

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**PROPRANOLOL HİDROKLORÜRÜN MİDE HEDEFLİ KONTROLLÜ
SALIMINDA ALJİNAT-KİTOSAN POLİELEKTROLİT KOMPLEKSLERİN
KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI**

Selen Tuğçe ÖZBAŞ

KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2022**

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

PROPRANOLOL HİDROKLORÜRÜN MİDE HEDEFLİ KONTROLLÜ SALIMINDA ALJİNAT-KİTOSAN POLİELEKTROLİT KOMPLEKSLERİN KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI

Selen Tuğçe ÖZBAŞ

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Emine BAYRAKTAR

Gastrointestinal (mide-bağırsak) bölgede ilaç emilimi birçok değişkenden etkilenmektedir. En sık tercih edilen ve alışılmış bir ilaç iletim yolu olan oral yoldan kullanımlarda pH'a duyarlı, çözünürlüğü az veya yarı ömrü kısa olan ilaçların gastrointestinal sistemde hedeflenen bölgede uzun süre kalamaması ve biyoyararlanımlarının düşük olması karşılaşılan zorluklardandır. Bu çalışmada, yarı ömrü kısa olan, pH'a duyarlı bir beta bloker olan propranolol hidroklorürün (PHCl) birer biyopolimer olan kitosan (CTS) ve aljinatın oluşturduğu polielektrolit komplekse iyonotropik jelasyon yöntemi ile yüklenmesi ve mide hedefli salımının kontrollü hale getirilmesi amaçlanmaktadır. Bu amaç doğrultusunda, biyopolimer (aljinat, kitosan ve dekstrin), jelleştirici ajan olan kalsiyum klorür (CaCl_2), kitosanın çözünmesini sağlayan asetik asit derişimleri ile iyonotropik jelasyonun gerçekleştiği ortam olan jelasyon çözeltisinin pH'sının enkapsülasyon verimine etkileri incelenmiştir. Enkapsülasyon veriminin en yüksek değeri %2(w/v) aljinat, %0,6 (w/v) CTS, %0,5 (w/v) CaCl_2 , ve pH 4,5 koşulu için % 89,8 olarak hesaplanmıştır. Bu koşul için salım çalışmaları gerçekleştirilmiş olup ilacın yaklaşık %40'ının ilk 5 dakika içerisinde aljinat-kitosan polielektrolit komplekslerinden bırakıldığı gözlenmiştir. PHCl'nin mide hedefli salımında salımın kontrollü gerçekleşmesi amacıyla dekstrin, polielektrolit kompleks yapısına eklenmiş olup enkapsülasyon veriminin değişmediği gözlenmiştir. 0,5 (w/v) derişimde dekstrin içeren PHCl yüklü taneciklerin mide hedefli salımı kontrollü şekilde gerçekleşmiş, 4 saat sonunda ilacın % 81,1'i salındığı belirlenmiştir. Enkapsülasyon verimi ve ilaç salım yüzdesi için optimum koşulun % 1,75 (w/v) aljinat, %0,68 (w/v) CTS, % 1,77 (w/v) CaCl_2 ve pH 3,79 olarak belirlenmiştir. Bu koşullar için enkapsülasyon verimi ve ilaç salım yüzdesinin Design Expert Programı tarafından optimum değerleri sırasıyla %84,1 ve % 79,6 olarak tahmin edilmektedir.

Mart 2022, 143 sayfa

Anahtar Kelimeler: Kitosan, aljinat, kontrollü Salım, propranolol hidroklorür, polielektrolit kompleks

ABSTRACT

Master Thesis

INVESTIGATION OF THE STOMACH SPECIFIC CONTROLLED RELEASE OF PROPRANOLOL HYDROCHLORIDE USING ALGINATE-CHITOSAN POLYELECTROLIDE COMPLEXES

Selen Tuğçe ÖZBAŞ

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemical Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Emine BAYRAKTAR

Drug absorption in the gastrointestinal tract is a complex process influenced by many variables. In oral administration, which is the most preferred and conventional drug delivery method, some of the difficulties encountered are that drugs with pH sensitivity, low solubility or short half-life cannot stay in the targeted area in the gastrointestinal tract for a long time and having low bioavailability. In this study, it is aimed to stomach specific controlled release of propranolol hydrochloride (PHCl), which is a beta-blocker with a short half-life and pH sensitivity, by using the ionotropic gelation method into the polyelectrolyte complex formed chitosan and alginate, which are biopolymers, with high efficiency. For this purpose, the effects of the concentrations of biopolymer (alginate, chitosan and dextrin), the gelling agent calcium chloride (CaCl_2), the acetic acid used to dissolve chitosan, and the pH values of the gelation solution, which is the medium in which ionotropic gelation takes place, on the encapsulation efficiency were investigated. The highest value of encapsulation efficiency for 2% (w/v) alginate, 0.6% (w/v) chitosan, 0.5% (w/v) CaCl_2 , 0.1 M acetic acid and pH 4.5 condition was calculated as 89.8%. Release studies were carried out for this condition and it was observed that approximately 40% of the drug was released from the alginate-chitosan polyelectrolyte complexes within the first 5 minutes. Dextrin, which has started to be used in drug release applications, has been added to the polyelectrolyte complex structure for the controlled release of PHCl in gastric-targeted release. It was observed that the dextrin concentration did not change the encapsulation efficiency. The gastric-targeted release of the polyelectrolyte complex containing dextrin at 0.5 (w/v) concentration occurred in a controlled manner, and it was determined that 81.1% of the drug was released after 4 hours. The optimum condition for encapsulation efficiency and drug release percentage was determined as 1.75% (w/v) alginate, 0.68% (w/v) CTS, 1.77% (w/v) CaCl_2 and pH 3.79. In this conditions the optimum values of encapsulation efficiency and drug release percentage are predicted by design expert programme as 84.1% and 79.6% respectively.

March 2022, 143 pages

Key Words: Chitosan, alginate, controlled release, propranolol hydrochloride, polyelectrolide complexes

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmama birlikte başladığımız ancak şu an emekli olan, çalışma süresince ve ne zaman ihtiyaç duysam desteğini hep hissettiren, olumlu bakış açısı ve heyecanlı tavrı ile beni daha çok çalışmaya sevk eden, öğrencisi olduğum için kendimi şanslı saydığım çok kıymetli hocam Prof. Dr. Ülkü MEHMETOĞLU'na (Ankara Üniversitesi Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı) sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Sonradan öğrencisi olmama rağmen, çalışmamın her aşaması ile titizlikle ilgilenen, hiçbir konuda desteğini esirgeyeyen, her konuda yol gösteren ve beni motive eden çok değerli tez danışmanım Prof. Dr. Emine BAYRAKTAR'a (Ankara Üniversitesi Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı) sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma süresince laboratuvarın ortak bir çalışma alanından çok yuva sıcaklığında bir ortam olmasını sağlayan, deneylerimde ve yaşadığım tüm sıkıntılarda bana yardımcı olan, motivasyon kaynağım değerli hocam Arş. Gör. Dr. Rahime SONGÜR'e (Ankara Üniversitesi Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı) sabrı, anlayışı ve her koşulda yanımda olduğu için çok teşekkür ederim.

Yüksek lisansa başladığım günden itibaren beni destekleyen değerli mesai arkadaşlarım Ecem DEMİREL'e, Büşra SEVİNÇ'e, Kübra KAPLAN'a ve Atatürk Orman Çiftliği Süt Fabrikası Müdürü Sayın Dr. Şahin DURNA'ya çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans çalışmam boyunca yanımda olan, laboratuvar çalışmalarımızı keyifli hale getiren sevgili arkadaşım Zeynep AKTAŞ'a desteği ve anlayışı için teşekkür ederim. İlkokul zamanlarımızdan bugünlere kadar attığım büyük adımlarda yanımda olduğunu hep hissettiğim canım arkadaşım Hatice ÇAMBEL'e teşekkür ederim.

“Propranolol Hidroklorürün Mide Hedefli Kontrollü Salımında Aljinat-Kitosan Polielektrolit Komplekslerin Kullanımının Araştırılması" başlıklı yüksek lisans çalışmamı 21L0443013 numaralı Bilimsel Araştırma Projesi ile destekleyen Ankara Üniversitesi BAP Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Son olarak, sevgili annem Selda ÖZBAŞ'a ve sevgili babam Ferhat ÖZBAŞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum. Çalışmamı, hayata gözlerimi açtığım ilk günden bu yana yanımda olan canım aileme ithaf ediyorum.

Selen Tuğçe ÖZBAŞ
Ankara, Mart 2022

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI	
ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	3
2.1 Kontrollü Salım Sistemleri.....	3
2.1.1 Oral kontrollü salım sistemleri	7
2.2 Kontrollü Salımda Doğal Polimerlerin Önemi	10
2.2.1 Kitosan	12
2.2.2 Aljinat.....	16
2.2.3 Kolajen	19
2.2.4 Jelatin.	20
2.2.5 Dekstran	21
2.2.6 Pektin.....	21
2.2.7 Nişasta	22
2.2.8 Dekstrin	22
2.3 Biyopolimer Bazlı Hidrojeller.....	24
2.4 Aljinat-Kitosan Polielektrolit Komplekslerinin Kontrollü Salım Sistemlerinde Kullanımı.....	26
2.5 Propranolol Hidroklorür ve Salım Sistemleri.....	35
2.6 Deneysel Tasarım.....	41
2.6.1 Yanıt yüzeyi yöntemi (Response surface method, RSM)	44
2.6.1.1Merkezi kompozit tasarım (Central composite design, CCD).....	46
2.6.1.2 Box-Behnken tasarımı	48
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	50
3.1 Materyal.....	50
3.2 Yöntem.....	50
3.2.1 Propranolol hidroklorür-HCl kalibrasyon grafiğinin hazırlanması	50
3.2.2 Jelasyon çözeltisinde kalan propranolol hidroklorür derişimine göre kalibrasyon grafiğinin hazırlanması	51
3.2.3 Yıkama sularında kalan propranolol hidroklorür derişimine göre kalibrasyon grafiğinin hazırlanması	53
3.2.4 Aljinat-kitosan taneciklerinin hazırlanması.....	54
3.2.5 Enkapsülasyon veriminin belirlenmesi ve enkapsülasyon verimini etkileyen parametreler	57
3.2.6 Mide hedefli salım çalışmaları.....	61
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	63
4.1 Aljinat-Kitosan ve Aljinat-Dekstrin-Kitosan Tanecikleri.....	63
4.2 Enkapsülasyon Verimini Etkileyen Parametreler	64
4.2.1 Aljinat derişiminin enkapsülasyon verimine etkisi	64
4.2.2 Kitosan derişiminin enkapsülasyon verimine etkisi	67

4.2.3 Asetik derişiminin enkapsülasyon verimine etkisi	69
4.2.4 Jelleşme süresinin enkapsülasyon verimine etkisi	70
4.2.5 CaCl ₂ derişiminin enkapsülasyon verimine etkisi	72
4.2.6 Jelasyon Çözeltisinin pH Değerinin Enkapsülasyon Verimine Etkisi	75
4.2.7 Çapraz bağlayıcı derişiminin enkapsülasyon verimine etkisi	76
4.3 Mide Hedefli Salım Çalışmaları	77
4.4 Deneysel Tasarım	88
4.4.1 Enkapsülasyon veriminin optimizasyonu	91
4.4.2 Salım yüzdesinin optimizasyonu	101
5. SONUÇ	112
KAYNAKLAR	116
EKLER	120
EK 1 %0,1 (w/v) Kitosan Derişimindeki Jelasyon Çözeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Kalibrasyon Grafiği	122
EK 2 %0,2 (w/v) Kitosan Derişimindeki Jelasyon Çözeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Kalibrasyon Grafiği	123
EK 3 %0,3 (w/v) Kitosan Derişimindeki Jelasyon Çözeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Kalibrasyon Grafiği	124
EK 4 %0,4 (w/v) Kitosan Derişimindeki Jelasyon Çözeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Kalibrasyon Grafiği	125
EK 5 %0,5 (w/v) Kitosan Derişimindeki Jelasyon Çözeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Kalibrasyon Grafiği	126
EK 6 %0,6 (w/v) Kitosan Derişimindeki Jelasyon Çözeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Kalibrasyon Grafiği	127
EK 7 %0,7 (w/v) Kitosan Derişimindeki Jelasyon Çözeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Kalibrasyon Grafiği	128
EK 8 %0,8 (w/v) Kitosan Derişimindeki Jelasyon Çözeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Kalibrasyon Grafiği	129
EK 9 %0,2-0,5-1,5-2-3 (w/v) Derişimlerinde CaCl ₂ ve %0,2 (w/v) Derişiminde Kitosan İçeren Jelasyon Çözeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Hazırlanan Kalibrasyon Grafiği	130
EK 10 %0,2-0,5-1,5-2-3 (w/v) Derişimlerinde CaCl ₂ ve %0,4 (w/v) Derişiminde Kitosan İçeren Jelasyon Çözeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Hazırlanan Kalibrasyon Grafiği	131
EK 11 %0,2-0,5-1,5-2-3 (w/v) Derişimlerinde CaCl ₂ ve %0,6 (w/v) Derişiminde Kitosan İçeren Jelasyon Çözeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Hazırlanan Kalibrasyon Grafiği	132
EK 12 %0,25(w/v) Derişiminde Kitosan ve % 0,6 (w/v) Derişiminde CaCl ₂ İçeren Jelasyon Çözeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Hazırlanan Kalibrasyon Grafiği	133
EK 13 %0,25(w/v) Derişiminde Kitosan ve % 1,4 (w/v) Derişiminde CaCl ₂ İçeren Jelasyon Çözeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Hazırlanan Kalibrasyon Grafiği	134
EK 14 %0,55(w/v) Derişiminde Kitosan ve % 0,6 (w/v) Derişiminde CaCl ₂ İçeren Jelasyon Çözeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Hazırlanan Kalibrasyon Grafiği	135

EK 15 %0,55(w/v) Derişiminde Kitosan ve % 1,4 (w/v) Derişiminde CaCl₂ İçeren Jelasyon Çözeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Hazırlanan Kalibrasyon Grafiği	136
EK 16 %0,4(w/v) Derişiminde Kitosan ve % 1,8 (w/v) Derişiminde CaCl₂ İçeren Jelasyon Çözeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Hazırlanan Kalibrasyon Grafiği	137
EK 17 Yıkama Suyunda Kalan PHCl Derişimine Göre Hazırlanan Kalibrasyon Grafiği	138
EK 18 Deneysel Tasarım Sonuçları.....	139
EK 19 Deneysel Tasarım İkinci Tekrar Sonuçları.....	141
ÖZGEÇMİŞ.....	143



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

dk	Dakika
G	Gram
mL	Mililitre
°C	Santigrat
R ²	Regresyon katsayısı
rpm	Dakikada devir sayısı
t	Zaman
ppm	Milyonda bir birim
(w/v)	Hacimde ağırlıkça yüzde

Kısaltmalar

HCl	Hidroklorik Asit
NaOH	Sodyum Hidroksit
A	Absorbans Değeri
PHCl	Propranolol Hidroklorür
CTS	Kitosan
SLN	Solid Lipid Nanoparticles (Katı lipit nanopartiküller)
UV-VIS	Ultraviolet/Visible
Q _t	t zamanındaki ilaç miktarı
Q ₀	Başlangıçta ortamda bulunan ilaç miktarı
Q _∞	Denge anındaki ilaç miktarı
K ₀	Sıfırıncı derece salım katsayısı
K ₁	Birinci derece salım katsayısı
K _H	Higuchi çözünme katsayısı
K _{HC}	Hixson-Crowell sabiti
K _K	Korsmeyer-Peppas sabini
n	Salım üsteli
DD	Deasetilasyon Derecesi
GDA	Glutardialdehit
BSA	Sığır Serum Albümini (Bovine Serum Albumin)
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography)
SEM	Taramalı Elektron Mikroskopu (Scanning Electron Microscopy)
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (Fourier Transform Infrared Spectroscopy)
AFM	Atomik Kuvvet Mikroskopu (Atomic Force Microscope)
RSM	Yanıt Yüzeyi Yöntemi (Response Surface Method)
CCD	Merkezi Kompozit Tasarım (Central Composite Design)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Yaygın olarak kullanılan ilaç iletim yolları	3
Şekil 2.2 Kan plazmasındaki ilaç derişiminin zamanla değişiminin çeşitli ilaç salım şekilleri ile karşılaştırılması	4
Şekil 2.3 Kitosanın kimyasal formülü.....	12
Şekil 2.4 Kitinin NaOH ile deasetilasyonu sonucu kitosan eldesi.....	12
Şekil 2.5 Yengeç kabuklarından kitosan eldesi.....	13
Şekil 2.6 Aljinatın kimyasal formülü	16
Şekil 2.7 β -D-mannuronik asit (M) ve α -L-gluronik asit (G) yapısı	17
Şekil 2.8 Yumurta- kafes modelinin oluşması	19
Şekil 2.9 Jelatinin kimyasal yapısı	20
Şekil 2.10 Dekstranın kimyasal yapısı	21
Şekil 2.11 Pektinin kimyasal yapısı	22
Şekil 2.12 Dekstrinin kimyasal formülü	23
Şekil 2.13 Propranolol hidroklorürün (PHCl) kimyasal yapısı.....	35
Şekil 2.14 pH 1,5 yapay mide ortamında PHCl yüklü aljinat, kitosan kaplı aljinat ve kitosan kaplı dekstran sülfat içeren aljinat taneciklerinin salım profili.....	39
Şekil 2.15 pH 6,8 fosfat tamponunda PHCl yüklü kalsiyum aljinat taneciklerinin salım profili	41
Şekil 2.16 Bir süreç/deneyin genel müdeli	41
Şekil 2.17 Faktörlerin yanıt değişkeni üzerindeki etkileri	46
Şekil 2.18 (a) 2 değişkenli (b) 3 değişkenli optimizasyon için CCD((•) faktöriyel tasarım noktaları, (x) aksenal noktalar, (o) merkez nokta).....	47
Şekil 2.19 (a) 2 değişkenli (b) 3 değişkenli optimizasyon için 3 seviyeli faktöriyel tasarım (c) 3 değişkenli optimizasyon için Bpx-Behnken Tasarımı.....	48
Şekil 2.20 Örnek bir yanıt yüzeyi profili	49
Şekil 3.1 PHCl'nin HCl ile hazırlanan kalibrasyon grafiği	51
Şekil 3.2 (a) Aljinat ve PHCl içeren ilaç çözeltisinin hazırlanması, (b) Kitosan ve CaCl ₂ içeren jelasyon çözeltisinin hazırlanması	54
Şekil 3.3 PHCl yüklü aljinat-kitosan taneciklerinin iyonotropik jelasyon yöntemi ile elde edilişi.....	55
Şekil 3.4 PHCl yüklü aljinat-kitosan taneciklerinin hazırlanması	55
Şekil 3.5 (a) Kurutma öncesi, ıslak PHCl yüklü aljinat- kitosan tanecikleri (b) Kurutma öncesi, ıslak boş aljinat-dekstrin-kitosan tanecikleri.....	56

Şekil 3.6 (a) Kurutma öncesi, ıslak PHCl yüklü aljinat-dekstrin-kitosan tanecikleri (b) Kurutma öncesi, ıslak boş aljinat-dekstrin-kitosan tanecikleri	57
Şekil 4.1 (a) Yumurta-kafes modelinde kalsiyum-aljinat yapısı (b) Aljinat-kitosan yapısı (c) PHCl yüklü aljinat-kitosan yapısı (d) PHCl yüklü aljinat-dekstrin-kitosan yapısı	63
Şekil 4.2 Aljinat derişimin enkapsülasyon verimi ve ilaç içeriğine etkisi (%0,2 (w/v) kitosan, %1,5 (w/v) CaCl ₂ , pH 4,0)	65
Şekil 4.3 %1(w/v) aljinat derişiminde elde edilen PHCl yüklü aljinat-kitosan tanecikleri. (a) Islak tanecikler. (b) Kurutulmuş tanecikler	66
Şekil 4.4 Kitosan derişimin enkapsülasyon verimi ve ilaç içeriğine etkisi (%2 (w/v) aljinat, %1,0 (w/v) CaCl ₂ , pH 4,0)	68
Şekil 4.5 Asetik asit derişimin enkapsülasyon verimi ve ilaç içeriğine etkisi (%2 (w/v) aljinat, %0,2 (w/v) kitosan, %1,0 (w/v) CaCl ₂ , pH 4,0)	70
Şekil 4.6 Jelleştirme süresinin enkapsülasyon verimi ve ilaç içeriğine etkisi (%2 (w/v) aljinat, %0,2 (w/v) kitosan, %1,0 (w/v) CaCl ₂ , pH 4,0)	71
Şekil 4.7 CaCl ₂ derişimin enkapsülasyon verimi ve ilaç içeriğine etkisi (%2,0 (w/v) aljinat, %0,2 (w/v) kitosan, pH 4,0)	73
Şekil 4.8 Kitosan ve CaCl ₂ derişimlerinin enkapsülasyon verimine etkisi)	74
Şekil 4.9 Jelasyon çözeltisinin pH değeri ve kitosan derişiminin enkapsülasyon verimine etkisi)	76
Şekil 4.10 Dekstrin derişiminin enkapsülasyon verimi ve %ilaç içeriğine etkisi	77
Şekil 4.11 % 2 (w/v) aljinat, %0,2 ve % 0,4(w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl ₂ (pH 4) koşulu için kümülatif ilaç salım grafiği (Enkapsülasyon verimi 79sırasıyla %81,2 ve %84,5)(4 saat, pH 1,2)	79
Şekil 4.12 % 2 (w/v) aljinat, %0,2 ve % 0,4(w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl ₂ (pH 4,5) koşulu için kümülatif ilaç salım grafiği (Enkapsülasyon verimi 79sırasıyla %83,7 ve %83,3) (4 saat, pH 1,2)	79
Şekil 4.13 % 2 (w/v) aljinat, %0,6 (w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl ₂ (pH 4) koşulu için kümülatif ilaç salım grafiği (Enkapsülasyon verimi %88,5) (4 saat, pH 1,2)	80
Şekil 4.14 % 2 (w/v) aljinat, %0,6 (w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl ₂ (pH 4,5) koşulu için kümülatif ilaç salım grafiği (Enkapsülasyon verimi %89,8) (4 saat, pH 1,2)	80
Şekil 4.15 %0,08 (w/v) kitosanla kaplı % 2 (w/v) aljinat, %0,6 (w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl ₂ (pH 4,5) koşulunda hazırlanan taneciklerin kümülatif ilaç salım grafiği (Enkapsülasyon verimi %89,8)(4 saat, pH 1,2)	81
Şekil 4.16 %0,2 (v/v) glutaraldehit ile kaplı % 2 (w/v) aljinat, %0,6 (w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl ₂ (pH 4,5) koşulunda hazırlanan taneciklerin kümülatif ilaç salım grafiği (Enkapsülasyon verimi %89,8)(4 saat pH 1,2)	82

Şekil 4.17 %0,08 (w/v) kitosan sonrasında %0,2 (v/v) glutaraldehit ile kaplanan % 2 (w/v) aljinat, %0,6 (w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl ₂ (pH 4,5) koşulunda hazırlanan taneciklerin kümülatif ilaç salım grafiği (Enkapsülasyon verimi %89,8) (4 saat, pH 1,2)	83
Şekil 4.18 %0,5 (v/v) glutardialdehit ile kaplanan % 2 (w/v) aljinat, %0,6 (w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl ₂ (pH 4,5) koşulunda hazırlanan taneciklerin kümülatif ilaç salım grafiği (Enkapsülasyon verimi %89,8) (4 saat, pH 1,2)	84
Şekil 4.19 %1 (v/v) glutardialdehit ile kaplanan % 2 (w/v) aljinat, %0,6 (w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl ₂ (pH 4,5) koşulunda hazırlanan taneciklerin kümülatif ilaç salım grafiği (Enkapsülasyon verimi %89,8) (4 saat, pH 1,2)	84
Şekil 4.20 %1,5 (v/v) glutardialdehit ile kaplanan % 2 (w/v) aljinat, %0,6 (w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl ₂ (pH 4,5) koşulunda hazırlanan taneciklerin kümülatif ilaç salım grafiği (Enkapsülasyon verimi %89,8).....	85
Şekil 4.21 %0,5-1-1,5 (v/v) glutardialdehit ile kaplanan % 2 (w/v) aljinat, %0,6 (w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl ₂ ve %1 (w/v) dekstrin (pH 4,5) koşulunda hazırlanan taneciklerin kümülatif ilaç salım grafiği (Enkapsülasyon verimi %89,8)(4 saat, pH 1,2)	86
Şekil 4.22 %0,5-1-1,5 (w/v) dekstrin ile kaplanan % 2 (w/v) aljinat, %0,6 (w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl ₂ (pH 4,5) koşulunda hazırlanan taneciklerin kümülatif ilaç salım grafiği (Enkapsülasyon verimi %89,8) (4 saat, pH 1,2)	86
Şekil 4.23 % 2 (w/v) aljinat, %0,6 (w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl ₂ (pH 4,5) koşulu ve farklı derişimlerde dekstrin için % kümülatif ilaç salımı (4 saat, pH 1,2)	87
Şekil 4.24 Enkapsülasyon verimi için elde edilen deneysel veriler ile modelden tahmin edilen değerlerin değişimi	93
Şekil 4.25 A: Aljinat derişimi%(w/v) ile B: Kitosan derişiminin %(w/v) % enkapsülasyon verimine ikili etkisinin izohips eğrileri ile gösterimi (C: CaCl ₂ %1 (w/v), D: pH 4,5)	95
Şekil 4.26 A: Aljinat derişimi%(w/v) ile C: CaCl ₂ derişiminin %(w/v) % enkapsülasyon verimine ikili etkisinin izohips eğrileri ile gösterimi (B: Kitosan %0,4 (w/v), D: pH 4,5)	96
Şekil 4.27 A: Aljinat derişimi%(w/v) ile D: pH değerinin % enkapsülasyon verimine ikili etkisinin izohips eğrileri ile gösterimi (B: Kitosan %0,4 (w/v), C: CaCl ₂ %1(w/v)	97
Şekil 4.28 B: Kitosan derişimi %(w/v) ile C: CaCl ₂ derişiminin %(w/v) % enkapsülasyon verimine ikili etkisinin izohips eğrileri ile gösterimi (A: Aljinat %2,5 (w/v), D: pH 4,5)	98
Şekil 4.29 B: Kitosan derişimi %(w/v) ile D: pH değerinin % enkapsülasyon verimine ikili etkisinin izohips eğrileri ile gösterimi (A: Aljinat %2,5 (w/v), C: CaCl ₂ %1 (w/v).....	99

Şekil 4.30 C: CaCl ₂ derişimi %(w/v) ile D: pH değerinin % enkapsüasyon verimine ikili etkisinin izohips eğrileri ile gösterimi (A: Aljinat %2,5 (w/v), B: Kitosan %0,4 (w/v).....	100
Şekil 4.31 Salım yüzdesi için elde edilen deneysel veriler ile modelden tahmin edilen değerlerin değişimi	103
Şekil 4.32 A: Aljinat derişimi %(w/v) ile B: Kitosan derişiminin %(w/v) salım yüzdesi üzerine ikili etkisinin izohips eğrileri ile gösterimi (C: CaCl ₂ %1 (w/v), D: pH 4,5).....	104
Şekil 4.33 A: Aljinat derişimi %(w/v) ile C: CaCl ₂ derişiminin %(w/v) salım yüzdesi üzerine ikili etkisinin izohips eğrileri ile gösterimi (B: Kitosan %0,4 (w/v), D: pH 4,5)	105
Şekil 4.34 A: Aljinat derişimi %(w/v) ile D: pH değerinin salım yüzdesi üzerine ikili etkisinin izohips eğrileri ile gösterimi (B: Kitosan %0,4 (w/v), C: CaCl ₂ %1(w/v)	106
Şekil 4.35 B: Kitosan derişimi %(w/v) ile C: CaCl ₂ derişiminin %(w/v) salım yüzdesi üzerine ikili etkisinin izohips eğrileri ile gösterimi (A: Aljinat %2,5 (w/v), D: pH 4,5).....	107
Şekil 4.36 B: Kitosan derişimi %(w/v) ile D: pH değerinin salım yüzdesi üzerine ikili etkisinin izohips eğrileri ile gösterimi (A: Aljinat %2,5 (w/v), C: CaCl ₂ %1 (w/v).....	108
Şekil 4.37 C: CaCl ₂ derişimi %(w/v) ile D: pH değerinin salım yüzdesi üzerine ikili etkisinin izohips eğrileri ile gösterimi (A: Aljinat %2,5 (w/v), B: Kitosan %0,4 (w/v).....	109
Şekil 4.38 Optimum koşullar için ilaç salım profili (4 saat, pH 1,2) (%1,75 (w/v) aljinat, %0,68 (w/v) kitosan, % 1,77 (w/v) CaCl ₂ , pH 3,79, enkapsüasyon verimi=83,7)	110
Şekil 4.39 Optimum koşullar için ilaç salım profili (%1,75 (w/v) aljinat, %0,68 (w/v) kitosan, % 1,77 (w/v) CaCl ₂ , pH 3,79, enkapsüasyon verimi=83,7) (4 saat, pH 1,2)	111

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Deneysel tasarım yönteminin seçilmesi.....	43
Çizelge 3.1 Jelasyon çözeltisinde kalan PHCl derişimine göre oluşturulan kalibrasyon grafiklerinde kullanılan kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanma koşulları.....	53
Çizelge 3.2 Polimer ve jelleştirici ajan derişimleri, jelleştirme süresi ve jelasyon çözeltisinin pH değerleri	60
Çizelge 3.3 Çok katmanlı taneciklerin oluşturulduğu koşullar	61
Çizelge 3.4 Çapraz bağlayıcı etkisinin enkapsülasyon verimine etkisinin incelendiği deney koşulları	61
Çizelge 4.1 İlaç salımlarının gerçekleştirildiği tanecik koşulları.....	78
Çizelge 4.2. Merkezi kompozit tasarım parametreleri ve seviyeleri.....	89
Çizelge 4.3 Merkezi kompozit tasarım matrisi ve sonuçlar	90
Çizelge 4.4 Cevap yüzey yöntemi ile enkapsülasyon verimi için elde edilen modelin varyans analizi (ANOVA).....	91
Çizelge 4.5 Yanıt Yüzey Yöntemi ile sonucunda enkapsülasyon verimi için elde edilen standart sapma, R ² ve yeterli kesinlik ve varyasyon katsayısı değerleri.....	93
Çizelge 4.6 Cevap yüzey yöntemi ile salım yüzdesi için elde edilen modelin varyans analizi (ANOVA)	101
Çizelge 4.7 Yanıt Yüzey Yöntemi ile sonucunda salım yüzdesi için elde edilen standart sapma, R ² ve yeterli kesinlik ve varyasyon katsayısı değerleri ...	102

1. GİRİŞ

Teknolojinin gelişmesi ile birlikte ilaçların hedeflenen bölgeye gönderilmesi, toksik etkilerinin azaltılması, hastalara bakım ve tedavi kolaylığı sağlanması, düşük dozla tedavi olanağının sunulması amaçlanmış ve kontrollü salım sistemleri geliştirilmeye başlanmıştır. Kontrollü salım sistemlerinde ilaç canlı organizmaya çeşitli yollardan ve çeşitli taşıyıcı sistemler ile verilmektedir. İlaç taşıyıcı sistemlerin fizikokimyasal özellikleri değiştirilerek morfolojik özellikleri geliştirilebilmekte, ilaç taşıyıcı sistemler arasında konjugatların veya iyonik komplekslerin oluşturulması ise sistem dayanıklı hale gelmekte hedeflenen çalışma için istenilen özellikler kazandırılabilir.

İlaç salım sistemlerinde ilaç taşıyıcı sistem olarak polimer-etken madde konjugatları sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak polimerlerin toksik özellik gösterebilmeleri, hazırlanma aşamalarının çok zahmetli ve pahalı olması yapılan çalışmalarda doğal polimer kullanımının araştırılmasına hız vermiştir. Doğal polimerler biyopolimer olup doğal kaynaklardan elde edilirler. Biyopolimerlerin elde edilişi kolay ve ekonomiktir. Biyopolimerler, biyouyumluluk gösterdikleri için toksik değildir, biyobozunur özelliğe sahiptir. Son yıllarda kontrollü salım uygulamalarında biyopolimerlerin kullanımı ile toksik olmayan ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilebilir, kararlı taşınımı sağlanabilir, kullanımı zor ilaçlar oral yoldan kolay uygulanabilir, ilaç salımı istenilen sürede ve kontrollü şekilde gerçekleştirilebilir hale gelmiştir.

Katyonik bir biyopolimer olan kitosan ve anyonik bir biyopolimer olan aljinatın aralarındaki iyonik etkileşim sonucu polielektrolit kompleksler oluşmakta ve bu kompleksler ile biyoyapışma, fizikokimyasal yapının sağlamlaşması, biyouyumluluk, biyobozunurluk, doku plazmasında kalma süresi, pH hassasiyeti özellikleri değiştirilebilmektedir.

Kitosan ve aljinat polielektrolit kompleksleri, kontrollü ilaç salımında oral yoldan taşınması zor olan veya pH hassasiyeti bulunan, fiziksel koşullara veya vücut ortamında stabilitesi az olan, büyük veya küçük molekül kütlesine sahip ilaçların yüklenmesinde

ve canlı organizmaya aktarılmasında gelecek vadeden bir taşıyıcı materyal olarak düşünülmektedir.

Gastrointestinal (mide-bağırsak) bölgede ilaç emilimi birçok değişkenden etkilenen oldukça karmaşık bir süreçtir. En sık tercih edilen ve alışılmış bir ilaç iletim yolu olan oral yoldan kullanımlarda pH hassasiyeti bulunan, çözünürlüğü az ve yarı ömrü kısa olan ilaçların gastrointestinal sistemde hedeflenen bölgede uzun süre kalamaması ve biyoyararlanımlarının düşük olması karşılaşılan zorluklardandır. Oral kontrollü salım çalışmaları ile ilacın hedeflenen bölgede istenen sürede kalması, sürekli veya geciktirmeli olarak salım yapması amacıyla çeşitli ilaç iletim sistemleri tasarlanmıştır. Bu sistemler biyoyapışma, şişme, yüzme özellikleri ile manyetik özellikler kazandırılan biyopolimer matrislerinden meydana gelmektedir.

Gastrik (mide) bölgede istenen ilaç miktarının korunması amacıyla pekçok dozaj formu geliştirilmektedir. Biyoyapışkan, yüzen, şişme kontrollü, matris kontrollü, manyetik özellikli ve modifiye edilmiş biyopolimerler ile oluşturulan hidrojel yapıları ilacın gastrik bölgede düşük pH ortamında yapısının korunarak uzun süre kalmasını, sürekli veya geciktirilmiş salım yapmasını sağlayarak biyoyararlanımını arttırmaktadır.

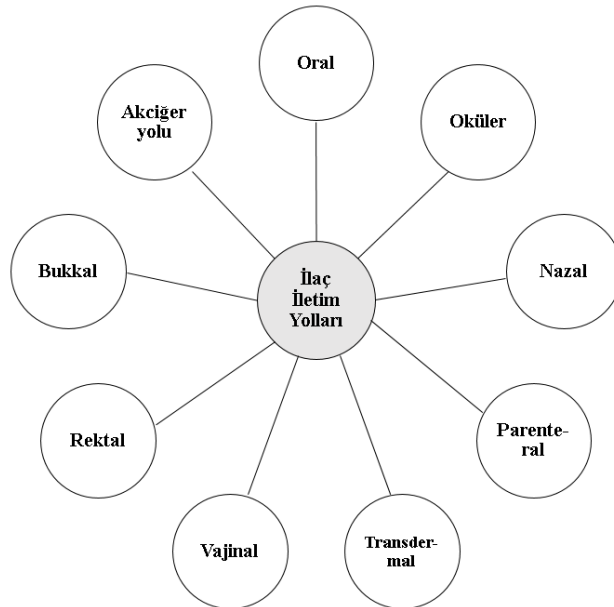
Bu çalışmada ise, yarı ömrü kısa olan, pH duyarlılığı bulunan, biyoyararlanımı düşük bir beta bloker olan propranolol hidroklorürün (PHCl) birer biyopolimer olan kitosan ve aljinatın fizikokimyasal özellikleri nedeniyle oluşturduğu polielektrolit komplekse iyonotropik jelasyon yöntemi kullanılarak en yüksek enkapsülasyon verimi için gerekli optimum koşulların belirlenmesi hedeflenmiştir. Belirlenen optimum koşullarda propranolol hidroklorürün mide hedefli kontrollü salımı için gerekli uygun yöntem ve koşullar incelenmiştir. Biyopolimer derişimlerinin (aljinat, kitosan ve dekstrin), iyonotropik jelasyonda jelleştirme ajanı olarak görev yapan kalsiyum klorür (CaCl_2) derişiminin, kitosan çözeltisi hazırlanırken kullanılan asetik asit derişiminin ve jelasyon çözeltisinin pH değerinin enkapsülasyon verimine etkileri incelenmiştir. En yüksek enkapsülasyon veriminin elde edildiği koşul için PHCl yüklü aljinat-kitosan ve aljinat-dekstrin-kitosan taneciklerinden mide hedefli salım çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1 Kontrollü Salım Sistemleri

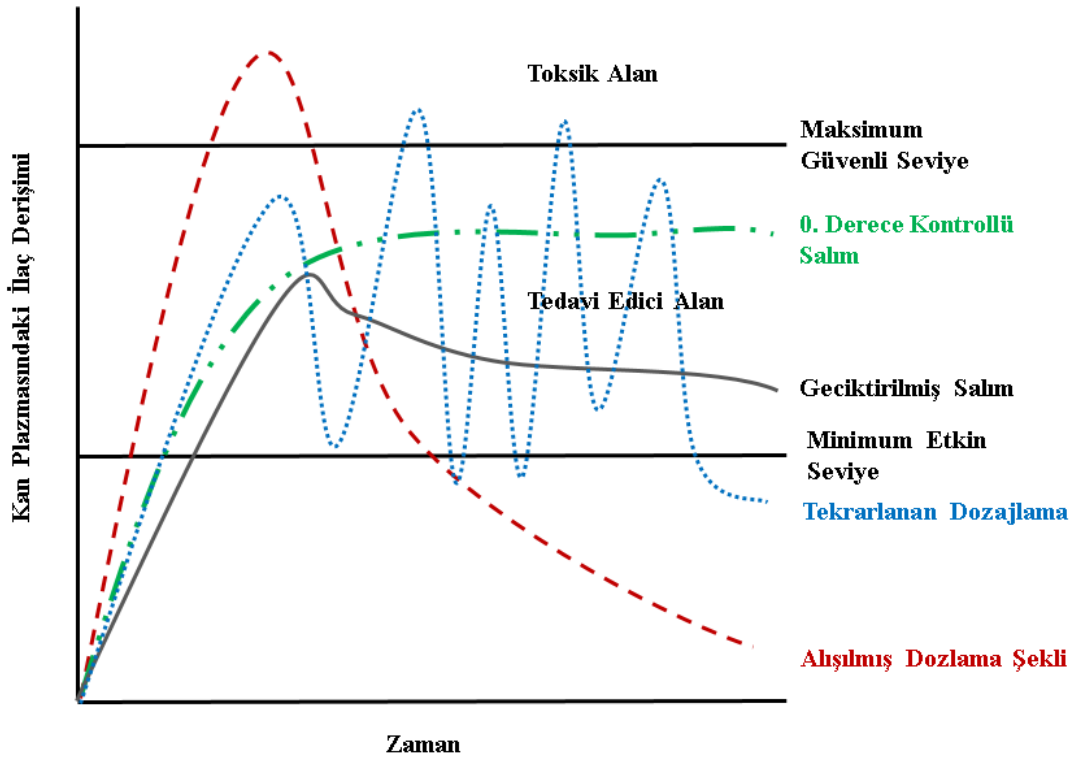
Canlı organizmada meydana gelen rahatsızlıklar, hastalıklar ilkel zamanlarda bitkisel karışımlarla, gıda maddeleri ile giderilmeye çalışılmış; kimya ve tıp biliminin gelişmesi ile bu amaçla kimyasal yollardan ilaçlar sentezlenmiş, günümüzde önem kazanan nanoteknoloji ve biyoteknoloji kullanılarak akıllı ilaçlar ve iletim sistemleri kullanılmaya başlanmıştır.

İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'na göre ilaç; “insanlardaki hastalığı tedavi edici veya önleyici özelliklere sahip olarak sunulan veya farmakolojik, immünolojik veya metabolik etki göstererek fizyolojik fonksiyonları düzeltmek, iyileştirmek veya değiştirmek veya tıbbi teşhis amacıyla insanlarda kullanılan veya insana uygulanan madde veya maddeler kombinasyonu” olarak tanımlanır. İlaçların hastaya farklı dozlarda ve farklı miktarlarda verilmesi ilaç salım sistemlerinin temelini oluşturur. İlaç hastaya ağızdan oral yol, burundan nazal yol, deri üzeri uygulamalarıyla transdermal yol, akciğer yolu, damar içi- kas içi yol ve oküler yoldan verilebilmektedir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 Yaygın olarak kullanılan ilaç iletim yolları

Oral yoldan kullanım için geliştirilen ilaç iletim sistemleri geleneksel ilaç iletim sistemleridir (Sunna 2012). Bu sistemler ilacın hızlı emilmesi ve salınması için tasarlanmıştır. Geleneksel ilaç iletim sistemlerinde ilaç alındıktan bir süre sonra kan plazmasındaki ilaç derişimi azalır. %Bu sebeple kapsüller, tabletler gibi klasik ilaç formlarının sık ve tekrarlanan dozlarda alınması ile plazmadaki etken madde düzeyi sabit tutulmaya çalışılır. Etken maddenin kan plazmasındaki derişimi, ilacın metabolize edilme hızı ya da yarılanma ömrüne bağlıdır, sık ve tekrarlanan dozajlama sonrasında ilaç derişimi minimum etkin seviyenin altına düşebilir veya toksik bölgeye çıkabilir. Kan plazmasındaki ilaç derişimini gösteren şekil 2.2 incelendiğinde minimum etkin seviyenin altına düşen ve maksimum güvenli seviye üzerine çıkan ilaç derişiminin tedavi edici bölgede olmadığı görülebilir. Maksimum güvenli seviye üzerine çıkan ilaç derişimi hastada istenemeyen yan etkilere sebep olabilir.



Şekil 2.2 Kan plazmasındaki ilaç derişiminin zamanla değişiminin çeşitli ilaç salım şekilleri ile karşılaştırılması (Das ve Pal 2015'ten değiştirilerek alınmıştır)

Sistemik dolaşıma verilen ilaç miktarını en aza indirmek, hastanın olası yan ve toksik etkilerden etkilenmemesini sağlamak ilaç salım sistemlerinin asıl hedefini

oluşturmaktadır. Teknolojinin gelişmesi ile birlikte ilaç salımının düzenli ve kontrollü bir şekilde gerçekleştirilebilmesi, hastalara daha kolay ve rahat tedavi olanağı sağlanabilmesi amacıyla araştırmalar yapılmaya başlanmış ve kontrollü salım sistemleri ortaya çıkmıştır.

Organizma için gerekli etken maddenin salım hızını kontrol edilmesini ve hedef doku veya organda toplanmasını sağlayan sistemler kontrollü salım sistemleri olarak adlandırılır (Park 2014). Kontrollü salım sistemlerinin amaçları; ilacın sadece patolojik bölgede etki göstermesini sağlamak, ilaç dozunu minimuma indirmek, dozlama aralığını uzatmak, ilaçların toksik olabilecek yan etkilerini azaltmak olarak sıralanabilir. Kontrollü salım sistemleri, tıp, kimya, eczacılık, veterinerlik, tarım-çevre alanlarında kullanılmaktadır.

1950-1980 yılları arasında 1. Nesil olarak adlandırılan çalışmalar sonucunda oral yoldan günde bir doz veya iki doz olarak ilaç alınmasının etkilerinin araştırılması ile kontrollü salım sistemlerinin temeli atılmıştır. Bu çalışmayı haftada bir transdermal yoldan uygulanan tedavilerin araştırılması ve salımların belirli mekanizmalara göre gerçekleştiğinin keşfedilmesi izlemiştir. 2. Nesil olarak adlandırılan 1980-2010 yılları arasındaki çalışmalarda ise salım kinetikleri araştırılmış, akıllı polimer ve hidrojel sistemleri geliştirilerek çevreye duyarlı salım sistemleri geliştirilmiş, protein ve peptit yapıdaki ilaçların salımı için yöntemler üzerinde durulmuş ve sıklıkla nanopartiküller kullanılmıştır. 2010 yılından günümüze kadar olan çalışmaları kapsayan 3. Nesil araştırmalarda ise çevre-ortam hassasiyeti bulunan sistemler geliştirilmiş, kanser ilaçlarının kontrollü ve hedefli olarak salımı üzerinde çalışmalar gerçekleştirilmiş ve uzun süreli salım teknikleri üzerinde çalışılmıştır (Park 2014).

Kontrollü salım sistemlerinin avantajları;

- Etken maddenin plazma düzeyinde sabit kalması sağlanmaktadır.
- Vücut içi yarılanma ömrü uzatılıp ve parçalanma engellenebilmektedir.
- Hedeflendirme yapılarak istenilen bölge, organ, doku veya hücreye ilaç salımı gerçekleştirilebilmektedir.

- Hastanın etkin ilaç alımının sağlanması ile düşük dozla tedavi sağlanabilmektedir.
- Hastalar için bakım kolaylığı ve yaşam kaliteleri artmaktadır.

Kontrollü salım sistemleri ile ilacın lokal veya sistemik yan etkileri ortadan kaldırılabılır veya en aza indirilebilir. İlacın biyoyararlanımı arttırabildiği için tedavide verimlilik sağlanır. İlaç miktarı azaltılıp, dozlama aralığı uzatıldığı için uzun bir süre boyunca ortalama tedavi maliyeti düşürülebilir.

Dezavantajları;

- Her ilacın kontrollü salıma uygunluğu ve her ilaç için tek bir hazırlama yöntemi bulunmamaktadır.
- Vücuda verildikten sonra istenildiği an ilaç salımı durdurulamamaktadır.
- Polimerlerin kendisinin veya ürününün toksik etki ve biyouyumsuzluk gösterme ihtimali mevcuttur.
- Polimer veya sistemin formülasyonunun maliyeti yüksek olabilmektedir.

Kontrollü salım aşamaları; ilacın öncelikle canlı organizmaya taşınması, ilaç etken maddesinin ilaç taşıyıcı sistemden canlı organizma ortamına aktarılması, etken maddenin güvenli ve etkili olarak kana karışıp dokulara dağılması ve canlı dışına atılması olarak sıralanabilir. Salım aşamalarında etken madde ilaç taşıyıcı sistemden canlı organizmaya osmoz, difüzyon, iyon değişimi, çözünme ve bunların birkaçının kombinasyonundan oluşan mekanizmalarla taşınır.

Kontrollü salımda en çok kullanılan taşıyıcı metaryeller; nanopartiküller (nanoküreler ve nanokapsüller), lipozomlar, miseller, dendrimer, etken madde- polimer konjugatları olarak sıralanabilir. İlaç taşıyıcı metaryel ve ilaç etken maddesinden oluşan ilaç taşıyıcı sistemler;

- İnert olmalı,
- Vücutta parçalanır olmalı,

- Hedeflenen bölgeye ulaşması için gereken sürede etken maddeyi sızdırmadan taşıyabilmeli,
- Fiziksel koşullarda dayanıklı olmalı,
- Farmasötik yönden kararlı olmalı,
- Suda veya yağda çözünebilen etken maddelerinin gerekli miktarlarını taşıyabilmeli,
- Toksik olmamalıdır.

2.1.1 Oral kontrollü salım sistemleri

Oral kontrollü salım sistemleri, ilaçların istenen ve değiştirilebilir kinetikte ve programlanabilir sürede gastrointestinal bölgede salımına olanak sağlamaktadır. Ayrıca ilaç etken maddesinin matris sistemlerine hapsedilmesiyle midenin yüksek asitli ortamında protein-peptid yapıdaki ilaçların yapılarının bozulmadan aktarılmasını sağlayıp, bazı ilaçların mide mukozasına zarar vermesini önlemektedir(Das ve Pal 2015). Oral kontrollü salım sistemlerinde ilacın istenen bölgede salımının gerçekleştirilmesi amacıyla kullanılan stratejiler; geciktirilmiş salım formulasyonları, pH duyarlı salım sistemleri, kolon mikroflorasında çözünen sistemler olarak özetlenebilir.

Oral kontrollü salım sistemleri çoğunlukla polimer-etken madde konjugatlarından oluşmaktadır. Polimerik bir ilaç salım sisteminde salım hızını etkileyen parametreler; etken maddenin partikül boyutu, hidrofilik özellik göstermesi, taşıyıcı polimerin hidrofobik özellikleri, oral kullanıma uygun dozaj formu olarak sıralanabilir (Bader ve Putnam 2014).

İlacın oral dozaj formundan salımını mekanizması genellikle difüzyon, gastrointestinal bölgede belirli bir pH'ta çözünme, şişme, biyorozyon ya da degradasyon, osmotik basınç ve iyon değişimi kontrollü salım sistemleri ile düzenlenir (Sunna 2012, Bader ve Putnam 2014). Difüzyon kontrollü salım sistemleri, etken maddenin kapsül tipinde taşıyıcıya yüklenmesi ya da dışının polimerik matrisle kaplandığı sistemleri içermektedir (Şahin 2018). Bu sistemlerde, ilacın salımını gerçekleştiren yürütücü güç

sistemin içi ve dışı arasındaki ilaç derişim farkıdır. Biyoerozyonya da degradasyona uğrayan biyopolimerin kullanıldığı sistemlerde polimer zincirleri hidroliz veya enzimatik reaksiyonlar sonucu kırılır ve ilaç salımı gerçekleşir. Ozmos kontrollü salım sistemlerinde, taşıyıcı sistemin dıŐında bulunan yarı geçirgen polimerik zar üzerinden su molekülleri, ilaç yoğunluğunun az olduğu yerden çok olduğu bÖlgeye hareket etmektedir (Şahin 2018). Bazı ilaç-polimer formulasyonları ise gastrointestinal sıvı ile temas ettiğinde ŐiŐerek ilacın salınmasını sağlar.

Başarılı bir polimerik kontrollü salım sisteminin tasarımı, ilacın emilme sÜreci ile birlikte ilaç iletim sisteminin gastrointestinal bÖlgenin farklı kısımlarındaki etkileşimleri dÜŐünülerek yapılmış olmalıdır (Bader ve Putnam, 2014).

Oral kontrollü salım sistemlerinin konvansiyonel tablet ve kapsül tedavilerinin yanı sıra pek çok avantajı bulunmaktadır. Bu salım sistemlerinde hem hidrofilik hem de hidrofobik polimerler kullanılarak etken maddenin kan plazmasında istenilen seviyede ve sÜrede stabil kalmasını sağlamaktadır. Bu sistemin kullanılması ile kan plazmasındaki ilaç derişiminde meydana gelebilecek dalgalanmaların önüne geçilebilir ve bu durum ilaç derişiminin toksik bÖlgeye çıkmasına ve minimum etkin bÖlgenin altında kalmasını engeller. Dozlama aralıkları etken maddenin emilme davranıŐına ve iletim sisteminin kinetiğine göre uzatılabilir. Uzatılan dozlama aralıkları sebebiyle yan etkiler azaltılabilir ve bu sayede hasta-tedavi uyumu arttırılabilir.

Oral kontrollü salım sistemlerinde ilaç salımı birkaç saat içinde gerçekleşir ve salım kinetiğini anlamak amacıyla belirli analitik kinetik modellerin yanı sıra deneysel ve yarı-ampirik modeller kullanılabilir. Analitik modeller belirli koşullar için hesaplama kolaylığı amacıyla kullanılırken, sistemin analitik çözÜmlerinin bulunmadığı veya sistemin daha detaylı modellenebilmesi amacıyla sayısal modeller kullanılmaya başlanmıştır.

Salım sistemlerinin kinetik hesaplamalarının yapılabilmesi amacıyla kullanılan analitik modeller aşağıdaki gibidir (Bader ve Putnam 2014; Kahraman 2016):

Sıfırıncı dereceden salım modeli; her zaman aralığı için aynı miktarda ilacın salımını modellemektedir. Salım hızı yavaştır. Sıfırıncı dereceden salımın matematiksel modeli eşitlik 2.1’de verilmiştir. Eşitlik 2.1’deki Q_t t zamanındaki ilaç miktarı, Q_0 başlangıçta ortamda bulunan ilaç miktarı (genellikle $Q_0=0$), K_0 sıfırıncı derece salım katsayısıdır.

$$Q_t = Q_0 + K_0 t \quad (2.1)$$

Birinci dereceden salım modeli; salınan ilaç miktarının matraste kalan ilaç miktarıyla doğru orantılı olduğunu ifade etmektedir. Birinci dereceden salımın matematiksel formülasyonu eşitlik 2.2’de verilmiştir. Eşitlik 2.2’deki Q_t t zamanındaki ilaç miktarı, Q_0 başlangıçta ortamda bulunan ilaç miktarı (genellikle $Q_0=0$), K_1 birinci derece salım katsayısıdır.

$$\ln Q_t = \ln Q_0 + K_1 t \quad (2.2)$$

Higuchi modeli; Higuchi modeli, ilaç salımını eşitlik 2.3’te görüldüğü gibi zamanın karekökü ile orantılı olarak tanımlar. Difüzyon kontrollü salım sistemlerinin analitik modellenmesi için kullanılmaktadır (Şahin 2018). Eşitlik 2.3’teki Q_t t zamanındaki ilaç miktarı, K_H Higuchi çözünme katsayısıdır.

$$Q_t = K_H \sqrt{t} \quad (2.3)$$

Hixson-Crowell modeli; ilaç salım sisteminin yüzey alanının değiştiği durumlarda, partiküller veya tabletlerden ilaç salımının modellenmesi amacıyla kullanılmaktadır. Parçacık/partikül alanlarının, hacimlerinin küp kökü ile orantılı olduğunu ifade etmektedir. Modelin matematiksel formülasyonu eşitlik 2.4’te verilmiştir. Eşitlik 2.4’te yer alan Q_t , t zamanındaki ilaç miktarı, Q_0 başlangıçta ortamda bulunan ilaç miktarı (genellikle $Q_0=0$), K_{HC} yüzey-hacim ilişkisini oluşturan Hixson-Crowell sabitidir.

$$\sqrt[1/3]{Q_0} - \sqrt[1/3]{Q_t} = K_{HC} t \quad (2.4)$$

Korsmeyer-Peppas modeli; polimer bazlı sistemlerden ilaç salımının modellemesini ifade etmektedir. İlaç salımı geçen süreyle üssel olarak artmaktadır(Şahin, 2018). Eşitlik 2.5'te verilen bu denklemde alan Q_t , t zamanındaki ilaç miktarı, Q_∞ denge anındaki ilaç miktarı, K_k , salım sabiti, n ise salım üstelidir.

$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = K_k t^n \quad (2.5)$$

2.2 Kontrollü Salımda Doğal Polimerlerin Önemi

Son yıllarda, kontrollü salım sistemlerinde ilaç taşıyıcı materyel olarak polimerlerin kullanılması sağladıkları avantajlar sebebi ile yaygın bir hale gelmiştir. Kontrollü salım uygulamalarında kullanılan polimerlerin biyolojik sistemle uyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilme yani biyobozunur özelliklere sahip olması gerekmektedir. Biyopolimerler kaynaklarına göre doğal ve sentetik biyopolimer olarak adlandırılmaktadır (Tunçay ve Çalış 1999). Biyopolimerlerin, biyobozunurluk, sitotoksitesite, su tutma kapasiteleri ve pH duyarlılıkları gibi eşsiz özelliklere sahip olması, araştırmacıları biyopolimerleri biyomedikal çalışmalarda kullanmaya yönlendirmiştir. Biyopolimerlerin biyolojik olarak parçalanabilir olması, doğal dokularla benzerlik göstermesi, hem hidrofilik hem de hidrofobik ilaçları hapsedebilmeleri, kimyasal olarak çapraz bağlanabilmeleri, kimyasal ve fiziksel stabilitelerinin bulunması aynı zamanda oldukça kolay ve ekonomik olarak elde edilebilmeleri kontrollü ilaç salımında ve enkapsülasyon işlemlerinde sıklıkla tercih edilen bir biyomalzeme olmasını sağlamaktadır (Sunna 2012).

Sentetik biyopolimerler, birbirinin tekrarı olan monomerlerin oluşturduğu uzun zincirli yapılardır. Sentetik biyopolimerler, vücutta kimyasal reaksiyonlarla suda çözünebilir hale dönüşebilirler. Polilaktik asit, poligliserolik asit, poli(ortoesterler), polianhidritler, polikaprolakton, poliakrilamid, polietilen, polietilen vinil asetat ve polistiren sentetik biyopolimerlere örnek olarak verilebilir. Sentetik biyopolimerler ilaç taşıyıcı sistemde olması istenen özelliklere (molekül büyüklüğü, hidrofobitesite gibi) göre sentezlenebilmektedir. Ayrıca hazırlanmalarının kolay olması, yüksek saflıkta ve fazla

miktarda üretim olanaklarının bulunması sentetik biyopolimerler kullanımının avantajları arasında yer alır. Ancak vücut içerisinde toksik olmayan metabolitlere parçalanmasının uzun sürmesi ve siyanoakrilat partikülleri için bildirilen toksisite dezavantajlarındandır (Tunçay ve Çalış 1999).

Doğal biyopolimerler doğal kaynaklardan elde edilirler. Proteinler (albümin, jelatin, kolajen), polisakkaritler (nişasta, selüloz, kitosan, aljinat) doğal biyopolimerlere örnektir. Doğal biyopolimerlerin biyobozunma özellikleri sentetik biyopolimerlere kıyasla daha iyidir. Kolaylıkla metabolize edilebilirler. Suda çözünürlüğü yüksek olan ilaçlar için yüksek yükleme kapasitesine sahiplerdir. Doğal biyopolimerlerin üretilmesi ve saflaştırılma işlemleri sentetik biyopolimerlere göre daha zordur.

