

Aljinat/Sumak Mikroboncuklarından Metformin Salımı

Asiye Nur Çetinkaya^{1*} , Demet Baybaş² 

*¹ Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Biyokimya, SİVAS

² Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Biyokimya, SİVAS

(Alınış / Received: 30.10.2024, Kabul / Accepted: 19.03.2025, Online Yayınlanma / Published Online: 30.04.2025)

Anahtar Kelimeler

Aljinat,
İlaç salım,
Metformin,
PEG,
PVA,
Sumak,

Öz: Çalışmanın amacı; yüksek mol kütleli bir polisakkarit olan Aljinatın (A), fitoterapide de kullanılan sumak (S) baharatı ile ikili (AS) kompozit mikroboncuklarının sentezlenmesi ve antidiyabetik bir ilaç olan metformin (MET)'in salımında kullanılmasıdır. MET tutunma ve salım verimi iki parametre değişimi ile araştırılmıştır.

Birinci parametre, iyonotropik jelasyon yöntemiyle AS mikroboncukların hazırlanmasında genellikle kullanılan çapraz bağlayıcı rolündeki Ca^{2+} yanı sıra Cu^{2+} ve Ni^{2+} iyonlarının da kullanılmasıdır. Bu kapsamda, MET yüklü mikroboncuklar (AS-M) iki yöntem ile hazırlanmıştır. Birincide seçili çapraz bağlayıcı metal iyonları ile AS jel oluşum ortamına MET katılmış, ikincide ise MET'siz oluşturulmuş AS üzerine farklı MET derişim içerikli çözeltilerden MET yüklemesi yapılmıştır.

İkinci değişken, mikroboncukların yapısının güçlendirilmesi amacıyla, AS kompozit yapısına ilaç salımında yaygın olarak kullanılan iki polimerin (Poli(etilen glikol); PEG) ve Poli(vinil alkol); PVA) katılmasıdır. Polimerlerin ortama katılmasında iki farklı yöntem izlenmiştir. Birinci yöntemde AS ve AS-M boncuklar PEG ve PVA ortamına karıştırılarak kaplanmış (AS-PEG*, AS-PVA*). İkinci yöntemde ise, jel ortamına polimerler katılarak boncuklar oluşturulmuştur (AS-PEG ve AS-PVA). Mikroboncukların karakterizasyonu FTIR ve SEM analizleri ile yapılmıştır.

Sonraki aşama olan salım çalışmalarında boncukların HCl içerikli mide (pH=1.2) ve fosfat tampon içerikli (pH=7.4) bağırsak pH koşullarında bıraktıkları ilaç miktarları belirlenmiştir. Salım sonuçları %Toplam salım-zaman grafikleri ile sunulmuştur.

Metformin Release from Alginate/Sumac Microbeads

Keywords

Alginate,
Drug delivery,
Metformin,
PEG,
PVA,
Sumac,

Abstract: The aim of this study is to synthesize binary composite microbeads (AS) of a high molecular weight polysaccharide alginate (A) with sumac (S), a spice also used in phytotherapy, and to use them for the release of an antidiabetic drug metformin (MET). The retention and release efficiency of MET were investigated by its dependence on two parameters.

The first parameter is the use of Cu^{2+} and Ni^{2+} ions acting as the cross-linkers besides Ca^{2+} which is generally used in the preparation of AS microbeads by the ionotropic gelation method. In this context, MET loaded microbeads (AS-M) were prepared by two methods. In the first, MET was contained in the AS gelation medium containing the selected cross-linker metal ions, whereas MET was loaded to AS as prepared in the absence MET from MET solutions containing different MET concentrations in the second.

The second parameter is the inclusion of two polymers (Poly(ethylene glycol); PEG) and Poly(vinyl alcohol); PVA) commonly used in drug release studies to strengthen the structure of AS composite. Two different methods were employed in the addition of the polymers. In the first, AS and AS-M microbeads were plated with the polymers by addition of the microbeads in to the polymerization medium (AS-PEG*,

AS-PVA*) whereas the polymerizations were formed by addition of the polymer reagents to the gelation medium of AS (AS-PEG, AS-PVA). The formation of microbeads was characterized by means of FT-IR and SEM analysis. In next stage of the drug release studies, the released amounts from the MET loaded microbeads at the pH conditions of HCl representing stomach and of phosphate buffer contained representing were determined. The results were submitted by 'Total release %-Time' depictions.

*İlgili Yazar, email: asynctnky9@gmail.com

1. Giriş

Tüm ilaç salım yöntemleri arasında en yaygın olan oral uygulamadır. Oral uygulama olarak bilinen yöntemin dezavantajlarından birisi ilacın midede bozulmaya uğramasıdır. Yeni ilaç dağıtım sisteminin (DDS) başlıca amacı ilacı daha az miktarda içerip, yan etkilerini azaltarak ilacın etkinliğini arttırmaktır [1]. Kontrollü ilaç salım uygulamalarındaki temel neden ilacın vücut içerisindeki yayılımını, hedefini, zamanlamasını ya da dozunu kontrol altına almaktır. İlaçların vücuttaki etkilerinin miktar aralığı değişmektedir. Bu yüzden de etkili miktardan az veya fazla kullanımı ilacın yan etkilerine sebep olabilir. Bu nedenle, klasik yaklaşımın aksine kontrollü ilaç salımı yardımıyla vücuttaki ilaç miktarı etkin ve hassas bir şekilde tutularak tedavi olasılığı artırılır. Böylece zamanda ilaç tasarrufu da sağlanabilmektedir [2]. Bu çalışmada salım araştırması yapılan metformin ilacı ve bunun tutturulduğu taşıyıcı kompozit boncukların sentezinde kullanılan bileşenler ile ilgili öz bilgi aşağıda sunulmuştur.

Metformin etken maddesi, *Galega Officinalis* (aka keçisedefi, İspanyol korunga ve profesör otu) olarak bilinen bitkiden üretilmiştir. "Metformin; beyaz renkli, kokusu olmayan, kristal yapıda, toz şeklinde bir ilaçtır". Suda çok iyi çözünürken; aseton, eter, kloroformda çözünmez. Metformin hidroklorür $C_4H_{11}N_4.HCl$ kapalı formülüne sahip, kimyasal isimleri; N,N-dimetilimidodikarbonimidik diamid hidroklorür, imidodikarbonimidik diamid, N,N-dimetil-monohidroklorür, N,N-dimetilbiguanid hidroklorür olan, tip 2 diyabet hastalarında kullanılan anti-hiperglisemik bir ilaçtır [3]. Tip 2 diyabet hastaları metabolik sendrom ve bozulmuş lipit metabolizmasına sebep olan obezite ve insülin direncine sahiptir. Oral anti-diyabetik bir ilaç olan metformin, tip 2 diyabet hastalarının % 60'ı tarafından kullanılmaktadır. 2010 yılından itibaren Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Model Esansiyel İlaç Listesindeki iki oral anti-diyabetik ilaçtan birisi olarak yer almaktadır [3,4]. Diğer diyabet ilaçları ile kıyaslandığında ise, insülin salgısını arttırmaz ve kandaki glikoz derişiminin normal düzeylerin altına düşmesine neden olmaz. Başka bir ifadeyle, periferik dokularda insülinin aktivitesini reseptör sonrası düzeyde artırır. Anaerobik glikolizi hızlandırarak, glikoz kullanımını artırır ve laktik asit oluşumunun hızlanmasını sağlar [3]. Metforminin ayrıca, anti-enflamatuar yolla nöroprotektif ve anti-oksidan etkileri vardır. Geçmişte Ortaçağ Avrupa'sında geleneksel bir ilaç olarak yaygın halde kullanılmaya başlanmıştır. 1949'da Filipinler'de Eusebio Garcia tarafından yapılan anti-malaryal aktivite testleri, metformin hidroklorürün anti-influenza olarak kullanılmasına sebep olmuş ve influenza hastalarında kan şekerini düşürmeye daha yatkın olduğu tespit edilmiştir [5,6].

Aljinat kahverengi deniz yosunlarından (*Phaeophyceae*, *Laminaria hyperborea*, *Laminaria japonica*), bakterilerden ve alglerden elde edilen, mukoadhezif, biyoyumlu, biyobozunmaya uğrayan, immünojenik olmayan, suda çözünebilir, toksik olmayan ve biyolojik olarak parçalanabilen önemli bir polisakkarittir. 1,4-glikozidik bağlarla bağlanmış α -L-guluronik asit (G) ve β -D-mannuronik asit (M) kalıntılarından oluşur. İlaç dağıtım sistemlerini oluşturmak için kullanılan malzemelerden biridir. Toksik olmayan, biyobozunur, düşük maliyetli, biyoyumlu, kolay bir şekilde bulunabilen ve nanotaşıyıcı olarak avantaja sahip olan önemli bir maddedir [7]. Aljinatın bahsedilen avantajları sayesinde pek çok kullanım alanı vardır. Örnekleri ise şu şekildedir; kimyasal değişimleri kolaylaştırmaları, düşük maliyetli olmaları nedenleriyle ilaç dağıtım sistemlerinde önemli role sahiptir. Tekstil sanayide kumaş boyamada, boyaların kıvamını artırıp ve koyulaşmasını sağlar. Koruyucu madde, kıvam arttırıcı, köpük oluşturuç, jelleştirici ve kolloidal stabilizatör, çeşitli protein hücre dağılımı ve/veya tutulması özellikleriyle gıda endüstrisinde kullanılır. Tuz ve şelatlayıcı ajanlara karşı yüksek toleransı nedeniyle biyomedikal endüstrisinde ve ağız-diş sağlığı, açık yaraların tedavisinde medikal alanda kullanımı söz konusudur [7-9]. Aljinat (aljinik asidin sodyum tuzu) oluşturduğu jelin karakteristik niteliği bakımından kullanılan maddeye göre değişiklik gösterebilir ve molekül yapısı yosunun yetiştiği alanın coğrafiği özelliklerine bağlı olarak değişir ve farklı türde aljinat elde edilmesini sağlar. Aljinatın bazı önemli özellikleri; yapıda bulunan karboksil gruplarıyla çok değerlikli katyonlarla tepkime verip, jel oluşturma kapasitesidir. Metal katyonların aljinatla jel oluşturma sıralaması $Pb > Cu > Cd > Ba > Ca > Ni, Zn$ şeklindedir. Aljinatın jel oluşum aşamasında; pH etkisi, sıcaklık etkisi ve film oluşturma gibi özelliklerinden bahsedilir [8].

Sumak *Rhus coriaria* L. olarak bilinen meyvenin kabaca ögütülmesiyle elde edilir. Türkiye’de yetişen ve tek türü olan bu bitki Akdeniz, Ege, Güneydoğu Anadolu gibi bölgelerde, Dünya genelinde ise çoğunlukla Afrika, Kuzey Amerika ve Güneydoğu Asya’nın tropikal ve ılıman bölgelerinde yetişmektedir. Sumak bitkisi içerdiği fenolik bileşiklerden gallik asit ve türevlerinden dolayı zengin antioksidan kaynağıdır. Meyvelerinin yağ ve yağ asitlerini barındırması, onu oksidatif bozulmalara karşı dayanıklı ve çok uzun süre saklanabilir duruma getirmektedir. Sumak bitkisinin meyvelerinde, ortalama % 4.3 tanen ile uçucu yağ, sitrik, malik ve tartarik asit bulunmaktadır [10]. Geçmişten bugüne bitkinin yaprak ve meyveleri içerdiği önemli bileşenlerden kaynaklı ilaç ham maddesi olarak, bitkisel tedavide kullanılmıştır. Ağızdaki yaraların iyileşmesinde, göz hastalıklarında, el ve ayak çatlaklarında tedavi için önerilmiştir. Ayrıca bitkinin yaprakları, sapı ve kabukları fazla miktarda tanen içerdiğinden dolayı diş çürüğü ve plağın bakteri sebebi olan *Streptococcus mutans*’ı baskılayıp diş hekimliğinde diş telindeki diğer bakterilerin de engellenmesine olanak sağlamıştır [10]. Baharat olarak tüketiminin yanında, boyacılıkta, mürekkep yapımında, deri işleme teknolojisinde, kozmetik ve veterinerlikte kullanımı da ekonomik yönden fayda sağlamaktadır [11]. Gıda endüstrisinde kullanılabilecek ve sentetik bileşiklerin yerini alacak antioksidan değerinin yüksek olması da bu bitkinin önemini arttırmaktadır. Sumak meyvelerinin yağ ve yağ asitleri açısından zengin olması gıdalarda kullanımında değerli bir kaynak olduğunun göstergesidir [12]. Özellikle son zamanlarda yaygın olan şeker hastalığının tedavi edilmesine katkı sağlamıştır. Sumak bitkisinin sağlık alanında; şeker hastalıkları, hipertansiyon, karaciğer ve cilt hastalıklarında tedavi amaçlı kullanımı söz konusudur. Sumağın mutajenik olmayan anti-septik, anti-oksidan, hipöürisemik, hipoglisemik, oksidatif stresi önleme gibi ön plana çıkan özellikleri bulunmaktadır ve bu etkileriyle geleneksel kullanımları desteklenmektedir. Örneğin; Doğan ve Çeliğin çalışmasında, *R.coriaria* meyvesinden elde edilen liyofilize hidrofilik ekstraktın (RC) toksik etkisi olmadan streptozotosin (STZ) diyabetiklerde *in vivo* iyileştirici ve anti-diyabetik özelliklerini göstermiştir. RC ekstraktının serum enzimleri, böbrek fonksiyon belirteçleri α -glukozidaz ve lipid peroksidasyon seviyeleri üzerindeki etkiyi azaltarak anti-diyabetik aktivitelere ve sıçanlarda anti-oksidatif bir role sahip olabileceği vurgulanmıştır. Bitkisel ilaçlar arasında bulunan sumak (*Rhus coriaria* L.) tip II diyabet tedavisinde kullanılır [13]. Bir başka çalışmada ise; Mirhadi ve arkadaşları sumak meyvesini sıçanlara ağızdan vererek serumdaki kan şekeri seviyelerinde artış sağladığını kanıtlamışlardır ve bu sonuçlara göre kan şekerini düşürebileceğini bu sayede diyabetik hastalarda göz önünde bulunması gerektiğini vurgulamışlardır [14]. Tüm bu önemli özellikleri nedeniyle, çalışmada destek katkı malzemesi olarak sumak bitkisi seçilmiştir.

