin iyileştirilmesinde yüzey modifikasyonu çeşitli avantajlar sağlamaktadır. Polimerik nanopartiküler ilaç taşıyıcı sistemlerin yüzey özellikleri organizmada gösterdikleri biyolojik davranışlarda anahtar bir rol oynamaktadır. Bu taşıyıcı sistemlerin yüzey özelliklerinin modifikasyonu ile hedeflendirme potansiyelleri ve hücresel tutulum düzeyleri artırılmakta, kan sirkülasyonunda kalış süreleri uzamakta, özellikle tümörlü dokularda daha yüksek düzeyde birikmeleri söz konusu olmaktadır. Bu derlemede polimerik nanopartiküler sistemlerin tanımı, avantajları, yüzey modifikasyonunun getirdikleri, yüzey modifikasyon teknikleri ve farmasötik alanda bu açıdan yapılan çalışmalar yer almaktadır.

Anahtar kelimeler: *Polimerik nanopartiküller, Nanopartiküler İlaç taşıyıcı sistemler, Yüzey modifikasyon teknikleri, yüzey modifikasyon ajanları.*

ABSTRACT

Surface modification can be defined as the improvement and replacement of the surface properties of nano-sized drug delivery systems. In the field of pharmaceutical technology, surface modification provides several advantages to improve the physicochemical properties and pharmaceutical activities of many nanosized carriers particularly polymeric nanoparticles. The surface properties of the polymeric nanoparticulate drug delivery systems play a key role on the biological behaviour that is shown in the organism. By the modification

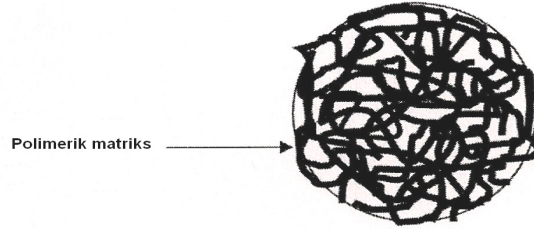
circulation times are prolonged, especially the accumulation in the tumor tissues is improved to higher levels. In this review, the definition and the advantages of the polymeric nanoparticulate systems, the benefits of surface modification, surface modification techniques and the studies in the pharmaceutical field concerning surface modification are covered.

Key words: *Polymeric nanoparticles, Nanoparticulate drug delivery systems, Surface modification techniques, Surface modification agents.*

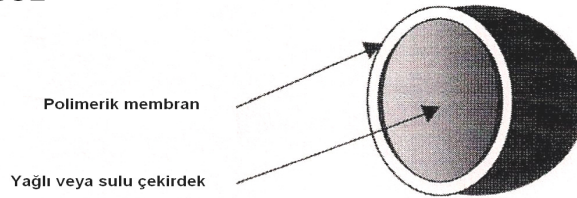
GİRİŞ

Partikül büyüklükleri 10-1000 nm arasında değişen çözünmüş, hapsedilmiş veya adsorbe haldeki etkin maddeyi kontrollü olarak açığa çıkaran, doğal ya da sentetik yapıdaki polimerlerle hazırlanan katı kolloidal polimerik partiküler sistemlere “nanopartiküller” denilmektedir. Nanopartiküler ilaç taşıyıcı sistemler, uygulanan hazırlama yöntemine bağlı olarak kendi içinde “nanoküreler” ve “nanokapsüller” olarak ikiye ayrılırlar. Nanoküreler, etkin maddenin polimerik matris yapı içinde çözündüğü, disperse olduğu ya da kısmen adsorbe edildiği sistemler iken nanokapsüller etkin maddenin polimerik bir membran tarafından çevrelenmiş sulu veya yağlı bir çekirdek içinde bulunduğu veziküler sistemlerdir ve rezervuar sistem olarak da tanımlanmaktadır (Şekil 1) (1-9).

NANOKÜRE



NANOKAPSÜL



Şekil 1. Nanoküre ve nanokapsüllerin yapısı (6).

Etkin madde taşıyıcı sistem olarak hazırlanan ve kullanılan polimerik nanopartiküller sahip oldukları çeşitli avantajlar ile diğer nano-boyutlu taşıyıcı sistemlerden ayrılmaktadırlar. Bunlar; Yüksek etkin madde yükleme kapasitesine sahiptirler. Bu şekilde, etkin maddenin intrasellüler dağılımı artar (10).

- Polimerik partiküler yapı katı matriks içine hapsedilmiş etkin maddeyi degradesyondan korur. Böylece etkin maddenin hedef dokuya ulaşma olasılığı artar (10, 11).

- Nanopartiküllerin polimerik yapıları etkin maddenin hedeflendirilmesini, salımının kontrolünü ve sürdürülmesini temin ederler. Hedeflenen bölgede uygulamayı takiben günler hatta haftalar süren bir etkin madde salımına imkan verirler (1, 12).

- Nanopartiküllerin yüzey özellikleri çeşitli ajanlarla kaplama yapılmak suretiyle değiştirilerek nanopartiküllerin retiküloendotelial sistem (RES) makrofajları tarafından tanınması engellenir. Bu şekilde nanopartiküllerin hedef bölgeye ulaşılabilirliği artırılır (11, 13).

- Diğer kolloidal taşıyıcı sistemlerle kıyaslandıklarında polimerik nanopartiküller biyolojik sıvılarda çok daha yüksek stabiliteye sahiptirler (1, 11).

- Nanopartiküller kolaylıkla sterilize edilebilen kolloidal partiküllerdir (1).

- 10-1000 nm'lik küçük partikül boyutları nanopartiküllerin tümöral hücre içine penetrasyonuna imkan verir ve hücreler tarafından tutulmalarını sağlar. Böylece, vücutta hedeflenen bölgede istenen etkin madde salımı temin edilir (14, 15).

- Taşıdıkları etkin maddenin hedef bölgede salımına imkan sağladıkları için etkin maddenin sistemik toksisitesini azaltırlar (15).

- Etkin maddenin vücuttaki dağılımını ve terapötik etkinliğini düzenlerler (11).

- Üretim teknikleri genel olarak basit ve kolaydır (1).

