T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE GÖSTEREBİLECEK İLAÇ TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE ENKAPSÜLASYONU

Sevcan BALTA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Anabilim Dalı

Organik Kimya Programı

Danışman
Doç. Dr. Ömer Tahir GÜNKARA

Eş Danışman
Prof. Dr. Serap DERMAN

Aralık, 2023

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE GÖSTEREBİLECEK İLAÇ TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE ENKAPSÜLASYONU

Sevcan BALTA tarafından hazırlanan tez çalışması 01.12.2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Organik Kimya Programı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Ömer Tahir GÜNKARA

Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Tez Eş Danışmanı

Prof. Dr. Serap DERMAN

Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Zuhal TURGUT

Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Doç. Dr. Sezen CANIM ATEŞ

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi _____

Danışmanım Doç. Dr. Ömer Tahir GÜNKARA sorumluluğunda tarafımca hazırlanan "Antimikrobiyal Aktivite Gösterebilecek İlaç Türevlerinin Sentezi ve Enkapsülasyonu" başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Sevcan BALTA



Bilime

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında bilgileriyle yol gösterip her konuda yardımcı olan, desteğini her zaman hissettiğim, çalışmam sırasında geçirebildiğimiz her anın bana çok şeyler kattığına inandığım hocam Sayın Doç. Dr. Ömer Tahir Günkara'ya, Prof. Dr. Serap Derman'a ve Prof. Dr. Tülin ÖZBEK'e teşekkürü borç bilirim.

Laboratuvar çalışmam esnasında ve tez yazım aşamasında bana yardımcı olan değerli hocam Öğr. Gör. Öznur Eyilcim'e çok teşekkür ederim.

Değerli hocam Kumsal Eroğlu'na ve GRG'ye çok teşekkür ederim.

Desteğini her zaman hissettiğim, en zor anımda dahi yardımlarını benden esirgemeyen değerli arkadaşlarım Zeynep Yağmur Karagülleoğlu'na ve Koray Kahraman'a çok teşekkür ederim.

Gösterdikleri özveri, anlayış ve destekleriye her an yanımda olduklarını hissettiren ailem ve emeği geçen tüm arkadaşlarım ve hocalarıma sonsuz şükranlarımı sunarım.

Sevcan BALTA

İÇİNDEKİLER

KISALTMA LİSTESİ İX
ŞEKİL LİSTESİ X
TABLO LİSTESİ Xİİ
ÖZET Xİİİ
ABSTRACT XV
1 GİRİŞ **1**
1.1 Literatür Özeti 1
1.2 Tezin Amacı 2
1.3 Hipotez 2
2 ANTİMİKROBİYAL İLAÇLAR **3**
2.1 Antibiyotiklerin Tanımı ve Tarihçesi 3
2.2 Antibiyotiklerin Sınıflandırılması 5
2.2.1 Bakteri Hücre Duvarının Sentezini Engelleyenler 5
2.2.1.1 β-laktamlar 5
2.2.1.1.1 Penisilinler 6
2.2.1.1.2 Sefalosporinler 9
2.2.1.1.3 Monobaktamlar 11
2.2.1.1.4 Karbapenemler 12
2.2.1.2 Glikopeptidler 13
2.2.1.3 Diğer Antibiyotikler 13
2.2.1.3.1 Fosfomisin 13
2.2.2 Protein Sentezini Engelleyenler 14
2.2.2.1 50S Ribozomal Alt Üniteye Bağlananlar 14
2.2.2.1.1 Makrolidlerve Ketolidler 14
2.2.2.1.2 Linkozamidler 18
2.2.2.1.3 Streptograminler 18
2.2.2.1.4 Kloramfenikol 18
2.2.2.1.5 Oksazolidinonlar 19
2.2.2.2 30S Ribozomal Alt Üniteye Bağlananlar 19
2.2.2.2.1 Aminoglikozitler 19
2.2.2.2.2 Tetrasiklinler 21
2.2.2.2.3 Glisilsiklinler 21

2.2.3 Nükleik Asit Sentezini İnhibe Edenler 22
2.2.3.1 Kinolonlar 22
2.2.4 Antimetabolitler 22
2.2.4.1 Sülfonamidler 22
2.2.4.2 Trimetoprim-Sülfametoksazol 23
2.2.5 Membran Bütünlüğünü Bozanlar 23
2.2.5.1 Polimiksinler 23
2.2.5.2 Daptomisin 24
2.3 Antibiyotik Direnci 24
3 KİNOLONLAR 26
3.1 Siprofloksasin 35
3.2 Siprofloksasin Sentezi 38
4 İLAÇ TAŞIYICI SİSTEMLER 39
4.1 Polimerik İlaç Taşıyıcı Sistemler 40
4.1.1 Polimer-ilaç Konjugatları 40
4.1.2 Polimerik Mikropartiküller 41
4.1.3 Polimerik Nanopartiküller 43
4.1.3.1 PLGA 45
4.1.4 Miseller 47
4.2 Polimerik Nanopartiküllerin Sentez Yöntemleri 48
4.2.1 Emülsifikasyon Yöntemleri 48
4.2.1.1 Tekli Emülsiyon (o/w) Çözücü Buharlaştırma Yöntemi 48
4.2.1.2 İkili Emülsiyon (w/o/w) Çözücü Buharlaştırma Yöntemi 49
4.2.1.3 Salting-Out 49
4.2.1.4 Nanoçöktürme 50
4.2.1.5 Diyaliz 50
5 DENEYSEL ÇALIŞMA VE BULGULAR 51
5.1 Materyal ve Yöntem 51
5.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler 51
5.1.2 Kullanılan Cihaz ve Yardımcı Gereçler 52
5.1.3 Schlenk Sistemi 53
5.1.4 Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Çözeltiler 54
5.1.4.1 %5'lik Sodyum Bikarbonat Çözeltisi 54
5.1.4.2 0,01 M'lık PBS Tamponu 54

5.1.4.3 %3'lik PVA Çözeltisi 54
5.2 Siprofloksasin Bileşiğinin Hazırlanması (Bileşik 1, $C_{17}H_{18}FN_3O_3$) 55
5.2.1 Bileşik 1'in Spektroskopik Analiz Verileri 55
5.3 7-(4-(2-bromo-2-metilpropanoyl)piperazin-1-yl)-1-siklopropil-6-floro-4-oxo-1,4-dihidroquinoline-3-karboksilik asit Bileşiğinin Hazırlanması (Bileşik 2, $C_{21}H_{23}BrFN_3O_4$) 57
5.3.1 Bileşik 2'in Spektroskopik Analiz Verileri 57
5.4 7-(4-(4-(tert-bütil)benzoil)piperazin-1-il)-1-siklopropil-6-floro-4-oxo-1,4-dihidroquinoline-3-karboksilik asit Bileşiğinin Hazırlanması (Bileşik 3, $C_{28}H_{30}FN_3O_4$) 62
5.4.1 Bileşik 3'nin Spektroskopik Analiz Verileri 62
5.5 7-(4-(4-(Klorometil)benzoil)piperazin-1-il)-1-siklopropil-6-floro-4-oxo-1,4-dihidroquinoline-3-karboksilik asit Bileşiğinin Hazırlanması (Bileşik 4, $C_{25}H_{23}ClFN_3O_4$) 67
5.5.1 Bileşik 4'ün Spektroskopik Analiz Verileri 67
5.6 1-siklopropil-6-floro-7-(4-(furan-2-karbonil)piperazin-1-il)-4-oxo-1,4-dihidroquinoline-3-karboksilik asit Bileşiğinin Hazırlanması (Bileşik 5, $C_{22}H_{20}FN_3O_5$) 72
5.6.1 Bileşik 5'ün Spektroskopik Analiz Verileri 72
5.7 1-siklopropil-6-floro-4-oxo-7-(4-pivaloylpiperazin-1-yl)-1,4-dihidroquinoline-3-karboksilik asit Bileşiğinin Hazırlanması (Bileşik 6, $C_{22}H_{26}FN_3O_4$) 74
5.7.1 Bileşik 6'in Spektroskopik Analiz Verileri 74
5.8 1-siklopropyl-6-floro-7-(4-(4-metoksibenzoil)piperazin-1-il)-4-oxo-1,4-dihidroquinoline-3-karboksilik asit Bileşiğinin Hazırlanması (Bileşik 7, $C_{25}H_{24}FN_3O_5$) 76
5.8.1 Bileşik 7'nın Spektroskopik Analiz Verileri 76
5.9 Bileşik 4 Yüklü PLGA NP'lerin Sentezi 78
5.10 Bileşik 7 Yüklü PLGA NP'lerin Sentezi 78
5.11 Sentezlenen Nanopartiküllerin Karakterizasyonu 79
5.11.1 Reaksiyon Verimi (RV) 79
5.11.2 Enkapsülasyon Etkinliği 79
5.11.3 İlaç Yükleme Kapasitesi (YK) 79
5.11.4 Ortalama Partikül Boyutu, Polidispersite İndeksi ve Zeta Potansiyeli (ζ) 79
5.11.5 Fourier Dönüşümlü-Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) ile Fonksiyonel Grup Analizi 80
5.11.6 Etken Moleküllerin Salımı 80
5.12 Antimikrobiyal Aktivite (Broth Mikrodilüsyon Yöntemi) 80

5.12.1 Antibakteriyel Aktivitenin Değerlendirilmesi 81
5.12.2 Bakteri Süspansiyonlarının Hazırlanması 82
5.12.3 Broth Mikrodilüsyon Yöntemi ile Antibakteriyel Aktivitenin Değerlendirilmesi.....82
6 SONUÇ 83
6.1 Reaksiyon Verimi, Enkapsülasyon Etkinliği ve İlaç Yükleme Kapasitesi 83
6.2 Ortalama Partikül Boyutu, Polidispersite İndeksi ve Zeta Potansiyeli ...84
6.3 Fourier Dönüşümlü-Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) ile Fonksiyonel Grup Analizi 86
6.4 In-vitro NP-1 ve NP-2 Salımı 87
6.5 Antibakteriyel Aktivite Sonuçları 88
6.6 Genel Sonuç ve Öneriler 89
KAYNAKÇA.....95
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR.....104

KISALTMA LİSTESİ

APT	Attached Proton Test
FTIR	Fourier Transformu Kırmızı Ötesi Spektroskopisi
NMR	Nükleer Magnetik Rezonans
TLC	İnce Tabaka Kromatografisi
DCM	Dikoloro Metan
TEA	Trietanol Amin
NP	Nanopartikül
MIC	Minimum İnhibisyon Konsantrasyon
MBC	Minimum Bakterisidal Konsantrasyon
MHB	Mueller-Hinton Broth
PLGA	Poli laktik-ko-glikolik asit
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 β-laktam 5
Şekil 2.2 Penisilin çekirdek yapısı 6
Şekil 2.3 Sefalasporin 10
Şekil 2.4 Monobaktam 12
Şekil 2.5 Karbapenem 12
Şekil 2.6 Fosfomisin 14
Şekil 2.7 Eritromisin 15
Şekil 2.8 Klaritromisin 16
Şekil 2.9 Azitromisin 16
Şekil 2.10 Telitromisin 17
Şekil 2.11 Roksitromisin 17
Şekil 2.12 Kloramfenikol 18
Şekil 2.13 İlk Bulunan Oksazolidinon Türevi 19
Şekil 2.14 Örnek bir aminoglikozid olan amikasin molekülü 20
Şekil 2.15 Tetrasiklin 21
Şekil 2.16 Sülfonamid 22
Şekil 3.1 Nalidisik Asit 26
Şekil 3.2 Antibakteriyel kinolonlardaki yapı gereklilikleri 35
Şekil 3.3 Siprofloksasin 36
Şekil 3.4 Siprofloksasin sentez şeması 38
Şekil 4.1 Bir polimer-ilaç konjugatının genel yapısı 40
Şekil 4.2 Mikrokapsül ve mikroküre yapısının şematik gösterimi 42
Şekil 4.3 Nanoküre ve nanokapsül yapısının şematik gösterimi [106] 44
Şekil 5.2 Bileşik 2'in FTIR spektrumu (ATR) 59
Şekil 5.3 Bileşik **2**'in ^{1}H NMR Spektrumu ($CDCl_3$) 60
Şekil 5.4 Bileşik **2**'in APT Spektrumu ($CDCl_3$) 61
Şekil 5.5 Bileşik 3'nin FTIR spektrumu (ATR) 64
Şekil 5.6 Bileşik 3'nin ^{1}H NMR spektrumu ($CDCl_3$) 65
Şekil 5.7 Bileşik 3'nin APT spektrumu ($CDCl_3$) 66
Şekil 5.8 Bileşik 4'ün FTIR spektrumu (ATR) 69
Şekil 5.9 Bileşik 4'ün ^{1}H NMR spektrumu ($CDCl_3$) 70
Şekil 5.10 Bileşik 4'ün ^{13}C NMR spektrumu ($CDCl_3$) 71

Şekil 5.11 Bileşik 5'ün FTIR spektrumu (ATR) 73
Şekil 5.12 Bileşik 6'in FTIR spektrumu (ATR) 75
Şekil 5.13 Bileşik **7**'nın FTIR spektrumu (ATR) 77
Şekil 5.14 Analizi gerçekleştirilen test örneklerinin broth mikrodilüsyon yönteminde kullanılan konsantrasyon verileri 82
Şekil 6.1 Bileşik 4'e ait kalibrasyon eğrisi 83
Şekil 6.2 Bileşik 7'ye ait kalibrasyon eğrisi 84
Şekil 6.3 NP-1'e ait Boyut ve Zeta Potansiyel Grafikleri 85
Şekil 6.4 NP-2'ye ait Boyut ve Zeta Potansiyel Grafikleri 86
Şekil 6.5 Bileşik 4, Bileşik-4 yüklü NP ve boş NP'nin karşılaştırmalı FTIR spektrumu 86
Şekil 6.6 Bileşik 7, Bileşik-7 yüklü NP ve boş NP'nin karşılaştırmalı FTIR spektrumu 87
Şekil 6.7 NP-1'in Salım Grafiği 88
Şekil 6.8 NP-2 Salım Grafikleri 88
Şekil 6. 9 Antibakteriyel kinolonlardaki yapı gereklilikleri 90

TABLO LİSTESİ

Tablo 3.1 Birinci Jenerasyon Kinolonlar 28

Tablo 3.2 İkinci Jenerasyon Kinolonlar 30

Tablo 3.3 Üçüncü Jenerasyon Kinolonlar 32

Tablo 3.4 Dördüncü Jenerasyon Kinolonlar 33

Tablo 4.1 Polimerik nanopartikül sentezinde sıklıkla kullanılan doğal ve sentetik polimerler 45

Tablo 5.1 Kullanılan kimyasal maddeler 51

Tablo 5.2 Enkapsülasyon ve Antimikrobiyal Aktivite Çalışmalarında Kullanılan Cihazlar ve Kullanım Alanları 52

Tablo 6.1 NP'lere ait reaksiyon verimi, enkapsülasyon etkinliği ve ilaç yükleme kapasitesi 84

Tablo 6.2 Üretilen NP'lere ait partikül boyutu, PDI ve zeta potansiyel değerleri 85

Tablo 6.3 Test örneklerinin MIC/MBC değerleri ve sonuç petri görüntüleri 89

ÖZET

ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE GÖSTEREBİLECEK İLAÇ TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE ENKAPSÜLASYONU

Sevcan BALTA

Kimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ömer Tahir GÜNKARA

Tez Eş-Danışmanı: Prof. Dr. Serap DERMAN

Antibiyotik olarak da bilinen bir antimikrobiyal ilaç, bakteri, virüs, mantar veya parazitlerin neden olduğu enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılan bir ilaç türüdür. Antimikrobiyal ilaçlar, mikroorganizmaları öldürerek veya büyümelerini durdurarak çalışır.

Antibiyotikler moleküler yapılarına, etki tarzlarına ve aktivite spektrumlarına göre sınıflandırılmaktadır. Aynı yapısal sınıfta olanlar genellikle, benzer yan etkiler göstermektedir. Bunlar toksisite ve alerjik potansiyel gibi yan etkilerdir. Antimikrobiyal ilaçlar, penisilinler, sefalosporinler, tetrasiklinler, makrolidler, aminoglikozitler ve florokinolonlar dahil olmak üzere birkaç kategoride sınıflandırılabilir.

Florokinolonlar, bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek için yaygın olarak kullanılan bir antibiyotik sınıfıdır. Bazı florokinolon örnekleri arasında siprofloksasin, levofloksasin, moksifloksasin ve norfloksasin bulunur.

Florokinolonlar genellikle iyi tolere edilir, ancak bazı yan etkileri olabilir.

Antibiyotik direncinin ciddi bir sorun haline gelmesi ve florokinolonların ciddi yan etki potansiyeli nedeniyle, hem ilaca duyarlı hem de ilaca dirençli patojenlere karşı büyük potansiyele sahip yeni ve daha etkili ajanlar gereklidir.

Tez kapsamında; ilk basamakta literatürde mevcut ve mevcut olmayan antimikrobiyal özellik gösterebilecek ilaç türevleri sentezlenmiştir. Bileşikler, FTIR, ^{1}H NMR, ^{13}C NMR (APT), LC-MS (Q-TOF) spektroskopik yöntemler bileşiklerin yapılarını tayin etmede kullanılmıştır.

İkinci basamakta, literatürde olmayan bir ilaç türevinin enkapsülasyonu yapılmıştır.

Son basamakta ise elde edilen enkapsüle edilmiş yeni molekülün biyolojik aktivite çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal İlaç, Antibiyotik, Florokinolon, Enkapsülasyon, Biyolojik Aktivite

ABSTRACT

SYNTHESIS AND ENCAPSULATION OF DRUG DERIVATIVES WITH POTENTIAL ANTIMICROBIAL ACTIVITY

Sevcan BALTA

Department of Chemistry

MSc Thesis

Supervisor: Doç.Dr. Ömer Tahir GÜNKARA

Co Supervisor: Prof.Dr. Serap DERMAN

An antimicrobial drug, also known as an antibiotic, is a type of medicine used to treat infections caused by bacteria, viruses, fungi, or parasites. Antimicrobial drugs work by killing microorganisms or stopping their growth.

While there are several ways to classify antibiotics, the most common classifications are based on their molecular structure, mode of action, and spectrum of activity. Those in the same structural class generally show similar efficacy, toxicity, and potential allergic side effects. Antimicrobial drugs can be classified into several categories, including penicillins, cephalosporins, tetracyclines, macrolides, aminoglycosides, and fluoroquinolones.

Fluoroquinolones are a class of antibiotics commonly used to treat bacterial infections. Some examples of fluoroquinolones include ciprofloxacin, levofloxacin, moxifloxacin, and norfloxacin. Fluoroquinolones are generally well tolerated but may have some side effects.

Due to the fact that antibiotic resistance has become a serious problem and the potential for serious adverse effects of fluoroquinolones, there is a need for new

andmore effective agents with great potential against both drug-susceptible and drug-resistant pathogens.

In the first step of the study, drug derivatives that may show antimicrobial properties, which are not included in the literature, were synthesized. The structures of the compounds not included in the literature were characterized based on spectral data such as FTIR, ^{1}H NMR, ^{13}C NMR (APT), LC-MS (Q-TOF), respectively.

In the second step, encapsulation of a drug derivative that is not in the literature was made.

At the last step, biological activity studies of the encapsulated new molecule obtained were carried out. An antimicrobial drug, also known as an antibiotic, is a type of medicine used to treat infections caused by bacteria, viruses, fungi, or parasites. Antimicrobial drugs work by killing microorganisms or stopping their growth.

Keywords: Antimicrobial Drug, Antibiotic, Fluoroquinolone, Encapsulation, Biological Activity

1
GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

İlaç, tüketildiğine organizmanın fizyolojisinde veya psikolojisinde değişikliğe neden olan kimyasal maddedir. Bir hastalığı tedavi etmek, iyileştirmek, önlemek veya teşhis etmek ya da sağlığı geliştirmek için kullanılmaktadır. İlaçlar genellikle gıda ve besin takviyelerinden ayrılan maddelerdir. İlaçlar genellikle çeşitli yollarla tüketilebilir. Bu yollar arasında inhalasyon (solunum yoluyla), enjeksiyon (deri altına, kas içine veya damara), oral yolla (ağızdan yutma), transdermal yolla (cilt üzerine uygulanan yama veya krem yoluyla emilim), rektal yolla (fitil şeklinde veya makattan) veya sublingual yolla (dil altında eritme) sayılabilir. İlaçların tüketim şekli, ilacın türüne, hastalığın özelliklerine ve tedavi ihtiyacına bağlı olarak değişebilir. Bu yöntemler, ilacın vücuda nasıl emildiğini ve etkisini nasıl gösterdiğini belirleyebilir.

İlacın veriliş yolu, şekli; hastanın vücut ağırlığı,cinsiyeti, yaşı, genetik özellikleri gibi etmenler ilacın etki edilişinde önemli rol oynar.Geleneksel olarak ilaçlar,daha önceleri şifalı bitkilerden ekstraksiyon yoluyla elde edilmekteydi, ancak daha yakın zamanda organik sentez yoluyla da elde edilmeye başlanmıştır.

20. yüzyılın başlarında, bulaşıcı hastalıklar dünya çapında önde gelen ölüm nedeniyken ilerleyen süreçte bulaşıcı hastalıklardan kaynaklanan morbidite ve mortalitedeki düşüşler, esas olarak antimikrobiyal ajanların tanıtımına bağlanmıştır [1]. 1928'de Sir Alexander Fleming tarafından penisilinin keşfi, modern antibiyotik inovasyonu ve geliştirme çağını başlatmıştır [2]. Antibiyotiklerin keşfi ve devamında klinik kullanımı tıp tarihindeki en başarılı tedavi biçimlerinden biri olmuştur. Öyle ki bu tedavilerle milyonlarca hayat kurtarılmış ve bulaşıcı hastalıkların çoğu kontrol altına alınmıştır. İlk olarak, 1940'larda klinik uygulamaya girdiklerinde, antibiyotikler patojenik bakterileri temizlemede son derece etkili ajanlardı [3]. Ancak günümüzde antibiyotiklere karşı gelişen direnç kritik bir düzeye ulaşmış ve klinikte kullanılmakta olan başlıca antimikrobiyal ilaçları geçersiz kılmıştır [1]. Bu sebeple güncel araştırmalarda, yeni antimikrobiyal

bileşiklerin geliştirilmesine, geliştirilen bu bileşiklerden de en üst seviyede faydalanabilmek için ilaç taşıyıcı sistemlerin tasarlanmasına odaklanılmıştır.

1.2 Tezin Amacı

Antibiyotikler, hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan ilaçlardır. Ancak, gün geçtikçe artan bir şekilde karşılaşılan bakteriyel direnç nedeniyle etki güçleri azalmaktadır. Antibiyotiklere karşı direnç gelişiminin ana nedenlerinden biri, insanların antimikroyal ajanları yanlış kullanmalarıdır. Bu, hastalıkların tedavisi dışında, tarımda verimin artırılması, hayvan yetiştiriciliğinde büyüme hızının hızlandırılması ve besin değerinin iyileştirilmesi gibi amaçlarla antibiyotiklerin kullanılmasıyla ilişkilidir.

Bu tür yaygın ve gereksiz kullanım, antibiyotiğe dirençli bakterilerin ortaya çıkmasına ve yayılmasına yol açmaktadır. Dirençli bakteriler, tedavide daha zorlu ve karmaşık hale gelen enfeksiyonlarla ilişkilendirilir. Bu durum, antibiyotik seçeneklerinin azalmasına ve tedavi başarısızlıklarının artmasına neden olabilir.

Bu nedenle, doğru kullanımı teşvik etmek, antibiyotiklerin sadece gerekli durumlarda ve reçeteyle kullanılmasını sağlamak önemlidir. Aynı zamanda, tarım ve hayvancılık sektöründe de uygun kullanım politikalarının uygulanması ve alternatif çözümlerin araştırılması gerekmektedir. Antibiyotik direnciyle mücadele etmek için küresel çapta eylemler ve farkındalık artırma çabaları da büyük önem taşımaktadır.

1.3 Hipotez

Bu tez çalışmasında antimikrobiyal özellikteki yeni siprofloksasin türevlerinin ve literatürde olan türevlerin sentezlenmesi, biyouyumlu ve biyobozunur PLGA nanopartiküllerine enkapsüle edilmesi ile ilaç çözünürlüğünü arttırarak biyoyarlılığını iyileştirmek hedeflenmektedir. Bu sayede geniş spektrumlu antimikrobiyal uygulamalarda kullanılabilecek olan alternatif bir formülasyonun literatüre kazandırılabileceği düşünülmektedir.

2
ANTİMİKROBİYAL İLAÇLAR

Antimikrobiyal ilaçlar, bakteri, mantar, virüs ve parazit gibi mikroorganizmaları öldüren veya büyümesini engelleyen maddelerdir. Enfeksiyonları tedavi etmek ve önlemek için kullanılırlar.

Antimikrobiyal ilaçlar, aşağıdakiler de dahil olmak üzere birkaç gruba ayrılabilir:

- Antibiyotikler: Bu ilaçlar bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılır. Bakterilerin büyümesine veya çoğalmasına müdahale ederek çalışırlar.
- Antifungaller: Bu ilaçlar mantar enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanılır. Mantarların büyümesine veya çoğalmasına müdahale ederek çalışırlar.
- Antiviraller: Bu ilaçlar viral enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılır. Virüslerin çoğalmasına müdahale ederek çalışırlar.
- Antiparaziterler: Bu ilaçlar parazit enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanılır. Parazitleri öldürerek veya devre dışı bırakarak çalışırlar.

Antimikrobiyal ilaçlar modern tıbbın önemli bir parçasıdır. Milyonlarca hayatın kurtarılmasına yardımcı oldular ve birçok insanın yaşam kalitesini iyileştirdiler. Bununla birlikte, antimikrobiyal direnç büyüyen bir sorundur. Bu, bakteriler gibi mikroorganizmaların antimikrobiyal ilaçların etkilerine karşı dirençli hale geldiği zamandır. Bu, enfeksiyonları tedavi etmeyi zorlaştırabilir veya imkansız hale getirebilir.

2.1 Antibiyotiklerin Tanımı ve Tarihçesi

Hastalıkları çeşitli kimyasallar kullanarak tedavi etmek, Eski Mısır, Babil, Uzak Doğu ve İnkalara kadar uzanmaktadır [4]. Geçmişteki bu tedavi yöntemleri arasında, açık yaralara veya kesiklere küf uygulamak, antibakteriyel olduğu bilinen turp, pırasa, sarımsak ve soğan yemek gibi ilkel yolları içerir.

Mikrobiyoloji dalının ilk günlerinden beri, bir organizmanın diğerinin büyümesi üzerine olan etkisi merak konusu olmuş ve bunun üzerine yoğun araştırmalar

yapılmıştır. 1871 yılında bu alanda çalışmalarını yürüten Sir John Burdon-Sanderson, havaya maruz kalan bir ortamda bakteri oranının hızla arttığını gözlemledi. Eğer bu ortamda üzerinde Penicillium küfü olan bir et suyu mevcutsa, bu et suyunun üzerinde bakteri oranının daha az olduğunu da belirledi [5]. Sir John Burdon-Sanderson'ın yanı sıra, William Roberts, John Tyndall ve Joseph Lister gibi kişiler de Penicillium ile ilgili eş doğrultuda gözlemleri olduğunubildirdiler [6, 7, 8].

Bir mikroorganizmanın büyümesinin diğer mikroorganizmalar tarafından terapötik olarak engellenebileceğini belirtme potansiyeline sahip en eski araştırma, Pasteur ve Joubert'in hava yoluyla taşınan organizmalar tarafından,Bacillusanthracis bakterisinin sebep olduğu şarbon hastalığının engellenmesinin mümkün olabileceğini keşfettiği yayındadır [9]. Kısacası antibiyozis, 19. Yüzyılın ortasında keşfedilmiştir.

Antimikrobiyal bir ajan arayışı sürerken, antiseptiklerin yaraya direkt olarak uygulanması dışındaki herhangi bir uygulamanın biyolojik sistem için zararlı olduğu da keşfedilmiştir. Alman bakteriyolog Paul Ehrlich, "Sihirli Mermi" diye adlandırdığı, asıl adı Arsfenamin/Salvarsan/Madde 606 olan arsenik bazlı bir molekülün Treponemapallidum bakterisinin yol açtığı ve cinsel yolla bulaşan bir hastalık olan frengi hastalığına tedavi olabileceğini belirtmiştir [10].

Alexander Fleming, lizozim enziminin antibakteriyel aktivitesini keşfettiğinde Londra'daki St. Mary Hastanesi'nde çalışıyordu. Yanlışlıkla petri kaplarına doğruhapşırmasından sonra, mukusunun geldiği petri kaplarında herhangi bir koloni oluşmadığını fark ettiğinde, İnhibisyon Bölgesi terimini keşfeden ilk kişi oldu. Testlerini ilerlettiğinde ise lizozim enziminin çoğunlukla patojenik özellik göstermeyen organizmalara karşı aktivite gösterdiğini gözlemledi [11, 12].

1928 yılında, tatile çıkmasından sonra laboratuvarına dönen Alexander Fleming, bir kere daha tesadüf sonucu açıkta bıraktığı petri kabında üreyen Penicilliumnotatum'un (yeşil renkli küf mantarı) gram-pozitif bir bakteri olan Staphylococci ile küflendiğini, ancak küf ile bakteri arasında boş bir alan olduğunu fark etti. Bu boş alanın oluşma sebebinin oluşan küfün Staphylococci'yi parçalaması olduğuna kanaat getirdi.

Bu küfün bakterileri öldürebilme potansiyeline sahip olan süzüntüsü ise Penisilin olarak adlandırıldı. Böylece bilinen antibiyotik keşfedilmiş oldu [11].

2.2 Antibiyotiklerin Sınıflandırılması

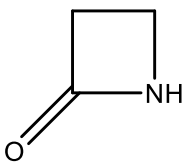
Antibiyotikleri etki mekanizmalarına göre 5 sınıfta toplayabiliriz.

2.2.1 Bakteri Hücre Duvarının Sentezini Engelleyenler

Bakterinin hücre duvarının sentezindeki birinci adım sitoplazmada gerçekleşir. Bu ilk adım, üridin difosfat (UDP)-NAG'ın (*N*-asetilglukozamin) 3-hidroksil grubundan inorganik fosfatın ayrılması ve fosfoenol pirüvat ile UDP-NAG arasında enol pirüvat transferini içerir. Reaksiyon, UDP-NAG enolpirüvil transferaz enzimi ile katalizlenir. Enzimin etkisiz hale getirilmesi, peptidoglikan sentezini engelleyerek hücresel bütünlüğü bozar. Bu durum bakterinin ozmotik olarak parçalanmasına sebep olur [13].

2.2.1.1 β-laktamlar

Bu gruptaki antibiyotikler, üç karbon ve bir azot içeren dört üyeli bir β-laktam halkasına sahiptir (Şekil 2.1). Bu antibiyotikler, bakterilerde hücre duvarının sentezi için gereken proteinleri etkileyerek büyümelerini engel olarak, onları öldürür. Peptidoglikan sentezi sırasında peptit birimlerinin çapraz bağlanmasından sorumlu olan bazı bakteriyel enzimler penisilin bağlayıcı protein (PBP) olarak isimlendirilir. β-laktamlar, kendilerini PBP enzimlerine bağlayarak peptidoglikan sentezini engeller ve lizis ve hücre ölümüne neden olur. Bu mekanizma, bakteri hücrelerinin duvarının zayıflamasına ve sonuç olarak hücrenin ölümüne yol açar [14].



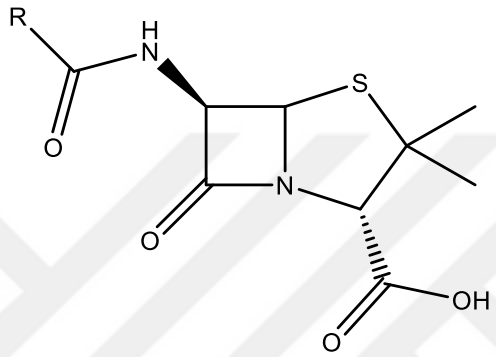
Şekil 2.1 β-laktam

Bu tip antibiyotikler, geniş bir bakteri spektrumuna karşı aktivite gösterebildiklerinden, insana karşı toksisiteleri düşük olduğundan ve bakteriyel

enfeksiyonları tedavi ederek sağlık üzerinde küresel açıdan olumlu bir etkiye sahip oldukları için, penisilin ve diğer-laktam antibiyotikler muhtemelen şimdiye kadar keşfedilmiş olan en önemli ilaç sınıfı olarak kabul edilmektedir [15, 16].

Bu sınıfta olan antibiyotikler; penisilinler, sefalosporinler, karbapenemler ve monobaktamlardır.

2.2.1.1.1 Penisilinler



Şekil 2.2 Penisilin çekirdek yapısı

Penisilinin keşfi 1928 yılında Sir Alexander Fleming ile olmuştur. Howard Walter Florey ve Ernst Boris Chain tarafından penisilin ticari üretimde kullanıma hazır hale getirilmiştir. Bu keşif ve geliştirme çalışmaları tıp alanında antibiyotik çağı olarak adlandırılan bir dönemin başlangıcını işaret etmiştir.

Penisilinler genellikle bakterisidal etki gösterir ve bakteri hücre duvarı sentezini etkiler. Bu mekanizma, bakteri hücrelerinin duvarının zayıflamasına ve sonuç olarak hücrenin ölümüne yol açar. Bu özellikleri sayesinde penisilinler, birçok bakteriyel enfeksiyonun tedavisinde etkili olmuş ve antibiyotiklerin kullanımının yaygınlaşmasını sağlamıştır.Penisilinin genel yapısı şekil 2.2 de gösterilmiştir.

Penisilinler iki sınıfa ayrılırlar; doğal ve sentetik penisilinler.

Doğal penisilinler en dar aktivite spektrumuna sahip olan sınıftır ve bu sınıfta, parenteral yol (terapötik ajanların (ilaçların) sindirim sistemi dışındaki tüm yollarla verilmesi) aracılığıyla tedavide kullanım amaçlı olan Penisilin G (benzilpenisilin) ve oral yol aracılığıyla tedavide kullanım amaçlı olan Penisilin V (fenoksimetilpenisilin) bulunmaktadır. Sulu kristal Penisilin G ana ilaçtır ve dört

farklı tuz formunda mevcuttur. Bunlardan potasyum ve sodyum tuzu formları, saklama esnasında penisilin molekülünü stabilize etmek için tasarlanmış formülasyonlardır. Benzatin ve prokain tuzu formları ise daha yavaş emilim ve dolayısıyla daha uzun etki süresi için tasarlanmıştır. Penisilin G, hassas organizmalara karşı oldukça etkilidir ve doku penetrasyonu çok iyidir. Hem oral hem de parenteral formda bulunmasına karşın mide salgılarıyla kolayca inaktive olabilmesi sonucu sadece oral yol aracılığıyla çeşitli tedavilerde kullanılır. Penisilin G, beta-laktamaz üreten organizmalara karşı etki göstermez. Potasyum veya sodyum tuzu formundaki sulu kristalin Penisilin G, organizma üzerinde hızlı bir etki gösterir ve uygulamadan sonraki 30 dakika içinde en yüksek plazma konsantrasyonuna ulaşır. Lakin 30-60 dakikalık kısa yarılanma ömrü, doz alımının sık olmasını gerektirir. Ancak yine bu nedenle sürekli veya sık aralıklı intravenöz tedavi (sıvı solüsyonların serum yoluyla doğrudan kan akımına verilmesi) aracılığıyla kullanımı mümkündür. Penisilin G'nin düşük konsantrasyonlarda bile yüksek aktivite göstermesi ve dar aktivite spektrumu, perinatal dönemde (21. gebelik haftası ile doğumdan sonraki bir aylık dönem) gelişen grup B streptokok (GBS) profilaksisinin tedavisi için muazzam bir ilaç yapmaktadır [17]. Potasyum tuzu formundaki kristal Penisilin G, intravenöz olarak verildiğinde uygulama yerinde bir yanma hissi yaratabilir; bu, sodyum tuzu formundaki kristal Penisilin G'de olmayan bir yan etkidir.

İntravenöz uygulama mümkün olmadığında, prokain tuzu formundaki penisilin veya benzatin tuzu formundaki penisilin kullanılabilir. Bu ilaçlar, sulu kristalin Penisilin G ile aynı antimikrobiyal aktivite spektrumuna sahiptir, ancak yarı ömürleri daha uzundur. Penisilin G prokain ile birleştiğinde enjeksiyon yerinden daha yavaş emilen bir formülasyon meydana gelir. Bu formülasyon, ilacın kandaki kalış ve dolanımını uzatır. Prokain tuzu formundaki Penisilin G, günde iki ila üç kez kas içinden verilebilir. Geleneksel olarak Neisseriagonorrhoeae ve Streptococcuspneumoniae'nin neden olduğu alt solunum yolu enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanılır. Ancak her iki organizmanın direnç suşlarının ortaya çıkması, son yıllarda prokain tuzu formundaki penisilinin bu enfeksiyonlara karşı olan aktivitesini sınırlamıştır [28].

Benzatin penisilin (Bicillin LA), Penisilin G'nin yavaş salınan şekillerinden ikincisidir. Kas içinden verildiğinde penisilin haftalarca vücutta kalır ve bu ilacı ayakta tedavi için başarılı bir aday haline getirir. Benzatin penisilin, en yaygın olarak erken ve geç evre sifilis tedavisinde kullanılır.

Diğer bir doğal penisilin olan Penisilin V, mide ortamında stabil olduğundan doğal penisilinin oral yol aracılığıyla vücuda verilmesi istendiğinde tercih edilen ilaçtır. Penisilin V, ince bağırsaktan kolaylıkla emilmesine rağmen, nispeten düşük pik plazma seviyelerine ulaşır ve sadece duyarlı organizmaların neden olduğu hafif, lokal enfeksiyonlarda kullanılmalıdır [18]. Penisilin V halen streptokokal farenjit için tercih edilen ilaç olarak kabul edilmektedir [19].

