

Hümkik asitler ve Pluronic F127 arasındaki etkileşimler, farmasötik uygulamalar için faydalı nanopartiküller üretir.

Bruna Alice Gomes de Melo .
Fernanda Lopes Motta .
Maria Helena Andrade Santana

Geliş Tarih: 21 Temmuz 2015 / Kabul Tarihi: 28 Eylül 2015 / Online Yayın Tarihi: 8 Ekim 2015
Springer Bilim+İş Medyası Dordrecht 2015

Özet Hümkik asitler (HA'lar), antiinflamatuvar ve antioksidan özelliklere sahip fenoller ve karboksilik asitler dahil olmak üzere çok çeşitli fonksiyonel gruplardan oluşan makromoleküllerdir. HA'lar sadece alkali koşullarda sulu ortamda tamamen çözünür. Nötr pH'ta, OH/OOH gruplarının protonasyonu, hidrofobik bir çekirdek içeren misel benzeri yapıların oluşumuna neden olur. Pluronic F127 (PF127), hidrofobik etkileşimler yoluyla HA'larla etkileşime girebilen yüzey aktif madde özelliklerine sahip noniyonik ve toksik olmayan bir blok kopolimerdir. Bu çalışmada, farmasötik uygulamalar için HA-PF127 yapılarının potansiyelini belirlemek üzere bu etkileşimler incelenmiştir. Kullanılan HA'lar fenol (%15.92), karboksilik (%13.70) ve ¹³C NMR, GC-MS ve FTIR ile karakterize edilen diğer aromatik gruplardan oluşuyordu. Başlangıçta, HA-PF127 etkileşimleri, PF127'nin CMC'sinde beş kat azalma ile tanımlandı. HA:PF127 molar oranının etkileri, mekanik karıştırma altında doğal olarak oluşan HA'ların PF127 dispersiyonlarına eklenmesiyle incelenmiştir. En yüksek oranlar olan 1:8 ve 1:80, sırasıyla yaklaşık 100 nm'lik misel altı agregaların ve -28.37 ve -30.23 mV'lik zeta potansiyellerinin oluşumunu destekledi. HA-PF127 yapıları

yaklaşık 0.43'lük bir polidispersite ile küreseldi. Bu sonuçlar, aralarındaki etkileşimin

HA'lar ve PF127 kararlı nanopartiküller üretir. Bu nanopartiküller, hidrofobik biyoaktif maddeler için bir taşıyıcı olarak ve bir antioksidan veya anti-inflamatuvar ajan olarak kullanılabilir. Bildiğimiz kadarıyla, bu çalışmada HA-PF127 nanoparçacıklarını geliştirmeye yönelik ilk girişimdir.

Anahtar kelimeler Hümkik asitler Pluronic F127
Nanopartiküller Farmasötik uygulama
Antiinflamatuvar ajan İlaç taşıyıcı

giriş

Hümkik maddeler (HS), karasal toprak, doğal su ve tortudaki bitkisel ve doğal kalıntıların çürütmesinden kaynaklanan organik maddelerdir (Mac carthy 2001). Hümkik maddeler üç farklı fraksiyondan oluşur: hüminler, fulvik asitler ve hümkik asitler (HA'lar).

HA'lar, tanımlanmamış kimyasal maddelere sahip makromoleküllerdir. menşei ve ekstraksiyon/üretim koşullarına göre değişen bileşimler. HA'lar, karboksilik asit, fenol, enol, alkol, kinon, eter ve diğerleri dahil olmak üzere çok sayıda fonksiyonel grup içerir (Sposito 1986; Stevenson 1982). OH grupları, HA'ların hidrofilik kısımlarına karşı ılıklı gelirken, aromatik halkalar ve alifatik zincirler, hidrofobik karakterlerine katkıda bulunur ve yüzey aktif madde özelliklerine yol açar.

ÇANTA Melo FL Motta MHA Santana (&)
Biyoteknolojik Proses Laboratuvarının Geliştirilmesi, Kimya
Mühendisliği Okulu, Campinas Üniversitesi, Campinas, São Paulo
Paulo 13083-852, Brezilya e-posta: mariahelena.santana@gmail.com

HA'ların yapısındaki OH/OOH grupları, bu organik asitlerin insan sağlığına faydalı olan çeşitli özelliklerinden sorumludur. Protonsuz hale getirildiğinde, HA'lar bir virüsün katyonik bölgelerini bağlayabilir, böylece virüsün hücre yüzeyine bağlanmasını ve çoğalmasını engeller (Neyts ve diğerleri, 1992). Bu özellik ayrıca antiinflamatuvar (Junek ve ark. 2009) ve antimutajenik/desmutajenik etkileriyle (Ferrara ve ark. 2006) ilişkilidir. HA'lar yapılarında antioksidan özellik sağlayan birçok fenolik gruba sahiptir. Fenoller, serbest radikalleri yakalayarak, zincir reaksiyonlarını önleyerek ve demir ve bakır gibi metalleri bağlayarak elektron donatörleri olarak hareket eder ve bu nedenle metal katalizi ile serbest radikal oluşumunu engeller (Rice-Evans ve ark. 1997). HA'lar ayrıca UV-görünür aralıkta absorbe edebilir ve bu nedenle güneş kremelerinde, yaşlanma karşıtı kremlerde ve genel olarak cilt bakım ürünlerinde kullanım potansiyeline sahiptir (Klocking ve ark. 2013). Bu doğal özelliklere ek olarak, HA'lar hidrofobik bileşiklerle kompleks oluşumunu sağlayarak onları suda çözünür hale getirebilir (Martini ve ark. 2010).

HA'ların tanımlanmış bir bileşimi yoktur. Diğer H2S fraksiyonlarından, nötr-alkali koşullar olarak tanımlanan suda çözünürlüğe dayalı olarak ayırılabilirler (Stevenson 1982). pH'a ek olarak, ortamdaki katyonların varlığı HA'ların çözünürlüğünü etkileyebilir (Von Wandruszka ve ark. 1997). Alkali ortamlarda, HA'lar tamamen çözünür çünkü OH grupları deproton edilir ve bu negatif yüklü grupların itilmesi, moleküllerin gergin bir konfigürasyon almasına neden olur. pH'ın düşmesi veya bir çözeltiye katyonların eklenmesi ile bu negatif yüklü gruplar yeniden protonlanır ve yük itmesi en aza indirilir. Bu değişim, moleküllerin kıvrılmasına ve hidrofobik çekirdeklere ve hidrofilik yüzeylere sahip psödomiseller adı verilen kompakt yapılar oluşumuna bir araya gelmesine neden olur (Von Wandruszka et al.

1997; Von Wandruszka 2000). Suda, HA'ların hem çözünür hem de çözünmez fraksiyonları vardır. Kluc̃a'ková ve Pekar̃ (2005) tarafından önerilen mekanizmalara göre, HA'ların çözünür fraksiyonları çözünmüş moleküller olarak ve ayrılmış halde bulunabilirken, çözünmeyen fraksiyonlar iyon değişirici gibi davranarak çevre ile etkileşime girebilir ve H'yi serbest bırakmak için iyonlar çözeltiye girerken, anyonlar çözünmez kalır.

