T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI İLAÇ ETKEN MADDELERİN ENKAPSÜLASYONU İÇİN ALJİNAT JEL TAŞIYICILARIN HAZIRLANMASI VE IN VITRO DEĞERLENDİRİLMESİ

İbrahim HEBİP

DANIŞMAN
Prof. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Temel İşlemler ve Termodinamik, Tezli Yüksek Lisans Programı

Şubat, 2026

TEZ KABUL VE ONAYI

İbrahim HEBİP tarafından, **Prof. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ** danışmanlığında hazırlanan "Bazı ilaç etken maddelerin enkapsülasyonu için aljinat jel taşıyıcıların hazırlanması ve in vitro değerlendirilmesi" başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından **13/02/2026** tarihinde yapılan sınav sonucunda **oy birliği** ile başarılı bulunarak **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

		İmza	**Sonuç**
DANIŞMAN	Prof. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞAÜniversitesi TEMEL İŞLEMLER VE TERMODİNAMİK Anabilim Dalı		☒ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. Xxxx XXXX ..... Üniversitesi ..... Anabilim Dalı		☐ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. Xxxx XXXX ..... Üniversitesi ..... Anabilim Dalı		☐ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. Xxxx XXXX ..... Üniversitesi ..... Anabilim Dalı		☐ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. Xxxx XXXX ..... Üniversitesi ..... Anabilim Dalı		☐ Kabul ☐ Ret

Bu tez, bana her koşulda güvenen ve yanımda olan aileme ithaf edilmiştir.

BÜTÇE DESTEKLERİ

BAZI İLAÇ ETKEN MADDELERİN ENKAPSÜLASYONU İÇİN ALJİNAT JEL TAŞIYICILARIN HAZIRLANMASI VE IN VITRO DEĞERLENDİRİLMESİ

Bu tez çalışması için herhangi bir kurumdan bütçe desteği alınmamıştır.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI ..... **ii**
BEYAN ..... **iii**
BÜTÇE DESTEKLERİ ..... **v**
TEŞEKKÜR ..... **vi**
İÇİNDEKİLER ..... **vii**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **x**
TABLO LİSTESİ ..... **xii**
KISALTMA LİSTESİ ..... **xiii**
ÖZET ..... **xiv**
ABSTRACT ..... **xv**
1. GİRİŞ **1**
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE **3**
2.1. LİTERATÜR ÖZETİ 3
2.2. ENKAPSÜLASYON 5
2.2.1. İyonik Jelasyon 9
2.2.2. İyonik Jelasyonda Kullanılan Doğal Polimerler 12
2.2.3. Püskürtmeli kurutma 20
2.2.4. Koaservasyon 21
2.2.5. Dondurarak kurutma 22
2.3. KONTROLLÜ SALIM 23
2.3.1. İlaç Taşıyıcı Sistemler 26
2.3.2. Etken Maddeler 29
2.3.3. Kullanılan Maddeler 31
2.4. İSTATİSTİKSEL DENEYSEL TASARIM 34
2.4.1. Yanıt Yüzey Metodu 34
2.4.2. Box-Behnken Tasarımı 36
3. YÖNTEM **37**
3.1. MALZEMELER 37
3.2. İYONİK JELASYON PROSEDÜRÜ 37
3.2.1. Sodyum Aljinat Çözeltisinin Hazırlanması 37
3.2.2. Sodyum Aljinat Çözeltisi ile Etken Madde Karışımlarının Hazırlanması 38

3.2.3. $CaCl_2$ Çözeltisinin Hazırlanması 38
3.2.4. İlaç Yüklü Aljinat Jel Taşıyıcıların Hazırlanması 39
3.2.5. Enkapsülasyon Etkinliğinin Belirlenmesi 40
3.2.6. Deneysel Tasarım ve İstatistiksel Modelleme 42
3.2.7. Salım Çalışmaları 43
3.2.8. Ransimat Hızlandırılmış Oksidasyon Testi 44
3.2.9. Aljinat Jel Taşıyıcılarının Karakterizasyonu 44
4. BULGULAR 46
4.1. ÖN DENEMELER 46
4.2. AMOKSİSİLİN YÜKLÜ ALJİNAT JEL TAŞIYICILARIN ÜRETİMİ 49
4.2.1. İstatistiksel Analizler 49
4.2.2. Proses Parametrelerinin Enkapsülasyon Verimi Üzerine Etkileri 51
4.2.3. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları 55
4.3. DOKSİSİKLİN YÜKLÜ ALJİNAT JEL TAŞIYICILARIN ÜRETİMİ 57
4.3.1. İstatistiksel Analizler 57
4.3.2. Proses Parametrelerinin Enkapsülasyon Verimi Üzerine Etkileri 59
4.3.3. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları 63
4.4. İLAÇ SALIMLARININ KİNETİK MODELLENMESİ 65
4.5. RANSİMAT TEST SONUÇLARI 65
4.6. AMOKSİSİLİNİN VE DOKSİSİKLİN YÜKLÜ ALJİNAT JEL TAŞIYICILARININ KARAKTERİZASYONU 67
4.6.1. FTIR Analizleri 67
4.6.2. Morfolojik Analizler 68
4.6.3. DLS ve Zeta Potansiyel Ölçümleri 70
5. TARTIŞMA 72
5.1. AMOKSİSİLİNİN MİKROENKAPSÜLASYONU 72
5.2. DOKSİSİKLİNİN MİKROENKAPSÜLASYONU 72
5.3. AMOKSİSİLİN VE DOKSİSİKLİN YÜKLÜ ALJİNAT JEL TAŞIYICILARININ SALIM DAVRANIŞLARI 73
5.4. AMOKSİSİLİN VE DOKSİSİKLİN YÜKLÜ ALJİNAT JEL TAŞIYICILARININ AKTİVASYON ENERJİSİNİN BELİRLENMESİ VE TERMAL KARARLILIK DEĞERLENDİRMESİ 74
5.5. AMOKSİSİLİN VE DOKSİSİKLİN YÜKLÜ ALJİNAT JEL TAŞIYICILARININ KARAKTERİZASYON DEĞERLENDİRİLMESİ 75
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 78
KAYNAKLAR 79

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI 93
ETİK KURUL İZİN YAZISI 94
KURUM İZNİ YAZILARI 95
ÖZGEÇMİŞ 96

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1: Kapsülleme formlarının şematik gösterimi [35]. 6

Şekil 2.2: (a) Nanopresipitasyon şematik gösterimi, **(b)** Önceden oluşturulmuş bir polimere ilaç kapsüllenmesinin gösterimi [35]. 8

Şekil 2.3: İyonik jelasyon sisteminin gösterimi [36]. 9

Şekil 2.4: İyonotropik jelleşme yöntemi ile nanopartikül/mikropartikül sentezinin şematik gösterimi [20]. 11

Şekil 2.5: Damlatma sistemi [37]. 11

Şekil 2.6: Sodyum aljinatın kimyasal yapısının gösterimi [40]. 13

Şekil 2.7: (**A**) Fosfat tungsten asitle boyanmış bir CS-TPP nanopartikülünün mikrografı. (**B**) İyonotropik jelleşme yoluyla nanopartikül/mikropartikül sentezinde CS ve TPP arasındaki elektrostatik etkileşimlerin şematik gösterimi (Şema Kou-karas ve ark. tarafından bildirilen bilgilere göre oluşturulmuştur) [20]. 14

Şekil 2.8: Yumurta kutusu modeli gösterimi [40]. 19

Şekil 2.9: H-bağı konfigürasyonu, bir TPP molekülünün (beyaz ok) yan yana yer alan iki kitosan zincirine (koyu gri oklar) bağlanmasını ifade eder. T-bağı konfigürasyonu, TPP' nin ikinci, dik konumlanmış bir kitosan zincirine (açık gri oklar) bağlanmasını ifade eder [20]. . 20

Şekil 2.10: Püskürtmeli kurutma sisteminin temsili gösterimi[72]. 21

Şekil 2.11: İlaç salım mekanizmalarının gösterimi [76]. 25

Şekil 2.12: AMOX' un kimyasal yapısının gösterimi. 29

Şekil 2.13: Klavulanik asitin kimyasal yapısının gösterimi. 30

Şekil 2.14: Doksisiklinin kimyasal yapısının gösterimi. 31

Şekil 2.15: Aljinat molekülü ve kalsiyum katyonunun etkileşimi, yumurta kutusu (egg-box) modeli ve jel oluşumu [92]. 33

Şekil 2.16: Box-Behnken tasarımının kübik gösterimi [95]. 36

Şekil 3.1: $CaCl_2$ çözeltilerinin görselleri. 39

Şekil 3.2: AMOX **(a)** ve DOX **(b)** etken maddeli kapsüller. 40

Şekil 3.3: AMOX' un kalibrasyon eğrisi. 41

Şekil 3.4: DOX' un kalibrasyon eğrisi. 42

Şekil 4.1: Enkapsülasyon verimine ultrasonik banyoda bekletme süresinin etkisi. 46

Şekil 4.2: Kapsülleme verimliliğini etkileyen faktörlerin önemini gösteren Pareto grafiği. ... 51

Şekil 4.3: Aljinat konsantrasyonu ve kalsiyum klorür konsantrasyonunun **(a)**, aljinat konsantrasyonu ve zamanının **(b)**, kalsiyum klorür konsantrasyonu ve zamanının **(c)** kapsülleme verimliliği üzerindeki birleşik etkilerini gösteren tepki yüzey grafikleri. 53

Şekil 4.4: Kapsülleme verimliliği üzerinde aljinat konsantrasyonu ve kalsiyum klorür konsantrasyonunun **(a)**, aljinat konsantrasyonu ve zamanın **(b)**, kalsiyum klorür konsantrasyonu ve zamanın **(c)** birleşik etkilerini gösteren kontur grafikleri. 55

Şekil 4.5: Kapsülleme verimliliğinin optimizasyonu için rampa grafiği. 56

Şekil 4.6: Kapsülleme verimliliğini etkileyen faktörlerin önemini gösteren Pareto grafiği. ... 59

Şekil 4.7: Aljinat konsantrasyonu ve kalsiyum klorür konsantrasyonunun **(a)**, aljinat konsantrasyonu ve zamanının **(b)**, kalsiyum klorür konsantrasyonu ve zamanının **(c)** kapsülleme verimliliği üzerindeki birleşik etkilerini gösteren tepki yüzey grafikleri. 61

Şekil 4.8: Kapsülleme verimliliği üzerinde aljinat konsantrasyonu ve kalsiyum klorür konsantrasyonunun **(a)**, aljinat konsantrasyonu ve zamanının **(b)**, kalsiyum klorür konsantrasyonu ve zamanının **(c)** birleşik etkilerini gösteren kontur grafikleri. 63

Şekil 4.9: Kapsülleme verimliliğinin optimizasyonu için rampa grafiği. 64

Şekil 4.10: Ransimat ölçümlerine dayalı AMOX yüklü aljinat jel taşıyıcıların bozunumuna ilişkin Arrhenius grafiği. 66

Şekil 4.11: Ransimat ölçümlerine dayalı DOX yüklü aljinat jel taşıyıcıların bozunumu için Arrhenius grafiği. 66

Şekil 4.12: Sodyum aljinat, $CaCl_2$, AMOX, DOX, AMOX yüklü aljinat jel taşıyıcıları ve DOX yüklü aljinat jel taşıyıcılarının FTIR spektrumları. 67

Şekil 4.13: AMOX yüklü **(a)** ve DOX yüklü **(b)** aljinat jel taşıyıcılarının mikrofotografları. 68

Şekil 4.14: AMOX yüklü **(a-d)** ve DOX yüklü **(e-h)** aljinat jel taşıyıcılarının SEM görüntüleri. 69

Şekil 4.15: Fosfat tamponlu salin (pH 7,4) içinde inkübasyonun ardından AMOX yüklü ve DOX yüklü jel taşıyıcılardan toplanan salınan fraksiyonun hidrodinamik parçacık boyutu dağılımları (**a-b**) ve zeta potansiyeli (**c-d**) profilleri. Ölçümler üç bağımsız tekrarı temsil etmektedir (kayıt 1-3). Veriler, ilaç salımından sonra süpernatantta bulunan parçacıklara ve moleküler komplekslere karşılık gelmektedir. 71

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1: Farklı kahverengi deniz yosunu çeşitlerinden elde edilen aljinatların verimi (% kuru ağırlık) ve M/G oranı [41]. 14

Tablo 2.2: Enkapsülasyon yöntemlerinin avantajları ve dezavantajları [37]. 23

Tablo 2.3: Polimerlerin sınıflandırılması [78]. 28

Tablo 2.4: AMOX ve DOX etken maddelerin özellikleri arasındaki farklar. 31

Tablo 2.5: Sodyum aljinat ticari özellikleri. 34

Tablo 2.6: Kalsiyum klorürün özellikleri. 34

Tablo 3.1: AMOX' un kalibrasyon eğrisinin değerleri. 40

Tablo 3.2: DOX' un kalibrasyon eğrisinin değerleri. 41

Tablo 4.1: Enkapsülasyon verimine karıştırma hızı ve süresinin etkisi. 47

Tablo 4.2: Design-Expert sayısal optimizasyonuna dayalı kapsülleme verimliliğini en üst düzeye çıkarmak için optimum jelleşme koşulları. 64

Tablo 4.3: Aljinat jel taşıyıcıların ilaç aktif maddelerinin salımı için kinetik model parametreleri. 65

KISALTMA LİSTESİ

Kısaltmalar	Açıklama
AMOX	: Amoksisilin
ANOVA	: Varyans Analizi
BBT	: Box-Behnken Tasarımı
BCS	: Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi
CMC	: Karboksimetil Selüloz
CS	: Kitosan
DHA	: Dokosaheksaenoik
DLS	: Dinamik Işık Saçılımı
DOX	: Doksisiklin
EE	: Enkapsülasyon Etkinliği
FDA	: ABD Gıda İlaç Dairesi
FTIR	: Fouruier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
GRAS	: Genel Olarak Kabul Edilen
HA	: Hiyalüronik Asit
İS	: İndüksiyon Süresi
MBT	: Merkezcil Birleşik Tasarımı
PDI	: Polidispersite İndeksi
PLGA	: Poli(laktik-ko-glikolik asit)
RSM	: Yanıt Yüzey Metodolojisi
SA	: Sodyum Aljinat
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
SGS	: Simule Gastrik Sıvı
SIS	: Simüle Intestinal Sıvı
TPP	: Trifosfat
UV	: Ultraviyole

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI İLAÇ ETKEN MADDELERİN ENKAPSÜLASYONU İÇİN ALJİNAT JEL TAŞIYICILARIN HAZIRLANMASI VE *IN VITRO* DEĞERLENDİRİLMESİ

İbrahim HEBİP

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Temel İşlemler ve Termodinamik, Tezli Yüksek Lisans Programı

Danışman: Prof. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ

Bu çalışmada, amoksisilinin (AMOX) ve doksisiklinin (DOX) aljinat jel taşıyıcıları içerisine kapsüllenme prosesleri ayrı ayrı incelenmiştir. Aljinat konsantrasyonunun (%2-5, w/v), $CaCl_2$ konsantrasyonunun (%1-3, w/v) ve jelleşme süresinin (15-45 dk.) enkapsülasyon etkinliği (EE) üzerindeki etkilerini incelemek için üç faktörlü ve üç seviyeli Box-Behnken tasarımı kullanılmıştır. EE, hem AMOX (%10-86) hem de DOX (%10-63) için proses şartlarına bağlı olarak önemli değişkenlik göstermişlerdir. Optimal EE değerleri yaklaşık %3,5 aljinat ve %3 $CaCl_2$' de elde edilmiştir. Bununla birlikte, optimum jelleşme süresi AMOX için 45 dk. ve DOX için 15 dk. olarak belirlenmiştir. ANOVA (varyans analizi), $CaCl_2$ konsantrasyonunu ve aljinatın karesel etkisini en etkili parametreler olarak belirlemiştir. Ayrıca, her iki model de güçlü bir tahmin göstermiştir (R^2>0,98). *In vitro* salım deneyleri, simüle edilmiş mide sıvısında (SGS) minimal ilaç difüzyonu ve simüle edilmiş bağırsak sıvısında (SIS) önemli ölçüde hızlanmış salım göstererek aljinat matrislerinin pH' a duyarlı davranışına işaret etmektedir. Salım profili, Higuchi ve Korsmeyer-Peppas kinetik modelleriyle en iyi şekilde temsil edildi. Arrhenius modellemesi kullanılarak sıcaklığa bağlı kinetik değerlendirme ile 17,4 kJ mol^{-1} (AMOX) ve 9,0 kJ mol^{-1} (DOX) aktivasyon enerjileri elde edildi. Taramalı Elektron Mikroskopi (SEM) ve optik mikroskopi, ilaca bağlı mikro yapısal farklılıklar gösteren düzgün küresel boncukları ortaya koydu. Burada hidrofilik AMOX daha pürüzsüz kırışık yüzeyler oluştururken, amfifilik DOX lokalize çatlama ve heterojen mikro alanlara neden oldu. Ayrıca, salınan fraksiyonların Dinamik Işık Saçılımı (DLS) ve zeta potansiyeli ölçümleri, orta derecede negatif yüzey yüküne (≈-21 mV) sahip nano ölçekli parçacık popülasyonlarını (≈190-225 nm) gösterdi. Bu durum, bağırsak fazı salımı sırasında kararlı kolloidal dağılımı düşündürmektedir.

Şubat 2026 , 111. sayfa.

Anahtar kelimeler: İlaç Salımı, enkapsülasyon, iyonik jelasyon, istatistiksel deneysel tasarım

ABSTRACT

M.Sc. THESIS

PREPARATION AND *IN VITRO* EVALUATION OF ALGINATE GEL CARRIERS FOR ENCAPSULATION OF SOME ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENTS

İbrahim HEBIP

Istanbul University-Cerrahpaşa
Institute of Graduate Studies
Department of Chemical Engineering
Unit Operations and Thermodynamics (Master) (With Thesis)

Supervisor: Prof. Dr. Selin SAHIN SEVGILI

This study examined the encapsulation processes of amoxicillin (AMOX) and doxycycline (DOX) alginate hydrogel carriers. A three-factor and three-level Box-Behnken design was utilized to examine the influences of alginate concentration (2-5%, w/v), $CaCl_2$ concentration (1-3%, w/v) and gelation time (15-45 min) on encapsulation efficiency (EE). EE exhibited considerable variability for both AMOX (10-86%) and DOX (10-63%) depending on the encapsulation conditions. Optimal EE values were achieved at almost 3.5% alginate and 3% $CaCl_2$. However, the optimum gelation time was 45 min for AMOX and 15 min for DOX. ANOVA (analysis of variance test) identified $CaCl_2$ concentration and the quadratic effect of alginate as the most influential parameters. Furthermore, both models demonstrated robust predictive capability (R^2>0.98). *In vitro* release experiments demonstrated minimal drug diffusion in simulated gastric fluid (SGF) and significantly accelerated release in simulated intestinal fluid (SIF). This finding points to the pH-responsive behavior of alginate matrices. The release profile was represented best by Higuchi and Korsmeyer-Peppas kinetic models. Activation energies of 17.4 kJ mol^{-1}(AMOX) and 9.0 kJ mol^{-1} (DOX) were obtained by temperature-dependent kinetic evaluation using Arrhenius modeling. Scanning Electron Microscopy (SEM) and optical microscopy demonstrated uniform spherical beads with drug-dependent microstructural differences, where hydrophilic AMOX generated smoother wrinkled surfaces and amphiphilic DOX caused localized cracking and heterogeneous microdomains. Furthermore, Dynamic Light Scattering (DLS) and zeta potential measurements of the released fractions indicated nanoscale particle populations (≈190-225 nm) with moderate negative surface charge (≈-21 mV), suggesting stable colloidal dispersion during intestinal-phase release.

February 2026, 111. pages.

Keywords: Drug delivery, encapsulation, ionic gelation, statistical experimental design

1. GİRİŞ

Son yıllarda, kontrollü ilaç salım sistemlerinin geliştirilmesi farmasötik araştırmalarda önemli bir çalışma alanı haline gelmiştir. Örneğin son 20 yıl içerisinde çeşitli biyobozunur polimerler ve lipozomlar parçalanmayan hız kontrollü ilaç salım sistemlerinin geliştirlmesinin örneğidir. Bu sistemler, ilacın vücutta istenen bölüme optimum veya istenen hızlarda ve sürede salınmasını sağlayarak hem verimliliğini, etkinliğini arttırmakta hem de olası kötü sonuçların giderilmesi veya önlenmesini sağlamaktadır. Bu sebepten ötürü, ilacın farmakolojik etkinliğini istenilen oranda, istenen bölgeye etki etmesini hedefleyen ve bu sayede daha çok miktarda harcanmasının yanı sıra az miktarda yeterli verimliliğe ulaşmayı sağlamak sebebiyle yeni kontrollü ilaç salım sistemlerinin araştırılmasına yol açmıştır [1]. Kontrollü salım teknolojilerinin temel amacı, ilacın biyoyararlanımını artırmak ve etkin maddelerin çevresel koşullara karşı stabilitesini korumaktır. Bu amaçla biyopolimer esaslı taşıyıcı sistemler, özellikle biyouyumlu ve biyobozunur yapıları sayesinde ilaç endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Doğal polisakkaritlerden biri olan aljinat, bu alanda en çok araştırılan ve uygulama alanı bulan materyallerdendir. Aljinat, farklı blok dizilerinde düzenlenmiş β-D-mannuronik (M) ve α-L-guluronik (G) asit kalıntılarından oluşan doğrusal bir anyonik polisakkarittir [2]. İki değerlikli veya üç değerlikli katyonlarla (Ca^{2+}, Cu^{2+}, Sr^{2+} ve Al^{3+}) iyonik çapraz bağlama yoluyla üç boyutlu ağlar oluşturma kapasitesi, onu kolloid ve arayüz biliminde kullanılan en çok yönlü biyopolimerlerden biri haline getiriyor [3]. Kalsiyum iyonları G-bloklarıyla etkileşime girerek yumurta kutusu benzeri yapılar oluşturur ve bu da ayarlanabilir ağ yoğunluğu, mekanik dayanıklılık ve difüzyon yolları ile karakterize edilen hidrojel matrislerine yol açar [4]. Fizikokimyasal özellikleri, aljinat hidrojellerinin, polimer-çözelti arayüzünde taşınımı düzenleyen belirgin arayüzey mikro alanlarıyla karakterize edilen koLloidal yumuşak malzemeler gibi davranmasına olanak tanır [5]. Kalsiyum aljinat hidrojellerinin iyonik olarak çapraz bağlanmış yapısı, pH açısından çevresel uyum yeteneği de sağlamıştır [6]. Aljinat hidrojelleri, pH' a bağlı arayüzey geçişleri sayesinde, kapsüllenmiş molekülleri zorlu mide koşullarında korurken bağırsak ortamlarında kontrollü salımı kolaylaştırdığı için oral matrisler olarak değerlidir [7]. Kolloid ve hidrojel bilimindeki hedeflerden biri, formülasyon faktörlerinin arayüz geçişleri ve taşıma kanalları üzerindeki etkilerini anlamaktır.

Önceki çalışmalar genel olarak, aljinat hidrojellerinin kapsülleme ve salım davranışının, aljinat konsantrasyonu, $CaCl_2$ konsantrasyonu ve jelleşme süresi gibi faktörlere büyük ölçüde bağlı olduğunu bildirmiştir [8], [9], [10], [11]. Yanıt yüzey metodolojisi (RSM) gibi istatistiksel deney tasarımı yaklaşımları, bu değişkenlerin kolloidal ağ oluşumu ve taşıma davranışı üzerindeki mekanik etkisini nicelleştirmek için güçlü araçlardır [8]. Formülasyon optimizasyonunun ötesinde, kinetik modelleme baskın salım mekanizmalarına ilişkin daha fazla bilgi sağlar. Sıfırıncı derece, birinci derece, Higuchi ve Korsmeyer-Peppas gibi modeller, polimerik koloidal matrislerde difüzyon kontrollü taşımayı tanımlamak için yaygın olarak kullanılır [9]. Arrhenius denklemini kullanan sıcaklığa bağlı kinetik analiz, ayrıca termal duyarlılığı değerlendirmek için bir yöntem sunmaktadır [12].

Amoksisilin (AMOX) ve doksisiklin (DOX), yaygın olarak kullanılan oral antibiyotiklerin yapısal ve fizikokimyasal olarak farklı iki ailesini temsil etmeleri nedeniyle model bileşikler olarak seçilmiştir. AMOX, nispeten düşük molekül ağırlığına sahip hidrofilik bir β-laktam iken, DOX daha büyük molekül boyutuna ve daha güçlü hidrofobik bölgelere sahip daha lipofilik bir tetrasiklin türevidir [13], [14]. Bu nedenle, aynı koloidal platform içinde kapsüllenmelerini ve salımlarını bağımsız olarak değerlendirmek, iyonik olarak çapraz bağlanmış aljinat hidrojellerinde moleküler özelliklerin arayüz etkileşimlerini, ağ geçirgenliğini ve pH' a bağlı taşıma mekanizmalarını nasıl yönettiğini incelemek için anlamlı bir çerçeve sağlar.

Bu çalışma, Box-Behnken tasarımı kullanılarak aljinat hidrojel taşıyıcılarda AMOX ve DOX kapsüllenmesini optimize etmeyi, kinetik modelleme yoluyla pH' a duyarlı arayüz taşıma davranışını aydınlatmayı ve Arrhenius analizi kullanılarak sıcaklığa bağlı salım mekanizmalarını değerlendirmeyi amaçlamaktadır. Ek olarak, ilaç-polimer etkileşimlerini, aljinat ağındaki yapısal geçişleri ve difüzyon ve salımı yöneten nano ölçekli türleri açıklığa kavuşturmak için FTIR spektroskopisi, morfolojik analiz (optik mikroskopi ve SEM) ve salınan fraksiyonların koloidal değerlendirmesi (DLS ve zeta potansiyeli) dahil olmak üzere kapsamlı fizikokimyasal karakterizasyon gerçekleştirilmiştir.

2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

2.1. LİTERATÜR ÖZETİ

Kontrollü ilaç salım sistemleri, terapötik etkinliği artırması, yan etkileri azaltması ve dozlama sıklığını düşürmesi nedeniyle farmasötik araştırmalarda önemli bir yer tutar. Bu sebeple geleneksel oral dozaj formlarında ilaç, gastrointestinal sıvılarla temas ettikten sonra hızlı bir şekilde çözünmekte ve ilaç salım kinetiği üzerinde herhangi bir kontrol sağlanamamaktadır. Bu durum, düşük biyoyararlanım ve sistemik toksisite gibi sorunlara yol açabilmektedir. Bu sınırlamalar, biyobozunur polimerlere dayalı gelişmiş ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesini teşvik etmiştir [15], [16], [17].

Jaejoon Han, Anne-Sophie Guenier ve çalışma arkadaşları, iki polimer (aljinat ve kitosan) kullanarak, fonksiyonelleştirme (asilasyon) ile iyonotropik jelasyonun koaservasyonla birleştirildiği yeni bir enkapsülasyon yöntemi geliştirmiştir. Bu yaklaşımın amacı, elde edilen boncukların stabilitesini ve fizikokimyasal özelliklerini iyileştirmektir [18].

Yahya E. Choonara ve çalışma arkadaşları, Parkinson hastalığında striatum içine kontrollü nikotin salımı amacıyla aljinat-hidroksietilsellüloz jel kürelerine dayanan yeni bir yöntem geliştirmiştir. Hidroksietilsellüloz, aljinatın serbest karboksil grupları ile etkileşim oluşturmak ve yapıya ek bir koruyucu kolloidal dayanım kazandırmak amacıyla formülasyona dahil edilmiştir [19].

Wu ve çalışma arkadaşları, bu sistemi kullanarak 10-500 nm arasında değişen çaplarda nanopartiküller üretmiştir. Kanser karşıtı bir ajan olan resveratrolü enkapsüle etmiş ve tümör hücre hattı tarafından etkili şekilde alınan stabil nanopartiküller sentezlemişlerdir. Benzer sonuçlar, insülin, manyetik ferroakışkanlar, doksorubisin ve askorbil palmitat kapsülleyen diğer araştırmacılar tarafından da elde edilmiştir [20].

Malm ve arkadaşları küçük bağırsağın zayıf alkalin pH' sında çözünebilen selüloz asetat ftalat bazlı polimerik bir enterik kaplama materyali tanıtılmıştır. Bu özellik onu enterik kontrollü salım için oldukça uygun hale getirmiştir. [21].

Ayesha Akhtar ve arkadaşları, hiyaluronik asit (HA)-kitosan nanopartikülleri ile doksisiklinli yükledikleri sistemlerde ~89,3% kapsülleme verimi ile yüksek verim elde ettiler. Bu nanopartiküller yaklaşık 284,6 nm büyüklüğünde olup, in vitro salım çalışmalarında 72 saatlik pH 5,5 koşullarında ~%67,5 ilaç salımı gösterdi. Salım profili yavaş ve kontrollü olarak tanımlanırken sistem ayrıca hedef hücrelerde iyi biyolojik yanıt sağladı. Kitosanın 1859 yılında Prof. C. Rouget kitin ile çalışırken daha sonraları "kitosan" olarak adlandırılacak olan yeni bir polimer keşfetmiştir. Bu keşifle beraber kitosan kapsülasyon ve jelleşme çalışmalarında kullanılabilen bir polimer olmuştur [22].

Kalsiyum-aljinat taneciklerinin üretilmesinde tercih edilen aljinat konsantrasyonu % 0,6-3 aralığındayken kalsiyum klorür çözeltisi 0,05-1,5 M olarak kullanılmaktadır. Üretilen kapsüllerin büyüklüğü şırınga çapına, titreşim sistemine, aljinat çözeltisinin viskozitesine ve kalsiyum klorür çözeltisi ile şırınga arasındaki mesafeye bağlıdır [23].

Kınık, Kavas ve Yılmaz; Ünal ve Erginkaya yaptıkları çalışmada Bifidobacterium bifidum' u aljinat, pektin ve peynir altı suyu jeli ile kaplamışlardır [24]

Enkapsülasyonların yanı sıra ilaç salımları için isede Stevanovic 2017' deki araştırmasıyla birlikte C vitamini gibi hassas suda çözünür bilşenlerin enkapsülasyonu çok zordur, bu nedenle kontrollü koruma ve ona bağlı olarak da kontrollü salım gerekli olduğuna dair bir araştırma yapmıştır.

Koaservasyon yani termal faz ayırma yöntemi kullanılarak aktif madde mikrokapsül oluşumuna yol açan bir polimer kabuğu ile kaplanır [25]. Bu işlemde etil selüloz en yaygın ku olarak kullanılan polimer olduğüu görüğlmüştür [26].

Enkapsülasyonun etkinliğini arttırmak için yöntem seçimlerinden hidrofilik ve hidrofobik olması etkin rol oynamaktadır. Sulu çözeltide kısmen çözünen ya da çözünmeyen ilaçlar için suda yağ emülsiyonu sıklıkla kullanılmış olup bu yöntem en basit olanıdır ve bu özelliği ile diğerlerinden ayrılır. Sürekli faz olarak adlandırılan sulu fazda, dispers faz olarak adlandırılan bu organik fazın emülsifikasyonu; çözücünün dispers fazdan sürekli faz ile ekstrakte edilmesi, çözücünün buharlaştırılması ile birlikte dağılmış fazın damlacıklarının katı parçacıklara dönüştürülmesi; kalıntı çözücüyü ortadan kaldırmak amacıyla mikrokürelerin geri kazanılması ve kurutulması; polimer içeren bir organik çözücüde hidrofobik ilacın çözünmesi üzerine yapılmış bir çalışmadır. Bu çalışmada bahsedilen yöntem aşırı hidrofilik ilaçların

enkapsülasyonu için uygun olmamakla birlikte bunun iki ana sebebi bulunmakta olup birinci sebep; hidrofilik ilaç organik çözücüde çözünmez. İkinci sebep ise ilaç emülsiyonu esnasında sürekli faza dağılır ve bu da büyük ilaç kayıplarına neden olur. Hidrofilik ilaçları enkapsüle etmek için dört farklı yöntem önerilmiştir ve uygulanmıştır. Bununla ilgili çalışma Li ve arkadaşları ile yapılmıştır [27].

İyonik jelleşme yöntemi çalışmanın ana yöntemi olmakla beraber Aydın ve Ark.; Rampino ve arkadaşları da Tripolifosfat gibi anyonik bir çapraz bağ yapıcı madde ve katyonik kitosan arasında elektrostatik kuvvetlerden dolayı bir kompleks oluşur. Çöktürme sonucunda küresel nanopartiküller meydana geldiğini göstermişlerdir [28], [29].

Amoksisilin (AMOX) geniş spektrumlu bir antibiyotiktir ve kontrollü salım sistemlerinde sık çalışılmıştır. Ayoub' un çalışmasında, kitosan kaplı poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) nanopartiküller içinde amoksisilin başarıyla enkapsüle edilmiştir ve enkapsülasyon verimliliği (EE%) %74-%86 arasında bulunmuştur. Bu sistem, in vitro salımda difüzyon kontrollü ve uzun süreli salım göstermiştir [30]. Ayrıca Khoshnood ve arkadaşları, amoksisilin ve dokosaheksaenoik asit (DHA) içeren kitosan-aljinat nanopartikülleri ile *Helicobacter pylori'* ye karşı etkili ve mide mukozasına güçlü yapışma gösteren bir sistem geliştirmişlerdir. Bu kompozit sistemde EE yaklaşık %76 olarak rapor edilmiştir [31].

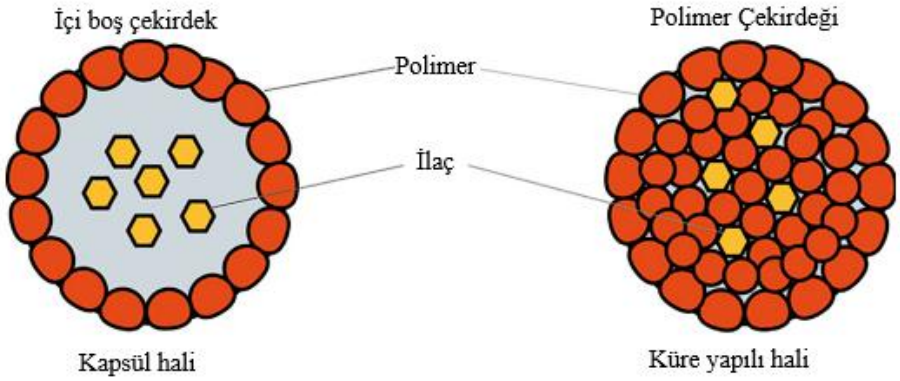
2.2. ENKAPSÜLASYON

Bir maddeyi başka bir maddenin içerisinde tutabilecek nanometre (nm) ila mikrometre (mm) çapa sahip parçacıklar üretebilmenin prosesi olarak tanımlanabilir. Kapsüllenen maddeye çekirdek malzeme, aktif madde, dolgu veya iç faz; kapsülleyen maddeye ise kaplama, membran, dış çeper veya duvar malzemesi dış faz gibi ifadeler kullanılabilir. Bu tekniğin temel amacı ise ilaçlar, gıda maddeleri, aroma maddeleri gibi pek çok aktif bileşenin stabil kalmak suretiyle salımını kontrollü olarak gerçekleştirmektir [24].