Sentetik penisilinler, penisilinaz üreten bakterilerin keşfinden sonra üretilmeye başlanmıştır. Bu ilaç grubu, çeşitli organizmaların ürettiği penisilinazın penisilin molekülüne girmesini ve beta-laktam halkasını parçalamasını önleyen geniş bir yan zincirin penisilin molekülüne eklenmesiyle etkinliğini sağlar [18]. Bu nedenle, bu ilaçlar "antistafilokokal penisilinler" olarak kabul edilebilir.

Metisilin bu ilaçların prototipidir, ancak artık eski yaygınlığını kaybetmiştir. Bunun sebebi MRSA gelişiminin metisilini etkisiz hale getirmesi ve bu sebeple yan etkilerinin dışında neredeyse bir aktivite gösterememesidir. Bu kategoride halen Amerika Birleşik Devletleri'nde bulunan ilaçlar nafsilin, oksasilin, kloksasilin ve dikloksasilindir. Nafsilin sadece intravenöz kullanım için kullanılır. Kloksasilin ve dikloksasilin sadece oral ajanlar olarak kullanılır.

Bu ilaçların aktivite spektrumu, penisilinaz üreten bakteri kaynaklı deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmak için uygundur. Hemolitik streptokokal farenjitte ve PRSA enfeksiyonlarının kanıtlandığı veya şüphelendiği pnömonide de (zatürre) yararlı olabilirler [20]. Dikloksasilin, penisilinaz üreten stafilokoklara karşı özellikle etkilidir ve mastitis (göğüs iltihabı) için tercih edilen tedavidir çünkü oral uygulama diğer ilaçlara kıyasla nispeten yüksek biyoyararlanım sağlar [21].

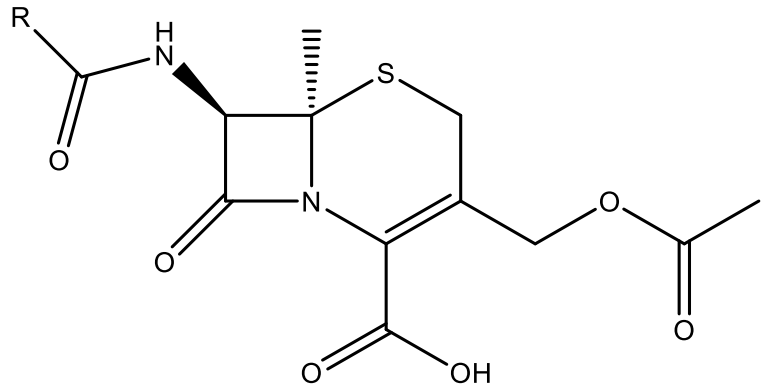
Diğer bir sentetik penisilin grubu olan Aminopenisilinler gram-negatif bakterilere karşı aktivite gösteren ilk penisilin grubudur. Benzilpenisiline bir adet amino grubu eklenerek sentezlenen bu ilaç grubunun prototipi ampisilindir. Şu anda

aminopenisilinler, Amerika Birleşik Devletleri'nde en çok reçete edilen antibiyotik sınıfıdır. Penisilinin bu alt kategorisinde üç ilaç mevcuttur: ampisilin, amoksisilin ve bakampisilin. Her üç ilaç da gram pozitif ve gram negatif organizmalara karşı neredeyse aynı geniş spektrumlu aktiviteye sahiptir. Amoksisilin, oral yol aracılığı ile vücuda verildiğinde ampisilinden daha iyi absorbe edilir. Bu nedenlerle amoksisilin, genellikle oral yol aracılığı ile gerçekleştirilecek olan tedavilerde ampisilinin yerini almıştır. Ek bir avantaj olarak amoksisilinin ampisiline nazaran diyare (ishal) yapma oranı daha azdır [22]. Amoksisilin genel olarak 8 saatte bir uygulanan bir ilaç olup orta kulak iltihabı ve maksiller sinüzit için tercih edilen bir ilaçtır [23, 24].

Ampisilin hem parenteral hem de oral formülasyonlarda bulunan tek aminopenisilindir. Oral bir ilaç olarak mevcut olsa da genel olarak intravenöz yoluyla tedaviler için kullanılır [22]. Bakampisilinin ne ampisiline ne de amoksisiline göre terapötik bir avantajı yoktur ve ikisinden de daha pahalıdır. Tek avantajı doz aralıklarında görülmektedir [20]. Yarı ömrünün uzun olması nedeniyle, bakampisilin 12 saatlik aralıklarla verilebilir. Ampisilinden en az 6 saatte bir yeni bir doz alınması gerekir. Hem ampisilin hem de amoksisilin, bakteriyel endokardite karşı profilaksi için ve gastrointestinal ve genitourian prosedürlerden önce profilaksi için kullanılır.

2.2.1.1.2 Sefalosporinler

İtalyan bilimci Giuseppe Brotzu, 1948 yılında Sefalosporiumakremonyum kültürlerinden sefalosporinleri elde edilmiştir. Sefalosporinler, Sefalosporiumakremonyum mantarından elde edilen Sefalosporin C'den türetilir. Sefalosporinler, yapısal ve fonksiyonel olarak penisilinlere benzerlik gösterir. İçerdikleri 7-aminosefalosporanik asit çekirdeği ve 3,6-dihidro-2*H*-1,3-tiazin halkalarıyla birlikte bir β-laktam halkasını paylaşırlar. Sefalosporin bileşikleri altı üyeli bir β-laktam halka yapısına sahiptir. [25]. Sefalosporinler, yaygın olarak kullanılan antibiyotik gruplarından biridir. Farklı sefalosporin türevleri, geniş bir bakteriyel spektruma karşı etkili olabilir ve çeşitli enfeksiyonların tedavisinde kullanılır.



Şekil 2.3 Sefalasporin

Sefalosporinler kuşaklarına göre sınıflandırılırlar ve toplamda beş kuşak sefalosporin bulunur [26].

Birinci kuşak sefalosporinler (sefadroksil, sefradin, sefaleksin, sefalotin sodyum, sefazolin, sefapirin), çoğunlukla gram pozitif bakterilere karşı etkilidir. Bu bakteriler arasında enterekoklar, metisiline dayanıklı *Staphylococcusaureus (MRSA)* ve penisiline dayanıklı pnömokoklar hariç tümü bulunur. Sefadroksil, streptokoksik farenjit gibi durumlarda, günde tek dozda oral penisilin V kadar etkili olabilir [27]. Bu birinci kuşak sefalosporinler, genellikle gram pozitif bakterilere karşı etkili olmaları ve belirli enfeksiyon türlerinde kullanımları nedeniyle tercih edilir [28]. Ancak, gram negatif bakterilere karşı etkileri daha sınırlıdır ve bazı direnç mekanizmalarına karşı daha hassas olabilirler.

İkinci kuşak sefalosporinler (sefuroksimaksetil, sefaklor, sefprozil, seforanid, lorakarbef, sefamandol, sefonisid) ve sefamisinler (sefoteten, sefoksitin, sefmetezol), birinci kuşak sefalosporinler gibi gram-pozitif bakterilere etkili olurken, gram-negatif bakterilere karşı etkinlikleri arttırılmıştır [28]. Özellikle sefuroksimaksetil, gastrointestinal sistemden iyi emilir ve yüksek bir biyoyararlanıma sahiptir [29]. Bronşit, pnömoni ve alt üriner sistem enfeksiyonları gibi durumların tedavisinde etkilidir. Ancak, akut pyelonefrit gibi daha ciddi durumlarda yetersiz olabilir ve farklı bir tedavi yaklaşımı gerekebilir [30, 31].

Üçüncü kuşak sefalosporinler (seftizoksim, sefiksim, sefditorenpivoil, sefotaksim, seftriakson, seftibuten, sefdinir, seftazidim, sefoperazon, moksolaktam) özellikle gram-negatif bakterilere karşı yüksek etkinliğe sahiptir.Bu grup sefalosporinler, geniş bir spektruma sahip olup özellikle gram negatif bakterilere karşı etkilidir.

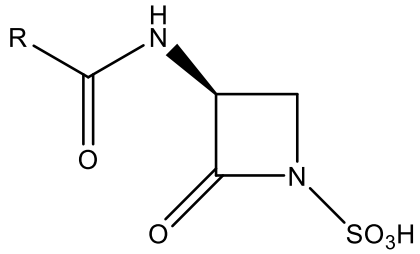
Örneğin, seftazidim, sefoperazon ve seftizoksim, *pseudomonas* gibi zorlu gram negatif bakterilere karşı da etkili olabilir [28]. Seftriakson ise uzun bir yarılanma ömrüne sahiptir ve bu nedenle bir kez günlük doz olarak uygulanabilir. Bu özelliği sebebiyle sepsis gibi ciddi enfeksiyonların tedavisinde kullanılan bir seçenek olabilir. Ayrıca aminoglikozitlerle kombine edilerek kullanılarak tedavi etkinliği artırılabilir [32].

Dördüncü kuşakta; sefepim bulunur. Geniş bir spektruma sahiptir olup aynı zamanda, gram-pozitif bakterilere ve gram-negatif bakterilere karşı etkinlikleri vardır. Gram-negatif bakterilerin dış zarlarına nüfuz edebilecek zwitter iyonlar içerirler. Beta laktamazlara karşı dirençlidirler. Febril nötropenide (Nötrofil sayısının düşmesiyle beraber ateşin çıkması) kullanılan bir ilaç olup anti-stafilokoksik etkinlikleri yoktur. *MRSA*'ya karşı etkisizdirler. Üçüncü kuşağa nazaran gram-pozitif bakterilere karşı etkinlikleri daha fazladır. Yalnızca parenteral olarak kullanılabilen bu kuşak, özellikle hematoloji servislerinde, febril nötropenik vakalarda, immun yetersizliklerin infeksiyon tedavilerinde yer alır [33].

Beşinci kuşakta ise; seftarolin ve seftobiprole bulunur. Bu grup en yeni kuşaktır ve diğer kuşaklardan farkı *MRSA* enfeksiyonlarının tedavisinde etkin olmalarıdır. Çocuklarda kullanımları FDA tarafından onaylanmamıştır [33].

2.2.1.1.3 Monobaktamlar

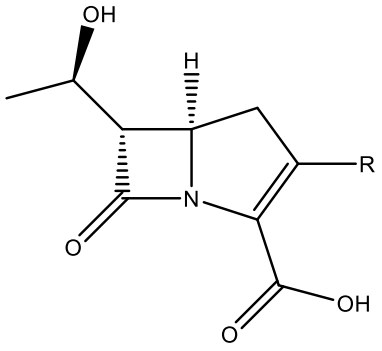
Monobaktamlar, Skyes ve arkadaşları tarafından keşfedilmiş ve *Chromobacteriumviolaceum* bakterisinden elde edilmiş antibiyotiklerdir. Monobaktamlar, β-laktam antibiyotiklerinin bir alt sınıfını oluşturur. Monobaktamların β-laktam halkası diğer β-laktam antibiyotiklerinden farklı olarak tek ve başka bir halkaya kaynaşmamıştır (Şekil 2.4). Bu özellikleri onları diğer β-laktamlardan ayırır. Aztreonam, piyasada bulunan tek monobaktam antibiyotiktir. Dar bir aktivite spektrumuna sahiptir ve sadece aerobik gram-negatif bakterilere etkilidir. Ancak monobaktamlar gram-pozitif bakterilere veya anaeroblara karşı tesirli değildirler [14].



Şekil 2.4 Monobaktam

2.2.1.1.4 Karbapenemler

Karbapenemler, β-laktam halkasına başka bir halka ile kaynaşmış bir yapıya sahip olan antibiyotiklerdir. Bu yapıda, bisiklik bir ana yapıya sahiptir ve kükürt yoktur. Bu nedenle, penisilinlere benzemesine rağmen yapısal olarak farklılık gösterirler (Şekil 2.5). Karbapenemler, β-laktamaz enzimlerinin hidrolitik etkisine direnme yetenekleri nedeniyle bakteriyel enfeksiyonlara karşı etkili bir mücadelede önemli bir rol oynarlar. Gram-negatif ve gram-pozitif bakterilere karşı etkilidir. Bu nedenle bu antibiyotikler "son çare antibiyotikleri" olarak isimlendirilir. Hastaların enfeksiyonları ağırlaştığında veya dayanıklı bakterilere sahip olduklarından şüphelenildiğinde kullanılırlar. Karbapenem sınıfının üyeleri arasında İmipenem, Meropenem, Ertapenem, Doripenem, Tomopenem, Panipenem, Biapenem, Faropenem ve Tepipenempivoksil bulunur. Her biri farklı gram-negatif ve gram-pozitif bakterilere karşı etkinlik gösterir ve tedavide önemli bir seçenek olarak kullanılır. Ancak karbapenemlerin kullanımı dikkatli bir şekilde yapılmalıdır, çünkü bu antibiyotiklerin yaygın ve yaygın olmayan yan etkileri ve bakteriyel direnç gelişimi gibi riskleri vardır [34].



Şekil 2.5 Karbapenem

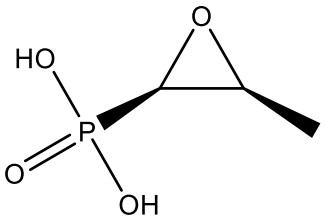
2.2.1.2 Glikopeptidler

Glikopeptid antibiyotikler, bakteri hücre duvarının sentezine etki ederek inhibasyona neden olurlar. Bu antibiyotikler, filamentliaktinomisetler grubu ile üretilen glikosile siklik veya polisiklik nonribozomal peptitlerdir. Bilinen glikopeptitlerden olan vankomisinin, klinik uygulaması yaygındır. İlk olarak toprak aktino bakterilerinde elde edilmiştir. Diğer antibakteriyellere göre vankomisin, ciddi gram-pozitif bakteriyel enfeksiyonları tedavi eder. Ayrıca *Clostridiumdifficile*'nin bağırsak enfeksiyonunu da tedavi etmek için kullanılabilir. Ancak, gram negatif bakterilere karşı aktif değildir, sadece gram-pozitif bakterilere etkilidir. Bu nedenle, glikopeptitler özellikle enterokoklar, metisilin dirençli *Staphylococcusaureus (MRSA)* ve *Clostridiumdifficile* gibi gram-pozitif patojenlerin neden olduğu ciddi enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir terapötik sınıftır.Glikopeptitler, peptidoglikana bağlanarak ve peptidoglikan içinde ve arasında peptitleri çapraz bağlayarak gram-pozitif bakterileri hedef alırlar. Bu şekilde, hücre duvarının yapısını bozarak bakterilerin büyümesini ve çoğalmasını engellerler [35].

2.2.1.3 Diğer Antibiyotikler

2.2.1.3.1 Fosfomisin

1969'da İspanya'da fosfomisintrometamol bulunmuştur ve fosfonomisin olarak isimlendirilen bir antibiyotiktir. Bu antibiyotik, üst solunum yolu enfeksiyonları da dahil birçok enfeksiyonun tedavisinde kullanılmaktadır. Fosfomisintrometamol, dünya genelinde E. coli suşlarında düşük direnç insidansına sahip nadir antibiyotiklerden biridir (%1 civarında)[36]. Fosfomisin, beta-laktam veya aminoglikozidlerle kullanılırsa solunum, dolaşım ve üriner sistem enfeksiyonlarında sinerjistik sonuç gösterebilir [37]. Ayrıca, aminoglikozidlerin nefrotoksik etkisini azaltabilir. İshal, geçici bulantı ve epigastrik/abdominal ağrı gibi gastrointestinal rahatsızlıklar gibi yan etkileri vardır [36, 38].



Şekil 2.6 Fosfomisin

2.2.2 Protein Sentezini Engelleyenler

Protein sentezini inhibe eden antibiyotikler, farklı mekanizmalarla ribozomlarda etki gösterir. Bu mekanizmalardan bazıları şunlardır:

- Aminoasil-tRNA bağlanmasını inhibe etme: Aminoglikozidler gibi bazı antibiyotikler, aminoasil-tRNA'nın ribozoma bağlanmasını engelleyerek protein sentezini durdururlar.
- mRNA'nın ribozoma bağlanmasını veya aminoasil-tRNA bileşiğinin ribozom-mRNA kompleksine bağlanmasını inhibe etme: Makrolidler gibi bazı antibiyotikler, ribozom ve mRNA arasındaki etkileşimi bozarak protein sentezini durdururlar.
- Peptidil transferaz etkinliğini azaltma: Kloramfenikol gibi antibiyotikler, ribozomal peptidil transferaz enziminin aktivitesini inhibe ederek peptid bağlarının oluşumunu engellerler.
- mRNA üzerindeki kodonların yanlış okunmasına neden olma: Tetrasiklinler gibi bazı antibiyotikler, ribozomda mRNA kodonlarının yanlış bir şekilde okunmasına neden olarak protein sentezini etkilerler.

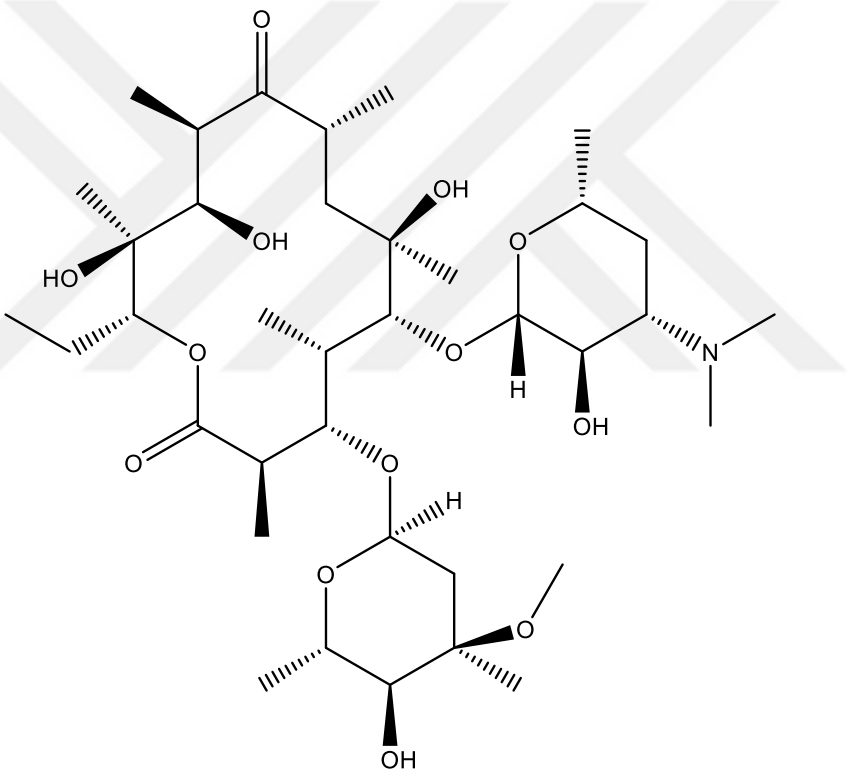
Bu mekanizmalar, antibiyotiğin spesifik etki mekanizmasına bağlı olarak farklı antibiyotik sınıflarında farklı şekillerde bulunabilir. Bu mekanizmalar, ribozomal fonksiyonları etkileyerek bakteriyel protein sentezini bozarak bakteriyostatik veya bakterisidal etki gösterirler [39].

2.2.2.1 50S Ribozomal Alt Üniteye Bağlananlar

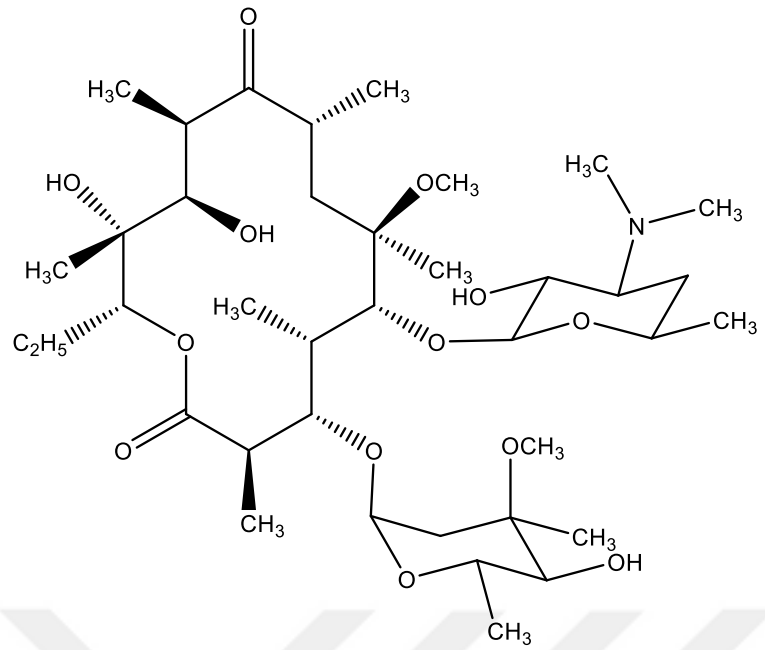
2.2.2.1.1 Makrolidlerve Ketolidler

Makrolid grubu antimikrobiyaller [eritromisin (Şekil 2.7), klaritromisin (Şekil 2.8), azitromisin (Şekil 2.9)] ve ketolid grubu antimikrobiyaller [telitromisin (Şekil

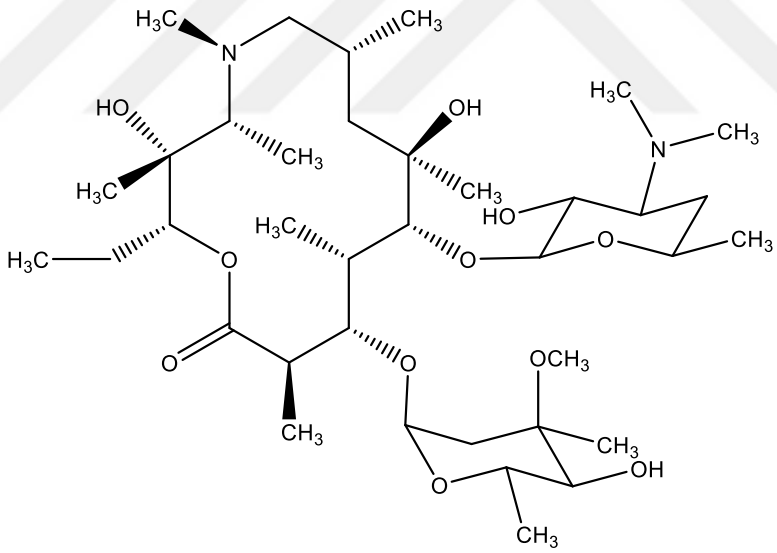
2.10), roksitromisin (Şekil 2.11)], ribozomlara bağlanma sureti ile protein sentezini yavaşlatırlar. Aktiviteleri, gram pozitif bakterilere ve hücre içine yerleşen mikroorganizmalara karşıdır. *MRSA, Haemophilusinfluenzae, Bacteroidesfragilis, Peptostreptococcus* türleri ve penisiline dayanıklı *pneumoniae* grubuna etkileri bulunmamaktadır. Hidrofobik özelliği sebebiyle gram negatiflerin hücre çeperinden penetre olamazlar [40]. Eritromisinin aktivitesi; *Neisseria* türlerine, *Bordetellapertussis, Treponemapallidum, Ureaplasmaurealyticum* ve *Borreliaburgdorferi* gibi türlere karşıdır. Klaritromisinin etki spektrumu eritromisine benzer ancak, bazı bakterilere karşı etkinliği daha fazladır [41].



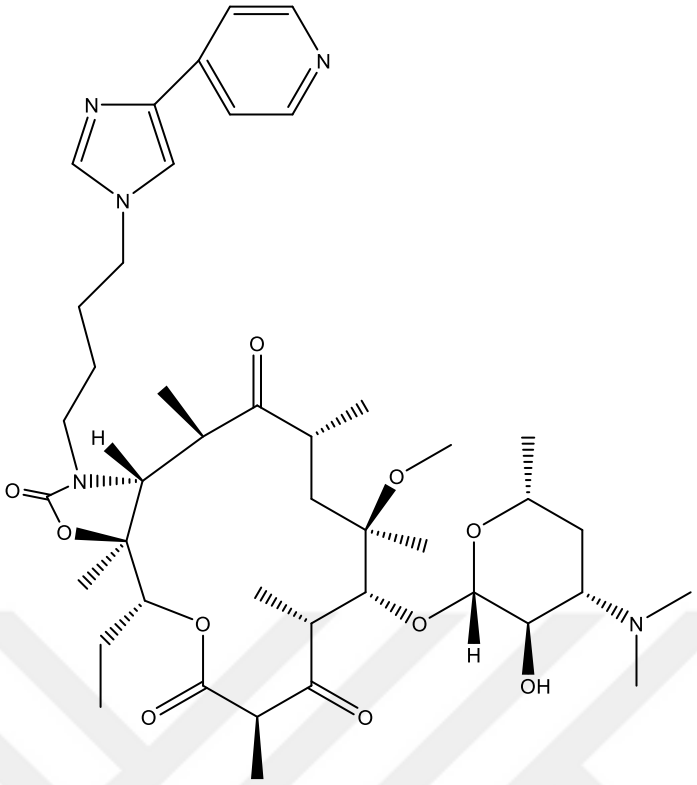
Şekil 2.7 Eritromisin



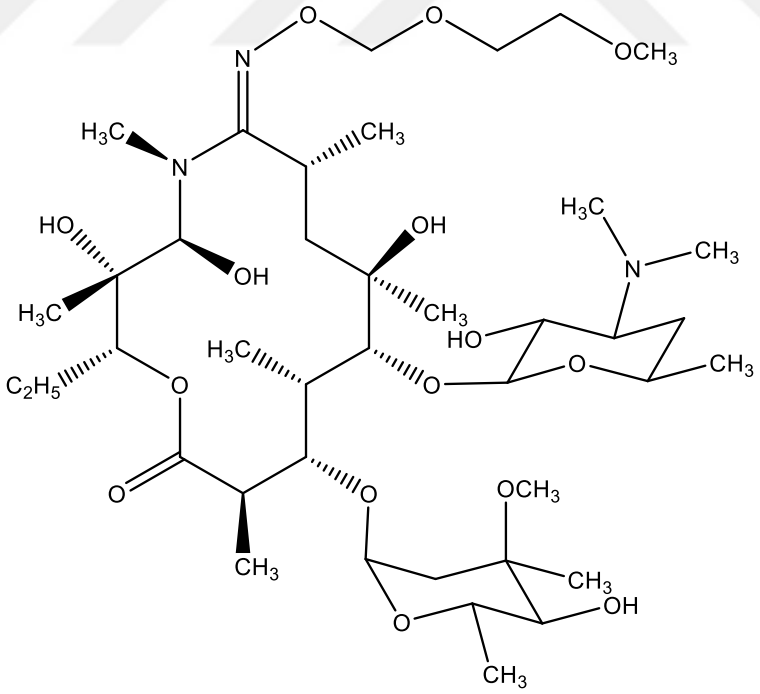
Şekil 2.8 Klaritromisin



Şekil 2.9 Azitromisin



Şekil 2.10 Telitromisin



Şekil 2.11 Roksitromisin

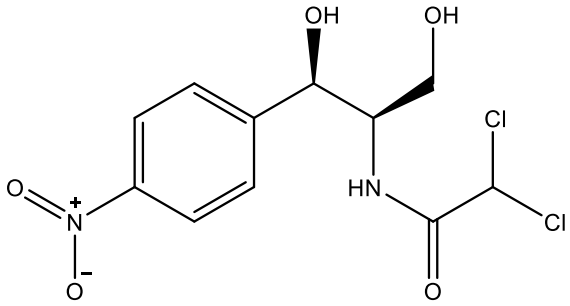
2.2.2.1.2 Linkozamidler

Linkozamidler; linkomisin ve klindamisindir. Klindamisin, linkomsine oranla daha yüksek antibakteriyal etkinliğe sahiptir. Etki spektrumları ve mekanizmaları makrolid grubu antibakteriyellere benzemektedir. Gram pozitiflere, anaeroblara, bir kısım mikoplazma türlerine ve bir hücreli ve ökaryotik canlıları içeren bir Protista alt âlemi olan protozoonlara karşı etkilidirler. *B. fragilis'e* karşı en çok etki gösteren antibiyotik klindamisindir. *Enterobacteriaceae* üyelerine karşı herhangi bir aktivite göstermez. *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* türleri linkozamidlere karşı doğal olarak direnç gösterir [42].

2.2.2.1.3 Streptograminler

Kuinopristin (streptogramin A) vedalfopristin (streptogramin B) ribozomun üzerine, makrolid ve linkozamidlerin bağlandığı bölgeden bağlanır. Bu nedenle bu üç grubun arasında çapraz direnç görülmesi olasılığı fazladır. *MRSA*, *Corynebacterium* türleri, *Clostridrium perfringens, Neisseria meningitidis, M. catarrhalis, Legionella pneumophilia* ve *Mycoplasma pneumoniae*'ya karşı aktivite gösterir. Vankomisine dayanıklı *Enterococcus Faecium*'a karşı bakteriyostatik etkili (bakterileri öldürmek yerine, büyüme veya üremelerini yavaşlatma), *Enterococcus Faecalis*'e karşı etkisizdir [43, 44].

2.2.2.1.4 Kloramfenikol



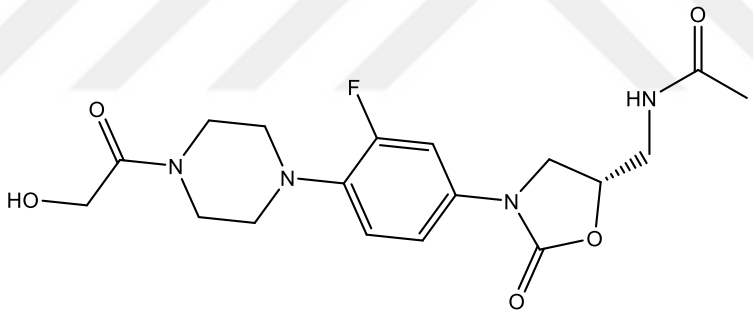
Şekil 2.12 Kloramfenikol

Geniş spektrumlu bir antibiyotik türüdür (Şekil 2.12). *H. influenzae, N. meningitidis, stafilokok* ve *pneumoniae* grubu bakterilere karşı bakterisidal etkisi mevcuttur. *B. fragilis* dâhil olmak üzere anaerob bakterilere karşı en etkili

antimikrobiyal ajanlardandır. Lakin kullanımı sonucu ciddi yan etkilere yol açması nedeniyle tedavide ilk tercih olarak kullanılmaz [45, 46].

2.2.2.1.5 Oksazolidinonlar

Oksazolidinonlar, bakteriyel protein sentezini hedef alan protein sentez inhibitörleri olarak bilinirler. Bu antibakteriyeller çoğunlukla yüksek dirençli gram-pozitif bakterilere karşı son çare tedavisi olarak kullanılırlar.Örnek olarak Linezolid, Ranbezolid ve Tedizolid gibi oksazolidinonlar verilebilir. Bu ilaçlar, Metisiline dirençli *Staphylococcusaureus* (MRSA), Penisiline dirençli *streptokoklar* ve Vankomisine dirençli *enterokoklar* gibi çeşitli çoklu dirençli gram-pozitif patojenlere karşı etkilidir. Oksazolidinonlar, ribozoma bağlanmayı ve *N*-formilmetiyonil-tRNA'nın ribozoma bağlanmasını içeren protein sentezinin ön aşamalarını inhibe ederek etki gösterirler. Bu mekanizma, bakteriyel protein sentezinin durmasına ve bakteri üremesinin engellenmesine yol açar. Oksazolidinonlar, geniş direnç profiline sahip bakterilere karşı etkili oldukları için önemli bir terapötik seçenek olarak kabul edilirler [47].



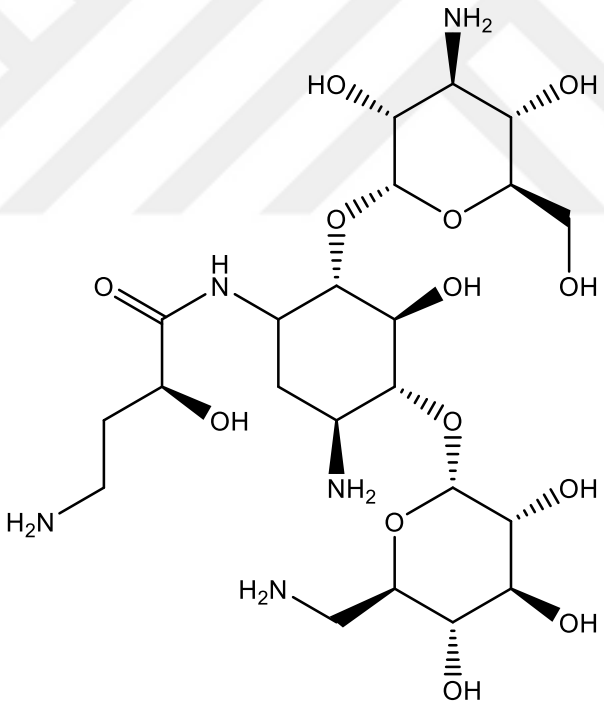
Şekil 2.13 İlk Bulunan Oksazolidinon Türevi

2.2.2.2 30S Ribozomal Alt Üniteye Bağlananlar

2.2.2.2.1 Aminoglikozitler

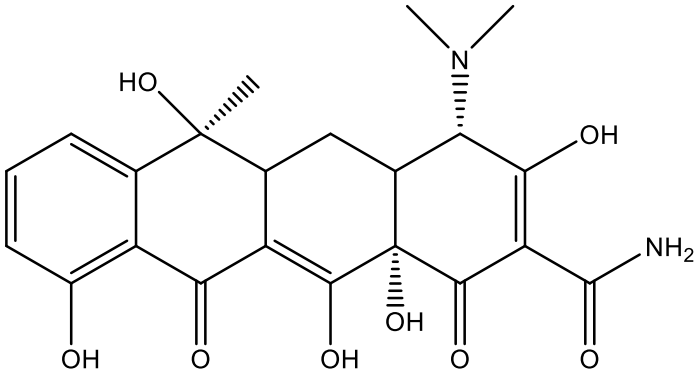
Aminoglikozitler, Selman Waksman'ın 1944 yılında Streptomisin'i keşfetmesiyle antibakteriyel ilaç tedavisinde önemli bir yere sahip olmuştur. Streptomisin, tüberküloz gibi bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde etkili olan ilk terapötik ajan olmuştur ve antibiyotik tarihinde bir dönüm noktası olarak kabul edilir. Geniş spekturma sahip antibiyotik olan aminoglikozitler, bakteriyel protein sentezini inhibasyonunda görev alırlar. Bu ilaçlar, bakterilerin ribozomlarda protein sentezini

durdurarak, hücrelerin büyümesini ve çoğalmasını engellerler [48]. Aminoglikozitler, gram-negatif ve gram-pozitif bakteriler üzerinde etkilidirler. Aminoglikozit antibiyotikler, uzun bir süre boyunca tüberküloz ve diğer enfeksiyonların tedavisinde kullanılmıştır. Ancak, yan etkileri ve toksisitesi nedeniyle zamanla önemleri azalmıştır ve daha az yan etkisi olan diğer antibiyotiklerin geliştirilmesiyle yerlerini bir ölçüde kaybetmişlerdir.Ancak, günümüzde çoklu ilaca dirençli bakterilerin artmasıyla birlikte aminoglikozitlere olan ilgi yeniden canlanmıştır. Özellikle gram-negatif patojenlerin neden olduğu enfeksiyonlarda sınırlı sayıda etkili tedavi seçeneği olduğundan, aminoglikozitler yeniden değer kazanmıştır. Neomisin, Gentamisin, Tobramisin, Sisomisin, Dibekasin, Amikasin, Arbekasin, İzepamisin ve Netilmisin önemli aminoglikozitlerdir [49].



Şekil 2.14 Örnek bir aminoglikozid olan amikasin molekülü

2.2.2.2.2 Tetrasiklinler



Şekil 2.15 Tetrasiklin

Bir antibiyotik çeşidi olan tetrasiklikler, genellikle *Streptomyces* bakteri cinsi veya bu bileşiklerin yarı sentetik türevleri ile üretilirler. Bu ilaçlar polisiklik yapıya sahiptirler. Tetrasiklinler, hem gram-pozitif hem de gram-negatif bakteri türünde etkilidirler. Hem aerobik hem de anaerobik bakteriler üzerinde bakteriyostatik etki gösterirler, yani bakterilerin çoğalmasını durdururlar. *Psödomonasaeruginosa* gibi bazı istisnai durumlar dışında genellikle etkilidirler. Tetrasiklinler, protein sentezini inhibe ederek etki gösterirler. Ribozomların 30S alt birimine bağlanarak çalışırlar. Bu bağlanma sonucunda, aminoaçil tRNA'nın ribozoma bağlanması engellenir. Böylece, yeni oluşan peptit zincirine amino asitlerin eklenmesi engellenir ve protein sentezi durdurulur [50].

2.2.2.2.3 Glisilsiklinler

Glisilsiklinler, tetrasiklin molekül yapısında gerçekleştirilen değişiklikler ile elde edilen yarı sentetik tetrasiklin analoglarıdır. Tetrasiklinlere göre stabiidirler ve ribozomlara bağlanma olasılıkları daha yüksektir. Tetrasiklinleri etkisiz hale getiren mekanizmalarından etkilenmezler [51,52]. Geniş bir aktivite spektrumu olan tigesiklin bu antibiyotik grubundadır ve çoğu gram pozitif bakteriye ve gram negatif bakteriye karşı etkilidir. Ayrıca *MRSA*'ya ve *VRE*'ye karşı yüksek aktiviteleri mevcuttur [53].

2.2.3 Nükleik Asit Sentezini İnhibe Edenler

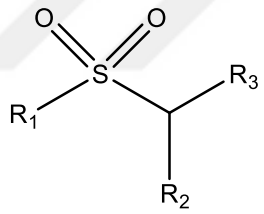
2.2.3.1 Kinolonlar

"Kinolonlar" (Quinolones), antibiyotiklerin bir sınıfını ifade eder. Kinolonlar, bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılan sentetik antibiyotik ilaçlardır. Genellikle solunum yolu, idrar yolu, cilt enfeksiyonları, üriner sistem enfeksiyonları, sinüzit, solunum yolu enfeksiyonları gibi çeşitli enfeksiyonların tedavisinde kullanılırlar.