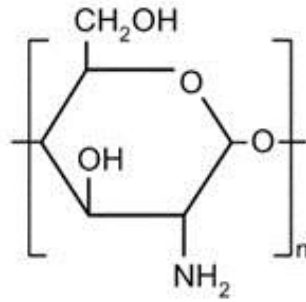
Biyopolimerlerin vücutta kontrol dışı parçalanabilme ihtimali olup, elastik ve viskoelastik özellikleri sebebiyle kullanımları sınırlanabilir. Ayrıca, katkı maddesi içermeyen medikal amaçlı kullanıma uygun biyopolimerlerin bulunması biyopolimerlerin dezavantajları olarak sayılabilir.

1980'lerde biyopolimerlerin ilaç taşıyıcı olarak kullanıldığı ilaç salım sistemleri ile ilgili ilk yayınlar ortaya çıkmaya başlamıştır. 2000 yılından sonra doğal biyopolimer kullanımı artmış ve kontrollü salım uygulamalarında oldukça yüksek bir kullanım alanına sahip olmuştur. Doğal biyopolimerler vücuttaki makromolekül veya dokulara benzerlik gösterdiği için canlı vücuduyla temas ettiklerinde toksik etki, iltihaplanma gibi istenmeyen reaksiyonlar göstermezler.

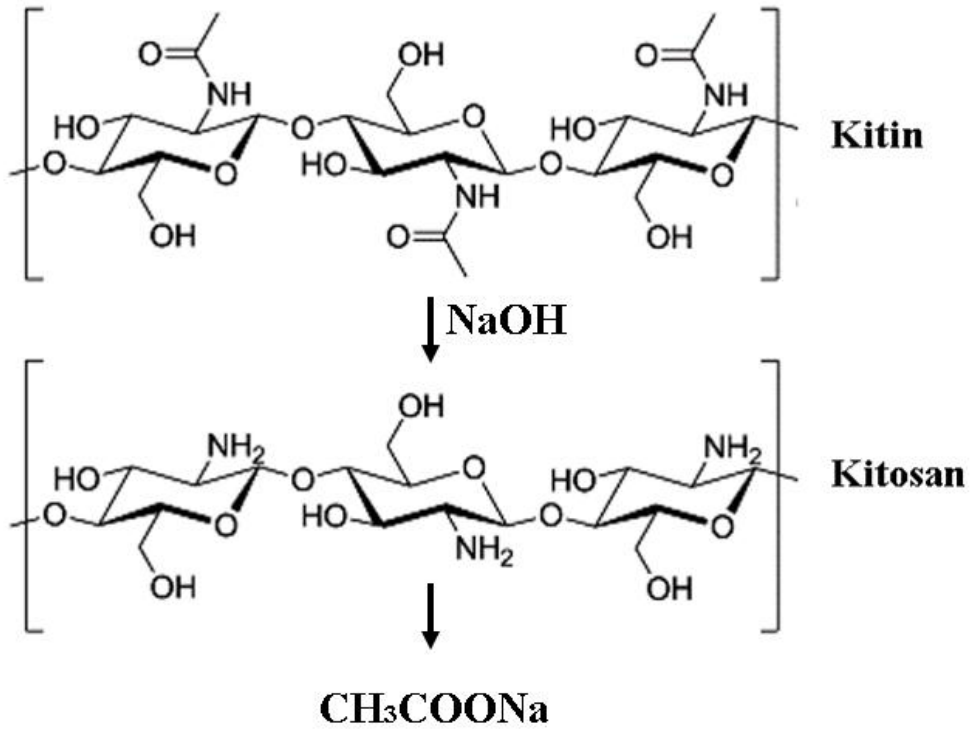
İlaç salım sistemlerinde en çok çalışılan doğal biyopolimer kabuklu deniz canlılarının kabuklarından elde edilen kitosan olup kitosanı dekstran, aljinat, jelatin gibi biyopolimerler takip etmektedir (Sunna 2012).

2.2.1 Kitosan

Kitosan [P-(1,4)-2-amino-2-deoksi-D-glukoz] doğada selülozdan sonra en çok bulunan, kitinin deasetilasyonu ile elde edilen bir heteropolisakarittir (Şekil 2.3). Deasetilasyon işlemi, kitin üzerinde yer alan asetilamino (-NH-CO-CH₃) gruplarının amino (-NH₂) gruplarına dönüştürülmesi işlemidir. Deasetilasyon işlemi kimyasal veya enzimatik olarak gerçekleştirilebilir. Kitinin birçok türevi bulunmakla beraber en çok kullanılmakta olan formu kitosan, yengeç ve karides gibi canlıların kabuklarından elde edilen kitinden üretilmektedir (Sunna 2012, Bulut ve Elibüyük 2017).

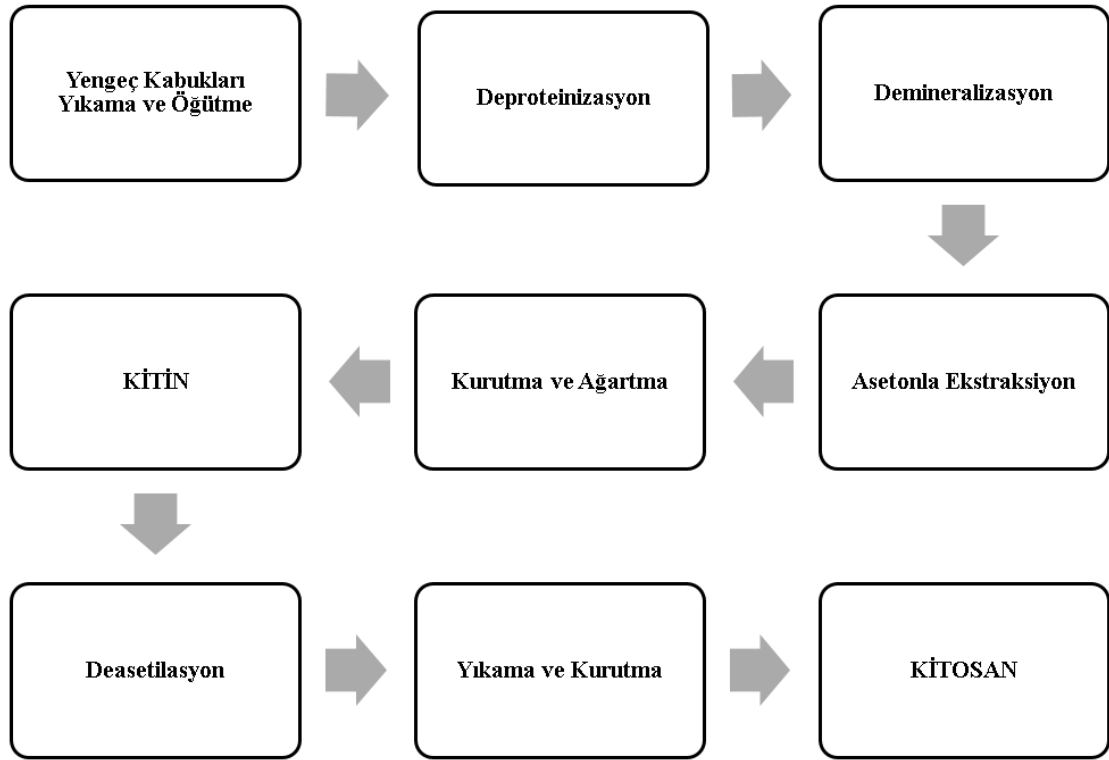


Şekil 2.3 Kitosanın kimyasal formülü (Sunna 2012)



Şekil 2.4 Kitinin NaOH ile deasetilasyonu sonucu kitosan eldesi

Kitosan, ilk kez Henri Braconnot tarafından 1811 yılında keşfedilmiştir. Braconnot, mantarlardan elde edilen kitini sülfürik asitte çözmeye çalışmış fakat başarılı olamamıştır. 1894 yılında Hoppe-Seyler kitini potasyum hidroksit içerisinde yüksek sıcaklıkta (180°C) çözmüş ve asetil içeriği az bir ürün olan kitosanı elde etmiştir (Bulut ve Elibüyük 2017). Günümüzde kabuklu deniz canlılarının kabuklarının asitler ve baz ile demineralizasyon ve deprotenizasyon işlemleri sonucunda elde edilen kitinin yüksek sıcaklıkta baz hidrolizi sonunda kitosan elde edilir (Bulut ve Elibüyük 2017) (Şekil 2.4-2.5). Kitosanın bu şekilde kimyasal olarak elde edilmesi kolay ve ekonomik bir işlemdir (Sunna 2012). Kitin ve kitosan arasında temel bir ayrım ölçüsü bulunmamaktadır. Kitosan terimi deasetilasyon derecesi %50'den fazla olan kitin türevleri için kullanılmaktadır. Deasetilasyon derecesi, deasetile edilmiş amino grupları (-NH₂) sayısı ile asetil-amin grupları (-NH-CO-CH₃) sayısının birbirine oranı olarak tanımlanmaktadır (Yıldırım vd. 2016). Deasetilasyon derecesi (DD) kitosanın sınıflandırılmasında kullanılmaktadır. Ticari kitosan %70-95 DD'ye sahiptir (Bulut ve Elibüyük 2017).



Şekil 2.5 Yengeç kabuklarından kitosan eldesi

Kitosanın yapısındaki amino grupları metalleri bağlama özelliği sağlamaktadır. Yapıda bulunan asetil-amino grupları ise kitosanın biyolojik ve immünolojik özelliklerini etkilemektedir. Kitosanı farklı kılan fizikokimyasal özellikleri; molekül ağırlığı, deasetilasyon derecesi, çözünürlüğü ve viskozitesidir(Kurtuluş ve Vardar 2020). Deasetilasyon derecesi, kitosanın karakterize eden en önemli parametrelerden biri olup; kitosanın molekül ağırlığı, çözünürlüğü, viskozitesi, biyobozunurluğu ve immünolojik aktivitesini etkilemektedir. Deasetilasyon derecesi arttıkça polimerin çözünürlük, kristalin yapı, viskozite, biyoyumluluk ve antimikrobiyal özellikleri artış gösterirken biyolojik parçalanma özelliği azalmaktadır (Hacettepe, Yıldırım vd. 2016). Molekül ağırlığındaki artış, çözünürlük ve biyolojik parçalanma ve antimikrobiyal özelliklerin azalmasına neden olurken, kristalin yapı ve viskozitenin artmasını sağlar. Kitosanın molekül ağırlığı ve deasetilasyon derecesi ise elde edildiği kitinin kaynağına, izolasyon yöntemine, deasetilasyon işlemi sırasında kullanılan NaOH derişimine, işlem süresi ve sıcaklığına bağlıdır (Yıldırım vd. 2016).

Kitosanın çözünürlüğü de karakteristik özelliklerinden biri olup kitosanın molekül ağırlığına, kitosan üretiminde kullanılan kitinin kaynağına, çözücü olarak kullanılan asidin çeşidi ve derişimine bağlı olarak değişmektedir. Kitosan suda, organik çözücülerde, nötral ve alkali pH'larda çözünmezken; asetik asit, formik asit, laktik asit gibi organik asit çözeltilerinde çözünür. Asidik ortamlarda çözünen kitosanın amino grupları proton bağlayarak pozitif yüklü hale gelir. (Yıldırım vd. 2016).

Kitosan fizikokimyasal, biyobozunurluk ve antimikrobiyal özellikleri göz önüne alındığında gıda, medikal, biyoteknoloji, kozmetik, atık su arıtımı ve ziraat gibi pek çok alanda kullanılabilir. Tıpta yapay deri, cerrahi ipliklerin yapımında ve diş dolgu maddesi olarak da kullanılmaktadır. Kozmetik alanında; saç, diş bakım ürünlerinde, nemlendirici kremlerde, deodorantlarda; besinlerde doğal kıvamlaştırıcı olarak, ayrıca filtreleme ve temizleme işlemlerinde; fotoğrafçılıkta da kullanılan bu polimer biyoteknolojide enzim, canlı hücre immobilizasyonu, kromatografik yöntemlerde kullanılmaktadır(George ve Abraham 2006). Katyonik yapısından ötürü ince bağırsakta yağları hapseder, gıda sektöründe lipit bağlayıcı olarak kullanılır. Metalleri bağlama özelliği bulunduğu için atık sulardan ağır metallerin ayrıştırılması

amacıyla kullanılır. Biyobozunur olup belirli insan enzimleri tarafından metabolize edilebilir. Düşük pH ortamında kolay çözünür, yüksek pH ortamında çözünmez. Gastrointestinal sistem mukozasına yapışmaya elverişli yapısı sebebi ile kontrollü ilaç salımı için oldukça uygun bir biyopolimerdir.

Kitosan çapraz bağlayıcılar varlığında kolayca jelleştirilebilir ve ilaç salımı ve/veya ilaç enkapsülasyonu için çeşitli özellikler kazandırılabilir. Tripolifosfat (TPP), kitosanın jelleştirilmesi amacıyla kullanılan en çok bilinen çapraz bağlayıcılardan biri olup toksik olmayan bir polianiyondur. Kitosanın yapısındaki amino grupları dialhiditlerle etkileşerek jelleşme sağlayabilmektedir. Bu sebeple glutaraldehit ve glioksal da kitosanın jelleşmesi amacıyla çapraz bağlayıcı olarak kullanılabilir. Kitosanın jelleştirilmesi ve mikro veya nanopartikül oluşturulması amacıyla çapraz bağlayıcı ajanlar kullanılmaktadır. Çapraz bağlama ile kitosanın mekanik dayanımı güçlendirilebilmektedir (George ve Abraham 2006).

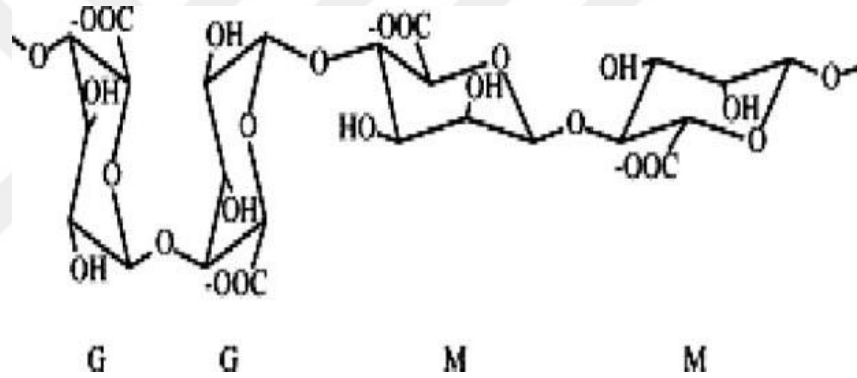
Kitosan, zincirindeki çok sayıda amino grubundan dolayı, zayıf bir baz olarak pH duyarlı bir davranış sergiler. Kitosan düşük pH'da kolayca çözülürken, yüksek pH aralıklarında çözünmez. pH'a duyarlı şişmenin mekanizması, düşük pH koşulları altında kitosanın amin gruplarının protonasyonunu içerir(George ve Abraham 2006). Kitosanın yüksek pH ortamında çözünmemesi ve çökmesi, yapısı nedeniyle ince bağırsak üzerinde ilaç emilimi ve biyoyapışmanın kısıtlı olması ve düşük pH ortamında çok kolay çözünmesi kontrollü ilaç salımında kitosan kullanımını sınırlamaktadır. Bu sınırlamalar, kimyasal kovalent modifikasyonlar ve polielektrolit kompleks oluşumu ile giderilebilmektedir. Kovalent kimyasal modifikasyonlar sonucu oluşturulan (kitosanın tiyollenmiş bileşikleri, kitosanın trimetilatlanmış bileşikleri, karboksimetil kitosan, hidroksil propil trimetil amonyum kitosan klorür) bileşiklerle fizikokimyasal özellikler değiştirilerek kitosan kompleksinin dayanıklılığı ve biyoyapışma özellikleri arttırılabilmektedir.

Kitosan çözündüğünde yüksek yük yoğunluğuna sahip katyonik polimerler oluşturmaktadır (George ve Abraham 2006). Bu özelliğinden dolayı kitosan birçok anyonik polimerlerle polielektrolit kompleksler oluşturmaktadır (Kitosan-aljinat

kompleksi, kitosan pektin kompleksi, kitosan karajenan kompleksi). Polielektrolit kompleksler ile ortam-çevre duyarlı kontrollü salım gerçekleştirilebilmekte, bu esnada biyopolimerlerin dayanıklılığı ve kararlılıkları arttırılabilmektedir.

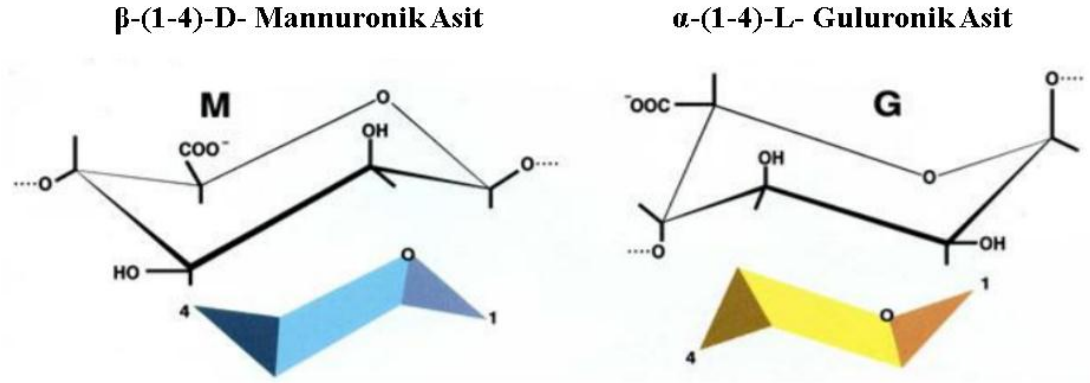
2.2.2 Aljinat

Aljinat veya aljinik asit, kahverengi alglerin bazı türlerinin hücre duvarlarından elde edilen lineer bir polisakkarittir (Şekil 2.6). Ticari aljinatlar, *Laminaria hyperborean*, *Ascophyllum nodosum* ve *Macrocystis pyrifera* cinsi üç kahverengi alg türünden elde edilmektedir. Bakteriye aljinatlar ise *Azotobacter vinelandii* ve birkaç *Pseudomonas* türünden izole edilmiştir (George ve Abraham 2006).



Şekil 2.6 Aljinatın kimyasal formülü (George ve Abraham 2006)

Aljinat β -D-mannuronik asit (M) ve α -L-gluronik asit (G) bloklarından oluşan, elde edilmesi düşük maliyetli, biyoyumlu ve biyobozunur bir polimerdir (Şekil 2.7). G ve M blokları heterojen ya da homojen şekilde gelişigüzel organize olabilir ve bu blokların dağılımı ve kimyasal özellikleri aljinatın elde edildiği kaynağa bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (Takka ve Gürel 2010).



Şekil 2.7 β -D-mannuronik asit (M) ve α -L-gluronik asit (G) yapısı (Gökbulut ve Öztürk 2018)

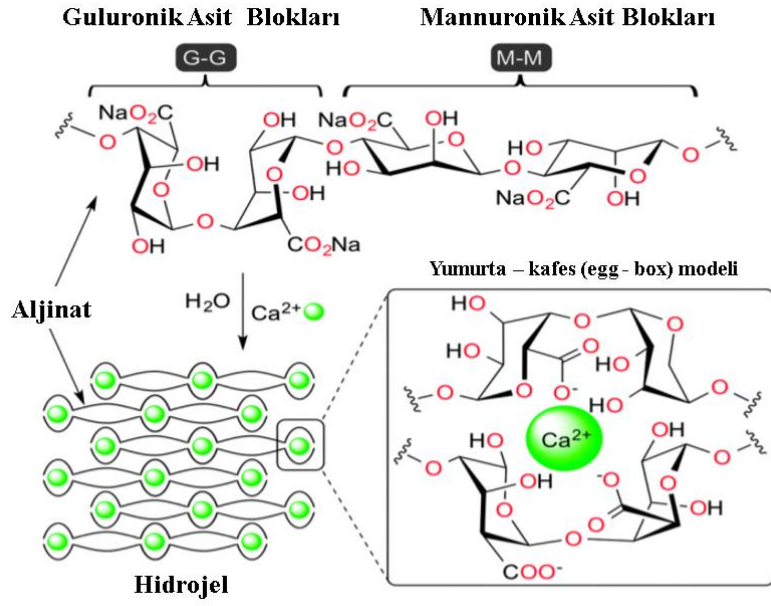
Aljinik asit ya da kalsiyum aljinat suda çözünmezken, aljinik asitin sodyum tuzu veya sodyum aljinat suda çözülebilir karboksil sonlu grup içeren gözenekli yapıya sahiptir. Aljinat anyonik bir biyopolimerdir. Ilıman koşullarda +2 değerlikli katyonlar ile reaksiyona girerek iyonotropik jelasyon yöntemi kullanılarak hidrojel oluşturma yeteneğine sahiptir. Kalsiyum aljinat hidrojelini oluşturmak üzere CaCl_2 kullanımı oldukça yaygındır. Kalsiyum iyonu ve/veya diğer +2 değerlikli katyon içeren sulu çözeltilere aljinat çözeltisinin damlalar halinde ilave edilmesi sonucu boncuk şeklinde küresel üç boyutlu bir hidrojel yapılar oluşmaktadır. Bu hidrojel yapı, gluronik asit kalıntıları ve +2 değerlikli katyonların moleküller arası çapraz bağlanması sonucu, kalsiyum iyonlarının etkisi altında iyonik etkileşimler yardımıyla birbirine tutunan üç boyutlu yapıları oluşturarak “yumurta-kafes” adı verilen üç boyutlu jel yapıya dönüşmektedir (Gökbulut ve Öztürk 2018). Şekil 2.8’de “yumurta-kafes” modelinin oluşumu gösterilmiştir Bu jel yapı ilaç için difüzyon bariyeri oluşturmaktadır. Enkapsülasyon işleminde ortam pH değeri düşük ise aljinat gözenekleri bu ortamda büzülerek küçülmekte ve bünyesindeki ilacı salmamaktadır (Sunna 2012).

Aljinat, biyobozunur olduğundan gıda endüstrisinde içeceklerde, dondurmalarda, çorbalarda ve kozmetikte kıvam arttırıcı ve emülgatör olarak kullanılmaktadır. Aljinatlar, FDA tarafından genellikle güvenli (GRAS) kabul edilen bir bileşikler grubuna dahil edilir. Oral aljinat uygulamasının, intravenöz olarak uygulanan formlardan farklı olarak çok fazla toksik neden olduğu görülmemiş ve aljinatın oral

olarak verildiğinde toksik olmadığı ve biyolojik olarak parçalanabilir olduğu kanıtlanmıştır (George ve Abraham 2006). Düşük pH ortamında çözünmemesi, yüksek pH ortamında çözünebilir olması, çözündüğünde toksik ürünler oluşturmaması, biyobozunur olması, jelleşme özelliği ve gastrointestinal sistem mukozasına yapışmaya elverişli olduğundan kontrollü ilaç salımlarında sıklıkla kullanılmaktadır.

Aljinatın oluşturduğu jel yapının özelliklerine ve ilaç salımına etki eden faktörler; aljinat tipi (içerdiği mannuronik ve guluronik asit miktarı), aljinat:etkin madde oranı, aljinat derişimi, jel oluşturucu katyonun derişimi (CaCl_2), jel yapıyı sertleştirme süresi, kurutma süresi ve şekli, tanecik büyüklüğü, çözünme ortamının pH değeri, etkin maddenin çözünürlüğü ve pKa'sıdır (Takka ve Acartürk 1998).

Aljinatın kontrollü ilaç salımında kullanılmasında, ilacın hazırlama aşamasında ilaç kaybının fazla olması, aljinatın gözeneklerinden ilaç sızması ve yüksek pH ortamında aljinatın dayanıksız olması sınırlayıcı faktörlerdir. Bu sınırlamalar aljinatın kimyasal kovalent modifikasyonu ve polielektrolit kompleksler oluşturulması ile giderilebilmektedir. Kimyasal kovalent modifikasyonla oluşturulan aljinatın tiyollenmiş bileşikleri ve hidrofobik olarak modifiye edilmiş aljinat ile kontrollü salım gerçekleştirilebilmektedir (George ve Abraham 2006). Aljinatın anyonik yapısı katyonik diğer polimerler ile polielektrolit kompleks oluşturur. Bu kompleksler, aljinat-etken madde partiküllerinin hazırlanması, dayanıklılık kazanması ve gözenek büyüklüklerinin değiştirilmesini sağlamaktadır. Bu komplekslere aljinat-kitosan kompleksi, aljinat- pektin kompleksi, aljinat- etil selüloz kompleksi vb. örnek olarak verilebilir.



Şekil 2.8 Yumurta- kafes modelinin oluşması (Gökbulut ve Öztürk 2018)

Aljinat-kitosan komplekslerinin pH duyarlı bir hidrojel olması protein veya peptit yapıdaki ilaçların oral yoldan verilmesi için, hücre kapsülleme, mikroenkapsülasyon ve ilaçların veya diğer maddelerin kontrollü salımına yönelik taşıyıcı sistemler elde etmek için yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (George ve Abraham 2006).

2.2.3 Kolajen

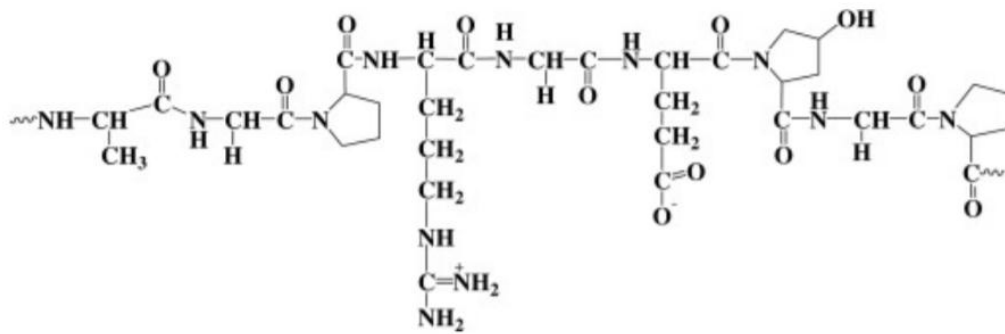
Kolajen, insan vücudunda yüksek oranda bulunan bir polimerdir. Kemik, tendon ve bağların çoğunluğunu oluşturur. Cilt, kornea, kan damaları, kıkırdık ve diğer hücre dışı dokuların önemli bir bileşenidir. Kolajenler amino asitlerin (Gly-X-Y)_n bloklarının tekrarlanması ile oluşmaktadır. Kolajenlerin ayırt edici özelliği, (Gly-X-Y)_n bloklarındaki X ve Y'nin herhangi bir amino asit olabilmesidir (Wagermaier ve Fratzl 2016).

Kolajen, biyoyumlu, baskı altında esneyebilen, güçlü yapıda ve biyobozunur bir biyopolimerdir. Memelilerin vücut dokusunun yaklaşık olarak %70'i kolajenden meydana geldiği için biyoyapışma özellikleri güçlüdür. Diğer biyoaktif bileşenlerle çok

fazla benzerlik göstermektedir. Sentetik diğer biyopolimerler ile birleştirilebilir yapıdadır. Çapraz bağlamaya elverişlidir. Kolajen bütün bu özellikleri göz önüne alındığında biyomedikal uygulamalarda özellikle doku mühendisliği alanında sıklıkla tercih edilmektedir. Üretiminin kolay olması ve çok çeşitlendirilebilir yapıya sahip olması da kolajeni ilaç iletim sistemlerinde tercih edilen bir polimer haline getirmiştir (Chak vd. 2013).

2.2.4 Jelatin

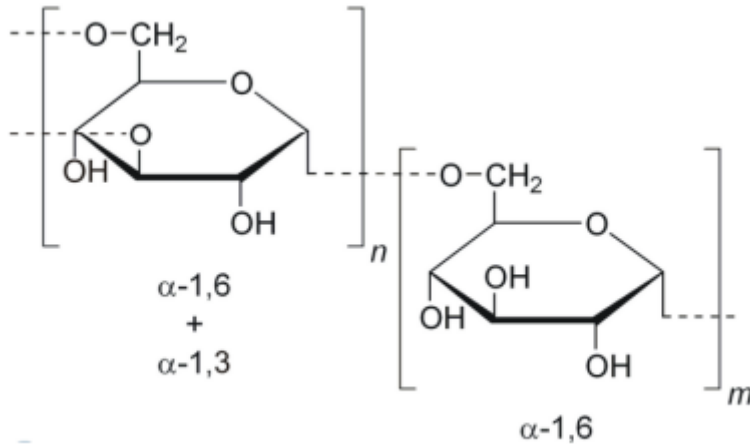
Doğal bir biyopolimer olan jelatin, kolajenin hidrolizi ile elde edilmektedir. Asidik veya bazik prosesler kullanılarak farklı tiplerde jelatinler oluşturulabilmektedir (Santoro vd. 2014). Jelatin yapısı şekil 2.9’da verilmiş olup yapıda kolajen ile aynı dizilime sahip aminoasit içeren polipeptidler oluşturmaktadır (Kahraman 2016). Jelatinin üretim prosesine göre izoelektrik noktası yüklenecek ilaç molekülünün elektrostatik özelliklerine bağlı olarak değiştirilebilir ve bu sayede enkapsülasyon verimi artırılabilir(Santoro vd. 2014). Bir ilaç taşıyıcı sistem olarak jelatin, dokularla çok benzer özellik taşıdığı için doku mühendisliğinde sıklıkla kullanılmaktadır. İlaç yükleme kapasitesinin değiştirilebilir olması, toksik olmaması, kolay elde edilebilir olması jelatinin ilaç salım uygulamalarında sıklıkla kullanılmasını sağlamıştır.



Şekil 2.9 Jelatinin kimyasal yapısı (Keenan 2012)

2.2.5 Dekstran

Dekstranlar genellikle 1,6-D-glukan ana zincirinden oluşan, lineer ve hidrofilik bir polisakkarittir (Şekil 2.10). Sakkarozun *Leuconostoc mesenteroides* adlı bir bakteri tarafından fermantasyon sonucu oluşur. Dekstran üretiminde kullanılan bakteri suşuna göre, dekstranın molekül ağırlığı, çözünürlüğü, glikozidik bağ çeşidi, optik yoğunluğu ve fizikokimyasal değişmektedir (Maity,2021). Yapısındaki glikozidik bağlar, bakteri ve memeli hücreleri tarafından hidrolize uğrarlar. Hidrolizi gerçekleştiren enzimler dekstranazlar olarak adlandırılırlar (Sunna, 2012). Vücut içerisinde hidroliz olması, kolay bulunması ve diğer değiştirilebilir özellikleri nedeniyle ilaç salım uygulamalarında kitosandan sonra sıklıkla kullanılmaktadır. Bunların yanı sıra gıda sektöründe emülsifiye edici ve stabilizer, tıp alanında damar genişletici olarak kullanılmaktadır.

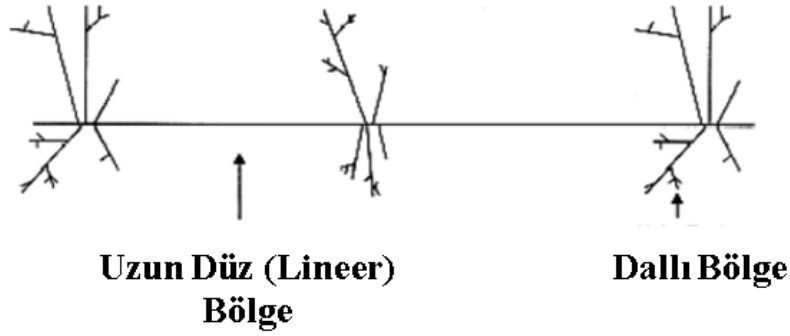


Şekil 2.10 Dekstranın kimyasal yapısı (Sunna 2012)

2.2.6 Pektin

Pektin hücre duvarlarından ekstrakte edilmektedir. Pektin yapısı D-galakturonik asitin uzun düz şekilde tekrarlanmasından ve dallı bölgelerden meydana gelmektedir (Şekil 2.11). Galakturonik asit kalıntılarının miktarı ve esterleşme derecesi pektinin çözünürlüğünün ve jelleşmesinin belirlenmesi ve film oluşturma özelliklerini etkilediğinden önemli bir parametredir (Liu vd. 2007). Pektin, asit, kalsiyum iyonları

veya şeker ile hidrojel oluşturabilme özelliğine sahiptir. Bu özelliğinden dolayı gıda ve biyomedikal alanlarda sıklıkla tercih edilmektedir.



Şekil 2.11 Pektinin kimyasal yapısı (Liu vd. 2007)

2.2.7 Nişasta

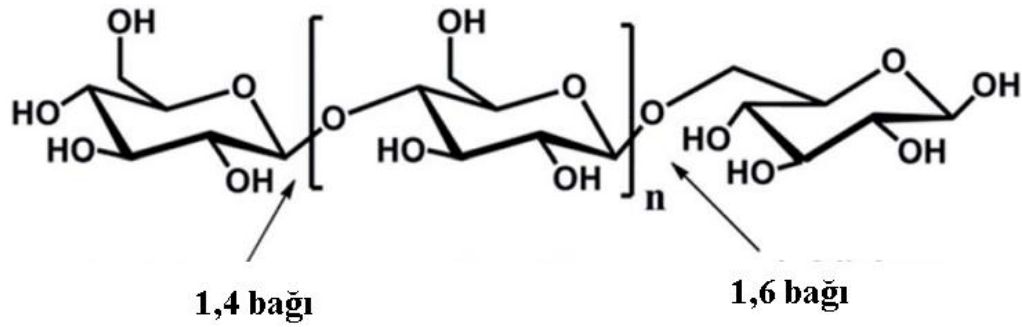
Nişasta, 2 molekül α -D glukozun, 1-4 bağı ile kondenzasyonu sonucu oluşan bir polisakkarittir. Nişasta, amlioz ve amilopektin olarak adlandırılan iki kısımdan oluşmaktadır. Amiloz, nişastanın suda çözünen kısmıdır ve polimerin % 10- 20 kadarını oluşturur (Selek vd. 1999). Nişasta, ucuz, kolay elde edilebilir ve yenilenebilir bir biyopolimer olması sebebiyle biyomedikal uygulamalarda tercih edilmektedir. Nişastanın hidroksil gruplarının fazlalığı sebebiyle hidrofilik ve yüksek viskoziteye sahip olması ilaç salım uygulamalarında nişasta kullanımını sınırlı hale getirmektedir (Simi ve Abraham 2007). Kimyasal kovalent modifikasyonlar ve nanoteknoloji kullanılarak nişasta modifiye edilebilmektedir.

2.2.8 Dekstrin

Dekstrin, düşük molekül ağırlıklı bir doğal polimerdir. Nişastanın veya glikojenin asit ve/veya kısmi enzimatik hidrolizi ile elde edilir. Amilozun α -(1/4) -D-glikoz birimleri ile amilopektinin α -(1/4) ve α -(1/6) -D-glikoz birimlerinden oluşur (Şekil 2.12). Nişastadan daha küçük ve daha az karmaşık yapıda olup molekül ağırlığı düşüktür. Nişasta kaynağı mısır ve ya patates olabilir. Dekstrin çözünürlüğüne bağlı olarak iki

sınıfta incelenebilir. Beyaz dekstrin suda kısmen çözünürken, sarı dekstrin suda tamamen çözünür.

Dekstrin, ticari olarak oldukça kolay bulunabilen ve ucuz bir hammaddedir. Gıda, tekstil alanlarında sıklıkla kullanılırken biyomedikal alanda polisakkaritlere kıyasla nispeten yeni kullanılmaya başlanan bir polimerdir. Biyoyumlu olan ve immünojenik olmayan bu materyal vücut içerisinde amilaz enzimi ile parçalanabilir (Das ve Pal 2015). Hidrofilik, optikçe aktif ve düşük vizkozitelidir. Su içinde kolay çözünür olması, yapıdaki hidroksil gruplarının varlığı, biyoyumluluk ve biyobozunur özellikleri göz önüne alındığında dekstrin ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanıma elverişli bir materyaldir.



Şekil 2.12 Dekstrinin kimyasal formülü (Das ve Pal 2015'ten değiştirilerek alınmıştır)

Dekstrin, higroskopiklik, fermet edilebilirlik, stabilite, kolay jelleşme gibi farklı yapısal özellikler sergilemesi sebebiyle ilaç salım sistemlerinde diğer polimerlere kıyasla yeni yeni incelenmeye başlanan bir biyopolimerdir.

Dekstrinin kolay jelleşme özelliği ile dekstrin bazlı hidrojeller geliştirilebilmektedir. Dekstrin bazlı hidrojeller; dekstran, agar, kaagenan, kitosan, jelatin, hidroksimetil selüloz, keçiyoynuzu gamı gibi diğer polimerik hidrojeller ile karşılaştırıldığında çok daha ucuz bir hammaddeden elde edilir. Dekstrinin kolay sentezlenebilir olması maliyetini düşürücü etkiye sahiptir. Dekstrinin suda çözünebilir olması ilaç salım uygulamalarında kitosan gibi suda çözünmeyen biyopolimerlerin önüne geçmesini

sağlamaktadır. Çünkü dekstrinin suda ve organik çözücülerde çözünebilen farklı gruplarla modifiye edilmesi kitosana göre daha kolaydır (Das ve Pal 2015). .

Dekstrin zincirinin lineer veya dallanabilir yapıda olması ve zincir üzerinde bulunan hidroksil gruplarının fazla olması dekstrinin polimerizasyon tepkimeleri için elverişli olmasını sağlamaktadır. Bu yapı çapraz bağlamaya diğer polimerlerden daha uygundur. Dekstrin bazlı hidrojellerin modifiye edilip ilaç salım uygulamalarında kullanımının kontrollü salıma daha elverişli olduğu belirlenmiştir (Das ve Pal 2015).

2.3 Biyopolimer Bazlı Hidrojeller

Literatüre göre ilk olarak 'hidrojel' ismi 1894 yılında inorganik tuzların koloidal jel olarak tasvir edilmesiyle ortaya çıkmıştır (Das ve Pal 2015). Hidrojeller hidrofilik özellik göstermekte olup kimyasal veya fiziksel olarak çapraz bağlamaya uygundur. Sentetik veya doğal polimerler ile üç boyutlu yapılar oluşturabilir ve bu yapı yüksek hacimli su veya vücut sıvılarını içerisine hapsedebilir.

Polimerler ile oluşturduğu yapının fonksiyonel grupları değiştirilerek hidrojele su tutma, biyoyapışma, sıcaklık, pH ve ışık duyarlılığı, manyetik özellikler gibi farklı fiziksel ve kimyasal özellikler katılabilir.

Hidrojeller, yüksek su içeriği ve aynı zamanda doğal hücre dışı matris ile fiziksel kimyasal benzerlikleri nedeniyle yüksek oranda biyouyumlu olarak kabul edilir.

Polimerik hidrojeller hazırlanma yöntemine (homo ya da kopolimer bağlanması), fiziksel özelliklerine (amorf, yarı kristali, hidrojen bağlı yapılar), ortam şartlarına duyarlılıklarına göre(pH, sıcaklık) sınıflandırılabilirler.

- a) Hopolimer Hidrojel: Tek bir hidrofilik monomerin çapraz bağlanmasıyla elde edilir.
- b) Kopolimer Hidrojel: İki monomerin çapraz bağlanmasıyla elde edilir. Monomerlerden birinin hidrofilik yapıda olması şartı aranır.

- c) Amorf Hidrojeller: Makromolekölün, polimer zincirlerine gelişigüzel yerleşmesi sonucu oluşur.
- d) Yarı Kristalin Hidrojeller: Yapı içerisinde, makromolekül polimer zincirlerinin çok düzenli olarak yerleştiği yoğun bölgeler mevcuttur.
- e) Hidrojen Bağlı Yapılar: Yapı hidrojen bağları ile oluşmuştur.
- f) Sıcaklığa Duyarlı Hidrojeller: Bu hidrojeller sıcaklığın artması ile büzülür.
- g) pH'a Duyarlı Hidrojeller: pH'a duyarlı polimerler midenin tahriş edici ortamında yapısı bozulan ilaçların taşınması, kolon hedefli salımda ise düşük pH'a sahip mide ortamında salımın minimize edilmesi, midede lokal olarak tedavi gerçekleştirilmesi gereken hastalıklarda ise ilacın midede uzun süre kalması ve ilaç salımının kontrollü olarak gerçekleşmesi amacıyla kullanılmaktadır.

Hidrojeller sahip olduğu özellikler ve çeşitli modifikasyonlar ile geliştirilebilir olmaları sebebiyle kontrollü ilaç salım sistemleri, yapay organ yapımı, doku mühendisliği, kontakt lensler, biyosensörlerin yapımı, gıda ve kozmetik alanlarında sıklıkla kullanılmaktadır.

Mide hedefli salımda oral yoldan verilmesi tasarlanan ilaç iletim sistemlerinde pH'a duyarlı hidrojeller giderek daha fazla önem kazanmaya başlamıştır. Çeşitli sentetik veya doğal polimerler asitli veya bazik grupları ile pH'a duyarlı hidrojellerin üretiminde kullanılmaktadır. Aljinat ve kitosan doğada yaygın olarak bulunan doğal biyopolimerler olup karşıt yüklere sahip olmaları sebebiyle aralarında iyonik bir etkileşim meydana gelmektedir (George ve Abraham 2006). Anyonik polimerlerin katyonik polimerler ile iyonik olarak etkileşmesi sonucu meydana gelen kompleksler polielektrolit kompleksler olarak adlandırılır.

İyonotropik jelleşme, iyonik bir polimerin zıt yüklü iyonla etkileşimini içermektedir. Basit monomer iyonlarının aksine, polianyon ve katyonlar (ya da polikatyonlar) arasındaki etkileşim elektro-nötrallik ilkesiyle tam olarak açıklanamamaktadır. 3 boyutlu yapı ve diğer grupların varlığı katyonların ya da anyonların Katyonların (veya anyonların) anyonik (veya katyonik) işlevleriyle konjuge olabilmelerini üç boyutlu yapısı ve diğer grupların varlığı anyon ya da katyonların birleşmelerini etkiler. Aljinat-

kitosan polielektrolit komplekslerinin, iyonotropik jelasyon ile eldesinde kullanılan biyopolimerlerin miktarına, +2 değerlikli bağlayıcı ajan miktarına, kompleksin oluşturduğu ortamın pH değerine bağlı olarak fizikokimyasal özellikleri değiştirilebilmektedir.

Aljinat taneciklerinin hazırlanıp kitosan ile kaplanması sonucunda aljinat taneciklerinin gözenekliliği azaltılarak ilaç sızdırılması önlenir. Yüksek pH ortamında aljinatın dağılıp/parçalanma olasılığı; yüksek pH ortamında çözünmeyen kitosan tarafından önlenir. Yapıya katılan kitosan aljinatın büyük gözenekli yapısının daha pürüzlü hale gelmesini sağlar, bu pürüzlülük ilaç enkapsülasyonunu artırıcı etkiye sahiptir. Aljinat ise, kitosanın düşük pH ortamında kolay çözünmesini geciktirir, ilk anda gerçekleşen istenmeyen salımın önüne geçilebilir. pH duyarlılığı bulunan bu sistem sayesinde mide ya da kolon hedefli kontrollü salım gerçekleştirilebilir.

2.4 Aljinat-Kitosan Polielektrolit Komplekslerinin Kontrollü Salım Sistemlerinde Kullanımı

En çok kullanılan ve en güvenilir ilaç uygulama yolu olan oral yoldan kullanım, protein ve peptit yapıdaki ilaçlar için bazı sınırlamaları beraberinde getirmektedir. Bu sınırlamalar; protein yapıdaki ilaçların enzimatik olarak parçalanabilir olması, asidik hidroliz, raf ömürlerinin kısa olması ve gastrointestinal bölgeden geçiş süresi olarak sıralanabilir. Bu problemlerin üstesinden gelmesi ve protein yapıdaki ilaçların biyoyararlanımını artırması amacıyla mikroenkapsülasyon tekniğini içeren pek çok yaklaşım geliştirilmeye başlanmıştır. Mikroenkapsülasyon ile ilaç salım süresi uzatılabilir, protein yapıdaki ilaçların korunabileceği mikrokapsüller tasarlanabilir ve bu sayede protein yapısı denatüre olmadan gastrointestinal bölgedeki düşük pH ortamında salım sağlanabilir. Anal vd. (2003) yaptıkları çalışmada protein yapıdaki ilaçların mikroenkapsülasyonu için eşsiz fizikokimyasal özellikleri ve biyoyumlulukları nedeniyle aljinat-kitosan polielektrolit komplekslerini tercih etmişlerdir.

Kalsiyum-aljinat taneciklerine ilaç yükleme işleminin hem kolay hem de yüksek verimli olması nedeniyle kalsiyum-aljinat tanecikleri mikroenkapsülasyon yöntemlerinde

sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak büyük gözeneklere sahip olması ve bu nedenle ilacın tamamının bir anda salınması gibi sınırlamalar nedeniyle polielektrolit kompleks yapıları kullanılmaya başlanmıştır. Kitosan, aljinat ile etkileşerek ilaç salım hızını düzenlemektedir. Yapıda yer alan kitosan, protein ve peptitlerin direkt gastrik ortamla temasını önlerken, aynı zamanda şişme ve asidik mide ortamında hidrojel oluşturma özellikleri ile yüzen dozaj formuna uygun bir ortam sağlamaktadır. Kitosan ve aljinatın sahip olduğu bu özelliklerden dolayı aljinat-kitosan taneciklerine yüklenecek model ilaç olan protein yapıdaki sığır serum albümininin, gastrointestinal bölgeden yapısı bozulmadan ilerlemesi ve intestinal bölgede kontrollü salımının gerçekleşmesi yapılan bu çalışmanın amacını oluşturmaktadır. Araştırmacılar aljinat-kitosan taneciklerinin kontrollü salım yapabilmesi amacıyla taneciklerin glutaraldehit ile çapraz bağlanmasının yerine yine aljinat ve kitosan gibi biyopolimerler ile kaplanarak çok katmanlı hale getirilmesi ile kontrollü bir salım elde etmeyi hedeflemişlerdir.

Çalışmada, kahverengi alglerden elde edilen alijinik asit sodyum tuzu ve %85 deasetilasyon derecesine sahip kitosan kullanılmıştır. Homojen, pürüzsüz ve küresel aljinat-kitosan tanecikleri iyonotropik jelasyon yöntemi kullanılarak hazırlanmıştır. Sığır serum albümininin, aljinat-kitosan taneciklerine yüklenmesi ve yapısının bozulmadan yapay bağırsak ortamında salımı için gerekli optimum koşullar belirlenmiştir. Sığır serum albümini, alijinik asit sodyum tuzu ile saf suda çözülerek ilaç çözeltisi hazırlanmış, bu çözelti kitosan ve CaCl_2 içeren jelasyon çözeltisine damlatılarak tek katmanlı aljinat-kitosan tanecikleri elde edilmiştir. Aljinat-kitosan kompleks yapısını sağlamlaştırmak ve salım süresinin uzatılması amacıyla çok katmanlı tanecikler oluşturulmuştur. Çok katmanlı tanecikler, hazırlanan tek katmanlı aljinat-kitosan taneciklerinin kitosan, CaCl_2 , aljinat ve kitosan-aljinat- CaCl_2 ile kaplanması ile elde edilmiştir. Kitosanın yapıda bulunmadığı ve CaCl_2 derişiminin düşük olduğu taneciklerinde sığır serum albümin yükleme veriminin %15 olduğu gözlenmiştir. Aljinatın gözenek çaplarının büyük olması ilaç sızıntısına yol açabileceği için yapıya % 0,2 (w/v) derişiminde kitosan eklenmiş ve aljinat-kitosan taneciklerinin ilaç hapsetme kapasitelerinde belirgin bir artış olduğu belirlenmiştir. Çok katmanlı taneciklerin ilaç yükleme verimi tek katmanlı taneciklerle aynı eğilimi gösterdiği belirlenmiştir.

Salım çalışmaları, yapay mide ortamında (pH 1,2) 4 saat ve sonrasında yapay bağırsak ortamında (pH 7,5) 8 saat olarak gerçekleştirilmiştir. Tek katmanlı tanecikler ilacın yaklaşık %90'ını ilk 12 saat içerisinde, çok katmanlı tanecikler ise aynı sürede ilacın %40-50'sini salmıştır. Çok katmanlı taneciklerin yapay bağırsak ortamında ilaç salımını geciktirdiği gözlenmiştir.

Anal vd. 'nin 2003 yılında yapmış oldukları bu çalışma sonucunda, aljinat-kitosan taneciklerinin şişme oranlarının yapıdaki CaCl_2 ve kitosan miktarının artmasıyla artış gösterdiği, yapıdaki kitosan derişiminin artması ile ilaç yükleme veriminin artış gösterdiği belirlenmiştir. Kitosan ile kaplanan taneciklerin salım hızının yavaşladığı ve yapay bağırsak ortamında uzun süreli salım yaptığı gözlenmiştir. Aljinat-kitosan taneciklerinin pH duyarlı olması sebebiyle salım pH'a bağlı olarak kontrollü şekilde gerçekleştirilmiş, yapay mide ortamında protein yapıdaki sığır serum albüminin yapısı korunmuş ve yapay bağırsak ortamına aktarılmıştır. Çok katmanlı taneciklerin protein yapıdaki ilaçların bağırsak hedefli geciktirmeli salımında kullanımına uygun yapıda bir taşıyıcı sistem olduğu belirlenmiştir.

2005 yılında Anal vd. 349,4 g/mol moleköl ağırlığındaki ampisilin isimli antibiyotiğin kontrollü salımında aljinat-kitosan polielektrolit komplekslerinin kullanımını incelemişlerdir. Çalışmanın birinci aşamasında tek katmanlı ve çok katmanlı aljinat-kitosan tanecikleri iyonotropik jelasyon yöntemi ile hazırlanmıştır. Çalışmanın ikinci aşamasında çok katmanlı taneciklerin tripolifosfat ile çapraz bağlanması sonucu ilaç yükleme verimi ve salım profili incelenmiştir. Birinci aşamada, ampisilin ile alijinik asit sodyum tuzu saf suda çözülerek ilaç çözeltisi hazırlanmış, bu ilaç çözeltisi farklı derişimlerde kitosan ve CaCl_2 içeren jelasyon çözeltisine damlatılarak tek katmanlı tanecikler elde edilmiştir. Çok katmanlı tanecikler, hazırlanan tek katmanlı aljinat-kitosan taneciklerinin kitosan, CaCl_2 , aljinat ve kitosan-aljinat- CaCl_2 ile kaplanması ile elde edilmiştir.

Çalışmanın ikinci aşamasında ampisilin, kitosan ve CaCl_2 içerisinde çözülerek ilaç çözeltisi hazırlanmış ve bu ilaç çözeltisi aljinat ve tripolifosfat içeren jelasyon çözeltisi içerisine damlatılarak çapraz bağlı tanecikler elde edilmiştir. Daha sonra bu tanecikler

kitosan, CaCl₂, aljinat ve kitosan-aljinat-CaCl₂ ile kaplanarak çapraz bağlı çok katmanlı tanecikler elde edilmiştir.

Kitosan derişiminin yüksek olduğu taneciklere yüklenen ilaç miktarının daha fazla olduğu belirlenmiştir. Salım çalışmaları yapay mide ortamında (pH 1,2) ve yapay bağırsak ortamında (pH 7,5) gerçekleştirilmiştir. Yapay mide sıvısında yapılan salım sonucunda taneciklerin şişmeye ve sonrasında yüzmeye başladığı gözlenmiştir. Tek katmanlı aljinat-kitosan taneciklerinin 4 saat içerisinde ilacın tamamını bıraktığı, çok katmanlı taneciklerin ise aynı sürede ilacın %20-30'unu bırakarak kontrollü bir salım profili izlediği gözlenmiştir.

Çapraz bağlı çok katmanlı tanecikler 24 saat sonunda ilacın %40'ını salmıştır. Tripolifosfat ile çapraz bağlanan çok katmanlı aljinat-kitosan taneciklerinin ampisilin gibi düşük moleköl ağırlığına sahip ilaçların oral kontrollü salımı için uygun bir taşıyıcı sistem olduğu belirlenmiştir.

Sarmiento vd. (2007) yaptıkları çalışmada protein yapıda bir ilaç olan insülinin yapısal bütünlüğünün bozulmadan aljinat-kitosan nanopartiküllerine yüklenmesini incelemişlerdir. Nanopartiküller, iyonotropik jelasyon ve çapraz bağlama yöntemleri kullanılarak iki aşamada hazırlanmıştır. Nanopartiküllerin morfolojik analizleri, zetasizer, partiköl analizörü ve FTIR ölçümleri ile gerçekleştirilmiştir. FTIR ölçümleri sonucunda enkapsülasyon sürecinde ve salım ortamlarında insülinin yapısal özelliklerinin korunduğu belirlenmiştir. Aljinat:kitosan oranının 4,3:1 olduğu koşulda birim kütledeki nanopartiköl için yüklenen ilaç miktarı en yüksek olup nanopartiköl boyutu 850±88 nm ve enkapsülasyon verimi %81 olarak bulunmuştur. Nanopartiküllere yüklenen insülin miktarı yükleme sonrası nanopartiküllerin oluşturulduğu sulu ortama yapılan santrifüjden elde edilen süpernatant, yüksek performanslı sıvı kromatografisinde (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) analizlenmiştir. İnsülin salım çalışmaları pH 1,5 hidroklorik asit (HCl) ortamında ve pH 6,8 fosfat tamponunda gerçekleştirilmiştir. İnsülinin pH 1,5 yapay mide ortamında düşük, pH 6,8 ortamında daha yüksek salım yüzdesine sahip olduğu belirtilmiştir. Çalışma sonucunda, protein yapıdaki ilaçların aljinat-kitosan komplekslerine yüklenerek oral yoldan kullanımda

yapısının bozulmadan taşınabilmesi konusunda geliştirilebilir bir taşıyıcı sistem olduğu belirlenmiştir.

Elzatahry vd. (2008) aljinat-kitosan taneciklerin, astım ve solunum rahatsızlıklarına neden olan düz kas spazmını engelleyen 180,16 g/mol molekül kütlesine sahip teofilin isimli ilacın kolon spesifik salımında kullanılabilirliğini araştırmışlardır. Teofilin yüklü aljinat-kitosan taneciklerinin hazırlanması amacıyla teofilin sodyum aljinatın çeşitli derişimlerinde çözülmüştür. Teofilin yüklü kalsiyum aljinat-teofilin tanecikleri iyonotropik jelasyon yöntemi ile hazırlanmıştır. İlaç yüklü taneciklerin kitosanla kaplanması sağlanarak teofilin yüklü aljinat-kitosan tanecikleri iki adımda elde edilmiştir. Yüzey morfolojisi, taramalı elektron mikroskobu analizi (Scanning electron microscopy, SEM) ile belirlenmiştir. Salım çalışmaları pH 7,4 tuzlu fostat tamponu ortamı kullanılmıştır. Taneciklerin içerdiği su oranının salıma etkisi incelenmek üzere kuru ve ıslak tanecikler ile fosfat tamponunda 24 saat salım çalışması gerçekleştirilmiştir. Sprague-Dawley farelerinden alınan jejenuma aljinat-kitosan taneciklerinin yapıştırılması ile biyoyapışma testleri gerçekleştirilmiştir. Salınan teofilin spektrofotometrik olarak (272 nm) analiz edilmiştir. Islak tanecikler ile gerçekleştirilen salım çalışmasında taneciklerin teofilini daha hızlı saldığı gözlenmiştir. Bunun sebebi, ıslak taneciklerin fosfat tamponunda inkübe edilmesi sonucu çapraz bağlanan kalsiyum iyonlarının fosfat tamponundaki sodyum iyonları ile yer değıştirerek ozmotik basınç yaratması ve ıslak tanecik matrisinin bu basınca dayanamayarak ilacı hızlı bir şekilde salması olarak belirtilmiştir. Kuru tanecikler ile gerçekleştirilen salımda patlama salımı etkileri gözlenmemiş olup aljinat ve kitosan miktarlarının artmasının ilaç salım profilini düzenlediğı gözlenmiştir. Taneciklerin morfolojik analizleri, SEM ölçümleri ile gerçekleştirilmiş ve boncuk boyutlarının 200-400 µm ile 3-4 mm aralığında olduğu belirlenmiştir. Biyoyapışma testleri sonucunda 200-400 µm boyutundaki taneciklerin polimer derişimlerinden bağımsız olarak tam yapışma gerçekleştirdiğı gözlenmiştir. Çalışmanın sonucunda aljinat-kitosan taneciklerinden teofilin salımına tanecik morfolojisinin, biyoyapışma özelliklerine ise tanecik boyutlarının etkili olduğu belirlenmiştir.

Li vd. (2008) çalışmalarında, kitosanın aljinat ile kaplayarak protein yapılı sığır serum albümininin (Bovine serum albumin, BSA) bu taneciklere yüklenmesini hedeflemişlerdir. Kitosan çözeltisi saf su ile seyreltilmiş ve BSA çözeltisi farklı derişimlerde bu çözelti ortamına eklenmiştir. BSA yüklenmiş kitosan çözeltisi sodyum aljinat çözeltisine damlatılarak aljinat kaplı BSA yüklü kitosan nanopartiküller elde edilmiştir. Nanopartikül karakterizasyonu SEM, zetaseizer ve partikül boyut analizörü ölçümleri ile gerçekleştirilmiştir. Salım çalışmaları 37 °Cde pH 7,4 fosfat tamponunda aljinat kaplı nanopartiküller ile aljinat kaplı olmayan kitosan taneciklerinden gerçekleştirilmiştir. BSA salımı gerçekleştikten sonra ortam santrifüjlenerek süpernatantta BSA analizi yapılmıştır. Aljinat kaplı kitosan nanopartiküllerden ilk 8 saatte % 40 ve sonraki 48 saatte % 50 oranında BSA salımı gerçekleştiği gözlenmiştir. Aljinat kaplı olmayan kitosan nanopartiküllerden ise ilk 30 dakikada % 84 ve sonraki 48 saatte ise % 95,5 oranında BSA salımı gerçekleşmiştir. Aljinat kaplı kitosan nanopartiküllerin yüksek pH ortamında kararlılığını arttırdığı ve mide ortamı gibi düşük pH ortamında taşınan proteinin zarar görmeden istenilen dokuya ulaşmasını sağladığı belirlenmiştir.

