



**Albendazol İçeren Bilozom ve Lipozom
Formülasyonlarının Geliştirilmesi, Karakterizasyonu,
Çözünürlük ve İntestinal Absorpsiyon
Özelliklerinin Değerlendirilmesi**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ayah Alsawaie

Eskişehir 2025

**Albendazol İçeren Bilozom ve Lipozom Formülasyonlarının
Geliştirilmesi, Karakterizasyonu, öznrlk ve İntestinal
Absorpsiyon zelliklerinin Değerlendirilmesi**

Ayah Alsawaie

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Farmasötik Teknoloji Ana Bilim Dalı
Tezli Yüksek Lisans Programı**

Danışman: Prof. Dr. Mustafa Sinan Kaynak

Anadolu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Eylül 2025

Eskişehir

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Ayah ALSAWAIE'nin "Albendazol İçeren Bilozum ve Lipozum Formülasyonlarının Geliştirilmesi, Karakterizasyonu, Çözünürlük ve İntestinal Absorpsiyon Özelliklerinin Değerlendirilmesi" başlıklı tezi 18/09/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı'nda Farmasötik Teknoloji Tezli Yüksek Lisans Programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Ünvanı Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye	Prof.Dr. Mustafa Sinan	
(Danışman):	KAYNAK	
Üye	: Prof.Dr. Suna ERDOĞAN	
Üye	: Prof. Dr. EVRİM AKYIL	

.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ÖZET

Albendazol İçeren Bilozom ve Lipozom Formülasyonlarının Geliştirilmesi,
Karakterizasyonu, Çözünürlük ve İntestinal Absorpsiyon Özelliklerinin
Değerlendirilmesi

Ayah ALSAWAİE

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Eylül, 2025

Danışman: Prof. Dr Mustafa Sinan KAYNAK

Albendazol (ABZ), düşük sulu çözünürlük ve oral biyoyararlanıma sahip bir benzimidazol türevi antelmintiktir; bu durum klinik etkinliğini sınırlandırmaktadır. Bu çalışma, çözünürlüğü ve intestinal permeabilityi artırmak amacıyla ABZ yüklü bilozomlar (BLZ) ve lipozomların (LPZ) geliştirilmesi, optimize edilmesi ve karşılaştırılmasını hedeflemiştir. BLZ'ler ince film hidrasyonu ile hazırlanmış; fosfatidilkolin (PC), sodyum taurokolat (STC) ve sonikasyon süresi merkezî kompozit tasarımıyla optimize edilmiştir. Kontrol olarak PC ve kolesterolden LPZ'ler hazırlanmıştır. Optimize BLZ, 204,8 nm parçacık boyutu, 0,218 PDI, -40,9 mV zeta potansiyeli ve %87,46 enkapsülasyon verimiyle uygun fiziko-kimyasal özellikler sergilemiştir. LPZ'ler ise daha büyük boyut ve daha az negatif yük göstermiştir. DSC ve XRD analizleri ABZ'nin amorf hâle geçtiğini, FTIR fiziksel enkapsülasyonu doğrulamıştır. SEM ve TEM, küresel çok katmanlı vezikülleri göstermiştir. İn vitro salımda BLZ, her iki pH ortamında da (1.2 ve 7.4) LPZ ve saf ABZ'ye kıyasla daha yüksek salım sağlamıştır (BLZ > LPZ > ABZ). Valide edilen spektrofotometrik yöntem doğru ve hassas bulunmuştur. Ratlarda yapılan in vivo SPIP çalışması, veziküler formülasyonların ABZ'ye kıyasla daha yüksek geçirgenlik sağladığını, ancak LPZ ile BLZ arasında anlamlı fark olmadığını göstermiştir. Genel olarak BLZ, ABZ'nin çözünürlüğünü artırmış ve olumlu absorpsiyon potansiyeli sunmuştur; bu da onları düşük çözünürlüklü ilaçlar için avantajlı bir oral taşıyıcı yapmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Albendazol; Bilozomlar; Lipozomlar; Oral ilaç taşıma; Çözünürlük; İntestinal permeabilite; SPIP; Nanotaşıyıcılar.

ABSTRACT

“Development and Characterization of Albendazole-Loaded Bilosome and Liposome Formulations, and Evaluation of Their Solubility and Intestinal Absorption Properties”

Ayah ALSAWAIE

Department of Pharmaceutical Technology

Anadolu University, Graduate Education Institute, September, 2025

Supervisor: Prof. Dr Mustafa Sinan KAYNAK

Albendazole (ABZ), a benzimidazole anthelmintic drug, possesses limited aqueous solubility and low oral bioavailability, limiting its clinical activity. The present study aimed to develop and optimize ABZ-loaded bilosomes (BLZ) and liposomes (LPZ) with comparative evaluation to enhance dissolution and intestinal permeability. Bilosomes were developed by thin-film hydration and optimized by central composite design with phosphatidylcholine (PC), sodium taurocholate (STC), and sonication time as important variables. Liposomes of PC with cholesterol served as a control. BLZ formulation maximized shown favorable physicochemical characteristics, including 204.8 nm particle size, 0.218 PDI, -40.9 mV zeta potential, and good entrapment efficiency (87.46%) favoring stability and efficient drug loading. The liposomes exhibited enlarged size and decreased negative surface charge. DSC and XRD confirmed ABZ amorphization in vesicles, and FTIR established physical encapsulation. Spherical multilamellar vesicles were exhibited by SEM and TEM measurements. In vitro release studies showed improved release of BLZ compared to LPZ and ABZ individually, i.e., BLZ > LPZ > ABZ for both pH 1.2 and pH 7.4. The analytical spectrophotometric method proved accurate and sensitive after validation. Single-pass intestinal perfusion (SPIP) in vivo in rat showed improved permeability for vesicular preparations compared with ABZ but no statistically significant difference between LPZ and BLZ. Overall, bilosomes enabled enhanced dissolution and positive predicted absorption of ABZ, making their application more favorable as an oral drug delivery system for weakly soluble drugs.

Keywords: Albendazole; Bilosomes; Liposomes; Oral drug delivery; Solubility enhancement; Intestinal permeability; SPIP; Nanocarriers.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca değerli rehberliği, sürekli teşviki ve sabırlı danışmanlığı için danışmanım Prof. Dr. Mustafa Sinan KAYNAK'a içtenlikle teşekkür ederim. Onun yapıcı geri bildirimleri ve sarsılmaz desteği, hem araştırmamın hem de akademik gelişimimin şekillenmesinde büyük rol oynamıştır.

Ayrıca araştırmam süresince verdikleri destek ve yardımlar için Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı'ndaki değerli hocalarıma ve araştırma görevlilerine içten teşekkürlerimi sunarım. Bu süreçte destekleri, teşvikleri ve işbirliği benim için büyük önem taşıyan arkadaşım Liban Barre'ye ayrıca teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olup sürekli destek ve motivasyon sağlayan aileme, özellikle de bu yola başlamamın en önemli sebebi olan ve bana duyduğu inançla attığım her adımın temelini oluşturan anneme derin şükranlarımı sunarım.

Ayrıca bu dönemi hem verimli hem de unutulmaz kılmak için farklı şekillerde katkıda bulunan tüm arkadaşlarıma da teşekkür ederim.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programıyla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Ayah ALSAWAIE

18/09/2025

STATEMENT OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES AND RULES

I hereby truthfully declare that this thesis/dissertation is an original work prepared by me; that I have behaved in accordance with the scientific ethical principles and rules, throughout the stages of preparation, data collection, analysis and presentation of my work; that I have cited the sources of all the data and information that could be obtained within the scope of this study, and included these sources in the references section; and that this study has been scanned for plagiarism with “Scientific Plagiarism Detection Program” used by Anadolu University, and that “it does not have any plagiarism” whatsoever. I also declare that, if a case contrary to my declaration is detected in my work at any time, I hereby express my consent to all the ethical and legal consequences that are involved.

ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI

Bu tezi hazırlarken (ChatGPT, Gemini, DALL-E vb.) üretken yapay zekâ programlarından destek almadığımı beyan ederim.

Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

.....

Ayah ALSAWAIE



T.C.
ANADOLU ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARAR FORMU

Toplantı No: 4 Dosya Kayıt No:25-06 BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	"Albendazol İçeren Bilozomların Geliştirilmesi, Çözünürlük ve İntestinal Absorpsiyon Özelliklerinin Değerlendirilmesi"
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI / ADI KURUMU	Prof.Dr. M.Sinan KAYNAK Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
	YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	Ayah SAWAIE
	Hayvan Türü ve Sayısı	S.Dawley(Erkek-40)
DEĞERLENDİRİLEN BELGE	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ ve EKLERİ	Var
KARAR BİLGİLERİ	Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi Prof.Dr. M.Sinan KAYNAK 'ın araştırma yürütücüsü olduğu 25-06 dosya kayıt no'lu ve "Albendazol İçeren Bilozomların Geliştirilmesi, Çözünürlük ve İntestinal Absorpsiyon Özelliklerinin Değerlendirilmesi" başlıklı etik kurul proje başvurusu, Deney Hayvanları etik kurul yönergesine uygun bulunarak onaylanmasına karar verilmiştir.	
	KARAR NO: 2025-06	KARAR TARİHİ: 22.04.2025

İÇİNDEKİLER

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vi
STATEMENT OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES AND RULES	vii
ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI	viii
TABLolar DİZİNİ.....	xiv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xviii
1 GİRİŞ.....	1
1.1 Belirli ilaçlarda Düşük Çözünürlük ve Geçirgenlik Zorlukları.....	1
1.2 Mevcut ilaç Dağıtım Sistemlerinin Sınırlamaları.....	3
1.3 İlaç Dağıtımında Nanopartikül Sistemleri	4
1.4 Bilosomlar: Potansiyel Bir Çözüm	5
1.5 Bilosomların Yapısı ve Özellikleri.....	7
1.6 Bilosom Formülasyonunun Optimizasyonu	8
1.7 Bilosomların Hazırlanması ve Karakterizasyonu.....	10
1.8 Çalışmanın Önemi	11
1.9 Amaç ve Hedefler	12
2 KURAMSAL ÇERÇEVE VE ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	14
2.1 İlaç Taşıyıcı Sistemlere Genel Bakış	14
2.1.1 Kontrollü ilaç dağıtım sistemleri	14
2.1.2 Temel salım mekanizmaları	14
2.1.3 Pasif hedefleme ve EPR etkisi	15
2.1.4 Aktif hedefleme.....	15
2.1.5 Uyarıcı duyarlı sistemler	15
2.1.6 Güncel gelişmeler	15
2.1.7 Klinik ve ticari etkinlik	16
2.1.8 İlaç dağıtım sistemlerinde karşılaşılan zorluklar	16
2.2 Nanoteknoloji Tabanlı İlaç Taşıyıcıları	17
2.3 Albendazol: Farmakolojik Özellikler ve Zorluklar.....	21
2.3.1 Albendazolün farmakolojik özellikleri ve klinik kullanımı	21
2.3.2 Albendazol ile tedavilerde karşılaşılan zorluklar ve güncel yaklaşımlar ..	22
2.4 Bilozomal İlaç Taşıyıcı Sistemler.....	23
2.4.1 Bilosomların tanımı.....	23

2.4.2 Bilosomların hazırlanmaları ve oluşum mekanizmaları	24
2.4.3 Mekanizması ve bilozomal taşıyıcıların uygulamaları	24
2.5 Bilosom Tabanlı İlaç Dağıtımına İlişkin Önceki Çalışmalar.....	27
3. GEREÇLER.....	30
3.1 Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar	30
3.1.1 Kimyasal maddeler	30
3.1.2 Kullanılan ekipman ve cihazlar	31
3.1.3 Kullanılan bilgisayar programları.....	31
4. YÖNTEMLER.....	32
4.1 Deneysel Tasarım	32
4.1.1 Deneysel tasarımın optimizasyonu	32
4.1.2 Albendazol yüklü bilosomların hazırlanması.....	32
4.1.3 Albendazol-yüklü liposom	34
4.2 Fizikokimyasal Karakterizasyon.....	36
4.2.1 Parçacık boyutu (PS), polidispersite indeksi (PDI) ve zeta potansiyeli (ZP)	36
4.2.2 SEM analizi.....	36
4.2.3 TEM analizi	36
4.2.4 FTIR analizi.....	36
4.2.5 DSC analizi	37
4.2.6 XRD analizi.....	37
4.2.7 Kapsülleme verimi	37
4.2.8 İn vitro ilaç salım çalışmaları.....	38
4.2.9 Spektrofotometrik yöntemin validasyonu.....	38
4.2.9.1 Doğrusallık ve çalışma aralığı	38
4.2.9.2 Kesinlik.....	39
4.2.9.3 Doğruluk.....	39
4.2.9.4 Duyarlılık (LOD ve LOQ).....	39
4.2.9.5 Seçicilik.....	39
4.2.10.1 Ratlarda in situ tek geçişli ince bağırsak perfüzyonu (SPIP).....	39
5. BULGULAR ve TARTIŞMA	40
5.1 Parçacık Boyutu (PS), Polidispersite İndeksi (PDI) ve Zeta Potansiyeli (ZP)	40
5.2 Tanımlayıcı İstatistikler	43
5.3 Formülasyon Değişkenlerinin Etkisi.....	44
5.3.1 Sodyum taurokolat (STC) etkisi	44
5.3.2 Fosfatidilkolin (PC) etkisi.....	44
5.3.3 Sonikasyon süresinin etkisi.....	44
5.4 Response Surface Analizi	44
5.4.1 Bilosomal formülasyonlar: karakterizasyon ve karşılaştırma.....	45
5.4.1.1 Bilosomal formülasyonlarda 3B yanıt yüzeyi.....	46
5.4.1.2 STC ve PC'ye göre PS 3B yanıt grafiği	46

5.4.1.3 STC ve PC'ye göre PDI 3B yanıt grafiği	48
5.4.1.4 STC ve PC'ye göre ZP 3B yanıt grafiği	51
5.4.1.5 STC ve PC'ye göre EE 3B yanıt grafiği.....	53
5.4.2 Liposomal Formülasyonlar: Karakterizasyon ve Karşılaştırma.....	55
5.4.2.1 3B Yanıt yüzeyi analizi	55
5.4.2.2 PC ve kolesterol'e göre PS 3B yanıt grafiği.....	55
5.4.2.3 PC ve kolesterol'e göre PDI 3B yanıt grafiği	57
5.4.2.4 PC ve kolesterol'e göre ZP 3B yanıt grafiği	59
5.4.2.5 PC ve kolesterol'e göre EE 3B yanıt grafiği.....	62
5.5 SEM Analizi.....	65
5.5.1 Saf deksrtrinin SEM analizi.....	65
5.5.2 Bilozomların SEM'i.....	66
5.5.2.1 Boş bilozomların SEM analizi	66
5.5.2.2 Albendazol içeren bilozomların SEM analizi.....	67
5.5.3 Lipozomların SEM'i.....	68
5.5.3.1 Boş lipozomların SEM analizi	68
5.5.3.2 Albendazol içeren lipozomların SEM analizi.....	69
5.6 TEM Analizi	70
5.6.1 Bilozomların TEM'i	70
5.6.1.1 Boş bilozomların TEM analizi	70
5.6.1.2 Albendazol içeren bilozomların TEM analizi.....	71
5.6.2 Lipozomların TEM'i	72
5.6.2.1 Boş lipozomların TEM analizi	72
5.6.2.2 Albendazol içeren lipozomların TEM analizi.....	72
5.7 Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR).....	73
5.7.1 Albendazol yüklü bilozomların FTIR spektrumları	73
5.7.2 Albendazol yüklü lipozomların FTIR spektrumları.....	75
5.7.3 DSC Analizi.....	78
5.7.4 XRD Analizi	79
5.7.5 İn vitro ilaç salım çalışmaları.....	81
5.7.5.1 pH 1.2'deki salım çalışmaları	81
5.7.5.2 pH 7.4'deki salım çalışmaları	82
5.7.6 Spektrofotometrik yöntemin validasyon sonuçları	83
5.7.6.1 Doğrusallık ve çalışma aralığı	83
5.7.6.2 Kesinlik.....	84
5.7.6.3 Doğruluk.....	85
5.7.6.4 Duyarlılık (LOD ve LOQ).....	86
5.7.6.5 Seçicilik.....	86
5.7.7 İn situ intestinal rat geçirgenlik çalışmaları	86
5.8 TARTIŞMA.....	90
5.8.1 Optimizasyonlu veziküllerin fizikokimyasal karakterizasyonu.....	90
5.8.2 Lipozom formülasyonlarının değerlendirilmesi.....	90
5.8.3 Morfolojik analiz (SEM ve TEM).....	91
5.8.4 FTIR spektroskopisi.....	92

5.8.5 Karşılaştırmalı değerlendirme: bilozomlar ve lipozomlar	92
5.8.9 DSC analizi	92
5.8.10 XRD analizi.....	93
5.8.11 İn vitro ilaç salım çalışmaları.....	94
5.8.12 Spektrofotometrik yöntemin validasyon sonuçları	95
5.8.13 İn vivo intestinal perfüzyon çalışmaları.....	95
6. SONUÇ	96
KAYNAKÇA.....	99
ÖZ GEÇMİŞ	114



TABLÖLER DİZİNİ

Tablo 4.1	34
<i>STC, PC ve Sonikasyon Süresinin Bilosom Formülasyonlarının Parçacık Boyutu, PDI, Zeta Potansiyeli ve Enkapsülasyon Verimliliği Üzerindeki Etkisi</i>	34
Tablo 4.2	35
<i>STC, PC ve Sonikasyon Süresinin Liposom Formülasyonlarının Parçacık Boyutu, PDI, Zeta Potansiyeli ve Enkapsülasyon Verimliliği Üzerindeki Etkisi</i>	35
Tablo 5.1	47
<i>Seçilmiş faktöriyel model için ANOVA (Yanıt 1: Partikül Boyutu)</i>	47
Tablo 5.2	50
<i>Seçilmiş faktöriyel model için ANOVA (Yanıt 2: PDI)</i>	50
Tablo 5.3	52
<i>Seçilmiş faktöriyel model için ANOVA (Yanıt 3: ZP)</i>	52
Tablo 5.4	54
<i>Seçilmiş faktöriyel model için ANOVA (Yanıt 4: EE)</i>	54
Tablo 5.5	57
<i>Seçilmiş faktöriyel model için ANOVA (Yanıt 1:PS)</i>	57
Tablo 5.6	58
<i>Seçilmiş faktöriyel model için ANOVA (Yanıt 2:PDI)</i>	58
Tablo 5.7	61
<i>Seçilmiş faktöriyel model için ANOVA (Yanıt 3: ZP)</i>	61
Tablo 5.8	64
<i>Seçilmiş faktöriyel model için ANOVA (Yanıt 4: EE)</i>	64
Tablo 5.9	77
<i>Karakteristik FTIR Bantları ve Karşılık Gelen Fonksiyonel Gruplar</i>	77
Tablo 5.10	84
<i>ABZ kalibrasyon eğrilerinin doğrusallık parametreleri (220 ve 290 nm)</i>	84
Tablo 5.11	84
<i>Gün içi kesinlik sonuçları.</i>	85
Tablo 5.12	85
<i>Günler arası kesinlik sonuçları.</i>	85
Tablo 5.13	85
<i>Ara kesinlik sonuçları (Gün 1 + Gün 2, n=12).</i>	85
Tablo 5.14	85
<i>Doğruluk sonuçları.</i>	85
Tablo 5.15	92
<i>Bilosomlar ve lipozomların fizikokimyasal özelliklerinin karşılaştırılması</i>	92

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1	16
Farklı terapötik amaçlara yönelik güncel ilaç dağıtım sistemleri.....	16
Şekil 2.2	18
Yaygın Nano-İlaç Taşıyıcı Türleri	18
Şekil 2.3	20
Pasif Hedeflemenin Şematik Gösterimi	20
Şekil 2.4	23
Albendazol Yapısı.....	23
Şekil 2.5	24
Bilosomların şematik gösterimi.....	24
Şekil 2.6	26
Antijen yüklü bilosomlar, midede yıkımdan korunarak mukozal hücrelerce alınır ve bağışıklık hücrelerine sunulur.....	26
Şekil 5.1	41
Optimum bilozomun parçacık boyutu dağılım analizi	41
Şekil 5.2	42
Optimum bilozomun zeta potansiyeli.....	42
Şekil 5.3	42
Optimum lipozomun parçacık boyutu dağılım analizi	42
Şekil 5.4	43
Optimum lipozomun zeta potansiyeli.....	43
Şekil 5.5	46
STC (mg) ve PC (mg) için Optimal Yanıt Bölgesi ile Örtüşen Bilosomal Kombinasyon Grafiği.....	46
Şekil 5.6	47
sabit sonikasyon süresi altında STC ve PC konsantrasyonlarının partikül boyutu üzerindeki etkisini göstermektedir.....	47
Şekil 5.7	49
Üç Boyutlu Yanıt Yüzeyi Grafiği – Polidispersite İndeksi (PDI).....	49
Şekil 5.8	51
Zeta Potansiyeli (ZP) İçin Üç Boyutlu Yanıt Yüzeyi Grafiği.....	51
Şekil 5.9	53
Enkapsülasyon Verimliliği (EE) İçin Üç Boyutlu Yanıt Yüzeyi Grafiği	53
Şekil 5.10	55
PC (mg) ve Kolesterol (mg) için Optimal Yanıt Bölgesi ile Örtüşme Grafiği	55
Şekil 5.11	56
PC ve Kolesterol Konsantrasyonlarının Fonksiyonu Olarak Partikül Boyutunun 3B Yanıt Yüzeyi Grafiği.....	56
Şekil 5.12	58
PC ve Kolesterol'ün PDI Üzerindeki Etkilerinin 3B Yanıt Yüzeyi Grafiği.....	58

Şekil 5.13	60
PC ve Kolesterol'ün ZP Üzerindeki Etkilerinin 3B Yanıt Yüzeyi Grafiği.....	60
Şekil 5.14	63
PC ve Kolesterol'ün EE Üzerindeki Etkilerinin 3B Yanıt Yüzeyi Grafiği	63
Şekil 5.15	66
Dextrin partiküllerinin SEM görüntüsü.....	66
Şekil 5.16	67
Boş bilozomların SEM görüntüsü	67
Şekil 5.17	68
Albendazol içeren bilozomların SEM görüntüsü	68
Şekil 5.18	69
Boş lipozomların SEM görüntüsü	69
Şekil 5.19	70
Albendazol içeren lipozomların SEM görüntüsü	70
Şekil 5.20	71
Boş bilozomun geçirimli elektron mikroskobu (TEM) fotoğraf mikrografi	71
Şekil 5.21	71
Albendazol yüklü bilozomun geçirimli elektron mikroskobu (TEM) fotoğraf mikrografi	71
Şekil 5.22	72
Boş lipozomun geçirimli elektron mikroskobu (TEM) fotoğraf mikrografi	72
Şekil 5.23	73
Albendazol yüklü lipozomun TEM fotoğraf mikrografi.	73
Şekil 5.24	74
(a) Saf Albendazol, (b) Boş Bilosom ve (c) Albendazol Yüklü Bilosom FTIR Spektrumları	74
Şekil 5.25	76
(a) Saf Albendazol, (b) Boş Lipozom ve (c) Albendazol Yüklü Lipozom FTIR Spektrumları	76
Şekil 5.26	78
Saf albendazol (ABZ), kolesterol (CHOL), dekstrin (DEX), sodyum taurokolat (STC), optimum bilozom formülasyonu (OPT-BLZ) ve optimum lipozom formülasyonu (OPT-LPZ)'na ait diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC) termogramları, ...	78
Şekil 5.27	79
Albendazol (ABZ), kolesterol (CHOL), dekstrin (DEX), sodyum taurokolat (STC), optimum bilozom formülasyonu (OPT-BLZ) ve optimum lipozom formülasyonuna (OPT-LPZ) ait X-ışını toz difraksiyonu (XRD) paternleri.	79
Şekil 5.28	81
Saf albendazol (ABZ), bilozomlar (BLZ) ve lipozomların (LPZ) yapay mide sıvısında (pH 1,2) 24 saatlik in vitro kümülatif ilaç salım profilleri.	81
Şekil 5.29	82

Şekil 5.30	83
290 nm kalibrasyon eğrisi	83
Şekil 5.31	84
220 nm kalibrasyon eğrisi	84
Şekil 5.32	88
Rat ileumunda etkili geçirgenlik (P_{eff} , $\times 10^{-4}$ cm/sn; ort $\pm$ SS, n = 6): ABZ süspansiyonu (MTP ile), ABZ-Lipo, ABZ-Bilo.....	88
Şekil 5.33	88
Rat SPIP verilerinden türetilen tahmini insan P_{eff} ($\times 10^{-4}$ cm/sn).	88
Şekil 5.35	89
Rat P_{eff} 'e göre hesaplanan tahmini absorbsiyon fraksiyonu (F_a , %).	89
.....	89



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- **ABZ** – Albendazol
- **BLZ** – Bilozom
- **LPZ** – Lipozom
- **PC** – Fosfatidilkolin
- **STC** – Sodyum Taurokolat
- **Chol** – Kolesterol
- **EE (%)** – Entrapman Verimi
- **DL (%)** – İlaç Yükleme Oranı
- **PS** – Parçacık Boyutu
- **PDI** – Polidispersite İndeksi
- **ZP** – Zeta Potansiyeli
- **SPIP** – Tek Geçişli İnce Bağırsak Perfüzyonu
- **UV-Vis** – Ultraviyole-Görünür Bölge Spektroskopisi
- **DSC** – Diferansiyel Taramalı Kalorimetri
- **XRD** – X-Işını Difraksiyonu
- **FTIR** – Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
- **SEM** – Taramalı Elektron Mikroskopisi
- **TEM** – Transmisyon Elektron Mikroskopisi
- **SD** – Standart Sapma
- **LOD** – Tespit Limiti
- **LOQ** – Kantitasyon Limiti
- **BCS** – Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi

- **PBS** – Fosfat Tamponlu Salin / Fosfat Tamponu Çözeltilisi
- **HCl** – Hidroklorik Asit
- **NaOH** – Sodyum Hidroksit
- **NaCl** – Sodyum Klorür
- **KH₂PO₄** – Potasyum Dihidrojen Fosfat
- **DMSO** – Dimetil Sülfoksit
- **SLS** – Sodyum Lauril Sülfat
- **PR** – Fenol Red
- **MTP** – Metoprolol
- **Tween 80** – Polisorbat 80
- **DEX** – Dekstrin
- **ANOVA** – Varyans Analizi
- **QbD** – Tasarım ile Kalite (Quality by Design)
- **R²** – Belirleme Katsayısı
- **ICH** – Uluslararası Uyum Konseyi (International Council for Harmonisation)

1 GİRİŞ

1.1 Belirli İlaçlarda Düşük Çözünürlük ve Geçirgenlik Zorlukları

Birçok aktif farmasötik bileşen (API), gastrointestinal sıvılarda çözünmeyi engelleyen yetersiz su çözünürlüğü nedeniyle sınırlı terapötik potansiyele sahiptir; bu durum, ilaçların emilimini önemli ölçüde kısıtlamaktadır (Shaikh vd., 2018). İlaçların sistemik dolaşıma emilebilmeleri için gastrointestinal traktusun sıvı ortamında çözünmeleri gerekmektedir. Yetersiz çözünen ilaçlar uzun süre çözünmeden kalabilir, bu durum etki başlangıcında gecikmeye ve plazma düzeylerinin terapötik aralığın altında kalmasına neden olur. Bu çözünürlük sorunu, özellikle ilacın yolculuğunun mide ve bağırsakların sulu ortamında başladığı oral uygulamalarda oldukça zorlu bir durum oluşturmaktadır.

Albendazol, düşük çözünürlük ve yüksek geçirgenlikle özelleştirilen Biopharmaceutics Sınıflandırma Sistemi (BCS) Sınıf II'ye ait olduğu için bu soruna iyi bir örnek teşkil etmektedir. Çözünürlüğe dayalı emilimi oldukça düşük kalmakta (yaklaşık %5), bu durum tedavi sonuçlarında değişkenliğe ve plazma ilaç düzeylerinin öngörülemez olmasına yol açmaktadır (Hu vd., 2023; Shaikh vd., 2018). Bu biyoyararlanım tutarsızlığı, özellikle uzun süre boyunca hassas ilaç konsantrasyonlarına ihtiyaç duyan hastalıklarda tedavinin etkinliğini olumsuz etkilemektedir.

Bu yetersiz oral alım, genellikle gün içerisinde defalarca tekrarlanan ve aylar süren yüksek doz rejimlerini gerektirmektedir. Bu durum, hem hastalar üzerinde ek bir yük oluşturmakta hem de genel tedavi maliyetlerini ve uyum sağlanamama riskini artırmaktadır (Khot vd., 2024). Uzun süreli dozlama düzenlerinin uygulanması, sürekli tıbbi gözetim ve ilaç teminine erişimin sınırlı olduğu düşük kaynaklı bölgelerde yaşayan hastalar için özellikle zorlayıcıdır.

Ayrıca, daha yüksek dozlar, baş ağrısı, kusma ve kanama gibi daha belirgin yan etkilere yol açmaktadır. Bu olumsuz etkiler, hastaların reçetelenen tedavi rejimlerine uyumunu azaltarak, tedavinin yarım kalmasına ve ilaç direncinin gelişimine zemin hazırlamaktadır (Khot vd., 2024). Dozla ilişkili toksisiteyi azaltırken etkinliği korumak, geliştirilmiş formülasyonların tasarımında kritik bir hedef olarak devam etmektedir.

Hücre zarları arasındaki düşük geçirgenlik, özellikle intestinal epitel hücrelerinin lipid çift tabakaları üzerinden pasif difüzyon yoluyla emilim sağlayan lipofilik bileşikler için,

sistemik maruziyeti daha da azaltmaktadır (Khot vd., 2024). Bu geçirgenlik bariyeri, gastrointestinal traktusta ilacın kısmen çözünmesi durumunda bile, etkin şekilde kan dolaşımına geçememesine yol açarak terapötik etkinliğini sınırlar.

pH duyarlılığı, sistem öncesi metabolizma ve P-glikoprotein (P-gp) dışı atım mekanizmaları gibi faktörler, oral yolla uygulanan birçok ilacın etkin konsantrasyonunu sınırlandırmaktadır (Elkomy vd., 2022). Bu biyolojik bariyerler, ilacın emilebilmesinden önce enzimatik yıkım veya ilacın bağırsak lümenine geri pompalanması yoluyla aktif olarak ilaç konsantrasyonunu azaltmaktadır.

Bu farmakokinetik bariyerler, ilacın plazma düzeylerinde öngörülemez dalgalanmalara yol açarak, özellikle hidatid hastalığı veya nöroçisticerkozis gibi kronik enfeksiyonlarda terapötik konsantrasyonların sürdürülebilmesini zorlaştırmaktadır (Fabbri vd., 2020). Bu dalgalanmalar, terapötik etkinin yetersiz olmasına veya toksisite riskinin artmasına yol açabilir.

Sonuç olarak, tedavi başarısızlıkları ve hastalık nüksleri önemli endişeler olarak kalmaktadır; özellikle, terapötik düzeyin altında kalan dozlamlar devam ederse, paraziter hastalıklarda ilaç direnci hızla gelişebilmektedir (Hu vd., 2023). Bu durumlarda, hastaların yeniden tedavi veya kombine tedavi alması gerekebilir; bu da hastalığın yönetimini daha da karmaşık hale getirmektedir.

Bir bütün olarak, yetersiz çözünebilirlik ve geçirgenlik, ilaç geliştirme sürecinde önemli engeller teşkil etmekte olup, fizikokimyasal sınırlamaların üstesinden gelebilecek yenilikçi dağıtım stratejilerinin geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır (Waglewska vd., 2020). İlaçların sulu ortamda çözünürlüğünü ve bağırsak geçirgenliğini artırmak, terapötik başarının sağlanması ve hastalar ile sağlık sistemleri üzerindeki hastalık yükünün azaltılması açısından kritik öneme sahiptir.

Bu zorlukların üstesinden gelmek, ilacın etkinliğini artırmak, yan etkileri azaltmak ve hastaya daha uygun doz rejimlerinin uygulanmasını sağlamak açısından kritik öneme sahiptir. Çözünürlük ve emilimi geliştiren formülasyonlar, yeterince etkin olmayan ya da sınırda etkili ilaçları klinik açıdan değerli terapilere dönüştürebilir, böylece daha geniş bir hasta kitlesi tarafından erişilebilir ve kabul edilebilir hale getirebilir (Chai vd., 2021).

1.2 Mevcut İlaç Dağıtım Sistemlerinin Sınırlamaları

Geleneksel katı oral dozaj formları, özellikle düşük çözünürlüklü veya kimyasal olarak instabil bileşiklerde tutarlı ilaç salım profilleri elde etmede ciddi zorluklar yaşamaktadır. Düzensiz çözünme hızları ve gastrointestinal sistemdeki değişken emilim, terapötik etkinliği sınırlamakta ve bazı hastaların gerekli plazma düzeylerine ulaşamamasına yol açmaktadır. Bu sorunların aşılması amacıyla liposomlar ve niosomlar gibi nanotaşıyıcılar geliştirilmiştir; ancak bu sistemler de gastrointestinal ortamın zorlu koşullarında sınırlı stabilite sergilemektedir. Lipid çift tabakaları enzimatik bozunmaya ve safra tuzu destabilizasyonuna karşı hassastır ve bu nedenle oral uygulamadaki etkinlikleri kısıtlanmaktadır (Palekar-Shanbhag vd., 2020). Katı lipid nanopartikülleri (SLN'lar) liposomlara kıyasla daha yüksek stabilite göstermelerine rağmen, kristalin çekirdek yapılarından kaynaklanan düşük ilaç yükleme kapasitesi ve depolama sırasında ilaç salımına eğilimleri nedeniyle uzun süreli terapötik etkinlikleri sınırlı kalmaktadır (Paul vd., 2022).

Nanotaşıyıcı sistemler belirli ölçüde emilimi artırabilse de, çoğu formülasyon mukozaya tutunmayı ve geçirgenliği destekleyen bileşenlerden yoksundur. Bu durum, ilacın emilim bölgesinde kalma süresini kısaltarak biyoyararlanımı azaltabilmektedir (Kang vd., 2024). Emilim ve çözünürlük engellerini aşmak için parenteral enjeksiyon gibi invaziv yollar kullanılmakta; ancak bu yöntemler, hasta uyumunu azaltmakta ve özellikle kronik tedavilerde uygulama zorlukları doğurmaktadır. Ayrıca, steril koşul gereksinimi ve eğitimli personel ihtiyacı, bu yöntemlerin düşük kaynaklı bölgelerde uygulanabilirliğini kısıtlamaktadır (Nemati vd., 2022). Formülasyonların kararlılığını korumak amacıyla soğuk zincir depolama ihtiyacı da lojistik açıdan ek bir bariyer oluşturmaktadır. Sıcaklığa duyarlı yapılar, taşınma ve depolama sırasında yüksek maliyet ve teknik zorluklara yol açmakta, gelişmekte olan ülkelerde tedaviye erişimi güçleştirmektedir (Palekar-Shanbhag vd., 2020).

İn vitro–in vivo korelasyonu (IVIVC) da bu sistemlerde önemli bir sınırlamadır. Standart in vitro salım yöntemleri, gastrointestinal ortamın kompleks biyolojik bariyerlerini tam olarak taklit edemediğinden, öngörülen performans ile gerçek klinik sonuçlar arasında farklılıklar görülmektedir. Bu uyumsuzluk, formülasyon optimizasyonunu ve düzenleyici onay süreçlerini zorlaştırmaktadır (Waglewska vd., 2020). Daha ileri simülasyon teknikleri ve dinamik in vitro modellerin kullanılması, bu boşluğu kapatmada kritik öneme sahiptir.

Klinik verilerle entegre edilen farmakokinetik modeller, formülasyon performansının daha doğru öngörülmesine katkıda bulunarak geliştirme sürecini hızlandırabilir.

Laboratuvar ölçeğinde geliştirilen nanotaşıyıcıların endüstriyel üretime aktarılması da zorluk barındırmaktadır. Partikül boyutu, kapsülleme verimliliği ve stabilite gibi temel parametrelerdeki varyasyonlar, parti-parti tutarlılığı doğrudan etkileyerek ürün güvenilirliğini azaltabilmektedir. Bu nedenle, ölçeklenebilirlik için sürekli üretim süreçleri ve kapsamlı kalite kontrol stratejileri geliştirilmesi gerekmektedir (Sharma ve Chauhan, 2024). Ancak bu tür önlemler maliyeti artırmakta ve endüstriyel uygulamalarda ilave engeller oluşturmaktadır.

Özetle, formülasyon bilimi alanındaki ilerlemelere rağmen mevcut ilaç dağıtım sistemleri; sınırlı stabilite, düşük permeasyon kapasitesi, yüksek üretim maliyetleri ve özel depolama gereksinimleri gibi engeller nedeniyle geniş klinik uygulamalarda istenilen performansı sağlayamamaktadır. İdeal bir ilaç taşıma sistemi; fizyolojik koşullar altında stabilite, artan geçirgenlik, hedefe yönelik dağıtım, kolay uygulanabilirlik ve maliyet etkinliği gibi özellikleri bir araya getirmelidir. Bu hedeflere ulaşma çabası, yeni nesil nanotaşıyıcı sistemlerin geliştirilmesine odaklanılmasına yol açmış ve özellikle bilosomlar, bu özellikleri entegre etme potansiyeli nedeniyle ön plana çıkmıştır (Kaurav vd., 2023).

1.3 İlaç Dağıtımında Nanopartikül Sistemleri

Nanoteknoloji, düşük çözünürlük, sınırlı stabilite ve yetersiz hedefleme gibi temel kısıtlamalara çözümler sunarak ilaç dağıtımında devrim yaratmıştır. Polimerik nanopartiküller, dendrimler, lipid bazlı nanotaşıyıcılar ve inorganik nanopartiküller gibi farklı türler geliştirilmiş olup, her biri terapötik uygulamalarda kendine özgü avantajlar sağlamaktadır (Paul vd., 2022). Lipid bazlı taşıyıcılar arasında liposomlar, niosomlar ve katı lipid nanopartikülleri (SLN'ler) özellikle biyouyumlulukları ve hem hidrofilik hem de lipofilik ilaçları kapsülleyebilme yetenekleri nedeniyle dikkat çekmektedir. Liposomlar yüksek ilaç enkapsülasyonu ve koruma sunmalarına rağmen gastrointestinal ortamda stabil değildirler. Niosomlar ise geliştirilmiş raf ömrü ve stabilite sağlamalarına karşın, salım kontrolü ve mukozal penetrasyon açısından sınırlamalar barındırmaktadır. SLN'ler, fiziksel stabilite ve kontrollü salım özellikleriyle öne çıkarken, kristalin yapıları nedeniyle düşük ilaç yükleme kapasitesi gösterebilmektedir (Paul vd., 2022).

Bu gelişmelere rağmen, birçok nanotaşıyıcı gastrointestinal sistemdeki enzimatik bozunma ve pH değişikliklerine karşı dayanıklılık gösteremediğinden, optimal oral biyoyararlanımı sağlayamamaktadır (Kang vd., 2024). Ayrıca, yüzey modifikasyonları ve ligand eklemeleri hedefe yönelik dağıtımda ilerlemeler sunsa da, immün temizlenme, opsonizasyon ve makrofaj alımı dolaşım süresini kısaltarak etkinliği düşürmektedir (Zou vd., 2024). Spesifik geçirim artırıcılar eklenmediği durumda bu sistemler biyolojik bariyerleri aşmakta yetersiz kalabilmekte, mukus ile etkileşimleri ise mukozal taşınmayı sınırlayabilmektedir.

İn vitro ve in vivo sonuçlar arasındaki tutarsızlık da önemli bir sınırlamadır. Biyolojik sistemlerin karmaşık ve dinamik yapısı öngörülemeyen salım profillerine ve biyodağılım paternlerine yol açarak terapötik etkinliğin tahmin edilmesini zorlaştırmaktadır (Waglewska vd., 2020). Bunun yanında, laboratuvar ölçeğinde başarıyla elde edilen formülasyonların endüstriyel ölçeğe aktarımı sırasında partikül boyutu, kapsülleme verimliliği ve stabilite parametrelerinde ortaya çıkan varyasyonlar üretim sürecini zorlaştırmakta; ölçeklenebilirlik ve tekrarlanabilirlik büyük engeller olarak karşımıza çıkmaktadır (Sharma ve Chauhan, 2024). Maliyet de bir başka kısıtlamadır; yüksek saflıkta reaktifler, özel ekipmanlar ve sıkı üretim koşulları, bu sistemlerin özellikle düşük kaynaklı ortamlarda erişilebilirliğini sınırlandırmaktadır.

