

# Nifedipin-Yüklü Partiküler İlaç Taşıyıcı Sistemlere Genel Bir Bakış

Received : 25.09.2014

Revised : 20.02.2015

Accepted : 16.04.2015

**Emrah Özakar\*, Evren Algın Yapar\*\*, Meltem Çetin\*o**

## Giriş

Nifedipin (NF) genel olarak antianjinal ve antihipertansif etkilerinden dolayı özellikle Prinzmetal anjina pektoris ve hipertansiyon tedavisinde tercih edilen bir moleküldür. Diğer endikasyonları arasında Raynaud Sendromu, özefagusun ağrılı spazmı, pulmoner hipertansiyon, kronik anal fissür, hemoroid ve cilt yaralanmaları önem kazanmıştır. Göze topikal uygulama sonrası ise göz içi basıncını doz bağımlı olarak 4 saat veya daha uzun süreli olarak düşürmektedir. Ayrıca, erken (preterm) doğumun engellenmesinde etkili bir tokolitik ajandır ve bu nedenle Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün esansiyel ilaçlar listesinde yer almaktadır<sup>1-6</sup>.

Dihidropridin grubuna ait bir kalsiyum kanal blokeri olan NF öncelikli olarak voltaja bağımlı L-tipi (yavaş) kalsiyum kanallarını bloke ederek kalp kası ve damar düz kasında kalsiyum iyonunun hücre içine girişini inhibe eder<sup>7-11</sup>. Bu inhibisyon sonucunda, koroner ve periferik arterlerde vazodilatasyon gerçekleşir, koroner arter spazmı giderilir, kalp kası kasılması önlenir ve kalp kası fonksiyonları için gerekli enerji tüketimi/oksijen gereksinimi azaltılmış olur<sup>1,11</sup>.

NF'nin hemen salım yapan (immediate-release; IR) dozaj şekillerinin kullanılması sonucu kontrolsüz bir hipotansiyon, senkop, kalp bloğu, inme, sinüs aresti, serebral iskemi, ventriküler fibrilasyon, baş dönmesi, halsizlik ve taşikardi gibi yan etkiler oluşmaktadır<sup>12-14</sup>. NF'nin kronik yan etkileri arasında ise diş eti büyümesi dikkat çekmektedir<sup>15</sup>. NF'nin akut yan etkilerinin azaltılmasına yönelik değiştirilmiş salım yapan dozaj şekillerinin geliştirilmesi ile ilgili çalışmalar yapılmış ve ticari ürün olarak piyasaya sunulmuştur<sup>14</sup>.

\* Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Erzurum

\*\* T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Söğütözü Mahallesi, 2176. Sokak, No:5, 06520 Çankaya-Ankara

o Yazışma Yapılacak Yazar: E-posta: melcetin@hotmail.com;melcetin@atauni.edu.tr

NF'nin uzun süreli salım yapan formülasyonları, refleks sempatik sinir sistemi aktivasyonunu önlemek ve terapötik etkinliği uzatmak amacıyla yoğun bir şekilde tercih edilmektedir<sup>16</sup>. Amerikan Gıda ve İlaç Kurumu (US Food and Drug Administration; FDA)'na ait, terapötik eşdeğerlik değerlendirmeleriyle onaylanmış ilaçları içeren ve Turuncu Kitap (Orange Book: Approved Drug Products with Therapeutic Equivalence Evaluations) olarak da bilinen listede kayıtlı olan NF preparatları Tablo 1'de özetlenmiştir<sup>17</sup>.

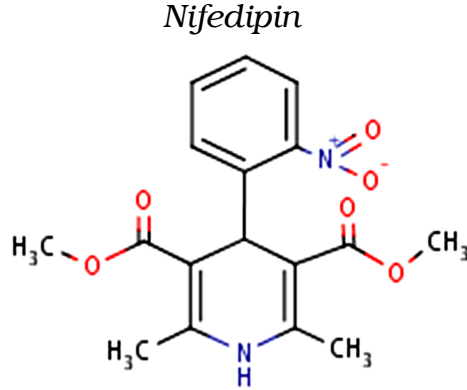
**TABLO 1**

Turuncu Kitap'ta kayıtlı olan nifedipin preparatları<sup>17</sup>.

<b>Etkin Madde</b>	<b>Dozaj Formu; Uygulama Yolu</b>	<b>Dozlar</b>	<b>Tescilli İsmi</b>	<b>Başvuru Sahibi</b>
Nifedipin	Kapsül; Oral	10 mg; 20 mg	Nifedipine	ACTAVIS ELIZABETH
Nifedipin	Kapsül; Oral	10 mg; 20 mg	Nifedipine	EMCURE PHARMS USA
Nifedipin	Kapsül; Oral	10 mg	Nifedipine	INTERGEL PHARM
Nifedipin	Kapsül; Oral	10 mg	Procardia	PFIZER
Nifedipin	Tablet, Uzatılmış Salım; Oral	30mg; 60 mg; 90 mg	Adalat CC	BAYER HEALTHCARE
Nifedipin	Tablet, Uzatılmış Salım; Oral	30mg; 60 mg	Afedıtab CR	WATSON LABS
Nifedipin	Tablet, Uzatılmış Salım; Oral	30mg; 60 mg; 90 mg	Nifedipine	MATRIX LABS LTD
Nifedipin	Tablet, Uzatılmış Salım; Oral	30mg; 60 mg; 90 mg	Nifedipine	MYLAN
Nifedipin	Tablet, Uzatılmış Salım; Oral	30mg; 60 mg; 90 mg	Nifedipine	OSMOTICA PHARM
Nifedipin	Tablet, Uzatılmış Salım; Oral	30mg; 60 mg; 90 mg	Nifedipine	PAR PHARM
Nifedipin	Tablet, Uzatılmış Salım; Oral	30mg; 60 mg; 90 mg	Nifedipine	TWI PHARMS INC
Nifedipin	Tablet, Uzatılmış Salım; Oral	30mg; 60 mg; 90 mg	Nifedipine	VALEANT INTL
Nifedipin	Tablet, Uzatılmış Salım; Oral	30mg; 60 mg; 90 mg	Procardia XL	PFIZER

Bilimsel ve teknolojik gelişmeler doğrultusunda NF-yüklü ilaç taşıyıcı sistemlerle ilgili çalışmalar devam etmekte olup bu derlemede NF-yüklü partiküller ilaç taşıyıcı sistemler (mikro/nanokapsül, polimerik mikro/nanopartikül ve lipit yapılı nanopartiküller) ile ilgili güncel çalışmalara yer verilmesi

amaçlanmıştır. Bu kapsamda, öncelikle, NF'nin fizikokimyasal ve fizyolojik özelliklerinden kısaca bahsedilmiş ve devamında ise söz konusu partiküler ilaç taşıyıcı sistemlerle ilgili yapılmış çalışmalara yer verilmiştir.



**Şekil 1**

NF'nin kimyasal yapısı<sup>1</sup>.

NF, dimetil 1,4-dihidro-2,6-dimetil-4-(2-nitrofenil)-piridin-3,5-dikarboksilat kimyasal yapısına sahip (Şekil 1), molekül ağırlığı 346.3 olan sarı renkli, kokusuz, tatsız ve kristal yapılu bir tozdur. Erime derecesi 172°C-174°C aralığında ve pKa değeri 3.93 olan lipofilik özellikte bir etkin maddedir<sup>1-4</sup>. NF, ışığa maruziyetinde kimyasal degradasyona uğramakta, gün ışığı altında nitrozo türevlerine, UV ışığı altında da nitro türevlerine dönüşmektedir. Nitrozo türevlerinin Ca<sup>+2</sup> kanal blokajını tersine çevirdiği, nitro türevlerinin de ciltteki fotosentiviteyi tetiklediği bilinmektedir<sup>18</sup>.

NF'nin sudaki çözünürlüğü oldukça düşüktür (< 10 mg/L)<sup>14</sup>. Bu nedenle, NF'nin çözünürlüğünü artırmak, hızlı çözünmesini sağlamak üzere çeşitli siklodekstrin türevleri kullanılarak inklüzyon kompleksleri hazırlanmış, sodyum lauril sülfat gibi yüzey aktif maddelerle çalışılmış, katı dispersiyonları, nanokristaller ve sıvı-katı kompakt yapıları hazırlanmıştır<sup>19-23</sup>.

NF gastrointestinal sistemden hızlı ve neredeyse tamamen emilmesine rağmen yoğun bir hepatik ilk geçiş etkisine uğramaktadır. Yumuşak jelatin kapsüllerin oral uygulanması sonrası NF'nin biyoyararlanımı %45-75 oranında olmakta ve maksimum plazma konsantrasyonuna 30 dakikada ulaşmaktadır. NF, 30-180 mg'lık doz aralığında kullanıldığında sıfırıncı derece kinetik sergilemektedir. Ayrıca, NF plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanmaktadır (yaklaşık %92-98). Eliminasyon yarı ömrü dozaj formuna bağlı

olarak oral kapsül için 2-3.4 saat, i.v. uygulama sonrası ise 1.3-1.8 saat ve oral uzatılmış salım tabletleri için ise 6-11 saat olarak saptanmıştır<sup>1,14,16,24,25</sup>. NF'nin hızlı absorpsiyonu ve kısa süreli eliminasyonu sonucu plazma ilaç konsantrasyonunda önemli dalgalanmalar meydana gelmekte ve bu nedenle konvansiyonel (alışılmış) dozaj şekillerinin günde 2-3 kez uygulanması gerekliliği ortaya çıkmaktadır<sup>24</sup>. Günde bir kez kullanılan oral uzatılmış salım tabletleri için uygulamayı takiben 2.5-6 saatte maksimum NF plazma konsantrasyonuna ulaşılmaktadır. NF'nin hemen salım yapan kapsül formülasyonu yerine uzatılmış salım tabletleri kullanıldığında NF biyoyararlanımı %84-89 aralığında saptanmaktadır<sup>26-29</sup>.