Arora vd. (2011) mide rahatsızlığına sebep olan bir enfeksiyon tedavisi için 365,4 g/mol molekül kütlesine sahip bir antibiyotik olan amoksisilini kitosan-aljinat nanopartiküllerine yüklemişlerdir. Çalışmada nanopartikülleri hazırlama aşamasında pH etkisi, salım profili incelenmiştir. Karakterizasyon işlemi, SEM, FTIR (Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi, Fourier-transform infrared spectroscopy), zetaseizer ve partikül boyutu ölçümleri ile gerçekleştirilmiştir. Aljinat kaplı kitosan nanopartiküllerinin boyutları 264 -321 nm olarak bulunmuştur. Nanopartiküllerin hazırlanma aşamasında optimum pH değerleri kitosan çözeltisi için 5, aljinat çözeltisi için ise 5,5 olarak belirlenmiştir. pH değerinin nanopartikül boyutu üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir. Salım çalışmaları düşük pH ortamında (pH 1,2) HCl varlığında gerçekleştirilmiştir. Aljinat kaplı kitosan nanopartikülleri antibiyotığın %50'sini ilk 2 saat içerisinde salmıştır. Sonraki 2 saatte ilacın %67'si ve 6 saat sonunda ise %76'sı düşük pH ortamında salınmıştır. 6 saat düşük pH ortamında partiküllerin dayanımı ve ilaç salım yüzdesi açısından verimli bir süre olarak belirlenmiştir.

Ghaffari vd. (2011) 331,35 g/mol molekül kütlesine sahip bir antibiyotik olan sprofloksasin için nanoteknolojik salım sistemini incelemişlerdir. Taşıyıcı olarak kitosan-aljinat nanopartiküller ve katı lipit nanopartiküller (SLN) kullanmışlardır. Çalışmada salım profili ve nanopartikülleri kurutmanın salım profiline etkisinin incelenmesi hedeflenmiştir. Partikül boyutu SLN'ler için 291 nm, kitosan-aljinat nanopartiküller için 521 nm olarak bulunmuş ve morfolojik analizleri SEM ölçümleri ile gerçekleştirilmiştir. Enkapsülasyon verimleri ise, SLN'ler için yaklaşık % 88 ve kitosan-aljinat nanopartiküller için yaklaşık %69 bulunmuştur. 2 saatlik salım çalışması sonucunda SLM'lerden % 100 ilaç salımı ve kitosan-aljinat nanopartiküllerden % 65 ilaç salımı olduğu gözlenmiştir.. Dondurularak kurutulan nanopartiküllerin ilaç salım profillerinin aynı kaldığı tespit edilmiş, dondurarak kurutmanın nanopartiküllerin raf ömrünü uzatacak bir yöntem olarak kullanılabilceği belirtilmiştir.

Sunna (2012) kanser tedavilerinde antiöstrojen olarak kullanılan 371,53 g/mol molekül ağırlığına sahip tamoksifen isimli ilacı aljinat-kitosan nanopartiküllerine yüklemeyi amaçlamıştır. Çalışmada ilacın salım profili ve tamoksifen yüklemesi için gereken optimum sıcaklık araştırılmıştır. Nanopartiküllerin morfolojik analizleri; zetasizer, partikül analizörü ve FTIR, atomik kuvvet mikroskobu (Atomic force microscope, AFM) ölçümleri ile gerçekleştirilmiştir. Nanopartikül boyutu 50-800 nm arasında olup enkapsülasyon verimi %37,6 olarak bulunmuş, enkapsülasyon veriminin nanopartikül boyutu arttıkça arttığı tespit edilmiştir. Tamoksifenin aljinat-kitosan nanopartiküllerine yüklenmesi için optimum sıcaklık 25°C olarak bulunmuştur. Salım çalışmaları pH 1,2 HCl ortamı ve pH 7,4 fosfat tamponunda gerçekleştirilmiş olup pH 1,2 ortamda ilacın yalnızca %8'inin salındığı, yüksek pH ortamında ise ilacın %90 salındığı bulunmuştur. Kolon hedefli kontrollü salım için çalışma gelecek vadede bir çalışma olarak belirlenmiştir.

Memnini vd. (2012) yaptıkları çalışmada osteoartrit, romatoid artrit ve akut ağrı tedavisinde kullanılan antiinflamatuvar özellikteki 381,37 g/mol molekül kütlesine sahip selekoksib için kolon hedefli iletim sistemi geliştirmeyi amaçlamışlardır. Selekoksib, hidrokispropil-β-siklodekstrin ve polivinilprolidon (PVP) ile üçlü kompleks oluşturacak şekilde çözülmüş ve kompleks sodyum aljinat çözeltisine eklenerek ilaç

çözeltisi elde edilmiştir. İlaç çözeltisi farklı derişimlerde kitosan içeren kalsiyum klorür çözeltisine damlatılarak ilaç yüklü aljinat-kitosan mikroküreleri elde edilmiştir. Karakterizasyon işlemi SEM, HPLC analizleri ile belirlenmiştir. İlaç salım çalışmaları pH 1,1 HCl ortamında, pH 6,8 ve pH 7,4 fosfat tamponunda gerçekleştirilmiştir. 4 saatlik kolon hedefli salımda en yüksek enkapsülasyon verimi ve kümülatif salım yüzdesi aljinat ve kalsiyum klorür derişimlerinin en fazla olduğu koşullarda elde edilmiştir. Kitosan derişiminin arttırılmasının enkapsülasyon veriminde olumlu etkiye sahip olduğu gözlenmiştir.

Tahtatt vd. (2013) çeşitli aljinat-kitosan derişimlerinde elde edilen taneciklere insülin yüklemesi ve salım profilini incelemiştir. Partikül yapısı FTIR, SEM, termogravimetrik analiz ölçümleri ile belirlenmiştir. Salım çalışmaları yapay mide ve kolon ortamlarında gerçekleştirilmiştir. Salımda kütlece 10:0 oranında saf aljinat tanecikleri kullanılmış ve 3 saat içerisinde ilacın tamamının salındığı gözlenmiştir. Aljinat-kitosan oranları 8:2 olan kompleks yapı ilk 6 saatte ilacın %90,5'ini, 24 saatte ise tamamını; aljinat-kitosan oranları 7:3 olan kompleks yapı ilk 6 saatte ilacın % 89,2'sini, 24 saatte ise tamamını; aljinat-kitosan oranı 6:4 olan kompleks ise ilk 6 saatte ilacın %70,3'ünü, 73 saatte tamamını salmıştır. Çalışmada kitosan derişiminin arttırılması ile salım süresinin ve yüklenen insülin miktarının arttığı gözlenmiş, kolon hedefli kontrollü salım profilinin elde edilebildiği belirlenmiştir.

Azevedo vd. (2014) yaptıkları çalışmada fiziksel koşullara ve düşük pH ortamına dayanıksızlık gösteren B₂ vitaminin stabilitesini arttırmayı hedeflemiştir. Aljinat-kitosan nanopartiküllerine B₂ vitaminin yüklenmesi, salım profili ve ilaç yüklü nanopartiküllerin fiziksel koşullara dayanıklılığı incelenmiştir. Partikül Analizörü, zetasizer, nanopartikül boyut dağılımı, TEM ölçümleri sonucunda partikül yapıları belirlenmiştir. Partikül boyutları 90-110 nm olarak bulunmuştur. Yüklenen B₂ vitamini miktarı yükleme sonrası yapılan santrifüjden elde edilen süpernatantta spektrofotometrik analiz sonucu %55 olarak bulunmuştur. İlaç yüklü partiküllerin, yüklü olmayan partiküllere göre 4°C'de 5 aya kadar kararlı ve dayanıklı olduğu tespit edilmiştir.

Ojang ve Song (2016) bir antibiyotik olan 676,66 g/mol molekül kütlesine sahip ikarinin kolon hedefli salımında aljinat-kitosan mikrokürelerini kullanmışlardır. Çalışmada kitosan işaretli molekül ile işaretlenmiş olup kolon benzeri ortamda kalma süresi tespit edilmiştir. Karakterizasyon işlemi SEM, HPLC, FTIR ölçümleri sonucunda yapılmıştır. Salım çalışması pH 1,2 HCl ortamında %10, pH 7,5 fosfat tamponunda % 65,6 olarak gerçekleşmiştir. Kodak görüntüleme sistemi ile takip edilen moleküllerin kolon benzeri ortamda (pH 7,4) 12 saatten fazla kaldığı tespit edilmiştir. Çalışmada kolon hedefli kontrollü salım sistemi olarak büyük molekülü ilaçlar için aljinat-kitosan kompleksleri gelecek vadeden bir taşıma materyali olarak belirlenmiştir.

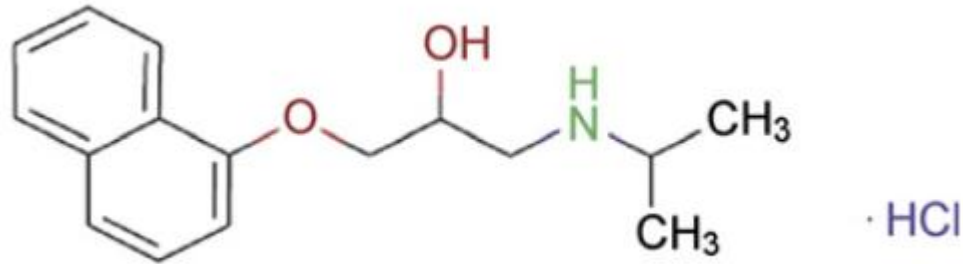
Bhattacharyya vd. (2017) poliüretan aljinat-kitosan, aljinat-kitosan, poliüretan aljinat nanopartiküllere insülin yüklemesinin yapılması, şişme hızları, farklı derişimlerde yükleme verimi ve salım profiinin incelenmesi üzerine çalışmalar gerçekleştirmişlerdir. Aljinat-kitosan kompleksi aljinatın poliüretan ile modifiye edilmesi sonucu kitosanın karışıma damla damla eklenmesi ile elde edilmiştir. Karakterizasyon işlemi, FTIR, X-Ray difraktometre, DLS, zetasizer, partikül analizörü, SEM, TEM ölçümleri ile gerçekleştirilmiştir. Partikül boyutu 105 nm olarak bulunmuştur. Partikül boyutunun kitosan konsantrasyonunun artması ile arttığı tespit edilmiştir. Şişme deneylerinde, hazırlanan komplekslerin pH 1,2 ortamında şişme göstermediği, pH 6,8 ortamında düşük hızda şişme gösterdiği ve pH 7,4 ortamında poliüretan aljinat nanopartiküllerinin çok yüksek hızda şiştiği ve deforme olduğu, diğer komplekslerin ise yüksek hızda şişme gösterdiği tespit edilmiştir. İlaç salım çalışmaları çeşitli konsantrasyonlar için gerçekleştirilmiş olup en iyi ilaç salımının gerçekleştiği konsantrasyon sırası ile kitosan poliüretan aljinat insülin kompleksi için 3:7:3:2 olarak belirlenmiş, bu konsantrasyondaki kompleksin ilacın %98,32'sini 20saatte saldığı belirlenmiştir. Diğer konsantrasyon ve komplekslerle karşılaştırıldığında poliüretanla modifiye edilmiş nanopartiküllerin salım hızının düşük ve kontrollü olduğu gözlenmiştir. Kan şekeri üzerindeki etkisi hayvan deneyleri üzerinde denenmiş olup oral yoldan alınan insülin yüklü kitosan kaplı poliüretan aljinat nanopartiküllerinin 10 saat içerisinde çok yüksek kan şekeri değerini normal değerlere indirdiği görülmüştür. Toksikite testleri sonucunda nanopartiküllerin toksik etkileri gözlenmemiştir. Çalışma kolon hedefli protein yapıdaki insülin taşınması için ümit vadeden çalışma olarak belirlenmiştir.

Unagolla vd. (2018) molekül kütlesi 1450 g/mol olan bir vankomisin isimli antibiyotik için kolon hedefli salımının ve kolon benzeri ortamda uzun süre kalması için aljinat kaplı kitosan mikrokürelere yüklemesini gerçekleştirmişlerdir. Karakterizasyon işlemi, SEM, FTIR ve partikül boyutu ölçümleri ile yapılmıştır. Partikül boyutları 550-700 µm olarak bulunmuştur. pH 7,4 fosfat tamponunda salım gerçekleştirilmiştir. Antibiyotik yüklenen kitosan mikropartiküllerinin yüksek pH ortamında uzun ve verimsiz salım yaptığı, antibiyotik yüklenen aljinat mikropartiküllerinin yüksek pH ortamında aniden ilacı saldıgı gözlenmiştir. Aljinat kaplı kitosan mikropartiküllerinin düşük pH ortamında 21 güne kadar kaldığı ve bu süre içinde ilacın %78'ini kararlı bir salım profili ile saldıgı tespit edilmiştir.

2.5 Propranolol Hidroklorür ve Salım Sistemleri

Propranolol (1-izopropil amino-3-(1-naftoksi)-2-propranol), seçici olmayan bir beta adrenerjik (adrenoseptör) bloke edici ajandır. Adrenerjik uyanlara karşı miyokard içerisindeki beta adrenerjik alıcılarını bloke ederek kalp yükünü hafifletmede kullanılır. Bu sayede kalp atış hızı azalır (Srikanth vd. 2012; Majed vd. 2017). Propranolol, haşarılı bir şekilde geliştirilen ilk beta blokerdir.

Propranolol hidroklorür olarak kullanımı yaygındır. Propranololün hidroklorid tuzu (PHCl), yüksek tansiyon, migren, kalp rahatsızlıklarına bağlı göğüs ağrısı, kalpteki ritim bozuklukları tedavisinde kullanılmaktadır (Majed vd. 2017). Propranolol hidroklorürün kimyasal formülü şekil 2.13'te görülmektedir.



Şekil 2.13 Propranolol hidroklorürün (PHCl) kimyasal formülü (Srikanth vd. 2012)

Propranolol hidroklorür oldukça lipofiliktir. Suda, alkolde çözünür. Kloroformda çözünürlüğü az olup eterlerde çözünmez. Molekül ağırlığı 295,81'dir. Işığa karşı dayanıksızdır. pKa'sı 9.4 olup zayıf bazik bir maddedir (Kışlal ve Çelebi 1994).

Oral kullanım sonrası ilacın neredeyse tamamı emilir. Fakat karaciğer tarafından ilk geçiş etkisine uğradığından sistemik dolaşıma ilacın yalnızca %25'i katılabilmektedir. Karaciğerde metabolizması fazla olduğu için biyoyararlanımı düşük bir ilaçtır (Kışlal ve Çelebi 1994). Propranolol hidroklorürün yarı ömrü kısa olup 3-6 saat arasında değişmektedir (Majed vd. 2017). Zayıf bazik bir madde olduğundan asidik ortamda yüksek çözünürlüğe sahiptir. Bağırsak sıvılarında çözünürlüğü azdır (Srikant vd. 2012). Alkali ortamlarda hızla bozunmaktadır (Kışlal ve Çelebi 1994).

Propranol hidroklorür için yetişkin bir insanın alabileceği dozlama aralığı 40-320 mg/gün olarak belirlenmiştir. İlacın eliminasyonu bu dozlar birinci dereceden kinetiğe sahiptir. Kısa yarı ömre ve düşük biyoyararlanıma sahip olduğu için sık dozlama gereklidir. Tez doz çalışmalarda daha kısa yarı ömre sahiptir (Majed vd. 2017).

Propranolol hidroklorür gibi kısa yarı ömre sahip ve biyoyararlanımı düşük ve pH hassasiyeti bulunan ilaçların plazma düzeyindeki derişimini arttırmak ve maksimum biyoyararlanım sağlamak amacıyla çeşitli kontrollü salım sistemleri geliştirilmeye başlanmıştır. Bu sistemlerin özellikleri gastrointestinal bölgede mukoadhezif etki göstermeleri, gastrik bölgede yüzmeleri ve şişmeleridir. Böylece ilaçlar gastrointestinal bölgede uzun süre kalabilir ve salım gerçekleştirebilir duruma gelmektedir. Bu taşıyıcı sistemlere ek olarak modifiye edilmiş hidrojeller örnek verilebilir. Hidrojel yapılarına polimer konsantrasyonları, jelleşme şartları gibi durumların değiştirilmesi ile modifiye edilerek farklı özellikler kazandırılabilir. Hidrojel yapısının gözenek yapıları farklılaştırılarak kontrollü salıma elverişli hale getirilebilir, pH hassasiyeti bulunan bölgelerde ilacın yavaş salınmasını sağlayabilir.

Literatürde propranolol hidroklorürün midede kalma süresinin arttırılması, salım kinetiğinin kontrol edilmesi amacıyla çeşitli taşıyıcı sistemler incelenmiş olup yapılan çalışmalardan birkaç tanesi aşağıda anlatılmıştır.

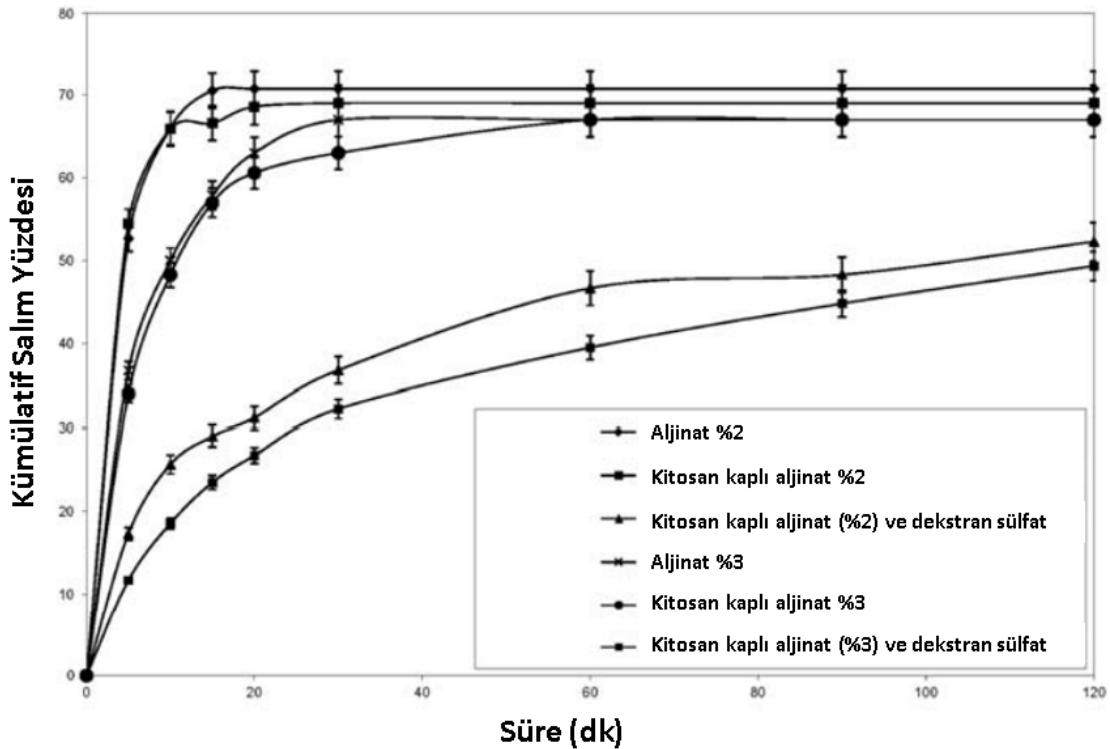
Lim ve Wan (1997) propranolol hidroklorürün kalsiyum aljinat taneciklerindeki aljinat zincirleri ile etkileşimini incelemişlerdir. Kalsiyum aljinat taneciklerine bağlanan Ca^{2+} iyonları ve propranolol hidroklorürün bağlanma şekillerinin ve yapıya eş zamanlı ya da sonra eklenmesinin salım kinetiği üzerinde etkisini incelemişlerdir. Yüzey morfolojisinin incelenmesi amacıyla diferansiyel taramalı kalorimetre analizleri gerçekleştirilmiştir. PHCl yüklü kalsiyum aljinat tanecikleri iki yöntemle elde edilmiştir. İlk yöntemde, 50 ml %2 (w/v) derişimdeki aljinat çözeltisinin %0,25-7,5(w/v) derişim aralığındaki 100 ml $CaCl_2$ çözeltisine damlatılıp daha sonra %5 (w/v) PHCl içeren çözeltide 2 saat karıştırılmasıyla ilaç yüklemesi gerçekleştirilmiştir. İkinci yöntemde ise 50 ml %2 (w/v) derişimdeki aljinat çözeltisi, 100 ml %0,25-7,5(w/v) derişim aralığında %5(w/v) PHCl içeren $CaCl_2$ çözeltisine damlatılarak elde edilmiştir. Her iki yöntemle oluşturulan tanecikler için Ca^{2+} içerikleri ve yüklenen PHCl miktarı tespit edilmiştir. Diferansiyel taramalı kalorimetre analizleri sonucunda, PHCl ve Ca^{2+} iyonları aljinat molekülünde ortak zincirlere tutundukları, tanecik morfolojisinin hem PHCl hem de Ca^{2+} miktarlarından etkilendiği belirlenmiştir. Taneciklere yüklenen PHCl miktarının Ca^{2+} iyonlarının miktarının azaltılması sonucu arttığı belirlenmiştir. Eş zamanlı olarak $CaCl_2$ çözeltisinin içerisinde bulunan PHCl ile hazırlanan taneciklere yüklenen ilaç miktarı %0,5 (w/w) c derişimi için % 59,78 (w/w); diğer yöntem ile hazırlanan taneciklere yüklenen ilaç miktarı ise % 67,07 (w/w) olarak bulunmuştur. Çalışma sonucunda jelleştirme ajanı olan $CaCl_2$ derişimi arttıkça aljinat molekülünün zincirlerine tutunan PHCl miktarının azaldığı belirlenmiştirYapılan çalışma, PHCl gibi katyonik bir ilacın kalsiyum aljinat taneciklerine yüklenmesi ve tutunma derecesi, ilacın yapıya eklenme yöntemi ve derişimine, aynı zamanda ilaç yükleme veriminin Ca^{2+} iyonlarının derişimine bağlı olduğunu göstermektedir. PHCl gibi katyonik ilaçların taşıyıcı sistemi olarak kalsiyum aljinat tanecikleri seçildiğinde bu faktörler göz önünde bulundurulmalıdır.

Fursule vd. (2008) propranolol hidroklorürün gastrointestinal bölgede kalış süresini uzatıp ilacın çözünürlüğünü ve biyoyararlanımı arttırmak ve kontrollü salımını gerçekleştirmek amacıyla bir taşıyıcı sistem geliştirmeyi hedeflemişlerdir. Midede kalış süresinin uzaması amacıyla gastrik bölgede şişip genişlemesi ve yüzmesi amacıyla mineral yağ ile polimer etkileşimi ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılmıştır. Polimer

olarak, ucuz toksik olmaması ve gastrik ortamın pH değerine dayanıklı olması nedeniyle aljinat kullanılmıştır. PHCl yüklü kalsiyum aljinat tanecikleri iyonotropik jelasyon ve mineral yağ içeren PHCl yüklü kalsiyum aljinat tanecikleri emülsiyon jelasyon yöntemleri ile hazırlanmıştır. Mineral yağ derişimi %0-35 (w/w) olarak belirlenmiştir. Yüzey morofolojisi SEM Analizleri ile gerçekleştirilmiş olup *in vitro* salım çalışmaları yapay mide ortamında (pH 1,2) 10 saat olarak gerçekleştirilmiştir. . Mineral yağ derişiminin artması taneciklerden yağ sızmasına sebep olduğu gözlenmiştir. Mineral yağın bulunmadığı koşulda taneciklerin yüzmediği gözlenmiştir. Mineral yağ derişiminin en yüksek olduğu durumda (%35 w/w) en yüksek % ilaç içeriği elde edilmesine karşın (%9,88), en yüksek enkapsülasyon verimi %10 (w/w) mineral yağ derişiminde elde edilmiştir (%96,1). Mineral yağ derişiminin artması %ilaç içeriğini artırırken salımın en yüksek olduğu durum mineral yağ derişimlerinin en az olduğu koşullar olarak belirlenmiştir. Mineral yağ derişiminin artması sonucu taneciklerin büyüklükleri de artmış olup yapı gözeneklerinin büyüdüğü gözlenmiştir. Düşük derişimde mineral yağ içeren taneciklerin daha uzun ve kontrollü salım yaptığı belirlenmiştir.

Khorrām vd. (2014) çalışmalarında iyonotropik jelasyon ve elektrosprey yöntemlerini kullanarak aljinat taneciklerine propranolol hidroklorürün yüksek verimle yüklenmesini incelemişlerdir. Aljinat derişimi değiştirilerek yükleme verimine polimer derişiminin etkisi incelenmiştir. %2(w/v) aljinat, %3 (w/v) CaCl₂ içeren taneciklere ilaç yükleme verimi % 38,51 iken, aljinat derişimi % 3(w/v) olduğu durumda yükleme verimi % 43,15 değerine ulaşmıştır. Aljinat derişiminin arttırılması sonucu polimerin ilaç tutma kapasitesinin arttığı gözlenmiştir. Salım ortamında ilacın ilaç taşıyıcı matristen bir anda salınması olarak adlandırılan ilaç patlamasının önüne geçilmesi hedeflenmiştir. Bu hedef doğrultusunda aljinat tanecikleri kitosan ve dekstran sülfat ile kaplanmıştır. Aljinat derişiminin % 2 (w/v), CaCl₂ derişiminin %3(w/v) olduğu koşul için ilaç yükleme verimi %38,51 iken yapının % 0,5(w/v) derişiminde kitosan ile kaplanması sonucu yükleme verimi % 50,49 değerine ulaşmıştır. Kitosan derişimin arttırılması ilaç yükleme verimini aljinat derişiminden daha fazla etkilemiştir. Kitosan ile kaplanan yapıdan ilaç sızdırılmasının önlendiği gözlenmiştir. Aljinat derişiminin % 3(w/v), CaCl₂ %3 (w/v) olduğu koşul için ilaç yükleme verimi % 43,15 iken yapının %0,5 (w/v)

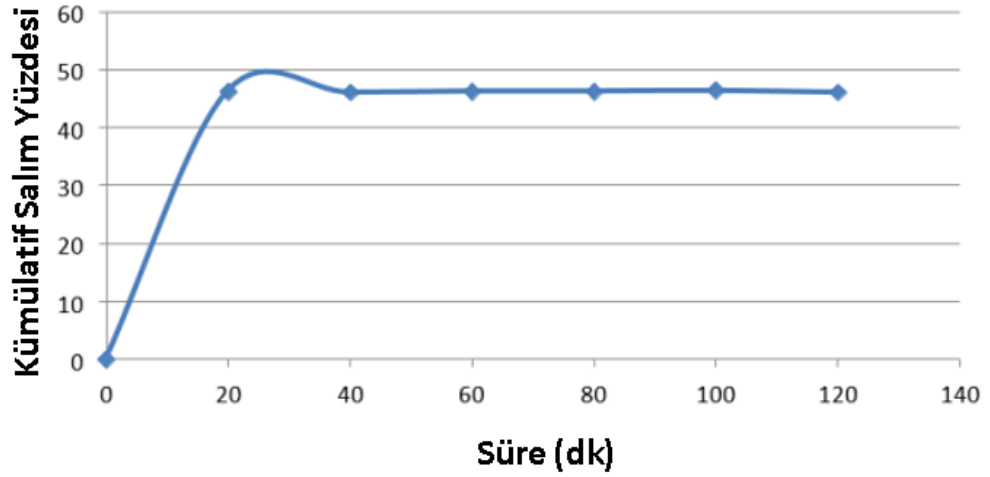
derişiminde kitosan ile kaplanması sonucu %53,87 değerine ulaşmıştır. Aynı koşullar için % 1(w/v) derişimde dekstran sülfatın eklenmesi ile ilaç yükleme verimi %70,82 değerine ulaşmıştır. Elektrosprey yönteminde, voltaj, püskürtme başlığının (nozzle) çapı, akış hızı ve sodyum aljinatın derişiminin ilaç yükleme verimine etkileri incelenmiştir. Elektrospreylemede kullanılan voltaj değerinin diğer parametrelere kıyasla ilaç yükleme verimi üzerinde en fazla etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Voltajın artırılması taneciklerin boyutunun küçülmesine sebep olmuştur. Akış hızı, aljinat derişimi ve püskürtücü başlık çapının artırılması ve voltajın düşürülmesi ilaç yükleme veriminde artış sağlamıştır. Salım çalışmaları yapay mide ve yapay bağırsak ortamlarında gerçekleştirilmiş ve sonuçlar karşılaştırılmıştır. Yapay mide ve bağırsak ortamlarında salım profilinin difüzyon kontrollü ve taneciklerin şişme davranışından bağımsız olduğu belirlenmiştir. şekil 2.14 incelendiğinde yapıya eklenen dekstran sülfatın gastrik ortamda ilaç salımını düşürdüğü ve ilaç patlamasının önüne geçtiği gözlenmiştir.



Şekil 2.14 pH 1,5 yapay mide ortamında PHCl yüklü aljinat, kitosan kaplı aljinat ve kitosan kaplı dekstran sülfat içeren aljinat taneciklerinin salım profili (Khorram vd. 2014)

Dubey vd. (2015) kitosan aljinat ve propranolol hidroklorür (PHCl) ile hazırlanan hidrodinamik olarak dengeli kapsül formunun düşük pH ortamında korunması ve ilaç salım profilinin incelenmesi üzerine çalışmalar yapmışlardır. Çalışmada mide ortamında ilacın kalma süresi ve salım profili araştırılmıştır. Karakterizasyon işlemi spektroskopik olarak UV-VIS analizi ile gerçekleştirilmiştir. Farklı kitosan ve aljinat derişimlerine aynı oranda PHCl yüklenmiş ve salım çalışmaları yapılmıştır. Salım çalışmaları pH 1,2 HCl ortamında gerçekleştirilmiştir. Kitosan, aljinat ve PHCl derişimleri sırası ile 4:1:1 olduğu komplekste 1 saat içinde ilacın %65'i salınmış, kitosan, aljinat ve PHCl konsantrasyonunun sırası ile 4: 1,5: 1 olduğu komplekste ise 1 saat içinde ilacın %30'u salınmıştır. Aljinat derişimin düşük pH ortamında kompleksin kalma süresini arttırdığı ve uzun süreli salım gerçekleştirdiği belirlenmiştir

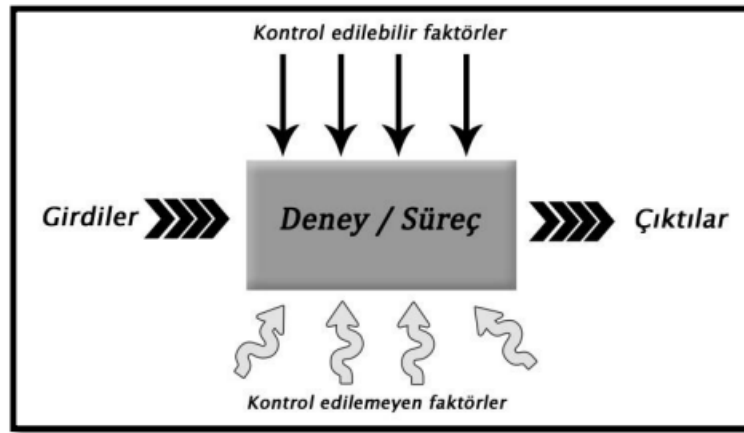
Krishnan (2021) çalışmasında, kalsiyum aljinat taneciklerinin farklı sulu ortamlarda şişme davranışını incelemiştir. Model ilaç olarak seçilen propranolol hidroklorürün kalsiyum aljinat taneciklerine yüklenmesi ve in vitro salım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Kalsiyum aljinat tanecikleri iyonotropik jelasyon yöntemi ile elde edilmiştir. 25 mg PHCl içeren 10 ml %1 (w/v) derişimdeki aljinat çözeltisi ilaç çözeltisi olarak, % 1,3 (w/v) derişimdeki 100 ml kalsiyum klorür dihidrat çözeltisi jelasyon çözeltisi olarak hazırlanmıştır. Taneciklerin şişme davranışı, pH 1,5 yapay mide sıvısı ve pH 6,8 yapay ince bağırsak sıvılarında incelenmiştir. PHCl salım çalışmaları pH 6,8 fosfat tamponunda gerçekleştirilmiştir. Düşük pH değerinde taneciklerin şişme eğilimi düşük olduğu, düşük alkali ortamda (pH 6,8) hızlı ve ani şişme gerçekleştirdiği belirlenmiştir. Düşük alkali ortamda (pH 6,8) gerçekleştirilen salım çalışması sonucunda şekil 2.15 incelendiğinde aljinat taneciklerinin ilacın yaklaşık %50'sini ilk 30 dakikada bıraktığı gözlenmiştir. Salım süresince yavaş salım profili gözlenmiştir. Çalışma sonucunda, kalsiyum aljinat taneciklerinin PHCl'nin yapay ince bağırsak ortamında (pH 6,8) ilaç taşıyıcı materyal olarak kullanılabileceği belirlenmiştir.



Şekil 2.15 pH 6,8 fosfat tamponunda PHCl yüklü kalsiyum aljinat taneciklerinin salım profili (Krishnan 2021)

2.6 Deneysel Tasarım

Bir tahmini belirlemek, doğrulamak veya incelemek amacıyla yapılan sürekli çalışmaların tümü bir deney olarak adlandırılır (Sağol 2015). Deneysel çalışmalar, kontrol edilebilen çeşitli durum ve koşulların, deney çıktılarının karakteristik özellikleri üzerindeki etkisini test etmek amacıyla uygulanan bir işlem veya süreç olarak tanımlanmaktadır (Önder 2020). Deney/süreç sisteminde bir ya da daha fazla girdi parametresinin, bir ya da birden fazla ölçülebilir özellikte çıktılarına dönüştürülmesi gerçekleşir. Bir süreç/deney ve bileşenleri genel olarak şekil 2.16'da verilmiştir.



Şekil 2.16 Bir süreç/deneyin genel modeli (Sağol 2015)

Bir deney sürecinde kontrol edilebilir değişkenlerin, deney çıktıları üzerindeki etkilerinin incelenmesi ve ürünün/çıktının performansında maksimum fayda elde etmek amacıyla bu değişkenlerin değiştirilmesi optimizasyon olarak adlandırılır. Deneysel tasarım ve optimizasyon, farklı sistem türlerini sistematik olarak incelemek için kullanılan araçlardır.

Klasik yöntem ile gerçekleştirilen optimizasyonda, bir parametrenin değiştirilip diğerlerinin sabit tutulması ile bir faktörün deneysel bir cevap üzerindeki etkisini izlemeyi amaçlanır. Bu yöntemde, her bir deneyde sadece tek parametrenin tek seviyesine ait gözlem değeri elde edilir (Ekpenyong vd. 2017, Sağol 2015) . İncelenen değişkenler arasındaki etkileşimleri içermemesi ve çalışmayı sürdürmek için gerekli olan deney sayısındaki artış bu yöntemin dezavantajlarıdır (Önder 2020).

Deneysel çalışmalar, mühendislikte, ürün ve süreç geliştirmede, sebep-sonuç ilişkisini belirlemede önemli bir rol oynamaktadır (Songür 2019). Bu nedenle deneysel çalışmalarda çok sayıda deneme gerçekleştirilir. Farklı tasarımlara ihtiyaç duyulan, çalışmanın niteliğine ve etkisi incelenecek faktörler ile faktör sayılarına bağlı olan, süre-bütçe kısıtlamalarına sahip deneysel çalışmalarda klasik yöntemler uzun süre ve fazla kaynağa ihtiyaç duyduğu için yetersiz kalabilmektedir (Bezerra vd. 2008, Songür 2019 ve Sağol 2015) . Bu sorunların üstesinden gelinmesi ve deneysel süreçte araştırılan parametre değerlerine etki eden faktörlerin değerlerinin sistematik olarak değiştirilerek performansı etkileyen değişken değerlerini anlamlı olarak belirlenmesi amacıyla istatistiksel deney tasarımı yapılmaktadır (Sağol 2015).

İstatistiksel deney tasarımı yapılarak süre, kaynak ve bütçe ile anlamlı veriler toplanabilir. Daha az deneme yapılarak deneysel parametreler arasındaki etkileşim incelenebilir, istenilen tekrar sayısı ile birbirine çok yakın sonuçlar elde edilebilir (Songür 2019).

Deney tasarımında süreç üzerinde etkisi olabilecek ve kontrol edilebilir bağımsız değişkenler faktör olarak adlandırılır. Deneyin/sürecin gerçekleştirilebilmesi için faktörlerin aldığı değerler ise seviye olarak tanımlanır. Süreç üzerinde etkisi olan ancak

kontrol edilemeyen faktörler ise gürültü faktörleri olarak adlandırılır. Süreç sonunda ölçülen/elde edilen değer yanıt (response) veya bağımlı değişken olarak tanımlanır (Önder 2020, Sağol 2015).

Yanıt değişkenine ait verilerin istatistik olarak değerlendirilmesi için genellikle SAS, SPSS, MINITAB, MATLAB ve DESIGN EXPERT gibi paket programlar kullanılmaktadır. Bu programlarda Varyans Analizi (ANalysis Of VAriance, ANOVA) gerçekleştirilerek faktörlerin yanıt değişkeni üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak anlamlılığı değerlendirilebilmektedir. Aynı zamanda deneysel hataların etkileri de istatistiksel olarak belirlenmektedir (Songür 2019). ANOVA ile yanıt değişkeni üzerinde etkiye sahip faktörler belirlendikten sonra, regresyon analizi ile deney sürecini tanımlayan bir model oluşturulur. Bu model, iki seviyeli faktöriyel tasarımlarda faktörlerin doğrusal etkilerini ile yanıt yüzeyi yöntemlerinde faktörlerin hem doğrusal (linear) hem de karesel (quadratic) etkilerini tanımlayabilmektedir (Sağol 2015).

İstatistiksel deney tasarımında; tam faktöriyel tasarımlar, kısmi faktöriyel tasarımlar, rastsallaştırılmış tasarımlar, cevap yüzey tasarımları (Merkezi Kompozit Tasarım, Box-Behnken Tasarımı) vb. yöntemler kullanılmaktadır. Tasarım yöntemi, incelenecek faktör sayısına ve hedeflenen çalışmaya göre çizelge 2.1'den yararlanılarak seçilebilir.

Çizelge 2.1 Deneysel tasarım yönteminin seçilmesi (Songür 2019)

Faktör sayısı	Karşılaştırma hedefi	Seçme hedefi	Yanıt yüzey hedefi
1	1 faktörlü tamamen rastsallaştırılmış tasarım		
2-4	Rastsallaştırılmış blok tasarım	Tam ya da kısmi faktöriyel tasarım	Merkezi kompozit ya da Box Behnken tasarımı
5 ya da daha fazla	Rastsallaştırılmış blok tasarım	Kısmi faktöriyel tasarım	Faktör sayısını azaltmak için seçme

2.6.1 Yanıt yüzeyi yöntemi (Response surface method, RSM)

Yanıt yüzeyi metodolojisi, deney tasarımı ve sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesi amacıyla kullanılmakta olan pratik ve güçlü istatistiksel tekniklerden birisidir. 1951 yılında Box ve Wilson tarafından “Denemelerin Optimum Koşullara Ulaşması” ismi ile geliştirilmiştir. Myers ve Montgomery yanıt yüzey yöntemini, proseslerin geliştirilmesi ve optimizasyonu için gerekli istatistiksel ve matematiksel tekniklerin birlikte kullanıldığı bir yöntem olarak tanımlamıştır (<https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/78297>, 2022).

Yanıt yüzeyi yöntemi, deneysel verilere ampirik modellerin uyumunu temel alan bir matematiksel ve istatistiksel teknikler grubundan oluşmaktadır. Bu amaca yönelik olarak, cevap yüzey yönteminde bir sistemi tanımlamak için doğrusal ya da kare polinom fonksiyonları kullanılmakta olup deney koşullarının optimizasyonu araştırılmaktadır (Bezerra vd. 2008 ve Önder 2020).

Çok sayıda değişken, çalışılan sisteme etki edebilir ve bu etkilerden en küçük olanı belirlemek ve kontrol etmek pratikte çok zordur. Bir deneysel çalışmada her birinin etkisi sonuç üzerinde farklı olan ve birbiri ile etkileşimleri sonucu etkileyen değişkenler olabilir. Bu deneysel değişkenleri belirlemek amacıyla tarama tasarımları yapılmalıdır. Bu amaç için tam veya kesirli iki seviyeli faktöriyel tasarımlar kullanılabilir (Bezerra vd. 2008).

RSM’de kullanılacak en basit model doğrusal bir fonksiyon olup deney/süreç sonunda elde edilen yanıtların aşağıdaki denkleme uyması gerekmektedir:

$$Y = \beta_0 \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \varepsilon \quad (2.6)$$

Eşitlik 2.6’da “Y” yanıt değişkenini, “k” değeri değişkenlerin sayısını, “0” sabit terimi, “i” lineer parametrelerin katsayısını, “x_i” değişkenleri, “ε” ise deneysel hatayı temsil etmektedir (Bezerra vd. 2008). Bu nedenle, yanıtlar herhangi bir eğrilik

göstermemelidir. Eğriliği (kavisleme) değerlendirmek için ikinci dereceden bir model kullanılmalıdır. Birinci mertebeden etkilerin tahmininde iki seviyeli faktöriyel tasarımlar kullanılır, ancak ikinci mertebeden etkiler gibi ek etkiler önemli olduğunda bu tasarımlar başarısız olurlar. Bu nedenle, eğriliği değerlendirmek için iki seviyeli faktöriyel tasarımlarda ikinci dereceden bir etkileşim için eşitlik 2.7’de verilen denklem kullanılabilir (Bezerra vd. 2008).

$$Y = \beta_0 \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{1 \leq i \leq j}^k \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (2.7)$$

Eşitlik 2.7’de β_{ij} etkileşim parametrelerinin katsayılarını ifade etmektedir.

Kritik bir noktayı belirlemek için (maksimum, minimum veya eyer), polinom fonksiyonunun aşağıdaki eşitlikte sunulan denkleme göre ikinci dereceden terimler içermesi için gerekmektedir (Bezerra vd. 2008, Önder 2020).

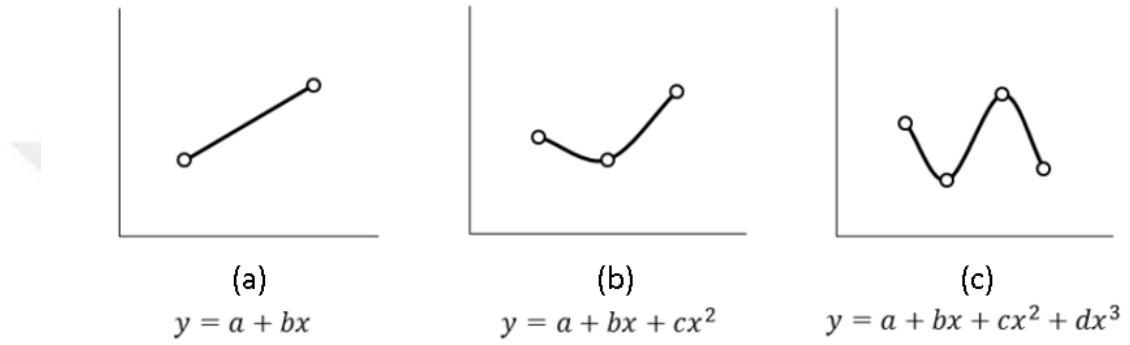
$$Y = \beta_0 \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{1 \leq i \leq j}^k \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (2.8)$$

Eşitlik 2.8’de yer alan denkleme β_{ii} karesel parametrelerin katsayılarını ifade etmektedir.

Denklemdaki parametreleri tahmin etmek için deney tasarımının, incelenen tüm değişkenlerin en az üç faktör düzeyinde gerçekleştirildiğinden emin olunmalıdır (Bezerra vd. 2008).

İstatistiksel deney tasarımında, etkisi incelenen faktörlerin yanıt değişkeni üzerindeki etkisi şekil 2.17–(a)’da görüldüğü gibi doğrusal olduğu durumlarda elde edilecek regresyon modeli birinci dereceden bir polinomdan oluşacaktır. Şekil 2.17–(b)’de ise, yanıt değişkeni üzerindeki etkisi ikinci dereceden olan faktörlerin regresyon modeli görülmektedir. İkinci dereceden etkilerin regresyon modeli ile tanımlanabilmesi için faktörlerin en az 3 farklı seviyesinde deneylerin gerçekleştirilmesi gerekmektedir

(Songür 2019). Şekil 2.17–(c)'de ise yanıt değişkeni üzerindeki kübik etkinin regresyon modeli verilmiştir. Kübik etkinin tanımlanabilmesi için ise faktörün en az 4 seviyesinin denenmiş olması gerekmektedir. RSM yöntemlerinin tamamında faktörlerin en az 3 farklı seviyesinde deneyler gerçekleştirildiği için olası bütün faktör etkilerinin (doğrusal veya ikinci dereceden) tanımlanması mümkün olmaktadır (Songür 2019).



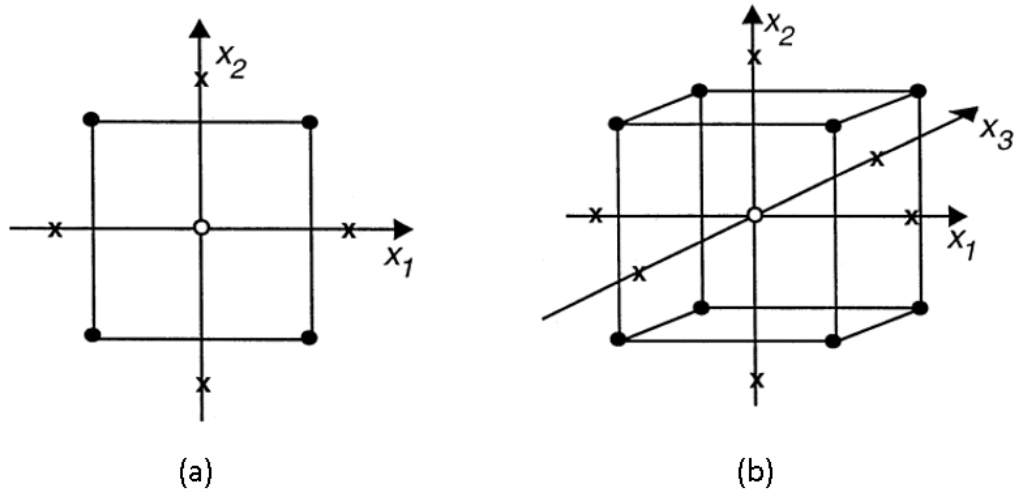
Şekil 2.17 Faktörlerin yanıt değişkeni üzerindeki etkileri (Sağol 2015)

İkinci dereceden tasarım yöntemleri arasında en yaygın kullanılan yanıt yüzeyi deney tasarımları arasında Merkezi Kompozit Tasarım (Central Composite design, CCD) ve Box Behnken tasarımı yer almaktadır. Box-Behnken ve merkezi kompozit tasarım, deney noktalarının seçimi, seviye sayıları, değişkenler için birbirinden farklı tasarımlardır (Bezerra vd. 2008).

2.6.1.1 Merkezi kompozit tasarım (Central composite design, CCD)

Tam bir merkezi kompozit tasarım aşağıdaki bölümlerden oluşur:

- Tam faktöriyel veya kesirli faktöriyel tasarım.
- Merkezdeki deneyler için bir tasarım noktası (tüm i değerleri için $x_i = 0$)
- Merkezden α uzaklığında deneysel noktaların olduğu yıldız tasarımı ($x_i = \pm \alpha$ ve $x_j \neq x_i \neq 0$) (Lundstedt vd. 1998 ve Songür 2019).



Şekil 2.18 (a) 2 değişkenli (b) 3 değişkenli optimizasyon için CCD (•) faktöriyel tasarım noktaları, (x) aksenal noktalar, (o) merkez nokta (Lundstedt vd. 1998)

CCD tasarımında, α (alfa) değeri olarak ifade edilen aksenal noktaların kullanılması bu tasarım yöntemi diğerlerinden ayırmaktadır (Sağol 2015). Aksenal noktalar, her faktör için düşük ve yüksek olmak üzere fazladan 2 seviyede deney gerektirir. Alfa değeri, istenilen tasarım özelliklerine ve faktör sayısına göre farklı eşitlik 2.9 kullanılarak hesaplanabilir (Lundstedt vd. 1998, Bezerra vd. 2008 ve Sağol 2015).

$$\alpha = 2^{(k-p)/4} \quad (2.9)$$

Bu deney tasarımı için gerekli deney sayısı eşit 2.10'da verilen denklem ile hesaplanabilir (Bezerra vd. 2008, Songür 2019).

$$N = k^2 + 2k + Cp \quad (2.10)$$

Bu denklemde; N deney sayısını, k faktör sayısını, Cp merkez noktadaki tekrar sayısını göstermektedir (Songür 2019).

CCD tasarımında tüm faktörlerin 5 seviyede çalışılması gerekmektedir ($-\alpha, -1, 0, +1, +\alpha$).

2.6.1.2 Box-Behnken tasarımı

Box-Behnken tasarımı, 3 seviyeli faktöriyel tasarımlardan türetilen bir RSM yöntemidir. Bu tasarımlarının kullanılması için etkisi incelenecek parametre sayısı en az 3 olmalıdır (Sağol 2015). Box-Behnken Tasarımında deneysel noktalar merkez noktasından eşit uzaklıktadır (Songür 2019).

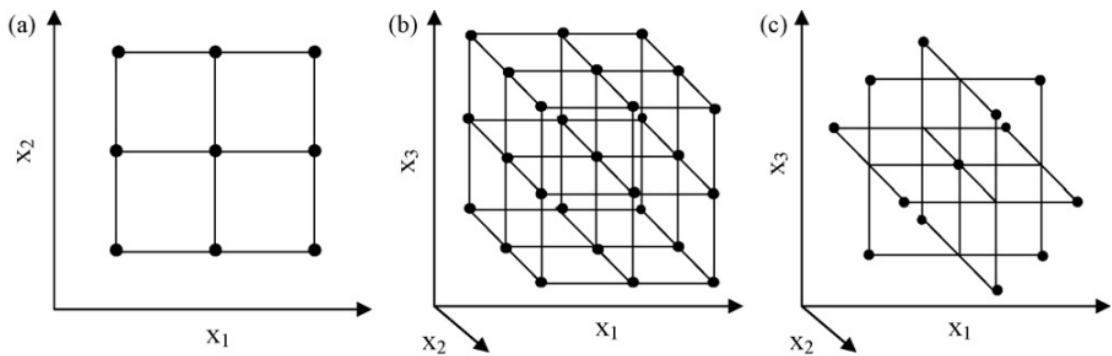
Bu tasarım için gerekli deney sayısı eşitlik 2.11’de verilen denklemden yararlanılarak hesaplanabilir (Bezerra vd. 2008).

$$N = 2k(k - 1) + Cp \quad (2.11)$$

Bu denklemde N deney sayısını, k faktör sayısını ve Cp merkez noktasındaki deney tekrarını göstermektedir.

Bu tasarımda tüm faktör seviyeleri 3 seviyede (-1,0,1) olmalıdır.

Şekil 2.19 (a) ve (b)’de sırasıyla iki ve üç değişkenli optimizasyon için 3 seviyeli faktöriyel tasarımların deneysel tasarımı görülmektedir (Songür 2019).

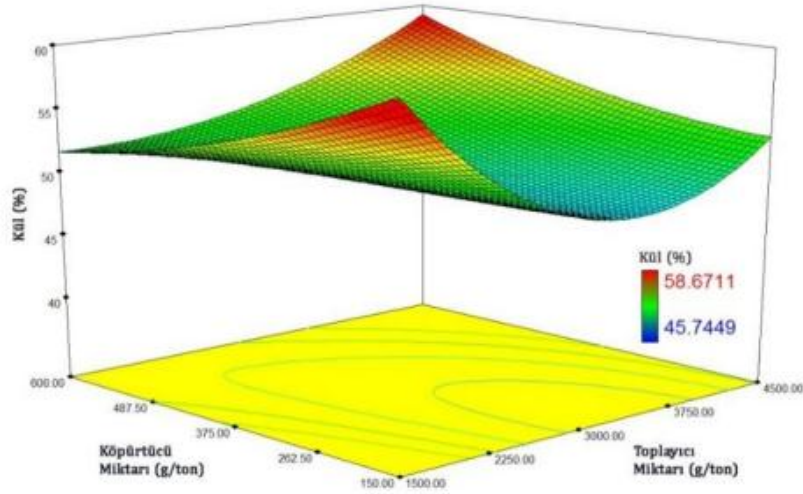


Şekil 2.19 (a) 2 değişkenli (b) 3 değişkenli optimizasyon için 3 seviyeli faktöriyel tasarım (c) 3 değişkenli optimizasyon için Box-Behnken Tasarımı (Songür 2019).

RSM'nin uygulama aşamaları aşağıdaki gibi sıralanabilir:

- Bir sistemin veya problemin tanımlanarak sisteme etki eden veya problemin çözümünde etkisi olabilecek bağımsız değişkenler seçilmesi
- DeneySEL tasarım yönteminin seçilmesi ve deneySEL matirSe göre deneylerin gerçekleştirilmesi
- Elde edilen deney verilerinin istatistiksel açıdan değerlendirilmesi
- Analiz sonuçlarının yorumlanması ve sonuca ulaşılması

İstatistiksel analizin yapılmasının ardından deney verilerinin grafik üzerinden yorumlanması ile de sonuca ulaşılır. Sonuçların yorumlanmasında kullanılan örnek bir yanıt yüzeyi profili şekil 2.20'de verilmiştir (Sağol 2015). Elde edilen sonuçların geçerliliğini kontrol etmek amacıyla belirlenen koşullar için doğrulama deneyleri gerçekleştirilmelidir.



Şekil 2.20 Örnek bir yanıt yüzeyi profili (Sağol 2015)

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

Kitosan (medium molecular weight), alijinik asit sodyum tuzu, dekstrin ve propranolol hidroklorür Sigma-Alrich (Steinheim,Almanya)'dan; kalsiyum klorür (CaCl_2), sodyum hidroksit (NaOH) ve hidroklorik asit (HCl) Merck (Dramstadt,Almanya)'dan; asetik asit (glacial, %99) Riedel-de Haen (Seelze, Almanya)'dan alınmıştır.

Deneyisel çalışmalarda, Hanna (pH 211) pH metre, Ohaus-Pioneer (PA214C) 0,0001 duyarlıkta terazi, Shimadzu (UV-1601) spektrofotometre, Barnstead Thermolyne Mirak manyetik karıştırıcı, Nüve EN400 etüv, Hettich (Rotina 35R) santrifuj cihazı ve Gerhardt Thermoshake çalkalamalı inkübatör kullanılmıştır.

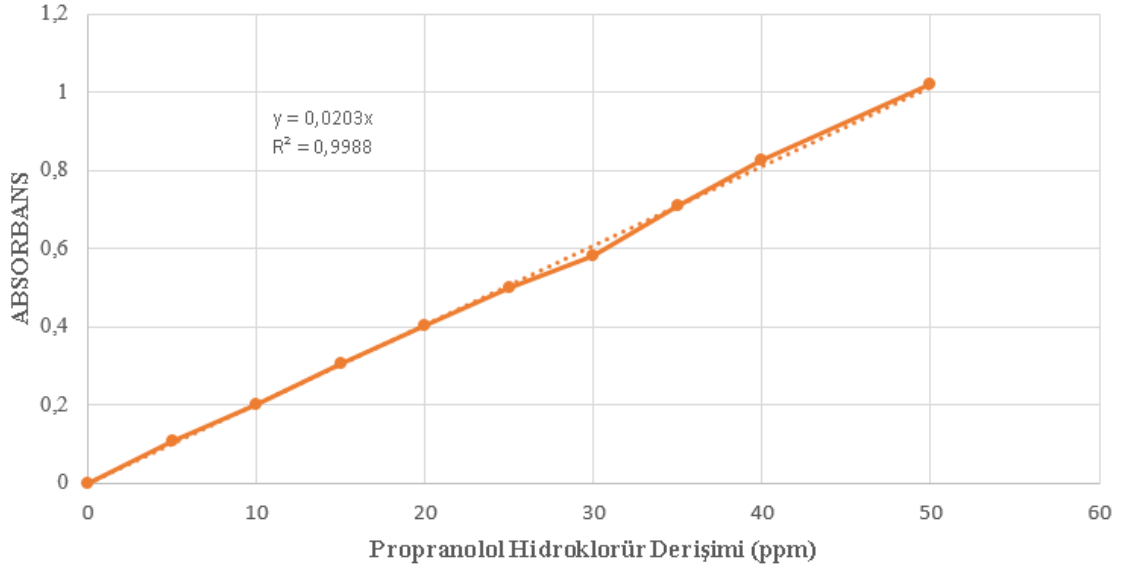
3.2 Yöntem

3.2.1 Propranolol hidroklorür-HCl kalibrasyon grafiğinin hazırlanması

Tüm denemelerden önce propranolol hidroklorürün (PHCl), 0,1M hidroklorik asit (HCl) içerisinde çözülmesiyle 100 ppm'lik PHCl-HCl stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözeltinin UV Spektrofotometrede (Shimadzu UV-1601) 200-400 nm dalga boyu aralığında spektrumu alınmıştır. Spektrumda 235, 290 ve 310 nm dalga boylarında 3 pik görülmüş olup literatürle uyumlu olunması ve düşük dalga boyunda girişimin fazla olabilme ihtimalinden dolayı çalışılacak dalga boyu 290 nm olarak belirlenmiştir.

100 mg PHCl, 100 ml 0,1 M HCl içerisinde çözülerek 1000 ppm'lik PHCl-HCl stok çözeltisi hazırlanmıştır. Stok çözeltisi, 0,1M HCl ile seyreltilerek derişimleri 50, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5 ppm olacak şekilde PHCl-HCl kalibrasyon çözeltileri hazırlanmıştır. Kalibrasyon çözeltilerinin 290 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür. Absorbans değerleri PHCl derişimine karşı grafiğe geçirilerek PHCl-HCl

kalibrasyon grafiği hazırlanmıştır (şekil 3.1). Hazırlanan bu kalibrasyon grafiği PHCl'nin mide hedefli salım çalışmalarında kullanılmıştır.