Polimerler, günümüzde ilaç endüstrisinde ve ilaç taşıma sistemlerinde sıklıkla kullanılan malzemelerdir. İlaç taşıma sistemlerinde kullanılan polimerlerin, bazı yapısal üstün özelliklere sahip olması gerekir. Bu özelliklerden en önemlileri, kullanılacak olan polimer çeşitlerinin, biyoyumlu ve biyobozunur olmasıdır. İkincil olarak ise, ilaç kapsül maddelerinin parçacık boyutlarının kontrol edilebilir ve aynı zamanda yoğunluklarının ayarlanabilir olmasıdır. Bu durum, vücutta her doku ve organ için istenen özelliklere göre değişiklik göstermelerini sağlar. Bu özellikleri barındıran polimerlerden ikisi; polietilen glikol (PEG) ve poli(vinil alkol) (PVA)'dır [15].

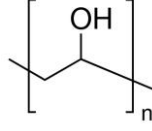
Mol kütlesi 500-20000 g mol⁻¹ arasında olan PEG, etilen oksit monomerlerinden oluşan polietier sınıfında yer alan, antijenik ve toksik olmayan, suda ve birçok çözücünde çözünebilen bir polimerdir. Polietilen glikollerin şekilleri, beyaz sıvıdan mumsu katıya kadar değişebilmektedir. “PEGilasyon” terimi, protein, peptid gibi moleküllerin bir ya da daha fazla PEG zincirinin bağlanmasıyla modifikasyona uğratılmaları olarak tanımlanır. PEG, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi’nden onay almış, aynı zamanda da ilacı taşıyıp bıraktıktan sonra basit şekilde vücutta absorbe edilebilmeleri ve böylece vücuttan hızlı bir şekilde atılabilmelerinden dolayı ilaç endüstrisinde tercih edilen ilk polimer olmuştur [16]. PEG’in zayıf hidrojen bağlarına sahip aktif bileşenler ile kolay bir şekilde etkileşime girebilmesi diğer polimerlere göre avantajını göstermiştir. [17]. Ayrıca PEG’in organik çözücülerde çözünürlüğünün yüksek olması katı dispersiyonların hazırlanmasında kolaylık sağlar. Rumondor ve Taylor’un yaptıkları bir çalışmada ise su tutma yeteneğinin ilaç stabilitesini etkileyen önemli faktör olduğunu belirtmişlerdir. Nemin kompozit tarafından tutulması, polimerik yapı içerisinde faz ayrımlarının oluşmasına ve böylece ilaç etken maddesinin hava ve su ile temas ederek işlevsiz hale gelip ilaçtan erken salınmasına yol açmıştır [15, 18]. Bunların yanı sıra modifikasyon amaçlı kullanılan PEG ve türevleri bağlayıcı, çözücü ve vezikül olarak gıda, kağıt,kozmetik, lastik, tekstil, ziraat ve petrol gibi birçok endüstri alanında kullanılabilmektedir [16]. Şekil 1.’de polietilen glikol’ün kimyasal yapısı verilmiştir.



Şekil 1. Polietilen glikol yapısı (PEG) [19]

Poli(vinil alkol), poli(vinil) asetatın hidrolizlenmesiyle elde edilen, suda çözünebilen, kokusuz ve toksik olmayan, biyobozunur, biyoyumlu sentetik bir polimerdir. Ayrıca bünyesinde bulundurduğu hidroksil gruplarından dolayı pek çok kimyasal çapraz bağlayıcılar ile çapraz bağlanmakta ve bunun sonucunda kullanım alanları yaygınlaşmaktadır (Şekil 2). Yüksek su içeriği ve şişme kapasitesinin kontrol edilebilmesi, yüksek termal dayanımları, insan vücudunda biyoyumlu ve zehir etkisi yaratmamaları nedeniyle farmosötik uygulamalarda

önem kazanmıştır. Bunların yanı sıra kağıt kaplamada, suda çözünebilen esnek ambalaj filmlerinde ve biyomedikal cihazlarda kullanılmaktadır [20]. Oral filmler esnek yapıda ve hızlı çözünen ilaç şekilleridir ve PVA'da oral filmlerde plastikleştirici olarak görev alır [21]. Son zamanlarda kıkırdak doku mühendisliğinde hücrelerin yer aldığı üç boyutlu iskeleti yapmak için PVA üzerinde durulmuştur. Ortopedik cerrahide tespit ve dikiş materyallerinde yaygın olarak kullanılmıştır [2].



Şekil 2. Polivinil alkol (PVA) yapısı [19]

Aljinat içerikli taşıyıcılarla Metformin salımı ile ilgili literatür çalışmaları mevcuttur. Örneğin; Sodyum aljinat-fesleğen tohumu müsilağı boncuklardan metformin salımı yapılan bir çalışmada; pH 1.2 ve pH 7.4' te salım gerçekleştirilmiş ve en düşük salımın asidik ortamda olduğu bulunmuştur [1]. Kumar ve arkadaşlarının çalışmalarında gastrointestinal emilimi ve bağırsak geçirgenliğini aynı anda kolaylaştırmak için metformin emülsiyon çapraz bağlama teknolojisi ile hazırlanan aljinat nanokapsüllere yüklenmiştir. Metformin yüklü nanopartiküller (MLAN'lar) *in vivo* hayvan çalışmalarında kullanılmış ve kapsülleme etkinliği %78 olarak bulunmuştur [22]. Martínez-Gómez ve arkadaşlarının sodyum aljinat-polivinil alkol hidrojellerinden metformin salımı ile ilgili çalışmada; pH 1.2'de en yüksek ilaç salımı %55 ve pH 8.0'de 6 saat sonra salım elde edilmiştir [23]. Başka bir çalışmada ise; Hariyadi ve arkadaşlarının çalışmalarında aerosolizasyon tekniği kullanarak iyonotropik jelleşme ile aljinatlı mikro-kürelere metformin yüklemesi yapılmıştır. Metformin yüklü mikro-kürelerin pH 1.2'deki ilaç salımı 2 saatlik sürede % 22 ve %28 arasında değişmiştir. pH 7.4'te ise ilaç salımı 10 saat içerisinde %67 ve %95 olarak gerçekleşmiştir [24]. Bir başka çalışmada sodyum aljinatın tiyoglikolik asitle tiyolleştirilmesi sonucu mikroadhezif kürelerden metformin salımı yapılmıştır [25].

Bu çalışmada, yukarıda belirtilen metforminin salım çalışmalarından farklı olarak tip II diyabette etkili olduğu bilinen anti-oksidan değeri yüksek olup fitoterapide yaygın olarak kullanılan sumak baharatı, aljinat ve polietilen glikol (PEG) veya polivinil alkol (PVA) polimerlerinin birlikte kullanıldığı kompozit mikroboncuklar hazırlanmış ve bunların metforminin salım özellikleri araştırılmıştır. Üç farklı koşulda gerçekleştirilen araştırmamızın birincisinde doğal bir polimer olan aljinat ile sumak içerikli malzemeler Ca^{2+} , Cu^{2+} veya Ni^{2+} varlığında sentezlenmiştir. İkincisinde ilaçsız sentezlenen mikro-kürelere adsorpsiyon yöntemiyle ilaç yüklenmiş ve üçüncüsünde ise sentetik polimerler (PVA/PEG) kullanılarak birlikte sentez ve kaplama yöntemiyle ilaçlı mikro-küreler oluşturulmuştur. Oluşturulan mikro-kürelerin metformin tutma miktarları hesaplanmış ve daha sonra mide ve bağırsak pH ortamlarında *in vitro* salım deneyleri yapılmıştır. Son olarak bu malzemeler arasından en uygun olanları seçilerek FTIR ve SEM analizleriyle karakterize edilmiştir.

2. Materyal ve Metot

Bu çalışmanın deneyleri, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Biyokimya Bölümü Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır. Deneyde sentezlenen materyaller ve bileşenlerine ait FT-IR spektrum ve SEM görüntüleri alınması için Sivas Cumhuriyet Üniversitesi İleri Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (CÜTAM) laboratuvarı olanaklarından yararlanılmıştır.

2.1. Kullanılan kimyasallar ve cihazlar

Çalışmada sentezlenen boncukların temel bileşenleri olan Sodyum Aljinat (A) (Carlo Erba France), Poli(vinil) alkol (PVA), Poli(Etilen) Glikol (PEG) (Sigma-Aldrich, USA) katı halde kullanılmıştır. Sumak baharatı, Kaz Dağları'nda doğal yetişen öğütülmüş bitki olarak satın alınmıştır. Baharat 35 μm elek altına elenmiş olarak kullanılmıştır. Elenen baharat, sentezlerden hemen önce 35°C sıcaklıkta bir etüvde 24 saat kurumaya bırakılmıştır. Aljinat jelin mikro-küre haline gelmesi için kullanılan Ca^{2+} , Ni^{2+} ve Cu^{2+} iyon çözeltileri CaCl_2 , $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ve $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ tuzlarını kullanılarak hazırlanmıştır.

Etken madde olarak, Biguanidler sınıfına dahil, anti-diyabetik Metformin-HCl (MET) tercih edilmiştir. Etken madde SANOVEL firmasından saf olarak temin edilmiştir.

Boncukların sentez aşamasında, Jeio Tech Marka manyetik karıştırıcı, salım aşamasında sabit sıcaklık ve karıştırma için dolap tipi inkübatör (J.P. Selecta) kullanılmıştır. Bütün tartım işlemleri $\pm 0,001\text{mg}$ duyarlılıklı analitik terazide (SARTORIUS) yapılmıştır. pH ölçümleri için Orion Model 250A marka pH metre kullanılmıştır.

Salım deneylerinde yapay (enzimsiz) mide pH'sını sağlamak için HCl (Merck, Germany), yapay barsak ortamı sağlamak için tampon çözelti hazırlanmasında monosodyum fosfat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ve disodyum fosfat tuzları ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) (Sigma Aldrich) kullanılmıştır. İlaç ve baharat derişimleri UV-GB (UV-VIS) spektrofotometre (Shimadzu/UV-1800) kullanılarak ölçülmüştür.

2.2. Kompozit mikro-kürelerin sentezi

Metformin salımında kullanılan mikro-küre kompozit taşıyıcılar, iyonotropik jelasyon yöntemiyle sentezlenmiştir. İyonotropik jelasyon yöntemi aljinatın zincirleri arasında iyonik köprüler oluşturmak için çok değerlikli kasyonlarla etkileşime girmesi ve boncuk oluşturma temeline dayanır [24]. Mikro-kürelerin tümü aynı koşullarda etken madde içeren (ilaçlı) ve etken madde içermeyen (ilaçsız) şekilde sentezlenmiştir. İlaçsız ortam ya da sentezde kullanılan ilgili çözeltiler UV-Viz ölçümlerinde kör (blank) olarak kullanılmıştır. Genel anlamda sentez işlemi aşağıdaki iki aşamadan oluşmaktadır.

2.2.1. Jel oluşumu

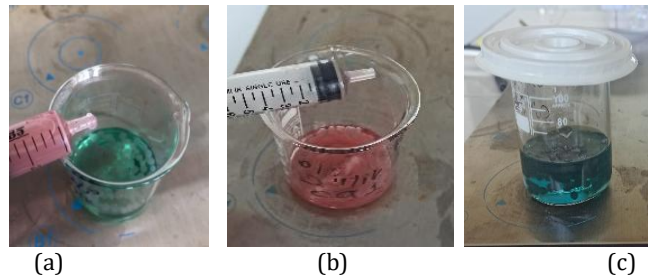
Damıtık suda kütlece %1 oranında aljinat içeren çözeltiler hazırlanmış ve bu çözeltilere hazırlanacak bileşime göre sumak ve polimerik bileşenler (PEG/PVA) eşit miktarlarda eklenmiştir. Karışımlar homojen jel oluşturmak amacıyla ortam sıcaklığında 24 saat 200-300 rpm'de karıştırılmıştır. Bu şekilde hazırlanan ikili karışımlardan birine katı metformin eklenmiş ve karışımlar ilacın çözünmesi/homojen dağılması için 2 saat daha karıştırılmıştır (Şekil 3).