Amfifilik moleküller olarak HA'lar, yüzey aktif maddelerle hidrofobik ve elektrostatik etkileşimler yoluyla etkileşime girer (Ishiguro ve Koopal 2011; Matsuda

et al. 2009; Otto ve ark. 2003). Otto ve ark. (2003), HA'ların CMC'yi iki kat azalttığını gösterdi.

anyonik bir yüzey aktif madde olan sodyum dodesil sülfat (SDS), misel altı HA-SDS kümelerinin oluşumunu düşündürür. İki bileşik arasındaki elektrostatik itme ile bile, hidrofobik etkileşim daha önemlidir. Bildiğimiz kadarıyla, farmasötik uygulamalarda kullanım için HA'lar ve sürfaktanlar arasındaki etkileşimleri açıklayan hiçbir rapor mevcut değildir.

Pluronic F127 (PF127), PEO-PPO-PEO üçlü blok yapısından oluşan blok kopolimerler grubuna ait iyonik olmayan bir yüzey aktif maddedir. Bu üç blokta PEO, poli(etilen oksit)'tir (hidrofilik kısım) ve PPO, poli(propilen oksit)'dir (hidrofobik kısım). Tüm blok kopolimerler arasında PF127 en az toksik olanlardan biridir ve bu nedenle uzun yıllardır yara ve yanık iyileştirme/tedavisi için kullanılmaktadır (Schmolka 1972). PF127'ün düşük toksisitesi ve yüksek biyouyumluluğu, bu sürfaktanın bir ilaç taşıyıcısı olarak kullanılmasını teşvik etmektedir (Foster ve ark. 2009; Taha ve ark.

2014). Önceki birkaç çalışmada, PF127'nin diğer yüzey aktif maddelerle etkileşiminin arttığını göstermiştir.

stabilitesi ve aktif bileşiklerin nüfuz etme ve difüzyon özellikleri (Antunes ve diğerleri 2011; Zhang ve diğerleri 2011).

Bu çalışmada, farmasötik için tek başına veya bir ilaç dağıtım sistemi olarak yararlı olan nanopartiküllerin teknolojik üretimi potansiyeli olan HA-PF127 etkileşimlerini inceledik.

Malzemeler ve yöntemler

Malzemeler

Hem ticari HA'lar hem de PF127, Sigma-Aldrich'ten (İsviçre) satın alındı. Tüm deneysel çalışmalarda ultra saf su kullanılmıştır.

Katı HA'ların karakterizasyonu

Element analizi

Karbon, nitrojen, hidrojen ve kükürt içerikleri, bir Fisons-EA-1108 (Thermo Scientific, MA, ABD) kullanılarak yanma toplu element analizi ile kantitatif olarak belirlendi.

Katı hal ¹³C NMR spektroskopisi

HA'ların katı hal ¹³C NMR spektrumları, 100 MHz'de rezonansa giren bir Bruker 400 üzerinde yüksek güçlü ayrış tırma programı (HPDEC) kullanılarak elde edildi. Döndürme hızı, 4 mm Zr rotor kullanılarak 10 kHz'de tutuldu.

Piriliz – gaz kromatografisi – kütle spektroskopisi

HA'ların pirolizi, bir kül fırınında 650 C'de 10 dakika süreyle gerçekleştirildi. Isıtma sırasında oluşan buharlar, dikloro metan ile toplandı ve çıkarılan buharlar, He akış gazı ve HP-5 MS %5 difenil ve %95 dimetilpolisiloksan (30 m9 ± 0.25 mm) içeren bir Agilent 5975C tek dört kutuplu GC-MS kullanılarak analiz edildi. 9.0.25 (m) ayırmada kullanılmıştır. Tespit edilen bileşikleri tanımlamak için NIST1 Standart Referans Veritabanı kullanıldı.

Fourier dönüşümü kızılötesi (FTIR) analizi

Katı HA'ların FTIR analizi, bir Thermo Scientific Nicolet 6700 spektrofotometre üzerinde yapıldı. Peletler, 2 mg katı HA'ların 200 mg KBr ile karıştırılması ve karışımın 7 t'de 10 dakika boyunca vakum altında preslenmesiyle hazırlandı. Performansın dalga boyu aralığı 4000–400 cm⁻¹ ve çözünürlüğü 4 cm⁻¹ idi.

PF127 ve HA'lar arasındaki etkileşimler

Kritik misel konsantrasyonu (CMC)

PF127 ve HA-PF127'nin CMC değerleri caydırıcı oda sıcaklığında bir iletkenlik ölçer Digimed DM-32'de iletkenlik ölçümleri kullanılarak çıkarıldı. PF127 dispersiyonları, manyetik karıştırma altında 50 ve 3000 mg L⁻¹ (%0.005 ve 0.30) arasındaki bir konsantrasyonda hazırlandı. HA-PF127 deneyleri için, 700 rpm'de ve 25°C'de 1 saat mekanik karıştırma altında PF127 dispersiyonlarına 10 mg L⁻¹ katı HA ilave edildi. Daha sonra çözeltiler, çökelti HA'ları uzaklaştırmak için 80 g kalitatif filtre kağıdı ile süzüldü. Dağılım HA'ların nihai konsantrasyonu 6 mg idi. L-1 üç kopya halinde gerçekleştirildi.

. tahliller

HA – PF127 nanoparçacıklarının hazırlanması

PF127 dispersiyonları aşığıdaki konsantrasyonlarda hazırlandı: %0.1, 1.0 ve %5.0 w/v. PF127 dispersiyonlarına, 700 rpm'de ve 25°C'de 1 saat mekanik karıştırma altında katı HA'lar ilave edildi. Daha sonra oluşan dispersiyonlar, çökelti HA'ları uzaklaştırmak için 80 g kalitatif filtre kağıdı ile süzüldü. Çökelti fraksiyon, HA başlangıç kütlelerinin yaklaşık %40'ını içeriyordu. Böylece 6 mg L⁻¹ HA'dan (10 mg L⁻¹ başlangıç HA'ları) 1:80, 1:800 ve 1:4000 HAs:PF127 mol oranlarına sahip solüsyonlar yapıldı. En yüksek molar oran (1:8), %0.1 PF127 dağılımına 55 mg L⁻¹ HA'lar (100 mg L⁻¹ başlangıç HA'lar) eklenerek yapılmıştır. Su içinde 10 mg L⁻¹ HA solüsyonu ve HA içermeyen %0.1, 1.0 ve %5.0 w/v PF127 solüsyonları kontrol olarak kullanıldı. Tahliller üç kopya halinde gerçekleştirildi.

