

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI
2017-YL-030**

**MELATONİN YÜKLÜ ALJİNAT/GAM ARABİK
KÜRELERİN ÜRETİMİ VE İLAÇ SALIM
ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Bernis GİRGIN

**Tez Danışmanı:
Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER**

AYDIN

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Bernis GİRGİN tarafından hazırlanan “Melatonin yüklü aljinat/gam arabik kürelerin üretimi ve ilaç salım özelliklerinin araştırılması ” başlıklı tez, 01.08.2017 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Ünvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan : Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER	ADÜ	
Üye : Prof. Dr. Tülin AYDEMİR	CBÜ	
Üye : Doç. Dr. Deniz AKTAŞ UYGUN	ADÜ	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim KurulununSayılı kararıyla(tarih) tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Aydın ÜNAY
Enstitü Müdürü

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

.../.../20..

Bernis GİRGIN

ÖZET

MELATONİN YÜKLÜ ALJİNAT/GAM ARABİK KÜRELERİN ÜRETİMİ VE İLAÇ SALIM ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Bernis GİRGİN

Yüksek Lisans Tezi, Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER

2017, 86 sayfa

Bu çalışmada, melatonin molekülünün aljinat/gam arabik kürelerde tutuklanması ve kontrollü ilaç salım özellikleri araştırılmıştır. Bir hormon ve antioksidan olan melatoninin bileşimi optimize edilen aljinat/gam arabik kürelere tutuklama etkinliği 77.82 ± 4.47 olarak bulunmuştur. Aljinat/gam arabik kürelerin yapısı FTIR, DTA ve SEM teknikleri kullanılarak aydınlatılmıştır. Üretilen kürelerin melatonin yükleme kapasitesi %0.62 olarak hesaplanmıştır. Melatonin tutuklanmış aljinat/gam arabik kürelerin *in vitro* mide ve ince bağırsak ortamlarında 3 saat sonundaki şişme dereceleri sırasıyla %58.8 ve %986.6 olarak hesaplanmıştır. Melatonin tutuklanmış kürelerden fizyolojik koşullarda melatonin salımı pH 1.5 *in vitro* mide ortamında ilk 30 dakikada %44.1, 24 saat sonunda %49.5 olarak bulunmuştur. Aynı salım çalışması pH 7.4 *in vitro* ince bağırsak ortamında ilk 30 dakikada %42.8, 24 saat sonunda ise %49.2 olarak hesaplanmıştır. *In vitro* mide ve ince bağırsak ortamlarında ardışık olarak gerçekleştirilen salım çalışmalarında ayrı ayrı yapılarına göre çok önemli farklar tespit edilmemiştir. Oluşturulan melatonin yüklü aljinat/gam arabik kürelerin melatonin taşıma ve salım sistemi olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar sözcükler: Melatonin, aljinat, gam arabik, küre, kontrollü ilaç salımı

ABSTRACT

PRODUCTION AND DRUG RELEASE ASSESMENT OF MELATONIN LOADED ALGINATE/GUM ARABIC BEADS

Bernis GİRGIN

M. Sc. Thesis, Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER

2017, 86 pages

In this work, entrapment of melatonin in alginate/gum arabic beads and their controlled drug release features are investigated. The entrapment efficiency of melatonin, which is a hormone and antioxidant, on optimized alginate/gum arabic beads calculated to be $77.82 \pm 4.47\%$. The structure of alginate/gum arabic beads is elucidated using FTIR, DTA and SEM techniques. Melatonin loading capacity of the beads was calculated to be 0.62%. The swelling of the melatonin loaded alginate/gum arabic beads at the end of 3 hours, in *in vitro* stomach and small intestine media, were calculated to be 58.8% and 986.6%, respectively. Release of melatonin from melatonin entrapped beads *in vitro* to stomach media (pH 1.5) was found to be 44.1% for the first 30 minutes and 49.5% at the end of 24 hours. Similar release study was conducted in *in vitro* small intestine media (pH 7.4) and release of melatonin was calculated to be 42.8% for the first 30 minutes and 45.2% at the end of 24 hours. Release studies conducted in successive *in vitro* stomach and small intestine media did not give significantly different results. Ultimately, it was concluded that melatonin loaded alginate/gum arabic beads produced can be used as melatonin carriers and release systems.

Key Words: Melatonin, alginate, gum arabic, bead, controlled drug release.

ÖNSÖZ

Bu tez çalışması Adnan Menderes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Biyokimya Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Başta tez çalışmamın her aşamasında maddi manevi desteğini esirgemeyen, bilimsel ve sosyal aktiviteleri yakından takip ederek katılıma teşvik eden, hayatını öğretmeye ve öğrenmeye adanmış kıymetli danışman hocam sayın Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER'e; DTA analizi için yardımlarını esirgemeyen sayın Prof. Dr. Turgay SEÇKİN'e (İnönü Üniversitesi); lisans ve yüksek lisans öğrenimim boyunca tecrübe ve bilgisini paylaşmaktan çekinmeyen, laboratuvardaki pozitif enerjisi ve iş disiplini ile daima motivasyonuma destek sağlayan, canım hocam Arş. Gör. Rukiye YAVAŞER TOMAY'a; tez konumun belirlenmesi ve uygulanmasında bilgi ve tecrübesi ile pek çok fedakârlıkta bulunan sevgili hocam Çağdaş SUNNA'ya; paylaşımlarda bulunmaktan keyif aldığım laboratuvar arkadaşlarım Hande ORHAN, Aylın YURDAGÜL, Sinem EVLİ ve Melis BAYRAKTAROĞLU'na; bu çalışmaya FEF- 16005 No'lu Bilimsel Araştırma Projesi olarak maddi destek sağlayan Adnan Menderes Üniversitesi Rektörlüğü'ne teşekkür ederim.

Daima yanımda olan, lisans ve yüksek lisans öğrenimimi paylaştığım, her türlü mutluluk ve üzüntüyü beraberce geride bıraktığım, merhametli, yüce gönüllü değerli arkadaşım Onur KORKMAZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Sevgisi ve fedakârlığıyla her zaman, her konuda yanımda olan canım Annem'e; küçüklüğümden beri her konuyu sakın ve öğretici bir şekilde benimle konuşarak bilinçli bir birey olmamda büyük payı olan, sevgi ve desteğini her koşulda hissettiren canım Babam'a; dünüm, bugünüm ve yarınımda benimle yol alan, biricik kardeşim Yağmur'a sevgi, minnet ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bernis GİRGİN

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	iii
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI	v
ÖZET	vii
ABSTRACT.....	ix
ÖNSÖZ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xxiii
1. GİRİŞ	1
1.1. İlaç Nedir?.....	1
1.2. Klasik İlaç İletimi.....	1
1.3. İlaç İletim Sistemleri	3
1.3.1. Oral İlaç İletim Sistemleri	3
1.3.2. Parenteral İlaç İletim Sistemleri.....	4
1.3.3. Transdermal İlaç İletim Sistemleri.....	5
1.3.4. İntranazal İlaç İletim Sistemleri	6
1.3.5. Oküler İlaç İletim Sistemleri	7
1.3.6. İntraoral İlaç İletim Sistemleri	8
1.3.7. İntravajinal İlaç İletim Sistemleri.....	9
1.3.8. Rektal İlaç Salım Sistemleri.....	10
1.4. İlaç Salım Sistemleri Geliştirilirken Araştırılan Parametreler.....	11
1.5. Melatonin	17
1.6. Biyopolimerler	19
1.6.1. Aljinat.....	20
1.6.2. Gam Arabik.....	22

2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	25
2.1. İlaç Salım Sistemleri ile İlgili Çalışmalar.....	25
2.2. Aljinat İle İlgili Çalışmalar.....	27
2.3. Gam Arabik ile İlgili Çalışmalar	28
2.4. Gam Arabik ve Aljinat ile İlgili Çalışmalar	29
2.5. Melatonin ile İlgili Çalışmalar.....	30
2.6. Melatonin ve Aljinat ile İlgili Çalışmalar.....	33
3. MATERYAL VE YÖNTEM	35
3.1. Kimyasal ve Cihazlar	35
3.2. Yöntem	35
3.2.1. Melatonin Çalışma Grafiğinin Hazırlanması.....	35
3.2.2. Kürelerin Üretiminde Aljinat/Gam Arabik Oranlarının Optimizasyonu.....	36
3.2.3. Boş Aljinat/Gam Arabik Kürelerin Hazırlanması	36
3.2.4. Melatonin Yüklü Aljinat/Gam Arabik Kürelerin Hazırlanması	37
3.2.5. Aljinat/Gam Arabik Kürelerin Karakterizasyonu.....	38
3.2.5.1. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ölçümleri	38
3.2.5.2. Fourier transform infrared spektroskopisi (FTIR) ölçümleri	38
3.2.5.3. Diferansiyel termal analiz (DTA) ölçümleri	39
3.2.6. Melatonin Tutuklama Etkinliğinin ve Yükleme Kapasitesinin Belirlenmesi	39
3.2.7. Melatonin Tutuklama Etkinliğine Sıcaklığın Etkisi	40
3.2.8. Aljinat/Gam Arabik Kürelerin Şişme Özelliklerinin İncelenmesi.....	40
3.2.9. Melatonin Salımına pH'ın Etkisinin İncelenmesi	40
3.2.9.1. Melatonin yüklü aljinat/gam arabik kürelerin in vitro mide ortamında salımının incelenmesi.....	40
3.2.9.2. Melatonin yüklü aljinat/gam arabik kürelerin in vitro ince bağırsak ortamında salımının incelenmesi.....	41

3.2.9.3. Melatonin yüklü aljinat/gam arabik kürelerin in vitro mide ve ince bağırsak ortamlarında ardışık salımının incelenmesi.....	41
3.2.9.4. Kurutulmuş melatonin yüklü aljinat/gam arabik kürelerden in vitro mide, ince bağırsak ve ardışık salım ortamlarında melatonin salımının incelenmesi	42
3.2.9.5. Ticari melatonin tabletten in vitro mide ve ince bağırsak ortamlarında melatonin salımının incelenmesi.....	42
3.2.10. Melatonin Salım Kinetiğinin Belirlenmesi.....	42
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	43
4.1. Melatonin Çalışma Grafiği.....	43
4.2. Kürelerin Üretiminde Aljinat/Gam Arabik Oranlarının Optimizasyonu.....	44
4.3. Aljinat/Gam Arabik Kürelerin Karakterizasyonu	49
4.3.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Ölçüm Sonuçları	49
4.3.2. Fourier Transform Infrared Spektroskopi (FTIR) Ölçüm Sonuçları	52
4.3.3. Diferansiyel Termal Analiz (DTA) Ölçüm Sonuçları	54
4.4. Melatonin Tutuklama Etkinliği ve Yükleme Kapasitesi	56
4.5. Melatonin Tutuklama Etkinliğine Sıcaklığın Etkisi	58
4.6. Aljinat/Gam Arabik Kürelerin Şişme Özellikleri.....	59
4.7. Melatonin Salımına pH'ın Etkisi.....	61
4.7.1. Melatoninin in vitro Mide Ortamında Salımı.....	61
4.7.2. Melatoninin in vitro İnce Bağırsak Ortamında Salımı	64
4.7.3. Melatoninin in vitro Mide - İnce Bağırsak Ortamında Ardışık Salımı	63
4.7.4. Kurutulmuş Melatonin Yüklü Aljinat/Gam Arabik Kürelerden in vitro Ortamlarda Melatonin Salımı	65
4.7.5. Ticari Melatonin Tabletinden in vitro Ortamlarda Melatonin Salımı	67
4.8. Kinetik Model	69
5. SONUÇLAR	71

KAYNAKLAR.....	73
ÖZGEÇMİŞ.....	85

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

¹ H-NMR	Proton nükleer manyetik rezonans
5-Fu	5- Fluorourasil
AFM	Atomik kuvvet mikroskobu
API	Aktif farmasötik bileşen
BSA	Sığır serum albümini
Camp	Siklik adenozin monofosfat
DOX	Doksorubisin
DSC	Diferansiyel taramalı kalorimetre
DTA	Diferansiyel termal analiz
FTIR	Fourier dönüşümlü infrared spektrofotometre
GI	Gastrointestinal
HPMA	N-(2-hidroksipropil) metilakrilamid
HPMC	Hidroksipropil metilselüloz
KM	Kitosan mikropartikül
KoA	Koenzim A
LDH	Laktat dehidrogenaz
MTT	Hücre canlılık testi
NAT	N-asetil transferaz
NE	Norepinefrin
NLC	Nanoyapılı lipid taşıyıcı
PBS	Potasyum fosfat tampon tuzu
PEG	Polietilen glikol
PLGA	Poli (laktik-ko-glikolik) asit
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
UV	Ultraviyole

xviii

X-RAY	X ışını analizi
XRD	X ışını difraktometresi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Kandaki ilaç seviyeleri a) klasik ilaç dozlama b) kontrollü salım ile dozlama.	2
Şekil 1.2. Melatoninin molekül formülü	17
Şekil 1.3. Melatoninin biyosentez basamakları	19
Şekil 1.4. α -L-gluronik asit (G birimleri) ve β -D-mannuronik asit (M birimleri) içeren aljinatın molekül yapısı	20
Şekil 1.5. Gam arabığının molekül yapısı	22
Şekil 3.1. Boş aljinat/gam arabik kürelerinin hazırlanmasında işlem sırası	37
Şekil 3.2. Melatonin yüklü aljinat/gam arabik kürelerin hazırlanmasında işlem sırası.	38
Şekil 4.1. Etanolde çözülmüş melatonin çözeltisinin (5 μ g/mL) UV-Visible bölgedeki absorpsiyon spektrumu.	43
Şekil 4.2. Melatonin çalışma grafiği (çözgen: etanol).....	44
Şekil 4.3. Melatonin tutuklama etkinliğine aljinat/gam arabik kürelere eklenen gam arabik miktarının (25, 50, 75, 100 mg) etkisi.	47
Şekil 4.4. Melatonin (3.0 mg/mL) tutuklanmış aljinat/gam arabik kürelerin ardışık salım profillerine gam arabik miktarının (25, 50, 75, 100 mg) etkisi.....	48
Şekil 4.5.a. Altın kaplı aljinat/gam arabik kürelerin 1 mm yakınlıktan çekilmiş SEM fotoğrafları.....	49
Şekil 4.5.b Altın kaplı aljinat/gam arabik kürelerin 50 μ m yakınlıktan çekilmiş SEM fotoğrafı.....	50
Şekil 4.6.a. Altın kaplı, melatonin yüklü aljinat/gam arabik kürelerin 1 mm yakınlıktan çekilmiş SEM fotoğrafları.	51
Şekil 4.6.b. Altın kaplı, melatonin yüklü aljinat/gam arabik kürelerin 50 μ m yakınlıktan çekilmiş SEM fotoğrafları.	51
Şekil 4.7. Aljinat, gam arabik ve melatonin içermeyen (boş) aljinat/gam arabik kürelerin FTIR spektrumu (Siyah: Aljinat; Kırmızı: Gam arabik; Mavi: Aljinat/gam arabik (boş) küreler).	52

- Şekil 4.8. Melatonin, melatonin içermeyen (boş) aljinat/gam arabik kürelerin ve melatonin içeren aljinat/gam arabik kürelerin FTIR spektrumu (Mavi: Melatonin; Siyah: Aljinat/gam arabik (boş) küreler; Kırmızı: Melatonin içeren aljinat/gam arabik küreler). 53
- Şekil 4.9. Aljinat, gam arabik, melatonin, boş aljinat/gam arabik küreler ve melatonin tutuklanmış aljinat/gam arabik kürelerin DTA profili (Lacivert: Aljinat; Yeşil: Gam arabik; Mor: Melatonin; Sarı: Boş aljinat/gam arabik küreler; Kırmızı: Melatonin tutuklanmış aljinat/gam arabik küreler). 54
- Şekil 4.10. Aljinat/gam arabik kürelerin melatonin tutuklama etkinliğine melatonin derişiminin etkisi. 55
- Şekil 4.11. Aljinat/gam arabik kürelere yüklenen melatonin miktarının değişimine bağlı olarak kürelerin ardışık salım profilleri. 57
- Şekil 4.12. Sıcaklığın melatonin tutuklama etkinliği üzerine etkisi. 58
- Şekil 4.13. Aljinat/gam arabik kürelerin farklı ortamlardaki (saf su, mide ve ince bağırsak) şişme dereceleri. 59
- Şekil 4.14. Melatonin tutuklanmış (3.0 mg/mL, 1.0 mL) aljinat/gam arabik kürelerin farklı ortamlardaki (saf su, mide ve ince bağırsak) şişme dereceleri. 60
- Şekil 4.15. Melatoninin in vitro mide (pH 1.5) ortamında zamana karşı salım profili. 62
- Şekil 4.16. Melatoninin in vitro ince bağırsak (pH 7.4) ortamında zamana karşı salım profili. 63
- Şekil 4.17. Melatoninin ardışık (pH 1.5 – 7.4) salım ortamında zamana karşı salım profili. 64
- Şekil 4.18. Kurutulmuş melatonin yüklü aljinat/gam arabik kürelerden in vitro mide (pH 1.5) ortamında zamana karşı melatonin salım profili. 65
- Şekil 4.19. Kurutulmuş melatonin yüklü aljinat/gam arabik kürelerden *in vitro* ince bağırsak (pH 7.4) ortamında zamana karşı melatonin salım profili. 66
- Şekil 4.20. Kurutulmuş melatonin yüklü aljinat/gam arabik kürelerden in vitro ardışık (pH 1.5-7.4) salım ortamında zamana karşı melatonin salım profili. 66

Şekil 4.21. Ticari melatonin (3 mg) tabletten in vitro mide (pH 1.5) ortamında zamana karşı melatonin salım profili.	68
Şekil 4.22. Ticari melatonin (3 mg) tabletten in vitro ince bağırsak (pH 7.4) ortamında zamana karşı melatonin salım profili.	68
Şekil 4.23. Melatoninin in vitro mide ortamında salımının Korsmeyer-Peppas kinetik modeli grafiği.	69
Şekil 4.24. Melatoninin in vitro ince bağırsak ortamında salımının Korsmeyer-Peppas kinetik model grafiği.	70

ÇİZELGELER DİZİNİ

- Çizelge 4.1. Farklı miktarlarda aljinat/gam arabik bileşimleri ile üretilen kürelerin %5'lik CaCl_2 çözeltisinden süzülüp petri kaplarına alınmış görüntüleri...45
- Çizelge 4.2. Farklı miktarlarda aljinat/gam arabik bileşimleri ile üretilen kürelerin 40 °C'de etüvde 48 saat kurutulmuş görüntüleri46
- Çizelge 4.3. Aljinat miktarının sabit tutulup gam arabik miktarının artırıldığı bileşimler ile oluşturulan kürelerin melatonin (3.0 mg/mL) tutuklama etkinliği ve 5 saatlik ardışık salım yüzdeleri (n=3).48
- Çizelge 4.4. Aljinat/gam arabik kürelere melatonin tutuklama etkinliğine melatonin derişiminin (1.0-8.0 mg/mL) etkisi (n=3).....56
- Çizelge 4.5. Melatonin yüklü (3.0 mg/mL) yaş ve kurutulmuş aljinat/gam arabik kürelerin mide (pH 1.5); ince bağırsak (pH 7.4) ve ardışık (pH 1.5-7.4) salım ortamlarında melatonin salım yüzdeleri (n=3).....67
- Çizelge 4.6. *In vitro* mide (pH 1.5) ve ince bağırsak (pH 7.4) salım ortamlarında melatonin salımına uygulanan farklı salım kinetik modellerinin R^2 değerleri.....69

1. GİRİŞ

1.1. İlaç Nedir?

İlaçlar, canlılarda gelişen hastalıkların tanı ve tedavisinde kullanılan veya bir hastalık gelişmeden önlemine almak amacıyla farklı yollar ile uygulanan, doğal veya kimyasal preparatlardır. İlaçlar biyolojik sistemleri hem olumlu hem de olumsuz yönde etkiler (Bough ve Trammel, 2006).

İlaç keşfi ve gelişiminin insan uygarlığının ilk günlerine kadar uzanan uzun bir geçmişi vardır. İlk ilaçların çoğunluğu bitkilerden ekstrakte edilmiş ve hayvansal malzeme ve mineraller ile tamamlanmıştır. Elde edilen bu ilaçlar büyük olasılıkla insan ve hayvanlara uygulanıp etkileri gözlemlenerek deneme yanılma yöntemiyle geliştirilmiştir.

İlaç keşfi ve gelişimi 1800'lerin sonunda bilimsel teknikleri takip etmeye başlamıştır. Bu tarihten sonra az miktarlarda üretilen bitki kaynaklı ilaçlar yerini büyük üretim kapasitesine sahip sentetik ilaçlara bırakmıştır. Kimyasal yöntemler kullanılarak sentezlenen ilaçlar 1900'lü yılların başında geliştirilerek ilaç endüstrisi kurulmuştur (Ng, 2009).

1.2. Klasik İlaç İletimi

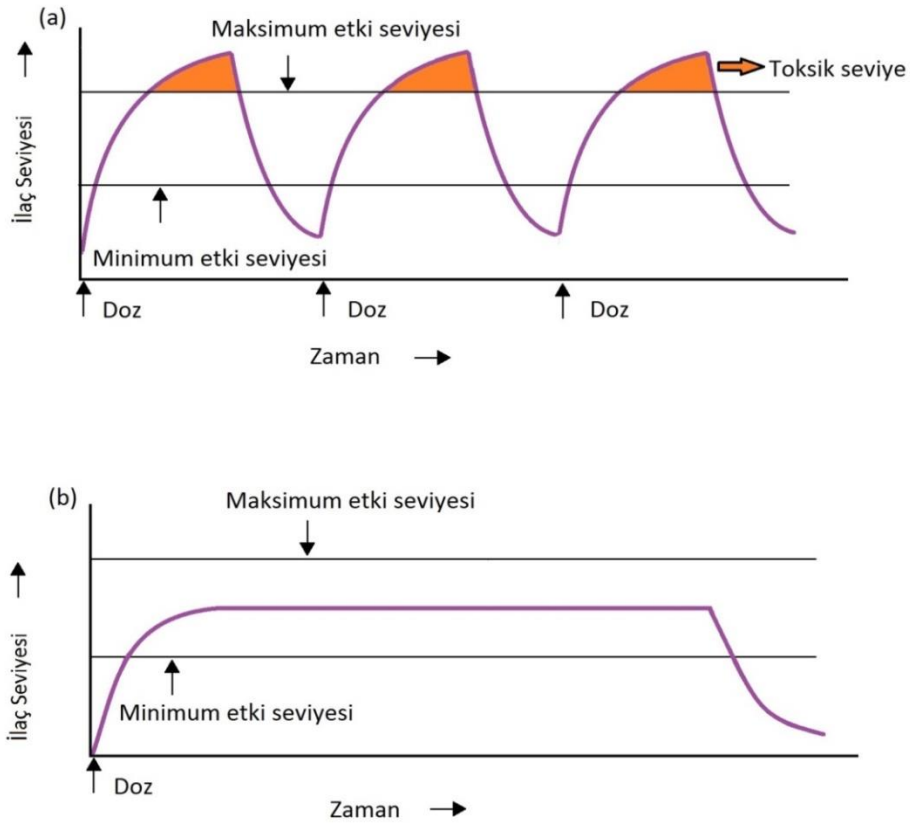
Farmakokinetik alanında en büyük zorluk ilacın vücut dokusundaki (örneğin kan) terapötik düzeyinin tedavi süresince mümkün olduğunca uzun süre korunmasıdır. 'Terapötik düzey' bir ilacın kan gibi bir vücut dokusunda önemli bir yan etki yaratmadan amaçlanan görevi yerine getirdiği derişimidir (Grassi ve Grassi, 2005).

Klasik iletim sistemleri ani ve kontrolsüz ilaç salım kinetiğine sahiplerdir. Bu durumda ilaç emilimi, vücudun terapötik molekülü asimile etme (özümseme, sindirme) yeteneği tarafından kontrol edilir. Bu nedenle kan gibi farklı vücut dokularındaki ilaç derişimi dozajın uygulanması üzerine ani bir artışa ve ardından aynı şekilde bir düşüğe uğrar. Sonuç olarak ilaç derişimi toksik seviyeyi aşabilir ve bir süre sonra terapötik etki seviyesinin altına düşebilir (Şekil 1.1-a) (Grassi ve Grassi, 2005).

Yan etkiler her zaman yüksek dozlarla meydana gelir ve kandaki derişimle orantılıdır. İlacın kandaki ilk yüksek derişimi (klasik ilaç dozlamasından hemen

sonra) istenmeyen yan etkilere sebep olur. Tekrar terapötik seviyenin altına düşmesi kademeli olarak ilaç direncinin gelişmesine yol açabilir. Klasik ilaç iletim sistemleri dozajın tekrar tekrar ve sıkça uygulanmasıyla ilacın terapötik seviyesinin korunması için çaba gerektiren bir uygulamadır. Bu da hasta için zahmetli ve rahatsızlık veren bir yöntemdir (Yih ve Al-Fandi, 2006).

Kontrollü salım sistemlerinde ise amaç hedef dokulardaki (örneğin kan) ilaç derişimini mümkün olduğunca terapötik seviyede tutmaktır (Şekil 1.1-b). Bu şekilde klasik iletim sistemlerindeki yüksek ilaç derişimleri ile terapötik seviyeyi aşma ve ilaç derişiminin ani düşüşü ile terapötik seviyenin altına inme risklerinin önüne geçilmiştir (Grassi ve Grassi, 2005).



Şekil 1.1. Kandaki ilaç seviyeleri a) klasik ilaç dozlamada b) kontrollü salım ile dozlamada.

Sonuç olarak kontrollü salım sistemleri ilacın yan etkilerini en aza indirir ve ilaç direnci ihtimalini azaltır. Ayrıca dozların sıklıkla alınmak zorunda kalınmaması hastada konfor sağlar.

En uygun kontrollü salım sistemi, ilacın önceden belirlenmiş bir hızda salımı ile kan plazmasındaki veya istenen doku alanındaki terapötik seviyesinin korunması için tasarlanmış bir matris içinde tutulmuş ilaçtan oluşur (Singh ve Chauhan, 2009).

1.3. İlaç İletim Sistemleri

Tıbbi ilaçların canlı vücuduna uygulanabileceği çeşitli anatomik yollar vardır. Bu yolların seçimi hastalığın türü, istenen etki ve ürün çeşidi gibi faktörlere bağlıdır (Hassan, 2012).

İlaç iletim sistemleri, ilacın salımı sırasında terapötik seviyede kalarak biyoyararlanımının artırılması, hasta dokuya hedeflenebilmesi, salım ortamının seçilebilmesi, salım süresi uzatılarak dozlama sıklığının azaltılabilmesi gibi yararlar sağlarken hasta konforunu da en iyi seviyeye çıkarırlar.

İlaçların uygulama yolları; oral, parenteral, transdermal, intranasal, oküler, intraoral, intravajinal ve rektal ilaç iletim sistemleri olarak sıranabilirler.

1.3.1. Oral İlaç İletim Sistemleri

Günümüze kadar kullanılan ilaçların canlılara en uygun ve yaygın veriliş yolu oral iletim sistemleridir. İlaç iletim sistemlerinde çok iyi ilerlemeler kaydedilmesine rağmen ilacın sistemik etki için en önemli yöntemi oral uygulamadır. İnsan bağırsak epiteli oldukça emicidir ve gastrointestinal (GI) sistemdeki toplam emici yüzey alanını 300-400 m²'ye çıkaran villuslardan oluşur (Ensign vd., 2012).

Mevcut tüm ilaç dozaj formlarının yaklaşık %60'ı oral katı dozaj formundadır. Ancak düşük biyoyararlanım ve yutma güçlüğü gibi dezavantajları hasta ve üreticileri sıvı oral ve parenteral sistemlere yöneltmiştir. Ancak, sıvı oral iletim sistemleri (şurup, süspansiyon vb.) doğru dozlama problemine sahiptirler. Parenteral yöntem de hasta uyumsuzluğuna sebep olabilecek ağırlı bir ilaç iletim sistemidir (Bhattarai ve Gupta, 2015).

Her farmasötik üretici daha yüksek biyoyararlanım, hızlı etki süresi ve en çok hasta uyumuna sahip yeni oral dozaj formunu formüle etmek ister. En popüler katı dozaj biçimleri tablet ve kapsüllerdir. Çoğu hasta, tabletleri ve sert jelatin kapsülleri yutmada ciddi sorunlar yaşamaktadır. Yutma güçlüğü nüfusun yaklaşık %35'lik bir kesiminde var olan bir rahatsızlıktır. Hareket bozukluğu, ani alerjik atak ya da öksürük, dozaj formunun büyüklüğü gibi durumlarda tablet veya kapsülün yutulması zorlaşır. Yutma ile ilgili problemleri çözmek için suda çözünen tabletler 19. yüzyılın başlarında tasarlanmıştır (Bhattarai ve Gupta, 2015).

Oral ilaç iletim sistemlerinin avantajları:

- * Hastanın ilacı kendisine kolayca uygulayabilme rahatlığı,
- * Ağrısız ve acısız bir yöntem olduğu için artan hasta uyumu,
- * Doğru dozlama (Plapied vd., 2011).

Oral ilaç iletim sistemlerinin dezavantajları:

- * Oral yolla alınan ilaç gastrointestinal sistemden geçişi sırasında çok düşük ve yüksek pH'lara maruz kalacağı için biyoyararlanımı azalabilir,
- * Oral yolla alınan ilacın salımı başladıktan sonra terapötik seviyenin üzerine çıkarak toksik etki yaratabilir veya terapötik seviyenin altına düşerek etkisiz hale gelebilir (Plapied vd., 2011).

1.3.2. Parenteral İlaç İletim Sistemleri

Parenteral kelimesi 'para' ve 'enteron' kelimelerinden türetilmiştir ve bağırsak dışı anlamında gelir. Parenteral ürünler aktif maddelerin doğrudan bir kan damarına, organa, dokuya veya lezyona uygulanabilmeleri için sindirim kanalından ziyade cilt veya diğer dış sınır dokusu yoluyla enjeksiyona yönelik preparatlardır. Diğer ilaç iletim sistemlerine göre daha hızlı bir uygulamadır. Bu sistemin en büyük avantajlarından biri, bilinci yerinde olmayan hastalara dahi uygulanabilir olmasıdır. Ayrıca gastrointestinal yolu izlemediği ve direk kana verildiği için ilaç çok kısa sürede terapötik seviyeye ulaşır. Ancak bu sistem hastaya ağrı ve acı verebileceği gibi uygulama sisteminin steril olmaması durumunda istenmeyen yan etkilere de yol açabilir. Buna ek olarak ilaç uygulandıktan sonra yan etki veya toksisite durumunda tedavi sonlandırılmaz (Malik vd., 2010).