Tüm bu zorluklara rağmen nanopartikül sistemler, ilaç dağıtım araştırmalarında ön planda yer almaya devam etmektedir. Özelleştirilebilirlik, hedefe yönelik dağıtım ve çözünürlüğün artırılması gibi sundukları avantajlar, özellikle düşük çözünürlüklü ilaçlar için yenilikçi formülasyonların geliştirilmesine olanak tanımaktadır. Bu bağlamda, albendazol gibi biyoyararlanımı düşük ilaçların bilosomal tabanlı sistemler aracılığıyla yeniden formüle edilmesi, klinik uygulamalarda terapötik etkinliğin artırılması açısından büyük potansiyele sahiptir.

1.4 Bilosomlar: Potansiyel Bir Çözüm

Bilosomlar, düşük çözünürlük ve geçirgenliğe sahip ilaçların oral biyoyararlanımını artırmayı hedefleyen gelişmiş vesiküler sistemlerdir. Konvansiyonel lipid bazlı taşıyıcılardan farklı olarak lipid çift tabakasına entegre edilen safra tuzları, bu sistemlere gastrointestinal koşullarda üstün stabilite kazandırmakta ve mukozal zarlarla etkileşimlerini güçlendirerek ilaç emilimini artırmaktadır (Palekar-Shanbhag vd., 2020). İlk olarak 2000'li yılların başında Glasgow Üniversitesi'nde geliştirilen bilosomlar,

proteinler, peptitler ve küçük moleküller dahil olmak üzere geniş bir yelpazede terapötik ajanı kapsülleme yetenekleri ile dikkat çekmiştir. Böylece, kapsüllenmiş ilaçlar mide ve bağırsak ortamındaki enzimatik bozunmalardan korunarak sistemik dolaşıma daha yüksek oranda ulaşabilmektedir (Shukla vd., 2008).

Bilosomların en belirgin avantajlarından biri, biyolojik bariyerleri aşabilme yetenekleridir. Safra tuzlarının permeasyon artırıcı etkisi sayesinde epitel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar geçici olarak gevşemekte ve paracelüler taşıma kolaylaşmaktadır (Elkomy vd., 2022). Ayrıca bilosomlar, simüle gastrointestinal sıvılarda liposom ve niosomlara kıyasla daha yüksek stabilite göstermektedir. Bu özellik, yüklerinin hedeflenen emilim bölgelerine ulaşana kadar korunmasını sağlamaktadır (Palekar-Shanbhag vd., 2020). İlâveten, aşı taşıyıcıları olarak kullanıldıklarında hem sistemik hem de mukozal bağışıklık yanıtı oluşturabilmeleri, bilosomların immünolojik açıdan da önemli bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir (Singh vd., 2004).

Çok yönlülükleri de bilosomların öne çıkan özellikleri arasındadır. Lipid çift tabakalarının bileşimi ve kapsüllenen ajanın özelliklerine bağlı olarak hem hidrofilik hem de lipofilik ilaçlar taşınabilmektedir. Bu esneklik, albendazol gibi düşük çözünürlüklü antiparaziterlerden makromoleküler biyolojik ajanlara kadar geniş bir terapötik yelpazede kullanılabilmesini sağlamaktadır (Ahmad vd., 2017). Bununla birlikte, bilosomlar oda sıcaklığında stabilite göstermeleri sayesinde soğuk zincir gereksinimini ortadan kaldırarak ilaç dağıtım lojistiğini kolaylaştırmakta; bu özellik özellikle kaynak kısıtlı bölgelerde erişilebilirliği artırmaktadır (Waglewska vd., 2020).

Üretim açısından değerlendirildiğinde, bilosomlar ölçeklenebilirlik ve tekrarlanabilirlik avantajı sunmaktadır. İnce film hidrasyonu, sonikasyon ve ekstrüzyon gibi yöntemler basit ve endüstriyel ölçekte uygulanabilir nitelikte olup, kalite kontrol sürecini destekleyerek tutarlı partikül boyutu, yükleme kapasitesi ve saflık sağlamaktadır (Ahmed vd., 2020). Böylece bilosomlar, laboratuvar ölçeğindeki başarıların klinik uygulamalara taşınmasına olanak tanıyan ticari açıdan uygulanabilir platformlar haline gelmektedir.

Albendazol dağıtımı özelinde, bilosomlar hem çözünürlük hem de geçirgenlik sorunlarına çözüm sunmaktadır. Safra tuzu stabilize edilmiş veziküller içerisinde kapsüllenen albendazol, çözünme hızını ve bağırsak emilimini artırarak terapötik etkinliği yükseltmekte ve doz sıklığının azaltılmasına katkı sağlamaktadır (Khot vd., 2024). Genel olarak bilosomlar; ilaçları koruma, geçirgenliği artırma, mukozal bağışıklığı destekleme,

lojistik kolaylık ve üretim ölçeklenebilirliği gibi özellikleri sayesinde, oral ve mukozal ilaç dağıtımında yeni nesil bir sistem olarak öne çıkmaktadır (Kaurav vd., 2023).

1.5 Bilosomların Yapısı ve Özellikleri

Bilosomlar, esas olarak lipidler, noniyonik yüzey aktif maddeler ve safra tuzlarından oluşan nanoskalalı veziküler taşıyıcılardır. Bu bileşenler, gastrointestinal sistemin zorlu ortamında terapötik ajanları koruyarak stabil ve biyoyumlu yapılar oluşturur. Benzersiz yapıları sayesinde hem hidrofilik hem de lipofilik ilaçları kapsülleyebilir ve böylece ilaç dağıtımında geniş bir uygulama yelpazesi sunarlar (Palekar-Shanbhag vd., 2020).

Bilosomların temel yapısal birimi, fosfatidilkolin gibi fosfolipidlerden oluşan çift tabakadır. Hücresel zarların doğal yapısına benzerlik göstermesi, biyolojik sistemlerle uyumu artırır, toksisiteyi azaltır ve hücresel alımı kolaylaştırır. Fosfolipidler ayrıca kapsülleme verimliliğini yükselterek vezikül stabilitesine katkıda bulunur (Waglewska vd., 2020). Formülasyonda kullanılan Span ve Tween gibi noniyonik yüzey aktif maddeler ise yüzey gerilimini düşürür, parçacıkların kümelenmesini engeller ve pH değişikliklerine karşı vezikül bütünlüğünü korur. Bu sayede bilosomların emilim ve biyoyararlanımı artar (Palekar-Shanbhag vd., 2020).

Safra tuzları, bilosomları diğer veziküler taşıyıcılardan ayıran en belirgin bileşendir. Sodyum deoksikolat ve sodyum taurokolat gibi amfifilik moleküller, bilosom zarına entegre olduklarında yapının çözünme ve enzimatik bozunmaya karşı direncini artırır. Ayrıca zar akışkanlığını yükselterek biyolojik membranlarla kaynaşmayı kolaylaştırır ve mukozal bariyerlerden penetrasyonu iyileştirir (Elkomy vd., 2022; Zou vd., 2024).

Kolesterol, çift tabaka yapısında denge sağlayarak zar akışkanlığını ve mekanik dayanıklılığı düzenler. Bu sayede ilaç sızıntısı azalır ve özellikle fizyolojik stres koşullarında stabilite artar (Waglewska vd., 2020). Yapısal özellikler açısından bilosomlar, formülasyon yöntemine bağlı olarak unilamellar veya multilamellar olabilir. Tek tabakalı veziküller daha küçük çekirdek hacmine sahipken, çok tabakalı yapılar daha yüksek kapsülleme kapasitesi sağlar. Bu farklılıklar ilaç salım kinetiği ve verimliliği doğrudan etkiler (Palekar-Shanbhag vd., 2020).

Fizikokimyasal özellikler de bilosom performansında kritik rol oynar. Zeta potansiyeli, partiküllerin stabilitesi ve biyolojik yüzeylerle etkileşimi için belirleyicidir. Safra

tuzlarının varlığı nedeniyle bilosomlar genellikle negatif yüklüdür ve elektrostatik itme, agregasyonu engeller. ± 30 mV üzerindeki zeta potansiyeli, süspansiyon stabilitesi için ideal kabul edilir (Hoseini vd., 2023). Ayrıca partikül boyutu genellikle 90 nm–3 μ m arasında değişir. Daha küçük boyutlu veziküller, bağırsak mukozasındaki Peyer plakaları üzerinden daha etkin şekilde alınabilir. Boyut uniformitesi, polidispersite indeksi (PDI) ile ifade edilir ve 0,3'ten düşük bir değer homojen bir dağılımı gösterir (Hoseini vd., 2023).

Sonuç olarak, bilosomların yapısal ve fiziko-kimyasal özellikleri—lipid bileşimi, safra tuzu entegrasyonu, partikül boyutu, zeta potansiyeli ve lamellarite—oral ve mukozal ilaç dağıtımında üstün performans sağlamaktadır. Bu özellikler, albendazol gibi düşük çözünürlük ve biyoyararlanım sorunları olan ilaçların etkili şekilde kapsüllenmesine ve taşınmasına imkan tanıyarak bilosomları farmasötik teknoloji alanında umut vaat eden bir platform haline getirmektedir (Palekar-Shanbhag vd., 2020; Waglewska vd., 2020).

1.6 Bilosom Formülasyonunun Optimizasyonu

Bilosom formülasyonunun optimizasyonu, ilaç dağıtımında ideal fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özelliklere ulaşmak için çeşitli parametrelerin dikkatli bir şekilde ayarlanmasını gerektirir. Temel hedefler; ilaç kapsülleme verimliliğini (EE%) artırmak, vezikül stabilitesini korumak, partikül boyutunu ve dağılımını kontrol etmek, ayrıca etkili ilaç salımı ve emilimini sağlamak üzere geçirgenliği geliştirmektir. Bu hedeflere, lipid bileşimi, safra tuzu konsantrasyonu, yüzey aktif madde türü ve işlem parametrelerinin etkileri sistematik olarak değerlendirilerek ulaşılmaktadır (Ahmed vd., 2020).

Lipid konsantrasyonu, bilosomların yapısal bütünlüğü ve kapsülleme kapasitesi üzerinde belirleyici rol oynar. Daha yüksek lipid içeriği, albendazol gibi hidrofobik ilaçların kapsüller içinde tutulmasını kolaylaştırır da, aşırı lipid kullanımı multilamellar yapıları teşvik ederek salım kinetiğini olumsuz etkileyebilir. Bu nedenle dengeli bir lipid oranı, hem kapsülleme hem de kontrollü salım açısından kritik öneme sahiptir (Palekar-Shanbhag vd., 2020).

Safra tuzlarının türü ve konsantrasyonu da optimizasyon sürecinde hayati bir parametredir. Sodyum deoksikolat, sodyum kolat ve sodyum taurokolat gibi safra tuzları, zar akışkanlığını artırarak biyolojik membranlarla etkileşimi güçlendirir. Ancak konsantrasyonun düşük olması geçirgenliği sınırlarken, yüksek seviyeler vezikül stabilitesini bozarak sızıntıya neden olabilir (Elkomy vd., 2022).

Noniyonik yüzey aktif maddeler, vezikül stabilitesini artırmak ve agregasyonu önlemek için bilosom formülasyonlarına sıklıkla dahil edilmektedir. Span 60 ve Tween 80 gibi ajanlar, hafif doğaları ve biyouyumlulukları ile tercih edilmektedir. Seçilen yüzey aktif maddenin hidrofilik-lipofilik dengesi (HLB), vezikül boyutu ve zeta potansiyelini doğrudan etkiler. Daha düşük HLB değerine sahip yüzey aktif maddeler, daha küçük ve stabil partiküllerin oluşumunu kolaylaştırır, bu da mukozal emilimin iyileştirilmesi açısından avantaj sağlar (Palekar-Shanbhag vd., 2020).

Kolesterol, çift tabakanın akışkanlığını azaltıp mekanik dayanıklılığını artırarak zar stabilizatörü işlevi görür. Böylece ilaç sızıntısı azaltılır ve depolama sırasında vezikül bütünlüğü korunur. Ancak aşırı kolesterol, zar esnekliğini düşürüp geçirgenliği sınırlayabilir. Bu nedenle kolesterol-fosfolipid oranının dikkatle optimize edilmesi gerekir (Waglewska vd., 2020).

İşlem parametreleri de bilosomların nihai özelliklerini belirleyen önemli faktörlerdir. İnce film hidrasyonu, ardından sonikasyon veya ekstrüzyon uygulaması, en yaygın kullanılan yöntemdir. Sonikasyon partikül boyutunu ve polidispersite indeksini (PDI) düşürse de, aşırı uygulandığında zar hasarı ve kapsülleme verimliliğinde kayıplara yol açabilir (Ahmed vd., 2020).

Son yıllarda optimizasyon sürecinde istatistiksel araçlar da yaygınlaşmıştır. Deney Tasarımı (DoE) ve Cevap Yüzeyi Metodolojisi (RSM), çoklu parametrelerin etkilerini sistematik biçimde analiz ederek yüksek EE%, uygun partikül boyutu ve sağlam zeta potansiyeli gibi hedeflere ulaşmak için en uygun formülasyon koşullarını belirlemeyi mümkün kılar (Hoseini vd., 2023).

Ayrıca stabilite çalışmaları, geliştirilen bilosomların depolama koşulları altında özelliklerini koruduğunu doğrulamak açısından önemlidir. Partikül boyutu, zeta potansiyeli ve EE% değerlerinin farklı sıcaklıklarda izlenmesi, uzun süreli kararlılık hakkında bilgi sağlar. Özellikle yüksek safra tuzu içeriğine sahip formülasyonların, agregasyon ve sızıntıya karşı daha dayanıklı olduğu rapor edilmiştir (Nemati vd., 2022).

Sonuç olarak, bilosom formülasyonunun optimizasyonu, çok faktörlü ve yinelenen bir süreçtir. Lipid, safra tuzu ve yüzey aktif madde seviyelerinin dengeli kombinasyonu ile işlem parametrelerinin kontrolü sayesinde stabil ve etkili ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilebilir. Albendazol gibi düşük çözünürlük ve biyoyararlanım sorunları olan

ilaçlarda optimize edilmiş bilosomlar, terapötik etkinliği artırarak hasta uyumuna önemli katkı sağlayabilir (Khot vd., 2024).

1.7 Bilosomların Hazırlanması ve Karakterizasyonu

Bilosomların hazırlanmasında en yaygın kullanılan yöntem, multilamellar veziküllerin elde edilmesinde etkinliği ile bilinen ince film hidrasyon tekniğidir. Bu yöntemde fosfolipidler, safra tuzları ve kolesterol içeren lipid karışımı uygun bir organik çözücünde çözündürülür ve yuvarlak dipli beherin iç yüzeyinde ince bir film elde edilene kadar rotatif buharlaştırmaya tabi tutulur. Daha sonra, albendazol gibi ilacı içeren su fazı kullanılarak rehidrasyon yapılır ve kendiliğinden bilosom oluşumu gerçekleşir (Ahmed vd., 2020). Rehidrasyon sonrası vezikül boyutunu küçültmek ve homojen dağılım sağlamak amacıyla sonikasyon veya ekstrüzyon uygulanır. Sonikasyon, ultrasonik enerji ile daha büyük vezikülleri küçük ve homojen parçacıklara ayırırken; ekstrüzyon, dispersiyonun belirli gözenek boyutlarına sahip polikarbonat membranlardan geçirilmesine dayanır. Bu işlemler, partikül boyutu ve polidispersite indeksinin (PDI) kontrol edilmesine katkı sağlar (Ahmed vd., 2020).

Fizikokimyasal karakterizasyon kapsamında, dinamik ışık saçılması (DLS) yöntemi partikül boyutu ve dağılımını belirlemek için kullanılmaktadır. DLS, Brown hareketine bağlı ışık saçılmasını analiz ederek ortalama partikül boyutu ve PDI değerlerini sağlar. PDI'nin 0,3'ün altında olması, homojen bir boyut dağılımına işaret eder ve tekrarlanabilir salım profilleri için önemlidir (Hoseini vd., 2023). Zeta potansiyeli ölçümleri ise yüzey yükü hakkında bilgi vererek kolloidal stabiliteyi değerlendirmeye imkan tanır. Safra tuzlarının etkisiyle bilosomlar genellikle negatif yüklüdür ve bu elektrostatik itme, agregasyonu önler. ± 30 mV'nin üzerindeki zeta potansiyeli değerleri stabilite için ideal kabul edilir (Hoseini vd., 2023).

Morfolojik analiz için elektron mikroskobu teknikleri kullanılmaktadır. Transmission Electron Microscopy (TEM), bilayer organizasyonu ve nanoskalada vezikül yapısını ayrıntılı olarak görselleştirirken; Scanning Electron Microscopy (SEM), yüzey topografisi ve şekil hakkında bilgi verir. Ayrıca Cryo-EM, bilosomların doğal hidrat durumunda yapısal bütünlüklerini koruyarak artefaktsız görüntülenmesine olanak tanır. Bu teknikler, bilosomların başarılı şekilde oluştuğunu doğrulamak ve olası morfolojik kusurları belirlemek açısından önemlidir (Mondal vd., 2022).

Kapsülleme verimliliği (EE%), formülasyondaki performansın kritik bir göstergesidir. Serbest ilaç ve kapsüllenmiş ilaç ultrasantrifüj veya dializ yöntemiyle ayrıştırıldıktan sonra, kapsüllenen ilaç miktarı UV-Vis spektrofotometresi veya HPLC ile ölçülür ve EE% hesaplanır (Ahmed vd., 2020). İlacın kontrollü salımını incelemek amacıyla in vitro ilaç salım çalışmaları, diyaliz membranı yöntemiyle yürütülür. Bu yöntemde bilosom dispersiyonları diyaliz torbasına yerleştirilerek belirli aralıklarla örnekler alınır ve salım kinetiği belirlenir. Sürekli ve kontrollü salım profilleri, iyi formüle edilmiş bir bilosom sisteminin göstergesidir (Ahmed vd., 2020).

Formülasyonun uzun dönem dayanıklılığı stabilite testleri ile incelenir. Partikül boyutu, zeta potansiyeli ve kapsülleme verimliliği farklı depolama koşullarında (örneğin buzdolabı ve oda sıcaklığı) izlenir. Yüksek safra tuzu içeriği, bilosomların agregasyon ve sızıntıya karşı direncini artırabilmektedir (Nemati vd., 2022).

Fiziksel karakterizasyonun yanı sıra, fonksiyonel değerlendirmeler de yapılmaktadır. Ex vivo permeasyon çalışmaları, genellikle Franz difüzyon hücrelerine monte edilmiş hayvan bağırsak dokuları ile yürütülürken; sitotoksikite testleri (ör. MTT) formülasyonların biyouyumluluğunu doğrular. Böylece bilosomların bir ilaç taşıyıcı sistem olarak güvenliği ve etkinliği desteklenmektedir (Ahmed vd., 2020).

1.8 Çalışmanın Önemi

Albendazol (ABZ), suda düşük çözünürlüğü ve sınırlı gastrointestinal emilimi nedeniyle oral uygulamada ciddi kısıtlamalarla karşılaşan bir ilaçtır. Bu özellikler, düşük ve değişken biyoyararlanıma yol açarak terapötik etkinliğini azaltmakta ve uzun süreli tedavilerde yüksek dozların tekrarlı şekilde uygulanmasını gerektirmektedir (Hu vd., 2023). Bilosom tabanlı formülasyonlar, ilacın çözünürlüğünü ve geçirgenliğini artırarak bu sınırlamaların üstesinden gelebilecek stratejik bir yaklaşım sunmaktadır.

ABZ, hidatidoz ve nörokistikserkozis gibi paraziter hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmasına rağmen, yetersiz bağırsak emilimi ve hızlı metabolizması sistemik dolaşımdaki aktif ilaç konsantrasyonunu düşürmekte ve tedavi başarısını sınırlamaktadır. Bu durum, bazı hastaların uzun süreli tedavilere rağmen remisyona ulaşamamasına neden olmaktadır. İlaç absorpsiyon profilinin iyileştirilmesi yoluyla bilosom formülasyonları, terapötik sonuçların daha tutarlı hale gelmesini ve hasta iyileşme oranlarının artmasını sağlayabilir (Shaikh vd., 2018).

Bilosomların yapısal özellikleri, albendazolün gastrointestinal ortamda stabilitesini artırır. Safra tuzları, bilosom zarına entegre edilerek enzimatik bozunma ve pH değişikliklerine karşı ek bir koruma sağlar, böylece ilacın absorpsiyon bölgesine kadar etkinliğini muhafaza etmesine olanak tanır (Palekar-Shanbhag vd., 2020). Ayrıca, bilosomların hem paracelüler hem de transselüler taşıma kapasitesi, sistemik alımı artırır. Safra tuzlarının sıkı bağlantıları geçici olarak gevşetmesi, absorpsiyon bariyerlerinin aşılmasına yardımcı olur ve bu sayede daha düşük dozlarla terapötik etki sağlanarak yan etkiler azaltılır (Elkomy vd., 2022).

Bilosomlar aynı zamanda kontrollü ve sürekli ilaç salımı imkânı sunar. Bu özellik, uzun süreli tedavi gerektiren hidatidoz gibi hastalıklarda, terapötik konsantrasyonun korunmasına katkı sağlayarak nüks veya progresyon riskini azaltır. Ayrıca uygulama sıklığının azalması, hasta uyumunu artırır (Khot vd., 2024). Endüstriyel açıdan bakıldığında, bilosomların ince film hidratasyonu ve sonikasyon gibi standart yöntemlerle kolayca hazırlanabilmesi ve ölçeklendirilebilmesi, onları daha karmaşık taşıyıcı sistemlere kıyasla ekonomik ve uygulanabilir bir seçenek haline getirir (Ahmed vd., 2020).

Non-invaziv ilaç dağıtım yöntemlerine yönelik küresel eğilimle uyumlu olarak, bilosomlar oral uygulamada önemli avantajlar sunmaktadır. Bu, özellikle enjeksiyon tedavisinin mümkün olmadığı veya hasta uyumunun düşük olduğu bölgelerde tedaviye erişimi artırabilir (Nemati vd., 2022). Ayrıca, bilosom formülasyonları soğutmalı depolama koşullarında dahi yüksek fizikokimyasal stabilite göstererek soğuk zincirin kısıtlı olduğu bölgelerde dağıtım için güvenilir bir çözüm sağlar (Waglewska vd., 2020).

Son olarak, bilosomlar yalnızca terapötik etkinliği ve hasta konforunu artırmakla kalmayıp, daha tutarlı ve tam ilaç emilimi sağlayarak paraziter enfeksiyonlarda ilaç direncinin gelişimini azaltma potansiyeline de sahiptir. Böylece, albendazol yüklü bilosomlar hem klinik başarı hem de halk sağlığı açısından umut verici bir ilaç dağıtım platformu oluşturmaktadır.

1.9 Amaç ve Hedefler

- Albendazolün düşük çözünürlük ve sınırlı gastrointestinal geçirgenlik gibi sınırlamalarını aşmak amacıyla albendazol yüklü bilosomları formüle etmek ve değerlendirmek.
- Albendazolün safra tuzu ile stabilize edilmiş veziküllere kapsüllenmesiyle, oral biyoyararlanımının ve klinik etkinliğinin artırılarak, paraziter hastalıklar için daha etkili ve hasta dostu bir tedavi sunulması hedeflenmektedir.

- Bu yenilikçi ilaç dağıtım yaklaşımının amacı, albendazolün farmakokinetik profilini iyileştirirken doz sıklığının azaltılması ve yan etkilerin minimize edilmesidir.
- Optimal lipid, safra tuzu ve yüzey aktif madde kombinasyonları kullanılarak bilosomal formülasyonunun hazırlanması.
- Elde edilen vesiküllerin, partikül boyutu, polidispersite indeksi, zeta potansiyeli, morfoloji ve kapsülleme verimliliği gibi parametreler açısından detaylı bir şekilde karakterize edilmesi.
- In vitro salım profillerinin ve ex vivo bağırsak geçirgenliğinin değerlendirilmesi.
- Formülasyonun sitotoksikite ve biyouyumluluk özelliklerinin incelenmesi ile farmakokinetik performansının konvansiyonel albendazol formülasyonları ile karşılaştırılması.
- Farklı saklama koşullarında formülasyon stabilitesinin test edilmesi.
- Elde edilecek verilerle, bilosomların düşük çözünürlüklü diğer ilaçların oral dağıtımında ölçeklendirilebilirliğini ve geniş uygulama potansiyelini ortaya koymak.

2 KURAMSAL ÇERÇEVE VE ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1 İlaç Taşıyıcı Sistemlere Genel Bakış

İlaç taşıyıcı sistemler (İTS), etkin maddenin vücutta hedeflenen bölgeye kontrollü ve etkili bir şekilde ulaştırılmasını amaçlayan teknolojik yaklaşımlardır. Bu sistemler, terapötik etkinliği artırırken istenmeyen bölgelerde birikimi azaltır (Rayaprolu vd., 2018). Bunun yanında, ilaçların uygulanabilir hale getirilmesi için farmasötik dozaj şekilleri (örneğin tablet, kapsül, solüsyon) geliştirilir. Dozaj şekilleri, etkin maddenin korunması, taşınması ve uygulanabilirliğini sağlarken; ilaç taşıyıcı sistemler bu formların ötesinde, ilacın farmakokinetiğini ve farmakodinamiğini düzenleyerek hedef bölgeye etkin şekilde ulaşmasına katkıda bulunur.

İlaçlar; oral, bukkal, sublingual, nazal, oftalmik, transdermal, subkutan, rektal, vajinal ve intravezikal yollar gibi birçok farklı uygulama yoluyla verilebilir (Vargason vd., 2021). İlaçların fiziko-kimyasal özellikleri, vücutta emilim, dağılım, metabolizma ve eliminasyon süreçlerini doğrudan etkiler. Son yıllarda ilaç taşıyıcı sistemler, farmakokinetik özelliklerin iyileştirilmesi ve hedefe yönelik salım stratejileri sayesinde hastalık tedavisi ve sağlıkta iyileştirme alanlarında giderek daha fazla önem kazanmaktadır (Alqahtani vd., 2021).

2.1.1 Kontrollü ilaç dağıtım sistemleri

Kontrollü ilaç dağıtım sistemleri fizyolojik durumlardan etkilenmemekte olup, salım sürelerini günlerden yıllara kadar uzatabilmektedir. Bu sistemler, sabit veya değişken salım hızlarına sahip mekânsal ilaç dağıtım düzenlemesi de sunmaktadır (Rayaprolu vd., 2018). Ayrıca, bu sistemler ilacın çözünürlüğünü, hedef bölgedeki birikimini, etkinliğini, farmakolojik aktivitesini, farmakokinetik özelliklerini, hasta kabulünü ve uyumunu artırırken ilaç toksisitesini azaltmaktadır. Son dönemde, gelişmiş konfor, hassasiyet ve hedefe yönelik uygulama avantajları sağlamak amacıyla sofistike teknolojilerin kullanıldığı çok sayıda yeni ilaç dağıtım sistemi (NDDS) tasarlanmıştır (Morales vd., 2021).

2.1.2 Temel salım mekanizmaları

Her ilaç dağıtım yöntemi, salım hızı ve mekanizmasını belirleyen kendine özgü özelliklere sahiptir. Bu durum, esas olarak fiziksel, kimyasal ve morfolojik özelliklerdeki farklılıklardan kaynaklanmakta olup, nihayetinde bu yöntemlerin farklı farmakolojik maddelere olan afinitelerini etkilemektedir (Vargason vd., 2021). Araştırmalar, temel

salım mekanizmaları olarak difüzyon, kimyasal reaksiyon, çözücü etkileşimi ve uyaran düzenlemesini tanımlamıştır.

2.1.3 Pasif hedefleme ve EPR etkisi

Örneğin, çoğu kanser hücrelerinin gözenekli kan damarları ve lenfatik sisteme sızabilmesi nedeniyle, ilaç bu açıklıklardan kolaylıkla geçerek hedef dokulara ulaşabilmektedir. Bu olgu, Enhanced Permeability and Retention (EPR) olarak adlandırılmaktadır (Hussein vd., 2020). EPR etkisi, çeşitli kemoterapi ilaçlarının uygulanmasında kullanılan ve kapsamlıca incelenmiş bir pasif difüzyon sürecidir. Tartışmalı doğasına rağmen, farklı insan tümörlerinde çok sayıda araştırmacı tarafından belgelenmiş olup, onkolojik tedavilerde nanomedisinin uygulanmasının temelini oluşturmaktadır. Bununla birlikte, seçicilik azalması ve toksisitenin artması gibi dezavantajlara da sahiptir (Chauhan vd., 2022).

2.1.4 Aktif hedefleme

Pasif hedeflemede mevcut olan özgüllük ve seçicilik eksiklikleri, aktif hedefleme yaklaşımlarıyla giderilmektedir. Bu yöntem, hedef doku yüzeylerine aktif olarak bağlanabilen taşıyıcılara özgül ligandların ve moleküllerin eklenmesini içerir. Böylece hedef dışı hücrelerce ilacın emilimi engellenerek yan etkiler ve toksisite azaltılmaktadır. Ancak, ligand seçiciliği, immünojenite ve makrofaj endositozu sonrası lizosomal yıkım olasılığı, aktif hedeflenmiş ilaçların geliştirilmesinde önemli zorluklar oluşturmaktadır (Thirunavukkarasu vd., 2022).

2.1.5 Uyaran duyarlı sistemler

Bu dağıtım sistemleri, hedefleme sırasında bir veya daha fazla fiziksel veya kimyasal özelliği manipüle ederek hedef hücrelere erişim sağlayabilmektedir. Bu özellikler arasında pH, sıcaklık, ultrason, manyetik alan ve elektrik alanları bulunmaktadır (Alqahtani vd., 2021).

2.1.6 Güncel gelişmeler

Son yıllarda, özellikle kemoterapide, aktif hedefleme için organik, inorganik ve hibrit nanopartiküllerin taşıyıcı olarak kullanıldığı sistemlerin geliştirilmesinde önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Günümüz DDS'leri; azaltılmış partikül boyutu, artırılmış geçirgenlik, yükseltilmiş çözünürlük, etkinlik, hedef bölge özgüllüğü, stabilite, azaltılmış toksisite ve uzatılmış dağıtım süresi gibi özelliklerle tasarlanmaktadır (Morales vd., 2021). Bu sistemler, geleneksel doz formlarına kıyasla medikal ajanların etkinliğini önemli ölçüde artırma potansiyeline sahiptir.

2.1.7 Klinik ve ticari etkinlik

Optimal bir ilaç dağıtım sisteminin geliştirilmesi, farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklerdeki yenilikleri dikkate alır. Bu sistemler, ilacın terapötik aralıkta kalmasını uzun süre boyunca sağlayabilir ve etkinin hedef bölgeye taşınmasını mümkün kılar (Hussein vd., 2020). Ayrıca, dağıtım mekanizmasının klinik ve ticari etkinliği; hasta katılımı, erken dönemde sorunların saptanması ve toksisiteyi minimize ederken etkinliği maksimize edecek şekilde optimizasyonla yakından ilişkilidir (Chauhan vd., 2022).

Şekil 2.1

Farklı terapötik amaçlara yönelik güncel ilaç dağıtım sistemleri



Kaynak: Ezike vd., 2020.

2.1.8 İlaç dağıtım sistemlerinde karşılaşılan zorluklar

Son yıllarda, bitki kaynaklı ve nanoteknolojiye dayalı pek çok ilaç dağıtım sistemi terapötik hedeflere başarıyla uygulanmıştır. Ancak, literatürdeki yetersizlikler ve tutarsızlıklar bu sistemlerin klinik uygulamalara aktarılmasında zorluklara neden olmaktadır. Yetersiz bilgi birikimi, araştırmadan kliniğe geçiş sürecini yavaşlatarak nanomedisin alanındaki ilerlemeleri sınırlayabilmektedir (Faheem ve Abdelkader, 2020; Hanley vd., 2021).

Nanopartiküller, ilaç çözünürlüğünü ve hedefe özgü taşınmayı artırma potansiyeline sahip olmakla birlikte, güvenlikleri konusunda hâlâ soru işaretleri bulunmaktadır. Spesifik olmayan proteinlerle etkileşimleri, hedeflenmemiş organlarda dağılımları ve biyouyumluluk sorunları önemli kısıtlamalardır (Hussein vd., 2020). Büyük partiküller düşük emilim ve biyoyararlanım nedeniyle uygun bulunmazken, daha küçük partiküller bu engelleri azaltabilmektedir (Mahant vd., 2022). Bununla birlikte, hedefe yönelik ilaç dağıtımı her zaman etkinliği garanti etmemektedir; örneğin, sistemik siRNA hızlı enzimatik yıkım nedeniyle nadiren hedef hücrelere ulaşabilmektedir (Misbah Ul Haq vd., 2021). Lipid nanopartiküller (miseller ve lipozomlar) araştırılmakta olsa da fagositik emilim, hepatik filtrasyon ve immün yanıt gibi faktörler etkinliklerini sınırlamaktadır (Palugan vd., 2021; Morales vd., 2021).

Toksiste ve biyouyumluluk da önemli sorunlar arasındadır. Çeşitli çalışmalar, gümüş, altın, silika ve titanyum nanopartiküllerinin insan sağlığı ve çevre için risk oluşturabileceğini göstermiştir (Patil vd., 2019). Karbon nanotüpler (CNT), ilaç dağıtımı ve biyogörüntüleme kullarımlarına rağmen embriyo, karaciğer, kalp ve bağışıklık sistemi üzerinde zararlı etkilere yol açabilmektedir (Sahoo vd., 2021; Sharma vd., 2022). Bu nedenle, güvenlik değerlendirmeleri kapsamlı şekilde yapılmalıdır (Thirunavukkarasu vd., 2022). Ayrıca biyolojik engeller, özellikle kan-beyin bariyeri (BBB), nörolojik bozuklukların tedavisinde terapötik ajanların geçişini kısıtlamakta ve ilaçların etkinliğini azaltmaktadır (Vincy vd., 2022). Monoklonal antikolarla oluşturulan immunolipozomlar ise hedeflemeyi artırsa da immün yanıt ve eliminasyon sorunları nedeniyle sınırlı başarı göstermektedir (Morales vd., 2021; Palugan vd., 2021). Böbrek ve karaciğerin nanopartikülleri atık ürün olarak tanınması da ilaç birikimi ve dağılımında olumsuz etkilere yol açmaktadır (Alqahtani vd., 2021).

2.2 Nanoteknoloji Tabanlı İlaç Taşıyıcıları

Atomik, moleküler ve supramoleküler ölçeklerde madde manipülasyonu sayesinde nanoteknoloji, ilaç dağıtım yöntemleri de dahil olmak üzere birçok alanı dönüştürmüştür. İlkeler, nanoskalada malzemelerin boyutlarını, morfolojisini, yüzey özelliklerini ve fonksiyonlarını düzenleyerek hedefe yönelik terapötik sonuçlar elde etmeye odaklanmaktadır (Bayda vd., 2019).

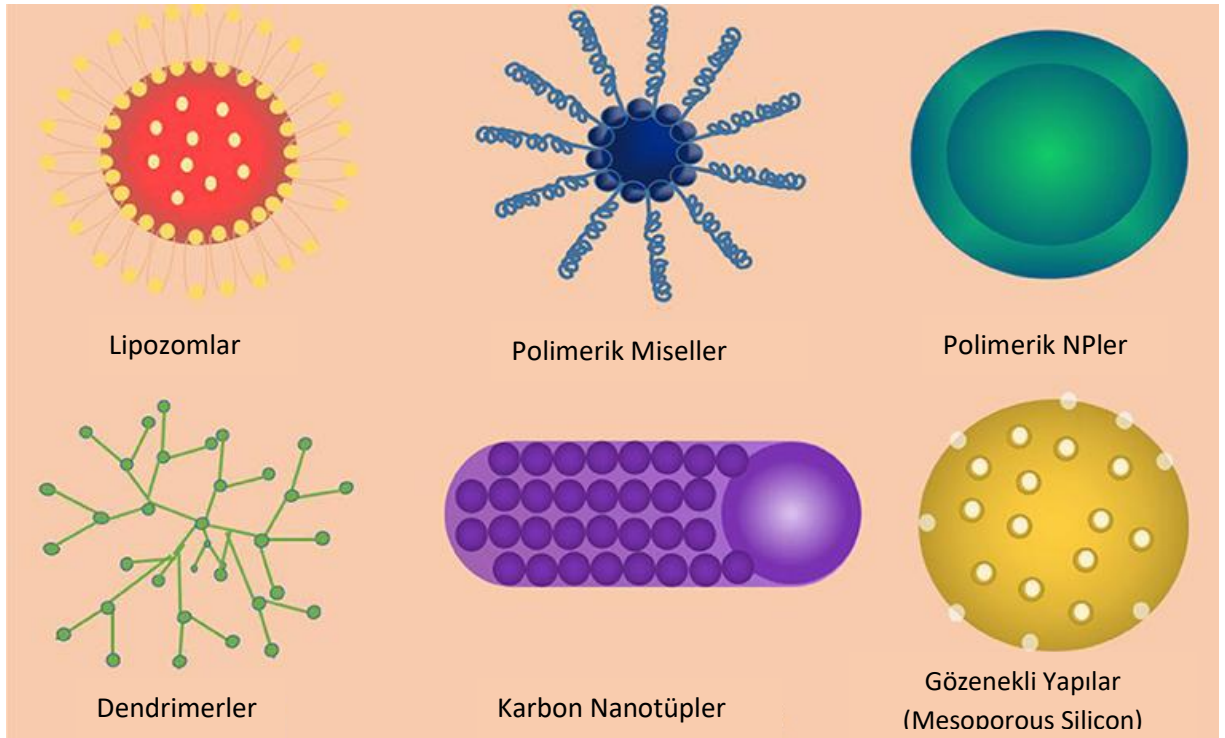
Bu yöntem, patolojik hücre veya dokuların doğru hedeflenmesini kolaylaştırmakta, biyoyararlanımı artırmakta ve yan etkileri minimize etmektedir. Vücut içinde hedeflenen

bölgelere terapötik maddeleri taşımak üzere tasarlanmış nanotaşıyıcılar, ilaç dağıtımında nanoteknolojinin temelini oluşturmaktadır (Cheng vd., 2021).

Çeşitli nanotaşıyıcılar, ilaç dağıtımında farklı özellikler ve mekanizmalar sunacak şekilde tasarlanmıştır. Fosfolipid çift tabakasından oluşan küresel veziküller olan liposomlar, bu nanotaşıyıcılar arasında en erken geliştirilen ve en kapsamlı araştırılan örneklerden biridir (Patra vd., 2018). Hidrofobik ve hidrofilik ilaçları kapsülleyerek, bozunmalarını önler ve stabiliteilerini artırır (Basyreva vd., 2020).

Şekil 2.2

Yaygın Nano-İlaç Taşıyıcı Türleri



Kaynak: Deng et al., 2020.

