

## **Jelatin Süksinat Kullanılarak Koaservasyonla Mikrokapsülleme Koşullarının ve Bu Mikrokapsüllerden Sulfizok-sazolun Çıkış Hızının İncelenmesi.**

Investigation Of Microencapsulation By Means Of Coaservation Using Gelatin Succinate and The Rate Of Release Of Sulfisoxazole From That Kind Of Microcapsules

Enver İZGÜ\* Tanver DOĞANAY\*

Etken maddeleri mikrokapsülleme, çok kısa bir geçmişi olmasına rağmen gerek ilaç teknolojisinde gerekse diğer endüstriyel alanlarda geniş ölçüde uygulanmaktadır. Mikrokapsülleme yöntemi ile çok küçük katı partiküller ve sıvı damlacıklar bireysel olarak amaca uygun bir kabukla kaplanabilirler. Genellikle büyüklükleri 1 ilâ 1000 mikrometre arasındaki partiküller bu yöntemle kaplanabilmektedir (13). Kabuk maddesi olarak, jelatin, arap zamkı gibi doğal polimerler yanında, sentetik polimerler, mumlar da kullanılmaktadır (7, 13, 27). Kaplayıcı madde genellikle kapsül ağırlığının % 1 ilâ % 80 i arasındadır (16).

Mikrokapsülleme yöntemi ile kaplanan madde, çevre etkisinden, diğer maddelerin fiziksel ve kimyasal etkilerinden korunurlar. Mikrokapsülleme sayesinde etken maddenin uçuculuğu, yanıcılığı, kokusu, lezzeti istenilen şekilde değiştirilebilmekte ve kontrol edilebilir hale getirilmektedir (7, 15, 16).

Etken maddeyi dışarıya verme, kapsül kabuğunun mekanik bir baskı ile parçalanması ile, uygun ortamda belirli koşullarda çözünmesiyle, sıcaklık etkisiyle, yahut da, etken maddenin uygun ortamda kabuktan diyalizlenmesiyle olmaktadır (7, 13, 15).

*Ecz.Tanver Doğanay'ın "Jelatinin Süksinat Türevi Kullanılarak Koaservasyonla Mikrokapsülleme Koşullarının ve Bu Mikrokapsüllerden Etken Maddenin Çıkış Hızının İncelenmesi" isimli Doktora Tezinin özetidir. Sınav Tarihi: Haziran 1975*

Redaksiyona verildiği Tarih: 20 Ocak 1976.

\* Farmakognози ve Galenik Farmasi Kürsüsü, Eczacılık Fakültesi, Ankara Üniversitesi

Mikrokapsülleme üzerinde birçok patentli yöntemler oluşturulmuştur. Mevcut patent ve bilimsel literatürde koaservasyon yöntemi ile jelatin mikrokapsüllerin yapımında, bilhassa akıcı toz haline getirmede birçok zorluklarla karşılaşıldığı bildirilmektedir.

Bu çalışmada B tipi jelatin ve bu jelatinin amin gruplarının süksinik asit anhidriti vasıtasıyla kapatılmasından elde edilen türevi kullanılarak, mikrokapsül imaline çalışıldı. Bu türevle literatürde şimdiye kadar denenmemiş olan basit koaservasyon ve faz ayrışması koşulları araştırılıp mikrokapsülleme için uygun yöntemler bulunmak istendi. Bu çalışmada jelatin ve jelatin türevleri ile mikrokapsül yapımında göze çarpan durumlar ve elde edilen mikrokapsüllerin çeşitli özellikleri ve etken maddeyi verme yetenekleri incelenmiş, etken madde olarak da sulfisoksazol seçilerek bu maddelerin biyolojik etki süresi üzerinde uzatıcı bir değişiklik yapılması amaçlanmıştır.

#### MATERYAL ve YÖNTEM

**Kullanılan Araç ve Gereçler:** Spektrofotometre (Pye Unicam Sp 800), pH metre (Beckman H4), mikroskop (Nikon S-Ke), termostatlı benmari WEB-MLW, Type 3230, Duyarlık  $\pm 0.1^\circ\text{C}$ ), termostatlı ısıtıcı (B. Braun Melsun duyarlık  $\pm 0.1^\circ\text{C}$ ), mekanik karıştırıcı (Heidolph RZR 1, koaservasyon kabı (Şekil 1), peristaltik pompa (WAB LP - A Basel), çözünme hızı tayin hücresi (Filtreler arası uzaklık 10 cm, küçük çap 1.6 cm., büyük çap 2.6 cm, Şekil 3)

**Kullanılan Maddeler:** Jelatin (Kemikten elde edilmiş, B tipi jelatin, Bloom numarası 240 dan fazla, nem oranı % 12.3, Rousset-Kuhlmann), sodyum sülfat susuz (Merck), sulfizoksazol (Gant-risin Roche), izopropanol (Merck), glutaraldehid çözeltisi (Merck % 25), formaldehid çözeltisi (Merck % 37), potasyum alüminyum sülfat (Riedel, 12 mol sulu), aseton (Merck), aerosil (Degussa Standard 200), süksinik asit anhidriti (Riedel), kation değiştirici (Amberlite IR 120, Serva Entwicklungslabor Heidelberg), anyon değiştirici (Merck Ionenaustauscher III).

#### A. JELATİN TÜREVİNİN ELDE EDİLiŞİ:

Jelatin türevlerinin sentezi, çeşitli patentlerde açıklanmıştır (11, 22, 28, 29). Bu yöntemlere göre, ortamın pH sı devamlı kontrol

altında sodyum hidroksit çözeltisi ile 9.0-10.5 arasında tutularak dikarbosilik asit anhidriti veya halojenürleri, jelatinin serbest amin gruplarına peptit bağları yaparak bağlanmaktadır.

100 g susuz jelatinle % 15 a/a lık jelatin çözeltisi hazırlanıp, 40 °C deki çözeltinin pH sı % 10 luk sodyum hidroksitle 10.0 a ayarlandı. Yeni distillenmiş kuru asetonun 100 ml si içinde 10 g süksinik asit anhidriti çözülüp, su banyosu içinde karıştırılmakta olan jelatin çözeltisine damla damla ilave edildi. Ortamın pH sı NaOH çözeltisi ile 9.0-10.5 arasında tutularak, süksinik asit anhidritinin tamamı ilave edildi. 30 dakika süren bu işlemden sonra 10 dakika daha karıştırılmaya devam edildi. Karıştırmaya ara vermeden, 2 N sülfürik asitle sistemin pH sı 4.0 e getirildi. Oluşan jelatin türevi % 20 a/a sodyum sülfat çözeltisi ile çöktürülüp sıvı kısmından ayrıldı. Dipteki kısım 10 °C civarında jelleştirildikten sonra üstteki yumuşak kısım ayrıldı. Böylece ortamdaki inorganik iyonların büyük kısmı ve reaksiyona girmemiş jelatinin, jelatin türevinden ayrılması sağlandı.

Alt kısımda katılaşmış haldeki jelatin türevi rendelendi ve 0 °C deki su ile yıkanıp kısmen tuzundan kurtarıldı. Bu haldeki jelatin türevi bir miktar su ile 40 °C de çözüldü. Çözelti herbiri ile 5 dakika karıştırılmak, tülbenkten süzülme üzere 100 g anyon değiştirici sonra 100 g kation değiştirici t reçineden geçirildi. Bu işlem 4 kez tekrarlanarak anyon ve kationundan kurtarıldı.

Buzdolabında soğumaya bırakılıp jel haline getirilen kütle, delikli süzgeç üzerinde karıştırılarak fazla suyundan ayrılması sağlandı. Bu beyaz kütle arı su içinde dağıtılıp liyofilizasyon ile\* dondurularak kurutuldu. Bu ürün suda çözülünce pH sı 4.0 olmaktadır ki, bu pH jelatin türevinin izoionik noktasıdır.

## B. JELATİNİN İZOELEKTRİK NOKTASININ TAYİNİ:

% 0.5 a/a 500 g jelatin çözeltisi hazırlanıp, pH sının 5.8 olduğu saptandı. Jelatin çözeltisinin pH sı 1 N ve 0.1 N HCl ile 5.2 ye ayarlandı ve 10 ar ml çekilip iki tüpe konuldu. Kalan çözeltinin pH sı 5.1 e ayarlanıp, tekrar 10 ar ml çekilip, iki deney tüpüne konuldu. Bu şekilde 0.1 pH aralıklarla 5.2 ile 4.7 arasında pH da iki seri jelatin çözeltisi hazırlandı. Birinci serideki tüplere 1 er ml izopropanol ilave

\* Ankara Kızılay Kan Merkezinde yapılmıştır.

edildi. Her iki seri tüplerin ağızları kapatılarak, buzdolabında 7 °C de 12 saat bekletildi. Daha sonra tüpler dışarı alınıp incelendi. Her iki seride pH sı 5.0 olan jelatin çözeltileri diğerlerine göre daha bulanıktı. Böylece izolektrik noktasının 5.0 olduğu saptandı.

Ayrıca 1/10 h/h izopropanol taşıyan pH 5.0 deki çözelti, diğer bütün çözeltilere nazaran daha bulanık ve üstte saydam bir tabaka bırakarak çökelmiş halde olduğu için diğer tüplerden daha kolaylıkla ayırt edilebiliyordu. Böylece izopropanol taşıyan serideki izoelektrik noktasının saptanmasının, diğer seridekine nazaran daha kolay ve daha belirgin olduğu da kanıtlanmış oldu. Bu yöntem, tarafımızdan geliştirilmiş ve literatürde verilen yöntemle göre daha iyi sonuç alınmıştır.

### C. JELATİNDE NEM MİKTARI TAYİNİ:

10.00 g jelatin tartılıp 105 °C de, etüvde, sabit ağırlığa gelene kadar (12 saat) kurumaya bırakıldı. Bulunan ağırlıktan nem oranının % 12.3 olduğu saptandı.

### D. OPTİMUM MİKROKAPSÜLLEME KOŞULLARININ TAYİNİ:

#### 1- OPTİMUM KOASERVASYON VE MİKROKAPSÜLLEME İÇİN ÇALIŞMA ALANININ BELİRLENMESİ:

Koaservatların oluşması için sistemde bulunması gereken komponentlerin oranlarının saptanması için belirli oranda jelatin içeren çözeltiye % 20 lik sodyum sülfat çözeltisi ilave ederek 40 °C de bulanıklığın başlangıcı (durum I) gözlemlendi. Bu işlemler jelatinle çalışmada, PH 5.8 (pH ayarlanmadan), 5.2 de 4.0 da, jelatin türevi ile çalışmada ise 4.0 (pH ayarlanmadan) yapıldı.

5.00 g jelatin veya jelatin türevi 250 ml lik uzun tip bir beherde 35-45 ml 40 °C deki su da çözüldü, üzerine karıştırılarak, % 20 lik Na<sub>2</sub>SO<sub>2</sub> çözeltisi damla damla ilave edildi. Bulanıklık görülmeye başlandığında bu sistemin ağırlığından, (içerdiği tuz ve jelatin miktarından) sistemdeki komponentlerin yüzdeleri bulundu. Daha fazla tuz çözeltisi ilavesi ile, bulanık haldeki sistem, sedef gibi bir görünüm kazanmaya başladı ve sonra da tanecikli bir görünüm aldı (Durum II). Bu halde sistemdeki komponent yüzdeleri yukarıdaki gibi hesaplandı. Sisteme su ilavesi ile tekrar bulanıklık başlangıcı ve taneciklenme durumları sağlandı. Bu haldeki sistemlerin komponent yüzdeleri hesaplandı. Bu işlem, sistem belirli bir dilüsyona gelene kadar devam etti. Her seferinde komponent yüzdeleri hesaplandı.