Şekil 3. Oluşum aşamasında aljinat-sumak-metformin (ASM) ve aljinat-sumak (AS) jel

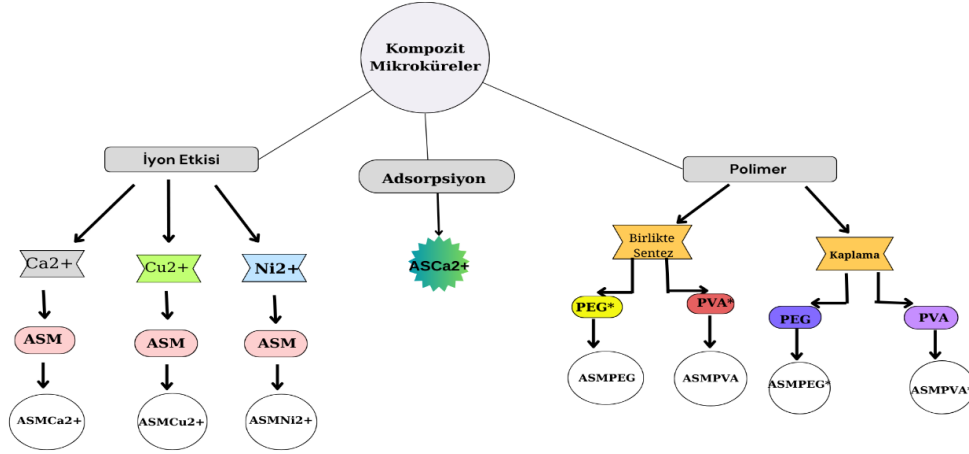
2.2.2. Boncuk oluşumu

10 mL'lik şırıngaya çekilen jel, kütlece % 2 iki değerlikli iyon (Ca^{2+} , Cu^{2+} veya Ni^{2+}) içeren 10 mL çözeltiye damla damla eklenmiştir (ilaç tutunma ve salım verimine iyonik ortam katkısının incelenmesi dışındaki deneylerde yalnızca %2'lik Ca^{2+} çözeltilerinde oluşturulan boncuklar kullanılmıştır). Oluşan boncuklar 2 saat karıştırılarak kararlı hale getirilmiştir. Boncuklar süzülerek çökme ortamından ayrılmış ve iki ya da üç kez 10'ar mL damıtık su ile yıkandıktan sonra kurutulmaksızın tartılarak kapalı kaplarda buzdolabında muhafaza edilmiştir. Farklı üç iyon ortamında sentezlenen boncukların fotoğrafları Şekil 4'de görülmektedir. Üç farklı iyon varlığında oluşan boncukların rengi birbirinden farklıdır.



Şekil 4. Farklı (a) Ni^{2+} , (b) Ca^{2+} , (c) Cu^{2+} iyon ortamlarında sentezlenen boncuklar

Araştırma kapsamında gerçekleştirilen kompozit mikro-kürelerin sentezi ile ilgili süreçler, Şekil 5'de şematik olarak özetlenmiştir. Şemada Aljinat 'A', Sumak 'S', Metformin 'M', Polietilen Glikol 'PEG', Polivinil Alkol 'PVA' olarak kodlanmıştır. Süreçler, Aljinat-Sumak-Metformin içeren mikro-kürelerin farklı iyon ortamlarında sentezlenmesi ($\text{ASM}_{\text{Ca}^{2+}, \text{Cu}^{2+}, \text{Ni}^{2+}}$), M'siz hazırlanmış ASCa^{2+} kompoziti üzerine M'nin adsorpsiyon yöntemiyle tutturulması ve $\text{ASM}_{\text{Ca}^{2+}}$ 'nin PEG ve PVA için polimer ortamında sentezi (ASMPEG ve ASMPVA) ve polimerle kaplanmasını (ASMPEG^* ve ASMPVA^*) içermekte olup ayrıntılar aşağıdaki ilgili başlıklarda sunulmuştur.



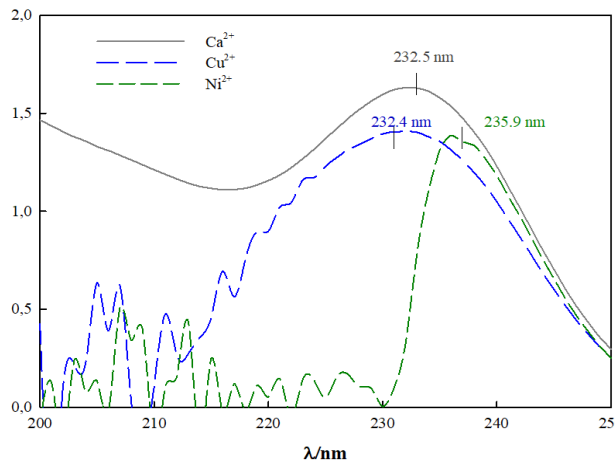
Şekil 5. Sentezlenen kompozit mikro-kürelerin sınıflandırılması

1. İyon etkisi ile mikro-kürelerin sentezi: Mikro-küreler, sentez koşullarına bağlı kalarak oluşturulan A, S ve M bileşimli ASM jellerinin Ca^{2+} , Cu^{2+} veya Ni^{2+} iyon çözeltilerine şırıngayla damlatılarak eklenmesiyle sentezlenmiştir. UV-Viz ölçümlerde çalışılan iyon metformin pik maksimumunda değişime neden olduğundan (Şekil 6) derişim hesaplamalarda kullanılan kalibrasyon eğrilerinin oluşturulmasında ilgilenilen iyon ortamında hazırlanan standartlar kullanılmıştır.

2. Adsorpsiyon yöntemiyle ASCa^{2+} -M mikro-küre sentezi: 'M' içermeyen ve ASCa^{2+} mikro-kürelerin 0.1'er gram kütleleri tüplere konulmuş ve üzerine farklı derişimlerde (50, 100 ve 250 ppm) 10 mL ilaç eklenip su banyosunda 24 saat bekletilmiştir. Süre sonunda denge çözeltilerinin ilaç derişimleri spektrofotometrik yöntemle ölçölüp, adsorpsiyon değerleri hesaplanmıştır.

3. Polimer katkı aljinat/sumak içerikli mikro-kürelerin sentezi: Aljinat, sumak ve metformin içerikli jel ortamına PEG veya PVA polimeri katılarak polimer içerikli jelleşme gerçekleştirilmiştir. Bu bileşimler Ca^{2+} çözeltilerine damlatılarak ASM-PEG veya ASM-PVA mikro-küreleri oluşturulmuştur.

4. Polimer kaplı aljinat/sumak içerikli mikro-kürelerin sentezi: 0.1 g kütleli Ca^{2+} iyonu ortamında oluşturulmuş ASMCa^{2+} mikro-küreler kütlece %1 PEG veya PVA içeren 10 mL çözeltilere eklenip karıştırılarak polimer kaplı ASM-PEG* ve ASM-PVA* mikro-küreleri oluşturulmuştur.



Şekil 6. Mikro-küre sentezlerinde kullanılan iyon ortamlarının metformin pik maksimumuna değişim etkisi

2.3. Mikro-boncukların karakterizasyonu

Mikro-boncukların sentez bölümünde metformin içeren (ilaçlı) ve metformin içermeyen (ilaçsız) boncuk türlerinden yalnızca tutunma ve salım verimi yüksek olan örneklerin FT-IR ve SEM analizleri yapılmıştır.

FTIR analizlerinde KBr ile pelet hazırlama yöntemi kullanılmıştır. Kuru boncukların yapısı çok sert olduğu için toz haline getirilememiştir. Bu nedenle boncukların su ile şişmesi sağlanıp yumuşak hale getirilmiş ve agat havanda parçalanarak KBr ile karıştırılmıştır. Homojen haldeki karışımlar etüvde kurutulup, pelet hale preslenerek FTIR spektrumları alınmıştır.

Taramalı elektron mikroskopu analizi için seçilmiş ve kurutulmuş boncuklar Au ile kaplanıp görüntülenmiştir.

2.4. Salım deneyleri

Salım çalışmaları 2 ortamda yapılmış olup 37.5°C sıcaklıkta, yapay (enzimsiz) mide (pH=1.2 0.1 M HCl çözeltisi) ve yapay (enzimsiz) bağırsak (pH=7.4 10 mM, fosfat tamponu çözeltisi) ortamlarında gerçekleştirilmiştir.

1. Mikro-kürelerin asitte metformin salımı: Mikro-küreler (1g) 10'ar mL pH=1.2 HCl çözelti içerisine atılarak, 37.5°C'de karıştırmalı inkübatörde 5 dk süreyle bekletilmiş ve süre sonunda çözeltiden ayrılıp aynı koşullardaki yeni asit çözeltisine alınmıştır. Bu ortamda 5-120 dk aralığında alınan örneklerin metformin içerikleri hesaplanarak salım deneyleri gerçekleştirilmiştir. Her bir beher için bulunan metformin derişimleri ardışık olarak birbirine eklenmiş ve % Toplam salım - t/dk grafikleri çizilmiştir. Deneyler paralel yürütülen ikili örnekler için yapılmıştır. ASMCu²⁺ mikro-kürenin asitte salım örneğinin fotoğrafı Şekil 7'de gösterilmiştir. Örneklemlerin metformin içerikleri derişimi pH=1.2 çözeltisinde hazırlanan metformin standartlarından elde edilen kalibrasyon doğrusundan bulunmuştur.



Şekil 7. ASMCu²⁺ mikro-kürenin asitte salım örneği

2. Mikro-kürelerin tamponda metformin salımı: 120 dk'lık süre boyunca asit salımı yapılan mikro-küre örnekleri, ardından 10 mL pH=7.4 olan fosfat tampon çözeltisine alınarak 5 dk şartlandırılmış ve süre sonunda yeni tampon aktarılmıştır. Asit salımında yapılan örnekleme işlemi belirli sürelerde tekrar edilmiştir. Ortamdaki mikro-kürelerin 30 dk etkileşim sonrasında parçalandığı gözlemlenmiştir. Tampon içeren beherlerdeki metformin derişimleri, pH=7.4 10 mM fosfat tamponu çözeltisinden hazırlanan metformin standartlarının kalibrasyon doğruları kullanılarak, spektrofotometrik yöntemle yapılmıştır.

Kör (blank) olarak kullanılacak olan ilaçsız mikro-küreler için tüm salım (asit/tampon) işlemleri ilaçlı sistemlerle yapılan şekilde gerçekleştirilmiştir (Şekil 8).

2.5. İlaç tutunma ve salım veriminin hesaplanması

Çökme/yıkama ortamlarında tutunmadan kalan ve salım deneylerinden alınan çözeltilerin metformin içerikleri UV-Vis spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. İlacın UV bölgedeki maksimum absorpsiyonları ilaç içermeyip çalışma ortam koşullarını temsil eden referans çözeltilere karşı saptanmıştır. Çözeltilerin ilaç içeriklerinin hesaplanmasında ise yine çözelti ortamlarını temsil eden çözeltilerde hazırlanan Metformin standartları ile elde edilen kalibrasyon grafikleri kullanılmıştır.

Sentezlerdeki mikroboncukların % metformin tutması ve adsorpsiyonla tutunan miktarların; Q (mg g⁻¹) ve %Ads olarak hesaplanmasında 1-3 eşitlikleri kullanılmıştır. Eşitliklerde başlangıç derişimleri; C₀ (mg L⁻¹), çözelti hacmi; V (mL), ilaç çözeltilerine eklenen kütleler; m (g) ve denge derişimleri; C_d (mg L⁻¹) ölçülmüştür. Tutunma verimleri aşağıdaki eşitliklerle hesaplanan adsorpsiyon kapasitesi (Q, g adsorban başına mg ilaç) ve % adsorpsiyon (%Ads) değerleriyle sunulmuştur.