HA-PF127 nanoparçacıklarının karakterizasyonu

Boyut, çoklu dağılım indeksi (PDI) ve zeta potansiyeli

HA-PF127, PF127 ve HA yapılarının boyutu, çoklu dağılım indeksi ve zeta potansiyeli, bir Autosizer 4700, Zetasizer Nano (Malvern) içinde dinamik ışık saçılımı (DLS) kullanılarak ölçüldü. Ekipman her numuneyi on kez ölçmüştür.

taramalı elektron mikroskopu

HA-PF nanoparçacıklarının morfolojisi (1:80 molar oran), numune kurutulduktan ve 1,5 nm iridyum ile kaplandıktan sonra taramalı elektron mikroskopu (SEM) ile doğrulandı. Analiz, 20 kV hızlandırıcı voltajda çalışan bir Quanta FEG 250 mikroskopu kullanılarak gerçekleştirildi.

Sonuçlar ve tartışma

Katı HA'ların karakterizasyonu

Kökünlü/özütme işlemine bağlı olarak HA bileşimindeki değişiklik nedeniyle, bu çalışmada kullanılan bileşim karakterize etmek gerekliydi. Bu çalışmada kullanılan HA'ların CNHS element analizi şu sonuçları verdi: C'nin %38,13'ü, H'nin %3,21'i, N'nin %0,66'sı ve S'nin %0,36'sı. Oksijen ve

inorganik bileş enler, bileş için geri kalanını oluş turdu. Sonuç lar, özellikle yazarların toplam HA bileş iminin %55.60'ı olarak nitelendirdiği karbon konsantrasyonu açısından Sigma-Aldrich'in (Sidiqi ve ark. 2009) HA'ları ile ilgili önceki çalış malarından farklıdır. Bu fark, tedarikçi tarafından belirtilmeyen farklı ekstraksiyon kaynaklarından veya bileş için farklı saflık seviyelerinden kaynaklanıyor olabilir.

Fonksiyonel gruplar , HA'lara farmasötik özelliklerini veren OH ve COOH'nin varlığını belirlemek için katı hal 13C NMR spektroskopisi ve piroliz-GC/MS ile karakterize edildi. Ş ekil 1a'da sunulan HA'ların 13C NMR spektrumları, Pretsch ve diğerlerinin raporlarına göre alifatik, aromatik, karboksilik ve tiyokarbonil gruplarından 13C'nin kimyasal kaymalarına karş ılık gelen tepe noktaları sergiler .

(2000). Alifatik grupların varlığı, d50 ile 0 ppm arasındaki sinyalle doğrulanırken, aromatik grupların varlığı, d 160 ile 100 ppm arasındaki yoğun bir sinyalle belirtilir. d 150 ppm'deki omuz, bir fenolik grubun varlığını gösterir. d 190 ve 160 ppm arasındaki sinyal, HA'larda karboksilik grupların varlığına karş ılık gelir. Muhtemelen tiokarbonil gruplarına karş ılık gelen d 240–220 ppm aralığında daha az yoğun bir sinyal vardır. Dört tepe noktasının rezonans integralleri Tablo 1'de gösterilmektedir. İç erikleri, her bir bileş ik için tepe alanının yüzdelere toplamı olarak hesaplandı. Aromatik gruplar, fenolik grupları da iç eren toplam bileş imin %56,18'ine tekabül etmekteydi, çünkü bu grupları ayrı ayrı entegre etmek mümkün değildi. Alifatik ve karboksilik asitler sırasıyla toplam bileş imin %24.77'sine ve %13.70'ine karş ılık geldi ve tiyo karboniller toplam pik alanının %5.35'ine karş ılık geldi.

HA'ların pirolize ekstraktının GC-MS kromatogramı, Ş ekil 1b'de gösterilmiş tir. Onbeş pik belirlendi ve tüm bileş ikler Tablo 2'de listelendi. İç erikleri aş ağıdakilerin toplamı olarak hesaplandı:

her bileş ik için pik alanının yüzdelere.

Karboksilik asitler , piroliz iş lemi sırasında CO₂'deki termal bozunmalarından dolayı tanımlanmamış tır . Fenolik gruplar toplam bileş imin %15.92'sine karş ılık gelirken, diğer tüm aromatikler toplam bileş imin %82.05'ine karş ılık geldi. Analiz, alifatik grupların toplam bileş imin %2.03'üne karş ılık geldiğini gösterdi.

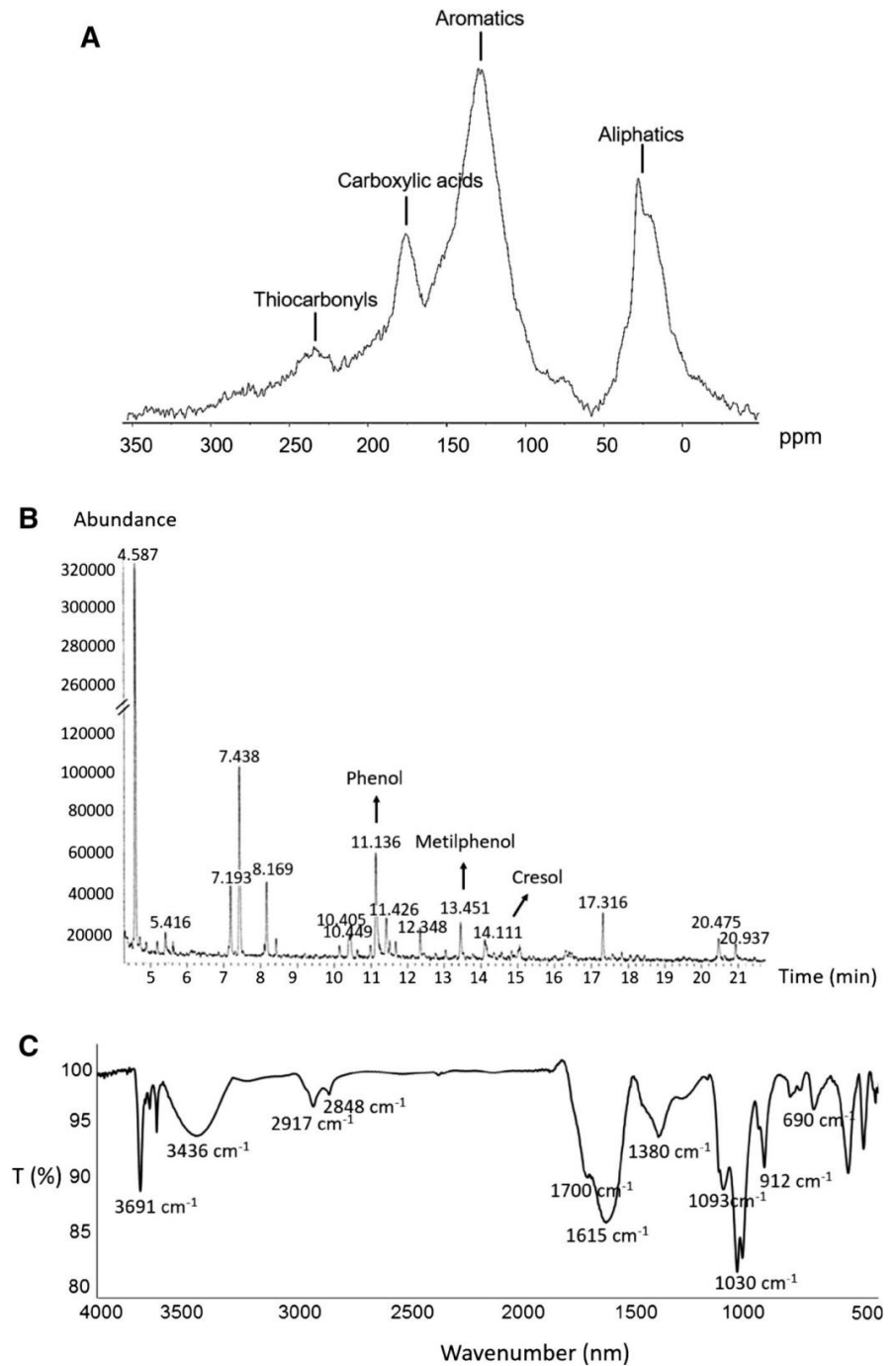
GC-MS ile karakterize edilen yüksek alkilbenzen iç eriği ve düşük alifatik grup iç eriği, aromatik hidrokarbonları oluş turan alifatik zincirlere bağlı aromatik halkaların termal bozunmasıyla açıklanabilir (Abbt-Braun ve diğerleri 1989; Schulten 1987).

