

KATI LİPİD NANOPARTİKÜLLERİN (SLN™) ÖZELLİKLERİ, FARMASÖTİK VE KOZMETİK ALANDAKİ UYGULAMALARI

CHARACTERIZATION OF SOLID LIPID NANOPARTICLES (SLN™) AND THEIR PHARMACEUTICAL AND COSMETIC APPLICATIONS

Ulya NUMANOĞLU, Nilüfer TARIMCI

Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı,

06100 Tandoğan- Ankara, TÜRKİYE

ÖZET

1991 yılında geleneksel koloidal taşıyıcı sistemlere alternatif bir taşıyıcı sistem olarak ortaya çıkan katı lipid nanopartiküller (SLN), son yıllarda giderek artan bir ilgi görmektedir. Bu derlemede, SLN'lerin, avantaj-dezavantajları ve üretim yöntemleri özetlenmiştir. Aynı zamanda, bu koloidal taşıyıcı sistemlerin karakterizasyonunda kullanılan yöntemler ve üretimlerinde karşılaşılabilen problemler hakkında genel bilgi verilmiş ve SLN'lerden etkin madde salımında rol oynayan etkin madde yükleme modelleri açıklanmıştır. Son olarak, SLN'lerin uygulama yolları derlenmiş, farmasötik ve kozmetik alanda SLN'lerle yapılan çalışmalardan örnekler verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Katı lipid nanopartiküller, koloidal ilaç taşıyıcı sistem, yüksek basınçlı homojenizasyon, lipid modifikasyonları (polimorfları)

ABSTRACT

Solid lipid nanoparticles (SLN) were introduced in 1991 and have gained increasing attention as an alternative drug carrier system to traditional colloidal carriers. In this review article, advantages - disadvantages and production procedures of SLNs are summarized. Also, methods of characterization of these colloidal carrier systems and the problems related to the production have been reviewed and the drug incorporation models taking place in the release of drug from SLNs have been described. And finally, in

addition to the application methods of SLNs, examples of the studies on the pharmaceutic and cosmetic applications have been reviewed.

Key Words: *Solid lipid nanoparticles, colloidal drug carrier system, high pressure homogenization, lipid modifications (polymorphs)*

GİRİŞ

Günümüzde kontrollü etkin madde salımı için yaygın olarak araştırılan kolloidal taşıyıcılar (polimerik nanopartiküller, yağ emülsiyonları, lipozomlar vb), kendilerine özgü avantaj ve dezavantajlara sahiptir. Polimerik nanopartiküller nispeten yavaş degradasyona uğramaları, üretimlerinden gelen toksik organik çözücü kalıntıları, endüstriyel ölçekte üretimleri için bir yöntemin bulunmaması ve otoklav ile sterilizasyonlarının mümkün olmaması gibi dezavantajlara sahipken; lipozomların da, düşük fiziksel - kimyasal stabiliteye sahip olmaları ve büyük ölçekte üretimleri için uygun yöntemin bulunmaması gibi, piyasada az sayıda lipozomal ilaç formülasyonunun yer almasına neden olan bazı dezavantajları vardır. Büyük ölçekli üretimleri için uygun yöntemler bulunmasına rağmen, taşıyıcı sistem olarak yağ emülsiyonları kullanıldığında, etkin maddenin sıvı yağ damlacıkları içinde dağılması nedeniyle çok hızlı etkin madde salımı olmaktadır (1). Son 10 yıldır, katı lipid nanopartiküllerin (SLN) diğer kolloidal taşıyıcı sistemlere alternatif bir ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanımları için çalışmalar gerçekleştirilmektedir. Farklı kolloidal taşıyıcıların avantajlarını bir arada barındıran ve dezavantajlarını ortadan kaldıran SLN'lerin, kolloidal taşıyıcı sistem olarak kullanımları giderek artan bir ilgi görmektedir (2-6).

Katı lipid nanopartiküller (SLN), oda ve vücut sıcaklığında katı halde bulunan lipidler ile hazırlanan ve emülgatörler ile stabilize edilen, nanometre boyutundaki partiküllerdir (7,8).

SLN'ler genel olarak katı lipidler, emülgatörler ve sudan oluşmaktadır. Lipid terimi geniş anlamda kullanılmaktadır ve trigliseridleri (tristearin vb.), kısmi gliseridleri (Imwitor vb.), yağ asitlerini (stearik asit vb.), steroidleri (kolesterol vb.) ve mumları (setil palmitat vb.) içermektedir. Lipidler genellikle, GRAS (*Generally Recognized As Safe*) özelliğine sahip fizyolojik bileşiklerdir. Lipid dispersiyonu stabilize etmek için, yüklerine ve molekül ağırlıklarına bağlı olarak bütün emülgatör tipleri kullanılabilir. %1-5 emülgatör veya emülgatör/yardımcı emülgatör kompleksi ile stabilizasyon sağlanmaktadır. Emülgatörün seçimi, uygulama yoluna bağlıdır. Parenteral uygulamalar için kullanılacak emülgatörler oldukça sınırlıdır. Emülgatör amaçlı kullanılan maddelere örnek olarak lesitinler, poloksamerler, etoksillenmiş monogliseridler ve polisorbattlar verilebilir (9,10).

SLN'lerin Avantajları:

SLN'ler; lipozomların, emülsiyonların ve katı partiküllerin sağladığı avantajların kombinasyonunu içermektedirler. Düşük sistemik toksisite ve düşük sitotoksisiteye sahip olmaları, organik çözücü kalıntısı içermemeleri, büyük ölçekte üretimlerinin mümkün olması gibi yağ emülsiyonlarının ve dokulara etkin madde hedeflenebilmesi gibi lipozomların avantajlarını taşıırken; katı lipid matrisleri sayesinde kontrollü etkin madde salımı ve kimyasal bozunmaya karşı etkin maddelerin korunması gibi katı polimerik nanopartiküllerin avantajlarına da sahiptirler (10-12).

SLN'lerin avantajları şu şekilde özetlenebilir (9,10,13,14):

- Kolloidal büyüklüktedir.
- Sulu dispersiyonları uzun süre stabil kalabilir; alternatif olarak, dondurarak veya püskürterek kurutma uygulanabilir.
- Lipofilik ve hidrofilik etkin maddeler hapsedilebilir.
- Otoklav veya gama ışınları ile sterilizasyon sağlanabilir.
- Hazırlama sırasında fizyolojik bileşiklerin kullanılması nedeniyle toksikolojik olarak kabul edilebilirdir.
- Üretimde organik çözücü kullanılmaması nedeniyle, organik çözücü kalıntısı içermez.
- Endüstriyel ölçekte üretimleri mümkündür.
- Etkin maddenin kontrollü salımı sağlanabilir.
- Yüzey özelliklerinin modifikasyonu ile belirli dokulara ilaç hedeflemesi yapılabilir.
- Etkin madde çevresel etkenlerden korunur ve stabilitesi artırılır.
- Ekonomik olarak kabul edilebilir bir taşıyıcı sistemdir.

SLN'lerin Dezavantajları:

Pek çok avantaja sahip olmalarına rağmen, SLN'lerin kullanımını sınırlayan bazı faktörler de vardır (7,9):

- Nispeten düşük etkin madde yükleme kapasitesine sahiptirler.
- Saklama sırasında görülebilen polimorfik geçişler nedeniyle, etkin madde taşıyıcıdan dışarı sızabilmektedir.
- SLN dispersiyonlarının su içeriği nispeten (%70 – 99.9) yüksektir.
- Ortamda farklı kolloidal yapılar da bulunabilir.

SLN Üretimi için Kullanılan Yöntemler:

1) Yüksek Basınçlı Homojenizasyon Yöntemi:

Yüksek basınçlı homojenizasyon (HPH), SLN üretimi için güvenilir ve etkili bir yöntem olarak ortaya çıkmıştır. Yüksek basınçlı homojenizatörler, sıvıyı birkaç mikron genişliğindeki dar bir delikten, yüksek bir basınçla (100-2000 bar) iterler. Sıvı, çok kısa bir mesafede çok yüksek bir hıza (1000 km/saat'in üzerinde) ulaşır. Çok yüksek kayma stresi (gerilimi) ve kaviteasyon kuvvetleri, partikülleri mikron altı büyüklüğe parçalar (9).

Yüksek basınçlı homojenizasyon yöntemi, sıcak homojenizasyon ve soğuk homojenizasyon olmak üzere iki şekilde gerçekleştirilebilmektedir:

a) Sıcak Homojenizasyon:

Sıcak homojenizasyon, lipidin erime noktasının üstündeki sıcaklıklarda gerçekleştirilir ve bu nedenle, emülsiyonun homojenizasyonu olarak değerlendirilebilir (9). Etkin madde, erime noktasının 5-10 °C üzerinde bir sıcaklıkta eritilmiş olan lipid içerisinde çözülür veya disperse edilir. Etkin madde içeren erimiş lipid, aynı sıcaklıktaki sulu emülgatör çözeltisi içinde yüksek hızda karıştırma ile disperse edilir. Elde edilen sıcak pre-emülsiyon homojenizatörden geçirilir ve sonuçta oluşan sıcak Y/S nanoemülsiyonu oda sıcaklığına soğutulur. Bu şekilde lipid katılaştır (rekristalize olur) ve katı lipid nanopartiküller elde edilir (7,12,14,15). Bununla birlikte, kısa zincirli yağ asitlerinden oluşan veya düşük (oda sıcaklığına çok yakın) erime noktasına sahip olan gliseridler kullanıldığında, rekristalizasyonu başlatabilmek için, nanoemülsiyonları daha düşük sıcaklıklara soğutmak gerekli olabilir. Rekristalizasyon, liyofilizasyon ile de başlatılabilir (15). Partikül büyüklüğünün küçük olması ve emülgatörlerin varlığı nedeniyle, lipid rekristalizasyonu çok gecikebilir ve ürün, uzun aylar boyunca bir aşırı soğutulmuş karışım (supercooled melt) olarak kalabilir (9).

