



**KURKUMİN YÜKLÜ AKUAZOMLARIN HAZIRLANMASI VE
KARAKTERİZASYONU**

Yüksek Lisans Tezi

Fernando BWALYA

Eskişehir 2024

**KURKUMİN YÜKLÜ AKUAZOMLARIN HAZIRLANMASI VE
KARAKTERİZASYONU**

Fernando BWALYA

Yüksek Lisans Tezi

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mustafa Sinan KAYNAK

İkinci Danışman: Prof. Dr Murat ERDEM

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Temmuz 2024

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Fernando BWALYA'nın "Kurkumin Yüklü Akuazomların Hazırlanması ve Karakterizasyonu" başlıklı tezi **30 Temmuz 2024** tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, **Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı** **Fatmasötik Teknoloji programında, yüksek lisans tezi** olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı)	: Prof. Dr. Mustafa Sinan KAYNAK	
Üye	: Prof. Dr. Müzeyyen DEMİREL	
Üye	: Prof. Dr. Yılmaz CAPAN	

Prof. Dr. Saime ÖNCE
Anadolu Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ÖZET

KURKUMİN YÜKLÜ AKUAZOMLARIN HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONU

Fernando BWALYA

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Temmuz, 2024

Danışman: Prof. Dr. Mustafa Sinan KAYNAK

İkinci Danışman: Prof. Dr. Murat ERDEM

Akuazomlar, bir çekirdek, karbonhidrat katmanı ve dış aktif farmasötik bileşenler katmanı oluştururlar. Bu çalışmanın amacı, yeni bir ilaç taşıyıcı sistem olarak kurkumin yüklü akuazomların geliştirilmesi ve değerlendirilmesidir.

Formülasyonunun optimizasyonu, Design Expert® yazılımı kullanılarak Yanıt Yüzeyi Metodolojisi ile gerçekleştirilmiştir. Çekirdek-kaplama oranı, inkübasyon süresi ve ilaç miktarı gibi faktörler optimize edilmiştir. Akuazomlar, hidroksiapatit (HAP) çekirdeklerinin şekerlerle kaplanması ve polivinilpirolidon kullanılarak kurkumin ile yüklenmesi yoluyla hazırlanmıştır. Fizikokimyasal özellikler, partikül boyut dağılımı, zeta potansiyeli, FTIR analizi ve enkapsülasyon etkinliği ile karakterize edilmiştir. *In vitro* ilaç salım çalışmaları ve stabilite değerlendirmeleri farklı pH ve saklama koşullarında gerçekleştirilmiştir.

Optimize edilmiş formülasyon parametreleri, 55,41 nm partikül boyut dağılımı ve 0,374 PDI değerine sahip HAP çekirdekleri vermiştir. Şeker kaplı nanopartiküller, 149,6 nm partikül boyut dağılımı ulaşan laktoz kaplı HAP ile partikül boyut dağılımı arttığını göstermiştir. Kurkumin yüklü akuazomlar daha büyük boyutlara ulaşmış, AQ-sükroz ve AQ-maltoz formülasyonları sırasıyla 215,6 nm ve 329,5 nm olarak ölçülmüştür. Zeta potansiyel analizi koloidal stabilite sağladığını göstermiştir. Enkapsülasyon verimliliği %50 ile %55,1 arasında değişmiş ve trehaloz kaplı akuazomlar en iyi performansı göstermiştir. Kurkumin yüklü akuazomlar 90 dakikada %80'in üzerinde salım göstermiştir. Trehaloz akuazomları, 100 dakikadan kısa sürede %90 salımla en yüksek salımı sergilemiştir. Stabilite değerlendirmeleri ve fotostabilite testleri, 90 gün boyunca önemli bir değişiklik olmadığını ve ışığa karşı koruma sağlandığını göstermiştir.

Sonuç olarak, QbD ilkeleri ile optimize edilmiş, gelişmiş stabilite ve çözünürlüğe sahip kurkumin yüklü akuazomlar başarıyla elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Akuazom, Kurkumin, *In Vitro*, Oral uygulama, Karakterizasyonu.

ABSTRACT

PREPARATION AND CHARACTERISATION OF CURCUMIN-LOADED AQUASOMES

Fernando BWALYA

Department of Pharmaceutical Technology

Anadolu University, Graduate School, July, 2024

Supervisor: Prof. Dr. Mustafa Sinan KAYNAK

Second Supervisor: Prof. Dr. Murat ERDEM

Aquasomes are nanocarrier systems with a core, carbohydrate layer, and outer active pharmaceutical ingredients layer. This study aimed to develop and evaluate curcumin-loaded aquasomes as a novel drug delivery system.

Optimization used Central Composite Design within Response Surface Methodology in Design Expert software. Factors like core-to-coat ratio, incubation time, and drug amount were optimized for particle size distribution index (PDI), zeta potential, and particle size. Aquasomes, prepared by coating hydroxyapatite (HAP) cores with sugars and loading them with curcumin using polyvinylpyrrolidone, were characterized for size, zeta potential, FTIR analysis, and encapsulation efficiency. In vitro drug release studies and stability assessments were conducted under various storage conditions.

Optimized HAP cores had a particle size of 55.41 nm and a PDI of 0.374. Sugar coatings increased particle size, with lactose-coated HAP at 149.6 nm. Curcumin-loaded aquasomes exhibited larger sizes, with AQ-sucrose and AQ-maltose formulations measuring 215.6 nm and 329.5 nm, respectively. Zeta potential analysis indicated good colloidal stability. SEM and EDX analyses confirmed successful coating and drug loading. Encapsulation efficiencies ranged from 50% to 55.1%, with trehalose-coated aquasomes performing best. Curcumin-loaded aquasomes showed significant release profiles: over 80% in 90 minutes for trehalose, maltose, sucrose, and lactose aquasomes. Trehalose aquasomes exhibited the highest release, with 90% released in less than 100 minutes. Stability assessments indicated no significant changes over 90 days, and photostability tests revealed enhanced protection against light-induced degradation.

This study successfully developed curcumin-loaded aquasomes with enhanced stability and solubility optimized through QbD principles.

Keywords: Aquasome, Curcumin, *In Vitro*, Oral delivery, Characterisation

Bilginin sınırlarını zorlamak ve daha iyi bir dünya yaratmak için yorulmadan çabalayan tüm hayalperestlere ve eylemcilere, bu çalışma size adanmıştır. Merak kıvılcımının inovasyon alevlerini tutuşturmasına izin verin.

TEŞEKKÜR

Akademik yolculuğum boyunca hiç eksilmeyen sevgisi, desteği ve teşviği için anneme en içten şükranlarımı sunuyorum. Bana inandığınız için teşekkür ederim; sonsuza dek minnettarım. Hayallerimin peşinden gitmem için bana ilham veren arkadaşlarımın motivasyonu ve teşviği için de minnettarım.

Destek ve yardımları için hem personel hem de öğrenciler dahil olmak üzere Farmasötik Teknoloji Bölümü'ne en içten teşekkürlerimi sunarım. Rehberliği ve danışmanlığı ile bir araştırmacı olarak gelişime önemli katkılarda bulunan danışmanıma özel teşekkürlerimi sunarım. Liban Barre'ye bana Design Expert sürüm 13'ü öğretmedeki paha biçilmez rehberliği ve araştırma konumun geliştirilmesindeki önemli katkıları için en içten teşekkürlerimi sunmak istiyorum. Onun motivasyonu ve teşviki ilerlememde etkili oldu. Ayrıca Berna Kaval'a nihai makalemin redaksiyonunda bana yardımcı olduğu için minnettarım.

Çığır açan çalışmaları evreni ve yaşamı anlamamızı önemli ölçüde etkileyen bazı seçkin bilim insanlarına en derin şükranlarımı sunmak istiyorum. Charles Darwin'in doğal seçim yoluyla evrim teorisi, kökenimizi anlamamızın ve fareler gibi hayvanlarda *in-vivo* çalışmalar yapmamızın temelini oluşturduğu için minnettarım. Richard Dawkins'in en sevdiğim sözlerinden biri 'Maymunlar gibi olduğumuzu kabul ediyoruz ama maymun olduğumuzu nadiren fark ediyoruz' sözüdür. Evren bize hiçbir şey borçlu olmadığına ve hayatlarımız kısa olduğuna göre, meraklı olmalıyız ve bu da bilimin güzelliğidir. Dawkins'in karmaşık fikirleri açıklık ve tutkuyla aktarma becerisi, fikirlerimi etkili bir şekilde aktarmam için bana ilham verdi.

Bana bu eğitim fırsatını sağladıkları için Yurtdışı Türkler ve Akraba Topluluklar Başkanlığı'na (YTB) derinden minnettarım. Onların sponsorluğu akademik yolculuğumda çok etkili oldu.

Ayrıca, SEM ve EDX analizlerindeki yardımlarından dolayı Anadolu BİBAM'a ve FTIR analizlerindeki yardımlarından dolayı ikinci danışmanım Prof. Dr. Murat Erdem'e çok teşekkür ederim.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYUM BEYANI

Bu tezin tarafımdan hazırlanmış özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve sunum aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilebilen tüm veri ve bilgilerin kaynaklarını gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynaklar kısmında yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan "bilimsel intihal tespit programı" ile intihal taramasından geçirildiğini ve herhangi bir şekilde "intihal içermediğini" beyan ederim. Ayrıca, çalışmamda herhangi bir zamanda beyanıma aykırı bir durumun tespit edilmesi halinde, doğacak tüm etik ve hukuki sonuçlara rıza gösterdiğimi beyan ederim.

Fernando BWALYA

İÇİNDEKİLER

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR	vii
ETİK İLKE VE KURALLARA UYUM BEYANI	viii
İÇİNDEKİLER	ix
TABLolar LİSTESİ	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
KISALTMALAR & SEMBOLLER.....	xvi
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Bazı İlaçların Düşük Çözünürlük ve Geçirgenlik Sorunu	1
1.2. Mevcut İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Sınırlamaları.....	1
1.3. Nanopartikül Sistemleri.....	2
1.4. Çözünürlüğü Düşük İlaçlar.....	2
1.5. Potansiyel Bir Çözüm Olarak Akuazomlara Genel Bakış	4
1.6. Akuazomlar	4
1.7. Akuazomların Özellikleri	5
1.8. Akuazom Formülasyon Optimizasyonu.....	5
1.9. Akuazomların Hazırlanma Yöntemi ve Yapısı	6
1.10. Akuazomların Karakterizasyonu	7
1.11. Çalışmanın Önemi.....	8
1.12. Amaç.....	9
1.12.1. Hedefler	9
2. LİTERATÜR TARAMASI.....	10
2.1. Giriş	10
2.2. Mevcut İlaç Taşıyıcı Sistemleri ve Sınırlamaları	10
2.3. Düşük Çözünürlük ve Permeabiliteye Sahip İlaçların Seçimi.....	10
2.4. Kurkumin Farmakolojik Aktivitesi.....	11
2.5. Akuazom Teknolojisi	12
2.4.1. Akuazomların bileşenleri ve yapısı	12
2.4.2. Akuazomların birleştirilmesi ve işlevselleştirilmesi	15
2.6. Akuazom Hazırlama Yöntemleri.....	17

2.6.1.	Kalay oksit nanokristal seramiklerin sentezi	17
2.6.2.	Kendiliğinden bir araya gelen nanokristalin bruşit	17
2.6.3.	Dendrimer Yöntemi	18
2.6.4.	HAP sentezi	18
2.6.5.	Diğer seramiklerin sentezi.....	18
2.7.	Karakterizasyon	19
2.7.1.	Antron reaksiyonu	19
2.7.2.	Concanaalin-A ile indüklenen agregasyon	19
2.7.3.	Fenol sülfürik asit yöntemi.....	19
2.8.	Akuazomların Geleneksel İlaç Taşıyıcı Sistemlerine Göre Avantajları ...	19
2.9.	Akuazom Bazlı İlaç Uygulanması Üzerine Önceki Çalışmalar	20
2.9.1.	Antijen.....	20
2.9.2.	Gen terapisi	20
2.9.3.	İnsülin	21
2.9.4.	Oksijen taşıyıcılar	21
2.9.5.	Enzim	21
2.9.6.	Düşük çözünürlüklü ilaçlar.....	22
2.10.	Akuazomların Eliminasyonu.....	24
2.11.	Önceki çalışmalar ve bu çalışmanın analiz ve yorumları	25
2.12.	Akuazomun Formülasyonunda Tasarım Yoluyla Kalitenin Rolü	26
2.13.	Merkezi Kompozit Tasarım Kullanılarak Formülasyonun Optimizasyonu.....	26
3.	MALZEMELER.....	28
3.1.	Kullanılan Kimyasal Malzemeler	28
3.2.	Kullanılan Ekipman ve Cihazlar	28
3.3.	Kullanılan Bilgisayar Programları	29
4.	YÖNTEMLER.....	30
4.1.	DeneySEL Tasarım	30
4.1.1.	DeneySEL tasarımın optimizasyonu	30
4.2.	Akuazomların Hazırlanması.....	31
4.2.1.	Seramik çekirdeğin hazırlanması.....	31
4.2.2.	HAP 'nın hazırlanması	32
4.2.3.	Çekirdek kaplaması.....	32
4.3.	İlaç Yükleme	34
4.4.	Analitik Yöntem Geliştirme ve Validasyon Çalışmaları	34

4.4.1.	Analitik miktar tayini için validasyon çalışmaları.....	34
4.5.	Fizikokimyasal Karakterizasyon	36
4.5.1.	Partikül boyut dağılımı ve zeta potansiyel analizi	36
4.5.2.	Morfoloji	36
4.5.3.	FTIR analizi.....	36
4.5.4.	Diferansiyel taramalı kalorimetri ve termogravimetrik analiz.....	37
4.5.5.	Kapsülleme Verimliliği.....	37
4.6.	<i>In Vitro</i> İlaç Salım Çalışmaları	38
4.7.	<i>In Vitro</i> Salım Kinetiği	38
4.7.1.	Sıfırıncı derece kinetiği.....	38
4.7.2.	Birinci dereceden kinetik	39
4.7.3.	Higuchi modeli	39
4.7.4.	Korsmeyer-Peppas modeli	39
4.7.5.	Hixson-Crowell modeli	40
4.8.	Stabilite Çalışmaları.....	40
4.8.1.	Uzun süreli kararlılık çalışmaları	40
4.8.2.	Fotostabilite çalışmaları	40
4.9.	Biyoyumluluk Değerlendirmesi	41
4.9.1.	Hemoliz testi	41
4.9.2.	Deney grupları.....	41
4.9.3.	Veri analizi.....	42
4.10.	İstatistiksel Analiz	42
4.11.	Etik Hususlar	43
5.	SONUÇLAR.....	44
5.1.	Giriş	44
5.2.	Akuazomların Hazırlanması.....	44
5.3.	Formülasyonun Optimizasyonu.....	44
5.3.1.	Faktörlerin etkisi.....	45
5.3.2.	2FI Modeli İçin ANOVA	46
5.3.3.	2FI Modeli İçin ANOVA	47
5.3.4.	Kuadratik model için ANOVA	48
5.4.	Kurkumin Miktar Tayini için Validasyon Sonuçları	50
5.4.1.	Analitik miktar tayini için validasyon	50
5.5.	Fizikokimyasal Karakterizasyon	54

5.5.1.	Partikül boyut dağılımı, PDI ve zeta potansiyeli	54
5.5.2.	SEM.....	59
5.5.3.	EDX analizi.....	60
5.5.4.	Enkapsülasyon verimliliği.....	63
5.5.5.	Fourier dönüşümlü infrared (FTIR).....	64
5.5.6.	Termogravimetrik ve diferansiyel taramalı kalorimetri analiz	66
5.6.	<i>In Vitro</i> İlaç Salım Çalışmaları	68
5.7.	<i>In Vitro</i> Salım Kinetiği	70
5.8.	Stabilite Çalışmaları.....	71
5.8.1.	Uzun süreli kararlılık çalışmaları	71
4.9.2.	Fotostabilite.....	73
5.9.	Biyoyumluluk Çalışmaları	75
6.	TARTIŞMA.....	78
6.1.	Formülasyon Optimizasyonu	78
6.2.	Analitik Yöntem Geliştirilmesi ve Validasyon Çalışmaları	79
6.3.	Karakterizasyonlar	79
6.3.1.	Partikül boyut dağılımı ve zeta potansiyel analizi	79
6.3.2.	SEM/ EDX	79
6.3.3.	Kapsülleme verimliliği.....	80
6.3.4.	FTIR.....	80
6.3.5.	TGA ve DSC	81
6.4.	<i>In Vitro</i> İlaç Salımı ve Kinetiği.....	82
6.5.	Kararlılık	83
6.5.1.	Uzun süreli kararlılık	83
6.5.2.	Fotostabilite	83
6.6.	Biyoyumluluk	84
7.	SONUÇ	85
	KAYNAKÇA.....	87
	EKLER	1
	TANIMLAR	1
	ETİK ONAY BELGESİ	3
	ÖZGEÇMİŞ	4

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 1.1. Akuazomların Karakterizasyonu [29,31,32,35,37,47,48].....	7
Tablo 4.1. Akuazomların hazırlanması için CCD ve RSM ile hesaplanan optimize edilmiş koşullar.....	31
Tablo 4.2. UV-Spektrofotometre Çalışma Koşulları	35
Tablo 4.3. Hemoliz testinde kullanılacak gruplar.	42
Tablo 5.1. Akuazomların ortalama partikül boyut dağılımı üzerinde test edilen değişkenlere ilişkin deneysel sonuçlar.....	44
Tablo 5.2. Seçilen faktöriyel model için ANOVA (yanıt 1: Zeta Potansiyeli)	46
Tablo 5.3. Seçilen faktöriyel model için ANOVA (yanıt 2: partikül boyut dağılımı) ..	47
Tablo 5.4. Seçilen faktöriyel model için ANOVA (yanıt 3: PDI)	48
Tablo 5.5. Kesinlik - Tekrarlanabilirlik çalışması sonuçları.....	51
Tablo 5.6. Hazırlanan serilere ait yüzde geri kazanım sonuçları	52
Tablo 5.7. Çekirdek, Şekerler ile Kaplanmış çekirdek ve PVP ile Kurkumin Yüklü akuazomların partikül boyut, PDI ve zeta potansiyeli analizi	57
Tablo 5.8. Enkapsülasyon Verimliliği Ölçümü (%) Yükleme kapasitesi (%)	63
Tablo 5.9. HAP, şeker kaplı çekirdek ve Kurkumin yüklü AQ'daki karakteristik IR bantlarının karşılaştırılması.....	64
Tablo 5.10. Çeşitli modellerden in vitro salım verileri için elde edilen doğrusal korelasyon katsayıları.	71
Tablo 5.11. Kurkumin yüklü akuazomların 25°C ±1°C/%60 RH ±%2 RH'de 3 ay boyunca stabilite çalışmaları. Değerler Ortalama ± SD olarak raporlanmıştır.....	71
Tablo 5.12. Kurkumin yüklü akuazomların 4°C ±3°C/%60 RH ±%2 RH'de 3 ay boyunca stabilite çalışmaları. Değerler Ortalama ± SD olarak raporlanmıştır.....	72

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Kurkumin ve metabolitlerinin yapısı [25]	3
Şekil 1.2. Akuazomların yapısı [37]	4
Şekil 1.3. Akuazomların sentezi [31]	7
Şekil 2.1. Kaplama için kullanılan çeşitli şekerlerin moleküler yapısı (ChemSketch) ..	15
Şekil 5.1. İnkübasyon süresi ve çekirdek: kaplama zeta potansiyeli (mV) üzerindeki etkisi	45
Şekil 5.2. Çekirdek: kaplama ve ilaç miktarının partikül boyut dağılımı (nm) üzerindeki etkisi	47
Şekil 5.3. İnkübasyon Süresi ve Çekirdek: katının PDI üzerindeki etkisi	48
Şekil 5.4. İnkübasyon süresi ve çekirdek: katın arzu edirlilik üzerindeki etkisi	49
Şekil 5.5. Kurkumin ait kalibrasyon grafiği	51
Şekil 5.6. 0,1 N HCl ortamında hazırlanan Kurkumin'in absorbands spektrumu	53
Şekil 5.7. 0,1 N HCl ortamına ait absorbands spektrumu	53
Şekil 5.8. PVP ait absorbands spektrumu	53
Şekil 5.9. Placebo (etkin madde içermeyen) formülasyona ait absorbands spektrumu ...	53
Şekil 5.10. HAP'ın partikül boyut dağılımı analizi	54
Şekil 5.11. HAP'ın Zeta Potansiyeli	55
Şekil 5.12. Laktoz Yüklü HAP'ın Zeta Potansiyel Dağılımı	55
Şekil 5.13. Laktoz yüklü HAP'ın partikül boyut dağılımı	56
Şekil 5.14. Kurkumin yüklü AQ- Trehaloz'un Zeta Potansiyeli	56
Şekil 5.15. Kurkumin yüklü AQ-Maltose'un partikül boyut dağılımı	57
Şekil 5.16. HAP, şeker kaplı çekirdek ve Kurkumin yüklü AQ'nun SEM görüntüleri ..	60
Şekil 5.17. HAP, şeker kaplı çekirdek ve Kurkumin yüklü AQ'nun EDX analizleri	62
Şekil 5.18. HAP, şeker kaplı çekirdek ve Kurkumin yüklü AQ'nun FTIR	65
Şekil 5.19. TGA ve DSC grafikleri	67
Şekil 5.20. 1,2 pH' da in-vitro çözünme	69
Şekil 5.21. Fosfat tampon çözeltisinde in vitro saf ve Kurkumin yüklü AQ salım profilleri, pH 7.4	70
Şekil 5.22. Kurkumin Yüklü AQ'nun çeşitli parametreleri üzerinde fotostabilite çalışmaları ve saf Kurkumin ile karşılaştırılması	74

Şekil 5.23. Kurkumin Yüklü AQ'nun altı dilüsyonu ile inkübe edilen RBC'lerin fotoğrafı. Triton X 100 (+) ve %0,9 salin (-) sırasıyla pozitif ve negatif kontrollerdir. (a) %0,9 salin (Negatif Kontrol), (b) Triton X 100 (c) (Pozitif Kontrol) Saf Kurkumin, (d) Kurkumin Yüklü AQ-Laktoz, (e) Kurkumin Yüklü AQ-Maltoz, (f) Kurkumin Yüklü AQ-Trehaloz (g) Kurkumin Yüklü AQ-Sükroz 76

Şekil 5.24. Saf Kurkumin ve Aquasome Formülasyonlarının farklı konsantrasyonları ile inkübe edilen RBC'lerin hemoliz yüzdesi..... 77



KISALTMALAR & SEMBOLLER

AP-1	Aktivatör Protein 1
AQ	Akuazomlar
ATP	Adenozin trifosfat
BCS	Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi
BSA	Sığır Serum Albümini
CCD	Merkezi Kompozit Tasarım
CDK4	Siklin Bağımlı Kinaz 4
CMC	Kimya, Üretim ve Kontrol
COX-2	Siklooksijenaz-2
CQA	Kritik Kalite Özellikleri
CRA	Kritik Süreç Parametreleri
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetri
ELISA	Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Testi
EMA	Avrupa Tıp Otoritesi
FDA	Gıda ve İlaç İdaresi
g	gram
GI	Gastrointestinal
GIT	Gastrointestinal Sistem
GSH	Glutasyon (indirgenmiş form)
HAP	Hidroksiapatit
IL	İnterlökin
Inos	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
kg	kilogram
MAPK	Mitojenle Etkinleşen Protein Kinaz
MIC	Minimum İnhibitör Konsantrasyon
mL	Mililitre
mV	Milivolt
Mw	Moleküler ağırlık
NaOH	Sodyum Hidroksit
NF-κB	Nükleer Faktör Kappa-Işık Zinciri-Aktive B Hücrelerinin Destekleyicisi
nm	Nanometre

P-gp	P-glikoprotein
PLA	Poli (laktik asit)
PVP	Polivinil pirolidon
QbD	Tasarımla Kalite
QTPP	Kalite Hedefi Ürün Profili
RBC	Kırmızı kan hücreleri
RH	Bağıl Nem
RSM	Yanıt Yüzey Metodolojisi
SD	Standart Sapma
SDS-PAGE	Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroforezi
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
SF	Serum Fizyolojik
SLN	Katı lipid nanopartikül
SPSS	Sosyal bilimler için istatistiksel paket
STAT3	Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü 3
TEM	Geçirimli Elektron Mikroskopisi
TGF- β	Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta
TİTCK	Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu
TNF- α	Tümör Nekroz Faktörü Alfa
TRPV-1	Geçici Reseptör Potansiyel Vanilloid 1
XRD	X-ışını Difraktometresi
α	Alfa
β	Beta
λ	Lambda
$\lambda_{\max}$	Maksimum absorbans verdiği dalgaboyu
μm	Mikrometre

1. GİRİŞ

1.1. Bazı İlaçların Düşük Çözünürlük ve Geçirgenlik Sorunu

İlaçları uygulamak için en çok kullanılan ve en uygun yol ağızdan vermektir, çünkü bunu yapmak kolaydır ve hastaların tedavi planlarına sadık kalmalarına yardımcı olmaktadır [1]. Bununla birlikte, bazı ilaçların düşük çözünürlüğü ve geçirgenliği nedeniyle ilaç taşıyıcı sistemleri oluşturmak zor olabilir [2]. Bu zorluklar, ilaçların vücutta ne kadar iyi çalıştığını etkileyebilir ve potansiyel olarak ideal tedavi sonuçlarından daha azına yol açabilir [3].

Yüksek Verimli Tarama teknikleri kullanılarak keşfedilen birçok ilacın suda çözünürlüğünde sorun yaşanmaktadır. Bu ilaçların büyük bir kısmı Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (BCS) Sınıf II ve IV kategorilerine girmektedir [4]. Sınıf II ilaçlar düşük çözünürlük ancak yüksek permeabiliteye sahipken, Sınıf IV ilaçlar hem düşük çözünürlüğe hem de düşük permeabiliteye sahiptir. İlaç taşıyıcı sistemde çözünme sorunu genellikle düşük çözünürlükten kaynaklanır ve bu da ilacın vücutta ne kadar iyi emildiğini etkiler [5,6]. Bu sorunların üstesinden gelmek için ilaç çözünürlüğünü artırmaya yönelik çeşitli yöntemler araştırılmaktadır. Bunlar arasında partikül boyutu küçültülmesi, tuzlarının oluşturulması, çözünme için uygun çözücülerin kullanılması ve lipid bazlı formülasyonların dahil edilmesi gibi yöntemler bulunmaktadır. Ancak, bir ilaç veya ilaç grubu için iyi sonuç veren bir yöntem, diğerleri için her zaman etkili olmayabilir [7].

İlaçların nasıl emildiğini etkileyen bir diğer kritik husus da permeabiliteleridir. Partiküllerin boyutu, yağda ne kadar iyi çözündükleri ve P-glikoprotein (P-gp) gibi proteinlerle olan etkileşimleri gibi faktörler ilaçların vücuttaki biyolojik bariyerlerden geçişini etkileyebilir [8]. BCS Sınıf III altında kategorize edilen ilaçlar, yüksek oranda çözünür ancak zayıf permeabiliteye sahip olarak bilinir ve Sınıf IV biyolojik bariyerleri geçmekte zorluklarla karşılaşır, bu da ilacın vücut tarafından ne kadarının kullanılabileceğini etkiler [4,5].

1.2. Mevcut İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Sınırlamaları

Tabletler, kapsüller, süspansiyonlar ve solüsyonlar gibi mevcut ilaç uygulama yöntemlerinde genellikle biyoyararlanım sorunları vardır ve bu da terapötik etkinliklerini etkiler [1,9]. Örneğin, suda iyi çözünmeyen ilaçlar yavaş veya eksik emilebilir ve bu da ilacın sistemik dolaşıma düşük seviyelerde girmesine neden olabilir [7]. Ayrıca ilk geçiş metabolizması ve P-gp gibi bazı protein pompaları gibi süreçler ilaç emilimini

engelleyebilir. Vücuttaki kullanılabilirliklerini azaltır [10]. Bu zorluklar daha yüksek dozlar veya sık doz programları gerektirebilir, bu da daha fazla yan etkiye neden olabilir ve hastaların tedavi planlarına uyumlarını zorlaştırabilir [11].

1.3. Nanopartikül Sistemleri

İlaçların uygulanması için nanoteknoloji tabanlı sistemlerin kullanılması, geleneksel ilaç taşıyıcı sistemlerle bağlantılı eksikliklerin giderilmesi için bir çözüm olarak görülmektedir. Bu yeni teknolojiler kanser tedavisi, nörolojik hastalıklar, kardiyovasküler bozukluklar ve bulaşıcı hastalıkların tedavisi gibi sağlık uygulamalarında büyük ilgi görmektedir [12]. İlaçların uygulanması için nanoteknoloji kullanmanın faydalarından biri, tedaviyi tam ihtiyaç duyulan yere götürebilmesidir; bu da ilacın daha iyi çalışmasını sağlayabilir ve yan etkileri azaltabilir [13].

Tıbbi nanoteknoloji alanında yapılan araştırmalar sayesinde bu özel ilaç taşıyıcı sistemlerine yönelik pazar büyümektedir. Bilim insanları lipozomlar, polimer nanopartiküller, dendrimerler ve inorganik nanopartiküller gibi malzemeler yaratarak ilaçların ihtiyaç duyulan yerlerde salımını ve nasıl çalışacaklarının eskisinden daha iyi kontrol edilmesini mümkün kılıyor [14]. Nanoteknolojideki ilerlemeler sayesinde artık farklı türde ilaçları taşıyabilen ilaç taşıyıcı sistemlere, teşhis için görüntüleme araçlarına ve belirli hücreleri hedef alan moleküllere sahibiz. Tüm bunlar; hastalıkları teşhis ve tedavi etmek için daha etkili yollar sağlamaktır [15,16].

Lipozomlar, miseller ve nanopartiküller gibi bu gelişmiş ilaç taşıyıcı sistemler, çözünmesi güç ilaçların kullanımını ve vücut tarafından emilimini kolaylaştırmaya yardımcı olabilirken, bazı zorlukları da beraberinde getirmektedir. Özel ekipman ve beceri gerektiren karmaşık hazırlama yöntemlerine gereksinim duyulmasını ve bu da faydalarının yanı sıra güvenlik endişelerini de beraberinde getirebilir [1]. Ayrıca, bu yeni taşıyıcıların stabilitesi; sıcaklık, pH seviyeleri ve iyonik güç gibi değişkenlerden etkilenebilir ve bu da etkinliklerini ve saklama koşullarını etkileyebilir [6]. Ayrıca bu taşıyıcı sistemler retiküloendotelyal sistem tarafından vücuttan hızla elimine edilerek dolaşımdaki süreleri ve tedavi etkinliği potansiyelleri sınırlandırılabilir [17].

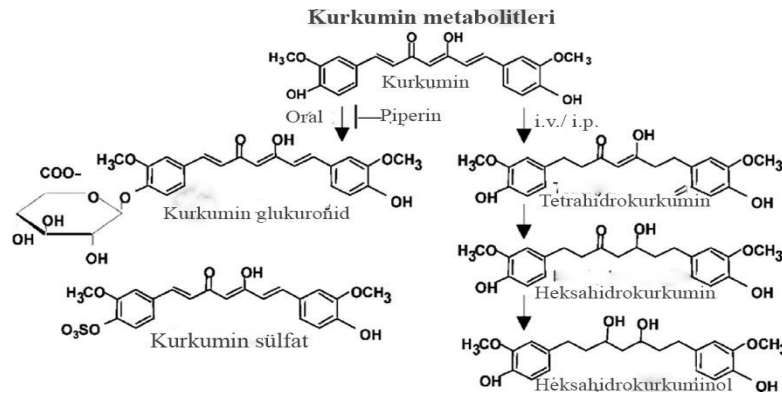
1.4. Çözünürlüğü Düşük İlaçlar

Oral uygulama için tasarlanan ilaçlar ve formülasyonlar, biyolojik olarak tutarlı çözünürlük ve çözünme testlerinden geçmelidir [18]. İlaçların %70'inin suda

çözünürlüğünün düşük olduğunu ve şu anda piyasada bulunan ağızdan uygulanan ilaçların yaklaşık %40'ının sulu çözeltilerde (100 µg/mL'den az) iyi çözünmediğini belirtmek gerekir. Bu sorunu ele almak için dispersiyonlar, lipozomlar ve nanosüspansiyonlar gibi formülasyon yaklaşımları, bu tür ilaçların çözünürlüğünü ve kullanılabilirliğini artırmak için organik çözücüler kullanabilir [11].

Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) ve Avrupa İlaç Ajansı (EMA) gibi düzenleyici kurumlar ve Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu (TİTCK) nanoteknolojiye dayalı ilaç taşıyıcı sistemlerle ilgili zorlukların üstesinden gelmeyi amaçlayan kılavuzlar oluşturmaktadır [19]. Gelişmiş teknolojileri kullanan ilaçlar için kimya, üretim ve kontrol (CMC) belgeleri hazırlanırken bu öneriler veya kılavuzlar dikkate alınmalıdır [20].

Zerdeçal baharatında bulunan polifenolik bir bileşik olan kurkumin, iltihaplanmayı azaltma, oksidatif stresle mücadele etme, hücre büyümesini engelleme ve antianjiyojenik etkiler dahil olmak üzere çeşitli özelliklere sahiptir [21,22]. Kurkumin BCS tarafından Sınıf IV ilaç olarak sınıflandırılır, suda çözünürlüğü düşüktür ve gastrointestinal permeabilitesi ihmal edilebilir düzeyde düşüktür [23]. Ayrıca kurkumin, ilaçların hücrelerden atılmasına yardımcı olan ve kurkuminin etkili bir şekilde emilmesini zorlaştıran bir protein olan P-gp'in (ATP'ye bağımlı bir transmembran ilaç eliminasyon pompası) bir substratıdır [24]. Aşağıda Şekil 1.1.'de yapısı ve metabolitleri gösterilmektedir:



Faz I klinik çalışmaları, yüksek dozlarda (12 g/gün) bile insanlarda güvenli olduğunu göstermiş olsa da kurkumin düşük biyoyararlanım göstermektedir. Bu durum öncelikle yetersiz emilim, ilk geçiş metabolizması ve vücuttan hızlı eliminasyona

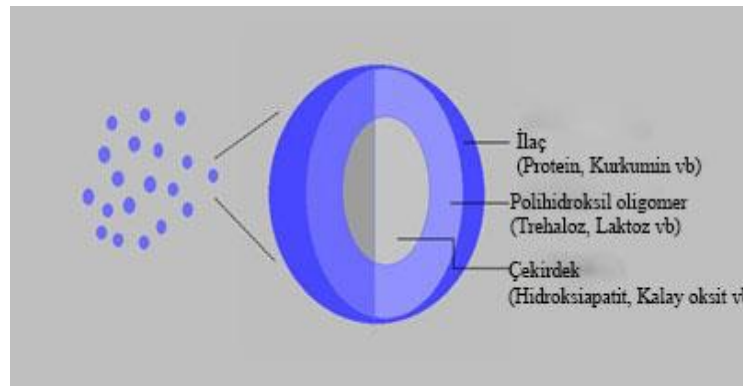
bağlanmaktadır [25,26]. Bu nedenle, kurkuminin biyoyararlanımını artırmak için akuazomlar gibi gelişmiş taşıyıcı sistemlere ihtiyaç vardır.

1.5. Potansiyel Bir Çözüm Olarak Akuazomlara Genel Bakış

Kossovsky, partikül boyutları 1000 nm'den küçük olan ve akuazom adı verilen nanopartikül taşıyıcıların hazırlanmasını önermiştir [27]. Bu akuazomlar, küçük boyutları sayesinde kan dolaşımı kılcal damarlarında tıkanmadığından, oral yol da dahil olmak üzere çeşitli uygulama yolları için uygundur. Akuazomlar "su kütlelerini" andırır ve su benzeri özellikleri aktif farmasötik bileşenlerin korunmasına ve muhafaza edilmesine yardımcı olur. Bu nanopartiküller, bir karbonhidrat tabakası ile sarılmış nanokristalin bir çekirdekten oluşur; bu çekirdek üzerine ilaç grupları veya diğer biyokimyasal moleküller, modifikasyonla veya modifikasyon olmadan adsorbe edilebilir [28].

1.6. Akuazomlar

Akuazomlar, peptit, protein, hormon, antijen ve gen gibi biyoaktif moleküllerin spesifik bölgelere iletilmesi için son geliştirilen sistemlerden biridir [29]. Akuazomların benzersiz yapısı ve özellikleri, kapsüllenmiş moleküllerin konformasyonel bütünlüğünün ve biyoaktivitesinin korunmasını sağlayarak onları çeşitli terapötik uygulamalar için umut verici bir ilaç taşıyıcı sistemi haline getirmektedir. Şekil 1.2.'de akuazomların üç katmanı, yani çekirdek (elmas, kalay oksit, hidroksiapatit, kalsiyum fosfat vb.), polihidroksi oligomer (trehaloz, laktoz vb.) ve adsorbe edilen ilaç/biyolojik molekül gösterilmektedir [27,30-36].



Şekil 1.2. Akuazomların yapısı [37]

1.7. Akuazomların Özellikleri

Akuazomlar, iyonik, kovalent olmayan bağlar, Van der Waals kuvvetleri ve entropik kuvvetler yoluyla önemli miktarda aktif farmasötik bileşenin verimli bir şekilde yüklenmesini sağlayan görece büyük boyutları ve oldukça aktif yüzey alanları ile karakterizedir. Katı partiküller sulu ortamda dağıldıkları için kolloidal özellikler sergilerler. Akuazomların etki mekanizması yüzey etkinlikleri tarafından yönetilir ve içeriklerini spesifik hedefleme, moleküler düzeyde koruma ve değiştirilmiş/sürekli salım sürecinin bir kombinasyonu yoluyla iletir [35].

Akuazomların suya benzer özellikleri, biyoaktif bileşiklerin konformasyonel bütünlüğünü ve biyokimyasal stabilitesini korumak için olanak sunmaktadır [38].

Akuazomlar, boyutları ve yapısal kararlılıkları nedeniyle retiküloendotelyal sistem tarafından uzaklaştırılmaktan ve bölgesel şartlardan kaynaklanan stabilite sorunlarından kaçabilir [38].

Tipik olarak kalsiyum fosfat biyolojik olarak parçalanabilir. *In vivo* olarak biyolojik parçalanma, monositler ve osteoklast adı verilen çok hücreli yapılar tarafından gerçekleştirilir. İki tür fagositoz bildirilmiştir: ya kristaller tek tek alınır ve daha sonra bir hetero fagozom oluşumunu takiben fagozom membranı kaybolduktan sonra sitoplazmada çözülür [35].

1.8. Akuazom Formülasyon Optimizasyonu

Tasarımla Kalite (QbD), ilaçların farmasötik kalitesi ile formülasyon ve üretim değişkenleri üzerinde bir anlayış ve kontrolü vurgulayan, üretim süreçlerinin tasarımı ve geliştirilmesine yönelik sistematik bir yaklaşımdır [39]. Bu yaklaşım, nihai ürünün önceden belirlenmiş kalite standartlarını karşılamasını sağlar. Beşeri İlaçlar için Teknik Gerekliliklerin Uluslararası Uyumlaştırma Konseyi (ICH) Kalite kılavuzları, özellikle Q8 (R2) Farmasötik Geliştirme, Q9 Kalite Risk Yönetimi, Q10 Farmasötik Kalite Sistemi ve Q11 İlaç Maddelerinin Geliştirilmesi ve Üretimi, ilaç endüstrisi için temel çerçeveyi sağlar [40,41]. Bu kılavuz ilkelerin Avrupa Birliği (EMA), Japonya (İlaç ve Tıbbi Cihaz Ajansı, PMDA) ve ABD'deki (FDA) düzenleyici kurumlar tarafından benimsenmesi tavsiye edilmektedir [42].

ICH Q8 (R2) ve ilgili literatüre göre, farmasötik geliştirme aşağıdaki unsurları içermelidir:

- Kalite Hedef Ürün Profiline (QTPP) tanımlanması: Nihai ürünün istenen kalite özelliklerini özetleyen net bir profilin oluşturulması.
- Kritik Kalite Özelliklerinin (CQA) belirlenmesi: Ürünün amaçlanan kaliteyi karşıladığından emin olmak için kontrol edilmesi gereken niteliklerin belirlenmesi.
- Kritik Süreç Parametrelerinin (CPP'ler) Belirlenmesi: Ürün CQA'larını etkileyen malzeme özelliklerini ve süreç parametrelerini belirlemek için önceki bilgileri, deneyleri ve risk değerlendirmesini kullanma.
- Fonksiyonel İlişkilerin Geliştirilmesi: Deney Tasarımı (DoE) kullanılarak çok değişkenli deneylerin geliştirilmesi yoluyla malzeme niteliklerinin ve süreç parametrelerinin ürün CQA'larına bağlanması.
- Tasarım Alanının Oluşturulması: QTPP'yi karşılayan bir ürün üreten malzeme özellikleri ve süreç parametreleri aralığının tanımlanması.
- Sürekli İyileştirme ve Yeniliğin Sağlanması: Ürünün yaşam döngüsü boyunca sürekli iyileştirme ve yenilik için mekanizmaların uygulanması [42-44].

