



**ORAL VERİLİŞ İÇİN METFORMİN
İÇEREN YENİ İLAÇ TAŞIYICI
SİSTEMLERİN GELİŞTİRİLMESİ VE *İN
VİTRO, İN VİVO* DEĞERLENDİRİLMESİ**

Doktora Tezi

Kadir AYKAÇ

Eskişehir 2025

**ORAL VERİLİŞ İÇİN METFORMİN İÇEREN YENİ İLAÇ TAŞIYICI
SİSTEMLERİN GELİŞTİRİLMESİ VE *İN VİTRO*, *İN VİVO*
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Kadir AYKAÇ

DOKTORA TEZİ

Farmasötik Teknoloji Ana Bilim Dalı

Farmasötik Teknoloji Programı

Danışman: Prof. Dr. Müzeyyen DEMİREL

Anadolu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kasım 2025

Eskişehir

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Kadir AYKAÇ'ın "ORAL VERİLİŞ İÇİN METFORMİN İÇEREN YENİ İLAÇ TAŞIYICI SİSTEMLERİN GELİŞTİRİLMESİ VE *İN VİTRO*, *İN VİVO* DEĞERLENDİRİLMESİ" başlıklı tezi 24/11/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Farmasötik Teknoloji Programında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Danışman)	: Prof. Dr. Müzeyyen DEMİREL	
Üye	: Prof. Dr. Nafiz Öncü CAN	
Üye	: Prof. Dr. Evrim AKYIL	
Üye	: Prof. Dr. Ceyda Tuba ŞENGEL TÜRK	
Üye	: Doç. Dr. Umay Merve GÜVEN BÖLGEN	

Prof. Dr. Nafiz Öncü CAN

Anadolu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ÖZET

ORAL VERİLİŞ İÇİN METFORMİN İÇEREN YENİ İLAÇ TAŞIYICI SİSTEMLERİN GELİŞTİRİLMESİ VE *İN VİTRO*, *İN* *VİVO* DEĞERLENDİRİLMESİ

Kadir AYKAÇ

Farmasötik Teknoloji Ana Bilim Dalı

Farmasötik Teknoloji Programı

Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Kasım 2025

Danışman: Prof. Dr. Müzeyyen DEMİREL

Tip 2 şeker hastalığı dünya çapında en yaygın metabolik hastalıklardan biridir. Metformin HCl, ağız yoluyla kullanılan kan glikoz düzenleyiciler arasında ilk tercih edilen ilaçtır. Farmakokinetik özelliklerinden (biyoyararlanım %50-60; plazma yarılanma ömrü 1,5-4 saat) dolayı metforminin yüksek dozlarda (0,5-2 g/gün) kullanılması gerekir. 70 yıldan uzun bir süredir tip 2 diyabet tedavisi için kullanılan metformin ile biyoyararlanımını arttırarak doz miktarını ve uygulama sıklığını azaltmak gibi tedavi özelliklerini iyileştirmek için günümüze kadar birçok formülasyon çalışması yapılmıştır. Bu çalışma metformin HCl içeren yeni ilaç taşıyıcı sistemler geliştirmek ve söz konusu etkin maddenin biyoyararlanımını arttırarak kullanım sıklığını ve uygulama dozunu düşürmek amacıyla tasarlanmıştır. Bu amaçlar doğrultusunda çeşitli siklodekstrinler kullanılarak liyofilizasyon yöntemi ile inklüzyon kompleksler; Poli [metil vinil eter alt maleik anhidrit] kaplı inklüzyon kompleksler, Eudragit® FS 100 ve Poli [metil vinil eter alt maleik anhidrit] ile püskürterek kurutma yöntemi kullanılarak mikropartiküller üretilmiştir. DSC, FTIR, ¹H-NMR, parçacık boyut dağılımı ve zeta potansiyeli, miktar tayini, salım ve salım kinetiği gibi *in vitro* karakterizasyonlar ve *in vivo* farmakodinamik çalışmaları yapılmıştır. *In vivo* sonuçlar F2 kodlu Eudragit® FS 100 ile geliştirilen mikropartiküllerin saf metformin HCl kadar etkili olduğunu göstermiştir.

Anahtar Sözcükler: Metformin HCl, Mikropartiküller, Siklodekstrin kompleks, Eudragit, Polianhidrit.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF METFORMIN LOADED NOVEL DRUG DELIVERY SYSTEMS AND IN VITRO AND IN VIVO EVALUATION FOR ORAL ROUTE

Kadir AYKAÇ

Department of Pharmaceutical Technology

Programme in Pharmaceutical Technology

Graduate School of Anadolu University, November 2025

Supervisor: Prof. Dr. Müzeyyen DEMİREL

Type 2 diabetes mellitus is one of the most prevalent metabolic diseases worldwide. Metformin HCl is the first-line oral antihyperglycemic agent for its treatment. Due to Metformin's pharmacokinetic properties (bioavailability 50-60%; plasma half-life 1.5-4 hours), high doses (0.5-2 g/day) are required. Metformin has been used for over 70 years in the treatment of type 2 diabetes, and numerous formulation studies have been conducted to improve its therapeutic characteristics, such as increasing its bioavailability to reduce the dose and frequency of administration. This study was designed to develop new drug delivery systems containing Metformin HCl and to enhance the bioavailability of the active substance, thereby reducing the dosing frequency and administered dose. To this end, inclusion complexes were produced by the lyophilization method using various cyclodextrins; inclusion complexes coated with Poly [methyl vinyl ether-alt-maleic anhydride], and microparticles were produced using the spray-drying method with Eudragit® FS 100 and Poly [methyl vinyl ether-alt-maleic anhydride]. *In vitro* characterizations, such as DSC FTIR ¹H-NMR, particle size and zeta potential, quantitative determination, release, and release kinetics, as well as *in vivo* pharmacodynamic studies were performed. The *in vivo* results indicated that the microparticles developed with Eudragit® FS 100, coded F2, were as effective as pure Metformin HCl.

Keywords: Metformin HCl, Microparticles, Cyclodextrin complex, Eudragit, Polyanhydride.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, değerli bilgilerini benimle paylaşan, güler yüzünü ve samimiyetini esirgemeyen, çalışmamın yürütülmesinde ve sonuçlanmasında engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım çok kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Müzeyyen DEMİREL'e teşekkürlerimi sunarım.

Teşekkürlerin az kalacağı diğer üniversite hocalarım Prof. Dr. Ebru BAŞARAN'a, Prof. Dr. Evrim AKYIL'a, Prof. Dr. Mustafa Sinan KAYNAK'a, Prof. Dr. Gülay BÜYÜKKÖROĞLU'na, Doç. Dr. Behiye ŞENEL'e, Doç. Dr. Ahmet Alper ÖZTÜRK'e bana doktora eğitimim boyunca kazandırdıkları ve beni gelecekte söz sahibi yapacak bilgilerle donattıkları için teşekkürlerimi sunarım.

Başta Dr. Öğr. Üyesi Gülbeyaz YILDIZ TÜRKYILMAZ ve Doç. Dr. Sakine TUNCAY TANRIVERDİ olmak üzere Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı'na teşekkürlerimi sunarım.

Hayvan deneyleri aşamasında desteklerini esirgemeyen değerli Prof. Dr. Özgür Devrim CAN hocama, Arş. Gör. Cevşen YAZICI ŞENOCAK'a, Arş. Gör. Gizem TÜRKÖĞLU SAĞLIK'a, Uzm. Sayed Mansour AHRARI'ya ve bütün Anadolu Üniversitesi Deney Hayvanları Birimi çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Başta Dr. Süleyman YUR ve Dr. Arzu İŞCAN olmak üzere NMR ve SEM analizlerindeki destekleri için AUBİBAM'a teşekkür ederim.

FTIR analizleri için Dr. Öğretim Üyesi Serkan LEVENT ve Betül AYDIN başta olmak üzere MER-LAB'a teşekkür ederim.

Çalışma saatlerimin çoğunu birlikte geçirdiğim çok kıymetli iş arkadaşlarım Dr. Öğretim Üyesi Sinan ÖZER'e, Arş. Gör. Kaan YALÇINKAYA'ya, Arş. Gör. Ceyda KÖROĞLU ÖZMEN'e ve Arş. Gör. İclal ÖZDEMİR'e, ayrıca Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesini beraber okuduğum dönem arkadaşım Ecz. Selahattin GÜRÜN'e bu zorlu süreçte yardımlarını ve arkadaşlıklarını esirgemedikleri için çok teşekkür ederim.

Ve son olarak çalışmamda desteklerini benden esirgemeyen, beni bu günlere sevgi ve saygı ile yetiştirerek getiren ve bana maddi manevi her türlü desteği sağlayan fedakâr aileme sonsuz teşekkürler.

Kadir AYKAÇ

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

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

Kadir AYKAÇ

ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI

Bu tezi hazırlarken ChatGPT ve Gemini üretken yapay zekâ programlarından destek aldığımı beyan ederim. Tezin hazırlığı aşamasında üretken yapay zekâ programlarından çeviri desteği aldım. Üretken yapay zekâ programlarından aldığım bilgilerin doğruluğunu kontrol ettiğimi bildiririm.

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

Kadir AYKAÇ

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI	vii
İÇİNDEKİLER	viii
TABLolar DİZİNİ.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
GÖRSELLER DİZİNİ	xvii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	xviii
1 GİRİŞ VE AMAÇ	1
2 KAYNAK BİLGİSİ	3
2.1 Şeker Hastalığı.....	3
2.1.1 Şeker hastalığı tip 1.....	3
2.1.2 Şeker hastalığı tip 2.....	4
2.2 Metformin Hidroklorür	7
2.3 Oral Yol ile İlaç Kullanımı	11
2.4 İlaç Taşıyıcı Sistemler	13
2.4.1 Siklodekstrin kompleksler.....	13
2.4.2 Siklodekstrin türevleri.....	15
2.4.3 Kompleks oluşturma süreci	17
2.4.4 Siklodekstrin kompleks oluşturma yöntemleri	18
2.4.5 Metformin HCl ile yapılan çalışmaları	20
2.4.6 Partiküler ilaç taşıyıcı sistemler	20
2.4.7 Üretim Yöntemleri.....	21
2.4.8 Partiküler ilaç taşıyıcı sistemler için kullanılan bazı polimerler	26
3 GEREÇLER	30
3.1 Kullanılan Maddeler	30

3.2 Kullanılan Cihazlar	31
4 YÖNTEM.....	33
4.1 Analitik Yöntem Geliştirme ve Validasyon Çalışmaları.....	33
4.1.1 Analitik miktar tayini için validasyon çalışması	33
4.2 Ön Formülasyon Çalışmaları	36
4.2.1 Metformin HCl ile yapılan analizler	36
4.2.2 Polimerler ile yapılan çalışmalar	37
4.3 Siklodekstrin Kompleks Formülasyon Çalışmaları	39
4.3.1 Siklodekstrin komplekslerin karakterizasyon çalışmaları.....	40
4.4 Mikropartikül Formülasyon Çalışmaları	41
4.4.1 Mikropartiküllerin karakterizasyon çalışmaları	43
4.5 Hücre Kültürü Çalışmaları	44
4.6 Kararlılık Çalışmaları.....	45
4.7 <i>İn Vivo</i> Farmakodinamik Çalışmalar	46
4.7.1 Sıçanlarda deneysel diyabetin oluşturulması	46
4.7.2 Deney gruplarının oluşturulması ve ilaç uygulamaları.....	46
4.7.3 Kan örneklerinin alınması ve biyokimyasal analizler	46
4.7.4 İstatistiksel analiz.....	47
5 BULGULAR VE TARTIŞMA.....	48
5.1 Analitik Yöntem Geliştirme ve Validasyon Çalışmaları.....	48
5.1.1 Analitik miktar tayini için validasyon çalışması	48
5.2 Ön Formülasyon Çalışmaları	53
5.2.1 Metformin HCl ile yapılan çalışmalar	53
5.2.2 Polimerler ile yapılan çalışmalar	55
5.3 Siklodekstrin komplekslerin karakterizasyon çalışmaları	65
5.3.1 Morfolojik İnceleme.....	65
5.3.2 Termal Analiz.....	66
5.3.3 Fourier dönüşümlü kızıl ötesi analizi	67
5.3.4 Nükleer manyetik rezonans analizleri	71
5.3.5 Miktar tayini.....	77
5.3.6 <i>İn vitro</i> salım çalışması ve salım kinetikleri.....	77
5.4 Mikropartiküllerin karakterizasyon çalışmaları	82
5.4.1 Morfolojik inceleme	82

5.4.2 Termal analiz.....	85
5.4.3 Fourier dönüşümlü kızıl ötesi analizi.....	88
5.4.4 Nükleer manyetik rezonans analizleri	95
5.4.5 Parçacık boyut dağılımı ve zeta potansiyeli.....	111
5.4.6 Miktar tayini.....	112
5.4.7 <i>İn vitro</i> salım çalışması ve salım kinetikleri.....	112
5.5 Hücre Kültürü Çalışmaları	124
5.6 Kararlılık Çalışmaları.....	133
5.7 <i>İn Vivo</i> Farmakodinamik Çalışmalar	133
6 SONUÇ.....	138
KAYNAKÇA.....	139

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1 Tip 2 şeker hastalığı tedavisinde kullanılan bazı etkin maddelerin farmakokinetik özellikleri.....	6
Tablo 2.2 Metforminle yapılan birtakım formülasyon çalışmaları	10
Tablo 2.3 Gastrointestinal sistemin fizyolojik koşulları	12
Tablo 2.4 Siklodekstrinlerin bazı fizikokimyasal özellikleri	14
Tablo 2.5 Püskürterek kurutma yöntemiyle yapılan MH formülasyonları	26
Tablo 4.1 YBSK çalışma koşulları.....	33
Tablo 4.2 Siklodekstrin formülasyonlarının içeriği	40
Tablo 4.3 Mikropartikül formülasyonlarının içeriği	42
Tablo 5.1 Kesinlik çalışması bulguları.....	49
Tablo 5.2 Doğruluk çalışması için hazırlanan seriler ve % geri kazanım bulguları	50
Tablo 5.3 Duyarlılık çalışması bulguları.....	51
Tablo 5.4 Kararlılık çalışması bulguları.....	51
Tablo 5.5 Miktar tayini sonuçları.....	77
Tablo 5.6 SBE1, HCD1 ve MCD1 formüllerine ait salım kinetiği (pH:1,2)	79
Tablo 5.7 SBE1, HCD1 ve MCD1 formüllerine ait salım kinetiği (pH:6,8)	81
Tablo 5.8 Parçacık boyutu ve zeta potansiyeli.....	111
Tablo 5.9 Mikropartiküllerin miktar tayini sonuçları	112
Tablo 5.10 SP1, HP1, MP1 ve FP1 formüllerinin salım kinetiği (pH:1,2)	116
Tablo 5.11 P1, P2, FS1 ve FS2 formüllerinin salım kinetiği (pH:1,2)	117
Tablo 5.12 F1, F2 FP2 ve MH'nin salım kinetiği (pH:1,2)	118
Tablo 5.13 SP1, HP1, MP1 ve FP1 formüllerinin salım kinetiği (pH:6,8)	122
Tablo 5.14 FP2, F1, F2 ve P1 formüllerinin salım kinetiği (pH:6,8).....	123

Tablo 5.15 P2, FS1, FS2 ve MH'nin salım kinetiği (pH:6,8)	124
Tablo 5.16 Formölasyonların ve etkin maddenin IC50 değerleri	126
Tablo 5.17 Kararlılık sonuçları	133
Tablo 5.18 Açlık kan glikoz düzeyleri.....	134
Tablo 5.19 %HbA1c düzeyleri.....	135



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 5.1 Doğrusallık grafiği	48
Şekil 5.2 Seçicilik çalışması bulguları.....	52
Şekil 5.3 MH'ye ait DSC termogramı	54
Şekil 5.4 MH'ye ait FT-IR spektrumu.....	54
Şekil 5.5 MH'ye ait ¹ H-NMR spektrumu	55
Şekil 5.6 SβCD'ye ait DSC termogramı.....	56
Şekil 5.7 SβCD'ye ait FT-IR spektrumu	56
Şekil 5.8 SβCD'ye ait ¹ H-NMR spektrumu.....	57
Şekil 5.9 HβCD'e ait termogram.....	58
Şekil 5.10 HβCD'e ait FT-IR spektrumu	58
Şekil 5.11 HβCD'e ait ¹ H-NMR spektrumu.....	59
Şekil 5.12 MβCD'ye ait DSC termogramı	60
Şekil 5.13 MβCD'ye ait FT-IR spektrumu.....	60
Şekil 5.14 MβCD'ye ait ¹ H-NMR spektrumu	61
Şekil 5.15 PMA'ya ait DSC termogramı.....	62
Şekil 5.16 PMA'ya ait FT-IR spektrumu	62
Şekil 5.17 PMA'ya ait ¹ H-NMR spektrumu.....	63
Şekil 5.18 FS'e ait DSC termogramı	64
Şekil 5.19 FS'ye ait FT-IR spektrumu.....	64
Şekil 5.20 FS'ye ait ¹ H-NMR spektrumu.....	65
Şekil 5.21 Kompleks formüllerine ait DSC termogramları	67
Şekil 5.22 SβCD ile hazırlanan formüllere ait FT-IR spektrumu.....	68
Şekil 5.23 HβCD ile hazırlanan formüllere ait FT-IR spektrumu	69

Şekil 5.24 M β CD ile hazırlanan formüllere ait FT-IR spektrumu	70
Şekil 5.25 MH'ye ait ^1H -NMR spektrumu.....	71
Şekil 5.26 S β CD'ye ait ^1H -NMR spektrumu	71
Şekil 5.27 Fiziksel Karışım (S β CD ve MH) ^1H -NMR spektrumu	72
Şekil 5.28 SBE0 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu	72
Şekil 5.29 SBE1 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu	73
Şekil 5.30 H β CD'e ait ^1H -NMR spektrumu.....	73
Şekil 5.31 Fiziksel Karışım (H β CD ve MH) ^1H -NMR spektrumu.....	74
Şekil 5.32 HCD0 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu	74
Şekil 5.33 HCD1 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu	75
Şekil 5.34 M β CD'ye ait ^1H -NMR spektrumu	75
Şekil 5.35 Fiziksel Karışım (M β CD ve MH) ^1H -NMR spektrumu.....	76
Şekil 5.36 MCD0 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu.....	76
Şekil 5.37 MCD1 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu.....	77
Şekil 5.38 SBE1, HCD1 ve MCD1 formüllerine ait salım grafiği (pH:1,2)	78
Şekil 5.39 SBE1, HCD1 ve MCD1 formüllerine ait salım grafiği (pH:6,8)	80
Şekil 5.40 CD-PMA formüllerine ait DSC termogramı	86
Şekil 5.41 FS-PMA formüllerine ait DSC termogramı	87
Şekil 5.42 SP0 ve SP1 formülüne ait FT-IR spektrumu.....	89
Şekil 5.43 HP0 ve HP1 formüllerine ait FT-IR spektrumu	90
Şekil 5.44 MP0 ve MP1 formüllerine ait FT-IR spektrumu.....	91
Şekil 5.45 FP0, FP1 ve FP2 formüllerine ait FT-IR spektrumu	92
Şekil 5.46 F0, F1 ve F2 formüllerine ait FT-IR spektrumu.....	93
Şekil 5.47 P0, P1 ve P2 formüllerine ait FT-IR spektrumu.....	94
Şekil 5.48 FS0, FS1 ve FS2 formüllerine ait FT-IR spektrumu	95

Şekil 5.49 MH'ye ait ^1H -NMR spektrumu.....	96
Şekil 5.50 S β CD'ye ait ^1H -NMR spektrumu	96
Şekil 5.51 H β CD'e ait ^1H -NMR spektrumu.....	97
Şekil 5.52 M β CD'ye ait ^1H -NMR spektrumu	97
Şekil 5.53 PMA'ya ait NMR spektrumu	98
Şekil 5.54 FS'e ait ^1H -NMR spektrumu.....	98
Şekil 5.55 Fiziksel karışım (S β CD, PMA ve MH) ^1H -NMR spektrumu	99
Şekil 5.56 SP0 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu	99
Şekil 5.57 SP1 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu	100
Şekil 5.58 Fiziksel karışım (H β CD, PMA ve MH) ^1H -NMR spektrumu.....	100
Şekil 5.59 HP0 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu.....	101
Şekil 5.60 HP1 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu.....	101
Şekil 5.61 Fiziksel karışım (M β CD, PMA ve MH) ^1H -NMR spektrumu	102
Şekil 5.62 MP0 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu	102
Şekil 5.63 MP1 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu	103
Şekil 5.64 Fiziksel karışım (FS, PMA ve MH) ^1H -NMR spektrumu.....	103
Şekil 5.65 FP0 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu	104
Şekil 5.66 FP1 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu	104
Şekil 5.67 FP2 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu	105
Şekil 5.68 Fiziksel karışım (FS ve MH) ^1H -NMR spektrumu	105
Şekil 5.69 F0 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu.....	106
Şekil 5.70 F1 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu.....	106
Şekil 5.71 F2 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu.....	107
Şekil 5.72 Fiziksel karışım (PMA ve MH) ^1H -NMR spektrumu	107
Şekil 5.73 P0 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu.....	108

Şekil 5.74 P1 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu.....	108
Şekil 5.75 P2 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu.....	109
Şekil 5.76 FS0 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu	109
Şekil 5.77 FS1 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu	110
Şekil 5.78 FS2 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu	110
Şekil 5.79 SP1, HP1 ve MP1 formüllerine ait salım grafiği (pH:1,2).....	113
Şekil 5.80 FP1 ve FP2 formüllerine ait salım grafiği (pH:1,2)	113
Şekil 5.81 F1 ve F2 formüllerine ait salım grafiği (pH:1,2).....	114
Şekil 5.82 P1 ve P2 formüllerine ait salım grafiği (pH:1,2).....	114
Şekil 5.83 FS1 ve FS2 formüllerine ait salım grafiği (pH:1,2)	115
Şekil 5.84 SP1, HP1 ve MP1 formüllerine ait salım grafiği (pH:6,8).....	119
Şekil 5.85 FP1 ve FP2 formüllerine ait salım grafiği (pH:6,8)	119
Şekil 5.86 F1 ve F2 formüllerine ait salım grafiği (pH:6,8).....	120
Şekil 5.87 P1 ve P2 formüllerine ait salım grafiği (pH:6,8).....	120
Şekil 5.88 FS1, FS2 formüllerine ait salım grafiği (pH:6,8)	121
Şekil 5.89 Saf MH ve formülasyonların HUVEC hücrelerindeki hücre canlılığına etkileri	127
Şekil 5.90 Saf MH ve formülasyonların MCF-7 hücrelerinin canlılığına etkileri.....	127
Şekil 5.91 Saf MH ve formülasyonların A549 hücrelerinin canlılığına etkileri	128
Şekil 5.92 MH ve yüklü formülasyonların 7 günlük uygulamalarının diyabetik sıçanların açlık kan glikoz düzeyleri üzerine etkileri	136
Şekil 5.93 MH ve MH içeren formülasyonların 7 günlük uygulamalarının diyabetik sıçanların % Hba1c düzeyleri üzerine etkileri	137

GÖRSELLER DİZİNİ

Sayfa

Görsel 2.1 Püskürterek kurutma cihazı şeması	25
Görsel 5.1 Siklodekstrin kompleks formüllerine ait SEM görüntüsü	66
Görsel 5.2 Mikropartiküler formüllere ait SEM görüntüsü	83



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

A549	: İnsan Akciğer Adenokarsinomu
ADA	: Amerika Diyabet Derneği
AIC	: Akaike Bilgi Kriteri
AMPK	: Adenozin Monofosfatla Aktive Olan Protein Kinaz
ANOVA	: Tek Yönlü Varyans Analizi
BP	: İngiliz Farmakopesi
D-DMSO	: Dötoro Dimetil Sülfoksit
DM	: Diyabetik Sıçan
DSC	: Diferansiyel Taramalı Kalorimetri
FS	: Eudragit® FS 100
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrofotometresi
GA	: Güven aralığı
HUVEC	: İnsan Göbek Kordonu Endotel Hücresi
H β CD	: Hidroksipropil β Siklodekstrin
LOD	: Tespit Sınırı
LOQ	: Tayin Sınırı
MCF-7	: İnsan Meme Kanseri Hücresi
MH	: Metformin HCl
MSC	: Model Seçim Kriteri

MTT	: Tiyazolil Mavi Tetrazolyum Bromür
M β CD	: Metil β Siklodekstrin
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
PMA	: Poli [Metil Vinil Eter Alt Maleik Anhidrit]
PVA	: Poli Vinil Alkol
PVP	: Poli Vinil Prolidon
SS	: Standart sapma
STZ	: Streptozotosin
S β CD	: Sülfobütil Eter β Siklodekstrin
TME	: Tümör Mikroçevresi
UV	: Ultraviyole
VK	: Varyasyon katsayısı
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
YBSK	: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi

1 GİRİŞ VE AMAÇ

Tip 2 şeker hastalığı dünya çapında en yaygın metabolik hastalıklardan biridir ve hastalığın oluşmasında pankreas β hücrelerinin yeterli seviyede insülin salgılayamaması ya da salgılanan insüline uygun cevabın metabolizma tarafından verilememesi (insülin direnci) sonucunda ortaya çıkmaktadır (Galicía-García vd., 2020).

Tip 2 şeker hastalığının tedavi aşamasında yaşam kalitesini sürdürmek ve iyileştirmek; kalp ve damar hastalıkları, diyabetik ayak sendromu ve şeker hastalığıyla birlikte gelen, nöropati, böbrek yetmezliği gibi diğer hastalık risklerini azaltmak; bireyi hastalığa alıştıran uyumunu sağlamak amaçlanmaktadır (Pfeiffer & Klein, 2014). Ancak Tip 2 şeker hastalığının önlenmesini ve kontrol edilmesini kapsayan tedavi sadece egzersiz, kilo takibi ve diyetle mümkün değildir. Tedavi doğrudan insülin uygulayarak ya da insülin salımını arttıran sülfonilüreler gibi ilaçlarla insülin seviyesini arttırmak; dokuların metformin veya glitazon grubu ilaçlarla insüline duyarlılığını arttırmak; α -glukozidaz inhibitörleri gibi ilaçlarla gastrointestinal sistemden karbonhidrat emilimini azaltmak amaçları üzerine şekillenmiştir (İsraili, 2011).

Tip 2 şeker hastalığı tedavisinde başlangıçta genellikle metformin ve bir glitazon grubu kombine edilerek kullanılmaktadır (Bell, 2004). Metformin (1,1-dimetil biguanid), ağız yoluyla kullanılan kan glukoz düzenleyiciler arasında ilk tercih edilen ilaçtır. Tarihçesi keşisedefi (*Galega officinalis*) bitkisine dayanmaktadır. Guanidin yönünden zengin içeriğe sahip olan bitkinin kan glukoz seviyesini düşürdüğü gözlenmiştir. Ardından bazı guanidin türevleri sentezlenmiş ve 1920'lerde tedavide kullanılmaya başlanmıştır. Ancak gözlenen toksik etkiler ve insüline ulaşımın artması nedeniyle 1930'larda diğer türevlerin kullanımından vazgeçilmiştir (Bailey, 2017; T. Zhou vd., 2018).

Metforminin insülin direncini, kilo aldırmadan düşürebilmesi ve hiperglisemi riskini azaltması sayesinde Avrupa'da bir güven oluşturmuştur. Ardından 1995'te Amerika'da kullanıma girmiştir. Uzun vadede, kalp damar sistemine olan faydaları 1998'de tespit edilmiştir. Bu sayede de tip 2 diyabet tedavisinde öncü ilaç olmuştur (da Trindade vd., 2018).

Metforminin emilimi ince bağırsaklardan yavaş yavaş olmaktadır ve büyük bir kısmı da emilmeden atılmaktadır. Bu yüzden yüksek dozlarda (0,5-2 g/gün) kullanılması gerekir. Biyoyararlanımı birey içi ve bireyler arası farklılıklar gösterebilmekle beraber %50-60

olarak tespit edilmiştir. Plazma yarılanma ömrü ise 1,5-4 saattir (Markowicz-Piasecka vd., 2017).

70 yıldan uzun bir süredir tip 2 diyabet tedavisi için kullanılan metformin ile biyoyararlanımını arttırarak doz miktarını ve uygulama sıklığını azaltmak gibi tedavi özelliklerini iyileştirmek için günümüze kadar birçok formülasyon çalışması yapılmıştır (Bailey, 2024; Çetin & Şahin, 2016).

Yapılan bu çalışmada metformin hidroklorür içeren yeni ilaç taşıyıcı sistemler geliştirmek ve söz konusu etkin maddenin biyoyararlanımını arttırarak kullanım sıklığını ve uygulama dozunu düşürmek amaçlanmıştır. Bu amaçlar doğrultusunda çeşitli siklodekstrinler kullanılarak liyofilizasyon yöntemi ile inklüzyon kompleksler ve Eudragit® FS 100 (FS) ve Poli [metil vinil eter alt maleik anhidrit] (PMA) ile püskürterek kurutma yöntemi kullanılarak mikropartiküller üretilmiştir. *İn vitro* karakterizasyon ve *in vivo* çalışmaları yapılmıştır.

2 KAYNAK BİLGİSİ

2.1 Şeker Hastalığı

Diabetes mellitus ya da şeker hastalığı insülin salımının yetersizliğiyle, insülin direnciyle veya glukagon hormonunun fazla salımı sonucunda oluşan kan glikoz seviyesinin yüksekliğiyle ortaya çıkan bir fizyolojik bozukluktur. Şeker hastalığının bilinen iki çeşidi vardır. Tip 1 ve Tip 2 olarak adlandırılan bu çeşitlerden ilki (Tip 1) pankreastaki beta hücrelerinin bağışıklık sistemi hücreleri tarafından yok edilmesi sonucunda insülin salımının ortadan kalktığı hastalıktır. Tip 2 şeker hastalığı ise daha yaygın bir hastalık olmakla beraber pankreastaki beta hücrelerinin kontrolündeki glikoz düzenleme mekanizmalarının zamanla bozulmasının ve insülin direncinin bir sonucudur. Ayrıca gebelik döneminde de şeker hastalığı görülebilmektedir. Gebelik şekeri ya da gestasyonel diyabet olarak adlandırılan bu rahatsızlık da üçüncü bir sınıflandırma olarak yerini almıştır (Blair, 2016; Kharroubi & Darwish, 2015).

Hamileliğin tespitinden sonra oluşan glikoz intoleransı gebelik şekeriyle ilişkilendirilmektedir. Gebelik şekeri hamilelik döneminden sonra kaybolmaktadır. Uzun vadede anneleri gebelik şekerine sahip olan çocukların ilerleyen dönemlerde obezite ve tip 2 şeker hastalığı riski sorunsuz bir hamilelik dönemi çocuklarına göre daha yüksek olmakla birlikte bu durum çocuğun anne karnında hiperglisemiye maruz kalmasıyla ilişkilendirilmektedir (N. Singh vd., 2016).

2.1.1 Şeker hastalığı tip 1

Tip 1 şeker hastalığı genellikle çocukluk ya da ergenlik döneminde ortaya çıkar ancak ileriki yaşlarda da görülebilmektedir. Hastalığın etiyolojisi tam bilinmemekle birlikte çevresel unsurların genetik etmenleri tetiklemesi sonucunda bağışıklık sistemi T hücrelerinin pankreastaki β hücrelerini yok etmesiyle geliştiği bilinmektedir. Hastalığın kesin tedavisi bulunmadığı için ömür boyu insülin preparatları kullanımı gerekmektedir (Katsarou vd., 2017). Tip 1 şeker hastalığı poliüri, polidipsi (ağız kuruluğu) ve kilo kaybıyla kendini göstermektedir. Komplikasyonlar arasında acil tedavi gerektiren diyabetik ketoasidoz ve birtakım damar hastalıkları bulunmaktadır. Tip 1 şeker hastaları genellikle diğer otoimmün hastalıklar açısından daha yüksek risk altındadır (Syed, 2022).

2.1.2 Şeker hastalığı tip 2

Tip 2 şeker hastalığı dünya çapında en yaygın metabolik hastalıklardan biridir ve hastalığın oluşmasında pankreas β hücrelerinin yeterli seviyede insülin salgılayamaması ya da salgılanan insüline uygun cevabın metabolizma tarafından verilememesi (insülin direnci) sonucunda ortaya çıkmaktadır. İnsülin sentezinde ya da salımında herhangi bir aksama söz konusu olduğunda tip 2 şeker hastalığının ortaya çıkışı kaçınılmazdır (Galicia-Garcia vd., 2020).

Tip 2 şeker hastalığı git gide kontrolden çıkmakta olan obezite ile yakından ilişkilidir. Tip 2 şeker hastalığı bulunan bireyler hiperglisemi (kan şekeri yüksekliği) ve bir metabolik rahatsızlık olan insülin direncine sahip olmakla birlikte; hem retinopati, nefropati ve nöropati gibi kılcal damar hastalıklarına hem de koroner kalp yetmezliği ve kalp krizi gibi kalp damar sistemi hastalıklarına yatkındır (DeFronzo vd., 2015).

Obezite tip 2 şeker hastalığı için büyük risk oluşturmaktadır (Ginter & Simko, 2013). Kan glikozu normal seviyelerde seyreden bireyler arasında yüksek kilolu deneklerde zayıf olanlara oranla %30 daha az insülin duyarlılığı tespit edilmiştir (Jallut vd., 1990). Obez bireylerde zamanla insülin duyarlılığı daha da azalmakta ve insüline cevap alınmaması sonucunda tip 2 şeker hastalığı ortaya çıkmaktadır. Karaciğer insülin duyarlılığının azalmasının nedenleri tam olarak anlaşılamamıştır ancak karaciğerde yağ birikiminin (steatoz) önemli bir belirleyici olduğu düşünülmektedir. Öte yandan, ikiz döngü hipotezine göre, pankreas adacıklarında yağ birikmesi, β hücresi fonksiyon bozukluğunu meydana getirmekte ve plazma glikozunda artışa neden olmaktadır, bu da sindirilen glikoza verilen insülin tepkisini azaltmaktadır (Zaccardi vd., 2016).

Tip 2 şeker hastalığının tanısını koymak için yapılan testler değişkenlik gösterebilmektedir. HbA1c değeri $\geq$ %6,5 olması teşhis için gerekli kriterlerden biridir (Nyenwe vd., 2011). Ayrıca Amerika Diyabet Derneği (ADA) 1997 kılavuzuna ya da Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2006 kriterlerine göre sık sık idrara çıkma, aşırı susuzluk hali, sürekli açlık ve kilo kaybı gibi semptomlarla birlikte tek bir yüksek glikoz ölçümü, aksi takdirde iki kez açlık plazma glikoz seviyesinin 126 mg/dl olması veya oral glikoz tolerans testi ile ağız yoluyla glikoz yüklemesinden 2 saat sonra plazma glikozunun 200 mg/dl olduğunda şeker hastalığı teşhisi konulmaktadır (Olokoba vd., 2012). Ülkemizde de aynı kriterler geçerlidir (Yılmaz vd., 2018). Açlık plazma glikoz seviyesi 100-125

mg/dl, iki saatlik plazma glikoz test sonucu 140-199 mg/dl ve HbA1c değeri %5,7-6,4 arasında olan bireyler de risk grubuna girmektedir (Nyenwe vd., 2011).

Tip 2 şeker hastalığının tedavi aşamasında yaşam kalitesini sürdürmek ve iyileştirmek; kalp ve damar hastalıkları, diyabetik ayak sendromu ve şeker hastalığıyla birlikte gelen, nöropati, böbrek yetmezliği gibi diğer hastalık risklerini azaltmak; bireyi hastalığa alıştıran uyumunu sağlamak amaçlanmaktadır. Ayrıca kan basıncı (130-140/80-85 mmHg), toplam kolesterol (<180 mg/dl), LDL (<100 mg/dl), HDL (>40-50 mg/dl), trigliserit (<150 mg/dl) ve açlık kan şekeri (100-125 mg/dl) gibi metabolik değerlerin normal sınırlar içinde tutulması da tedavinin birincil amaçlarındandır (Pfeiffer & Klein, 2014). Tip 2 şeker hastalığı için ilaç tedavisinin yanı sıra yaşam tarzı da büyük önem taşımaktadır. Diyet beslenme, kalori açığı, gıda çeşitliliği, vitamin vb. gıda takviyeleri ve birtakım egzersizler gibi fiziksel etkinliği arttıracak alışkanlıklar tedaviyi destekler niteliktedir (Marín-Peñalver vd., 2016). Ancak Tip 2 şeker hastalığının önlenmesini ve kontrol edilmesini kapsayan tedavi sadece egzersiz, kilo takibi ve diyetle mümkün değildir. Tedavi doğrudan insülin uygulayarak ya da insülin salımını arttıran sülfonilüreler gibi ilaçlarla insülin seviyesini arttırmak; dokuların metformin veya glitazon grubu ilaçlarla insüline duyarlılığını arttırmak; α -glikozidaz inhibitörleri gibi ilaçlarla gastrointestinal sistemden karbonhidrat emilimini azaltmak amaçları üzerine şekillenmiştir (Israili, 2011).

Tip 2 şeker hastalığı tedavisinde başlangıçta genellikle metformin ve bir glitazon grubu kombine edilerek kullanılmaktadır. Ancak β hücrelerinde bozulma varsa bu kombinasyon yetersiz kalmaktadır ve insülin salımını arttıran bir ilaç eklenmelidir. HbA1c değeri %6,5 ve altına düşürülemediğinde enjeksiyonluk insülin preparatı gerekmektedir (Bell, 2004).

Tip 2 şeker hastalığı tedavisinde kullanılan ilaçların sınıflandırılmasında da etki mekanizmaları kullanılmıştır. Tablo 2.1’de tedavide kullanılan bazı ilaçlar birtakım özellikleriyle birlikte verilmiştir. Buna göre kullanılan ilaçlar; insüline duyarlılaştırıcılar (metformin gibi biguanidler ve glitazonlar), insülin salgılatanlar (sülfonilüreler ve meglitinidler), α -glikozidaz inhibitörleri ve inkretin benzerleri (glukagon benzeri peptid 1 reseptör agonistleri ve dipeptil peptidaz-4 inhibitörleri) olarak belirtilmiştir. Ayrıca üriner sistemle glikoz atılımını artırarak hiperglisemiye engellemek amacıyla kullanılan sodyum-glikoz kotransporter 2 inhibitörleri, lipaz inhibitörleri, amilin agonistleri ve insülin de bu sınıflandırmada yer almayan ilaçlardır (Blahova vd., 2021).

Tablo 2.1*Tip 2 şeker hastalığı tedavisinde kullanılan bazı etkin maddelerin farmakokinetik özellikleri*

Etkin madde	Günlük Max. Doz (mg)	Yarılanma ömrü (saat)	Oral Biyoyararlanım (%)	Kaynak
Pioglitazon	45	9	83	(Eckland & Danhof, 2000; Sugita vd., 2014)
Rosiglitazon	8	3-4	99	(Deeks & Keam, 2007; Jagtap vd., 2014)
Lobeglitazon	0,5	8-10	95	(M vd., 2023)
Tolbutamit	2000	4,5-6,5	-	(Sola vd., 2015)
Glibenklamit	15	5-7	85	(Rendell, 2004; Sola vd., 2015)
Gliklazit	320	10	100	(Grbic vd., 2011; Sola vd., 2015)
Glikidon	180	3-4	95	(Malaisse, 2006; Sola vd., 2015)
Glipizit	20	2-4	100	(Sola vd., 2015; Wählin-Boll vd., 1982)
Eksenatit	0,02	2,4	25	(Norris vd., 2009; Peterson & Pollom, 2010)
Liraglutit	1,8	12	55	(Jespersen vd., 2013; Peterson & Pollom, 2010)
Evogliptin	10	33	50	(Gu vd., 2020)
Gemigliptin	50	17	63	(Gu vd., 2020)
Anagliptin	200	6	73	(Gu vd., 2020)
Vildagliptin	100	2	85	(Gu vd., 2020)
Sitagliptin	100	12,5	87	(Gu vd., 2020)
Alogliptin	-	21	100	(Gu vd., 2020)
Saksagliptin	5	2,5	50-75	(Gu vd., 2020)
Linagliptin	5	12	30	(Gu vd., 2020)
Ertugliflozin	15	16,5	100	(Beitelshees vd., 2019; Gu vd., 2020)
Kanagliflozin	-	10,5-13	-	(Beitelshees vd., 2019; Gu vd., 2020)

Tablo 2.1 (Devam)*Tip 2 şeker hastalığı tedavisinde kullanılan bazı etkin maddelerin farmakokinetik özellikleri*

Etkin madde	Günlük Max. Doz (mg)	Yarılma ömrü (saat)	Oral Biyoyararlanım (%)	Kaynak
Empagliflozin	25	12	60	(Beitelshees vd., 2019; Gu vd., 2020)
Dapagliflozin	10	8-13	78	(Beitelshees vd., 2019; Gu vd., 2020)
Metformin HCl	2000	6	55	(Graham vd., 2011)

İnsülin duyarlılaştıran ilaçlardan olan glitazonlar arasında pioglitazon, rosiglitazon, lobeglitazon bulunmaktadır (Bae vd., 2021; Hurren & Dunham, 2021). İnsülin salgılatan sülfonilüreler 1950'lerden beri bilinen bir gruptur. Kendi içinde 3 nesil olmak üzere ayrılmaktadır. Tolbutamit, asetohekzamit, klorpropamit, tolazamit, gliburit, glipizit, gliklazit, glüklopiramit ve glükidon bu grubu oluşturan etkin maddelerdendir (Mohajan & Mohajan, 2024). Nateglinit ve repaglinit meglitinidlere örnektir. β hücrelerinde sülfonilürelerden farklı bir reseptöre bağlanarak etkisini göstermektedir (Grant & Graven, 2016). Akarboz, vogliboz ve miglitol en çok kullanılan α -glükozidaz inhibitörleridir (Hedrington & Davis, 2019; Mushtaq vd., 2023). Eksenatit, liraglutit, albiglutit, liksisenatit, semaglutit, dulaglutit ve liragunatit ise glukagon benzeri peptit 1 reseptörlerine bağlanarak etkisini gösteren inkretin benzerleri etkin maddelerdir (Hansen vd., 2010; Rizvi vd., 2024). Bir diğer inkretin benzeri grubu olan dipeptil peptidaz 4 inhibitörleri arasında tenegliptin, gemigliptin, evogliptin, anagliptin, vildagliptin, sitagliptin alogliptin, saksagliptin ve linagliptin yer almaktadır (Deacon, 2020; Gu vd., 2020). Sodyum-glikoz ko-transporter inhibitörleri ertugliflozin ve kanafloglazın, dapagliflozin ve empagliflozindir (Padda vd., 2025). Biguanid türevleri arasından kullanımdaki tek ilaç olan metformin tip 2 şeker hastalığında ilk akla gelen ve en çok kullanılan etkin maddedir (Ahmad vd., 2022; Baccetti vd., 2024).

2.2 Metformin Hidroklorür

Metformin (1,1-dimetil biguanid), ağız yoluyla kullanılan kan glikoz düzenleyiciler arasında ilk tercih edilen ilaçtır. Tarihçesi keçisedefi (*Galega officinalis*) bitkisine dayanmaktadır. Guanidin yönünden zengin içeriğe sahip olan bitkinin kan glikoz seviyesini düşürdüğü gözlenmiştir. Ardından bazı guanidin türevleri sentezlenmiş ve 1920'lerde tedavide kullanılmaya başlanmıştır. Ancak gözlenen toksik etkiler ve insüline

ulaşının artması nedeniyle 1930’larda diğer turevlerin kullanımından vazgeçilmiştir (Bailey, 2017; T. Zhou vd., 2018).

Metformin 1940’larda tekrar keşfedilip sıtma tedavisi için üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Gribe karşı etkinliği kanıtlanmış ve zaman zaman kan glikoz seviyesinde düşüşler gözlenmiştir. Bu durumun peşinden giden Fransız hekim Jean Sterne, 1957’de metforminin diyabet tedavisinde kullanılabileceğini ilk kez bildirmiştir. Ancak nceki biguanidlerin (fenformin ve buformin) toksik etkileri yüzünden metformin fazla rağbet görmemiştir (Bailey, 2017).

Metforminin insülin direncini, kilo aldırmadan düşürebilmesi ve hiperglisemi riskini azaltması sayesinde Avrupa’da bir güven oluşturmuştur. Ardından 1995’te ABD’de kullanıma girmiştir. Uzun vadede, kalp damar sistemine olan faydaları 1998’de tespit edilmiştir. Bu sayede de tip 2 diyabet tedavisinde nc ilaç olmuştur (da Trindade vd., 2018).

Metformin, beyaz-beyazımsı renkte, 129,16 g/mol eğer HCl tuzu ise 165,6 g/mol molar ağırlığa sahiptir. HCl tuzu olduğunda, suda kolayca zneabilen (300 mg/mL), alkolde hafifçe zneabilen ve aseton ile diklorometanda çözünmeyen bir moleküldür. 223-226 °C’de eriyen metforminin LogP değeri -5’tir (da Trindade vd., 2018; Desai vd., 2014).

Metformin iskeletini oluşturan biguanid yapı halkasız azot atomlarından oluşur. Farmakolojik etkiler biguanid yapının getirdiği hidrojen bağları ve iyonik etkileşimlerle sağlanmaktadır. Ayrıca hidrojen bağları yüksek çözünürlük getirir ve biguanidin hidrofilik yapısının başlıca sebebidir. Karakteristik yüksek pKa (>12) değeri ile fizyolojik şartlarda 1 ya da 2 proton alarak ve azot atomunun hidroklorik asit (HCl) gibi asitlerle tepkimeye girmesi sonucunda yüksek çözünürlükte tuzlar elde edilebilmektedir (Yendapally vd., 2020). Metforminin; hidroklorür, pamoat ve klorofenoksiasetat olmak üzere bilinen üç farklı tuz formu bulunmaktadır. Bunlardan en çok hidroklorür formu kullanılmaktadır (Bretnall & Clarke, 1998).

Metforminin emilimi ince bağırsaklardan yavaş yavaş olmakta ancak büyük bir kısmı da emilememektedir. Bu yüzden yüksek dozlarda (0,5-2 g/gün) kullanılması gerekir. Biyoyararlanımı birey içi ve bireyler arası farklılıklar gösterebilmekle beraber %50-60 olarak tespit edilmiştir. Plazma yarılanma ömrü ise 1,5-4 saattir. Kimyasal yapısı dikkate alındığında, biguanid yapının fazlaca polar olması sayesinde, hidrofilik bir yapıya sahip

olan metformin HCl (MH) fizyolojik pH değerlerinde katyonik özellik kazanan bir bazdır (Markowicz-Piasecka vd., 2017). Metformin, hem basit difüzyonla hem de aktif taşıma ile taşınmaktadır ve ana emilim bölgesi onikiparmak bağırsağıdır (Murakami, 2017).

Metformin plazma proteinlerine bağlanmaz ancak eritrositlerin içine difüzyonla girebilmektedir. Ağızdan alınan tek doz ilacın ardından böbrekler, pankreas ve karaciğerdeki metformin derişiminin kan plazma derişiminden yedi kata kadar fazla olduğu yapılan çalışmalarca tespit edilmiştir. En düşük derişim ise akciğerler ve kaslarda gözlenmiştir (Markowicz-Piasecka vd., 2017). Metformin büyük oranda idrardan değişmeden atılır ancak literatürde çelişkili yayınlar da bulunmaktadır. Ayrıca dozlama için hastanın böbrek fonksiyonlarının takibi gerekmektedir (Graham vd., 2011). Hamile kadınlarda glomerüler filtrasyon farkından dolayı, farmakokinetik farklılıklar fazlaca gözlenmektedir. Ayrıca fetüse geçen metformin derişimi, annenin kan düzeyinden hafifçe aşağıda kalmaktadır (Markowicz-Piasecka vd., 2017).

Metforminin hedefindeki doku karaciğerdir ve esas etkileri karaciğer glikoz çıkışının azaltılması, glikoneogenezin baskılanması olup; kilo alımı olmadan açlık kan glikoz seviyesinin düşmesini sağlamaktadır (Fujita & Inagaki, 2017). Metformin mitokondriyal kompleks I'ı inhibe etmektedir. İnhibisyon sonucunda da ATP üretimi azalırken ADP ve AMP miktarı artar ve glikoneogenez baskılanır. Ayrıca AMPK (AMP duyarlı protein kinaz) etkinleşir ve çeşitli yollar devreye girerek lipogenez baskılanır (Pryor & Cabreiro, 2015). Metformin insülin direnciyle bağlantılı olan ve farklı hücrelerden oluşan birden fazla hedefte sinyal yollarına bağlanarak etki göstermektedir. Karaciğerde glikoz üretimini azalttığı hayvan çalışmalarında tespit edilip, klinik çalışmalarca doğrulanmıştır. Ayrıca insülin salım sıklığını ve insülin duyarlılığını arttırarak iskelet kaslarında glikojen üretimine ön ayak olduğu; yağ dokusunda AMPK (enzim) aktivasyonu yoluyla etkisi, glikoz taşıyıcılarının (GLUT1 ve GLUT4) aktivitesinde artışa ve yağ asitlerinin oksidasyonunda ve lipoliz inhibisyonunda artışa neden olduğu tespit edilmiştir (Drzewoski & Hanefeld, 2021). Metformin, hem AMP-aktif protein kinaz (AMPK) yoluyla hem de AMPK bağımsız yollarla etki gösterdiği; mitokondriyal solunumu engellemenin yanı sıra, muhtemelen mitokondriyal gliserofosfat dehidrogenazı engelleme ve ayrıca lizozomlarla ilişkili bir mekanizma üzerinden de etkili olduğu gösterilmiştir (Rena vd., 2017).

Tablo 2.2*Metforminle yapılan birtakım formülasyon çalışmaları*

Sistem	Kullanılan Polimer	Kaynak
<i>De novo</i> nanomisel	Poliakrilamit-poliakrilikasit bağlı kitosan (PCT)	(Abbasian vd., 2019)
Nanopartikül	Kitosan	(Arafa vd., 2018)
Nanopartikül	Kitosan kaplı SiO ₂	(Patiño-Herrera vd., 2019)
Katı Lipit Mikropartikül	Keçi yağı + Phospholipon 90H (7:3)	(Momoh vd., 2013)
Nanopartikül	Jelatin + sodyum aljinat	(Shehata & Ibrahima, 2019)
Nano-iskele	Jelatin-hidroksiapatit	(Fang vd., 2022)
Bukkal film	Kitosan	(Haque & Sheela, 2015)
Mikroiğne	Polikaprolakton, PVP ve PVA	(Yu vd., 2017)
Mikroemülsiyon	Kaprilik/kaprik trigliserit, gliseril monooleat, linoleik asit gliserit (yağ fazı)	(Y. Li vd., 2014)
Lipozom ve Mikrokompleks	Gliserol fosfat, kitosan	(Manconi vd., 2013)
Nano-bileşik	Poloksamer, kitosan, aminopropilsilan (APS)	(Shariatnia & Zahraee, 2017)
İnklüzyon kompleks	Halkalı peptitler (8 glisin, 8 serin, 4 glisin-4 serin)	(Fakhari vd., 2021)
Mikroküre, niozom, kitosan kaplı lipozom	Kitosan, kolesterol, fosfatidilkolin, disetilfosfat, kolat, deoksikolat, taurokolat, dipotasyum glisirizinat, kalsiyum aljinat	(Maestrelli vd., 2017)
İnklüzyon kompleks	β-siklodekstrin	(Kaur vd., 2019)
Nanopartikül	Etil selüloz	(Mokale vd., 2016)
Sıcak eriyik (hot melt extrusion)	Eudragit RS ve Eudragit E	(Simons & Wagner, 2019)
Nanoporlu mikrolevha	Silika	(García-Briones vd., 2019)
Mikroiğne	Metilvinil eter-maleik asit (Gantrez S-97®)	(Migdadi vd., 2018)
Hidrojel	Grafen oksit	(V. Singh vd., 2019)
Nanokristal	Poli laktik glikolik asit	(Panda vd., 2018)
İnklüzyon kompleks	Triasetil β-siklodekstrin	(Corti vd., 2007)

Metforminin ana etki mekanizması olmamakla birlikte mitokondriyal kompleks I'in inhibisyonu glukagon hormonunun etkinleştirdiği cAMP ve protein kinaz A uyarımında bozukluğa sebep olur. 5'-AMP'nin etkinleştirdiği protein kinazın uyarımı esasen lipid metabolizmasını düzenleyerek insülin duyarlılığını artırır (Pernicova & Korbonits, 2014). Ayrıca metforminin etkisi doza bağlı olarak değişmektedir. 500-2000 mg arasında değişen dozlarda alındığında açlık kan şekeri 19-84 mg/dL ve HbA1c değerini %0,6-2 arasında düşürdüğü yapılan bir çalışmada tespit edilmiştir (Garber vd., 1997).

70 yıldan uzun bir süredir tip 2 diyabet tedavisi için kullanılan metformin ile doz miktarını ve uygulama sıklığını azaltmak gibi tedavi özelliklerini iyileştirmek için günümüze kadar birçok formülasyon çalışması yapılmıştır (Bailey, 2024; Cetin & Sahin, 2016). Yapılan çalışmalardan bazılarına Tablo 2.2'de yer verilmiştir.

2.3 Oral Yol ile İlaç Kullanımı

Oral yol en çok tercih edilen ve en kolay olan ilaç uygulama yoludur. Yutma kolaylığı, ağrısız alım ve basitliği hasta uyuncunun da yüksek olmasını sağlamıştır. Günümüzde üretilen ilaçların çoğu ağız yoluyla kullanım için geliştirilmiştir (Kimura & Higaki, 2002; Sastry vd., 2000). Ağızdan alınan ilaçlar, ağız içi emilim veya ağızda lokal etki amaçlanmadığı takdirde, yutak ve yemek borusunu geçtikten sonra, gastrointestinal sistem organları olan mide ve ince bağırsak aracılığıyla emilerek kana karışmaktadır (Ashford, 2017; Denbow, 2015; Herman & Santos, 2025; H. Zhang vd., 2002).

Ağız yoluyla ilaç uygulamanın yutma zorluğu, tahriş edici maddeler için uygun olmayışı, büyük moleküllerin az miktarda emilimi, kararsız etkin maddelerin midede bozunması, gıdaların ilaç emilimini etkilemesi, etkinin geç gözlenmesi, ilaç salım kontrolünün zor olması ve ilk geçiş etkisi gibi birtakım sakıncaları bulunmaktadır. Ancak en uygun, en güvenli, en ekonomik ve en basit yol olduğu için en çok tercih edilen uygulama yöntemidir (H. Gupta vd., 2009; Homayun vd., 2019).

Tablo 2.3'te gastrointestinal sistemin bölümlerinin bazı fizyolojik koşulları bulunmaktadır (Acharya vd., 2018). Gastrointestinal sistem içerisinde 8-10 litre arasında sıvı barındırmaktadır (Kiela & Ghishan, 2016). Gastrointestinal sistem ya da sindirim sistemi ağız boşluğundan anüs açıklığına kadar devam eden ve yemek borusu, mide, üç kısımdan oluşan ince bağırsak ve kalın bağırsakla son bulmakla birlikte karaciğer, pankreas ve safra kesesi ile çok yakın ilişkisi bulunmaktadır. Safra sıvısı safra kesesinden

doğrudan bağırsaklara salgılanırken, pankreastan salgılanan çeşitli hormonlar sindirimi düzenlemektedir. Sindirimin ardından emilimi tamamlanan glikoz, amino asitler ve yağ asitleri gibi besin maddelerinin yanı sıra sodyum, potasyum gibi elektrolitler ve eğer varsa emilimi gerçekleşen etkin maddeler kapı toplardamarı aracılığıyla karaciğere taşınmaktadır (Estudante vd., 2013; Leung, 2010; Scudamore, 2014).

Tablo 2.3

Gastrointestinal sistemin fizyolojik koşulları

Gastrointestinal bölüm	pH	Membran	Damarlanma	Yüzey alanı	Geçiş süresi
Ağız içi	6	İnce	İyi, az miktarda gıda emilimi	Dar	Kısa
Yemek borusu	6-7	Çok kalın	İyi	Dar	Kısa, (birkaç saniye)
Mide	1,7-4,5	Normal	İyi	Dar	30-120 dakika
Onikiparmak bağırsağı	5-7	Normal	İyi	Çok geniş	Çok kısa
İnce bağırsak	6-7	Normal	İyi	Çok geniş	Yaklaşık 3 saat
Kalın bağırsak	6,8-7	-	İyi	Geniş	Uzun, 24 saate kadar

Kaynak: (Acharya vd., 2018)

Mide gastrointestinal sistemin en geniş organıdır ve kaslı bir yapısı vardır. Sodyum, potasyum ve bikarbonat gibi elektrolitleri de içeren mide sıvısı, besin varlığında mide çeperinde yer alan hücrelerden salgılanan H^+ iyonu sayesinde yüksek asiditeye (pH; 1,5-3,5) sahiptir. Ayrıca mide vagus siniri aracılığıyla parasempatik sistem tarafından uyarılmaktadır. Karaciğere giden bir toplardamar bağlantısı bulunmaktadır. Mide ince bağırsağın ilk kısmı olan yaklaşık 25 cm uzunluğundaki onikiparmak bağırsağına bağlıdır ve bağlantı noktasına pilor denmektedir. Onikiparmak bağırsağından (duodenum) sonra boş bağırsak (jejunum) ve kıvrımlı bağırsak (ileum) kısımlarından oluşan ve yaklaşık 6,5 metre uzunluğa sahip olan ince bağırsakta peristaltik kasılmalarla içerik 5-20 mm/s hızla ilerletilmektedir (L. K. Cheng vd., 2010; Monnet, 2020; O'Connor & O'Moráin, 2014; Peate, 2018).

Onikiparmak bağırsağı midenin boşalma hızını kontrol etmektedir. Sekretin ve kolesistokinin hormonları burada bulunan epitel dokudan salgılanarak asiditenin kontrolünü sağlamaktadır. Karaciğer ve safra kesesi uyarıldıktan sonra safra sıvısı ile

pankreasın bikarbonat ve tripsin, lipaz ve amilaz gibi sindirim enzimleri salgılanmaktadır (Peate, 2018).

Enzim etkinliğinin en yoğun olduğu bölge olan boş bağırsakta ise kalın bir epitel doku bulunmaktadır. Villüsler sayesinde yüzey alanı genişletilmiştir ve emilim arttırılmıştır. Villüsler en fazla boş bağırsakta bulunmaktadır. Dolayısıyla emilimin en yoğun olduğu bölge boş bağırsaktır (Denbow, 2015; Peate, 2018).

İnce bağırsağın yaklaşık 4 metre ile en uzun ve son bölümü ise kıvrımlı bağırsaktır. B12 vitamininin emilimi ve safra tuzlarının geri emilimi bu kısımdan olmaktadır (Peate, 2018).

İlaçların emilimi genellikle ince bağırsaktan olmakla birlikte mideden de olabilmektedir. Emilim sadece ilaç çözünür haldeyken gerçekleşmektedir. Ortamın pH değeri, safra tuzları, besinler, açlık-tokluk, enzimler ve bağırsak florası ilaç emilimini etkilemektedir (Abuhelwa vd., 2017; Acharya vd., 2018; Dressman & Reppas, 2016; Kambayashi & Shirasaka, 2023; Ward, 2010).

2.4 İlaç Taşıyıcı Sistemler

2.4.1 Siklodekstrin kompleksler

Yüzyıldan uzun süredir araştırmalara konu olan siklodekstrinler dışı hidrofilik, içi hidrofobik yüzeylere sahip olan ve içine aldığı molekülün fizikokimyasal özelliklerini iyileştiren inklüzyon kompleksleri oluşturmaya elverişli ve 6 (α), 7 (β) ve 8 (γ) glikopiranoz biriminden oluşan halkalı oligosakkaritlerdir (Crini, 2014). Bazı fizikokimyasal özellikleri Tablo 2.4'te verilen α , β ve γ siklodekstrinler bitkilerden izole edilen veya enzimatik olarak üretilebilen doğal siklodekstrinlerdir. Yapılarında yer alan çok sayıda hidroksil grupları sayesinde çeşitli modifikasyonlara imkân tanıyan siklodekstrinlerin birçok türevi sentezlenmiştir. Çeşitli alkil gruplarıyla eter türevleri, asitlerle ester türevleri ve birtakım yer değiştirme tepkimeleriyle oluşturulan çeşitli türevler arasında en çok 2-hidroksipropil β , metil β ve sülfobütil β siklodekstrinler gıda, kozmetik ve ilaç alanlarında kullanılmaktadır (Hădărugă vd., 2019). Çok sayıda siklodekstrin türevleri üzerine çalışmalar yapılmıştır. 2000'den fazla α , 8000'den fazla β ve 1000'den fazla γ siklodekstrin türevinin olduğu bilinmektedir (Řezanka, 2019). Ayrıca insan amilazı siklodekstrin türevlerini sindiremez (Z. Li vd., 2014).

Tablo 2.4*Siklodekstrinlerin bazı fizikokimyasal özellikleri*

Özellik	α -Siklodekstrin	β -Siklodekstrin	γ -Siklodekstrin
Kapalı formül	C ₃₆ H ₆₀ O ₃₀	C ₄₂ H ₇₀ O ₃₅	C ₄₈ H ₈₀ O ₄₀
Kimyasal adı	siklohekzaamiloz	sikloheptaamiloz	siklooktaamiloz
Molekül ağırlığı (g/mol)	972	1135	1297
Glikopiranoz ünite sayısı	6	7	8
İç boşluk çapı (nm)	0,47-0,57	0,60-0,78	0,83-0,95
İç boşluk hacmi nm³	1740	2620	4720
Boşluktaki su molekülü sayısı	6	11	17
Sudaki çözünürlük (g/L)	129,5	18,4	249,2
Bozunma sıcaklığı (°C)	278	298	267
Nem içeriği (% a/a)	10,2	13-15	8,18
LogP (Oktanol/su partiyon katsayısı)	-12,9	-14	-17,3
% Oral biyoyararlanım (sıçan)	1	0,6	0,02

Kaynak: (Bezerra vd., 2020; Saokham & Loftsson, 2017)

Farmasötik teknoloji alanında siklodekstrin komplekslerle etkin maddelerin sudaki çözünürlüğünü artırarak biyoyararlanımlarını ve kararlılıklarını artırmak amaçlanmaktadır (Mura, 2014). Japonya'dan Avrupa'ya 40'tan fazla siklodekstrin kompleks içeren müstahzar bulunmaktadır (Bülbul vd., 2020).

Siklodekstrinler halkaların ucunda bulunan birincil hidroksil gruplarından ve halkaların dış kısmında bulunan ikincil hidroksil gruplarından oluşur. İç kısımda ise eter tipi oksijen ve polar hidrojen grupları yer almaktadır. Dış kısımdaki hidroksiller sudaki çözünürlüğü, iç boşlukta yer alan glikozidik oksijen bağları yani bağlanmamış elektron çiftleri Lewis bazı olmanın yanı sıra hidrofobik özellik kazandırmaktadır. Bu sayede siklodekstrinler iç boşluğa aldıkları molekülle inklüzyon kompleksi oluşturmaktadır (Bezerra vd., 2020).

2.4.2 Siklodekstrin türevleri

2.4.2.1 α siklodekstrin

6 glikopiranoz halkasının çember oluşturmasıyla meydana gelen siklodekstrindir. Enzimatik hidrolize dayanıklıdır. Siklodekstrinler arasında en az hidroksil grubuna sahip olduğu için kompleksleşme sırasında oluşan hidrojen bağı en zayıf olan gruptur. İç halka çapı 4,7–5,3 Å ile en dar olan siklodekstrindir. β siklodekstrinler aromatik ve heterosiklik halkalarla, γ siklodekstrinler makromoleküller veya steroidlerle kompleks oluşturmaya elverişli iken α siklodekstrinler ise benzen gibi küçük moleküllerle kompleks oluşturmaya elverişlidir. Sudaki çözünürlüğü β siklodekstrinden 8 kat daha fazla, γ siklodekstrinden 1,6 kat daha azdır. α siklodekstrinler 6 hidroksil fonksiyonel grubundan kolayca çeşitlendirilebilmektedir (Z. Li vd., 2014). Gastrointestinal sistemden emilimi %2-3 civarında olan α siklodekstrin kas içi enjeksiyonda iritasyona sebep olabilmektedir (Del Valle, 2004).

İnklüzyon kompleks-hidrojel, siklosporin A ve ekonazol nitrat ile inklüzyon kompleks gibi araştırmaların yanı sıra Avrupa’da ve Japonya’da α siklodekstrin içeren, ağız ve intravenöz yollarıyla uygulanan dört farklı müstahzar bulunmaktadır (Jansook vd., 2020; Jóhannsdóttir vd., 2015; Jug & Bećirević-Laćan, 2008; N. A. Khan & Durakshan, 2013; J. Li vd., 2006).

2.4.2.2 β siklodekstrin

7 glikopiranoz halkasından oluşan siklodekstrindir (Tarannum vd., 2020). Doğal siklodekstrinler arasında sudaki çözünürlüğü en az olan siklodekstrindir. Sıcaklıkla birlikte çözünürlük de artmaktadır. β siklodekstrinde, bitişik α -D-glukopiranozil birimlerinin C2 ve C3 hidroksil grupları, diğer siklodekstrinlere kıyasla birbirleriyle maksimum etkileşimde olacak şekilde (hidrojen bağları) yönlenmektedir. Sonuç olarak, diğer siklodekstrinlere kıyasla suda çözünürlüğü kısıtlı kalmaktadır (Hedges, 2009).

β siklodekstrin kullanılarak farklı etkin maddelerle kompleksler oluşturulmuş ve biyoyararlanım ve çözünürlük artışı açısından olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Bunlardan bazıları etodolak, ibuprofen, itrakonazol, ketoprofen, klortalidon, lorazepam, nimesülid prazikuantel ve piroksikam etkin maddeleri ile oluşturulan komplekslerdir (Vyas vd., 2008).

2.4.2.2.1 β Siklodekstrin Türevleri

Doğal siklodekstrinlerde bulunan hidroksil gruplarına epoksi, alkil, açıl, asit gibi çeşitli fonksiyonel grupların kimyasal bağlanmasıyla çeşitli türevler elde edilmiştir. Her ne kadar bütün doğal siklodekstrinler türevlendirilse de genellikle β siklodekstrinin sudaki çözünürlüğünü arttırmak amaçlanmaktadır. Eczacılık alanında da en çok β siklodekstrin türevleri kullanılmaktadır (Dhiman & Bhatia, 2020; Loftsson & Duchêne, 2007; Şezanka, 2019).

β siklodekstrinin çözünürlüğünü arttırmak için çeşitli türevleri sentezlenmiştir. Hidroksil gruplarının metilasyonu ile çözünürlüğü yüksek türevler elde edilmiştir (Loftsson & Duchêne, 2007). Hidroksipropil β siklodekstrin (H β CD) ve metil β siklodekstrin (M β CD) sudaki çözünürlüğü yüksek olan siklodekstrinlerdir (A. Przybyla vd., 2020). Ayrıca β siklodekstrin ve sentetik türevleri farmasötik araştırmalara en çok konu olan siklodekstrin türleridir (Kurkov & Loftsson, 2013; Laza-Knoerr vd., 2010; Poulson vd., 2022; Sharma & Baldi, 2016). Hidroksipropil, sülfobütil eter ve metil β siklodekstrin en çok tercih edilen türevleridir (Jacob & Nair, 2018).

İlaç salımını düzenlemek için farklı β siklodekstrin türevleri kullanılabilmektedir. Hidroksipropil- β siklodekstrin ve sülfobütil eter- β -siklodekstrin hemen salım sağlayan ve çözünürlükle beraber emilimi arttırmak için kullanılan siklodekstrin türevleridir. Uzatılmış salım için etil β siklodekstrin, geciktirilmiş ve pH bağlı salım için ise karboksimetil etil β siklodekstrin kullanılabilmektedir (Palem vd., 2012). Eczacılıkta sülfobütil eter, hidroksipropil, metil β siklodekstrin türevleri önemlidir (Rasheed vd., 2008). Birçok siklodekstrin türevi geliştirilmiş ancak sülfobütil eter, hidroksipropil, metil β siklodekstrin türevleri en sık kullanılan türevler olmuştur (Boczar & Michalska, 2022).

Sülfobütil eter β siklodekstrin (S β CD) homojen, nem çekmeyen ve kristal toz yapıdadır. Ortalama süstitüsyon derecesi 7'dir. Sülfobütil grubundan dolayı negatif yüklü bir yapısı bulunmaktadır. Dolayısıyla negatif yüklü etkin maddelerle kompleks oluşturma kapasitesi daha azdır. Suda 1200 mg/mL'den fazla çözünmektedir. Çözünürlük, permeabilite, biyoyararlanım ve kararlılık arttırıcı olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Literatürde farklı uygulama yollarına yönelik birçok etkin madde ile inklüzyon kompleks çalışmaları yer almaktadır (Das vd., 2019; Davis & Brewster, 2004).

H β CD en az toksisiteye sahip olan siklodekstrin türevidir (D'Aria vd., 2022). Birçok etkin madde ile, oral, intravenöz, dilaltı, rektal ve oftalmik yoldan uygulanmak üzere başarılı inklüzyon kompleksleri geliştirilmiştir (Davis & Brewster, 2004; Nicolaescu vd., 2025).

β siklodekstrinin hidroksil gruplarının metillenmesiyle metil β siklodekstrin elde edilir. Metillenen hidroksil gruplarının sayısı süstitisyon derecesi ile belirlenmektedir. M β CD için bu derece 4-21 arasındadır. Trimetil β siklodekstrinde bütün hidroksil grupları metillenmiştir (Fenyvesi vd., 2014). Suda çözünür kompleks oluşturmak için sıkça kullanılan sentetik siklodekstrin türevlerinden biridir (Boczar & Michalska, 2022).

2.4.2.3 γ siklodekstrin

İç halkası en büyük olan siklodekstrindir. Dolayısıyla α ve β siklodekstrinin iç boşluğuna sığmayan büyük moleküllerle inklüzyon kompleks oluşturabilmektedir. Sudaki çözünürlüğü en yüksek olan doğal siklodekstrindir. İnsan amilazı γ siklodekstrini sindirebildiği için ince bağırsaktan absorbe edilebilmektedir. İnsan sağlığı açısından herhangi bir zararı bulunamamıştır. Ancak emilimden sonra insülin salımını ilginç bir şekilde yavaşlattığı tespit edilmiştir (Z. Li vd., 2007; Saokham & Loftsson, 2017).

β siklodekstrinler kadar yaygın bir araştırma alanı olmasa da indometazin, nepafenak, nistasin, omeprazol, digoksin ve prazikuantel γ siklodekstrin ile kompleks oluşturulan etkin maddelerden bazılarıdır (Miranda vd., 2021; J. Wang vd., 2014).

2.4.3 Kompleks oluşturma süreci

Siklodekstrinlerin en önemli özelliği çeşitli moleküllerle sıvı veya katı halde etkileşim kurabilme (moleküler enkapsülasyon) yeteneğidir. Bu etkileşim iç boşluğuna yabancı bir molekülün yerleşmesiyle oluşan inklüzyon komplekslerin yanı sıra; dış yüzeyde bulunan hidroksil gruplarının oluşturduğu hidrojen bağlarıyla geliştirilen, tıpkı dekstrinlerle ve diğer düz zincirli oligosakkaritlerle olduğu gibi komplekslerdir (Crini vd., 2018; Loftsson & Brewster, 2012).

Hidrofobik etkin maddeler siklodekstrinlerin iç boşluğundaki lipofilik gruplarla etkileşerek inklüzyon kompleksleri oluşturmaktadır. Kompleks oluşurken kovalent bağ oluşumu veya kırılması gerçekleşmez. Etkin madde-siklodekstrin etkileşimi fiziksel bağlarla sağlanmaktadır. Van der Waals etkileşimleri ve hidrojen bağları bu fiziksel bağların en bilinenleridir (Jambhekar & Breen, 2016).

Hem çözünme ortamı oluşturmaları hem de kompleks bütünlüğü açısından su oldukça önemlidir. Kompleks kristallerinin oluşumunu sağlayan su aynı zamanda siklodekstrinin hidroksil gruplarının köprü oluşturmalarını sağlayarak molekülün iç boşlukta hapsedilmesine yardımcı olmaktadır (Jin, 2013).

İnklüzyon kompleksler genelde 1:1 (etkin madde:siklodekstrin) oranında oluşmaktadır (Loftsson & Brewster, 2011). Bu oran belirlenirken çözünürlük-faz diyagramı teorisinden yararlanılmaktadır (Loftsson & Brewster, 2012). Higuchi ve Connors tarafından ortaya atılan bu teori kısaca, etkin maddenin sudaki çözünürlük artışı ile siklodekstrin derişimi arasındaki bağlantıyı açıklamaktadır (Higuchi & Connors, 1965).

2.4.4 Siklodekstrin kompleks oluşturma yöntemleri

Kompleks biçimi kolayca elde edilmektedir (Jin, 2013). En sık kullanılan kompleks oluşturma yöntemi, siklodekstrin- etkin madde çözeltisinin liyofilizasyonu veya püskürterek kurutulması yöntemleridir. Çöktürme veya nötrleştirme (ortam pH değerini) yöntemi de çözünürlüğü zayıf kompleksler elde etmek için kullanılabilir. Bunların dışında karıştırma, ıslatma (kneading), öğütme yöntemleri de kompleks oluşturmak için kullanılabilir (Loftsson & Brewster, 2012).

Karıştırma yöntemi siklodekstrin ve etkin maddenin katı halde birlikte karıştırılmasına dayanmaktadır (Del Valle, 2004). Bu yöntemde kompleksler kolayca oluşmaktadır. Karıştırma süresi kompleksleşme süreci için önemlidir. Etkin maddenin fizikokimyasal özelliklerine göre bu süre değişebilmektedir (Borghetti vd., 2009). Bu yöntemin biraz gelişmiş öğütme yöntemidir. Karıştırma işleminin devamında tozlar öğütülerek kompleks elde edilir (Del Valle, 2004). Öğütme yönteminde kompleksleşme tam olarak anlaşılamamıştır ancak işlem sırasında parçacıkların küçültülmesi ile yüzey alanı ve etkin madde siklodekstrin etkileşimi artırılmıştır. Bu durum kompleksleşmenin hızlanmasının önünü açmaktadır. Çözücü kullanmadan komplekslerin üretilmesi yöntemin en bariz üstünlüğüdür. Basit, çevreci, ekonomik ve etkili bir yöntemdir (Cid-Samamed vd., 2022).

Islatma yönteminde çözündürme işlemine ihtiyaç yoktur. Etkin madde süspansiyonuna siklodekstrin eklendikten sonra kompleks oluşumu başlar. Oluşan kompleks kristalize halde çöker veya çözünür. Islatma yönteminin bir benzeri olan örme yöntemi ise az miktarda çözücüye eklenen siklodekstrinle pat kıvamında bir karışım oluşturduktan sonra etkin maddenin eklenmesinin ardından bir süre yoğrulup kurutulduğu bir yöntemdir.

Basit, etkili ve ölçek büyütme müsait bir yöntemdir (Cardoso vd., 2015; Cid-Samamed vd., 2022; Del Valle, 2004).

Çöktürme yöntemi manyetik karıştırıcı altındaki siklodekstrin- etkin madde çözeltisinin kontrollü olarak çöktürülmesine dayanmaktadır. Suda çözünmeyen etkin maddeler için uygundur. Etkin maddenin çözücüsü etanol, dietil eter gibi organik çözücüler olabilir. Çözelti hazırlandıktan sonra siklodekstrinin sulu çözeltisiyle karıştırılıp soğutulur. Soğutmayla birlikte kompleksler çökmeye başlar. Sonrasında süzme işlemiyle kompleksler elde edilir (Cid-Samamed vd., 2022).

Süper kritik karbon dioksit yönteminde ise bir otoklav içerisine gerekli miktarda siklodekstrin ve etkin madde koyulur. Otoklav içi uygun sıcaklığa ayarlanır ve basınçla karbondioksit gazı sıvılaştırılır. Ardından basınç düşürülerek karbondioksit buharlaştırılır ve inklüzyon kompleksler elde edilir. Süper kritik akışkan yöntemi birçok çalışma ve ticari amaçlar için kullanılmaktadır. Karbondioksit toksisitesinin azlığı ve kritik akışkan noktasının düşük olması sebebiyle en çok tercih edilen gazdır (Cid-Samamed vd., 2022).

Çözücü buharlaştırma yönteminde siklodekstrin ve etkin madde karışabilen iki ayrı çözücüde çözündürüldükten sonra karıştırılıp moleküler etkileşimin sağlanmasının ardından vakum altında çözücülerin buharlaştırılmasıdır. Nötralizasyon işlemi çözünen siklodekstrin ve etkin maddenin pH değerinin değiştirilmesiyle çökelti oluşturması ile kompleks elde etme sürecidir (Patil vd., 2010).

Mikrodalga ısınlama yönteminde siklodekstrin ve etkin madde çözeltileri belirli molar oranda karıştırıldıktan sonra kuru toz elde edilene kadar mikrodalga ışınlarına maruz bırakılmasıdır (Kaur vd., 2019). Kalıntıları uzaklaştırmak için etkin maddenin çözücüsü ile elde edilen toz yıkanmalıdır. Verimli ve zamandan tasarruf sağlanan bir yöntemdir (Cid-Samamed vd., 2022).