Sıcak homojenizasyon yöntemi, sıcağa duyarlılığı düşük etkin maddeler için uygundur. Çünkü, yüksek sıcaklığa maruz kalınan süre nispeten kısadır. Ancak, yüksek sıcaklığa karşı çok duyarlı olan bileşikler ve hidrofilik özellikteki etkin maddeler için soğuk homojenizasyon yöntemi kullanılmaktadır (14,15).

b) Soğuk Homojenizasyon:

Etkin maddenin içinde çözüldüğü veya disperse edildiği erimiş lipid, kuru buz veya sıvı nitrojen kullanılarak hızla soğutulur. Katı lipid, yaklaşık 50 – 100 µm boyutundaki lipid mikropartiküllere öğütülür. Katı lipid mikropartiküller, soğuk emülgatör çözeltisinde disperse

edilir. Elde edilen pre-süspansiyon, oda sıcaklığında veya oda sıcaklığının altında yüksek basınçlı homojenizatörden geçirilir. Sonuçta katı lipid nanopartiküller elde edilir (9,12,14,15).

Soğuk homojenizasyon yöntemi, sıcak homojenizasyon yönteminde ortaya çıkan;

- Sıcaklıkla etkin madde degradasyonunun indüklenmesi,
- Homojenizasyon sırasında etkin maddenin sulu fazda dağılması,
- Nanoemülsiyonun lipid rekristalizasyonunun güçlüğü

gibi problemlerin üstesinden gelmek için geliştirilmiştir (9).

Her iki homojenizasyon tekniği de, %40'a kadar olan lipid konsantrasyonlarında işlem yapmak için uygundur ve genel olarak, dar partikül büyüklüğü dağılımları vermektedir (7).

2) Mikroemülsiyon Yöntemi:

Gasco ve ark, mikroemülsiyonların dilüsyonuna dayanan bir SLN hazırlama yöntemi geliştirmişlerdir. Bu yöntemde önce, lipid (yağ asitleri veya gliseridler) eritilir. Su, emülgatör ve koemülgatör karışımı, lipidle aynı sıcaklıkta olacak şekilde ısıtılır ve erimiş lipide eklenerek karıştırılır. Bu maddeler, mikroemülsiyon oluşumu için gerekli oranlarda karıştırıldığında, transparan ve termodinamik olarak stabil bir sistem elde edilir. Oluşan sıcak veya ılık mikroemülsiyon, özel olarak geliştirilen termostatlı bir şırınga kullanılarak, aşırı miktardaki soğuk su (2-3 °C) içinde mekanik bir karıştırma ile disperse edilir. Sıcak mikroemülsiyon : soğuk su hacim oranı, 1:25 ile 1:50 arasında değişebilmektedir. Fazla su, ultrafiltrasyon veya liyofilizasyon ile uzaklaştırılır (7,9,15).

3) Çözücü Emülsifikasyon-Evaporasyon veya Çözücü Difüzyon Yöntemi:

Çözücü emülsifikasyon-evaporasyon yönteminde; lipid, su ile karışmayan organik bir çözücüde (toluen, kloroform vb) çözülür ve bu çözelti, bir sulu faz içinde emülsifiye edilir. Çözücünün vakum altında buharlaştırılmasıyla, lipid nanopartikülleri oluşarak çöker. Bu yöntemin önemli bir avantajı, hazırlama sırasında ısı uygulanmamasıdır. Bu nedenle, yüksek sıcaklıkta bozulan etkin maddelerin yüklenmesi için uygun bir yöntemdir (7). Yöntemin dezavantajı ise, organik çözücü kullanımının gerekmesidir. Buna ek olarak, bu yöntem ile üretimin scaling up işleminin gerçekleştirilmesinde de problemler ortaya çıkmaktadır (15). Bu yöntem ile elde edilen ürünün ortalama partikül büyüklüğü, organik fazdaki lipidin konsantrasyonuna bağlıdır (9).

Çözücü difüzyon yönteminde; su ile kısmen karışabilen çözücüler (benzil alkol, etil format vb) kullanılmaktadır. Lipid, su ile doyurulmuş çözücüde çözülür ve yüksek sıcaklıktaki, çözücü ile doyurulmuş sulu emülgatör çözeltisi ile emülsifiye edilir. Aşırı miktarda (1:5 – 1:10 oranlarında) suyun eklenmesinden sonra, organik çözücünün emülsiyon damlacıklarından sürekli faza difüzyonu nedeniyle SLN'ler çöker. Oldukça seyreltik olan dispersiyon, ultrafiltrasyon veya liyofilizasyon ile konsantre hale getirilmektedir (7).

Trotta ve ark. (2003), çözücü difüzyon yöntemi ile ve düşük toksisiteye sahip oldukları kabul edilen çözücülerini ve emülgatörlerini kullanarak, gliserin monostearat nanopartiküllerinin hazırlanabilirliğini araştırmışlardır. Benzil alkol veya bütillaktat kullanılarak, emülsifikasyon-difüzyon yöntemi ile katı lipid nanokürelerin üretiminin mümkün olduğunu göstermişlerdir (16).

4)Yüksek Hızda Karıştırma ve / veya Ultrasonikasyon Yöntemi:

Her iki yöntem de, yaygın olarak kullanılan ve uygulanması kolay yöntemlerdir. Genellikle bu yöntemler bir arada kullanılmakta ve belli bir süre boyunca yüksek sıcaklıklarda uygulanmaktadır. Yüksek hızda karıştırma yönteminin dezavantajı, mikrometre boyutuna varabilen geniş partikül büyüklüğü dağılımına sahip ürün vermesidir. Bu da, saklama sırasında partikül büyümesi gibi fiziksel stabilite problemlerine sebep olmaktadır. Bunlara ek olarak, ultrasonikasyon yöntemi kullanılıyorsa, metal kontaminasyonunun dikkate alınması gerektiği bildirilmiştir (7,9).

Hou ve ark. (2003), SLN üretimi için, modifiye yüksek hızda homojenizasyon ve ultrason yöntemi geliştirmişlerdir. Bu yöntemin, organik çözücüye ihtiyaç olmadan yüksek kalitede SLN'lerin hazırlanmasında kullanılabilir, basit, uygun ve etkin bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir (17).

SLN'lerin Hazırlanmasında Karşılaşılabilen Problemler:

1- Yüksek basınçla indüklenen etkin madde degradasyonu:

Yüksek basınçlı homojenizasyon işlemindeki yüksek kayma geriliminin, serbest radikal oluşumunun ana nedeni olduğu bildirilmiştir. Yüksek molekül ağırlığına sahip bileşiklerin ve uzun zincirli moleküllerin, düşük molekül ağırlığına sahip etkin maddelere ve küresel şekilli moleküllere göre degradasyona daha duyarlı oldukları gösterilmiştir. Yine de, literatür verilerine dayanarak, yüksek basınçlı homojenizasyon ile indüklenen degradasyonun, etkin maddelerin büyük bir çoğunluğu için ciddi bir problem olmadığı belirtilmektedir (9).

2- Lipid kristalizasyonu (9):

SLN hazırlanmasında karşılaşılan problemlerden biri olan lipid kristalizasyonu, aşağıdaki başlıklar altında incelenebilmektedir:

- a) Aşırı soğutulmuş karışım (supercooled melt) oluşumu
- b) Lipid polimorfları (modifikasyonları)
- c) Partikül şekli
- d) Jelleşme olayı

a) Aşırı soğutulmuş karışım oluşumu:

Formülasyon lipidin erime noktasının altında bir sıcaklıkta saklandığı halde, lipid kristalizasyonunun meydana gelmemesi olarak tanımlanmaktadır. Aşırı soğutulmuş karışım, bir lipid nanosüspansiyonu değil; emülsiyondur.