NF, metabolitleri halinde başlıca böbrekler (%60-80) yoluyla ve geri kalanı ise safra yoluyla feçesle atılır. İdrarda bulunan değişmemiş madde miktarı % 0.1'den azdır<sup>25-29</sup>. NF, Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (Biopharmaceutics Classification System-BCS)'ne göre Sınıf II (düşük çözünürlük/yüksek permeabilite) ve Biyofarmasötik İlaç Dispozisyon Sınıflandırma Sistemi (Biopharmaceutics Drug Disposition Classification System-BDDCS)'ne göre ise düşük çözünürlük ve yüksek metabolizasyon özelliklerinden dolayı Sınıf II'de yer almaktadır<sup>30</sup>.

### *Nifedipin-yüklü Partiküler İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Yer Aldığı Çalışmalar*

Konvansiyonel dozaj şekillerinin kullanıldığı geleneksel tıbbi tedavide etkin madde plazma düzeyini terapötik pencere aralığında tutmak için gün içinde birkaç kez etkin madde dozunu tekrarlamak gerekmektedir. Dozlama sıklığının fazla olması plazma konsantrasyon-zaman grafiğinde dalgalanmalara (etkin maddenin plazma konsantrasyonu etkisiz alana düşebilir veya toksik alana çıkabilir) neden olur. Değiştirilmiş salım sistemleri hemen salım yapan dozaj şekillerinin bu sakıncalarını ortadan kaldırmak/azaltmak amacıyla geliştirilmiştir. Etkin madde salım yerinin/hızının kontrol edilmesine imkân sağlaması [geciktirilmiş salım ve uzatılmış salım (kontrollü salım, sürekli salım)], yan ve istenmeyen etkilerin azaltılması, hasta uyuncunun artırılması, terapötik etkinliğin artırılması ve dozlama sıklığının düşürülmesi gibi pek çok üstünlüğe sahip olan değiştirilmiş salım sistemlerinin tıbbi tedavilerdeki önemi giderek artmaktadır<sup>31-33</sup>.

NF'nin çözünürlüğünü artırmak, foto-oksidasyonunu önlemek, salım hızını/yerini kontrol etmek, yan etkilerini azaltmak ve hasta uyuncunu artırmak amacıyla değiştirilmiş salım sistemleri geliştirilmiştir ve geliştirilmeyede devam edilmektedir. Bu bölümde, nifedipin-yüklü partiküler ilaç taşıyıcı sis-

temler (mikropartiküler ve nanopartiküler sistemler) ile ilgili yapılmış çalışmalara yer verilecektir.

#### a- NF-yüklü Mikropartiküler Sistemler (Mikrokapsül ve Mikroküre)

Mikropartiküler sistemlerin ilki olarak düşünülen mikrokapsüller sıvı, katı, yarı-katı haldeki çekirdek maddesinin çeper maddesi ile kaplanması sonucu oluşan mikron boyutlu taşıyıcılardır. Mikrokapsülleme çok çeşitli amaçlarla yapılırsa da bunlar arasında etkin madde stabilitesinin artırılması ve etkin madde salımının kontrol edilebilmesi amaçları öne çıkmaktadır. Çeper maddesinin konsantrasyonu, çeper kalınlığı ve mikrokapsül boyutu etkin madde salımının kontrol edilmesinde dikkat edilmesi gereken önemli faktörlerdir<sup>34</sup>.

NF'nin sudaki çözünürlüğünü artırmak ve salım hızını kontrol etmek üzere mikrokapsül formülasyonları geliştirilmiştir. Bu amaçla, Li ve ark.<sup>35</sup> oral uygulamaya yönelik NF-yüklü jelatin mikrokapsüllerini püskürterek kurutma yöntemiyle hazırlamışlar ve ayrıca, NF salımını kontrol etmek üzere hazırlanan bu mikrokapsülleri Eudragit L ile kaplamışlardır (kaplı- mikrokapsüller). Metakrilik asit kopolimerleri olan Eudragit®'ler farklı amaçlarla (koruyucu kaplamada ve etkin madde salım yerini/hızını kontrol etmek için) kullanıma imkân verecek şekilde kimyasal modifikasyonları yapılabilen polimerlerdir. Eudragit® L metakrilik asitle metakrilatların anyonik kopolimeridir ve geciktirilmiş salım elde etmek üzere kullanılmaktadır<sup>36</sup>. Gerçekleştirilen çözünme testlerinde, kaplanmamış jelatin mikrokapsülleri halinde NF'nin çözünme hızının saf NF'ye göre daha yüksek olduğu, ilk 30 dakikada mikrokapsüllerden ortama geçen çözünmüş NF miktarının saf NF'ye göre 5 kat daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu durumun NF'nin mikrokapsül içerisinde çözünmüş/dağılmış halde olmasından kaynaklandığı, dolayısıyla, jelatin mikrokapsüllerinin sudaki çözünürlüğü zayıf olan NF'nin çözünme hızının düzeltilmesinde faydalı olabileceği belirtilmiştir. Jelatin mikrokapsülleri ile karşılaştırıldığında ise kaplı-mikrokapsüllerde Eudragit L'nin enterik özelliğe ikinci bir çeper görevi gördüğü ve NF salım hızını belirgin derecede yavaşlattığı bildirilmiştir. Saf NF ve NF-yüklü Eudragit kaplı jelatin mikrokapsülleri *in vivo* olarak değerlendirildiğinde ise kaplı-mikrokapsül uygulanan (oral yolla) hayvanlarda uygulamanın 4. saatine kadar anlamlı bir şekilde daha yüksek plazma NF konsantrasyonunun tespit edildiği bildirilmiştir<sup>35</sup>.

Benzer bir çalışmada ise, NF salımını kontrol etmek üzere iki farklı polimer [etil selüloz (EC) ve Euragit RL] kullanılarak hazırlanmış olan mikrokapsüllerin ve saf NF'nin *in vivo* etkinliği incelenmiştir<sup>37</sup>. Bu çalışma sonucunda, saf NF uygulandığında 2. saatin sonunda plazma NF konsantrasyonu hız-

la düşmeye başlarken en iyi sonuç EC mikrokapsülleri için elde edilmiş ve plazma NF konsantrasyonu 8. saatin sonunda çok yavaş bir düşüşle 24 saat boyunca sürdürülmüştür. Bu çalışma ile NF'nin düşük oral biyoyararlanımının formülasyon halinde artırıldığı, saf NF'nin ise yoğun ilk geçiş etkisine uğradığı farmakokinetik parametrelerin [Cmax, tmax, AUC, ortalama kalış süresi (mean residence time; MRT)] incelenmesi ile ortaya konmuştur<sup>37</sup>.

Diğer bir partiküler taşıyıcı sistem ise monolitik yapıda olan mikroküre/mikropartiküllerdir. Polimerik mikroküreler çok farklı etkin maddelerin hapsedilmesine imkân tanımları, biyoyumlu olmaları ve etkin maddenin salım özelliklerinin değiştirilmesine olanak sağlamaları açısından ideal taşıyıcı sistemlerdir. Özellikle, proteinler ve aminopolisakkaritler doğal polimerler olarak, poliesterler ise sentetik polimerler olarak yoğun bir şekilde bu sistemlerin hazırlanmasında kullanılmaktadır<sup>34,38</sup>.

NF içeren mikropartiküler sistemlerle ilgili çalışmalar genellikle NF'nin salım hızını kontrol etmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, Chuo ve ark.,<sup>39</sup> tarafından NF'nin sürekli salımını sağlamak üzere albümin mikroküreleri geliştirilmiş ve mikrokürelerin hazırlanması sırasında kullanılan kimyasal çapraz bağlayıcı (glutaraldehit) miktarının yükleme kapasitesi, *in vitro* salım hızı ve mikrokürelerin biyodegradasyonu üzerine etkileri incelenmiş; çapraz bağlayıcı miktarı artışı ile yükleme kapasitesinin arttığı, NF salımının ve mikroküre biyodegradasyonunun ise daha yavaş gerçekleştiği saptanmıştır.

Doğal bir polimer olan kitosan da NF-yüklü mikrokürelerin hazırlanması için kullanılmıştır. Katyonik yapıya sahip olan kitosan biyoparçalanabilir, biyoyumlu ve biyoadeziv özellikte bir polimerdir. Ayrıca, toksik ve iritan olmaması da diğer önemli üstünlükleridir. Bu özelliklerinden dolayı, Dhawan ve ark.,<sup>40</sup> kitosanı kullanarak NF içeren mikroküreleri farklı yöntemler (termal çapraz bağlanma, glutaraldehit ile çapraz bağlanma, tripolifosfatla (TPP) iyonotropik jelyasyon ve emülsifikasyon-iyonotropik jelyasyon) kullanarak hazırlamışlardır. Yağlı ortamda yüksek sıcaklıklardan dolayı NF'nin çözünürlüğünün arttığı ve buna bağlı olarak da termal çapraz bağlanma yöntemiyle hazırlanan mikroküreler için düşük NF hapsedilme etkinliği değerinin (%43.4) elde edildiği bildirilmiştir. Glutaraldehit ile çapraz bağlanma yönteminde ise glutaraldehit ilavesiyle çapraz bağlanmanın hemen gerçekleştiği ancak elde edilen yapıların tam küresel bir geometriye sahip olmadığı, agregatların oluştuğu saptanmıştır. Bu olumsuzlukların yanı sıra, hazırlanan sistemlerde glutaraldehit kalıntısı kalması/bulunması durumunda mukozal membranlarda irritasyon oluşabileceği de araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır. Bu doğrultuda, glutaraldehitin kullanılmadığı TPP ve emülsifikasyon-NaOH ile jelyasyon yöntemleri denenmiş, TPP kullanılarak jelyasyonla hazırlanan mikroküreler için yüksek yükleme

etkinliği değeri (%78) elde edilmesine rağmen hazırlanan kürelerde asetik asit kalıntısının bulunması ve kürelerin düşük mekanik dayanıklılık göstermesi gibi problemler de tespit edilmiştir. Diğer yöntem olan NaOH ile jelasyon yönteminde ise fiziksel özellikleri uygun, agregasyonun düşük olduğu mikroküreler elde edilmiş ve kitosan konsantrasyonu %2.5 a/h olarak ayarlandığında ise NF yükleme etkinliği değerinin yaklaşık %84 olduğu bulunmuştur. NaOH ile jelasyon yönteminde karıştırma hızı, kitosan ve emülgatör konsantrasyonlarının kritik parametreler olduğu, bu parametrelerin değiştirilmesiyle yüksek yükleme kapasitesine sahip küresel mikrokürelerin elde edilebileceği vurgulanmıştır. Kritik parametrelerden olan emülgatör konsantrasyonu (Span 85) artırıldığında hazırlanan mikrokürelerden NF salımının daha hızlı gerçekleştiği ifade edilmiş ve elde edilen mikrokürelerin çatlak ve çökmüş yüzeylere sahip olması bunun nedeni olarak gösterilmiştir.