şekil 3.1 PHCl'nin HCl ile hazırlanan kalibrasyon grafiği

3.2.2 Jelasyon çözeltisinde kalan propranolol hidroklorür derişimine göre kalibrasyon grafiğinin hazırlanması

Kitosan ve kalsiyum klorürden (CaCl_2) oluşan jelasyon çözeltisinin farklı derişimleri için jelasyon çözeltisinde kalan PHCl'e göre kalibrasyon grafikleri hazırlanmıştır.

CaCl_2 derişimin %1 (w/v) değerinde sabit tutulduğu koşulda, %0,1-0,2-0,3-0,4-0,5-0,6-0,8 (w/v) derişimlerinde kitosan içeren jelasyon çözeltisinde PHCl özölerek 250 ppm'lik PHCl stok çözeltileri hazırlanmıştır. Her bir stok çözeltisi, hazırlandığı çözücü ile (%0,1-0,2-0,3-0,4-0,5-0,6-0,8 (w/v) derişimlerinde kitosan ve %1,0 (w/v) CaCl_2 içeren jelasyon çözeltisi) seyreltilerek derişimleri 100, 50, 25, 10, 5 ppm olacak şekilde kalibrasyon çözeltileri hazırlanmıştır. Kalibrasyon özeltilerinin 290 nm dalga boyunda verdikleri absorbans değerleri PHCl derişimine karşı grafiğe geçirilerek her bir kitosan derişimi için jelasyon çözeltisinde kalan PHCl derişimine göre kalibrasyon grafiği hazırlanmıştır. %0,1-0,2-0,3-0,4-0,5-0,6-0,7-0,8 (w/v) kitosan derişimlerindeki jelasyon

çözeltilinde kalan PHCl derişimine göre hazırlanan kalibrasyon grafikleri sırasıyla EK 1, EK 2, EK 3, EK 4, EK 5, EK 6, EK 7, EK 8' de verilmiştir.

Kitosan derişiminin %0,2 (w/v) değerinde sabit tutulduğu koşulda, CaCl₂'nin % 0,2-0,5-1,5-2,0-3,0 (w/v) derişimlerinde olduğu jelasyon çözeltilerinde PHCl çözümlenerek 250 ppm'lik PHCl stok çözeltileri hazırlanmıştır. Her bir stok çözeltisi, hazırlandığı çözücü ile (% 0,2-0,5-1,5-2,0-3,0 (w/v) derişimlerinde CaCl₂ ve %0,2 (w/v) kitosan içeren jelasyon çözeltisi) seyreltilerek derişimleri 100, 50, 25, 10, 5 ppm olacak şekilde kalibrasyon çözeltileri hazırlanmıştır. Kitosan derişiminin %0,4 ve %0,6 (w/v) değerlerinde sabit tutulduğu koşullar için de bu işlemler tekrarlanarak CaCl₂'nin % 0,2-0,5-1,5 (w/v) derişimlerinde PHCl stok çözeltileri hazırlanmıştır. Her bir stok çözeltisi, hazırlandığı çözücü ile (% 0,2-0,5-1,5-2,0-3,0 (w/v) derişimlerinde CaCl₂ ve %0,4, %0,6 (w/v) kitosan içeren jelasyon çözeltileri) seyreltilerek derişimleri 100, 50, 25, 10, 5 ppm olacak şekilde kalibrasyon çözeltileri hazırlanmıştır.

Kalibrasyon çözeltilerinin 290 nm dalga boyunda verdikleri absorbans değerleri PHCl derişimine karşı grafiğe geçirilerek her bir CaCl₂ derişimi için jelasyon çözeltilerinde kalan PHCl derişimine göre kalibrasyon grafiği hazırlanmıştır. %0,2-0,5-1,5-2,0-3,0 (w/v) derişimlerinde CaCl₂ ve %0,2 (w/v) derişiminde kitosan içeren jelasyon çözeltilerinde kalan PHCl derişimine göre hazırlanan kalibrasyon grafiği EK 9'da, %0,2-0,5-1,5 (w/v) derişimlerinde CaCl₂ ve %0,4-0,6 (w/v) derişimlerinde kitosan içeren jelasyon çözeltilerinde kalan PHCl derişimine göre hazırlanan kalibrasyon grafikleri sırasıyla EK 10 ve EK 11'de verilmiştir.

Kitosanın %0,25 (w/v) değerinde sabit tutulduğu koşulda, CaCl₂'nin %0,6 ve %1,4 (w/v) derişimlerinde olduğu jelasyon çözeltilerinde kalan PHCl derişimine göre kalibrasyon grafikleri hazırlanmış olup sırasıyla EK 12 ve EK 13'te verilmiştir.

Kitosanın %0,55 (w/v) değerinde sabit tutulduğu koşulda, CaCl₂'nin %0,6 ve %1,4 (w/v) derişimlerinde olduğu jelasyon çözeltilerinde kalan PHCl derişimine göre kalibrasyon grafikleri hazırlanmış olup sırasıyla EK 14 ve EK 15'te verilmiştir.

Son olarak kitosanın %0,4 (w/v) derişiminde, CaCl₂'nin %1,8 (w/v) derişiminde olduğu jelasyon çözeltilerinde kalan PHCl derişimine göre kalibrasyon grafikleri hazırlanmış olup EK 16'da verilmiştir.

Jelasyon çözeltisi içerisinde kalan PHCl derişimine göre hazırlanan kalibrasyon grafiklerinin hazırlanma koşulları çizelge 3.1'de toplu olarak verilmiştir.

Çizelge 3.1 Jelasyon çözeltisinde kalan PHCl derişimine göre oluşturulan kalibrasyon grafiklerinde kullanılan kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanma koşulları

KitosanDerişimi %(w/v)										
	0,1	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5	0,55	0,6	0,7	0,8
	1,0	0,2	0,6	1,0	0,2	1,0	0,6	0,2	1,0	1,0
	-	0,5	1,4	-	0,5	-	1,4	0,5	-	-
CaCl₂	-	1	-	-	1	-	-	1	-	-
Derişimi	-	1,5	-	-	1,5	-	-	1,5	-	-
(% w/v)	-	-	-	-	1,8	-	-	-	-	-
	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-

Kitosan ve CaCl₂'nin çeşitli derişimlerde olduğu jelasyon çözeltisinde kalan PHCl derişimine göre hazırlanan kalibrasyon grafiği PHCl'nin enkapsülasyon veriminin hesaplanmasında kullanılmıştır.

3.2.3 Yıkama sularında kalan propranolol hidroklorür derişimine göre kalibrasyon grafiğinin hazırlanması

PHCl yüklü aljinat-kitosan taneciklerinin saf su ile yıkanması sonucu elde edilen yıkama suyunda kalan ilaç miktarının belirlenmesi amacıyla PHCl saf suda çözülerek 1000 ppm'lik propranolol hidroklorür stok çözeltisi hazırlanmıştır. Stok çözeltisi saf su ile seyreltilerek 100, 50, 25, 10, 5 ppm olacak şekilde kalibrasyon çözeltileri hazırlanmıştır. Kalibrasyon çözeltilerinin 290 nm dalga boyunda verdikleri absorbans değerleri PHCl derişimine karşı grafiğe geçirilerek saf su ile PHCl kalibrasyon grafiği

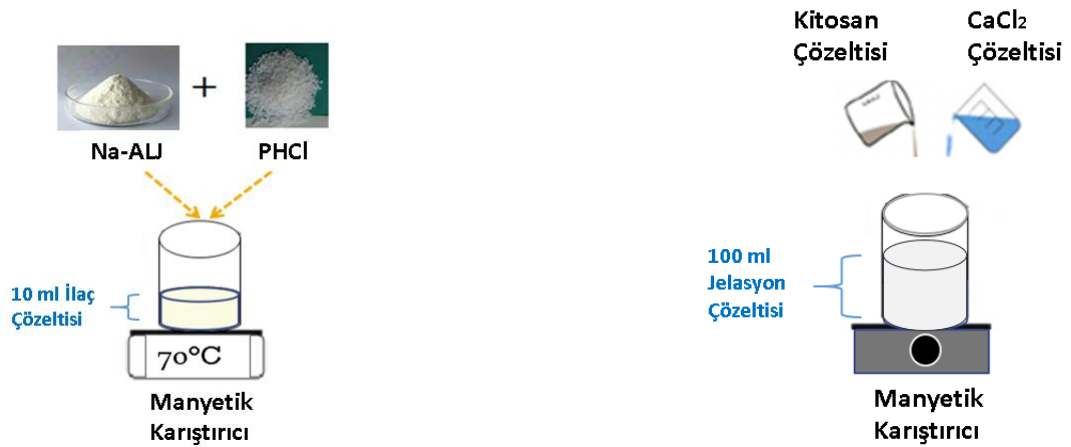
hazırlanmıştır. Hazırlanan PHCl- saf su kalibrasyon grafiği EK 17’de verilmiş olup bu grafik PHCl’nin enkapsülasyon veriminin hesaplanmasında kullanılmıştır.

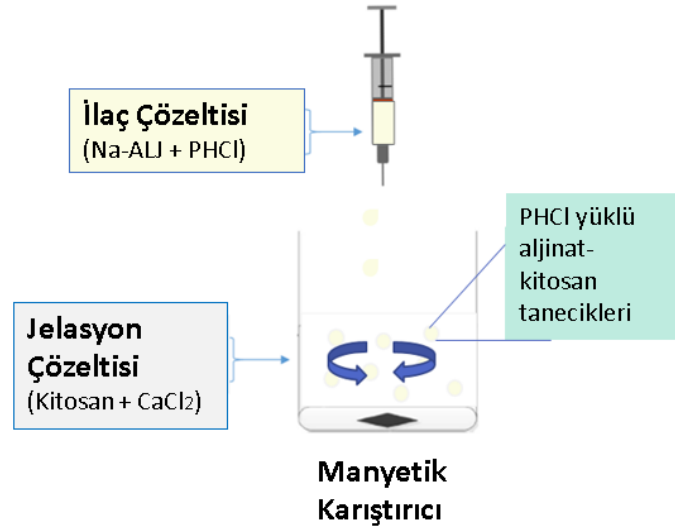
3.2.4 Aljinat-kitosan taneciklerinin hazırlanması

PHCl yüklü taneciklerin hazırlanması amacıyla %1,0-2,0-2,5-3,0-4,0(w/v) derişimlerinde alijinik asit sodyum tuzu ve %1,0 (w/v) derişiminde PHCl 10 ml saf suda çözülmüştür (Şekil 3.2(a)). Hazırlanan ilaç çözeltilisinin homojen hale gelmesi amacıyla 2 saat karıştırma işlemi gerçekleştirilmiştir.

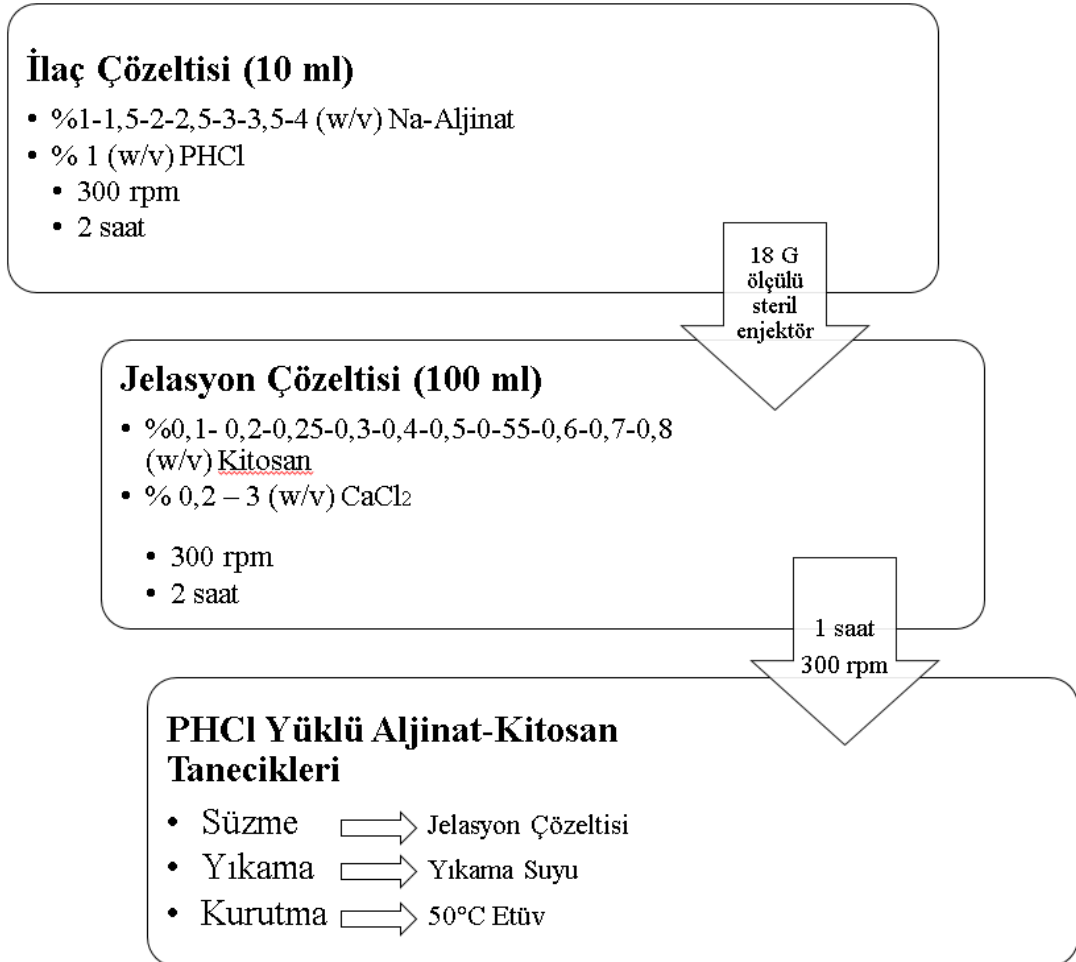
Farklı derişimlerde kalsiyum klorür (CaCl_2) ve kitosan (CTS) içeren 100 ml jelasyon çözeltilisi hazırlanmış, kullanım öncesinde 2 saat karıştırma işlemi uygulanmıştır (Şekil 3.2 (b)). Kitosan, oda sıcaklığında 0,1M asetik asitte çözülmüş ve çözünmeyen kalıntılardan arındırılması amacıyla santrifujlenmiştir (8000 rpm 6 dk). Farklı derişimlerdeki jelasyon çözeltilisi, kitosan çözeltilisinin %0,5-3,0 (w/v) CaCl_2 çözeltilisi ile seyreltilmesi ile elde edilmiştir. Jelasyon çözeltilisinin pH değeri 1M sodyum hidroksit (NaOH) ile $4,0 \pm 0,1$ değerine ayarlanmıştır.

10 ml ilaç çözeltilisi 18 gauge ölçülü enjektör ile 100 ml jelasyon çözeltilisi içerisine şekil 3.3’te görüldüğü gibi damlatılarak pürüzsüz, yuvarlak homojen PHCl yüklü aljinat-kitosan tanecikleri elde edilmiştir (Şekil 3.4).



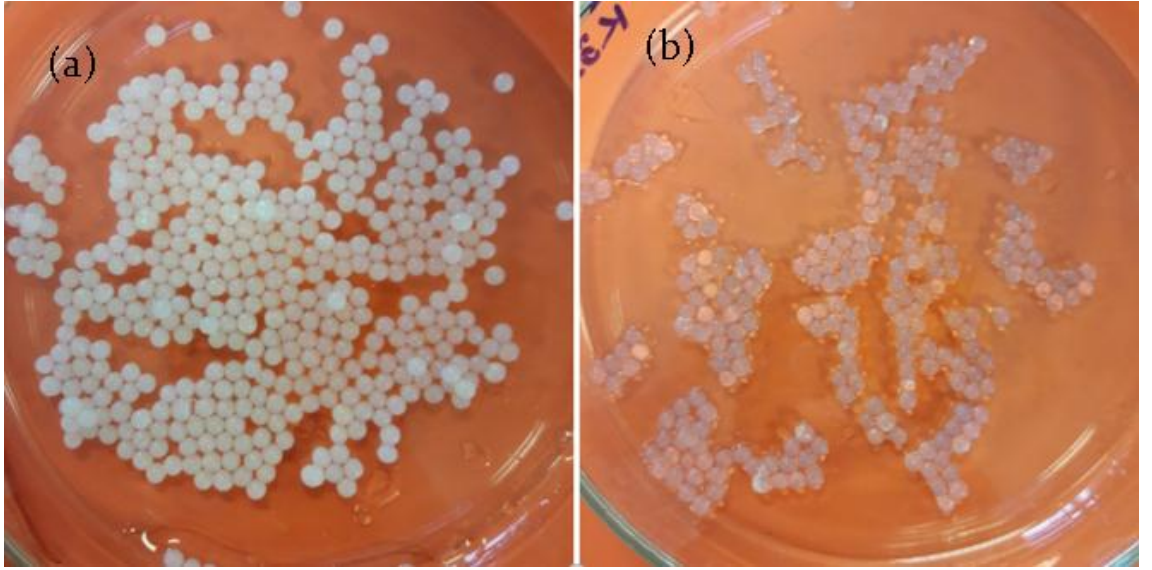


Şekil 3.3 PHCl yüklü aljinat-kitosan taneciklerinin iyonotropik jelasyon yöntemi ile elde edilişi



Şekil 3.4 PHCl yüklü aljinat-kitosan taneciklerinin hazırlanması

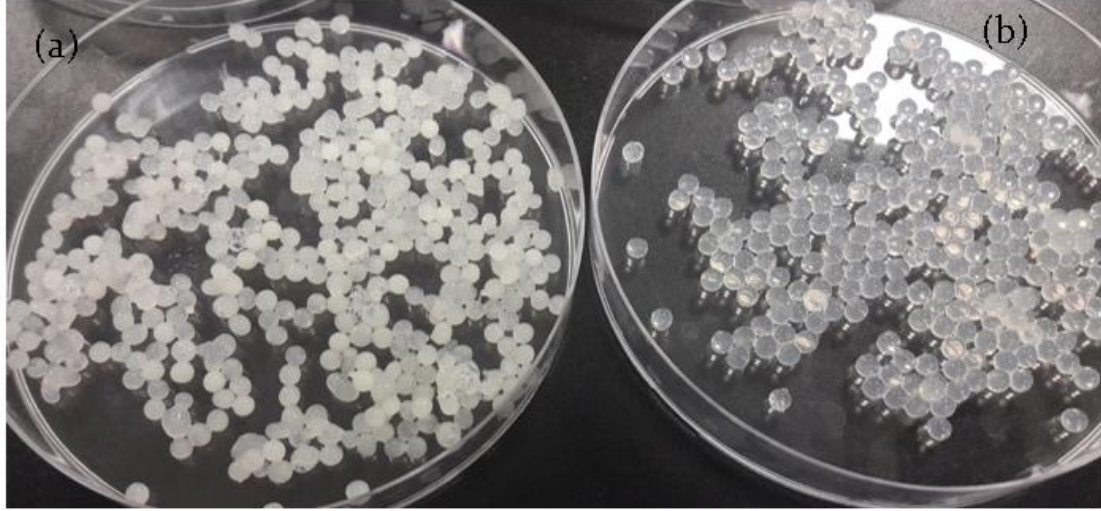
İlaç yüklü aljinat-kitosan tanecikleri şekil 3.5(a)'da verilmiştir. Boş aljinat-kitosan tanecikleri, PHCl ilave edilmeden aynı işlemlerin tekrarlanması sonucunda elde edilmiştir (Şekil 3.5(b)). Boş ve ilaç yüklü aljinat-kitosan tanecikleri jelasyon çözeltisi içerisinde 1 saat boyunca 300 rpm karıştırma hızında karıştırılmıştır. Tanecikler toplanıp, süzülüp saf su ile yıkanmıştır. Hazırlanan tanecikler kurutulmak üzere 50°C sıcaklığındaki etüve alınmıştır.



Şekil 3.5 (a) Kurutma öncesi, ıslak PHCl yüklü aljinat-kitosan tanecikleri (b) Kurutma öncesi, ıslak boş aljinat-kitosan tanecikleri

Tanecik yapısına dekstrinin katılması ile aljinat-dekstrin-kitosan tanecikleri yukarıda anlatılan iyonotropik jelasyon yöntemi ile hazırlanmıştır. %2,0 (w/v) derişiminde alijinik asit sodyum tuzu ve % 0,5-1,0-1,5 (w/v) derişimlerinde dekstrin ve 100 mg PHCl 10 ml saf suda çözülerek sodyum aljinat, dekstrin ve PHCl içeren ilaç çözeltisi hazırlanmıştır. İlaç çözeltisinin homojen hale gelmesi amacıyla 2 saat karıştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. % 0,5 (w/v) derişiminde kalsiyum klorür ve % 0,6 (w/v) derişiminde kitosan içeren 100 ml jelasyon çözeltisi hazırlanmış, kullanım öncesinde 2 saat karıştırma işlemi uygulanmıştır. Kitosan, oda sıcaklığında 0,1M asetik asitte çözülmüş ve çözünmeyen kalıntılardan arındırılması amacıyla santrifujlenmiştir (8000 rpm 6 dk). Jelasyon çözeltisinin pH değeri 1M NaOH ile 4-4,5 ve 5 ($\pm 0,1$), 1M HCl ile daha düşük pH değerlerine (pH 3,5) ayarlanmıştır.

10 ml ilaç çözeltisi 18 gauge ölçülü enjektör ile 100 ml jelasyon çözeltisi içerisine damlatılarak pürüzsüz, yuvarlak homojen ilaç yüklü ve boş aljinat-dekstrin-kitosan tanecikleri elde edilmiştir (Şekil 3.6 (a) ve (b)).



Şekil 3.6 (a) Kurutma öncesi, ıslak PHCl yüklü aljinat-dekstrin-kitosan tanecikleri (b) Kurutma öncesi, ıslak boş aljinat-dekstrin-kitosan tanecikleri

3.2.5 Enkapsülasyon veriminin belirlenmesi ve enkapsülasyon verimini etkileyen parametreler

Aljinat-kitosan ve aljinat-dekstrin kitosan taneciklerine yüklenecek olan PHCl miktarı 100 mg olarak belirlenmiştir.

PHCl yüklü aljinat-kitosan ve aljinat-dekstrin-kitosan tanecikleri bölüm 3.2.4'te anlatıldığı gibi elde edilmiştir. Tanecikler jelasyon çözeltisinden süzülüp saf su ile yıkanmıştır. Taneciklerin süzülerek ayrıldığı jelasyon çözeltisi ve taneciklerin yıkanmış olduğu saf su 290 nm dalga boyunda UV spektroskopisinde analizlenerek taneciklere hapsolmayan PHCl'nin absorbans değeri ölçülmüştür. Jelasyon çözeltileri ve yıkama suyu kalibrasyon grafiklerinden yola çıkılarak çözeltilerde kalan PHCl miktarı hesaplanmıştır.

Enkapsülasyon verimi eşitlik 4. 1 kullanılarak, yıkama suyu ve jelasyon çözeltisinde kalmış olup taneciklere yüklenemeyen toplam PHCl miktarının başlangıçta kullanılan PHCl miktarından çıkarılıp, başlangıçta PHCl miktarına bölünmesi ile hesaplanmıştır.

$$\% \text{Enkapsülasyon Verimi} = \frac{\text{Başlangıçtaki PHCl miktarı (mg)} - \text{Yüklenemeyen PHCl miktarı (mg)}}{\text{Başlangıçtaki PHCl miktarı (mg)}} * 100 \quad (4.1)$$

İlaç içeriği, 1 mg taneciğin içermiş olduğu PHCl yüzdesidir ve aşağıdaki eşitlik ile hesaplanmıştır.

$$\% \text{İlaç İçeriği} = \frac{\text{Başlangıçtaki PHCl miktarı (mg)} - \text{Yüklenemeyen PHCl miktarı (mg)}}{\text{Kuru tanecik kütlesi (mg)}} * 100 \quad (4.2)$$

Aljinat, kitosan, dekstrin, CaCl₂ ve kitosanın çözündüğü asetik asit derişimleri, jelleşme süresi, çapraz bağlayıcı etkisi, taneciklerin çapraz bağlayıcı ile kaplanması ve jelasyon çözeltisi pH'sının enkapsülasyon verimine olan etkileri incelenmiştir.

Aljinat derişiminin enkapsülasyon verimine etkisinin incelenmesi amacıyla diğer parametreler sabit tutulmuş , % 1,0-1,5-2,0-2,5-3,0-3,5-4 (w/v) derişimlerinde aljinat çözeltisi hazırlanmıştır.

CaCl₂ derişiminin enkapsülasyon verimine etkisinin incelenmesi amacıyla diğer parametreler sabit tutulmuş %0,2-0,5-1,0-1,5-2,0-3,0 (w/v) derişimlerinde CaCl₂ çözeltisi hazırlanmıştır.

Kitosan derişiminin enkapsülasyon verimine etkisinin incelenmesi amacıyla diğer parametreler sabit tutulmuş; %0,1-0,2-0,25-0,3-0,4-0,5-0,55-0,6-0,7-0,8 (w/v) derişimlerinde kitosan çözeltisi hazırlanmıştır. .

Asetik asit derişiminin enkapsülasyon verimine etkisinin incelenmesi amacıyla diğer parametreler sabit tutulmuş; 0,05, 1, 2 ve 3M derişimlerinde asetik asit çözeltisi hazırlanmıştır.

Taneciklerin oluştuğu jelasyon çözeltilsinin pH değerinin enkapsülasyon verimine etkisinin incelenmesi amacıyla çözeltili pH'ı 4,0 – 4,5 – ve 5,0 değerlerine 1M derişimde NaOH ile ayarlanmıştır.

Taneciklerin jelasyon çözeltilsinde karışma süresini ifade eden jelleştirme süresinin enkapsülasyon verimine etkisinin incelenmesi amacıyla 0,5-1-1,5 ve 2 saat karıştırma işlemi uygulanmıştır.

Çapraz bağlayıcı varlığının enkapsülasyon verimine etkisinin incelenmesi amacıyla glutaraldehit ve dekstrin kullanılmıştır. %0,3-0,5-1,0-1,5 (w/v) derişiminde dekstrin ve %0,3-0,5-1,0-1,5 (v/v) derişiminde glutaraldehit ilaç çözeltilisine ayrı şekilde ilave edilmiştir.

Taneciklerin çapraz bağlayıcı ile kaplanarak çok katmanlı hale getirilmesinin enkapsülasyon verimine etkisinin incelenmesi amacıyla aljinat kitosan tanecikleri jelasyon çözeltilisinden süzölüp yıkandıktan sonra kurutulmadan %0,5-1,0-1,5 (w/v) derişiminde dekstrin ve %0,5-1,0-1,5 (v/v) derişiminde glutaraldehit çözeltililerine ayrı ayrı eklenerek dekstrin ve glutaraldehit ile kaplanmaları sağlanmıştır. % 0,08 (w/v), %2 (v/v) glutaralehit ve %0,08 (w/v) ile % 2 (v/v) glutaraldehit içeren çözeltileri de kullanılarak tanecikler çok katmanlı hale getirilmiştir.

Elde edilen taneciklerin jelasyon çözeltileri ve yıkama sularının 290 nm dalga boyunda analiz edilmesiyle taneciklere hapsedilemeyerek jelasyon çözeltilisi ve yıkama suyunda kalan PHCl miktarı belirlenmiş ve enkapsülasyon verimi hesaplanmıştır

Aljinat, kitosan, CaCl₂ derişimleri ile jelleştirme süresi, jelasyon çözeltilsinin pH değerleri çizelge 3.2'de, çok katmanlı taneciklerin oluşturulduğu koşullar çizelge 3.3te ve çapraz bağlayıcı derişiminin incelendiği değerler ise çizelge 3.4'te verilmiştir.

Çizelge 3.2 Polimer ve jelleştirici ajan derişimleri, jelleştirme süresi ve jelasyon çözeltisinin pH değerleri

Na-Aljinat (%w/v)	PHCl (mg)	CaCl ₂ (w/v)	CTS (w/v)	Asetik Asit (M)	pH	Jelleşme Süresi (sa)
1,0	100	1,5	0,2	0,1	4,0	1
2,0	100	0,2	0,2	0,1	4,0	1
2,0	100	0,2	0,4	0,1	4,0	1
2,0	100	0,2	0,6	0,1	4,0	1
2,0	100	0,5	0,2	0,1	4,0	1
2,0	100	0,5	0,2	0,1	4,5	1
2,0	100	0,5	0,2	0,1	5,0	1
2,0	100	0,5	0,4	0,1	4,0	1
2,0	100	0,5	0,4	0,1	4,5	1
2,0	100	0,5	0,4	0,1	5,0	1
2,0	100	0,5	0,6	0,1	4,0	1
2,0	100	0,5	0,6	0,1	4,5	1
2,0	100	0,5	0,6	0,1	5,0	1
2,0	100	0,5	0,6	0,1	5,5	1
2,0	100	1,0	0,1	0,1	4,0	1
2,0	100	1,0	0,2	0,1	4,5	1
2,0	100	1,0	0,2	0,1	5,0	1
2,0	100	1,0	0,2	0,05	4,0	1
2,0	100	1,0	0,2	0,1	4,0	1
2,0	100	1,0	0,2	0,2	4,0	1
2,0	100	1,0	0,2	0,3	4,0	1
2,0	100	1,0	0,2	0,1	4,0	0,5
2,0	100	1,0	0,2	0,1	4,0	1
2,0	100	1,0	0,2	0,1	4,0	1,5
2,0	100	1,0	0,2	0,1	4,0	2
2,0	100	1,0	0,3	0,1	4,0	1
2,0	100	1,0	0,4	0,1	4,0	1
2,0	100	1,0	0,5	0,1	4,0	1
2,0	100	1,0	0,6	0,1	4,0	1
2,0	100	1,0	0,8	0,1	4,0	1
2,0	100	1,5	0,2	0,1	4,0	1
2,0	100	1,5	0,4	0,1	4,0	1
2,0	100	1,5	0,6	0,1	4,0	1
2,0	100	2,0	0,2	0,1	4,0	1
2,0	100	3,0	0,2	0,1	4,0	1
2,5	100	1,5	0,2	0,1	4,0	1
3,0	100	0,5	0,2	0,1	4,0	1
3,0	100	0,5	0,4	0,1	4,0	1
3,0	100	1,5	0,2	0,1	4,0	1
4,0	100	1,5	0,2	0,1	4,0	1

Çizelge 3.3 Çok katmanlı taneciklerin oluşturulduğu koşullar

Dekstrin (% w/v)	Na- Aljinat (% w/v)	PH Cl (m g)	CaCl ₂ (w/v)	CTS (w/v)	Asetik Asit (M)	pH	Jelleş me Süres i (sa)	Kaplama Materyali		
								CTS	GDA	Dekstrin
-	2,0	100	0,5	0,6	0,1	4,5	1	0,08	-	-
-	2,0	100	0,5	0,6	0,1	4,5	1	-	2	-
-	2,0	100	0,5	0,6	0,1	4,5	1	0,08	2	-
-	2,0	100	0,5	0,6	0,1	4,5	1	-	0,5	-
-	2,0	100	0,5	0,6	0,1	4,5	1	-	1	-
-	2,0	100	0,5	0,6	0,1	4,5	1	-	1,5	-
1	2,0	100	0,5	0,6	0,1	4,5	1	-	0,5	-
1	2,0	100	0,5	0,6	0,1	4,5	1	-	1	-
1	2,0	100	0,5	0,6	0,1	4,5	1	-	1,5	-
-	2,0	100	0,5	0,6	0,1	4,5	1	-	-	0,5
-	2,0	100	0,5	0,6	0,1	4,5	1	-	-	1
-	2,0	100	0,5	0,6	0,1	4,5	1	-	-	1,5

Çizelge 3.4 Çapraz bağlayıcı etkisinin enkapsülasyon verimine etkisinin incelendiği deney koşulları

Dekstrin (% w/v)	Na-Aljinat (% w/v)	PHCl (mg)	CaCl ₂ (w/v)	CTS (w/v)	Asetik Asit (M)	pH	Jelleşme Süresi (sa)
0,3	2,0	100	0,5	0,6	0,1	4,5	1
0,5	2,0	100	0,5	0,6	0,1	4,5	1
1,0	2,0	100	0,5	0,6	0,1	4,5	1
1,5	2,0	100	0,5	0,6	0,1	4,5	1

3.2.6 Mide hedefli salım çalışmaları

PHCl yüklü aljinat-kitosan ve taneciklerinin salım profilinin incelenmesi amacıyla 0,1M (pH 1,2) hidroklorik asit (HCl) yapay mide sıvısı olarak kullanılmıştır. Salım çalışması 37°C sıcaklığında çalkalamalı inkübatörde 100 rpm karıştırma hızında gerçekleştirilmiştir.

PHCl yüklü 100 mg aljinat-kitosan ve aljinat-dekstrin-kitosan tanecikleri 250 ml 0,1 M HCl içeren çözeltiliye eklenmiştir. İlk 15 dakika 5 dakika aralıklarla olmak üzere her 60

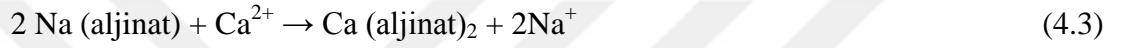
dakikada ortamdan 3 ml çözeltili alınarak 290 nm dalga boyunda UV spektroskopisinde analizlenmiştir. Her defasında alınan çözeltili miktarı kadar ortam çözeltilisi ilave edilmiştir. Salım çalışmaları 4 saat süreyle yapılmıştır.



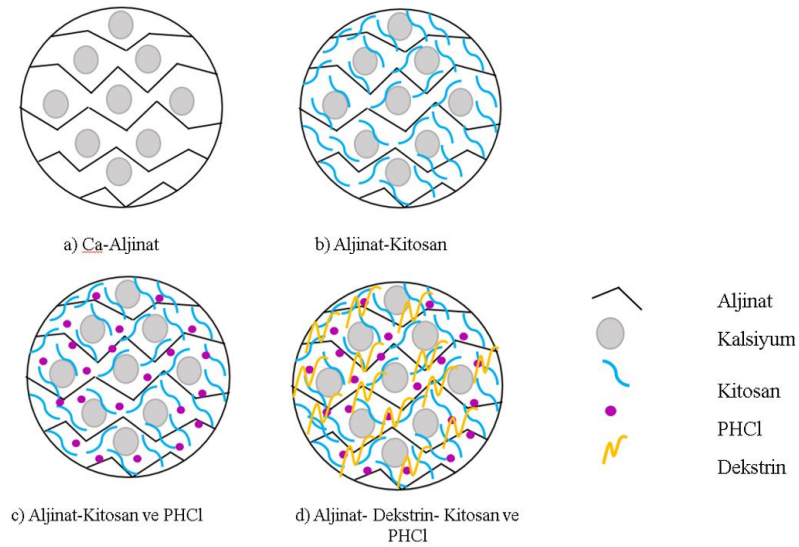
4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1 Aljinat-Kitosan ve Aljinat-Dekstrin-Kitosan Tanecikleri

Farklı derişimlerde hazırlanan aljinat çözeltisi ile PHCl karıştırılması sonucunda elde edilen ilaç çözeltisi farklı derişimlerde kitosan ve CaCl₂ içeren jelasyon çözeltisine damlatılarak PHCl yüklü aljinat-kitosan tanecikleri elde edilmiştir. Bu tanecikler eşitlik 4.3'te yer alan tepkime sonucunda sodyum aljinat içerisindeki sodyum iyonlarının kalsiyum iyonları ile yer değiştirmesi sonucu oluşmaktadır.



İyon değişimi sonucunda meydana gelen kalsiyum aljinat (aljinat) yapısı şekil 4.1(a)'da görülmektedir. Yumurta-kafes modelinin oluştuğu 3 boyutlu hidrojel ile kitosan iyonik olarak etkileşerek şekil 4.1(b)'de görüldüğü gibi polielektrolit kompleks oluşturmaktadır. Aljinat-kitosan polielektrolit komplekslerine PHCl yüklenmiş olup model yapı şekil 4.1 (c)'de gösterilmiştir. Aljinat ile etkileşerek yapıya katılan dekstrin ile hazırlanan PHCl yüklü aljinat-dekstrin-kitosan modeli şekil 4.3 (d)'de verilmiştir.



Şekil 4.1 (a) Yumurta-kafes modelinde kalsiyum-aljinat yapısı (b) Aljinat-kitosan yapısı (c) PHCl yüklü aljinat-kitosan yapısı (d) PHCl yüklü aljinat-dekstrin-kitosan yapısı

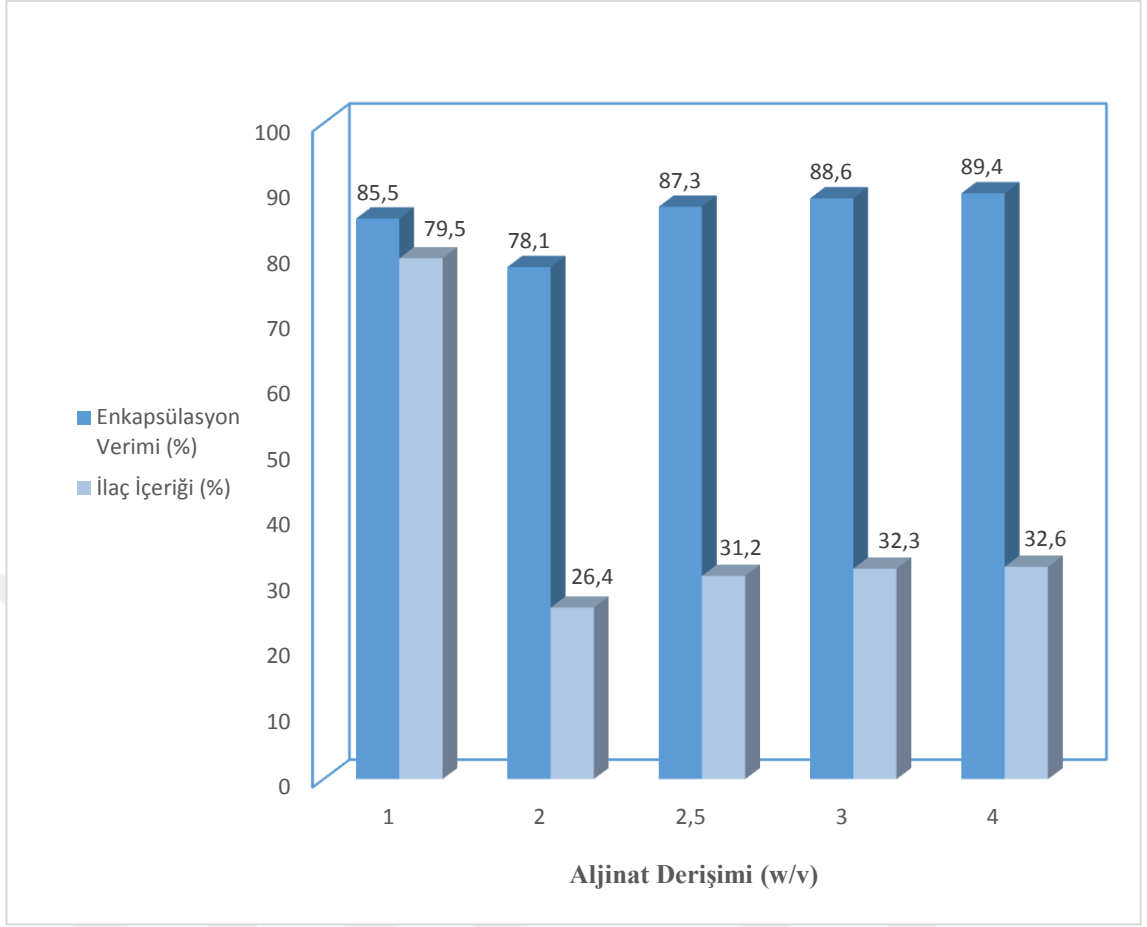
Bu çalışma kapsamında taneciklere ilaç yüklenmesinin etkinliğini gösteren enkapsülasyon veriminin biyopolimer (aljinat, kitosan, dekstrin) derişimleri, jelleştirici ajan CaCl₂ ve kitosanın çözündüğü asetik asit derişimleri ile jelasyon çözeltisi pH'sı ile değişimi incelenmiştir.

4.2 Enkapsülasyon Verimini Etkileyen Parametreler

Bu çalışma kapsamında taneciklere ilaç yüklenmesinin etkinliğini gösteren enkapsülasyon veriminin biyopolimer (aljinat,kitosan, dekstrin) derişimleri, jelleştirici ajan CaCl₂ ve kitosanın çözündüğü asetik asit derişimleri ile jelasyon çözeltisi pH'sı ile değişimi incelenmiştir. Enkapsülasyon veriminin en çok aljinat, kitosan ve CaCl₂ derişimleri ile değiştii belirlenmiştir. Elde edilen bulgular aşağıdaki başlıklarda açıklanmıştır.

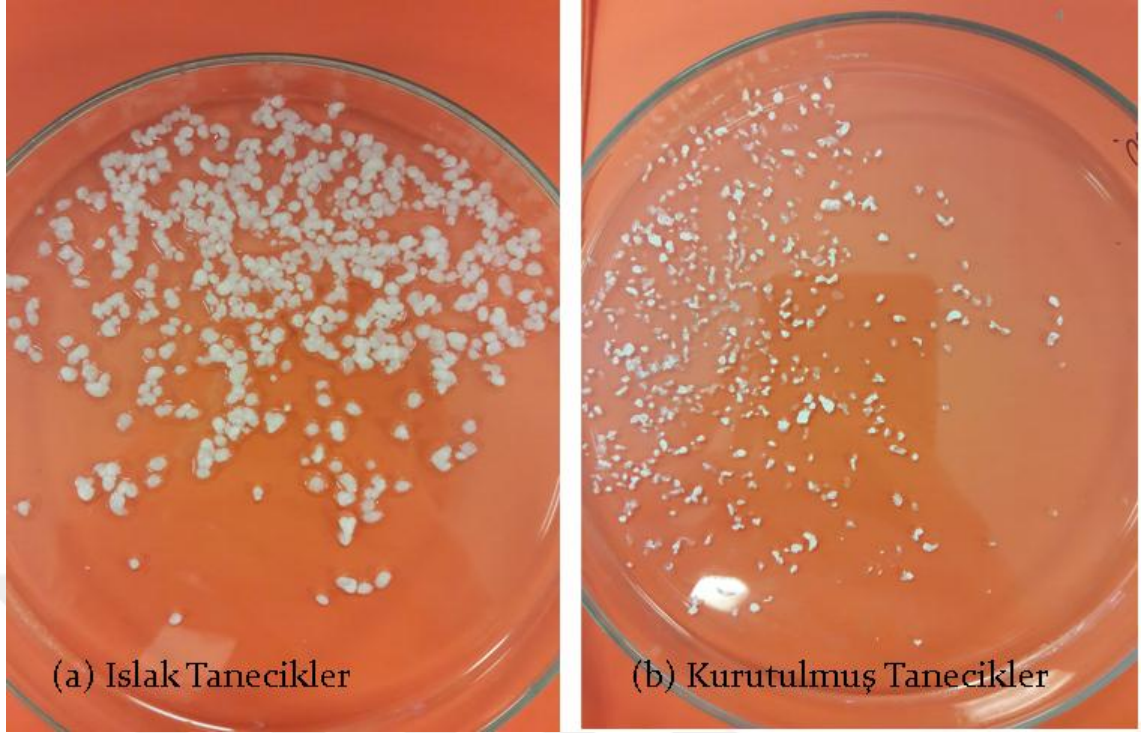
4.2.1 Aljinat derişiminin enkapsülasyon verimine etkisi

Aljinat derişiminin enkapsülasyon verimine etkisinin incelenmesi amacıyla, kitosan derişimi %0,2 (w/v), CaCl₂ derişimi %1,5 (w/v), jelasyon çözeltisinin pH'ı 4,0 değerlerinde sabit tutularak, %1,0-2,0-2,5-3,0-4,0 (w/v) derişimlerinde aljinat çözeltisi kullanılmıştır. PHCl yüklü aljinat-kitosan tanecikleri elde edilmiş olup jelasyon çözeltisi ve yıkama sularının UV-VIS bölgede 290 nm'de analiz edilmesiyle taneciklere hapsedilemeyen PHCl miktarı belirlenmiş ve enkapsülasyon verimi ile ilaç içeriği hesaplanmıştır (Şekil 4.2). %0,2 (w/v) kitosan, %1,5 (w/v) CaCl₂ ve pH 4,0 koşulu için, %2 (w/v) aljinat derişimi için enkapsülasyon verimi %78,1; %2,5-3,0-4,0 (w/v) aljinat derişimi için enkapsülasyon verimini sırasıyla %87,3 %88,6 ve %89,4 olarak hesaplanmıştır. İlaç içeriği ise %2 (w/v) aljinat derişimi için enkapsülasyon verimi %26,4; %2,5-3-4 aljinat derişimi için sırasıyla %31,2 %32,4 ve %32,6 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.2 Aljinat derişimin enkapsülasyon verimi ve ilaç içeriğine etkisi (%0,2 (w/v) kitosan, %1,5 (w/v) CaCl₂, pH 4,0)

Şekil 4.4 incelendiğinde enkapsülasyon veriminin yüksek (%85,5)ve ilaç içeriğinin en yüksek (%79,5) olduğu durumda aljinat derişiminin %1(w/v) olduğu görülmektedir. Ancak bu koşulda 3 boyutlu küresel hidrojeller elde edilememiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 %1(w/v) aljinat derişiminde elde edilen PHCl yüklü aljinat-kitosan tanecikleri. (a) Islak tanecikler. (b) Kurutulmuş tanecikler

Hidrojel yapısına ulaşamayan tanecikler yapılarındaki suyu kaybederek kurumuştur. Bu sebeple diğer aljinat kitosan taneciklerinden daha hafif hale gelmişlerdir. Tanecik kütlesinin azalması 1 mg taneciğin içerdiği % ilaç miktarını arttıracığından bu koşul ilaç içeriği en yüksek değerine ulaşmıştır.

Aljinat derişiminin artması ile enkapsülasyon veriminde istikrarlı bir artış gözlenmiştir. Ancak aljinat derişiminin artması sebebiyle aljinat çözeltisinin viskozitesi de artmış olup çalışma güçlüğü yaratmıştır. Anal vd.'nin 2003 yılında yapmış oldukları çalışma temel alınarak kullanılan yöntem ile tutarlı olması ve çalışma koşullarının kolaylaşması açısından çalışmanın devamında %2,0 (w/v) derişimde aljinat kullanılmasına karar verilmiştir.

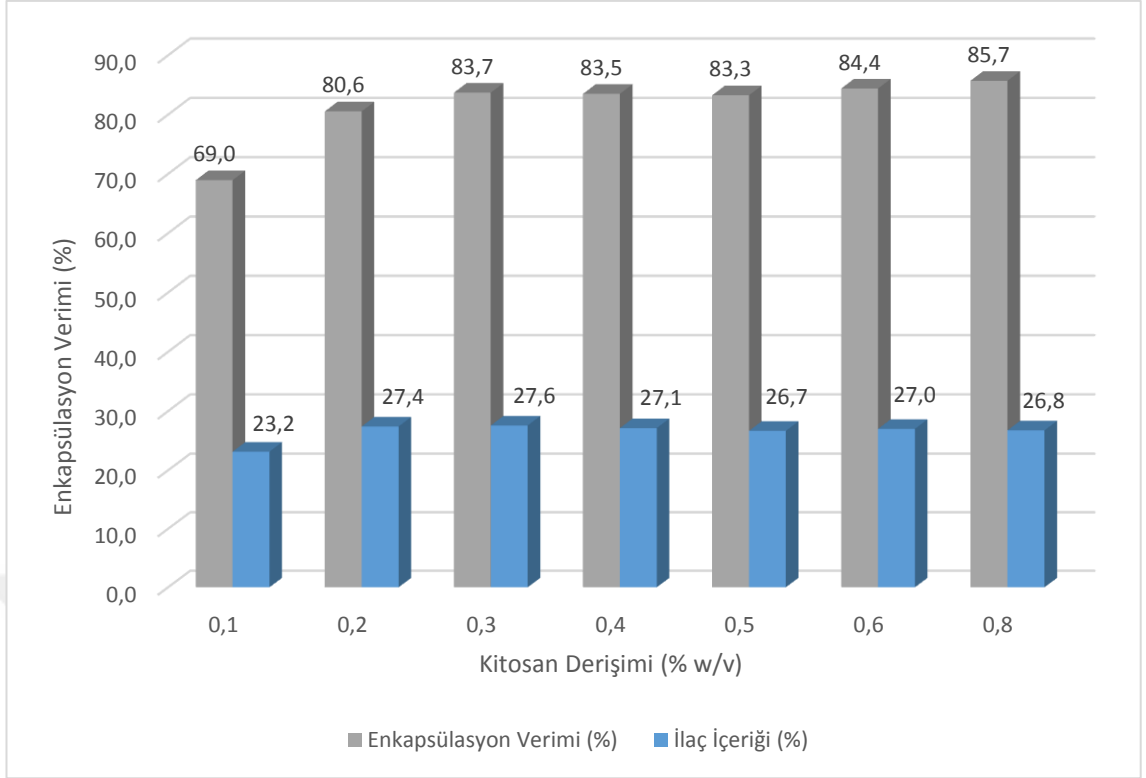
Lim ve Wan'in 1997 yılında yapmış oldukları çalışmada kalsiyum aljinat taneciklerine PHCl yükleme veriminin en yüksek olduğu koşulun %0,5 (w/w) $CaCl_2$ koşulu olarak belirlenmiştir. Bu çalışma sonucu göz önünde tutularak çalışmada kullanılan $CaCl_2$

derişimi azaltılmıř olup % 1,5 (w/v) derişim deęerinden %1 (w/v) deęerine dűşürűlműřtür.

4.2.2 Kitosan derişiminin enkapsűlasyon verimine etkisi

Kitosan derişiminin enkapsűlasyon verimine etkisinin incelenmesi amacıyla, aljinat derişiminin %2,0 (w/v), CaCl₂ derişiminin %1,0 (w/v), jelasyon çűzeltisinin pH'ı 4,0 olduęu kořulda, %0,1-0,2-0,3-0,4-0,5-0,6-0,8 (w/v) derişimlerinde kitosan çűzeltisi 0,1M asetik asitte çűzűlerek hazırlanmıřtır. PHCl yűklű aljinat-kitosan tanecikleri elde edilmiř olup jelasyon çűzeltisi ve yıkama sularının 290 nm dalga boyunda analiz edilmesiyle taneciklere hapsedilemeyen PHCl miktarı belirlenmiř ve enkapsűlasyon verimi ile ilaç içerięi hesaplanmıřtır. Őekil 4.4 incelendięinde enkapsűlasyon veriminin kitosan derişimi arttıkça artıř gűsterdięi gűrűlmektedir.

Enkapsűlasyon veriminin en yűksek olduęu kořul, %85,70 verim ile %0,8(w/v) derişimi olduęu gűrűlmektedir. %2 (w/v) aljinat, %1,0(w/v) CaCl₂ ve jelasyon çűzeltisinin pH deęeri 4,0 olduęu kořul için kitosan derişiminin artması enkapsűlasyon verimini arttırmıřtır. Bu kořulda, %0,6 (w/v) kitosan derişimi için enkapsűlasyon verimi % 84,40, %0,5 (w/v) kitosan için %83,3, %0,4 (w/v) kitosan için 83,7, %0,3 (w/v) kitosan için 83,7, %0,2 (w/v) kitosan için %80,5, %0,1 (w/v) kitosan için %69,0 olarak hesaplanmıřtır. İlaç içerięi ise %0,1-0,2-0,3-0,4-0,5-0,6-0,8 (w/v) kitosan için sırasıyla % 23,2, % 27,4, % 27,6, %27,1, %26,7, %27,0 ve %26,8 olarak hesaplanmıřtır.



Şekil 4.4 Kitosan derişimin enkapsülasyon verimi ve ilaç içeriğine etkisi (%2 (w/v) aljinat, %1,0 (w/v) CaCl₂, pH 4,0)

Enkapsülasyon verimi, %2,0 (w/v) aljinat, %1,0(w/v) CaCl₂ ve jelasyon çözeltisinin pH değeri 4,0 olduğu koşul için %0,8(w/v) kitosan derişiminde %85,7 olarak bulunmuştur. Ancak kitosanın viskozitesi sebebiyle çalışma güçlüğü meydana gelmiştir. Aynı koşullar için %0,6 (w/v) kitosan derişiminde enkapsülasyon verimi %84,4; %0,1(w/v) kitosan derişiminde %69,0 olarak bulunmuştur. Kitosan derişimin artması sonucu enkapsülasyon veriminde artış gözlenmiştir. Kitosanın yapıya katılması sonucu aljinat ile iyonik olarak etkileşimi aljinatın gözenekliliğini düşürürken, çeşitli aktif grupların bağlanmaya olanak sağlaması sebebiyle ilacın yapıdan ilaç sızmasını önlediğı düşünülmektedir.

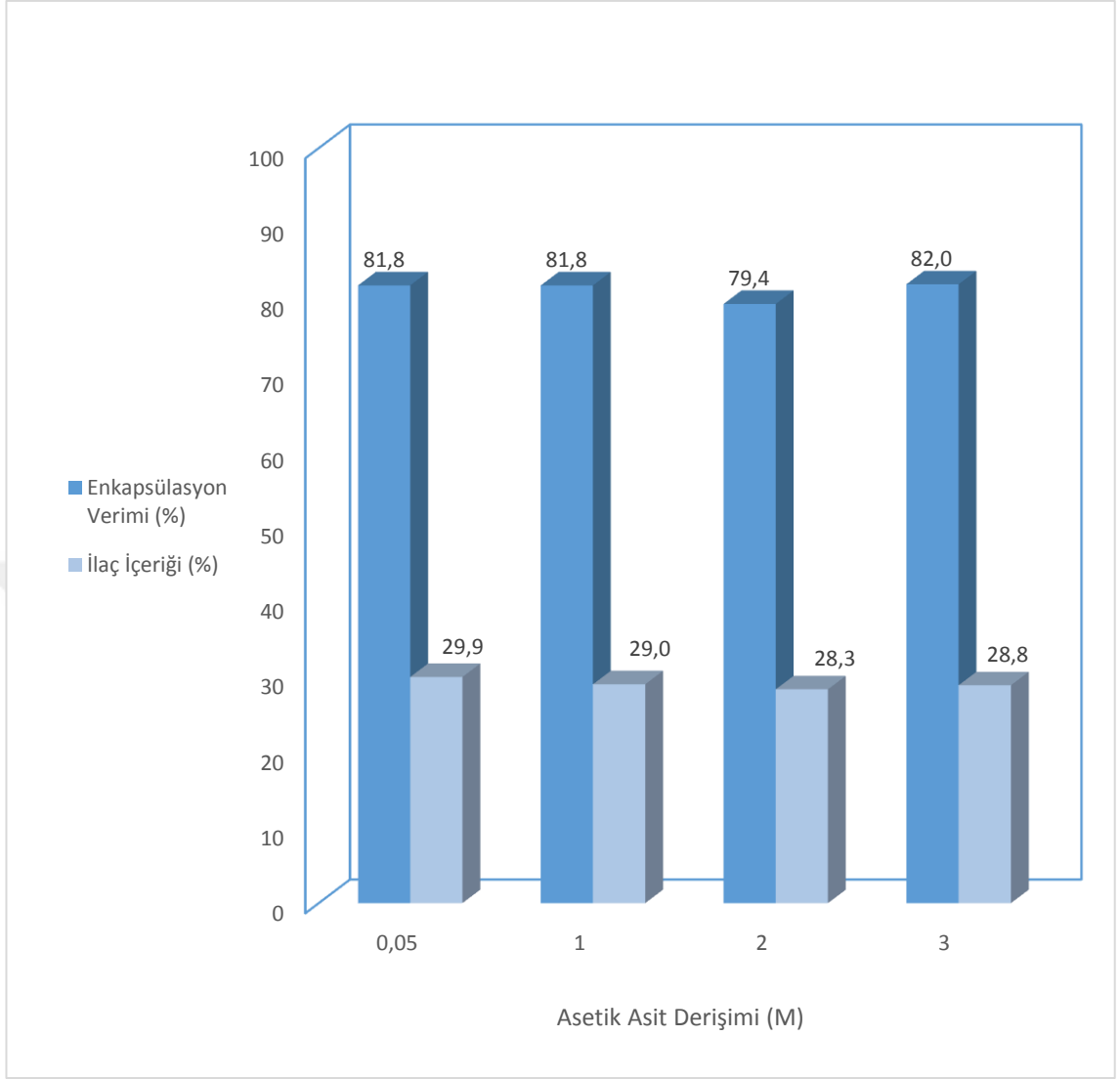
Anal vd. (2003 ve 2005) yaptıkları çalışmada aljinat kitosan taneciklerine insülin ve ampisilin yüklemeyi hedeflemişlerdir. Her iki çalışma için de kitosan derişiminin artması ile yüklenen ilaç miktarının arttığını gözlemlemişlerdir. Aynı zamanda Memnini vd. (2012) düşük moleköl ağırlığına sahip selekoksib isimli antibiyotiğı, Tahtatt vd. (2013) insülini aljinat-kitosan taneciklerine yüklemeyi hedeflemiştir ve çalışmalarında kitosan

derişiminin artması ile enkapsülasyon veriminin arttığını gözlemlemişlerdir. Khorram vd. (2014) yaptıkları çalışmada aljinat derişiminin % 2 (w/v), CaCl₂ derişiminin %3(w/v) olduğu koşulda, ilaç yükleme verimi %38,5 iken yapının %0,5 (w/v) derişiminde kitosan ile kaplanması sonucu yükleme verimi %50,5 değerine ulaşmıştır. Kitosan derişiminin artırılması ilaç yükleme verimini aljinat derişiminden daha fazla etkilemiştir.

Kitosan derişiminin artması yapıyı güçlendirerek aljinat gözeneklerinden ilaç sızması gibi durumların önüne geçip enkapsülasyon verimini artmasını sağlamaktadır.