İki tip kapsülleme vardır. Bunlar rezervuar tipi ve matriks tipidir. Genel olarak gösterimleri Şekil 2.1.' de verilmiştir. Küresel enkapsülantların yanında silindirik, oval ya da düzenli olmayan şekilli enkapsülantlar bulunabilmektedir. Rezervuar tipi enkapsülant aktif ajanın çevresinde bir dış duvara sahiptir. Aynı zamanda bu tip; kapsül, tek veya kabuk çekirdekli olarak da adlandırılır. Bir tanesinde birden fazla çoklu çekirdek tipi kapsüller de bulunmaktadır. Matriks tipinde ise aktif madde, taşıyıcı malzeme üzerinde çok daha fazla

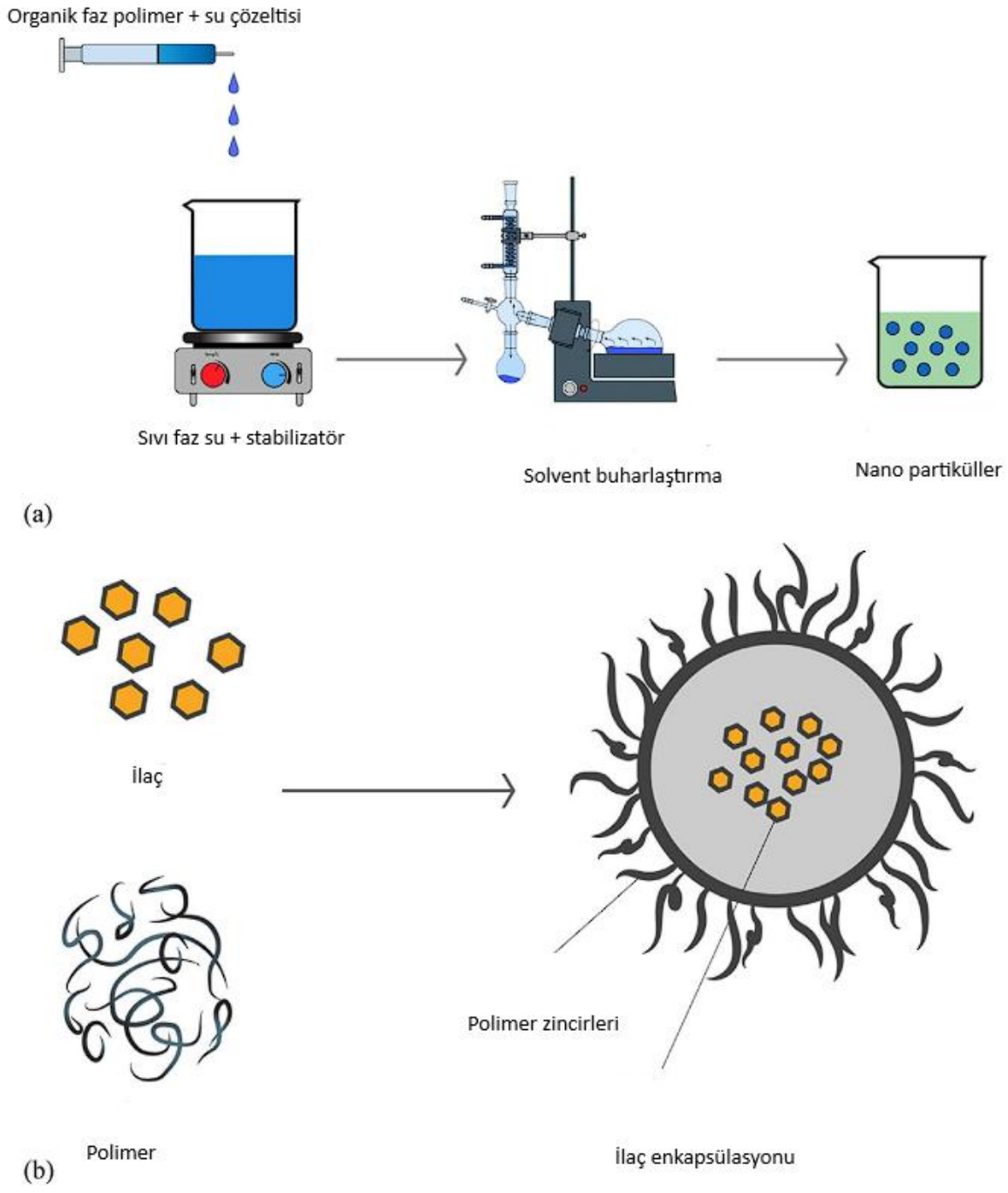
dağılır. Küçük veya homojen bir şekilde dağılan bir şekilde de olabilmektedir. Matriks tipi enkapsülanttaki aktif maddeler rezervuar tipindekilerin aksine yüzeyde bulunurlar [32].

Kapsülleme, son yıllarda ilaç, tarım, gıda, kozmetik ve tekstil endüstrilerinde yaygın olarak araştırılmıştır [33]. Modern teknolojiler, son yıllarda yerli ilaçların gelişimine zemin hazırlamıştır. Bu sebeple, gelişmiş ilaç dağıtma sistemleri, daha az esnek ve daha az karmaşık olan geleneksel dozaj formlarının tercih edilmesine sebep olmuştur. Bu geleneksel dozaj formlarının getirdiği kısıtlamaların üstesinden gelinmesi, özel bir ilgi görmüştür. Biyoyararlanım, stabilite, tat ve koku, yukarıda belirtilen engeller arasında olabilir. Bu bağlamda, kapsülleme, bu zorlukların üstesinden gelmek için önemli bir rol oynamaktadır [34]. Biyofarmasötik sınıflandırma sistemine (BCS) göre, şu anda piyasada ticari olarak satılan ilaç moleküllerinin %40' ı zayıf çözünürlüğe sahipken, ilaç geliştirme sürecindeki ilaç moleküllerinin %90' ı da zayıf çözünür olarak sınıflandırılmaktadır. Buna istinaden ilaçların kapsüllenmesi, aktif bileşenlerin bozunmasının önlenmesinde ve kontrollü veya hedefli ilaç salım sistemlerinin elde edilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Aktif enkapsülasyon molekülünü takip eden biyodağılımı artık ilacın kendisiyle değil, aynı zamanda taşıyıcıların fizikokimyasal özellikleriyle ilişkilidir. Biyobozunur polimerlerinin kullanımı ile en iyi yol olan ilaç kapsülleme biyouyumlu ve kolay uygulanabilirliği ile güvenli ve etkisiz bir ilaç salım sistemi sağlanabilir. Tam olarak bu özelliklere sahip salım sistemleri ideal bir ilaç salım sistemi olarak tanımlanabilir.



Şekil 2.1: Kapsülleme formlarının şematik gösterimi [35].

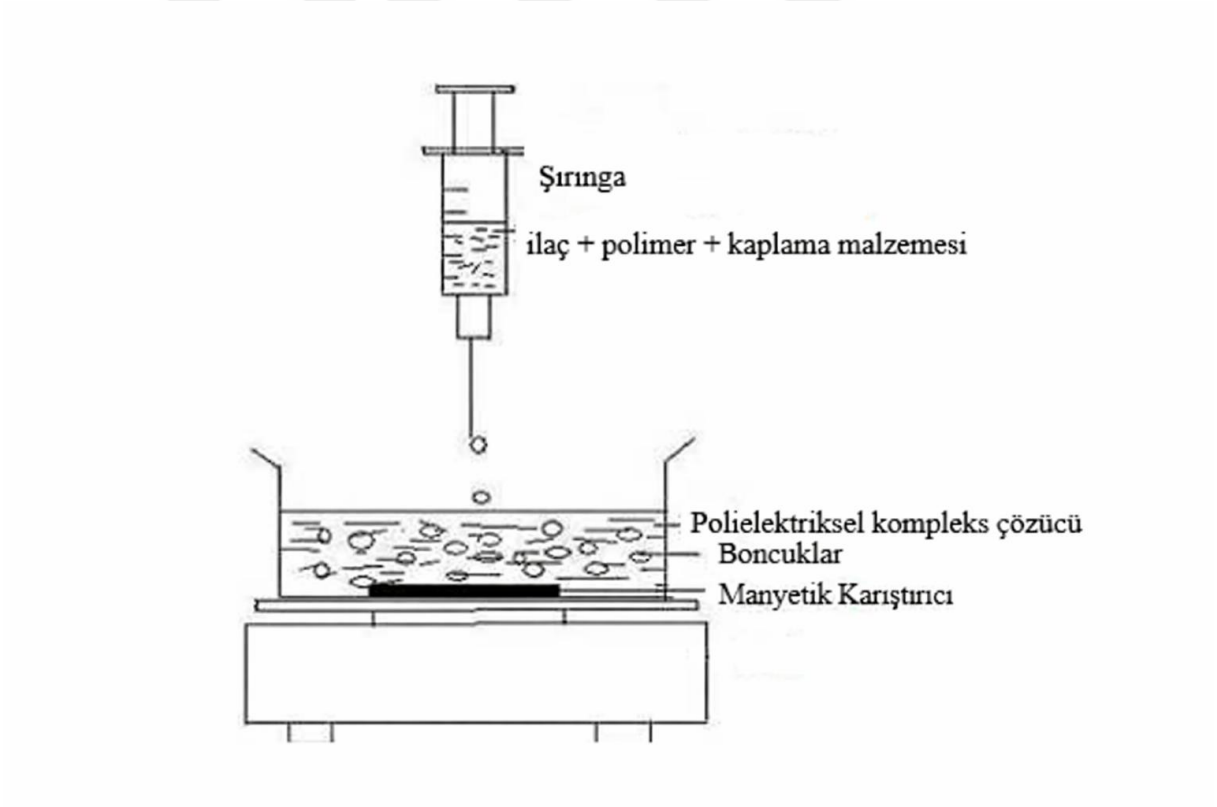
İlaç kapsülasyonunun çeşitli kullanım sebepleri, ilaç salımını uzatma ve hedefli ilaç salım tasarımı bu sayede etki edilecek bölgeye kontrollü salım yapılabilir ve çalışmanın amacına uygunluğu gösterilir. Olumsuz organoleptik özellikler, bunlar tat, koku, renk gibi özellikleri maskelemek içindir. Bazı hassas ilaçların sindirim borularının içeriğinin bozunmasını korumak için de kullanılır. İlaç moleküllerinin oksijen, sıcaklık, nem ve ışık gibi çevresel faktörlere karşı kararlılığın sağlanması da ilaç kapsülasyonlarının kullanım sebepleri arasındadır. İlaç uyumsuzluklarının önlenmesi ve toksisitenin azaltılması ve yeni dozaj formlarının tasarımlarında kullanılması gibi birçok çeşitli kullanıma sahiptir. Aljinat vb. gibi doğal polimelerle, kalsiyum gibi iyonik türlerin birleşimi sonucu Şekil 2.2’ de ki gibi iyonik jelasyon yönteminin farklı iki yolunun uygulanışı gösterilmektedir.



Şekil 2.2: (a) Nanopresipitasyon şematik gösterimi, **(b)** Önceden oluşturulmuş bir polimere ilaç kapsüllenmesinin gösterimi [35].

2.2.1. İyonik Jelasyon

İyonik jelasyon, iyonotropik jelleşme yöntemi olarak da adlandırılan bu yöntem poelektrolitlerin karşıt iyonlarının varlığında çapraz bağlanarak bir jel taşıyıcıları oluşturmasıdır. Bu jel taşıyıcılara jelisferler de denir. Jelisferler, simüle edilmiş biyolojik sıvılarda kapsamlı jelleşme şişme ve polimer gevşemesi ile kontrol edilen ilaç salımı yapabilen küresel çapraz bağlı hidrofilik polimerik yapılardır. Hidrojel boncuklar yani jel taşıyıcılar, ilaç yüklü bir polimerik çözeltinin çok değerlikli katyonlarını sulu çözeltiye damlatılmasıyla üretilir. Bu çalışmada sodyum aljinat jelleşme için seçilmiş doğal bir polimerdir. $CaCl_2$ çözeltisine damlatılan sodyum aljinat-etken maddeli çözelti (Şekil 2.3), katyonların ilaç yüklü polimerik damlalara difüze olup iyonik olarak çapraz bağlı bir kısımdan oluşan üç boyutlu bir kafes yapısı oluşturur. Biyomoleküller de aynı zamanda üç boyutlu yapılarını korumak amacıyla makul koşullar altında bu jelisferlere yüklenirler.

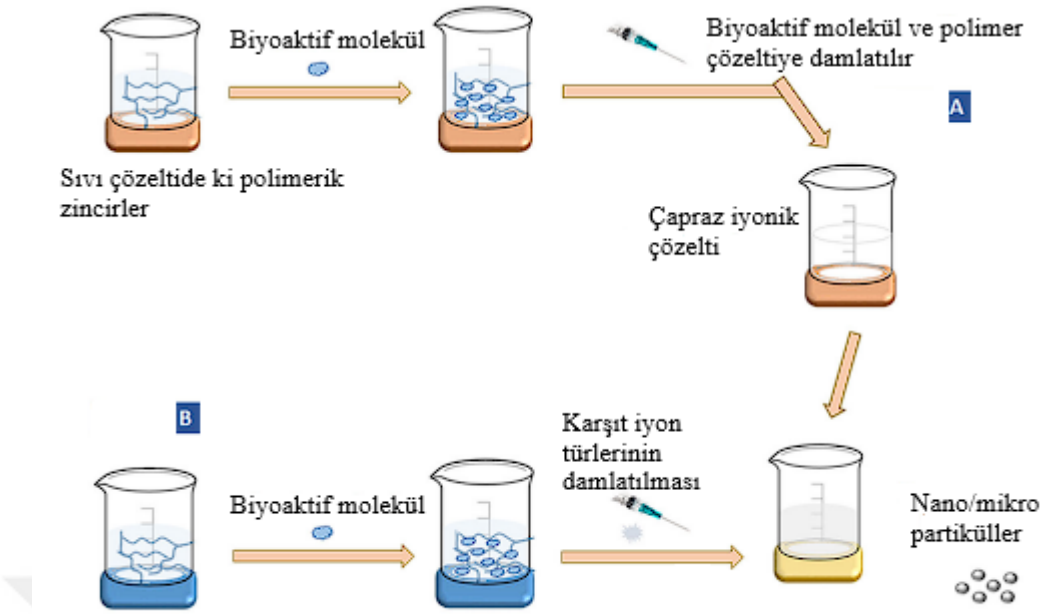


Şekil 2.3: İyonik jelasyon sisteminin gösterimi [36].

Fonksiyonelleştirme işlemi, polimer ağ yapısında hidrofobik etkileşimleri artırmış ve buna bağlı olarak su alma kapasitesi ile su buharı geçirgenliğini azaltarak bariyer özelliklerini güçlendirmiştir. Ancak bu polimerlerin fonksiyonelleştirilmesi, jel taşıyıcıların mekanik

dayanımında ve kapsüllenmiş mikro besinlerin stabilitesinde belirgin bir iyileşme sağlamamıştır.

Araştırmacılar ayrıca bu enkapsülasyon tekniğinin, biyolojik olarak aktif molekülleri sıcaklık, nem ve asidik koşullara karşı etkili biçimde koruyabildiğini ve bu bileşiklerin gastrointestinal geçiş boyunca kontrollü şekilde salınmasına olanak tanıdığını göstermiştir. İyonotropik jelasyon yöntemiyle boncuk oluşturulmasında, polimer ile çapraz bağlayıcı elektrolitin derişimi belirleyici bir rol oynamaktadır. Burada elektrolit olarak kullanılmış olan Ca^{2+} çapraz bağlanma sayesinde jelasyonu oluşturmuştur. Her iki bileşenin miktarı, çapraz bağlanmada yer alacak fonksiyonel grupların sayısına uygun olacak şekilde ayarlanmalı ve elektrolit türü ve derişimi, jel taşıyıcıların kapsülleme verimliliğini doğrudan etkilerken, sıcaklık hem oluşacak boncukların boyutunu hem de çapraz bağlanma için gerekli karışım süresini de önemli ölçüde etkilemektedir. Çapraz bağlayıcı çözeltinin pH değeri de formülasyon sırasında dikkate alınmalıdır. Bunun sebebi pH, reaksiyon hızını ve boncukların şeklini ve boyutunu doğrudan etkileyebilir. Boncuklara yüklenmek istenen ilacın miktarı, polimer miktarıyla uyumlu olmalıdır. Bunun sebebi ilaç/polimer miktarının hem kapsülasyon oluşumunda hem de jelleşmenin belirlenmesinde ve aynı zamanda sonuç olarak verimi de etkilemektedir. Sonuç olarak miktarın fazla veya eksik olmasının yanı sıra optimum şartların belirlenmesi önemli rol oynamaktadır. İlaç/polimer oranı uygun aralığın üzerine çıktığında patlama (burst) etkisi görülebilir, jel taşıyıcıların yoğunluğu artabilir ve buna bağlı olarak boyut ile şekil değişiklikleri ortaya çıkabilir. Aynı zamanda patlamış olan kapsüllerin içindeki ilaç etken maddesinin de çözücüye geçerek kapsülasyon işleminin gerçekleşmemesine sebep olabilir ki patlamasada tam olarak çözünmemesi de olumsuz sonuçlar verebilmektedir. Kalsiyum karbonat veya sodyum bikarbonat gibi gaz oluşturan ajanlar, gözenekli jel taşıyıcılar üretmek için formülasyona eklenir. Bu maddeler poroziteyi artırdığı için jel taşıyıcılar yüzey düzeni bozulabilir, düzensiz ve girintili çıkıntılı yüzey yapıları meydana gelebilir. Bu işlemin gerçekleşeceği şematik gösterim Şekil 2.4.’ te verilmiştir.



Şekil 2.4: İyonotropik jelleşme yöntemi ile nanopartikül/mikropartikül sentezinin şematik gösterimi [20].



Şekil 2.5: Damlatma sistemi [37].

Bu yöntem (Şekil 2.5) laboratuvar ölçekte üretiminin çok kolay olması sebebiyle çokça tercih edilmektedir. Hidrofilik veya hidrofobik, ısıya duyarlı akışkan veya viskoz, katı veya sıvı hemen hemen tüm içeriklerin bu metotla enkapsüle edilebilmesi gibi olumlu özelliklerinden dolayı sıkça tercih edilmektedir. Bu çalışmada da kullanılan bu metot aynı zaman süre tasarrufunun etkisiyle beraber çokça deneme yapılmasına da olanak sağlamıştır. Bu avantajlarının yanı sıra küçük miktarda kapsül elde edilmesi ne kadar kolay olsa da prosesin

büyük ölçeklerde yapılması hem zor hem de maliyetlidir. Ayrıca elde edilmiş olan kapsülller çok gözenekli olduğundan aljinat matriksinden suyun veya başka bir sıvının giriş çıkışı yoluyla difüzyonuna çok müsaittir. Son yıllarda geliştirilmiş olan şırınga-ekstrüzyon sistemi gibi hava jeti, elektriksel, potansiyel, ve titreşimli üniteler gibi bazı teknolojiler sayesinde yüksek miktarda aljinat tanecikleri üretilerek enkapsüle gıda ingrediyeni içeren aljinat taneciklerin ticarileştirilmesinin mümkün olabileceği belirtilmiştir [38].

2.2.2. İyonik Jelasyonda Kullanılan Doğal Polimerler

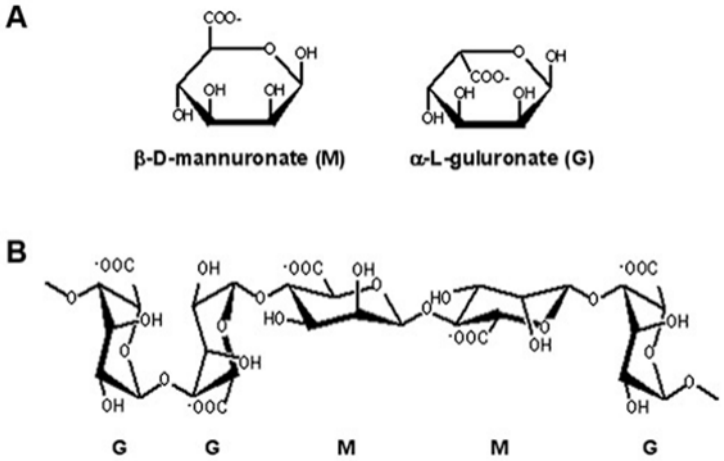
2.2.2.1. Aljinat

Sodyum aljinat (genellikle aljinat), β-D-mannuronik asit (M) ve α-L-glukuronik (G) asitten oluşan(Şekil 2.6), biyolojik olarak parçalanabilir ve biyouyumlu bir yapıya sahip doğal bir polisakkarittir. Aljinat suda çözünür ve çözeltide, anyonik asit gruplarının iki değerlikli veya çok değerlikli katyonlarla reaksiyona girerek çözünmeyen ağlar oluşturabildiği ağsı bir yapı oluşturur. Kalsiyum ve çinko tuzlarının, nanopartiküllerin ve mikropartiküllerin sentezinde aljinatla çapraz bağ oluşturur. 1883' te Kelp' te ilk kez keşfedilen sodyum aljinat birçok araştırmacının detaylı çalışmalarını konu edilmiştir. İncelenmeleri birçok çalışmalara kök salınmasına yardımcı olmuştur. Aljinat fiziki olarak hem kahverengi deniz yosununu gerçek adı Phaeophyceae' nın bileşenleri hem de bazı toprak bakterilerinin kapsüler polisakkaritleri olarak bulunmuştur. Doğada çok miktarda bulunan ve anyonik hidrofilik heteropolisakkaritlerdir. Aljinat içeren birkaç kahverengi deniz yosunu türü olmasına rağmen, ticari üretim için piyasada pek tercih sebebi değildir. Bu algler, karotenler ve ksantofillerle kaplı klorofil a ve c' den oluşan pigmentler içerir. Kahverengi renklerinden fikoksantin (ksantofil) sorumludur [39].

Aljinik asit olarak da adlandırılan aljinat, hidrofilik olan ve hidratlandığında viskoz bir sakız yapısı oluşturup kahverengi alglerin hücre duvarlarında dağılmasını sağlayan bir polisakkarittir. Sodyum ve kalsiyum gibi metallerle, tuzları aljinatlar olarak bilinir. Rengi beyazdan sarımsı kahverengiye kadar değişir. Sodyum aljinat, kahverengi deniz yosunlarından (özellikle *Laminaria*, *Macrocystis*, *Ascophyllum nodosum*) elde edilen doğal bir polisakkarittir.

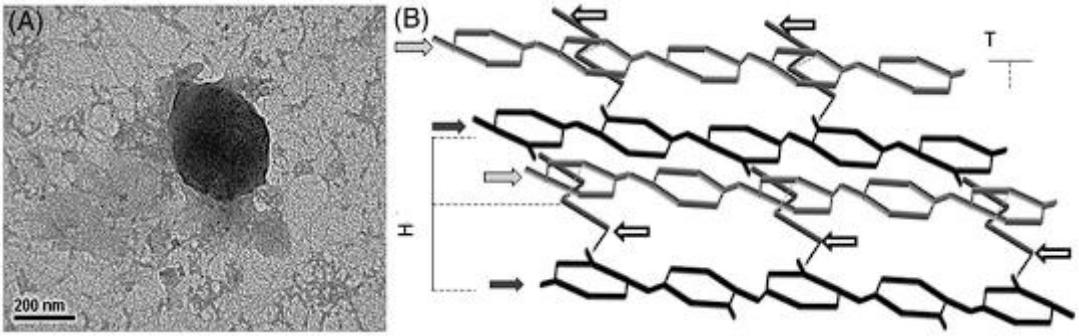
Suda çözünür ve jel oluşturma özelliğine sahiptir.Ana yapı taşı olarak iki tür üronik asit içerir bunlar; B-D-Mannuronik Asit (M) A-L-Guluronik Asit (G)' tir. Bu iki monomer, farklı oran ve sıralamalarla uzun zincirler oluşturur: Bu uzun zincirler aşağıdaki şekildedir.

Homopolimer bölgeler (MM veya GG) Heteropolimer bölgeler (MG veya GM)



Şekil 2.6: Sodyum aljinatın kimyasal yapısının gösterimi [40].

Bunun yanı sıra iyonik jelasyon yönteminde ilaç enkapsülasyonundaki uygulamalarda kitosan (CS) ve aljinat arasındaki fiziksel çapraz bağlanmanın tercih edilebilirliği gösterilmiş ve bu kompleks polimerler arasındaki etkileşimler, küçük anyonik türlerin CS ile kullanıldığı sistemlere kıyasla partiküllere daha yüksek stabilite kazandırdığı görülmüştür. Şematik olarak gösterimi Şekil 2.7.' de verilmiştir.



Şekil 2.7: (**A**) Fosfat tungsten asitle boyanmış bir CS-TPP nanopartikülünün mikrografı. (**B**) İyonotropik jelleşme yoluyla nanopartikül/mikropartikül sentezinde CS ve TPP arasındaki elektrostatik etkileşimlerin şematik gösterimi (Şema Kou-karas ve ark. tarafından bildirilen bilgilere göre oluşturulmuştur) [20].

Tablo 2.1: Farklı kahverengi deniz yosunu çeşitlerinden elde edilen aljinatların verimi (% kuru ağırlık) ve M/G oranı [41].

Deniz Yosunu Türleri	Toplama Yeri	Çıkarma Verimi	M/G Oranı	Kaynak
Sargassum asperifolium	Mısır Kızıldeniz kıyısı	12,0	0,69	[42]
Sargassum dentifolium	Mısır Kızıldeniz kıyısı	3,3	0,52	[43]
Sargassum duplicatum	Suudi Arabistan	32,5	0,86	[44]
Sargassum fluitans	Kuzeybatı Atlantik Okyanusu' ndaki Sargasso Denizi	21,1-24,5	0,52-0,57	[45]
Sargassum hemiphyllum	Guangdong Eyaleti	23,0	1,06	[46]

Deniz Yosunu Türleri	Toplama Yeri	Çıkarma Verimi	M/G Oranı	Kaynak
Sargassum henslowianum	Guangdong Eyaleti	17,8	0,82	[47]
Sargassum horneri	Dalian	11,5	0,64	[48]
Sargassum ilicifolium	Mısır Kızıldeniz kıyısı	4,3-17,2	0,25-0,82	[49]
Sargassum mangarevense	Tahiti, Fransız Polinezyası	9,3 ± 1,7	1,42 ± 0,24	[50]
Turbinaria ornata	Tahiti, Fransız Polinezyası	19,2 ± 1,3	1,25 ± 0,20	[50]
Turbinaria ornata	Hainan Adası	20,6	0,89	[50]
Sargassum mcclurei	Guangdong Eyaleti	23,6	1,4	[51]
Sargassum mikrofilumu	Tayvan	20,3-23,5	-	[52]
Sargassum miyabei	Qingdao	10,5-18,1	0,62-1,10	[53]
Sargassum oligocystum	Avustralya	16,3-20,5	0,49-0,62	[54]
Sargassum pallidum	Qingdao	10,4	1,26	[51]
Sargassum patens	Guangdong Eyaleti	16,0	1,59	[51]

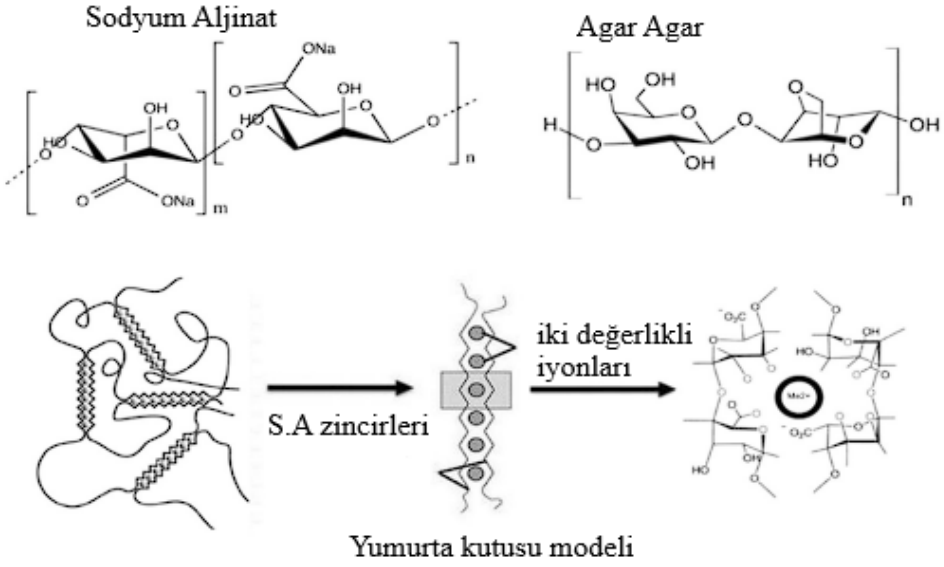
Deniz Yosunu Türleri	Toplama Yeri	Çıkarma Verimi	M/G Oranı	Kaynak
Sargassum polycystum	Güney Hindistan	17,1-27,6	0,56-0,74	[55]
Sargassum siliquastrum	Guangdong Eyaleti	18,1	1,13	[53]
Sargassum thunbergii	Qingdao	12,8	0,78	[53]
Sargassum vulgare	Suudi Arabistan	30,2	0,71	[56]
Turbinaria murrayana	Suudi Arabistan	40,1	1,09	[57]
Sargassum wightii	Hindistan	21,1-33,1	-	[58]
Sargassum natans	Gana	23 ± 1,6	0,6	[59]
Sargassum vulgare	Gana	17 ± 4,4	0,6 ± 0,1	[59]
Padina gymnospora	Gana	16 ± 0,7	1,5 ± 0,2	[59]
Padina antillarum	Gana	22 ± 1,1	1,5 ± 0,1	[59]
Zonaria	Madagaskar	10,2-30,0	0,41	[60]
Chnoospora	Madagaskar	9,2-50,8	0,51	[60]
Spatoglossum	Madagaskar	9,7-17,4	0,75	[60]

Deniz Yosunu Türleri	Toplama Yeri	Çıkarma Verimi	M/G Oranı	Kaynak
türü.				
Spatoglossum türü.	Madagaskar	22,0-30,5	0,68-1,09	[60]
Cystoseira compressa	Tunus	21,65 ± 1,5	0,77	[61]
Cystoseira humilis	Fas	5,43-19,21	1,46	[62]
Fucus vesiculosus	Quebec	16,2 ± 3,2	1,17	[63]
Ascophyllum nodosum	Quebec	24,0 ± 0,3	0,61	[63]
Saccharina longicruris	Quebec	20,0 ± 1,1	0,79	[63]
Laminaria digitata	Fas	35,2-51,8	1,12	[64]
Macrocystis pyrifera	Arjantin	33	1,17	[65]
Laminaria digitata	Fransa Atlantik Okyanusu	-	1,5	[66]
Sargassum vulgare	Brezilya	-	1,27	[67]
Sargassum turbinarioides Grunow	Madagaskar	10	0,94	[68]

Deniz Yosunu Türleri	Toplama Yeri	Çıkarma Verimi	M/G Oranı	Kaynak
Sargassum thunbergii	Kore	-	0,53	[69]

Genellikle kahverengi alglerin, deniz yosunlarının veya bazı bakterilerin hücre duvarlarından elde edilir. Tablo 2.1' de belirtildiği üzere alglerin aljinatlardan elde edilen verimlilikler belirlenmiştir. Aljinatın en belirgin özelliklerinden biri, iki değerlikli katyonların (Mg^{2+}, Ca^{2+}, Sr^{2+}, Ba^{2+} vb.) varlığında, sıcaklıktan neredeyse bağımsız şekilde çözücü-jel dönüşümü geçirebilmesidir. Bu özellik ile farklı amaçlarla hidrojel üretiminde yaygın biçimde kullanılmaktadır. Bu jelasyon süreci genellikle "yumurta kutusu (egg-box)" modeli ile açıklanır (Şekil 2.8). Model, iki değerlikli iyonlarla aljinat zincirlerindeki guluronik asit birimlerinin karboksil grupları arasındaki güçlü ve seçici etkileşimlere dayanmaktadır. Aljinat, jel oluşturma ve kıvam artırmanın yanı sıra stabilizasyon özellikleri sayesinde gıda endüstrisinden kültürel mirasın korunması ve restorasyona etkisi gibi birçok alanda kullanıma sahiptir. Ayrıca yüksek biyouyumluluğu ve biyobozunurluğu nedeniyle özellikle biyomedikal uygulamalara son derece uygundur. Örneğin, iyonik olarak çapraz bağlanmış aljinat hidrojellerinin doku yenilenmesinde, yara örtülerinde ve kontrollü ilaç salımı sistemlerinde başarılı şekilde uygulandığı gösterilmiştir. Egg-box yumurta kutusu modeli incelenek olursa; sodyum aljinat (Şekil 2.7) ile agar agar jelleşmesi için zincirlerin iyonların çevresini sarıp ortada tutması şeklinden kaynaklı yumurtaların kutuda bulunması gibi anlaşılabilir (Şekil 2.8).

Bu uygulamalarda aljinat hidrojellerinin mekanik dayanımı ve stabilitesi kritik öneme sahiptir; çünkü hem performansı hem de kullanım uygunluğunu doğrudan etkiler. Ancak aljinatın iyonik jelasyonu çok hızlı gerçekleştiği ve polimer derişimi, iki veya üç değerlikli iyon miktarı, çapraz bağlanma süresi, sıcaklık, nem gibi pek çok deneysel faktörden etkilendiği için, istenen özelliklerde ürün elde etmek çoğu zaman çok sayıda deneme gerektirmektedir.



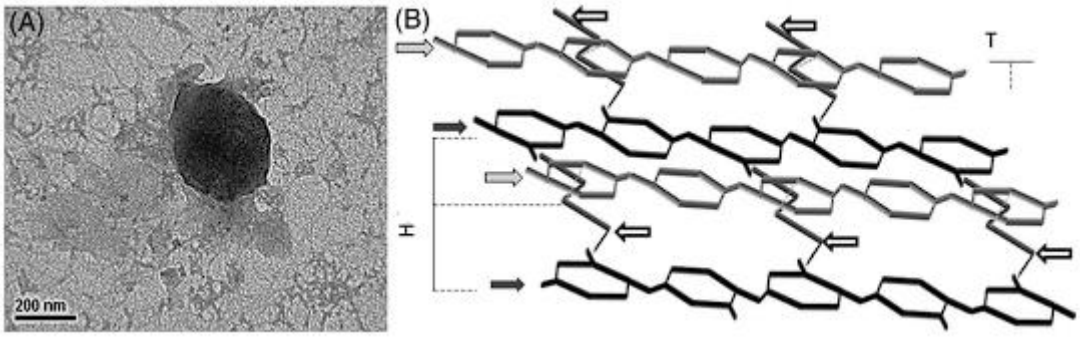
Şekil 2.8: Yumurta kutusu modeli gösterimi [40].