Liposomlar, içeriklerini düzenli bir şekilde salacak biçimde tasarlanabilmekte; bu salım pasif difüzyonla veya pH, sıcaklık gibi belirli uyaranlara tepki verilerek gerçekleşebilmektedir. Biyouyumlulukları ve hücre zarlarıyla entegrasyon yetenekleri, onları hedefe yönelik ilaç dağıtımı için uygun kılmaktadır (Cheng vd., 2021). Benzer şekilde, dallanmış yapılarıyla dendrimler, yüksek ilaç yükleme kapasitesi ve yüzeydeki fonksiyonel gruplar sayesinde çözünürlük, biyouyumluluk ve hedefleme etkinliğini artırabilen bir platform sunmaktadır (Patra vd., 2018; Basyreva vd., 2020). İlaçlar dendrimler içerisinde enkapsüle edilebileceği gibi yüzeylerine konjuge edilerek de

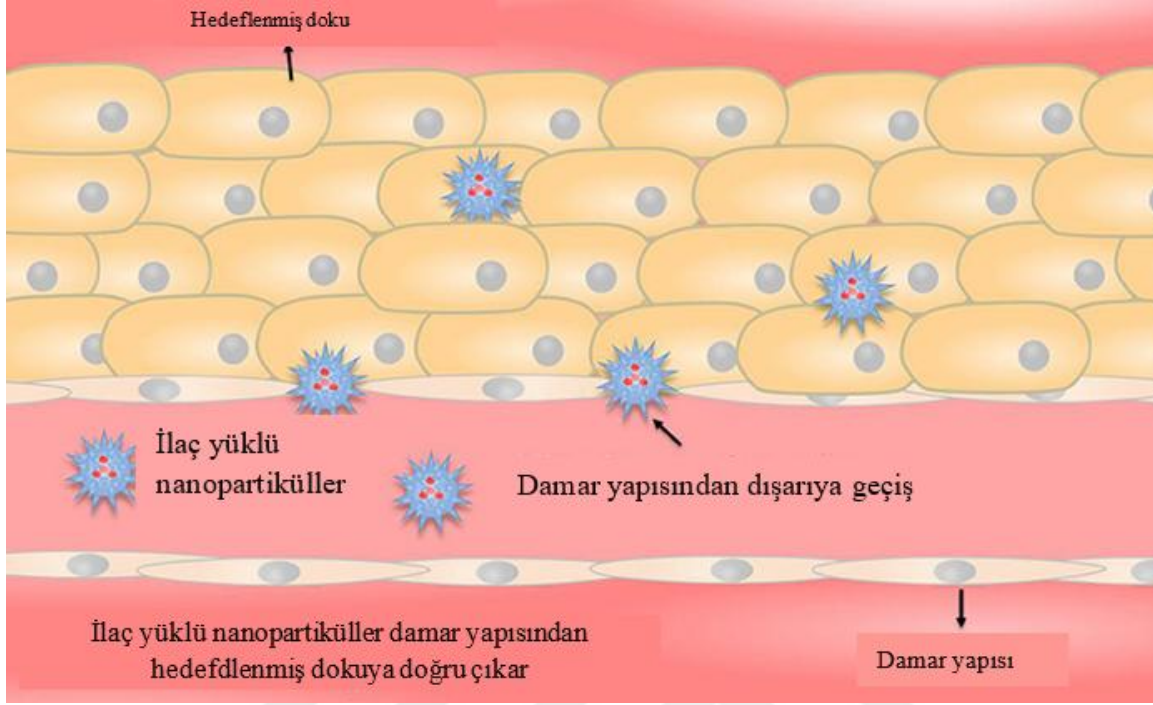
taşınabilir, böylece pH duyarlı kesilme veya enzimatik yıkım yoluyla düzenlenmiş salım sağlanabilir (Bayda vd., 2019).

Polimerik nanopartiküller ise biyolojik olarak parçalanabilen polimerlerden (PLA, PLGA vb.) üretilmekte ve uzun süreli salım sağlayarak doz sıklığını azaltma ve hasta uyumunu artırma avantajı sunmaktadır. Bu partiküller toksik olmayan metabolitlere ayrılarak vücutta güvenle elimine edilebilmekte, ayrıca hedefe yönelik ligandlarla modifiye edilerek spesifiklikleri artırılabilir (Wang vd., 2024; Idris vd., 2023). Nanoteknoloji bu noktada, kapsülleme, adsorpsiyon ve kimyasal konjugasyon gibi yöntemlerle terapötik ajanların nanotaşıyıcılara entegre edilmesini mümkün kılmakta, böylece hem koruyucu bir yapı hem de kontrollü salım sağlamaktadır (Lutz vd., 2019; Sun vd., 2023).

Kontrollü salım mekanizmaları, hedef bölgede uygun ilaç konsantrasyonlarının uzun süre korunması için kritik öneme sahiptir. Pasif mekanizmalar arasında difüzyon ve bozunma yer almakta, aktif mekanizmalarda ise pH, sıcaklık ve enzim aktivitesi gibi mikroyüzey değişiklikleri kullanılmaktadır. Örneğin, pH duyarlı nanotaşıyıcılar tümör veya inflamasyon bölgelerindeki asidik koşullardan yararlanarak içeriklerini seçici biçimde salabilirken; sıcaklığa veya enzime duyarlı sistemler, patolojik dokularda ortaya çıkan anormal fizyolojik koşulları kullanarak ilaç bırakımı gerçekleştirmektedir (Ekladius vd., 2019). Ayrıca, çoklu uyaranlara duyarlı nanotaşıyıcılar, birden fazla çevresel faktöre tepki vererek doğruluğu artırmakta ve hedef dışı etkileri azaltmaktadır (Yagolovich vd., 2024). Bu sistemlerin yüzey modifikasyonları ile hedefleme kapasitesi daha da artırılabilir ve immün eliminasyon azaltılabilir (Joseph vd., 2020).

Şekil 2.3

Pasif Hedeflemenin Şematik Gösterimi



Kaynak: Deng et al., 2020.

Kardiyovasküler hastalıkların ortaya çıkışı ve ilerlemesi, artmış vasküler geçirgenlikle karakterize kronik inflamatuvar süreçlerdir. Bu özellik, uygun boyuttaki nanopartiküllerin kan damarlarını geçerek hastalık bölgesine ulaşmasını mümkün kılar (Deng vd., 2020). Antikorlar, peptitler veya küçük moleküller gibi hedefleme ligandlarının nanotaşıyıcıların yüzeyine konjuge edilmesi, belirli hücre tiplerinin veya dokuların hassas bir şekilde hedeflenmesini sağlar. Bu ligandlar, hücre yüzeyindeki spesifik reseptörlere bağlanarak nanotaşıyıcıların hücre içine alınmasını kolaylaştırır (Song vd., 2021). Polietilen glikol (PEG) ile yapılan yüzey modifikasyonları ise immün sistem tarafından tanınmayı azaltarak dolaşım süresini uzatır. Nanoteknoloji tabanlı ilaç dağıtım sistemleri bu özellikleriyle, birçok hastalığın tedavisinde hassasiyet ve etkinliği artırarak dönüşümsel bir potansiyel sunmaktadır (Paunovska vd., 2022).

Bununla birlikte, laboratuvarından kliniğe geçişte önemli zorluklar mevcuttur. Nanotaşıyıcıların güvenliği ve biyouyumluluğu kritik önem taşır; küçük boyutları biyolojik sistemlerle beklenmedik etkileşimlere yol açabilmektedir. Bu nedenle, potansiyel toksisite ve uzun vadeli etkilerin değerlendirilmesi için kapsamlı prelinik ve klinik

çalışmalar yapılmalıdır (Zhu vd., 2022; Paunovska vd., 2022). Ayrıca, ölçeklenebilirlik ve tekrarlanabilirlik sorunları karmaşık üretim süreçlerinden kaynaklanmakta, bu da büyük ölçekli üretime uyumu zorlaştırmaktadır. Düzenleyici onay süreci de güvenlik, etkinlik ve kalite parametrelerinin ayrıntılı incelenmesini gerektirmekte ve araştırmacılar, endüstri ile otoriteler arasında işbirliğini zorunlu kılmaktadır (Kuskov vd., 2021).

Tüm bu sınırlamalara rağmen, nanoteknoloji tabanlı ilaç dağıtım sistemlerinin sunduğu avantajlar tartışılmazdır. Liposomlar ve polimerik nanopartiküller gibi taşıyıcılar, kemoterapötik ilaçların tümör dokularına özgü olarak hedeflenmesini sağlayarak etkinliği artırmakta ve istenmeyen etkileri azaltmaktadır. Örneğin, liposomal doksorubisin uygulaması, serbest doksorubisine kıyasla daha düşük kardiyotoksisite göstermiştir. Benzer şekilde, polimerik nanopartiküller ve dendrimerler hidrofobik ilaçların çözünürlüğünü ve stabilitesini artırarak biyoyararlanımı geliştirmektedir (Fan vd., 2023; Nikitovic vd., 2024). Bu sistemler ayrıca peptitler, proteinler ve nükleik asitler gibi biyolojik ajanların korunmasına ve hedef dokulara taşınmasına olanak tanımaktadır (Raza vd., 2019).

Kan-beyin bariyeri (BBB), merkezi sinir sistemine ilaç iletimini kısıtlayan başlıca biyolojik engellerden biridir. Nanotaşıyıcılar sayesinde kemoterapötik ilaçların beyne iletimi artmakta, sistemik toksisite azalmakta ve Alzheimer gibi hastalıkların tedavisinde daha yüksek etkinlik sağlanabilmektedir (Ferrari vd., 2018; Taléns-Visconti vd., 2022; Zelepukin vd., 2024). Ayrıca, kombinasyon tedavisi kapsamında kemoterapötik ajanlar ile gen susturma bileşenlerinin eşzamanlı taşınması, ilaç direncinin azaltılmasına yönelik umut verici sonuçlar ortaya koymaktadır (Ferrari vd., 2018).

Sonuç olarak, nanoteknoloji tabanlı ilaç dağıtım sistemleri; hedeflenmiş tedavi, artan çözünürlük, geliştirilmiş biyoyararlanım, azaltılmış toksisite ve biyolojik engellerin aşılması gibi çok sayıda avantaj sunmaktadır. Ancak, klinik kullanıma geçiş için güvenlik, ölçeklenebilirlik ve düzenleyici engellerin aşılması gerekmektedir. Sürekli bilimsel ilerleme ve disiplinlerarası işbirliği, bu teknolojilerin kişiselleştirilmiş tıpta tam anlamıyla uygulanmasını kolaylaştıracaktır (Lu vd., 2023).

2.3 Albendazol: Farmakolojik Özellikler ve Zorluklar

2.3.1 Albendazolün farmakolojik özellikleri ve klinik kullanımı

Albendazol (ABZ; metil [5-(propil tio)-1H-benzimidazol-2-il] karbamat) ehinokokkoz, hidatik kist ve nörosistiserkoz tedavisinde kullanılan geniş spektrumlu bir benzimidazol

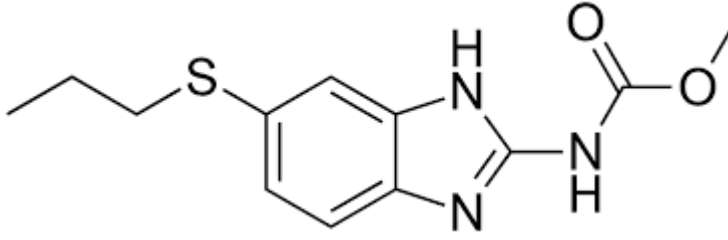
türevidir (Hu vd., 2023). Etkisini, β -tubuline bağlanarak mikrotübül polimerizasyonunu inhibe etme yoluyla gösterir; bu durum parazitlerde glukoz alımını bozar, enerji tükenmesine ve ölümüne yol açar (Chai vd., 2021). Klinik uygulamada hidatik hastalıkta uzun süreli yüksek doz rejimleriyle (günde 2–3 doz, 6 ay–1 yıla kadar) kullanıldığı bildirilmiştir (Shaikh vd., 2018). Farmakokinetiği bireyler arasında değişkendir; yaş, karaciğer fonksiyonu, birlikte kullanılan ilaçlar ve besin alımı biyoyararlanımı etkiler (Whittaker vd., 2022). Son yıllarda antiparaziter endikasyonların ötesinde, apoptoz indüksiyonu, proliferasyonun baskılanması ve ROS üretimi üzerinden çeşitli kanser hücre hatlarında antitümör potansiyeli de rapor edilmiştir (Chai vd., 2021; Kim vd., 2021).

2.3.2 Albendazol ile tedavilerde karşılaşılan zorluklar ve güncel yaklaşımlar

ABZ'nin düşük suda çözünürlüğü (BCS Sınıf II) ve pKa'sına bağlı çözünme/absorpsiyon kısıtları, oral biyoyararlanımın düşüklüğü (~%5) ve etkinlikte değişkenlik (%20–50) ile ilişkilendirilmiştir (Shaikh vd., 2018). Uzun süreli tedavilerde GİS yakınmaları ve karaciğer enzimlerinde artış gibi advers etkiler görülebilir; bu nedenle yakın izlem önerilir (Aydın vd., 2022; Khot vd., 2024). Klinik etkinliği artırmak ve yan etkileri azaltmak için doz ve uygulama sıklığının düşürüldüğü yeni taşıyıcı/dengeleyici stratejilere ihtiyaç vardır. Bu doğrultuda katı dispersiyonlar, kitosan mikrosferler, lipid bazlı nanotaşıyıcılar (liposom, niosom, SLN, NLC, etosom) ve polimerik sistemler gibi platformlar çözünürlük ve stabiliteyi artırarak biyoyararlanımı iyileştirme yönünde umut vermektedir (Fabbri vd., 2020; Paul vd., 2022; Kang vd., 2024). Transdermal uygulamaya yönelik hidrojel-oluşturan mikroiğne/PEG rezervuar sistemleri, invazif olmayan, uzatılmış salım sağlayan alternatifler olarak rapor edilmiştir (Mahfufah vd., 2023). Ayrıca ivermektin ile kombinasyon özellikle strongyloidiasis ve yaygın helmint enfeksiyonlarının kitle tedavisinde sinerjistik fayda sunabilir (Gandasegui vd., 2022). Yeni çözücü-temelli katı dispersiyon yaklaşımlarının in vivo biyoyararlanımı anlamlı ölçüde artırdığı gösterilmiştir (Han ve Zou, 2024). Öte yandan bağırsak mikrobiyotası kompozisyonu da tedavi yanıtındaki değişkenliğe katkıda bulunabilir; kişiselleştirilmiş stratejiler için bir belirteç alanı olarak öne çıkmaktadır (Schneeberger vd., 2022). Karaciğer-odaklı alveolar ehinokokkoz modellerinde, metabolik yolların ve doz optimizasyonunun aydınlatılması tedavi planlamasına destek sağlar (Li vd., 2024). Kanser alanında ise liposomal doksorubisin benzeri nanotaşıyıcı örnekleri daha düşük kardiyotoksisite ile etkinlik göstererek taşıyıcı tabanlı yaklaşımların değerini vurgulamaktadır (Nikitovic vd., 2024; Fan vd., 2023).

Şekil 2.4

Albendazol Yapısı



Kaynak: Shaikh vd., 2018.

2.4 Bilozomal İlaç Taşıyıcı Sistemler

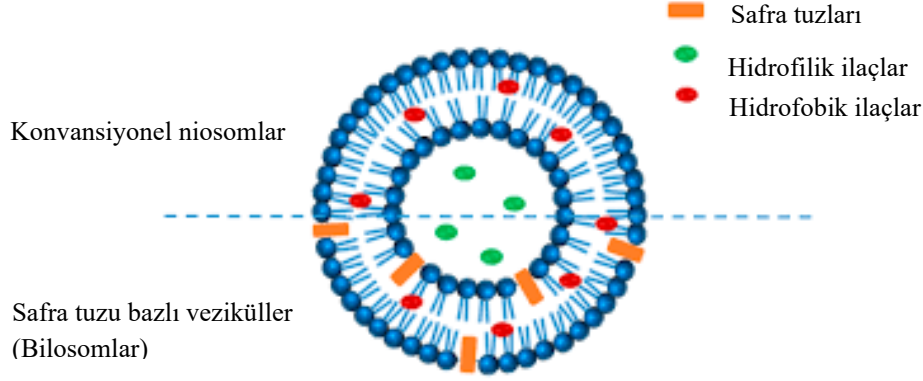
2.4.1 Bilosomların tanımı

Liposomların keşfi 50 yıldan fazla bir süre önce lipid bazlı ilaç dağıtım araştırmalarında büyük ilerlemeler sağlamış, in vitro ve in vivo yeni formülasyonların değerlendirilmesine katkıda bulunmuştur. Zamanla, liposomların etkinliği kanıtlanmış, pek çok formülasyon ticarileştirilmiş ve klinik uygulamalara entegre edilmiştir (Gangavarapu vd., 2024). Ancak etkili örnekler çoğunlukla parenteral uygulamalarla sınırlı kalmıştır. Parenteral ilaç dağıtımı, etkin olmakla birlikte hasta uyumunu azaltan ağrı gibi dezavantajlara sahiptir (Wang vd., 2020).

Son yıllarda bu sınırlamaları aşmak üzere bilosomlar geliştirilmiştir. Bilosomlar, safra asitleri, lipid bileşenler (fosfatidilkolin, lesitin, kolesterol) ve non-iyonik yüzey aktif maddelerden oluşan, esnek ve stabil veziküler sistemlerdir. Fosfolipitler biyolojik zarlarla yüksek afinite gösterir, stratum korneumun hidrasyonunu artırarak aktif bileşenlerin daha hızlı ve etkili şekilde cilt tabakasına nüfuz etmesine olanak tanır (Akombaetwa vd., 2023). Non-iyonik yüzey aktif maddeler, bilosomların termodinamik stabilitesini artırır, çözünürlüğü yükseltir ve emilimi kolaylaştırır.

Şekil 2.5

Bilosomların şematik gösterimi



Kaynak: Binsuwaidan vd., 2022.

2.4.2 Bilosomların hazırlanmaları ve oluşum mekanizmaları

Bilosomların hazırlanmasında genellikle ince film hidrasyon yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntemde, belirli miktarda aktif bileşen, lipid ve yüzey aktif madde uygun organik çözücünde çözündürülür; çözücü azaltılmış basınç altında buharlaştırılarak ince bir lipid film elde edilir. Daha sonra bu film, safra tuzları içeren fosfat tamponlu salin veya çift damıtılmış su ile yeniden hidrat edilir. Elde edilen bilosom dispersiyonu, vezikül boyutunu küçültmek ve homojen dağılım sağlamak için sonikasyon veya homojenizasyon işlemine tabi tutulur (Khafagy vd., 2023).

Fosfolipitler vezikül akışkanlığını etkilerken, safra asitleri kenar aktivatörleri olarak permeabilityi artırır. Yüzey aktif maddeler ise formülasyonun fiziksel stabilitesini güçlendirir. Bu kompozisyon, bilosomların biyolojik membranlarla etkileşimini artırır, partikül boyutunu küçültür, viskoziteyi azaltır ve ilaç salımını hızlandırır (El Menshawe vd., 2020).

2.4.3 Mekanizması ve bilozomal taşıyıcıların uygulamaları

Bilosomların terapötik etkinliği, yüzey modifikasyonları ve kompozisyonel düzenlemelerle artırılabilir. Çitosan kaplamaları, bilosomların negatif yüklü yüzeyi ile pozitif yüklü amino grupları arasındaki elektrostatik etkileşim sayesinde mukozal yapışkanlık kazandırır (Nayak vd., 2023). PEG ile yüzey modifikasyonu dolaşım süresini uzatır ve immün sistem tarafından tanınmayı azaltır. Antikorlarla fonksiyonelleştirme,

belirli hücre veya dokulara hedeflenmiş ilaç dağıtımını kolaylaştırırken, DOTAP gibi katyonik lipidlerin kullanımı hücre zarlarıyla etkileşimi artırır (Hsu vd., 2023).

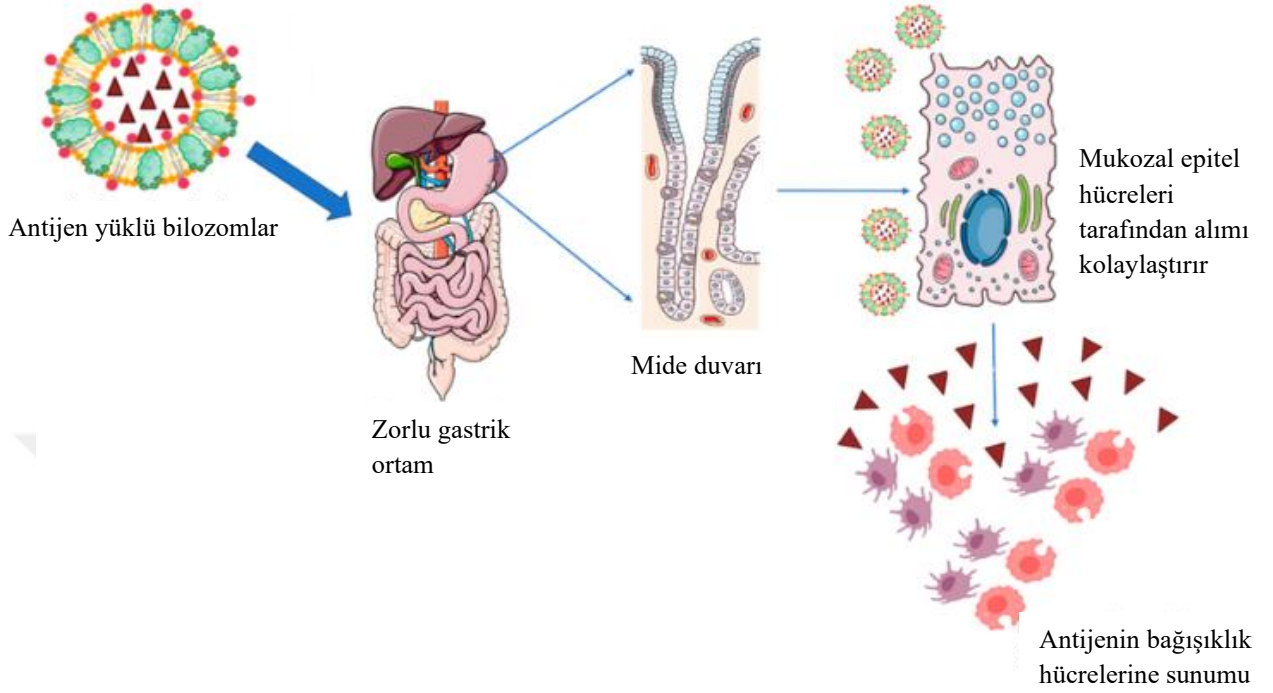
Bilosomların transdermal uygulamada da avantajları vardır. Çeşitli çalışmalar, bilosomların yarı katı dozaj formları (özellikle hidrojel) ile entegrasyonunu araştırmıştır. Hidrojel sistemleri biyo-yapışkan ve viskoelastik özellikleriyle sürekli ve kontrollü salım sağlamakta, sistem stabilitesini artırmakta ve mukozal/deri bariyer permeabilitesini iyileştirmektedir (AbuBakr vd., 2023; Khalil vd., 2019; Mahmoud vd., 2022; Abdelbari vd., 2023).

Bilosomların oral aşı taşıyıcıları olarak kullanımı da incelenmiştir. Kolera toksin B alt birimi ile konjuge edilen bilosomlar, oral immünizasyon sonrası Balb/c farelerde güçlü mukozal IgA ve sistemik IgG yanıtları oluşturmuştur. Buna karşılık serbest antijen, mukozal IgA yanıtı oluşturmamıştır (Singh vd., 2004; Jain vd., 2014).

Ayrıca antibakteriyel ve fitokimyasal ajanların taşınmasında bilosomların etkinliği gösterilmiştir. Örneğin, likopen yüklü bilosomlar *K. pneumoniae* izolatlarına karşı in vitro ve in vivo artmış etkinlik göstermiştir. Levofloksasin ve doksisisiklin yüklü bilosomal formülasyonlar da enfekte farelerde sağkalımı artırmış, serbest ilaçlara göre gastrointestinal yan etkileri azaltmıştır (D'Elia vd., 2019).

Şekil 2.6

Antijen yüklü bilosomlar, midede yıkımdan korunarak mukozal hücrelerce alınır ve bağışıklık hücrelerine sunulur.



Kaynak: Karunakaran vd., 2023.

Diyabet hastalarının 500 milyondan fazlası için temel bir antidiabetik ilaç olan insülinin oral uygulamasını kolaylaştırmaya yönelik önemli bilimsel çabalar yoğunlaşmıştır. Bilosomal formülasyonların, insülinin bağırsak emilimini artırdığı gösterilmiştir (Ayogu vd., 2009). Ayrıca, anyonik bilosomlar, katyonik bilosomlara kıyasla Caco-2 hücre hatlarında daha yüksek hücre alım sergilemiş; bu durum, ASBT'nin alım sürecine dahil olduğuna işaret etmiştir. *In vivo* hayvan çalışmalarında, oral insülin yüklü bilosomal formülasyonun AUC değeri subkutan uygulamaya göre 1,6 kat artış göstermiştir. Ancak enjeksiyonla uygulama hâlâ geleneksel yöntemdir (Nallamothe vd., 2023).

In vitro araştırmalar, bilosom kapsüllü resveratrolün, bitkisel disperzyona kıyasla antiviral etkinlikte 6,6 katlık bir artış gösterdiğini ortaya koymuştur. Piperin içeren bilosomlar da piperin süspansiyonuna göre geliştirilmiş antiviral, anti-inflamatuar ve antioksidan özellikler sergileyerek, SARS-CoV-2 ve MERS-CoV'a karşı potansiyel koruyucu veya terapötik ajanlar olarak öne çıkmaktadır (Zakaria, Abd El-Halim vd., 2023; Joseph Naguib vd., 2020; Zakaria, Fayad vd., 2021).

Kitosan ile kaplanmış ve psoralidin yüklü bilosomlar, artan apoptoz ve nekrotik etkileri sayesinde meme ve akciğer malignitelerinde umut vadetmektedir (Youness vd., 2023). Dextrose ile fonksiyonelleştirilmiş silymarin bilosomları ise, tümör hücreleri içinde terapötik ilacın lokalizasyonu ve internalizasyonunu artırarak hepatik karsinom tedavisinde etkili kemoterapötik adaylar olarak tanımlanmıştır (Mondal vd., 2024; Parashar vd., 2019).

2.5 Bilosom Tabanlı İlaç Dağıtımına İlişkin Önceki Çalışmalar

Bile tuzlarıyla stabilize edilmiş veziküller olan bilosomlar, farmasötiklerin stabilitesini ve mukozal yüzeyler üzerinden emilimini artırma yetenekleri sayesinde sofistike ilaç taşıyıcı sistemler olarak büyük ilgi görmektedir. Çok sayıda çalışma, oral, transdermal ve topikal uygulamalarda bilosomların etkinliğini ortaya koymuştur. Lipid nanopartiküllerin boyut ve yüzey yükü gibi özelliklerinin biyoyararlanım üzerinde önemli etkiler yarattığı, bu nedenle bilosomların uygulanabilirliği için sağlam bir temel oluşturduğu rapor edilmiştir (Gangavarapu vd., 2024; Wang vd., 2020). Ayrıca geleneksel ve modifiye edilmiş bilosom sistemleri, uzun süreli salım ve artırılmış biyoyararlanım potansiyelleri nedeniyle umut verici bulunmuştur (Nayak vd., 2023). Nanopartiküllerin ve lipid nanosistemlerinin transdermal uygulamadaki genel avantajları da doğrulanmış, bilosomlar özellikle güçlü adaylar arasında öne çıkmıştır (Hsu vd., 2023; Akombaetwa vd., 2023).

Transdermal ve topikal ilaç uygulamalarında bilosom tabanlı çok sayıda yenilikçi formülasyon geliştirilmiştir. Simvastatin bazlı bilosomlar antiinflamatuvar etkinlik göstermiş, çitosan kaplı terbutalin sülfat bilosomları yapay sinir ağları ile optimize edilerek *in vivo* doğrulanmıştır (Khafagy vd., 2023; El Menshawe vd., 2020). Flutikazon propiyonat yüklü jel formülasyonlar sıçan artritinde etkili bulunmuş, tizanidin hidroklorürün transdermal dağıtımı bilosomlarla başarılı şekilde sağlanmıştır (AbuBakr vd., 2023; Khalil vd., 2019). Benzer şekilde, diklofenak sodyum (Mahmoud vd., 2022) ve niflumik asit (Abdelbari vd., 2023) için bilosom sistemleri geliştirilmiş, ağrı ve inflamasyon tedavisinde etkinlikleri ortaya konmuştur.

Bilosomlar aynı zamanda mukozal bağışıklama için de araştırılmıştır. Oral aşı uygulamalarında bilosomların IgA ve IgG yanıtlarını artırdığı ilk kez Singh vd. (2004) ve Jain vd. (2014) tarafından gösterilmiştir. Daha sonra D'Elia vd. (2019), antibiyotik taşıyıcı bilosomların melioidoz tedavisinde terapötik etkinliği artırdığını rapor etmiştir. İnsülin dağıtımı konusunda yapılan araştırmalar da dikkate değerdir. Ayogu vd. (2009), insülin

yüklü bilosomların farmakodinamik özelliklerini incelerken; Nallamothe vd. (2023), bilosomun yükü ve zincir uzunluğunun ASBT aracılı absorpsiyon üzerindeki etkisini göstermiştir.

Bilosomlar, antiviral ve antikanser uygulamalarda da geniş potansiyel sergilemektedir. Zakaria vd. (2023), polifenolik fitoseutik yüklü nano-bilosomların SARS-CoV-2'ye karşı geçirgenliği artırdığını ve antiviral etki gösterdiğini bildirmiştir. Zakaria vd. (2021) ise piperin yüklü bilosomların MERS-CoV modellerinde antiviral ve antiinflamatuvar etkinliklerini ortaya koymuştur. Psoralidin yüklü bilosomların oral uygulamada mukoadhezyon özellikleri sayesinde apoptozu artırarak meme ve akciğer kanserinde etkili olduğu bildirilmiştir (Youness vd., 2023). Benzer şekilde, rolipram (Mondal vd., 2024) ve alkaloid bazlı nutrasötikler (Elkomy vd., 2022) bilosomlarla taşındığında antikanser ve hipoglisemik özellikler göstermiştir. Dextrose ile fonksiyonelleştirilmiş silymarin bilosomları da hepatik karsinom tedavisinde umut verici sonuçlar sunmuştur (Parashar vd., 2019).

Yakın dönemde yapılan çalışmalar bilosomların hedefe yönelik tedavi, beyin dağıtımı ve dermatolojik uygulamalarda da güçlü adaylar olduğunu vurgulamaktadır. Joseph Naguib vd. (2020) sofosbuvir için galaktoz bağlanmış taurokolat bilosomlarını optimize etmiş; Hoseini vd. (2023) makine öğrenimi ile bilosomların boyut ve PDI değerlerini tahmin etmiştir. Kang vd. (2024), dermatolojik uygulamalarda transdermal bilosomların etkinliğini; Kaurav vd. (2023, 2024) ise serebral ilaç iletimi ve yeni eğilimleri değerlendirmiştir. Ayrıca albendazol yüklü bilosomların cilt kanseri tedavisinde etkinliği (Khot vd., 2024), mikroskopi analizleriyle de taşıyıcı verimliliği (Mondal vd., 2022) doğrulanmıştır.

Literatürde bilosomların genel farmasötik potansiyeli de çeşitli derlemelerde incelenmiştir. Nemati vd. (2022), safra asidi bazlı sistemlerin (bilosom ve misel) terapötik uygulamalardaki rollerini kapsamlı şekilde ele almıştır. Niu vd. (2012), insülin yüklü liposomlarda safra tuzu tipi ve vezikül boyutunun hipoglisemik etkinlik üzerine etkilerini değerlendirmiştir. Ayrıca Palekar-Shanbhag vd. (2020) ve Paul vd. (2022), bilosomların hedefe yönelik sofistike ilaç taşıyıcılar olarak önemini vurgulamış; Rajput ve Chauhan (2017) ile Sharma ve Chauhan (2024) güvenlik ve etkinlik yönünden umut vadeden sistemler olduğunu göstermiştir. Waglewska vd. (2020), hibrit bileşiklerin taşınması için yüzey modifiye bilosomları tanıtmış; Zou vd. (2024) ise oral absorpsiyonun

iyileştirilmesine yönelik bilosom araştırmalarını gözden geçirmiştir. Ayrıca Ahmad vd. (2017), protein ve peptitlerin stabilizasyonunda bilosomların rolünü; Ahmed vd. (2020) transdermal uygulamalardaki in vivo başarısını; Bhairy vd. (2020) ise düşük çözünürlüklü farmasötiklerin biyoyararlanımını artırmadaki potansiyelini rapor etmiştir.



3. GEREÇLER

3.1 Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar

3.1.1 Kimyasal maddeler

Kimyasal Malzemeler	Marka adı, Ülke
Albendazol	Biofarma İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş., Türkiye
Tween 80 (Polysorbate 80)	Amresco, USA
Taurocholic Acid Sodium Salt Hydrate	Sigma Chemical Co., USA
Kolesterol (5-Cholesten-3 β -ol)	Sigma Chemical Co., USA
Ayçiçeği Fosfatidilkolin	Shankar, India
Metanol – HPLC Gradient Grade	J.T. Baker, Poland
Sodyum klorür (NaCl), $\geq 99.8\%$	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
Potasyum klorür (KCl), $\geq 99.5\%$	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
Sodyum sülfat (Na ₂ SO ₄), susuz, $\geq 99.0\%$	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
Sodyum bikarbonat (NaHCO ₃), analitik saflıkta	Merck KGaA, Darmstadt, Almanya
Mannitol	Doğa İlaç Hammadde Ticaret Ltd. Şti., İstanbul, Türkiye
Fenol red (ACS indicator)	Merck KGaA, Darmstadt, Almanya
Metoprolol tartarat (Batch No: 210205RJI)	(tedarikçi bilgisi eklenecek)
Saf su	AUBIBAM (Anadolu Üniversitesi), Eskişehir, Türkiye
Dialysis tubing, high retention seamless cellulose tubing, MWCO 12400	Sigma-Aldrich, USA

3.1.2 Kullanılan ekipman ve cihazlar

Kullanılan Ekipman ve Cihazlar	Marka adı, Ülke
Buzdolapları	Arçelik, Türkiye; Liebherr Pro-Lab, Türkiye
Hassas terazi	Ohaus E1 2140, Türkiye
Sonikatör	Wisd WUC-A03H, Kore
Zetasizer	Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, Birleşik Krallık
Rotavapor (Rotary Evaporator)	HB ECO S099, IKA, Almanya
Peristaltik pompa	Gilson Minipuls® 3, Gilson Inc., Middleton, WI, ABD
Manyetik ısıtıcı karıştırıcı	Jeo Tech TM-14S, Jeo Tech, Kore

3.1.3 Kullanılan bilgisayar programları

Programlar:	Marka adı, Ülke:
Microsoft Excel 2021	Microsoft, ABD
Design Expert® sürüm 13.0.2.0	State-Ease Inc. Minneapolis, MN, ABD

4. YÖNTEMLER

4.1 Deneysel Tasarım

4.1.1 Deneysel tasarımın optimizasyonu

Bilosom formülasyonu, Design Expert® v13 (State-Ease Inc., Minneapolis, MN, USA) yazılımında Response Surface Methodology (RSM) çerçevesinde Central Composite Design (CCD) kullanılarak optimize edilmiştir. Varyans analizi (ANOVA) $P < 0.05$ ve %95 güven güvenilirliği ile anlamlı kabul edilmiştir. Üç kritik işlem değişkeni—stearik asit (STC, mg), fosfolipid içeriği (PC, mg) ve sonikasyon süresi (dakika)—dört temel kalite özelliği üzerinde değerlendirilmiştir: parçacık boyutu (PS), polidispersite indeksi (PDI), zeta potansiyeli (ZP) ve enkapsülasyon verimliliği (EE). CCD, faktöriyel noktaları, eğrilik tahmini için aksiyel ("yıldız") noktaları ve hata miktarını belirlemek için tekrarlanan merkez noktalarını birleştiren 20 deneysel koşu boyunca lineer ve kuadratik etkileşimleri haritalamak amacıyla seçilmiştir. Yıldız nokta mesafeleri, tasarım uzayının her yerinde uniform tahmin hassasiyeti sağlamak üzere rotatabiliteyi garantilemek için hesaplanmıştır. ANOVA ve uyumsuzluk (lack-of-fit) testleriyle doğrulanan ortaya çıkan kuadratik model, formülasyon değişkenleri ile yanıtlar arasındaki ilişkileri doğru bir şekilde tanımlamış ve optimum bilosom kompozisyonunun (deney 8) belirlenmesinde rehberlik etmiştir.

4.1.2 Albendazol yüklü bilosomların hazırlanması

Albendazol yüklü bilosomlar, bazı modifikasyonlarla ince film hidrasyon tekniği kullanılarak oluşturulmuştur. Formülasyon, basit faktöriyel tasarım kullanılarak hazırlanmış olup (SPSS® yazılımı, sürüm 27, SPSS Inc., IBM Corporation, New York, NY, USA) bağımsız faktörler olarak şu bileşenler seçilmiştir: (A) Kolesterol (12 mg), (B) Ayçiçeği fosfatidilkolin (PC) ve (C) Safra Tuzları.

Ölçülen bağımlı değişkenler şunlardır: Particle Size (PS), Zeta Potential, Polydispersity Index (PDI).

Albendazol yüklü bilosomlar, ince film hidrasyon yöntemi ve sonrasında prob sonikasyonu kullanılarak üretilmiştir. Deney, fosfatidilkolin (PC, 62.5–587.5 mg), sodyum taurokolat (STC, 0–60 mg) ve sonikasyon süresi (2.5–17.5 dakika) kütlelerinin sistematik olarak değiştirildiği üç faktörlü central-composite design kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Tablo 4.1). Albendazol (20 mg) ve kolesterol (12 mg) tüm koşullarda sabit tutulmuştur.

Genel Prosedür (her deney için uygulanır):

- Ağırlığı ölçülmüş PC, kolesterol ve albendazol 20 mL metanol içerisinde çözöldü ve berrak bir çözelti elde etmek için prob-sonikasyona 1 dakika tabi tutuldu.
- Çözücü, 40 °C'de 10 dakika süreyle rotatif evaporatörde buharlaştırılarak uniform bir lipid film oluşturuldu.
- Önceden tartılmış STC (Tablo 4.1) 50 mL distile su içerisinde çözöldü.
- Aqueous STC fazı, kurutulmuş filmin üzerine eklendi; şişe hafifçe çalkalanarak filmin ayrılması sağlandı ve kaba bir bilosom dispersiyonu elde edildi.
- Dispersiyon, belirtilen süre (Tablo 4.1) boyunca sonikasyona tabi tutuldu.
- Parçacık Boyutu (PS), Polidispersite İndeksi (PDI) ve Zeta Potansiyeli (ZP) hemen ölçöldü.
- Enkapsölasyon Verimliliği (EE), 2 mL dispersiyon 14.000 rpm, 4 °C'de 90 dakika santriföjlenerek belirlendi; süpernatanttan alınan 2 µL'lik bir örnek, 2 mL su ile seyreltilip spektrofotometrik olarak analiz edildi ($\lambda_{max} \approx 295 \text{ nm}$). EE (%) şu şekilde hesaplandı:
- $EE (\%) = [(Eklenen \text{ toplam ilaç} - Süpernatanttaki \text{ serbest ilaç}) / Eklenen \text{ toplam ilaç}] \times 100.$

Tablo 4.1

STC, PC ve Sonikasyon Süresinin Bilosom Formülasyonlarının Parçacık Boyutu, PDI, Zeta Potansiyeli ve Enkapsülasyon Verimliliği Üzerindeki Etkisi

	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Response 1	Response 2	Response 3	Response 4
Run	A:STC	B:PC	C:sonication time	PS	PDI	ZP	EE
	Mg	mg	Min	nm		mV	%
1	10	500	15	235.5	0.510	-44.5	87.54
2	30	325	10	224.2	0.489	-48.3	82.23
3	30	325	10	204.4	0.282	-42.8	83.74
4	50	500	15	201.1	0.560	-54.4	65.1
5	30	325	10	223.8	0.418	-47.3	81.38
6	60	325	10	226.3	0.346	-48.8	82.48
7	30	62.5	10	245.7	0.277	-46.4	87.62
8	10	150	15	204.8	0.218	-40.9	87.46
9	50	150	5	237.3	0.296	-46.8	87.54
10	30	587.5	10	218	0.587	-35.1	65.61
11	30	325	10	240.5	0.687	-50.7	80.12
12	50	500	5	231.9	0.548	-46.8	72.02
13	30	325	10	213.6	0.362	-45.4	85.43
14	10	500	5	204.3	0.470	-47.6	79.44
15	30	325	10	244.2	0.481	-50.9	87.29
16	50	150	15	204.7	0.324	-53.6	83.41
17	30	325	17.5	205.3	0.356	-45	81.13
18	0	325	10	200.5	0.328	-35.9	77.67
19	10	150	5	248.8	0.410	-39.8	87.03
20	30	325	2.5	282.9	0.770	-46.4	87.2

(STC = Cholesterol, PC = Phosphatidylcholine, PS = Particle Size, PDI = Polydispersity Index, ZP = Zeta Potential, EE = Entrapment Efficiency)

4.1.3 Albendazol-yüklü liposom

- Formülasyon tasarımına uygun olarak farklı miktarlarda hassas tartılmış kolesterol ve fosfatidilkolin (PC) kullanıldı.
- Bu hazırlıkta hiçbir safra tuzu eklenmedi.
- Kolesterol, PC ve albendazol (ilaç), berrak bir organik faz elde etmek için uygun miktarda metanol içerisinde çözüldü.