4.2.3 Asetik derişiminin enkapsülasyon verimine etkisi

Asetik asit derişiminin enkapsülasyon verimine etkisinin incelenmesi amacıyla 0,05- 1-2 ve 3M derişimlerinde asetik asit çözeltisi hazırlanmıştır. %0,2(w/v) derişimindeki kitosan asetik asitin bu derişimlerinde çözülerek kitosan çözeltisi hazırlanmıştır. CaCl₂derişimi %1,0 (w/v), kitosan derişimi %0,2(w/v), aljinat derişimi %2,0 (w/v) ve jelasyon çözeltisinin pH'ı 4,0 değerlerinde sabit tutulmuştur. PHCl yüklü aljinat-kitosan tanecikleri elde edilmiş olup jelasyon çözeltisi ve yıkama sularının UV bölgede 290 nm dalga boyunda analiz edilmesiyle taneciklere hapsedilemeyen PHCl miktarı belirlenmiş ve enkapsülasyon verimi hesaplanmıştır. Şekil 4.5 incelendiğinde %2,0 (w/v) aljinat, %0,2(w/v) kitosan, %1,0 (w/v) CaCl₂, pH 4,0 koşulu için enkapsülasyon veriminin asetik asit derişimi ile değişmediği görülmektedir. 0,05M asetik asit derişimi için enkapsülasyon verimi % 81,8; 1-2-3M asetik asit derişimleri için sırasıyla %81,8, %79,4, %82,0 olarak hesaplanmıştır. İlaç içerikleri ise 0,05M asetik asit derişimi için %29,9; 1-2-3M asetik asit derişimi için sırasıyla %81,8, %79,4, %82,0 olarak hesaplanmıştır.

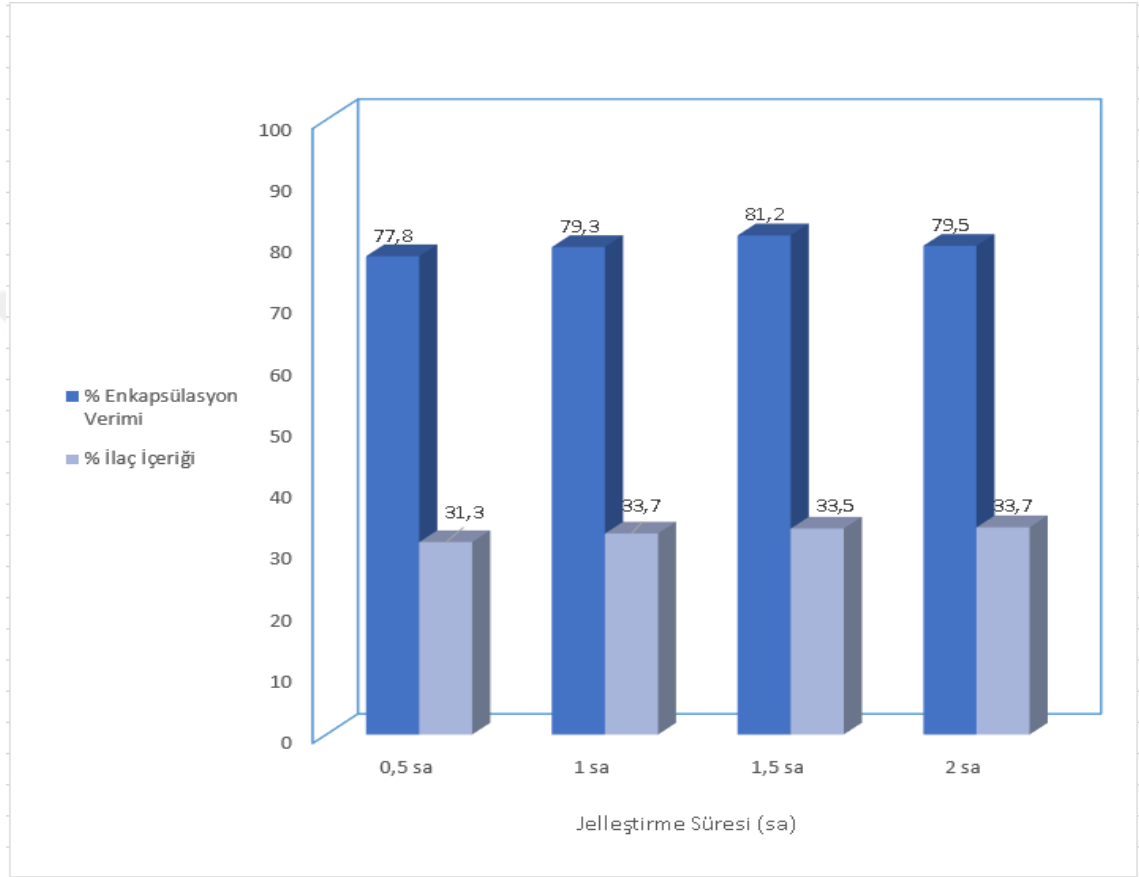


Şekil 4.5 Asetik asit derişimin enkapsülasyon verimi ve ilaç içeriğine etkisi (%2 (w/v) aljinat, %0,2 (w/v) kitosan, %1,0 (w/v) CaCl₂, pH 4,0)

4.2.4 Jelleşme süresinin enkapsülasyon verimine etkisi

Jelleşme süresinin (jelasyon çözeltisi içerisinde karışma süresi) enkapsülasyon verimine etkisinin incelenmesi amacıyla jelasyon çözeltisi içerisinde tanecikle 0,5- 1 – 1,5 ve 2 saat süreyle karıştırılmaya bırakılmıştır. CaCl₂ derişimi %1,0 (w/v), kitosan derişimi %0,2(w/v), aljinat derişimi %2,0 (w/v) ve jelasyon çözeltisinin pH'ı 4,0 değerlerinde sabit tutulmuştur. PHCl yüklü aljinat-kitosan tanecikleri karıştırma süreleri tamamlandıktan sonra süzülüp saf su ile yıkanmıştır. Jelasyon çözeltisi ve yıkama sularının UV bölgede 290 nm dalga boyunda analiz edilmesiyle taneciklere

hapsedilemeyen PHCl miktarı belirlenmiş ve enkapsülasyon verimi hesaplanmıştır. Şekil 4.6 incelendiğinde %2,0 (w/v) aljinat, %0,2(w/v) kitosan, %1,0 (w/v) CaCl₂, pH 4,0 koşulu için enkapsülasyon veriminin jelleştirme süresi ile değişmediği görülmektedir.

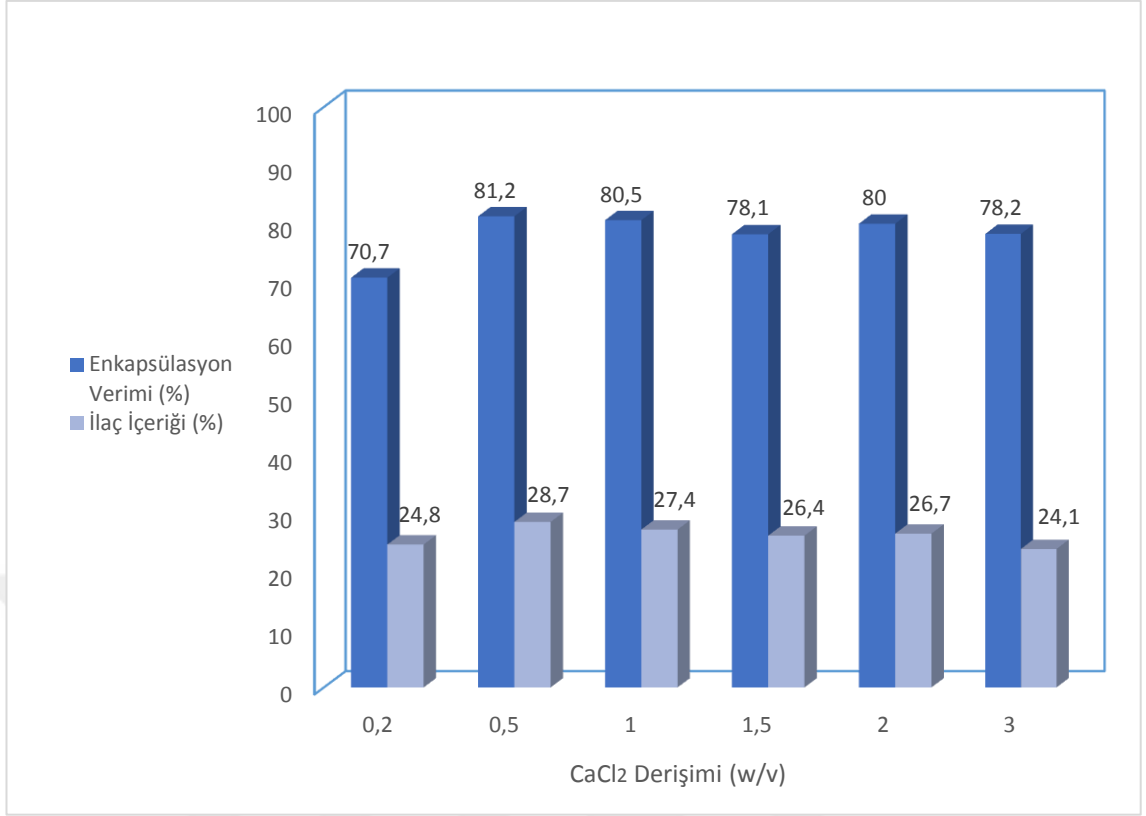


Şekil 4.6 Jelleştirme süresinin enkapsülasyon verimi ve ilaç içeriğine etkisi (%2 (w/v) aljinat, %0,2 (w/v) kitosan, %1,0 (w/v) CaCl₂, pH 4,0)

Jelleştirme süresinin sırasıyla 0,5-1-1,5-2 saat olduğu durumlarda enkapsülasyon verileri sırasıyla % 77,8, %79,3, %81,2 ve %79,5 olarak belirlenmiştir. Jelleştirme süresinin enkapsülasyon verimi üzerinde çok büyük etkisinin olmadığı gözlenmiş olup sonraki çalışmalarda jelleşme süresinin 1 saat olmasına karar verilmiştir.

4.2.5 CaCl₂ derişiminin enkapsülasyon verimine etkisi

CaCl₂ derişimi ortamdaki Ca²⁺ iyonlarının miktarını etkilemesi sebebiyle tanecik oluşumunda önemli etkiye sahiptir. Taneciklerin boyutu, jelleştirici ajanın derişimi (CaCl₂), gibi faktörler enkapsülasyon verimini etkilemektedir (Takka ve Acartürk 1998). Bu etkinin incelenmesi amacıyla % 0,2-0,5-1,0-1,5-2,0-3,0 (w/v) derişiminde CaCl₂ ve %0,2 (w/v) derişiminde kitosan içeren jelasyon çözeltisi hazırlanmıştır. Çözelti pH'ı 4,0 değerinde ve aljinat derişimi %2,0 (w/v) değerinde sabit tutulmuştur. PHCl yüklü aljinat-kitosan tanecikleri elde edilmiş olup jelasyon çözeltisi ve yıkama sularının UV bölgede bölgede 290 nmdalga boyunda analiz edilmesiyle taneciklere hapsedilemeyen PHCl miktarı belirlenmiş ve enkapsülasyon verimi ile ilaç içeriği hesaplanmıştır. Şekil 4.7 incelendiğinde, %2,0 (w/v) aljinat, %0,2 (w/v) kitosan ve pH 4,0 değerinde olduğu koşul için en yüksek enkapsülasyon verimi %0,5(w/v) CaCl₂ derişiminde % 81,2 olarak bulunmuştur. %1,0(w/v) derişiminde % 80,5; %1,5(w/v) için % 78,2 olarak azalma gözlenmiş olup %2,0 (w/v) derişiminden sonra enkapsülasyon veriminde değişiklik gözlenmemiştir. CaCl₂ derişimin azaltılmasının aljinat ile PHCl etkileşimini artırıcı yönde etkisi olduğu gözlenmiştir. Lim ve Wan 1997 yılında yapmış oldukları çalışmada kalsiyum aljinat taneciklerine PHCl yükleme veriminin en yüksek olduğu koşulun %0,5 (w/w) CaCl₂ derişiminde olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmada CaCl₂ derişimleri %0,25-7,5 (w/w) arasında olup taneciklere en az yüklenen PHCl miktarının %7,5(w/w) CaCl₂ derişiminde olduğunu belirtmişlerdir. Diferansiyel taramalı kalorimetre analizleri sonucunda PHCl ve Ca²⁺ iyonlarının aljinat molekül zincirinde aynı noktalara tutundukları belirlenmiştir.



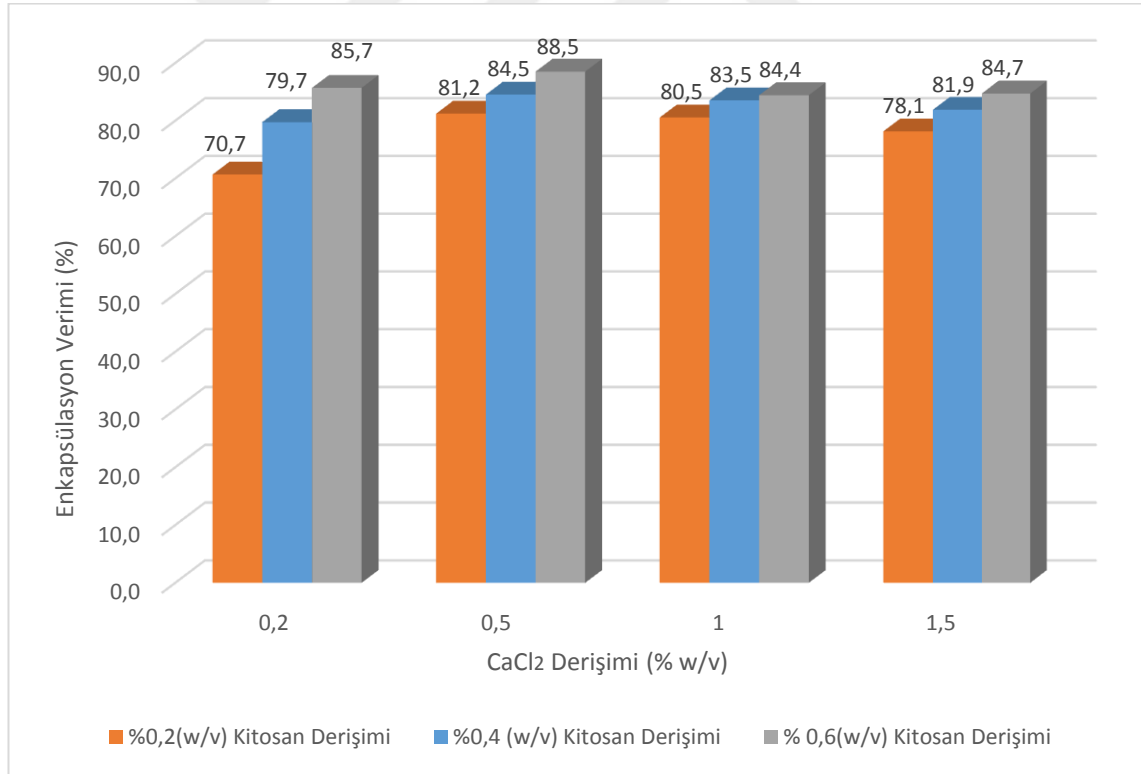
Şekil 4.7 CaCl₂ derişimin enkapsülasyon verimi ve ilaç içeriğine etkisi (%2,0 (w/v) aljinat, %0,2 (w/v) kitosan, pH 4,0)

Kitosan derişiminin %0,2 (w/v), CaCl₂ derişimin %1,5 (w/v), aljinat derişimin %2(w/v) ve ortam pH'ı 4,0 olduğu koşul için enkapsülasyon verimi %78,1 olarak belirlenmiştir. Kitosan derişimin %0,2 (w/v), CaCl₂ derişimin %1,0 (w/v), aljinat derişimin %2,0 (w/v) ve ortam pH'ı 4,0 olduğu koşul için %80,5 ve aynı koşul için CaCl₂ derişimin %0,5 (w/v) olduğunda %81,2 olarak belirlenmiştir. CaCl₂ derişimin azaltılmasının aljinat ile PHCl etkileşimini artırıcı yönde etkisi olduğu gözlenmiştir.

Kitosan derişimin %0,6(w/v), CaCl₂ derişimin %1,0 ve aljinat derişiminin %2,0 (w/v) ve ortam pH'ı 4,0 olduğu koşul için enkapsülasyon verimi %84,4 olarak belirlenmiştir. Jelleştirici ajan olan CaCl₂'nin taneciklerin oluşturulmasında, kitosanın ise yapının fizikokimyasal özelliklerini değiştirerek ilacın komplekse hapsedilmesinde önemli bir etkiye sahip olduğu görülmektedir. Bu sebeple kitosan ve CaCl₂ derişimlerinin etkisi birlikte incelenmiştir. Bu amaçla %0,2-0,5-1,0-1,5 (w/v) CaCl₂ derişimindeki her bir

çözelti için %0,2-0,4-0,6 (w/v) derişimdeki kitosan çözeltisi hazırlanmıştır. Aljinat derişimi %2,0 (w/v) ve çözelti pH'sı 4,0 değerlerinde sabit tutulmuştur. Elde edilen taneciklerin jelasyon çözeltisi ve yıkama sularının spektroskopik olarak 290 nm'de analiz edilmesiyle taneciklere hapsedilemeyen PHCl miktarı belirlenmiş ve enkapsülasyon verimi ile ilaç içeriği hesaplanmıştır. Şekil 4.8 incelendiğinde en yüksek enkapsülasyon verimlerinin % 0,6 (w/v) kitosan derişiminde elde edildiği görölmektedir. %88,5 değeri ile en yüksek enkapsülasyon verimi %0,5(w/v) derişiminde CaCl₂ ve %0,6 (w/v) derişiminde kitosan için elde edilmiştir.

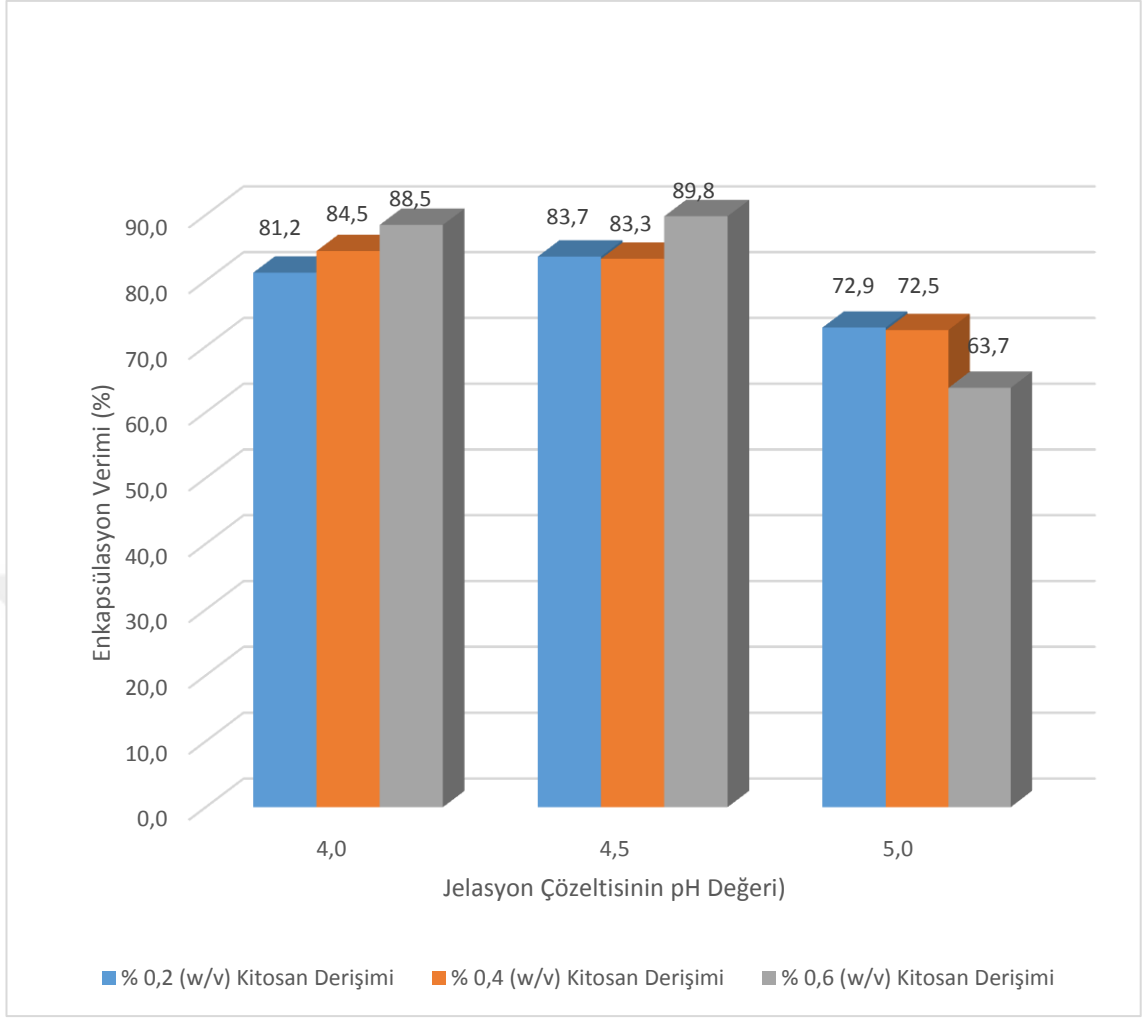
Çalışmanın sonraki aşamalarında, çalışma koşullarının diğer derişimlere göre daha kolay olması sebebiyle aljinatın %2,0(w/v) derişiminde, PHCl'nin aljinat zincirlerine bağlanmasının önüne geçmemesi amacıyla CaCl₂'nin %0,5(w/v) derişiminde ve kitosanın %0,6 (w/v) derişimlerinde kullanılmasına karar verilmiştir.



Şekil 4.8 Kitosan ve CaCl₂ derişimlerinin enkapsülasyon verimine etkisi

4.2.6 Jelasyon Çözeltilisinin pH Değerinin Enkapsülasyon Verimine Etkisi

Anal vd. yaptıkları çalışmalarda (2003 ve 2005) aljinat-kitosan tanecikleri arasındaki iyonik etkileşimin jelasyon çözeltisinin pH değerinin 4,5 olduğunda arttığını belirtmektedir. Kitosanın çözünürlüğünün düşük pH değerinde fazla olması ve amino gruplarının aktif olması jelasyon çözeltisinin pH değerini belirleyen etkenlerdendir (George ve Abraham 2006). Jelasyon pH'sının etkisi incelenmek üzere, aljinat %2,0(w/v), CaCl₂ %0,5(w/v) ve kitosanın %0,2-0,4-0,6 (w/v) derişimleri için jelasyon çözeltisinin pH değeri 4,0-4,5 ve 5,0 değerlerine 1M NaOH kullanılarak ayarlanmıştır. PHCl yüklü tanecikler elde edilmiş olup, jelasyon çözeltisi ve yıkama sularının UV-VIS bölgede 290 nm'de analiz edilmesiyle taneciklere hapsedilemeyen PHCl miktarı belirlenmiş ve enkapsülasyon verimi ile ilaç içeriği hesaplanmıştır. Şekil 4.9 incelendiğinde aljinat %2,0(w/v), CaCl₂ %0,5(w/v) derişiminde olduğu durum için en yüksek enkapsülasyon verimi pH 4,5 ve kitosanın %0,6(w/v) derişimde olduğu koşulda %89,8 olarak elde edilmiştir. pH değerinin 5,0 olması enkapsülasyon veriminde düşüşe neden olmuştur. Bunun sebebinin ortam pH değerinin nötre yaklaştıkça kitosanın yapısındaki amino gruplarının yüksüz hale gelmesi ve dolayısıyla çözünürlüklerinin düşmesi olarak düşünülmektedir. pH değeri arttıkça çözünürlüğü azalan kitosanın amino grupları ile aljinatın karboksil grupları arasındaki etkileşimin azalacağı ve bu sebeple polielektrolit komplekse ilaç yüklemenin yani enkapsülasyon veriminin azaldığı düşünülmektedir.

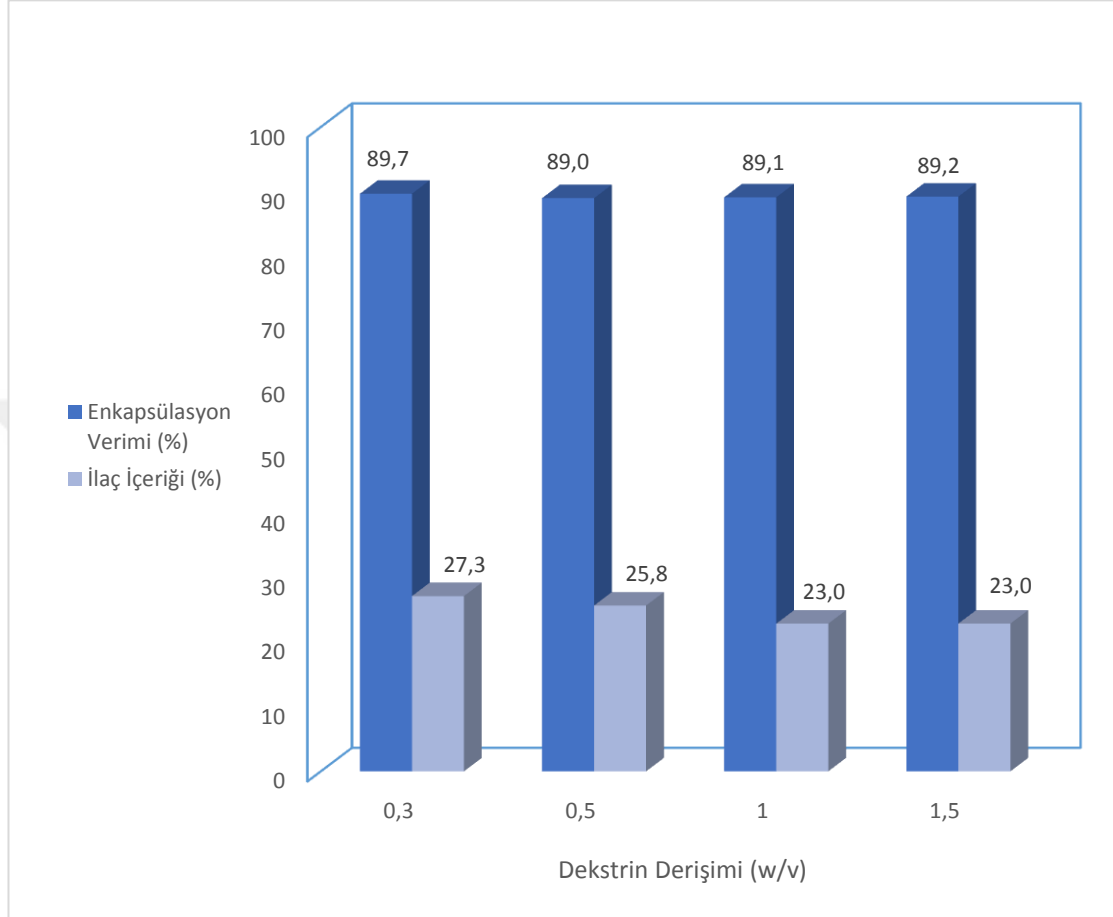


Şekil 4.9 Jelasyon çözeltisinin pH değeri ve kitosan derişiminin enkapsülasyon verimine etkisi

4.2.7 Çapraz bağlayıcı derişiminin enkapsülasyon verimine etkisi

Dekstrinin çapraz bağlayıcı olarak enkapsülasyon verimine etkisi incelenmek üzere, ilaç çözeltisine %0,3-0,5-1,0-1,5 (w/v) derişimlerinde eklenmiştir. Aljinat derişimi %2,0 (w/v), CaCl₂ derişimi %0,5(w/v), kitosan derişimi %0,6(w/v) ve jelasyon çözeltisinin pH'sı 4,5 olarak sabit tutulmuştur. Elde edilen taneciklerin jelasyon çözeltileri ve yıkama sularının UV bölgede bölgede 290 nm dalga boyunda analiz edilmesiyle taneciklere hapsedilemeyen PHCl miktarı belirlenmiş ve enkapsülasyon verimi hesaplanmıştır. Şekil 4.10 incelendiğinde, aljinat derişiminin %2,0 (w/v), CaCl₂ derişiminin % 0,5(w/v), kitosan derişiminin %0,6(w/v) ve jelasyon çözeltisinin pH

değerinin 4,5 olarak sabit tutulduğu koşulda dekstrin derişiminin enkapsülasyon verimi yüksek oranda değiştirmediği görölmektedir.



Şekil 4.10 Dekstrin derişiminin enkapsülasyon verimi ve %ilaç ieriğine etkisi

4.3 Mide Hedefli Salım Çalışmaları

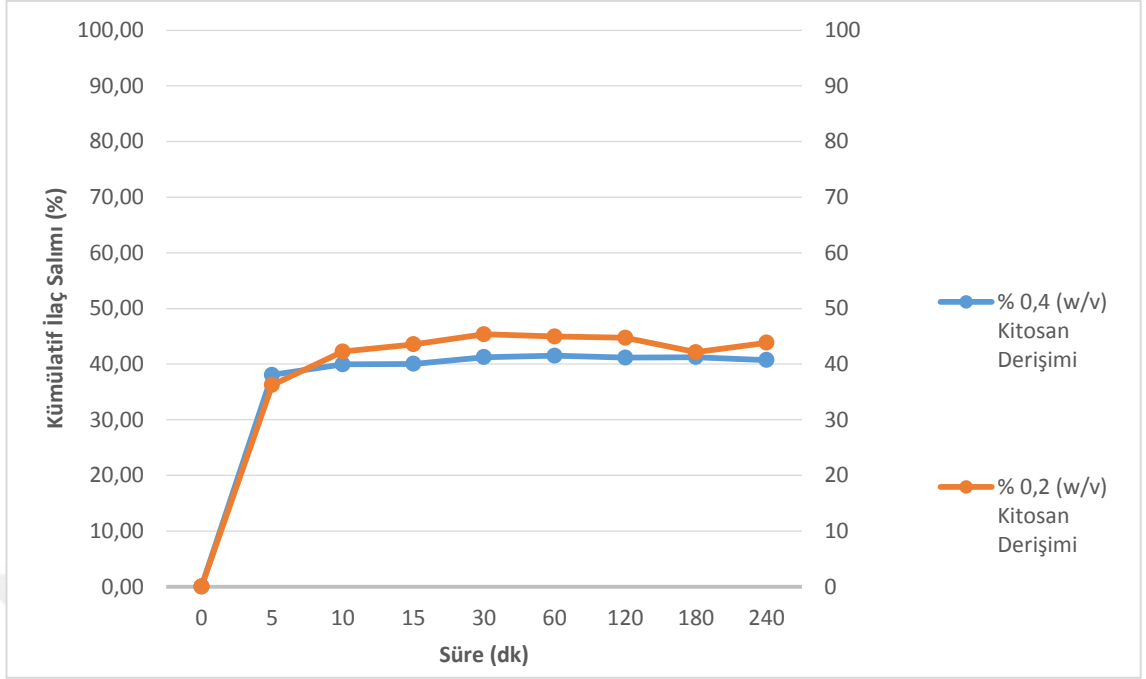
Salım çalışmaları, 0,1M (pH 1,2) hidroklorik asit (HCl) kullanılarak elde edilen yapay mide ortamında 37°C sıcaklığında alkalamalı inkübatörde 100 rpm karışırma hızında gerçekleştirilmiştir. % 2,0 (w/v) aljinat, %0,6-0,4-0,2 (w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl₂ (pH 4 ve 4,5) koşulu için en yüksek enkapsülasyon verimleri elde edilmiştir. Çizelge 4. 1’de ilaç salımı çalışmalarının gerçekleştirildiği tanecik koşulları ve enkapsülasyon verimleri yer almaktadır.

Çizelge 4.1 İlaç salımlarının gerçekleştirildiği tanecik koşulları

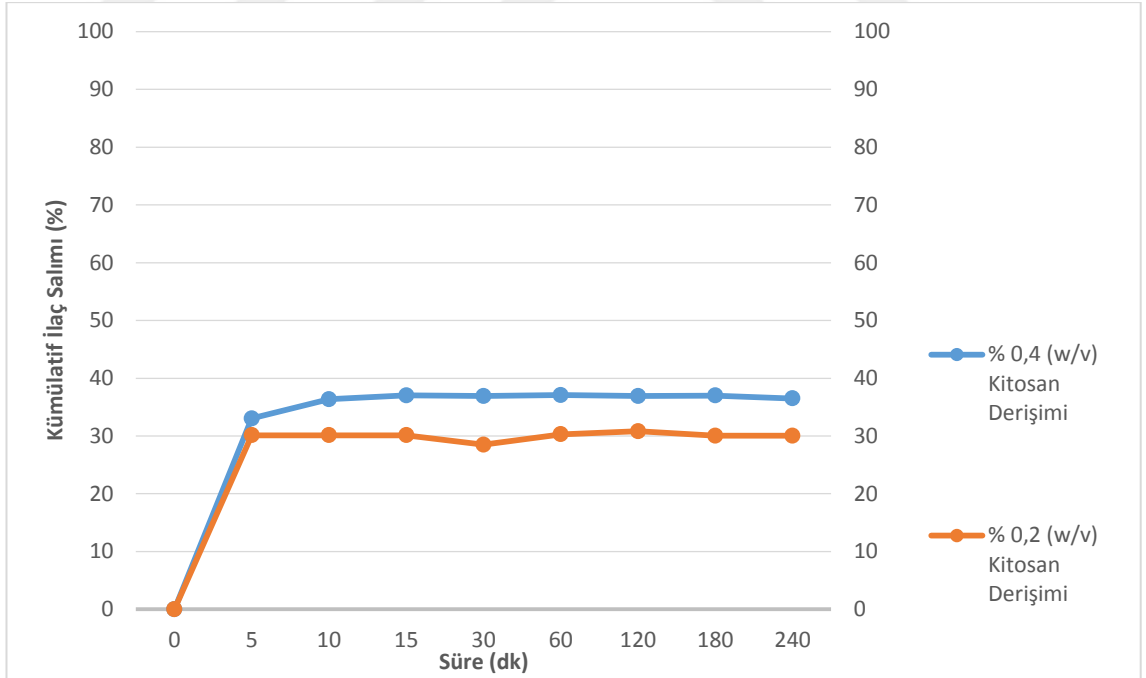
Na-Aljinat (%w/v)	PHCl (mg)	CaCl ₂ (w/v)	CTS (w/v)	Asetik Asit (M)	pH	Jelleşme Süresi (sa)	Enkapsülasyon Verimi (%)	100mg tanecikteki ilaç içeriği (%)	Salım Yüzdesi (%)
2,0	100	0,5	0,2	0,1	4,0	1	81,2	28,7	45,4
2,0	100	0,5	0,2	0,1	4,5	1	83,7	29,6	30,8
2,0	100	0,5	0,4	0,1	4,0	1	84,5	28,6	41,5
2,0	100	0,5	0,4	0,1	4,5	1	83,3	29,6	37,0
2,0	100	0,5	0,6	0,1	4,0	1	88,5	29,5	42,3
2,0	100	0,5	0,6	0,1	4,5	1	89,8	31,3	46,1

PHCl yüklü 100 mg aljinat-kitosan tanecikleri 250 ml 0,1 M HCl içeren çözeltiliye eklenmiştir. İlk 15 dakika 5 dakika aralıklarla olmak üzere her 60 dakikada ortamdan 3 ml çözeltili alınarak 290 nm dalga boyunda analizlenmiştir. Ölçülen absorpsiyon değeri Propranolol HCl kalibrasyon grafiği kullanılarak ilaç derişimi hesaplanmıştır. Her defasında alınan çözeltili miktarı kadar ortam çözeltilisi ilave edilmiştir. Salım çalışmaları 4 saat süreyle yapılmıştır.

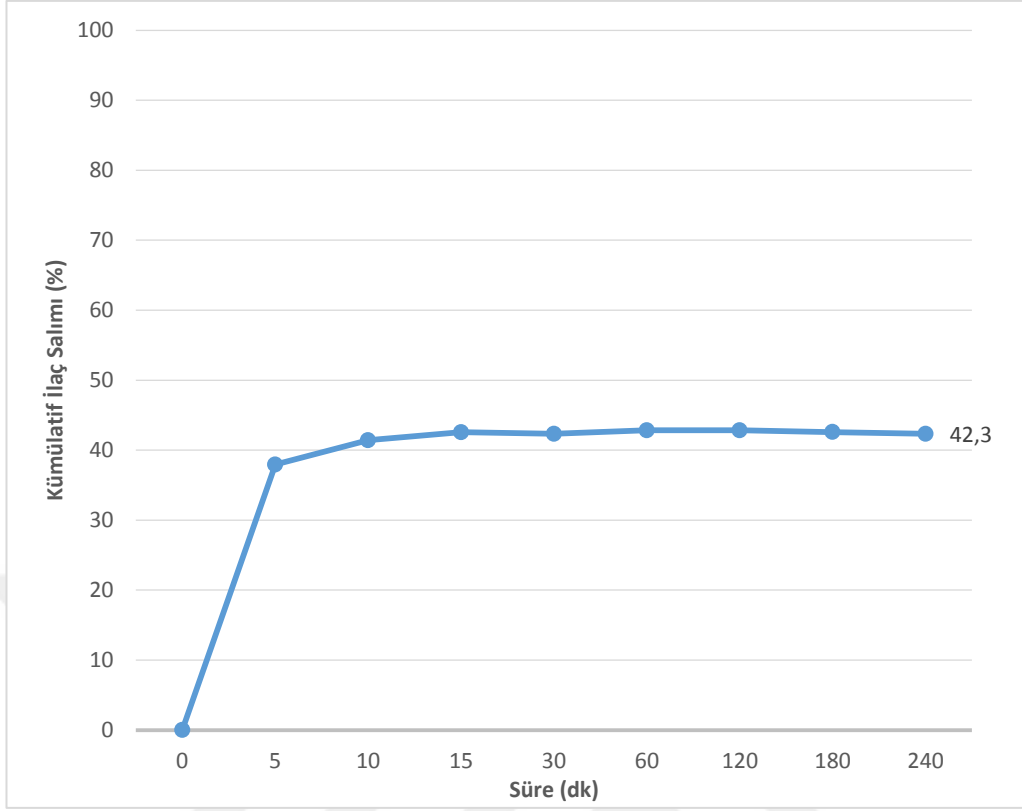
Şekil 4.11’de % 0,4 (w/v) ve %0,2 (w/v) derişimde kitosan içeren jelasyon çözeltilisinin pH’sının 4 olduğu durumda hazırlanan tanecikler ile şekil 4.12’de pH’sının 4,5 olduğu durumda hazırlanan taneciklerin kümülatif salım grafikleri yer almaktadır. Şekil 4.13’te ise %0,6 (w/v) kitosan içeren jelasyon çözeltilisinin pH’sının 4,0 olduğu durumda hazırlanan tanecikler ile şekil 4.14’te pH’sının 4,5 olduğu durumda hazırlanan taneciklerin kümülatif salım grafikleri yer almaktadır. Bu koşullar için verilen grafikler incelendiğinde ilacın yaklaşık %40’ının ilk 5 dakika içerisinde taneciklerden bırakıldığı gözlenmiştir. İlaç patlaması olarak adlandırılan bu durum, propranolol hidroklorürün düşük molekül ağırlığına sahip olması nedeniyle aljinat gözeneklerinden düşük pH ortamında hızlı şekilde difüzyonu nedeniyle olduğu düşünülmektedir.



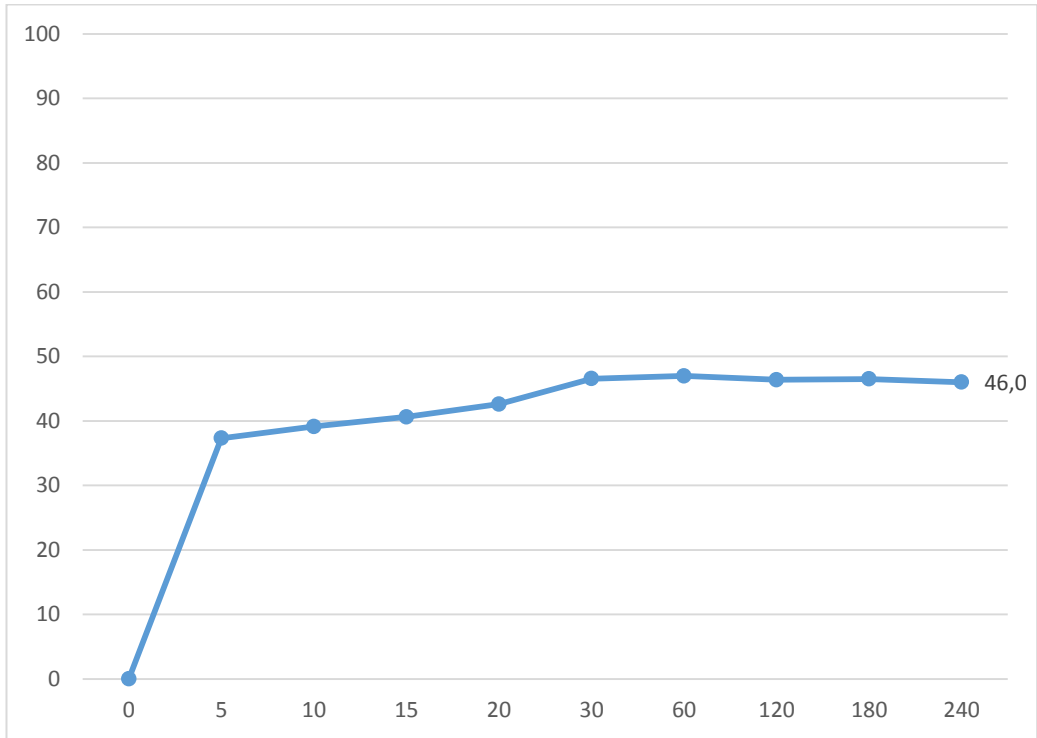
Şekil 4.11 % 2 (w/v) aljinat, %0,2 ve % 0,4(w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl₂ (pH 4) koşulu için kümülatif ilaç salım grafiği (Enkapsülasyon verimi sırasıyla %81,2 ve %84,5) (4 saat, pH 1,2)



Şekil 4.12 % 2 (w/v) aljinat, %0,2 ve % 0,4(w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl₂ (pH 4,5) koşulu için kümülatif ilaç salım grafiği (Enkapsülasyon verimi sırasıyla %83,7 ve %83,3) (4 saat, pH 1,2)

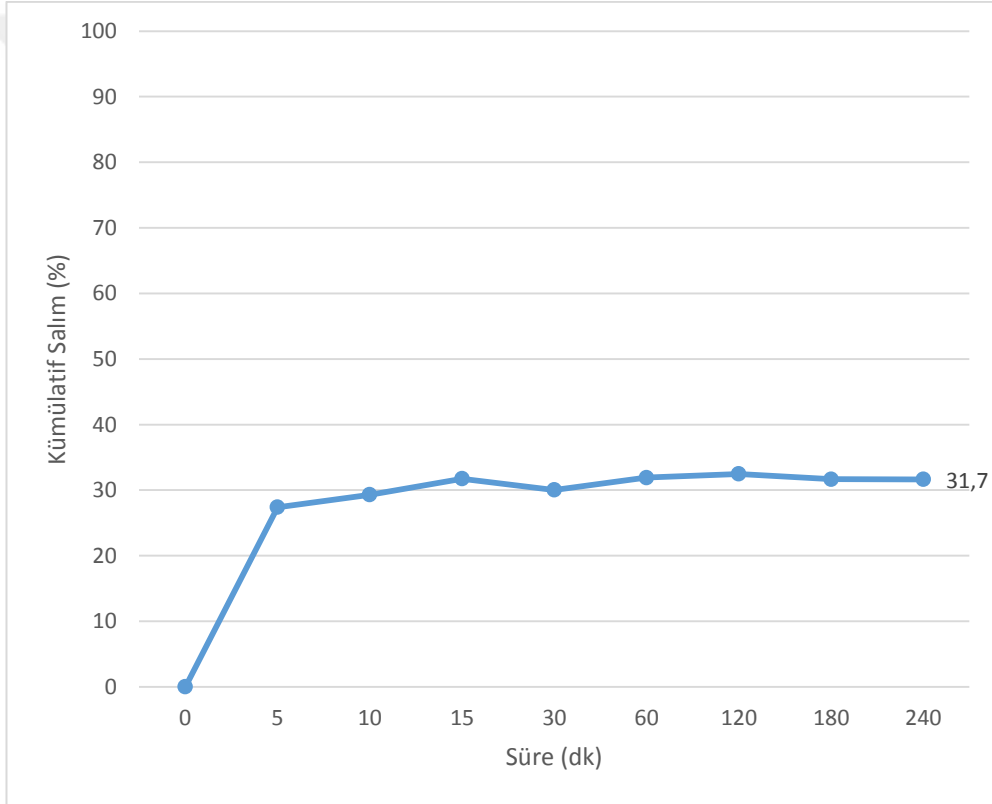


Şekil 4.13 % 2 (w/v) aljinat, %0,6 (w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl₂ (pH 4) koşulu için kümülatif ilaç salım grafiği (Enkapsülasyon verimi %88,5) (4 saat, pH 1,2)



Şekil 4.14 % 2 (w/v) aljinat, %0,6 (w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl₂ (pH 4,5) koşulu için kümülatif ilaç salım grafiği (Enkapsülasyon verimi %89,8) (4 saat, pH 1,2)

Aljinatın gözenek yapısını küçültmek ve ilaç patlamasının önüne geçilmesi amacıyla Anal vd.'nin 2003 yaptıkları çalışma göz önüne alınarak, tanecikler çok katmanlı hale getirilmiştir. En yüksek enkapsülasyon veriminin elde edildiği (% 2,0 (w/v) aljinat, %0,6 (w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl₂ ve pH 4,5 koşulu için %89,8) koşul için tanecikler ıslak halde iken %0,08 kitosan, %2,0 glutaraldehit ve her ikisini de içeren kaplama çözeltilerine eklenerek çok katmanlı hale getirilmiştir. %0,08 (w/v) kitosan ile kaplanan tanecikleri kümülatif salım grafiği 4.15'te, %2,0 glutardialdehit ile kaplanan taneciklerin kümülatif salım grafiği şekil 4.16'da ve sırasıyla her ikisi ile kaplanan taneciklerin grafiği ise şekil 4.17'de verilmektedir.

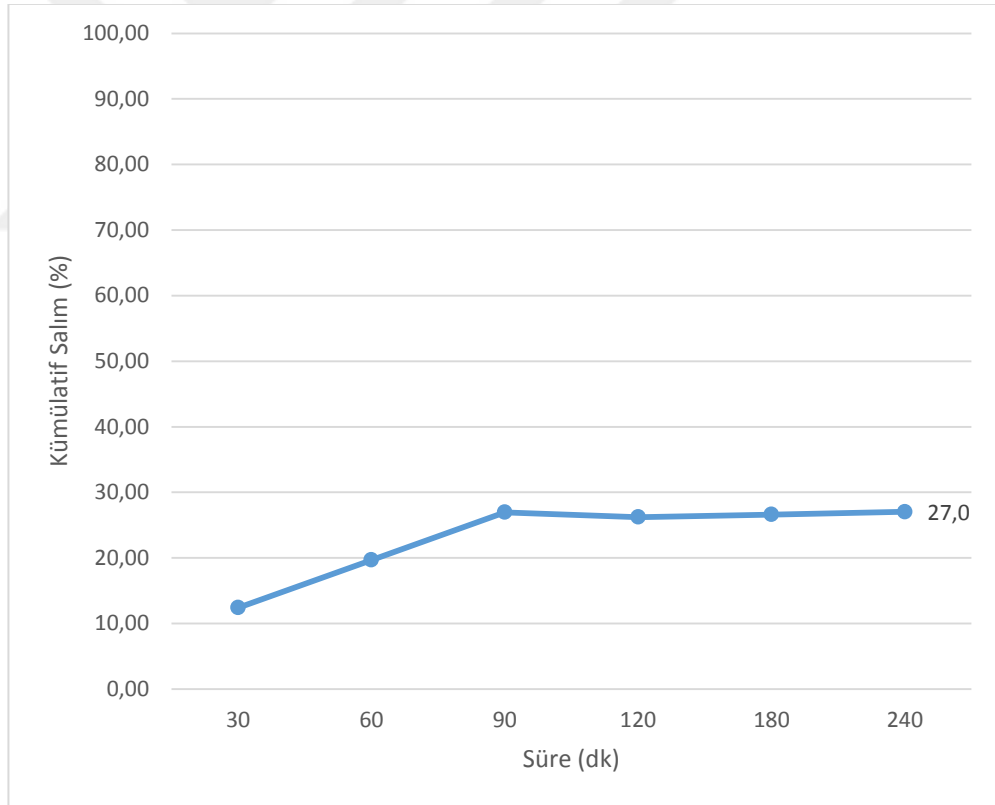


Şekil 4.15 %0,08 (w/v) kitosanla kaplı % 2 (w/v) aljinat, %0,6 (w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl₂ (pH 4,5) koşulunda hazırlanan taneciklerin kümülatif ilaç salım grafiği (Enkapsülasyon verimi %89,8) (4 saat, pH 1,2)

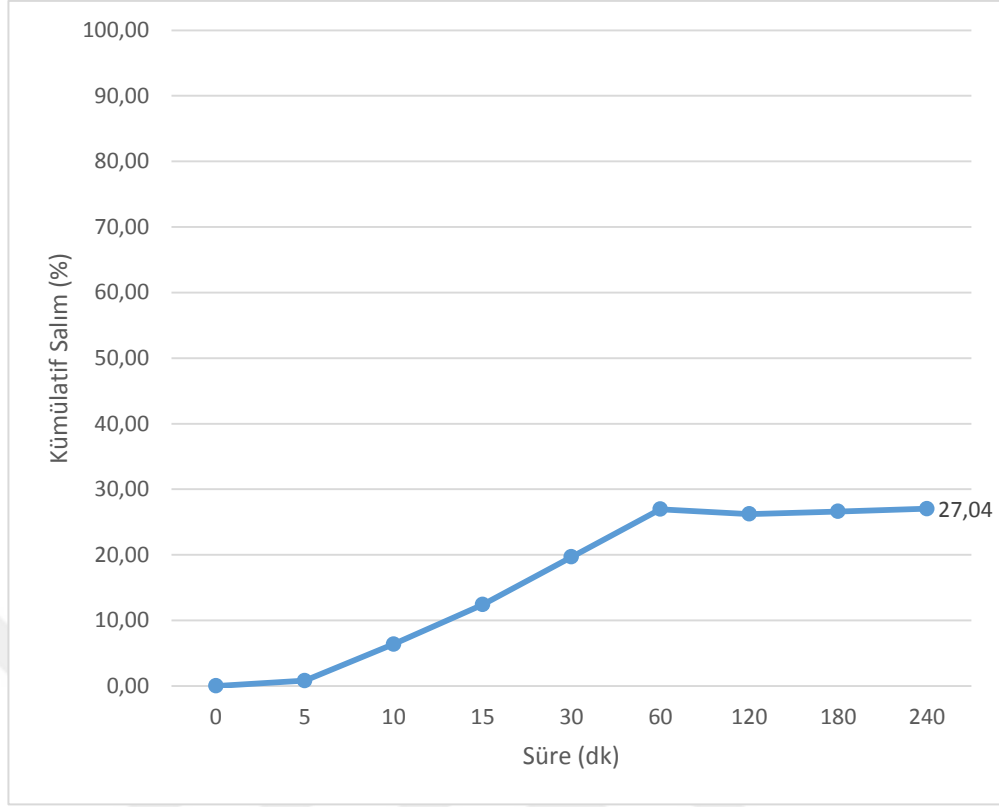
Anal vd.'nin 2003 yılında yaptıkları çalışmada aljinat-kitosan taneciklerinin önce %0,02 ve 0,08 (w/v) derişimde kitosan, kalsiyum klorür ve en son bunların kombinasyonu olacak şekilde polimer kaplaması gerçekleştirilerek çok katmanlı hale getirilmesi incelenmiştir. Çalışma sonucunda kitosan ile kaplanan taneciklerin şişme eğilimlerinin

düşük pH ortamında arttığı ve ilaç salımının yapay mide ortamında daha uzun süre gerçekleştiği belirlenmiştir. Şekil 4.15 incelendiğinde %0,08 (w/v) derişimde kitosanla kaplanan taneciklerin ilacın yaklaşık %30'unu ilk 5 dakika içerisinde salmaya devam ettiği görülmektedir. Çok katmanlı tanecik yapısının patlama salımının önüne geçemediği belirlenmiştir.

Bu sebeple kitosan ve aljinat ile çapraz bağ yapmakta olan glutardialdehit ile kaplama yapılarak çok katmanlı tanecik elde edilmiştir. Şekil 4.16 incelendiğinde %2 (v/v) derişimde glutardialdehit ile kaplanan taneciklerin patlama salımını engellediği görülmektedir. Ancak bu koşullar için 4 saat sonunda ilacın yalnızca %27'si salınmıştır.



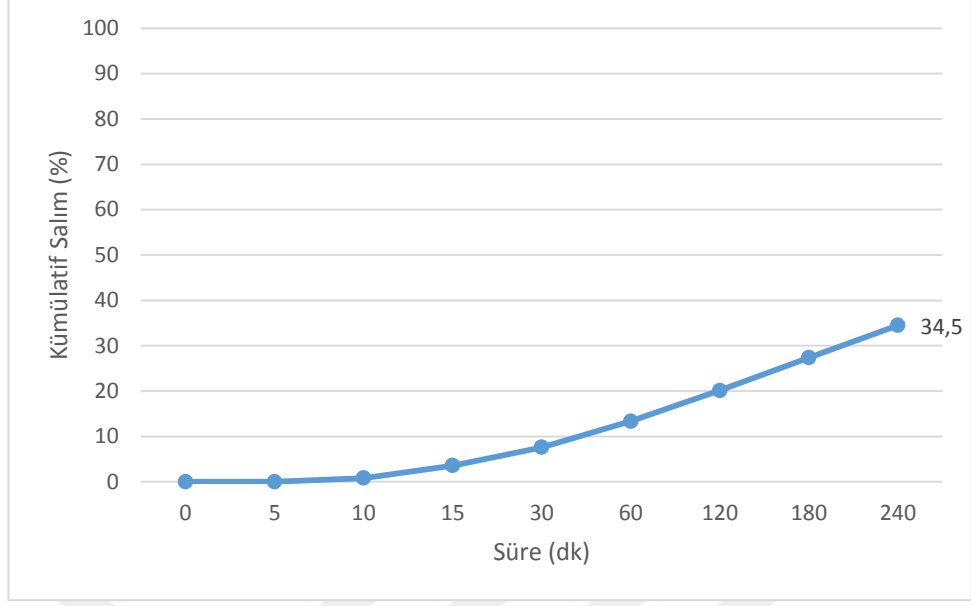
Şekil 4.16 %0,2 (v/v) glutaraldehit ile kaplı % 2 (w/v) aljinat, %0,6 (w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl₂ (pH 4,5) koşulunda hazırlanan taneciklerin kümülatif ilaç salım grafiği (Enkapsülasyon verimi %89,8) (4 saat, pH 1,2)



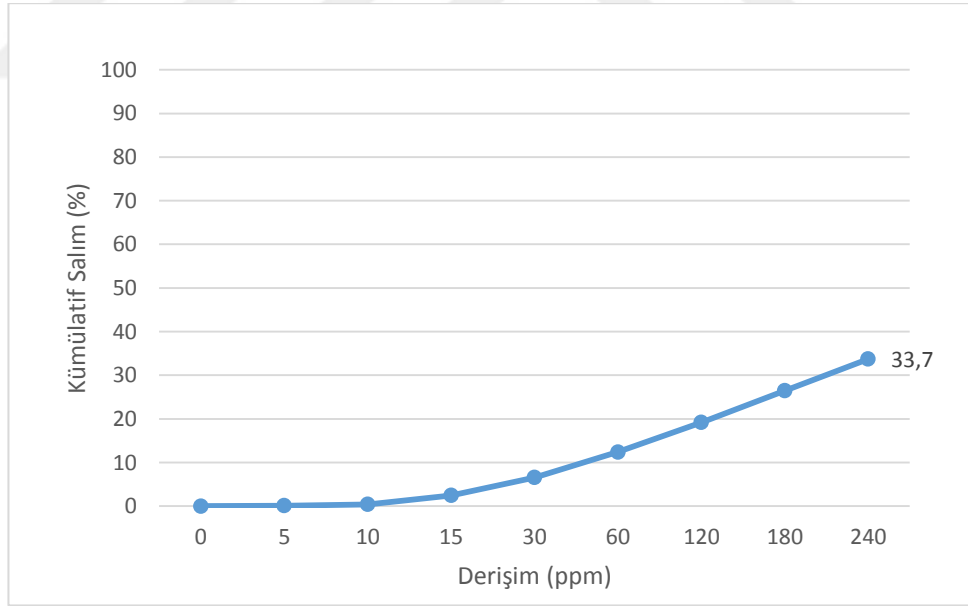
Şekil 4.17 %0,08 (w/v) kitosan sonrasında %0,2 (v/v) glutaraldehit ile kaplanan % 2 (w/v) aljinat, %0,6 (w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl₂ (pH 4,5) koşulunda hazırlanan taneciklerin kümülatif ilaç salım grafiği (Enkapsülasyon verimi %89,8) (4 saat, pH 1,2)

Taneciklerin önce %0,08 (w/v) kitosan sonrasında ise % 2 (v/v) glutardialdehit ile kaplanması sonucu elde edilen çok katmanlı taneciklerin kümülatif salım profili incelendiğinde (Şekil 4.17) ise salımın geciktirmeli olarak başlatıldığı görülmektedir. Ancak bu koşul için de 4 saat sonunda ilacın yaklaşık %30'u salınmıştır.