İlk defa 1970'li yıllarda Birrenbach ve Speiser tarafından geliştirilen nanopartiküler ilaç taşıyıcı sistemler başlangıçta aşı ve antineoplastik etkin maddeler için taşıyıcı sistemler olarak tasarlanmışlardır. Günümüzde nanoteknoloji ve nanomedikal alanda özellikle hedefleme mekanizmaları yardımıyla kanser tedavisinde kullanımları ağırlık kazanmıştır. Nanopartiküler ilaç taşıyıcı sistemlerin kanser tedavisindeki önemini vurgulayan araştırmalar, özellikle antikanserojen etkin maddelerin nanopartiküler ilaç taşıyıcı sistemler şeklinde uygulandıklarında, hedef neoplastik dokudaki antitümoral etkinliklerinin arttığını, doku ve hücre dağılım profillerinin de kontrol

edilebildiğini göstermektedir. Nanopartiküler etkin madde taşıyıcı sistemlerin kanser tedavisindeki etkinlikleri;

- Nanometre boyutundaki partikül büyüklüklerinden (5),
- Normal dokulara spesifik olmayan birikimin azaltılmasıyla daha uzun bir kan dolaşımı temin edebilmelerinden (5, 16),
- Neoplastik hücrelerin artmış endositik aktiviteleri nedeniyle tümöral dokularda yüksek birikim gösterebilmelerinden (16, 17),
- Tümör hücrelerinin artmış oksijen ve besin ihtiyacına bağlı olarak, tümör hücrelerini çevreleyen damar sisteminde görülen EPR (enhanced permeation and retention effect) etkisi ile tümör bölgesine daha hızlı penetre olabilmelerinden (5, 18),
- Antineoplastik etkin maddelerin toksisitelerini ve istenmeyen yan etkilerini azaltmalarından,
- Kontrollü etkin madde salımına imkan vermelerinden (19),
- Nano büyüklükteki boyutları sayesinde intrakapiller ve transkapiller geçişe olanak sağlamalarından (19-21),
- Antineoplastik etkin maddelerin hedef tümöral dokuda salımını sağladıkları için maddenin terapötik etkinliğini artırmalarından (20-22),
- Antineoplastik etkin maddelerin biyoyararlanımını artırmalarından (21, 22),
- Antineoplastik etkin maddelerin *in-vivo* ortamda dağılımını modifiye edebilmelerinden kaynaklanmaktadır (20-22).

Başta antineoplastik etkin maddeler olmak üzere çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan çok sayıdaki terapötik ve tanı/teşhis sağlayan ajanlar için taşıyıcı bir sistem olan polimerik nanopartiküllerin, özellikle ilaç hedeflemesinde sahip oldukları avantajlar, bu sistemlere büyük bir önem kazandırmaktadır. Ancak vücuda uygulanmalarını takiben RES hücreleri özellikle de karaciğer Kupffer hücreleri ve böbrek makrofaj hücreleri tarafından tutulmaları nedeniyle hedef dokuya ulaşılabilirlikleri ve başta tümör hücreleri olmak üzere diğer hücreler tarafından tutulmaları

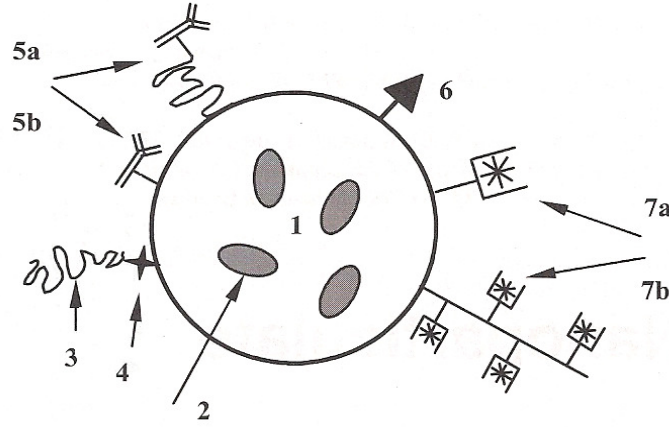
azalmaktadır. Bu problemin çözümü üzerinde gerçekleşen araştırmalar, nanopartiküllerin yüzey özelliklerini modifiye etme yöntemleri üzerinde yoğunlaşmıştır (23). Bu şekilde gerçekleştirilen yüzey modifikasyonları ile polimerik nanopartiküler ilaç taşıyıcı sistemlerin;

- Kan dolaşımındaki stabilitelerinin artırılması,
- Kan dolaşımında kalış sürelerinin uzatılması,
- Biyodağılım profillerinin değiştirilmesi,
- Hedeflendirme yeteneklerinin kazandırılması ve/veya artırılması,
- pH ve/veya ısı gibi uyarıcıya duyarlılıklarının uyarılmasını, temin edilmektedir (24).

Tablo 1’de polimerik nanopartiküler taşıyıcı sistemlerin yüzey modifikasyonunda en sık kullanılan modifiye edici ajanların genel bir sınıflandırması, Şekil 2’de ise çeşitli modifiye ajanların nanopartiküler ilaç taşıyıcı bir sistemin yüzeyine tutulma şekillerinin şematize ifadesi yer almaktadır.

Tablo 1. Polimerik nanopartiküler taşıyıcı sistemlerin yüzey modifikasyonunda en sık kullanılan modifiye edici ajanların sınıflandırılması (24).

Modifiye edici ajan sınıfı	Modifikasyonun amacı / nedeni
Çözünür sentetik polimerler	Taşıyıcının kan dolaşımında kalış süresini artırmak
Antikorlar, peptitler, folat, transferin, şeker kısımları gibi spesifik ligandlar	Hedeflendirme yeteneğinin artırılması
pH veya ısı gibi uyarıcıya duyarlı kopolimerler	Uyarıcıya duyarlılığının sağlanması
EDTA, DTPA veya deferoxamin gibi şelat yapıcı bileşikler	Etkin madde taşıyıcı sisteme tanı / kontrast kısım eklenmesi



Şekil 2. Çeşitli modifiye ajanların nanopartiküler ilaç taşıyıcı bir sistemin yüzeyine tutulma şekillerinin şematize ifadesi. (1) suda çözünmeyen özellikte etkin madde taşıyan polimerik nanopartiküler matris yapı içerisindeki boş alanlar. (2) Polimerik nanopartiküler matris içinde yer alan etkin madde molekülleri. (3) Nanopartiküler taşıyıcının yüzeyine bağlanarak kan dolaşımında daha uzun süre kalmasını sağlayan PEG gibi sterik yapılı koruyucu polimer kaplama. (4) Degrade olmayan veya uyarıcıya duyarlı (örneğin, düşük pH-degradable) kimyasal bağ. (5) Hedefleme kısmı (genellikle monoklonal antikanser antikoru) (5a) Nanopartikülün yüzeyine direkt bağlanan hedefleme parçası veya (5b) polimerik araparça ile bağlanan hedefleme bölümü. (6) İntrasellüler dağılımı sağlayan parça (örneğin, hücreye penetre olabilen protein). (7) Tanı görüntüleme amacıyla veya etkin madde taşıyıcı sistemin tümör tarafından tutulumunu ve intratümöral ve/veya intrasellüler birikimini tayin amacıyla kullanılan görüntüleme parçası (nanopartikül yüzeyine yüklenmiş gamma ve MR görüntüleme için ağır metal izotopları-monomerik bağlı, 7a, veya polimerik, 7b, şelat) (24).