## 2- OPTİMUM MİKROKAPSÜLLEME İÇİN GEREKLİ KOMPONENT YÜZDELERİNİN SAPTANMASI:

İlk deneylerle çalışma alanları belirlendikten sonra, optimum koaservat oluşumu için gerekli koşullar araştırıldı. Bu çalışmalarda kapalı özel koaservasyon kabından yararlanıldı. Çalışma alanlarının belirlenmesi için yapılan ön çalışmalardan yararlanılarak, % 3, % 4 ve % 5 jelatin veya jelatin türevi içeren sistemlerde ortamda sulfizoksazol olduğu halde kaplama ön çalışmaları yapıldı. Bu yüzdelerde kabuk maddesi içeren sistemde optimum kaplama için gerekli sodyum sülfat yüzdeleri, mikrokapsüllerin mikroskopik görünüşünün ve ortamın durumuna göre saptandı. Komponent yüzdelerinin hesaplanmasında, sulfizoksazol - komponent olmadığından - hesaba katılmadı.

### 2 -a. Komponent Oranlarının Saptanmasında Jelatinle Çalışma:

Koaservasyon bitiminde % 5, % 4, % 3 jelatin ve aynı oranlarda sulfizoksazol taşıyan sistemler hazırlandı.

Koaservasyon ortamında yaklaşık % 5 jelatin içeren sistemle çalışma için, 10.00 g saf jelatin 40 ml suda şişirildi. 10.00 g sulfizoksazol 4-5 °C deki 30 ml suda dağıtılıp, vakumda havasından kurtarıldı. Sulfizoksazolün sudaki süspansiyonu şişmiş jelatin üzerine eklenerek 110.00 g a tamamlandı. Damlatma hunisindeki 125.00 g % 20 lik sodyum sülfattan 40 °C deki sistem üzerine damlatılarak koaservasyon işlemi yapıldı.

Koaservasyon ortamında yaklaşık % 4 jelatin içeren sistemle çalışmak için, 8.00 g jelatin ve 8.00 g sulfizoksazol ile 108.00 g lık, koaservasyon bitiminde yaklaşık % 3 jelatin içeren sistemle çalışmak için ise 6.00 g jelatin ve 6.00 g sulfizoksazol taşıyan 106.00 g lık sistemler hazırlandı; işleme yukarıdaki gibi devam edildi.

### 2-b. Komponent Oranlarının Saptanmasında Jelatin Türevi İle Çalışma:

Koaservasyon bitiminde yaklaşık % 5, % 4, % 3 jelatin türevi ve aynı oranlarda sulfizoksazol taşıyan sistemler hazırlandı.

Koaservasyon ortamında yaklaşık olarak % 5 jelatin türevi içeren sistemle çalışma:

10.00 g jelatin türevi 4-5 °C deki suda dağıtılıp, su ile 100.00 g a tamamlandı; 10.00 g sulfizoksazol 50.00 g su içinde dağıtılarak vakumda havasından kurtarıldı. Her iki sistem karıştırılarak 160.00 g a tamamlandı

Koaservasyon bitiminde % 4 jelatin türevi taşıyan sistem ise, aynı şekilde 8.00 g jelatin ve 8.00 g sulfizoksazol ile 158.00 g a tamamlanarak elde edildi.

% 3 jelatin türevi taşıyan sistem 156.00 g olup, 6.00 g jelatin ve 6.00 g sulfizoksazol içermekteydi.

Her üç sisteme de % 20 lik sodyum sülfat ilave edilerek 40 °C de koaservasyon işlemine başlandı. Böylece koaservasyon bitiminde yaklaşık olarak % 5, % 4, % 3 jelatin taşıyan sistemde koaservasyon bitim sınırları saptandı.

### E- MİKROKAPSÜL YAPIMI:

Kabuk maddesi olarak B tipi jelatin ve jelatin türevi koaservasyon sistemine göre % 5 ve % 3 oranlarda kullanıldı. Çalışmalarda etken madde ile kabuk arasındaki oran 1/1 idi. (Yapım çizelgesi I, II)

### 1- KOASERVASYON İŞLEMİ:

Koaservasyon işlemi, özel olarak yaptırılan apareyde 40 ± 0.1 °C de yapıldı (Şekil 1). Mikrokapsül yapımında optimum koaservasyon işlemi için faz diagramı çalışmalarında saptanan oranda sodyum sülfat kullanıldı.

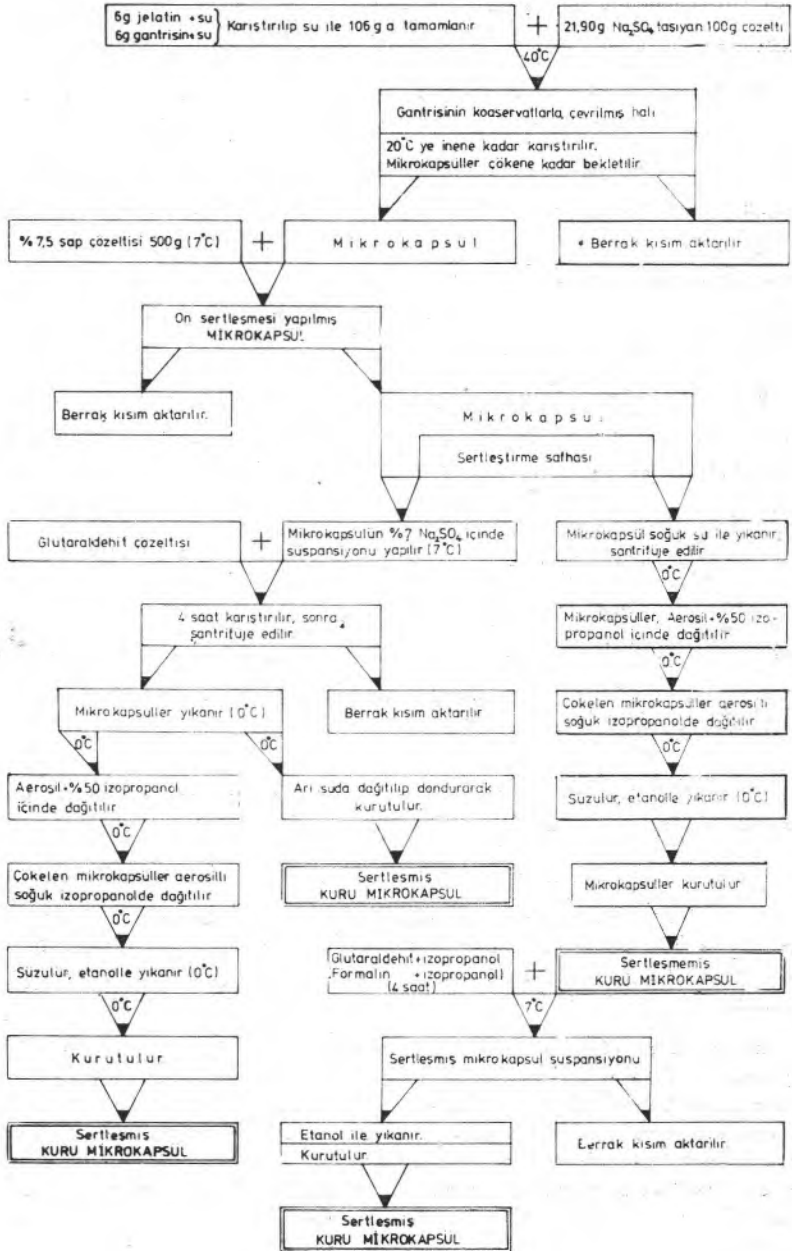
### 1-a. Kabuk maddesi olarak jelatin kullanılarak yapılan koaservasyon işlemi:

#### 1-aa. % 5 jelatinle çalışma:

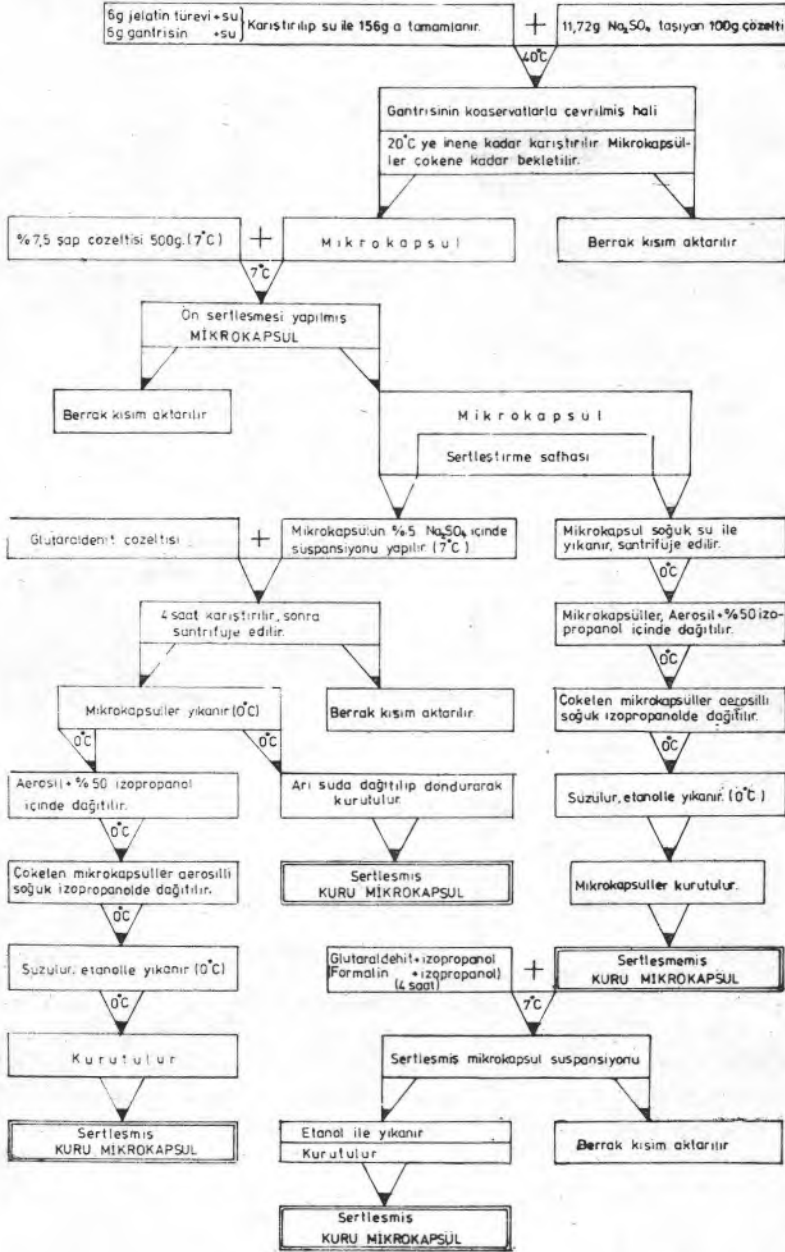
10.00 g saf jelatin, koaservasyon kabında 50 ml soğuk distile su içinde dağıtılıp şişmeye bırakıldı. 10.00 g sulfizoksazol 40 ml kadar suda dağıtılıp, vakumda taneciklerin adsorbe ettikleri havadan kurtarıldı ve jelatinli sisteme ilave edilip 110.00 g a tamamladı.