2.2.2.2. Kitosan

Kitosan, kitinin alkali koşullarda deasetilasyonu ile elde edilen doğal bir polisakkarit olan iyonik jelasyonda kullanılan bir doğal polimer olarak kullanıldığını ve aynı zamanda aynı anda da destekleyici bir destek polimeri olarakta değerlendirilebilir. Polimer zincirindeki β (1−4)-2-amino-2-deoksi-β-D-glukan ve β (1-4)-2-asetamido-2-deoksi-β-D-glukan monomerlerinin yüzdeleri, kitosanın deasetilasyon derecesini belirler. 2001 yılından beri kitosan, ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından Genel Olarak Güvenli Kabul Edilen (GRAS) bir madde olarak onaylanmıştır. Kitosan; biyouyumluluğu, bağışıklık tepkisine neden olmaması yani immünojenik olmaması ve aynı zamanda mukozaların yapışma özelliklerini ve cilt iritasytonlarına yol açmamalarına yarayan biyomedikal uygulamalarda da kullanılabilen özelliklere sahip doğal bir polimerdir.

Seyreltilmiş asitlerin varlığında kitosanın çözünürlüğü artmakta olup aynı zamanda polimer zincirlerindeki amin gruplarını da protonlar. Bu durum, kitosanın negatif yüklü türlerle elektrostatik etkileşime girmesini kolaylaştırdığı görülmüştür. Birçok polianyon kullanılmış olsa da toksik olmaması sebebiyle TPP (trifosfat), kitosanın jel oluşturmasında en çok kullanılan anyonik çapraz bağlayıcılardandır (Şekil 2.9).

Kitosandaki TPP oranı ve iki molekül arasındaki etkileşimler, nano/mikro partikül oluşumu için kritik öneme sahiptir. Tripolifosfat anyonları ile kitosan zincirlerindeki pozitif yüklerin etkileşimi iki farklı bağlanma konfigürasyonu üzerinden gerçekleşir.

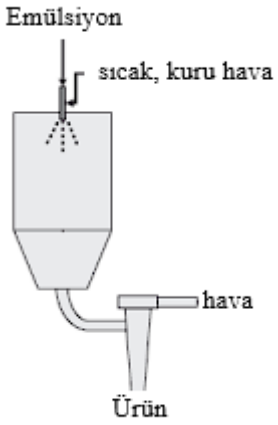


Şekil 2.9: H-bağı konfigürasyonu, bir TPP molekülünün (beyaz ok) yan yana yer alan iki kitosan zincirine (koyu gri oklar) bağlanmasını ifade eder. T-bağı konfigürasyonu, TPP' nin ikinci, dik konumlanmış bir kitosan zincirine (açık gri oklar) bağlanmasını ifade eder [20].

2.2.3. Püskürtmeli kurutma

Kullanılan bu metot enkapsülasyon metotları içinde en eski ve en yaygın metottur. Temsili gösterimi Şekil 2.10' de verilen bu yöntem; ekonomik, kullanışlı ve sürekli olması, işlem sonucunda iyi kalitede partiküller elde edilmesi nedeniyle gıda endüstrisinde sıklıkla kullanılmaktadır. Nişasta, maltodekstrin ve gamlar taşıyıcı malzeme olarak kullanılır [70].Aljinat, karboksi metil selüloz (CMC), guar gum ve kitosan gibi polisakkaritler sodyum kazeinat, peynir altı suyu protein, soya protein gibi proteinler de püskürtmeli kurutma yönteminde kaplama materyali olarak kullanılabilir ancak suda çözünürlüklerinin düşük olması ve pahalı olmaları bu yöntem için dezavantajdır [38]. Kaplanacak materyal taşıyıcı sistem ile homojenize edildikten sonra püskürtmeli kurutucuya verilir ve atomize döner başlığı sıcak hava ile temas eden su buharlaşırken, kapsüller kurutulur [71].

Bu metodun sonucunda kapsüllerin boyutu 10-100 mikrometre aralığındadır. Bunun dezavantajları ise; kullanılan suda çözünebilir kaplama malzemesi ve çeşitliliğinin kısıtlı olması, ayrıca ısıya duyarlı biyoaktif maddelerin yüksek sıcaklıkta kolaylıkla bozunmasına sebep olmasıdır.



Şekil 2.10: Püskürtmeli kurutma sisteminin temsili gösterimi[72].

Püskürtmeli kurutma kaplanacak aktif maddeyi içeren çözelti veya dispersiyonun atomizasyon prosesi ile sıcak-soğuk hava akışı ile temas damlacıkların kurutulması esasına dayanmakta olup, elde edilen parçacıklar genellikle küre şeklinde olup topolojisi kullanılan polimere dayanır. Molekülün tutulması ve salım profilleri polimerin uzunluğu ve aynı zamanda tipi modifiye edilerek optimize edilebilir [73].

Püskürtmeli kurutma yönteminin ısıya duyarlı olması biyoaktif maddeler için dezavantaj olmasına rağmen kurutucudaki süresinin kısa olması bu etkiyi minimuma indirmektedir [74].

Taşıyıcı olarak kullanılan malzeme hem aktif materyali koruma hemde suda çözünürlüğü yüksek olmalıdır. Moleküler ağırlığının yanı sıra camsı geçiş, kristalinite, difüzyon gücü ve iyi film(tabaka) oluşturma gibi özelliklerle beraber düşük maliyetli olmalıdır [72].

2.2.4. Koaservasyon

Bir veya birden fazla hidrokolloidin başlangıç çözeltisinden faz ayrımı ve yeni oluşan koazervat fazın aktif ingrediyen etrafında aynı reaksiyon ortamında süspanse veya emülsifiye olmasıdır. Kolloid jelatin gibi maddenin yanısıra gam akasya (arabik) kombinasyonu da kullanılabilir [70]. Pahalı bir enkapsülasyon metodu olan koaservasyon, polifenoller gibi dayanıksız fakat yüksek değerli biyoaktif maddelerin enkapsülasyonunda kullanılabilmektedir [70].Bu metodun diğer yöntemlerine göre avantajı; vitaminler, koruyucular ve enzimler içinde

kullanışlı bir metottur. Bunun yanı sıra ticarileştirilmesinin pahalı olması ve karmaşık bir proses olması gerekçesiyle ikincil kaplama materyali olarak pek çok ülkenin yasal düzenlemesinde kullanımı kısıtlı olan gluteraldehit kullanımı gerektirmesi gibi bazı problemler vardır [38].Basit modelinde tek tip polimer kullanılırken kompleks olanında iki veya zıt yüklü birden fazla polimer kullanılır. Koaservasyon çevresel faktörler aracılığıyla başlatılmaktadır [73].

2.2.5. Dondurarak kurutma

Bu metot aynı zamanda liyofilizasyon olarak da bilinen ısıya duyarlı bileşenlerin dehidrasyonunda kullanılan bir metottur. Numune -90 ile -40 °C' ye dondurulur ve düşük basınç ile düşük sıcaklık altında süblimleşme yoluyla kurutulur. Bu metotta aktif bileşen ve taşıyıcı malzeme suda çözünür ve delikli yapıda dondurarak kurutulmuş ürünler elde edilir. Liyofilizasyonun dezavantajları; yüksek enerji kullanımı ve uzun işlem süresi gerektirmesi, göreceli olarak pahalı bir yöntem olmasından kaynaklı ve açık delikli yapıda kapsüller elde edilmesi sebebiyle iyi bariyer özellikleri taşımamasıdır. Buna istinaden suda çözünen bileşenler, doğal aromalar ve ilaçların enkapsülasyonu için basit bir teknik olması sebebiyle ısıya duyarlı biyoaktiflerin avantajlı olması tercih edilme sebeplerindedir [70].

Genel olarak bu metotların kendi aralarındaki nihai avantaj/dezavantaj gösterimi Tablo 2.2' de verilmiştir.

Tablo 2.2: Enkapsülasyon yöntemlerinin avantajları ve dezavantajları [37].

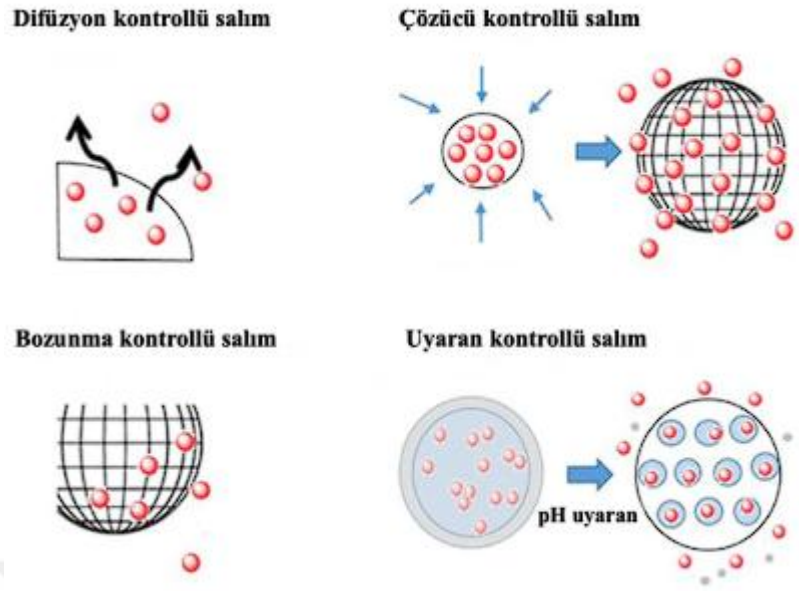
Özellik	Püskürtmeli Kurutma	Ekstrüzyon	Emülsiyon	İyonik Jelasyon
Büyütülmesi	Kolay	Daha zor	Kolay	Küçük ölçekte kolay/endüstride sınırlı
Kapsülasyon İşlemi	Basit	Basit	Daha zor	Basit ama sınırlı
Kaplama materyalinin farklılığı	Çok	Az	Çok	Sınırlı
Şekil ve genişlik	Üniform/küçük	Üniform/büyük	Üniform değil/ Küçük	Küçük küresel
Mikroorganizmaların canlı kalması	Taşıyıcı ve sıcaklığa bağlı	Yüksek	Yüksek	Yüksek

2.3. KONTROLLÜ SALIM

İlaç salım sistemleri, kullanılan ilacın yan etkilerini ortadan kaldırmak, hedeflenen doku dışında başka bölgelere gitmesini önlemek, ilacın stabilitesini korumak ve kan dolaşımı olmayan bölgelere ilacın ulaşmasını sağlamak için kullanılır [75]. Çalışmada kullanılan kontrollü salım sistemi de aslında bu sebeple kullanılmış olup etken maddenin ilgili bölgeye belirli bir sürede ve istenilen verimlilikte etki etmesini sağlamaktır. Kontrollü salım belli bir kimyasalın malzeme veya cihazdan salım süresini, salım oranını veya her ikisini de kontrol etmeyi ifade eder. İlk kontrollü salım formülü (dekstroamfetamin) Smith Kline ve French tarafından 1952 yılında tanıtılmıştır. Difüzyon, dissolüsyon, ozmoz ve iyon değiştirme gibi farklı ilaç salım mekanizmaları 1970' lerin sonlarına doğru ortaya çıkmıştır. Kontrollü ilaç salım sistemleri ve "akıllı" polimerler, hidrojeller, pH, sıcaklık veya çevresel faktörlerdeki değişikliklerle tetiklenen salım sistemlerinin araştırmalarına öncelik verilmiştir. Böylece dönemin son on yılında ise nanoteknoloji temelli ilaç salım sistemleri geliştirilmeye

çalışılmıştır. Kontrollü salım genel olarak ilaç salım sistemlerinde bir amaca bir bölgeye yönelik etken edecek maddenin en düşük dozda en yüksek etkiyi gösterebilecek ve en uygun, optimum şartlarda sağlanması işlemidir. Kontrollü ilaç salımının kullanılmasından önce tüm farmasötikler hap veya kapsül formlarında üretilip kullanıyordu. Bu formlar gastrointestinal sıvı ile temas ettiği zaman çözünür ve bağırsak duvarından geçer ardından kılcal damarlar aracılığıyla kan dolaşımına emilirdi. İlaç salım kinetiğini kontrol etme imkanı yoktu. Rhazes ve İbn-i Sina, kaplama teknolojisini buldu ve bu sayede kaplama yöntemleri kullanılarak ilaç salım hızlarını değiştirmiş oldular. Bu yaklaşım 10. yüzyılda altın, gümüş ve inci kaplı tabletler şeklinde kullanılmıştır.

Kontrollü ilaç salım sistemi, ilacın etkinliği ve güvenliğini sağlamanın yanısıra vücudun uygun bölgesine ya da hedef bölgeye uygun bir terapötik dozda salım yapılmasını sağlamaktadır. Böylece ilacın aktivite süresinin uzaması ve yan etkilerin azalması, uygulama sıklığının azalması gibi birçok etkiye olanak sağlamaktadır. Temel hedeflerinden biri kandaki ilaç derişimini terapötik aralıkta tutmaktır. Bu nedenle ideal olan yaklaşım düşük dozlama sıklığı bulunan kontrollü ilaç salımı sağlayan ilaç etken maddelerini geliştirmektir. Bu çalışmada kullanılmış olan amoksisilin ve doksisiklin etken maddeleri bunlara birer örnektir. İlaç salımı; difüzyon kontrollü, çözücü kontrollü, bozunma kontrollü ve uyaran kontrollü olmak üzere 4 farklı salım şeklinde gerçekleşir. Bunlar Şekil.2.11’ de gösterilmiştir.



Şekil 2.11: İlaç salım mekanizmalarının gösterimi [76].

İlaç salım sistemlerinin kullanım amacı;

- ilacın etki süresini uzatmak ve biyoyararlanımının arttırılmasını sağlamak,
- hedefleme ile ilacın degredasyonunun ve kaybının en aza indirilmesini sağlamak,
- ilacın olumsuz yan etkilerinin önlenmesini sağlamak,
- önerilen ilaç rejimine hastanın uyumunu sağlayacak şekilde dozlama sıklığının azaltılmasını sağlamak,
- plazma seviyesindeki ilaç derişim dalgalanmalarının en aza indirilmesi ve kısa yarılanma ömürlerine sahip uygulama kolaylıklarının sağlanması gibi amaçları vardır.

Difüzyon kontrollü ilaç salımı, ilacın çözündüğü yerin çekirdekte veya dağıldığı kapsüle benzer sistemlerde sağlandığı salım sistemleridir. Derişim farklılığından kanaklanan ilacın difüzyonu bu durumda ilaç orta kısımda çözünüp daha sonra yayılma meydana gelir. Matriks tipi sistemler ile gerçekleşen bu salım türü genellikle yüksek bir başlangıç salım değerine sahiptir buna istinaden zamanla taşıyıcı içindeki ilaç molekülünün difüzyon mesafesi arttıkça

salım oranı gittikçe azalmaktadır. Çözücü kontrollüde ise ozmotik ve şişme kontrollü salımı içerir Yarı geçirgen bir polimer membran ile desteklenmiş taşıyıcılarda meydana gelen ozmotik kontrollü salım, su molekülleri düşük ilaç derişimine sahip ortamdan yükseğe sahip olanın merkezine taşınır. Bu sistemin sonucu olarakda sıfırıncı mertebeden kinetiğe sahip ilaç salımı gerçekleşmektedir. Şişme kontrollüde ise ağ yapısının ilaç salım hareketlerini kontrol ettiği, hidrojel gibi üç boyutlu çapraz bağlı bir yapıya sahip polimerden oluşur.

Bozunma kontrollü çeşidinde ise poliamidler, polisakkaritler ve poliesterler gibi biyolojik olarak bozunabilen polimerlerden oluşan ilaç taşıyıcı sistemleri, amid ve ester bağlarını hidroliz eden enzimler aracılığı sayesinde serbest bırakmış olur. Çeşitli polimerlerden oluşan matriks bozunmaya uğradıktan sonra kütle aşınması gerçekleşir. Buna istinaden polimeriklerden hazırlanmış olan matriks, yüzeyden merkeze doğru aşınan ve suyun polimerik matriks içerisine difüzyonundan daha hızlı bir şekilde polimerin bozulmasına sebebiyet verir [77].

2.3.1. İlaç Taşıyıcı Sistemler

Farmasötik ve biyoteknolojik alanlarda ilacın etki göstereceği ve aynı zamanda yapıya taşınması ana problemlerdendir. Bu sebeple ilaç taşıyıcı sistemler her zaman araştırmacıların ilgi odağı olmanın yanı sıra aynı zamanda çok fazla farklı polimerler kullanılarak karşılaştırma konularına da dâhil olmuştur. Biyoteknolojide elde edilen gelişmeler ve bu alanla ilişkili diğer bilim dallarında da yapılan yeni ilaçların keşfine ve bunların rasyonel olarak tasarlanmalarına yardımcı olmaktadır. Bu alanlarda yapılan çalışmalar sayesinde birçok spesifik ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir. Yapılan bu gelişmeler sayesinde de hedeflenen bölgeye etki etmesi amaçlanan sistemler geliştirilmiştir. Bu alanlardan biri olan nanoteknoloji alanında ilaç taşıma sistem ugulamaları bulunmakla beraber nanoteknolojik araştırmalarda ulaşılan gelişmeler sonucu klinikte birçok uygulaması bulunan nanopartiküller ilaç sektöründe de doğrudan etken maddeye bağlanma, hapsetme ve hedeflenme gibi uygulamalarda pratik kullanım göstermesi tercih edilen bir sebep haline gelmiştir. Ayrıca ilaç taşıyıcı sistemlerde uygulama potansiyeline sahip olması nedeniyle sağlık alanında hızlı ve etkili bir gelişim göstermektedir.

İlaç taşıyıcı sistemlerde kullanılan etkin maddelerin parçalanması ve kaybı en aza indirilirken, ayrıca zararlı yan etkileri önlemek ve biyoyararlanım etki oranları arttırma çalışmaları yürütülmüştür. Yapılan bu çalışmalar sayesinde de çeşitli etken madde salım sistemleri ve hedefleme sistemleri gibi sistemleri de geliştirmiştir. Örneğin; lipozomlar, nanopartiküller etken madde polimer konjugatları ve polimerik miseller bunlardan bazılarıdır. Lipozomlar; büyüklükleri nanometre ve birkaç mikrometreye kadar değişim gösteren fosfolipid çift katman yapılı, biyouyumluluğu yüksek geri dönüşümlü kesecikli sistemlerdir. Lipozomların katkısı ile zayıf çözünürlük ve biyoyararlanım, ilaçların kısa yarılanma ömrü gibi güçlü yan etkileri de azaltılarak bu etkilerden kurtulunmuştur. Günümüzde bilim insanları tarafından ilaçların toksisite ve yan etkilerini azaltmak amacıyla lipozomlar kullanılmaktadır.

Miseller, hidrofobik gruplardan oluşan bir çekirdek ve hidrofilik polimer zincirlerinin oluşturduğu bir korona yapısından meydana gelen küresel partiküller olarak tanımlanabilir. İlaç taşıyıcı sistemler olarak kullanılan miseller düşük çözünürlükteki etken maddeleri çözmesinden kaynaklı biyoyararlanım artar. Bu sayede hedeflenen alana etken maddenin ulaşmasını sağlamak ve vücutta yeteri kadar uzun sürede kalabilmektedir. Nano boyutlarda olan miseller, spesifik ligandlarla birleştiği zaman istenilen bölgeye kolaylıkla hedeflendirilir. Böylece kolay ve tekrarlanır şekilde büyük miktarda üretim gerçekleşebilir. İlaç taşıyıcı sistemler içerisinde bulunan etken maddeyi biyolojik ortamdaki inaktivasyondan korur ve böylece istenmeyen yan etkiler ortaya çıkmamış olur.

2.3.1.1. Polimer Kullanımı

Aynı ya da farklı moleküllerin kimyasal bağlar ile düzenli bir şekilde bağlanmaları sonucu uzun zincirli ve yüksek molekül ağırlıklı bileşikler oluşur. Oluşan bu yapılar ise polimer olarak adlandırılır. Kontrollü salım sistemlerinin kullanımı bu polimerlerin gelişmeleri ile mümkün olmuştur. Teknolojik gelişmeler sayesinde kontrollü salım sistemlerinde aranan özelliklere sahip yeni polimerler elde edilmeyle beraber gelişen sentezleme yöntemleri sayesinde sentelenen polimerlerin kalitesi de arttığı görülmüştür. İlaç taşıyıcı sistemlerinde kullanılan polimerlerle ilgili sınıflandırma Tablo 2.3’ te verilmiştir.

Tablo 2.3: Polimerlerin sınıflandırılması [78].

Polimerler	Polimer Grupları	Numuneler
Doğal ve biyolojik olarak parçalanabilenler	Proteinler	Albumin, Kolajen, Jelatin, Sığır ve İnsan Serum Albuminleri (BSA ve HSA)
	Polisakkaritler	Selüloz, dekstran, kitosan, Kondroitin sülfat, aljinat Nişasta, hiyaluronik asit
Sentetik ve biyolojik olarak parçalanabilenler	Poliamidler	Poliamino asit, polipeptid
	Polyesterler	Poli(laktik asit) Poli(glikolik asit) Poli(laktik-ko-glikolik asit)* Poli(kaprolakton) Poli(dioksanon) Poli(hidroksibütirat)
	Polianhidridler Poliortoesterler Polifosfoesterler	Polifosfat, polifosfonat, polifosfit
Sentetik ve biyolojik olarak parçalanamayanlar	Silikon elastomerler Poli(etilen-ko-vinil asetat) Poliakrilatlar	Poli(metil metakrilat)

2.3.1.2. İmplante Edilebilen İlaç Taşıyıcı Sistemler

İmplante edilebilen, kontrollü salım sistemleri olarak da tanımlanabilir. Bu tanımlamadaki her teknik özellik, implante edilebilen ilaç taşıyıcı sistemlerde de kullanılır. Teknik özelliklerine göre hız programlı, aktivasyon kontrollü, geri besleme kontrollü ve spesifik dokuya hedeflenme yapan ilaç taşıyıcı sistemler ayrı ayrı bulunmaktadır. Hız programlı sistemlerde etkin madde moleküllerinin salımı önceden programlanır. Etkin madde moleküllerinin içindeki veya dışındaki salımını, difüzyonu kontrol edebilen sistemler sağlar. Bu sayede polimer matris difüzyon kontrollü sistemler, polimer membran geçiş kontrollü sistemler, polimer membran-matris hibrid tip sistemler ve mikrorezervuar partisyon kontrollü sistemleri örnek olarak söylenebilir. Aktivasyon kontrollü ilaç taşıyıcı sistemleri etken madde salımı fiziksel, kimyasal veya biyokimyasal etmenlerle dışarıdan enerji verilerek hızlı şekilde aktive edilir. Salım hızı uygulanan işlemde veya enerji girdisinin düzenlenmesi sayesinde kontrol edilir. Sınıflandırma olarak ozmotik basınç, buhar basıncı, hidrodinamik basınç, mekanik kuvvet, manyetik kuvvet, hidrasyon gibi fiziksel faktörlerle etken madde salımını aktive etmiş sistemlere denir. Kimyasal faktörlerle aktive olan sistemler ise kimyasal reaksiyonlar sayesinde gerçekleşir. Hidroliz sonucu aktive olan taşıyıcı sistemleri bu grupta yer alır. Etken

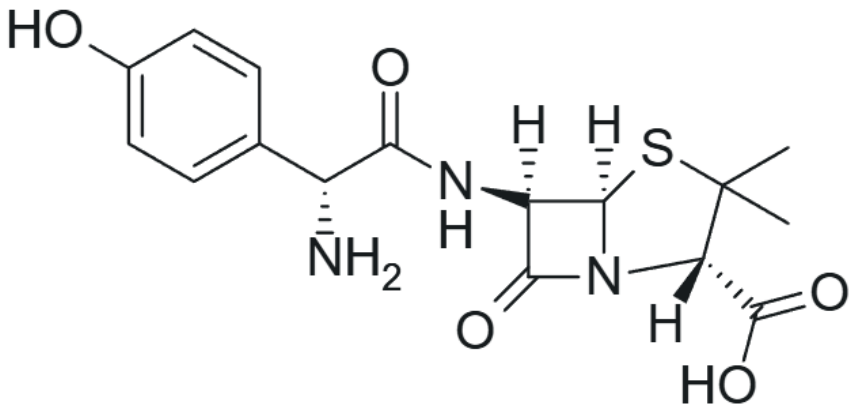
maddenin salım hızı, biyodegradasyon hızı, polimer bileşimi ve molekül ağırlığı ve sisteme yüklenen madde miktarı ve etkileşimi sayesinde belirlenir.

Geri Besleme kontrollü sistemler ise salımı bir geri besleme mekanizmaları sayesinde vücutta biyokimyasal madde gibi tetikleyici ajan olacak şekilde aktive edilir. Tetikleyici ajanın etkisiyle taşıyıcı sistem şişer ve degradasyon gerçekleşir ve salım tamamlanır.

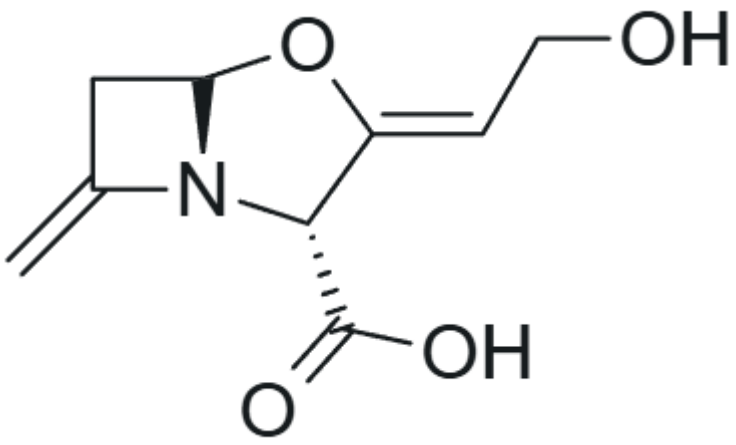
2.3.2. Etken Maddeler

2.3.2.1. Amoksisilin

Amoksisilin, suda çözünür bir antibiyotiktir ve aljinat ile enkapsülasyonu, özellikle mide ortamında stabilitesini artırmak ve kontrollü salım sağlamak amacıyla tercih edilir. Amoksisilin (AMOX), penisilin grubuna ait β-laktam antibiyotikleri içerisinde en sık kullanılan ilaç etken maddedir. Genellikle AMOX için sıkça kullanılan olan AMOX + Klavulanik asit kombinasyonu antibiyotik bir preparatdır. Bu sayede Klavulanik asit AMOX' un beta-laktamaz üreten bakterilere karşı etkili olmasında yardımcı olur. Klavulanik asit beta-laktamaz inhibitörü olarak literatürlerde geçerken AMOX ise bir beta-laktam antibiyotik olan penisilin türevidir [79]. Şekil 2.12 ve 2.13' te AMOX ve Klavulanik asitin kimyasal yapıları ve bileşimi belirtilmiştir.



Şekil 2.12: AMOX' un kimyasal yapısının gösterimi.



Şekil 2.13: Klavulanik asitin kimyasal yapısının gösterimi.

AMOX ve klavulanik asitin bileşimleri ise amoksisilinin penisilin grubu bir antibiyotik, klavulanik asitin ise Beta-laktamaz inhibitörü şeklinde tanımlanır. In vitro salım çalışmaları, amoksisilin salımının genellikle ilk düzey kinetiği izlediğini göstermektedir. Salım hızı, aljinat konsantrasyonu, kalsiyum klorür oranı ve etken madde yükleme miktarına bağlı olarak değişir. Amoksisilin-klavulanik asit dünya genelinde çok sayıda endikasyonda kullanılan geniş spektrumlu antimikrobiyal bir ajandır fakat aynı zamanda ilaç ilişkili hepatotoksisite ile en sık ilişkilendirilmiş antibiyotiktir [80].

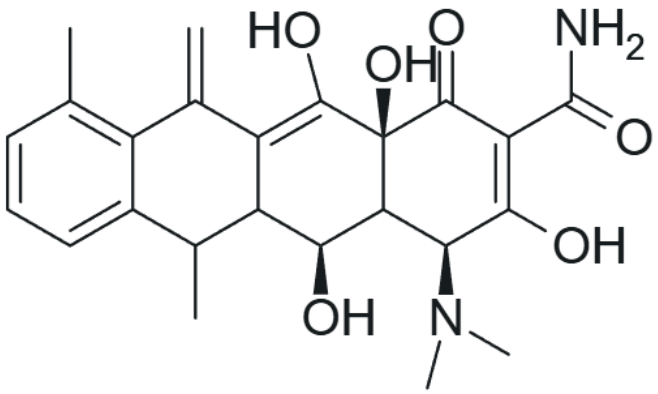
2.3.2.2. Doksisiklin

Doksisiklin, asidik ortamda bozunabilen bir antibiyotiktir. Aljinat bazlı hidrojel mikropartiküller, bu etken maddenin stabilitesini artırmak ve kontrollü salım sağlamak için kullanılır. Bu çalışmada etken madde olarak kullanılan doksisiklin hiklat, geniş spektrumlu bir tetrasiklin antibiyotik olup asidik ortamda bozunmaktadır. Tetrasiklin türevi olan bu etken maddenin suda çözünürlüğü orta seviyede olup bu özellik açısından AMOX' dan zayıftır. pH duyarlılığı açısından ise asidik ortamda bozunmasından ötürü yüksek pH' larda çalışılması gereklidir.

Ticari adları; Adoxa, Alodox, Atridox, Avidoxy, Doksin, Doryx, Doxoral, Doxyhexal, Doxylin, Microdox, Monodox, Oracea, Oraxyl, Periostat, Tetradox, Vibramycin, Vibra-Tabs, Vibrox. olarak piyasada bulunmaktadır. Kimyasal adı ise Doksisiklin hiklat (DOX)

(4S,4aR,5S, 5aR,6R,12aS) - 4 - (dimetilamino)-3,5,10,12,12a-pentahidroksi-6-methil-1,11-diokso-1,4,4a,5,5a,6, 11, 12a-oktahidrotetrasene-2-karboksamid monohidroklorür, etil alkol ile bileşik (2:1), monohidrat şeklindedir (Şekil 2.14) [81].

Tablo 2.4' te AMOX ve DOX etken maddelerinin arasındaki farklar verilmiştir.



Şekil 2.14: Doksisiklinin kimyasal yapısının gösterimi.

Tablo 2.4: AMOX ve DOX etken maddelerin özellikleri arasındaki farklar.

Özellik	AMOX	DOX
Suda Çözünürlük	Yüksek	Orta
pH Duyarlılığı	Mide asidinde kısmen kararsız	Asidik ortamda bozunabilir
Yapı	B-laktam (penisilin türevi)	Tetrasiklin türevi
Kullanım	Geniş spektrumlu antibiyotik	Geniş spektrumlu antibiyotik

2.3.3. Kullanılan Maddeler

2.3.3.1. Sodyum Aljinat

Sodyum aljinat kimyasal yapı olarak aljinat B-D-mannuronik asit (M) ve A-L-gluronik asit (G) gibi fonksiyonel bileşenlerine ayrılabilen, düşük maliyetli, biyouyumlu ve biyoparçalanabilir lineer bir polimerdir. Tablo 2.5' te üretici firması ve CAS numarası verilmiştir. Yapısındaki G ve M kısımları heterojen ya da homojen bölümler olarak rastgele

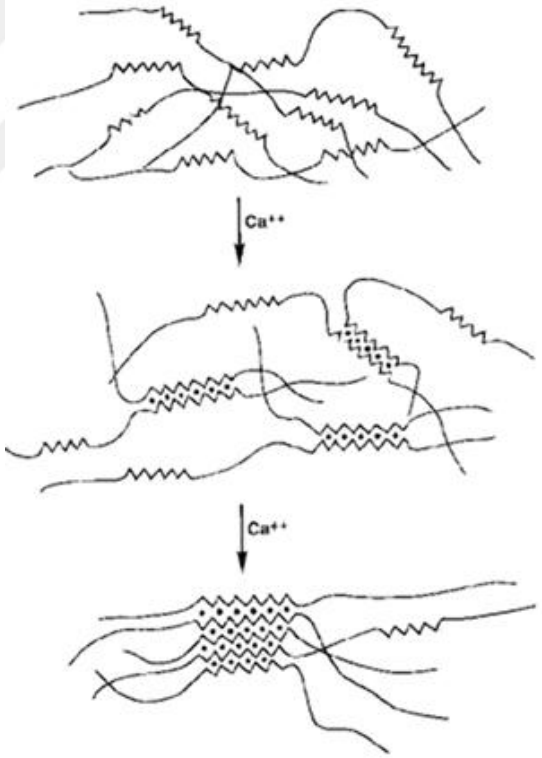
olabilir, dağılımı ve kimyasal yapısı elde edildiği kaynağa göre farklılık gösterebilir. Aljinat molekülü, bileşimindeki üronik asit arasındaki bağlarından kaynaklı, selüloz gibi B 1,4 olarak belirtilmiştir [82]. L-guluronat kalıntısı isimlendirilmeden önce, D-mannuronat, aljinatın ana bileşeni olarak bilinir ve kabul edilirdi. Manganez ve kalsiyum tuzları ile fraksiyonel çöktürme ile ileri zamanlarda, aljinatların aslında blok kopolimerler olduğunu ve guluronatın mannuronata oranının doğal kaynağı ile beraber değiştiği gözlemlenmiştir [83]. Çeşitlenmemiş ikili kopolimer familyasından olan aljinatlar, değişen bileşimi ve bölümü, (1,4) bağlı B-D-mannuronik asit (M) ve onun C5 epimeri olan A-L-gluronik asitten (G) oluşmakta, polimer zincirinde M blokları, G blokları ve MG bloklarının uzun zincir bağlantılar ile bağlanması da olduğu durumlar vardır [84]. Aljinatın artık (1,4) -B-D-mannuronik (M) ve A -L-guluronik (G) bloklarını içeren kopolimerler ailesi olduğu bilinmektedir [85].

Sodyum aljinat uygulama alanları olarak gıda sektöründe kullanılmakta olup, son yıllarda biyomedikal alanda da uygulamaları artmıştır. Polimer yapıdaki aljinatlar biyouyumluluğu ve biyodegredasyon yeteneği ile doku mühendisliğinde, tıp ve farmasötik alanlarında da kullanımı görülmektedir [86].

Aljinatın farmasötik kullanımı veya uygulanımı çalışmamıza konu olmuş ve onu ilerleyen aşamalarda etken maddeler ile etkileşimler ve farklı çözeltilerin içersine damlatılarak jel oluşumunun sağlamasında incelenmiştir. Aljinat jelleri, moleküler ağırlığı yüksek olmayan ilaçların salımlarında ilaç ile aljinat arasındaki birincil veya ikincil bağın ilaç salım kinetiklerini düzenlediğinden sıkça tercih edilir [87]. Tipik olarak nano porlara sahip olan aljinat jeller küçük moleküllerin jel boyunca hızlı difüzyonunu sağlamaktadır. Bununla birlikte hem kalsiyum iyonları hem de adipik asit olarakta geçen $C_6H_{14}N_4O_2$ ile kısmen oksitlenmiş aljinattan oluşturulan tanecikli yapılara katılması ile artan çapraz bağların sayısının sıklığı nedeniyle uzun süren bir salıma neden olduğu bildirilmiştir [88].