Püskürterek kurutma yönteminde ise siklodekstrin ve etkin madde çözeltisi püskürterek kurutma cihazı ile kurutularak kompleks elde edilme sürecidir. En eski ve en sık kullanılan yöntemlerden biridir. Sıvı ile besleme, damlacıkların yüksek sıcaklıkla buharlaşması ve partiküllerin buhardan ayrılması olmak üzere üç adımla tanımlanabilecek bir yöntemdir. Basit ve büyük çapta üretim için çok uygundur (Cid-Samamed vd., 2022).

Dondurarak kurutma (liyofilizasyon) yönteminde ise siklodekstrin ve etkin madde uygun çözücü veya çözücü karışımında çözündürüldükten sonra denge süresi boyunca karıştırılır. Karışım buzdolabında dondurulduktan sonra liyofilizatöre koyularak suyu uçurulur ve kompleks elde edilir (Nekkanti vd., 2009).

2.4.5 Metformin HCl ile yapılan çalışmaları

β -siklodekstrin ile MH inklüzyon kompleksleri oluşturup karakterizasyonları değerlendirmiştir. Mikrodalga ısınlama, örme, karışım ve çöktürme yöntemleri kompleks oluşumunda kullanılmıştır (Kaur vd., 2019). Bir çalışmada α -siklodekstrin ve MH ile inklüzyon kompleksleri elde edilmiştir. Çalışmada FTIR, UV ve faz çözünürlük değerlendirmeleri yapılmıştır (Roselet & Kumari, 2015). Bir başka çalışmada ise MH dahil çeşitli antidiyabetik etkin maddelerle α -siklodekstrinin kompleksleri hazırlanıp NMR analizleri değerlendirilmiştir (Roselet & Kumari, 2021). Metil β -siklodekstrinin geçirgenlik (permeabilite) artırıcı olarak kullanıldığı bir çalışmada MH'nin yalın haline göre 3,5 kat daha fazla geçtiği gösterilmiştir (Gulsun vd., 2023). Bir başka çalışmada β -siklodekstrin ve MH püskürterek kurutma yöntemi kullanılarak formüle edilmiş ve tablet üretiminde değerlendirilmiştir (Ashok & Wahid, 2015). Bir diğer çalışmada pH-bağlı çöktürme yöntemi ile katyonik bir β -siklodekstrin türevi olan diaminodipropilamin β -siklodekstrin ve metformin kullanılarak nanopartikül üretilmiştir. Mide ortamında çözünmeyen ancak bağırsak ortamında çözünen partiküllerle bağırsak hedeflenmiştir (Teng vd., 2022).

2.4.6 Partiküler ilaç taşıyıcı sistemler

Partiküler ilaç taşıyıcı sistemler, boyutuna göre mikropartiküller ve nanopartiküller olmak üzere temelde iki alt dala ayrılmaktadır (Kohane, 2007). Mikropartiküller 1-1000 μm aralığında, nanopartiküller ise, 10-1000 nm aralığında parçacık boyutuna sahiptir (Sen Gupta, 2016). Partiküler ilaç taşıyıcı sistemlerin üretiminde çeşitli metaller, lipidler, seramik, silikon dioksit gibi inorganik bileşikler ve çeşitli polimerler kullanılabilmektedir (Campos vd., 2013; I. Khan vd., 2019; Ngomsik vd., 2005; Scalia vd., 2015).

Polimerler partiküler ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesi için sıklıkla kullanılmaktadır (Ezike vd., 2023; Jaspart vd., 2005). Kullanılan polimerler doğal ya da sentetik türevler olabilmektedir. Kitosan, aljinat, dekstran, jelatin ve selüloz doğal polimerler iken poli laktik-glikolik asit polianhidrit türevleri sentetik polimerlerden bazılarıdır (Martinho vd.,

2011; Torres vd., 2011; Vilos & Velasquez, 2012; Wilczewska vd., 2012). Polimerik partiküllerle kontrollü salım, biyoyararlanım artışı, enzimatik bozunmadan kaçınma ve bazı polimerlerin pH değerine göre değişen çözünürlüğüne dayanarak hedefleme gibi farklı amaçlarla formülasyon geliştirilebilmektedir (He vd., 2013; Siepmann & Siepmann, 2006).

2.4.7 Üretim Yöntemleri

Partiküler ilaç taşıyıcı sistemlerin üretimi için kullanılacak yöntem etkin maddenin ve kullanılacak polimerin fizikokimyasal özelliklerine ve formülasyonun amacına göre belirlenmektedir (Lukova vd., 2023). Partikül üretim yöntemleri fizikokimyasal ve mekanik yöntemler olmak üzere temelde iki ana kola ayrılmaktadır. Fizikokimyasal yöntemler moleküllerden veya kolloidal parçacıklardan daha büyük partiküllerin üretilmesidir. Fizikokimyasal yöntemlerde parçacıklar, moleküllerin dizilimindeki yapılanmanın etkisiyle hidrojen ve elektrostatik bağları gibi etkileşimlerdeki değişiklikler sonucunda meydana gelen serbest enerjinin indirgenmesi ile biçimlenmektedir. Mekanik yöntemlerin temelinde ise büyük malzemelerin parçacık boyutunun küçültülmesi için özellikle üretilmiş homojenizatör, değirmen, püskürtme veya kurutma makineleri gibi makine-teçhizatların kullanılması bulunmaktadır. Aslında birçok partikül üretim yönteminde temelde fizikokimyasal ve mekanik yöntemler kombine halde kullanılmaktadır (McClements, 2014).

Homojenizasyon yöntemleri genellikle emülsiyon hazırlamak için kullanılmaktadır (McClements, 2014). Bu yöntem çözücü buharlaştırma yönteminde olduğu gibi çoklu veya tekli emülsiyon hazırlanarak oluşturulan partiküller için de kullanılabilir (Iqbal vd., 2015; Staff vd., 2013). Yüksek hızlı karıştırıcılar, kolloid değirmenler, yüksek basınçlı homojenizatörler, ultrasonik homojenizatörler, membran veya mikro-kanal homojenizatörler ve mikroakışkan yöntemleri bunlardan bazılarıdır (McClements, 2014).

2.4.7.1 Çözücü buharlaştırma yöntemi

Çözücü buharlaştırma yöntemi su ve yağ fazını oluşturan iki ayrı çözücü ile emülsiyon oluşturulduktan sonra çözücülerin uzaklaştırılması temeline dayanmaktadır (Deshmukh vd., 2016). Su fazı çoğu zaman sudan oluşmakla birlikte nadiren de olsa etanol su karışımı veya saf etanol olabilmektedir (Vila vd., 2004). Etkin maddenin çözünürlüğüne göre su içinde yağ (y/s), yağ içinde su (s/y) veya çifte emülsiyon (s/y/s ya da y/s/y) şeklinde

emülsiyonlar oluşturulabilmektedir (Deshmukh vd., 2016). Yöntem üzerinde birçok değişiklik yapılarak tekli emülsiyon, yardımcı çözücü (co-solvent), çoklu emülsiyon, tuzla çöktürme (salting out) gibi çeşitli türevleri geliştirilmiştir (M. Li vd., 2008; Mendoza-Munoz vd., 2012).

2.4.7.2 Tekli emülsiyon yöntemi

Tekli emülsiyon yönteminde polimer etil asetat, etil format, diklorometan, aseton gibi uçucu bir organik çözücünde yani yağ fazında çözündürülür. Ardından etkin madde bu fazda dağıtılır veya çözündürülür. Ardından yağ fazı yüzey etkin madde içeren su fazına eklenerek su fazında çözünmeyen polimerin etkin maddeyle birlikte çökmesi sağlanır. Ekleme sırasında yüksek hızlı karıştırıcı veya ultrasonik homojenizatör kullanılarak parçacık boyutu belirli bir aralıkta tutulur. Organik faz uçuruluncaya kadar homojenizasyon işlemi sürdürülür. Sadece su fazı kaldığında ise kurutularak partiküller elde edilmektedir (Deshmukh vd., 2016).

2.4.7.3 Yardımcı çözücü yöntemi

Yardımcı çözücü yönteminde ise oluşturulan emülsiyon sisteminin organik fazına su ile karışabilen bir yardımcı çözücünün eklenmesine dayanmaktadır. Eklenen yardımcı çözücü sayesinde yüzey gerilimi düşmekte ve organik faz su ile daha kolay karışabilmektedir. Bu yöntemle kullanılan polimerin hızlıca çökmesi ve enkapsülasyon oranı ve yükleme etkinliğinin artırılması amaçlanmaktadır (Lai & and Tsiang, 2005; Rawat & Burgess, 2010).

2.4.7.4 Çifte emülsiyon oluşturma yöntemi

Çifte emülsiyon yönteminde ise etkin madde içindeki su fazında çözündürülür. Ardından polimerin çözündüğü organik faza yüksek hızlı karıştırıcı ya da ultrasonik homojenizatör yardımıyla birlikte eklenerek emülsiyon biçimi kazandırılır. Hazırlanan emülsiyon ikincil dış faz olan suya eklenerek s/y/s tipi çifte emülsiyon oluşturulur. Çözücüler ortamdan uzaklaştırılarak partiküller elde edilmektedir (Iqbal vd., 2015).

2.4.7.5 Tuzla çöktürme yöntemi

Tuzla çöktürme işlemi için öncelikle emülsiyon oluşturulmalıdır. Emülsiyonun dış fazını oluşturan su fazı içerisinde yüksek derişimde tuzlama maddeleri (salting out agent) bulunmalıdır. Yüksek derişim sayesinde faz dışına madde çıkışı engellenmektedir.

Ardından organik faz çözücüsünün, yüzeyler arası gerilimin türbülansa uğraması ve hızlıca su fazına difüzyonu ile partikül oluşumunu sağlaması için eşik değerini aşmaya yetecek miktarda saf su ile emülsiyon seyreltilmelidir. Sonrasında oluşan partikül süspansiyonundan çözücü buharlaştırılarak partiküller elde edilmelidir (Mendoza-Munoz vd., 2012).

2.4.7.6 Mikroakışkan yöntemi

Mikro akışkan yöntemi bir pompa aracılığıyla sıvı beslemesinin yapıldığı mikrokanallardan oluşan bir sistem kullanılarak partikül oluşturma sürecidir. Pompa aracılığıyla mikrokanallara iletilen farklı sıvılar (organik faz ve su fazı) kanalların “Y”, “T” veya “+” tipinde kavşaklarla birleşmesiyle karıştırılmaktadır. Karıştırma evresinde elektrik alan, manyetik alan, termal veya ses dalgaları gibi farklı kuvvetlerle parçacıkların homojenliği arttırılabilmektedir. Poli laktik glikolik asit, aljinat, metakrilat ve çeşitli lipidlerle yapılan çalışmaları bulunmaktadır (Keohane vd., 2014; Rawas-Qalaji vd., 2023; Tripathi vd., 2014).

2.4.7.7 Süperkritik akışkan yöntemi

Süperkritik akışkan yönteminde ise eşik değer üstündeki sıcaklık ve basınç koşullarında sıvı hale gelen bir madde kullanılmaktadır. Sıcaklık ve basınç değişimi ile sıvı-gaz biçimleri arasında geçişi sağlanan süperkritik akışkanın aynı zamanda fizikokimyasal özellikleri de değişmektedir. Bu değişim sayesinde partikül üretimi mümkündür. Eşik sıcaklık ve basınç değerleri en uygun olan ve bu yöntemde en çok kullanılan madde karbon dioksit gazıdır. Üretim için etkin madde ve taşıyıcı sistemi oluşturan polimer eşik değer üstündeki basınç ve sıcaklıktaki süperkritik akışkanda çözündürülür. Ardından bir püskürtme üflecinden (nozzle) eşik değer altındaki basınç ve sıcaklık koşulları bulunan ortama verilmelidir. Basınç ve sıcaklık farkıyla gaz haline geçen süperkritik akışkandan ayrılan partiküller toz halde toplanmaktadır (McClements, 2014).

2.4.7.8 Liyofilizasyon yöntemi

Liyofilizasyon ya da dondurarak kurutma çözücü buharlaştırma yöntemi için sık sık kullanılan bir işlemdir. Liyofilizatörde vakum altında sıvı faza geçiş olmadan doğrudan buharlaştırılarak yani süblimleştirilerek katı partiküller elde edilmektedir (Gaidhani vd., 2015; L. Wang vd., 2016). Liyofilizasyon dondurma, birincil kurutma ve ikincil kurutma olmak üzere üç aşamadan oluşmaktadır. Birincil kurutma işleminde buz

süblimleşmektedir. İkincil kurutma işleminde ise partiküllerin çektiği nem uzaklaştırılmaktadır (Abdelwahed vd., 2006). Liyofilizasyon işlemi çözücü buharlaştırma sonrasında genellikle düşük hacimli ve pahalı ürünlerin yanı sıra ısıya duyarlı maddelerin korunması için kullanılan bir kurutma yöntemidir. Ancak zaman alıcı ve çok enerji gerektiren bir yöntemdir (Deshmukh vd., 2016).

2.4.7.9 Püskürterek kurutma yöntemi

Püskürterek kurutma yönteminde ise etkin madde ve polimer uygun bir çözücüde çözündürüldükten sonra püskürterek kurutma cihazına verilmektedir. Besleme pompası aracılığıyla cihazın üfleğine iletilen çözelti buradan yüksek sıcaklığın ve hava akımının bulunduğu kurutma haznesine püskürtülmektedir (Görsel 2.1). Püskürtülen çözelti damlacıklar halinde yayılırken çözücünün kaynama noktasından daha yüksek sıcaklığa sahip olan haznede çözücü buharlaşırken partiküller toplama haznesinde birikmektedir (Cal & Sollohub, 2010; Ziaee vd., 2019).

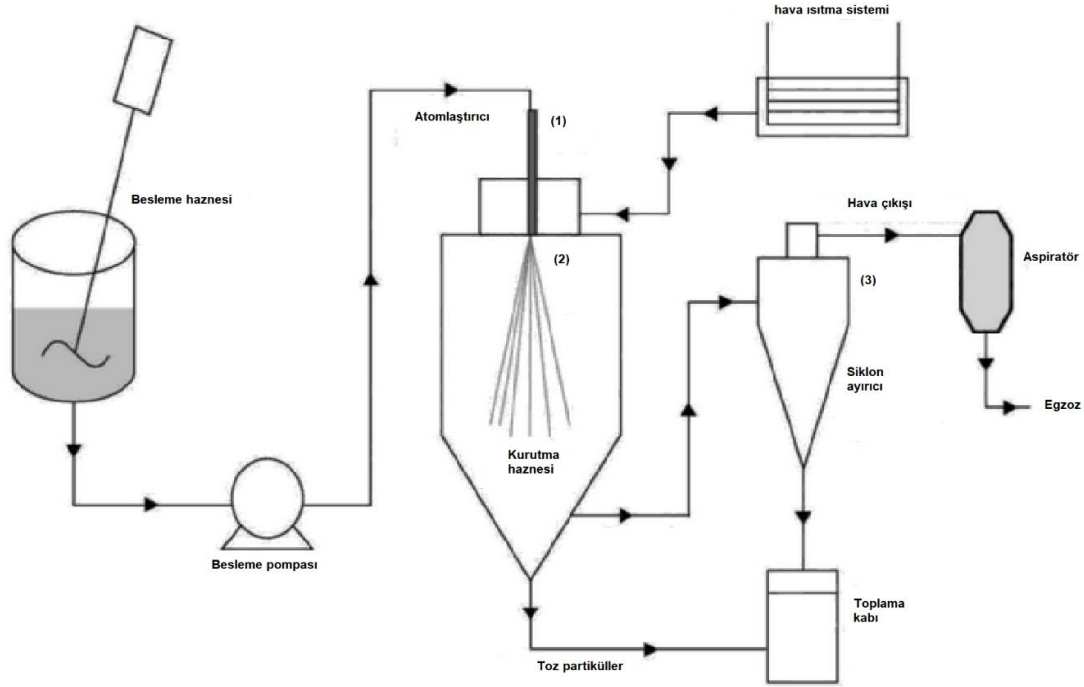
Püskürterek kurutmayı etkileyen unsurlar çözelti parametreleri ve cihaz parametreleri olmak üzere temelde ikiye ayrılmaktadır. Çözeltinin viskozitesi, yüzey gerilimi, fizikokimyasal özellikleri ve bileşimi çözelti parametreleri arasında yer almaktadır. Cihaz parametreleri ise iç ve dış sıcaklıklar, akış veya besleme hızı, üfleç çeşidi, hava akış yolu, hava akış hızıdır. Bu parametreler elde edilen partiküllerin boyutunun ve dağılımının yanı sıra toplanan partiküllerin verimini de etkilemektedir. İç-dış sıcaklık çözeltinin viskozitesini ve çözücünün buharlaşma hızını ve dolayısıyla partiküllerin oluşumunu etkilemektedir. Partiküllerin yüzey özellikleri ve parçacık boyutu açısından önemlidir. Çözücü buharlaşma hızı, morfoloji, parçacık boyutu ve yoğunluk gibi fizikokimyasal özellikler, besleme hızını düzenleyerek değiştirebilmektedir (Ziaee vd., 2019).

Çözeltiyi oluşturan bileşenlerin ve çözeltinin fizikokimyasal özellikleri, püskürtme hızı, ortam sıcaklığı, hava akımının hızı, üflecin özellikleri elde edilen partiküllerin boyutunu ve dağılımını etkileyen en önemli unsurlardır (McClements, 2014). Çözücünün buharlaşmasından ve partiküllerin oluşmasından hemen önce oluşan damlacıkların boyutu partiküllerin boyutunu etkilemektedir. Damlacıkların boyutu ise üflece ve akış hızına bağlı olarak değişmektedir. Ayrıca püskürtme sırasında damlacıkların birbiriyle çarpışması da damlacık boyutunu etkileyen unsurlardandır. Püskürtme aşamasında çözelti kesme ve germe (shearing and stretching) kuvvetlerine maruz kalmaktadır. Çözelti

üfleç içindeyken kesme kuvvetleri ön plana çıkmaktadır. Dolayısıyla kesme viskozitesi parçacık boyutunu etkileyen önemli bir unsurdur (Porfirio vd., 2021).

Görsel 2.1

Püskürterek kurutma cihazı şeması



Not. (1) Atomlaştırma. (2) Damlacık-partikül dönüşümü. (3) Partiküllerin toplanması

Kaynak: (Pignatello & Musumeci, 2018)

Etkin maddenin, kullanılan polimerin ve varsa diğer yardımcı maddelerin fizikokimyasal özellikleri çözeltinin akış özelliklerini etkileyeceği için püskürterek kurutma sürecinde önemli bir yer tutmaktadır. Camsı geçiş sıcaklığı, fonksiyonel grup varlığı, polimerin nem tutma kapasitesi, polimer çözünürlüğü ve molekül ağırlığı, polimerin anyonik veya katyonik yapısı polimer seçiminde göz önünde bulundurulması gereken unsurlardır (Ziaee vd., 2019).

Kullanılan çözücünün ise etkin maddeyi ve diğer yardımcı maddeleri yüksek oranda çözmesi, çevre ve biyolojik dokular için düşük toksisiteye sahip olması, çözelti hazırlandıktan sonra uygun viskoziteye ulaşması, partikül oluşumu için yeterli uçuculuğunun bulunması ve püskürterek kurutma şartlarında yanıcı olmaması gerekmektedir. Su, etanol, izopropanol, aseton, metil etil keton ve etil asetat toksisite açısından en uygun çözücülerdir (Ziaee vd., 2019).

Çözünen derişimi arttıkça oluşan partiküllerin boyutunun daha büyük olduğu ve tozların içindeki nem oranının daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Yüksek derişim her damlacıkta daha az çözücü anlamına gelmektedir. Bu durum da partiküllerin topaklanmasına yol açmaktadır. Bu yüzden çözeltinin derişimine dikkat edilmelidir (Ziaee vd., 2019).

Tablo 2.5

Püskürterek kurutma yöntemiyle yapılan MH formülasyonları

Polimer	Amaç	Kaynak
PVP K30	Direkt basıma imkân sağlamak	(Barot vd., 2010)
Sodyum aljinat, karboksimetil selüloz, kopovidon, PVP	Direkt basıma imkân sağlamak	(Al-Zoubi vd., 2017)
Etil selüloz	Kontrollü salım	(Mokale vd., 2016)
Sodyum aljinat	Etki artışı	(Szekalska vd., 2016)
Poliakrilik asit ve β -siklodekstrin	Kontrollü salım	(Subhedar vd., 2010)
Kitosan	Biyoadezif mikropartikül	(Sander vd., 2013)
Triasetil β -siklodekstrin	Farklı yöntemlerin kıyaslanması	(Corti vd., 2007)
Sodyum aljinat ve jelatin	Etki artışı	(Shehata & Ibrahima, 2019)
Carbopol	Mide hedefleme	(Harsha, 2015)
Sodyum aljinat ve kitosan	Etki kıyaslama	(Szekalska vd., 2017)
Eudragit® RS 30D ve Eudragit® RL 30D	Kontrollü salım kıyaslama	(N. B. Kulkarni vd., 2013)

2.4.8 Partiküler ilaç taşıyıcı sistemler için kullanılan bazı polimerler

2.4.8.1 Polianhidritler

Polianhidritler ilaç taşıyıcı sistemlerde faydalanan kullanışlı biyomalzemelerdir. Biyouyumlu ve biyobozunur yapıda olan polianhidritler düşük maliyetli ve kolayca erişilebilen bir malzemedir. Hemen salım yapan ilaç taşıyıcı sistemler için yirmi yıldan uzun süredir kullanılmaktadır. Polianhidritler hidrofobik bir iskelet içerisinde kararsız anhidrit (hidrojen atomu bulunmayan) bağları içeren bir yapıya sahiptir. Polianhidrit içerisindeki polietilen glikol kısımlar hidrofilik özelliği arttırırken imid grupları ise

fiziksel özellikleri etkilemektedir. Polianhidritlerin sakıncalarından biri ise saklama şartlarındaki kararlılık sorunlarıdır. Bu sorunları engellemek için birçok polianhidrit buzdolabında saklanmalıdır (Kumar vd., 2002).

Düşük maliyetli maddelerden sentezlenmesi ve genellikle güvenli olarak sınıflandırılan dikarboksilik asit türevlerinin temel yapı taşı oluşturması, saflaştırma aşamalarını gerektirmeyen tek adımda sentezlenebilmeleri, polimer yapısının tek biçimde ve sabit sayıda molekül ağırlığına sahip olması ile öngörülebilir bir oranda hidroliz olması, bozunarak vücuttan atılabilmeleri ve γ radyasyonla sterilize edilebilmeleri polianhidritlerin genel üstünlüklerinden bazılarıdır. Hidrolitik kararlılıklarının düşük olması, mekanik dirençlerinin düşük olması ve film ya da fiber biçimlerine yatkın olmamaları polianhidritlerin temel sakıncalarındandır (Kumar vd., 2002).

Polianhidritler aromatik, alifatik (düz zincirli) ve doymamış olmak üzere üç sınıfa ayrılmaktadır ancak kullanımına göre aromatik-alifatik, çapraz bağlı ve yağ asit temelli gibi alt sınıflara da ayrılabilir. Sınıflandırma işlemi temelde polianhidritin yapıya göre belirlenmektedir (Reddy & Domb, 2022).

Aromatik polianhidritler halkalı monomerlerin oluşturduğu polianhidrit çeşitleridir. Aromatik polianhidritler mekanik dirençleri yüksek ve hidrolitik kararlılıkları daha yüksek polianhidritlerdir. Birçok aromatik polianhidrit organik çözücülerde çözünmez ve erime sıcaklıkları 200 °C'nin üstündedir (Reddy & Domb, 2022).

Alifatik polianhidritler diasit monomer birimlerinden elde edilmektedir. Düşük erime derecesi ve camsı geçiş sıcaklığı ile diğer polianhidritlerden ayrılmaktadır. Alifatik polianhidritler genellikle kristal yapılı ve erime derecesi 100 °C'nin altındadır (Reddy & Domb, 2022).

Doymamış polianhidritler alifatik ya da aromatik monomerlerden oluşan ve çift ya da üçlü bağ içeren polianhidritlerdir. Bu sınıfta yer alan polianhidritler içerdikleri çift ve üçlü bağlar sayesinde çapraz bağ oluşturmaya elverişlidir. Polianhidritler çapraz bağlandıktan sonra mekanik direnci ve fiziksel özellikleri olumlu yönde gelişmektedir. Doymamış polianhidritler kristal yapılıdır ve bilindik organik çözücülerde çözünmez. Ayrıca doymamış polianhidritlerin erime derecesi yüksektir (Reddy & Domb, 2022).

Polianhidritler anhidrit bağlarının yapısı gereği hidrolize açık polimerlerdir. Polianhidritler poliester, poliamit gibi diğer polimerlerden daha hızlı hidroliz olmaktadır.

Polianhidritlerin hidroliz ürünleri daha kısa zincirli karboksilik asit polimerleridir. pH, hidrofilite, kristal yapı, ve etkin madde yükleme etkinliği hidrolizi etkileyen başlıca unsurlar arasında yer almaktadır (Reddy & Domb, 2022).

2.4.8.1.1 Poli [metil vinil eter alt maleik anhidrit]

Alifatik bir polianhidrit olan Poli [metil vinil eter *alt* maleik anhidrit] (PMA)'in fizyolojik pH değerlerinde kalsiyum iyonlarıyla güçlü etkileşimlerde bulunduğu bilinmektedir (Gardner vd., 2011). Maleik asit alt grubunda proton verici iki karboksilik asit yapısı ve metil vinil eter alt grubunda ise hidroksil grupları ile etkileşime girebilecek proton alıcı elementler barındırmaktadır (Khutoryanskaya vd., 2005). PMA biyouyumlu ve güvenli yardımcı maddeler kategorisinde yer alan bir polimer olarak farmasötik formülasyonlarda sıkça kullanılmaktadır. Partiküler ilaç taşıyıcı sistemlerde de gittikçe artan bir kullanımı söz konusudur. Biyoadeziv özelliği sayesinde gastrointestinal sistem içerisinde ilacın kalış süresini uzatabilmekte ve biyoyararlanımını arttırabilmektedir (D. Zhang vd., 2015).

2.4.8.2 Eudragit® polimerleri

Eudragit, polimetakrilat temelinde çeşitlendirilmiş çeşitli kopolimerlerin Evonik Endüstrisi tarafından çıkarılan ticari ismidir. İlk kez 1953 yılında Darmstadt'ta Röhm & Hass tarafından alkali çözünür polimer olarak mide asidine karşı ilaçları korumak amacıyla kaplama yapmak için piyasaya sürülmüştür. Sonrasında ürünler anyonik, katyonik, nötral, akrilik ester, metakrilik ester veya türevleri, pH bağlı çözünürlük vb. gibi zaman içinde çeşitlendirilmiştir (Thakral vd., 2013).

Eudragitler katyonik (E), anyonik (L ve S) ve nötral (RS, RL, NE ve NM) olmak üzere farklı harflerle sınıflandırılmıştır. Katyonik türevler pH 5,5 altında çözünmektedir. Anyonik türevler genellikle kolon hedefleme için, pH 7 üzerinde çözünürlüklerinden dolayı kullanılmaktadır. Nötral türevler ise kontrollü salım için kullanılan polimerlerdendir. Ayrıca daha az bilinen P4135 (yeni adıyla FS), metakrilik asit, metil akrilat ve metil metakrilat monomerlerinin (25:10:65) oranında polimerleşmesiyle oluşan bir diğer türevidir. Sulu dispersiyonu FS 30 D olarak da bulunmaktadır. Eudragit® RD 100 ise %91 oranında RL PO ve %9 karboksi metil selülozdan oluşan bir başka türevidir (Balogh vd., 2017; Thakral vd., 2013).

Metakrilik asit kopolimerleri metil metakrilat ve etil akrilattan oluşmaktadır ve metakrilik asitin metil ve etil esterleridir. Yapılarında yer alan karboksilik asit gruplarının

karboksilata dönüşmesi pH 5-7 aralığında olmaktadır. Bu yüzden polimerler de bu aralıkta çözünür özellik kazanmaktadır (Thakral vd., 2013).

Polimerin çözündüğü pH değeri içeriğindeki karboksilik asit grubu sayısına bağlıdır. Poli (metakrilik asit-metil metakrilat) (1:1) yani Eudragit® L pH 6 ve üzerinde çözünürken; Poli (metakrilik asit-metil metakrilat) (1:2) yani Eudragit® S pH 7 ve üzerinde çözünmektedir. Ester içeriği etil etakrilat ile yer değiştirdiği zaman (Eudragit® L 100-55) pH 5,5 üzerinde çözünme görülmektedir (Thakral vd., 2013).

2.4.8.2.1 Eudragit® FS 100

FS metakrilik asit, metil akrilat ve metil metakrilat monomerlerinin (25:10:65) bileşiminden oluşan bir polimerdir. Serbest karboksilik asit miktarına uygun olarak pH 7 ve üzerinde çözünmektedir. 50 °C civarında camsı geçiş sıcaklığına sahiptir (Balogh vd., 2017).

3 GEREÇLER

3.1 Kullanılan Maddeler

<u>Madde adı</u>	<u>Firma Adı</u>
Aseton	Merck, Almanya
Asetonitril	Merck, Almanya
Disodyum hidrojen fosfat	Sigma, Almanya
Dötoro dimetil sülfoksit	Merck, Almanya
Eudragit® FS 100	Röhm, Almanya
Fosfat tampon tuz tableti	Biomatik, ABD
Hidroklorik asit	Röhm, Almanya
Hücre kültürü flaskları	Greiner bio-one, Amerika
Hidroksi propil beta siklodekstrin	Sigma, Almanya
Metformin HCl	Merck, Germany
Metil beta siklodekstrin	Sigma, Almanya
MTT (Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide %98)	Alfa Aesar, Almanya
Nikotinamid	Merck, Almanya
Poli metil vinil eter maleik anhidrit	Sigma, Almanya
Sodyum heptan sülfonat	BLD Pharm, Çin
Sodyum hidrojen fosfat	Sigma, Almanya
Sodyum klorür	Sigma, Almanya
Steril enjektör	Hayat, Türkiye

Streptozotosin	Merck, Germany
Sülfobütil eter beta siklodekstrin	Sigma, Almanya
%0,9 İzotonik NaCl çözeltisi	Polifarma, Türkiye

3.2 Kullanılan Cihazlar

<u>Cihaz adı</u>	<u>Firma Adı</u>
Buzdolabı	Arçelik, Türkiye
Çok fonksiyonlu plaka okuyucu	BioTek HTX Synergy, Amerika
Diferansiyel taramalı kalorimetre	Shimadzu DSC-60, Japonya
Distile su cihazı	MiliQ Milipore, Fransa
Diyaliz membran	Sigma, Almanya (MWCO:14000)
Etüv	Nüve, Türkiye
Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrofotometresi	Shimadzu, Japonya
Hassas terazi	Mettler Toledo, ABD
Laminar akış kabini (Sınıf 2)	Labogene ApS, Danimarka
Lifecek Stick TD-4287 glikoz ölçüm cihazı	BEK, Türkiye
Liyofilizatör	Operon, Güney Kore
Manyetik karıştırıcı	IKA, Almanya
Mikropipet seti	Eppendorf, Almanya

Multimod mikrolaka okuyucu	ELISA Reader, BioTek, Amerika
Nükleer manyetik rezonans spektrofotometresi	Ultra-Shield™ CPMAS NMR, Almanya
Otomatik hücre sayımı cihazı	Logos Biosystems, Güney Kore
Parçacık boyutu dağılımı ve zeta potansiyel analiz cihazı	Malvern-Zetasizer NanoSeries, İngiltere
pH metre	Mettler Toledo, ABD
Püskürterek kurutma (B190) cihazı	Büchi, İsviçre
Santrifüj	Nüve, Türkiye
Su banyosu	GFL, Almanya
Taramalı elektron mikroskobu	Carl Zeiss SUPRA 50VP, Almanya
Termometre	Ebro, Almanya
Ultrasonik banyo	Wisd Laboratory Instruments, Kore
Vorteks	Jeoitech, Kore
Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi	Shimadzu, Japonya
Yüksek basınçlı sıvı kromatografi kolonu	Agilent, ABD

4 YÖNTEM

4.1 Analitik Yöntem Geliştirme ve Validasyon Çalışmaları

Etkin maddenin miktarını tespit etmeyi gerektiren çalışmalar için yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (YBSK) cihazı kullanılarak analitik yöntem validasyonu yapılmıştır. Analiz için Amerikan Farmakopesinde de yer alan yöntem birtakım değişikliklerle kullanılmıştır (Umapathi vd., 2012). Yöntem koşulları Tablo 4.1’de sunulmuştur.

Tablo 4.1

YBSK çalışma koşulları

Cihaz	Shimadzu-20A
Kolon	Agilent 150 x 4.6 mm, 5µm
Fırın Sıcaklığı	25 °C
Mobil Faz	Asetonitril/Tampon* (8/92; h/h)
Dedektör	Shimadzu Fotodiyot Dizisi
Dalga Boyu	232 nm
Akış hızı	1 mL/dk
Enjeksiyon Hacmi	5 µL

Not: Sodyum klorür (0,5 mg/mL) ve sodyum heptan sülfonat (0,6 mg/mL) sudaki çözeltisi, ortofosforik asit kullanılarak pH 3,5’e ayarlanmıştır.*

Kaynak:(Umapathi vd., 2012)

4.1.1 Analitik miktar tayini için validasyon çalışması

Analitik yöntem validasyonu kullanılan yöntemin uygulanabilirliğini kanıtlamak için gereklidir. Kullanılan yöntemin doğruluğu ve güvenilirlik parametreleri verilere dayanarak gösterilmektedir. Analitik yöntem validasyonu için doğrusallık, kesinlik, doğruluk, duyarlılık ve seçicilik parametreleri değerlendirilmiştir. Bu çalışmada Uluslararası Harmonizasyon Kongresi’nin “Analitik İşlem Validasyon Yöntemi” kılavuzu kullanılmıştır (Borman & Elder, 2017).

4.1.1.1 Doğrusallık

Doğrusallık çalışması, numunede yer alan etkin madde miktarındaki artışa bağlı olarak analitik yöntemden elde edilen sonucun doğru orantılı bir biçimde arttığını göstermek amacıyla yapılmaktadır. Analizi yapılan maddenin farklı derişimlerdeki örneklerinin pik

alanı ile belirli derişim aralığındaki değerler doğru orantılı olmalıdır. Doğrusallığın belirlenmesi için en az 5 farklı derişim ile çalışılmalıdır (Borman & Elder, 2017).

Bu tez çalışmasında YBSK yönteminde kullanılacak olan MH ait standart eğrinin bulunması için 100 µg/mL derişime sahip stok çözelti hazırlanmıştır. Stok çözeltiden hareketle 2,5-100 µg/mL arasında derişimlere sahip 12 farklı derişim elde edilmiştir. Her test altı kez tekrar edilmiştir.

4.1.1.2 Kesinlik

Analitik yöntemde kesinlik, öngörülen koşullar altında, aynı numunenin çoklu örneklemesinden oluşan bir dizi ölçüm arasındaki dağılma derecesini ifade etmektedir. Tekrarlanabilirlik, ara kesinlik, tekrar elde edilebilirlik parametreleri ile belirlenmektedir (Borman & Elder, 2017).

Tekrarlanabilirlik, kesinlik parametresini kısa bir zaman aralığında aynı çalışma koşulları altında ifade etmektedir. Tekrarlanabilirliği tespit etmek için, aynı stok çözelti kullanılarak hazırlanan örneklerin alan ölçümü tekrarlanır. Bu işlem 3 farklı konsantrasyonun altışar kez ölçümü ile gerçekleştirilmiştir. Yöntemin kesinlik çalışmasında, tekrarlanabilirliğin gösterilmesi için kalibrasyon aralığına karşılık gelen 3 farklı konsantrasyonda (5 µg/mL, 50 µg/mL, 90 µg/mL) MH çözeltisi hazırlanmış ve 3 farklı günde 6 örnekle tekrarlanmıştır.

4.1.1.3 Doğruluk

Analitik yöntem validasyonunda doğruluk parametresi, analitik yöntemin gerçek değer veya kabul edilmiş olan referans değere yakınlığı olarak belirtilmiştir. Analitik yöntemde, belirtilen aralık boyunca doğruluk oluşturulmalıdır. Genel olarak belirlenen aralığın içinde yer alan üç farklı derişim, en az üçer örnek olmak üzere ölçüm yapılır. Sonuçlar %verim ve her seri için bağıl standart sapma olarak hesaplanmaktadır (Borman & Elder, 2017). Yapılan çalışmada doğruluğun belirlenebilmesi için 3 farklı derişimde (5 µg/mL, 50 µg/mL, 90 µg/mL) MH içeren çözeltiler hazırlanmıştır. Her bir çözelti için 6 kez ölçüm yapılmıştır.

4.1.1.4 Duyarlılık

Analitik yöntemlerde duyarlılık, numunede tespit edilebilen ancak kesin bir değer olarak verilemeyen en düşük madde miktarıdır. Tespit sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ) hesaplanarak değerlendirilmektedir.

LOD, standart madde sinyalinin gürültüden ayrılabilmesi için gerekli olan en düşük madde derişimi olarak tanımlanmaktadır. Analitik yöntemde kullanılan cihaza bağlı olarak değerin belirlenmesinde farklı yöntemler bulunmaktadır. Bu yöntemler arasında görsel değerlendirme, sinyal-gürültü oranı ve elde edilen cevap ile eğimin standart sapması yer almaktadır (Borman & Elder, 2017).

LOD değeri ICH kılavuzunda yer alan denklem (4.1)'e göre hesaplanır.

$$LOD = C \times \frac{3}{S/N} \quad (4.1)$$

Denklem (4.1)'deki C , analitin derişimini S/N ise sinyal-gürültü oranını göstermektedir (Borman & Elder, 2017).

LOQ, analitik yöntemde standart maddenin miktarının güvenilir bir şekilde belirlenebildiği en düşük değeri ifade etmektedir. LOD değerinin belirlenmesi için kullanılan yöntemler, LOQ için de uygulanabilir.

LOQ, uygun doğruluk ve kesinlik ile niceliksel olarak belirlenebilir. Bu değer ICH kılavuzunda yer alan denklem (4.2) ile hesaplanabilir.

$$LOQ = C \times \frac{10}{S/N} \quad (4.2)$$

Denklem (4.2) 'deki C , analitin derişimini S/N ise sinyal-gürültü oranını göstermektedir (Borman & Elder, 2017).

4.1.1.5 Seçicilik

Seçicilik analitik yöntemin sadece amaçlanan maddeyi tespit edebilme yeteneğidir. Analiz, ortamdaki diğer maddelerin oluşturabileceği girişimlerden etkilenmemelidir. Bileşiminde çok fazla maddenin yer aldığı numunelerin analizi sırasında istenilen

maddenin herhangi bir girişim olmadan tespit edilmesi gerekmektedir (Borman & Elder, 2017).

Yapılan çalışmada yöntem seçiciliği için etkin madde içermeyen formülasyonlar (plasebo), miktar tayininde kullanılan çözücüler ve formülasyon geliştirmek için kullanılan bütün maddeler kullanılmıştır. Elde edilen kromatogramlardan formülasyonlardaki diğer bileşenlerin girişiminin MH'nin seçiciliğine etkisi incelenmiştir.

4.1.1.6 Kararlılık

Analitik yöntemin kararlılığı etkin maddenin çözünme ortamlarında bozulup bozulmadığının gösterilmesi ve yöntemin tekrar uygulanabilirliğinin gösterilmesi açısından gereklidir. Örnek hazırlama süreçlerinde etkin maddede gözlenen herhangi bir bozulma analitik yöntemin doğruluğuna zarar verebilmektedir (Borman & Elder, 2017).

MH'nin *in vitro* salım ortamlarındaki kararlılığı incelenmiştir. HCl çözeltisi (pH: 1,2) ve fosfat tampon (pH:6,8) çözeltisindeki kararlılığı 3 gün süreyle incelenmiştir (n=3). Çözeltiler hazırlandıktan sonra YBSK cihazı ile analiz edildikten 3 gün sonra tekrar analiz edilmiş ve bulgular değerlendirilmiştir.

4.2 Ön Formülasyon Çalışmaları

4.2.1 Metformin HCl ile yapılan analizler

4.2.1.1 Termal analiz

MH için (5 mg) termal analiz diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC) cihazı (DSC-60, Shimadzu Scientific Instruments, Columbia, MI, ABD) kullanılarak, basınçla kapatılmış alüminyum örnek kabında, 50 mL/dk azot gazı akış hızı, 10 °C/dk sıcaklık artışı ile 30-300 °C aralığında alüminyum referansa karşı gerçekleştirilmiş ve termogram elde edilmiştir. Alınan termogram etkin maddenin formülasyon basamaklarından etkilenip etkilenmediğinin belirlenmesi amacı ile sonraki analizlerde referans olarak değerlendirilmiştir.

4.2.1.2 Fourier dönüşümlü kızıl ötesi analizi

MH için Fourier dönüşümlü kızıl ötesi (FTIR) analizi (IR Prestige- 21 Shimadzu, Tokyo, Japonya) 4000-400 cm⁻¹ dalga boyu aralığında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen spektrum

etkin maddenin formülasyon basamaklarından etkilenip etkilenmediğinin belirlenmesi amacı ile sonraki analizlerde referans olarak değerlendirilmiştir.

4.2.1.3 Nükleer manyetik rezonans analizi

MH etkin maddesinin yapısal özellikleri, nükleer manyetik rezonans (^1H -NMR) analiz cihazında (Ultra-Shield™ CPMAS NMR, Bruker, Rheinstetten, Almanya) 25 °C’de, çözücü olarak döterodimetil sülfoksit kullanılarak araştırılmıştır. Saf maddeye ait ^1H -NMR spektrumu etkin maddenin formülasyon basamaklarından etkilenip etkilenmediğinin belirlenmesi amacı ile sonraki analizlerde referans olarak değerlendirilmiştir.

4.2.2 Polimerler ile yapılan çalışmalar

4.2.2.1 S β CD’ye ait analizler

4.2.2.1.1 Termal analiz

S β CD’nin (5 mg) termal analizi basınç yardımıyla kapatılmış alüminyum örnek kabında, 50 mL/dk azot gazı akış hızı, 10 °C/dk sıcaklık artışı ile 30-300 °C aralığında alüminyum referansa karşı gerçekleştirilmiş ve polimere ait termogram DSC analiz cihazı ile elde edilmiştir. S β CD’ye ait termogram sonraki analizlerde referans olarak değerlendirilmiştir.

4.2.2.1.2 Fourier dönüşümlü kızıl ötesi analizi

S β CD’nin FT-IR analizi, 4000-400 cm^{-1} dalga boyu aralığında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen S β CD’ye ait FT-IR spektrumu sonraki analizlerde referans olarak kullanılmıştır.

4.2.2.1.3 Nükleer manyetik rezonans analizi

S β CD’nin yapısal özellikleri ^1H -NMR analiz yöntemi ile, 25 °C’de, çözücü olarak D-DMSO kullanılarak araştırılmıştır. Saf polimere ait ^1H -NMR analiz spektrumu sonraki analizlerde referans olarak değerlendirilmiştir.

4.2.2.2 H β CD’ye ait analizler

4.2.2.2.1 Termal analiz

H β CD’nin (5 mg) termal analizi basınç yardımıyla kapatılmış alüminyum örnek kabında, 50 mL/dk azot gazı akış hızı, 10 °C/dk sıcaklık artışı ile 30-300 °C aralığında alüminyum

referansa karşı yapılmış ve polimere ait termogram DSC cihazı ile elde edilmiştir. H β CD'ye ait termogram sonraki analizlerde referans olarak kullanılmıştır.

4.2.2.2.2 *Fourier dönüşümlü kızıl ötesi analizi*

H β CD'nin FT-IR analizi, 4000-400 cm⁻¹ dalga boyu aralığında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen H β CD'ye ait FT-IR spektrumu sonraki analizlerde referans olarak kullanılmıştır.

4.2.2.2.3 *Nükleer manyetik rezonans analizi*

H β CD'nin yapısal özellikleri ¹H-NMR analiz yöntemi ile, 25 °C'de, çözücü olarak D-DMSO kullanılarak araştırılmıştır. Saf polimere ait ¹H-NMR analiz spektrumu sonraki analizlerde referans olarak değerlendirilmiştir.

4.2.2.3 *M β CD'ye ait analizler*

4.2.2.3.1 *Termal analiz*

M β CD'nin (5 mg) termal analizi basınç yardımıyla kapatılmış alüminyum örnek kabında, 50 mL/dk azot gazı akış hızı, 10 °C/dk sıcaklık artışı ile 30-300 °C aralığında alüminyum referansa karşı gerçekleştirilmiş ve polimere ait termogram DSC analiz cihazı ile elde edilmiştir. M β CD'ye ait termogram sonraki analizlerde referans olarak değerlendirilmiştir.

4.2.2.3.2 *Fourier dönüşümlü kızıl ötesi analizi*

M β CD'nin FT-IR analizi, 4000-400 cm⁻¹ dalga boyu aralığında gerçekleştirilmiştir. M β CD'ye ait FT-IR spektrumu sonraki analizlerde referans olarak kullanılmıştır.

4.2.2.3.3 *Nükleer manyetik rezonans analizi*

M β CD'nin yapısal özellikleri ¹H-NMR analiz yöntemi ile, 25 °C'de, çözücü olarak D-DMSO kullanılarak araştırılmıştır. Saf polimere ait ¹H-NMR analiz spektrumu sonraki analizlerde referans olarak değerlendirilmiştir.

4.2.2.4 *PMA'ya ait analizler*

4.2.2.4.1 *Termal analiz*

PMA'nın (5 mg) termal analizi basınç yardımıyla kapatılmış alüminyum örnek kabında, 50 mL/dk azot gazı akış hızı, 10 °C/dk sıcaklık artışı ile 30-300 °C aralığında alüminyum referansa karşı gerçekleştirilmiş ve polimere ait termogram DSC analiz cihazı ile elde

edilmiştir. M β CD'ye ait termogram sonraki analizlerde referans olarak değerlendirilmiştir.

4.2.2.4.2 Fourier dönüşümlü kızıl ötesi analizi

PMA'nın FT-IR analizi, 4000-400 cm⁻¹ dalga boyu aralığında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PMA'ya ait FT-IR spektrumu sonraki analizlerde referans olarak kullanılmıştır.

4.2.2.4.3 Nükleer manyetik rezonans analizi

PMA'nın yapısal özellikleri ¹H-NMR analiz yöntemi ile, 25 °C'de, çözücü olarak D-DMSO kullanılarak araştırılmıştır. Saf polimere ait ¹H-NMR analiz spektrumu sonraki analizlerde referans olarak değerlendirilmiştir.

4.2.2.5 Eudragit® FS 100'e ait analizler

4.2.2.5.1 Termal analiz

FS'nin (5 mg) termal analizi basınç yardımıyla kapatılmış alüminyum örnek kabında, 50 mL/dk azot gazı akış hızı, 10 °C/dk sıcaklık artışı ile 30-300 °C aralığında alüminyum referansa karşı gerçekleştirilmiş ve polimere ait termogram DSC analiz cihazı ile elde edilmiştir. FS'ye ait termogram sonraki analizlerde referans olarak değerlendirilmiştir.

4.2.2.5.2 Fourier dönüşümlü kızıl ötesi analizi

FS'nin FT-IR analizi, 4000-400 cm⁻¹ dalga boyu aralığında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen FS'ye ait FT-IR spektrumu sonraki analizlerde referans olarak kullanılmıştır.

4.2.2.5.3 Nükleer manyetik rezonans analizi

FS'nin yapısal özellikleri ¹H-NMR analiz yöntemi ile, 25 °C'de, çözücü olarak D-DMSO kullanılarak araştırılmıştır. Saf polimere ait ¹H-NMR analiz spektrumu sonraki analizlerde referans olarak değerlendirilmiştir.

4.3 Siklodekstrin Kompleks Formülasyon Çalışmaları

Formülasyon çalışmaları için H β CD (1460 g/mol), M β CD (1310 g/mol) ve S β CD (1451,3 g/mol) türevleri seçilmiştir. Formülasyon çalışmaları için literatür taramaları doğrultusunda kompleksleşmenin en uygun olduğu molar oran (1:1) seçilmiştir (Roselet & Kumari, 2015, 2020; Kaur vd., 2019).

Siklodekstrin kompleksleri hazırlamak için liyofilizasyon yöntemi kullanılmıştır (Erdoğan vd., 2020). Kısaca Tablo 4.2'de belirtilen miktarlarda siklodekstrinler ve MH

ayrı ayrı suda çözündürüldükten sonra 1:1 molar oranda birleştirilmiştir. Sonrasında 3 gün boyunca yatay çalkalayıcıda karıştırılarak kompleksleşme sürecinin ardından dondurarak kurutma yöntemiyle (-60 °C’de, vakum altında 2 günlük kurutma süresi) kompleksler elde edilmiştir.

Tablo 4.2

Siklodekstrin formülasyonlarının içeriği

KODU	MH (mg)	SβCD (mg)	HβCD (mg)	MβCD (mg)
SBE0	-	1753	-	-
SBE1	200	1753	-	-
HCD0	-	-	1763	-
HCD1	200	-	1763	-
MCD0	-	-	-	1582
MCD1	200	-	-	1582

4.3.1 Siklodekstrin komplekslerin karakterizasyon çalışmaları

4.3.1.1 Morfolojik İnceleme

Formülasyonların morfolojik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla taramalı elektron mikroskobu (SEM, Carl Zeiss SUPRA 50VP, Oberkochen, Almanya) kullanılmıştır.

4.3.1.2 Termal Analiz

Siklodekstrin komplekslerin (5 mg) termal analizi basınç yardımıyla kapatılmış alüminyum örnek kabında, 50 mL/dk azot gazı akış hızı, 10 °C/dk sıcaklık artışı ile 30-300 °C aralığında alüminyum referansa karşı gerçekleştirilmiş ve formülasyonlara ait termogram DSC analiz cihazı ile elde edilmiştir.

4.3.1.3 Fourier dönüşümlü kızıl ötesi analizi

Siklodekstrin komplekslerin FT-IR analizi, 4000-400 cm⁻¹ dalga boyu aralığında gerçekleştirilmiştir. Saf maddenin ve polimerlerin FT-IR spektrumları, analiz sonuçlarının değerlendirilmesinde referans olarak kullanılmıştır.

4.3.1.4 Nükleer manyetik rezonans analizleri

Formülasyonların yapısal özellikleri, moleküller arası veya molekül içi değişimleri, ¹H-NMR analizi ile, 25±2 °C’de, formülasyonların çözünürlüğüne göre, çözücü olarak D-

DMSO kullanılarak analiz edilmiştir. Saf maddenin ve polimerlerin $^1\text{H-NMR}$ spektrumları, analiz sonuçlarının değerlendirilmesinde referans alınmıştır.

4.3.1.5 Miktar tayini

Siklodekstrin komplekslerdeki MH miktarı Tablo 4.1’de yer alan analiz şartlarında YBSK yöntemi ile tespit edilmiştir. Siklodekstrin kompleksler suda çözündürülmüş ve gerekli seyreltmeler yapıldıktan sonra analizler gerçekleştirilmiştir. Her bir formülasyon için işlem üç kez tekrar edilmiştir. Formül içindeki etkin madde miktarının toplam formül miktarına oranının yüzdesi %EM kısaltmasıyla sonuç kısmında verilmiştir.

4.3.1.6 *In vitro* salım çalışması ve salım kinetikleri

Siklodekstrin komplekslerin salım çalışması, suni mide (pH:1,2) ve İngiliz Farmakopesi (BP)’nde belirtilen fosfat tampon ortamı (pH 6,8) olmak üzere iki farklı salım ortamında gerçekleştirilmiştir (Pan vd., 2015; Zhao vd., 2012). Suni mide ortamı için 3 gram NaCl 1450 mL distile suda çözündürülüp hidroklorik asit ile pH:1,2’ye ayarlandıktan sonra 1500 mL’ye tamamlanmıştır (Pan vd., 2015). Fosfat tampon için ise 1 g KH_2PO_4 , 1,63 g K_2HPO_4 ve 8,5 g NaCl tartılıp bir miktar distile suda çözündürüldükten sonra distile suyla 1000 mL’ye tamamlanmıştır.

Salım çalışmaları yapılacak siklodekstrin kompleksler, sink koşul sağlanacak şekilde, 40 mL ortam içeren erlene, diyaliz membran içinde koyularak manyetik karıştırıcı yardımıyla 37 ± 1 °C’de, 150 rpm karıştırma hızı altında salım çalışmaları gerçekleştirilmiştir (n=3). Önceden belirlenen zaman aralıklarında (15 dk., 30 dk., 45 dk., 1sa., 1,5 sa. ve 2 sa.) 1 mL örnek alınmış ve gerekli seyreltmeler yapılarak MH miktarları YBSK yöntemi ile belirlenmiştir.

Salım kinetiklerinin değerlendirilmesi DDSolver eklentisi ile Excel programı üzerinden yapılmıştır. Eklentiden elde edilen 6 farklı salım modeline ait sabit (k), regresyon katsayısı (r^2), Akaike bilgi kriteri (AIC) ve model seçim kriteri (MSC) parametrelerine göre en uygun salım kinetiği seçilmiştir (Y. Zhang vd., 2010).

4.4 Mikropartikül Formülasyon Çalışmaları

Formülasyon çalışmaları için hazırlanan siklodekstrin kompleksler PMA ile kullanılarak mikropartiküller geliştirilmiştir. Kısaca Tablo 4.3’te yer alan miktarlarda maddeler tartılarak 100 mL distile suda veya çözücü karışımında çözündürülmüştür. Hazırlanan

çözelti 190 °C iç sıcaklık, 85 °C dış sıcaklık, %100 aspiratör 1,5±0,2 mL/dk besleme hızı ile şartlandırılan 0,7 µm çapında üflece sahip püskürterek kurutma (Büchi B190) cihazında mikropartiküller elde edilmiştir.

Tablo 4.3

Mikropartikül formülasyonlarının içeriği

KODU	MH (mg)	SβCD (mg)	HβCD (mg)	MβCD (mg)	PMA (mg)	FS (mg)
SP0	-	1000	-	-	1000	-
SP1	102,4	897,6	-	-	1000	-
HP0	-	-	1000	-	1000	-
HP1	101,9	-	898,1	-	1000	-
MP0	-	-	-	1000	1000	-
MP1	112,2	-	-	887,8	1000	-
FP0	-	-	-	-	500	500
FP1	100	-	-	-	500	500
FP2	200	-	-	-	500	500
F0	-	-	-	-	-	1000
F1	100	-	-	-	-	1000
F2	200	-	-	-	-	1000
P0	-	-	-	-	1000	-
P1	100	-	-	-	1000	-
P2	200	-	-	-	1000	-
FS0	-	-	-	-	-	1000
FS1	100	-	-	-	-	1000
FS2	200	-	-	-	-	1000

Not: FS kodlu formülasyonlar için Aseton:Etanol:Distile su karışımı (75:20:5 h/h) çözücü olarak kullanılmıştır.

4.4.1 Mikropartiküllerin karakterizasyon çalışmaları

4.4.1.1 Morfolojik İnceleme

Formülasyonların morfolojik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla taramalı elektron mikroskobu (SEM, Carl Zeiss SUPRA 50VP, Oberkochen, Almanya) kullanılmıştır.

4.4.1.2 Termal Analiz

Formülasyonların (5 mg) termal analizi basınç yardımıyla kapatılmış alüminyum örnek kabında, 50 mL/dk azot gazı akış hızı, 10 °C/dk sıcaklık artışı ile 30-300 °C aralığında alüminyum referansa karşı gerçekleştirilmiş ve formülasyonlara ait termogram DSC analiz cihazı ile elde edilmiştir.

4.4.1.3 Fourier dönüşümlü kızıl ötesi analizi

Formülasyonların FT-IR analizi, 4000-400 cm⁻¹ dalga boyu aralığında gerçekleştirilmiştir. Saf maddenin ve polimerlerin FT-IR spektrumları, analiz sonuçlarının değerlendirilmesinde referans olarak kullanılmıştır.

4.4.1.4 Nükleer manyetik rezonans analizleri

Formülasyonların yapısal özellikleri, moleküller arası veya molekül içi değişimleri, ¹H-NMR analizi ile, 25±2 °C’de, formülasyonların çözünürlüğüne göre, çözücü olarak DMSO kullanılarak analiz edilmiştir. Saf maddenin ve polimerlerin ¹H-NMR spektrumları, analiz sonuçlarının değerlendirilmesinde referans alınmıştır.

4.4.1.5 Parçacık boyut dağılımı ve Zeta potansiyeli

Hazırlanan formülasyonlarının parçacık büyüklüğü ve dağılımı dinamik ışık saçılımı yöntemiyle tespit edilmiştir. Zeta potansiyel değerleri, 25°C sıcaklıkta zeta hücreleri kullanılarak ve formülasyonların distile suyla seyreltilmesiyle Malvern Zetasizer cihazında ölçülmüştür (n=6).

4.4.1.6 Miktar tayini

Mikropartiküllerdeki MH miktarı Tablo 4.1’de yer alan analiz şartlarında YBSK yöntemi ile tespit edilmiştir. Partiküller suda çözündürülmüş ve gerekli seyreltmeler yapıldıktan sonra analizler gerçekleştirilmiştir. Her bir formülasyon için işlem üç kez tekrar edilmiştir. Formül içindeki etkin madde miktarının toplam formül miktarına oranının yüzdesi %EM kısaltmasıyla sonuç kısmında verilmiştir.

4.4.1.7 *İn vitro* salım çalışması ve salım kinetikleri

Formülasyonların salım çalışması, suni mide (pH:1,2) ve İngiliz Farmakopesi (BP)'nde belirtilen fosfat tampon ortamı (pH 6,8) olmak üzere iki farklı salım ortamında gerçekleştirilmiştir (Pan vd., 2015; Zhao vd., 2012). Suni mide ortamı için 3 gram NaCl 1450 mL distile suda çözündürülüp hidroklorik asit ile pH:1,2'ye ayarlandıktan sonra 1500 mL'ye tamamlanmıştır (Pan vd., 2015). Fosfat tampon için ise 1 g KH_2PO_4 , 1,63 g K_2HPO_4 ve 8,5 g NaCl tartılıp bir miktar distile suda çözündürüldükten sonra distile suyla 1000 mL'ye tamamlanmıştır.

Salım çalışmaları yapılacak mikropartiküller, sink koşul sağlanacak şekilde, 40 mL ortam içeren erlene, diyaliz membran içinde koyularak manyetik karıştırıcı yardımıyla 37 ± 1 °C'de, 150 rpm karıştırma hızı altında salım çalışmaları gerçekleştirilmiştir (n=3). Önceden belirlenen zaman aralıklarında (15 dk., 30 dk., 45 dk., 1 sa., 1,5 sa. ve 2 sa.) 1 mL örnek alınmış ve gerekli seyreltmeler yapılarak MH miktarları YBSK yöntemi ile belirlenmiştir.

Salım kinetiklerinin değerlendirilmesi DDSolver eklentisi ile Excel programı üzerinden yapılmıştır. Eklentiden elde edilen 6 farklı salım modeline ait sabit (k), regresyon katsayısı (r^2), Akaike bilgi kriteri (AIC) ve model seçim kriteri (MSC) parametrelerine göre en uygun salım kinetiği seçilmiştir (Y. Zhang vd., 2010).

4.5 Hücre Kültürü Çalışmaları

Tez kapsamında MH ve seçilen formülasyonların hücre canlılığı üzerine etkileri MTT çalışması ile değerlendirilmiştir. MTT yöntemi Tim Mosmann tarafından ilk kez kullanılmıştır (Mosmann, 1983). Hücre üretim yöntemi amacının yanı sıra kemoterapötik ilaçların etkisini kanser hücreleri üzerinde göstermek amacıyla kullanılmıştır. Sitotoksitenin ve hücre üremesinin kantitatif ölçümünü gerçekleştiren bu yöntem, mitokondri aktivitesi varlığında MTT [Thiazolyl Blue; 3-(4,5- Dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolum bromür] boyasındaki tetrazol halkasının, belirli enzimlerle tepkimeye girip suda çözünmeyen formazan kristallerini oluşturmaya dayanmaktadır. Bu boya, mitokondriyal aktiviteyle uygun solvan ilavesi sonrasında mor renge dönüşmekte, formazan kristallerinin yoğunluğuna bağlı olarak ortaya çıkan renk skalasına göre ölçüm gerçekleştirilmektedir. Canlı hücreler bulunmadığında formazan kristalleri gözlenmemektedir.

Bu doğrultuda önce MH 2.5 μ M – 50 μ M konsantrasyon aralığında süspansiyonları hazırlanmış ve bu derişimlerin formülasyona karşılık gelen miktarları hesaplanmıştır. Analizde tek başına MH ile, boş formülasyon ve yüklü formülasyonlar HUVEC (İnsan Göbek Kordonu Endotel Hücresi), A549 (*insan akciğer adenokarsinomu*) ve MCF-7 (İnsan meme kanseri) hücrelerine uygulanarak 24 - 48 saatlik canlılık değerleri belirlenmiştir. Analizler grupların ilgili hücrelerin canlılığı üzerindeki etkisi zamana ve derişime göre değerlendirilmiş ve sonuçlar istatistiksel analizlerle birlikte grafikler üzerinde gösterilmiştir. Analizler 3 tekrar üzerinden yapılmış ve sonuçlar Graphpad Prism 9.0 programıyla işlenerek formülasyonların hücreler üzerinde gösterdiği IC50 değerleri de hesaplanmıştır.

Yöntem kısaca; 96 kuyucuklu mikrolakalara her kuyucuk içine 1×10^4 hücre olacak şekilde besiyeriyle hücre ekilmiştir. Ekim sonrasında hücreler 24 saat boyunca inkübe edilerek plaka tabanına yapışmaları sağlanmış, 24 saat sonrasında besiyeri uzaklaştırılarak 2.5 μ M – 50 μ M konsantrasyon aralığında hazırlanan formülasyon ve saf etkin madde maddeler 100 μ L besiyeri içinde hazırlanarak hücreler üzerine eklenmiştir. İlave 24 saat ve 48 saat inkübasyonun ardından her bir inkübasyon süresi sonunda, bütün kuyucuklara 20 μ L olacak şekilde stok MTT çözeltisinden (5 mg/mL) eklenerek 3 saat boyunca inkübe edilmiştir. Boya ile inkübasyon süresi sonunda formazan kristallerinin çözünebilmesi için 200 μ L DMSO eklenmiştir. 15 dk etüvde ek bir inkübasyon sonrasında plakalardaki renk değişimleri (absorbansları) çoklu mikrolaka okuyucusu ile 570 nm dalga boyunda okunmuştur. Okunan absorbanslar hiçbir madde uygulanmamış sadece besiyeri ile muamele edilmiş kuyucuklarda okunan absorbanslar ile karşılaştırılarak % değer hesaplanmış ve grafiğe dökülmüştür. 24 ve 48 saatlik analizler sonucunda hücre canlılığını yarıya düşüren inhibitör konsantrasyonu (IC50) değerleri belirlenmiştir.

4.6 Kararlılık Çalışmaları

Kararlılık çalışmaları hücre kültüründen elde edilen sonuçlara göre seçilen formülasyonlarla devam edilmiştir. Oda sıcaklığında saklanan formülasyonlara miktar tayini testleri uygulanmış ve sonuçlar kaydedilmiştir. YBSK cihazında yapılan analizler 0. ve 3. Ay için yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar % etkin madde oranı (a/a) olarak belirtilmiştir. Her bir formülasyon için çalışmalar 3 kez tekrarlanmıştır.

4.7 *In Vivo* Farmakodinamik Çalışmalar

4.7.1 Sıçanlarda deneysel diyabetin oluşturulması

Deneysel Tip II diyabet modeli, Masiello ve arkadaşlarının (Masiello vd., 1998) tanımladığı protokol esas alınarak oluşturulmuştur. Deney hayvanları gece boyunca aç bırakıldıktan sonra, ilk olarak %0,9'luk NaCl içerisinde çözülmüş nikotinamid (120 mg/kg, i.p.) uygulanmıştır. Nikotinamid enjeksiyonundan 15 dakika sonra, 0.1 M sodyum sitrat tamponunda (pH 4.5) çözülmüş streptozotosin (STZ; 60 mg/kg, i.p.) enjekte edilmiştir (Mathur vd., 2021; M. F. Khan vd., 2022).

Hipoglisemi gelişimini önlemek amacıyla, ilaç uygulamalarının ardından hayvanların içme sularına %10'luk glikoz çözeltisi eklenmiştir. Diyabetik fenotipin doğrulanması için uygulamalardan üç gün sonra, 12 saatlik açlık sonrasında kuyruk venlerinden kan örnekleri alınmıştır. Kan glikoz seviyeleri Lifecek Stick TD-4287 glukometre cihazı ile ölçülmüş ve ≥ 250 mg/dL değerine ulaşan sıçanlar Tip II diyabetli kabul edilmiştir (Mathur vd., 2021; M. F. Khan vd., 2022). Bu değer altındaki kalan hayvanlar çalışmaya dahil edilmemiştir. Dehidratasyonu önlemek amacıyla tüm gruplara düzenli olarak subkutan yolla serum fizyolojik (15 mL/gün, s.c.) uygulanmıştır.

4.7.2 Deney gruplarının oluşturulması ve ilaç uygulamaları

Çalışmaya dâhil edilen hayvanlar, suya serbest erişimleri sağlanarak bir gece boyunca aç bırakılmıştır. Yaklaşık 12 saatlik açlık süresinin ardından kontrol solüsyonu (serum fizyolojik), MH ve MH yüklü üç farklı formülasyon sıçanlara yedi gün boyunca oral gavaj yoluyla uygulanmıştır. MH'in günlük dozu 25 mg/kg olarak belirlenmiştir (Pandit vd., 2013; Mokhtare vd., 2017). Deney grupları (1) kontrol grubu, (2) MH grubu (3) MH yüklü FS partikülleri (F2), (4) MH yüklü polianhidr partikülleri (P2), (5) MH yüklü PMA-FS partikülleri (FP2) şekilde düzenlenmiştir ve her bir deney grubunda 8 adet sıçan bulunmaktadır.

4.7.3 Kan örneklerinin alınması ve biyokimyasal analizler

Yedi günlük uygulama süresinin sonunda sıçanlara ketamin (100 mg/kg, i.p.) ve ksilazin (5 mg/kg, i.p.) kombinasyonu ile genel anestezi uygulanmıştır (Demir Özkay vd., 2017). Anesteziyi takiben kardiyak ponksiyon yöntemiyle kan örnekleri alınmıştır.

Sıçanların açlık kan glikoz düzeyleri, 12 saatlik açlık periyodunun ardından kuyruk veninden alınan kan örneklerinde Lifecek Stick TD-4287 glukometre cihazı kullanılarak ölçülmüştür. Elde edilen tam kan örneklerinde hemoglobin A1c (HbA1c) düzeylerinin tayini immünotürbidimetrik yöntem kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Tokgöz Tekin, 2025). Kan örnekleri uygun koşullarda toplanmış, EDTA içeren tüplere aktarılmış ve buzdolabında (-20 °C) bekletilmiştir. Analiz öncesinde ise oda sıcaklığına ulaşınca kadar bekletilmiştir. HbA1c tayini, duyarlılaştırılmış lateks partikülleri ile gerçekleştirilen aglütinasyon esasına dayandırılmıştır. Bu yöntemde, örnekte bulunan toplam hemoglobin lateks partiküllerinin yüzeyine bağlanmıştır. Daha sonra, örneğe özgül anti-sıçan HbA1c antikor eklenmiş ve HbA1c ile reaksiyon oluşturulmuştur. Meydana gelen antijen–antikor kompleksleri, ilave edilen anti-IgG antikor aracılığıyla aglütinasyona uğratılmıştır. Oluşan aglütinasyonun yoğunluğu türbidimetrik olarak ölçülmüş ve sonuçlar, önceden hazırlanmış standart çözeltilerden elde edilen kalibrasyon eğrisi ile karşılaştırılarak HbA1c yüzdesi (% HbA1c) şeklinde ifade edilmiştir.

4.7.4 İstatistiksel analiz

İstatistiksel değerlendirmeler GraphPad Prism yazılımı (sürüm 8.4.3) kullanılarak yapılmıştır. Kan glikozu ölçümlerine ait veriler tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile analiz edilmiş, gruplar arası farklılıkların belirlenmesinde ise Tukey'nin HSD çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Bulgular “ortalama $\pm$ standart hata” biçiminde sunulmuş ve $p < 0.05$ değeri anlamlılık eşiği olarak kabul edilmiştir. Çalışmada yer alan grafiksel gösterimler de aynı yazılım aracılığıyla hazırlanmıştır.

5 BULGULAR VE TARTIŞMA

5.1 Analitik Yöntem Geliştirme ve Validasyon Çalışmaları

Etkin maddenin miktarını tespit etmeyi gerektiren çalışmalar için YBSK cihazı kullanılarak analitik yöntem validasyonu yapılmıştır. Amerikan Farmakopesi'ndeki yöntem küçük değişikliklerle kullanılmıştır (Umapathi vd., 2012).

5.1.1 Analitik miktar tayini için validasyon çalışması

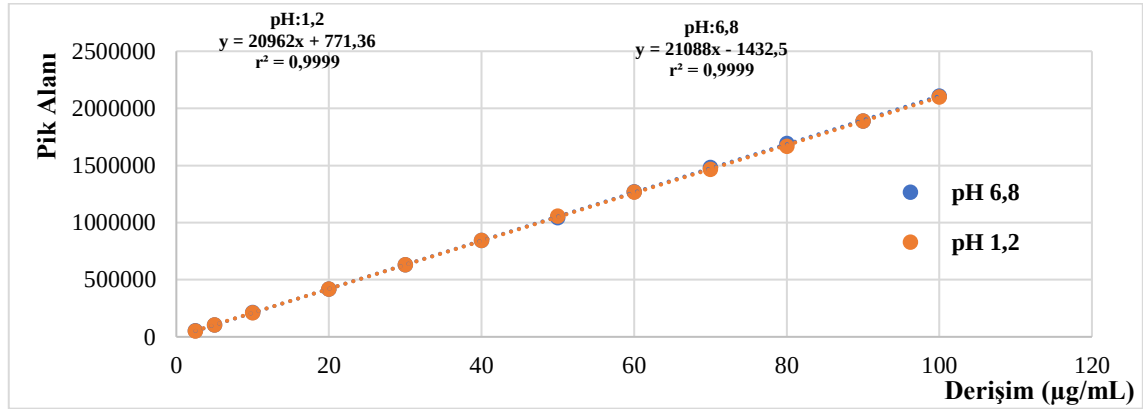
Bu çalışmada Uluslararası Harmonizasyon Kongresi'nin "Analitik İşlem Validasyon Yöntemi" kılavuzu kullanılmıştır (Borman & Elder, 2017). Analitik validasyon aşağıda yer alan parametrelere göre değerlendirilmiştir.

5.1.1.1 Doğrusallık

Bu çalışmada YBSK yönteminde kullanılacak olan MH ait standart eğrinin bulunması için 100 µg/mL derişime sahip stok çözelti pH:1,2 ve pH: 6,8 ortamlarında ayrı ayrı hazırlanmıştır. Stok çözeltden hareketle 2,5-100 µg/mL arasında derişimlere sahip 12 farklı numune elde edilmiştir. Analiz sonucunda MH derişimine karşılık gelen alan değeri belirlenmiştir.

Şekil 5.1

Doğrusallık grafiği (ortalama±standart hata, n=6)



5.1.1.2 Kesinlik

5, 50 ve 90 µg/mL derişimde hazırlanan 3 farklı MH çözeltileri (pH:1,2 ve pH:6,8 için ayrı ayrı) içinde hazırlanmıştır. Üç ayrı günde 6 tekrar olmak üzere her derişim analiz edilmiştir. Sonuçlar Doğrusallık çalışması sonucunda bulunan denklem kullanılarak derişim hesapları yapılmıştır. Sonuçların varyasyon katsayısı belirlenerek yöntemin kesinliği araştırılmıştır. Kesinlik çalışmasının sonuçları Tablo 5.1'de sunulmuştur.

Tablo 5.1*Kesinlik çalışması bulguları*

Kesinlik	1. Gün		2. Gün		3. Gün	
	pH:1,2	pH:6,8	pH:1,2	pH:6,8	pH:1,2	pH:6,8
5	5,171	5,031	4,958	4,982	4,928	4,978
	5,208	5,015	5,195	4,983	5,035	5,069
	5,199	5,034	5,111	4,977	5,172	5,085
	5,157	5,074	5,028	4,968	5,141	5,061
	4,848	5,068	5,095	4,989	5,187	5,076
	4,859	5,025	4,927	4,928	5,172	5,077
Ortalama	5,074	5,041	5,052	4,971	5,126	5,058
SS	0,156	0,022	0,092	0,020	0,089	0,036
VK	0,064	0,434	1,822	0,408	1,743	0,720
%95 GA	0,125	0,018	0,074	0,016	0,072	0,029
50	50,724	50,344	51,166	50,080	50,775	50,080
	50,597	50,197	51,070	49,937	50,900	49,937
	50,924	50,207	50,835	50,280	50,917	50,280
	50,860	50,147	50,911	49,695	50,828	49,695
	50,996	50,472	50,968	49,937	50,837	49,937
	50,782	50,220	51,120	49,738	50,489	49,738
Ortalama	50,814	50,265	51,012	49,945	50,791	49,945
SS	0,143	0,119	0,117	0,167	0,051	0,198
VK	0,281	0,237	0,229	0,334	0,101	0,397
%95 GA	0,114	0,096	0,094	0,134	0,041	0,159
90	91,390	90,584	90,646	90,138	90,990	90,253
	91,312	90,523	91,179	89,916	90,977	90,160
	91,371	90,536	91,154	89,965	90,965	89,651
	91,435	91,246	91,146	90,045	90,804	89,335
	91,398	90,399	90,949	89,987	90,979	90,044
	91,239	90,284	91,054	89,964	90,997	90,469
Ortalama	91,357	90,596	91,021	90,002	90,952	89,985
SS	0,040	0,300	0,202	0,072	0,070	0,345
VK	0,044	0,331	0,222	0,079	0,077	0,383
%95 GA	0,032	0,240	0,162	0,057	0,056	0,277

NOT: SS Standart sapma, VK Varyasyon katsayısı, GA Güven aralığı, ifadelerinin kısaltmasıdır

Kesinlik çalışmalarında kabul edilebilir sınır varyasyon katsayısının %2'den düşük olmasıdır. Analiz sonuçları değerlendirildiğinde her derişim için elde edilen verilerin kabul edilebilir sınırlar içinde yer aldığı görülmektedir (Borman & Elder, 2017).

5.1.1.3 Doğruluk

Kesinlik çalışmasının sonuçları Tablo 5.2'de sunulmuştur. Doğruluk çalışmaları için %geri kazanım öne çıkan bir parametredir. Bu değerin 100 ± 2 'nin içinde olması beklenmektedir (Borman & Elder, 2017). Veriler değerlendirildiğinde çalışmada kullanılan yöntemin geri kazanım değerlerinin tümünün 100 ± 2 sınırlarında olduğu tespit edilmiş ve yöntemin doğruluğu uygun bulunmuştur (Tablo 5.2).

Tablo 5.2
Doğruluk çalışması için hazırlanan seriler ve % geri kazanım bulguları

	5		50		90	
	pH:1,2	pH:6,8	pH:1,2	pH:6,8	pH:1,2	pH:6,8
Derişim ($\mu\text{g/mL}$)	5,157	5,069	50,426	50,197	91,312	90,399
	5,111	5,091	50,597	50,206	91,239	90,284
	5,028	4,989	50,909	50,240	90,646	90,045
	5,095	4,983	50,911	49,929	90,949	89,987
	5,035	5,061	50,793	50,080	90,965	89,335
	4,928	5,076	50,489	49,937	90,804	90,044
% Geri Kazanım	103,144	101,372	100,853	100,394	101,457	100,444
	102,223	101,812	101,195	100,413	101,377	100,316
	100,550	99,770	101,819	100,480	100,717	100,050
	101,892	99,654	101,821	99,857	101,054	99,985
	100,698	101,212	101,585	100,161	101,073	99,261
	98,562	101,516	100,977	99,873	100,894	100,049
Ortalama	101,178	100,889	101,375	100,197	101,095	100,017
SS	1,468	0,852	0,388	0,254	0,257	0,376
VK	1,451	0,845	0,383	0,254	0,254	0,376
%95 GA	1,175	0,682	0,311	0,203	0,206	0,301

5.1.1.4 Duyarlılık

LOD ve LOQ değerleri “4.1.1.4. Duyarlılık” başlığında yer alan Denklem (4.1) ve Denklem (4.2) ile hesaplanmış ve elde edilen veriler Tablo 5.3'te sunulmuştur.

Tablo 5.3*Duyarlılık çalışması bulguları*

5 µg/mL	pH:1,2		pH:6,8	
	Pik Yüksekliği	Gürültü	Pik Yüksekliği	Gürültü
1	5022	95	5026	85
2	5365	84	5018	63
3	5336	124	5097	56
4	5320	118	4953	81
5	5351	75	4962	58
6	5278	79	4864	69
Ortalama	5278,67	84	4986,67	68,67
LOD	0,27 µg/mL		0,21 µg/mL	
LOQ	0,90 µg/mL		0,69 µg/mL	

Validasyon çalışmaları için kullanılan en düşük derişim 2,5 µg/mL’dir. Tablo 5.3’te yer alan verilerden LOD ve LOQ değerlerinin (sırayla 0,27 ve 0,90 µg/mL ile 0,21-0,69 µg/mL) en küçük derişimden daha küçük değerler olması yöntemin duyarlılığının uygun olduğunu göstermektedir.