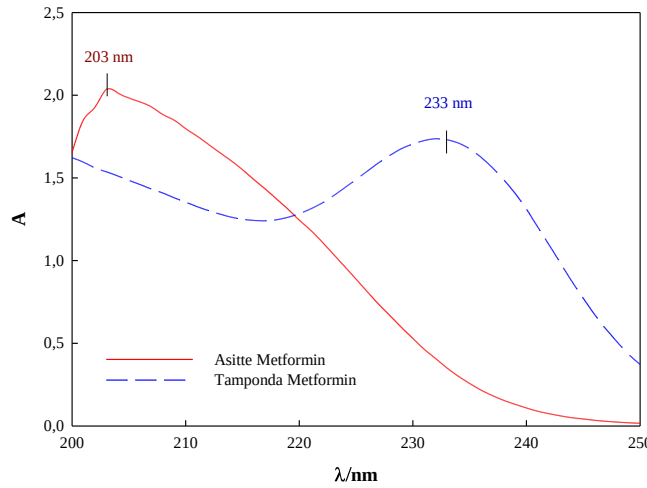
$$\%Tutunma\ verimi = \frac{(Başlangıç\ ilaç\ derişimi, C_0 - Tutunmayan\ derişim, C_d)}{Başlangıç\ derişimi, C_0} \times 100 \quad (1)$$

$$Q = \frac{(C_0 - C_d)}{m} \times V \quad (2)$$

$$\%Ads = \frac{(C_0 - C_d)}{C_0} \times 100 \quad (3)$$

%Salım deney sonuçlarının hesaplanmasında kullanılan 4. eşitlik, ilaç tutmuş mikrokompzıt ile temas hale getirilen mide (5-120 dk) ve ardından bağırsak (120-240 dk) pH'li çözeltilerindeki ölçülen %salımın temastan 't' süre sonraki miktarını tanımlar. Denklemden 10 (mL) x C_t (mg mL⁻¹) ve 'm₀ (mg)', sırasıyla 't' süre içinde 0.1 g ilaçlı mikro-küreden 10 mL çözeltiye salınan ilaç kütlesini ve 0.1 g mikro-küredeki tutuklu ilaç kütlesini tanımlamaktadır.

$$(\%Salım)_t = \left(\sum_{5dk}^{120dk} \frac{10 \text{ mL} \times C_t \text{ mg/mL}}{m_0 \text{ mg}} \times 100 \right)_{pH=1.2} + \left(\sum_{120dk}^{240dk} \frac{10 \text{ mL} \times C_t \text{ mg/mL}}{m_0 \text{ mg}} \times 100 \right)_{pH=7.4} \quad (4)$$



Şekil 8. Metformin içeren mikro-kürelerle yapılan salım ortamlarının metformin pik maksimumunun değişimine etkisi

3. Bulgular ve Tartışma

3.1 Mikro-kürelere Metformin Tutunması

3.1.1 İyon Etkisi ile Tutunma

Aljinat-Sumak-Metformin içeren mikro-kürelerin farklı iyon ortamlarında sentezlenmesinin metformin tutunmasına olan etkisi Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Mikro-kürelerin sentezinde kullanılan iyonların Metformin tutunma verimine (%TV) etkisi ve tutunan ilaç miktarlarının mg g⁻¹ olarak değişimi

İyonlar	%TV	Q/mg g ⁻¹
Ca ²⁺	64	11.6
Cu ²⁺	48	7.5
Ni ²⁺	45	6.9

Tabloda görüldüğü gibi sentez sürecinin Ca²⁺ ortamında gerçekleştirilmesi metformin tutunma oranını anlamlı bir şekilde artırmaktadır. İyonların tutunma verimi sıralaması Ca²⁺ (%64) > Cu²⁺ (%48) > Ni²⁺ (%45) şeklinde olup bu nedenle metformin tutunmasına iyon etkisi dışındaki sentezlerde kalsiyum iyonu ortamı kullanılmıştır.

Aljinat içerikli destek malzemelerine metformin yükleyen, örnek literatür çalışmalarından birinde, Kumar ve arkadaşları, metformini, gastrointestinal emilimi ve barsak geçirgenliğini kolaylaştırmak için, emülsiyon çapraz bağlama teknolojisi ile hazırlanan aljinat nanokapsüllere (MLAN) yüklemişlerdir. MLAN'lar, birincil mikroemülsiyon, metilen klorür içinde hazırlanmış sodyum dioktil sülfosüksinat çözeltisi içindeki homojen olan sulu sodyum aljinat çözeltisiyle oluşturulmuştur. Sonraki aşamada bunun, sulu PVA çözeltisine eklenmesiyle ikincil nanoemülsiyon hazırlanmıştır. Bu su-yağ-su emülsiyonuna, sulu kalsiyum çözeltisi damla damla eklenerek ve metilen klorürün uzaklaştırılmasıyla mikroböncükler hazırlanmıştır. Çalışmanın sonucunda 100 mg nanopartikülde 3.12 mg metformin tutunduğu bulunmuştur [22]. Hariyadi ve arkadaşları Metformin HCl-Ca aljinat mikro-küreleri, aerosolleştirme tekniği kullanarak üretmişlerdir. Çalışmada metformin HCl-Ca aljinat mikro-

kürelerinin fiziksel özellikleri içinde çapraz bağlayıcı olan aljinat ve CaCl_2 üzerine yapılan deneyi incelemişlerdir. Yapılan çalışma, kullanılan yöntemin aljinat mikro-kürelerin partikül büyüklüğünü arttırdığını, metformin-HCl yükünü azaltıp, mikro-kürelerin hapsedme verimliliğini arttırdığı göstermiştir. Çapraz bağlayıcı CaCl_2 derişiminin artırılması mikro parçacık boyutunu artırırken metformin HCl yükünü ve mikro-kürelerin hapsedme verimliliğini azaltmıştır. CaCl_2 derişiminin azaltılması ise metformin HCl yükünü ve mikro-kürelerin hapsedme verimliliğini artmıştır. Bu değerlendirmeler sonucu optimum koşullardaki merformin tutma verim %73 olarak gerçekleştirilmiştir [24]. Khalid ve arkadaşları emilsüyon çözücü buharlaştırma yöntemi ile soydum aljinatın (SA) esterifikasyonu ile tiyolatlanmış sodyum aljinat (TSA) bazlı mikro-küreler oluşturmuşlar ve bunlara Metformin-HCl yükleyerek tutunmayı mukoadhezif etkileri açısından değerlendirmişlerdir; *in vitro* çalışma yaparak TSA'nın derecesi, disülfür bağı oluşumu, viskoelastik özellikler, yüzde verim gibi parametreleri değerlendirmişlerdir. MTF-HCl yükleme verimi %10.65 ve sodyum aljinat ve tiyollenmiş sodyum aljinat mikro-kürelerde ise verim % 24.52 dir [25]. Yukarıda değinilen kaynakçaların sonuçları, metforminin aljinat kürelere tutturulmasında uygulanan yöntemin etkisinin önemini ifade etmektedir. Kaynakçalarda sunulan tutunma verimleri bu çalışmanın sonuçlarıyla kıyaslandığında, izlediğimiz yöntemin ilaç tutunmasına katkısının oldukça başarılı sonuçlar sunduğu görülmektedir.

Literatürdeki bir başka metformin salım çalışmasında, emilsüyon-çapraz bağlama yöntemi ile hazırlanan kitosan mikro-kürelerde, birlikte sentez yoluyla metformin tutunma veriminin yaklaşık %20 olduğu bulunmuştur. Bu düşük verim, Metformin-HCl'in sudaki yüksek çözünürlüğü ve etken maddenin organik ortamdan sulu ortama kaçışına bağlanmıştır [26].

3.1.2 Adsorpsiyon Yöntemiyle Tutunma

Bu bölümde sentez aşamalarıyla birlikte aljinat (A) ve sumak (S) jelleştikten sonra ilaçsız olarak AS-Ca^{2+} kodlu mikro-küre elde edilmiştir. Bu yöntemin amacı mikro-kürelelere adsorpsiyon yöntemiyle ilaç tutturup tutunma değerlerinin, birlikte sentez ile kıyaslanmasıdır. Aşağıda Tablo 2'de ilaçsız mikro-küreye (AS-Ca^{2+}) belirli derişimlerde (50, 100 ve 250 ppm) ilaç tutturulması ile oluşan % Adsorpsiyon değerleri verilmiştir.

Tablo 2. İlaçsız mikro-kürelere (ASCa^{2+}) belirli derişimlerde (ppm, mg L^{-1}) adsorpsiyon yöntemiyle tutturulan metformin miktarlarının %Adsorpsiyon ve mg g^{-1} olarak değışimi

İyon	Co/ppm	Ca/ppm	%Ads	Q/ mg g^{-1}
AS- Ca^{2+}	50	45.7	8.57	0.423
	100	92.7	7.26	0.707
	250	230.1	7.96	0.699
	Ort. Adsorpsiyon		7.93	0.610

Tabloda verilen ortalama %Adsorpsiyon verileri değerlendirildiğinde, AS-Ca^{2+} mikro-kürenin metformin tutunma değeri %7.9'dur. Bu değer mikro-boncukların Ca^{2+} iyonu varlığında sentezlendiği durumdaki tutunmaya göre oldukça düşüktür. Bu durum adsorpsiyon yönteminin metformin tutuklanmasında yeterince verimli olmayacağı şeklinde yorumlanabilir. Düşük miktarda tutunma, adsorpsiyon ile tutunmanın mikroküre-yüzey etkileşimi ve yüzey özellikler ile ilişkili olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Birlikte sentezde ise mikro-küreler metforminle birlikte oluşmaktadır.

3.1.3. Tutunmaya Aljinat/Sumak İçerikli Mikro-kürelerin Polimerle Birlikte Sentezi ve Polimerle Kaplanması Süreçlerinin Etkisi

Araştırmada izlenen ASMPEG veya ASMPVA mikro-kürelerin polimeri içeren ortamda birlikte sentezi ve ASMPEG* veya ASMPVA* mikro-kürelerin ASCa^{2+} mikro-kürelerin polimer ile kaplanması süreçlerinden elde edilen Metformin tutma değerleri Tablo 3 de verilmiştir.

Tablo 3. Mikro-kürelerin polimer içeren ortamda sentezlenmesi ve polimerle kaplanmasının Metformin tutunmasına tutma verimi (%TV) ve tutma miktarı ($Q=\text{mg g}^{-1}$)

Birlikte Sentez			Kaplama		
Mikro-küreler	%TV	Q/ mg g^{-1}	Mikro-küreler	%TV	Q/ mg g^{-1}
ASMPEG	58	7.6	ASMPEG*	23	4.8
ASMPVA	56	8.1	ASMPVA*	54	6.9

Tablo 1'deki Ca^{2+} iyonun tutunma verimi %64'tür. Bu tutunma değeri PEG ve PVA polimerleriyle karşılaştırıldığında bileşenlere PEG veya PVA katılmasıyla tutunma verimi yaklaşık aynı olarak %58 veya %56 olarak azalmıştır. PEG polimerinin kaplamada kullanılması tutunma verimini oldukça (%23) düşürmüştür. PVA polimeri için elde edilen verimler birlikte sentez yönteminde %56 ve kaplama yönteminde %54 olarak yaklaşık aynıdır. Bu durum birlikte sentez sürecinde PEG molekülleri arasında oluşan hidrojen bağlarının katkısıyla metforminin yapı içerisine yüksek

oranda tutuklanmasıyla açıklanabilir. Yüzey kaplama PEG'in mikro-kürelerin mekanik dayanıklılığını arttırırken ilacın tutunma verimini düşük kalmasına neden olmaktadır. PVA'nın kullanıldığı her iki yöntemden de elde % tutma verimleri benzerlik göstermiştir. Gözlemimiz, kaplama yönteminin PVA mikro-kürelerin dayanıklılık süresini arttırıyor olduğu şeklindedir.