Damlatma hunisinden, 19.42 g sodyum sülfat içeren 100 g çözelti 40 °C ± 0.1 derecedeki jelatin ve sulfizoksazol taşıyan ve 700 devir/dakika hızda karıştırılmakta olan sistem üzerine damla damla ilave edildi. 30-40 dakika içinde 100 g lk çözelti ilavesi bitince 15 dakika daha aynı hızla karıştırıldı. Karıştırmaya ara vermeden koaservasyon kabı su banyosundan dışarı alınıp aynı hızla karıştırmaya devamla sıcaklığın 27-28 °C ye kadar düşmesi sağlandı ve 10-15 dakika haline bırakıldı. Bu halde mikrokapsüller, ortamın viskozitesinden dolayı çökmemektedir. Bu haldeki sistemde, mikrokapsüllerin çeperlerinin katılaştırılması işlemine geçildi.

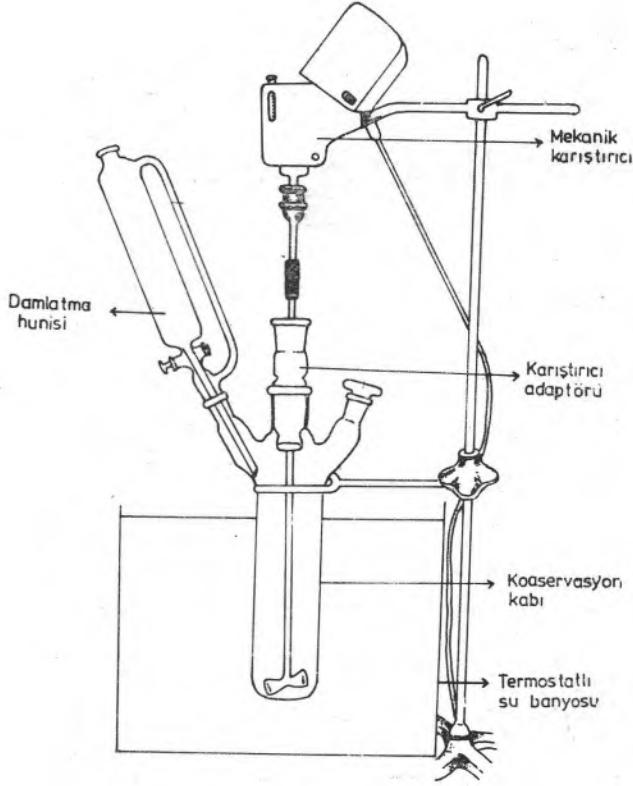
Çizelge I Jelatin mikrokapsüllerin elde edilisi



Çizelge II Jelatin türevi mikrokapsüllerin elde edilışı







Şek. 1. Koaservasyon işlemi

### 1-ab. Koaservasyon sisteminde % 3 jelatinle çalışma:

6.00 g saf jelatin ve 6.00 g sulfizoksazolle 1-aa daki işlem aynen uygulanarak su ile 106.00 g a tamamlanarak sistem hazırlandı. Optimum koaservasyon için 21.90 g olarak saptanmış olan sodyum sülfat, damlatma hunisinde çözülüp 100.00 g a tamamlandı. Aynen 1-aa tamamlandı. Aynen 1-aa daki gibi koaservasyon işlemi yapıldı ve karıştırmaya devamlı sıcaklığın 20 °C ye kadar düşmesi sağlandı. 15-20 dakika haline bırakıldığı zaman mikrokapsüller - ortamın viskozitesi çökelmelerine engel olmadığından- dibе çökdiler. Üstteki saydam sıvı tabaka (denge sıvısı) dikkatlice aktarılarak kalan mikrokapsüllerin çeperlerinin katılaştırılması işlemine geçildi.

### 1-b. Kabuk maddesi olarak jelatin türevi kullanılarak yapılan Koaservasyon İşlemi:

#### 1-ba. Koaservasyon sisteminde % 5 jelatin türevi ile çalışma:

6.00 g jelatin türevi ve 6.00 g sulfizoksazol kullanılıp, 1-ba daki işlem aynen uygulanarak sistem su ile 156.00 g a tamamlandı. Optimum koaservasyon için faz diagramı çalışmalarında 11.72 g olarak saptanmış olan sodyum sülfat, damlatma hunisi içinde çözülüp, 50.00 g a tamamlandı. Aynen 1-ba daki işleme devam edildi.

Sistem 20 °C ye kadar karıştırılarak soğutulduktan sonra, karıştırmaya son verilip, kendi haline bırakıldığı zaman, mikrokapsüller çökmeye başladı. Üsteki saydam sıvı aktarıldıktan sonra, çöken mikrokapsüllerin katılaştırılması işlemine geçildi.

#### 1-bb. Koaservasyon sisteminde % 3 jelatin türevi ile çalışma:

10.00 g saf jelatin türevi koaservasyon kabında 100 ml 4-5 °C deki su içinde dağıtılıp derhal vakumda havasından kurtarıldı. 10.00 g sulfizoksazol 40 g su içinde dağıtılıp vakumda havasından kurtarıldı. Karışım koaservasyon kabındaki jelatin türevi çözeltisine ilave edilip 160.00 g a tamamlandı ve koaservasyon kabı 40 °C deki su banyosuna yerleştirildi.

10.74 g sodyum sülfat damlatma hunisi içinde çözüldü ve 50 g a tamamlandı. Koaservasyon kabı içindeki sistem sabit hızla (700 devir /dakika) karıştırılırken sodyum sülfat çözeltisi damla damla ilave edildi, sodyum sülfat çözeltisi bitince aynen jelatinle çalışmada olduğu gibi karıştırmaya devamla sistemin sıcaklığının 20 °C ye inmesi sağlandı. Koaservasyon kabının dibine çökelen mikrokapsüllerin katılaştırılmaları işlemine geçildi.

## 2- KABUĞUN SERTLEŞTİRİLMESİ:

### 2-a. Kabuğun şap çözeltisi içinde ön sertleştirilmesi:

Koaservasyon işleminden sonra jelatin ve jelatin türevi ile yapılan mikrokapsüller denge sıvısı aktarıldıktan sonra (% 5 jelatin taşıyan sistemde denge sıvısı aktarılamıyor) 7 °C ye kadar soğutulmuş ve pH sı sodyum hidroksit çözeltisi ile 4.0 e çıkarılmış olan 500 ml lik % 7.5 luk şap çözeltisi içinde bir manyetik karıştırıcı yardımı ile dağıtıldı. Buz dolabına alınan sistem 7 °C de dört saat süre ile karıştırıldı. Karıştırmaya son verildikten sonra, mikrokapsüllerin dibe çökelmeleri için sistem 15 dakika dinlendirildi. Üstteki saydam sıvı aktarıldıktan sonra kalan mikrokapsüllerin, uygulanacak yöntem göre, glutaraldehidle sertleştirme veya sertleştirmeden yıkayarak tuzlarından arıtma işlemine geçildi.

### 2-b. Kabuğun aldehidlerle tamamen çözünmez hale getirilmesi:

Jelatin ve jelatin türevi ile yapılmış mikrokapsüller iki şekilde sertleştirildi.

2-ba. Sulu ortamda glutaraldehidle sertleştirme: Şapla ön sertleştirilmesi yapılmış mikrokapsüllerin üstündeki berrak şap çözeltisi aktarıldı. Mikrokapsüller 7°C ye kadar soğutulmuş 500 ml % 7 (jelatin mikrokapsüller için) veya % 5 (jelatin türevi mikrokapsüller için) sodyum sülfat çözeltisi içinde dağıtıldı. Bu mikrokapsül süspansiyonu içinde glutaraldehidin % 25 lik çözeltisinden 3 ml ilave edilerek 4 saat boyunca buz dolabında manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırıldı. Böylece mikrokapsüllerin çeperleri sertleştirilerek suda çözünmez hale getirildi.

2-bb. İzopropanollü ortamda formaldehid veya glutaraldehidle sertleştirme: Jelatinle ve jelatin türevi ile yaptığımız mikrokapsüller, aldehidle sertleştirilmeden toz haline getirildi. Bu mikrokapsüllerin bir kısmı izopropanol-formol karışımında veya izopropanol-glutaraldehid karışımında sertleştirildi.

Formol: İzopropanol (8:32) karışımından 80 ml alınıp 7°C ye kadar soğuması sağlandı. Karışım üzerine 8.00 g mikrokapsül ilave edilip, 4 saat boyunca buz dolabında bir manyetik karıştırıcı yardımı ile karıştırıldı. Biraz dinlendirildikten sonra üstteki sıvı aktarılıp, süzgeç kağıdı üzerinde etanol ile yıkandı ve kurutuldu.

% 25 glutaraldehid - İzopropanol (8:32) karışımından 80 ml alınıp 7°C ye kadar soğuması sağlandı. Bu karışımla 8.00 g mikrokapsül aynen yukarıdaki şekilde işleme tabi tutuldu.

### 3- MİKROKAPSÜLLERİN TUZLARINDAN ARITILMASI:

Şap veya sodyum sülfat çözeltisi içinde çöken mikrokapsüller alınıp, 0°C civarındaki su ile yıkanıp santrifüje edildi. Yıkama ve santrifüleme işlemi 5 defa tekrarlandı.

### 4- MİKROKAPSÜLLERİN KURUTULUP AKICI TOZ HALİNE GETİRİLMELERİ:

#### 4-a. Mikrokapsüllerin dehidratasyon yoluyla kurutulup toz haline getirilmesi:

Yıkanan mikrokapsüller, içinde 100 mg aerosil taşıyan 0°C deki 50 ml % 50 h/h lik izopropanol içinde karıştırılarak dağıtıldılar. Bu akıcı dispersiyon sistemi, manyetik karıştırıcı ile karıştırılmakta olan

0 °C deki 50 ml lik izopropanol üzerine ilave edildi. Biraz dinlendirilince çöken mikrokapsüller, içinde 250 mg aerosil taşıyan 0 °C deki 100 ml izopropanol içinde hızla karıştırılarak dağıtıldılar. Buz dolabında 10 dakika karıştırmadan sonra bu sistem kaba süzgeç kağıdından süzüldü. 0 °C deki 50 ml alkolle yıkanarak kurumaya bırakıldı. Oda sıcaklığında 6 saat kurumaya bırakılan mikrokapsüller etüvde 60 °C sıcaklıkta 2 saat daha kurtuldu.

#### **4-b. Mikrokapsüllerin dondurulup kurutulma işlemi (kryodesikasyon yöntemi) ile toz haline getirilmesi:**

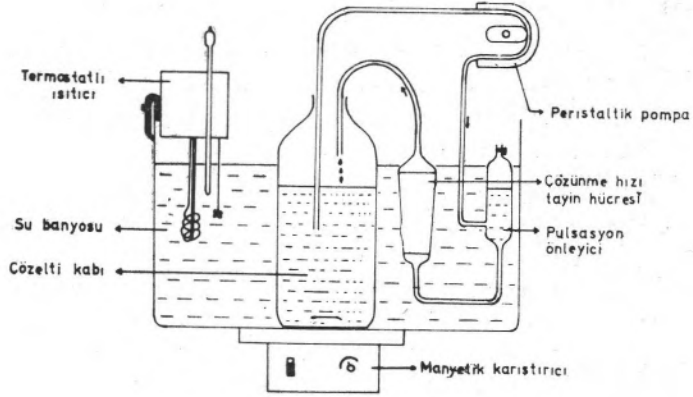
Yıkayıp tuzlarından arıtılan mikrokapsüller 500 ml lik özel serum şişeleri içinde 0 °C deki arı suda dağıtılıp derhal dondurularak liyofilizasyon cihazında kurutuldu.