5.1.1.5 Kararlılık

Kararlılık çalışmasının sonuçları Tablo 5.4’te gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlar MH’nin *in vitro* salım ortamlarında 3 gün boyunca kararlı olduğunu göstermektedir.

Tablo 5.4*Kararlılık çalışması bulguları*

Zaman	%Kalan MH (pH:1,2)	%Kalan MH (pH:6,8)
Başlangıç	100,545±0,303	98,644±0,087
3. gün	101,342±0,508	98,362±0,331

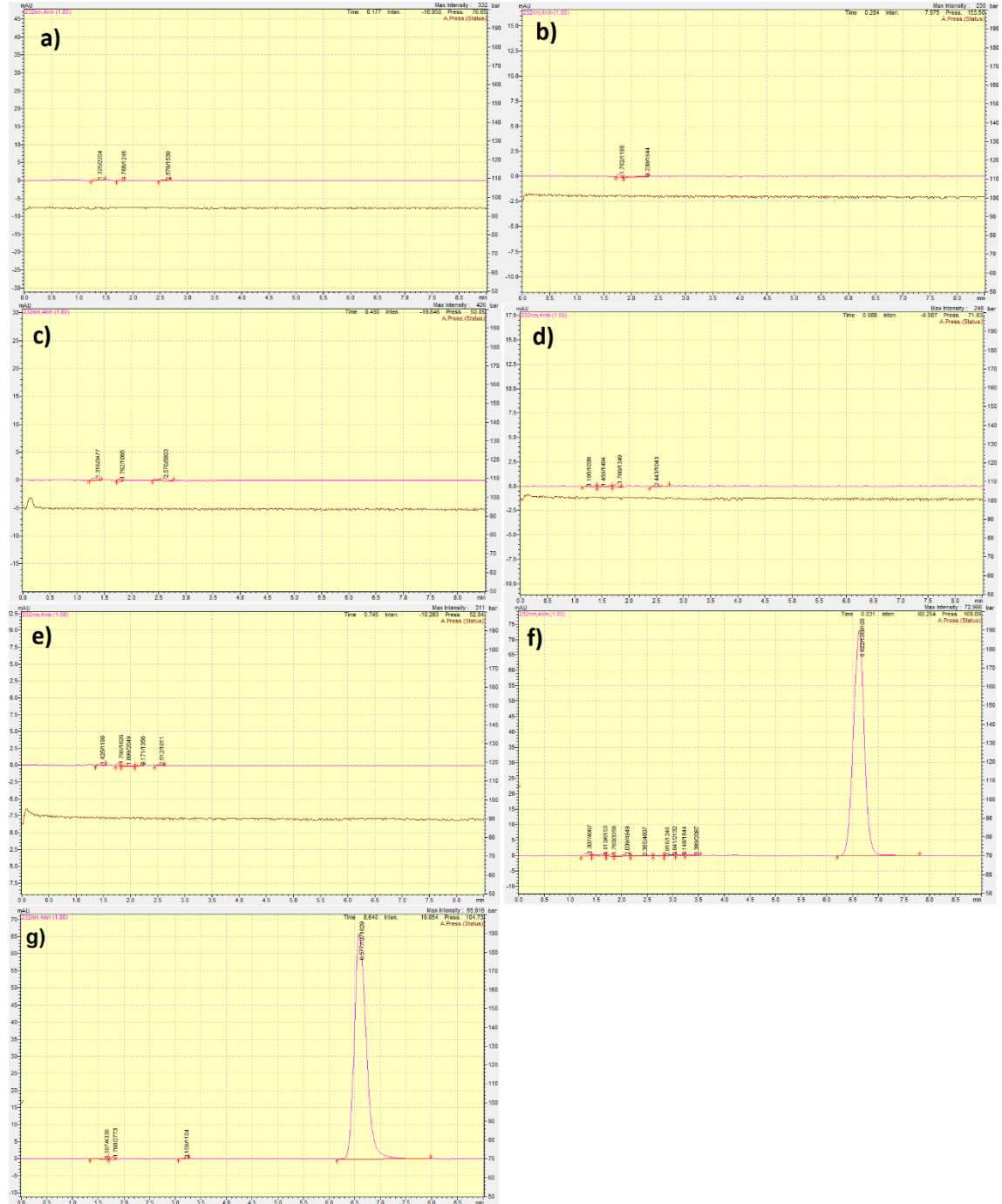
5.1.1.6 Seçicilik

Seçicilik çalışmasının sonuçları Şekil 5.2’de sunulmuştur. Çalışmada kullanılan polimerlerin ve çözücü ortamlarının MH ile herhangi bir girişim oluşturmadığı tespit

edilmiştir. Sonuçlar MH'nin kantitatif analizinde analitik yöntemin başarılı bir şekilde kullanılabilirliğini göstermektedir.

Şekil 5.2

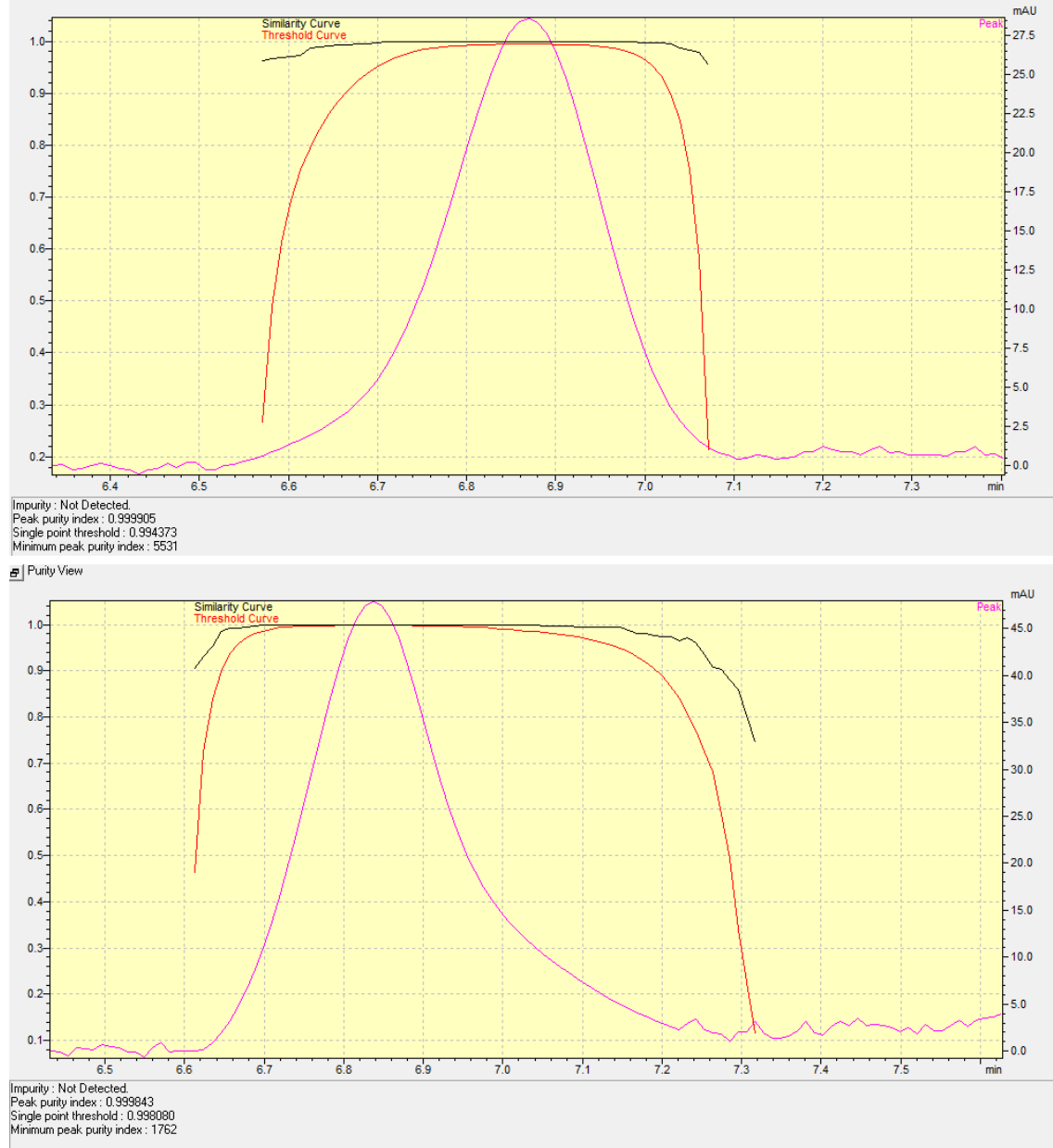
Seçicilik çalışması bulguları



NOT: a) pH 1,2 ortam, b) pH 6,8 ortam, c) siklodekstrinler karışımı, d) PMA-siklodekstrinler karışımı e) PMA, Eudragit karışımı, f) pH: 6,8 ortamda MH piki ve g) pH 1,2 ortamda MH piki

Şekil 5.2 (Devam)

Seçicilik çalışması bulguları



NOT: Pik saflık bulguları: pH: 6,8 ortamda MH piki (üstte) ve pH 1,2 ortamda MH piki (altta)

5.2 Ön Formülasyon Çalışmaları

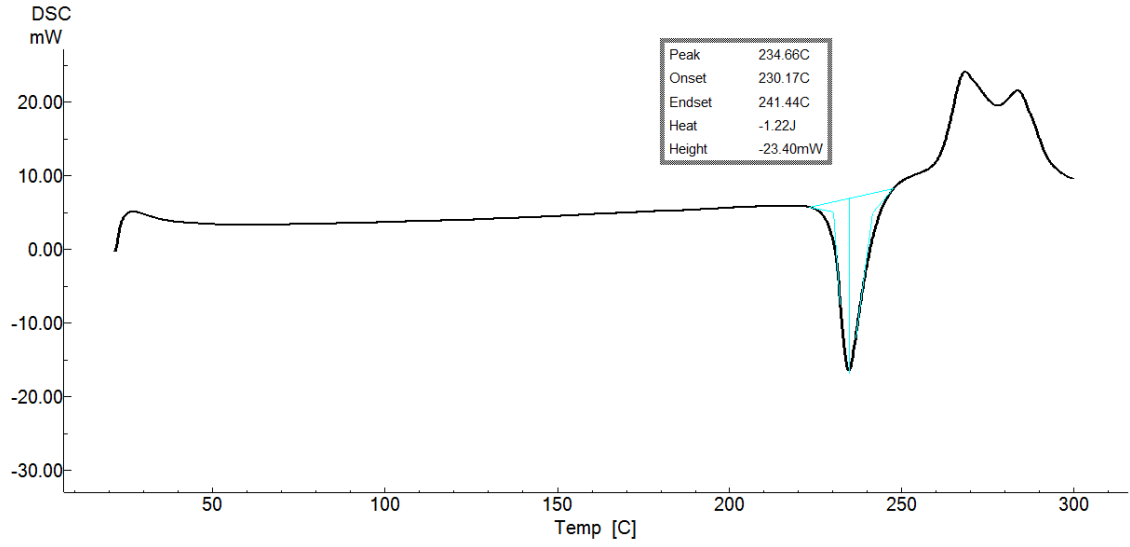
5.2.1 Metformin HCl ile yapılan çalışmalar

5.2.1.1 Termal analiz

MH etkin maddesinin erime piki 234 °C’de gözlenmiştir (Şekil 5.2). Veriler literatürle uyumlu bulunmuştur (Vaingankar & Amin, 2017). 250 °C’den sonra gözlenen ekzotermik dalgalanmalar literatürde de tespit edilmiştir (Arafat vd., 2023).

Şekil 5.3

MH'ye ait DSC termogramı

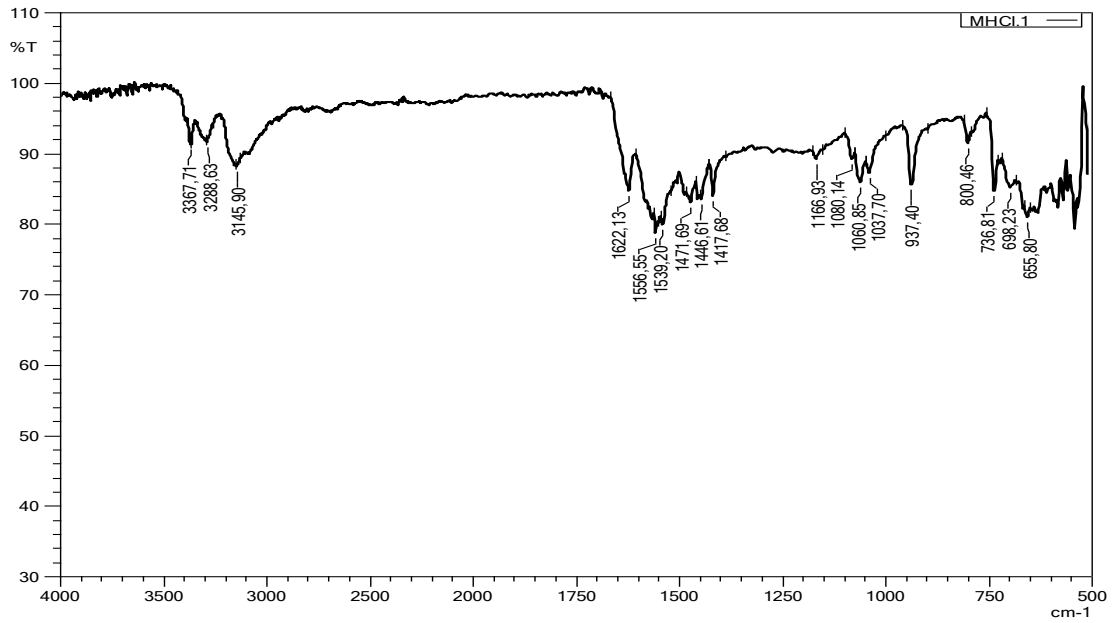


5.2.1.2 Fourier dönüştümlü kızıl ötesi analizi

MH'ye ait FT-IR spektrumu Şekil 5.4'te sunulmuştur. 3367 ve 3288 cm^{-1} 'de N-H gerilmelerine ait güçlü bir bant dikkat çekmektedir. 1622 cm^{-1} ve 1539 cm^{-1} 'deki karakteristik bantlar C=NH bağlarından kaynaklanırken 1446 cm^{-1} ve 1060 cm^{-1} sinyalleri C-H bağlarına işaret etmektedir (Gumieniczek vd., 2019).

Şekil 5.4

MH'ye ait FT-IR spektrumu

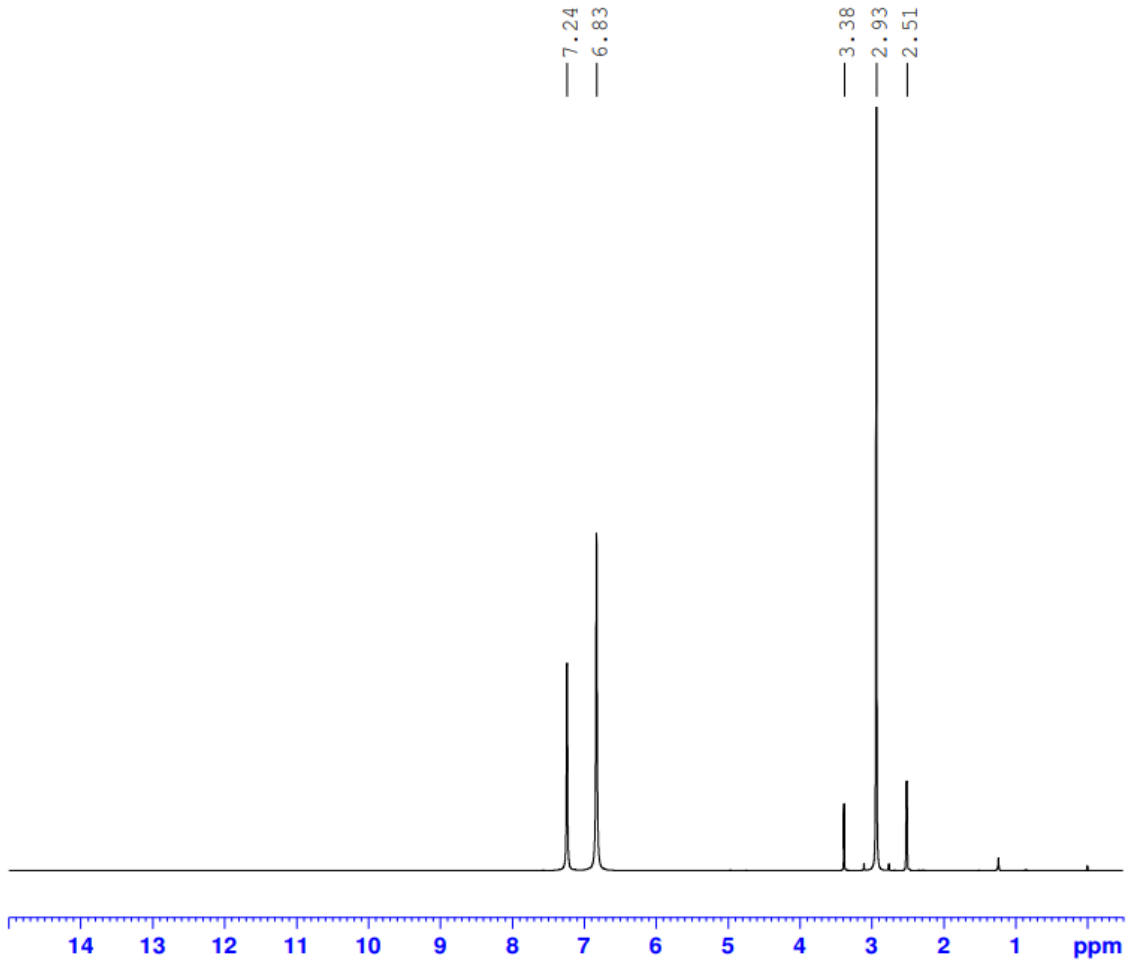


5.2.1.3 Nükleer manyetik rezonans analizi

MH ^1H -NMR spektrumu Şekil 5.5'te verilmiştir. CH_3 gruplarının hidrojenleri 2,93'te primer ve sekonder aminlerin hidrojenleri 3,38'de ve imin gruplarının hidrojenleri de 6,83 ve 7,24'te pik oluşturmuştur. Sonuçlar literatürle uyumlu bulunmuştur (Al-Saif & Refat, 2013).

Şekil 5.5

MH'ye ait ^1H -NMR spektrumu



5.2.2 Polimerler ile yapılan çalışmalar

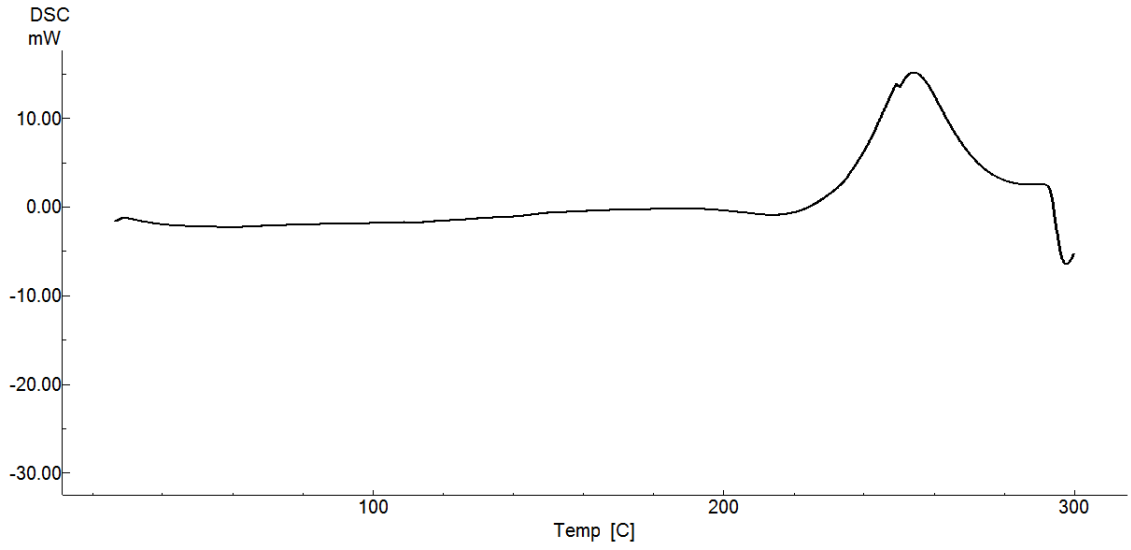
5.2.2.1 S β CD'ye ait analizler

5.2.2.1.1 Termal analiz

S β CD'nin DSC analizine ait termogram Şekil 5.6'da verilmiştir. Herhangi bir erime piki gözlenmemiştir. Ayrıca 300 °C yakınlarında bir deformasyon piki başlangıcı tespit edilmiştir.

Şekil 5.6

SβCD'ye ait DSC termogramı

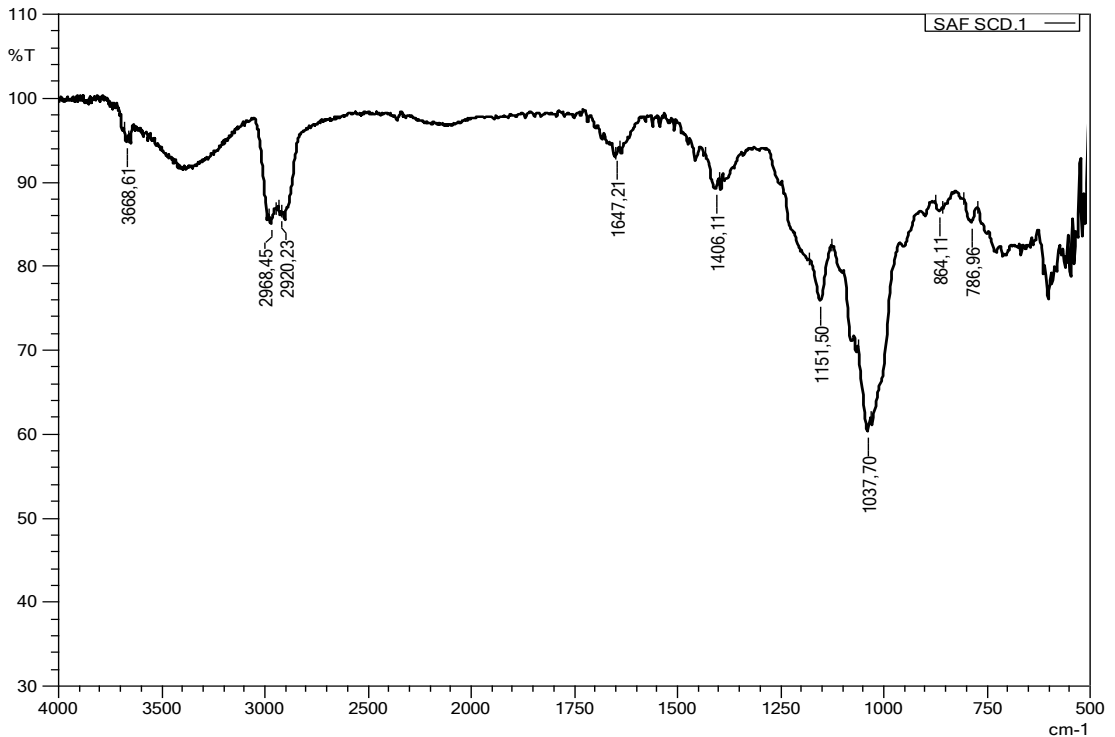


5.2.2.1.2 Fourier dönüştümlü kızıl ötesi analizi

SβCD'nin FT-IR analizi, 4000-400 cm^{-1} dalga boyu aralığında gerçekleştirilmiştir (Şekil 5.7). SBE-β-CD'nin karakteristik pikleri 2920 cm^{-1} (C-H gerilmesi), ve 1037 cm^{-1} 'de (sülfonik grubun S=O gerilmesi) görülmektedir (J. Liu vd., 2025).

Şekil 5.7

SβCD'ye ait FT-IR spektrumu

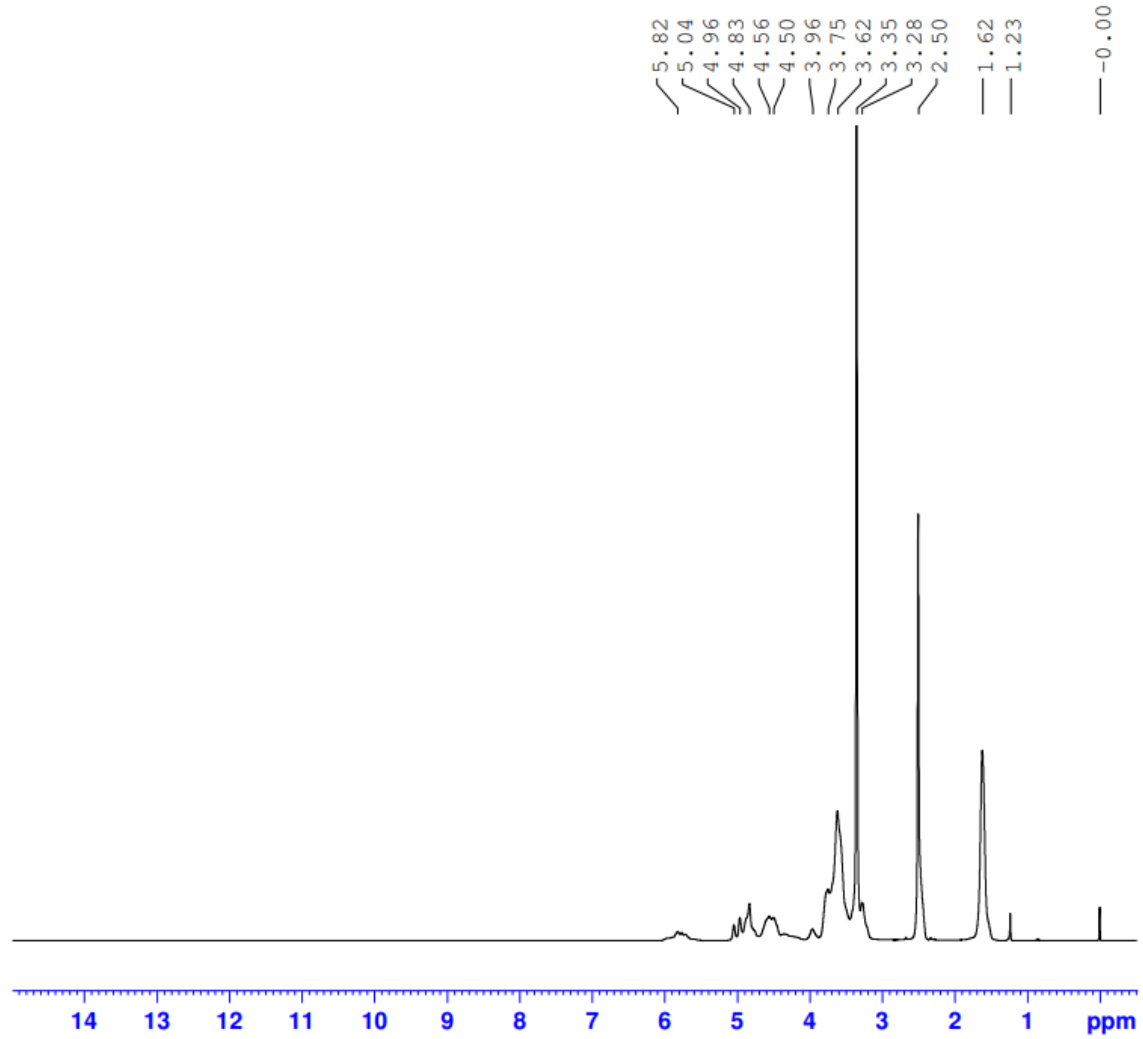


5.2.2.1.3 Nükleer manyetik rezonans analizi

S β CD'nin ^1H -NMR spektrumu Şekil 5.8'de yer almaktadır. Literatürdeki bulgularla benzer sonuçlar tespit edilmiştir (N. Khan vd., 2023; Sadaquat & Akhtar, 2020).

Şekil 5.8

S β CD'ye ait ^1H -NMR spektrumu



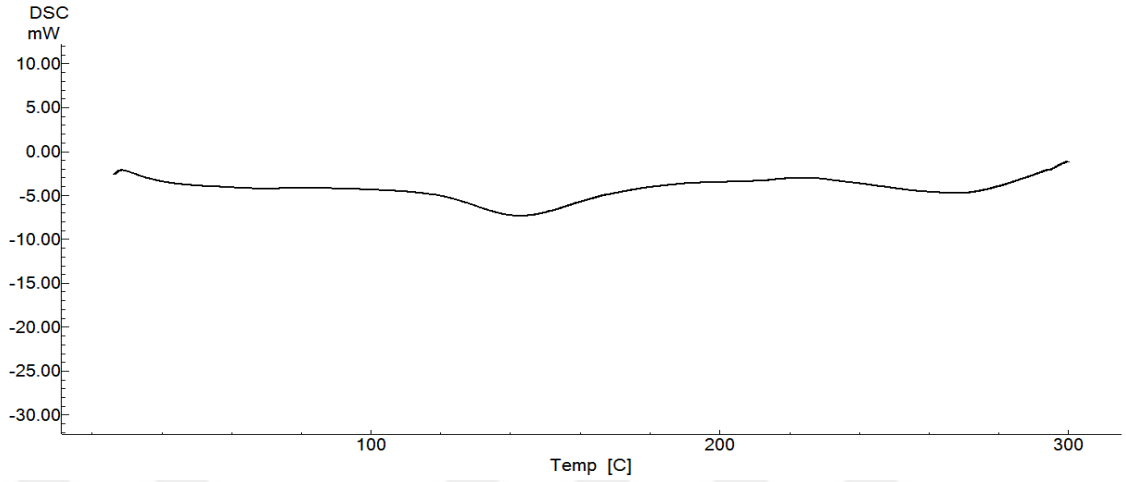
5.2.2.2 H β CD'ye ait analizler

5.2.2.2.1 Termal analiz

H β CD'ye ait termogram Şekil 5.9'da verilmiştir. 140 °C civarlarında gözlenen endotermik dalgalanma su salımına bağlanmıştır (Garg vd., 2021; H. Liu vd., 2022).

Şekil 5.9

H β CD'ye ait termogram

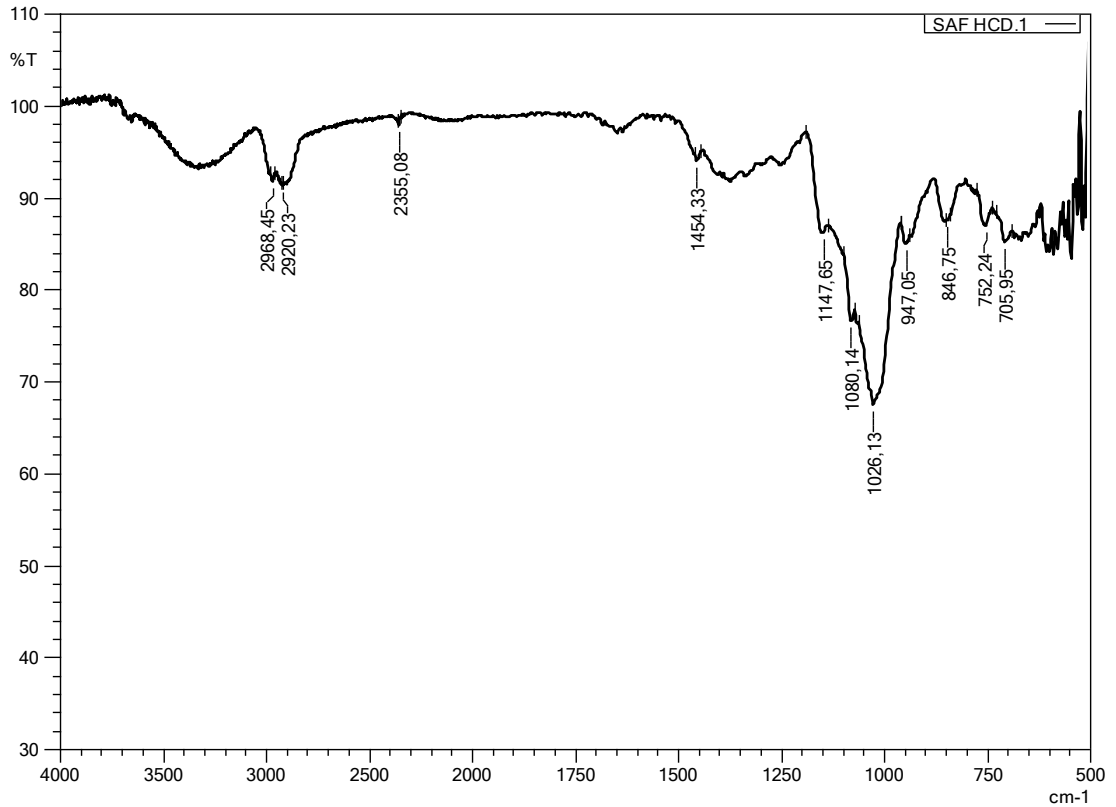


5.2.2.2.2 Fourier dönüşümlü kızıl ötesi analizi

H β CD'nin FT-IR analizi, 4000-400 cm^{-1} dalga boyu aralığında gerçekleştirilmiştir (Şekil 5.10). H β CD'nin karakteristik pikleri 2920 cm^{-1} (C-H gerilmesi), 1147 ve 1026 cm^{-1} 'de (sırasıyla C-H ve C-O gerilmeleri) görülmektedir (F. Wang vd., 2022).

Şekil 5.10 H β CD'nin FT-IR spektrumu

H β CD'ye ait FT-IR spektrumu

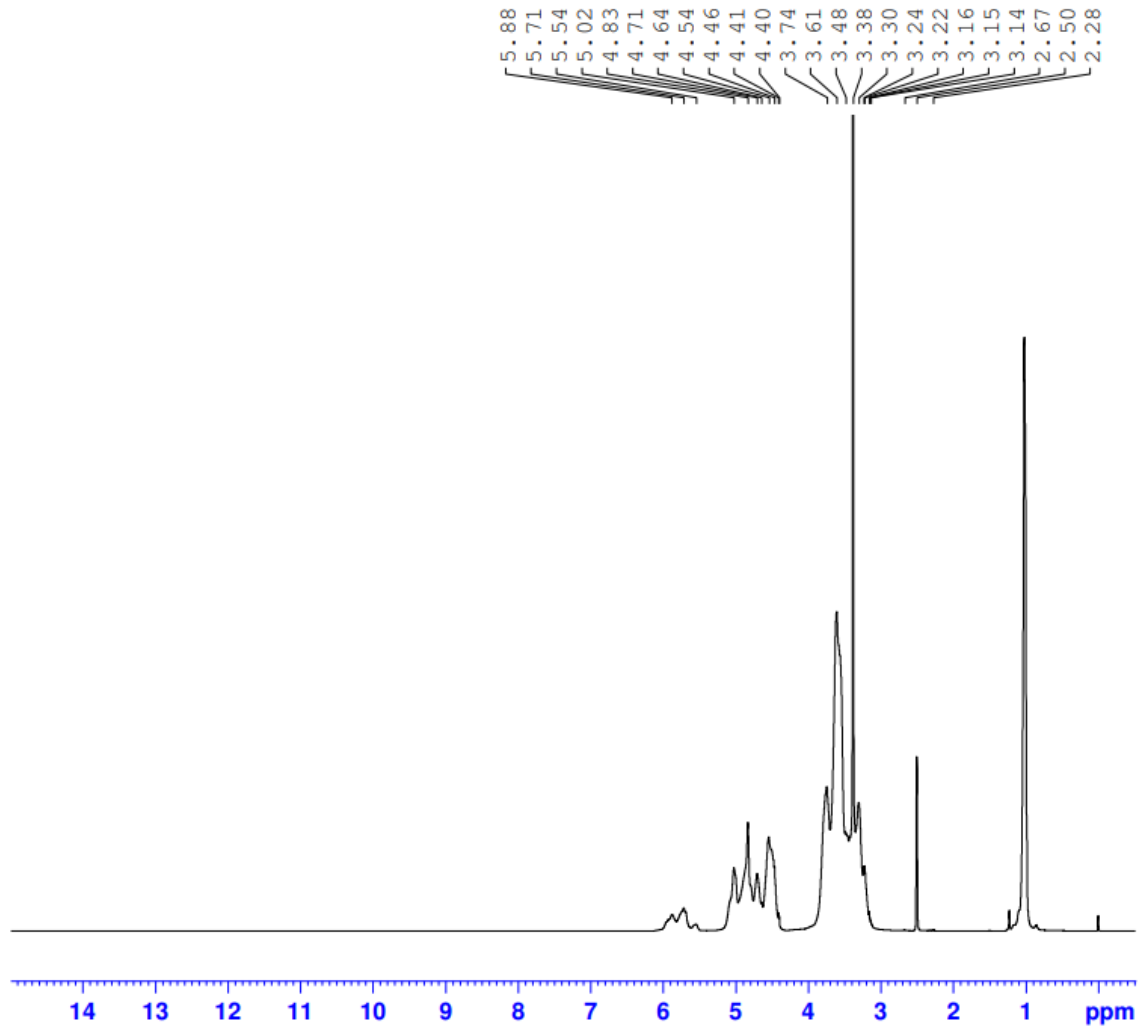


5.2.2.2.3 Nükleer manyetik rezonans analizi

H β CD'ye ait ^1H -NMR analiz spektrumu Şekil 5.11'de sunulmuştur. Birçok karbonhidrat yapıda olduğu gibi rezonanslar 3 bölgeye ayrılarak yorumlanabilmektedir. 5 ppm civarında anomerik karbon bölgesine ait birleşik pikler bulunmaktadır. 3-4 ppm arasındaki pikler ise β yan zincirlerindeki metil sinyallerinden kaynaklanmaktadır (Kalydi vd., 2024).

Şekil 5.11

H β CD'ye ait ^1H -NMR spektrumu



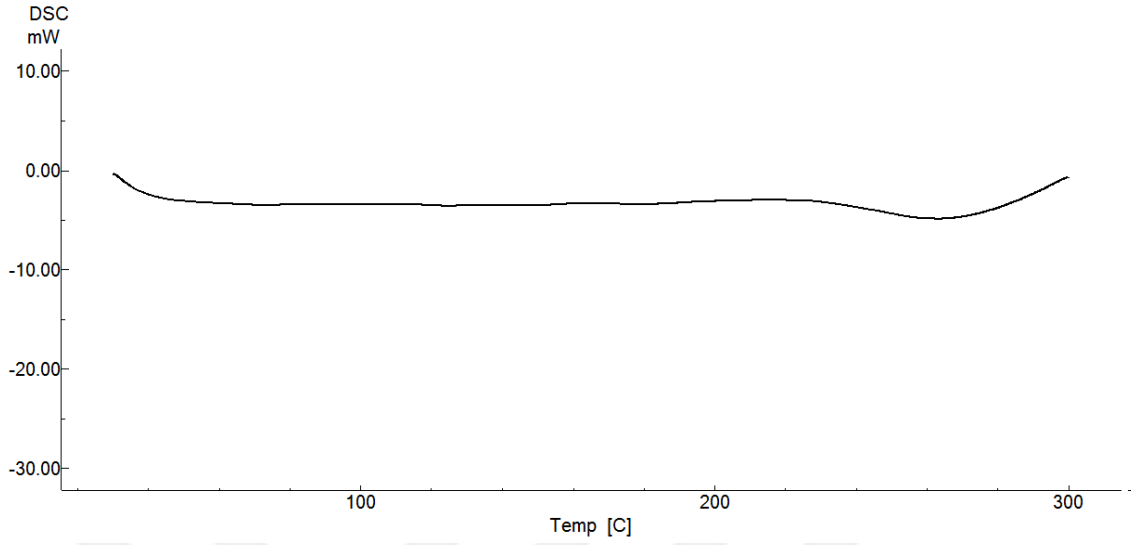
5.2.2.3 M β CD'ye ait analizler

5.2.2.3.1 Termal analiz

M β CD'ye ait termogram DSC analiz cihazı ile elde edilmiştir (Şekil 5.12). Termogram üzerinde herhangi bir erime veya su buharlaşmasına işaret eden pik gözlenmemiştir.

Şekil 5.12

MβCD'ye ait DSC termogramı

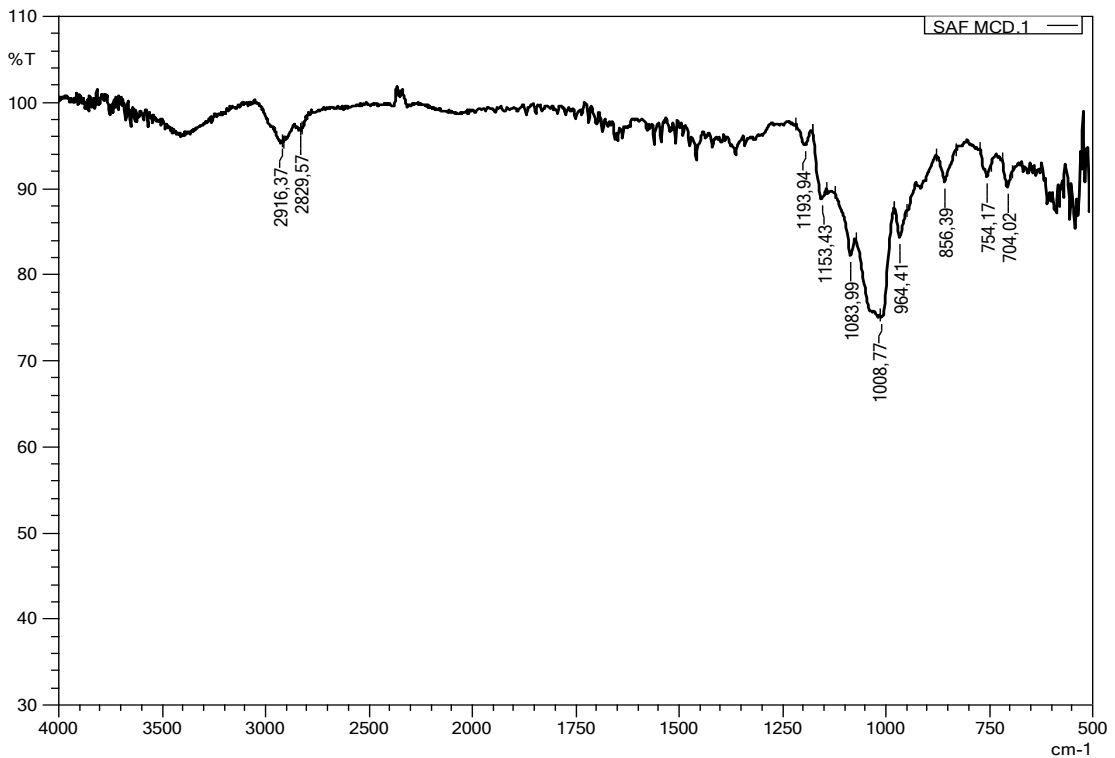


5.2.2.3.2 Fourier dönüşümlü kızıl ötesi analizi

MβCD'nin FT-IR analizi, 4000-400 cm^{-1} dalga boyu aralığında gerçekleştirilmiştir (Şekil 5.13). MβCD'nin karakteristik pikleri 2916 cm^{-1} (C-H gerilmesi), 1153 ve 1008 cm^{-1} 'de (sırasıyla C-H ve C-O gerilmeleri) görülmektedir (R. Wang vd., 2025).

Şekil 5.13

MβCD'ye ait FT-IR spektrumu

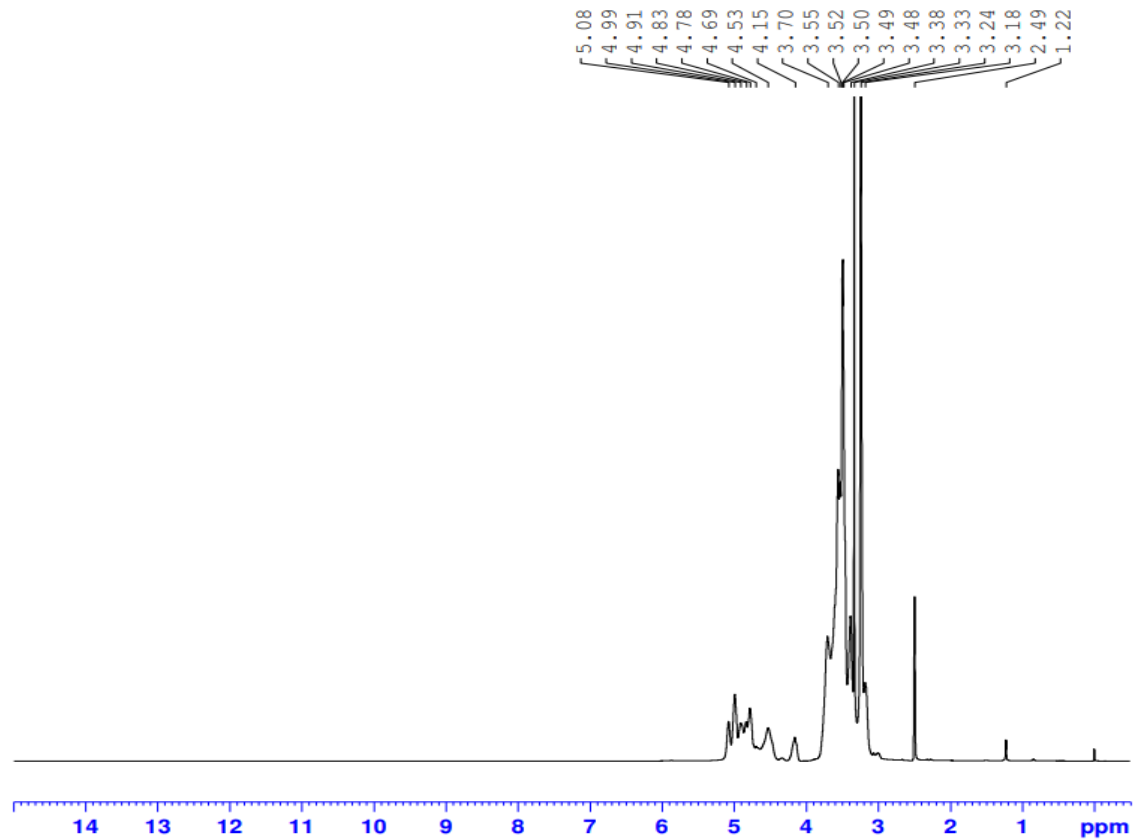


5.2.2.3.3 Nükleer manyetik rezonans analizi

M β CD'ye ait ^1H -NMR analiz spektrumu Şekil 5.11'de sunulmuştur. 4-5 ppm arasında gözlenen çoklu pikler anomerik karbon bölgesine ve siklodekstrin halkasındaki protonlara işaret etmektedir (Kalydi vd., 2024). 3-4 ppm arasındaki pikler ise metin ve metilen protonlarına işaret eden piklerdir (Rajamohan vd., 2023).

Şekil 5.14

M β CD'ye ait ^1H -NMR spektrumu



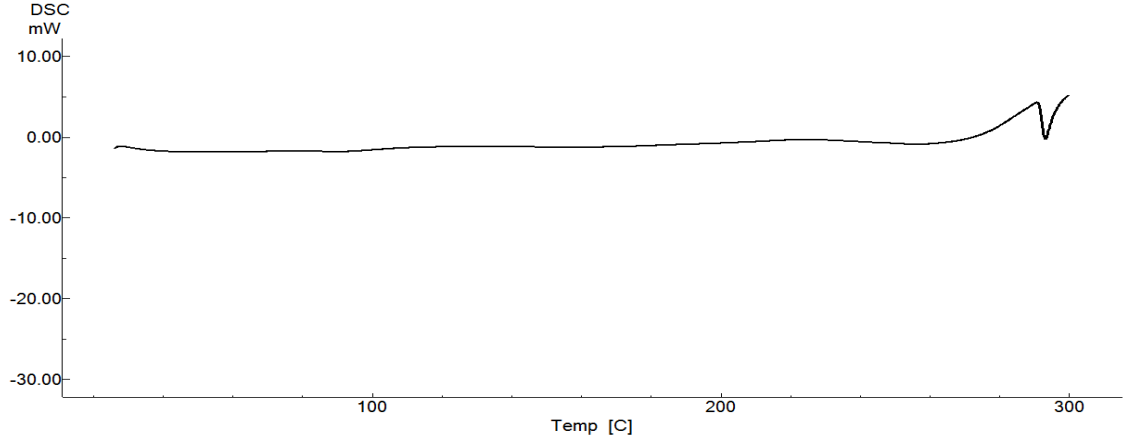
5.2.2.4 PMA'ya ait analizler

5.2.2.4.1 Termal analiz

PMA'ya ait termogram Şekil 5.15'te verilmiştir. 290 °C civarında gözlenen pik deformasyondan kaynaklanmaktadır. Bir çalışmada 150 °C civarında endotermik pik gözlenmiş ve camsı geçiş sıcaklığıyla açıklanmıştır. Söz konusu çalışmada bulunan termogramda 290 °C civarında bir pik gözlenmemiştir. Bu yönüyle bulgular, literatürden farklıdır (Varshosaz vd., 2018). Ayrıca bir başka çalışmada PMA'nın termogramında 155, 175 ve 241 °C'de üç farklı endotermik pik tespit edilmiştir (Wong vd., 2007).

Şekil 5.15

PMA'ya ait DSC termogramı

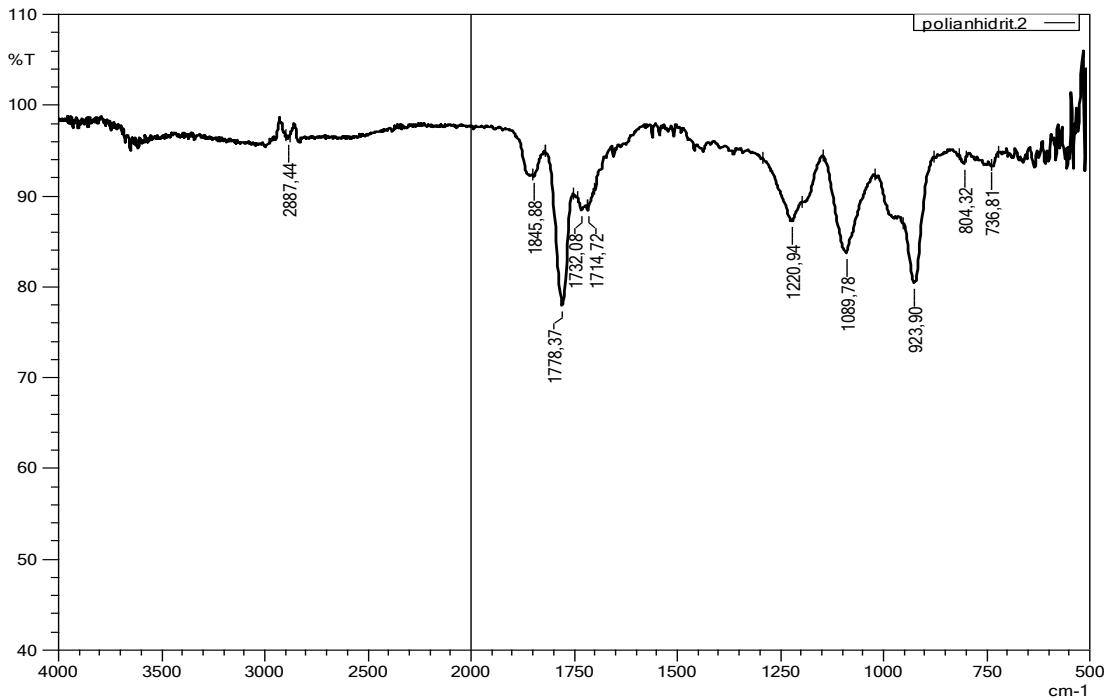


5.2.2.4.2 Fourier dönüşümlü kızıl ötesi analizi

PMA'ya ait FTIR spektrumu Şekil 5.16'da verilmiştir. 1845 ve 1778 cm^{-1} 'deki pikler maleik anhidritin karbonil gruplarından kaynaklanmaktadır (Shang vd., 2025). OCH_3 yapısının oluşturduğu pik 1089 cm^{-1} 'de gözlenmektedir (García-Verdugo vd., 2022). Ayrıca 1220 cm^{-1} 'de yer alan pik anhidrid yapısındaki C-O-C bağlarından meydana gelmiştir. 1732 cm^{-1} 'de yer alan pik ise C=O grubu ile ilişkilidir. 923 cm^{-1} 'de ise karboksilik asit dimerine ait deformasyon piki gözlenmektedir (D. Zhang vd., 2015).

Şekil 5.16

PMA'ya ait FT-IR spektrumu

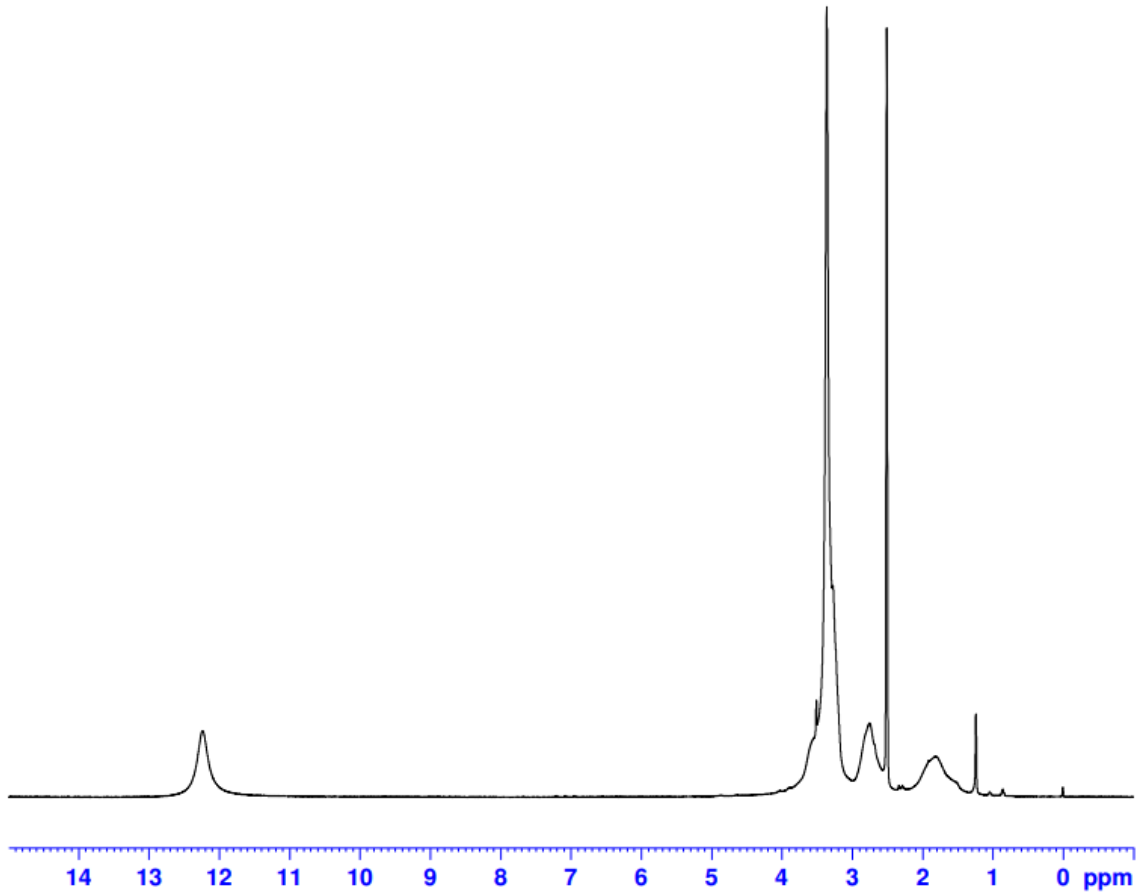


5.2.2.4.3 Nükleer manyetik rezonans analizi

PMA'ya ait ^1H -NMR analiz spektrum Şekil 5.17'de verilmiştir. 3-4 ppm'de gelen geniş tabanlı pik polimer ana zincirindeki tersiyer karbondan ve metoksi yapılarındaki metil gruplarından kaynaklanmaktadır. Yine ana zincir yapısında bulunan metilen gruplarına ait pik 1,7 ppm'de gözlenmektedir. Ayrıca 12,3 ppm'de gözlenen pik anhidrit halkasının açılmasıyla oluşmuştur (D. Zhang vd., 2015).

Şekil 5.17

PMA'ya ait ^1H -NMR spektrumu



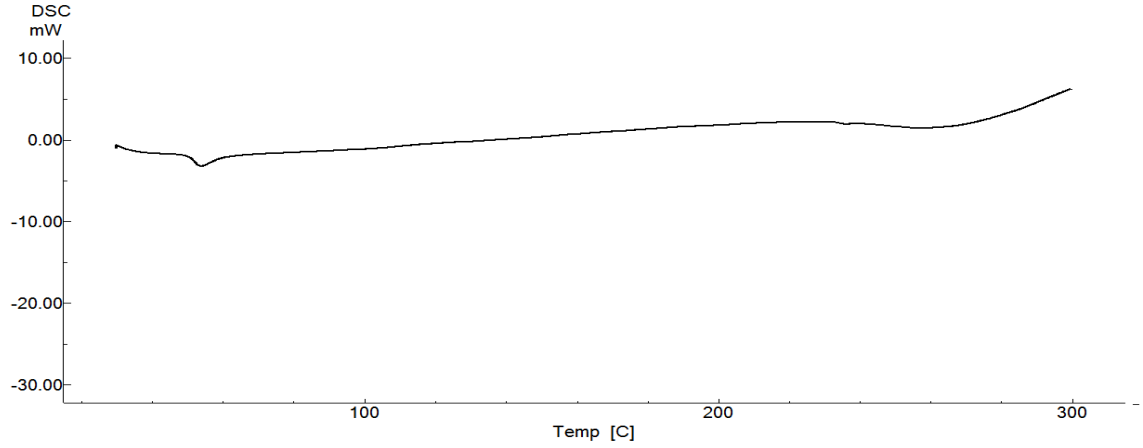
5.2.2.5 Eudragit® FS 100'e ait analizler

5.2.2.5.1 Termal analiz

FS'ye ait termogram Şekil 5.18'de verilmiştir. 55 °C civarında camsı geçişi gösteren bir endotermik pik yer almaktadır. Eudragit® polimerlerinin bazı türlerinde bu polimorfizm gözlenmektedir. FS türevi için de camsı geçiş sıcaklığına dair örnekler literatürde yer almaktadır (Balogh vd., 2017; F. Zhang, 2016a).

Şekil 5.18

FS'ye ait DSC termogramı

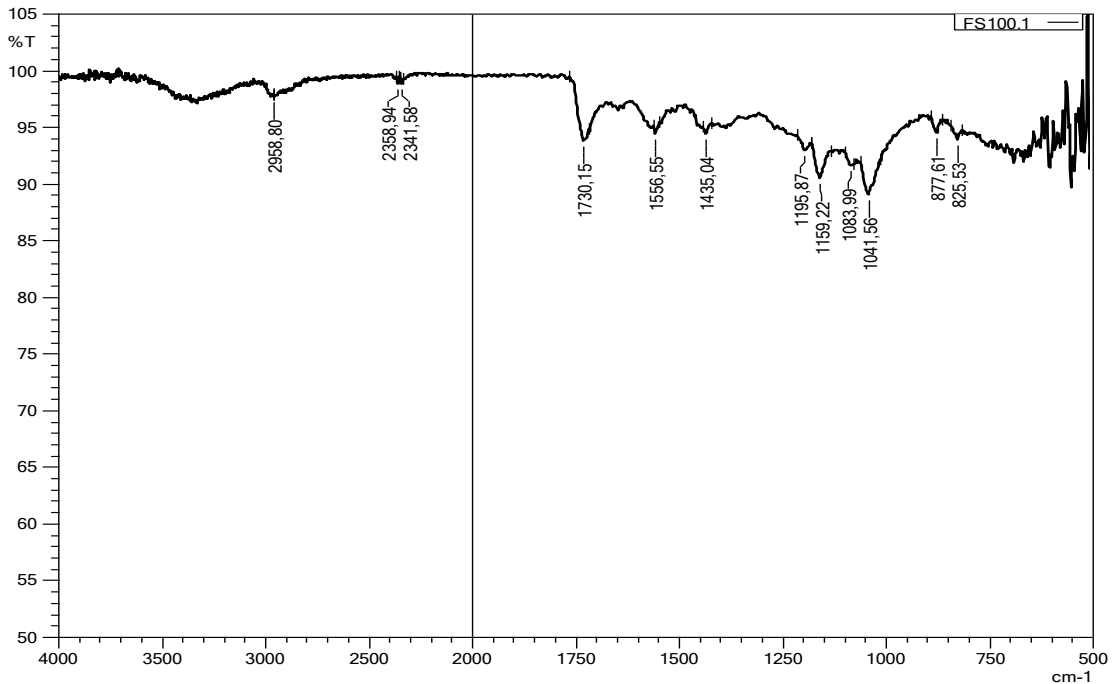


5.2.2.5.2 Fourier dönüştümlü kızıl ötesi analizi

FS'ye ait FTIR spektrumu Şekil 5.19'da verilmiştir. 1730 cm^{-1} 'de gözlenen pik polimerin yapısında bulunan esterleşmiş karboksilik asitte bulunan C=O bağlarından kaynaklanmaktadır (Kapote & Wagner, 2021). 1159 cm^{-1} 'de ve 1195 cm^{-1} 'de ester titreşimlerinden ve 2958 cm^{-1} 'de gözlenen OH gruplarından kaynaklanan karakteristik pikler yer almaktadır (Reis vd., 2016). Ayrıca 1435 cm^{-1} 'de -CH gerilmeleri gözlenmektedir (Raj vd., 2018).

Şekil 5.19

FS'ye ait FT-IR spektrumu

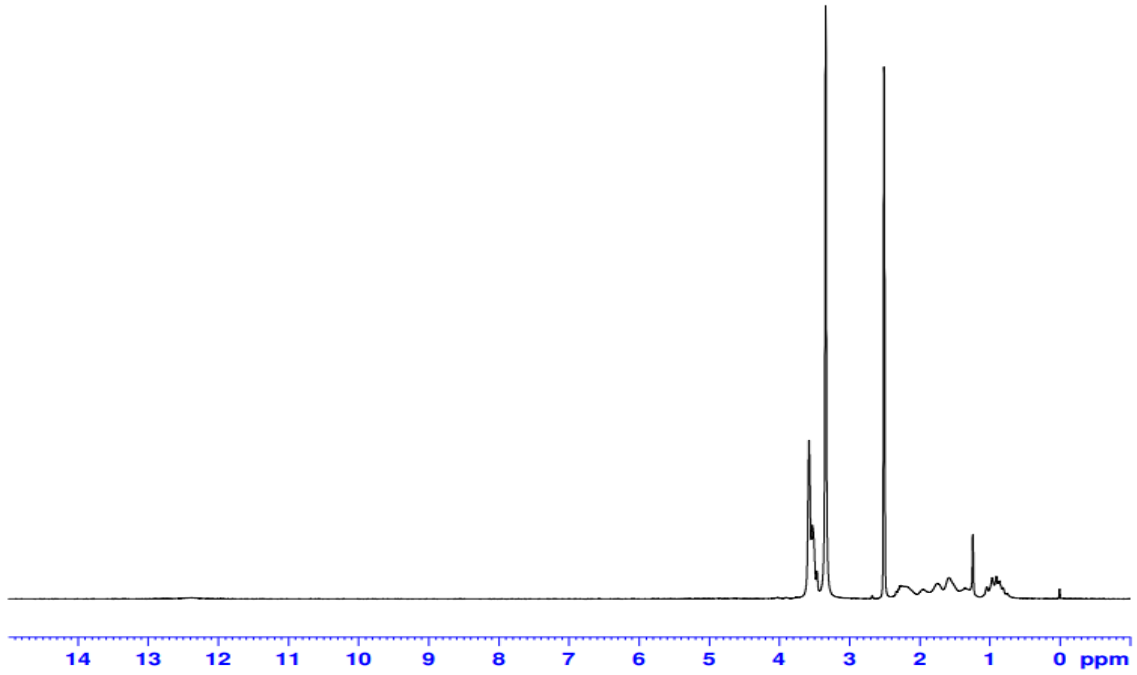


5.2.2.5.3 Nükleer manyetik rezonans analizi

FS'e ait ^1H -NMR analiz spektrumu Şekil 5.20'de verilmiştir. 2,3 ppm'de metil akrilat C-H iskeletinden kaynaklanan pik gözlenmiştir. 3,6 ppm'de gözlenen pik ise metoksi grubuna ait karakteristik piktir. Karbonil grubuna ait hidrojenlerin piki ise 1,1 ppm'de gözlenmektedir (Suárez vd., 2024; F. Zhang, 2016b).

Şekil 5.20

FS'ye ait ^1H -NMR spektrumu



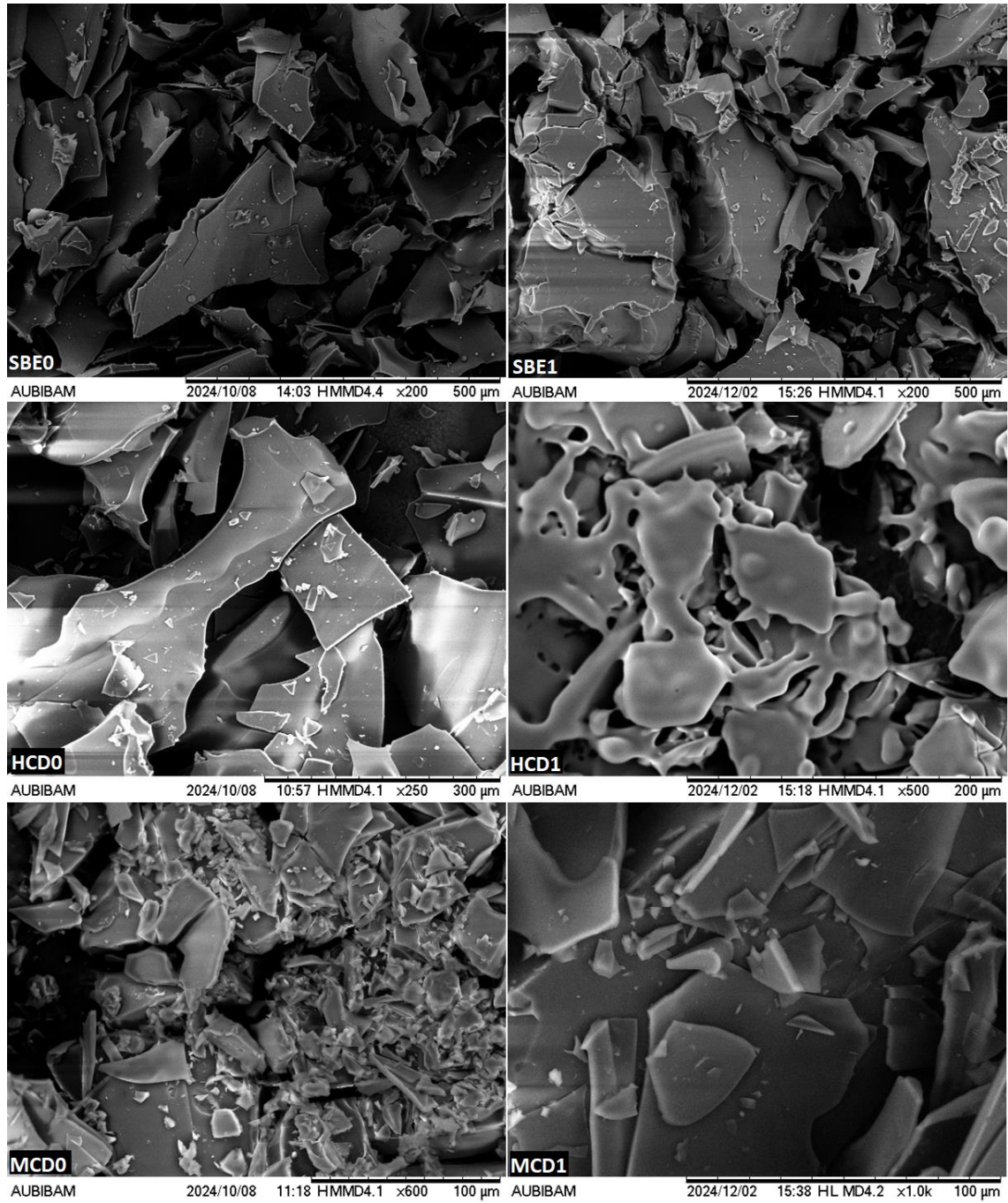
5.3 Siklodekstrin komplekslerin karakterizasyon çalışmaları

5.3.1 Morfolojik İnceleme

Siklodekstrin komplekslerin SEM görüntüleri Görsel 5.1'te verilmiştir. Siklodekstrin komplekslerin partiküler yapıdan biçimsiz şekilleri dikkat çekmektedir. Plasebo formülasyonlarla etkin madde içeren formülasyonların gözle görülür bir farkı bulunmazken formülasyonların tekdüze yapıda olduğu tespit edilmiştir.

Görsel 5.1

Siklodekstrin kompleks formüllerine ait SEM görüntüsü

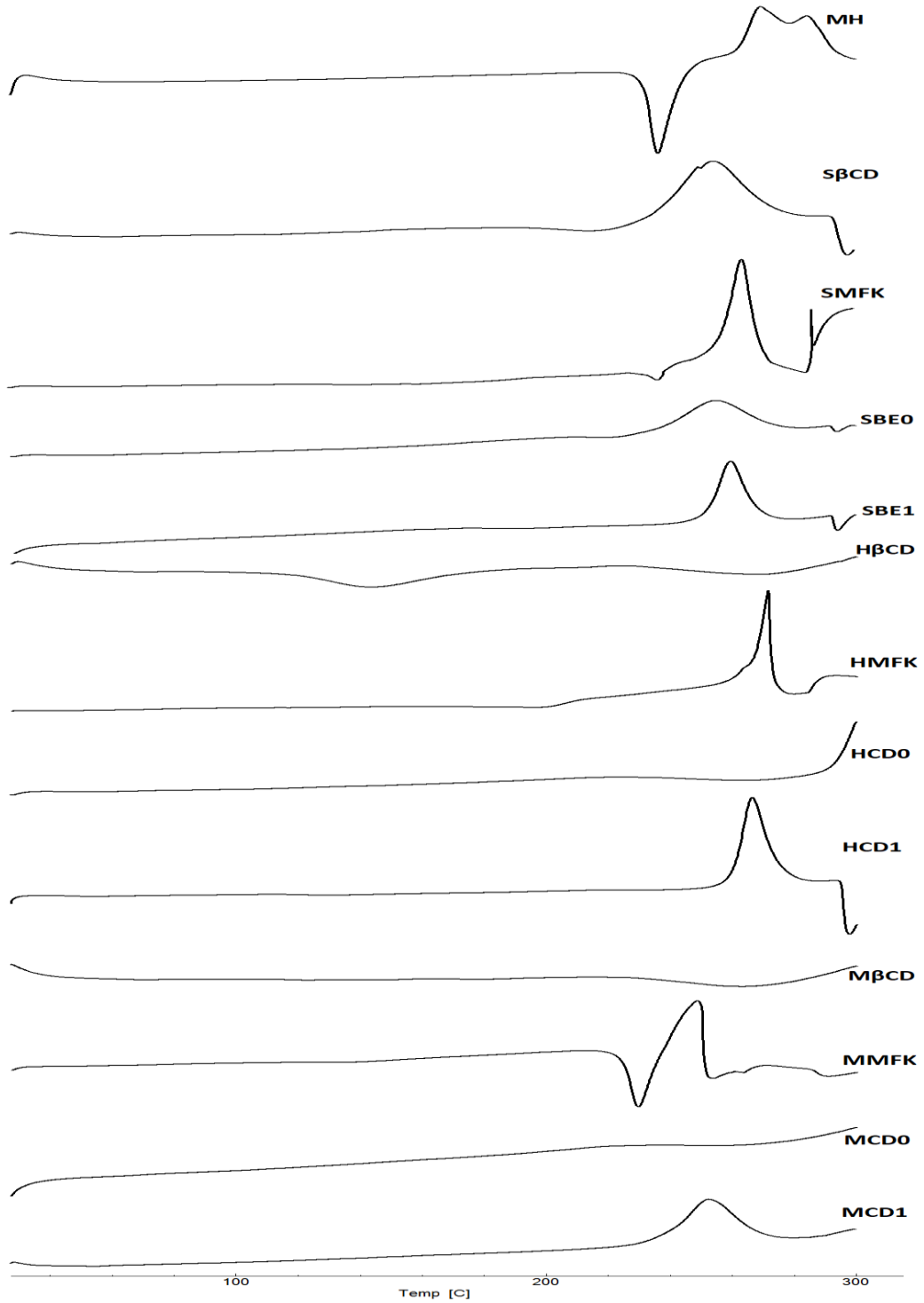


5.3.2 Termal Analiz

Siklodekstrin komplekslerin formülasyonlarına ait termogramlar DSC analiz cihazı ile elde edilmiş ve Şekil 5.21’de sunulmuştur. 3 siklodekstrin kompleksinde de MH’ye ait erime piki gözlenmemiştir. Fiziksel karışımlarda erime pikleri gözlenirken komplekslerde erime piklerinin bulunmaması kompleksleşme sürecinin başarılı bir şekilde tamamlandığını göstermektedir (Ribeiro vd., 2008).

Şekil 5.21

Kompleks formüllerine ait DSC termogramları



NOT: SMFK, SBECD ile; HMFK, HPCD ile; MMFK MBCD ile Met. HCL fiziksel karışımıdır

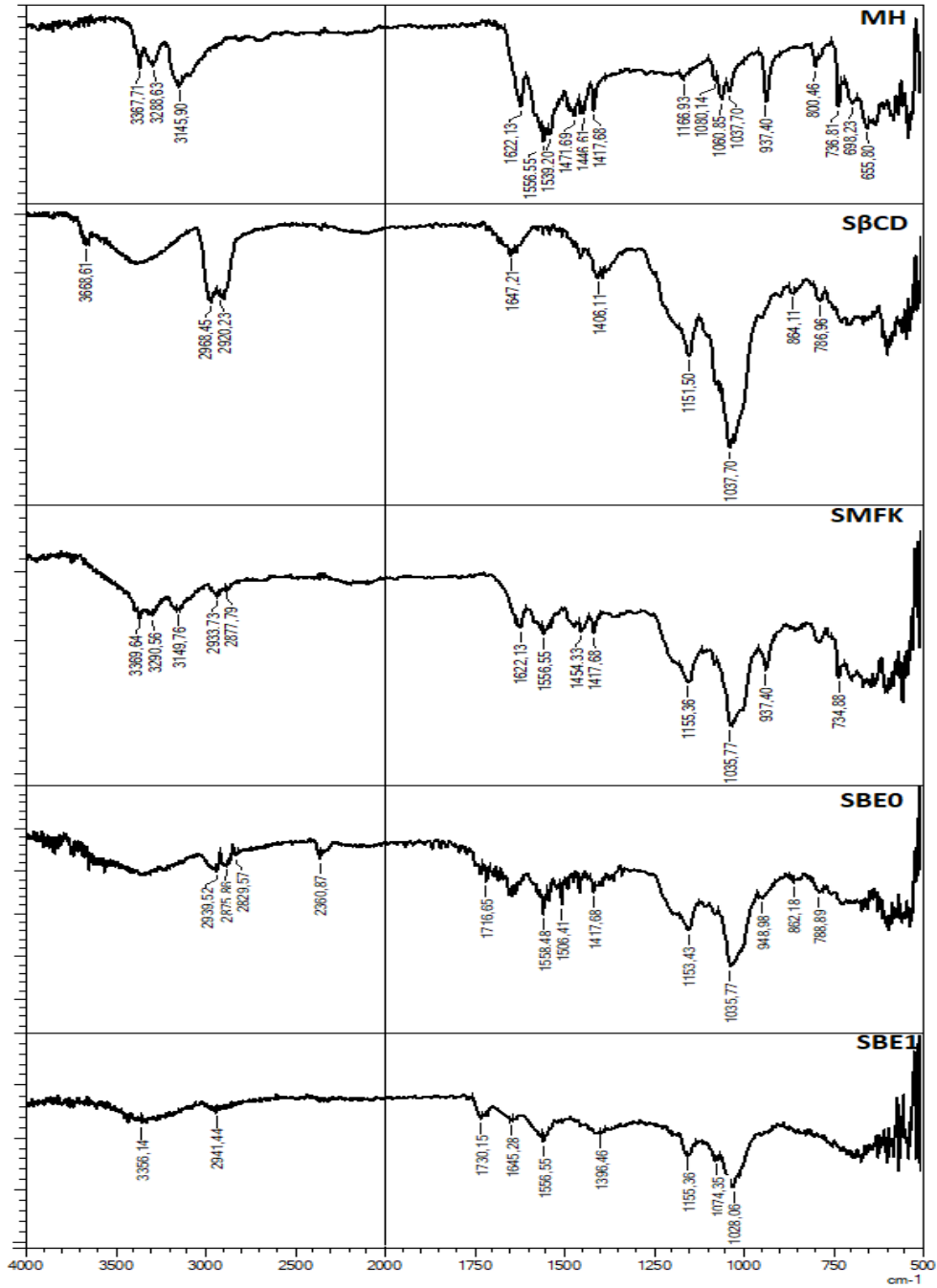
5.3.3 Fourier dönüşümlü kızıl ötesi analizi

Siklodekstrin komplekslerin FT-IR spektrumları, Şekil 5.22-24'te verilmiştir. SβCD ile hazırlanan komplekste (Şekil 5.22) MH'ye ait N-H pikinin 3356 cm^{-1} 'e, C-H bağını

gösteren pikin ise 1074 ve 1620 cm^{-1} 'e kaydı olduğu gözlenmektedir. 1620 cm^{-1} 'de gözlenen C=NH piki ise komplekste kaybolmuştur. Analiz sonuçları kompleks oluşumunu doğrulamaktadır (A. D. Kulkarni & Belgamwar, 2017).

