



**T.C.**  
**NECMETTİN ERBAKAN**  
**ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**FLAVONOİD TÜREVLERİNİN PICKERING**  
**EMÜLSİYONU YÖNTEMİYLE**  
**KAPLANARAK ÜRETİMİ VE ENZİM**  
**İNHİBİSYONU ÜZERİNE ETKİSİNİN**  
**DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Deniz Tuğçe ALGAN**

**DOKTORA TEZİ**

**Kimya Anabilim Dalı**

**Kasım-2024**  
**KONYA**  
**Her Hakkı Saklıdır**

## TEZ KABUL VE ONAYI

Deniz Tuğçe ALGAN tarafından hazırlanan “Flavonoid Türevlerinin Pickering Emülsiyonu Yöntemiyle Kaplanarak Üretimi ve Enzim İnhibisyonu Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi” adlı tez çalışması 22/11/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

### Jüri Üyeleri

### İmza

#### Başkan

Prof. Dr. Ziya Erdem KOÇ

.....

#### Danışman

Prof. Dr. Erdal KOCABAŞ

.....

#### Üye

Prof. Dr. Ahmet COŞKUN

.....

#### Üye

Prof. Dr. Esra MALTAŞ ÇAĞIL

.....

#### Üye

Prof. Dr. Meltem DEMİREL KARS

.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun ....../.../20.. gün ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Havvanur UÇBEYİAY  
FBE Müdürü

Bu tez çalışması TÜBİTAK tarafından 119C100 nolu proje ve Necmettin Erbakan Üniversitesi NEÜ-BAP221415002 nolu proje ile desteklenmiştir.

## TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

## DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Deniz Tuğçe ALGAN

Tarih:

## ÖZET

### DOKTORA TEZİ

# FLAVONOİD TÜREVLERİNİN PICKERING EMÜLSİYONU YÖNTEMİYLE KAPLANARAK ÜRETİMİ VE ENZİM İNHİBİSYONU ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Deniz Tuğçe ALGAN

Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Erdal KOCABAŞ  
İkinci Danışman: Doç. Dr. Kemal ÇETİN

2024, 131 Sayfa

#### Jüri

Prof. Dr. Ziya Erdem KOÇ  
Prof. Dr. Erdal KOCABAŞ  
Prof. Dr. Ahmet COŞKUN  
Prof. Dr. Esra MALTAŞ ÇAĞIL  
Prof. Dr. Meltem DEMİREL KARS

Meyve, sebze, tahıl ve içeceklerde bulunan flavanoidler; antioksidan, antienflamatuvar, antikarsinojenik, antiviral ve antibakteriyel özellikleriyle öne çıkmaktadır. Flavanoidlerin birçok hastalığa karşı koruyucu özellik gösterdiği, inflamasyon mekanizmasını düzenleyerek nörodejenerasyonu engellediği veya geriletmediği düşünülmektedir. Ayrıca, flavanoidlerin antioksidan özellikleri sayesinde oksidatif stresi azalttığı bilinmektedir. Oksidatif stres arttıkça Alzheimer hastalığının evreleri de şiddetlenmektedir.

Stabilite ve düşük biyoyararlanım sorunları olan flavanoidlerin bu dezavantajları, enkapsülasyon işlemi sayesinde avantaja çevrilebilmektedir. Modifiye salım sistemleriyle ise flavanoidlerin doğru yerde salımı sağlanarak biyoyararlanımlarının artırılması hedeflenmektedir.

Tez çalışmasında, Pickering emülsiyonu ve iyonik jelasyon yöntemi ile kaplanacak olan rutin, naringin ve hesperidin flavanoidleri, önce zeytinyağı ve ayçiçek yağı ile emülsifikasyon işleminden geçirilmiş ve iyonik jelasyon yöntemi ile partiküller elde edilmiştir. Bu süreçte partiküllerin karakteristik analizleri yapıp boyutları belirlenerek, etken madde miktarı ve enkapsülasyon verimliliği ölçülmüştür. Düşük çözünürlük ve biyoyararlanım ile stabilite problemleri olan narenciye flavanoidleri metabolizmanın düzenli çalışması için hayati önem taşır. Enkapsüle edilen flavanoidlerin, kolinesteraz enzimlerinin inhibisyonu yolu ile Alzheimer hastalığına etkisinin incelenmesi hedeflenmiştir. Çalışma bu yönüyle, Pickering emülsiyonu ve iyonik jelasyonunun pH duyarlı salımın uygulandığı yenilikçi bir çalışmadır. Çalışma özellikle bağırsak pH'ında yüksek stabiliteye sahip enkapsüle edilmiş ürünlerin geliştirilmesi bakımından önem arz etmektedir. Mide ve bağırsak ortamı canlandırılarak dissolüsyon analizi yapılmış ve enzim kinetiği belirlenmiştir.

