

Rutin Yüklü Kitosan Nanopartiküllerinin Sentezi, Karakterizasyonu ve Antioksidan Aktivitesinin Değerlendirilmesi

Gizem Beyoğlu^{1*}, Özlem Araç^{1*}, Derya Taşkın¹, Pelin Pelit Arayıcı¹, Kadriye Kızılbey², Serap Derman^{1**}

¹Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Metalurji Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

**Corresponding author : serapacar5@gmail.com
Orcid No: <https://orcid.org/0000-0002-6662-6642>

Received : 07/05/2020
Accepted : 01/12/2020

Özet: Kuersetin glikozitlerinden biri olan rutin esas olarak meyve kabukları, yaprakları, çiçekleri ve kökleri gibi bitkilerin farklı kısımlarında bulunan bir flavanoiddir. Kimyasal yapısı nedeniyle antioksidan, antimikrobiyal ve şelatlayıcı özellikleri bulunan rutin molekülünün zayıf çözünürlüğü nedeniyle canlı sistemde biyoyararlanımı oldukça düşüktür. Bu çalışmada, rutin molekülünün biyoyararlanımını artırmak için iyonik jelleşme yöntemi kullanılarak rutin yüklü kitosan nanopartikülleri sentezlenmiş ve in vitro ortamda salımları ve antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Üretilen rutin yüklü kitosan nanopartiküllerin enkapsülasyon etkinliği ve etken yükleme kapasitesi UV-Vis spektrofotometre kullanılarak; parçacık boyutu, çoklu dağılım indeksi ve zeta potansiyel değerleri ise Foton Korelasyon Spektroskopisi ile analiz edilmiştir. Bu nanopartiküllerdeki polimer-etken molekül etkileşimleri FT-IR ile incelenmiştir. Enkapsülasyon etkinliği ve etken yükleme kapasitesi göz önüne alınarak salım deneyleri için optimum nanopartikül Rutin yüklü Kitosan Nanopartikül3 (R-Chi NPs₃) olarak belirlenmiştir. In vitro salım çalışması 17 gün devam ettirilmiş ve bu sürenin sonunda %88.8 oranında rutin salımı gözlenmiştir. Sentezlenen nanopartiküllerin antioksidan aktivite çalışması ise DPPH yöntemi ile gerçekleştirilmiş olup R-Chi NPs₃ nanopartiküllerin antioksidan aktivitesinin artan konsantrasyona bağlı olarak arttığı ve 0.8 mg/mL R-Chi NPs₃ içeren örneğin %88.1 antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu çalışma, biyoyararlanımı düşük olan moleküllerin etkilerini artırmak için kontrollü salım yapabilecek gelişmiş biyoteknolojik sistemlerin tasarlanabileceğini gösteren bir araştırma niteliğindedir.

Anahtar Kelimeler: Rutin, Kitosan, Nanopartikül, Antioksidan Aktivite, DPPH

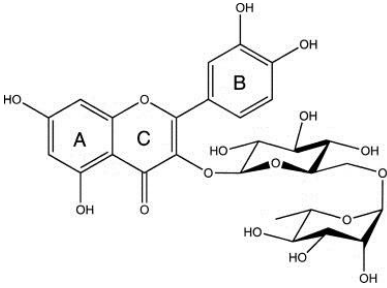
The Synthesis, Characterization and Determination of Antioxidant Activity of Rutin Loaded Chitosan Nanoparticles

Abstract: Rutin, one of the quercetin glycosides, is a flavanoid mainly found in different parts of plants such as fruit peels, leaves, flowers and roots. Although it has antioxidant, antimicrobial and chelating properties due to its chemical structure and its bioavailability in living system is very low due to its poor solubility. In this study, to increase the bioavailability of the rutin molecule, rutin loaded chitosan nanoparticles were synthesized by ionic gelling method and their in vitro releasing studies and antioxidant activities were investigated. The encapsulation efficiency and effective loading capacity of the rutin loaded chitosan nanoparticles were analyzed by UV-Vis spectrophotometer, and particle size, multiple distribution index and zeta potential values were analyzed by Photon Correlation Spectroscopy. Polymer-active molecule interactions of these nanoparticles were examined by FT-IR spectroscopy. The optimum nanoparticle for releasing studies was determined as Rutin-loaded Chitosan Nanoparticles3 (R-Chi NPs₃) considering the encapsulation efficiency and effective loading capacity. In-vitro releasing study was continued for 17 days and at the end of this time 88.8 % rutin release was observed. The antioxidant activity study of the synthesized nanoparticles was carried out by DPPH method, and the antioxidant activity of R-Chi NPs₃ nanoparticles increased due to increasing concentration and it was determined that they showed 88.1% antioxidant activity with 0.8 mg/mL R-Chi NPs₃ concentration. This study is a research study showing that advanced biotechnological systems that can make controlled release can be designed to increase the effects of molecules with low bioavailability.