Kinolonlar, bakterilerin DNA replikasyonunu ve hücre bölünmesini engelleyerek çalışırlar. Bu, bakterilerin çoğalmasını ve enfeksiyonun yayılmasını önler. Kinolonlar geniş bir etki spektrumuna sahiptir ve birçok farklı bakteri türüne karşı etkilidirler.

2.2.4 Antimetabolitler

2.2.4.1 Sülfonamidler



Şekil 2.16 Sülfonamid

Sülfonamidler, sentezlenen ilk antimikrobiyal ilaçlar olarak bilinirler. Antimikrobiyal etkileri, mikroorganizmaların folik asit sentezini inhibe ederek gerçekleşir. Bu etki mekanizması nedeniyle, sülfonamidler bakteriyostatik ajanlar olarak sınıflandırılırlar, yani bakterilerin çoğalmasını durdururlar.Sülfonamidlerin tarihi, Prontosil'in antimikrobiyal etkisinin keşfiyle başlar. Prontosil, sülfonamid yapısına sahip bir azo-boya bileşiğidir. Vücutta metabolize edildiğinde sülfanilamide dönüşür. Bu keşif, kemoterapi gelişiminin başlangıcını temsil eder ve GerhardDomagk 1939'da Nobel Tıp Ödülü'nü almıştır. Sülfonamidler geniş spektrumlu antimikrobiyal ilaçlardır ve gram-pozitif bakterilere ek olarak Escherichiacoli, Shigella, Salmonella, Klebsiella ve Enterobacter gibi gram-negatif bakterilere de etki gösterirler. Sülfonamidler, bakterilerin folik asit

metabolizmasında para-aminobenzoik asit (PABA) inhibitör olarak etki gösterir. PABA normalde bakterilerin folik asit sentezinde bir ön madde olarak kullanılır. Sülfonamidler, PABA'nın yerine geçerek enzimlerin aktif bölgesine bağlanır ve folik asit üretimini engeller. Bu şekilde bakterilerin çoğalmasını ve büyümesini durdururlar [54].

2.2.4.2 Trimetoprim-Sülfametoksazol

Trimetoprim ve sülfonamidler, folik asit sentezini hedefleyen antibakteriyel ajanlardır ve birlikte kullanıldıklarında sinerjistik etki gösterirler.Trimetoprim, bakterilerde folik asit sentezini engelleyen bir ilaçtır. Dihidrofolat redüktaz enzimini inhibe ederek folik asidin aktif formu olan tetrahidrofolik aside dönüşümünü engeller. Böylece DNA sentezi de etkilenir. Trimetoprim, bakteriyostatik etki gösterir, yani bakterilerin çoğalmasını durdurur. Sülfonamidler ise bakterilerde tetrahidropiteroik asit sentezini inhibe eden antibakteriyel ajanlardır. Tetrahidropiteroik asit, folik asidin bir öncüsüdür. Sülfonamidler, tetrahidropiteroik asit sentetaz enzimini inhibe ederler ve folik asit sentezini etkilerler. Ayrıca DNA sentezinin durmasına yol açar. Sülfonamidler de genellikle bakteriyostatik etki gösterir. Trimetoprim ve sülfonamidlerin birlikte kullanılması, folik asit sentezini farklı aşamalarda hedef aldıkları için sinerjistik etki gösterir. Trimetoprim, dihidrofolat redüktaz enzimini inhibe ederek bakterideki folik asit sentezini engeller. Bu şekilde bakterilerin DNA sentezi tamamen durdurulur ve güçlü bir bakterisidal etki sağlanır. Bu kombinasyon, özellikle üriner sistem enfeksiyonlarında *E. coli, Klebsiella pneumoniae* ve *Proteus mirabilis* gibi etkenlere karşı etkilidir. Trimetoprim ve sülfonamidler, böbrek dokularına ve idrara yüksek konsantrasyonlarda geçebilir, bu nedenle üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde tercih edilen seçenekler arasındadır [55].

2.2.5 Membran Bütünlüğünü Bozanlar

2.2.5.1 Polimiksinler

İnsanların kullanımı için olan polimiksinler, polimiksin B ve polimiksin E (kolistin) ile sınırlıdır. *Pseudomonas* ve *Acinetobactertürleri* gibi gram-negatif bakterilerin sebep olduğu enfeksiyonların tedavisi için kullanılmalır. *Proteus* ve *Providencia*

türleri, *Morganella morganii, S. marcescens* ve *B. cepaciapolimiksin'*lere karşı hızlı direnç geliştirebilir. Gram pozitif bakteriler, *Neisseria* türleri, *M. catarrhalis, H. pylori, Vibrio* türleri ve *Brucella* türleri doğal olarak bu antibiyotiğe karşı direnç gösterir [56,57].

2.2.5.2 Daptomisin

Daptomisin, siklik lipopeptid ajanların ilk üyesidir. Bakterilerin duvarında fazlaca bulunan lipoteikoik asidin içinde transmembran kanallar oluşturur ve bu sayede bakteri membranının sentezini önlemiş olur. Bakterisidal etkisi mevcuttur. *Lactobacillus, Pediococcus* ve *Leuconostoc* türleri gibi vankomisine dirençli bakterilere, *Bacillus* ve *Corynebacterium* türlerine ve anaeroblara (*peptostreptokoklar, Clostridiumdifficile* ve diğer *klostridiumlar*) karşı aktivitesi mevcuttur. Yumuşak doku ve deri enfeksiyonları ile *S. aureus* bakteriyemisinde (bakterilerin kan dolaşımındaki varlığı) kullanımı onaylanmıştır [58,59].

2.3 Antibiyotik Direnci

Mikroorganizmalar yeryüzündeki ilk canlılardan biridir. Bu, mikroorganizmaların değişmekte olan koşullara son derece iyi bir şekilde uyum sağlayabilmelerinden ötürüdür. Bu yetenekleri nedeniyle geliştirilen her yeni bir antibiyotikten kaçacak bir yol bulmaktadırlar. Enfeksiyonlar ile insanların savaşındaki en önemli engel olan antibiyotik direncini ortaya çıkarmaktadır [60].

Penisilinin keşfi büyük umutlar doğurmuş ancak 1940 yılında E.P. Abraham ve E. Chain'in penisilinaz keşfi bu umutları kırmıştır [61]. Bu keşiften sonra da birçok antibiyotik geliştirilmiş ve mikroorganizmalar bulunan hemen hemen her yeni antibiyotiğe yeni bir şekilde direnç geliştirebilmeyi başarmışlardır. Birçok gram-negatif bakteri ve gram-pozitif görülen antibiyotik direnci, enfeksiyonların tedavisinde büyük zorluklar yaratmaktadır [62]. Günümüzde çeşitli antibiyotiklerin kullanımının artması, immun sistemi zarar görmüş hastaların sayısındaki artma, yoğun bakım ünitelerinin miktarındaki artma, gıda endüstrisinde antibiyotik kullanımı ve bunlara benzeyen nedenlerden ötürü, antibiyotik direnci gösteren mikroorganizma sayısı giderek fazlalaşmaktadır. Antibiyotiklere alternatif olabilecek potansiyelde antimikrobiyal ajan/strateji, antibiyotik direncine sahip

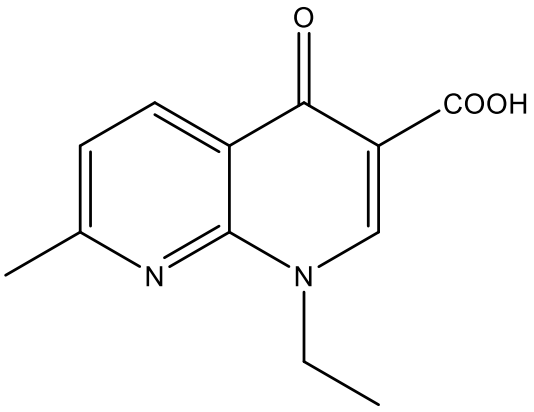
mikroorganizmaların neredeyse tüm dünyaya yayılmasından ötürü acil bir ihtiyaç haline gelmiştir. Gram pozitiflerin ve gram negatiflerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde bu dirençten ötürü ciddi sorunlar yaşandığından yine bu bakterilerle enfekte olmuş hastaların hastanede yatış süreleri uzamakta, sağlık hizmeti giderleri artmakta ve en önemlisi morbidite oranı ciddi olarak artmaktadır [63]. Bahsedilen bu direnç sorunu yoğunlukla hastanelerde daha fazladır. Bunun sebebi hastanelerdeki antibiyotik kullanımın fazla olmasıdır [64, 65]. Ülkemizdeki hastanelerde en fazla direnç sorunu yaşanan mikroorganizmalar; gram negatiflerden, *E. Coli, K. pneumoniae, Enterobacterspp, P. Aeruginosa* ve *Acinetobacterspp*, gram pozitiflerden; *S. Aureus, Koagulaz negatif stafilokoklar* (KNS) ve *Enterokoklar*'dır [66, 67]. Antibiyotiklere karşı direnç, dünya genelinde ciddi bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Yoğun ve gereksiz antibiyotik kullanımı, dirençli mikroorganizmaların ortaya çıkmasına ve yayılmasına neden olmuştur. Bu durum, enfeksiyon hastalıklarının tedavisini zorlaştırırken, tedavi başarısızlıklarına ve artan morbidite ve mortaliteye yol açmaktadır. Antibiyotik direnci, bakterilerin doğal olarak evrimleşmesi ve genetik mutasyonlar sonucunda veya direnç genlerinin yatay transferiyle ortaya çıkabilir. Bu direnç mekanizmaları, bakterilerin antibiyotiğe karşı etkili olmalarını engeller veya azaltır. Dirençli bakteriler, antibiyotik tedavisi sırasında çoğalabilir ve direnç genlerini diğer bakterilere aktararak direncin yayılmasına katkıda bulunabilir.Antibiyotik direncinin önlenmesi ve kontrol altına alınması için çeşitli stratejiler uygulanmaktadır. Bunlardan biri, antibiyotik kullanımının akılcı ve düşük düzeyde tutulmasıdır. Antibiyotiklerin gereksiz yere kullanılması, direnç gelişimini teşvik eder. Doğru tanı, enfeksiyonun doğasını ve etkenini belirlemek için önemlidir. Böylece, uygun antibiyotiklerin seçilmesi ve etkili dozlamanın sağlanması mümkün olur.Yeni antibiyotiklerin keşfi ve geliştirilmesi de dirençle mücadelede önemli bir adımdır. Araştırmacılar, yeni antibiyotiklerin keşfi için çalışmalar yürütmekte ve mevcut direnç mekanizmalarını hedef alan ilaçlar geliştirmeye çalışmaktadır. Bunun yanı sıra, antibiyotik kullanımının izlenmesi, enfeksiyon kontrol önlemlerinin uygulanması ve halkın antibiyotik kullanımı konusunda bilinçlendirilmesi gibi önlemler de dirençle mücadelede etkilidir.Antibiyotik direncinin önlenmesi ve kontrol altına alınması için multidisipliner bir yaklaşım gerekmektedir [68].

3
KİNOLONLAR

Kinolonlar, önemli sentetik antibakteriyel ilaç sınıflarından birini oluşturmaktadır. Bunun nedeni sahip oldukları iyi tedavi etkinliği ve iyi tolere edilebilirlik, farmakokinetik özellikleri, geniş antibakteriyel spektrumu gibi özellikleridir [69]. Kinolon sınıfı ilaçlar, malarya tedavisinde kullanılan bir ilaç olan klorokin sentezi sırasında yan ürün olarak elde edilmeleri sonucu tamamen bir rastlantı eseri olmuştur [70].

Kinolonlar sentetik bir antibiyotik ailesi olarak ortaya çıkmıştır ve geniş spektrumludur. Bu ilaçlar, üst ve alt solunum yolu enfeksiyonları, jinekolojik enfeksiyonlar gastrointestinal enfeksiyonlar, cinsel yolla bulaşan hastalıklar, prostatit ve bazı deri, kemik ve yumuşak doku enfeksiyonları gibi geniş enfeksiyon endikasyonlarına karşı etkilidir.[71, 72].

Kinolonlar, "4-kinolon" iskelet yapısının yeniden düzenlemesiyle geliştirilen sentetik moleküllerdir [73]. Nalidisik asit, 4-Kinolon antibiyotiklerinin prototipitir ve aynı zamanda 1. kuşak kinolon antibiyotiğidir. Bu antibiyotik, 1962 yılında üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. [74]



Şekil 3.1 Nalidisik Asit

4-kinolon iskeleti, medisinal kimyada yaygın olarak çalışılan bir yapıdır. Bu iskelet, birçok biyolojik etkinlik gösteren bileşiklerin temelini oluşturur. 4-Kinolon-3-karboksilik asit türevleri, antibakteriyel ilaçlar olarak kullanılırlar. Aynı zamanda

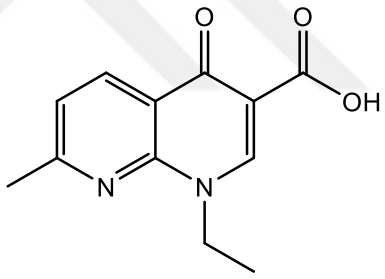
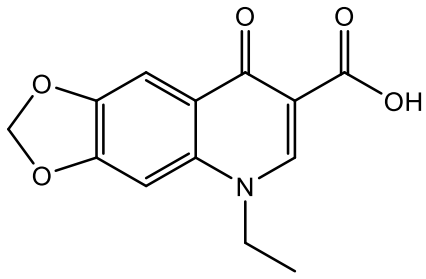
tüberküloz tedavisinde de ikincil ilaç olarak kullanılmaktadır. Özellikle kinolon grubuna ait olan levofloksasin, moksifloksasin, gatifloksasin gibi bileşikler, geniş bir bakteriyel etkinlik spektrumuna sahip olup, solunum yolu, üriner sistem ve deri enfeksiyonları gibi çeşitli enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır. 4-Kinolon antibiyotikler, bakterilerin DNA replikasyonunu inhibe ederek etki gösterir. DNA replikasyonu, bakterilerin çoğalması ve büyümesi için hayati öneme sahip bir süreçtir. 4-Kinolonlar, DNA'ya bağlanarak DNA zincirinin uzamasını ve çift sarmalın ayrılmasını engeller. Bu da bakterilerin çoğalmasını ve enfeksiyonun ilerlemesini önler. Tüberküloz tedavisinde 4-kinolonların kullanımı da önemlidir. Multidrug-resistant (MDR) ve extensivelydrug-resistant (XDR) tüberküloz vakalarında, 4-kinolonlar ikinci basamak tedavi seçenekleri olarak kullanılır. Bu ilaçlar, *Mycobacterium tuberculosis* adı verilen tüberküloz etkeninin büyümesini ve çoğalmasını engeller, böylece enfeksiyonun kontrol altına alınmasına yardımcı olurlar. 4-Kinolon türevleri, yapılarının çeşitli modifikasyonları ve optimize edilmiş özellikleri sayesinde ilaç geliştirme çalışmalarında sıklıkla tercih edilen bir seçenektir. Bu yapılar, antibakteriyel aktivite, farmakokinetik özellikler, toksisite profili ve direnç mekanizmalarına karşı etkinlik açısından iyileştirilmeye çalışılır. Bu çalışmalar, daha etkili ve güvenli antibakteriyel ajanların geliştirilmesine katkıda bulunur.

Kinolonların tamamen sentetik olan yapısı, çift halkalı bir sistemden oluşur. 1970'de kinolonlara flor eklenmesi, aktivitelerini artıran bir dönüm noktası olmuştur. Norfloksasin ilk florokinolon türevidir ve C-6 pozisyonuna flor eklenmesiyle elde edilmiştir. Flor, kinolon bileşiklerinin antibakteriyel aktivitesini artırırken, mikroorganizmalara karşı etkinliği de genişletmiştir. Daha sonra yapıya çeşitli gruplar eklenerek yeni florokinolonlar sentezlenmiştir. Bu gruplardan bazıları piperazinil, metil piperazinil, dimetilpiperazinil, pirolidinil, metoksi gibi çeşitli yan zincirlerdir. Bu modifikasyonlar, kinolonların etki spektrumunu genişletirken, antibakteriyel aktivitelerini artırmaya yardımcı olmuştur.Yapıya yapılan bu modifikasyonlar, kinolonların farmakokinetik özelliklerini, toksisite profillerini ve direnç mekanizmalarına karşı etkinliklerini iyileştirmek için de kullanılmıştır. Bu şekilde, çeşitli kinolon türevleri sentezlenerek farklı bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilecek geniş bir ilaç grubu oluşturulmuştur [75].

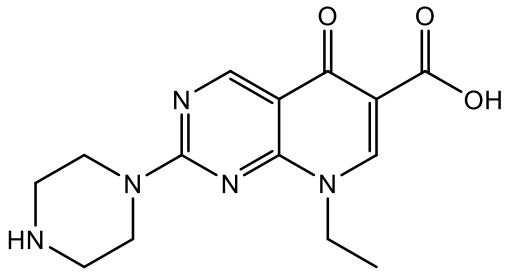
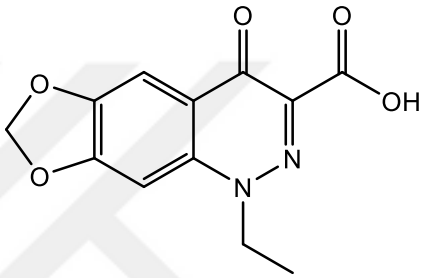
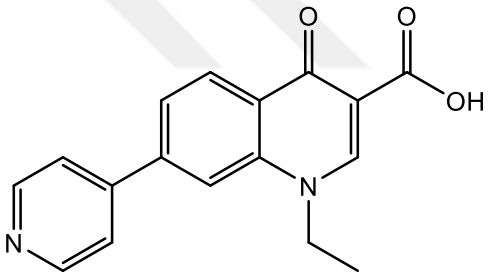
Kinolon türevi antimikrobial ilaçlar, sentezlendikleri sıraya ve antimikrobiyal etkileri dikkate alınarak dört jenerasyon halinde incelenmektedir[76].

- Nalidiksik asit, oksolinik asit, sinoksasin, piromidik asit, pipemidik asit ve flumekin gibi antibiyotikler, birinci jenerasyon kinolonlar olarak isimlendirilir. Bu grup üyeleri genellikle aerobik gram-negatif bakterilere karşı etkilidir, ancak gram-pozitif bakterilere ve anaerobik bakterilere karşı etkisizdir. Bu antibiyotiklerin aktiviteleri genellikle idrar yolu enfeksiyonları gibi üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Özellikle Escherichiacoli gibi idrar yolu enfeksiyonlarına neden olan gram-negatif bakterilere karşı etkilidirler. Bunun nedeni, kinolonların idrar yolu yoluyla yüksek konsantrasyonlarda ulaşması ve bu bakterilere doğrudan etki etmesidir.Birinci jenerasyon kinolonlar genellikle daha spesifik kullanım alanlarına sahip olup, geniş spektrumlu enfeksiyonların tedavisinde kullanılan daha yeni kinolonlara tercih edilirler [77].

Tablo 3.1 Birinci Jenerasyon Kinolonlar

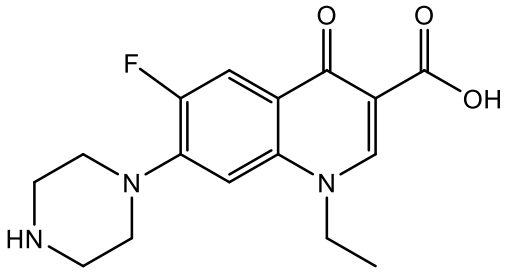
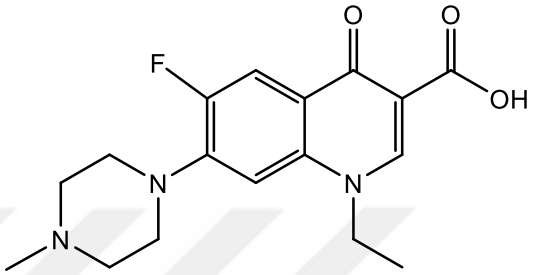
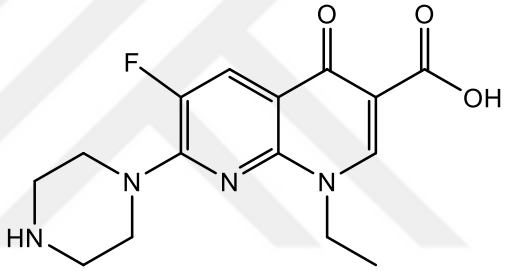
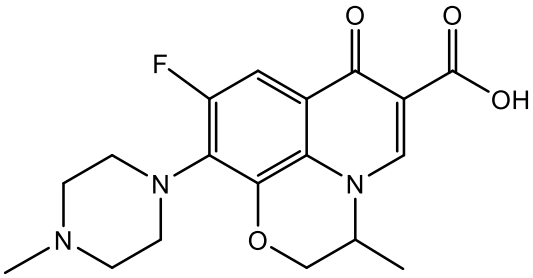
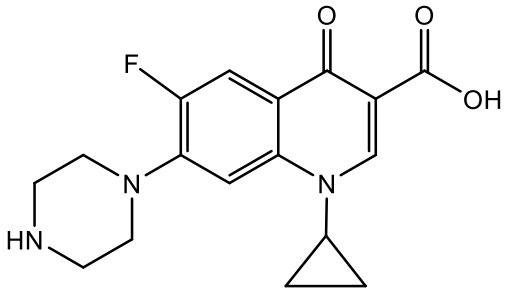
Nalidiksik Asit	
Oksolinik Asit	

Tablo 3.1 Birinci Jenerasyon Kinolonlar (devamı)

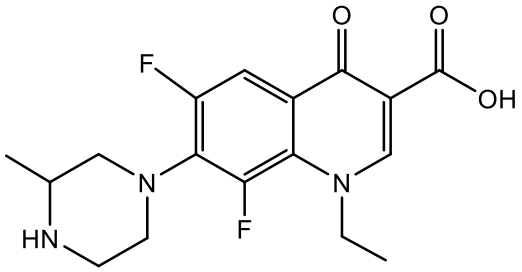
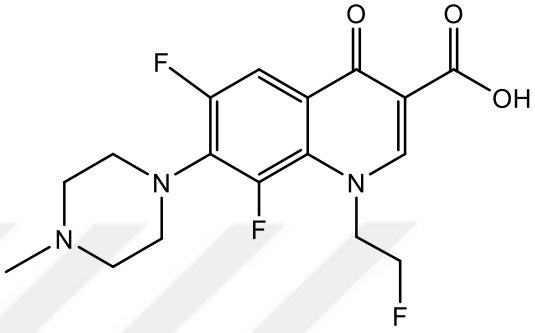
Pipemidik Asit	
Sinoksazin	
Rosoksazin	

- İkinci jenerasyon kinolonlar florokinolonlar olarak isimlendiriller ve yapılarında en az bir flor atomu bulunur. Bu kuşak ilaçlar ise Norfloksazin, Siprofloksazin, Enoksazin, Pefloksazin, Ofloksazin, Lomefloksazin, Fleroksazin, Rufloksazin, Amifloksazin [78] olup bunların gram negatif bakterilere karşı olan etkinlikleri birinci jenerasyona nazaran daha iyidir ve birinci jenerasyon kinolonlara ek olarak gram pozitif bakterilere karşı da etkinlikleri vardır. Siprofloksasinin güçlü bir anti-psödomonal etkisi de vardır [79].

Tablo 3.2 İkinci Jenerasyon Kinolonlar

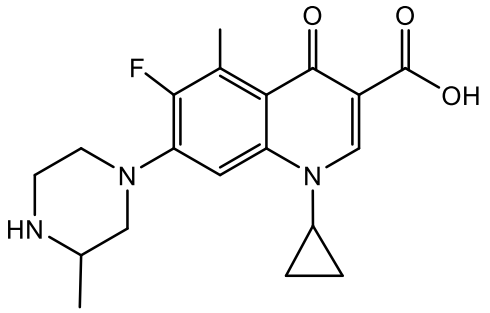
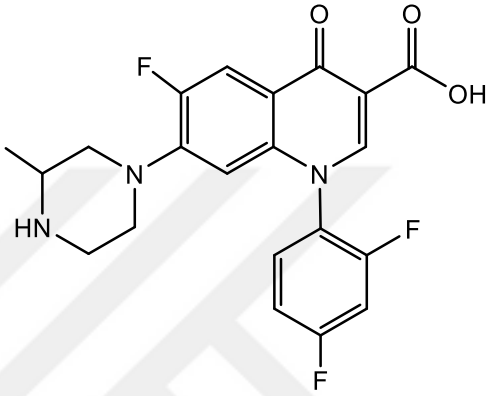
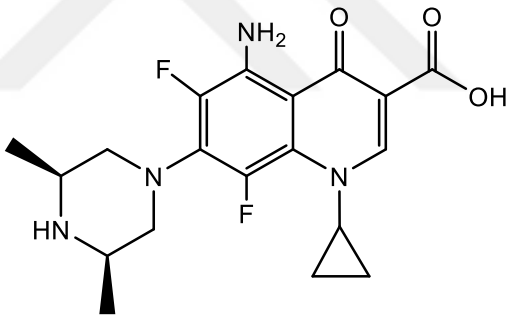
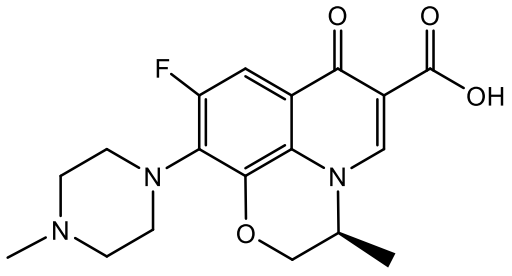
Norfloksazin	
Pefloksazin	
Enoksazin	
Ofloksazin	
Siprofloksazin	

Tablo 3.2 İkinci Jenerasyon Kinolonlar (devamı)

Lomefloksazin	
Fleroksazin	

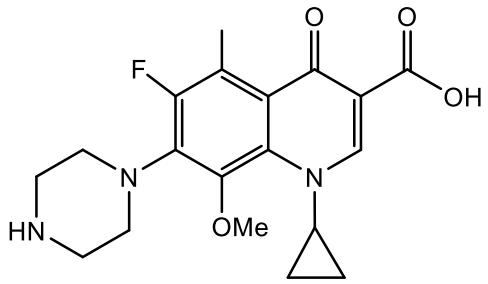
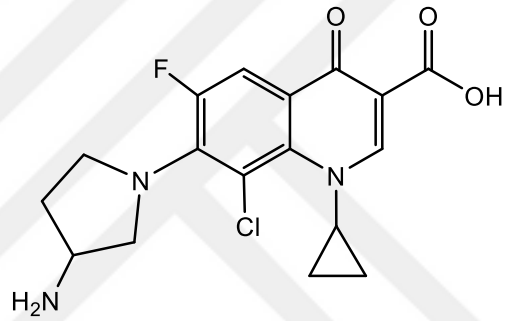
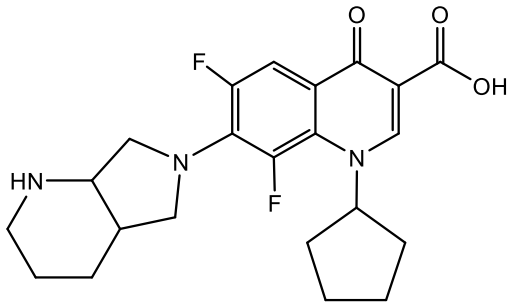
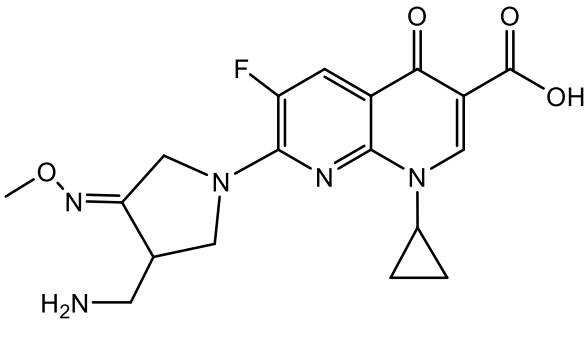
- Üçüncü jenerasyon kinolonlar, gram pozitif etkinliklerinin arttığı ve anaerobik bakterilere etki gösterebilen kinolon antibiyotikleridir. Grepafloksazin, temafloksazin, sparfloksasin ve levofloksasin bu gruba örnek olarak verilebilir. Bukinolonlar, özellikle *Streptococcuspneumoniae* gibi pnömokoklara karşı artan gram pozitif etkinliğe sahiptir. Bu nedenle, solunum yolu enfeksiyonlarına karşı etkili olan kinolonlar olarak da adlandırılırlar. Ayrıca, anaerobik bakterilere de etki gösterebilirler.Üçüncü jenerasyon kinolonların bir avantajı, uzun yarı ömürlerine sahip olmalarıdır. Bu durum, genellikle günde tek doz kullanımlarını mümkün kılar ve tedavi uyumunu artırabilir.Üçüncü jenerasyon kinolonlar, artmış gram pozitif etkinliğe sahip olan ve anaerobik bakterilere etki gösterebilen kinolon antibiyotikleridir. Solunum yolu enfeksiyonlarına karşı etkili olmaları ve uzun yarı ömürleri sayesinde günde tek doz kullanım avantajı sağlarlar [80].

Tablo 3.3 Üçüncü Jenerasyon Kinolonlar

Grepafloksazin	
Temafloksazin	
Sparfloksasin	
Levofloksasin	

- Dördüncü kuşak, gatifloksasin, klinafloksasin, moksifloksasin, ve gemifloksasini içerir ve bu kuşak *pneumoniae* grubu bakterilere karşı yüksek etkinliğe sahiptir [81].

Tablo 3.4 Dördüncü Jenerasyon Kinolonlar

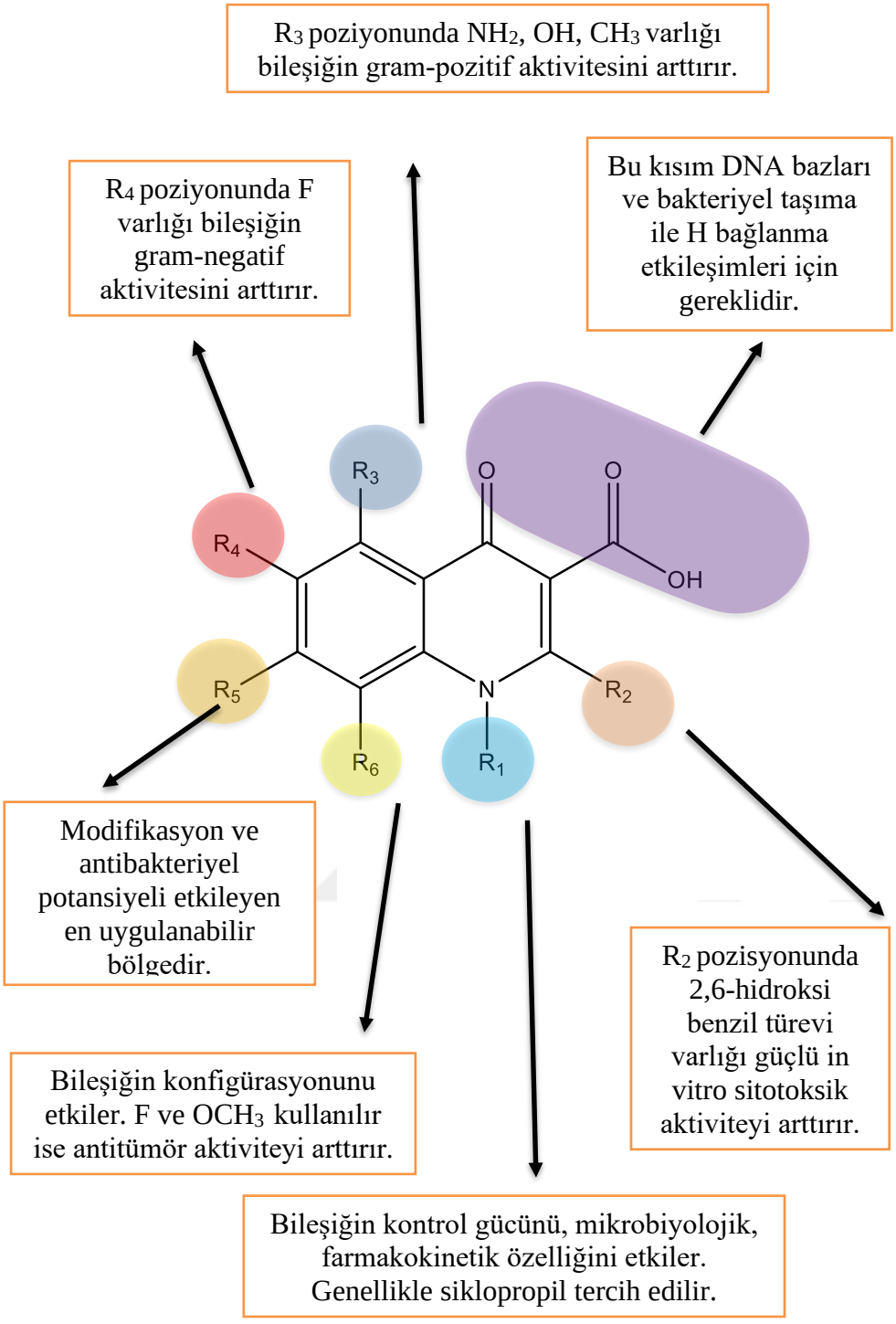
Gatifloksasin	
Klinafloksasin	
Moksifloksasin	
Gemifloksasin	

Kinolon grubu antibiyotikler, gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere karşı etkilidir. Bu tip antibiyotikler, bakterinin DNA replikasyon sürecinde rol oynayan DNA giraz ve topoizomeraz IV enzimlerini inhibasyon etkisi gösterirler [82].

Kinolonlar üzerinde yapılan yapısalcı ilişkilendirme (SAR) çalışmaları, bu bileşiklerin etkinlikleri için gerekli olan yapı gerekliliklerini göstermiştir [82]. Bunlar şunlardır:

1. 4-karboksil grubu: Kinolonların aktif olabilmesi için 4. pozisyonda karboksil grubuna sahip olmaları gerekmektedir. Bu grup, etkinliği artıran etkileşimleri destekler.
2. 3-amin ve 7-piperazinil substitüentleri: 3. pozisyonda amin ve 7. pozisyonda piperazinilsubstitüentleri, kinolonların antibakteriyel aktivitesini artırır. Bu gruplar, DNA giraz ve topoizomeraz IV enzimleriyle etkileşime girer ve inhibisyonu destekler.
3. 6-flor substitüent: Flor atomunun 6. pozisyonda bulunması, kinolonların gram negatif bakterilere karşı etkinliklerini artırır. Flor substitüentinin varlığı, kinolonun hücre zarından geçişini ve hedef enzimlere bağlanmasını iyileştirir.

Yukarıdaki yapı gereklilikleri, kinolon grubu antibakteriyellerin etkinliklerini ve spektrumlarını belirlemekte önemli bir rol oynamaktadır. Bu yapısal özellikler, kinolonların hedef enzimlere spesifik olarak bağlanmasını ve bakteriyel replikasyon sürecini etkili bir şekilde inhibe etmesini sağlar. Literatürde yapılan çalışmalar ve SAR çalışmaları dikkate alınarak, antibakteriyel kinolonlardaki yapı gereklilikleri aşağıdaki şemada gösterilmiştir. [83]



Şekil 3.2 Antibakteriyel kinolonlardaki yapı gereklilikleri

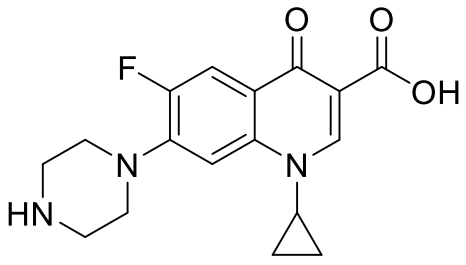
3.1 Siprofloksasin

Siprofloksasin, dünya genelinde sıkça kullanılan bir antibiyotiktir ve genellikle orijinal ticari adı "Cipro" olarak bilinir. Siprofloksasin, geniş bir etki spektrumuna

sahip bir fluorokinolon antibiyotiktir. Bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılır. Siprofloksasin, gram-negatif ve gram-pozitif bakterilerde etkilidir. Özellikle üriner sistem enfeksiyonları, solunum yolu enfeksiyonları, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, intra-abdominal enfeksiyonlar, kemik ve eklem enfeksiyonları gibi çeşitli enfeksiyonların tedavisinde etkilidir. Siprofloksasin, DNA giraz enzimini inhibe ederek bakterilerin DNA replikasyonunu engeller. Bu da bakterilerin büyümesini durdurur ve enfeksiyonun kontrol altına alınmasına yardımcı olur. [84]

Siprofloksasin, kinolon antibakteriyel sınıfının bir üyesidir. Norfloksasinin yapısında yapılan değişikliklerle sentezlenmiştir ve gram-negatif bakterilere karşı daha güçlü bir etkinlik gösterir.Siprofloksasin, siklopropil grubunun eklenmesiyle norfloksasinin etkinliğini artıran bir bileşiktir. Bayer Pharmaceuticals tarafından geliştirilmiş ve 1987 yılında Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından oral kullanım için onay almıştır. Daha sonra intravenöz formu da 1991 yılında onaylanmıştır. Siprofloksasin, Dünya Sağlık Örgütü'nün ilaçlar listesinde yer almaktadır. Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC) tarafından "1-Cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid" olarak adlandırılmaktadır.

Siprofloksasin, bakterilerin çoğalması için gereken DNA replikasyonunda önemli bir rol oynayan DNA giraz enzimini inhibe ederek etki gösterir. Bu, bakterilerin DNA sentezini engeller ve çoğalmalarını durdurur. Bu nedenle, Siprofloksasin bakterisidal bir etkiye sahiptir, yani bakterileri öldürebilir [85].