QbD yaklaşımı, bu unsurları bütünleştirerek akuazom formülasyonlarının geliştirilmesinin hem verimli hem de dayanıklı olmasını ve yüksek kaliteli farmasötik ürün elde edilmesini sağlar.

1.9. Akuazomların Hazırlanma Yöntemi ve Yapısı

Akuazomların hazırlanması, aşağıdaki işlemlerden oluşan üç aşamalı bir süreçtir:

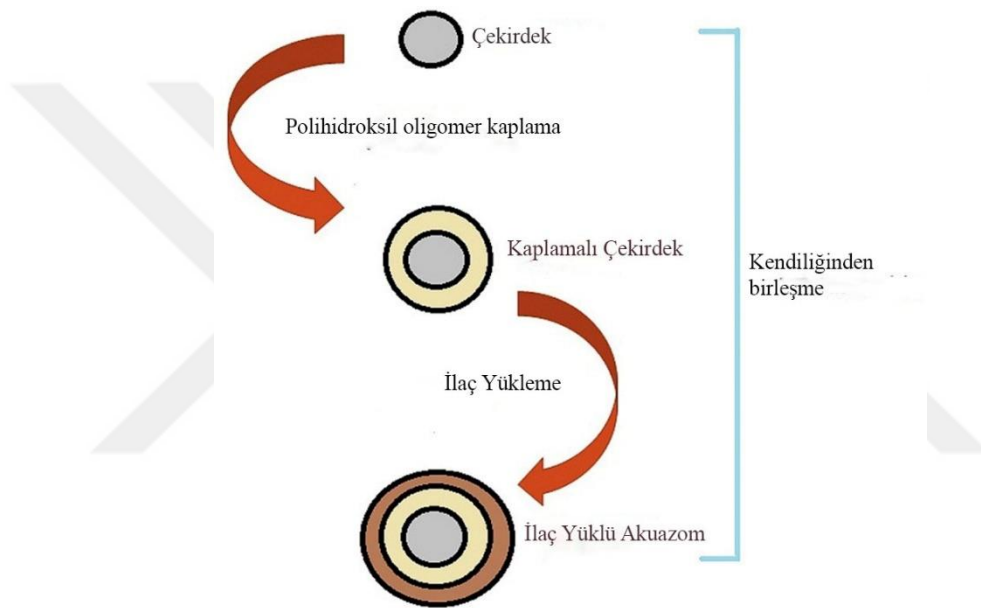
İnorganik çekirdeğin oluşumu: Bu süreç çekirdek malzemelerinin seçimine bağlıdır. Genellikle kullanılan malzemeler arasında kalsiyum fosfat, hidroksiapatit (HAP), kalay oksit, karbon seramik (elmas) bulunmaktadır. İnorganik malzemeler, kristal yapılarında yüksek derecede düzene sahip oldukları için çekirdek hazırlamak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca polihidroksi oligomerik yüzey filmini bağlamaya yardımcı olacak yüksek düzeyde yüzey enerjisi sağlarlar [45]. Çekirdek imalatı kolloidal çöktürme ve sonikasyon, ters magnetron püskürtme veya plazma yoğunlaştırma ile yapılabilir. İstenen Partikül boyut dağılımını elde etmek için ince bir membran filtre kullanılır [38,46].

Çekirdeğin kaplanması: Kaplama malzemesi olarak genellikle selobiyoz, trehaloz, sitrat, piridoksal-5-fosfat, laktoz ve sükroz kullanılır. Kaplama, karbonhidratın sonikasyon altında çekirdeklerin sulu bir dispersiyonuna eklenmesi ile gerçekleştirilir. Bunlar daha sonra karbonhidratların seramik yüzey üzerine geri dönüşümsüz

adsorpsiyonunu teşvik etmek için liyofilizasyona tabi tutulur. Adsorbe edilmemiş karbonhidrat santrifüj veya karıştırma hücreli ultra filtrasyon ile uzaklaştırılır [38,46].

İlacın Yüklenmesi: İlaç, adsorpsiyon yoluyla kaplanmış partiküllere yüklenir. Bunun için, uygun bir pH tamponunda bilinen konsantrasyonda bir ilaç kolloidi hazırlanır ve kaplanmış partiküller bunun içinde dağıtılır. Dispersiyon daha sonra ya ilaç yüklemesi için düşük sıcaklıkta bir gece bekletilir ya da ilaç yüklü formülasyonu elde etmek için bir süre sonra liyofilize edilir [38,46].

Aşağıdaki şemada akuazom sentezinde yer alan adımlar gösterilmektedir.



Şekil 1.3. Akuazomların sentezi [31]

1.10. Akuazomların Karakterizasyonu

Akuazomların karakterizasyonu öncelikle X-ışını toz difraktometresi (XRD), geçirimli elektron mikroskobu (SEM) ve taramalı elektron mikroskobu (TEM) gibi teknikler kullanılarak yapılabilen yapısal analiz ve morfolojik değerlendirmeyi içerir. Örneklerin ilaç yükleme etkinliği ve *in vivo* performansı da değerlendirilir [35]. Tablo 1.1.'de çekirdek, kaplama ve ilaç yüklü akuazomun karakterizasyonu gösterilmektedir.

Tablo 1.1. Akuazomların Karakterizasyonu [29,31,32,35,37,47,48]

Seramik çekirdek	Kaplama çekirdek	İlaç/molekül yüklü akuazom
	Concanavalin A ile indüklenen agregasyon deneyi	Sıkıştırma etkinliği testi Süpernatantın analiz edilmesi yüksek hız ile ayrılmış

Çekirdek üzerine kaplanan şeker miktarını belirleme	adsorbe olmamış ilaç/protein için santrifüjleme
---	---

Tablo 1.1. *Akuazomların Karakterizasyonu [29,31,32,35,37,47,48] (Devam)*

Seramik çekirdek	Kaplamalı çekirdek	İlaç/molekül yüklü akuazom
PDI SEM[49], TEM [6] Yapısal analiz FT-IR spektroskopisi (Potasyum bromür örneği disk yöntemi)	PDI SEM [49], TEM [6] Yapısal analiz FT-IR spektroskopisi (Potasyum bromür örneği disk yöntemi) Antron tahlili Kalan şeker miktarını belirler kaplamadan sonra kalan	PDI SEM [49], TEM [6] Yapısal analiz FT-IR spektroskopisi (Potasyum bromür örneği disk yöntemi) In vitro salım çalışmaları
XRD Kristal veya Kristal Olmayan amorf davranış Zeta Potansiyeli Parçacıklar arasındaki elektrostatik çekim veya itme.	XRD Kristal veya Kristal Olmayan amorf davranış Zeta Potansiyeli Parçacıklar arasındaki elektrostatik çekim veya itme. DSC (diferansiyel tarama kalorimetri)	XRD Kristal veya Kristal Olmayan amorf davranış Zeta Potansiyeli Parçacıklar arasındaki elektrostatik çekim veya itme. Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE) Akuazomların formülasyonu sırasında proteinlerin stabilitesinin analiz edilmesi

1.11. Çalışmanın Önemi

Bu çalışmanın amacı, yenilikçi bir ilaç taşıyıcı sistemi olarak akuazomları kullanarak, kurkumin gibi çözünürlüğü az olan ilaçların ağız yoluyla verilmesiyle ilgili çeşitli zorlukları ve fırsatları ele almaktadır. Bu araştırma, az çözünen ilaçların biyoyararlanımını artırmayı, terapötik etkinliklerini geliştirmeyi ve böylece akuazom dağıtım sistemlerinin ticarileştirilmesinin önünü açmayı amaçlamaktadır:

1. QbD yaklaşımı aracılığıyla formülasyon optimizasyonu.
2. Biyoyararlanımın artırılması: Zayıf biyoyararlanım, az çözünen birçok ilaç için büyük bir zorluktur [50]. Bu çalışma, akuazomları bir ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanarak, Kurkumin ve diğer az çözünür ilaçların çözünürlüğünü ve permeabilitesini iyileştirmeyi, böylece biyoyararlanımlarını ve terapötik potansiyellerini artırmayı amaçlamaktadır [29,51].
3. Mevcut ilaç taşıyıcı sistemlerinin sınırlamalarını ele almak: Akuazomlar, geleneksel ilaç taşıyıcı sistemlerine göre kontrollü salım potansiyeli, gelişmiş stabilite ve ilacı bozunmaya karşı koruma yeteneği gibi çeşitli avantajlar sunar [36]. Bu çalışma, *in*

vitro ve *in vivo* değerlendirmeler, formülasyon geliştirme ve ölçeklenebilirlik değerlendirmesi yoluyla bu faydaları göstermeyi amaçlamaktadır.

4. Geniş uygulanabilirlik: Kurkumin yüklü akuazomların başarılı bir şekilde geliştirilmesi, diğer çözünürlüğü düşük ilaçların da uygulanmasının da önünü açabilir ve hastaların yanısıra sağlık hizmeti sağlayıcıları için mevcut terapötik seçeneklerin yelpazesini genişletebilir [9,52].

Bu nedenle, bu alandaki araştırmalar, zorlukların üstesinden gelebilecek ve nihayetinde daha güvenli ve daha etkili ilaçların elde edilmesine yol açabilecek yenilikçi stratejiler geliştirmek için çok önemlidir.

1.12. Amaç

Az çözünen ilaçların biyoyararlanımını artırmak için yenilikçi bir nanopartikül iletim sistemi olarak akuazomların potansiyelini araştırmaktır.

1.12.1. Hedefler

1. Kurkumin yüklü akuazomların formülasyonunu etkileyen kritik proses parametrelerini belirlemek ve optimize etmek için QbD yaklaşımını uygulamak.
2. Yapısal ve işlevsel özelliklerini anlamak için HAP, şeker kaplı HAP ve kurkumin yüklü akuazomların fizikokimyasal karakterizasyonunu yapmak.
3. Hız ve salım mekanizmalarını anlamak için kurkuminin akuazom formülasyonlarından *in vitro* salım kinetiğini değerlendirmek.
4. Raf ömrünü anlamak için Kurkumin yüklü akuazomun çeşitli saklama koşulları (ışık, sıcaklık ve nem) altında uzun vadeli stabilitesini değerlendirmek.
5. Kurkumin yüklü akuazomların biyoyumluluğunu hemoliz testi kullanarak değerlendirmek.

2. LİTERATÜR TARAMASI

2.1. Giriş

Bu çalışmanın amacı, suda çözünürlüğü zayıf olan ilaçların çözünürlüğünü ve permeabilitesini arttırmak için ilaç taşıyıcı sistemlerinde akuazomların kullanımını araştırmaktır. Bu literatür taraması, akuazom bazlı ilaç taşıyıcı sistemleri, uygulamaları, zorlukları ve optimizasyon potansiyeli üzerine mevcut araştırmaların derinlemesine bir analizini sunmaktadır.

2.2. Mevcut İlaç Taşıyıcı Sistemleri ve Sınırlamaları

Oral ilaç taşıyıcı sistemler, kolay uygulama ve maliyet etkinliği nedeniyle çok sayıda terapötik uygulamada yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, birçok ilacın zayıf çözünürlüğü ve biyoyararlanımı da dahil olmak üzere çeşitli zorluklarla karşılaşmaktadır [1]. Lipozomlar ve katı lipid nanopartiküller (SLN) dahil olmak üzere lipid bazlı ilaç taşıyıcı sistemler, bu sınırlamaların üstesinden gelmek için kullanılmıştır [53]. Lipid yapıda çift tabakadan oluşan lipozom yapıları, hem hidrofilik hem de hidrofobik ilaçları kapsayabilir ve bu da çözünürlük ve stabiliteyi artırır [54]. Bununla birlikte, lipozomların zayıf ilaç kapsülleme etkinliği, ilaç sızıntısı ve gastrointestinal (GI) ortamda kararsızlık gibi dezavantajları vardır [55].

SLN'ler ilaçların çözünürlüğü ve biyoyararlanımı artırmak için kullanılan bir diğer yöntemdir. SLN'ler, lipofilik ilaçları kapsülleyebilen katı bir lipid çekirdekten oluşur [53]. Lipozomlara göre gelişmiş stabilite ve kontrollü ilaç salımı gibi bazı avantajlar sunsalar da, düşük ilaç yükleme kapasitesi ve saklama sırasında potansiyel ilaç eliminasyonundan etkilenebilirler [49].

Nanoküreler ve nanokapsüller dahil olmak üzere polimerik nanopartiküller de ilacın çözünürlüğünü ve biyoyararlanımını artırmak için kullanılmıştır [56]. Bu sistemler kontrollü ilaç salımı ve hedeflendirilmiş ilaç uygulaması için potansiyel sunmaktadır. Bununla birlikte, polimerik nanopartiküller karmaşık üretim süreçleri ve potansiyel toksisiteyi nedeniyle sınırlı olabilir [57].

2.3. Düşük Çözünürlük ve Permeabiliteye Sahip İlaçların Seçimi

Hint katı altını olarak da bilinen kurkumin, *Curcuma longa* bitkisinin rizomundan elde edilen doğal olarak oluşan polifenolik bir bileşiktir. Antienflamatuar, antioksidan ve antikanser gibi çeşitli farmakolojik aktiviteleri nedeniyle eczacılık ve gıda endüstrisinde

geniş uygulamalara sahiptir. Genellikle renklendirici ve gıda katkı maddesi olarak kullanılır [25,26].

Düşük çözünürlüklü bir ilaç modeli olarak kurkumin, ilaç taşıyıcı sistem için çeşitli zorluklar ortaya koymaktadır. Hidrofobik karakteri suda çözünürlüğünün düşük olmasına ve dolayısıyla oral uygulamadan sonra gastrointestinal sistemden emiliminin yetersiz olmasına neden olur. Ayrıca, yoğun ilk geçiş metabolizmasına uğrar, bu da hızlı eliminasyona ve düşük sistemik uygulanabilirliğe yol açar [58].

Bu sınırlamaların üstesinden gelmek için lipozomlar, miseller, polimerik nanopartiküller ve katı dispersiyonlar gibi çeşitli ilaç taşıyıcı sistemler araştırılmıştır [59,60]. Bu stratejiler arasında: kurkuminin çözünürlüğünü ve permeabilitesini artırma potansiyeline sahip olan, böylece daha iyi emilim ve daha yüksek biyoyararlanım sağlayarak terapötik sonuçların iyileşmesine yol açabilecek akuazomlar gibi nanoteknoloji tabanlı sistemler de bulunmaktadır [22,24].

2.4. Kurkumin Farmakolojik Aktivitesi

Belgelenmiş terapötik uygulamalar arasında Nükleer Faktör Kappa-Işık Zinciri-Aktive B Hücrelerinin Destekleyicisi (NF- κ B), İnterlökin (IL)-6, Geçici Reseptör Potansiyel Vanilloid 1 (TRPV-1) ve Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü 3 (STAT3)'ün aşağı regülasyonu yoluyla gastrointestinal bozukların ve Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta (TGF- β) inhibisyonu yoluyla karaciğer hastalıklarının tedavisinde kullanımı sayılabilir [22,61,62]. Bir antikanser ajan olarak Kurkumin, IL-10, IL-18, Aktivatör Protein 1 (AP-1), P-gp'i baskılar ve Akt/IKK α - β /NF- κ B eksenini etkileyerek Mitojenle Etkinleşen Protein Kinaz (MAPK)'yı aktive eder. Cyclin D1 ve Siklin Bağımlı Kinaz 4 (CDK4) seviyelerini azaltarak, hücre döngüsünü G1 fazında durdurarak ve apoptozu indükleyerek kanser yönetiminde potansiyel göstermektedir. [22,26]. Ayrıca, kurkumin indirgenmiş glutatyon (GSH) seviyelerini artırır ve NF- κ B'yi aşağı doğru düzenleyerek kanser kontrolündeki etkinliğine katkıda bulunur [63,64].

Kurkuminin enflamasyonda rol oynayan çok sayıda moleküler hedefi regüle ettiği bildirilmiştir. Bileşik, Tümör Nekroz Faktörü Alfa (TNF- α), IL-1, IL-6 ve IL-8 gibi preinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu azaltabilir ve ayrıca siklooksijenaz-2 (COX-2), lipoksijenaz ve indüklenbilir nitrik oksit sentaz aktivitesini inhibe edebilir [61]. Ayrıca, kurkumin, NF- κ B, AP-1 ve STAT'lar gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivitesini modüle edebilir; bunların tümü inflamasyon yollarında çok önemlidir [65].

2.5. Akuazom Teknolojisi

2.4.1. Akuazomların bileşenleri ve yapısı

2.4.1.1. Çekirdeğin rolü

Seramik ve polimerler en yaygın kullanılan çekirdek malzemeleridir. Albümin, jelatin veya akrilat gibi polimerler kullanılır. Elmas parçacıkları, bruşit (kalsiyum fosfat) ve kalay oksit gibi seramikler kullanılır [29]. Kalsiyum kullanmanın bir avantajı vücutta halihazırda bulunmasıdır; bu nedenle kemik dokusu mühendisliği, adjuvanlar, iskeleler ve biyokompozitlerde daha fazla uygulama alanı vardır. Öte yandan HAP kemiklerde bulunur ve fizyolojik pH'da daha stabildir. Monositler ve osteoklastlar kalsiyum fosfatın vücut içinde biyolojik olarak parçalanmasından sorumludur.

2.4.1.2. Karbonhidratın rolü

Oligomerler üzerindeki hidroksil grupları, etkin maddelerin polar ve yüklü gruplarına, su ile aynı şekilde bağlanarak dehidrasyon sonrasında sulu yapılarını korumalarını sağlar. Su yokluğunda, bu hidroksil bakımından zengin disakkaritler, etkin maddelerdeki polar kalıntıları çevreleyen suyun yerini almaya yardımcı olur ve böylece stabilitelerini korur. Serbest bağlı hareketlilik ve yüksek hidroksil içeriğinin kombinasyonu, spesifik bir hidrojen bağlayıcı substrat üreten camsı sulu bir durumla sonuçlanır [66,67].

2.4.1.3. Selobiyoz

Selobiyoz, bir β -1,4'-glikozidik bağ ile bağlanmış iki d-glikoz biriminden oluşur. Ayrıca 4-O- β -D Glukopiranozil D glukoz veya β -selobiyoz olarak da bilinir ve 342.30 g/mol moleküler ağırlığa sahiptir. Bitki hücre duvarlarında ve bazı mantarlarda bulunan polisakkaritler olan selüloz ve likenin içinde bir bileşen olarak görev yapar [68].

Selobiyoz doğal olarak veya glukozit olarak bulunmamasına rağmen, enzim hidrolizi yoluyla pamuktan veya diğer selüloz kaynaklarından elde edilebilir. Selülaz gibi enzimler selülozu parçalayarak selobiyoz birimlerine dönüştürür. Selobiyoz, indirgen şekerlerin varlığını belirlemek için kullanılan Fehling çözeltisini indirgeyebilir [69].

Selobiyoz, alkol ve eterde çözünmez. Suda çözünür. Asitlerle veya β -glukozidaz veya selobiyaz gibi enzimlerle muamele edildiğinde iki β -D-glukoz molekülüne ayrılır. Bu parçalanma, iki glikoz birimi arasındaki bağ koparır ve organizmaların daha fazla metabolize edebileceği veya kullanabileceği bireysel glikoz bileşenleri üretir [38].

2.4.1.4. Trehaloz

Trehaloz, iki α -glukoz birimi arasındaki 1,1-glikozidik bağ tarafından oluşturulan bir disakkarittir. Aynı zamanda α -D-Glukopiranosil- α -D-glukopiranosid veya (α -D-glukosido)- α -D-glukosid olarak da bilinir. Molekül ağırlığı 342.30 g/mol'dur [70].

Doğada trehaloz, karides, kelebek ve arı gibi organizmalarda ve *Echinops pesicus*'ta bulunan böceklerin (*Larinus* türleri) kozalarında değişen miktarlarda bulunabilir ve kozanın bileşiminin yaklaşık %23-30'unu oluşturur. *Amanita muscaria* gibi mantarlar da trehaloz içerir.

Trehaloz eterde çözünmez. Fehling çözeltisi ile reaksiyona girmez. Maya onu fermente edebilirken, α -glukozidaz onu parçalayamaz. Asit hidrolizine tabi tutulduğunda trehaloz iki D-glukoz molekülüne ayrılır [69].

Trehaloz, proteinleri ve membranları stabilize ederek kurutma sırasında hücrelerin şekillerini, tatlarını, renklerini ve dokularını koruma kabiliyetiyle bilinir. Bu özelliği, dondurulmuş gıdaların kalitesinin korunmasına yardımcı olduğu ve biyomolekülleri, depolama ve taşıma sırasında hasardan koruduğu biyoteknoloji ve gıda endüstrilerinde onu değerli kılmıştır [47].

2.4.1.5. Laktoz

Süt şekeri olarak da adlandırılan laktoz, sütte bulunan ve kütlelerinin %2-8'ini oluşturan bir disakkarittir. Molekül ağırlığı 342,30 g/mol'dür. Hafif tatlı bir tada sahiptir ve peynir, yoğurt gibi süt ürünlerinde bulunur. Laktoz, galaktoz ve glikozun bir β -1 $\rightarrow$ 4 glikozidik bağ aracılığıyla birleştirilmesiyle oluşur. Laktozun asit bakterileri tarafından fermentasyonu yoğurt ve peynir yapımında yaygın olarak kullanılır. Laktoz asit veya laktaz enzimi tarafından parçalandığında iki monosakkarit oluşturur; D-galaktoz ve D-glukoz [69].

Laktoz, galaktoz ve glikozun bir β -1 $\rightarrow$ 4 glikozidik bağ oluşturacak şekilde yoğunlaşması ile oluşan bir disakkarittir. Laktozun laktik asit bakterileri tarafından fermentasyonu, yoğurt ve peynir üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Laktozun asit veya laktaz enzimi ile hidrolizi D-galaktoz ve D-glukoz olmak üzere iki monosakkarit verir [69,71].

Laktoz intoleransı, laktoz içeren gıdaların sindiriminde zorluğa yol açan laktaz enzimi eksikliği nedeniyle ortaya çıkar [72].

2.4.1.6. Sükroz

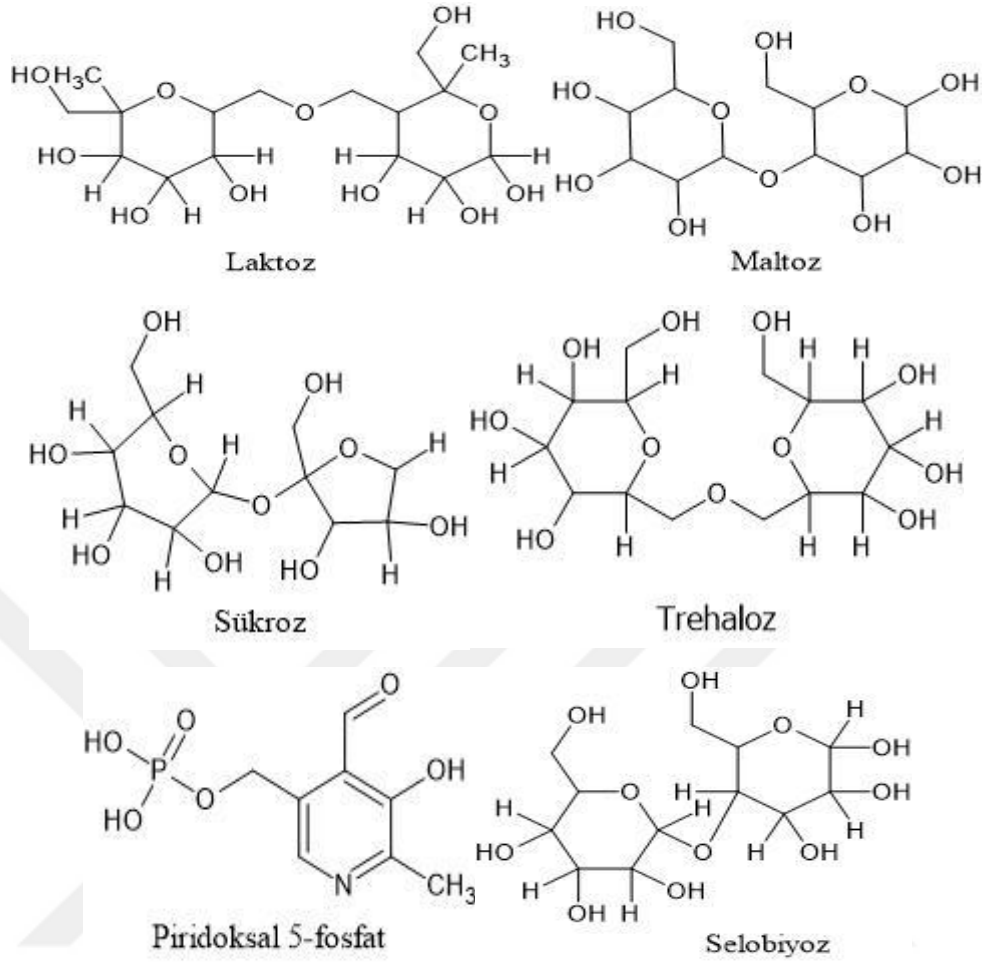
Sükroz bir disakkarittir; glukoz ve fruktoz birimlerinden oluşur. Bileşik, $C_{12}H_{22}O_{11}$ formülüne ve 342,3 g/mol molekül ağırlığına sahiptir. Hem suda hem de metanolde çözünebilir [73]. Birçok bitkide, özellikle de şeker kamışının saplarında ve şeker pancarının köklerinde bulunur ve burada çoğunlukla fotosentezden kaynaklanan birincil enerji depolama molekülü olarak görev yapar. Çeşitli yiyecek ve içecek ürünlerinde tatlandırıcı olarak yaygın bir şekilde kullanılan sofr şekerinin birincil bileşenidir. Beslenmedeki rolüne ek olarak, sükrozun farmasötik formülasyonlarda stabilize edici bir ajan, bir lezzet arttırıcı veya bir ozmotik ajan olarak hareket edebildiği uygulamaları vardır [69,70].

2.4.1.7. Piridoksal 5-fosfat

Piridoksal 5-fosfat, fosforik asit ile piridoksalların birincil hidroksi grubunun birleştirilmesiyle üretilen bir esterdir. Moleküler formülü $C_8H_{10}NO_6P$ olup ağırlığı 247,14 g/mol'dür. Bu bileşik B6 vitamini sentezinde rol oynar. Protein metabolizması da dahil olmak üzere vücutta çok sayıda enzimatik reaksiyona katılır. Araştırmalar, piridoksal 5-fosfat ile kaplanmış akuazomların, selobiyoz kaplamalara kıyasla ilaç emilimini artırdığını ve ilaç salım verimliliğini ve biyoyararlanımı iyileştirmek için değerli olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, sınırlı stabilitesi, maliyeti ve ilaçlarla geçim sorunları yaygın şekilde uygulanmasını kısıtlamıştır [73].

2.4.1.8. Maltoz

Malt şekeri olarak da bilinen maltoz, 342.297 g/mol ağırlığında bir disakkarit türüdür. Arpa gibi tohumların filizlenmesi sırasında nişasta rezervlerini parçaladıklarında doğal olarak ortaya çıkar. Maltoz maltlanmış tahıllarda, malt özütlerinde ve malt şurubunda bulunabilir. Bu şeker bir α (1→4) glikozidik bağ ile bağlanmış iki glikoz biriminden oluşur. Suda çözünür. Maya maltozu fermente edebilir ve bu da onu bira endüstrisinde önemli bir bileşen haline getirir. Asit veya maltaz enzimi ile hidrolize edildiğinde maltoz iki D-glukoz molekülüne ayrılır. Maltoz sükroz kadar tatlı olmasa da Maillard reaksiyonu yoluyla ürünlerin esmerleşmesinde rol oynar [71].



Şekil 2.1. Kaplama için kullanılan çeşitli şekerlerin moleküler yapısı (ChemSketch)

2.4.2. Akuazomların birleştirilmesi ve işlevselleştirilmesi

2.4.2.1. Kendiliğinden birleşme prensibi

Büyük moleküllerin su bazlı bir ortamda nasıl bir araya geleceğini üç temel süreç belirler. Bu süreçler, yüklü gruplar arasındaki etkileşimleri, suyun uzaklaştırılmasının etkisini ve yapının kararlılığını içerir. Bu süreçlerin anlaşılması, nanomalzemelerin geliştirilmesi ve doğal biyokimyasal reaksiyonların anlaşılması için çok önemlidir [74].

2.4.2.2. Yüklü gruplar arasındaki etkileşim

Kendiliğinden birleşme yoluyla alt birimlerin bir araya gelmesi, amino, karboksil, sülfat ve fosfat grupları gibi yüklü gruplar arasındaki etkileşimlerle kolaylaştırılır. Bu yüklü gruplar aynı zamanda katlanmış proteinlerin üç boyutlu yapılarının korunmasında da rol oynar [74]. Kendi kendine birleşmedeki ilk hayati adım, 15 nm mesafeden başlayan

bileşen alt birimleri arasındaki uzun mesafeli teması içerir. Hidrofobik özelliklere sahip malzemelerde uzun mesafeli kuvvetler 25 nm'ye kadar ulaşabilir [46].

2.4.2.3. Hidrojen bağı ve dehidrasyon etkisi

Baz çiftlerinin eşleştirilmesi ve alfa sarmalları ve beta tabakaları gibi ikincil protein yapılarının stabilitesinin korunması hidrojen bağları tarafından desteklenir. Hidrojen bağlarını oluşturan hidrofilik moleküller, su moleküllerine bir düzen kazandırır. Öte yandan hidrofobik bileşikler hidrojen bağı oluşturmazlar. Suyu iterek kendilerini çevrelerinde organize etmeyi başarırlar. Yapılandırılmış su, çevresindeki ortamın entropisini azaltarak molekülün dehidrasyonuna yol açar, çünkü organize su termodinamik olarak kararsızdır, kendi kendine birleşir [45,74,75].

2.4.2.4. Yapısal stabilite

Resmi olarak yüklü gruplara kıyasla bir yüke sahip moleküller bir dipol momenti sergiler. Dipoller içindeki etkileşimler Van der Waals kuvvetleri olarak bilinir. Proteinlerin ortamdaki yapısal bütünlüğü, yüklü gruplar ve hidrojen bağları (molekülün dışında) ile Van der Waals kuvvetleri (esas olarak molekülün içinde) arasındaki etkileşimden etkilenir [28,76,77].

Van der Waals kuvvetleri, moleküllerin kendi kendine birleşme süreçleri sırasında şekil ve yapılarının korunmasında çok önemli bir rol oynar. Bu kuvvetler, moleküllerin sudan korunmuş hidrofobik kısımlarını etkileme eğilimindedir. Moleküllerin sertliği veya esnekliği büyük ölçüde Van der Waals kuvvetlerinden etkilenir. Sıkı sarmal yapılar, hidrofobik yan zincirler arasındaki Van der Waals etkileşimleri yoluyla sabit tutulurken, uzatılmış rastgele sarmallar termodinamik olarak elverişli değildir [22,35,74].

Antijenler ve antikorlar arasındaki etkili etkileşimler ayarlamalar gerektirir. Heliksler gibi iç ikincil yapıların sağlam tutulması, kendi kendine bir araya gelen sisteme şeklini koruması için gereken esnekliği verir. Bu, kendi kendine birleşme süreçlerinde işlev ve biyolojik aktivitede değişikliklere neden olabilir. Aktiviteyi sürdürmek için Van der Waals kuvvetlerini düzenlemek önemlidir. Şekerler, akuazomların moleküler plastikleşmeye daha uyumlu hale getirilmesinde rol oynar [34,75,78].

2.6. Akuazom Hazırlama Yöntemleri

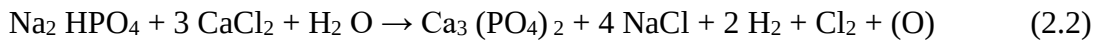
Çekirdekte kullanılan malzemelere bağlı olarak akuazom hazırlamak için farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler arasında çekirdeğin hazırlanması için kolloidal çökeltme ve sonikasyon, ters magnetron püskürtme, plazma yoğunlaştırma ve diğerleri yer almaktadır [79].

2.6.1. Kalay oksit nanokristal seramiklerin sentezi

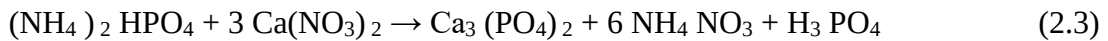
Kalay oksit seramiklerinin sentezlenmesi söz konusu olduğunda, bir yaklaşım doğru akım reaktif magnetron püskürtme kullanmayı içerir. Bu işlemde 3 inç çapında saf bir kalay hedefi, yüksek basınç altında argon ve oksijen gazlarının bir karışımına yerleştirilir. Püskürtme gerçekleşirken gaz fazında ultra ince parçacıklar oluşur. Bunlar, akan nitrojen kullanılarak soğutulmuş bakır tüplerde toplanır. Bu yöntem, farklı uygulamalar için uygun özelliklere sahip kalay oksit seramiklerin kontrollü sentezini sağlar [32,80].

2.6.2. Kendiliğinden bir araya gelen nanokristalin bruşit

Kendiliğinden bir araya gelen nanokristalin bruşit (kalsiyum fosfat dihidrat) için kolloidal çökeltme ve sonikasyon teknikleri kullanılabilir. Sentez süreci, çekirdeği oluşturmak için bir disodyum hidrojen fosfat çözeltisinin kalsiyum klorür ile reaksiyona sokulmasını ve daha sonra santrifüjleme yoluyla ayrılmasını içerir. Süpernatantın boşaltılmasının ardından çekirdek yıkama, süspansiyon, su ve filtrasyon işlemlerine tabi tutulur. Filtre ortamında tutulan çekirdek malzeme toplanır ve kurutulur [46,73]. Reaksiyonlar aşağıdaki denklem ile temsil edilebilir:



Alternatif olarak, amonyum sülfat ve kalsiyum karbonat kullanılabilir, reaksiyon için denklem aşağıdaki gibidir:



Sentez işlemi sırasında, bir amonyak çözeltisi kullanarak ve sıcaklığı 75°C'de tutarak kalsiyum nitrat çözeltisinin pH değerini sekiz ila on aralığında tutmak çok önemlidir. Karışım, belirtilen sıcaklık ve pH koşullarına bağlı kalınarak manyetik karıştırmaya tabi tutulur. Elde edilen çökeltiler süzülür, yıkanır ve kendiliğinden bir araya gelen nanokristalin bruşit elde etmek için kurumaya bırakılır [46,73].

2.6.3. Dendrimer Yöntemi

Ayrıca, karboksilik asitle sonlandırılmış yarım nesil poli(amidoamin) (PAMAM) dendrimerleri kullanan dendrimer yönteminde araştırmacılar, çözeltilerde kalsiyum karbonat (CaCO_3) kristalleşmesini araştırmışlardır. Bu süreç, öncelikle vaterit kristallerinden oluşan küresel şekilli çekirdeklerin oluşumuna yol açmaktadır [81,82].

Dendrimerler, inorganik nanopartiküllerin boyutunu ve biçimini şekillendirmek için mükemmel olan hassas bir yapıya sahip makromoleküllerdir. CaCO_3 kristal oluşumu bağlamında PAMAM dendrimerler, vaterit kristallerinin çekirdeklenmesi ve büyüme stabilizasyonu için noktalar olarak hizmet ederek çekirdeklerin oluşmasını sağlar. Bu yöntem, ilaç uygulanması ve biyomalzemeler gibi uygulamalar için partikül boyut dağılımı ve şekli üzerinde kontrol sağlar. Dendrimer tekniği, optimize edilmiş özelliklere sahip nanoyapılı malzemelerin oluşturulmasına olanak tanır. Gelişmiş nanokompozitler gibi malzemelerle çalışmak üzere genişletilebilir ve tıp, enerji ve elektronik gibi çeşitli alanlarda uygulanabilir [81].

2.6.4. HAP sentezi

Bir tür kalsiyum fosfat olan HAP'ın sentezlenmesi, kalsiyum fosfatın 600 ila 1000°C arasında değişen sıcaklıklarda yaklaşık 2 ila 6 saat boyunca dehidrojenlenmesini içerir. HAP, canlı dokularla uyumluluğu, biyoaktivitesi ve kemiklerde ve dişlerde bulunan mineral bileşene benzerliği nedeniyle bir dizi uygulamada kullanım alanı bulmaktadır. Kullanım alanları kemik greftlerinden implantlara, ilaç taşıyıcı sistemlerinden doku mühendisliği iskelelerine kadar uzanmaktadır. Özelliklere sahip HAP sentezleme yeteneği, bu uygulamaların ihtiyaçlarını karşılamak üzere uyarlanmış malzemeler oluşturmak için kapılar açmaktadır [83].

2.6.5. Diğer seramiklerin sentezi

Seramiklerin sentezi sırasında, çekirdeklerin benzersiz kristal yapıları, boyutları 50 ila 150 nanometre arasında değişen partiküllerle sonuçlanır. Bu partiküller, sentetik prosedürler sırasında onları oldukça reaktif hale getiren yüzeyler sergiler [47].

2.7. Karakterizasyon

2.7.1. Antron reaksiyonu

Bu kalorimetrik yöntem, kaplamadan sonra kalan artık şeker miktarını belirlemek için kullanılır. Numune, kaynar suda ısıtılan ve hızla soğutulan antron reaktifi ile kaplanır. Asidik koşullarda karbonhidratlar Hidroksil metil furfural'a dönüşür ve bu da antron reaktifi ile reaksiyona girerek yeşil renkli bir kompleks oluşturur. Absorbans, referans olarak glukoz kullanılan bir UV-Görünür bölge spektrofotometre kullanılarak ölçülür ($\lambda_{\max} = 625 \text{ nm}$) [66].

2.7.2. Concanavalin-A ile indüklenen agregasyon

Çekirdek üzerindeki şeker miktarını belirlemek için kullanılır. Karbonhidrat kaplı çekirdek süspansiyonları kuvars küvetlerde concanavalin A çözeltisi ile muamele edilir. Absorbans, UV spektrofotometresinde 450 dalga boyunda 5 dakikalık bir süre boyunca ölçülür. Sonuçlar deney sonuçlarına göre ayarlanır [37].

2.7.3. Fenol sülfürik asit yöntemi

Aynı zamanda bir numunedeki karbonhidrat içeriğini değerlendirmek için kullanılan kolorimetrik bir yöntemdir. Karbonhidratlar, sülfürik asit varlığında furfural türevine dehidrasyona uğrar ve ardından sarı altın pigmenti vermek için fenol ile reaksiyona girer [66,84].

2.8. Akuazomların Geleneksel İlaç Taşıyıcı Sistemlerine Göre Avantajları

Akuazomlar, bir ilaç taşıyıcı sistemi olarak çeşitli avantajlı özellikler sergiler:

1. Akuazomlar aktif farmasötik bileşenlerin terapötik etkinliğini artırır ve ilacı fagositoz ve bozunmaya karşı korur [75].
2. Rezervuar olarak işlev görürler, molekülleri sürekli veya pulsatil bir şekilde serbest bırakırlar, bu da çoklu dozaj ihtiyacını önlemeye yardımcı olabilir [75].
3. Akuazom bazlı aşılar, bir aşı uygulama sistemi olarak çok sayıda avantaj sunmaktadır[75,80], yüzeylerine adsorbe edilen antijenlere karşı hem hücresel hem de humoral bağışıklık tepkileri oluşturabilir [27,32,85,86].
4. Antikorlar, nükleik asitler veya peptitler gibi biyolojik tanıma molekülleri ile konjuge edilmiş çok katmanlı akuazomlar çeşitli görüntüleme testlerinde kullanılabilir [30,33,36,48].

5. Akuazomların moleküler konformasyona ve enzim aktivitesine karşı hassasiyeti, onları DNAses gibi enzimler ve pigmentler veya boyalar için uygun taşıyıcılar haline getirir [78,80,81].
6. Denatürasyonu önleyerek proteinler için uygun bir ortam sağlarlar. Bu özellik, sisteme hidrofilik davranış kazandıran polihidroksil bileşikleri ile kaplanmış inorganik çekirdeklerin varlığından kaynaklanmaktadır [45,75,87].