Yüzey Modifikasyon Teknikleri

Bu alanda yapılan çalışmalar en genel şekliyle; Konjugasyon Metodu, İnternal Kaplama Metodu (İn-Situ Teknik), Dış Kaplama Metodu (Yüzey Adsorpsiyon Tekniği) olmak üzere üç ana grupta toplanmaktadır.

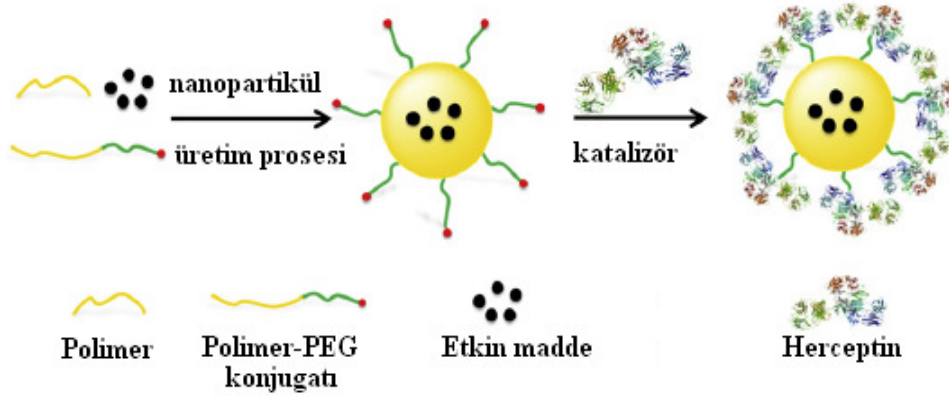
1. Konjugasyon Metodu

Bu teknikte, küçük moleküller, peptidler, antikorlar, proteinler ve polimerler gibi hedeflendirmeyi temin eden çeşitli ligandların nanopartikül yüzeyine kimyasal veya fiziksel konjugasyonları gerçekleştirilerek nanopartikülün, membranında ilgili reseptörleri taşıyan havis hücrelere ulaşması, penetre olması ve enkapsüle haldeki terapötik ajani hedef hücreye kontrollü ve uzatılmış şekilde salması sağlanmaktadır. Polimerik nanopartiküllerin istenen dokuya hedeflendirilmelerinde amaca yönelik en çok kullanılan yaklaşım moleküler probalar veya ligandların nanopartikül yüzeyine konjugasyonu ile gerçekleştirilen aktif hedeflendirmedir. Ligand konjugasyonu kendiliğinden gerçekleşen bir prosedir ve en genel şekliyle nanopartikülün yüzeyi

üzerine ligantın hidrofobik gruplarının hidrofobik adsorpsiyon ile kovalent olmayan şekilde bağlanmasıyla gerçekleşmektedir. Böylece, amfifilik polimerler veya hidrofobik olarak modifiye proteinler polimerik nanopartiküllerin hidrofobik yüzeyine adsorbe olabilmektedirler (24- 26). Bağlanma işlemi, taşıyıcı nanopartikül yüzeyindeki reaktif grupların kimyasal reaksiyonu yoluyla kimyasal olarak da meydana gelebilmektedir. Bu işlemde konjugasyon metodolojisi üç temel reaksiyon üzerinden etkin ve seçici bir şekilde gerçekleşmektedir.

- Aktive edilmiş karboksil grupları ve amino grupları arasındaki reaksiyon sonucu amid bağı oluşumu ile,
- Pridildioller ve tioller arasındaki reaksiyon sonucu disülfid bağı oluşumu ile,
- Maleimid türevleri ve tioller arasındaki reaksiyon sonucu tioeter bağı oluşumu şeklinde.

Bunların dışında konjugasyon tekniğinde karbamat bağı oluşumu gibi başka yaklaşımlarda mevcuttur. Karbamat bağı polimerik nanopartiküllerin yüzeyindeki karbonil grupları ile çeşitli ligandların amino grupları arasındaki reaksiyon sonucunda gerçekleşmektedir (24). Şekil 3’de konjugasyon metodunun genel şematik gösterimi yer almaktadır.



Şekil 3. Konjugasyon metodunun genel şematik gösterimi (25).

Konjugasyon prosesinde rol oynayan en etkin parametre ise nanopartikül yüzeyindeki hedeflendirilmiş ligandın yüzeydeki yoğunluğudur. Konjuge haldeki ligandın yüzey yoğunluğu, nanopartikülün yüzey kimyası üzerinde etkin olan bir etken olup polimerik nanopartiküllerin

biomedikal uygulamalarındaki güvenilir kullanımını özellikle doku penetrasyonunu ve hücrel tutulumunu etkileyen en önemli özelliklerinden birini oluşturmaktadır. Bu anlamda liganın bağlayıcı moleküle nanopartikül üretim prosesinden önce ya da sonra konjuge olmasına göre konjugasyon işlemi “pre-konjugasyon” ve “post-konjugasyon” olmak üzere iki temel strateji üzerinden yürümektedir. Pre-konjugasyon stratejisinde nanopartikül matriks yapısına ilk önce kopolimer (örneğin PLGA-PEG) konjuge olmakta, daha sonra nanopartikül formülasyonları hazırlanmaktadır. Bu stratejinin başlıca dezavantajı, liganın sadece bir kısmının nanopartikül yüzeyinde bulunabilmesi, büyük bölümünün polimerik matriks yapısı içerisinde yer almasıdır. Bu şekilde gerçekleşen konjugasyon işleminde ligan nanopartikül yüzeyinde uniform şekilde dağılmamakta, oluşan nanopartiküller arasında da liganın düzensiz dağılımı söz konusu olmaktadır. Post-konjugasyon yaklaşımında ise ilk etapta PLA-TPGS veya TPGS-COOH gibi kopolimer karışımı kullanılarak nanopartikül formülasyonları oluşturulmakta, oluşan nanopartiküllere daha sonra herceptin ya da folik asit gibi liganlar fonksiyonel olarak bağlanmaktadır. Bu şekilde pre-konjugasyon stratejisinde ortaya çıkan dezavantajlar ortadan kaldırılmıştır. Bu yaklaşım ile liganın çok daha etkin bir şekilde nanopartikül yüzeyine yerleşmesi temin edilirken liganın bioaktivitesi korunmakta ve çok daha etkili bir hedefleme etkisi elde edilmektedir (25, 27).