Günümüzün sağlık hizmetlerinde hastanede yatırılan hastalar için tedavinin ana unsuru parenteral sistemlerdir (Gulati ve Gupta, 2011).

Parenteral ilaç dağıtımında ilaç hedeflemesine ve parenteral ilaçların sürekli veya kontrollü salımına olanak sağlayan gelişmiş sistemlerin üretilmesini mümkün kılan bir takım teknolojik ilerlemeler yapılmıştır. Parenteral formülasyonlar kan dolaşımına doğrudan erişebilirliği ve ilacın hastaya etki süresinin hızlı olması nedeniyle ayrıca belirli organ veya doku bölgelerine hedeflenebilme özellikleriyle üstünlük gösterir (Agrawal vd., 2012).

Günümüzde biyolojik olarak parçalanabilir implantlar, transdermal yamalar, lipozomlar, nanoparçacıklar, kas içine enjeksiyon gibi birçok yeni parenteral ilaç iletim sistemleri sıkça kullanılmaktadır. Yeni preparatlar daha az dozlama sıklığı ile hastalara sürekli, hedefli ve kontrollü ilaç iletimi sağlama olanağı sunar (Gulati ve Gupta, 2011).

Parenteral ilaç iletim sistemlerinin avantajları:

- * Oral yolla verilemeyen ilaçlar için alternatif bir uygulama yoludur,
- * Terapötik etki seviyesine hızlı bir şekilde ulaşır,
- * Gastrointestinal yola dahil olmadığı için ilacın biyoyararlanımı etkilenmez,
- * Bilinç kaybı yaşayan hastalara uygulanabilir bir yöntemdir.

Parenteral ilaç iletim sistemlerinin dezavantajları:

- * Steril bir ortamda uygulanmaması sonucunda istenmeyen yan etkilere neden olabilir,
- * Hasta kendisine uygulama yapamaz,
- * Maliyet fazladır,
- * Hastaya ağrı ve acı veren bir yöntemdir.

1.3.3. Transdermal İlaç İletim Sistemleri

Transdermal iletim, terapötik bir etki oluşturmak için çözünen bir maddenin cildin çeşitli katmanları boyunca emilerek sistemik dolaşıma difüze olduğu bir sistemdir.

Bu iletim sistemi ciltteki patolojik bölgelere yönelik bir hedef belirlemek için kullanılır. Bu tip ilaç uygulamaları cilt kanseri, sedef ve egzama hastalığı, mikrobik enfeksiyonlar gibi dermatolojik rahatsızlıkların tedavisinde oldukça önemlidir. Transdermal iletim sistemi oral ilaç iletim sistemleri gibi geleneksel sistemler ile karşılaştırıldığında hem üstünlükleri hem de kısıtlamaları vardır (Brown vd., 2006).

Transdermal ilaç iletim sistemlerinin avantajları:

- * Uzun süre sürekli ve kontrollü iletim sağlar,
- * Kandaki ilaç derişiminde ani iniş çıkışları en aza indirgeyerek vücutta toksik etkileri önler,
- * Uygulamada istenmeyen bir durum ile karşılaşıldığında sonlandırma kolaylığı sağlar,
- * Oral doz uygulamasının mümkün olmadığı durumlarda bir alternatif sağlar,
- * Kolay ve sorunsuz bir uygulama yöntemidir.

Transdermal ilaç iletim sistemlerinin dezavantajları:

- * Ciltte irritasyon veya hassasiyete sebep olabilir,
- * Ciltteki esteraz ve peptidazlar gibi enzimlerin varlığı ilacın etkinliğini azaltarak terapötik olarak aktif olmayan bir forma metabolize olmasına neden olabilir.

1.3.4. İntranazal İlaç İletim Sistemleri

İlaçların burun yolu ile iletimi antik çağlardan beri ilgi odağı bir konu olmuştur. Nazal tedavi, Hint tıbbının Ayurvedik sisteminde 'Nasaya Karma' olarak bilinen bir tedavi şeklidir. İlaçlar nazal yol ile uygulandığında sistemik dolaşıma doğrudan, basit ve ağrısız şekilde girerler. Ayrıca nazal uygulama ile verilen ilaç ilk geçiş metabolizmasına dahil olmayacağından biyoyararlanımında azalma söz konusu değildir (Pilicheva vd., 2014).

İlaçların geleneksel veriliş yöntemlerinde etken maddenin gastrointestinal yoldan geçişi sırasında biyoyararlanımı azalır. Burun mukozası, ilaç emiliminin daha hızlı

ve daha yüksek bir seviyeye ulaşması için potansiyel bir uygulama yolu olarak düşünülmüştür. Nazal ilaç iletimi, düşük dozlarda aktif olan, oral yolla biyoyararlanım göstermeyen ilaçlar için yararlı bir uygulama metodudur (Alagusundaram vd., 2010).

İntranazal ilaç iletim sistemlerinin avantajları:

- * Uygulaması kolaydır ve hasta uyumu sağlanır,
- * Gastrointestinal sisteme girmediği için ilacın biyoyararlanımının azalma sorunu yoktur,
- * İlaç emilimi hızlı bir şekilde gerçekleşir,
- * Küçük ilaç moleküllerinin nazal biyoyararlanımı iyidir,
- * Oral yolla absorblanamayan ilaçlar nazal yolla sistemik dolaşıma verilebilirler.

İntanazal ilaç iletim sistemlerinin dezavantajları:

- * Nazal yolda tahriş olma ihtimali olduğundan oral ilaç iletim sistemlerine göre hastaya rahatsızlık veren bir uygulamadır,
- * Burun boşluğu gastrointestinal sistem ile karşılaştırıldığında daha küçük absorpsiyon alanına sahiptir,
- * Nazal dozaj formlarına eklenen bileşenlerin burun mukozasında yan etkiler oluşturma riski vardır,
- * Dozaj şeklinin, tekniğin yanlış uygulanması nedeniyle ilacın solunum yollarının diğer bölümlerine (akciğerler gibi) mekanik olarak ulaşması ile kaybı mümkündür (Alagusundaram vd., 2010).

1.3.5. Oküler İlaç İletim Sistemleri

Gözün ön segmentinde katarakt, glokom ve benzeri hastalıklar gelişerek görme yetisini engelleyebilir. Oküler ilaç sistemleri gözün ön segmentini olumsuz yönde etkileyen hastalıkları tedavi etmek amacıyla en yaygın kullanılan uygulama yoludur. Göz damlası gibi dozaj formları piyasaya sürülen oküler formülasyonların %90'ını oluşturmaktadır (Patel vd., 2013). Bununla birlikte gözü

toksik maddelere karşı koruyan anatomik ve fizyolojik etkenler sebebiyle oküler sistemler aracılığıyla verilen ilacın biyoyararlanımı düşük olmaktadır (Gaudana vd., 2010).

Oküler ilaç iletim sistemlerinin avantajları:

- * Hasta kendisine kolaylıkla uygulayabilir,
- * İlacın emilimi ve etki göstermesi kısa sürede gerçekleşir,
- * Uzun raf ömrüne sahip sistemlerdir.

Oküler ilaç iletim sistemlerinin dezavantajları:

- * Gözyaşı ve diğer engeller nedeniyle oküler sistemlerle alınan ilacın biyoyararlanımı düşüktür,
- * Uygulama sırasında görmede bulanıklık ve gözde tahriş oluşabilir,
- * Doz uygulandıktan sonra herhangi acil bir durumda tedavi sonlandırılmaz.

1.3.6. İntraoral İlaç İletim Sistemleri

İntraoral yol ilaç yönetiminin kolay olması nedeniyle daha fazla tercih edilen ve belirli ilaçlar ile hızlı etki gösterebilen bir uygulama sistemidir. Ağız içi dozaj formları ilacı ağız boşluğundaki lokal veya sistemik ilaç verme için hedef bölgelere iletir.

Çeşitli tipteki intraoral dozaj formları sıvı (çözelti, sprey, şurup vb.), yarı katı (krem, merhem vb.) ve katı (hızlı veya yavaş çözünen tabletler, dilaltı tabletleri, pastiller, filmler vb.) şekillerinde olabilir.

İntraoral ilaç iletiminde hepatik ilk geçiş metabolizması aşılarak gerekli fizikokimyasal ve biyofarmasötik özelliklere sahip seçilmiş ilaçlar ile geliştirilmiş biyoyararlanım sayesinde hızlı sistemik iletim sağlanır (Bukka vd., 2010).

İntraoral ilaç iletim sistemlerinin avantajları:

- * Yutmaya gerek yoktur,
- * Hepatik ilk geçiş etkisi önlenmiştir,

- * Gastrointestinal ortama maruz kalmaz,
- * Yüksek biyoyararlanım sağlar,
- * Hızlı emilime bağlı olarak hızlı etki gösterir.

İntraoral ilaç iletim sistemlerinin dezavantajları:

- * Yutulması halinde üstün özelliklerini kaybeder,
- * Küçük dozlar uygulanır,
- * Tadı hoş olmayan ilaçlar olduğunda hastaya rahatsızlık verebilir.

1.3.7. İnvajinal İlaç İletim Sistemleri

Vajina, geleneksel olarak lokal bir farmakolojik etki elde etmek amacıyla ilaç verilmiş yolu olarak uzun süredir kullanılmaktadır. Ancak bazı sistemik ilaçların vajinadan emiliminin gerçekleştiği belirlenmiştir ve vajinal mukoza vasıtasıyla antimikrobiyaller, doğum indükleyicileri ve hormonlar gibi birçok ilaç uygulaması yapılmıştır. 1920'lere kadar sistemik ilaçların emiliminin vajina yolu ile gerçekleştirilemeyeceği düşünülmüştür.

Estradiol, arekolin gibi maddeler için vajinal mukoza geçirgenliğinin bağırsak mukozasına kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Çoğu maddenin geçirgenlik mekanizması basit difüzyon olup hidrofobik maddeler öncelikle hücre içi yolla emilir. Buna karşın hidrofilik olanlar vajinal mukozada bulunan gözeneklerle emilir (Das Neves ve Bahia, 2006).

Vajinal ilaç sistemleri yarı katı preparatlar, tabletler, kapsüller gibi birçok farmasötik formları içerir (Sahoo vd., 2013).

İnvajinal ilaç iletim sistemlerinin bazı avantajları:

- * İnvajinal ilaç uygulama uzun süreli ilaç iletimi sağlar,
- * Dozlar arasındaki uzun aralıklar günlük oral alımdan daha uygun olduğu için hasta uyumluluğu sağlanır,
- * Gastrointestinal emilimden ve karaciğer ilk geçiş metabolizmasından kaçınılmış olur,

- * Bazı ilaçların vajinal yolla verilmesi oral yola göre daha fazla biyoyararlanım sağlar.

İntravajinal ilaç iletim sistemlerinin bazı dezavantajları:

- * Lokal tahrişe neden olabilir,
- * İlaç emiliminde kişiye bağlı olarak değişiklikler görülebilir (Srikrishna ve Cardozo, 2013).

1.3.8. Rektal İlaç Salım Sistemleri

Rektum, ilaçların kolaylıkla uygulanabileceği, tutulabileceği ve emiliminin gerçekleşebileceği bir yoldur. Fitiller rektal uygulama için vücuda uyumlu tasarlanmış katı preparatlardır. Rektal yol uzun süre sadece anti-hemoroidal, vermifugal (kurt düşürücü) ve laksatif (müshil) ajanlar için kullanılmıştır. Günümüzdeki ilaçların çoğu sistemik etki üretmek üzere fitil formunda formüle edilmektedir.

Karaciğerde ilk geçiş metabolizmasına maruz kalan ilaçların eliminasyonu ve/veya gastrointestinal yoldaki sistemik etkilerin ortadan kaldırılması rektal uygulama ile kısmen önlenabilir. Rektumdan ilaç emilim mekanizmasının fizyolojik koşulların (pH, sıvı içeriği vs.) önemli ölçüde farklı olmasına rağmen gastrointestinal yoldan farksız olmasının nedeni spesifik membran özellikleridir. Ayrıca rektal yol yutma gücü çeken bebek ve çocuklar için de oldukça uygundur.

Birçok araştırmacı etkili tedavi sağlamak için parenteral yol ile enjekte edilmesi gereken ilaçların rektal yoldan emilimi için araştırmalar yapmaktadır (Swamy vd., 2012).

Rektal ilaç iletim sistemlerinin avantajları:

- * Çoğu düşük molekül ağırlıklı ilaçların hızlı absorbe edilmesi,
- * İlk geçiş metabolizmasından kısmen kaçınma,
- * Lenfatik sisteme absorpsiyon potansiyeli,
- * Büyük hacimlerin tutulabilmesi,
- * Hız kontrollü ilaç verebilme,

- * Hasta uyumluluğu.

Rektal ilaç iletim sistemlerinin dezavantajları:

- * Birçok ilaç rektal mukozadan zayıf veya düzensiz olarak emilir,
- * Rektumun sıvı içeriğinin az olması durumunda çözünme sorunları ortaya çıkar.

1.4. İlaç Salım Sistemleri Geliştirilirken Araştırılan Parametreler

İlaç iletimi farmasötik bir bileşimin tedavi amaçlı olarak canlıya iletimi için seçilen yöntemdir. Bunu gerçekleştirmek için lipozom, prolipozom, mikroküre, jeller, siklodekstrinler gibi taşıma sistemleri formüle edilmektedir. İlaç iletim sistemleri geliştirilirken kullanılacak matriks, bu matriksin biyobozunurluğu, kabul edilebilir bir süreç içinde sistemden çıkması, taşıdığı ilacı canlıya girdikten sonra bırakma süresi gibi parametreler önemlidir (Tiwari vd., 2012).

Oral kontrollü salım formülasyonu geliştirmek için ön formülasyonda dikkate alınacak noktalar:

Başarılı bir kontrollü salım çalışması için kullanılacak ilacın fiziksel, kimyasal ve biyofarmasötik özelliklerinin önceden bilinmesi gereklidir. Örneğin ilacın çözünürlüğü pH'a bağlı ise gastrointestinal yolun pH gradienti boyunca sabit bir salım elde etmek için çok partiküllü dozaj formu avantajlı olabilir. İlacın kimyasal yapısına bağlı olarak matriksle uyumsuz ilişkiler oluşturabilen ilaçlar seçilebilir. Suya duyarlı ilaçlar için sıvı yataklı granülasyon gibi ilaç-su etkileşimini sınırlayıcı yaklaşımlar düşünülebilir (Wen ve Park, 2011-b).

İlaç maddesinin fiziksel özellikleri de kontrollü salım formülasyonları ve üretimi üzerine etki eder. Düşük dozlu ilaçlar için içeriğin düzenli yayılmış olması hasta güvenliği ve ilaç etkinliği açısından önemlidir (Wen ve Park, 2011-b).

1) Destek Materyal Seçimi

Bir ilaç salım sistemi geliştirilirken öncelikle destek materyal veya materyallerin belirlenmesi gerekir. Destek materyalini oluşturmak için polimerler kullanılır. Destek materyal/materyallerini oluşturacak polimer/polimerlerin seçiminde etken

madde, ilacın verilış yolu, dozu, salım süresi vb. özellikler göz önünde bulundurulur.

İlk olarak değerlendirilmesi gereken ve en önemli özellik ilacın verilış yoludur. Çünkü geliştirilen sistemin hangi özelliklere sahip biyolojik sınırlarda aktif olması gerektiği bilinmelidir. Bu sayede ilacın etki süresinin belirlenmesi ve artırılması mümkündür. Öte yandan polimerin toksik olmaması ilaç salım sistemlerinde aranan önemli koşullardan biridir.

İlaç taşıyıcı materyalin cinsine karar verilirken yüklenecek ilacın kimyasal, fiziksel ve biyolojik özellikleri dikkate alınır ve çalışmaya başlamadan önce anlaşılır ve seçilen materyale entegre edilir. İlaç molekülünün büyüklüğü difüzyon-kontrollü sistemlerde dikkate alınmalıdır. İlacın yükü, heparin bağlama özelliği, hidrofobikliği gibi özellikleri dikkate alınmalıdır (Kearney ve Mooney, 2013).

Aljinat, kitosan veya hiyalüronon-PEG-heparin gibi jeller matriks-difüzyon ve afinite kontrollü salım sistemleri oluşturarak kararsız ilaçların korunmasında yardımcı olurlar. Degredasyon-kontrollü sistemler de kararsız ilaçların korunmasını sağlarlar ve pek çok ilaç tipi için kullanılabilirler (Kearney ve Mooney, 2013).

Taşıyıcı materyalin seçiminde hedef bölge de önemlidir. Örneğin cilde uygulanmak üzere hazırlanan ve uygulaması için bir cerrahi müdahale gerektirmeyen ve kullanımdan sonra kolayca uzaklaştırılabilen sistemler olabilir. Öte yandan bozunarak kendiliğinden yok olan sistemlerin kullanımı daha kolay olabilir. Matriks-difüzyon ve afinite-kontrollü sistemler enjeksiyon için uygun olabilir (Kearney ve Mooney, 2013).

İlacın hangi süre ile uygulanacağı ve uygulanan zamana bağlı profili (sürekli veya kesikli) de kontrollü salım materyalinin seçiminde etkilidir. Ayrıca, yüksek miktarlardaki ilaç taşınımı için rezervuar sistemler oluşturulabilir.

2) İlaç Taşıyıcı Sistem Bileşenlerinin Optimizasyonu

Sistem bileşenlerinin niteliği belirlendikten sonra bu bileşenlerin en uygun ilaç taşıma oranını gösterecek oranlarını belirlemek üzere bir sıra deney yapılır. Bu deneyler genellikle bir bileşenin derişimi sistematik olarak değiştirilirken

diğerlerini sabit tutmak suretiyle gerçekleştirilir (sodyum aljinatın gam arabiğe oranı ve CaCl₂ değişkeni gibi) (Shaikh vd., 2015).

3) İlaç Tutuklama Etkinliği (Entrapment Efficiency)

Polimerin ilacı hangi derişimde daha fazla tutuklayabildiğini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmadır. Polimere yüklenecek ilaç derişimi artırılarak en iyi tutuklama oranının gerçekleştiği formülasyon belirlenir. Belirlenen formülasyonda tutuklama etkinliği en fazla olduğundan tutuklanmayan ilaç miktarı minimumdur. Dolayısıyla polimere tutuklanan ilaç miktarı kaybı en aza indirilmiş olur. Tutuklama etkinliği aşağıdaki formül ile hesaplanır ve ilaç taşıyıcı sistem üretilirken ortama konulan ilacın yüzde ne kadarının taşıyıcı sistem içinde kaldığının bir göstergesidir.

$$\text{Tutuklama Etkinliği (\%)} = \frac{\text{Polimere Tutuklanan İlaç Miktarı}}{\text{Ortama Eklenen İlaç Miktarı}} \times 100$$

4) Yükleme Kapasitesi (Loading Capacity)

Tutuklama etkinliği belirlenen bir ilacın polimer başına ne kadar tutuklandığını belirlemek için yükleme kapasitesi hesaplanır. Deney esnasında materyaller genellikle az miktarlarda kullanılır. Elde edilen verileri daha fazla miktarlara oranlayarak örneğin bir ilaç tabletine ne kadar ilaç tutuklanabileceği sonucuna ulaşılır. Böylece uygulamanın gerçekliğe yakınlığı da tayin edilmiş olur. Yükleme kapasitesi aşağıdaki formül ile hesaplanır.

$$\text{Yükleme Kapasitesi (\%)} = \frac{\text{Polimere Tutuklanan İlaç Miktarı}}{\text{İlaç İçeren Polimerin Ağırlığı}} \times 100$$

5) Karakterizasyon

Destek ortamının yapısını ve tutuklanan etken maddenin destek ortamında meydana getirdiği değişiklikleri incelemek amacıyla karakterizasyon çalışmaları yapılır. Bunlar FTIR, SEM, DSC, AFM, X-RAY vb. yöntemleri içerir. Örneğin, polimeri oluşturan materyallerin bir araya geldiğinde nasıl bir kimyasal yapıya sahip olduğu hakkında fikir edinmek için FTIR ölçümleri veya ilaç taşıyıcı destek materyalinin oluşum morfolojisini incelemek ve salımın ne şekilde gerçekleştiği hakkında fikir edinmek amacıyla SEM ölçümleri alınır.

Karakterizasyon, destek materyalinin oluşumunu, ilaç tutuklanmış ortamın dayanıklılığını ve buna benzer verileri desteklemek açısından çok önemli bir aşamadır.

6) Şişme Davranışının Değerlendirilmesi:

Hidrojel karakterdeki polimerlerin su tutma özelliklerinin bir göstergesi olarak şişme davranışları incelenir.

$$\text{Şişme indeksi} = \frac{\text{Şişme sonrası boncukların kütlesi} - \text{kuru boncukların kütlesi}}{\text{Kuru boncuk kütlesi}} \times 100$$

formülü ile hesaplanır.

7) İlaç Salım Çalışmaları

Salım çalışmaları ilacın hangi biyolojik sıvıda (mide, ince bağırsak, kan gibi) salınması isteniyorsa, o ortamın *in vivo* veya *in vitro* olarak sağlanarak uygulama yapıldığı aşamadır. Bu aşamada taşıyıcı sistemden ilacın nasıl bir profil ile salındığını, yüzde olarak hangi oranlara ulaşabildiği, hangi biyolojik sıvıda daha aktif olduğu gibi sonuçlara ulaşılır.

Çeşitli formülasyonlarda üretilmiş ilaç yüklü kompozit kürelerden ilacın salımı, ilacın muhtemel takip edeceği gastrointestinal yol üzerindeki ortamların niteliği dikkate alınarak ölçülür. Örneğin *in vitro* mide ortamı olarak düşük pH (~1-2); ince bağırsak ortamı olarak nötral pH (~6.8-7.2) ortamları hazırlanır ve bu ortamlarda ayrı ayrı veya ardışık ilaç salım deneyleri gerçekleştirilir. Elde edilen salım sonuçlarına göre ilaç salımının reel bir uygulamaya uygun olup olmadığı ve polimerin aktif olması gereken biyolojik sıvılarda sergilediği davranış tayin edilir.

8) İlaç Salım Kinetiğinin ve Mekanizmasının Analizi

Bir matrikse tutuklanmış/hapsolmuş ilacın salım davranışının açıklanabilmesi için matematik modellerden birisine uyum gösterip göstermediği araştırılır. İlaç salım davranışının kinetik değerlendirilmesi aşağıda verilen çeşitli matematik modellerle yapılabilir ve hangisine uyumlu olduğu açıklanabilir: Bu alanda ilaç çalışmalarında öne çıkan modeller aşağıdaki gibidir:

a- Sıfırıncı dereceden salım modeli

- b- Birinci dereceden salım modeli
- c- Hixson-Crowell salım modeli
- d- Higuchi salım modeli
- e- Korsmeyer-Peppas salım modeli
- f- Peppas ve Sahlin eşitliği
- g- Wiebull eşitliği
- h- Baker ve Lansdale modeli
- i- Hopfenberg modeli

8-a- Sıfırncı dereceden kinetik modelde ilaç salım hızı ilaç derişimine bağlı olmayıp zamana karşı (saat) %ilaç salım grafiği bir doğru verir.

Sıfırncı dereceden kinetiğe örnekler: Transdermal sistemler, oral kontrollü salım, süspansiyonlar, çözünlüğu düşük ilaç taşıyan matriks tabletler, ağızdan osmotik basınç ile alınan ilaçlar.

8-b- Birinci dereceden kinetik modelde ilaç salım hızı ilaç derişimine bağlıdır. Kalan ilaç yüzdesinin logaritması ile zaman (saat) grafiği bir doğru verir.

Birinci dereceden kinetiğe sahip örnekler: Matriks çözümlme/dağılma kontrollü salım yapan sistemler, matriks difüzyon kontrollü salım yapan sistemler, geciktirilmiş kontrollü salım yapan sistemler, sürekliler.

8-c- Hixson-Crowell salım eşitliği:

İlaç çözümlme/dağılma yolu ile salınır. Yüzey alanında değişiklik olan partiküllerin çapı değişir, salım difüzyon ile olmaz.

Yüzde kalan ilacın küp kökü ile zaman (saat) arasındaki grafik bir doğru verir.

8-d- Higuchi eşitliği/modeli:

Salınan ilaç derişimi ile zamanın karekökü arasında çizilen grafik doğru verir. Higuchi modeli ilaç salımını zamanın kareköküne bağlı Fick's yasasına dayanan bir difüzyon süreci olarak tanımlar.

8-e- Korsmeyer-Peppas eşitliği:

Zamanın (saat) logaritması ile salınan ilaç yüzdesinin logaritması arasında çizilen grafik bir doğru verir. Korsmeyer-Peppas eşitliği hidrofilik matriksten ilacın salım davranışını verir.

Bu eşitlik geometrik şekle bakılmaksızın salım eğrisinin ilk %60'ını açıklamak için kullanılabilir.

8-f- Peppas ve Sahlin eşitliği:

İlaç salımı hem difüzyona hem de polimerin Fickian relaksasyonuna bağlı olduğunda kullanılan eşitliktir.

8-g- Wiebull dağılımı

Çeşitli dozaj formlarından ilaç çözülmesini analiz ve karakterize etmek için kullanılabilir. Log zamanı ile çözülmüş miktar arasında çizilen grafik kullanılır.

8-h- Baker ve Lansdale modeli:

t zamanında salınmış ilaç miktarı ile t zamanı arasındaki grafiğin doğru olması durumunda ilaç salımı bu modele uymaktadır. Bu model küresel bir matriksten kontrollü salım ifade eder. M_t/M_∞ ile zaman arasında çizilir.

8-i- Hopfenberg modeli:

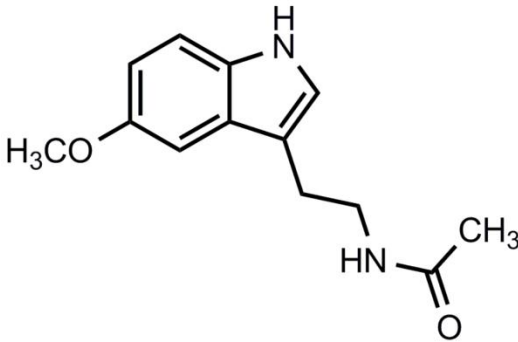
t zamanında çözünen ilaç miktarının doğrusal grafik vermesi ile bu model geçerli olabilir.

Grafik M_t/M_∞ ile zaman arasında çizilir. Düz, küre ya da silindirik yapılardan heterojen erozyon ile ilaç salımı durumunda bu kinetik geçerlidir.

Bu modellerin eşitlikleri kullanılarak en yüksek korelasyon katsayısı (R) veren model oluşturulan sisteme en uygun modeldir. Bazen bir salım sistemi iki farklı modele uygun olabilir (<https://www.slideshare.net/vamsikrishnareddy57/drug-release-mechanism-and-kinetics>, <https://www.slideshare.net/sagarsavale1/drug-release-kinetics>).

1.5. Melatonin

Melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin) açık sarı renkte kristalimsi yapıda, erime noktası 116-118 °C arasında olan organik bir bileşiktir. Kapalı formülü $C_{13}H_{16}N_2O_2$, molekül ağırlığı 232.278 g/mol'dür (Yu ve Reiter, 1993). Melatonin etanolde çözünür, sudaki çözünürlüğü ise çok azdır (0.143 mg/mL) (<https://www.drugbank.ca/drugs/DB01065>).



Şekil 1.2. Melatoninin molekül formülü (<http://cenblog.org/the-haystack/files/2011/06/melatonin.png>).

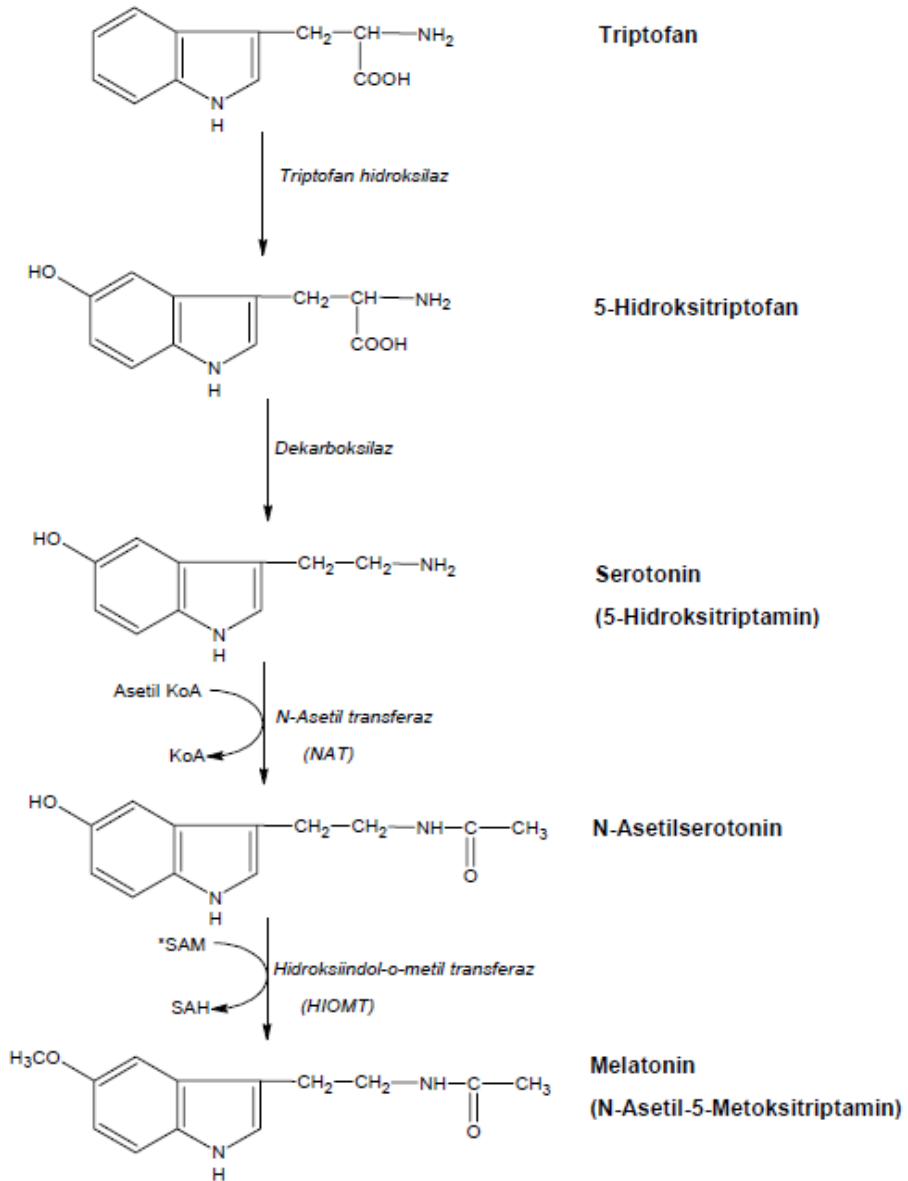
Melatonin temel olarak pineal bez tarafından ritmik olarak salgılanan, sirkadiyen ve mevsimsel ritimlerin düzenlenmesinde görev alan bir hormondur. Melatoninin bu işlevi 'karanlık' bilgisinin iletilmesiyle gece pik yapar ve 'aydınlık' bilgisinin iletilmesiyle düşüşe geçer. Bununla birlikte melatoninin çoğu omurgalının dokularında sentezlenebildiği ve aynı zamanda hemen her omurgasız, mantar, tek hücreli bitki ve bakterilerde mevcut olduğu bilinmektedir (Hardeland vd., 2006).