2.9. Akuazom Bazlı İlaç Uygulanması Üzerine Önceki Çalışmalar

2.9.1. Antijen

Antijen iletiminde, akuazomların adsorbe edilmiş antijenlerin yüzey kaynaklı denatürasyonunu en aza indirerek güçlü ve spesifik bir bağışıklık tepkisi ortaya çıkardığı gösterilmiştir [33]. Bir başka çalışmada, akuazomlarla hazırlanan sığır serum albümini (BSA) formülasyonu, subkutan enjeksiyonu takiben saf BSA'ya kıyasla önemli ölçüde daha güçlü bir immünolojik yanıt göstermiştir. Bu sonuçlar, akuazomların protein antijenlerinin yapısal bütünlüğünü koruma, böylece bağışıklık hücrelerine sunumunu artırma ve daha güçlü bir bağışıklık tepkisi ortaya çıkarma potansiyelini vurgulamaktadır [88]. Kendiliğinden bir araya gelen HAP çekirdek selobiyoz ile kaplanmış ve son olarak hepatit B yüzey antijeni kaplanmış çekirdek üzerine adsorbe edilmiştir. İlaç yüklü partiküller nanometre boyutunda ve neredeyse küresel bir şekle sahipti. Düz HAP çekirdeğin (selobiyoz kaplaması olmadan) antijen yükleme etkinliği yaklaşık %50 olarak bulunurken, kaplanmış çekirdeğin yaklaşık %21 antijen yüklediği gözlenmiştir. Bu preparatın, farelerde subkutan immünizasyonun ardından uygulanan geleneksel adjuvan şaptan daha iyi olduğu görülmüştür. Nanodecoy sistemlerinin ayrıca kombine bir Th1 ve Th2 bağışıklık yanıtı ortaya çıkarabildiği görülmüştür [85].

2.9.2. Gen terapisi

Gen terapisi için akuazomlar, viral vektörlerle ilişkili risklerden kaçınırken gen segmentinin yapısal bütünlüğünü koruyabilen ve sürdürebilen potansiyel bir iletim sistemi olarak önerilmiştir [27]. Gen tedavisi için seramik nanokristal çekirdek, polihidroksi oligomer film kaplama, terapötik gen segmentinin kovalent bağlı olmayan katmanı, ek bir karbonhidrat filmi ve konformasyonel olarak korunmuş viral membran proteinlerinin hedefleme katmanından oluşan beş katmanlı bir bileşim önerilmiştir.

2.9.3. İnsülin

İnsülinin etkili bir şekilde verilmesi için nanotaşıyıcıların faydası Paul ve Sharma tarafından da kanıtlanmıştır. Oral uygulama için insülin içeren aljinat matris içine hapsedilmiş gözenekli HAP nanopartikülleri hazırlamışlardır. Bu çalışmada da insülinin optimum kontrollü salımı sağlanmıştır [82]. Cherian ve arkadaşları, kalsiyum fosfat seramik bir çekirdek kullanarak insülin iletimi için akuazomlar geliştirmiştir. Çekirdek daha sonra trehaloz, selobiyoz ve piridoksal-5-fosfat dahil olmak üzere bir dizi disakkarit ile kaplanmış ve ardından adsorpsiyon yoluyla ilaç yüklenmiştir. Bu formülasyonların etkinliği albino sıçanlarda değerlendirilmiş ve sonuçlar piridoksal-5-fosfat kaplı partiküllerin kan glukoz seviyelerini düşürmede en etkili olduğunu göstermiştir. Bu üstünlük, piridoksal-5-fosfat kaplamanın sağladığı yüksek yapısal stabiliteye bağlanabilir, bu da ilacın yavaş salınmasına ve insülin peptidinin yapısal bütünlüğünün korunmasına yol açar [77].

2.9.4. Oksijen taşıyıcılar

Trehaloz ile kaplı hazırlanmış bir HAP çekirdek üzerine hemoglobin adsorpsiyonu ile oluşturulurlar. Akuazom, sıçanlarda *in vivo* deneylerde oksijen taşıyıcı olarak kullanılma potansiyelinin yüksek olduğunu göstermiş ve aktivitesi 30 gün sürmüştür. HAP seramik çekirdekler üretildi ve ardından selobiyoz, maltoz, trehaloz ve sükroz dahil olmak üzere çeşitli şekerlerle kaplandı. Bunu takiben, hemoglobin kaplanmış seramik çekirdek üzerine adsorbe edilmiş ve ilaç yüklemesi belirlenmiştir. Akuazom formülasyonlarının oksijen taşıyıcı olarak taze kan ile aynı kapasiteye sahip olduğu gösterilmiştir. Akuazom formülasyonları kırmızı kan hücresi hemolizine neden olmamış ve kan pıhtılaşma süresi etkilenmemiştir [81,89].

2.9.5. Enzim

Rawat ve arkadaşları, asitle bağlanabilir serratiopeptidaz enziminin oral yoldan uygulanması için nano boyutlu seramik çekirdek bazlı bir sistemin kullanılmasını önermişlerdir. Nano çekirdek, oda sıcaklığında sonikasyon altında kolloidal çöktürme ile hazırlanmıştır. Çekirdek daha sonra sürekli karıştırma altında kitosan ile kaplandı ve ardından enzim üzerine adsorbe edildi. Enzim, enzim yüklü çekirdeğin aljinat jel içine daha fazla enkapsüle edilmesiyle korunmuştur. Partiküllerin TEM görüntüleri, ortalama 925 nm çapa sahip küresel bir şekle sahip olduklarını göstermiştir. Partiküllerin enzim

yükleme etkinliği yaklaşık %46 olarak bulunmuştur. *In vitro* ilaç salım verileri asidik ortamda (pH 1.2) 2 ila 6 saate kadar Higuchi modelini takip ederken, alkali ortamda (pH 7.4) 6 saate kadar sürekli ve neredeyse tam birinci dereceden enzim salımı göstermiştir. Bu akuazomların, daha iyi bir terapötik etki elde etmek için enzimlerin yapısal bütünlüğünü koruduğu bulunmuştur [90].

2.9.6. Düşük çözünürlüklü ilaçlar

Oviedo ve çalışma arkadaşları, bir laktoz filmi ile kaplı inorganik bir kalsiyum fosfat çekirdeğinin oluşturulması ve düşük çözünürlüklü bir ilaç olarak indometasinin daha fazla adsorpsiyonu yoluyla indometasin yüklü akuazomlar hazırlamıştır. Akuazomlar, XRD, TEM ve SEM kullanılarak yapısal analizleri, partikül boyutları ve morfolojileri açısından karakterize edilmiştir. İlaç yüklü akuazomların partikül boyut dağılımı 60-120 nm aralığında bulunmuştur. SEM ve TEM teknikleri akuazomların küresel şeklini doğrulamıştır. Ancak, bu taşıyıcıların salım çalışmalarının sonuçları henüz belirlenmemiştir [91]. Bu çalışmanın zayıf yönlerinden biri, akuazom yüklü ilaçların biyolojik etkisini değerlendirmemiş olmalarıdır. Bu çalışma salımı *in-vitro* ve *in-vivo* olarak değerlendirecektir.

Kommineni ve arkadaşları, akuazomların per-oral yolla verilmesi için teknolojik bir yenilik gerçekleştirmiştir. Piroksikam yüklü akuazomlar, nanometrik boyutları, düşük ilaç dozu ve su benzeri özellikleriyle iki teknik kullanılarak hazırlanmıştır; yani, geri akışla birlikte çöktürme ve sonikasyon ile çöktürme [92]. Çalışma, per-oral iletim için her bir sistemin avantaj ve sınırlamalarının daha iyi anlaşılmasını sağlamak amacıyla akuazomların performansını lipozomlar veya miseller gibi diğer ilaç iletim sistemleriyle karşılaştırmamıştır. Çalışmada pirosikam yüklü akuazomların güvenliği, farmakokinetiği ve farmakodinamiğinin yanı sıra biyoyararlanımı ve hayvan modellerinde değerlendirilmesine yönelik *in-vivo* deneyler araştırılmamıştır.

Hidrofobik ilaç pimozeidin çözünmesini arttırmak için akuazomlar başarıyla geliştirilmiştir. Kalsiyum fosfat seramik çekirdek, sonikasyon tekniği ile birlikte çökeltme kullanılarak hazırlanmış ve laktoz ile kaplanmıştır. Pimozeidin, üç katmanlı akuazomal formülasyonu elde etmek için laktoz kaplı çekirdek üzerine adsorbe edilmiştir. *In vitro* çözünme çalışmaları saf ilaca kıyasla çözünmenin arttığını göstermiştir. Akuazomları bir dağıtım sistemi olarak kullanarak, ilacı küçük partikül boyut dağılımı vererek suda az çözünen ilaçların daha iyi uygulanmasını sağlamak mümkün olabilir, bu

da ilaçların toplam yüzey alanını artırır, böylece daha hızlı çözünme ve kan dolaşımına emilim sağlar [93]. Ayrıca, *in-vivo* çalışmalar akuazom yüklü ilaçların performansını gösterebilir

Vengala ve meslektaşları tarafından yapılan bir çalışmada, partikül boyut dağılımı ve çözünme profili arasındaki ilişkiyi araştırmak için, sulu ortamda az çözünen bir ilaç olan piroksikamın seramik nanopartiküllerinin hazırlanması amaçlanmıştır. Seramik nanopartiküller, geri akış yardımıyla kolloidal çöktürme tekniği kullanılarak HAP'in kendi kendine birleştirilmesiyle hazırlanmıştır. Nanopartiküller daha sonra trehaloz ile kaplanmış ve piroksikam adsorbe edilmiştir. Bu seramik nanopartiküller şekil, boyut, boyut dağılımı, verim, ilaç yüklemesi ve salım profili açısından karakterize edilmiştir. SEM analizi, partikül boyut dağılımı ortancası 238 nm olan küresel partiküller ve %66,7'lik bir verim yüzdesi göstermiştir. Piroksikam akuazomlarının çözünme profili 0.1 mol/L hidroklorik asit çözeltisinde elde edilmiştir. Piroksikamın seramik nanopartiküllerden salımı doğrusaldı ve sıfırıncı dereceden kinetik sergiledi. Çalışmalar, piroksikam seramik nanopartikül formülasyonlarının 1 saat 15 dakika içinde piroksikam salımını ortaya çıkardığını göstermiştir. Bu sonuç aynı zamanda piroksikam ve trehalozun spesifik etkileşimini de göstermiştir. Şeker adsorpsiyonu olmadığında, piroksikam salımı 60 dakika içinde %90'a ulaşmıştır ve bu da acil durumlar için faydalı bir şekilde kullanılabilir [94]. Daha ileri *in-vivo* çalışmalar akuazomların biyolojik sistemlerdeki performansını gösterebilir.

Nanjwade ve arkadaşları (2013) tarafından yapılan bir çalışmada, düşük çözünürlüklü bir ilaç olan etoposide ile akuazom hazırlanması amaçlanmıştır. Formüle edilen etoposid nanopartikülleri 150 ila 250 nm arasında değişen çapa sahip küresel yapıdaydı. En yüksek enkapsülasyon etkinliği %88,41 olarak bulunmuştur. İlaç yüklü nanopartiküllerin ortalama hedefleme etkinliği, enjekte edilen dozun karaciğerde %42,54'ü, akciğerde %12,22'si, böbrekte %4,14'ü ve dalakta %25,12'si olarak bulunmuştur. Sonuçlar, ilaç yüklü nanopartiküllerin tercihi olarak karaciğeri hedeflediğini ve bunu dalak, akciğer ve böbreğin izlediğini ortaya koymuştur. Stabilité çalışmaları etoposid nanopartiküllerinin depolanması için en uygun sıcaklığın 4 °C olduğunu göstermiştir [95]. Bu ilaç uygulanması çeşitli özel avantajlara sahiptir ve bu nedenle daha fazla araştırma ve klinik uygulama için potansiyel taşımaktadır.

Seramik nanopartiküller sonikasyon yöntemiyle eş çöktürme kullanılarak hazırlanmıştır. Seramik çekirdek üzerine kaplama için selobiyoz kullanılmış ve ardından

kısmi adsorpsiyon mekanizması ile lornoksikam yüklenmiştir. Hazırlanan sistem boyut, şekil, ilaç yükleme etkinliği ve *in vitro* salım profili açısından karakterize edilmiştir. SEM analizi, ortanca 87 nm olmak üzere 60-300 nm aralığında ortalama partikül boyut dağılımı sahip küresel partiküller göstermiştir. *In vitro* çözünme performansı saf ilacınki ile karşılaştırılmış ve daha iyi sonuçlar gözlenmiştir. Akuazom formülasyonu için kümülatif lornoksikam salımı (%49) saf ilacınkinden (%34) daha yüksek bulunmuş ve asidik ortamda kademeli ve doğrusal olduğu görülmüştür [84]. Akuazomları bir ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanarak, Lornoxicam gibi suda az çözünen ilaçların daha iyi uygulanmasını sağlamak mümkün olabilir.

Akuazomları kullanmayı amaçlayan bir çalışmada etkili bir ikili ilaç salım sistemi olarak, HAP çekirdekli akuazom hazırlanmış ve selobiyoz ile kaplanmıştır. Çalışma, akuazomun hem biyoaktif bir molekül hem de hidrofobik bir ilacı birlikte salabildiğini göstermektedir. BSA (bovine serum albumin) proteini, temsili hidrofobik ilaçlar Coumarin 153 (C153), Warfarin (WAR) ve Ibuprofen ile birlikte *in vitro* ikili salım çalışmaları için model biyoaktif molekül olarak kullanılmıştır. Hidrofobik ilaçların salım davranışları, BSA ile bağlanma etkileşimleri incelenerek açıklanmıştır. Hemoliz deneyi kullanılarak çift yüklü akuazom için *in vitro* biyoyumluluk çalışmaları da gerçekleştirilmiştir. Hemoliz deneyi kırmızı kan hücrelerinde herhangi bir parçalanma göstermemiştir, bu da formülasyonların klinik olarak uygulama için uygun olduğunu göstermektedir [16,96]. Genel olarak çalışma, akuazomun piyasadaki diğer formülasyonlara kıyasla daha düşük toksisite ve biyolojik olarak parçalanabilirliğe sahip ikili ilaç taşıyıcıları olduğunu göstermiştir.

2.10. Akuazomların Eliminasyonu

Akuazomlar çoğunlukla karaciğer ve kasta biyolojik olarak parçalanabilen nanopartiküllerdir. İnsülin ve antijen dağılımında olduğu gibi, ilaç herhangi bir ekstra yüzey modifikasyonu olmaksızın sistemin yüzeyine adsorbe edildiğinden, aktif bölgedeki reseptörleri bulmakta zorluk çekmezler. Bu da hızlı farmakolojik veya biyolojik aktivite sağlar. Çoğu sistemde kalsiyum fosfat biyolojik olarak parçalanabilen bir seramiktir [66,80].

In vivo seramik biyodegradasyonu, öncelikle biyomateryal implantasyon sahasındaki enflamatuvar yanıt sırasında katılan osteoklastlar olarak bilinen monositler ve çok hücreli hücreler tarafından gerçekleştirilir. Hücreler biyomateryal ile temas ettiğinde

iki tür fagositoz rapor edilmiştir: ya kalsiyum fosfat kristalleri tek başına alınır ve daha sonra fagozom membranı kaybolduktan sonra sitoplazmada çözülür ya da heterofagozom oluşumunu takiben çözülür. Otofaji ve hücre içindeki artık cisimlerin toplanması kalsiyum fosfat fagositozu ile eş zamanlı olarak gerçekleşmiştir [66,80].

Monositik aktivite, interferon-gama (IFN- γ) ve 1,25-dihidroksikolekalsiferol dahil olmak üzere bir dizi çözünür faktörden etkilenebilir. Diğer sitokinler biyodegradasyon aşamasında aktif olabilir ve enflamatuvar sistemin aktive olmasına neden olabilir [66,80].

2.11. Önceki çalışmalar ve bu çalışmanın analiz ve yorumları

Akuazom kullanan ilaç taşıyıcı sistemleri üzerine yapılan araştırmalar, bu yöntemin ilaç çözünürlüğü ve permeabilitesi ile ilgili sorunların üstesinden gelme potansiyelini vurgulamaktadır. Akuazomlar antijenlerin iletimi, gen terapisi, insülin, oksijen taşınması, enzim iletimi ve az çözünen ilaçların etkinliğinin artırılması gibi alanlarda etkinlik göstermiştir. Bu çalışmalardan elde edilen ana sonuçlar, akuazomların taşıdıkları ilaçların yapısını koruyabildiğini, onları bozulmaya karşı koruyabildiğini ve vücutta salımlarını ve kullanılabilirliklerini artırabildiğini göstermektedir. Bununla birlikte, bazı araştırmalar, formülasyonları optimize etmek ve güvenlik ve etkinliklerini değerlendirmek için araştırmaya ihtiyaç duyulduğunu gösteren kapsamlı *in vitro* ve *in vivo* değerlendirmelerden yoksundur.

Akuazom bazlı ilaç taşıyıcı sistemleri ile elde edilen sonuçlara rağmen, daha ileri araştırmalar için hala bilgi ve fırsat boşlukları bulunmaktadır. Birçok çalışma *in vitro* değerlendirmelere odaklanmıştır ve bu formülasyonların biyolojik sistemlerdeki güvenliğini, etkinliğini ve farmakokinetiğini değerlendirmek için daha fazla *in vivo* çalışmaya ihtiyaç vardır. Ayrıca, belirli ilaç türleri ve terapötik uygulamalar için akuazomları optimize etmek üzere daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Son olarak, akuazomlar için ölçeklenebilir ve uygun maliyetli üretim yöntemlerinin geliştirilmesi, bunların klinik uygulamaya aktarılması için çok önemli olacaktır.

Ayrıca, kurkumin gibi spesifik ilaç türleri için akuazomların optimizasyonuna ilişkin sınırlı araştırma bulunmaktadır. Bu durum literatürde bir boşluğu temsil etmekte ve suda az çözünen ilaçların çözünürlüğünü ve permeabilitesini iyileştirmede akuazomların potansiyelini araştırmayı amaçlayan bu çalışmaya duyulan ihtiyacı vurgulamaktadır.

2.12. Akuazomun Formülasyonunda Tasarım Yoluyla Kalitenin Rolü

Tasarımla Kalite (QbD) yöntemi, nihai sonucun mükemmelliğini garanti eden ilaç geliştirmeye yönelik bir stratejidir. Bu yaklaşım, geliştirilmekte olan ürünün kritik kalite özelliklerinin (CQA'lar) değerlendirilmesi ve yönetilmesine odaklanır [39]. QbD yaklaşımı, kurkumin uygulanması için akuazom ilaç taşıyıcı sisteminin erken geliştirilmesinde özellikle yararlıdır.

QbD metodolojisi üç ana unsur içerir: kalite hedef ürün profilinin karakterize edilmesi (QTPP), hedeflenen ürünün CQA'larının belirlenmesi ve üretim yönteminin değerlendirilerek kritik süreç parametrelerinin tanımlanması (CRA). QbD sürecinin ilk aşaması, hedef ürün profili üzerinde etkisi olabilecek önceki araştırmalardan elde edilen tüm verilerin toplanmasıdır. Risk Değerlendirmesi uygulaması, alan tasarımı ve QTPP'lerin, CQA'ların ve CPP'lerin değerlendirilmesinin erken anlaşılmasından sonra IND için nihai akuazom formülasyon kalitesi üzerinde en fazla etkiye sahip olan özellikleri vurgulamıştır [39].

QbD yaklaşımı özellikle akuazom formülasyonlarının erken geliştirilmesinde faydalıdır. Yaklaşım, üretimin erken bir aşamasında hataların oluşmasını ortadan kaldırmaya yardımcı olur. Önceden tanımlanmış kriter seti, optimum ortalama boyut, zeta potansiyeli ve diğer özelliklere sahip belirli bir özellik elde etmemize yardımcı olabilir [97].

Kurkumin yüklü akuazomlar söz konusu olduğunda, QbD yaklaşımı formülasyon parametrelerini optimize etmek ve nihai ürünün kalitesini sağlamak için kullanılabilir [42]. QbD yaklaşımı, hedeflenen ürünün kritik kalite özelliklerinin belirlenmesine ve üretim yönteminin değerlendirilmesine ve kritik süreç parametrelerinin tanımlanmasına yardımcı olabilir [98]. Bu, nihai ürünün gerekli kalite standartlarını karşılamasını ve kullanım için güvenli olmasını sağlamaya yardımcı olabilir [99].

2.13. Merkezi Kompozit Tasarım Kullanılarak Formülasyonun Optimizasyonu

Formülasyonların optimizasyonunda Merkezi Bileşik Tasarım (CCD), Yanıt Yüzeyi Metodolojisi (RSM) içinde birden fazla faktör ve yanıt arasındaki etkileşimin yapılandırılmış bir şekilde araştırılmasını kolaylaştıran temel bir yaklaşımdır. Bu yöntem faktör noktalarını, yıldız noktalarını ve merkezi noktaları ustalıkla entegre ederek faktörlerin yanıtlar üzerindeki doğrusal, etkileşimli ve ikinci dereceden etkilerinin kapsamlı bir şekilde incelenmesini sağlar [100]. Yıldız noktalarının stratejik yerleşimi

eğriliğin etkin bir şekilde tahmin edilmesini sağlar; bu da CCD'yi değişkenler arasındaki doğrusal olmayan ilişkilerin ortaya çıkarılması ve modellenmesi için özellikle faydalı kılan bir özelliktir [100,101]. Ayrıca, CCD'nin döndürülebilirliği, karmaşık çok boyutlu bir manzara içinde optimum koşulların doğru bir şekilde tespit edilmesi için gerekli olan deney alanı boyunca tek tip hassasiyeti garanti eder [44]. Bu içgörü derinliği, deneysel çalışmaların verimliliği ile birleştiğinde, CCD'yi formülasyon optimizasyonu için güçlü bir araç haline getirerek karmaşık sistemlerin incelikli bir şekilde anlaşılmasını sağlar.



3. MALZEMELER

3.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Kimyasal madde:	Marka adı, Ülke:
Disodyum Hidrojen Fosfat	Carlo Erba Reaktifleri, Almanya
Kalsiyum Klorür	Merck, Almanya
Kurkumin	Alko Argem Araştırma ve Geliştirme Merkezi
Laktoz Monohidrat	Drogsan, Türkiye
Maltoz	Merck, Almanya
Metanol	Sigma Aldrich, Almanya
Polivinilpirolidon	Alfa Aesar a Johnson Matthey Company, Almanya
Potasyum Dihidrojen Fosfat	Sigma, ABD
Potasyum Klorür	Sigma Aldrich, Almanya
Sükroz	Sigma Aldrich, Almanya
Sodyum Hidroksit	Alko Argem Araştırma ve Geliştirme Merkezi
Sodyum Klorür	Sigma Aldrich, Almanya
Trehaloz	Sisco Araştırma Laboratuvarları PVT. LTD, Türkiye
Triton X- 100	Alko Argem Araştırma ve Geliştirme Merkezi

3.2. Kullanılan Ekipman ve Cihazlar

Cihaz:	Marka adı, Ülke:
Buzdolapları	Arçelik Türkiye, Liebherr Pro-Lab, Türkiye
Dissolüsyon cihazı	PharmaTest Apparatus, Almanya
Hassas terazi	Ohaus E1 2140, Türkiye
Dondurarak Kurutucu	Operon, FDB-8602 Modeli, Güney Kore
Fotostabilite Odası	SGS, Türkiye
FTIR	Perkin Elmer Spectrum 100, ABD
Homojenleştirici Ultra Mikser	Pro-lab, Türkiye

Manyetik Karıştırıcı	Daihan Scientific Company Limited, Kore
Mikroplaka Spektrofotometresi	BioTek A.Ş.'nin Eon'u, ABD
Orbital Çalkalamalı İnkübatör	N-Biotek NB-303, Kore
pHmetre	Mettler Toledo, Çin
Santrifüj	Elektro.mag M 4800M, Türkiye
Etüv	Nüve FN500, Türkiye
Sonikatör	Wisd WUC-A03H, Kore
TA-60WS termal analizör	TA Instruments-SDT 650, ABD.
Taramalı Elektron Mikroskobu	Hitachi S-3030N, İrlanda
Termometre	Ebro, Almanya
UV-Görünür Spektrofotometre	Shimadzu, Japonya
Vorteks	Jeoitech, Kore
Zetasizer	Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, Birleşik Krallık

3.3. Kullanılan Bilgisayar Programları

Programlar:	Marka adı, Ülke:
SPSS sürüm 24	IBM, ABD
Microsoft Excel 2021	Microsoft, ABD
ChemSketch	ACD/Labs, Kanada
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

Nanopartikül formülasyonunun optimizasyonu, Yanıt Yüzeyi Metodolojisi (RSM) çerçevesinde Merkezi Kompozit Tasarım (CCD) kullanılarak Design Expert yazılımı (Design Expert® sürüm 13.0.2.0, yazılım, State-Ease Inc. Minneapolis, MN, ABD), varyans analizinin (ANOVA) $P < 0.05$ ve %95 güven aralığında anlamlı olduğu [101]. Çekirdek: kaplama (HAP / polisakkarit), inkübasyon süresi ve ilaç miktarının şu 3 kritik faktörü etkilediği görülmüştür: PDI, zeta potansiyeli ve partikül boyut dağılımı[87]. CCD seçimi, minimum sayıda deneysel çalışma ile deneysel alanın kapsamlı bir şekilde keşfedilmesine ve böylece birden fazla faktörün eşzamanlı etkisinin verimli bir şekilde incelenmesine olanak sağlamıştır. Bu tasarım stratejisi, seçilen faktörler arasındaki etkileşimlerin tanımlanmasını kolaylaştırarak gereksiz deneylerin sayısını önemli ölçüde azaltmış ve sonuçları hassas bir şekilde optimize etmiştir. Ön incelemeler, bu değişkenlerin akuazomların özelliklerini belirlemede çok önemli olduğunu tespit ederek, önceki çalışmalara ve ekstrem koşullar altında akuazom hazırlamanın fizibilitesine dayalı olarak her bir faktör için deney aralığının belirlenmesine rehberlik etmiştir. Seçilen aralıklar, optimizasyon sürecinin sağlamlığını sağlamak için geniş bir koşul yelpazesini kapsayacak şekilde oluşturulmuştur. Deneysel tasarım; deneysel noktaları; yıldız noktaları ve hata tahmini/model doğrulaması için merkezi noktaları içeren 12 çalışmadan oluşmuştur. Merkez noktalarının çoğaltılması, deneysel hata tahmininin güvenilirliğini artırarak modelin doğruluğuna katkıda bulunmuştur. Merkezden hesaplanan bir uzaklıkta belirlenen yıldız noktalarının dahil edilmesi, ikinci dereceden etkilerin tahmin edilmesini sağlayarak tasarımın dönüşebilirliğini ve dolayısıyla tasarım alanı boyunca tek tip tahmin kabiliyetini garanti altına almıştır. ANOVA ile doğrulanan ve önemli model terimleri sergileyen oluşturulan model, faktörler ve yanıtlar arasındaki karmaşık ilişkiyi tanımlayarak akuazom formülasyonunun hassasiyet ve verimlilikle optimizasyonuna rehberlik etmiştir [39,43].

Aşağıdaki tablo, değerlendirilen faktörleri ve yanıtları göstermektedir; çekirdek: kaplama (HAP / polisakkarit), inkübasyon süresi ve ilaç miktarının şu üç kritik faktörü etkilediği görülmüştür: PDI, zeta potansiyeli ve partikül boyut dağılımı.

Tablo 4.1. *Akuazomların hazırlanması için CCD ve RSM ile hesaplanan optimize edilmiş koşullar*

Numune No	Faktör 1	Faktör 2	Faktör 3	Yanıt 1	Yanıt 2	Yanıt 3
	A: Çekirdek: Kaplama	B: İnkübasyon Süresi Saatler	C: İlaç Miktarı Mg	Zeta Potansiyeli mV	Partikül Boyut Dağılımı nm	PDI
1	1	1	100			
2	1	1	500			
3	1	24	100			
4	5	24	500			
5	3	12.5	300			
7	3	12.5	636.359			
8	1	24	500			
9	3	12.5	300			
10	5	24	100			
11	5	1	500			
12	5	1	100			

4.2. Akuazomların Hazırlanması

4.2.1. Seramik çekirdeğin hazırlanması

8,9 g disodyum hidrojen fosfat bir terazide dikkatlice tartılmıştır. Ardından, ölçülen bileşik, bir mezür kullanılarak ölçülen 60 ml damıtılmış su içeren bir behere aktarıldı. Çözelti, disodyum hidrojen fosfatın tamamen çözünmesini sağlamak için hafifçe karıştırıldı. Benzer şekilde, 7,35 g kalsiyum klorür terazide tartılmış ve 60 ml su içeren başka bir behere eklenmiştir. Bu çözelti tam çözünmeyi sağlamak için dikkatlice karıştırılmıştır. Daha sonra disodyum fosfat çözeltisi bir bürete aktarıldı. Dikkatlice çalkalanıp reaksiyon izlenirken kalsiyum klorür çözeltisine damla damla ilave edildi.

Reaksiyon için denklem aşağıda gösterilmiştir:



Karışım 4°C'de 2 saat boyunca sonikatöre yerleştirilmiştir. Daha sonra dakikada 13.000 rpm'de 1 saat boyunca santrifüjlenmiştir. Santrifüjün ardından, süpernatant boşaltıldı ve çökelti, kalan sodyum klorürü uzaklaştırmak için distile su kullanılarak beş kez yıkandı. Çökelti daha sonra 50 ml damıtılmış su içinde yeniden süspanse edilmiş ve 0,2 µm gözenek boyutuna sahip bir selüloz asetat membrandan süzülmüştür. Çekirdek daha sonra etüvde 2 gün boyunca 100°C'de kurutulmuştur. Sonikasyon süresi ve sonikasyon sıklığı farklı partiler için optimize edilmiş ve çekirdek boyutu ve morfolojisi üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Reaksiyonun yüzde verimi hesaplanmıştır [84].

4.2.2. HAP 'nın hazırlanması

Kalsiyum fosfat ayrıca bir etüvde 1000 °C'de 1 saat boyunca kalsifiye edilerek dehidroksilasyona yol açmıştır. Çekirdek, bir havan ve tokmak kullanılarak ince tozlar halinde hafifçe öğütülecektir.

4.2.3. Çekirdek kaplaması

4.2.3.1. Laktoz

Laktoz (50 mg) damıtılmış suda (10 ml) çözülerek bir laktoz stok çözeltisi (5 mg/ml) hazırlanmıştır. Ayrı bir beherde, seramik çekirdek partikülleri (100 mg) laktoz çözeltisine (5 ml) eklenmiş ve ardından bir sonda sonikatör kullanılarak sonikasyon (5 dakika, 18W) yapılmıştır. Bunu orbital çalkalamalı bir inkübatörde (100 rpm, 25°C) inkübasyon takip etmiştir. Çalkalamadan sonra çözelti santrifüjlenmiştir (2000 rpm, 25°C, 15 dakika). Süpernatant boşaltılmış ve şeker kaplı çekirdek iki kez distile su ile yıkanmıştır. Şeker kaplı çekirdek daha sonra etüvde kurutulmuştur (70°C'de) [84,91,93,94].

4.2.3.2. Trehaloz

HAP çekirdekler tartılmış (yaklaşık 500 mg) ve temizlenmiş ve kurutulmuş bir iyot şişesine yerleştirilmiştir. Trehaloz çözeltisi (5 mL, 5 mg/mL) şişeye aktarılmış ve hacim damıtılmış su ile 50 mL'ye tamamlanmıştır. Şişenin ağzı kapatılarak yaklaşık 20 dakika boyunca kuvvetlice çalkalanmış ve ardından su içeren bir beherde oda sıcaklığında yaklaşık 1 saat boyunca aralıklı olarak çalkalanarak süspanse edilmiştir. Süspansiyon 2000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Şeker kaplı seramikler daha sonra kurutulmuştur [16,87].

4.2.3.3. Maltoz

Yaklaşık 500 mg HAP doğru bir şekilde tartılmış ve iyot şişelerine aktarılmıştır. Cam pipet kullanılarak, her bir iyot şişesi serisine 1 ila 10 ml arasında değişen hacimde şeker çözeltisi (her biri 5 mg/ml maltoz içeren) hassas bir şekilde eklenmiştir. Daha sonra seyreltme işleminde en yüksek saflığı sağlamak için her bir şişedeki hacim üç kez damıtılmış su kullanılarak 50 ml'ye çıkarılmıştır. Şişelerin ağzı sıkıca kapatılmış ve iyice karışmalarını ve HAP partiküllerinin şeker solüsyonuyla tamamen kaplanmalarını sağlamak için yaklaşık 20 dakika boyunca kuvvetli bir şekilde çalkalanmaya tabi

tutulmuştur. Bunu takiben, şişeler oda sıcaklığında tutulan bir su teknesine yerleştirilmiştir. Yaklaşık 1 saat boyunca rahatsız edilmeden bırakılmışlar ve bu süre boyunca şeker çözeltisinin seramik partiküller üzerinde homojen bir şekilde kaplanmasını sağlamak için aralıklı çalkalama yapılmıştır.

İnkübasyon süresinin ardından süspansiyonlar 2000 rpm hızında 5 dakika boyunca santrifüjlenmiştir. Bu adım şeker kaplı seramiklerin bağlanmamış şeker çözeltisinden ayrılmasını kolaylaştırmıştır. Daha sonra, kaplanmış seramikler alındı ve istenen sonuca ve malzeme özelliklerine göre iki kurutma yöntemine tabi tutuldu. Kurutma yöntemi olarak: ya şeker kaplama bütünlüğünü korurken nemi nazikçe uzaklaştırmak için ortam koşullarında havayla kurutuldular ya da malzemenin dondurulmasını ve ardından donmuş suyu doğrudan buhara dönüştürmek için basıncın düşürülmesini içeren yöntemle liyofilize edildiler. Liyofilizasyon, şeker kaplı seramiklerin yapısını korumak ve stabilitesini arttırmak için özellikle etkilidir, bu da onları daha ileri uygulamalar için uygun hale getirmektedir [89].

4.2.3.4. Sükroz

Yaklaşık 500 mg HAP doğru bir şekilde tartılmış ve iyot şişelerine aktarılmıştır. Bir büret kullanılarak, her bir iyot şişesi serisine 1 ila 10 ml arasında değişen hacimde şeker çözeltisi (her biri 5 mg/ml sükroz içeren) hassas bir şekilde eklenmiştir. Daha sonra seyreltme işleminde en yüksek saflığı sağlamak için her bir şişedeki hacim üç kez damıtılmış su kullanılarak 50 ml'ye çıkarılmıştır. Şişelerin ağzı sıkıca kapatılmış ve iyice karışmalarını ve HAP partiküllerinin şeker solüsyonuyla tamamen kaplanmalarını sağlamak için yaklaşık 20 dakika boyunca kuvvetli bir şekilde çalkalanmaya tabi tutulmuştur. Bunu takiben, şişeler oda sıcaklığında tutulan bir cam behere yerleştirilmiştir. Yaklaşık 1 saat boyunca dinlenmeye bırakılmışlar ve bu süre boyunca şeker çözeltisinin seramik partiküller üzerinde homojen bir şekilde kaplanmasını sağlamak için aralıklı çalkalama yapılmıştır.

İnkübasyon süresinin ardından süspansiyonlar 2000 rpm hızında 5 dakika boyunca santrifüjlenmiştir. Bu adım şeker kaplı seramiklerin bağlanmamış şeker çözeltisinden ayrılmasını kolaylaştırmıştır. Daha sonra, kaplanmış seramikler geri alındı ve istenen sonuca ve malzeme özelliklerine göre iki kurutma yöntemine tabi tutuldu. Ya şeker kaplama bütünlüğünü korurken nemi nazikçe uzaklaştırmak için ortam koşullarında havayla kurutuldular ya da donmuş suyu doğrudan buhara dönüştürmek için malzemenin

dondurulmasını ve ardından basıncın düşürülmesini içeren liyofilize edildiler. Liyofilizasyon, şeker kaplı seramiklerin yapısını korumak ve stabilitesini arttırmak için özellikle etkilidir, bu da onları daha ileri uygulamalar için uygun hale getirmektedir [89].

4.3. İlaç Yükleme

Kurkumin'i akuazomlara etkili bir şekilde yüklemek için süreç çeşitli kaplanmış çekirdeklerin hazırlanmasıyla başladı. 50 mg Kurkumin, ilk olarak 25 mL metanol içinde çözülerek bir çözücü faz oluşturuldu. Bu kurkumin çözeltisi daha sonra 1:4 CUR:PVP bağlı kalınarak 300 mg polivinilpirolidon (PVP) içeren sulu bir çözeltiye yavaşça eklenmiştir. CUR ile 1:1 oranına karşılık gelen doğru ölçülmüş miktarda şeker kaplı çekirdek daha sonra CUR-PVP karışımı ile birleştirilmiştir. Elde edilen karışım 22.000 rpm'de 25 dakika boyunca homojenizasyona tabi tutularak ilacın taşıyıcı partiküller üzerinde tutarlı bir şekilde dağılması sağlanmıştır. Daha sonra homojenat volümetrik bir şişeye aktarılmış, ağzı kapatılmış ve 25°C kontrollü sıcaklıkta 12 saatlik bir süre boyunca 150 rpm'de çalkalanmıştır. Çalkalama aşamasının ardından, ilaç etkinliğinin ve yapısal bütünlüğün korunmasını optimize etmek için dondurarak kurutmaya tabi tutulmadan önce CUR'in bütünlüğünü korumak için çözelti soğutulmuştur. Nihai kurutulmuş toz daha sonra sırasıyla partikül boyut dağılımı ve yüzey yükünün belirlenmesi için zeta potansiyeli ölçümleriyle karakterize edilmiştir. Ek olarak, ilaç salım profili, akuazomdan kurkumin salım kinetiğini belirlemek için *in vitro* çözünme testi kullanılarak değerlendirilmiştir.

4.4. Analitik Yöntem Geliştirme ve Validasyon Çalışmaları

Kurkuminin analitik miktar tayini, bir kuvars küvet (Quartz Suprasil, Hellma, 100-QS, 10 mm) ile bir UV-Görünür Spektrofotometre (Shimadzu, UV VIS 160, Japonya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan standart çözeltileri ve numuneleri analiz etmek ve optimum koşulları belirlemek için ön denemeler yapılmıştır.

Her seferinde numunelerin absorbands spektrumları alınmış ve numunenin maksimum absorbands verdiği dalga boyu (λ_{max}) belirlenmiştir.

4.4.1. Analitik miktar tayini için validasyon çalışmaları

Kurkumin miktarının belirlenmesine yönelik analitik yöntemin güvenilirliğini belirlemek için validasyon çalışmaları yürütülmüştür. Doğrulama parametreleri, ICH Q2

(R1) yönergelerini izleyerek doğrusallık, kesinlik, doğruluk, hassasiyet ve seçiciliği içermiştir. [40].

4.4.1.1. Doğrusallık ve çalışma aralığı

Doğrusallık, belirli bir aralıkta numunedeki analit miktarındaki artışla yanıtta orantılı artış olarak tanımlanır [40]. Analitik miktar belirleme yöntemi için çalışma koşulları Tablo 4.2'de ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 4.2. UV-Spektrofotometre Çalışma Koşulları

Parametre	Çalışma Aralığı
Çalışma aralığı	1 - 10 µg.mL ⁻¹
Çözücü ortam	0,1 N Hidroklorik asit (HCl)
Dalga boyu	425 nm
Cihaz	Shimadzu, UV VIS 160, Japonya
Küvet	Kuvars Suprasil, 100-QS, 10 mm, Hellma Analytics, Almanya

4.4.1.2. Kesinlik

Kesinlik, önceden belirlenmiş koşullar altında özdeş, homojen serilerin analizlerinin birbirine yakınlığı olarak tanımlanır ve tekrarlanabilirlik, ara kesinlik ve tekrar üretilebilirlik olarak ifade edilir [40].

- **Tekrarlanabilirlik:** Altı seri standart çözelti hazırlanmış ve aynı gün üç farklı konsantrasyonda (en düşük, orta ve en yüksek) ölçülmüştür.
- **Ara kesinlik:** Altı seri standart çözelti hazırlanmış ve üç farklı konsantrasyonda farklı günlerde ölçülmüştür.

4.4.1.3. Doğruluk

Doğruluk, hesaplanan değer referans değere yakınlığıdır [40]. Geri kazanım yüzdesi olarak ifade edilen doğruluk için kabul aralığı $\pm\%2$ 'dir [40]. Üç farklı konsantrasyonda altı seri standart çözelti hazırlandı ve ölçüldü.