2. İnternal Kaplama Metodu (İn-Situ Teknik)

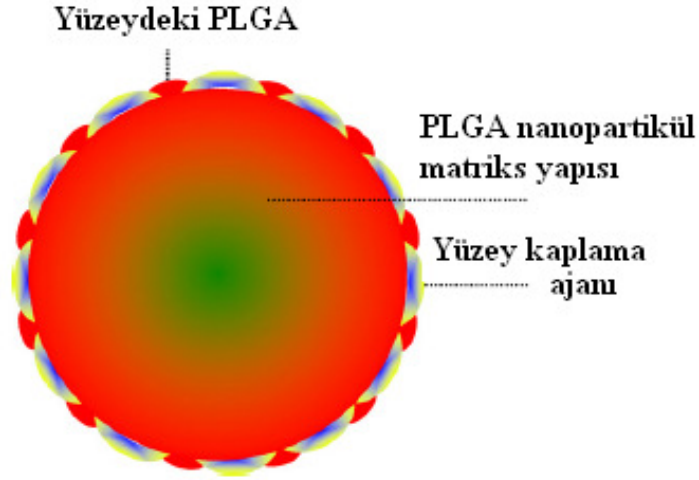
Bu tekniğin esası, yüzey modifiye ajanların nanopartikül matriks yapısı içerisine nanopartikül üretim prosesi esnasında ilave edilmesine dayanmaktadır. “İn-situ kaplama tekniği” olarak da adlandırılan bu yüzey modifikasyon metodu, yüzey modifiye ajanların nanopartikül formülasyonuna üretim prosesinin farklı aşamalarında eklenmesine göre çeşitlilik göstermektedir. Bu kaplama tekniğinde yüzey modifiye ajanlar,

a- Polimerik materyalin ve etkin maddenin içinde çözüldüğü organik çözücü veya çözücü karışımlarına (28, 29),

b- Üretim prosesinde emülgatör maddenin yer aldığı su fazına (23, 30-36),

c- Nanopartikül formülasyonlarından artık emülgatör maddenin uzaklaştırılması için gerçekleştirilen yıkama aşamasında yıkama çözeltisine (37),

eklenebilmekte ve bu şekilde polimerik nanopartikül formülasyonlarının yüzey modifikasyonu gerçekleştirilmektedir. Şekil 4’de internal kaplama metodunun genel şematik gösterimi yer almaktadır.



Şekil 4. İnternal kaplama metodunun genel şematik gösterimi (38).

Bu alanda gerçekleştirilen çeşitli araştırmalarda internal kaplama metodu ile kullanılan başlıca yüzey modifikasyon ajanları ve bunlarla yapılan bazı çalışmalar ise Tablo 2'de verilmektedir.

Tablo 2. İnternal kaplama metodunda kullanılan yüzey modifikasyon ajanları.

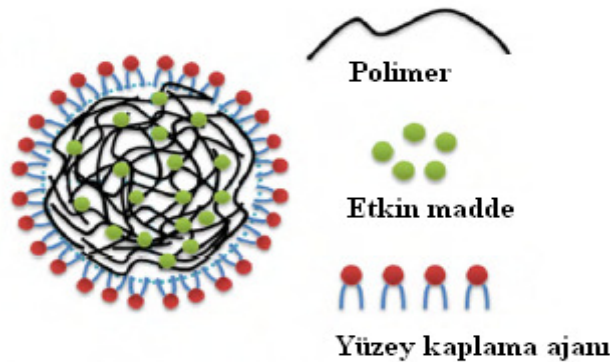
Yüzey modifikasyon ajanları	Literatürler
Pozitif yüklü bir lipit olan L- α -fosfotidiletanolamin	28
Biyoadeziv bir polimer olan izopropilsiyanoakrilat	28
Hidrofilik bir polimer olan polietilen glikol (PEG) 20000	23
Hidrofilik bir polimer olan polietilen glikol (PEG) 2000	29
Hidrofilik bir polimer olan polietilen glikol (PEG) 35000	29
Poloksamer 407 (Molekül ağırlığı: 125000)	29
Poloksamer 188	31
Noniyonik bir yüzey etkin madde olan polisorbitat 80	31
Biyoadeziv ve pozitif yüklü bir polimer olan kitosan klorür	30
Biyoadeziv ve pozitif yüklü bir polimer olan kitosan klorür	37
Kitosan	35
Kitosan	36
Biyoadeziv ve pozitif yüklü bir polimer olan kitosan klorür	34
Biyoadeziv ve pozitif yüklü bir polimer olan poly-l-lisin	34

3. Dış Kaplama Metodu (Yüzey Adsorpsiyon Tekniği)

Bu metot, iki ana prosedür üzerinden yürümektedir. Şekil 5’de dış kaplama metodunun genel şematik gösterimi bulunmaktadır. Yüzey modifiye ajanlar,

a- Liyofilize haldeki nanopartiküllerin tekrardan süspande edilerek yüzey modifiye ajan çözeltisi içinde sonike edilerek kaplanması ve yeniden liyofilize edilmesi esasına dayanmaktadır. Bu amaçla çoğunlukla katyonik yapıdaki yüzey etkin maddeler kullanılmaktadır (28, 39). Anyonik karakterdeki modifiye edilmemiş polimerik nanopartiküllerin katyonik yapıdaki yüzey modifiye ajanlar ile süspande edilmesi sonucunda nanopartikül yüzeyinde iyonik bağlanma reaksiyonu gerçekleşmektedir. Her ne kadar yapılan çalışmalar bu çerçevede yer alsada son yıllarda gerçekleştirilen özellikle beyine hedeflemeye yönelik araştırmalarda bu teknik kullanılarak polisorbitat 80 ve poloksamer 188 gibi anyonik karakterdeki maddelerle de kaplama yapıldığı belirlenmiştir (40). Bu yöntemde kullanılan başlıca yüzey modifiye ajanlar olarak; katyonik bir deterjan olan didodesildimetilamonyum bromür, reseptör spesifik bir protein olan ferritin, katyonik bir polisakkarit olan dekstran, pozitif yüklü bir lipit olan lipofektin, proteinik yapılı bir madde olan fibronektin, pıhtılaşma faktörü olan fibrinojen, noniyonik bir yüzey etkin madde olan polisorbitat 80, anyonik yapılı bir polimer olan poloksamer 188 sayılabilmektedir (28, 39, 40).