Pineal kelimesinin kökeni 'pinea' olup Latince'de çam kozalağı anlamına gelir. Lerner ve arkadaşları 1958 yılında pineal bezden bir hormon izole etmiş ve bu hormonun kurbağa yavrusu, kurbağa, kara kurbağası ve balıklarda cilt renginin aydınlatılmasına neden olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu tür ekstraktların, kurbağa derisinin izole edilmiş parçalarının melanositleri içindeki melanin granüllerinin toplanmasına neden olarak, melanosit uyarıcı hormonun koyulaştırma etkisini tersine çevirdiği bulunmuştur. Lerner buradan yola çıkarak bu hormonu, Yunanca'da siyah anlamına gelen 'melas' ve iş anlamına gelen 'tosos' kelimelerini birleştirerek 'melatonin' olarak isimlendirmiştir (Lerner vd., 1958).

Melatonin geceleri gündüz salgılandığından 10 kat daha fazla salgılanır ve 4 yaşından küçük çocuklarda en yüksek seviyede bulunurken bundan sonra yaşa bağlı olarak azalmaya başlar. Çok güçlü bir antioksidan özelliğe sahip olan melatonin hidroksil, karbonat, çeşitli organik radikaller, peroksinitrit ve diğer reaktif azot türlerini temizler. Temizleme işlemi sonucunda oluşan melatonil kökleri, radikal reaksiyon zincirlerini sonlandırma işleminde süperoksit anyonlarını toplayarak etkisizleştirir. Melatonin aynı zamanda süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz gibi antioksidan enzimlerin sentezini uyararak ve glutatyon düzeylerini artırarak hücrenin antioksidan potansiyelini artırır. Yaşlı bireylerde melatonin salgılanmasındaki azalma Alzheimer, diyabet, psikolojik bozukluklar, kanser, migren, Parkinson ve hipertansiyon gibi hastalıkların gelişimine sebep olan faktörlerin ilk sırasında gelmektedir (Srinivasan vd., 2005).

Melatonin sentezi pineal bezdeki sempatik sinir uçları ve pinealosit arasındaki sinaptik yarıklara norepinefrin (NE) salımı ile başlar. Norepinefrin, aydınlık-karanlık döngünün karanlık evresinde serbest bırakılır ve cAMP üretimini uyararak adenilat siklazı aktive eder. Bu da melatonin sentezinde anahtar enzim olan N-asetil transferaz (NAT) enzimini aktive eder (Touitou, 2001).

Melatonin biyosentezinin ana yolu triptofan-5-hidroksilasyon, dekarboksilasyon, N-asetilasyon ve O-metilasyondan oluşur (Şekil 1.3). Hücre içine alınan triptofan, triptofan hidroksilaz enzimi ile hidroksillenerek 5-hidroksitriptofana dönüşür. Oluşan 5-hidroksitriptofan, dekarboksilaz enzimi ile dekarboksillenerek seratonin (5-hidroksitriptamin) oluşur. Seratonin, cAMP üretimini uyararak adenilat siklazın aktivasyonuna bağlı olarak aktive olan N-asetil transferaz (NAT) enzimi ile N-asetilseratonine dönüşür ki bu sırada bir asetil KoA, KoA'ya dönüşür. Ayrıca seratoninin N-asetilasyonu melatonin sentezi için hız sınırlayıcı basamaktır. Son basamakta ise N-asetilseratonin, hidroksiindol-O-metil transferaz enzimi aracılığıyla melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin) oluşur.



Şekil 1.3. Melatoninin biyosentez basamakları (http://docplayer.biz.tr/docs-images/41/57516/images/page_8.jpg).

1.6. Biyopolimerler

Polisakkaritler, bitki alemindeki en yaygın organik bileşikler arasındadır. Bunlar tipik olarak, glikozidik bağlarla farklı uzunluktaki doğrusal veya dallanmış zincirlere bağlanan monosakkarit birimlerinden oluşan karmaşık karbohidrat

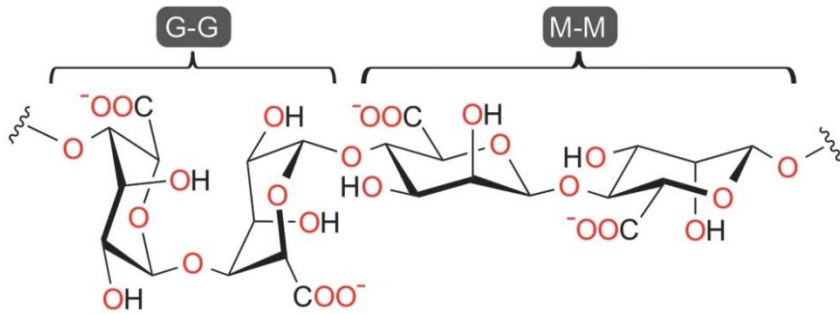
biyopolimerleridir. Polisakkaritler, monosakkarit bileşenlerine, glikozidik bağlarının anomerik konfigürasyonuna ve bağ türlerine yani ana yapı birimlerine göre sınıflandırılırlar (Singh, 2011).

Biyopolimerler yapıları, fizikokimyasal özellikleri ve destek sistemleri ile etkileşimleri temelinde mikro ve nanopartiküllü ilaç iletim sistemleri olarak yaygın bir kullanıma sahiptir (Goudoulas, 2012).

Özellikle biyobozunur karaktere sahip olmaları ilaç iletim sistemleri için en büyük avantajı sunar çünkü sonrasında herhangi bir toksisiteye neden olmadan parçalanarak vücuttan atılırlar. Bu sebeple biyopolimerler ilaç iletim sistemlerinde var olan ilaç formülasyonlarının etkinliğini artırmak ve yeni tedavi yöntemleri geliştirmek için oldukça uygun materyallerdir.

1.6.1. Aljinat

Aljinat, ardışık β -D-mannuronik asit (M birimleri) ve α -L-gluronik asit (G birimleri) monomerlerinden oluşan bir kopolimerdir. Mannuronik ve gluronik asit birimlerinin uzunluğu ve polimer zinciri boyunca dağılımı aljinat kaynağına bağlı olarak değişiklik gösterir (Wen ve Park, 2011-a).



Şekil 1.4. α -L-gluronik asit (G birimleri) ve β -D-mannuronik asit (M birimleri) içeren aljinatın molekül yapısı (Kühbeck, 2015).

Aljinat bazı toprak bakterilerinde kapsül polisakkaritleri olarak ve denizlerdeki kahverengi alglerin yapısal bir bileşeni olarak doğada bol miktarda bulunur.

Aljinatın kullanım alanları genel olarak şu şekilde sıralanabilir:

- * Gıdalarda koyulaştırma ajanı, jelleştirme ajanı, emülgatör, stabilizatör gibi işlevleri ile çeşitli alanlarda kullanılır
- * Tekstilde baskı sırasında yapılan desen uygulamasında renk pastası alt tabakasında kullanılır
- * Kozmetikte yoğunlaştırıcı ve nem tutucu özellikleri ile birçok alanda kullanılır
- * Farmasötikte, tıbbi bileşenlerin kaplama destek materyali olarak, dişçilikte dolgu ve kalıplarda kullanılmaktadır.

Farmasötik kalitedeki aljinatlar kahverengi deniz yosunlarından elde edilir (Wen ve Park, 2011-a).

Aljinat hidrofilik bir polimer olup suda hidrojel formunu alır. Aljinat poliasidik yapısı nedeniyle sulu çözeltilerde geri dönüşümlü (tersinir) jelleşmeye uğrar. Ca^{2+} ve Zn^{2+} gibi iki değerlikli katyonlar, komşu aljinat zincirlerinin G birimleri arasında bağ yapar ve zincir içi iyonik köprüler oluşturur. Farklı çözünenlerin geçirgenliğinin azalması sonucunda, aljinat hidrojelinde tutuklanmış aktif farmasötik bileşenlerin (API) salımı gecikir.

Aljinat bazlı malzemeler pH'a duyarlıdır. Düşük pH'a sahip çözeltilerde aljinat bazlı matristen ilaç salımı önemli ölçüde azalır, bu durum bir iletim sistemi geliştirilmesinde oldukça yararlıdır. Teorik olarak, aljinat düşük pH'da büzülür ve enkapsüle veya gömülü ilaçları salamaz. Bağırsak sıvısı ile teması üzerine, aljinat matrisinin iki değerlikli katyon ve sodyum arasında bir iyon değişimine uğraması ilaç salımı ve matris dağılması (parçalanması) ile sonuçlanır. Aljinatın pH'a bağlı davranışından özel salım profilleri ve akıllı sistemlerin geliştirilmesinde yararlanılabilir (Wen ve Park, 2011-a).

Aljinat mikropartikülleri, hem küçük moleküllerin hem de makromoleküllerin yüklenmesi için incelenmiştir. Aljinat hidrojel, yüksek asit çözünürlüklü ilaçlar için kusursuz hidrofilik bir matris sistemdir çünkü asidik koşullar altında çözünmezler. Aljinat matrisin şişme ve çözünmesi pH'a bağlı olduğundan, sistem bağırsak sıvısı ile etkileşim içinde olduğu zaman matristen genellikle belirgin bir burst salım (%30-40 kadar) gözlenir. Aljinat, kitosan ve poliakrilat kompozit matris sistemler salım hızını optimize etmek üzere kullanılırlar.

Aljinat biyoyumlu, mukozaya yapışan ve biyolojik olarak parçalanabilir bir polisakkarittir (Rehm, 2009).

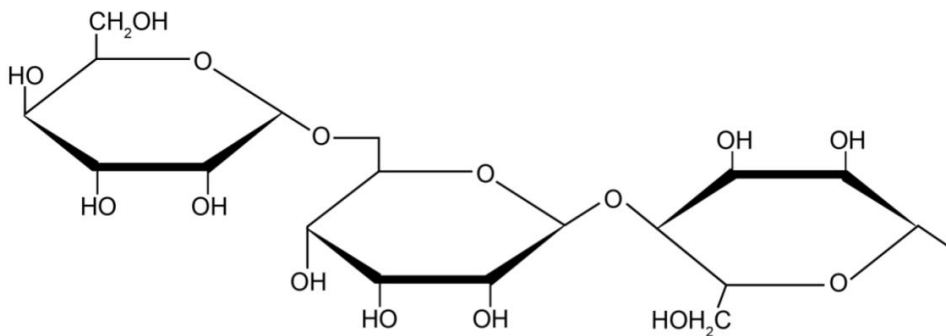
Aljinat hidrojellerin avantajları:

- * Aljinat oral yoldan alındığında toksik değildir ve üst gastrointestinal sistemin mukoza membranında koruyucu etkisi vardır.
- * Aljinat küreler kurutulduktan sonra tekrar şişebilme özelliğine sahip oldukları için kontrollü salım sistemleri olarak görev yapabilirler.
- * Tekrar şişebilme özelliği pH'a duyarlı olduğu için kürelere tutuklanan ilaç asitliğe karşı hassas ise mide sıvısından korunur (Bhardwaj vd., 2000).

1.6.2. Gam Arabik

Gam arabik, *Leguminosae* familyasına ait *Akasya senegal* ve *Akasya seyal* ağaçlarının doğal bir sızıntısıdır. Bu ağaçların coğrafi dağılımı Afrika'nın batısından başlar ve Hint yarımadasına kadar uzanır. Ağaçlardan toplanan doğal sızıntılar kurutulur, üzerindeki yabancı materyallerden arındırılır, kabaca şekillendirilir ve toz halinde öğütülerek kullanıma hazır hale getirilir (Patel ve Goyal, 2015).

Gam arabik kompleksi D-glukuronik asit (~%2) ünitesine bağlı L-arabinoz (%24), L-ramnoz (%7) ve D-galaktoz (%67) zincirlerinden oluşur (Shirwaikar vd., 2008)



Şekil 1.5. Gam arabik'in molekül yapısı (<http://www.justpaint.org/wp-content/uploads/2015/06/JP31A6-12-1.jpg>).

Gam arabik sulu çözeltilerde 2.2-2.7 aralığında pH'a sahiptir. Bu doğal asitlik yavaş bir otohidrolyze neden olur ve makromoleküllerden ilk olarak L-arabinozu

ardından L-ramnoz, D-galaktoz ve D-glukuronik asiti verir. Bununla birlikte yapısında sodyum, potasyum, kalsiyum ve magnezyum gibi metalik iyonları da bulundurur (Kalia ve Averous, 2011).

Gam arabik kullanım alanı çok geniş bir malzemedir. Bunlardan bazıları aşağıda belirtilmiştir:

- * Süt ürünleri endüstrisinde su tutma özelliğinden dolayı dondurma, pasta kaplama şekerlemeleri gibi ürünlerde stabilizatör olarak kullanılır.
- * Bira sanayiinde ve diğer içeceklerde köpük stabilizatörü olarak kullanılır.
- * Şekerleme ürünlerinde şekerin kristalleşmesini önleyici ajan olarak kullanılır.
- * İlaç endüstrisinde kanama veya cerrahi müdahale sırasında gelişen şok durumlarındaki düşük kan basıncının tedavisinde ve aynı zamanda tabletlerde bağlayıcı ajan olarak, öksürük damlaları ve şuruplarda ise koruyucu olarak kullanılır.
- * Kozmetik sanayiinde emülsiyon dengeleyici ve viskozite artırıcı (kıvamlaştırıcı) olarak kullanılır. Ayrıca koruyucu krem ve losyonlarda koruyucu bir tabaka oluşturulmasında ve sıvı sabun üretiminde köpük stabilizatörü olarak kullanılır. Gam arabik dermatolojik ve alerjik reaksiyonlar açısından zararsız ve toksik olmayışı nedeniyle kozmetikte kullanılması çok avantajlıdır.
- * Tekstil endüstrisinde kumaş tasarımı için baskı formülasyonlarında yaygın olarak kullanılmaktadır.
- * Mürekkep üretiminde üstün kolloid koruyucu özelliği nedeniyle birçok özel mürekkebin içeriğinde yer almaktadır.
- * Kağıt endüstrisinde kullanım açısından güvenli, basit bir yapıştırıcı olarak kullanılır (Kalia ve Averous, 2011).

Farmasötik Alanında Doğal Gamların Kullanılmasının Avantajları

- * Biyolojik olarak parçalanabilir: tüm canlı organizmalar tarafından üretilen polimerlerin doğal biyobozunumu mevcuttur. Yenilenebilir bir kaynak

olmasının yanında çevre ve insan sağlığı açısından olumsuz bir etkisi yoktur.

- * Kimyasal yapılarının neredeyse tamamı tekrarlayan şeker ünitelerinden oluşan karbohidratlardır. Bu nedenle toksik değillerdir ve biyouyumludurlar.
- * Düşük maliyetlidir: doğal kaynaklar kullanmak her zaman daha ucuzdur. Üretim maliyeti sentetik malzeme ile karşılaştırıldığında çok daha düşüktür.
- * Çevre dostu proses: farklı kaynaklardan elde edilen gamlar basit üretim süreçleri nedeniyle farklı mevsimlerde kolayca toplanabilir.
- * Yenilebilir kaynaklar: gamlar yenilebilir kaynaklardan elde edilirler (Goswami ve Naik, 2014).
- * Farmasötik Alanında Doğal Gamların Kullanılmasının Dezavantajları
- * Mikrobiyal kirlenme: gamlar oluşumları sırasında buldukları ortamdan dolayı mikrobik bir etkileşim gelişebilir. Fakat bu istenmeyen durum uygun taşıma ve koruyucu kullanımı ile engellenebilir.
- * Toplama zamanı çeşitliliği: sentetik imalat sabit miktarda içeriğe sahip kontrollü bir prosedürdür. Gam üretimi çevresel ve mevsimsel faktörlere bağlıdır. Doğal materyallerin farklı zamanlarda toplanması bölge, tür ve iklim koşulları farklılıklarının yanı sıra kimyasal bileşen yüzdelerinin değişimine yol açar.
- * Depolamada düşen viskozite: gamlar su ile temas ettiklerinde viskozite artışı meydana gelir. Gamların karmaşık yapılarından dolayı depolandıktan sonra viskozitelerinde azalma olduğu belirlenmiştir (Goswami ve Naik, 2014).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. İlaç Salım Sistemleri ile İlgili Çalışmalar

Kostková vd. (2017)'nin çalışmasında biyobozunur, yüksek mol kütleli, yıldız benzer bir yapıya sahip olan N-(2-hidroksipropil) metilakrilamid (HPMA) ve 2,2-bis(hidroksimetil)propiyonik asit kopolimeri üretilmiş ve doksorubisin (DOX) adlı ilaç yüklenmiştir. Polimere %9.8 oranında ilaç yüklenebilmiş, pH 5.0'de, 37 °C'de yüklenen ilacın yaklaşık %90'ı 24 saatte salınırken, pH 7.4'de, 37 °C'de ve 24 saatte ilacın ancak %4'ü salınmıştır. Tümör hücrelerinin endozomlarını *in vitro* ortamda temsil eden pH 5 çözeltisinde yapılan salım çalışmaları, polimere yüklenen ilacın kanser hücrelerine karşı etkili bir salım sistemi oluşturduğunu göstermiştir.

Li ve Zhan (2017) bir antikanser ilaç olan 5-Fluorourasil'i (5-Fu), biyoyumlu bir polimer olduğu rapor edilen kitosan kullanılarak üretilmiş mikropartiküllere tutuklamışlardır. İlaç yüklü mikropartiküllerin hazırlanması için iyonik çapraz bağlama tekniği uygulanmış, çapraz bağlayıcı olarak sodyum tripolifosfat kullanılmıştır. İlaç yükleme kapasitesine kitosan derişiminin (0.6-2.5 g/L) etkisi incelendiğinde, derişim artırıldıkça yükleme kapasitesi önce artmış, 1.5 g/L'de maksimum değere ulaşmış, daha sonra da azalmıştır. Karıştırma hızı artırıldığında ise yükleme kapasitesi azalmıştır. Kitosan mikropartiküllere 5-Fu yükleme kapasitesi yaklaşık %45 olarak hesaplanmıştır. Salım çalışmaları pH 6,8 fosfat tamponunda gerçekleştirilmiştir. İlaç salım oranının 24 saatte 0.7-0.9 mg/mg oranında olduğu ve geciktirilmiş salım gerçekleştiği belirlenmiştir.

Skorik vd. (2017), N-süksinil-kitosan ve N-glutaril-kitosan nanopartiküller üretmişlerdir. Bu nanopartiküllerin taksanlar olarak adlandırılan paklitaksel ve dokataksel adlı ilaçların iletiminde kullanmayı amaçlamışlardır. Nanopartiküllerin tutuklama etkinlikleri %21-26 iken, yükleme kapasiteleri %6-13 olarak hesaplanmıştır. Nanopartiküllerden ilaç salım çalışmaları 0.15 M NaCl çözeltisinde ve 37 °C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. İlk bir saatte %35-40 oranında ani salımın, nanopartiküllerin yüzeyinde adsorbe olmuş ilaçtan kaynaklanabileceği rapor edilmiştir. Kümülatif salım değeri 48 saat sonunda %50'ye ulaşabilmiştir.

Alenezi vd. (2016), antibakteriyel, antienflamatuar özelliklerinin yanı sıra kemik oluşumunu hızlandıran bir ilaç olan klaritromisini poli(laktik-ko-glikolik) asit

(PLGA) mikrokürelerine yüklemişlerdir. İlaç yüklü mikrokürelerin tavşan kafatasındaki bozuklukları gidermek için kemik oluşumunu geliştirme özelliğini araştırmışlardır. PLGA mikrokürelerin boyutlarının 26.4 ± 3.1 μm olduğu belirlenmiştir. Tutuklama etkinliği $\%94.3 \pm 2.8$ iken; 4 hafta sonunda fosfat tamponundaki salım oranı yaklaşık $\%90$ olarak hesaplanmıştır. İlk 3 günde ilacın $\%31$, daha sonra ise yaklaşık $\%50$ 'si geciktirilmiş bir şekilde yavaş yavaş salınmıştır. Klaritromisin yüklü PLGA mikrokürelerin *in vivo* ortamda kemik oluşumu üzerinde olumlu etki yaptığı belirlenmiştir.

Chen vd. (2016) akciğer kanserinin bir türünde etkili bir ilaç olan gefitinibi poli(laktid-ko-glikolid) mikrokürelere yüklemişlerdir. Mikroküre boyutunun ilaç yükleme kapasitesine ve salımına etkisini incelemek üzere yapılan bu çalışmada, boyutları 5 ± 1 , 32 ± 4 , 70 ± 3 ve 130 ± 7 μm olan mikroküreler üretilmiştir. Boyutları 59 μm olan kürelere ilaç yükleme kapasitesi $\%6.3$ iken; tutuklama etkinliği $\%70$ olarak hesaplanmıştır. Küre boyutu arttıkça yükleme kapasitesi artmış ancak verim düşmüştür. Salım çalışmalarında mikroküreler metakrillenmiş dekstran hidrojelere gömülmüştür. Bu işlem inkübasyon koşullarında mikrokürelerin agregasyonunu önlemek için uygulanmıştır. Kümülatif salım davranışları incelendiğinde 50 μm 'den daha küçük mikrokürelerden salımın ani difüzyon ile gerçekleştiği ve 2 günde tamamlandığı belirlenmiştir. Daha büyük küreler sigmoidal bir salım grafiği oluşturmuşlar ve bu süreç 3 ay boyunca devam etmiştir.

Zhang vd. (2016) kanser tedavisinde kullanılan bir ilaç olan fenretinidi PLGA mikrokürelere tutuklamışlar ve ilacın hem *in vivo* hem de *in vitro* ortamda salım davranışını incelemişlerdir. Çalışmada farklı formülasyonlara sahip sistemler oluşturulmuş ve her bir sistemin tutuklama etkinliği karşılaştırıldığında, en yüksek değer $\%41.6 \pm 2.3$ olduğu görülmüştür. Optimize edilen formülasyonun, 37 $^{\circ}\text{C}$ 'de fosfat tamponunda başlangıçta $\%20$ 'lik bir ani salım, daha sonraki yaklaşık 28 günlük sürede geciktirilmiş bir salım sergilediği görülmüştür. İlacın *in vivo* ortamda mikrokürelerden salımının ise önce ani, daha sonra 2 hafta süren bir geciktirilmiş salım profili oluşturduğu belirlenmiştir.

Phuengkham vd. (2016) antimikrobiyal ilaç iletim sistemi tasarlamak üzere poli(ϵ -kaprolaktan) nanoküreler üretmişler ve bu nanokürelere klorofen ilacını tutuklamışlardır. Farklı formülasyonlar kullanılarak üretilen nanokürelerden $\%0.1$ poloksomer 407, 15 mL etil asetat ve $\%20$ oranında başlangıç klorofen yüklemesi yapılan küreler en iyi formülasyon olarak belirlenmiştir. Boyutları 179 nm olan

nanokürelerin tutuklama etkinliği %88 iken, salım oranı %2.5'lik β -siklodekstrin içeren fosfat tamponunda (pH 7.4) 35 günün sonunda %75-80'e ulaşmıştır. İlaç yüklü nanokürelerin *Staphylococcus aureus* ve *Candida albicans* bakterilerine karşı etkili olduğu belirlenmiştir.

Dang vd. (2016), kitosan- α,β -gliserofosfat hidrojel mikropartiküller sentezleyerek, bu partiküllere metotreksat yüklemişlerdir. Bu mikropartiküllere ilaç tutuklama etkinliği %32.66; yükleme kapasitesi ise %12.98 olarak hesaplanmıştır. Salım çalışmaları pH 7.4'de ve 37 °C'de gerçekleştirilmiştir. İlk bir saat içerisinde ilacın %33'ü ani bir şekilde salınmıştır. Dört saat sonunda salınan ilaç miktarı %64, 9 saat sonunda ise %76 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar mikropartiküllerin enjekte edilebilir, biyouyumlu ve uzatılmış salım sağlayabilecek taşıyıcılar olduklarını göstermiştir.

2.2. Aljinat İle İlgili Çalışmalar

Balanč vd. (2016) resveratrol tutuklanmış lipozomlar hazırlamışlar ve bu lipozomları aljinat-sükroz ve aljinat-kitosan partiküller içerisinde tutuklamışlardır. Oluşan partiküllerin çaplarının 412-471 nm arasında değiştiği görülmüştür. Taramalı elektron mikroskobu fotoğrafları polimer ağı içerisinde gömülü olan lipozomların yapılarının değişmediğini göstermiştir. Lipozomların resveratrol tutuklama etkinliği %85-91 olarak hesaplanmıştır. Tutuklanan resveratrolün %70'i yaklaşık 290 dakikalık bir süre içerisinde yavaş bir şekilde salınmıştır.

Li vd. (2008) aşı iletimi için aljinat ile kaplanmış kitosan mikropartiküller üretmişlerdir. Bu çalışma ile yeni bir oral antijen taşıyıcısı geliştirmeyi hedeflemişler ve mukozal bir aşı olarak sığır serum albümini (BSA) mikropartiküllere tutuklamışlardır. Kitosan çözeltisi tripolifosfat ile jelleştirilmiş, oluşan koloidal çözelti santrifüjlenmiş ve partiküller çöktürülmüştür. Daha sonra distile su içerisinde disperse edilen kitosan mikropartiküller (KM) BSA ile 15 dakika inkübe edilmiştir. BSA yüklenmiş KM aljinat çözeltisine damlatılarak kaplandıktan sonra yüzeydeki aljinatın çapraz bağlanması için CaCl_2 çözeltisinde yeniden disperse edilmiştir. Boyutları 1324 nm olan bu partiküllerin ilaç tutuklama etkinliği %60 iken, tutuklama kapasitesi %6 olarak hesaplanmıştır. Salım çalışmaları pH 7.4 fosfat tamponunda gerçekleştirilmiştir. Kaplanmamış mikrokürelerden %84 oranında ani bir salım 30 dakika içerisinde gözlenmiştir.

Kaplanmış mikropartiküllerden ise 8 saat içerisinde %40 oranında ilaç salınmış ancak geri kalan ilaç salınmamıştır.

Nochos vd. (2008) doğal ve hidrofilik polimerler olan sodyum aljinatı ve hidroksipropil-metilselülozu (HPMC) kullanarak jel boncuklar üretmişler ve bu boncuklara BSA yükleyerek bu proteininin *in vitro* salım davranışını incelemişlerdir. Şişmiş durumdaki kürelerin küresel yapıda olduğu kurutulmuş durumdakilerin ise küreselliklerini bir miktar kaybettiği ve oldukça küçük olduğu görülmüştür. Kurutulup tekrar şişirilmiş kürelerin de şekilleri küresellikten uzaklaşmıştır. Fizyolojik tuz çözeltisinde 7 saat inkübe edilen kürelerin %118-151 oranında şişme derecesine sahip olduğu belirlenmiştir. Aljinat/HPMC kürelerin BSA tutuklama etkinlikleri formülasyonlarına bağlı olarak %65.4 - %69.1 arasında değişmiştir. Salım çalışmaları fizyolojik tuz çözeltisinde (%0.9'luk NaCl, w/v) ve 37 °C'de gerçekleştirilmiş ve yaklaşık %40 oranında salım olduğu belirlenmiştir. Ayrıca salım kinetiğinin Peppas modeline uygun olduğu saptanmıştır.

George ve Abraham (2007) pH'a duyarlı aljinat-guar gam hidrojelleri çapraz bağlayıcı olarak glutaraldehit kullanarak sentezlemişlerdir. Bu hidrojellere protein ilaçlarının yüklenmesi, intestinal iletimi ve kontrollü salımı üzerinde çalışmışlardır. Model ilaç olarak BSA seçilmiş ve ilaç farklı aljinat, guar gam ve glutaraldehit derişimleri kullanılarak hazırlanan hidrojellere yüklenmiştir. En uygun formülasyonun 3:1 aljinat: guar gam ve %0.5 (w/v) glutaraldehit içeren formülasyon olduğuna karar verilmiş ve bu hidrojellere %100 oranında BSA tutuklanabildiği belirlenmiştir. İlaç salım çalışmalarında pH 1.2 çözeltisinde yaklaşık %20 oranında; pH 7.4 ortamında ise yaklaşık %90 oranında salım gerçekleştiği saptanmıştır.

2.3. Gam Arabik ile İlgili Çalışmalar

Sarika ve Nirmala (2016) antikanserojen bir polifenol olan kurkumini gam arabik aldehit-jelatin nanojel içerisine yüklemişlerdir. Kurkuminin nanojel yapısına girdiği ¹H-NMR, XRD ve IR teknikleri ile doğrulanmıştır. Boyutları 390-410 nm aralığında olan nanojellerin kurkumin tutuklama etkinliği %65±2 olarak belirlenmiştir. Nanojellerden kurkumin salımı pH 5.5 ve 7.4'de incelenmiş, ilk 5 saatte hızlı bir salımın, daha sonra kontrollü bir salımın gerçekleştiği belirlenmiştir. pH 5.5'de 48 saat sonunda yaklaşık %75 oranında, pH 7.4'de ise yaklaşık %55 oranında kümülatif salım elde edilmiştir. Bu durumun, asidik pH'da

gam arabiğin aldehit grupları ile jelatinin amin grupları arasındaki imin bağlarının kırılması sonucu nanojellerin yapılarının bozularak kurkumin salımını hızlandırmasından kaynaklandığı rapor edilmiştir. İnsan meme kanseri üzerine kurkumin yüklü nanojellerin etkisini ölçmek üzere yapılan çalışmalarda nanojellerin hücre içerisine girebildiği ve 50 µg/mL'lik dozda kanser hücrelerine karşı akut toksisite gösterdiği belirlenmiştir.