Şekil 5.22

S β CD ile hazırlanan formüllere ait FT-IR spektrumu

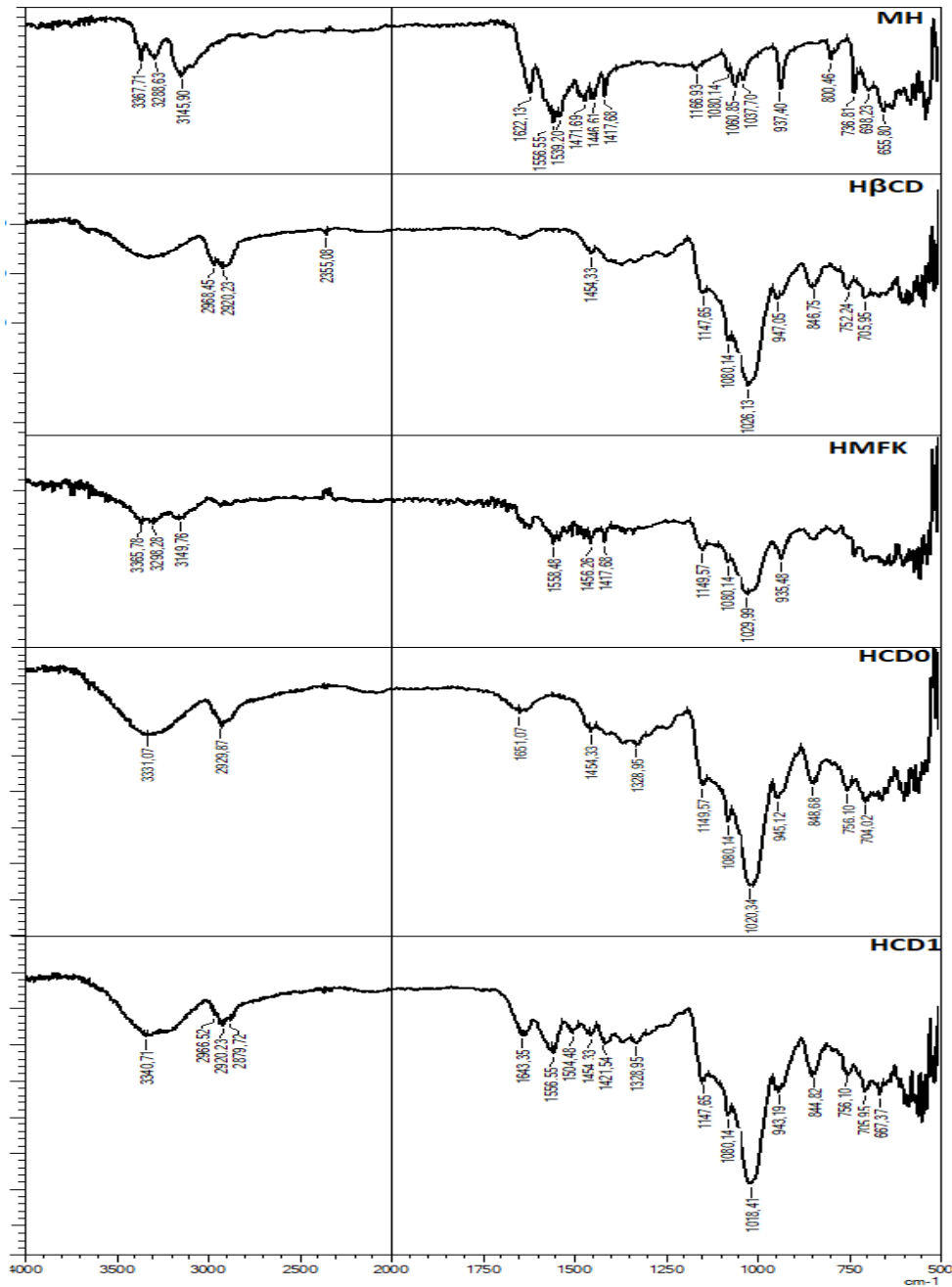


NOT: S β CD ve MH fiziksel karışımı SMFK kısaltmasıyla belirtilmiştir

Şekil 5.23'te H β CD ile hazırlanan komplekslerin FTIR spektrumu yer almaktadır. HCD1 formülünün spektrumunda MH'ye ait birtakım karakteristik piklerin (1622 ve 1539 cm⁻¹'deki C=NH gerilmesi gibi) gözlenmediği 3365 cm⁻¹'deki N-H piki gibi bazı karakteristik piklerin ise kaydığı tespit edilmiştir. Analiz sonuçları kompleksleşmenin başarılı bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir (H. Liu vd., 2022).

Şekil 5.23

H β CD ile hazırlanan formüllere ait FT-IR spektrumu

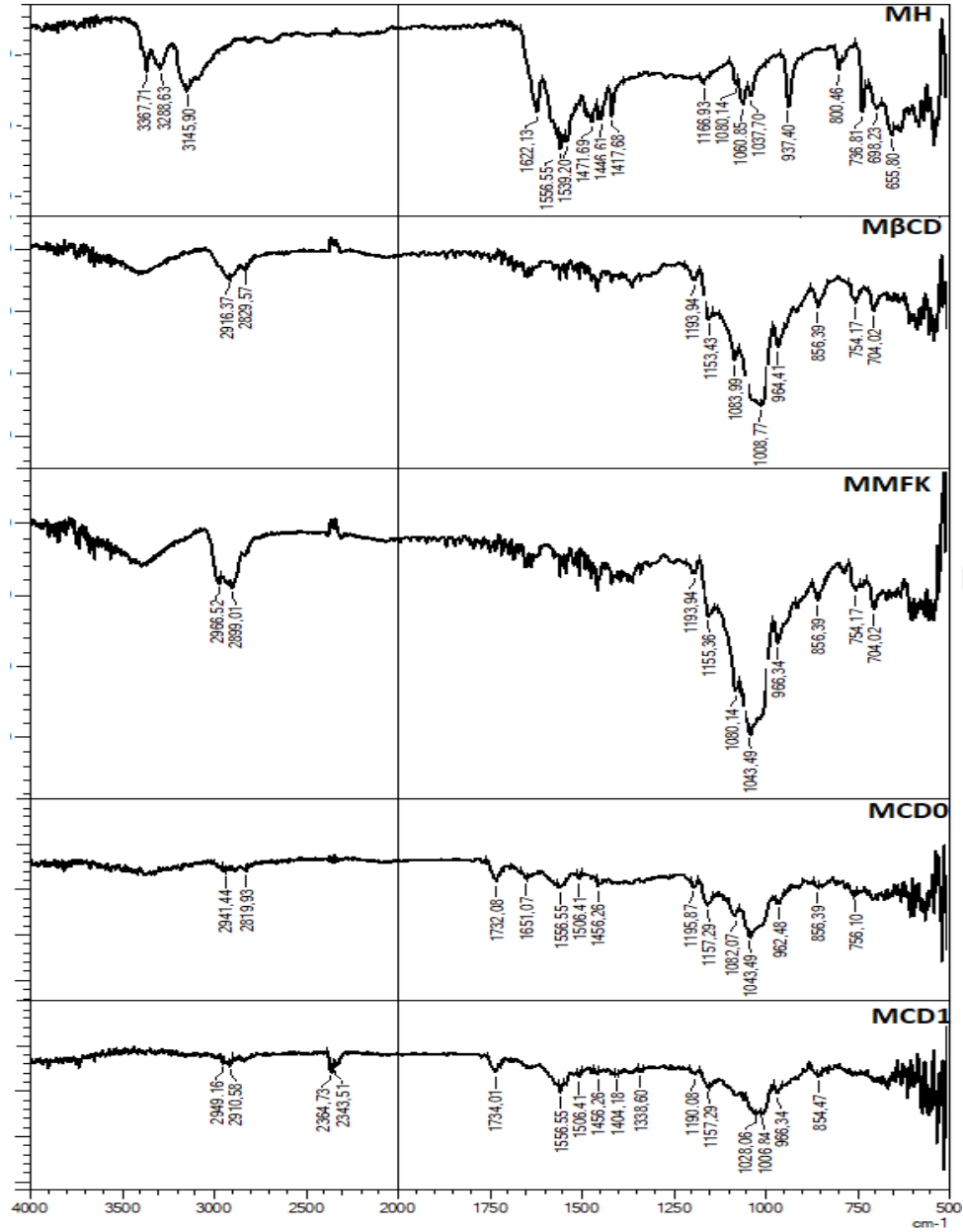


NOT: H β CD ve MH fiziksel karışımı HMFk kısaltmasıyla belirtilmiştir

Şekil 5.24'te M β CD ile hazırlanan komplekslerin FTIR spektrumu yer almaktadır. M β CD ile hazırlanan kompleksin spektrumunda MH'ye ait karakteristik piklerin birçoğu gözlenmemektedir. Analiz sonuçları kompleksleşmenin başarılı bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir (Ribeiro vd., 2008).

Şekil 5.24

M β CD ile hazırlanan formüllere ait FT-IR spektrumu



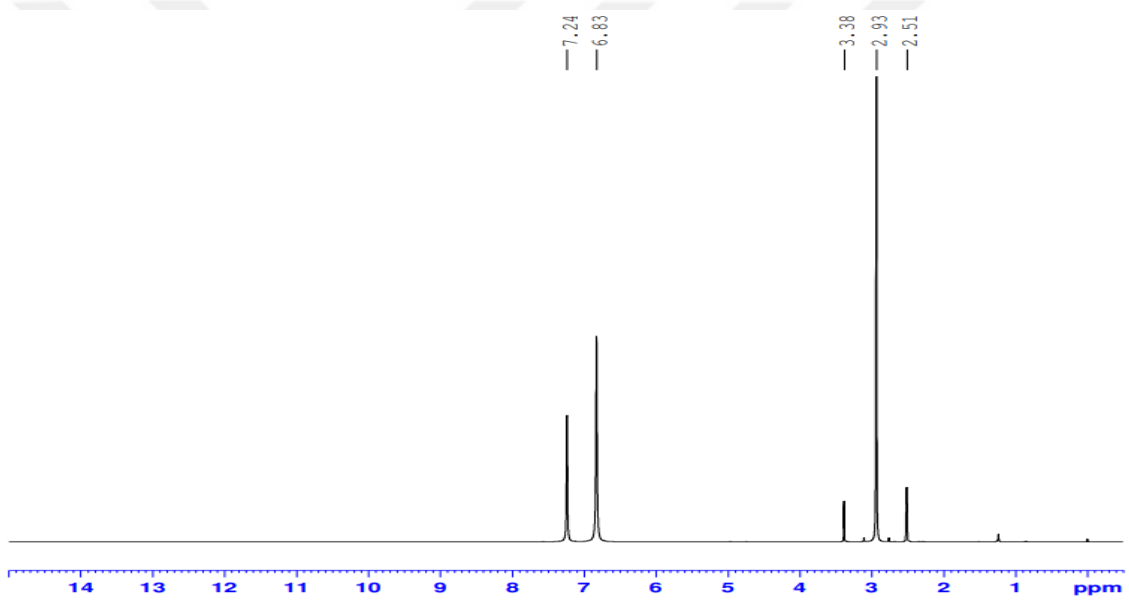
NOT: M β CD ve MH fiziksel karışımı MMFK kısaltmasıyla belirtilmiştir

5.3.4 Nükleer manyetik rezonans analizleri

^1H -NMR analizi sonuçları aşağıdaki şekillerde verilmiştir (Şekil 5.25-5.37). ^1H -NMR analizi kompleksleşme hakkında doğrudan bilgi veren bir analizdir. Siklodekstrin komplekslerin spektrumlarına bakıldığında metil gruplarının protonlarında herhangi bir kayma gözlenmemişken amin ve imin gruplarının hidrojenlerine ait piklerinde bir kayma gözlenmiştir. Kaymanın gözlenmesi kompleks oluşumunun bir göstergesidir. NMR analiz sonuçları kompleksleşmenin başarılı bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir (Roselet & Kumari, 2020).

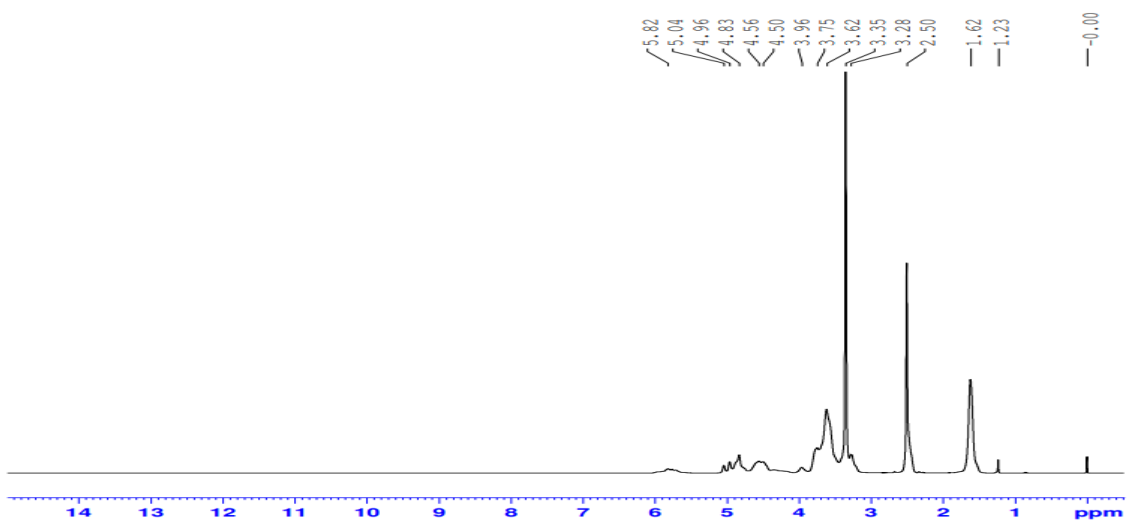
Şekil 5.25

*MH'*ye ait ^1H -NMR spektrumu



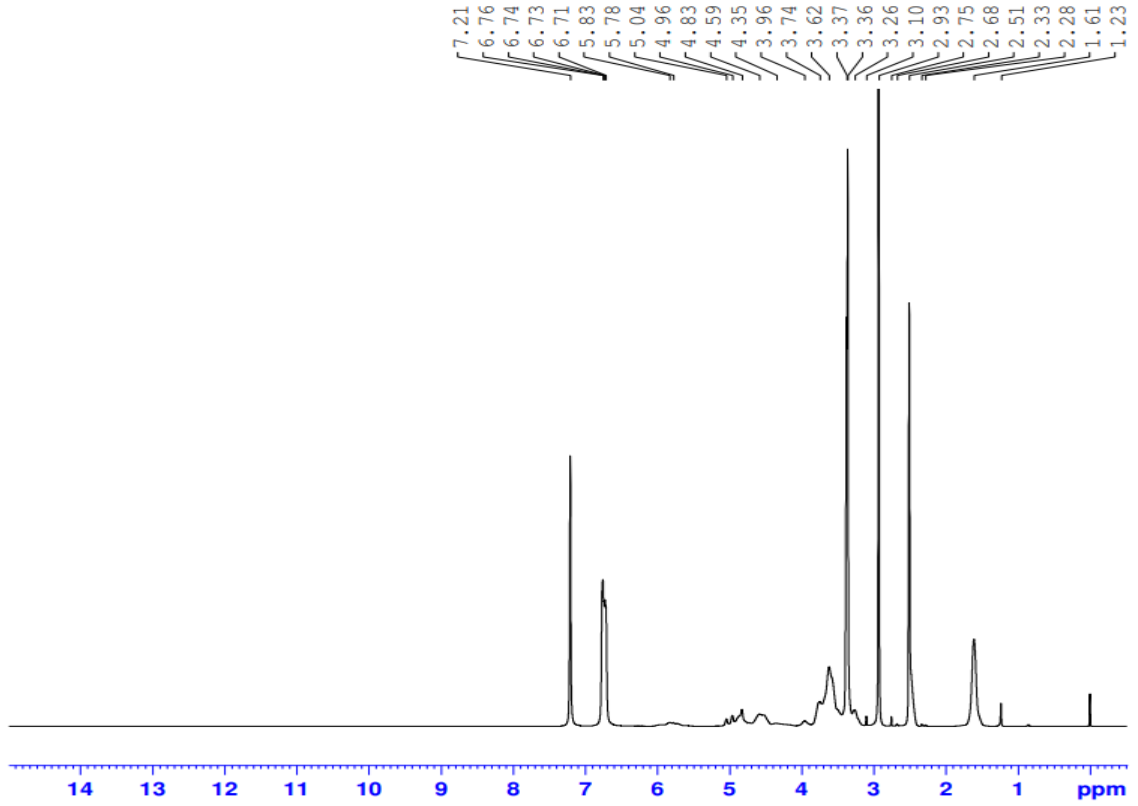
Şekil 5.26

S β CD'ye ait ^1H -NMR spektrumu



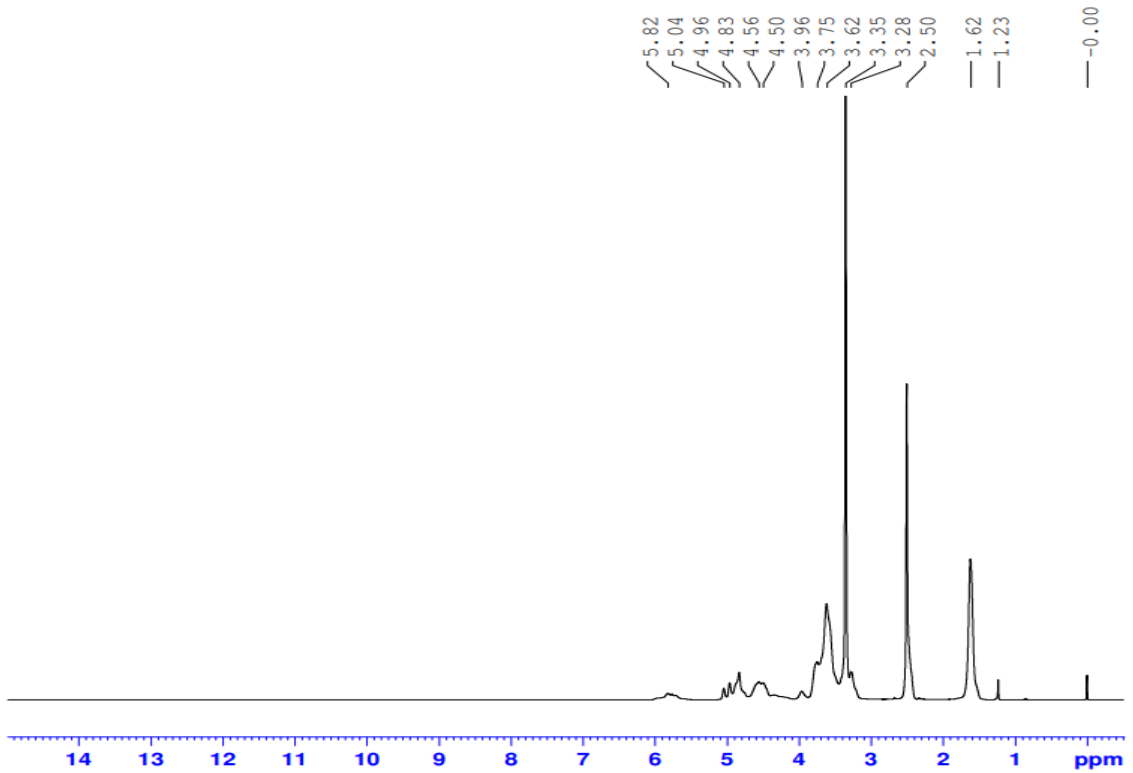
Şekil 5.27

Fiziksel Karışım ($S\beta$ CD ve MH) ^1H -NMR spektrumu



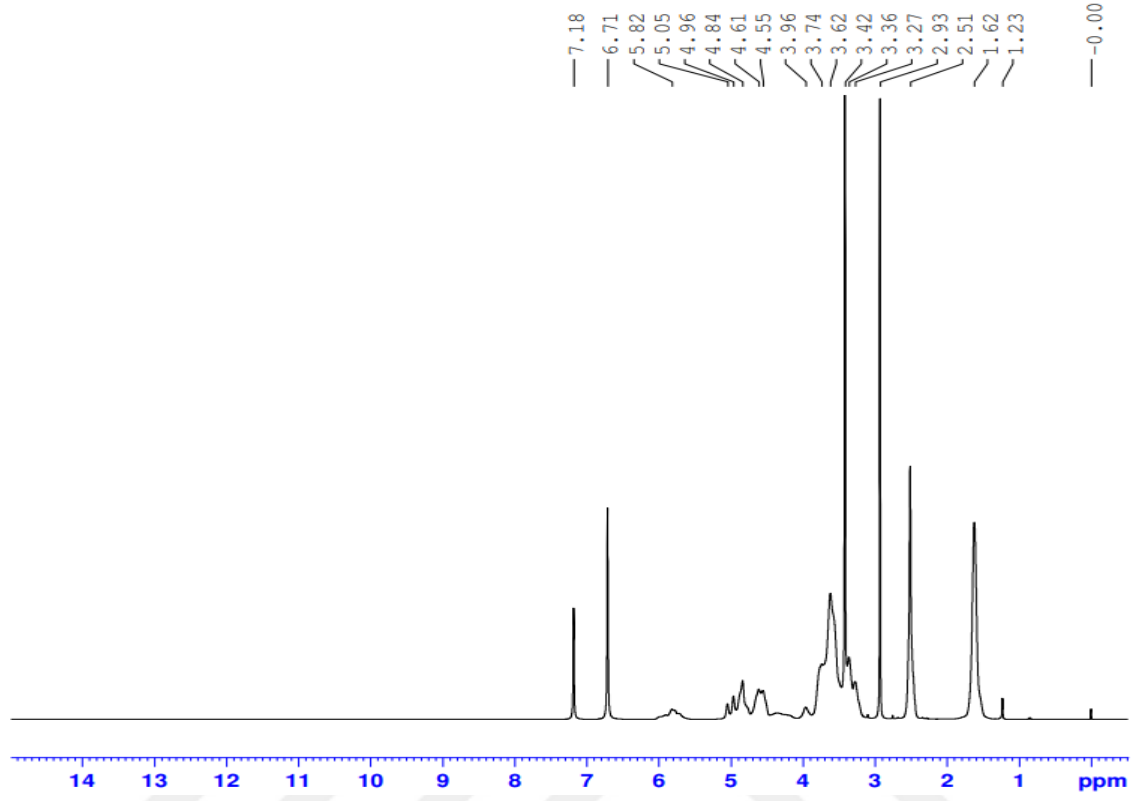
Şekil 5.28

SBE0 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu



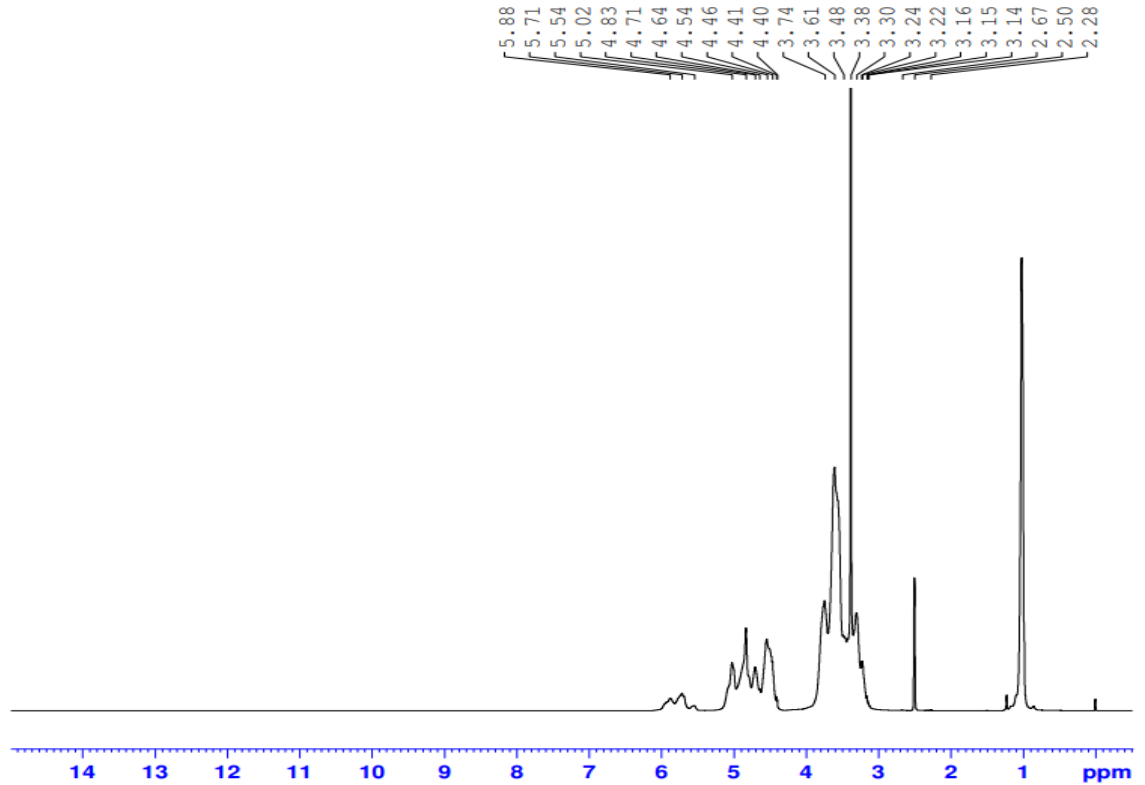
Şekil 5.29

SBE1 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu



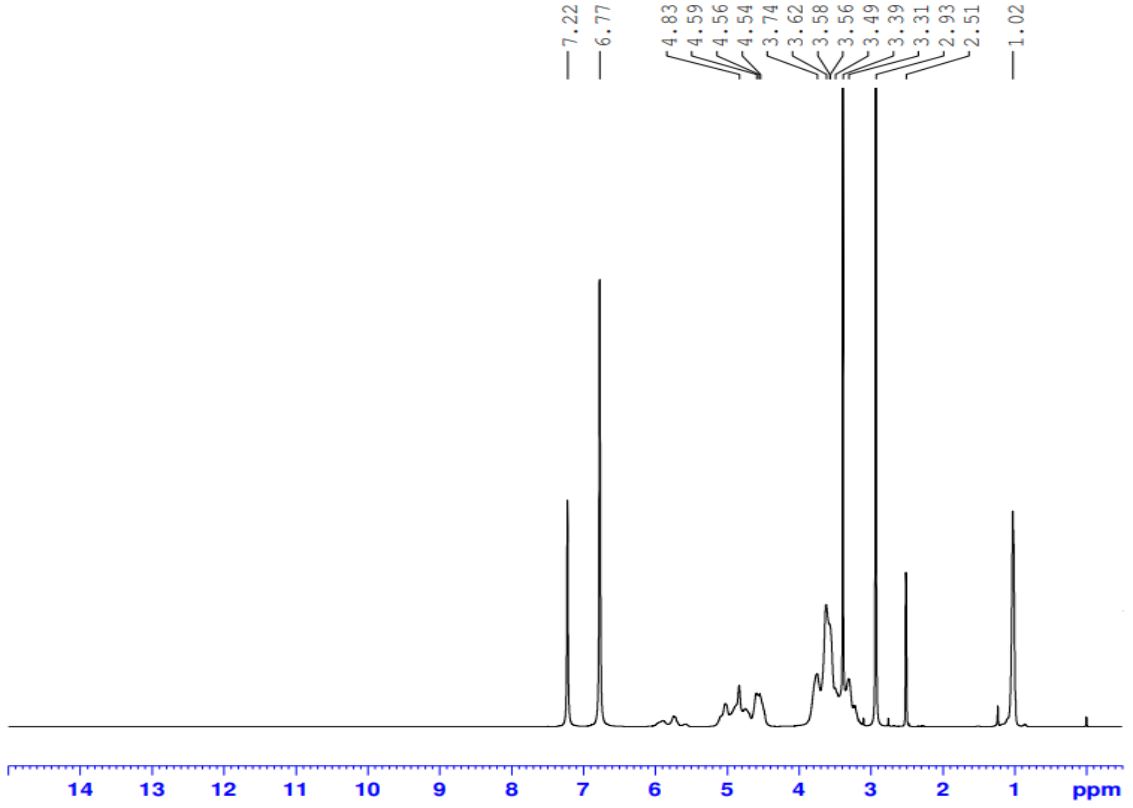
Şekil 5.30

H β CD'ye ait ^1H -NMR spektrumu



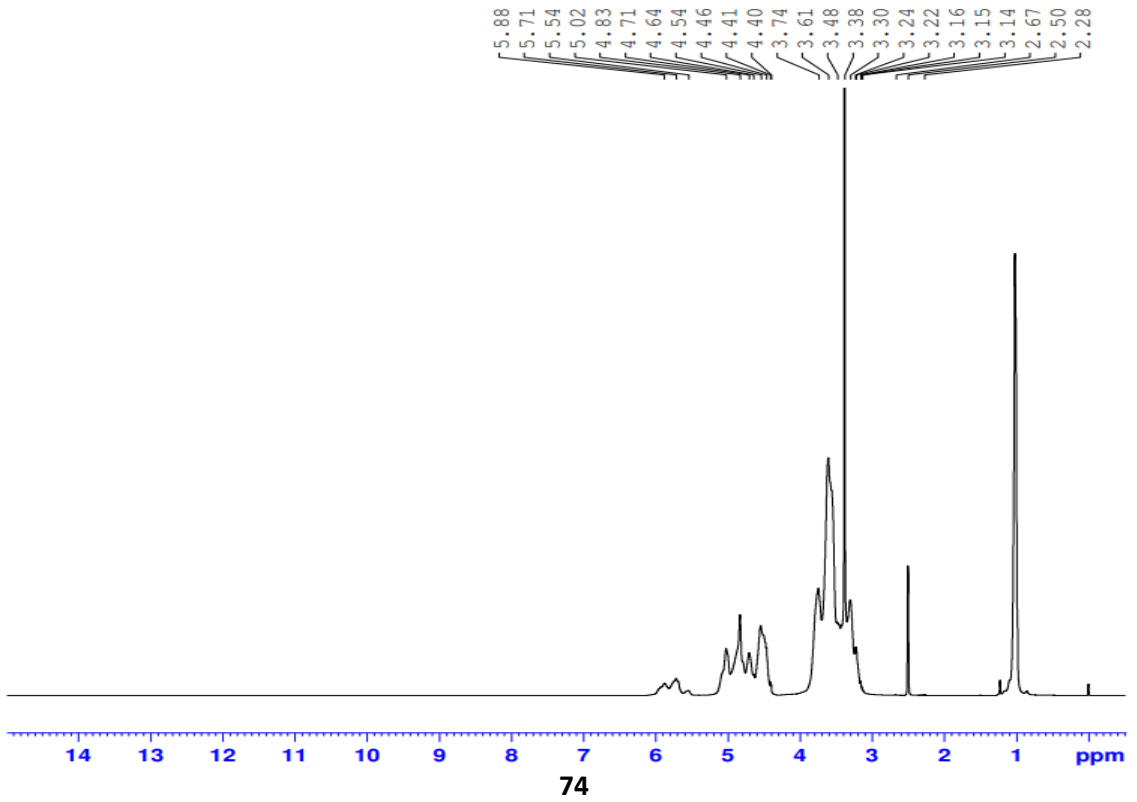
Şekil 5.31

Fiziksel Karışım (H β CD ve MH) ^{1} H-NMR spektrumu



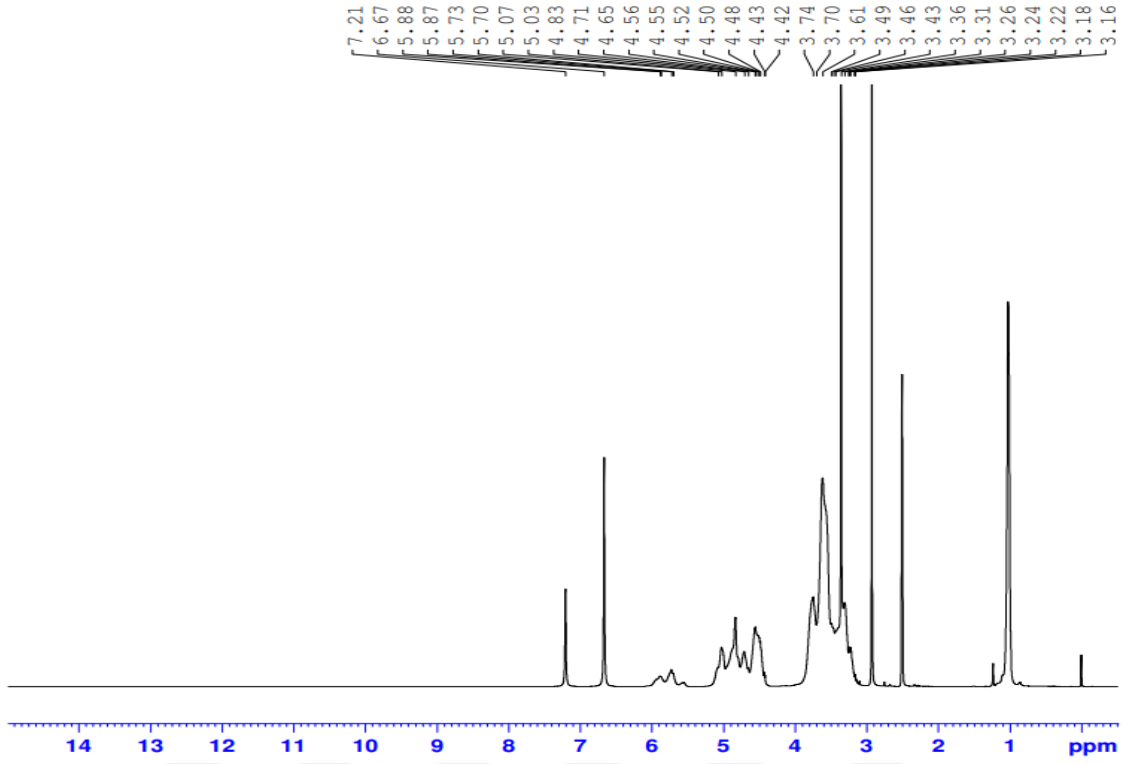
Şekil 5.32

HCD0 formülüne ait ^{1} H-NMR spektrumu



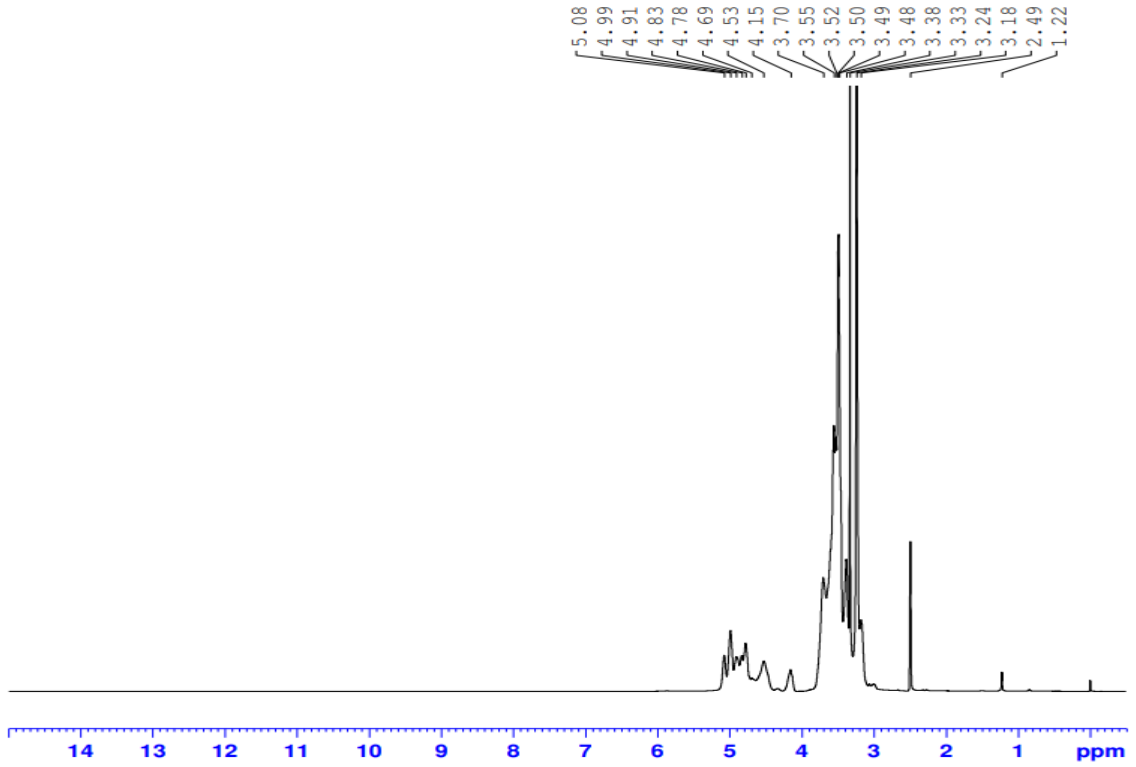
Şekil 5.33

HCD1 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu



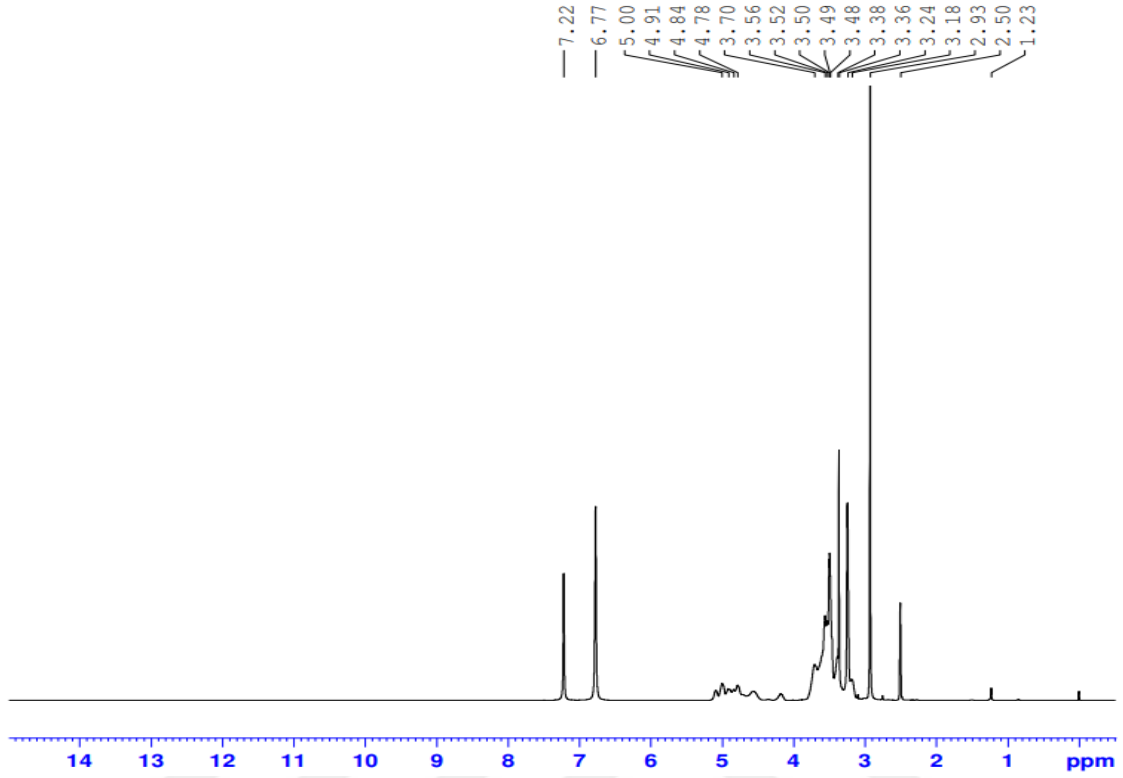
Şekil 5.34 $M\beta\text{CD}$ 'ye ait ^1H -NMR spektrumu

$M\beta\text{CD}$ 'ye ait ^1H -NMR spektrumu



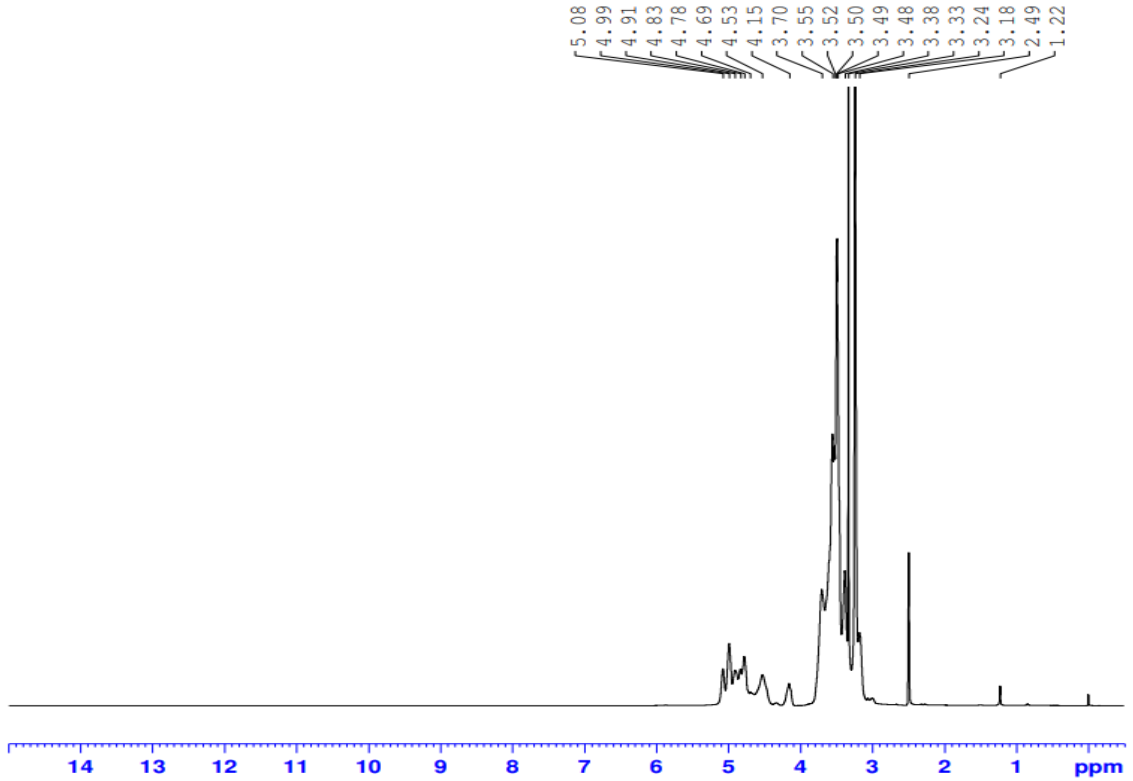
Şekil 5.35

Fiziksel Karışım (MβCD ve MH) ¹H-NMR spektrumu



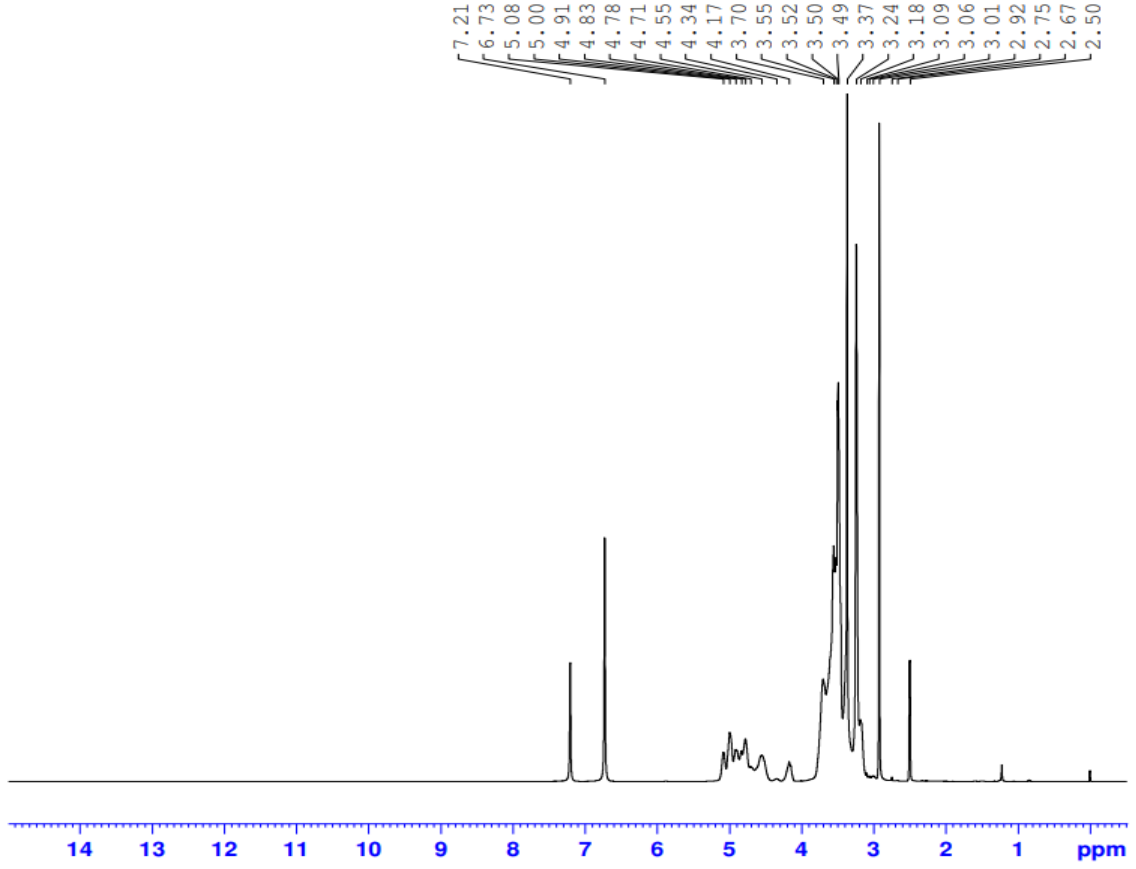
Şekil 5.36

MCD0 formülüne ait ¹H-NMR spektrumu



Şekil 5.37

MCD1 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu



5.3.5 Miktar tayini

Siklodekstrin komplekslerdeki MH miktarı Tablo 4.1’de yer alan analiz şartlarında YBSK yöntemi ile tespit edilmiştir. Miktar tayini sonuçları Tablo 5.5’te yer almaktadır.

Tablo 5.5

Miktar tayini sonuçları (ortalama±standart hata; n=3)

ADI	SBE1	HCD1	MCD1
%EM	10,78±0,03	10,35±0,17	10,95±0,05

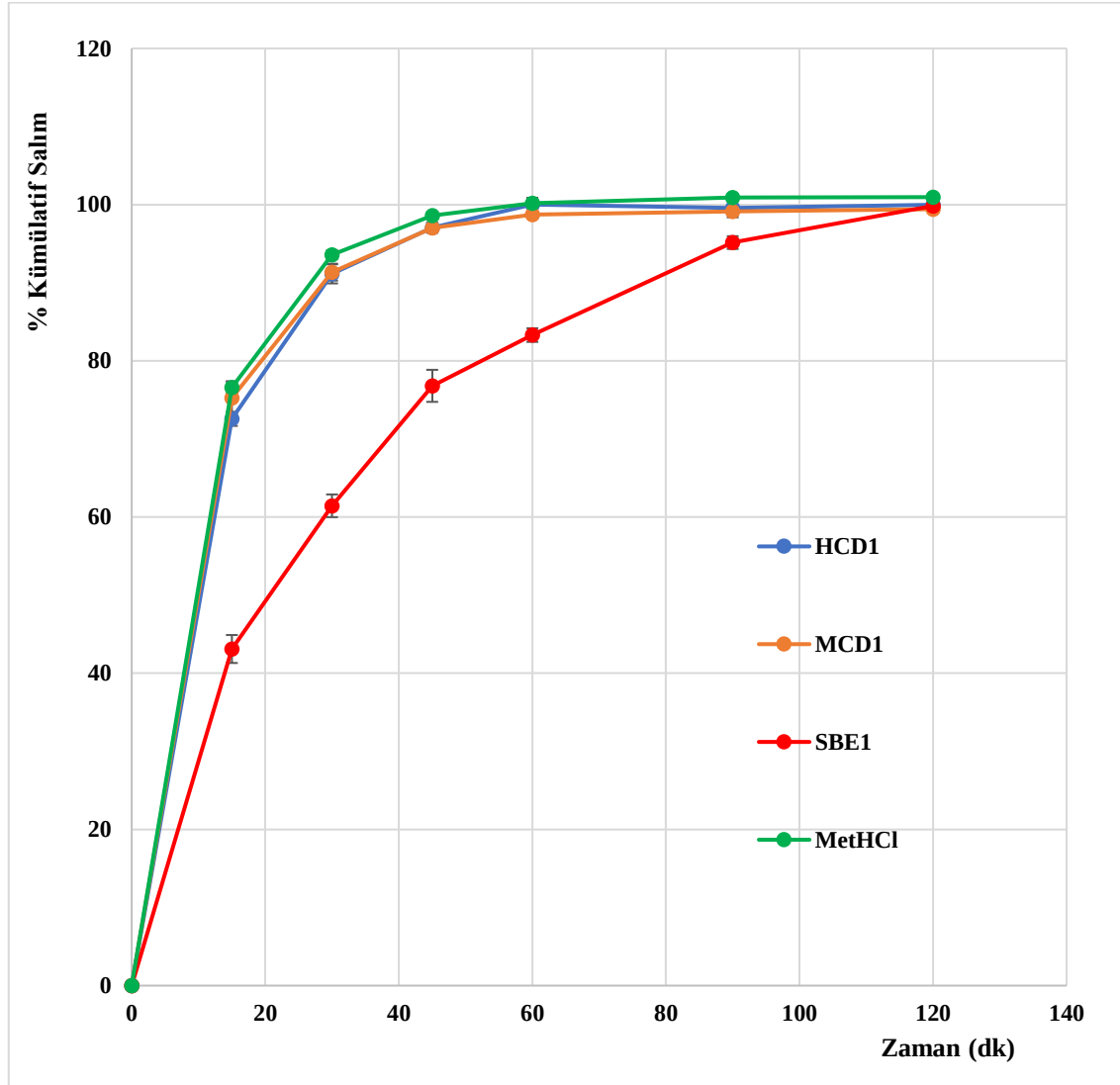
5.3.6 *In vitro* salım çalışması ve salım kinetikleri

5.3.6.1 Suni mide ortamında salım çalışmaları ve kinetiği

Salım çalışması sonuçları Şekil 5.38’de verilmiştir. Suni mide ortamında gerçekleştirilen salım sonuçlarına göre, bütün formülasyonlarda 2 saat sonunda MH’nin tamamının salındığı tespit edilmiştir. Bu süre boyunca en geç salım SβCD ile hazırlanan SBE1 kompleksinde gözlenmiştir.

Şekil 5.38

SBE1, HCD1 ve MCD1 formüllerine ait salım grafiği (pH:1,2) (ortalama±standart hata, n=3)



Tablo 5.6’da salım kinetiği sonuçları yer almaktadır. MSC, AIC ve r^2 değerleri göz önüne alındığında mide ortamında saf MH’nin ve siklodekstrin komplekslerin salım kinetiği birinci derece modeline uymaktadır. Birinci derece kinetikte salım oranı etkin madde derişimine bağı, difüzyon temelli bir modeldir (Gokhale, 2014). Suda çözünür etkin madde içeren gözenekli matrislerde görülen bir salım modelidir (Paarakh vd., 2018). Farklı etkin maddelerle hazırlanan siklodekstrin komplekslerde birinci derece salım kinetiği gözlenen çalışmalar bulunmaktadır (Z. Wang & Li, 2018; Wu vd., 2021). MH ile geliştirilen farklı formülasyonların da sıfıncı derece, Korsmeyer-Peppas gibi çeşitli salım kinetiklerine sahip olduğı literatürde yer almaktadır (Mir vd., 2024; Sha’at vd.,

2025). Ayrıca siklodekstrin gibi polisakkaritlerde salım kinetiğinin difüzyon veya çözünme temelinde gerçekleşeceği bildirilmiştir (Fu & Kao, 2010).

Tablo 5.6

SBE1, HCD1 ve MCD1 formüllerine ait salım kinetiği (pH:1,2)

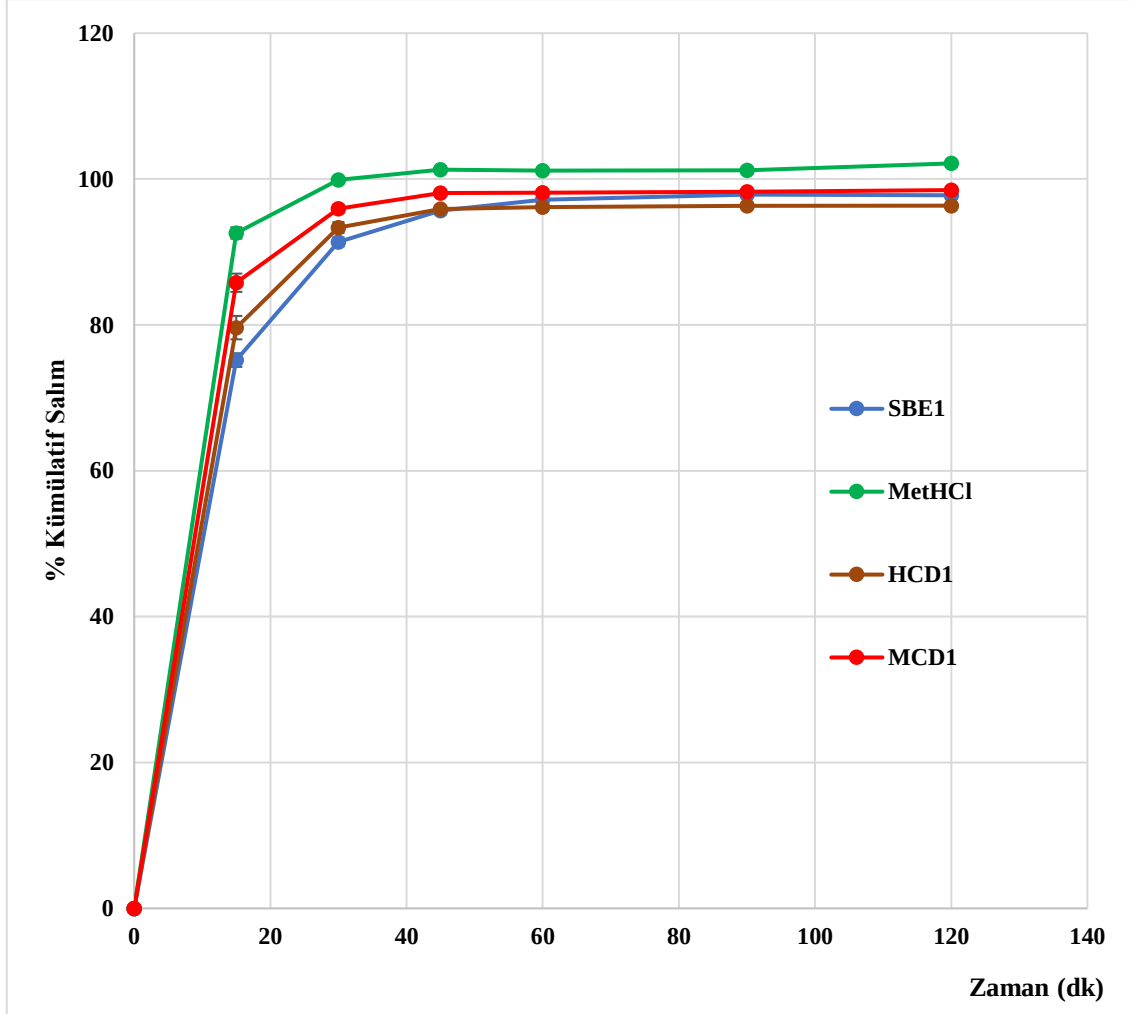
Formülasyon	Parametre	Salım Modelleri-Mide					
		Sıfırıncı Derece	Birinci Derece	Higuchi	Korsmeyer-Peppas	Hixon-Crowell	Hopfenberg
SBE1	k	1,07647	0,0321	10,1670	15,018	0,0075	0,0075
	r²	0,5084	0,9955	0,9622	0,9873	0,9617	0,9709
	AIC	59,3084	26,418	41,3489	35,6977	41,4418	41,5178
	MSC	-0,4664	4,2321	2,099	2,9065	2,0860	2,0751
	n	-	-	-	0,4098	-	4,5000
HCD1	k	1,20167	0,1010	11,7937	52,7743	0,01407	0,0164
	r²	-0,3245	0,9938	0,6486	0,9824	0,7943	0,9927
	AIC	66,9233	29,396	57,6357	38,6692	53,8863	32,4829
	MSC	-2,1549	3,2060	-0,8281	1,8814	-0,2925	2,7651
	n	-	-	-	0,1431	-	3,7500
MCD1	k	1,19697	0,0932	11,7695	56,5919	0,01381	0,0172
	r²	-0,3831	0,9987	0,6200	0,9874	0,7970	0,9946
	AIC	67,1237	18,462	58,0810	36,2253	53,6914	30,2707
	MSC	-2,2664	4,6853	-0,9746	2,1477	-0,3475	2,9983
	n	-	-	-	0,1281	-	4,1250
MH	k	1,21706	0,0939	11,9713	61,2177	0,01378	0,0184
	r²	-0,3920	0,9996	0,6150	0,9844	0,8007	0,9979
	AIC	67,4052	10,416	58,4077	37,9476	53,7977	23,9395
	MSC	-2,2777	5,8636	-0,9923	1,9305	-0,3338	3,9316
	n	-	-	-	0,1181	-	4,5000

5.3.6.2 Suni bağırsak ortamında salım çalışmaları ve kinetiği

Şekil 5.39’da suni bağırsak ortamında salım sonuçları verilmiştir. Sonuçlara göre saf MH ve siklodekstrin komplekslerden etkin madde salımı 45 dakika içinde tamamlanmıştır. Mide ortamına göre daha hızlı etkin madde salımı gözlenmiştir.

Şekil 5.39

SBE1, HCD1 ve MCD1 formüllerine ait salım grafiği (pH:6,8) (ortalama $\pm$ standart hata, n=3)



Tablo 5.7’de suni bağırsak ortamına ait salım kinetiği sonuçları verilmiştir. Siklodekstrin kompleksler suni mide ortamında olduğu gibi birinci derece kinetiğe göre etkin madde salımı yaparken saf MH’nin salım modelinin Hopfenberg olduğu tespit edilmiştir. Her ne kadar saf MH birinci derece salım kinetiğine yakın olsa da AIC ve MSC kriterlerinden elde edilen sonuçlar siklodekstrin komplekslerin MH’den farklı bir salım kinetiğine sahip olduğunu göstermektedir. Hopfenberg modelinde yüzey erozyonu ile salımın yanı sıra iki tabakalı davranış gösteren, ortama özel iki fazlı salım kinetiğini açıklamak için de

kullanılmaktadır (Dash vd., 2010). Hopfenberg modeli sıfırıncı derece kinetiğe uygun salım varsayılarak geliştirilen difüzyon ve polimer aşınmasını temel alan bir modeldir (Arifin vd., 2006). Ancak MH için bir taşıyıcı sistem bulunmaması ve saf halde kullanılması Hopfenberg modeline uygun salım kinetiğini anlamsız kılmaktadır.

Tablo 5.7

SBE1, HCD1 ve MCD1 formüllerine ait salım kinetiği (pH:6,8)

Formülasyon	Parametre	Salım Modelleri-Bağırsak					
		Sıfırıncı Derece	Birinci Derece	Higuchi	Korsmeyer-Peppas	Hixon-Crowell	Hopfenberg
SBE1	k	1,18112	0,08572	11,6273	57,8863	0,01254	0,0146
	r²	-0,4152	0,9960	0,6029	0,7569	0,8293	0,9931
	AIC	67,0966	25,3600	58,2008	31,3087	52,2889	31,8686
	MSC	-2,3144	3,6480	-1,0436	0,7476	-0,1990	2,7182
	n	-	-	-	0,1197	-	5,2500
HCD1	k	1,1730	0,0974	11,6032	67,0585	0,0120	0,0120
	r²	-0,5490	0,9925	0,5289	0,6799	0,7649	0,7821
	AIC	67,6380	30,3152	59,3052	29,5131	54,4417	55,9102
	MSC	-2,5099	2,8219	-1,3195	0,4726	-0,6247	-0,8345
	n	-	-	-	0,0835	-	3,000
MCD1	k	1,2009	0,1204	11,9073	75,6484	0,0134	0,0134
	r²	-0,6249	0,9978	0,4842	0,6990	0,7185	0,7888
	AIC	68,2970	22,0562	60,2650	25,7250	56,0253	56,0157
	MSC	-2,6279	3,9779	-1,4805	0,5341	-0,8748	-0,8734
	n	-	-	-	0,0604	-	3,0000
MHCI	k	1,244	0,217	12,355	68,8829	0,016	0,036
	r²	-0,686	0,997	0,445	-5,0431	0,227	0,999
	AIC	69,063	23,490	61,289	39,6790	63,601	19,467
	MSC	-2,711	3,800	-1,600	-2,466	-1,931	4,374
	n	-	-	-	0,109	-	3,375

5.4 Mikropartiküllerin karakterizasyon çalışmaları

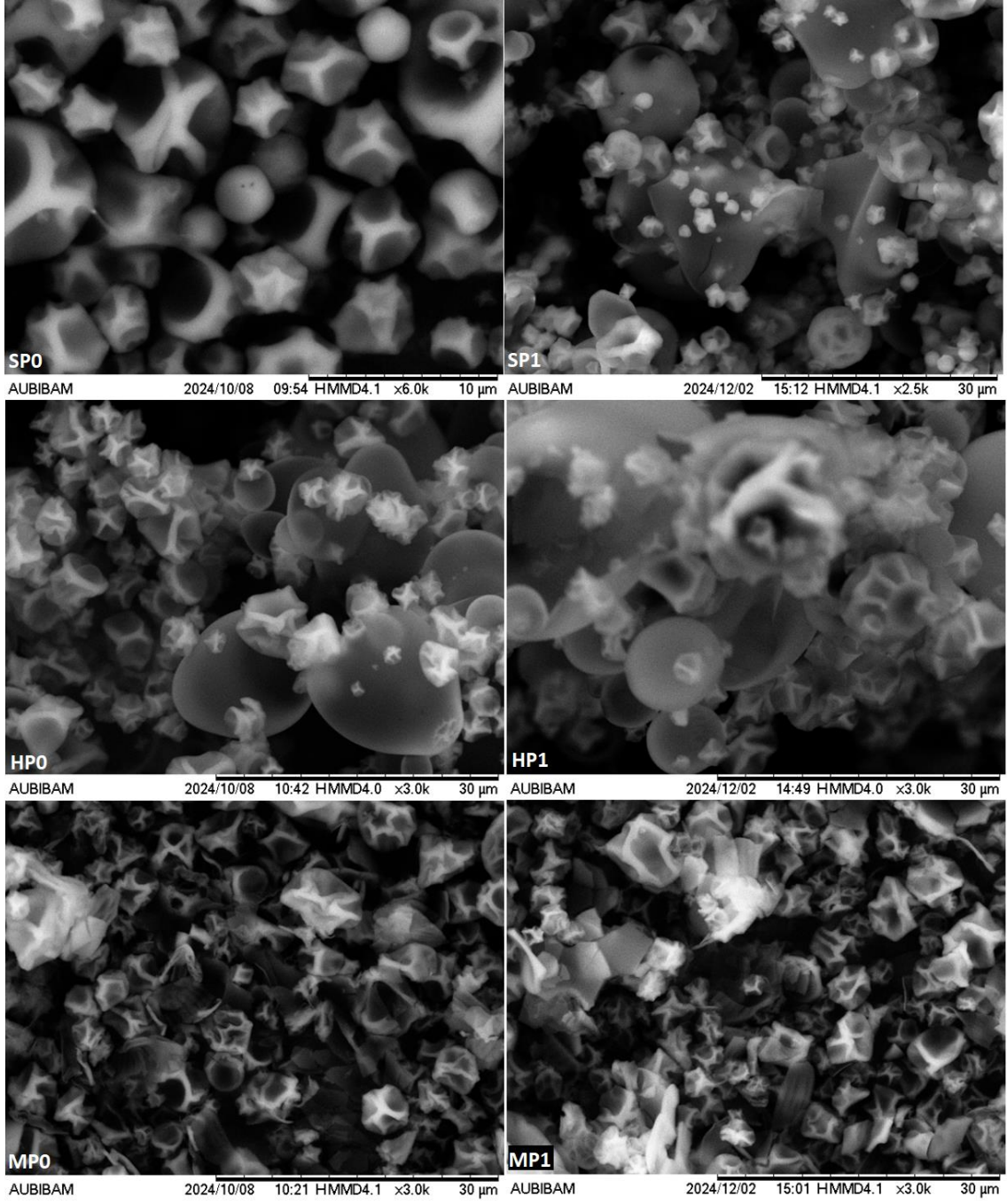
Formülasyon çalışmaları için hazırlanan siklodekstrin kompleksler ile PMA ve FS ile püskürterek kurutma cihazı kullanılarak mikropartiküller geliştirilmiştir. Kısaca Tablo 4.3'te yer alan miktarlarda maddeler tartılarak 100 mL distile suda veya çözücü karışımında çözündürülmüştür. Hazırlanan çözelti 190 °C 1,5 mL/dk besleme hızı ile şartlandırılan püskürterek kurutma (Büchi B190) cihazına verilerek mikropartiküller elde edilmiştir.

5.4.1 Morfolojik inceleme

Formülasyonların morfolojik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla taramalı elektron mikroskobu (SEM, Carl Zeiss SUPRA 50VP, Oberkochen, Almanya) kullanılmıştır. Görsel 5.2'de mikropartiküllere ait görüntüler bulunmaktadır. Formülasyon için kullanılan polimerin türüne göre görünüşlerinde farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. PMA ve siklodekstrinlerle hazırlanan partiküllerde biçimsiz, küresel olmayan bir yapı gözlenirken FS ve PMA ile hazırlanan partiküller küresel yapılıdır. Sadece FS kullanılarak üretilen partiküller ise (F ve FS kodlu formüller) asimetrik küresel biçimdedir. PMA ile üretilen partiküllerde de biçimsiz asimetrik yapı görülmüştür. F0 ve F2 formülleri arasındaki yapı farkı dışında plasebo formüllerle MH yüklü formüller arasında gözle görünür bir fark tespit edilememiştir. F kodlu formüllerde etkin madde oranı arttıkça partiküller daha küresel bir yapı kazanmıştır.

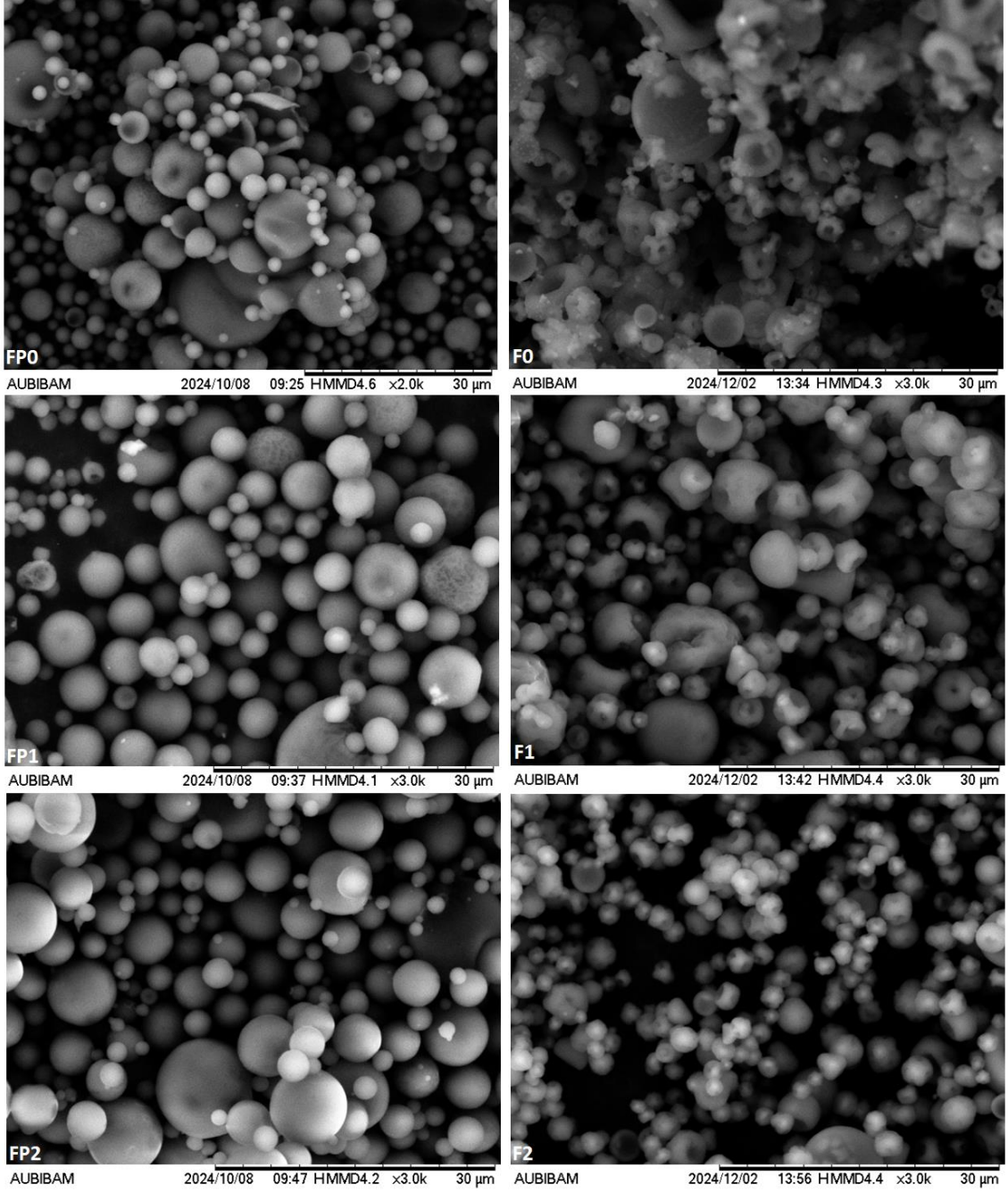
Görsel 5.2

Mikropartiküler formüllere ait SEM görüntüsü



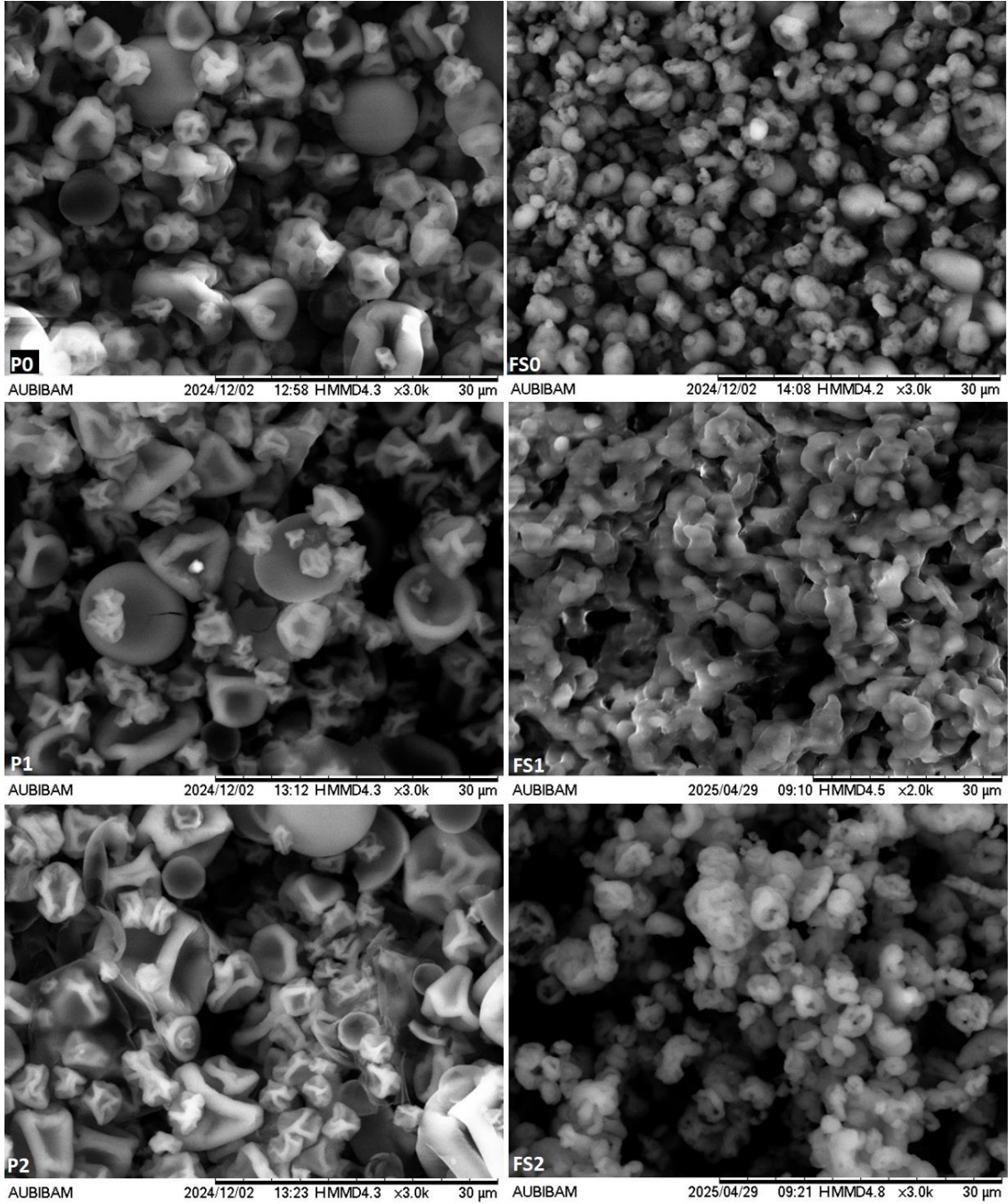
Görsel 5.2 (Devam)

Mikropartiküler formüllere ait SEM görüntüsü



Görsel 5.2 (Devam)

Mikropartiküler formüllere ait SEM görüntüsü

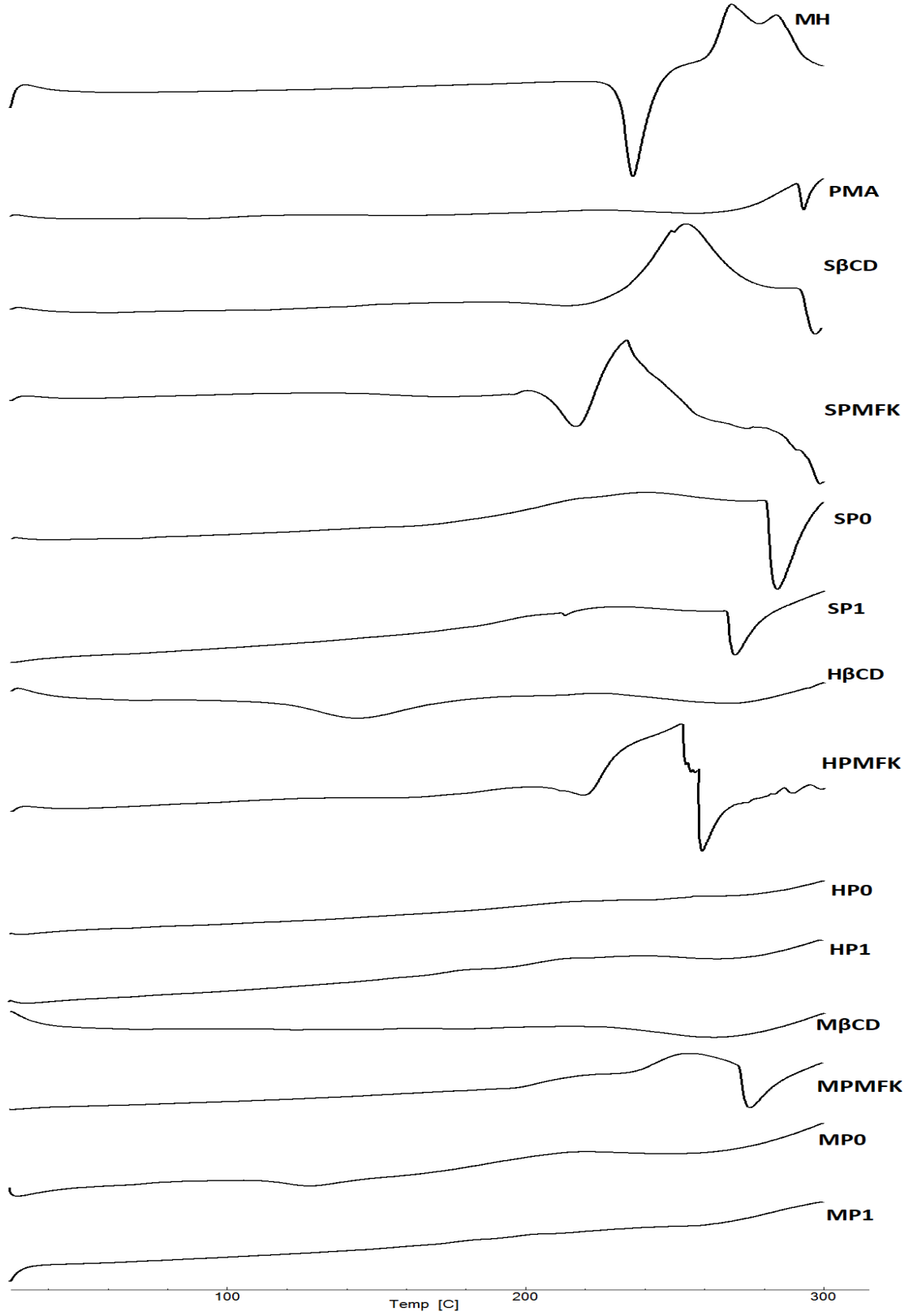


5.4.2 Termal analiz

Formülasyonlara ait termogramlar Şekil 5.40'ta ve 5.41'de verilmiştir. Şekil 5.40'ta bulunan siklodekstrin PMA mikropartiküllerinden HP1 ve MP1 kodlu formülasyonlarda MH'nin erime pikine rastlanmamıştır. SP1 formülasyonunda ise fiziksel karışımla aynı bölgede küçük bir pik gözlenmektedir.