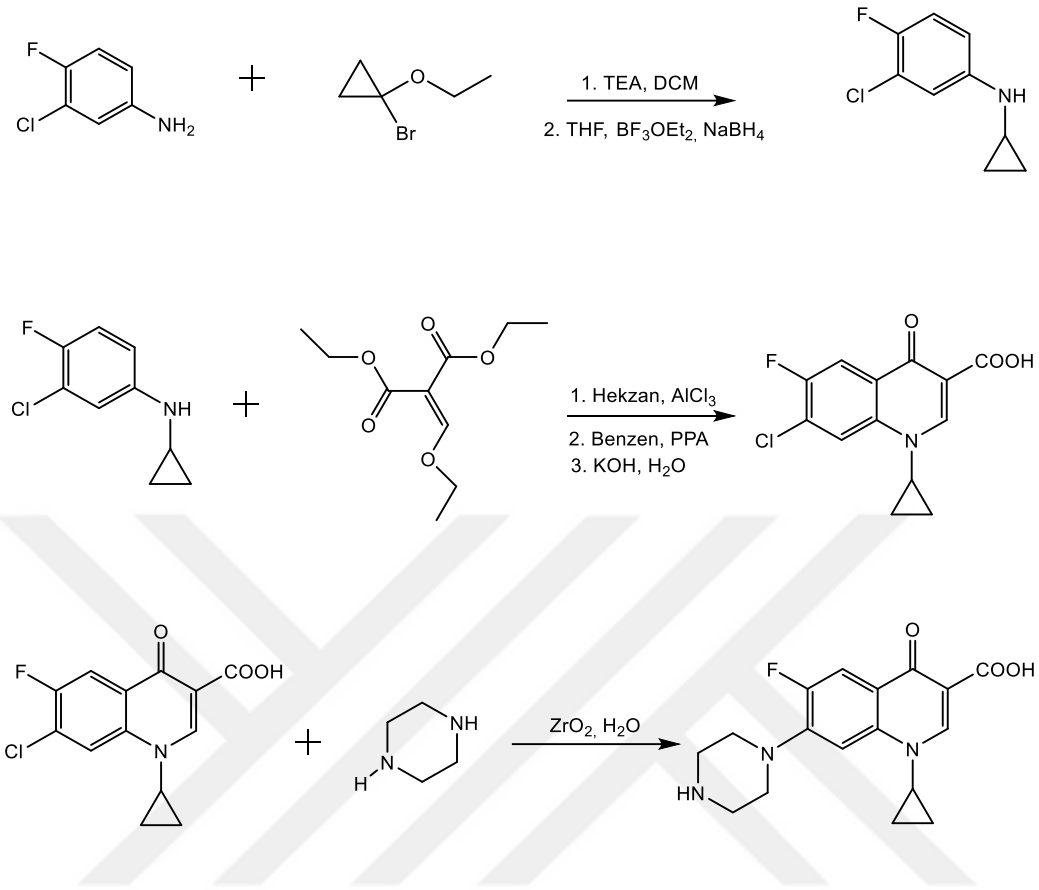


Şekil 3.3 Siprofloksasin

Siprofloksasin, gram-pozitif ve gram-negatif organizmalarda etkili olan geniş bir etki spektrumuna sahiptir. Yapısındaki COOH (karboksilik asit) ve C=O (keton) grupları, DNA giraz enzimine bağlanma ve inhibisyon için önemli olduğu

düşünülmektedir. Yeni kinolon bileşiklerindeki flor (F) atomu, özellikle gram negatif mikroorganizmalara karşı etkinliği artırır. Aynı zamanda hücre içine daha kolay giriş yapmasına yardımcı olur. Bu nedenle, Siprofloksasin gram negatif bakterilere karşı etkili bir antibiyotiktir. Siprofloksasin, çeşitli enfeksiyonların tedavisinde kullanılır. Bunlar arasında sinüzit, akciğer enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, orta kulak iltihabı, genital organ enfeksiyonları, göz enfeksiyonları, sindirim sistemi ve karın içi enfeksiyonları, kemik ve eklem enfeksiyonları, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, kanda oluşan enfeksiyonlar, bağışıklık sistemi zayıf olan kişilerde meydana gelen enfeksiyonlar, yüksek enfeksiyon riski olan durumlar ve bağışıklık sistemi baskılanan hastaların bağırsak enfeksiyonları yer almaktadır. Siprofloksasin, plazmada genellikle iyonize olmamış formda bulunur ve düşük bir protein bağlama düzeyine (%20-30) sahiptir. Bu nedenle, ilaç farklı dokulara kolaylıkla dağılabilir. Özellikle akciğer, iltihaplı lezyonlar, sinüsler ve ürogenital sistem gibi dokularda yüksek konsantrasyonlara ulaşabilir. Bu dokulardaki toplam konsantrasyon, plazma konsantrasyonundan daha yüksek olabilir. Siprofloksasin, çoğunlukla böbrekler yoluyla atılırken, bir miktarı da dışkı ile vücuttan atılır. Böbrek fonksiyonları normal olan bireylerde, serum eliminasyon yarılanma ömrü yaklaşık 4-7 saat olarak bildirilmiştir. [86]

3.2 Siprofloksasin Sentezi



Şekil 3.4 Siprofloksasin sentez şeması

4
İLAÇ TAŞIYICI SİSTEMLER

Pek çok ilaç molekülü, zayıf oral absorpsiyon (özellikle proteinler ve peptidlerde), zayıf fizyokimyasal özellikler (örn., fizyolojik pH'da düşük çözünürlük, zayıf biyodağılım), yetersiz hücresel alım ve hızlı ilaç eliminasyonu nedeniyle vücutta etki bölgesi ile etkileşime girememektedir. [87] Zayıf ilaç fizyokimyasal özelliklerine bir çözüm, ilacı farmasötik bir taşıyıcıyla (ilaç taşıyıcı sistem) ilişkilendirmektir. İlaç taşıyıcı sistemler, bir ilacın farmakokinetiğini ve hücresel penetrasyonu geliştirebilmektedir. Ayrıca, düşük ilaç çözünürlüğünden, degradasyondan, hızlı klirens oranlarından, spesifik olmayan toksisiteden ve biyolojik engelleri geçememekten kaynaklanan engeller de ilaç taşıyıcı sistemler ile çözümlenebilmektedir. Genel olarak, bir ilacın terapötik etkinliğini, yan etkilerin eşzamanlı olarak en aza indirilmesiyle artırma zorluğu, uygun tasarım ile optimize edilebilmektedir [88].

İlaç taşıyıcı sistemler insan sağlığı hizmetlerine önemli katkısı bulunan ve hızlı gelişim gösteren bilim alanlarından biridir. Tüm ilaç taşıyıcı sistemler, ilaç tedavisinin etkinliğini artırmayı amaçlar. Bu sistemler, konvansiyonel dozaj formlarına kıyasla geliştirilmiş terapötik aktivite, azaltılmış toksisite ve tedavi sırasında gereken ilaç uygulamalarının sayısının azaltılması veya özel ilaç uygulaması (örn., tekrarlanan enjeksiyonlar) ihtiyacını ortadan kaldırma ile iyileştirilmiş hasta uyumu ve rahatlığı dahil olmak üzere çok sayıda avantaja sahiptir.

İlaç taşıyıcı sistemler, ilacı tedavi sırasında uzatılmış zaman aralıklarında veya belirli bir zamanda vermeyi amaçlar. Uzatılmış bir süre boyunca kontrollü salım, uygulamadan sonra hızla metabolize olan ve vücuttan atılan ilaçlar için oldukça faydalıdır.

Geleneksel salım sistemleri (örn. tabletler, kapsüller, vb.) vücuda uygulandıktan sonra farmasötik ilaçları çok hızlı bir şekilde salmaktadır, bu da kan dolaşımındaki ilaç konsantrasyonunda ani bir artışa ve kısa bir süre içinde hızlı bir azalmaya neden olmaktadır. İlaç konsantrasyonunu etkili aralıkta (terapötik pencere) tutmak için tekrarlanan dozlama gerekebilir. Plazma ilaç seviyesindeki bu tür dalgalanmalar

toksik olabilir ve/veya zayıf ilaç etkinliği ile sonuçlanabilir. Buna karşılık, kontrollü salım sistemleri, ilaç salım kinetiğini ve dolayısıyla ilaç tedavisinin etkinliğini iyileştirmek için tasarlanmıştır. Bu sistemlerde, uygulamadan sonra kan dolaşımındaki ilaç seviyesi artar ve daha sonra sürekli bir şekilde toksik ilaç seviyesi ve etkisiz ilaç seviyesi arasında (terapötik pencere) sabit kalır [89].

4.1 Polimerik İlaç Taşıyıcı Sistemler

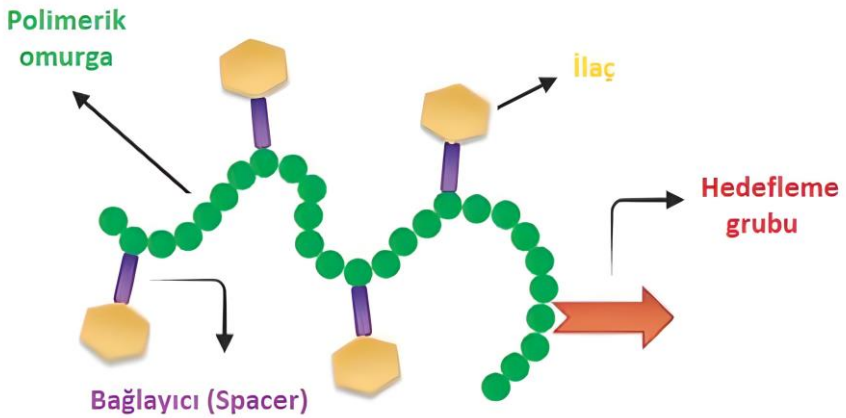
4.1.1 Polimer-ilaç Konjugatları

Polimer-ilaç konjugatları, düşük moleküler ağırlıklı ilaç moleküllerinin biyobozunur bir bağlayıcı aracılığıyla bir polimerik taşıyıcıya kovalent olarak bağlandığı nano boyutlu (1- 100 nm) farmasötiklerdir [90]. Düşük moleküler ağırlıklı bir ilacın terapötik etkisini arttırmak için hidrofilik polimerik taşıyıcıya kovalent olarak konjuge etme fikri, 1975'te Helmut Ringsdorf tarafından önerilmiştir [91]. Ringsdorf'un polimer-ilaç konjugatı modeli 3 farklı bileşenden oluşmaktadır:

1. bir polimerik taşıyıcı,

2. ilaç

3. biyobozunur bir bağlayıcı (spacer).



Şekil 4.1 Bir polimer-ilaç konjugatının genel yapısı

Kullanılan bazı hedefleme grupları arasında folik asit, antikorlar, şekerler ve peptidler bulunmaktadır. Hedeflenen hücre tiplerinde bulunan reseptörlerle spesifik olarak etkileşime girme yetenekleri, onları polimer-ilaç konjugatlarının geliştirilmesinde çok önemli kılar. Terapötik ajan (ilaç) genellikle bir bağlayıcı aracılığıyla polimerik omurgaya bağlanır/konjuge edilir. Bağlayıcı, pH'daki bir değişiklik veya enzimlerin varlığı gibi belirli koşullar altında konjuge edilen ilacın salınmasında önemli bir rol oynar. Kullanılan bağlayıcıların türü, ilacın taşıyıcıya yüklenme kapasitesini, ilaç stabilitesini ve ilaç salım mekanizmasını etkiler [92]. Polimerlere ilaç konjugasyonu için hidrazin [93], azo [94], peptidler [95] vb. gibi çeşitli bağlayıcılar kullanılmıştır. Çoğu durumda taşıyıcı sistemde kullanılan polimer hidrofobik ilaçların çözünürlüğünü arttırır ve ilacı enzimatik degradasyona karşı korur [96].

Bir ilacın bir polimere konjugasyonu, hem fizikokimyasal özelliklerini (örneğin, çözünürlük ve stabilite) hem de farmakokinetiğini (vücuttaki dağılımı ve hücresel alım dahil) değiştirir ve genel terapötik performansı üzerinde önemli bir etkiye sahiptir.

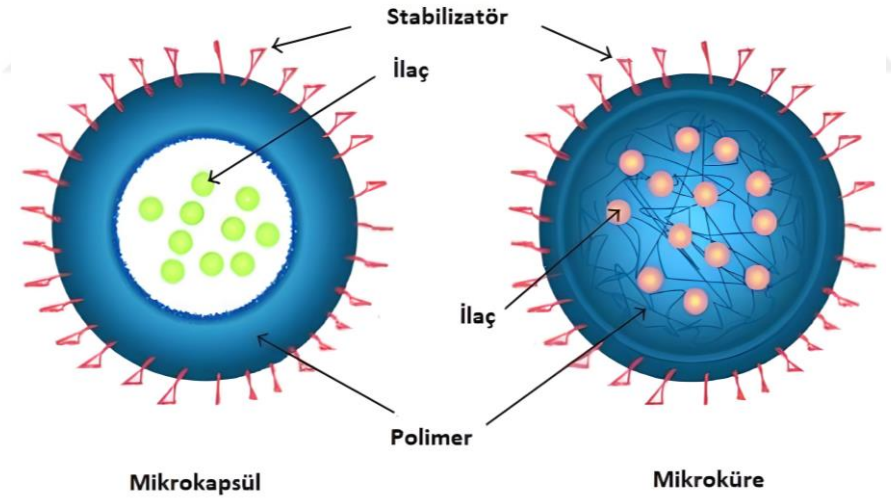
4.1.2 Polimerik Mikropartiküller

Mikropartiküller, 1-1000 μm aralığında bir boyuta sahip partikül dispersiyonları veya katı partiküller olarak tanımlanır. Burada etken moleküller partikül içinde çözündürülür, hapsedilir, enkapsüle edilir, yüzeye adsorbe edilir ya da doğrudan konjuge edilir. Mikrokapsüller, ilacın polimer membranla çevrili bir kaviteyle sınırlandırıldığı sistemlerdir; mikroküreler ise ilacın fiziksel ve homojen bir şekilde dağıldığı matris sistemleridir [98].

Mikropartiküler ilaç taşıyıcı sistemlerin avantajları şunlardır:

- Mikropartiküllerin partikül boyutu ve yüzey özellikleri, parenteral uygulamadan sonra ilaçların pasif ve aktif hedeflenmesi için kolaylıkla manipüle edilebilir.
- İlacın terapötik etkinliğini artırma ve yan etkilerini azaltma amacıyla taşıma sırasında ve hedef bölgede salımını kontrol eder ve sürdürürler.
- Kontrollü salım ve degradasyon özellikleri, matris bileşenlerinin seçimiyle kolaylıkla modüle edilebilir.

- İlaç yükleme kapasiteleri nispeten yüksektir. Bu durum literatürde şu şekilde açıklanmaktadır: Partiküllerin oluşumu sırasında, çözücü damlacıklarında dağılan veya çözünen ilaçlar, dış sulu faza dağılabilir. Partikül ne kadar küçükse, ilacın dış sulu faza erişimi oranı o kadar fazla olur. Bu durum küçük partiküllerin daha büyük partiküllere kıyasla daha düşük ilaç yükleme kapasitesine sahip olmaları ile sonuçlanabilir. Ayrıca küçük partiküller birim hacim başına daha yüksek yüzey alanına sahip oldukları için partikül oluşumu sırasında ilaçların partikül yüzeyine spesifik olmayan adsorpsiyonu nispeten daha fazladır. Bu da ilaç yükleme kapasitesinde azalmaya sebep olmaktadır.
- Ani/patlama salımı görünme olasılığı küçük partiküllere kıyasla daha azdır. Çünkü su daha küçük partiküllere daha hızlı nüfuz etmekte, bu da artan bir "ani/patlama salımı" ve genellikle daha hızlı bir salım kinetiği ile sonuçlanmaktadır.
- Oral, nazal, parenteral, intraoküler vb. dahil olmak üzere çeşitli uygulama yolları için kullanılabilirler [97].



Şekil 4.2 Mikrokapsül ve mikroküre yapısının şematik gösterimi

Çeşitlerine göre mikropartiküller 4 gruba ayrılırlar: Biyoadezif, manyetik, yüzey (floating) ve polimerik mikropartiküller [98].

Polimerik mikropartiküller sadece ilaç taşıyıcı sistemler olarak değil, aynı zamanda biyosensörler ve doku mühendisliğinde de giderek daha fazla ilgi çekici hale gelmiştir. Bu durum, nispeten basit prosedürlerle üretilmeleri ve endüstriyel ölçek

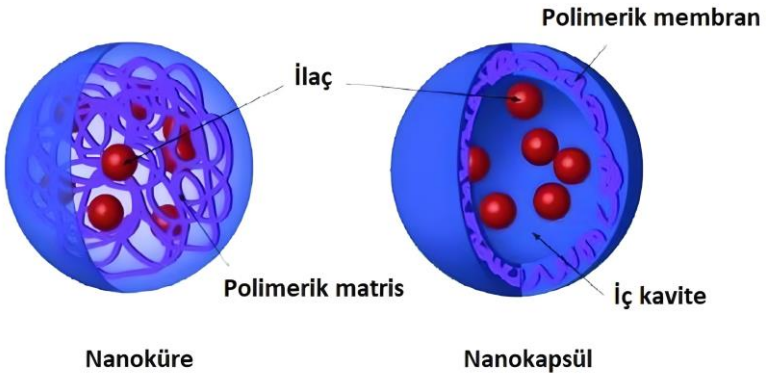
büyütme dahil olmak üzere sahip oldukları birçok avantajlarından kaynaklanmaktadır. Bir ilaç taşıma sistemi olarak polimerik mikropartiküller, farklı uygulama yollarının kullanılması veya proteinler ve nükleik asitler dahil olmak üzere farklı moleküllerin enkapsülasyonuna izin vermesi gibi birçok avantaj sunar [99].

4.1.3 Polimerik Nanopartiküller

Nanoteknoloji, mühendislik, fizik, kimya ve biyolojiden türetilen, çeşitli malzemelerin nano boyutlu partiküllerinin mühendisliğini içeren, gelişmekte olan multidisipliner bir bilim alanıdır [100]. ABD Çevre Koruma Ajansı'na (U.S. Environmental Protection Agency - EPA) göre nanoteknoloji, "küçük boyutları sebebiyle yeni özelliklere ve işlevlere sahip yapıların, cihazların-sistemlerin yaratılması ve kullanılması" olarak tanımlanmaktadır. Ulusal Nanoteknoloji Girişimi (The National Nanotechnology Initiative-NNI, 2010), nanoteknolojiyi "benzersiz fenomenlerin yeni uygulamalara olanak tanıdığı, yaklaşık 1 ile 100 nm arasındaki boyutlardaki maddenin anlaşılması ve kontrolü" olarak tanımlamaktadır [101].

Polimerik nanopartiküller, hazırlama metoduna göre enkapsüle edilmiş ajanın farklı özellikler ve salım karakteristikleri kazandığı nanoküre veya nanokapsül olarak elde edilebilen, sentetik, doğal kaynaklı, biyouyumlu, toksik olmayan ve biyobozunur polimerlerin bir karışımıdır [102, 103].

Bir nanokapsül partikülü, içinde aktif bileşiklerin hapsedildiği ve bir polimer membran ile çevrelendiği sulu veya yağlı bir iç kaviteye sahip çekirdek-kabuk morfolojisine sahiptir. Nanoküreler, aktif bileşiklerin ve polimerin homojen bir şekilde dağıldığı matris benzeri bir yapıya sahiptir [104]. Rezervuar sistemi (nanokapsül) ve matris sistemi (nanoküre) olarak tanınan bu iki tip polimerik nanopartikül Şekil 4.3 'de gösterilmektedir.



Şekil 4.3 Nanoküre ve nanokapsül yapısının şematik gösterimi [105]

Biyobozunur nanopartiküller, suda çözünen/çözünmeyen çeşitli ilaçların ve biyoaktif moleküllerin terapötik değerini, biyoyararlanımı, çözünürlüğü ve vücutta alıkonma süresini iyileştirmek için sıklıkla kullanılır. İlaç moleküllerinin nanopartiküllere enkapsülasyonu ile;

- İlacın plazma konsantrasyonunun istenilen süre boyunca terapötik pencere aralığında sabit kalması,
- In-vivo yarılanma ömrü kısa olan ilaçların enzimatik degradasyondan korunması,
- İlacın belirli hücre veya dokuya spesifikliğinin sağlanmasıyla (hedeflendirme) yan etkilerin azaltılabilmesi,
- Daha düşük ilaç dozlarında daha yüksek biyolojik aktivitenin elde edilmesiyle ilacın olası toksik etkilerinin ortadan kaldırılabilmesi
- Önerilen ilaç rejimine hastanın uyumunu sağlayacak şekilde dozaj miktarının ve dolayısıyla hasta masraflarının azaltılabilmesi sağlanabilmektedir [106].

Nanopartikül sentezinde kullanılabilecek polimerler, toksik ve antijenik olmama açısından vücut ile biyouyumlu ve biyobozunur olmalıdır. Nanopartiküllerin üretiminde doğal ve sentetik polimerler kullanılmaktadır. Polimerik nanopartiküllerin sentezinde yaygın olarak kullanılan polimerler Tablo 4.1'da verilmiştir [107].

Tablo 4.1 Polimerik nanopartikül sentezinde sıklıkla kullanılan doğal ve sentetik polimerler [107]

Polimer Türleri	**Polimer Adları**
Sentetik Polimerler	• Poli laktik asit (PLA) • Poli glikolik asit (PGA) • Poli (laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) • Polianhidritler • Poliortoesterler • Polisiyanoakrilatlar • Polikaprolakton • Poli glutamik asit • Poli malik asit • Poli (N-vinil pirolidon) • Poli (metil metakrilat) • Poli (vinil alkol) • Poli (akrilik asit) • Poli akrilamid • Poli (etilen glikol) • Poli (metakrilik asit)
Doğal Polimerler	• Kitosan • Jelatin • Aljinat • Albümin

4.1.3.1 PLGA

Alifatik poliester PLGA, poli laktik asit (PLA) ve poli glikolik asidin (PGA) bir kopolimeridir. Poli laktik asit, klasik stereokimyasal terimlerle tipik olarak D veya

L formu ve bazen R ve S formu olarak tanımlanan asimetrik bir α-karbon içerir. PLA polimerinin enantiyomerik formları poli D-laktik asit (PDLA) ve poli L-laktik asittir (PLLA). PLGA genellikle poli D, L-laktik-ko-glikolik asit için bir kısaltmadır ve burada D- ve L- laktik asit formları eşit orandadır. Genel olarak, PLA polimeri, düzensiz polimer zincirlerinden dolayı oldukça kristalli formda (PLLA) veya tamamen amorf (PDLA) olarak yapılabilir. PGA'da herhangi bir metil yan grubu yoktur ve PLA'nın aksine oldukça kristalli bir yapı gösterir. PLGA hemen hemen her şekil ve boyutta işlenebilir ve hemen hemen her boyuttaki molekül PLGA polimeri kullanılarak kapsüllenebilir. PLGA klorlu çözücüler (örn. DCM), tetrahidrofuran, aseton veya etil asetat dahil olmak üzere çok çeşitli çözücülerde çözünür [108].

Toksik olmayan metabolitlere dönüşen polimerler, uzun süre etkili ve kontrollü salım sistemlerinin hazırlanmasında sıklıkla tercih edilmektedir [109]. Biyobozunur sentetik ve doğal polimerler, toksik olmamaları, biyolojik sistemle geçimli olmaları ve biyolojik sistemden parçalanarak uzaklaştırılmaları sebebiyle tercih edilmektedirler [110]. Biyobozunur laktik asit, glikolik asit ve bunların kopolimerleri (örn. PLGA), ilaç taşıyıcı sistem formülasyonlarında yaygın olarak kullanılmaktadır [111]. FDA onaylı bir kopolimer olan poli (laktik-ko-glikolik asit) (PLGA), biyobozunurluğu, biyogüvenliği, biyouyumluluğu, formülasyon ve işlevsellikteki çok yönlülüğü nedeniyle biyomedikal uygulamalar için ilaç taşıyıcısistemlerinin tasarımı ve formülasyonunda en çok kullanılan polimerlerden biridir [112]. Poli (D, L-laktik-ko-glikolik asit), laktik asit ve glikolik asit monomerlerinin uygun karışımlarının polimerizasyonu sonucu elde edilmektedir. Kopolimeri oluşturan monomerlerin oranları değiştirilerek, farklı molekül ağırlığında, farklı fiziksel, kimyasal ve fizikokimyasal özelliklerde PLGA polimerleri elde edilebilmektedir [109]. PLGA'nın in-vivo degradasyonu, sulu bir ortamda (hidrolitik degradasyon-hidroliz- veya biyobozunma) polimer omurgasındaki ester bağlarının kesilmesi yoluyla meydana gelir ve bu da daha fazla suda çözünür parçaların oluşumuna yol açar [113]. PLGA zincirlerinde bulunan karboksilik uç grupların sayısı, biyobozunma işlemi sırasında polimer zincirleri tek tek bölündükçe artar; bunların biyolojik degradasyon sürecini katalize ettiği bilinmektedir. PLGA kopolimerlerinin biyolojik degradasyon hızı, polimer zincirindeki laktik ve glikolik asitlerin molar oranına, polimerin moleküler

ağırlığına, kristallik derecesine ve polimerin camsı geçiş sıcaklığına (Tg) bağlıdır [114]. Degradasyon hızı, PLGA'nınl aktid/glikolid oranı veya moleküler ağırlığı değiştirilerek ayarlanabilir. Glikolik asit içeriğinin artması, polimer hidrofilikliğinin ve ıslanabilirliğinin artmasına ve sonuç olarak daha hızlı degradasyona yol açar ve bu da ilaç salımını kolaylaştırır. Buna ek olarak, salım oranı polimerlerin moleküler ağırlığı azaldıkça artmaktadır [115].

PLGA biyolojik bozunması için 3 fazlı bir mekanizma önerilmiştir:

1. Rastgele zincir kesme işlemi. Polimerin moleküler ağırlığı önemli ölçüde azalır, ancak kayda değer bir ağırlık kaybı olmaz ve çözünür monomer ürünleri oluşmaz.
2. Orta fazda, hızlı kütle kaybının eşlik ettiği moleküler ağırlıkta bir azalma meydana gelir ve çözünür oligomerik ürünler ve monomer ürünleri oluşur.
3. Çözünür oligomerik parçalardan oluşan çözünür monomer ürünleri. Bu aşama, tam polimer çözündürme aşamasıdır [116].

PLGA polimeri biyolojik olarak laktik ve glikolik asitlere ayrışır. Laktik asit trikarboksilik asit döngüsüne girer ve metabolize olur ve ardından karbondioksit ve su olarak vücuttan atılır. Glikolik asit ya böbrekte değişmeden atılır ya da trikarboksilik asit döngüsüne girer ve sonunda karbondioksit ve su olarak elimine edilir [117].

4.1.4 Miseller

Son yıllarda, ideal ve çok yönlü bir ilaç taşıyıcısının gereksinimlerini karşılayabilen yeni kolloidal dağıtım sistemleri olarak polimerik miseller büyük ilgi odağı olmuştur [115]. Polimerik miseller, sulu bir ortamda kendiliğinden birleşen amfifilik polimerlerden oluşur. Bu amfifilik polimerler, farklı polimerik bloklar kullanılarak oluşturulur. [116]. Amfifilik blok kopolimerler, hidrofilik kabuklara ve hidrofobik çekirdeklere sahip miseller oluşturmak için sulu ortamda kendiliğinden birleşir. Kabuk, misellerin agregasyonunu ve çökelmesini engellerken aynı zamanda enkapsüle edilen ilacı da korur. Çekirdek, miselleri bir arada tutar ve az çözünür küçük molekülleri çözündürür [117]. Seyreltilmiş sulu çözeltide, amfifilik moleküller ayrı ayrı bulunur ve amfifiller, hava-su ara yüzeyindeki yüzey gerilimini azaltan yüzey aktif maddeler olarak çalışır. Sisteme daha fazla polimer zinciri

eklendiğinde, çözeltinin doygunluğu nedeniyle agregasyon oluşana kadar arayüzde adsorpsiyon daha yüksek olur. Bu noktada Kritik Misel Konsantrasyonuna (Critical Micellar Concentration, CMC) ulaşılır. Bu durumda CMC, misel oluşumunu sağlayan çözeltideki minimum polimer konsantrasyonu olarak tanımlanır. Buna göre miseller, CMC'den daha yüksek polimerik zincir konsantrasyonunda stabildir, CMC'nin altında ise seyreltme sonrasında sistemin ayrılması gözlemlenir [118].

Sulu çözeltide tipik bir miselin çevresindeki çözücüye dönük tarafında hidrofilik başlar (moleküler afiniteye sahip olduğu su ile temas halinde olması için) ve merkezinde hidrofobik kuyruklar yer alır. Bu tip misel normal faz miseli (su içinde yağ miseli, o/w) olarak bilinmektedir. Ters misellerde ise hidrofobik kuyruklar dışarıda, hidrofilik başlar merkezde olacak şekilde amfifilik bloklar konumlanır (yağ içinde su miseli, w/o).

Polimerik misellerin en önemli avantajı, hidrofobik ilaçları çekirdeklerinde çözündürme ve böylece biyoyararlanımlarını artırma yetenekleridir [119]. Gerekli bölgede etkin maddenin birikmesini sağlamak için vücutta yeterli derecede uzun bir süre kalabilmeleri, Spesifik ligandların yüzeye bağlanabilmesiyle vücutta istenen bölgeye hedeflendirilebilmeleri, amfifilik kopolimerler kendiliğinden misel yapıyı oluşturduğundan sentez yöntemlerinin kolay olması, dolayısıyla büyük miktarlarda, kolaylıkla ve tekrarlanabilir bir şekilde üretilebilmeleri ve içlerindeki ilacı biyolojik ortamda inaktivasyondan koruyabilmeleri ise misellerin ilaç taşıyıcı sistemler olarak kullanılmasını sağlayan diğer avantajları arasındadır [120].

4.2 Polimerik Nanopartiküllerin Sentez Yöntemleri

4.2.1 Emülsifikasyon Yöntemleri

4.2.1.1 Tekli Emülsiyon (o/w) Çözücü Buharlaştırma Yöntemi

Bu yöntemde, organik faz (O) polimerin ve ilacın uçucu bir organik çözücü içinde çözülmesi ile oluşturulur. Su içinde yağ emülsiyonunu (o/w) oluşturmak için su ve bir stabilizatör içeren su fazına polimeri içeren organik çözelti (yağ fazı) ilave edilerek hazırlanır. Çoğu durumda, nanopartiküllerin oluşumu ya ultrasonikasyon ya da homojenizasyon ile indüklenir. Daha sonra organik çözücü, oda sıcaklığında

veya indirgenmiş basınç altında sürekli karıştırılarak buharlaştırılır. Nanopartikülleri içeren süspansiyon santrifüjlenerek nanopartiküller saflaştırılır ve fazla stabilizatör, serbest ilaç ve polimeri uzaklaştırmak için yıkama işlemi yapılır. Depolama sırasında raf ömrünü uzatmak için nanopartiküller liyofilize edilir [121].

4.2.1.2 İkili Emülsiyon (w/o/w) Çözücü Buharlaştırma Yöntemi

Emülsiyon emülsiyonu olarak da adlandırılan ikili emülsiyon, dağılmış fazın damlacıklarının kendilerinin bile küçük dağılmış faz içerdiği karmaşık sistemlerdir [122]. Bu yöntemde homojenizasyon (ya da ultrasonikasyon) iki adımda gerçekleştirilir; ilk adımda, suda çözünür ilaçları içeren primer su fazı (W1) polimeri içeren yağ fazına (O) primer emülsiyonu (W1/O) oluşturmak için homojenize edilerek eklenir. Daha sonra primer emülsiyon, ikili emülsiyonu (W1/O/W2) oluşturmak için uygun stabilizatör içeren sekonder su fazı (W2) ile emülsiyon haline getirilir. İkili emülsiyon (partikül dispersiyonu) oluşumunun ardından, organik çözücünün (O) buharlaşması, bir çözünmezlik noktasına ve sonuç olarak etken molekülü içine alan polimerik nanopartiküllerin oluşmasına yol açar [123].

4.2.1.3 Salting-Out

Sulu faz su, stabilizatör ve salting-out ajanlarından (elektrolitler) oluşur. Sodyum klorür, magnezyum klorür, kalsiyum klorür ve magnezyum asetat gibi elektrolitlerin yanı sıra sakkaroz gibi elektrolit olmayanlar salting-out ajanlarından bazılarıdır. Bu ajanlar organik çözücü içinde çözünmemelidir. Kullanılan ajanların türü, ilaçların enkapsülasyon etkinliği üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Suyla karışabilen bir organik çözücü içinde polimeri içeren organik faz, bu işlemde sulu faza verilir. Emülsiyon daha sonra elektrolitin iyonik gücünü azaltmak ve solvent difüzyonunu iyileştirmek için sürekli karıştırma altında yeterli miktarda su ile seyreltilir. Nanopartiküllerin oluşumuna, seyreltme sırasında çözücünün organik fazdan sulu faza geçişi neden olur. Son olarak, salting-out ajanını çıkarmak için çapraz akışlı filtreleme kullanılır ve üretilen nanopartiküller toplanır. Fizyolojik sistem için tehlikeli olan klorlu çözücülerin olmaması bu prosedürünün bir

avantajıdır. Hazırlama işleminde tuz kullanılması ise saflaştırma işlemlerini zorunlu kılmaktadır [124].

4.2.1.4 Nanoçöktürme

Fessi ve ark. tarafından geliştirilen [125], çözücü yer değiştirmesi olarak da adlandırılan nanoçöktürme yöntemi nanopartikül sentezinin en kolay yöntemlerinden biridir. Basitliğine ek olarak, bu yöntem tekrarlanabilir, hızlı ve ekonomiktir [126]. Bu yöntemde polimer ve etken molekül ara polaritede suyla karışabilen bir çözücü içinde çözülür ve bu çözelti (organik faz), sürekli karıştırma altında, bunların çözünmediği sulu çözeltiye (su fazı) tek seferde, damla damla veya kontrollü ekleme hızıyla eklenir. Organik fazın su fazına hızlı kendiliğinden difüzyonu nedeniyle, su moleküllerinden kaçınmak için nanopartiküller anında oluşur. Çözücü nanodamlacıklardan difüze olurken, polimer nanokapsüller veya nanoküreler şeklinde çöker. Genellikle, kolloidal süspansiyonun stabilitesini garanti etmek için sürece sürfaktanlar dahil edilebilir, ancak nanopartiküllerin oluşumunu sağlamak için bunların varlığı gerekli değildir. Organik çözücü buharlaştırılarak nanopartikülleri geri kazanmak için saflaştırma işlemleri yapılır [124].

4.2.1.5 Diyaliz

Bu yöntemde, polimer için fiziksel bir bariyer olarak diyaliz tüpleri veya uygun moleküler ağırlık kesme (MWCO) ile yarı geçirgen membranlar kullanılır. Genellikle polimer organik bir çözücü içinde çözülür, diyaliz membranının içine yerleştirilir ve çözücü olmayan (non-solvent) bir maddeye karşı diyaliz edilir. Temel ön koşullar, çözücülerin karışabilirliği ve seyreltik polimer çözeltilerinin varlığıdır. Çözücünün membran içinde yer değiştirmesi, karışımın giderek daha az polimeri çözebilmesine (çözünürlük kaybı) neden olur. Ek olarak, arayüzey gerilimindeki bir artış, polimer agregasyonu ile sonuçlanır ve nanopartiküllerin kolloidal bir süspansiyonunun oluşumuna yol açar. Diyaliz basit ve yaygın bir yöntem olmasına rağmen, büyük hacimli karşı diyaliz ortamı, prosesin uzun sürmesi nedeniyle nanopartiküle yüklenen ilacın erken salınmasına neden olabilir [104].

5
DENEYSEL ÇALIŞMA VE BULGULAR

5.1 Materyal ve Yöntem

5.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tablo 5.1 Kullanılan kimyasal maddeler

MADDE ADI	FİRMA ADI	KATALOG
Siprofloksasin.HCl	Merck	C2190000
2-bromo izobütil bromür %97	Sigma Aldrich	252271
4-(tert-bütil) benzoil klorür	Sigma Aldrich	157120
4-(klorometil) benzoil klorür	Sigma Aldrich	270784
Diklorometan	Merck	106050
Pivaloil klorür	Sigma Aldrich	801276
2-furoil klorür	Sigma Aldrich	149861
4-metoksi benzoil klorür	Sigma Aldrich	A88476
Trietilamin	Merck	808352
Metanol	Merck	106007
n-Hekzan	Teknik	-
Silika jel $60HF_{254}$	Merck	107734
Sodyum dihidrojen fosfat, (NaH_2PO_4)	Sigma Aldrich	7558-80-7
Disodyum hidrojen fosfat,	Sigma Aldrich	7582-85-6
Sodyum klorür, (NaCl)	Sigma Aldrich	7647-14-5
Sodyum hidroksit, (NaOH)	Sigma Aldrich	1310-73-2
Hidroklorik asit, (HCl)	Sigma Aldrich	7647-01-0
Sodyum azid, (NaN_3)	Sigma Aldrich	26628-22-8
Poli (D, L-laktik-ko-glikolik asit) (PLGA), Asit uçlu, laktid:glikolidmolar oranı 50:50, MA= 38,000- 54,000 Da	Sigma Aldrich	719900
Poli (vinil alkol) (PVA), MA= 31,000-50,000 Da	Sigma Aldrich	363073

5.1.2 Kullanılan Cihaz ve Yardımcı Gereçler

Bileşiklerin sentezlenmesi ve kolon kromatografisi ile saflaştırılması sonrasında çözücülerin geri kazanılmasında, “Heidolph” marka “Laborota 4000” model evaporatör cihazı kullanıldı.