Şekil 2.15’ te aljinat molekülünün kalsiyum katyonu ile etkileşimi sonrası oluşan egg-box modeli gösterilmiştir. Bu modelden de görüleceği ve çalışmanın ilerleyen kısımlarında da bahsedileceği üzere kalsiyum tuzlarının, çalışmada kullanılan $CaCl_2$’ nin aljinat için en etkili ve jelleşmesi için etkili bir kalsiyum tuzu olduğu görülmüştür. Bunun sebebi aljinatın yapısında bulunan divalent katyon ve G gruplarının arasında özel ve kuvvetli etkileşimi olup bu etkileşimi en iyi tanımlayan model olarak Egg-box modeli benimsenmiştir. G- blokları

diaksiyel bağlarla birleşmelerinden kaynaklı yığıntılı bir yapı gösterir ve bu sayede pozitif divalent katyonların bağlanma durumu ile etkili bir yapı oluşturur [89]. Yüksek M bağına sahip aljinatlardan (M/G > 1) elde edilen jeller elastik ve yumuşak kaygan yapıdadır; buna istinaden daha düşük M/G oranına sahip aljinatlardan (M/G < 1) elde edilen jeller birbiri arasında daha sıkı bir yapı olup bu sebepten ötürü sert ve kırılgandır. Çalışmada oluşturulan jeller ise daha yumuşak bir yapıya sahip kaygan yapıya sahiptir. Zincir sertliği sırası MG < MM < GG şeklindedir. Düşük molekül ağırlıklı ve yüksek G bağı içeren aljinatlardan hazırlanmış olan jeller, kapsülleme işlemi için en güçlü ve en uygun jellerdir; bu tür jeller probiyotikleri daha çok korumak için amaçlanıp bu şekilde uygulanmıştır. Jel gücü ayrıca aljinatın iki değerlikli katyonla etkileşme derecesine ve iyonik yarıçapa da bağlıdır. Çalışmada da Ca^{2+} kalsiyum iyonları G- ve MG- bloklarına bağlandığından bu nedenle güçlü bir jel yapı oluşturur [90]. Aljinatların jel dayanımları 10,97 ile 15,51 N/cm^2 aralığındadır [91].



Şekil 2.15: Aljinat molekülü ve kalsiyum katyonunun etkileşimi, yumurta kutusu (egg-box) modeli ve jel oluşumu [92].

Tablo 2.5: Sodyum aljinat ticari özellikleri.

CAS-No	Üretici Firma	Toplam Miktar (NET)
9005-38-3	Sigma Aldrich	1 kg

2.3.3.2. Kalsiyum Klorür

Kalsiyum klorür 15.yy' da keşfedilmiş olup ancak 18.yy' ın sonunda ilgi görmeye başlamış ve üzerine çalışmalara başlanmıştır. İlk çalışmaların tamamı laboratuvarda hazırlanan numuneler ve setlerde yapılmıştır. Bunun nedeni ticari ölçekte üretimi, soda külü üretimi için amonyak-soda prosesi devreye girene kadar gerçekleşmemiştir. Kullanım alanları keşfedilmeye başlayana kadar ise atık ürün olarak bile kabul gördüğü olmuştur. Kalsiyum klorürün özellikleri Tablo 2.6' da verilmiştir.

Tablo 2.6: Kalsiyum klorürün özellikleri.

$CaCl_2$	Kalsiyum Klorür
Molekül Ağırlık/Molar kütle	110,98 g/mol
Yoğunluk	Susuz : 2,15 g/cm^3
Kaynama Noktası	1935 °C
Erime Noktası	772 °C

2.4. İSTATİSTİKSEL DENEYSEL TASARIM

2.4.1. Yanıt Yüzey Metodu

Yanıt yüzey metodu, "Denemelerin optimum koşullara ulaşması" ismi ile 1951 yılında Box ve Wilson tarafından geliştirilmiştir. İlk olarak kimya endüstrisine uygulanan bu metot Myers

ve Montgomery, proseslerin geliştirilmesi, optimizasyonu için gerekli istatistiksel ve matematiksel tekniklerin beraber kullanıldığı bir yöntem olarak tanımlamıştır [93]. Yanıt yüzey metodolojisi (Reponse Surface Methodology, RSM), bir deneysel düzenekte birden fazla bağımsız değişkenin bir ya da daha fazla bağımlı değişkene etkinlerini incelemek ve bu etkileri matematiksel bir modelleme yaparak ifade etmeye ve düzenek için optimum koşulları belirlemek amacıyla geliştirilmiş bir istatistiksel metottur. RSM' nin temel prensibi deneysel verilerden elde edilmiş sonuçlar yardımıyla, değişkenler ile yanıt arasındaki ilişkiyi açıklayan ampirik bir modelin kurulmasıdır. Bu model çoğunlukla ikinci dereceden özel tanımlı fonksiyon şeklinde ifade edilir. Model çoklu regresyon analizi yardımıyla oluşturulup bir faktörün ana etkisinin yanıt faktöründe nedenli bir etkiye sahip olduğuna denklemler vasıtasıyla karar vermektedir. Öncelik olarak etkilerin düzeylerini belirlemek daha sonra deney tasarımı, regresyon ve optimizasyon teknikleri iç içe kullanılır. İkinci dereceden bir denklem oluşur bu denklem Denklem 2.1' de verilmiştir.

$$y = \beta_0 \sum_{i=1}^{k} \beta_i x_i + \sum_{i=1}^{k} \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^{k} \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \qquad \textbf{(2.1)}$$

Y: yanıt değişken

X (i' den k' ya): bağımsız değişkenler

β: regresyon katsayıları ve ε ise rastgele hata terimidir.

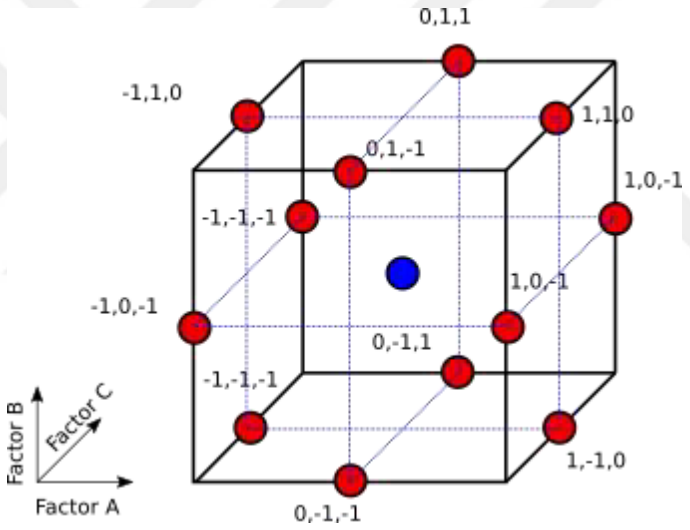
Genellikle RSM' de yanıtlar, en büyük, en küçük ve hedef olarak çıkarılır. Burada en büyük, maksimum yanıt değişkenine ulaşmak, en küçükte minimum ve hedefte ise yanıt değişkenini hedef değer yapan kontrol değişkenlerinin düzeylerini veren X^2 değerini bulmaktır.

Yanıt yüzey çalışmalarının hedefleri arasında yanıt değişkenin gelecekteki değerlerinin doğru olarak belirlenebilmesi için yanıt dğeişkeni ile girdiler arasındaki bağıntıyı belirleyecek uygun bir modelin tespit edilmesi, problemin türüne bağlı olarak da maksimum veya minimum değerinin araştırılması ve bunu sağlayabilecek girdilerin tespiti bu sisteminin altında yatan beklenti olarak söylenebilir [94]. Deneysel sistemin davranışını tanımlayan matematiksel bir modelleme oluşturmak ve bağımsız değişkenlerin yanıt üstündeki önemini belirlemek ve yanıtın optimum koşullarını tahmin etmekte hedefleri arasında olduğu söylenebilir. Varyans analizi (ANOVA) kullanılarak istatistiksel olarak modelin anlamlılığını, hangi terimlerin yanıt

üzerinde önemli etkiler oluşturduğunu ve modelin deneysel verilerle nedenli uyumlu olduğunu gösterir. RSM, birçok alanda yaygın olarak kullanılmakla birlikte, özellikle proses optimizasyonu, formülasyon gelişimi ve deneysel maliyetleri düşürmesi sebebiyle kullanım tercihi olmuştur.

2.4.2. Box-Behnken Tasarımı

Box-Behnken tasarımı (BBT), RSM kapsamında en sık kullanılan deney tasarımlarından biridir. Bu tasarım özellikle ikinci derecen özel tanımlı fonksiyonlarların modellenmesinde ve gelişiminde her bir parametre için üç seviyede kodlanır (alt, orta, üst seviye -1, 0, +1).



Şekil 2.16: Box-Behnken tasarımının kübik gösterimi [95].

Box-Behnken Tasarımı, tam faktöriyel tasarımlara kıyasla daha az sayıda deney gerektirir. Böylece hem zaman hem de maliyet açısından büyük bir avantaj sağlar. Aynı zamanda bu tasarı, parametrelerin lineer etkilerinin yanı sıra ikinci dereceden etkilerini ve iki faktörlü etkileşimlerini belirlemeye olanak sağlar. Bu özellikleri sayesinde karmaşık deneysel sistemlerin modellenmesi ve optimizasyonu için uygun bir araçtır. Şekil 2.16' daki kübik gösterime bakıldığında her eksen bir faktörü ve her eksenin üç seviyesinin olduğu görülmektedir. Buradaki kübik gösterim faktör uzayının tamamını taramak için değil, yanıt yüzeyinin eğriselliğini ve etkileşimlerini yakalamak için tasarlanmıştır. BBT temelde, iki

faktör ±1 seviyelerinde ve üçüncü faktör olarak merkez seviyesinde yer alır. Bu noktalar kübün köşeleri değil, kenar ortalarında yer alan noktalardır. Bu tasarımdaki amaç iki faktörün etkileşimini gözlemlerken, üçüncü parametreyi sabit tutarak yanıtın değişimini görmektir. BBT' ın en ayırt edici özelliklerinden birisi (-1, -1, -1) gibi uç noktaları içermeyip, aşırı koşulların fiziksel olarak anlamsız veya tehlikeli olabilmesi ve proses kararlılığını bozulması ve gereksiz deney maliyetini önlemesi yönüyle Merkezi Bileşik Tasarım (MBT) gibi tasarımlardan ayrılır. Yanıt yüzeyleri düz, çukur (minimum), tepe (maksimum) gibi ifadeler ile gösterimler sağlanıp yorumlama konusunda yapıcı olmaktadır. Kısacası köşe noktalarının ele alınmaması, aşırı deney koşullarının önüne geçerken, modelin pratik uygulanabilirliğini artırmaktadır. Bu sebeple seçilen deney noktlarını ve ikinci dereceden yanıt yüzeyinin istatistiksel olarak güvenilirliğini gösterir.

3. YÖNTEM

3.1. MALZEMELER

Model ilaçlar (amoksisilin trihidrat ve doksisiklin hiklat) bir ilaç tedarikçisinden (Tokyo Chemical Industry, Japonya) temin edildi. Fosfat tamponlu salin, biyopolimerik matris olarak sodyum aljinat ve çapraz bağlayıcı olarak kalsiyum klorür Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, ABD) firmasından satın alındı.

3.2. İYONİK JELASYON PROSEDÜRÜ

3.2.1. Sodyum Aljinat Çözeltisinin Hazırlanması

Bu çalışmada sodyum aljinat jel oluşumu için çok önemlidir ve deney seti belirlenirken 3 parametreden birisi olarak belirlenmiştir. AMOX ve DOX için deney seti parametreleri şu şekildedir; Sodyum aljinat (%w/v) yüzdesel olarak 2-3,5-5 şeklindedir. Bu değerler farklı karıştırma süresi ve $CaCl_2$ çözeltisi için belirlenir. Bu belirlenen gramajlar ile hazırlanan beherlerin içerisine manyetik balık atılarak manyetik karıştırıcılara bırakılır. Manyetik karıştırıcılar yüksek devirde karıştırılır. Beher içerisinde hiç bir katı partikül kalmayana kadar karıştırılır.

Deney setinin belirlenmesi için ön denemeler yapılmış olup ilk olarak kalibrasyon eğrisi çizilir. Bu eğriyi hesaplayabilmek için farklı ppm' lerde absorbans değerleri UV' den alınır. Bu eğri ile verimlere ulaşabilmek için deney setinin etkin faktörlerininde belirlenmesi için denemeler yapılır. Bir deneme öncelikle hazırlanan çözeltileri bir behere koyulur aljinat ve etken maddeli çözelti manyetik karışıtırıcıda karıştırılır. Neredeyse homojen olarak karışan organik çözelti hazırlanmış olan kalsiyum klorürlü çözeltinin içerisine şırınga yardımıyla damlatılır. Damlatılan çözelti ön denemelerce belirlenen süre ve rpm' ler ile süreç gerçekleştirilir. Karıştırma işlemi bittikten sonra bir süzme işlemi yapılır, bu işlem destile su ile gerçekleşmektedir. Süzülen kapsüller kuruması amacıyla tablalara konularak çeker ocakta kurutulması için bir gün bekletilir. Kuruyan kapsüller tartılmak üzere hassas terazilerde tartılır ve toplam kapsül miktarı ve tartılan belli miktar not edilir. Tartılan miktar bir santifrüj tüplere alınır bu tüpün içerisine belli miktar fosfat tamponu ilave edilir ve önce vortex karıştırıcıda karıştırılır. Daha sonra ultrasonik banyoda bir süre bekletilir. Burada bekletilen tüpler daha sonra homojenizatörde belli bir hız ve sürede karışımı yapılır ve en son tam olarak homojen hale gelen karışım ölçüm için UV' ye konur. Buradan çıkan sonuçlara göre bir tablo çıkarılarak yüzdesel olarak verim hesaplanmaktadır. Bu süreçte kullanılan karıştırma süreleri, kalsiyum klorür miktarı, aljinat miktarı, rpm' ler ve sıcaklık gibi parametrelerin belirlenmesi için ön denemeler yapılmıştır aşağıdada bu ön denemeler hakkında bilgi verilmiştir.

3.2.2. Sodyum Aljinat Çözeltisi ile Etken Madde Karışımlarının Hazırlanması

Hazırlanan sulu sodyum aljinat çözeltilerine DOX ve AMOX etken maddeleri deney setinde belirlenen miktarlarda eklenip manyetik karıştırıcılarda karıştırılmıştır. Belirlenen ilaç miktarı AMOX için 0,01 g olarak, DOX için ise 0,1 g olarak tartılıp eklenmiştir.

3.2.3. $CaCl_2$ Çözeltisinin Hazırlanması

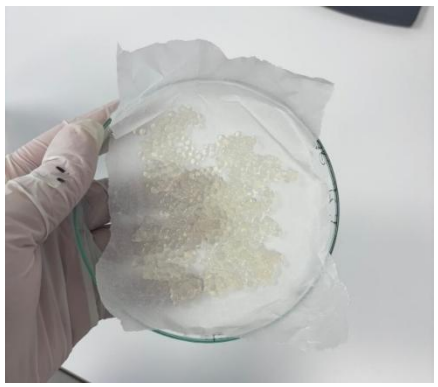
Kalsiyum klorür çözeltisi sodyum aljinat çözeltisinde olduğu gibi deney setinde belirlenmiş yüzdesel (%w/v) 1, 2, 3 çözeltiler hazırlanmıştır (Şekil 3.1). $CaCl_2$ çözeltileri hazırlanmış olan etken maddeli karışımların damlatılıp kapsül formuna girmesi için hazırlandı. Hazırlanışı sırasında 250, 500 ya da 1000 mL' lik beherlerde hazırlanıp damlatılması esnasında geniş bir yüzeyde olup kapsüllerin birbirlerine yapışmaması için geniş beherler tercih edilmiştir.



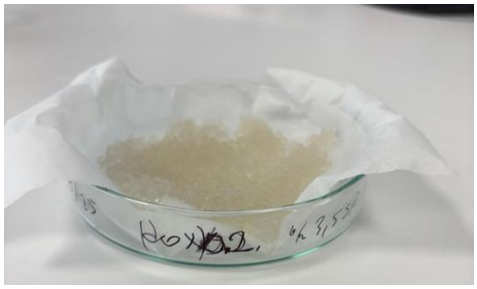
Şekil 3.1: $CaCl_2$ çözeltilerinin görselleri.

3.2.4. İlaç Yüklü Aljinat Jel Taşıyıcıların Hazırlanması

Sodyum aljinat (%2-5, w/v), 2 saat boyunca 600 rpm' de manyetik karıştırma ile deiyonize suda çözüldü. AMOX/DOX, önceden belirlenmiş ilaç/aljinat oranında (1/4, 1/7 ve 1/10) polimer matrisine eklendi ve tam homojenizasyon sağlanana kadar karıştırıldı. Tüm formülasyonlar jelleşmeden hemen önce hazırlandı. AMOX/DOX yüklü aljinat çözeltileri, hafif karıştırma (275 rpm) altında bir şırınga sürücüsü (New Era Pump Systems, Inc.) ile jelleşme ortamına (%1-3, w/v) damlatıldı. Ca^{2+} ve aljinatın guluronik asit blokları arasındaki hızlı iyonik çapraz bağlanma, yumurta kutusu mekanizmasını izleyen boncuk oluşumuna neden oldu. Boncukların sertleşmesi, deney tasarımına bağlı olarak 15-45 dakika sürdü. Jelleşme tamamlandıktan sonra, aljinat boncukları filtrelendi ve deiyonize su ile yıkandı (Şekil 3.2). Daha sonra boncuklar oda sıcaklığında kurutuldu.



a



b

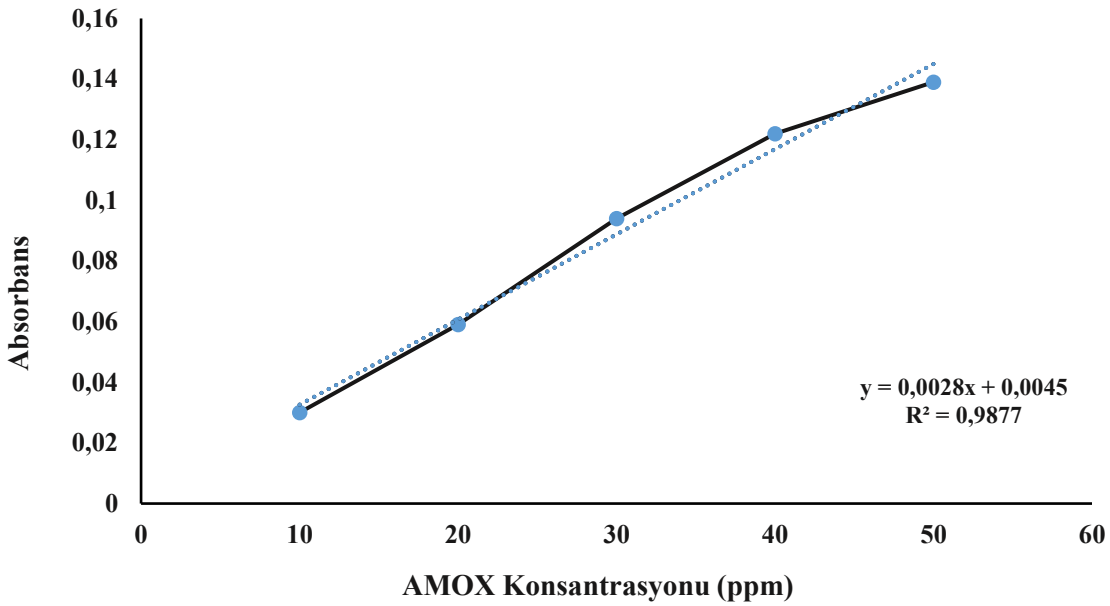
Şekil 3.2: AMOX **(a)** ve DOX **(b)** etken maddeli kapsüller.

3.2.5. Enkapsülasyon Etkinliğinin Belirlenmesi

Kapsüllenmiş AMOX/DOX, boncukların fosfat tamponlu salin çözeltisinde homojenizatör (IKA T25, ULTRA-TURRAX, Staufen, Almanya) ile çözülmesiyle ekstrakte edildi. İlaç konsantrasyonu, sırasıyla 272 nm' de (AMOX) ve 275 nm' de (DOX) bir spektrofotometre (PG Instruments, T60/Leicestershire, İngiltere) kullanılarak ölçüldü. Kalibrasyon eğrilerinin hazırlanması esnasında öncelikle etken maddelerden belli gramlarda tartılmış. Örneğin, 0,01 g ilaç ve 250 mL destile su ile üzerine az bir miktar etanol döküp çözeltinin hızlanması için etanol katılır. Bu sayede istenilen konsantrasyonda çözeltiler hazırlanmıştır. AMOX için 50, 40, 30, 20, 10 ppm'lik hazırlanıp, teker teker UV' den sonuçları alınmıştır (Tablo 3.1). Bu sonuçlar Excel' e kaydedilip ve bir grafik çıkarıldı. Bu grafik y=mx+n denklemine göre olmaktadır (Şekil 3.3) ve doğrusallık değeri hesaplandı (R^2).

Tablo 3.1: AMOX' un kalibrasyon eğrisinin değerleri.

Konsantrasyon (ppm)	ABS
50	0,139
40	0,122
30	0,094
20	0,059
10	0,03

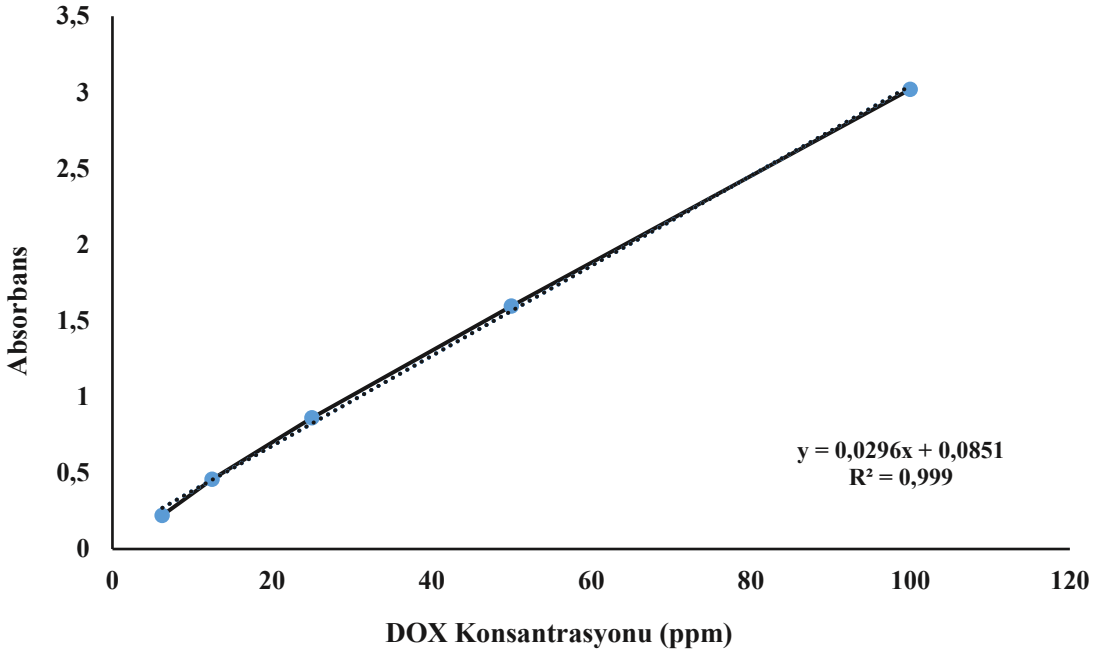


Şekil 3.3: AMOX' un kalibrasyon eğrisi.

Aynı işlemler DOX içinde yapılmıştır. Kalibrasyon eğrisi elde etmek için gereken konsantrasyonlar Tablo 3.2' de verilmiştir. Kalibrasyon eğrisi de Şekil 3.4' te gösterilmiştir.

Tablo 3.2: DOX' un kalibrasyon eğrisinin değerleri.

Konsantrasyon (ppm)	ABS
100	3,02
50	1,595
25	0,862
12,5	0,457
6,25	0,221



Şekil 3.4: DOX' un kalibrasyon eğrisi.

Enkapsülasyon etkinliği (EE), dispersiyon ortamındaki ilaç konsantrasyonu ölçülerek değerlendirildi. EE şu şekilde hesaplandı (Box-Behnken deneysel tasarımını kullanarak indometasin yüklü kitosan nanopartikül boyutunun, kapsüllenmesinin ve salınımının optimizasyonu):

$$EE\ (\%) = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100 \qquad \textbf{(3.1)}$$

W_1, karışımda kullanılan toplam ilaç miktarını, W_2 ise süpernatantta ölçülen serbest ilaç miktarını ifade eder.

3.2.6. Deneysel Tasarım ve İstatistiksel Modelleme

Deneysel çalışma, 3 faktörlü ve 3 seviyeli Box-Behnken tasarımına dayalı olarak Design-Expert yazılımı (12.0.1.0, StatEase Inc., ABD) kullanılarak tasarlandı. Yazılım tarafından 5 merkez noktasıyla 17 deney üretildi. Bağımsız değişkenler; aljinat konsantrasyonu (A, %2-5, w/v), $CaCl_2$ konsantrasyonu (B, %1-3, w/v) ve jelleşme süresi (C, 15-45 dk.) bağımsız değişkenler, EE ise yanıt değişkeniydi. Modelin anlamlılığını, uyumsuzluğunu ve belirleme

katsayısını (R^2, ayarlanmış R^2, tahmin edilen R^2) değerlendirmek için Design-Expert yazılımı ile varyans analizi (ANOVA) de yapıldı. Ayrıca, Pareto grafikleri, yanıt yüzeyi ve kontur grafikleri oluşturmak için Minitab istatistiksel yazılımı 22 (Minitab Inc., State College, PA, ABD) kullanıldı.

3.2.7. Salım Çalışmaları

AMOX/DOX salımı, sırasıyla pH 1,5' de simüle edilmiş mide sıvısında (SGS) ve pH 7,4' de simüle edilmiş bağırsak sıvısında (SIS) değerlendirildi. Belirli miktarlarda boncuk (0,2 g), çözücü sıvıya (50 mL) eklendi. Ardından 37 °C' de hafifçe çalkalanarak (100 rpm) inkübe edildi. Belirlenen zaman aralıklarında, örnekler alındı ve filtrelendi. Salınan AMOX/DOX miktarları spektrofotometrik olarak belirlendi.

3.2.7.1. Salım davranışının kinetiği

Salım kinetiğini değerlendirmek için aşağıdaki doğrusal regresyon denklemleri kullanılarak sıfırıncı derece (Denklem 3.2), birinci derece (Denklem 3.3), Higuchi (Denklem 3.4) ve Korsmeyer-Peppas (Denklem 3.5) modelleri kullanılmıştır [96], [97]:

$$Q_t = Q_0 + k_0 t \tag{3.2}$$

Q_0: Çözelti içerisinde başlangıçta bulunan ilaç miktarı (mg g^{-1})

Q_t: t zamanında ortama geçmiş olan ilaç miktarı (mg g^{-1})

k_0: Sıfırıncı dereceden salım hız sabiti (mg dk^{-1})

t: Zaman (dk)

$$\log C_t = \log C_0 - k_1 t \tag{3.3}$$

C_0: Mikrokapsüller içinde başlangıçta bulunan ilaç miktarı (mg g^{-1})

C_t: t anında mikrokapsüller içerisinde kalan ilaç miktarı (mg g^{-1})

k_1: Birinci dereceden salım hız sabiti (dk^{-1})

$$Q_t = k_H t^{1/2} \quad (3.4)$$

k_H: Higuchi modeline özgü salım sabiti (mg $dk^{-1/2}$)

$$\frac{M_t}{M_\infty} = Kt^n \quad (3.5)$$

M_t: t zamanında salınan madde miktarı (mg g^{-1})

M_∞: Sonsuz zaman varsayımında (tam salım gerçekleştiğinde) salınabilecek toplam madde miktarı (mg g^{-1})

K: Bu modele özgü salım hız sabiti (dk^{-n})

n: Salım mekanizmasını ortaya koyan difüzyon üstel değeri.

3.2.8. Ransimat Hızlandırılmış Oksidasyon Testi

AMOX ve DOX yüklü aljinat boncuklarının termal bozunma davranışı, 100 °C, 110 °C, 120 °C ve 130 °C' de bir Ransimat cihazı (Metrohm, 892, Herisau, İsviçre) kullanılarak değerlendirildi. Hava akışı 20 $Lsaat^{-1}$ olarak ayarlandı. Parçacıkların taşıyıcısı olarak polietilen glikol (PEG-400) kullanıldı. İndüksiyon süresi (İS), bozunma ürünleri nedeniyle iletkenlikte hızlı artışın olduğu nokta olarak kaydedildi. Bozunma hızı sabitleri (k), İS değerlerinin tersinden hesaplandı. Aktivasyon enerjisi (E_a) hesaplamak için Arrhenius denklemi kullanıldı:

$$k = A \times E^{-E_a/RT} \quad (3.6)$$

$$lnk = lnA - \frac{E_a}{R} \times \frac{1}{T} \quad (3.7)$$

3.2.9. Aljinat Jel Taşıyıcılarının Karakterizasyonu

Optimal iyonik jelleşme koşulları altında üretilen aljinat boncuklar, optik mikroskoba bağlı CMOS tabanlı dijital görüntüleme/kamera sistemine (Cameram 5, SOIF Optical Instruments, Çin) tabi tutuldu. Kamera, 5 megapiksel sensöre (2592×1944 px) sahip olup dahili analiz yazılımıyla donatılmıştır. Boyutsal ölçümler (d_{min}, d_{max}, alan ve çevre) ve morfolojik değerlendirme (yuvarlaklık ve küresellik faktörü) yapılmasını sağlar [98]:

$$Küresellik\ faktörü\ (KF) = \frac{d_{max} - d_{min}}{d_{max} + d_{min}} \quad (\mathbf{3.8})$$

$$Yuvarlaklık\ (Rn) = \frac{P^2}{4\pi A} \quad (\mathbf{3.9})$$

d_{max}: Maksimum çap

d_{min}: Minimum çap

P: Çevre

A: Alan

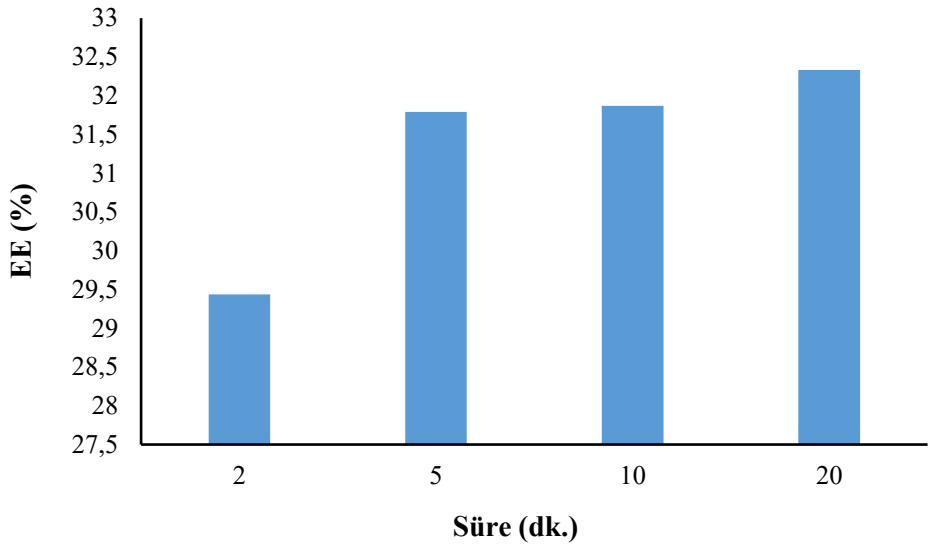
Aljinat jel taşıyıcılarının daha ayrıntılı karakterizasyonu, parçacık boyutu, polidispersite indeksi (PDI) ve zeta potansiyeli ölçümleri de dahil olmak üzere Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR), Taramalı Elektron Mikroskopi (SEM) ve Dinamik Işık Saçılımı (DLS) analizleri kullanılarak gerçekleştirildi.

FTIR ölçümleri, 4000-400 cm^{-1} aralığında bir Bruker FTIR spektrometresi (Bruker, Tensor 27, Almanya) kullanılarak yapıldı. Jel taşıyıcıların yüzey morfolojisi ve mikro yapısal özellikleri, analizden önce iletkenliği sağlamak için ince bir altın kaplama uygulandıktan sonra bir JEOL taramalı elektron mikroskobu (JEOL, JSM-6610, Japonya) kullanılarak incelendi. Parçacık boyutu dağılımı, PDI ve zeta potansiyeli ölçümleri, bir Anton Paar DLS cihazı (Anton Paar, Litesizer 500, Avusturya) kullanılarak gerçekleştirildi. DLS ve zeta potansiyeli çalışmaları 25°C' de yapıldı. Ölçüm hassasiyetini doğrulamak için numuneler uygun şekilde seyreltildi

4. BULGULAR

4.1. ÖN DENEMELER

Bu tez çalışmasında istatistiksel deneysel tasarıma geçmeden önce seçilmiş olan parametrelerin seviyelerini belirlemek ve deney şartlarını belirlemek için çeşitli ön denemeler yapılmıştır. Bunun için ilk önce enkapsülasyon verimini etkileyen bir parametre olan ultrasonik banyoda bekletme süresi belirlenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1: Enkapsülasyon verimine ultrasonik banyoda bekletme süresinin etkisi.

Şekil 4.1' de görüldüğü üzere aynı ilaç miktarına sahip kapsüllerin karıştırma süresi arttıkça verimin çok az miktarda arttığı görülmüştür. Sonuç olarak ultrasonik banyoda bekletme süresi 20 dk olarak belirlenmiştir. Bir sonraki adımda homojenizatör hızı ve süresi belirlenerek sabit faktörler olarak alınmışlardır. Deneyler sabit koşullarda yapılmıştır (%3,5 sodyum aljinat, %3 $CaCl_2$ ve 45 dk bekleme süresi). Tablo 4.1 belirlenen şartlarda elde edilen EE' leri göstermektedir.

Tablo 4.1: Enkapsülasyon verimine karıştırma hızı ve süresinin etkisi.

Süre (dk.)	Hız (rpm)	EE (%)
0	-	55,32
1	8000	76,65
2	8000	78,12
3	8000	79,36
4	8000	80,99
5	8000	82,15
6	8000	86,01
6	10000	86

Sonuçlar incelendiğinde en iyi enkapsülasyon işleminin 6 dk ve 8000 rpm' de elde edildiği gözlenmiştir. Bir sonraki adımda ilaç miktarı belirlenmiştir. Ardından, DOX kapsüllerinin başlangıçta içerdiği ilaç miktarları belirlenmiştir. Tablo 4.2' de verilen verilere göre DOX miktarı değiştirilerek sonuca bakılmıştır. Öncelikle bütün diğer parametreler eşit tutulmuştur (%3,5 sodyum aljinat, %3 $CaCl_2$ ve 45 dk. bekleme süresi).

Tablo 4.2: Enkapsülasyon verimine DOX etken madde miktarının etkisi.

Çalışma	İlaç Miktarı (g)	EE (%)
1	0,0075	36,03
2	0,0050	71,78

Tablo 4.2' de verilen verilere göre DOX miktarı değiştirilerek sonuca bakılmıştır. Öncelikle bütün diğer parametreler eşit tutulmuştur (%3,5 sodyum aljinat, %3 $CaCl_2$ ve 45 dk bekleme

süresi). Tablo 4.3 kalsiyum klorür çözeltisinin DOX içeren kapsüllerin verimine etkisini göstermektedir.