Şekil 5.40

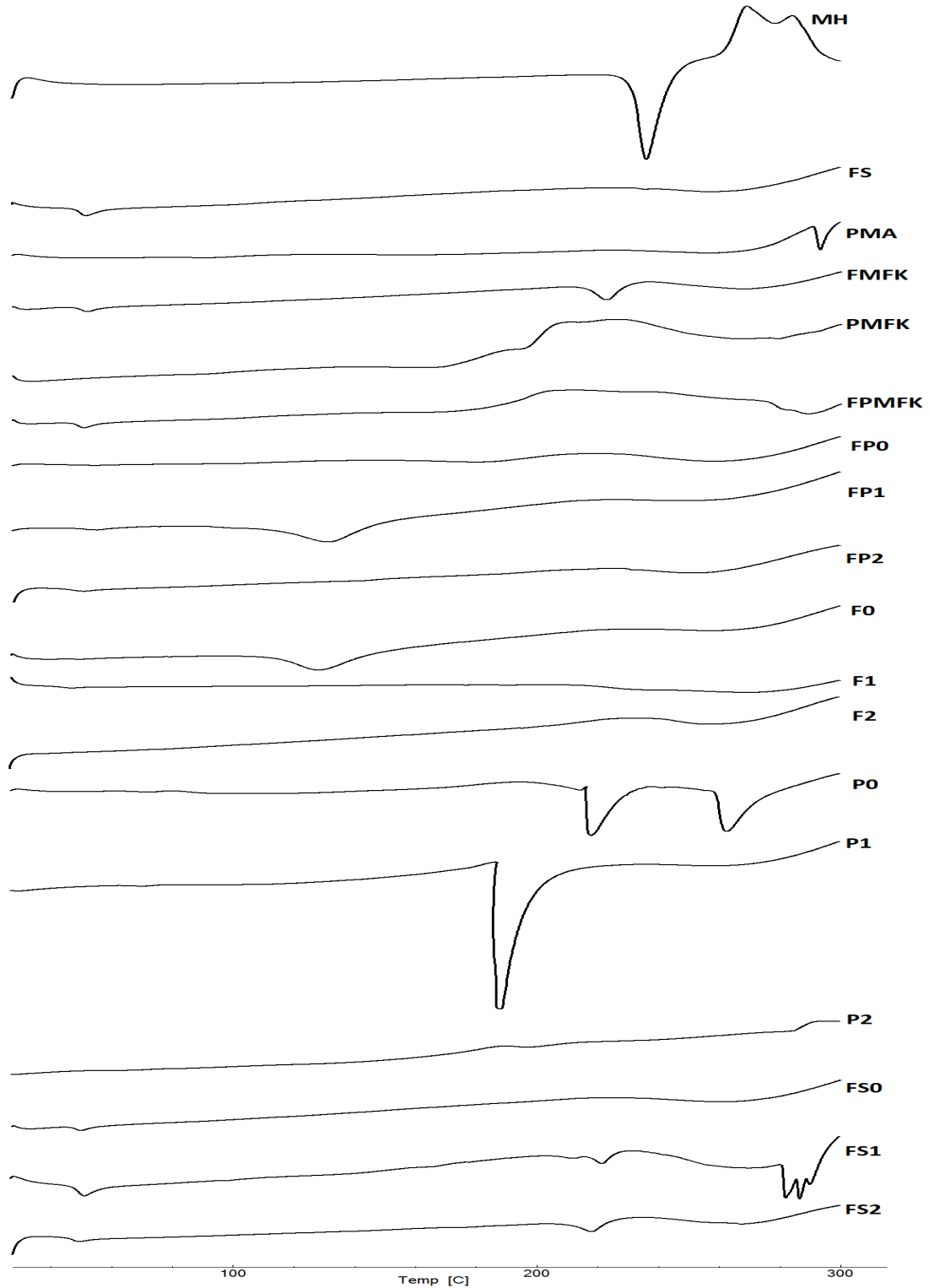
CD-PMA formüllerine ait DSC termogramı



NOT: SPMFK, HPMFK ve MPMFK siklodekstrinler, PMA ve MH ile fiziksel karışımlardır

Şekil 5.41

FS-PMA formüllerine ait DSC termogramı



NOT: FMFK, PMFK ve FPMFK FS, PMA ve MH fiziksel karışımlarıdır

MH'nin erime piki FS ile oluşturulan fiziksel karışımda gözlenirken PMA içeren fiziksel karışımlarda gözlenmemiştir. Benzer şekilde PMA'nın 290 °C'de yer alan deformasyon

piki de fiziksel karışımlarda gözlenmezken PMFK ve FPMFK termogramında dalgalanmalar göze çarpmaktadır. FP0 ve FP2 formüllerinde herhangi bir pik gözlenmezken F0 ve FP1 formülünde 130 °C’de geniş bir pik gözlenmektedir. F0 formülünde söz konusu pikin gözlenme sebebinin formülasyon geliştirme sürecinde bazik ortamda çözündürülmesi sonucunda tuz formuna dönüşmesi olduğu düşünülmektedir. Ayrıca FS 100’e ait, 50 °C’de gözlenen camsı geçiş sıcaklığı piki tuz formu oluşan F0, FP0 formüllerinde gözlenmemiştir.

FS formüllerinde ise MH ve FS aynı çözücüde çözünmediği için bir çözücü karışımı hazırlanmıştır. Hazırlanan çözücü karışımı organoleptik kontrollerde her ne kadar homojen gözükse de MH’nin erime piki termogramlarda görülmektedir. Nitekim, etkin maddenin polimer içinde moleküler dağılımı gerçekleşmemiştir.

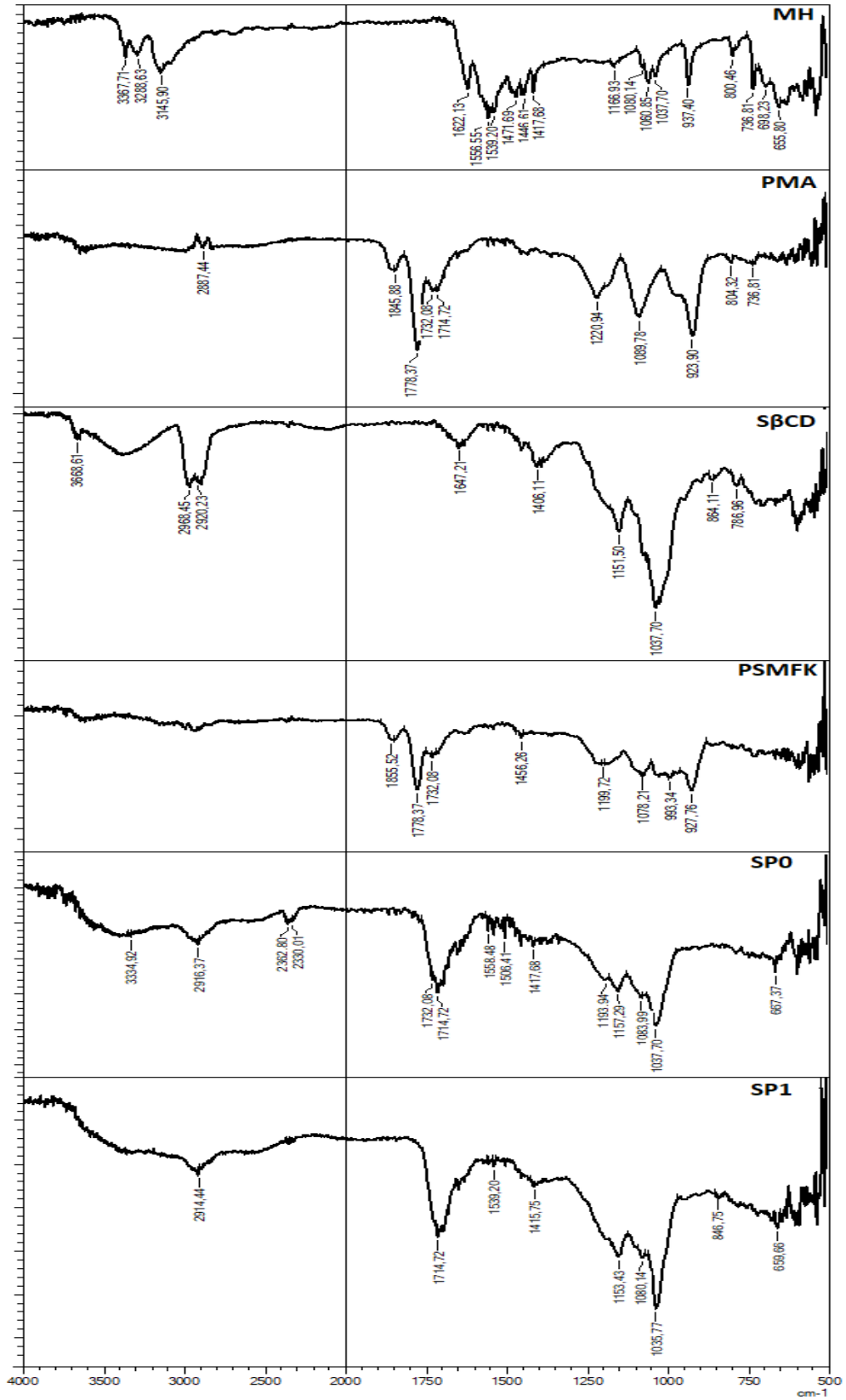
P formülleri ise suda çözünerek hazırlanmıştır. PMA’nın suda çözünmesi hidrolize dayanmaktadır. P0 formülünde iki farklı endotermik pik gözlenmektedir. Söz konusu pikler P1 ve P2 formülasyonlarında gözlenmemiştir. Ayrıca P1 formülasyonunda 190 °C’de derin bir pik gözlenmektedir. Literatürde PMA için 245 °C’den sonra bozunduğuna dair sonuçlar yer almaktadır (Mazı & Gülpınar, 2014). Bu bağlamda P0 formülündeki ikinci pik bu durumla ilişkilendirilmektedir ancak diğer pik ve P1 formülasyonundaki pik için uygun bir bağıntıya literatürde rastlanmamıştır.

5.4.3 Fourier dönüşümlü kızıl ötesi analizi

Formülasyonların FT-IR analizi, 4000-400 cm^{-1} dalga boyu aralığında gerçekleştirilmiştir ve Şekil 5.42-48’de verilmiştir. Şekil 5.42’de SP1 formülüne ait spektrumda MH’nin karakteristik sinyallerinden biri olan 1539 cm^{-1} ’deki C=NH gerilmesine ait pik gözlenmektedir. DSC analizlerinde de gözlenen erime piki ile değerlendirildiğinde MH ile PMA ve S β CD’nin moleküler düzeyde yeterince homojen karışım oluşturmadığı sonucuna varılmıştır. Şekil 5.43’te MH’nin karakteristik bantları HP1 formülünde gözlenmemiştir. Dolayısıyla MH H β CD ve PMA içinde moleküler düzeyde tekdüze dağıldığı doğrulanmıştır. Şekil 5.44’te MH’nin karakteristik bantları MP1 formülünde gözlenmemiştir. Dolayısıyla MH M β CD ve PMA içinde moleküler düzeyde tekdüze dağıldığı doğrulanmıştır. Şekil 5.45’te MH’nin karakteristik bantları FP1 ve FP2 formülünde gözlenmemiştir. Dolayısıyla MH FS ve PMA içinde moleküler düzeyde tekdüze dağıldığı doğrulanmıştır.

Şekil 5.42

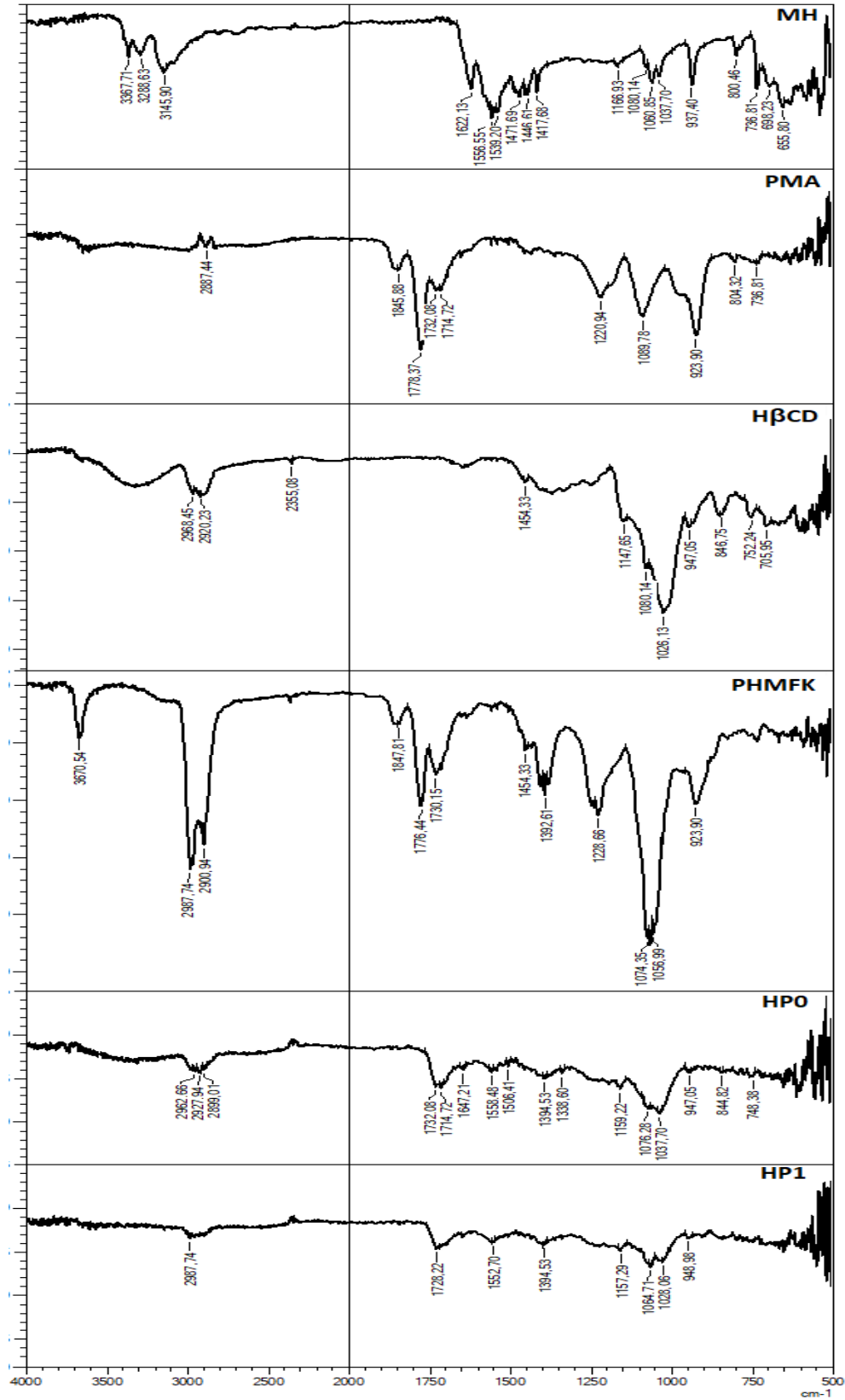
SP0 ve SP1 formülüne ait FT-IR spektrumu



NOT: PSMFK (PMA, SβCD ve MH) fiziksel karışım

Şekil 5.43

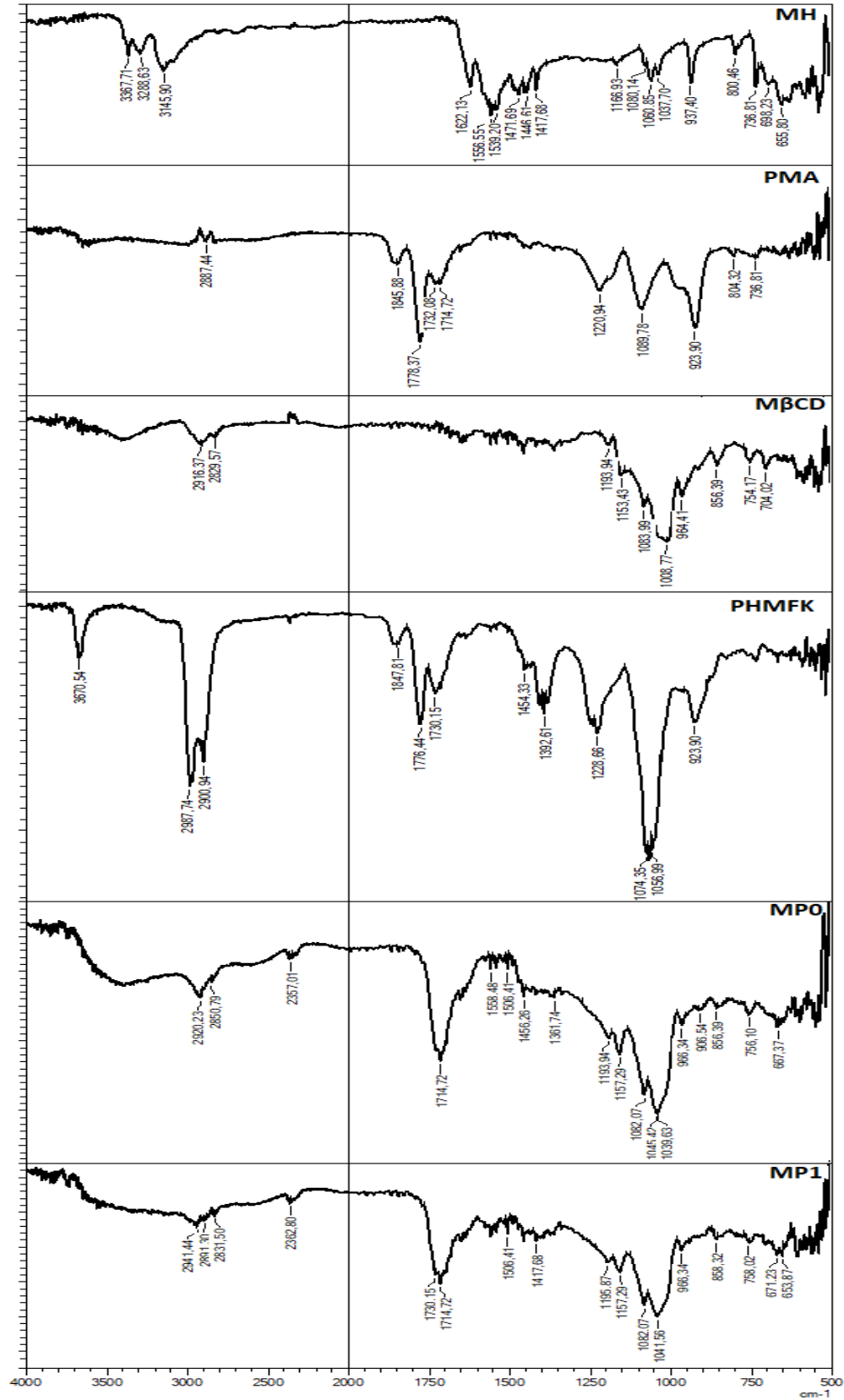
HP0 ve HP1 formüllerine ait FT-IR spektrumu



NOT: PHMFK (PMA, HβCD ve MH) fiziksel karışım

Şekil 5.44

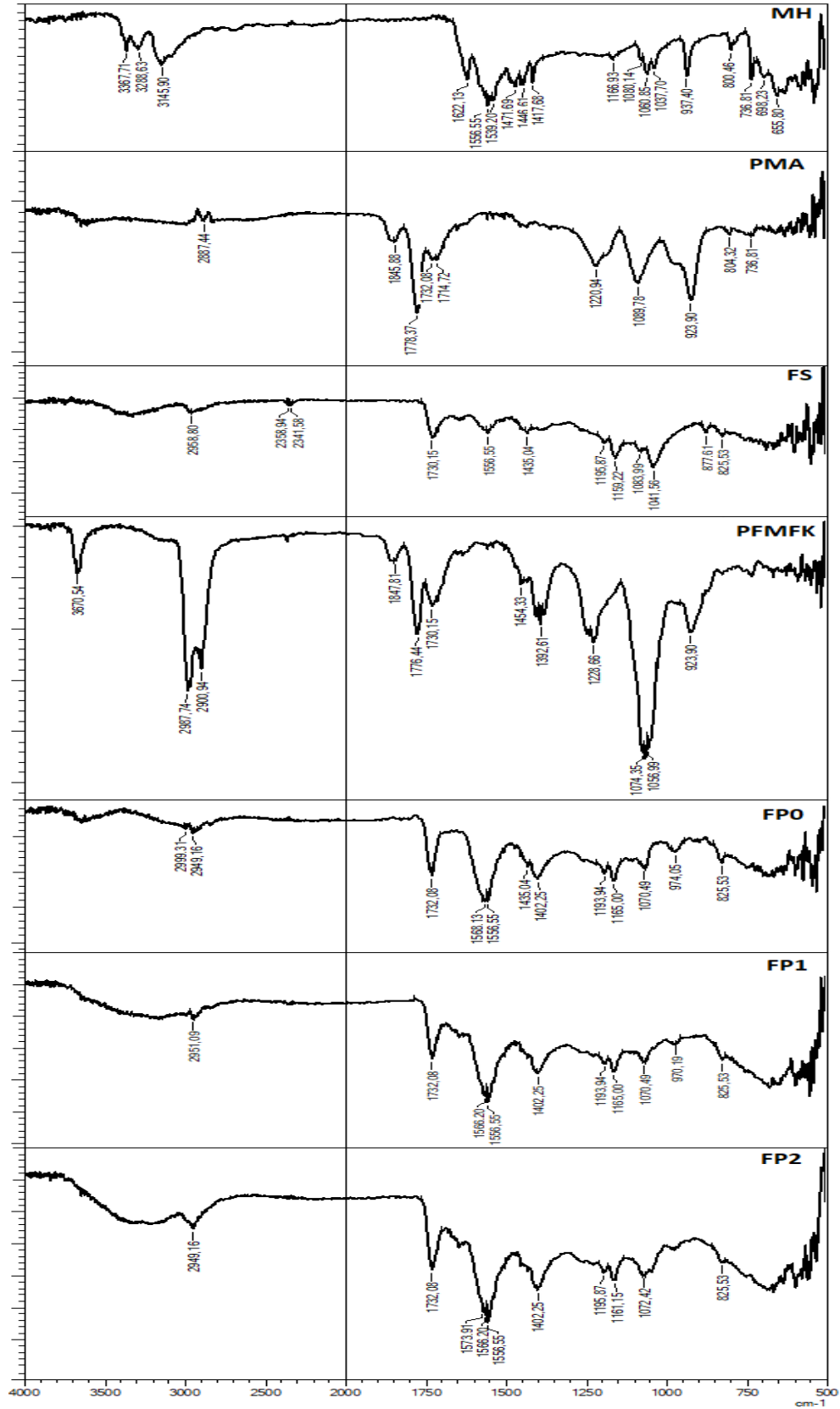
MP0 ve MP1 formüllerine ait FT-IR spektrumu



NOT: PMMFK (PMA, MβCD ve MH) fiziksel karışım

Şekil 5.45

FP0, FP1 ve FP2 formüllerine ait FT-IR spektrumu

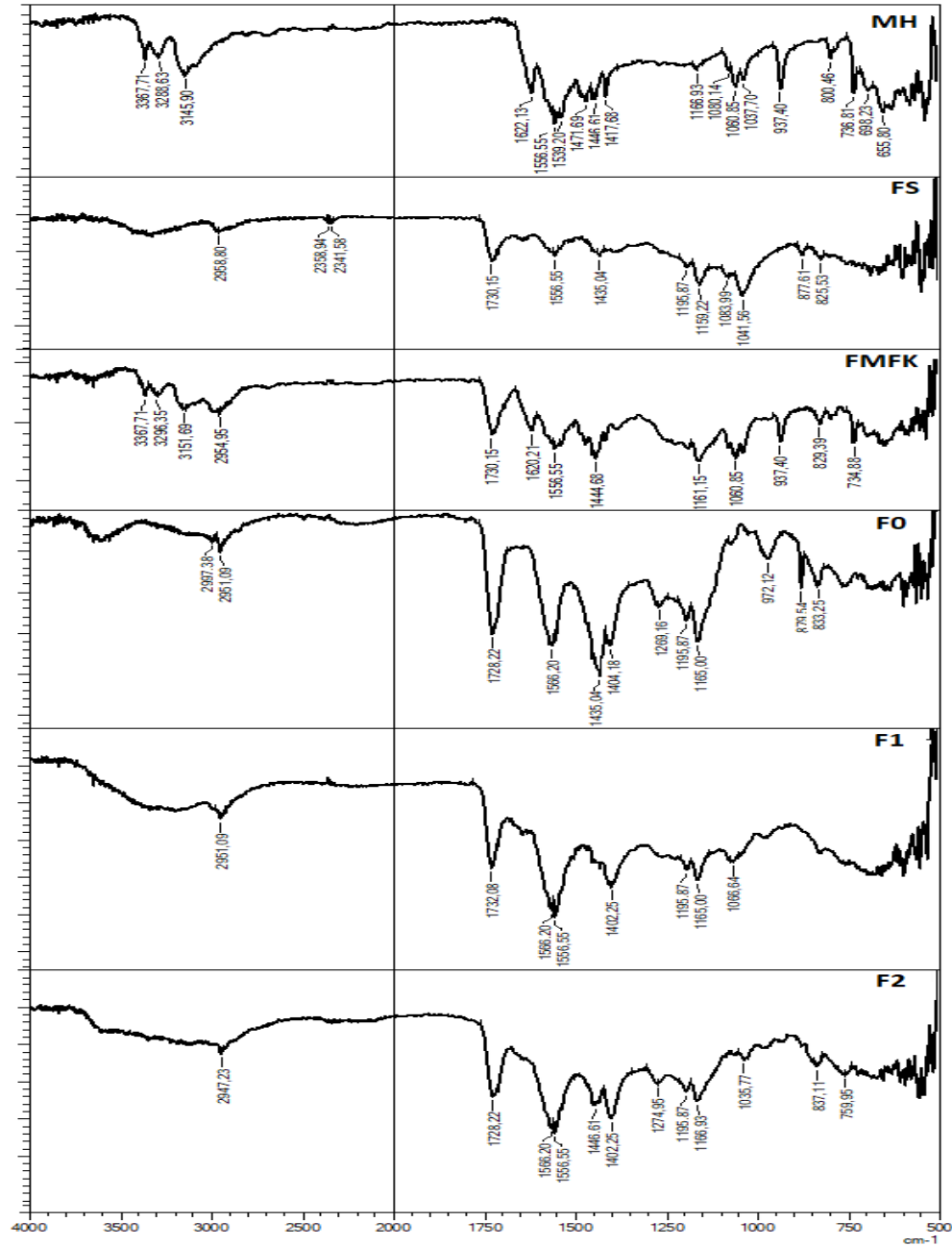


NOT: PFMFK (FS, PMA ve MH) fiziksel karışım

Şekil 5.46'da F1 formülünde MH'nin karakteristik bantlarından C-H bağlarına ait 1066 cm^{-1} 'deki pik dikkat çekmektedir. Benzer şekilde F2 formülüne ait spektrumda da C-H bağlarına ait 1446 cm^{-1} 'deki pik gözlenmektedir ancak N-H gerilmelerine ve C=NH gerilmelerine ait bantları formüllerde gözlenmemiştir. DSC termogramında da herhangi bir erime piki gözlenmediği için MH'nin FS içinde moleküler düzeyde tekdüze dağıldığı doğrulanmıştır.

Şekil 5.46

F0, F1 ve F2 formüllerine ait FT-IR spektrumu

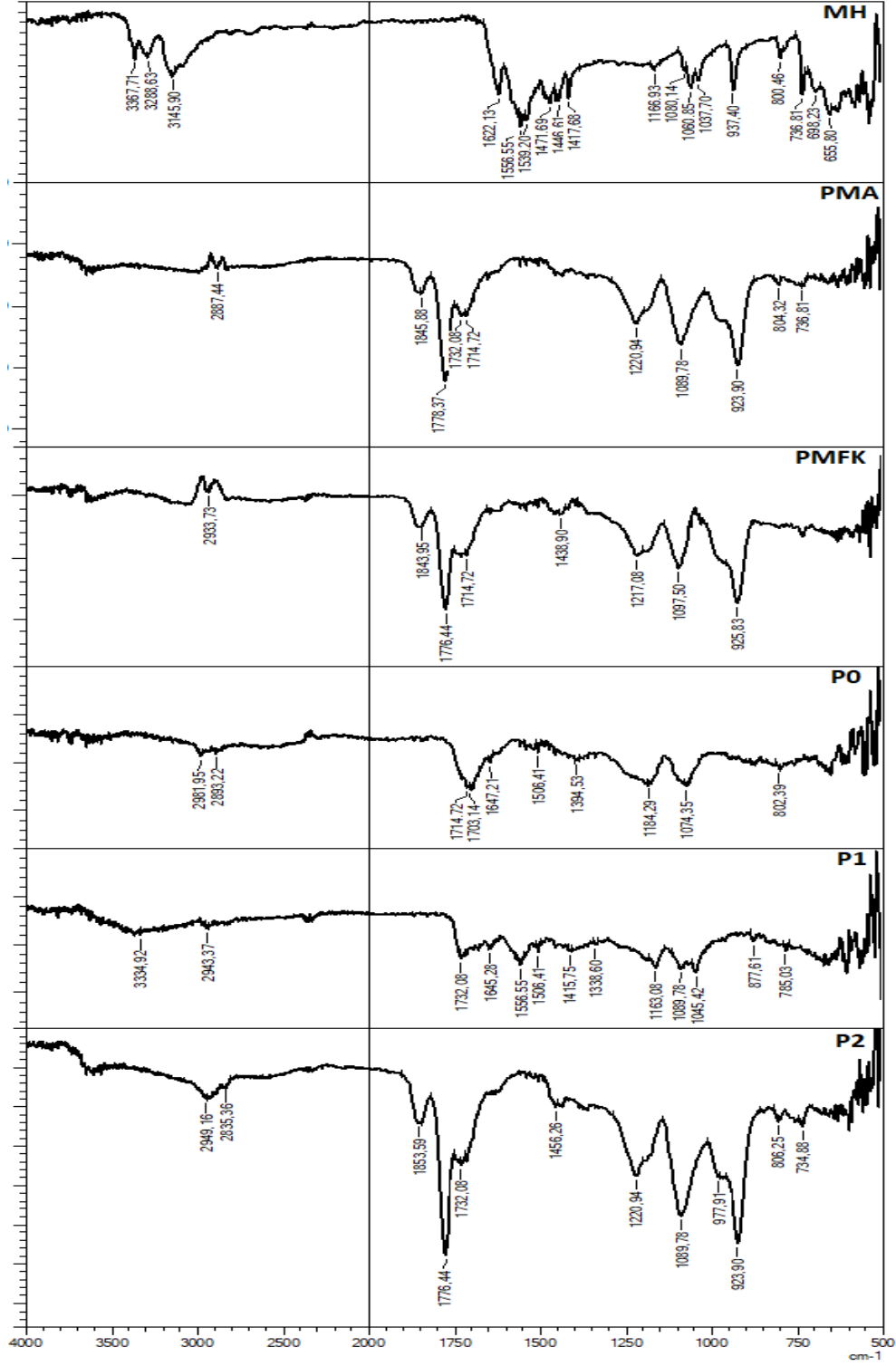


NOT: FMFK (FS ve MH) fiziksel karışım

Şekil 5.47’de P1 ve P2 formüllerinde MH’ye ait karakteristik piklere rastlanmamıştır. MH’nin PMA içinde moleküler düzeyde tekdüze dağıldığı doğrulanmıştır.

Şekil 5.47

P0, P1 ve P2 formüllerine ait FT-IR spektrumu

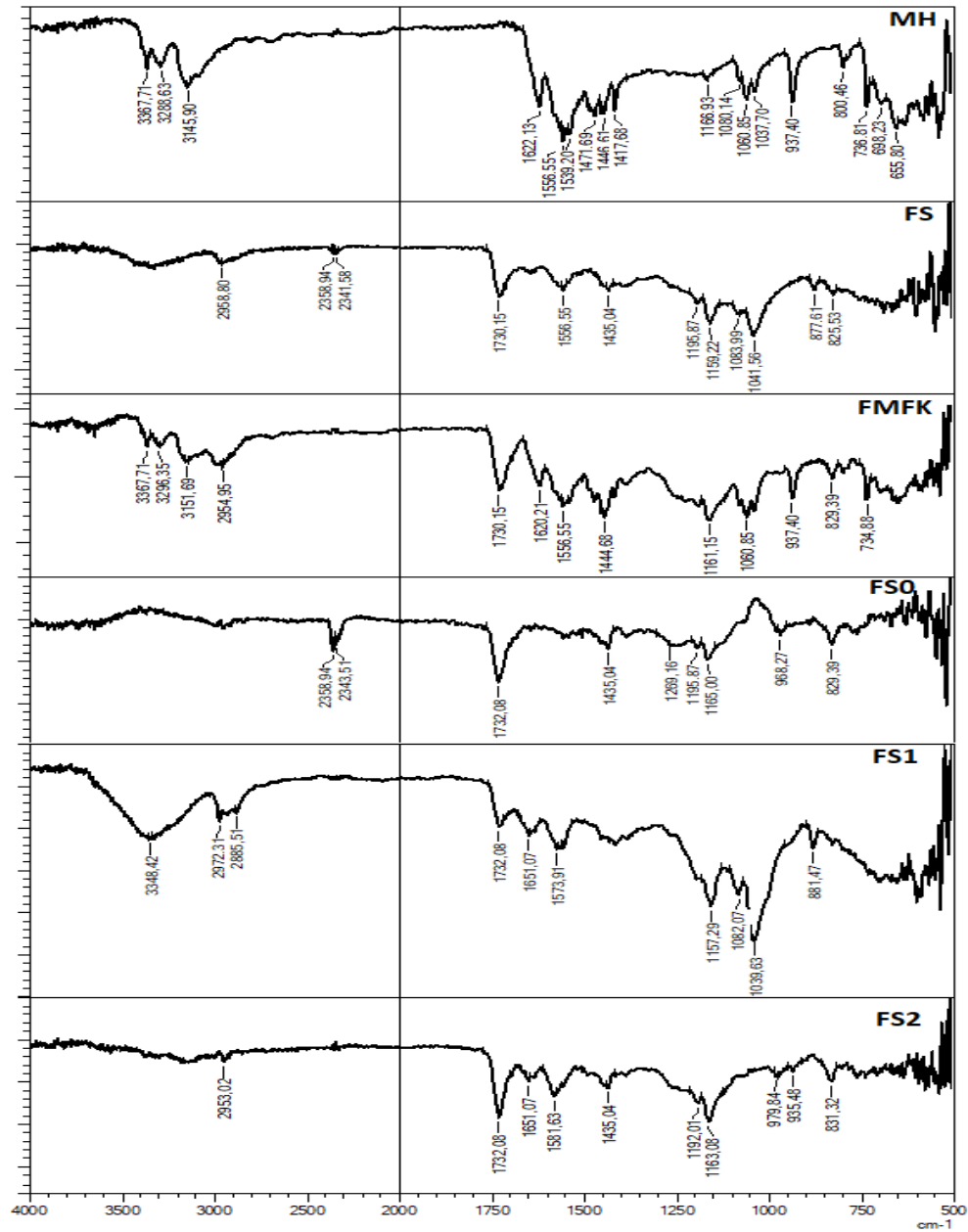


NOT: PMFK (PMA ve MH) fiziksel karışım

Şekil 5.48’de FS1 ve FS2 formüllerinde MH’ye ait karakteristik pikler gözlenmemiştir. Ancak DSC termogramı ile değerlendirildiğinde MH’nin erime pikleri açıkça gözlemlendiği için moleküler düzeyde tekdüze dağılımın gerçekleşmediği düşünülmektedir.

Şekil 5.48

FS0, FS1 ve FS2 formüllerine ait FT-IR spektrumu



NOT: FMFK (FS ve MH) fiziksel karışım

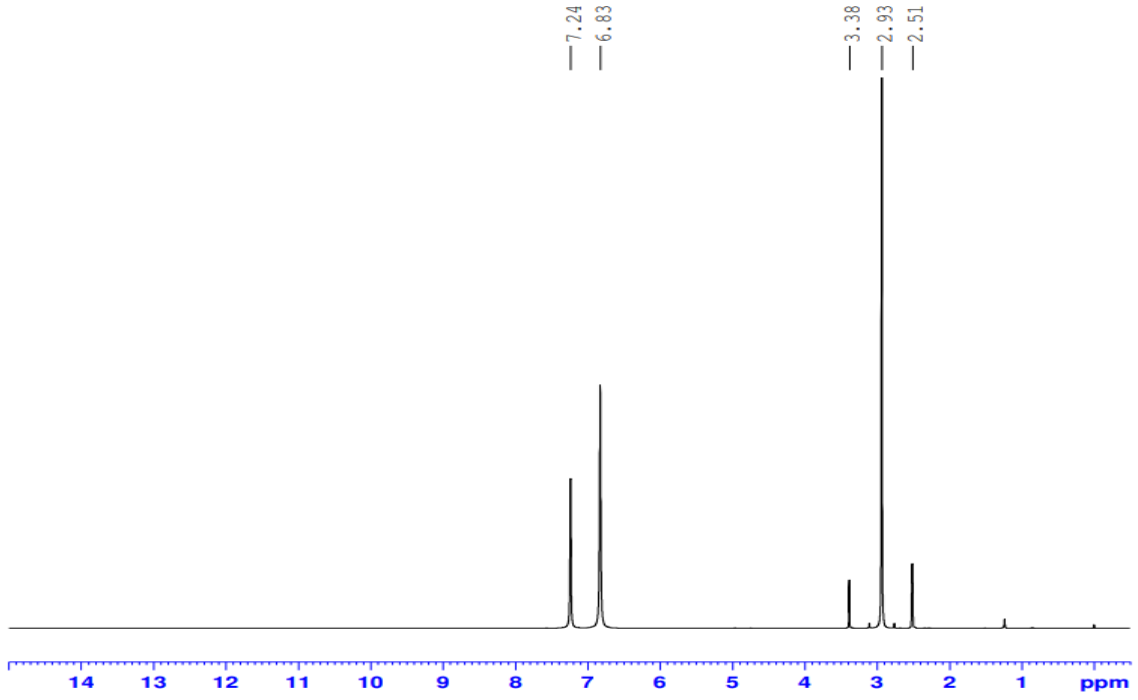
5.4.4 Nükleer manyetik rezonans analizleri

Şekil 5.49-78 arasında ^1H -NMR spektrumları verilmiştir. MH’nin pikleri formüllere ait spektrumlarda eksiksiz bir şekilde gözlenmiştir. Bu durum MH ile formülasyonların

yapısında bulunan diğer polimerlerin etkileşiminin kimyasal bağlarla değil fiziksel etkileşimlerle olduğunu ve MH'nin formüller içinde kimyasal bütünlüğünü ortaya koymaktadır.

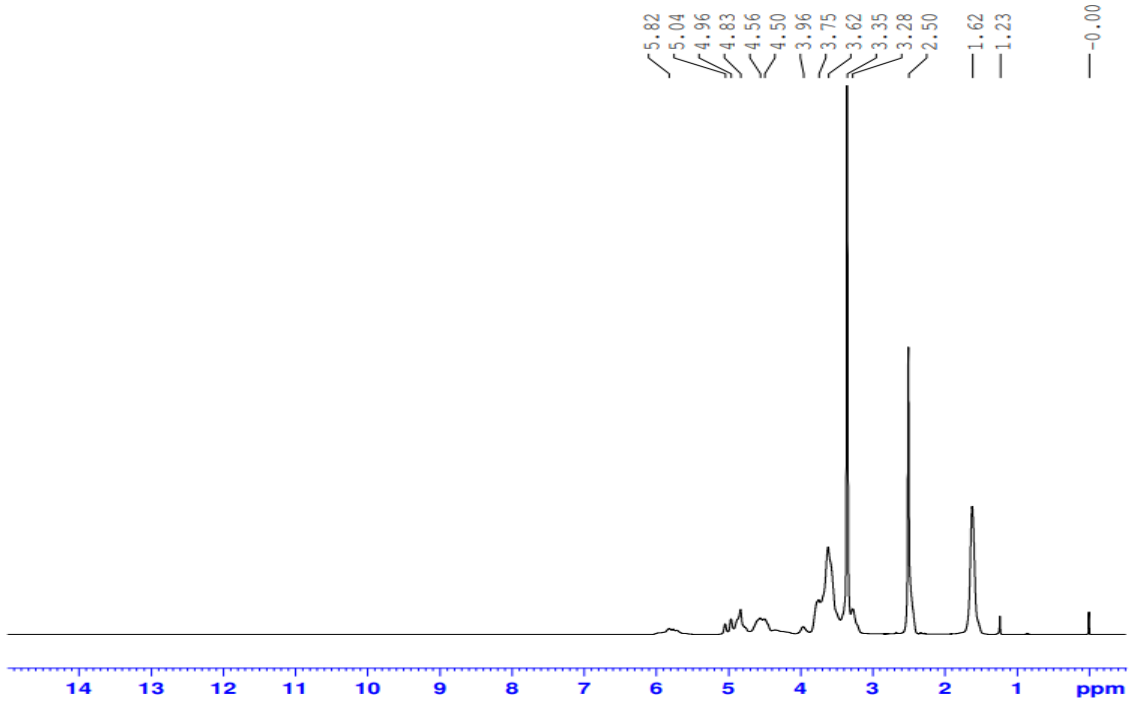
Şekil 5.49

MH'ye ait ^1H -NMR spektrumu



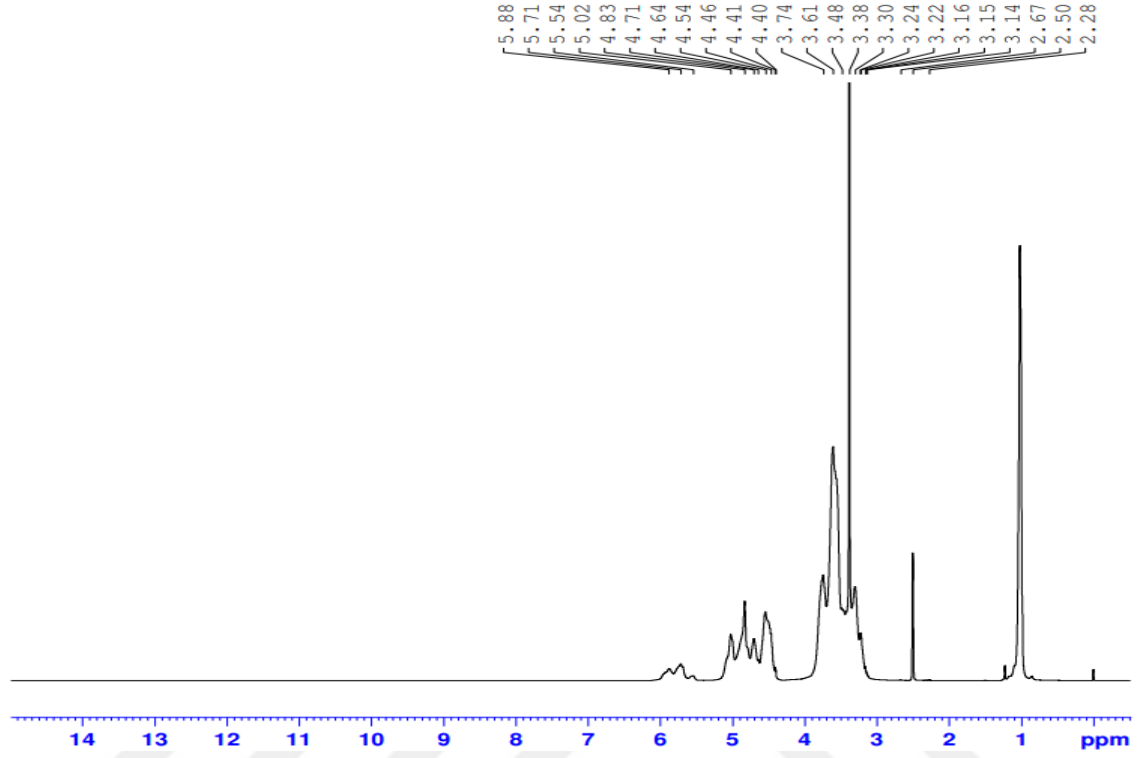
Şekil 5.50

S β CD'ye ait ^1H -NMR spektrumu



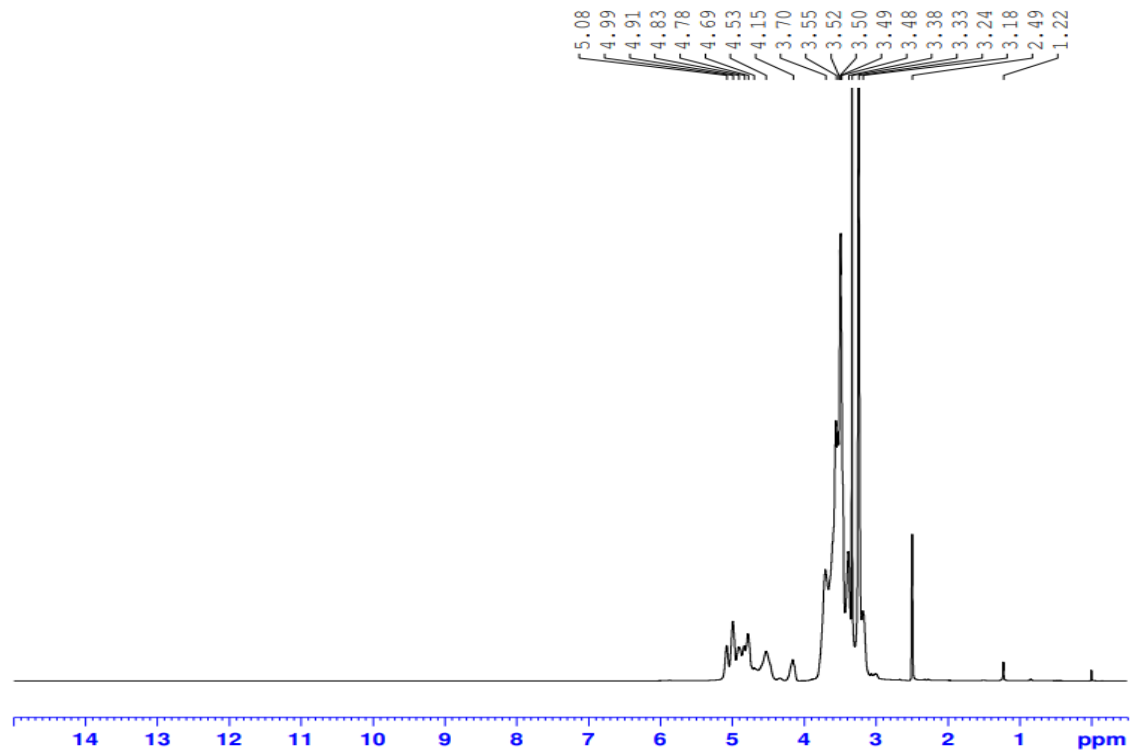
Şekil 5.51

HβCD'ye ait ^1H -NMR spektrumu



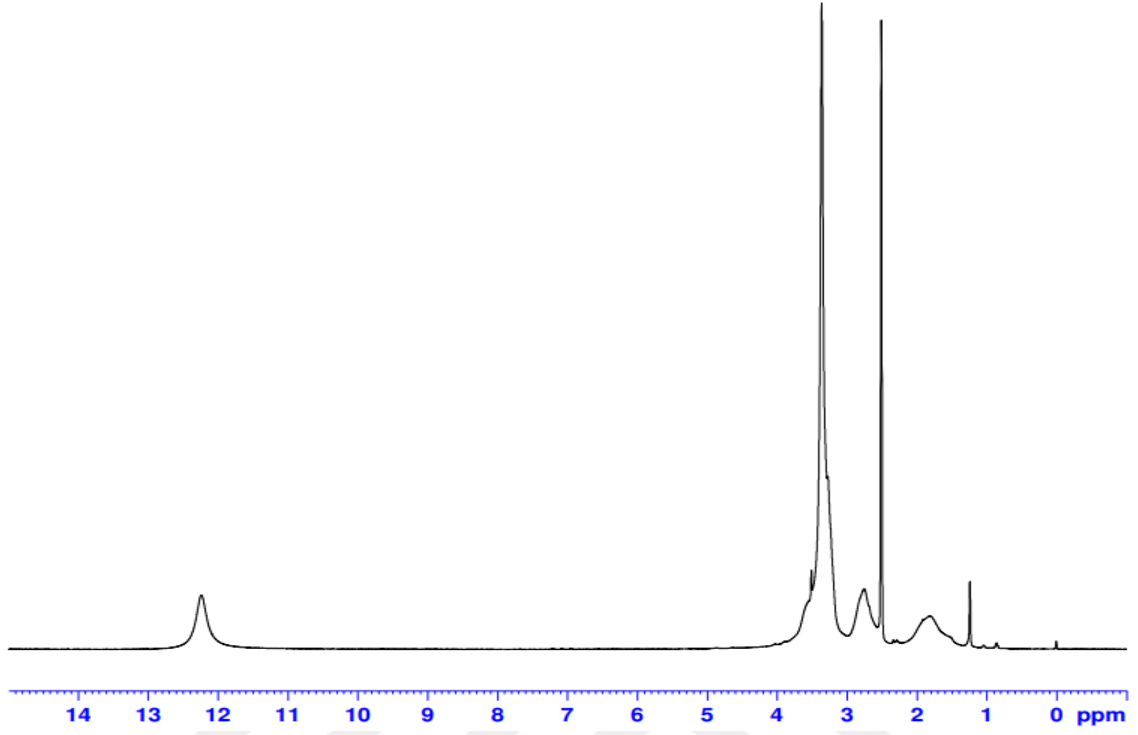
Şekil 5.52

MβCD'ye ait ^1H -NMR spektrumu



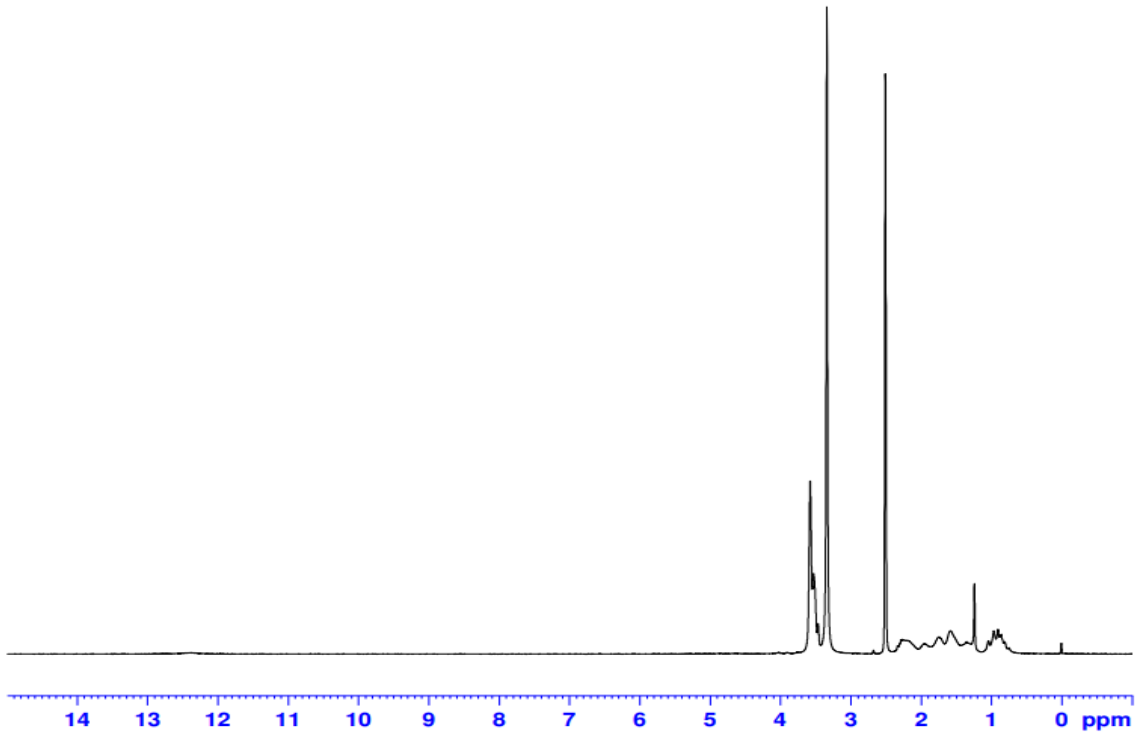
Şekil 5.53

PMA'ya ait NMR spektrumu



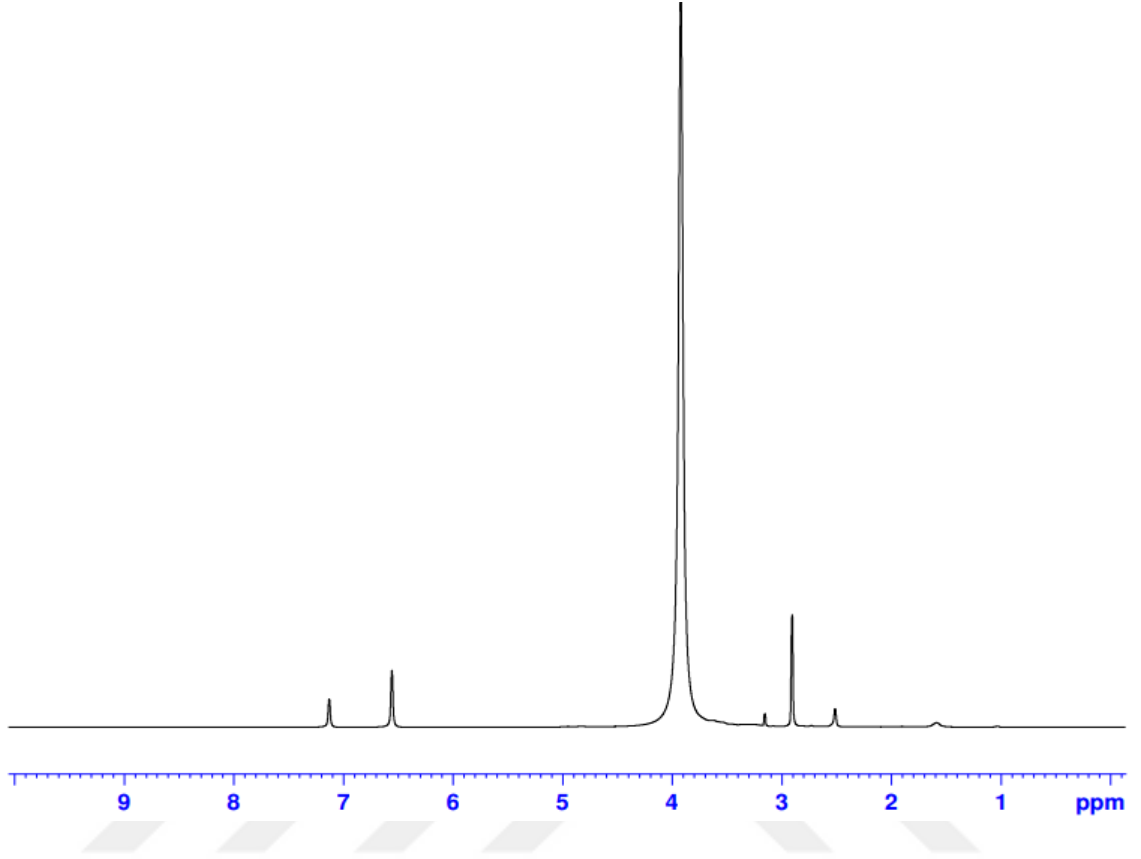
Şekil 5.54

FS'ye ait ^1H -NMR spektrumu



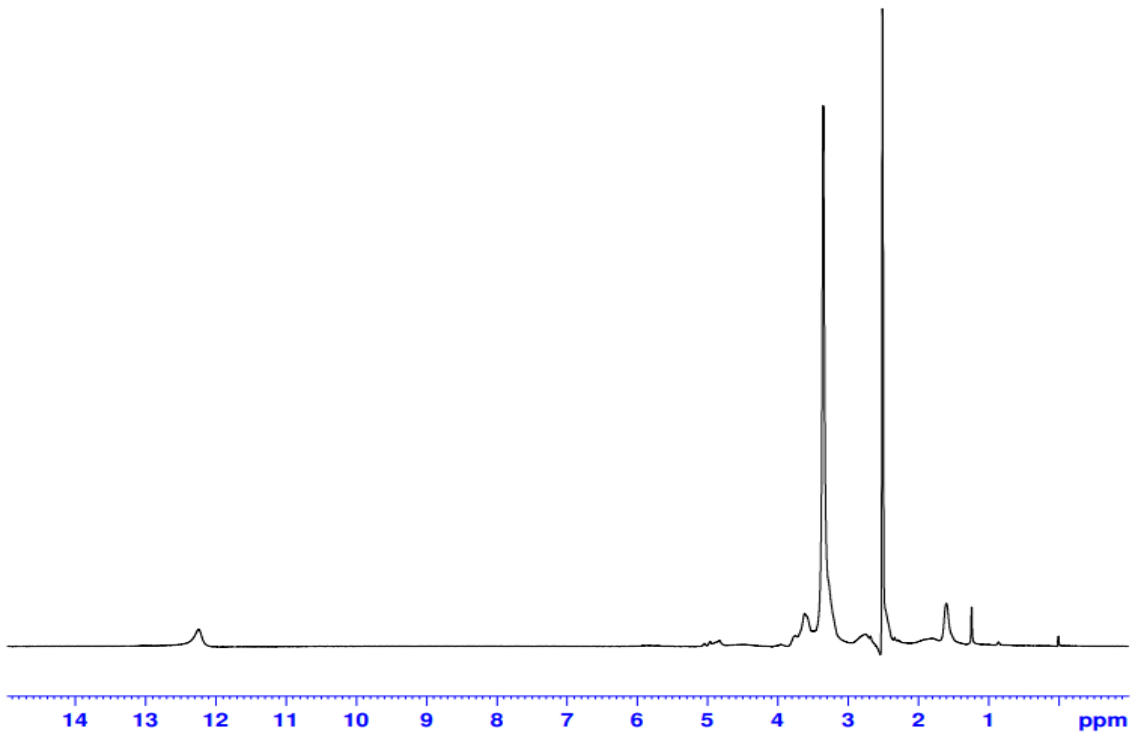
Şekil 5.55

Fiziksel karışım (SβCD, PMA ve MH) ¹H-NMR spektrumu



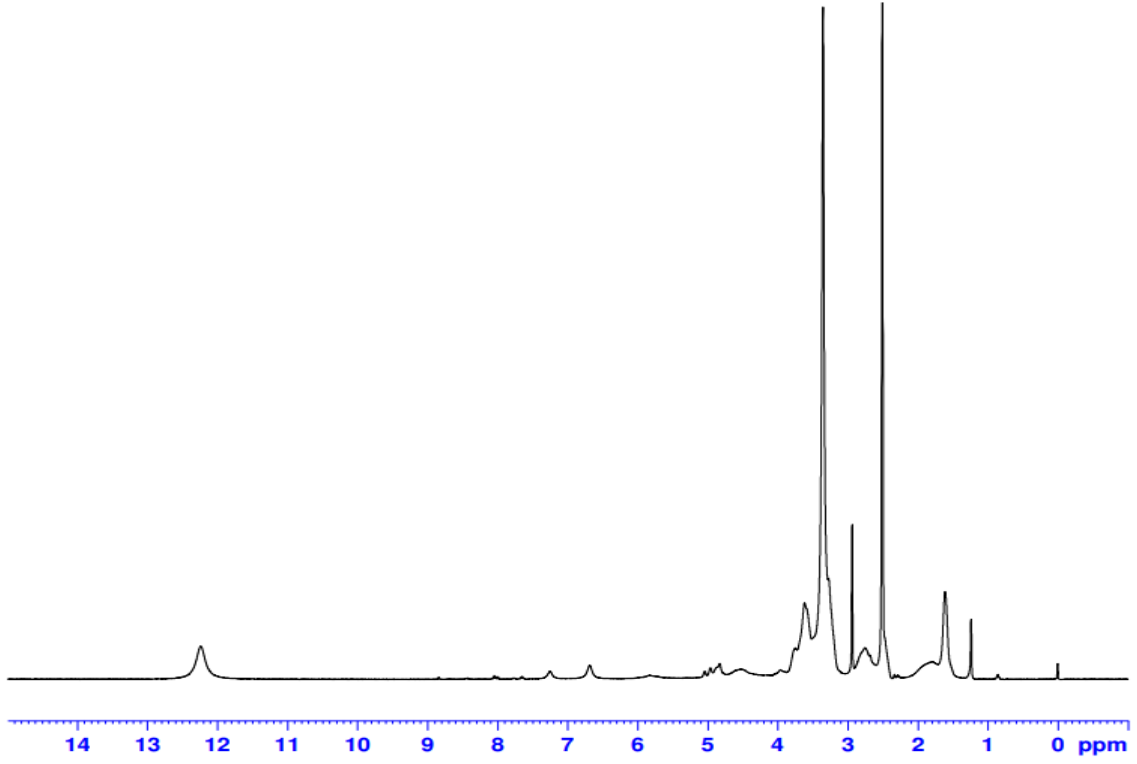
Şekil 5.56

SP0 formülüne ait ¹H-NMR spektrumu

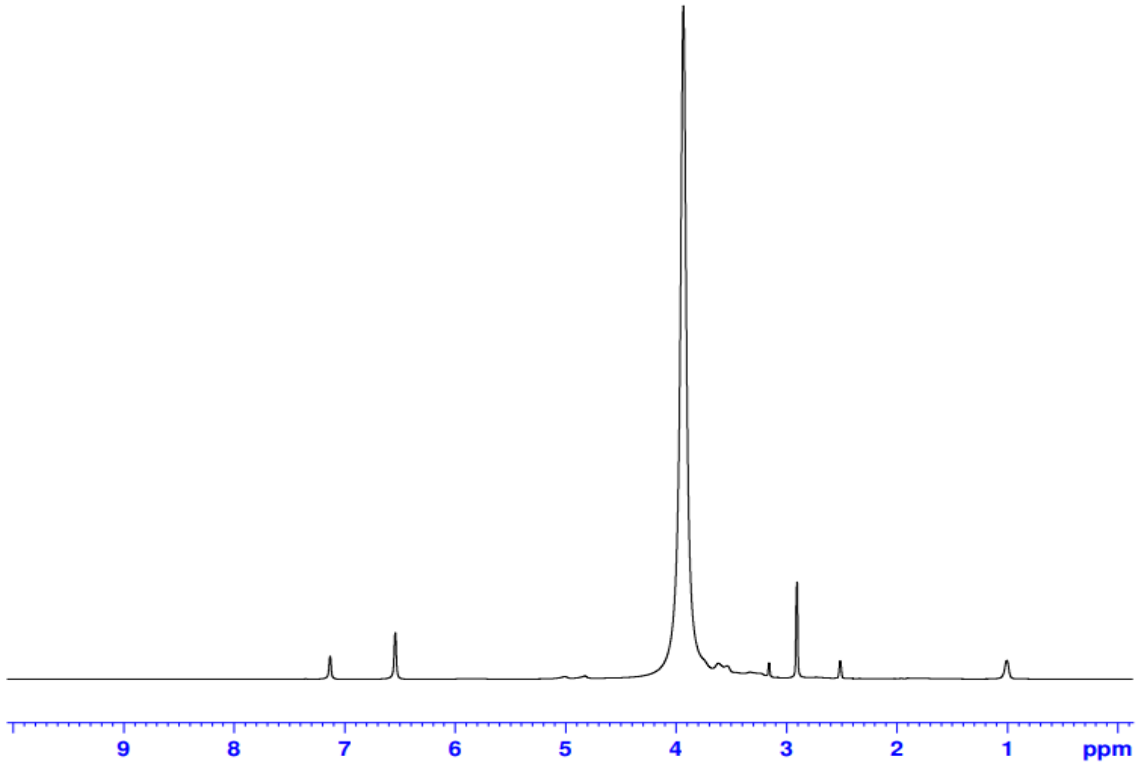


Şekil 5.57

SP1 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu

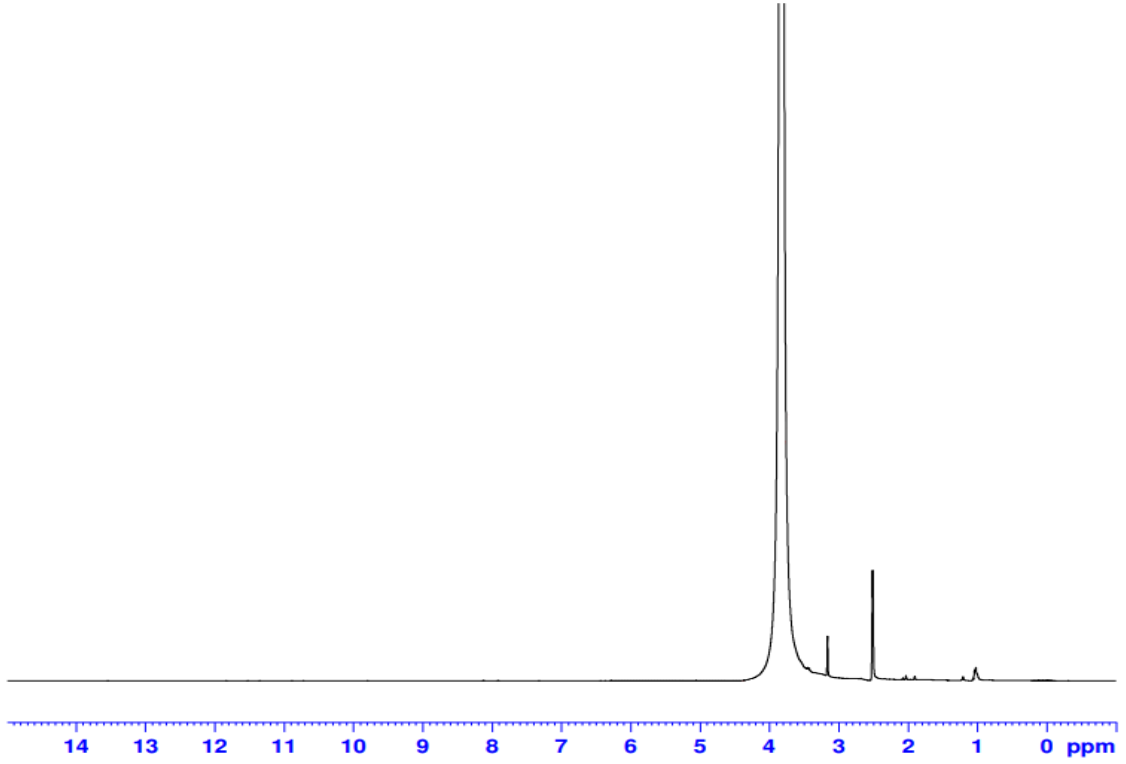


Şekil 5.58 Fiziksel karışım ($\text{H}\beta\text{CD}$, PMA ve MH) ^1H -NMR spektrumu
Fiziksel karışım ($\text{H}\beta\text{CD}$, PMA ve MH) ^1H -NMR spektrumu



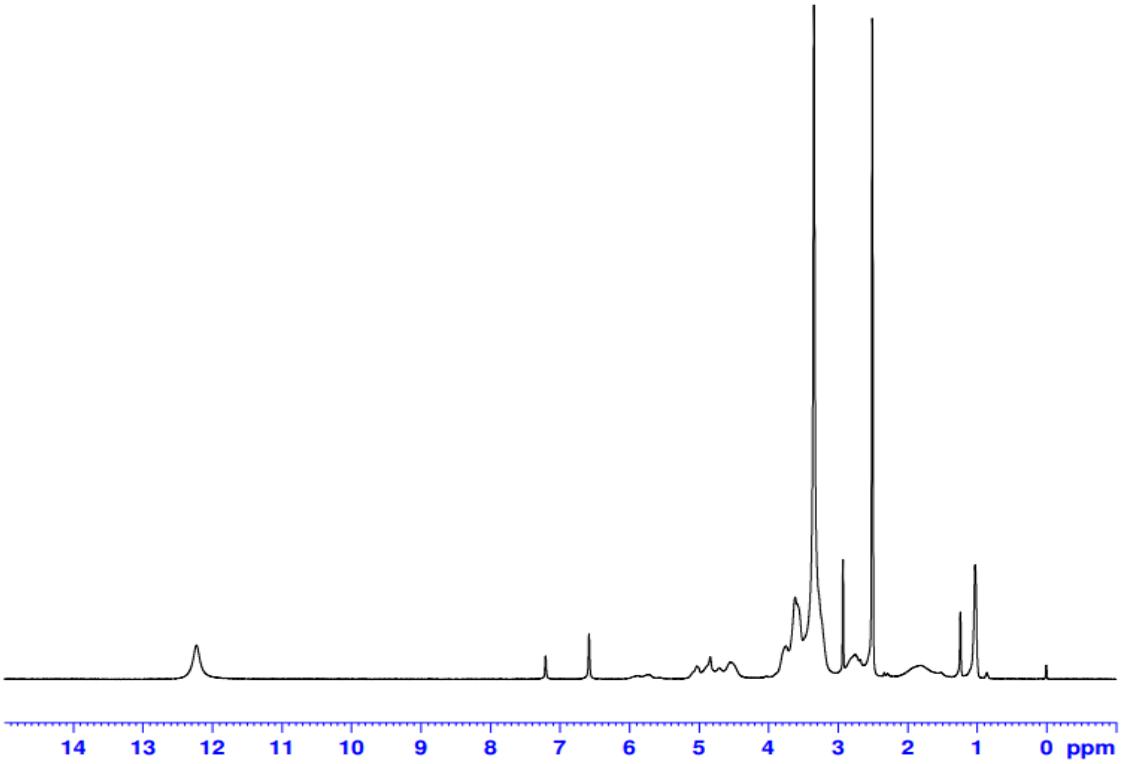
Şekil 5.59

HP0 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu



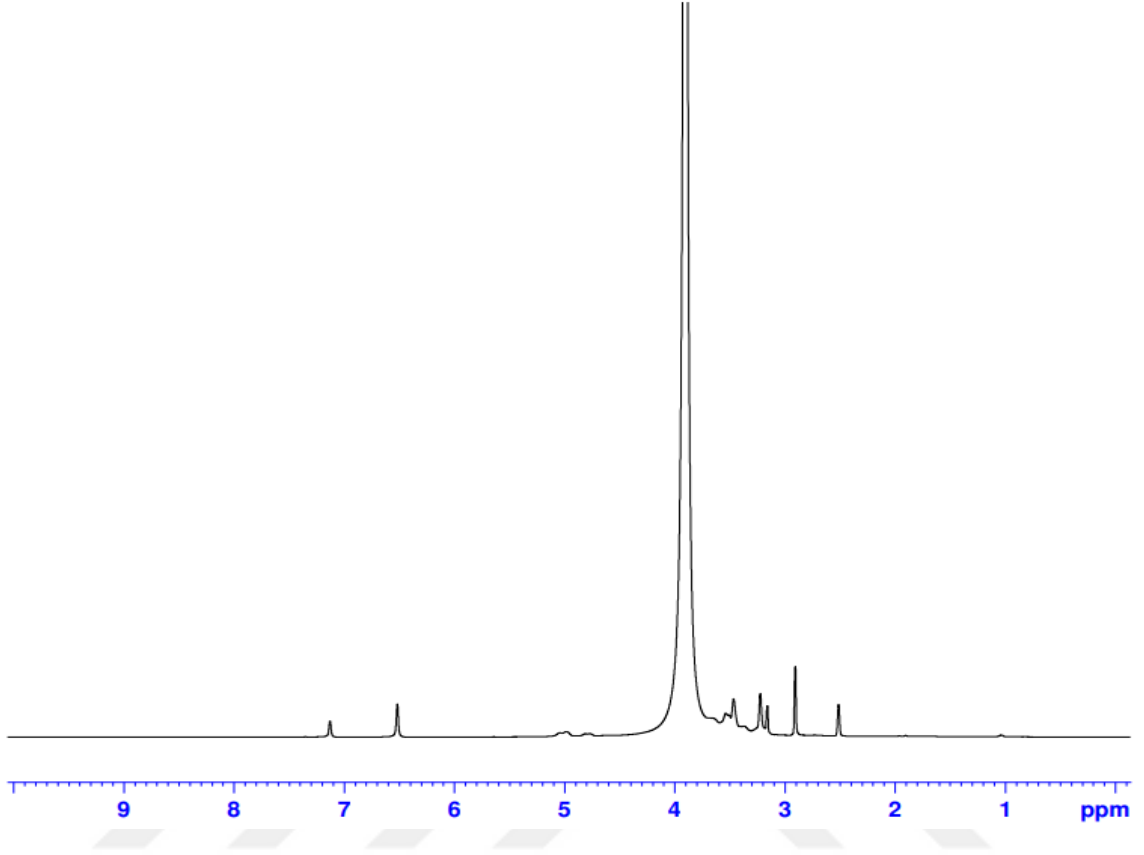
Şekil 5.60

HP1 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu



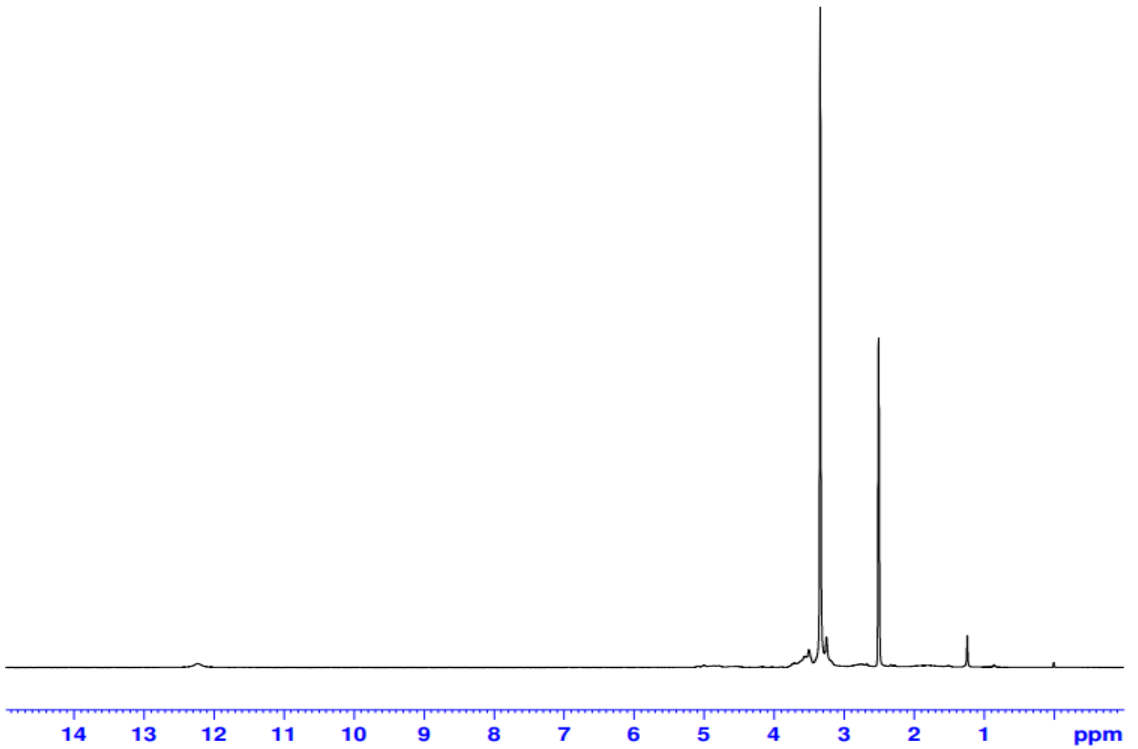
Şekil 5.61

Fiziksel karışım (M β CD, PMA ve MH) ¹H-NMR spektrumu



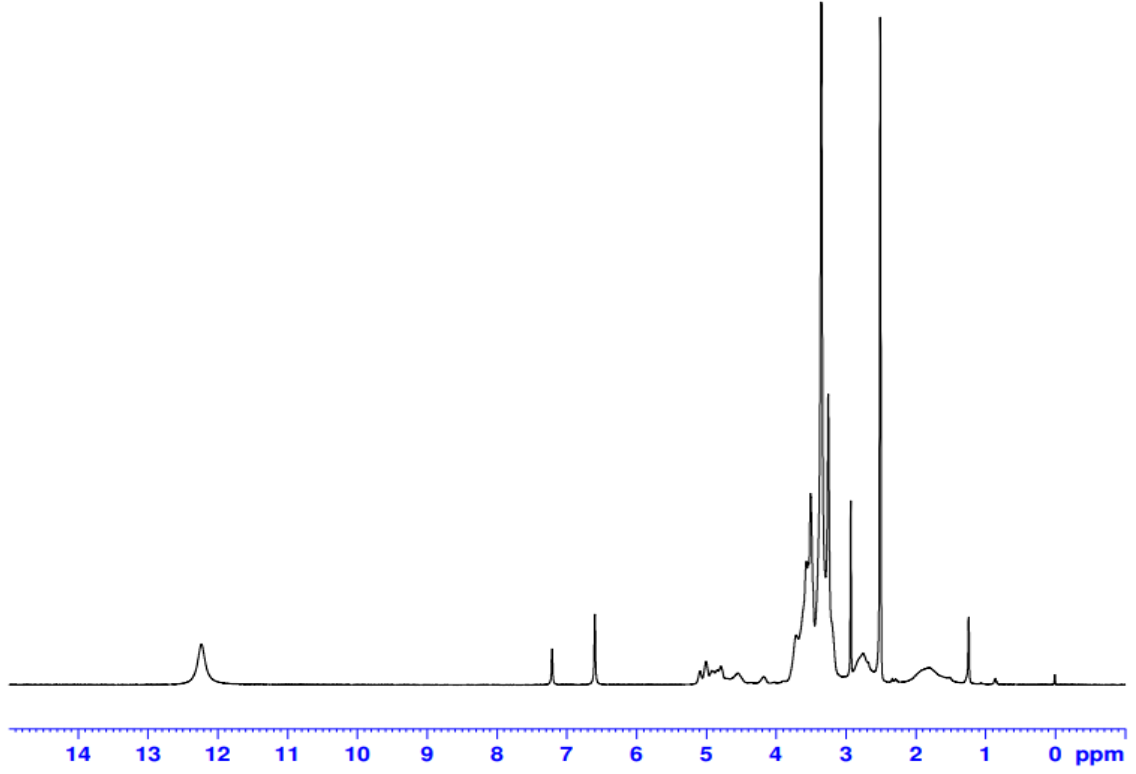
Şekil 5.62

MP0 formülüne ait ¹H-NMR spektrumu



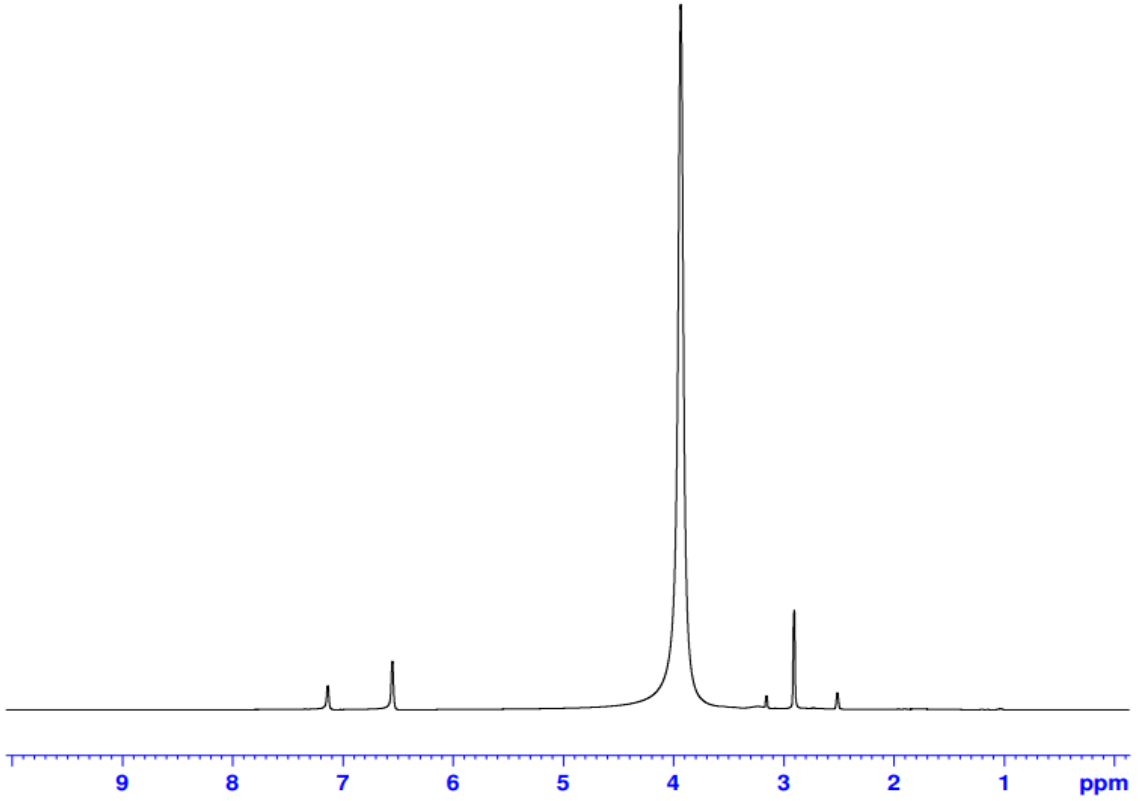
Şekil 5.63

MP1 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu



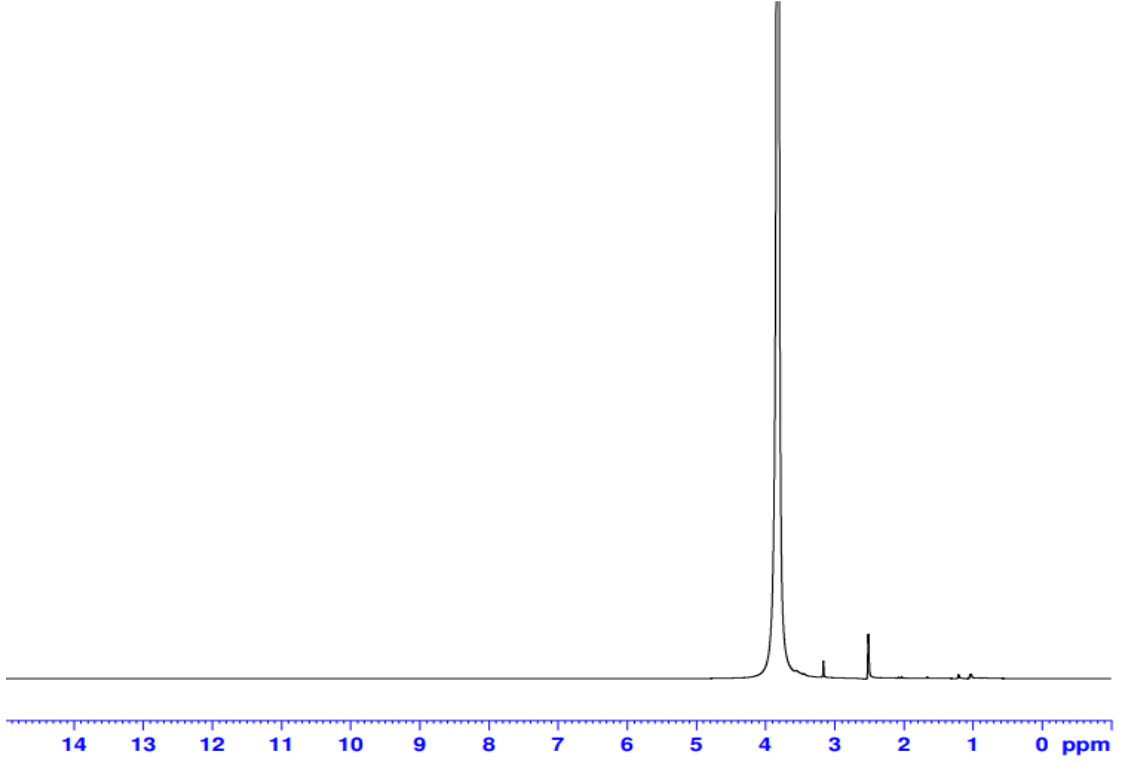
Şekil 5.64 Fiziksel karışım (FS, PMA ve MH) ^1H -NMR spektrumu