#### **G- MİKROKAPSÜLÜN İÇERDİĞİ ETKEN MADDE ORANININ SAPTANMASI:**

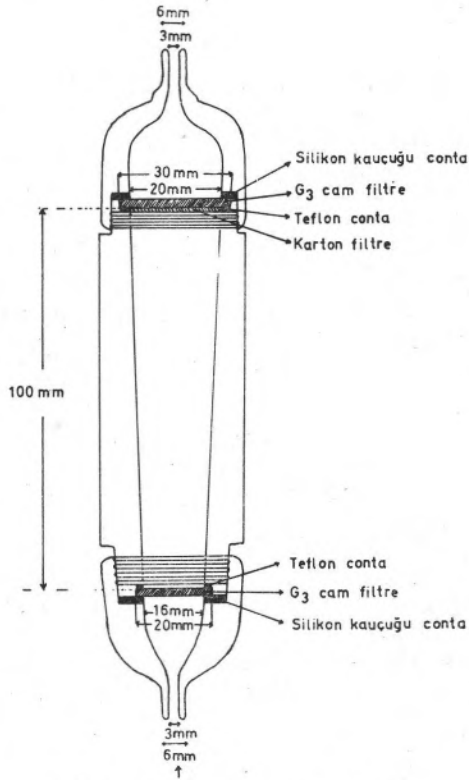
35.0 ml hidroklorik asit (% 37) 500 ml lik bir balon jofede 35 ml su ile karıştırılıp 400 mg mikrokapsül konularak 60 °C lik su banyosunda 30 dakika karıştırıldı. Böylece gerek kabuk gerekse sulfizok-sazolün çözülmesi sağlandı. Çözelti soğuduktan sonra 500 ml ye tamamlanıp, 10 defa seyreltildi. Litresinde 7 ml hidroklorik asit (% 37) taşıyan çözeltideki sulfizoksazol miktarı 270 nm de spektrotometrik olarak saptandı. Buradan hareketle mikrokapsüldeki sulfizok-sazolün yüzdesi hesaplandı. Her bir mikrokapsül çeşidi için aynı deneyler yapıldı.

#### **H- MİKROKAPSÜLDEN ETKEN MADDE ÇIKIŞI VE ÇÖZÜNME HIZININ TAYİNİ:**

İçine termostatl bir ısıtıcı daldırılmış su dolu 5 litrelik bir beher, sıcaklığı sabit tutan bir su banyosu olarak kullanıldı. Bu su banyosuna çözelti deposu olarak kullanılan 500 ml lik kauçuk kapaklı bir serum şişesi, çözünme hücresi ve pulsasyonu önleme kabı yerleştirildi. Dakikada 30-200 devir arasında çalışan motora bağlı iki katlı bir peristaltik pompa, çözücü akımını sağlayan sistem olarak kullanıldı (Şekil 2, 3).



Şek. 2. Çözünme hızı tayin sistemi.



Şek. 3. Çözünme hızı tayin hücresi.

Sistemdeki bağlantılar için cidar kalınlığı 2 mm olan silikon borular kullanıldı. Hücreden gelen çözelti ile depodaki çözeltinin iyice karışması için bir manyetik karıştırıcıdan yararlanıldı. Peristaltik pompa çözünme hücresinden dakikada 33 ml sıvı gönderecek şekilde ayarlandı (Böylece sistemdeki toplam çözücü miktarı olan 500 ml çözeltinin 15 dakikada devir etmesi sağlandı).

500 mg sulfizoksazol taşıyan miktarda mikrokapsül tartılıp çözünme hücresine konuldu. Üzerine özel filtre kağıdı ve çözünme hücresinin cam filtresi takılıp kapatıldı. 37 °C deki su banyosuna yerleştirildi ve alet çalıştırıldı. 5, 7.5, 10, 15, 30, 45, 60'ncü dakikalarda birer ml numune çekilip, çözücü (% 0.7 h/h HCl) ile 10 defa seyreltilerek spektrofotometrede 270 nm dalga boyunda miktar tayini yapıldı.

#### SONUÇ VE TARTIŞMA

##### **A- Kabuk Maddesiyle Çalışmalarda Elde Edilen Bulgular:**

Jelatinin amin gruplarının kapatılması ile elde edilen türevin hidrofilik özelliği daha azdır. Bulgularımıza göre, bu türev sodyum sülfat çözeltisi ile daha kolay çöktürülebilmektedir.

Eğer bir makromolekül - jelatin, arap zamkı gibi - heterodispers özellikte ise, tuz çözeltisi veya çözünmeyi azaltan başka bir sıvı ilavesi ile büyük moleküllu olan fraksiyonu daha kolay ve çabuk çökmekte, küçük moleküllu olanlar ise daha zor çökmektedir. Bu durum koaservasyon koşulları ile çok yakından ilgilidir. Çünkü heterodispers özellikte olan jelatin veya jelatin türevinin molekül ağırlığının dağılma alanı ne kadar az ise, moleküllerin faz ayrışma ve çöktürülebilme özellikleri de birbirine o kadar benzer olacaktır. Bu yüzden molekül ağırlığı dağılım alanı olanaklar ölçüsünde dar olmalıdır.

Koaservasyonda, belirli tuz konsantrasyonunda büyük moleküller kolayca koaservat oluşturdıkları halde, küçük moleküller henüz çözelti halinde olacaklardır. Böylece hem iyi kaplanmamaya hem de toz haline getirmede yapışmalara yol açmakta, mikrokapsüller akıcı olmamaktadır.

Küçük molekülü olanların koaservat oluşturması için yeterli miktarda tuz çözeltisi ilave edilince de, büyük moleküllerden oluşmuş mikrokapsüller birbirleri ile birleşip (coalecence) büyük agre- lar halinde mikrokapsülleme anında çökmektedirler. Bu ise hiç istenmeyen bir durumdur.

ANTONY (1), koaservasyon yoluyla mikrokapsül elde etmede jelatini etanol ile çöktürüp, alttaki büyük molekülü fraksiyonu kul- lanmış, daha iyi sonuç almıştır.

Çalışmamızda oluşan jelatin türevinin pH sı 4.0 e indirildikten sonra sodyum sülfat çözeltisi ile çöktürülüp, alttaki fraksiyon alınarak reaksiyona girmemiş maddelerden ayrılması sağlandı. Böylece molekül ağırlığı yüksek ve molekül dağılım alanı dar jelatin türevi elde edildi.

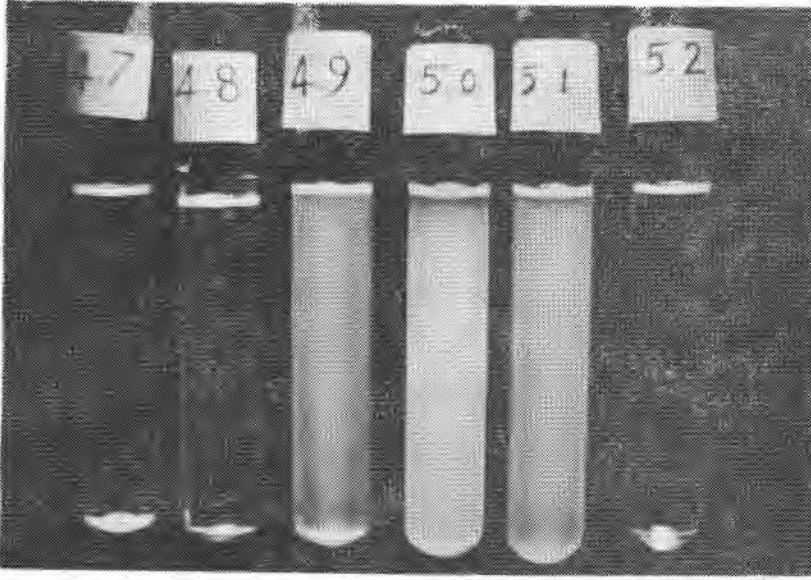
Yabancı iyonlardan tamamen arıtılmış jelatin türevinin pH sı moleküdeki amin ve karboksil gruplarına ve bunların arı suda dis- sosiasyon derecelerine bağlıdır ki, bu pH da izoionik noktadır. Yap- tığımız jelatin türevinde izoionik nokta 4.0 olarak bulundu.

Jelatin türevi, yabancı iyonlardan tamamen kurtarılmamışsa, pH 4 civarında olmasına rağmen, jelleşmeden sonra beyazlaşmamakta, saydama yakın donuk sarımsı renkte kalmaktadır. Böyle bir çözel- tinin izoionik değil, izoelektrik noktasından bahsedilebilir.

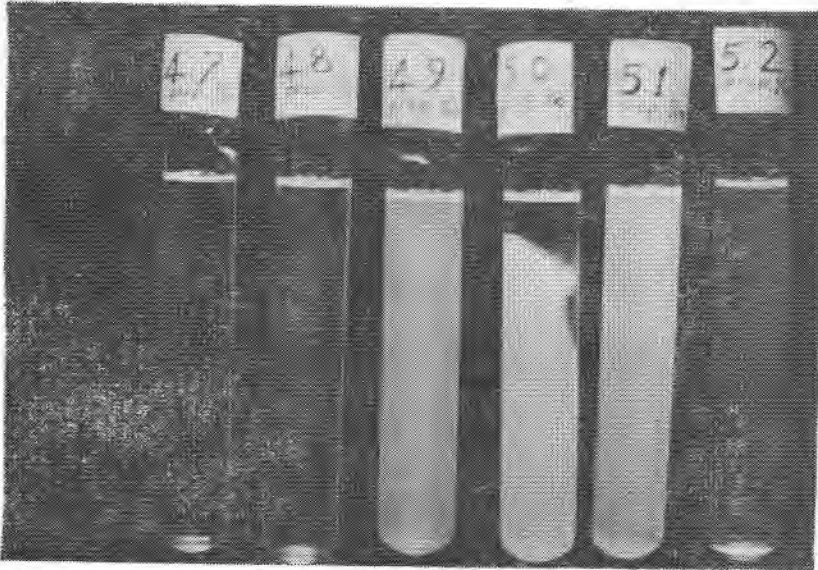
Kullandığımız jelatinin izoelekterik noktası, oluşturduğumuz yöntemle 5.0 olarak saptandı. izoelektrik noktasının tayini için geliştiren uyguladığımız yöntemin dayanak noktası, jelatinin izoelektrik noktasında belirli orandaki alkolle en fazla bulanıklık veya çökelti- yapmasıdır.

Jelatin molekülündeki amino asitler, peptit bağları ile birbir- lerine bağlanmış durumdadırlar. Jelatin, yapısındaki serbest amin gruplarından dolayı bir pozitif polielektrik (katyonik), serbest kar- boksil gruplarından dolayı da bir negatif polielektrolittir (anyonik) (12).

Ortamin pH sına bağlı olan bu anyonik ve katyonik özellik, belli bir pH da birbirine eşit olacaktır ki, bu pH ya izoelektrik nokta denir. Jelatinin çözünürlüğü izoelektrik noktada en az durumdur.



Şek. 4. a- Literatürdeki yöntemle izoelektrik noktasının tayini



Şek. 4. b- Bu çalışmada geliştirilen yeni yöntemle izoelektrik noktasının tayini



Jelatinin izoelektrik noktası çeşitli elektroforez yöntemleri ile tayin edilmektedir. CHRISTENSEN (5), jelatinin izoelektrik noktası tayinini çeşitli pH lardaki % 0.5 lik jelatin çözeltilerini buz dolabında tutup, gösterdiği bulanıklıklara göre yapmıştır.