Kitosan ile yapılan diğer bir çalışmada ise değişik şişme özelliklerine sahip mikroküreler hazırlamak üzere öncelikle, poliakrilamid-g-kitosan kopolimeri sentezlenmiş, daha sonra, su/yağ emülsiyon yöntemi ve çapraz bağlayıcı (glutaraldehit; 5, 7.5 ve 10 mL) kullanılarak mikroküreler hazırlanmıştır. Hazırlanan mikrokürelerin partikül boyut aralığı 323-463 µm olarak tespit edilmiş, glutaraldehit miktarı artışıyla daha sıkı bir polimer ağı olduğu ve sonuç olarak partikül büyüklüğünün azaldığı bildirilmiştir. Hazırlanan mikroküreler için enkapsülasyon etkinliği değerleri %60-73 aralığında elde edilmiş ve NF yüklenmesi üzerinde çapraz bağlayıcı miktar artışının pozitif yönde bir etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Ayrıca kullanılan kopolimer yapısında akrilamid oranının artmasının ve NF'nin düşük çözünürlüğünün de enkapsülasyon etkinliğinde artışa neden olduğu ifade edilmiştir. Elde edilen salım eğrilerinde ise tüm formülasyonlar için NF salımının yaklaşık 10 saat devam ettiği, çapraz bağlayıcı miktar artışıyla polimer zincir hareketliliğinin azaldığı ve salım hızının düştüğü bildirilmiştir<sup>41</sup>.

Heterojen yapıli bir polisakkarit olan pektin, protein yapısında olan jelatin ve ayrıca selüloz türevleri de NF-yüklü mikrokürelerin hazırlanması amacıyla kullanılmıştır. NF'nin foto-oksidasyonu üzerinde mikroenkapsülasyon işleminin etkilerini incelemek üzere EC, jelatin, pektin ve EC-titanyum dioksit kullanılarak mikroküre formülasyonları hazırlanmış ve ışığa maruziyet sonrası NF'nin degradasyon ürünleri saptanmıştır. Hapsedilme etkinliği açısından en uygun formülasyonların EC (%83 ) ve jelatin mikroküreleri (%88) olduğu tespit edilmiştir. Pektin ve EC:titanyum dioksit (90:10) mikroküreleri için daha düşük hapsedilme etkinliği değerleri (sırasıyla %60 ve %56) bulunmuş olmasına rağmen foto-oksidasyona karşı NF'nin korunmasında en etkin formülasyonların ise bu mikroküreler olduğu saptanmıştır<sup>42</sup>.

Cilurzo ve ark.,<sup>43</sup> ise NF-yüklü hızlı çözünen mikropartiküler sistemler geliştirmişlerdir. Bu amaçla, iki farklı polimerden [sodyumpolimetilmetakrilat (NaPMM) ve hidroksipropilmetilselüloz (HPMC)] faydalanmışlar ve farklı NF:polimer oranlarını (25:75; 50:50; 75:25) kullanarak püskürterek kurutma yöntemiyle mikropartikülleri hazırlamışlardır. Kurutma aşamasında kabuk oluşumundan dolayı çözücüye karşı düşük geçirgenlik sonucu kuru üzüm benzeri yapıların oluştuğu ve bu durumun HPMC mikropartiküllerinde daha belirgin olduğu ifade edilmiş ve ayrıca, hazırlanan mikropartiküllerin ortalama partikül boyutlarının 8.6-11.5 µm aralığında olduğu saptanmıştır. HPMC ile hazırlanan sistemlerle karşılaştırıldığında NaPMM kullanılarak hazırlanan sistemlerin daha uzun süre mukoadhezif özellik gösterdiği ve artmış NF çözünme hızı nedeniyle de daha uygun sistemler oldukları belirlenmiştir.

NF'nin sürekli salınımı sağlamak üzere diğer selüloz türevi polimerlerden de faydalanılarak mikropartiküller hazırlanmıştır. Bu tür bir çalışmada EC, EC/hidroksipropilselüloz (HPC) ve EC/HPMC polimerleriyle emülsiyon-çözücü buharlaştırma yöntemi kullanılarak mikroküreler hazırlanmıştır. Bu çalışmada, öncelikle küre hazırlanması sırasında kullanılan organik fazın (polimer+NF+diklorometan) viskozitesi ölçülmüş ve organik faz viskozitesinin EC oranı artışına bağlı olarak yükseldiği, NF/EC oranı artışıyla ise azaldığı belirlenmiştir. Viskozite artışı mikroküre hazırlama veriminde düşüğe neden olmuştur. Viskozite artışıyla hazırlanan mikrokürelerin partikül boyutunun arttığı ve mikroküreye boyutlarının yaklaşık 117-416 µm aralığında saptandığı ifade edilmiştir. EC/HPC ve EC/HPMC mikroküreleri ile karşılaştırıldığında EC mikrokürelerinin daha küresel ve düzgün şekilli olduğu görülmüştür. Tüm formülasyonlar içinse enkapsülasyon etkinliği değerleri %79'un üzerinde tespit edilmiştir. Hazırlanan mikroküre formülasyonlarından ani bir NF salımı gerçekleşmemiştir. Bununla birlikte, NF salımının organik faz viskozitesi ile ilişkili olduğu, yüksek viskoziteli polimer çözeltisi kullanılarak hazırlanan mikrokürelerden NF salımının daha yavaş bir şekilde gerçekleştiği saptanmıştır<sup>44</sup>.

Soppimath ve ark.,<sup>45</sup> tarafından yapılan diğer bir çalışmada ise NF-yüklü mikrokürelerin geliştirilmesi ve uygun yardımcı maddelerle doğrudan basım yöntemiyle tablet haline getirilmesi amaçlanmış ve polimer olarak selüloz türevleri (EC ve selüloz asetat polimerleri) kullanılmıştır. Bu çalışmada, düzgün yüzeyli küresel partiküllerin hazırlandığı, selüloz asetat mikroküreleri için elde edilen partikül boyutu, hapsedilme etkinliği ve sıkıştırılmış dansite değerlerinin sırasıyla 11 µm, %94 ve 0.391 olduğu, EC mikroküreleri içinse sırasıyla 4 µm, %97 ve 0.452 olduğu raporlanmıştır. EC mikrokürelerine (partikül boyutu daha küçük olmasına rağmen) göre NF salımının selüloz asetat mikrokürelerinden daha hızlı gerçekleştiği tespit edilmiş ve bu durumun polimerik matris yapısının hidrofobik özelliklerinin farklılığından kaynaklandığı vurgulanmıştır.



Sentetik polimerlerden olan poli (laktid-ko-glikolid) (PLGA) de NF'nin taşınması ve salım hızının değiştirilmesi amacıyla NF-yüklü mikroküre hazırlanmasında kullanılmıştır<sup>46,47</sup>. FDA tarafından onaylı biyoparçalanabilir bir polimer olan PLGA ilaç taşıyıcı sistemlerin hazırlanması ve doku mühendisliği alanında çok yaygın olarak tercih edilmektedir. Sansdrap ve ark.,<sup>46</sup> NF içeren PLGA mikrokürelerini hazırlamak üzere çözücü buharlaştırma yöntemini kullanmışlar ve NF'nin salımını değiştirmek üzere farklı plastifiyan maddelerden [dietilftalat, triasetin, izopropil miristat ve asetillenmiş monoglisarit (Myvacet®)] faydalanmışlardır. PLGA'nın camsı geçiş sıcaklığının (Tg) düşürülmesinde dietilftalat ve Myvacet®'in etkili plastifiyanlar olduğu, ayrıca Myvacet®'in PLGA ile yetersiz karışması sonucu çok gözenekli mikrokürelerin hazırlandığı, benzer gözenekli yapının izopropil miristat kullanıldığında da elde edildiği belirtilmiştir. Ancak, dietilftalat ve Myvacet® kullanılarak hazırlanan mikrokürelerden NF salımı daha hızlı gerçekleşirken izopropil miristat ve triasetin kullanıldığında ise NF salım hızı değişmemiştir. Bu sonuçlar, NF salımının mikroküredeki gözeneklerden değil tüm polimer fazından difüzyonla gerçekleştiğini ortaya koymuştur. Bu çalışmada, ortalama partikül boyutları 18 ve 80 µm olan mikroküreler hazırlanmış ve partikül boyutu arttıkça hapsedilen NF yüzdesinin (80 µm için %14 iken 18 µm için %6) arttığı raporlanmıştır. Mikrokürelerin partikül boyutu ve degradasyonu üzerinde ilave edilen plastifiyanların etkili olmadığı ancak triasetin hariç diğer plastifiyanların ilavesiyle mikrokürelerdeki NF içeriğinin azaldığı belirtilmiştir.