- Organik çözelti, bileşenlerin tamamen dağılması ve homojenliği sağlanması için 1 dakika sonikasyona tabi tutuldu.
- Metanol, 40°C'de 10 dakika süreyle rotatif evaporatör kullanılarak buharlaştırıldı; böylece şişe içinde uniform ince bir lipid film oluşturuldu.
- Aqueous faz, vesikül stabilitesine yardımcı olmak amacıyla uygun konsantrasyonda Tween içeren distile su kullanılarak hazırlandı.
- Tween içeren su fazı, lipid filme eklendi ve şişe nazıkçe çalkalanarak filmin nemlendirilmesi ve multilamellar veziküllerin oluşması sağlandı.
- Liposomal dispersiyon, parçacık boyutunu azaltmak ve formülasyondaki uniformiteyi artırmak amacıyla yeniden sonikasyona tabi tutuldu.
- Liposom süspansiyonu, görünür partiküller, agregatlar veya faz ayrımının olmadığını gözle kontrol etmek amacıyla incelendi.
- Liposomal formülasyon, daha fazla analiz veya kullanım öncesinde temiz, kapalı kaplar içinde 4°C'de saklandı.

Tablo 4.2

STC, PC ve Sonikasyon Süresinin Liposom Formülasyonlarının Parçacık Boyutu, PDI, Zeta Potansiyeli ve Enkapsülasyon Verimliliği Üzerindeki Etkisi

	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Response 1	Response 2	Response 3	Response 4
Run	A:PC	B:Cholesterol	C:Sonication time	PS	PDI	ZP	EE
	mg	Mg	Min	Nm		mV	%
1	175	10	18.4	434.4	0.61	-11	80.4548
2	175	10	10	223.9	0.36	-15.5	87.0345
3	175	5.8	10	357.3	0.76	-15.6	88.2998
4	250	12.5	5	251.8	0.48	-11.4	69.6572
5	301.1	10	10	207.9	0.32	-14	76.237
6	250	7.5	15	255.9	0.41	-11.2	74.6342
7	175	10	10	284.8	0.46	-11	83.4072
8	100	12.5	5	281.5	0.41	-10.9	87.7094
9	175	10	1.6	290.2	0.42	-16.1	82.648
10	250	12.5	15	225.6	0.38	-13.9	76.5744
11	100	7.5	15	457.8	0.67	-10.4	94.2891
12	175	10	10	325.3	0.45	-13.5	89.6495
13	100	7.5	5	258.1	0.31	-19.3	94.5422
14	48.9	10	10	474.2	0.46	-9.68	96.1449
15	175	14.2	10	278.1	0.59	-12.2	83.3229
16	175	10	10	311.8	0.45	-11.8	85.8535

17	175	10	10	337.3	0.47	-8.92	81.6357
18	100	12.5	15	241.4	0.19	-9.96	97.7477
19	250	7.5	5	219.3	0.31	-11.5	84.9256
20	175	10	10	231.5	0.26	-7.48	84.9256

4.2 Fizikokimyasal Karakterizasyon

4.2.1 Paracak boyutu (PS), polidispersite indeksi (PDI) ve zeta potansiyeli (ZP)

Dinamik ışık saçılımı (DLS) analizi, bilosom boyutu, polidispersite indeksi (PDI) testi ve zeta potansiyel değ erlerinin belirlenmesi için kullanıldı (DLS, Malvern Zetasizer, Nano ZS modeli, Malvern Instruments Ltd., U.K.). Numuneler temiz küvetlere aktarıldı ve ölçümler oda sıcaklığında gerçekleştirildi. Tüm okumalar, hem zeta potansiyel hem de paracak boyutu üç kez alınarak doğruluk ve tekrarlanabilirliği sağlamak amacıyla ortalama değ erler hesaplandı.

4.2.2 SEM analizi

Bilosomların ve lipozomların şekil ve yüzey morfolojileri, Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) (Hitachi S-3030N,  rlanda) kullanılarak incelenmiştir. Örnekler, temiz lamalar üzerine dikkatlice yerleştirilmiş ve nem ile havanın uzaklaştırılması amacıyla vakum altında kurutulmuştur.  letkenliği artırmak ve yüzeyde oluşabilecek elektriksel yüklenmeleri önlemek amacıyla örneklerin yüzeyine ince bir altın tabakası, sputter kaplama yöntemiyle uygulanmıştır. Yüzey  zellikleri ve yapısal ayrıntılar, 15 kV ivmelendirme voltajı ile elde edilen SEM görüntüleri aracılığıyla gözlemlenmiştir.

4.2.3 TEM analizi

Optimize edilmiş boş BLZ, albendazol yüklü bilozomlar, boş LPZ ve albendazol yüklü lipozomların morfolojisi ve vezikül boyutları, nokta-nokta çözünürlükte ve 100 kV hızlandırma voltajında çalışan bir transmisyon elektron mikroskobu (TEM; JEOL JEM 1220) ile analiz edilmiştir. Optimize edilmiş albendazol yüklü bilozom formülasyonu, çift distile su ile 50 kat seyreltilmiş ve fosfotungstik asit kullanılarak negatif boyama işlemi uygulanmıştır. Gözlem öncesinde, örnek karbon kaplı grid üzerine damlatılmış ve kurutulmuştur.

4.2.4 FTIR analizi

Albendazol ile bilozom ve lipozom formülasyonlarında kullanılan yardımcı maddeler arasında meydana gelebilecek olası kimyasal etkileşimleri değerlendirmek amacıyla FTIR

analizi gerçekleştirilmiştir. Analize; saf albendazol, boş bilozomlar, albendazol yüklü bilozomlar, boş lipozomlar ve albendazol yüklü lipozomlar dahil edilmiştir. Analizler, Perkin Elmer Spectrum BX spektrometresi (Massachusetts, ABD) kullanılarak yapılmıştır. Cihaz, analiz öncesinde boş bir disk ile kalibre edilmiştir.

Her bir örnek, yaklaşık 2 dakika boyunca sabit kuvvet altında hidrolik pres yardımıyla pellet haline getirilmiştir. Hazırlanan pelletler yaklaşık 4 cm^{-1} tarama derinliğinde yerleştirilmiştir. Spektral taramalar, $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ dalga boyu aralığında ve uygun çözünürlük ayarlarında gerçekleştirilmiştir.

4.2.5 DSC analizi

Albendazol (ABZ), safra tuzu, kolesterol, liyofilize edilmiş ABZ yüklü bilozomlar, liyofilize edilmiş ABZ yüklü lipozomlar ve dekstrin örneklerinin termotropik davranışları, DSC (Perkin Elmer DSC 8000) cihazı kullanılarak incelenmiştir. Her bir örnekten 2 mg, standart alüminyum kapsüllere yerleştirilmiş ve $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'den $300\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar, dakikada 10 $^{\circ}\text{C}$ ısıtma hızıyla taranarak analiz gerçekleştirilmiştir.

4.2.6 XRD analizi

ABZ, liyofilize edilmiş optimize bilozom (LBZ) ve lipozom (LPZ) formülasyonları, X-ışını difraksiyon (XRD) analizi için bir difraktometre (Malvern PANalytical, Hollanda) kullanılarak incelenmiştir. Seçilen örnekler, 45 kV ve 40 mA koşullarında Ni filtreli Cu K α ışını ile ışınlanmıştır. İnceleme, $3\text{--}70^{\circ}$ aralığındaki kırınım açısı (2θ) kapsamında, dakikada 2° tarama hızıyla gerçekleştirilmiştir (Sahoo ve ark., 2025).

4.2.7 Kapsülleme verimi

Albendazolün bilozomlar ve lipozomlar içerisindeki kapsülleme verimi (EE%) dolaylı bir ultrasantifüj yöntemi ile belirlenmiştir. Kısaca, her bir vezikül dispersiyonundan 2 mL Eppendorf tüplerine aktarılmış ve Eppendorf 5810R santrifüj cihazı kullanılarak 4°C 'de, 14.000 rpm'de 90 dakika süreyle santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrasında, enkapsüle edilmemiş (serbest) ilacı içeren 200 μL 'lik süpernatant dikkatlice toplanmış ve 2 mL distile su ile seyreltilmiştir. Sonuçların doğrulanması amacıyla, aynı süpernatanta paralel olarak metanol ile de seyreltilmiş numuneler hazırlanmıştır. Her seyreltilmiş numunenin absorbansı, ilaca özgü dalga boyunda BioTek Eon™ Mikroplaka Spektrofotometresi kullanılarak ölçülmüştür. Kapsülleme verimi aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır:

$$\%EE = \left[\frac{(Toplam \ ila\c - Serbest \ ila\c)}{Toplam \ iLa\c} \right] \times 100$$

Dondurarak kurutma işlemi sırasında veziküllerin agregasyonunu önlemek ve parçacık boyutu ile morfolojiyi korumak amacıyla kriyoprotektan olarak dekstrin eklenmiştir. Bu sayede bilozom ve lipozomların yapısal bütünlüğü depolama ve sonraki analizler boyunca korunmuştur.

4.2.8 İn vitro ilaç salım çalışmaları

İn vitro ilaç salım çalışmaları, Panwar ve ark. (2010) tarafından tanımlanan yöntem, tampon pH'ı, hacim ve örnekleme zamanlarında yapılan küçük değişikliklerle izlenerek diyaliz membranı yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. Diyaliz torbaları, koruyucu maddelerin uzaklaştırılması amacıyla oda sıcaklığında 12 saat süreyle distile suda bekletildi ve ardından distile su ile iyice durulandı. Çalışma, saf albendazol (kontrol), albendazol yüklü bilozomlar ve albendazol yüklü lipozomlar için yürütüldü. Her numune, 2 mg albendazol eşdeğer olacak şekilde hazırlanarak diyaliz torbasına (MW cut-off: 12.000 Da; Sigma-Aldrich) yerleştirildi ve torbanın her iki ucu sıkıca bağlandı. Torbalar, $37 \pm 0,5$ °C'de tutulan ve manyetik karıştırıcı ile 100 rpm hızında karıştırılan %0,5 a/h sodyum lauril sülfat (SLS) içeren 200 mL tampon çözeltisi (pH 1,2 veya pH 7,4) içerisine daldırıldı. Belirlenen zaman aralıklarında (5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 ve 120 dakika; 3, 4, 6, 8, 10, 12 ve 24 saat) ortamdan 3 mL örnek alındı ve her seferinde eşit hacimde taze tampon çözeltisi ile değiştirildi. Salınan albendazol miktarı, 290 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak belirlendi.

4.2.9 Spektrofotometrik yöntemin validasyonu

4.2.9.1 Doğrusallık ve çalışma aralığı

Etkin madde olan Albendazol analitik miktar tayini; UV-Görünür Bölge Spektrofotometresi (Shimadzu, UV VIS 160, Japonya) cihazında, kuvars küvet (Quartz Suprasil, Hellma, 100-QS, 10 mm) kullanılarak yapılmıştır.

ABZ için kalibrasyon eğrileri 220 nm ve 290 nm'de 5–50 µg/mL derişim aralığında hazırlanmıştır. Altı nokta kullanılarak analiz yapılmış ve regresyon denklemleri elde edilmiştir.

4.2.9.2 Kesinlik

Kesinlik, gün içi tekrarlanabilirlik ve günler arası tekrar edilebilirlik olarak değerlendirilmiştir. Düşük, orta ve yüksek QC düzeylerinde (8, 25, 45 µg/mL) altı tekrar ölçüm yapılmış ve %RSD değerleri hesaplanmıştır.

4.2.9.3 Doğruluk

Doğruluk, üç QC düzeyinde (8, 25, 45 µg/mL) geri kazanım çalışmaları ile değerlendirilmiştir. Ortalama geri kazanım (%) ve %RSD değerleri belirlenmiştir.

4.2.9.4 Duyarlılık (LOD ve LOQ)

LOD ve LOQ değerleri, kalibrasyon eğrisi istatistiklerinden $LOD = 3.3 \cdot \sigma / S$ ve $LOQ = 10 \cdot \sigma / S$ formülleri ile hesaplanmıştır.

4.2.9.5 Seçicilik

Seçicilik, boş Golytely® ve belirteç içeren çözeltilerin absorbanslarının ABZ ile zenginleştirilmiş çözeltiler ile karşılaştırılmasıyla doğrulanmıştır. 4.2.10 In vivo intestinal perfüzyon çalışmaları

4.2.10.1 Ratlarda in situ tek geçişli ince bağırsak perfüzyonu (SPIP)

Rat ileumunda SPIP, Okur ve ark., 2024 çalışmasından küçük uyarlamalarla yürütüldü. Erkek Sprague–Dawley ratlar (200–250 g) üç gruba (her biri n = 6) rastgele ayrıldı: (i) ABZ süspansiyonu grubu, albendazol (0.20 mg/mL), metoprolol tartarat (0.40 mg/mL, yüksek geçirgenlik referans ilacı) ve fenol red (0.20 mg/mL, absorbe olmayan belirteç) içeren; (ii) ABZ-yüklü lipozomlar (ABZ-Lipo) ve (iii) ABZ-yüklü bilozomlar (ABZ-Bilo). Hayvanlar gece boyunca aç bırakıldı; anestezi ketamin/ksilazin ile sağlandı. Orta hat insizyonunu takiben 10 cm'lik ileum segment esnek tüplerle kanüle edilerek perfüzyon sistemine bağlandı; karın nemli tutuldu ve perfüzyat 37 ± 0.5 °C'de muhafaza edildi. Test perfüzyonundan önce 0.5 mL/dk hızda 20 dk ön yıkama yapıldı. Test ortamları Golytely® içinde hazırlandı: ABZ süspansiyonu (MTP referansı ile) metoprolol tartarat 0.40 mg/mL ve fenol red (PR) 0.20 mg/mL içerdi (absorbe olmayan su akısı belirteci); ABZ-Lipo ve ABZ-Bilo 100 mL'de 20 mg ABZ eşdeğeri (0.20 mg/mL) ve PR 0.20 mg/mL içerdi. ABZ-Lipo/Bilo için eklenecek toz/hacim, formülasyonun ilaç yüklemesi/enkapsülasyon etkinliğine göre 100 mL'de 20 mg ABZ sağlayacak şekilde hesaplandı. Ön yıkama sonrası segmentler 0.2 mL/dk hızla 60 dk perfüze edildi; çıkış örnekleri 20, 30, 40, 50 ve 60 dakikalarda alındı. Derişimler PR ile su hareketine göre düzeltildi:

$$\left(\frac{C_{out}}{C_{in}}\right)' = \left(\frac{C_{out}}{C_{in}}\right) * \left(\frac{C_{in,PR}}{C_{out,PR}}\right)$$

$$\text{Etkili geçirgenlik, } P_{eff} = -\frac{Q}{2\pi r l} \ln \left(\left(\frac{C_{out}}{C_{in}}\right)' \right)$$

modeliyle hesaplandı ($Q = 0.2 \text{ mL/dk} = 0.00333 \text{ mL/sn}$, $r = 0.2 \text{ cm}$, $l = \text{ölçülen uzunluk}$). Net su akısı (NWF) PR verisinden çıkarıldı (negatif = absorpsiyon; pozitif = sekresyon). İnsan Peff ve absorbe olan fraksiyon F_a , Okur ve ark.'da açıklandığı şekilde rat Peff değerlerinden türetildi ve $F_{\{a\}} = 1 - e^{\{-3845 \cdot P_{\{eff\}}\}}$ biçiminde ifade edildi. Tüm işlemler etik kurul tarafından onaylandı karar NO:2025-06.

5. BULGULAR ve TARTIŞMA

5.1 Parçacık Boyutu (PS), Polidispersite İndeksi (PDI) ve Zeta Potansiyeli (ZP)

Grafik, yoğunluğa göre boyut dağılımını göstermektedir.

Z-Ortalaması: Bu değer tipik olarak partikül boyut dağılımının merkezi eğiliminin bir göstergesi olarak kullanılır.

PDI: Düşük değerler (0'a yakın) monodispers bir dağılımı gösterirken, yüksek değerler (1'e yakın) geniş bir boyut dağılımını gösterir.

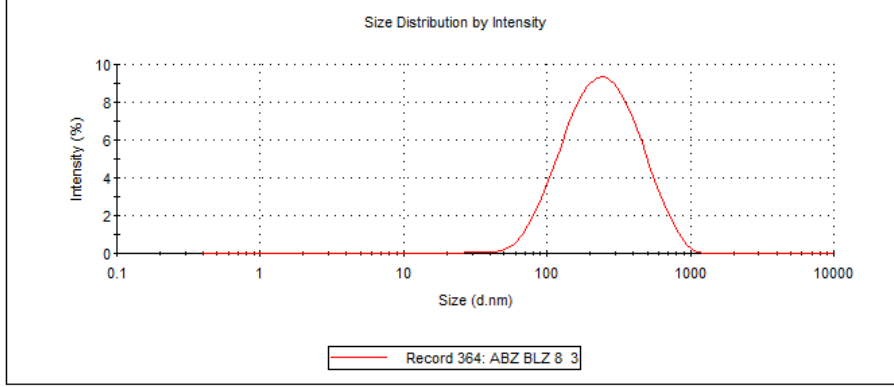
Tepe Analizi: Bu, partiküllerin en belirgin tepe noktalarını gösterir.

Genişlik, partikül boyut dağılımını gösterir.

Şekil 5.1

Optimum bilozomun parçacık boyutu dağılım analizi

	Size (d.nm):	% Intensity	Width (d.nm):
Z-Average (d.nm): 204,8	Peak 1: 281,1	99,8	166,6
Pdl: 0,239	Peak 2: 32,11	0,2	4,559
Intercept: 0,918	Peak 3: 0,000	0,0	0,000
Result quality : Good			

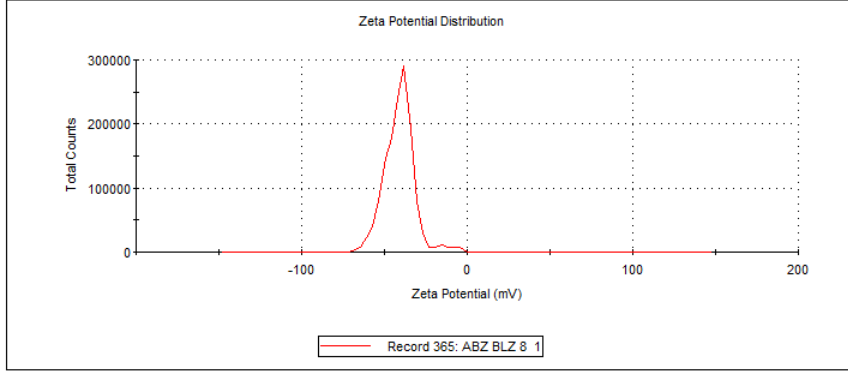


Optimizasyon sonucu elde edilen bilozom formülasyonunun Z-ortalama hidrodinamik çapı 204,8 nm ve polidispersite indeksi (Pdl) 0,239 olarak belirlenmiştir; bu değerler partikül boyutu dağılımının yüksek oranda homojen olduğunu göstermektedir. Yoğunluk bazlı boyut dağılımında %99,8 oranında tek bir unimodal tepe (281,1 nm) tespit edilmiş olup, bu sonuç hazırlanan veziküllerin tek tip bir popülasyon oluşturduğunu doğrulamaktadır.

Şekil 5.2

Optimum bilozomun zeta potansiyeli

	Mean (mV)	Area (%)	Width (mV)
Zeta Potential (mV): -40,9	Peak 1: -41,9	95,7	7,74
Zeta Deviation (mV): 9,31	Peak 2: -16,9	2,5	3,93
Conductivity (mS/cm): 0,0799	Peak 3: -7,91	1,7	3,08
Result quality : See result quality report			

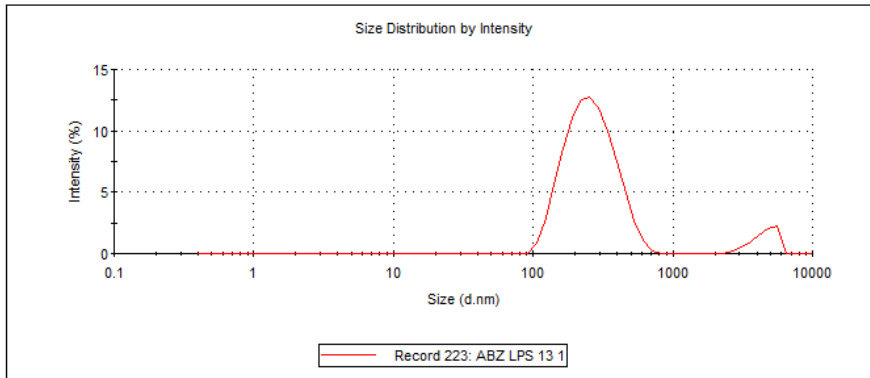


Bilosom formülasyonu ortalama $-40,9$ mV zeta potansiyeline sahip olup, yüksek negatif yüzey yükü sayesinde elektrostatik itme ile üstün kolloidal stabilite sağlamıştır. Zeta potansiyel dağılımı büyük ölçüde unimodal olup, $-41,9$ mV’da oluşan temel tepe tüm partikül popülasyonunun %95,7’sini temsil etmektedir.

Şekil 5.3

Optimum lipozomun parçacık boyutu dağılım analizi

	Size (d.nm):	% Intensity	Width (d.nm):
Z-Average (d.nm): 258,1	Peak 1: 272,0	92,5	108,5
Pdl: 0,308	Peak 2: 4568	7,5	841,8
Intercept: 0,901	Peak 3: 0,000	0,0	0,000
Result quality : Good			

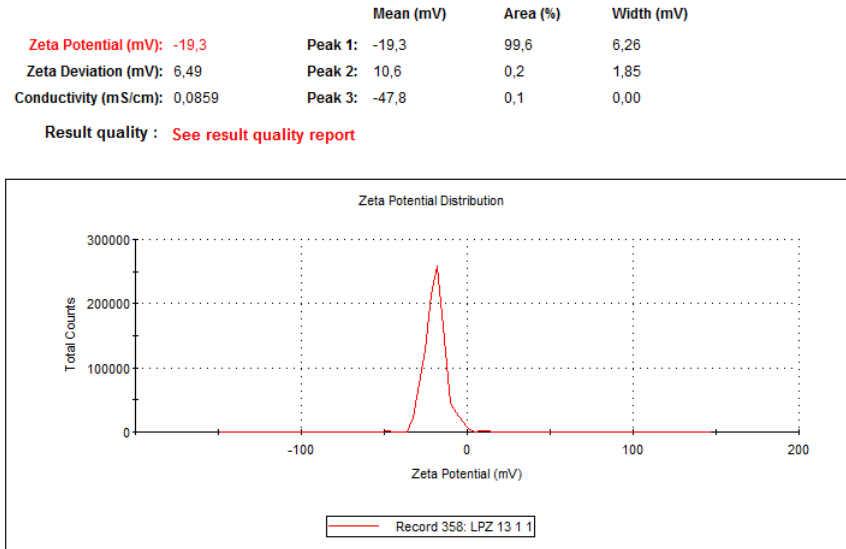


Liposom formülasyonunun Z-ortalama hidrodinamik çapı 258,1 nm ve polidispersite indeksi 0,308 olarak belirlendi. Yoğunluk bazlı boyut dağılımı, %92,5 yoğunluğa sahip

birincil tepenin 272,0 nm’de konumlandığını; ayrıca %7,5 yoğunluğa sahip ikincil bir tepenin 4568 nm’de gözlemlendiğini göstermiştir. Bu ikincil tepe, dağılımda sınırlı sayıda büyük agreganın varlığına işaret edebilir.

Şekil 5.4

Optimum lipozomun zeta potansiyeli



Lipozom formülasyonu, ortalama $-19,3$ mV zeta potansiyeli ile orta derecede negatif bir yüzey yükü sergilemiştir. Zeta potansiyel dağılımı büyük oranda unimodal olup, $-19,3$ mV’deki ana tepe partikül popülasyonunun %99,6’sını temsil ederek veziküllerin yüzey yükü homojenliğinin yüksek olduğunu göstermektedir.

5.2 Tanımlayıcı İstatistikler

Toplam 20 bilosom formülasyonu, ana fiziko-kimyasal özellikler açısından değerlendirildi. Parçacık boyutu (PS), koşu 18’de 200.5 nm ile koşu 20’de 282.9 nm arasında değişerek, ortalama 224.8 ± 23.4 nm olarak belirlendi. Polidispersite indeksi (PDI) değerleri 0.218 ile 0.770 arasında değişmiş olup, ortalaması 0.43 ± 0.15 olarak ölçüldü. Özellikle, formülasyonların yaklaşık yarısında PDI değeri 0.35’in altında seyrederek, nispeten dar bir parçacık boyutu dağılımı ve kabul edilebilir homojenlik sağlandığını göstermiştir. Zeta potansiyeli (ZP) ölçümleri -35.1 mV ile -54.4 mV arasında değişirken, genel ortalama -46.5 ± 5.0 mV olarak tespit edildi. Bu değerler, tipik olarak elektrostatik koloidal stabilite için kabul edilen ± 30 mV eşiğini aşmaktadır. Enkapsülasyon verimliliği (EE) tüm partilerde yüksek seyredilerek, ortalama $\%81.6 \pm 6.9$ oranına ulaşmış; en yüksek değer ise koşu 7’de $\%87.62$ olarak kaydedilmiştir.

5.3 Formülasyon Değişkenlerinin Etkisi

5.3.1 Sodyum taurokolat (STC) etkisi

STC konsantrasyonu 60 mg'dan 10 mg'a kademeli olarak azaldıkça, hem parçacık boyutu hem de PDI'de belirgin bir azalma gözlemlendi. En kompakt ve homojen formülasyon, 10 mg STC'de elde edildi; partikül boyutu 204.8 nm ve PDI 0.218 (run 8) olarak ölçüldü. Ayrıca, STC konsantrasyonu düştükçe zeta potansiyeli de daha az negatif hale geldi; 60 mg'da -48.8 mV olan değer 10 mg'da -40.6 mV'ya geriledi. Bu eğilim, aniyonik yüzey aktif maddenin yüzey yoğunluğundaki azalmayı ve dolayısıyla vezikülleri çevreleyen elektrostatik ortamın değiştiğini göstermektedir. Bu sonuçlar, formülasyonda kullanılan STC miktarının, bilosomların boyut, dağılım ve yüzey yükü özellikleri üzerinde belirleyici bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymaktadır.

5.3.2 Fosfatidilkolin (PC) etkisi

Fosfatidilkolin miktarı 325 mg'ın üzerine çıktığında, vesiküller belirgin şekilde büyüdü ve 587.5 mg PC kullanıldığı koşulda (run 20'de) parçacık boyutu 282.9 nm'ye kadar şişti. Bu durum, lipid çift tabakalarının kalınlaşmasına ve hatta çok katmanlı vezikül yapıların oluşmaya başlamasına bağlı olabilir. 325 mg altında tutulan PC, PDI değerlerini 0.35 veya altında sınırlamışken, konsantrasyon 500 mg veya daha fazla seviyelere çıkarıldığında partikül boyutları daha değişken hale gelmiş; PDI değerleri 0.51 ile 0.56 arasında seyrederek karışımın daha az homojen olduğunu göstermiştir.

5.3.3 Sonikasyon süresinin etkisi

Sonikasyon süresi, vesiküllerin uniformitesi üzerinde belirleyici bir etkiye sahipti. 15 dakikalık sonikasyon, en uniform dispersiyonları elde etmemizi sağladı; PDI değerleri 0.22 veya daha düşük gözlemlenmiştir (örneğin, koşu 8 ve 16'da). Buna karşın, yetersiz sonikasyon (2.5 dakika, koşu 20) veya aşırı sonikasyon (17.5 dakika, koşu 17), dispersiyonu daha az uniform hale getirerek PDI değerlerinin 0.356 ile 0.770 arasında seyretmesine neden olmuştur. Görünüşe göre optimum sonikasyon süresinden sapmak, vesiküllerin ya kümelenmesine ya da parçalanmasına yol açarak dispersiyonun uniformitesini bozuyor.

5.4 Response Surface Analizi

Formülün farklı bileşenlerinin ana kalite özelliklerini nasıl etkilediğini daha iyi anlayabilmek için, Design-Expert® adlı yazılımı kullanarak yanıt yüzeyi grafiklerini ve kontur haritalarını oluşturduk. Bu grafikler, sonikasyon süresini sabit tutarken, sodyum

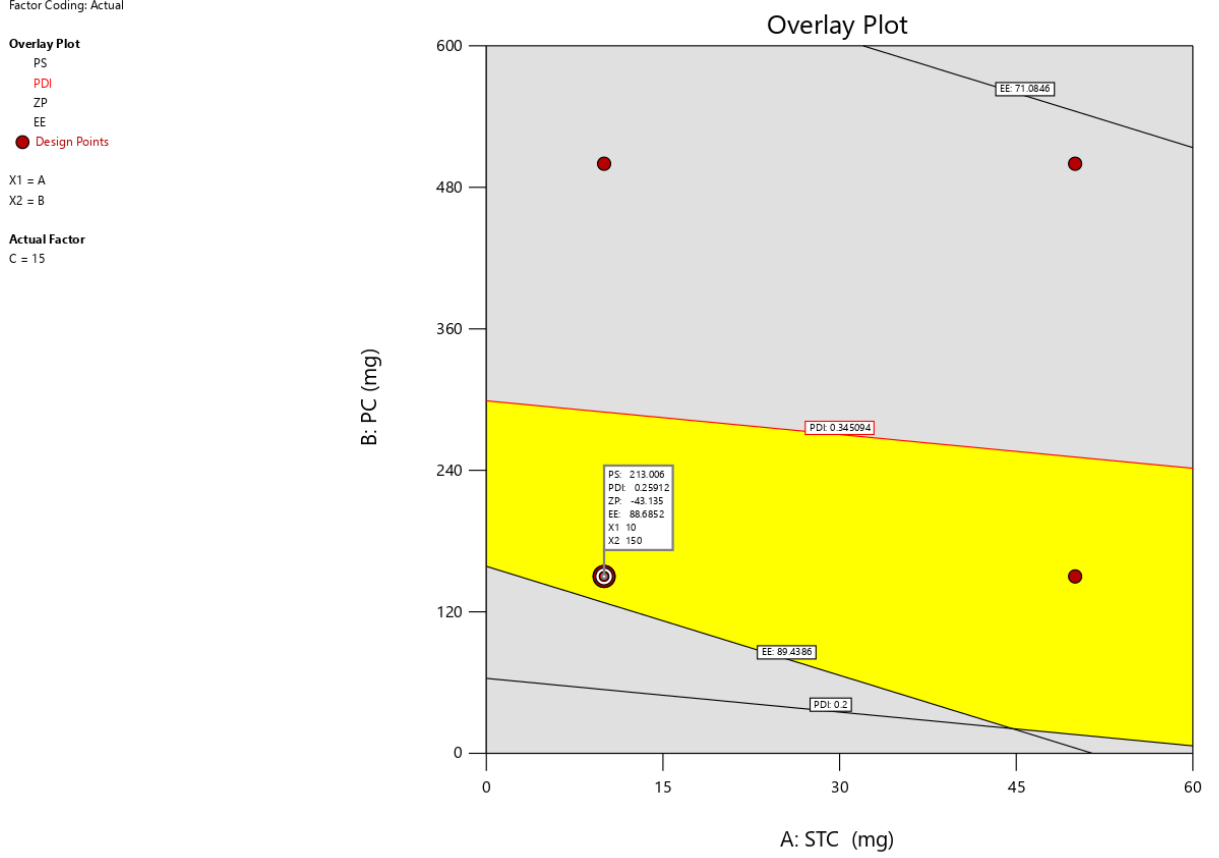
taurokolat (STC) ve fosfatidilkolin (PC) düzeylerini ayarladığımızda parçacık boyutu (PS), polidispersite indeksi (PDI) ve zeta potansiyeli (ZP)'nin nasıl değiştiğini görsel olarak incelememizi sağladı.

5.4.1 Bilosomal formülasyonlar: karakterizasyon ve karşılaştırma

Örnek 8, optimizasyon aracı tarafından en iyi bilosomal kombinasyon olarak belirlenmiştir. Bu örnek, 10 mg ASTC, 500 mg BPC ve 15 dakikalık sonikasyon süresi altında elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar şöyledir: 204,8 nm partikül boyutu, 0,218 polidispersite indeksi, -40,6 mV zeta potansiyeli ve %87,46 enkapsülasyon verimliliği. Bu sonuçlar, Örnek 8'in yalnızca gerekli gereksinimleri karşılamakla kalmayıp, aynı zamanda yüzey yükü, ilaç enkapsülasyon verimliliği, homojenlik ve nano boyutlardaki performans açısından dengeli bir sonuç sağladığını göstermektedir. Yüksek enkapsülasyon verimliliği ve optimize edilmiş parametrelerden çıkarılan istenen fizikokimyasal özellikler, formülasyonun sağlamlığını tanımlamaktadır.

Şekil 5.5

STC (mg) ve PC (mg) için Optimal Yanıt Bölgesi ile Örtüşen Bilosomal Kombinasyon Grafiği



5.4.1.1 Bilosomal formülasyonlarda 3B yanıt yüzeyi

5.4.1.2 STC ve PC'ye göre PS 3B yanıt grafiği

Ekte yer alan görsel, yanıt yüzeyinde belirgin bir çöküşü göstermekte, yaklaşık 10 mg STC ve 150 mg PC içeren formülasyonların en küçük partikülleri üretmesine (partikül boyutlarının yaklaşık 205 nm'ye kadar düşmesi) işaret etmektedir. İdeal bölgede gözlemlenen düşük eğim, STC veya PC miktarındaki küçük değişikliklerin partikül boyutu üzerinde önemli bir etkisi olmadığını düşündürmektedir. Bu sonuç, kapsamlı araştırmalar için en uygun formülasyonun 8 numaralı deneme olduğunu desteklemektedir.

Şekil 5.6

sabit sonikasyon süresi altında STC ve PC konsantrasyonlarının partikül boyutu üzerindeki etkisini göstermektedir.

Factor Coding: Actual

PS (nm)

Design Points:

● Above Surface

○ Below Surface

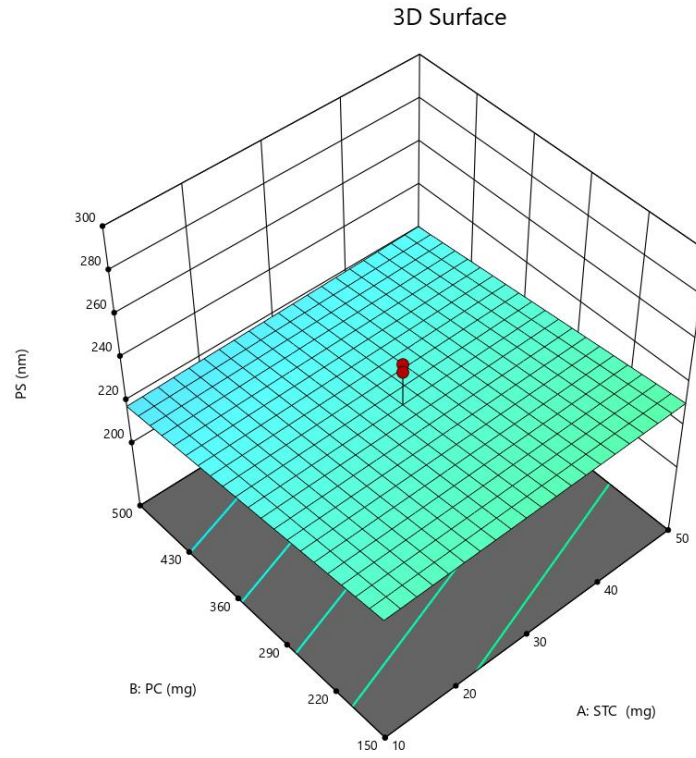
200.5 282.9

X1 = A

X2 = B

Actual Factor

C = 10



Doğrusal Model İçin ANOVA

Yanıt 1: Partikül Boyutu

Tablo 5.1

Seçilmiş faktöriyel model için ANOVA (Yanıt 1: Partikül Boyutu)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value
Model	3331.82	3	1110.61	3.32	0.0466 significant
A-STC	32.97	1	32.97	0.0986	0.7575
B-PC	331.27	1	331.27	0.9910	0.3343
C-sonication time	2967.58	1	2967.58	8.88	0.0088
Residual	5348.58	16	334.29		

Lack of Fit	4183.37	11 380.31	1.63	0.3072	not significant
Pure Error	1165.21	5 233.04			
Cor Total	8680.40	19			

Modelin F-değeri 3.32 olup, modelin anlamlı olduğunu göstermektedir. Böyle yüksek bir F-değerinin yalnızca %4.66 olasılıkla rastlantısal gürültüden kaynaklanabileceği anlaşılmaktadır.

0.0500'dan küçük p-değerleri model terimlerinin anlamlı olduğunu belirtirken, bu durumda C faktörü anlamlı bir model terimi olarak gözlemlenmiştir. 0.1000'den büyük p-değerleri ise ilgili model terimlerinin anlamsız olduğunu göstermektedir. Hiyerarşi gereğini desteklemek için zorunlu terimler hariç, anlamsız model terimlerinin fazlalığı model sadeleştirmesinde (model reduction) iyileştirme sağlayabilir. Lack of Fit F-değeri 1.63 olup, saf hata oranına kıyasla anlamlı bir uyumsuzluk olmadığını göstermektedir. Böyle bir Lack of Fit F-değerinin rastlantısal gürültüden kaynaklanma olasılığı %30.72'dir. Anlamlı olmayan Lack of Fit; yani modelin veri ile uyumunun yeterli olduğunu ifade eder.

5.4.1.3 STC ve PC'ye göre PDI 3B yanıt grafiği

Aşağıdaki şekil, sodyum taurokolat (STC, Faktör A) ve fosfatidilkolin (PC, Faktör B) seviyelerinin, sabit 10 dakikalık sonikasyon süresi (Faktör C) koşulunda, polidisperseite indeksini (PDI) nasıl etkilediğini açıklayan üç boyutlu yanıt yüzeyi diyagramını göstermektedir. Y eksen PC miktarını, X eksen ise miligram cinsinden STC miktarını temsil etmektedir. PDI değerleri, 0.218 ile 0.77 arasında değişen bir renk gradyanı kullanılarak gösterilmekte olup, STC ve PC konsantrasyonlarındaki değişimlere bağlı olarak vezikül homojenliğinde meydana gelen farklılıkları net bir şekilde ortaya koymaktadır.

Grafik, düşük STC seviyeleri ile orta düzeyde PC konsantrasyonunun kombinasyonunun, PDI'yi düşürdüğünü ve böylece veziküllerin daha homojen hale geldiğini açıkça ortaya koymaktadır. PDI'nin 0.218 civarına yaklaşan bölgeler optimal koşulları işaret ederken, 0.77 civarındaki değerler formülasyonların daha az homojen olduğunu göstermektedir. DeneySEL veri noktalarını temsil eden kırmızı işaretler, örneklerin büyük çoğunluğunun izin verilen PDI aralığında yer aldığını göstermektedir.

Önceden incelenen partikül boyutu çalışmasıyla birlikte değerlendirildiğinde, bu sonuçlar seçilen en iyi formülasyonun güvenilirliğine dair ek kanıtlar sunmaktadır. Sonuç olarak, STC ve PC miktarlarının titizlikle kontrol edilmesi, öngörülebilir ilaç salınımı ve genel formülasyon stabilitesi açısından kesinlikle gerekli olan homojen ve tutarlı bilosomların üretilmesini sağlamaktadır.