Biz jelatinin izoelektrik noktasını çeşitli pH larda hazırladığımız % 0.5 a/a lık çözelti üzerine 1/10 h/h oranında izopropanol ilave edip buz dolabına bırakarak tayin ettik. Jelatin seyreltik çözeltide 7°C civarında önce bulanıklık, daha sonra da üstte saydam bir sıvı kalmak üzere çökelmektedir. Böylece izopropanol konmadan yapılan tayinde bulanıklıkları ayırt etmek zor olduğu halde (Şekil 4.a) izopropanol ilavesi ile bulanıklık ve hafif çökelmenin gözle ayırt edilebilmesi çok daha kolay olmaktadır (Şekil 4.b).

### **B- Optimum Mikrokapsülleme Koşulları İçin Bulgular:**

Koaservat fazı ile denge sıvısı arasında termodinamik bir denge vardır. Fakat faz kaidesine göre bir maddenin, dengedeki bir sistemde gerçek bir komponent olarak rol oynayabilmesi için o maddenin tek biçim bir yapıya ve özelliğe sahip olması gerekir.

Jelatin heterodispers bir özelliğe sahiptir. Bundan dolayı, jelatin, su, sodyum sülfat sisteminde, jelatinin bir tek komponent değil de birbirleriyle yakın ilişkili birçok komponent karışımı olduğu düşünülebilir. Fakat jelatini bir tek komponent kabul ederek dengedeki sistemi basit bir sadeleştirme ile üçgen faz diagramında göstermek adet olmuştur (12).

Koaservat fazı ile denge sıvısında ayrı ayrı bulunan komponent yüzdeleri ya fazların kimyasal analizleri ile (12, 21) veya kırılma indisleri tayini ile (17, 21) yahutta osmotik basınçları yardımıyla (2) bulunur. Oluşan koaservat miktarı da tartılarak veya hacmi ölçülerek saptanır.

Çalışmamızda fazlardaki komponent yüzdeleri hesaplanmadı. Zira bizim için gerekli olan fazlardaki komponent yüzdeleri değil, sistemdeki komponent yüzdelerine göre faz ayrışması ve optimum mikrokapsülleme koşulları idi.

Optimum mikrokapsülleme koşullarının saptanması için yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar şöyle özetlenebilir:

— Dengedeki sistemde komponentlerden birinin oranının değişmesi ile fazların aynı oranda oluşması ve aynı özelliği koruması için diğer komponentlerin oranlarında da değişiklikler yapmak gerekir. Bu düşünceden hareketle değişen jelatin yüzdesine karşı faz ayrışması için su ve sodyum sülfat yüzdelerinde ne gibi değişiklikler yapılması gerektiği incelendi.

— Ayrıca jelatin veya jelatin türevi taşıyan koaservasyon sisteminde, faz ayrışması başlangıcının (bulanıklık başlangıcı, durum I) pH ya ve sistemdeki jelatin türevinin konsantrasyona bağlılığı gösterildi.

— Jelatin türevi taşıyan sistemde faz ayrışması yapan sodyum sülfat yüzdesinin, jelatin taşıyan sistemdekine göre çok daha az olduğu saptandı.

— Çalışmamızda aynı zamanda sulfizoksazolü kaplama için koaservasyon ortamında bulundurulması gereken jelatin, su ve sodyum sülfat yüzdeleri hakkında bir ön yargıya varıldı. Bundan yararlanılarak özel koaservasyon kabındaki ortamda bulunan kaplanacak maddenin, en elverişli şekilde kaplanması için gerekli komponent yüzdelerinin saptanması ön çalışmaları yapıldı.

— Koaservasyon sisteminde en elverişli şekilde mikrokapsül elde etmek için, belirli bir kabuk yüzdesine karşılık, ortamda diğer komponentlerden ne oranda bulunması gerektiği saptandı.

— Kapalı özel koaservasyon kabında yapılan deneylerle, koaservasyon bitiminde % 5, % 4 ve % 3 jelatin ve jelatin türevi içeren sistemlerdeki sulfizoksazolü en elverişli şekilde kaplamak için gerekli sodyum sülfat ve su yüzdesi saptandı.

— Bu çalışmalarımız sonunda sulfizoksazol mikrokapsüllerinin imali için koaservasyon ortamında bulunması gereken komponentler aşağıda gösterilmiştir.

Jelatinle mikrokapsüllemeye (pH: 5.2):

% 5 jelatin için	% 9.75 sodyum sülfat ve	% 85.25 su
% 4 " "	% 10.23 " "	% 85.77 "
% 3 " "	% 10.95 " "	% 86.05 "

Jelatin türevi ile mikrokapsüllemeye (pH 4.0):

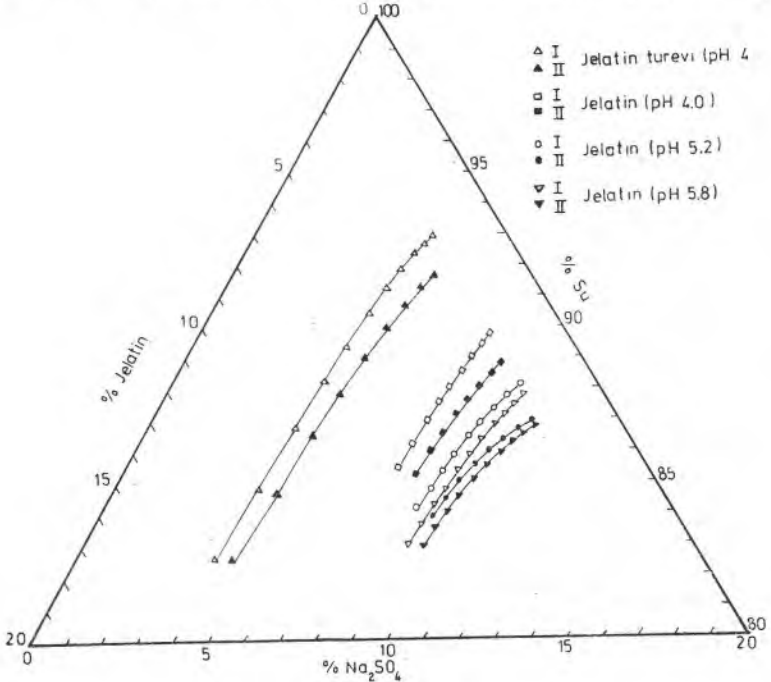
% 5 jelatin türevi için	% 5.37 sodyum sülfat ve	% 89.63 su
% 4 " "	% 5.55 " "	% 90.45 "
% 3 " "	% 5.86 " "	% 91.14 "

Yukarıdaki değerlerde görüldüğü üzere % 3 jelatinle mikrokapsül yapmak için % 10.95 sodyum sülfat gerektiği halde aynı oranda jelatin türevi için % 5.86 sodyum sülfat gerekmektedir. Bu değerlerden jelatin türevinin, jelatine göre sodyum sülfatla daha kolay faz ayrışması yaptığı ortaya çıkmaktadır.

Bu sonuçları elde etmede iki yol takip edilmiştir:

1- Evvela jelatin ve jelatin türevi taşıyan sistemlerde ortamın pH sına, kabuk maddesinin cinsine, miktarına göre faz ayrışması durumları incelendi.

Koaservasyon tersinir (reversible) bir olay olduğundan sisteme sodyum sülfat çözeltisi ilave etmekle durum I den durum II ye, su ilave etmekle de durum II den durum I e değişmektedir. Bu peşpeşe ilavelerle sistem ağırlığı artmakta jelatin ağırlığı sabit kalmaktadır. Böylece azalan jelatin yüzdesine karşı, sistemin aynı hale gelmesi için gerekli sodyum sülfat ve buna göre değişen su yüzdeleri hesaplanıp, faz diyagramında yerleri işaretlendi, durum I ve II yi belirleyen noktalar kendi aralarında birleştirildi (Faz diyagramı I).



Jelatin - su - sodyum sülfat koaservasyon sisteminde sulfizoksazolün bir kısmı koaservasyon ortamında dissosiyeye olup, pH yı 5.8 den den 5.2 ye düşürmektedir. Bu yüzden ön çalışmaların bir kısmı ortamın pH sı 5.2 iken yapıldı.

Jelatin - su - sodyum sülfat sisteminde koaservatların durumu için gerekli sodyum sülfat miktarı, jelatinin izoelektrik noktasına değil, ortamın pH sına bağlıdır (alkolle koaservasyondan ayrılığı). Ortamın pH sı düştükçe koaservatların oluşumu için daha az sodyum sülfat gerekmektedir. (10). Ortamda sulfizoksazol olduğu zaman sistem beyaz bir süspansiyon görünümünde olacağından bulanıklık ve taneceklenme durumu saptanamamaktadır.

PH sı 4.0 olan jelatin türevi içeren sistemdeki bulanıklık ve taneceklenme durumunu karşılaştırmak için ise aynı deney jelatin çözeltisinin pH si 4.0 e ayarlandıktan sonra yapıldı.

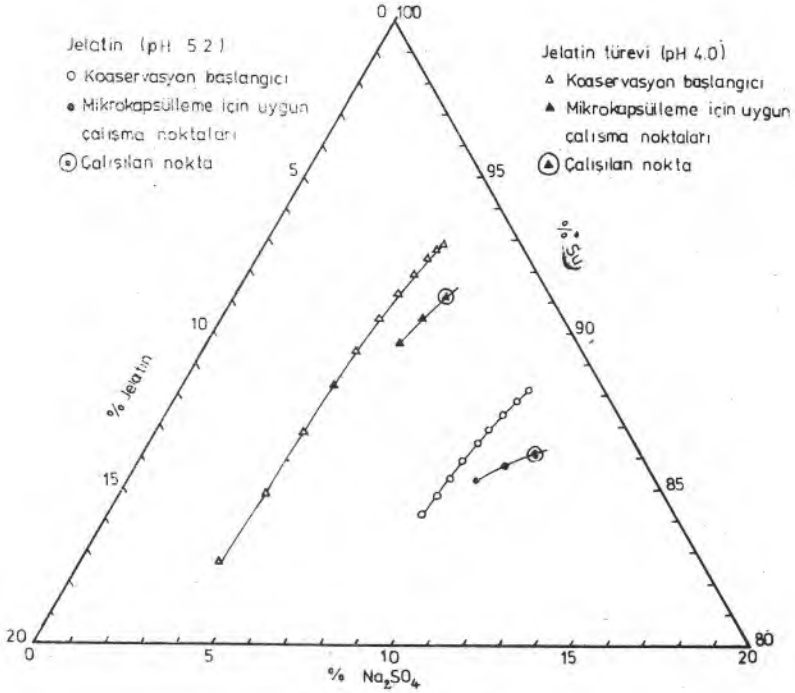
2- Yukarıda yapılan ön çalışmayla tesbit edilen faz ayrışma sınırlarından yararlanarak belirlenen bir bölgede komponent yüzdelere göre oluşan mikrokapsüllerin durumu incelendi.

Bazı araştırmacılar (10, 21) optimum mikrokapsülleme için, oluşan koaservatların hacmini veya ağırlığını göz önüne almışlar, faz diyagramını buna göre çizmişlerdir.

Biz devamlı kontrolle koaservasyon ortamında etken maddenin en elverişli şekilde kaplanması için gerekli komponent yüzdelere saptadık. Sulfizoksazol miktarı, toplam koaservasyon sistemi ağırlığına dahil edilmedi. Fakat sulfizoksazolün çok az miktarı dissosiyeye olup, ortamın pH sını düşürdüğü için koaservasyon için gerekli sodyum sülfat miktarı da değişmektedir (Faz diyagramı II).