Keywords: Rutin, Chitosan, Nanoparticle, Antioxidant Activity, DPPH

1. Giriş

Bitkilerde ultraviyole ışınlarına ve hastalıklara karşı koruyucu olarak sentezlenen (Kreft ve ark. 2006) rutin (kuersetin-3-O-rutinozit) molekülü, P vitamini olarak da bilinen bir flavonol glikozittir (Şekil 1). Bu molekül esas olarak meyve kabukları, yaprakları, çiçekleri ve kökleri gibi bitkilerin farklı kısımlarında bulunur. Farmasötik endüstrisinde önemli flavonoidlerden biri olduğu için fonksiyonel gıdalar, ilaç ve gıda takviyesi üretiminde kullanılabilmesi belirtilmiştir (Frutos ve ark. 2019). Ayrıca yapılan çalışmalarda rutin molekülünün; anti-alerjik (Sharma ve ark. 2013), anti-inflamatuar (Kim ve ark. 2004), anti-tümöral (Pilorget ve ark. 2003), anti-bakteriyel (Ananth ve ark. 2015) ve anti-viral (Zandi ve ark. 2011) özellikleri olduğu da gösterilmiştir. Rutin, sahip olduğu büyük molekül ağırlığı ve hidrofobik karakterinden (0.125g/L) dolayı biyoyararlanımı zayıf bir moleküldür (Frutos ve ark. 2019). Graefe ve ark.'nın rutin molekülünde bulunan şeker parçasının rutin emilimi üzerindeki etkisini incelemek için yaptıkları çalışmada, 200 mg rutin alımı sonucu maksimum plazma konsantrasyonu (C_{maks}) $0.3 \pm 0.3 \mu\text{g mL}^{-1}$, maksimum konsantrasyona ulaşma süresi (t_{maks}) 7.0 ± 2.9 saat ve yarılanma ömrü ($t_{1/2}$) 11.8 ± 3 saat olarak belirlenmiştir.



Şekil 1. Rutin Molekülünün Kimyasal Yapısı (Nguyen ve ark. 2013)

Rutin stabilizasyonu ve biyoyararlanımının iyileştirilmesi için polimer ya da lipit tabanlı, nano boyutlu, ilaç taşıyıcı sistemler tercih edilmektedir. Nano boyutlu ilaç taşıyıcı sistemler yüklü molekülün emilim profilini önemli ölçüde etkilemektedir (Bilia ve ark. 2014). Nanopartiküller mikron altı boyutlarda katı, koloidal partikül sistemlerdir (Agrawal ve ark. 2020) ve genel olarak ilaçların hücrenel veya doku hedefli dağıtımını sağlamak, biyoyararlanımı arttırmak ve ilaç salımını belirli bir zaman aralığında kontrollü olarak sürdürmek için kullanılırlar (Davidson ve Kehoe 2015). Nanopartiküller yüksek oranda aktif madde taşıyabilme kapasitesine sahip (Nagarwal ve ark. 2009), degradasyon ürünleri toksik olmayan, biyoyumlu ve biyobozunur yapıdadır (Derman ve ark. 2013).

Albumin, jelatin, kitosan, aljinat, polilaktik asit (PLA), poliglikolik asit (PGA), poli(D,L-laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) polimerik nanopartiküllerin üretilmesinde yaygın olarak kullanılan doğal ve sentetik polimerlere örnek olarak verilebilir. Kitosan, kitinin alkali koşullar altında deasetilasyonu veya kitin deasetilaz varlığında enzimatik hidrolizi yoluyla elde edilen (De Queiroz Antonino ve ark.

2017) doğal bir polisakarittir (Peniche ve Peniche 2011). Kitosan biyoyumlu, biyoadhezif, biyoaktif ve non-toksik olması sebebiyle nanopartikül üretiminde sıkça tercih edilen doğal bir polimerdir (Peniche ve Peniche 2011). İyonik çapraz bağ yapısına sahip kitosan ile oluşturulan nanopartiküller ilaçların uzun süre salımını (Sun ve ark. 2010), enzimatik bozulmaya karşı korunmasını sağlama (Sun ve ark. 2010) ve biyolojik olarak parçalanabilme gibi avantajlarına sahiptir (Bernkop-Schnürch ve Dünhaupt 2012).

Bu çalışmada rutin molekülünün biyoyararlanımını arttırmak için iyonik jelleşme yöntemi kullanılarak rutin yüklü kitosan nanopartikülleri sentezlenmiştir. Nanopartiküllerin % enkapsülasyon etkinliği (%EE), % etken yükleme kapasitesi (%DL), ortalama parçacık boyutu (Z-Ave), çoklu dağılım indeksi (PDI) ve Zeta potansiyel değerleri analiz edilmiş ve optimum nanopartikül belirlenmiştir. Daha sonrasında optimum nanopartikül Fourier Transform Infrared (FT-IR) spektrofotometrede analiz edilmiş, *in vitro* salım özellikleri incelenmiş ve 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) yöntemi ile antioksidan aktivite tayini gerçekleştirilmiştir.