Ş ekil 1c, katı HA'ların FTIR spektrumunu göstermektedir ve Günzler ve Gremlich (2002)'ye göre yorumlanmış tir. Alifatiklerin varlığı, 2917 ve 2848 cm⁻¹'de C–H'nin iki germe bandı ve 1380'de (düzlem içinde) ve 1030 cm⁻¹'de (düzlem dış ında) iki bükülme bandıyla kanıtlandı. 1030 cm⁻¹'deki bant , tiokarbonillerin C=S gerilmesine de atfedilebilir. 1615 cm⁻¹'de 1500'den 1800 cm⁻¹'e kadar belirgin bir zirve gözlemledik C=C ve C=O germe bantları 1615, 1700 ve 1710 cm⁻¹'deki omuz, karboksilik asitlerin veya ketonların aromatik gerilmesinin bir sonucu olabilir. Ketonlar diğer iki karakterizasyon yöntemiyle tanımlanmadığından, bu omuzu karboksilik asitlerin varlığına bağladık. Karboksilik asitler ayrıca C–O'nun 1093–1030 cm⁻¹ bölgesindeki esneyen titreş im bantlarını ve C–O–H'nin düzlemde 1380 cm⁻¹'de bükülmesini açıklayabilir aromatikler 1600 ila 1585 cm⁻¹ arasında ve 690'da görünür cm⁻¹ ve 912 cm⁻¹'deki pik, bu gruplardaki C–H deformasyonuna karş ılık gelir. Hidroksil germe bantları (3691–3436 cm⁻¹) , bileş imde bulunan fenolik ve karboksilik asitlerin bir sonucu olabilir.

Üç karakterizasyon yöntemi birbirini tamamlıyordu. FTIR spektrumu, aromatik ve fenolik/karboksilik grupların C=C ve C=O germe bantlarına karş ılık gelen büyük bir tepe noktası iç eriyordu, çünkü ne 13C NMR ne de GC-MS, HA'larda ketonların varlığını göstermedi. FTIR'da aromatlere kıyasla alifatiklerin düşük yoğunluklu pikleri, diğer karakterizasyon yöntemleriyle uyum içindeydi. 13C NMR ve GC-MS kullanarak karboksilik asitlerin ve fenollerin toplam HA'ların sırasıyla %13.70 ve %15.92'sini oluş turduğunu belirledik.

Bu sonuç lar, literatürde Sigma-Aldrich'ten HA'lar için bulunan değerlerle uyumludur (Baigorri ve diğerleri. 2009; Shin ve diğerleri. 1999). Böylece, HA'ların yaklaşık %70.00'i, sudaki HA yapılarının polar olmayan çekirdeğine katkıda bulunan hidrofobik bileş enlerden oluş ur.

Ş ekil 1 Bu çalış mada kullanılan HA'ların karakterizasyonu. ^{13}C NMR spektrumu (a). HA'ların (b) pirolize ekstraktının GC – MS kromatogramı. FTIR spektrumu (c)



Tablo 1 Bağıl yoğunluk dağılımı ve fonksiyonel kimyasal kayması
Bu çalışmada kullanılan HA'nın ¹³C NMR spektrumundaki gruplar

Fonksiyonel grup	Kimyasal kayma (ppm)	Göreceli yoğunluk (%)
tiokarbonil	240-220	5.35
Karboksilik asit	190-160	13.70
Aromatik	160-100	56.18
alifatik	50-0	24.77

Tablo 2 Piroliz-GC/ ile elde edilen bileşiklerin zaman tutma, bolluk ve baz m/z'si
Bu çalışmada kullanılan HA'ların MS'si

Birleş tirmek	Rt (dk)	Bolluk (%)	Taban (m/z)
toluen	4.58	38.42	91
dimetilheksan	5.41	2.03	57, 114
etilbenzen	7.19	5.92	91, 106
Ksilen (izomer)	7.43	14.27	91, 106
Ksilen (izomer)	8.16	5.66	91, 106
Metil-etilbenzen (izomer)	10.40	2.13	105, 120
Metil-etilbenzen (izomer)	10.44	1.88	105, 120
Fenol	11.13	11.05	66, 94
Trimetilbenzen (izomer)	11.42	2.90	105, 120
Trimetilbenzen (izomer)	12.34	2.46	105, 120
metilfenol	13.45	2.76	79, 90, 108
kresol	14.11	2.11	77, 91, 108
Naftalin	17.31	4.04	102, 128
Metilnaftalin (izomer)	20.47	2.85	115, 141
Metilnaftalin (izomer)	10.93	1.45	115, 141

PF127 ve HA'lar arasındaki etkileşimler

Kritik misel konsantrasyonu (CMC)