Koaservasyon için gerekli sodyum sülfatın fazlası konulduğunda küçük koaservat damlacıkları birbirlerine yapışarak büyümekte (coalescence), daha sonra bunlar damlacık niteliğini kaybederek daha büyük parçacıklar (floküle parçacıklar) oluşturup, çökmektedirler.

Mikrokapsülün büyüklüğü, ortamdaki sodyum sülfat konsantrasyonuna bağlıdır. Çünkü ortamdaki sodyum sülfat oranı artıkça çözelti halindeki jelatin azalır kaplama materyali olacak, ortamın viskozluğu azalacak, mikrokapsüller daha büyük olacaktır. Çözelti



Faz diyagramı II

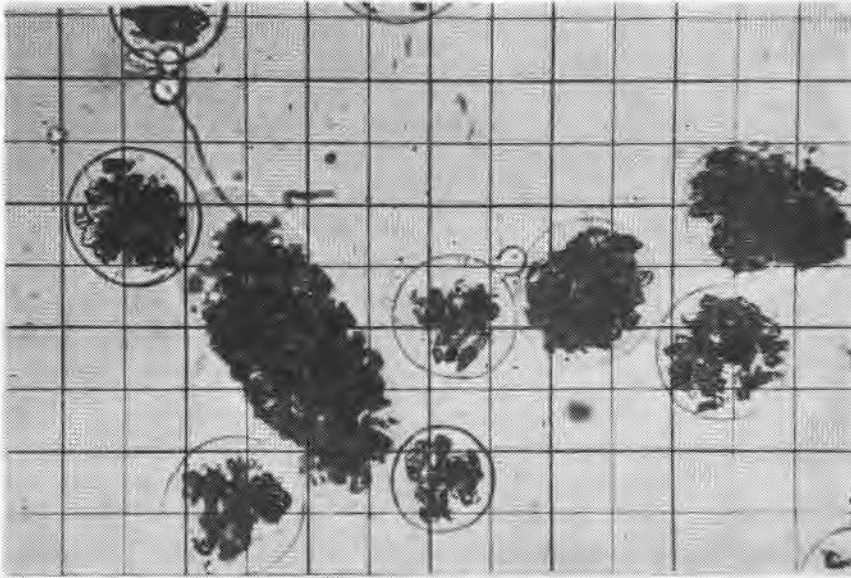
halinde ne kadar az jelatin olursa toz haline gelme o kadar kolay ve akıcı özelliği de o kadar iyi olmaktadır. Fakat sodyum sülfat yüzdesi belirli bir sınırı aşınca, tanecikler birbirlerine yapışıp belirli tanecik özelliğini kaybetmekte ve floküle olmaktadır. Bu yüzden ortamın koaservasyon olanaklarının sağlanması için koaservasyonun bitim sınırının saptanması gerekmektedir ki, bu sınır da koalesens olayının başladığı sınıra çok yakındır.

Koaservasyon faz sınırının saptanması için, çekirdek materyali olarak sulfizoksazol kullanılıp, ortamdaki sodyum sülfat oranlarına göre ortamın ve taneciklerin durumu incelendi. Ortamın sıcaklığı sistem karıştırılarak belirli bir sıcaklığa (27 °C ve 20 °C) kadar düşürüldükten sonra, ortamın viskozluğu, taneciklerin çökme durumu, taneciklerin mikroskopik incelenmesi ile kaplama durumu, taneciklerin büyüklüğü ve şekilleri incelendi. Bu durumda ortalama mikrokapsül büyüklükleri 100–200 mikron arasında olmaktadır. Eğer sınıra

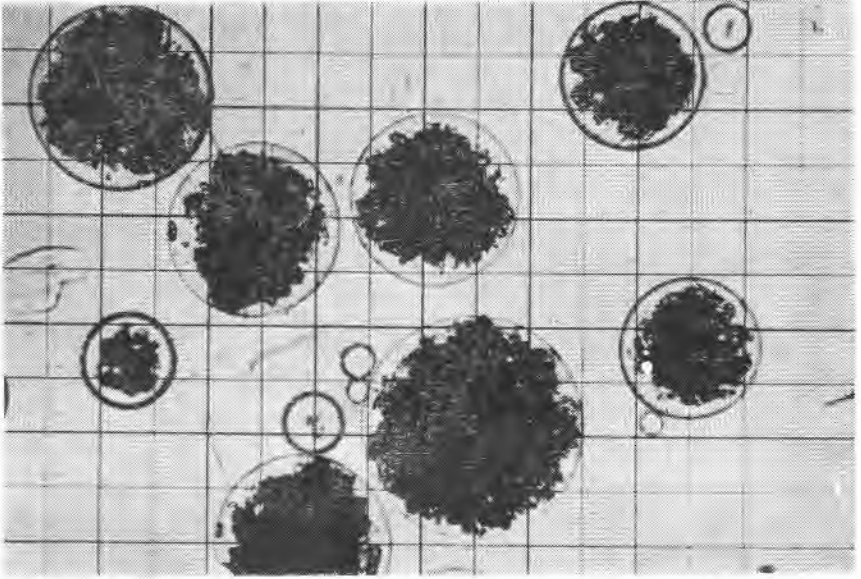
ulaşılmamışsa, ortamda henüz çözelti halinde bulunan jelatinden dolayı, viskozite nedeniyle ayrılan fazın çökmesi kolay olmamaktadır.

% 5 jelatinle çalışmada koaservasyonun bitim noktasında tane-ciklerin görünümü düzgün olmayan, az çok köşeli küreler veya oval şekiller olup, büyüklükleri 100–300 mikron arasında idi. % 4 jelatinle çalışılanlar ise daha az köşeli ve daha düzgün görünüşte idi. % 3 jelatinle çalışılan sistemde ise koaservasyon bitim noktasında mikro-kapsüller oldukça düzgün küresel halde idiler.

% 5 jelatin süksinat ile çalışmada koaservasyon bitim sınırına yakın noktalarda 27 °C de hatta 20 °C de ortamın viskozluğu oldukça az ve mikroskopla incelemede ise mikrokapsüller düzgün küresel ve hafif oval görünümde idiler. % 4 jelatin türevi kullanıldığında ise bu görünüm daha düzgün küresel, % 3 jelatin türevi kullanıldığı zaman ise çeperleri tamamen düzgün tam küresel görünümde elde edilmişlerdir (Şekil 5-a, b).



Şekil. 5. a- % 3 jelatin taşıyan koaservasyon sisteminde elde edilen mikrokapsüller. (Karelerin kenarları 55  $\mu$ m dir.)



Şek. 5. b - % 3 jelatin türevi taşıyan koaservasyon sisteminde elde edilen mikrokapsüller. (Karelerin kenarları 55  $\mu\text{m}$  dir.)

### C- Mikrokapsülleme Üzerine Bulgular:

Koaservasyonda mikrokapsüllerin büyüklükleri, tuz konsantrasyonu yanında karıştırma hızına da oldukça bağlıdır. Karıştırma hızı arttıkça mikrokapsüller daha küçük olmaktadır. Koaservasyon başlangıcından, sıcaklığın 20 °C ye inmesine kadar aralıksız devam eden karıştırmada hızı hiç değiştirmemelidir.

Eğer karıştırmaya bir an bile ara verilir, yahut karıştırma hızı azaltılır veya artırılırsa, mikrokapsüller deforme olmaktadır. Bu yüzden bu parametre, bütün deneylerde, deney boyunca dakikada 700 devir olarak sabit tutulmuştur.

Mikrokapsüllerin oluştuğu koaservasyon ortamında, sulfizoksazol ile kabuk maddesinin birbirine oranı 1/1 idi. Yani mikrokapsül % 50 etken madde içerecek şekilde hazırlanmıştı. Sulfizoksazolu etken madde olarak seçmemizin nedeni en çok kullanılan sülfamidlerden biri olmasına rağmen, biyolojik yarılanmasının 6 saat gibi çok kısa süreli oluşudur. Sulfizoksazolun etki süresinin mikrokapsülleme ile uzatılması olanaksız değildir.

Ayrıca pH yı değiştirme işlemi yapmaksızın sulfizoksazolun jelatinle kaplanmasında koaservasyon ortamının pH sı 5.2, jelatin türevi ile kaplanmasında ise 4.0 olmaktadır.

Sulfizoksazolun çözünürlüğü pH ya bağlı olmak üzere değişmektedir; 37 °C deki çözünürlüğü pH 5.2 de 850 mg/l, pH 5 de ortalama 750 mg/l, pH 4 de ortalama 300 mg/l dir (9). Jelatin türevi ile mikrokapsüllemeye (pH 4) ortamda çözünen sulfizoksazol miktarının, jelatinle mikrokapsüllemeye (pH 5.2) göre 3 kez daha az olduğu görülmektedir.

Koaservasyonla elde edilen, henüz yumuşak olan mikrokapsüllerin, soğuk şap çözeltisi içinde dağıtılması ile bireysel tanecikler halinde sertleştirilmesi ve kabuk geçirgenliğinin azaltılması sağlanarak aldehidlerle daha uygun şekilde sertleştirileceğini düşündük.

Aldehidler, jelatine -ve jelatin türevlerine- etkiyerek moleküller arası çapraz bağ (cross-linking) yaparlar. Böylece jelatin ve jelatin türevlerinin suda ve özellikle hafif asidik ortamdaki çözünürlükleri azalır veya tamamen çözünmez hale gelirler.

Bazı araştırmacılar (4) bu amaç için aldehid olarak formaldehid ve glutaraldehidi sağlık vermişlerdir. Literatüre göre formaldehidle sulu ortamda jelatin mikrokapsüllerinin sertleşmesi için ortamın pH sının 9-10 civarında olması gerekmektedir.

Glutaraldehidle sertleştirmede ise böyle bir koşul yoktur. Bu yüzden sulu ortamda sertleştirmede formaldehid yerine glutaraldehid kullandık. Bazı araştırmacılar bu işlem için izopropanol formaldehid karışımını kullanmışlardır (18, 23).

Jelatin ve jelatin türevinden yapılmış mikrokapsüller, izopropanollü ortamda glutaraldehid veya formalin ile sertleştirme süresince ortama etken madde diyalizlenmekte, bunun sonucu olarak mikrokapsüldeki etken madde oranı azalmaktadır. Çünkü sulfizoksazolun alkoldeki çözünürlüğü, sudaki çözünürlüğüne göre daha fazladır. Ortamda kabuğun çözünmemesine rağmen, etken madde diyalizle ortama geçmekte ve mikrokapsüle göre oranı azalmaktadır.

Izopropanol - formalin, izopropanol - glutaraldehid ile yaptığımız sertleştirmeden sonra etken maddenin önemli ölçüde azaldığını gördük. Sulu ortamda glutaraldehid ile sertleştirmede ise etken madde oranı fazla değişikliğe uğramamaktadır.



Gerek izopropanol ile mikrokapsülün çeperindeki suyun çekilip alınması, gerekse dondurup kurutmakla toz haline getirilen mikrokapsüller iyi akıcılık göstermektedir. Fakat dondurularak kurtulan mikrokapsüller, mikroskopik incelemede poröz bir görünüm ve düzgün olmayan bir çeper göstermektedir.

Jelatin türevi ile yapılan mikropaksüller jelatin mikrokapsüllere göre daha tek biçim, daha yuvarlak ve daha akıcı olmaktadır.

Koaservasyonla elde edilen mikrokapsüllerin çeperleri su ile şişmiş olduğundan doğrudan doğruya kurutulduklarında, birbirlerine yapışık bir kütle oluştururlar. Bu istenmeyen durumu önlemek için pek çok deneyler yapılmıştır (18-20).