PLGA ile yapılan diğer bir çalışmada ise, su ile kısmen karışabilen etil asetat organik çözücü olarak seçilmiş ve mikroküreler emülsifikasyon-çözücü difüzyon yöntemi ile hazırlanmıştır. Etil asetatın hızlı bir şekilde su fazına difüzyonu sonucu gözenekli yapıda mikrokürelerin elde edildiği saptanmıştır. Hazırlama sırasında organik çözücünün ortamdan uzaklaştırılması için uygulanan sıcaklıkların değiştirilmesiyle veya dispersiyon ortamının organik çözücüyle doyurulmasıyla elde edilen partiküllerin şekilsel özelliklerinin kontrol edilebileceği ifade edilmiştir. Hazırlamada kullanılan polimerin molekül ağırlığının önemli olduğu, daha yüksek molekül ağırlığına sahip PLGA kullanıldığında agregatların oluşmadığı daha küresel partiküllerin elde edildiği bildirilmiştir. NF'nin mikrokürelerden salımının iki fazlı bir salım eğrisine uyduğu, ilk olarak taşıyıcı sistem yüzeyinde tutulan ve ortamla temas halindeki etkin maddenin ani bir salımının gerçekleştiği, ikinci fazda ise, taşıyıcı sistem içerisine hapsedilmiş etkin maddenin yavaş bir salımla açığa çıktığı saptanmıştır. Polimer molekül ağırlığının salım üzerinde de etkili olduğu, yüksek molekül ağırlığına sahip polimerle hazırlanmış kürelerden NF salımının daha yavaş bir şekilde gerçekleştiği de vurgulanmıştır<sup>47</sup>.

Poli (-ε-kaprolakton) (PCL) polimeri kullanılarak NF içeren mikropartiküllerin geliştirildiği bir çalışmada ise emülsiyon oluşturma-çözücü buharlaştırma yöntemi kullanılarak Y/S veya S/Y/S emülsiyonları hazırlanmıştır. Tekli emülsiyon yöntemiyle küresel, agregasyona uğramamış, gözeneksiz, 191-351 µm boyutlarında ve %91 enkapsülasyon etkinliğine sahip mikropartiküller elde edilirken çoklu emülsiyon yöntemiyle ise küresel, gözenekli, 302-477 µm boyutlarında ve %83 enkapsülasyon etkinliğine sahip mikropartiküller elde edilmiştir. Çoklu emülsiyon yöntemiyle hazırlanan mikropartiküllerden NF salımı, iki fazlı olarak gerçekleşmiş (ani bir salım ve sonrasında ise 24 saat devam eden yavaş bir salım şeklinde) ve ilk 8 saat içinde hapsedilen NF'nin %60'ı salınmıştır. Tekli emülsiyon yöntemiyle hazırlanan mikropartiküllerden ise 8 saatte gerçekleşen NF salımının %50 civarında olduğu, salımın yine 24 saat devam ettiği ve NF salımının daha kontrollü bir şekilde gerçekleştiği bildirilmiştir<sup>48</sup>.

NF-yüklü mikropartiküllerin geliştirilmesiyle ilgili yapılan bazı çalışmalarda yüksek oranda su absorplayabilen hidrofilik polimerler de tercih edilerek kullanılmıştır. Hidrojeller arasında yer alan N-vinil-2 piroidon (NVP), NF'nin salım özelliklerini kontrol üzere mikroküre hazırlanmasında kullanılmış ve hidrofobik özellikteki NF'nin mikrokürelere hapsedilme etkinliğini artırmak üzere NVP ile 2-etoksietil metakrilat (EOEMA)'ın amfifilik bir kopolimeri hazırlanmıştır. Kopolimer yapısında NVP içeriği artışına bağlı olarak kopolimerin sudaki çözünürlüğünün arttığı, aynı zamanda hazırlanan bu kopolimerin birçok polar çözücüde çözüldüğü de tespit edilmiştir. Hidrofilik yapısından dolayı NVP oranı kopolimer içeriğinde artıkça hazırlanan mikrokürelerin ortalama partikül boyutları artmış ( 17 µm'den 47 µm'ye), ancak NF yükleme kapasitesi ise azalmıştır (%8'den %6.4'e). Tüm formülasyonlar için ilk ani bir salım ve sonrasında ise 75. saate kadar devam eden sürekli bir salım elde edilmiştir. Ayrıca, NVP oranı yüksek kopolimer ile hazırlanan mikrokürelerin şişme özelliğinin fazla olduğu ve buna bağlı olarak da bu formülasyonlardan NF salımının daha hızlı gerçekleştiği saptanmıştır. NF salım kinetiğinin kopolimerdeki NVP içeriğinden etkilendiği ancak salım üzerinde etkili olabilecek diğer faktörlerin de (yüzey erozyonu, gerçekleşen degradasyon tipi vb.) çalışılması gerekliliği araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır<sup>49</sup>.

Saigal ve ark.,<sup>50</sup> ise pulmoner hipertansiyon tedavisine yönelik olarak inhale edilmek üzere polivinil alkol (PVA) mikrokürelerini püskürterek kurutma yöntemiyle hazırlamışlardır. Farklı konsantrasyonlardaki PVA'dan (%50,70 ve 90) hareketle hazırlanan mikrokürelerin partikül boyutlarının 7.8 -13.9 µm olduğu, PVA konsantrasyonu artışıyla birlikte partikül boyutunun arttığı, enkapsülasyon etkinliğinin ise azaldığı bildirilmiştir. Salım çalışmalarında ise PVA:NF oranı artışına bağlı olarak iki fazlı bir salım eğrisi (yaklaşık 8 saat) elde edilmiş, ani bir NF salımından sonra daha yavaş bir NF

salımı gözlenmiştir. Bu çalışma kapsamında, formülasyonların aerodinamik çapları ve ince partikül fraksiyonları (İPF) (akciğerlerde depolanacak olan 1-5 µm aralığındaki partiküllerin oranı) saptanarak mikrokürelerin *in vitro* inhaler performansı değerlendirilmiştir. İPF değerlerinin yaklaşık %20-35 aralığında olduğu ve en yüksek İPF değerinin %50 PVA kullanılan formülasyon için elde edildiği bilgisi verilmiştir. Aerodinamik çaplar ise %50 PVA ve %90 PVA kullanılan formülasyonlar için sırasıyla  $8.05 \pm 0.62$  µm ve  $12.08 \pm 0.60$  µm olarak tespit edilmiştir. İnsan alveolar epitel hücreleri (A549 hücre dizini) kullanılarak hazırlanan mikrokürelerin sitotoksik etkileri incelenmiş ve 48 saatin sonunda hücrelerin canlılığı üzerinde PVA'nın önemli bir etkiye sahip olmadığı saptanmıştır. Bu sonuçlar, inhalasyon yoluyla NF'nin kullanımı için PVA mikrokürelerinin uygun olduğunu ortaya koymuştur.

Poloksamerlerden hareketle mikrokürelerin hazırlandığı bir çalışmada ise sentezlenen amififilik poli(sebasik anhidrit-ko-Pluronic®F68/Pluronic®F127) kopolimeri ve poli(sebasik anhidrit) polimeri kullanılarak çözücü buharlaştırma yöntemiyle mikroküreler hazırlanmış ve bu mikroküreler için fosfat tamponunda (pH 7.4) salım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Kopolimer yapısında poloksamer oranı artıkça sürekli bir NF salımı elde edildiği, bununla birlikte kopolimer sentezinde kullanılan poloksamer oranları aynı olduğu sürece poloksamer tipinin NF salımı üzerinde anlamlı bir fark oluşturmadığı vurgulanmıştır. Poli(sebasik anhidrit) ve kopolimerler (%3 Pluronic®F68 ve %3 Pluronic®F127 içeren) kullanılarak hazırlanmış mikroküreler için enkapsülasyon etkinliği değerleri sırasıyla %61.5, %87.4 ve %92.6 olarak bulunmuş ve poloksamer varlığında mikrokürelere yüklenen NF miktarının arttığı tespit edilmiştir. Poloksamer varlığıyla kopolimer yapısında artan polipropilen oksit segmentinin mikrokürelerin hidrofobik özelliğini artırdığı ve bu durumun hidrofobik bir etkin madde olan NF'nin enkapsülasyon etkinliğini pozitif yönde etkilediği belirtilmiştir<sup>51</sup>.

Sıcak Havayla Kaplama (Hot Air Coating-HAC) tekniği kullanılarak da NF içeren mikropartiküler sistemler hazırlanmıştır. Bu yöntemde NF'nin setos-tearil alkol (SA) ile fiziksel karışımı hazırlanmış, özel bir tasarıma sahip cihaz içerisinde bu katı karışım Venturi etkisiyle dağıtılmış, sabit basınç (4.5 atm) altında 120 °C sıcaklığında hava gönderilmiş ve SA eriyerek NF etrafında ince bir tabaka halinde devamlı bir katı katman oluşturmuştur. Mikropartiküllerin hazırlanması sırasında NF farklı yüzde oranlarında (%30, 50 ve 70) kullanılmış, NF'nin karışımdaki yüzdesi artıkça yetersiz kaplamadan (SA miktarının yetersiz kalması) veya cihaz içine hızlı akış vb. hazırlama koşullarından dolayı saf NF'ye yakın bir çözünme hızı tespit edilmiştir. %30 NF içeren mikropartiküler sistem için NF çözünme hızı %50 NF içeren sistemden daha düşük bulunmuştur. NF'nin foto-kimyasal stabilitesinin iyileştirilmesi

açısından ise hazırlanan mikropartiküler sistemin etkili olmadığı ifade edilmiştir. Sonuç olarak, yazarlar tarafından HAC tekniği mikroenkapsülasyon için geçerli ve alternatif bir teknik olarak önerilmiştir<sup>52</sup>.