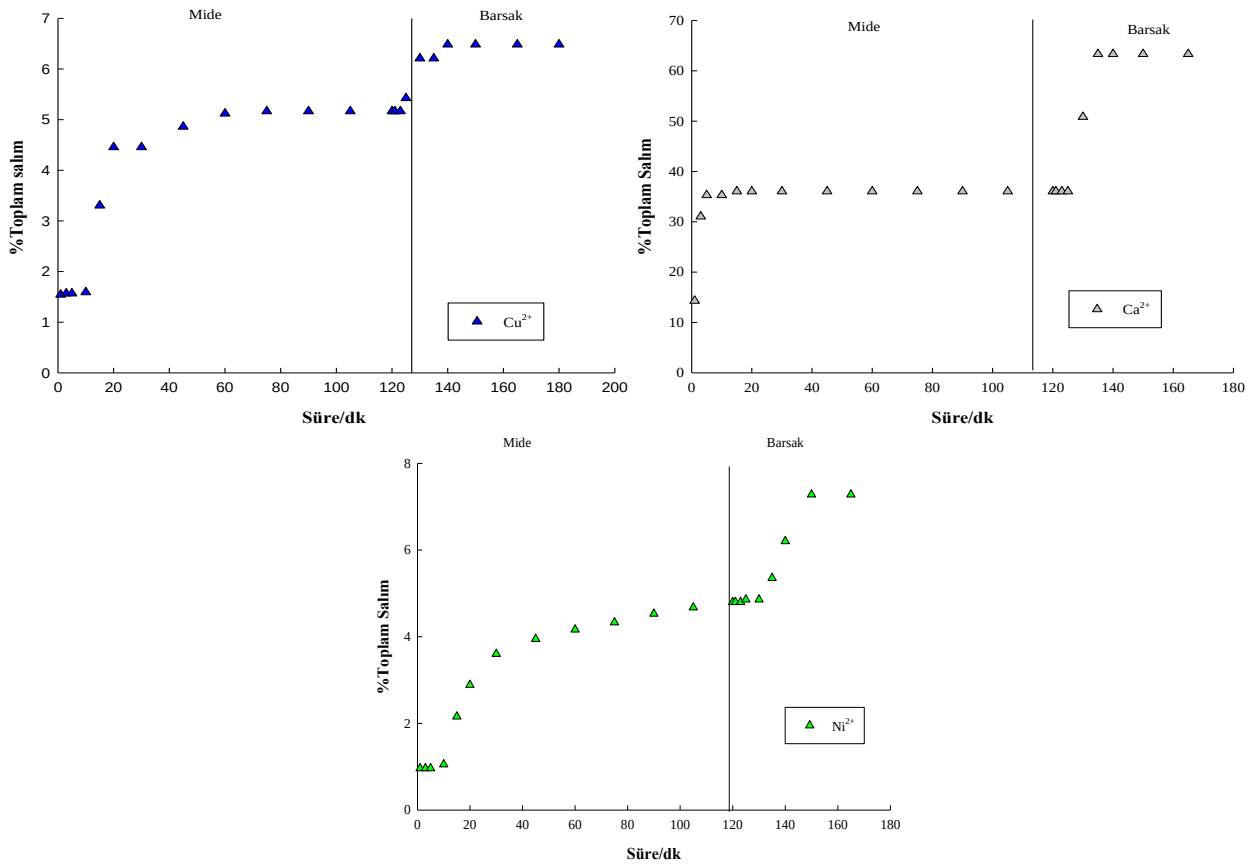
Sentezlenen tüm mikro-boncukların tutunma verimleri birlikte değerlendirildiğinde en yüksek tutunma veriminin (%64) kalsiyum ortamında sentezlenen AS boncuklarda gözlemlendiği görülmektedir. Bu sonuç Hariyadi ve arkadaşlarının çalışmalarındaki %73 verimden daha düşüktür [24]. Ancak çalışmada aerofilasyon tekniği kullanılmıştır ve destek malzemelerin yüzey alanı daha büyüktür. Bu da tutunmayı arttırmış olabilir. Tutunma verimi açısından birlikte sentez yönteminin adsorpsiyon yönteminden daha etkili olduğu görülmektedir. Polimerlerin (PEG veya PVA) destek malzemeye eklenmesinin tutunmaya katkısı olmasa da mikro-kürelerin bağırsak ortamında bozunmasını geciktirdiği görülmüştür.

3.2 Metformin'in Salım Sonuçları

Bu bölümde sentezlenen mikro-kürelerin yapay(enziimsiz) mide ve bağırsak ortamlarında zamana karşı metformin salımı incelenmiştir. Çözeltilerin ilaç içeriklerinin hesaplanmasında ise yine çözelti ortamlarını temsil eden çözeltilerde hazırlanan Metformin standartları ile elde edilen kalibrasyon grafikleri kullanılmıştır.

3.2.1. Farklı İyon Ortamlarında Hazırlanan Aljinat/Sumak İçerikli Kompozit Mikro-kürelerin Salımı

Şekil 9 çapraz bağlayıcı özelliği olan üç farklı iyonun (Ca^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+}) varlığında sentezlenen ASM mikro-kürelerin yapay mide ve bağırsak ortamlarındaki %Toplam metformin salımını göstermektedir.



Şekil 9. Farklı iyon (Ca^{2+} , Cu^{2+} ve Ni^{2+}) ortamlarında sentezlenen ASM mikro-kürelerden mide ve bağırsak pH'lerinde %metformin salımının zamanla değişimi

Şekil 9'daki Ca^{2+} iyonu varlığında elde edilen ASMCa^{2+} 'nin yapay mide ortamında (pH=1.2) ilaç salımı ilk 5. dakikaya kadar artış sağlayıp, 5. dakikadan sonra sabit salım yapmış ve patlama etkisi (burst effect gösterip maksimum salım değeri % 36'ya ulaşmıştır. Yapay bağırsak (pH=7.4) ortamında salımın bir süre daha sürdüğü (120-134 dk aralığında %64'e ulaşmıştır) ancak mikro-kürenin bir süre sonra dağıldığı belirlenmiştir.

Cu^{2+} iyonu varlığında elde edilen ASMCu^{2+} mide ortamında 1-120 dakika aralığında toplamda % 4.9 ilaç salımı yapmıştır. Bu değer yapay barsak ortamında yaklaşık %6 değerine ulaşmıştır. Sentez sürecinde ASMCu^{2+} üzerine tutunan metforminin Cu^{2+} iyonun tutunma veriminin aksine çok düşük ilaç salımı görülmüştür.

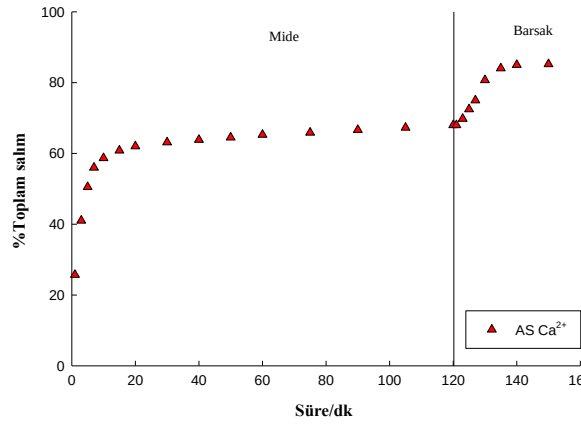
Ni^{2+} iyonu ortamındaki mikro-küreler incelendiğinde yapay mide ortamında 1-120 dk aralığında ulaşılan maksimum salımın % 4.8 olduğu görülmüştür. Bağırsak ortamındaki ulaşılan salım 120-165 dakika arasında %7 civarındadır.

Araştırmamız sonunda gözlenen salım değerleri, Hariyadi ve arkadaşlarının aerosolleştirme tekniği kullanarak ürettikleri metformin HCl-Ca aljinat mikro-kürelerinin pH=1.2'de HCl ortamında 2 saatlik sürede %22-%28 ve pH=7.4 tampon ortamında 10 saat içinde %67-95 salım değerlerinden oldukça düşüktür [24]. Khalid ve arkadaşlarının çalışmasında ise emülsiyon çözücü buharlaştırma yöntemi ile sentezlenen boncukların pH=6.8 fosfat tamponundaki ilaç salımı 12 saatte tutunanın %80'den fazladır [25].

İyonların toplam salım miktarları $\text{Ca}^{2+} > \text{Cu}^{2+} \cong \text{Ni}^{2+}$ sıralamasındadır. Bu durum ilaç ve bakır ya da nikel iyonlarının kararlı koordinasyon kompleks oluşturma ihtimalinden kaynaklanabilir. Bağırsak ortamlarında mikro-boncukların dağılmasının nedeni aljinat boncukların nötr ve bazik ortamdaki yapısal kararsızlığıdır.

3.2.2. Adsorpsiyon Yöntemiyle Tutturulmuş metformin içeren ASCa^{2+}M Mikro-kürelerin İlaç Salımı

Şekil 10, adsorpsiyonla tutunmuş metformin içeren ASCa^{2+}M mikro-kürenin %salım-zaman ilişkisini göstermektedir.



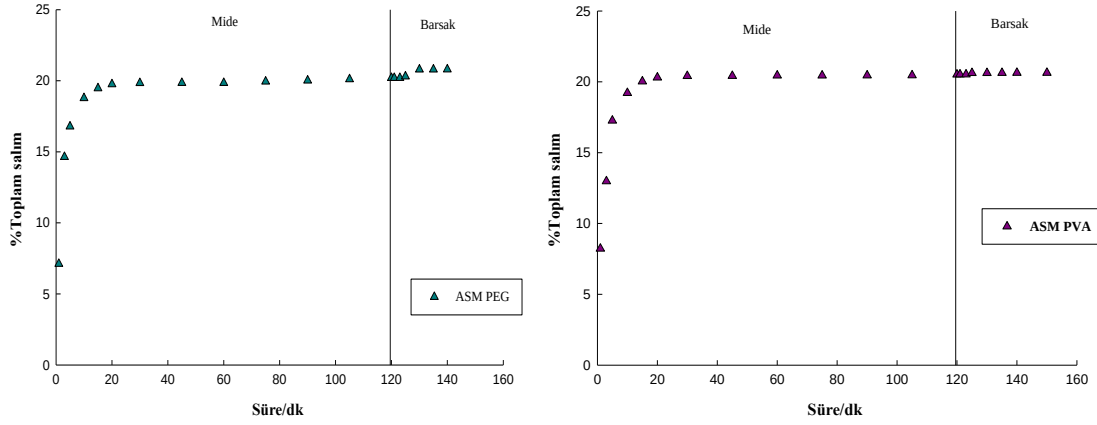
Şekil 10. Adsorpsiyon yöntemiyle tutunmuş ASCa^{2+}M mikro-kürelerden mide ve bağırsak pH'lerinde %metformin salımının zamanla değişimi

Metformin salımı 1-10 dk aralığında %27'den %59 değerine, 20. dk'da %62 değerine ve buradan 120. dk'da %68'e ulaşmaktadır. Yapay bağırsak ortamındaki salım 123. dk'da %69 iken 140. dk'da kadar %85 yükselmektedir. ASCa^{2+} mikro-kürenin sentez sürecindeki metformin tutma oranı düşük olmasına rağmen yüksek oranda salım yapması bu araştırmanın önemli bulgularından biridir.

3.2.3. Polimer Katkılı ASMPEG ve ASMPVA Mikro-kürelerin İlaç Salımı

Şekil11 Aljinat/Sumak ve polimer (PEG, PVA) içeren mikro-kürelerin %salım grafiklerini içermektedir.

Şekilde, ASM-PEG mikro-küreden salımın 1-10 dk aralığında yavaş bir artışla % 20 salıma ulaştığı ve bu değer 20-120 dk aralığında yaklaşık sabit kaldığı görülmektedir. Bağırsak pH ortamının izlenen salıma etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Benzer gözlem ve %salım değerlerinin ASM-PVA için de geçerli olduğu bulunmuştur.

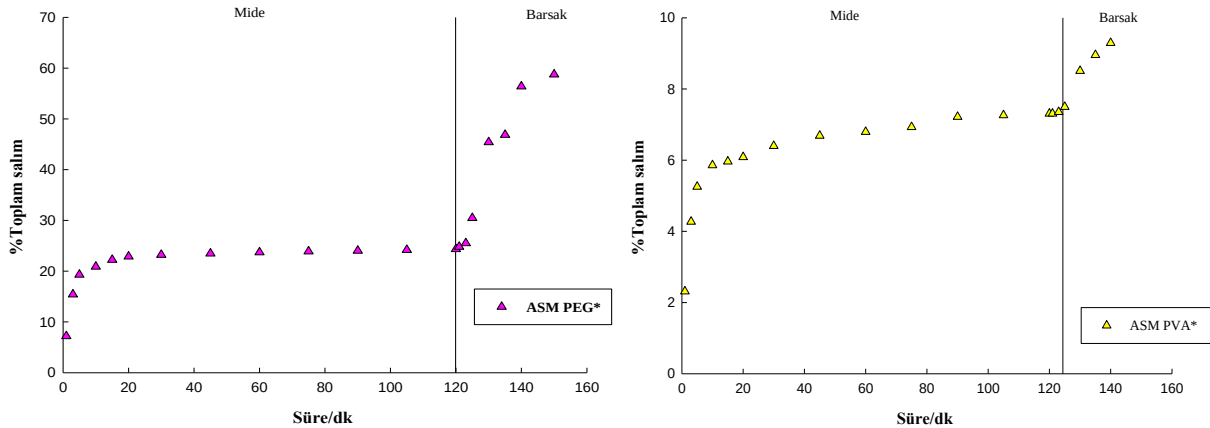


Şekil 11. Polimer katkılı ASM-PEG ve ASM-PVA mikro-kürelerin %metformin salımının zamanla değişimi

Gomez ve arkadaşlarının çalışmasına benzer şekilde, polimer katkılı salım sonuçlarına göre; ASM-PVA ve ASM-PEG mikro-kürelerin içeriğindeki sodyum aljinat ve PVA/PEG polimerlerinin etkileşimindeki karboksilat grubunun protonlanmasının elektrostatik itmeyi azaltmasından kaynaklı ilaç salımı mide ve bağırsak ortamlarında düşük çıkmıştır [23].

3.2.4 Polimerle kaplanmış ASMPEG* ve ASMPVA* Mikro-kürelerin İlaç Salımı

Şekil 12'deki ASMPEG* ile ilgili salım grafiği, bu yapının 1-20 dk aralığında yavaş bir artışla %23 ilaç salımı yaptığını ve salımın 20-120 dk aralığında maksimum %23'e kanıtlamaktadır. Salım, bağırsak pH ortamında 120-150 dakika sonucu kademeli artışla %59 olarak gerçekleşmektedir. Tutunma verimi düşük olan ASMPEG* yüksek oranda salım yapmıştır. Bu durum, PEG polimeriyle kaplama işleminin ilaç salımına birlikte sentezleme yöntemine göre daha işlevsel katkı sağladığını göstermektedir. Bu durum, PEG ile kaplama işleminin ASMPEG* mikro-kürenin mide ve bağırsak ortamlarında dayanıklılığını arttırması olarak da değerlendirilebilir.