Şekil 5.7

Üç Boyutlu Yanıt Yüzeyi Grafiği – Polidispersite İndeksi (PDI)

Factor Coding: Actual

3D Surface

PDI

Design Points:

● Above Surface

○ Below Surface

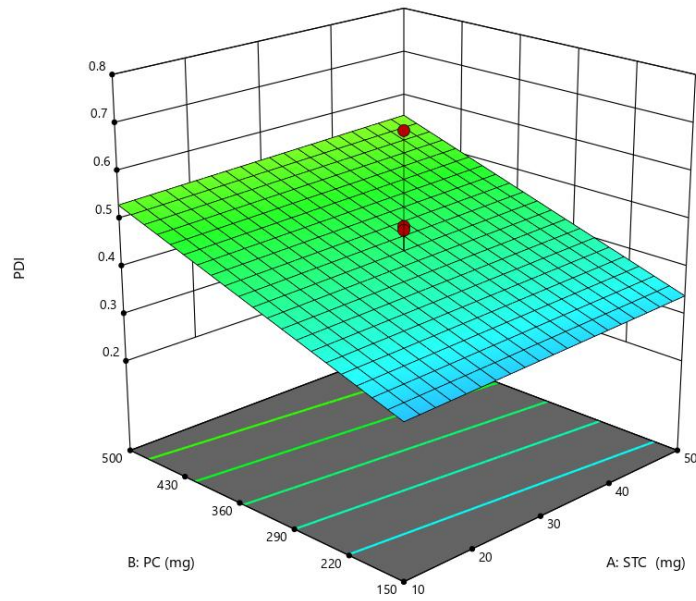
0.218 0.77

X1 = A

X2 = B

Actual Factor

C = 10



Doğrusal Model İçin ANOVA

Yanıt 2: PDI

Tablo 5.2

Seçilmiş faktöriyel model için ANOVA (Yanıt 2: PDI)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	0.1902	3	0.0634	4.67	0.0158	significant
A-STC	0.0017	1	0.0017	0.1272	0.7260	
B-PC	0.1455	1	0.1455	10.71	0.0048	
C-sonication time	0.0430	1	0.0430	3.16	0.0943	
Residual	0.2174	16	0.0136			
Lack of Fit	0.1218	11	0.0111	0.5794	0.7908	not significant
Pure Error	0.0956	5	0.0191			
Cor Total	0.4076	19				

Modelin F-değeri 4.67, modelin anlamlı olduğunu göstermektedir. Böyle yüksek bir F-değerinin yalnızca %1.58 olasılıkla rastlantısal gürültüden kaynaklanabileceği anlaşılmaktadır.

0.0500'dan düşük p-değerleri, model terimlerinin anlamlı olduğunu belirtirken, bu durumda B faktörü anlamlı bir model terimi olarak gözlemlenmiştir. 0.1000'den yüksek p-değerleri ise model terimlerinin anlamsız olduğunu göstermektedir. Hiyerarşi gereği desteklenmesi zorunlu olmayan anlamsız model terimlerinin fazlalığı durumunda, model sadeleştirilmesi yapılabilir.

Lack of Fit F-değeri 0.58 olup, saf hata ile karşılaştırıldığında anlamlı bir uyumsuzluk bulunmadığını göstermektedir. Böyle bir uyumsuzluk F-değerinin %79.08 olasılıkla rastlantısal gürültüden kaynaklanabileceği göz önüne alındığında, anlamlı olmayan Lack of Fit durumunun modelin veri ile iyi uyum sağladığını ortaya koyduğu görülmektedir.

5.4.1.4 STC ve PC'ye göre ZP 3B yanıt grafiği

Bu şekil, sabit 10 dakikalık sonikasyon süresi altında sodyum taurokolat (STC) ve fosfatidilkolin (PC) miktarlarının değişimine bağlı olarak zeta potansiyelinin (mV cinsinden) nasıl değiştiğini göstermektedir. X eksen STC (mg), Y eksen PC (mg) ve Z eksen zeta potansiyelini ifade etmektedir. Zeta potansiyel değerlerini göstermek amacıyla renk gradyanı kullanılmış; mavi renk yaklaşık -54,4 mV, kırmızı renk ise yaklaşık -35,1 mV değerlerini temsil etmektedir. Deneysel veriler kırmızı dairelerle işaretlenmiş olup, STC ve PC'nin zeta potansiyeli üzerindeki birleşik etkilerini ortaya koymaktadır. STC miktarının artması zeta potansiyelini daha negatif hale getirirken, PC miktarındaki artış bu etkiyi dengeleyici şekilde ortaya çıkmaktadır. Optimal sonuçların düşük STC ve orta düzey PC kombinasyonu ile elde edildiği, bu sonuçların partikül boyutu ve PDI verileriyle uyumlu olduğu gözlemlenmiştir. Bu bulgular, optimizasyon sürecinin ve formülasyonun dayanıklılığını doğrulamaktadır.

Şekil 5.8

Zeta Potansiyeli (ZP) İçin Üç Boyutlu Yanıt Yüzeyi Grafiği

Factor Coding: Actual

3D Surface

ZP (mV)

Design Points:

● Above Surface

○ Below Surface

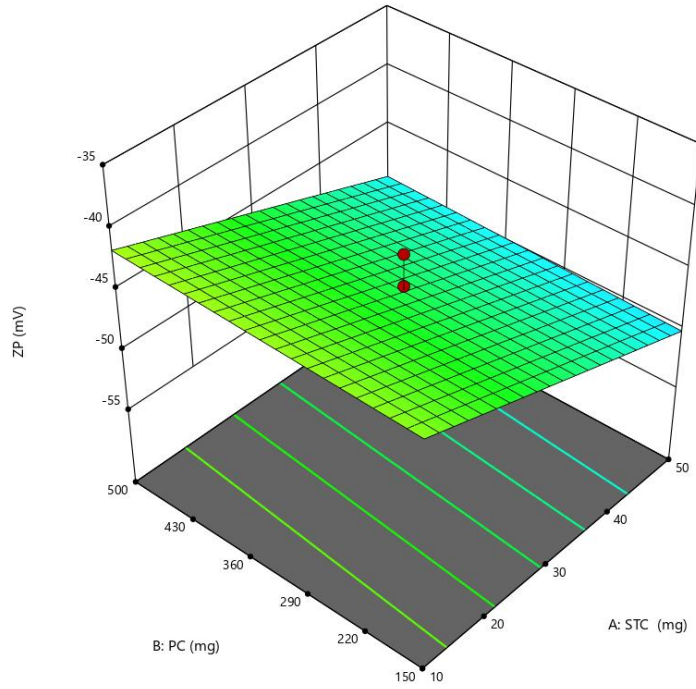
-54.4 -35.1

X1 = A

X2 = B

Actual Factor

C = 10



Doğrusal Model İçin ANOVA

Yanıt 3: ZP

Tablo 5.3

Seçilmiş faktöriyel model için ANOVA (Yanıt 3: ZP)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value
Model	197.38	3	65.79	3.53	0.0389 significant
A-STC	187.79	1	187.79	10.09	0.0059
B-PC	1.58	1	1.58	0.0851	0.7743
C-sonication time 8.00		1	8.00	0.4297	0.5214
Residual	297.87	16	18.62		
Lack of Fit	248.92	11	22.63	2.31	0.1832 not significant
Pure Error	48.95	5	9.79		
Cor Total	495.25	19			

Modelin F-değeri 3.53, modelin anlamlı olduğunu göstermektedir. Böyle yüksek bir F-değerinin yalnızca %3.89 olasılıkla rastlantısal gürültüden kaynaklanabileceği anlaşılmaktadır. 0.0500'dan düşük p-değerleri, model terimlerinin anlamlı olduğunu göstermektedir. Bu durumda A faktörü, anlamlı bir model terimi olarak öne çıkmaktadır. 0.1000'den yüksek p-değerleri ise, ilgili model terimlerinin anlamsız olduğunu işaret etmektedir. Zorunlu hiyerarşik terimler hariç anlamsız model terimlerinin fazlalığı söz konusu olduğunda, model sadeleştirilmesi (model reduction) yapılması gerekebilir. Lack of Fit F-değeri 2.31 olup, saf hata ile karşılaştırıldığında anlamlı bir uyumsuzluk olmadığını göstermektedir. Böyle bir Lack of Fit F-değerinin %18.32 olasılıkla rastlantısal gürültüden kaynaklanabileceği değerlendirilirse, modelin veriye iyi uyum sağladığı söylenebilir. Non-significant Lack of Fit, modelin veri ile uyumunun yeterli olduğunu gösterir; bu da istenilen bir durumdur.

5.4.1.5 STC ve PC'ye göre EE 3B yanıt grafiği

Bu şekil, sabit 15 dakikalık sonikasyon süresi (Faktör C) altında sodyum taurokolat (STC, Faktör A) ve fosfatidilkolin (PC, Faktör B) miktarlarının bilosomal formülasyonların enkapsülasyon verimliliği (EE, %) üzerindeki etkisini göstermektedir. X eksenı STC konsantrasyonunu (mg), Y eksenı PC miktarını (mg) ve Z eksenı ölçülen EE (%) değerlerini temsil etmektedir. Verim aralığı, mavi (%87.62 EE) arasındaki bir renk gradyanı kullanılarak görsel olarak ifade edilmiştir. Deneysel koşullar, projeksiyon yüzeyiyle karşılaştırıldığında aşırı veya eksik tahmin edilen bölgeleri vurgulamak üzere kırmızı ve pembe noktalarla gösterilmiştir. Yüzey, düşük STC seviyeleri ve orta düzeyde PC konsantrasyonunun yüksek EE değerleri sağladığını açıkça ortaya koymaktadır. Önceki parçacık boyutu ve PDI sonuçlarıyla uyumlu bu bulgular, optimizasyon stratejisinin doğruluğunu teyit etmekte ve öngörülen EE değerleri ile deneysel EE değerleri arasındaki yüksek uyum temelinde en iyi formülasyonun (Run 8) seçimini desteklemektedir.

Şekil 5.9

Enkapsülasyon Verimliliği (EE) İçin Üç Boyutlu Yanıt Yüzeyi Grafiği

Factor Coding: Actual

3D Surface

EE (%)

Design Points:

● Above Surface

○ Below Surface

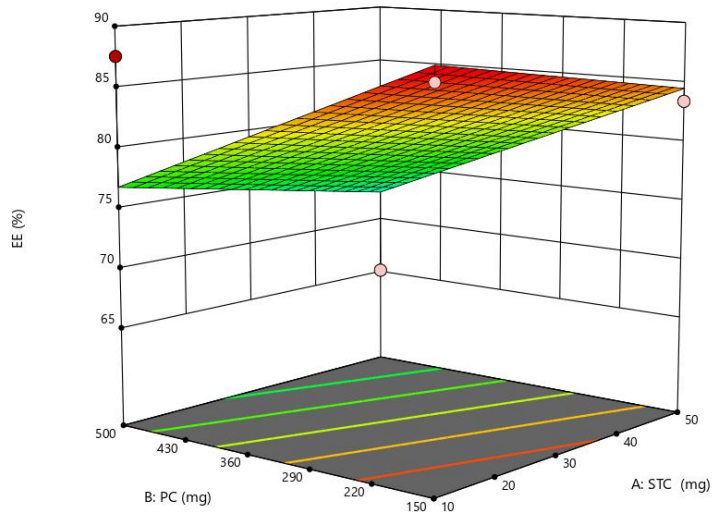
65.1 87.62

X1 = A

X2 = B

Actual Factor

C = 15



Doğrusal Model İçin ANOVA

Yanıt 4: EE

Tablo 5.4

Seçilmiş faktöriyel model için ANOVA (Yanıt 4: EE)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	507.96	3	169.32	6.90	0.0034	significant
A-STC	54.85	1	54.85	2.24	0.1542	
B-PC	442.29	1	442.29	18.04	0.0006	
C-sonication time	10.81	1	10.81	0.4409	0.5162	
Residual	392.37	16	24.52			
Lack of Fit	356.80	11	32.44	4.56	0.0532	not significant
Pure Error	35.57	5	7.11			
Cor Total	900.33	19				

Modelin F-değeri 6,90, modelin anlamlı olduğunu göstermektedir. Böyle büyük bir F-değerinin rastlantısal gürültü nedeniyle ortaya çıkma olasılığı yalnızca %0,34'tür. 0,0500'dan düşük p-değerleri model terimlerinin anlamlı olduğunu belirtirken, bu durumda B faktörü anlamlı bir model terimi olarak saptanmıştır. 0,1000'dan yüksek p-değerleri ise model terimlerinin anlamsız olduğunu göstermektedir. Hiyerarşiyi desteklemek için zorunlu olan terimler hariç, anlamsız model terimlerinin fazlalığı söz konusu olduğunda model sadeleştirilmesi (model reduction) model performansını iyileştirebilir. Lack of Fit F-değeri 4,56 olup, böyle bir değer rastlantısal gürültüden kaynaklanma olasılığı %5,32'dir. Uyum eksikliği (lack of fit) olumsuz bir durumdur – modelin verilerle uyum sağlamasını isteriz. Bu nispeten düşük olasılık (%10'dan az) endişe verici niteliktedir.

Design-Expert analizi sonucunda optimum bilozom formülasyonu 150 mg PC, 10 mg STC ve 5 dakikalık sonikasyon koşullarında belirlenmiştir. Bu formülasyon 204,8 nm parçacık boyutu, 0,218 PDI, -40,9 mV zeta potansiyeli ve %87,46 EE değerleri göstermiştir. Bu yanıtlar 0,72 istenirlik (desirability) değeri ile en uygun formülasyon olarak seçilmiştir.

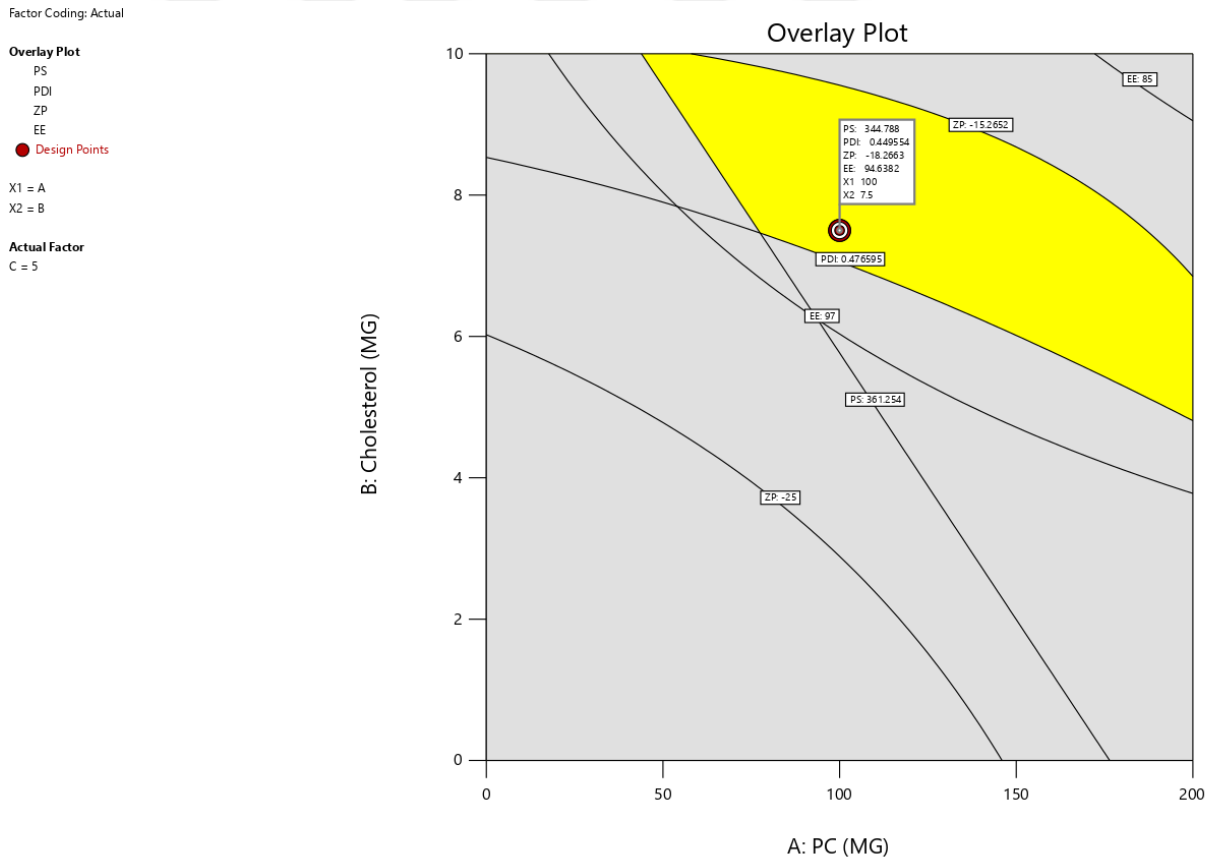
5.4.2 Liposomal Formülasyonlar: Karakterizasyon ve Karşılaştırma

Optimizasyon analizi, optimum liposomal formülasyon olarak numune 13'ü belirlemiştir. Bu formülasyon, 100 mg fosfatidilkolin (PC), 7.5 mg kolesterol ve 10 dakikalık sonikasyon süresi kullanılarak hazırlanmıştır. Numune 13, 258.5 nm partikül boyutu, 0.31 polidispersite indeksi (PDI), -19.3 mV zeta potansiyeli (ZP) ve %94.54 kapsülleme verimliliği (EE) göstermiştir.

Bu sonuçlar, formülasyonun kabul edilebilir boyut ve homojenliğe sahip olup, yüksek bir yükleme verimliliği sağladığını göstermektedir. Zeta potansiyeline ilişkin farklar, bilosomal formülasyonlarımızın aksine istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış olsa da, tutarlı ZP değeri, liposomların güçlü bir kolloidal stabiliteye sahip olduğunu düşündürmektedir.

Şekil 5.10

PC (mg) ve Kolesterol (mg) için Optimal Yanıt Bölgesi ile Örtüşme Grafiği



5.4.2.1 3B Yanıt yüzeyi analizi

5.4.2.2 PC ve kolesterol'e göre PS 3B yanıt grafiği

Aşağıdaki şekilde gösterilen üç boyutlu yanıt yüzeyi grafiği, liposomal formülasyonun partikül boyutunun (PS) iki önemli formülasyon parametresi – fosfatidilkolin (PC) ve

kolesterol – tarafından nasıl etkilendiğini göstermektedir. Bu grafikte X eksen PC (mg) değerini, Y eksen kolesterol konsantrasyonunu (mg) ve Z eksen ölçülen partikül boyutunu (nm) ifade etmektedir. Mavi tonların daha düşük PS değerlerini, kırmızı tonların ise daha yüksek PS değerlerini temsil ettiği renk gradyanı, yüzey boyunca görsel bir ipucu sunmaktadır.

Grafik, 10 dakikalık sabit sonikasyon süresiyle üretilmiş olup, PC ve kolesterol düzeylerinin birbirleriyle ilişkisini gözler önüne sermektedir. Deneysel tasarım noktaları, verilerin toplandığı yerler kırmızı işaretlerle belirtilmiş olup, model öngörülerinin doğruluğunu teyit etmektedir. Özellikle, yanıt yüzeyinin konturu, en uygun partikül boyutunu üreten bölgenin belirlenmesine yardımcı olmakta, bu da geliştirilmiş kolloidal stabilite ve performans için hayati öneme sahiptir.

Şekil 5.11

PC ve Kolesterol Konsantrasyonlarının Fonksiyonu Olarak Partikül Boyutunun 3B Yanıt Yüzeyi Grafiği

Factor Coding: Actual

PS (NM)

Design Points:

● Above Surface

○ Below Surface

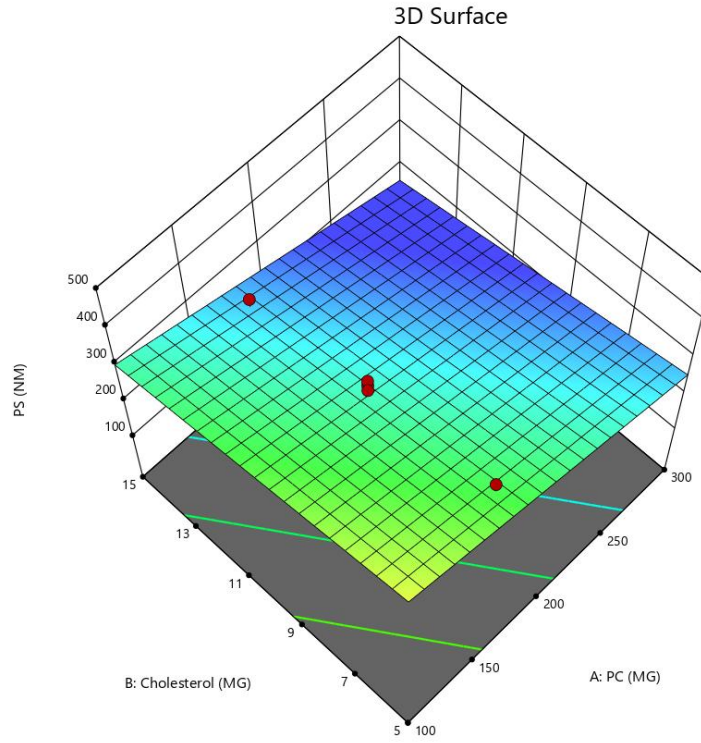
207.9 474.2

X1 = A

X2 = B

Actual Factor

C = 10



Doğrusal Model İçin ANOVA

Yanıt 1: PS

Tablo 5.5

Seçilmiş faktöriyel model için ANOVA (Yanıt 1:PS)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	59632.03	3	19877.34	5.25	0.0103	significant
A-PC	39494.89	1	39494.89	10.43	0.0052	
B-Cholesterol	7705.64	1	7705.64	2.03	0.1729	
C-Sonication Time	12431.50	1	12431.50	3.28	0.0888	
Residual	60586.02	16	3786.63			
Lack of Fit	48916.43	11	4446.95	1.91	0.2468	not significant
Pure Error	11669.59	5	2333.92			
Cor Total	1.202E+05	19				

Model F-değeri 5,25 olduğundan, modelin anlamlı olduğu anlaşılmaktadır. Böyle büyük bir F-değerinin gürültüden kaynaklanma olasılığı yalnızca %1,03'tür. 0,0500'dan düşük p-değerlerinin model terimlerinin anlamlı olduğunu gösterdiği bilinmektedir. Bu durumda, A faktörü anlamlı bir model terimi olarak öne çıkmaktadır. 0,1000'dan yüksek p-değerleri ise model terimlerinin anlamsız olduğunu belirtir. Hiyerarşi gereği zorunlu olan terimler dışındaki birçok anlamsız model teriminin varlığı durumunda, model sadeleştirilmesi model performansını iyileştirebilir. Lack of Fit F-değeri 1,91 olup, saf hata ile karşılaştırıldığında anlamlı bir uyumsuzluk bulunmadığını göstermektedir. Böyle bir Lack of Fit F-değerinin rastlantısal gürültüden kaynaklanma olasılığı %24,68'dir. Anlamlı olmayan uyumsuzluk, modelin veriye iyi uyum sağladığını göstermektedir; bu da istenen bir durumdur.

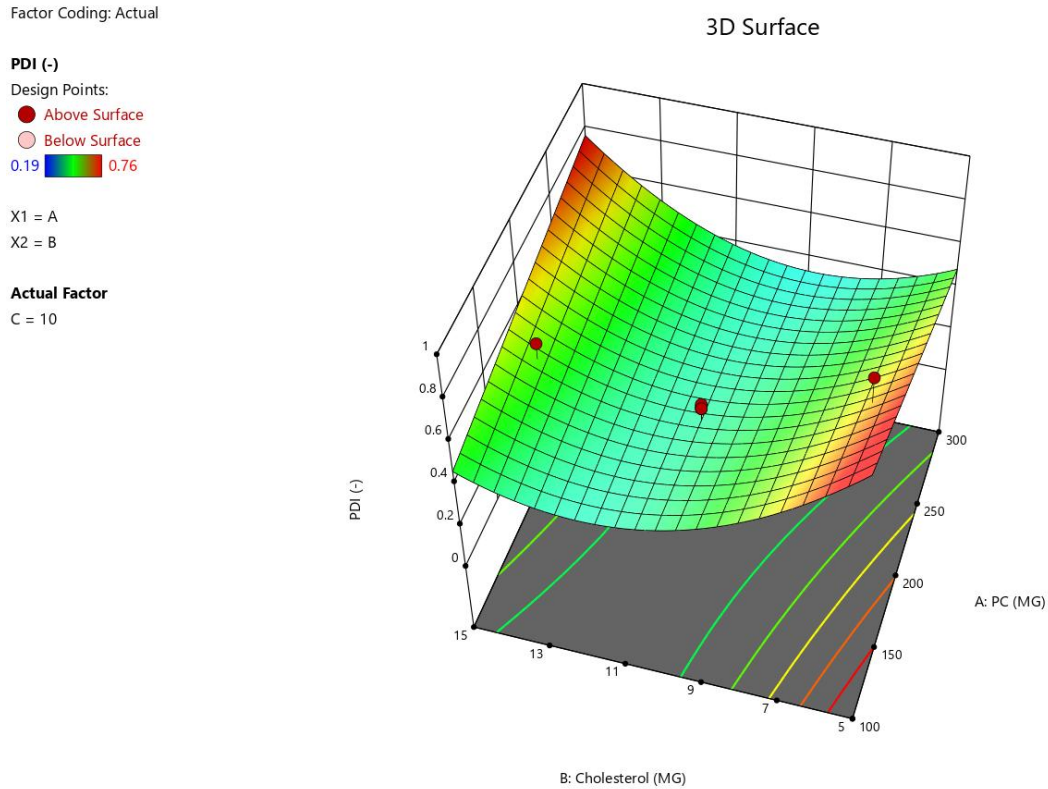
5.4.2.3 PC ve kolesterol'e göre PDI 3B yanıt grafiği

Aşağıda, fosfatidilkolin (PC) ve kolesterolün formülasyonun polidispersite indeksine (PDI) etkilerini gösteren üç boyutlu yanıt yüzeyi grafiği sunulmaktadır. Bu grafikte X eksenini PC (mg), Y eksenini kolesterol (mg) ve Z eksenini PDI (–) değerlerini temsil etmektedir. Mavi ton (yaklaşık 0,19 PDI) ile kırmızı ton (yaklaşık 0,76 PDI) arasında değişen renk skalası, PDI sonuçlarının aralığını görsel olarak ortaya koymaktadır. Tasarım noktaları, kırmızı veya mavi nokta ile işaretlenmiş olup, deneysel sonuçların yüzeyle

karşılaştırılmasını sağlamaktadır; faktör kodlaması gerçek sayılar olarak belirlenmiş ve ek faktör C değeri 10 olarak sabitlenmiştir. Bu grafiksel temsil, en uygun koşulların belirlenmesine yardımcı olmanın yanı sıra, formülasyon bileşenlerinin birlikte tepkime üzerindeki etkisini görselleştirmektedir.

Şekil 5.12

PC ve Kolesterol'ün PDI Üzerindeki Etkilerinin 3B Yanıt Yüzeyi Grafiği



Doğrusal Model için ANOVA

Yanıt 2: PDI

Tablo 5.6

Seçilmiş faktöriyel model için ANOVA (Yanıt 2:PDI)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value
Model	0.2162	6	0.0360	3.14	0.0396 significant
A-PC	0.0041	1	0.0041	0.3535	0.5623
B-Cholesterol	0.0033	1	0.0033	0.2838	0.6032

C-Sonation Time	0.0155	1	0.0155	1.35	0.2668
AB	0.0338	1	0.0338	2.94	0.1099
BC	0.0760	1	0.0760	6.63	0.0231
B ²	0.0666	1	0.0666	5.80	0.0315
Residual	0.1492	13	0.0115		
Lack of Fit	0.1149	8	0.0144	2.10	0.2155 not significant
Pure Error	0.0343	5	0.0069		
Cor Total	0.3655	19			

Model F-değeri olan 3,14, modelin anlamlı olduğunu göstermektedir. Böyle bir F-değerinin rastlantısal gürültü nedeniyle elde edilme olasılığı yalnızca %3,96'dır. 0,0500'dan küçük p-değerlerinin model terimlerinin anlamlı olduğunu gösterdiği bilinmektedir. Bu durumda BC ve B² terimleri anlamlı model terimleridir. 0,1000'dan yüksek p-değerleri ise model terimlerinin anlamsız olduğunu belirtir. Hiyerarşiyi desteklemek için zorunlu olan terimler dışında birçok anlamsız model teriminin varlığı durumunda, model sadeleştirilmesi model performansını iyileştirebilir. Lack of Fit F-değeri olan 2,10, saf hata ile karşılaştırıldığında uyumsuzluğun anlamlı olmadığını göstermektedir. Böyle bir Lack of Fit F-değerinin rastlantısal gürültüden kaynaklanma olasılığı %21,55'tir. Anlamlı olmayan uyumsuzluk, istenen bir durumdur; çünkü modelin veriyi iyi uyum sağlamasını hedeflemekteyiz.

5.4.2.4 PC ve kolesterol'e göre ZP 3B yanıt grafiği

Aşağıdaki şekil, fosfatidilkolin (PC) ve kolesterol seviyelerinin liposomal formülasyonun zeta potansiyeli (ZP) üzerindeki etkisini gösteren üç boyutlu bir yanıt yüzeyi grafiğini sunmaktadır. Bu grafikte, X eksen PC konsantrasyonunu (mg), Y eksen kolesterol seviyesini (mg) ve Z eksen belirlenen ZP değerini (mV) ifade etmektedir. Kırmızı işaretlerle belirtilen tasarım noktaları deneysel koşulları simgelerken, yüzey boyunca uygulanan renk gradyanı, ZP değerlerindeki dalgalanmaları görsel olarak ortaya koymaktadır. Bu çalışmada faktör kodlaması gerçek değerler kullanılarak yapılmış olup, sonikasyon süresi sabit olarak on dakika verilmiştir. Grafik, formülasyon değişkenlerinin

incelenen aralığında ZP'nin sabit seyrettiğini açıkça göstermekte ve bu durum sistemde daha iyi kolloidal stabiliteye işaret etmektedir.

Şekil 5.13

PC ve Kolesterol'ün ZP Üzerindeki Etkilerinin 3B Yanıt Yüzeyi Grafiği

Factor Coding: Actual

ZP (mV)

Design Points:

● Above Surface

○ Below Surface

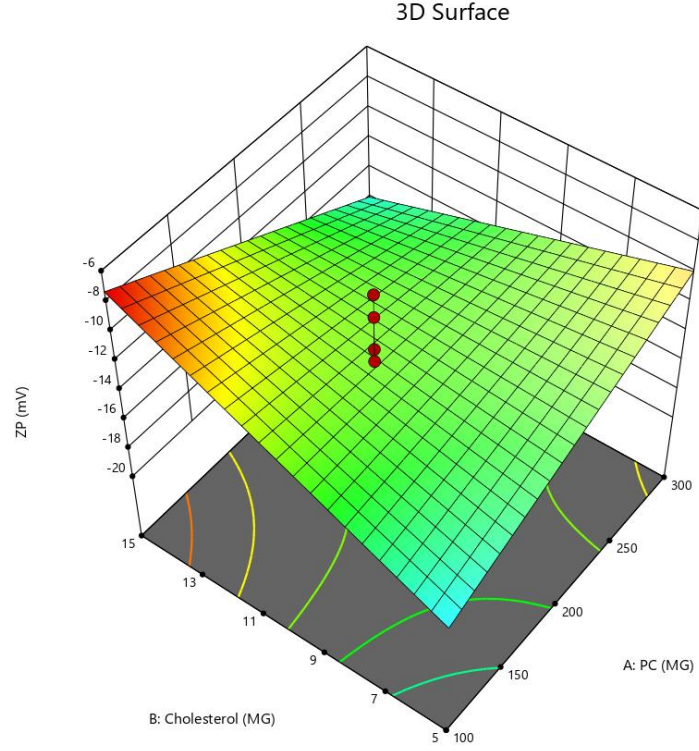
-19.3 -7.48

X1 = A

X2 = B

Actual Factor

C = 10



Doğrusal Model İçin ANOVA

Yanıt 3: ZP

Tablo 5.7

Seçilmiş faktöriyel model için ANOVA (Yanıt 3: ZP)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value
Model	80.29	6	13.38	2.48	0.0797 not significant
A-PC	1.62	1	1.62	0.3008	0.5926
B-Cholesterol	1.83	1	1.83	0.3396	0.5701
C-Sonication Time	5.40	1	5.40	1.00	0.3349
AB	16.36	1	16.36	3.04	0.1049
AC	18.12	1	18.12	3.36	0.0896
BC	14.47	1	14.47	2.69	0.1251
Residual	70.01	13	5.39		
Lack of Fit	26.96	8	3.37	0.3914	0.8854 not significant
Pure Error	43.05	5	8.61		
Cor Total	150.31	19			

Model F-değeri olan 2.48, böyle bir F-değerinin rastlantısal gürültü nedeniyle ortaya çıkma olasılığının %7.97 olduğunu göstermektedir. 0.0500'dan düşük p-değerleri, model terimlerinin anlamlı olduğunu belirtirken, bu durumda hiçbir model terimi anlamlı bulunmamaktadır. 0.1000'dan yüksek p-değerleri ise model terimlerinin anlamsız olduğunu göstermektedir. (Hiyerarşiyi desteklemek için gereken zorunlu terimler hariç tutulduğunda) fazla anlamsız model terimi bulunması durumunda model sadeleştirilmesi, model performansını artırabilir. Lack of Fit F-değeri olan 0.39, saf hata ile karşılaştırıldığında uyumsuzluğun anlamlı olmadığını belirtmektedir. Böyle bir Lack of Fit

F-değerinin rastlantısal gürültüden kaynaklanma olasılığı %88.54'tür. Anlamli olmayan uyumsuzluk, modelin veriye iyi uyum sağladığını gösterdiği için istenen bir durumdur.

ANOVA tablosunda gösterildiği üzere, liposomal formülasyonların zeta potansiyeli için oluşturulan lineer model istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p = 0.0797$). Dahası, temel bileşenler—PC konsantrasyonu, kolesterol içeriği ve sonikasyon süresi—ile bu bileşenlerin etkileşimleri (AB, AC, BC) zeta potansiyeli üzerinde anlamlı bireysel etkilere sahip bulunmamıştır ($p > 0.05$). Bu anlamsızlık, incelenen formülasyon aralıklarında liposomal veziküllerin zeta potansiyelinin oldukça sabit kaldığını ve seçilen parametrelerden önemli ölçüde etkilenmediğini göstermektedir. Ayrıca, modelin yüksek uyumsuzluk (lack of fit) p-değeri ($p = 0.8854$) de artıkların model hatasından ziyade rastlantısal dalgalanmalardan kaynaklandığı varsayımını desteklemektedir.

Bu sonuç, çalışmada yer alan bilosomal formülasyonlarla belirgin bir tezat oluşturmaktadır; zeta potansiyelinin liposomal optimizasyonuna dair yorumlanabilirliği sınırlasa da, bilosomes bölümünde formülasyon bileşenlerine bağlı olarak zeta potansiyelinde daha belirgin ve istatistiksel olarak anlamlı dalgalanmalar gözlemlenmiştir. Bu durum, bilosomal sistemde yüzey yükü ayarlanabilirliğinin daha yüksek olduğunu ve dolayısıyla gelişmiş stabilite potansiyelini vurgulamaktadır.

5.4.2.5 PC ve kolesterol'e göre EE 3B yanıt grafiği

Şekilde, formülasyonun enkapsülasyon verimliliğinin (EE %) farklı miktarlarda kolesterol ve fosfatidilkolin tarafından nasıl etkilendiğini gösteren üç boyutlu bir yanıt yüzeyi grafiği sunulmaktadır. Bu grafikte, X eksenini fosfatidilkolin içeriğini (mg), Y eksenini kolesterol seviyesini (mg) ve Z eksenini elde edilen EE (%) değerlerini temsil etmektedir. Grafik, mavi (yaklaşık %69,66 ile düşük EE değerlerini ifade eder) ile kırmızı (yaklaşık %97,75 ile yüksek EE değerlerini belirtir) arasında değişen bir renk gradyanına sahiptir. Deneysel tasarım alanındaki yerlerini vurgulamak için kırmızı dairelerle işaretlenen tasarım noktaları gösterilmiştir. Bu grafiksel temsil, fosfatidilkolin ve kolesterol arasındaki etkileşimi görselleştirerek formülasyon sürecinin optimize edilmesine katkı sağlamaktadır.

Şekil 5.14

PC ve Kolesterol'ün EE Üzerindeki Etkilerinin 3B Yanıt Yüzeyi Grafiği

Factor Coding: Actual

EE (%)

Design Points:

● Above Surface

○ Below Surface

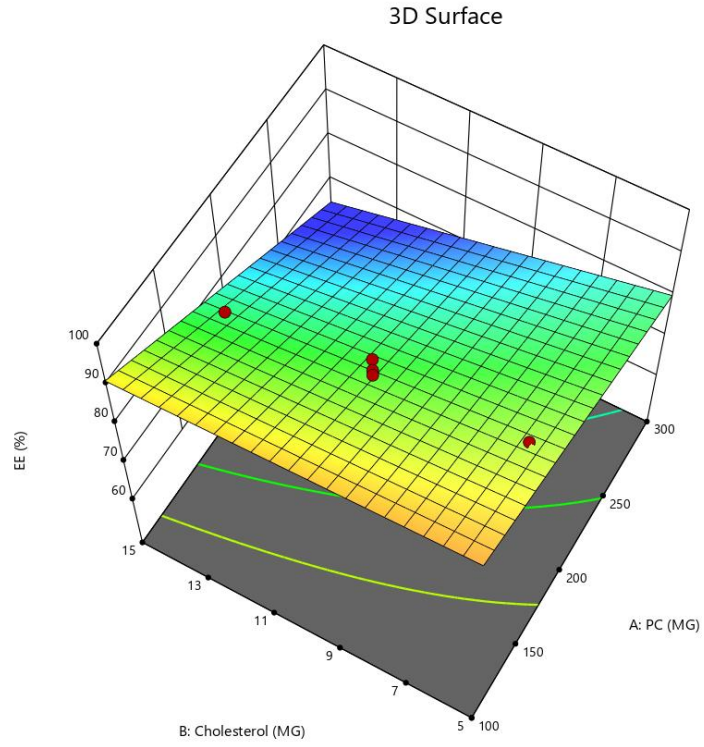
69.6572 97.7477

X1 = A

X2 = B

Actual Factor

C = 10



Doğrusal Model İçin ANOVA

Yanıt 4: EE

Tablo 5.8

Seçilmiş faktöriyel model için ANOVA (Yanıt 4: EE)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value
Model	936.67	6	156.11	19.22	< 0.0001 significant
A-PC	761.52	1	761.52	93.75	< 0.0001
B-Cholesterol	58.16	1	58.16	7.16	0.0191
C-Sonication Time	1.39	1	1.39	0.1715	0.6855
AB	12.39	1	12.39	1.52	0.2388
AC	21.65	1	21.65	2.66	0.1266
BC	94.53	1	94.53	11.64	0.0046
Residual	105.60	13	8.12		
Lack of Fit	66.30	8	8.29	1.05	0.5001 not significant
Pure Error	39.30	5	7.86		
Cor Total	1042.27	19			

Model F-değeri olan 19.22, modelin anlamlı olduğunu göstermektedir. Böyle bir F-değerinin gürültü nedeniyle ortaya çıkma olasılığı yalnızca %0,01'dir. 0,0500'dan düşük p-değerleri model terimlerinin anlamlı olduğunu işaret ederken, bu durumda A, B ve BC terimleri anlamlı bulunmuştur. 0,1000'dan yüksek p-değerleri, model terimlerinin anlamsız olduğunu göstermektedir. (Hiyerarşiyi desteklemek için gerekli olan terimler hariç tutulduğunda) fazla anlamsız model terimi bulunması durumunda model sadeleştirilmesi model performansını iyileştirebilir. Lack of Fit F-değeri olan 1.05, saf hata ile karşılaştırıldığında uyumsuzluğun anlamlı olmadığını göstermektedir. Böyle bir Lack of Fit F-değerinin gürültüden kaynaklanma olasılığı %50,01'dir. Anlamlı olmayan uyumsuzluk, modelin veriyle iyi uyum sağladığını gösterdiğinden istenen bir durumdur.

Bilozomlara kıyasla lipozomlar daha büyük parçacık boyutu ve daha az negatif zeta potansiyeli göstermiştir; bu durum, daha düşük stabilite ve zayıf elektrostatik itme kuvvetine işaret etmektedir. Ayrıca enkapsülasyon verimleri de daha düşük bulunmuştur. Bu sonuçlar, gastrointestinal koşullarda lipozomların sınırlı stabilite sergilediğini bildiren önceki çalışmalarla (Palekar-Shanbhag vd., 2020) uyumludur.