Fiziksel karışım (FS, PMA ve MH) ^1H -NMR spektrumu



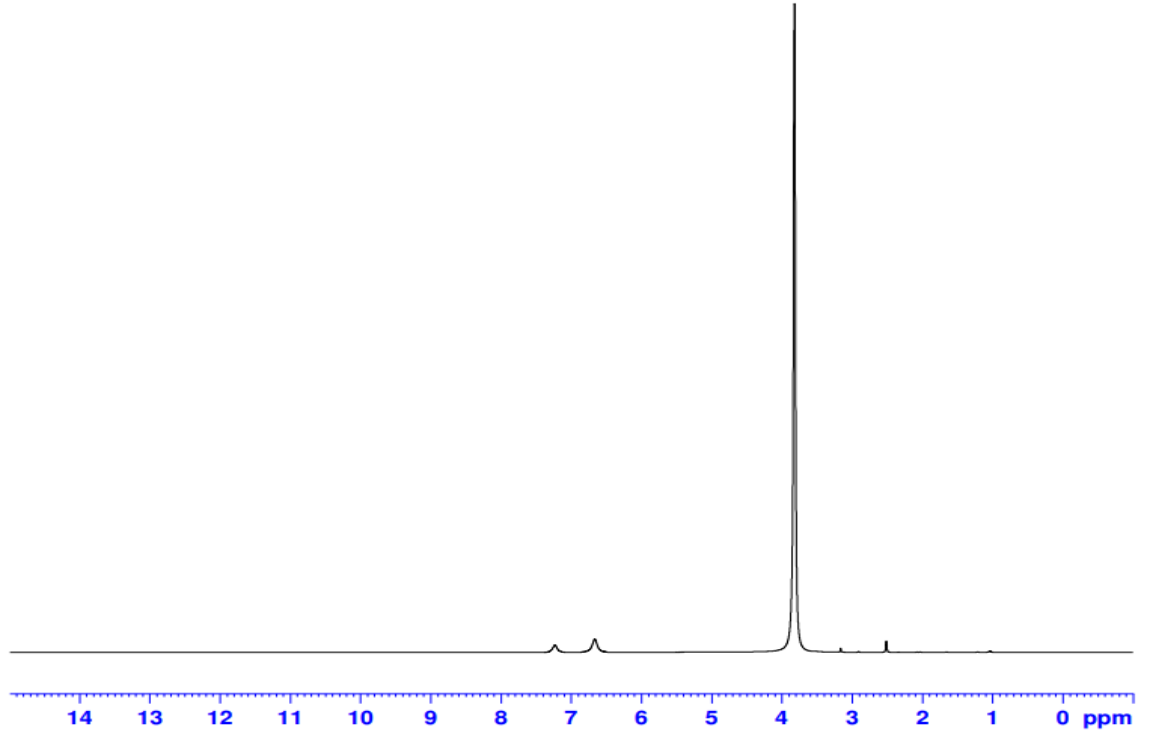
Şekil 5.65

FP0 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu



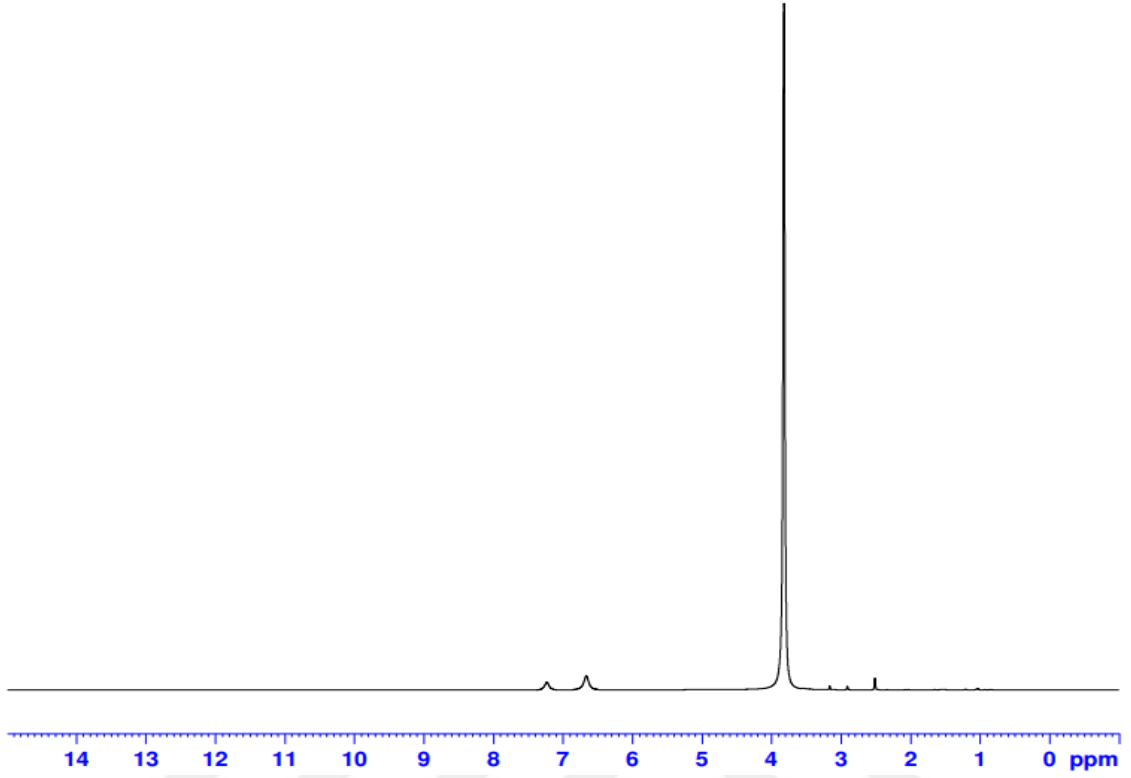
Şekil 5.66

FP1 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu



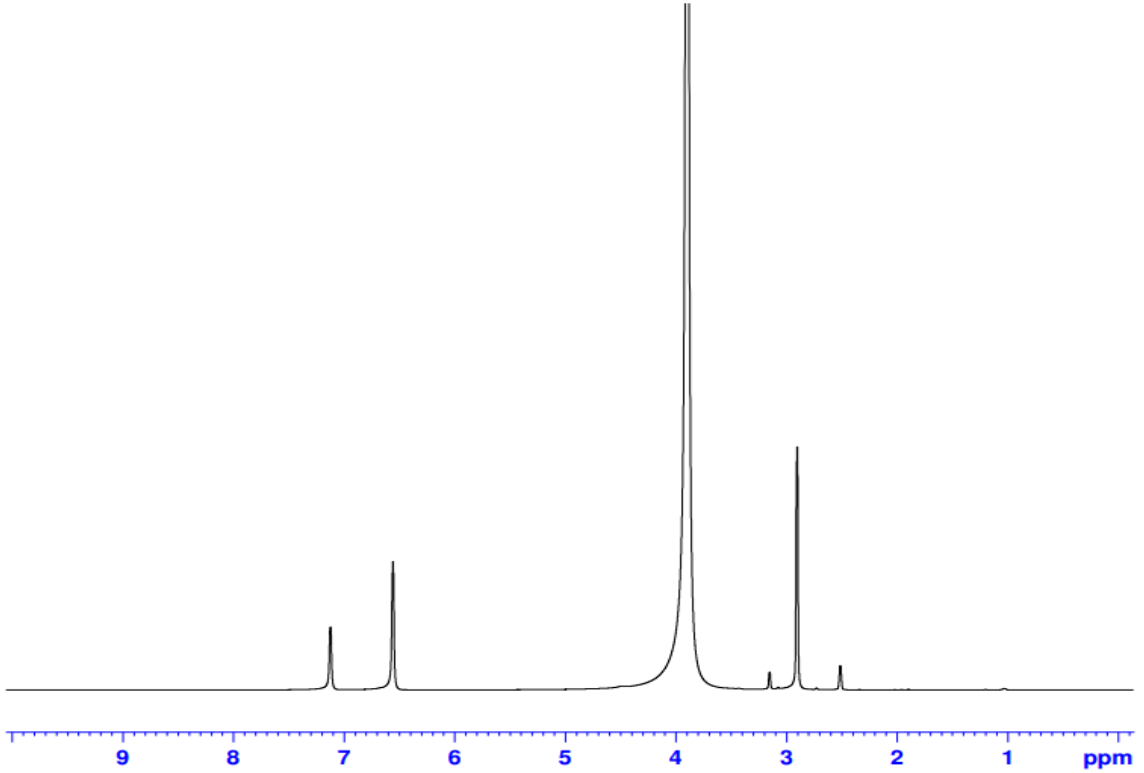
Şekil 5.67

FP2 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu



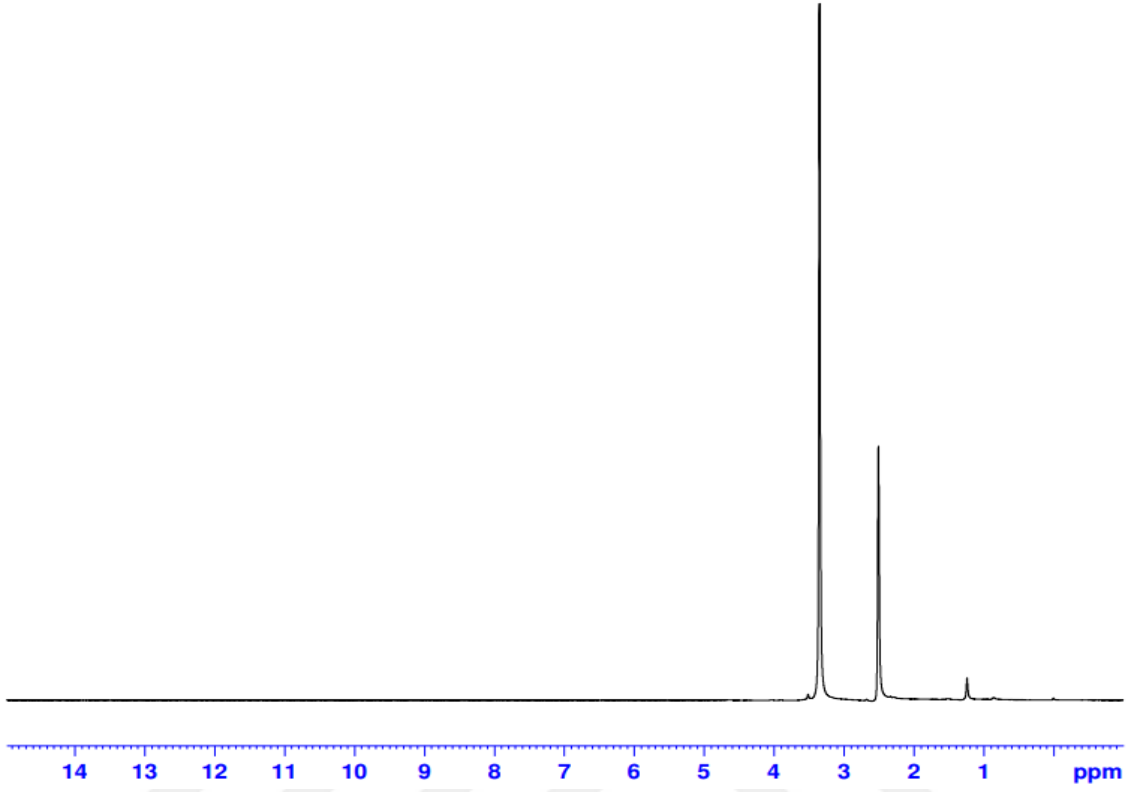
Şekil 5.68 Fiziksel karışım (FS ve MH) ^1H -NMR spektrumu

Fiziksel karışım (FS ve MH) ^1H -NMR spektrumu



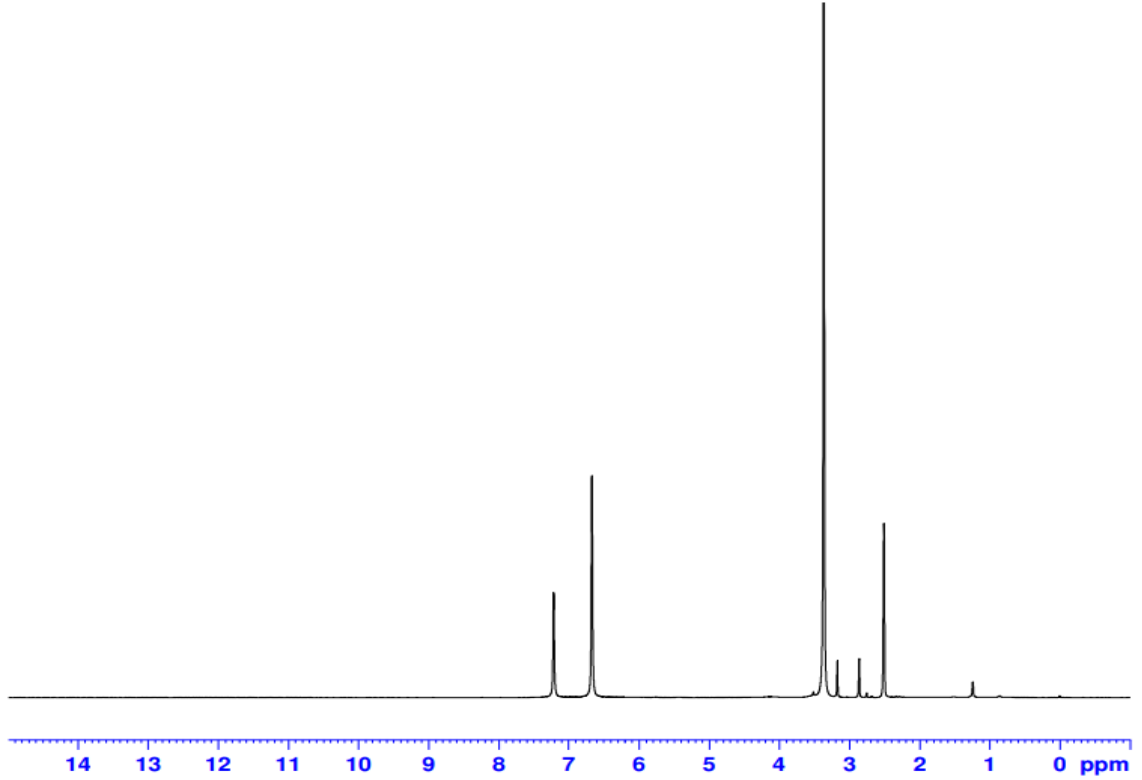
Şekil 5.69

F0 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu



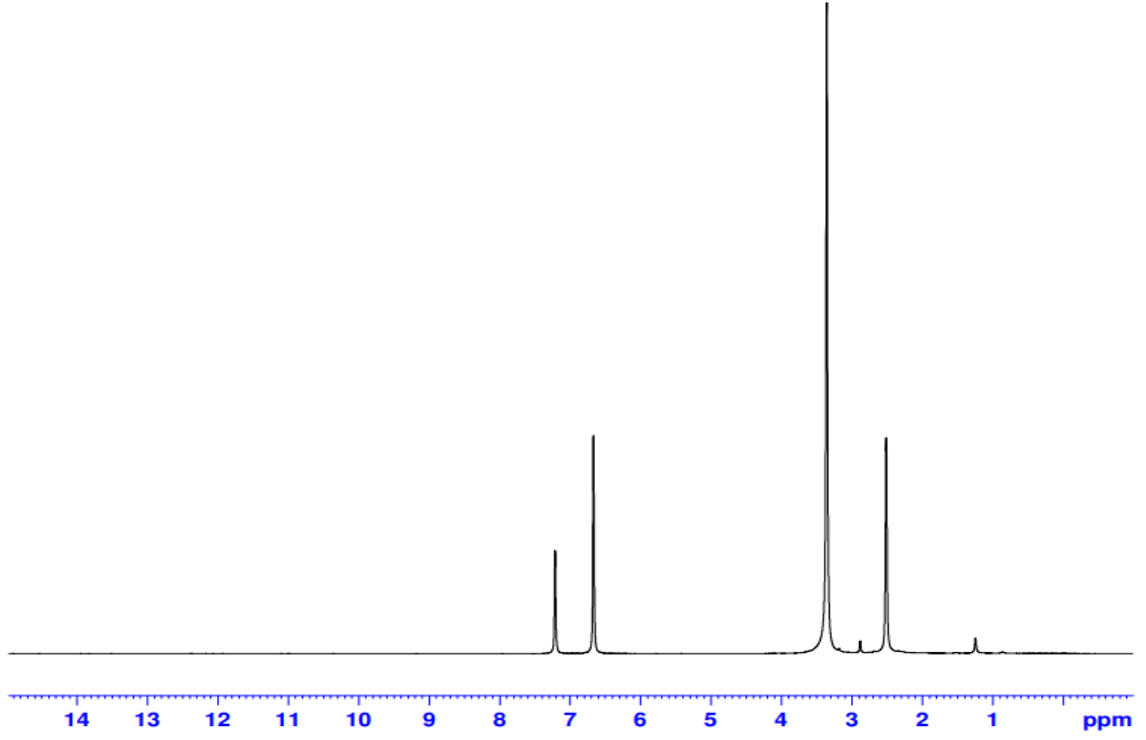
Şekil 5.70

F1 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu



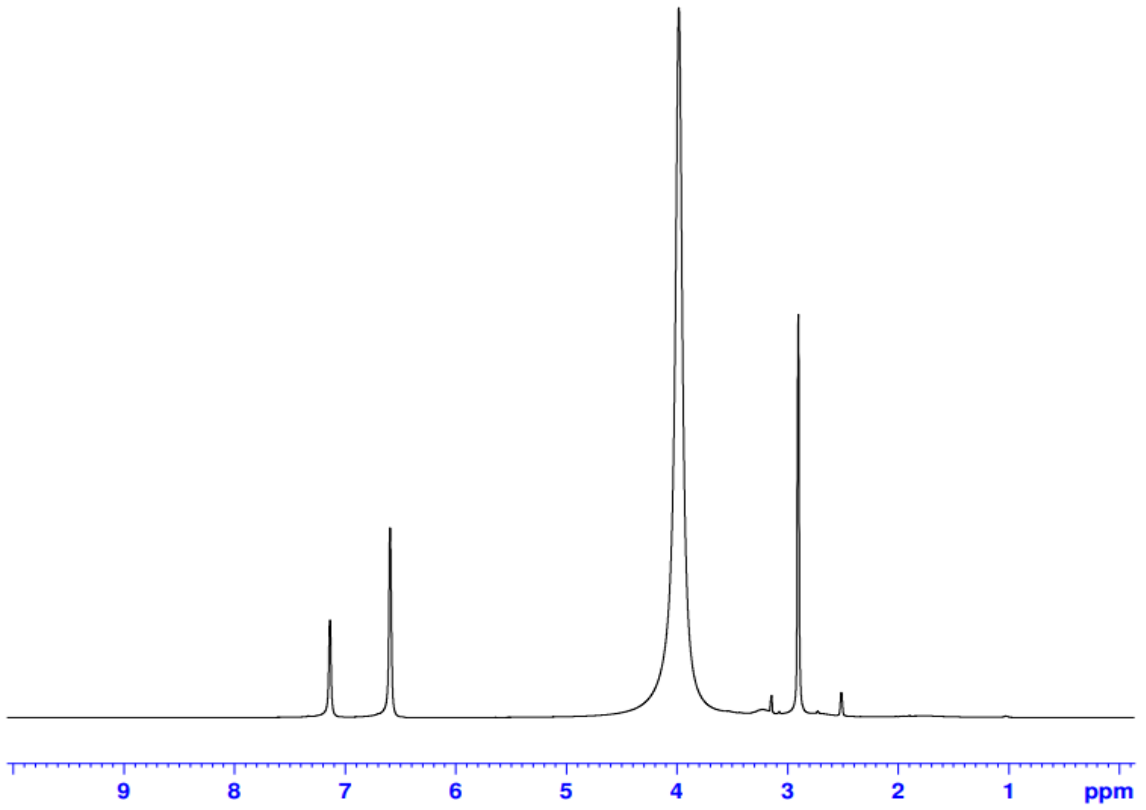
Şekil 5.71

F2 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu



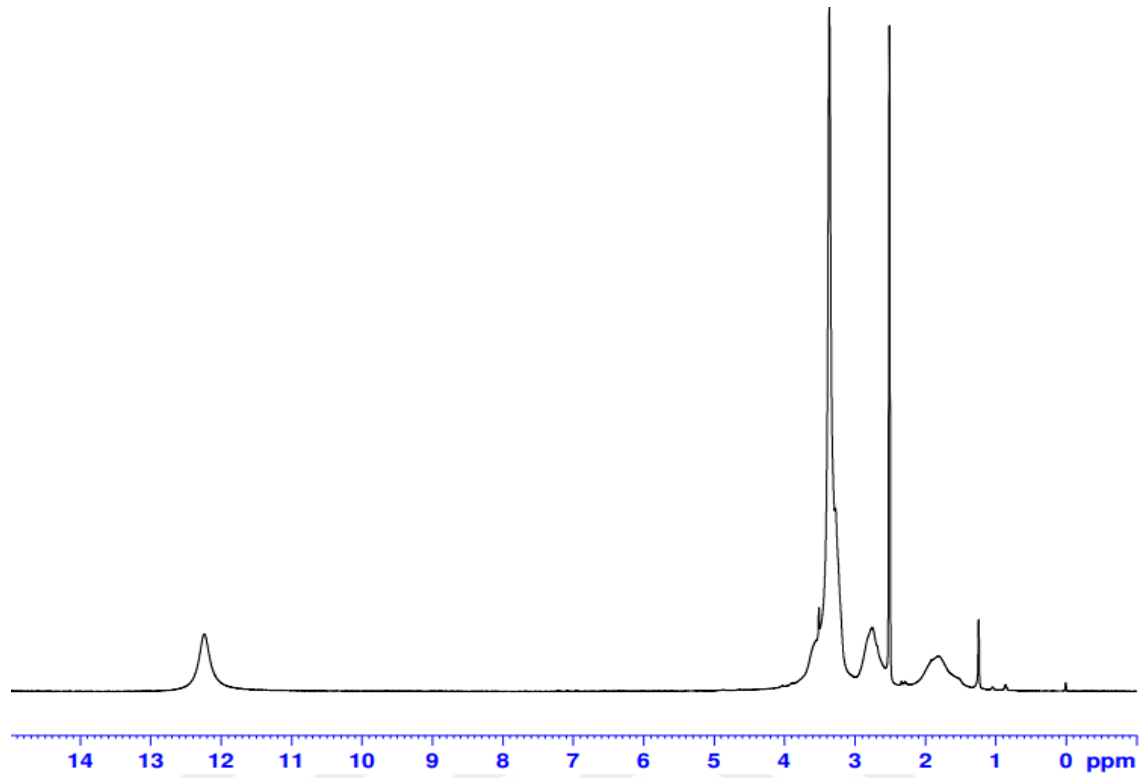
Şekil 5.72

Fiziksel karışım (PMA ve MH) ^1H -NMR spektrumu



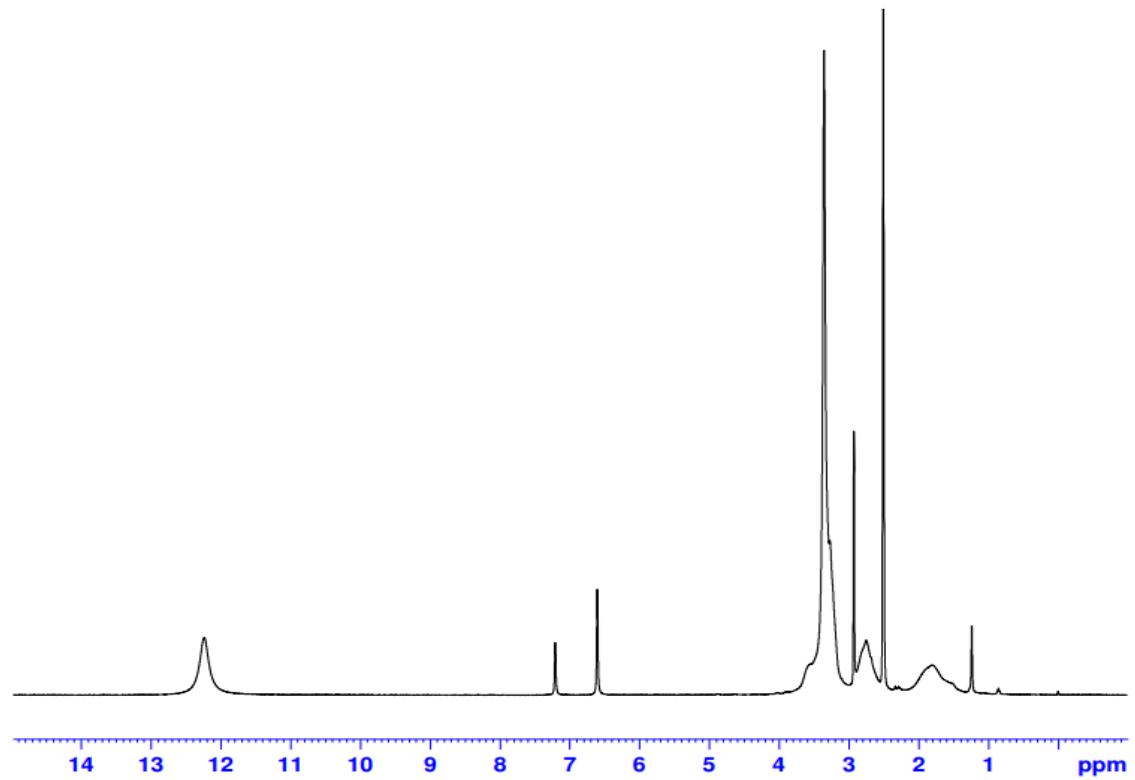
Şekil 5.73

P0 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu



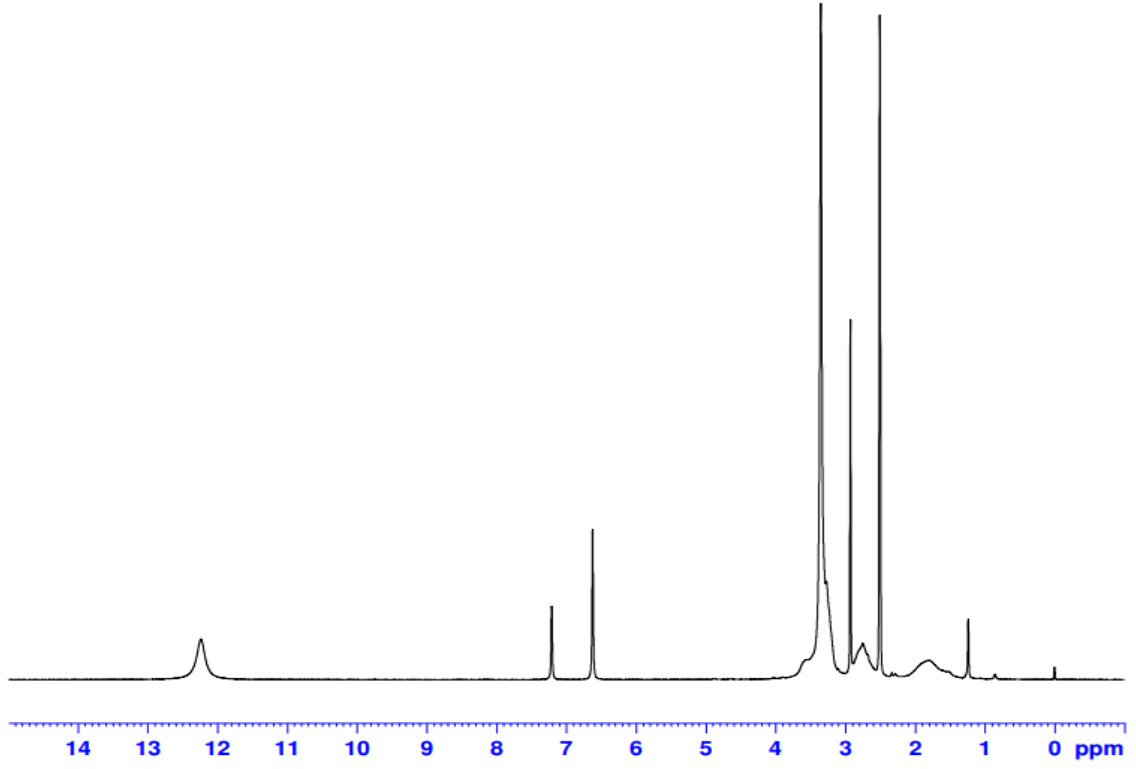
Şekil 5.74 *P1 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu*

P1 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu



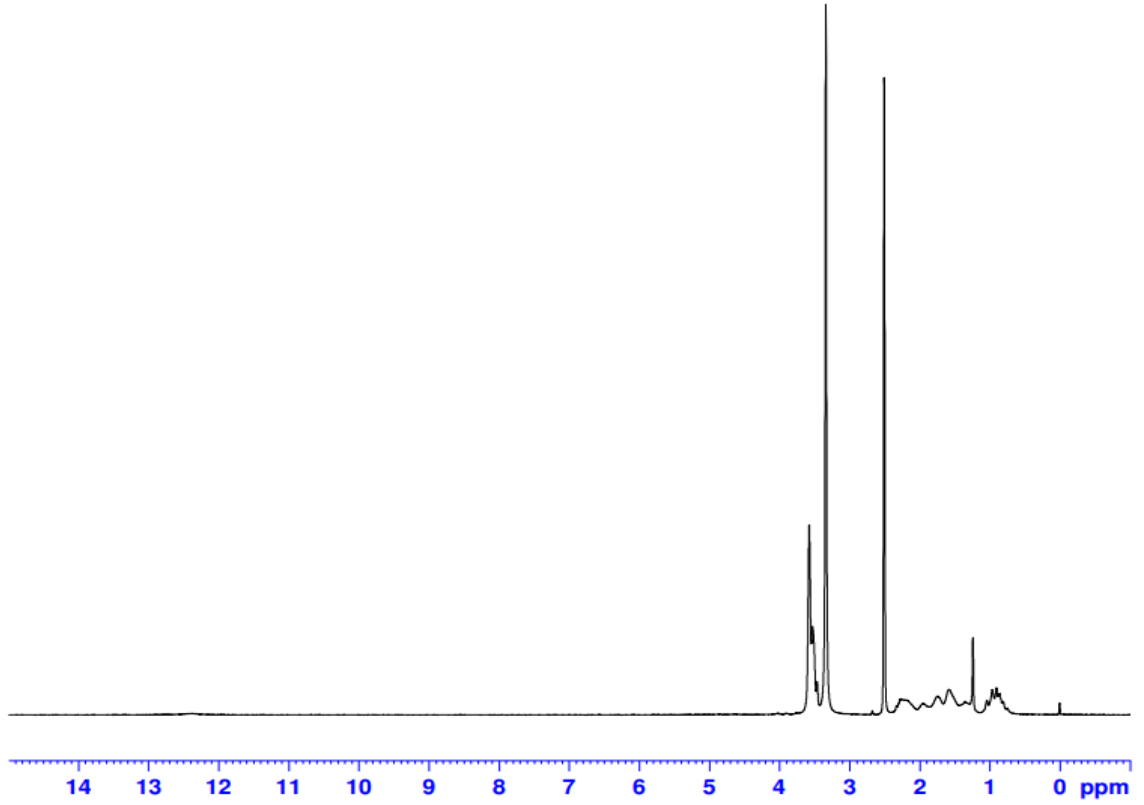
Şekil 5.75

P2 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu



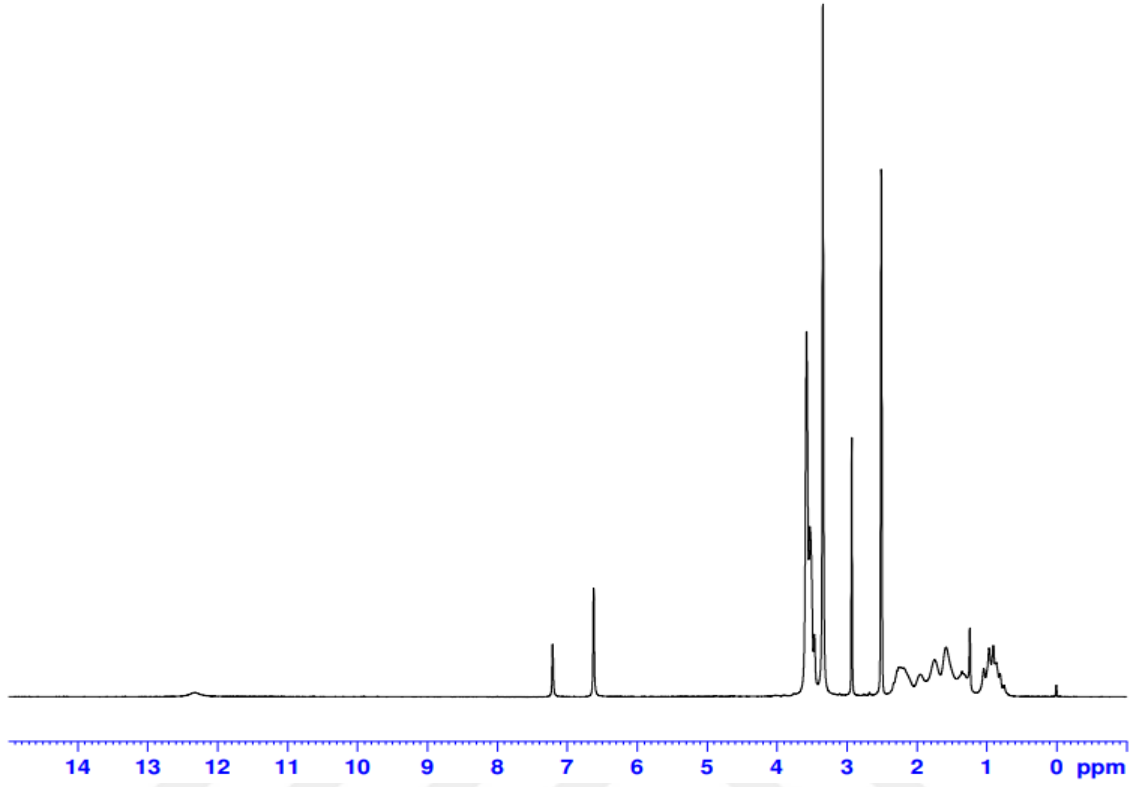
Şekil 5.76

FS0 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu



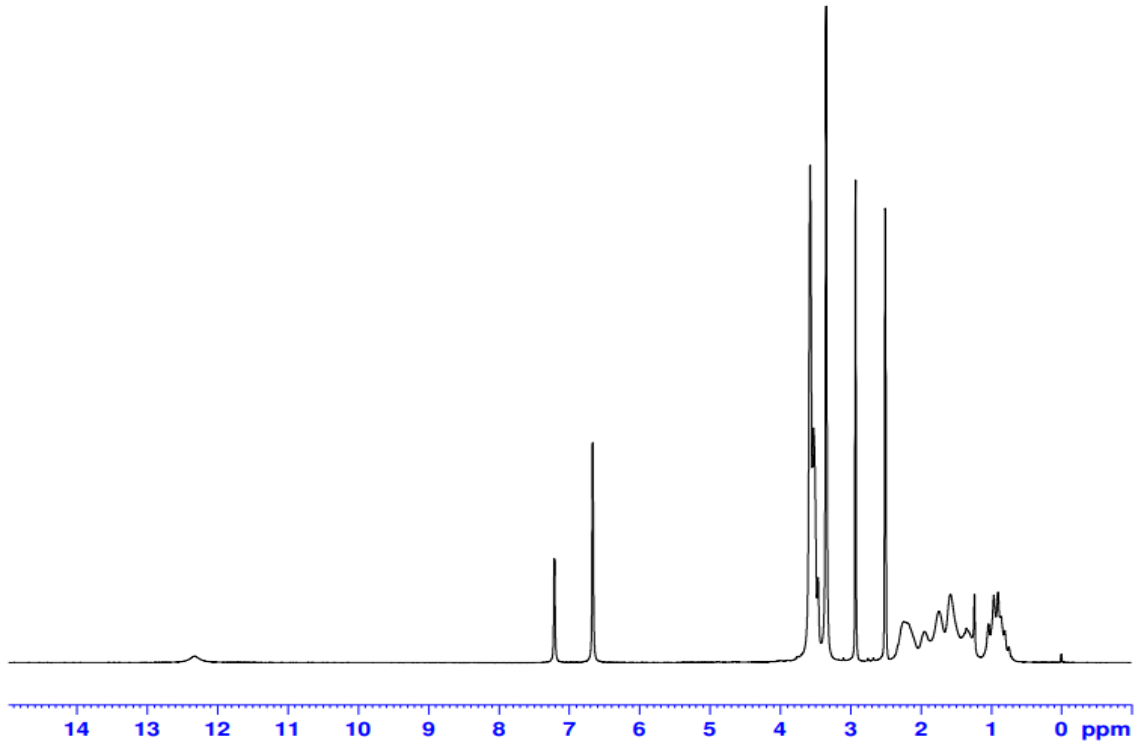
Şekil 5.77

FS1 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu



Şekil 5.78

FS2 formülüne ait ^1H -NMR spektrumu



5.4.5 Parçacık boyut dağılımı ve zeta potansiyeli

Parçacık boyut dağılımı ve zeta potansiyel sonuçları Tablo 5.8’de verilmiştir. Hazırlanan formüllerin birçoğunun mikron boyutlarında olduğu gözlenmektedir. Kullanılan püskürterek kurutma cihazı ile yapılan çalışmaların birçoğunda parçacık boyutunun mikron seviyelerinde olduğu gözlenmiştir (Arpagaus & Schafroth, 2009). Zeta potansiyeli ve parçacık boyutu parçacıkların kararlılığını, salım özelliğini etkileyebilen unsurlardır. İstenilen parçacık boyutu ve zeta potansiyeli ilacın kullanım yoluna göre değişebilmektedir (Peltonen & Hirvonen, 2008).

Tablo 5.8

Parçacık boyut dağılımı ve zeta potansiyeli (ortalama±standart hata, n=6)

KODU	Parçacık boyutu (nm)	PDI	Zeta Potansiyeli
SP0	9585±1353	1	-25,2±0,3
SP1	2532±1353	1	-19,2±0,6
HP0	258,4±153	0,663	-21,3±0,7
HP1	1142,2±431	0,232	-19,4±0,3
MP0	3906,1±1407	1	-0,8±0,5
MP1	3197,47±1353	0,254	-9,1±0,8
FP0	7227±1851	0,499	-44,8±0,2
FP1	2442±853	0,807	-44,7±0,2
FP2	1794±1377	1	-14,9±0,5
F0	1891±1255	0,448	-32,3±0,4
F1	6775±1763	1	-35,3±0,6
F2	3909±1127	1	-29,6±0,6
P0	4512±1455	1	-20,8±0,4
P1	2476,4±1353	0,573	-4,5±0,3
P2	2196,31±553	0,244	-7,1±0,8
FS0	3837±1279	0,519	-5,1±0,4
FS1	2228±1015	1	9,8±0,3
FS2	4417±643	0,22	13,3±0,6

PMA kullanılarak nanopartikül geliştirilen bir çalışmada $-21 \pm 0,38$ mV zeta potansiyel kaydedilmiştir (Muehlmann vd., 2014). P0 formülünde, parçacık boyutu mikron seviyelerinde olmasına rağmen, benzer sonuçlar $(-20,8 \pm 0,4)$ elde edilmiştir. Ancak P1 ve P2 formüllerinde etkin madde dahil olunca potansiyel $-4,5$ ve $-7,1$ mV'a düşmüştür. F0 ve FS0 formüllerinin zeta potansiyelinin birbirinden farklı olduğu dikkat çekmektedir. F0 formülü polimerin suda çözünen tuzu olduğu ve yapısında sodyum iyonunu barındırdığı için negatif yükü daha yüksektir (Romero vd., 2018). Negatif yüklü proteinlerle etkileşime girmesi açısından zeta potansiyelinin negatif değere sahip olması partiküllerin dağılımı için önemlidir. Negatif yüklü partiküllerin protein yapılarında daha iyi dağıldığı belirtilmiştir (Akkuş vd., 2019).

MH'nin formüllere eklenmesi zeta potansiyeli genelde düşürmekle birlikte arttırdığı da gözlenmektedir. SP1 ve HP1 formüllerinde zeta potansiyel şiddetinde küçük bir azalma gözlenirken MP1 formülünde zeta potansiyeli şiddeti artmıştır. FP formüllerinde ise FP0 ve FP1 formüllerinin zeta potansiyeli birbirine yakın çıkmışken FP2 formülünde bariz bir azalma gözlenmektedir.

5.4.6 Miktar tayini

Miktar tayini sonuçları Tablo 5.9'da verilmiştir. Partiküllerin üretim süreçlerinde bulunan çözündürme, ısıtma, püskürtme, aspirasyon gibi süreçlerden dolayı teorik miktarlarda koyulan etkin maddenin tamamı partiküllere yüklenmemiş ve her formülde bir miktar etkin madde kaybı olduğu gözlenmiştir.

Tablo 5.9

Mikropartiküllerin miktar tayini sonuçları (ortalama±standart hata; n=3)

ADI	SP1	HP1	MP1	FP1	FP2	F1
%EM	4,87±0,05	4,21±0,74	5,27±0,05	6,61±0,35	12,81±0,54	6,49±0,33
ADI	F2	P1	P2	FS1	FS2	
%EM	12,68±0,13	7,68±0,43	13,9±1,07	9,71±0,42	14,4±0,53	

5.4.7 *In vitro* salım çalışması ve salım kinetikleri

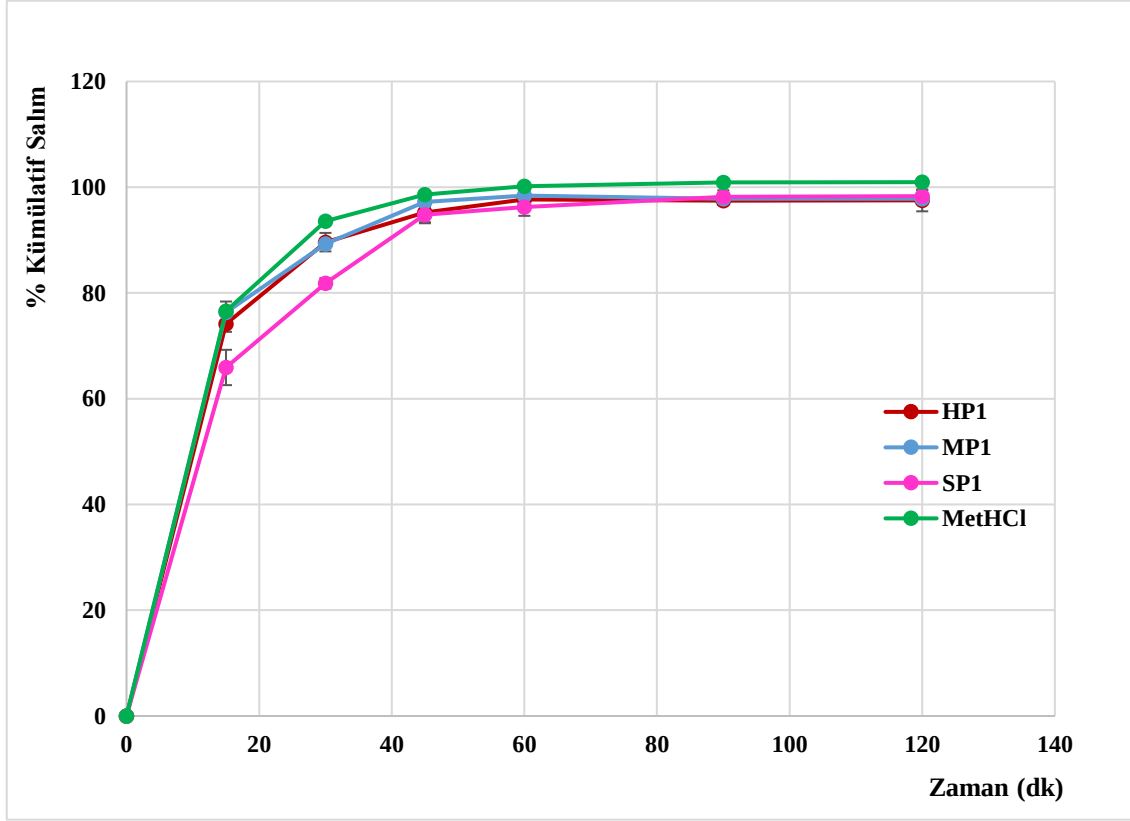
5.4.7.1 Suni mide ortamında salım çalışmaları ve kinetiği

Suni mide ortamındaki salım sonuçları ortalama ve standart hata değerleri ile Şekil 5.79-83'te verilmiştir. HP1, MP1 ve SP1 formülleri 45 dakika içinde; FP1 ve FP2 90 dakika

içinde; son olarak P1, P2, FS1 ve FS2 60 dakika içinde etkin maddenin tamamını serbest bırakırken F1 ve F2 formülleri 2 saat içinde %100 seviyesine ulaşamamıştır.

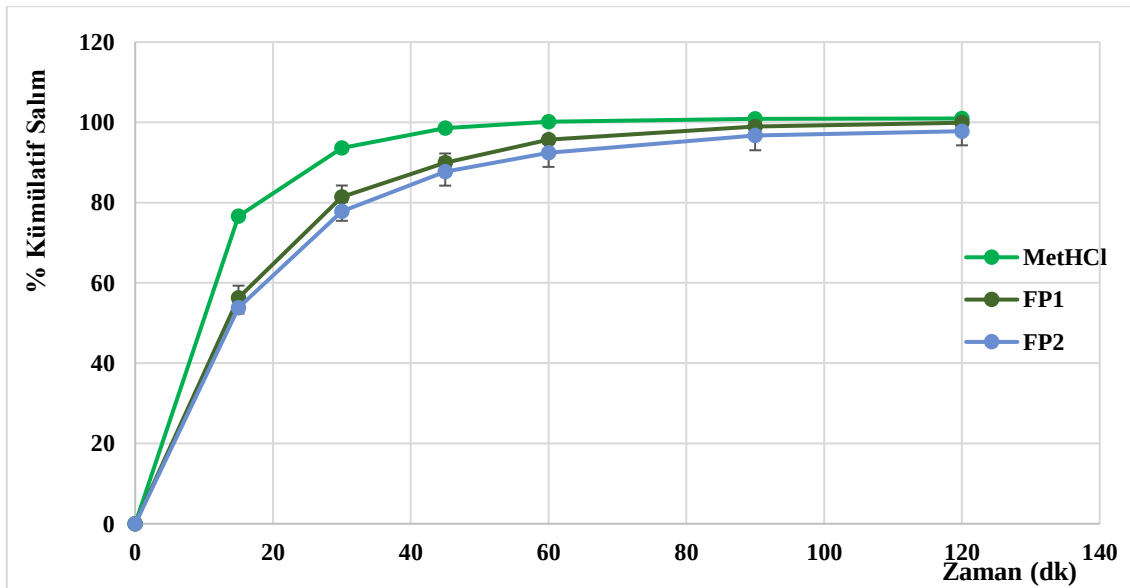
Şekil 5.79

SP1, HP1 ve MP1 formüllerine ait salım grafiği (pH:1,2) (ortalama $\pm$ standart hata, n=3)



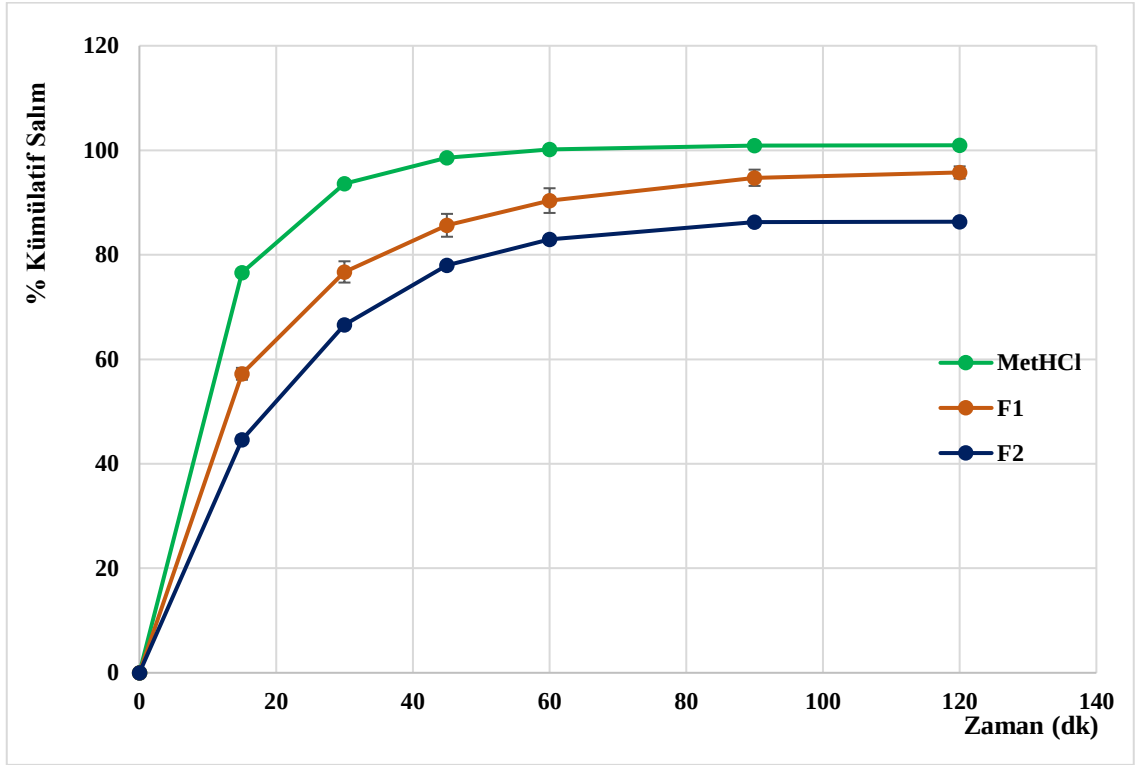
Şekil 5.80

FP1 ve FP2 formüllerine ait salım grafiği (pH:1,2) (ortalama $\pm$ standart hata, n=3)



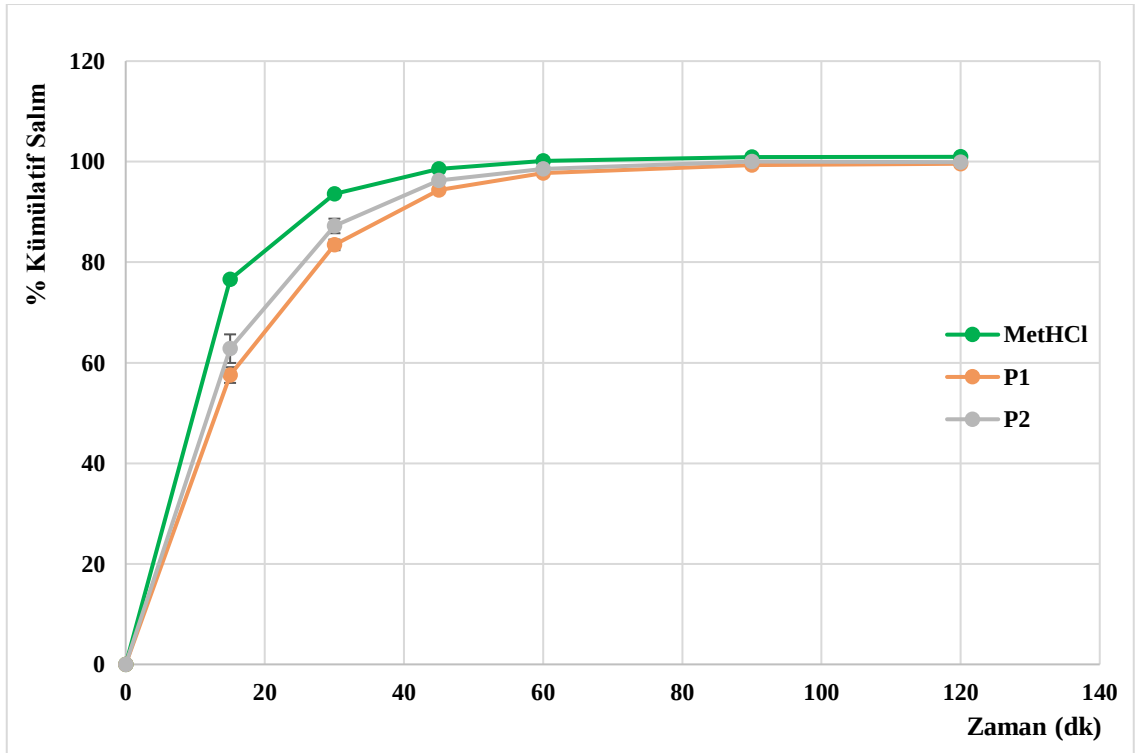
Şekil 5.81

F1 ve F2 formüllerine ait salım grafiği (pH:1,2) (ortalama $\pm$ standart hata, n=3)



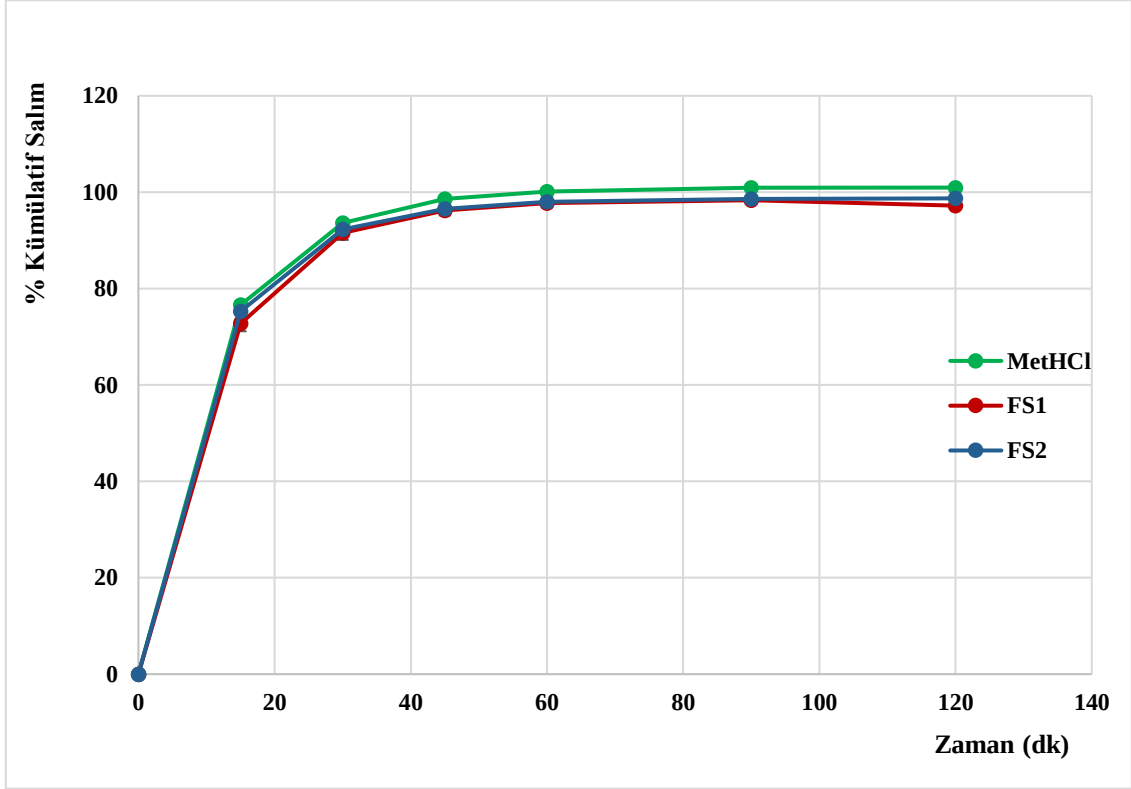
Şekil 5.82

P1 ve P2 formüllerine ait salım grafiği (pH:1,2) (ortalama $\pm$ standart hata, n=3)



Şekil 5.83

FS1 ve FS2 formüllerine ait salım grafiği (pH:1,2) (ortalama $\pm$ standart hata, n=3)



Mikropartiküllerin suni mide ortamındaki kümülatif sonuçlarından elde edilen salım kinetiği bulguları Tablo 5.10-12’da verilmiştir. FP1, SP1, P1, FP2, F1 ve F2 formülleri birinci derece salım kinetiğine uyarken; HP1, MP1, P2, FS1 ve FS2 Hopfenberg modeline uygun sonuçlar göstermektedir. Birinci derece kinetikte salım oranı etkin madde derişimine bağı, difüzyon temelli bir modeldir (Gokhale, 2014). Suda çözünür etkin madde içeren gözenekli matrislerde görülen bir salım modelidir (Paarakh vd., 2018).

Hopfenberg modeli ise sabit yüzey alanına sahip yüzeyden aşınan polimerlerden ilaç salımını tanımlamaktadır. Bu modelde, iç ve dış difüzyon direncine göre salım değişkenlik göstermekle birlikte matris aşınması ve zaman sınırlayıcı faktörlerdir (A. Gupta vd., 2020).

Polimer aşınmasının hız sınırlayıcı basamak olduğunu öne süren Hopfenberg salım modeli, formülasyon geometrisini hesaba katmaktadır. Buna göre n değeri silindirik yapılarda 2, küresel yapılarda 3 olarak ortaya çıkmaktadır (Paarakh vd., 2018). HP1, MP1, P2, FS1 ve FS2 formüllerinde ise 3’ten büyük değerler gözlenmektedir.

Tablo 5.10*SP1, HP1, MP1 ve FP1 formüllerinin salın kinetiği (pH:1,2)*

Formülasyon	Parametre	Salın Modelleri-Mide					
		Sıfıncı Derece	Birinci Derece	Higuchi	Korsmeyer-Peppas	Hixon-Crowell	Hopfenberg
SP1	k	1,16649	0,06403	11,3709	41,5600	0,01237	0,01443
	r²	-0,1481	0,9951	0,7321	0,9804	0,9174	0,96683
	AIC	65,5770	27,3880	55,3899	39,0757	47,1557	42,76838
	MSC	-1,8636	3,5920	-0,4083	1,9223	0,7680	1,39479
	n	-	-	-	0,1942	-	5,25000
HP1	k	1,17684	0,10477	11,5738	55,8267	0,01239	0,01445
	r²	-0,3871	0,9877	0,6181	0,9873	0,8412	0,99103
	AIC	66,9095	33,8446	57,8810	36,0793	51,7373	33,62474
	MSC	-2,2707	2,4529	-0,9809	2,1336	-0,1032	2,48431
	n	-	-	-	0,1273	-	5,25000
MP1	k	1,18438	0,11118	11,6625	58,5000	0,01277	0,01490
	r²	-0,4209	0,9884	0,6005	0,9879	0,8272	0,99161
	AIC	67,1639	33,5329	58,2831	35,8088	52,4152	33,23786
	MSC	-2,3223	2,4822	-1,0536	2,1570	-0,2153	2,52431
	n	-	-	-	0,1178		5,25000
FP1	k	1,16120	0,05459	11,2251	30,2496	0,01322	0,0121
	r²	0,0632	0,9995	0,8168	0,9712	0,9351	0,9918
	AIC	64,3273	10,9025	52,9056	41,9441	45,6426	33,1364
	MSC	-1,4516	6,1805	0,1801	1,7460	1,2176	3,0043
	n	-	-	-	0,2675	-	4,1250

Tablo 5.11*P1, P2, FS1 ve FS2 formüllerinin salın kinetiği (pH:1,2)*

Formülasyon	Parametre	Salın Modelleri-Mide					
		Sıfırıncı Derece	Birinci Derece	Higuchi	Korsmeyer-Peppas	Hixon-Crowell	Hopfenberg
P1	k	1,17	0,0654	11,3969	32,4558	0,01342	0,0134
	r²	-0,01	0,9960	0,7839	0,9615	0,921	0,9878
	AIC	65,03	26,182	54,2554	44,1801	47,195	36,1172
	MSC	-1,55	4,0024	-0,0081	1,4313	1,001	2,5831
	n	-	-	-	0,2544	-	3,0000
P2	k	1,19	0,0606	11,5910	38,2906	0,00953	0,0155
	r²	-0,12	0,9962	0,7370	0,9665	0,817	0,9974
	AIC	65,83	25,928	55,6642	43,2353	53,123	25,2382
	MSC	-1,77	3,9277	-0,3203	1,4553	0,043	4,0263
	n	-	-	-	0,2204	-	3,3750
FS1	k	1,18	0,1083	11,6211	54,9722	0,01260	0,0147
	r²	-0,39	0,9869	0,6162	0,9816	0,844	0,9947
	AIC	67,01	34,334	58,0203	38,7486	51,699	30,0936
	MSC	-2,24	2,4283	-0,9554	1,7977	-0,052	3,0341
	n	-	-	-	0,1321	-	5,2500
FS2	k	1,19	0,1190	11,7245	57,7464	0,01319	0,0154
	r²	-0,41	0,9870	0,6065	0,9868	0,823	0,9958
	AIC	67,19	34,409	58,2653	36,5129	52,665	28,4998
	MSC	-2,30	2,3838	-1,0242	2,0833	-0,224	3,2280
	n	-	-	-	0,1223	-	5,25

Tablo 5.12*F1, F2 FP2 ve MH'nin salım kinetiği (pH:1,2)*

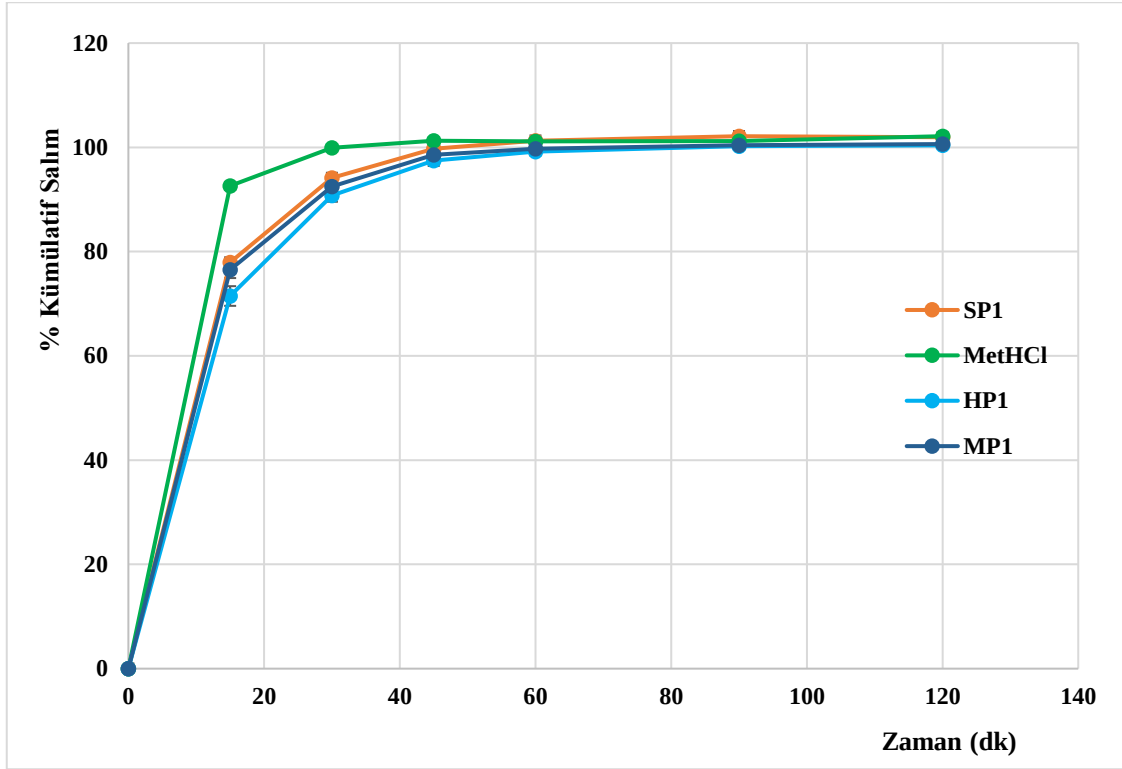
Formülasyon	Parametre	Salım Modelleri-Mide					
		Sıfıncı Derece	Birinci Derece	Higuchi	Korsmeyer-Peppas	Hixon-Crowell	Hopfenberg
F1	k	1,11	0,0476	10,7336	31,7370	0,01218	0,0104
	r²	0,03	0,98704	0,8106	0,9830	0,935	0,9676
	AIC	63,77	33,5829	52,3578	37,4888	44,876	42,0069
	MSC	-1,55	2,76067	0,0786	2,2027	1,147	1,5573
	n	-	-	-	0,2451	-	1,5573
F2	k	1,00	0,0325	9,6321	21,3525	0,00946	0,0074
	r²	0,17	0,95516	0,8525	0,9613	0,911	0,9224
	AIC	61,59	41,1957	49,528	42,1689	45,981	47,0378
	MSC	-1,20	1,71045	0,5200	1,5714	1,027	0,8759
	n	-	-	-	0,3142	-	4,1250
FP2	k	1,13089	0,04582	10,9117	27,8554	0,01129	0,01129
	r²	0,1050	0,9955	0,8331	0,9718	0,9678	0,97569
	AIC	63,6753	26,6084	51,9198	41,4714	40,3977	40,43367
	MSC	-1,3730	3,9223	0,3064	1,7990	1,9524	1,94725
	n	-	-	-	0,2804	-	4,50000
MH	k	1,21706	0,09390	11,971	61,2177	0,01378	0,01837
	r²	-0,3920	0,9996	0,6150	0,9844	0,8007	0,99790
	AIC	67,4052	10,4164	58,408	37,9476	53,7977	23,93955
	MSC	-2,2777	5,8636	-0,9923	1,9305	-0,3338	3,93168
	n	-	-	-	0,1181	-	4,50000

5.4.7.2 Suni bağırsak ortamında salım çalışmaları ve kinetiği

Suni bağırsak ortamındaki salım sonuçları ortalama ve standart hata değerleri ile Şekil 5.84-88'de verilmiştir. F1'in %92 seviyesinde kaldığı HP1, MP1 ve SP1 formülleri 45 dakika içinde; geri kalan formüller ise 1 saat içinde %100 seviyesine ulaşmıştır.