Elde edilen saf maddelerin erime noktaları "Gallenkamp" dijital termometreli erime noktası cihazında belirlendi.

Flash kromatografisindeki ayırma işlemleri IscoCombiFlashRf 200 UV/VIS kromatografi cihazı kullanılarak yapıldı. Kolon olarak Redisep Rf Silica Gel Gold kolon seçildi.

Bileşiklerin ince tabaka kromatografisi ile saflaştırma işleminde fluoresansindikatörlüMerck 5550 “Alüminyum oksit 60 F_{254}” nötral tabakalardan yararlanıldı.

Infrared spektrumları ATR cihazı kullanılarak, Yıldız Teknik Üniversitesi Enstrümantel Analiz Laboratuarı’nda "Perkin Elmer, FT-IR" spektrofotometresinde tayin edildi.

Kütle spektrumları Yıldız Teknik Üniversitesi Enstrümantel Analiz Laboratuvarı’nda, Agilent 6890N GC-System-5973 IMSD ile analiz edildi.

Nükleer magnetik rezonans spektrumları (^{1}H NMR, ^{13}C APT NMR ve 1D NOESY) Yıldız Teknik Üniversitesi’nde "Bruker-500 MHz NMR", cihazıyla alındı.

QTOF ölçümleri Yıldız Teknik Üniversitesi Analiz Laboratuvarı’ nda, Agilient 6200 series TOF/6500 series Q-TOF B.05.01 cihazı ile yapıldı.

Enkapsülasyon ve antimikrobiyal aktivite çalışmalarında kullanılan cihazlar marka/modelleri ve kullanım amaçları ile Tablo 5.2’de verilmiştir.

Tablo 5.2 Enkapsülasyon ve Antimikrobiyal Aktivite Çalışmalarında Kullanılan Cihazlar ve Kullanım Alanları

Cihaz/Ekipman	Marka/Model	Kullanım Amacı
Hassas Terazi	Sartorius CP22D	Çalışmalarda gerekli kimyasalların tartımı
Vorteks	Heidolph	Örneklerin çözünmesi

Tablo 5.2 Enkapsülasyon ve Antimikrobiyal Aktivite Çalışmalarında Kullanılan Cihazlar ve Kullanım Alanları (Devamı)

Ultrasonik Su Banyosu	BandelinSonorex	Örneklerin çözünmesi
Ultra Saf Su Cihazı	MilliporeMilliQGradient	Deneysel çalışmalarda kullanılan saf suyun temini
Mikrotip Prob Sonikatör	BandelinSonopuls, Germany	Nanopartikül sentezi
Çoklu Manyetik Karıştırıcı	IKA	Nanopartikül sentezi, biyokonjugasyon
Zetasizer	Zetasizer Nano ZS, Malvern, UK	Nanopartikül karakterizasyonu
SEM	Thermo Fisher ScientificQuattro S	Nanopartikül karakterizasyonu
Çalkalamalı Su Banyosu	N-Biotek	Nanopartikül karakterizasyonu
pH Metre	HANNA HI 2211	Fosfat Tamponu Hazırlanması
Liyofilizatör	HetoDrywinner	Örneklerin dondurularak kurutulması

5.1.3 Schlenk Sistemi

Tüm reaksiyonların kurulması ve çözücülerin kurutulması azot altında ve Schlenk düzeneğininden yararlanılarak yapılmıştır.

5.1.4 Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Çözeltiler

5.1.4.1 %5'lik Sodyum Bikarbonat Çözeltisi

5 g NaHCO3 (MA= 84,007 g/mol) tartılarak 100 mL'lik balon joje içerisinde 95 mL saf su eklenip manyetik karıştırıcı üzerinde (500 rpm) homojen bir çözelti elde edilene kadar karışması sağlanmıştır.

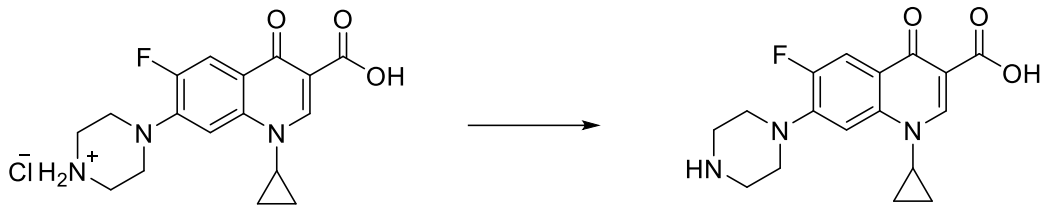
5.1.4.2 0,01 M'lık PBS Tamponu

2,6807 g $Na_2HPO_4.7H_2O$ (M_A=268,07 g/mol), 1,56 g $NaH_2PO_4.2H_2O$ (M_A=156,01 g/mol) ve 8,766 g NaCl tartılarak 1 L'lik balon joje içerisinde 900 mL ultra saf suda çözülür. Bu karışıma son olarak 500 mg NaN_3 (M_A=65,0099 g/mol) (uzun süreli kullanımda mikrobiyal üremeyi engellemesi amacıyla kullanılmıştır) eklenip manyetik karıştırıcı üzerinde (500 rpm) homojen bir çözelti elde edilene kadar karışması sağlanmıştır. Ultra saf su ile çözelti hacmi 1 L olacak şekilde hacim ayarlanmıştır. Karışımın pH'ı ölçülmüş ve konjugasyon çalışmalarında kullanılacak PBS'in pH'ı HCl çözeltisi kullanılarak 5'e, in-vitro salım çalışmalarında kullanılacak PBS'in pH'ı NaOH çözeltisi kullanılarak 7,4'e ayarlanmıştır.

5.1.4.3 %3'lik PVA Çözeltisi

3 g polivinil alkol tartılarak üzerine 80 mL ultra saf su eklenip 70 °C'de yaklaşık 4-6 saat kadar manyetik karıştırıcı üzerinde homojene yakın bir çözelti görünümü elde edilinceye kadar karışması sağlanmıştır. Bu süre sonunda karışımın hacmi ultra saf su ile 100 mL'ye ayarlanmış, homojen çözelti elde etmek üzere gece boyu oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Kullanmadan önce membran filtre (por boyutu 0,45 μm, rejenere selüloz membran filtre) yardımıyla süzülmüştür.

5.2 Siprofloksasin Bileşiğinin Hazırlanması (Bileşik 1, $C_{17}H_{18}FN_3O_3$)



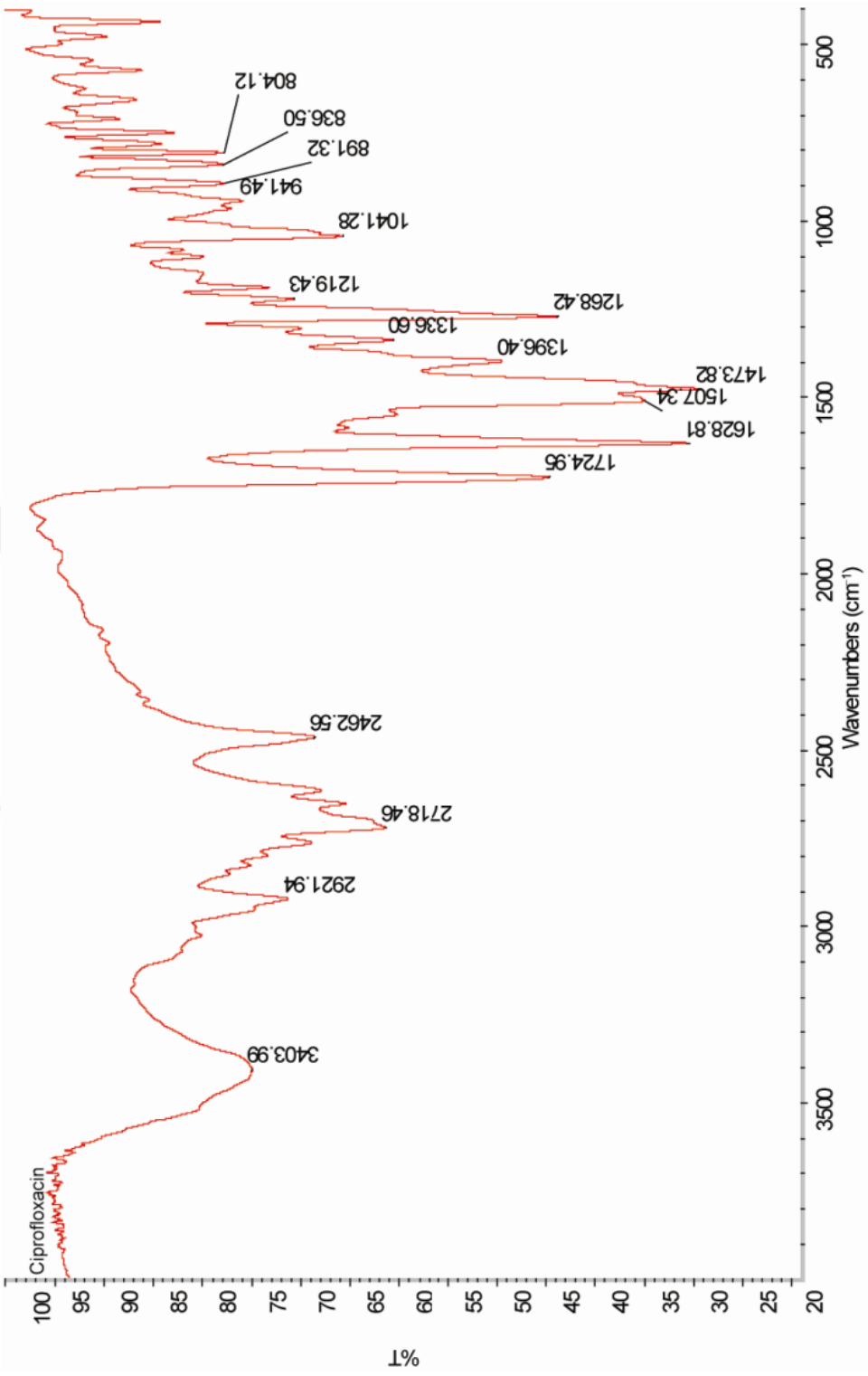
2,718 mmol (1 g) siprofloksasinHCl bir behere tartıldı. Üzerine 6 mLdestile su eklenerek çözüldü. Aynı sıcaklıkta 15 dakika karıştırıldı. Reaksiyon ortamına beyaz bir çökelti oluşana kadar %5lik sodyum bikarbonat çözeltisi eklendi. Reaksiyon sonlandırıldı. Beyaz çökelti süzüldü ve kurutuldu. [127]

Beyaz Katı; R_f= 0.45 (9,5:0,5 DCM/MeOH); verim= % 90

E.N: 254^{O}C

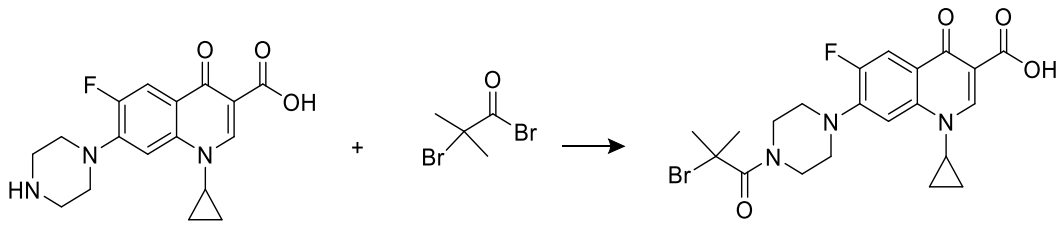
5.2.1 Bileşik 1'in Spektroskopik Analiz Verileri

FTIR (ATR):ν= 3403 ve 3011 (OH gerilimleri), 1721 (C=O gerilimi), 1628 (C=O gerilimi), 1507 (C=C gerilimi), 1473 (C=C gerilimi), 1396 (C-N salınımı), 1268 (C-O tekli bağ gerilimi), 805 (*p*-substitue aromatik halka düzlem dışı gerilimi) cm^{-1}



Şekil 5.1 Bileşik 1'in FTIR spektrumu (ATR)

5.3 7-(4-(2-bromo-2-metilpropanoyl)piperazin-1-yl)-1-siklopropil-6-floro-4-oxo-1,4-dihidroquinoline-3-karboksilik asit Bileşiğinin Hazırlanması (Bileşik 2, $C_{21}H_{23}BrFN_3O_4$)



2

1,5 mmol (551,7 mg) siprofloksasin çift boyunlu balona tartıldı. Üzerine damla damla 2 mmol (202,386 mg) TEA eklendi ve azot atmosferi altında DCM'da (20 mL) çözülerek 0^{o}C'ye getirildi. Aynı sıcaklıkta 15 dakika karıştırıldı. Reaksiyon ortamına damla damla 2,25 mmol (517,275 mg) 2-bromo izobütil bromür % 97 ilave edildi. Reaksiyon oda sıcaklığına alındı ve berrak bir çözelti gözlemlenene kadar karıştırıldı. Berak çözelti oluştuğunda, reaksiyon ortamına beyaz bir çökelti oluşana kadar hekzan eklendi. Reaksiyon sonlandırıldı. Beyaz çökelti süzüldü ve kurutuldu. Oluşan beyaz katı Flash kromatografisi ile saflaştırıldı.

Beyaz Katı; R_f= 0.6 (9,5:0,5DCM/MeOH); verim= % 25.

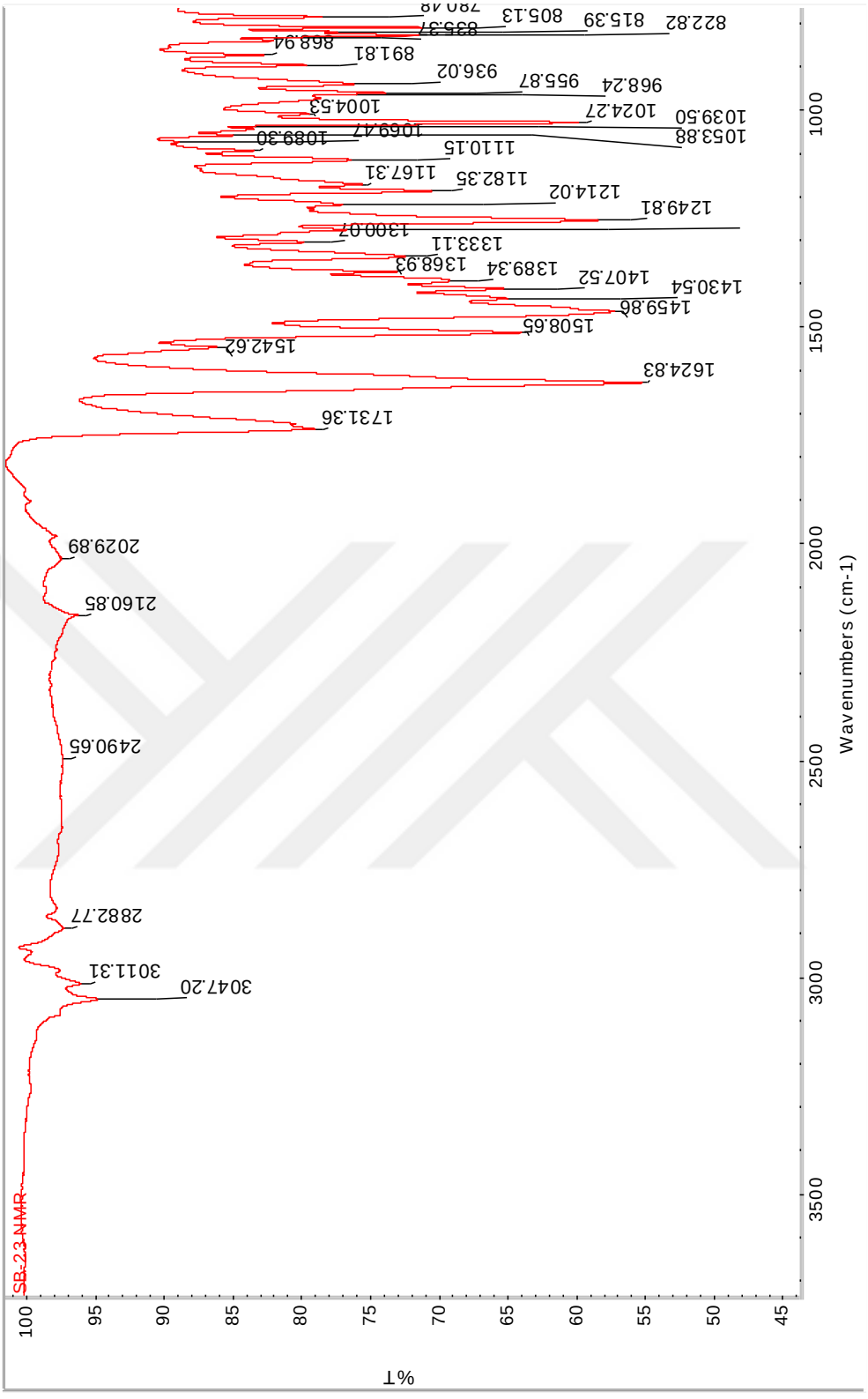
5.3.1 Bileşik 2'in Spektroskopik Analiz Verileri

FTIR (ATR): ν= 3047 ve 3011 (Aromatik CH gerilimleri), 2882 (Alifatik CH gerilimi), 1731 (C=O gerilimi), 1624 (C=O gerilimi), 1542 (C=C gerilimi), 1333 (CH3 şemsiye bandı), 1249 (C-O tekli bağ gerilimi), 1039 (C-N salınımı), 805 (*p*-substitue aromatik halka düzlem dışı gerilimi) cm^{-1}

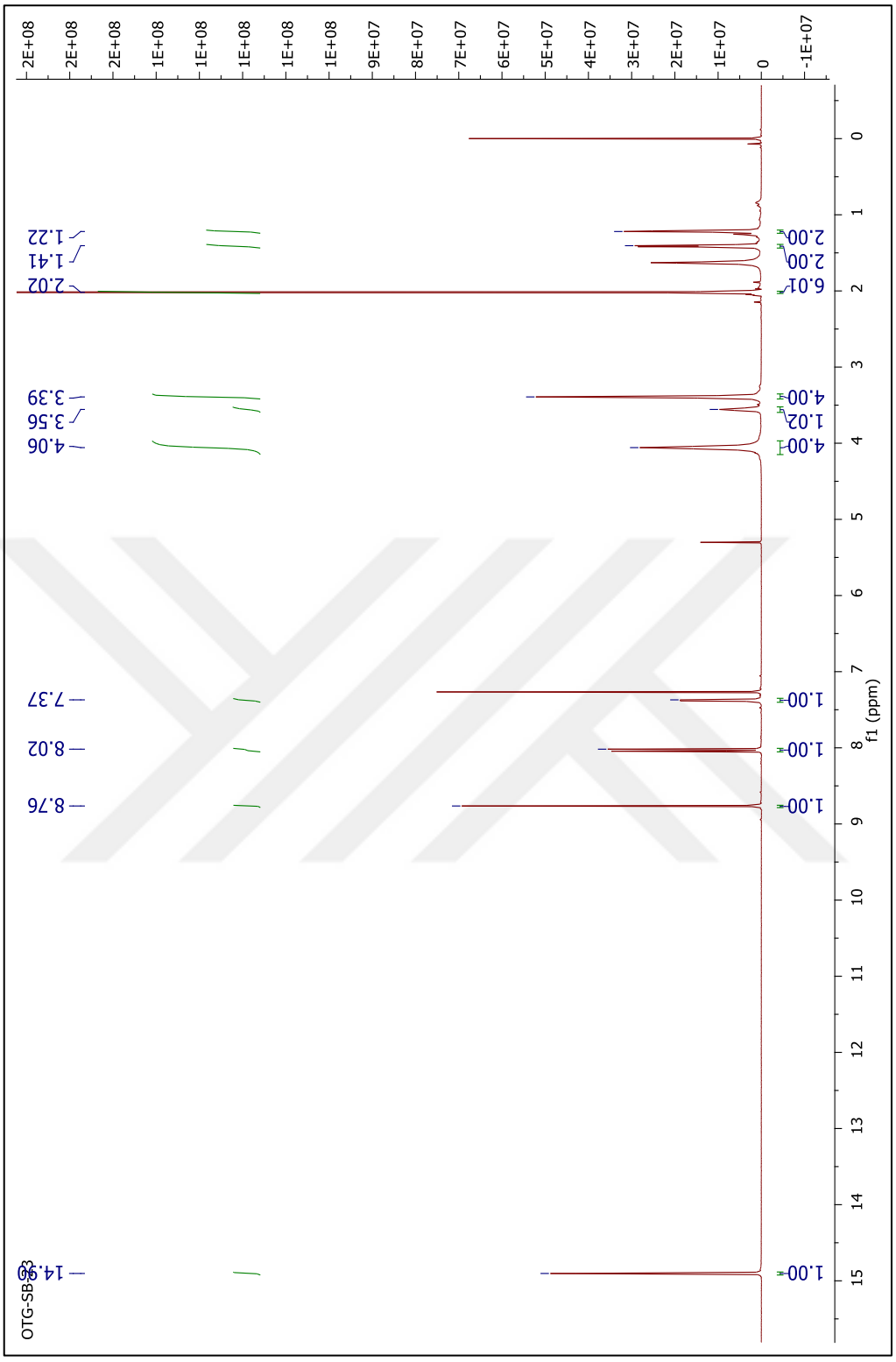
^{1}H NMR (500 MHz, CDCl3) δ: 1.22 (q, 2H, J= 6.7 Hz, CH_2), 1.41 (q, 2H, J= 6.6 Hz, CH_2), 2.02 (s, 6H, 2xCH_3), 3.39, (m, 4H, 2x*N*-CH_2), 3.56 (brs, 1H, *N*-CH), 4.06 (m, 4H, 2x*N*-CH_2), 7.37 (d, 1H, *J= 7.0 Hz*, ArH), 8.02 (d, 1H, *J= 12.9 Hz*, ArH), 8.76 (s, 1H, =CH), 14.90 (s, 1H, COOH) ppm.

^{13}C NMR (APT) (125 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.3 (2xCH_2), 32.6 (2xCH_3), 35.3 (CH), 49.6 (2x*N*-CH_2), 56.6 (2x*N*-CH_2), 105.1 (CAr), 108.3 (Cq), 112.6 (CAr), 112.7

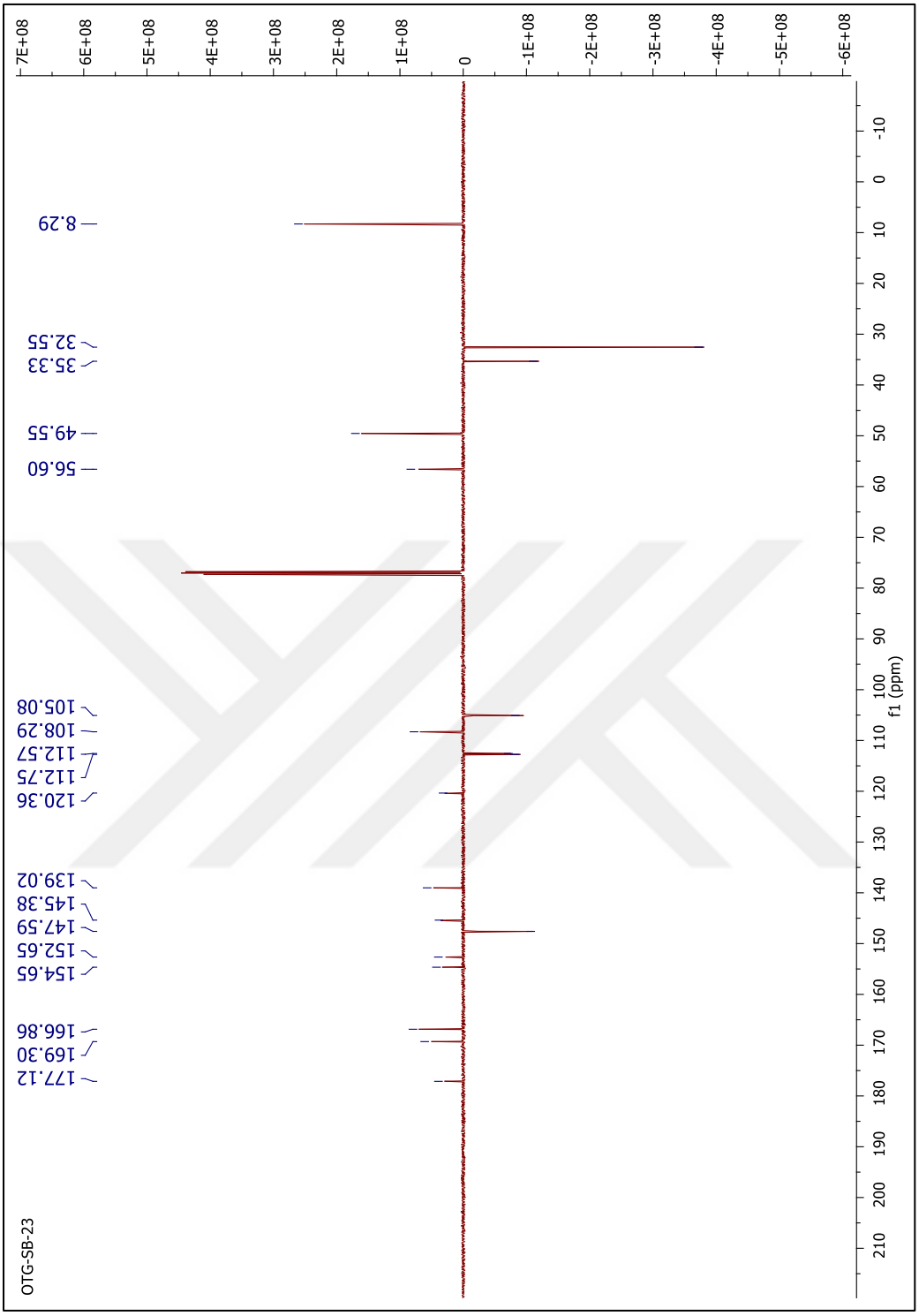
(CAr), 120.4 (Cq), 139.0 (Cq), 145.4 (Cq), 147.6 (=CH). 152.6 (Cq), 154.6 (Cq), 166.9 (C=O), 169.3 (C=O), 177.1 (COOH) ppm.



Şekil 5.2 Bileşik 2'in FTIR spektrumu (ATR)

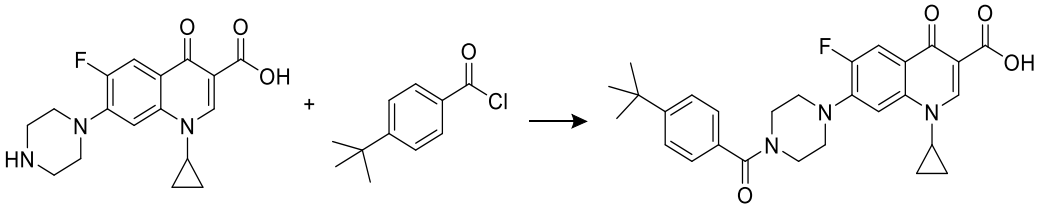


Şekil 5.3 Bileşik **2**'in ^{1}H NMR Spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.4 Bileşik **2**'in APT Spektrumu ($CDCl_3$)

5.4 7-(4-(4-(tert-bütil)benzoil)piperazin-1-il)-1-siklopropil-6-floro-4-oxo-1,4-dihidroquinoline-3-karboksilik asit Bileşiğinin Hazırlanması (Bileşik 3, $C_{28}H_{30}FN_3O_4$)



3

1,5 mmol (551,7 mg) siprofloksasinçift boyunlu balona tartıldı. Üzerine damla damla 2 mmol (202,386 mg) TEA eklendi ve azot atmosferi altında DCM'da (20 mL) çözülerek 0^{o}C'ye getirildi. Aynı sıcaklıkta 15 dakika karıştırıldı. Reaksiyon ortamına damla damla 2,25 mmol (442,51 mg) 4-(*ter*-bütil) benzoil klorür ilave edildi. Reaksiyon oda sıcaklığına alındı ve berrak bir çözelti gözlemlenene kadar karıştırıldı. Berak çözelti oluştuğunda, reaksiyon ortamına beyaz bir çökelti oluşana kadar hekzan eklendi. Reaksiyon sonlandırıldı. Beyaz çökelti süzüldü ve kurutuldu.Oluşan beyaz katı 9:1 diklorometan / metanol (R_f: 0.5) çözücü karışımı ile tabaka yapılarak saflaştırıldı.

Beyaz Katı; R_f= 0.5 (9:1 DCM/MeOH); verim= % 45

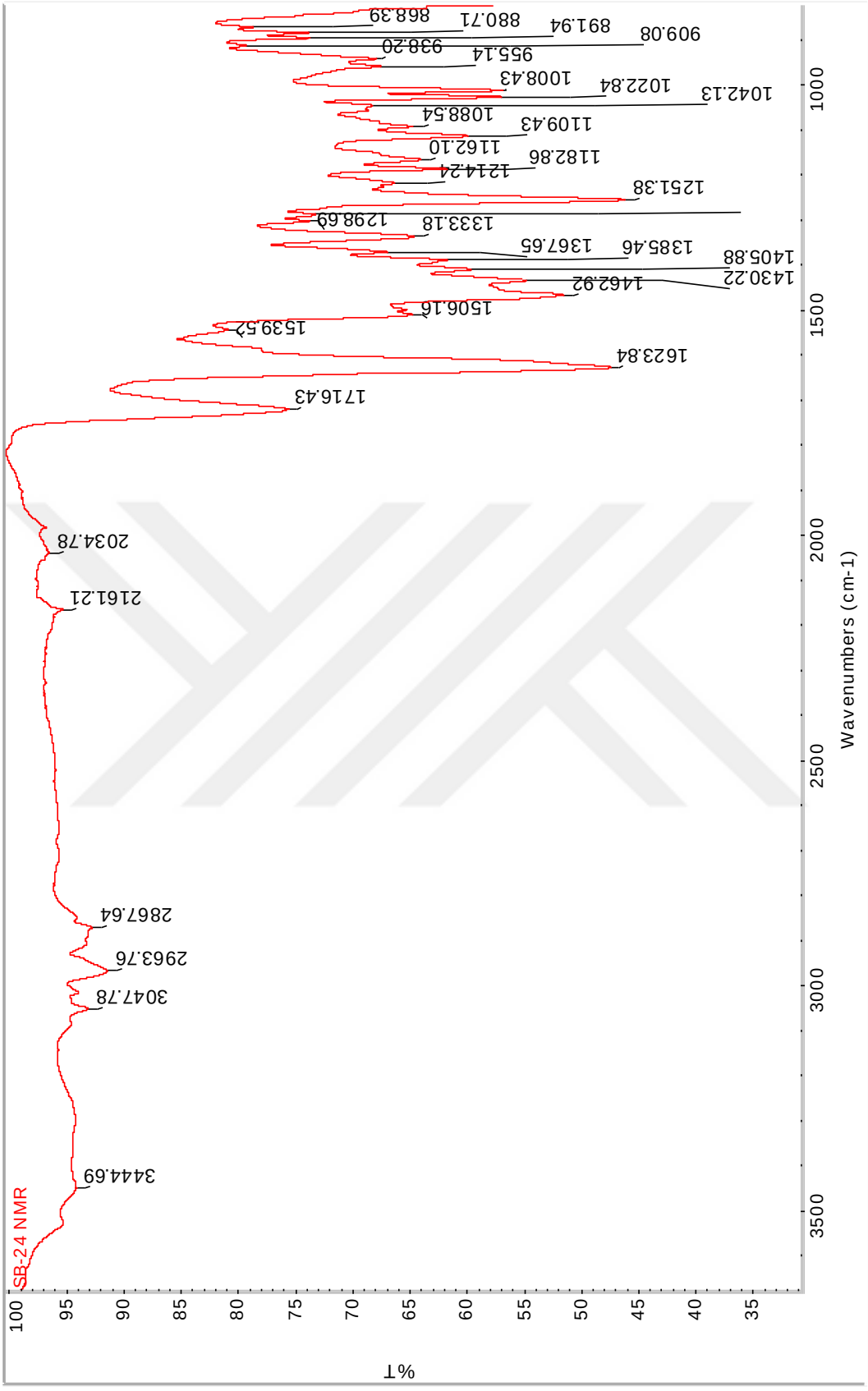
5.4.1 Bileşik 3'nin Spektroskopik Analiz Verileri

FTIR (ATR): ν= 3444 (COOH gerilimi), 3047 (Aromatik CH gerilimi), 2963 ve 2867 (Alifatik CH gerilimleri), 1716 (C=O gerilimi), 1623 (C=O gerilimi), 1539 (C=C gerilimi), 1333 (CH3 şemsiye bandı), 1251 (C-O tekli bağ gerilimi), 1008 (C-N salınımı), 891 (*p*-substitue aromatik halka düzlem dışı gerilimi) cm^{-1}

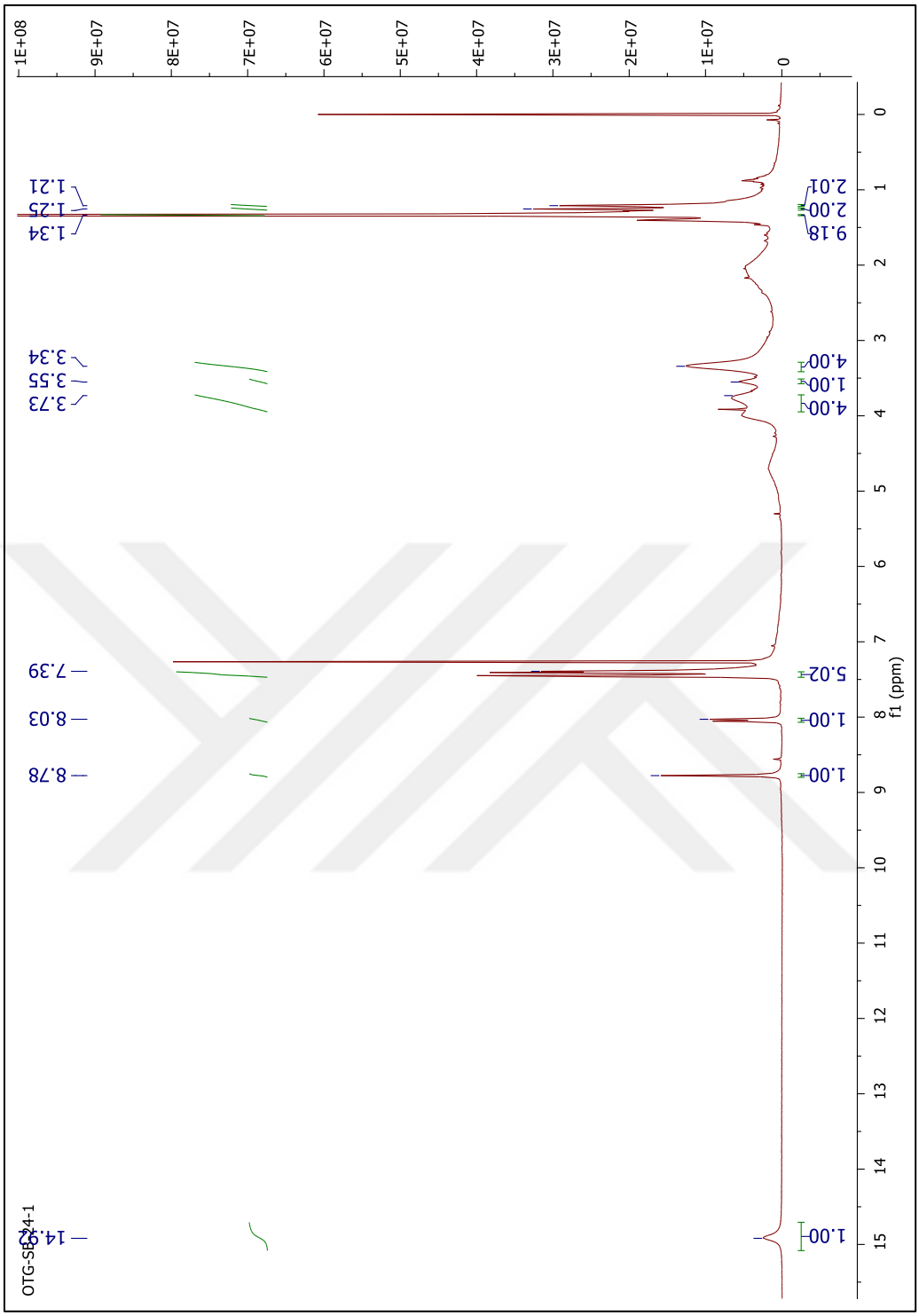
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz): δ= 1.21 (brs, 2H, CH_2), 1.25 (m, 2H, CH_2), 1.34 (s, 9H, 3xCH_3), 3.34, (brs, 4H, 2x*N*-CH_2), 3.55 (brs, 1H, *N*-CH), 3.73-3.96 (m, 4H, 2x*N*-CH_2), 7.39-7.46 (m, 5H, ArH), 8.03 (d, J= 12.6 Hz, 1H, ArH), 8.78 (s, 1H, =CH), 14.92 (s, 1H, COOH) ppm.