5.5 SEM Analizi

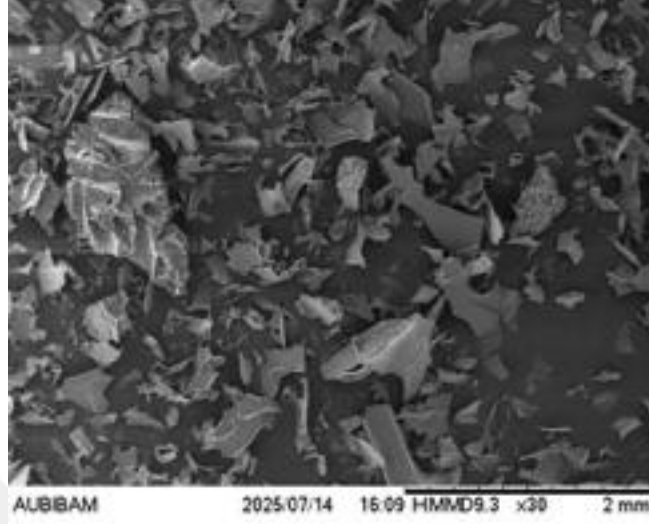
5.5.1 Saf deksrtrinin SEM analizi

Deksrinin fonksiyonel bir bileşen olarak yapısal özelliklerini daha ayrıntılı şekilde ortaya koymak ve bu özelliklerin bilozomal ve lipozomal yapıların morfolojik analizi ile olan ilişkisini değerlendirmek amacıyla, saf deksrine ait Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüsü elde edilmiştir. Görüntüde, saf deksrinin düzensiz ve kırık bir yapıya sahip olduğu, genellikle amorf ve tabakamsı bir morfoloji sergilediği gözlemlenmektedir. Yüzey yapısındaki belirgin pürüzlülük, deksrinin lipozom veya bilozom gibi nanotaşıyıcı sistemlere entegre edilmesi durumunda kolaylıkla ayırt edilebilecek morfolojik farklılıklar sağlayabileceğini göstermektedir.

Buna ek olarak, bu SEM görüntüsü, formülasyonda yer alan diğer fonksiyonel bileşenlerin varlığında meydana gelen yapısal değişikliklerin daha iyi anlaşılmasına katkı sağlayan önemli bir karşılaştırmalı referans noktası sunmaktadır. Saf deksrine özgü düzensiz ve amorf yapı, bilozomların küresel ve düzenli morfolojisinden açıkça ayırt edilebilmektedir.

Şekil 5.15

Dextrin partiküllerinin SEM görüntüsü



5.5.2 Bilozomların SEM'i

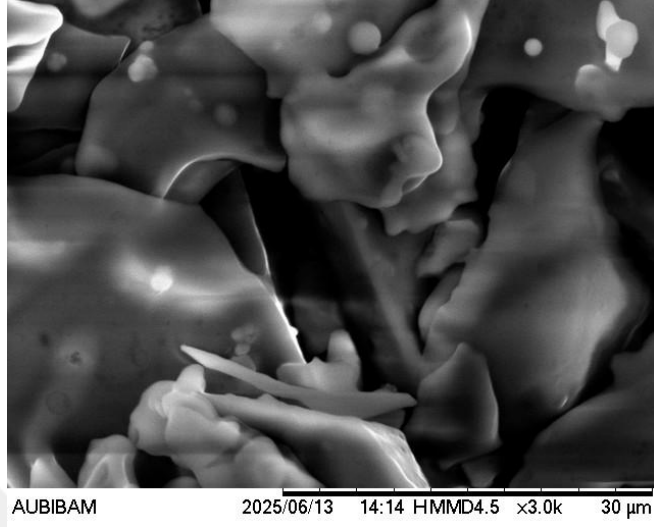
Boş ve albendazol yüklü bilozom nanopartiküllerinin morfolojisi ile yüzey topolojisi görüntüleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak incelenmiştir. SEM görüntülerinin yüksek çözünürlüğü, vezikül şekli, boyut dağılımı ve yüzey morfolojisi hakkında nitel bilgi sağlamıştır. Elde edilen mikrograflar, dinamik ışık saçılması (DLS) verilerini desteklemiş ve yükleme sonrası bilozom formülasyonlarının küresel yapısını ile homojenliğini koruduğunu doğrulamıştır.

5.5.2.1 Boş bilozomların SEM analizi

Liyofilize (dondurarak kurutma) sonrası boş bilozom formülasyonunun SEM mikroğrafı, yoğun ve çökük bir “kek” yapısını sergilemektedir. Dekstrin matrisi; büyük, düzensiz ve kaynaşmış partiküllerden oluşarak pürüzsüz yüzeyli, gözeneksiz bir kütle meydana getirmektedir. Partiküllerin üzerindeki küçük, küresel çıkıntılar bilozomların dekstrin matrise gömülmüş olduğunu göstermektedir. Yüzeydeki uzamış, lekeli çatlak yapıların varlığı ise dekstrinin belirli bölgelerde lokal kristalleşme eğilimi sergilediğine işaret etmektedir.

Şekil 5.16

Boş bilozomların SEM görüntüsü

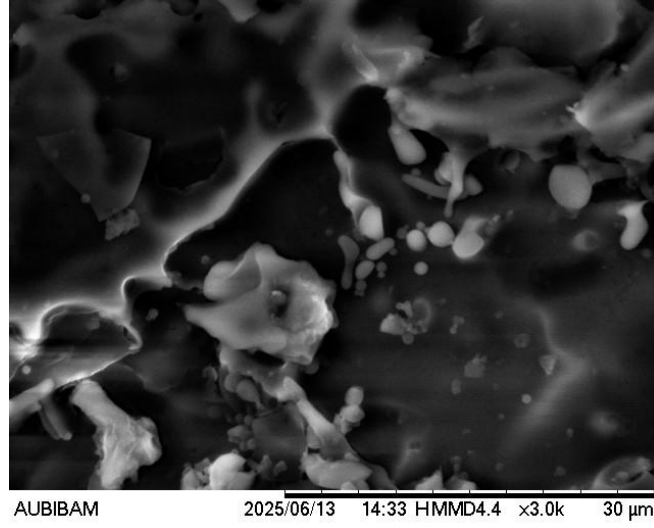


5.5.2.2 Albendazol içeren bilozomların SEM analizi

Liyofilize edilmiş albendazol yüklü bilozom formülasyonunun SEM mikroğrafı, büyük, kaynaşmış ve asimetrik dekstrin partiküllerinden oluşan gözeneksiz, çökük bir kek yapısını göstermektedir. Yüzeyde, çökelmiş albendazol kristallerini ve matrise gömülmüş bilozomları temsil eden çok sayıda küresel ve düzensiz partikül gözlenmiştir; bu durum formülasyonun mikrodüzeyde heterojen bir dağılım sergilediğine işaret etmektedir.

Şekil 5.17

Albendazol içeren bilozomların SEM görüntüsü



5.5.3 Lipozomların SEM'i

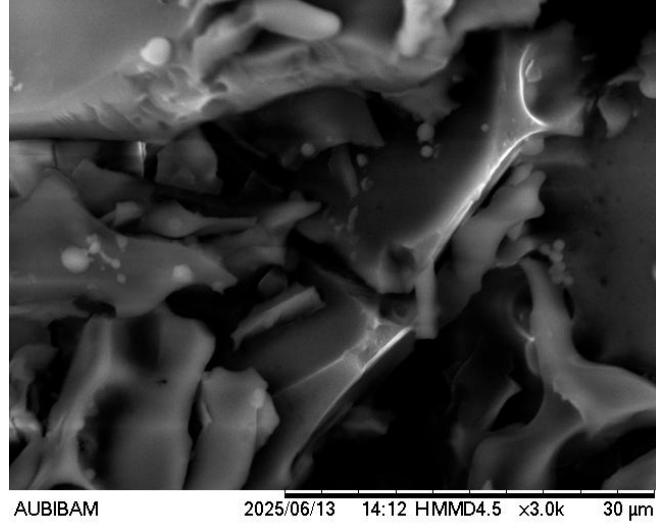
Taramalı elektron mikroskobu (SEM), boş ve albendazol yüklü lipozomların vezikül morfolojisi ile yüzey özelliklerini belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Mikrograflar, yaklaşık 200–300 nm çapında, pürüzsüz ve küresel partiküllerin homojen boyut dağılımı ve minimal agregasyon ile tutarlı biçimde gözlemlendiğini göstermiştir. Bu bulgular, hazırlık sürecini takiben lipozom formülasyonlarının hem iç hem de yüzey morfolojik homojenliğini ve membran bütünlüğünü doğrulamaktadır.

5.5.3.1 Boş lipozomların SEM analizi

Taramalı elektron mikroskobu (SEM) mikroğrafı, liyofilize edilmiş boş formülasyonda yoğun, çökmüş kek yapısını ortaya koymaktadır. Dekstrin matrisi, büyük, düzensiz ve kaynaşmış partiküllerden oluşarak pürüzsüz yüzeylere sahip gözeneksiz bir yapı oluşturur. Partiküllerin yüzeyindeki küçük, küresel çıkıntılar gömülü lipozom agregalarını yansıtır olabilir. Yarık ve oyuklardaki uzamış, kırıntılı yapılar ise liyofilizasyon sırasında dekstrinin lokal kristalleştirmesine işaret etmektedir.

Şekil 5.18

Boş lipozomların SEM görüntüsü

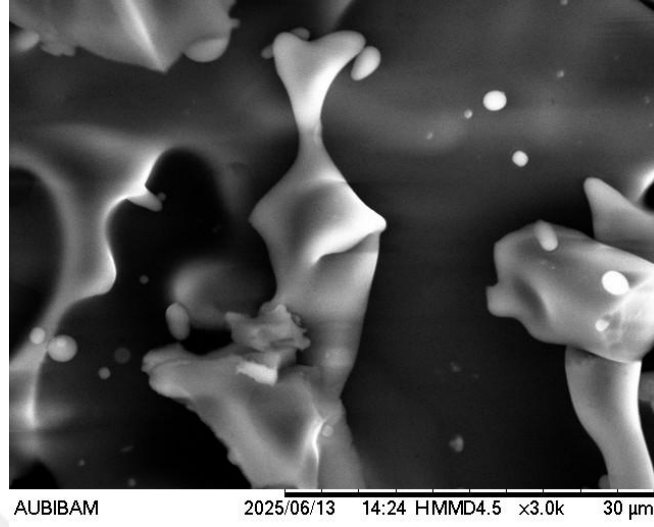


5.5.3.2 Albendazol içeren lipozomların SEM analizi

Liyofilize edilmiş albendazol yüklü lipozom formülasyonunun SEM görüntüsü, gözeneksiz ve çökmüş bir “kek” yapısı sunmaktadır. Dekstrin matrisi, belirgin uzamış morfolojilere ve pürüzsüz–düzensiz formlara sahip, kaynaşmış camamsı bir iskelet oluşturmuştur. Yüzeyde; çökelmiş albendazol kristalleri ile matrise gömülü lipozomların heterojen karışımını temsil eden çok sayıda küresel partikül gözlenmiştir.

Şekil 5.19

Albendazol içeren lipozomların SEM görüntüsü



5.6 TEM Analizi

5.6.1 Bilozomların TEM'i

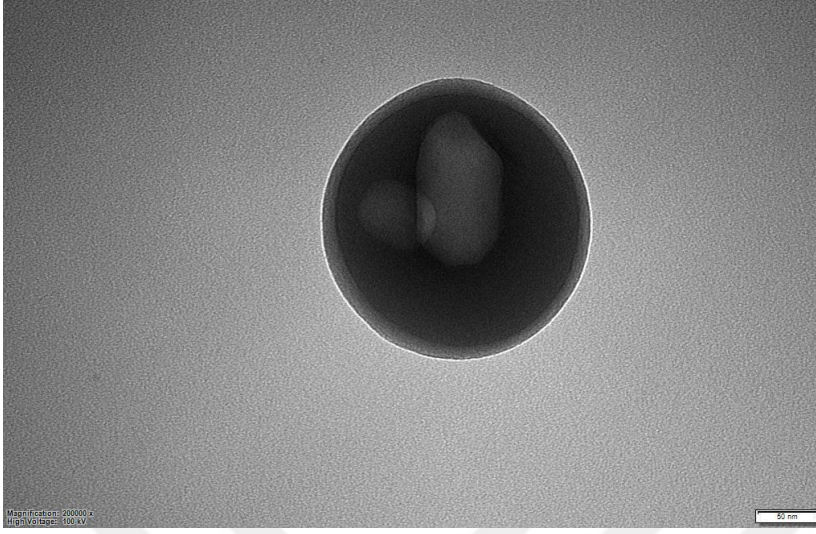
Optimize edilmiş DPS yüklü bilozomların morfolojik incelemesi, geçirimli elektron mikroskobu (TEM) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

5.6.1.1 Boş bilozomların TEM analizi

Boş bilozomun geçirimli elektron mikroskobu (TEM) mikroğrafı, belirgin membran yapısına sahip ayrı ve küresel bir nanoparçacığı göstermektedir. Vezikülün iç yapısı, koyu renkli sulu çekirdek içinde daha az elektron yoğunluklu bölmelerin varlığıyla karakterize edilen karmaşık bir organizasyonu yansıtarak çok katmanlı veya çok bölmeli bir yapıyı işaret etmektedir.

Şekil 5.20

Boş bilozomun geçirimli elektron mikroskobu (TEM) fotoğraf mikrografi

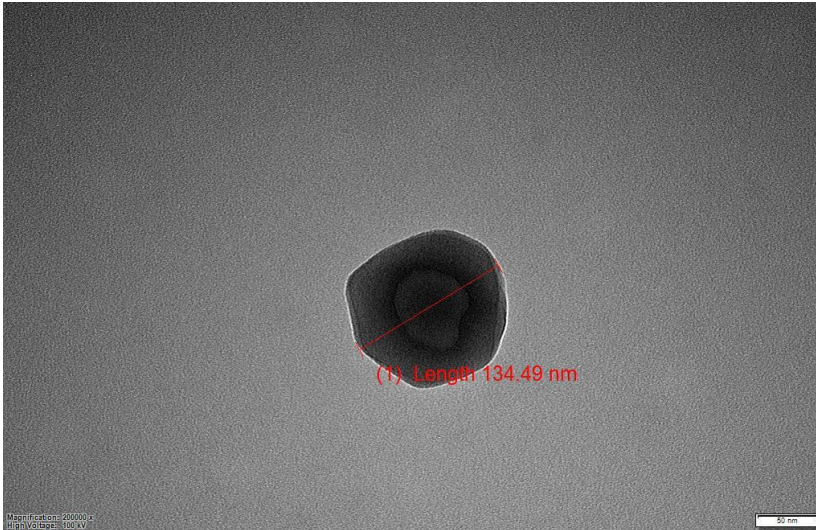


5.6.1.2 Albendazol içeren bilozomların TEM analizi

Albendazol yüklü bilozomun geçirimli elektron mikroskobu (TEM) görüntüsü, yaklaşık 134 nm çapa sahip, hafifçe poligonal biçimli ayrı bir nanoparçacığı ortaya koymaktadır. Vezikül, belirgin bir çekirdek-kabuk yapısı sergilemekte; iç çekirdekte, koyu renkli sulu bölme içinde daha az elektron yoğunluklu, kristalimsi bir inklüzyon gözlenmekte olup, bu yapı enkapsüle albendazolu işaret etmektedir.

Şekil 5.21

Albendazol yüklü bilozomun geçirimli elektron mikroskobu (TEM) fotoğraf mikrografi



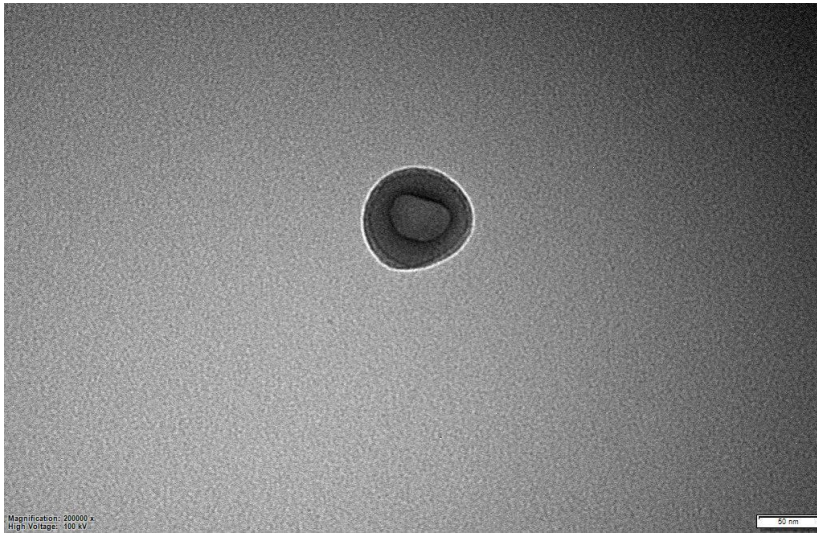
5.6.2 Lipozomların TEM'i

5.6.2.1 Boş lipozomların TEM analizi

Boş lipozomun geçirimli elektron mikroskobu (TEM) görüntüsü, tekil ve büyük ölçüde küresel morfolojili bir vezikülü ortaya koymaktadır. Vezikül, iyi tanımlanmış bir dış membran ve sulu çekirdek içinde enkapsüle edilmiş konsantrik iç vezikül barındıran belirgin çok katmanlı (multilamellar) bir yapı sergilemektedir.

Şekil 5.22

Boş lipozomun geçirimli elektron mikroskobu (TEM) fotoğraf mikrografı

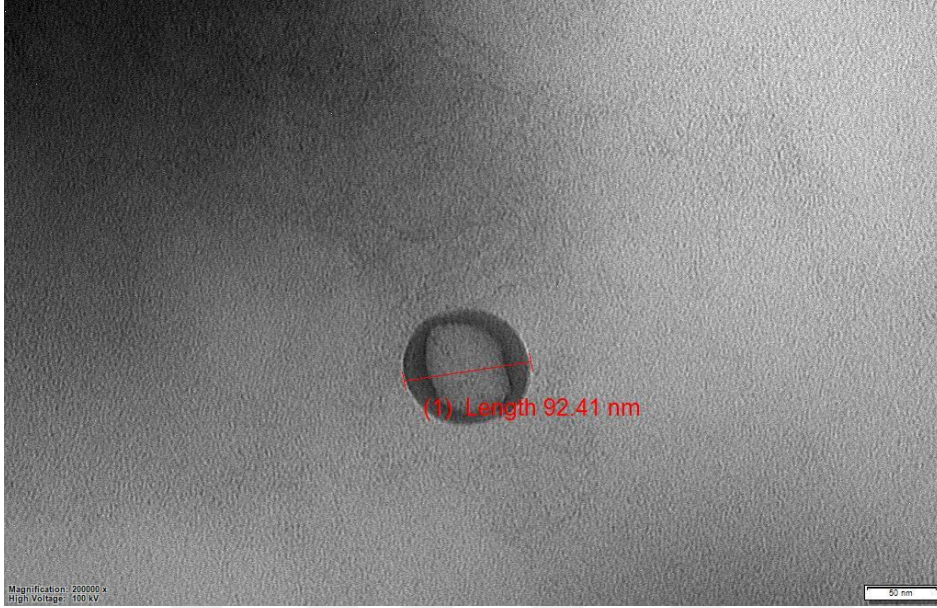


5.6.2.2 Albendazol içeren lipozomların TEM analizi

Albendazol yüklü lipozomun geçirimli elektron mikroskobu (TEM) mikroğrafı, yaklaşık 92 nm çapında ayrı ve genel olarak küresel morfolojili bir nanoparçacığı ortaya koymaktadır. Vezikül, iyi tanımlanmış bir dış membran ve kısmen çökmüş iç konsantrik vezikül barındıran belirgin multilamellar yapı sergilemekte olup, albendazol enkapsülasyonunun morfoloji üzerine etkili olduğu düşünülmektedir.

Şekil 5.23

Albendazol yüklü lipozomun TEM fotoğraf mikrografı.



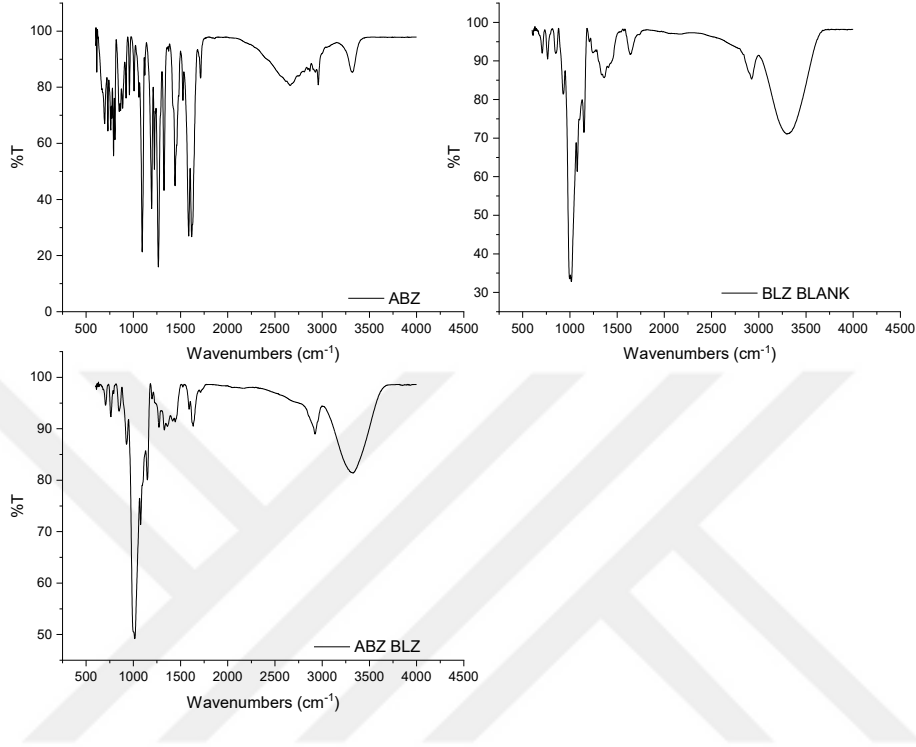
5.7 Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR)

5.7.1 Albendazol yüklü bilozomların FTIR spektrumları

FTIR spektroskopisi, albendazolün (ABZ) bilozom (BLZ) vezikülleri içerisine başarılı bir şekilde enkapsüle edildiğini doğrulamak ve ilacın formülasyon katkı maddeleriyle olası kimyasal etkileşimlerini araştırmak amacıyla kullanılmıştır. Şekil X'te saf ABZ, boş bilozom formülasyonu (BLZ BLANK) ve ABZ yüklü bilozom formülasyonu (ABZ BLZ) için elde edilen FTIR spektrumları gösterilmiştir.

Şekil 5.24

(a) Saf Albendazol, (b) Boş Bilosom ve (c) Albendazol Yüklü Bilosom FTIR Spektrumları



Saf albendazolün (ABZ) FTIR spektrumunda (Şekil X, üst sol) gözlenen ayırt edici bantlar, molekülün kristalin yapısını doğrulamaktadır. Karbamat grubuna ait NH gerilimi yaklaşık 3360 cm^{-1} 'de, güçlü C=O gerilimi 1714 cm^{-1} 'de, C=N gerilimi ise 1630 cm^{-1} 'de tespit edilmiştir. Ayrıca, parmak bölgesinde ($1500\text{--}700\text{ cm}^{-1}$) dar ve keskin bir dizi absorpsiyon bandı ABZ'nin özgün moleküler imzasını yansıtmaktadır.

Boş bilosom formülasyonunun spektrumunda (Şekil X, üst sağ), lipid ve safra tuzu bileşenlerine özgü titreşimler öne çıkar: geniş bir OH gerilimi bandı ($\sim 3400\text{ cm}^{-1}$), fosfolipit alkil zincirlerine bağlı simetrik ve asimetrik CH gerilimleri (~ 2925 ve 2854 cm^{-1}), ester C=O gerilimi ($\sim 1735\text{ cm}^{-1}$) ile $1200\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$ aralığında P=O ve C–O titreşimleri yer almaktadır.

ABZ yüklü bilosom spektrumunda (Şekil X, alt), genel bant deseni boş formülasyondan büyük ölçüde farklılaşmaz; ancak saf ABZ'e ait 3360 cm^{-1} 'deki NH gerilimi ile 1714 cm^{-1} 'deki karbamat C=O bandının tamamen ortadan kalktığı dikkat çeker. Bu kayboluş,

albendazolün kristalin formunu yitirdiğini ve vezikül matrisi içerisinde amorf veya moleküler düzeyde dağılmış halde bulunduğunu göstermektedir. Yeni bir kimyasal bağ ya da ek absorpsiyon bölgesi belirlenmemiş olması; yalnızca ilacın fiziksel olarak enkapsüle edildiğini, herhangi bir kimyasal dönüşümün veya lipidle kovalent reaksiyonun ortaya çıkmadığını kanıtlamaktadır.

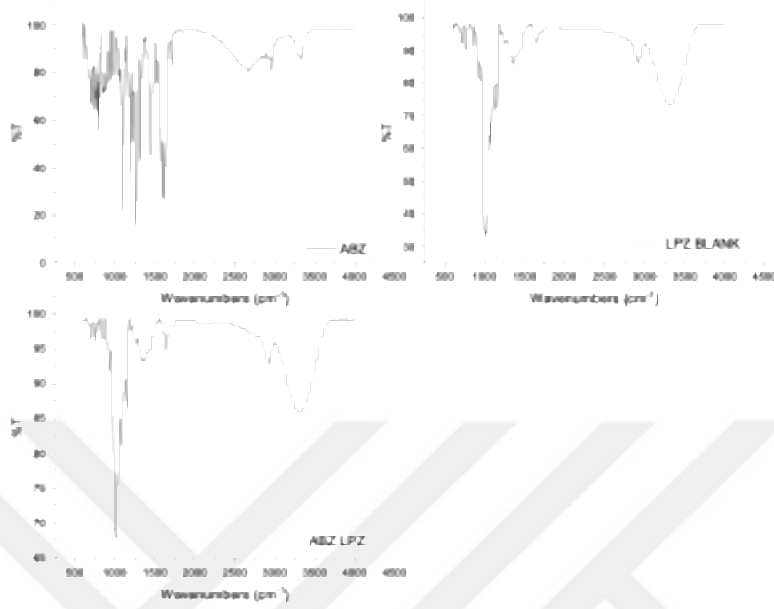
Albendazolün karakteristik pikleri (yaklaşık 1710 cm^{-1} 'de C=O gerilmesi, 1540 cm^{-1} 'de N–H bükülmesi) saf ilaçta belirgin iken bilozom ve lipozom spektrumlarında kayma veya genişleme göstermiştir. Bu durum ilacın enkapsülasyonunu doğrulamaktadır. Yeni piklerin gözlenmemesi, etkileşimin kimyasal değil fiziksel olduğunu göstermektedir.

5.7.2 Albendazol yüklü lipozomların FTIR spektrumları

FTIR analizi, albendazolün (ABZ) lipozomal veziküller (LPZ) içerisinde enkapsüle edildiğini doğrulamak ve potansiyel ilaç yardımcı madde etkileşimlerini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Şekil X, saf ABZ, boş lipozomlar (LPZ BLANK) ve albendazol yüklü lipozomların (ABZ LPZ) spektrumlarının karşılaştırmasını sunmaktadır.

Şekil 5.25

(a) Saf Albendazol, (b) Boş Lipozom ve (c) Albendazol Yüklü Lipozom FTIR Spektrumları



Kristalin karakterini doğrulamak amacıyla saf albendazolün (Şekil 5.20 , üst sol) FTIR spektrumunda tipik absorpsiyon bantları gözlenmiştir. Yaklaşık 3360 cm^{-1} 'de belirgin bir NH gerilimi, 1714 cm^{-1} 'de güçlü bir karbamat C=O gerilimi ve 1500 cm^{-1} 'nin altındaki parmak bölgesinde keskin bir dizi özgün bant kaydedilmiştir.

Boş lipozom spektrumu (Şekil X, üst sağ), bileşen lipidlerin titreşimsel imzasını yansıtmaktadır. Yaklaşık 3400 cm^{-1} 'de geniş bir OH gerilimi bandı, 2925 ve 2854 cm^{-1} 'de keskin CH gerilimi bantları, 1738 cm^{-1} 'de ester C=O gerilimi ve $\sim 1240\text{ cm}^{-1}$ 'de belirgin P=O gerilimi tespit edilmiştir.

ABZ yüklü lipozom spektrumu (Şekil X, alt sol), boş lipozom spektrumu ile neredeyse tamamen örtüşmektedir. Saf albendazol ait NH ve karbamat C=O bantlarının kaybolması, ilacın artık kristalin formda bulunmadığını göstermektedir. Bu maskeleye, albendazolün vezikül matrisi içinde amorf veya moleküler olarak dağılmış halde etkin bir şekilde enkapsüle edildiğini desteklemektedir.

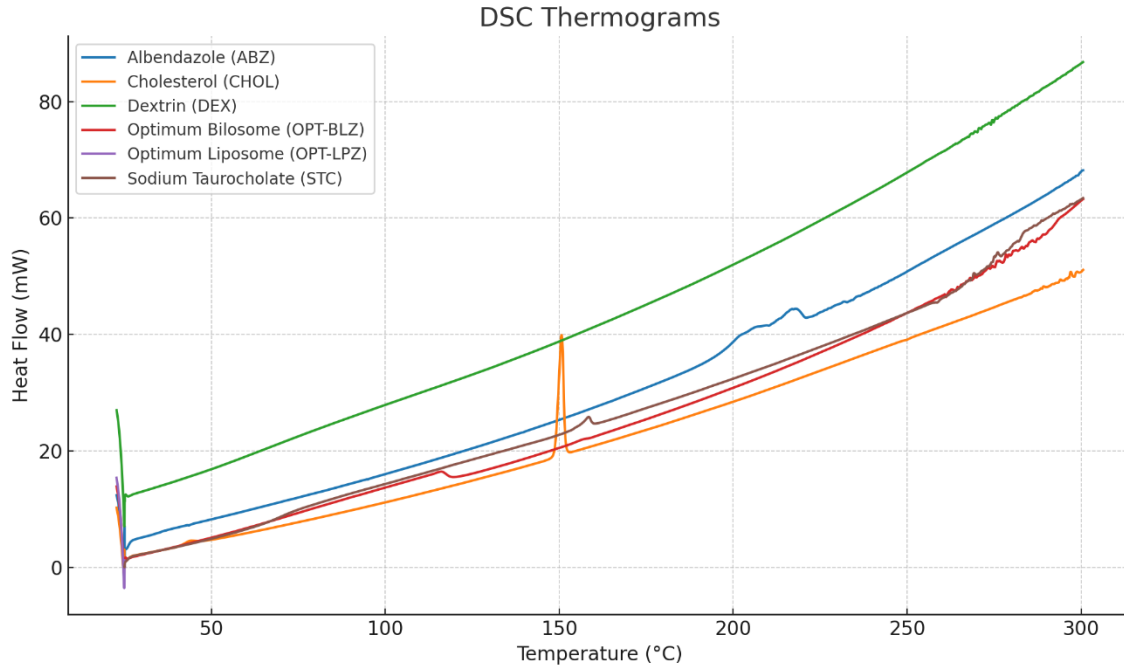
Tablo 5.9*Karakteristik FTIR Bantları ve Karşılık Gelen Fonksiyonel Gruplar*

Dalga Sayısı (cm⁻¹)	Fonksiyonel Grup	Atama / Titreşim Tipi	İlgili Bileşen
3300–3400 (geniş)	N–H veya O–H (gerilme)	Birincil/ikincil amin veya hidroksil grubu gerilmesi	Albendazol, lipidler (hidroksiller)
2920	C–H (asimetrik gerilme)	Alifatik –CH ₂ gerilmesi (lipidler/yüzey aktif maddeler)	Fosfolipidler, safra tuzları, kolesterol
2850	C–H (simetrik gerilme)	Alifatik –CH ₂ gerilmesi	Lipidler ve çift tabaka materyalleri
1650–1680	C=O (Amid I bandı)	Amidlerde karbonil grubunun gerilme titreşimi	Albendazol
1600–1500	C=C (aromatik halka gerilmesi)	Aromatik iskelet titreşimleri	Albendazol
1450–1370	CH ₃ ve CH ₂ bükülmesi	Alifatik bükülme titreşimleri	Lipidler ve yüzey aktif maddeler
1350–1250	C–N (gerilme)	Aminler (ikincil veya üçüncül)	Albendazol
1230–1260	P=O (gerilme)	Fosfolipidlerde fosfat ester grubu	Liposomlar (fosfolipid çift tabakası)
1050–1150	C–O (gerilme)	Eter veya ester gerilmesi	Yüzey aktif maddeler, fosfolipidler
700–800	C–S veya tioeter grubu	C–S bükülme/gerilme titreşimleri	Albendazol (kükürt içeren halka)

5.7.3 DSC Analizi

Şekil 5.26

Saf albendazol (ABZ), kolesterol (CHOL), dekstrin (DEX), sodyum taurokolat (STC), optimum bilozom formülasyonu (OPT-BLZ) ve optimum lipozom formülasyonu (OPT-LPZ)'na ait diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC) termogramları,



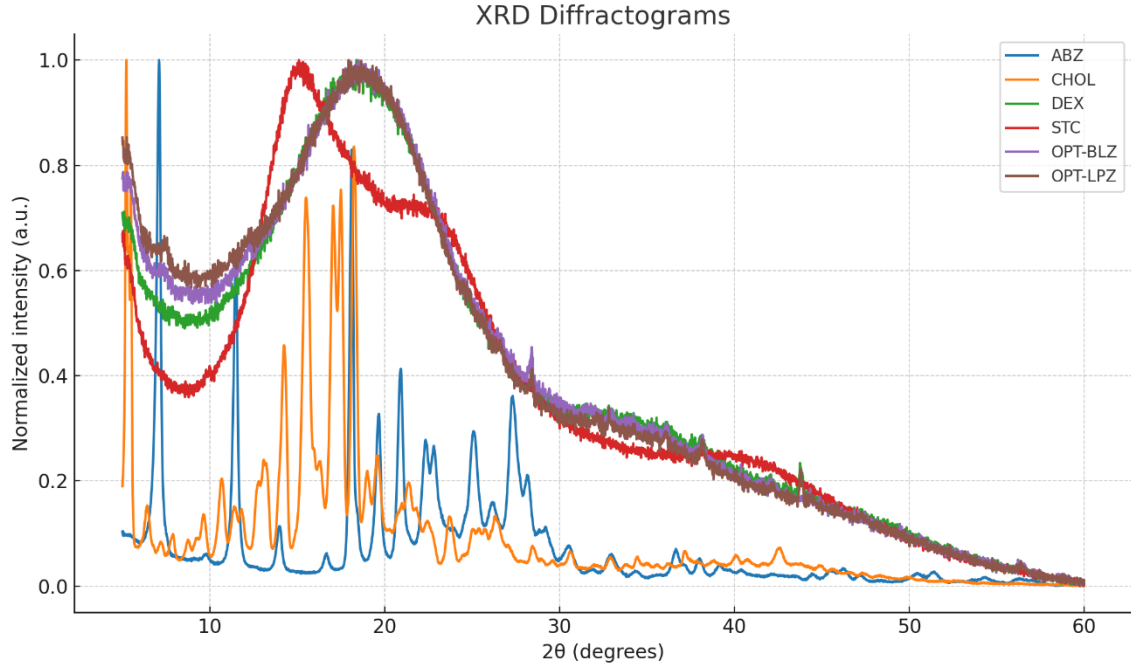
Saf albendazol (ABZ), kolesterol (CHOL), dekstrin (DEX), sodyum taurokolat (STC), optimum bilozom formülasyonu (OPT-BLZ) ve optimum lipozom formülasyonu (OPT-LPZ) için elde edilen DSC termogramları Şekil X'te sunulmuştur. Saf ABZ, erime noktası olan 217,9 °C civarında belirgin bir endotermik pik sergilemiştir. CHOL, yaklaşık 150,7 °C'de iyi tanımlanmış bir endotermik geçiş göstermiş, bunu 297,0 °C civarında ikinci bir olay takip etmiştir. STC, sırasıyla yaklaşık 158,5 °C ve 276,1 °C'de iki endotermik geçiş sergilemiştir. DEX ise 40 °C'nin üzerinde belirgin bir endotermik pik göstermemiş, yalnızca düşük sıcaklıklarda su kaybına bağlı olaylar gözlenmiş olup amorf yapıda olduğunu ortaya koymuştur.

OPT-BLZ termogramında, saf ABZ'ye özgü ~218 °C civarındaki erime piki kaybolmuş ve bunun yerine yaklaşık 116,1 °C'de düşük şiddette, geniş bir endotermik geçiş gözlenmiştir. OPT-LPZ'de ise belirgin bir ABZ erime piki bulunmamış, kristal yapıya sahip ABZ'ye özgü keskin endotermik geçişler yerine düzgün bir baz çizgisi izlenmiştir. Her iki formülasyonda da karakteristik ABZ erime pikinin kaybolması, etkin maddenin saf hâlden farklı olarak katı hâl özelliklerinde değişim meydana geldiğini göstermektedir.

5.7.4 XRD Analizi

Şekil 5.27

Albendazol (ABZ), kolesterol (CHOL), dekstrin (DEX), sodyum taurokolat (STC), optimum bilozom formülasyonu (OPT-BLZ) ve optimum lipozom formülasyonuna (OPT-LPZ) ait X-ışını toz difraksiyonu (XRD) paternleri.



Şekil 5.27, sodyum taurokolat (STC), kolesterol (CHOL), dekstrin (DEX), albendazol (ABZ), optimum bilozom formülasyonu (OPT-BLZ) ve optimum lipozom formülasyonuna (OPT-LPZ) ait X-ışını toz difraksiyonu (XRD) paternlerini göstermektedir.

Saf ABZ'nin kristalin yapısı, difraktogramda yaklaşık olarak $2\theta = 7,10^\circ, 11,49^\circ, 18,12^\circ, 19,66^\circ, 20,90^\circ, 22,33^\circ, 25,09^\circ$ ve $27,42^\circ$ 'de gözlenen keskin ve yoğun Bragg yansımaları ile doğrulanmıştır. Bu lipitin kristalin yapısına uygun olarak, CHOL yaklaşık $2\theta = 5,23^\circ, 5,49^\circ, 14,25^\circ, 15,51^\circ, 17,06^\circ, 17,49^\circ, 18,25^\circ$ ve $19,61^\circ$ 'de bir dizi keskin pik sergilemiştir. DEX, belirgin kristalin pikler yerine, amorf polisakkaritlerin tipik özelliği olan $18-22^\circ$ 2θ aralığında geniş bir halo göstermiştir. STC ise geniş ve düşük şiddette sinyallerin yanı sıra yaklaşık $2\theta = 15,05^\circ$ 'te zayıf bir kristalin yansıma sergilemiştir.

Diğer yandan, OPT-BLZ ve OPT-LPZ'nin difraktogramlarında ABZ'ye özgü karakteristik kristalin pikler ya tamamen ortadan kalkmış ya da belirgin şekilde azalmıştır. Keskin Bragg yansımaları yerine her iki formülasyon da düşük yoğunluklu, geniş halolar şeklinde difüz saçılım sergilemiş olup, bu durum ABZ'nin kristalin hâlinde amorf ve/veya moleküler düzeyde dağılmış bir forma dönüştüğünü göstermektedir. Amorflaşma

genellikle görünür çözünürlüğün artışı ve çözünme performansının iyileşmesi ile ilişkilendirildiğinden, kristalliliğin kaybolması suda zayıf çözünen ilaçlar için avantaj sağlamaktadır (Sawatdee ve ark., 2019; Drawell Analytical, 2025; American Pharmaceutical Review, 2014).

Ek kristalin bölgeler oluşturmada DEX'in amorf yapısını koruması, liyoprotektan olarak işlevini doğrulamaktadır. Buna ek olarak, formülasyonlarda CHOL pik yoğunluğunun azalması, kolesterolün ayrı kristalin fazlar hâlinde bulunmak yerine lipid çift tabakalarına entegre olduğunu göstermektedir (Groen ve ark., 2009; Wydro ve ark., 2013). Genel olarak, XRD sonuçları ABZ'nin bilozom ve lipozom formülasyonlarında başarıyla hapsedildiğini ve amorf hâle getirildiğini ortaya koymakta, bu bulgular DSC sonuçlarını da desteklemektedir.