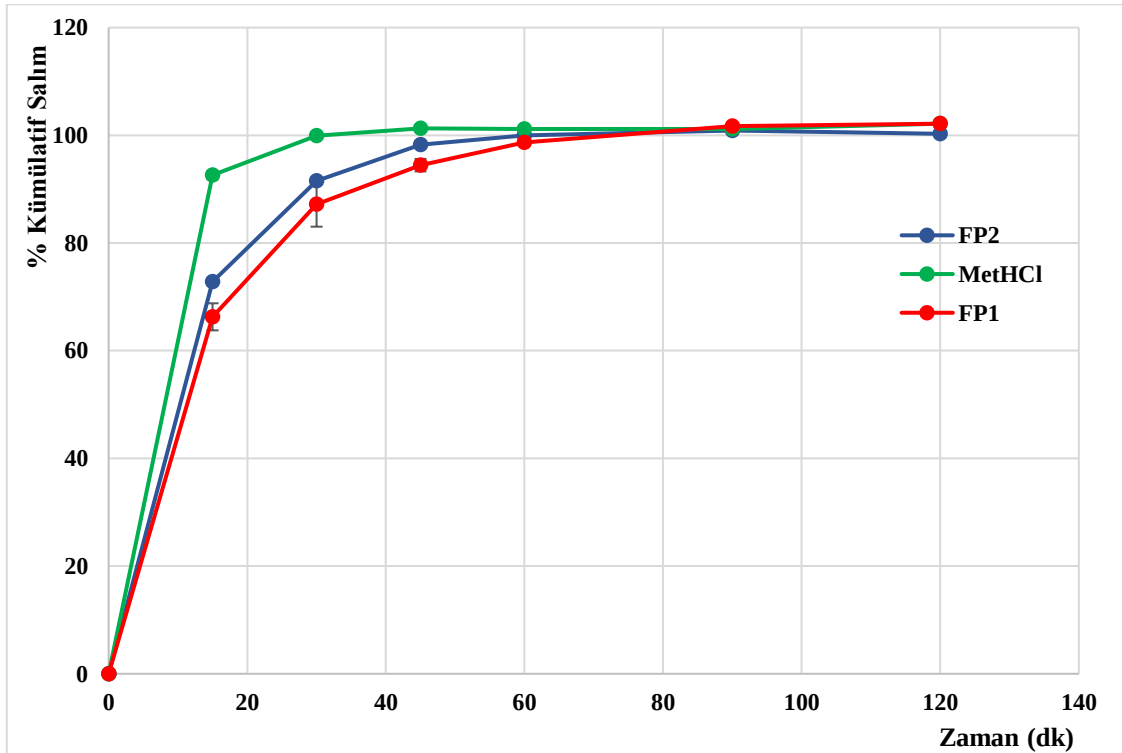
Şekil 5.84

SP1, HP1 ve MP1 formüllerine ait salım grafiği (pH:6,8) (ortalama $\pm$ standart hata, n=3)



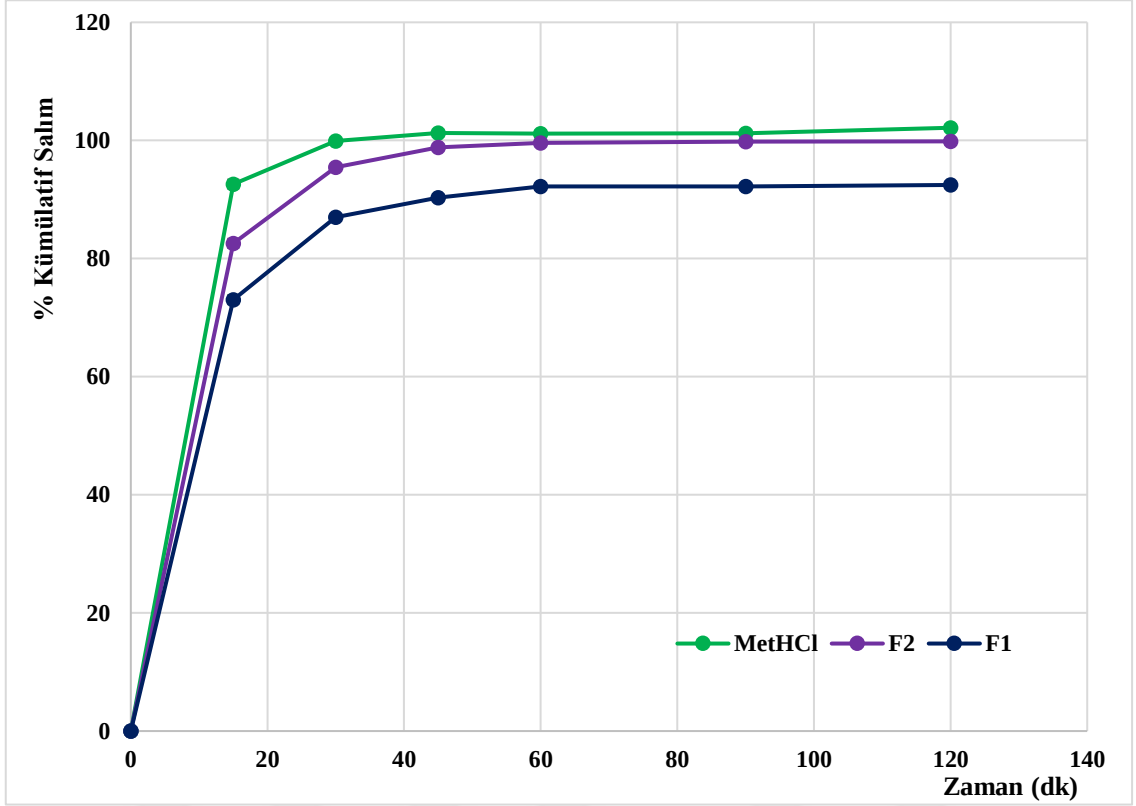
Şekil 5.85 FP1 ve FP2 formüllerine ait salım grafiği

FP1 ve FP2 formüllerine ait salım grafiği (pH:6,8) (ortalama $\pm$ standart hata, n=3)



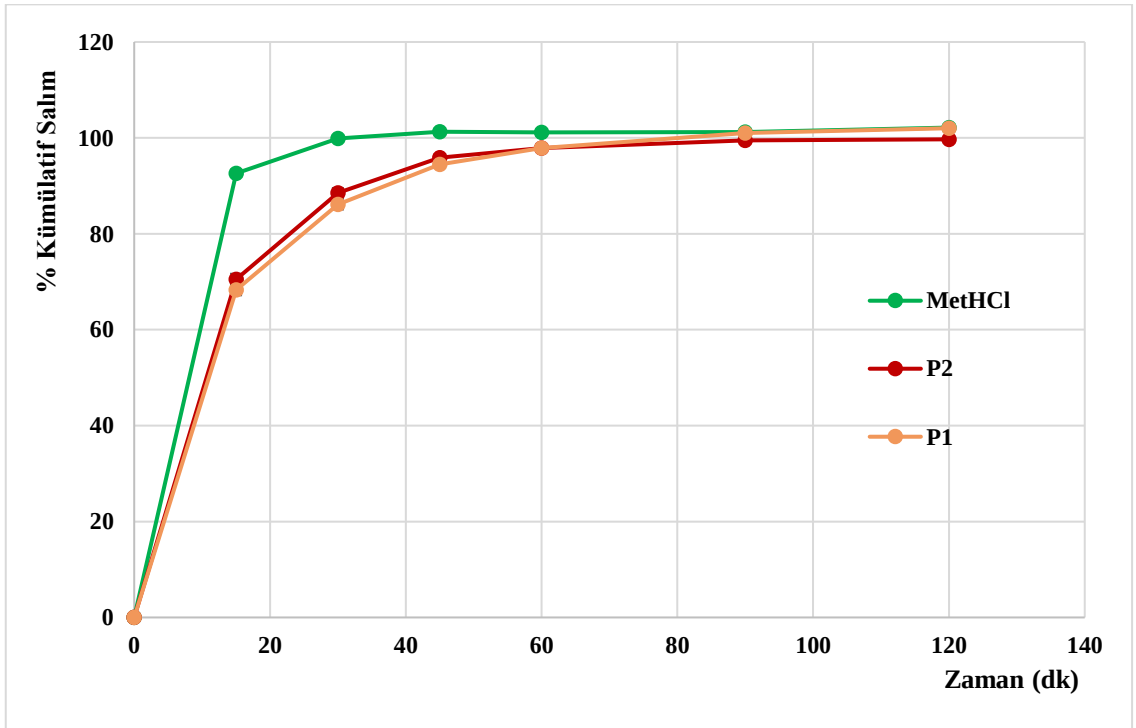
Şekil 5.86

F1 ve F2 formüllerine ait salım grafiği (pH:6,8) (ortalama $\pm$ standart hata, n=3)



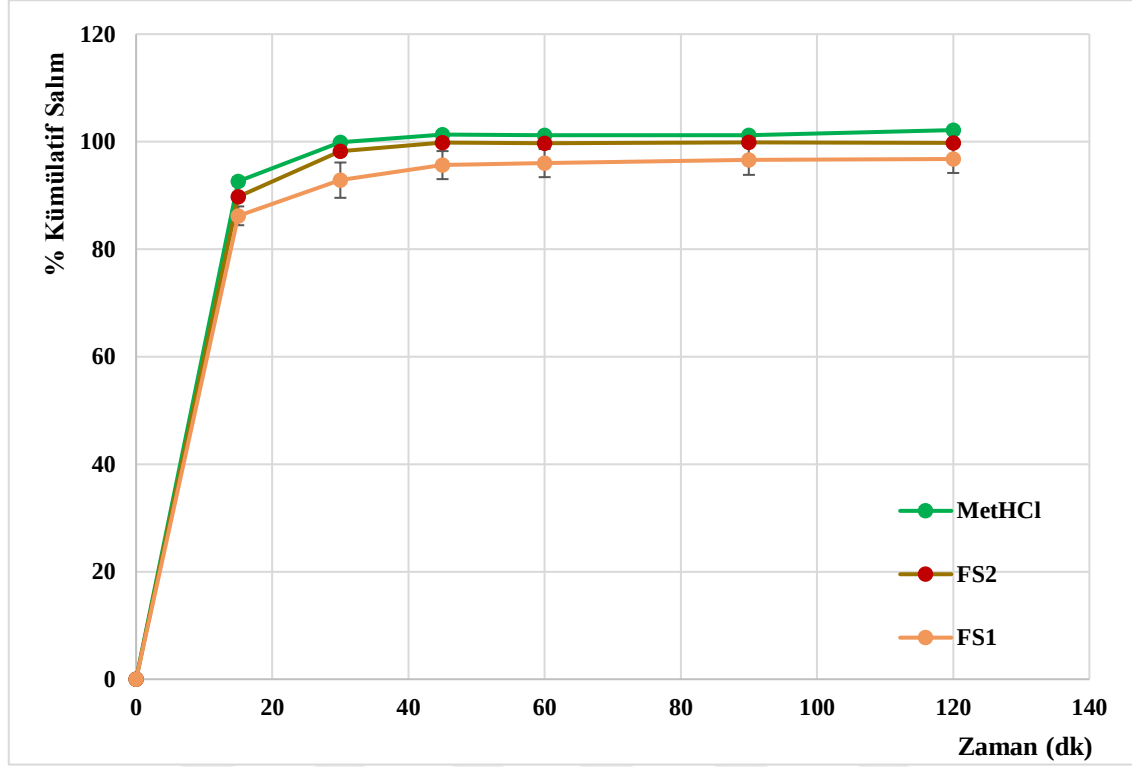
Şekil 5.87

P1 ve P2 formüllerine ait salım grafiği (pH:6,8) (ortalama $\pm$ standart hata, n=3)



Şekil 5.88

FS1, FS2 formüllerine ait salım grafiği (pH:6,8) (ortalama $\pm$ standart hata, n=3)



Mikropartiküllerin suni bağırsak ortamındaki kümülatif sonuçlarından elde edilen salım kinetiği bulguları Tablo 5.13-15'te verilmiştir. FP2 Hopfenberg modeline uyarken HP1, MP1, P1, FP1, F1, F2, P1, P2 ve FS2 formülleri birinci derece salım kinetiğine uymaktadır. SP1 formülü ise hem birinci derece kinetiğe hem de Hopfenberg modeline; FS1 ise hem birinci derece hem de Korsmeyer-Peppas modeline uygun sonuçlar göstermektedir. Birinci derece kinetikte salım oranı etkin madde derişimine bağlı, difüzyon temelli bir model olup; salınan etkin madde derişimindeki değişim, anlık derişimin bir fonksiyonu olarak tanımlanmıştır (Gokhale, 2014). Suda çözünür etkin madde içeren gözenekli matrislerde görülen bir salım modelidir (Paarakh vd., 2018).

Ayrıca saf MH'nin salım kinetiği bağırsak ortamında her ne kadar birinci derece kinetiğe yakın da olsa Hopfenberg modeline uymaktadır. Hopfenberg modeli sıfırıncı derece kinetiğe uygun salım varsayılarak geliştirilen difüzyon ve polimer aşınmasını temel alan bir modeldir (Arifin vd., 2006). Ancak MH için bir taşıyıcı sistem bulunmaması ve saf halde kullanılması Hopfenberg modeline uygun salım kinetiğini anlamsız kılmaktadır.

Tablo 5.13*SP1, HP1, MP1 ve FP1 formüllerinin salın kinetiği (pH:6,8)*

Formülasyon	Parametre	Salın Modelleri-Bağırsak					
		Sıfırıncı Derece	Birinci Derece	Higuchi	Korsmeyer-Peppas	Hixon-Crowell	Hopfenberg
SP1	k	1,230	0,090	12,103	63,173	0,000	0,023
	r²	-0,396	0,997	0,6134	0,6703	-5,681	0,996
	AIC	67,568	25,466	58,577	33,941	78,528	27,999
	MSC	-2,288	3,726	-1,0041	0,4428	-3,854	3,365
	n	-	-	-	0,115	-	3,375
HP1	k	1,204	0,081	11,798	56,899	0,011	0,015
	r²	-0,2922	0,999	0,664	0,738	0,835	0,997
	AIC	66,782	6,4732	57,346	34,675	52,392	25,216
	MSC	-2,103	6,513	-0,755	0,672	-0,047	3,835
	n	-	-	-	0,122	-	4,500
MP1	k	1,212	0,096	11,922	68,555	0,008	0,016
	r²	-0,390	0,999	0,617	0,269	0,501	0,996
	AIC	67,330	12,290	58,315	38,679	60,162	29,095
	MSC	-2,278	5,585	-0,990	-0,353	-1,254	3,184
	n	-	-	-	0,099	-	4,500
FP1	k	1,203	0,069	11,711	30,951	0,014	0,014
	r²	-0,116	0,998	0,748	0,259	0,880	0,995
	AIC	65,805	19,855	55,402	43,219	50,189	30,435
	MSC	-1,819	4,745	-0,333	-0,367	0,412	3,234
	n	-	-	-	0,291	-	4,500

Tablo 5.14*FP2, F1, F2 ve P1 formüllerinin salım kinetiği (pH:6,8)*

Formülasyon	Parametre	Salım Modelleri Bağırsak					
		Sıfırıncı Derece	Birinci Derece	Higuchi	Korsmeyer-Peppas	Hixon-Crowell	Hopfenberg
FP2	k	1,209	0,139	11,868	59,003	0,0127	0,0169
	r²	-0,322	0,967	0,650	0,982	0,860	0,997
	AIC	67,004	41,121	57,705	38,9731	51,271	25,614
	MSC	-2,147	1,551	-0,818	1,858	0,101	3,766
	n	-	-	-	0,118	-	4,500
F1	k	1,118	0,045	11,020	57,838	0,010	0,010
	r²	-0,458	0,879	0,580	0,759	0,751	0,754
	AIC	66,517	49,114	57,801	29,371	54,156	56,0760
	MSC	-2,387	0,099	-1,142	0,757	-0,621	-0,896
	n	-	-	-	0,107	-	3,000
F2	k	1,2132	0,1188	11,993	68,713	0,010	0,018
	r²	-0,535	0,999	0,537	0,735	0,629	0,998
	AIC	68,823	15,488	61,004	25,276	59,629	55,777
	MSC	-2,691	4,928	-1,574	0,2344	-1,378	-0,827
	n	-	-	-	0,047	-	5,250
P1	k	1,199	0,065	11,678	50,728	0,013	0,013
	r²	-0,143	0,995	0,737	0,526	0,893	0,992
	AIC	65,858	28,215	55,564	39,774	49,252	33,004
	MSC	-1,887	3,491	-0,417	0,079	0,485	2,807
	n	-	-	-	0,1330	-	4,500

Tablo 5.15*P2, FS1, FS2 ve MH'nin salım kinetiği (pH:6,8)*

Salım Modelleri Bağırsak							
Formülasyon	Parametre	Sıfıncı Derece	Birinci Derece	Higuchi	Korsmeyer-Peppas	Hixon-Crowell	Hopfenberg
P2	k	1,1904	0,0765	11,654	48,794	0,014	0,016
	r²	-0,263	0,999	0,680	0,807	0,828	0,993
	AIC	66,453	17,609	56,851	32,895	52,502	32,603
	MSC	-2,069	4,909	-0,698	0,978	-0,076	2,767
	n	-	-	-	0,162	-	3,750
FS1	k	1,178	0,059	11,678	76,222	0,012	0,012
	r²	-0,637	0,888	0,476	0,824	0,709	0,728
	AIC	68,056	49,293	60,084	20,107	55,965	57,490
	MSC	-2,661	0,019	-1,523	1,071	-0,934	-1,152
	n	-	-	-	0,054	-	3,000
FS2	k	1,223	0,138	12,155	81,095	0,015	0,015
	r²	-0,680	0,999	0,450	0,594	0,548	0,804
	AIC	68,823	15,488	61,004	25,276	59,629	55,777
	MSC	-2,6910	4,9282	-1,5740	0,2344	-1,3776	-0,8273
	n	-	-	-	0,0470	-	3,000
MH	k	1,244	0,217	12,355	68,8829	0,016	0,036
	r²	-0,686	0,997	0,445	-5,0431	0,227	0,999
	AIC	69,063	23,490	61,289	39,6790	63,601	19,467
	MSC	-2,711	3,800	-1,600	-2,466	-1,931	4,374
	n	-	-	-	0,109	-	3,375

5.5 Hücre Kültürü Çalışmaları

Hücre kültürü çalışmaları kapsamına alınacak formüllerin seçimi için *in vitro* karakterizasyon çalışmalarının sonuçları kullanılmıştır. Formüllerin oral yoldan uygulanması planlandığı için etkin madde miktar tayini sonucu ilk önemli parametre olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca polimerlerin biyouyumluluğu, emilimi artırma gibi

özellikleri düşünülerek formüller arasında seçim yapılmıştır. Buna göre F2, P2, FP2, FS2 ve MCD1 hücre kültürü çalışmaları kapsamına alınan formüllerdir.

In vitro çalışmalar arasında MH içeren çeşitli formülasyonların hücreler üzerindeki etkileri MTT yöntemi ile araştırılmıştır. MH içeren polimerik nanopartiküllerin hücre canlılığı üzerindeki etkisi, HUVEC insan endotel hücresi, A549 akciğer kanser hücresi ve MCF-7 meme kanseri hücre hatları kullanılarak araştırılmıştır. Hücre canlılığı 24 ve 48 saat boyunca değerlendirilmiştir. Hazırlanan formülasyonlar, hücrelere 25-500 µg/mL konsantrasyon aralığında uygulanmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda, 572 nm'de bir BioTek Cytation 5 (BioTek Instruments, Almanya) çoklu plaka okuyucusu ile absorbans ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Sitotoksikite testi, her formülasyon için 3 plakada ve her konsantrasyon için 8 kuyuda gerçekleştirilmiştir. Absorbans değeri, bu plakalarda ölçülen absorbansların ortalaması alınarak hesaplanmıştır. Konsantrasyonlar, herhangi bir formülasyon kullanılmadan sadece kültür ortamı ile inkübe edilen kontrol hücrelerinde %100 canlılık varsayılarak hesaplanmıştır. Bu çalışmada kullanılan tüm formülasyonların zamana ve konsantrasyona bağlı hücre canlılığı sonuçları Şekil 5.89-91'da standart hata ($\pm$) değerleriyle verilmiştir. Bu sonuçlarla birlikte çalışmada, her inkübasyon periyodunun sonunda IC50 (hücre çoğalmasında %50 azalmaya neden olan inhibitör konsantrasyonu) değerleri belirlenmiştir. Bu değerler Tablo 5.16'da verilmiştir.

Uluslararası bir standart olan ISO 10993-5:2009(E)'e göre *in vitro* sitotoksikite değerlendirmelerinde bir ekstrakt ile muamele edilen hücreler standart kontrol grubuna göre %70'lik bir metabolik aktivite gösteriyorsa, bu materyal güvenli kabul edilmekte eğer daha az gösteriyorsa sitotoksik olarak değerlendirilmektedir. Genel olarak tez çalışmasında hazırlanan formülasyonlarda doz ve zaman bağımlı sitotoksikite gözlenmekle birlikte bu bilgiden yola çıkılarak MH ve MH yüklü formülasyonların analiz sonuçları grafik üzerinden değerlendirildiğinde; Saf MH A549 hücrelerinde 24. saatte 5mM ve 48. saatte 2.5mM'da sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır. HUVEC hücrelerinde 24 ve 48. saatte 10mM'dan sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır. MCF-7 hücrelerinde 24. saatte 10mM ve 48. saatte 5mM'den sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır.

MP0 kodlu formülasyonda; A549 hücrelerinde 24 ve 48. saatte 30mM'dan sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır. HUVEC hücrelerinde 24 ve 48. saatte 30mM'dan

sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır. MCF-7 hücrelerinde 24. saatte 50mM ve 48. saatte 30mM'dan sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır.

MP1 koldu formülasyonda; A549 hücrelerinde 24 ve 48. saatte 2.5mM'dan sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır. HUVEC hücrelerinde 24 ve 48. saatte 20mM'dan sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır. MCF-7 hücrelerinde 24 ve 48. saatte 2.5mM'dan sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır.

Tablo 5.16

Formülasyonların ve etkin maddenin IC50 değerleri

Formülasyonlar	IC50 Değerleri (µg/mL)					
	HUVEC		A549		MCF-7	
	24 h	48 h	24h	48h	24h	48h
MH	37,03	33,39	18,02	10,01	23,30	12,37
MP0	>500	>500	>500	>500	>500	>500
MP1	>500	>500	7,27	5,67	11,24	8,68
P0	>500	>500	>500	>500	>500	>500
P2	>500	>500	30,97	20,63	52,06	17,65
F0	>500	>500	>500	>500	>500	>500
F2	>500	>500	13,56	6,14	51,78	24,75
FP0	>500	>500	>500	>500	>500	>500
FP2	>500	>500	5,31	4,12	8,86	10,18
FS0	Analiz yapılamadı					
FS2	Analiz yapılamadı					

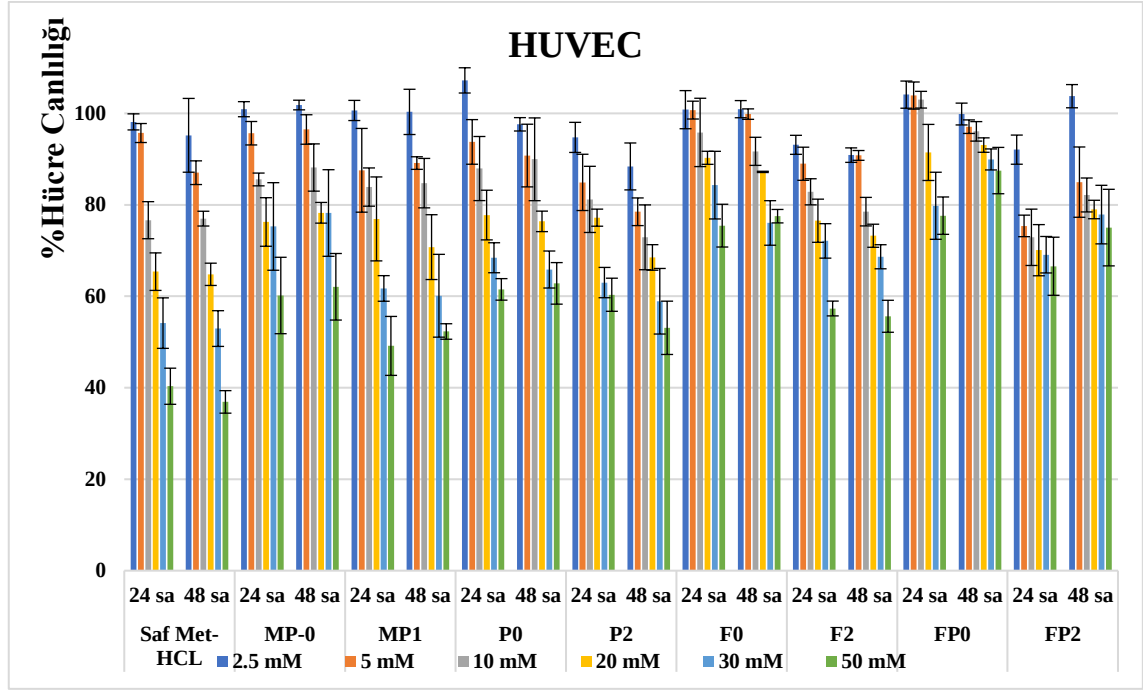
NOT: FS0 ve FS2 kodlu formüllerde besiyeri içerisinde hiçbir şekilde dağıtılamaması sebebi ile analiz yapılamamıştır. Bazı formüllerde çalışılan derişimlerde hücre canlılığı %50'nin altına düşmediği için IC50 değerlendirilememiştir.

P0 kodlu formülasyonda; A549 hücrelerinde 24. saatte 30mM ve 48. saatte 20mM'dan sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır. HUVEC hücrelerinde 24 ve 48. saatte 20mM'dan sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır. MCF-7 hücrelerinde 24. saatte 50mM'dan daha büyük bir konsantrasyonda, 48. saatte 50mM'dan sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır. P2 kodlu formülasyonda; A549 hücrelerinde 24. saatte 5mM ve 48. saatte 2.5mM'dan sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır. HUVEC hücrelerinde

24. saatte 20mM ve 48. saatte 10mM'dan sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır. MCF-7 hücrelerinde 24. saatte 10mM ve 48. saatte 5mM'dan sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır.

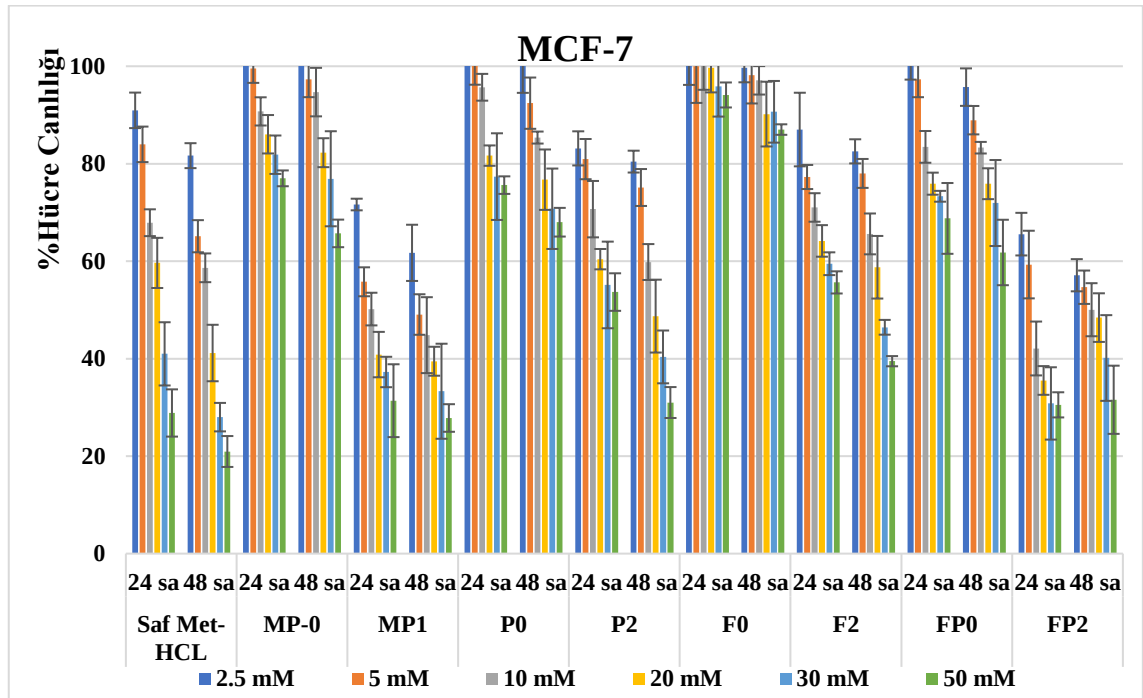
Şekil 5.89

Saf MH ve formülasyonların HUVEC hücrelerindeki hücre canlılığına etkileri



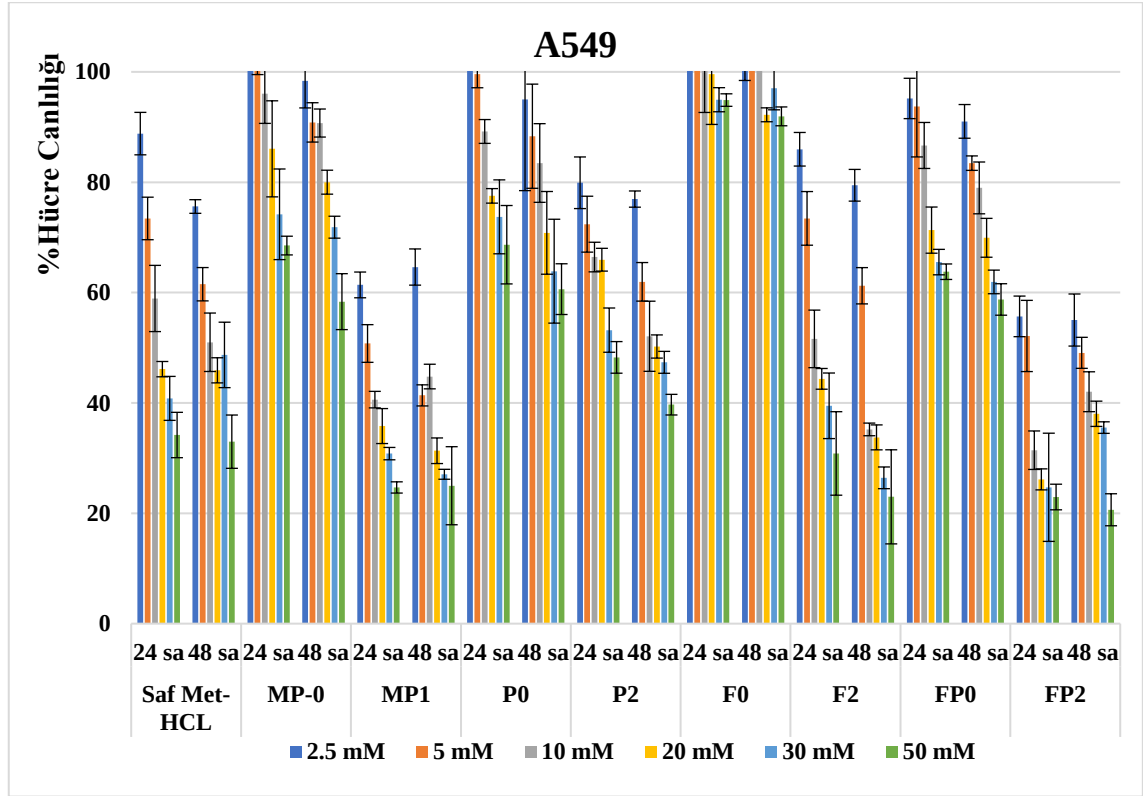
Şekil 5.90

Saf MH ve formülasyonların MCF-7 hücrelerinin canlılığına etkileri



Şekil 5.91

Saf MH ve formülasyonların A549 hücrelerinin canlılığına etkileri



F0 kodlu formülasyonda; A549, HUVEC ve MCF-7 hücrelerinde 24 ve 48. saatte çalışılan tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığı %70'in altına inmemiştir. F2 kodlu formülasyonda; A549 hücrelerinde 24. saatte 5mM ve 48. saatte 2.5mM'dan sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır. HUVEC hücrelerinde 24. saatte 30mM ve 48. saatte 20mM'dan sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır. MCF-7 hücrelerinde 24. saatte 10mM ve 48. saatte 5mM'dan sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır.

FP0 koldu formülasyonda; A549 hücrelerinde 24 ve 48. saatte 20mM'dan sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır. HUVEC hücrelerinde 24 ve 48. saatte çalışılan tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığı %70'in altına inmemiştir. MCF-7 hücrelerinde 24 ve 48. saatte 30mM'dan sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır.

FP2 koldu formülasyonda; A549 hücrelerinde 24 ve 48. Saatte çalışılan en düşük konsantrasyonda dahi hücre canlılığı %50'nin üstüne çıkmamıştır. HUVEC hücrelerinde 24. saatte 20mM, 48. saatte 50mM'dan sonra sitotoksik etki göstermeye başlamıştır. MCF-7 hücrelerinde 24 ve 48. saatte çalışılan en düşük konsantrasyonda dahi hücre canlılığı %50'nin üstüne çıkmamıştır.

Formülasyonların ve etkin maddenin deney sonuçları Minitab 22 analiz programı ile regresyon metodu ile istatistiksel olarak incelendiğinde hücre çeşidi, konsantrasyon, formülasyon tipi ve inkübasyon sürelerinin hücre canlılığı üzerinde (R^2 ad= %85,04) önemli etkisi olduğu ($p<0.05$) bulunmuştur. Yapılan analizlerde kontrol hücresine göre kanser hücrelerinin daha çok etkilendiği, özellikle MCF-7 hücrelerinde A549'a göre istatistiksel olarak anlamlı bir hücre düşüşü gösterdiği saptanmıştır ($p<0.05$). Bununla beraber plasebo formüllerin hücre canlılığı üzerinde etkisi bulunmamıştır ($p>0.05$). A549 ve MCF-7 hücrelerinin kendi aralarında da hücre canlılığı üzerinde herhangi istatistiksel bir ilişki bulunamamıştır ($p>0.05$). Formüller arasında tek başına istatistiksel bir etki olmamasına ($p>0.05$) rağmen inkübasyon süresi ve konsantrasyon arttıkça F2 ve P2 hariç diğer formüllerde 48 saatlik inkübasyon süresi ile hücre canlılığı üzerinde istatistiksel olarak olumsuz etki görüldüğü belirlenmiştir ($p<0.05$).

Biguanid ailesine ait olan metformin, klinik etkinliği ve düşük toksisite profili nedeniyle Tip 2 diyabet için birinci basamak oral tedavi olarak neredeyse 30 yıl gibi bir süredir kullanılmaktadır. İlaç, mitokondriyal solunum zinciri kompleksi I'in hafif veya geçici inhibisyonu yoluyla hepatik glikoz üretimini baskılamaktadır. Bu, AMP (Adenozin monofosfat) ile aktive olan protein kinaz AMPK'nın aktivasyonuna yol açmaktadır (Viollet vd., 2011).

Adenozin monofosfatla aktive olan protein kinaz (AMPK), hücrel enerji homeostazisinin sürdürülmesi için çok önemli olan bir metabolik sensördür. AMPK, glikoz ve lipid metabolizmasındaki temel rolünün yanı sıra çeşitli metabolik ve fizyolojik etkilere de katkıda bulunur. AMPK sinyallemedeki anormallik, obezite, inflamasyon, diyabet ve kanser gibi kronik hastalıkların gelişmesine yol açan belirleyici faktörlerden biridir. Ek olarak, AMPK, tümör mikroçevresinde (TME) bulunan çeşitli bağışıklık hücresi sınıflarının fenotipik ve fonksiyonel yeniden programlanmasını güçlendirmede merkezi bir rol oynar. Ayrıca, AMPK aracılı inflamatuvar yanıtlar, kanserin gelişimini, ilerlemesini ve metastazını engelleyen belirli tipteki bağışıklık hücrelerinin TME'ye alınmasını kolaylaştırır (Hardie, 2011; Keerthana vd., 2023).

Bu etkileri sayesinde metforminin kanser hücresi proliferasyonunu inhibe ettiği ve tümör oluşumunu baskılayabilen AMP: ATP oranı yükselmesi ve AMPK aktivasyonu nedeniyle enerji eğilimini azaltarak apoptozu indüklediği öne sürülmektedir (Mihaylova & Shaw, 2011; Vara-Ciruelos vd., 2019). Literatürde, metformin kullanımı ile farklı kanserlerin

insidans ve mortalite oranlarında azalma olduğu belirtilmektedir. Vaka kontrol çalışmaları, yeni metformin kullanıcılarının kansere yakalanma riskinin düşük olduğunu ortaya koymuştur (Evans vd., 2005; Libby vd., 2009).

Yapılan çalışmalarda metforminin başta pankreas kanseri, hepatosellüler karsinom ve kolon kanseri olmak üzere kanser insidansını %30-50 oranında azalttığı gösterilmiştir (C.-P. Wang vd., 2019; Eibl & Rozengurt, 2021; Erkinantti vd., 2021). Bu çalışmada, MH'nin insan akciğer ve meme kanseri hücre hatları, A549 ve MCF-7 üzerindeki antiproliferatif özelliği araştırılmıştır. Bu araştırma sırasında normal hücre hattı olarak HUVEC insan umbilikal kord endotel hücreleri seçilmiştir. Yapılan analizlerde tek başına ilk 24-48 saatte MH, HUVEC hücrelerine göre A549 ve MCF-7 hücrelerinde daha düşük konsantrasyonlarında hücre canlılığında %70'in altında azalmaya neden olmuştur.

Literatürde birçok kanser hücresi ile çalışma yapılmakla birlikte tez kapsamında sadece meme ve akciğer kanser hücreleri çalışılması sebebi ile literatür araştırmalarında bu hücreler üzerinde yoğunlaşmıştır. Örneğin Qui vd. tarafından A549 hücreleri üzerinde yapılan bir çalışmada 24 saatlik inkübasyon sonrasında IC50 değeri 13.5 mM olarak saptanırken Hasan vd. tarafından yapılan çalışmada 10 mM olarak belirlenmiştir (Qiu vd., 2022; Hasan vd., 2023). Zhou vd. tarafından yapılan bir başka çalışmada ise 48 saat süre sonunda 10mM MH'in; Luo vd. tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise 80 mM A549 hücre canlılığında %50 azalmaya sebep olduğu belirtilmiştir (X. Zhou vd., 2019; Luo vd., 2019). Literatürdeki bir başka çalışmada 72 saatlik inkübasyon sonrasında normal akciğer hücreleri (BEAS) üzerinde çalışılan konsantrasyonda hücre canlılığında herhangi bir azalma gözlenmezken A549 hücrelerinde ise IC50 değeri 6.2 mM olarak hesaplanmıştır (F. Zhang vd., 2023). Üç farklı inkübasyon süresinin aynı anda bakıldığı bir başka çalışmada ise 24 saate 4 mM, 48 saate 2mM, 72 saate yaklaşık 1.5 mM'da IC 50 değeri belirlenmiştir (Y. Wang vd., 2014). Bununla birlikte MCF-7 ve A549 hücrelerinin birlikte çalışıldığı bir çalışmada MCF-7 hücrelerinde 24 saat inkübasyon sonrası IC50 değeri 3.8 mM gözlenirken, A549 hücrelerinde ise çalışılan en yüksek konsantrasyon 7,7 mM'da hücre canlılığında azalma görülmemiştir (Shakibaie, Heydari-Moghadam, vd., 2025; Shakibaie, Hosseinasab, vd., 2025). Yeşildağ vd. tarafından yapılan bir çalışmada yine aynı hücreler çalışılmış ve 24 saatlik inkübasyon sonunda A549 hücrelerinde IC50 21.4 mM bulunurken MCF-7 hücrelerinde ise 18.7 mM olarak saptanmıştır (Yeşildağ vd., 2024).

Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde özellikle son yıllarda yapılan çalışmalarda 10mM sonrası A549 ve MCF-7 hücrelerinde MH'in hücreler üzerinde sitotoksik etkili olduğu görülmüş ve MTT deneylerinde elde ettiğimiz sonuçların literatürdeki çoğu çalışmayla benzerlik gösterdiği sonucuna varılmıştır. Aynı zamanda literatürde karşılaşılan farklı sonuçların inkübasyon süresi ve hücre kültüründeki çeşitli parametrelerden (hücre pasaj numarası, hücre yoğunluğu, hücrenin üreme potansiyeli vb) kaynaklandığı düşünülmektedir. Tüm bu sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde MH'in tek başına kanser hücrelerinin çoğalmasını doza ve zamana bağlı olarak etkili bir şekilde engelleyebileceğini göstermektedir.

Tez çalışmasında ayrıca MH içeren formülasyonların hücreler üzerindeki etkinliklerine de bakılmıştır. Bu etkinliğin belirlenebilmesi içinde, MTT deneyinden serbest MH'ye eşit konsantrasyon içeren nanopartiküllerin uygun konsantrasyonları hesaplanmış ve hücrelere uygulanmıştır. Buna göre farklı polimerlerin ayrı ayrı ve bir arada uygulandığı formüller ve etkin madde içermeyen plasebo formüller aynı MH'de olduğu gibi zaman-doza bağlı sitotoksikite göstermiştir. Bu plasebo formülasyonlar içerisinde genellikle yüksek konsantrasyonlarda sitotoksikitede artışlar olduğu saptanmıştır. Formülasyonlar kendi içerisinde değerlendirildiğinde plasebo formülasyonlarda F0 kodlu formülasyon hariç diğerlerinde 30mM'dan sonra hücre canlılığı %70'in altına düştüğü saptanmıştır. F0 kodlu formülasyonda ise çalışılan en yüksek konsantrasyonda dahi hücre canlılığı %70'in altına inmemiştir. F0 formülasyonu NaOH ile hazırlanmış FS polimerini içeren bir formülasyondur. Bu polimerle hazırlanmış literatürdeki çalışmalarda tek başına plasebo formülasyonun sitotoksikitesinin belirlendiği bir çalışma bulunmadığı için bir karşılaştırma yapılamamakla birlikte yüklü etkin maddenin etkinliğini arttırdığını bildiren çalışmalar mevcuttur (Balogh vd., 2017).

Literatür araştırmalarında tezde kullanılan metil- β -CD'nin, kendi türevleri arasında en az sitotoksisteye sahip olması sebebi ile hücrelerde yüksek hücre ölümüne neden olmadığı fakat etkin maddenin sitotoksikitesini arttırabildiği belirtilmiştir (Grosse vd., 1997; Kiss vd., 2007, 2010). Aynı şekilde PMA kopolimerleri ve türetilmiş formları, düşük toksisite ve yüksek biyouyumluluk gösteren moleküllerdir (Mira vd., 2017). Taşıdıkları etkin maddeleri kolayca hücreye taşıyabildikleri ve hücreler üzerindeki etkinliklerinin saf etkin maddeye göre daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Örneğin Doksurubisin yüklenen bir

çalışmada HepG2 hücrelerinde DOX yüklü PVE nanopartiküllerinin saf DOX'a göre IC50 değerini düşürdüğü gözlenmiştir (Varshosaz vd., 2017).

Tez kapsamında hazırlanan MH yüklü tek başına FS100 ile hazırlanan F2 kodlu formülasyonlar ile tek başına PME ile hazırlanan P2 kodlu formülasyonlar, hücre canlılığını en az düşüren formülasyonlar olmakla birlikte 5 mM konsantrasyondan sonra bu komplekslerin de hücre canlılığını azalttığı saptanmıştır.

Diğer hazırlanan formülasyonlarda ise MH yüklenmesi için CD ve FS ile de ayrı ayrı da formüle edilmiştir. Hazırlanan bu formülasyonlarda hücreler üzerinde en etkili formülasyon FS ve PME ile hazırlanan FP2 kodlu formülasyonlar ile CD ve PME içeren MP-1 kodlu formülasyonlar olmuştur. FP2 ve MP1 kodlu formülasyonlarda kullanılan en düşük dozda dahi (2.5 mM) hücre canlılığı 48. saatte A549 hücrelerinde sırasıyla %55.02 ve %64,3 MCF-7 hücrelerinde ise %57,12 ve %61,71 olarak saptanmıştır. F2 ve P2 kodlu formülasyonlarda ise 48 saat sonunda A549 hücrelerinde 2.5mM'da yaklaşık %70'lerde olan hücre canlılığı MCF-7 hücrelerinde yaklaşık %80 olarak saptanmıştır. Bu formülasyonlardan F2'nin A549 hücrelerinde 48 saatte 5mm'da %61,24 saptanan hücre canlılığı MC7 hücrelerinde 20mM'da %58,76'lara kadar düşmüştür. P2 kodlu formülasyonda ise A549 hücrelerinde 48 saatte 5mm'da %52.08 saptanan hücre canlılığı MC7 hücrelerinde 10mM'da %59,83'lere kadar düşmüştür. Sonuç olarak HUVEC hücrelerinde bu konsantrasyonlarda hücre canlılığı yüksek görülürken, formülasyonların da etkisiyle kanser hücrelerinin canlılığının azalması yönünde MH'nin etkinlik gösterdiği saptanmıştır.

Sonuç olarak FS ve PMA ile hazırlanan (FP-2 ve MP-1) komplekslerin en etkili formüller olarak bulunması da farklı özellikteki polimerlerin birlikte kullanılması sonucu hücresel toksisitenin değiştirebileceği sonucuna varılmıştır. Literatürdeki çalışmalarda da bu şekilde hücreler üzerinde, farklı polimerlerin birlikte kullanılmasının tek başına polimer kullanımından daha etkili olduğunu belirtilen çalışmalar bulunmaktadır (C.-Y. Cheng vd., 2018; Zheng vd., 2021; Devi vd., 2024).

Özetle HUVEC hücrelerinde yüksek konsantrasyonlarda dahi düşük sitotoksosite gözlenirken kanser hücrelerinde düşük konsantrasyonlarda yüksek sitotoksosite gözlenmiştir. Kanser hücreleri arasında ise sitotoksosite açısından benzer oranlar saptanmıştır. Tez çalışmasında hazırlanan formüller ile ilgili bilgiler literatürde kısıtlı çalışmalarda yer alması ve bu çalışmaların genellikle *in vitro* karakterizasyon şeklinde

sunulması sebebi ile bu çalışmada elde edilen hücre kültür verilerinin literatüre katkı sağlayacak türde olduğu düşünülmektedir.

5.6 Kararlılık Çalışmaları

Kararlılık çalışmaları sonucu Tablo 5.17’de yer almaktadır. Formüllerin 3 ay boyunca oda sıcaklığında kararlılığını koruduğu tespit edilmiştir.

Tablo 5.17

Kararlılık sonuçları

ADI	Miktar tayini (ortalama±standart hata, n=3)		Parçacık boyutu dağılımı (ortalama±standart hata, n=6)		PDI		Zeta Potansiyeli (ortalama±standart hata, n=6)	
	0. Ay	3. Ay	0. Ay	3. Ay	0. Ay	3. Ay	0. Ay	3. Ay
F2	12,68±0,13	12,31±0,26	3909±1127	4013±453	1	1	-29,6±0,6	-13,5±2,3
P2	13,9±1,07	13,61±0,35	2196±553	2091±688	0,244	0,488	-7,1±0,8	-13,6±3,1
FP2	12,81±0,54	12,45±0,29	1794±1377	1945±235	1	1	-14,9±0,5	-36,32

5.7 *In Vivo* Farmakodinamik Çalışmalar

7 gün süre ile kontrol solüsyonu, MH ve MH yüklü polimerik taşıyıcı sistemler olan F2, P2 ve FP2 formülasyonu uygulamalarının, diyabetik sıçanların açlık kan glikoz düzeyleri üzerine etkileri Tablo 5.18’de ve Şekil 5.92’de sunulmuştur [$F(5,42) = 24.08$; $p < 0.001$].

İstatistiksel analiz sonuçları, herhangi bir tedavi almayan diyabetik sıçanların (DM), açlık kan glikozu değerlerinin ($p < 0.001$), karşılık gelen kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Bu bulgu, bu çalışmada deneysel diyabet modelinin başarı ile oluşturulduğunu göstermektedir.

Çoklu karşılaştırma testlerinin sonuçları, F2 formülasyonu uygulamalarının, diyabetik hayvanların açlık kan glikoz düzeylerini düşürmekte ($p < 0.001$), saf MH ile kıyaslanabilir ölçüde etkili olduğunu ortaya koymuştur. FP2 formülasyonu uygulamaları da hiperglisemiye hafifletmekte etkili olmakla birlikte ($p < 0.01$), kan glikoz değerlerini kontrol grubunun normoglisemik düzeylerine geri döndürememiştir ($p < 0.001$). P2 formülasyonu uygulamaları ise diyabetik sıçanların açlık kan glikoz düzeyleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır (Şekil 5.92).

Tablo 5.18*Açlık kan glikoz düzeyleri*

No	Kontrol	DM	MH	F2	P2	FP2
1	80	554	81	84	344	188
2	99	353	71	82	262	281
3	70	293	78	86	102	231
4	66	329	74	226	401	119
5	68	410	110	84	286	261
6	65	276	76	80	422	274
7	82	267	73	265	297	168
8	64	441	77	80	299	309
Ortalama	74,25	365,38	80,00	123,38	301,63	228,88

7 gün süre ile kontrol solüsyonu, MH ve MH yüklü polimerik taşıyıcı sistemler olan F2, P2 ve FP2 formülasyonu uygulamalarının, diyabetik sıçanların % HbA1c düzeyleri üzerine etkileri Şekil 5.92’de sunulmuştur [$F(5,42) = 16.08$; $p < 0.001$].

İstatistiksel analiz sonuçları, herhangi bir tedavi almayan diyabetik sıçanların (DM), % HbA1c düzeylerinin ($p < 0.001$) (Şekil 5.93 ve Tablo 5.19), karşılık gelen kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Bu bulgu, açlık kan glikoz düzeylerine ilişkin ölçüm sonuçlarını desteklemiş ve bu çalışmada deneysel diyabet modelinin başarı ile oluşturulduğunu doğrulamıştır.

Çoklu karşılaştırma testlerinin sonuçları, F2 formülasyonunun, diyabetik hayvanların % HbA1c düzeylerini düşürmekte, açık kan glikozu sonuçlarına benzer biçimde, saf MH ile kıyaslanabilir ölçüde etkili olduğunu ortaya koymuştur ($p < 0.001$). P2 ve FP formülasyonlarının uygulamaları ise % HbA1c düzeylerini düşürme eğilimi göstermiş olmakla birlikte, fark istatistiksel anlamlılığa ulaşamamıştır (Şekil 5.93).

Bu çalışmada, Tip II diyabetin deneysel olarak indüklenmesinde STZ ve nikotinamid kombinasyonu kullanılmıştır (Masiello vd., 1998). Sitotoksik bir glikoz analogu olan STZ (Lenzen, 2008), glikoz taşıyıcısı GLUT2 aracılığıyla pankreatik β -hücrelere girerek DNA hasarına neden olur ve poli(ADP-riboz) polimeraz-1 (PARP-1) aktivitesini artırır. Aşırı PARP-1 aktivasyonu hücre içi NAD^+ ve ATP tükenmesine yol açarak β -hücre nekrozu

ile sonuçlanır. Nikotinamid'in koruyucu etkisi ise PARP-1 aktivitesini inhibe etmesinden kaynaklanır. Böylece STZ'ye maruz kalan hücrelerde NAD⁺ ve ATP tükenmesi önlenir. Ayrıca nikotinamid, NAD⁺'ın öncülü olarak görev yapar ve bu şekilde hücre içi NAD⁺ düzeylerini artırır. Bu model, β -hücrelerin kütlesinde azalma ve metabolik defektlerle karakterize edilmekte; sonuçta glikoza yanıt olarak insülin salınımında belirgin bir azalma gözlenmektedir. Diyabetin şiddeti, uygulanan STZ ve nikotinamid dozlarına bağlı olarak hafif hiperglisemiden belirgin hipoinsülinemiye kadar değişiklik gösterebilmektedir (Szkudelski, 2012).

Tablo 5.19

%HbA1c düzeyleri

No	Kontrol	DM	MH	F2	P2	FP2
1	9,05	24,37	13,13	15,43	19,19	12,00
2	8,60	22,06	11,86	7,00	13,39	16,46
3	7,54	17,65	11,38	10,32	10,03	18,30
4	9,08	13,99	13,26	15,49	16,29	17,39
5	8,65	20,25	11,73	11,95	14,35	21,14
6	5,30	22,86	13,45	8,40	22,86	18,08
7	8,33	16,27	10,17	14,29	19,96	18,21
8	5,30	18,50	8,15	12,18	12,74	13,42
Ortalama	7,73	19,50	11,64	11,88	16,10	16,87

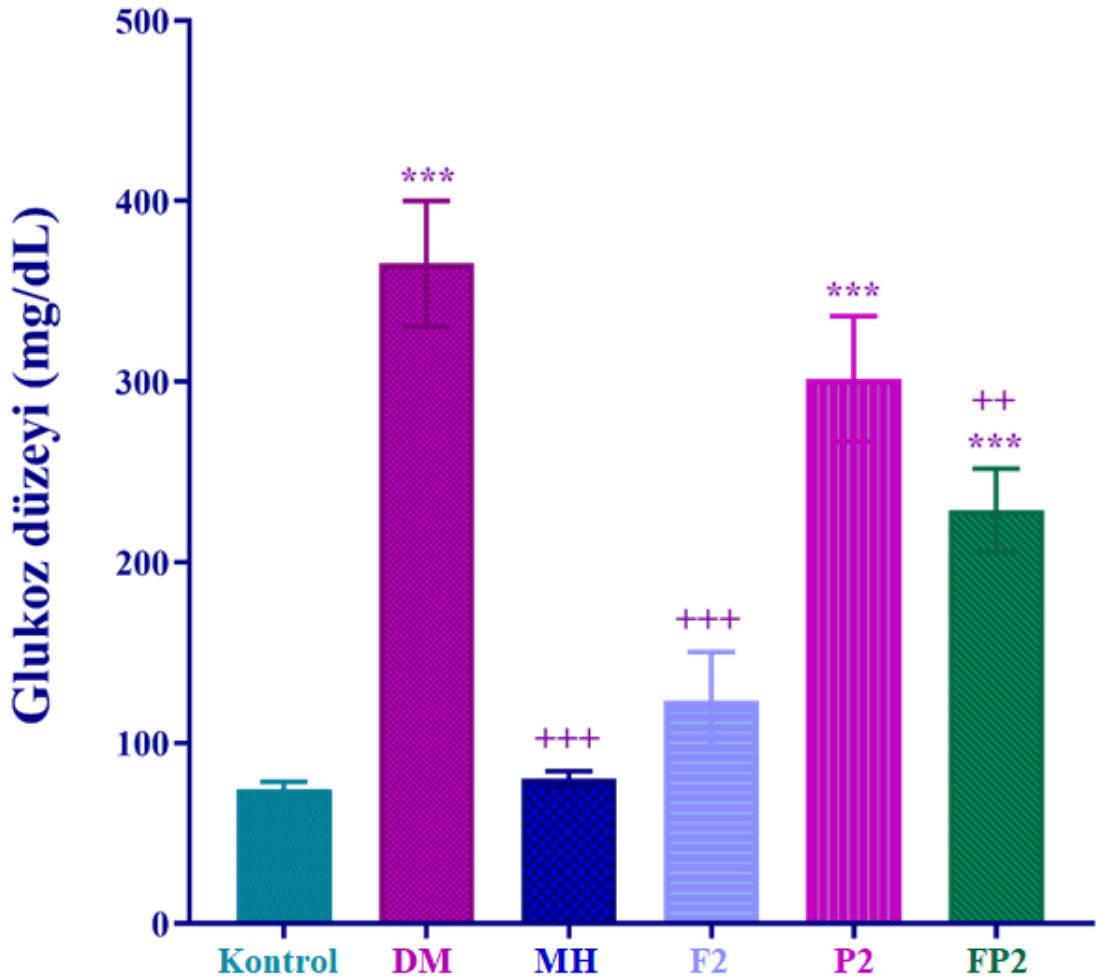
Bu tez çalışmasının farmakodinamik verileri değerlendirildiğinde, herhangi bir tedavi almayan diyabetik sıçanların, gerek açlık kan glikozu değerlerinin ($p<0.001$) (Şekil 5.92); gerekse % HbA1c düzeylerinin ($p<0.001$) (Şekil 5.93), normoglisemik sıçanlara göre anlamlı ölçüde yüksek olduğu görülmüştür. Elde edilen bu bulgular ile sıçanlarda deneysel diyabet modelinin oluşturulduğu doğrulandıktan sonra; formülasyonların etkinliğinin araştırılması basamağına geçilmiştir.

Bu çalışmada, MH yüklü farklı polimerik taşıyıcı sistemlerin diyabetik sıçanlarda glisemik kontrol üzerine etkileri karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular, F2 formülasyonunun hem açlık kan glikoz düzeylerini (Şekil 5.92) hem de % HbA1c düzeylerini (Şekil 5.93) azaltmakta, serbest MH ile karşılaştırılabilir ölçüde

etkinlik gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu bulgu, FS partiküler taşıyıcı sistemlerin MH'nin terapötik etkinliğini koruduğuna ve diyabet yönetiminde potansiyel bir seçenek olabileceğine işaret etmiştir.

Şekil 5.92

MH ve yüklü formülasyonların 7 günlük uygulamalarının diyabetik sıçanların açlık kan glikoz düzeyleri üzerine etkileri

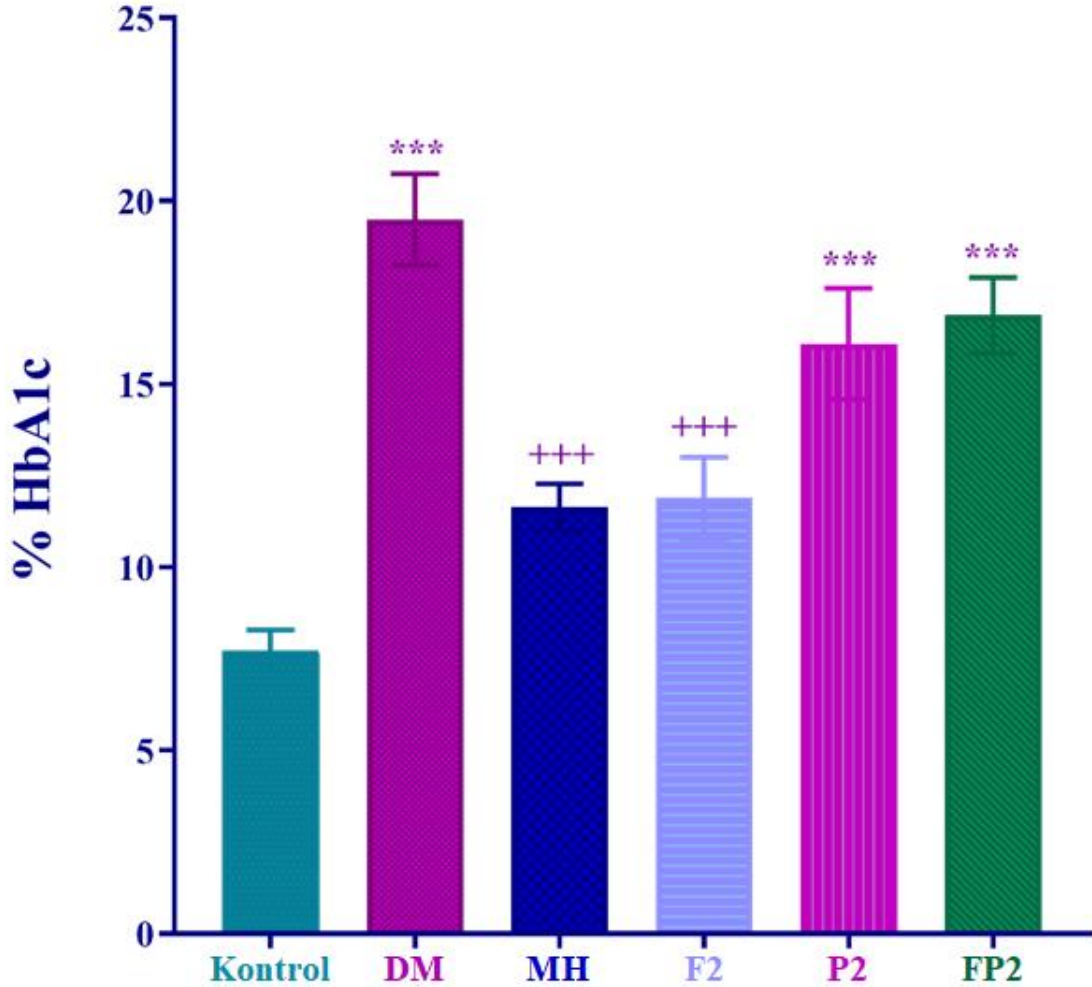


FP2 formülasyonu hipergliseminin baskılanmasında anlamlı düzeyde etkili olmuş, ancak açlık glikoz düzeyi değerlerini normoglisemik seviyelere geri döndürememiştir (Şekil 5.92). Ayrıca, bu formülasyonun % HbA1c değerlerini düşürme eğiliminin de istatistiksel anlamlılığa ulaşmamış olması (Şekil 5.93), bu çalışmada test edilen PMA partiküler taşıyıcı sistemlerin uzun süreli glisemik kontrol için tek başına yeterli olmayabileceğini düşündürmüştür. Diğer yandan, açlık kan glikozunun kısa vadeli glisemik durumu yansıttığı; HbA1c düzeylerinin ise kronik glisemik yükün entegre bir göstergesi olduğu ve kısa süreli dalgalanmalardan ziyade uzun dönem glikoz homeostazını ortaya koyduğu

dikkate alındığında, formülasyonun antihiperglisemik etkinlik eğiliminin daha uzun süreli uygulamalardan sonra tekrar değerlendirilmesinin yararlı olacağı ileri sürülebilir (Sherwani vd., 2016).

Şekil 5.93

MH ve MH İçeren Formülasyonların 7 Günlük Uygulamalarının Diyabetik Sıçanların % HbA1c Düzeyleri Üzerine Etkileri



P2 formülasyonu ise gerek açlık kan glikozunu (Şekil 5.92) gerekse % HbA1c düzeylerini (Şekil 5.93) düşürme eğilimi göstermiş olsa da bu değişimler istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır. Bu bulgular, bu çalışmada etkinliği değerlendirilen PMA partiküler taşıyıcı sistemlerin glisemik kontrol açısından yeterli bir seçenek olmadığını düşündürmektedir.

Çalışmada elde edilen farmakodinamik bulgular, farmakolojik etkinin ortaya çıkmasında, formülasyon parametrelerinin ve partikül özelliklerinin kritik önemini bir kez daha ortaya koymuştur.

6 SONUÇ

Çalışma sonucunda formülasyonlar başarılı bir şekilde hazırlanmış ve F2, P2 ve FP2 kodlu formülasyonların *in vivo* farmakodinamik çalışmalara kadar karakterizasyonları tamamlanmıştır. Farmakodinamik çalışmalardan elde edilen bulgular, MH yüklü F2 formülasyonunun, diyabet tedavisinde konvansiyonel MH'ye alternatif olabilecek potansiyel bir taşıyıcı sistem sunduğunu; FP2'nin kısmi etkinlik gösterdiğini; P2'nin ise mevcut koşullarda yeterli biyolojik yanıt oluşturmadığını göstermektedir. Bu farklılıkların altında yatan olası nedenlerin daha ileri *in vitro/in vivo* korelasyon çalışmaları ve farmakokinetik değerlendirmelerle desteklenmesi, gelecekteki araştırmalar için yol gösterici olacaktır.

KAYNAKÇA

- Abbasian, M., Bighlari, P., Mahmoodzadeh, F., Acar, M. H., & Jaymand, M. (2019). A de novo formulation of metformin using chitosan-based nanomicelles for potential diabetes therapy. *Journal of Applied Polymer Science*, 136(41), 48037. <https://doi.org/10.1002/app.48037>
- Abdelwahed, W., Degobert, G., Stainmesse, S., & Fessi, H. (2006). Freeze-drying of nanoparticles: Formulation, process and storage considerations. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58(15), 1688-1713. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2006.09.017>
- Abuhelwa, A. Y., Williams, D. B., Upton, R. N., & Foster, D. J. R. (2017). Food, gastrointestinal pH, and models of oral drug absorption. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 112, 234-248. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2016.11.034>
- Acharya, P. C., Fernandes, C., Mallik, S., Mishra, B., & Tekade, R. K. (2018). Chapter 4—Physiologic Factors Related to Drug Absorption. İçinde R. K. Tekade (Ed.), *Dosage Form Design Considerations* (ss. 117-147). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814423-7.00004-6>
- Ahmad, E., Lim, S., Lamptey, R., Webb, D. R., & Davies, M. J. (2022). Type 2 diabetes. *The Lancet*, 400(10365), 1803-1820. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)01655-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)01655-5)
- Akkuş, Z. B., Nazir, I., Jalil, A., Tribus, M., & Bernkop-Schnürch, A. (2019). Zeta Potential Changing Polyphosphate Nanoparticles: A Promising Approach To Overcome the Mucus and Epithelial Barrier. *Molecular Pharmaceutics*, 16(6), 2817-2825. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.9b00355>
- Al-Saif, F. A., & Refat, M. S. (2013). Synthesis, spectroscopic, and thermal investigation of transition and non-transition complexes of metformin as potential insulin-mimetic agents. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 111(3), 2079-2096. <https://doi.org/10.1007/s10973-012-2459-3>
- Al-Zoubi, N., Odeh, F., & Nikolakakis, I. (2017). Co-spray drying of metformin hydrochloride with polymers to improve compaction behavior. *Powder Technology*, 307, 163-174. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2016.11.027>
- A. Przybyla, M., Yilmaz, G., & Remzi Becer, C. (2020). Natural cyclodextrins and their derivatives for polymer synthesis. *Polymer Chemistry*, 11(48), 7582-7602. <https://doi.org/10.1039/D0PY01464H>
- Arafa, K., Shamma, R. N., El-Gazayerly, O. N., & El-Sherbiny, I. M. (2018). Facile development, characterization, and optimization of new metformin-loaded nanocarrier system for efficient colon cancer adjunct therapy. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 44(7), 1158-1170. <https://doi.org/10.1080/03639045.2018.1438463>
- Arafat, M., Sakkal, M., Yuvaraju, P., Esmaeil, A., Poulouse, V., & Aburuz, S. (2023). Effect of Excipients on the Quality of Drug Formulation and Immediate Release of Generic Metformin HCl Tablets. *Pharmaceutics*, 16(4), 539. <https://doi.org/10.3390/ph16040539>
- Arifin, D. Y., Lee, L. Y., & Wang, C.-H. (2006). Mathematical modeling and simulation of drug release from microspheres: Implications to drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58(12-13), 1274-1325. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2006.09.007>
- Arpagaus, C., & Schafroth, N. (2009). Laboratory scale spray drying of biodegradable polymers. *Respiratory Drug Delivery Europe*, 2, 269-274.
- Ashford, M. (2017). *Aulton's Pharmaceutics E-Book: The Design and Manufacture of Medicines*. Elsevier Health Sciences.
- Ashok, K. A., & Wahid, A. A. (2015). Formulation, Development and Absorption Enhancement Of Metformin Hydrochloride By Using Spray Drying Technique. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 4(6), 1671-1693.
- Baccetti, F., Crisafulli, C., Androzzi, F., Mannino, G. C., Nicolucci, A., Michelli, A., Miranda, C., Candido, R., Di Bartolo, P., Di Cianni, G., Russo, G. T., & Mannino, D. (2024). Profiles of sulfonylurea use in Diabetes Mellitus type 2: An analysis of clinical practice over the last 10 years. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 214, 111781. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2024.111781>

- Bae, J., Park, T., Kim, H., Lee, M., & Cha, B.-S. (2021). Lobeglitazone: A Novel Thiazolidinedione for the Management of Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes & Metabolism Journal*, 45(3), 326-336. <https://doi.org/10.4093/dmj.2020.0272>
- Bailey, C. J. (2017). Metformin: Historical overview. *Diabetologia*, 60(9), 1566-1576. <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4318-z>
- Bailey, C. J. (2024). Metformin: Therapeutic profile in the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 26(S3), 3-19. <https://doi.org/10.1111/dom.15663>
- Balogh, A., Farkas, B., Domokos, A., Farkas, A., Démuth, B., Borbás, E., Nagy, B., Marosi, G., & Nagy, Z. K. (2017). Controlled-release solid dispersions of Eudragit® FS 100 and poorly soluble spironolactone prepared by electrospinning and melt extrusion. *European Polymer Journal*, 95, 406-417. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.08.032>
- Barot, B. S., Parejiya, P. B., Patel, T. M., Parikh, R. K., & Gohel, M. C. (2010). Development of directly compressible metformin hydrochloride by spray drying technique. *Acta Pharmaceutica*, 60(2), 165-175. <https://doi.org/10.2478/v10007-010-0016-9>
- Beitelshees, A. L., Leslie, B. R., & Taylor, S. I. (2019). Sodium–Glucose Cotransporter 2 Inhibitors: A Case Study in Translational Research. *Diabetes*, 68(6), 1109-1120. <https://doi.org/10.2337/dbi18-0006>
- Bell, D. S. H. (2004). Type 2 diabetes mellitus: What is the optimal treatment regimen? *The American Journal of Medicine*, 116(5, Supplement 1), 23-29. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2003.10.017>
- Bezerra, F. M., Lis, M. J., Firmino, H. B., Dias da Silva, J. G., Curto Valle, R. de C. S., Borges Valle, J. A., Scacchetti, F. A. P., & Tessaro, A. L. (2020). The Role of β -Cyclodextrin in the Textile Industry—Review. *Molecules*, 25(16), Article 16. <https://doi.org/10.3390/molecules25163624>
- Blahova, J., Martiniakova, M., Babikova, M., Kovacova, V., Mondockova, V., & Omelka, R. (2021). Pharmaceutical Drugs and Natural Therapeutic Products for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Pharmaceuticals*, 14(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/ph14080806>
- Blair, M. (2016). Diabetes Mellitus Review. *Urologic Nursing*, 36(1), 27-36. <https://doi.org/10.7257/1053-816X.2016.36.1.27>
- Boczar, D., & Michalska, K. (2022). Cyclodextrin Inclusion Complexes with Antibiotics and Antibacterial Agents as Drug-Delivery Systems—A Pharmaceutical Perspective. *Pharmaceutics*, 14(7), Article 7. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14071389>
- Borghetti, G. S., Lula, I. S., Sinisterra, R. D., & Bassani, V. L. (2009). Quercetin/ β -Cyclodextrin Solid Complexes Prepared in Aqueous Solution Followed by Spray-drying or by Physical Mixture. *AAPS PharmSciTech*, 10(1), 235-242. <https://doi.org/10.1208/s12249-009-9196-3>
- Borman, P., & Elder, D. (2017). Q2(R1) Validation of Analytical Procedures. İçinde *ICH Quality Guidelines* (ss. 127-166). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781118971147.ch5>
- Bretnall, A. E., & Clarke, G. S. (1998). Inclusion Complex System; A Novel Technique to Improve the Solubility and Bioavailability of Poorly Soluble Drugs: A Review. *Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients*, 25, 243-293. [https://doi.org/10.1016/S0099-5428\(08\)60757-1](https://doi.org/10.1016/S0099-5428(08)60757-1)
- Bülbül, E. Ö., Eleftheriadou, K., Okur, N. Ü., & Siafaka, P. (2020). An update on cyclodextrins as drug vehicles for antimicrobial applications. *Journal of Pharmaceutical Technology*, 1(1), Article 1. <https://doi.org/10.37662/jpt.2020.3>
- Cal, K., & Sollohub, K. (2010). Spray Drying Technique. I: Hardware and Process Parameters. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 99(2), 575-586. <https://doi.org/10.1002/jps.21886>
- Campos, E., Branquinho, J., Carreira, A. S., Carvalho, A., Coimbra, P., Ferreira, P., & Gil, M. H. (2013). Designing polymeric microparticles for biomedical and industrial applications. *European Polymer Journal*, 49(8), 2005-2021. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2013.04.033>
- Cardoso, O., Figueiras, A., Veiga, F., Carvalho, R. B., & Ballaro, G. (2015). Preparation and characterization of Trimethoprim inclusion complex with Methyl- β -Cyclodextrin and determination of its antimicrobial activity. *Pharmaceutica Analytica Acta*, 06(08), 1-5. <https://doi.org/10.4172/2153-2435.1000405>

- Cetin, M., & Sahin, S. (2016). Microparticulate and nanoparticulate drug delivery systems for metformin hydrochloride. *Drug Delivery*, 23(8), 2796-2805. <https://doi.org/10.3109/10717544.2015.1089957>
- Cheng, C.-Y., Pho, Q.-H., Wu, X.-Y., Chin, T.-Y., Chen, C.-M., Fang, P.-H., Lin, Y.-C., & Hsieh, M.-F. (2018). PLGA Microspheres Loaded with β -Cyclodextrin Complexes of Epigallocatechin-3-Gallate for the Anti-Inflammatory Properties in Activated Microglial Cells. *Polymers*, 10(5), 519. <https://doi.org/10.3390/polym10050519>
- Cheng, L. K., O'Grady, G., Du, P., Egbuji, J. U., Windsor, J. A., & Pullan, A. J. (2010). Gastrointestinal system. *WIREs Systems Biology and Medicine*, 2(1), 65-79. <https://doi.org/10.1002/wsbm.19>
- Cid-Samamed, A., Rakmai, J., Mejuto, J. C., Simal-Gandara, J., & Astray, G. (2022). Cyclodextrins inclusion complex: Preparation methods, analytical techniques and food industry applications. *Food Chemistry*, 384, 132467. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132467>
- Corti, G., Capasso, G., Maestrelli, F., Cirri, M., & Mura, P. (2007). Physical-chemical characterization of binary systems of metformin hydrochloride with triacetyl- β -cyclodextrin. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 45(3), 480-486. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2007.07.018>
- Crini, G. (2014). Review: A History of Cyclodextrins. *Chemical Reviews*, 114(21), 10940-10975. <https://doi.org/10.1021/cr500081p>
- Crini, G., Fourmentin, S., Fenyvesi, É., Torri, G., Fourmentin, M., & Morin-Crini, N. (2018). Cyclodextrins, from molecules to applications. *Environmental Chemistry Letters*, 16(4), 1361-1375. <https://doi.org/10.1007/s10311-018-0763-2>
- da Trindade, M. T., Kogawa, A. C., & Salgado, H. R. N. (2018). Metformin: A Review of Characteristics, Properties, Analytical Methods and Impact in the Green Chemistry. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 48(1), 66-72. <https://doi.org/10.1080/10408347.2017.1374165>
- D'Aria, F., Pagano, B., & Giancola, C. (2022). Thermodynamic properties of hydroxypropyl- β -cyclodextrin/guest interaction: A survey of recent studies. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 147(8), 4889-4897. <https://doi.org/10.1007/s10973-021-10958-1>
- Das, O., Ghate, V. M., & Lewis, S. A. (2019). Utility of Sulfobutyl Ether beta-Cyclodextrin Inclusion Complexes in Drug Delivery: A Review. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 81(4), 589-600. <https://doi.org/10.36468/pharmaceutical-sciences.549>
- Dash, S., Murthy, P. N., Nath, L., & Chowdhury, P. (2010). Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, 67(3), 217-223.
- Davis, M. E., & Brewster, M. E. (2004). Cyclodextrin-based pharmaceuticals: Past, present and future. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3(12), 1023-1035. <https://doi.org/10.1038/nrd1576>
- Deacon, C. F. (2020). Dipeptidyl peptidase 4 inhibitors in the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology*, 16(11), 642-653. <https://doi.org/10.1038/s41574-020-0399-8>
- Deeks, E. D., & Keam, S. J. (2007). Rosiglitazone. *Drugs*, 67(18), 2747-2779. <https://doi.org/10.2165/00003495-200767180-00008>
- DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., Groop, L., Henry, R. R., Herman, W. H., Holst, J. J., Hu, F. B., Kahn, C. R., Raz, I., Shulman, G. I., Simonson, D. C., Testa, M. A., & Weiss, R. (2015). Type 2 diabetes mellitus. *Nature Reviews Disease Primers*, 1(1), 1-22. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.19>
- Del Valle, E. M. M. (2004). Cyclodextrins and their uses: A review. *Process Biochemistry*, 39(9), 1033-1046. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00258-9](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00258-9)
- Demir Özkay, Ü., Can, Ö. D., Sağlık, B. N., & Turan, N. (2017). A benzothiazole/piperazine derivative with acetylcholinesterase inhibitory activity: Improvement in streptozotocin-induced cognitive deficits in rats. *Pharmacological Reports*, 69(6), 1349-1356. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2017.06.009>
- Denbow, D. M. (2015). Chapter 14—Gastrointestinal Anatomy and Physiology. İçinde C. G. Scanes (Ed.), *Sturkie's Avian Physiology (Sixth Edition)* (ss. 337-366). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-407160-5.00014-2>

- Desai, D., Wong, B., Huang, Y., Ye, Q., Tang, D., Guo, H., Huang, M., & Timmins, P. (2014). Surfactant-Mediated Dissolution of Metformin Hydrochloride Tablets: Wetting Effects Versus Ion Pairs Diffusivity. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 103(3), 920-926. <https://doi.org/10.1002/jps.23852>
- Deshmukh, R., Wagh, P., & Naik, J. (2016). Solvent evaporation and spray drying technique for micro- and nanospheres/particles preparation: A review. *Drying Technology*, 34(15), 1758-1772. <https://doi.org/10.1080/07373937.2016.1232271>
- Devi, L. S., Casadidio, C., Gigliobianco, M. R., Di Martino, P., & Censi, R. (2024). Multifunctionality of cyclodextrin-based polymeric nanoparticulate delivery systems for chemotherapeutics, combination therapy, and theranostics. *International Journal of Pharmaceutics*, 654, 123976. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2024.123976>
- Dhiman, P., & Bhatia, M. (2020). Pharmaceutical applications of cyclodextrins and their derivatives. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 98(3), 171-186. <https://doi.org/10.1007/s10847-020-01029-3>
- Dressman, J. B., & Reppas, C. (2016). *Oral Drug Absorption: Prediction and Assessment, Second Edition*. CRC Press.
- Drzewoski, J., & Hanefeld, M. (2021). The Current and Potential Therapeutic Use of Metformin—The Good Old Drug. *Pharmaceutics*, 14(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/ph14020122>
- Eckland, D. A., & Danhof, M. (2000). Clinical pharmacokinetics of pioglitazone. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 108, 234-242. <https://doi.org/10.1055/s-2000-8525>
- Eibl, G., & Rozengurt, E. (2021). Metformin: Review of epidemiology and mechanisms of action in pancreatic cancer. *Cancer and Metastasis Reviews*, 40(3), 865-878. <https://doi.org/10.1007/s10555-021-09977-z>
- Erdoğan, N., Nemutlu, E., İskit, A. B., Kara, S. C., Teksin, Z. Ş., & Bilensoy, E. (2020). Improved oral bioavailability of anticancer drug tamoxifen through complexation with water soluble cyclodextrins: In vitro and in vivo evaluation. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 96(1), 81-91. <https://doi.org/10.1007/s10847-019-00952-4>
- Erkinantti, S., Marttila, M., Sund, R., Arffman, M., Urpilainen, E., Puistola, U., Hautakoski, A., Karihtala, P., Läärä, E., & Jukkola, A. (2021). Association of Metformin, Other Antidiabetic Medications, and Statins With Incidence of Colon Cancer in Patients With Type 2 Diabetes. *Clinical Colorectal Cancer*, 20(2), e113-e119. <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2020.11.003>
- Estudante, M., Morais, J. G., Soveral, G., & Benet, L. Z. (2013). Intestinal drug transporters: An overview. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65(10), 1340-1356. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.042>
- Evans, J. M. M., Donnelly, L. A., Emslie-Smith, A. M., Alessi, D. R., & Morris, A. D. (2005). Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients. *BMJ*, 330(7503), 1304-1305. <https://doi.org/10.1136/bmj.38415.708634.F7>
- Ezike, T. C., Okpala, U. S., Onoja, U. L., Nwike, C. P., Ezeako, E. C., Okpara, O. J., Okoroafor, C. C., Eze, S. C., Kalu, O. L., Odoh, E. C., Nwadike, U. G., Ogbodo, J. O., Umeh, B. U., Ossai, E. C., & Nwanguma, B. C. (2023). Advances in drug delivery systems, challenges and future directions. *Heliyon*, 9(6), e17488. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17488>
- Fakhari, S., Nouri, A., Jamzad, M., Arab-Salmanabadi, S., & Falaki, F. (2021). Investigation of inclusion complex of metformin into selective cyclic peptides as novel drug delivery system: Structure, electronic properties, AIM, and NBO study via DFT. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 68(1), 67-75. <https://doi.org/10.1002/jccs.202000304>
- Fang, C., Sun, C., Lin, Y., Hung, M., Lin, H., Li, C., Lin, I., Chang, H., Sun, J., & Chang, J. Z. (2022). Metformin-Incorporated Gelatin / Nano-Hydroxyapatite Scaffolds Promotes Bone Regeneration in Critical Size Rat Alveolar Bone Defect Model. *International Journals of Molecular Sciences*, 23, 558.
- Fenyvesi, É., Szemán, J., Csabai, K., Malanga, M., & Szenté, L. (2014). Methyl-Beta-Cyclodextrins: The Role of Number and Types of Substituents in Solubilizing Power. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 103(5), 1443-1452. <https://doi.org/10.1002/jps.23917>