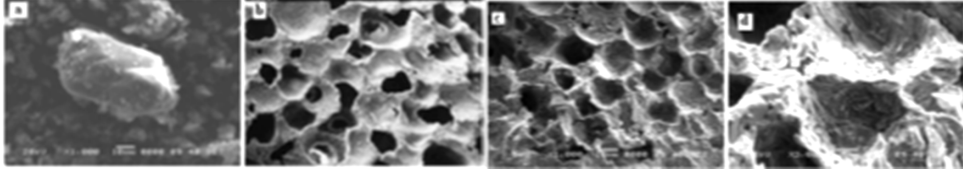
Pattarino ve ark.,<sup>53</sup> tarafından ise poloksamer (Pluronic®F68 veya Pluronic®F127)-SA karışımları ve sadece SA kullanılarak HAC tekniğiyle NF içeren mikropartiküller hazırlanmıştır. Mikropartiküllerden gecikme olmadan NF salımının başladığı ve artarak devam ettiği, poloksamer varlığının, tipinin ve karışımdaki oranının NF salımı üzerinde önemli derecede etkili olduğu bildirilmiştir. Buna göre, %5 Pluronic®F127 kullanımının salım üzerinde etkili olmadığı, %15 oranında kullanıldığında ise daha hızlı bir NF salımının görüldüğü, Pluronic®F68'in ise düşük oranlarda (%5) bile NF salımını etkilediği ve karışımdaki oranı arttıkça da daha hızlı bir NF salımına neden olduğu ifade edilmiştir. Pluronic®F68'in Pluronic®F127'den daha fazla hidrofilik olması bu durumun nedeni olarak belirtilmiştir.

NF içeren mikropartiküler sistemleri hazırlamak üzere akrilat türevi polimerlerin kullanıldığı çalışmalarda mevcuttur. Huang ve ark.,<sup>54</sup> tarafından yapılan bir çalışmada, NF-yüklü mikropartiküller amonyum metakrilat kopolimeri (Eudragit RL) ve etilselüloz karışımı kullanılarak faz ayrımı tekniği ile hazırlanmıştır. Eudragit RL:EC'nin farklı oranlarda (2:1; 1:1 ve 1:2) kullanılmasıyla hazırlanan mikropartikül formülasyonları için *in vitro* salım çalışmaları gerçekleştirilmiş ve etkin madde salımının formülasyona bağlı olmakla birlikte hapsedilen etkin madde miktarından etkilendiği ifade edilmiştir. Mikropartiküllere yüklenen NF miktarı düşük olduğunda, NF-polimer etkileşimi (özellikle hidrojen bağı etkileşimleri) matriks yapı üzerinde plastifiyan etki yaratmaktadır. Yüklenen NF miktarı artışıyla birlikte polimer zincirlerinin kendi aralarındaki etkileşim azalmakta, polimer zincir hareketliliği ve görünür NF difüzyon katsayısı artmaktadır. Ancak, daha yüksek yükleme kapasitesi durumlarında ise katı NF bölgeleri oluşmakta ve buna bağlı olarak NF rezervuarları ortaya çıkmakta ve NF salım kinetiğinde değişim meydana gelmektedir. Çünkü, NF rezervuarlarından dolayı polimer ve NF arasında faz ayrımı oluşmakta, dolayısıyla NF:polimer etkileşimi, plastifiyan etki ve görünür NF difüzyon katsayısı azalmaktadır. Sonuç olarak, salım verilerinin Baker-Lonsdale matriks difüzyonu modeline uyduğu bilgisi yazarlar tarafından verilmiştir.

NF'nin oral yolla kullanımına yönelik olarak midede kalış süresini artıran mikroküre formülasyonları da hazırlanmıştır. Bu sistemlerden olan boş mikroküreler (mikrobalonlar), merkezlerinde yer alan boşluk nedeniyle iyi yüzebilen sistemlerdir<sup>55</sup>. Zhao ve ark.,<sup>56</sup> bu sistemleri hazırlamak üzere poli(vinil pirolidon) (PVP) ve EC polimer karışımlarını kullanmışlar ve NF'nin *in vitro* salım özelliklerini iyileştirmeyi amaçlamışlardır. Çözücü difüzyon-bu-

harlaştırma yöntemi ile hazırlanan içi boş NF-yüklü mikrokürelerin salım ortamında 24 saatten daha fazla yüzebildiği, PVP ilavesinden yüzme kapasitesinin etkilenmediği, salım profilinin ise PVP/EC karışımı oranından etkilendiği, EC artışı ile kümülatif salım yüzdesinin arttığı (%95.8) ve NF salımının sıfırncı derece kinetiğe yaklaştığı tespit edilmiştir.

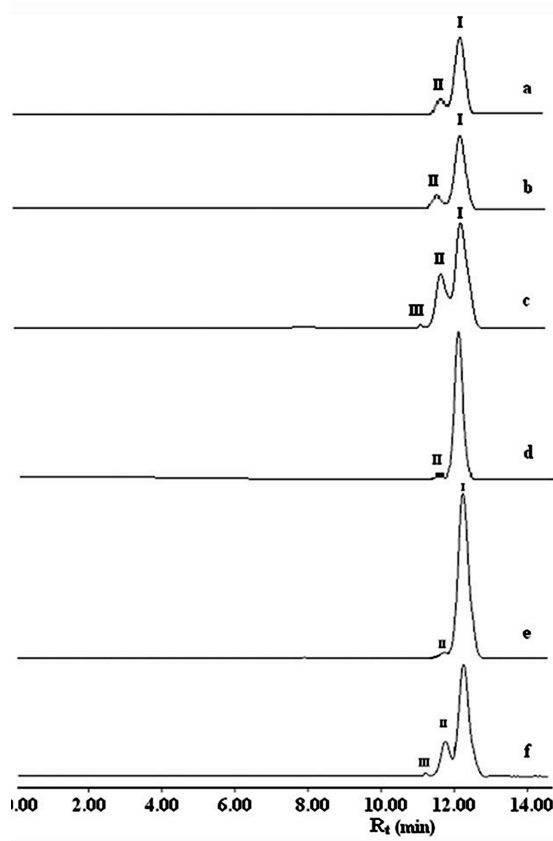
NF'nin oral kullanımına yönelik yapılan diğer bir çalışmada ise midede kalış süresini artırmak üzere düşük dansiteli bir sistem olan mikrogözenekli polipropilen partikülleri hazırlanmıştır. Mikropartikülleri hazırlama aşamasında Accurel MP 1000® (düşük dansiteli mikrogözenekli, partikül büyüklüğü <1500 µm, gözenek çapı 5-20 µm aralığında değişen, %70 boşluk hacmine sahip mikropartiküllerden)'den faydalanılmıştır. Bu mikropartiküller ve NF organik çözücü içerisine ilave edilmiş ve daha sonra organik çözücü uzaklaştırılarak düşük dansiteli partiküller hazırlanmıştır. Hazırlanan farklı formülasyonlar için % NF içeriği %74-90 aralığında saptanmıştır. Hazırlanan sistemlerin SEM görüntüleri elde edilmiş (Şekil 2) ve Accurel MP 1000® partiküllerinin yüzeyinde çok sayıda gözenek olduğu ve bu partiküllerin yüzeyinde adsorbe halde NF'nin bulunduğu belirtilmiştir<sup>18</sup>.



**Şekil 2**

SEM görüntüleri a: Nifedipin, b. Accurel MP 1000® mikropartikülleri, c ve d ise NF içeren mikropartiküller<sup>18</sup>.

Aynı çalışmada, saf NF ve NF içeren mikropartiküller floresan ve UV ışınlarına belli bir süre maruz bırakılmış, süre sonundaysa HPLC kullanılarak NF analizi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3).<sup>18</sup> Stabilité için kinetik parametreleri hesaplanmış ve birinci derece kinetikle degradasyonun gerçekleştiği, mikropartiküllerle karşılaştırıldığında saf NF için maruziyet sonrası daha belirgin olarak degradasyonun gerçekleştiği ifade edilmiştir. Saf NF ile karşılaştırıldığında mikropartiküllerin NF'nin ışığa karşı dayanıklılığında kayda değer bir iyileşme sağladığı vurgulanmıştır<sup>18</sup>.



**Şekil 3**

Saf NF ve NF içeren partiküllerin floresan ve UV ışınlarına 48 saat süreyle maruziyeti sonrası alınan HPLC kromatogramları: a ve b farklı miktarlarda NF içeren partiküller (UV için), c. saf NF (UV için); e ve d farklı miktarlarda NF içeren partiküller (floresan için), f. saf NF (floresan için). I: NF, II:nitrozo- türevi, III: nitro-türevi<sup>18</sup>.

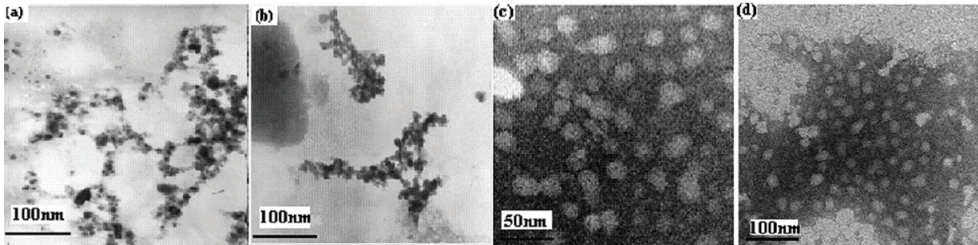
#### b- NF-yüklü Nanopartiküler Sistemler (Nanokapsül ve Nanoküre)

Nifedipin için modifiye salım sistemlerinin geliştirilmesi amacıyla nano-kapsül/nanopartikül formülasyonlarının hazırlandığı çalışmalar da mevcuttur. Granada ve ark.,<sup>57</sup> tarafından NF-yüklü PCL nanokapsül formülasyonu hazırlanmış ve bu çalışmada iki farklı stabilizasyon ajanı (PVA ve Pluronic F68) kullanılmıştır. Kullanılan stabilizasyon ajanı nanokapsüllerin partikül boyutu ve zeta potansiyeli üzerinde etkili olmuştur. Pluronic F68 varlığında daha küçük boyutlu (yaklaşık 180 nm) ve daha yüksek zeta potansiyeline (-32.7 mV) sahip nanokapsüller hazırlanmıştır. Enkapsülasyon etkinliği ise PVA ve Pluronic F68 kullanılarak hazırlanan nanokapsüller için sırasıyla

%97.6 ve 98.2 olarak elde edilmiş, stabilizasyon ajanı tipinin hapsedilen NF miktarı üzerinde önemli bir etki yapmadığı ve her iki formülasyondan NF salımının 4 gün içinde %70 civarında gerçekleştiği tespit edilmiştir.