Şekil 12. Polimerle kaplanmış ASM-PEG* ve ASM-PVA* mikro-kürelerin %metformin salımının zamanla değişimi

ASMPVA* ile ilgili salım grafiği, bu mikro-kürenin yapay mide ortamında 1-10 dk sürede %5'e ulaşan salım yaptığını bu durumun 10-120 dk aralığında %7'ye ulaştığını göstermektedir. Barsak ortamındaki 120-140 dk içinde ulaşılan değer %8'dir.

PEG ve PVA polimerlerinin birlikte sentez yönteminde tutunma verimleri yüksek olmasına rağmen salım grafikleri beklenildiği gibi olmamış ve düşük çıkmıştır. PEG polimerinin kaplama yönteminde tutunma verimi düşük çıkmasına rağmen salım etkinliği birlikte sentez yöntemine göre yüksek bulunmuştur.

Literatürde, Kumar ve arkadaşlarının çalışmalarında, oluşturdukları nanoformülasyonun (MLAN) ilacın sodyum aljinat ve PVA'da yüksek ve etkili emülsifikasyonu nedeniyle, saf metformine kıyasla kontrollü ilaç salınımı gösterdiği kanıtlanmıştır. Saf metformin, uygulamadan yaklaşık 1 saat sonra %100 oranında salınırken, MLAN'larda kontrollü/sürdürülebilir bir salınım gözlemlenmiştir [22]. Benzer çalışmalar arasında en verimli salım grafikleri izlenen destek malzemesi bu çalışmada sentezlenmiştir.

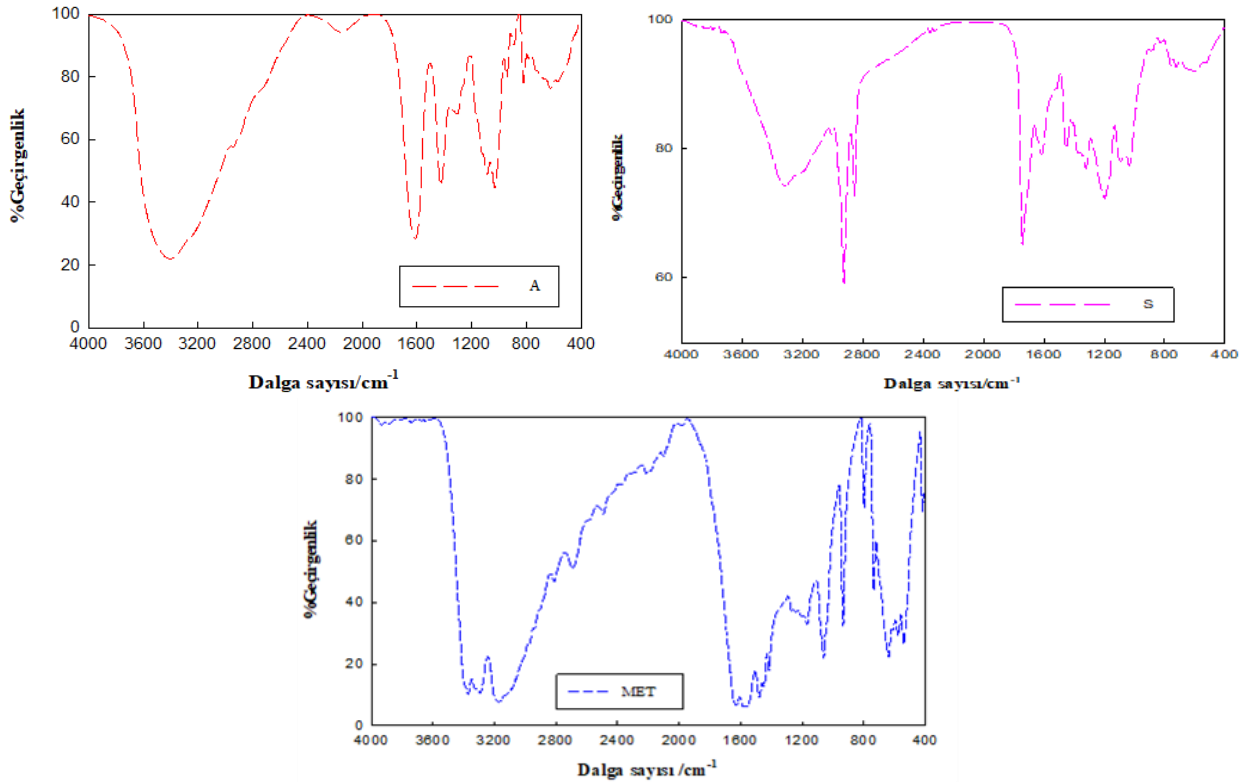
Martinez-Gomez ve arkadaşları donma-çözülme yöntemi kullanarak sodyum aljinat/PVA mikro-küreler elde etmişler ve bu mikro-kürelere metformin hidroklorür yüklemişlerdir. pH:1.2'de sodyum aljinat /PVA mikro-küreleri çok düşük metformin salımı gösterirken, pH: 8' de 6 saat sonra en yüksek salım %55'tir. pH'ın artması metformin salımı yüzdesini arttırmıştır[23]. Çalışmamızın yöntemleri Martinez-Gomez ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile farklılık gösterir ve polimer katkılı yöntemde ASM-PVA kodlu mikro-kürenin metformin salımı pH: 1.2' de %20, pH:7.4'te de %20 'dir. Polimer kaplamalı yöntemde de ASM-PVA* kodlu mikro-kürenin salımı pH: 1.2 'de %7, pH: 7.4'te ise %8 olarak daha düşüktür. Bu verilere dayanarak PVA, Martinez-Gomez ve arkadaşlarının çalışmasında kullandıkları destek malzemenin ilaç salımı açısından daha iyi sonuç verdiği söylenebilir.

3.3. Mikro-kürelerin Karakterizasyonu

3.3.1 FTIR Analizleri

1. Aljinat, Sumak ve Metformin spektrumları

Araştırması yapılan mikrokompozitlerin temel bileşenleri olan Aljinat, Sumak ve Metforminin FT-IR spektrumları Şekil 13'te ilgili açıklamalar aşağıdaki metin içinde sunulmuştur.



Şekil 13.Sodyum aljinat, sumak ve metformine ait FT-IR spektrumları

Sodyum aljinat spektrumunda hidroksil, eter ve karboksilik fonksiyel gruplarının absorpsiyon bantları bulunur [27]; aljinatın 1029 cm^{-1} 'deki karakteristik üçlü bandı ve sırasıyla 1615 ve 1418 cm^{-1} deki bandlar karboksilat grubu C-O asimetrik ve simetrik yapılarının karakteristik gerilme titreşimlerini göstermektedir [19, 23]. Diğer yandan 1303 ve 892 cm^{-1} bantlar ise zayıf bantlardır [28]. Sodyum aljinatın 945 cm^{-1} 'deki bandı üronik asit kalıntılarının C-O gerilme titreşimini, 824 cm^{-1} deki bandı ise mannuronik asit kalıntılarını göstermektedir [23]. Parmak izi bölgesinde 950 -750 cm^{-1} aralığındaki zayıf bantlar karbohidrat analizinde kullanılır [28]. 3414 cm^{-1} 'deki görülen geniş absorpsiyon bandı moleküllere bağlı suyun OH gerilmesini göstermektedir [25].

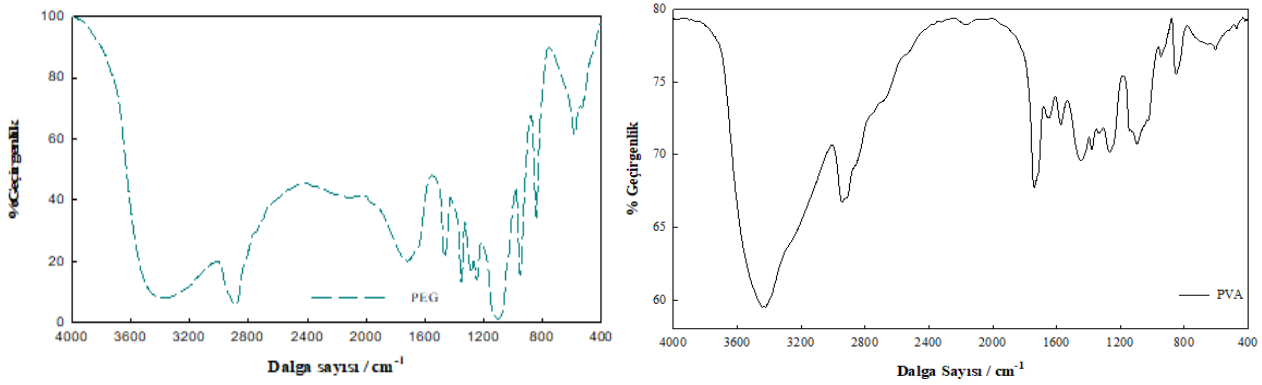
Sumak baharatının spektrumunda görülen 3600 cm^{-1} ve 3200 cm^{-1} arasındaki geniş ve güçlü OH bantları çoğunlukla sumak biyokütlesindeki fenolik bileşiklere karşılık gelmektedir. İkincil amin için N-H gerilmesi 3500 cm^{-1} ve 3300 cm^{-1} aralığında oluşan bandı, 2924 ve 2854 cm^{-1} ana pikler ise alifatik ve aromatik C-H bağlarını göstermektedir. 1469 cm^{-1} bandı metilen ve metan (C-H) gruplarının, 1733 cm^{-1} güçlü band ise sumak biyokütlesindeki C=O gerilmesiyle oluşan amid gruplarının bandıdır. Öte yandan C-N gerilmesi 1350 ve 1000 cm^{-1} aralığında oluşmaktadır. 1180 cm^{-1} yakınındaki band, C-O ile gösterilen organik bileşiklerin yaygınlığı olarak,

1050 cm^{-1} yakınındaki bandın ise (C-O ve C-O-H)'den kaynaklandığı ve polisakkaritlerin olduğu düşünülebilir. =CH ve N-H gruplarının düzlem dışı gerilmesi sonucu 1500 ve 600 cm^{-1} arasında pikler oluşur [29, 30].

Metformin-HCl'nin FT-IR spektrumundaki bantlardan 3367 cm^{-1} N-H asimetric gerilmesine, 3293 ve 3149 cm^{-1} ise N-H simetric gerilmesine karşılık gelmektedir [26]. Başka bir çalışmaya göre metforminin kimyasal yapısındaki C=N-H grubu N-H titreşimleri (simetric-asimetric gerilmeler) 3366 ve 3288 cm^{-1} 'de bulunmaktadır. Guanidin ($\text{HNC}(\text{NH}_2)_2$) bağlarına sahip NH_2 deformasyon ve N-H salınma bandı 1540 ve 936 cm^{-1} 'de, C=N gerilme bandı ise 1621 cm^{-1} 'de görülmektedir [31]. CH_3 molekülünün orta yoğunluktaki üç deformasyon bantları sırasıyla 1413 cm^{-1} , 1448 cm^{-1} ve 1472 cm^{-1} şeklinde gözlenmektedir. 735 cm^{-1} ve 936 cm^{-1} de bulunan bantlar sırasıyla C-H ve CN-C gruplarına, 1038 cm^{-1} ve 1166 cm^{-1} 'de bulunan iki band ise ikincil amin grubunun C-N titreşimine atfedilir [32].

2. PEG ve PVA spektrumları

Şekil14, PEG ve PVA polimerlerine ait FT-IR spektrumlarını içermektedir.



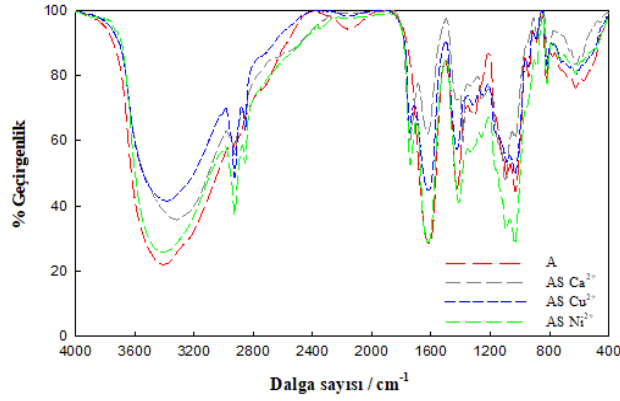
Şekil 14. Polietilen glikol (PEG) ve Polivinil alkol (PVA) polimerlerine ait FT-IR spektrumları

PEG'in spektrumundaki 3400 cm^{-1} bandının pik yoğunluğu O-H gerilme titreşiminden kaynaklanmaktadır. 2889 cm^{-1} , 1630 cm^{-1} ve 1111 cm^{-1} karakteristik absorpsiyon bantları ise C-H, C=O ve C-O'nun gerilme titreşimlerinden oluşur. 2900 cm^{-1} de güçlü absorpsiyon bandı alkan gruplarından meydana gelir. PEG' de bulunan metilen grubunun 2803 cm^{-1} bandında titreşim yaptığı, 966 cm^{-1} ve 849 cm^{-1} 'deki keskin ve güçlü bantların C-C gerilmesinden kaynaklandığını göstermektedir. 1100-1060 cm^{-1} 'deki bantların eter grubunun C-O-C gerilmesine atfedilmektedir. Parmak izi bölgesinde 531 cm^{-1} ve 508 cm^{-1} görülen bantlarda ise C-H grubunun düzlem dışı bükülmesini göstermektedir [19, 33-35].