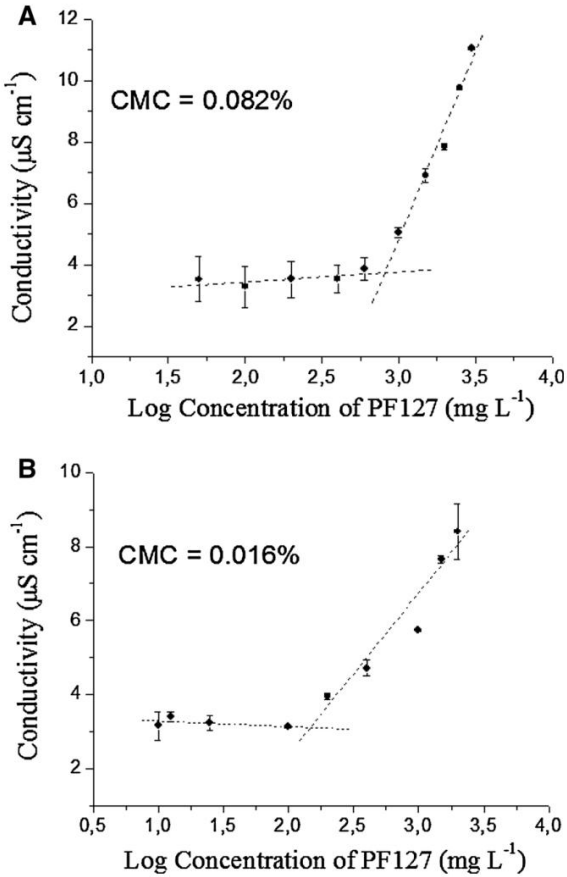
PF127 ve HA'lar arasındaki etkileşimler ilk olarak elektriksel iletkenlik ölçümleri kullanılarak PF127 ve HA-PF127'nin CMC belirlemeleri kullanılarak incelenmiştir. 'CMC' olarak işaretlelenen eğimdeki ani değişiklik 2'de gösterilmektedir. PF127 için CMC değeri 822 mg L⁻¹'dir (%0,082), bu daha önce bildirilen değerlerle karşılaştırılabilir düzeydedir (Sezgin ve ark. 2006; Vasilescu ve Bandula 2011). HA-PF127 için CMC, 160 mg L⁻¹ (%0,016) idi. Başka bir deyişle, ilk PF127 konsantrasyonunun fonksiyonu HA içermeyen PF127 ile karşılaştırıldığında CMC değerinde beş kat azalma olmuştur. 10 mg L⁻¹ HA'ların eklenmesinden sonra, tüm analizlerde yaklaşık 4 mg L⁻¹ çöktü (%40). Bu nedenle PF127, misel benzeri yapılarda yalnızca HA'larla etkileşime girdi.

Hüyük maddeler arasındaki etkileşimler ve

sümfaktanlar daha önce Otto ve diğerleri tarafından incelenmiştir (2003). Yazarlar hüyük maddelerin miselizasyondan önce SDS agregasyonunu arttırdığını ve daha önemli hidrofobik etkilere neden olduğunu gösterdi. Ayrıca pozitif yüklü setiltrimetilamonyum bromür (CTAB) ile hüyük maddeler arasında kararlı iyon çiftleri oluşmuştur.

Çeşitli AH/PF127 oranlarının etkileri

İlk PF127 konsantrasyonunun fonksiyonu olarak HA'lar, PF127 dispersiyonları ve HA-PF127 yapıları için ışık saçılımı kullanılarak elde edilen hidrodinamik çapların Yoğunluk (Iad6) ve Sayı (Nad) dağılımlarını gösterir. Tablo 3, aynı numuneler için zeta potansiyelini göstermektedir.



Ş ekil 2 PF127 ve HA-PF127'nin CMC belirlemeleri. PF127 (a). HA-PF127 (b)

Ş ekil 3a, b, suda oluş an HA'ların misel benzeri yapılarına karşı ılık gelir. dağıtım

çap yaklaşık 100–1000 nm arasındaydı ve maksimum yaklaşık 300 nm'deydi. Ek olarak, yaklaşık 10.000 nm çapında küçük bir misel benzeri yapı popülasyonu da tespit edildi. İad6'dan hesaplanan baskın

Nad'a göre ortalama çap 342 nm idi.

Ş ekil 3c, 10 ila 100 nm arasında değiş en PF127 %0.1 misellerinin çaplarını göstermektedir.

HA:PF127'nin 1:80 oranındaki HA'ların varlığı, yaklaşık 10 nm'deki zirveyi büyük ölçüde azalttı ve HA psö domisellerinin zirvesini 100-1000'den 100-500 nm'ye hafifçe kaydırды, bu da PF127 ile karış ık misellerin oluş umunu düş ündürdü. Bununla birlikte, Nad (Ş ekil 3d), dağılımda 5 nm PF127 misellerinin baskın olduğunu göstermektedir. Ş ekil 3e, f, 1:800'de HA misel benzeri yapılarda PF127'nin hafif bir şekilde dahil edildiğini göstermektedir.

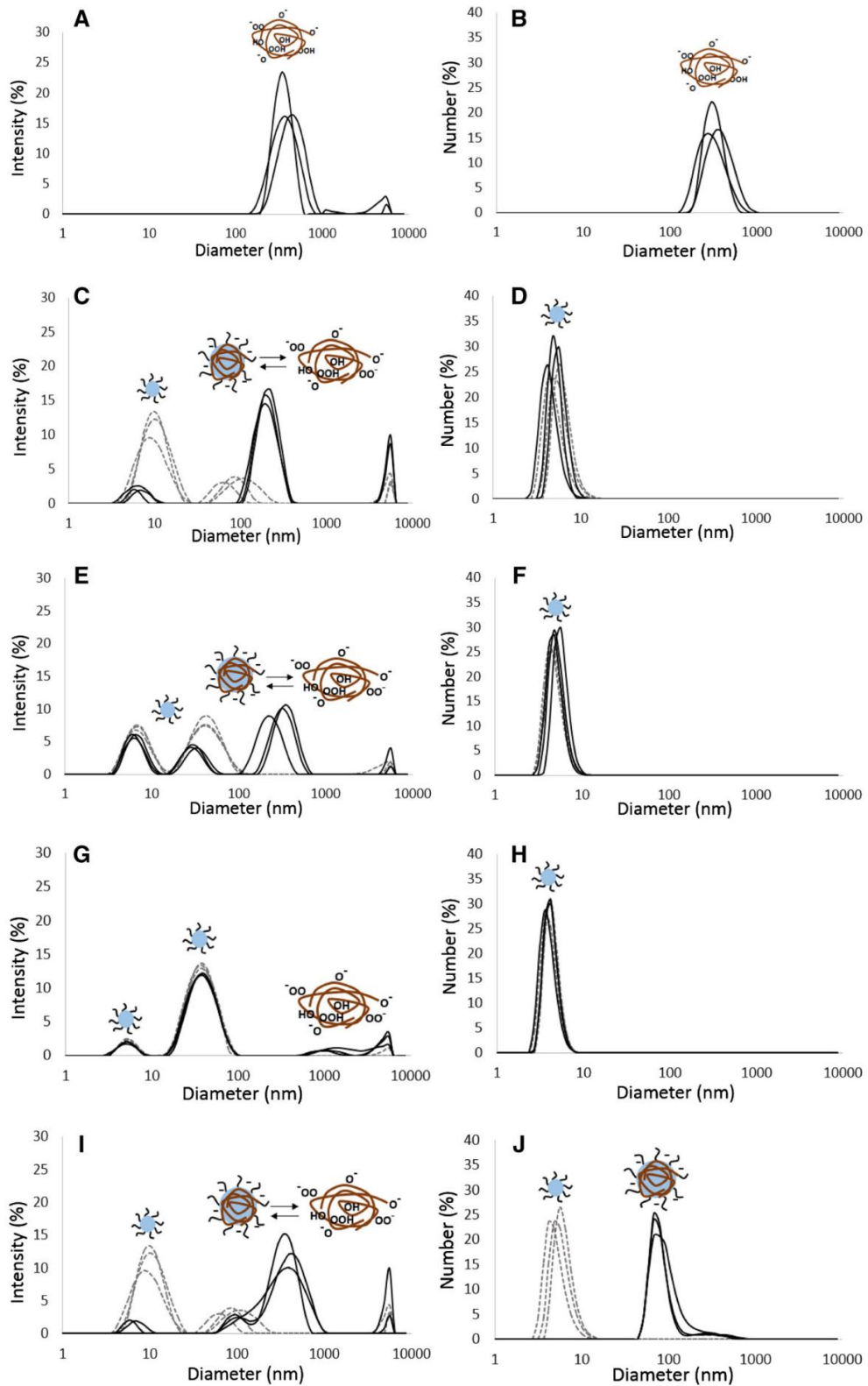
oranı, 100 ila 600 nm arasında değiş en boyutlarda ve dağılımda 5 nm PF127 misellerinin baskın olduğu HA-PF127 yapıları oluş turur. 1:4000 oranında (Ş ekil 3g, h), yüzey aktif madde misellerine karşı ılık gelen İad6 tepe noktaları korunurken veya yalnızca küçük değiş ikliklere maruz kalırken, büyük çaplı popülasyonlar 100-10.000 nm aralığında ortaya çıktı. Bu deneyde, daha yüksek yüzey aktif madde konsantrasyonları, HA misel benzeri yapılarla etkileş ime girmeden moleküller arası bağların oluş umunu indüklemiş olabilir. 1:80 ve 1:800 oranlı deneylere benzer şekilde Nad, dağılımdaki ana popülasyonun PF127 misellerinden oluş tuğunu ö ne sürüyor.