b- Bu uygulama şeklinde santrifüjlenerek toplanmış olan nanopartikül formülasyonları yüzey modifiye ajan çözeltisi içerisinde süspande edilerek liyofilizasyona tabi tutulur. Liyofilizasyon işleminden önce gerçekleştirilen bu kaplama prosesinde yüzey modifikasyon ajanı olarak; pozitif yüklü polisakkaritler olan kitosan ve aljinat, katyonik yapılı bir lipit olan polietilenimin, pozitif yüklü surfaktanlar olan didodesildimetil amonyum bromür ve setil trimetil amonyum bromür, suda çözünmeyen yapıdaki bir mısır proteini olan zein’in yanısıra, PEG ve Poloksamer 407 gibi anyonik karakterdeki maddeler de kullanılmaktadır (29, 41-45).



Şekil 5. Dış kaplama metodunun genel şematik gösterimi (46).

Yüzey Modifikasyon Tayin Yöntemleri

Polimerik nanopartiküller üzerinde çeşitli yöntemler kullanılarak gerçekleştirilen yüzey modifikasyon işlemlerinin ne düzeyde başarılı olduğunu belirleyebilmek amacıyla elde edilen modifiye edilmiş nanopartikül formülasyonları üzerinde çeşitli analizler gerçekleştirilmektedir. En genel şekliyle bu analizler aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir.

1. Yükleme Etkinliği
2. Partikül Büyüklüğü ve Büyüklük Dağılımı Analizi
3. Zeta Potansiyel Analizi
4. Görüntüleme Teknikleri
 - AFM (atomic force microscopy)
 - SEM (scanning electron microscopy)
 - TEM (transmission electron microscopy)
 - SPM (scanning probe microscopy)
 - Floresans mikroskobu
5. FTIR Analizi
6. NMR Analizi
7. DSC Analizi
8. İn-Vitro Etkin Madde Salımı
9. Hücre Kültürü ve Hücrel Tutulum Analizleri
10. İn-Vivo Çalışmalar

Bu analizlerden zeta potansiyel ve partikül büyüklüğü analizleri gerçekleştirilen kaplama prosesinin başarısını en kolay şekilde belirleyen analizlerdir. Uygulanan kaplama metoduna ve seçilen yüzey modifikasyon ajanına göre modifiye edilmemiş ve modifikasyona uğramış nanopartiküllerin partikül büyüklükleri ve zeta potansiyel değerleri çeşitlilik göstermektedir. Gerçekleştirilen kaplama prosesinin başarısını kanıtlayabilmek amacıyla FTIR, NMR, DSC gibi polimerik nanopartiküler ilaç taşıyıcı sistemlerin yüzey kimyasını ve etkileşimlerini irdeleyen analizlerden yararlanılmakta iken, geliştirilen modifiye edilmiş nanopartiküllerin özellikle kanser tedavisindeki etkinlikleri ise hücre kültürleri, hücrel tutulum analizleri ve *in-vivo* çalışmalar ile incelenmektedir.

Chong ve ark., (27) tarafından 2010 yılında gerçekleştirilen bir çalışmada PLGA nanopartiküllerinin heparin-PEG ve kitosan-PEG konjugatları hazırlanarak PLGA nanopartiküllerinin düşük düzeydeki tümör-hedefleme etkinliğinin artırılması amaçlanmıştır. Hazırlanan nanopartiküllerden kaplanmamış PLGA nanopartiküllerinin partikül büyüklükleri 107 nm, zeta potansiyel değerleri ise - 20 mV olarak belirlenirken, heparin-PEG konjuge PLGA

nanopartiküllerin 144 nm ortalama partikül büyüklüğüne ve - 50 mV yüzey yüküne; kitosan-PEG konjuge PLGA nanopartiküllerin ise 134 nm ortalama partikül büyüklüğüne ve + 38 mV zeta potansiyel değerine sahip oldukları, gerçekleştirilen konjugasyon prosesinin nanopartiküllerin partikül boyutlarında ve zeta potansiyel değerlerinde artışa yol açtığı saptanmıştır. Konjugasyon prosesinin gerçekliğini teyit edebilmek amacıyla gerçekleştirilen ¹H-NMR analizi sonucunda PEG'e ait metil protonları ile poli(etilen oksit)'e ait metilen grupları; heparine ve kitosana ait anomerik protonlar NMR spektrumlarında gözlenmiştir. Normal fibroblastlar ve SCC7 tipi tümör hücreleri üzerinde gerçekleştirilen tutulum çalışmaları sonucunda kaplanmamış PLGA nanopartikülleri her iki hücre tipi tarafından da tutulmamış, buna karşılık heparin ve kitosan konjuge PLGA nanopartikülleri her iki hücrenin sitoplazmasında görüntülenmiştir. SCC7 hücre tipi tümör oluşturulmuş fareler üzerinde gerçekleştirilen *in-vivo* tümör birikimi ve biyodağılım çalışmaları sonucunda, kitosan-PEG konjuge PLGA nanopartiküllerin tümör dokusunda birikimi konjuge edilmemiş PLGA nanopartiküllere oranla 2.4 kat daha fazla bulunurken, karaciğerdeki birikim ise bu formülasyon grubunda daha az düzeyde gerçekleşmiştir. Heparin-PEG konjuge PLGA nanopartiküller ise tümöral dokuda konjuge edilmemiş PLGA nanopartiküllere göre 2.2 kat daha fazla tutulurken, karaciğerde ise aynı düzeyde birikim göstermişlerdir.

Esmaceli ve ark., (29) tarafından 2008 yılında gerçekleştirilen bir çalışmada ise rodamin B izosiyanat yüklü PLGA nanopartiküllerinin hazırlanması aşamasında PEG ve Poloksamer 407 yüzey modifikasyon ajanları kullanılarak hem dış kaplama hem de internal kaplama prosesleri gerçekleştirilmiştir ve elde edilen modifiye nanopartiküllerin vücuttaki biyodağılım özellikleri sıçanlar üzerinde incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar internal kaplama ile hazırlanan modifiye nanopartiküllerin dış kaplama yöntemiyle kaplanan nanopartiküllere oranla kan dolaşımındaki yarı-ömürlerinin artmış olduğunu göstermiştir.