Tablo 4.3: Enkapsülasyon verimine $CaCl_2$ çözeltisinin etkisi.

Çalışma	$CaCl_2$ (%, w/v)	EE (%)
1	3	36,03
2	5	38,14

Tablo 4.3' e göre $CaCl_2$ çözeltisinin yüzdece artması verimliliği az etkilemiştir. Bu sebeple çalışmalara %3 $CaCl_2$ ile devam edilmiştir.

Tablo 4.4: Enkapsülasyon verimine sodyum aljinat miktarının etkisi.

Çalışma	Sodyum Aljinat (%, w/v)	EE (%)
1	2	13,13
2	5	24,89

Tablo 4.4' e bakıldığında kapsüllerin hazırlanma şartlarına göre 1.çalışma %2 sodyum aljinat, %1 $CaCl_2$ ve 30 dakika karıştırma süresini temsil etmektedir. 2.çalışma ise %5 sodyum aljinat, %1 $CaCl_2$ ve 30 dakika karıştırma süresini temsil etmektedir.

4.2. AMOKSİSİLİN YÜKLÜ ALJİNAT JEL TAŞIYICILARIN ÜRETİMİ

Tablo 4.5' te görüleceği üzere mikropartiküllerin enkapsülasyon verimi %10 ile %86 arasında değişmektedir. Bu geniş dağılım, proses koşullarının kapsülleme verimini önemli ölçüde etkilediğini göstermektedir. En yüksek %EE değeri çalışma 4' te görülmüştür(%3,5 aljinat, %3 $CaCl_2$ ve 45 dakika kürleşme süresi). En düşük %EE (%10-13) düşük aljinat ya da düşük $CaCl_2$ (Çalışma 1 ve 17)' de görülmüştür.

Tablo 4.5: Box-Behnken tasarım matrisine dayanan deneysel sonuçlar.

Çalışma	A: Aljinat Konsantrasyonu (%, w/v)	B: Kalsiyum Klorür Konsantrasyonu (%, w/v)	C: Zaman (dk.)	EE (%)
1	2,0	1	30	10
2	5,0	2	15	30
3	2,0	3	30	48
4	3,5	3	45	86
5	3,5	2	30	53
6	3,5	2	30	51
7	3,5	1	45	31
8	3,5	2	30	49
9	5,0	2	45	30
10	5,0	3	30	50
11	2,0	2	15	32
12	3,5	3	15	79
13	3,5	2	30	52
14	3,5	1	15	45
15	2,0	2	45	21
16	3,5	2	30	54
17	5,0	1	30	13

4.2.1. İstatistiksel Analizler

Tablo 4.6, AMOX yüklü kapsüllerin oluşturulması sırasında prosesin Box-Behnken deneysel tasarım modeline göre ANOVA sonuçlarını göstermektedir.

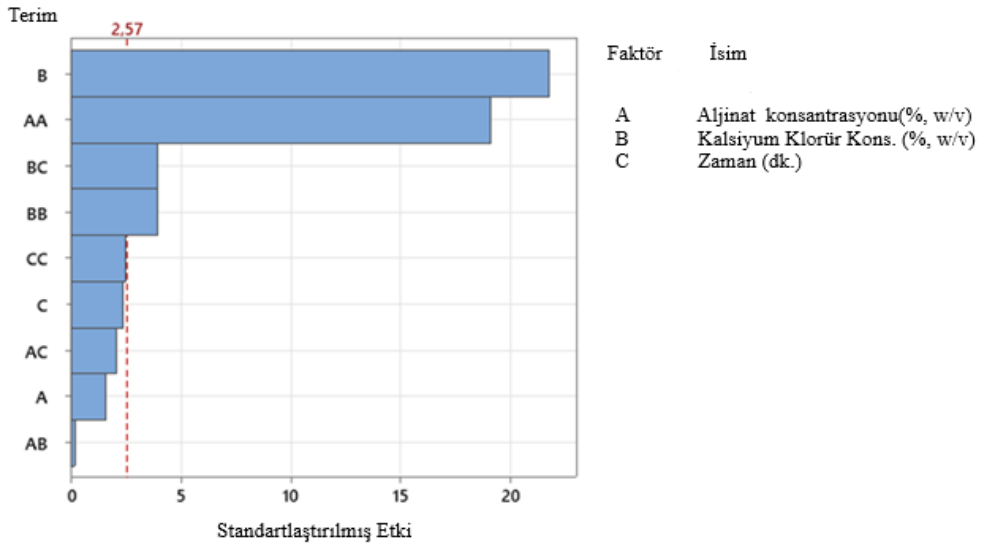
Tablo 4.6: AMOX yüklü aljinat jel taşıyıcıların üretimi için oluşturulan ikinci dereceden denklem için ANOVA sonuçları.

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F-değeri	p-Değeri	
Model	6658,67	9	739,85	123,90	< 0,0001	önemli
A-Aljinat Konsantrasyonu	18,00	1	18,00	3,01	0,1261	
B-Kalsiyum Klorür Konsantrasyonu	3362,00	1	3362,00	563,01	< 0,0001	
C-Zaman	40,50	1	40,50	6,78	0,0352	
AB	0,2500	1	0,2500	0,0419	0,8437	
AC	30,25	1	30,25	5,07	0,0591	
BC	110,25	1	110,25	18,46	0,0036	
A^2	3018,53	1	3018,53	505,50	< 0,0001	
B^2	114,95	1	114,95	19,25	0,0032	
C^2	43,79	1	43,79	7,33	0,0303	
Fazlalık	41,80	7	5,97			
Uyum Eksikliği	27,00	3	9,00	2,43	0,2052	Önemli değil
Saf Hata	14,80	4	3,70			
Toplam	6700,47	16				
R^2=0,9938	Düzeltilmiş R^2=0,9857		Ön görülen R^2=0,9321		C.V.=%5,66	

İstatistiksel sonuçlar yeterince uygun olup F-değeri (12,90) ve p-değeri (<0,0001) bu modelde istatistiksel olarak önemli gelmiştir. R^2 (0,9938) dikkate alınırsa yazılım tarafından türetilen model denklemi Denklem 4.1' in verilerin %99,38' ini açıkladığı görülmektedir. Düzeltilmiş R^2 ile ön görülen R^2 arasındaki fark 0,2' den az olduğundan, sonuçlar uyumludur ve modeli yüksek bir tahmin gücüyle desteklemektedir. Buna istinaden C.V.' nin %10' undan azının tatmin edici olarak kabul edilmesi nedeniyle deneysel çalışmanın güvenilir olduğunu göstermektedir. Anlamlı olmayan uyum eksikliğinin de modelin uygun olduğunun bir göstergesidir [99].

$$EE = 51{,}80 + 1{,}50A + 20{,}50B - 2{,}25C - 0{,}25AB + 2{,}75AC + 5{,}25BC - 26{,}78A^2 + 5{,}22B^2 + 3{,}23C^2 \quad \textbf{(4.1)}$$

Denklem 4.1' de görüldüğü üzere B' nin ($CaCl_2$) en baskın faktör olduğunu, A' nın (aljinat) ise güçlü bir ikinci dereceden terime ($-26,78A^2$) sahip olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan, Pareto grafiği (Şekil 4.2) etki büyüklüklerinin görsel özetidir.



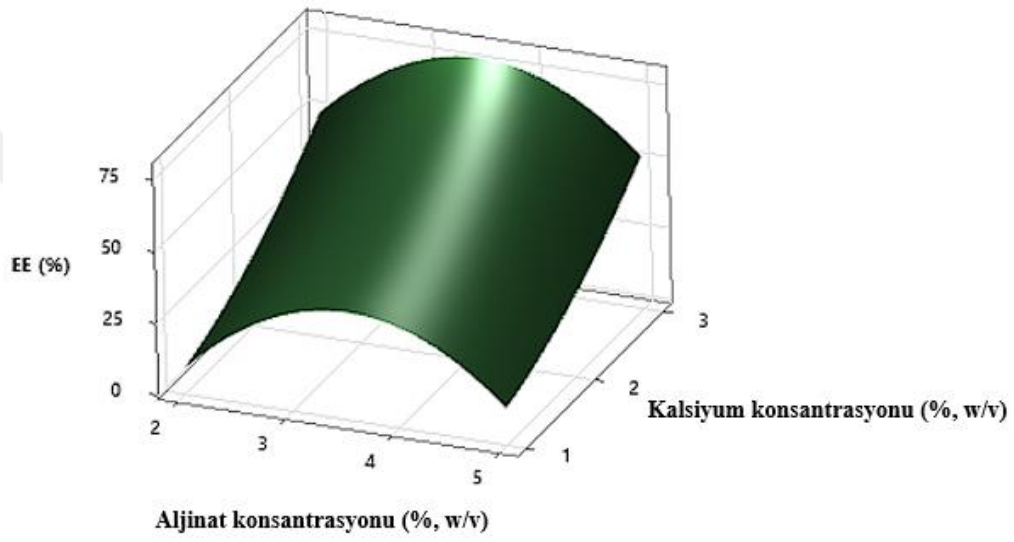
Şekil 4.2: Kapsülleme verimliliğini etkileyen faktörlerin önemini gösteren Pareto grafiği.

Şekil 4.2' deki kırmızı kesikli çizgi (2,57), %95 güven düzeyinde (α=0,05) anlamlılık sınırını göstermektedir. EE denkleminde daha önce belirtildiği gibi, B ($CaCl_2$ konsantrasyonu), en anlamlı faktör olarak çizgiyi anlamlı bir farkla aşmaktadır. Aljinat karesi, aljinat etkisinin doğrusal olmadığı ikinci etkili terimdir. Bunu BC ($CaCl_2$×zaman) takip eder. Kalan terimler (C, AC, A, AB) anlamlılık düzeyinin altındadır. Bu bulgular, Tablo 4.6' da verilen p değerleriyle örtüşmektedir.

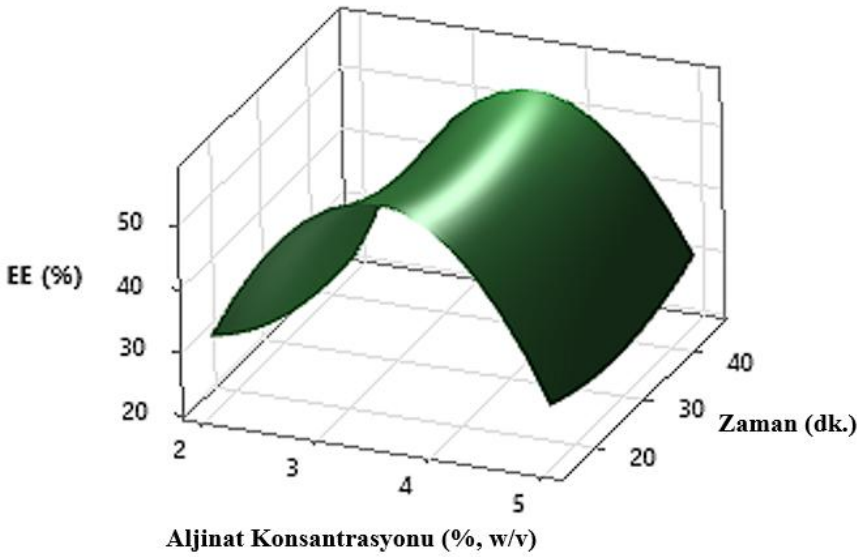
4.2.2. Proses Parametrelerinin Enkapsülasyon Verimi Üzerine Etkileri

Aljinat, kalsiyum klorür ve zamanın AMOX yüklü aljinat boncuklarının EE' si üzerindeki birleşik etkileri yüzey (Şekil 4.3) ve kontur çizimlerinde (Şekil 4.4) gözlemlenebilir. Aljinat konsantrasyonu ve kalsiyum klorür konsantrasyonunun ikinci dereceden terimlerinin (Tablo

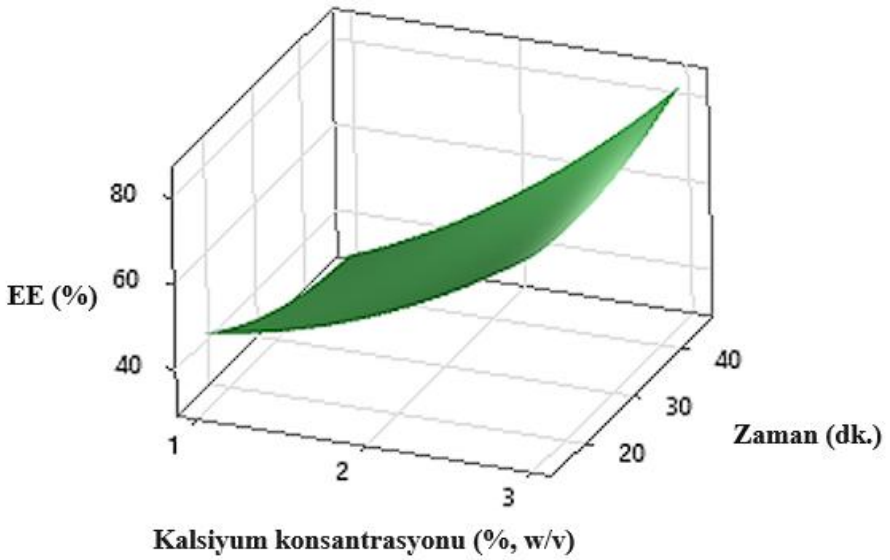
4.6 ve Şekil 4.2-pareto) önemi, yüzeylerde eğriliklerin bulunduğu Şekil 4.3a' da da görülebilir. Şekil 4.3a ve 4.3b' de görüldüğü gibi, artan aljinat konsantrasyonu kapsülleme verimini artırdı. Bunun nedeni, aljinat konsantrasyonu arttıkça Ca^{2+} iyonlarıyla kurulan çapraz bağların sayısının artmasıdır. Bu jeli daha güçlü hale getirir [3]. Ama aljinat çok yoğun olduğunda Ca^{2+} iyonlarının jele difüzyonu zorlaşır [100]. Bu sebeple EE aljinat konsantrasyonunun yaklaşık %3,5' inden sonra azalmaya başladı.



a



b

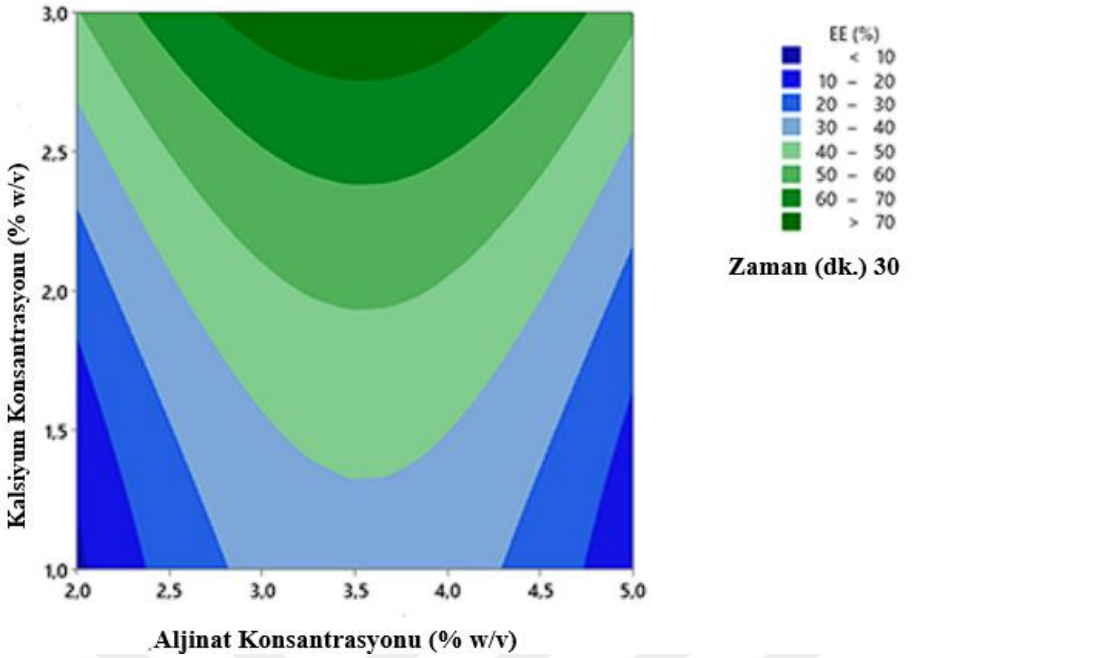


c

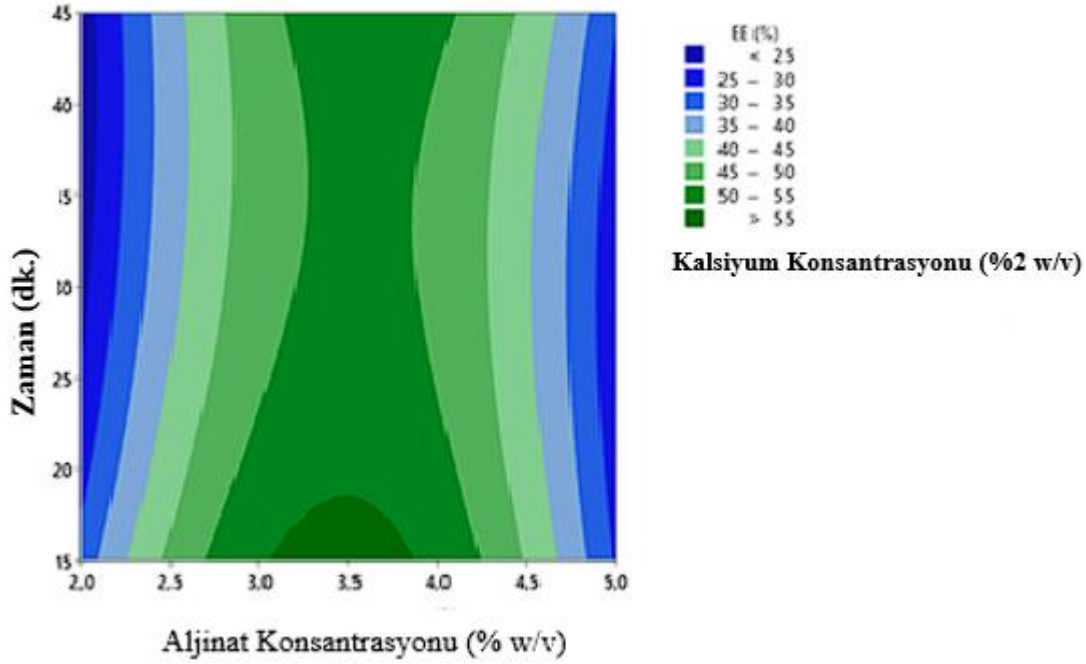
Şekil 4.3: Aljinat konsantrasyonu ve kalsiyum klorür konsantrasyonunun **(a)**, aljinat konsantrasyonu ve zamanının **(b)**, kalsiyum klorür konsantrasyonu ve zamanının **(c)** kapsülleme verimliliği üzerindeki birleşik etkilerini gösteren tepki yüzey grafikleri.

Ca^{2+} konsantrasyonu arttıkça jel oluşum hızı (çapraz bağlanma) artar (Şekil 4.3c). Aljinat zincirleri daha hızlı bağlanarak jeli daha hızlı oluşturur [101]. Ancak, Pareto grafiğinde (Şekil 4.2) görüldüğü gibi sertleşme süresi istatistiksel olarak anlamlı değildir. EE üzerindeki bu anlamlı olmayan etki Şekil 4.3b' de görülebilir. Bennacef ve arkadaşları, zamanın (aljinatın jelleşme banyosunda kalsiyum iyonlarıyla temas süresi) aljinat boncuklarının küreselliği üzerinde bir etkisi olmadığını bildirmiştir [3]. Diğer yandan, Şekil 4.2' de görüldüğü gibi BC etkileşimi anlamlıdır. Bu nedenle, hem sürenin hem de kalsiyum konsantrasyonunun arttırılması kapsülleme verimliliğini artırır (Şekil 4.3c).

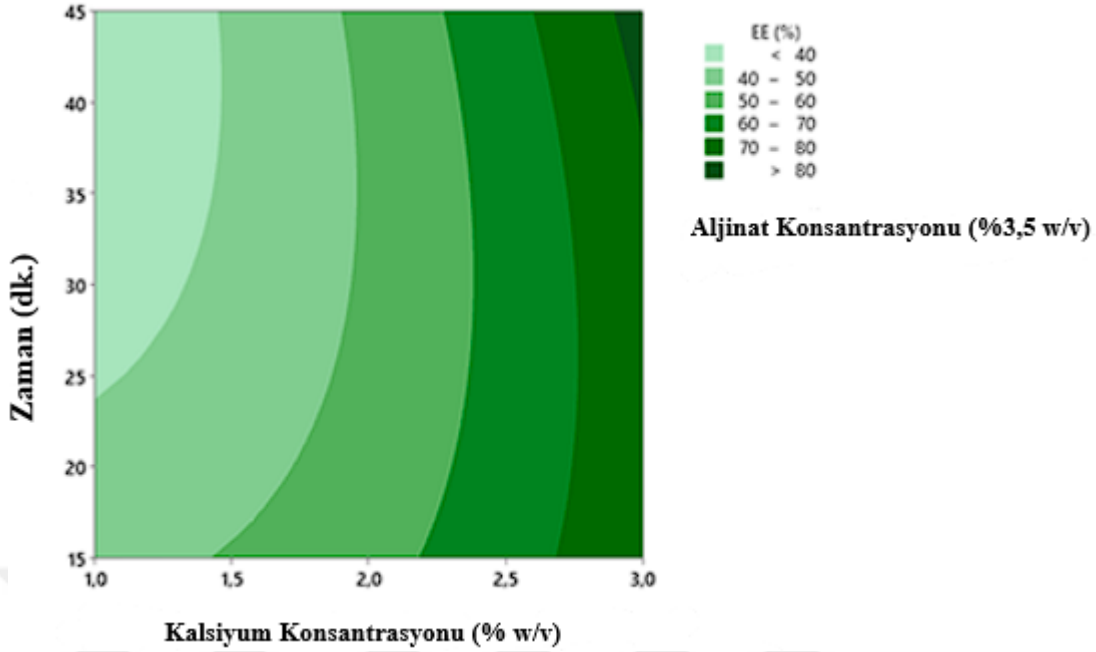
Verimin orta aljinat (%3,5) ve yüksek kalsiyum klorür (%3) konsantrasyonlarında maksimuma ulaştığı görülmektedir. Eğrisel yapı (Şekil 4.4), özellikle aljinat için ikinci dereceden optimumun mevcut olduğunu göstermektedir. Sertleşme süresinin 45 dakikaya uzatılması EE' yi artırmıştır. Şekil 4.4' teki koyu yeşil alanlar %80' in üzerindeki optimum EE bölgesini (optimal alan) göstermektedir.


EE (%)
< 10
10 – 20
20 – 30
30 – 40
40 – 50
50 – 60
60 – 70
> 70
Zaman (dk.) 30
Kalsiyum Konsantrasyonu (% w/v)
3,0
2,5
2,0
1,5
1,0
2,0
2,5
3,0
3,5
4,0
4,5
5,0
Aljinat Konsantrasyonu (% w/v)

a


EE (%)
< 25
25 – 30
30 – 35
35 – 40
40 – 45
45 – 50
50 – 55
> 55
Kalsiyum Konsantrasyonu (%2 w/v)
Zaman (dk.)
45
40
35
30
25
20
15
2,0
2,5
3,0
3,5
4,0
4,5
5,0
Aljinat Konsantrasyonu (% w/v)

b



c

Şekil 4.4: Kapsülleme verimliliği üzerinde aljinat konsantrasyonu ve kalsiyum klorür konsantrasyonunun **(a)**, aljinat konsantrasyonu ve zamanın **(b)**, kalsiyum klorür konsantrasyonu ve zamanın **(c)** birleşik etkilerini gösteren kontur grafikleri.

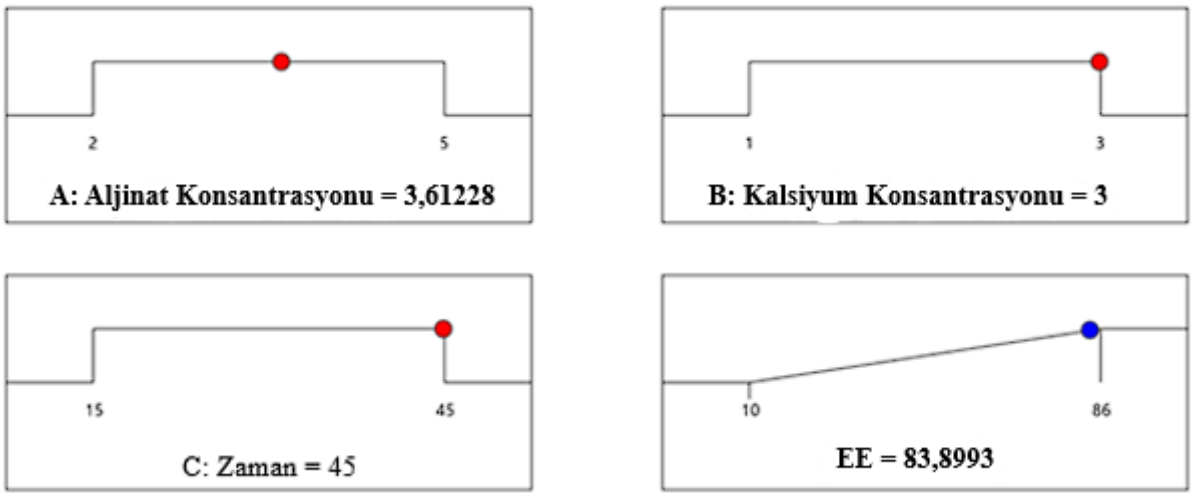
Şekil 4.4, Tablo 4.6 ve Şekil 4.3-pareto' da verilen zaman ve kalsiyum konsantrasyonu arasındaki etkileşimin önemli etkisiyle tutarlıdır. Yüksek $CaCl_2$ ve uzun sürenin birleşimi, verimi en üst düzeye çıkarır.

4.2.3. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları

Box-Behnken tasarımına dayalı yanıt yüzey metodu kullanılarak gerçekleştirilen çoklu optimizasyonlar sonucunda Design-Expert yazılımı 56 olası çözüm üretmiştir. Bu çözümler arasından en yüksek arzu edilirlik değerine sahip optimum koşul, Tablo 4.7 ve rampa diyagramında (Şekil 4.5) verildiği gibi belirlenmiştir.

Tablo 4.7: Design-Expert sayısal optimizasyonuna dayalı kapsülleme verimliliğini en üst düzeye çıkarmak için optimum jelleşme koşulları.

Parametreler	**Optimum Değer**
Aljinat Konsantrasyonu (%, w/v)	3,612
$CaCl_2$ Konsantrasyonu (%, w/v)	3
Jelleşme zamanı (dk.)	45
Ön görülen EE (%)	83,90
İstenen	0,972



İstenirlik = 0,972

Çözüm 1/54

Şekil 4.5: Kapsülleme verimliliğinin optimizasyonu için rampa grafiği.

Bu sonuçları doğrulamak için önerilen koşullar altında doğrulama testleri yapıldı (Tablo 4.7). Deneysel EE (~%80), öngörülen EE (%83,90) ile tutarlıydı ve bu da optimizasyon modelinin doğru ve güvenilir olduğunu göstermiştir.

4.3. DOKSİSİKLİN YÜKLÜ ALJİNAT JEL TAŞIYICILARIN ÜRETİMİ

Tablo 4.8' de görüldüğü gibi EE %10 ile %63 arasında değişmiştir. En yüksek EE (%63), orta aljinat (%3,5, w/v), yüksek $CaCl_2$ konsantrasyonu (%3, w/v) ve kısa jelleşme süresinde (15 dakika) elde edilmiştir. Buna karşılık, düşük $CaCl_2$ seviyeleri (%1, w/v) ve uzun süreli jelleşme (45 dakika) genellikle azalmış EE ile sonuçlanmıştır.

Tablo 4.8: Box-Behnken tasarım matrisine dayalı deneysel sonuçlar.

Çalışma	A: Aljinat Konsantrasyonu (%, w/v)	B: Kalsiyum Klorür Konsantrasyonu (%, w/v)	C: Zaman (dk.)	EE (%)
1	2,0	1	30	10
2	5,0	2	15	34
3	2,0	3	30	49
4	3,5	3	45	62
5	3,5	2	30	41
6	3,5	2	30	39
7	3,5	1	45	20
8	3,5	2	30	38
9	5,0	2	45	25
10	5,0	3	30	41
11	2,0	2	15	30
12	3,5	3	15	63
13	3,5	2	30	42
14	3,5	1	15	33
15	2,0	2	45	21
16	3,5	2	30	40
17	5,0	1	30	24

4.3.1. İstatistiksel Analizler

Tablo 4.9, DOX yüklü kapsüllerin oluşturulması sırasında prosesin Box-Behnken deneysel tasarım modeline göre ANOVA sonuçlarını göstermektedir.

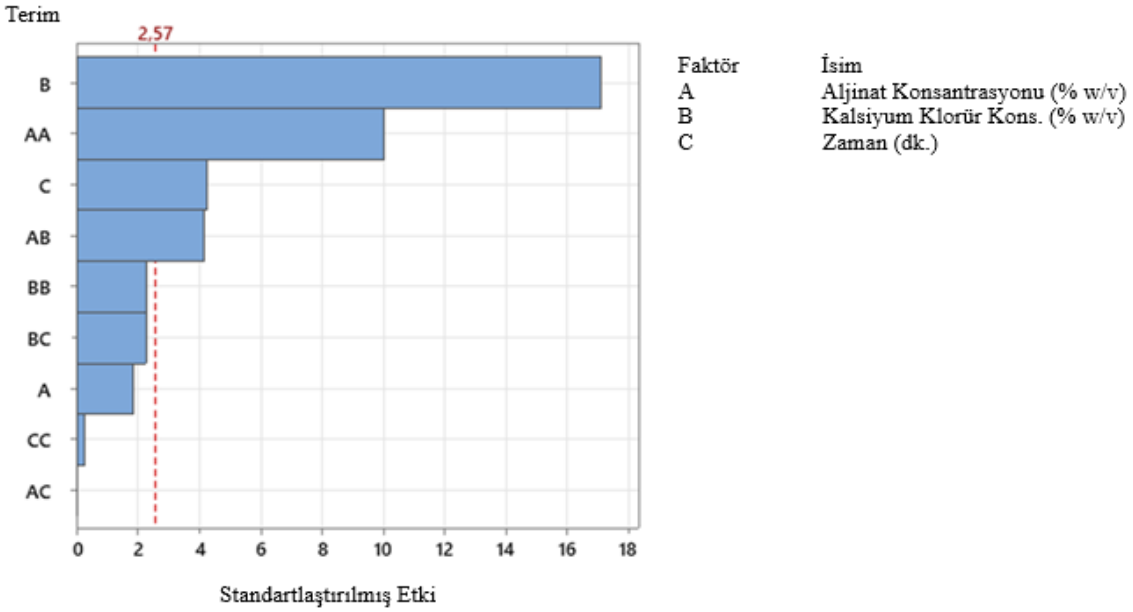
Tablo 4.9: DOX yüklü aljinat jel taşıyıcıların üretimi için oluşturulan ikinci dereceden denklem için ANOVA sonuçları.

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F-Değeri	p-değeri	
Model	3115,50	9	346,17	54,45	< 0,0001	önemli
A-Aljinat Konsantrasyonu	24,50	1	24,50	3,85	0,0904	
B-Kalsiyum Klorür Kons.	2048,00	1	2048,00	322,16	< 0,0001	
C-Zaman	128,00	1	128,00	20,13	0,0028	
AB	121,00	1	121,00	19,03	0,0033	
AC	0,0000	1	0,0000	0,0000	1,0000	
BC	36,00	1	36,00	5,66	0,0489	
A^2	711,58	1	711,58	111,93	< 0,0001	
B^2	67,37	1	67,37	10,60	0,0140	
C^2	1,05	1	1,05	0,1656	0,6962	
Artık	44,50	7	6,36			
Uyum eksikliği	34,50	3	11,50	4,60	0,0873	Önemli değil
Saf Hata	10,00	4	2,50			
Toplam	3160,00	16				
R^2=0,9859	Düzeltilmiş R^2=0,9678		Ön görülen R^2=0,8204		C.V.=%7	

İstatistiksel bulgular oldukça olumludur. Modelin F değeri (54,45) ve p değeri (<0,0001), istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir. Yazılımın modeli (Denklem 4.2), R^2' ye (0,9859) dayanan verilerin %98,59' unu açıklamaktadır. Ayarlanmış R^2 ile Tahmin Edilen R^2 arasındaki farkın 0,2' den az olması nedeniyle modelin güçlü bir tahmin gücü vardır. C.V. ayrıca, %10' dan az C.V.' nin kabul edilebilir olması nedeniyle deneysel çalışmanın güvenilir olduğunu göstermektedir. Anlamlı olmayan bir uyum eksikliği (p>0,05) yeterliliğini temsil etmektedir [99]

$$EE = 40 + 1{,}75A + 16B - 4C - 5{,}50AB + 0{,}00AC + 3BC - 13A^2 + 4B^2 + 0{,}5C^2 \quad (\mathbf{4.2})$$

Kalsiyum klorür konsantrasyonu, EE üzerinde en güçlü etkiyi göstermiştir (F=322,16, p<0,0001), bunu aljinat konsantrasyonunun ikinci kuvveti (F=111,93, p<0,0001) ve jelleşme süresi (F=20,13, p=0,0028) izlemiştir. Şekil 4.6' da görüldüğü gibi, aljinat ve kalsiyum arasındaki etkileşim terimi de anlamlıdır. B^2, BC, AC, C^2 ve aljinat konsantrasyonunun doğrusal terimi (A), kritik 2,57 değerini aşmamaktadır (Şekil 4.6). Bu da bu terimlerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı anlamına gelir (α=0,05).

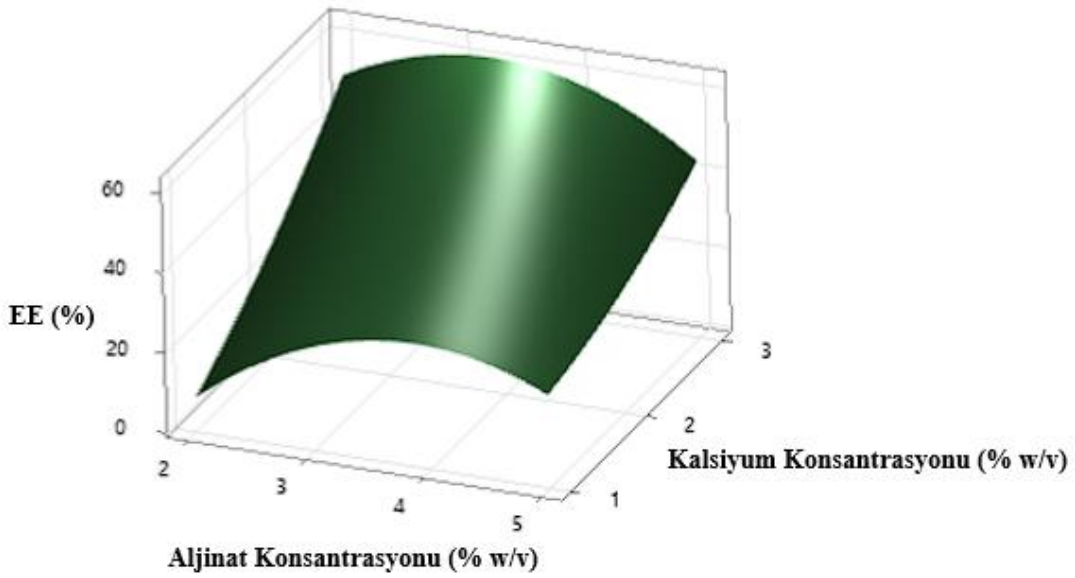


Şekil 4.6: Kapsülleme verimliliğini etkileyen faktörlerin önemini gösteren Pareto grafiği.