Aşırı soğutulmuş karışım oluşumunun ana nedeni, kristalizasyon işleminin boyuta bağlı olmasıdır. Yani, kristalizasyonun başlaması için, kritik sayıda kristalizasyon çekirdeğine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu kritik molekül sayısına ulaşılması, küçük damlacıklar söz konusu olduğunda daha düşük bir olasılıktır. Bu nedenle, aşırı soğutulmuş karışım oluşma olasılığı, damlacık büyüklüğünün azalması ile artmaktadır. Partikül boyutuna ek olarak; emülgatörler, yüklenen etkin maddeler ve diğer faktörler de kristalizasyonu etkileyebilmektedir. NMR, X ışığı kırınımı ve DSC gibi tekniklerle aşırı soğutulmuş karışım varlığı araştırılabilir (9).

b) Lipid polimorfları (modifikasyonları):

Lipidin fiziksel durumunu, kristalize veya nonkristalize olarak tanımlamak yeterli değildir. Çünkü, kristalize lipide, kristal kafes pek çok farklı modifikasyonda bulunabilmektedir. Genellikle lipid molekülleri, termodinamik olarak stabil olmayan polimorfları halinde bulduklarında, daha yüksek bir hareketliliğe sahiptirler. Bu polimorfların, misafir molekülleri (etkin maddeleri) hapsedme kapasiteleri daha yüksektir. Saklama sırasında, kristal kafeste yeniden düzenlenme meydana gelebilir ve termodinamik olarak stabil polimorflar oluşabilir. Bu durum, etkin madde moleküllerinin taşıyıcıdan dışarı sızmasına sebep olabilir. Özetle lipid modifikasyonları, etkin madde yüklenmesi ve etkin madde salımı ile yakından ilişkilidir (9).

c) Partikül şekli:

Lipid nanopartiküllerin şekli, küresel formdan önemli ölçüde farklılık gösterebilmektedir. Lipidler, platelet formunda kristalize olma eğilimindedirler. Platelet şekil, küresel şekle kıyasla,

çok daha büyük yüzey alanına sahiptir. Bu nedenle, stabilizasyonun sağlanması için, daha yüksek miktarda emülgatör kullanılması gerekmektedir (9).

d) Jelleşme olayı:

Jelleşme olayı, düşük viskoziteli SLN dispersiyonunun viskoz bir jele dönüşümünü tanımlamaktadır. Bu işlem çok hızlı ve tahmin edilemeyen bir şekilde meydana gelebilir. Genellikle jel oluşumu, kolloidal partikül büyüklüğü kaybının gerçekleştiği geri dönüşümsüz bir işlemdir.

Jelleşme olayı, SLN dispersiyonunun çeşitli yüzeyler ile şiddetli teması veya şiddetli kayma kuvvetleri ile stimüle edilebilmektedir. Ayrıca yüksek sıcaklık, ışığa maruziyet, mekanik stres, yüksek lipid konsantrasyonları ve yüksek iyonik kuvvetler jelleşmeyi artırmaktadır. Jelleşmeyi artıran tüm faktörler (sıcaklık, ışık, kayma stresi), partiküllerin kinetik enerjisini artırmakta ve partiküllerin çarpışmasını kolaylaştırmaktadır. Lipidin hızlı kristalizasyonu da, jelleşmeyi artıran faktörlerdendir (9).

3- Pek çok kolloidal türün bir arada bulunması:

Stabilite sağlayıcı ajanlar (emülgatörler), sadece lipid yüzeyinde değil, aynı zamanda sulu fazda da lokalize olmaktadır. Örneğin; sodyum dodesil sülfat (SDS) gibi emülgatör molekülleri lipid yüzeyinde, misel halinde ve emülgatör monomeri olarak ortamda bulunmaktadır (9).

SLN Dispersiyonlarının Karakterizasyonu:

a) Partikül büyüklüğü ve zeta potansiyelin ölçülmesi:

Partikül büyüklüğü ve dağılımı, kolloidal taşıyıcı sistemlerin en önemli fizikokimyasal özelliğidir. Hazırlama yönteminin parametreleri, partikül büyüklüğünü ve dağılımını etkileyen önemli faktörlerdendir. Basıncın ve devir sayısının artırılması ile partiküllerin büyüklüğünde azalma olduğu belirlenmiştir. Üretimde kullanılan emülgatörün tipi ve miktarı da, partikül büyüklüğünü etkilemektedir. Genellikle, emülgatör miktarını belirli bir orana kadar artırmak, ortalama partikül büyüklüğünü azaltmaktadır. Emülgatörler, SLN'lerin hazırlanması sırasında, damlacıkların yüzeylerini kaplayarak damlacık kümeleşmesini ve uzun dönemdeki partikül birleşmesini önleyecek mekanik veya elektriksel engel oluşturmaktadırlar. Damlacıkların stabilitesi yeterince sağlanabilirse, katılaştırma işleminden sonra elde edilen partiküllerin boyutu nanometrik aralıkta olmaktadır (10).

Partikül büyüklüğünün rutin ölçümleri için en güçlü yöntemler; foton korelasyon spektroskopisi (PCS) ve lazer kırınımı yöntemi (LD)'dir. Coulter Counter yöntemi ise, kolloidal

dispersiyonları destabilize edebilecek elektrolitlere ihtiyaç göstermesi ve küçük nanopartiküllerin değerlendirilmesindeki zorluklar nedeniyle, SLN'lerin partikül büyüklüğü ölçümünde nadiren kullanılmaktadır (9).

SLN'lerin şekillerinin belirlenmesinde, diğer partiküler sistemlerde olduğu gibi, atomik kuvvet mikroskopisi (AFM) ve elektron mikroskobu kullanılabilir. Düz bir silikon yüzeye sabitlenen nanopartiküllerin şekilleri, AFM ile vakuma ihtiyaç duyulmadan belirlenebilmektedir (10).

Zeta potansiyelinin ölçülmesi, kolloidal dispersiyonun saklama stabilitesi hakkında tahminde bulunmaya olanak vermektedir. Genel olarak, yüklü partiküllerde (yüksek zeta potansiyeli), elektriksel itme nedeniyle, partikül agregasyonunun meydana gelme ihtimali daha azdır. Ancak bu kural, sterik stabilizatörler içeren sistemler için tam olarak geçerli olmamaktadır. Çünkü, sterik stabilizatörlerin adsorpsiyonu, zeta potansiyeli azaltmaktadır (9).

b) Lipid matrisin yapısının (lipid modifikasyonunun), rekristallenme özelliklerinin ve diğer kolloidal yapıların değerlendirilmesi:

SLN kalitesini karakterize etmek için, partikül büyüklüğü analizi gereklidir; ancak, yeterli değildir. Lipid modifikasyonunun ve lipidin kristalinite derecesinin karakterizasyonu da önemlidir (9). Çünkü, bu parametrelerin yani lipid yapıdaki değişikliklerin saptanması, lipid matristeki etkin madde enkapsülasyonu ve etkin maddenin salım hızı ile son derece ilişkilidir (9,10).

DSC ve X ışını kırınımı yöntemleri, lipidin durumunu araştırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Lipidlerin yapısal özelliklerini araştırmak için IR ve Raman spektroskopisi yöntemleri de kullanılmaktadır (9). Etkin maddenin fiziksel durumu ve yerleşimi de, DSC ve X ışını kırınımı cihazı ile analiz edilebilmektedir. Etkin madde içeriğinin lipidin kristal özelliklerine etkisi, özellikle X ışını kırınımı cihazı ile incelenebilmektedir (10).

Farklı kolloidal türlerin tayini için, hazırlık adımları gerektirmeyen ve duyarlı yöntemler olarak, NMR ve Elektron Spin Rezonans (ESR) yöntemleri kullanılmaktadır. Her iki yöntemin de sisteme zarar vermemesi nedeniyle, aynı örnekten tekrarlanan ölçümler almak mümkün olmaktadır (9).

SLN'lere Etkin Madde Yüklenmesi:

Etkin maddenin SLN içindeki yükleme kapasitesini etkileyen faktörler şunlardır (7,15):

- a) Eritilmiş lipid içinde etkin maddenin çözünürlüğü
- b) Katı lipid matrisin kimyasal yapısı

c) Lipid matrisin polimorfik formu

a) Eritilmiş lipid içinde etkin maddenin çözünürlüğü:

Uygun bir yükleme kapasitesi elde etmek için ön koşul, erimiş lipid içinde etkin maddenin yeterince yüksek bir çözünürlüğe sahip olmasıdır. Etkin maddenin çözünürlüğü mümkün olduğu kadar yüksek olmalıdır; çünkü, erimiş lipid soğutulurken çözünürlük azalır (15).

Etkin madde-lipid oranına ve çözünürlüğe bağlı olarak etkin madde, partiküllerin çekirdeğinde veya kabuğunda lokalize olabilmekte ya da matris yapı içinde moleküler olarak disperse olabilmektedir. Bu da, ilaç salımını doğrudan etkilemektedir (7).

b) Lipidin kimyasal yapısı:

Hapsedilen etkin maddeler; yağ asidi zincirleri arasında, lipid tabakaları arasında ve kristal kafesteki kristal noksanlık bölgelerinde lokalize olduklarından; lipidin yüksek derecede düzenli kristal kafes yapısına sahip olması durumunda, fazla miktarda etkin maddenin yerleşmesi mümkün olmamaktadır. Eğer lipid matris özellikle benzer moleküllerden oluşuyorsa (tristearin veya tripalmitin gibi), kristal kafeste az sayıda kristal noksanlık bölgesine sahip mükemmel bir kristal yapı oluşmaktadır. Bu nedenle, mono, di ve trigliseridlerin karışımları olan ve farklı zincir uzunluklarında yağ asitleri içeren daha kompleks lipidlerin kullanılması ile, pek çok kristal noksanlık bölgelerine sahip olan, daha az mükemmel kristaller meydana gelmekte ve etkin maddenin yerleşmesi için daha çok alanın ortaya çıkmasıyla daha yüksek etkin madde yüklemesi sağlanabilmektedir (7,15). Jennings ve Gohla (2000) da yaptıkları çalışmada, yüksek derecede düzenli kristal yapıya sahip, saf bir trigliserid olan tripalmitat ile hazırlanan SLN'lerde, mumlarla hazırlanan SLN'lerde olduğu gibi, katılaşma (solidifikasyon) ile etkin maddenin dışarı sızdığını bildirmişlerdir (18).