Huang vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada, genipin-çapraz bağlı O-karboksimetil kitosan-gam arabik koaservatların pH-duyarlı iletim araçları olarak kullanılabilirlikleri araştırılmıştır. Koaservatlar pH 3.0, 4.5 ve 6.0'da farklı sürelerde genipin ile çapraz bağlanmış, elde edilen ürünün çapraz bağlanma derecesi, şişme davranışı, sığır serum albümin salım davranışı ve mikroyapısal karakterizasyonu üzerinde çalışılmıştır. Genipin ile çapraz bağlama işlemi koaservatların yapay mide sıvısına karşı stabilitesini artırmış ve keskin bir pH duyarlılığı oluşturmuştur. pH 3.0'de daha yüksek şişme kapasitesine sahip olan bu koaservatlara sığır serum albümin (10 mg/mL) yüklenmiştir. Albümin salımı ardışık olarak pH 1.2, 6.8 ve 7.4 salım ortamlarında incelenmiş ve salım oranları sırasıyla %17.14; %55.23; %79.79 olarak bulunmuştur.

Tan vd. (2016) kurkumin iletimi için kitosan ve gam arabik arasındaki kompleksleşme reaksiyonundan yararlanarak polisakkarit temelli nanopartiküller sentezlemişlerdir. Bu iki monomer pH 4.0'da 1:1 oranında karıştırıldıklarında hidrofilik, monodispers ve yüksek oranda pozitif yüklenmiş koloidal nanopartiküller elde edilmiştir. Çapları 250-290 nm arasında olan nanopartiküllere kurkumin tutuklama etkinliğinin %90; yükleme kapasitesinin ise %3.8'in üzerinde olduğu görülmüştür. Nanopartiküllerden kurkumin salımının yapay mide sıvısında yaklaşık %16; yapay bağırsak sıvısında yaklaşık %70 oranında gerçekleştiği belirlenmiştir.

2.4. Gam Arabik ve Aljinat ile İlgili Çalışmalar

Mohamed vd. (2016) doğal ve biyoyumlu polimerler olan aljinat ve gam arabiği kullanarak iyonotropik jelleşme metodu ile küreler üretmişlerdir. CaCl₂'nin çapraz bağlayıcı olarak kullanıldığı bu yöntemde, kürelere model ilaç olarak bir protein olan sığır serum albümini (BSA) yüklenmiştir. Optimize edilen formülasyonun %3 (w/v) sodyum aljinat ve %2 (w/v) gam arabik içeren küreler olduğu belirlenmiştir. Bu kürelere BSA tutuklama etkinliğinin %87.5±3.65 olduğu belirlenmiştir.

Kürelerden BSA salımı, 2 saat yapay mide ortamında, daha sonra küreler dağılmaya başlayana kadar yapay bağırsak ortamında ölçülmüştür. Aljinat asidik koşullarda çözünür olmadığı için mide ortamındaki salımın çok düşük olduğu görülmüştür. Ancak küreler pH 7.4 ortamına alındığında ilaç salımı kademeli bir şekilde artmış, kürelerin şişmesi ve dağılmasına bağlı olarak 180 dakika içerisinde ilaç salımı %100'e ulaşmıştır. Bu sonuçlardan yola çıkılarak kalsiyum aljinat/gam arabik kürelerin protein ilaçların iletimi için uygun taşıyıcılar olduğu sonucuna varılmıştır.

Nayak vd. (2012) kalsiyum aljinat/gam arabik küreleri iyonotropik jelleşme yöntemi ile sentezlemişlerdir. Bu kürelere glibenklamid (insüline bağlı olmayan diyabetin tedavisinde kullanılan bir ilaç) enkapsüle etmişler ve ilacın yapay mide ve bağırsak ortamlarındaki salımını incelemişlerdir. Bileşimleri optimize edilen kürelerin ilaç tutuklama etkinliği 86.02 ± 2.97 olarak hesaplanmıştır. Kürelerden ilaç salımı çalışmalarında, küreler önce 2 saat boyunca pH 1.2 çözeltisinde sonraki 5 saat boyunca pH 7.4 çözeltisinde inkübe edilmiştir. Asidik ortamda tutuklanmış ilacın %15'i salınmış, pH 7.4'de ise %35.68-53.23 oranında salım gözlenmiştir.

Aljinat ve gam arabik miktarları artırıldıkça, ilaç tutuklama etkinliğinin arttığı ancak salım oranının azaldığı görülmüştür. Glibenklamid kalsiyum aljinat/gam arabik kürelerden kontrollü olarak salınabilmiştir.

2.5. Melatonin ile İlgili Çalışmalar

Li vd. (2017) sudaki çözünürlüğü az, yarı ömrü kısa bir molekül olan melatonini hidroksipropil metilselüloz kaplı silikaya yüklemişlerdir. İlaç yükleme kapasitesi 5 mg/mL'den 40 mg/mL'ye kadar artan ilaç derişimlerinde gittikçe artmıştır. Silika derişimi arttıkça ise, yükleme kapasitesi azalmıştır. Melatonin yüklü, hidroksipropil metilselüloz kaplı silikanın yüzey alanı $90.29 \text{ m}^2/\text{g}$ olarak ölçülmüştür. Bu partiküllere yaklaşık %40 oranında yüklenebilen melatoninin %35.71'i mide ortamında, %88.13'ü ise bağırsak ortamında salınmıştır.

Romić vd. (2016) melatonini kitosan/Pluronic® F127 mikrokürelere tutuklamışlar ve elde edilen mikrokürelere kurutarak kuru toz formülasyona sahip; yara ile temas ettiğinde hidrojel formuna dönüşerek bir yara kapatma malzemesi olarak kullanmayı amaçlamışlardır. Farklı formülasyonlarla oluşturulan kürelerin tümünün melatonin tutuklama etkinliklerinin yaklaşık %100 olduğu belirlenmiştir.

pH 7.4 ortamında mikrokürelerden melatonin salım oranı 10 saatte yaklaşık %78'e ulaşmıştır. Mikrokürelerin antibakteriyel aktivite gösterdikleri de belirlenmiştir. Yapay yara sıvısı ile yapılan deneylerde şişme özellikleri, su buharı geçirgenliği ve buharlaşma ile su kaybı gibi parametreler mikrokürelerin yara malzemesi olarak kullanılabilir oldukları sonucunu ortaya koymuştur.

Sabzichi vd. (2016) melatonin taşıyıcısı olarak lipid nanoyapılar sentezlemiştir. Bu yapıların boyutlarının 60-100 nm olduğu belirlenmiştir. Nanoyapıların melatonin tutuklama etkinlikleri %84.3 olarak hesaplanmıştır. İlaç yüklü nanoyapıların 4 ay boyunca melatonin salımı göstermedikleri belirlenmiştir. Melatonin yüklü partiküller hücre çoğalmasını 55 ± 7.2 oranında azaltmışlardır.

Nukulkit vd. (2014)'nin çalışmasında sorbitan monostearat ve kolesterol kullanarak niozomlar oluşturulmuş ve polikaprolakton ile kaplanmıştır. Niozomlara 0.020 g melatonin eklenmiş ve tutuklama gerçekleştirilmiştir. Niozomlardan yapay ve gerçek tükürük ortamına melatonin salımı incelendiğinde ilk 6 saatte yaklaşık %55 kümülatif salım olduğu görülmüştür. Salım kinetiklerinin sıfırıncı derece, birinci derece; Higuchi, Hixson-Crowell, Korsmeyer-Peppas modellerinden hangisine uygun olduğu incelenmiş ve Korsmeyer-Peppas modeline göre ilacın salındığı belirlenmiştir.

Zhang vd. (2013)'nin çalışmasında melatonin yüklü poli(laktik-ko-glikolik asit) mikroküreler üretilmiş ve *in vitro* koşullarda insan mezenkimal kök hücrelerinin osteogenezi (kemik oluşumu/gelişimi) üzerine etkileri araştırılmıştır. Melatonin içeren ve içermeyen kürelerin morfolojileri SEM (taramalı elektron mikroskopisi) tekniği ile incelendiğinde kürelerin yapısının melatonin ilavesi ile değişmediği/bozulmadığı görülmüştür. Mikrokürelerin melatonin yükleme kapasitesi 6.35 ± 0.56 ; enkapsülasyon etkinliği ise 74.6 ± 5.3 olarak hesaplanmıştır. Melatonin salım deneyleri 37 °C'de pH 7.4 fosfat tamponunda gerçekleştirilmiş ve ilacın %40'ı ilk 3 günde salınırken, %45'lik bir kısmı da yaklaşık 25 gün boyunca salınmaya devam etmiştir.

Hafner vd. (2009) melatoninin mukozadan emilim ile iletilmesini sağlayabilecek melatonin yüklü lesitin/kitosan nanopartiküller sentezlemiştir. Lipid S45, S75, S100 lesitin türleri ve farklı oranlarda kitosan kullanılarak sentezlenen nanopartiküllere en fazla %7.1 oranında melatonin yüklenebilmiştir. Nanopartiküllerden melatonin salımı incelendiğinde yüklenen ilacın ilk iki saatte

%25'i hızlı bir şekilde salınırken %60-70'inin 4 saatte salındığı ve geciktirilmiş bir salım profili sergilediği görülmüştür. Nanopartiküllere yüklenmiş melatoninin serbest melatonine göre epitel bariyerden geçebilirliğinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca mitokondriyal dehidrogenazlar ile canlı hücrelerin aktivitesinin ölçüldüğü MTT testi ve plazma bütünlüğünü test etmek için uygulanan LDH testi sonucunda melatonin yüklü nanopartiküllerin hücrelerin canlılığı ve plazma bütünlüğüne olumsuz etki etmediği görülmüştür.

Schaffazick vd. (2006) poli(ϵ -kaprolakton), poli(laktid), Eudragit RS100[®] ve Eudragit S100[®] polimerlerini kullanarak sentezledikleri nanopartiküllere sırasıyla %37, %38, %45 ve %56 oranında melatonin yüklemeyi başarmışlardır.

Boyutları 204-280 nm arasında olan bu nanopartikül sistemlere yüklenebilecek melatonin miktarının polimer türünden etkilendiği sonucuna varılmıştır. En yüksek enkapsülasyon etkinliği Eudragit S100[®] ile hazırlanan nanopartiküller ile elde edildiği için daha sonraki sprey-kurutulmuş melatonin yüklü nanokapsül tozları oluşturmak için Eudragit S100[®] kullanılmıştır. Bu toz maddelere %93 oranında melatonin yüklenmiş ve 2 saat sonunda pH 7.4 fosfat tamponunda %71 oranında melatoninin kontrollü bir şekilde salındığı belirlenmiştir.

Tursilli vd. (2006) melatoninin fotostabilitesini artırmak için bu ilacı, tristearin ya da tripalmitin kullanarak sentezledikleri lipid mikrokürelere tutuklamışlardır. Tutuklama ortamında emülsiyon oluşturucu fosfotidilkolin ya da polisorbata 60 bulunmasına bağlı olarak sırasıyla 1-50 μ m ve 1-20 μ m boyutlarında küresel formda mikropartiküller elde edilmiş ve bu sistemlere %15.71 ve %3.06 oranında melatonin tutuklandığı belirlenmiştir. Melatonin salım çalışması, propilen glikol çözeltisi içinde gerçekleştirilmiştir. İki saat içerisinde melatoninin %100'ünün kontrollü olarak salındığı saptanmıştır. Mikropartiküllere yükleme işleminin melatoninin ışığa karşı kararlılığını arttırdığı ve bu durumun melatonin içeren cilt bakım ürünlerinde avantajlı olduğu bildirilmiştir.

Schaffazick vd. (2005) tarafından Eudragit S100[®] nanopartiküllere (nanokapsül ve nanoküre) melatonin yüklenmiştir. Bu sistemlerin, sulu çözeltide ve nanoemülsiyon ortamında lipitleri peroksidasyona karşı koruma potansiyelleri araştırılmıştır. Hazırlanan nanopartiküllere %32.65-54.35 oranında melatoninin tutuklanmıştır. Lipozom ve mikrozomların lipid substratlar olarak kullanıldığı bu

çalışmada, nanopartiküllere yüklenmiş melatoninin antioksidan aktivitesinin arttığı ve lipidleri peroksidasyona karşı %8-51 oranında koruduğu belirlenmiştir.

Melatonin içeren hidroksipropil metilselüloz (HPMC) matriks tabletler Lee vd. (1999) tarafından üretilmiştir ve üretime HPMC viskozitesi, ilaç yükleme kapasitesi, dağıtıcı, kaydırıcı, yapışmayı önleyici maddelerin türü ve miktarı, polimerik kaplama düzeyinin etkileri incelenmiş ve iki adet ticari ürün ile karşılaştırılmıştır. Yüksek viskoziteli HPMC kullanıldığında jel tabakası oluşumunun uzun zaman aldığı ve salım hızının azaldığı belirlenmiştir. İlaç yükleme kapasitesi artırıldığında salım hızı azalmıştır. Dört farklı dağıtıcı kullanılmış (Polypylasdone® XL, Avicel®, Primojel® ve Ac-Di-Sol®) ve Avicel'in salımı diğerlerinden daha fazla geciktirdiği belirlenmiştir. Dağıtıcıların yüksek oranda şişme davranışlarından dolayı çözünme ortamına kolayca geçtikleri ve HPMC matrikslerin erozyonunu ve parçalanmasını hızlandırdığı bildirilmiştir. Kaydırıcı ve yapışma önleyici maddelerin salımı yavaşlattığı ve kaplama düzeyi arttıkça salımın geciktirildiği rapor edilmiştir. Ayrıca üretilen tabletlerin, ticari tabletlerle benzer salım davranışı gösterdikleri belirlenmiştir.

Lee vd. (1997) melatonin şeker kürelere yüklemiş ve melatoninin bu kürelerden geciktirilmiş oral salımını incelemek üzere hem *in vitro* ortamda hem de insan denekler üzerinde çalışmalar yapmışlardır. Dibütil sebakat ve trietil sitrat kullanılarak %20 oranında kaplanmış, 3 farklı formülasyona sahip kürelere, mg küre başına 3.3 ± 0.08 , 2.4 ± 0.1 ve 2.5 ± 0.13 mg melatonin yüklenmiştir. Melatonin salım deneylerinde kürelerden ilaç salımı ilk 2 saat *in vitro* mide ortamında, sonra 22 saat boyunca *in vitro* bağırsak ortamında incelenmiştir. Yirmi dört saat içerisinde yüklenen melatoninin %100'ü kontrollü bir şekilde salınmıştır. *In vivo* denemelerde şeker kürelerden salınan melatonin miktarının fizyolojik endojen aralıkta olduğu görülmüştür.

2.6. Melatonin ve Aljinat ile İlgili Çalışmalar

Lee vd. (1996) tarafından yapılan çalışmada, Al^{3+} , Ba^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} , Zn^{2+} katyonlarını kullanarak üretilen aljinat kürelere melatonin yüklenmiştir. Küre üretiminde Mg^{2+} dışındaki katyonlar ile jel küreler oluşturulmuştur. Al^{3+} ile sentezlenen kürelerin çok kırılğan ve daha az küresel formda olduğu görülmüştür. Küre sentezi sırasında ortama 0.3 gram melatonin eklenmiştir. Mide sıvısında 5 saatte ilacın %80'i salınırken, bağırsak sıvısında 3 saatte ilacın tamamı salınmıştır.

Kürelerden melatonin salımının şişme, dağılma, pasif difüzyon, katyon çeşidi, jel dayanıklılığı ve ilacın çözünürlüğüne bağlı olarak gerçekleştiği sonucuna varılmıştır.

Lee ve Min (1996) Eudragit® RS100 polimeri ile ve alüminyum tristearat plastikleştiricisini kullanarak polimer bazlı ve kaplı aljinat küreler üretmişler ve bu kürelere melatonin tutuklamışlardır. Polimer ile güçlendirilmiş aljinat küreler melatonin, sodyum aljinat, polimer ve alüminyum tristearat içeren çözeltinin CaCl_2 çözeltisi içerisine damlatılması ile elde edilmiştir. Kürelere %60 oranında melatonin yüklenmiştir. Yüklenen ilaç miktarı arttırıldığında, mide ve bağırsak sıvılarında gerçekleşen salımın bu durumdan etkilenmediği görülmüştür. Polimer ile güçlendirme işlemi mide sıvısındaki salım üzerinde etkili olmazken; bağırsak sıvısındaki salımda bir ani salıma neden olmuştur. Kaplanmış kürelerden ilaç salımı ise hem mide hem de bağırsak sıvısı ortamlarında geciktirilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kimyasal ve Cihazlar

Etil Alkol (absolute, %99), gam arabik (*Acacia* ağacından), sodyum aljinat (kahverengi alg, medium viscosity, A-2033), melatonin, kalsiyum klorür (CaCl_2) ve hidroklorik asit (HCl, %37) Sigma-Aldrich (Steinheim, Almanya)'dan; Tween 80 Merck (Darmstadt, Almanya)'dan; sodyum hidroksit (NaOH) Riedel-Haen (Seelze, Almanya)'dan; potasyum klorür (KCl) Carlo Erba (Ronado, İtalya)'dan; potasyum fosfat tampon tuzu (PBS, Dulbecco A; pH 7.3±0,1) Oxoid (Hampshire, İngiltere)'dan temin edildi.

Deneylerde Ohaus-Pioneer (PA214C) 0.0001 duyarlıkta analitik terazi, Hanna (pH 211) pH metre, Shimadzu (UV-1601) spektrofotometre, Velp (Multistirrer 15) manyetik karıştırıcı, İndesit (TN 5 FNF) buzdolabı, GFL (2001/4) saf su cihazı, Memmert (UNB-400) etüv, Daihan Scientific (MSH-20D) ısıtıcı karıştırıcı, Sigma (3-30 KS) santrifüj cihazı kullanıldı.

Sentezlenen kürelerin karakterizasyonu için İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü-Malzeme Araştırma Merkezi'nde bulunan taramalı elektron mikroskopu (SEM, Philips XL-30S FEG) hizmet alımı ile kullanıldı. Celal Bayar Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi'nde bulunan FTIR spektrofotometresi (BX Perkin Elmer) ve İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi'nde bulunan DSC cihazı (Shimadzu DSC-60) Kimya Bölümlerinin yardımları ile kullanıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Melatonin Çalışma Grafiğinin Hazırlanması

Melatonin çalışma grafiği çizmek üzere önce 5 µg/mL melatonin çözeltisinin UV-Visible spektrofotometrede 350-200 nm dalga boyları arasında spektrumu alındı. Spektrumda melatonin 278, 224 ve 204 olmak üzere 3 dalga boyunda pik verdi. Çalışmanın devamında yapılacak olan absorbans ölçümleri için 278 nm uygun bulundu.

Tutuklama ve salım çalışmalarında kullanılmak üzere melatonin çalışma grafiği şu şekilde hazırlandı: Elli mg melatonin 50 mL etanolde çözülerek 1.0 mg/mL derişiminde stok çözelti hazırlandı. Hazırlanan melatonin stok çözeltisi

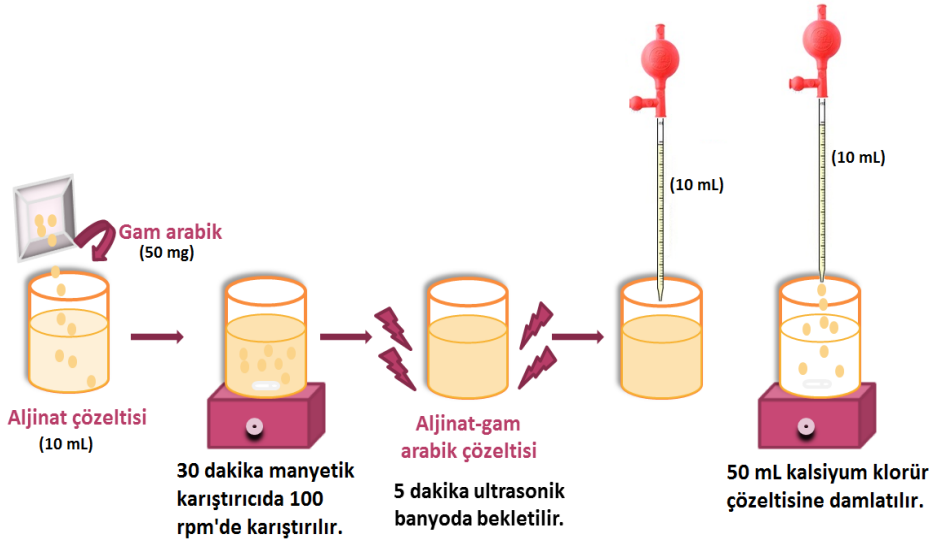
kullanılarak 0.001-0.02 mg/mL aralığında birer $\mu\text{g/mL}$ artan derişimlerde örnekler hazırlandı. Hazırlanan farklı derişimlerdeki melatonin çözeltilerinin 278 nm'de absorbansları ölçüldü. Her bir derişim için okunan absorbanslar kullanılarak çalışma grafiği oluşturuldu. Bu çalışma ve bundan sonraki tüm deneyler 3 tekrarlı olarak yapıldı.

3.2.2. Kürelerin Üretiminde Aljinat/Gam Arabik Oranlarının Optimizasyonu

Dayanıklılık ve şekil itibariyle en ideal küreleri oluşturmak amacıyla %0.5, %1.0, %1.5 ve %2.0 derişimlerdeki aljinatın 10 mL saf sudaki çözeltilerinin her birine ayrı ayrı 25-50-75 ve 100 mg gam arabik eklendi. Çözeltiler 25 °C'de 30 dakika 100 rpm'de karıştırıldıktan sonra 5 dakika ultrasonik banyoda bekletilerek tam olarak homojen bir çözelti haline gelmesi sağlandı. Daha sonra çözeltiler %5'lik CaCl_2 çözeltilisine pipet (10 mL) ile damlatıldı. Oluşan küreler süzülerek ortamdan ayrıldı. Ayrılan küreler ayrı ayrı petri kaplarına konuldu ve şekilleri, boyutları ve dayanıklılıkları incelendi.

3.2.3. Boş Aljinat/Gam Arabik Kürelerin Hazırlanması

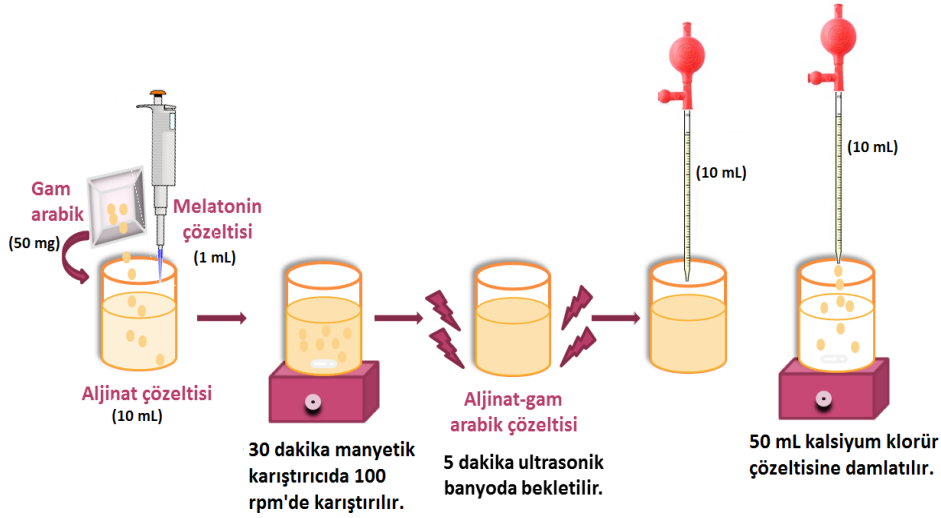
Yüz elli mg aljinat 10 mL suda 1 saat boyunca 25 °C'de ve 100 rpm'de karıştırıldı. Aljinat çözüldükten sonra üzerine 50 mg gam arabik yavaşça eklendi ve karıştırma işlemine 30 dakika daha devam edildi. Daha sonra çözelti 5 dakika ultrasonik banyoda bekletildi. Bu sırada %5'lik 50 mL CaCl_2 çözeltisi hazırlandı. Aljinat/gam arabik çözeltisi ultrasonik banyodan alındıktan sonra karışır durumda olan CaCl_2 çözeltilisine pipet (10 mL) ile damlatılarak aljinat/gam arabik küreleri oluşturuldu (Şekil 3.1). İşlem sonunda CaCl_2 çözeltisi içinde bulunan aljinat/gam arabik küreler süzülerek ayrıldı.



Şekil 3.1. Boş aljinat/gam arabik kürelerinin hazırlanmasında işlem sırası.

3.2.4. Melatonin Yüklü Aljinat/Gam Arabik Kürelerin Hazırlanması

Yüz elli mg aljinat 10 mL saf suda 1 saat boyunca 25 °C'de ve 100 rpm'de karıştırıldı. Daha sonra aljinat çözeltisine 1.0 mL etanoldeki melatonin çözeltisi (3.0 mg/mL) damla damla eklendi. Hemen ardından 50 mg gam arabik de yavaşça eklendi ve 30 dakika daha karıştırıldı. Daha sonra çözelti 5 dakika ultrasonik banyoda bekletildi. Bu sırada %5'lik 50 mL CaCl_2 çözeltisi hazırlandı. Aljinat-gam arabik-melatonin çözeltisi ultrasonik banyodan alındıktan sonra karışır durumda olan CaCl_2 çözeltisine pipet (10 mL) ile damlatılarak melatonin yüklü aljinat/gam arabik küreleri oluşturuldu. Küreler 2-3 dakika olgunlaştıktan sonra çözeltiden 2.0 mL örnek alındı ve 18000 rpm'de, 4 °C'de 30 dakika santrifüjlendi. Santrifüjlenen örneklerin süpernatantlarının absorbanları spektrofotometrede 278 nm'de saf suya karşı okundu.



Şekil 3.2. Melatonin yüklü aljinat/gam arabik kürelerin hazırlanmasında işlem sırası.

3.2.5. Aljinat/Gam Arabik Kürelerin Karakterizasyonu

3.2.5.1. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ölçümleri

Boş ve melatonin yüklü küreler Bölümler 3.2.3. ve 3.2.4'de anlatıldığı gibi hazırlandı. Hazırlanan küreler petri kaplarına konularak etüvde 40 °C'de 3 gün boyunca kurumaya bırakıldı. Kurumuş olan küreler önce altın ile kaplandı ve sonrasında taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile görüntüledi.

3.2.5.2. Fourier transform infrared spektroskopi (FTIR) ölçümleri

Aljinat/gam arabik küreler boş ve dolu olarak Bölümler 3.2.3. ve 3.2.4'de anlatıldığı gibi hazırlandı. Hazırlanan küreler petri kaplarına alınarak 40 °C sıcaklıktaki etüvde 2 gün kurutuldu. Aynı zamanda yeterli miktarda aljinat, gam arabik ve melatonin de nem uzaklaştırmak amacıyla etüve alındı. İki gün sonunda kuruyan melatoninli ve melatoninsiz boncuklar agat havan yardımı ile öğütülerek toz haline getirildi. Toz aljinat, gam arabik, melatonin, aljinat/gam arabik ve melatonin içeren aljinat/gam arabik örneklerin FTIR spektrumları alındı.

3.2.5.3. Diferansiyel termal analiz (DTA) ölçümleri

Boş aljinat/gam arabik küreler ve melatonin tutuklanmış aljinat/gam arabik küreler Bölümler 3.2.3 ve 3.2.4’de anlatıldığı şekillerde hazırlandı ve 2 gün 40 °C’ye ayarlı etüvde kurutulduktan sonra agat havan yardımı ile öğütülerek toz hale getirildi. Ardından aljinat, gam arabik, melatonin ve toz hale getirilen boş ve melatonin yüklü kürelerin nemleri uzaklaştırılmak üzere etüve konuldu. Nemleri uzaklaştırılan örneklerin DTA ölçümleri alındı.