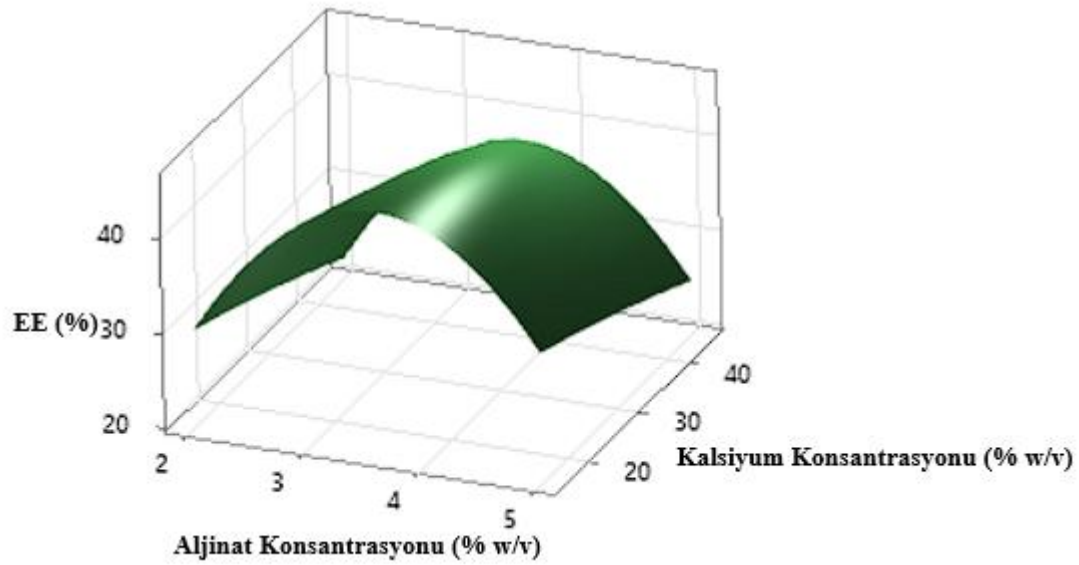
4.3.2. Proses Parametrelerinin Enkapsülasyon Verimi Üzerine Etkileri

Aljinat, kalsiyum klorür ve zamanın DOX yüklü aljinat boncuklarının EE' si üzerindeki birleşik etkileri yüzey (Şekil 4.7) ve kontur grafiklerinde (Şekil 4.8) gözlemlenebilir. Artan aljinat konsantrasyonu, daha viskoz bir jel oluşturarak daha fazla bağlanma bölgesine yol açar. Dolayısıyla, Şekil 4.7a ve Şekil 4.7b' de görüldüğü gibi difüzyon kaybı azalır. Kalsiyum konsantrasyonu %3' e yaklaştıkça, yumurta kutusu bölgelerinin sayısı artar ve bu da daha sıkı bir çapraz bağlı ağ oluşturur. Bu, DOX' un kapsülden kaçışını azaltırken EE' yi artırır (Şekil 4.7a ve Şekil 4.7c). Aljinat konsantrasyonundaki artışa bağlı EE' deki artış, çok çeşitli aktif maddelerin (fenolik bileşikler, uçucu yağlar, bitki özleri ve probiyotik mikroorganizmalar) kapsüllenmesinde bildirilen yaygın bir eğilimdir. Aljinat konsantrasyonu, $CaCl_2$ konsantrasyonu ve süre, Box-Behnken tasarımında önemli işlem parametreleri olarak

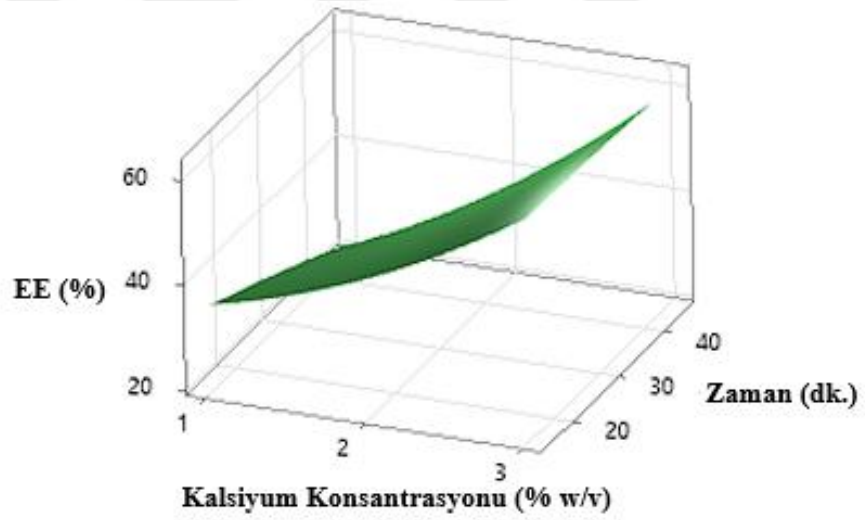
belirlenmiştir [102], [103]. Benzer şekilde, aljinat bazlı sistemlerde gallik asit, mandalina kabuğu özütü, rezene uçucu yağı ve probiyotiklerin kapsüllenmesine ilişkin son çalışmalar, aljinat konsantrasyonunun, kalsiyum konsantrasyonunun ve/veya jelleşme süresinin kapsülleme verimliliğini kontrol ettiğini bildirmiştir [104], [105], [106]. Süre çok uzun olduğunda, aşırı çapraz bağlanma süreci meydana gelir. Dolayısıyla, matris sertleşmesi nedeniyle DOX' un yavaş difüzyon kaybı verimi düşürür (Şekil 4.7b). Öte yandan, Şekil 36**c**, EE' nin kalsiyum konsantrasyonuyla doğrusal olarak arttığını göstermektedir. Ayrıca, EE' nin zamanla sürekli olarak arttığı da gözlemlenmektedir. Bu durum, çapraz bağlama iyonunun (Ca^{2+}) ağ yapısını zamanla daha yoğun hale getirerek DOX' un aljinat boncukta tutulmasını kolaylaştırmasıyla açıklanabilir.



a



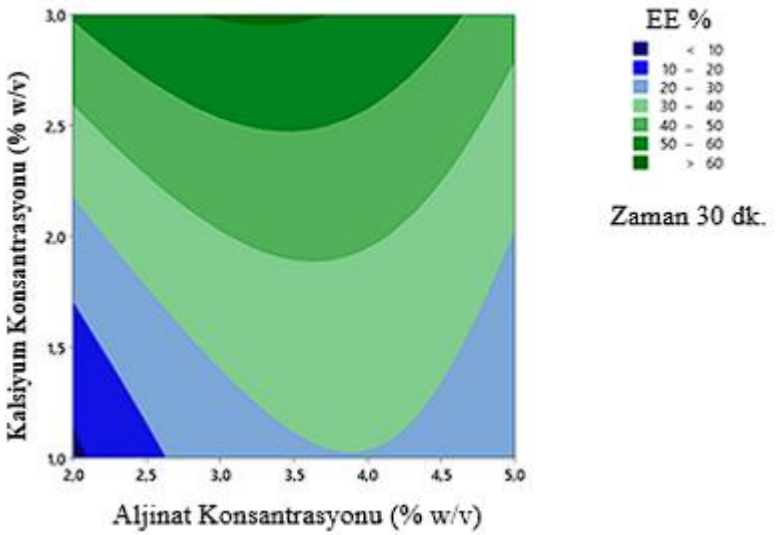
b



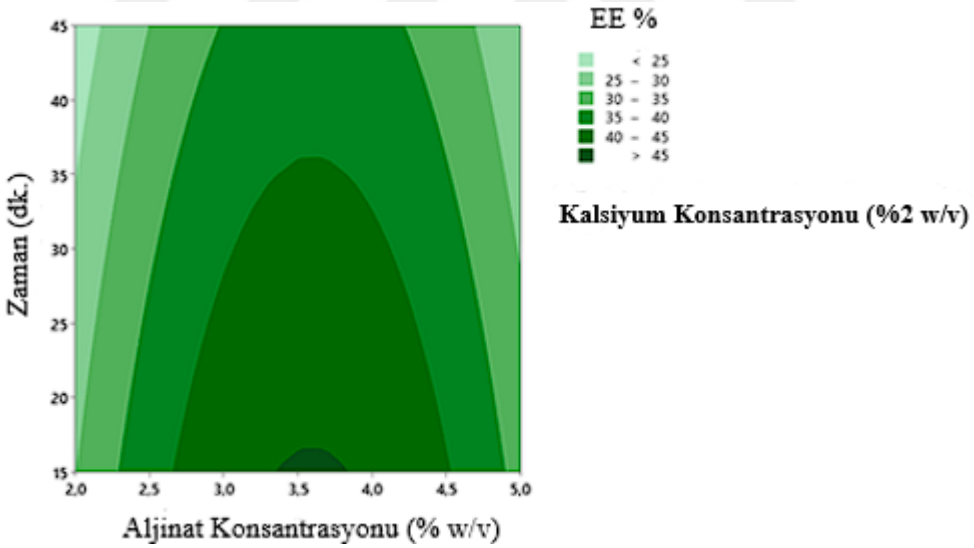
c

Şekil 4.7: Aljinat konsantrasyonu ve kalsiyum klorür konsantrasyonunun **(a)**, aljinat konsantrasyonu ve zamanının **(b)**, kalsiyum klorür konsantrasyonu ve zamanının **(c)** kapsülleme verimliliği üzerindeki birleşik etkilerini gösteren tepki yüzey grafikleri.

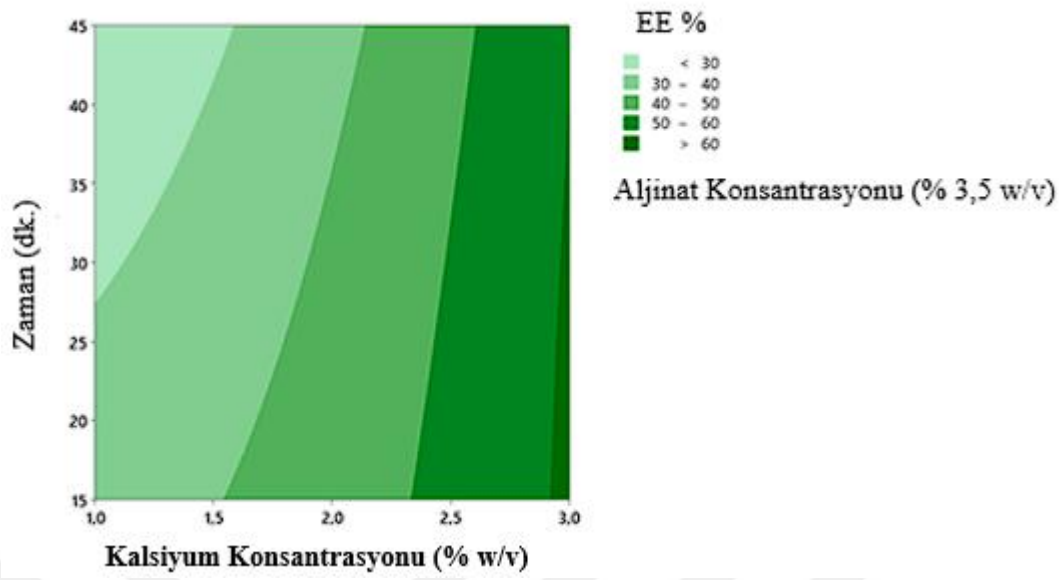
Kontur grafikleri (Şekil 4.8), aljinat konsantrasyonu, $CaCl_2$ konsantrasyonu ve jelleşme süresinin kapsülleme verimliliğinin temel faktörleri olduğunu göstermektedir. Özellikle, EE' nin yaklaşık %3,5 aljinat ve yaklaşık %3 $CaCl_2$ seviyelerinde maksimum değerlere ulaştığı gözlemlenmiştir.


EE %
< 10
10 - 20
20 - 30
30 - 40
40 - 50
50 - 60
> 60
Zaman 30 dk.
Kalsiyum Konsantrasyonu (% w/v)
3,0
2,5
2,0
1,5
1,0
2,0
2,5
3,0
3,5
4,0
4,5
5,0
Aljinat Konsantrasyonu (% w/v)

a


EE %
< 25
25 - 30
30 - 35
35 - 40
40 - 45
> 45
Kalsiyum Konsantrasyonu (%2 w/v)
Zaman (dk.)
45
40
35
30
25
20
15
2,0
2,5
3,0
3,5
4,0
4,5
5,0
Aljinat Konsantrasyonu (% w/v)

b



c

Şekil 4.8: Kapsülleme verimliliği üzerinde aljinat konsantrasyonu ve kalsiyum klorür konsantrasyonunun **(a)**, aljinat konsantrasyonu ve zamanının **(b)**, kalsiyum klorür konsantrasyonu ve zamanının **(c)** birleşik etkilerini gösteren kontur grafikleri.

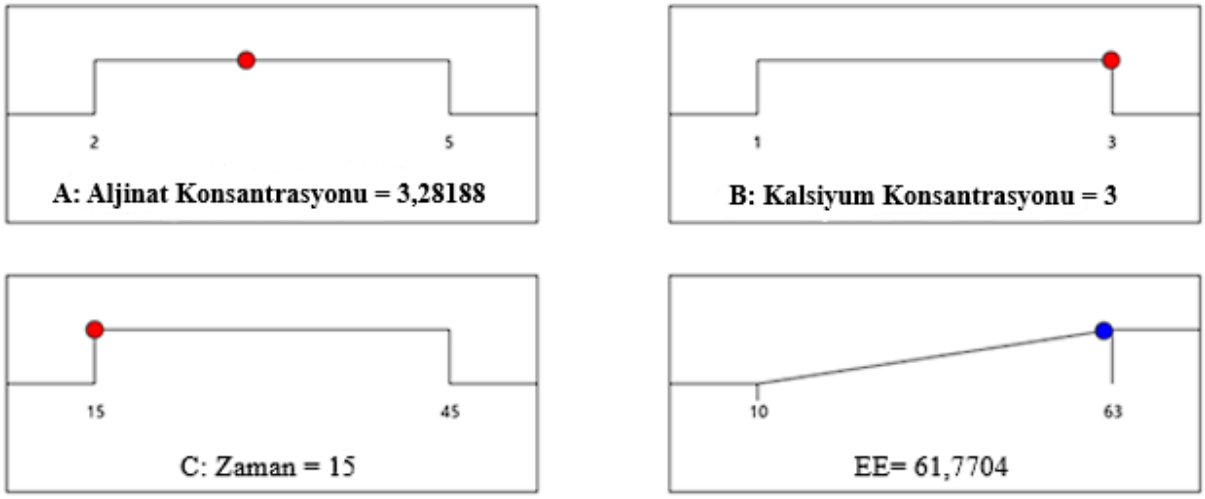
Şekil 4.8a, aljinat konsantrasyonu yaklaşık %3,5 ve $CaCl_2$ konsantrasyonu yaklaşık %3 olduğunda EE' nin maksimuma (>%60) ulaştığını göstermektedir. Şekil 4.8b, optimum aljinat seviyesinin %3,5-4 arasında olduğunu, 15-20 dakikalık sürenin ise EE' yi en üst düzeye çıkardığını (>%45) göstermektedir. Şekil 4.8c, EE' nin $CaCl_2$ konsantrasyonuna bağlı olarak düzenli olarak arttığını göstermektedir. Süre 15 dakikadan 45 dakikaya çıktıkça EE' de hafif bir artış gözlemlenmektedir.

4.3.3. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları

Bağımsız faktörler (aljinat konsantrasyonu, kalsiyum konsantrasyonu ve jelleşme süresi), tepki fonksiyonunu en üst düzeye çıkarmak için deneysel aralıkta tutuldu. Design-Expert yazılımı tarafından gerçekleştirilen arzu edilebilirlik tabanlı optimizasyonda, optimum koşulların %3,28 aljinat, %3 kalsiyum ve 15 dakikalık jelleşme süresi olduğu toplam 69 olası çözüm elde edildi. Bu koşullar altında, öngörülen EE değeri %61,77 idi (Tablo 4.10). Bu bulgu, her üç faktör için de arzu edilebilirlik eğrilerinin aynı optimum bölgeyi gösterdiği rampa grafiğinde (Şekil 4.9) görülebilir; sistem yüksek güvenilirlikle optimize edilmiştir.

Tablo 4.2: Design-Expert sayısal optimizasyonuna dayalı kapsülleme verimliliğini en üst düzeye çıkarmak için optimum jelleşme koşulları.

Parametreler	**Optimum Değer**
Aljinat Konsantrasyonu (%, w/v)	3,28
$CaCl_2$ Konsantrasyonu (%, w/v)	3
Jelleşme Süresi (dk.)	15
Ön görülen EE (%)	61,77
İstenilirlik	0,977



İstenilirlik = 0,977

Çözüm 1/69

Şekil 4.9: Kapsülleme verimliliğinin optimizasyonu için rampa grafiği.

Doğrulama deneyinde optimum koşullar altında gerçek EE değerinin %63,87 olduğu belirlenmiştir. Bu değer, modelin tahminine (%61,77) yakındır. Bu bulgu, modelin doğruluğunu teyit etmektedir.

4.4. İLAÇ SALIMLARININ KİNETİK MODELLENMESİ

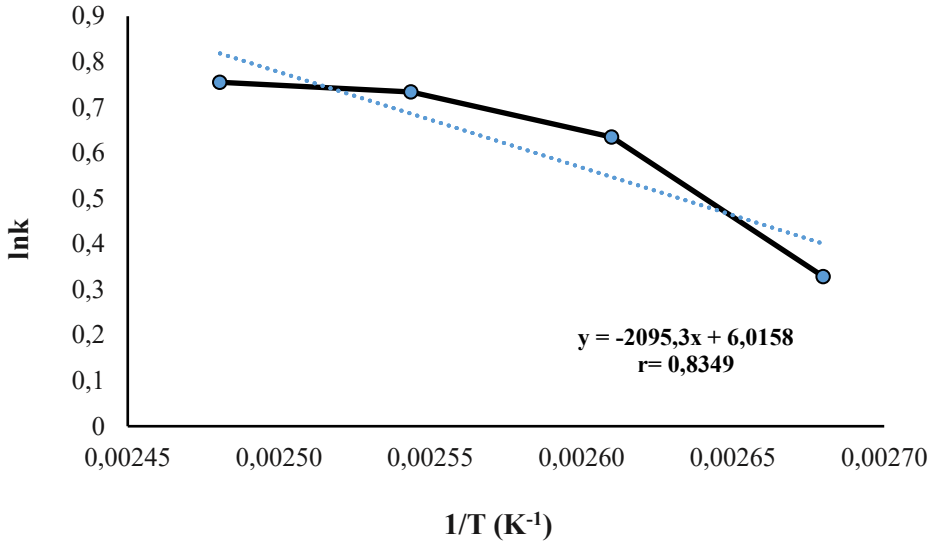
Tablo 4.3, aljinat bazlı jellerin SGS ve SIS' e ilaç salımının kinetik analizini göstermektedir. SGS, yaklaşık 1,5 pH' ta simüle edilmiş mide sıvısını temsil eder. SIS, simüle edilmiş bağırsak sıvısını neredeyse nötr pH' ta sunar.

Tablo 4.3: Aljinat jel taşıyıcıların ilaç aktif maddelerinin salımı için kinetik model parametreleri.

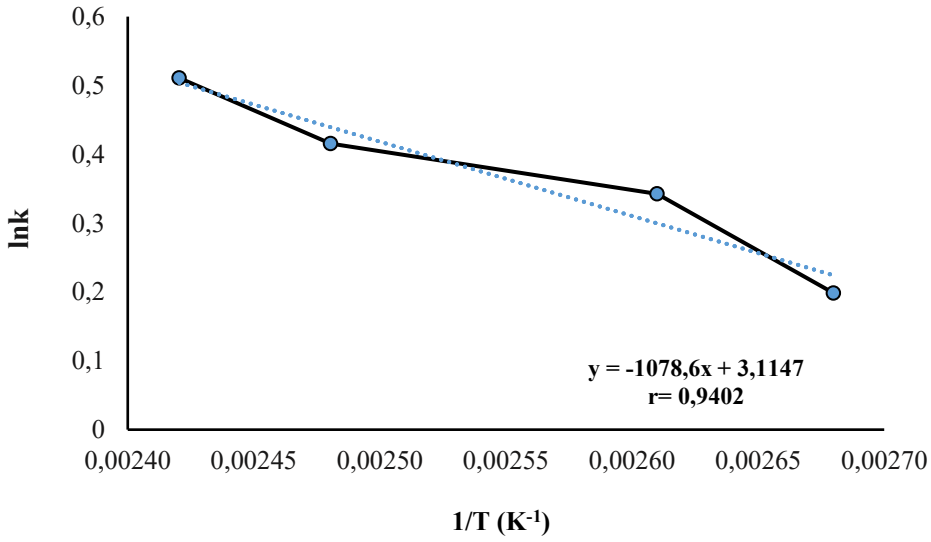
Etkin Madde	GI Sistemi	Sıfırıncı Derece Kinetik Model		Birinci Derece Kinetik Model		Higuchi Model		Korsmeyer-Peppas Model		
		k_0 (mg dk^{-1})	R^2	k_1 (dk^{-1})	R^2	k_H (mg $dk^{-1/2}$)	R^2	n	K (dk^{-n})	R^2
AMOX	SGS	0,0005	0,8218	-0,0016	0,4803	0,0095	0,9548	0,4980	0,0117	0,9304
	SIS	0,0020	0,9393	0,0047	0,8698	0,0352	0,9446	0,2373	0,1590	0,9868
DOX	SGS	0,0004	0,3548	0,0006	0,3892	0,0086	0,4840	0,1203	0,2050	0,5831
	SIS	0,0014	0,5715	0,0038	0,7100	0,0291	0,7591	0,1388	1,2460	0,9789

4.5. RANSİMAT TEST SONUÇLARI

Bu çalışmada, ilaçların çeşitli sıcaklıklarda (100 ℃, 110 ℃, 120 ℃ ve 130 ℃) termal kararlılığını değerlendirmek için Ransimat hızlandırılmış oksidasyon testi kullanılmıştır. AMOX yüklü aljinat boncuklarının indüksiyon süresi (İS) değerleri, 100 ℃-130 ℃ arasında 0,72 saat ile 0,47 saat arasında değişmiştir. DOX yüklü aljinat boncuklarında ise İS, aynı sıcaklık aralığında 0,82 saat ile 0,60 saat arasında değişmiştir. Ransimat sonuçları, DOX örneklerinin daha yavaş ayrışma hızı sabiti (İS' nin tersi) nedeniyle sıcaklık artışlarına AMOX' tan daha kararlı olduğunu göstermektedir. Her iki ilaç için de Arrhenius modelinin uygulaması Şekil 4.10 ve 4.11' de verilmektedir.



Şekil 4.10: Ransimat ölçümlerine dayalı AMOX yüklü aljinat jel taşıyıcıların bozunumuna ilişkin Arrhenius grafiği.

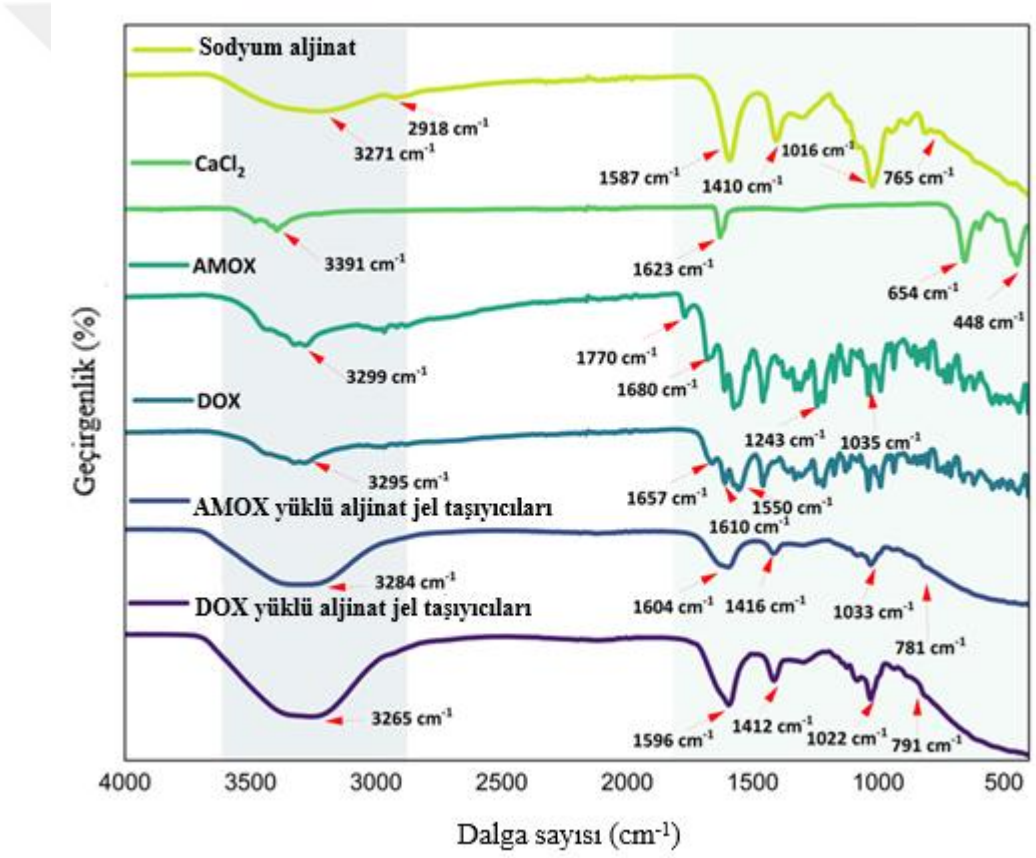


Şekil 4.11: Ransimat ölçümlerine dayalı DOX yüklü aljinat jel taşıyıcıların bozunumu için Arrhenius grafiği.

4.6. AMOKSİSİLİNİN VE DOKSİSİKLİN YÜKLÜ ALJİNAT JEL TAŞIYICILARININ KARAKTERİZASYONU

4.6.1. FTIR Analizleri

Formülasyonlarda kullanılan polimer matrisi ile ilaçlar arasındaki olası etkileşimleri, fonksiyonel gruplardaki değişiklikleri ve kapsülleme işlemi sırasında meydana gelen bağlanma mekanizmalarını daha iyi anlamak için FTIR (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi) analizi uygulandı. Bu bağlamda, sodyum aljinat, $CaCl_2$, saf AMOX, saf DOX ve ilaç yüklü aljinat jel taşıyıcıların spektrumları karşılaştırıldı (Şekil 4.12).



Şekil 4.12: Sodyum aljinat, $CaCl_2$, AMOX, DOX, AMOX yüklü aljinat jel taşıyıcıları ve DOX yüklü aljinat jel taşıyıcılarının FTIR spektrumları.

4.6.2. Morfolojik Analizler

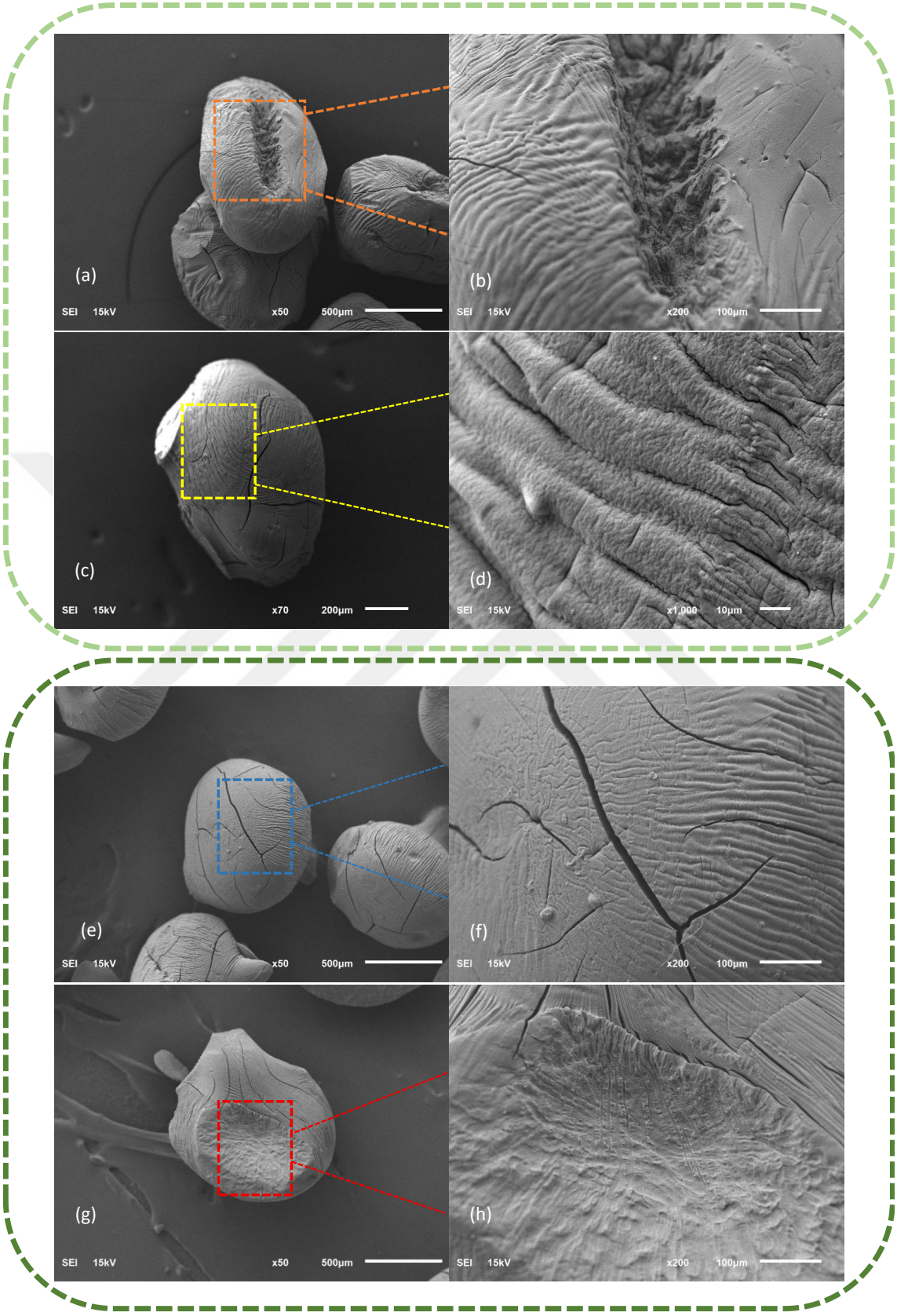
Optik cihaz görüntüleri (Şekil 4.13), AMOX ve DOX ile yüklenmiş iyonik jelleşme ile elde edilen aljinat mikro kapsüllerin genel olarak homojen, düzgün ve iyi tanımlanmış küresel bir morfolojiye sahip olduğunu göstermektedir.



a) b)

Şekil 4.13: AMOX yüklü **(a)** ve DOX yüklü **(b)** aljinat jel taşıyıcılarının mikrofotografları.

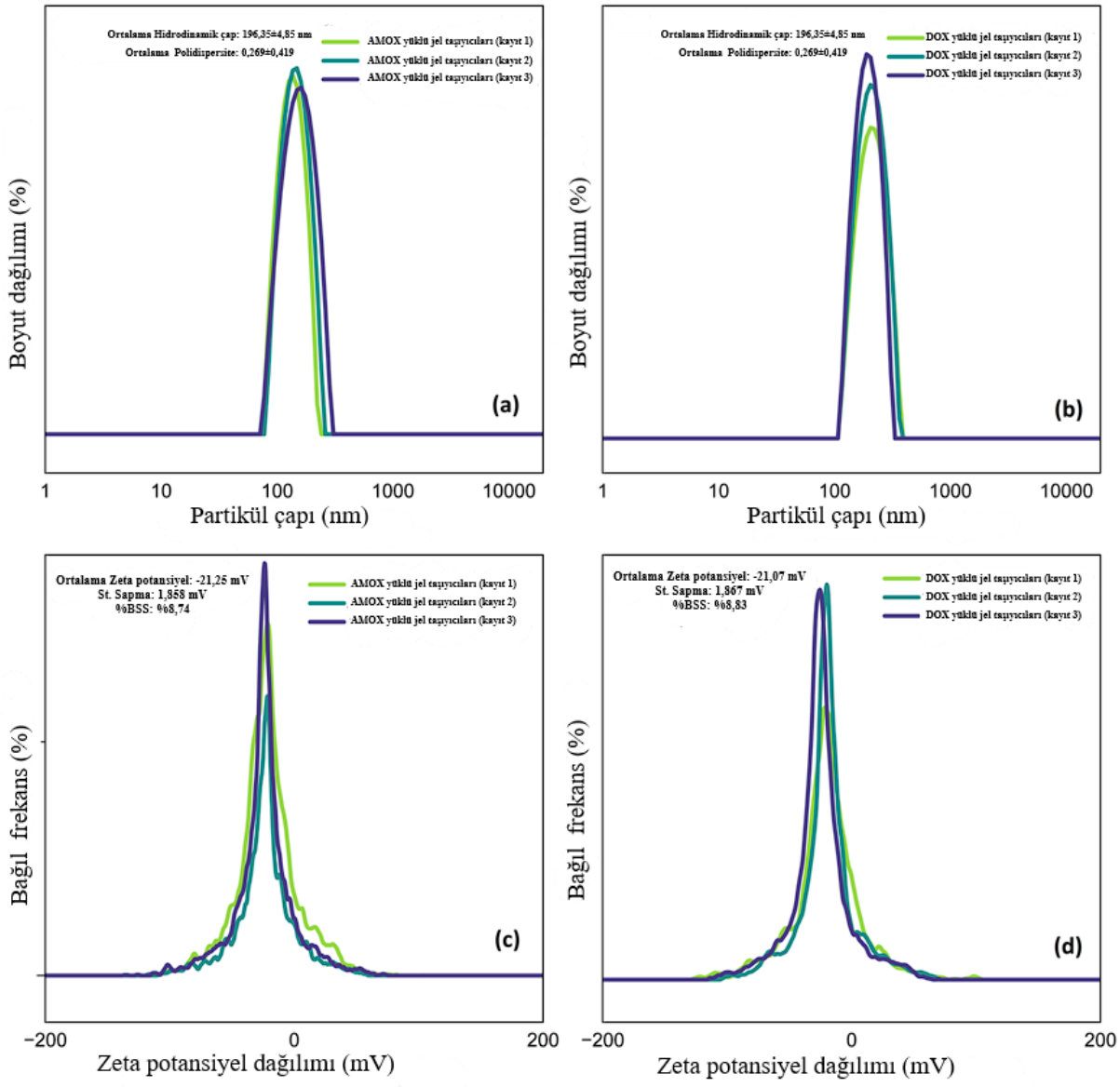
Diğer taraftan, Şekil 4.14 AMOX (a-d) ve DOX (e-h) ile yüklenmiş aljinat jel taşıyıcılarının yüzey topografisini göstermektedir.