4.4.1.4. Duyarlılık

Duyarlılık, aşağıdaki denklemler kullanılarak hesaplanan Tespit Sınırı (LOD) ve Miktar Tayini Sınırı (LOQ) ile ifade edilir [40]:

$$LOD = \frac{3.3\sigma}{S} \quad (4.2)$$

$$LOQ = \frac{10\sigma}{S} \quad (4.3)$$

Burada σ = noktaların standart sapması ve S = kalibrasyon eğrisinin eğimidir.

4.4.1.5. Seçicilik

Seçicilik, analitik bir yöntemin analitleri tamamen ayırma yeteneğidir. Seçicilik, çözücü olarak 0,1 N HCl ve hidrofilik taşıyıcı olarak kullanılan PVP (polivinilpirolidon) kullanılarak gösterilmiştir. Elde edilen spektrumlar, diğer maddelerden herhangi bir girişim olmadığından emin olmak için kurkumin spektrumu ile karşılaştırılmıştır.

4.5. Fizikokimyasal Karakterizasyon

4.5.1. Partikül boyut dağılımı ve zeta potansiyel analizi

Akuazomların partikül boyut dağılımı ve zeta potansiyeli Zeta-sizer (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK) kullanılarak belirlenmiştir. HAP, şeker kaplı HAP ve Kurkumin yüklü AQ damıtılmış su ile seyreltilmiştir. Örnek daha sonra bir küvete doldurulmuş ve analiz gerçekleştirilmiştir. Tüm ölçümler, zeta potansiyeli ve partikül boyut dağılımının ortalamasını almak için oda sıcaklığında ve üç tekrarlı gerçekleştirilmiştir [93,102].

4.5.2. Morfoloji

Seramik nanopartiküller, çekirdek, kaplama ve ilaç yüklü akuazomların ortalama boyutu ve boyut dağılımı SEM (Hitachi S-3030N, İrlanda) ile belirlenmiştir. Bu süreçte, numuneler çift taraflı yapışkan bant kullanılarak bronz bir numune tutucunun yüzeyine sağlam bir şekilde monte edilmiştir. Daha sonra, numune üzerine düşük vakumlu püskürtme, kaplama veya altın ile yüksek vakumlu buharlaştırma yoluyla biriktirilen ultra ince bir elektriksel olarak iletken malzeme tabakası olan altın ile kaplandılar. Son olarak, uygun çözünürlük altında gözlemlenmişlerdir [94].

4.5.3. FTIR analizi

HAP, selobiyoz, laktoz, maltoz, sükroz ve trehaloz ile kaplanmış HAP ve kurkumin yüklü akuazomların kurutulmuş tozları analiz için hazırlanmıştır. Spectrum BX (Perkin Elmer, Massachusetts, ABD) cihazı önce sterilize edildi ve boş disk okunarak kalibre edildi. Daha sonra numuneler teker teker hidrostatik pres ile belirli bir kuvvette birkaç dakika süreyle eklenmiştir (2-4). Örnekler 400-4000 cm^{-1} aralığında yaklaşık 4 cm^{-1} çözünürlükte tarandı [87].

4.5.4. Diferansiyel taramalı kalorimetri ve termogravimetrik analiz

Laktoz, maltoz, sükroz, selobiyoz ve trehaloz içeren ilaç yüklü akuazomlar hazırlanmıştır. Saf ilaç, saf karbonhidrat ve ilaç ile karbonhidratın fiziksel karışımından oluşan kontrol numuneleri hazırlanmıştır. Her bir numuneden (ilaç yüklü akuazomlar, saf ilaç, saf karbonhidrat ve fiziksel karışım) yaklaşık 3-10 mg tartılmıştır. Her bir numune hava geçirmez şekilde kapatılmış ayrı bir alüminyum örnek kabı yerleştirilmiştir. Isıtma işlemi sırasında herhangi bir nem veya uçucu madde kaybını önlemek için alüminyum örnek kaplarının uygun şekilde sızdırmazlığı sağlanmıştır. TA-60WS termal analiz cihazının (TA Instruments-SDT 650-USA) sıcaklık ve entalpi ölçęęi yüksek saflıkta indiyum veya başka bir uygun referans malzeme kullanılarak kalibre edilmiştir. Cihazın taban çizgisini belirlemek için boş bir alüminyum örnek kabın taban çizgisi taraması gerçekleştirilmiştir. Numune kabı ve boş bir referans kap DSC cihazına yerleştirildi. Analiz için sıcaklık aralığı, tipik olarak 25°C ile 1000°C arasında olacak şekilde ayarlandı. Isıtma hızı, tipik olarak 10°C/dak olarak ayarlandı. DSC/TGA çalışması başlatıldı ve her bir numune için termogramlar kaydedildi. İlaç yüklü akuazomların termogramları analiz edilmiş ve saf ilaç, saf karbonhidrat ve fiziksel karışımın termogramları ile karşılaştırılmıştır. Erime noktası, entalpi veya endotermik veya ekzotermik piklerin ortaya çıkması/kaybolmasındaki değışiklikler gözlenmiştir; bu da ilaç ve karbonhidrat arasındaki etkileşimleri veya yeni fazların veya komplekslerin oluşumunu gösterebilir. Karbonhidrat bileşiminin ilaç yüklü akuazomların termal davranışı üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir [63].

4.5.5. Kapsülleme Verimliliği

Kurkumin (10 mg) volümetrik bir şişeye (10 ml) aktarılmış ve ilacı çözmek için metanol eklenmiştir. Hacim işarete kadar tamamlandı. Bu çözelti 0,1 N hidroklorik asit çözeltisi ile 10 kez seyreltildi. Çözeltinin absorbansı spektrofotometrik olarak $\lambda_{\max}$ 425 nm'de ölçülmüştür. Kurkuminin miktar tayini için 0.1 N metanolik hidroklorik asit çözeltisinde 1-10 µg/mL aralığında bir kalibrasyon eğrisi geliştirilmiştir.

Formüle edilmiş kurkumin akuazomlarından 10 mg, 10 ml'lik temizlenmiş ve kurutulmuş bir volumetrik şişeye aktarılmıştır. Kurkumin daha sonra metanol içinde çözülmüştür. Daha sonra süspansiyon, kurkumin süpernatantını ve çekirdeği ayırmak için yüksek hızlı santrifüj işlemine tabi tutulmuş ve süpernatanttaki yüklenmemiş ilacın konsantrasyonu bir UV-vis spektrofotometresi kullanılarak belirlenmiştir.

Süpernatanttaki ilaç konsantrasyonu, kurkuminin absorpsiyon bandı olan 424 nm'deki absorbans yoluyla elde edilen doğrusal bir standart eğriye dayalı olarak ölçülmüştür. Enkapsülasyon verimliliği (EE) ve yükleme verimliliği (LE) aşağıdaki denklemler kullanılarak hesaplanmıştır:

$$EE = \frac{\text{Toplam Kurkumin ağırlığı} - \text{Yüklenmemiş Kurkumin ağırlığı}}{\text{Toplam Kurkumin ağırlığı}} * 100\% \quad (4.4)$$

$$LE = \frac{\text{Kurkuminin toplam ağırlığı} - \text{Yüklenmemiş Kurkuminin ağırlığı}}{\text{Partiküllerin ağırlığı}} * 100\% \quad (4.5)$$

4.6. *In Vitro* İlaç Salım Çalışmaları

Saf kurkumin ve ilaç yüklü akuazomların ilaç salımı 0.1 N hidroklorik asit ve fosfat Tampon tuzlu su 7.4 pH içinde gerçekleştirilmiştir. Kurkumin yüklü akuazomların *in vitro* salım çalışması 8 saat boyunca gerçekleştirilmiştir. Kurkumin yüklü akuazomlar (%1,5 a/h ilaç, 10 mg kurkumin eşdeğer) alınmış ve kapsül dozaj formuna formüle etmek yerine 'modifiye etkin madde' olarak bağımsız bir şekilde uygulanmıştır. Çözünme profili, USP tip 1 (kürek) aparatı kullanılarak normal kan/doku simülasyonu için 0,1 N hidroklorik asit ve fosfat tampon pH 7,4 olmak üzere iki farklı ortamda incelenmiştir. Akuazom ile doldurulmuş kapsüller $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ 'de tutulan çözünme ortamına daldırılmış ve çözünme ortamında 50 rpm hızda sürekli karıştırılmıştır. Örnekler (2 ml) düzenli zaman aralıklarında (0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ve 8 saat) çekilmiş ve taze çözünme ortamıyla (2 ml) değiştirilmiştir. Asidik ve fosfat tamponlu tuzlu suda (pH 7.4), ilaç içeriği aynı tamponda 1-10 µg/mL aralığında bir kalibrasyon eğrisi kullanılarak λ_{max} 425 nm'de analiz edilmiştir. Kümülatif salım yüzdesi hesaplanmış ve zamanın bir fonksiyonu olarak grafiğe geçirilmiştir [62,102].

4.7. *In Vitro* Salım Kinetiği

İlaç salım mekanizmasını aydınlatmak için, kurkumin yüklü akuazomların salım profili çeşitli matematiksel modeller kullanılarak analiz edilmiştir:

4.7.1. Sıfırıncı derece kinetiği

Sıfırıncı dereceden kinetik, ilaç konsantrasyonundan bağımsız olan sabit bir ilaç salım hızını tanımlar. Salım profili denklem ile temsil edilebilir:

$$C_t = C_0 + K_0 t \quad (4.6)$$

Burada

- $C_t = t$ zamanında salınan ilaç miktarı
- C_0 = Başlangıç ilaç konsantrasyonu
- K_0 = Sıfırıncı dereceden hız sabiti

4.7.2. Birinci dereceden kinetik

Birinci dereceden kinetik, ilaç konsantrasyonuna bağlı bir ilaç salım hızını tanımlar. Salım profili denklem ile ifade edilebilir:

$$\ln C_t = \ln C_0 - K_1 t \quad (4.7)$$

Burada

- $C_t = t$ zamanında kalan ilaç yüzdesi
- C_0 = Başlangıç ilaç konsantrasyonu
- K_1 = Birinci dereceden hız sabiti

4.7.3. Higuchi modeli

Higuchi modeli, çözünmeyen bir matristen ilaç salımını, Fick'in difüzyon yasasına dayanan zamana bağlı bir sürecin karekökü olarak tanımlar. En yaygın kullanılan kontrollü salım modellerinden biridir:

$$Q_t = K_H \cdot (t)^{0.5} \quad (4.8)$$

Burada

- $Q_t = t$ zamanında salınan ilaç miktarı
- K_H = Higuchi çözünme sabiti

4.7.4. Korsmeyer-Peppas modeli

Korsmeyer-Peppas modeli, polimerik bir taşıyıcı sistemden hem Fickian hem de Fickian olmayan ilaç salımını tanımlar. Salım profili şu şekilde verilir:

$$M_t / M_\infty = K t_{kp}^n \quad (4.9)$$

Burada

- $M_t / M_\infty = t$ zamanında salınan ilaç fraksiyonu
- K_{kp} = Salım hızı sabiti
- n = Üstel salım sabiti

4.7.5. Hixson-Crowell modeli

Hixson-Crowell modeli, çözünme işlemi sırasında partiküllerin yüzey alanı ve çapındaki değişiklikleri hesaba katar ve tipik olarak partikül boyut dağılımında bir azalma olduğunda uygulanır. Şu şekilde gösterilebilir:

$$(W_0^{1/3} - W_t^{1/3}) = K_{HC} t \quad (4.10)$$

Burada

- W_0 = Başlangıçtaki ilaç miktarı
- $W_t = t$ zamanında kalan ilaç miktarı
- K_{HC} = Hixson-Crowell hız sabiti

[103,104]

Kurkumin yüklü akuazomların salım profilini bu matematiksel modellerle yorumlayarak, ilaç salımını yöneten altta yatan mekanizmalar daha iyi anlaşılabilir ve dağıtım sisteminin optimizasyonuna yardımcı olabilir.

4.8.Stabilite Çalışmaları

4.8.1. Uzun süreli kararlılık çalışmaları

Kurkumin yüklü akuazomların uzun süreli kararlılıklarını değerlendirmek için $5 \pm 3^\circ\text{C}$ ve $25 \pm 3^\circ\text{C}$ 'ye yerleştirilmiştir. Örnekler 7. gün, 14. gün, 1, 2 ve 3 aylık aralıklarla alınmış ve toplam ilaç içeriği, partikül boyut dağılımı, PDI, zeta potansiyeli ve görsel inceleme açısından değerlendirilmiştir.

4.8.2. Fotostabilite çalışmaları

Fotostabilite çalışmaları ICH kılavuzlarına göre yürütülmüştür. Serbest kurkumin (%1 CMC içinde kurkumin dispersiyonu) ve kurkumin yüklü akuazomlar üzerindeki çalışmalar hem şeffaf cam hem de amber renkli kaplarda yapılmıştır. Örnekler fotostabilite odasına yerleştirilmiş ve 14 gün boyunca 1,2 milyon lüks saatten az olmayan aydınlatma sağlayan ışığa maruz bırakılmıştır. 14 gün sonra, serbest kurkumin toplam etkin madde miktarı açısından değerlendirilmiş ve kurkumin yüklü akuazomlar toplam etkin madde miktarı, yükleme etkinliği, partikül boyut dağılımı, zeta potansiyeli ve PDI açısından değerlendirilmiştir [63].

4.9. Biyouyumluluk Değerlendirmesi

4.9.1. Hemoliz testi

Akuazomların biyouyumluluğunu incelemek için bir hemoliz deneyi gerçekleştirilmiştir. Kırmızı kan hücreleri (RBC'ler) farelerden toplanmış ve %6 sodyum sitrat içeren örnek toplayıcılara yerleştirilmiştir. Toplanan kan örnekleri %0,9 salin ile seyreltilmiş ve RBC'leri serumdan izole etmek için 2000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Safılaştırılan RBC'ler daha sonra renksiz bir süpernatant elde etmek için üç ila dört kez yıkanmıştır.

Ardından, RBC'ler 5 ml serum fizyolojik ile seyreltilmiş ve ilaç yüklü akuazomların seyreltilmiş konsantrasyonları (1:1 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6) %0,9 serum fizyolojik ile hazırlanmıştır. 0,2 ml RBC, 0,8 ml seyreltilmiş ilaç yüklü akuazomlar ile karıştırılmış ve 37°C'de 2 saat bekletilmiştir. 1:100 v/v Triton X-100 ve %0,9 salin solüsyonları sırasıyla pozitif ve negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Karışımlar 2000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiş ve 100 µl süpernatant 96 kuyucuklu bir plakada toplanmıştır. Absorbans değerleri 540 nm'de mikroparka okuyucu (BioTek, USA) kullanılarak ölçülmüştür [16].

4.9.2. Deney grupları

Pozitif Kontrol Grubu: Triton X-100, kurkumin veya kurkumin yüklü akuazomlar olmadan seyreltme prosedürleri için kullanıldı. Deneyler 6 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

Negatif Kontrol Grubu: Seyreltme işlemleri Kurkumin/ Kurkumin yüklü akuazom içermeyen %0,9 Serum Fizyolojik (SF) ile yapılacaktır. Deneyler 6 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

CUR: Sadece Kurkumin içeren salin solüsyonu ile seyreltme. 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6 oranları (Kurkumin: %0,9 SF). Deneyler 6 tekrar ile gerçekleştirilmiştir.

Form-1: Formülasyon 1 (Kurkumin yüklü AQ-Laktoz) içeren salin solüsyonu ile seyreltme yapılacaktır. 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6 oranlarında (Form1: %0,9 SF). Deneyler 6 tekrar ile gerçekleştirilmiştir.

Form-2: Formülasyon 2 (Kurkumin yüklü AQ-Maltose) içeren salin solüsyonu ile seyreltme yapılacaktır. 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6 oranlarında (Form2: %0,9 SF). Deneyler 6 tekrar ile gerçekleştirilmiştir.

Form-3: Formülasyon 3 (Kurkumin yüklü AQ-Sukroz) içeren salin solüsyonu ile seyreltme yapılacaktır. 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6 oranlarında (Form3: %0,9 SF). Deneyler 6 tekrar ile gerçekleştirilmiştir.

Form-4: Formülasyon 4 (Kurkumin yüklü AQ-Trehaloz) içeren salin solüsyonu ile seyreltme yapılacaktır. 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6 oranlarında (Form4: %0,9 SF). Deneyler 6 tekrar ile gerçekleştirilmiştir.

Tablo 4.3. Hemoliz testinde kullanılacak gruplar.

Gruplar		(Test: %0,9 SF) Oranlar					
		1:1	1:2	1:3	1:4	1:5	1:6
Pozitif	kontrol						
	(Triniton X-100)						
Negatif	Kontrol						
	(%0,9 SF)						
	Saf Kurkumin						
	Kurkumin yüklü AQ-						
	Laktoz						
	Kurkumin yüklü AQ-						
	Maltoz						
	Kurkumin yüklü AQ-						
	Sükroz						
	Kurkumin yüklü AQ-						
	Trehaloz						

4.9.3. Veri analizi

RBC'lerin yüzde hemolizi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\% \text{Hemoliz} = \frac{(\text{Örneğin Absorbansı} - \text{Negatif Kontrolün Absorbansı})}{(\text{Pozitif Kontrolün Absorbansı} - \text{Negatif Kontrolün Absorbansı})} * 100\% \quad (4.11)$$

Elde edilen sonuçlar uygun grafiklerde yer almaktadır

4.10. İstatistiksel Analiz

Farklı grupların ortalama değerlerini karşılaştırmak için tek yönlü ANOVA kullanılmış ve istatistiksel anlamlılık $p < 0.05$ olarak belirlenmiştir. Verim yüzdesi verilerinin istatistiksel analizi eşleştirilmemiş Student's t-testine dayanmaktadır. Kullanılan yazılım Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi (SPSS) sürüm 24'tür ve Microsoft Excel 2021 ve Design Expert sürüm 13. İstatistiksel testleri yapmadan önce,

araştırmacılar bu testler için gerekli varsayımların karşılandığından emin olmuştur. Tek yönlü ANOVA için normallik, varyansların homojenliği ve bağımsız gözlemler kontrol edilmiştir.

Çubuk grafikler veya dağılım grafikleri gibi görsel temsiller kullanılmıştır. Bu görseller, verilerdeki örüntülerin ve aykırı değerlerin belirlenmesine yardımcı olmuş ve sonuçların iletilmesinde etkili bir yol olmuştur.

4.11. Etik Hususlar

Çeşitli etik hususlar dikkate alınmıştır. Çalışmada kullanılan fare sayısını en aza indirmek için "3R" (Replacement, Reduction, and Refinement) ilkesi izlenmiştir. Deneyler, istatistiksel olarak geçerli sonuçlar elde etmek için gereken minimum sayıda fare kullanılacak şekilde tasarlanmış ve gereksiz tekrarlar azaltılmıştır.

Sıçanlar yeterli alana, uygun sıcaklık ve neme, temiz uyku alanlarına ve yiyecek ve suya erişime sahip uygun tesislerde barındırılmıştır. Stresi en aza indirmek ve farelerin refahını korumak için önlemler uygulanmıştır. Deneyler sırasında ağrı ve sıkıntıyı en aza indirmek için uygun analjezikler ve anestezipler kullanılmıştır. Sıçanlar çalışma boyunca izlenmiş ve advers olayların görülmesi halinde gerekli bakım ve müdahale sağlanmıştır.

Acıyı en aza indirmek amacıyla sıçanlar ne zaman ötenazi yapılması gerektiğini belirlemek için insani son noktalar belirlenmiştir. Ciddi sıkıntı durumlarında veya deneysel son noktalara ulaşıldığında, sıçanlar onaylanmış yöntemler izlenerek ötenazi uygulanmıştır. Çalışmada yer alan tüm personel, hayvan kullanımı, deneysel prosedürler ve etik hususlar konusunda yeterli eğitim almıştır. Bu eğitim, hayvan araştırmalarını düzenleyen ilgili kılavuzlar, yönetmelikler ve kurumsal politikalar hakkında bilgi sahibi olmayı da içermektedir.

Çalışma yapılmadan önce Hayvan Araştırmaları Etik Kurulu'ndan etik onay alınmıştır. Bu sayede deneysel tasarımın ve hayvan refahı önlemlerinin kabul edilen etik standartlara uygun olması sağlanmıştır. Çalışmanın yöntemleri, sonuçları ve etik hususları şeffaf bir şekilde raporlanmıştır.

5. SONUÇLAR

5.1. Giriş

Bu bölüm, formülasyon optimizasyonu, akuazomların hazırlanması, fizikokimyasal özelliklerinin analiz edilmesi, ilaç yüklemesi ve kapsülleme etkinliğinin değerlendirilmesi, *in vitro* ilaç salım deneylerinin yapılması, stabilitenin incelenmesi ve *in vitro* biyoyoumluluk araştırılması gibi çalışma sonuçlarını detaylandırmaktadır.

5.2. Akuazomların Hazırlanması

HAP çekirdeği çöktürme yöntemiyle sentezlenmiştir. Daha sonra sükroz, maltoz ve laktoz şekerleri ile kaplanmıştır. Kurkumin daha sonra organik fazı oluşturmak için metanolde çözülürken, HAP kaplı çekirdek ve hidrofilik bir taşıyıcı olan PVP sulu fazı oluşturmuştur. Çözeltiler karıştırılmış ve ilacın kaplanmış çekirdeklere adsorbe edilmesi için yüksek hızda karıştırılmıştır. Kurkumin kaplı akuazomlar daha sonra karakterize edilmiş ve *in vitro* stabilite, ilaç salımı ve geçirgenlik açısından incelenmiştir.

5.3. Formülasyonun Optimizasyonu

Tablo 5.1. Akuazomların ortalama partikül boyut dağılımı üzerinde test edilen değişkenlere ilişkin deneysel sonuçlar

	Faktör 1	Faktör 2	Faktör 3	Yanıt 1	Yanıt 2	Yanıt 3
No	Çekirdek: Kaplama	İnkübasyon Süresi (saat)	İlaç Miktarı (g)	Zeta Potansiyeli (mV)	Partikül Boyut Dağılımı(nm)	PDI
1	3	6.5	300	-15.7±4.1	319.0±10.3	0.575±0.210
2	1	1	500	-21.8±1.2	224.0±16.4	0.391±0.171
3	1	12	500	-24.2±3.4	121.4±15.8	0.298±0.243
4	1	1	100	-26.9±2.4	191.7±12.8	0.254±0.180
5	6.4	6.5	300	-9.1±2.7	407.5±20.5	0.536±1.131
6	3	6.5	636.4	-25.6±0.8	248.1±11.4	0.675±0.282
7	5	12	500	-17.0±4.6	191.7±20.6	0.381±0.130
8	3	6.5	300	-23.9±1.7	333.7±9.7	0.497±0.262
9	5	1	500	-6.71±3.9	745.5±13.2	0.813±0.094
10	5	1	100	-17.3±2.7	389.8±19.4	0.648±1.016
11	3	15.7	300	-15.4±5.3	257.0±15.9	0.497±0.635
12	1	12	100	-16.9±4.7	326.2±16.3	0.541±1.314
13	5	12	100	-6.4±5.6	362±22.8	0.573±0.806

Çalışma 8, deneysel sonuçlara dayanarak akuazomlar için en uygun formülasyon olarak belirlenmiştir. Bu formülasyonda 3:1 çekirdek-kaplama oranı, 6,5 saatlik inkübasyon süresi ve 300 mg ilaç miktarı kullanılmıştır. Elde edilen akuazomlar, -23.9±1.7 mV zeta potansiyeli, 333.7±9.7 nm partikül boyut dağılımı ve 0.497±0.262

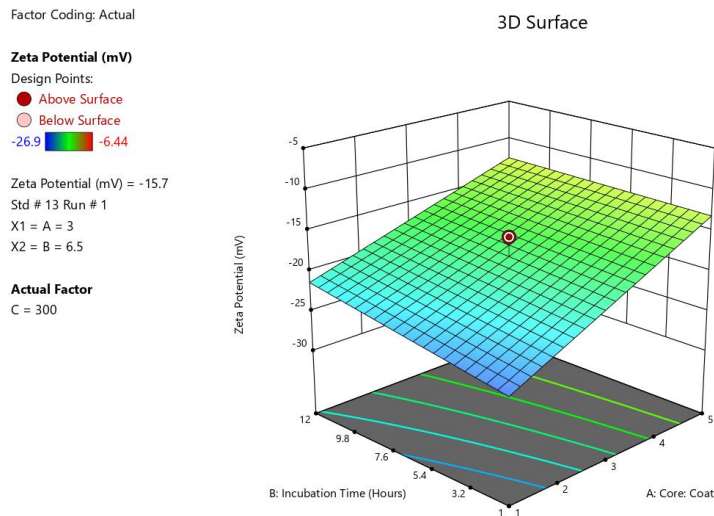
polidispersite indeksi (PDI) sergilemiştir. Bu özellikler, uygun partikül boyut dağılımı ve homojenliğe sahip stabil bir formülasyona işaret etmektedir.

Bu sonuçlar göz önüne alındığında, trehaloz, süktroz ve maltoz şekerlerini içeren kurkumin yüklü akuazomları hazırlamak için Çalışma 8'deki aynı koşullar kullanılmıştır. Bu optimize edilmiş formülasyon, farmasötik uygulamalar için potansiyelini değerlendirmek üzere daha ileri karakterizasyon çalışmaları için seçilmiştir.

5.3.1. Faktörlerin etkisi

Daha yüksek bir çekirdek: kaplama daha az negatif zeta potansiyeli ile ilişkili görünmektedir, bu da daha az stabiliteye işaret edebilir. Ancak, bu faktör partikül boyut dağılımı veya PDI ile tutarlı bir eğilim göstermemektedir. Daha uzun inkübasyon sürelerinin daha negatif zeta potansiyeli ve daha küçük partikül boyutları sağladığı görülmektedir. Daha yüksek ilaç miktarları zeta potansiyelini düşürme eğilimindedir, bu da daha az stabil bir kolloidal sisteme işaret eder. Bu faktör de partikül boyut dağılımı veya PDI ile tutarlı bir eğilim göstermemektedir. Stabilite ve homojenliği optimize etmek için, uygun inkübasyon süresine odaklanmak ve çekirdek: kaplama ayarlamak, ilaç miktarını değiştirmekten daha etkili olabilir. Tüm faktörler aşağıdaki tablolarda gösterildiği gibi istatistiksel olarak anlamlıdır ve 2FI ve Kuadratik modellerdeki denklemleri gösterilmiştir.

$$\text{Zeta potansiyeli} = -33,7893 + 2,95916 * A + 1,59776 * B + 0,0158844 * C + -0,0798864 * AB + 0,000696875 * AC + -0,0038125 * BC$$



Şekil 5.1. İnkübasyon süresi ve çekirdek: kaplama zeta potansiyeli (mV) üzerindeki etkisi

5.3.2. 2FI Modeli İçin ANOVA

Yanıt 1: Zeta Potansiyeli

Tablo 5.2. Seçilen faktöriyel model için ANOVA (yanıt 1: Zeta Potansiyeli)

Kaynak	Kareler Toplamı	Df	Ortalama Kare	F-değeri	p-değeri	
Model	482.43	6	80.40	5.16	0.0330	Önemli
A-Çekirdek:	299.16	1	299.16	19.20	0.0047	
Kaplama						
B-İnkübasyon Süresi	14.70	1	14.70	0.9434	0.3689	
C-İlaç Miktarı	19.65	1	19.65	1.26	0.3044	
AB	6.18	1	6.18	0.3966	0.5521	
AC	0.6216	1	0.6216	0.0399	0.8483	
BC	140.70	1	140.70	9.03	0.0238	
Artık	93.47	6	15.58			
Uyum Eksikliği	59.85	5	11.97	0.3560	0.8454	önemli değil
Saf Hata	33.62	1	33.62			
Kor Toplam	575.89	12				

Model F-değerinin 5,16 olması modelin anlamlı olduğunu göstermektedir. Bu kadar büyük bir F değerinin gürültü nedeniyle oluşma ihtimali yalnızca %3,30'dur.

P-değerlerinin 0.0500'den küçük olması model terimlerinin anlamlı olduğunu gösterir. Bu durumda A, BC önemli model terimleridir. 0,1000'den büyük değerler model terimlerinin anlamlı olmadığını gösterir. Çok sayıda önemsiz model terimi varsa, model indirgeme modelinizi iyileştirebilir.

Uyum Eksikliği **F-değerinin** 0,36 olması, Uyum Eksikliğinin saf hataya göre önemli olmadığı anlamına gelmektedir. Bu kadar büyük bir Uyum Eksikliği F-değerinin gürültü nedeniyle ortaya çıkma olasılığı %84,54'tür. Anlamlı olmayan uyum eksikliği iyidir -- modelin uymasını isteriz.

$$\text{Partikül Boyut Dağılımı} = 57.7544 + 56.9901 * A + 36.0751 * B + 0.183089 * C + -6.97159 * AB + 0.111844 * AC + -0.0867159 * BC$$

Factor Coding: Actual

3D Surface

Particle Size (nm)

● Design Points

121.4 745.5

Particle Size (nm) = 319

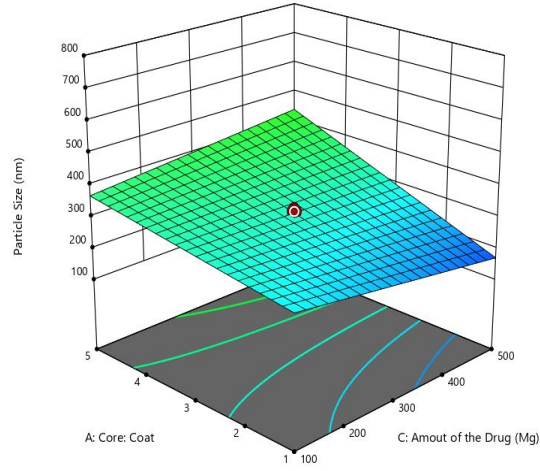
Std # 13 Run # 1

X1 = C = 300

X2 = A = 3

Actual Factor

B = 6.5



Şekil 5.2. Çekirdek: kaplama ve ilaç miktarının partikül boyut dağılımı (nm) üzerindeki etkisi

5.3.3. 2FI Modeli İçin ANOVA

Yanıt 2: Partikül Boyut Dağılımı

Tablo 5.3. Seçilen faktöriyel model için ANOVA (yanıt 2: partikül boyut dağılımı)

Kaynak	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F-değeri	p-değeri	
Model	2.642E+05	6	44033.64	12.04	0.0040	Önemli
A-Çekirdek:	87209.92	1	87209.92	23.84	0.0028	
Kaplama						
B-İnkübasyon Süresi	37685.22	1	37685.22	10.30	0.0184	
C-İlaç Miktarı	860.06	1	860.06	0.2351	0.6449	
AB	47047.78	1	47047.78	12.86	0.0116	
AC	16011.55	1	16011.55	4.38	0.0814	
BC	72790.20	1	72790.20	19.90	0.0043	
Artık	21947.87	6	3657.98			
Uyum Eksikliği	21839.83	5	4367.97	40.43	0.1188	önemli değil
Saf Hata	108.04	1	108.04			
Kor Toplam	2.861E+05	12				

Faktör kodlaması **Kodlanmıştır.**

Kareler toplamı **Tip III - Kısmi**

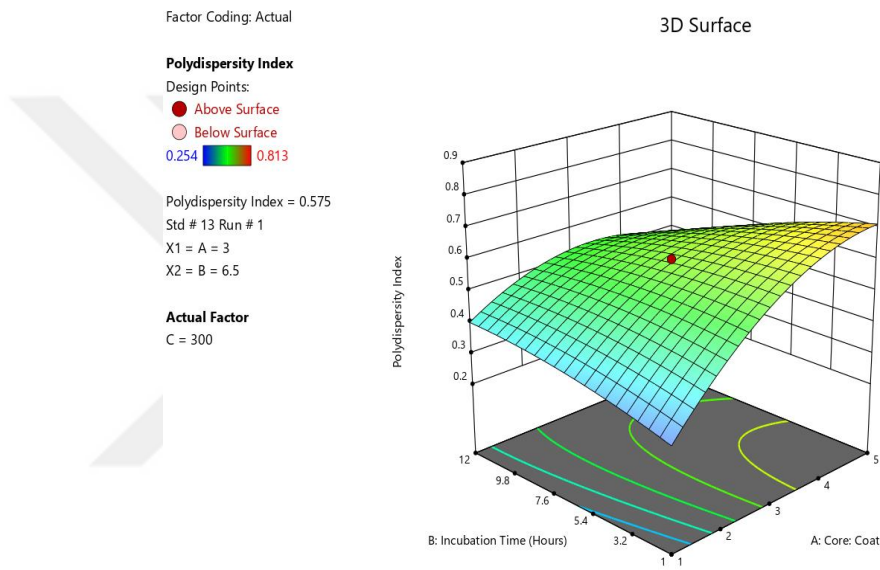
Model F-değerinin 12,04 olması modelin anlamlı olduğunu göstermektedir. Bu kadar büyük bir F değerinin gürültü nedeniyle oluşma ihtimali yalnızca %0,40'tır.

P-değerlerinin 0.0500'den küçük olması model terimlerinin anlamlı olduğunu gösterir. Bu durumda A, B, AB, BC önemli model terimleridir. 0,1000'den büyük değerler

model terimlerinin anlamlı olmadığını gösterir. Çok sayıda önemsiz model terimi varsa, model indirgeme modelinizi iyileştirebilir.

Uyum Eksikliği **F-değerinin** 40,43 olması, Uyum Eksikliğinin saf hataya göre önemli olmadığı anlamına gelmektedir. Bu kadar büyük bir Uyum Eksikliği F-değerinin gürültü nedeniyle ortaya çıkma olasılığı %11,88'dir. Anlamlı olmayan uyum eksikliği iyidir -- modelin uymasını isteriz.

$$PDI = -0,0247661 + 0,254149 * A + 0,0526414 * B + 4,09216e-06 * C + -0,00796591 * AB + 2,46875e-05 * AC + -8,375e-05 * BC + -0,0248219 * A^2 + -0,00075001 * B^2 + 6,83259e-07 * C^2$$



Şekil 5.3. İnkübasyon Süresi ve Çekirdek: katının PDI üzerindeki etkisi

5.3.4. Kuadratik model için ANOVA

Yanıt 3: Polidispersite İndeksi

Tablo 5.4. Seçilen faktöriyel model için ANOVA (yanıt 3: PDI)

Kaynak	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F-değeri	p-değeri	
Model	0.2924	9	0.0325	25.95	0.0108	önemli
A-Çekirdek: Kaplama	0.1272	1	0.1272	101.59	0.0021	
B- İnkübasyon Süresi	0.0098	1	0.0098	7.82	0.0680	
C-İlacın Miktarı	0.0011	1	0.0011	0.8701	0.4197	
AB	0.0614	1	0.0614	49.06	0.0060	
AC	0.0008	1	0.0008	0.6231	0.4875	
BC	0.0679	1	0.0679	54.23	0.0052	
A²	0.0562	1	0.0562	44.86	0.0068	

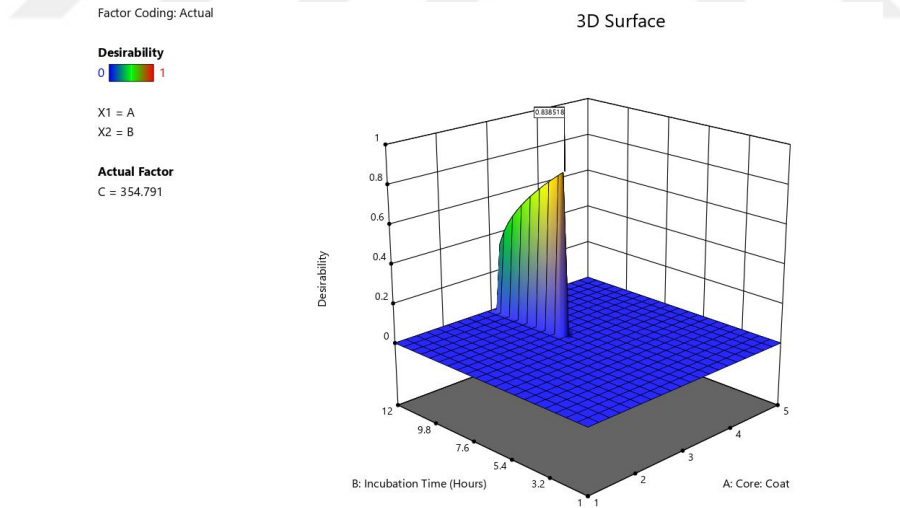
Tablo 5.4. Seçilen faktöriyel model için ANOVA (yanıt 3: PDI) (Devam)

Kaynak	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F-değeri	p-değeri	
B ²	0.0028	1	0.0028	2.24	0.2313	
C ²	0.0041	1	0.0041	3.30	0.1668	
Artık	0.0038	3	0.0013			
Uyum Eksikliği	0.0034	2	0.0017	4.29	0.3231	önemli değil
Saf Hata	0.0004	1	0.0004			
Kor Toplam	0.2962	12				

Model F-değerinin 25,95 olması modelin anlamlı olduğunu göstermektedir. Bu kadar büyük bir F değerin gürültü nedeniyle oluşma ihtimali yalnızca %1,08'dir.

P-değerlerinin 0.0500'den küçük olması model terimlerinin anlamlı olduğunu gösterir. Bu durumda A, AB, BC, A² önemli model terimleridir. 0,1000'den büyük değerler model terimlerinin anlamlı olmadığını gösterir. Çok sayıda önemsiz model terimi varsa, model indirgeme modelinizi iyileştirebilir.

Uyum Eksikliği **F-değerinin** 4,29 olması, Uyum Eksikliğinin saf hataya göre önemli olmadığı anlamına gelmektedir. Bu kadar büyük bir Uyum Eksikliği F-değerinin gürültü nedeniyle ortaya çıkma olasılığı %32,31'dir. Anlamlı olmayan uyum eksikliği iyidir -- modelin uymasını isteriz.



Şekil 5.4. İnkübasyon süresi ve çekirdek: katın arzu edilebilirlik üzerindeki etkisi

Arzu edilebilirlik, bir süreç veya reaksiyon için muhtemelen en uygun koşulları temsil eden ve bu değeri maksimize etmeyi amaçlayan bir fonksiyondur. Çizimden şunu gözlemleyebiliriz: En yüksek arzu edilebilirlik parlak yeşil renkte gösterilir ve faktör uzayında belirli bir bölgede meydana gelir. 'Gerçek Faktör' C 354.791 olarak verilmiştir,

bu da deneyde değiştirilmeyen sabit bir koşulu veya parametreyi temsil ediyor olabilir. Zirvenin tepesinde gösterilen en yüksek arzu edilebilirlik 0,838518'dir ve bu özel koşullar altında çok olumlu bir sonuca işaret etmektedir. 'ekirdek: En yüksek arzu edilebilirliğin gerçekleştiği 'Kaplama' oranı ölçeğin alt ucuna daha yakındır (eksende '1' olarak gösterilmiştir), bu da daha düşük bir oranın daha arzu edilir olduğunu göstermektedir. En yüksek arzu edilebilirliğe karşılık gelen 'İnkübasyon Süresi', sağlanan zaman aralığının alt ucunda görünmektedir. Modelin ve arzu edilebilirlik katsayısının tahmin doğruluğunu değerlendirmek için, akuazomlar optimize edilmiş koşullar altında sentezlenmiştir. Bu optimum koşullar kullanılarak hazırlanan akuazomlar için elde edilen deneysel değerler, tahmin edilen değerlerle yakından eşleşmiş ve minimum yüzde sapmayı sergilemiştir.

5.4. Kurkumin Miktar Tayini için Validasyon Sonuçları

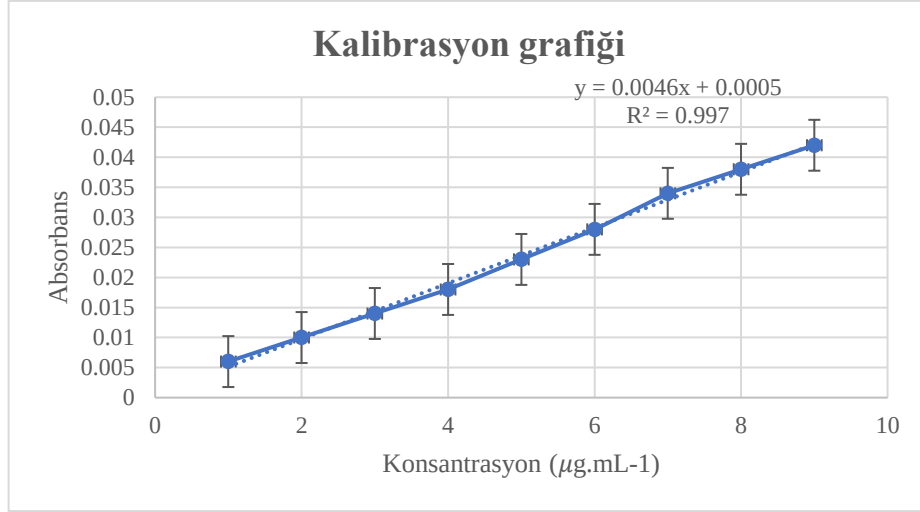
Kurkuminin absorbans spektrumu 415-430 nm dalga boyu aralığında kaydedilmiştir. Kurkumin için maksimum absorbans (λ_{max}) yaklaşık 425 nm'de gözlenmiş ve kurkuminin karakteristik zirvesini doğrulamıştır.