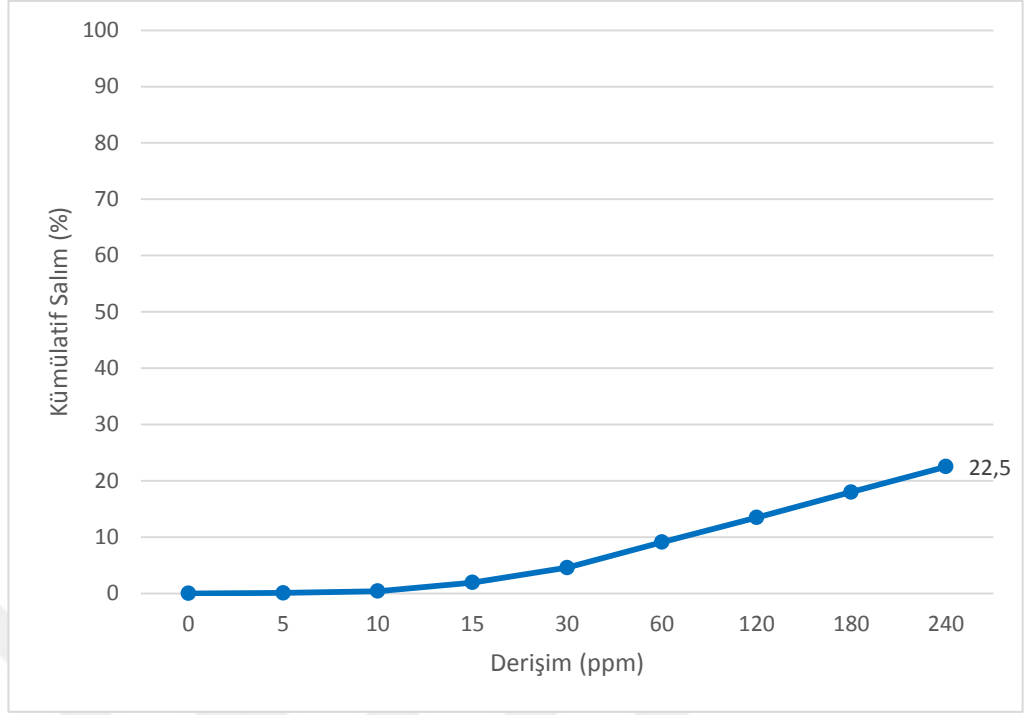
Glutardialdehit derişiminin düşürülmesi ile salım yüzdesinin artması hedeflenmiş olup tanecikler sırasıyla % 0,5-1,0-1,5 (v/v) glutaraldehit ile kaplanmış ve salım çalışması gerçekleştirilmiştir. % 0,5 (v/v) glutardialdehit ile kaplanan taneciklerin kümülatif salım profilleri şekil 4.18'de, % 1(v/v) glutardialdehit kaplama için şekil 4.19'da, % 1,5(v/v) glutardialdehit kaplama için şekil 4.20'de verilmiştir.



Şekil 4.18 %0,5 (v/v) glutardialdehit ile kaplanan % 2 (w/v) aljinat, %0,6 (w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl₂ (pH 4,5) koşulunda hazırlanan taneciklerin kümülatif ilaç salım grafiği (Enkapsülasyon verimi %89,8) (4 saat, pH 1,2)



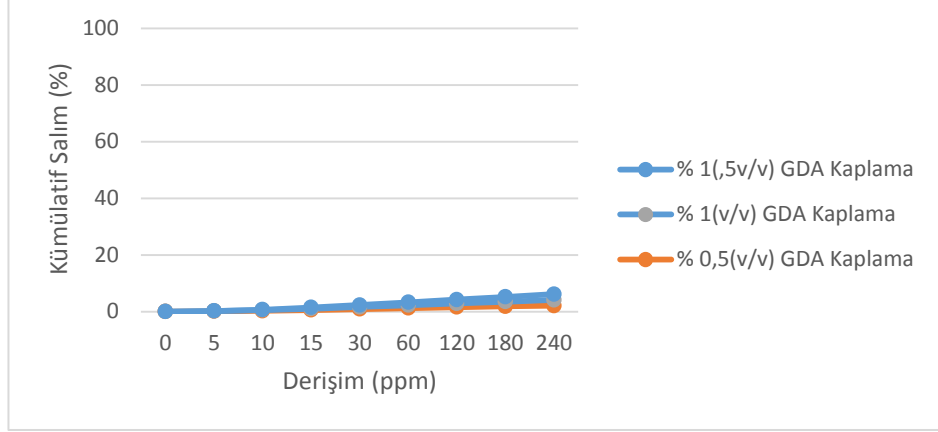
Şekil 4.19 %1 (v/v) glutardialdehit ile kaplanan % 2 (w/v) aljinat, %0,6 (w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl₂ (pH 4,5) koşulunda hazırlanan taneciklerin kümülatif ilaç salım grafiği (Enkapsülasyon verimi %89,8) (4 saat, pH 1,2)



Şekil 4.20 %1,5 (v/v) glutardialdehit ile kaplanan % 2 (w/v) aljinat, %0,6 (w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl₂ (pH 4,5) koşulunda hazırlanan taneciklerin kümülatif ilaç salım grafiği (Enkapsülasyon verimi %89,8) (4 saat, pH 1,2)

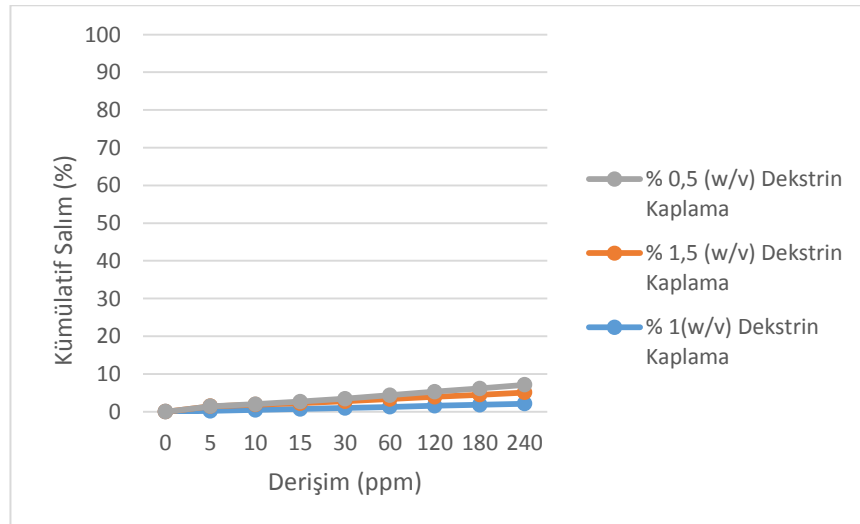
Şekil 4.18 incelendiğinde % 0,5(v/v) glutardialdehit ile kaplanan taneciklerin 4 saat sonunda ilacın %34,5'ini, şekil 4.19 inelendiğinde %1 (v/v) glutardialdehit ile kaplananların %33,7 ve şekil 4.20 incelendiğinde %1,5 glutardialdehit ile kaplananların ise %22,5'ini salabildiği gözlemlenmiştir. Glutardialdehit derişiminin artmasının, patlama salımın önüne geçerek kontrollü bir salım profili sağladığı söylenebilir. Ancak bu koşul için salım yüzdelerinin oldukça düşük olduğu görülmektedir.

Tanecik yapısına dekstrinin eklendiği koşul için (% 1,0 (w/v) dekstrin içeren) tanecikler sırasıyla % 0,5-1,-1,5 (v/v) glutaraldehit ile kaplanmış ve salım profilleri incelenmiştir. Şekil 4.21'de verilen kümülatif salım grafiği incelendiğinde 4 saat sonunda çok düşük oranda gerçekleştiği görülmektedir. Bunun sebebi olarak yapıya dekstrinin katılması ile ağırlaşan polimer derişimleri ilacın tanecik gözeneklerinden salınmasını engellemiş olabileceği düşünölmektedir. Ayrıca glutardialdehit ile kaplanan taneciklerde ilaç salımının geciktirilebileceği düşünölmektedir.



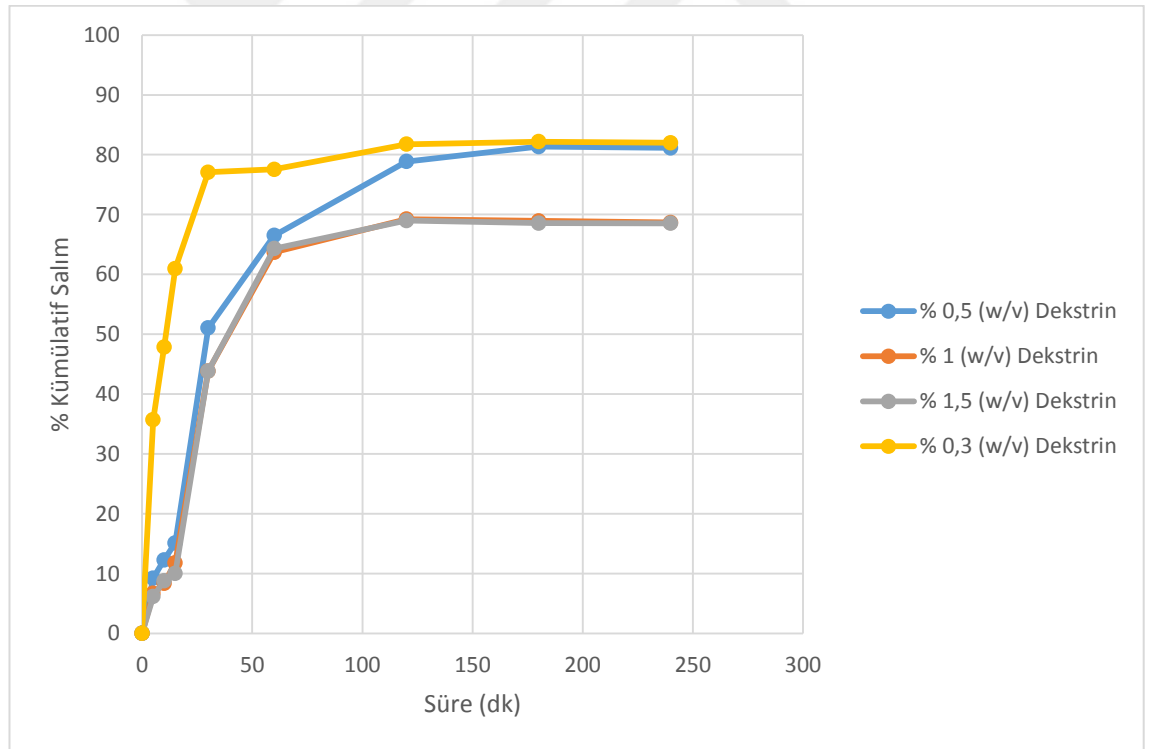
Şekil 4.21 %0,5-1-1,5 (v/v) glutardialdehit ile kaplanan % 2 (w/v) aljinat, %0,6 (w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl_2 ve %1 (w/v) dekstrin (pH 4,5) koşulunda hazırlanan taneciklerin kümülatif ilaç salım grafiği (Enkapsülasyon verimi %89,8) (4 saat, pH 1,2)

Dekstrinin yapıdan çıkarılması ve kaplayıcı olarak kullanılması amacıyla tanecikler %0,5-1-1,5 (w/v) derişimde dekstrinle kaplanmıştır. Taneciklerin salım profili şekil 4.22'de verilmiştir. Şekil 4.22 incelendiğinde dekstrinin kaplayıcı olarak kullanıldığı çok katmanlı taneciklerin de salım yüzdesinin çok düşük olduğu görülmektedir. Bunun sebebinin dekstrinin kitosan ve aljinat ile çapraz bağlanarak yapı gözeneklerini sarması ve ilaç difüzyonunu yavaşlatması olarak düşünülmektedir.



Şekil 4.22 %0,5-1-1,5 (w/v) dekstrin ile kaplanan % 2 (w/v) aljinat, %0,6 (w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl_2 (pH 4,5) koşulunda hazırlanan taneciklerin kümülatif ilaç salım grafiği (Enkapsülasyon verimi %89,8)

Patlama salımının önüne geçmek amacıyla %0,3-0,5-1,0-1-5 derişimlerinde dekstrin içeren tanecikler için salım çalışmaları yukarıda anlatıldığı gibi gerçekleştirilmiştir. Tanecik yapısına katılan dekstrin derişiminin enkapsülasyon veriminde belirgin bir etkiye sahip olmadığı ancak mide hedefli ilaç salım çalışmalarında ise dekstrinin yapıya katılmasının salım profilini düzenlediği gözlenmiştir. Şekil 4.23 incelendiğinde ilaç çözeltisi içerisine dekstrin eklenmesi ile ilaç patlamasının önüne geçildiği ve salım profilinin düzenli olarak artış gösterdiği görülmektedir. Dekstrin derişimin düşmesi ilaç salımında ilaç salım profili üzerinde olumlu bir etkiye sahiptir. En yüksek kümülatif salım değeri %82,0 olarak %0,3 (w/v) dekstrin derişiminde elde edilmiştir. Bu değeri %81,1 ile % 0,5(w/v) derişimi izlemektedir. %0,3 (w/v) dekstrin derişiminde ilk 5 dakika içerisinde ilacın %35,7'si salınmış olup %0,5 (w/v) dekstrin derişiminde ilk 5 dakika içerisinde ilacın %9,2'si salınmaktadır. %0,5 (w/v) dekstrin derişiminde elde edilen taneciklerden yapılan ilaç salımının daha kontrollü olduğu görülmektedir.



Şekil 4.23 % 2 (w/v) aljinat, %0,6 (w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl₂ (pH 4,5) koşulu ve farklı derişimlerde dekstrin için % kümülatif ilaç salımı (4 saat, pH 1,2)

Dekstrinin suda kolay çözünebilir yapıda olması ve dallı bir polimer olması sebebiyle aljinat ile etkileşiminin sonucu olarak salım profilini düzenlediği, ilaç patlamasının önüne geçtiği düşünülmektedir.

Khorrām vd. (2014) çalışmalarında propranolol hidroklorürü aljinat taneciklerine yüklemeyi ve salım ortamında ilacın ilaç taşıyıcı matrinden bir anda salınması olarak adlandırılan ilaç patlamasının önüne geçilmesi hedeflenmiştir. Bu hedef doğrultusunda aljinat tanecikleri kitosan ve dekstran sülfat ile kaplanmıştır. Yaptıkları çalışma sonucu yapıya dekstran sülfat ve kitosanın katılması enkapsülasyon verimini arttırdığı ve salımda ilaç patlamasının önüne geçtiği belirlenmiştir. Bu çalışmada yüksek enkapsülasyon veriminin elde edildiği koşul için yapıya dekstrinin katılması aljinat gözeneklerini küçülterek ilacın düşük pH ortamında hızlı difüzyonunun önüne geçtiği düşünülmektedir. Dekstrin derişiminin artması gözenek boyutunu fazla küçülttüğü için difüzyon bariyeri oluşturmuş olabileceği ve bu nedenle yüksek dekstrin derişimlerinde kümülatif salımın düşük olduğu düşünülmektedir. En düşük dekstrin derişiminde ise (%0,3 w/v) ilaç patlamasının önüne geçilemediği ilacın %35'inin ilk 5 dakikada salındığı ancak salım profilinin düzenli ve kümülatif salım yüzdesinin yüksek olduğu görülmektedir.

4.4 Deneysel Tasarım

Propranolol hidroklorürün aljinat-kitosan polielektrolit taneciklerine yüksek verimle yüklenmesi ve mide hedefli salımının kontrollü ve yüksek salım yüzdesi ile gerçekleşmesi amacıyla farklı tepkime parametre etkilerinin ayrı ayrı incelenmiştir. Bu parametreler arasından birkaçının enkapsülasyon verimi ve salım yüzdesi üzerindeki etkisinin eş anlı incelenmesi hedeflenmiş ve en yüksek değerleri sağlayabilecek optimum değerlerin elde edilebilmesi amacıyla deney tasarım yöntemleri kullanılmıştır.

Deney tasarımı yapılarak enkapsülasyon verimi ve ilaç salım yüzdesi üzerinde etkilerinin eş anlı incelenmesi hedeflenen parametrelerin birbiri ile olan ilişkilerinin etkileri de incelenebilecektir. Deney tasarım yöntemi olarak Cevap Yüzey Yöntemi kullanılacaktır.

Bir yanıt değişkeninin birçok faktörden etkilendiği durumda, bu yanıt değişkeninin optimize edilmesi için, problemin modellenmesi ve analiz edilmesinde kullanılan matematiksel ve istatistiksel tekniklerin birlikte kullanıldığı Yanıt Yüzeyi Yöntemi yaygın olarak uygulanmaktadır (Songür 2019). Yapılacak deneysel tasarımda yanıt değişkeni 2, faktör sayısı 4 olduğu için Bölüm 2.6’da çizelge 2.1’de anlatıldığı gibi tasarım yöntemi seçilmiş olup Merkezi Kompozit Tasarım (CCD) uygulanmasına karar verilmiştir. Deney tasarım yöntemi Design Expert 7.0.0 programı kullanılarak uygulanmıştır.

CCD için parametrelerin seviyeleri belirlenmiş olup çizelge 4.2’de verilmiştir. Parametrelerin ve parametre seviyelerinin belirlenmesi deneysel tasarımımda doğru belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Çünkü seviyeler yanlış belirlenirse aslında önemli olan bir parametre tasarım sonucunda önemsiz olarak çıkabilmektedir (Songür 2019). Klasik yöntemlerle yapılan denemeler sonucunda enkapsülasyon verimi ve salım yüzdesine etki eden 4 parametrenin (aljinat, kitosan ve kalsiyum klorür derişimi, jelasyon çözeltisinin pH değeri) optimize edilmesine karar verilmiştir.

Yanıt değişkeni enkapsülasyon verimi ve salım yüzdesidir. Deney tasarımına dahil edilmeyen yanıt üzerinde çok önemli bir etkisi bulunmadığı düşünölen diğer parametreler ise (jelleştirme süresi, asetik asit derişimi vb. gibi) önceki deneylerde bulunan uygun koşullarda sabit tutulmuştur. Patlama salımının önüne geçmesi amacıyla kullanılan dekstrin derişimi deney tasarımımda % 0,5 (w/v) değerinde sabit tutulmuştur.

Çizelge 4.2. Merkezi kompozit tasarım parametreleri ve seviyeleri

Parametreler	Seviyeler			
	-	-1	+1	+
Aljinat Derişimi % (w/v)	1,5	2,0	3,0	3,5
Kitosan Derişimi % (w/v)	0,1	0,25	0,55	0,7
CaCl ₂ Derişimi % (w/v)	0,2	0,6	1,4	1,8
pH	3,5	4,0	5,0	5,5

Çizelge 4.3’te verilen 4 parametrenin yer aldığı koşullar için merkezi kompozit deney tasarımı uygulanmıştır. 4 faktör için, 6’sı merkezde olmak üzere toplamda 30 deney

yapılmış olup tüm deneyler gibi 2 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Yanıt değişkenlerinin değerlerinin ortalamaları alınarak programa yüklenmiştir. Deneylerin ilk ve ikinci tekrarlarının sonuçları Ek 18 ve Ek 19’da verilmiştir.

Çizelge 4.3 Merkezi kompozit tasarım matrisi ve sonuçlar

Deney No	Faktör 1	Faktör 2	Faktör 3	Faktör 4	Yanıt 1	Yanıt 2
	A: Aljinat Derişimi	B: Kitosan Derişimi	C:CaCl ₂ Derişimi	D: pH	Enkapsülasyon Verimi	İlaç Salım Yüzdesi
	%(w/v)	%(w/v)	%(w/v)		%	%
1	2.5	0.10	1.0	4.5	70.9	25.3
2	2.5	0.40	1.0	4.5	83.1	63.4
3	2.0	0.25	1.4	4.0	78.9	59.5
4	2.0	0.25	1.4	5.0	58.0	23.8
5	2.5	0.40	1.0	4.5	83.2	64.3
6	3.0	0.55	0.6	4.0	86.5	33.8
7	2.5	0.40	1.0	4.5	83.1	63.2
8	3.0	0.55	1.4	4.0	86.2	24.6
9	2.0	0.25	0.6	5.0	71.9	29.9
10	2.0	0.55	0.6	5.0	74.1	30.6
11	2.0	0.55	1.4	4.0	84.1	76.2
12	1.5	0.40	1.0	4.5	65.0	56.6
13	3.5	0.40	1.0	4.5	89.7	22.8
14	3.0	0.25	0.6	4.0	84.3	27.5
15	2.5	0.40	1.0	5.5	55.5	30.9
16	2.5	0.40	1.0	4.5	82.9	63.7
17	3.0	0.25	1.4	4.0	82.0	29.8
18	2.0	0.55	0.6	4.0	80.3	71.9
19	3.0	0.55	0.6	5.0	82.6	29.9
20	2.5	0.40	0.2	4.5	85.0	61.6
21	2.5	0.40	1.8	4.5	67.8	65.8
22	3.0	0.25	1.4	5.0	72.2	48.4
23	2.0	0.55	1.4	5.0	69.6	32.2
24	2.5	0.40	1.0	3.5	66.1	60.0
25	2.0	0.25	0.6	4.0	63.5	62.2
26	2.5	0.70	1.0	4.5	84.1	75.1
27	3.0	0.25	0.6	5.0	79.1	28.4
28	3.0	0.55	1.4	5.0	78.9	26.2
29	2.5	0.40	1.0	4.5	82.8	62.2
30	2.5	0.40	1.0	4.5	83.0	62.0

Bu tasarıma göre yapılan deney sonuçları programa girildikten sonra cevap değerleri olan % enkapsülasyon verimi ve salım yüzdesi için uygun olan cevap modeli belirlenmiş, program tarafından hesaplanan istatistiksel veriler değerlendirilmiş ve cevap yüzey grafikleri elde edilmiştir. Program tarafından yapılan analiz sonucunda tasarım modeli iki yanıt değişkeni için de kuadratik model (ikinci dereceden polinom modeli) olarak önerilmiştir.

4.4.1 Enkapsülasyon veriminin optimizasyonu

Enkapsülasyon verimi için elde edilen model aşağıdaki eşitlikte verilmiştir:

$$\text{Enkapsülasyon Verimi} = 83.02 + 5.04A + 3.29B - 1.28C - 3.37D - 1.18AB - 0.88AC + 0.43AD + 0.18BC - 0.28BD - 2.83CD - 0.92A^2 - 0.88B^2 - 0.13C^2 - 5.06 D^2$$

Bu eşitlikte A,B,C ve D sırası ile %(w/v) aljinat derişimi, %(w/v) kitosan derişimi , %(w/v) CaCl₂ derişimi ve pH'tır. Enkapsülasyon verimi için elde edilen modelin varyans analizi (ANOVA) sonuçları çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4 Cevap yüzey yöntemi ile enkapsülasyon verimi için elde edilen modelin varyans analizi (ANOVA)

Değişim Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F Değeri	p-değeri	Yorum
Model	2062.16	14	147.30	9.73	< 0.0001	önemli
A-Aljinat Derişimi	609.03	1	609.03	40.22	< 0.0001	
B-Kitosan Derişimi	259.38	1	259.38	17.13	0.0009	
C-CaCl ₂ Derişimi	39.27	1	39.27	2.59	0.1282	
D-pH	272.70	1	272.70	18.01	0.0007	
AB		22.33	1	22.33	1.47	
AC		12.43	1	12.43	0.82	
AD		2.98	1	2.98	0.20	
BC		0.53	1	0.53	0.035	
BD		1.27	1	1.27	0.084	
CD		128.26	1	128.26	8.47	
A ²		23.10	1	23.10	1.53	
B ²		21.25	1	21.25	1.40	
C ²		0.47	1	0.47	0.031	

Çizelge 4.4 Cevap yüzey yöntemi ile enkapsülasyon verimi için elde edilen modelin varyans analizi (ANOVA) (devam)

Değişim Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F Değeri	p-değeri	Yorum
D ²		700.94	1	700.94	46.29	
Artık (Residual) Uyum Eksikliği (Lack of Fit) Hata (Pure Error)	227.15	15	15.14			
	202.56	10	20.26	4.12	0.0658	önemsiz
	24.59	5	4.92			

Çizelge 4.4'te verilen enkapsülasyon verimi için ANOVA sonuçları incelendiğinde; Fisher varyans oranı olarak bilinen F değeri, bu model için 9.73 olarak bulunmuştur. Bu değer deneySEL gürültüden kaynaklanma olasılığı da % 0.01 olarak belirlenmiştir. Modelin p (olasılık) değerinin (<0.0001) 0.05'ten küçük olması modelin %95 güven seviyesinde, istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir. ANOVA sonuçlarına göre uyum eksikliğinin (lack of fit değeri) önemsiz çıkması da önemli olup modelin deneySEL verilerine uygunluğunu göstermektedir.

Çizelge 4.5 incelendiğinde modelin R² değeri 0.9008, düzeltilmiş R² değeri 12.126, tahmini R² değeri ise 0.4749 olarak belirlenmiştir. R² değerinin 0.75'ten büyük olması modelin uygunluğunu gösterir. İyi bir istatistiksel modelin R² değeri 1'e yakın olmalıdır (Songür 2019).

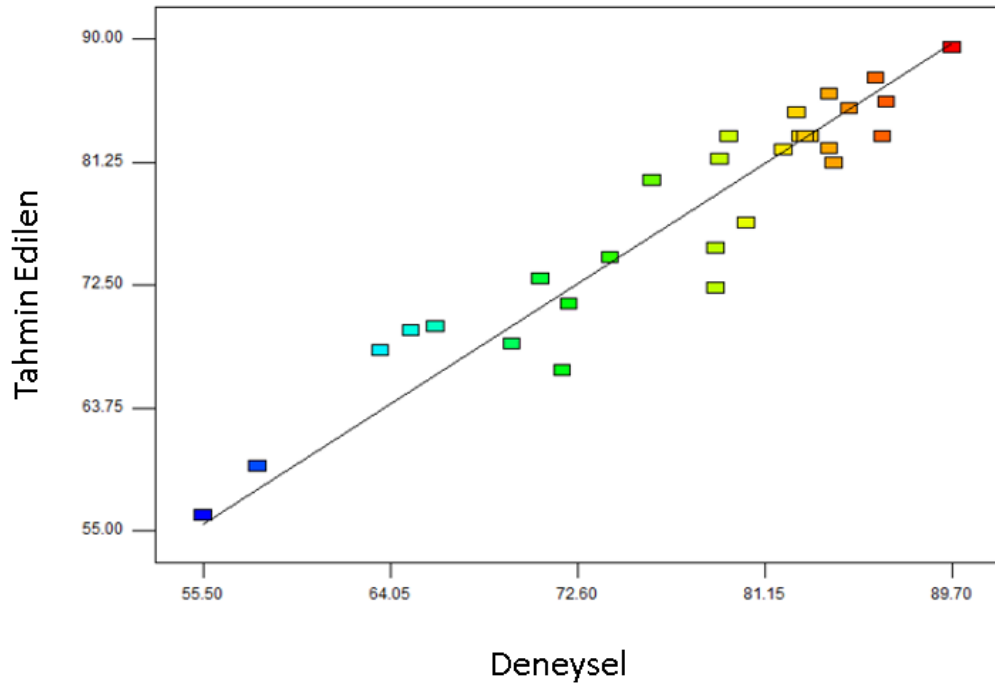
Modelin sinyal/gürültü oranını gösteren yeterli kesinlik değerini 12.126 olarak bulunmuştur. Yeterli kesinlik değerinin 4'ten büyük olması modelin verilere iyi uygunluğunu gösterir niteliktedir (Songür 2019). Varyasyon katsayısı (%CV= 5.03) modelin kesinliğini ve güvenilirliğini gösterir. Bu sebeple varyasyon katsayısının düşük olması beklenir.

Çizelge 4.5 Yanıt Yüzey Yöntemi ile sonucunda enkapsülasyon verimi için elde edilen standart sapma, R^2 ve yeterli kesinlik ve varyasyon katsayısı değerleri

Özellik	Değer
Std. Dev.	3.89
R^2 Değeri	0.9008
Düzeltilmiş R^2 Değeri (Adjusted R^2)	0.8082
Tahmini R^2 (Predicted R^2)	0.4749
Yeterli kesinlik (Adequate precision)	12.126
Varyasyon katsayısı (% CV)	5.03

ANOVA sonuçları incelendiğinde modeldeki A (aljinat derişimi), B (kitosan derişimi), D (pH), BD (kitosan derişimi ve pH) ve C^2 değerlerinin p değerinin < 0.05 olduğu ve modeldeki önemli terimler olduğu söylenebilir.

Deneysel veriler ile modelden tahmin edilen değerlerin ilişkisi Şekil 4.24'te verilmiştir.



Şekil 4.24 Enkapsülasyon verimi için elde edilen deneysel veriler ile modelden tahmin edilen değerlerin değişimi

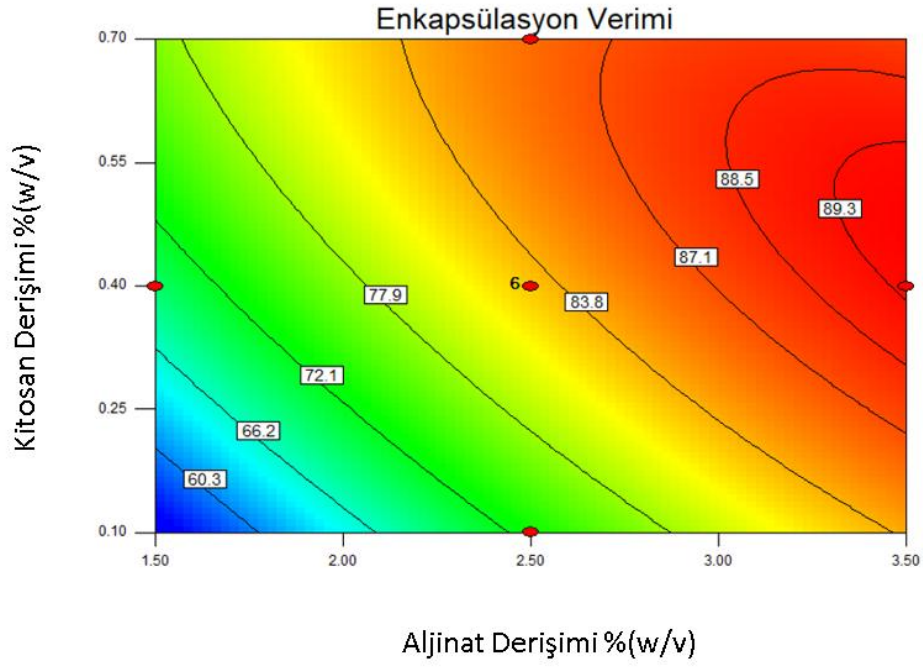
Tahmin edilen model eşitliğinin görsel hale getirilmesi üç boyutlu cevap yüzeyi grafikleri ve izohips çizgileri ile yapılabilir. Yanıtların izohips eğrilerinin çizilerek üst üste yerleştirilmesi (superimposing), çok yanıtlı optimizasyon problemlerinin

çözümünde kullanılan diğer bir yaklaşımdır (<https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/78297>, 2022).

Her bir izohips eğrisi, bir bağımsız değişken merkezdeyken, diğer iki değişkenin sonsuz sayıdaki kombinasyonlarını vermektedir. Katsayılara bağlı olarak izohips eğrilerinin dairesel, eliptik ya da eğer şeklinde olması; maksimum nokta, minimum nokta, (eyer noktası (saddle point)) durgun tepe ya da yükselen/azalan tepe koşullarını verebilmektedir (<https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/78297>, 2022).

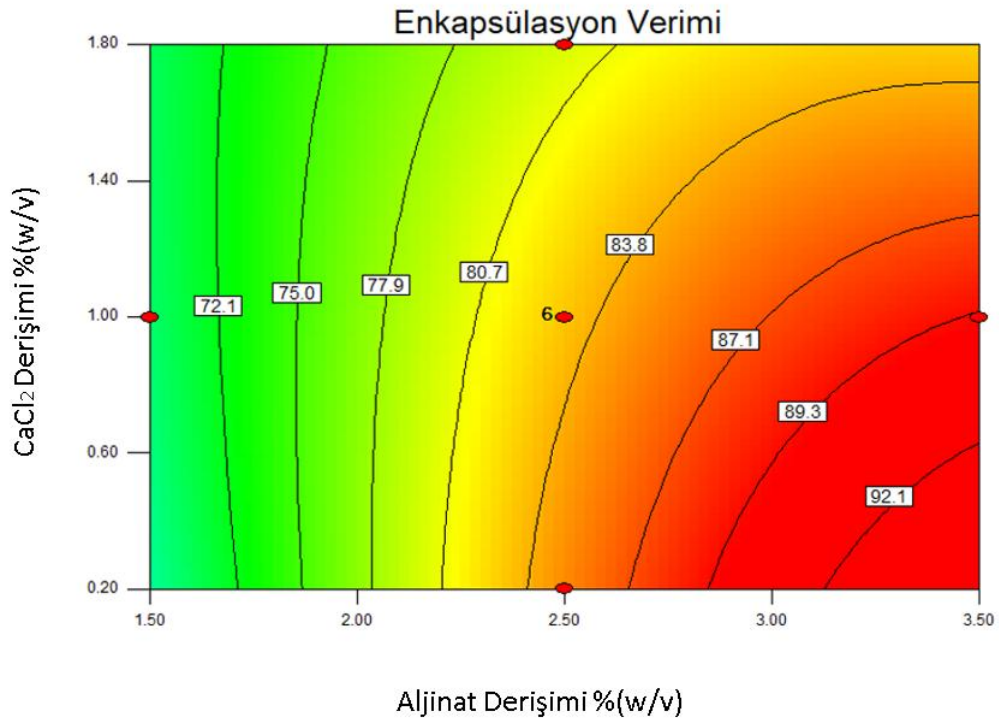
Yanıt yüzeyinin dairesel olması, değişkenler arasındaki etkileşimin ihmal edilebilir olduğunu, elips ya da eyer şeklindeki yüzeyler iç etkileşimin önemli olduğunu göstermektedir (<https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/78297>, 2022).

Şekil 4.25'te verilen izohips eğrileri aljinat derişimi ile kitosan derişiminin enkapsülasyon verimine ikili etkisini göstermektedir. İzohips eğrileri incelendiğinde; enkapsülasyon veriminin aljinat ve kitosan derişimleri arttıkça artış gösterdiği görülmektedir. Aljinat derişiminin % 3,5 (w/v) değerinin üzerinde olduğu koşullar için enkapsülasyon veriminin en yüksek değerlerine ulaşacağı görülmektedir. Anal vd.'nin 2003 ve 2005 yılında yapmış oldukları çalışmalar sonucunda da aljinat ve kitosan derişimlerinin artması sonucu taneciklere yüklenen ilaç miktarının arttığı belirlenmiştir. Ancak aljinatın viskoz yapısı nedeniyle %3 (w/v) derişimi ve üzeri derişimlerde kullanımı deneysel çalışma zorluğu yaratmıştır.



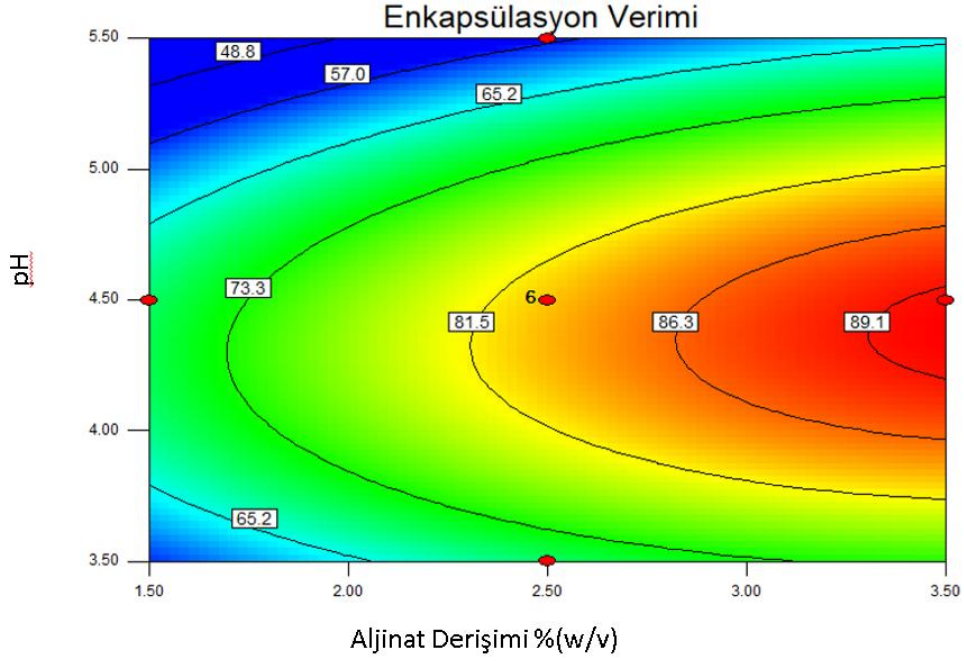
Şekil 4.25 A: Aljinat derişimi%(w/v) ile B: Kitosan derişiminin %(w/v) % enkapsülasyon verimine ikili etkisinin izohips eğrileri ile gösterimi (C: CaCl₂ %1 (w/v), D: pH 4,5)

Şekil 4.26'daki izohips eğrileri, aljinat derişimi ve kalsiyum klorür derişimlerinin ikili etkileşimlerinin enkapsülasyon verimi üzerine etkilerini göstermektedir. İzohips eğrileri incelendiğinde CaCl₂ derişiminin azalması ile enkapsülasyon veriminde artış gözlenmektedir. % 0,2 (w/v) değerinin altında olduğu koşulda enkapsülasyon veriminin en yüksek değerine ulaşabileceği görülmektedir. Ancak bu derişimin altına inildiği durumlarda iyonotropik jelasyon ile üç boyutlu hidrojel taneciklerin elde edilemeyeceği düşünülmektedir. Lim ve Wan 1997 yılında yapmış oldukları çalışmada kalsiyum aljinate taneciklerine PHCl yükleme veriminin en yüksek olduğu koşulun %0,5 (w/w) CaCl₂ derişiminde olduğunu belirtmişlerdir. Diferansiyel taramalı kalorimetre analizleri sonucunda PHCl ve Ca²⁺ iyonlarının aljinate molekül zincirinde aynı noktalara tutundukları belirlenmiştir. CaCl₂ derişiminin artması ile enkapsülasyon veriminde yaşanan düşüşün, ortamda derişimi fazla Ca²⁺ iyonlarının aljinata olan ilgilerinin PHCl'den fazla olması sebebiyle taneciklere daha az ilaç tutunması olarak düşünülmektedir.



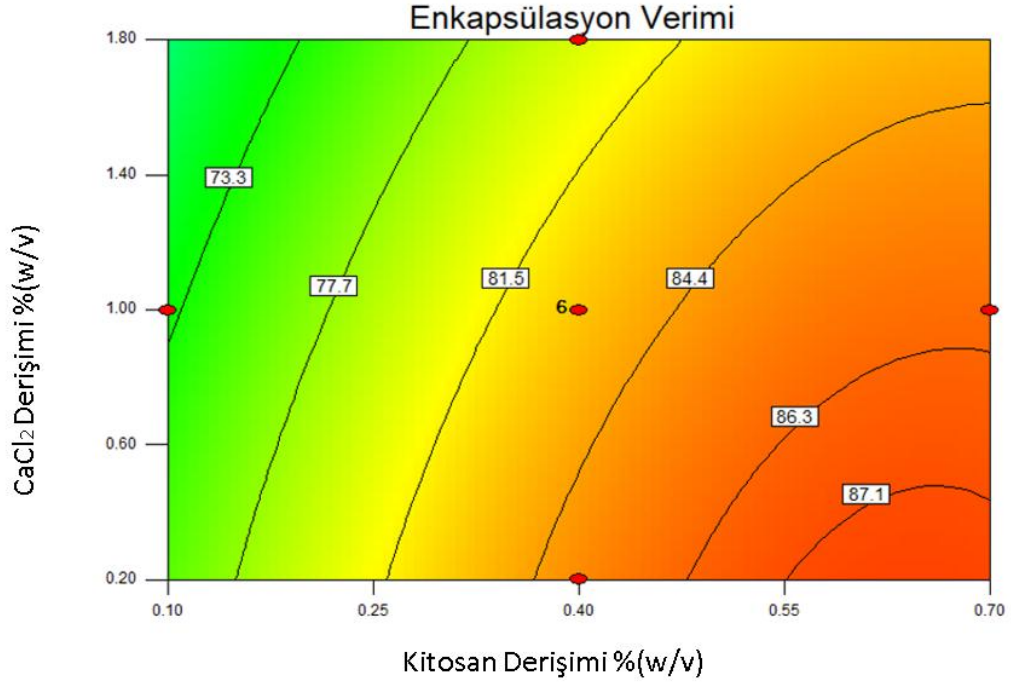
Şekil 4.26 A: Aljinat derişimi%(w/v) ile C: CaCl₂ derişiminin %(w/v) % enkapsülasyon verimine ikili etkisinin izohips eğrileri ile gösterimi (B: Kitosan %0,4 (w/v), D: pH 4,5)

Şekil 4.27’de aljinat derişimi ve jelasyon çözeltisinin pH değerinin ikili etkileşimlerinin enkapsülasyon verimi üzerine etkilerini gösteren izohips eğrileri yer almaktadır. İzohips eğrileri incelendiğinde jelasyon çözeltisinin pH değerinin 4,5 olduğu durumda enkapsülasyon verimi aljinat derişiminin artması ile arttığı gözlenmektedir. Jelasyon çözeltisinin pH değerinin 4,5’tan az ya da fazla olduğu durumlarda enkapsülasyon verimi azalmış olup en düşük değerine 5,5 değerinde ulaştığı görülmüştür. Bunun sebebinin ortam pH değerinin nötre yaklaştıkça kitosanın yapısındaki amino gruplarının yüksüz hale gelmesi ve dolayısıyla çözünürlüklerinin düşmesi olarak düşünülmektedir. Jelasyon çözeltisinin pH değeri arttıkça çözünürlüğü azalan kitosanın amino grupları ile aljinatın karboksil grupları arasındaki etkileşimin azalacağı ve bu sebeple polielektrolit komplekse ilaç yüklemenin yani enkapsülasyon veriminin azaldığı düşünülmektedir. Jelasyon çözeltisinin pH’ının 4,5’tan az olduğu durumlarda ise kitosanın çözünürlüğünün artması sebebiyle polielektrolit kompleks yapısının PHCl’yi enkapsüle edemeyecek kadar fazla iyonik kuvvette olmasının enkapsülasyon verimini düşürdüğü düşünülmektedir.



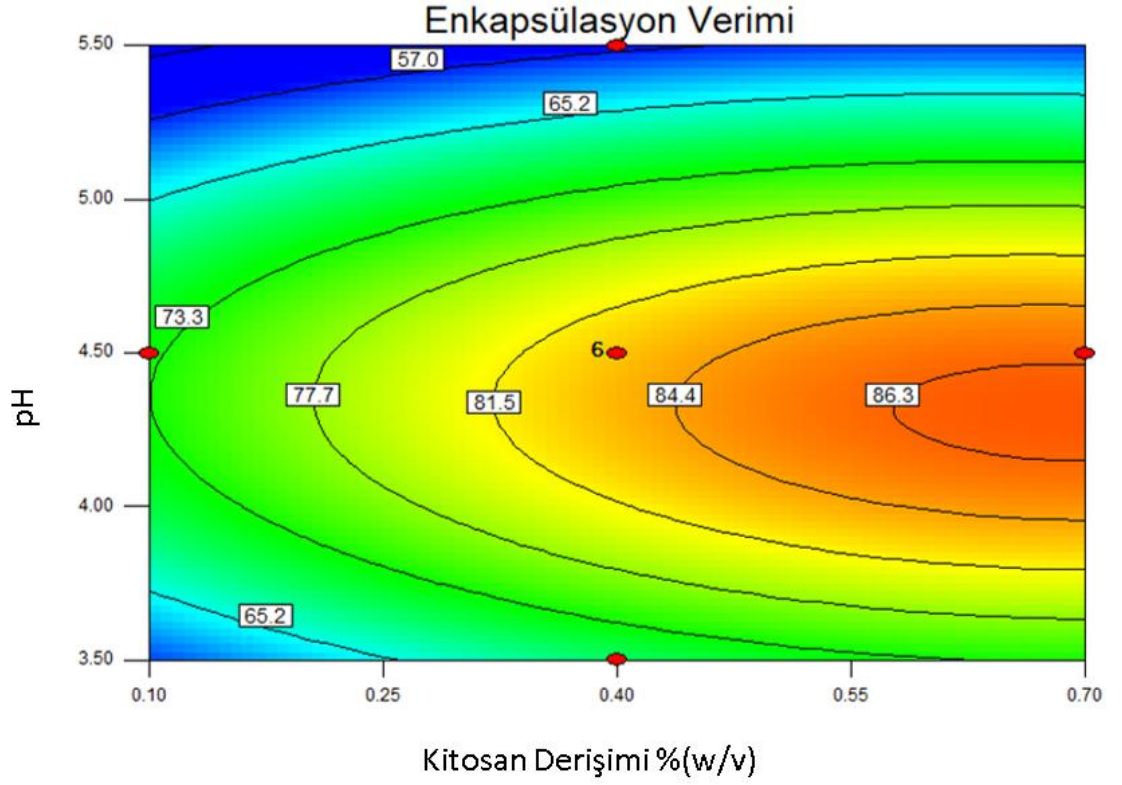
Şekil 4.27 A: Aljinat derişimi%(w/v) ile D: pH değerinin % enkapsülasyon verimine ikili etkisinin izohips eğrileri ile gösterimi (B: Kitosan %0,4 (w/v), C: CaCl₂ %1(w/v))

Şekil 4.28’de kitosan ve CaCl₂ derişimlerinin ikili etkileşimlerinin enkapsülasyon verimi üzerine etkilerini gösteren izohips eğrileri yer almaktadır. İzohips eğrileri incelendiğinde CaCl₂ derişiminin azalması ve kitosan derişiminin artması ile enkapsülasyon veriminde artış gözlenmektedir. CaCl₂ derişiminin % 0,2 (w/v) değerinin altında, kitosan derişiminin ise % 0,55 - %0,70 değerleri arasında olduğu koşulda enkapsülasyon veriminin en yüksek değerine ulaşabileceği görülmektedir. Ancak CaCl₂ derişiminin % 0,2 (w/v) değerinin altında üç boyutlu hidrojel kalsiyum-aljinat taneciklerinin oluşmayacağı düşünülmektedir.



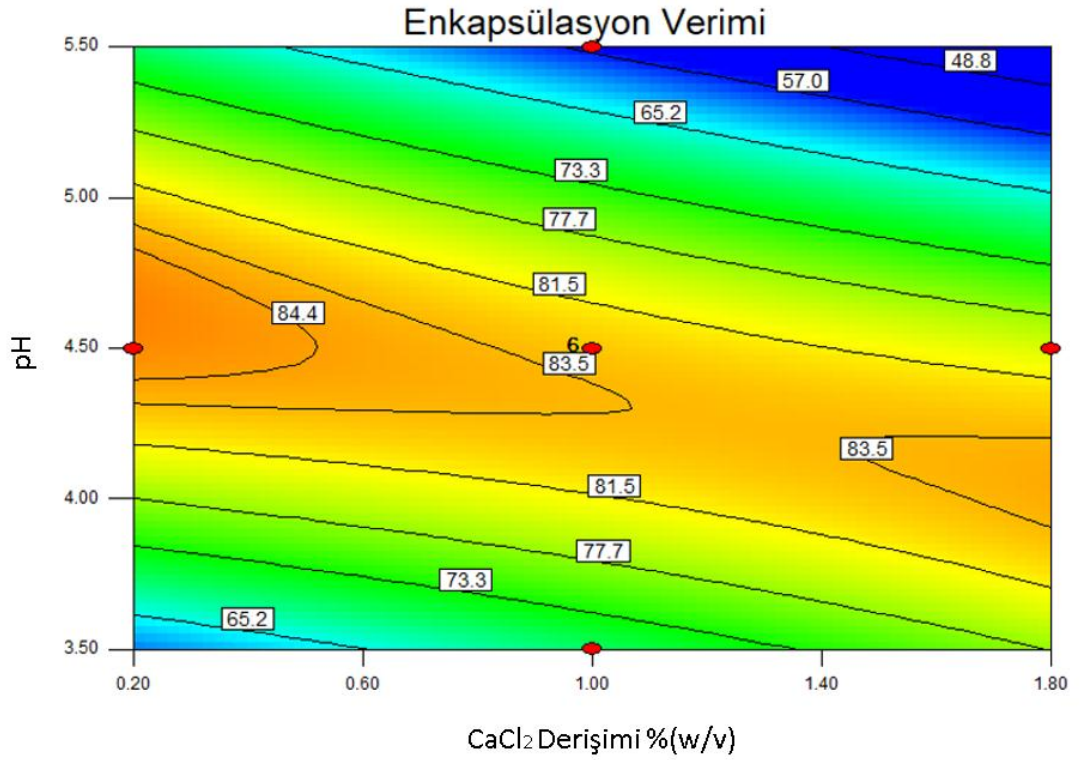
Şekil 4.28 B: Kitosan derişimi %(w/v) ile C: CaCl₂ derişiminin %(w/v) % enkapsülasyon verimine ikili etkisinin izohips eğrileri ile gösterimi (A: Aljinat %2,5 (w/v), D: pH 4,5)

Şekil 4.29'da kitosan derişimi ve jelasyon çözeltisinin pH değerlerinin ikili etkileşimlerinin enkapsülasyon verimi üzerine etkilerini gösteren izohips eğrileri yer almaktadır. İzohips eğrileri incelendiğinde pH değerinin 4,5 olduğu durumda, kitosan derişiminin artması ile enkapsülasyon veriminde artış gözlenmektedir. Kitosanın %0,70 (w/v) derişiminde pH değerinin 4,5 olduğu koşulda enkapsülasyon veriminin en yüksek değerine ulaşabileceği görülmektedir.



Şekil 4.29 B: Kitosan derişimi %(w/v) ile D: pH değerinin % enkapsülasyon verimine ikili etkisinin izohips eğrileri ile gösterimi (A: Aljinat %2,5 (w/v), C: CaCl₂ %1 (w/v))

Şekil 4.30'da CaCl₂ derişimi ve jelasyon çözeltisinin pH değerlerinin ikili etkileşimlerinin enkapsülasyon verimi üzerine etkilerini gösteren izohips eğrileri yer almaktadır. İzohips eğrileri incelendiğinde jelasyon çözeltisinin pH değerinin 4,5 olduğu durumda, CaCl₂ derişiminin azalması ile enkapsülasyon veriminin artacağı düşünülmektedir. Ancak CaCl₂ derişiminin % 0,2 (w/v) değerinin altında üç boyutlu hidrojel kalsiyum-aljinat taneciklerinin oluşmayacağı düşünülmektedir. Bu şekil üzerinde gözlenen eyer yüzeyi sebebiyle CaCl₂ derişimi ve jelasyon çözeltisinin pH'ı arasındaki ikili ilişkinin enkapsülasyon verimi üzerinde önemli bir etkiye sahip olmadığı düşünülmektedir (<https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/78297>, 2022).



Şekil 4.30 C: CaCl₂ derişimi %(w/v) ile D: pH değerinin % enkapsülasyon verimine ikili etkisinin izohips eğrileri ile gösterimi (A: Aljinat %2,5 (w/v), B: Kitosan %0,4 (w/v))

Enkapsülasyon verimi aljinat-kitosan biyopolimelerinin derişimlerinin artması ile artış göstermektedir. CaCl₂ derişiminin artması enkapsülasyon verimini azaltmaktadır. Bunun sebebi olarak Ca²⁺ iyonlarının aljinat zincirleri üzerinde PHCl ile aynı noktalara bağlanması ve ortamdaki Ca²⁺ iyonlarının fazla olması nedeniyle PHCl'nin aljinat üzerine tutunamaması gösterilebilir (lim ve Wan 1997). pH değerinin artması enkapsülasyon verimine azaltıcı yönde etkilemiştir. pH değerinin nötre yaklaşması sonucu kitosan içerisindeki aktif grupların çözünürlüğünün düşmesi ve polielektrolit kompleksin ilacı tutamadığı ve bu sebeple enkapsülasyon veriminin düştüğü düşünülmektedir.

4.4.2 Salım yüzdesinin optimizasyonu

Salım yüzdesi için elde edilen model aşağıdaki eşitlikte verilmiştir:

$$\text{Salım Yüzdesi} = +63.33-8.75A+4.66B+1.02C-7.94D-.09AB+1.0AC+11.32AD-0.98BC-2.57BD+0.78CD-7.56A^2-4.93B^2-1.62C^2-6.12D^2$$

Bu eşitlikte A,B,C ve D sırası ile %(w/v) aljinat derişimi, %(w/v) kitosan derişimi , %(w/v) CaCl₂ derişimi ve pH'tır. Salım yüzdesi için elde edilen modelin varyans analizi (ANOVA) sonuçları çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6 Cevap yüzey yöntemi ile salım yüzdesi için elde edilen modelin varyans analizi (ANOVA)

Değişim Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F Değeri	p-değeri	Yorum
Model	8936.89	14	638.35	5.64	0.0010	önemli
A-Aljinat Derişimi	1835.75	1	1835.75	16.22	0.0011	
B-Kitosan Derişimi	521.73	1	521.73	4.61	0.0485	
C-CaCl ₂ Derişimi	25.01	1	25.01	0.22	0.6450	
D-pH	1512.09	1	1512.09	13.36	0.0023	
AB		268.14	1	268.14	2.37	0.1446
AC		16.20	1	16.20	0.14	0.7105
AD		2049.83	1	2049.83	18.11	0.0007
BC		15.41	1	15.41	0.14	0.7173
BD		105.58	1	105.58	0.93	0.3494
CD		9.77	1	9.77	0.086	0.7730
A ²		1565.66	1	1565.66	13.83	0.0021
B ²		666.71	1	666.71	5.89	0.0283
C ²		71.78	1	71.78	0.63	0.4382
D ²		1026.55	1	1026.55	9.07	0.0088
Artık (Residual)	1697.53	15	113.17			
Uyum Eksikliği (Lack of Fit)	1532.27	10	153.23	4.64	0.0522	önemsiz
Hata (Pure Error)	165.25	5	33.05			

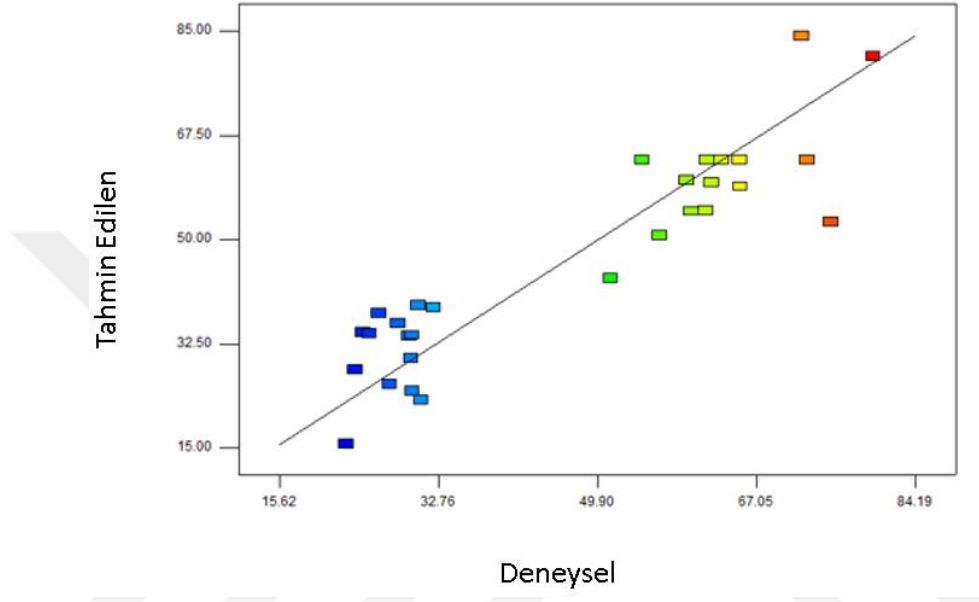
Çizelge 4.6’da verilen salım yüzdesi için ANOVA sonuçları incelendiğinde; Fisher varyans oranı olarak bilinen F değeri, bu model için 5.64 olarak bulunmuştur. Bu değer deneySEL gürültüden kaynaklanma olasılığı da % 0.01 olarak belirlenmiştir. Modelin p (olasılık) değerinin (<0.0001) 0.05’ten küçük olması modelin %95 güven seviyesinde, istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir. ANOVA sonuçlarına göre uyum eksikliğinin (lack of fit değeri) önemsiz çıkması da önemli bir parametre olup modelin deneySEL verilerine uygunluğunu göstermektedir.

R^2 değerinin 0.75’ten büyük olması modelin uygunluğunu gösterir. (Songür 2019). Modelin R^2 değerinin 0.8404 olduğu belirlenmiştir. Modelin, sinyal/gürültü oranını gösteren yeterli kesinlik değerini 9.115 olarak bulunmuştur. Yeterli kesinlik değerinin 4’ten büyük olması modelin verilere iyi uygunluğunu gösterir niteliktedir (Songür 2019). Varyasyon katsayısı modelin kesinliğini ve güvenilirliğini gösterir. Bu sebeple varyasyon katsayısının düşük olması beklenir. Çizelge 4.7 incelendiğinde varyasyon katsayısının (%CV=22.56) yüksek değerde olduğu görülmektedir. Ayrıca modelin uygunluğunun göstergesi olan tahmini R^2 değerinin (0.1477) düzeltilmiş R^2 değerine (0.6914) yakın olmadığı görülmektedir. Bunun sebebinin, iki yanıt değişkenine ait olarak yapılan optimizasyonda enkapsülasyon verimini etkileyen parametrelerin salım yüzdesi üzerinde daha farklı etkilere sahip olmasından kaynaklanabileceği olarak düşünülmektedir. Bu sorunun çözülebilmesi için dikkate alınması gereken çözüm yöntemleri; model azaltma, yanıt değiştirme, aykırı değerlerin çıkarılması gibi durumları içerebilir.