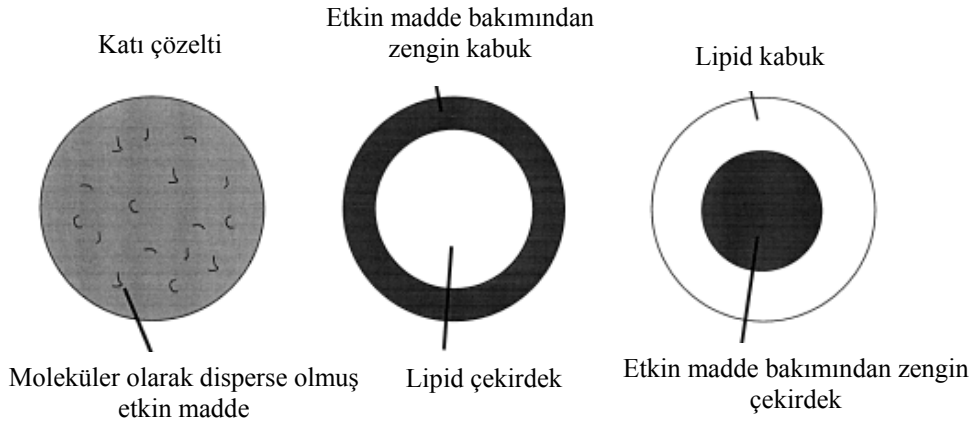
c) Lipidin polimorfik formu:

Üretimden sonra lipid nanopartiküller, en azından kısmen, kristal kafeste daha çok noksanlık bölgesine sahip olan, daha yüksek enerjili α polimorfunda rekristalize olmaktadır. Saklama sırasında β formuna polimorfik geçiş meydana gelirse, daha stabil polimorfların oluşumunun artmasıyla kristal noksanlık bölgelerinin sayısı azalır ve kristal kafes daha mükemmel hale gelir. Yani, daha stabil polimorfların oluşumu, etkin maddenin lipid matristen sızmasına neden olmaktadır (7,15).

SLN'den Etkin Madde Salımı:

SLN'den etkin madde salım profili; lipid matrisin yapısı, emülgatör konsantrasyonu ve sıcaklık gibi üretim parametrelerinden etkilenmektedir. Mehnert ve ark., gerçekleştirdikleri *in vitro* salım çalışmaları sonucunda, farklı salım profilleri gösteren yapısal modeller geliştirmişlerdir. Buna göre, 3 farklı etkin madde hapsetme modeli vardır (Şekil 1) (7,15,19):

- Katı çözelti modeli
- Etkin madde bakımından zengin kabuk içeren çekirdek-kabuk modeli
- Etkin madde bakımından zengin çekirdek içeren çekirdek-kabuk modeli



Şekil 1. Üç etkin madde hapsetme modeli (katı çözelti modeli (solda), etkin madde bakımından zengin kabuk içeren (ortada) ve etkin madde bakımından zengin çekirdek içeren çekirdek-kabuk modeli (sağda) (15)

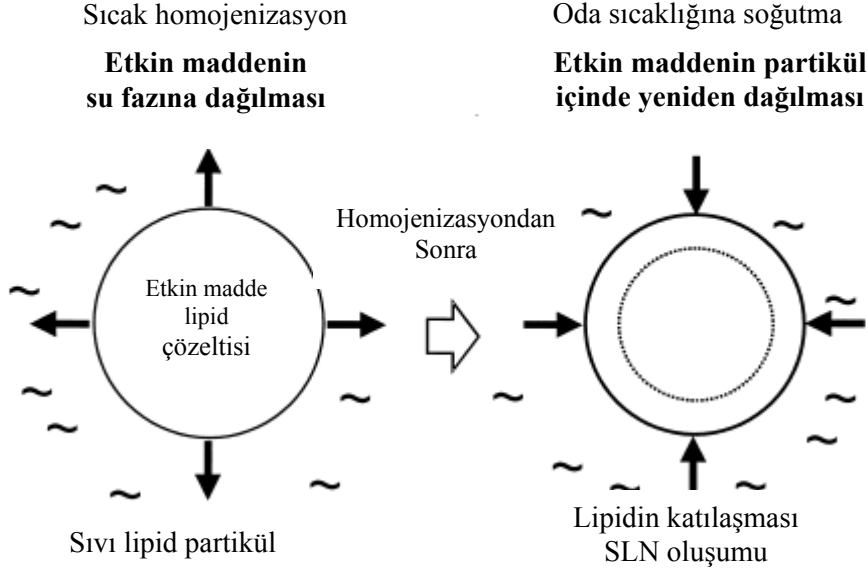
- Katı çözelti modeli:

Partiküller, soğuk homojenizasyon yöntemi ile üretildiğinde ve üretimde emülgatör kullanılmadığında veya etkin maddenin çözünürlüğünü artırıcı emülgatörlerden sakınıldığında; homojen katı çözelti matris modeli elde edilmektedir yani etkin madde, lipid matris içinde moleküler olarak disperse olmaktadır (7,15).

- Etkin madde bakımından zengin kabuk içeren çekirdek-kabuk modeli:

Salım profilleri, partiküllerin üretimi sırasında, sulu emülgatör faz ile eritilmiş lipid faz arasında etkin maddenin partisyonu ile açıklanabilir: Sıcak homojenizasyon yöntemi ile üretim sırasında, etkin madde sıvı yağ fazından sulu faza geçer. Su fazına geçen etkin madde miktarı, etkin maddenin su fazındaki çözünürlüğü arttıkça (yani, emülgatör konsantrasyonu ve sulu fazın sıcaklığı arttıkça) artmaktadır. Elde edilen Y/S nanoemülsiyonunun soğutulması sırasında, su fazının

sıcaklığının azalması nedeniyle, etkin maddenin su fazındaki çözünürlüğü sürekli azalır. Bu da, etkin maddenin lipid faza geri dönmesine (repartisyonuna) neden olur. Lipidin rekristalizasyon sıcaklığına ulaşıldığında, lipid faz içinde o anda bulunan etkin maddenin hapsedilmesiyle katı lipid çekirdek oluşmaya başlar. Çoktan kristalize olmuş çekirdeğe, daha fazla etkin madde girişi mümkün olmamaktadır (Şekil 2) (15).



Şekil 2. Sıcak homojenizasyon tekniği ile SLN üretimi sırasında etkin madde üzerindeki partisyon etkileri. Solda: Artan sıcaklıkta etkin maddenin lipid fazından su fazına partisyonu. Sağda: Üretilen Y/S nanoemülsiyonunun soğutulması sırasında etkin maddenin lipid fazına repartisyonu (15)

Etkin maddenin lipiddeki konsantrasyonu, doyumluk çözünürlüğünün altında olduğunda ve sıcak homojenizasyon ile üretim yapıldığında; ilk önce etkin madde su fazına dağılır. Soğutma sırasında da, ilk önce lipid kristalize olur. Etkin madde, sıvı lipid faza geri döner ve SLN'nin hala sıvı olan lipid dış kabuğunda konsantre hale gelir. Sonuçta, etkin madde bakımından zengin kabuk kristalize olur. Dış kabuktaki etkin madde, bir patlama etkisi (burst effect) ile salınır. Partikül çekirdeğinde hapsedilmiş olan etkin madde ise, patlama etkisini takiben uzatılmış bir salım sağlar (7,15). Patlama etkisinin derecesi, üretim sırasında etkin maddenin su fazındaki çözünürlüğü ile kontrol edilebilir. Daha yüksek sıcaklıklar ve daha yüksek emülgatör konsantrasyonları, patlama etkisini artırmaktadır (15).

c) Etkin madde bakımından zengin çekirdek içeren çekirdek-kabuk modeli:

Etkin madde, erimiş lipid içinde doygunluk çözünürlüğünde veya ona yakın olduğunda, bu model elde edilmektedir. Sıcak homojenizasyon ile hazırlanan nanoemülsiyon soğutulurken, sıvı lipid içinde etkin maddenin süper doygunluğu ve sonrasında lipid kristalizasyonundan önce etkin madde kristalizasyonu / presipitasyonu gerçekleşmektedir. Daha çok soğutma sonucunda, etkin madde bakımından zengin çekirdeği bir membran gibi çevreleyen lipid rekristalize olmaktadır. Artan difüzyonel mesafe ve çevreleyen katı lipid kabuk nedeniyle, etkin maddenin sürekli salımı sağlanabilir (7,15).

SLN'lerin Stabilitesi:

Kolloidal bir ilaç taşıyıcı olarak SLN'nin kullanılması için çok önemli bir nokta, SLN'lerin uzun süreli fiziksel ve kimyasal stabilitesidir (20). Optimize edilen sulu SLN dispersiyonlarının partikül büyüklüklerinin, 12-36 ay boyunca stabil kalabildiği gösterilmiştir. Ancak, bu bütün SLN dispersiyonları için genel bir özellik değildir ve pek çok durumda, daha kısa sürede partikül büyüklüğünde artış gözlenebilmektedir (9). Bir diğer problem ise, hidrolize hassas etkin maddelerin varlığındaki kimyasal stabilite problemi (20).

Sıvı dispersiyonun, kuru toz formunda bir ürüne dönüştürülmesi faydalı ve sıklıkla da gerekli olmaktadır. Elde edilen katı haldeki ürün, sulu lipid dispersiyonlarından daha iyi bir kimyasal ve fiziksel stabiliteye sahip olmaktadır. Ayrıca, SLN granülatları veya tozları; kapsüller içine doldurulabilmekte, tablet halinde basılabilmekte veya pelletler içine hapsedilebilmektedir (9,11).