Farklı polimerlerle (PCL, PLGA ve Eudragit RL/RS ) NF-yüklü NP'lerin hazırlandığı diğer bir çalışmada ise hazırlanan NP'lerin antihipertansif etkileri hipertansif sıçanlarda incelenmiştir. Sadece NF'nin oral uygulanmasını takiben sistolik arteriyel kan basıncı hızla düşmüş ancak uygulamanın yaklaşık birinci saatini takiben yükselmeye başlamış ve 10. saate kadar da eski seviyesine dönmüştür. NF-yüklü NP'ler içinse daha dengeli bir kan basıncı düşüşü sağlanmış ve uygulamanın 10. saatine kadar anlamlı bir şekilde düşüş sürdürülmüştür. NF ile karşılaştırıldığında tüm NF-yüklü NP formülasyonları için daha düşük bir Cmax, daha geç bir Tmax ve artmış bir MRT sağlanmıştır. NF ile karşılaştırıldığında bağıl biyoyararlanımda en anlamlı artış NF-yüklü Eudragit NP'leri ile sağlanmıştır. PCL ve PLGA NP'leri negatif zeta potansiyel değerlerine sahipken Eudragit NP'leri ise polimer yapısındaki kuaterner amonyum gruplarından dolayı pozitif bir zeta potansiyel değerine sahiptir ve negatif yüklü olan mukus nedeniyle varolan bu yük farkı NP'lerin *in vivo* davranışlarını etkilemektedir<sup>24</sup>.

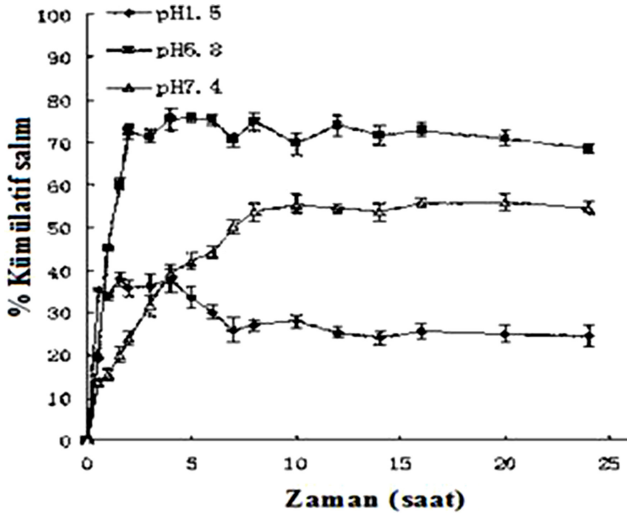
NF-içeren nanopartiküllerin hazırlanması amacıyla kitosan ve aljinat polimerlerinin kullanıldığı bir çalışmada ise NP'ler iyonotropik ön-jelasyon ve polielektrolit kompleks oluşturma yoluyla elde edilmiştir. Geçirimli Elektron Mikroskobu (Transmission Electron Microscope-TEM) kullanılarak hazırlanan bu NP'lerin morfolojik özellikleri incelenmiş ve partiküllerin küresel oldukları, agregasyona uğramadıkları, fakat, düzgün bir yüzeye de sahip olmadıkları ve partikül boyutlarının ise 20-50 nm aralığında değiştiği ifade edilmiştir (Şekil 4)<sup>58</sup>.



**Şekil 4**

Farklı büyütmelemlerde alınan NF-yüklü kitosan/aljinat nanopartiküllerinin TEM görüntüleri: (a x60000); (b x60000); (c x600000); (d x300000) <sup>58</sup>.

NP'lerin ortalama NF içeriği yaklaşık 6.75 µg/mg olarak bulunmuştur. Farklı pH değerlerine sahip tamponlarda (pH 1.5, pH 6.8 ve pH 7.4) 24 saat içinde NP'lerden gerçekleşen % NF salım değerleri sırasıyla %26.52, %69.69 ve %56.50'dir (Şekil 5). Üç ortamda da ilk 2 saatte ani bir NF salımı olduğu devamında ise devamlı bir salımın görüldüğü, Fick difüzyon mekanizmasına uyan bir salım elde edildiği ve NP'lerden NF salımının pH'ya bağlı olarak değiştiği tespit edilmiştir. İlaveyen yüksek pH'da polimer yapıları arasında elektrostatik etkileşimin azalması ile daha hızlı bir salımın gerçekleştiği de raporlanmıştır<sup>58</sup>.



Şekil 5

NP'lere ait salım eğrileri (pH 1.5, 6.8, 7.4; 37±0.5°C)<sup>58</sup>.

Lipit yapılı kolloidal dağılımlardan olan katı lipit nanopartikülleri (Solid Lipid Nanoparticles-SLNs) de NF'nin hapsedilmesi için kullanılmıştır. Barman ve ark.,<sup>59,60</sup> NF-yüklü SLNs (NF-SLNs) hazırlamışlar ve kriyoprotektan olarak trehaloz ilavesiyle de liyofilize etmişlerdir. Liyofilize edilen katı lipit nanopartikülleri (NF-SLNs-Tre) süspansiyonunda ederek partikül boyutu, zeta potansiyel özellikleri bakımından NF-SLNs süspansiyonu ile karşılaştırmışlar, NF-SLNs-Tre'nin partikül büyüklüğünde hafif bir artışın olduğunu, polidispersite indeksi (PDI) ve zeta potansiyel değerlerinde ise değişme olmadığını saptamışlardır (Tablo 2). Her iki formülasyon için farmakokinetik çalışması gerçekleştirilmiş ve farmakokinetik parametreler Tablo 2'de verilmiştir. Trehalozun (%2.5 a/h) kabul edilebilir bir liyoprotektif etkiye sahip olduğu ve



bu etkinin, trehalozun lipit polar baş grupları ile etkileşerek hidrojen bağı oluşturması, aynı zamanda suyun tetrahedral hidrojen bağı ağını bozması (dondurulabilir su miktarında azalma) sonucu oluşan membran koruyucu etkisinden kaynaklandığı belirtilmiştir. Çalışmada gerçekleştirilen hemoliz deneyleri sonucunda, NF-SLNs ve NF-SLNs-Tre süspansiyonlarının %5'den daha düşük hemoliz değerleri gösterdikleri saptanmıştır. Gerek farmakokinetik gerekse biyouyumluluk açısından hazırlanan iki formülasyonunda uygun özelliklere sahip oldukları bildirilmiştir<sup>59,60</sup>.

**TABLO 2**

NF-SLNs ve NF-SLNs-Tre süspansiyonlarının partikül boyutu, zeta potansiyel, PDI değerleri ve farmakokinetik parametreler<sup>59,60</sup>.

Örnek	Partikül Büyüklüğü (nm)	PDI	Zeta Potansiyel (mV)	AUC <sub>0→∞</sub> (µg·min/mL)	C <sub>max</sub> (ng/mL)	T <sub>max</sub> (min)
NF-SLNs süspansiyonu	68.5	0.3	-62.1	238.5 ± 31.7	1429.4 ± 341.4	80.0 ± 20.0
Liyofilize-NF-SLNs-Tre süspansiyonu	94.3	0.3	-65.2	273.4 ± 16.3	1673.3 ± 269.4	100.0 ± 20.0

NF-içeren lipit nanopartikülleri ise hidrojene soya fosfatidilkolin ve dipalmitoil fosfatidilgliserol karışımı kullanılarak Kamiya ve ark.,<sup>61</sup> tarafından hazırlanmıştır. Lipit NP'leri organik çözücüye ihtiyaç duyulmadan yüksek hızda karıştırma ve yüksek basınçlı homojenizasyon yöntemlerinin bir arada kullanılmasıyla hazırlanmış ve gerekli stabilite çalışmaları yapılmıştır. Hazırlanan partiküllerin boyutları ortalama 55 nm olarak bulunmuştur. Hazırlanan NP süspansiyonunun uzun süreli stabilitesini sağlamak üzere süspansiyona toz jelatin (%1.5 a/h) ilave edilmiş, su banyosu üzerinde ısıtılmış ve daha sonra karışım buzdolubına (5°C) alınarak katılaşması (24 saat tutularak) sağlanmıştır. Jelatin katılaşması olarak bilinen bu yöntemle hazırlanan sistemin ısı ile tekrar sıvılaştırılması sonrası elde edilen NP süspansiyonunun homojen ve şeffaf görünümüne sahip olduğu, bununla birlikte NP boyutunun da (~55 nm) korunduğu tespit edilmiştir.

Pulmoner uygulamaya yönelik olarak NF içeren NP aglomeratları hazırlanmış ve bunların kuru toz inhaler sistemi olarak etkinliği test edilmiştir. Partikül boyutu akciğerlerde tutulma açısından önemli bir faktör olup 1-5 µm aralığında olduğunda akciğerlerde tutulmayı kolaylaştırır. NF gibi suda zayıf çözünür olan etkin maddelerin çözünme hızını artırmak için

tercih edilen nanopartiküler sistemler küçük boyutlarından dolayı soluk verme sırasında vücuttan atılabilirler. Bu çalışmada, öncelikle NF ve stearik asit (nanopartikülere negatif yüzey yükü kazandırarak sulu ortamda stabiliteyi artırmak amacıyla kullanılmış) kullanılarak NP'ler hazırlanmış ve daha sonra NP süspansiyonuna elektrolit ilavesiyle kontrollü bir şekilde nanopartikül aglomerasyonu gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan NP'lerin çapı  $470 \pm 40$  nm, NP aglomeratlarının ortalama çapı ise  $11 \pm 6$  µm olarak saptanmıştır. İmpaktör sistemi kullanılarak inhaler formülasyon olarak NP aglomeratlarının performansı incelendiğinde NP aglomeratlarının etkin bir şekilde akciğerlerde tutulabileceği gösterilmiştir. Ayrıca, NP ve NP aglomeratlarının NF çözünme hızının artırılmasında başarılı oldukları da saptanmıştır<sup>62</sup>.