Son olarak, Ş ekil 3i, j, en yüksek HA-PF127 oranını (1:8) temsil eder. İad6, PF127 misellerinin sayısında bir azalma ve sürfaktanın HA yalancı misellerine dahil edilmesini önermektedir. Bunun nedeni, HA'lardaki aromatik gruplar ile yüzey aktif maddeden gelen PPO arasındaki hidrofobik etkileş imler olabilir. Nad bu oran için dağılımdaki baskın popülasyonun yaklaşık 100 nm çapında HA - PF127 yapılarından oluş tuğunu gösterir. Bu sonuçlar, HA'lar ve PF127 arasındaki etkileş imlerin sıkı dizilimi güç lendirebileceğini ve HA-PF127 yapılarında uyumlu bir çekirdek oluş turabileceğini göstermektedir (Lee ve diğerleri 2011; Manaspon ve diğerleri. 2012). Daha hidrofobik bir çekirdeğe sahip olan bu nanoparçacıkların polar olmayan biyoaktif bileş ikleri yakalama olasılığı daha yüksek olacaktır (Owen ve diğerleri 2012; Wei ve diğerleri. 2009).

Çap dağılımlarına ek olarak, HA'ların varlığı, PF127 misellerinin polidispersitesini yaklaşık 0,27-0,43 değerlerinden %0,1 ve %1,0'a yükselterek açıklanan etkileş imleri doğruladı.

Tablo 3, zeta potansiyeli analizinin sonuçlarını göstermektedir. 6 mg L⁻¹'deki HA'lar için biraz negatif değerler (-3,25 mV) ve 55 mg L⁻¹'deki HA'lar için daha yüksek değerler (-32,03 mV) ölç üldü ; Oranlar. PF127 miselleri için hafif negatif değerler ölç üldü.

topaklaş maya eğilimli dispersiyonların düşük stabilitesine sahiptir. PF127 dispersiyonlarına 1:8, 1:80 ve 1:800 oranlarında HA'ların eklenmesi, sırasıyla -28,37, -30,23 ve -15,52 mV gibi yüksek negatif zeta potansiyel değerleri ile sonuç lanır. Bu, sürfaktanın Ş ekil 4'te gösterildiği gibi HA psö domiselleri ile etkileş ime girdiğini ve zeta potansiyel değerinin minimuma düş üdüğüne gösterir. en düş ükte

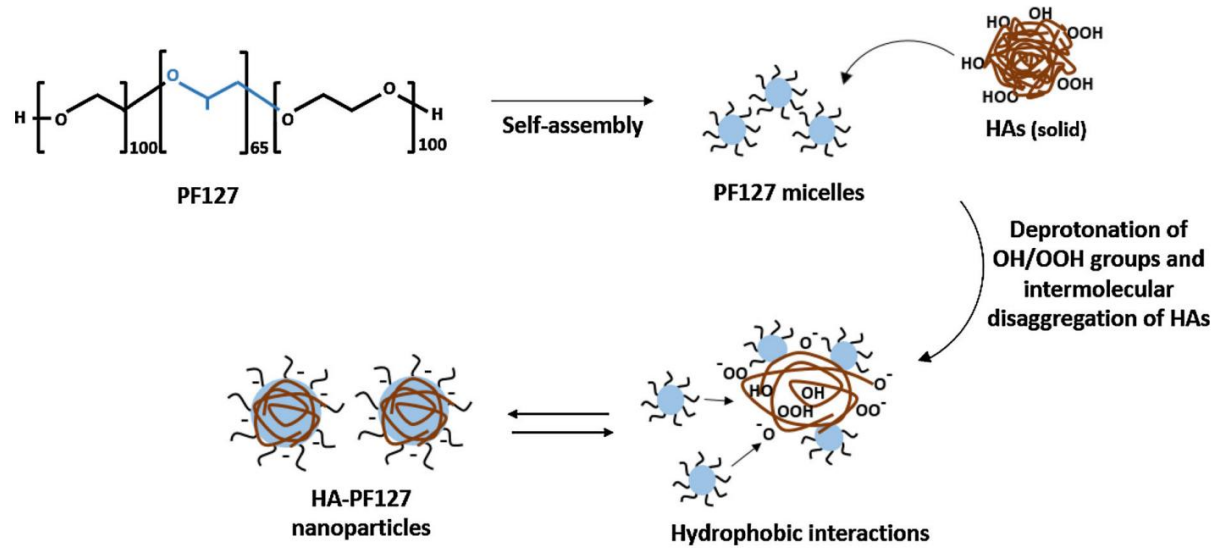


Ş ekil 3 İş ik saç ılımlından elde edilen hidrodinamik ç ap için yoğunluk ve sayı dağılımları. HA'lar 6 mg L⁻¹ (a). c-j için: PF127 %0,1, 1,0 ve %5,0 (kesikli çizgi) ve HA-PF127 (kalın çizgi). Oran HA:PF (mol/mol) 1:80 (a ve b). 1:800 (c ve d). 1:4000 (e ve f). 1:8 (g ve s). Veriler, her bir üç lü tahlilin ortalama ö lç ümlerini temsil eder.

oranı (1:4000), zeta potansiyeli değ eri, dağılımdaki fazlalıkları nedeniyle PF127'nin misel yapılarına karşı ılıklı gelir.