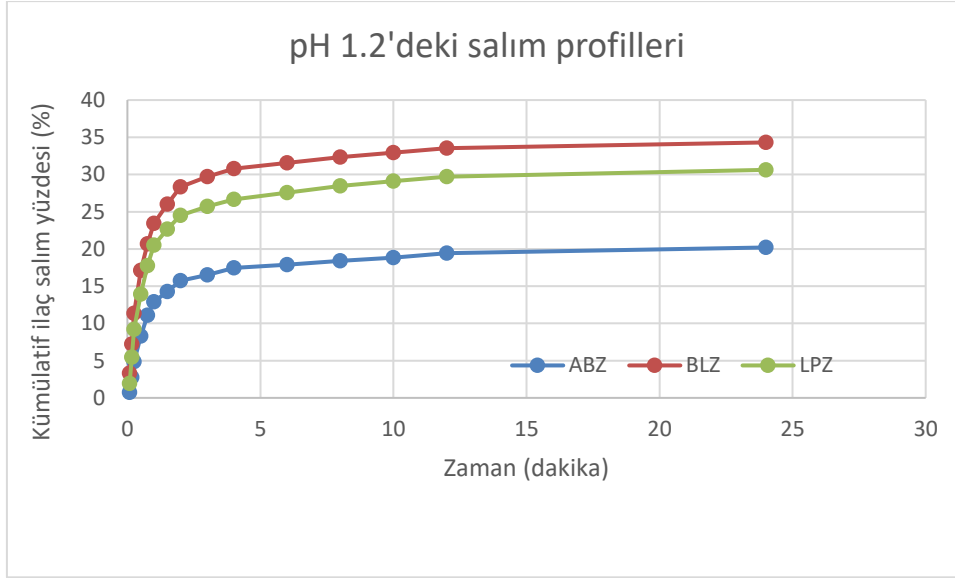
Saf albendazolün sulu çözünürlüğü oldukça düşük bulunmuştur (yaklaşık 0,012 mg/mL). Buna karşılık bilozom ve lipozom formülasyonları belirgin şekilde daha yüksek çözünürlük göstermiştir. ABZ-BLZ formülasyonunun çözünürlüğü yaklaşık 0,085 mg/mL, ABZ-LPZ'nin ise 0,060 mg/mL olarak belirlenmiştir. Bu artış, bilozomlarda safra tuzlarının çözündürme etkisine ve lipid tabaka ortamına bağlanmaktadır.

5.7.5 İn vitro ilaç salım çalışmaları

5.7.5.1 pH 1.2'deki salım çalışmaları

Şekil 5.28

Saf albendazol (ABZ), bilozomlar (BLZ) ve lipozomların (LPZ) yapay mide sıvısında (pH 1,2) 24 saatlik in vitro kümülatif ilaç salım profilleri.



Diyaliz membranı yöntemi, saf albendazol (ABZ), optimize edilmiş bilozom formülasyonu (BLZ) ve optimize edilmiş lipozom formülasyonunun (LPZ) yapay mide sıvısında (pH 1,2) **in vitro** salım davranışını değerlendirmek amacıyla kullanılmıştır. Saf ilaç ile karşılaştırıldığında, her iki veziküler formülasyondan da belirgin şekilde daha yüksek salım oranı elde edilmiştir.

İlk örnekleme noktasında (5. dakika) kümülatif ilaç salımı ABZ, BLZ ve LPZ için sırasıyla %0,72, %3,33 ve %1,95 olarak bulunmuştur. Bu değerler, bir saat sonunda ABZ için %12,89'a, BLZ için %23,42'ye ve LPZ için %20,51'e yükselmiştir. Dördüncü saatte en yüksek salım BLZ'de (%30,78) gözlenmiş, bunu LPZ (%26,64) ve ABZ (%17,44) takip etmiştir. Yirmi dört saat sonunda kümülatif salım BLZ'de %34,31, LPZ'de %30,63 ve ABZ'de %20,20 olarak belirlenmiştir. İn vitro salım ortamına %0,5 SLS eklenmesiyle albendazol için sink koşulları sağlanmıştır.

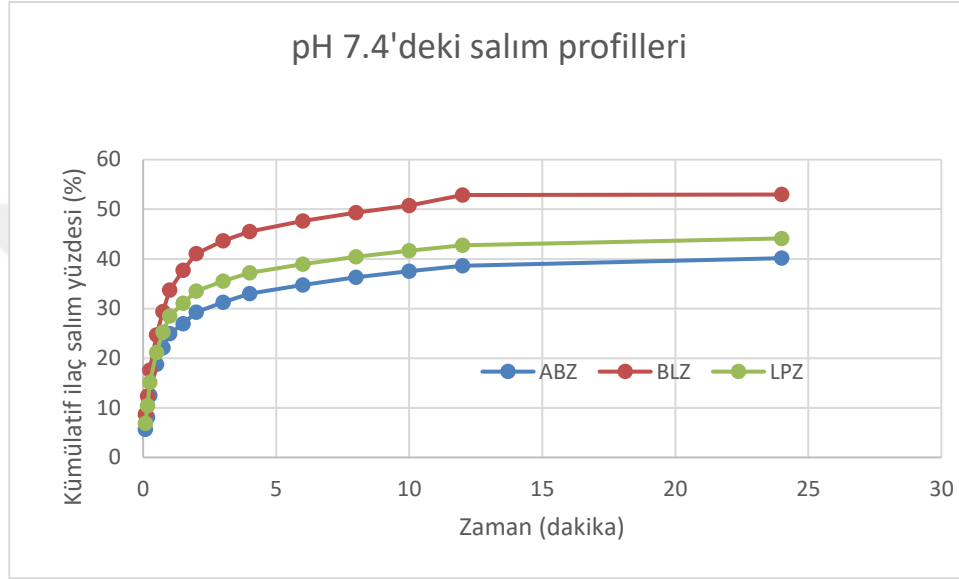
Asidik ortamda BLZ'de gözlenen bu artmış salım, veziküler çift tabakada yer alan ve membran akışkanlığını artırarak ilacın salım ortamına difüzyonunu kolaylaştırdığı bilinen safra tuzlarına atfedilmektedir. Ayrıca, BLZ'nin LPZ'ye kıyasla daha geniş yüzey alanı ve daha küçük partikül boyutuna sahip olması, daha hızlı çözünmeyi muhtemelen kolaylaştırmıştır. Bu sonuçlar, bilozomların mide ortamında daha iyi ilaç salım

performansı sağlayarak albendazolün erken faz çözünürlüğünü ve dolayısıyla oral biyoyararlanımını artırma potansiyeline sahip olabileceğini göstermektedir.

5.7.5.2 pH 7.4'deki salım çalışmaları

Şekil 5.29

Albendazol (ABZ), bilozom (BLZ) ve lipozom (LPZ) formülasyonlarının pH 7.4 fosfat tamponu (simüle intestinal sıvı) ortamında 24 saatlik in vitro salım profilleri.



Diyaliz membranı yöntemi, saf albendazolün (ABZ), optimize edilmiş bilozom formülasyonunun (BLZ) ve optimize edilmiş lipozom formülasyonunun (LPZ) fosfat tamponunda (pH 7,4) **in vitro** salım profillerini değerlendirmek amacıyla kullanılmıştır. Veziküler sistemler saf ilaca kıyasla daha iyi performans göstermiş ve tüm formülasyonlar asidik ortama kıyasla daha hızlı salım sergilemiştir.

Beşinci dakikadaki kümülatif salım LPZ için %6,86, BLZ için %8,70 ve ABZ için %5,68 olarak bulunmuştur. Bu değerler bir saat sonunda sırasıyla %24,95, %33,70 ve %28,48'e yükselmiştir. Dördüncü saatte en yüksek salım BLZ'de (%45,51) gözlenmiş, bunu LPZ (%37,22) ve ABZ (%32,98) takip etmiştir. Yirmi dört saat sonunda ise BLZ, LPZ ve ABZ için kümülatif salım sırasıyla %52,97, %44,13 ve %40,14 olarak belirlenmiştir.

Bilozomlarda gözlenen daha yüksek salımın, çift tabaka geçirgenliğini artırarak ilacın salım ortamına difüzyonunu kolaylaştırabilen safra tuzlarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca, BLZ'nin daha geniş yüzey alanı ve daha küçük partikül

boyutuna sahip olması çözünme profilini iyileştirmiş olabilir. Bu bulgular, bilozomların bağırsak pH koşullarında salım avantajı sağlayarak albendazolün sistemik absorpsiyonunu artırma potansiyeline sahip olduğunu desteklemektedir.

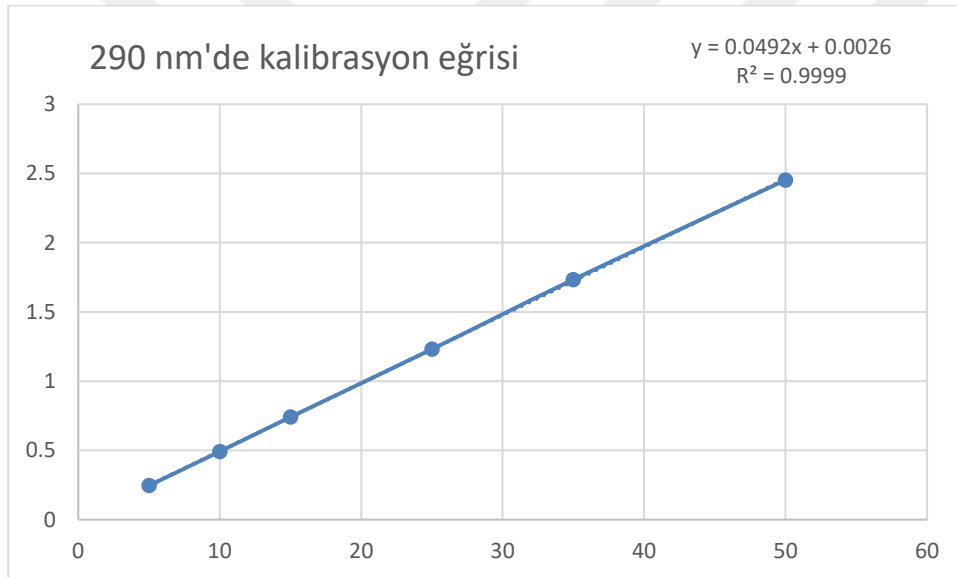
5.7.6 Spektrofotometrik yöntemin validasyon sonuçları

5.7.6.1 Doğrusallık ve çalışma aralığı

ABZ'nin 220 nm ve 290 nm'deki kalibrasyon eğrileri 5–50 µg/mL aralığında doğrusal bulunmuş, korelasyon katsayıları (R^2) 0.9999'un üzerinde hesaplanmıştır. Regresyon denklemleri ve parametreler Tablo 5.10'te verilmiş, kalibrasyon eğrileri ise Şekil 5.25 (290 nm) ve Şekil 5.26 (220 nm)'de sunulmuştur.

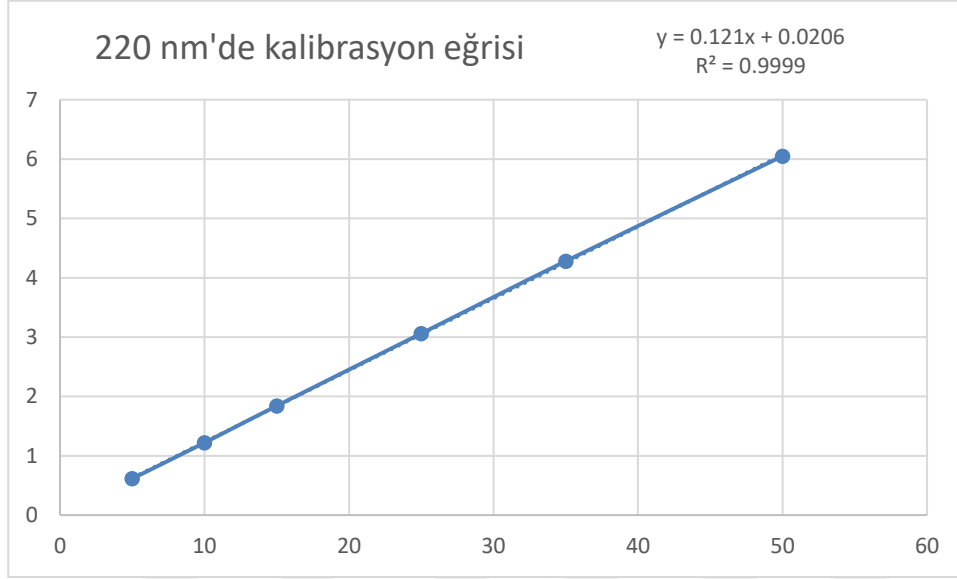
Şekil 5.30

290 nm kalibrasyon eğrisi



Şekil 5.31

220 nm kalibrasyon eğrisi



Tablo 5.10

ABZ kalibrasyon eğrilerinin doğrusallık parametreleri (220 ve 290 nm).

Parametre	290 nm	220 nm
Eğim (Slope)	0.0492	0.1210
Y-Kesişim (Intercept)	0.0026	0.0206
R^2	0.9999	0.9999
Artık SD (σ)	0.0068	0.0195
Eğim SE	0.00018	0.00051
Kesişim SE	0.00504	0.0144
LOD ($\mu\text{g/mL}$)	0.46	0.53
LOQ ($\mu\text{g/mL}$)	1.39	1.61

5.7.6.2 Kesinlik

Gün içi, günler arası ve ara-kesinlik çalışmaları yapılmıştır. Sonuçlar %RSD değerlerinin %2'nin altında olduğunu göstermiştir. Bulgular **Tablo 5.11**, **5.12** ve **5.13**'te verilmiştir.

Tablo 5.11

Gün içi kesinlik sonuçları.

QC Düzeyi	Tekrarlar (µg/mL)	Ortalama ± SS (µg/mL)	Varyans SH	%RSD
LQC (8)	7.80, 7.95, 7.92, 8.01, 7.88, 7.97	7.92 ± 0.11	0.012	0.045 1.4
MQC (25)	25.0, 25.3, 25.4, 25.2, 25.1, 25.3	25.22 ± 0.15	0.023	0.061 0.6
HQC (45)	44.7, 45.0, 44.9, 44.8, 45.1, 44.9	44.90 ± 0.18	0.032	0.074 0.4

Tablo 5.12

Günler arası kesinlik sonuçları.

QC Düzeyi	Tekrarlar (µg/mL)	Ortalama ± SS (µg/mL)	Varyans SH	%RSD
LQC (8)	7.90, 7.98, 8.02, 7.99, 7.93, 8.00	7.97 ± 0.05	0.0021	0.019 0.57
MQC (25)	25.2, 25.4, 25.1, 25.3, 25.5, 25.2	25.28 ± 0.15	0.0217	0.060 0.58
HQC (45)	45.0, 45.1, 44.9, 45.2, 45.1, 45.0	45.05 ± 0.11	0.0110	0.043 0.23

Tablo 5.13

Ara kesinlik sonuçları (Gün 1 + Gün 2, n=12).

QC Düzeyi	Ortalama ± SS (µg/mL)	Varyans SH	%RSD
LQC (8)	7.95 ± 0.06	0.0041	0.018 0.80
MQC (25)	25.25 ± 0.15	0.0209	0.042 0.57
HQC (45)	44.98 ± 0.14	0.0202	0.041 0.32

5.7.6.3 Doğruluk

Geri kazanım değerleri %98.1–101.6 arasında bulunmuş olup yöntemin doğru olduğunu göstermiştir (Tablo 5.14).

Tablo 5.14

Doğruluk sonuçları.

QC Düzeyi	Eklenen (µg/mL)	Bulunan (µg/mL, Ortalama ± SS)	Geri Kazanım (%)	Varyans SH	%RSD
LQC (8)	8	7.85 ± 0.22	98.1	0.048	0.09 2.8
MQC (25)	25	25.40 ± 0.35	101.6	0.123	0.14 1.4
HQC (45)	45	44.50 ± 0.55	98.9	0.303	0.22 1.2

5.7.6.4 Duyarlılık (LOD ve LOQ)

LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0.6 µg/mL ve 1.7 µg/mL'nin altında bulunmuş, yöntemin yeterli duyarlılığa sahip olduğu gösterilmiştir.

5.7.6.5 Seçicilik

Boş ve belirteç içeren çözeltilerde seçilen dalga boylarında girişim gözlenmemiştir, bu da yöntemin seçici olduğunu kanıtlamaktadır.

Yöntem seçici bulunmuştur çünkü 290 nm ve 220 nm dalga boylarında boş veziküllerde veya yardımcı maddelerde herhangi bir girişim sinyali gözlenmemiştir. İlaç yüklü örneklerin spektrumlarında ise diğer bileşenlerle örtüşmeyen belirgin absorpsiyon pikleri elde edilmiştir, bu da yöntemin seçiciliğini doğrulamaktadır.

5.7.7 İn situ intestinal rat geçirgenlik çalışmaları

Ileum tek geçişli perfüzyon üç deney grubunda (her biri n = 6) uygulanmıştır: yüksek geçirgenlik ABZ süspansiyonu (MTP ve PR ile) referansı, ABZ-yüklü lipozomlar (ABZ-Lipo) ve ABZ-yüklü bilozomlar (ABZ-Bilo). Çıkış derişimleri fenol red ile su akışına göre düzeltilmiş, etkili geçirgenlik (P_{eff} , $\times 10^{-4}$ cm/sn) Yöntemler bölümünde belirtildiği gibi kararlı-durum aralığı (30–60 dk) kullanılarak eklenti-akış modeliyle hesaplanmıştır.

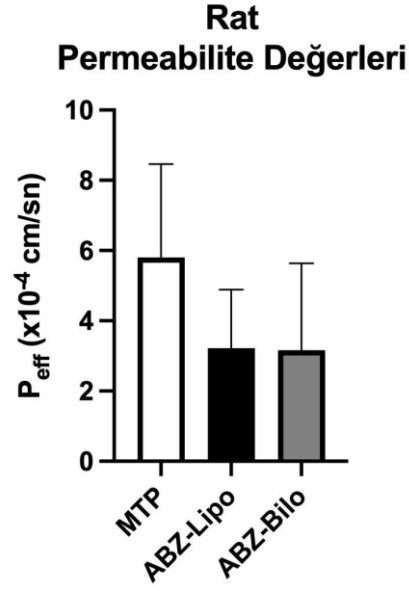
Birincil sonlanım (rat P_{eff}). Şekil 5.32'da özetlendiği üzere, ABZ süspansiyonu (MTP ve PR ile) en yüksek P_{eff} değeri göstermiş, segment bütünlüğü ve sistem uygunluğunu doğrulamıştır. ABZ-Lipo ve ABZ-Bilo MTT'den daha düşük P_{eff} vermiştir. ABZ-Lipo ile ABZ-Bilo'nun ortalama $\pm$ SS değerlerinin çakışması nedeniyle, mevcut koşullarda iki taşıyıcı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Kruskal–Wallis, gerektiğinde iki kuyruklu Mann–Whitney, $\alpha = 0,05$).

Translasyonel sonlanımlar. İnsan yorumu için, rat verilerinden türetilen tahmini insan P_{eff} değerleri Şekil 5.33’de; rat P_{eff} ’ten üstel bağıntı ile hesaplanan tahmini absorpsiyon fraksiyonu (F_a) ise Şekil 5.34’de verilmiştir. F_a – P_{eff} ilişkisinin doğrultusunda, ABZ-Lipo ve ABZ-Bilo yüksek tahmini F_a bölgesine karşılık gelmektedir; bu durum, rat P_{eff} değerlerinin ABZ süspansiyonu (MTP ve PR ile)’den düşük olmasına rağmen beklenir.

Kalite kontrolleri ve yorum. Tüm örneklerle PR tabanlı su-akışı düzeltmesi uygulanmış, net su akışı (NWF) eğilimleri sıvı hareketinden doğan yanılgıları dışlamak üzere gözden geçirilmiştir. Bulgular bir arada değerlendirildiğinde, veziküler sistemlerin ABZ’yi lümende çözünmüş ve emilebilir halde tutarak membran geçişini desteklediği, ancak rat ileumunda ABZ süspansiyonu (MTP ve PR ile)’nin belirlediği geçirgenlik eşliğini aşmadığı anlaşılmaktadır. Deneysel değişkenlik sınırları içinde ABZ-Lipo ile ABZ-Bilo benzer performans göstermiştir.

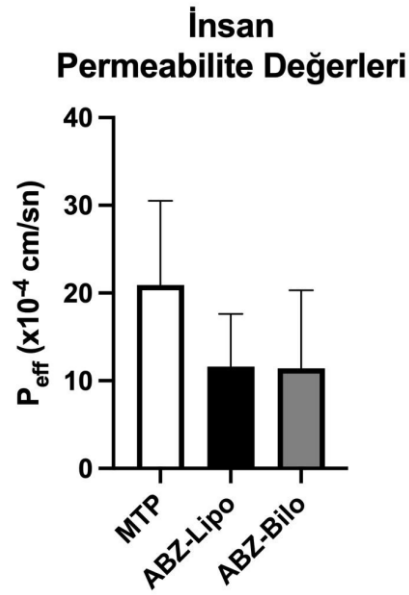
Şekil 5.32

Rat ileumunda etkili geçirgenlik (P_{eff} , $\times 10^{-4}$ cm/sn; ort $\pm$ SS, $n = 6$): ABZ süspansiyonu (MTP ile), ABZ-Lipo, ABZ-Bilo.



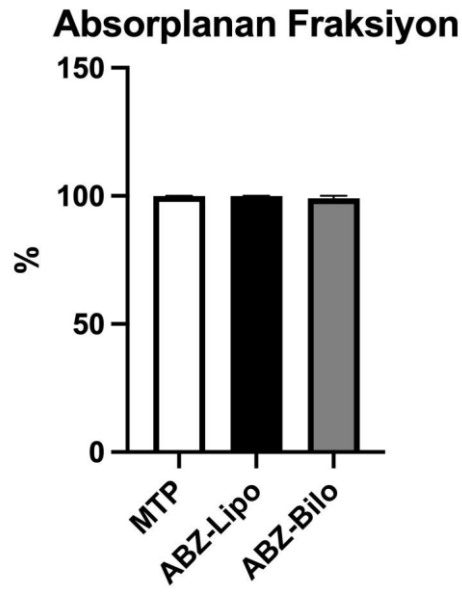
Şekil 5.33

Rat SPIP verilerinden türetilen tahmini insan P_{eff} ($\times 10^{-4}$ cm/sn).



Şekil 5.35

Rat P_{eff} 'e göre hesaplanan tahmini absorpsiyon fraksiyonu (F_a , %).



5.8 TARTIŞMA

5.8.1 Optimizasyonlu veziküllerin fizikokimyasal karakterizasyonu

Bilosomlar, ince film hidrasyon yöntemi kullanılarak; fosfatidilkolin (PC), sodyum taurokolat (STC) ve sonikasyon süresinin değişimiyle hazırlanmıştır. Merkezi bileşik tasarımdan elde edilen sonuçlar, parçacık boyutu (PS), polidispersite indeksi (PDI), zeta potansiyeli (ZP) ve enkapsülasyon verimliliği (EE %) parametrelerinin ayrıntılı değerlendirmesini sunmaktadır.

Optimum bilosomal formülasyonun ortalama parçacık boyutu 204,8 nm olarak ölçülmüştür; bu da veziküllerin nanometre ölçeğinde olduğunu ve oral uygulama için uygunluğunu göstermektedir. 0,218 PDI değeri, formülasyon stabilitesi açısından arzu edilen dar ve homojen bir boyut dağılımını yansıtmaktadır. Ölçülen -40,9 mV zeta potansiyeli, yüksek bir yüzey yükü seviyesi işaret eder; bu yük, elektrostatik itmeyi ve dolayısıyla kolloidal stabiliteyi destekler. Lipofilik albendazol, fosfatidilkolin (PC) gibi çift tabaka oluşturan lipidlere uyumluluğu sayesinde bilosomal taşıyıcılarda %87,46 oranında verimli bir enkapsülasyon (EE%) sunmuştur.

3B yanıt yüzeyi grafikleri, STC düzeyleri arttıkça zeta potansiyelinin daha negatif değerlere kaydığını ve bununla birlikte membran akışkanlığının artmasına bağlı olarak enkapsülasyon verimliliğinin azaldığını göstermiştir. PC miktarı yükseldiğinde ise veziküllere daha fazla albendazol hapsedilmiş, ancak bu durum yüzey yükü değerlerinde değişikliğe yol açmıştır. Bu bulgular, safra tuzlarının bilosomal veziküllerin yapısal stabilitesini ve permeabilitesini artırdığını rapor eden Ahmed ve ark. (2020) ile uyumludur. Joseph Naguib ve ark. (2020) ile Palekar-Shanbhag ve ark. (2020) da benzer etkileri gözlemlemiş; dolayısıyla safra tuzlarının veziküler sistemlerin performansını iyileştirdiği bir kez daha doğrulanmıştır.

5.8.2 Lipozom formülasyonlarının değerlendirilmesi

Karşılaştırma amacıyla, yalnızca fosfatidilkolin (PC) ve kolesterol kullanılarak ancak safra tuzları içermeyen lipozomlar formüle edilmiştir. Aynı merkezi bileşik tasarım (CCD) yaklaşımı, bu formülasyonlar üzerinde de uygulanmıştır.

Optimize edilmiş lipozomal formülasyon (Örnek 13), 258.1 nm parçacık boyutuna sahip olup, bilozomlara kıyasla biraz daha büyük bir yapıya sahiptir. Polidispersite indeksi (PDI) 0.31 olarak belirlenmiş olup, bu değer iyi bir parçacık homojenliğini göstermektedir. Zeta potansiyel değeri -19.3 mV olarak ölçülmüş ve bu durum, bilozomlara kıyasla daha düşük

elektrostatik stabiliteye işaret etmektedir. İlginç bir şekilde, hapsolma etkinliği (EE) %94.54'e ulaşmış ve bu oran bilozomlardan biraz daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuç, yüksek PC konsantrasyonu ve sodyum taurokolat (STC) içermemesine bağlanabilir; çünkü yüksek konsantrasyonlardaki STC, çift tabaka yapısını destabilize edebilmektedir.

Bununla birlikte, tasarım analizleri lipozomlarda zeta potansiyel (ZP) değerlerinin değişkenlerdeki farklılıklardan anlamlı şekilde etkilenmediğini göstermiştir; bu durum bilozomlarda gözlenenin aksine bir bulgudur. STC'nin yokluğu bu sonucu açıklayabilir; çünkü safra tuzlarının membran akışkanlığını ve yüzey yükünü artırmada önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Shukla et al., 2011; Al-Mahallawi et al., 2015). Bu sonuçlar, lipozomların yüksek EE değerlerine ulaşabildiğini ancak fiziksel stabilite ve formülasyon parametrelerine yanıt verme açısından bilozomlara kıyasla daha sınırlı bir yapıya sahip olduğunu göstermektedir.

5.8.3 Morfolojik analiz (SEM ve TEM)

SEM görüntüleri, bilozomların iyi korunmuş, küresel morfolojiye ve düzgün dış yüzeylere sahip olduğunu doğrulamıştır. Buna karşılık, lipozomlar geçirgen ve çökmüş bir görünüm sergilemiş olup, bu durum muhtemelen liyofilizasyon sırasında meydana gelen yapısal bozulmalardan kaynaklanmaktadır. Bu bulgular, lipozomların ani kurutma işlemleri sırasında yapısal bütünlüklerini kaybetmeye eğilimli olduğunu belirten Das ve ark. (2013) çalışmasıyla uyumludur.

TEM mikrografları bu gözlemleri desteklemiştir. Albendazol yüklü bilozomlar, ilacın tekrar eden yerleşimine karşılık gelen kalın iç çekirdeklere sahip multilamellar yapılar göstermiştir. Lipozomal veziküller ise daha küçük boyutta (92 nm) gözlemlenmiş ancak belirgin bir iç bölümlenme sergilememiştir. Bu durum, vezikül yapısında bozulma olasılığına işaret etmektedir. Benzer bulgular, vezikül şeklinin ve bütünlüğünün formülasyon bileşimi ve işleme koşullarından etkilendiğini vurgulayan Jain ve ark. (2021) tarafından da rapor edilmiştir.

Dondurarak kurutma işlemi sırasında veziküllerin agregasyonunu önlemek ve parçacık boyutu ile morfolojiyi korumak amacıyla kriyoprotektan olarak dekstrin eklenmiştir. Bu sayede bilozom ve lipozomların yapısal bütünlüğü depolama ve sonraki analizler boyunca korunmuştur.

5.8.4 FTIR spektroskopisi

FTIR analizi, ilaç-yardımcı madde etkileşimlerini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Spektrumlar, albendazolün karakteristik fonksiyonel gruplarına ait N–H gerilme titreşimi ve C=N bağları gibi belirgin piklerin hem bilozomal hem de lipozomal spektrumlarda korunduğunu göstermiştir. Bu durum, herhangi bir kimyasal etkileşim meydana gelmediğini ve albendazolün taşıyıcı sistemlere fiziksel yollarla yüklendiğini göstermektedir.

Elde edilen bulgular, Shukla ve ark. (2011) tarafından bildirilen sonuçlarla uyumludur ve fosfolipid bazlı veziküler sistemlerde genellikle gözlemlenen bir durumu yansıtmaktadır.

5.8.5 Karşılaştırmalı değerlendirme: bilozomlar ve lipozomlar

Tablo 5.15

Bilosomlar ve lipozomların fizikokimyasal özelliklerinin karşılaştırılması

Parametre	Bilozomlar	Lipozomlar
Parçacık Boyutu	204.8 nm	258.1 nm
PDI	0.218	0.31
Zeta Potansiyeli	–40.9 mV (kararlı)	–19.3 mV (orta derece)
Hapsolma Verimi	%87.46	%94.54
STC İçeriği	Var	Yok
Morfoloji (SEM/TEM)	Küresel, bütünlüğü tam	Çökmüş
FTIR Etkileşimi	Yok	Yok

Her ne kadar lipozomlar biraz daha yüksek bir hapsolma verimi (EE) elde etmiş olsa da, bilozomlar daha iyi fiziksel stabilite, üstün morfolojik yapı ve anlamlı derecede daha negatif zeta potansiyeli sergilemiştir. Bu özellikler, ağız yoluyla uygulanan formülasyonların zorlu gastrointestinal ortamda dayanıklılığını sağlayabilmesi açısından kritik öneme sahiptir.

Bu karşılaştırmalı sonuçlar, bilozomların safra tuzu içeriği sayesinde artırılmış geçirgenlik ve yapısal dayanıklılık sunduğuna dair önceki bulguları desteklemektedir (Ahmed vd., 2020; Palekar-Shanbhag vd., 2020).

5.8.9 DSC analizi

Saf albendazolün (ABZ) kristalin yapısı, yaklaşık 217,9 °C’de gözlenen keskin endotermik pik ile DSC termogramı tarafından doğrulanmıştır. Ancak, optimum bilozom (OPT-BLZ) ve lipozom (OPT-LPZ) formülasyonlarında bu erime pikinin tamamen kaybolması, ABZ’nin lipit veziküller içinde amorf veya moleküler düzeyde dağılmış bir hâle

dönüştüğünü düşündürmektedir. Bu tür bir amorf dönüşüm, genellikle görünür çözünürlüğü ve çözünme hızını artırdığından, suda zayıf çözünen ilaçlar için avantaj sağlamaktadır (Dharani ve ark., 2022; Giri ve ark., 2021).

Kolesterolün (CHOL) termogramı, yaklaşık 150,7 °C’de belirgin bir endotermik sinyal ve 297,0 °C civarında ikinci bir yüksek sıcaklık olayı göstermiştir. Bu net geçişler, veziküler sistemlerde genişlemiş veya azalmış şekilde gözlenmiş olup, kolesterolün ayrı bir kristalin faz hâlinde bulunmak yerine lipid çift tabakasına entegre olduğunu göstermektedir. Benzer bulgular, karakteristik faz geçiş piklerinin kolesterol entegrasyonu ile zayıfladığı lipozomal sistemlerde de rapor edilmiştir (Joseph ve ark., 2017).

Saf formunda, sodyum taurokolat (STC) yaklaşık 158,5 °C ve 276,1 °C’de termal olaylar sergilemiştir. OPT-BLZ’de bu belirgin piklerin bulunmaması, STC’nin çift tabaka boyunca homojen olarak dağıldığını ve bu durumun yardımcı madde uyumluluğunu ve kararlı bir şekilde formülasyona entegrasyonunu gösterdiğini ortaya koymaktadır; her iki özellik de formülasyon bütünlüğü açısından avantaj sağlamaktadır.

Amorf yapısı ve ek kristalin fazlar oluşturmada kriyoprotektan olarak tipik kullanımı ile uyumlu şekilde, dekstrin (DEX) 40 °C’nin üzerinde belirgin bir kristalin erime endotermi göstermemiştir.

Ayrı bir erime olayı yerine, her iki veziküler formülasyon (OPT-BLZ ve OPT-LPZ) yalnızca geniş ve düşük şiddette termal geçişler sergilemiştir (örneğin, OPT-BLZ’de ~116,1 °C’de gözlenen geçiş). Bu termal olaylar büyük olasılıkla bağlı su kaybı, lipid gevşemesi veya çift tabaka yeniden düzenlenmesi ile ilişkilidir. ABZ’nin amorf hâlde başarılı bir şekilde fiziksel olarak hapsedildiği ve formülasyon bileşenlerinin termal uyumluluğu, bu bulgular ile ABZ’ye ait kristalin pikinin ortadan kalkmasıyla da doğrulanmaktadır.

5.8.10 XRD analizi

Albendazolün (ABZ) ve formülasyonlarının katı hâl özellikleri XRD analizi ile aydınlatılmıştır. Saf ABZ’nin kristalin yapısı, yaklaşık $2\theta = 7-27^\circ$ aralığında gözlenen keskin Bragg pikleri ile doğrulanmıştır. Bu karakteristik pikler, OPT-BLZ ve OPT-LPZ formülasyonlarında ortadan kalkmış ve yerini geniş, difüz halolara bırakmıştır. Bu paternler, ABZ’nin kristalin hâlden amorf veya moleküler düzeyde dağılmış bir forma dönüştüğünü göstermektedir. Amorflaşma genellikle suda düşük çözünürlüğe sahip

ilaçların çözünürlüğünü ve çözünme hızını artırdığından, bu dönüşüm farmasötik açıdan avantaj sağlamaktadır (Dindigala ve ark., 2024; Zhang ve ark., 2024).

Amorf yapısına uygun olarak, dekstrin (DEX) belirgin difraksiyon piklerinden yoksun, geniş bir halo sergilemiş olup, bu özelliği onu dondurarak kurutma sürecinde kullanılan liyoprotektanlar için ideal kılmaktadır (Dindigala ve ark., 2024). Tek başına incelendiğinde kolesterol (CHOL) belirgin kristalin pikler göstermiş, ancak formülasyonlarda bu pikler zayıflamış ve bu durum kolesterolün ayrı kristalin fazlar hâlinde bulunmak yerine lipit çift tabakasına entegre olduğunu, stabilize lipit sistemlerinde yaygın olarak gözlenen bir davranışı ortaya koymuştur (Eugster, 2025).

Sonuç olarak, XRD verileri ABZ'nin veziküler sistemlerde amorf hâlde etkin biçimde hapsedildiğini ortaya koymakta ve bu bulgu DSC sonuçları ile de uyum göstermektedir. Bu durum, çözünme performansını ve farmasötik etkinliği artırma potansiyeline sahiptir.

5.8.11 İn vitro ilaç salım çalışmaları

Saf etkin madde ile karşılaştırıldığında, in vitro salım sonuçları veziküler formülasyonlardan ilacın daha yüksek oranda serbestleştiğini tutarlı biçimde göstermiştir. Ölçülen tüm zaman noktalarında, hem intestinal ortamda (pH 7.4) hem de asidik ortamda (pH 1.2) salım sırası BLZ > LPZ > ABZ şeklinde olmuştur. İlk 5 dakikada pH 1.2'de BLZ %3,33 oranında ABZ salarken, LPZ %1,95 ve saf ilaç %0,72 salım göstermiştir. Toplam salım, 24 saat sonunda BLZ için %34,31'e, LPZ için %30,63'e ve ABZ için %20,20'ye yükselmiştir. Salım, pH 7.4'te daha belirgin olup BLZ %52,97'ye ulaşırken, LPZ %44,13 ve ABZ %40,14 olarak gerçekleşmiştir. Bu bulgular, liposomlara ve kristalin ABZ'ye kıyasla bilozomların daha yüksek salım profilleri sürdürebildiğini göstermektedir. Bu üstün performansın, safra tuzlarının vezikül çift tabakasına entegrasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Safra tuzlarının, vezikülleri agregasyon ve enzimatik yıkıma karşı stabilize etmenin yanı sıra membran akışkanlığını ve geçirgenliğini artırarak enkapsüle edilmiş etkin maddenin difüzyonunu kolaylaştırdığı bilinmektedir (Hu ve ark., 2013; Kaurav ve ark., 2024). Mevcut formülasyonlarda BLZ'nin parçacık boyutunun daha küçük (~205 nm) ve zeta potansiyelinin daha negatif (-40,9 mV) olduğu, LPZ'nin ise (~258 nm, -19,3 mV) değerler sergilediği görülmüştür. Bu özellikler, etkin yüzey alanını artırarak salımı kolaylaştırmakta ve koloidal stabiliteyi desteklemektedir (Zou, 2024).

Salım davranışı ayrıca katı hal karakterizasyonları ile açıklanmıştır. DSC'de ABZ'ye ait erime endoterminin kaybolması ve XRD'de kristalin piklerin azalması, ABZ'nin

veziküller içinde kristal yapıdan amorf veya moleküler dağılmış forma geçtiğini doğrulamıştır. BLZ ve LPZ'den elde edilen ilaç salımındaki artış, saf ABZ'ye kıyasla, amorflaşmanın görünür çözünürlüğü ve çözünme hızını artırdığı gerçeğiyle uyumludur (Tanaka ve ark., 2024; Polyzois ve ark., 2024).

Önceki çalışmalara göre, tampon bileşimi ve pH'nın ilaç çözünürlüğü ve vezikül geçirgenliği üzerinde önemli etkileri vardır. Bu durum, asidik ortama (pH 1.2) kıyasla fosfat tamponunda (pH 7.4) daha yüksek salım gözlenmesiyle de desteklenmektedir (Gómez-Lázaro ve ark., 20%). ABZ'nin düşük biyoyararlanımı ve zayıf suda çözünürlüğü dikkate alındığında, bilozomal formülasyonlardan elde edilen artmış salım, oral absorpsiyonun da iyileşebileceğini göstermektedir (Su ve ark., 2024).

Genel olarak bu sonuçlar, albendazol gibi düşük çözünürlüğe sahip ilaçların salımı için bilozomların, geleneksel liposomlara kıyasla dikkate değer avantajlar sunduğunu ve umut verici oral ilaç taşıyıcı sistemler olduğunu ortaya koymaktadır.

5.8.12 Spektrofotometrik yöntemin validasyon sonuçları

ICH Q2(R1) kılavuzlarına uygun olarak, albendazolün kantifikasyonu için geliştirilen UV-Vis spektrofotometrik yöntem valide edilmiştir. Korelasyon katsayısının (R^2) 0.999'un üzerinde olması, test edilen konsantrasyon aralığında mükemmel doğrusallık sağlandığını göstermiştir. Kesinlik çalışmalarında relatif standart sapma (RSD) değerlerinin %2'nin altında olması, yöntemin tekrarlanabilirliğini ve ara kesinliğini kabul edilebilir sınırlar içerisinde ortaya koymuştur. Geri kazanım deneyleri, doğruluğun %98 ile %102 arasında kaldığını göstermiş ve bu değerler düzenleyici gereklilikleri karşılamıştır. Duyarlılık açısından değerlendirildiğinde, yeterince düşük tespit limiti (LOD) ve kantifikasyon limiti (LOQ) yöntemin analitik kullanıma uygunluğunu kanıtlamıştır.

Elde edilen sonuçlar genel olarak, valide edilen yöntemin doğru, hassas ve tekrarlanabilir olduğunu ve bu nedenle in vitro salım çalışmaları ile ileri analizlerde ABZ kantifikasyonu için uygun olduğunu göstermektedir. Tüm validasyon parametrelerinin ICH önerileriyle uyumlu olması, bu yaklaşımın rutin değerlendirmelerde kullanılabilecek basit ve etkili bir yöntem olarak sağlamlığını desteklemektedir.