- Fu, Y., & Kao, W. J. (2010). Drug release kinetics and transport mechanisms of non-degradable and degradable polymeric delivery systems. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 7(4), 429-444. <https://doi.org/10.1517/17425241003602259>
- Fujita, Y., & Inagaki, N. (2017). Metformin: New Preparations and Nonglycemic Benefits. *Current Diabetes Reports*, 17(1), 5. <https://doi.org/10.1007/s11892-017-0829-8>
- Gaidhani, K. A., Harwalkar, M., Bhambere, D., & Nirgude, P. S. (2015). LYOPHILIZATION / FREEZE DRYING – A REVIEW. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 516-543.
- Galicía-García, U., Benito-Vicente, A., Jebari, S., Larrea-Sebal, A., Siddiqi, H., Uribe, K. B., Ostolaza, H., & Martín, C. (2020). Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(17), Article 17. <https://doi.org/10.3390/ijms21176275>
- Garber, A. J., Duncan, T. G., Goodman, A. M., Mills, D. J., & Rohlf, J. L. (1997). Efficacy of Metformin in Type II Diabetes: Results of a Double-Blind, Placebo-controlled, Dose-Response Trial. This work was supported by Bristol-Myers Squibb Company, Princeton, New Jersey. *The American Journal of Medicine*, 103(6), 491-497. [https://doi.org/10.1016/S0002-9343\(97\)00254-4](https://doi.org/10.1016/S0002-9343(97)00254-4)
- García-Briones, G. S., Ocampo-Pérez, R., Gómez-Durán, C. F. A., Neri-Gómez, T., & Palestino, G. (2019). Porous silicon microcarriers for extended release of metformin: Design, biological evaluation and 3D kinetics modeling. *Chemical Engineering Journal*, 365(January), 415-428. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.02.022>
- García-Verdugo, K. F., Ramírez-Irigoyen, A. J., Castillo-Ortega, M., Rodríguez-Félix, D. E., Quiroz-Castillo, J. M., Tánori-Córdova, J., Rodríguez-Félix, F., Ledezma-Pérez, A., & del Castillo-Castro, T. (2022). A pH/Temperature-Sensitive s-IPN Based on Poly(vinyl alcohol), Poly(vinyl methyl ether-alt-maleic acid) and Poly(vinyl methyl ether) Prepared by Autoclaving. *Macromolecular Research*, 30(6), 353-364. <https://doi.org/10.1007/s13233-022-0044-6>
- Gardner, C. M., Burke, Nicholas A. D., Chu, Terry, Shen, Feng, Potter, Murray A., & Stöver, H. D. H. (2011). Poly(methyl vinyl ether-alt-maleic acid) Polymers for Cell Encapsulation. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 22(16), 2127-2145. <https://doi.org/10.1163/092050610X535149>
- Garg, A., Ahmad, J., & Hassan, M. Z. (2021). Inclusion complex of thymol and hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD) in polymeric hydrogel for topical application: Physicochemical characterization, molecular docking, and stability evaluation. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 64, 102609. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102609>
- Ginter, E., & Simko, V. (2013). Type 2 Diabetes Mellitus, Pandemic in 21st Century. İçinde S. I. Ahmad (Ed.), *Diabetes: An Old Disease, a New Insight* (ss. 42-50). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5441-0_6
- Gokhale, A. (2014). Achieving Zero-Order Release Kinetics Using Multi-Step Diffusion-Based Drug Delivery. *Pharmaceutical Technology*, 38(5). <https://www.pharmtech.com/view/achieving-zero-order-release-kinetics-using-multi-step-diffusion-based-drug-delivery>
- Graham, G. G., Punt, J., Arora, M., Day, R. O., Doogue, M. P., Duong, J., Furlong, T. J., Greenfield, J. R., Greenup, L. C., Kirkpatrick, C. M., Ray, J. E., Timmins, P., & Williams, K. M. (2011). Clinical Pharmacokinetics of Metformin. *Clinical Pharmacokinetics*, 50(2), 81-98. <https://doi.org/10.2165/11534750-000000000-00000>
- Grant, J. S., & Graven, L. J. (2016). Progressing From Metformin to Sulfonylureas or Meglitinides. *Workplace Health & Safety*, 64(9), 433-439. <https://doi.org/10.1177/2165079916644263>
- Grbic, S., Parojcic, J., Ibric, S., & Djuric, Z. (2011). In Vitro–In Vivo Correlation for Gliclazide Immediate-Release Tablets Based on Mechanistic Absorption Simulation. *AAPS PharmSciTech*, 12(1), 165-171. <https://doi.org/10.1208/s12249-010-9573-y>
- Grosse, P.-Y., Bressolle, F., & Pinguet, F. (1997). Methyl- β -cyclodextrin in HL-60 parental and multidrug-resistant cancer cell lines: Effect on the cytotoxic activity and intracellular accumulation of doxorubicin. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 40(6), 489-494. <https://doi.org/10.1007/s002800050692>

- Gu, N., Park, S.-I., Chung, H., Jin, X., Lee, S., & Kim, T.-E. (2020). Possibility of pharmacokinetic drug interaction between a DPP-4 inhibitor and a SGLT2 inhibitor. *Translational and Clinical Pharmacology*, 28(1), 17-33. <https://doi.org/10.12793/tcp.2020.28.e4>
- Gulsun, T., Izat, N., & Sahin, S. (2023). Influence of permeability enhancers on the paracellular permeability of metformin hydrochloride and furosemide across Caco-2 cells. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 101(4), 185-199. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2022-0265>
- Gumieniczek, A., Berecka-Rycerz, A., Mroczek, T., & Wojtanowski, K. (2019). Determination of Chemical Stability of Two Oral Antidiabetics, Metformin and Repaglinide in the Solid State and Solutions Using LC-UV, LC-MS, and FT-IR Methods. *Molecules*, 24(24), 4430. <https://doi.org/10.3390/molecules24244430>
- Gupta, A., Bhasarkar, J., Chandan, M. R., Shaik, A. H., Kiran, B., & Bal, D. K. (2020). Diffusion Kinetics of Vitamin B12 from Alginate and Poly(vinyl acetate) Based Gel Scaffolds for Targeted Drug Delivery. *Journal of Macromolecular Science, Part B*, 59(11), 713-730. <https://doi.org/10.1080/00222348.2020.1800246>
- Gupta, H., Bhandari, D., & Sharma, A. (2009). Recent Trends in Oral Drug Delivery: A Review. *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*, 3(2), 162-173. <https://doi.org/10.2174/187221109788452267>
- Hădărugă, N. G., Bandur, G. N., David, I., & Hădărugă, D. I. (2019). A review on thermal analyses of cyclodextrins and cyclodextrin complexes. *Environmental Chemistry Letters*, 17(1), 349-373. <https://doi.org/10.1007/s10311-018-0806-8>
- Hansen, K. B., Vilsbøll, T., & Knop, F. K. (2010). Incretin mimetics: A novel therapeutic option for patients with type 2 diabetes – a review. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity*, 3, 155-163. <https://doi.org/10.2147/DMSOTT.S7004>
- Haque, S. E., & Sheela, A. (2015). Development of polymer-bound fast-dissolving metformin buccal film with disintegrants. *International Journal of Nanomedicine*, 10, 199-205. <https://doi.org/10.2147/IJN.S80052>
- Hardie, D. G. (2011). AMP-activated protein kinase—An energy sensor that regulates all aspects of cell function. *Genes & Development*, 25(18), 1895-1908. <https://doi.org/10.1101/gad.1742011>
- Harsha, N. S. (2015). In Vitro and In Vivo Evaluation of Nanoparticles Prepared by Nano Spray Drying for Stomach Mucoadhesive Drug Delivery. *Drying Technology*, 33(10), 1199-1209. <https://doi.org/10.1080/07373937.2014.995305>
- Hasan, A., Khamjan, N., Lohani, M., & Mir, S. S. (2023). Targeted Inhibition of Hsp90 in Combination with Metformin Modulates Programmed Cell Death Pathways in A549 Lung Cancer Cells. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 195(12), 7338-7378. <https://doi.org/10.1007/s12010-023-04424-x>
- He, X., Li, J., An, S., & Jiang, C. (2013). pH-sensitive drug-delivery Systems for Tumor Targeting. *Therapeutic Delivery*, 4(12), 1499-1510. <https://doi.org/10.4155/tde.13.120>
- Hedges, A. (2009). Chapter 22 - Cyclodextrins: Properties and Applications. İçinde J. BeMiller & R. Whistler (Ed.), *Starch (Third Edition)* (ss. 833-851). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-746275-2.00022-7>
- Hedrington, M. S., & Davis, S. N. (2019). Considerations when using alpha-glucosidase inhibitors in the treatment of type 2 diabetes. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 20(18), 2229-2235. <https://doi.org/10.1080/14656566.2019.1672660>
- Herman, T. F., & Santos, C. (2025). First-Pass Effect. İçinde *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551679/>
- Higuchi, T., & Connors, K. A. (1965). Phase-Solubility Techniques. *Advances In Chemical Instrumentation*, 4, 212-217. <https://www.sid.ir/paper/561923/fa>
- Homayun, B., Lin, X., & Choi, H.-J. (2019). Challenges and Recent Progress in Oral Drug Delivery Systems for Biopharmaceuticals. *Pharmaceutics*, 11(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11030129>

- Hurren, K. M., & Dunham, M. W. (2021). Are thiazolidinediones a preferred drug treatment for type 2 diabetes? *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14656566.2020.1853100>
- Iqbal, M., Zafar, N., Fessi, H., & Elaissari, A. (2015). Double emulsion solvent evaporation techniques used for drug encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 496(2), 173-190. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.10.057>
- Israili, Z. H. (2011). Advances in the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *American Journal of Therapeutics*, 18(2), 117. <https://doi.org/10.1097/MJT.0b013e3181afb5f1>
- Jacob, S., & Nair, A. B. (2018). Cyclodextrin complexes: Perspective from drug delivery and formulation. *Drug Development Research*, 79(5), 201-217. <https://doi.org/10.1002/ddr.21452>
- Jagtap, V. A., Vidyasagar, G., & Dvivedi, S. C. (2014). Solubility enhancement of rosiglitazone by using melt sonocrystallization technique. *Journal of Ultrasound*, 17(1), 27-32. <https://doi.org/10.1007/s40477-014-0074-9>
- Jallut, D., Golay, A., Munger, R., Frascarolo, P., Schutz, Y., Jéquier, E., & Felber, J. P. (1990). Impaired glucose tolerance and diabetes in obesity: A 6-year follow-up study of glucose metabolism. *Metabolism*, 39(10), 1068-1075. [https://doi.org/10.1016/0026-0495\(90\)90168-C](https://doi.org/10.1016/0026-0495(90)90168-C)
- Jambhekar, S. S., & Breen, P. (2016). Cyclodextrins in pharmaceutical formulations I: Structure and physicochemical properties, formation of complexes, and types of complex. *Drug Discovery Today*, 21(2), 356-362. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2015.11.017>
- Jansook, P., Prajapati, M., Pruksakorn, P., & Loftsson, T. (2020). Antifungal activity of econazole nitrate/cyclodextrin complex: Effect of pH and formation of complex aggregates. *International Journal of Pharmaceutics*, 574, 118896. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.118896>
- Jaspart, S., Piel, G., Delattre, L., & Evrard, B. (2005). Solid lipid microparticles: Formulation, preparation, characterisation, drug release and applications. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 2(1), 75-87. <https://doi.org/10.1517/17425247.2.1.75>
- Jespersen, M. J., Knop, F. K., & Christensen, M. (2013). GLP-1 agonists for type 2 diabetes: Pharmacokinetic and toxicological considerations. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1517/17425255.2013.731394>
- Jin, Z.-Y. (2013). *Cyclodextrin Chemistry: Preparation and Application*. World Scientific.
- Jóhannsdóttir, S., Jansook, P., Stefánsson, E., & Loftsson, T. (2015). Development of a cyclodextrin-based aqueous cyclosporin A eye drop formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, 493(1), 86-95. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.07.040>
- Jug, M., & Bećirević-Laćan, M. (2008). Cyclodextrin-based pharmaceutical. *Rad Hrvatske Akademije Znanosti i Umjetnosti. Medicinske Znanosti*, 499=32, 9-26. <https://hrcak.srce.hr/clanak/35374>
- Kalydi, E., Malanga, M., Nielsen, T. T., Wimmer, R., & Béni, S. (2024). Solving the puzzle of 2-hydroxypropyl β -cyclodextrin: Detailed assignment of the substituent distribution by NMR spectroscopy. *Carbohydrate Polymers*, 338, 122167. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2024.122167>
- Kambayashi, A., & Shirasaka, Y. (2023). Food effects on gastrointestinal physiology and drug absorption. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 48, 100488. <https://doi.org/10.1016/j.dmpk.2022.100488>
- Kapote, D. N., & Wagner, K. G. (2021). Shellac- a natural carrier for colon targeting of indomethacin using hot melt extrusion. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 47(5), 748-757. <https://doi.org/10.1080/03639045.2021.1934863>
- Katsarou, A., Gudbjörnsdóttir, S., Rawshani, A., Dabelea, D., Bonifacio, E., Anderson, B. J., Jacobsen, L. M., Schatz, D. A., & Lernmark, Å. (2017). Type 1 diabetes mellitus. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1), 1-17. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.16>
- Kaur, K., Jindal, R., & Jindal, D. (2019). Synthesis, characterization and studies on host-guest interactions of inclusion complexes of metformin hydrochloride with β -cyclodextrin. *Journal of Molecular Liquids*, 282, 162-168. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.02.127>

- Keerthana, C. K., Rayginia, T. P., Shifana, S. C., Anto, N. P., Kalimuthu, K., Isakov, N., & Anto, R. J. (2023). The role of AMPK in cancer metabolism and its impact on the immunomodulation of the tumor microenvironment. *Frontiers in Immunology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1114582>
- Keohane, K., Brennan, D., Galvin, P., & Griffin, B. T. (2014). Silicon microfluidic flow focusing devices for the production of size-controlled PLGA based drug loaded microparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 467(1), 60-69. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.03.051>
- Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(7), 908-931. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>
- Khan, M. F., Mathur, A., Pandey, V. K., & Kakkar, P. (2022). Endoplasmic reticulum stress-dependent activation of TRB3-FoxO1 signaling pathway exacerbates hyperglycemic nephrotoxicity: Protection accorded by Naringenin. *European Journal of Pharmacology*, 917, 174745. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2022.174745>
- Khan, N. A., & Durakshan, M. (2013). Cyclodextrin: An Overview. *International Journal of Bioassays*, 2(3), 858-865.
- Khan, N., Slathia, G., & Saneja, A. (2023). Unveiling the complexation mechanism of phloretin with Sulfobutylether- β -cyclodextrin (Captisol®) and its impact on anticancer activity. *Journal of Molecular Liquids*, 391, 123348. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2023.123348>
- Kharroubi, A. T., & Darwish, H. M. (2015). Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World Journal of Diabetes*, 6(6), 850-867. <https://doi.org/10.4239/wjd.v6.i6.850>
- Khutoryanskaya, O. V., Khutoryanskiy, V. V., & Pethrick, R. A. (2005). Characterisation of Blends Based on Hydroxyethylcellulose and Maleic Acid-alt-Methyl Vinyl Ether. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 206(15), 1497-1510. <https://doi.org/10.1002/macp.200500069>
- Kiela, P. R., & Ghishan, F. K. (2016). Physiology of Intestinal Absorption and Secretion. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 30(2), 145-159. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2016.02.007>
- Kimura, T., & Higaki, K. (2002). Gastrointestinal Transit and Drug Absorption. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 25(2), 149-164. <https://doi.org/10.1248/bpb.25.149>
- Kiss, T., Fenyvesi, F., Bácskay, I., Váradi, J., Fenyvesi, É., Iványi, R., Szente, L., Tósaki, Á., & Vecsernyés, M. (2010). Evaluation of the cytotoxicity of β -cyclodextrin derivatives: Evidence for the role of cholesterol extraction. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 40(4), 376-380. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2010.04.014>
- Kiss, T., Fenyvesi, F., Pasztor, N., Feher, P., Váradi, J., Kocsan, R., Szente, L., Fenyvesi, E., Szabo, G., Vecsernyes, M., & Bacsakay, I. (2007). Cytotoxicity of different types of methylated β -cyclodextrins and ionic derivatives. *Die Pharmazie - An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 62(7), 557-558. <https://doi.org/10.1691/ph.2007.7.7051>
- Kohane, D. S. (2007). Microparticles and nanoparticles for drug delivery. *Biotechnology and Bioengineering*, 96(2), 203-209. <https://doi.org/10.1002/bit.21301>
- Kulkarni, A. D., & Belgamwar, V. S. (2017). Inclusion complex of chrysin with sulfobutyl ether- β -cyclodextrin (Captisol®): Preparation, characterization, molecular modelling and *in vitro* anticancer activity. *Journal of Molecular Structure*, 1128, 563-571. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.09.025>
- Kulkarni, N. B., Wakte, P. S., & Naik, J. B. (2013). Metformin Hydrochloride Microparticles For Oral Controlled Release: Effect Of Formulation Variables. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(3), 135-144.
- Kumar, N., Langer, R. S., & Domb, A. J. (2002). Polyamides: An overview. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54(7), 889-910. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(02\)00050-9](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(02)00050-9)
- Kurkov, S. V., & Loftsson, T. (2013). Cyclodextrins. *International Journal of Pharmaceutics*, 453(1), 167-180. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.06.055>

- Lai, M.-K., & Tsang, R. C.-C. (2005). Microencapsulation of acetaminophen into poly(L-lactide) by three different emulsion solvent-evaporation methods. *Journal of Microencapsulation*, 22(3), 261-274. <https://doi.org/10.1080/02652040500100261>
- Laza-Knoerr, A. L., Gref, R., & Couvreur, P. (2010). Cyclodextrins for drug delivery. *Journal of Drug Targeting*, 18(9), 645-656. <https://doi.org/10.3109/10611861003622552>
- Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51(2), 216-226. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0886-7>
- Leung, P. S. (2010). Physiology of the Pancreas. İçinde P. S. Leung (Ed.), *The Renin-Angiotensin System: Current Research Progress in The Pancreas: The RAS in the Pancreas* (ss. 13-27). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-90-481-9060-7_2
- Li, J., Li, X., Ni, X., Wang, X., Li, H., & Leong, K. W. (2006). Self-assembled supramolecular hydrogels formed by biodegradable PEO-PHB-PEO triblock copolymers and α -cyclodextrin for controlled drug delivery. *Biomaterials*, 27(22), 4132-4140. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.03.025>
- Li, M., Rouaud, O., & Poncelet, D. (2008). Microencapsulation by solvent evaporation: State of the art for process engineering approaches. *International Journal of Pharmaceutics*, 363(1), 26-39. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.07.018>
- Li, Y., Song, J., Tian, N., Cai, J., Huang, M., Xing, Q., Wang, Y., Wu, C., & Hu, H. (2014). Improving oral bioavailability of metformin hydrochloride using water-in-oil microemulsions and analysis of phase behavior after dilution. *International Journal of Pharmaceutics*, 473(1-2), 316-325. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.07.011>
- Li, Z., Chen, S., Gu, Z., Chen, J., & Wu, J. (2014). Alpha-cyclodextrin: Enzymatic production and food applications. *Trends in Food Science & Technology*, 35(2), 151-160. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.11.005>
- Li, Z., Wang, M., Wang, F., Gu, Z., Du, G., Wu, J., & Chen, J. (2007). γ -Cyclodextrin: A review on enzymatic production and applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 77(2), 245-255. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-1166-7>
- Libby, G., Donnelly, L. A., Donnan, P. T., Alessi, D. R., Morris, A. D., & Evans, J. M. M. (2009). New Users of Metformin Are at Low Risk of Incident Cancer: A cohort study among people with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 32(9), 1620-1625. <https://doi.org/10.2337/dc08-2175>
- Liu, H., Luo, J., Yang, P., Yang, X., Yan, J., & Yao, Q. (2022). Stability, Antioxidant Activity and Intestinal Permeation of Oleuropein Inclusion Complexes with Beta-Cyclodextrin and Hydroxypropyl-Beta-Cyclodextrin. *Molecules*, 27(16), 5077. <https://doi.org/10.3390/molecules27165077>
- Liu, J., Li, M., Huang, Y., Wang, X., Xu, Y., Fu, Z., Lin, Z., Chen, J., & Wu, X. (2025). Inclusion Complex of Nimodipine with Sulfobutylether- β -cyclodextrin: Preparation, Characterization, In Vitro and In Vivo Evaluation. *AAPS PharmSciTech*, 26(1), 28. <https://doi.org/10.1208/s12249-024-03014-2>
- Lofsson, T., & Brewster, M. E. (2011). Pharmaceutical applications of cyclodextrins: Effects on drug permeation through biological membranes. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 63(9), 1119-1135. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2011.01279.x>
- Lofsson, T., & Brewster, M. E. (2012). Cyclodextrins as Functional Excipients: Methods to Enhance Complexation Efficiency. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 101(9), 3019-3032. <https://doi.org/10.1002/jps.23077>
- Lofsson, T., & Duchêne, D. (2007). Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 329(1), 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.10.044>
- Lukova, P., Katsarov, P., & Pilicheva, B. (2023). Application of Starch, Cellulose, and Their Derivatives in the Development of Microparticle Drug-Delivery Systems. *Polymers*, 15(17), Article 17. <https://doi.org/10.3390/polym15173615>
- Luo, Z., Zhu, T., Luo, W., Lv, Y., Zhang, L., Wang, C., Li, M., Wu, W., & Shi, S. (2019). Metformin induces apoptotic cytotoxicity depending on AMPK/PKA/GSK-3 β -mediated c-FLIP_L degradation in

- non-small cell lung cancer. *Cancer Management and Research*, 11, 681-689. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S178688>
- M, B., S, S., & R, R. (2023). Lobeglitazone and Its Therapeutic Benefits: A Review. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.50085>
- Maestrelli, F., Mura, P., González-Rodríguez, M. L., Cózar-Bernal, M. J., Rabasco, A. M., Di Cesare Mannelli, L., & Ghelardini, C. (2017). Calcium alginate microspheres containing metformin hydrochloride niosomes and chitosomes aimed for oral therapy of type 2 diabetes mellitus. *International Journal of Pharmaceutics*, 530(1-2), 430-439. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.07.083>
- Malaisse, W. J. (2006). Gliquidone Contributes to Improvement of Type 2 Diabetes Mellitus Management. *Drugs in R & D*, 7(6), 331-337. <https://doi.org/10.2165/00126839-200607060-00002>
- Manconi, M., Nácher, A., Merino, V., Merino-Sanjuan, M., Manca, M. L., Mura, C., Mura, S., Fadda, A. M., & Diez-Sales, O. (2013). Improving oral bioavailability and pharmacokinetics of liposomal metformin by glycerolphosphate-chitosan microcomplexation. *AAPS PharmSciTech*, 14(2), 485-496. <https://doi.org/10.1208/s12249-013-9926-4>
- Marín-Peñalver, J. J., Martín-Timón, I., Sevillano-Collantes, C., & del Cañizo-Gómez, F. J. (2016). Update on the treatment of type 2 diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes*, 7(17), 354-395. <https://doi.org/10.4239/wjd.v7.i17.354>
- Markowicz-Piasecka, M., Huttunen, K. M., Mateusiak, L., Mikiciuk-Olasik, E., & Sikora, J. (2017). Is Metformin a Perfect Drug? Updates in Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. *Current Pharmaceutical Design*, 23(17), 2532-2550. <https://doi.org/10.2174/1381612822666161201152941>
- Martinho, N., Damgé, C., & Reis, C. P. (2011). Recent Advances in Drug Delivery Systems. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 02(05), Article 05. <https://doi.org/10.4236/jbmb.2011.225062>
- Masiello, P., Broca, C., Gross, R., Roye, M., Manteghetti, M., Hillaire-Buys, D., Novelli, M., & Ribes, G. (1998). Experimental NIDDM: Development of a New Model in Adult Rats Administered Streptozotocin and Nicotinamide. *Diabetes*, 47(2), 224-229. <https://doi.org/10.2337/diab.47.2.224>
- Mathur, A., Pandey, V. K., Khan, M. F., & Kakkar, P. (2021). PHLPP1/Nrf2-Mdm2 axis induces renal apoptosis via influencing nucleo-cytoplasmic shuttling of FoxO1 during diabetic nephropathy. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 476(10), 3681-3699. <https://doi.org/10.1007/s11010-021-04177-3>
- Mazi, H., & Gülpınar, A. (2014). Cu(II), Zn(II) and Mn(II) complexes of poly(methyl vinyl ether-alt-maleic anhydride). Synthesis, characterization and thermodynamic parameters. *Journal of Chemical Sciences*, 126(1), 239-245. <https://doi.org/10.1007/s12039-013-0532-5>
- McClements, D. J. (2014). *Nanoparticle- and Microparticle-based Delivery Systems: Encapsulation, Protection and Release of Active Compounds*. CRC Press.
- Mendoza-Munoz, N., Quintanar-Guerrero, D., & Allemann, E. (2012). The Impact of the Salting-Out Technique on the Preparation of Colloidal Particulate Systems for Pharmaceutical Applications. *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*, 6(3), 236-249. <https://doi.org/10.2174/187221112802652688>
- Migdadi, E. M., Courtenay, A. J., Tekko, I. A., McCrudden, M. T. C., Kearney, M. C., McAlister, E., McCarthy, H. O., & Donnelly, R. F. (2018). Hydrogel-forming microneedles enhance transdermal delivery of metformin hydrochloride. *Journal of Controlled Release*, 285(February), 142-151. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.07.009>
- Mihaylova, M. M., & Shaw, R. J. (2011). The AMPK signalling pathway coordinates cell growth, autophagy and metabolism. *Nature Cell Biology*, 13(9), 1016-1023. <https://doi.org/10.1038/ncb2329>
- Mir, A., Fletcher, W. J., Taylor, D. K., Alam, J., & Riaz, U. (2024). Sustained Release Studies of Metformin Hydrochloride Drug Using Conducting Polymer/Gelatin-Based Composite Hydrogels. *ACS Omega*, 9(17), 18766-18776. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c05067>

- Mira, A., Mateo, C. R., Mallavia, R., & Falco, A. (2017). Poly(methyl vinyl ether-alt-maleic acid) and ethyl monoester as building polymers for drug-loadable electrospun nanofibers. *Scientific Reports*, 7(1), 17205. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17542-4>
- Miranda, G. M., Santos, V. O. R. e, Bessa, J. R., Teles, Y. C. F., Yahouédéhou, S. C. M. A., Goncalves, M. S., & Ribeiro-Filho, J. (2021). Inclusion Complexes of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs with Cyclodextrins: A Systematic Review. *Biomolecules*, 11(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/biom11030361>
- Mohajan, D., & Mohajan, H. K. (2024). Sulfonyleureas: A Widely Used Oral Anti-Hyperglycaemic Medication for Type 2 Diabetes Management. *Journal of Innovations in Medical Research*, 3(1), Article 1. <https://www.paradigmpress.org/jimr/article/view/1037>
- Mokale, V., Rahul, R., Patil, J., Yadava, S., & Naik, J. (2016). Formulation of metformin hydrochloride nanoparticles by using spray drying technique and in vitro evaluation of sustained release with 32-level factorial design approach. *Drying Technology*, 34(12), 1455-1461. <https://doi.org/10.1080/07373937.2015.1125916>
- Mokhtare, B., Cetin, M., Ozakar, R. S., & Bayrakceken, H. (2017). In vitro and in vivo evaluation of alginate and alginatechitosan beads containing metformin hydrochloride. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 16(2), 287-296. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v16i2.5>
- Momoh, M. A., Kenechukwu, F. C., & Attama, A. A. (2013). Formulation and evaluation of novel solid lipid microparticles as a sustained release system for the delivery of metformin hydrochloride. *Drug Delivery*, 20(3-4), 102-111. <https://doi.org/10.3109/10717544.2013.779329>
- Monnet, E. (2020). Anatomy and Physiology of the Stomach. İçinde *Gastrointestinal Surgical Techniques in Small Animals* (ss. 129-134). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781119369257.ch16>
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1), 55-63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
- Muehlmann, L. A., Ma, B. C., Longo, J. P. F., Almeida Santos, M. de F. M., & Azevedo, R. B. (2014). Aluminum-phthalocyanine chloride associated to poly(methyl vinyl ether-co-maleic anhydride) nanoparticles as a new third-generation photosensitizer for anticancer photodynamic therapy. *International Journal of Nanomedicine*, 9, 1199-1213. <https://doi.org/10.2147/IJN.S57420>
- Mura, P. (2014). Analytical techniques for characterization of cyclodextrin complexes in aqueous solution: A review. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 101, 238-250. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.02.022>
- Murakami, T. (2017). Absorption sites of orally administered drugs in the small intestine. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 12(12), 1219-1232. <https://doi.org/10.1080/17460441.2017.1378176>
- Mushtaq, A., Azam, U., Mehreen, S., & Naseer, M. M. (2023). Synthetic α -glucosidase inhibitors as promising anti-diabetic agents: Recent developments and future challenges. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 249, 115119. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2023.115119>
- Nekkanti, V., Muniyappan, T., Karatgi, P., Hari, M. S., Marella, S., & Pillai, R. (2009). Spray-drying process optimization for manufacture of drug-cyclodextrin complex powder using design of experiments. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 35(10), 1219-1229. <https://doi.org/10.1080/03639040902882264>
- Ngomsik, A.-F., Bee, A., Draye, M., Cote, G., & Cabuil, V. (2005). Magnetic nano- and microparticles for metal removal and environmental applications: A review. *Comptes Rendus. Chimie*, 8(6-7), 963-970. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2005.01.001>
- Nicolaescu, O. E., Belu, I., Mocanu, A. G., Manda, V. C., Rău, G., Pîrvu, A. S., Ionescu, C., Ciulu-Costinescu, F., Popescu, M., & Ciocîlteu, M. V. (2025). Cyclodextrins: Enhancing Drug Delivery, Solubility and Bioavailability for Modern Therapeutics. *Pharmaceutics*, 17(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17030288>
- Norris, S. L., Lee, N., Thakurta, S., & Chan, B. K. S. (2009). Exenatide efficacy and safety: A systematic review. *Diabetic Medicine*, 26(9), 837-846. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2009.02790.x>

- Nyenwe, E. A., Jerkins, T. W., Umpierrez, G. E., & Kitabchi, A. E. (2011). Management of type 2 diabetes: Evolving strategies for the treatment of patients with type 2 diabetes. *Metabolism*, 60(1), 1-23. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2010.09.010>
- O'Connor, A., & O'Moráin, C. (2014). Digestive Function of the Stomach. *Digestive Diseases*, 32(3), 186-191. <https://doi.org/10.1159/000357848>
- Olokoba, A. B., Obateru, O. A., & Olokoba, L. B. (2012). Type 2 Diabetes Mellitus: A Review of Current Trends. *Oman Medical Journal*, 27(4), 269-273. <https://doi.org/10.5001/omj.2012.68>
- Paarakh, M. P., Jose, P. A., Setty, C., & Peterchristoper, G. V. (2018). RELEASE KINETICS – CONCEPTS AND APPLICATIONS. *International Journal of Pharmacy Research & Technology (IJPRT)*, 8(1), 12-20. <https://doi.org/10.31838/ijprt/08.01.02>
- Padda, I. S., Mahtani, A. U., & Parmar, M. (2025). Sodium-Glucose Transport Protein 2 (SGLT2) Inhibitors. *Içinde StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK576405/>
- Palem, C. R., Chopparapu, K. S. C., Subrahmanyam, P. V. R. S., & Madhusudan, R. Y. (2012). Cyclodextrins and their Derivatives in Drug Delivery: A Review. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 6(3), 255-279.
- Pan, X., Li, J., Gan, R., & Hu, X. (2015). Preparation and in vitro evaluation of enteric-coated tablets of rosiglitazone sodium. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 23(5), 581-586. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2015.02.018>
- Panda, B. P., Krishnamoorthy, R., Shivashekaregowda, N. K. H., & Patnaik, S. (2018). Influence of poloxamer 188 on design and development of second generation PLGA nanocrystals of metformin hydrochloride. *Nano Biomedicine and Engineering*, 10(4), 334-343. <https://doi.org/10.5101/nbe.v10i4.p334-343>
- Pandit, V., Pai, Roopa S., Yadav, Vivek, Devi, Kshama, Surekha, B. B., Inamdar, Mohd N., & Suresh, S. (2013). Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of floating microspheres of metformin hydrochloride. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 39(1), 117-127. <https://doi.org/10.3109/03639045.2012.662503>
- Patil, J. S., Kadam, D. V., Marapur, S. C., & Kamalapur, M. V. (2010). Inclusion Complex System; A Novel Technique to Improve the Solubility and Bioavailability of Poorly Soluble Drugs: A Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 2(2), 29-34.
- Patiño-Herrera, R., Louvier-Hernández, J. F., Escamilla-Silva, E. M., Chaumel, J., Escobedo, A. G. P., & Pérez, E. (2019). Prolonged release of metformin by SiO₂ nanoparticles pellets for type II diabetes control. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 131(February), 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.02.003>
- Peate, I. (2018). Anatomy and physiology, 9. The gastrointestinal system. *British Journal of Healthcare Assistants*, 12(3), 110-114. <https://doi.org/10.12968/bjha.2018.12.3.110>
- Peltonen, L., & Hirvonen, J. (2008). Physicochemical Characterization of Nano- and Microparticles. *Current Nanoscience*, 4(1), 101-107. <https://doi.org/10.2174/157341308783591780>
- Pernicova, I., & Korbonits, M. (2014). Metformin—Mode of action and clinical implications for diabetes and cancer. *Nature Reviews. Endocrinology*, 10(3), 143-156. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2013.256>
- Peterson, G. E., & Pollom, R. D. (2010). Liraglutide in clinical practice: Dosing, safety and efficacy. *International Journal of Clinical Practice*, 64(s167), 35-43. <https://doi.org/10.1111/j.1742-1241.2010.02498.x>
- Pfeiffer, A. F. H., & Klein, H. H. (2014). The Treatment of Type 2 Diabetes. *Deutsches Ärzteblatt International*, 111(5), 69. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2014.0069>
- Pignatello, R., & Musumeci, T. (2018). *Biomaterials: Physics and Chemistry - New Edition*. BoD – Books on Demand.
- Porfirio, T., Galindo-Rosales, F. J., Campo-Deaño, L., Vicente, J., & Semião, V. (2021). Rheological characterization of polymeric solutions used in spray drying process. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 158, 105650. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2020.105650>

- Poulson, B. G., Alsulami, Q. A., Sharfalddin, A., El Agammy, E. F., Mouffouk, F., Emwas, A.-H., Jaremko, L., & Jaremko, M. (2022). Cyclodextrins: Structural, Chemical, and Physical Properties, and Applications. *Polysaccharides*, 3(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides3010001>
- Pryor, R., & Cabreiro, F. (2015). Repurposing metformin: An old drug with new tricks in its binding pockets. *The Biochemical Journal*, 471(3), 307-322. <https://doi.org/10.1042/BJ20150497>
- Qiu, C., Li, C., Zheng, Q., Fang, S., Xu, J., Wang, H., & Guo, H. (2022). Metformin suppresses lung adenocarcinoma by downregulating long non-coding RNA (lncRNA) AFAP1-AS1 and secreted phosphoprotein 1 (SPP1) while upregulating miR-3163. *Bioengineered*, 13(5), 11987-12002. <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.2005981>
- Raj, P. M., Raj, R., Kaul, A., K. Mishra, A., & Ram, A. (2018). Biodistribution and targeting potential assessment of mucoadhesive chitosan nanoparticles designed for ulcerative colitis via scintigraphy. *RSC Advances*, 8(37), 20809-20821. <https://doi.org/10.1039/C8RA01898G>
- Rajamohan, R., Muthuraja, P., Govindasamy, C., Allur Subramanian, S., Jae Kim, S., Murali Krishnan, M., Murugavel, K., & Rok Lee, Y. (2023). Enhanced photostability and biocompatibility of sunscreen formulation of 2-phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid with methyl-beta-cyclodextrin. *Journal of Molecular Liquids*, 390, 123013. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2023.123013>
- Rasheed, A., K., A. K. C., & S., S. V. V. N. S. (2008). Cyclodextrins as Drug Carrier Molecule: A Review. *Scientia Pharmaceutica*, 76(4), Article 4. <https://doi.org/10.3797/scipharm.0808-05>
- Rawas-Qalaji, M., Cagliani, Roberta, Al-hashimi, Noor, Al-Dabbagh, Rahma, Al-Dabbagh, Amena, & Hussain, Z. (2023). Microfluidics in drug delivery: Review of methods and applications. *Pharmaceutical Development and Technology*, 28(1), 61-77. <https://doi.org/10.1080/10837450.2022.2162543>
- Rawat, A., & Burgess, D. J. (2010). Effect of ethanol as a processing co-solvent on the PLGA microsphere characteristics. *International Journal of Pharmaceutics*, 394(1), 99-105. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.05.013>
- Reddy, P. G., & Domb, A. J. (2022). Polyanhydride Chemistry. *Biomacromolecules*, 23(12), 4959-4984. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.2c01180>
- Reis, C. B. dos, Boff, D. S., Lima, I. A. de, Santos, L. F. dos, Calvalcanti, O. A., & Bunhak, É. J. (2016). Eudragit® FS 30 D polymeric films containing chondroitin sulfate as candidates for use in coating seeking modified delivery of drugs. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 52, 635-643. <https://doi.org/10.1590/s1984-82502016000400007>
- Rena, G., Hardie, D. G., & Pearson, E. R. (2017). The mechanisms of action of metformin. *Diabetologia*, 60(9), 1577-1585. <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4342-z>
- Rendell, M. (2004). The Role of Sulphonylureas in the Management of Type 2 Diabetes Mellitus. *Drugs*, 64(12), 1339-1358. <https://doi.org/10.2165/00003495-200464120-00006>
- Şezanka, M. (2019). Synthesis of substituted cyclodextrins. *Environmental Chemistry Letters*, 17(1), 49-63. <https://doi.org/10.1007/s10311-018-0779-7>
- Ribeiro, A., Figueiras, A., Santos, D., & Veiga, F. (2008). Preparation and Solid-State Characterization of Inclusion Complexes Formed Between Miconazole and Methyl-β-Cyclodextrin. *AAPS PharmSciTech*, 9(4), 1102-1109. <https://doi.org/10.1208/s12249-008-9143-8>
- Rizvi, S., Imam, S., Tulp, O., & Rizvi, S. (2024). A Brief Review of Incretin Mimetics Intended for the Management of Diabetes and Associated Comorbidities (No. 2024051369). Preprints. <https://doi.org/10.20944/preprints202405.1369.v1>
- Romero, C. P., Jeldres, R. I., Quezada, G. R., Concha, F., & Toledo, P. G. (2018). Zeta potential and viscosity of colloidal silica suspensions: Effect of seawater salts, pH, flocculant, and shear rate. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 538, 210-218. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.10.080>
- Roselet, S. L., & Kumari, J. P. (2015). STUDIES ON METFORMIN HYDROCHLORIDE AND ALPHA-CYCLODEXTRIN INCLUSION COMPLEXES. *Green Chemistry & Technology Letters*, 1(01), 48-53. <https://doi.org/10.18510/gctl.2015.117>

- Roselet, S. L., & Kumari, J. P. (2020). An investigation on host-guest complexation of Metformin hydrochloride with hydroxypropyl- α -cyclodextrin for enhanced oral bioavailability. *Materials Today: Proceedings*, 21, 514-518. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.06.650>
- Roselet, S. L., & Kumari, J. P. (2021). ^1H NMR – A validation tool for supramolecular complexes of α -cyclodextrin with Antidiabetic drugs. *Materials Today: Proceedings*, 37, 88-93. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.04.077>
- Sadaquat, H., & Akhtar, M. (2020). Comparative effects of β -cyclodextrin, HP- β -cyclodextrin and SBE7- β -cyclodextrin on the solubility and dissolution of docetaxel via inclusion complexation. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 96(3), 333-351. <https://doi.org/10.1007/s10847-020-00977-0>
- Sander, C., Madsen, K. D., Hyrup, B., Nielsen, H. M., Rantanen, J., & Jacobsen, J. (2013). Characterization of spray dried bioadhesive metformin microparticles for oromucosal administration. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 85(3, Part A), 682-688. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2013.05.017>
- Saokham, P., & Loftsson, T. (2017). γ -Cyclodextrin. *International Journal of Pharmaceutics*, 516(1), 278-292. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.10.062>
- Sastry, S. V., Nyshadham, J. R., & Fix, J. A. (2000). Recent technological advances in oral drug delivery – a review. *Pharmaceutical Science & Technology Today*, 3(4), 138-145. [https://doi.org/10.1016/S1461-5347\(00\)00247-9](https://doi.org/10.1016/S1461-5347(00)00247-9)
- Scalia, S., Young, P. M., & Traini, D. (2015). Solid lipid microparticles as an approach to drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 12(4), 583-599. <https://doi.org/10.1517/17425247.2015.980812>
- Scudamore, C. L. (2014). Gastrointestinal system. İçinde *A Practical Guide to the Histology of the Mouse* (ss. 43-61). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781118789568.ch3>
- Sen Gupta, A. (2016). Role of particle size, shape, and stiffness in design of intravascular drug delivery systems: Insights from computations, experiments, and nature. *WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 8(2), 255-270. <https://doi.org/10.1002/wnan.1362>
- Sha'at, M., Ignat, M., Doroftei, F., Ghizdovat, V., Agop, M., Barsan (Bujor), A., Cretan, M. S., Sha'at, F., Pavaloiu, R.-D., Spac, A. F., Ochiuz, L., Filip, C. N., & Popa, O. (2025). Development of Modified Drug Delivery Systems with Metformin Loaded in Mesoporous Silica Matrices: Experimental and Theoretical Designs. *Pharmaceutics*, 17(7), 882. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17070882>
- Shakibaie, M., Heydari-Moghadam, P., Riahi-Madvar, S., Adeli-Sardou, M., Jabari-Morouei, F., & Forootanfar, H. (2025). Preparation, characterization, antioxidant, and cytotoxicity of selenium nanoparticles containing metformin (MTF@Se NPs). *Chemical Papers*, 79(7), 4781-4794. <https://doi.org/10.1007/s11696-025-04099-0>
- Shakibaie, M., Hosseininassab, S. S., Riahi-Madvar, S., Adeli-Sardou, M., Jabari-Morouei, F., & Forootanfar, H. (2025). The potential of novel arsenic nanoparticles containing metformin (MTF@As NPs): A study on their antioxidant and cytotoxic properties. *BMC Chemistry*, 19(1), 84. <https://doi.org/10.1186/s13065-025-01419-z>
- Shang, K., Niu, Q., Li, X., Zhu, K., Ren, L., & Yuan, X. (2025). Preparation of ice-nucleating glycopolymers from poly(methyl vinyl ether-alt-maleic anhydride) by modification with saccharides. *Reactive and Functional Polymers*, 214, 106304. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2025.106304>
- Shariatnia, Z., & Zahraee, Z. (2017). Controlled release of metformin from chitosan-based nanocomposite films containing mesoporous MCM-41 nanoparticles as novel drug delivery systems. *Journal of Colloid and Interface Science*, 501, 60-76. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2017.04.036>
- Sharma, N., & Baldi, A. (2016). Exploring versatile applications of cyclodextrins: An overview. *Drug Delivery*, 23(3), 729-747. <https://doi.org/10.3109/10717544.2014.938839>
- Shehata, T. M., & Ibrahima, M. M. (2019). BÜCHI nano spray dryer B-90: A promising technology for the production of metformin hydrochloride-loaded alginate–gelatin nanoparticles. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 45(12), 1907-1914. <https://doi.org/10.1080/03639045.2019.1680992>

- Sherwani, S. I., Khan, H. A., Ekhzaimy, A., Masood, A., & Sakharkar, M. K. (2016). Significance of HbA1c Test in Diagnosis and Prognosis of Diabetic Patients. *Biomarker Insights*, 11, BMI.S38440. <https://doi.org/10.4137/BMI.S38440>
- Siepmann, J., & Siepmann, F. (2006). Microparticles Used as Drug Delivery Systems. İçinde W. Richtering (Ed.), *Smart Colloidal Materials* (ss. 15-21). Springer. https://doi.org/10.1007/3-540-32702-9_3
- Simons, F. J., & Wagner, K. G. (2019). Modeling, design and manufacture of innovative floating gastroretentive drug delivery systems based on hot-melt extruded tubes. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 137(November 2018), 196-208. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2019.02.022>
- Singh, N., Keshewani, R., Tiwari, A. K., & Kumar, D. (2016). A review on diabetes mellitus. *The Pharma Innovation Journal*, 5(7), 36-40.
- Singh, V., Sandhir, R., & Singhal, N. K. (2019). Synthesis, characterization and toxicity profiling of graphene oxide-metformin hydrogel as a sustained release system for metformin in-vitro. *Materials Today: Proceedings*, 36, 769-774. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.06.590>
- Sola, D., Rossi, L., Schianca, G. P. C., Maffioli, P., Bigliocca, M., Mella, R., Corliano, F., Fra, G. P., Bartoli, E., & Derosa, G. (2015). Sulfonylureas and their use in clinical practice. *Archives of Medical Science : AMS*, 11(4), 840-848. <https://doi.org/10.5114/aoms.2015.53304>
- Staff, R. H., Schaeffel, D., Turshatov, A., Donadio, D., Butt, H.-J., Landfester, K., Koynov, K., & Crespy, D. (2013). Particle Formation in the Emulsion-Solvent Evaporation Process. *Small*, 9(20), 3514-3522. <https://doi.org/10.1002/smll.201300372>
- Suárez, L. M., Hoyos, L., Castellote-Borrell, M., Guasch, J., Orozco, V. H., & Giraldo, L. F. (2024). pH-Sensitive Acrylic Terpolymers for the Coating of Orally Administered Drugs Used for Colonic Release. *ACS Omega*, 9(1), 204-214. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c03437>
- Subhedar, P., Naik, J. B., & Muley, D. N. (2010). Effect of Polymer Concentration on Sustained Release Microparticles of Metformin Hydrochloride Prepared by Using Spray Dryer. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, 49(3), 267-271. <https://doi.org/10.1080/03602550903413896>
- Sugita, M., Kataoka, M., Sugihara, M., Takeuchi, S., & Yamashita, S. (2014). Effect of Excipients on the Particle Size of Precipitated Pioglitazone in the Gastrointestinal Tract: Impact on Bioequivalence. *The AAPS Journal*, 16(5), 1119-1127. <https://doi.org/10.1208/s12248-014-9646-z>
- Syed, F. Z. (2022). Type 1 Diabetes Mellitus. *Annals of Internal Medicine*, 175(3), ITC33-ITC48. <https://doi.org/10.7326/AITC202203150>
- Szekalska, M., Sosnowska, K., Zakrzeska, A., Kasacka, I., Lewandowska, A., & Winnicka, K. (2017). The Influence of Chitosan Cross-linking on the Properties of Alginate Microparticles with Metformin Hydrochloride—In Vitro and In Vivo Evaluation. *Molecules*, 22(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/molecules22010182>
- Szekalska, M., Wróblewska, M., Sosnowska, K., & Winnicka, K. (2016). Influence of Sodium Alginate on Hypoglycemic Activity of Metformin Hydrochloride in the Microspheres Obtained by the Spray Drying. *International Journal of Polymer Science*, 2016(1), 8635408. <https://doi.org/10.1155/2016/8635408>
- Szkudelski, T. (2012). Streptozotocin–nicotinamide-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. *Experimental Biology and Medicine*, 237(5), 481-490. <https://doi.org/10.1258/ebm.2012.011372>
- Tarannum, N., Suhani, & Kumar, D. (2020). Synthesis, characterization and applications of copolymer of β – cyclodextrin: A review. *Journal of Polymer Research*, 27(4), 89. <https://doi.org/10.1007/s10965-020-02058-9>
- Teng, J., Chen, S., Zhang, J., Yang, J., Pang, R., Zhi, X., Yang, T., & Zhao, Y. (2022). pH-responsive nanoparticles based on sodium dodecylbenzene sulfonate and polyamine-modified cyclodextrins for controlled release of metformin hydrochloride. *Iranian Polymer Journal*, 31(9), 1069-1078. <https://doi.org/10.1007/s13726-022-01060-w>

- Thakral, S., Thakral, Naveen K., & Majumdar, D. K. (2013). Eudragit®: A technology evaluation. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 10(1), 131-149. <https://doi.org/10.1517/17425247.2013.736962>
- Tokgöz Tekin, G. (2025). *Tangeretin tedavisinin sıçanlarda diyabet ile indüklenen nöropatik ağrı üzerine etkinliğinin araştırılması* [Doktora Tezi]. Anadolu Üniversitesi.
- Torres, M. P., Wilson-Welder, J. H., Lopac, S. K., Phanse, Y., Carrillo-Conde, B., Ramer-Tait, A. E., Bellaire, B. H., Wannemuehler, M. J., & Narasimhan, B. (2011). Polyanhydride microparticles enhance dendritic cell antigen presentation and activation. *Acta Biomaterialia*, 7(7), 2857-2864. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.03.023>
- Tripathi, P., Verma, A., Dwivedi, P., Sharma, D., Kumar, V., Shukla, R., Banala, V. T., Pandey, G., Pachauri, S. D., Singh, S. K., & Mishra, P. R. (2014). Formulation and Characterization of Amphotericin B Loaded Nanostructured Lipid Carriers Using Microfluidizer. *Journal of Biomaterials and Tissue Engineering*, 4(3), 194-197. <https://doi.org/10.1166/jbt.2014.1159>
- Umapathi, P., Ayyappan, J., & Quine, S. (2012). Quantitative Determination of Metformin Hydrochloride in Tablet Formulation Containing Croscarmellose Sodium as Disintegrant by HPLC and UV Spectrophotometry. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 11(1), 107-116. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v11i1.14>
- Vaingankar, P., & Amin, P. (2017). Continuous melt granulation to develop high drug loaded sustained release tablet of Metformin HCl. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 12(1), 37-50. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2016.08.005>
- Vara-Ciruelos, D., Russell, F. M., & Hardie, D. G. (2019). The strange case of AMPK and cancer: Dr Jekyll or Mr Hyde?†. *Open Biology*, 9(7), 190099. <https://doi.org/10.1098/rsob.190099>
- Varshosaz, J., Khabbazi, E., Hassanzadeh, F., Sadeghi Aliabadi, H., Rostami, M., & Taymouri, S. (2017). Synthesis of biotin-targeted chitosan/poly (methyl vinyl ether-alt -maleic acid) copolymeric micelles for delivery of doxorubicin. *IET Nanobiotechnology*, 11(7), 843-851. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2016.0229>
- Varshosaz, J., Minaian, M., & Dayyani, L. (2018). Poly(methyl vinyl ether-co-maleic acid) for enhancement of solubility, oral bioavailability and anti-osteoporotic effects of raloxifene hydrochloride. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 112, 195-206. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.11.026>
- Vila, A., Gill, H., McCallion, O., & Alonso, M. J. (2004). Transport of PLA-PEG particles across the nasal mucosa: Effect of particle size and PEG coating density. *Journal of Controlled Release*, 98(2), 231-244. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2004.04.026>
- Vilos, C., & Velasquez, L. A. (2012). Therapeutic Strategies Based on Polymeric Microparticles. *BioMed Research International*, 2012(1), 672760. <https://doi.org/10.1155/2012/672760>
- Viollet, B., Guigas, B., Garcia, N. S., Leclerc, J., Foretz, M., & Andreelli, F. (2011). Cellular and molecular mechanisms of metformin: An overview. *Clinical Science*, 122(6), 253-270. <https://doi.org/10.1042/CS20110386>
- Vyas, A., Saraf, S., & Saraf, S. (2008). Cyclodextrin based novel drug delivery systems. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 62(1), 23-42. <https://doi.org/10.1007/s10847-008-9456-y>
- Wählin-Boll, E., Almér, L.-O., & Melander, A. (1982). Bioavailability, Pharmacokinetics and Effects of Glipizide in Type 2 Diabetics. *Clinical Pharmacokinetics*, 7(4), 363-372. <https://doi.org/10.2165/00003088-198207040-00006>
- Wang, C.-P., Kuhn, J., Shah, D. P., Schmidt, S., Lam, Y.-W. F., MacCarthy, D., Tenner, L., & Ramirez, A. G. (2019). Metformin modifies disparity in hepatocellular carcinoma incidence in men with type 2 diabetes but without chronic liver diseases. *Cancer Medicine*, 8(6), 3206-3215. <https://doi.org/10.1002/cam4.2142>
- Wang, F., Yu, W., Popescu, C., Ibrahim, A. A., Yu, D., Pearson, R., MacKerell Jr., A. D., & Hoag, S. W. (2022). Cholecalciferol complexation with hydroxypropyl-β-cyclodextrin (HPBCD) and its

- molecular dynamics simulation. *Pharmaceutical Development and Technology*, 27(4), 389-398. <https://doi.org/10.1080/10837450.2022.2064492>
- Wang, J., Jin, Z., & Xu, X. (2014). Gamma-cyclodextrin on enhancement of water solubility and store stability of nystatin. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 78(1), 145-150. <https://doi.org/10.1007/s10847-012-0281-y>
- Wang, L., Zhao, X., Zu, Y., Wu, W., Li, Y., Zu, C., & Zhang, Y. (2016). Enhanced dissolution rate and oral bioavailability of ginkgo biloba extract by preparing nanoparticles via emulsion solvent evaporation combined with freeze drying (ESE-FR). *RSC Advances*, 6(81), 77346-77357. <https://doi.org/10.1039/C6RA14771B>
- Wang, R., Zhang, Y., Ji, H., Wei, Z., Zhang, H., Li, F., Gao, S., Fu, Y., & Ye, F. (2025). Fabrication and Characterization of Difenoconazole/Methyl-beta-cyclodextrin Inclusion Complexes Nanofibers by Electrospinning. *ChemistrySelect*, 10(22), e00214. <https://doi.org/10.1002/slct.202500214>
- Wang, Y., Lin, B., Wu, J., Zhang, H., & Wu, B. (2014). Metformin inhibits the proliferation of A549/CDDP cells by activating p38 mitogen-activated protein kinase. *Oncology Letters*, 8(3), 1269-1274. <https://doi.org/10.3892/ol.2014.2270>
- Wang, Z., & Li, Y. (2018). Raloxifene/SBE- β -CD Inclusion Complexes Formulated into Nanoparticles with Chitosan to Overcome the Absorption Barrier for Bioavailability Enhancement. *Pharmaceutics*, 10(3), 76. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10030076>
- Ward, N. (2010). The Impact of Intestinal Failure on Oral Drug Absorption: A Review. *Journal of Gastrointestinal Surgery*, 14(6), 1045-1051. <https://doi.org/10.1007/s11605-009-1151-9>
- Wilczewska, A. Z., Niemirowicz, K., Markiewicz, K. H., & Car, H. (2012). Nanoparticles as drug delivery systems. *Pharmacological Reports*, 64(5), 1020-1037. [https://doi.org/10.1016/S1734-1140\(12\)70901-5](https://doi.org/10.1016/S1734-1140(12)70901-5)
- Wong, T. W., Wahab, S., & Anthony, Y. (2007). Effects of Microwave on Drug Release Property of Poly(Methyl Vinyl Ether-co-Maleic Acid) Matrix. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 33(7), 737-746. <https://doi.org/10.1080/03639040601015513>
- Wu, H., Li, Y., Liu, B., Pan, H., & Liu, H. (2021). Establishment and optimization of voriconazole/HS15/SBE- β -CD complex system: Based on micellization thermodynamics. *Journal of Molecular Liquids*, 321, 114453. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.114453>
- Yendapally, R., Sikazwe, D., Kim, S. S., Ramsinghani, S., Fraser-Spears, R., Witte, A. P., & La-Viola, B. (2020). A review of phenformin, metformin, and imeglimin. *Drug Development Research*, 81(4), 390-401. <https://doi.org/10.1002/ddr.21636>
- Yeşiltaş, A., Kızıloğlu, H. T., Dirican, E., Erbaş, E., Gelen, V., & Kara, A. (2024). Anticarcinogenic Effects of Gold Nanoparticles and Metformin Against MCF-7 and A549 Cells. *Biological Trace Element Research*, 202(10), 4494-4507. <https://doi.org/10.1007/s12011-024-04090-y>
- Yılmaz, M. B., Kılıçkap, M., Abacı, A., Barçın, C., Bayram, F., Karaaslan, D., Göksülük, H., Kayıkçıoğlu, M., Özer, N., Süleymanlar, G., Şahin, M., Tokgözoğlu, L., & Satman, İ. (2018). Temporal changes in the epidemiology of diabetes mellitus in Turkey: A systematic review and meta-analysis. *Archives of the Turkish Society of Cardiology*, 46(7), 546-555. <https://doi.org/10.5543/tkda.2018.88225>
- Yu, W., Jiang, G., Zhang, Y., Liu, D., Xu, B., & Zhou, J. (2017). Near-infrared light triggered and separable microneedles for transdermal delivery of metformin in diabetic rats. *Journal of Materials Chemistry B*, 5(48), 9507-9513. <https://doi.org/10.1039/c7tb02236k>
- Zaccardi, F., Webb, D. R., Yates, T., & Davies, M. J. (2016). Pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus: A 90-year perspective. *Postgraduate Medical Journal*, 92(1084), 63-69. <https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2015-133281>
- Zhang, D., Pan, X., Wang, S., Zhai, Y., Guan, J., Fu, Q., Hao, X., Qi, W., Wang, Y., Lian, H., Liu, X., Wang, Y., Sun, Y., He, Z., & Sun, J. (2015). Multifunctional Poly(methyl vinyl ether-co-maleic anhydride)-graft-hydroxypropyl- β -cyclodextrin Amphiphilic Copolymer as an Oral High-Performance Delivery Carrier of Tacrolimus. *Molecular Pharmaceutics*, 12(7), 2337-2351. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.5b00010>

- Zhang, F. (2016a). Melt-Extruded Eudragit® FS-Based Granules for Colonic Drug Delivery. *AAPS PharmSciTech*, 17(1), 56-67. <https://doi.org/10.1208/s12249-015-0357-2>
- Zhang, F. (2016b). Physicochemical properties and mechanisms of drug release from melt-extruded granules consisting of chlorpheniramine maleate and Eudragit FS. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 42(4), 563-571. <https://doi.org/10.3109/03639045.2015.1054832>
- Zhang, F., Liu, W., Long, Y., & Peng, H. (2023). Targeted Delivery of Metformin Against Lung Cancer Cells Via Hyaluronan-Modified Mesoporous Silica Nanoparticles. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 195(7), 4067-4083. <https://doi.org/10.1007/s12010-022-04289-6>
- Zhang, H., Zhang, J., & Streisand, J. B. (2002). Oral Mucosal Drug Delivery. *Clinical Pharmacokinetics*, 41(9), 661-680. <https://doi.org/10.2165/00003088-200241090-00003>
- Zhang, Y., Huo, M., Zhou, J., Zou, A., Li, W., Yao, C., & Xie, S. (2010). DDSolver: An Add-In Program for Modeling and Comparison of Drug Dissolution Profiles. *The AAPS Journal*, 12(3), 263-271. <https://doi.org/10.1208/s12248-010-9185-1>
- Zhao, L., Wei, Y., Mei, Y., Yang, L., You, Y., Yang, X., & Jiang, Y. (2012). Preparation and in Vitro Drug Release Evaluation of Once-Daily Metformin Hydrochloride Sustained-Release Tablets. *Pharmacology & Pharmacy*, 3(4), Article 4. <https://doi.org/10.4236/pp.2012.34064>
- Zheng, K., Huang, Z., Huang, J., Liu, X., Ban, J., Huang, X., Luo, H., Chen, Z., Xie, Q., Chen, Y., & Lu, Z. (2021). Effect of a 2-HP-β-Cyclodextrin Formulation on the Biological Transport and Delivery of Chemotherapeutic PLGA Nanoparticles. *Drug Design, Development and Therapy*, 15, 2605-2618. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S314361>
- Zhou, T., Xu, X., Du, M., Zhao, T., & Wang, J. (2018). A preclinical overview of metformin for the treatment of type 2 diabetes. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 106, 1227-1235. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.07.085>
- Zhou, X., Liu, S., Lin, X., Xu, L., Mao, X., Liu, J., Zhang, Z., Jiang, W., & Zhou, H. (2019). Metformin Inhibit Lung Cancer Cell Growth and Invasion in Vitro as Well as Tumor Formation in Vivo Partially by Activating PP2A. *Medical Science Monitor*, 25, 836-846. <https://doi.org/10.12659/MSM.912059>
- Ziaee, A., Albadarin, A. B., Padrela, L., Femmer, T., O'Reilly, E., & Walker, G. (2019). Spray drying of pharmaceuticals and biopharmaceuticals: Critical parameters and experimental process optimization approaches. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 127, 300-318. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2018.10.026>

EKLER

EK-1 Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası

		
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ		
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU		
DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI		
Sayın KADİR AYKAÇ		
15.11.2021 - 26.11.2021 tarihleri arasında Bursa Uludağ Üniversitesi HADYEK tarafından Bursa İlinde düzenlenen "Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası" eğitimini başarı ile tamamlayarak A kategorisi sertifikası almaya hak kazanmıştır.		
Prof. D. BUT		Pro

EK-2 ETİK KURUL BELGESİ BEYANNAMESİ



T.C.
ANADOLU ÜNİVERSİTESİ

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARAR FORMU

Toplantı No:5 Dosya Kayıt No:25-12 BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	"Oral Veriliş için Metformin İçeren Yeni İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Geliştirilmesi ve İn vitro, İn vivo Değerlendirilmesi"
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI / ADI KURUMU	Prof. Dr. Müzeyyen DEMİREL Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
	YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	Araş.Gör. Kadir AYKAÇ,
	Hayvan Türü ve Sayısı	Sprague Dawley/(Erkek-180)

DEĞERLENDİRİLEN BELGE	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ ve EKLERİ	Var
-----------------------	----------------------------------	-----

KARAR BİLGİLERİ	Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Müzeyyen DEMİREL'in araştırma yürütücüsü olduğu 25-12 dosya kayıt no'lu ve "Oral Veriliş için Metformin İçeren Yeni İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Geliştirilmesi ve İn vitro, İn vivo Değerlendirilmesi" başlıklı etik kurul proje başvurusu, Deney Hayvanları etik kurul yönergesine uygun bulunarak onaylanmasına karar verilmiştir.	
	KARAR NO: 2025-12	KARAR TARİHİ: 21.05.2025

ETİK KURUL ÜYELERİ			
ÜNVANI / ADI SOYADI ETİK KURUL GÖREVİ	BİRİMİ	TOPLANTIYA KATILMA	KARARA KATILMA İMZA

Preparation and Characterization of Metformin HCl Loaded Cyclodextrin-Polyanhydride Nanoparticles by means of a Spray Drying Technique

APA 2025

K. Aykaç¹, M. Demirel¹.

(1) Anadolu University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology, Eskişehir, Türkiye.

Keywords: Cyclodextrin, Metformin HCl, Nanoparticles, Polyanhydride, Spray Drying.

Introduction: Cyclodextrins (Cs) are truncated-cone-shaped with hydrophobic internal cavities while outer parts of the hydrophilic structure. Due to their special structures, they can increase the aqueous solubility of active substances and result in higher bioavailability rates. Cs also act as penetration enhancers. Recently, the bio-adhesive properties of cyclodextrin-poly(anhydride) nanoparticles (CPNs) and their performances in the improvement of the oral bioavailability of drugs were investigated. Nanoparticles (Ns) are promising drug delivery carriers due to their potential to enhance bioavailability, extend circulation time, and enable controlled release. Spray drying is a well-known and inexpensive industrial-scale process for generating a dry powder from a liquid phase in the pharmaceutical industry. The control over the particle formation process allows a proper encapsulation of active compounds. Metformin HCL (M) is slowly and incompletely absorbed from the intestine, and therefore, the pharmacologically active doses are relatively high (0.5-2.0 g per day). Bioavailability after oral administration has been estimated at approximately 50-60%. This study aimed to incorporate M into CPNs for increase the oral bioavailability and decrease therapy dose of M [1-3].

Materials and Methods: Firstly, inclusion complexes with different Cs (hydroxypropyl β -cyclodextrin (HP- β -CD) methyl β -cyclodextrin (M- β -CD)) were prepared for the formation of CPNs. M/C complexes were prepared by lyophilization methods with a [1:1] molar ratio. CPNs containing M/C complexes were prepared by a spray drying method and particle size (PS), polydispersity index (PDI), zeta potential (ZP), quantification, FT-IR, ¹H-NMR analyses were performed. *In vitro* release properties, release kinetics were also studied [1-3].

Results: The PS of CPNs were around 100 nm with a very narrow PDI (~0.2) data indicating the stability of the particles with homogeneous dispersion. PDI values ranging from 0 to 0.5 were considered to be monodisperse and homogenous, therefore homogenous size distribution within the nanometer range could be achieved in our study. The ZP is another important factor, influencing the stability of the colloidal dispersions. NPs with ZP values greater than +25 mV or less than -25 mV typically have high degrees of stability due to electric repulsion forces between particles. The ZP values of CPNs were -19.4 mV and -9.01 mV for the formulations of CPN1 and CPN2 respectively. ZP analyses results showed that even the values were not very high the Ns prepared in our study had anionic properties. The amount of M for CPN1 and CPN2 were calculated to be 4.12 %, 5.27 % respectively. The CPNs showed a high dissolution rate with approximately 80% drug dissolved within 15 min in pH 1.2. *In vitro* release profiles of M from CPNs in pH 1.2 were applied to different kinetic models (zero order kinetics, first order kinetics, Higuchi model, Korsmeyer-Peppas model, Hixson-Crowell model and Hopfenberg model). The release data were investigated by k, r² and AIC for the selection of best fitted kinetic model and first order release and Hopfenberg model were best fitted models for M and CPNs respectively according to the highest k and r² values with lowest AIC data.

Conclusion: According to the analyses results, CPNs successfully prepared with narrow size and homogeneous dispersions using the spray drying technique. CPNs showed that immediately release similar to pure drug in pH 1.2 while release kinetic models are changing. Investigation of effect on enhancement oral bioavailability of metformin of CPNs will considered in the future study.

Acknowledgements

We thank, Anadolu University, Plant, Drug and Scientific Research Center (AUBİBAM) for ¹H-NMR and SEM analyses, Anadolu University Faculty of Pharmacy (MERLAB) for FT-IR analyses.

References

- [1] E. Başaran, K. Aykaç, E. Yenilmez, G. Büyükköroğlu, Y. Tunalı, M. Demirel, Formulation and characterization studies of inclusion complexes of voriconazole for possible ocular application. *Pharm. Dev. Technol.* 27(2)(2022) 228-241.
- [2] F.N.S. Al-Heibshy, E. Başaran, R. Arslan, N. Öztürk, İ. Vural, M. Demirel, Preparation, characterization and pharmacokinetic evaluation of rosvastatin calcium incorporated cyclodextrin-polyanhydride nanoparticles. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 45(10)(2019) 1635-1645.
- [3] Y. Guo, A. Baldelli, A. Singh, F. Fathordoobady, D. Kitts, A.P. Singh, Production of high loading insulin nanoparticles suitable for oral delivery by spray drying and freeze drying techniques. *Nature Portfolio* 12(2022) 9949.

Development and *In Vitro* Characterization Studies of Metformin HCl Incorporated Polyanhydrid and Eudragit FS 100 Based Micro/Nanoparticles

APA 2025

K. Aykaç¹, M. Demirel¹

(1) Anadolu University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology, Eskişehir, Türkiye.

Keywords: Eudragit FS 100, Metformin HCl, Microparticles, Nanoparticles, Polyanhydride

Introduction: Micro and nanoparticles (MPs, NPs) have the potential to drastically improve the therapeutic efficacy of drugs by providing superior protection. A controllable size, shape, and surface charge are three of the principal advantages associated with polymeric particles for drug delivery. Within the past two decades, spray drying (SD) has gained widespread adoption for small-molecule pharmaceutical drug delivery. Metformin HCL (MET) is slowly and incompletely absorbed from the intestine, and therefore, the pharmacologically active doses are relatively high (0.5-2.0 g per day). Polyanhydrides (P) have emerged as excellent candidates for drug delivery applications owing to their unique properties, such as biodegradability, controlled surface erosion, tailorable drug release kinetics, and low toxicity. Eudragit® FS 100 (E) is a novel methyl acrylate-methyl methacrylate-methacrylic acid terpolymer reached the market last days. This study aimed to develop P and E based MET loaded particles using SD and to investigate the *in vitro* characterization for oral administration [1-3].

Materials and Methods: MET loaded micro/nanoparticles were prepared by spray drying methods using P, E and P/E combine. A total of 12 nanoparticles (4 blank and 8 MET-loaded) were prepared which included MET (100 mg or 200 mg). The particle size (PS), polydispersity index (PDI), zeta potential (ZP), loading capacity (LC), FT-IR, ¹H-NMR analyses were performed. In addition *in vitro* release properties and release kinetics were also studied [1-3].

Results: Table 1 summarizes the mean physico-chemical characteristics of MPs and NPs formulations. Ps displayed PSs ranging from 96.31 to 6775 nm, with PDI values from 0.220 to 1. ZPs were consistently negative, ranging from -4.54 to -44.7 mV except E1# and E2#. ZP values greater than +25 mV or less than -25 mV typically have high degrees of stability. PE1, E1 and E2 formulations have stable ZP values. The LCs of MET loaded Ps exhibited increase when increase of MET amount in formulation.

Table 1. Properties of micro/nanoparticles prepared.

Code	MET (mg)	PS (nm) (mean, n=6)	PDI (mean, n=6)	ZP (mV) (mean, n=6)	LC (%) (mean, n=3)	Release Kinetic
PE1	100	2442	0.807	-44.7	6.61	First order
PE2	200	1794	1	-14.9	12.81	Hopfenberg
E1	100	6775	1	-35.3	6.49	Korsmeyer-Peppas
E2	200	3909	1	-29.6	12.68	First order
P1	100	476.4	0.573	-4.54	7.68	First order
P2	200	96.31	0.244	-7.03	13.90	First order
E1#	100	2228	1	9.79	9.71	Korsmeyer-Peppas
E2#	200	4417	0.220	13.3	14.40	First order

Different solvent system was used.

Conclusion: The researchers have been using suitable drug carrier systems such as biodegradable polymeric particles in order to increase the pharmacological effects of drugs. In this study P, E and P/E based micro/nanoparticles were prepared by spray drying method successfully. Micro/nanoparticles formation leaded to changed release kinetic of MET. However, it is clear that further experiments are required for investigating the efficacy of MPs and NPs in biological systems.

Acknowledgements

We thank, Anadolu University, Plant, Drug and Scientific Resarch Center (AUBİBAM) for ¹H-NMR and SEM analyses, Anadolu University Faculty of Pharmacy (MERLAB) for FT-IR analyses.

References

- [1] M.A. Beach, U. Nayanathara, Y. Gao, C. Zhang, Y. Xiong, Y. Wang, G.K. Such, Polymeric Nanoparticles for Drug Delivery. Chem. Rev. 124 (2024) 5505-5616.
- [2] J.M. Baumann, M.S. Adam, J.D. Wood, Engineering Advances in Spray Drying for Pharmaceuticals. Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng. 12 (2021) 217-240.



ACIBADEM
MEHMET ALİ AYDINLAR
UNIVERSITY

EMK 2025

**27. ULUSAL ELEKTRON
MİKROSKOPİ KONGRESİ**
27th NATIONAL CONGRESS
OF ELECTRON MICROSCOPY

MSC 2025

**2nd INTERNATIONAL MICROSCOPY
AND SPECTROSCOPY CONGRESS**
2. ULUSLARARASI MİKROSKOPİ
VE SPEKTROSKOPİ KONGRESİ

25-27 EYLÜL 2025 / 25-27 SEPTEMBER 2025

ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ,
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI ATAŞEHİR, İSTANBUL

ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR UNIVERSITY SCHOOL OF
MEDICINE, DEPARTMENT OF HISTOLOGY AND EMBRYOLOGY ATAŞEHİR, İSTANBUL

PP-41 - Main Topics in Biological Sciences - Nanotechnology and Applications]

The Effect of Polymer Type on the Morphology of Metformin HCl Loaded Spray Dried Micro- and Nanoparticles

Kadir Aykaç, Müzeyyen Demirel

Department of Pharmaceutical Technology, Anadolu University, Eskişehir, Türkiye

AIM: Metformin HCl (MH), a widely used antihyperglycemic drug, has limitations, including poor bioavailability. Micro/nano-particles (MNPs), can overcome these limitations. The aim of this study was to formulate and evaluate of metformin loaded MNPs [1].

MATERIALS-METHODS: Cyclodextrins, polyanhydride, Eudragit® FS 100 (EF) were used to form MH MNPs through spray drying. MH and polymer were dissolved in distilled water and spray-dried in same conditions (Table 1). The morphological characteristics of the MNPs were evaluated using SEM (Zeiss, Supratm 50 VP) at 3 kV [2].

RESULTS: The cyclodextrin MNPs presented amorphous surface with shrunken spherical shape (Fig. 1). Polyanhydride and EF particles show large and small spherical morphology with a very smoother surface. EF MNPs were spherical with a smooth surface and had internal dents and small vacuoles. The polyanhydride MNPs present irregular, shrunken shape and empty interiors [3].

CONCLUSION: The results of SEM were illustrated the differences between MNPs. Particle shape is determined by the atomization, drying, and material composition. Polyanhydride and EF MNPs together were best spherical and smoother surface.

Acknowledgements: We thank, Anadolu University, Plant, Drug and Scientific Resarch Center (AUBİBAM) for SEM analyses.

REFERENCES:

- [1] F.C. Kenechukwu, D.O. Nnamani, J.C. Duhu, B.U. Nmesirionye, M.A. Momoh, P.A. Akpa, A.A. Attama. Potential enhancement of metformin hydrochloride in solidified reverse micellar solution-based PEGylated lipid nanoparticles targeting therapeutic efficacy in diabetes treatment. Heliyon 8 (2022) e09099. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09099>
- [2] M. Moorthy, M.F. Roslan, G. Saravanan, R.T. Widodo. Formulation and in-vitro characterization of metformin microsphere for enhanced drug delivery via spray drying in type 2 diabetes management. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research 15(3) (2025) 680-692.
- [3] Z. Sun, J. Shi, J. Wang, M. Jiang, Z. Wang, X. Bai, X. Wang. A deep learning-based framework for automatic analysis of the nanoparticle morphology in SEM/TEM images. Nanoscale 14 (2022) 10761-10772.

Keywords: metformin particles, cyclodextrin, polyanhydride,

ÖZ GEÇMİŞ

Adı-Soyadı : Kadir AYKAÇ

Yabancı Dil : İngilizce

Doğum Yeri ve Yılı :

E-posta :

ORCID Numarası :

Eğitim:

2012-2017, Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Lisans

2017-2020, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji ABD, Yüksek Lisans

2020-2025, Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji ABD, Doktora

Mesleki Geçmişi:

2018-2020, Araştırma Görevlisi, Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Eczacılık Teknolojisi Bölümü

2020-2025, Araştırma Görevlisi, Anadolu Üniversitesi

Yayınları

Aykaç, K., Yenilmez, E., Demirel, M., & Başaran, E. (2020). Posaconazole loaded ocular inserts for antifungal activity. Journal of Pharmaceutical Technology, 1(1), 1-6. <https://doi.org/10.37662/jpt.2020.0>

Aykaç, K., & Başaran, E. (2022). Formulation and Characterization of Lacosamide-loaded Polymeric Microneedles. Journal of Exploratory Research in Pharmacology, 7(2), 61-75. <https://doi.org/10.14218/JERP.2021.00051>

Başaran, E., Aykaç, K., Yenilmez, E., Büyükköroğlu, G., Tunali, Y., & Demirel, M. (2022). Formulation and characterization studies of inclusion complexes of voriconazole for possible ocular application. Pharmaceutical Development and Technology, 27(2), 228-241. <https://doi.org/10.1080/10837450.2022.2037635>

Aykaç, K., & Başaran, E. (2023). Tiagabine Incorporated Polymeric Microneedles: Formulation and Characterization Studies. *Current Applied Polymer Science*, 6(1), 48-60. <https://doi.org/10.2174/2452271606666230427091330>

Aykaç, K., & K ro lu  zmen, C. (2025). Ibuprofen Loaded Sodium Alginate Sponges for Acute Wound Treatment. *Fabad Eczacılık Bilimler Dergisi*, 50(3), 689-706. <https://doi.org/10.55262/fabadeczacilik.1783441>

Aykaç, K., & Demirel, M. (2025). Novel Nanocarriers For Rosuvastatin Calcium. *Fabad Eczacılık Bilimler Dergisi*, 50(3), 799-820. <https://doi.org/10.55262/fabadeczacilik.1785301>