2. Materyal ve Metod

Kitosan (orta molekül ağırlıklı, deasetilasyon derecesi: %85), rutin, tripolifosfat (TPP), sodyum hidroksit (NaOH) ve sodyum klorür (NaCl) Sigma Aldrich firmasından, sodyum fosfat monobazik dihidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) Rideld de Haen firmasından, sodyum fosfat dibazik heptahidrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) Fluka firmasından ve sodyum azid (NaN_3) ise AppliChem firmasından tedarik edilmiştir. Tüm kimyasallar ve çözücüler analitik saflıktadır. Ultra saf su, laboratuvarında bulunan Millipore MilliQ gradient sisteminden alınmıştır.

2.1. Rutin Yüklü Kitosan Nanopartiküllerinin Hazırlanması

Rutin yüklü kitosan nanopartiküllerinin (R-Chi NPs) hazırlanmasında iyonik jelleşme yöntemi kullanılmıştır. Kitosan çözeltisi (%2 a:h), asetik asit çözeltisi (%1 h:h) içerisinde 1 gece boyunca oda sıcaklığında karıştırılarak hazırlanmıştır (pH=4.8). R-Chi NPs₁, R-Chi NPs₂ ve R-Chi NPs₃ nanopartiküllerini hazırlamak için 5, 10 ve 20 mg rutin içeren kitosan çözeltileri ve kütlece polimer/TPP oranı 5:1 olacak şekilde TPP çözeltisi (çapraz bağlayıcı) hazırlanmıştır. TPP çözeltisi şırınga yardımıyla rutin içeren kitosan çözeltisi üzerine eklenmiştir. Bu işlem, buz banyosunda sonikasyon (180 sn., 70W, %80 güç) altında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen çözelti santrifüjlenerek (10000 rpm, +4°C, 30dk) süpernatant alınmış %EE ve %DL kapasitesini hesaplamak amacıyla kullanılmıştır. Kalan pellet liyofilize edilerek -20°C'de ileri analizler için saklanmıştır. Boş kitosan nanopartikül (Chi NPs) üretimi için aynı işlemler kitosan çözeltisine rutin eklenmeden yapılmıştır.

2.2. Rutin Yüklü Kitosan Nanopartiküllerinin Karakterizasyonu

2.2.1. Enkapsülasyon Etkinliği (EE) ve Etken Yükleme Kapasitesinin (DL) Hesaplanması

Rutin yüklü kitosan nanopartiküllerde %EE ve %DL kapasitesinin hesaplanmasında rutin 354 nm'de

$$EE (\%) = \frac{\text{Toplam Rutin miktarı (mg)} - \text{Serbest Rutin miktarı (mg)}}{\text{Toplam Rutin miktarı (mg)}} \times 100 \quad \text{Eşitlik (1)}$$

$$DL (\%) = \frac{\text{Toplam Rutin miktarı} - \text{Serbest Rutin miktarı (mg)}}{\text{Rutin yüklü Nanopartikülün Ağırlığı}} \times 100 \quad \text{Eşitlik (2)}$$

2.2.2. Ortalama Parçacık Boyutu, Çoklu Dağılım İndeksi ve Zeta Potansiyel Analizi

Üretilen nanopartiküllerin ortalama boyut ölçümleri dinamik ışık saçılması (DLS) yöntemiyle, nanopartiküllerin zeta potansiyelleri ise elektroforetik ışık saçılması yöntemiyle (ELS) ve Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Worcestershire, İngiltere) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Derman 2015).

2.2.3. FTIR Spektroskopisi Analizi

Rutin, kitosan, Chi NPs ve R-Chi NPs₃'nin kıyaslamalı olarak fonksiyonel grup analizi, ATR (attenuated total reflectance) modunda IR Prestige 21 marka FT-IR Spektrofotometre (Shimadzu, Japonya) kullanılarak 4000-650 cm⁻¹ dalga boyu aralığında gerçekleştirilmiştir (Kızılbey 2019).