Nafee ve ark., (30) tarafından gerçekleştirilen çalışmada DNA/RNA taşıyıcı bir sistem olarak tasarlanan PLGA nanopartikülleri emülsiyon-difüzyon-çözücü buharlaştırma tekniği ile hazırlandıktan sonra internal kaplama tekniği kullanılarak kitosan ile kaplanmışlar ve elde edilen nanopartikül formülasyonları üzerinde gerçekleştirilen analizler sonucunda kaplama prosesine bağlı olarak partikül büyüklüğünün 271.1 nm'den 278.95 nm'ye yükseldiği, nanopartiküllerin zeta potansiyel değerlerinin ise - 10 mV'dan + 17.1 mV değere ulaştığı belirlenmiştir. Partikül büyüklüğü dağılımını ifade eden polidispersite indeksi (PDI) değeri her iki partikül formülasyon grubunda da 0.04-0.06 aralığında yer alırken, dağılımın monodispers bir şekilde olduğu, uygulanan kaplama işleminin partikül büyüklüğü dağılımı üzerinde herhangi bir olumsuz etkiye yol açmadığı saptanmıştır. Kitosan kaplı ve kaplanmamış PLGA nanopartikülleri üzerinde taramalı prob

mikroskobu (SPM) ile gerçekleştirilen morfolojik analizler sonucunda bütün nanopartiküllerin küresel şekilli ve düzgün yüzey özelliklerine sahip oldukları belirlenmiş, A549 tipi insan akciğer kanseri hücre dizisi üzerinde gerçekleştirilen hücresel tutulum çalışmaları sonucunda da uygulanan kitosan kaplamanın nanopartiküllerin kanser hücreleri tarafından tutulumunu artırdığı saptanmıştır.

Gelperina ve ark., (40) tarafından 2010 yılında yapılan bir çalışmada beyne hedeflendirilmek üzere hazırlanan doksorubisin yüklü PLGA nanopartikülleri dış kaplama tekniği kullanılarak poloksamer 188 ve polisorbitat 80 ile kaplanmış ve bu şekilde intravenöz enjeksiyonu takiben beyne yönelik hedefleme etkinliğinin artırılması amaçlanmıştır. Hazırlanan PLGA nanopartikül formülasyonlarında her iki ajan ile gerçekleştirilen kaplama prosesinin nanopartiküllerin partikül büyüklükleri ve zeta potansiyel değerleri üzerinde anlamlı bir değişikliğe yol açmadığı belirlenirken ortotopik 101/8 glioblastoma malin beyin tümörlü ratlar üzerinde gerçekleştirilen *in-vivo* deneyler sonucunda poloksamer 188 ile kaplanan nanopartiküllerin en yüksek antitümöral aktiviteyi gösterdiği, polisorbitat 80 kaplı nanopartiküllerin ise modifiye edilmemiş nanopartiküller ile benzer antitümöral etkinliğe sahip olduğu belirlenmiştir.

Fay ve ark., (44) tarafından gerçekleştirilen bir araştırmada ise plasmid DNA'nın intrasellüler alana taşınmasına yönelik geliştirilen PLGA nanopartiküller, dış kaplama metodu kullanılarak pozitif yüklü surfaktanlar olan setiltrimetil amonyum bromür (CTAB) ve didodesildimetil amonyum bromür (DMAB) ile kaplanmış ve bu şekilde nanopartiküllerin degradasyonuna neden olan endosomal lümeninden kaçışı temin edilerek sitozolik lokalizasyonun sağlanması amaçlanmıştır. Hazırlanan PLGA nanopartikülleri üzerinde gerçekleştirilen çeşitli analizler sonucunda kaplanmamış PLGA nanopartiküllerin zeta potansiyel değerleri - 5 ile - 20 mV arasında bulunurken, DMAB ile kaplanmış olan nanopartiküllerin yüzey yükleri + 10 ile + 30 mV aralığında, CTAB ile modifiye edilmiş nanopartiküllerin yüzey yükleri ise -15 ile + 10 mV aralığında saptanmıştır. Bu anlamda CTAB'nin DMAB kadar etkin bir yüzey kaplama ajanı olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Partikül büyüklükleri açısından yüzey modifikasyon tekniğinin ve ajanların etkinliği değerlendirildiğinde ise genel olarak ortalama partikül çapının 236 nm'den 264 nm'ye yükseldiği belirlenmiştir. HeLa ve RAW 264.5 hücreleri üzerinde gerçekleştirilen hücre canlılığı çalışmalarında ise DMAB ile kaplı nanopartiküllerin kaplanmamış ve CTAB ile kaplanmış PLGA nanopartiküllerine oranla çok daha az düzeyde sitotoksositeye sahip oldukları saptanmıştır. Floresans mikroskobu ve TEM ile gerçekleştirilen nanopartikül görüntüleme analizlerinde ise DMAB ile kaplı olan nanopartiküllerin hücrelerin endosomal lümeninden kaçabildiği ve sitosol içerisinde lokalize oldukları görülmüştür. Gerçekleştirilen bu çalışma ile hazırlanan yüzey modifikasyonlu PLGA nanopartiküllerin hedef hücrelere yönelik başarılı birer gen taşıyıcı sistem olabilecekleri sonucuna ulaşılmıştır.

SONUÇ

Polimerik nanopartiküler ilaç taşıyıcı sistemlerin yüzey özelliklerinin çeşitli ajanlar kullanılarak modifikasyonu son yıllarda büyük bir önem kazanmıştır. Özellikle hedeflendirme potansiyellerinin ve hücresele tutulum yeteneklerinin artması, yüzey yapısının sterik engelle maskelenerek RES makrofajlarından korunmasının sağlanması, kan dolaşımında kalış sürelerinin uzatılması gibi sağladığı pek çok avantaj dolayısıyla çeşitli yüzey modifikasyon ajanları ile modifiye edilmiş polimerik nanopartiküllerin kanser tedavisi başta olmak üzere çeşitli terapötik alanlarda aldığı rol giderek artmakta ve büyük önem arz etmektedir. Polimerik nanopartiküler ilaç taşıyıcı sistemler üzerinde gerçekleştirilen yüzey modifikasyonu prosesi farklı açılardan taşıdığı avantajlarla ve getirdiği yeniliklerle farmasötik teknoloji alanına yeni bir bakış açısı sağlamakta ve yeni araştırma alanlarının ortaya çıkmasına neden olmaktadır.