PVA spektrumunda görülen 3550-3200 cm^{-1} arasında olan geniş bant, moleküller arası ve molekül içi hidrojen bağlarından meydana gelen O-H gerilmesiyle ilişkilidir. 2840-3000 cm^{-1} bandı alkil gruplarındaki C-H gerilmesinden kaynaklanır [36]. 2936 cm^{-1} ve 2906 cm^{-1} görülen bantlar CH_2 'nin sırasıyla asimetric ve simetric gerilmelerini göstermektedir. 1416 cm^{-1} bandı CH_2 bükülmesiyle, 1643 cm^{-1} 'de gözlemlenen band ise CH_2 'nin su absorpsiyonuna bağlı gerilmesiyle oluşur [37].

3. Mikro-küre oluşumuna iyon etkisi spektrumları

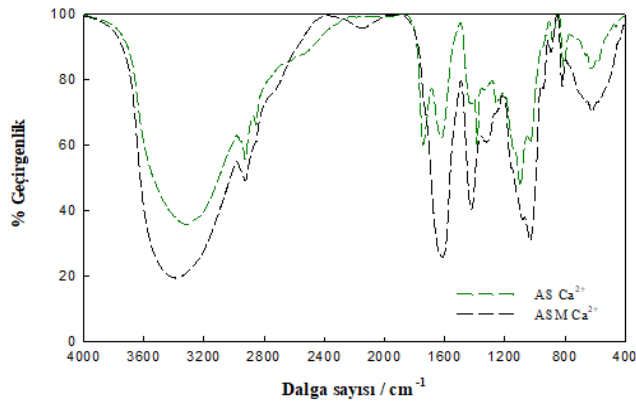
Farklı iyon ortamlarındaki (Ca^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+}) AS içerikli kompozit mikro-kürelere ait spektrumlar sodyum aljinat spektrumlarıyla karşılaştırıldığında aljinat spektrumundaki 1625 cm^{-1} ve 625 cm^{-1} karakteristik bantların kompozitlerde de gözlenmesi (Şekil15) Aljinat-Sumak bağlanmasına kanıt olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 15. Ca^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} iyon ortamlarındaki Aljinat/Sumak içerikli kompozit mikro-kürelerin spektrumlarının sodyum aljinat FT-IR spektrumu ile karşılaştırılması

4. Metformin içerikli ASM mikro-küre oluşum spektrumları

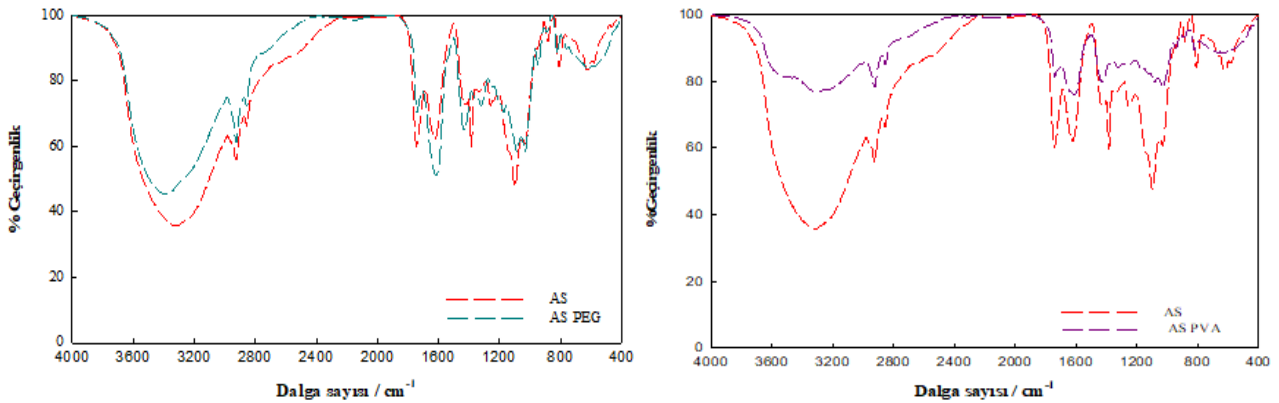
Şekil 16'da Ca^{2+} ortamında sentezlenen hem ASCa^{2+} hem de ASMCa^{2+} spektrumlarında gözlemlenen sodyum aljinata ait 1625cm^{-1} ve 625cm^{-1} ortak bantları ve ASMCa^{2+} spektrumunun ortak bantlar dışında tamamen farklı bir görünümde oluşu AS'ye M katılımının göstergesi olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 16. Ca^{2+} iyonu ortamında oluşturulan Aljinat/Sumak (AS) mikro-küre spektrumunun ilaçlı Aljinat/Sumak (ASM) mikro-kürenin spektrumu ile karşılaştırılması

5. PEG ve PVA katkılı AS mikro-küreler

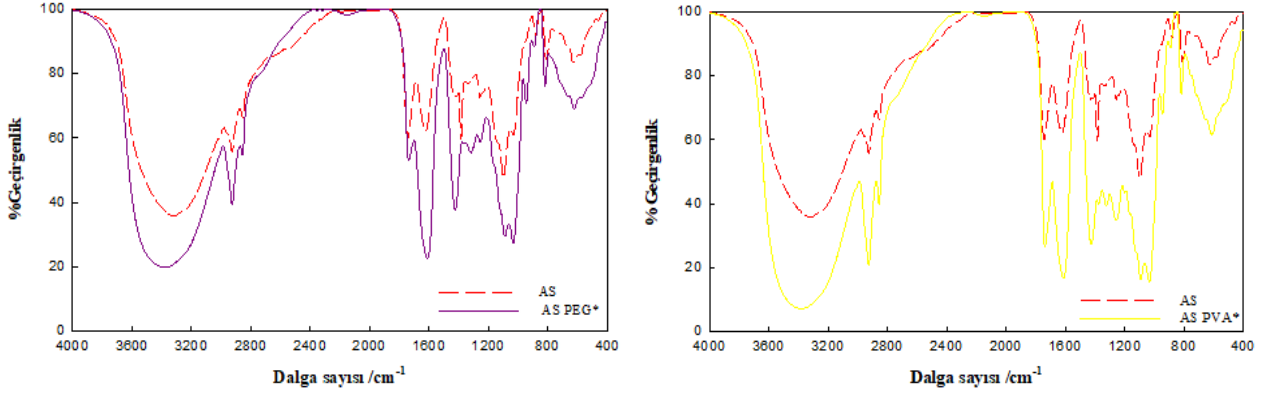
Şekil 17'de PEG veya PVA katkılı ilaçsız mikro-küreler (AS PEG veya AS PVA) ile AS mikro-kürenin spektrumları karşılaştırılmıştır. AS ile ilgili 2927cm^{-1} , 1630 ve 1097cm^{-1} piklerindeki belirgin geri çekilmeler ile AS PEG veya AS PVA spektrumlarının AS'den belirgin farklılıkları polimer katkılı sentezlerin gerçekleşme kanıtlarıdır.



Şekil 17. PEG veya PVA katkılı Aljinat/Sumak kompozit mikro-küreler (AS PEG veya AS PVA) ve Aljinat/Sumak içerikli kompozit mikro-küre (AS) spektrumlarının karşılaştırılması

6. Yüzeyi PEG ve PVA kaplı AS mikro-küreler

Yüzeyi PEG veya PVA kaplı ilaçsız mikro-küreler (AS PEG* veya AS PVA*) ile AS mikro-kürenin spektrumları Şekil 18’de görülmektedir. AS ve polimer kaplı mikro-küre spektrumlarındaki ortak 1622 cm^{-1} ve 1517 cm^{-1} piklerindeki belirgin geri çekilmeler ile birlikte AS PEG* veya AS PVA* spektrumlarının AS’den belirgin farklılıkları polimer kaplı sentezlerin gerçekleşme kanıtlarıdır. Kaplama mikro-kürelerin spektrumları, polimerle birlikte sentezle oluşturulanlardan farklıdır. Bu durum iki teknikle hazırlanan kompozit boncukların yapısal farklılığının da kanıtıdır.

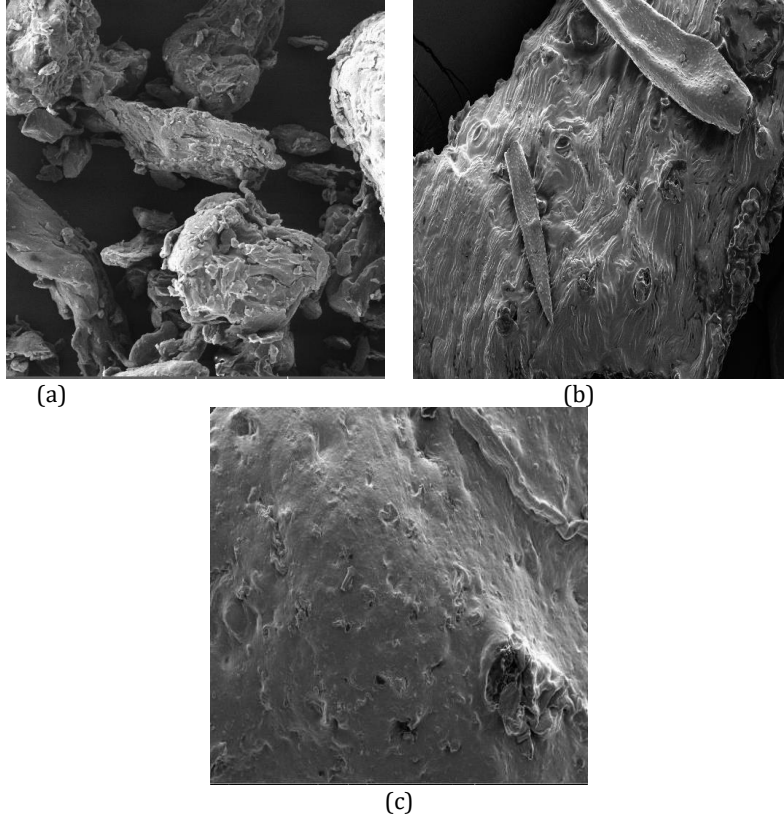


Şekil 18. PEG veya PVA ile kaplı ilaçsız Aljinat/Sumak kompozit mikro-küreler (ASPEG* veya AS PVA*) ve Aljinat/Sumak içerikli kompozit mikro-küre (AS) spektrumlarının karşılaştırılması

Tüm kompozit mikro-küreler kendilerine has özelliklere sahip ve kendilerini oluşturan bileşenlerinden farklı FT-IR spektrumları göstermişlerdir.

3.3.2 SEM Analizi

Aljinat (A), sumak (S) ve bunların kompozitinin (AS) SEM görüntüleri Şekil 19’da karşılaştırılmıştır.



Şekil 19. A (a), S (b), AS (c) materyallerinin 1000 kat büyütülmüş SEM fotoğrafları

Aljinatın yüzey morfolojisi belirli kümeler halinde, sumağın yüzey morfolojisi şeritli çizgiler halinde görülmektedir. AS kompozitin ise yüzey morfolojisi kendisini oluşturan aljinat ve sumak bileşenlerinin bir kombinasyonu olarak tanecikli ve pürüzlü şekilde görülmektedir.

4. Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada aljinatın iyonotropik jelasyon yöntemiyle iki değerlikli iyonlar ortamında aljinat kökenli mikro-küreler sentezlenmiştir. Terapötik alanda ve fitoterapide yaygın olarak kullanılan hipoglisemik etkisi yüksek olan sumak baharatı aljinat jele eklenip, tip II diyabette etkili ve antidiyabetik olan metformin etken maddesinin salımına katkıda bulunabileceği ön görülmüştür. Sumağın, metformin yanında diyabete olan katkısının araştırılması için *in-vivo* çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmada AS mikro-kürelerin etken madde tutunma verimini ve salım profillerinin iyileştirilmesi amacıyla farklı yöntemler araştırılmıştır.

İlk yöntemde aljinatın mikro-boncuk oluşturacağı çapraz bağlayıcı iyonların etken madde tutunma ve salım değerlerine katkısı incelenmiştir. Ca^{2+} iyonu ortamında hazırlanmış AS Ca^{2+} mikro-küre en yüksek tutunma verimine (%64) sahip olmuştur. Salım açısından diğer iyonlara göre yüksek olan AS Ca^{2+} mide ortamında %36 salım yaparak patlama etkisi gösterdiği ve devamında barsak ortamında %64 ile sabit salım yaptığı görülmüştür.