Çizelge 4.7 Yanıt Yüzey Yöntemi ile sonucunda salım yüzdesi için elde edilen standart sapma, R^2 ve yeterli kesinlik ve varyasyon katsayısı değerleri

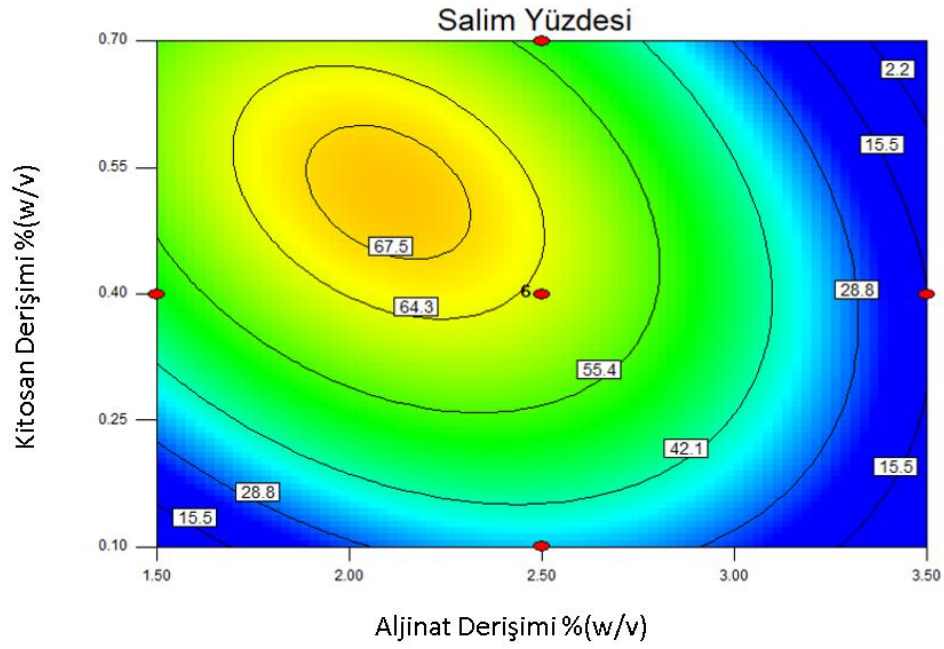
Özellik	Değer
Std. Dev.	10.64
R^2 Değeri	0.8404
Düzeltilmiş R^2 Değeri (Adjusted R^2)	0.6914
Tahmini R^2 (Predicted R^2)	0.1477
Yeterli kesinlik (Adequate precision)	9.115
Varyasyon katsayısı (%CV)	22.56

Deneysel veriler ile modelden tahmin edilen değerlerin ilişkisi şekil 4.31’de verilmiştir. Yeterli kesinlik değeri beklenen değeri olan 4 değerinden büyük olarak belirlenmiştir. Şekil 4.31 incelendiğinde tahmini değerler ile gerçek deneysel veriler arasında belirgin farkların olduğu görülmektedir. Bu farklar yeterli kesinlik değerinin yüksek olmasının sebebini doğrular niteliktedir.



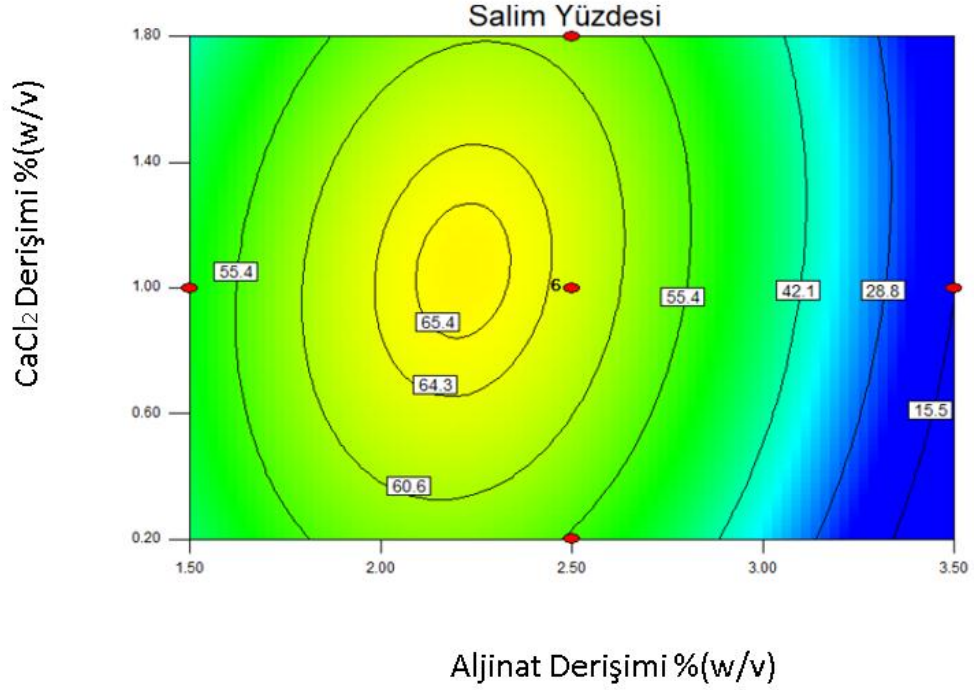
Şekil 4.31 Salım yüzdesi için elde edilen deneysel veriler ile modelden tahmin edilen değerlerin değişimi

Şekil 4.32’de verilen izohips eğrileri aljinat derişimi ile kitosan derişiminin salım yüzdesi üzerindeki ikili etkisini göstermektedir. İzohips eğrileri incelendiğinde; salım yüzdesinin kitosan derişiminin azalması ile azaldığı ve kitosan derişiminin % 0,55-0,60 % (w/v) derişim aralığında en yüksek değerine ulaşabileceği görülmektedir. %60 (w/v) kitosan derişiminden fazla derişimde çalışıldığı koşulda ise salım yüzdesinde azalma gözlenmiştir. Enkapsülasyon veriminin aksine aljinat ve kitosan derişimleri arttıkça salım yüzdesinin düşüş gösterdiği görülmektedir. Bunun sebebini düşük pH ortamında aljinatın gözeneklerinin küçülmesi ve aljinat miktarının çok fazla olması sebebiyle ilacın ortama difüze edilememesi olarak düşünülmektedir. Benzer şekilde kitosan derişiminin arttığı koşullar için aljinat ve kitosan arasında meydana gelen polielektrolit kompleksin iyonik kuvveti artacağından ilacın ortama salınmasının azalacağı düşünülmektedir.



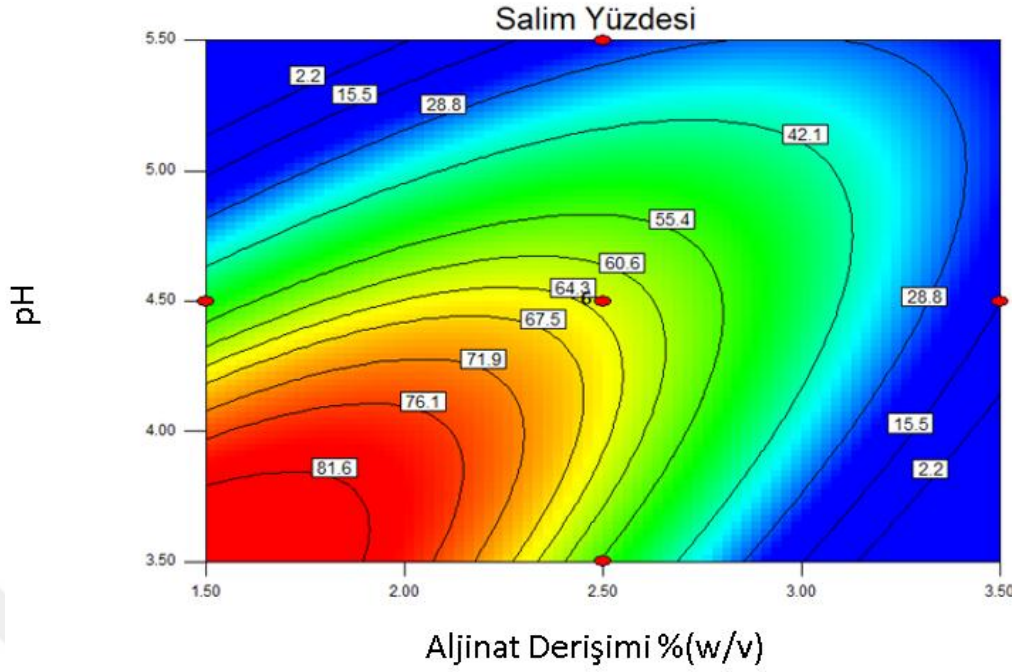
Şekil 4.32 A: Aljinat derişimi%(w/v) ile B: Kitosan derişiminin %(w/v) salım yüzdesi üzerine ikili etkisinin izohips eğrileri ile gösterimi (C: CaCl₂ %1 (w/v), D: pH 4,5)

Şekil 4.33'te verilen izohips eğrileri aljinat derişimi ile CaCl₂ derişiminin salım yüzdesi üzerindeki ikili etkisini göstermektedir. İzohips eğrileri incelendiğinde; salım yüzdesinin enkapsülasyon veriminin aksine CaCl₂ derişiminin % 0,6-1 (w/v) derişimleri arasındaki değerlerinde artış gösterdiği görülmektedir. Bunun sebebi olarak, ortamda derişimi artan Ca²⁺ iyonlarının aljinata olan ilgilerinin PHCl'den fazla olması sebebiyle ilacın polielektrolit komplekse Ca²⁺ iyonları kadar güçlü tutunamadığı, ilacın kompleks yüzeyi üzerinde kalması ve bu sebeple ilacın tanecik gözeneklerinden daha kolay şekilde ortama difüzlenebilir olmaları düşünülmektedir. Ancak CaCl₂ derişiminin % 1 (w/v) değeri ve aljinatın % 2,5 (w/v) değeri üzerine çıkıldığı koşulda salım yüzdesinde azalma gözlenmiştir.



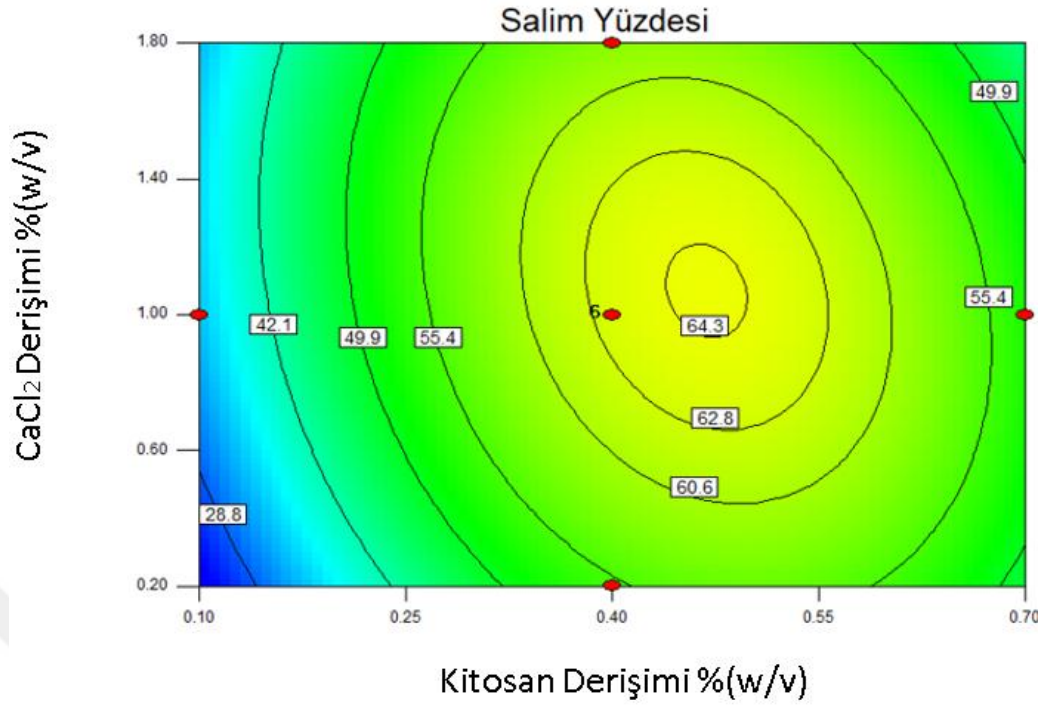
Şekil 4.33A: Aljinat derişimi%(w/v) ile C: CaCl₂ derişiminin %(w/v) salım yüzdesi üzerine ikili etkisinin izohips eğrileri ile gösterimi (B: Kitosan %0,4 (w/v), D: pH 4,5)

Şekil 4.34'te verilen izohips eğrileri aljinat derişimi ile jelasyon çözeltisinin pH değerinin salım yüzdesi üzerindeki ikili etkisini göstermektedir. İzohips eğrileri incelendiğinde; jelasyon çözeltisinin pH değeri ve aljinat derişiminin azalması ile salım yüzdesinin artış gösterdiği görülmektedir. Jelasyon çözeltisinin pH değerinin asidik ortama yakın değerleri ve aljinatın % 1,5 - 2 (w/v) derişim aralığındaki değerleri için salım yüzdesinin en yüksek değere ulaşacağı görülmektedir. Enkapsülasyon veriminin aksine jelasyon çözeltisinin pH değerinin asidik ortama yakın değerlerde olmasının salım yüzdesini artırma sebebi olarak, kitosanın çözünürlüğünü artırıcı yöndeki etkisiyle kitosanın düşük pH değerine sahip mide ortamında hızlı çözünerek polielektrolit yapıdan ilacın difüzlenmesine olanak sağlamış olabileceği düşünülmektedir.



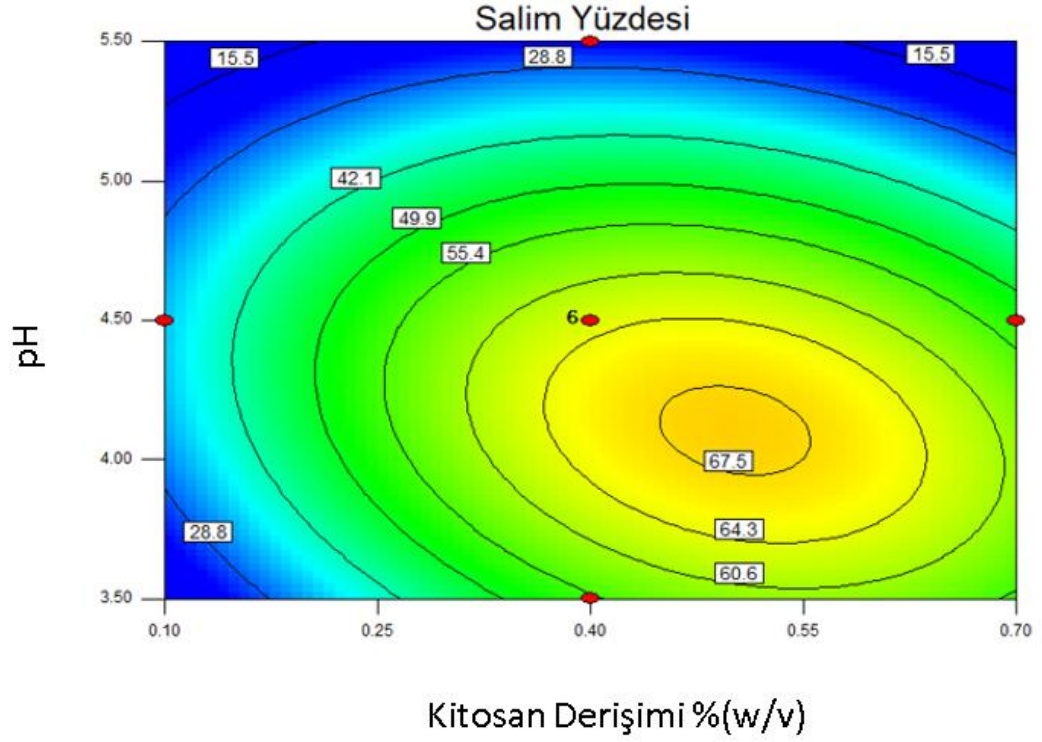
Şekil 4.34 A: Aljinat derişimi%(w/v) ile D: pH değerinin salım yüzdesi üzerine ikili etkisinin izohips eğrileri ile gösterimi (B: Kitosan %0,4 (w/v), C: CaCl₂ %1(w/v))

Şekil 4.35'te verilen izohips eğrileri kitosan ve CaCl₂ derişimlerinin salım yüzdesi üzerindeki ikili etkisini göstermektedir. İzohips eğrileri incelendiğinde; CaCl₂ ve kitosan derişimlerinin maksimum değerleri salım yüzdesini düşürmüş,benzer şekilde minimum değerleri de salım yüzdesi üzerinde azaltıcı etkiye neden olmuştur. Kitosanın % 0,4 (w/v) ve CaCl₂ % 1 (w/v) derişim değeri için ilaç salım yüzdesinin en yüksek değerine ulaşabileceği görülmektedir. Kitosan ve CaCl₂ derişimlerinin ikili etkileşimlerinin ilaç salım yüzdesi üzerinde belirgin etkisinin olmadığı düşünülmektedir.



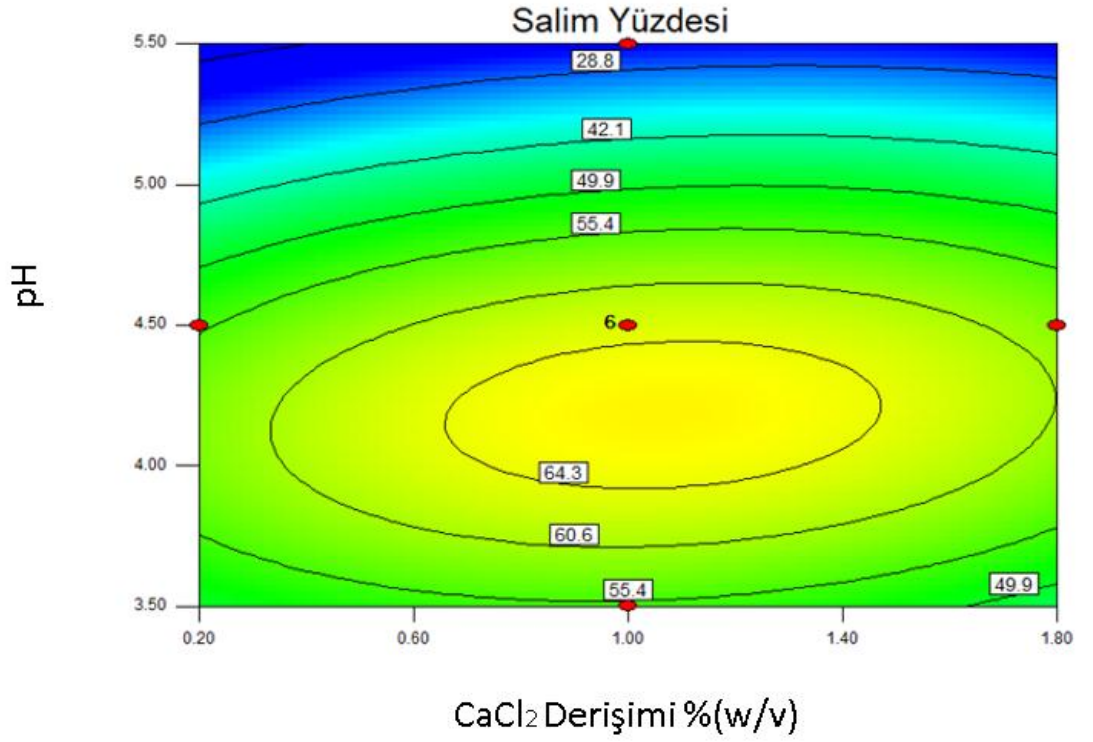
Şekil 4.35 B: Kitosan derişimi %(w/v) ile C: CaCl_2 derişiminin %(w/v) salım yüzdesi üzerine ikili etkisinin izohips eğrileri ile gösterimi (A: Aljinat %2,5 (w/v), D: pH 4,5)

Şekil 4.36'da verilen izohips eğrileri kitosan derişimi ve jelasyon çözeltisinin pH değerinin ikili etkileşimlerinin salım yüzdesi üzerindeki ikili etkisini göstermektedir. İzohips eğrileri incelendiğinde; kitosan derişimi ve jelasyon çözeltisinin pH'nın maksimum değerleri salım yüzdesini düşürmüş, benzer şekilde minimum değerleri de salım yüzdesi üzerinde azaltıcı etkiye neden olmuştur. Kitosanın % 0,4 (w/v) ve jelasyon çözeltisinin pH'nın 4,0-4,5 değer aralığı için ilaç salım yüzdesinin en yüksek değerine ulaşabileceği görülmektedir. Kitosanın derişimi ve jelasyon çözeltisinin pH değerlerinin ikili etkileşimlerinin ilaç salım yüzdesi üzerinde belirgin etkisinin olmadığı düşünülmektedir.



Şekil 4.36 B: Kitosan derişimi %(w/v) ile D: pH değerinin salım yüzdesi üzerine ikili etkisinin izohips eğrileri ile gösterimi (A: Aljinat %2,5 (w/v), C: CaCl₂ %1 (w/v))

Şekil 4.37’de verilen izohips eğrileri CaCl₂ derişimi ve jelasyon çözeltisinin pH değerinin salım yüzdesi üzerindeki ikili etkisini göstermektedir. İzohips eğrileri incelendiğinde; CaCl₂ derişimi ve jelasyon çözeltisinin pH’ının , maksimum değerleri salım yüzdesini düşürmüş,benzer şekilde minimum değerleri de salım yüzdesi üzerinde azaltıcı etkiye neden olmuştur. CaCl₂ % 1 (w/v) derişim değeri ve jelasyon çözeltisinin pH’ının 4 ve 4,5 değer aralığı için ilaç salım yüzdesinin en yüksek değerine ulaşabileceği görülmektedir. CaCl₂ derişimi ve jelasyon çözeltisinin pH değerinin ikili etkileşimlerinin ilaç salım yüzdesi üzerinde belirgin etkisinin olmadığı düşünülmektedir



Şekil 4.37 C: CaCl₂ derişimi %(w/v) ile D: pH değerinin salım yüzdesi üzerine ikili etkisinin izohips eğrileri ile gösterimi (A: Aljinat %2,5 (w/v), B: Kitosan %0,4 (w/v))

Cevap Yüzey Yöntemine göre enkapsülasyon verimi ve ilaç salım yüzdesi değerlerini maksimize eden parametre değerleri:

A (Aljinat Derişimi) : 1,75 % (w/v)

B (Kitosan Derişimi) : 0,68 % (w/v)

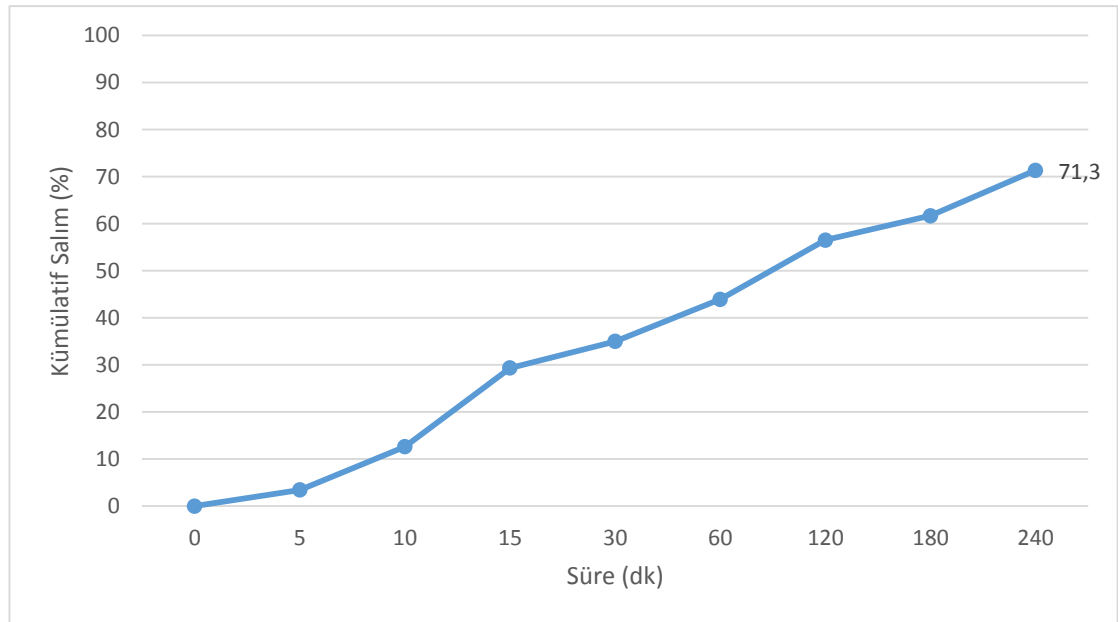
C (CaCl₂ Derişimi) : 1,77 % (w/v)

D(pH) : 3,79

olarak belirlenmiştir. Bu koşulda program tarafından öngörülen 1. Yanıt: Enkapsülasyon Verimi= % 84,1, 2. Yanıt: İlaç Salım Yüzdesi= % 79,6 olarak belirlenmiştir. Optimum tepkime parametrelerinin merkez noktalarından uzak olup aljinat ve jelasyon çözeltisinin pH değerleri için minimum değerlere yakın, kitosan ve CaCl₂ derişimi için maksimum değerlere yakın olduğu görülmektedir. Deney parametrelerinin merkeze uzak olmasının sebebi ise enkapsülasyon verimi ve ilaç salım yüzdesi deney parametrelerinden farklı şekilde etkilenmesidir.

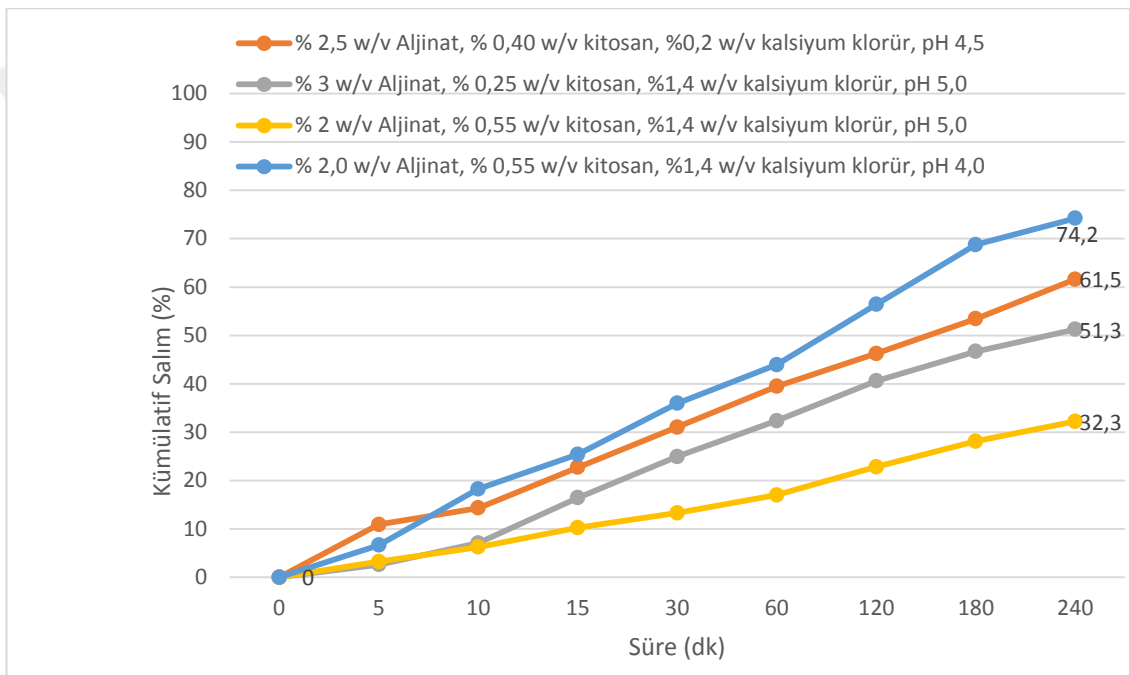
Aljinat derişiminin % 1,75 (w/v), kitosan derişiminin % 0,68 (w/v) ve CaCl₂ derişiminin % 1,77 (w/v) ve jelasyon çözeltilisinin pH'ının 3,79 olduğu optimum koşul için diğer parametreler sabit tutularak (0,1 M asetik asit, % 0,5 (w/v) dekstrin ve 1 saat jelleştirme süresi) aljinat-dekstrin-kitosan tanecikleri hazırlanmıştır. İki tekrarlı olarak gerçekleştirilen doğrulama deneyi sonucunda enkapsülasyon verimi % 84,1 olarak belirlenmiştir. Belirlenen bu değerın program tarafından öngörülen değere (%84,1) yakın olması enkapsülasyon verimi için sunulan modelin çalışır olduğunu göstermektedir. Optimum koşullar için gerçekleştirilen salım çalışmaları sonucunda ilaç salım yüzdesi %71,3 olarak belirlenmiştir(Şekil 4.38). Bu değerın program tarafından öngörülen değere (%79,6) yakın olduğu görülmektedir. Deneysel verilerin program tarafından tahmin edilen değerlere uygun olması, RSM sonucu elde edilen denklemin enkapsülasyon verimi ve ilaç salım yüzdesi için uygun olduğunu göstermektedir.

Deneyselerde, dekstrin derişimi %0,5 (w/v) değerinde sabit tutulmuş olup şekil 4.38 incelendiğinde dekstrinin ilaç patlamasının önüne geçildiği ve salım profilinin düzenli olarak artış gösterdiği görülmektedir.



Şekil 4.38 Optimum koşullar için ilaç salım profili (4 saat, pH 1,2) (%1,75 (w/v) aljinat, %0,68 (w/v) kitosan, % 1,77 (w/v) CaCl₂, pH 3,79, enkapsülasyon verimi=83,7)

RSM deneyleri arasından 11 numaralı (% 2,0 w/v aljinat, % 0,55 w/v kitosan, %1,4 w/v kalsiyum klorür, jelasyon çözeltisi pH'ı 4,0, enkapsülasyon verimi = %84,1); 20 numaralı (% 2,5 w/v aljinat, % 0,40 w/v kitosan, % 0,2 w/v kalsiyum klorür, jelasyon çözeltisi pH'ı 4,5, enkapsülasyon verimi= %85,0); 22 numaralı (% 3 w/v aljinat, % 0,25 w/v kitosan, %1,4 w/v kalsiyum klorür, jelasyon çözeltisi pH'ı 5,0, enkapsülasyon verimi= %72,2) ve 23 numaralı (% 2 w/v aljinat, % 0,55 w/v kitosan, %1,4 w/v kalsiyum klorür, jelasyon çözeltisi pH 5,0, enkapsülasyon verimi= %69,6) deneylerin salım profilleri şekil 4.39'da örnek olarak verilmiştir.



Şekil 4.39 RSM sonucu elde edilen örnek salım profilleri (4 saat, pH 1,2)

Şekil 4.39 incelendiğinde yapılan RSM deneylerinde ilacın ilk dakikalarda tamamına yakınının salındığı ilaç patlaması olarak da adlandırılan patlama salımın gözlenmediği görülebilir. Ayrıca % 2 w/v Aljinat, % 0,55 w/v kitosan, %1,4 w/v kalsiyum klorür, pH 5,0 koşulu için ilaç salım yüzdesinin %32,2 olduğu, aynı koşul için jelasyon çözeltisinin pH'ı 4,0 değerine düşürüldüğünde salım yüzdesinin arttığı görülmektedir. Optimum koşullara oldukça yakın olan bu formülasyon için jelasyon çözeltisinin pH değerinin azaltılmasının enkapsülasyon verimini ve ilaç salım yüzdesini arttıran önemli bir faktör olduğu bu değerlerden de yorumlanabilmektedir.

5. SONUÇ

Propranolol Hidroklorür (PHCl) beta adrenerjik, antihipertansif, antiaritmik ve antianginal bir beta bloker olup kardivasküler hastalıkların tedavisi, migren ağrılarının giderilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Düşük molekül ağırlığına sahip, kısa yarılanma ömrüne sahip ve zayıf bazik bir ilaç olan PHCl'nin, oral kullanım sonrası karaciğerde ilk etki metabolizmasına uğraması sebebiyle yalnızca %25'i sistemik dolaşıma katılabilmektedir(Majed vd. 2017). Asidik ortamda çözünebilmesi, bazik ortamda çözünürlüğünün düşmesi ve pH 8 olduğu durumda bozunmaya uğraması nedeniyle PHCl'nin pH hassasiyeti bulunmaktadır. PHCl'nin oral yoldan kullanımlarda biyoyararlanımı düşük olup sık uygulama gerektirmektedir.

Yapılan tez çalışmasında PHCl'nin bu özellikleri göz önüne alınarak, PHCl'nin pH duyarlılığı bulunan eşsiz fizikokimyasal özelliklere sahip aljinat-kitosan polielektrolit komplekslerine yüksek verimle yüklenerek gastrik bölgede uzun ve geciktirmeli salım profili göstermesi hedeflenmiştir.

PHCl'nin aljinat-kitosan taneciklerine yüklenmesinin göstergesi olan enkapsülasyon veriminin artırılması amacıyla biyopolimer derişimlerinin (aljinat-kitosan-dekstrin), jelleştirme ajanı (kalsiyum klorür), kitosanın çözünmesi için kullanılan asetik asit derişimleri jelasyon çözeltilisinin pH değeri değiştirilerek iyonotropik jelasyon yöntemi ile aljinat-kitosan ve aljinat-kitosan-dekstrin tanecikleri elde edilmiştir. Tanecikler jelasyon çözeltilisinden süzülerek alınmış, distile su ile yıkanmış ve etüvde 50°C'de sabit tartıma gelene kadar kurutulmuştur.

Yıkama suyu ve jelasyon çözeltilisinin UV bölgede 290 nm'de analiz edilmesi sonucu, çözeltilerde kalıp taneciklere yüklenemeyen toplam PHCl miktarı belirlenmiştir. Enkapsülasyon verimi; başlangıçta kullanılan PHCl miktarından taneciklere yüklenmeyen PHCl çıkarılıp, başlangıçta PHCl miktarına bölünmesi ile hesaplanmıştır.

Enkapsülasyon veriminin biyopolimer derişimlerinin artmasıyla artış gösterdiği, jelleştirici ajan olan CaCl₂ derişiminin artması ile azaldığı belirlenmiştir. En yüksek enkapsülasyon verimi, aljinat %2,0(w/v), CaCl₂ %0,5(w/v), kitosan %0,6(w/v) derişiminde ve ortam pH'sının 4,5 olduğu koşul için %89,8 olarak elde edilmiştir. Enkapsülasyon verimlerinin yüksek olduğu aljinat %2,0(w/v), CaCl₂ %0,5(w/v), kitosan %0,2-04-06(w/v) derişimlerinde koşul için salım çalışmaları gerçekleştirilmiş olup ilacın yaklaşık %40'ının ilk 5 dakika içerisinde taneciklerden bırakıldığı gözlenmiştir.

Aljinatın gözenek yapısını küçültmek ve patlama salımının önüne geçilmesi amacıyla Anal vd.'nin 2003 yaptıkları çalışma göz önüne alınarak tanecikler çok katmanlı hale getirilmiştir. En yüksek enkapsülasyon veriminin elde edildiği (% 2,0 (w/v) aljinat, %0,6 (w/v) kitosan, %0,5 (w/v) CaCl₂ ve pH 4,5 koşulu için (%89,8) koşul için tanecikler ıslak halde iken %0,08 kitosan, %2,0 glutaraldehit ve her ikisini de içeren kaplama çözeltilerine, %0,5-1,0-1,5 glutardialdehit (GDA) ve %0,5-1,0-1,5 dekstrin ile kaplanarak çok katmanlı hale getirilmiştir. Çok katmanlı taneciklerden %0,08 kitosan, %2,0 glutaraldehit ve her ikisi ile kaplanan taneciklerden 4 saatin sonunda ilaç salım yüzdeleri sırasıyla % 31,6, %27,0 ve %27,04 olarak belirlenmiştir. %0,5-1,0-1,5 glutardialdehit (GDA) ve %0,5-1,0-1,5 dekstrin ile kaplanan taneciklerden salınan ilaç yüzdesi 4 saat sonunda %10'un altında kalmıştır. Dekstrin ve glutardialdehit ile kaplanan taneciklerde salım geciktirilmiş ancak salım yüzdesi düşük kalmıştır.

PHCl'nin mide hedefli salımında salımın uzun ve geciktirmeli gerçekleşmesi amacıyla ilaç salım uygulamalarında yeni yeni kullanılmaya başlanan dekstrin polielektrolit kompleks yapısına eklenmiştir. İlaç çözeltilisine %0,3-0,5-1,0-1,5 (w/v) derişimlerinde eklenen dekstrinin enkapsülasyon verimi yüksek oranda değiştirmediği gözlenmiştir. Ancak %0,5 (w/v) derişimde dekstrin içeren polielektrolit kompleks yapının mide hedefli salımı kontrollü şekilde gerçekleşmiş olup 4 saat sonunda ilacın % 81,1'i salınmıştır.

Enkapsülasyon verimi aljinat-kitosan biyopolimelerinin derişimlerinin artması ile artış göstermektedir. CaCl₂ derişiminin artması enkapsülasyon verimini azaltmaktadır. Bunun sebebi olarak Ca²⁺iyonlarının aljinat zincirleri üzerinde PHCl ile aynı noktalara

bağlanması ve ortamdaki Ca^{2+} iyonlarının fazla olması nedeniyle PHCl'nin aljinat üzerine tutunamaması gösterilebilir. pH değerinin artması enkapsülasyon verimine azaltıcı yönde etkilemiştir. pH değerinin nötre yaklaşması sonucu kitosan içerisindeki aktif grupların çözünürlüğünün düşmesi ve polielektrolit kompleksin ilacı tutamadığı ve bu sebeple enkapsülasyon veriminin düştüğü düşünülmektedir.

Propranolol hidroklorürün aljinat-kitosan polielektrolit taneciklerine yüksek verimle yüklenmesi ve mide hedefli salımının kontrollü ve yüksek salım yüzdesi ile gerçekleşmesi amacıyla farklı tepkime parametre etkilerinin ayrı ayrı incelenmiştir. Bu parametreler arasından birkaçının enkapsülasyon verimi ve salım yüzdesi üzerindeki etkisinin eş anlı incelenmesi hedeflenmiş ve en yüksek değerleri sağlayabilecek optimum değerlerin elde edilebilmesi amacıyla yüzdesine aljinat, kitosan ve kalsiyum klorür derişimleri ve jelasyon çözeltisinin pH değerlerinin optimize edilmesine karar verilmiştir. Patlama salımının önüne geçmesi amacıyla kullanılan dekstrin derişimi deney tasarımında % 0,5 (w/v) değerinde sabit tutulmuştur

Cevap Yüzey Yöntemine göre enkapsülasyon verimi ve ilaç salım yüzdesi değerlerini maksimize eden parametre değerleri; A (Aljinat Derişimi)= 1,75 % (w/v), B (Kitosan Derişimi)= 0,68 % (w/v), C ($CaCl_2$ Derişimi)=1,77 % (w/v), D(pH)=3,79 olarak belirlenmiştir. Bu koşulda program tarafından öngörülen 1. Yanıt: Enkapsülasyon Verimi= % 84,1 ve 2. Yanıt: İlaç Salım Yüzdesi= % 79,6 olarak belirlenmiştir. Optimum koşullar için yapılan deney sonucunda enkapsülasyon verimi = %84,1; ilaç salım yüzdesi = % 73,1 olarak bulunmuştur. Enkapsülasyon verimi ve ilaç salım yüzdesinin, RSM deneyleri ile belirlenen denkleme uygun olduğu görülmektedir.

Enkapsülasyon verimi aljinat-kitosan biyopolimelerinin derişimlerinin artması ile artış göstermekte, salım yüzdesi ise azalmaktadır. $CaCl_2$ derişiminin artması enkapsülasyon verimini azaltırken salım yüzdesini arttırıcı etkiye sahiptir. $CaCl_2$ derişiminin artmasının enkapsülasyon verimini düşürme ve aynı zamanda salım yüzdesini arttırma sebebinin, Ca^{2+} iyonlarının aljinat zincirleri üzerinde PHCl ile aynı noktalara bağlanması ve ortamdaki Ca^{2+} iyonlarının fazla olması nedeniyle PHCl'nin aljinat üzerine

tutunamaması gösterilebilir. Bu sebeple aljinat-kitosan polielektrolit komplekslerinin yüzeyinde kalan PHCl'nin , tanecik içerisine hapsedilen miktarı az olsa bile salım yüzdesinin yüksek çıktığı düşünülmektedir. pH değerinin artması enkapsülasyon verimini azaltıcı yönde etkilemiştir. pH değerinin nötre yaklaşması sonucu kitosan içerisindeki aktif grupların çözünürlüğünün düşerek polielektrolit kompleksin ilacı tutamadığı ve bu sebeple enkapsülasyon veriminin düştüğü düşünülmektedir. Enkapsülasyon verimi üzerine olan etkisinin aksine pH değerinin düşük olmasının salım yüzdesini artırma sebebi olarak, kitosanın çözünürlüğünü arttırıcı yöndeki etkisiyle kitosanın düşük pH değerine sahip mide ortamında hızlı çözünerek polielektrolit yapıdan ilacın difüzyonuna olanak sağlamış olabileceği düşünülmektedir. Optimum tepkime parametrelerinin merkez noktalarından uzak olup aljinat ve pH değerleri için minimum değerlere yakın, kitosan ve CaCl₂ derişimi için maksimum değerlere yakın olduğu görülmektedir. Deney parametrelerinin merkeze uzak olmasının sebebi ise enkapsülasyon verimi ve ilaç salım yüzdesi deney parametrelerinden farklı şekilde etkilenmesidir. Ancak hem enkapsülasyon verimi hem de ilaç salım yüzdesini maksimize eden optimum koşullar yanıt yüzey yöntemine göre belirlenmiş olup, enkapsülasyon değerini maksimize eden değğer %84,1 olarak öngörölmüş ve optimum parametrelerle yapılan deneye sonucunda enkapsülasyon verimi öngörölen değerle birebir aynı olarak bulunmuştur. İlaç salım yüzdesini maksimize eden değğer ise %79,6 olarak öngörölmüş ve optimum parametre değerleri ile yapılan deney sonucunda ilaç salım yüzdesi %71,3 olarak bulunmuştur. RSM sonucu öngörölen değğerler ile deney verilerinin yakın bulunması denklemin uygun olduğunu göstermektedir.

Yapılan bu çalışmada, PHCl gibi pH'a duyarlı, biyoyararlanımı düşük olan bir beta blokerın, aljinat-kitosan polielektrolit komplekslerinin dekstrin ile çapraz bağlanması sonucu oluşturulan ilaç taşıyıcı sisteme yüksek verimle yüklenebildiği ve mide hedefli salımında uzun, kontrollü salım gerçekleştirdiği belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Anal, A. K., Bhopatkat, D., Tokura, S., Tamura, H. ve Stevens, W.F. 2003. Chitosan-alginate multilayer beads for gastric passage and controlled release of protein. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 29 (6), 713-724.
- Anal, A.K. ve Stevens W.F. 2005. Chitosan-alginate multilayer beads for controlled release of ampicillin. *International Journal of Pharmaceutics*. 290, 45-54.
- Arora, S., Gupta, S., Narang, R.K. ve Budhiraja R.D. 2011. Amoxicillin loaded chitosan alginate polyelectrolyte complex nanoparticles as mucopenetrating delivery system for h.pylori. *Scientia Pharmaceutica*, 79(3), 673-694.
- Azevedo, M.A., Bourbon, A.I., Vicente A.A. ve Cerqueira M.A. 2014. Alginate/chitosan nanoparticles for encapsulation and controlled release of vitamin B2. *International Journal of biological Macromolecules*, 71, 141-146.
- Bader, R. A. ve Putnam, D. A. 2014. *Engineering polymer systems for improved drug delivery*, John Wiley & Sons, Inc., 474, New York.
- Bezerra, M. A. Santelli, R. E. Oliveira, E. P. Villar, L. S and Escaleraa, L. A. 2008. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76(5); 965-977.
- Bhattacharyya, A., Mukherjee D., Mishra, R., ve Kundu, P.P. 2017. Preparation of polyurethane-alginate/chitosan core Shell nanoparticles for the purpose of oral insülin delivery. *European Polymer Journal*, 92, 294-313.
- Bulut, O.M. ve Elibüyük, U. 2017. Yengeç kitininden kitosan üretimi. *Journal of Science and Technology*, 10 (2), 213-219.
- Chak, V., Kumar, D. ve Visht, S. 2013. A review on collagen based drug delivery systems. *International Journal of Pharmacy Teaching & Practices*, 4, 811-820.
- Dubey, J., Verma, A. ve Verma, N. 2015. Evaluation of chitosan based polymeric matrices for sustained stomach specific delivery of propranolol hydrochloride. *Indian Journal of Material Science*, Volume 2015, 9 sayfa.
- Ekpenyong, M., Antai, S., Asitok, A. ve Ekpo, B. 2017. Response surface modeling and optimization of major medium variables for glycolipopeptide production. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 10, 113-121.
- Elzatahry, A.A., Mohy Eldin, M.S., Soliman, E.A. ve Hassan, E.A. 2009. Evaluation of alginate-chitosan adhesive beads as a drug delivery system for the controlled release of theophylline. *Journal of Applied Polymer Science*, 11, 2452-2459.
- George, M. ve Abraham T. E. 2006. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: alginate and chitosan – a review. *Journal of Controlled Release*, 114, 1-14.
- Ghaffari, S., varshosaz, J., Haririan, I., Khoshayand, M.R., Azarmi, S., Gazori, T., 2011. Ciprofloxacin loaded alginate/chitosan and solid lipid nanoparticles, preparation, and characterization. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 33 (5): 685-689.

- Gökbulut, İ. ve Öztürk, F.S. 2018. Gıda mikroenkapsülasyonunda aljinat kullanımı. Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi, 8, 16-28.
- Heckel, T., Konieczna, D.D., ve Willhelm, R. 2013. An ionic liquid solution of chitosan as organocatalyst, Catalyst, 3(4), 914-921.
- Kahraman, E. 2016. SBF ortamında üretilen hidroksiapatit-jelatin kompozit malzemelerin ilaç salım performansının incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, İstanbul.
- Keenan, T.,R. 2012. Gelatin. Polymer Science: A Comprehensive Reference, 10, 237-247.
- Khorram, M., Samimi, M., Samimi, A. Ve Moghadam, H. 2014. Electrospray preparation of propranolol-loaded alginate beads: effect of matrix reinforcement on loading and release. Journal of Applied Polymer Science, 132, 41334.
- Kışlal, Ö. Ve Çelebi, N. 1994. Propranolol. FABAD Farmasötik Bilimler Dergisi, 19, 129-137.
- Koç, B. ve Ertekin F. 2022. Web Sitesi: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/78297>, Erişim Tarihi: 25.2.2022.
- Krishnan, R. 2021. Study of the use of alginate hydrogel granules in the encapsulation of cardiac drugs. Medbiotech Journal, 5(1), 28-31.
- Kurtuluş, G. Ve Vardar, F. 2020. Kitosanın özellikleri, uygulama alanları, bitki sistemlerine etkileri. International Journal of Advances in Engineering and Pure Sciences, 32(3), 258-269.
- Li, X.,Kong, X., Shi, S., Zheng, X., Guo, G., Wei, Y., Qian, Z., 2008. Preparation of alginate coated chitosan microparticles for vaccine delivery. BMC Biotechnology, 8: 89.
- Lim, L.,Y. Ve Wan, L.,S.,C. 1997. Propranolol Hydrochloride binding in calcium alginate beads. Drug Development and Industrial Pharmacy, 23(10), 973-980.
- Liu, L., Fishman, M.L. ve Hicks, K.B. 2007. Pectin in controlled drug delivery- a review. Cellulose, 14, 15-24.
- Lundstedt, T., Seifert, E., Abramo, L., Thelin, B., Nyström, A., Pettersen, J. Ve Bergman, R. 1998. Experimental design and optimization. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 42, 3-40.
- Majed, A.,A.,A., Bakheit, A.,H.,H., Aziz, H.,A.,A., Alajmi, F.,M.,A. Ve AlRabiah, H. 2017. Profiles of Drug Substances, Excipients, and Related Methodology, 42, 287-338.
- Mennini, N., Furlanetto, S., Cirri, M., Mura, P., 2012. Quality by design approach for developing chitosan-Ca-alginate microspheres for colon delivery of celecoxibhydroxypropyl- β -cyclodextrin-PVP complex. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 80: 67-75.

- Önder, İ. 2020. Bir tekstil fabrikası gerçek atık suyunda boya gideriminde ozon içeren ileri oksidasyon yöntemlerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
- Park, K. 2014. Controlled drug delivery systems: past forward and future back. *Journal of Controlled Release*, 190, 3-8.
- Sağol, E. 2015. İstatistiksel deney tasarımının Çayırhan bölgesi linyitlerinin flotasyonunda uygulanması. Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Maden Mühendisliği Anabilim Dalı, Eskişehir.
- Santoro, M., Tataro, A.M. ve Mikos, A.G. 2014. Gelatin carriers for drug and cell delivery in tissue engineering. *Journal of Controlled Release*, 28, 210-218.
- Sarmiento, B., Ferreira, D.C., Jorgensen, L. ve Weert M. 2007. Probing insulin's secondary structure after entrapment into alginate/chitosan nanoparticles. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 65, 10-17.
- Selek, H., Çapan, Y. ve Kaş, H.S. 1999. Nişasta mikroküreleri: önemi- hazırlanılı- uygulamaları. *FABAD J. Pharm. Sci*, 24, 31-42.
- Simi, C.K. ve Abraham, E.T. 2007. Hydrophobic grafted and cross-linked starch nanoparticles for drug delivery. *Bioprocess Biosyst Eng.*, 30, 173-180.
- Srikanth, M.,V., Rao, N., S., Sunil, S., A., Ram, B., J. Ve Kolapalli, V.,R.,M. 2012. Statistical design and evaluation of o propranolol HCl gastric floating tablet. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2(1), 60-69.
- Sunna, Ç. 2012. Aljinat/kitosan nanopartiküllerin tamoksifen salımında kullanılmasının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Aydın.
- Songür, R. 2019. Biyokatalitik olarak enantiyomerik saflıkta β -bloker üretimi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
- Şahin, M. 2018. Kontrollü ilaç salım sistemlerinin modellenmesi ve tasarlanması. Yüksek Lisans Tezi, TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
- Tahtat, D., Mahlous, M., Benamer, S., Khodja, A.N., Ouhmehdi, H.O., ve Djebari, F.L. 2013. Oral delivery of insülin from alginate-chitosan crosslinked by glutaraldehyde. *International Journal of biological Macromolecules*, 58, 160-168.
- Takka, S. ve Acartürk, F. 1998. Aljinik asit ve tuzlarının eczacılıkta kullanımı. *FABAD J. Pharm. Sci*, 23, 17-27.
- Takka, S. ve Gürel, A. 2010. Evaluation of chitosan/alginate beads using experimental design: formulation and in vitro characterization. *AAPS PharmSciTech*, 11(1), 460-466.
- Tunçay, M. ve Çalış, S. 1999. İlaç taşıyıcı sistemlerde kullanılan biyoparçalanabilir sentetik ve doğal polimerler. *FABAD J. Pharm. Sci*, 24, 109-123.

- Unagolla, J.M. ve Jayasuriya, A.C. 2018. Drug transport mechanisms in vitro release kinetics of vancomycin encapsulated chitosan-alginate polyelectrolyte microparticles as a controlled drug delivery system. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 114, 199-209.
- Wang, Q.S., Wang, G.F., Zhou, J., Gao, L. ve Cui, Y. 2016. Colon targeted oral drug delivery system based on alginate-chitosan microspheres loaded with icariin in the treatment of ulcerative colitis. *International Journal of Pharmaceutics*, 515, 176-185.
- Wagermaier, W. Ve Fratzl, P. 2016. Collagen. *Polymer Science: A Comprehensive Reference*, 9, 35-55.
- Yıldırım, Z., Yıldırım, M. ve Öncül, N. 2015. Kitosan ve antimikrobiyal özellikleri. *Niğde Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 5 (1), 19-36.