2.2.4. In-vitro Ortamda Rutin Salımının İncelenmesi

In-vitro salım çalışması; kurutulan rutin yüklü kitosan nanopartiküllerin 4 ml fosfat tamponu (%0.01 NaN₃ içeren PBS, pH=7.4) içerisinde disperse edilmesiyle, çalkalamalı su banyosunda 37°C'de, 120 rpm çalkalama hızında gerçekleştirilmiştir (Ertugen ve ark. 2020). Belirlenen zaman aralıklarında (1., 2., 4., 24. saat ve 2., 3., 6., 8., 10., 14. ve 17. günlerde) santrifüj yapılarak (10.000 rpm, 30 dk) üst faz alınmış ve yerine taze salım çözeltisi (PBS) eklenmiştir. Elde edilen üst fazın 354 nm'de (Kirik ve Kızılbey 2019) UV-Vis spektrofotometre cihazında absorban değerleri ölçülerek kümülatif salım miktarları tayin edilmiştir.

2.3. Antioksidan Aktivitenin İncelenmesi

Rutin yüklenen kitosan nanopartiküllerinin reaktif oksijen türlerini (ROT) süpürme oranı DPPH yöntemiyle incelenmiştir (Blois 1958). Bu yöntemde, öncelikle 4

Ultraviyole görünür bölge (UV-Vis) spektrofotometresinde (UV1700 Pharma-Sec, Shimadzu, Japonya) alınan absorban değerleri ile oluşturulan kalibrasyon eğrisinden faydalanılmıştır (Kirik ve Kızılbey 2019). %EE için Eşitlik (1), %DL için Eşitlik (2)'de gösterilen formüller kullanılmıştır.

mg/mL R-Chi NPs₃ stok çözeltisi ve 100 µM DPPH çözeltisi hazırlanmıştır.

Stok çözeltiden farklı hacimlerde (50, 75, 100, 125, 150, 250 µL) alınarak üzerlerine 1000'er µL DPPH çözeltisi eklenmiş ve her bir çözeltinin son hacmi etanol eklenerek 1250 µL'ye tamamlanmıştır (Kontrol olarak kullanılan gruba nanopartikül çözeltisi eklenmemiştir). Farklı konsantrasyonlarda (0.2; 0.3; 0.4; 0.5; 0.6; 0.8 mg/mL) R-Chi NPs₃ içeren tüm test örnekleri karanlıkta ve oda sıcaklığında 30dk bekletilmiş ve ardından UV ölçümleri gerçekleştirilmiştir. UV ölçümü sonucunda 517 nm dalga boyundaki absorban değerleri kaydedilerek Eşitlik (3)'de yer alan formüle göre antioksidan aktivite yüzdeleri hesaplanmıştır.

$$\text{Antioksidan Etkinlik (\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100 \quad \text{Eşitlik (3)}$$

Eşitlik (3)'de A ve B sırasıyla; kontrol olarak kullanılan DPPH çözeltisinin ve örnekle 30 dk. muamele edilmiş DPPH çözeltisinin 517 nm'de göstermiş oldukları absorban değerlerini ifade etmektedir.

3. Bulgular

3.1. Enkapsülasyon Etkinliği (EE)

Enkapsülasyon etkinliği yüksek verimli olan nanopartiküllerin hazırlanması ile malzeme kaybı önemli miktarda azaltılmakta ve üretim maliyetinin düşmesi sağlanmaktadır (Kumar ve ark. 2013; Yeo ve Park 2004;). İyonik jelleşme yöntemi ile hazırlanan rutin yüklü kitosan nanopartiküllerine ait %EE sonuçları Tablo 1'de verilmiştir. R-Chi NPs₁, R-Chi NPs₂ ve R-Chi NPs₃ nanopartiküllerinin enkapsülasyon etkinlikleri sırasıyla %19.01, %39.95 ve %69.45 olarak hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar

literatüre uygun olarak (Budhian ve ark. 2007; Cun ve ark. 2011) nanopartiküle yüklenecek rutin miktarının artması ile %EE'nin de arttığını göstermektedir.

3.2. Etkin Yükleme Kapasitesi (DL)

Hazırlanan tüm NP'ler için %1.13 ve %66.14 arasında ilaç yükleme verimi elde edilmiştir. İyonik jelleşme yöntemi ile hazırlanan rutin yüklü kitosan nanopartiküllerine ait % ilaç yüklenme etkinliği sonuçları Tablo 1'de verilmiştir. R-Chi