Tablo 3 HA'ların zeta potansiyeli, PF127 dağılımları %0,1, 1,0 ve %5,0 w/w konsantrasyonlarında ve farklı HA:PF127 oranları için HA-PF127

Yapı	Zeta potansiyeli (mV)
sahip olmak	
6 mg L ⁻¹ 55	-3,25 ± 0,71
mg L ⁻¹	-32,03 ± 5,29
PF127 suda	
%0,1	-3,71 ± 1,00
%1,0	-6,02 ± 0,64
%5,0	-3,96 ± 1,61
HA:PF127 oranı (mol: mol)	
1:8	-28,37 ± 6,17
1:80	-30,23 ± 3,88
1:800	-15,52 ± 3,69
1:4000	-4,68 ± 1,97



Ş ekil 4 PF127 miselleri ile HA'ların misel benzeri yapıları arasındaki etkileş imin ve HA- PF127 nanoparç acıklarının oluş umunun ş ematik gösterimi

Ş ekil 4 , HA-PF127 yapılarında HA'lar ve PF127 arasındaki olası etkileş imi göstermektedir.

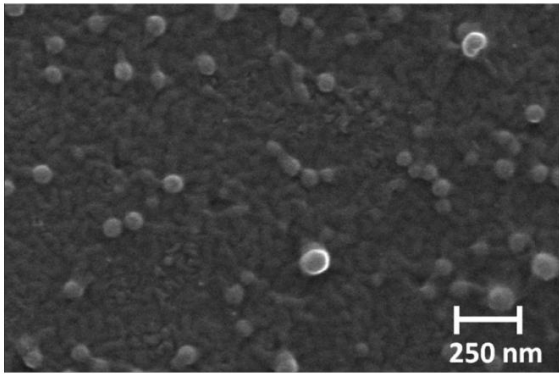
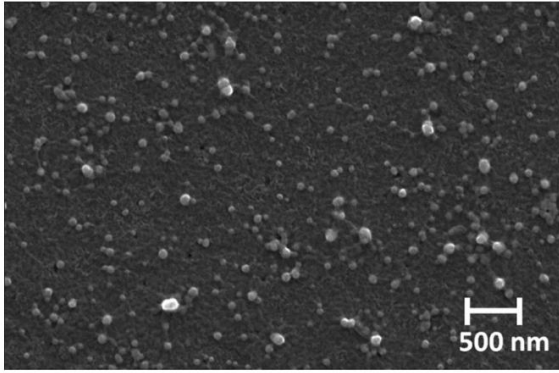
Baş langıç ta PF127, CMC'sinin üzerinde olduğu için kendiliğ inden miseller halinde birleş ir. HA'ların ç öz ünür fraksiyonu

sulu ç ö zelti, nö tr pH'ta bazı OH/OOH gruplarının deprotonasyonundan kaynaklanan yük itme nedeniyle moleküller arası ayrış maya uğ rar (Kluc' a'kova' ve Pekar' 2005; Von Wan druzska ve diğ erleri 1997; Von Wandruszka 2000). PF127'nin sudaki stabil olmayan miselleri HA'larla etkileş ime girer

daha ö nce hidrofobik ilaç lar için bildirildiğ i gibi (Lee ve ark. 2011; Zhang ve ark. 2011). Bu hidrofobik etkileş imler, HA-PF127'nin tek baş ına HA'lardan daha büyük ve daha hidrofobik çekirdeğ ine katkıda bulundu; bu, polar olmayan ilaç ları yakalama ve ilaç dağı tımını için mevcut nanopartiküllere yeni bir alternatif olarak hareket etme yeteneklerini artırabilir.

Antioksidan ve antiinflamatuvar aktivite gibi HA'larda bulunan etkilere sahip ilaç ların kapsül lenmesinden sinerjistik bir etki elde edilebilir. HA'ların bu aktiviteleri arttırması ve uygulanan ilaç ların gerekli konsantrasyonunu dü ş ürmesiyle sonuç lanması beklenmektedir.

Ş ekil 5 , SEM yoluyla elde edilen 1:80 mol oranı için HA-PF127 yapılarının morfolojisini göstermektedir. Görüntüler, HA- varlığı na karşı ılıklı gelen, yaklaşık 70-100 nm ç apında, kümelenmemiş küresel yapıları göstermektedir.



Ş ekil 5 HA-PF127 yapılarının taramalı elektron mikroskobu 1:80 HA:PF127 mol oranı için suda oluş ur

PF127 yapıları, HAs pseudomi hücreleri ve PF127 miselleri ile denge halindedir.

Beklendiği gibi, HA-PF127'nin boyutları, SEM görüntüleri ile karşı laş tırıldığında DLS'den daha yüksekti. Bunun nedeni, DLS'nin parç acıkların gerçek çaplarından daha büyük olan hidrodinamik çapları ölç mesidir (Sokolova ve ark. 2011).

Birlikte, bu sonuç lar HA - PF127 yapılarının elektrostatik olarak kararlı nanopartiküller olduğunu göstermektedir. Potansiyel olarak antioksidan veya anti enflamatuar ajanlar olarak hareket edebilirler ve hidrofobik biyoaktif bileş ikleri yapış kan çekirdeklerinde tutabilirler.

Sonuç lar

¹³C NMR, GC-MS ve FTIR analizi, bu çalış mada kullanılan HA'larda fenollerin ve karboksilik grupların bulunduğunu ve bunların antioksidan ve antienflamatuar ajanlar olarak hareket etme potansiyellerine iş aret ettiğini gösterdi. HA'lar ve PF127 arasındaki etkileş imler daha fazlaydı. daha yüksek HA:PF127 oranları kullanıldığında uygundur

ve hidrofobik bir çekirdeğe sahip küresel ve elektrostatik olarak kararlı nanopartiküller üretti. Sonuç lar, HA-PF127 nanoparç acıklarının farmasötik uygulamalar ve biyoaktif bileş ikleri hapsetmek için umut verici olduğunu gösterdi.

Teş ekkür Bu çalış ma CNPq (Ulusal Bilimsel ve Teknolojik Geliş im Konseyi) ve Fapesp (São Paulo Eyaleti Araş tırma Desteği Vakfı) tarafından desteklenmiş tir.