EKLER

- EK 1 %0,1 (w/v) Kitosan Derişimindeki Jelasyon Çözeltilisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Kalibrasyon Grafiği**
- EK 2 %0,2 (w/v) Kitosan Derişimindeki Jelasyon Çözeltilisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Kalibrasyon Grafiği**
- EK 3 %0,3 (w/v) Kitosan Derişimindeki Jelasyon Çözeltilisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Kalibrasyon Grafiği**
- EK 4 %0,4 (w/v) Kitosan Derişimindeki Jelasyon Çözeltilisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Kalibrasyon Grafiği**
- EK 5 %0,5 (w/v) Kitosan Derişimindeki Jelasyon Çözeltilisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Kalibrasyon Grafiği**
- EK 6 %0,6 (w/v) Kitosan Derişimindeki Jelasyon Çözeltilisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Kalibrasyon Grafiği**
- EK 7 %0,7 (w/v) Kitosan Derişimindeki Jelasyon Çözeltilisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Kalibrasyon Grafiği**
- EK 8 %0,8 (w/v) Kitosan Derişimindeki Jelasyon Çözeltilisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Kalibrasyon Grafiği**
- EK 9 %0,2-0,5-1,5-2-3 (w/v) Derişimlerinde CaCl₂ ve %0,2 (w/v) Derişiminde Kitosan İçeren Jelasyon Çözeltilisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Hazırlanan Kalibrasyon Grafiği**
- EK 10 %0,2-0,5-1,5-2-3 (w/v) Derişimlerinde CaCl₂ ve %0,4 (w/v) Derişiminde Kitosan İçeren Jelasyon Çözeltilisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Hazırlanan Kalibrasyon Grafiği**
- EK 11 %0,2-0,5-1,5-2-3 (w/v) Derişimlerinde CaCl₂ ve %0,6 (w/v) Derişiminde Kitosan İçeren Jelasyon Çözeltilisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Hazırlanan Kalibrasyon Grafiği**
- EK 12 %0,25(w/v) Derişiminde Kitosan ve % 0,6 (w/v) Derişiminde CaCl₂ İçeren Jelasyon Çözeltilisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Hazırlanan Kalibrasyon Grafiği**
- EK 13 %0,25(w/v) Derişiminde Kitosan ve % 1,4 (w/v) Derişiminde CaCl₂ İçeren Jelasyon Çözeltilisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Hazırlanan Kalibrasyon Grafiği**
- EK 14 %0,55(w/v) Derişiminde Kitosan ve % 0,6 (w/v) Derişiminde CaCl₂ İçeren Jelasyon Çözeltilisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Hazırlanan Kalibrasyon Grafiği**
- EK 15 %0,55(w/v) Derişiminde Kitosan ve % 1,4 (w/v) Derişiminde CaCl₂ İçeren Jelasyon Çözeltilisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Hazırlanan Kalibrasyon Grafiği**

EK 16 %0,4(w/v) Derişiminde Kitosan ve % 1,8 (w/v) Derişiminde CaCl₂ İçeren Jelasyon özeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Hazırlanan Kalibrasyon Grafiği

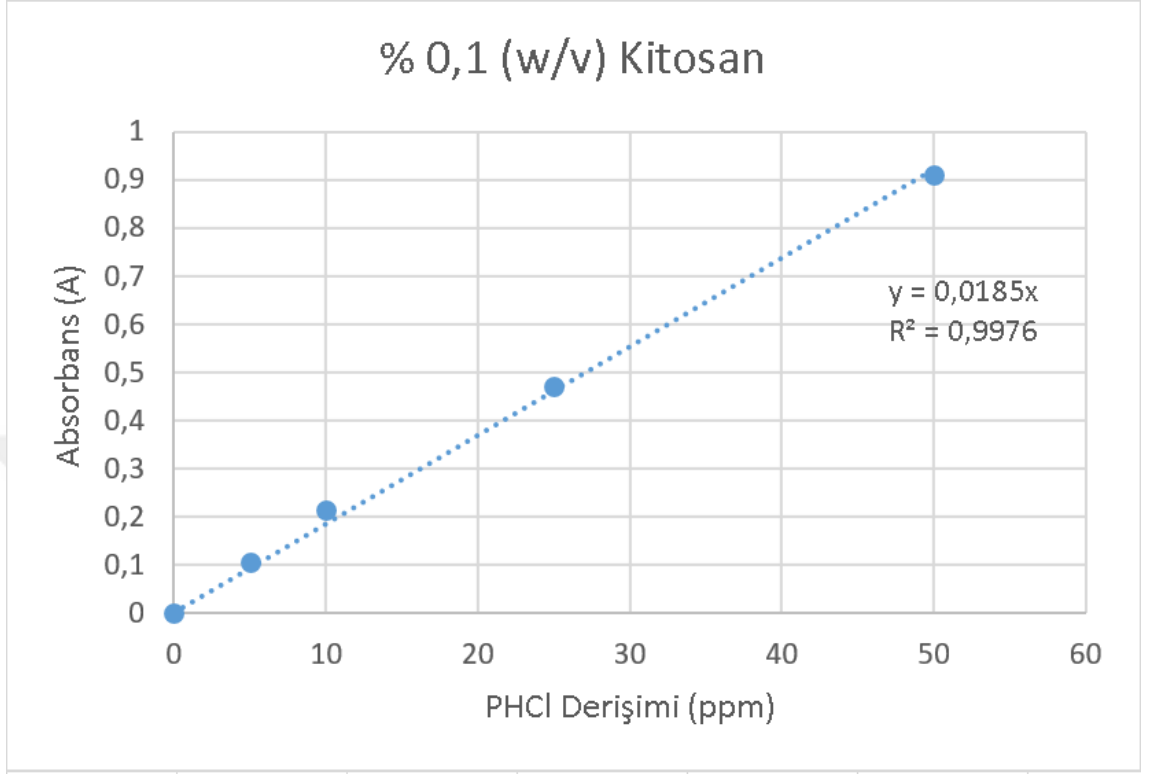
EK 17 Yıkama Suyunda Kalan PHCl Derişimine Göre Hazırlanan Kalibrasyon Grafiği

EK 18 Deneysel Tasarım Sonuçları

EK 19 Deneysel Tasarım İkinci Tekrar Sonuçları

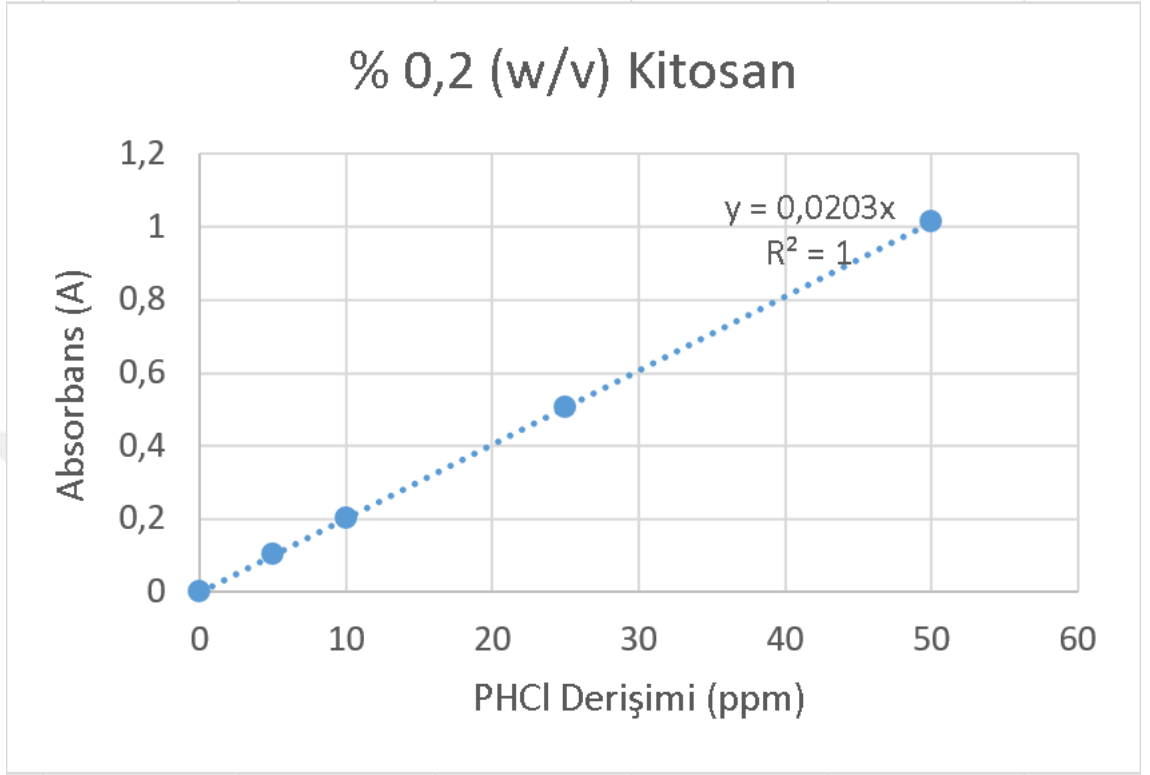


EK 1 %0,1 (w/v) Kitosan Derişimindeki Jelasyon Çözeltilisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Kalibrasyon Grafiği



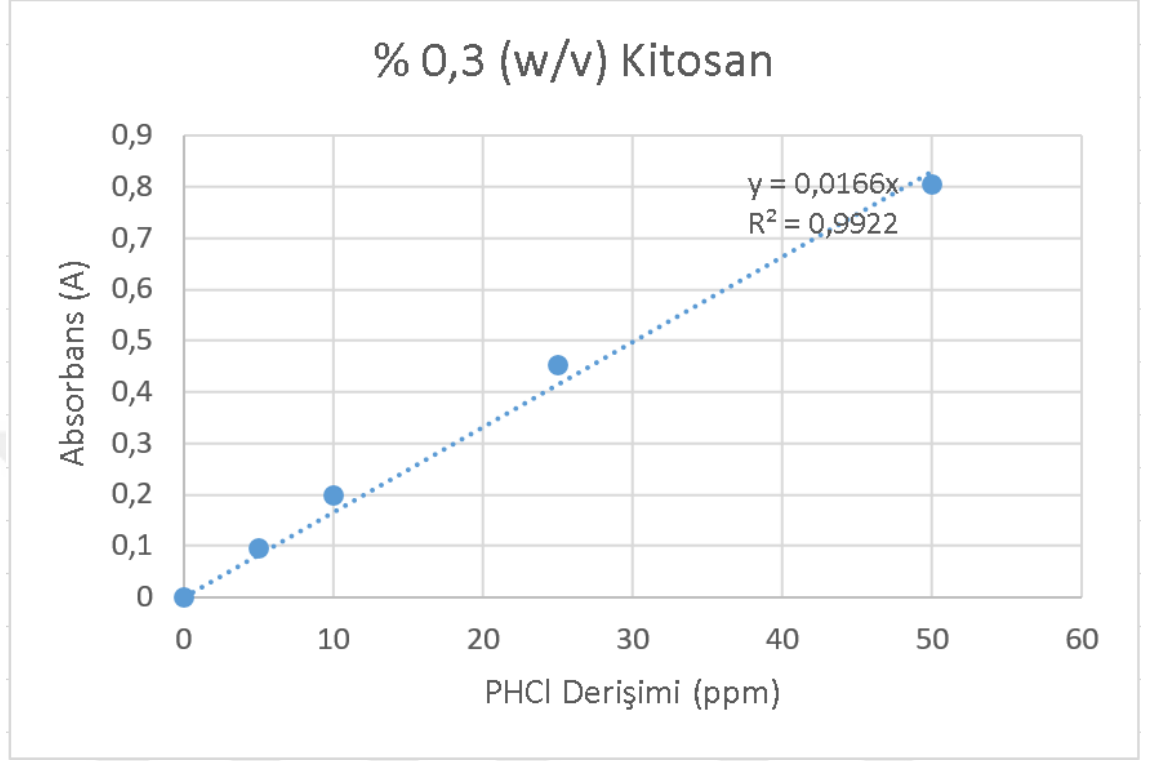
%1 (w/v) CaCl₂ derişiminin sabit olduğu koşulda % 0,1 (w/v) kitosan derişimindeki jelasyon çözeltisinde kalan PHCl derişimine göre kalibrasyon grafiği ($\lambda=290\text{nm}$)

EK 2 %0,2 (w/v) Kitosan Derişimindeki Jelasyon Çözeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Kalibrasyon Grafiği



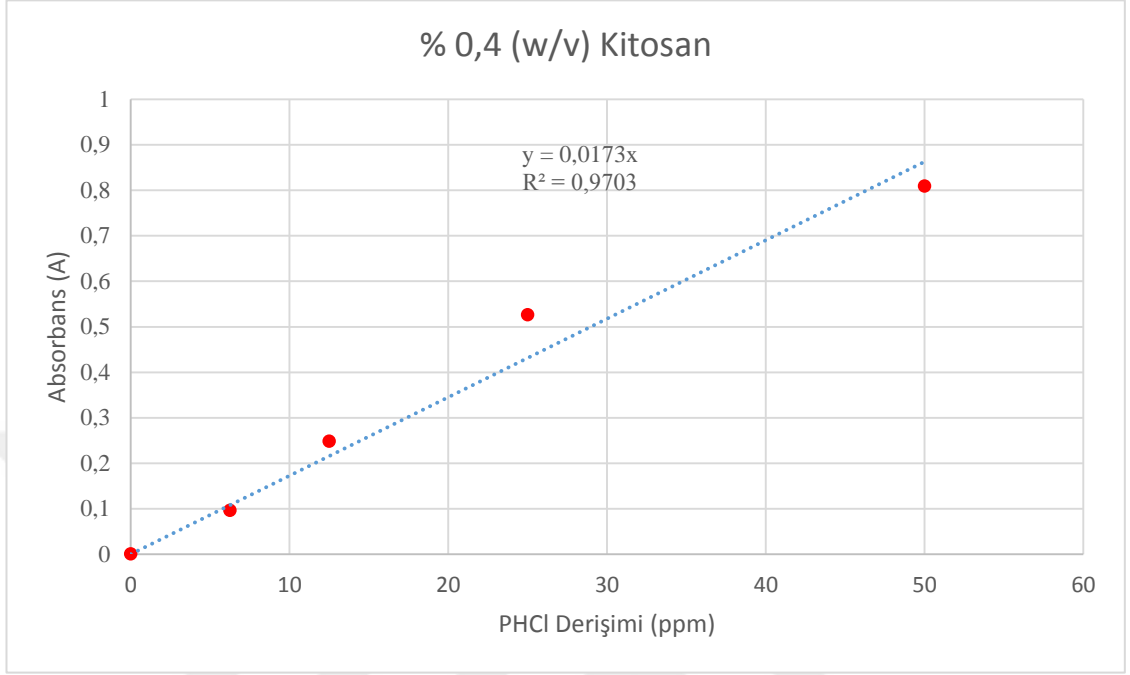
%1 (w/v) CaCl₂ derişiminin sabit olduğu koşulda % 0,2 (w/v) kitosan derişimindeki jelasyon çözeltisinde kalan PHCl derişimine göre kalibrasyon grafiği ($\lambda=290\text{nm}$)

EK 3 %0,3 (w/v) Kitosan Derişimindeki Jelasyon Çözeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Kalibrasyon Grafiği



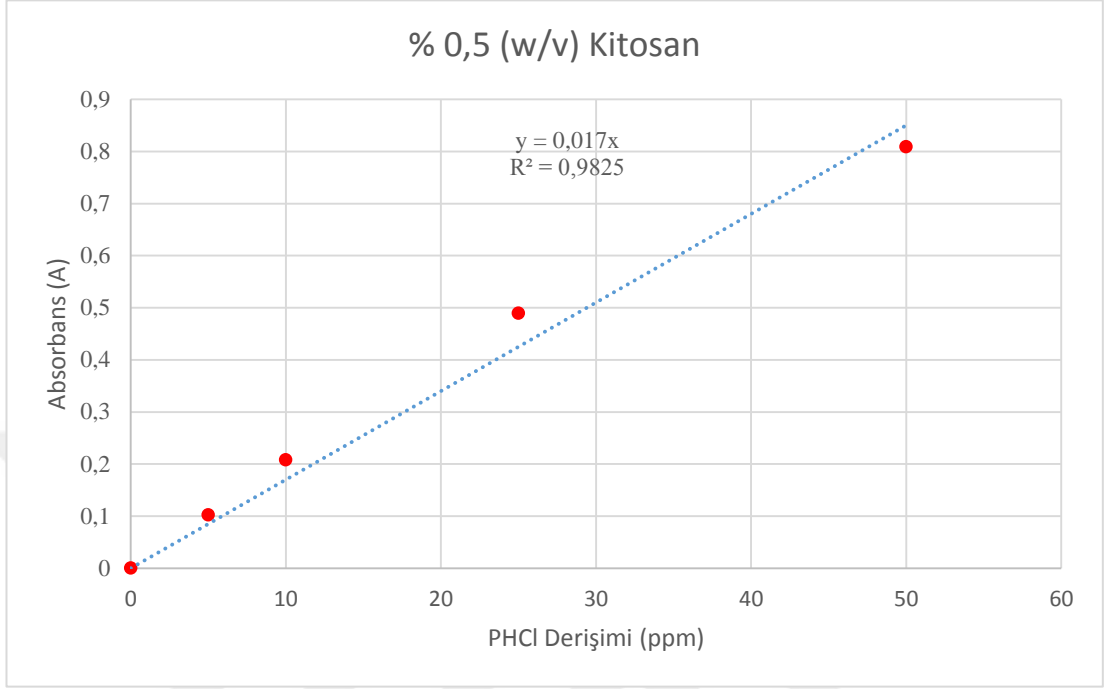
%1 (w/v) CaCl₂ derişiminin sabit olduğu koşulda % 0,3 (w/v) kitosan derişimindeki jelasyon çözeltisinde kalan PHCl derişimine göre kalibrasyon grafiği ($\lambda=290\text{nm}$)

EK 4 %0,4 (w/v) Kitosan Derişimindeki Jelasyon Çözeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Kalibrasyon Grafiği



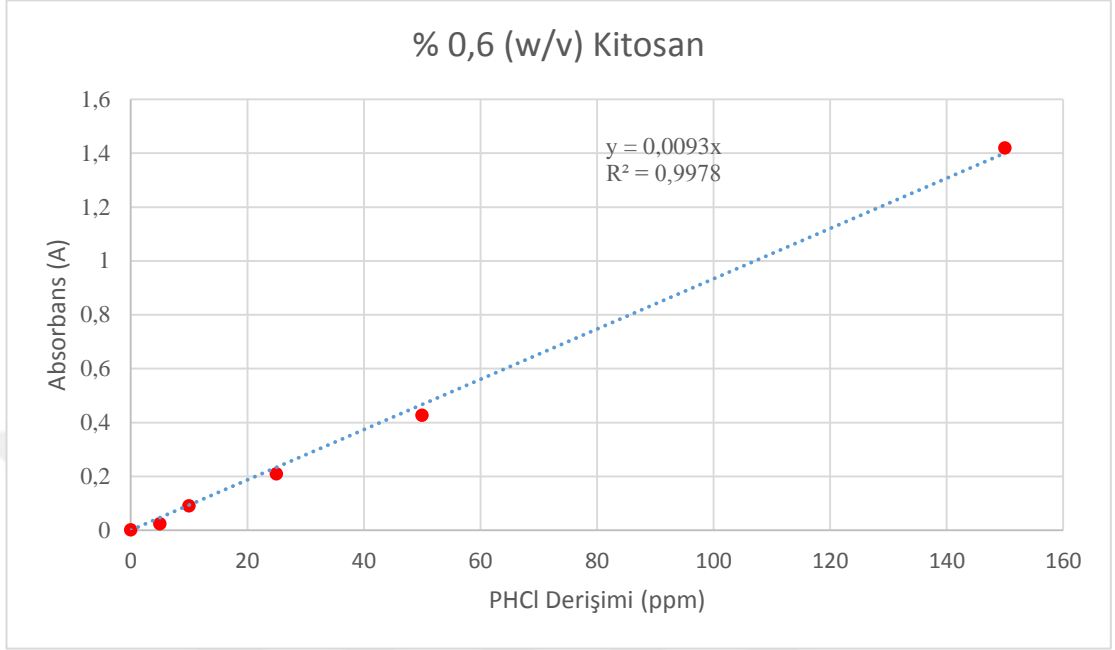
%1 (w/v) CaCl₂ derişiminin sabit olduğu koşulda % 0,4 (w/v) kitosan derişimindeki jelasyon çözeltisinde kalan PHCl derişimine göre kalibrasyon grafiği ($\lambda=290\text{nm}$)

EK 5 %0,5 (w/v) Kitosan Derişimindeki Jelasyon Çözeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Kalibrasyon Grafiği



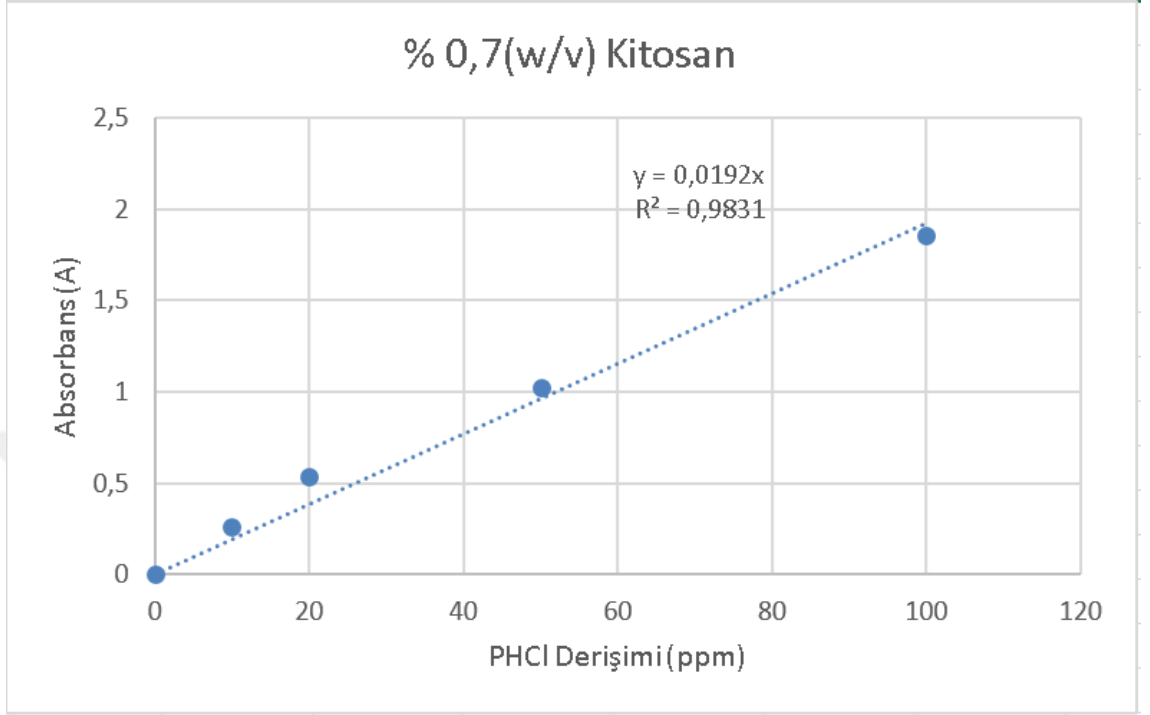
%1 (w/v) CaCl₂ derişiminin sabit olduğu koşulda % 0,5 (w/v) kitosan derişimindeki jelasyon çözeltisinde kalan PHCl derişimine göre kalibrasyon grafiği ($\lambda=290\text{nm}$)

EK 6 %0,6 (w/v) Kitosan Derişimindeki Jelasyon Çözeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Kalibrasyon Grafiği



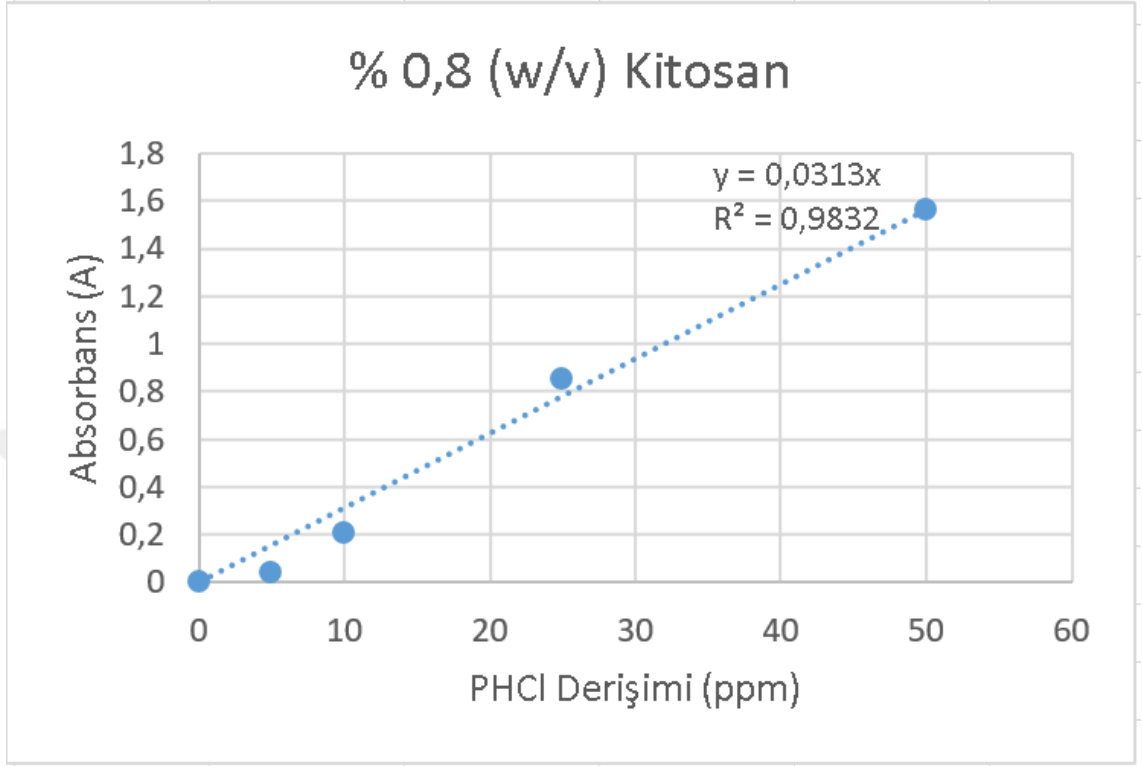
%1 (w/v) CaCl₂ derişiminin sabit olduğu koşulda % 0,6(w/v) kitosan derişimindeki jelasyon çözeltisinde kalan PHCl derişimine göre kalibrasyon grafiği ($\lambda=290\text{nm}$)

EK 7 %0,7 (w/v) Kitosan Derişimindeki Jelasyon Çözeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Kalibrasyon Grafiği



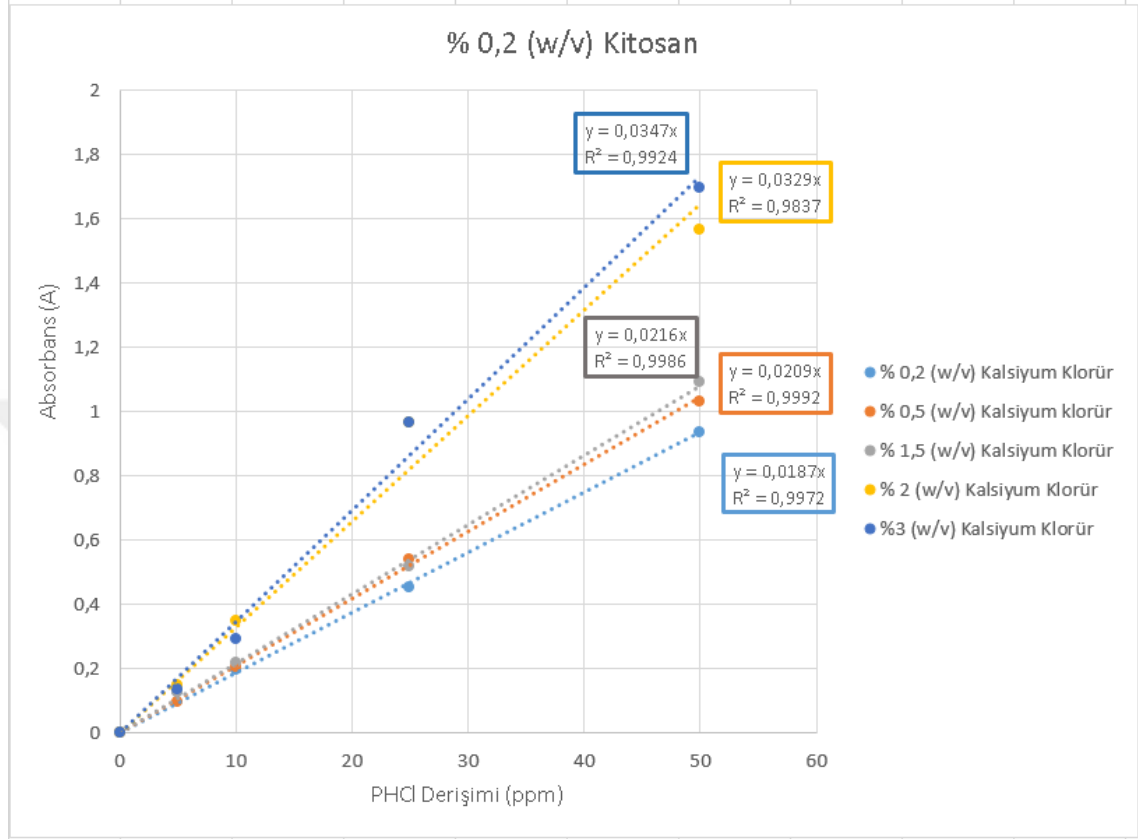
%1 (w/v) CaCl₂ derişiminin sabit olduğu koşulda % 0,7 (w/v) kitosan derişimindeki jelasyon çözeltisinde kalan PHCl derişimine göre kalibrasyon grafiği ($\lambda=290\text{nm}$)

EK 8 %0,8 (w/v) Kitosan Derişimindeki Jelasyon Çözeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Kalibrasyon Grafiği



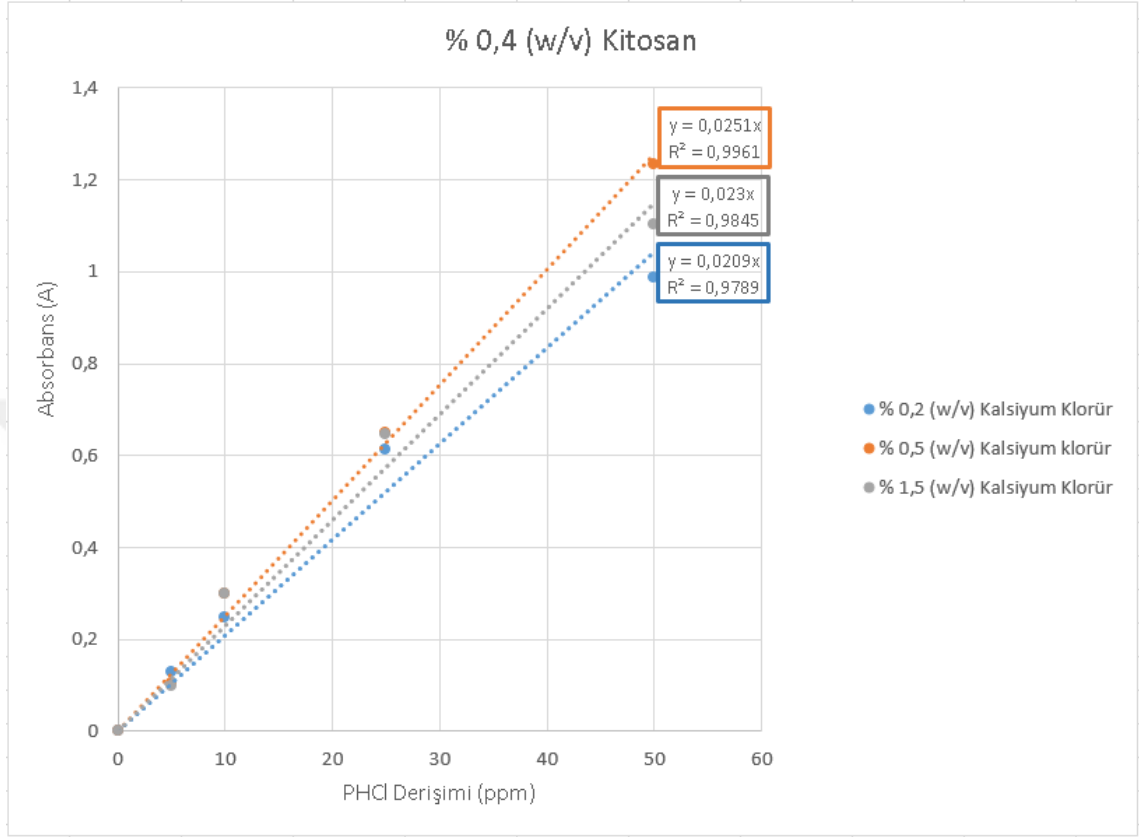
%1 (w/v) CaCl₂ derişiminin sabit olduğu koşulda % 0,8 (w/v) kitosan derişimindeki jelasyon çözeltisinde kalan PHCl derişimine göre kalibrasyon grafiği ($\lambda=290\text{nm}$)

EK 9 %0,2-0,5-1,5-2-3 (w/v) Derişimlerinde CaCl₂ ve %0,2 (w/v) Derişiminde Kitosan İçeren Jelasyon özeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Hazırlanan Kalibrasyon Grafiği



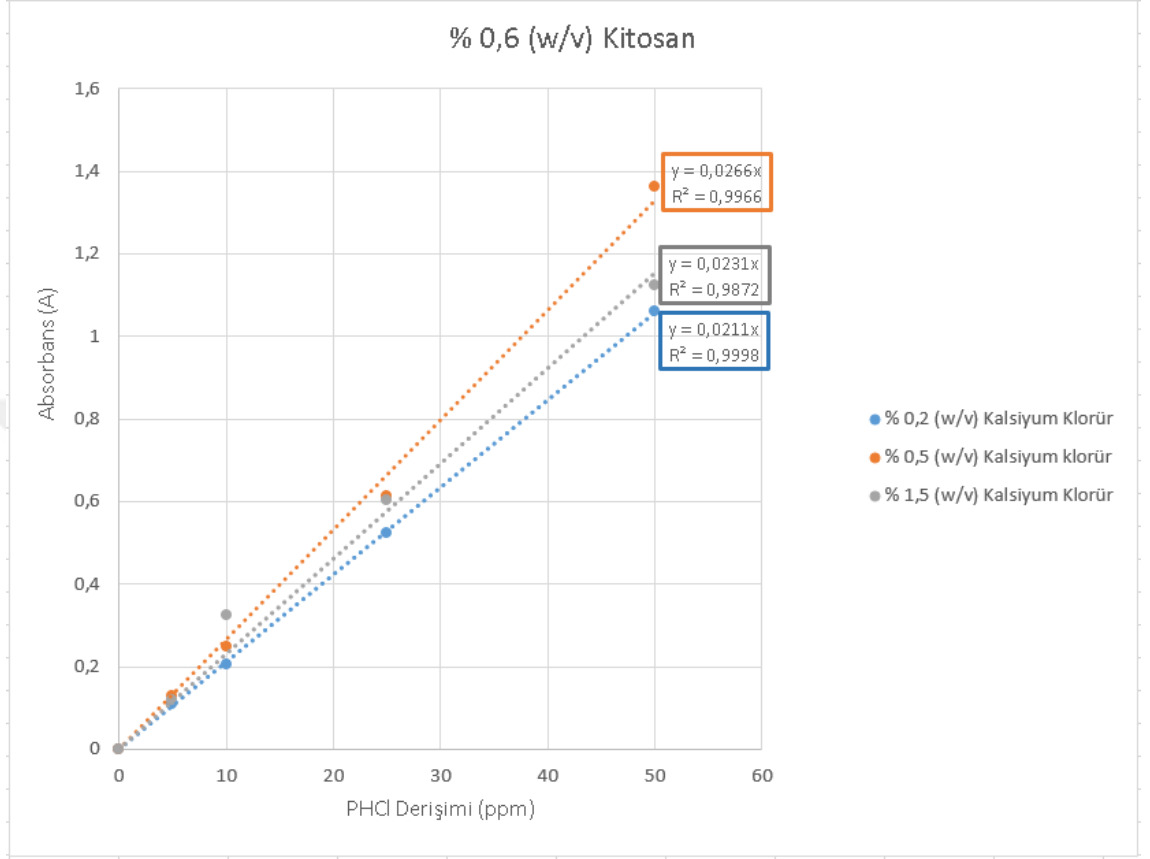
%0,2 (w/v) kitosan derişiminin sabit olduğu koşulda % 0,2-0,5-1,5-2-3 (w/v) CaCl₂ derişimindeki jelasyon çözeltisinde kalan PHCl derişimine göre kalibrasyon grafiği ($\lambda=290\text{nm}$)

EK 10 %0,2-0,5-1,5 (w/v) Derişimlerinde CaCl₂ ve %0,4 (w/v) Derişiminde Kitosan İçeren Jelasyon özeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Hazırlanan Kalibrasyon Grafiği



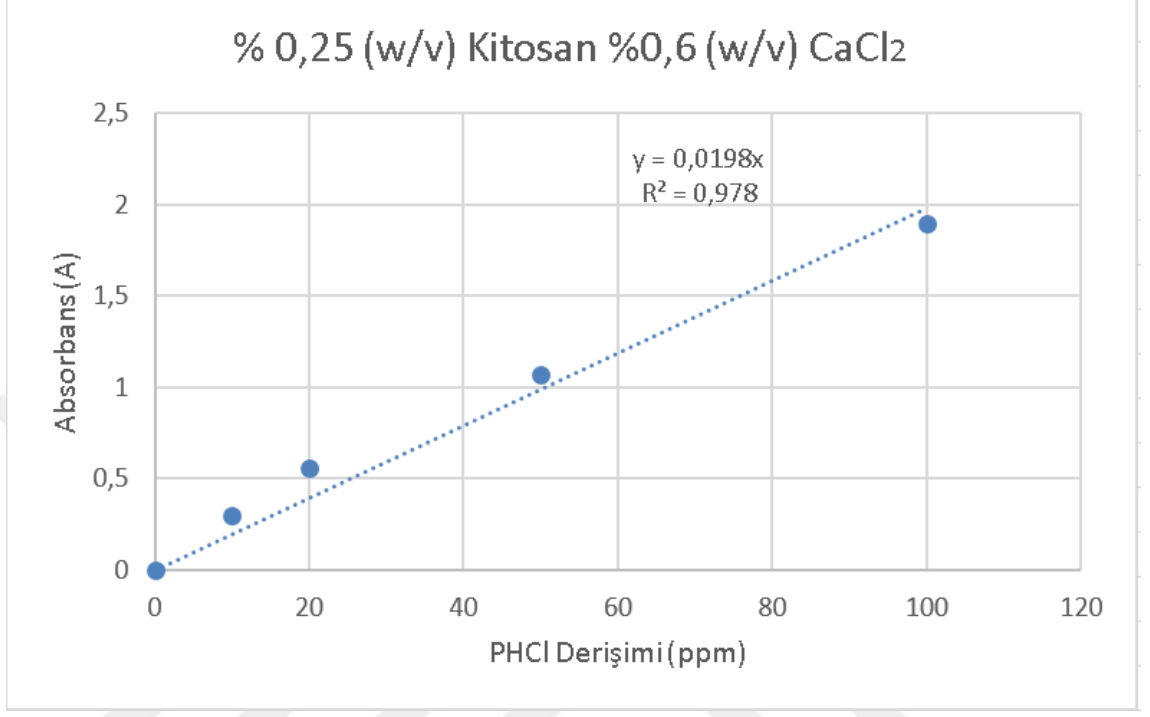
%0,4 (w/v) kitosan derişiminin sabit olduğu koşulda % 0,2-0,5-1,5 (w/v) CaCl₂ derişimindeki jelasyon çözeltisinde kalan PHCl derişimine göre kalibrasyon grafiği ($\lambda=290\text{nm}$)

EK 11 %0,2-0,5-1,5 (w/v) Derişimlerinde CaCl₂ ve %0,6 (w/v) Derişiminde Kitosan İçeren Jelasyon özeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Hazırlanan Kalibrasyon Grafiği



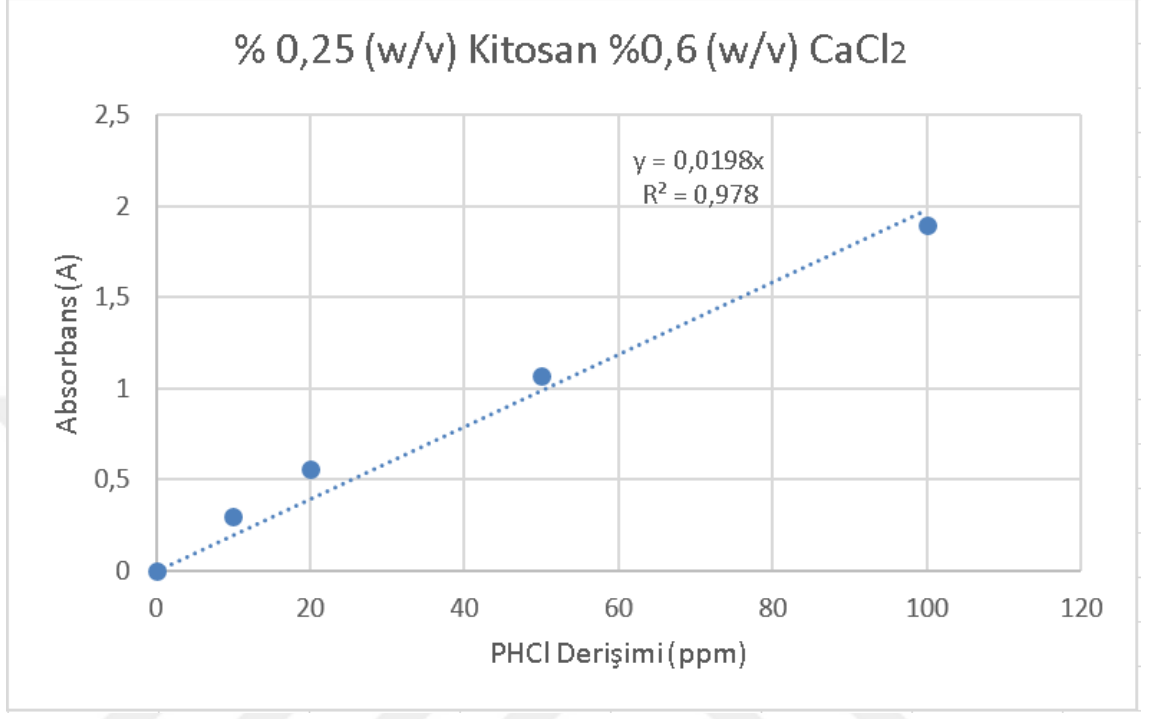
%0,6 (w/v) kitosan derişiminin sabit olduğu koşulda % 0,2-0,5-1,5 (w/v) CaCl₂ derişimindeki jelasyon çözeltisinde kalan PHCl derişimine göre kalibrasyon grafiği ($\lambda=290\text{nm}$)

EK 12 %0,25(w/v) Derişiminde Kitosan ve % 0,6 (w/v) Derişiminde CaCl₂ İçeren Jelasyon özeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Hazırlanan Kalibrasyon Grafiği



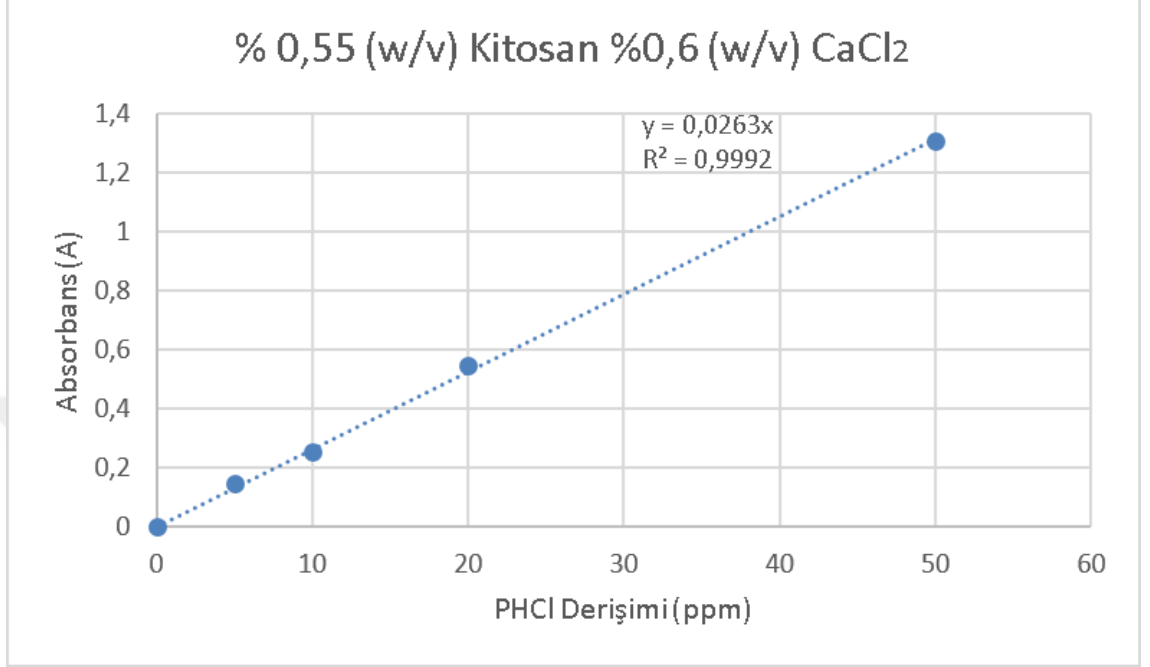
%0,25 (w/v) kitosan ve % 0,6 (w/v) CaCl₂ derişimindeki jelasyon çözeltisinde kalan PHCl derişimine göre kalibrasyon grafiği ($\lambda=290\text{nm}$)

EK 13 %0,25(w/v) Derişiminde Kitosan ve % 1,4 (w/v) Derişiminde CaCl₂ İçeren Jelasyon özeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Hazırlanan Kalibrasyon Grafiği



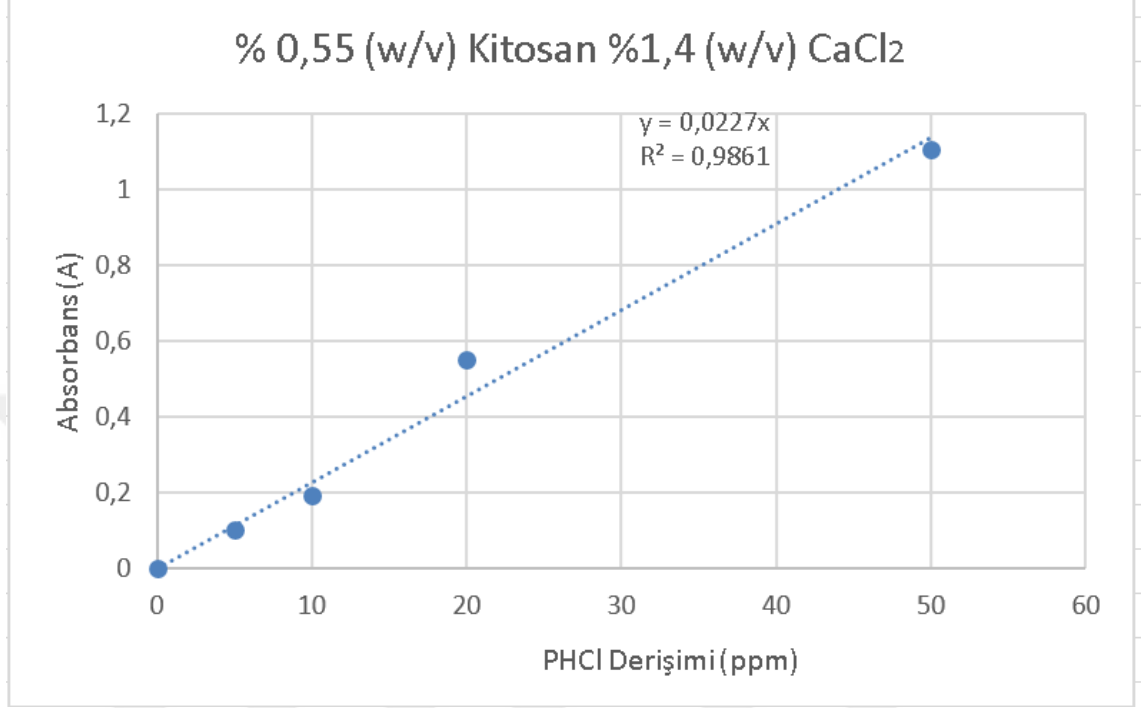
%0,25 (w/v) kitosan ve % 1,4 (w/v) CaCl₂ derişimindeki jelasyon çözeltisinde kalan PHCl derişimine göre kalibrasyon grafiği ($\lambda=290\text{nm}$)

EK 14 %0,55(w/v) Derişiminde Kitosan ve % 0,6 (w/v) Derişiminde CaCl₂ İeren Jelasyon Çözeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Hazırlanan Kalibrasyon Grafiği



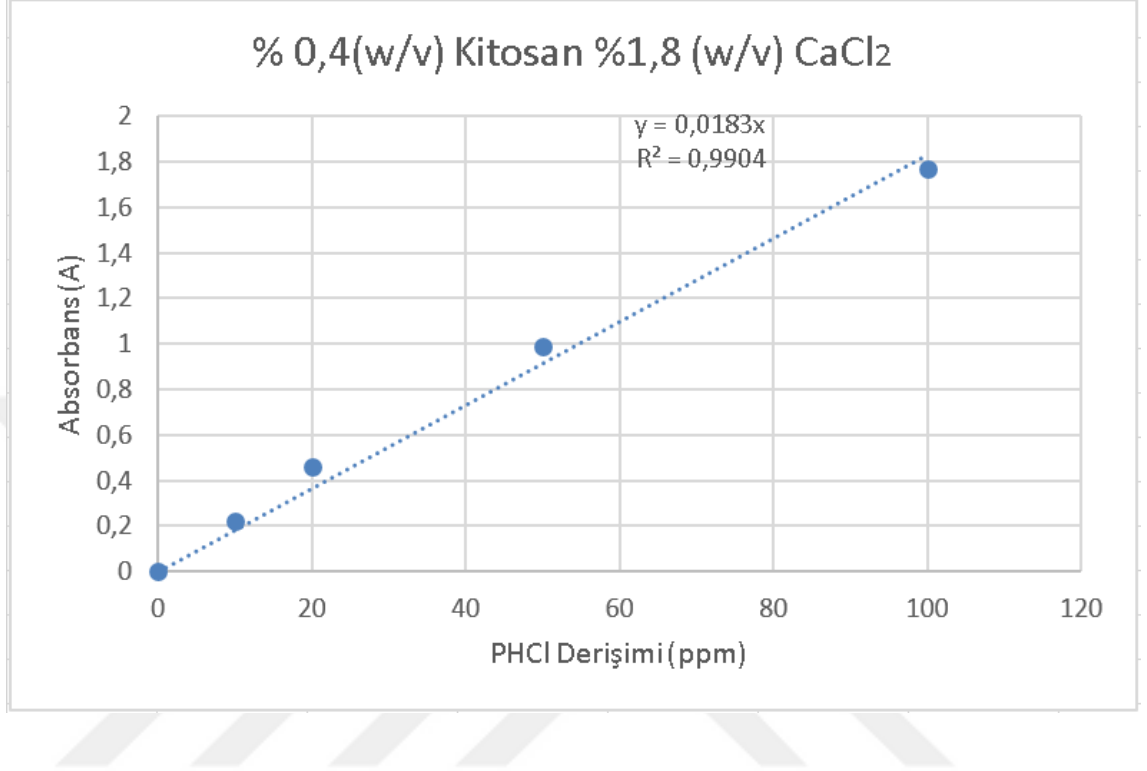
%0,55 (w/v) kitosan ve % 0,6 (w/v) CaCl₂ derişimindeki jelasyon çözeltisinde kalan PHCl derişimine göre kalibrasyon grafiği ($\lambda=290\text{nm}$)

EK 15 %0,55(w/v) Derişiminde Kitosan ve % 1,4 (w/v) Derişiminde CaCl₂ İçeren Jelasyon özeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Hazırlanan Kalibrasyon Grafiği



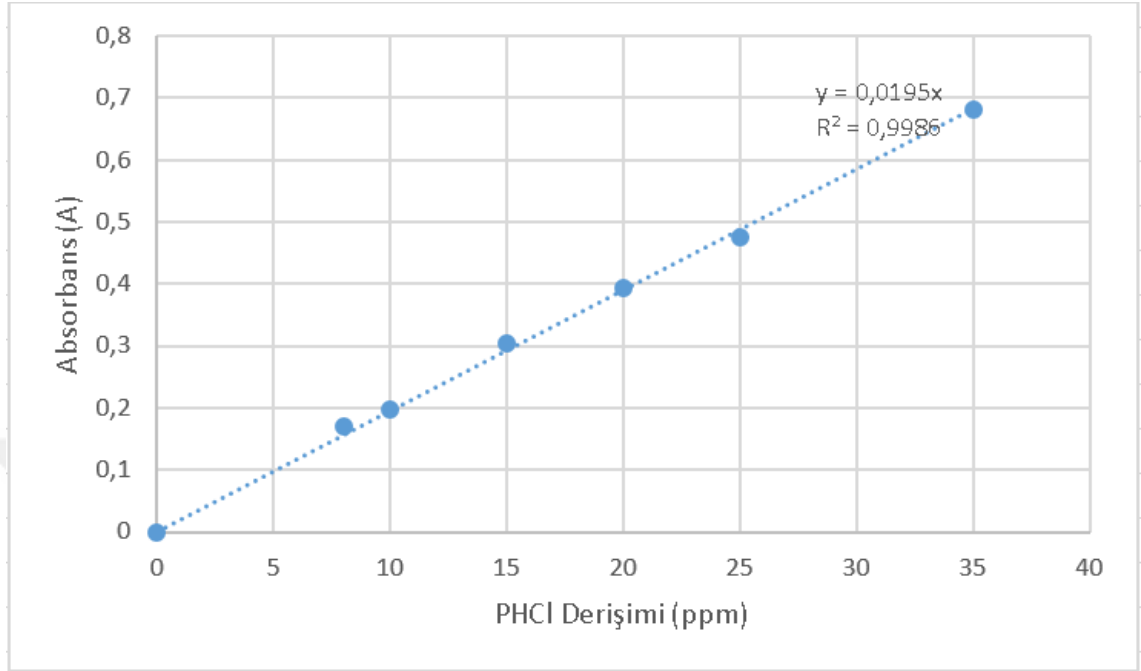
%0,55 (w/v) kitosan ve % 1,4 (w/v) CaCl₂ derişimindeki jelasyon çözeltisinde kalan PHCl derişimine göre kalibrasyon grafiği ($\lambda=290\text{nm}$)

EK 16 %0,4(w/v) Derişiminde Kitosan ve % 1,8 (w/v) Derişiminde CaCl₂ İçeren Jelasyon özeltisinde Kalan PHCl Derişimine Göre Hazırlanan Kalibrasyon Grafiği



%0,4 (w/v) kitosan ve % 1,8 (w/v) CaCl₂ derişimindeki jelasyon çözeltisinde kalan PHCl derişimine göre kalibrasyon grafiği ($\lambda=290\text{nm}$)

EK 17 Yıkama Suyunda Kalan PHCl Derişimine Göre Hazırlanan Kalibrasyon Grafiği



Yıkama suyunda kalan PHCl derişimine göre hazırlanan PHCl-saf su kalibrasyon grafiği (λ=290nm)

EK 18 Deneysel Tasarım Sonuçları

Deneysel Tasarım 1. Tekrar Deneysel No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
A:Aljinat Derişimi (% w/v)	2,5	2,5	2,0	2,0	2,5	3,0	2,5	3,0	2,0	2,0	2,0	1,5	3,5	3,0	2,5	
B:Kitosan Derişimi (% w/v)	0,10	0,40	0,25	0,25	0,40	0,55	0,40	0,55	0,25	0,55	0,55	0,40	0,40	0,25	0,40	
C:CaCl ₂ Derişimi (% w/v)	1,0	1,0	1,4	1,4	1,0	0,6	1,0	1,4	0,6	0,6	1,4	1,0	1,0	0,6	1,0	
D:pH	4,5	4,5	4,0	5,0	4,5	4,0	4,5	4,0	5,0	5,0	4,0	4,5	4,5	4,0	5,5	
Enkapsülasyon Verimi (%)	71,0	83,3	79,2	58,1	83,2	86,7	83,3	86,2	71,8	74,0	84,3	64,9	90,7	84,1	55,8	
	Kümülatif Salm (%)															
Salm Süresi (Dk)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	5	6,5	6,1	4,1	5,7	5,8	2,8	5,0	0,7	2,8	3,9	6,7	3,9	2,5	1,8	2,7
	10	8,8	10,8	6,4	7,2	15,6	11,8	14,1	2,2	5,5	9,3	18,4	8,4	5,3	4,2	6,7
	15	11,3	16,6	15,1	9,6	24,3	14,4	23,7	5,8	11,2	12,2	22,8	15,0	10,3	5,5	12,4
	30	19,0	29,2	34,6	11,6	41,5	17,3	38,6	10,5	16,5	16,1	35,4	20,4	15,1	8,3	19,9
	60	25,4	38,4	45,5	16,1	52,5	21,0	50,4	16,2	20,9	21,7	41,5	33,1	22,0	12,3	23,8
	120	26,0	52,0	50,7	20,9	59,4	26,1	58,5	22,7	26,2	24,4	55,9	44,5	22,4	16,8	27,0
	180	26,1	60,4	55,1	22,2	62,1	28,8	61,3	23,3	28,5	27,1	68,4	52,5	22,5	22,5	30,4
	240	26,0	62,3	58,2	23,3	63,9	29,6	62,5	24,1	29,8	30,9	72,9	57,3	23,1	27,9	30,4

EK 18 Deneysel Tasarım Sonuçları (devam)

Deney Tasarımı 1. Tekrar Deney No	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
A:Aljinat Derişimi (% w/v)	2,5	3,0	2,0	3,0	2,5	2,5	3,0	2,0	2,5	2,0	2,5	3,0	3,0	2,5	2,5
B:Kitosan Derişimi (% w/v)	0,40	0,25	0,55	0,55	0,40	0,40	0,25	0,55	0,40	0,25	0,70	0,25	0,55	0,40	0,40
C:CaCl ₂ Derişimi (% w/v)	1,0	1,4	0,6	0,6	0,2	1,8	1,4	1,4	1,0	0,6	1,0	0,6	1,4	1,0	1,0
D:pH	4,5	4,0	4,0	5,0	4,5	4,5	5,0	5,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,0	4,5	4,5
Enkapsülasyon Verimi (%)	82,9	82,0	80,1	82,1	84,8	76,0	72,2	68,4	66,1	63,4	84,5	79,2	81,6	83,0	83,1
	Kümülatif Salm (%)														
Salm Süresi (Dk)	0	0,0	0,0	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	5	4,5	3,4	6,18	3,14	10,9	8,2	4,2	2,9	4,8	0,0	2,3	5,9	4,1	3,7
	10	14,5	4,5	14,36	6,20	14,4	17,0	7,7	5,4	15,0	10,3	10,0	6,4	6,5	11,3
	15	22,4	6,0	23,25	9,32	22,8	23,1	17,8	10,4	23,4	21,9	15,1	9,5	7,7	16,6
	30	32,4	9,2	31,19	14,22	31,2	35,3	25,2	13,8	32,9	31,3	37,4	11,3	12,0	25,7
	60	40,8	18,6	43,51	18,79	39,7	44,8	34,7	18,0	44,8	37,4	50,2	14,1	15,1	33,0
	120	52,5	24,4	53,83	23,23	46,5	53,8	42,5	26,9	50,7	50,0	58,3	17,6	17,8	44,0
	180	60,1	26,2	63,70	27,67	53,7	62,6	45,4	30,4	54,5	54,8	64,1	20,5	21,8	51,6
	240	63,9	29,8	71,79	30,03	61,9	65,3	48,3	33,4	59,3	62,6	76,2	28,4	26,2	61,9

EK 19 Deneysel Tasarım İkinci Tekrar Sonuçları

Deney Tasarımı		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
2. Tekrar Deney No																
A:Aljinat Derişimi (% w/v)		2,5	2,5	2,0	2,0	2,5	3,0	2,5	3,0	2,0	2,0	2,0	1,5	3,5	3,0	2,5
B:Kitosan Derişimi (% w/v)		0,10	0,40	0,25	0,25	0,40	0,55	0,40	0,55	0,25	0,55	0,55	0,40	0,40	0,25	0,40
C:CaCl ₂ Derişimi (% w/v)		1,0	1,0	1,4	1,4	1,0	0,6	1,0	1,4	0,6	0,6	1,4	1,0	1,0	0,6	1,0
D:pH		4,5	4,5	4,0	5,0	4,5	4,0	4,5	4,0	5,0	5,0	4,0	4,5	4,5	4,0	5,5
Enkapsülasyon Verimi (%)		70,7	83,0	78,6	57,9	83,2	86,3	82,9	86,3	72,1	74,1	83,9	65,2	88,6	84,4	55,3
		Kümülatif Salm (%)														
Salm Süresi (Dk)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	2,5	5,5	5,0	6,6	4,6	2,1	4,7	0,6	1,8	3,5	6,5	2,9	2,4	1,7	2,7
	10	5,2	11,9	7,6	8,2	14,2	10,9	12,3	2,6	4,9	8,1	18,1	8,8	5,1	4,0	7,0
	15	6,4	18,0	14,4	10,0	22,2	17,0	20,7	5,6	9,3	12,3	28,0	14,4	9,9	5,3	12,7
	30	11,1	32,4	23,9	12,5	34,1	19,0	40,4	8,8	14,8	16,2	36,5	20,7	14,5	8,0	19,2
	60	14,6	40,0	36,3	17,3	47,4	23,6	53,0	15,3	19,6	21,1	46,4	31,4	21,1	11,8	23,6
	120	18,5	51,7	45,1	20,1	60,2	27,0	58,7	21,7	24,3	24,7	56,9	42,7	21,5	16,2	27,8
	180	22,3	63,4	58,0	22,5	62,3	34,9	62,6	24,2	27,9	27,1	69,1	48,3	21,6	21,9	30,3
	240	24,6	63,5	60,7	24,3	64,7	37,9	63,8	25,1	29,9	30,3	75,6	55,9	22,4	27,1	31,3

EK 19 Deneysel Tasarım İkinci Tekrar Sonuçları (Devam)

Deney Tasarımı 2. Tekrar Deney No	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
A:Aljinat Derişimi (% w/v)	2,5	3,0	2,0	3,0	2,5	2,5	3,0	2,0	2,5	2,0	2,5	3,0	3,0	2,5	2,5
B:Kitosan Derişimi (% w/v)	0,40	0,25	0,55	0,55	0,40	0,40	0,25	0,55	0,40	0,25	0,70	0,25	0,55	0,40	0,40
C:CaCl₂ Derişimi (% w/v)	1,0	1,4	0,6	0,6	0,2	1,8	1,4	1,4	1,0	0,6	1,0	0,6	1,4	1,0	1,0
D:pH	4,5	4,0	4,0	5,0	4,5	4,5	5,0	5,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,0	4,5	4,5
Enkapsülasyon Verimi (%)	82,8	82,0	80,4	83,2	85,2	59,7	54,6	70,8	66,2	63,6	83,8	79,0	76,2	82,6	83,0
	Kümülatif Salm (%)														
0	0,0	0,0	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
5	4,7	3,4	6,12	3,12	10,9	8,3	1,1	3,6	5,9	3,9	2,4	6,0	4,3	3,6	4,7
10	14,3	4,4	14,90	6,17	14,3	17,3	6,4	7,1	16,1	9,9	5,4	6,5	6,8	11,7	12,8
15	22,4	6,0	22,89	9,27	22,6	22,6	15,0	10,0	23,9	21,3	15,0	11,4	8,0	17,6	16,7
30	32,1	9,4	31,00	14,13	30,9	32,6	24,7	12,8	27,5	30,3	21,2	13,4	12,6	27,5	24,3
60	40,4	18,4	44,02	18,67	39,3	40,6	27,8	16,0	39,0	36,3	30,4	16,6	15,8	34,4	32,7
120	51,9	24,1	54,64	23,08	46,0	45,7	38,7	18,8	50,9	48,4	41,1	21,4	18,6	44,0	40,6
180	57,3	25,9	64,02	27,50	53,2	56,4	47,9	25,8	54,8	53,1	53,2	25,1	21,0	51,7	48,9
240	63,6	29,7	72,01	29,85	61,3	66,3	54,2	31,0	60,7	61,7	74,1	28,4	26,3	62,6	62,5