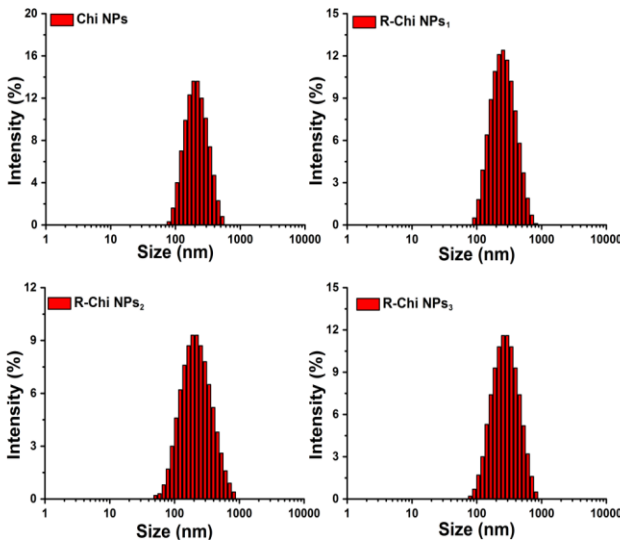
NPs₁ nanopartikülünün ilaç yüklenme verimi %1.13, R-Chi NPs₂ nanopartikülünün ilaç yüklenme verimi %4.71 ve R-Chi NPs₃ nanopartikülünün ilaç yüklenme verimi ise %66.14 olarak hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar nanopartiküle yüklenen rutin miktarının artması ile ilaç yükleme veriminin de arttığını göstermektedir. Benzer sonuçlar literatürde farklı moleküller ile yapılan çalışmalarda da elde edilmiştir (Hao ve ark. 2013).

Tablo 1. Nanopartiküllere Ait %EE, Z-Ave, PDI ve Zeta Potansiyel Değerleri

NP Adı	%EE	%DL	Z-Ave (nm)	PDI	Zeta Potansiyel (mV)
Chi NPs	-	-	183.2±0.36	0.245±0.005	+15.4±1.0
R-Chi NPs ₁	19.01	1.13	217.0±1.80	0.256±0.008	+15.6±0.7
R-Chi NPs ₂	39.95	4.71	210.9±1.20	0.370±0.008	+14.1±0.4
R-Chi NPs ₃	69.45	66.14	244.4±3.69	0.260±0.013	+13.7±0.4

3.3. Parçacık Boyutu Analizi

Rutin yüklü kitosan nanopartiküllerinin karakterizasyonunda ortalama parçacık boyutu için dinamik ışık saçılması yöntemi ve zeta potansiyeli ölçümü için elektroforetik ışık saçılma yöntemi kullanılmıştır. Tablo 1'de, hazırlanan tüm NP' lere ait Z-Ave, PDI ve zeta potansiyel değerleri verilmiştir. Deneyler 3 tekrarlı yapılmıştır. Üretilen nanopartiküllere ait boyut dağılımı sonuçları ise Şekil 2'de görülmektedir.



Şekil 2. Boş ve Rutin Yüklü Kitosan Nanopartiküllere Ait Boyut Dağılımı Grafikleri

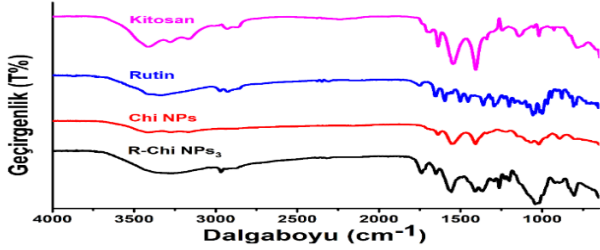
Tablo 1'de görüldüğü üzere üretilen boş Chi NPs'lerin ortalama boyut değerleri 183.2±0.36 nm, PDI değeri ise 0.245±0.005 olarak ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar boş Chi NPs'lerin monodispers boyut dağılımında olduğunu göstermektedir. Rutin yüklü nanopartiküllere ait boyut analizi sonuçları incelendiğinde ise rutin yüklenmesi ile partiküllerin ortalama boyut değerlerinin arttığı ve 210.9±1.2- 244.4±3.69 nm aralığında olduğu gözlemlenmiştir. Üretilen rutin yüklü nanopartiküllerin PDI değerlerinin ise 0.256±0.008- 0.370±0.008 arasında değiştiği ve monodispers boyut dağılımında olduğu gözlemlenmiştir.

Elde edilen enkapsülasyon etkinliği, rutin yükleme kapasitesi ve boyut dağılımları göz önüne alındığında R-Chi NPs₃ nanopartikülünün monodispers boyut dağılımında olduğu ve en yüksek rutin yükleme kapasitesine sahip olduğu görülmektedir. Bu nedenle bundan sonraki ileri analiz (FT-IR, salım, antioksidan aktivite) çalışmaları R-Chi NPs₃ nanopartikülleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.4. FTIR Analizi

Üretilen R-Chi NPs₃, rutin, kitosan ve boş Chi NPs kullanılarak karşılaştırmalı FT-IR analizi yapılmış ve elde edilen spektrum Şekil 3'te verilmiştir. Rutin yüklü nanopartiküllerin FTIR spektrumunda, kitosana ait amid bağının yarılmış piki 1658 cm⁻¹'de, C-O gerilmesi ve O-H bağlanmasına ait pikler ise sırasıyla 1153 cm⁻¹, 3498 cm⁻¹'de gözlemlenmiştir (Lawrie ve ark. 2007; Qi ve ark. 2004). Rutin molekülünün IR spektrumu incelendiğinde 3600-3200 cm⁻¹ arasında kuvvetli OH gerilmesi, 1745 cm⁻¹'de C=O kuvvetli karbonil bandı ve 1200-1020 cm⁻¹ arasında ise kuvvetli C-O-C gerilmesine ait karakteristik pikler