3.2.6. Melatonin Tutuklama Etkinliğinin ve Yükleme Kapasitesinin Belirlenmesi

En iyi tutuklama yüzdesini belirlemek amacıyla aljinat/gam arabik kürelere yüklenecek melatonin miktarı ardışık olarak artırıldı. Aljinat ve gam arabik miktarları sabit tutularak 1.0; 2.0; 3.0; 4.0; 5.0; 6.0; 7.0 ve 8.0 mg/mL melatonin içeren küreler Bölüm 3.2.4’de anlatıldığı gibi hazırlandı. Her çözeltilerden 2.0’şer mL örnek alındı ve 18000 rpm’de, 4 °C’de 30 dakika santrifüjlendi. Santrifüjlenen örneklerin süpernatantlarının absorbansları spektrofotometrede 278 nm’de saf suya karşı okundu. Okunan değerler ile melatonin çalışma grafiğinden yararlanılarak tutuklanmayan melatonin miktarı hesaplandı. Çözeltiye eklenen melatonin miktarından tutuklanmayan melatonin miktarı çıkarılarak polimerde tutuklanan melatonin miktarı aşağıdaki formül ile hesaplandı.

$$\text{Tutuklama Etkinliği} = \frac{\text{Polimere Tutuklanan Melatonin (mg)}}{\text{Toplam Melatonin (mg)}} \times 100$$

Hazırlanan küreler CaCl₂ çözeltilisinden süzülerek ayrıldı ve kütlesi bilinen petri kaplarına konuldu. Küreler sıcaklığı 40 °C’ye ayarlı etüvde 2 gün kurutuldu. Kuru kürelerin net ağırlıkları belirlendi ve gram küreye melatonin yükleme kapasitesi aşağıdaki formül ile hesaplandı.

$$\text{Yükleme Kapasitesi} = \frac{\text{Polimere Tutuklanan Melatonin (mg)}}{\text{Melatonin Yüklü Polimer (mg)}} \times 100$$

3.2.7. Melatonin Tutuklama Etkinliğine Sıcaklığın Etkisi

Melatonin yükleme kapasitesi deneyinde 150 mg aljinat-50 mg gam arabik-3.0 mg/mL melatonin tutuklama etkinliği en yüksek bileşim olarak belirlendi. Ancak bu kombinasyona sıcaklığın etkisi ile daha az veya fazla melatonin tutuklama

olasılıklarını değerlendirmek amacıyla melatonin yüklü aljinat/gam arabik küreleri hazırlama işlemleri 5-15-25-35-45 ve 55 °C sıcaklıklarda ayrı ayrı çalışıldı. Hazırlanan kürelerin bulunduğu çözeltilerden 2.0'şer mL örnek alındı ve 18000 rpm'de, 4 °C'de 30 dakika santrifüjlendi. Örneklerin süpernatantlarının absorbansları spektrofotometrede 278 nm'de saf suya karşı okundu. Okunan değerler ile melatonin çalışma grafiğinden yararlanılarak çözeltilerde kalan (tutuklanmayan) melatonin miktarı hesaplandı. Çözeltiye eklenen melatonin miktarından tutuklanmayan melatonin miktarı çıkarılarak polimerde tutuklanan melatonin miktarı aşağıdaki formül ile hesaplandı.

$$\text{Tutuklama Etkinliği} = \frac{\text{Polimere Tutuklanan Melatonin (mg)}}{\text{Toplam Melatonin (mg)}} \times 100$$

3.2.8. Aljinat/Gam Arabik Kürelerin Şişme Özelliklerinin İncelenmesi

Çalışmanın başında belirlendiği gibi 150 mg aljinat-50 mg gam arabik içeren boş küreler Bölüm 3.2.3'de anlatıldığı şekilde hazırlandı. Hazırlanan küreler CaCl₂ ortamından süzüldü ve petri kaplarına konuldu. Küreler 48 saat boyunca sıcaklığı 40 °C'ye ayarlı etüvde kurutuldu. Kurutulmuş aljinat/gam arabik kürelerden 20 mL saf su, 20 mL pH 1.5 ve 20 mL pH 7.4 ortamlarının her birine birer tane ağırlığı bilinen küre bırakıldı. Belirli zaman aralıkları ile şişmekte olan küreler ortamlardan çıkarılarak tartıldı ve veriler kaydedildi. Bu işleme 24 saat boyunca devam edildi.

3.2.9. Melatonin Salımına pH'ın Etkisinin İncelenmesi

3.2.9.1. Melatonin yüklü aljinat/gam arabik kürelerin *in vitro* mide ortamında salımının incelenmesi

Melatonin yüklü aljinat/gam arabik kürelerden ilaç salımını gerçekleştirmek için *in vitro* mide ortamı taklit edilmek üzere pH 1.5 ortamı şu şekilde hazırlandı: %37'lik HCl'den bir balonjojeye 1.65 mL alınarak saf su ile 100 mL'ye tamamlandı. Terazide 1.4911 gram KCl tartıldı ve bir miktar saf su ile çözüldükten sonra bir balonjojeye alınarak su ile 100 mL'ye tamamlandı. Hazırlanan HCl çözeltisinin (0.2 M) 82.8 mL'si 100 mL KCl çözeltisine (0.2 M) eklendi (Sarmiento vd., 2007) ve karıştırıldı. Bu çözeltinin 100 mL'si ayrı bir behere alındı ve pHmetre ile pH'ına bakıldı. Ortamın pH'ı 1.5'den az olduğu durumlarda NaOH çözeltisi kullanılarak pH 1.5'e ayarlandı.

Melatonin yüklü aljinat/gam arabik küreler hazırlanan pH 1.5 salım ortamının 50 mL'sine eklendi ve 100 rpm'de karıştır halde bırakıldı. Salım ortamından her 30 dakikada bir 2.0 mL örnek alındı ve 18000 rpm'de, 4 °C'de 30 dakika santrifüjlendi. Santrifüjlenen örneğin süpernatantının absorbansı spektrofotometrede 278 nm'de pH 1.5'e karşı ölçüldü. Bu işlem 5 saat boyunca tekrarlandı.

3.2.9.2. Melatonin yüklü aljinat/gam arabik kürelerin *in vitro* ince bağırsak ortamında salımının incelenmesi

Doksan mL saf su içerisine bir tablet PBS (Phosphate Buffered Saline) atıldı ve karıştırma işlemi başlatıldı. Tablet tamamen çözününce pH metre ile çözeltinin pH'ına bakıldı. Çözelti pH'ı 7.4'den az olduğu durumlarda damla damla 0.5 M NaOH çözeltisi eklenerek pH 7.4'e ayarlandı. Daha sonra çözelti balonjojede 100 mL'ye tamamlandı. %1'lik Tween 80 çözeltisi hazırlandı ve hazırlanan bu çözeltiden 50 mL'lik pH 7.4 ortamına 1.5 mL eklenerek *in vitro* ince bağırsak ortamı hazırlandı.

Süzülmüş olan melatonin yüklü aljinat/gam arabik küreler hazırlanan *in vitro* salım ortamına eklendi ve karıştırma işlemine başlandı. Çözeltiden 5 saat boyunca 30 dakikada bir 2.0 mL örnek alındı ve 30 dakika 18000 rpm'de, 4 °C'de santrifüjlendi. Santrifüjlenen örneklerin absorbansları 278 nm'de pH 7.4 ortamına karşı ölçüldü.

3.2.9.3. Melatonin yüklü aljinat/gam arabik kürelerin *in vitro* mide ve ince bağırsak ortamlarında ardışık salımının incelenmesi

In vitro mide ve ince bağırsak ortamları Bölümler 3.2.9.1. ve 3.2.9.2'de anlatıldığı gibi hazırlandı. Melatonin yüklü aljinat/gam arabik küreler hazırlanıp tutuklama ortamından ayrıldıktan sonra 50 mL'lik *in vitro* mide ortamına (pH 1.5) alındı ve karıştırma işlemi başlatıldı. Her 30 dakikada bir 2.0 mL'lik örnekler alındı ve bu işlem 2 saat boyunca devam etti. İki saat sonunda alınan son 2.0 mL'lik örneğin ardından melatonin yüklü küreler *in vitro* mide ortamından süzülerek ayrıldı ve bekletmeden 51.5 mL'lik *in vitro* ince bağırsak ortamına aktarıldı. Örnek alma işlemi her 30 dakikada bir olacak şekilde 3 saat boyunca devam etti. Alınan örnekler 18000 rpm'de, 4 °C'de santrifüjlendi. Santrifüjlenen örneklerin süpernatant kısımlarının absorbansları 278 nm'de okundu. Kör olarak, mide salım

ortamından alınan örnekler okunurken pH 1.5; ince bağırsak salım ortamından alınan örnekler okunurken pH 7.4 ortamı kullanıldı.

3.2.9.4. Kurutulmuş melatonin yüklü aljinat/gam arabik kürelerden *in vitro* mide, ince bağırsak ve ardışık salım ortamlarında melatonin salımının incelenmesi

Melatonin yüklü aljinat/gam arabik küreler Bölüm 3.2.4'de anlatıldığı gibi hazırlandı ve 40 °C'ye ayarlı etüvde 48 saat boyunca kurutuldu.

In vitro mide (pH 1.5) salım ortamı Bölüm 3.2.9.1'de; ince bağırsak (pH 7.4) salım ortamı Bölüm 3.2.9.2'de; ardışık (pH 1.5; pH 7.4) salım ortamı ise Bölüm 3.2.9.3'de anlatıldığı şekilde hazırlandı. Kurutulan melatonin yüklü aljinat/gam arabik küreler ayrı ayrı mide, ince bağırsak ve ardışık salım ortamlarına aktarıldı. Ardından her 30 dakikada salım ortamlarından 2.0'şer mL'lik örnekler santrifüj tüplerine alınarak 18000 rpm'de, 4 °C'de 30 dakika santrifüjlendi. Santrifüjlenen örneklerin 278 nm'de salım ortamlarına karşı absorpsiyonları spektrofotometrede okundu. Bu işlem 5 saat boyunca 30 dakika aralıklarla tekrar edildi.

3.2.9.5. Ticari melatonin tabletten *in vitro* mide ve ince bağırsak ortamlarında melatonin salımının incelenmesi

Melatonin (3 mg) içeren ticari tabletten melatonin salımını incelemek üzere mide (pH 1.5) ve ince bağırsak (pH 7.4) salım ortamları Bölümler 3.2.9.1 ve 3.2.9.2'de anlatıldığı şekillerde hazırlandı. Hazırlanan *in vitro* ortamlara birer melatonin tableti atıldı. Her ortamdan 30 dakikada bir 2.0'şer mL'lik örnekler alındı ve 18000 rpm'de, 4 °C'de 30 dakika santrifüjlendi. Santrifüjlenen örnekler spektrofotometrede salım ortamlarına karşı 278 nm'de absorbansları ölçüldü. Bu işlem 5 saat boyunca 30 dakika aralıklarla tekrar edildi.

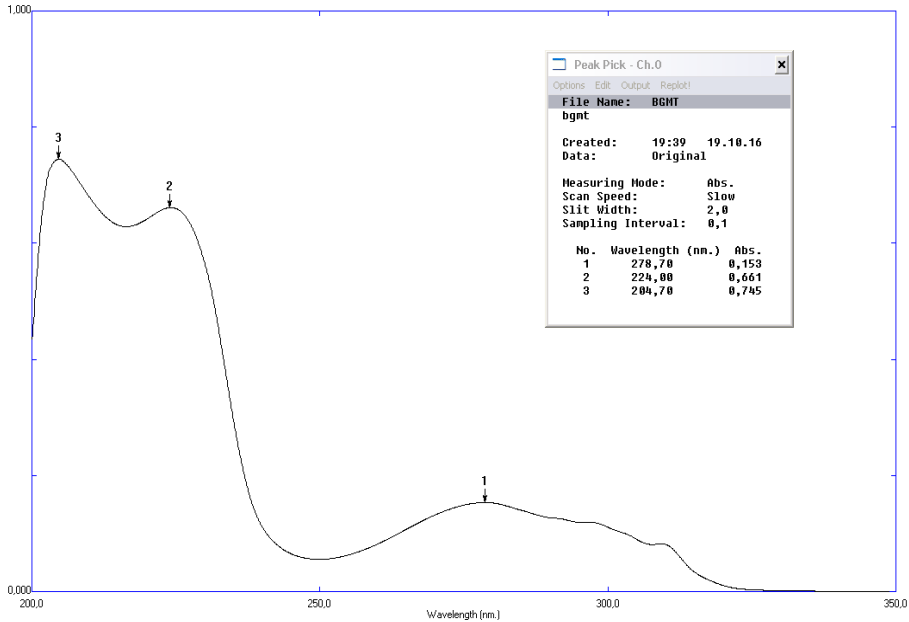
3.2.10. Melatonin Salım Kinetiğinin Belirlenmesi

Melatonin tutuklanmış aljinat/gam arabik kürelerin *in vitro* mide ve ince bağırsak ortamlarındaki salım çalışmalarından elde edilen veriler Sıfırıncı dereceden, Birinci dereceden, Higuchi ve Korsmeyer-Peppas kinetik modellerine uygulandı ve iki salım ortamı için de grafikler çizildi. Çizilen grafikler göz önünde bulundurularak salımın uygun olduğu kinetik model belirlendi.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Melatonin Çalışma Grafiği

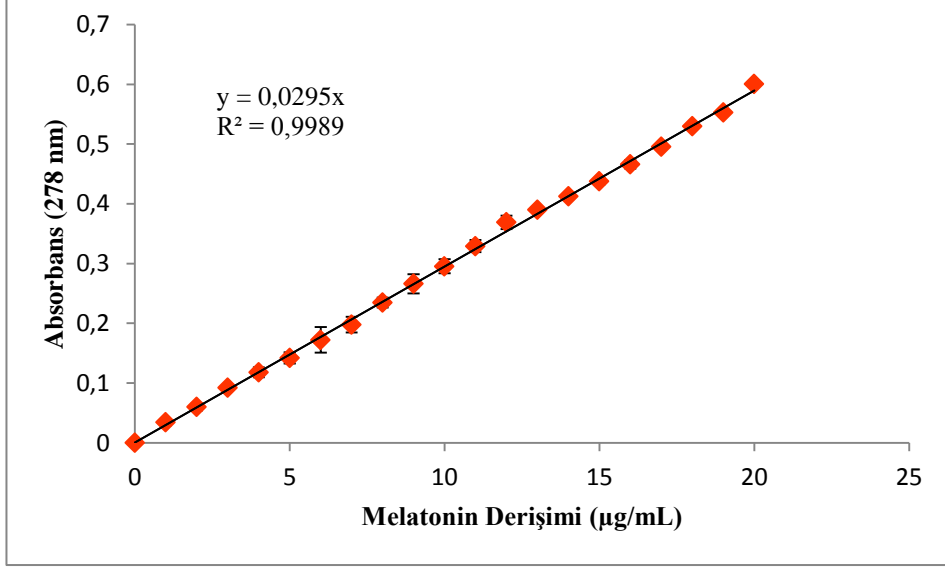
Deneylerde kullanılacak dalga boyunu belirlemek için etanolde çözülmüş 5 µg/mL melatoninin 350-200 dalga boyları arasında spektrumu alındı. Bunun sonucunda Şekil 4.1'de görüldüğü gibi 278, 224 ve 204 olmak üzere 3 dalga boyunda pik görüldü.



Şekil 4.1. Etanolde çözülmüş melatonin çözeltisinin (5 µg/mL) UV-Visible bölgedeki absorpsiyon spektrumu.

Alınan spektrum verileri değerlendirildiğinde ve Sorouraddin vd. (2005) çalışmasındaki veriler ışığında melatonin ölçümleri için kullanılacak dalga boyu 278 nm olarak belirlendi.

Melatonin derişimi tutuklama ve salım deneylerinin hesaplamaları için gerekli bir veri olduğundan çalışılacak derişim aralığındaki melatonin çözeltilerinin 278 nm'deki absorbansları okundu ve derişime karşı absorbans grafiği çizildi (Şekil 4.2).



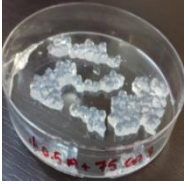

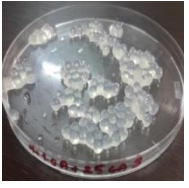
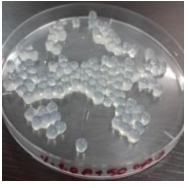
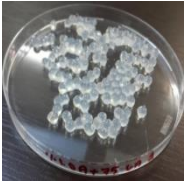
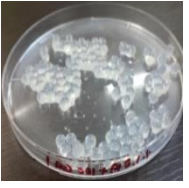
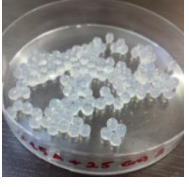
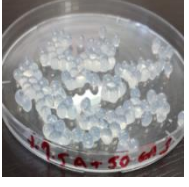

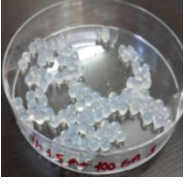
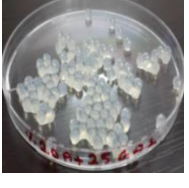





Şekil 4.2. Melatonin çalışma grafiği (çözgen: etanol).



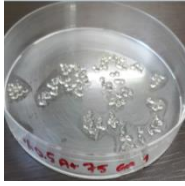

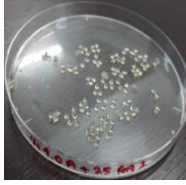
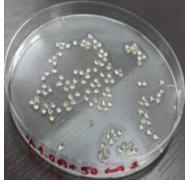
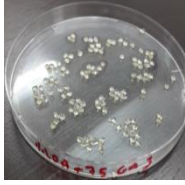
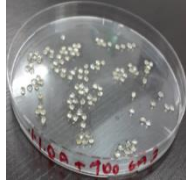
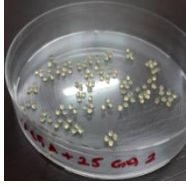
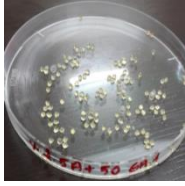
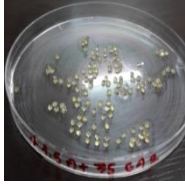
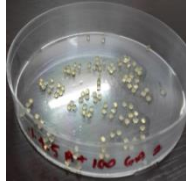
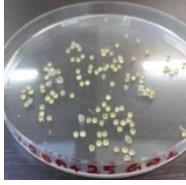

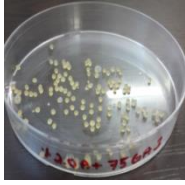

4.2. Kürelerin Üretiminde Aljinat/Gam Arabik Oranlarının Optimizasyonu

Aljinat/gam arabik küreler Bölüm 3.2.3'de anlatıldığı şekilde üretildi. Üretilen kürelerin yaş ve kuru halleri Çizelgeler 4.1 ve 4.2'de görülmektedir. Kürelerin şekilleri ve üretilme kolaylıkları dikkate alınarak en uygun aljinat derişiminin %1.5 olduğuna karar verildi. Bundan sonraki küre üretimine bu oran kullanılarak devam edildi.

Çizelge 4.1. Farklı miktarlarda aljinat/gam arabik bileşimleri ile üretilen kürelerin %5'lik CaCl_2 çözeltisinden süzülüp petri kaplarına alınmış görüntüleri.

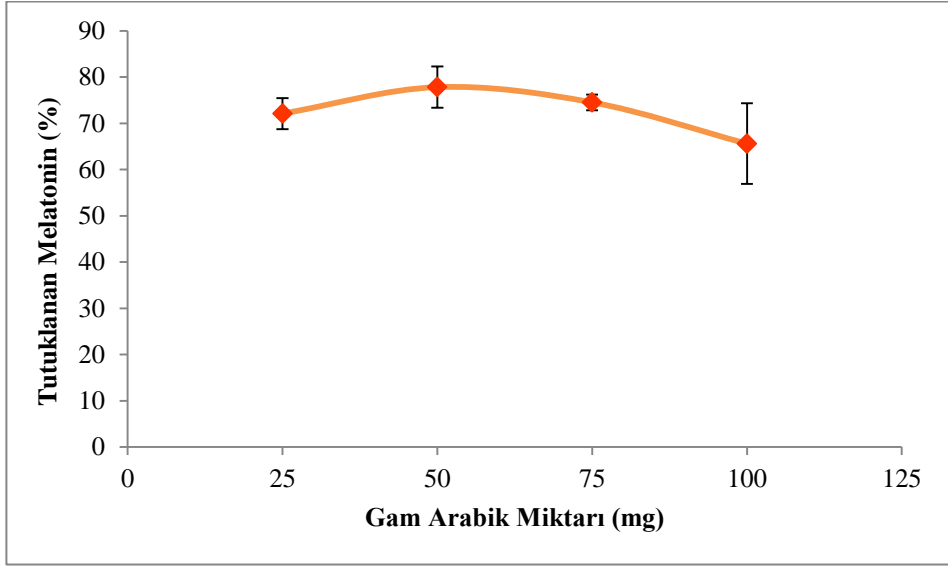
		Gam Arabik (mg)			
		25	50	75	100
Aljinat (%)	0.5				
	1.0				
	1.5				
	2.0				

Çizelge 4.2. Farklı miktarlarda aljinat/gam arabik bileşimleri ile üretilen kürelerin 40 °C’de etüvde 48 saat kurutulmuş görüntüleri.

		Gam Arabik (mg)			
		25	50	75	100
Aljinat (%)	0.5				
	1.0				
	1.5				
	2.0				

Üretilen kürelerin şekilleri (Çizelgeler 4.1 ve 4.2) birbirine çok benzediğinden bileşimdeki gam arabik miktarına en fazla melatonin yükleyebilen formülü belirleyerek karar vermek üzere aljinat miktarının sabit tutulup gam arabik miktarının değiştiği kürelere aynı derişimde melatonin tutuklama ve salım çalışmaları yapılması gerektiği öngörüldü. Bunun için %1.5’lik aljinat çözeltilerine ayrı ayrı 3.0 mg/mL melatonin, 25; 50; 75 ve 100 mg gam arabik eklendi ve Bölüm 3.2.4’deki prosedüre uyularak küreler oluşturuldu. Oluşan kürelerin tutuklama etkinliklerini belirleyebilmek için kürelerin oluşturulduğu çözeltilerden 2.0’şer mL örnek alındı. Örnekler 30 dakika santrifüjlendi ve 278 nm’de absorbansları ölçülerek tutuklanmamış melatonin miktarları hesaplandı.

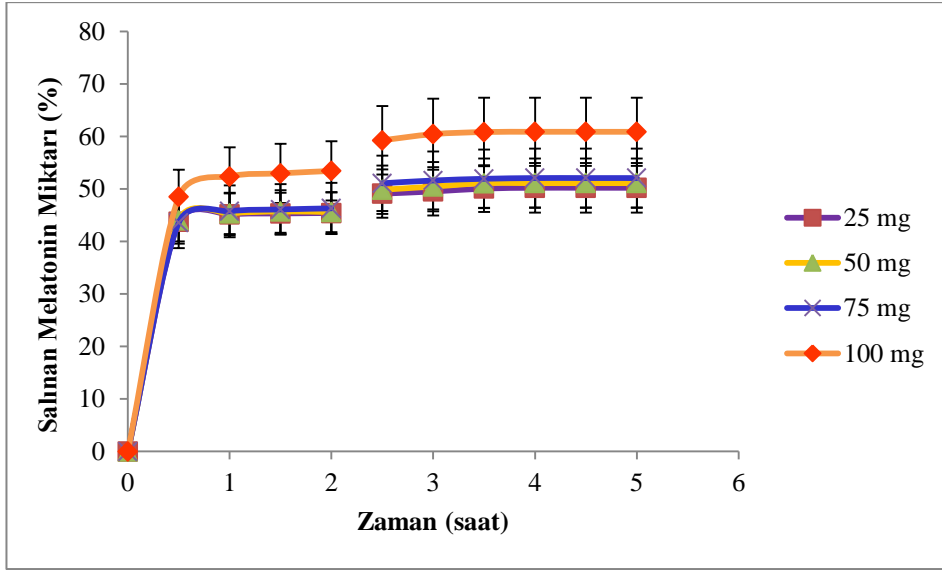
Şekil 4.3’de görüldüğü üzere en yüksek melatonin tutuklama etkinliği 50 mg gam arabik içeren bileşimde bulundu.



Şekil 4.3. Melatonin tutuklama etkinliğine aljinat/gam arabik kürelere eklenen gam arabik miktarının (25, 50, 75, 100 mg) etkisi.

Hazırlanan kürelerin bir ön çalışma olarak salım profillerini incelenmek üzere CaCl_2 ortamlarından süzülen küreler Bölüm 3.2.9.3’de anlatıldığı gibi hazırlanan *in vitro* salım ortamlarına alındı. Aljinat/gam arabik kürelerin ardışık salım grafiği Şekil 4.4’de görülmektedir.

Kürelerin ardışık salım profilleri incelendiğinde melatonin salımının gam arabik miktarı ile doğru orantılı olarak arttığı gözlemlendi. En ideal aljinat/gam arabik bileşiminin seçiminde salımın artması istenen bir durum olsa da tutuklama etkinliği de önemli bir faktör olup verimi etkilemektedir. Şekil 4.3’de görüldüğü gibi en yüksek tutuklama etkinliği %1.5 aljinata 50 mg gam arabik eklenen bileşimdir. Şekil 4.4’de ise en yüksek salımın %1.5 aljinata 100 mg gam arabik eklenen bileşim olduğu görülmektedir. Çizelge 4.3’de görüldüğü gibi 50 mg gam arabik içeren bileşimin tutuklama etkinliği 100 mg gam arabik içeren bileşimin tutuklama etkinliğine göre yaklaşık %12 daha fazla olup salım sonuçları arasında ise yaklaşık %9’luk bir fark vardır.



Şekil 4.4. Melatonin (3.0 mg/mL) tutuklanmış aljinat/gam arabik kürelerin ardışık salım profillerine gam arabik miktarının (25, 50, 75, 100 mg) etkisi.

Tüm bu veriler değerlendirilerek, tutuklama etkinliğinin verim ile bağlantılı olduğu da göz önünde bulundurularak çalışmalarda kullanılacak bileşim %1.5 aljinat-50 mg gam arabik olarak seçildi.

Çizelge 4.3. Aljinat miktarının sabit tutulup gam arabik miktarının artırıldığı bileşimler ile oluşturulan kürelerin melatonin (3.0 mg/mL) tutuklama etkinliği ve 5 saatlik ardışık salım yüzdeleri (n=3).

Aljinat (%)	Gam Arabik (mg)	Tutuklama Etkinliği (%)	5 Saatlik Ardışık Salım (%)
1.5	25	72.11±3.35	50.21±4.71
1.5	50	77.82±4.47	51.10±4.69
1.5	75	74.53±1.69	52.07±5.62
1.5	100	65.60±8.71	60.87±6.47

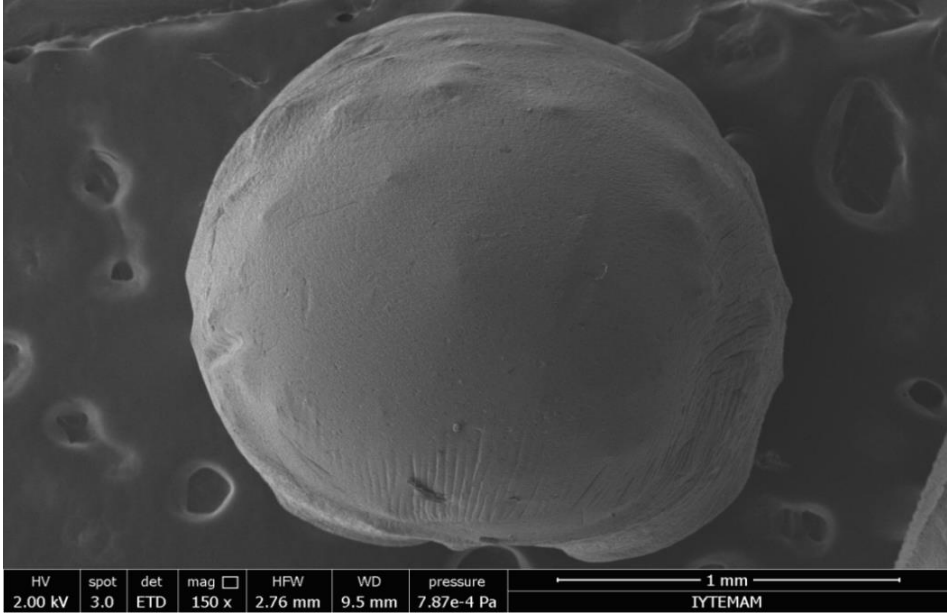
Kontrollü ilaç salım sistemlerinin üretiminde kullanılacak materyal/materyallerin seçimi kadar bunların karışımında kullanılacak oranları da önemlidir. Bu çalışmada, biyobozunur, biyoyumlu ve hidrojel özellikleri nedeniyle tercih edilen aljinat ve gam arabik polimerlerinin küre üretiminde kullanılacak oranlarının optimizasyonu çalışmanın başlangıçtaki en önemli adımımızdır. Pek çok kombinasyon denenebilir ve muhtemelen tüm kombinasyonlarda küreler elde edilir ancak ilaç yükleme ve

salım özelliklerinin birlikte en iyi olduğu kombinasyonlarda karar kılmak gerekmektedir.

4.3. Aljinat/Gam Arabik Kürelerin Karakterizasyonu

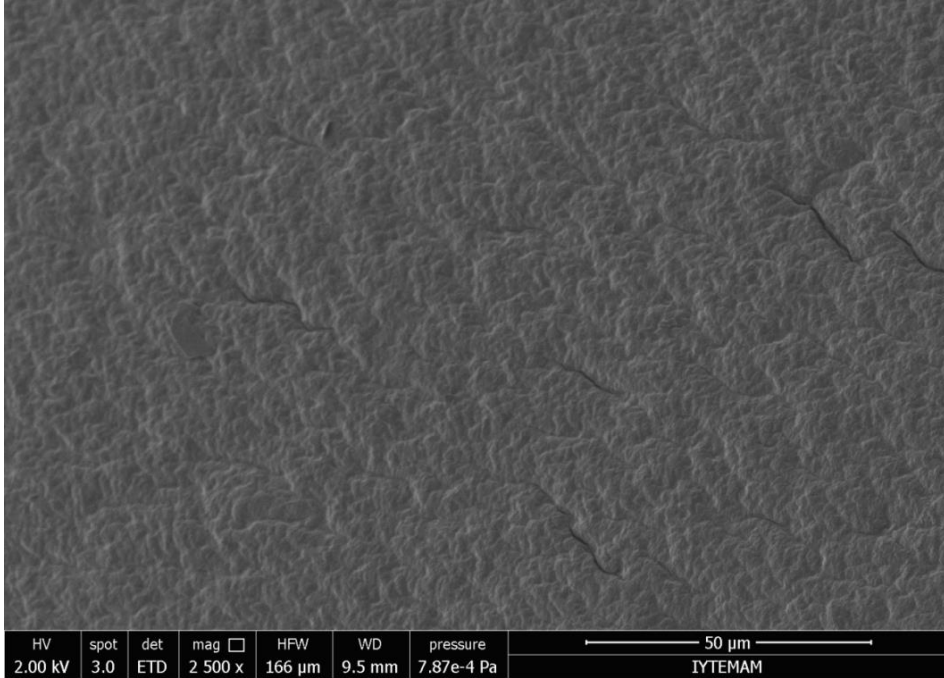
4.3.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Ölçüm Sonuçları

Aljinat/gam arabik kürelerin 1 mm yakınlıktaki SEM görüntüleri incelendiğinde, küre yüzeyinin kısmen pürüzsüz ve homojen olduğu görülmektedir (Şekil 4.5.a).