KAYNAKLAR

1. **Kaş, H.S.** “İlaç Taşıyıcı Partiküler Sistemler” in *Kontrollü Salım Sistemleri*, Gürsoy, A.Z. (Ed.), Elma Bilgisayar Basım ve Amb. San. Tic. Ltd. Şti., İstanbul, 82 (2002).
2. **Şengel-Türk, C.T., Hasçıçek C., Gönül N.** “Beyne İlaç Hedeflendirilmesinde Nanopartiküler İlaç Taşıyıcı Sistemler” *J. Neurol. Sci. [Turk]*, **24**, 254-263 (2007).
3. **Otto, D.P., Villiers, M.M.** “Physicochemical Principles of Nanosized Drug Delivery Systems” in *Nanotechnology in Drug Delivery*, Villiers, M.M., Aramwit, P., Kwon, G.S. (Eds.), Springer, New York, 3 (2009).
4. **Thassu, D., Pathak, Y., Deleers, M.** “Nanoparticulate Drug Delivery Systems: An Overview” in *Nanoparticulate Drug Delivery Systems*, Thassu, D., Pathak, Y., Deleers, M. (Eds), Informa Healthcare, New York, 1 (2007).
5. **Brannon-Peppas, L., Blanchette, J.O.** “Nanoparticle and Targeted Systems for Cancer Therapy” *Adv. Drug Del. Rev.*, **56**, 1649-1659 (2004).
6. **Brigger, I., Dubernet, C., Couvreur, P.** “Nanoparticle in Cancer Therapy and Diagnosis” *Adv. Drug Del. Rev.*, **54**, 631-651 (2002).
7. **Mahmoudi, M., Sant, S., Wang, B., Laurent, S., Sen, T.** “Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs): development, surface modification and applications in chemotherapy” *Adv. Drug Del. Rev.*, **63**, 24-46 (2011).
8. **Allèmann, E., Gurny, R., Leroux, J.C.** “Biodegradable Nanoparticles of Poly(lactic acid) and Poly(lactic-co-glycolic acid) for Parenteral Administration” in

- Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems Volume 3, Lieberman, H.A., Rieger, M.M., Banker, G.S. (Eds), Marcel Dekker Inc., New York, 163-193 (1998).
9. **Couvreur, P., Couarraze, G., Devissaguet, J.P., Puisieux, F.** "Nanoparticles: Preparation and Characterization" in *Microencapsulation Methods and Industrial Applications*, Benita, S. (Ed), Marcel Dekker Inc, New York, 184-211 (1996).
 10. **Kreuter, J.** "Nanoparticulate systems for brain delivery of drugs" *Adv. Drug Del. Rev.*, **47**, 65-81 (2001).
 11. **Kreuter, J.** "Application of nanoparticles for the delivery of drugs to the brain" *Int. Cong. Ser.*, **1277**, 85-94 (2005).
 12. **Garcia-Garcia, E., Andrieux, K., Gil, S., Couvreur, P.** "Colloidal carriers and blood-brain barrier (BBB) translocation: a way to deliver drugs to the brain?" *Int. J. Pharm.*, **298**, 274-292 (2005).
 13. **Liu, G., Garrett, M., Men, P., Zhu, X., Perry, G., Smith, M.A.** "Nanoparticle and other metal chelation therapeutics in Alzheimer disease" *Bioch. et Bioph. Acta*, **1741**, 246-252 (2005).
 14. **Roney, C., Kulkarni, P., Arora, V., Antich, P., Bonte, F., Wu, A., Mallikarjuana, N.N., Manohar, S., Liang, H., Kulkarni, A.R., Suang, H., Sairam, M., Aminabhavi, T.** "Targeted nanoparticles for drug delivery through the blood-brain barrier for Alzheimer's disease" *J. Cont. Rel.*, **108**, 193-214 (2005).
 15. **Rao, J.P., Geckeler, K.E.** "Polymer nanaoparticles: preparation techniques and size-control parameters" *Prog. Polym. Sci.*, **36**, 887-913 (2010).
 16. **Dubernet, C., Fattal, E., Couvreur, P.** "Nanoparticulate Controlled Release Systems for Cancer Therapy" in *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology*, Wise, D.L. (Ed), Marcel Dekker, Inc., New York, 287-300 (2000).
 17. **Koziara, J.M., Whisman, T.R., Tseng, M.T., Mumper, R.J.** "In-vivo efficacy of novel paclitaxel nanaoparticles in paclitaxel-resistant human colorectal tumors" *J. Cont. Rel.*, **112**, 312-319 (2006).
 18. **Leroux, J.C., Doelker, E., Guny, R.** "The Use of Drug-Loaded Nanoparticles in Cancer Chemotherapy" in *Microencapsulation Methods and Industrial Applications*, Benita, S. (Ed), Marcel Dekker Inc, New York, 535-575 (1996).

19. **Win, K.Y., Feng, S.S.** “Effects of particle size and surface coating on cellular uptake of polymeric nanoparticles for oral delivery of anticancer drugs” *Biomaterials*, **26**, 2713-2722 (2005)
20. **Zhang, Z., Feng, S. S.** “The drug encapsulation efficiency, in vitro drug release, cellular uptake and cytotoxicity of paclitaxel-loaded poly(lactide)-tocopheryl polyethylene glycol succinate nanoparticles” *Biomaterials*, **27**, 4025-4033 (2006a).
21. **Kumari, A., Yadav, S.K., Yadav, S.C.** “Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems” *Col. Sur. Bioint.*, **75**, 1-18 (2010).
22. **Acharya, S., Sahoo, S.K.** “PLGA nanoparticles containing various anticancer agents and tumour delivery by EPR effect” *Adv. Drug Del. Rev.*, **63**, 170-183 (2011).
23. **Allèmann, E., Brasseur, N., Benrezzak, O., Rousseau, J., Kudrevich, S.V., Boyle, R.W., Leroux, J.C., Gurny, R., Van Lier, J.E.** “PEG-coated poly(lactic acid) nanoparticles for the delivery of hexadecafluoro zinc phthalocyanine to EMT-6 mouse mammary tumours” *J. Pharm. Pharmacol.*, **47**, 382-387 (1995).
24. **Torchilin V.P.** “Surface Modification Of Nanoparticulate Drug Carriers” in *Nanoparticles for Pharmaceutical Applications*, Domb, A.J., Tabata, Y., Ravi Kumar, M.N.V., Farber, S. (Eds), American Scientific Publishers, California, 349-366 (2007).
25. **Liu, Y., Li, K., Liu, B., Feng, S.S.** “A strategy for precision engineering of nanoparticles of biodegradable copolymers for quantitative control of targeted drug delivery” *Biomaterials*, **31**, 9145-9155 (2010).
26. **Blum, J.S., Saltzman, W.M.** “High loading efficiency and tunable release of plasmid DNA encapsulated in submicron particles fabricated from PLGA conjugated with poly-L-lysine” *J. Cont. Rel.*, **129**, 66-72 (2008).
27. **Chung, Y., Kim, J.C., Kim, Y.H., Tae, G., Lee, S.Y., Kim, K., Kwon, I.C.** “The effect of surface functionalization of PLGA nanoparticles by heparin- or chitosan-conjugated Pluronic on tumor targeting” *J. Cont. Rel.*, **143**, 374-382 (2010).
28. **Labhasetwar, V., Song, C., Humphrey, W., Shebuski, R., Levy, R.J.** “Arterial uptake of biodegradable nanoparticles: effect of surface modifications” *J. Pharm. Sci.*, **87**, 1229-1234 (1998).
29. **Esmacili F., Ghahremani, M.H., Esmacili, B., Khoshayand, M.R., Atyabi, F., Dinarvand, R.** “PLGA nanoparticles of different surface properties: Preparation and evaluation of their body distribution” *Int. J. Pharm.*, **349**, 249-255 (2008).