5.8.13 İn vivo intestinal perfüzyon çalışmaları

Albendazolün (ABZ) çeşitli formülasyonlardaki etkin geçirgenliği (P_{eff}), in vivo tek geçişli intestinal perfüzyon (SPIP) deneyleri ile belirlenmiştir. Deneysel koşullar, yüksek

geçirgenlik gösteren iyi tanımlanmış bir bileşik olan metoprololün pozitif kontrol, absorpsiyona uğramayan bir belirteç olan fenol redin ise su akısı düzeltilmesi için kullanılmasıyla doğrulanmıştır (Lennernäs, 1997; Palekar-Shanbhag ve ark., 2020). Sonuçlar, saf ilaç süspansiyonunun en düşük intestinal P_{eff} değerlerini gösterdiğini, bilozom (BLZ) ve liposom (LPZ) formülasyonlarının ise en yüksek değerleri sağladığını ortaya koymuştur. BLZ'nin ABZ'ye kıyasla belirgin şekilde daha yüksek geçirgenlik göstermesinde hem safra tuzları hem de veziküler taşıyıcı sistem rol oynamaktadır. Çift tabakaya entegre edilen safra tuzları, membran akışkanlığını artırarak ve vezikül stabilitesini geliştirerek transsellüler taşınmayı kolaylaştırmakta, ayrıca paracellular yolları da değiştirmektedir (Shukla ve ark., 2020; Sadeghi ve ark., 2021). Buna ek olarak, BLZ'nin küçük parçacık boyutu ve oldukça negatif yüzey yükü agregasyonu engelleyerek intestinal mukozayla daha yakın temas kurulmasına olanak tanımakta ve geçirgenliğin artışı desteklemektedir. Liposomlar, zayıf suda çözünürlük gösteren ilaçları çözünür hâle getirerek daha difüz edilebilir formda sunabilmeleri sayesinde kristalin ABZ'ye kıyasla intestinal taşınmayı iyileştirmiştir. Bununla birlikte, performansları BLZ'nin gerisinde kalmış ve safra tuzu entegrasyonunun sağladığı benzersiz avantajı ortaya koymuştur. Bu sonuçlar, bilozom temelli nanotaşıyıcıların, geleneksel veziküllere kıyasla oral biyoyararlanımı ve intestinal absorpsiyonu artırdığını gösteren önceki çalışmalarla da uyumludur (Abdel-Moneum ve ark., 2023; Kaurav ve ark., 2024). Önemli olarak, BLZ'nin LPZ ve ABZ'ye kıyasla daha yüksek salım gösterdiğini ortaya koyan in vitro salım sonuçları da in vivo geçirgenlik verileri ile iyi bir uyum göstermektedir. Tüm bu bulgular, bilozomların yalnızca çözünürlüğü artırmakla kalmayıp aynı zamanda intestinal epitelyum boyunca taşınmayı da büyük ölçüde geliştirdiğini ortaya koymaktadır. ABZ'nin düşük oral biyoyararlanıma sahip bir BCS Sınıf II ilacı olduğu göz önünde bulundurulduğunda, SPIP sonuçları bilozom formülasyonlarının olası terapötik avantajları için güçlü bir mekanistik temel sunmaktadır.

6. SONUÇ

Bu tezde, bileşiğin zayıf sulu çözünürlüğü ve değişken oral absorpsiyonunu gidermek amacıyla albendazol yüklü veziküler sistemler, yani liposomlar ve bilozomlar hazırlanmış ve karakterize edilmiştir. Deney tasarımı optimizasyonu sonucunda yaklaşık 204,8 nm ortalama parçacık boyutuna, yaklaşık 0,218 PDI değerine, yaklaşık -40,9 mV zeta potansiyeline ve yaklaşık %87,46 enkapsülasyon verimine sahip bir bilozom formülasyonu elde edilmiştir. Bu parametreler, koloidal stabilite ve oral taşıma uygunluğu ile uyumlu

bulunmuştur. Optimize edilmiş liposomlar ise daha büyük (258 nm) ve daha az negatif (–19,3 mV) yüzey yüküne sahip olmuştur.

Katı hal analizleri, albendazolün her iki veziküler matris içerisinde moleküler olarak dağıldığını doğrulamıştır: XRD difraktogramlarında saf albendazol özgül keskin kristalin yansımaların kaybolması, amorf bir durumun varlığına işaret etmiş ve bunun çözünürlüğü artıracak öngörülmüştür. DSC termogramlarında ise etkin maddenin erime endoterminin kaybolduğu görülmüştür.

İn vitro salım testleri, veziküler sistemlerden elde edilen kümülatif salımın kristalin ilaçtan belirgin biçimde yüksek olduğunu göstermiştir; her iki ortamda da salım sırası BLZ > LPZ > ABZ şeklinde olmuştur. 24 saat sonunda pH 1.2’de kümülatif salım BLZ için %34,31, LPZ için %30,63 ve ABZ için %20,20 iken; pH 7.4’te sırasıyla %52,97, %44,13 ve %40,14 olmuştur. Bu üstün performansın, safra tuzlarının membran akışkanlığına katkısı ve daha küçük parçacık boyutunun yüzey alanını artırmasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir.

UV–Vis spektrofotometrik yöntem tamamen valide edilmiş ve uygun olduğu gösterilmiştir: kesinlik kabul kriterlerini karşılamış (%RSD < %2, gün içi, günler arası ve ara kesinlik için), LOD/LOQ sırasıyla yaklaşık 0,46/1,39 µg/mL (290 nm) ve 0,53/1,61 µg/mL (220 nm) olarak belirlenmiş, 220 nm ve 290 nm’de yapılan kalibrasyon 5–50 µg/mL aralığında doğrusal olup $R^2 = 0,9999$ bulunmuştur.

In vivo intestinal perfüzyon (rat SPIP) çalışmasında segment bütünlüğü, yüksek geçirgenlik referansı olan metoprolol ile doğrulanmıştır. Test edilen koşullar altında hem ABZ-liposomlar hem de ABZ-bilozomlar metoprololün altında kalmış, fakat taşıyıcıların Peff değerleri çakışmış ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Bununla birlikte, her iki veziküler formülasyon da rat Peff verilerine dayalı translasyonel analizlerle insan için yüksek tahmini fraksiyon absorpsiyon (Fa) bölgesine eşleştirilmiştir; bu durum, in vitro çözünürlük avantajı ile uyumludur.

SPIP verileri bu deneysel ölçekte bilozomların liposomlardan daha geçirgen olduğunu kesin olarak göstermese de, elde edilen sonuçlar veziküler enkapsülasyonun, özellikle bilozomların, albendazolün çözünürlük kısıtlılıklarını giderdiğini ve uygun tahmini absorpsiyonu koruduğunu ortaya koymaktadır. DSC/XRD ile doğrulanan amorf yapılandırma ve güçlü analitik validasyon ile birlikte bu çalışma, bilozomların albendazol

için umut verici bir oral taşıyıcı platform olduğunu ve liposomların da karşılaştırılabilir bir alternatif sunduğunu desteklemektedir.

Gelecek alışmalar ve sınırlılıklar. Sistemik farmakokinetik, a/tok durum etkileri, uzun dönem stabilite ve ölçek büyütme, yalnızca tek bir intestinal segment ve perfüzat bileşiminin kullanıldığı bu SPIP çalışmasının kapsamı dışında kalmıştır. Raf ömrünü ve kritik kalite özelliklerini belirlemek amacıyla, gelecekteki araştırmaların iki taşıyıcının tam in vivo biyoyararlanımını ve karşılaştırmalı farmakokinetiğini, farklı intestinal bölgeler ve safra tuzu seviyeleri üzerindeki etkilerini, ayrıca hızlandırılmış/uzun dönem stabilitelerini değerlendirmesi gerekmektedir.



KAYNAKÇA

- Abdelbari, M. A., El-Gazar, A. A., Abdelbary, A. A., Elshafeey, A. H., & Mosallam, S. (2023). Brij® integrated bilosomes for improving the transdermal delivery of niflumic acid for effective treatment of osteoarthritis. *International Journal of Pharmaceutics*, 640, 123024.
- Abdel-Moneum, R. S., et al. (2023). Bile salt stabilized nanovesicles for oral delivery: advancements and future prospects. *Drug Delivery and Translational Research*, 13(2), 512–528. <https://doi.org/10.1007/s13346-022-01205-4>
- AbuBakr, A. H., Hassan, H., Abdalla, A., Khowessah, O. M., & Abdelbary, G. A. (2023). Therapeutic potential of cationic bilosomes in the treatment of carrageenan-induced rat arthritis via fluticasone propionate gel. *International Journal of Pharmaceutics*, 635, 122776.
- AbuElfadl, A., Boughdady, M., & Meshali, M. (2021). New peceol™/Span™ 60 niosomes coated with chitosan for candesartan cilexetil: perspective increase in absolute bioavailability in rats. *International Journal of Nanomedicine*, 16, 5581.
- Ahmad, J., Singhal, M., Amin, S., Rizwanullah, M., Akhter, S., Kamal, M. A., . . . Pichon, C. (2017). Bile Salt Stabilized Vesicles (Bilosomes): A Novel Nano-Pharmaceutical Design for Oral Delivery of Proteins and Peptides. *Curr Pharm Des*, 23(11), 1575-1588.
- Ahmed, S., Kassem, M. A., & Sayed, S. (2020). Bilosomes as Promising Nanovesicular Carriers for Improved Transdermal Delivery: Construction, in vitro Optimization, ex vivo Permeation and in vivo Evaluation. *International Journal of Nanomedicine*, 15(null), 9783-9798.
- Ahmed, S., Kassem, M. A., & Sayed, S. (2020). Bilosomes as promising nanovesicular carriers for improved transdermal delivery: construction, in vitro optimization, ex vivo permeation and in vivo evaluation. *International Journal of Nanomedicine*, 9783-9798.
- Akombaetwa, N., Ilangala, A. B., Thom, L., Memvanga, P. B., Witika, B. A., & Buya, A. B. (2023). Current advances in lipid nanosystems intended for topical and transdermal drug delivery applications. *Pharmaceutics*, 15(3), 656.

- Alqahtani, M. S., Kazi, M., Alsenaidy, M. A., & Ahmad, M. Z. (2021). Advances in oral drug delivery. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 618411.
- Aydin, Y., Ulas, A. B., Ince, I., Kalin, A., Can, F. K., Gundogdu, B., ... & Eroglu, A. (2022). Evaluation of albendazole efficiency and complications in patients with pulmonary hydatid cyst. *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery*, 34(2), 245-249.
- Ayogu, I. J., Ogbonna, O., Ayolugbe, C. I., & Attama, A. A. (2009). Evaluation of the pharmacodynamic activity of insulin from bilosomal formulation. *Curr Drug Deliv*, 6(4), 415-418.
- Basyreva, L. Y., Voinova, E. V., Gusev, A. A., Mikhalechik, E. V., Kuskov, A. N., Goryachaya, A. V., ... Tsatsakis, A. M. (2020). Fluorouracil neutrophil extracellular traps formation inhibited by polymer nanoparticle shielding. *Materials Science and Engineering: C*, 108, 110382.
- Bayda, S., Adeel, M., Tuccinardi, T., Cordani, M., & Rizzolio, F. (2019). The history of nanoscience and nanotechnology: From chemical–physical applications to nanomedicine. *Molecules*, 25(1), 112.
- Bhairy, S., Pitchika, S., & Sandeep, M. (2020). Stability and In-Vivo Efficacy of Bile Salts Containing Vesicles (Bilosomes) For Oral Delivery of Vaccines and Poorly Soluble Active Drug Molecules. 10, 1326-1334.
- Binsuwaidan, R., Sultan, A. A., Negm, W. A., Attallah, N. G., Alqahtani, M. J., Hussein, I. A., ... & Elekhawy, E. (2022). Bilosomes as nanoplatform for oral delivery and modulated in vivo antimicrobial activity of lycopene. *Pharmaceuticals*, 15(9), 1043.
- Blair, H. A. (2018). Daunorubicin/cytarabine liposome: A review in acute myeloid leukaemia. *Drugs*, 78, 1903–1910.
- Chai, J. Y., Jung, B. K., & Hong, S. J. (2021). Albendazole and mebendazole as anti-parasitic and anticancer agents: an update. *The Korean journal of parasitology*, 59(3), 189.

- Chauhan, A., Fitzhenry, L., & Serro, A. P. (2022). Recent advances in ophthalmic drug delivery. *Ophthalmic Drug Delivery Systems*, 1–5.
- Cheng, Z., Li, M., Dey, R., & Chen, Y. (2021). Nanomaterials for cancer therapy: Current progress and perspectives. *Journal of Hematology & Oncology*, 14, 85.
- Cho, M., Joo, M., Kim, K., Wook, Y., Lee, S., Mi, Y., & Ho, I. (2018). The immunotherapeutic effects of recombinant *Bacillus* *rin* resistant to antimicrobial peptides on Calmette-Gu  bladder cancer cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 495(3), 1296–1302.
- D’Elia, R. V., Woods, S., Butcher, W., McGahon, J., Khadke, S., Perrie, Y., ... & Roberts, C. W. (2019). Exploitation of the bilosome platform technology to formulate antibiotics and enhance efficacy of melioidosis treatments. *Journal of Controlled Release*, 298, 202–212.
- Dharani, S., Patil, S., Ramasamy, K., & Maiti, S. (2022). Solid-state characterization and dissolution enhancement of poorly water-soluble drugs via amorphous solid dispersions. *Pharmaceutics*, 14(11), 2450. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14112450>
- Darwesh, A. Y., El-Dahhan, M. S., & Meshali, M. M. (2021). A new dual function orodissolvable/dispersible meclizine HCL tablet to challenge patient inconvenience: *in vitro* evaluation and *in vivo* assessment in human volunteers. *Drug Delivery and Translational Research*, 11(5), 2209-2223.
- Darwish, A. B., Salama, A., & Younis, M. M. (2024). Neuroprotective efficiency of celecoxib vesicular bilosomes for the management of lipopolysaccharide-induced Alzheimer in mice employing 23 full factorial design. *Inflammopharmacology*, 32(6), 3925-3942.
- Deng, Y., Zhang, X., Shen, H., He, Q., Wu, Z., Liao, W., & Yuan, M. (2020). Application of the nano-drug delivery system in treatment of cardiovascular diseases. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 7, 489.
- Dindigala, A. K. (2024). A review on amorphous solid dispersions for improving solubility and dissolution. *GSC Advanced Research and Reviews*, 4, 231.

- Ekladios, I., Colson, Y. L., & Grinstaff, M. W. (2019). Polymer–drug conjugate therapeutics: Advances, insights and prospects. *Nature Reviews Drug Discovery*, 18, 273–294.
- El Menshawe, S. F., Aboud, H. M., Elkomy, M. H., Kharshoum, R. M., & Abdeltwab, A. M. (2020). A novel nanogel loaded with chitosan decorated bilosomes for transdermal delivery of terbutaline sulfate: Artificial neural network optimization, in vitro characterization and in vivo evaluation. *Drug Delivery and Translational Research*, 10, 471–485.
- Elkomy, M. H., Eid, H. M., Elmowafy, M., Shalaby, K., Zafar, A., Abdelgawad, M. A., . . . Abou-Taleb, H. A. (2022). Bilosomes as a promising nanoplatform for oral delivery of an alkaloid nutraceutical: improved pharmacokinetic profile and snowballed hypoglycemic effect in diabetic rats. *Drug Delivery*, 29(1), 2694-2704.
- Emeihe, E. V., Nwankwo, E. I., Ajegbile, M. D., Olaboye, J. A., & Maha, C. C. (2024). Revolutionizing drug delivery systems: Nanotechnology-based approaches for targeted therapy. *International Journal of Life Science Research Archive*, 7(1), 040-058.
- Eugster, R. (2025). Liposomes: Bridging the gap from lab to pharmaceuticals. *International Journal of Pharmaceutics*, 80, 93–101.
- Ezike, T. C., Okpala, U. S., Onoja, U. L., Nwike, C. P., Ezeako, E. C., Okpara, O. J., ... & Nwanguma, B. C. (2023). Advances in drug delivery systems, challenges and future directions. *Heliyon*, 9(6).
- Fabbri, J., Pensel, P. E., Albani, C. M., Lopez, L. M., Simonazzi, A., Bermudez, J. M., . . . Elisondo, M. C. (2020). Albendazole solid dispersions against alveolar echinococcosis: a pharmacotechnical strategy to improve the efficacy of the drug. *Parasitology*, 147(9), 1026-1031.
- Faheem, A. M., & Abdelkader, D. H. (2020). *Novel drug delivery systems*. Elsevier Ltd.
- Fan, D., Cao, Y., Cao, M., Wang, Y., Cao, Y., & Gong, T. (2023). Nanomedicine in cancer therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 8, 293.

- Ferrari, R., Sponchioni, M., Morbidelli, M., & Moscatelli, D. (2018). Polymer nanoparticles for the intravenous delivery of anticancer drugs: The checkpoints on the road from the synthesis to clinical translation. *Nanoscale*, 10, 22701–22719.
- Gandasegui, J., Onwuchekwa, C., Krolewiecki, A. J., Doyle, S. R., Pullan, R. L., Enbiale, W., ... & Muñoz, J. (2022). Ivermectin and albendazole coadministration: opportunities for strongyloidiasis control. *The Lancet Infectious Diseases*, 22(11), e341-e347.
- Gangavarapu, A., Tapia-Lopez, L. V., Sarkar, B., Pena-Zacarias, J., Badruddoza, A. Z. M., & Nurunnabi, M. (2024). Lipid nanoparticles for enhancing oral bioavailability. *Nanoscale*, 16(42), 18319–18338.
- Giri, T. K., Choudhary, C., Alexander, A., & Ajazuddin. (2021). Impact of drug crystallinity on solubility and dissolution: Role of solid-state characterization techniques. *International Journal of Pharmaceutics*, 610, 121216. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.121216>
- Gómez-Lázaro, L., et al. (2024). Assessment of in vitro release testing methods for nanomedicines. *Frontiers in Medical Technology*, 6, 1345678. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10819705/>
- Han, M. J., & Zou, Z. Z. (2024). Enabling a novel solvent method on Albendazole solid dispersion to improve the in vivo bioavailability. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 196, 106751.
- Hanley, T., Vankayala, R., Lee, C.-H., Burns, J. M., & Anvari, B. (2021). Phototheranostics using erythrocyte-based particles. *Biomolecules*, 11(5), 729.
- Hoseini, B., Jaafari, M. R., Golabpour, A., Momtazi-Borojeni, A. A., Karimi, M., & Eslami, S. (2023). Application of ensemble machine learning approach to assess the factors affecting size and polydispersity index of liposomal nanoparticles. *Scientific Reports*, 13(1), 18012.
- Hsu, C.-Y., Rheima, A. M., Kadhim, M. M., Ahmed, N. N., Mohammed, S. H., Abbas, F. H., ... & Hachim, S. K. (2023). An overview of nanoparticles in drug delivery:

- Properties and applications. South African Journal of Chemical Engineering, 46, 233–270.
- Hu, C., Qin, M., Zhang, F., Gao, R., Gan, X., & Du, T. (2023). Improvement of Antialveolar echinococcosis efficacy of novel Albendazole-Bile acids Derivatives with Enhanced Oral Bioavailability. PLOS Neglected Tropical Diseases, 17(1), e0011031.
- Hu S, Niu M, Hu F, Lu Y, Qi J, Wu W. Integrity and stability of oral liposomes containing bile salts studied in simulated gastrointestinal fluids. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2013;111:469-473.
- Huang, W., Chen, S., Sun, L., Wang, H., & Qiao, H. (2023). *In situ single-pass intestinal perfusion in rats for intestinal permeability investigation of drugs*. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences, 85(5), 1429–1435.
- Hussein, N. R., Omer, H. K., Elhissi, A. M. A., & Ahmed, W. (2020). Advances in nasal drug delivery systems. In W. Ahmed, D. A. Phoenix, M. J. Jackson, C. P. B.T.-A. in M., & S. E. Charalambous (Eds.), Chapter 15 - Advances in Nasal Drug Delivery Systems (pp. 279–311). Academic Press.
- Idris, D. S., Roy, A., Pandit, S., Alghamdi, S., Almeahmadi, M., Alsaiari, A. A., ... Faruque, M. R. I. (2023). Polymer-based nanocarriers for biomedical and environmental applications. e-Polymers, 23, 20230049.
- Jain, S., Harde, H., Indulkar, A., & Agrawal, A. K. (2014). Improved stability and immunological potential of tetanus toxoid containing surface engineered bilosomes following oral administration. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 10(2), 431-440.
- Jain, S., Indulkar, A., Harde, H., & Agrawal, A. K. (2014). Oral mucosal immunization using glucomannosylated bilosomes. Journal of Biomedical Nanotechnology, 10(5), 932–947.
- Jain, S., Harde, H., Indulkar, A., & Agrawal, A. K. (2014). Improved stability and immunological potential of tetanus toxoid containing surface engineered bilosomes following oral administration. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and

- Joseph, E., Singhvi, G., Giri, T. K., & Tripathi, D. K. (2017). Effect of cholesterol content on the physicochemical properties of liposomal formulations: Insights from DSC and XRD analysis. *Scientific Reports*, 7(1), 16791. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16791-7>
- Joseph Naguib, M., Moustafa Kamel, A., Thabet Negmeldin, A., Elshafeey, A. H., & Elsayed, I. (2020). Molecular docking and statistical optimization of taurocholate-stabilized galactose anchored bilosomes for the enhancement of sofosbuvir absorption and hepatic relative targeting efficiency. *Drug Delivery*, 27(1), 996–1009.
- Kang, Y., Zhang, S., Wang, G., Yan, Z., Wu, G., Tang, L., & Wang, W. (2024). Nanocarrier-Based Transdermal Drug Delivery Systems for Dermatological Therapy. *Pharmaceutics*, 16(11).
- Kang, Y., Zhang, S., Wang, G., Yan, Z., Wu, G., Tang, L., & Wang, W. (2024). Nanocarrier-Based Transdermal Drug Delivery Systems for Dermatological Therapy. *Pharmaceutics*, 16(11).
- Karunakaran, B., Gupta, R., Patel, P., Salave, S., Sharma, A., Desai, D., ... & Kommineni, N. (2023). Emerging trends in lipid-based vaccine delivery: a special focus on developmental strategies, fabrication methods, and applications. *Vaccines*, 11(3), 661.
- Kaurav, H., Kapoor, D. N., & Upadhyay, N. K. (2023). Bilosomes in Brain Drug Delivery. *Therapeutic Delivery*, 14(8), 473-475.
- Kaurav, H., Singh, K., & Jain, A. (2024). Emerging trends in bilosomes as therapeutic drug delivery systems. *Frontiers in Nanotechnology*, 6, 1120658. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11206586/>
- Kaurav, H., Tripathi, M., Kaur, S. D., Bansal, A., Kapoor, D. N., & Sheth, S. (2024). Emerging Trends in Bilosomes as Therapeutic Drug Delivery Systems. 16(6), 697.

- Khafagy, E. S., Almutairy, B. K., & Abu Lila, A. S. (2023). Tailoring of novel bile salt stabilized vesicles for enhanced transdermal delivery of simvastatin: A new therapeutic approach against inflammation. *Polymers*, 15(3), 677.
- Khalil, R. M., Abdelbary, A., Kocova El-Arini, S., Basha, M., & El-Hashemy, H. A. (2019). Evaluation of bilosomes as nanocarriers for transdermal delivery of tizanidine hydrochloride: In vitro and ex vivo optimization. *Journal of Liposome Research*, 29(2), 171–182.
- Khot, C., Kolekar, K., Dabhale, S., Mohite, A., Nadaf, S. J., Kumbhar, P., & Disouza, J. J. R. P. (2024). Optimized albendazole-loaded nanostructured lipid carrier gel: a redefined approach for localized skin cancer treatment.
- Kim, U., Shin, C., Kim, C. Y., Ryu, B., Kim, J., Bang, J., & Park, J. H. (2021). Albendazole exerts antiproliferative effects on prostate cancer cells by inducing reactive oxygen species generation. *Oncology Letters*, 21(5), 395.
- Kuskov, A., Selina, O., Kulikov, P., Imatdinov, I., Balysheva, V., Kryukov, A., ... Markvicheva, E. (2021). Amphiphilic poly(N-vinylpyrrolidone) nanoparticles loaded with DNA plasmids encoding Gn and Gc glycoproteins of the Rift Valley fever virus: Preparation and in vivo evaluation. *ACS Applied Bio Materials*, 4, 6084–6092.
- Lennernas, H. (1997). Human intestinal permeability. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 86(8), 859–866. <https://doi.org/10.1021/js960353c>
- Li, C., Zhang, Y., Pang, M., Zhang, Y., Hu, C., & Fan, H. (2024). Metabolic mechanism and pharmacological study of albendazole in secondary hepatic alveolar echinococcosis (HAE) model rats. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 68(5), e01449-23.
- López-Yerena, A., Pérez, M., Vallverdú-Queralt, A., Miliarakis, E., Lamuela-Raventós, R. M., & Escribano-Ferrer, E. (2021). *Oleacein intestinal permeation and metabolism in rats using an in situ perfusion technique*. *Pharmaceutics*, 13(5), 719.

- Lu, J., Gao, X., Wang, S., He, Y., Ma, X., Zhang, T., & Liu, X. (2023). Advanced strategies to evade the mononuclear phagocyte system clearance of nanomaterials. *Exploration*, 3, 20220045.
- Lutz, H., Hu, S., Dinh, P.-U., & Cheng, K. (2019). Cells and cell derivatives as drug carriers for targeted delivery. *Medicine in Drug Discovery*, 3, 100014.
- Mahant, S., Sharma, A. K., Gandhi, H., Wadhwa, R., Dua, K., & Kapoor, D. N. (2022). Emerging trends and potential prospects in vaginal drug delivery. *Current Drug Delivery*.
- Mahfufah, U., Sultan, N. A. F., Fitri, A. M. N., Elim, D., Mahfud, M. A. S. B., Wafiah, N., ... & Permana, A. D. (2023). Application of multipolymers system in the development of hydrogel-forming microneedle integrated with polyethylene glycol reservoir for transdermal delivery of albendazole. *European Polymer Journal*, 183, 111762.
- Mahmoud, T. M., Nafady, M. M., Farouk, H. O., Mahmoud, D. M., Ahmed, Y. M., Zaki, R. M., & Hamad, D. S. (2022). Novel bile salt stabilized vesicles-mediated effective topical delivery of diclofenac sodium: A new therapeutic approach for pain and inflammation. *Pharmaceuticals*, 15, 1106.
- Misbah Ul Haq, M., Razzak, M., Uddin, M. A., Ahmed, N., & Shahidulla, D. (2021). Rectal drug delivery system: An overview. *Clinical Pharmacology and Biopharmaceutics*, 10.
- Mondal, D., Bagchi, A., Biswas, S., Dagar, T., Biswas, A., Bagchi, A., & De, S. (2024). Vesicle-encapsulated rolipram (PDE4 inhibitor) and its anticancer activity. *ACS Applied Bio Materials*, 7(1), 369–378.
- Mondal, D., Mandal, R. P., & De, S. (2022). Addressing the Superior Drug Delivery Performance of Bilosomes—A Microscopy and Fluorescence Study. *ACS Applied Bio Materials*, 5(8), 3896-3911.
- Morales, J. O., Vuddanda, P. R., & Velaga, S. (2021). Controlled drug delivery via the buccal and sublingual routes. In *Fundamentals of Drug Delivery* (pp. 433–448).

- Nallamothe, B., Kuche, K., Ghadi, R., Chaudhari, D., & Jain, S. (2023). Enhancing oral bioavailability of insulin through bilosomes: Implication of charge and chain length on apical sodium-dependent bile acid transporter (ASBT) uptake. *International Journal of Biological Macromolecules*, 252, 126565.
- Nayak, D., Rathnanand, M., & Tippavajhala, V. K. (2023). Unlocking the potential of bilosomes and modified bilosomes: A comprehensive journey into advanced drug delivery trends. *AAPS PharmSciTech*, 24, 238.
- Nemati, M., Fathi-Azarbayjani, A., Al-Salami, H., Roshani Asl, E., & Rasmi, Y. (2022). Bile acid-based advanced drug delivery systems, bilosomes and micelles as novel carriers for therapeutics. 40(6), 623-635.
- Nemati, M., Fathi-Azarbayjani, A., Al-Salami, H., Roshani Asl, E., & Rasmi, Y. (2022). Bile acid-based advanced drug delivery systems, bilosomes and micelles as novel carriers for therapeutics. 40(6), 623-635. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/cbf.3732>
- Nikitovic, D., Kukovyakina, E., Berdiaki, A., Tzanakakis, A., Luss, A., Vlaskina, E., ... Kuskov, A. (2024). Enhancing tumor targeted therapy: The role of iRGD peptide in advanced drug delivery systems. *Cancers*, 16, 3768.
- Niu, M., Lu, Y., Hovgaard, L., Guan, P., Tan, Y., Lian, R., . . . Wu, W. (2012). Hypoglycemic activity and oral bioavailability of insulin-loaded liposomes containing bile salts in rats: the effect of cholate type, particle size and administered dose. *Eur J Pharm Biopharm*, 81(2), 265-272.
- Okur, N. Ü., Çağlar, E. Ş., Kaynak, M. S., Diril, M., Özcan, S., & Karasulu, H. Y. (2024). Enhancing oral bioavailability of domperidone maleate: Formulation, *in-vitro* permeability evaluation in Caco-2 cell monolayers and *in-situ* rat intestinal permeability studies. *Current Drug Delivery*, 21(7), 1010–1023. <https://doi.org/10.2174/1567201820666230214091509>
- Palekar-Shanbhag, P., et al. (2020). Rat single-pass intestinal perfusion studies for oral absorption: application to BCS classification. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 152, 105435. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2020.105435>

- Palekar-Shanbhag, P., Lande, S., Chandra, R., & Rane, D. (2020). Bilosomes: Superior Vesicular Carriers. 15(4), 312-320.
- Palugan, L., Cerea, M., Cirilli, M., Moutaharrik, S., Maroni, A., Zema, L., Melocchi, A., Ubaldi, M., Filippin, I., Foppoli, A., & Gazzaniga, A. (2021). Intravesical drug delivery approaches for improved therapy of urinary bladder diseases. *International Journal of Pharmaceutics*: X, 3, 100100.
- Panwar, P., Pandey, B., Lakhera, P. C., & Singh, K. P. (2010). Preparation, characterization, and in vitro release study of albendazole-encapsulated nanosize liposomes. *International Journal of Nanomedicine*, 5, 101–108. <https://doi.org/10.2147/IJN.S8030>
- Parashar, P., Rana, P., Dwivedi, M., & Saraf, S. A. (2019). Dextrose modified bilosomes for peroral delivery: Improved therapeutic potential and stability of silymarin in diethylnitrosamine-induced hepatic carcinoma in rats. *Journal of Liposome Research*, 29(3), 251–263.
- Patil, P. B., Datir, S. K., & Saudagar, R. B. (2019). A review on topical gels as drug delivery system. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(3), 2930.
- Patra, J. K., Das, G., Fraceto, L. F., Campos, E. V. R., Rodriguez-Torres, M. D. P., Acosta-Torres, L. S., ... Sharma, S. (2018). Nano based drug delivery systems: Recent developments and future prospects. *Journal of Nanobiotechnology*, 16, 71.
- Paul, S., Hmar, E. B. L., Pathak, H., & Sharma, H. K. (2022). 6 - An overview on nanocarriers. In L. Kumar & Y. Y. Pathak (Eds.), *Nanocarriers for Drug-Targeting Brain Tumors* (pp. 145-204). Elsevier.
- Paunovska, K., Loughrey, D., & Dahlman, J. E. (2022). Drug delivery systems for RNA therapeutics. *Nature Reviews Genetics*, 23, 265–280.
- Polyzois, I., et al. (2024). Amorphous dispersions for solubility enhancement: advances and challenges. *Molecular Pharmaceutics*, 21(5), 1534–1548. Available at: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.molpharmaceut.4c00711>

- Rajput, T., & Chauhan, M. (2017). Bilosome: a bile salt based novel carrier system gaining interest in pharmaceutical research. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 7.
- Rayaprolu, B. M., Strawser, J. J., & Anyarambhatla, G. (2018). Excipients in parenteral formulations: Selection considerations and effective utilization with small molecules and biologics. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 44(11), 1565–1571.
- Raza, A., Rasheed, T., Nabeel, F., Hayat, U., Bilal, M., & Iqbal, H. M. N. (2019). Endogenous and exogenous stimuli-responsive drug delivery systems for programmed site-specific release. *Molecules*, 24, 1117.
- Sadeghi, R., et al. (2021). Mechanistic role of bile salts in enhancing intestinal absorption of nanocarriers. *Pharmaceutics*, 13(12), 2120. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13122120>
- Sahoo, D., Bandaru, R., Samal, S. K., Naik, R., Kumar, P., Kesharwani, P., & Dandela, R. (2021). Oral drug delivery of nanomedicine. In P. Kesharwani, S. Taurin, & K. B. T.-T. Greish (Eds.), *Chapter 9 - Oral Drug Delivery of Nanomedicine* (pp. 181–207). Academic Press.
- Sahoo, S., Pramanik, A., Saha, S., Dandapat, J., Kumar, A., & Ghosh, A. (2025). Lipid-based bilosome vesicles for enhanced ocular delivery of luteinizing hormone releasing hormone antagonists: Development, optimization and in vivo evaluation. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 198, 106724. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2025.106724>
- Schneeberger, P. H., Gueuning, M., Welsche, S., Hürlimann, E., Dommann, J., Häberli, C., ... & Keiser, J. (2022). Different gut microbial communities correlate with efficacy of albendazole-ivermectin against soil-transmitted helminthiasis. *Nature communications*, 13(1), 1063.
- Shaikh, K., Puja, P., Sangita, K., & Chellam, B. (2018). Development and Evaluation of a Novel Drug Delivery System for Albendazole. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 52, 408-415.
- Sharma, B., & Chauhan, I. (2024). A Review: Bilosomes as Nanocarriers. 14(3), 178-187.

- Sharma, P., Gajula, K., Dingari, N. N., Gupta, R., Gopal, S., Rai, B., & Iacocca, R. G. (2022). Subcutaneous drug delivery: A review of the state-of-the-art modelling and experimental techniques. *Journal of Biomechanical Engineering*.
- Shukla, A., Khatri, K., Gupta, P. N., Goyal, A. K., Mehta, A., & Vyas, S. P. (2008). Oral immunization against hepatitis B using bile salt stabilized vesicles (bilosomes). *J Pharm Pharm Sci*, 11(1), 59-66.
- Shukla, R., Tiwari, A., & Verma, R. K. (2020). Advances in bilosomes for oral drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 17(12), 1795–1807. <https://doi.org/10.1080/17425247.2020.1845657>
- Sideek, S. A., El-Nassan, H. B., Fares, A. R., Elkasabgy, N. A., & ElMeshad, A. N. (2024). Cross-linked alginate dialdehyde/chitosan hydrogel encompassing curcumin-loaded bilosomes for enhanced wound healing activity. *Pharmaceutics*, 16(1), 90.
- Singh, P., Prabakaran, D., Jain, S., Mishra, V., Jaganathan, K. S., & Vyas, S. P. (2004). Cholera toxin B subunit conjugated bile salt stabilized vesicles (bilosomes) for oral immunization. *Int J Pharm*, 278(2), 379-390.
- Song, F., Gong, J., Tao, Y., Cheng, Y., Lu, J., & Wang, H. (2021). A robust regenerated cellulose-based dual stimuli-responsive hydrogel as an intelligent switch for controlled drug delivery. *International Journal of Biological Macromolecules*, 176, 448–458.
- Su, D., et al. (2024). Combination strategies to improve albendazole solubility and oral bioavailability. *Frontiers in Veterinary Science*, 11, 1522856. Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2024.1522856/full>
- Sun, L., Liu, H., Ye, Y., Lei, Y., Islam, R., Tan, S., ... Cai, L. (2023). Smart nanoparticles for cancer therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 8, 418.
- Taléns-Visconti, R., Díez-Sales, O., De Julián-Ortiz, J. V., & Náchter, A. (2022). Nanoliposomes in cancer therapy: Marketed products and current clinical trials. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 4249.

- Tanaka, H., et al. (2024). Co-amorphous solid dispersion system to improve dissolution of poorly soluble drugs. *Pharmaceutics*, 16(7), 1110. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11510661/>
- Thirunavukkarasu, A., Nithya, R., & Jeyanthi, J. (2022). Transdermal drug delivery systems for the effective management of type 2 diabetes mellitus: A review. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 109996.
- Vargason, A. M., Anselmo, A. C., & Mitragotri, S. (2021). The evolution of commercial drug delivery technologies. *Nature Biomedical Engineering*, 5(11), 951–967.
- Vincy, A., Mazumder, S., Amrita, & Banerjee, I. (2022). Recent progress in red blood cells-derived particles as novel bioinspired drug delivery systems: Challenges and strategies for clinical translation. *Frontiers in Chemistry*, 10, 905256.
- Waglewska, E., Pucek-Kaczmarek, A., & Bazylińska, U. (2020). Novel Surface-Modified Bilosomes as Functional and Biocompatible Nanocarriers of Hybrid Compounds. *10(12)*, 2472.
- Wang, B., Hu, S., Teng, Y., Chen, J., Wang, H., Xu, Y., ... Gao, X. (2024). Current advance of nanotechnology in diagnosis and treatment for malignant tumors. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 9, 200.
- Wang, Y., Pi, C., Feng, X., Hou, Y., Zhao, L., & Wei, Y. (2020). The influence of nanoparticle properties on oral bioavailability of drugs. *International Journal of Nanomedicine*, 15, 6295–6310.
- Whittaker, C., Chesnais, C. B., Pion, S. D., Kamgno, J., Walker, M., Basáñez, M. G., & Boussinesq, M. (2022). Factors associated with variation in single-dose albendazole pharmacokinetics: A systematic review and modelling analysis. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 16(10), e0010497.
- Yadavar-Nikraves, M. S., Ahmadi, S., Milani, A., Akbarzadeh, I., Khoobi, M., Vahabpour, R., *et al.* (2021). Construction and characterization of a novel Tenofovir-loaded PEGylated niosome conjugated with TAT peptide for evaluation of its cytotoxicity and anti-HIV effects. *Advanced Powder Technology*, 32(9), 3161-3173.

- Yagolovich, A., Kuskov, A., Kulikov, P., Bagrov, D., Petrova, P., Kukovyakina, E., ... Nosyrev, A. (2024). Assessment of the effects of amphiphilic poly(N-vinylpyrrolidone) nanoparticles loaded with bortezomib on glioblastoma cell lines and zebrafish embryos. *Biomedical Reports*, 20, 37.
- Youness, R. A., Al-Mahallawi, A. M., Mahmoud, F. H., Atta, H., Braoudaki, M., & Fahmy, S. A. (2023). Oral delivery of psoralidin by mucoadhesive surface-modified bilosomes showed boosted apoptotic and necrotic effects against breast and lung cancer cells. *Polymers*, 15(7), 1464.
- Zakaria, M. Y., Abd El-Halim, S. M., Beshay, B. Y., Zaki, I., & Abourehab, M. A. S. (2023). Poly phenolic phytoceutical loaded nano-bilosomes for enhanced Caco-2 cell permeability and SARS-CoV-2 antiviral activity: In-vitro and in-silico studies. *Drug Delivery*, 30(1), 2162157.
- Zakaria, M. Y., Fayad, E., Althobaiti, F., Zaki, I., & Abu Almaaty, A. H. (2021). Statistical optimization of bile salt deployed nanovesicles as a potential platform for oral delivery of piperine: Accentuated antiviral and anti-inflammatory activity in MERS-CoV challenged mice. *Drug Delivery*, 28(1), 1150–1165.
- Zelepukin, I. V., Shevchenko, K. G., & Deyev, S. M. (2024). Rediscovery of mononuclear phagocyte system blockade for nanoparticle drug delivery. *Nature Communications*, 15, 4366.
- Zhang, Y. F. (2024). Co-amorphization, dissolution, and stability of quench-cooled amorphous systems. *Pharmaceutics*, 16(12), 1488. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16121488>
- Zhu, Y., Zhu, L., Wang, X., & Jin, H. (2022). RNA-based therapeutics: An overview and prospectus. *Cell Death & Disease*, 13, 644.
- Zou, L., Cheng, M., Hu, K., Feng, J., & Tu, L. (2024). Vesicular drug delivery systems for oral absorption enhancement. *Chinese Chemical Letters*, 35(7), 109129.

ÖZ GEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ayah ALSAWAIE

Yabancı Dil : İngilizce,Türkçe

Eğitim Bilgileri:

Bachelor of Pharmacy (B.Pharm.) – Jadara University, Irbid, Jordan

Mesleki Deneyimi:

ALSAWAIE Pharmacy – *Irbid, Jordan*

3 years

Bilimsel Faaliyetleri:

ALSAWAIE, A., & KAYNAK, M. S., (2024). Importance of Perfusion Medium in Single Pass Rat Intestinal Permeability (SPIP) Studies. Current Research in Medicine and Health Sciences-2024 (pp.167-186), Lyon: Livre de Lyon.