SLN dispersiyonunun kuru toz formuna dönüştürülmesi 2 şekilde mümkün olmaktadır:

- a) Dondurarak kurutma (Liyofilizasyon)
- b) Püskürterek kurutma (Spray drying)

a) Liyofilizasyon:

Liyofilizasyon, SLN'nin uzun süreli fiziksel ve kimyasal stabilitesini artırmak için umut vadeden bir yoldur. Katı forma dönüşüm, partikül büyümesini ve hidroliz reaksiyonlarını önlemektedir (9).

Liyofilizasyon işlemi sırasında meydana gelebilecek partikül büyüklüğü artışını önlemek için, SLN dispersiyonunun lipid içeriği %5'i aşmamalıdır. Çünkü, seyreltilmiş dispersiyonlarda, lipid partiküllerin birbirleriyle direkt teması azalmaktadır (9).

SLN'lerin liyofilizasyon sırasındaki agregasyonunu azaltmak, dolayısıyla partikül büyüklüğü artışını önlemek ve kuru ürünün daha iyi bir redispersiyonunu sağlamak için, kriyoprotektanların (dondurma işlemi koruyucuları) eklenmesi gerekmektedir. Farklı lipid nanopartiküller arasındaki

teması önleyen yer tutucular olan kriyoprotektanların en tipik örnekleri; sorbitol, mannoz, trehaloz, glukoz ve PVP'dir (9).

Schwarz ve Mehnert de (1997), intravenöz (i.v.) uygulama için kabul edilebilir özellikte SLN formülasyonları hazırlamışlar ve dondurarak kurutmuşlardır. Çeşitli konsantrasyonlardaki farklı kriyoprotektanların koruyucu etkilerini araştırmışlar ve %15 konsantrasyondaki trehalozun, dondurarak kurutma işlemi sırasında gerçekleşebilecek partikül büyümesini önlemede en etkin şeker olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca, dondurma hızı ve redispersiyon yöntemi gibi parametrelerin optimize edilmesiyle, liyofilizasyon sırasında partikül büyüklüğü dağılımındaki değişikliklerin minimuma indirilebileceği belirtilmiştir. Etkin madde içermeyen SLN'nin optimize edilmiş koşullar altında dondurarak kurutulması sonucu, yeniden yapılandırılabilirlik özelliği iyi olan bir liyofilizatın elde edildiği gösterilmiştir. Yeniden yapılandırılan (rekonstitüe edilen) SLN'ler, i.v. uygulama için partikül büyüklüğü dağılımı bakımından uygun olmuşlardır. Partiküllere etkin madde yüklenmesi, rekonstitüsyon kalitesini etkilemiştir. Ancak, etkin madde yüklü SLN'lerin liyofilizatlarının, mikropartiküllerin varlığı bakımından daha az kritik olan, örneğin oral yolla uygulanan formülasyonlar için kullanılabilirliği ve i.v. uygulanan bir ürün elde etmek için, liyofilizasyon parametrelerinin daha ileri optimizasyonunun gerekli olduğu bildirilmiştir (20).

b) Püskürterek kurutma:

Püskürterek kurutma, sulu SLN dispersiyonunu kuru bir ürüne çevirmek için, liyofilizasyona alternatif bir yöntemdir. Liyofilizasyona kıyasla daha ucuz bir yöntem olmasına rağmen, SLN formülasyonları için nadir olarak kullanılmıştır. Bunun nedeni; bu yöntemin yüksek sıcaklık, kayma kuvveti ve partiküllerin kısmi erimesi nedeniyle partikül agregasyonuna neden olabilmesidir (9). Yüksek sıcaklıklar ve kayma kuvvetleri, kinetik enerjii artırmakta ve bunun sonucunda partiküllerin çarpışma sıklığı artmaktadır. Partiküllerin çarpışması, emülgatör filminde kısmi hasara neden olabilmektedir. Böylece, partiküllerin agregasyon eğilimi artmaktadır (11). Dispersiyona yaklaşık % 20-25 konsantrasyondaki trehaloz gibi karbonhidratların eklenmesi ve düşük lipid içeriği, püskürterek kurutma işlemi sırasında koloidal partikül büyüklüğünün korunmasını kolaylaştırmaktadır. Ayrıca, lipid matrisin erime noktasının 70 °C'den büyük olması gerekmektedir. En iyi yeniden yapılandırma özelliği için, püskürtme ortamındaki SLN konsantrasyonu yaklaşık %1 olmalıdır (7,9).

SLN'lerin Sterilizasyonu:

SLN'lerin sterilizasyonunda, formülasyonlarına bağlı olarak, otoklav, gama ışınları ve filtrasyon kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin uygun olmadığı durumlarda ise aseptik üretim önerilmektedir (9, 10).

Otoklav sterilizasyonu sırasındaki fiziksel stabilite, SLN formülasyonunun bileşimine çok bağlıdır (15). Ayrıca ürünün yüksek sıcaklıktaki fiziksel stabilitesi için, emülgatörün doğru seçilmesi büyük bir önem taşımaktadır (9). Poloksamer serisi gibi, sterik olarak stabilite sağlayan polimerler kullanıldığında, 121 °C'de otoklavlama gerçekleştirilememektedir. Çünkü, otoklavlama sıcaklığı, polimerin kritik flokülasyon sıcaklığına (CFT) çok yakındır ve polimer adsorbsiyon tabakası kısmen kollapsa uğramaktadır. Bu da, yetersiz stabilizasyon ve partikül agregasyonuna neden olmaktadır. Otoklavlama sıcaklığı azaltılıp (121 °C'den 110 °C'e) otoklavlama süresi uzatılarak bu durumdan sakınılabılır (15).

Sıcaklığa duyarlı formülasyonlar için, gama ışını sterilizasyonu, otoklav sterilizasyonuna alternatif bir yöntem olabilmektedir. Gama sterilizasyonu sırasında, gama ışınlarının yüksek enerjisi nedeniyle bütün formülasyonlarda serbest radikaller oluşmaktadır. Bu radikaller yeniden bir araya gelebilirler ve böylece formülasyonda bir hasar meydana getirmezler. Ancak bu yapılar, kimyasal modifikasyonlara neden olabilecek sekonder reaksiyonlara da girebilirler (9).

SLN'lerin Toksisitesi:

SLN'ler canlı sistemlerde iyi tolere edilir. Çünkü; fizyolojik bileşenlerden yapılmışlardır ve bu nedenle, vücutta metabolik yolları mevcuttur. Emülgatörlerin potansiyel toksisiteleri de dikkate alınmalıdır. Ancak; uygun emülgatörler kullanılırsa oral veya topikal uygulamada ve intramüsküler veya subkutan enjeksiyonda bir problem gözlenmemektedir. Bu uygulama yolları için, partikül büyüklüğü çok kritik bir konu değildir. Çünkü; mikrometre boyutundan büyük partiküllerin bulunması, SLN sisteminin performansını azaltabilmekte ancak toksik olaylara sebep olmamaktadır. Partikül büyüklüğü dağılımı, i.v. enjeksiyon için çok önemli bir konudur. Bu yolla uygulamada partikül büyüklüğünün tamamen mikron altı aralıkta olması gerekmektedir (9).

SLN'lerin Uygulama Yolları:

- a) Oral uygulama
- b) Parenteral uygulama
- c) Topikal uygulama
- d) Pulmoner uygulama

- e) Oküler uygulama
- f) Aşılarında adjuvan olarak uygulama
- g) Etkin madde hedefleme

a) Oral uygulama:

SLN'ler oral yolla, doğrudan sulu dispersiyonları halinde veya tablet, pellet, kapsül, kaşe gibi geleneksel dozaj formlarına dönüştürülerek uygulanabilmektedir (9,10,15). Örneğin;

- Tablet üretimi için, granülasyon işleminde granülasyon sıvısı (bağlayıcı) yerine sulu SLN dispersiyonu kullanılabilir. Ya da, SLN dispersiyonu toz forma dönüştürülür ve tabletlenecek toz karışımına eklenebilir.
- Toz forma dönüştürülmüş SLN, sert jelatin kapsüllere doldurulabilir. Alternatif olarak, doğrudan sıvı PEG 600 içinde üretilen SLN, yumuşak jelatin kapsüle doldurulabilir. Püskürtük kurutma veya liyofilizasyon ile elde edilen SLN tozları, kaşelerin hazırlanmasında da kullanılabilir.
- Pellet üretimi için, SLN dispersiyonu basınçla şekillendirme (extrusion) işleminde ıslatıcı ajan olarak kullanılabilir (15).