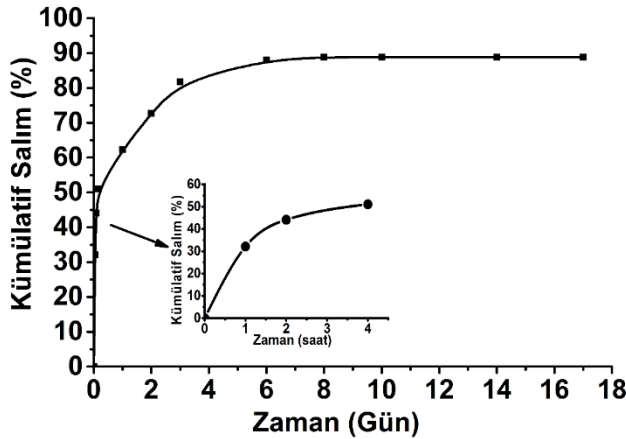
görülmektedir (Hooresfand ve ark. 2015). Rutin yüklü kitosan nanopartiküllerine ait FT-IR spektrumu incelendiğinde ise 1200-1260 cm^{-1} aralığında P=O bağına ait pik, 1200-1250 cm^{-1} aralığında ise C-O-C simetrik gerilimine ait pik görülmektedir. Nanopartiküllere ait spektrumda görülen pikler rutinün başarılı bir şekilde kitosan nanopartiküllerine yüklendiğini göstermektedir.



Şekil 3. Kitosan, Rutin, Chi NPs ve R-Chi NPs₃'e ait FTIR Spektrumu

3.5. R-Chi NPs₃ için In-vitro Salım

Rutin molekülünün *in-vitro* salım çalışması fosfat tamponunda (PBS, pH=7.4) 17 gün boyunca gerçekleştirilmiş ve elde edilen kümülatif salım grafiği Şekil 4'te verilmiştir. Kümülatif salım sonuçları incelendiğinde, 2. Saatte %44.12, 2. günde %72.7 ve 6. günün sonunda ise %85.2 oranında rutin salımı gerçekleştiği, daha sonrasında salım oranının azalarak kümülatif salımın sabitlenmeye başladığı görülmektedir. 17. günün sonunda ise %88.8 oranında rutin salındığı tespit edilmiştir.

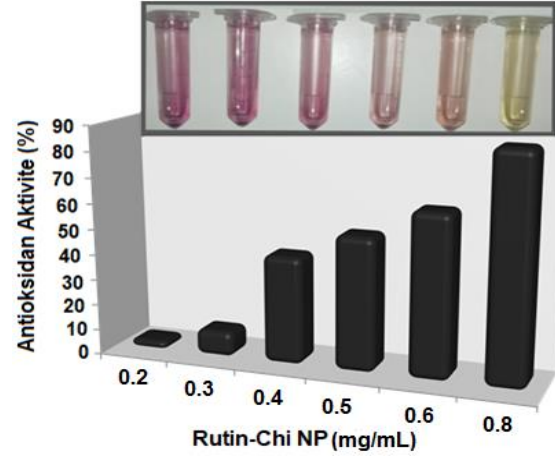


Şekil 4. R-Chi NPs₃'e Ait Kümülatif Salım Profili

3.6. Antioksidan Aktivite

R-Chi NPs₃ için yapılan antioksidan aktivite analizinde farklı konsantrasyonlarda (0.2; 0.3; 0.4; 0.5; 0.6 ve 0.8 mg/mL) R-Chi NPs₃ içeren çözeltilerin karşılaştırmalı olarak reaktif oksijen türevlerini süpürme yüzdeleri incelenmiş ve elde edilen antioksidan aktivite değerleri Şekil 5'te verilmiştir. Rutin yüklü nanopartikül konsantrasyonuna bağlı olarak rutin miktarı arttıkça

antioksidan aktivitenin de arttığı gözlenmiştir. En yüksek konsantrasyona sahip (0.8 mg/mL) R-Chi NPs₃ çözeltilinde antioksidan aktivite değeri %88.1 olarak bulunmuştur. Literatürde farklı konsantrasyonlarda serbest rutin molekülünün antioksidan aktivite değerleri 0.05 mg/ml için %11.6±2.1 ve 0.20 mg/ml için %26.2±1.8 olarak belirtilmiştir (Yang ve ark., 2008).