5.4.1. Analitik miktar tayini için validasyon

Etkin maddenin miktar tayininde kullanılan analitik yöntemin güvenilirliğini göstermek amacıyla gerçekleştirilen validasyon çalışmaları aşağıdaki başlıklar altında değerlendirilmiştir.

5.4.1.1. Kalibrasyon Eğrisi

Kurkumin miktar tayini için kalibrasyon eğrisi bir dizi standart çözelti kullanılarak oluşturulmuştur. Yöntemin doğrusallığı, absorbans ve konsantrasyon arasında güçlü bir doğrusal ilişki gösteren bir kalibrasyon eğrisi ile teyit edilmiştir. Kalibrasyon eğrisinin denklemi $y=0.0046x+0.0005y$ olup R^2 değeri 0.997'dir ve test edilen konsantrasyon aralığında (0 - 10 $\mu\text{g/mL}$) doğrusallığa işaret etmektedir.



Şekil 5.5. Kurkumin ait kalibrasyon grafiği

5.4.1.2. Kesinlik

Tekrarlanabilirlik: Altı seri standart çözelti hazırlanmış ve aynı gün üç farklı konsantrasyonda (en düşük, orta, en yüksek) ölçülmüştür. RSD (Göreceli Standart Sapma) kabul edilebilir sınırlar içinde bulunmuş ve yüksek tekrarlanabilirlik göstermiştir.

Tablo 5.5. Kesinlik - Tekrarlanabilirlik çalışması sonuçları

Konsantrasyon seviyeleri	1 µg/ml	5 µg/ml	9 µg/ml
Her bir konsantrasyon seviyesinde altı replikatın her biri için hesaplanan konsantrasyonlar.	0.006	0.023	0.042
	0.0058	0.023	0.042
	0.006	0.022	0.041
	0.006	0.023	0.042
	0.0059	0.023	0.042
	0.006	0.023	0.043
Ortalama	0.006	0.023	0.042
SD	0.00008	0.000408	0.000632
Varyans	6.40e-09	0.000000167	0.0000004
CV (%)	1.36%	1.79%	1.51%

Ara kesinlik: Altı seri standart çözelti hazırlanmış ve farklı günlerde üç farklı konsantrasyonda ölçülmüştür. RSD değerleri kabul edilebilir sınırlar içindeydi ve orta düzeyde hassasiyeti doğruluyordu.

5.4.1.3. Doğruluk

Yöntemin doğruluğu, üç farklı konsantrasyonda (en düşük, orta, en yüksek) kurkuminin % geri kazanımı hesaplanarak değerlendirilmiştir. Geri kazanım yüzdesi ± 2 içindeydi ve kabul kriterlerini karşılıyordu.

Tablo 5.6. Hazırlanan serilere ait yüzde geri kazanım sonuçları

Derişim	Yüzde geri kazanım ($\bar{x} \pm SS$, n=6)	Standart hata
1	0.6 $\pm$ 0.00008	0.0000327
5	0.46 $\pm$ 0.000408	0.0001667
9	0.467 $\pm$ 0.000632	0.000258

$\bar{x}$: ortalama, SS: Standart sapma

5.4.1.4. Duyarlılık

Tespit Limiti (LOD) ve Miktar Tayini Limiti (LOQ) daha önce bahsedilen denklemler kullanılarak hesaplanmıştır:

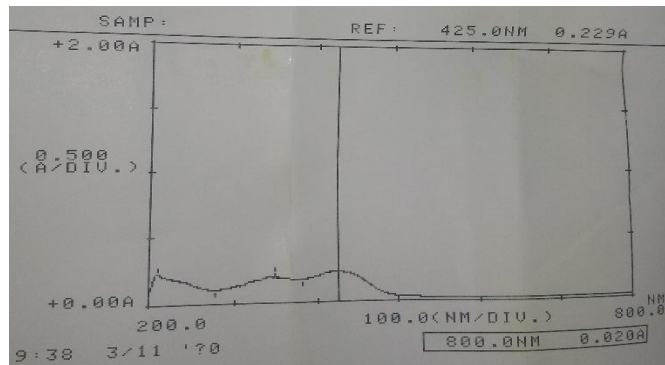
$$LOD=0,36 \mu\text{g/mL}$$

$$LOQ=1,09 \mu\text{g/mL}$$

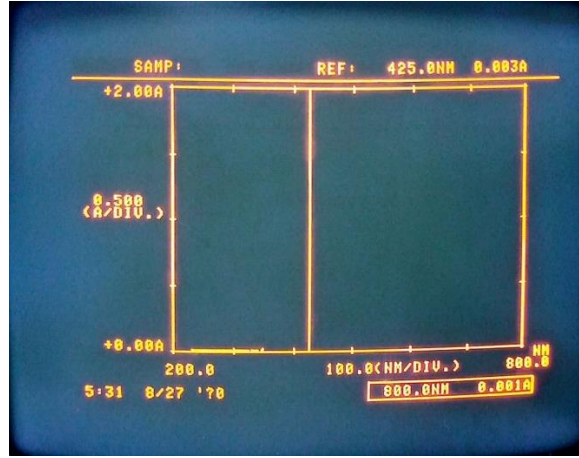
Bu sonuçlara göre, LOQ değerinin LOD değerinden büyük olması ve her ikisinin de çalışma aralığının altında kalması, analitik metodun yeterli duyarlılığa sahip olduğunu göstermektedir.

5.4.1.5. Seçicilik

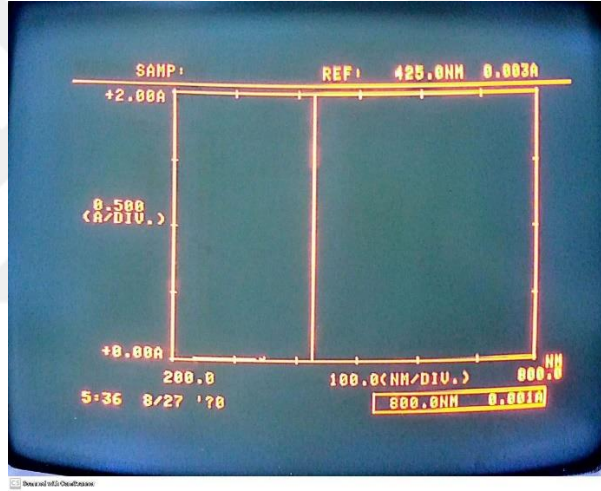
Yöntemin seçiciliği, kurkumin spektrumları ile çözücü (0,1 N HCl), PVP (hidrofilik taşıyıcı olarak kullanılır) ve plasebo formülasyonunun spektrumları karşılaştırılarak gösterilmiştir. Spektrumlar bu maddelerden kaynaklanan önemli bir girişim göstermeyerek yöntemin seçiciliğini doğrulamıştır.



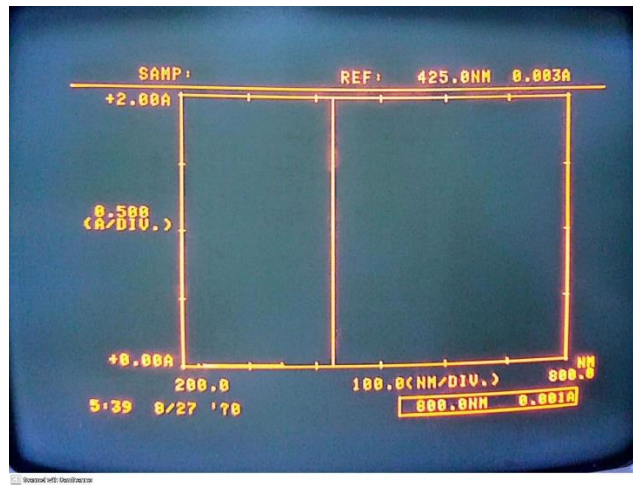
Şekil 5.6. 0,1 N HCl ortamında hazırlanan Kurkumin'in absorbands spektrumu



Şekil 5.7. 0,1 N HCl ortamına ait absorbands spektrumu



Şekil 5.8. PVP ait absorbands spektrumu



Şekil 5.9. Placebo (etkin madde içermeyen) formülasyona ait absorbands spektrumu

Spektrumlara bakıldığında, etkin maddenin miktar tayininin yapıldığı 425 nm dalga boyunda hiçbir yardımcı maddenin absorbans vermediği ve dolayısıyla girişim yapmadığı görülmüştür.

5.5. Fizikokimyasal Karakterizasyon

5.5.1. Partikül boyut dağılımı, PDI ve zeta potansiyeli

Grafik, yoğunluğa göre boyut dağılımını göstermektedir.

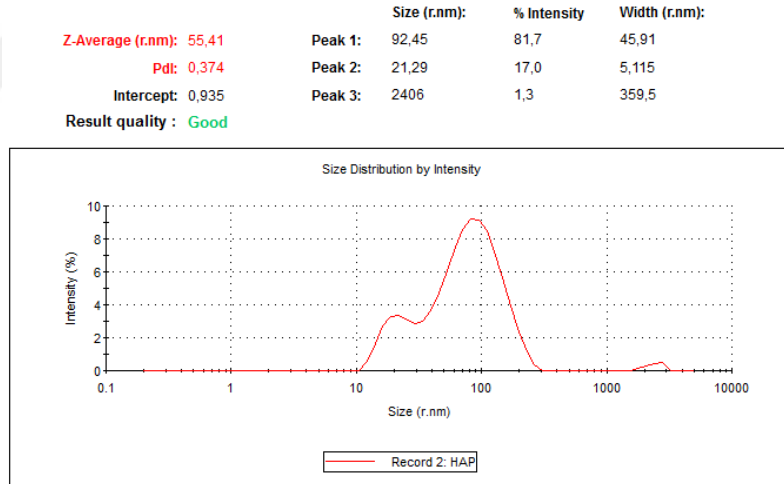
Z-Ortalaması: Bu değer tipik olarak partikül boyut dağılımının merkezi eğiliminin bir göstergesi olarak kullanılır.

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.

HAP- Partikül boyut dağılımı ve PDI

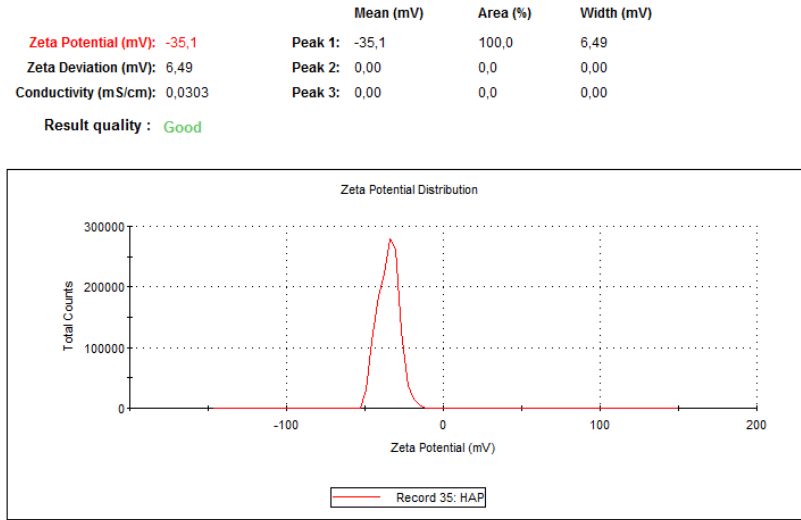


Şekil 5.10. HAP'ın partikül boyut dağılımı analizi

Z-ortalama boyutu 55.41 nm'dir, bu da yoğunluğa göre ortalama partikül boyut dağılımı gösterir. PDI 0,374'tür ve bu da numunede orta düzeyde bir polidispersite olduğunu göstermektedir. Kesişme değeri 0,935'tir, bu da korelasyon fonksiyonunun taban çizgisiyle ilgili olabilir. Listelenen üç tepe noktası vardır. Tepe 1, %81,7 yoğunluk ile 92,45 nm boyutundadır ve muhtemelen ana partikül popülasyonudur. Tepe 2, 21,29 nm'de %17,0 yoğunlukta olup daha küçük bir boyut fraksiyonuna işaret etmektedir ve

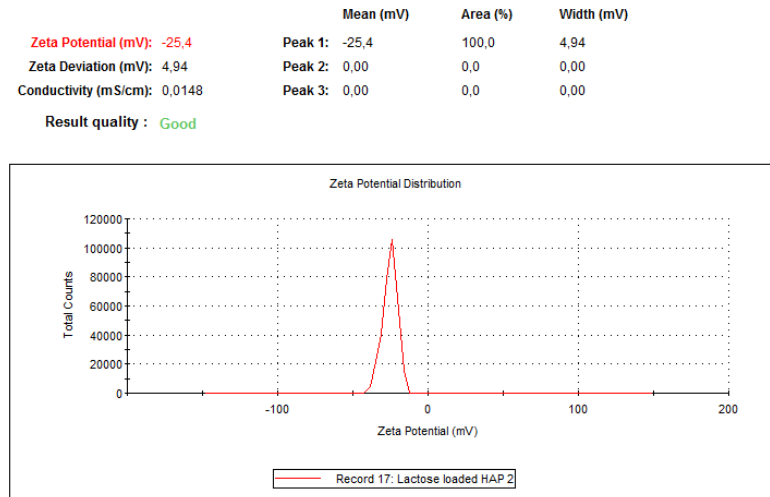
tepe 3 2406 %1,3'tür. Piklerin genişliği nm cinsinden verilmiştir; Pik 1'in genişliği 45,91 nm'dir ve bu da partikül boyut dağılımında bir miktar farklılık olduğunu göstermektedir.

Zeta Potansiyeli -HAP



Şekil 5.11. HAP'in Zeta Potansiyeli

Laktoz Yüklü HAP



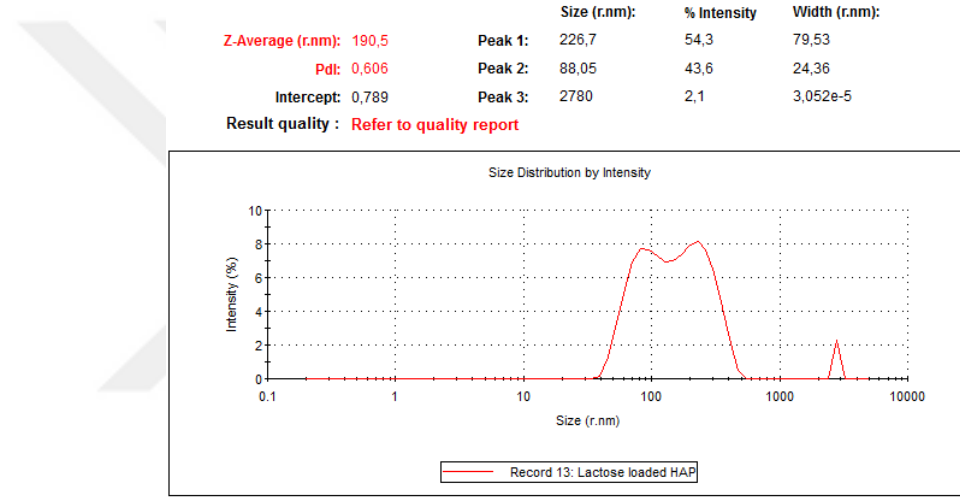
Şekil 5.12. Laktoz Yüklü HAP'in Zeta Potansiyel Dağılımı

Ortalama Zeta potansiyeli -25,4 mV'dir ve bu da tipik olarak koloidal sistemin orta düzeyde kararlılığını gösterir. Zeta sapması 4,94 mV'dir, bu da partiküllerin istikrarlı bir dağılıma katkıda bulunan oldukça düzgün bir yüzey yüküne sahip olduğunu

göstermektedir. Ölçülen iletkenlik 0,0148 mS/cm'dir. Ortamdaki düşük iletkenlik düşük iyonik gücün göstergesi olabilir, bu da genellikle yüzey yüklerinin daha az perdelenmesi anlamına gelir ve böylece stabiliteye katkıda bulunabilir. Tek bir pik vardır, bu da düzgün bir parçacık yükü dağılımına işaret eder. Zeta Potansiyel Dağılımı, grafik ortalama Zeta potansiyel değerine yakın keskin bir tepe noktası göstermekte ve tek tip yüzey yüküne sahip monodispers bir sistemin göstergesini güçlendirmektedir.

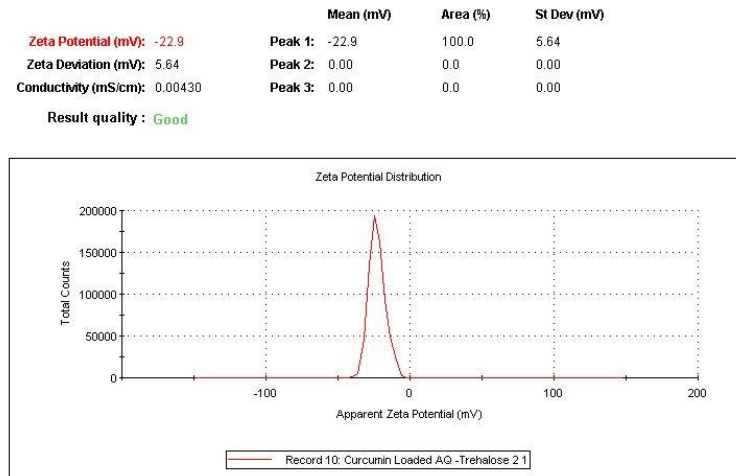
Laktoz yüklü HAP

Partikül Boyut Dağılımı ve PDI



Şekil 5.13. Laktoz yüklü HAP'in partikül boyut dağılımı

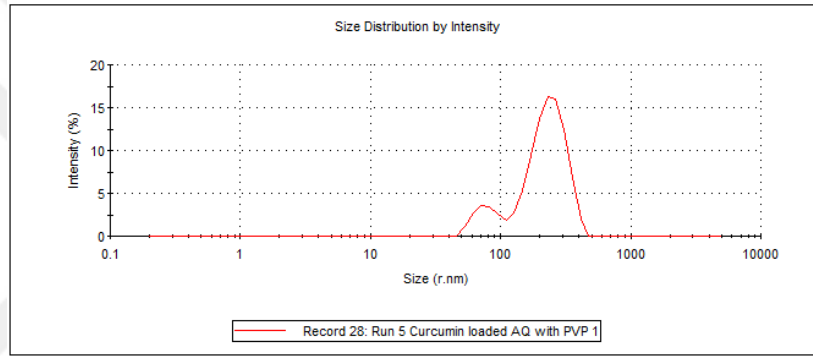
Kurkumin yüklü AQ- Trehaloz



Şekil 5.14. Kurkumin yüklü AQ- Trehaloz'un Zeta Potansiyeli

Buradaki ortalama Zeta potansiyeli -22,9 mV'dir. Zeta potansiyelinin bu düşük büyüklüğü agregasyona işaret etmektedir. Zeta sapması 5,64 mV'dir ve dar bir tepe noktası (dağılımın %100'ü bu değerde toplanmıştır) numune içinde homojen bir partikül yükü dağılımını yansıtmaktadır. İletkenlik 0,00430 mS/cm olup nispeten düşüktür, bu da ortamın düşük iyonik gücüne işaret ederek partikül stabilitesinin korunmasını destekleyebilir.

Size (r.nm): % Intensity Width (r.nm):
 Z-Average (r.nm): 339,6 Peak 1: 239,4 85,0 68,13
 Pdi: 0,538 Peak 2: 79,35 15,0 16,91
 Intercept: 0,802 Peak 3: 0,000 0,0 0,000
 Result quality : Refer to quality report



Şekil 5.15. Kurkumin yüklü AQ-Maltose'un partikül boyut dağılımı

Tablo 5.7. Çekirdek, Şekerler ile Kaplanmış çekirdek ve PVP ile Kurkumin Yüklendiği akuazomların partikül boyut, PDI ve zeta potansiyeli analizi

Formülasyon	Zeta Potansiyeli (mV) Ortalama ± SD	Partikül Boyut Dağılımı (nm) Ortalama ± SD	PDI Ortalama ± SD
HAP	-35.1±1.42	55.41±6.4	0.374±1.01
Laktoz Kaplı HAP	-25.4±2.80	149.6±9.1	0.503±0.60
Sükroz kaplı HAP	-27.8±2.22	136.6±13.5	0.555±0.58
Trehaloz kaplı HAP	-24.2±0.87	138.1±5.8	0.530±1.74
Maltoz Kaplı HAP	-27.4±2.40	180.7±6.7	0.565±0.84
Kurkumin yüklü AQ- Laktoz	-23.9±1.7	333.7±9.7	0.497±0.26
Kurkumin yüklü AQ- Sükroz	-21.1±3.44	215.6±12.4	0.601±0.83
Kurkumin yüklü AQ- Trehaloz	-22.9±2.88	255.1±22.1	0.421±1.68
Kurkumin yüklü AQ- Maltoz	-20.9±3.61	329.5±17.5	0.473±0.94

HAP en yüksek negatif zeta potansiyeline (-35,1 mV) sahiptir, bu da partiküller arasındaki itme nedeniyle stabil bir koloidal sistemin göstergesidir ve agregasyon riskini

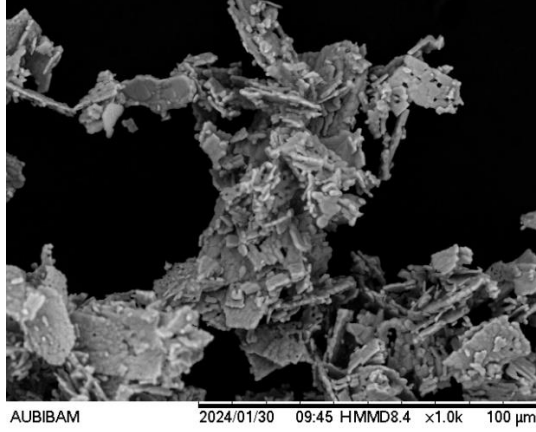
en aza indirir. Kaplanmış HAP formülasyonları, kaplanmamış HAP'a kıyasla daha düşük negatif zeta potansiyeline sahiptir, bu da kaplama işleminin yüzey yükünü ve dolayısıyla kolloidal stabiliteyi azaltabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, -20 mV'nin ötesinde oldukları için hala nispeten kararlı olmaları muhtemeldir. Kurkumin yüklü akuazomlar, özellikle saf HAP ile karşılaştırıldığında, önemli ölçüde daha düşük negatif zeta potansiyelleri göstermektedir. Bu durum, kurkumin ve şeker kaplamalarının yüzeyle genel yükü azaltacak şekilde etkileşime girebileceğini ve bunun da stabiliteyi etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Saf HAP en küçük partikül boyut dağılımına (55,41 nm) sahiptir, bu da daha iyi doku penetrasyonu ve dağılımı nedeniyle ilaç uygulamaları için genellikle arzu edilir. Şekerler ile kaplama partikül boyut dağılımını artırır. Kurkumin yüklü akuazom formülasyonları, ilave moleküler katmanlar nedeniyle beklenen saf HAP'a kıyasla artan partikül boyut dağılımı göstermektedir. Bu gruptaki en küçük partikül boyut dağılımı süktroz kaplamada görülmektedir, bu da daha iyi yükleme verimliliğini veya kurkumin ile etkileşimi gösterebilir.

HAP'ın PDI değeri 0,374 olup nispeten dar bir boyut dağılımına işaret eder ve biyolojik sistemlerde daha düzgün bir davranış öngördüğü için genellikle tercih edilir. Tüm kaplanmış ve kurkumin yüklü formülasyonlar daha geniş boyut dağılımlarına işaret eden daha yüksek PDI'lerine sahiptir. Bu kabul edilebilir olsa da, daha değişken ilaç salım oranlarına ve biyolojik etkileşimlere yol açabilir. Kurkumin yüklü akuazom formülasyonları genellikle saf ve kaplanmış HAP'tan daha yüksek PDI'lara sahiptir ve süktroz en yüksek PDI'yı (0,601) göstermektedir. Bunun nedeni agregasyon veya daha çeşitli partikül boyut dağılımı olabilir.

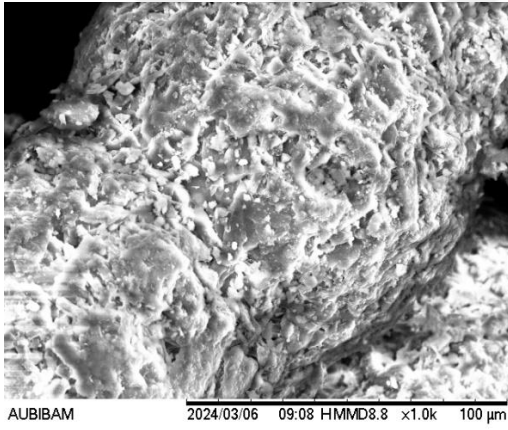
Şeker kaplamaları ve kurkumin yüklemesi ile partikül boyut dağılımı ve PDI'daki artış, kaplama ve ilaç yükleme işleminin partiküllerin fiziksel özelliklerini önemli ölçüde değiştirdiğini göstermektedir.

5.5.2. SEM

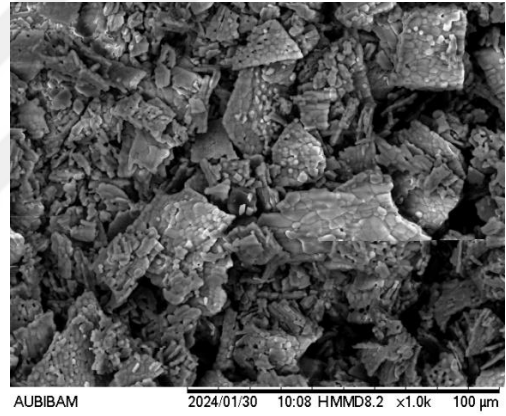


HAP

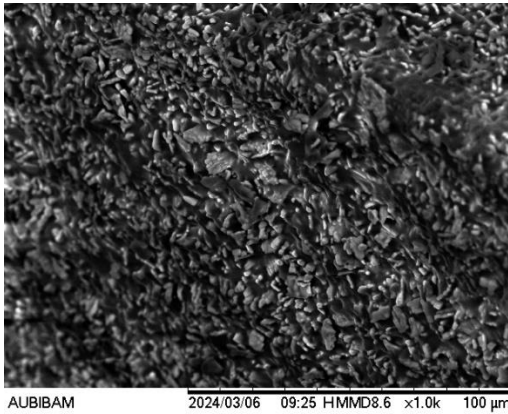
Şeker Kaplı Çekirdek



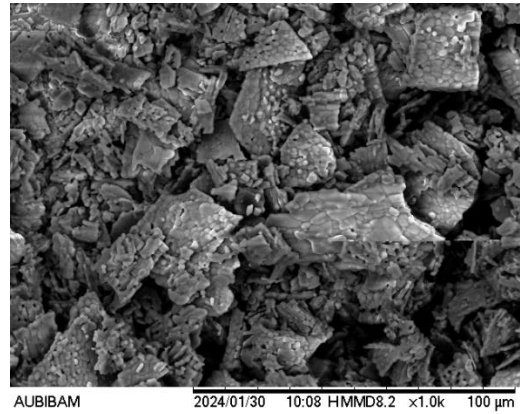
Maltoz kaplı HAP



Laktoz kaplı HAP

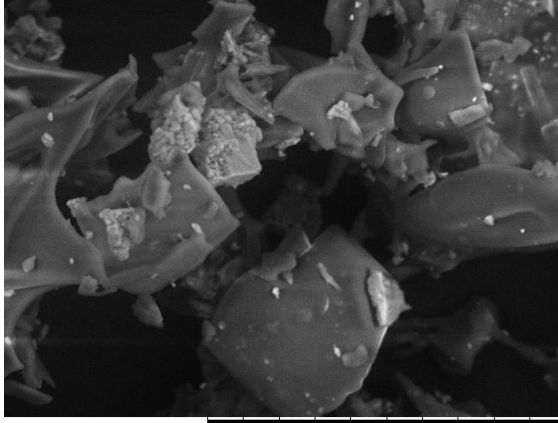


Süktroz kaplı HAP

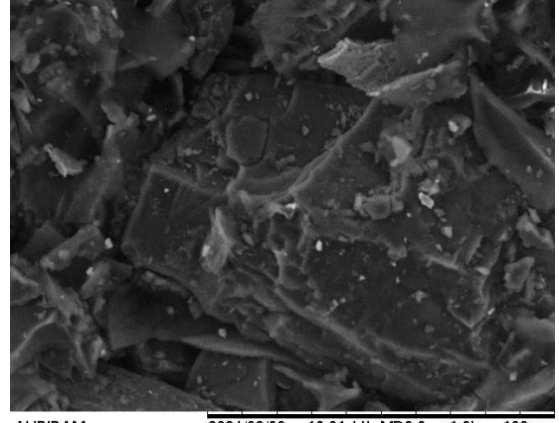


Trehaloz kaplı HAP

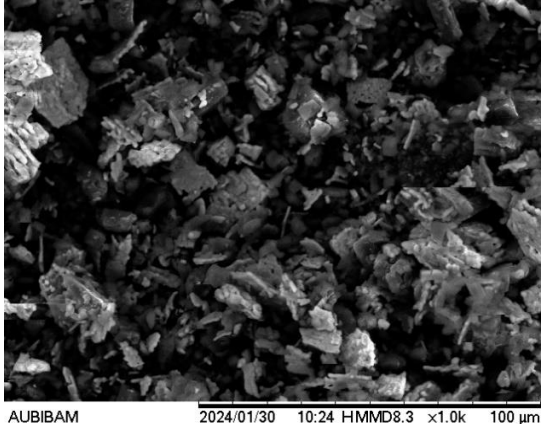
Kurkumin Yüklü AQ



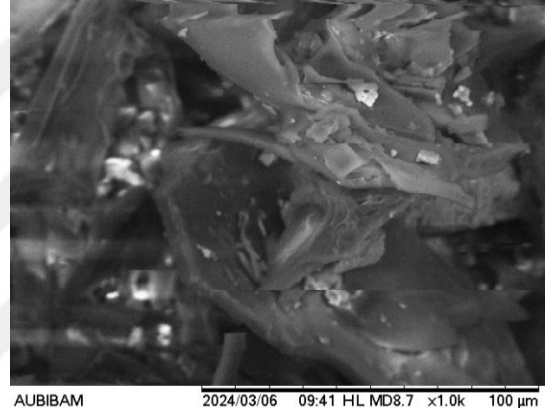
AUBIBAM 2024/03/06 10:18 HL MD8.8 x1.0k 100 µm
Kurkumin Yüklü AQ- Maltoz



AUBIBAM 2024/03/06 10:01 HL MD9.0 x1.0k 100 µm
Kurkumin Yüklü AQ-Laktoz



AUBIBAM 2024/01/30 10:24 HMMD8.3 x1.0k 100 µm
Kurkumin Yüklü AQ Trehaloz

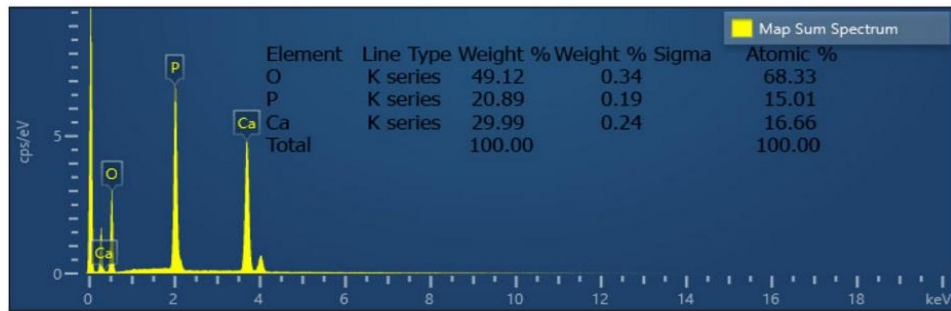


AUBIBAM 2024/03/06 09:41 HL MD8.7 x1.0k 100 µm
Kurkumin Yüklü AQ Süktroz

Şekil 5.16. HAP, şeker kaplı çekirdek ve Kurkumin yüklü AQ'nun SEM görüntüleri

5.5.3. EDX analizi

HAP



Şeker Kaplı Çekirdek

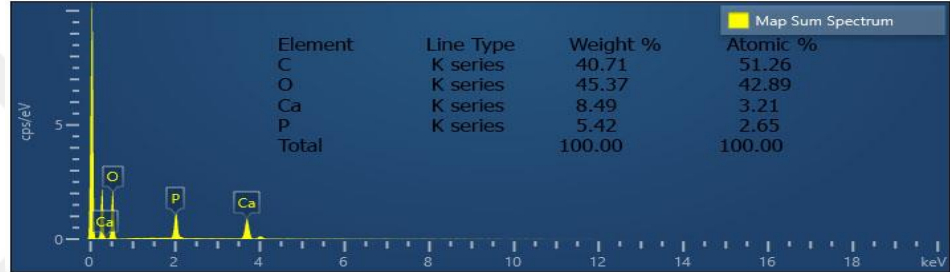
Laktoz
Kaplı
HAP



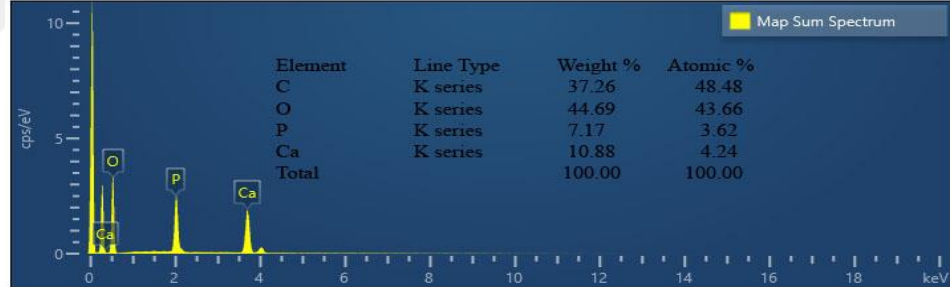
Maltoz
Kaplı
HAP



Sükroz
Kaplı
HAP

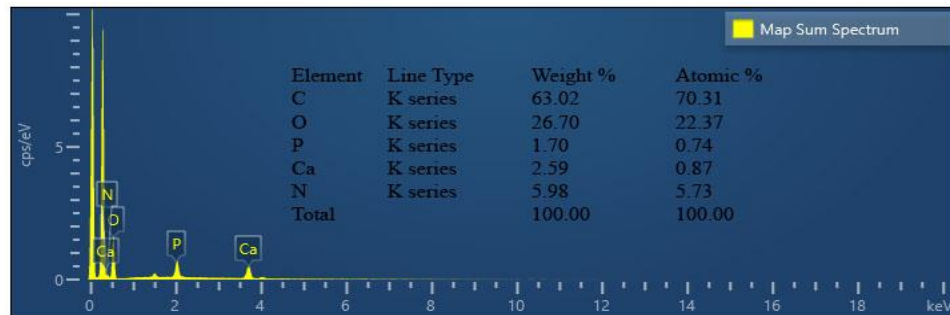


Trehaloz
Kaplı
HAP

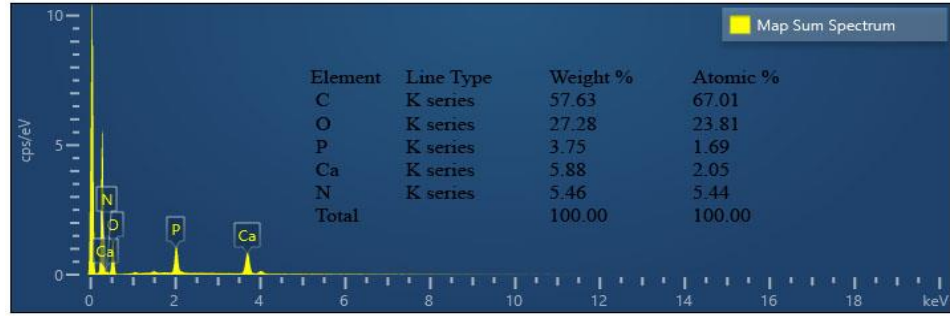


Kurkumin Yüklü AQ

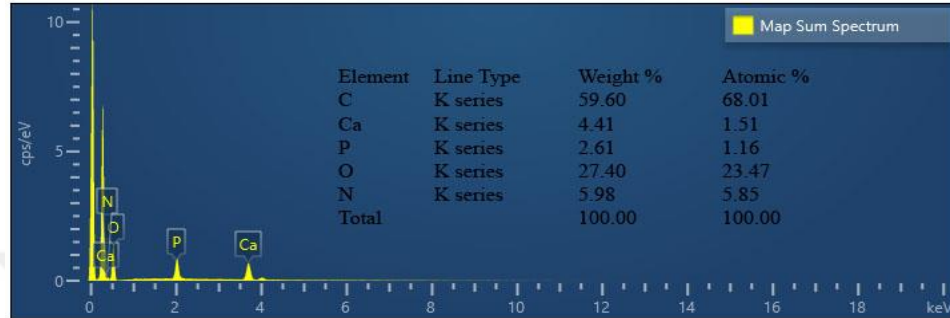
Kurkumin
Yüklü AQ
Laktoz



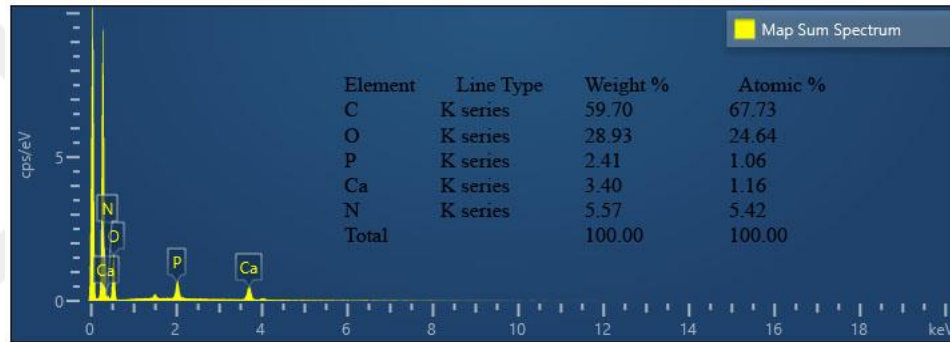
Kurkumin
Yüklü
AQ-
Maltoz



Kurkumin
Yüklü
AQ-
Sükroz



Kurkumin
Yüklü
AQ-
Trehaloz



Şekil 5.17. HAP, şeker kaplı çekirdek ve Kurkumin yüklü AQ'nun EDX analizleri

SEM ve EDX, akuazom gibi ilaç taşıyıcı sistemlerinin yüzey morfolojisini ve elemental bileşimini analiz etmek için kullanılır. HAP'ın SEM Analizi, partikül boyut dağılımı analizi yapılırken gözlemlenen çoklu pikler ile tutarlı olan düzensiz şekiller göstermektedir. Bu tür bir doku sentezlenmiş HAP'ın karakteristik özelliğidir. Elemental bileşim, HAP'ın birincil bileşenleri olan fosfor (P) ile birlikte yüksek oranda kalsiyum (Ca) ve oksijen (O) göstermektedir. Ağırlık ve atomik yüzdelere, saf HAP ile tutarlı olabilecek bir stokiometriye işaret etmektedir.

Laktoz Kaplı HAP SEM ve EDX Analizi, yüzey morfolojisinin muhtemelen laktoz varlığından dolayı saf HAP'a kıyasla daha düzensiz olduğunu göstermiştir. Partikül boyut dağılımı, ilaç salım oranını etkileyebilecek olan yükleme işleminden etkileniyor gibi görünmektedir. Karbon (C) varlığı laktozun dahil edildiğini göstermektedir. Ca'un P'a oranı, muhtemelen laktoz ilavesi nedeniyle saf HAP'a kıyasla biraz değişmiş

görülmektedir. O içeriği de laktoz yüklemesine bağlı kimyasal değişiklikleri yansıtacak şekilde farklıdır.