Hu ve ark. (2004), antikanser aktiviteye sahip bir madde olan All-trans retinoik asit (ATRA)'nın sudaki çözünürlüğünü ve buna bağlı olarak oral biyoyararlanımını artırmak için, yüksek basınçlı homojenizasyon yöntemi ile ATRA yüklü SLN'ler hazırlamışlar ve ATRA emülsiyonu ve çözeltisini kıyaslamışlardır. ATRA SLN'lerinin uygulandığı sıçanlarda, ATRA çözeltisi ile elde edilenden daha yüksek ATRA plazma konsantrasyonlarına ulaşıldığı bildirilmiştir. Emülgatör olarak % 3 Tween 80 ve % 3 Pluronic F 68 kullanılarak hazırlanan SLN formülasyonları için ATRA'nın C_{max} değerleri sırasıyla 7,68 $\mu\text{g/ml}$ ve 6,46 $\mu\text{g/ml}$ olarak bulunmuş ve bu değerlerin ATRA çözeltisi ile elde edilenden (1,81 $\mu\text{g/ml}$) daha büyük olduğu gözlenmiştir. Aynı SLN formülasyonlarının oral uygulanmasından sonra ATRA'nın $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ değerleri de, ATRA çözeltisi ile elde edilen değerlerden 5.12 ve 4.13 kat daha büyük bulunmuştur. Sonuç olarak, SLN formülasyonlarının uygulanmasıyla, ATRA'nın absorpsiyonunun önemli ölçüde artırıldığı gösterilmiştir (21).

b) Parenteral uygulama:

Temel olarak, polimerik nanopartiküllerin kullanıldığı bütün parenteral uygulamalarda, SLN'ler de kullanılabilir (15). SLN'lerin subkutan, intraperitonel, intravenöz ve intraartiküler uygulamaları sonucu, kontrollü ve sürekli salım ile birlikte düşük iritan etki elde

edilmektedir (14). Parenteral SLN'lerde, yağ asitlerinden oluşan gliseridler ve parenteral uygulamalar için kabul edilen emülgatörler (lesitin, Tween 80, Poloksamer 188, sodyumglikokolat vb.) kullanılmaktadır (7,15).

Cavalli ve ark. (1997), etkin madde içermeyen ve etkin madde içeren SLN'lerin partikül büyüklükleri ve stabiliteleri üzerine otoklavlama ile sterilizasyonun ve dondurarak kurutmanın etkisini araştırmışlardır. SLN'lerin hazırlanması için mikroemülsiyon yöntemini kullanmışlar ve farklı dispersiyon ortamlarında disperse ettikleri SLN'leri otoklav sterilizasyonuna tabi tuttukten sonra dondurarak kurutmuşlardır. Çalışmada hazırlanan SLN formülasyonlarının bileşimi Tablo 1'de görülmektedir.

Tablo 1. SLN formülasyonlarının bileşimi

Formülasyon Adı	Bileşimi		
Mikroemülsiyon S	Stearik asit (% 7,53 a/a)	Epikuron 200 (%3,9)	Taurodeoksikolat (% 13,8)
Mikroemülsiyon B	Behenik asit (% 7,53 a/a)	Epikuron 200 (% 3,9)	Taurodeoksikolat (% 13,8)
Mikroemülsiyon A	Acidan N 12 (% 7,53 a/a)	Epikuron 200 (% 3,9)	Taurodeoksikolat (% 13,8)

Sterilizasyondan sonra, bütün lipid matrisleri için az bir partikül büyüklüğü artışı gözlenmekle birlikte, SLN dispersiyonlarının hepsi kolloidal aralıkta partiküllere sahip olmuşlardır. Suda disperse edilen etkin madde yüklü SLN'ler de, etkin madde içermeyen SLN'ler gibi davranmıştır. Sonuç olarak, SLN'lerin otoklavlama ile sterilize edilebildiği, partikül büyüklüğü ve büyüklük dağılımında herhangi bir önemli artış olmadan, hemen hemen küresel bir şeklin korunabildiği bildirilmiştir. Dondurarak kurutulan tüm SLN formülasyonlarının, 1 yıllık saklamadan sonra suda kolayca tekrar disperse edilebildiği; ancak, dondurarak kurutma işleminin daha geniş büyüklük dağılımına sahip daha büyük SLN'lerin elde edilmesine neden olduğu belirlenmiştir. Yüksek konsantrasyonda kriyoprotektan kullanımının, bu konuda olumlu sonuçlar verebileceği ifade edilmiştir (13).

c) Topikal uygulama:

SLN'ler lipozomlara benzer olarak, iyi tolere edilen yardımcı maddelerden oluşmaktadır ve küçük partikül boyutları nedeniyle, deri üzerinde film oluşumuna imkan veren benzer adhezif özelliklere sahiptirler (15). Deriye uygulanan SLN dispersiyonunun kurutulmasından sonra yoğun bir filmin oluştuğu elektron mikroskobu ile gösterilmiştir. Oluşan film tabakası, deri üzerinde iyi

bir örtücü (okluzif) etki sağlamaktadır (9). Topikal uygulamada SLN'nin sağladığı diğer avantajlar ise; kimyasal olarak dayanıksız bileşiklerin, katı SLN matrisi içine hapsedilerek korunması ve etkin maddenin kontrollü salımının sağlanabilmesidir (15).

Topikal yolla ve diğer bütün yollar ile uygulanabilecek akıllı SLN'lerin (ISLN) geliştirilmesi, ileriye yönelik büyük bir adım olarak görülmektedir. Akıllı SLN, tetikleyici bir uyarı aldıktan sonra, hapsedilmiş olan etkin maddeyi kontrollü olarak salan SLN'dir. Tetikleyici uyarı, sıcaklık artışı veya SLN dispersiyonundan veya SLN içeren kremden su kaybı olabilir. SLN formülasyonunun saklanması sırasında, lipid matrisin, yüksek enerjili (stabil olmayan) polimorflarının korunması ve formülasyon deriye uygulandığı zaman lipidin α formundan daha stabil olan β' ve/veya β polimorflarına dönüşümünün tetiklenmesi, daha düzenli bir kristal yapıya neden olmaktadır. Bu da, SLN'den etkin maddenin salınmasını sağlamaktadır (15). Yapılan bir çalışmada, topikal uygulanan gliseril behenat SLN'lerinden suyun buharlaşması ile meydana gelen polimorfik geçişler ile artan ilaç salımı arasında yüksek bir korelasyon gözlemlendiği bildirilmiştir (22).

Souto ve ark. (2004), lipofilik özellikteki model etkin madde olan klotrimazol ile SLN ve NLC (nanoyapılı lipid taşıyıcı) kolloidal taşıyıcı sistemlerini hazırlayarak; fiziksel stabiliteyi, yükleme etkinliğini ve *in vitro* salım profilini değerlendirmişlerdir. Çalışmada kullanılan Dynasan[®] 116 SLN'leri, sıcak homojenizasyon yöntemi ile hazırlanmıştır. Dynasan[®] NLC'leri de tamamen aynı yolla hazırlanmış; ancak, farklı olarak katı lipid matrisin %30'u, sıvı lipid olan Mglyol[®] 812 ile yer değiştirilmiştir (Tablo 2). 3 farklı sıcaklıkta (4, 20 ve 40 °C) saklanan bütün SLN formülasyonları için d_{90} değerinin, oda sıcaklığında 500 nm'nin altında olduğu bulunmuştur. 4 °C'de saklanan örneklerde ise partiküllerin daha büyük olmakla beraber yine de nanometre aralığında kaldığı belirlenmiştir.

Tablo 2. SLN ve NLC formülasyonlarının % bileşimi

Formülasyon	Dynasan [®] 116	Tiloksapol	Klotrimazol	Mglyol [®] 812
A (SLN)	9.5	3	0.5	-
B (SLN)	19	5	1	-
C (NLC)	13.5	5	1	5.5

Klotrimazolün lipofilik özellikte olması nedeniyle, yüksek yükleme verimi elde edildiği ve NLC formülasyonunun (Formülasyon C) yükleme veriminin, her iki SLN formülasyonuna kıyasla

(Formülasyon A ve B) daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durumun, NLC'lerin lipid matrisinin katı ve sıvı lipidlerin karışımından oluşması nedeniyle soğutma sırasında partikülün katılması; ancak, rekristalize olmadan amorf halde kalması ve etkin maddenin yerleşmesi için çok sayıda kristal noksanlık bölgelerine sahip bir yapının elde edilmesi nedeniyle meydana geldiği açıklanmıştır.

In vitro salım çalışmaları sonucunda, klotrimazolün salım hızının formülasyondaki etkin maddenin konsantrasyonuna bağlı olduğu; daha düşük konsantrasyonda etkin madde içeren SLN formülasyonunda (Formülasyon A) etkin madde bakımından zengin kabuk modeli olduğundan, klotrimazolün Formülasyon B'ye göre daha çabuk salındığı; Formülasyon C'de ise, lipid matrisin sıvı yapısı nedeniyle, daha hızlı bir salım gözlemlendiği bildirilmiştir (23).

Mei ve ark. (2003), romatoid artrit gibi enflamatuar ve otoimmün hastalıkların tedavisinde kullanılan, immünosupresif ve antienflamatuar etkiye sahip bir etkin madde olan Triptolid (TP)'in topikal yolla uygulanması için, mikroemülsiyonların ve SLN'lerin kullanımını karşılaştırmışlar ve SLN dispersiyonlarının ve mikroemülsiyonların, triptolidin deriden penetrasyonunu etkin bir şekilde artırabildiğini belirtmişlerdir. Karragenle indüklenen sıçan pençe ödem testinde, SLN dispersiyonunun antienflamatuar aktivitesinin mikroemülsiyonunkinden daha güçlü olduğu; ancak, CFA (complete Freund's adjuvant) ile indüklenen pençe ödeminde tam tersi sonuçların elde edildiği gözlenmiştir (24).