Şekil 5. Farklı Konsantrasyonlarda R-Chi NPs₃ İçeren Çözeltilere Ait Antioksidan Aktivite Grafiği

4. Sonuç

Bu çalışmada, antioksidan, antimikrobiyal ve şelatlayıcı özelliklere sahip olduğu bilinen ancak düşük biyoyararlanımı olan rutin molekülünün biyoyararlanımını arttırmak için iyonik jelleşme yöntemi kullanılarak rutin yüklü kitosan nanopartikülleri sentezlenmiş ve fizikokimyasal karakterizasyonları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen nanopartiküller arasından %69.45 enkapsülasyon etkinliğine sahip 244.4±3.69 nm boyutlu (PDI=0.260±0.013) R-Chi NPs₃ optimum nanopartikül olarak belirlenmiştir. Optimum nanopartikülün *in vitro* ortamda % kümülatif salım değeri 17. günün sonunda %88.8 olarak belirlenmiştir. Aynı nanopartikül kullanılarak DPPH yöntemi ile gerçekleştirilen antioksidan aktivite sonucunda 0.8 mg/mL konsantrasyondaki R-Chi NPs₃ nanopartikül çözeltilinin %88.1 oranında antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

Kontrollü salım yapabilecek, yüksek oranda etken molekül yükleme kapasitesine sahip sistemler hidrofobik moleküllerin ve özellikle flavonoidlerin taşınması için uzun zamandır araştırılan sistemlerdir. Bu sistemlerin tasarlanmasına yönelik çalışmalar, biyoyararlanımı düşük fakat organizma için faydalı olan flavonoidlerin etkilerini arttırmada kullanılarak özellikle fonksiyonel gıdaların ve ilaç/gıda takviyelerinin hazırlanmasında önemli birer basamak olacaktır.

Yazar katkıları:

Bu çalışmada; GB, deneysel çalışma, literatür araştırması ve yayın taslağının hazırlanması; ÖA, deneysel çalışma,

literatür araştırması ve yayın taslağının hazırlanması; DT, deneysel çalışma ve literatür araştırması; PPA, deneysel çalışma, analiz sonuçlarının yorumlanması ve yayın taslağının hazırlanması; KK, karakterizasyon sonuçlarının yorumlanması, grafik tasarımı, literatür araştırması ve yayının yazımı; SD, deneylerin tasarımı, araştırmanın yönlendirilmesi, sentez ve karakterizasyon analizlerinin sonuçlarının yorumlanması ve yayının yazımına katkı sağlamıştır.

Çıkar çatışması bildirimisi:

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

Kaynaklar

- Agrawal RD, Tatode AA, Rarokar NR, Umekar MJ. 2020. Polymeric micelle as a nanocarrier for delivery of therapeutic agents: A comprehensive review. *J Drug Deliv and Therapeutics*. 10(1-s): 191-195.
- Ananth DA, Rameshkumar A, Jeyadevi R, Jagadeeswari S, Nagarajan N, Renganathan R, Sivasudha T. 2015. Antibacterial potential of rutin conjugated with thioglycolic acid capped cadmium telluride quantum dots (TGA-CdTe QDs). *Spectrochim Acta A: Mol Biomol Spectrosc*. 138: 684-692.
- Bernkop-Schnürch A, Dünnhaupt S. 2012. Chitosan-based drug delivery systems. *Eur J Pharm Biopharm*. 81(3): 463-469.
- Bilia AR, Isacchi B, Righeschi C, Guccione C, Bergonzi MC. 2014. Flavonoids loaded in nanocarriers: an opportunity to increase oral bioavailability and bioefficacy. *Food and Nutr Sci*. 5(13): 1212-1227.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181(4617): 1199-1200.
- Budhian A, Siegel SJ, Winey KI. 2007. Haloperidol-loaded PLGA nanoparticles: systematic study of particle size and drug content. *Int J Pharm*. 336(2): 367-375.
- Cun D, Jensen DK, Maltesen MJ, Bunker M, Whiteside P, Scurr D, Foged C, Nielsen HM. 2011. High loading efficiency and sustained release of siRNA encapsulated in PLGA nanoparticles: quality by design optimization and characterization. *Eur J Pharm Biopharm*. 77(1): 26-35.
- Davidson RS, Kehoe G. 2015. Methods for modulating dissolution, bioavailability, bioequivalence and drug delivery profile of thin film drug delivery systems, controlled-release thin film dosage formats, and methods for their manufacture and use. US 8,999,372, 7Apr. 2015.
- De Queiroz Antonino RSC, Lia Fook BRP, De Oliveira Lima VA, De Farias Rached RÍ, Lima EPN, Da Silva Lima RJ, Peniche Covas CA, Lia Fook MV. 2017. Preparation and characterization of chitosan obtained from shells of shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone). *Mar Drugs*. 15(5): 141.
- Derman S. 2015. Caffeic acid phenethyl ester loaded PLGA nanoparticles: effect of various process parameters on reaction yield, encapsulation efficiency, and particle size. *J Nanomater*. 10: 1-12.
- Derman S, Kızılbey K, Akdeste ZM. 2013. Polymeric nanoparticles. *Sigma*. 31: 107-120.
- Ertugen E, Tunçel A, Yurt F. 2020. Docetaxel loaded human serum albumin nanoparticles; synthesis, characterization, and potential of nuclear imaging of prostate cancer. *J Drug Deliv Sci and Technol*. 55: 101410.
- Frutos MJ, Rincón-Frutos L, Valero-Cases E. 2019. Rutin. In: Nabavi SM, Silva SA (ed) *Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements*, 1st edn. Academic Press, London.
- Graefe EU, Witting J, Mueller S, Riethling AK, Uehleke B, Drewelow B, Pforte H, Jacobasch G, Derendorf H, Veit M. 2001. Pharmacokinetics and bioavailability of quercetin glycosides in humans. *J Clin Pharmacol*. 41:492-499
- Hao S, Wang Y, Wang B, Deng J, Liu X, Liu J. 2013. Rapid preparation of pH-sensitive polymeric nanoparticle with high loading capacity using electrospray for oral drug delivery. *Mater Sci and Eng: C*. 33(8): 4562-4567.
- Hooresfand Z, Ghanbarzadeh S, Hamishehkar H. 2015. Preparation and characterization of rutin-loaded nanophytosomes. *Pharm Sci*. 21(3): 145-151.
- Kim HP, Son KH, Chang HW, Kang SS. 2004. Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *J Pharmacol Sci*. 96(3): 229-245.
- Kirik T, Kızılbey K. 2019. Rutin yüklü PLGA nanopartiküller; farklı yöntemler kullanılarak sentezi ve karakterizasyonu. *Iğdır Üniv Fen Bil Enst Dergisi*. 9(2): 922-932.
- Kızılbey K. 2019. Optimization of Rutin-loaded PLGA nanoparticles synthesized by single-emulsion solvent evaporation method. *ACS Omega* 4(1): 555-562.
- Kreft I, Fabjan N, Yasumoto K. 2006. Rutin content in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) food materials and products. *Food Chem*. 98(3): 508-512.
- Kumar A, Mansour HM, Friedman A, Blough ER. 2013. *Nanomedicine in Drug Deliv*. CRC Press. Florida.
- Lawrie G, Keen I, Drew B, Chandler-Temple A, Rintoul L, Fredericks P, Grøndahl L. 2007. Interactions between alginate and chitosan biopolymers characterized using FTIR and XPS. *Biomacromolecules*. 8(8): 2533-2541.
- Nagarwal RC, Kant S, Singh P, Maiti P, Pandit J. 2009. Polymeric nanoparticulate system: a potential approach for ocular drug delivery. *J Controlled Release*. 136(1): 2-13.
- Nguyen TA, Liu B, Zhao J, Thomas DS, Hook JM. 2013. An investigation into the supramolecular structure, solubility, stability and antioxidant activity of rutin/cyclodextrin inclusion complex. *Food Chem*. 136(1): 186-192.
- Peniche H, Peniche C. 2011. Chitosan nanoparticles: a contribution to nanomedicine. *Polym Int*. 60(6): 883-889.
- Pilorget A, Berthet V, Luis J, Moghrabi A, Annabi B, Béliveau R. 2003. Medulloblastoma cell invasion is inhibited by green tea (-) epigallocatechin-3-gallate. *J Cell Biochem*. 90(4): 745-755.

- Qi L, Xu Z, Jiang X, Hu C, Zou X. 2004. Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles. *Carbohydr Res.* 339(16): 2693-2700.
- Sharma S, Ali A, Ali J, Sahni JK, Baboota S. 2013. Rutin: therapeutic potential and recent advances in drug delivery. *Expert Opin Investig Drugs.* 22(8): 1063-1079.
- Sun W, Mao S, Wang Y, Junyaprasert VB, Zhang T, Na L, Wang J. 2010. Bioadhesion and oral absorption of enoxaparin nanocomplexes. *Int J Pharm.* 386(1-2): 275-281.
- Yang J, Guo J, Yuan J. 2008. In vitro antioxidant properties of rutin. *LWT.* 41(8): 1060-1066
- Yeo Y, Park K. 2004. Control of encapsulation efficiency and initial burst in polymeric microparticle systems. *Arch Pharm Res.* 27(1): 1.
- Zandi K, Teoh BT, Sam SS, Wong PF, Mustafa MR, AbuBakar S. 2011. In vitro antiviral activity of fisetin, rutin and naringenin against dengue virus type-2. *J Med Plants Res.* 5(23): 5534-5539.