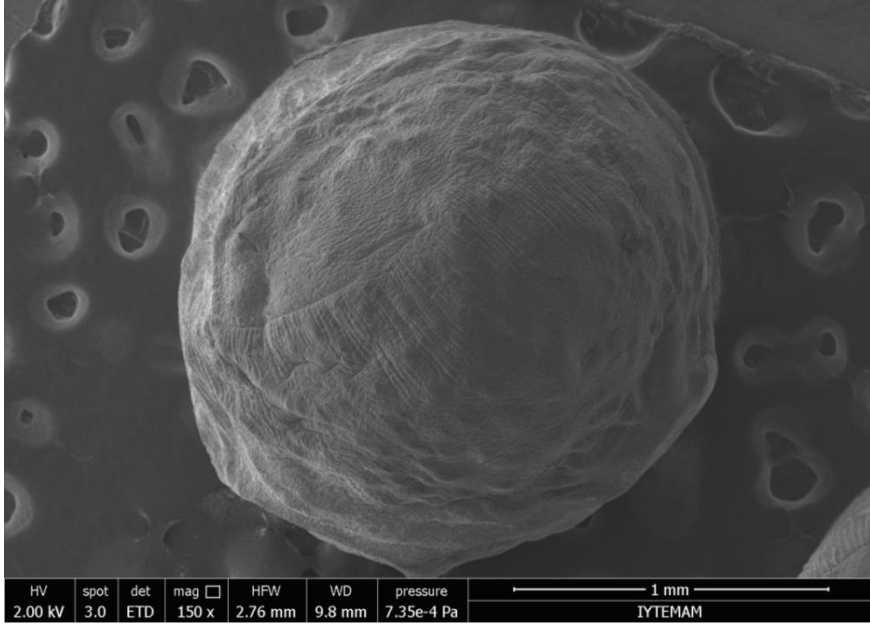
Şekil 4.5.a. Altın kaplı aljinat/gam arabik kürelerin 1 mm yakınlıktan çekilmiş SEM fotoğrafları.

Aynı kürenin 50 µm yakınlıktan çekilmiş SEM fotoğrafına bakıldığında ise homojen yapının yanı sıra küçük boyutlu çatlaklar dikkat çekmektedir (Şekil 4.5.b).

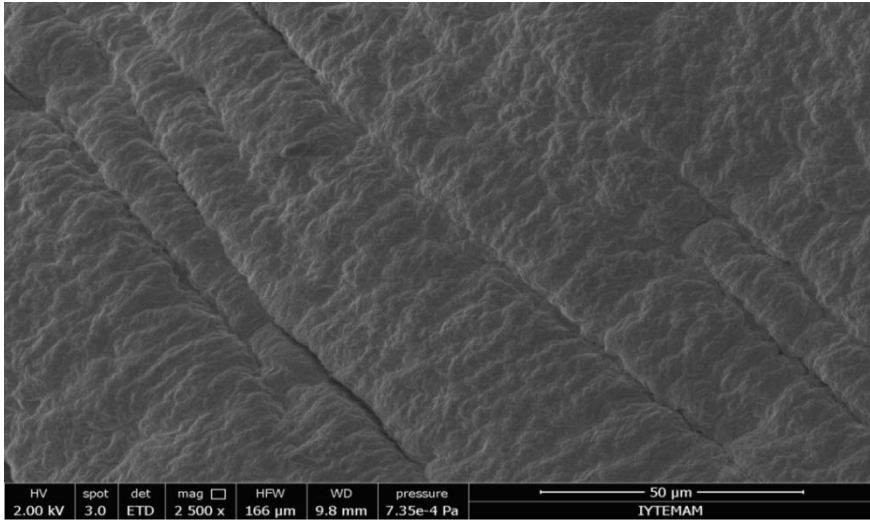


Şekil 4.5.b Altın kaplı aljinat/gam arabik kürelerin 50 µm yakınlıktan çekilmiş SEM fotoğrafı.

Islak küreler etüvde kurutulurken meydana gelen su kaybı, polimerik zincirler arası mesafenin azalmasına ve küre yapısının değişmesine neden olur. Bu durum da kürelerin yüzeyindeki çatlakları meydana getirir (Segale vd., 2016).



Şekil 4.6.a. Altın kaplı, melatonin yüklü aljinat/gam arabik kürelerin 1 mm yakınıktan çekilmiş SEM fotoğrafları.



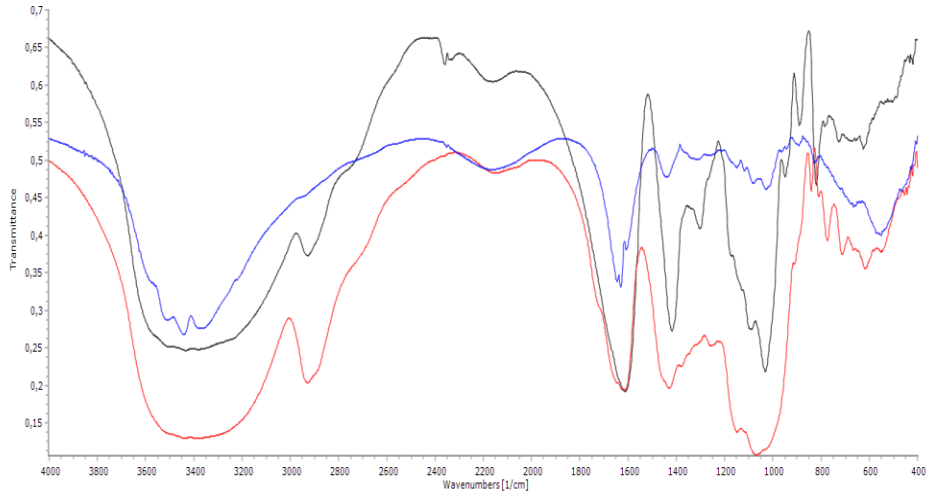
Şekil 4.6.b. Altın kaplı, melatonin yüklü aljinat/gam arabik kürelerin 50 µm yakınıktan çekilmiş SEM fotoğrafları.

Melatonin yüklü aljinat/gam arabik kürelerin 1 mm ve 50 µm yakınıktaki fotoğrafları incelendiğinde ise boş aljinat/gam arabik kürelere göre daha pürüzlü

ve çatlaklı bir yapıda oldukları gözlemlendi (Şekiller 4.6.a-4.6.b). Bu pürüzlü yapının, aljinat/gam arabik kürenin gözeneklerinde tutuklanan melatonin molekülünden kaynaklanabileceği gibi hazırlama yönteminden de kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

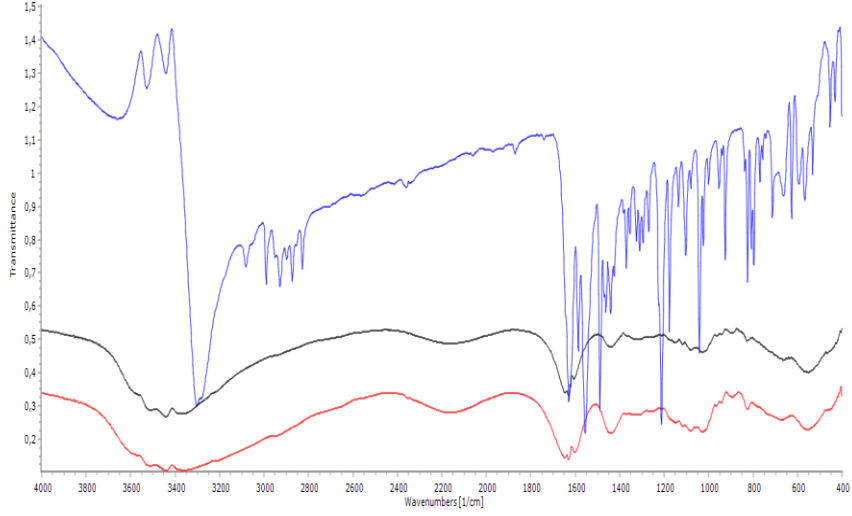
4.3.2. Fourier Transform Infrared Spektroskopi (FTIR) Ölçüm Sonuçları

Melatonin tutuklama ve salım çalışmalarında kullanılmak üzere çapraz bağlama ajanı CaCl_2 'den yararlanılarak oluşturulan aljinat/gam arabik kürelerin yapısı hakkında bilgi edinmek ve bu kürelere tutuklanan melatoninin kürelerin yapısında herhangi bir değişime yol açıp açmadığını gözlemek amacıyla FTIR ölçümleri alındı.



Şekil 4.7. Aljinat, gam arabik ve melatonin içermeyen (boş) aljinat/gam arabik kürelerin FTIR spektrumu (Siyah: Aljinat; Kırmızı: Gam arabik; Mavi: Aljinat/gam arabik (boş) küreler).

Aljinatın FTIR spektrumunda 3435 cm^{-1} 'de $-\text{OH}$ gerilmesine bağlı titreşim, 1610 cm^{-1} 'de $-\text{COO}$ (asimetrik), 1418 cm^{-1} 'de $-\text{COO}$ (simetrik) ve 1031 cm^{-1} 'de C-O-C bantları görüldü. Gam arabik'in FTIR spektrumunda 3436 cm^{-1} 'de $-\text{OH}$, 2924 cm^{-1} 'de C-H, 1613 cm^{-1} 'de ise C=O gerilmelerine bağlı titreşimler görüldü. Melatonin içermeyen aljinat/gam arabik kürelerin FTIR spektrumunda önemli bir kayma veya sapma olmaksızın aljinat ve gam arabik moleküllerine ait karakteristik pikler görüldü (Nayak vd., 2012).



Şekil 4.8. Melatonin, melatonin içermeyen (boş) aljinat/gam arabik kürelerin ve melatonin içeren aljinat/gam arabik kürelerin FTIR spektrumu (Mavi: Melatonin; Siyah: Aljinat/gam arabik (boş) küreler; Kırmızı: Melatonin içeren aljinat/gam arabik küreler).

Melatoninin FTIR spektrumunda 3302 cm^{-1} 'de N-H gerilmesine bağlı titreşim, 1629 cm^{-1} 'de C=O, 1212 cm^{-1} 'de ise C-N bantları görülmüştür (Sabzichi vd., 2016).

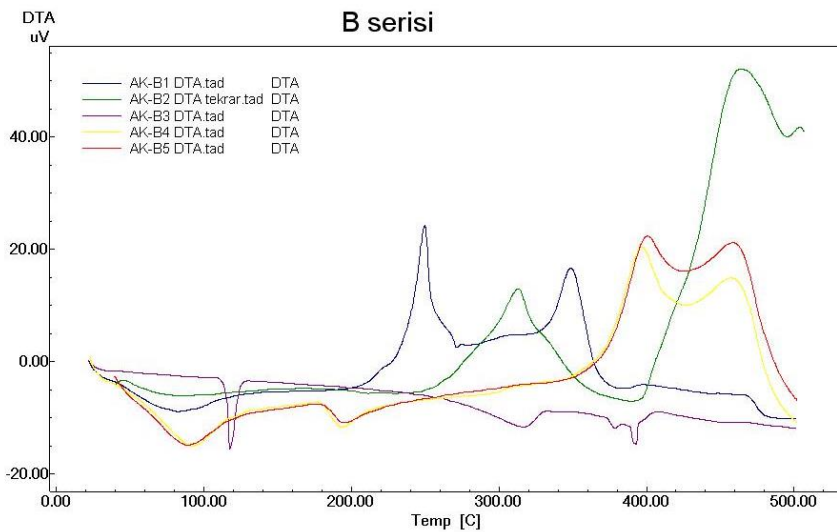
Melatonin içeren kürelerin FTIR spektrumuna bakıldığında melatonin içermeyen kürelerin spektrumu ile aynı pikler gözlemlendi. Ayrıca boş kürelerin parmak izi bölgesinde verdiği 550 cm^{-1} bandı melatonin içeren kürelerin spektrumunda da 552 cm^{-1} civarında görüldü. Bu veriler, çapraz bağlama metodu ile oluşturulan kürelere melatonin tutuklandığında polimer ile ilacın herhangi bir şekilde kimyasal etkileşime girmediğini gösterir.

4.3.3. Diferansiyel Termal Analiz (DTA) Ölçüm Sonuçları

Termal analiz teknikleri sıcaklığa ve zamana karşı herhangi bir örneğin özelliklerindeki değişimin izlenmesini kapsar. Pratikte örneğin konulduğu fırının sıcaklığı programlanmıştır ve bu programlı sıcaklık değişimine maruz kalan örnekteki ekzotermik veya endotermik reaksiyonlar veya faz geçişleri örnek ile fırın arasında sıcaklık farklarına neden olur.

Diferansiyel termal analiz (DTA) ile sıcaklık değişiklikleri, diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ile ısı değişiklikleri takip edilir. Diferansiyel termal analizde bir örnek ile bir referans materyal arasındaki ΔT sıcaklık farkı kontrollü bir sıcaklık programı uygulanarak izlenir. Hem örnek hem de referans materyal kontrollü koşullar altında ısıtılır. Eğer örnek bu ısıtma işlemi sırasında fiziksel bir değişime uğrarsa veya kimyasal bir reaksiyon oluşursa sıcaklığı değişir. Referans materyalin sıcaklığı ise sabit kalır.

Aljinat, gam arabik, melatonin, boş aljinat/gam arabik küreler ve melatonin tutuklanmış aljinat/gam arabik kürelerin DTA profili Şekil 4.9'da görülmektedir.



Şekil 4.9. Aljinat, gam arabik, melatonin, boş aljinat/gam arabik küreler ve melatonin tutuklanmış aljinat/gam arabik kürelerin DTA profili (Lacivert: Aljinat; Yeşil: Gam arabik; Mor: Melatonin; Sarı: Boş aljinat/gam arabik küreler; Kırmızı: Melatonin tutuklanmış aljinat/gam arabik küreler).

Tursilli vd. (2006) yaptıkları çalışmada melatonini tristearin veya tripalmitin kullanarak sentezledikleri lipid mikrokürelere tutuklamışlardır. Oluşturulan mikroküreler diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ile karakterize edilerek melatonin yüklü mikrokürelerin termogramında 101 °C'de endotermik bir geçiş gözlenmiştir. Termal davranıştaki bu değişikliklerden lipopartiküllerde melatoninin moleküler dağılımı olduğu sonucu çıkarılmıştır. Sabzichi vd. (2016)'nin çalışmasında lipid nanoyapılar melatonin taşıyıcı sistem olarak sentezlenmiş ve DSC ile karakterize edilmiştir. Elde edilen termogramda

melatoninin erime endotermik geçişinin kaybolmasıyla 56 °C’de zayıf endotermik bir geçiş gözlenmiştir. Termal özelliklerde meydana gelen değişiklikler, nanopartiküllerin lipid matrisinde melatoninin varlığı ile açıklanmıştır.

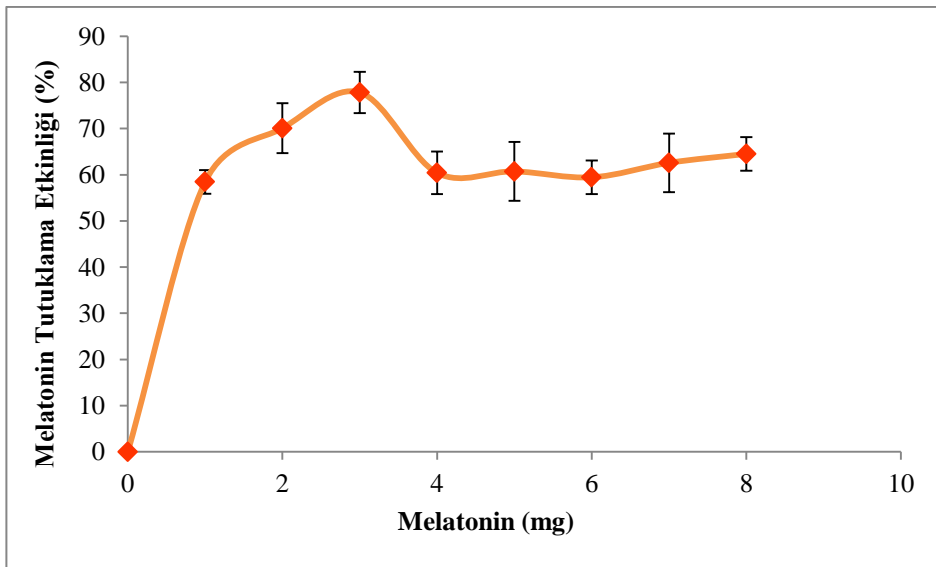
Bu çalışmada diferansiyel termal analiz (DTA) ile elde edilen termogramda melatonin 117 °C’de erime endotermik geçişi göstermiş, melatonin yüklü aljinat/gam arabik küreler ise 89 °C’de endotermik bir geçiş göstermiştir. Bu sonuçlar melatoninin aljinat/gam arabik kürelerle kimyasal bir etkileşime girmeyip yapıya fiziksel bir şekilde dahil olduğunu işaret etmektedir.

4.4. Melatonin Tutuklama Etkinliği ve Yükleme Kapasitesi

Melatonin yüklü aljinat/gam arabik küreler Bölüm 3.2.6’da belirtilen oranlar kullanılarak, Bölüm 3.2.4’de anlatıldığı gibi hazırlandı ve tutuklama etkinlikleri aşağıdaki formül ile hesaplandı.

$$\text{Tutuklama Etkinliği} = \frac{\text{Polimere Tutuklanan Melatonin (mg)}}{\text{Toplam Melatonin (mg)}} \times 100$$

Melatonin tutuklama etkinliği başlangıçta ortama eklenen melatonin miktarına karşı grafiğe geçirildi (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. Aljinat/gam arabik kürelerin melatonin tutuklama etkinliğine melatonin derişiminin etkisi.

Aljinat/gam arabik kürelerin üretim ortamlarındaki melatonin derişimi 1.0-8.0 mg/mL arasında değiştirildiğinde tutuklama etkinliği yüzdesi 1.0-3.0 mg/mL melatonin içeren kürelerde artarken daha yüksek derişimlerde melatonin çözeltisi içeren ortamlarda azaldığı tespit edildi (Çizelge 4.4). Bu sonuç Dubey ve arkadaşları (2006)'nın çalışması ile paralellik göstermektedir. Söz konusu çalışmada elastik lipozomlara %0.1-2.0 arası derişimlerde melatonin yüklenmiş ve en yüksek tutuklama etkinliği %1.0'lık melatonin derişimi ile elde edilmiştir. Yüzde 2.0'a kadar olan melatonin derişimlerinde ise tutuklama etkinliğinin bu çalışmanın sonuçlarına benzer şekilde azaldığı tespit edilmiştir. Bu durumu açıklamak üzere lipozoma eklenen melatonin derişiminin artmasıyla, melatonin kristalinin çöktüğünü ve gözeneklerin doygunluğa ulaştığını düşünmüşlerdir.

Çizelge 4.4. Aljinat/gam arabik kürelere melatonin tutuklama etkinliğine melatonin derişiminin (1.0-8.0 mg/mL) etkisi (n=3).

Aljinat/Gam Arabik (%/mg)	Melatonin (mg/mL)	Tutuklama Etkinliği (%)
1.5 - 50	1.0	58.45 ± 2.56
1.5 - 50	2.0	70.70 ± 5.41
1.5 - 50	3.0	77.82 ± 4.47
1.5 - 50	4.0	60.41 ± 4.60
1.5 - 50	5.0	60.73 ± 6.36
1.5 - 50	6.0	59.44 ± 3.62
1.5 - 50	7.0	62.58 ± 6.34
1.5 - 50	8.0	64.52 ± 3.63

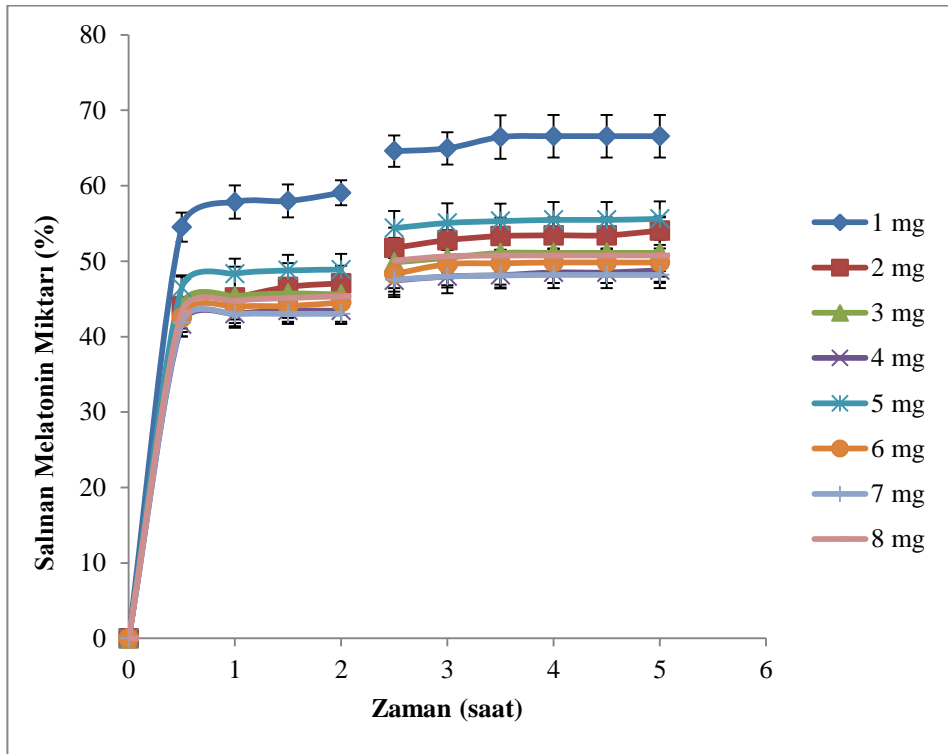
Bu çalışmada, 3.0 mg/mL derişimin üzerinde eklenen melatoninin polimer ile etkileşmeyip kendi arasında etkileşime girerek çöktüğü ve gözenekleri tıkadığı (doygunluğa ulaştırdığı) söylenebilir. %1.5 aljinat-50 mg gam arabik bileşimindeki kürelerin en yüksek melatonin tutuklama etkinliği 3.0 mg/mL melatonin derişiminde %77.82±4.47 olarak hesaplandı. Sonuç olarak, %1.5 aljinat-50 mg gam arabik-3.0 mg/mL melatonin bileşimine karar verildi.

Melatoninin çeşitli sistemlere tutuklanarak kontrollü salım sistemi oluşturma çalışmaları dikkate alındığında:

Etanolik lipozomlara melatonin tutuklanarak deri ile temas eden bir transdermal sistemin oluşturulduğu bir çalışmada tutuklama etkinliği yaklaşık %70.71 olarak hesaplanmıştır (Dubey vd., 2007). Bir diğer çalışmada melatonin yüklü Eudragit S100 polimerinden nanokapsül ve nanokürelere %32.65-54.35 oranında ilaç

tutuklanmıştır (Schaffazick vd., 2005). Bir diğer çalışmada (Sabzichi vd., 2016) ise nanoyapılı lipid taşıyıcılara melatonin tutuklanmıştır. Tutuklama etkinliği %72.43 civarında ölçülmüştür. Poli (laktik-ko-glikolik) asit mikrokürelere ise %74.6 civarında tutuklama etkinliği rapor edilmiştir (Zhang vd., 2013). Eudragit® RS100 ile kaplanmış aljinat polimeri kullanılarak hazırlanan boncuklara yaklaşık %60 oranında melatonin yüklenmiştir.

Tutuklama etkinliği değerleri karşılaştırıldığında bu çalışmada elde edilen sonuçlar oldukça etkin bir tutuklamayı işaret etmektedir.



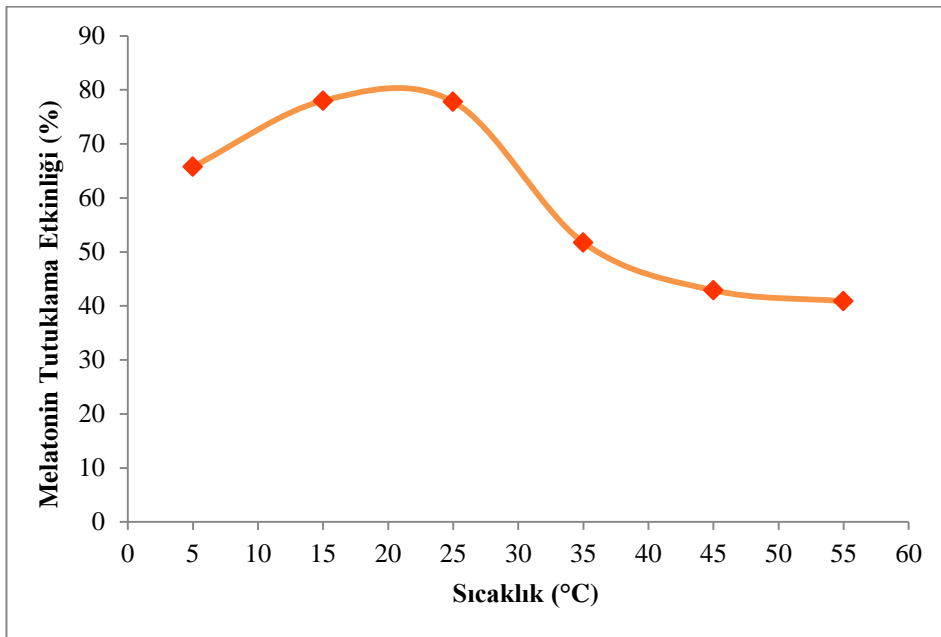
Şekil 4.11. Aljinat/gam arabik kürelere yüklenen melatonin miktarının değişimine bağlı olarak kürelerin ardışık salım profilleri.

Melatonin ile yapılan ilaç tutuklama çalışmalarında yükleme kapasitesi sonuçları değişkenlik göstermektedir. Örneğin; Zhang vd. (2013)'in poli (laktik-ko-glikolik asit) mikrokürelere yaptıkları enkapsülasyon çalışmasında yükleme kapasitesi %6.35±0.56 olarak rapor edilmiştir. Bu değer çalışmamızda tespit edilenin yaklaşık 10 katıdır. Li vd. (2017) ise melatonin yüklenmiş silika partikülleri

biyoyararlanımın artırılması için hidroksipropil metilselüloz flalat ile kaplamışlar ve bu partiküllerin ilaç yükleme kapasitesinin başlangıç melatonin derişimi ile değişerek en yüksek yaklaşık %25 olduğu tespit edilmiştir. Sabzichi vd., (2016) tarafından yapılan nanoyapılı lipid taşıyıcılara (NLC) melatonin yüklenmesi çalışmasında hesaplanmış yükleme kapasitesi %18.7 olarak rapor edilmiştir. Bu sonuçlar, melatonin yükleme kapasitesinin kullanılan taşıyıcı cinsine göre oldukça geniş bir aralıkta değişebildiğini göstermektedir. Öte yandan bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre hazırlanan 1.0 gram polimere yaklaşık 6.20 mg melatonin yüklenebilmektedir. Jet lag önlemek ve antioksidan özelliklerinden yararlanmak üzere destek maddesi olarak üretilen ticari melatonin tabletleri genellikle 0.3-0.6 g ağırlığında olup 1.0-3.0 mg melatonin içermektedirler. Bu nedenle üretilen mikrokürelerin melatonin taşıyıcı olarak kullanım özelliklerinin olduğu ifade edilebilir.

4.5. Melatonin Tutuklama Etkinliğine Sıcaklığın Etkisi

Melatonin tutuklama çalışmaları 5-55 °C arası gerçekleştirildi ve en yüksek tutuklama etkinlikleri 15 ve 25 °C’lerde bulundu (Şekil 4.12). Tutuklama etkinliği 25 °C’nin üzerindeki sıcaklıklarda önemli derecede azalan bir profil gösterdi.

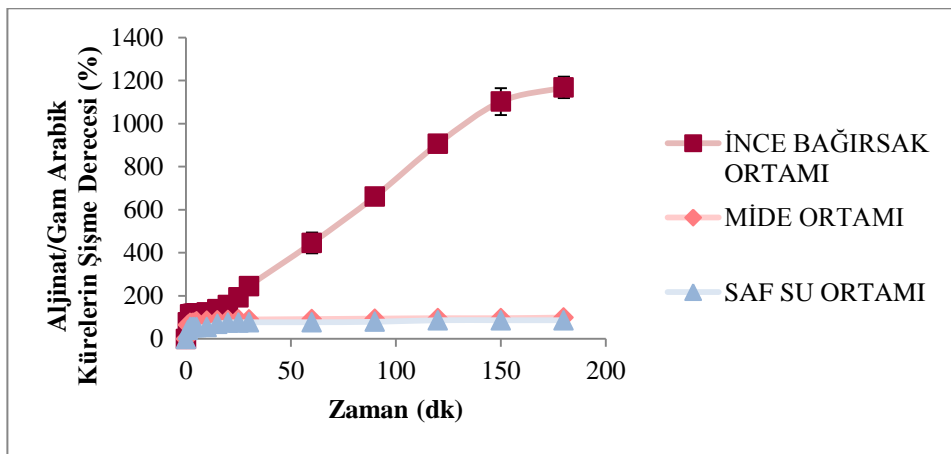


Şekil 4.12. Sıcaklığın melatonin tutuklama etkinliği üzerine etkisi.

Şekil 4.12’de açıkça görüldüğü üzere sıcaklık üretilen ilaç salım sisteminin melatonin tutuklama etkinliğine olumsuz etki yapmaktadır. Literatürdeki sayısız ilaç salım sistemi geliştirme çalışmaları incelendiğinde tutuklama etkinliğine sıcaklığın etkisi genellikle araştırılan bir parametre değildir. Çoğu üretimler laboratuvar sıcaklığında gerçekleştirilmekte olup sıcaklık çalışması yapılmamaktadır. Oysaki bu çalışmada 25 °C’nin üzerinde melatonin tutuklama etkinliğinin anlamlı şekilde düşmesi tutuklama yapılacak ortamın sıcaklığının kontrol altında tutulması gerektiğini göstermektedir. Bu konuda yapılan az sayıdaki çalışmalardan bir tanesinde (Sharma ve Chopra, 2011) levosetirizin HCl içeren tabletlerin üretimine sıcaklığın negatif etkisi rapor edilmiştir. Bir diğer çalışmada da nişasta mikroküreleri oluşturma sürecinde çapraz bağlayıcı olarak kullanılan metilen mavisinin 6-50 °C arasında ölçülen tutuklama etkinliği maksimum 25 °C’de tespit edilmiştir. Sıcaklığın bu negatif etkisinin endüstriyel süreçlerde bir avantaj olduğu düşünülmektedir.