Şekil 4.14: AMOX yüklü **(a-d)** ve DOX yüklü **(e-h)** aljinat jel taşıyıcılarının SEM görüntüleri.

4.6.3. DLS ve Zeta Potansiyel Ölçümleri

AMOX yüklü ve DOX yüklü jel taşıyıcıların fosfat tamponlu salin (pH 7,4) içinde inkübe edilmesinden sonra, salınan fraksiyonun (süpernatant) hidrodinamik boyutu ve zeta potansiyeli ölçümleri yapıldı. Bu nedenle elde edilen dinamik ışık saçılması (DLS) ve zeta potansiyeli verileri, salımdan sonra süpernatantta bulunan nano ölçekli parçacıklara ve moleküler komplekslere karşılık gelmektedir. Şekil 4.15a-b incelendiğinde, AMOX yüklü jel taşıyıcılardan salınan fraksiyonun ortalama hidrodinamik çapının 196,35±4,85 nm ve düşük polidispersite değerine (0,269±0,419) sahip olduğu gözlemlenmiştir. Benzer şekilde, DOX yüklü boncuklardan elde edilen süpernatant fraksiyonu biraz daha yüksek ortalama boyuta (223,31±7,49 nm) ve benzer bir polidispersite değerine (0,249±0,854) sahipti. 0,3' ün altındaki polidispersite indeksi (PDI) değerleri, salınan fraksiyonun nispeten monodispers bir dağılıma sahip olduğunu ve parçacıkların homojen bir şekilde süspansiyon halinde olduğunu gösterir [107]. Zeta potansiyeli sonuçları (Şekil 4.15c-d), AMOX ile salınan fraksiyonun ortalama yüzey yükünün -21,25 mV, DOX ile salınan fraksiyonun ise -21,07 mV olduğunu ortaya koymuştur.



Şekil 4.15: Fosfat tamponlu salin (pH 7,4) içinde inkübasyonun ardından AMOX yüklü ve DOX yüklü jel taşıyıcılardan toplanan salınan fraksiyonun hidrodinamik parçacık boyutu dağılımları (**a-b**) ve zeta potansiyeli (**c-d**) profilleri. Ölçümler üç bağımsız tekrarı temsil etmektedir (kayıt 1-3). Veriler, ilaç salımından sonra süpernatantta bulunan parçacıklara ve moleküler komplekslere karşılık gelmektedir.

5. TARTIŞMA

5.1. AMOKSİSİLİNİN MİKROENKAPSÜLASYONU

Enkapsülasyon verimliliğinin sodyum aljinat ve $CaCl_2$ konsantrasyonlarına bağlı olduğu Tablo 4.5' te görülmektedir. Bunun sebebi ise güçlü iyonik çapraz bağlanma yoluyla ağ yapısının daha sıkı hale gelmesi ve koruyucu bir duvar oluşturması olabilir. Bu yapı biyoaktif bileşenleri oksidatif ve yapısal degradasyona karşı korur. Çok yüksek aljinat (>%5) veya düşük $CaCl_2$ (<%1) koşullarında difüzyon sınırlaması veya yeteri kadar oluşmayan jel oluşumu sebebiyle verimlilik azalabilir. Öte yandan merkez noktalardaki beş tekrar (%3,5 aljinat, %2 $CaCl_2$ ve 30 dakika kürleşme süresi) ve tekrarlar arasında (5, 6, 8, 13 ve 16. çalışmalar) tutarlı sonuçlar (EE yaklaşık %49-54) göstermektedir. Bu çalışmadaki en iyi bulgu, iyonik jelleşme ile üretilen AMOX içeren kitosan-aljinat mikrokapsüllerine benzerdir. Burada %64 EE elde edilmiştir [108]. Khoshnood ve arkadaşları dokosaheksaenoik asit yüklü kitosan/aljinat nanopartiküllerinde AMOX kapsüllenmesi için %76 EE' yi elde etmiştir [109]. Grigoswami ve arkadaşları ise kitosan-aljinat nanohidrojellerde hapsedilmiş olan AMOX' un %64 EE' sini yakalamışlardır [110].

5.2. DOKSİSİKLİNİN MİKROENKAPSÜLASYONU

Önermiş olduğumuz yöntemde enkapsülasyon verimleri proses şartlarına bağlı olarak %10 ile %63 arasında değişmiştir (Tablo 4.8). Tip II kolajen, sodyum aljinat ve sodyum karboksimetil selüloz bazlı DOX yüklü mikrokapsüller sırasıyla %67,57 ve %80,14 EE sağlamıştır [111]. Mevcut çalışmanın daha düşük EE' si, daha basit matris sistemine (sodyum aljinat) ve ek polimerlerin (tip II kolajen, sodyum aljinat ve sodyum karboksimetil selüloz) yokluğuna atfedilebilir. Benzer şekilde, Singh ve arkadaşları, grafen oksit, kitosan ve aljinat dahil olmak üzere DOX yüklü parçacıklar için %85 EE bildirmiştir [112]. Emülsiyon çözücü buharlaştırma tekniğiyle üretilen DOX yüklü PLA mikroküreleri %38 EE vermiştir [113]. Son zamanlarda, pH' a duyarlı DOX mikropartikülleri %69,43±5,32 EE vermiştir [114]. DOX yüklü elektrosprey ile üretilen poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) mikroküreleri, polimer uç gruplarına bağlı olarak %40,8, %46,6, %58,6 ve %66,7 EE göstermiştir [115].

5.3. AMOKSİSİLİN VE DOKSİSİKLİN YÜKLÜ ALJİNAT JEL TAŞIYICILARININ SALIM DAVRANIŞLARI

SGS' de AMOX salım davranışının birinci dereceden kinetik modellemesi düşük R^2 (≈0,5) üretmiştir (Tablo 4.11). Bu bulgu, salım hızının kalan ilaç konsantrasyonu tarafından kontrol edilmediğini göstermektedir. SGS' deki salım kinetiği, sıfırıncı dereceden kinetik modele orta düzeyde uyum sağlarken (R^2=0,82), Higuchi modeli en iyi uyumu sağlamıştır (R^2=0,95). Bu sonuçlar, Higuchi [116] tarafından açıklandığı gibi matris kontrollü sistemler için beklenen asidik ortamda bile hidratlı bir polimer matristen (aljinat) difüzyon kontrollü salımla tutarlıdır. Onuigbo ve arkadaşları ayrıca, mukoadeziv aljinat kaplı kitosan mikropartiküllerine kapsüllenmiş AMOX' un salım kinetiğinin hem SGS hem de SIS' de sıfırıncı, birinci ve Korsmeyer-Peppas kinetik modellerine kıyasla Higuchi modeliyle daha iyi tanımlandığını bildirmiştir [117].

SIS' teki AMOX salım kinetiği tüm modelleri yeterli düzeyde takip etmiştir. Öte yandan, kinetik veriler Higuchi modeline (R^2=0,94) ve birinci derece kinetik modele (R^2=0,87) çok daha iyi uymaktadır; bu da baskın mekanizmanın difüzyon olduğunu göstermektedir. SIS' teki daha yüksek k_H değeri (0,0095 mg/dk$^{-1/2}$' ye kıyasla 0,0352 mg/dk$^{-1/2}$), mideden daha hızlı salım anlamına gelir. Bu bulgular, ilaç difüzyonunun (özellikle hidrofilik aktifler) baskın olduğu önceki araştırmalarla tutarlıdır [118]. Philip ve arkadaşları da, pH ile artan k_H ile ilaç salımında difüzyonun baskın olduğunu bildirmiştir [119]. Patil ve arkadaşları da, saf aljinat sistemlerinde Higuchi uyumu olduğunu, kitosan-aljinatın ise sıfırıncı dereceden kinetik salım izlediğini bildirmiştir [120]. Ayrıca, salım hızının artan pH ile arttığını ve bunun SIS' de (sıfırıncı dereceden kinetik model) daha hızlı ve tutarlı bir salıma işaret ettiğini gözlemlemişlerdir. Benzer şekilde, SIS' deki daha yüksek k_0 (neredeyse 4 kat) (0,0020 mg$\cdot^{dak-1}$' e karşı 0,0005 mg$\cdot^{dak-1}$), mevcut çalışmada önerilen aljinat matrisinin pH' a duyarlı davranışını destekler. Dahası, Korsmeyer-Peppas modeli %60' tan daha az salım gösteren veri noktalarına da uygulanmıştır [121]. 0,43=n' nin Fickian difüzyon mekanizmasına, 0,43>n' nin yarı-Fickian difüzyon mekanizmasına ve 0,43<n<0,89' un Fickian olmayan taşımaya karşılık geldiği gerçeği göz önüne alındığında [122], [123]. Korsmeyer-Peppas analizi kinetik bulguları destekler. SGF koşulunun n değeri (0,498) (k=0,0117 dak^{-n} ve R^2=0,93) Fickian olmayan taşımayı (AMOX difüzyonu ve ağ şişmesi) gösterir [124]. SIS koşulunun n değeri 0,43' ün altındadır (k=0,159 dk^{-n} ve R^2=0,99), bu da yarı-Fickian difüzyon mekanizmasına karşılık gelir. Difüzyon baskındır, bu da pH arttıkça difüzyon hızı parametresinin arttığı

anlamına gelir. DOX salım davranışı göz önüne alındığında, R^2 çok zayıftır (Tablo 4.11), ancak mekanistik yorumlamada dikkatli olunmalıdır ($R^2 \leq 0,58$). SIS ortamında, salım kinetiği Higuchi ve birinci dereceden kinetik modellerle yeterince temsil edilmektedir. Peppas analizi, yalnızca SIS' te güçlü doğrusallıkla ($R^2=0,98$) 0,43' ten düşük n değeri vermiştir ve bu da bağırsaktaki DOX salımının kontrol modu olarak yarı-Fickian difüzyon mekanizmasına işaret etmektedir. Bu difüzyon kontrollü davranış, diğerlerinden daha yüksek olan Higuchi modelinin R^2 değerleriyle de desteklenmektedir [125], [126]. Ayrıca, k_H bağırsakta yaklaşık 3-4 kat daha yüksektir. Bunun nedeni, pH' taki artışla birlikte aljinat şişmesi ve iyon değişiminin bir sonucu olarak genişleyen gözeneklerdir [127].

Öte yandan, AMOX ve DOX' un salım davranışı, aynı aljinat matrisinde sıkışmış olmalarına rağmen oldukça farklıdır. Bu durum, bu iki ilacın fizikokimyasal özellikleriyle açıklanabilir [128]. AMOX' un DOX' a göre üstün salım performansı, hidrofilik yapısına ve farklı pK_a değeri nedeniyle aljinat matrisiyle daha zayıf iyonik kompleksleşmesine bağlanabilir.

5.4. AMOKSİSİLİN VE DOKSİSİKLİN YÜKLÜ ALJİNAT JEL TAŞIYICILARININ AKTİVASYON ENERJİSİNİN BELİRLENMESİ VE TERMAL KARARLILIK DEĞERLENDİRMESİ

AMOX ve DOX' un E_a değerleri sırasıyla 17,4 kJ/mol ve 9,0 kJ/mol olarak hesaplanmıştır (Denklem 3.6 ve 3.7). AMOX, bozunma hızı sıcaklıkla birlikte daha hızlı arttığı için sıcaklığa daha duyarlı görünmektedir. Öte yandan DOX daha düşük aktivasyon enerjisi sayesinde sıcaklığa karşı daha kararlıdır. Ayrıca korelasyon katsayıları (0,83 ve 0,94) ve Arrhenius modelinin her iki ilaç için de uygunluğunu doğrulamaktadır (Şekil 4.10 ve 4.11).

5.5. AMOKSİSİLİN VE DOKSİSİKLİN YÜKLÜ ALJİNAT JEL TAŞIYICILARININ KARAKTERİZASYON DEĞERLENDİRİLMESİ

Şekil 4.12' de de görüldüğü üzere, spektrumların birlikte değerlendirilmesi, çapraz bağlanma sonrasında aljinat yapısındaki yapısal değişiklikleri ve ilaç-matris etkileşimlerinin varlığını ortaya koymada büyük önem taşımaktadır. Sodyum aljinat spektrumu, 3271 cm^{-1}' de geniş bir O-H germe titreşimi ve 2918 cm^{-1}' de C-H germe titreşimleri ile karboksilat (COO^-) gruplarının asimetrik ve simetrik titreşimlerini sırasıyla 1587 cm^{-1} ve 1410 cm^{-1}' de göstermektedir [129], [130]. 1016 cm^{-1} civarındaki C-O-C titreşimleri ve 765 cm^{-1} civarındaki dairesel titreşimleri, polisakkarit omurgasını doğrular [131]. $CaCl_2$' nin FTIR spektrumunda 3391 cm^{-1} civarındaki geniş bant, hidratlanmış $CaCl_2$' deki kristal yapıya bağlı su moleküllerinin O-H germe titreşimini gösterir. 1623 cm^{-1}' deki bant, tuzun hidratlanmış formda olduğunu gösteren H-O-H bükme titreşimiyle ilişkilidir [132]. Düşük dalga sayısı bölgesindeki 654 ve 448 cm^{-1}' deki pikler, Ca-O ve Ca-Cl kafes germe ve deformasyon titreşimleriyle ilişkilidir [133], [134]. Saf AMOX' un FTIR spektrumu, literatürle uyumlu olarak, 3299 cm^{-1}' de O-H/N-H germe titreşimlerini [135], 1770 cm^{-1}' de β-laktam halkasının karakteristik C=O bandını [136] ve 1680 cm^{-1}' de amid grubunun C=O titreşimini göstermektedir [137]. Parmak izi bölgesindeki 1243 ve 1035 cm^{-1}' deki bantlar, ilacın aromatik ve alifatik C-O ve C-N titreşimlerine karşılık gelmektedir [138]. DOX' un FTIR spektrumu, OH germe titreşimini gösteren 3295 cm^{-1}' de belirgin bir bantın yanı sıra, sırasıyla 1610 cm^{-1} ve 1550 cm^{-1}' de amid bantları I ve II' yi sergilemektedir. Ayrıca 1657 cm^{-1}' deki titreşim, DOX aromatik halkasındaki C=O ve C=C gruplarının gerilme titreşimleriyle ilgilidir [139], [140]. AMOX yüklü aljinat jel taşıyıcılar FTIR spektrumu, ilacın matrisle etkileşimini gösteren belirgin bant kaymaları içermektedir. Saf AMOX ile karşılaştırıldığında, 3284 cm^{-1}' deki O-H/N-H bandının kayması ve genişlemesi, yükleme sonrasında hidrojen bağının oluştuğunu göstermektedir. Nitekim, literatürde, polimer matrislerindeki fonksiyonel gruplar arasında etkileşimler meydana geldiğinde O-H/N-H bantlarında gözlemlenen benzer kaymalar ve genişlemelerin hidrojen bağının göstergesi olduğu bildirilmektedir [141]. 1604 cm^{-1}' deki bandın görünümü, AMOX' un amid/karbonil gruplarının aljinatın COO^- bölgeleriyle etkileşime girdiğini düşündürmektedir. Ek olarak, 1416 cm^{-1}' deki banttaki kayma, ilacın Ca^{2+} çapraz bağlı aljinat ağındaki konumuna bağlı olarak COO- simetrik titreşimlerinde bir kaymaya işaret etmektedir. Parmak izi bölgesindeki 1033 cm^{-1} ve 781 cm^{-1}' deki bantlar, ilacın matris içinde fiziksel olarak tutulduğunu ve yükleme sonrasında konformasyonunun

kısmen değiştiğini desteklemektedir [142]. DOX yüklü aljinat jel taşıyıcılarının FTIR spektrumu, AMOX yüklü aljinat jel taşıyıcılarında olduğu gibi, ilaç-matris etkileşimini gösteren belirgin bant kaymaları içermektedir. Saf DOX' a göre, 3265 cm^{-1} civarındaki O-H/N-H bandının genişlemesi, polimer zinciriyle hidrojen bağlarının oluşumunu düşündürmektedir [143]. Saf DOX spektrumuna kıyasla, 1596 cm^{-1}' deki (C=O/amid I) bandın kayması, DOX' un karbonil/amid gruplarının aljinatın COO^- bölgeleriyle etkileşime girdiğini göstermektedir [144]. Benzer şekilde 1412 cm^{-1} civarındaki bant, COO^- simetrik titreşiminin DOX' un matristeki konumuna bağlı olarak kaydığını göstermektedir. Öte yandan, parmak izi bölgesinde 1022 cm^{-1} ve 791 cm^{-1} bantlarının korunması, DOX' un, AMOX yüklü jel taşıyıcılara benzer şekilde, moleküler iskeleti korunarak ancak çevresel konformasyonunda olası kısmi değişikliklerle, aljinat ağı içinde fiziksel olarak tutulduğunu düşündürmektedir [143].

Diğer taraftan, AMOX kapsülleri daha açık sarı ve mat bir yüzey yapısına sahipken, DOX kapsülleri daha şeffaf, yoğun pigmentli ve pürüzsüz bir dış yüzeye sahiptir (Şekil 4.13). Bu farklılık, ilaçların formülasyondaki çözünürlüğü, polimer-ilaç etkileşimleri ve çapraz bağlanma derecesi ile ilgili olabilir. Boyut analizleri, her iki ilaç için de dar bir parçacık dağılımı ortaya koymaktadır. AMOX yüklü aljinat jel taşıyıcılarının ortalama çapı 1,97±0,015 mm, DOX yüklü aljinat jel taşıyıcılarının ise 2,28±0,018 mm olarak bulunmuştur. Küresellik faktörü (KF) ve yuvarlaklık değerleri, her iki mikro kapsül grubunun da yüksek derecede küresellik sergilediğini göstermektedir. AMOX numunesi için KF değeri 0,048 iken, DOX numunesi için 0,037' dir. Bu değerler sıfıra yakın olup ideal küreselliği göstermektedir. Benzer şekilde yuvarlaklık değerleri (AMOX: 1,505 ve DOX: 1,175), her iki sistemde de iyi geometrik bütünlüğü ve minimum deformasyonu doğrulamaktadır.

Ayrıca, her iki formülasyon da genel olarak küresel/oval bir makro yapı sergileyerek başarılı bir kapsüllemeyi göstermekte ve jel taşıyıcılarının kurutulmasından kaynaklanan kırışık bir yüzey topografisi sergilemektedir (Şekil 4.14). Bu kırışık yapı, aljinat bazlı taşıyıcı sistemlerde yaygın olarak bildirilen, kurutma sırasında hidrojel matrislerinin yaşadığı hızlı su kaybı ve büzülmenin tipik bir sonucudur [145], [146]. AMOX yüklü jel taşıyıcılar, yüzeyde yoğun, paralel ve düzenli kıvrımlara sahip bir yapı sergiler (Şekil 4.14d, ×1.000). Yüksek büyütmede bu dalgalı görünüm, AMOX gibi hidrofilik ilaçların aljinat matrisi içinde homojen olarak dağıldığını gösterir. DOX yüklü jel taşıyıcıların morfolojisi, AMOX jel taşıyıcılarından bazı farklılıklar göstermektedir. Kıvrımlı ana yapı korunurken, özellikle Şekil 4.14f' de

görülen uzun, doğrusal yüzey çatlakları ve Şekil 4.14h' deki lokalize pürüzlü/düzensiz alanlar dikkat çekicidir. Bu tür yapısal kusurlar, DOX molekülünün amfifilik doğasına atfedilir. Amfifilik ilaçların, aljinat zincirleriyle hem hidrojen bağları hem de hidrofobik etkileşimler oluşturarak polimer ağında heterojen agregasyonlara ve lokalize mikrogerilim bölgelerine neden olabileceği düşünülmektedir [147]. Bu bulgular, iki farklı ilaç molekülünün aljinat matrisinin mikro yapısı üzerindeki farklı etkilerini açıkça göstermektedir.

Şekil 4.15' de görüldüğü gibi ölçülen zeta potansiyelleri, tipik olarak orta düzeyde koloidal stabilite olarak yorumlanan aralıkta yer almaktadır; bu da salınan türlerin her iki sistemde de yeterince elektrostatik olarak stabilize kaldığını göstermektedir. Bütün bunlara ek olarak tekrarlar arasındaki düşük varyasyon (%RSD < 9), ölçümlerin tutarlılığını ve güvenilirliğini yansıtmaktadır. Bu sonuçlar birlikte ele alındığında, her iki jel taşıyıcı formülasyonundan salınan malzemelerin süpernatantta stabil hidrodinamik boyutlarını ve yüzey özelliklerini koruduğunu göstermektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Aljinat jel taşıyıcıları, yapısal olarak farklı iki ilacın (amoksisilin ve doksisiklin) kapsüllenmesi ve kontrollü salımı için umut verici bir matris olarak geliştirilmiştir. Box-Behnken tasarımlı yanıt yüzey metodolojisi, kalsiyum klorür konsantrasyonunun ve aljinat konsantrasyonunun ikinci dereceden etkisinin istatistiksel olarak anlamlı faktörler olduğunu göstermiştir. Optimize edilmiş koşullar altında, her iki ilaç için de yüksek kapsülleme verimlilikleri elde edilmiştir (amoksisilin için yaklaşık %80-86 ve doksisiklin için yaklaşık %62-64). Simüle edilmiş mide ve bağırsak sıvılarında kinetik modelleme, Higuchi ve Korsmeyer-Peppas modellerinin en iyi uyumu sağlaması (özellikle bağırsak koşulları altında) nedeniyle aljinat boncuklarından ilaç salımının difüzyon kontrollü ve pH' a duyarlı olduğunu ortaya koymuştur. Ransimat tabanlı Arrhenius analizi, amoksisilinin daha yüksek aktivasyon enerjisine dayanarak doksisiklinden daha termal olarak hassas olduğunu göstermiştir. Bu çalışmanın sonuçları, önerilen aljinat sistemlerinin hem hidrofilik hem de daha az hidrofilik ilaçların oral uygulaması için "mide koruyucu, bağırsak hedefli" taşıyıcılar olarak işlev görebileceğini göstermektedir. Bu bulgular, formülasyonun daha da geliştirilmesi ve *in vitro* değerlendirmeler için temel oluşturmaktadır.

KAYNAKLAR

[1] E. Özçelik, M. Erdal, and Y. Özsoy Erginer, "KONTROLLÜ İLAÇ SALIMINDA SON TEKNOLOJİLER," *Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi / Journal of Advanced Research in Health Sciences*, vol. 0, no. 0, pp. 0–0, Jun. 2022, doi: 10.26650/jarhs2022-1122852.

[2] L. Cao, W. Lu, A. Mata, K. Nishinari, and Y. Fang, "Egg-box model-based gelation of alginate and pectin: A review," *Carbohydr. Polym.*, vol. 242, p. 116389, Aug. 2020, doi: 10.1016/J.CARBPOL.2020.116389.

[3] C. Bennacef, S. Desobry-Banon, L. Probst, and S. Desobry, "Advances on alginate use for spherification to encapsulate biomolecules," *Food Hydrocoll.*, vol. 118, p. 106782, Sep. 2021, doi: 10.1016/J.FOODHYD.2021.106782.

[4] J. D. Oroná, S. E. Zorrilla, and J. M. Peralta, "Assessment of calcium alginate gels as wall materials for encapsulation systems," *J. Sci. Food Agric.*, vol. 104, no. 4, pp. 2458–2466, Mar. 2024, doi: 10.1002/JSFA.13131;REQUESTEDJOURNAL:JOURNAL:10970010;WGROUP:STRING:PUBLICATION.

[5] P. Tordi, F. Ridi, P. Samorì, and M. Bonini, "Cation-Alginate Complexes and Their Hydrogels: A Powerful Toolkit for the Development of Next-Generation Sustainable Functional Materials," *Adv. Funct. Mater.*, vol. 35, no. 9, p. 2416390, Feb. 2025, doi: 10.1002/ADFM.202416390;ISSUE:ISSUE:DOI.

[6] G. Patroklou *et al.*, "pH-Responsive Hydrogels: Recent Advances in Pharmaceutical Applications," *Polymers 2025, Vol. 17, Page 1451*, vol. 17, no. 11, p. 1451, May 2025, doi: 10.3390/POLYM17111451.

[7] J. Ren, J. Jin, Y. Wang, Y. Liu, and H. Qi, "Preparation and drug release behavior study of intelligent pH-Responsive sodium alginate/κ-carrageenan polysaccharide-based hydrogels," *Food Biosci.*, vol. 64, p. 105975, Feb. 2025, doi: 10.1016/J.FBIO.2025.105975.

[8] K. Essifi, M. Lakrat, D. Berraaouan, M. L. Fauconnier, A. El Bachiri, and A. Tahani, "Optimization of gallic acid encapsulation in calcium alginate microbeads using Box-Behnken Experimental Design," *Polymer Bulletin 2020 78:10*, vol. 78, no. 10, pp. 5789–5814, Oct. 2020, doi: 10.1007/S00289-020-03397-9.

[9] A. K. Pandey, U. S. Sara, and H. Dwivedi, "Optimization and In Vitro Evaluation of Curcumin-loaded Calcium Alginate Microbeads using Box-Behnken Design for Colorectal Cancer," *Current Indian Science*, vol. 1, no. 1, p. E2210299X250021, Jan. 2023, doi: 10.2174/012210299X250021230925041855.

[10] K. Mulia, A. C. Singarimbun, and E. A. Krisanti, “Optimization of Chitosan–Alginate Microparticles for Delivery of Mangostins to the Colon Area Using Box–Behnken Experimental Design,” *International Journal of Molecular Sciences 2020, Vol. 21, Page 873*, vol. 21, no. 3, p. 873, Jan. 2020, doi: 10.3390/IJMS21030873.

[11] A. K. Pandey and U. S. Sara, “Quality by Design Approach for Optimization of 5-Fluorouracil Microbeads Using Box–Behnken Design and Desirability Function for Colon Targeting,” *Journal of Pharmaceutical Innovation 2023 18:4*, vol. 18, no. 4, pp. 2054–2065, Sep. 2023, doi: 10.1007/S12247-023-09772-Z.

[12] A. Z. Sarsenbekova, U. B. Tuleuov, A. T. Kazhmuratova, A. N. Bolatbay, L. Z. Zhaparova, and Y. M. Tazhbayev, “Thermal Stability and Decomposition Mechanisms of PVA/PEGDA–PEGMA IPN-Hydrogels: A Multimethod Kinetic Approach,” *Polymers (Basel).*, vol. 17, no. 20, p. 2805, Oct. 2025, doi: 10.3390/POLYM17202805/S1.

[13] D. Thambavita *et al.*, “Biowaiver Monograph for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms: Amoxicillin Trihydrate,” *J. Pharm. Sci.*, vol. 106, no. 10, pp. 2930–2945, Oct. 2017, doi: 10.1016/J.XPHS.2017.04.068.

[14] S. Giovagnoli, T. Tsai, and P. P. Deluca, “Formulation and release behavior of doxycycline-alginate hydrogel microparticles embedded into pluronic F127 thermogels as a potential new vehicle for doxycycline intradermal sustained delivery,” *AAPS PharmSciTech*, vol. 11, no. 1, pp. 212–220, Mar. 2010, doi: 10.1208/S12249-009-9361-8.

[15] K. E. Uhrich, S. M. Cannizzaro, R. S. Langer, and K. M. Shakesheff, “Polymeric Systems for Controlled Drug Release,” *Chem. Rev.*, vol. 99, no. 11, pp. 3181–3198, 1999, doi: 10.1021/CR940351U.

[16] M. Dash, F. Chiellini, R. M. Ottenbrite, and E. Chiellini, “Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications,” *Prog. Polym. Sci.*, vol. 36, no. 8, pp. 981–1014, Aug. 2011, doi: 10.1016/J.PROGPOLYMSCI.2011.02.001.

[17] D. N. Kapoor, O. P. Katare, and S. Dhawan, “In situ forming implant for controlled delivery of an anti-HIV fusion inhibitor,” *Int. J. Pharm.*, vol. 426, no. 1–2, pp. 132–143, Apr. 2012, doi: 10.1016/J.IJPHARM.2012.01.005.

[18] J. Han, A. S. Guenier, S. Salmieri, and M. Lacroix, “Alginate and chitosan functionalization for micronutrient encapsulation,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 56, no. 7, pp. 2528–2535, Apr. 2008, doi: 10.1021/JF703739K.

[19] Y. E. Choonara, V. Pillay, R. A. Khan, N. Singh, and L. C. Du Toit, “Mechanistic evaluation of alginate-HEC gelisphere compacts for controlled intrastriatal nicotine release in Parkinson’s disease,” *J. Pharm. Sci.*, vol. 98, no. 6, pp. 2059–2072, Jun. 2009, doi: 10.1002/JPS.21590.

[20] S. Pedroso-Santana and N. Fleitas-Salazar, “Ionotropic gelation method in the synthesis of nanoparticles/microparticles for biomedical purposes,” *Polym. Int.*, vol.

69, no. 5, pp. 443–447, May 2020, doi: 10.1002/PI.5970;PAGEGROUP:STRING:PUBLICATION.

[21] C. J. MALM, J. EMERSON, and G. D. HIATT, “Cellulose Acetate Phthalate as an Enteric Coating Material,” *Journal of the American Pharmaceutical Association (Scientific ed.)*, vol. 40, no. 10, pp. 520–525, Oct. 1951, doi: 10.1002/JPS.3030401014.

[22] S. Bilimleri, “TÜRKİYE CUMHURİYETİ MARMARA ÜNİVERSİTESİ”.

[23] S. Nualkaekul, D. Lenton, M. T. Cook, V. V. Khutoryanskiy, and D. Charalampopoulos, “Chitosan coated alginate beads for the survival of microencapsulated Lactobacillus plantarum in pomegranate juice,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 90, no. 3, pp. 1281–1287, Oct. 2012, doi: 10.1016/J.CARBPOL.2012.06.073.

[24] M. Açu *et al.*, “Mikroenkapsülasyon ve Süt Teknolojisindeki Yeri,” *Akademik Gıda*, vol. 12, no. 1, pp. 97–107, Mar. 2014, Accessed: Nov. 23, 2025. [Online]. Available: https://dergipark.org.tr/en/pub/akademik-gida/issue/55791/763727

[25] D. Makalesi, Ö. Aydın, İ. Ünlüel, K. Ahi Evran Üniversitesi, M.-M. Fakültesi, and G. Mühendisliği Bölümü, “Enkapsülasyon Teknikleri ve Kontrollü Salım,” *European Journal of Science and Technology Special Issue*, vol. 32, pp. 640–648, 2021, doi: 10.31590/ejosat.1039736.

[26] M. S. Uddin, M. N. A. Hawlader, and H. J. Zhu, “Microencapsulation of ascorbic acid: Effect of process variables on product characteristics,” *J. Microencapsul.*, vol. 18, no. 2, pp. 199–209, 2001, doi: 10.1080/02652040010000352.

[27] M. Li, O. Rouaud, and D. Poncelet, “Microencapsulation by solvent evaporation: State of the art for process engineering approaches,” *Int. J. Pharm.*, vol. 363, no. 1–2, pp. 26–39, Nov. 2008, doi: 10.1016/J.IJPHARM.2008.07.018.

[28] R. S. Tiğli Aydin and M. Pulat, “5-fluorouracil encapsulated chitosan nanoparticles for pH-stimulated drug delivery: Evaluation of controlled release kinetics,” *J. Nanomater.*, vol. 2012, 2012, doi: 10.1155/2012/313961.

[29] A. Rampino, M. Borgogna, P. Blasi, B. Bellich, and A. Cesàro, “Chitosan nanoparticles: Preparation, size evolution and stability,” *Int. J. Pharm.*, vol. 455, no. 1–2, pp. 219–228, 2013, doi: 10.1016/J.IJPHARM.2013.07.034.

[30] M. S. Abdelaziz Youssef and M. M. Ayoub, “Controlled Release of Amoxicillin from Chitosan-Coated Poly(lactic-co-glycolic acid) Nanoparticles,” *Egypt. J. Chem.*, vol. 67, no. 13, pp. 2161–2170, Dec. 2024, doi: 10.21608/EJCHEM.2024.272390.9703.

[31] S. Khoshnood *et al.*, “Amoxicillin-docosahexaenoic acid encapsulated chitosan-alginate nanoparticles as a delivery system with enhanced biocidal activities against Helicobacter pylori and improved ulcer healing,” *Front. Microbiol.*, vol. 14, p. 1083330, Feb. 2023, doi: 10.3389/FMICB.2023.1083330/BIBTEX.

[32] V. Nedovic, A. Kalusevic, V. Manojlovic, S. Levic, and B. Bugarski, “An overview of encapsulation technologies for food applications,” *Procedia Food Sci.*, vol. 1, pp. 1806–1815, Jan. 2011, doi: 10.1016/J.PROFOO.2011.09.265.

[33] C. J. Martínez Rivas *et al.*, “Nanoprecipitation process: From encapsulation to drug delivery,” *Int. J. Pharm.*, vol. 532, no. 1, pp. 66–81, Oct. 2017, doi: 10.1016/J.IJPHARM.2017.08.064.

[34] M. Iqbal, N. Zafar, H. Fessi, and A. Elaissari, “Double emulsion solvent evaporation techniques used for drug encapsulation,” *Int. J. Pharm.*, vol. 496, no. 2, pp. 173–190, Dec. 2015, doi: 10.1016/J.IJPHARM.2015.10.057.

[35] C. J. Martínez Rivas *et al.*, “Nanoprecipitation process: From encapsulation to drug delivery,” *Int. J. Pharm.*, vol. 532, no. 1, pp. 66–81, Oct. 2017, doi: 10.1016/J.IJPHARM.2017.08.064.

[36] “İyonotropik jelleşme yöntemi üzerine bir inceleme: Kontrollü gastroretentif gelisferler için yeni yaklaşım | PDF İstek Et.” Accessed: Jan. 14, 2026. [Online]. Available: https://www.researchgate.net/publication/279710571_A_review_on_ionotropic_gelation_method_Novel_approach_for_controlled_gastroretentive_gelispheres

[37] G. Mühendisliği, A. Dalı, G. M. Programı, H. Mühendislik, B. Programı, and H. Program, “İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ↔ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ YÜKSEK LİSANS TEZİ OCAK 2013 KARA DUT ANTOSİYANİNLERİNİN İYONİK JELASYON YÖNTEMİ İLE ENKAPSÜLASYONU VE ENKAPSÜLASYON PARAMETRELERİNİN TEPKİ YÜZEYİ METODU İLE OPTİMİZE EDİLMESİ Tez Danışmanı: Prof. Dr…”.

[38] S. Gouin, “Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends,” *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 15, no. 7–8, pp. 330–347, Jul. 2004, doi: 10.1016/J.TIFS.2003.10.005.

[39] R. Abka-khajouei, L. Tounsi, N. Shahabi, A. K. Patel, S. Abdelkafi, and P. Michaud, “Structures, Properties and Applications of Alginates,” Jun. 01, 2022, *MDPI*. doi: 10.3390/md20060364.