30. Nafee, N., Tactz, S., Schneider, M., Schaefer, U.F., Lehr, C.M. "Chitosan-coated PLGA nanoparticles for DNA/RNA delivery: effect of the formulation parameters on complexation and transfection of antisense oligonucleotides" *Nanomedicine: Nanotech., Biol. and Medicine*, **3**, 173-183 (2007).
31. Tahara, K., Miyazaki, Y., Kawashima, Y., Kreuter, J., Yamamoto, H. "Brain targeting with surface-modified poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) nanoparticles delivered via carotid artery administration" *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **77**, 84-88 (2011).
32. Semete, B., Booyesen, L.I.J., Kalombo, L., Venter, J.D., Katata, L., Ramalapa, B. "In vivo uptake and acute immune response to orally administered chitosan and PEG coated PLGA nanoparticles" *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **249**, 158-165 (2010).
33. Bilensoy, E., Sarisozen, C., Esendağlı, G., Doğan, A.L., Aktaş, Y., Şen M., Mungan, N.A. "Intravesical cationic nanoparticles of chitosan and polycaprolactone for the delivery of Mitomycin C to bladder tumours" *Int. J. Pharm.*, **371**, 170-176 (2009).
34. Wang, J., Feng, S.S., Wang, S., Chen, Z.Y. "Evaluation of cationic biodegradable copolymers as siRNA delivery system for hepatitis B treatment" *Int. J. Pharm.*, **400**, 194-200 (2010).
35. Kawashima, Y., Yamamoto, H., Takeuchi, H., Kuno, Y. "Mucoadhesive DL-lactide/glycolide copolymer nanospheres coated with chitosan to improve oral delivery of elcatonin" *Pharm. Dev. Technol.*, **5**, 77-85 (2000).
36. Zhao, H., Wu, B., Wu, H., Su, L., Pang, J., Yang, T., Liu, Y. "Protective immunity in rats by intranasal immunization with Streptococcus mutans glucan-binding protein D encapsulated into chitosan-coated poly(lactic-co-glycolic acid) microspheres" *Biotechnol. Lett.*, **28**, 1299-1304 (2006).
37. Gaumet, M., Gurny, R., Delie, F. "Interaction of biodegradable nanoparticles with intestinal cells: the effect of surface hydrophilicity" *Int. J. Pharm.*, **390**, 45-52 (2010).
38. Kuo, Y.C., Yu, H.W. "Surface coverage of didecyl dimethylammonium bromide on poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) nanoparticles" *Colloids Surf. Bioint.*, **84**, 253-258 (2011).
39. Song, C., Labhasetwar, V., Cui, X., Underwood, T., Levy, R.J. "Arterial uptake of biodegradable nanoparticles for intravascular local drug delivery: results with an acute dog model" *J. Cont. Rel.*, **54**, 201-211 (1998).
40. Gelperina, S., Maksimenko, O., Khalansky, A., Vanchugova, L., Shipulo, E., Abbasova, K., Berdiev, R., Wohlfart, S., Chepurnova, N., Kreuter, J. "Drug delivery to the brain

- using surfactant-coated poly(lactide-co-glycolide) nanoparticles: influence of the formulation parameters” *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **74**, 157-163 (2010).
41. **Chakravarthi, S.S., Robinson, D.H.** “Enhanced cellular association of paclitaxel delivered in chitosan-PLGA particles” *Int. J. Pharm.*, **409**, 111-120 (2011).
 42. **Zhou, J., Romero, G., Rojas, E., Ma, L., Moya, S., Gao, C.** “Layer by layer chitosan/alginate coatings on poly(lactide-co-glycolide) nanoparticles for antifouling protection and folic acid binding to achieve selective cell targeting” *J. Col. Inter. Sci.*, **345**, 241-247 (2010).
 43. **Kim, J.H., Park, J.S., Yang, H.N., Woo, D.G., Jeon, S.Y., Do, H.J., Lim, H.Y., Kim, J.M., Park, K.H.** “The use of biodegradable PLGA nanoparticles to mediate SOX9 gene delivery in human mesenchymal stem cells (hMSCs) and induce chondrogenesis” *Biomaterials*, **32**, 268-278 (2011).
 44. **Fay, F., Quinn, D.J., Gilmore, B.F., McCarron, P.A., Scott, C.J.** “Gene delivery using dimethyldidodecylammonium bromide-coated PLGA nanoparticles” *Biomaterials*, **31**, 4214-4222 (2010).
 45. **Luo, Y., Zhang, B., Cheng, W.H., Wang, Q.** “Preparation, characterization and evaluation of selenite-loaded chitosan/TPPP nanoparticles with or without zein coating” *Carb. Pol.*, **82**, 942-951 (2010).
 46. **Liu, Y., Pan, J., Feng, S.S.** “Nanoparticles of lipid monolayer shell and biodegradable polymer core for controlled release of paclitaxel: effects of surfactants on particle size, characteristics and in-vitro performance” *Int. J. Pharm.*, **395**, 243-250 (2010).

Received: 06.07.2011

Accepted: 08.09.2011