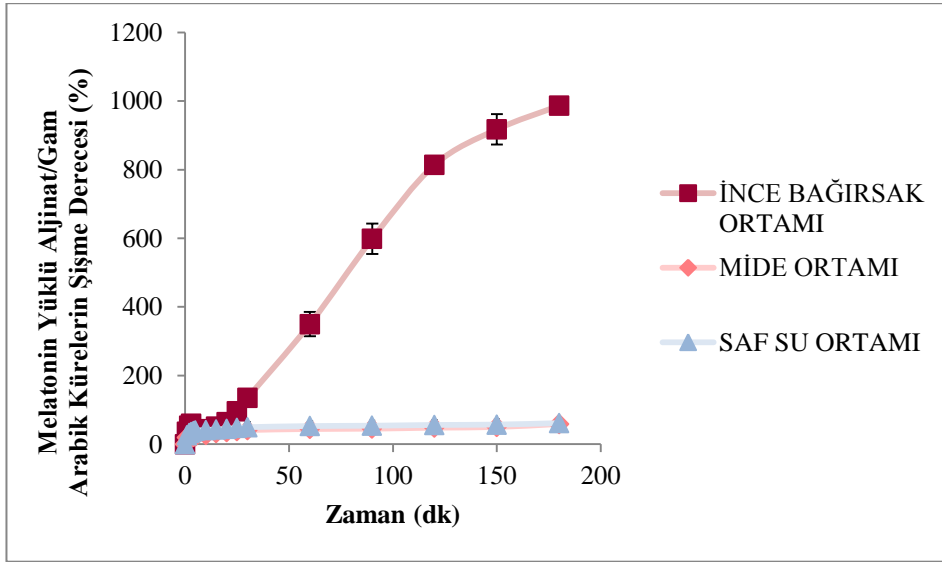
4.6. Aljinat/Gam Arabik Kürelerin Şişme Özellikleri

Boş aljinat/gam arabik kürelerin saf su, mide ve ince bağırsak ortamlarındaki şişme davranışları Şekil 4.13’de görülmektedir. Kürelerin saf su ortamında şişme dereceleri 3 saat sonunda %86.5, 24 saat sonunda ise %97.9; mide ortamında şişme dereceleri 3 saat sonunda %99.0, 24 saat sonunda ise %105.1; ince bağırsak ortamında şişme dereceleri 3 saat sonunda %1167.7 olup 24 saat sonunda ise küreler tamamen parçalanmıştır.



Şekil 4.13. Aljinat/gam arabik kürelerin farklı ortamlardaki (saf su, mide ve ince bağırsak) şişme dereceleri.

Şekil 4.14’de ise melatonin yüklü aljinat/gam arabik kürelerin saf su, mide ve ince bağırsak ortamlarındaki şişme davranışları görülmektedir. Kürelerin saf su ortamında şişme dereceleri 3 saat sonunda %61.3, 24 saat sonunda ise %68.8; mide ortamında şişme dereceleri 3 saat sonunda %58.8, 24 saat sonunda ise %68.6; ince bağırsak ortamında şişme dereceleri 3 saat sonunda %98.6 olup 24 saat sonunda ise küreler tamamen parçalanmıştır.



Şekil 4.14. Melatonin tutuklanmış (3.0 mg/mL, 1.0 mL) aljinat/gam arabik kürelerin farklı ortamlardaki (saf su, mide ve ince bağırsak) şişme dereceleri.

Hem boş hem de melatonin yüklü aljinat/gam arabik küreler mide (pH 1.5) ve saf su (pH 6.9-7.0) ortamlarında ince bağırsak (pH 7.4) ortamına kıyasla çok daha az şişme davranışı sergilemiştir. Bu durum kürelerin şişme özelliklerinin pH’a bağlı olduğunu göstermektedir. Bu nedenle kürelerin saf su ortamındaki şişme davranışının mide ortamındaki şişme davranışı ile aynı olmaması beklenirken çok benzer bir şişme profili çizmişlerdir. İnce bağırsak ortamında ise şişme davranışının artışı kürelerde bulunan kalsiyum iyonları ile fosfat tamponunda bulunan sodyum iyonları arasındaki iyon değişimi ile açıklanabilir (Mohamed vd. 2016).

Aljinat, zincirinde bulunan $-OH$ ve $-COOH$ grupları sebebiyle oldukça hidrofilik bir yapıya sahiptir. Nötr pH’da su, aljinat zincirlerine nüfuz ederek $-OH$ ve

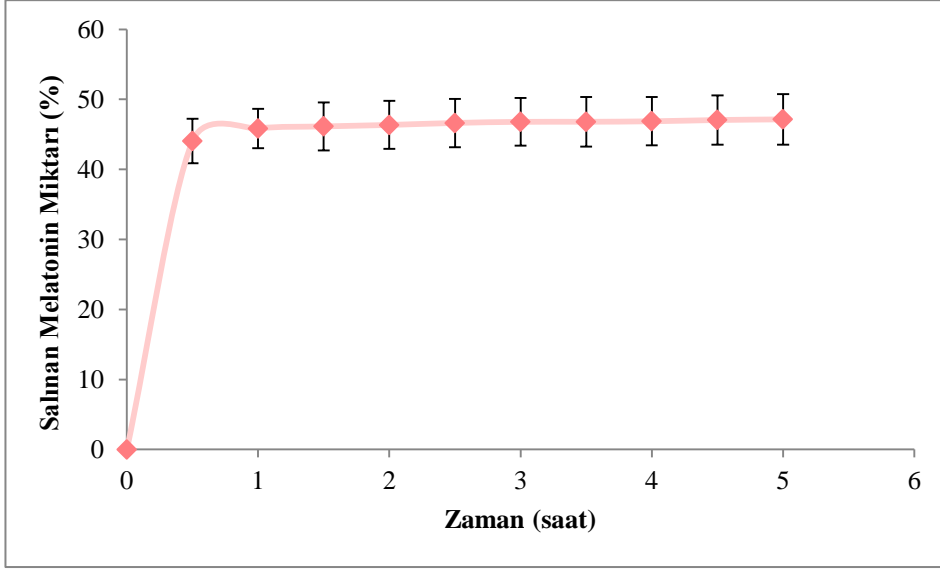
-COOH grupları sayesinde hidrojen köprüleri oluşturur ve zincir boyunca geniş gözeneklerin veya boşlukların ortasındaki alanları doldurur. Böylece aljinat küreler hacim kazanır ve şişer (Chen vd., 2009). Bu durum, zincirinde -COOH grubunun mevcut olması nedeniyle gam arabik içeren kürelerde de görülebilir (Mohamed vd., 2016).

Fosfat, sodyum, magnezyum, laktat ve sitrat gibi jel oluşturmeyen iyonlar ve şelatörlerin bulunduğu ortamlarda aljinat ekstra şişme gösterir. Örneğin önemli miktarda fosfat ve sodyum iyonlarının varlığı fizyolojik koşullarda ozmotik şişmeye sebep olur. Bunun sonucunda aljinat matrisi çözünür ve parçalanır (Chen vd., 2009).

4.7. Melatonin Salımına pH'ın Etkisi

4.7.1. Melatoninin *in vitro* Mide Ortamında Salımı

Mide ortamını taklit etmek amacıyla literatürden yararlanılarak kullanılacak ortam pH'ı 1.5 olarak belirlendi (Yotsuyanagi vd., 1987; Cui vd., 2000). Melatonin yüklü küreler *in vitro* mide ortamına atılarak her 30 dakikada bir 2.0 mL örnek alınıp santrifüjlenerek süpernatanın spektrofotometrik ölçümleri ile takip edildi. Aljinat/gam arabik kürelerden *in vitro* mide ortamında melatonin salım grafiği Şekil 4.15'de görülmektedir. Kürelerden ilk 30 dakikada melatonin salımı %44.1 oranında gerçekleşmiştir. Daha sonra salım yavaşlayarak 5 saatin sonunda %47.2; 24 saat sonunda ise %49.5 oranında melatoninini mide ortamına bırakmıştır.



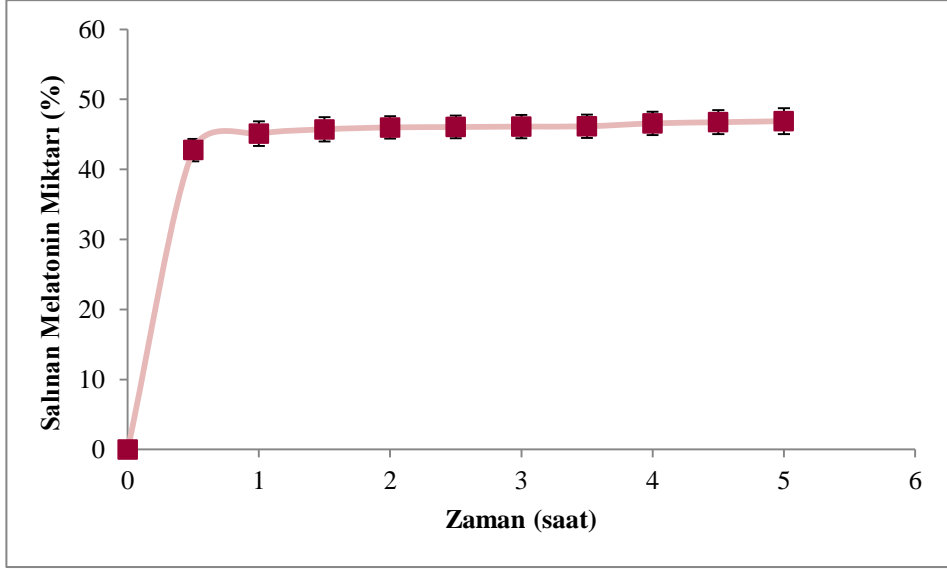
Şekil 4.15. Melatoninin *in vitro* mide (pH 1.5) ortamında zamana karşı salım profili.

Lee vd. (1998) stearyl alkol mikrokürelere melatonin tutuklayarak *in vitro* mide ortamında ilk 30 dakikada ~%44; 2 saat sonra ~%50; 5 saat sonunda ise ~%60 salıma ulaşmışlardır.

4.7.2. Melatoninin *in vitro* İnce Bağırsak Ortamında Salımı

Melatoninin *in vitro* ince bağırsak ortamında salımını incelemek üzere kullanılacak tampon pH'ı literatür incelenerek 7.4 olarak belirlendi (Babu vd., 2006; Yoo vd., 2006; Song vd., 2009). Salım ortamına ince bağırsağın mukoza yapısını taklit etmek üzere sürfaktan bir madde olan %1'lik Tween 80 eklendi. Tween 80 ilaç endüstrisinde genellikle yardımcı madde olarak kullanılır. Biyoyumluluk, toksik olmama ve çözünürlüğü artırma gibi özelliklere sahiptir. İyonik bir yapıya sahip olmayan Tween 80 iyonik veya aktif maddeler ile reaksiyona girmez (Rakesh vd., 2014; Prieto vd., 2013).

Hazırlanan *in vitro* ince bağırsak ortamına atılan aljinat/gam arabik kürelerden melatonin salımı ortamdaki her 30 dakikada bir 2.0 mL örnek alınarak spektrofotometrik ölçümlerle 5 saat süre ile takip edildi (Şekil 4.16). Melatonin salımı ilk 30 dakikada %42.8; 5 saat sonra %46.9; 24 saat sonunda ise %49.2 olarak hesaplandı.

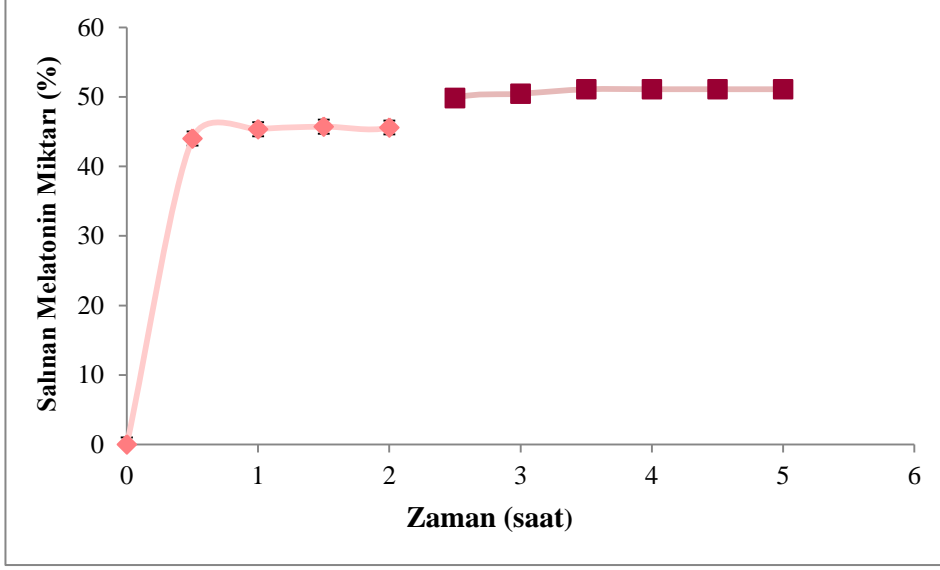


Şekil 4.16. Melatoninin *in vitro* ince bağırsak (pH 7.4) ortamında zamana karşı salım profili.

Lee vd. (1998) stearyl alkol mikrokürelere melatonin tutuklamış ve *in vitro* ince bağırsak ortamında ilk 30 dakikada ~%42; 2 saat sonra ~%45; 5 saat sonunda ise ~%46 salım elde etmişlerdir.

4.7.3. Melatoninin *in vitro* Mide - İnce Bağırsak Ortamında Ardışık Salımı

Bir ilacın vücuda alınmasıyla izlediği yolu taklit etmek amacı ile ardışık salım çalışması yapıldı. Melatonin yüklü aljinat/gam arabik küreler 2 saat mide ortamında (pH 1.5) salım yaptıktan sonra ince bağırsak ortamına aktarıldı. Kürelerden ilk 30 dakikada %44.0 oranında melatonin salımı gerçekleşti ve 2 saatin sonundaki salım oranı %45.6 olarak belirlendi. Daha sonra kürelerin ince bağırsak ortamına (pH 7.4) aktarılmasıyla salım %49.8'e yükseldi. Kürelerden salımın artması aljinat ve gam arabik polimerlerinin bazik ortamlarda şişme ve çözünme özelliklerinin asidik ortamlara kıyasla daha iyi olmasından kaynaklanır. İnce bağırsak ortamında 5 saatin sonunda %51.1 oranında melatonin salımı hesaplandı.



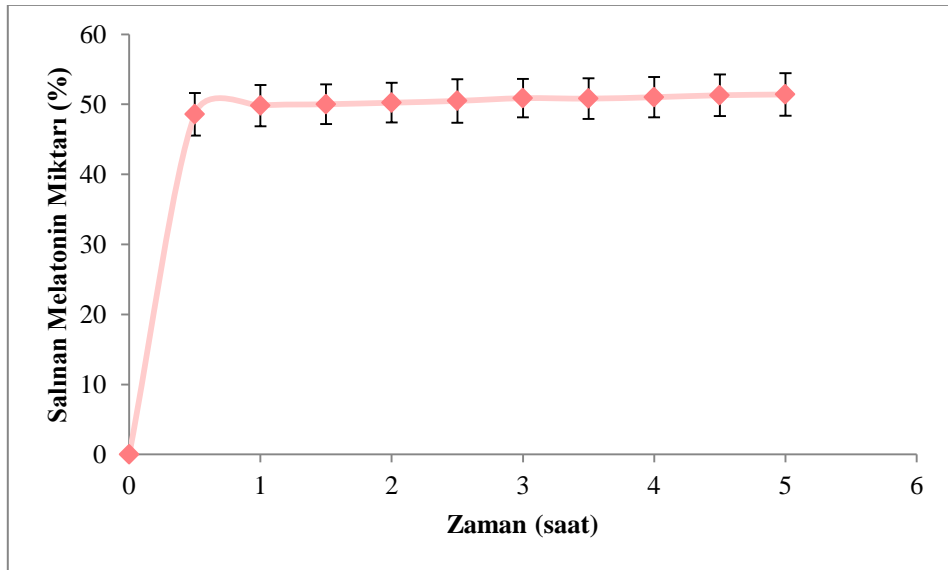
Şekil 4.17. Melatoninin ardışık (pH 1.5 – 7.4) salım ortamında zamana karşı salım profili.

İlacın uygulanan birey tarafından absorpsiyonu *in vivo* biyoyararlanımı düzenleyen en önemli süreçtir. Absorpsiyon, ilacın fizikokimyasal özellikleri, dozaj form ve bireyin gastrointestinal yolunun biyolojik durumu ile düzenlenir. Öte yandan bir polimer matrikse tutuklanmış ilacın absorblanabilmesi için bulunduğu ortamdan salınması gerekir. Bu salım işlemi gastrointestinal yolun farklı evrelerindeki fizyolojik koşulların, özellikle de en etkili parametre olan pH'ın değişiminden etkilenir. Tran vd., (2009) tarafından yapılan bir çalışmada melatoninin *in vitro* absorpsiyon davranışı ussing hücresi tekniği kullanılarak incelenmiştir. Bu çalışma sonucuna göre gastrointestinal yolda en yüksek melatonin absorpsiyonu rektum ve ileumda en düşük ise midede gerçekleşmektedir. Melatonin permeabilitesi düşük ilaçlar sınıfında sayılmaktadır. Tran vd. (2009) yaptıkları bir çalışmada melatonin absorpsiyonunun ileum>jejunum>kolon sırasının takip ettiğini bildirmişlerdir. Gastrointestinal yol içinde ilaçların farklı absorblanması epitel yüzey alanından etkilenmektedir. Ancak, tutuklanmış melatoninin önce salınması gerekmektedir ve bu çalışmada, 24 saat sonunda, melatoninin yaklaşık %50'sinin midede salındığı, daha sonraki pH 7.4 ortamında ise salım yüzdesinde çok büyük bir farkın oluşmadığı gözlenmiştir.

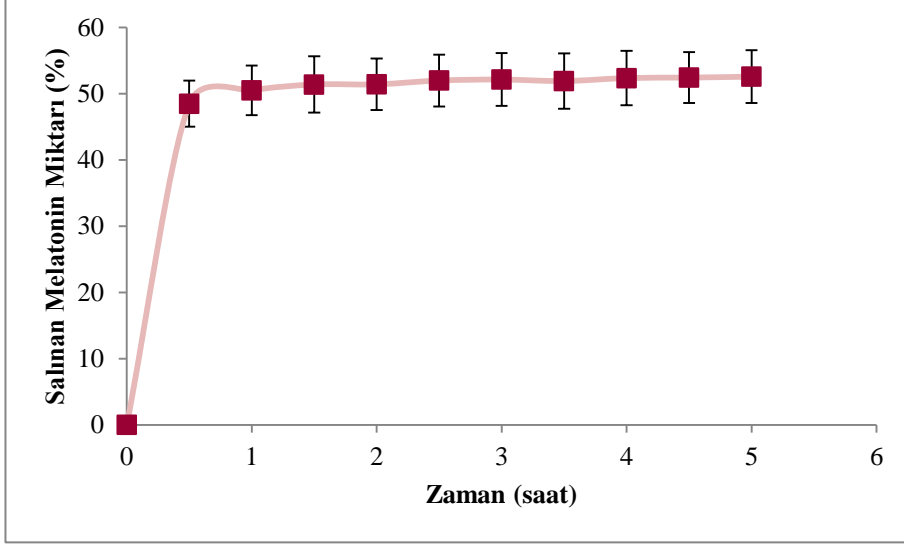
Öte yandan şişme deneyleri sonuçlarına göre ince bağırsak ortamında 24 saat sonunda kürelerin tamamen bozunduğu tespit edildiğinden, bu çalışmada deneysel olarak gösterilmemiş olmakla beraber, kürelerde salınmadan kalan melatoninin ortama geçerek gastrointestinal yolda ileum ve rektumda emiliminin devam edeceği tahmin edilebilir.

4.7.4. Kurutulmuş Melatonin Yüklü Aljinat/Gam Arabik Kürelerden *in vitro* Ortamlarda Melatonin Salımı

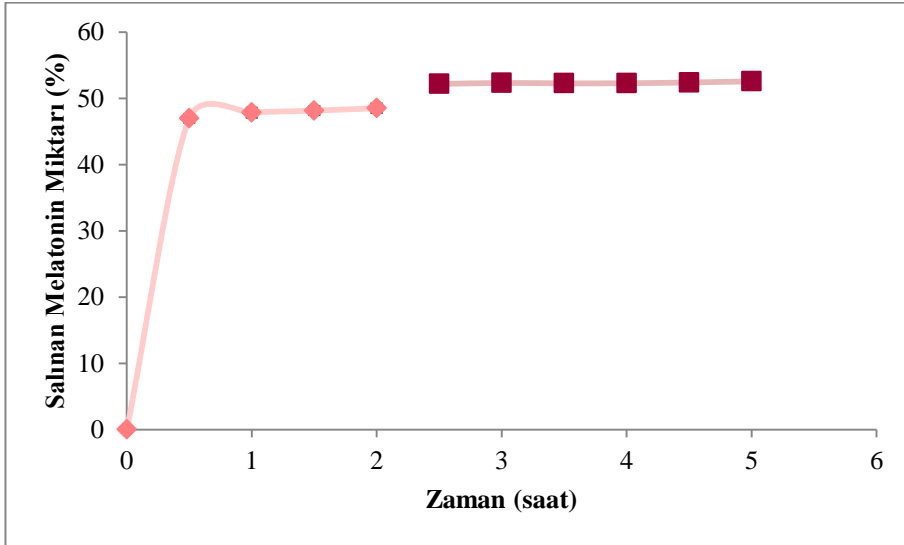
Hazırlanan ve bileşimi optimize edilen melatonin yüklü aljinat/gam arabik boncukların son hedefi ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanımı olduğundan boncuklar kurutulup saklandı ve tekrar *in vitro* salım ortamları kullanılarak ilaç salım profilleri takip edildi. Mide (Şekil 4.18) ve ince bağırsak (Şekil 4.19) ortamları ile bu iki ortamın ardışık (Şekil 4.20) kullanıldığı salım ortamlarında ilaç salımları ölçüldü.



Şekil 4.18. Kurutulmuş melatonin yüklü aljinat/gam arabik kürelerden *in vitro* mide (pH 1.5) ortamında zamana karşı melatonin salım profili.



Şekil 4.19. Kurutulmuş melatonin yüklü aljinat/gam arabik kürelerden *in vitro* ince bağırsak (pH 7.4) ortamında zamana karşı melatonin salım profili.



Şekil 4.20. Kurutulmuş melatonin yüklü aljinat/gam arabik kürelerden *in vitro* ardışık (pH 1.5-7.4) salım ortamında zamana karşı melatonin salım profili.

Yapılan deneylerin sonuçlarıyla ilgili iki önemli nokta ortaya çıktı. Birincisi hazırlanan kürelerin yaş veya kuru olarak salım değerleri arasında anlamlı farklar görülmemektedir. İkincisi de melatoninin mide ortamı ve ince bağırsak

ortamlarında salım yüzdeleri birbirine çok yakın ölçülmüştür. Ardışık salım çalışmasında ise 2 saat sonunda mide ortamından ince bağırsak ortamına aktarılan boncuklardan kayda değer bir salım artışı gözlenmemiştir. Bu sonuçlar hazırlanan ilaç salım sisteminden melatonin salımının pH'a bağlı olmadığını işaret etmektedir. Memelilerde pineal bez tarafından üretilen melatonine ilave olarak gastrointestinal yolda melatonini üreten hücrelerin bulunduğu ve bu hücrelerin melatonin üretimini yolda bulunan tüm aşamalarda (özefagus, mide, dudenum, ince bağırsak, kalın bağırsak, rektum) gerçekleştiği bilinmektedir (Chen vd., 2011).

Çizelge 4.5. Melatonin yüklü (3.0 mg/mL) yaş ve kurutulmuş aljinat/gam arabik kürelerin mide (pH 1.5); ince bağırsak (pH 7.4) ve ardışık (pH 1.5-7.4) salım ortamlarında melatonin salım yüzdeleri (n=3).

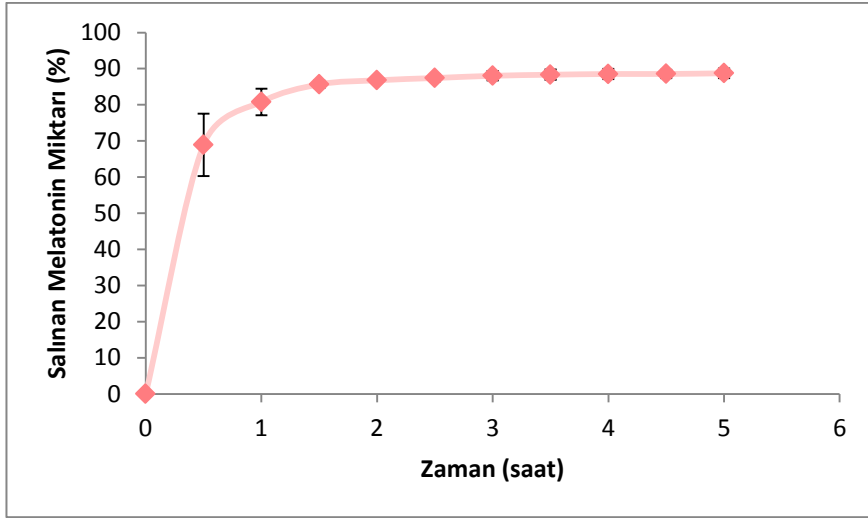
Salım Ortamları	Yaş Boncuk	Kuru Boncuk	
Mide	İlk 30 dakika	%44.04±3.19	%48.57±3.04
	5 Saat	%47.15±3.61	%51.41±3.03
	24 Saat	%49.48±4.11	%52.56±3.19
İnce bağırsak	İlk 30 dakika	%42.77±1.59	%48.48±3.47
	5 Saat	%46.89±1.85	%52.56±3.98
	24 Saat	%49.20±2.00	%53.82±4.33
Ardışık	İlk 30 dakika	%44.00±3.97	%46.97±0.64
	2 Saat	%45.59±3.82	%48.50±0.71
	5 Saat	%51.10±4.69	%52.56±0.88
	24 Saat	%51.41±3.50	%53.65±1.01

Ekzojen melatonin taşıyıcısının da bu pH'dan bağımsız davranışı gastrointestinal yolun her aşamasında melatonin bırakabileceği sonucunu vermektedir. Ardışık salım deneyinde mide ortamında salınmaya bırakılan melatoninin %50'sinin ince bağırsak ortamında salınmaması ise üretilen aljinat/gam arabik sistemin melatonini salınmayacak bir şekilde tuttuğu sonucu ile açıklanabilir.

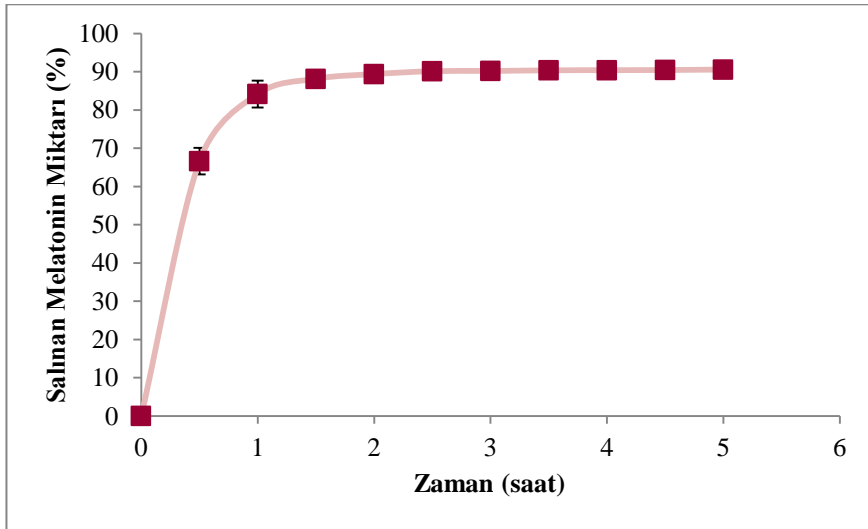
4.7.5. Ticari Melatonin Tabletinden *in vitro* Ortamlarda Melatonin Salımı

Bu çalışmada üretilen aljinat/gam arabik melatonin salım tabletlerinin salım profili ile karşılaştırılmak üzere, gıda takviyesi kodu ile pazarlanan ticari melatonin tabletlerinin salım profili de incelendi. Bu tabletlerin mide (Şekil 4.21) ve ince bağırsak (Şekil 4.22) ortamlarında melatonin salımı incelendiğinde mide ortamında ilk 30 dakika %68.92'lik bir ani salım gerçekleştikten sonra 5 saat sonunda %88.72'lik bir salım gerçekleşmiştir.

İnce bağırsak ortamı için ise bu değerler sırasıyla %66.61, %90.57 ve %91.38 olarak ölçülmüştür. Kontrollü salım yapmayan ticari preparat ile kıyaslandığında üretilen aljinat/gam arabik melatonin salım sisteminin salımı düşüktür. Öte yandan ilk yarım saat içindeki ani salım her iki sistemde de mevcuttur.



Şekil 4.21. Ticari melatonin (3 mg) tabletten in vitro mide (pH 1.5) ortamında zamana karşı melatonin salım profili.



Şekil 4.22. Ticari melatonin (3 mg) tabletten in vitro ince bağırsak (pH 7.4) ortamında zamana karşı melatonin salım profili.

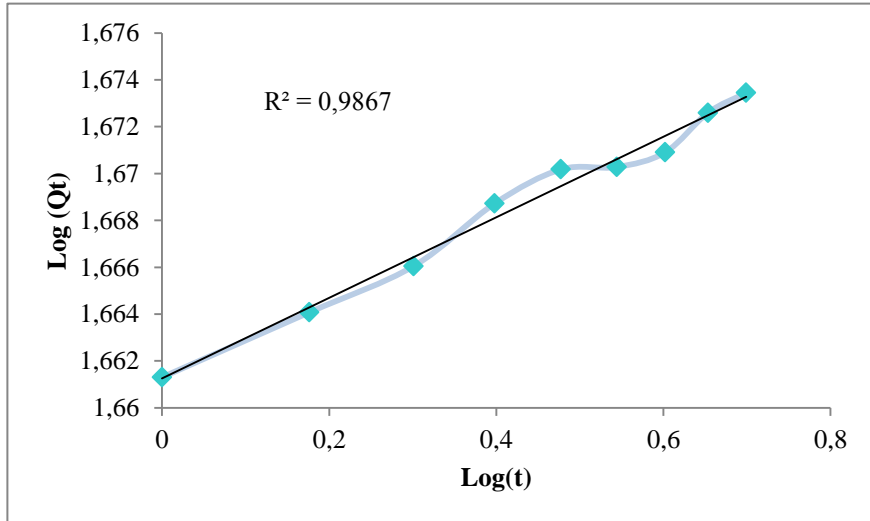
Lee vd. (1999) çalışmalarında melatonin içeren hidroksi metilselüloz (HPMC) tabletler üretmişlerdir. Ürettikleri melatonin yüklü tabletler ile ticari tabletleri karşılaştırarak salım davranışlarının benzerlik gösterdiğini rapor etmişlerdir.