[40] A. Dodero, L. Pianella, S. Vicini, M. Alloisio, M. Ottonelli, and M. Castellano, “Alginate-based hydrogels prepared via ionic gelation: An experimental design approach to predict the crosslinking degree,” *Eur. Polym. J.*, vol. 118, pp. 586–594, Sep. 2019, doi: 10.1016/J.EURPOLYMJ.2019.06.028.

[41] R. Abka-khajouei, L. Tounsi, N. Shahabi, A. K. Patel, S. Abdelkafi, and P. Michaud, “Structures, Properties and Applications of Alginates,” *Mar. Drugs*, vol. 20, no. 6, p. 364, Jun. 2022, doi: 10.3390/MD20060364.

[42] B. Larsen, D. M. S. A. Salem, M. A. E. Sallam, M. M. Mishrikey, and A. I. Beltagy, “Characterization of the alginates from algae harvested at the Egyptian Red Sea coast,” *Carbohydr. Res.*, vol. 338, no. 22, pp. 2325–2336, Oct. 2003, doi: 10.1016/S0008-6215(03)00378-1.

[43] A. K. A. Behairy and M. M. E.-S. Yed, “Biochemical Composition of Some Marine Brown Algae from Jeddah Coast, Saudi Arabia,” 1983.

[44] T. A. Davis, M. Ramirez, A. Mucci, and B. Larsen, “Extraction, isolation and cadmium binding of alginate from Sargassum spp,” Kluwer Academic Publishers, 2004.

[45] T. A. Davis, M. Ramirez, A. Mucci, and B. Larsen, “Extraction, isolation and cadmium binding of alginate from Sargassum spp.,” *J. Appl. Phycol.*, vol. 16, no. 4, pp. 275–284, Aug. 2004, doi: 10.1023/B:JAPH.0000047779.31105.EC/METRICS.

[46] R. Abka-khajouei, L. Tounsi, N. Shahabi, A. K. Patel, S. Abdelkafi, and P. Michaud, “Structures, Properties and Applications of Alginates,” Jun. 01, 2022, *MDPI*. doi: 10.3390/md20060364.

[47] M. Zubia, C. Payri, and E. Deslandes, “Alginate, mannitol, phenolic compounds and biological activities of two range-extending brown algae, Sargassum mangarevense and Turbinaria ornata (Phaeophyta: Fucales), from Tahiti (French Polynesia),” *J. Appl. Phycol.*, vol. 20, no. 6, pp. 1033–1043, Dec. 2008, doi: 10.1007/S10811-007-9303-3.

[48] N. Suzuki, “II nn ss tt rr uu cc tt ii oo nn ss ff oo rr uu ss e STUDIES ON THE MANUFACTURE OF ALGIN FROM BROWN ALGAE”.

[49] B. Larsen, D. M. S. A. Salem, M. A. E. Sallam, M. M. Mishrikey, and A. I. Beltagy, “Characterization of the alginates from algae harvested at the Egyptian Red Sea coast,” *Carbohydr. Res.*, vol. 338, no. 22, pp. 2325–2336, Oct. 2003, doi: 10.1016/S0008-6215(03)00378-1.

[50] M. Zubia, C. Payri, and E. Deslandes, “Alginate, mannitol, phenolic compounds and biological activities of two range-extending brown algae, Sargassum mangarevense and Turbinaria ornata (Phaeophyta: Fucales), from Tahiti (French Polynesia),” *Journal of Applied Phycology 2007 20:6*, vol. 20, no. 6, pp. 1033–1043, Jan. 2008, doi: 10.1007/S10811-007-9303-3.

[51] “Eleventh International Seaweed Symposium: Proceedings of the Eleventh ... - Google Kitaplar.” Accessed: Nov. 23, 2025. [Online]. Available: https://books.google.com.tr/books?hl=tr&lr=&id=zQz8CAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR5&ots=yUeBC72mfk&sig=2s8rV0Kym4M2ySA74Drah1fWQ6k&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false

[52] R. Abka-khajouei, L. Tounsi, N. Shahabi, A. K. Patel, S. Abdelkafi, and P. Michaud, “Structures, Properties and Applications of Alginates,” *Mar. Drugs*, vol. 20, no. 6, p. 364, Jun. 2022, doi: 10.3390/MD20060364.

[53] “Eleventh International Seaweed Symposium: Proceedings of the Eleventh ... - Google Kitaplar.” Accessed: Nov. 23, 2025. [Online]. Available: https://books.google.com.tr/books?hl=tr&lr=&id=zQz8CAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR5&ots=yUeBC72nii&sig=nrWak-dXiYdNrPhsDbek6j9Flqs&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false

[54] T. A. Davis, M. Ramirez, A. Mucci, and B. Larsen, “Extraction, isolation and cadmium binding of alginate from Sargassum spp.,” *J. Appl. Phycol.*, vol. 16, no. 4, pp. 275–284, Aug. 2004, doi: 10.1023/B:JAPH.0000047779.31105.EC/METRICS.

[55] S. J. Saraswathi, B. Babu, and R. Rengasamy, “Seasonal studies on the alginate and its biochemical composition I: Sargassum polycystum (Fucales), Phaeophyceae,”

Phycological Res., vol. 51, no. 4, pp. 240–243, Dec. 2003, doi: 10.1111/J.1440-1835.2003.T01-1-.X.

[56] A. K. A. Behairy and M. M. . F. of M. S. El-Sayed, "Biochemical composition of some marine brown algae from Jeddah coast, Saudi Arabia," *Indian Journal of Marine Sciences (India)*, vol. 12, no. 3, 1983.

[57] A. K. A. Behairy and M. M. . F. of M. S. El-Sayed, "Biochemical composition of some marine brown algae from Jeddah coast, Saudi Arabia," *Indian Journal of Marine Sciences (India)*, vol. 12, no. 3, 1983.

[58] S. Kumar and D. Sahoo, "A comprehensive analysis of alginate content and biochemical composition of leftover pulp from brown seaweed Sargassum wightii," *Algal Res.*, vol. 23, pp. 233–239, Apr. 2017, doi: 10.1016/J.ALGAL.2017.02.003.

[59] H. Andriamanantoanina and M. Rinaudo, "Characterization of the alginates from five madagascan brown algae," *Carbohydr. Polym.*, vol. 82, no. 3, pp. 555–560, Oct. 2010, doi: 10.1016/J.CARBPOL.2010.05.002.

[60] N. Rhein-Knudsen, M. T. Ale, F. Ajalloueian, and A. S. Meyer, "Characterization of alginates from Ghanaian brown seaweeds: Sargassum spp. and Padina spp.," *Food Hydrocoll.*, vol. 71, pp. 236–244, Oct. 2017, doi: 10.1016/J.FOODHYD.2017.05.016.

[61] F. Hentati *et al.*, "Structural characterization and antioxidant activity of water-soluble polysaccharides from the Tunisian brown seaweed Cystoseira compressa," *Carbohydr. Polym.*, vol. 198, pp. 589–600, Oct. 2018, doi: 10.1016/J.CARBPOL.2018.06.098.

[62] R. Zrid *et al.*, "Potential uses of the brown seaweed Cystoseira humilis biomass: 1-Sodium alginate yield, FT-IR, 1 H NMR and rheological analyses," *Zrid et al. J. Mater. Environ. Sci*, vol. 7, no. 2, pp. 613–620, 2016.

[63] L. E. Rioux, S. L. Turgeon, and M. Beaulieu, "Characterization of polysaccharides extracted from brown seaweeds," *Carbohydr. Polym.*, vol. 69, no. 3, pp. 530–537, Jun. 2007, doi: 10.1016/J.CARBPOL.2007.01.009.

[64] M. Fertah *et al.*, "Extraction and characterization of sodium alginate from Moroccan Laminaria digitata brown seaweed," *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 10, no. 2_suppl, pp. S3707–S3714, May 2017, doi: 10.1016/J.ARABJC.2014.05.003.

[65] C. G. Gomez, M. V. Pérez Lambrecht, J. E. Lozano, M. Rinaudo, and M. A. Villar, "Influence of the extraction–purification conditions on final properties of alginates obtained from brown algae (Macrocystis pyrifera)," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 44, no. 4, pp. 365–371, May 2009, doi: 10.1016/J.IJBIOMAC.2009.02.005.

[66] S. K. Papageorgiou, E. P. Kouvelos, and F. K. Katsaros, "Calcium alginate beads from Laminaria digitata for the removal of Cu+2 and Cd+2 from dilute aqueous metal solutions," *Desalination*, vol. 224, no. 1–3, pp. 293–306, Apr. 2008, doi: 10.1016/J.DESAL.2007.06.011.

[67] M. R. Torres *et al.*, "Extraction and physicochemical characterization of Sargassum vulgare alginate from Brazil," *Carbohydr. Res.*, vol. 342, no. 14, pp. 2067–2074, Oct. 2007, doi: 10.1016/J.CARRES.2007.05.022.

[68] T. A. Fenoradosoa *et al.*, "Extraction and characterization of an alginate from the brown seaweed Sargassum turbinarioides Grunow," *Journal of Applied Phycology 2009 22:2*, vol. 22, no. 2, pp. 131–137, May 2009, doi: 10.1007/S10811-009-9432-Y.

[69] T. A. Davis, F. Llanes, B. Volesky, and A. Mucci, "Metal Selectivity of Sargassum spp. and Their Alginates in Relation to Their α-l-Guluronic Acid Content and Conformation," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 37, no. 2, pp. 261–267, Jan. 2002, doi: 10.1021/ES025781D.

[70] Z. Fang and B. Bhandari, "Encapsulation of polyphenols – a review," *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 21, no. 10, pp. 510–523, Oct. 2010, doi: 10.1016/J.TIFS.2010.08.003.

[71] G. Mühendisliği, A. Dalı, G. M. Programı, H. Mühendislik, B. Programı, and H. Program, "İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ↔ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ YÜKSEK LİSANS TEZİ OCAK 2013 KARA DUT ANTOSİYANİNLERİNİN İYONİK JELASYON YÖNTEMİ İLE ENKAPSÜLASYONU VE ENKAPSÜLASYON PARAMETRELERİNİN TEPKİ YÜZEYİ METODU İLE OPTİMİZE EDİLMESİ Tez Danışmanı: Prof. Dr…".

[72] V. Nedovic, A. Kalusevic, V. Manojlovic, S. Levic, and B. Bugarski, "An overview of encapsulation technologies for food applications," *Procedia Food Sci.*, vol. 1, pp. 1806–1815, Jan. 2011, doi: 10.1016/J.PROFOO.2011.09.265.

[73] M. Gonnet, L. Lethuaut, and F. Boury, "New trends in encapsulation of liposoluble vitamins," *Journal of Controlled Release*, vol. 146, no. 3, pp. 276–290, Sep. 2010, doi: 10.1016/J.JCONREL.2010.01.037.

[74] "(PDF) Encapsulation 'The Future of Probiotics'-A Review." Accessed: Jan. 10, 2026. [Online]. Available: https://www.researchgate.net/publication/268411403_Encapsulation_The_Future_of_Probiotics-A_Review

[75] R. Gaspar and R. Duncan, "Polymeric carriers: Preclinical safety and the regulatory implications for design and development of polymer therapeutics," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 61, no. 13, pp. 1220–1231, Nov. 2009, doi: 10.1016/J.ADDR.2009.06.003.

[76] "AMOKSİSİLİN BASKILANMIŞ POLİMERİK NANOPARTİKÜL GÖMÜLÜ NANOLİFLİ YÜZEYİN HAZIRLANMASI VE İLAÇ SALIM ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI Azize ÇERÇİ".

[77] "AMOKSİSİLİN BASKILANMIŞ POLİMERİK NANOPARTİKÜL GÖMÜLÜ NANOLİFLİ YÜZEYİN HAZIRLANMASI VE İLAÇ SALIM ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI Azize ÇERÇİ".

[78] L. K. Fung and W. M. Saltzman, "Polymeric implants for cancer chemotherapy," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 26, no. 2–3, pp. 209–230, Jul. 1997, doi: 10.1016/S0169-409X(97)00036-7.

[79] N. ERBİL Mehmet ARSLAN and A. Üniversitesi Sağlık Bilimleri Yüksekokulu Hemşirelik Bölümü, "Penisilin Grubu Bir Antibiyotik Olan Amoksisilin-Klavulanik Asit (Amoklavin®)'in Antibakteriyel Aktivitesi ve Mutajenik Etkisinin Belirlenmesi," *Araştırma Makalesi/ Research Article KSU J. Nat. Sci*, vol. 20, no. 3, pp. 242–246, 2017, doi: 10.18016/ksudobil.289458.

[80] R. J. Andrade *et al.*, "Outcome of acute idiosyncratic drug-induced liver injury: Long-term follow-up in a hepatotoxicity registry," *Hepatology*, vol. 44, no. 6, pp. 1581–1588, Dec. 2006, doi: 10.1002/HEP.21424.

[81] "Afan F.," "'Doksisiklin insan periferal lenfositlerinde invitro genotoksik etkileri' ," pp. 11–16, 2011.

[82] V. K. Dhargalkar and X. N. Verlecar, "Southern Ocean seaweeds: A resource for exploration in food and drugs," *Aquaculture*, vol. 287, no. 3–4, pp. 229–242, Feb. 2009, doi: 10.1016/j.aquaculture.2008.11.013.

[83] H. Ertesvig and S. Valla, "Biosynthesis and applications of alginates zyxwvutsrqponmlkjihgfe," 1998.

[84] H. Grasdalen, "High-field, 1H-n.m.r. spectroscopy of alginate: sequential structure and linkage conformations," *Carbohydr. Res.*, vol. 118, no. C, pp. 255–260, Jul. 1983, doi: 10.1016/0008-6215(83)88053-7.

[85] P. Li, Y.-N. Dai, J.-P. Zhang, A.-Q. Wang, and Q. Wei, "Chitosan-Alginate Nanoparticles as a Novel Drug Delivery System for Nifedipine," 2008. [Online]. Available: www.ijbs.org

[86] S. Uğur, E. Uğurlu, E. İ. Saygılı, Ö. Duysak, and S. Sayın, "Aljinatın biyomedikal alanlarda kullanımı," *Marine and Life Sciences*, vol. 4, no. 1, pp. 91–99, Jun. 2022, doi: 10.51756/MARLIFE.1084547.

[87] T. Boontheekul, H. J. Kong, and D. J. Mooney, "Controlling alginate gel degradation utilizing partial oxidation and bimodal molecular weight distribution," *Biomaterials*, vol. 26, no. 15, pp. 2455–2465, May 2005, doi: 10.1016/J.BIOMATERIALS.2004.06.044.

[88] T. A. Fenoradosoa *et al.*, "Extraction and characterization of an alginate from the brown seaweed Sargassum turbinarioides Grunow," *J. Appl. Phycol.*, vol. 22, no. 2, pp. 131–137, Apr. 2010, doi: 10.1007/S10811-009-9432-Y.

[89] A. E. Pavlath, C. Gossett, W. Camirand, and G. H. Robertson, "Ionomeric Films of Alginic Acid," *J. Food Sci.*, vol. 64, no. 1, pp. 61–63, Jan. 1999, doi: 10.1111/J.1365-2621.1999.TB09861.X.

[90] Ý. A. Mørch, I. Donati, B. L. Strand, and G. Skjåk-Bræk, "Effect of Ca2+, Ba2+, and Sr2+ on alginate microbeads," *Biomacromolecules*, vol. 7, no. 5, pp. 1471–1480, May 2006, doi: 10.1021/BM060010D.

[91] B. Larsen, D. M. S. A. Salem, M. A. E. Sallam, M. M. Mishrikey, and A. I. Beltagy, "Characterization of the alginates from algae harvested at the Egyptian Red Sea coast,"

Carbohydr. Res., vol. 338, no. 22, pp. 2325–2336, Oct. 2003, doi: 10.1016/S0008-6215(03)00378-1.

[92] A. Blandino, M. Macías, and D. Cantero, "Calcium alginate gel as encapsulation matrix for coimmobilized enzyme systems," *Applied Biochemistry and Biotechnology 2003 110:1*, vol. 110, no. 1, pp. 53–60, Jul. 2003, doi: 10.1385/ABAB:110:1:53.

[93] B. Koç, F. Kaymak-Ertekin Ege Üniversitesi, M. Fakültesi, G. Mühendisliği Bölümü, and İ. Geliş tarihi, "YANIT YÜZEY YÖNTEMİ VE GIDA İŞLEME UYGULAMALARI RESPONSE SURFACE METHODOLOGY AND FOOD PROCESSING APPLICATIONS".

[94] F. Bilimleri Enstitüsü Dergisi *et al.*, "Temel Bileşenler Analizi ve Yanıt Yüzey Yöntemi Kullanılarak Gıda Sektöründe Çoklu Yanıtların Optimizasyonu," *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, vol. 12, no. 2, pp. 734–744, Aug. 2019, doi: 10.18185/ERZIFBED.485762.

[95] "(PDF) Asfalt Betonunda Atık Lastik ve Cam Elyaf İlavesinin Optimizasyonunda Box-Behnken Tasarımı ve Merkezi Kompozit Tasarımların Karşılaştırılması." Accessed: Jan. 20, 2026. [Online]. Available: https://www.researchgate.net/publication/336318881_Asfalt_Betonunda_Atik_Lastik_ve_Cam_Elyaf_Ilavesinin_Optimizasyonunda_Box-Behnken_Tasarimi_ve_Merkezi_Kompozit_Tasarimlarin_Karsilastirilmasi

[96] M. J. Navarro-Flores, L. M. C. Ventura-Canseco, R. Meza-Gordillo, T. del R. Ayora-Talavera, and M. Abud-Archila, "Spray drying encapsulation of a native plant extract rich in phenolic compounds with combinations of maltodextrin and non-conventional wall materials," *J. Food Sci. Technol.*, vol. 57, no. 11, pp. 4111–4122, Nov. 2020, doi: 10.1007/s13197-020-04447-w.

[97] N. Lakshani, H. S. Wijerathne, C. Sandaruwan, N. Kottegoda, and V. Karunarathne, "Release Kinetic Models and Release Mechanisms of Controlled-Release and Slow-Release Fertilizers," *ACS Agricultural Science & Technology*, vol. 3, no. 11, pp. 939–956, Nov. 2023, doi: 10.1021/ACSAGSCITECH.3C00152.

[98] B. B. Lee, P. Ravindra, and E. S. Chan, "Size and shape of calcium alginate beads produced by extrusion dripping," *Chem. Eng. Technol.*, vol. 36, no. 10, pp. 1627–1642, Oct. 2013, doi: 10.1002/CEAT.201300230;ISSUE:ISSUE:DOI.

[99] M. R. Rahman *et al.*, "Optimization of Tensile Strength and Young's Modulus of CNT–CF/Epoxy Composites Using Response Surface Methodology (RSM)," *Materials 2022, Vol. 15, Page 6746*, vol. 15, no. 19, p. 6746, Sep. 2022, doi: 10.3390/MA15196746.

[100] J. Yang, J. Steck, and Z. Suo, "Gelation kinetics of alginate chains through covalent bonds," *Extreme Mech. Lett.*, vol. 40, p. 100898, Oct. 2020, doi: 10.1016/J.EML.2020.100898.

[101] J. Li, Y. Wu, J. He, and Y. Huang, "A new insight to the effect of calcium concentration on gelation process and physical properties of alginate films," *Journal of*

Materials Science 2016 51:12, vol. 51, no. 12, pp. 5791–5801, Mar. 2016, doi: 10.1007/S10853-016-9880-0.

[102] K. Essifi, M. Lakrat, D. Berraaouan, M. L. Fauconnier, A. El Bachiri, and A. Tahani, "Optimization of gallic acid encapsulation in calcium alginate microbeads using Box-Behnken Experimental Design," *Polymer Bulletin 2020 78:10*, vol. 78, no. 10, pp. 5789–5814, Oct. 2020, doi: 10.1007/S00289-020-03397-9.

[103] İ. Toprakçı, M. Torun, and S. Şahin, "Development of an Encapsulation Method for Trapping the Active Materials from Sour Cherry Biowaste in Alginate Microcapsules," *Foods 2023, Vol. 12, Page 130*, vol. 12, no. 1, p. 130, Dec. 2022, doi: 10.3390/FOODS12010130.

[104] E. Valero-Cases, A. Reboredo-González, M. Á. Esteban, and M. J. Frutos, "Design of Multi-Component Beads (Alginate/Xanthan/Glycerol): Influence of Polymer Concentration on Lactobacillus acidophilus Viability and Release in Complex Food Systems," *Food and Bioprocess Technology 2025 18:12*, vol. 18, no. 12, pp. 10406–10418, Sep. 2025, doi: 10.1007/S11947-025-04026-X.

[105] K. Venkatachalam, N. Charoenphun, C. Nitikornwarakul, and S. Lekjing, "Effect of Sodium Alginate Concentration on the Physicochemical, Structural, Functional Attributes, and Consumer Acceptability of Gel Beads Encapsulating Tangerine Peel (Citrus reticulata Blanco 'Cho Khun') Extract," *Gels 2025, Vol. 11, Page 808*, vol. 11, no. 10, p. 808, Oct. 2025, doi: 10.3390/GELS11100808.

[106] E. Dobroslavić, E. Cegledi, K. Robić, I. Elez Garofulić, V. Dragović-Uzelac, and M. Repajić, "Encapsulation of Fennel Essential Oil in Calcium Alginate Microbeads via Electrostatic Extrusion," *Applied Sciences 2024, Vol. 14, Page 3522*, vol. 14, no. 8, p. 3522, Apr. 2024, doi: 10.3390/APP14083522.

[107] M. Danaei *et al.*, "Impact of Particle Size and Polydispersity Index on the Clinical Applications of Lipidic Nanocarrier Systems," *Pharmaceutics*, vol. 10, no. 2, 2018, doi: 10.3390/pharmaceutics10020057.

[108] K. Venkatachalam, N. Charoenphun, C. Nitikornwarakul, and S. Lekjing, "Effect of Sodium Alginate Concentration on the Physicochemical, Structural, Functional Attributes, and Consumer Acceptability of Gel Beads Encapsulating Tangerine Peel (Citrus reticulata Blanco 'Cho Khun') Extract," *Gels 2025, Vol. 11, Page 808*, vol. 11, no. 10, p. 808, Oct. 2025, doi: 10.3390/GELS11100808.

[109] S. Arora and R. D. Budhiraja, "Chitosan-alginate microcapsules of amoxicillin for gastric stability and mucoadhesion," *J. Adv. Pharm. Technol. Res.*, vol. 3, no. 1, p. 68, 2012, doi: 10.4103/2231-4040.93555.

[110] K. Girigoswami and A. Girigoswami, "Encapsulation of Beta-lactam Antibiotic Amoxicillin in Chitosan-alginate Nanohydrogels to Improve Antibacterial Efficacy," *Nanomed Res J*, vol. 8, no. 4, pp. 335–344, 2023, doi: 10.22034/nmrj.2023.04.002.

[111] M. M. Marin *et al.*, "Obtaining, Evaluation, and Optimization of Doxycycline-Loaded Microparticles Intended for the Local Treatment of Infectious Arthritis," *Coatings*

2020, Vol. 10, Page 990, vol. 10, no. 10, p. 990, Oct. 2020, doi: 10.3390/COATINGS10100990.

[112] G. Singh and B. P. Nenavathu, "Development of rGO encapsulated polymeric beads as drug delivery system for improved loading and controlled release of doxycycline drug," *Drug Dev. Ind. Pharm.*, vol. 46, no. 3, pp. 462–470, Mar. 2020, doi: 10.1080/03639045.2020.1724137;PAGE:STRING:ARTICLE/CHAPTER.

[113] P. Yammine, D. Moussa, and N. Safi, "Microspheres containing Doxycycline: Properties and in vitro study," *International Journal of Drug Delivery*, vol. 5, pp. 264–269, 2013, Accessed: Nov. 17, 2025. [Online]. Available: http://www.arjournals.org/index.php/ijdd/index

[114] A. N. F. Marzaman *et al.*, "Doxycycline-Loaded pH-Sensitive Microparticles as a Potential Site-Specific Drug Delivery System against Periodontitis," *ACS Omega*, vol. 10, no. 6, pp. 5668–5685, Feb. 2025, doi: 10.1021/ACSOMEGA.4C08967.

[115] J. Wang, L. Helder, J. Shao, J. A. Jansen, M. Yang, and F. Yang, "Encapsulation and release of doxycycline from electrospray-generated PLGA microspheres: Effect of polymer end groups," *Int. J. Pharm.*, vol. 564, pp. 1–9, Jun. 2019, doi: 10.1016/J.IJPHARM.2019.04.023.

[116] J. Siepmann and N. A. Peppas, "Higuchi equation: Derivation, applications, use and misuse," *Int. J. Pharm.*, vol. 418, no. 1, pp. 6–12, Oct. 2011, doi: 10.1016/J.IJPHARM.2011.03.051.

[117] E. Onuigbo, A. Onugwu, M. Nwocha, A. Odiase, and A. Attama, "Preparation and in vitro evaluation of amoxicillin encapsulated in alginate-coated chitosan microparticles," *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, vol. 15, no. 11, pp. 2303–2309, Dec. 2016, doi: 10.4314/TJPR.V15I11.2.

[118] S. Arora, S. Gupta, R. K. Narang, and R. D. Budhiraja, "Amoxicillin Loaded Chitosan–Alginate Polyelectrolyte Complex Nanoparticles as Mucopenetrating Delivery System for H. Pylori," *Sci. Pharm.*, vol. 79, no. 3, p. 673, 2011, doi: 10.3797/SCIPHARM.1011-05.

[119] A. K. Philip, B. A. Samuel, Y. S. Saleh, B. I. Mohammad, and H. A. Al-Aubaidy, "pH-responsive chitosan-alginate hydrogel beads: for enhanced bioavailability and controlled release of omeprazole," *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 2025, doi: 10.1080/03639045.2025.2536620;WEBSITE:WEBSITE:TFOPB;JOURNAL:JOURNAL:IDDI19;PAGEGROUP:STRING:PUBLICATION.

[120] "Preparation of alginate beads".

[121] J. Weng, H. H. Y. Tong, and S. F. Chow, "In Vitro Release Study of the Polymeric Drug Nanoparticles: Development and Validation of a Novel Method," *Pharmaceutics 2020, Vol. 12, Page 732*, vol. 12, no. 8, p. 732, Aug. 2020, doi: 10.3390/PHARMACEUTICS12080732.

[122] M. Witzler *et al.*, "Evaluating Release Kinetics from Alginate Beads Coated with Polyelectrolyte Layers for Sustained Drug Delivery," *ACS Appl. Bio Mater.*, vol. 4, no. 9, pp. 6719–6731, Sep. 2021, doi: 10.1021/ACSABM.1C00417.

[123] T. Amrabadi, E. Jalilnejad, S. M. A. Ojagh, and F. Vahabzadeh, "Application of TOPSIS algorithm in describing bacterial cellulose-based composite hydrogel performance in incorporating methylene blue as a model drug," *Scientific Reports 2023 13:1*, vol. 13, no. 1, pp. 1–16, Feb. 2023, doi: 10.1038/s41598-023-29865-6.

[124] M. Bercea, I. A. Plugariu, L. M. Gradinaru, M. Avadanei, F. Doroftei, and V. R. Gradinaru, "Hybrid Hydrogels for Neomycin Delivery: Synergistic Effects of Natural/Synthetic Polymers and Proteins," *Polymers 2023, Vol. 15, Page 630*, vol. 15, no. 3, p. 630, Jan. 2023, doi: 10.3390/POLYM15030630.

[125] J. Bhasarkar and D. Bal, "Kinetic investigation of a controlled drug delivery system based on alginate scaffold with embedded voids," *J. Appl. Biomater. Funct. Mater.*, vol. 17, no. 2, Apr. 2019, doi: 10.1177/2280800018817462;ISSUE:ISSUE:DOI.

[126] S. K. Bajpai and N. Kirar, "Swelling and drug release behavior of calcium alginate/poly (sodium acrylate) hydrogel beads," *Des. Monomers Polym.*, vol. 19, no. 1, pp. 89–98, Jan. 2016, doi: 10.1080/15685551.2015.1092016;SUBPAGE:STRING:FULL.

[127] M. Suhail *et al.*, "Synthesis and Evaluation of Alginate-Based Nanogels as Sustained Drug Carriers for Caffeine," *ACS Omega*, vol. 8, no. 26, pp. 23991–24002, Jul. 2023, doi: 10.1021/ACSOMEGA.3C02699.

[128] Y. A. Khan, K. Ozaltin, A. Bernal-Ballen, and A. Di Martino, "Chitosan-alginate hydrogels for simultaneous and sustained releases of ciprofloxacin, amoxicillin and vancomycin for combination therapy," *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, vol. 61, p. 102126, Feb. 2021, doi: 10.1016/J.JDDST.2020.102126.

[129] Z. Belattmania *et al.*, "Isolation and FTIR-ATR and 1H NMR Characterization of Alginates from the Main Alginophyte Species of the Atlantic Coast of Morocco," *Molecules*, vol. 25, no. 18, 2020, doi: 10.3390/molecules25184335.

[130] G. Lozano-Vazquez, J. Alvarez-Ramirez, C. Lobato-Calleros, E. J. Vernon-Carter, and N. Y. Hernández-Marín, "Characterization of corn starch-calcium alginate xerogels by microscopy, thermal, XRD, and FTIR analyses," *Starch-Stärke*, vol. 73, no. 7–8, p. 2000282, 2021.

[131] G. Craciun, E. Manaila, and D. Ighigeanu, "New Type of Sodium Alginate-g-acrylamide Polyelectrolyte Obtained by Electron Beam Irradiation: Characterization and Study of Flocculation Efficacy and Heavy Metal Removal Capacity," *Polymers (Basel).*, vol. 11, no. 2, 2019, doi: 10.3390/polym11020234.

[132] S. Cao, X. Luo, X. Han, X. Lu, and C. Zou, "Development of a New Modified CaCl2·6H2O Composite Phase Change Material," *Energies (Basel).*, vol. 15, no. 3, 2022, doi: 10.3390/en15030824.

[133] G. Yang *et al.*, “Effect of Cation Types on the Steel Corrosion Inhibition Behavior of Calcined Layered Double Hydroxides in Saturated Calcium Hydroxide Solution,” *Journal of Materials in Civil Engineering*, vol. 36, no. 6, p. 04024124, 2024.

[134] D. Salarbashi, M. Tafaghodi, M. Fathi, S. M. Aboutorabzade, and F. Sabbagh, “Development of curcumin-loaded Prunus armeniaca gum nanoparticles: Synthesis, characterization, control release behavior, and evaluation of anticancer and antimicrobial properties,” *Food Sci. Nutr.*, vol. 9, no. 11, pp. 6109–6119, 2021.

[135] B. Belhamdi *et al.*, “Synthesis of highly porous activated carbon derived from kernel oil treatment by-products of Argania Spinosa as a recyclable adsorbent for amoxicillin removal from real wastewater,” *Biomass Convers. Biorefin.*, vol. 13, no. 3, pp. 2135–2149, 2023, doi: 10.1007/s13399-021-01380-6.

[136] C. Bisson-Boutelliez, S. Fontanay, C. Finance, and F. Kedzierewicz, “Preparation and Physicochemical Characterization of Amoxicillin β-cyclodextrin Complexes,” *AAPS PharmSciTech*, vol. 11, no. 2, pp. 574–581, 2010, doi: 10.1208/s12249-010-9412-1.

[137] Y. Junejo, A. Güner, and A. Baykal, “Synthesis and characterization of amoxicillin derived silver nanoparticles: Its catalytic effect on degradation of some pharmaceutical antibiotics,” *Appl. Surf. Sci.*, vol. 317, pp. 914–922, 2014, doi: https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2014.08.133.

[138] T. S. Min, N. Perveen, and N. H. Khan, “Comparative purity study by UV Spectrophotometric and fourier-transform infrared spectroscopic (FTIR) techniques for the simultaneous determination of amoxicillin tri-hydrate capsules,” *Biomed. J. Sci. Tech. Res.*, vol. 31, no. 3, pp. 24219–24235, 2020.

[139] M. Safdar, M. Ozaslan, and Y. Junejo, “Synthesis, Characterization and Employed Doxycycline Capped Gold Nanoparticles on TRP Channel Expressions in SKBR3 Breast Cancer Cells and Antimicrobial Activity,” *J. Clust. Sci.*, vol. 33, no. 6, pp. 2635–2642, 2022, doi: 10.1007/s10876-021-02181-7.

[140] E. M. Mostafa, Y. Badr, M. M. Hashem, K. Abo-EL-Sooud, and A. H. Faid, “Reducing the effective dose of doxycycline using chitosan silver nanocomposite as a carriers on gram positive and gram-negative bacteria,” *Sci. Rep.*, vol. 14, no. 1, p. 27819, 2024, doi: 10.1038/s41598-024-78326-1.

[141] C. M. Araújo *et al.*, “Cashew-gum-based silver nanoparticles and palygorskite as green nanocomposites for antibacterial applications,” *Materials Science and Engineering: C*, vol. 115, p. 110927, 2020, doi: https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.110927.

[142] Z. Feyisa, N. K. Gupta, G. D. Edossa, A. Sundaramurthy, A. Kapoor, and L. G. Inki, “Fabrication of pH-sensitive double cross-linked sodium alginate/chitosan hydrogels for controlled release of amoxicillin,” *Polym. Eng. Sci.*, vol. 63, no. 8, pp. 2546–2564, 2023.

[143] N. Aldaghi, M. Kamalabadi-Farahani, M. Alizadeh, and M. Salehi, “Doxycycline-loaded carboxymethyl cellulose/sodium alginate/gelatin hydrogel: An approach for

enhancing pressure ulcer healing in a rat model," *J. Biomed. Mater. Res. A*, vol. 112, no. 12, pp. 2289–2300, 2024, doi: https://doi.org/10.1002/jbm.a.37778.

[144] F. De Cicco, P. Russo, E. Reverchon, C. A. García-González, R. P. Aquino, and P. Del Gaudio, "Prilling and supercritical drying: A successful duo to produce core-shell polysaccharide aerogel beads for wound healing," *Carbohydr. Polym.*, vol. 147, pp. 482–489, 2016, doi: https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.04.031.

[145] X. Hu, L. Long, T. Gong, J. Zhang, J. Yan, and Y. Xue, "Enhanced alginate-based microsphere with the pore-forming agent for efficient removal of Cu(II)," *Chemosphere*, vol. 240, p. 124860, 2020, doi: https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124860.

[146] M. Vinod, N. Jitendra, K. Gayatri, and K. Gokul, "Formulation and development of diltiazem hydrochloride sustained release alginate beads by ionotropic external gelation technique," *Adv Pharmacol Pharm*, vol. 1, no. 3, pp. 139–143, 2013.

[147] S. dos Santos, B. Medronho, T. dos Santos, and F. E. Antunes, "Amphiphilic Molecules in Drug Delivery Systems," in *Drug Delivery Systems: Advanced Technologies Potentially Applicable in Personalised Treatment*, J. Coelho, Ed., Dordrecht: Springer Netherlands, 2013, pp. 35–85. doi: 10.1007/978-94-007-6010-3_2.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

ETİK KURUL İZİN YAZISI

KURUM İZNİ YAZILARI

ÖZGEÇMİŞ