SLN'lerin Kozmetik Uygulamaları:

SLN'ler, kozmetik uygulamalar için umut verici taşıyıcı olmalarını sağlayan bazı özelliklere sahiptirler (25):

- 1- Retinol ve α -tokoferol gibi stabilitesi iyi olmayan bileşikleri kimyasal bozunmaya karşı korumaktadırlar.
- 2- Üretilen SLN'nin tipine bağlı olarak, kozmetik aktif bileşenlerin kontrollü salımını sağlamaktadırlar.
- 3- Deriye uygulandıklarında bir film tabakası oluşturarak örtücü etki göstermektedirler.
- 4- UV bloke edici özellikleri vardır. Partiküler özellikleri nedeniyle UV ışığını etkin bir şekilde yansıtarak, fiziksel güneş filtresi (sunscreen) olarak rol oynarlar. Ayrıca, moleküler güneşten koruyucu ajanlar için taşıyıcı olarak kullanılabilirler. Bu, uzun süreli stabil formülasyonların elde edilmesini sağlar. Ayrıca UV bloke edici etkinin artmasına

ve formülasyondaki güneşten koruyucu madde konsantrasyonunun azaltılmasına imkan verirler (19).

Wissing ve Müller (2003), de Vringer tarafından geliştirilen bir *in vitro* okluzyon testini kullanarak, SLN'nin okluzif etkisi ile partikül büyüklüğü arasındaki ilişkiyi araştırmışlar ve 400 nm'nin altındaki partikül büyüklüklerinde yüksek okluzyon faktörlerinin (F=50-60) elde edilebildiğini belirlemişlerdir. Buna ek olarak, SLN'nin deri hidrasyonu üzerindeki etkisi *in vivo* olarak da araştırılmıştır. SLN içeren kremin 14 gün içinde deri hidrasyonunda %29 oranında artışa neden olduğu, plasebo krem ile %21'lik bir artış sağlandığı; 28 gün sonra bu değerlerin, SLN içeren krem için %32'e ve plasebo için %24'e çıktığı bulunmuştur. Çalışmada ayrıca, SLN'lerin UV bloke etme yeteneğini *in vitro* olarak araştırmak için, Diffey tarafından geliştirilen Transpore testi kullanılmıştır. SLN'deki katı partiküllerin, sıvı emülsiyon damlacıklarından daha güçlü UV ışını dağıtıcısı olmaları nedeniyle, her iki SLN formülasyonunun da, karşılık gelen emülsiyonlardan daha etkin olduğu bulunmuştur. Lipid matris içinde hapsedilmiş oksibenzon içeren formülasyonlar için de aynı analizler yapılmış ve benzer sonuçlar elde edilmiştir. Absorbsiyon seviyesi korunarak, oksibenzon konsantrasyonunun %50 oranında azaltılmasının mümkün olabildiği belirtilmiştir (25).

Wissing ve Müller (2002), yapmış oldukları bir başka çalışmada, SLN'nin, oksibenzonun salımı ve perkütan absorpsiyonu üzerine etkisini, klasik Y/S emülsiyonu ile kıyaslayarak araştırmışlardır. Bunun için, lipid fazın %10'u konsantrasyona kadar oksibenzon içeren, fizikokimyasal olarak stabil SLN dispersiyonlar ve nanoemülsiyonlar üretmişlerdir. Membransız model ile yapılan *in vitro* salım deneyi sonucunda, sıvı emülsiyon damlacıklarından difüzyonun, katı kristal lipide göre daha çabuk gerçekleştiği görülmüştür. Salım hızının, formülasyondaki oksibenzon konsantrasyonuna da bağlı olduğu belirlenmiştir. Yüksek etkin madde (%10) yüklemesinin, söz konusu formülasyonlarda etkin madde bakımından zengin çekirdek modeli oluşması nedeniyle, difüzyon hızını %50'e kadar azalttığı; daha düşük etkin madde yüklemesinin (%5) ise, etkin madde bakımından zengin kabuk modelinin oluşumu sonucunda hızlı etkin madde salımına (burst effect) neden olduğu belirlenmiştir. Çalışmada ayrıca, *in vivo* olarak deriden penetrasyonu tayin etmek için, bant ile soyma (tape stripping) yöntemi kullanılmıştır. %5 oksibenzon içeren formülasyonların penetrasyon hızları SLN için % 4.4 ± 0.14 ve emülsiyon için % 5.48 ± 0.19 olurken; %10 oksibenzon içeren formülasyonların penetrasyon hızları ise SLN için % 1.73 ± 0.02 ve emülsiyon için % 3.35 ± 0.04 olmuştur. Bu sonuçların da, emülsiyon damlacıklarının sıvı, SLN partiküllerinin katı karakteri nedeniyle elde edildiği; ayrıca, suyun buharlaşması ile SLN formülasyonlarının deri üzerinde bir film tabakası oluşturduğu ve güneşten koruyucu ajan moleküllerinin bu film tabakası içinde sabitlendiği gösterilmiştir (26).

Sıvı SLN dispersiyonları, düşük bir viskoziteye (yaklaşık 100 mPas) sahiptir. Bu nedenle, arzu edilen yarı katı kıvama sahip bir topikal uygulama formu elde etmek için, sıvı SLN dispersiyonunun, hidrojel veya kremler gibi uygun topikal dozaj şekli içine yüklenmesi gerekmektedir. Ancak bu durum pek çok dezavantajı da beraberinde getirmektedir (27-29):

- Bu üretim işlemi çok adımlı ve vakit alıcı bir işlemdir. Çünkü, SLN dispersiyonu ve dermal ilaç taşıyıcının ayrı ayrı üretilmesi gerekmektedir.
- Geleneksel SLN dispersiyonları, yaklaşık %10-20 lipid ve % 80-90 su içermektedir. Bu nedenle, bunların topikal bir dozaj formu içine yüklenmeleri sınırlıdır. Bu durum, etkin madde yüklemesini de sınırlamaktadır.
- SLN dispersiyonu ile, hidrojel veya krem bileşenleri (jel yapıcı ajanlar, emülgatörler gibi) arasında geçimsizlik meydana gelebilir.
- Topikal formülasyonlardaki yardımcı maddelerin toplam miktarı çok yüksektir.

Bu dezavantajlardan kaçınmak için, yarı katı SLN dispersiyonlarının üretiminde yeni ve tek adımlı bir üretim işlemi geliştirilmiş ve % 10-20 lipid içeren SLN dispersiyonlarının yerine, % 30-50 gibi daha yüksek bir lipid içeriği kullanılmıştır (27-29).

Lippacher ve ark. (2001), % 20-40 Precifac ATO (setil palmitat), % 5 sukroz yağ asidi esteri ve bidistile sudan oluşan SLN'ler hazırlamışlardır. Sadece lipid konsantrasyonları farklı olan lipid dispersiyonlarının ortalama partikül büyüklüğü ve polidispersite indeksi (PI) tayin edilmiştir. Yüksek lipid içeriğine sahip SLN'lerin, sıvı bir dispersiyon olan % 20 SLN dispersiyonu ile kıyaslandığında, partikül büyüklüğü bakımından çok büyük bir farklılık göstermediği bulunmuştur. Ayrıca PI değeri de çok az bir artış göstermiş; ancak, 0.3 değerinin altında kalmıştır. Dispersiyonun artan lipid içeriğine ve yarı katı özelliğine rağmen, koloidal büyüklüğün hala korunmakta olduğu belirlenmiştir. Çalışmada ayrıca, %40 SLN dispersiyonuna uygulanan salınımlı frekans tarama testi (oscillation frequency sweep test) sonucunda, elastik modül değerinin viskoz modül değerinden çok daha büyük olduğu bulunmuştur. Bu sonuç, elde edilen yarı katı dispersiyonların jel benzeri bir yapıya sahip olduğunu göstermiştir (27).

d) Pulmoner uygulama:

Pulmoner yolla etkin madde taşınması için SLN'lerin kullanımı ile ilgili çok az çalışma yayınlanmıştır (15). SLN'ler, küçük boyutta olmaları ve nefes verme ile hemen dışarı atılmaları nedeniyle, toz halde pulmoner yolla uygulanmazlar. Sulu dispersiyon şeklinde nebulizör ile

verilirler. Bronşlarda ve alveollerde depolanır ve kontrollü olarak etkin maddeyi salarlar (14). Ayrıca SLN'ler, akciğerlerdeki makrofajlara ilaç hedeflemede de kullanılabilirler (15).

e) Oküler uygulama:

SLN'ler, adhezyon sonucunda gözde daha uzun süre kalarak, görüntüyü bozmadan, yüksek ilaç konsantrasyonunun elde edilmesini sağlamaktadırlar. Bu alanda da sınırlı sayıda çalışma vardır (14).