Jeong ve ark.,<sup>63</sup> sentezlemiş oldukları poli(γ-benzil L-glutamat)/poli(etilen glikol) (PBLG/PEG) diblok kopolimerini kullanarak NF-yüklü NP hazırlamışlardır. Bu nanopartiküllerin boyutları 123.4-147.8 nm aralığında ve NF yükleme etkinliği değerleri ise %15.80-32.95 aralığında tespit edilmiştir. Kopolimer yapısında PBLG blok uzunluğunun artması sonucu kopolimerin hidrofobik özelliği artmıştır. Bundan dolayı, kopolimerle hidrofobik bir etkin madde olan NF'nin yoğun etkileşimi sonucu NF yükleme etkinliği artmıştır. Ayrıca, NP'lerin partikül boyutunda da PBLG blok uzunluğu artışına bağlı olarak arttığı saptanmıştır.

## Sonuç

Geniş endikasyon yelpazesi ile DSÖ'nün esansiyel ilaçlar listesinde yer alan NF'nin gerek fizikokimyasal gerekse farmakolojik açıdan sakıncalarının giderilmesine yönelik olarak hızlı ve modifiye salım yapan dozaj şekillerinin geliştirilmesi konusunda uzun yıllardır çeşitli araştırmalar yapılmaktadır. Özellikle, son yıllarda partiküler taşıyıcı sistemlerle ilgili yapılan çalışmalar ağırlık kazanmış, tedavide öne çıkan modifiye salım yapan dozaj formları beklentisi NF ile bu amaca yönelik başarılı çalışmaların yapılmasını sağlamıştır. Gerek hammadde gerekse teknolojik gelişmelerin farmasötik yaklaşımları NF ile yapılan çalışmalarda da yer bulmuştur.

## Özet

Dihidropridin grubuna ait bir kalsiyum kanal blokleri olan nifedipin (NF) başlıca antianjinal ve antihipertansif etkilere sahiptir. NF'nin sudaki çözünürlüğü oldukça düşüktür ve yüksek oranda fotooksidasyona uğrar. NF'nin hemen salım yapan dozaj şekillerinin çeşitli sakıncaları (ilk-geçiş etkisinden dolayı düşük oral biyoyararlanım, çoklu dozlama, plazma NF konsantrasyonunda dalgalanmalar ve hipotansiyon, taşikardi gibi yan etkiler) mevcuttur. Bu derlemede, NF'nin fizikokimyasal ve farmakolojik özelliklerinden kısaca bahsedildikten sonra NF'nin stabilitesi ve farmakolojik etkileri açısından sakıncalarını gidermek/iyileştirmek üzere geliştirilen partiküler ilaç taşıyıcı sistemlerle ilgili çalışmalar ele alınarak sunulmuştur.

*Anahtar kelimeler:* Mikropartikül, Nanopartikül, Nifedipin, Partiküler ilaç taşıyıcı sistemler

## Abstract

### **Overview on nifedipine loaded particulate drug delivery systems**

Nifedipine (NF), a dihydropyridine calcium-channel blocker, has primarily antianginal and antihypertensive effects. It is a poorly water-soluble drug and highly sensitive to photo-oxidation. The immediate release NF dosage forms have several disadvantages (such as low oral bioavailability due to first-pass effect, multiple dosing fluctuations in the plasma NF concentration and adverse effects such as hypotension, tachycardia). In this review, after briefly mentioned the physicochemical and pharmacological properties of NF, the studies with regard to the particulate drug delivery systems developed to eliminate/improve the drawbacks in terms of the stability and pharmacological effect of NF were presented.

*Keywords:* Microparticle, Nanoparticle, Nifedipine, Particulate drug delivery systems

## KAYNAKLAR

1. Sweetman S. Martindale: The complete drug reference, Electronic version. London, Pharmaceutical Press, 2007
2. <https://www.rsc.org/Merck-Index/monograph/mono1500006613/nifedipine?q=unauthorize> (28.08.2014)
3. Hayashi, K., Homma, K., Wakino, S., Tokuyama, H., Sugano, N., Saruta, T., Itoh, H.: T-type Ca Channel Blockade as a Determinant of Kidney Protection, *Keio J Med*, 59 (3), 84-95 (2010)
4. Friedrich, H., Nada, A., Bodmeier, R.: Solid State and Dissolution Rate Characterization of Co-ground Mixtures of Nifedipine and Hydrophilic Carriers, *Drug Dev Ind Pharm*, 31, 719-728 (2005)
5. <http://www.who.int/medicines/publications/essentialmedicines/en/index.html> (28.08.2014)
6. Conde-Agudelo, A., Romero, R., Kusanovic, J.P.: Nifedipine in the Management of Preterm Labor: A Systematic Review and Metaanalysis, *Am J Obstet Gynecol*. 204(2),134.e1-20 (2011)
7. Shen, J.B., Jiang, B., Pappano, A.J.: Comparison of L-type Calcium Channel Blockade By Nifedipine and/or Cadmium in Guinea Pig Ventricular Myocytes, *J Pharmacol Exp Ther*, 294(2),562-570 (2000)
8. Verhoeven, F.A., Moerings, E.P., Lamers, J.M., Hennemann, G., Visser, T.J., Everts, M.E.: Inhibitory Effects of Calcium Channel Blockers on Thyroid Hormone Uptake in Neonatal Rat Cardiomyocytes, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 281(5),H1985-1991 (2001)
9. Lipscombe, D., Helton, T.D., Xu, W.: L-type Calcium Channels: The Low Down, *J Neurophysiol*. 92(5), 2633-2641 (2004)
10. Sousa, C.P., Navarro, C.M., Sposto, M.R.: Clinical Assessment of Nifedipine-Induced Gingival Overgrowth in A Group of Brazilian Patients, *ISRN Dent*, doi: 10.5402/2011/102047 (2011)
11. Lucas, R.M., Howell, L.P., Wall, B.A.: Nifedipine-induced Gingival Hyperplasia. A Histochemical and Ultrastructural Study, *J Periodontol*, 56(4),211-215 (1985)
12. Fami, M.J., Ho, N.T., Mason, C.M.: Another Report of Adverse Reactions to Immediate-Release Nifedipine, *Pharmacotherapy*,18(5),1133-1135 (1998)
13. Mansoor, A.F., Keefer, L.A.H.: The Dangers of Immediate-Release Nifedipine for Hypertensive Crises, *CME Credit (Jefferson Medical College)*, 27(7), 362-365 (2002)
14. Li, H., Yan, G., Wu, S., Wang, Z., Lam, K.Y.: Numerical Simulation of Controlled Nifedipine Release From Chitosan Microgels, *J Appl Polym Sci*, 93, 1928-1937 (2004)
15. Fu, E., Nieh, S., Hsiao, C.T., Hsieh, Y.D., Wikesjö, U.M., Shen, E.C.: Nifedipine-Induced Gingival Overgrowth in Rats: Brief Review and Experimental Study, *J Periodontol*, 69, 765-71 (1998)
16. Snider, M.E., Nuzum, D.S., Veverka A.: Long-acting Nifedipine in the Management of the Hypertensive Patient, *Vasc Health Risk Manag*, 4, 1249-1257 (2008)
17. <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/ob/docs/tempai.cfm> (29.08.2014)
18. Pawar, A.P., Shelake, M.R., Bothiraja C., Kamble R.N.: Development of Photostable Gastro Retentive Formulation for Nifedipine Using Low-Density Polypropylene Microporous Particles, *J Microencapsul*, 29, 409-416 (2012)