Kurkumin yüklü akuazom SEM ve EDX Analizi, laktoz yüklü ve saf HAP'a kıyasla daha pürüzlü ve daha heterojen bir yüzey göstermektedir; Kurkumin yüklemesi yüzey özelliklerini önemli ölçüde değiştirebileceğinden bu beklenen bir durumdur. Elementel bileşim C, O, P ve Ca içermektedir; Kurkumin atfedilebilecek belirgin bir C varlığı ve PVP'den gelen N bulunmaktadır. Ca/P oranı HAP'ın biyoaktivitesi için önemlidir ve kurkumin yüklemesi bu oranı biraz değiştirmiş olabilir. EDX verileri kurkuminin HAP üzerine başarılı bir şekilde yüklendiğini göstermektedir.

Laktoz ve kurkumin yüklendikten sonra morfolojide meydana gelen değişiklikler ilaç salım profilini ve biyoaktiviteyi etkileyebilir. Örnekler arasındaki Ca/P oranı, biraz değişmiş olsa da tutarlıdır, HAP'ın kristallikliğini ve stabilitesini etkiler, bu da ilaç dağıtım özelliklerini etkiler. Bu nedenle HAP, akuazom ilaç taşıyıcı sisteminde ilaca stabilize sağlamaktadır.

5.5.4. Enkapsülasyon verimliliği

Tablo 5.8. *Enkapsülasyon Verimliliği Ölçümü (%) Yükleme kapasitesi (%)*

Formülasyon	Enkapsülasyon Verimliliği (%)	Yükleme Verimliliği (%)
Kurkumin Yüklü akuazom-Laktoz	53.67±0.48	32.2±0.55
Kurkumin Yüklü akuazom-Sükroz	52.0±0.036	31.2±0.83
Kurkumin Yüklü akuazom-Trehaloz	55.1±0.21	35.3±0.64
Kurkumin Yüklü akuazom-Maltoz	50.0±0.92	30.0±0.74

Farklı Kurkumin formülasyonları, enkapsülasyon ve yükleme verimlilikleri açısından değerlendirilmiştir. Enkapsülasyon verimliliği, formülasyonun kapsüllenmiş bileşiği tutma kabiliyetini ifade ederken, yükleme verimliliği, kapsülleme işlemi sırasında kullanılan toplam miktara göre formülasyona yüklenen bileşik miktarını temsil eder.

Elde edilen sonuçlara göre, kurkumin yüklü akuazom-Trehaloz formülasyonunun %55,1 ile en yüksek enkapsülasyon verimliliğini sergilediği görülmektedir. Bu, kurkumini formülasyon içinde etkili bir şekilde tutan başarılı bir kapsülleme sürecine işaret etmektedir. Ayrıca, %35,3'lik bir yükleme verimliliği, önemli miktarda kurkuminin akuazom-laktoz formülasyonuna başarıyla yüklendiğini göstermektedir.

Benzer şekilde, kurkumin yüklü akuazom-sükroz formülasyonu %52,0 gibi nispeten yüksek bir enkapsülasyon etkinliği göstermiştir. Bu, akuazom-sükroz

formülasyonu içinde kurkuminin etkili bir şekilde tutulmasıyla başarılı bir enkapsülasyon sürecine işaret etmektedir. Ayrıca, %31,2'lik yükleme verimliliği, formülasyona önemli miktarda kurkuminin başarılı bir şekilde yüklendiğini göstermektedir.

Buna karşılık, kurkumin yüklü akuazom-maltoz formülasyonu %50'lik biraz daha düşük bir enkapsülasyon verimliliği ve %30'luk bir yükleme verimliliği sergilemiştir. Hala makul derecede verimli olmasına rağmen, bu sonuçlar diğer iki formülasyona kıyasla akuazom-maltoz formülasyonunda nispeten daha düşük bir kurkumin tutma oranına işaret etmektedir.

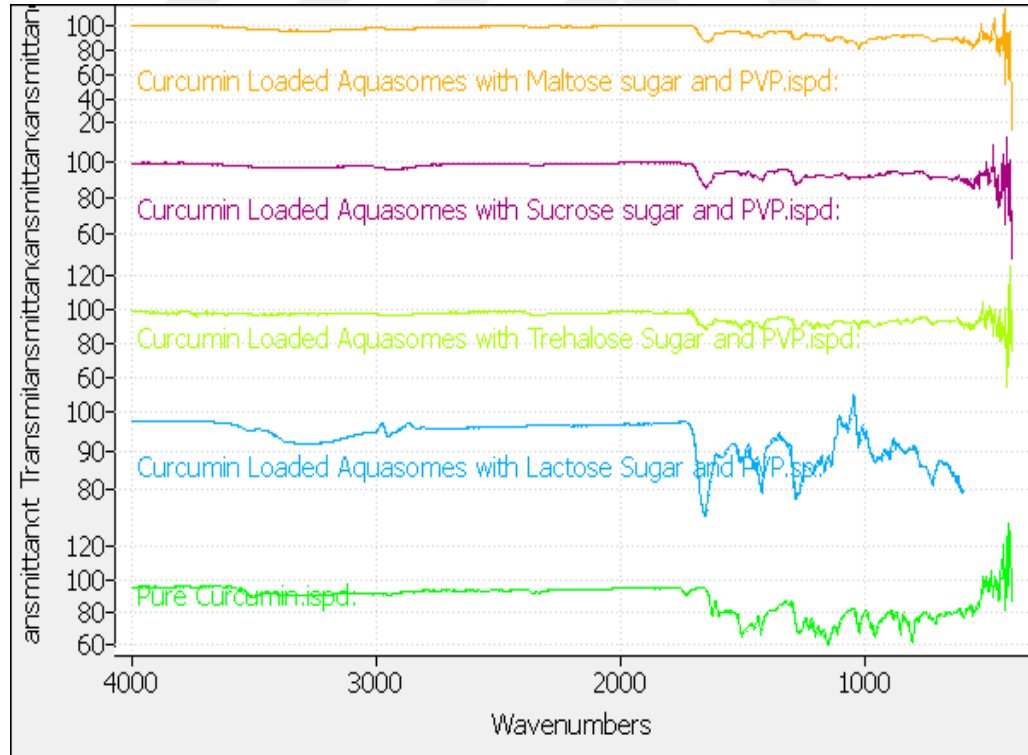
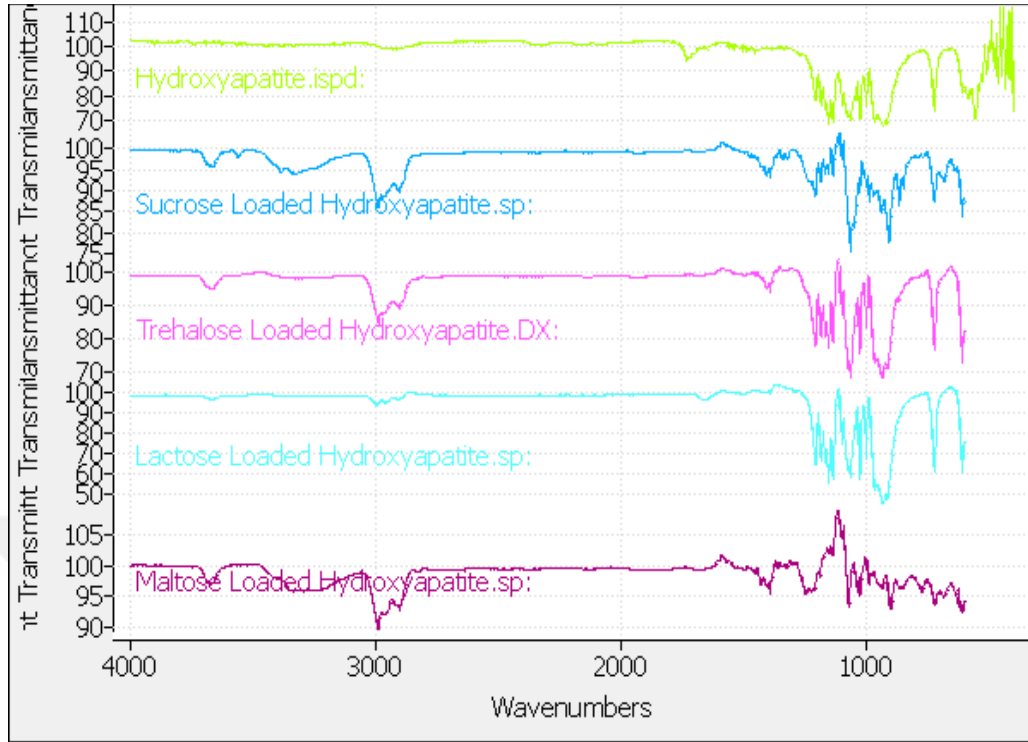
Kurkumin yüklü akuazom-laktoz ve akuazom-sükroz formülasyonlarında gözlemlenen daha yüksek enkapsülasyon ve yükleme verimlilikleri, ilaç taşıyıcı sistemleri veya fonksiyonel gıda formülasyonlarındaki potansiyel uygulamaları açısından daha fazla araştırma için umut verici adaylar olabileceklerini göstermektedir.

5.5.5. Fourier dönüşümlü infrared (FTIR)

Gözlenen karakteristik bantlara dayanarak (Şekil 5.18, Tablo 5.9) nihai formülasyonlarda HAP, laktoz, maltoz, trehaloz, sükroz, kurkumin ve PVP'nin varlığı doğrulanabilir.

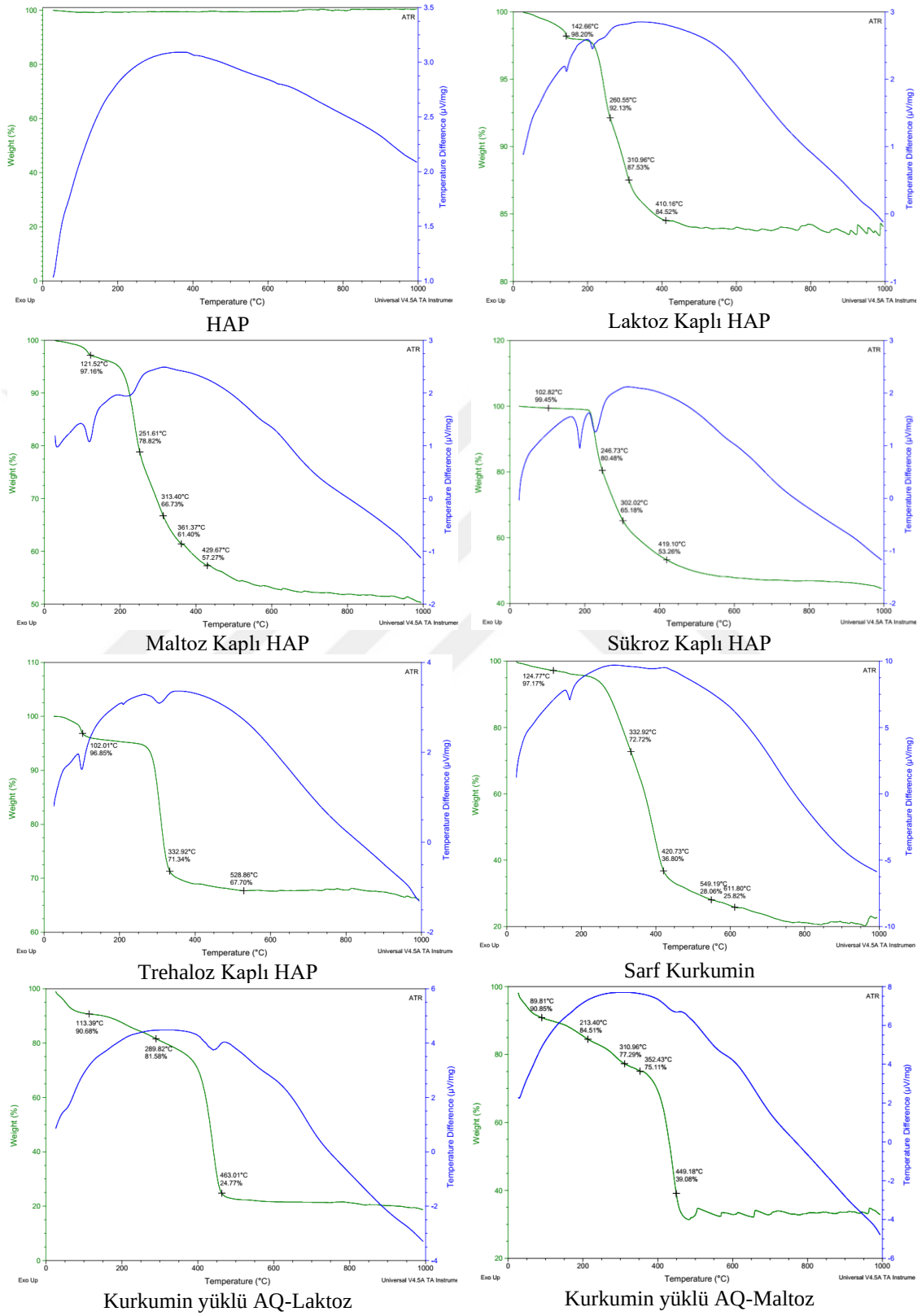
Tablo 5.9. HAP, şeker kaplı çekirdek ve Kurkumin yüklü AQ'daki karakteristik IR bantlarının karşılaştırılması

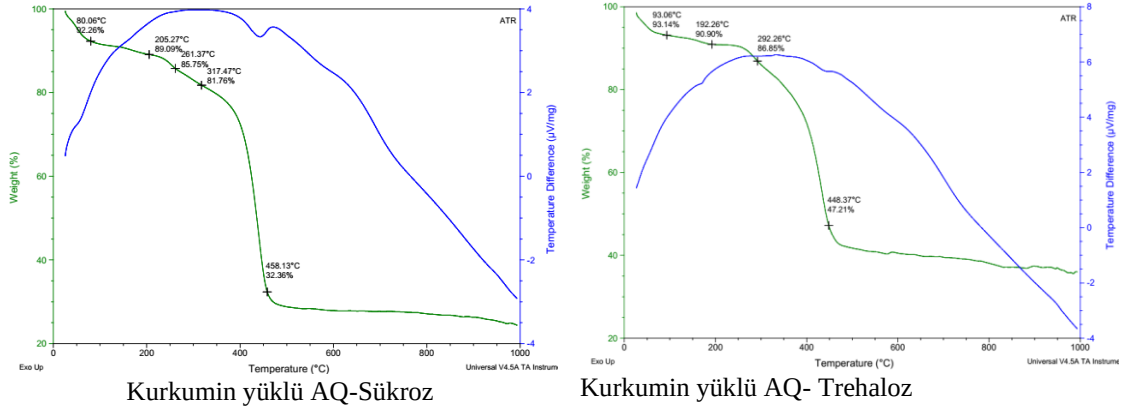
Karakteristik Gruplar	Sonuçlar (cm ⁻¹)	Literatür Değerler (cm ⁻¹)
Çekirdek		
Fosfat (P-O)	725.79	725-845 [105]
Fosfat (P=O)	1066,1210	1240-1300 [106]
Laktoz/Maltoz/Sükroz/Trehaloz		
CH ₂ germe	2901.2-2990	2800 - 3000 [84,107]
Karbonil (C=O)	1658.1	1750 cm ⁻¹ [84,92]
OH	1410.02, 3663.3	1400 cm ⁻¹ - 1600 3200-3600 [84]
C-O-C Bağlantıları	1000-1215	1000 cm ⁻¹ ve 1300 [84,92]
C-O Germe	1000-1215	1000 - 1300 [84,92]
Kurkumin		
OH	3200 – 3530	3200-3600 [102]
C=O	1647-1660	1700-1750 [108]
C=C	1600-1605	1600-1605 [63,102]
C-H	2950-3100	3000-3100 [108]
C-O esnemesi	1000-1300	1000-1300 [63,102]
Polivinilpirolidon		
C=O	1647-1660	1650-1680 [109]
C-N	1500-1560	1530-1560 [110]
C-H	2800-3000	2800-3000 [109,110]
C-O	1100-1250	1100-1250 [109,110]



Şekil 5.18. HAP, şeker kaplı çekirdek ve Kurkumin yüklü AQ'nun FTIR

5.5.6. Termogravimetrik ve diferansiyel taramalı kalorimetri analiz





Şekil 5.19. TGA ve DSC grafikleri

TGA sonuçları, farklı disakkaritlerle kaplanmış çeşitli kurkumin yüklü akuazomların termal stabilitesi ve bileşimi hakkında bilgi sağlamaktadır. Saf HAP için TGA grafiği, genellikle fiziksel olarak adsorbe edilen suyun uzaklaştırılması ve yüzey safsızlıklarının ayrışması nedeniyle ağırlık kaybı (%1'den az) ile doğal termal stabilitesini göstermektedir. Laktoz kaplı HAP için TGA eğrisi, saf HAP'a kıyasla ek ağırlık kaybı aşamaları (%15) göstermekte olup bu da laktozun varlığına işaret etmektedir. Laktozun termal ayrışması, laktozun erimesi ve ayrışmasına karşılık gelen 200-250°C'de ağırlık kaybı sergilemektedir. Laktoz kaplı HAP'a benzer şekilde, maltoz kaplı HAP TGA eğrisi, maltozun termal ayrışması ile ilişkili olarak 100-450°C'de ağırlık kaybı (%50) göstermektedir. Sükroz kaplı HAP, 150-420°C'de sükrozun ayrışmasına bağlı olarak karakteristik ağırlık kaybı (%50) göstermektedir. Trehaloz kaplı HAP için TGA eğrisi, 200-380°C'de ağırlık kaybı (%30) göstererek HAP üzerinde trehalozun varlığını ve termal davranışını ortaya koymaktadır. Her disakkarit belirli bir sıcaklıkta ayrışır ve bu ayrışma TGA eğrilerinin ağırlık kaybı aşamalarında görülür.

Saf kurkumin için TGA grafiği, kurkuminin ayrıştığı sıcaklıkları (175-700°C) vurgulayarak termal bozunma modelini göstermektedir. Kurkumin yüklü AQ-Laktoz için TGA eğrisi, hem laktoz hem de kurkuminin birleşik termal bozunma modellerini göstermekte olup, ağırlık kaybı (%80) laktozun kaybını ve 300-425°C'de kurkuminin ayrışmasını ifade etmektedir. Benzer şekilde, kurkumin yüklü AQ-Sükroz için TGA eğrisi, 300-425°C'de %70 ağırlık kaybıyla sükroz ve kurkuminin birleşik termal davranışlarını göstermektedir. Kurkumin yüklü AQ-Trehaloz için TGA grafiği, 200-425°C'de trehaloz ve kurkuminin ayrışması nedeniyle ağırlık kaybını (%60) göstermektedir. Kurkumin yüklü AQ-Maltoz için TGA eğrisi, hem maltozun hem de

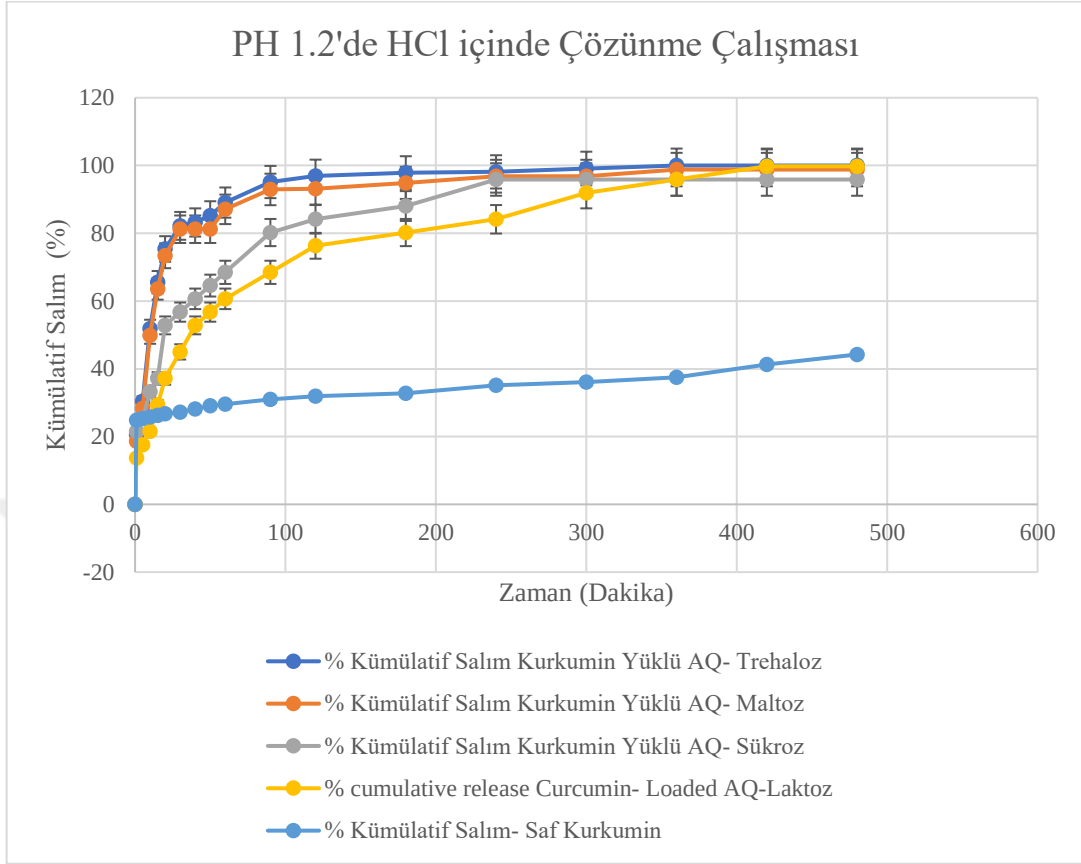
kurkuminin 200-450°C ayrışma sıcaklıklarında ağırlık kaybını (%70) göstermektedir. Kurkumin ve kurkumin yüklü akuazomlar arasındaki ağırlık kaybı farklılıkları, kaplama disakkaritlerinin ve PVP hidrofilik taşıyıcının varlığına ve ayrışmasına bağlanabilir.

HAP'ın yalnız başına DSC eğrisi, çalışılan sıcaklıklara kadar kararlılığını gösteren belirgin geçişler olmadan bir temel çizgi sundu. HAP'ın kristalleşmesi nedeniyle 400°C'ye kadar ekzotermik bir pik gözlemlendi. Laktoz kaplı HAP, 142.66°C ve 220°C'de laktozun erimesi ve bozunması nedeniyle endotermik pikler gösterdi. Maltoz kaplı HAP, 121.52°C, 240°C'de endotermik pikler ve 300°C civarında hafif bir ekzotermik pik gösterdi. Endotermik pikler, maltozun erimesi ve ardından gelen bozunmasına karşılık gelir. Sükroz kaplı HAP, 200°C ve 220°C'de endotermik pikler ve 302°C civarında hafif bir ekzotermik pik gösterdi. Bu, sükrozun erimesi ve ardından yüksek sıcaklıklarda bozunmasını gösterir. Trehaloz kaplı HAP, 102.01°C, 205°C ve 309°C'de endotermik pikler göstererek trehalozun erimesi ve bozunmasını gösterir.

Saf Kurkumin, kurkuminin erime noktasıyla ilişkilendirilen 181°C'de endotermik pikler ve 400°C civarında daha fazla bozunma sergiledi. Kurkumin yüklü akuazomlar için, DSC eğrileri kurkumin, PVP taşıyıcı ve karbonhidrat kaplamaları arasındaki etkileşimler nedeniyle karmaşık termal davranışlar gösterdi. Laktoz kaplı HAP ile hazırlanan kurkumin yüklü akuazomlar, 447°C'de endotermik bir pik gösterdi. Pikler, laktoz, PVP ve kurkuminin erimesi ve ardından kurkuminin bozunması nedeniyle oluşur. Maltoz kaplı HAP ile hazırlanan kurkumin yüklü akuazomlar, 448°C'de hafif bir endotermik pik gösterdi. Endotermik pik, maltozun erimesini ve daha sonraki pikler maltoz, kurkumin ve PVP'nin bozunmasını gösterir. Sükroz kaplı HAP ile hazırlanan kurkumin yüklü akuazomlar, 451°C'de endotermik pikler gösterdi. Pik muhtemelen sükroz, kurkumin ve PVP'nin erimesi ve bozunmasını temsil eder. Trehaloz kaplı HAP ile hazırlanan kurkumin yüklü akuazomlar, 175°C ve 448°C'de hafif endotermik pikler gösterdi. Pikler, trehaloz, kurkumin ve PVP'nin erimesi ve bozunmasına karşılık gelir.

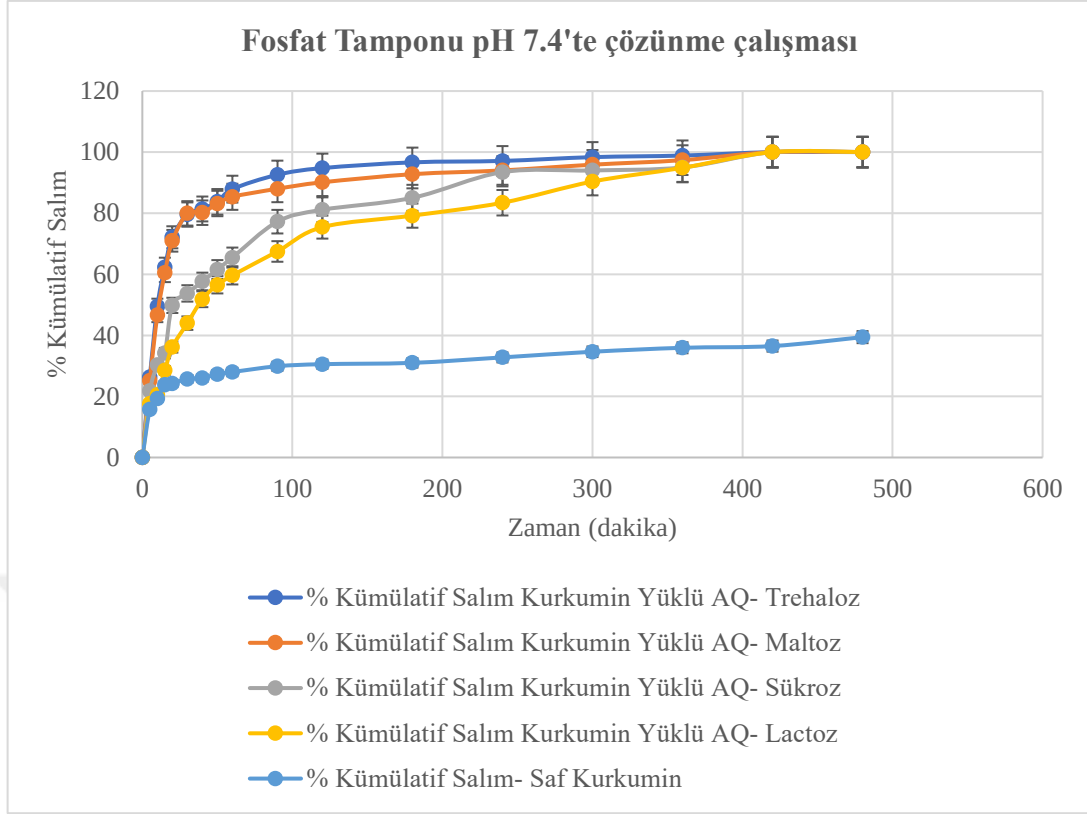
5.6. *In Vitro* İlaç Salım Çalışmaları

Çözünme çalışmaları, farklı karbonhidrat taşıyıcıları (trehaloz, maltoz, sükroz ve laktoz) ile formüle edilen akuazomlardan kurkuminin salım profillerini değerlendirmek için gerçekleştirilmiştir. Çalışmalar iki farklı ortamda gerçekleştirilmiştir: mide sıvısını taklit etmek için pH 1.2' de hidroklorik asit (HCl) ve fizyolojik koşulları taklit etmek için pH 7.4' te fosfat tamponu (PBS) kullanılmıştır.



Şekil 5.20. 1,2 pH' da in-vitro çözünme

HCl'nin pH 1.2' deki asidik ortamında, trehaloz, maltoz, sükroz ve laktoz akuazomlarına yüklenen kurkumin 90 dakika içinde %80' in üzerinde salınmıştır. Buna karşılık, saf ilaç hızlı bir başlangıç salımı sergilemiş, ilk 100 dakika içinde yaklaşık %20 çözünmeye ulaşmış ve sonrasında plato çizmiştir. Bu keskin fark, karbonhidrat taşıyıcılarının kurkuminin salım oranını önemli ölçüde modüle ettiğini göstermektedir.



Şekil 5.21. Fosfat tampon çözeltisinde in vitro saf ve Kurkumin yüklü AQ salım profilleri, pH 7.4

pH 7.4' teki PBS ortamında, tüm akuazom formülasyonları saf ilaca kıyasla daha fazla ilaç salımı ile benzer bir eğilim göstermiştir. Özellikle, trehaloz akuazomları diğer karbonhidratlara kıyasla biraz gecikmeli bir salım profili göstermiştir, bu da sistemik dolaşımda uzun süreli ilaç salımı potansiyelini gösterebilir.

5.7. In Vitro Salım Kinetiği

Daha yüksek bir r^2 değeri, modelin deneysel verilere daha iyi uyduğunu gösterir. En yüksek r^2 değerine sahip model genellikle en uygun model olarak kabul edilir.

Serbest Kurkumin ve Kurkumin yüklü AQ için beklendiği gibi birinci dereceden bir salım gözlenmiştir. İlaç 6-8 saat içinde tamamen salınmıştır. Kurkuminin akuazomlardan salımı konsantrasyona bağlıdır.

Higuchi Modeli tipik olarak ilaç salımını zamanın karekökü olarak tanımlar ve difüzyon kontrollü salım mekanizmalarına işaret eder. Kurkumin yüklü AQ-Laktöz (0,9274) ve AQ-Sükroz (0,8417) için R^2 değerleri, bu durumlarda önemli difüzyon kontrolünü gösteren iyi bir uyum göstermektedir. Bununla birlikte, birinci dereceden salım daha yüksek bir model uygunluğuna sahipti.

Zero Order ve Hixson-Crowell Modelleri genel olarak daha zayıf uyum göstermiş, özellikle Hixson-Crowell modeli için Kurkumin yüklü AQ-Maltose ve Saf Kurkumin'de daha belirgin olmuştur. Bu durum, ilaç salım hızının sabit olduğu (Zero Order) veya partiküllerin yüzey alanı ve çapındaki değişikliklerle modifiye edildiği (Hixson-Crowell) sistemler için daha belirleyici olan bu modellerin akuazomlardan salım profillerini tanımlamak için daha az uygun olduğunu gösterebilir.

Tablo 5.10. Çeşitli modellerden *in vitro* salım verileri için elde edilen doğrusal korelasyon katsayıları.

Formülasyon	Denklemler ve r^2				
Model	Sıfırıncı derece	Birinci derece	Higuchi	Hixson-Crowell	Korsmeyer-Peppas
Kurkumin yüklü AQ- Laktoz	$y = 0,1647x + 37,196$ $R^2 = 0,7838$	$y = 16.657\ln(x) - 6.4441$ $R^2 = 0.9451$	$y = 4.4235x + 15.655$ $R^2 = 0.9274$	$y = 0,0048x + 2,9489$ $R^2 = 0,434$	$y = 11.231\ln(x) + 14.283$ $R^2 = 0.8158$
Kurkumin yüklü AQ- Maltoz	$y = 0,1226x + 57,7$ $R^2 = 0,405$	$y = 13.689\ln(x) + 23.419$ $R^2 = 0.9035$	$y = 3.4703x + 41.538$ $R^2 = 0.6342$	$y = 0,0034x + 3,528$ $R^2 = 0,2167$	$y = 15.743\ln(x) + 14.054$ $R^2 = 0.8479$
Kurkumin yüklü AQ-Sükroz	$y = 0,1368x + 48,313$ $R^2 = 0,6709$	$y = 14.982\ln(x) + 7.4375$ $R^2 = 0.9494$	$y = 3.9839x + 26,531$ $R^2 = 0,8417$	$y = 0,004x + 3,2296$ $R^2 = 0,3302$	$y = 11.231\ln(x) + 14.283$ $R^2 = 0.8158$
Kurkumin yüklü AQ- Trehaloz	$y = 5,4823x + 17,312$ $R^2 = 0,7973$	$y = 41.628\ln(x) - 14.057$ $R^2 = 0.9465$	$y = 2,8732x + 51,993$ $R^2 = 0,6137$	$y = 0,0033x + 3,5746$ $R^2 = 0,2094$	$y = 15.743\ln(x) + 16.054$ $R^2 = 0.8479$
Saf Kurkumin	$y = 0,0442x + 23,664$ $R^2 = 0,5645$	$y = 2,9399\ln(x) + 19,505$ $R^2 = 0,7718$	$y = 1.1002x + 19.252$ $R^2 = 0.6849$	$y = 0,0021x + 2,6853$ $R^2 = 0,1887$	$y = 2,9399\ln(x) + 19,505$ $R^2 = 0,7718$

5.8. Stabilité Çalışmaları

5.8.1. Uzun süreli kararlılık çalışmaları

Kurkumin yüklü akuazomlar iki koşulda saklanmıştır: $4^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}/\%60 \text{ RH} \pm \%2$ ve $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}/\%60 \text{ RH} \pm \%2$ 90 gün boyunca. Akuazomların boyutu, zeta potansiyeli ve kurkumin içeriği bu saklama koşulları altında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik göstermemiştir ($p > 0,05$). Ayrıntılar için Tablo 5.11 ve 5.12'te gösterilmiştir.

Tablo 5.11. Kurkumin yüklü akuazomların $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}/\%60 \text{ RH} \pm \%2 \text{ RH}$ 'de 3 ay boyunca stabilite çalışmaları. Değerler Ortalama $\pm$ SD olarak raporlanmıştır

Formülasyon	SÜRE				
	7 Gün	14 Gün	30 Gün	2 Ay	3 Ay
Kurkumin Yüklü AQ- Laktoz					

Tablo 5.11. Kurkumin yüklü akuazomların 25°C ±1°C/%60 RH ±%2 RH'de 3 ay boyunca stabilite çalışmaları. Değerler Ortalama ± SD olarak raporlanmıştır (Devam)

Formülasyon	SÜRE				
	7 Gün	14 Gün	30 Gün	2 Ay	3 Ay
Kurkumin % İçeriği	99.97±1.2	99.90±1.3	100.00±1.0	99.95±1.4	99.90±1.0
Partikül Boyut dağılımı	317.8±10.2	326.7±12.4	340.2±15.0	324.0±11.8	362.8±14.7
Zeta Potansiyeli	-22.0±0.3	-21.8±0.4	-22.6±0.5	-20.3±0.4	-20.6±0.5
PDI	0.576±0.25	0.571±0.20	0.553±0.18	0.531±0.17	0.505±0.15
Görsel inceleme	Geçer	Geçer	Geçer	Geçer	Geçer
Kurkumin Yüklü AQ- Maltoz					
Kurkumin % İçeriği	100.30±1.1	98.4±2.2	99.7±2.1	98.5±1.2	99.8±0.4
Partikül Boyut Dağılımı	326.7±12.3	335.2±14.1	307.8±10.4	374.7±15.6	341.4±13.2
Zeta Potansiyeli	-20.9±0.3	-20.8±0.4	-20.8±0.4	-22.1±0.5	-20.7±0.3
PDI	0.476±0.20	0.495±0.22	0.503±0.21	0.463±0.18	0.494±0.20
Görsel inceleme	Geçer	Geçer	Geçer	Geçer	Geçer
Kurkumin Yüklü AQ- Sükroz					
Kurkumin % İçeriği	99.1±1.4	98.5±2.8	98.5±1.8	99.1±3.2	98.6±0.3
Partikül Boyut Dağılımı	223.1±9.4	215.2±8.8	216.0±9.1	229.6±10.2	257.0±12.5
Zeta Potansiyeli	-21.4±0.4	-21.6±0.5	-22.4±0.6	-20.5±0.4	-21.2±0.5
PDI	0.560±0.21	0.571±0.22	0.523±0.20	0.599±0.24	0.550±0.21
Görsel inceleme	Geçer	Geçer	Geçer	Geçer	Geçer
Kurkumin Yüklü AQ- Trehaloz					
Kurkumin % İçeriği	99.3±0.2	98.1±0.7	99.3±2.8	98.7±1.3	98.9±0.1
Partikül Boyut Dağılımı	322.6±11.8	330.6±12.4	330.5±12.3	318.5±11.6	342.7±13.1
Zeta Potansiyeli	-21.7±0.4	-20.8±0.3	-21.8±0.4	-20.1±0.4	-20.7±0.3
PDI	0.489±0.21	0.490±0.22	0.495±0.23	0.503±0.22	0.505±0.22
Görsel inceleme	Geçer	Geçer	Geçer	Geçer	Geçer

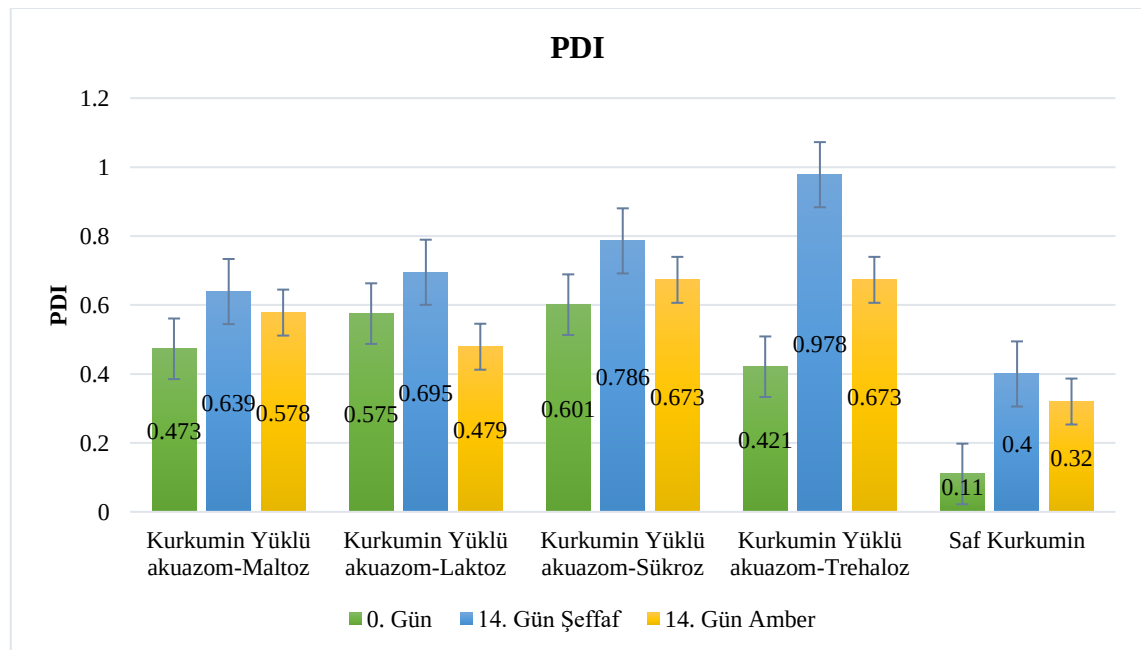
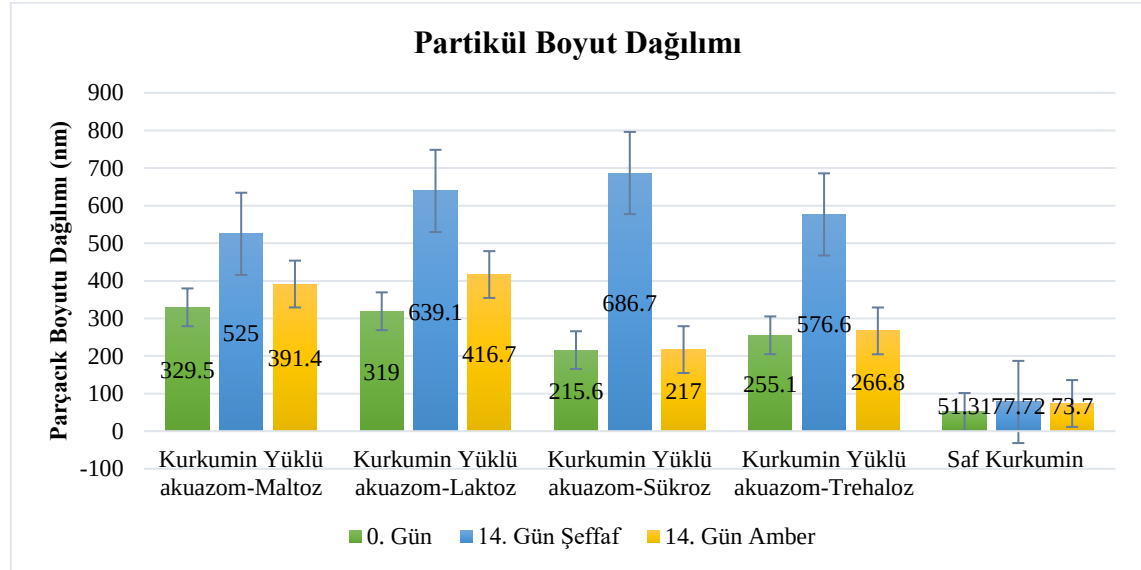
Tablo 5.12. Kurkumin yüklü akuazomların 4°C ±3°C/%60 RH ±%2 RH'de 3 ay boyunca stabilite çalışmaları. Değerler Ortalama ± SD olarak raporlanmıştır.