Mikrokapsüller aerosil olmaksızın doğrudan doğruya izopropanol ile muamele edilirse, izopropanolün suyu çekmesi çok ani olmakta ve bu kısımlarda mikrokapsüller birbirleriyle yapışarak kümelenebilmektedirler. Ortama konulan aerosil, mikrokapsüllerin, bu dehidratasyon esnasında birbirlerine değerek yapışmalarını önlemektedir. Etanol izopropanolden daha dehidratant olduğundan çeperdeki suyu birdenbire çekmekte ve mikrokapsüller birbirine yapışmaktadır. İzopropanolün 0°C de kullanılması ile su çekilmesi daha yavaş ve maksada uygun olmaktadır.

Filtre kağıdı üzerinde soğuk etanolla yıkanan bu mikrokapsüller oda sıcaklığında kuruyunca yuvarlak, akıcı hale gelmektedir.

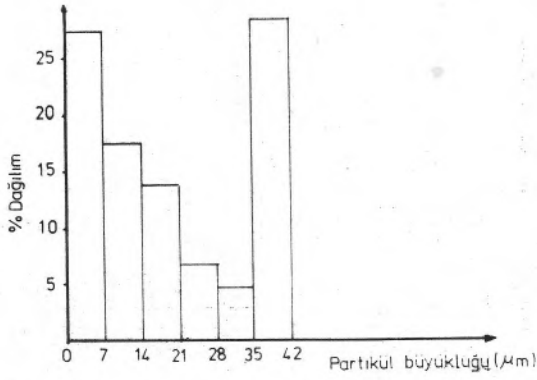
#### **D- Elde Edilen Mikrokapsüllerin Partikül Büyüklüğü Dağılımı ve Genel Özellikleri Üzerinde Bulgular:**

Sulfizoksazolde ve yaptığımız mikrokapsüllerde optik yöntemle\* tayin edilen partikül büyüklüklerinin dağılımı grafik halinde gösterilmiştir (Şekil 6-11).

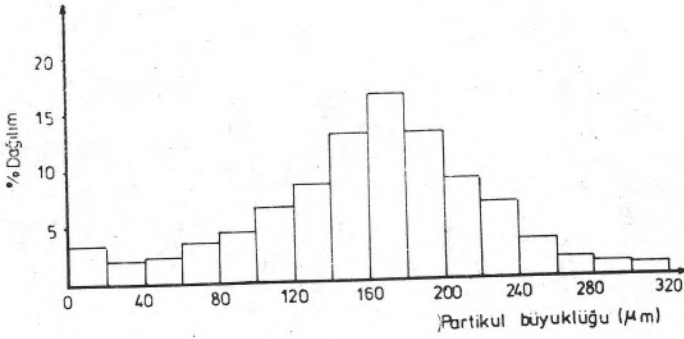
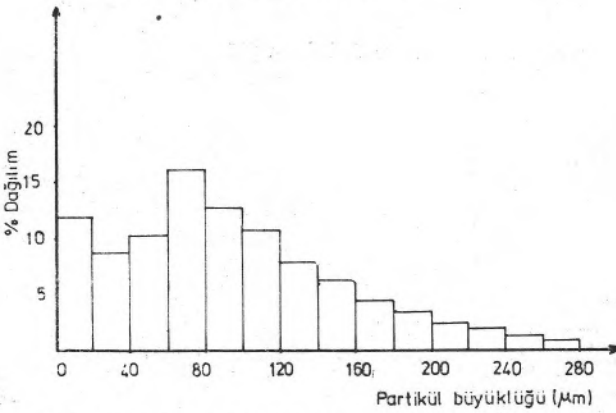
Grafiklerde görüldüğü üzere jelatin türevi ile yapılan mikrokapsüllerde partikül büyüklüğü dağılımı normal dağılıma oldukça uymaktadır.

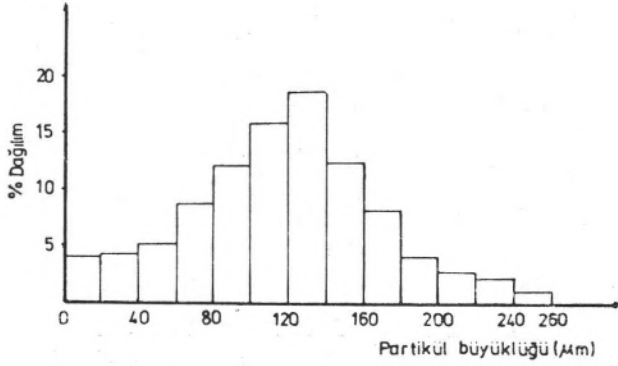
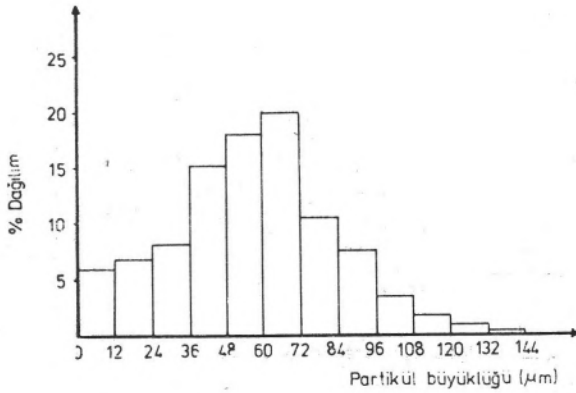
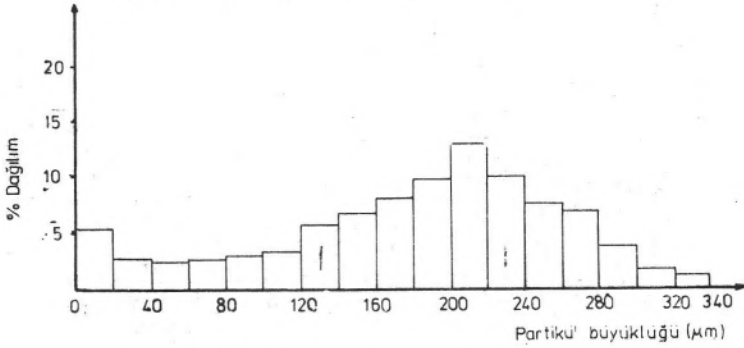
Mikrokapsül elde etmede verim, yapılan mikrokapsüllerin, etken madde yüzdeleri ve genel görünüşleri (Tablo I) de görülmektedir. A ile gösterilenler jelatinden, B ile gösterilenler ise jelatin türevinden yapılmış mikrokapsüllerdir.

\* Leitz- Classimat aletiyle yapılmıştır.



Şek. 6. Sulfizoksazol'ün partikül büyüklüğü dağılımı.

Şek. 7. Kod B<sub>1</sub>, Partikül sayısı 205Şek. 8. Kod A<sub>2</sub>, Partikül sayısı 315

Şek. 9. Kod B<sub>2</sub>, Partikül sayısı 209Şek. 10. Kod A<sub>2</sub>, Partikül sayısı 255Şek. 11. Kod B<sub>3</sub>, Partikül sayısı 90

Tablo I. Yapılan mikrokapsüllerin özellikleri.

Mikrokapsül	Etken Madde %	Verim %	Genel Görünüş
A <sub>1</sub>	42.29	86.2	Beyaz, akıcı toz
A <sub>2</sub>	41.78	91.7	Hafif sarımsı, akıcı, tam yuvarlak olmayan tanecikler
A <sub>3</sub>	52.70	89.2	Hafif sarımsı, akıcı toz
A <sub>4</sub>	19.50	85.0	Beyaz akıcı toz
A <sub>5</sub>	28.30	83.7	Sarı, akıcı, ince toz
B <sub>1</sub>	49.50	92.5	Beyaz, akıcılığı çok iyi, tamamen küresel tanecikler
B <sub>2</sub>	50.00	93.5	Beyaz, akıcılığı çok iyi, tamamen küresel tanecikler
B <sub>3</sub>	53.25	93.0	Beyaz, akıcılığı çok iyi, küresel tanecikler, mikroskopik görünüşte porlar, girinti ve çıkıntılar var.
B <sub>4</sub>	28.25	85.0	Beyaz, akıcılığı çok iyi, tamamen küresel tanecikler
B <sub>5</sub>	28.75	87.5	Sarımsı akıcı toz

### E- Elde Edilen Mikrokapsüllerden Etken Madde Çıkışına Ait Bulgular:

Bazı üstünlüklerinden (3, 6, 8, 14, 24, 26) dolayı çalışmalarımızda akış hücreli çözünme hızı tayin yöntemini seçtik.

Başlangıçta, TINGSTAD ve arkadaşlarının (24, 25) geliştirdikleri çözünme hücrelerini denedik. Hücreden dakikada 20-40 ml arasında sıvı geçirilince, partiküllerin büyük bir kısmı sıvı akımı ile yukarı yükselip cam filtrenin üzerinde toplanıyor ve hatta filtreyi tıkayabiliyorlardı.

Bunu önlemek için hücrelerin silindir şeklinde olması yerine, konik olmasının (Şekil 3), daha iyi sonuç vereceği kanısına vardık.

Böylece çapı daha dar olan alt kısımdan giren sıvı akımının, partikülleri yer çekimine karşı kaldırması, fakat yükseldikçe sıvı akımının hızı azalarak partiküllerin, büyüklük ve özgül ağırlıklarına göre yer çekimi ile dengelendikleri noktadan itibaren yukarı çıkmamaları sağlandı.

İki kanatlı peristaltik pompadan ileri gelen pulsasyonu önlemek için de camdan yaptırılan pulsasyon önleme kabı kullanıldı.

— Mikrokapsüllerden etken maddenin çıkış hızları, kabuğun kalınlığına ve sertleşme durumuna bağlıdır. Aynı koşullarda jelatin ve jelatin türevi ile yaptığımız mikrokapsüllerden etken maddelerin çıkış hızları farklı bulundu.

— Aldehidle sertleştirilmemiş jelatin mikrokapsülleri etken maddeyi ortama kolayca vermektedir. Aynı durumda olan jelatin türevi mikrokapsüller, jelatine göre etken maddeyi daha geç vermektedirler.

— Aldehidle sertleştirilmiş mikrokapsüller sertleşmemiş mikrokapsüllere nazaran etken maddeyi daha uzun sürede vermektedirler.

— Aldehidle sertleştirilmiş jelatin mikrokapsülden etken maddenin çıkış hızı sertleştirilmiş jelatin türevi mikrokapsüllere nazaran daha azdır.

Bunun nedeni mikrokapsül kabuklarının sertleşme durumu ile açıklanabilir. Glutaraldehidle jelatinin sertleşmesi moleküller arası çapraz bağlarla olmaktadır. Jelatin molekülleri arasındaki bu bağ amin grupları arasında oluşmaktadır. Jelatin türevinde bu amin grupları süksinik asitle kapatıldığından çapraz bağlar, jelatindeki kadar oluşamaz ve çözünürlük azalması jelatin kadar olmaz. Bu durum jelatin ve jelatin türevinden yapılmış mikrokapsüllerin renk farkından da gayet kolay anlaşılabilir. Glutaraldehidle aynı şartlarda işlem gören jelatin mikrokapsülleri sarı, jelatin türevi mikrokapsülleri ise beyaz görünümündedir.

— Sertleştirilmiş jelatin mikrokapsüllerden etken maddenin çıkışı, kabuk çözünmeden diyalizlenerek olmaktadır. Fakat jelatin türevi mikrokapsüllerde etken maddenin çıkışı biraz da kabuğun çözünmesi ile olmaktadır.