^{13}C NMR (APT) (125 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.3 (2x CH_2), 31.2 (3x CH_3), 34.9 (Cq), 35.3 (CH), 51.4 (2x*N*-CH_2), 53.9 (2x*N*-CH_2), 105.2 (CAr), 108.3 (Cq), 112.6 (CAr),

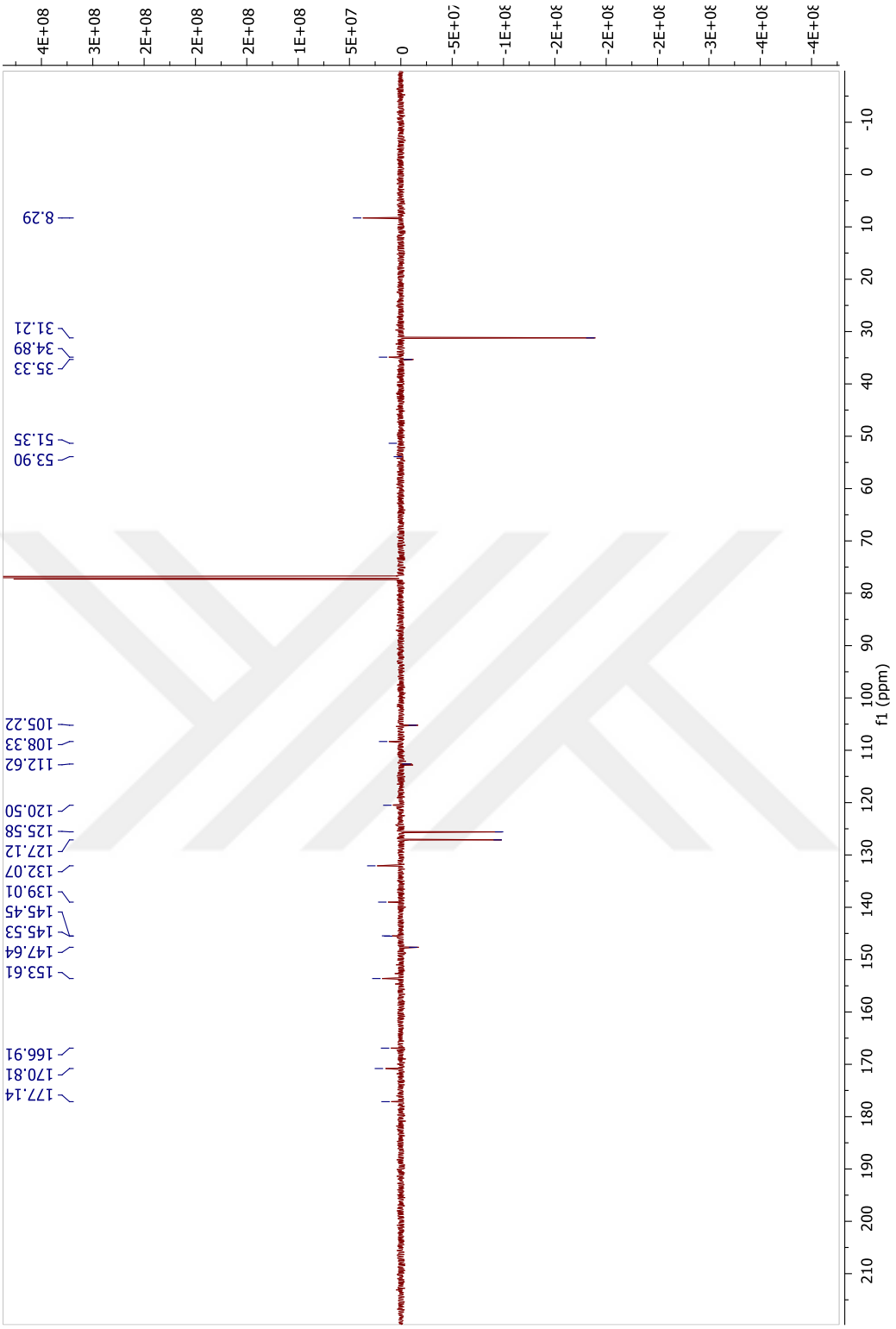
120.5 (Cq), 125.6 (2xCAr), 127.1 (2xCAr), 132.1 (Cq), 139.0 (Cq), 145.4 (Cq), 145.5 (Cq), 147.6 (CAr), 153.6 (Cq), 166.9 (C=O), 170.8 (C=O), 177.1 (C=O) ppm.



Şekil 5.5 Bileşik 3'nin FTIR spektrumu (ATR)

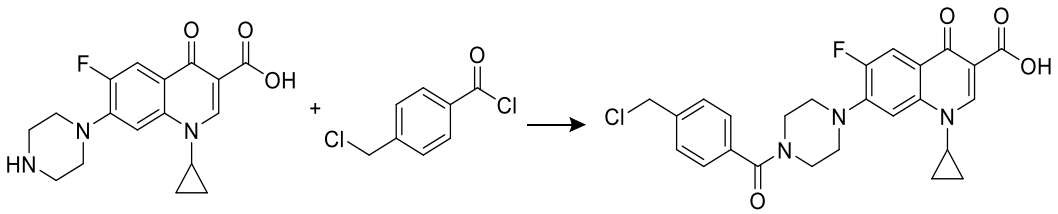


Şekil 5.6 Bileşik 3'nin ^{1}H NMR spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.7 Bileşik 3'nin APT spektrumu ($CDCl_3$)

5.5 7-(4-(4-(Klorometil)benzoil)piperazin-1-il)-1-siklopropil-6-floro-4-oxo-1,4-dihidroquinoline-3-karboksilik asit Bileşiğinin Hazırlanması (Bileşik 4, $C_{25}H_{23}ClFN_3O_4$)



4

1,5 mmol (551,7 mg) siprofloksasin çift boyunlu balona tartıldı. Üzerine damla damla 2 mmol (202,386 mg) TEA eklendi ve azot atmosferi altında DCM'da (20 mL) çözülerek 0^{o}C'ye getirildi. Aynı sıcaklıkta 15 dakika karıştırıldı. Reaksiyon ortamına damla damla 2,25 mmol (425,34 mg) 4-(klorometil) benzoil klorürilave edildi. Reaksiyon oda sıcaklığına alındı ve berrak bir çözelti gözlemlenene kadar karıştırıldı. Berak çözelti oluştuğunda, reaksiyon ortamına beyaz bir çökelti oluşana kadar hekzan eklendi. Reaksiyon sonlandırıldı. Beyaz çökelti süzüldü ve kurutuldu. Oluşan beyaz katı Flash kromatografisi ile saflaştırıldı.

Beyaz Katı; R_f= 0.54 (9,5:0,5 DCM/MeOH); verim= % 35

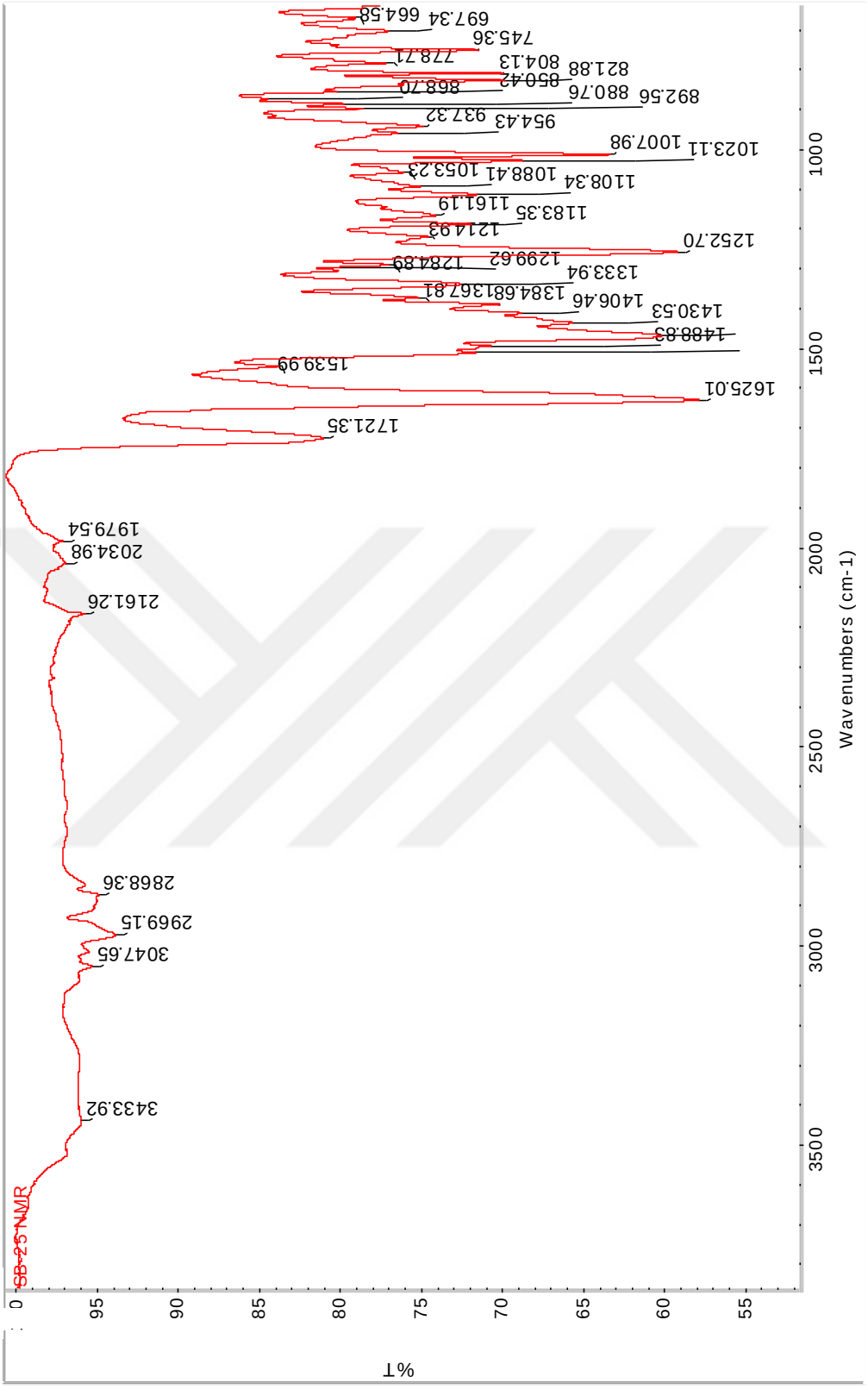
5.5.1 Bileşik 4'ün Spektroskopik Analiz Verileri

FTIR (ATR): ν= 3433 (COOH gerilimi), 3047 (Aromatik CH gerilimi), 2969 ve 2868 (Alifatik CH gerilimleri), 1721 (C=O gerilimi), 1625 (C=O gerilimi), 1539 (C=C gerilimi), 1252 (C-O tekli bağ gerilimi), 1007 (C-N salınımı), 745 (*p*-substitue aromatik halka düzlem dışı gerilimi) cm^{-1}

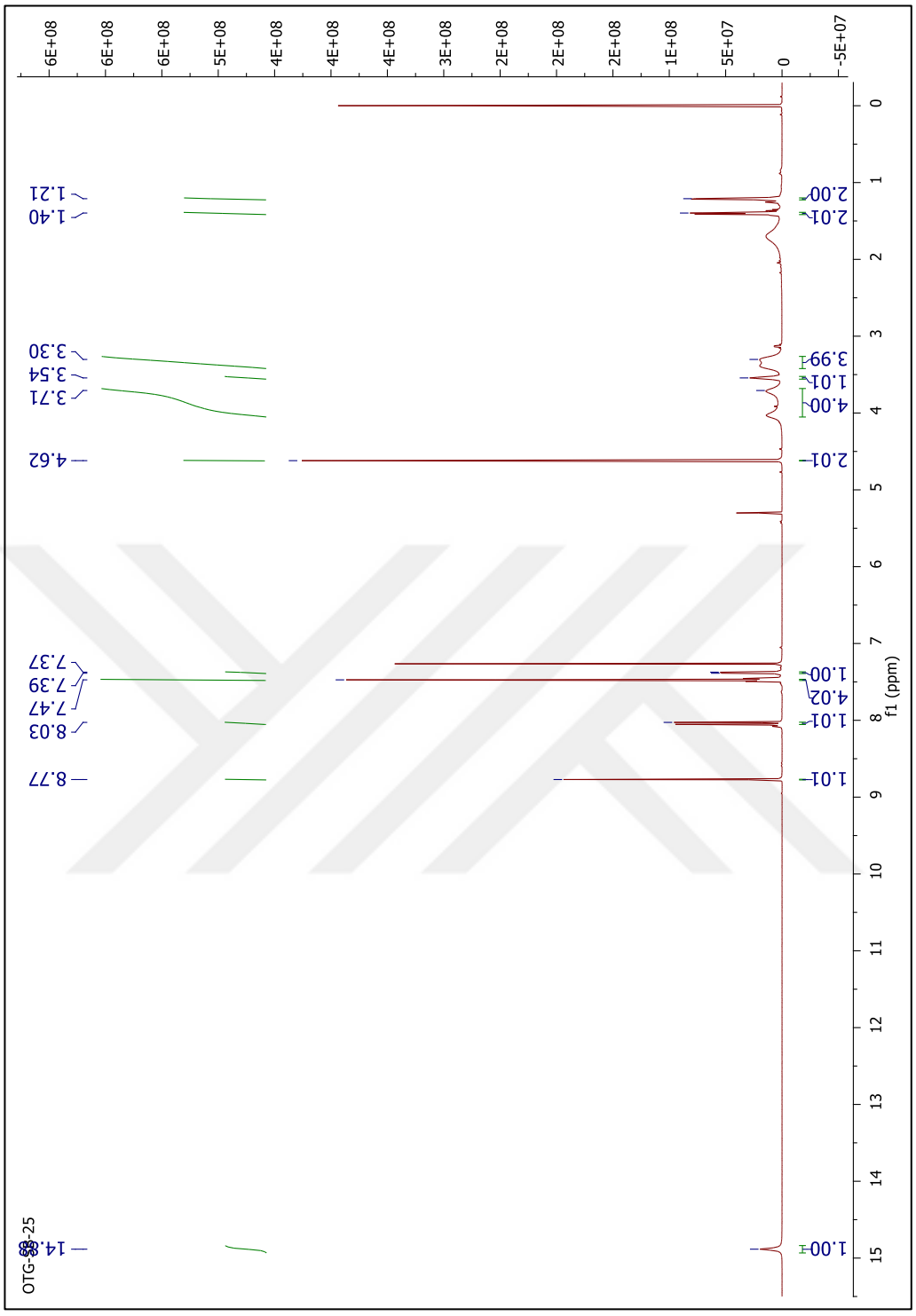
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz): δ= 1.21-1.23 (m, 2H, CH_2), 1.40-142 (m, 2H, CH_2), 3.30-3.33, (m, 4H, 2x*N*-CH_2), 3.54 (brs, 1H, *N*-CH), 3.71-4.03 (m, 4H, 2x*N*-CH_2), 4.62 (s, 2H, CH_2-Cl), 7.37 (d, J= 7.0 Hz, 1H, ArH), 7.47 (d, J= 1.5 Hz, 4H, ArH), 8.03 (d, 1H, J= 12.8 Hz, ArH), 8.77 (s, 1H, =CH), 14.88 (s, 1H, COOH) ppm.

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz): 8.3 (2x CH_2), 35.3 (CH), 45.4 (CH_2), 51.3 (2x*N*-CH_2), 53.5 (2x*N*-CH_2), 105.2 (CAr), 108.3 (Cq), 112.8 (CAr), 120.5 (Cq), 127.7

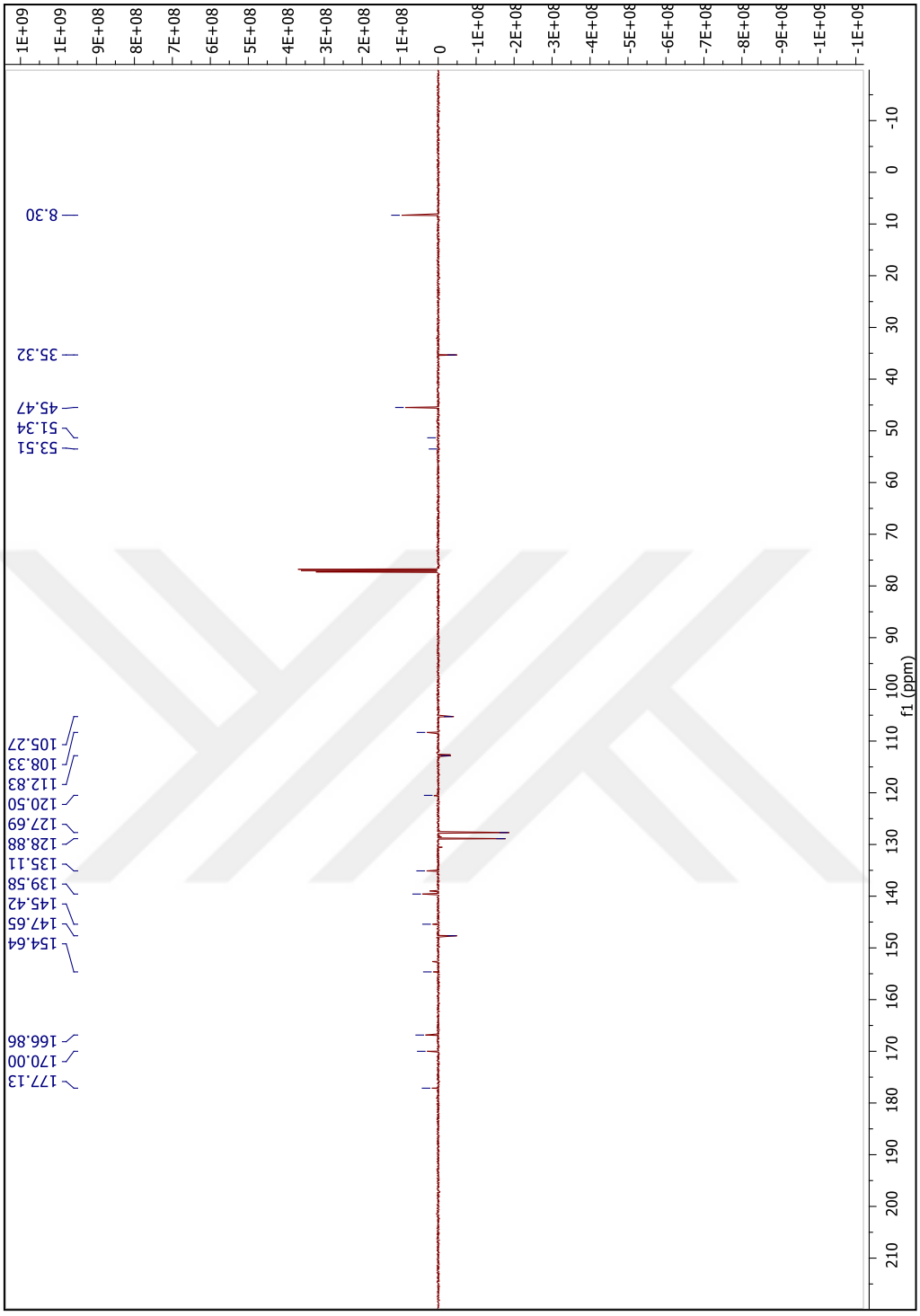
(2xCAr), 128.9 (2xCAr), 135.1 (Cq), 139.5 (Cq), 139.6 (Cq), 145.4 (Cq), 147.6 (CAr), 154.6 (Cq), 166.8 (C=O), 170.0 (C=O), 177.1 (C=O) ppm.



Şekil 5.8 Bileşik 4'ün FTIR spektrumu (ATR)

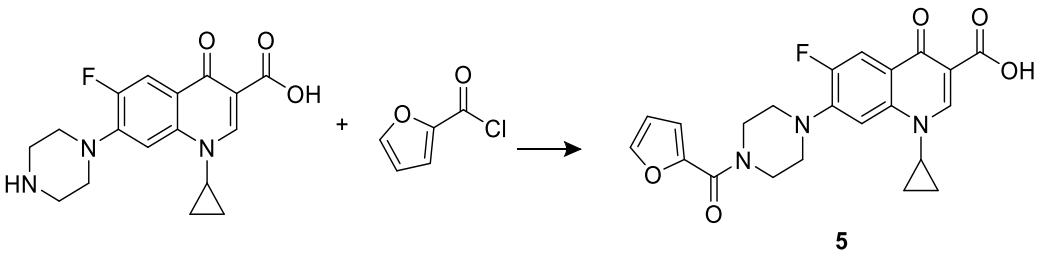


Şekil 5.9 Bileşik 4'ün ^{1}H NMR spektrumu ($CDCl_3$)



Şekil 5.10 Bileşik 4'ün ^{13}C NMR spektrumu ($CDCl_3$)

5.6 1-siklopropil-6-floro-7-(4-(furan-2-karbonil)piperazin-1-il)-4-oxo-1,4-dihidroquinoline-3-karboksilik asit Bileşiğinin Hazırlanması (Bileşik 5, $C_{22}H_{20}FN_3O_5$)



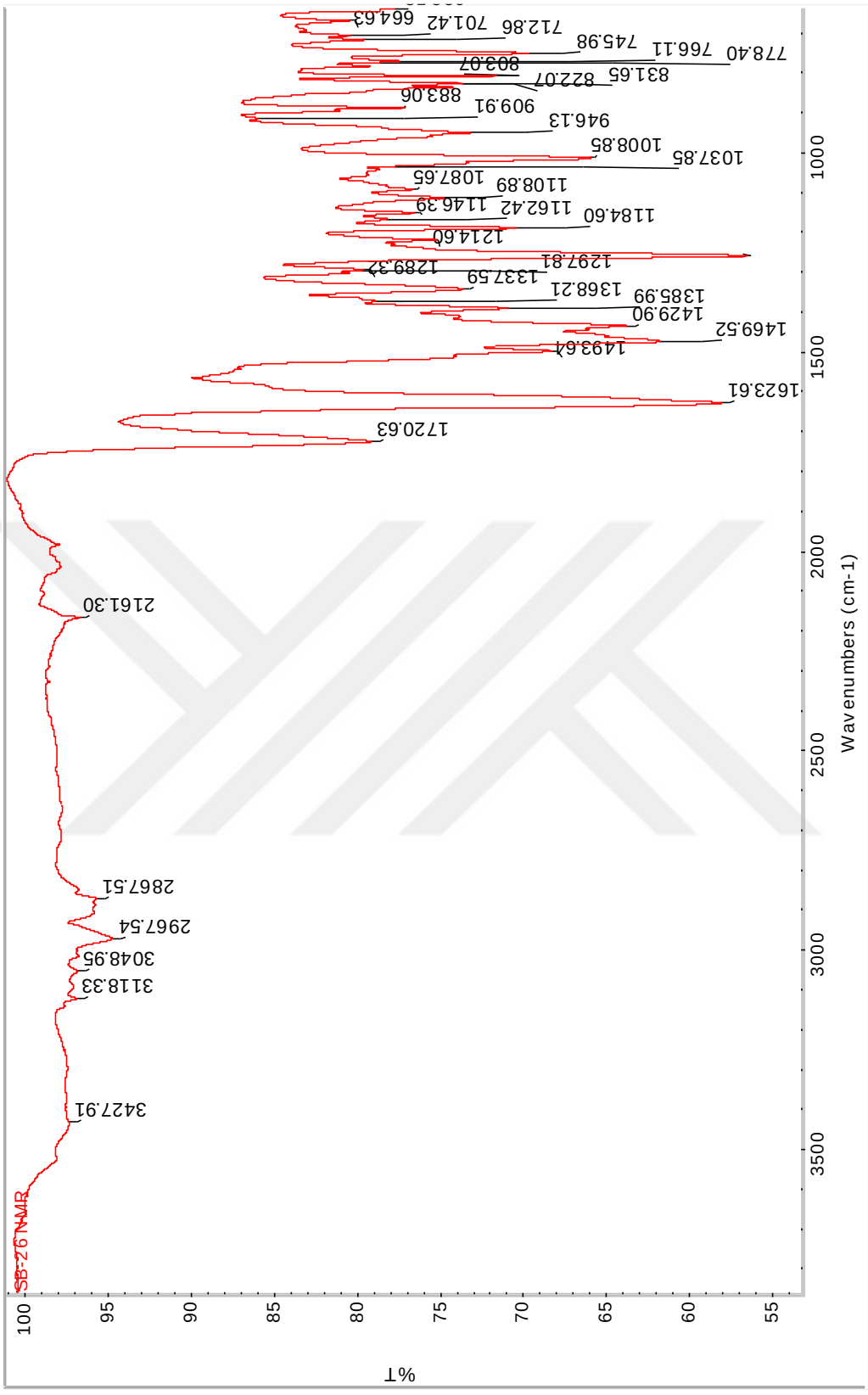
5

1,5 mmol (551,7 mg) siprofloksasin çift boyunlu balona tartıldı. Üzerine damla damla 2 mmol (202,386 mg) TEA eklendi ve azot atmosferi altında DCM'da (20 mL) çözülerek 0^{o}C'ye getirildi. Aynı sıcaklıkta 15 dakika karıştırıldı. Reaksiyon ortamına damla damla 2,25 mmol (293,693 mg) 2-furoil klorür ilave edildi. Reaksiyon oda sıcaklığına alındı ve berrak bir çözelti gözlemlenene kadar karıştırıldı. Berak çözelti oluştuğunda, reaksiyon ortamına beyaz bir çökelti oluşana kadarhekzan eklendi. Reaksiyon sonlandırıldı. Beyaz çökelti süzüldü ve kurutuldu.

Beyaz Katı; Rf= 0.36 (9,5:0,5 DCM/MeOH); verim= %82

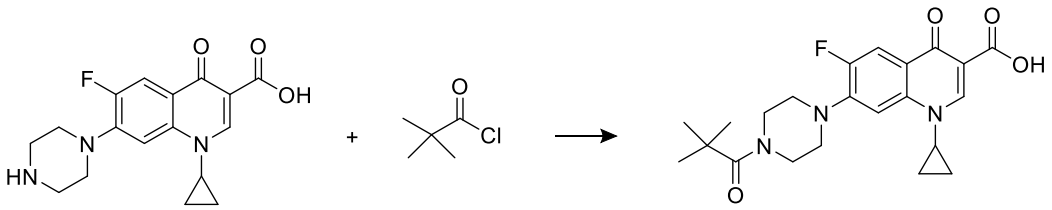
5.6.1 Bileşik 5'ün Spektroskopik Analiz Verileri

FTIR (ATR): ν= 3427 (COOH gerilimi), 3018 ve 3048 (Aromatik CH gerilimleri), 2967 ve 2867 (Alifatik CH gerilimleri), 1720 (C=O gerilimi), 1623 (C=O gerilimi), 1493 (C=C gerilimi), 1252 (C-O tekli bağ gerilimi), 1008 (C-N salınımı), 745 (*p*-substitue aromatik halka düzlem dışı gerilimi) cm^{-1}



Şekil 5.11 Bileşik 5'ün FTIR spektrumu (ATR)

5.7 1-siklopropil-6-floro-4-oxo-7-(4-pivaloylpiperazin-1-yl)-1,4-dihidroquinoline-3-karboksilik asit Bileşiğinin Hazırlanması (Bileşik 6, $C_{22}H_{26}FN_3O_4$)



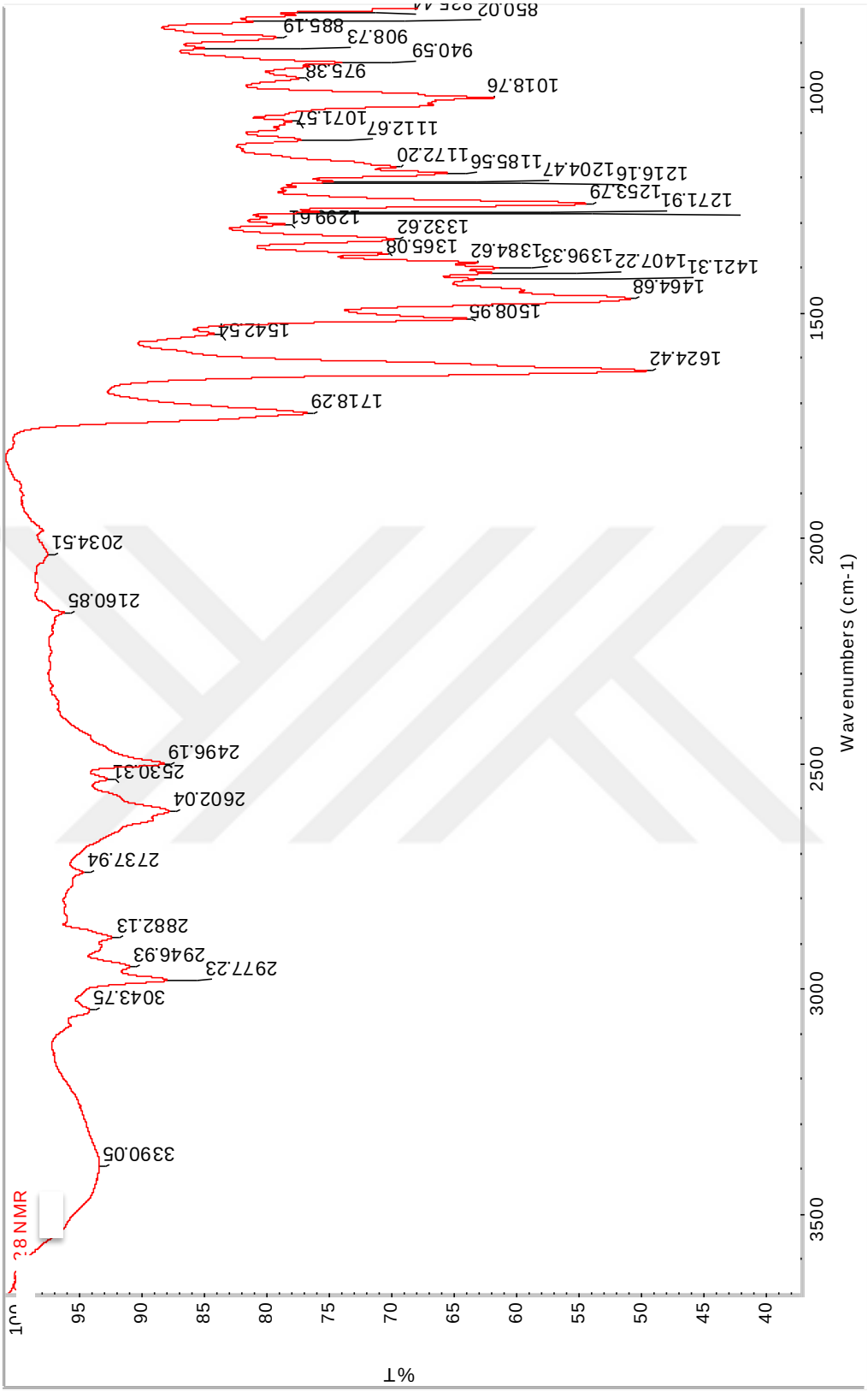
6

1,5 mmol (551,7 mg) siprofloksasin çift boyunlu balona tartıldı. Üzerine damla damla 2 mmol (202,386 mg) TEA eklendi ve azot atmosferi altında DCM'da (20 mL) çözülerek 0^{o}C'ye getirildi. Aynı sıcaklıkta 15 dakika karıştırıldı. Reaksiyon ortamına damla damla 2,25 mmol (271,305 mg) pivoloyl klorür ilave edildi. Reaksiyon oda sıcaklığına alındı ve berrak bir çözelti gözlemlenene kadar karıştırıldı. Berak çözelti oluştuğunda, reaksiyon ortamına beyaz bir çökelti oluşana kadar hekzan eklendi. Reaksiyon sonlandırıldı. Beyaz çökelti süzüldü ve kurutuldu.

Beyaz Katı; R_f= 0.5 (9,5:0,5 DCM/MeOH); verim= %64

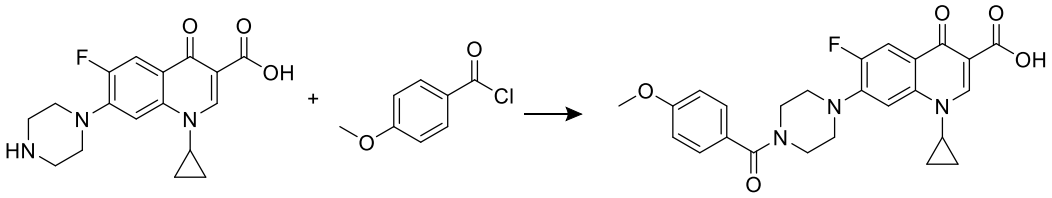
5.7.1 Bileşik 6'in Spektroskopik Analiz Verileri

FTIR (ATR): ν= 3390 (COOH gerilimi), 3043 (Aromatik CH gerilimi), 2977, 2946 ve 2882 (Alifatik CH gerilimleri), 1718 (C=O gerilimi), 1624 (C=O gerilimi), 1542 (C=C gerilimi), 1253 (C-O tekli bağ gerilimi), 1018 (C-N salınımı), 885 (*p*-substitue aromatik halka düzlem dışı gerilimi) cm^{-1}



Şekil 5.12 Bileşik 6'in FTIR spektrumu (ATR)

5.8 1-siklopropyl-6-floro-7-(4-(4-metoksibenzoil)piperazin-1-il)-4-oxo-1,4-dihidroquinoline-3-karboksilik asit Bileşiğinin Hazırlanması (Bileşik 7, $C_{25}H_{24}FN_3O_5$)



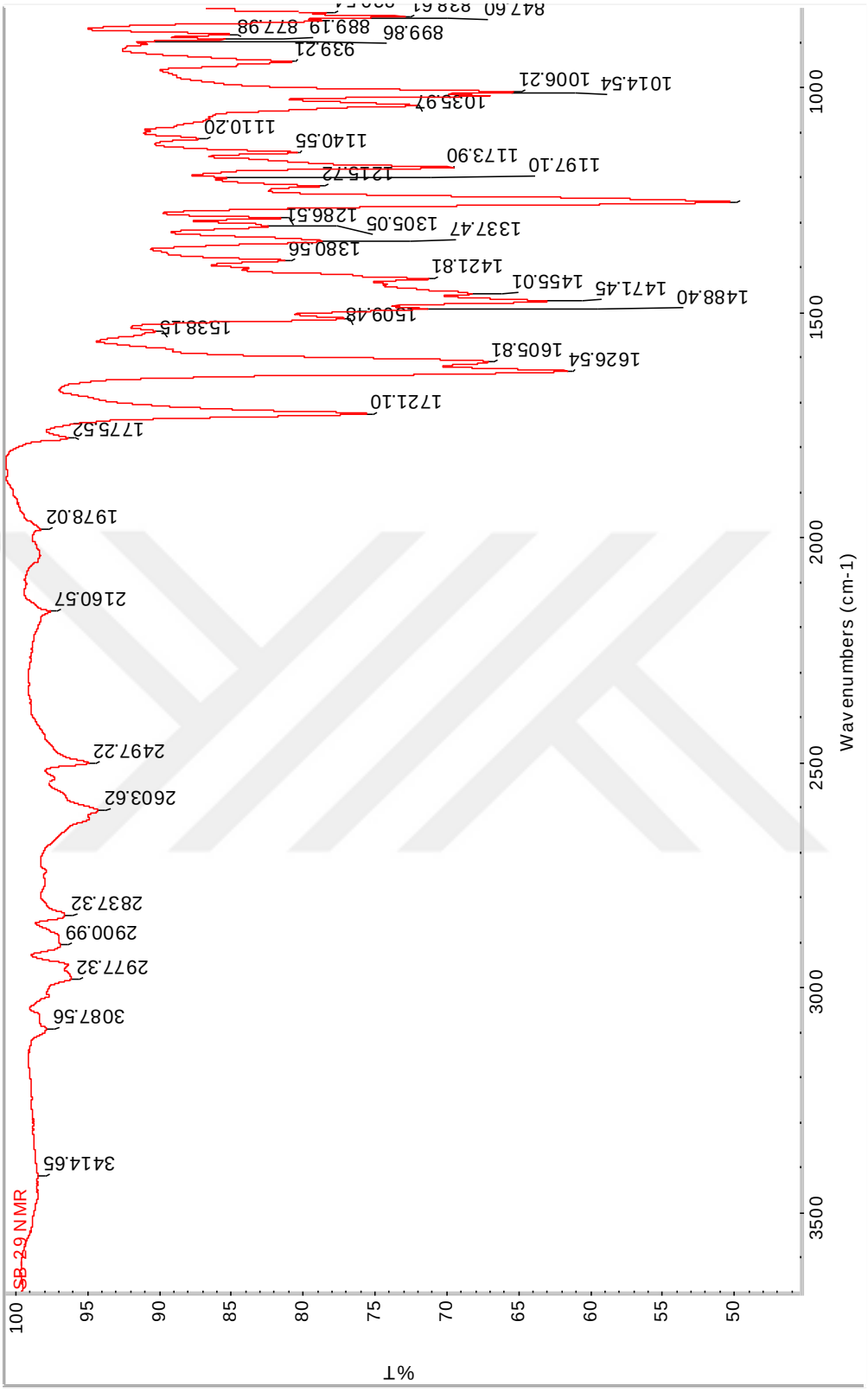
7

1,5 mmol (551,7 mg) siprofloksasin çift boyunlu balona tartıldı. Üzerine damla damla 2 mmol (202,386 mg) TEA eklendi ve azot atmosferi altında DCM'da (20 mL) çözülerek 0°C'ye getirildi. Aynı sıcaklıkta 15 dakika karıştırıldı. Reaksiyon ortamına damla damla 2,25 mmol (383,83 mg) 4-metoksi benzoil klorür ilave edildi. Reaksiyon oda sıcaklığına alındı ve berrak bir çözelti gözlemlenene kadar karıştırıldı. Berak çözelti oluştuğunda, reaksiyon ortamına beyaz bir çökelti oluşana kadar hekzan eklendi. Reaksiyon sonlandırıldı. Beyaz çökelti süzüldü ve kurutuldu.

Beyaz Katı; R_f= 0.45 (9,5:0,5 DCM/MeOH); verim= %83

5.8.1 Bileşik 7'nın Spektroskopik Analiz Verileri

FTIR (ATR): ν= 3414 (COOH gerilimi), 3087 (Aromatik CH gerilimi), 2977, 2900 ve 2837 (Alifatik CH gerilimleri), 1721 (C=O gerilimi), 1626 (C=O gerilimi), 1538 (C=C gerilimi), 1286 (C-O tekli bağ gerilimi), 1006 (C-N salınımı), 847 (*p*-substitue aromatik halka düzlem dışı gerilimi) cm^{-1}



Şekil 5.13 Bileşik **7**'nın FTIR spektrumu (ATR)

Tez kapsamında sentezlenmiş olan Bileşik 2, Bileşik 3, Bileşik 4, Bileşik 5, Bileşik 6 ve Bileşik 7'nin nanopartikül sentez çalışmaları öncesinde Broth Mikrodilüsyon Yöntemi ile antimikrobiyal aktiviteleri E.coli Ve S.aureus bakterilerine karşı incelenmiştir. En iyi sonucu Bileşik 4 ve Bileşik 7 den elde edildiği için nanopartikül çalışmaları bu iki bileşik üzerinden ilerlemiştir.