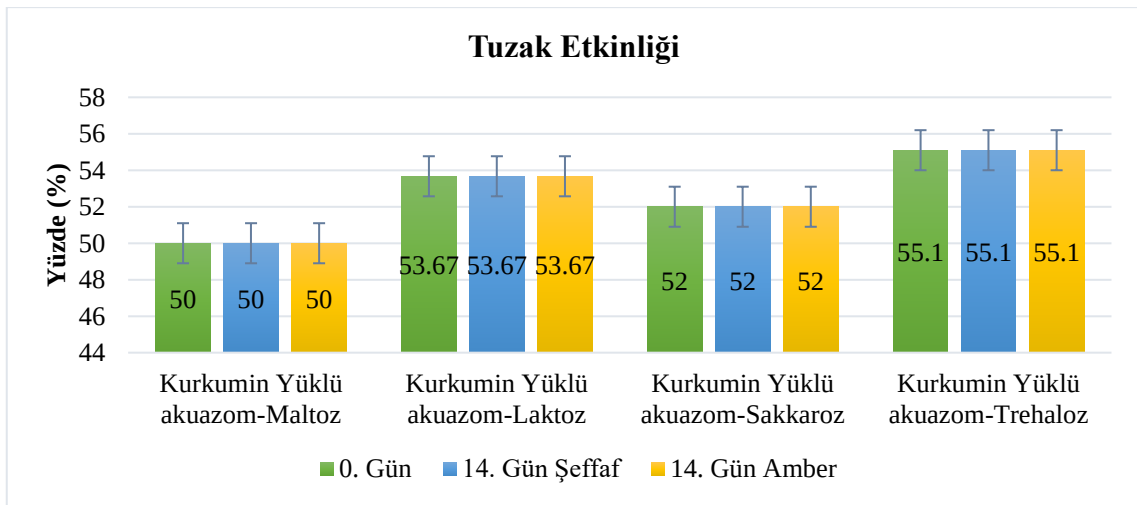
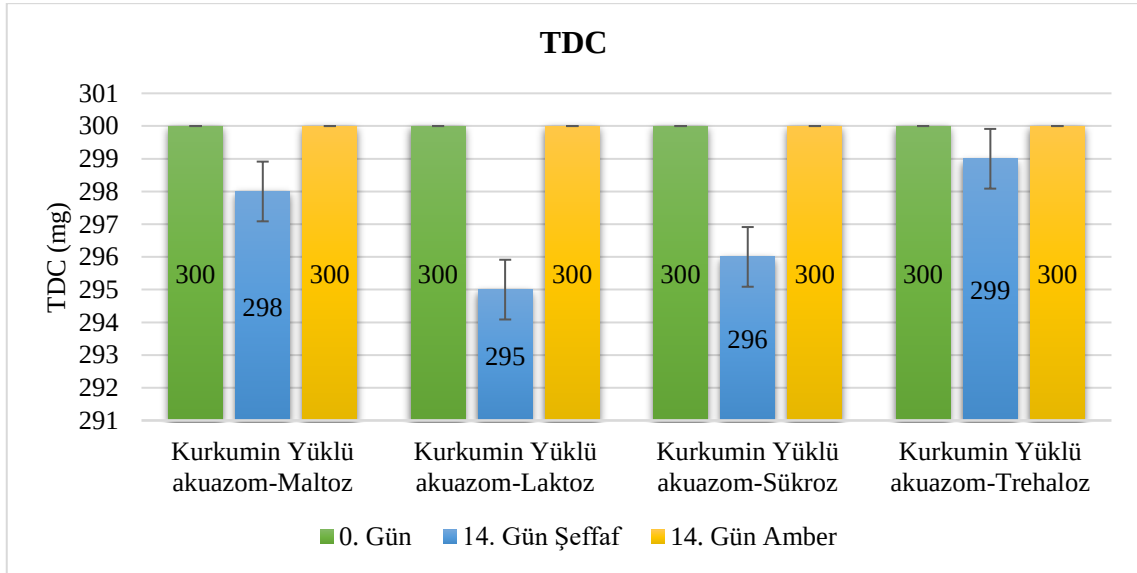
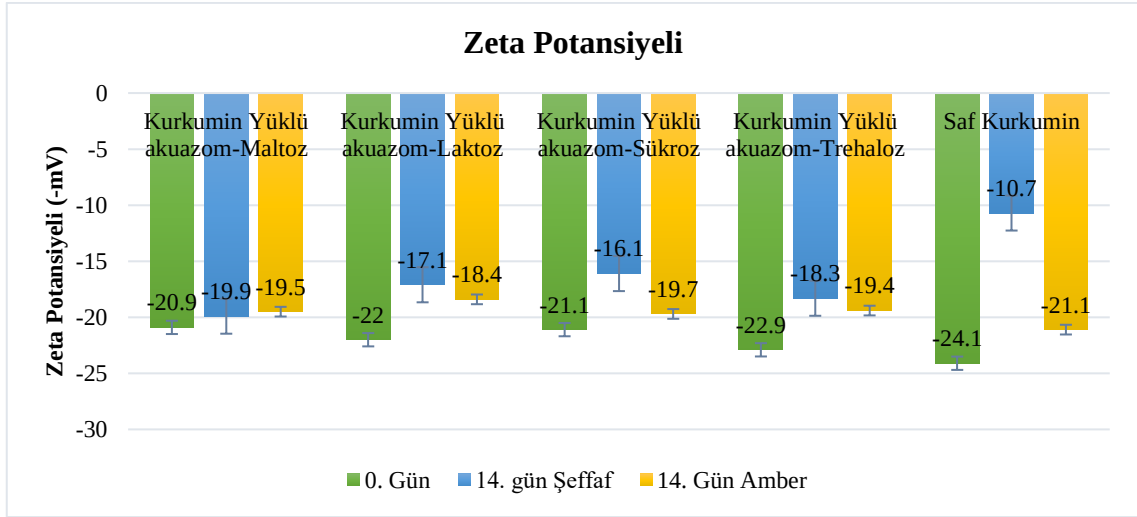
Formülasyon	SÜRE				
	7 Gün	14 Gün	30 Gün	2 Ay	3 Ay
Kurkumin yüklü AQ- Laktoz					
Kurkumin % İçeriği	97.8±2.7	98.2±1.6	98.7±2.7	99.97±1.2	98.1±0.5
Partikül Boyut Dağılımı	320.3±10.8	339.6±11.5	340.2±12.0	329.7±11.2	332.6±11.8
Zeta Potansiyeli	-21.8±0.4	-21.5±0.3	-20.9±0.4	-20.7±0.3	-24.0±0.5
PDI	0.576±0.22	0.538±0.21	0.533±0.20	0.543±0.21	0.530±0.20
Görsel inceleme	Geçer	Geçer	Geçer	Geçer	Geçer
Kurkumin Yüklü AQ- Maltoz					
Kurkumin % İçeriği	97.2±3.6	99.1±1.5	99.5±2.0	99.2±3.4	99.1±0.5
Partikül Boyut Dağılımı	328.1±12.1	358.4±13.5	318.8±11.4	322.1±11.6	355.8±13.1
Zeta Potansiyeli	-20.8±0.4	-20.7±0.3	-20.4±0.3	-20.7±0.4	-20.4±0.3
PDI	0.473±0.20	0.501±0.21	0.593±0.24	0.521±0.22	0.598±0.25
Görsel inceleme	Geçer	Geçer	Geçer	Geçer	Geçer
Kurkumin Yüklü AQ- Sükroz					
Kurkumin % İçeriği	96.6±3.2	98.5±0.9	98.9±1.7	98.4±2.5	99.4±0.6
Partikül Boyut Dağılımı	215.5±9.2	225.1±10.1	236.2±11.0	235.3±10.8	220.3±9.7
Zeta Potansiyeli	-20.9±0.4	-20.7±0.3	-20.4±0.3	-20.3±0.3	-20.1±0.3

Tablo 5.12. Kurkumin yüklü akuazomların 4°C ±3°C/%60 RH ±%2 RH'de 3 ay boyunca stabilite çalışmaları. Değerler Ortalama ± SD olarak raporlanmıştır (devam)

Formülasyon	SÜRE				
	7 Gün	14 Gün	30 Gün	2 Ay	3 Ay
PDI	0.474±0.20	0.482±0.21	0.476±0.20	0.614±0.25	0.409±0.18
Görsel inceleme	Geçer	Geçer	Geçer	Geçer	Geçer
Kurkumin Yüklü AQ- Trehaloz					
Kurkumin % İçeriği	99.1±1.6	99.8±3.1	99.1±0.6	98.7±3.1	99.0±1.0
Partikül Boyut	268.8±10.7	290.0±11.6	340.2±13.5	322.7±12.8	348.6±14.0
Dağılımı					
Zeta Potansiyeli	-21.9±0.4	-21.1±0.3	-22.6±0.5	-23.5±0.6	-20.8±0.3
PDI	0.503±0.21	0.482±0.20	0.510±0.22	0.500±0.21	0.516±0.22
Görsel inceleme	Geçer	Geçer	Geçer	Geçer	Geçer

4.9.2. Fotostabilite





Şekil 5.22. Kurkumin Yüklü AQ'nun çeşitli parametreleri üzerinde fotostabilite çalışmaları ve saf Kurkumin ile karşılaştırılması

Fotodegradasyon çalışması, kurkuminin amber kapta %4, şeffaf kapta ise %8 oranında bozunduğunu ortaya koymuştur. Özellikle, partikül boyut dağılımı, zeta potansiyeli ve PDI şeffaf kapta kehribar kaba kıyasla daha önemli ölçüde azalmıştır. Bu bulgular, amber kabın kurkuminin fotodegradasyonuna karşı üstün koruma sağladığını göstermektedir. Ayrıca, akuazomlara yüklenen kurkumin ile karşılaştırıldığında, yukarıdaki grafiklerde sunulan verilerin de gösterdiği gibi, ikincisi bozunmaya karşı daha fazla koruyucu etki göstermiştir. Bu da akuazomların ışığa maruz kaldığında kurkuminin bütünlüğünü korumak için etkili bir ortam olduğunu göstermektedir.

Partikül boyut dağılımı, şeffaf şişede bulunan formülasyon için 0. günden 14. güne kadar önemli ölçüde artmıştır, bu da partiküllerin olası bir topaklanmasına veya büyümesine işaret etmektedir. Kehribar şişede bulunan formülasyonda bir artış görülmüştür ancak şeffaf şişede bulunan formülasyon kadar belirgin değildir.

Şeffaf şişede bulunan formülasyon için PDI değerinde bir artış vardır, bu da daha geniş bir boyut dağılımı ve partiküller arasında daha az homojenlik olduğunu göstermektedir. Amber koşulu da hafif bir artış göstermiştir.

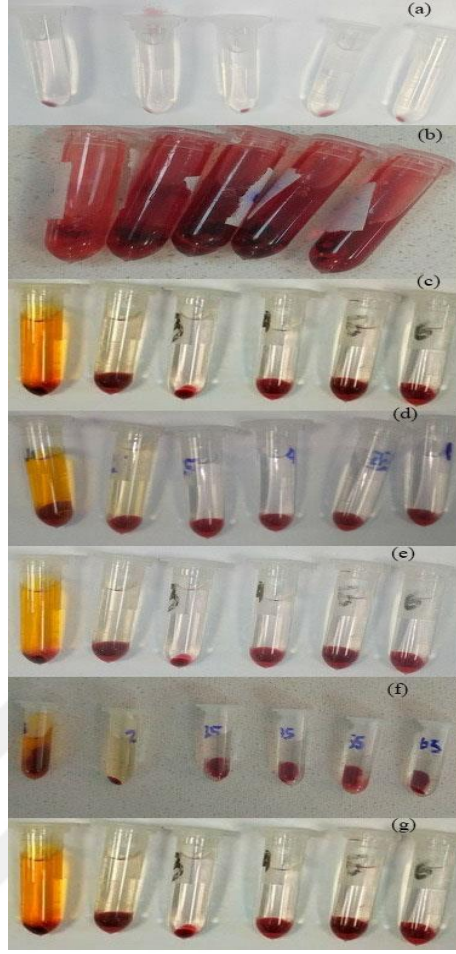
Zeta Potansiyeli, her iki depolama koşulunda da stabiliteyi etkileyebilecek hafif bir artışla birlikte burada küçük değişiklikler gözlenmektedir.

TDC, 0. gün ve 14. gün kehribar şişede bulunan formülasyon için 300'de sabit kalırken, şeffaf şişede bulunan formülasyon için ihmal edilebilir bir düşüş göstermiştir.

EE, 14. günde hem kehribar şişede bulunan formülasyon hem de şeffaf şişede bulunan formülasyon için sabit kalmıştır.

5.9. Biyouyumluluk Çalışmaları

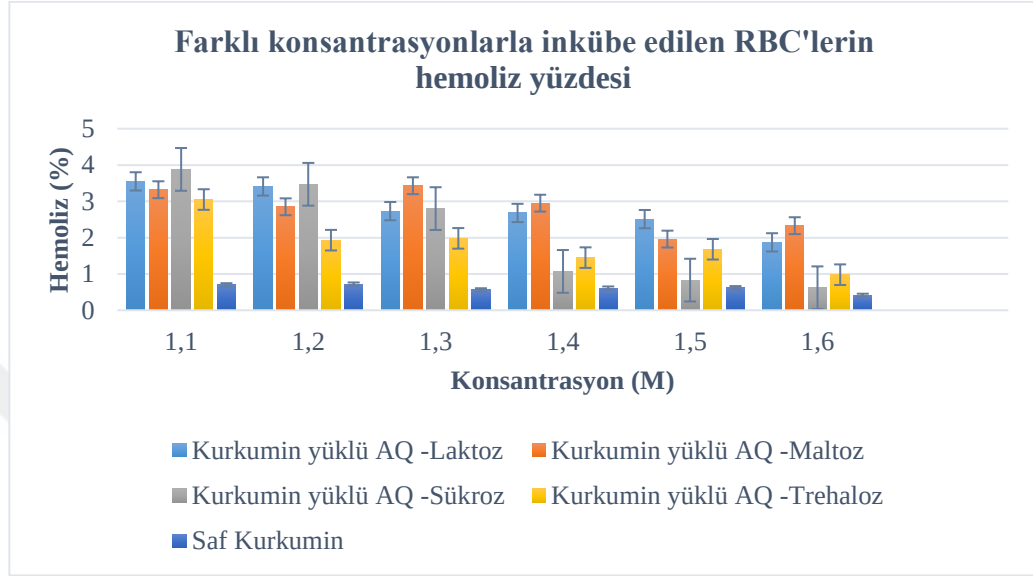
Akuazomların RBC'lere ne ölçüde zarar verdiğini ölçmek için hemoliz deneyi kullanılmıştır. Bu deney, ilaç yüklü akuazomların biyouyumluluğu hakkında değerli bilgiler sağlamış ve potansiyel toksisitelerinin değerlendirilmesine yardımcı olmuştur.



Şekil 5.23. Kurkumin Yüklü AQ'nun altı dilüsyonu ile inkübe edilen RBC'lerin fotoğrafı. Triton X 100 (+) ve %0,9 salin (-) sırasıyla pozitif ve negatif kontrollerdir. (a) %0,9 salin (Negatif Kontrol), (b) Triton X 100 (c) (Pozitif Kontrol) Saf Kurkumin, (d) Kurkumin Yüklü AQ-Laktoz, (e) Kurkumin Yüklü AQ-Maltoz, (f) Kurkumin Yüklü AQ-Trehaloz (g) Kurkumin Yüklü AQ-Sükroz

Kurkumin yüklü aquasome formülasyonları için hemoliz yüzdeleri, çeşitli ancak klinik olarak kabul edilebilir biyouyumluluk seviyeleri göstermiştir. Kurkumin yüklü AQ-Laktoz %1,87 ile %3,55 arasında değişen hemoliz yüzdeleri sergilemiş ve artan konsantrasyonla birlikte azalan bir eğilim göstermiştir. Kurkumin yüklü AQ-Maltoz için hemoliz yüzdesi %1,96 ile %3,43 arasında değişmiş ve farklı konsantrasyonlarda dalgalanmalar göstermiştir. Kurkumin yüklü AQ-Sükroz formülasyonu 1:1 konsantrasyonda %3,88 ile en yüksek hemolizi göstermiş ve 1:60 konsantrasyonda %0,62'ye düşmüştür. Kurkumin yüklü AQ-Trehaloz, %0,98 ile %3,05 arasında değişen hemoliz yüzdelerine sahipti ve daha yüksek konsantrasyonlarda kayda değer bir düşüş gösterdi. Saf Kurkumin sürekli olarak %0,41 ile %0,72 arasında değişen en düşük

hemoliz yüzdeleri sergilemiş ve biyoyumluluğunu teyit etmiştir. Bu sonuçlar, bazı varyasyonlar olsa da tüm formülasyonların klinik kullanım için güvenli sınırlar içinde kaldığını göstermektedir.



Şekil 5.24. *Saf Kurkumin ve Aquasome Formülasyonlarının farklı konsantrasyonları ile inkübe edilen RBC'lerin hemoliz yüzdesi*

6. TARTIŞMA

HAP, ilaç taşıyıcı sistemlerinin ölçeklendirilmesi için ideal, kararlı, uygun maliyetli ve biyolojik olarak parçalanabilir bir substrat olarak kabul edilmektedir [111]. Düşük ila yüksek moleküler ağırlıklar arasında değişen geniş bir terapötik ajan spektrumu ile uyumluluğu, ilaç taşıma için çok yönlü bir ortam haline getirmektedir. Termodinamik stabilite açısından HAP, pH, sıcaklık ve sıvı bileşimi dahil olmak üzere fizyolojik koşullar altında kalsiyum fosfatın en stabil formu olarak öne çıkmakta ve biyomedikal uygulamalar için uygunluğunu desteklemektedir [88].

PVP, kurkumin için akuazom iletim sistemlerinde kullanıldığında çeşitli avantajlar sunan suda çözünür bir polimerdir. PVP, kurkumin gibi hidrofobik moleküllerin çözünürlüğünü artırır, böylece biyoyararlanımını artırır [62]. Ayrıca PVP, koruyucu bir kolloid ortam sağlayarak kurkumini bozunmaya karşı stabilize eder, bu da kurkuminin ışığa ve oksijene karşı hassasiyeti göz önüne alındığında çok önemlidir [21]. Ayrıca, PVP'nin sterik stabilizatör rolü, akuazomların toplanmasını önlemeye yardımcı olarak tutarlı ve kontrollü bir salım profili sağlamıştır [109]. PVP'nin biyoyuymuluğu, ilaç taşıyıcı sistemlerinin geliştirilmesinde önemli bir endişe kaynağı olan potansiyel sitotoksiteyi de en aza indirir [110]. Bu nedenle, akuazomlarda PVP kullanımı sadece kurkuminin terapötik etkinliğini artırmakla kalmaz, aynı zamanda çözünürlük ve stabilite nedeniyle kurkuminin potansiyel olarak tedavi edebileceği koşulların kapsamını da genişletir [112].

6.1. Formülasyon Optimizasyonu

Kalite, farmasötik ürünlerin geliştirilmesinde önemli bir faktördür ve güvenli, etkili, stabil, hasta dostu ve uygun maliyetli ilaç taşıyıcı sistemlerinin onaylanmasını sağlamak için düzenleyici kurumlar için birincil odak noktası olarak hizmet eder. Bu çerçevede, formülasyon geliştirme için QbD yaklaşımı, ilaç şirketlerinin operasyonlarında giderek daha merkezi hale gelmektedir. Bu hesaplama stratejisi, lipozomlar, niozomlar, transferozomlar, akuazomlar ve polimerik miseller dahil olmak üzere çeşitli veziküler nanotaşıyıcıların geliştirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada, akuazom formülasyonlarını optimize etmek için CCD tekniği araştırılmıştır [113].

Kaur ve arkadaşları tarafından yapılan önceki bir çalışmada, belirli koşullar altında (Çekirdek: Kaplama 1:3, sonikasyon gücü 12,5 W ve sonikasyon süresi yaklaşık

55 dakika) maksimum 0,701 arzu edilebilirlik katsayısı (d) elde edilmiştir [87]. Buna karşın, bu çalışmada 0,838518 ile daha yüksek bir pik arzu edilebilirliği elde edilmiştir. Bu çalışma için optimum sonikasyon süresi ve gücü benimsenmiştir, bu da farklılıkları açıklayan faktörlerden biri olabilir [84]. Her iki çalışma da optimum arzu edilebilirliğe ulaşmada çekirdek: kaplama önemine işaret etmekte ve daha düşük bir oranın daha arzu edilir olduğunu ortaya koymaktadır. Her iki çalışma da arzu edilebilirliği belirlemek için kullanılan modelin tahmin gücünü vurgulamaktadır. Bu çalışmada tahmin edilen ve deneysel değerler arasındaki yakın eşleşme, minimum yüzde yanlılığı ile modelin doğruluğunu teyit etmektedir. Bununla birlikte, optimum koşullar ve arzu edilebilirlik değerlerindeki farklılıklar, modelin her çalışmada uygulanan belirli parametrelere ve koşullara duyarlı olabileceğini göstermektedir.

6.2. Analitik Yöntem Geliştirilmesi ve Validasyon Çalışmaları

Kurkumin miktar tayini için analitik yöntem başarıyla doğrulanmış ve mükemmel doğrusallık, kesinlik, doğruluk, hassasiyet ve seçicilik göstermiştir. Yöntem, çeşitli formülasyonlarda kurkuminin güvenilir bir şekilde miktarının belirlenmesi için uygundur.

6.3. Karakterizasyonlar

6.3.1. Partikül boyut dağılımı ve zeta potansiyel analizi

Şekerlerin kaplanması ve ilacın adsorpsiyonu ile partikül boyut dağılımında ve zeta potansiyelinde bir değişiklik gözlenmiştir. Benzer şekilde, önceki çalışmalarda da bu eğilim gözlemlenmiştir [84,87,94]. Kaplama işlemi, orijinal çekirdek yükünü koruyabilen ve hidrodinamik yarıçapı artırabilen yeni bir yüzey katmanı ortaya çıkarır. Kurkuminin kaplanmış çekirdekler üzerine adsorpsiyonu zeta potansiyelini daha da değiştirerek hidroksil, keto ve metil grupları tarafından yüzey yüklerinin kısmi nötralizasyonu nedeniyle azaltır. Partikül boyut dağılımı da adsorbe edilen kurkumin tarafından oluşturulan ek katman nedeniyle artar.

6.3.2. SEM/ EDX

SEM görüntüleri düzensiz şekiller göstermiş ve EDX analizi kurkumin adsorpsiyonunun yanı sıra şeker adsorpsiyonunu element bileşimindeki hafif değişiklikler ve kaplama üzerine yeni elementlerin ortaya çıkması ile kanıtlamıştır.

6.3.3. Kapsülleme verimliliği

Bu çalışmadan elde edilen enkapsülasyon verimlilikleri karbonhidrat taşıyıcı (laktoz, sükroz ve maltoz) için %50 ile %53,67 arasında değişmektedir. Bu bulgular, ilaç yüklemesinin sadece %8,53 olarak bulunduğu Vengala'nın çalışmasında bildirilenlerden önemli ölçüde daha yüksektir [84]. Bu fark, çalışmamda ilaç yükleme etkinliğini artıran taşıyıcıların veya yardımcı maddelerin seçilmesi yoluyla akuazom formülasyonlarının optimizasyonuna bağlanabilir. Benzer şekilde, bulgular Komminen ve arkadaşları tarafından bildirilen $23,32 \pm 0,886$ olan maksimum ilaç yükleme verimliliğini aşmaktadır [92]. Çalışmamdaki gelişmiş performans, akuazomların ilaç adsorpsiyonunu ve çözünürlüğünü artırabilen polimer PVP ile işlevselleştirilmesinden kaynaklanıyor olabilir [112]. CLEN çalışması ve mantar enfeksiyonlarının tedavisi için vorikonazol yüklü akuazomlar üzerine yapılan araştırma, sırasıyla $79,74 \pm 0,88$ ve $81,74$ değerleriyle bu çalışmada gözlemlenenlerden önemli ölçüde daha yüksek enkapsülasyon verimlilikleri bildirmiştir [63,103]. Ayrıca, Yin'in çalışmasında CURN için $91,59 \pm 4,49$ 'luk daha da yüksek bir verim ve $99,93 \pm 0,01$ 'lik bir enkapsülasyon etkinliği rapor edilmiştir [62]. Bu yüksek verimlilikler, kullanılan nanopartiküllerdeki, yüzey kimyasındaki veya kapsülleme ve hapsedme için uygulanan metodolojilerdeki farklılıklara bağlanabilir.

6.3.4. FTIR

Saf kurkumin ve kurkumin yüklü akuazomun FTIR analizinden, saf kurkumin ve kurkumin yüklü akuazomun yapısının biraz farklı olduğu, ayrıca şeker kaplı HAP'ın (laktoz, sükroz, maltoz ve trehaloz) serbest HAP'ınkinden biraz farklı olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle, FTIR analizi, yüksek veya düşük dalga boylarında kayan piklerin genişlemesiyle moleküller arası hidrojen bağı yoluyla akuazom oluşumunu doğrulamıştır.

FTIR analizi, ilaç taşıyıcı sisteminin kararlılığı ve işlevi için kritik olan moleküller arası etkileşimleri vurgulamaktadır. Belirli piklerdeki kaymalar ve genişlemeler, enkapsülasyon sürecinde hayati önem taşıyan hidrojen bağlarının oluşumuna işaret etmektedir. Bu etkileşimler sadece kurkuminin enkapsülasyonunu doğrulamakla kalmaz, aynı zamanda akuazom içinde gelişmiş çözünürlük ve stabilite gibi fonksiyonel özelliklerine katkıda bulunabilecek bir yapısal organizasyon seviyesine işaret eder. Ayrıca, FTIR spektrumundaki kaymalarla kanıtlandığı üzere, kurkumin ve şeker

kaplamalar arasındaki etkileşim, kurkuminin bozunmadan korunmasında ve biyoyararlanımının artırılmasında önemli bir rol oynayabilir.

6.3.5. TGA ve DSC

Bu çalışmada elde edilen saf kurkumin için TGA, Jafari (2016) tarafından yapılan benzer bir çalışmadaki TGA ile benzerdir [114].

Bu çalışmadan elde edilen TGA sonuçları, Damera ve arkadaşları (2019) tarafından bildirilenlerle karşılaştırılmış ve hem benzerlikler hem de farklılıklar ortaya çıkmıştır. Her iki çalışmada da HAP'ta minimum ağırlık kaybı gözlemlenmiştir; bu çalışmada fiziksel olarak adsorbe edilen su ve yüzey safsızlıklarının giderilmesi nedeniyle %1'den daha az ağırlık kaybı görülürken, Damera ve arkadaşları fiziksel olarak adsorbe edilen ve kimyasal olarak bağlanan suyun kaybına atfedilen yaklaşık %4 ağırlık kaybı bildirmiştir. Kaplama malzemelerinin TGA eğrileri üzerindeki etkisi her iki çalışmada da belirgindir; örneğin, bu çalışmada laktoz kaplı HAP %15 ağırlık kaybı sergilerken, Damera ve arkadaşlarının çalışmasında selobiyoz kaplı HAP benzer sıcaklık aralıklarında yaklaşık %10 ağırlık kaybı göstererek kaplama malzemelerinin ayrıştığını doğrulamıştır. Ağırlık kaybı yüzdelerinde ve ayrışma sıcaklık aralıklarında farklılıklar gözlenmiştir. Bu çalışmadaki laktoz 200-250°C'de ayrışırken, Damera ve arkadaşlarının çalışmasındaki selobiyoz 250°C civarında ayrışmıştır, bu da kullanılan farklı disakkaritler nedeniyle küçük farklılıklar olduğunu göstermektedir. Ayrıca, bu çalışma her biri farklı ağırlık kaybı yüzdeleri ve sıcaklık aralıkları gösteren çeşitli disakkarit kaplı HAP örneklerini (laktoz, maltoz, sükroz, trehaloz) içerirken, Damera ve arkadaşları selobiyoz kaplı HAP ve AQ/BSA'ya odaklanmış ve 45°C ve 400-500°C'de BSA ayrışması nedeniyle yaklaşık %20 ağırlık kaybı göstermiştir [16]. Bu farklılıklar, kullanılan kaplamaların spesifik termal özelliklerine ve bu çalışmada analiz edilen daha geniş numune aralığına bağlanabilir.

Damera vd., (2019 s. 2275-4476) ve Gupta vd., (2020 s. 7-8) sonuçlarına benzer şekilde, bu çalışmada saf HAP, önemli geçişler olmadan yüksek sıcaklıklara kadar kararlılık gösterdi [16,63]. Bu, HAP'ın doğal termal kararlılığını gösterir. Bu çalışmada, laktoz kaplı HAP tarafından 142.66°C ve 220°C'de laktozun erimesi ve bozunmasıyla uyumlu endotermik pikler sergilendi. Bu, Chaudhary vd., (2022 s. 253-254) ile karşılaştırılabilir, burada laktoz tarafından 235°C ve 241°C'de erime ve ara oluşumu gösteren endotermik pikler gösterildi [115]. Her iki çalışma da laktoz ile ilgili termal

geçişleri yansıtır. Bu çalışmada maltoz kaplı HAP'ta 121.52°C ve 240°C'de endotermik pikler gözlemlendi ve ilgili çalışmalarda gözlemlenen maltozun termal davranışı ile uyumludur. Örneğin, erime ve bozunmayı gösteren benzer endotermik geçişler maltoz tarafından gösterilmiştir. Sonuçlarda, sükroz kaplı HAP 200°C ve 220°C'de endotermik pikler gösterdi, bu da sükrozun erimesi ve ardından gelen bozunma ile uyumludur. Bu, benzer termal geçişlerin not edildiği diğer çalışmalara tutarlıdır. Bu çalışmada gözlemlenen trehaloz kaplı HAP'ın termal geçişleri (102.01°C, 205°C ve 309°C), trehalozun faz geçişlerini ve bozunmasını gösteren Goyal vd., (2008 s. 1303) gibi çalışmalara uyumludur.

Bu çalışmada saf kurkumin için DSC sonuçları, 181°C'de endotermik pikler göstererek, kurkumin tarafından 178.19°C civarında erime endotermi sergilendiği Gupta vd., (2020 s. 7-8) bulgularıyla tutarlıdır. Bu benzerlik, saf kurkuminin kristal yapısını ve erime noktasını vurgular [63]. Kurkumin, PVP ve karbonhidrat kaplamaları arasındaki etkileşimler nedeniyle kurkumin yüklü akuazomlarda karmaşık termal davranışların gözlemlenmesi, Gupta vd., (2020 s. 7-8) bulgularıyla karşılaştırılabilir. 447°C ile 451°C aralığında benzer endotermik pikler gözlemlendi, bu da bileşenlerin birleşik erimesi ve bozunmasını önerir [63]. HAP, laktoz, maltoz, sükroz, trehaloz ve kurkumin gibi malzemelerin doğal özellikleri, termal davranışlarını belirler. Farklı çalışmalarda belirli sıcaklıklarda endotermik ve ekzotermik piklerin tutarlı gözlemlenmesi, bu termal özelliklerin tekrarlanabilirliğini vurgular. Kaplama yöntemi ve bileşenler arasındaki etkileşim gibi formülasyon tekniklerindeki varyasyonlar, pik sıcaklıklarında hafif kaymalara neden olabilir. Örneğin, kurkumin yüklü akuazomlarda kurkumin ve PVP arasındaki etkileşim, farklı termal davranışlara yol açabilir.

6.4. *In Vitro* İlaç Salımı ve Kinetiği

Gözlemlenen çözünme profilleri, kurkuminin akuazomlar içinde kapsüllenmesinin salım kinetiğini önemli ölçüde iyileştirdiğini göstermektedir. Karbonhidrat yüklü akuazomlar için gözlemlenen salım profilleri, kapsüllenmiş ilacın hemen salımına bir bariyer sağlayan akuazomların çok katmanlı yapısına atfedilebilir.

Farklı karbonhidratların akuazom matrisine dahil edilmesi, kurkumin ve karbonhidrat taşıyıcıları arasındaki değişen moleküler etkileşimlerden kaynaklanabilecek ilaç salım hızını etkiliyor gibi görünmektedir. Özellikle Trehaloz, biyomoleküller için bilinen koruyucu özellikleri göz önüne alındığında, kurkuminin stabilitesini artırabilir.

Asidik koşullarda saf ilaç ile gözlenen hızlı salımı (burst effect), hızlı znmesini ve mide ortamında hızlı emilim potansiyelini göstermektedir.

Kurkumin yüklü amorf kalsiyum fosfat nanopartikülleri üzerine yapılan bir çalışmada da kurkumin salımı için sıfırncı dereceden kinetik model bulunmuştur [102].

6.5. Kararlılık

6.5.1. Uzun süreli kararlılık

Soğutulmuş koşullar altında 3 aylık depolamadan sonra, kurkumin yüklü akuazomların gözlenen parametrelerin hiçbirinde önemli bir değışiklik ($p \leq 0,05$) olmaksızın stabil olduğu bulunmuştur. Benzer şekilde, kurkumin yüklü akuazomlar oda sıcaklığında da stabil kalmıştır.

Değışen koşullara rağmen, partikül boyut dağılımı ve zeta potansiyeli kararlılık göstermiş ve çalışma süresince önemli bir dalgalanma tespit edilmemiştir. Bu, bozulma veya topaklanma olmaksızın vresel koşullardaki orta dereceli değışikliklere dayanabilen sağlam bir formülasyona işaret etmektedir. Bu bulgular, akuazom teknolojisinin biyoaktif bileşik üzerindeki stabilize edici etkilerini vurgulayan önceki çalışmalarla uyumludur [116].

Benzer şekilde, kurkumin içeriği her iki saklama koşulunda da sabit kalmıştır. Bu gözlem, akuazomlardaki kapsüllemenin kurkumini, ışığa ve sıcaklığa duyarlılığı nedeniyle bu bileşikle ilgili yaygın bir zorluk olan bozulmadan etkili bir şekilde koruduğunu göstermesi açısından önemlidir. Kurkuminin akuazomlardaki stabilitesi, bozucu vresel faktörlere maruz kalmayı sınırlayan koruyucu matrise atfedilebilir [63,116].

Bu alışma, kurkumin yüklü akuazomların bozulma olmaksızın 4°C veya 25°C'de uzun süre saklanabileceğini göstermektedir. Ayrıca, foto bozunmaya karşı stabiliteyi korumak için amber kaplar önerilmektedir. Bu bulgular, kurkumin yüklü akuazomların sıkı sıcaklık kontrolleri gerektirmeden dağıtılabileceğini ve depolanabileceğini, böylece lojistik maliyetlerin ve karmaşıklığın azaltılabileceğini göstermektedir [103].

6.5.2. Fotostabilite

ışığa maruz kaldıktan sonra, zeta potansiyelinde bir azalmanın yanı sıra partikül boyut dağılımında ve PDI'da gözlemlenebilir bir artış olmuştur. Bu değışiklikler potansiyel olarak ışık tarafından partiküllere verilen kinetik enerjiye atfedilebilir, bu da

partiküller arası çarpışmaların sıklığını ve yoğunluğunu artırarak agregasyona yol açabilir. Kurkumin kapsüllü lipidik nano yapıların incelendiği bir çalışmada da benzer eğilimler gözlemlenmiştir [63]. Kehribar kaplar, şeffaf kaplara kıyasla zeta potansiyeli ve TDC'de daha küçük bir düşüşün yanı sıra PDI ve partikül boyut dağılımında daha az bir artış sergilemiştir. Sonuç olarak, kehribar kaplar kurkuminin fotodegradasyonuna karşı üstün koruma sağlayabilir ve bu da onları bileşiğin bütünlüğünü korumak için depolama için daha uygun bir seçim haline getirebilir.

6.6. Biyoyumluluk

Disakkarit bazlı akuazomlar arasında, sükroz yüklü olanlar düşük konsantrasyonlarda en yüksek hemolizi sergilemiş, ancak daha yüksek seyreltmelerde önemli ölçüde azalmıştır.

Özellikle laktoz ve sükroz bazlı formülasyonlar için artan konsantrasyonla birlikte hemoliz yüzdesinde genel bir azalma eğilimi gözlenmiştir. Bu durum, daha yüksek seyreltmenin sitotoksik etkileri azalttığı, konsantrasyona bağlı bir biyoyumluluğa işaret etmektedir.

Işık mikroskobu altında, Triton X-100 ile muamele edilen örnekler önemli ölçüde hemoliz göstererek pozitif kontrol olarak rolünü doğrulamıştır. Saf Kurkumin ve Kurkumin yüklü aquasomes ile muamele edilen örneklerde spektrofotometrik bulguları destekleyecek şekilde çok az hemoliz gözlenmiştir. Bu formülasyonlar güvenlidir ve hemoliz yüzdesi sürekli olarak %5'in altında olduğu için ihmal edilebilir hemolitik aktivite sergilerler, bu da onları klinik olarak elverişli hale getirir [16]. Bu çalışmanın sonuçları, hemoliz testi için %2'den daha düşük bir oran bulan başka bir çalışmayla benzerlik göstermektedir [117].

7. SONUÇ

Bu çalışma, gelişmiş ilaç uygulanması için kurkumin yüklü akuazomların formülasyonunu, optimizasyonunu ve karakterizasyonunu başarıyla göstermiştir. Çeşitli şekerlerle (sükroz, maltoz ve laktoz ve trehaloz) kaplanmış HAP çekirdeği, kurkumin kapsüllemesi için kararlı ve etkili bir platform sağlamıştır. PVP'nin hidrofilik bir taşıyıcı olarak kullanılması, kurkuminin çözünürlüğünü ve stabilitesini önemli ölçüde artırmıştır.

Çalışmada QbD yaklaşımı kullanılarak formülasyon optimize edilmiş ve 0,838518 gibi yüksek bir arzu edilebilirlik katsayısı elde edilmiştir. Çekirdek: kaplama, inkübasyon süresi ve ilaç miktarı gibi faktörler akuazomların partikül boyut dağılımı, PDI ve zeta potansiyelini önemli ölçüde etkilemiştir.

Validasyon sonuçları, kurkumin miktar tayini için analitik yöntemin doğrusal, doğru, kesin, duyarlı ve seçici olduğunu ve amaçlanan analitik amaçlar için uygun olduğunu doğrulamaktadır.

Akuazomların fizikokimyasal özellikleri karakterize edilmiştir. Formülasyonların partikül boyut dağılımı, HAP en küçük boyutu gösterirken şeker kaplı HAP ve kurkumin yüklü akuazomlar daha büyük boyutlar sergileyerek değişiklik göstermiştir. Zeta potansiyeli ölçümleri, özellikle kurkumin yüklü akuazom-laktoz formülasyonu için orta düzeyde stabilite göstermiştir.

SEM ve EDX analizleri, yüzey morfolojisi ve element bileşiminde gözle görülür değişikliklerle birlikte HAP çekirdeğinde kurkumin ve şekerlerin varlığını doğrulamıştır.

Enkapsülasyon verimliliği %50 ile %53,67 arasında değişirken, en yüksek verimliliği trehaloz ve laktoz formülasyonlu Kurkumin yüklü akuazomlar göstermiştir.

TGA sonuçları, kurkumin yüklü akuazomların termal stabilitesinin disakkarit kaplamanın türüne bağlı olarak önemli ölçüde değiştiğini ve her kaplamanın benzersiz ayrışma sıcaklıkları ve ağırlık kaybı yüzdeleri gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu bulgular, kurkumin yüklü nanotaşıyıcıların termal stabilitesini ve etkinliğini artırmak için uygun kaplama malzemelerinin seçilmesinin önemini vurgulamaktadır.