4.8. Kinetik Model

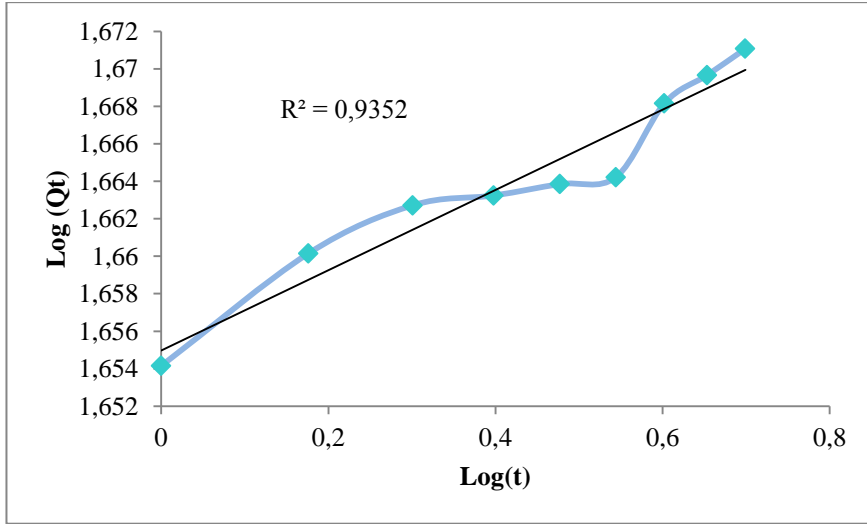
Aljinat/gam arabik kürelerden melatonin salım verilerinin Sıfıncı dereceden, Birinci dereceden, Higuchi ve Korsmeyer-Peppas kinetik modellerine uygulanması ile çizilen grafiklerden (Şekiller 4.23-4.24) bulunan korelasyon katsayıları (R^2) salımın Korsmeyer-Peppas kinetik modeline uygun olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.6). Bu modele göre, ilacın taşıyıcı polimer sisteminden salımı hem erozyon hem de difüzyon kontrollü olarak gerçekleşir.

Çizelge 4.6. *In vitro* mide (pH 1.5) ve ince bağırsak (pH 7.4) salım ortamlarında melatonin salımına uygulanan farklı salım kinetik modellerinin R^2 değerleri.

<i>In vitro</i> Salım Ortamları	Korelasyon Katsayısı (R^2)			
	Sıfıncı dereceden	Birinci dereceden	Higuchi	Korsmeyer-Peppas
Mide (pH 1.5)	0.2957	0.3237	0.5590	0.9867
İnce Bağırsak (pH 7.4)	0.3096	0.3433	0.5750	0.9352



Şekil 4.23. Melatoninin in vitro mide ortamında salımının Korsmeyer-Peppas kinetik modeli grafiği.



Şekil 4.24. Melatoninin in vitro ince bağırsak ortamında salımının Korsmeyer-Peppas kinetik model grafiği.

Nukulkit vd. (2014) çalışmalarında kolesterol ve sorbitan monostearat kullanarak oluşturdukları niozomları polikaprolakton ile kaplamışlar ve melatonin salım sistemi olarak kullanımını incelemişlerdir. Bu niozomlardan melatonin salım kinetiğinin Sıfıncı derece, Birinci derece, Higuchi, Hixson-Crowell, Korsmeyer-Peppas kinetik modellerine uygunluğunu incelemiş ve sonuçta Korsmeyer-Peppas modeline uygun olduğunu belirlemişlerdir. Romić vd. (2016) melatonin kitosan/Pluronic® F127 mikrokürelere tutuklamışlar ve oluşturulan mikrokürelere kurutarak kuru toz formülasyona sahip, yara ile etkileştiğinde hidrojel formuna dönüşebilen bir ilaç salım sistemi geliştirmeyi hedeflemişlerdir. Melatonin salım verilerinin Sıfıncı derece, Birinci derece, Higuchi ve Korsmeyer-Peppas kinetik modellerinden hangisine en uygun olduğunu incelemiş ve sonuç olarak Higuchi kinetik modeline uygun bulmuşlardır.

5. SONUÇLAR

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar aşağıdaki gibi özetlenebilir:

- 1- Aljinat çözeltisinin derişimi arttıkça kürelerin görsel sağlamlığı artmaktadır. Ancak, çok yüksek aljinat derişimleri küre üretimini olumsuz yönde etkilemektedir.
- 2- İkinci polimer olarak aljinat çözeltisine eklenen gam arabik miktarı arttıkça çözünme problemi nedeniyle topaklaşma oluşturmakta ve boncuk oluşumunu olumsuz etkilemektedir.
- 3- Kalsiyum klorür çözeltisinin derişiminin artması ile çapraz bağ oranı artarak boncuk sıklığı artmaktadır. Ancak, ilaç salım sisteminde bu her zaman istenen bir özellik değildir. Zira çapraz bağların daha sık olması ilacın salınmasına negatif olarak etki edebilir.
- 4- Küre oluşturma sürecinde hep aynı damlatma hızını kullanmak küre şekillerinin korunması açısından önemlidir.
- 5- İlaç tutuklama ortamının karışma hızı optimize edilmelidir. Aksi durumda kürelerin şekillerinde deformasyon gözlenmektedir.
- 6- Kürelerin ortalama partikül büyüklüğünün aynı olması için hep aynı damlatma aparatı (cam pipet, enjektör) kullanılmalıdır.
- 7- Tutuklama ortamının sıcaklığının kontrol edilmesi gerekir. Bu çalışmada sıcaklığın tutuklamaya etkisi negatif yönde olmuştur. Özellikle 25 °C'den yüksek sıcaklıklarda melatonin tutuklama etkinliği oldukça düşmektedir.
- 8- Aljinat ve gam arabik gibi hidrofilik, biyobozunur ve biyoyumlu polimerlerin kullanılması kolay şişen, bozunan ve toksik etki yaratmayan taşıyıcı sistemlerin üretilmesini sağlamıştır.
- 9- Aljinat çözeltisine eklenen gam arabik miktarı ile ilaç tutuklama etkinliği değişmektedir. Bu çalışmada maksimum tutuklama etkinliği %1.5 aljinat-50 mg gam arabik bileşiminde %77.82±4.47 olarak hesaplanmıştır.
- 10- Kürelerin şişmesine ortam sıcaklığı pozitif etki yapmaktadır.

11- Şişme ortamının pH'ı arttıkça kürelerin şişme yüzdesi artmaktadır. Bu durum Roy vd. (2009) tarafından yüksek pH'da karboksilat iyonlarının sayısının artması ve birbirini itmesi ile su moleküllerine yer açılması olarak açıklanmıştır.

12- Salım çalışmalarında ortamın karıştırma hızının, sıcaklığın ve pH'ın artması salım yüzdesini artırmaktadır.

Sonuç olarak, bu çalışmanın geliştirilmesi için:

- * Aljinat ve gam arabik kürelerin oluşturulmasında kullanılan oranların değiştirilmesi ile elde edilen kürelerin her birine ilaç tutuklama etkinliği çalışması yapılabilir.
- * Üretilen aljinat/gam arabik kürelerden melatonin salımının in vivo koşullardaki sonuçları araştırılabilir.
- * Günümüz koşullarına uygun olmak üzere, nano ve mikro boyutlarda küre üretim çalışmaları yapılabilir.
- * Bu çalışmada aljinat ve gam arabik doğal polimerleri kullanılarak melatonin salım sistemi geliştirilmiştir. Aljinat/gam arabik yerine farklı doğal polimer kombinasyonları denenerek yeni bir melatonin salım sistemi geliştirilebilir.

KAYNAKLAR

- Agrawal, M., Limbachiya, M., Sapariya, A., Patel, G. 2012. A review on parenteral controlled drug delivery system. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, 3 (10): 3657.
- Alagusundaram, M., Chengaiah, B., Gnanaprakash, K., Ramkanth, S., Chetty, C. M., Dhachinamoorthi, D. 2010. Nasal drug delivery system-an overview. **International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences**, 1(4): 454-465.
- Alenezi, A., Naito, Y., Terukina, T., Prananingrum, W., Jinno, Y., Tagami, T., Ozeki, T., Galli, S., Jimbo, R. 2016. Controlled release of clarithromycin from PLGA microspheres enhances bone regeneration in rabbit calvaria defects. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, 2016: 1-8.
- Babu, V. R., Rao, K. S. V. K., Sairam, M., Naidu, B. V. K., Hosamani, K. M., Aminabhavi, T. M. 2006. pH sensitive interpenetrating network microgels of sodium alginate- acrylic acid for the controlled release of ibuprofen. **Journal of Applied Polymer Science**, 99 (5): 2671-2678.
- Balanč, B., Trifković, K., Đorđević, V., Marković, S., Pjanović, R., Nedović, V., Bugarski, B. 2016. Novel resveratrol delivery systems based on alginate-sucrose and alginate-chitosan microbeads containing liposomes. **Food Hydrocolloids**, 61: 832-842.
- Bhardwaj, T. R., Kanwar, M., Lal, R., Gupta, A. 2000. Natural gums and modified natural gums as sustained-release carriers. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, 26 (10): 1025-1038.
- Bhattarai, M., Gupta, A. K. 2015. Fast dissolving oral films: a novel trend to oral drug delivery system. **Sunsari Technical College Journal**, 2 (1): 58-68.
- Bough, M., Trammel, H. L. 2006. The history of drugs. **Veterinary Technician**, 27: 273-275.

- Brown, M. B., Martin, G. P., Jones, S. A., Akomeah, F. K. 2006. Dermal and transdermal drug delivery systems: current and future prospects. **Drug Delivery**, 13 (3): 175-187.
- Bukka, R., Prakasam, K., Patel, C. D. 2010. Preparation and evaluation of intraoral drug delivery system for rasagiline mesylate. **International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences and Drug Research**, 2: 294-301.
- Chen, C. Q., Fichna, J., Bashashati, M., Li, Y. Y., Storr, M. 2011. Distribution, function and physiological role of melatonin in the lower gut. **World Journal of Gastroenterology**, 17 (34): 3888-98.
- Chen, H., Ouyang, W., Martoni, C., Prakash, S. 2009. Genipin cross-linked polymeric alginate-chitosan microcapsules for oral delivery: *in-vitro* analysis. **International Journal of Polymer Science**, 2009: 1-16.
- Chen, W., Palazzo, A., Hennink, W. E., Kok, R. J. 2016. The effect of particle size on drug loading and release kinetics of gefitinib-loaded PLGA microspheres. **Molecular Pharmaceutics**, 14: 459-467.
- Cui, J. H., Goh, J. S., Kim, P. H., Choi, S. H., Lee, B. J. 2000. Survival and stability of bifidobacteria loaded in alginate poly-*l*-lysine microparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, 210 (1): 51-59.
- Dang, Q., Liu, C., Wang, Y., Yan, J., Wan, H., Fan, B. 2016. Characterization and biocompatibility of injectable microspheres-loaded hydrogel for methotrexate delivery. **Carbohydrate Polymers**, 136: 516-526.
- Das Neves, J., Bahia, M. F. 2006. Gels as vaginal drug delivery systems. **International Journal of Pharmaceutics**, 318 (1): 1-14.
- Dubey, V., Mishra, D., Asthana, A., Jain, N. K. 2006. Transdermal delivery of a pineal hormone: melatonin via elastic liposomes. **Biomaterials**, 27 (18): 3491-3496.

- Dubey, V., Mishra, D., Jain, N. K. 2007. Melatonin loaded ethanolic liposomes: physicochemical characterization and enhanced transdermal delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 67 (2): 398-405.
- Ensign, L. M., Cone, R., Hanes, J. 2012. Oral drug delivery with polymeric nanoparticles: the gastrointestinal mucus barriers. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 64 (6): 557-570.
- Gaudana, R., Ananthula, H. K., Parenky, A., Mitra, A. K. 2010. Ocular drug delivery. **The AAPS Journal**, 12 (3): 348-360.
- George, M., Abraham, T. E. 2007. pH sensitive alginate–guar gum hydrogel for the controlled delivery of protein drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, 335 (1): 123-129.
- Goswami, S., Naik, S. 2014. Natural gums and its pharmaceutical application. **Journal of Scientific and Innovative Research**, 3 (1): 112-121.
- Goudoulas, T. B. 2012. Polymers and biopolymers as drug delivery systems in nanomedicine. **Recent Patents on Nanomedicine**, 2 (1): 52-61.
- Grassi, M., Grassi, G. 2005. Mathematical modelling and controlled drug delivery: matrix systems. **Current Drug Delivery**, 2 (1): 97-116.
- Gulati, N., Gupta, H. 2011. Parenteral drug delivery: a review. **Recent Patents on Drug Delivery & Formulation**, 5 (2): 133-145.
- Hafner, A., Lovrić, J., Voinovich, D., Filipović-Grčić, J. 2009. Melatonin-loaded lecithin/chitosan nanoparticles: physicochemical characterisation and permeability through Caco-2 cell monolayers. **International Journal of Pharmaceutics**, 381 (2): 205-213.
- Hardeland, R., Pandi-Perumal, S. R., Cardinali, D. P. 2006. Melatonin. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, 38 (3): 313-316.
- Hassan, B. A. R. 2012. Overview on drug delivery system. **Pharmaceutica Analytica Acta**, 3 (10): 2153-2435.

<http://cenblog.org/the-haystack/files/2011/06/melatonin.png> Erişim Tarihi: 09.04.2017

http://docplayer.biz.tr/docs-images/41/57516/images/page_8.jpg Erişim Tarihi: 09.04.2017

<http://www.justpaint.org/wp-content/uploads/2015/06/JP31A6-12-1.jpg> Erişim Tarihi: 09.04.2017

<https://www.drugbank.ca/drugs/DB01065> Erişim Tarihi: 21.06.2017

<https://www.slideshare.net/sagarsavale1/drug-release-kinetics> Erişim Tarihi: 21.06.2017

<https://www.slideshare.net/vamsikrishnareddy57/drug-release-mechanism-and-kinetics> Erişim Tarihi: 21.06.2017

Huang, G. Q., Cheng, L. Y., Xiao, J. X., Wang, S. Q., Han, X. N. 2016. Genipin-crosslinked O-carboxymethyl chitosan–gum arabic coacervate as a pH-sensitive delivery system and microstructure characterization. **Journal of Biomaterials Applications**, 31 (2): 193-204.

Kalia, S., Avérous, L. 2011. Gum arabica: A natural polymer. *Biopolymers: Biomedical and Environmental Applications*. John Wiley & Sons, Inc. and Scrivener Publishing LLC, p.p 317-371, New Jersey and Massachusetts.

Kearney, C. J., Mooney, D. J. 2013. Macroscale delivery systems for molecular and cellular payloads. **Nature Materials**, 12 (11): 1004-1017.

Kostková, H., Schindler, L., Kotrchová, L., Kovář, M., Šírová, M., Kostka, L., Etrych, T. 2017. Star polymer-drug conjugates with pH-controlled drug release and carrier degradation. **Journal of Nanomaterials**, 2017: 1-10.

Kühbeck, D., Mayr, J., Häring, M., Hofmann, M., Quignard, F., Díaz, D. D. 2015. Evaluation of the nitroaldol reaction in the presence of metal ion-crosslinked alginates. **New Journal of Chemistry**, 39 (3): 2306-2315.

- Lee, B. J., Choe, J. S., Kim, C. K. 1998. Preparation and characterization of melatonin-loaded stearyl alcohol microspheres. **Journal of Microencapsulation**, 15 (6): 775-787.
- Lee, B. J., Min, G. H. 1996. Oral controlled release of melatonin using polymer-reinforced and coated alginate beads. **International Journal of Pharmaceutics**, 144 (1): 37-46.
- Lee, B. J., Min, G. H., Kim, T. W. 1996. Preparation and *in vitro* release of melatonin-loaded multivalent cationic alginate beads. **Archives of Pharmacal Research**, 19 (4): 280.
- Lee, B. J., Ryu, S. G., Choi, H. G., Kim, C. K., Parrott, K. A., Ayres, J. W., Sack, R. L. 1997. Batch variation and pharmacokinetics of oral sustained release melatonin-loaded sugar spheres in human subjects. **Archives of Pharmacal Research**, 20 (6): 555-559.
- Lee, B. J., Ryu, S. G., Cui, J. H. 1999. Formulation and release characteristics of hydroxypropyl methylcellulose matrix tablet containing melatonin. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, 25 (4): 493-501.
- Lerner, A. B., Case, J. D., Takahashi, Y., Lee, T. H., Mori, W. 1958. Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. **Journal of the American Chemical Society**, 80 (10): 2587-2587.
- Li, M., Zhan, S. 2017. Preparation of 5-fluorouracil loaded chitosan microparticle and its drug release properties. **BIO Web of Conferences**, 8: 1-5.
- Li, X., Kong, X., Shi, S., Zheng, X., Guo, G., Wei, Y., Qian, Z. 2008. Preparation of alginate coated chitosan microparticles for vaccine delivery. **BMC Biotechnology**, 8 (1): 89.
- Li, Y., Zhao, X., Zu, Y., Wang, L., Wu, W., Deng, Y., Zu, C., Liu, Y. 2017. Melatonin-loaded silica coated with hydroxypropyl methylcellulose phthalate for enhanced oral bioavailability: Preparation, and *in vitro-in vivo* evaluation. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 112: 58-66.

- Malik, K., Singh, I., Nagpal, M., Arora, S. 2010. Atrigel: A potential parenteral controlled drug delivery system. **Der Pharmacia Sinica**, 1 (1): 74-81.
- Mohamed, H. N., Mustafa, S., Fitrianto, A., Manap, Y. A. 2016. Development of alginate–gum arabic beads for targeted delivery of protein. **SMU Medical Journal**, 3 (1): 486-507.
- Nayak, A. K., Das, B., Maji, R. 2012. Calcium alginate/gum arabic beads containing glibenclamide: Development and *in vitro* characterization. **International Journal of Biological Macromolecules**, 51 (5): 1070-1078.
- Ng, R. 2009. History of drug discovery and development. *Drugs: From Discovery to Approval*. John Wiley & Sons, Inc., pp. 391-397, New Jersey.
- Nochos, A., Douroumis, D., Bouropoulos, N. 2008. *In vitro* release of bovine serum albumin from alginate/HPMC hydrogel beads. **Carbohydrate Polymers**, 74 (3): 451-457.
- Nukulkit, C., Priprem, A., Damrongrungruang, T., Benjavongkulchai, E., Johns, N. P. 2014. Effect of polycaprolactone on *in vitro* release of melatonin encapsulated niosomes in artificial and whole saliva. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, 24 (2): 153-158.
- Patel, A., Cholkar, K., Agrahari, V., Mitra, A. K. 2013. Ocular drug delivery systems: an overview. **World Journal of Pharmacology**, 2 (2): 47-64.
- Patel, S., Goyal, A. 2015. Applications of natural polymer gum arabic: a review. **International Journal of Food Properties**, 18 (5): 986-998.
- Phuengkham, H., Teeranachaideekul, V., Chulasiri, M., Nasongkla, N. 2016. Preparation and optimization of chlorophene-loaded nanospheres as controlled release antimicrobial delivery systems. **Pharmaceutical Development and Technology**, 21 (1): 8-13.
- Pilicheva, B., Andonova, V., Peneva, P., Kassarova, M. 2014. Novel nasal drug delivery systems—current status on global and bulgarian pharmaceutical market. **Medicine**, 4 (1): 12-16.

- Plapied, L., Duhem, N., des Rieux, A., Pr at, V. 2011. Fate of polymeric nanocarriers for oral drug delivery. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, 16 (3): 228-237.
- Prieto, C., Calvo, L. 2013. Performance of the biocompatible surfactant Tween 80, for the formation of microemulsions suitable for new pharmaceutical processing. **Journal of Applied Chemistry**, 2013: 1-10.
- Rakesh, G., Kumar, G. M., Kumar, S. H. 2014. Span 80 – Tween 80 based fluid-filled organogel for topical delivery of fluconazole. **International Journal of Scientific Research and Reviews**, 3 (3): 29-46.
- Rehm, B. H. 2009. Alginate-based blends and nano/microbeads. *Alginates: Biology and Applications*. Springer Science & Business Media, pp. 175-211, New York.
- Romić, M. D., Klarić, M. Š., Lovrić, J., Pepić, I., Cetina-Čižmek, B., Filipović-Grčić, J., Hafner, A. 2016. Melatonin-loaded chitosan/Pluronic® F127 microspheres as in situ forming hydrogel: An innovative antimicrobial wound dressing. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 107: 67-79.
- Roy, A., Bajpai, J., Bajpai, A. K. 2009. Dynamics of controlled release of chlorpyrifos from swelling and eroding biopolymeric microspheres of calcium alginate and starch. **Carbohydrate Polymers**, 76 (2): 222-231.
- Sabzichi, M., Samadi, N., Mohammadian, J., Hamishehkar, H., Akbarzadeh, M., Molavi, O. 2016. Sustained release of melatonin: A novel approach in elevating efficacy of tamoxifen in breast cancer treatment. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 145: 64-71.
- Sahoo, C. K., Nayak, P. K., Sarangi, D. K., Sahoo, T. K. 2013. Intra vaginal drug delivery system: An overview. **American Journal of Advanced Drug Delivery**, 1: 43-55.
- Sarika, P. R., Nirmala, R. J. 2016. Curcumin loaded gum arabic aldehyde-gelatin nanogels for breast cancer therapy. **Materials Science and Engineering: C**, 65: 331-337.

- Sarmiento, B., Ferreira, D. C., Jorgensen, L., Van De Weert, M. 2007. Probing insulin's secondary structure after entrapment into alginate/chitosan nanoparticles. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 65 (1): 10-17.
- Schaffazick, S. R., Pohlmann, A. R., de Cordova, C. A. S., Creczynski-Pasa, T. B., Guterres, S. S. 2005. Protective properties of melatonin-loaded nanoparticles against lipid peroxidation. **International Journal of Pharmaceutics**, 289 (1): 209-213.
- Schaffazick, S. R., Pohlmann, A. R., Mezzalana, G., Guterres, S. S. 2006. Development of nanocapsule suspensions and nanocapsule spray-dried powders containing melatonin. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 17 (3): 562-569.
- Segale, L., Giovannelli, L., Mannina, P., Pattarino, F. 2016. Calcium alginate and calcium alginate-chitosan beads containing celecoxib solubilized in a self-emulsifying phase. **Scientifica**, 2016: 1-8.
- Shaikh, H. K., Kshirsagar, R. V., Patil, S. G. 2015. Mathematical models for drug release characterization: a review. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, 4: 324-338.
- Sharma, V., Chopra, H. 2011. Formulation and evaluation of taste masked mouth dissolving tablets of levocetirizine hydrochloride. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, 11 (2): 457-463.
- Shirwaikar, A., Shirwaikar, A., Prabhu, S. L., Kumar, G. A. 2008. Herbal excipients in novel drug delivery systems. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 70 (4): 415-422.
- Singh, A. V. 2011. Biopolymers in drug delivery: A review. **Pharmacologyonline**, 1: 666-674.
- Singh, B., Chauhan, N. 2009. Modification of psyllium polysaccharides for use in oral insulin delivery. **Food Hydrocolloids**, 23 (3): 928-935.

- Skorik, Y. A., Golyshev, A. A., Kritchenkov, A. S., Gasilova, E. R., Poshina, D. N., Sivaram, A. J., Jayakumar, R. 2017. Development of drug delivery systems for taxanes using ionic gelation of carboxyacyl derivatives of chitosan. **Carbohydrate Polymers**, 162: 49-55.
- Song, Y. B., Lee, J. S., Lee, H. G. 2009. α -Tocopherol-loaded Ca-pectinate microcapsules: Optimization, *in vitro* release, and bioavailability. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 73 (2): 394-398.
- Sorouraddin, M. H., Rashidi, M. R., Ghorbani-Kalhor, E., Asadpour-Zeynali, K. 2005. Simultaneous spectrofluorimetric and spectrophotometric determination of melatonin and pyridoxine in pharmaceutical preparations by multivariate calibration methods. **Il Farmaco**, 60 (5): 451-458.
- Srikrishna, S., Cardozo, L. 2013. The vagina as a route for drug delivery: a review. **International Urogynecology Journal**, 24 (4): 537-543.
- Srinivasan, V., Pandi-Perumal, S. R., Maestroni, G. J. M., Esquifino, A. I., Hardeland, R., Cardinali, D. P. 2005. Role of melatonin in neurodegenerative diseases. **Neurotoxicity Research**, 7 (4): 293-318.
- Swamy, P. V., Ali, M. Y., Kumar, Y. A., Prasad, K., Srinivaslu, N. 2012. Design and evaluation of rectal drug delivery systems of non-steroidal anti-inflammatory drug. **International Current Pharmaceutical Journal**, 1 (7): 165-170.
- Tan, C., Xie, J., Zhang, X., Cai, J., Xia, S. 2016. Polysaccharide-based nanoparticles by chitosan and gum arabic polyelectrolyte complexation as carriers for curcumin. **Food Hydrocolloids**, 57: 236-245.
- Tiwari, G., Tiwari, R., Sriwastawa, B., Bhati, L., Pandey, S., Pandey, P., Bannerjee, S. K. 2012. Drug delivery systems: an updated review. **International Journal of Pharmaceutical Investigation**. 2 (1): 2.
- Toutou, Y. 2001. Human aging and melatonin. Clinical relevance. **Experimental Gerontology**, 36 (7): 1083-1100.

- Tran, H. T. T., Tran, P. H. L., Lee, B. J. 2009. New findings on melatonin absorption and alterations by pharmaceutical excipients using the Ussing chamber technique with mounted rat gastrointestinal segments. **International Journal of Pharmaceutics**, 378 (1): 9-16.
- Tursilli, R., Casolari, A., Iannuccelli, V., Scalia, S. 2006. Enhancement of melatonin photostability by encapsulation in lipospheres. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 40 (4): 910-914.
- Wen, H., Park, K. 2011-a. Polymers in oral modified release system. Oral Controlled Release Formulation Design and Drug Delivery: Theory to Practice. John Wiley & Sons, Inc., pp. 71-89, New Jersey.
- Wen, H., Park, K. 2011-b. Preformulation consideration for drugs in oral controlled release formulation. Oral Controlled Release Formulation Design and Drug Delivery: Theory to Practice. John Wiley & Sons, Inc., pp. 47-71, New Jersey.
- Yih, T. C., Al- Fandi, M. 2006. Engineered nanoparticles as precise drug delivery systems. **Journal of Cellular Biochemistry**, 97 (6): 1184-1190.
- Yoo, S. H., Song, Y. B., Chang, P. S., Lee, H. G. 2006. Microencapsulation of α -tocopherol using sodium alginate and its controlled release properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, 38 (1): 25-30.
- Yotsuyanagi, T., Ohkubo, T., Ohhashi, T., Ikeda, K. 1987. Calcium-induced gelation of alginic acid and pH-sensitive reswelling of dried gels. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, 35 (4): 1555-1563.
- Yu, H. S., Reiter, R. S. 1993. Melatonin: History, biosynthesis and assay methodology. Melatonin Biosynthesis, Physiological Effects, and Clinical Applications. CRC Press, Inc., pp. 1-16, Florida.

- Zhang, L., Zhang, J., Ling, Y., Chen, C., Liang, A., Peng, Y., Chang, H., Su, P., Huang, D. 2013. Sustained release of melatonin from poly (lactic- co-glycolic acid) (PLGA) microspheres to induce osteogenesis of human mesenchymal stem cells *in vitro*. **Journal of Pineal Research**, 54 (1): 24-32.
- Zhang, Y., Wischke, C., Mittal, S., Mitra, A., Schwendeman, S. P. 2016. Design of controlled release PLGA microspheres for hydrophobic fenretinide. **Molecular Pharmaceutics**, 13 (8): 2622-2630.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Bernis GİRGİN
Doğum Yeri ve Tarihi : Konak/İZMİR, 1992

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü
Yüksek Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı
Yabancı Diller : İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Bildiriler

1. Girgin, B., Yavaşer, R., Karagözler, A.A. Üzüm Çekirdeğinin Bazı Antioksidan Parametrelerinin İncelenmesi. 3. İlaç Kimyası Kongresi, Antalya, 20-22 Mart 2015 (Poster).
2. Korkmaz, O., Girgin, B., Sunna, Ç., Karagözler, A.A. Kontrollü Tamoksifen Salımı İçin Aljinat/Nişasta Mikrokürelerinin Üretilmesi. 27. Ulusal Kimya Kongresi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale, 23-28 Ağustos 2015 (Poster).
3. Girgin, B., Korkmaz, O., Yavaşer, R., Karagözler, A. A. Production and Drug Release Assesment of Melatonin-Loaded Alginate/Gum Arabic Beads. 28th National Chemistry Congress, Mersin University, Mersin, August 15-21, 2016 (Poster).
4. Korkmaz, O., Girgin, B., Sunna, Ç., Yavaşer, R., Karagözler, A.A. Production and Investigation of Controlled Drug Release Properties of Tamoxifen Loaded Alginate-Gum Arabic Microbeads. 28th National Chemistry Congress, Mersin University, Mersin, August 15-21, 2016 (Poster).

b) Yayınlar

1. Girgin, B., Korkmaz, O., Yavaşer, R., & Karagözler, A. A. (2016). Production and Drug Release Assesment of Melatonin-Loaded Alginate/Gum Arabic Beads. Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry, 3(3), 205-216.
2. Korkmaz, O., Girgin, B., Sunna, Ç., Yavaşer, R., & Karagözler, A. A. (2016). Production and Investigation of Controlled Drug Release Properties of Tamoxifen Loaded Alginate-Gum Arabic Microbeads. Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry, 3(3), 47-58.

c) Projeler

1. Melatonin Yüklü Aljinat/Gam Arabik Kürelerin Üretimi ve İlaç Salım Özelliklerinin Araştırılması (ADU FEF-16005 No'lu Bilimsel Araştırma Projesi).

İLETİŞİM

E-Posta Adresi : bernis_girgin@hotmail.com

Tarih :.././.....