5.9 Bileşik 4 Yüklü PLGA NP'lerin Sentezi

Bileşik 4 yüklü nanopartiküller literatürde tanımlanan yağ/su (o/w) tekli emülsiyon çözücü buharlaştırma yöntemi ile küçük modifikasyonlar yapılarak sentezlenmiştir. Bunun için, 5 mg Bileşik 4 ve 25 mg PLGA polimeri diklorometanda (DCM) çözülmüştür. %3 (w/v) PVA içeren sulu faza, çözünmüş Bileşik 4 ve PLGA'yı içeren organik faz damla damla eklenerek yağ/su (o/w) emülsiyonu buz banyosu üzerinde mikrotip prob sonikatörü (BandelinSonopuls, Germany) kullanılarak 90 sn boyunca sonikasyon (80 W, %100 power) yoluyla hazırlanmıştır. Daha sonra, elde edilen NP çözeltisi, %0,1 PVA içerisine damla damla eklenerek organik fazın çözücüsünün buharlaştırılması için oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı üzerinde (600 rpm) 3 saat karışmaya bırakılmıştır. Oluşan partiküller 4°C'de, 9.000 rpm'de 30 dk santrifüjlenerek (NÜVE NF 800R) toplanıp fazla PVA'yı uzaklaştırmak için üç kez ultra saf su ile yıkanmıştır. Ardından liyofilize edilerek ileri analizlerde kullanmak üzere -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Bileşik 4 yüklenmemiş boş PLGA NP'ler aynı yöntemle Bileşik 4 eklenmeden sentezlenmiştir.

5.10 Bileşik 7 Yüklü PLGA NP'lerin Sentezi

Bileşik 7 yüklü nanopartiküller literatürde tanımlanan yağ/su (o/w) tekli emülsiyon çözücü buharlaştırma yöntemi ile küçük modifikasyonlar yapılarak sentezlenmiştir. Bunun için, 5 mg Bileşik 7 ve 25 mg PLGA polimeri diklorometanda (DCM) çözülmüştür. %3 (w/v) PVA içeren sulu faza, çözünmüş Bileşik 7 ve PLGA'yı içeren organik faz damla damla eklenerek yağ/su (o/w) emülsiyonu buz banyosu üzerinde mikrotip prob sonikatörü (BandelinSonopuls, Germany) kullanılarak 90 sn boyunca sonikasyon (80 W, %100 power) yoluyla hazırlanmıştır. Daha sonra, elde edilen NP çözeltisi, %0,1 PVA içerisine damla damla eklenerek organik fazın çözücüsünün buharlaştırılması için oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı üzerinde

(600 rpm) 3 saat karışmaya bırakılmıştır. Oluşan partiküller 4°C'de, 9.000 rpm'de 30 dk santrifüjlenerek (NÜVE NF 800R) toplanıp fazla PVA'yı uzaklaştırmak için üç kez ultra saf su ile yıkanmıştır. Ardından liyofilize edilerek ileri analizlerde kullanmak üzere -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Bileşik 7 yüklenmemiş boş PLGA NP'ler de aynı yöntemle Bileşik 7 eklenmeden sentezlenmiştir.

5.11 Sentezlenen Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

5.11.1 Reaksiyon Verimi (RV)

Reaksiyon verimi aşağıda verilen formül yardımı ile hesaplanmıştır:

$$\%RV = \frac{\text{Üretilen nanopartikül miktarı}}{\text{Başlangıç PLGA ve İlaç Miktarı}} \times 100 \quad \text{(Denklem 1)}$$

5.11.2 Enkapsülasyon Etkinliği

Enkapsülasyon etkinliği aşağıda verilen formül yardımı ile hesaplanmıştır:

$$\%EE = \frac{\text{Enkapsüle Olan İlaç Miktarı}}{\text{Başlangıçtaki İlaç Miktarı}} \times 100 \quad \text{(Denklem 2)}$$

5.11.3 İlaç Yükleme Kapasitesi (YK)

İlaç yükleme kapasitesi aşağıda verilen formül yardımı ile hesaplanmıştır:

$$\%\ YK = \frac{\text{Nanopartiküllere kapsüllenmiş ilaç miktarı}}{\text{Üretilen nanopartikül miktarı}} \times 100 \quad \text{(Denklem 3)}$$

5.11.4 Ortalama Partikül Boyutu, Polidispersite İndeksi ve Zeta Potansiyeli (ζ)

Üretilen NP'lerin ortalama partikül boyutu ve PDI değerleri foton korelasyon spektroskopisi ile çalışan Zetasizer (Zetasizer Nano ZS, Malvern, UK) cihazı kullanılarak dinamik ışık saçılması tekniği ile belirlenmiştir. Cihazda 4 MW gücünde 633 nm boylu He-Ne lazeri bulunmaktadır. Ölçümler literatüre göre çözeltiler için 0,8872 cP viskozite ve 1,330 kırılma indisi kullanılarak 25±0,1 °C'de üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. NP'lerin zeta potansiyel (ζ) analizleri elektroforetik ışık saçılması tekniği kullanılarak yine aynı cihazda belirlemiştir.

Ölçümler viskozite, 0,8872 cP; dielektrik sabiti, 79; $f(ka)$, 1,50 (Smoluchowski) parametreleriyle üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir [122]. Ölçüm süreleri ve voltaj seçimleri otomatik moda ayarlanmış ve tüm numuneler ölçümden önce ultra saf su ile 1:30 oranında seyreltilerek hazırlanmıştır.

5.11.5 Fourier Dönüşümlü-Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) ile Fonksiyonel Grup Analizi

NP'lerde bulunan fonksiyonel grupların kimyasal analizi ve hedefleyici ajan olarak kullanılan bileşiklerin biyokonjugasyonundan sonra meydana gelen yapısal değişiklikleri doğrulamak için FT-IR spektrofotometresi (Shimadzu, Japan) kullanılmıştır. Serbest Bileşik 4, serbest Bileşik 7, boş PLGA NP, Bileşik 4 yüklü NP ve Bileşik 7 yüklü NP FT-IR spektrumları incelenmiştir.

5.11.6 Etken Moleküllerin Salımı

NP'lerden in-vitro salımı dissolüsyon metodu kullanılarak incelenmiştir [121]. Salım çalışmasında, ilaç yükleme kapasitesi göz önünde bulundurularak nihai konsantrasyonlar 1 mg/mL olacak şekilde liyofilize Bileşik 4 yüklü NP ve Bileşik 7 yüklü NP'leri PBS tamponu (pH=7,4) içinde (fizyolojik pH'ı simüle etmek için) süspanse edilmiş ve elde edilen süspansiyon çalkalamalı su banyosunda (150 rpm) 37°C'de inkübe edilmiştir. Süspansiyon, seçilen zaman aralıklarında (1, 2, 3, 4, 5, 6 sa, 1, 2, 3, 4, 7, 10, 14 gün) 9.000 rpm'de 20 dk santrifüj edilmiş, ardından üst faz toplanmış ve pellet PBS ile yeniden süspanse edilmiştir. Salım analizi NP'lerden Bileşiklerin salımı durana kadar devam ettirilmiştir.

5.12 Antimikrobiyal Aktivite (Broth Mikrodilüsyon Yöntemi)

Seyreltme yöntemleri, test edilen antimikrobiyal ajanın agar (agar seyreltme) veya besiyeri ortamında (makrodilüsyon veya mikrodilüsyon) konsantrasyonunu tahmin etme imkanı sunmaktadır. In vitro kantitatif olarak ölçmek için brot veya agar seyreltme yöntemi bakteri ve mantarlara karşı antimikrobiyal aktivite tayini için kullanılabilmektedir. Kaydedilen değerler, test edilen mikroorganizmanın gözle görülür büyümesini engelleyen test edilen antimikrobiyal ajanın en düşük konsantrasyonu olarak tanımlanır ve genellikle μg/mL veya mg/L cinsinden ifade

edilmektedir. Güç üreyen veya güç üremeyen bakterilerin, mayaların ve ipliksi mantarların seyreltme antimikrobiyal duyarlılık testi için birçok onaylanmış kılavuz vardır. En tanınmış standartlar CLSI ve Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (EUCAST) tarafından sağlanmaktadır. Önerildiği gibi, bu kılavuzlar, çoğu klinik mikrobiyoloji laboratuvarında gerçekleştirmesi pratik olan test için tek tip bir prosedür sağlamaktadır.

Agar seyreltme yöntemi, test edilecek antimikrobiyal maddeyi artan konsantrasyonlarda, genellikle ikiye katlanan dilüsyonlarda (yani 1, 2, 4, 8, 16, 32 μg ml^{-1}, vb.) içeren bir dizi agar plakasının hazırlanmasını içermektedir. Test edilecek organizmanın bir süspansiyonu, 0,5 McFarland standardının (~1×10^{8} koloni oluşturan birim (CFU) ml^{-1}) bulanıklığına eşit olacak şekilde hazırlanır ve bu süspansiyonun 1–5 μl'si her bir test tüpüne yerleştirilir. Bir kopyalayıcı cihaz kullanılarak artan konsantrasyonlarda antimikrobiyal madde içeren bir dizi plaka (nihai inokulum~5×10^{4}'tür) CFU/nokta). Otuz farklı bakteri izolatı (artı kalite kontrol organizmaları) her bir agar plağında eş zamanlı olarak test edilebilir.

Güç üremeyen organizmalar, genellikle ortam havasında 35 °C'de 16–18 saat inkübe edilirken, Streptococcuspneumoniae gibi güç üreyen organizmalar, tipik olarak CO2 açısından zenginleştirilmiş bir atmosferde 18 ila 24 saat arasında inkübe edilen kan içeren besiyerinde test edilir. Agar seyreltme yöntemi, test edilecek her bir antimikrobiyal madde için her bir agar plakası setini hazırlamak amacıyla gereken süre nedeniyle zahmetli olsa da, sınırlı sayıda antimikrobiyal maddeye karşı çok sayıda bakteriyel izolatı test eden laboratuvarlar için genellikle uygun maliyetlidir. [128]

5.12.1 Antibakteriyel Aktivitenin Değerlendirilmesi

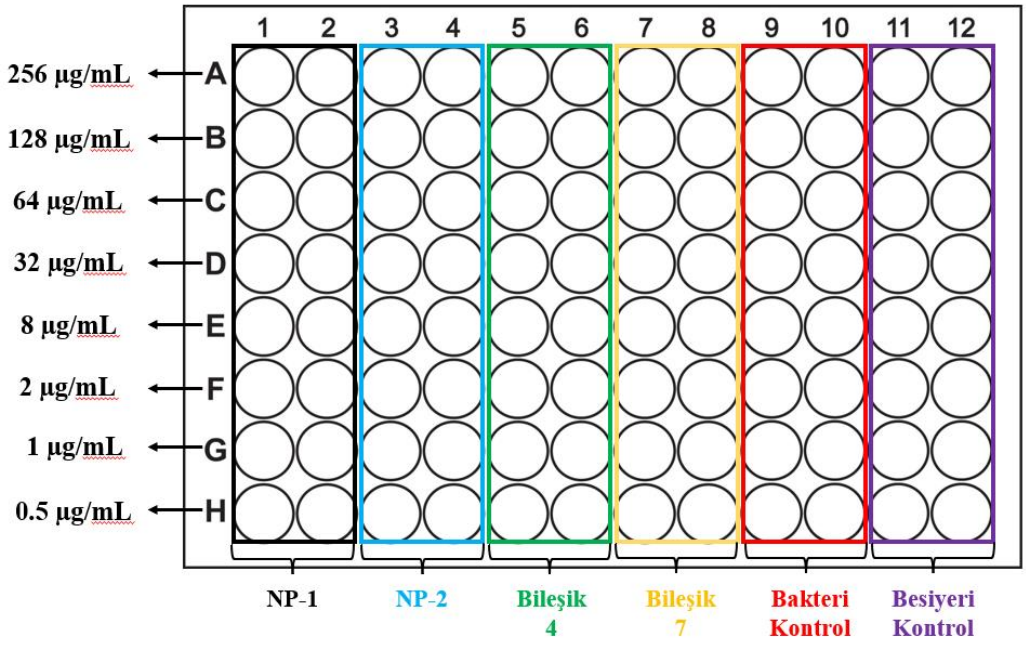
NP-1, NP-2 nanopartiküllerinin ve Bileşik 4 ve Bileşik 7 maddelerinin antibakteriyel aktivitesi, broth mikrodilüsyon yöntemi ile Gram-negatif *Esherichia coli* (ATCC 25922), Gram-pozitif *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) model organizmaları üzerinde değerlendirildi.

5.12.2 Bakteri Süspansiyonlarının Hazırlanması

Test bakterileri Mueller-Hinton Broth (MHB) besiyerinde 37°C, 150 rpm'de çalkalayıcılı inkübatörde bir gece boyunca büyütüldü. Ertesi gün bakteri çalışma kültürlerinin konsantrasyonu 1-2 $x10^6$ CFU (colony forming unit)/ml olarak ayarlandı.

5.12.3 Broth Mikrodilüsyon Yöntemi ile Antibakteriyel Aktivitenin Değerlendirilmesi

Test numunelerinin minimum inhibisyon konsantrasyon (MIC) ve minimum bakterisidal konsantrasyon (MBC) değerlerinin belirlenmesinde broth mikrodilüsyon yöntemi kullanıldı. Hazırlanmış bakteri kültüründen 100 µl ve steril moleküler grade suda çözünmüş test örneklerinin seri dilüsyonlarından 100 µl 96-well mikroplate'in kuyucuklarına eklendi. Hazırlanmış mikroplate 37°C'de, 18 saat inkübe edildi (Microplate Spectrometer BioTek Epoch 2). İnkübasyon sonrası sonuçlar turbidimetrik, sprektrofotometrik ve standart petri sayım yöntemi ile değerlendirildi.



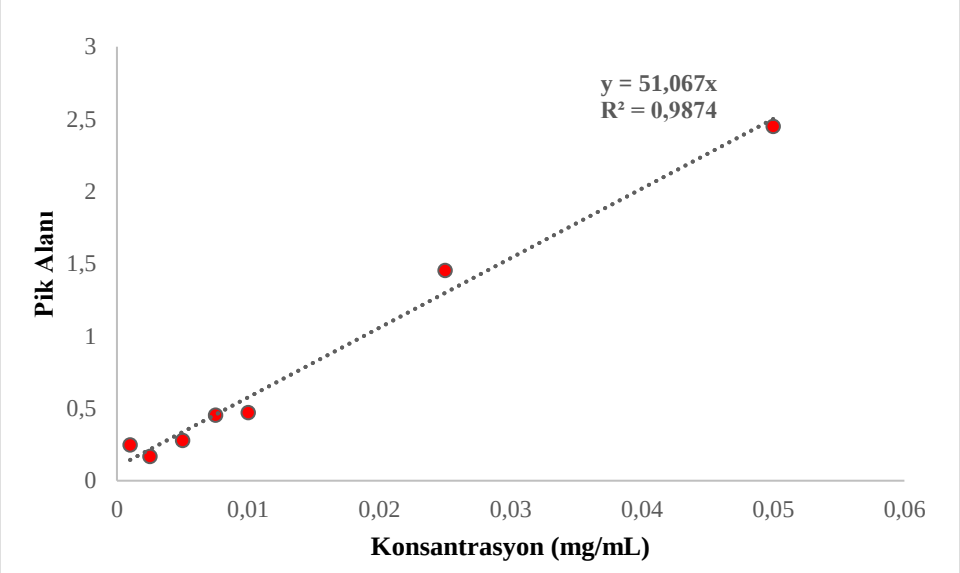
Şekil 5.14 Analizi gerçekleştirilen test örneklerinin broth mikrodilüsyon yönteminde kullanılan konsantrasyon verileri

MIC/MBC değerleri NP içindeki aktif madde miktarına göre hesaplanmıştır.

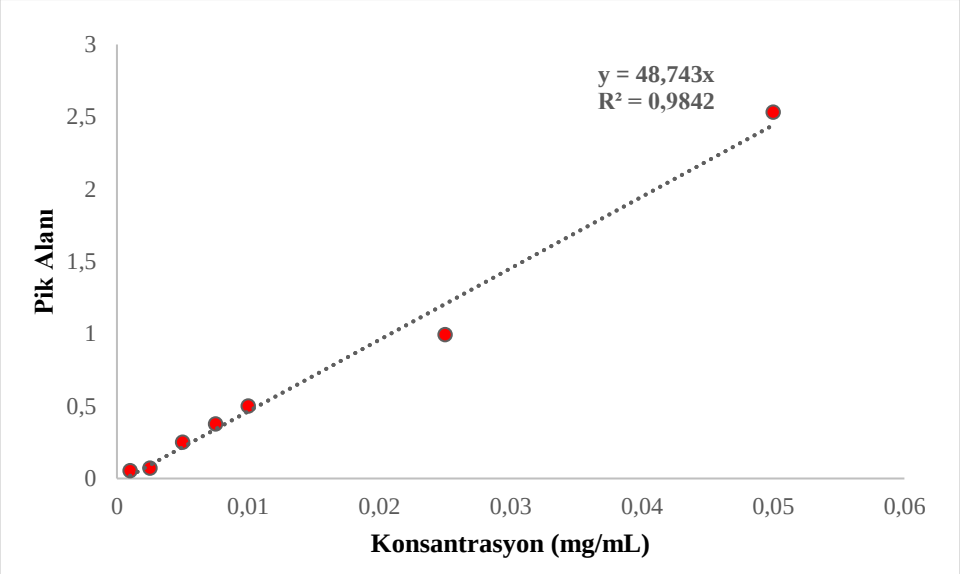
6
SONUÇ

6.1 Reaksiyon Verimi, Enkapsülasyon Etkinliği ve İlaç Yükleme Kapasitesi

Optimize edilmiş NP'lerin detaylı karakterizasyonu için öncelikle reaksiyon verimi (RV), enkapsülasyon etkinliği (EE) ve ilaç yükleme kapasitesi (YK), denklem 1, denklem 2, denklem 3 kullanılarak, ve açığa çıkan etken miktarı nanopartiküllerin DCM ile dağıtılması ve UV-Vis Spektrofotometresi'nde 278 nm ve 282 nm'de analizi ile hesaplanmıştır. Hesaplamalar yapılırken Şekil 6.1 ve Şekil 6.2'de verilen konstrasyonu 0,01 mg/mL – 0,001 mg/mL arasında değişen etken-DCM çözeltisinin 278nm-282 nm'lerde okunması ile oluşturulan kalibrasyon eğrisi kullanılmıştır. NP'lere ait RV, EE ve ilaç YK değerleri Tablo 6.1'de verilmiştir.



Şekil 6.1 Bileşik 4'e ait kalibrasyon eğrisi



Şekil 6.2 Bileşik 7'ye ait kalibrasyon eğrisi

Tablo 6.1 NP'lere ait reaksiyon verimi, enkapsülasyon etkinliği ve ilaç yükleme kapasitesi

Partikül Kodu	Reaksiyon Verimi (%)	Enkapsülasyon Etkinliği (%)	İlaç Yükleme Kapasitesi (%)
NP-1	%29,53	%55	%31
NP-2	%36,25	%34,4	%15,8

6.2 Ortalama Partikül Boyutu, Polidispersite İndeksi ve Zeta Potansiyeli

Üretilen NP'lerin partikül boyutu ve PDI değeri dinamik ışık saçılması tekniği (DLS), zeta potansiyeli ise elektroforetik ışık saçılması (ELS) tekniği kullanılarak ölçülmüştür. Tablo 6.2'de NP'lere ait ortalama partikül boyutu (Z-average), PDI değeri ve zeta potansiyeli (ζ) sonuçları verilmiştir.

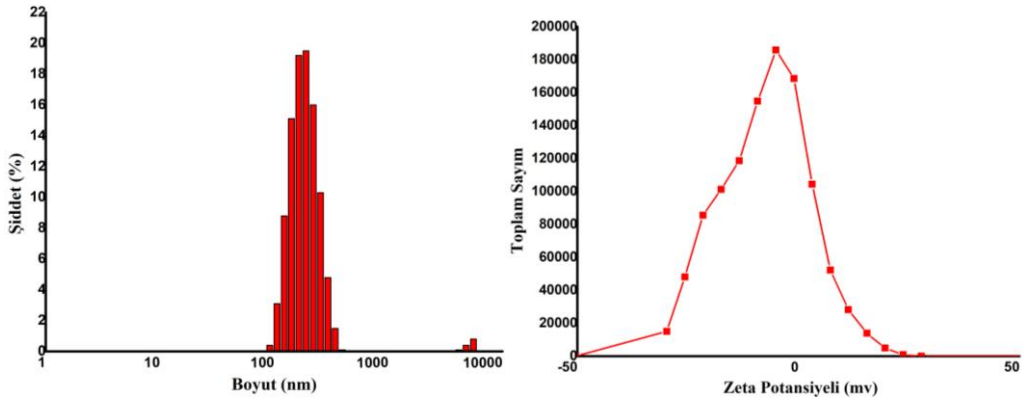
Tablo 6.2 Üretilen NP'lere ait partikül boyutu, PDI ve zeta potansiyel değerleri

Partikül Kodu	Partikül Boyutu (nm)	PDI	Zeta Potansiyel (mV)
NP-1	213,7	0,333	-7,71
NP-2	222,5	0,206	-10,9

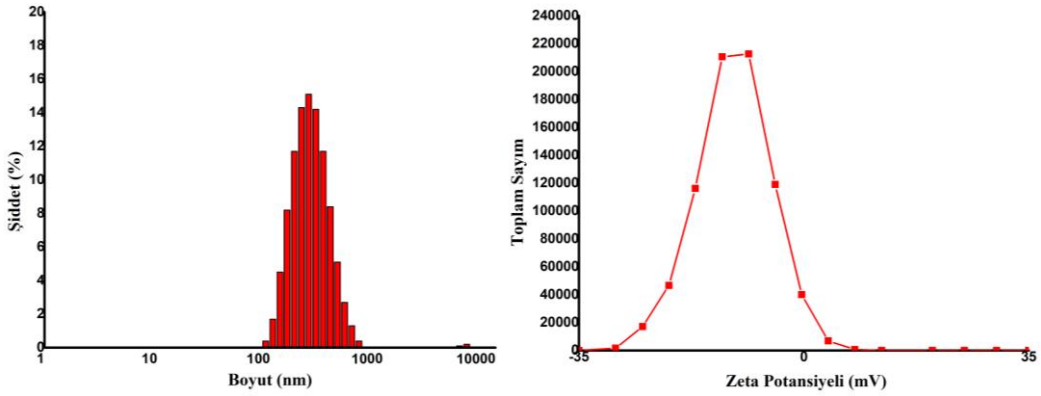
Tabloda verilen değerler optimum koşullarda sentezlenen nanopartüküllere aittir.

Sentezlenen bu partiküllerin ortalama boyutlarının 213,7 nm – 222,5 nm oluşu bizlere sentezlenen bu partiküllerin nanopartikül olarak sınıflandırılabileceğini, PDI değerlerinin 0,330 – 0,206 oluşu sentezlenen bu nanopartiküllerin monodispers yapıda olduklarını, Zeta Potansiyellerinin – 7,71 mV ve -10,9 mV oluşu bizlere sentezlenen bu nanopartiküllerin kararlı bir yapıya sahip olduklarını gösteremektedir.

Sentezlenen nanopartiküllere ait ortalama boyut dağılımı ve ortalama Zeta Potansiyel dağılımı Şekil 6.3 ve Şekil 6.4'de verilmiştir.



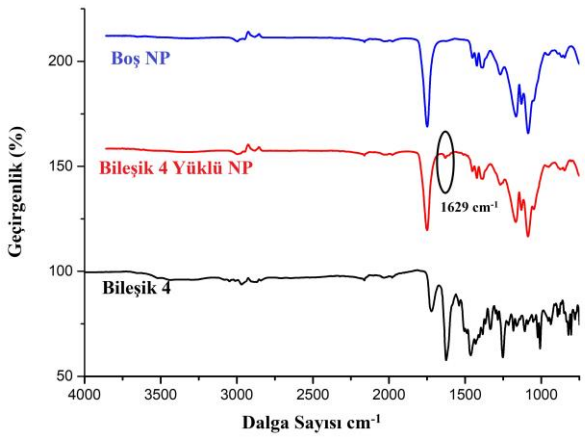
Şekil 6.3 NP-1'e ait Boyut ve Zeta Potansiyel Grafikleri



Şekil 6.4 NP-2'ye ait Boyut ve Zeta Potansiyel Grafikleri

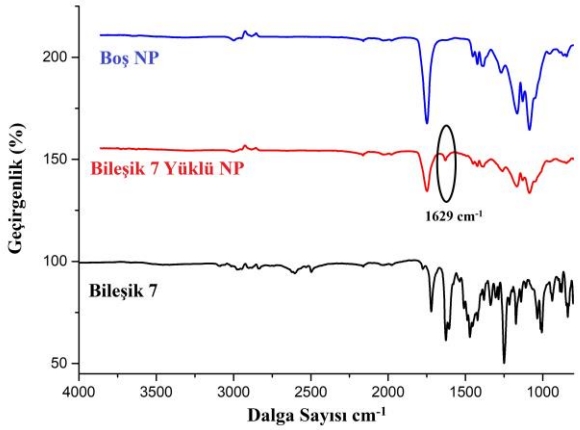
6.3 Fourier Dönüşümlü-Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) ile Fonksiyonel Grup Analizi

Bileşik 4, boş NP ve Bileşik 4 yüklü NP örneklerinin FTIR spektrumlarının karşılaştırması Şekil 6.5'teki gibidir. Etken spekturumunda 1721 cm^{-1} 've 1625 cm^{-1} 'de C=O gerilmesi, 1539 cm^{-1}'de C=C gerilmesi ve 1252 cm^{-1}'de C-O gerilmesi bantları görülmektedir. Boş NP 2883 cm^{-1}'de görülen C-H gerilmesi, 1749 cm^{-1}'de ester C=O gerilmesi ve 1165 cm^{-1} ve 1086 cm^{-1}'de görülen C-O gerilme bandı PLGA'nın karakteristiğinden kaynaklanmaktadır. Bileşik 4 yüklü NP'de 1629 cm^{-1}'de Bileşik-4 örneğine göre şiddeti düşük C=O bandı görülmektedir. Bu durum Bileşik-4'ün genel olarak nanopartikül içerisine enkapsüle olduğunun ancak düşük miktarda Bileşik-4'ün nanopartikül yüzeyine tutunmuş olabileceğini göstermektedir.



Şekil 6.5 Bileşik 4, Bileşik-4 yüklü NP ve boş NP'nin karşılaştırmalı FTIR spektrumu

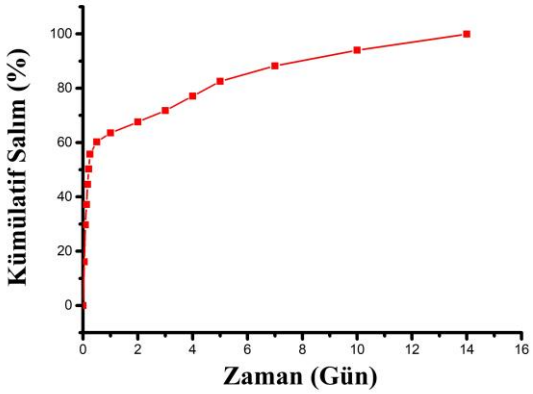
Bileşik 7, boş NP ve Bileşik 7 yüklü NP örneklerinin FTIR spektrumlarının karşılaştırması Şekil 6.6'teki gibidir. Etken spekturumunda 1721 cm^{-1} 've 1626 cm^{-1} 'de C=O gerilmesi, 1538 cm^{-1}'de C=C gerilmesi ve 1286 cm^{-1}'de C-O gerilmesi bantları görülmektedir. Boş NP ise 2883 cm^{-1}'de görülen C-H gerilmesi, 1748 cm^{-1}'de ester C=O gerilmesi ve 1167 cm^{-1} ve 1085 cm^{-1}'de görülen C-O gerilme bandı PLGA'nın karakteristiğinden kaynaklanmaktadır. Bileşik-7 yüklü NP'de 1629 cm^{-1}'de Bileşik-7 örneğine göre şiddeti düşük C=O bandı görülmektedir. Bu durum Bileşik-7'nin genel olarak nanopartikül içerisine enkapsüle olduğunun ancak düşük miktarda Bileşik-7'nin nanopartikül yüzeyine tutunmuş olabileceğini göstermektedir.



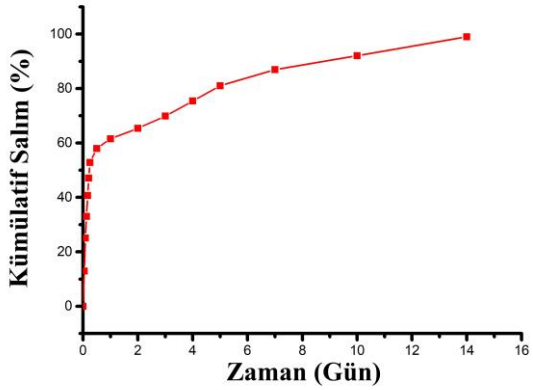
Şekil 6.6 Bileşik 7, Bileşik-7 yüklü NP ve boş NP'nin karşılaştırmalı FTIR spektrumu

6.4 In-vitro NP-1 ve NP-2 Salımı

Etken yüklü NP-1 ve NP-2'lerin salım profilleri 1,2,3,4,5,6,12 saatler ve 1,2,3,4,5,7,10,14'üncü günlerde alınan salım örneklerinin 272 nm ve 271 nm'de UV-Vis Spektrofotometresi kullanılarak analiz edilmiş ve salım grafikleri Şekil 6.1 ve Şekil 6.2'de verilen kalibrasyon eğrilerinden yararlanılarak oluşturulmuştur. Şekil 6.7'a bakıldığında NP-1'in için salımın ilk 12 saatte %60'lara ulaşmış ve ardından 14.günün sonunda nanopartikül içersindeki etkenin %99,92'sinin salması ile salımın tamamlandığı gözlemlenmektedir. Şekil 6.8'a bakıldığında NP-2'nin için salımın ilk 12.saatin sonunda %57,97'lere ulaşmış ve ardından 14.günün sonunda nanopartikül içersindeki etkenin %98,927'sinin salması ile salımın tamamlandığı gözlemlenmektedir.



Şekil 6.7 NP-1'in Salım Grafiği



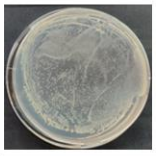
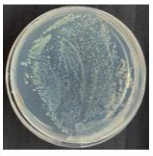
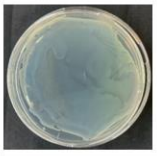
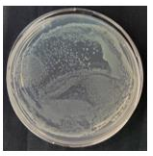
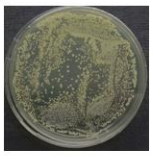
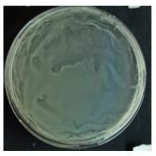
Şekil 6.8 NP-2 Salım Grafikleri

6.5 Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

Broth mikrodilüsyon yöntemine göre antibakteriyel aktiviteleri turbidimetrik, spektrofotometrik ve standart petri sayımı ile belirlenen numunelerin analiz sonuçları Tablo 1'de sunulmuştur. Tablo verileri incelendiğinde, Bileşik 4 ve Bileşik 7 örneklerinin *S. aureus* üzerinde aynı antibakteriyel etki doz değerine sahip olduğu (2 µg/mL MBC, 1 µg/mL MIC); *E. coli* üzerinde ise bu değerin Bileşik 7 için iki kat üst değere (4 µg/mL MBC, 2 µg/mL MIC), Bileşik 4 için dört kat üst değere (8 µg/mL MBC, 4 µg/mL MIC) çıktığı görülmektedir. İki maddenin de antibakteriyel etkilerinin yüksek olduğu görülmekle birlikte, Bileşik 7'nin *E. coli*'ye karşı etkinliğinin daha yüksek olduğu bulunmuştur. Nanopartikül NP-1 ve NP-2'nin serbest maddelere göre daha yüksek bir antibakteriyel aktivite gösterdiği,

her iki bakteri üzerinde de MIC değerlerini belirgin bir şekilde düşürdüğü görülmektedir. İki nanoformülasyon arasındaki etkinliğin test bakterilerine karşı farkı olmamakla birlikte, nanoformülasyonlar ile maddeler için sonuçlar karşılaştırıldığında; Bileşik 4 kapsüle edildiğinde MIC değerinin *E. coli* üzerinde dört kat düştüğü (2 µg/mL MBC, 1 µg/mL MIC), *S. aureus* üzerinde iki kat düştüğü görülmektedir (1 µg/mL MBC, 0.5 µg/mL MIC). Kapsüle Bileşik 7 için ise bu değer her iki bakteri için de yarıya düşmüştür (*S. aureus* 1 µg/mL MBC, 0.5 µg/mL MIC; *E. Coli* 2 µg/mL MBC, 1 µg/mL MIC). Sonuç olarak, üretilen maddelerin antibakteriyel etkilerinin MIC ve MBC değerlerinin düşük olduğu gösterilmiş, kapsüle edilmiş formlarının ise daha düşük MIC ve MBC değerleri ile daha yüksek bir antibakteriyel aktivite gösterdiği bulunmuştur.

Tablo 6.3 Test örneklerinin MIC/MBC değerleri ve sonuç petri görüntüleri

	Test örnekleri					
Test organizmaları		**NP-1**	**Bileşik 4**	**NP-2**	**Bileşik 7**	**Bakteri Kontrol**
E. coli	**MBC (µg/mL)**	2	8	2	4	
	MIC (µg/mL)	1	4	1	2	
	Sonuç petri görüntüleri					
S. aureus	**MBC (µg/mL)**	1	2	1	2	
	MIC (µg/mL)	0.5	1	0.5	1	
	Sonuç petri görüntüleri					

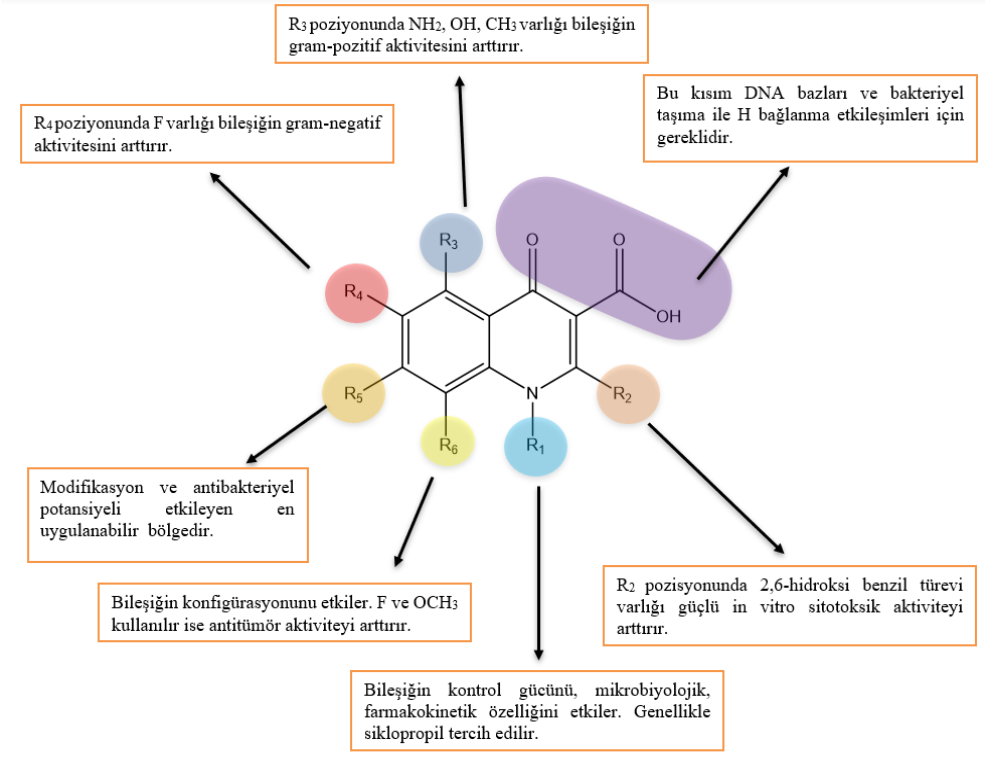
6.6 Genel Sonuç ve Öneriler

Tez kapsamında nükleik asit sentezini inhibe eden antibiyotik olan kinolon türevi olan siprofloksasin türevlerinin sentezi ve enkapsülasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Kinolonlar, önemli sentetik antibakteriyel ilaç sınıflarından birini oluşturmaktadır. Bunun nedeni sahip oldukları iyi tedavi etkinliği ve iyi tolere edilebilirlik,

farmakokinetik özellikleri, geniş antibakteriyel spektrumu gibi özellikleridir. İyi tedavi etkinlikleri nedeni ile geçmişten günümüze kinolonlar çok fazla çalışılmıştır. Kinolon türevi antimikrobiyal ilaçlar, sentezlendikleri sıraya ve antimikrobiyal etkileri dikkate alınarak dört jenerasyon halinde incelenmektedir.

Siprofloksasin, dünya genelinde sıkça kullanılan bir antibiyotiktir ve genellikle orijinal ticari adı "Cipro" olarak bilinir. Siprofloksasin, geniş bir etki spektrumuna sahip bir fluorokinolon antibiyotiktir. Siprofloksasin ikinci jenerasyon kinolon türevi antimikrobiyal ilaçtır. Florokinolonların yapısını incelediğimizde birden fazla fonksiyonel grubun varlığını görebiliriz. Yapılan çalışmalar incelendiğinde florokinolon bileşiklerinde yer alan fonksiyonel gruplardan türevlendirme yapıldığında, oluşan bazı yeni türevlerin antimikrobiyal etkilerinin arttığı gözlemlenmiştir. Şekil 6.9'da hangi bölgeden türevlendirme yapılırsa nasıl etkilenebileceği ile ilgili bilgilendirme yapılmıştır. Bu bilgiler dahilinde tez kapsamında R5 bölgesinden siprofloksasin türevlendirilmiştir.