Referanslar

- Abbt-Braum G, Frimmel FH, Schulten HR (1989) Pirozil alanı iyonizasyon kütle spektrometrisi ve piroliz gazı kromatografisi/kütle spektrometrisi ile suda yaş ayan hüyük maddelerin yapısal araş tırmaları. *Water Res* 23(12):1579–1591
- Antunes FE, Gentile L, Rossi CO, Tavanoc L, Ranieri GA (2011) Reolojik karakterizasyondan kontrollü ilaç permeasyonuna kadar Pluronic F127 Jelleri ve iyonik olmayan yüzey aktif maddeler. *Kolloid Sö rf B* 87:42–48
- Baigorri R, Fuentes M, Gonza'lez-Gaitano G, Garc'a-Mina JM, Almendros G, Gonza'lez-Vila FJ (2009) Ç ö zeltideki ana hüyük fraksiyonların ayırt edici yapısal özelliklerini incelemek için tamamlayıcı multianalititik yaklaş ım: gri hüyük asit, kahverengi hüyük asit ve fulvik asit. *J Agric Food Chem* 57(8):3266–3272
- Ferrara G, Loffredo E, Senesi N, Marcos R (2006) Hüyük asitler, insan lenfoblastoid hücre dizisi TK6'da mitomisin C'nin genotoksitesini azaltır. *Mutat Res* 603:27–32
- Foster B, Cosgrove T, Hammouda B (2009) Pluronic triblok kopolimer sistemleri ve bunların ibuprofen ile etkileş imleri. *Langmuir* 25(12):6760–6766
- Günzler H, Gremlich HU (2002) IR spektroskopisi. Giriş . Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim
- Ishiguro M, Koopal LK (2011) Hüyük maddelere bağlanan katyonik yüzey aktif cismin tahmini modeli. *Colloid Surf A* 379:70–78
- Junek R, Morrow R, Schoenherr JI, Schubert R, Kallmeyer R, Phull S, Klo'cking R (2009) Hüyük asitlerin LPS ile indüklenen TNF-a salınımı üzerindeki bimodal etkisi farklılaş tırılmış U937 hücreleri. *Phytomedicine* 16:470–476
- Klo'cking R, Felber Y, Guhr M, Meyer G, Schubert R, Schoenherr JI (2013) Hüyük maddelerin UV-B koruyucu etkisine dayanan yenilikçi turba rujunun geliş tirilmesi. *Mires Peat* 11(3):1–9
- Kluc'a'kova' M, Pekar' M (2005) Linyitik hüyük asitlerin su süspaniyonunda ç ö zünürlüğü ve ayırış ması. *Kolloid Sö rf A* 252:157–164
- Lee ES, Oh YT, Youn YS, Nam M, Park B, Yun J, Kim JH, Song HT, Oh KT (2011) Nano boyutlu bir ilaç dağıtım sistemi için Pluronic kullanılarak misellerin ikili karış ımı. *Kolloid Sö rf B* 82:190–195
- Maccarthy P (2001) Hüyük maddelerin ilkeleri. *Toprak Bilimi* 166:738–751
- Manaspon C, Viravaidya-Pasuwat K, Pimpha N (2012) Folat konjuge Pluronic F127/kitosan çekirdeğinin hazırlanması.

- meme kanseri tedavisi için doksorubisini kapsülleyen kabuk nanoparçacıkları. *J Nanomater* 100(2):247–256 Martini S, D'addario C, Bonechi C, Leone G, Tognazzi A, Consumi M, Magnani A, Rossi C (2010) Artan fotostabilite ve karotenoidlerin suda çözünürlüğü: sentez ve karakterizasyon b-karoten-humik asit kompleksleri. *J Photoch Photobio B* 101:355–361
- Matsuda M, Kaminaga A, Hayakawa K, Takisawa N, Miyajima T (2009) İki değerlikli metal tuzlarının mevcudiyetinde humik asitlerle yüzey aktif madde bağlanması. *Kolloid Sörf A* 347:45–49
- Neyts J, Snoeck R, Wutzler P, Cushman M, Kloëcking R, Helbig B, Wang P, De Clercq E (1992) Sitomegalovirüs ve herpes simpleks virüs replikasyonunun seçici inhibitörleri olarak poli(hidroksi)karboksilatlar. *Antivir Chem Chemoth* 3:215–222
- Otto WH, Britten DJ, Larive CK (2003) Sürfaktan-humik madde etkileşimlerinin NMR difüzyon analizi. *J Colloid Interface Sci* 261:508–513 Owen SC, Chan DPY, Shoichet MS (2012) Polimerik misel istikrar. *Nano Bugün* 7:53–65
- Pretsch E, Bühlmann P, Affolter C (2000) Organik bileşiklerin yapı tayini: spektral veri tabloları, 3. baskı. Springer, Berlin Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G (1997) Fenolik bileşiklerin antioksidan özellikleri. *Trends Plant Sci* 2(4):152–159 Schmolka IK (1972) Yapay deri I. Yanık tedavisi için Pluronic F-127 jellerinin hazırlanması ve özellikleri. *J Biomed Mater Res* 6:571–582 Schulten HR (1987) Tatlı sudan izole edilen humik materyalin zamana bağlı piroliz alanı iyonizasyon kütle spektrometrisi. *Environ Sci Technol* 21:349–357
- Sezgin Z, Yuksel N, Baykara T (2006) Az çözünür antitanser ilaçların çözündürülmesi için polimerik misellerin hazırlanması ve karakterizasyonu. *Eur J Pharm Biopharm* 64:261–268
- Shin HS, Monsallier JM, Choppin GR (1999) Molekül boyutunda fraksiyone humik asidin spektroskopik ve kimyasal karakterizasyonları. *Talanta* 50:641–647
- Sidiqui Y, Meon S, Ismail R, Rahmani M, Ali A (2009) Hurma kompostundan humik asit fraksiyonunun in vitro fungisidal aktivitesi. *J Agric Biol* 11:448–452 Sokolova V, Ludwig AK, Hornung S, Rotan O, Horn PA, Epple M, Giebel B (2011) Nanoparçacık izleme analizi ve taramalı elektron mikroskobu ile insan hücrelerinden türetilen eksozomların karakterizasyonu. *Colloid Surf B* 87:146–150 Sposito G (1986) Topraklarda ve doğal sularda eser metallerin humik malzemeler tarafından emilmesi. *Crit Rev Environ Sci Technol* 16:193–229
- Stevenson FJ (1982) Humus kimyası. John Wiley, New York Taha EI, Badran MM, El-Anazi MH, Bayomi MA, El-Bagory IM (2014) Siprofloksasinin oküler iletimini artırmada Pluronic F127 misellerinin rolü. *J Mol Liq* 199:251–256 Vasilescu M, Bandula R (2011) Pluronic F127 ve polidimetilsiloksan-aşırı polimer blok kopolimerlerinin suda ve moleküler prob teknikleriyle değerlendirilen agregaların mikro yapısında toplanması. *Rev Roum Chim* 56(1):57–64
- Von Wandruszka R (2000) Humik asitler: deterjan kaliteleri ve kirlilik iyileştirmede potansiyel kullanımları. *Geochem Trans* 1:10. doi:10.1186/1467-4866-1-10 Von Wandruszka R, Ragle C, Engebretson R (1997) Seçilmiş katyonların sulu humik asitte psödomisel oluşumundaki rolü. *Talanta* 44:805–809 Wei Z, Hao J, Yuan S, Li Y, Juan W, Sha X, Fang X (2009) Paklitaksel yüklü Pluronic P123/F127 karışık polimerik miseller: formülasyon, optimizasyon ve in vitro karakterizasyon. *Int J Pharm* 376:176–185
- Zhang W, Shi Y, Chen Y, Ye J, Sha X, Fang X (2011) Çok ilaca dirençli tümörlerin tedavisi için paklitaksel yüklü çok işlevli Pluronic P123/F127 karışık polimerik miseller. *Biyomateryaller* 32:2894–2906