Cavalli ve ark. (2002), yaptıkları çalışmada Tobramisin'in (TOB) oküler uygulanması için taşıyıcı olarak SLN'lerin kullanımını değerlendirmişlerdir. Mikroemülsiyon yöntemi ile hazırladıkları SLN dispersiyonunun preoküler alıkonmasını, oküler toleransını, potansiyel irritasyonunu ve oküler biyoyararlanımını incelemişlerdir. SLN dispersiyonunun stabil bir prekorneal film oluşturduğunu ve gözde uzun süre kaldığını, mükemmel bir şekilde tolere edildiğini ve oküler irritasyona neden olmadığını bildirmişlerdir. Her bir tavşanın bir gözünün alt konjunktival kesesine 100 µl TOB-SLN formülasyonu veya referans göz damlası uygulayarak, oküler biyoyararlanım çalışmasını gerçekleştirmişlerdir. TOB-SLN'nin uygulanmasından sonra göz salgısında, referans göz damlasına kıyasla önemli ölçüde daha yüksek TOB seviyesi sağlanmıştır. Referans taşıyıcıya göre SLN dispersiyonunun, C_{max} değerinde 1.5 kat ve AUC değerinde 4 kat artış sağladığı bildirilmiştir (30).

f) Aşılarında adjuvan olarak uygulanmaları:

Adjuvanlar, aşılarda immün cevabı artırmak için kullanılmaktadır. Yıllardır sıklıkla, alüminyum hidroksit partiküllerinden oluşan adjuvanlar kullanılmaktadır; ancak, bunların yan etkileri vardır (15). Etkin madde yüklenmemiş SLN'ler aşı adjuvanları olarak kullanılabilirlerdir. Ayrıca, SLN matrisinde hapsedilen veya yüzeyinde adsorblanan antijenler de, artırılmış bir immünolojik cevabı indüklemektedirler (7). Geleneksel adjuvanlara kıyasla, SLN'ler, biyodegradasyona uğramaları ve vücut tarafından iyi tolere edilebilmeleri gibi avantajlara sahiptir (15).

Normalde, ilaç taşıyıcı sistemler olarak kullanılan SLN'lerin, immünolojik ve alerjik reaksiyonlar göstermesi arzu edilmeyen bir durumdur. Formülasyonda kullanılacak bazı katkı maddeleri ve lipidler sayesinde veya üretim yöntemi ile, immünolojik reaksiyon yaratacak SLN'lerin üretimi sağlanabilmektedir (7).

g) İlaç Hedefleme:

SLN'ler, partikül büyüklüğü, yüzey yükü ve yüzey hidrofobisitesi gibi özellikleri nedeniyle makrofajlar tarafından tanınmaktadır. Bu nedenle, Pluronik F188 gibi polioksietilen polipropilen blok kopolimerleri kullanılarak, retikuloendotelial sistem tarafından yakalanmadan, kanda uzun süre sirkülasyonda kalan SLN'ler (stealth SLN) hazırlanmaktadır. Tersine, herhangi bir işlem görmemiş SLN'nin i.v. enjeksiyonundan sonra taşıyıcı, karaciğerin Kupffer hücrelerinde birirmektedir. Bu sayede, hepatik neoplazmlar ve hepatit gibi hastalıklarda karaciğere hedefleme sağlanabilmektedir. SLN'ler ayrıca, beyine hedefleme için de kullanılabilir. Kan-beyin bariyerinin endotelial hücrelerine yapışmaya aracılık eden apolipoproteinler gibi kan proteinlerinin, partikül yüzeyine adsorbsiyonu ile SLN'nin beyin tarafından alınması sağlanmaktadır (7).

SONUÇ

SLN'ler toksikolojik olarak kabul edilebilir olmaları, etkin maddenin kontrollü salımına ve ilaç hedeflemesine olanak sağlamaları ve endüstriyel boyutta üretilibilmeleri gibi avantajları sayesinde, hem farmasötik hem de kozmetik alanda oldukça fazla ilgi gören koloidal ilaç taşıyıcı sistemlerdir.

KAYNAKLAR

1. Schwarz, C., Mehnert, W., Lucks, J.S., Müller, R.H. "Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery. I. Production, characterization and sterilization" *J. Cont. Rel.*, **30**, 83-96 (1994)
2. Venkateswarlu, V., Manjunath, K. "Preparation, characterization and in vitro release kinetics of clozapine solid lipid nanoparticles" *J. Cont. Rel.*, **95**, 627-638 (2004)
3. Lim, S-J., Kim, C-K. "Formulation parameters determining the physicochemical characteristics of solid lipid nanoparticles loaded with all-trans retinoic acid" *Int. J. Pharm.*, **243**, 135-146 (2002)
4. Kim, B-D., Na, K., Choi, H-K. "Preparation and characterization of solid lipid nanoparticles (SLN) made of cacao butter and curdlan" *Eur. J. Pharm. Sci.*, **24**, 199-205 (2005)
5. Hu, F.Q., Yuan, H., Zhang, H.H., Fang, M. "Preparation of solid lipid nanoparticles with clobetasol propionate by a novel solvent diffusion method in aqueous system and physicochemical characterization" *Int. J. Pharm.*, **239**, 121-128 (2002)

6. Schwarz, C., Mehnert, W. "Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery II. drug incorporation and physicochemical characterization" *J. Microencapsulation*, **16(2)**, 205-213 (1999)
7. Wissing, S.A., Kayser, O., Müller, R.H. "Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery" *Adv. Drug Del. Rev.*, **56**, 1257-1272 (2004)
8. Müller, R.H., Keck, C.M. "Challenges and solutions for the delivery of biotech drugs – a review of drug nanocrystal technology and lipid nanoparticles" *Journal of Biotechnology*, **113**, 151-170 (2004)
9. Mehnert, W., Mäder, K. "Solid lipid nanoparticles production, characterization and applications" *Adv. Drug Del. Rev.*, **47**, 165-196 (2001)
10. Demirel, M., Yazan, Y. "Katı lipid nanopartiküller (SLN)" *FABAD J. Pharm. Sci.*, **25**, 167-179 (2000)
11. Freitas, C., Müller, R. H. "Spray drying of solid lipid nanoparticles (SLNTM)" *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **46**, 145-151 (1998)
12. Bummer, P.M. "Physical chemical considerations of lipid-based oral drug delivery- solid lipid nanoparticles" *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, **21(1)**, 1-19 (2004)
13. Cavalli, R., Caputo, O., Carlotti, M. E., Trotta, M., Scarnecchia, C., Gasco, M.R. "Sterilization and freeze drying of drug-free and drug-loaded solid lipid nanoparticles" *Int. J. Pharm.*, **148**, 47-54 (1997)
14. Kaş, H.S. "İlaç taşıyıcı partiküler sistemler" in *Kontrollü Salım Sistemleri*, Gürsoy, A.Z. (Ed.), Bölüm 4. (2002)
15. Müller, R.H., Mäder, K., Gohla, S. "Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery-a review of the state of the art" *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **50**, 161-177 (2000)
16. Trotta, M., Debernardi, F., Caputo, O. "Preparation of solid lipid nanoparticles by a solvent emulsification-diffusion technique" *Int. J. Pharm.*, **257**, 153-160 (2003)
17. Hou, D-Z., Xie, C-S., Huang, K-J., Zhu, C-H. "The production and characteristics of solid lipid nanoparticles (SLNs)" *Biomaterials*, **24**, 1781-1785 (2003)
18. Jennings, V., Gohla, S. "Comparison of wax and glyceride solid lipid nanoparticles (SLN[®])" *Int. J. Pharm.*, **196**, 219-222 (2000)

19. **Müller, R.H., Radtke, M., Wissing, S.A.** “Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations” *Adv. Drug Del. Rev.*, **54**, Suppl. 1, S131-S155 (2002)
20. **Schwarz, C., Mehnert, W.** “Freeze drying of drug-free and drug-loaded solid lipid nanoparticles (SLN)” *Int. J. Pharm.*, **157**, 171-179 (1997)
21. **Hu, L-D., Tang, X., Cui, F-D.** “Solid lipid nanoparticles (SLNs) to improve oral bioavailability of poorly soluble drugs” *J. Pharm. Pharmacol.*, **56**, 1527-1535 (2004)
22. **Jenning, V., Schäfer-Korting, M., Gohla, S.** “Vitamin A-loaded solid lipid nanoparticles for topical use: drug release properties” *J. Cont. Rel.*, **66**, 115-126 (2000)
23. **Souto, E.B., Wissing, S. A., Barbosa, C.M., Müller, R. H.** “Development of a controlled release formulation based on SLN and NLC for topical clotrimazole delivery” *Int. J. Pharm.*, **278**, 71-77 (2004)
24. **Mei, Z., Chen, H., Weng, T., Yang, Y., Yang, X.** “Solid lipid nanoparticle and microemulsion for topical delivery of triptolide” *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **56**, 189-196 (2003)
25. **Wissing, S.A., Müller, R.H.** “Cosmetic applications for solid lipid nanoparticles (SLN)” *Int. J. Pharm.*, **254**, 65-68 (2003)
26. **Wissing, S.A., Müller, R.H.** “Solid lipid nanoparticles as carrier for sunscreens: in vitro release and in vivo skin penetration” *J. Cont. Rel.*, **81**, 225-233 (2002)
27. **Lippacher, A., Müller, R.H. and Mäder, K.** “Preparation of semisolid drug carriers for topical application based on solid lipid nanoparticles” *Int. J. Pharm.*, **214**, 9-12 (2001)
28. **Lippacher, A., Müller, R.H. and Mäder, K.** “Semisolid SLN dispersions for topical application: influence of formulation and production parameters on viscoelastic properties” *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **53**, 155-160 (2002)
29. **Lippacher, A., Müller, R.H. and Mäder, K.** “Liquid and semisolid SLN dispersions for topical application: rheological characterization” *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **58**, 561-567 (2004)
30. **Cavalli, R., Gasco, M.R., Chetoni, P., Burgalassi, S., Saettone, M.F.** “Solid lipid nanoparticles (SLN) as ocular delivery system for tobramycin” *Int. J. Pharm.*, **238**, 241-245 (2002)

Received: 16.05.2006

Accepted: 23.08.2006