19. Emara, L.H., Badr, R.M., Elbary, A.A.: Improving the Dissolution and Bioavailability of Nifedipine Using Solid Dispersions and Solubilizers, *Drug Dev Ind Pharm*, 28, 795-807 (2002)
20. Jagdale, S.C., Jadhav, V.N., Chabukswar, A.R., Kuchekar, B.S.: Solubility Enhancement, Physicochemical Characterization and Formulation of Fast-Dissolving Tablet of Nifedipine-Betacyclodextrin Complexes, *BJPS*, 48(1), 131-145 (2012)
21. Lalitha, Y., Lakshmi, P.K.: Enhancement Of Dissolution of Nifedipine by Surface Solid Dispersion Technique, *Int J Pharm Pharm Sci*, 3(3), 41-46 (2011)
22. Annapureddy, T., Preetha, J.P., Kumar, A.N., Reddy, M.S.: Enhancement of Solubility of Nifedipine by Liquisolid Compacts Technique, *IAJPR*, 3(4), 3433-3465 (2013)
23. Hecq, J., Deleers, M., Fanara, D., Vranckx, H., Amighi, K.: Preparation and Characterization of Nanocrystals for Solubility and Dissolution Rate Enhancement of Nifedipine, *Int J Pharm*, 299, 167-177 (2005)
24. Kim, Y.I., Fluckiger, L., Hoffman, M., Lartaud-Idjouadiene, I., Atkinson, J., Maincent, P.: The Antihypertensive Effect of Orally Administered Nifedipine-Loaded Nanoparticles in Spontaneously Hypertensive Rats, *Br J Pharmacol*, 120(3), 399-404 (1997)
25. Aydın, A.: Preterm Eylemin Durdurulmasında Ritodrin ve Nifedipinin Tedavi Etkinliklerinin Maternal ve Fetal Etkilerinin Karşılaştırılması, *Uzmanlık Tezi, İstanbul* (2005)
26. <http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/druginfo.cfm?setid=4617417a-08df-4417-a944-dfc30de183db&cfid=871840&cftoken=1cb8b1d12050b1e5-01802f95-b47e-e996-d69a38ae78d4dbe4> (29.08.2014)
27. <http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/archives/fdadruginfo.cfm?archiveid=9958> (29.08.2014)
28. <http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/lookup.cfm?setid=8ebcb33c-f43b-4b36-9f94-9774b2a59e06> (29.08.2014)
29. <http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/lookup.cfm?setid=2934261f-3606-439e-8418-12438aae1b2a> (29.08.2014)
30. Patel, N., Polak, S., Jamei, M., Rostami-Hodjegan, A., Turner, D.B.: Quantitative Prediction of Formulation-Specific Food Effects and Their Population Variability From In Vitro Data With The Physiologically-Based ADAM Model: A Case Study Using The BCS/BDDCS Class II Drug Nifedipine, *Eur J Pharm Sci*, 57,240-249 (2014)
31. Lin, X., Tang, D., Du, H.: Self-assembly and Controlled Release Behaviour of The Water-Insoluble Drug Nifedipine From Electrospun PCL-Based Polyurethane Nanofibres, *J Pharm Pharmacol*, 65, 673-681 (2013)
32. Gürsoy, A.Z., "Giriş", Gürsoy, A.Z. (Ed.), *Kontrollü Salm Sistemleri, İstanbul, Kontrollü Salm Sistemleri Derneği*, (2002), 3.
33. Chandana, N., Gopinath, H., Bhowmik, D., Williamkeri, Thirupathi, R.A.: Modified Release Dosage Forms, *JCHPS*, 6(1), 13-21 (2013)
34. Kaş, H.S., "İlaç taşıyıcı partiküler sistemler", Gürsoy, A.Z. (Ed.), *Kontrollü Salm Sistemleri, İstanbul, Kontrollü Salm Sistemleri Derneği*, (2002), 65-102.
35. Li, D.X., Kim, J.O., Oh, D.H., Lee, W.S., Hong, M.J., Kang, J.Y., Choi, J.S., Woo, J.S., Yong, C.S., Choi, H.G.: Development of Nifedipine-Loaded Coated Gelatin Microcapsule as a Long Acting Oral Delivery, *Arch Pharm Res*, 32(1), 127-132 ( 2009)

36. <http://eudragit.evonik.com/product/eudragit/en/products-services/eudragit-products/enteric-formulations/Pages/default.aspx> (16.02.2015)
37. Mallick, S., Gupta, B.K., Ghosal, S.K.: Assessment of Bioavailability of Experimental Controlled Release Microcapsules of Nifedipine, *Acta Pol Pharm*, 57(3), 175-180 (2000)
38. Varde, N.K., Pack, D.W.: Microspheres for Controlled Release Drug Delivery, *Expert Opin Biol Ther*, 4(1), 35-51 (2004)
39. Chuo, W.H., Tsai, T.R., Hsu, S.H., Cham, T.M.: Preparation and In-vitro Evaluation of Nifedipine Loaded Albumin Microspheres Cross-Linked by Different Glutaraldehyde Concentrations, *Int J Pharm*, 144, 241-245 (1996)
40. Dhawan, S., Singla, A.K.: Nifedipine Loaded Chitosan Microspheres Prepared by Emulsification Phase-Separation, *Biotech Histochem*, 78, 243-254 (2003)
41. Kumbar, S.G., Aminabhavi, T.M.: Synthesis and Characterization of Modified Chitosan Microspheres: Effect of the Grafting Ratio on the Controlled Release of Nifedipine through Microspheres, *J Appl Polym Sci*, 89, 2940-2949 (2003)
42. Dinarvand, R., Kouchakzadeh, Z., Moghadam, S.H., Atyabi, F.: Effect of Microencapsulation on Photo-Stability of Nifedipine, *Iranian J Pharm Res*, 5(4), 239-244 (2006)
43. Cilurzo, F., Selmin, F., Minghetti, P., Gennari, C.G., Demartin, F., Montanari, L.: Characterization and Physical Stability of Fast-Dissolving Microparticles Containing Nifedipine, *Eur J Pharm Biopharm*, 68, 579-588 (2008)
44. Guyot, M., Fawaz, F.: Nifedipine Loaded-Polymeric Microspheres: Preparation and Physical Characteristics, *Int J Pharm*, 175, 61-74 (1998)
45. Soppimath, K.S., Kulkarni, A.R., Aminabhavi, T.M.: Encapsulation of Antihypertensive Drugs in Cellulose-Based Matrix Microspheres: Characterization and Release Kinetics of Microspheres and Tableted Microspheres, *J Microencapsul*, 18(3), 397-409 (2001)
46. Sansdrap, P., Moës, A.J.: Influence of Additives on the Release Profile of Nifedipine from Poly(DL-lactide-co-glycolide) Microspheres, *J Microencapsul*, 5(5), 545-553 (1998)
47. Soppimath, K.S., Aminabhavi, T.M.: Ethyl Acetate as a Dispersing Solvent in the Production of Poly(DL-lactide-co-glycolide) Microspheres: Effect of Process Parameters and Polymer Type, *J Microencapsul*, 19(3), 281-292 (2002)
48. Hombreiro Pérez, M., Zinutti, C., Lamprecht, A., Ubrich, N., Astier, A., Hoffman, M., Bodmeier, R., Maincent, P.: The Preparation and Evaluation of Poly(Epsilon-Caprolactone) Microparticles Containing Both a Lipophilic and a Hydrophilic Drug, *J Control Release*, 65(3), 429-438 (2000)
49. Kumar, S.V., Shelke, N.B., Prasannakumar, S., Sherigara, B.S., Aminabhavi, T.M.: Microspheres of Copolymeric N-vinylpyrrolidone and 2-ethoxyethyl Methacrylate for the Controlled Release of Nifedipine, *J Polym Res*, 18(3), 359-366 (2011)
50. Saigal, A., Ng, W.K., Tan, R.B., Chan, S.Y.: Development of Controlled Release Inhalable Polymeric Microspheres for Treatment of Pulmonary Hypertension, *Int J Pharm*, 450(1-2), 114-122 (2013)
51. Shelke, N.B., Aminabhavi, T.M.: Synthesis and Characterization of Novel Poly(Sebacic Anhydride-Co-Pluronic F68/F127) Biopolymeric Microspheres for the Controlled Release of Nifedipine, *Int J Pharm*, 345, 51-58 (2007)

52. Giovannelli, L., Bellomi, S., Pattarino, F., Albertini, B.: Characterization of Nifedipine Microparticles Prepared by Hot Air Coating Technique, *Int J Pharm*, 293(1-2), 225-234 (2005)
53. Pattarino, F., Giovannelli, L., Bellomi, S.: Effect of Poloxamers on Nifedipine Microparticles Prepared by Hot Air Coating Technique, *Eur J Pharm Biopharm*, 65, 198-203 (2007)
54. Huang, J., Wigent, R.J., Bentzley, C.M., Schwartz, J.B.: Nifedipine Solid Dispersion in Microparticles of Ammonio Methacrylate Copolymer and Ethylcellulose Binary Blend for Controlled Drug Delivery. Effect of Drug Loading on Release Kinetics, *Int J Pharm*, 319(1-2), 44-54 (2006)
55. Devrim, B., Canefe, K.: Midede Kalış Süresini Uzatan İlaç Şekilleri, *Ankara Ecz. Fak. Derg.*, 35 (1), 69 - 94 (2006)
56. Zhao, L., Wei, Y.M., Yu, Y., Zheng, W.W.: Polymer Blends Used to Prepare Nifedipine Loaded Hollow Microspheres for a Floating-Type Oral Drug Delivery System: In vitro Evaluation, *Arch Pharm Res*, 33(3), 443-450 (2010)
57. Granada, A., Tagliari, M.P., Soldi, V., Silva, M.A., Zanetti-Ramos, B.G., Fernandes, D., Stulzer, H.K.: Nifedipine-loaded Polymeric Nanocapsules: Validation of a Stability-indicating HPLC Method to Evaluate the Drug Entrapment Efficiency and In vitro Release Profiles, *J AOAC Int*, 96(2), 276-281 (2013)
58. Li, P., Dai, Y.N., Zhang, J.P., Wang, A.Q., Wei, Q.: Chitosan-alginate Nanoparticles as a Novel Drug Delivery System for Nifedipine, *Int J Biomed Sci*, 4(3), 221-228 (2008)
59. Barman, R.K., Iwao Y, Funakoshi Y, Abdul-Hackam Ranneh, Noguchi S, Wahed, M.I.I. Itai, S. Development of Highly Stable Nifedipine Solid-Lipid Nanoparticles, *Chem Pharm Bull*, 62(5), 399-406 (2014).
60. Barman, R.K., Iwao Y, Islam R, Funakoshi Y, Noguchi S, Wahed, M.I.I. Itai, S.: In vivo Pharmacokinetic and Hemocompatible Evaluation of Lyophilization Induced Nifedipine Solid-Lipid Nanoparticle, *Pharmacol & Pharm*, 5, 455-461(2014).
61. Kamiya, S., Yamada, M., Kurita, T., Miyagishima, A., Arakawa, M., Sonobe, T.: Preparation and Stabilization of Nifedipine Lipid Nanoparticles. *Int J Pharm*, 354(1-2), 242-247 (2008)
62. Plumley, C., Gorman, E.M., El-Gendy, N., Bybee, C.R., Munson, E.J., Berkland, C.: Nifedipine Nanoparticle Agglomeration as a Dry Powder Aerosol Formulation Strategy, *Int J Pharm*, 369(1-2), 136-143 (2009)
63. Jeong, Y.I., Sun, H.S., Shim, Y.H., Kim, C., Park, S.H., Choi, K.C., Cho, C.S.: Nifedipine Encapsulated Core-Shell Type Nanoparticles Based on Poly(Gamma-Benzyl L-Glutamate)/ Poly(Ethylene Glycol) Diblock Copolymers, *J Microencapsul*, 21(4), 445-453 (2004)