DSC analizi, HAP'ın çalışılan sıcaklıklara kadar önemli geçişler olmadan yüksek termal kararlılık sergilediğini, laktoz kaplı HAP'ın ise 142.66°C ve 220°C'de belirgin endotermik pikler gösterdiğini, bunun da laktozun erimesi ve bozunmasına işaret ettiğini ortaya koydu. Benzer şekilde, maltoz, sükroz ve trehaloz kaplamaları, termal bozunma profilleriyle tutarlı karakteristik termal geçişler sergiledi. Ayrıca, kurkumin yüklü akuazomlar, kurkumin, PVP ve karbonhidrat kaplamaları arasındaki etkileşimler

nedeniyle karmaşık termal davranışlar sergiledi ve 447°C ile 451°C civarında belirgin endotermik pikler gösterdi.

In vitro ilaç salım çalışmaları, hem asidik (pH 1.2) hem de fizyolojik (pH 7.4) koşullarda akuazomlardan kurkumin için sürekli bir salım profili göstermiş ve saf ilaca kıyasla salım oranını önemli ölçüde değiştirmiştir. Kurkumin yüklü akuazom için birinci dereceden bir salım gözlenmiştir.

4°C ve 25°C'de üç ay boyunca yapılan stabilite değerlendirmeleri partikül boyut dağılımında, zeta potansiyelinde veya kurkumin içeriğinde önemli bir değişiklik olmadığını göstererek formülasyonların sağlamlığını teyit etmiştir. Fotostabilite çalışmaları, amber kapların fotodegradasyona karşı koruyucu etkisini vurgulamış ve kurkumin bütünlüğünü korumak için depolamada kullanılmalarını önermiştir.

Sonuç olarak, bu çalışma kurkumin yüklü akuazomların kapsamlı bir değerlendirmesini sunmakta ve kararlı ve etkili bir ilaç taşıma sistemi olarak potansiyellerini ortaya koymaktadır. Bulgular, kurkuminin biyoyararlanımını ve terapötik etkisini artırmada bu formülasyonların daha da geliştirilmesini ve potansiyel klinik uygulamalarını desteklemektedir. Bu, biyoyararlanımını ve terapötik performansını artırabilir. Bulgular, kurkumin gibi az çözünen ilaçlar için bir ilaç taşıyıcı sisteminin formülasyonunda akuazom teknolojisinin potansiyelinin altını çizmektedir.

KAYNAKÇA

- [1] Kalepu, S., & Nekkanti, V. (2015). Insoluble drug delivery strategies: review of recent advances and business prospects. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 5(5), 442-453. doi:<https://doi.org/10.1016/j.apsb.2015.07.003>
- [2] Khadka, P., Ro, J., Kim, H., Kim, I., Kim, J. T., Kim, H., . . . Lee, J. (2014). Pharmaceutical particle technologies: An approach to improve drug solubility, dissolution and bioavailability. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 9(6), 304-316. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ajps.2014.05.005>
- [3] Lennernäs, H., & Abrahamsson, B. (2005). The use of biopharmaceutic classification of drugs in drug discovery and development: current status and future extension. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 57(3), 273-285. doi:<https://doi.org/10.1211/0022357055263>
- [4] Kasim, N. A., Whitehouse, M., Ramachandran, C., Bermejo, M., Lennernäs, H., Hussain, A. S., . . . Amidon, G. L. (2004). Molecular Properties of WHO Essential Drugs and Provisional Biopharmaceutical Classification. *Molecular Pharmaceutics*, 1(1), 85-96. doi:10.1021/mp034006h
- [5] Amidon, G. L., Lennernäs, H., Shah, V. P., & Crison, J. R. (1995). A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of in Vitro Drug Product Dissolution and in Vivo Bioavailability. *Pharmaceutical Research*, 12(3), 413-420. doi:10.1023/A:1016212804288
- [6] Patra, J. K., Das, G., Fraceto, L. F., Campos, E. V. R., Rodriguez-Torres, M. d. P., Acosta-Torres, L. S., . . . Shin, H.-S. (2018). Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects. *Journal of Nanobiotechnology*, 16(1), 71. doi:10.1186/s12951-018-0392-8
- [7] Hywel, D. W., Natalie, L. T., Susan, A. C., Ravi, M. S., William, N. C., Colin, W. P., & Christopher, J. H. P. (2013). Strategies to Address Low Drug Solubility in Discovery and Development. *Pharmacological Reviews*, 65(1), 315. doi:10.1124/pr.112.005660
- [8] Manikiran, S., Krishna, C. S., Rao, R. J. R. J. o. P. D. F., & Technology. (2010). Aquasomes: role to deliver bioactive substances. 2(6), 356-360.
- [9] Banerjee, S., & Sen, K. (2020). Preparation and Evaluation of Surface Modified Nanoparticles of Calcium Phosphate as Extract Carrier. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 248-257. doi:10.22159/ijap.2020v12i4.38126

- [10] Dahan, A., Miller, J. M., & Amidon, G. L. (2009). Prediction of Solubility and Permeability Class Membership: Provisional BCS Classification of the World's Top Oral Drugs. *The AAPS Journal*, 11(4), 740-746. doi:10.1208/s12248-009-9144-x
- [11] Ulbrich, K., Holá, K., Šubr, V., Bakandritsos, A., Tuček, J., & Zbořil, R. (2016). Targeted Drug Delivery with Polymers and Magnetic Nanoparticles: Covalent and Noncovalent Approaches, Release Control, and Clinical Studies. *Chemical Reviews*, 116(9), 5338-5431. doi:10.1021/acs.chemrev.5b00589
- [12] Wicki, A., Witzigmann, D., Balasubramanian, V., & Huwyler, J. (2015). Nanomedicine in cancer therapy: Challenges, opportunities, and clinical applications. *Journal of Controlled Release*, 200, 138-157. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.12.030>
- [13] Farokhzad, O. C., & Langer, R. (2009). Impact of Nanotechnology on Drug Delivery. *ACS Nano*, 3(1), 16-20. doi:10.1021/nm900002m
- [14] Mura, S., Nicolas, J., & Couvreur, P. (2013). Stimuli-responsive nanocarriers for drug delivery. *Nature Materials*, 12(11), 991-1003. doi:10.1038/nmat3776
- [15] Kunjachan, S., Ehling, J., Storm, G., Kiessling, F., & Lammers, T. (2015). Noninvasive Imaging of Nanomedicines and Nanotheranostics: Principles, Progress, and Prospects. *Chemical Reviews*, 115(19), 10907-10937. doi:10.1021/cr500314d
- [16] Damera, D. P., Kaja, S., Janardhanam, L. S. L., Alim, S., Venuganti, V. V. K., & Nag, A. (2019). Synthesis, Detailed Characterization, and Dual Drug Delivery Application of BSA Loaded Aquasomes. *ACS Applied Bio Materials*, 2(10), 4471-4484. doi:10.1021/acsabm.9b00635
- [17] Jovčevska, I., & Muyldermans, S. (2020). The Therapeutic Potential of Nanobodies. *BioDrugs*, 34(1), 11-26. doi:10.1007/s40259-019-00392-z
- [18] Dressman, J. B., Amidon, G. L., Reppas, C., & Shah, V. P. (1998). Dissolution Testing as a Prognostic Tool for Oral Drug Absorption: Immediate Release Dosage Forms. *Pharmaceutical Research*, 15(1), 11-22. doi:10.1023/A:1011984216775
- [19] Bawa, R., Audette, G. F., & Rubinstein, I. (2016). *Handbook of clinical nanomedicine: nanoparticles, imaging, therapy, and clinical applications* (Vol. 1): CRC Press.

- [20] van Hoogevest, P., Liu, X., & Fahr, A. (2011). Drug delivery strategies for poorly water-soluble drugs: the industrial perspective. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 8(11), 1481-1500. doi:10.1517/17425247.2011.614228
- [21] Del Prado-Audelo, M. L., Caballero-Florán, I. H., Meza-Toledo, J. A., Mendoza-Muñoz, N., González-Torres, M., Florán, B., . . . Leyva-Gómez, G. (2019). Formulations of Curcumin Nanoparticles for Brain Diseases. *Biomolecules*, 9(2). doi:10.3390/biom9020056
- [22] Sohn, S.-I., Priya, A., Balasubramaniam, B., Muthuramalingam, P., Sivasankar, C., Selvaraj, A., . . . Pandian, S. (2021). Biomedical Applications and Bioavailability of Curcumin—An Updated Overview. *Pharmaceutics*, 13(12). doi:10.3390/pharmaceutics13122102
- [23] Ipar, V. S., Dsouza, A., & Devarajan, P. V. (2019). Enhancing Curcumin Oral Bioavailability Through Nanoformulations. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 44(4), 459-480. doi:10.1007/s13318-019-00545-z
- [24] Mai, N. N. S., Nakai, R., Kawano, Y., & Hanawa, T. (2020). Enhancing the Solubility of Curcumin Using a Solid Dispersion System with Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin Prepared by Grinding, Freeze-Drying, and Common Solvent Evaporation Methods. *Pharmacy (Basel)*, 8(4). doi:10.3390/pharmacy8040203
- [25] Anand, P., Kunnumakkara, A. B., Newman, R. A., & Aggarwal, B. B. (2007). Bioavailability of Curcumin: Problems and Promises. *Molecular Pharmaceutics*, 4(6), 807-818. doi:10.1021/mp700113r
- [26] Michal, H., Rowan, F. v. G., Mans, B., & Martin, C. M. (2014). The Molecular Basis for the Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Curcumin and Its Metabolites in Relation to Cancer. *Pharmacological Reviews*, 66(1), 222. doi:10.1124/pr.110.004044
- [27] Kossovsky, N., Gelman, A., Sponsler, E. E., Hnatyszyn, H. J., Rajguru, S., Torres, M., . . . Shah, R. (1994). Surface-modified nanocrystalline ceramics for drug delivery applications. *Biomaterials*, 15(15), 1201-1207. doi:[https://doi.org/10.1016/0142-9612\(94\)90270-4](https://doi.org/10.1016/0142-9612(94)90270-4)
- [28] Dahir, L., Kaur, A., Manocha, A., Wadhwa, S., Mishra, V., Pandey, N., . . . Sudhakar, K. (2020). Aquasomes: Water Like Bodies Vesicular System For Therapeutics Molecules As Robust System For Delivery. *Eur J Mol Clin Med*, 7(7), 2585-2607.

- [29] Jain, S. S., Jagtap, P. S., Dand, N. M., Jadhav, K. R., & Kadam, V. J. (2012). Aquasomes: A novel drug carrier. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(1), 184-192.
- [30] Asfour, M. H. (2021). Advanced trends in protein and peptide drug delivery: a special emphasis on aquasomes and microneedles techniques. *Drug Delivery and Translational Research*, 11(1), 1-23. doi:10.1007/s13346-020-00746-z
- [31] Banerjee, S., & Sen, K. K. (2018). Aquasomes: A novel nanoparticulate drug carrier. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 43, 446-452. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2017.11.011>
- [32] Kossovsky, N., Bunshah, R. F., Gelman, A., Sponsler, E., Umarjee, D. M., Suh, T.-G., . . . Deshpandey, C. V. (1990). A nondenaturing solid phase pharmaceutical carrier comprised of surface-modified nanocrystalline materials. *Journal of Applied Biomaterials*, 1(4), 289-294. doi:<https://doi.org/10.1002/jab.770010404>
- [33] Kossovsky, N., Gelman, A., Hnatyszyn, H. J., Rajguru, S., Garrell, R. L., Torbati, S., . . . Chow, G.-M. (1995). Surface-modified diamond nanoparticles as antigen delivery vehicles. *Bioconjugate chemistry*, 6(5), 507-511.
- [34] Kossovsky, N., Gelman, A., Rajguru, S., Nguyen, R., Sponsler, E., Hnatyszyn, H. J., . . . Wei, K. (1996). Control of molecular polymorphisms by a structured carbohydrate / ceramic delivery vehicle — aquasomes. *Journal of Controlled Release*, 39(2), 383-388. doi:[https://doi.org/10.1016/0168-3659\(95\)00169-7](https://doi.org/10.1016/0168-3659(95)00169-7)
- [35] Rewar, S. (2015). A Systematic Review on Aquasome's as Novel Carrier Approach. *International Journal of Analytical, Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 4, 44-49.
- [36] Umashankar, M. S., Sachdeva, R. K., & Gulati, M. (2010). Aquasomes: a promising carrier for peptides and protein delivery. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 6(3), 419-426. doi:<https://doi.org/10.1016/j.nano.2009.11.002>
- [37] Udo-Chijioke, O. (2016). *Aquasomes: multilayered nanoparticulate drug delivery systems*. (PhD). Aston University,
- [38] Dhar, A. D. A., Sarkar, S. S. S., & Das, S. D. S. (2022). An Overview On Aquasomes: A Novel Approach For Delivering Macromolecules. *World Wide Journals*, 11(12), 6. doi:10.36106/paripex

- [39] Yu, L. X., Amidon, G., Khan, M. A., Hoag, S. W., Polli, J., Raju, G. K., & Woodcock, J. (2014). Understanding Pharmaceutical Quality by Design. *The AAPS Journal*, 16(4), 771-783. doi:10.1208/s12248-014-9598-3
- [40] ICH. (2012). ICH Harmonised Tripartite Guideline. Development and Manufacture of Drug Substances (Chemical Entities and Biotechnological/Biological Entities). Retrieved from <https://database.ich.org/sites/default/files/Q11%20Guideline.pdf>
- [41] Bhavna, Ojha, A., & Bhargava, S. (2022). Chapter 3 - International Council for Harmonisation (ICH) guidelines. In J. Ali & S. Baboota (Eds.), *Regulatory Affairs in the Pharmaceutical Industry* (pp. 47-74): Academic Press.
- [42] Hales, D., Tefas, L. R., Tomuță, I., Moldovan, C., Gulei, D., Munteanu, R., & Porfire, A. (2020). Development of a Curcumin-Loaded Polymeric Microparticulate Oral Drug Delivery System for Colon Targeting by Quality-by-Design Approach. *Pharmaceutics*, 12(11). doi:10.3390/pharmaceutics12111027
- [43] Beg, S., & Hasnain, M. S. (2019). *Pharmaceutical quality by design: principles and applications*: Academic Press.
- [44] Simões, A., Veiga, F., & Vitorino, C. (2024). Question-based review for pharmaceutical development: An enhanced quality approach. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 195, 114174. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2023.114174>
- [45] Shahabade Gururaj, S., Bhosale Ashok, V., Mutha Swati, S., Bhosale Nilesh, R., Khade Prashant, H., Bhadane Nishant, P., & Shinde Sagar, T. (2009). An overview on nanocarrier technology-Aquasomes. *Journal of Pharmacy Research*, 2(7), 1174-1177.
- [46] Gulati, M., Singh, S., Kishore, U., & Kumar, R. (2015). Potential Applications of Aquasomes for Therapeutic Delivery of Proteins and Peptides. In (pp. 439-453).
- [47] Chaudhari, B. (2015). aquasome.
- [48] Garg, R. K., Patwa, A., Dashora, A., & Jain, P. (2014). Aquasomes: A Self Assembled Nanoparticulate Carrier Systems. *Asian Journal of Pharmaceutical Research Development*, 2(2), 13-23. doi:<https://ajprd.com/index.php/journal/article/view/161>
- [49] Ghasemiyeh, P., & Mohammadi-Samani, S. (2018). Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers as novel drug delivery systems: applications, advantages and disadvantages. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 13(4).

Retrieved

from

https://journals.lww.com/rips/Fulltext/2018/13040/Solid_lipid_nanoparticles_and_nanostructured_lipid.1.aspx

- [50] Lipinski, C. A. (2004). Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. *Drug Discovery Today: Technologies*, 1(4), 337-341. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2004.11.007>
- [51] Mishra, V., Bansal, K. K., Verma, A., Yadav, N., Thakur, S., Sudhakar, K., & Rosenholm, J. M. (2018). Solid Lipid Nanoparticles: Emerging Colloidal Nano Drug Delivery Systems. *Pharmaceutics*, 10(4). doi:10.3390/pharmaceutics10040191
- [52] Ramachandran, R., Paul, W., & Sharma, C. P. (2009). Synthesis and characterization of PEGylated calcium phosphate nanoparticles for oral insulin delivery. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 88B(1), 41-48. doi:<https://doi.org/10.1002/jbm.b.31241>
- [53] Müller, R. H., Mäder, K., & Gohla, S. (2000). Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery – a review of the state of the art. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50(1), 161-177. doi:[https://doi.org/10.1016/S0939-6411\(00\)00087-4](https://doi.org/10.1016/S0939-6411(00)00087-4)
- [54] Bozzuto, G., & Molinari, A. (2015). Liposomes as nanomedical devices. *Int J Nanomedicine*, 10, 975-999. doi:10.2147/ijn.S68861
- [55] Yun, P., Devahastin, S., & Chiewchan, N. (2021). Microstructures of encapsulates and their relations with encapsulation efficiency and controlled release of bioactive constituents: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(2), 1768-1799. doi:<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12701>
- [56] Singh, R., & Lillard, J. W. (2009). Nanoparticle-based targeted drug delivery. *Experimental and Molecular Pathology*, 86(3), 215-223. doi:<https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2008.12.004>
- [57] Kumari, A., Yadav, S. K., & Yadav, S. C. (2010). Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 75(1), 1-18. doi:<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2009.09.001>
- [58] Kakkar, V., Singh, S., Singla, D., & Kaur, I. P. (2011). Exploring solid lipid nanoparticles to enhance the oral bioavailability of curcumin. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55(3), 495-503. doi:<https://doi.org/10.1002/mnfr.201000310>

- [59] Shaikh, J., Ankola, D. D., Beniwal, V., Singh, D., & Kumar, M. N. V. R. (2009). Nanoparticle encapsulation improves oral bioavailability of curcumin by at least 9-fold when compared to curcumin administered with piperine as absorption enhancer. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 37(3), 223-230. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2009.02.019>
- [60] Tsai, Y.-M., Chien, C.-F., Lin, L.-C., & Tsai, T.-H. (2011). Curcumin and its nano-formulation: The kinetics of tissue distribution and blood–brain barrier penetration. *International Journal of Pharmaceutics*, 416(1), 331-338. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.06.030>
- [61] Aggarwal, B. B., Sundaram, C., Malani, N., & Ichikawa, H. (2007). Curcumin: the Indian solid gold. *Adv Exp Med Biol*, 595, 1-75. doi:10.1007/978-0-387-46401-5_1
- [62] Yen, F.-L., Wu, T.-H., Tzeng, C.-W., Lin, L.-T., & Lin, C.-C. (2010). Curcumin Nanoparticles Improve the Physicochemical Properties of Curcumin and Effectively Enhance Its Antioxidant and Antihepatoma Activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(12), 7376-7382. doi:10.1021/jf100135h
- [63] Gupta, T., Singh, J., Kaur, S., Sandhu, S., Singh, G., & Kaur, I. P. (2020). Enhancing Bioavailability and Stability of Curcumin Using Solid Lipid Nanoparticles (CLEN): A Covenant for Its Effectiveness. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8. doi:10.3389/fbioe.2020.00879
- [64] Hewlings, S. J., & Kalman, D. S. (2017). Curcumin: A Review of Its Effects on Human Health. *Foods*, 6(10). doi:10.3390/foods6100092
- [65] Gupta, S. C., Prasad, S., Kim, J. H., Patchva, S., Webb, L. J., Priyadarsini, I. K., & Aggarwal, B. B. (2011). Multitargeting by curcumin as revealed by molecular interaction studies. *Nat Prod Rep*, 28(12), 1937-1955. doi:10.1039/c1np00051a
- [66] Kallingal, A., & Suresh, A. (2021). Aquasomes Nanocarriers for Delivery of Small Molecules. *International Journal of Medical & Pharmaceutical Sciences*, 11. doi:10.31782/IJMPS.2021.11701
- [67] Vishnu, V., Shefrin, S., Sreelaxmi, C. S., & Sreeja, C. N. (2018). Aquasomes: An excellent and promising system for novel drug delivery. *International Journal of Pharmaceutical Research*, 10, 207-215.
- [68] Kabyemela, B. M., Takigawa, M., Adschiri, T., Malaluan, R. M., & Arai, K. (1998). Mechanism and Kinetics of Cellobiose Decomposition in Sub- and Supercritical

- Water. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 37(2), 357-361.
doi:10.1021/ie9704408
- [69] Singh, S. V., Saxena, O., & Singh, M. P. (1970). Mechanism of copper (II) oxidation of reducing sugars. I. Kinetics and mechanism of oxidation of D-xylose, L-arabinose, D-glucose, D-fructose, D-mannose, D-galactose, L-sorbose, lactose, maltose, cellobiose, and melibiose by copper (II) in alkaline medium. *Journal of the American Chemical Society*, 92(3), 537-541.
- [70] Martindale, W., & Parfitt, K. (1999). *Martindale: the complete drug reference*. London pharmaceutical press London.
- [71] Qi, X., & Tester, R. F. (2020). Lactose, Maltose, and Sucrose in Health and Disease. *Molecular Nutrition & Food Research*, 64(8), 1901082.
doi:<https://doi.org/10.1002/mnfr.201901082>
- [72] Savaiano, D. A., Boushey, C. J., & McCabe, G. P. (2006). Lactose Intolerance Symptoms Assessed by Meta-Analysis: A Grain of Truth That Leads to Exaggeration. *The Journal of Nutrition*, 136(4), 1107-1113.
doi:10.1093/jn/136.4.1107
- [73] Jagdale, S., & Karekar, S. (2020). Bird's eye view on aquasome: Formulation and application. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 58, 101776.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101776>
- [74] Wani, S., & Yerawar, A. (2011). Aquasomes: A novel nanocarrier for drug delivery. *ChemInform*, 42(46), 446-457.
- [75] Sahoo, C. K., Ramana, D. V., Satyanarayana, K., & Mohanty, D. (2018). Drug Delivery through Aquasomes. *J Pharm Adv Res*, 1(3), 156-162.
- [76] Chauvierre, C., Marden, M. C., Vauthier, C., Labarre, D., Couvreur, P., & Leclerc, L. (2004). Heparin coated poly(alkylcyanoacrylate) nanoparticles coupled to hemoglobin: a new oxygen carrier. *Biomaterials*, 25(15), 3081-3086.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.09.097>
- [77] Cherian, A. K., Rana, A. C., & Jain, S. K. (2000). Self-Assembled Carbohydrate-Stabilized Ceramic Nanoparticles for the Parenteral Delivery of Insulin. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 26(4), 459-463. doi:10.1081/DDC-100101255
- [78] Pandey, R. S., Sahu, S., Sudheesh, M. S., Madan, J., Kumar, M., & Dixit, V. K. (2011). Carbohydrate modified ultrafine ceramic nanoparticles for allergen

- immunotherapy. *International Immunopharmacology*, 11(8), 925-931.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2011.02.004>
- [79] Narang, N. (2012). Aquasomes: Self-assembled systems for the delivery of bioactive molecules. *Asian Journal of Pharmaceutics*, 6, 95. doi:10.4103/0973-8398.102931
- [80] Chaudhary, J. S. (2018). Aquasomes; A New Approach for Delivering Therapeutics: An Overview. *Asian Journal of Pharmaceutics (AJP)*, 12(02). doi:10.22377/ajp.v12i02.2369
- [81] Khopade, A. J., Khopade, S., & Jain, N. K. (2002). Development of hemoglobin aquasomes from spherical hydroxyapatite cores precipitated in the presence of half-generation poly(amidoamine) dendrimer. *International Journal of Pharmaceutics*, 241(1), 145-154. doi:[https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(02\)00235-1](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(02)00235-1)
- [82] Paul, W., & Sharma, C. P. (2001). Porous hydroxyapatite nanoparticles for intestinal delivery of insulin. *Trends Biomater Artif Organs*, 14, 37-38.
- [83] Beherei, H. H., El-Bassyouni, G. T., & Mohamed, K. R. (2008). Modulation, characterization and bioactivity of new biocomposites based on apatite. *Ceramics International*, 34(8), 2091-2097. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2007.08.003>
- [84] Vengala, D. P. (2017). Carbohydrate Stabilized Ceramic Nanoparticles for the Delivery of a Poorly Soluble Drug, Lornoxicam. *Asian Journal of Pharmaceutics (AJP)*, 11(03). doi:10.22377/ajp.v11i03.1450
- [85] Goyal, A. K., Rawat, A., Mahor, S., Gupta, P. N., Khatri, K., & Vyas, S. P. (2006). Nanodecoy system: A novel approach to design hepatitis B vaccine for immunopotential. *International Journal of Pharmaceutics*, 309(1), 227-233. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2005.11.037>
- [86] Kulkarni, S., Prabhakar, B., & Shende, P. (2022). Aquasomes: Advanced Vesicular-based Nanocarrier Systems. *Curr Pharm Des*, 28(29), 2404-2414. doi:10.2174/1381612828666220728112741
- [87] Kaur, K., Kush, P., Pandey, R. S., Madan, J., Jain, U. K., & Katore, O. P. (2015). Stealth lipid coated aquasomes bearing recombinant human interferon- α -2b offered prolonged release and enhanced cytotoxicity in ovarian cancer cells.

- Biomedicine & Pharmacotherapy*, 69, 267-276.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2014.12.007>
- [88] Goyal, A. K., Khatri, K., Mishra, N., Mehta, A., Vaidya, B., Tiwari, S., & Vyas, S. P. (2008). Aquasomes—A Nanoparticulate Approach for the Delivery of Antigen. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 34(12), 1297-1305. doi:10.1080/03639040802071661
- [89] Patil, S., Pancholi, S. S., Agrawal, S., & Agrawal, G. P. (2004). Surface-Modified Mesoporous Ceramics as Delivery Vehicle for Haemoglobin. *Drug Delivery*, 11(3), 193-199. doi:10.1080/10717540490433976
- [90] Rawat, M., Singh, D., Saraf, S., & Saraf, S. (2008). Development and In Vitro Evaluation of Alginate Gel–Encapsulated, Chitosan-Coated Ceramic Nanocores for Oral Delivery of Enzyme. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 34(2), 181-188. doi:10.1080/03639040701539479
- [91] Rojas-Oviedo, I., Salazar-López, R. A., Reyes-Gasga, J., & Quirino-Barreda, C. T. (2007). Elaboration and structural analysis of aquasomes loaded with Indomethacin. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 32(3), 223-230. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2007.07.008>
- [92] Kommineni, S., Ahmad, S., Vengala, P., & Subramanyam, C. V. S. (2012). Sugar coated ceramic nanocarriers for the oral delivery of hydrophobic drugs: formulation, optimization and evaluation. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 38(5), 577-586. doi:10.3109/03639045.2011.617884
- [93] Vengala, P., Dintakurthi, S., & Subrahmanyam, C. V. S. (2013). Lactose coated ceramic nanoparticles for oral drug delivery. *Journal of Pharmacy Research*, 7(6), 540-545. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jopr.2013.06.015>
- [94] Vengala, P., Aslam, S., & Subrahmanyam, C. V. S. (2013). Development and in vitro evaluation of ceramic nanoparticles of piroxicam. *Latin American Journal of Pharmacy*, 32(8), 1124-1130. Retrieved from <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84886287238&partnerID=40&md5=e4132424835c93d966c347f8441053b2>
- [95] Nanjwade, B. K., Hiremath, G. M., Manvi, F. V., & Srichana, T. (2013). Formulation and Evaluation of Etoposide Loaded Aquasomes. *Journal of Nanopharmaceutics and Drug Delivery*, 1(1), 92-101. doi:10.1166/jnd.2013.1016

- [96] Alqahtani, M. S., Kazi, M., Alsenaidy, M. A., & Ahmad, M. Z. (2021). Advances in Oral Drug Delivery. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 12. doi:10.3389/fphar.2021.618411
- [97] Alam, T. (2022). Quality by design based development of nanostructured lipid carrier: a risk based approach. *Exploration of Medicine*, 3(6), 617-638. doi:10.37349/emed.2022.00118
- [98] Agrahari, V., & Agrahari, V. (2018). Facilitating the translation of nanomedicines to a clinical product: challenges and opportunities. *Drug Discovery Today*, 23(5), 974-991. doi:<https://doi.org/10.1016/j.drudis.2018.01.047>
- [99] Rajak, P., Islam, R., Karmakar, A., & Bhuyan, B. (2023). Sistema de administración de fármacos Aquasomal: Especial énfasis en las técnicas de formulación y aplicaciones. *Ars Pharmaceutica (Internet)*, 64(4), 359-375. doi:10.30827/ars.v64i4.28264
- [100] Montgomery, D. C. (2017). *Design and analysis of experiments* (2nd ed.). Arizona State University: John wiley & sons.
- [101] Myers, R. H., Montgomery, D. C., & Anderson-Cook, C. M. (2016). *Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments*: John Wiley & Sons.
- [102] Guo, X., Li, W., Wang, H., Fan, Y.-Y., Wang, H., Gao, X., . . . Gong, X. (2018). Preparation, characterization, release and antioxidant activity of curcumin-loaded amorphous calcium phosphate nanoparticles. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 500, 317-325. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2018.08.015>
- [103] Kumar, S., Mohd Aquil, S., & Gupta, A. (2022). Formulation And Evaluation of Voriconazole Loaded Aquasomes For The Treatment Of Fungal Infection. *NeuroQuantology*, 20(11), 1212-1233. doi:<https://doi.org/10.14704/nq.2022.20.11.NQ66115>
- [104] Hussein Ali, L. M., Dawaba, A. M., & El-Adawy, S. A. (2024). Formulation, Optimization and Full Characterization of Mirtazapine Loaded Aquasomes: A new technique to boost antidepressant effects. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 1-27. doi:10.1080/03639045.2024.2313538
- [105] Michelot, A., Sarda, S., Audin, C., Deydier, E., Manoury, E., Poli, R., & Rey, C. (2015). Spectroscopic characterisation of hydroxyapatite and nanocrystalline apatite with grafted aminopropyltriethoxysilane: nature of silane–surface

- interaction. *Journal of Materials Science*, 50(17), 5746-5757. doi:10.1007/s10853-015-9122-x
- [106] Poinern, G. E., Brundavanam, R. K., Mondinos, N., & Jiang, Z.-T. (2009). Synthesis and characterisation of nanohydroxyapatite using an ultrasound assisted method. *Ultrasonics Sonochemistry*, 16(4), 469-474. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2009.01.007>
- [107] Webster, F. X., & Kiemle, D. J. (2005). *Spectrometric identification of organic compounds*: John Wiley & Sons.
- [108] Van Nong, H., Hung, L. X., Thang, P. N., Chinh, V. D., Vu, L. V., Dung, P. T., . . . Nga, P. T. (2016). Fabrication and vibration characterization of curcumin extracted from turmeric (*Curcuma longa*) rhizomes of the northern Vietnam. *SpringerPlus*, 5(1), 1147. doi:10.1186/s40064-016-2812-2
- [109] Koczur, K. M., Mourdikoudis, S., Polavarapu, L., & Skrabalak, S. E. (2015). Polyvinylpyrrolidone (PVP) in nanoparticle synthesis. *Dalton Transactions*, 44(41), 17883-17905. doi:10.1039/C5DT02964C
- [110] Rónavári, A., Béteky, P., Boka, E., Zakupszky, D., Igaz, N., Szerencsés, B., . . . Kiricsi, M. (2021). Polyvinyl-Pyrrolidone-Coated Silver Nanoparticles—The Colloidal, Chemical, and Biological Consequences of Steric Stabilization under Biorelevant Conditions. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(16). doi:10.3390/ijms22168673
- [111] Azhar, A. L., Ma'amor, A., Julkapli, N. M., Sairi, N. A., & Noraizat, A. S. (2023). Ultraviolet-activated clamshell hydroxyapatite-substituted palladium in the photoreduction of methyl orange water pollutant. *Turkish Journal of Chemistry*, 47(3), 527-539. doi:10.55730/1300-0527.
- [112] Kumar, A., & Dixit, C. K. (2017). 3 - Methods for characterization of nanoparticles. In S. Nimesh, R. Chandra, & N. Gupta (Eds.), *Advances in Nanomedicine for the Delivery of Therapeutic Nucleic Acids* (pp. 43-58): Woodhead Publishing.
- [113] Prajapati, S. K., Kesharwani, P., Mody, N., Jain, A., & Sharma, S. (2021). Formulation by design (FbD): an emerging approach to design vesicular nanocarriers. In *Micro-and Nanotechnologies-Based Product Development* (pp. 15-31): CRC Press.

- [114] Jafari, Y., Sabahi, H., & Rahaie, M. (2016). Stability and loading properties of curcumin encapsulated in *Chlorella vulgaris*. *Food Chemistry*, 211, 700-706. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.115>
- [115] Chaudhary, J. S., Gupta, R., Prajapati, S. K., & Bhardwaj, P. (2022). Dithranol loaded aquasomes for the control of psoriasis: an in vitro–ex vivo assessment. *NeuroQuantology*, 20(15), 3011.
- [116] Abdulrazzaq, F. (2016). *Aquasomes as a drug delivery system for proteins and peptides*. (PhD in health sciences). Aston University,
- [117] Thakare, P., Chellampillai, B., Kuvar, V., Shinde, V., & Mali, A. (2024). Exploring the potential of three-layered self-assembled biomaterial-based dry powder inhaler for enhanced structural integrity and lung deposition of bioactive Lysozyme. *BioNanoScience*, 1-14. doi:<https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3867336/v1>
- [118] Jambhekar, S. S., & Breen, P. J. (2009). *Basic pharmacokinetics* (Vol. 76): Pharmaceutical press London.
- [119] Shargel, L., & Andrew, B. Y. (2016). *Applied biopharmaceutics & pharmacokinetics* (7th Edition ed. Vol. 264). New York: McGraw-Hill Education.
- [120] Mahato, R. I., & Narang, A. S. (2017). *Pharmaceutical dosage forms and drug delivery* (3rd Edition ed.). Boca Raton, USA: CRC Press Taylor & Francis Group.
- [121] Skoog, D. A., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2017). *Principles of instrumental analysis*: Cengage learning.
- [122] Florence, A. (2003). Targeted and Controlled Drug Delivery: Novel Carrier Systems: S.P. Vyas, R.K, Khar, CBS Publishers, New Delhi, 2002, ISBN 81-239-0799-0. *International Journal of Pharmaceutics*, 267, 157. doi:10.1016/S0378-5173(03)00356-9
- [123] Looks, F. The European Science Foundation The European Science Foundation (ESF) is an independent, non-governmental organisation, the members of which are 79 national funding agencies, research performing agencies, academies and learned societies from 30 countries.

EKLER

TANIMLAR

Biyoyararlanım: Etkin maddenin sistemik dolaşıma girme ve böylece etki alanına erişme derecesi ve oranı [118,119].

Biyoeşdeğerlik: Aynı ilaç maddesini/maddelerini içeren iki ilaç ürünü, aynı molar dozda uygulandıktan sonra göreceli biyoyararlanımları kabul edilebilir önceden tanımlanmış sınırlar içindeyse biyoeşdeğer olarak kabul edilir [118,119].

Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (BCS), ilaçları çözünürlük ve geçirgenlik özelliklerine göre kategorize eden bilimsel bir çerçevedir. Dr. Gordon Amidon ve meslektaşları tarafından 1995 yılında geliştirilen BCS, oral uygulamayı takiben ilacın emilim oranını ve kapsamını tahmin etmeyi amaçlamaktadır; bu da ilaç geliştirme ve ruhsatlandırma kararlarına rehberlik etmeye yardımcı olabilir [5,118].

Çözünürlük, belirli bir sıcaklıkta 100 ml suda çözünecek bir maddenin maksimum kütesinin ölçümüdür [120].

Spektrofotometri, dalga boyunun bir fonksiyonu olarak bir madde tarafından emilen veya iletilen ışık miktarını ölçmek için kullanılan nicel bir analitik tekniktir [121].

Spektrofotometreler, bir örnekten geçmeden önce ve geçtikten sonra ışığın yoğunluğunu karşılaştırarak bu ölçümleri yapmak için kullanılan cihazlardır [121].

İlaç dağıtım sistemleri: ilaçları vücutta amaçlanan etki alanlarına ulaştırmak için kullanılan çeşitli teknik ve teknolojileri ifade eder [96].

Kontrollü salım: bir ilaç taşıyıcı sisteminin bir ilacı belirli bir süre boyunca kontrollü ve sürekli bir şekilde salma yeteneğini ifade eder [122].

Yardımcı maddeler: ilacın etkinliğini stabilize etmeye, korumaya veya artırmaya yardımcı olmak için bir ilaç formülasyonuna eklenen inaktif bileşenlerdir [70].

Formülasyon: Uygun bileşenlerin seçilmesini, en uygun dozaj formunun belirlenmesini ve üretim sürecinin tasarlanmasını içeren bir ilaç ürünü geliştirme sürecidir [123].

In vitro: Bunlar, test tüpü veya hücre kültürü kabı gibi canlı bir organizmanın dışında yürütülen çalışmalardır [119].

In vivo: hayvanlar veya insanlar gibi canlı organizmalarda yürütülen çalışmaları ifade eder [119].

Terapötik indeks: Bu, bir ilacın terapötik etki yaratan dozunun toksik etki yaratan dozuna oranıdır [120].

Toksisite: bir maddenin, özellikle tekrarlanan veya uzun süreli maruz kalma durumunda, bir organizmaya zarar verme veya hasar verme derecesidir [120].



ETİK ONAY BELGESİ



T.C. ANADOLU ÜNİVERSİTESİ

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARAR FORMU

Toplantı No: 5 Dosya Kayıt No:24-13 BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	"Kurkumin yüklü akuazomların hazırlanması ve karakterize edilmesi."
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI / ADI KURUMU	Prof.Dr. Mustafa Sinan KAYNAK Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
	YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	Fernando BWALYA
	Hayvan Türü ve Sayısı	S.Dawley(Dişi-36)
DEĞERLENDİRİLEN BELGE	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ ve EKLERİ	Var
KARAR BİLGİLERİ	Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi Prof.Dr. Mustafa Sinan KAYNAK' ın araştırma yürütücüsü olduğu 24-13 dosya kayıt no'lu ve "Kurkumin yüklü akuazomların hazırlanması ve karakterize edilmesi." başlıklı etik kurul proje başvurusu, Deney Hayvanları etik kurul yönergesine uygun bulunarak onaylanmasına karar verilmiştir.	
	KARAR NO: 2024-13	KARAR TARİHİ: 15.05.2024

ÖZGEÇMİŞ

Fernando Bwalya

EĞİTİM

Eczacılık Lisansı *Zambiya Üniversitesi, Zambiya* 10/2014 - 10/2020

İŞ DENEYİMİ

Stajyer Eczacı *mPharma Pharmaceuticals LTD, Zambiya* 04/2021 - 09/2021

- Dağıtılan reçeteler ve yönetilen eczane envanteri

Stajyer Eczacı *Maina Soko Askeri Hastanesi, Zambiya* 07/2021 - 08/2021

- Hastaların ve sağlık çalışanlarının ilaçlar konusunda eğitilmesi
- İlaç tedavisinin izlenmesi ve ilaç tedarik zincirinin yönetilmesi

YAYINLAR

- Fernando Bwalya, Mustafa Sinan Kaynak (2023) Aquasomes: A Novel Carrier for Improved Drug Solubility and Permeability, *Tıp ve Sağlık Bilimlerinde Son Gelişmeler Kavramlar, Araştırmalar ve Uygulamalar*, Nizami Duran & Feray Aydın (Editörler) (pp 107-117), Lyon, Livre de Lyon.
- Hikaambo CN, Kampamba M, Bwalya F, vb. (2021) A review of the antiviral activity of Ivermectin and its use in the treatment of coronavirus disease-2019. *Epidemiol Open J.*; 6(1): 35-40. doi: 10.17140/EPOJ-6-125

ONUR VE ÖDÜLLER

- En İyi Mezun Öğrenci, Zambiya Üniversitesi, 2021
- Klinik Eczacılık Alanında En İyi Öğrenci, Zambiya Üniversitesi, 2021
- Patoloji ve Mikrobiyoloji Alanında En İyi Öğrenci, Zambiya Üniversitesi, 2019

SERTİFİKALAR

- Sağlık Hizmetleri Pazaryeri Uzmanlığı, Minnesota Üniversitesi (Coursera), 03/2023 - 04/2023

- Sağlık Hizmetlerinde Yapay Zeka Uzmanlığı, Stanford Üniversitesi (Coursera), 03/2023 - 04/2023
- Yönetim İlkeleri Sertifikası, Johns Hopkins Üniversitesi (Coursera), 03/2023 - 04/2023
- Hassas Tıp Kursu, Cenevre Üniversitesi (Coursera), 03/2023
- Üniversite Öğretmenliği Kursu, Hong Kong Üniversitesi (Coursera), 02/2023 - 03/2023
- İlaç Geliştirme Ürün Yönetimi Uzmanlığı, University of California San Diego (Coursera), 01/2023 - 03/2023