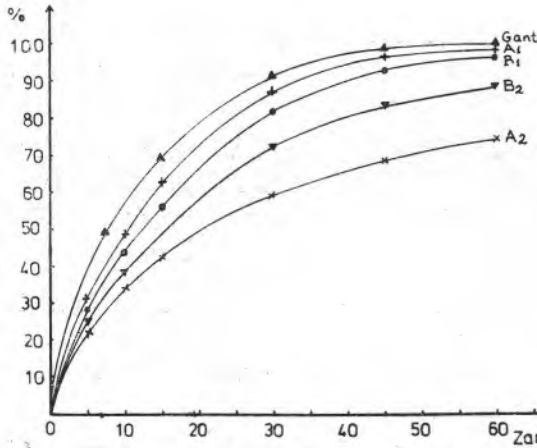
Mikrokapsülden etken maddenin çıkış hızında, mikrokapsül kabuğunun cinsinin ve kabuğun sertleşme durumlarının rollerinin incelenmesi için, çeşitli şekilde sertleştirilmiş mikrokapsüllerden etken maddenin çıkış hızları, birbiriyle ve kristal haldeki etken maddenin çözünme hızlarıyla karşılaştırıldı.

Çözünme hızında, çözünürlük ve çözeltinin doymuşluk durumu oldukça etkin olduğundan, biz bu deneylerimizde bir saat içinde kristal haldeki etken maddenin çözünme durumu ile çeşitli mikro-kapsüllerden etken maddelerin çıkma durumlarını karşılaştırdık.

500 mg etken maddeye tekabül eden mikrokapsüllerde yapılmış olan çözünme hızı tayini Tablo II ve Şekil 12 de görülmektedir.

Tablo II. Mikrokapsülden etken maddenin çıkış hızı

KOD	Litrede çözünen miktar ve 60' da çözünmüş gantrisine göre % çözünme													
	5'		7.5'		10'		15'		30'		45'		60'	
	%	mg/l	%	mg/l	%	mg/l	%	mg/l	%	mg/l	%	mg/l	%	mg/l
Gant.			49.2	305.0			68.9	427.2	91.6	567.9	98.6	611.3	100	620.0
A <sub>1</sub>	31.0	192.2			48.6	301.3	63.2	391.8	86.8	538.2	96.2	596.4	97.7	605.7
B <sub>1</sub>	27.9	173.0			43.5	269.7	56.0	347.2	81.3	504.6	93.0	576.6	96.2	596.4
A <sub>2</sub>	22.1	137.0			38.5	238.7	49.6	307.5	72.2	447.6	83.1	515.2	88.5	548.7
B <sub>2</sub>	21.8	135.2			33.8	209.6	42.9	266.0	59.0	365.8	68.7	425.9	74.2	460.0



Şek. 12. Mikrokapsülden etken maddenin çıkış hızı grafiği

## ÖZET

Bu çalışmada jelatin ve jelatinin süksinik asit türevi ile optimum mikrokapsülleme koşulları incelenmiştir. Jelatinden ve elde edilen jelatin türevinden yapılan mikrokapsüllerin özellikleri ve etken maddeyi ortama verme koşulları araştırılmıştır.

Jelatinin süksinik asid anhidridi ile alkali pH da yaptığı türevi, ortamın pH sı 4.0 e indikten sonra, sodyum sülfat ile çöktürülüp, büyük moleküllü fraksiyonlar jelleştirildikten sonra yıkanıp iyon değiştiriciler ile arıtılmış ve dondurarak kurutma (cryodesiccation) yöntemi ile kurutulmuştur. Elde edilen jelatin türevinin izoionik noktasının 4.0 olduğu bulunmuştur.

Kullanılan jelatinin izoelektrik noktası, geliştirdiğimiz alkolle presipitasyon yöntemi ile tayin edilip, 5.0 olduğu saptanmıştır.

Jelatin - su - sodyum sülfat ve jelatin türevi - su - sodyum sülfat sistemlerinde optimum mikrokapsülleme koşulları araştırılıp, üçgen faz diagramında çalışma bölgesi belirlenmiştir.

% 3 jelatin içeren koaservasyon sisteminde sulfizoksazolun en uygun şekilde mikrokapsülenmesi için % 10.95 sodyum sülfat ve % 86.05 su bulunması gerekmektedir.

Jelatin türevi kullanarak sulfizoksazolun mikrokapsülenmesinde ise % 3 jelatin türevi taşıyan koaservasyon sisteminde % 5.86 sodyum sülfat ve % 91.14 su bulunmalıdır.

Elde edilen mikrokapsüller şapla ön sertleştirmeden sonra glutaraldehidle sertleştirildi. Yıkanıp tuzundan arıtıldıktan sonra izopropanol - aerosil karışımı ile mikrokapsülün çeperindeki su dehidrasyonla çekilerek alkolle yıkanıp kurutuldu.

Elde edilen mikrokapsüllerin partikül büyüklükleri optik yöntemle tayin edilip dağılımları incelendi. Jelatin türevi ile yapılan mikrokapsüller, daha yuvarlak, daha akıcı ve daha tek biçim görünümde idiler.

Bu mikrokapsüllerden etken maddenin çıkışı, geliştirdiğimiz devamlı akış hücreli çözünme hızı tayin aletinde tayin edilmiştir. Etken maddenin ortama çıkış hızı, mikrokapsülün sertleşme derecesine göre değişmektedir.

Jelatin molekülleri arasında aldehidlerin yaptıkları çapraz bağ oluşumu, jelatine nazaran daha az olduğundan, jelatin türevinden yapılan mikrokapsüllerde etken madde çıkışı daha hızlı olmaktadır.

#### SUMMARY

In this research optimum conditions for microencapsulation using gelatin and its succinic acid derivative were investigated. The properties of the microcapsules made from gelatin and from gelatin derivative and also the drug release from these microcapsules were investigated.

The gelatin derivative formed with gelatin and succinic acid anhydride in the alkaline pH medium was precipitated with sodium sulfate solution (20 % w/w) after adjusting the pH of the solution to pH 4.0 and then the heavier molecular weight fraction was separated. This fraction was gellized and washed with cold water and then purified thoroughly with an ion exchange resin. This gellized derivative was dried by cryodesiccation technique. The isoinonic point of this derivative was found to be 4.0.

The isoelectric point of the gelatin we used was determined as 5.0 by the alcoholic precipitation method, which we have developed.

Optimum microencapsulation conditions in gelatin - water - sodium sulfate system and in gelatin derivative -water- sodium sulfate system were investigated, and by means of ternary phase diagrams, the operating region was determined.

It was observed that optimum condition for microencapsulation of sulfisoxazole in the coacervation system containing 3 % gelatin, the required sodium sulfate percentage was 10.95 and the water percentage was 86.05.

In microencapsulation of sulfisoxazole in the coacervation system containing 3 % gelatin derivative; 5.86 % sodium sulfate and 91.14 % water should be present.

The prepared microcapsules were pre-hardened with alum and later re-hardened with glutaraldehyde and then washed with water to remove the salt.



The capsule wall was dehydrated using cold isopropanol-aerosil mixture to remove the water in the capsule wall that causes aggregation during drying process. The dehydrated microcapsules were washed with some alcohol and dried.

The particle size of the microcapsule was measured optically and the particle size distribution of the microcapsules was determined.

The gelatin derivative microcapsules were spherical, homogeneous and flowed better.

The drug release from these microcapsules was determined using a conical continuous flow cell apparatus, which was our own design. The rate of release of drug from the microcapsules depends on the degree of hardening of microcapsules. As the crosslinking made by aldehydes among the molecules of gelatin derivative is less than that of gelatin, the drug release from gelatin derivative microcapsules is higher than that of natural gelatin microcapsules.

#### TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın ön çalışmalar kısmında bazı teknik kolaylıklar sağlayan Marburg Üniversitesi Farmasötik Teknoloji Enstitüsü Direktörü Sayın Prof. Dr. P.H. LIST'e, partikül büyüklüğü tayinini yapan sayın Dr. B. MÜLLER'e ve araştırmamızı parasal yönden destekliyen CARL DUISBERG GESELLSCHAFT'a teşekkürü bir borç biliriz.

#### LİTERATÜR

1. **Anthony, W.H.**, U.S. Patent 3041288
2. **Bamford, J.H. and Tompa, H.**, *Trans Faraday Soc.*, **46**, 310 (1949).
3. **Baun, D.C. and Walker, G.C.**, *J.Pharm.Sci.*, **58**, 611 (1969).
4. **Brynko, C., Bakan, J.A., Miller, R.E. and Scarpelli, J.A.** U.S.Patent 3341466.
5. **Christensen, E.V.**, *Arch. Pharmac. Org. Chem.*, **68**, 374 (1961).  
Ref: Czetzsch-Lindenwald, H. und Fiedler, H. P.,-Lexikon der Hilfstoffe für Pharmazie, Kosmetik und Angrenzende Gebiete, Editio Cantor K.G. (1971).
6. **Dibbern, H.W., Wirbitzki, E.**, *Pharmazeutische Z.*, **48**, 1848 (1971).
7. **Herbig, J.A.** -Encyclopedia of Chemical Technology 2 nd Ed. **13**, 436 (1966).
8. **Kala, H., Dittgen, M., Zessin, G. and Moldenhauer, H.**, *Pharmazie* **28**, 408 (1973).

9. Kaplan, S.A., Weinfeld, R.E., Abruzzo, C.W. and Lewis, M., *J.Pharm.Sci.*, **61**, 773 (1972).
10. Khalil, S.A.H., NIXON, J.R. and Carless, J.E., *J.Pharm. Pharmac.*, **20**, 215 (1968).
11. Kodak Ltd.Co., British Patent 537256
12. Kruyt, H.R., -Colloid Science II, Elsevier Publishing Company, Inc. (1949).
13. Lachman, L., Lieberman, A.H. and Kanig, J.L., -The Theory and Practice of Industrial Pharmacy, Lea and Febiger. Phi. (1970).
14. Langenbucher, F., *J.Pharm.Sci.*, **58**, 1265 (1969).
15. Luzzi, L.A., *ibid.*, **59**, 1367 (1970).
16. Matson, H.W., *Int.Science and Technology*, April 66, (1965).
17. Nixon, J.R., Khalil, S.A.H. and Carless, J.E., *J. Pharm.Pharmac.*, **18**, 409 (1966).
18. Nixon, J.R., Khalil, S.A.H. and Carless, J.E., *Ibid.*, **20**, 528 (1968).
19. Nixon, J.R. and Walker, S.E., *ibid.*, **23**, Suppl. 147 (1971).
20. Phares, R.E., Sperandio, G.J., *J.Pharm.Sci.*, **53**, 515 (1964).
21. Phares, R.E., Sperandio, G.J., *ibid.*, **53**, 518 (1964).
22. Simmons, N.L., Swan, D.R. U.S.Patent 2240476.
23. Tanaka, N., Takino, S. and Utsumi, I., *J. Pharm. Sci.*, **52**, 664 (1963).
24. Tingstad, J., Gropper, E., Lachman, L. and Shami, E., *ibid.*, **62**, 293 (1973).
25. Tingstad, J., Lachman, L.G. and Shami, E., *ibid.*, **61**, 1985 (1972).
26. Tingstad, J., Riegelman, S., *ibid.*, **59**, 693 (1970).
27. Veronese, J., *Seifen-Öle-Fette-Wachse* **12**, 281 (1974).
28. Yutzy, H.C. and Frame, G.F. U.S.Patent 2525753.
29. Yutzy, H.C. and Frame, G.F. U.S.Patent 2614928.