İkinci yöntemde ilaçsız mikroboncuklara adsorpsiyon yöntemiyle belirli derişimlerde ilaç tutturulması incelenmiştir. AS- Ca^{2+} mikro-kürenin tutunma değeri %7.9'dur. Salım açısından ise AS Ca^{2+} mikro-küre yapay mide ortamında %69, yapay bağırsak ortamında %85 salım yapmıştır.

Üçüncü yöntemde birlikte sentezle jele PEG/PVApolimerleri katılmış ve Ca^{2+} iyonu ortamında üçlü kompozitler hazırlanmıştır. ASPEG %58 yüksek tutunma, ASPVA ise %56 tutunma yapmıştır. Salımda her iki polimerli üçlü kompozitler %20 salım yaparak arttırıcı etkileri olmamıştır. Üçüncü yöntemin diğer aşamasında PEG/PVA polimerleriyle Ca^{2+} iyonu ortamında üçlü kompozitlere kaplama yapılmıştır. ASPEG* %23 tutunma verimine, ASPVA* ise %54 yüksek tutunma verimine sahip olduğu görülmektedir. Tutunma açısından ASPVA* kompoziti olumlu sonuç vermiştir. Salım açısından değerlendirildiğinde ise ASPEG*kompoziti mide ortamında %23, barsak ortamında % 59 yüksek salım yapmış ve iyileştirici yönde etkisi olmuştur. ASPVA* kompozit %8 salım yapmış ve etkisi olmamıştır.

Tüm bu sonuçlara bakılarak; sentezlenen aljinat içerikli mikro-boncukların, kolay sentezlenebilen, literatürdeki benzerlerinden bazılarına göre yüksek tutunma ve salım verimi gösteren destek malzemeleri olduğu söylenebilir.

FTIR analizleri, ikili ve üçlü kompozit mikro-kürelerin FT-IR spektrumları kendilerini oluşturan bileşenlerin karakteristik bantlarını da içeren bileşenlerinden farklı bantlar göstermiştir. AS'nin SEM görünümü, bu yapıya ait yüzey morfolojisinin kendisini oluşturan aljinat ve sumak bileşenlerinin bir kombinasyonu olarak tanecikli ve pürüzlü olduğunu kanıtlamıştır.

Teşekkür

Yazarlar, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma projeleri Komisyonu'na ve CÜBAP idari personeline, etken maddenin saf halinin temini için SANOVEL firmasına teşekkür ederler.

Kaynakça

- [1] Yari, K., Akbari, I., Yazdi, S.A.V. 2020. Development and Evaluation of Sodium Alginate-Basil Seeds Mucilage Beads as A Suitable Carrier for Controlled Release of Metformin. International Journal of Biological Macromolecules, 5(2020) ,159, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.11>
- [2] Ceylan, S. 2021. PVA/Kitosan Biyomalzemelerin İlaç Salım Mekanizmasında Çapraz Bağlayıcı Etkisinin İncelenmesi. Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 4(3), (2021), 422-430 <https://orcid.org/0000-0002-1088-7886>
- [3] Mahmuti, N. 2011. Türkiye Cumhuriyeti İlaç pazarında mevcut olmayan metformin içeren uzun etkili oral dozaj şekillerinin hazırlanması üzerine çalışmalar. İstanbul Üniversitesi, Yüksek lisans Tezi, 74s, İstanbul.

- [4] Sauriasari, R., Syawalia, F., Azizahwati, A. 2022. Effect of Metformin and Metformin-Sulfonylurea on Lipid Profile of Type 2 Diabetes Mellitus patients: A Cross-Sectional Study. *İstanbul Journal of Pharmacy*, 52(2) (2022), 114-120. <https://doi.org/10.26650/IstanbulJPharm.2022.957738>
- [5] Turan, İ., Erdem, S., Ergenc, M., Özçmak, H.S. 2022. The Effects of 1,1-dimethylbiguanide Hydrochloride (Metformin) on Detrusor Muscle Contractile Response in Ovariectomized Female Rats. *Turkish Journal of Diabet and Obesite*, 2 (2022), 97-103. <https://doi.org/10.25048/tudod.1066739>
- [6] Bailey, C.J. 2017. Metformin: Historical Overview. *Diabetologia*, 60(2017), 1566-1576. <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4318-z>
- [7] Erek, A., Aktaş, S.B., Özdemir, Y., Ak, G. 2021. Alginate/Chitosan Nanoparticles for Adsorption and Controlled Release of Pemetrexed. *Erzincan University Journal of Science and Technology*. 14(3)(2021), 1066-1076. <https://doi.org/10.18185/erzifbed.1000206>
- [8] Tezcan, F. 2008. Aljinat / kil biyopolimer nanokompozit filmlerin eldesi ve karakterizasyonu. *İstanbul Teknik Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi*, 53s, İstanbul.
- [9] Gökbulut, İ., Öztürk, F. S. 2018. Gıda Mikrokapsülasyonunda Aljinat Kullanımı, *Batman Üniversitesi, Yaşam Bilimleri Dergisi*, 8(1/2), (2018), 16-28.
- [10] Akay, E., Yılmaz, İ., Eyioglu, U. 2023. Sumak (*Rhus coriaria* L.) Bitkisinin Fitoterapide Kullanımı ve Gastronomik Değeri. *Journal of Academic Tourism Studies*, 4(1), (2023), 56-65. <http://dx.doi.org/10.29228/jatos.69344>
- [11] Saltan, F. Z., Ünder, D. 2019. Sumak ve Önemli Biyolojik Etkileri. *Çukurova Tarım Gıda Bilimleri Dergisi*, 34(1) (2019), 69-78.
- [12] Karadaş, Ö., Yılmaz, İ., Geçgel, Ü. 2020. Sumak (*Rhus coriaria* L.) Meyvesinin Fizikokimyasal Özellikleri. *Trakya Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 21(2) (2020), 87-94.
- [13] Doğan, A., Çelik, İ., 2016. Healing Effects of Sumac (*Rhus coriaria*) in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats, *Pharmaceutical Biology*. 54,10(2016), 2092-2102. <https://doi.org/10.3109/13880209.2016.1145702>
- [14] Mirhadi, K., Daryoush, B., Saeid, S. 2011. Orally Administration Effect of Sumac on Blood Sugar in Rat. *Journal of Advance in Environmental Biology*, 5 (2011), 2077-2079.
- [15] Hayta, E. 2014. Polikaprolakton – Polietilen Glikol - Kitosan bazlı mikro-kürecik üretimi ve kontrollü ilaç salımında kullanılması için ön çalışma. *İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi*, 67s, İstanbul.
- [16] Bayındır, Z. S., Yüksel, N., 2007. PEGylation: Preparation and Application of PEG Conjugates. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 36 (4)(2007), 249-266. https://doi.org/10.1501/Eczfak_0000000540
- [17] Özsağıröglü, E. 2015. Püskürtmeli kurutucu ile biyokompozitlerin hazırlanması ve ilaç taşıyım sistemlerinde kullanımı. *İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi*, 113s, İstanbul.
- [18] Rumondor, A. C., Taylor, L. S. 2009. Effect of Polymer Hygroscopicity on the Phase Behavior of Amorphous Solid Dispersions in the Presence of Moisture. *Molecular Pharmaceutics*, 7(2009), 477-4930. <https://doi.org/10.1021/mp9002283>
- [19] Uşan, H. 2023. Aljinat, zencefil /zerdeçal, PEG/PVA içerikli kompozit mikro-kürelerin Sefaklor salımında kullanımı. *Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi*, 79s, Sivas.
- [20] Albayrak, İ. 2011. Poli(vinil) alkol esaslı nanokompozitler ve uygulamaları. *İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi*, 88s, İstanbul.
- [21] Türkyılmaz, A. 2013. Yeni İlaç Salım Sistemlerinin Geliştirilmesi. *İlaç Kimyası Üretimi ve Teknolojisi Standardizasyonu Kongresi, Kimyagerler Derneği*, 29-31 Mart 2013, Antalya, 1-8.

- [22] Kumar, S., Bhanjana, G., Verma, R.K., Dhingra, D., Dilbaghi, N., Kim, K.H. 2017. Metformin-Loaded Alginate Nanoparticles as an Effective Antidiabetic Agent for Controlled Drug Release. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 69(2) (2017), 143-150. <https://doi.org/10.1111/jphp.12672>
- [23] Martigenez -Gomez, F., Guerrero, J., Matsuhira, B., Pavez, J., 2017. In vitro release of Metformin Hydrochloride from Sodium Alginate /Polyvinyl Alcohol Hydrogels. *Carbohydrate Polymers*, 155 (2017), 182-191. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.08.079>
- [24] Hariyadi, D.M., Pathak, Y., Hendradi, E., Erawati, T., Hidayah, I., Santos E., 2020. Formulation Metformin-Loaded Alginate Microspheres by Ionotropic Gelation-Aerosolization Technique. *Sains Malaysiana*, 49 (10), (2020), 2513-2525. <http://dx.doi.org/10.17576/jsm-2020-4910-17>
- [25] Khalid, S., Abbas, G., Hanif, M., Shah, S., Shah S.N.H., Jalil, A., Yaqoob, M., Ameer, N., Anum, A. 2020. Thiolated Sodium Alginate Conjugates for Mucoadhesive and Controlled Release Behavior of Metformin Microspheres, *International Journal of Biological Macromolecules*, 164 (2020), 2691-2700.
- [26] Mokhtare, B., Çetin, M., Özakar, R.S., Bayrakceken, H. 2015. Metformin HCl yüklü kitosan mikro-kürelerinin hazırlanması ve *in vitro* karakterizasyon çalışmaları. *Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 1(2015), 74-86.
- [27] Daemi, H., Barikani, M. 2012. Synthesis and characterization of calcium alginate nanoparticles, sodium homopolymannuronate salt and its calcium nanoparticles. *Scientia Iranica*, 19(6), (2012), 2023-2028.
- [28] Semerci, B. 2019. Biyobozunur polimer/polisakkarit kompozitleri ile Sefaklor salımı. *Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek lisans Tezi*, 127s, Sivas.
- [29] Anaee, R.A., Abdulahh, H.A., Tareq, M.A. 2016. Sumac (*Rhus*) extract as green inhibitor for steel in seawater, *International Journal of Scientific Research In Science, Engineering And Technology*. 2(2016), 353-358. <https://www.researchgate.net/publication/294871779>
- [30] Ahmad, M.S., Liu, H., Alhumade, H., Tahir, M.H., Çakman, G., Yıldız, A., Ceylan, S., Elkamel, A., Shen B. 2020. A modified DAEM: To study the bioenergy potential of invasive Staghorn Sumac through pyrolysis, ANN, TGA, kinetic modeling, FTIR and GC-MS analysis, *Energy Conversion and Management*, 221, (2020), 113173. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2020.113173>
- [31] Yağcı, B.S. 2018. Biyobozunur poliüretan bazlı sert doku destek malzemelerin geliştirilmesi. *Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Temel Bilimleri, Yüksek Lisans Tezi*, 121s, Ankara.
- [32] Yahoum, M.M., Toumi, S., Tahraoui, H., Lefnaoui, S., Kebir, M., Amrane, A., Assadi, A.A., Zhang, J., Mouni, L. 2023. Formulation and evaluation of xanthan gum microspheres for the sustained release of metformin hydrochloride, *Micromachines* (2023), 14, 609. <https://doi.org/10.3390/mi14030609>
- [33] Polu, A.R., Kumar, R. 2011. Impedance spectroscopy and FTIR studies of PEG- based polymer electrolytes. *E- Journal of Chemistry*, 8(1), (2011), 347-353. <https://doi.org/10.1155/2011/628790>
- [34] Khairuddin., Pramono, E., Utomo, S.B., Wulandari, V., Zahrotul, W A., Clegg F. 2016. FTIR studies on the effect of concentration of polyethylene glycol on polymerization of Shellac, *Journal of Physics: Conference Series* 776 (2016), 012053. doi:10.1088/1742-6596/776/1/012053
- [35] Charmi, J., Nosrati, H., Mostafavi Amjad, J., Mohammadkhani, R., Danafar H. 2019. Polyethylene glycol (PEG) decorated graphene oxide nanosheets for controlled release curcumin delivery. 10(2019), 5(4). doi:10.1016/j.heliyon.2019.e01466
- [36] Alhosseini, N., Moztaazadeh, F., Masoud, M., Asgari., Dodel., Samadikuchaksaraei., Kargozar., Jalali. 2012. Synthesis and characterization of electrospun polyvinyl alcohol nanofibrous scaffolds modified by blending with chitosan for neural tissue engineering. *Int J Nanomedicine*, 7(2012), 25-34. <https://doi.org/10.2147/IJN.S25376>

[37] Jipa, I.M., Stoica, A., Stroescu, A., Dobre , L.M., Dobre, T., Jinga, S., Tardei, C. 2012. Potassium sorbate release from poly (vinyl alcohol)-bacterial cellulose films, Chemical Papers, 66(2)(2012), 138-143. <https://doi.org/10.2478/s11696-011-0068-4>