Şekil 6. 9 Antibakteriyel kinolonlardaki yapı gereklilikleri

Siprofloksasin bir ilaç etken maddedir. Siprofloksasin bileşiğinin suda çözünürlüğü olmaması nedeniyle piyasada yer alan antibiyotiklerin içerinde Siprofloksasin.HCl

olarak yer alır. Bu hedef doğrultusunda literatürde yer alan ve yer almayan 6 adet siprofloksasin türevi sentezlenmiştir. Literatürde bulunmayan Bileşik 2, Bileşik 3 ve Bileşik 4 saflaştırılarak yapıları spektroskopik yöntemlerle aydınlatılmıştır.

Siprofloksasin bileşiğinin FTIR spektrumunda görünen 3343 cm^{-1} N-H gerilim bandı Bileşik 2,3 ve 4'ün FTIR spektrumlarında görülmemiştir.

Bileşik 2'nin ^{1}H NMR spekturmu incelendiğinde N-H piki gözlemlenmemiştir ve 2.02 ppm 6 protona ait CH_3 görülmüştür. Bu da yapıya eklemiş olduğumuz 2 alifatik metilden gelmektedir. Ayrıca proton NMR incelendiğinde beklenen bölgelerde rezonans olmuştur. Bu da yapının doğruluğunu kanıtlamaktadır. APT spektrumu incelendiğinde alifatik bölgedeki metil ve C-H karbonlar ve aromatik bölgedeki aromatik ve quarterner karbonlar beklenen sayıda ve beklenen bölgede rezonans olmuştur. Yapıya ait karbonil pikleri beklene bölgede rezonans olmuş ve yapının doğruluğu kanıtlanmıştır.

Bileşik 3'ün ^{1}H NMR spekturmu incelendiğinde N-H pikine rastlanmamıştır. Alifatik bölgede 1.34 ppm 9 tane singlet proton görmekteyiz. Yapıya eklenmiş olan terbütil grubundan kaynaklanmaktadır. Ayrıca proton NMR'a bakıldığında aromatik bölgede proton sayısı 4 proton sayısı kadar artmıştır. Bu da yapının doğruluğunu göstermektedir. APT spektrumu incelendiğinde alifatik bölgedeki metil ve C-H karbonlar ve aromatik bölgedeki aromatik ve quarterner karbonlar beklenen sayıda ve beklenen bölgede rezonans olmuştur. Yapıya ait karbonil pikleri beklene bölgede rezonans olmuş ve yapının doğruluğu kanıtlanmıştır.

Bileşik 4'ün ^{1}H NMR spekturmu incelendiğinde N-H pikine rastlanmamıştır. Alifatik bölgede 4.62 ppm'de Cl'a ve aromatik proton arasında singlet proton görmekteyiz. Proton NMR'a bakıldığında beklenen bölgelerde rezonans olmuştur. Bu da yapının doğruluğunu göstermektedir. APT spektrumu incelendiğinde alifatik bölgedeki metil ve C-H karbonlar ve aromatik bölgedeki aromatik ve quarterner karbonlar beklenen sayıda ve beklenen bölgede rezonans olmuştur. Yapıya ait karbonil pikleri beklene bölgede rezonans olmuş ve yapının doğruluğu kanıtlanmıştır.

Bileşik 5,6 ve 7 literatürde bulunan bileşiklerdir. Bu bileşikler literatürde yer alan yöntemlerle saflaştırılmıştır. Yapıların doğruluğunu belirlemek için bileşiklerin

FTIR'ı çekilmiş olup, literatürde belirtilen değerlerle karşılaştırılmış, ve yapıların doğruluğu kanıtlanmıştır.

Sentezler sonucu elde edilen 6 bileşiğin çözünürlükleri kontrol edildiğinde suda çözünmedikleri, yalnızca organik çözücülerde çözündükleri saptanmıştır. Bileşiklerin çözünürlüklerini ve biyouyumluluklarını arttırmak için nanopartikül çalışması yapılması hedeflenmiştir.

Nanopartikül çalışmaları öncesi, tüm bileşikler antimikrobiyal aktiviteye gönderilmiştir. Antimikrobiyal aktivite sonuçlarına göre Bileşik 4 ve Bileşik 7 diğer bileşiklere göre daha iyi antimikrobiyal aktivite sonuç vermiştir. Bu sonuçlara dayanarak nanopartikül çalışmaları bu iki bileşik üzerinden ilerletilmiştir.

Nanopartiküller literatürde tanımlanan yağ/su (o/w) tekli emülsiyon çözücü buharlaştırma yöntemi ile küçük modifikasyonlar yapılarak sentezlenmiştir. Bu yöntemde, organik faz (O) polimerin ve ilacın uçucu bir organik çözücü içinde çözülmesi ile oluşturuldu. Su içinde yağ emülsiyonunu (o/w) oluşturmak için su ve bir stabilizatör içeren su fazına polimeri içeren organik çözelti (yağ fazı) ilave edilerek hazırlandı. Nanopartikül sentezi sırasında PLGA polimeri kullanılmıştır.

Tekli emülsiyon yöntemi ile elde edilen nanopartiküller liyofilize edilerek ileri analizlerde kullanmak üzere -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Optimize edilmiş NP'lerin detaylı karakterizasyonu için öncelikle reaksiyon verimi (RV), enkapsülasyon etkinliği (EE) ve ilaç yükleme kapasitesi (YK), Şekil 6.1 ve Şekil 6.2'de verilen konstrasyonu 0,01 mg/mL – 0,001 mg/mL arasında değişen etken-DCM çözeltisinin 283 nm'lerde okunması ile oluşturulan kalibrasyon eğrileri kullanılarak açığa çıkan etken miktarı nanopartiküllerin DCM ile dağıtılması ve UV-Vis Spektrofotometresi'nde 273 nm'de analizi ile hesaplanmıştır. NP-1'e ait reaksiyon verimi %29,53 , enkapsülasyon etkinliği %55 ve ilaç yükleme kapasitesi %31 olarak hesaplanmıştır. NP-2'ye ait reaksiyon verimi %36,25, enkapsülasyon etkinliği %34,4 ve ilaç yükleme kapasitesi %15,8 olarak hesaplanmıştır.

Sentezlenen bu partiküllerin ortalama boyutlarının 213,7 nm – 222,5 nm oluşu bizlere sentezlenen bu partiküllerin nanopartikül olarak sınıflandırılabileceğini, PDI değerlerinin 0,333-0,206 oluşu sentezlenen bu nanopartiküllerin monodispers yapıda olduklarını, Zeta Potansiyellerinin -7,71 mV ve -10,9 mV oluşu bizlere

sentezlenen bu nanopartiküllerin kararlı bir yapıya sahip olduklarını göstermektedir.

Nanopartiküllerdeki fonksiyonel grupların kimyasal analizi, enkapsülasyonun gerçekleşip gerçekleşmediği, yapılan herhangi bir yüzey modifikasyonunun doğrulanması için FT-IR spektroskopisi kullanılmıştır. Sentezlenen nanopartikül örneklerinin FTIR spektrumlarında Bileşik 4 yüklü NP'de 1629 cm^{-1}'de Bileşik-4 örneğine göre şiddeti düşük C=O bandı görülmektedir. Bileşik-7 yüklü NP'de 1629 cm^{-1}'de Bileşik-7 örneğine göre şiddeti düşük C=O bandı görülmektedir. Bu durum Bileşik-4 ve Bileşik-7'nin genel olarak nanopartikül içerisine enkapsüle olduğunun ancak düşük miktarda Bileşik-4 ve Bileşik-7'nin nanopartikül yüzeyine tutunmuş olabileceğini göstermektedir.

Sentezlenen nanopartiküllerin karakterizasyonu yapılmıştır. Karakterizasyon sonrası NP'lerden in-vitro salımı dissolüsyon metodu kullanılarak incelenmiştir. NP-1 için salımın ilk 12 saatte %60'lara ulaşmış ve ardından 14.günün sonunda nanopartikül içersindeki etkenin %99,92'sinin salması ile salımın tamamlandığı, NP-2 için salımın ilk 12.saatin sonunda %57,97'lere ulaşmış ve ardından 14.günün sonunda nanopartikül içersindeki etkenin %98,927'sinin salması ile salımın tamamlandığı gözlemlenmiştir.

Bu çalışmalar göz önünde alındığında literatürde yer almayan 3 adet yeni ilaç etken maddesi literatüre kazandırılmış olup, hidrofobik özellikteki bu etkenlerden Bileşik4 ve Bileşik 7'nin nanopartikül sisteme enkapsüle edilmesi ile çözünürlükleri arttırılmıştır.

Broth mikrodilüsyon yöntemine göre antibakteriyel aktiviteleri turbidimetrik, spektrofotometrik ve standart petri sayımı ile belirlenen numunelerin analiz sonuçları Tablo 6.3'de sunulmuştur.

İki nanoformülasyon arasındaki etkinliğin test bakterilerine karşı farkı olmamakla birlikte, nanoformülasyonlar ile maddeler için sonuçlar karşılaştırıldığında; Bileşik 4 kapsüle edildiğinde MIC değerinin *E. coli* üzerinde dört kat düştüğü (2 µg/mL MBC, 1 µg/mL MIC), *S. aureus* üzerinde iki kat düştüğü görülmektedir (1 µg/mL MBC, 0.5 µg/mL MIC). Kapsüle Bileşik 7 için ise bu değer her iki bakteri için de yarıya düşmüştür (*S. aureus* 1 µg/mL MBC, 0.5 µg/mL MIC; *E. Coli* 2 µg/mL

MBC, 1 μg/mL MIC). Sonuç olarak, üretilen maddelerin antibakteriyel etkilerinin MIC ve MBC değerlerinin düşük olduğu gösterilmiş, kapsüle edilmiş formlarının ise daha düşük MIC ve MBC değerleri ile daha yüksek bir antibakteriyel aktivite gösterdiği bulunmuştur.

KAYNAKÇA

[1] A. J. Huhand Y. J. Kwon, "“Nanoantibiotics”: a new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistantera," Journal of controlledrelease, vol. 156, pp. 128-145, 2011.

[2] A. Fleming, "On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference totheiruse in the isolation of B. influenzae," British journal of experimentalpathology, vol. 10, p. 226, 1929.

[3] R. I. Aminov, "The role of antibiotics and antibiotic resistance in nature," Environmental microbiology, vol. 11, pp. 2970-2988, 2009.

[4] L. Kourkouta, K. Koukourikos, C. Iliadis, P. Plati, and A. Dimitriadou, “History of antibiotics,” Sumerian J Med Healthcare, 1, 51-5, 2018

[5] J. B. Sanderson, “Health and geology combined - i.public health. Tenth report of the medical officer of the privy council. With appendix. 1867. published 1868.,” Geological Magazine, vol. 6, no. 56, pp. 79–81, 1869.

[6] J. Lister, “Xvi.—a contribution to the germ theory of put refaction and other fermentative changes, and to the natural history of torulæ and bacteria,” Transactions of the Royal Society of Edinburgh, vol. 27, no. 3, pp. 313-344, 1875.

[7] W. Roberts, “Xii. studies on biogenesis,” Philosophical Transactions of the Royal Society of London, vol. 164, pp. 457–477, 1874.

[8] J. Tyndall, “II. Theoptical deportment of the atmosphere in relation to the phenomena of put refaction and Infection,” Philosophical Transactions of the Royal Society of London, vol. 166, pp. 27–74, 1876.

[9] L. Pasteur, C. Chamberland, J. Joubert, “Théoriedes germes et ses applications à la médecine et à la chirurgie,” 1878

[10] F.Winau, O. Westphal, and R. Winau, “Paul Ehrlich in search of the magic bullet,” Microbes and Infection, vol. 6, no. 8, pp. 786–789, 2004.

[11] N. Khardori, C. Stevaux, and K. Ripley, “Antibiotics: From the beginning to the future: Part 1,” The Indian Journal of Pediatrics, vol. 87, no. 1, pp. 39– 42, 2019.

[12] S. Y. Tan and Y. Tatsumura, “Alexander Fleming (1881–1955): Discoverer of Penicillin,” Singapore Medical Journal, vol. 56, no. 07, pp. 366–367, 2015.

[13] Kumar S, Parvathi A, Hernandez RL, Cadle KM, Varela MF. Identification of a novel UDP-N-acetyl glucos amine enol pyruvyl transferase (MurA) from Vibrio Fischer that confers high fosfomycin resistance in Escherichiacoli. Archives of microbiology, vol. 191(5), pp. 425-9, 2009.

[14] Etebu, E., &Arikekpar, I. (2016). Antibiotics: Classification and mechanisms of actionwithemphasis on molecularperspectives. Int. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Res, 90-101.

[15] N. Kardosand A. L. Demain, “Penicillin: The medicine with the greatest impact on therapeutic out comes,” Applied Microbiology and Biotechnology, vol. 92, no. 4, pp. 677–687, 2011.

[16] D. M. Livermore, “Areall beta-lactam screated equal,” Scandina vian journal of infectious diseases, Supplementum, vol. 101, pp. 33-43, 1996.

[17] J. R. Johnson, D. F. Colombo, D. Gardner, E. Cho, P. Fan-Havard, and C. S. Shellhaas, “Optimal dosing of penicillin G in the third trimester of pregnancy for prophyl axis against group B streptococcus,” American Journal of Obstetrics and Gynecology, vol. 185, no. 4, pp. 850–853, 2001.

[18] A. J. Wright, “The penicillins,” Mayo Clinic Proceedings, vol. 74, no. 3, pp. 290–307, 1999.

[19] R. A. Borchardt, “Diagnosis and management of Group A beta-hemolytic streptococcal pharyngitis,” Journal of the American Academy of Physician Assistants, vol. 26, no. 9, pp. 53–54, 2013.

[20] E. L. Miller, “The Penicillins: A review and update,” Journal of Midwifery&Women's Health, vol. 47, no. 6, pp. 426–434, 2002.

[21] W.I.L.L.I.A.M.H. HINDLE, “Other benign breast problems,” Clinical Obstetrics and Gynecology, vol. 37, no. 4, pp. 916–924, 1994.

[22] D. I. John Wesley, S. M, and C. S, “Prescribing pattern of beta lactam antibiotics in paediatrics,” American Journal of PharmTech Research, vol. 8, no. 3, pp. 250–257, 2018.

[23] R. Dagan, “Treatment of acute otitis media - challenges in the era of antibiotic resistance,” Vaccine, vol. 19, 2000.

[24] A. Ahovuo-Saloranta, U.-M. Rautakorpi, O. V. Borisenko, H. Liira, J. W. Williams Jr, and M. Mäkelä, “Antibiotics for acute maxillary sinusitis,” Cochrane Database of Systematic Reviews, 2008.

[25] K. Shahbaz,“Cephalosporins: pharmacology and chemistry,” Pharmaceutical and Biological Evaluations , pp. 234-238, 2017.

[26] U. Zango, M. Ibrahim, S. A. A. Shawai, “ Areview on β-lactam antibiotic drug resistance,” Drug Design Development & Therapy, vol. 3(2), pp. 52-58, 2019.

[27] Gerber MA, Randolph MF, Chanatry J, Wright LL, Anderson LR, Kaplan EL., “Once Daily therapy for strep to coccal pharyngitis with cefadroxil. TheJournal of pediatrics,” vol. 109(3), 531-7,1986.

[28] N. Khardori, “Antibiotics-past, present, and future,” The Medical Clinics of North America, vol. 90(6), pp. 1049-76, 2006.

[29] Williams PE, Harding SM., “The absolute bioavailability of oral cefuroximeaxetil in male and female volunteers after fasting and after food,” The Journal of antimicrobial chemotherapy, vol.13(2), pp. 191-6, 1984.

[30] LeighDA, Joy GE, Tait S, Harris K, Walsh B., “Treatment of acute uncomplicate durinary tractinfections with single Daily doses of cefuroximeaxetil,” The Journal of antimicrobial chemotherapy, vol. 23(2), pp. 267-73,1989.

[31] A. Gottlieb, J. Mills, "Cefuroxi meaxetil for treatment of uncomplicated gonorrhea," Antimicrobial agents and chemotherapy, vol. 30(2), pp. 333-4,1986.

[32]EG. Chadwick, R. Yogev, ST. Shulman, RE. Weinfeld, IH. Patel, "Single-dose ceftriaxone pharmacokinetics in pediatric patients with central nervous system infections," TheJournal of pediatrics, vol. 102(1), pp. 134-7, 1983.

[33] İ. Yıldız, M. A. Varkal, and E. Ünüvar, "Günümüzde Sefalosporinler ve Antibiyotik Direnci," The journal of child, pp. 22–27, 2014.

[34] J. Le, M. Castanheira, D. S. Burgess, B. McKee, R. Iqbal, and R. N. Jones, "Clonal dissemination of Klebsiella pneumoniae carbapenemase KPC-3 in LongBeach, California," Journal of Clinical Microbiology, vol. 48, no. 2, pp. 623–625, 2010.

[35] H. K. Kang & Y. Park, Glycopeptide Antibiotics: Structure and Mechanisms of Action," Journal of Bacteriology and Virolog, pp. 67-78, 2015.

[36] GC. Schito, "Why fosfomycin trometamol as first line therapy for uncomplicated UTI?" International Journal of Antimicrobial Agents, vol. 22 Suppl 2, pp. 79-83, 2003.

[37] ME. Falagas, KP. Giannopoulou, G.N. Kokolakis, PI. Rafailidis, "Fosfomycin: use beyond urinary tract and gastrointestinal infections," Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America, vol. 46(7), pp. 1069- 77, 2008.

[38] J. Garau, "Other antimicrobials of interest in theera of extended-spectrum betalactamases: fosfomycin, nitrofuran to inandtigecycline," Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, vol.14 Suppl 1, pp. 198-202, 2008.

[39] G. Lina, A. Quaglia, M.E. Reverdy, R. Leclercq, F. Vandenesch, J. Etienne, "Distribution of genesencoding resistance to macrolides, lincosamides, and streptogramins among staphylococci, Antimicrobial agents and chemotherapy, vol. 43(5), pp. 1062-6, 1999.

[40] G. G. Zhanel, M. Dueck, D. J. Hoban, L. M. Vercaigne, J. M. Embil, A. S. Gin, and J. A. Karlowsky, "Review of Macrolides and Ketolides," Drugs, vol. 61, no. 4, pp. 443–498, 2001.

[41] K. Naghmouchi, C. Le Lay, J. Baah, and D. Drider, "Antibiotic and antimicrobial peptide combinations: Synergistic inhibition of pseudomonas fluorescens and antibiotic-resistant variants," Research in Microbiology, vol. 163, no. 2, pp. 101–108, 2012.

[42] K. Aydın, "Makrolidler ve Linkozamidler," ANKEM Derg, vol. 21, pp. 57-61, 2007.

[43] M. I. Hutchings, A. W. Truman, B. Wilkinson, "Antibiotics: past, present, and future," Current Opinion in Microbiology," vol. 51, pp. 72–80, 2019.

[44] T. G. Fraser, C. Hansen, and J. K. Long, “Newer antibiotics for serious gram-positive infections.,” Cleveland Clinic Journal of Medicine, vol. 73, no. 9, pp. 847–853, 2006.

[45] G. Usluer, “Tetrasiklinler ve Kloramfenikol,” ANKEM Derg, vol. 21, pp. 45-51, 2007.

[46] A. Uzun, D. Gulen, Y. Tanriverdi, and A. D. Kaya, “Evaluation of in vitro activity of fosfomycin and other antimicrobial agents against urinary escherichiacol iisolates,” Klimik Dergisi/KlimikJournal, vol. 25, no. 2, pp. 77–80, 2013.

[47] Shinabarger, D., “Mechanism of action of the oxazolidinone antibacterial agents,” Expert Opinion on Investigational Drugs, pp. 1195-1202, 1999.

[48] Davies, J., In the Beginning There Was Streptomycin. D. P. Arya içinde, Aminoglycoside antibiotics (s. 1-14). Hoboken, New Jersey: A John Wiley, 2007.

[49] Becker, B., & Cooper, M. A., “Aminoglycoside Antibiotics in the 21st Century,” American Chemical Society, pp.105-115, 2013.

[50] S. Tariq, S. F. Rizvi,& U. Anwar, “Tetracycline: Classification, Structure Activity Relationship and Mechanism of Action as a Theranostic Agent for Infectious Lesions-A Mini Review,” Biomedical Journal of Scientific&Technical Research, pp. 5787-5796, 2018.

[51] G. A. Noskin, “Tigecycline: A new glycylcycline for treatment of serious infections,” Clinical Infectious Diseases, vol. 41, pp. 303-14, 2005.

[52] M. W. Garrison, J. J. Neumiller, and S. M. Setter, “Tigecycline: An investigational Glycylcycline antimicrobial with activity against resistant gram-positive organisms,” Clinical Therapeutics, vol. 27, no. 1, pp. 12–22, 2005.

[53] D. M. Livermore, “Tigecycline: What is it, and where should it be used?,” Journal of Antimicrobial Chemotherapy, vol. 56, no. 4, pp. 611–614, 2005.

[54] A. Tačić, V. Nikolić, L. Nikolić, & I. Savić, “Antimicrobial Sulfonamide Drugs,” Advanced Technologies, pp. 58-71, 2017.

[55] Nicolle L., “Best pharmacological practice: urinary tract infections,” Expert opinion on pharmaco therapy, vol. 4(5), pp. 693-704, 2003.

[56] A. L. Kwa, V. H. Tam, M. E. Falagas, “Polymyxins: a review of the current status including recent developments,” Ann Acad Med Singapore, vol. 37(10), pp. 870-883, 2008.

[57] J. Molina, E. Cordero, and J. Pachón, “New information about the polymyxin/colistin class of antibiotics,” Expert Opinion on Pharmacotherapy, vol. 10, no. 17, pp. 2811–2828, 2009.

[58] R. Ozaras, “Daptomycin,” Klimik Dergisi/Klimik Journal, vol. 23, no. 2, pp. 35–38, 2010.

[59] G. Y. Bozkurt, H. Kutlu, A. Arslan, "Yeni Bir Antibakteriyel Ajan Daptomisin," Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, vol. 63, no. 3, pp. 85–88, 2010.

[60] N. Demirtürk, T. Demirdal, "Antibiyotiklerde direnç sorunu," Kocatepe tıp dergisi, vol. 5(2), 2004.

[61] E. P. Abraham and E. Chain, "An enzyme from bacteria able to destroy penicillin," Nature, vol. 146, no. 3713, p. 837, 1940.

[62] G. Ippolito, S. Leone, F. N. Lauria, E. Nicastri, and R. P. Wenzel, "Methicillin-resistant Staphylococcusaureus: Thesuperbug," International Journal of Infectious Diseases, vol. 14, 2010.

[63] K. A. Rodvoldand K. W. McConeghy, "Methicillin-resistant Staphylococcusaureus therapy: Past, present, and future," Clinical Infectious Diseases, vol. 58, no. suppl 1, 2013.

[64] K. Töreci, "Antibiyotik kullanımı ve direnç ilişkisi," Flora, vol. 8(2), pp. 89-110, 2003.

[65] L. Archibald, L. Phillips, D. Monnet, J. E. McGowan, F. Tenover, and R. Gaynes, "Antimicrobial resistance in isolates from inpatients and outpatients in the United States: Increasing importance of the Intensive Care Unit," Clinical Infectious Diseases, vol. 24, no. 2, pp. 211–215, 1997.

[66] G. Usluer, "Çoklu dirençli patojenler: Epidemiyoloji ve kontrol," Flora, vol. 7(3), pp. 135-141, 2002.

[67] M. Yücesoy, N. yulu, S. Kocagöz, S. Ünal, S. Çetin, and S. Çalangu, "Antimicrobial resistance of gram-negative isolates from intensive care units in Turkey: Comparison to previous three years," Journal of Chemotherapy, vol. 12, no. 4, pp. 294–298, 2000.

[68] WHO. (2023.05.25). Antibioticresistance. World Health Organization: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance adresinden alındı.

[69] A. Mermer, N. Demirbas, Y. Şirin, H. Uslu, Z. Özdemir, ve A. Demirbaş, "Conventional and microwave prompted synthesis, antioxidant, anticholinesterase activity screening and molecular docking studies of new quinolone-triazolehybrids," Bioorganic Chemistry, vol. 78, pp. 236–248, 2018.

[70] G.S. Bisacchi,"Origins of the quinolone class of antibacterials: an expanded discoverystory", Journal of MedicinalChemistry, vol. 58, pp. 4874–4882, 2015.

[71] Y.L. Fan, J. B. Wu, X. W. Cheng, F. Z. Zhang ve L. S. Feng, "Fluoroquinolone derivatives and their anti-tubercular activities," European Journal of Medicinal Chemistry, 146, 554-563, 2018.

[72] D. Gangrade, ve A. Mehta, "Synthesis, Characterization & Biological Studies of Newer Class of Quninolone Derivatives, International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, vol. 8, pp. 254-261, 2017.

[73] J. M. Blondeau, “Fluoroquinolones: mechanism of action, classification, and development of resistance,” Survey of Ophthalmology, vol. 49, pp. 73-78, 2004.

[74] G. F. Zhang, S. Zhang, B. Pan, X. Liu, ve L.S. Feng, “4-Quinolone derivatives and their activities against Gram positive pathogens”, European Journal of Medicinal Chemistry, vol. 1143, pp. 710-723, 2018.

[75] A. Robicsek, G.A. Jacoby, D.C. Hooper, “The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance,” The Lancet Infectious Diseases, vol 6(10), pp. 629-40, 2006.

[76] P. C. Sharma, A. Jain, S. Jain, “Fluoroquinolone Antibacterials: A Review On Chemistry, Microbiology and Therapeutic Prospects”, ActaPoloniae Pharmaceutica-Drug Research, vol 66,6, pp. 587-604, 2009.

[77] V. T. Andriole, “The quinolones: Past, present, and future,” Clinical Infectious Diseases, vol. 41, no. Supp. 2, 2005.

[78] N. Demirbas, ve A. Demirbas, “New Developments in the Quinolone Class of Antibacterial Drugs,” Frontiers in Natural Product Chemistry, vol 6, pp. 43-107, 2020.

[79] F. Van Bambeke, J.-M. Michot, J. Van Eldere, and P. M. Tulkens, “Quinolones in 2005: An update,” Clinical Microbiology and Infection, vol. 11, no. 4, pp. 256–280, 2005.

[80] G.G. Zhanel, K. Ennis, L. Vercaigne, A. Walkty, A. S. Gin, J. Embil, et al., “A critical review of the fluoroquinolones: focus on respiratory infections,” Drugs, vol 62(1), pp. 13- 59, 2002.

[81] S. Ulusoy, “1986’dan 2010’a Kinolonlar,” ANKEM Derg, vol. 24, pp. 96- 100, 2010.

[82] Plech, T., Wujec, M., Kosikowska, U., Malmb, A., Rajtar , B. ve Polz-Dacewicz, M., “Synthesis and in vitro activity of 1,2,4-triazole-ciprofloxacin hybrids against drug-susceptible and drug-resistant bacteria”, European Journal of Medicinal Chemistry, vol. 60, 128-134, 2013.

[83] A. Foroumadi, M. Oboudiat, S. Emami, A. Karimollah, L. Saghaee, M.H. Moshafi, ve A. Shafiee, “Synthesis and antibacterial activity of N-[2-[5-(methylthio)thiophen-2-yl]-2-oxoethyl] and N-[2-[5-(methylthio)thiophen-2-yl]-2- (oxyimino)ethyl] piperazinyl quinolone derivatives”, Bioorganic&MedicinalChemistry, 14, 3421–3427, 2006.

[84] H. Takiff, ve E. Guerrero, “Current prospects for the fluoroquinolones as firstline tuberculosis therapy”, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, vol. 55,12, pp. 5421– 5429, 2011.

[85] A. Musa, M. Garba, I. A. Yakasai, M. Odunola, & B. O. Olayinka, “Effects Of Cadmium, Chromium, Manganese and Zinc On The in-Vitro Antimicrobial Activity of Ciprofloxacin,” Nig. Journ. Pharm. Sci, pp. 58-66, 2012.

[86] H. Leblebicioğlu, “Yeni Kinolonlarda Mikrobiyolojik ve Klinik Etkinlik,” ANKEM (Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği) Dergisi, pp. 226-231, 2002.

[87] E. Şenol, “Siprofloksasin,” ANKEM (Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği) Dergisi, pp. 382-384, 2002.

[88] J. D. Kingsley, H. Dou, J. Morehead, B. Rabinow, H. E. Gendelman, and C. J. Destache, "Nanotechnology: a focus on nanoparticles as a drug delivery system," Journal of Neuroimmune Pharmacology, vol. 1, pp. 340-350, 2006.

[89] S. Kobayashiand, K. Müllen, “Encyclopedia of polymericnanomaterials: Springer, Berlin, Heidelberg,” Berlin Heidelberg, 2015.

[90] R. A. Bader and D. A. Putnam, “Engineering polymer systems for improved drug delivery,” John Wiley&Sons, 2014.

[91] H. Ringsdorf, "Structure and properties of pharmacologically active polymers," in Journal of Polymer Science: Polymer Symposia, pp. 135-153, 1975.

[92] S. Alven, X. Nqoro, B. Buyana, and B. A. Aderibigbe, "Polymer-drug conjugate, a potential therapeutic to combat breast and lung cancer," Pharmaceutics, vol. 12, p. 406, 2020.

[93] T. Etrych, P. Chytil, M. Jelínková, B. Říhová, and K. Ulbrich, "Synthesis of HPMA copolymers containing doxorubicin bound via a hydrazone linkage. Effect of spacer on drugreleaseand in vitro cytotoxicity," Macromolecular Bioscience, vol. 2, pp. 43-52, 2002.

[94] S. Sheremet’ev, D. Lonshakov, E. Belosludtseva, O. Borisova, A. Sidorova, and A. Kalinskii, "Synthesis and Pharmacological Properties of the Azo-Conjugate of Erythropoietin β with Poly (EthyleneGlycol)," Pharmaceutical Chemistry Journal, vol. 55, pp. 698-705, 2021.

[95] J. Xu, M. Ma, J. F. Mukerabigwi, S. Luo, Y. Zhang, Y. Cao, et al., "The effect of spacers in dual drug-polymer conjugates toward combination therapeutic efficacy," Scientific Reports, vol. 11, pp. 1-12, 2021.

[96] P. Thakor, V. Bhavana, R. Sharma, S. Srivastava, S. B. Singh, and N. K. Mehra, "Polymer–drug conjugates: Recent advances and future perspectives," Drug Discovery Today, vol. 25, pp. 1718-1726, 2020.

[97] A. N. Padalkar, S. R. Shahi, and M. Thube, "Microparticles: an approach for betterment of drug delivery system," Int J Pharm Res Dev, vol. 1, pp. 99-115, 2011.

[98] B. Prasad, V. Gupta, N. Devanna, and K. Jayasurya, "Microspheres as drug delivery system-a review," Journal of global trends in pharmaceutical sciences, vol. 5, pp. 1961-1972, 2014.

[99] E. Lagreca, V. Onesto, C. DiNatale, S. La Manna, P. A. Netti, and R. Vecchione, "Recent advances in the formulation of PLGA microparticles forc ontrolled drug delivery," Progress in biomaterials, vol. 9, pp. 153-174, 2020.

[100] M. Ferrari, "Cancer nanotechnology: opportunities and challenges," Nature review scancer, vol. 5, pp. 161-171, 2005.

[101] R. K. Robinson, Encyclopedia of food microbiology: Academic press, 2014.

[102] S. DERMAN, K. KIZILBEY, and Z. M. AKDESTE, "Polymeric nanoparticles," Sigma Journal of Engineering and Natural Sciences, vol. 31, pp. 107-120, 2013.

[103] A. Zielińska, F. Carreiró, A. M. Oliveira, A. Neves, B. Pires, D. N. Venkatesh, et al., "Polymeric nanoparticles: production, characterization, toxicology and ecotoxicology," Molecules, vol. 25, p. 3731, 2020.

[104] C. I. Cruchoand M. T. Barros, "Polymeric nanoparticles: A study on the preparation variables and characterization methods," Materials Science and Engineering: C, vol. 80, pp. 771-784, 2017.

[105] M. Dadwal, D. Solan, and H. Pradesh, "Polymeric nanoparticles as promising novel carriers for drug delivery: an overview," Journal of Advanced Pharmacy Education & Research Jan-Mar, vol. 4, 2014.

[106] S. Pimple, A. S. Manjappa, M. Ukawala, and R. Murthy, "PLGA nanoparticles loaded with etoposide and quercetindihydrate individually: in vitro cellline study to ensure advantage of combination therapy," Cancer nanotechnology, vol. 3, pp. 25-36, 2012.

[107] B. Nagavarma, H. K. Yadav, A. Ayaz, L. Vasudha, and H. Shivakumar, "Different techniques for preparation of polymericnanoparticles-a review," Asian J Pharm Clin Res, vol. 5, pp. 16-23, 2012.

[108] H. K. Makadiaand S. J. Siegel, "Polylactic-co-glycolicacid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery carrier," Polymers, vol. 3, pp. 1377-1397, 2011.

[109] Y. Çırpanlı, "Kamptotesin içeren polimerik ve oligosakkarit bazlı nanopartiküler formülasyonların geliştirilmesi ve in vitro-in vivo değerlendirilmesi," Farmasötik Teknoloji Programı, Hacettepe University: Ankara, 2009.

[110] M. TUNÇAY and S. ÇALIŞ, "Biyoparçalanabilir Sentetik ve Doğal Polimerler," FABAD J. Pharm. Sci, vol. 24, pp. 109-123, 1999.

[111] F. Mohamed and C. F. van der Walle, "Engineering biodegradable polyester particles with specific drug targeting and drug release properties," Journal of pharmaceutical sciences, vol. 97, pp. 71-87, 2008.

[112] J. Ghitman, E. I. Biru, R. Stan, and H. Iovu, "Review of hybrid PLGA nanoparticles: Future of smart drug delivery and the ranostics medicine," Materials & Design, vol. 193, p. 108805, 2020.

[113] N. Kumskova, Y. Ermolenko, N. Osipova, A. Semyonkin, N. Kildeeva, M. Gorshkova, et al., "How subtle differences in polymer molecular weight affect doxorubicin-loaded PLGA nanoparticles degradation and drug release," Journal of Microencapsulation, vol. 37, pp. 283-295, 2020.

[114] R. A. Jain, "The manufacturing techniques of various drug loaded biodegradablepoly (lactide-co-glycolide)(PLGA) devices," Biomaterials, vol. 21, pp. 2475- 2490, 2000.

[115] H. M. Aliabadiand A. Lavasanifar, "Polymeric micelles for drug delivery," Expertopinion on drug delivery, vol. 3, pp. 139-162, 2006.

[116] B. Ghoshand S. Biswas, "Polymericmicelles in cancer therapy: State of the art," Journal of Controlled Release, vol. 332, pp. 127-147, 2021.

[117] D. Hwang, J. D. Ramsey, and A. V. Kabanov, "Polymeric micelles for the delivery of poorly soluble drugs: From nanoformulation to clinical approval," Advanced drug delivery reviews, vol. 156, pp. 80-118, 2020.

[118] M. Ghezzi, S. Pescina, C. Padula, P. Santi, E. Del Favero, L. Cantù, et al., "Polymericmicelles in drug delivery: An insight of the techniques for their characterization and assessment in biorelevant conditions," Journal of Controlled Release, vol. 332, pp. 312-336, 2021.

[119] A. M. Jhaveriand V. P. Torchilin, "Multifunctional polymericmicelles for delivery of drugs and siRNA," Frontiers in pharmacology, vol. 5, p. 77, 2014.

[120] Z. Sezgin, "İlaç taşıyıcı sistemler olarak polimerik misellerin hazırlanması ve karakterizasyonu," 2003.

[121] M. G. Nava-Arzaluz, E. Piñón-Segundo, A. Ganem-Rondero, and D. Lechuga Ballesteros, "Single emulsion-solvent evaporation technique and modifications for the preparation of pharmaceutical polymeric nanoparticles," Recent patents on drug delivery & formulation, vol. 6, pp. 209-223, 2012.

[122] N. Gartiand C. Bisperink, "Double emulsions: progress and applications," Current opinion in colloid & interface science, vol. 3, pp. 657-667, 1998.

[123] M. Iqbal, N. Zafar, H. Fessi, and A. Elaissari, "Double emulsion solvent evaporation techniques used for drug encapsulation," International journal of pharmaceutics, vol. 496, pp. 173-190, 2015.

[124] T. Pulingam, P. Foroozandeh, J.-A. Chuah, and K. Sudesh, "Exploring Various Techniques for the Chemical and Biological Synthesis of Polymeric Nanoparticles," Nanomaterials, vol. 12, pp. 576, 2022.

[125] H. Fessi, F. Puisieux, J. P. Devissaguet, N. Ammoury, and S. Benita, "Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement," International journal of pharmaceutics, vol. 55, pp. R1-R4, 1989.

[126] C. Vauthierand K. Bouchemal, "Methods for the preparation and manufacture of polymeric nanoparticles," Pharmaceutical research, vol. 26, pp. 1025-1058, 2009.

[127] A. Agarwal, P. Singh, A. Maurya, U. K. Patel, A. Singh, and G. Nath, Ciprofloxacin-Tethered 1,2,3-Triazole Conjugates: New Quinolone Family Compounds to Upgrade Our Antiquated Approach against Bacterial Infections," ACS Omega vol.7, 3, pp. 2725–2736, 2022.

[128] Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne.

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Kongre Bildirileri

1. S. BALTA, Ö. EYİLCİM, Ö.T. GÜNKARA, "Yeni Antibiyotik Türevlerinin Sentezi ve Antibakteriyel Özelliklerinin Belirlenmesi," 34. Ulusal Kimya Kongresi, Yalova, 2022