Optimizasyon çalışmaları sonucunda uygun yöntem, uygun su içinde yağ (S/Y) oranı ve kapsüllenecek etken madde miktarları bulunmuştur. Çalışmalar sonucunda her etken maddenin 7,5 mg, 15 mg ve 30 mg yüklenmesine karar verilmiştir. Mide ve bağırsak ortamını simüle eden iki farklı pH değerinde (pH 1,2 ve pH 7,4) dissolüsyon çalışması yapılmıştır. Çalışmada öngörüldüğü gibi partiküller bağırsak ortamında mide ortamına göre daha fazla salım yapmıştır. Enkapsülasyon etkinliği, salım profili ve antikolinesteraz enzimine etkileri ile birlikte değerlendirildiğinde, zeytinyağı ile birlikte kapsüllenen 30 mg naringin etken maddesinin tezde öne çıkarmak istenilen enzim inhibisyonu üzerinde diğer etken maddelere ve enkapsüle edilen partiküllere göre daha yüksek asetilkolinesteraz ve bütirikolinesteraz enzim inhibisyonu gösterdiği görülmüştür.

Flavanoidlerin bağırsak pH'ında biyoyararlanımını arttırmak ve yüksek stabiliteye sahip enkapsüle ürün elde etmek için yaptığımız bu çalışmada, partiküller pH 7,4'te tamamen parçalanmıştır ve etken maddeler açığa

çıkıştır. Mide ortamında (pH 1,2) salım yaklaşık %25'lerde gerçekleşirken, bağırsak ortamındaki (pH 7,4) 96 saat sonucunda %75 ila %82 arasında erken madde salımı gerçekleşmiştir.

Elektroegirme tekniğı sayesinde, flavonoidlerin biyolojik kullanılabilirliğı artırılarak, ilaç taşıma sistemleri, gıda ambalajları ve kozmetik ürünler gibi farklı alanlarda potansiyel uygulamalar geliştirilmesi amaçlanmıştır. Elde edilen fiberlerin morfolojik çalışmaları ile flavonoidlerin fiber matris içerisindeki dağılımı ve salım davranışları belirlenmiştir. Aynı zamanda, nanofiberlerin *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesi değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmanın sonucunda bağırsak pH'ında (pH 7,4) yapılan dissolüsyon analizinde PLA-MIX fiberi içerisindeki etken maddeler %20-25 oranında, PCL- MIX fiberi içerisindeki etken maddeler %21-28 oranında salınmıştır. Antibakteriyel etki çalışmasının sonuçları nanofiberlerin %45 oranında PLA karışımında daha fazla bakteriyel inhibisyona neden olduğunu göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Alzheimer hastalığı, antikolinesteraz enzim inhibisyonu, hesperidin, rutin hidrat, naringin, Pickering emülsiyonu, elektroegirme



## **ABSTRACT**

### **Ph.D THESIS**

# **PRODUCTION OF FLAVONOID DERIVATIVES BY ENCAPSULATING THEM WITH PICKERING EMULSION METHOD AND EVALUATION OF THEIR EFFECT ON ENZYME INHIBITION**

**Deniz Tuğçe ALGAN**

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF  
NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY  
DOCTOR OF PHILOSOPHY  
IN CHEMISTRY**

**Advisor: Prof. Dr. Erdal KOCABAŞ  
Co-Advisor: Assoc. Prof. Dr. Kemal ÇETİN**

**2024, 131 Pages**

#### **Jury**

**Prof. Dr. Ziya Erdem KOÇ  
Prof. Dr. Erdal KOCABAŞ  
Prof. Dr. Ahmet COŞKUN  
Prof. Dr. Esra MALTAŞ ÇAĞIL  
Prof. Dr. Meltem DEMİREL KARS**

Flavonoids found in fruits, vegetables, grains and beverages stand out with their antioxidant, anti-inflammatory, anticarcinogenic, antiviral and antibacterial properties. It is thought that flavonoids have protective properties against many diseases and prevent or delay neurodegeneration by regulating the inflammation mechanism. In addition, it is known that flavonoids reduce oxidative stress thanks to their antioxidant properties. As oxidative stress increases, the stages of Alzheimer's disease also intensify.

These disadvantages of flavonoids, which have stability and low bioavailability problems, can be turned into advantages thanks to the encapsulation process. With modified release systems, it is aimed to increase the bioavailability of flavonoids by ensuring their release in the right place.

In the thesis study, rutin, naringin and hesperidin flavonoids, which will be coated with Pickering emulsion and ionic gelation method, were first subjected to emulsification process with olive oil and sunflower oil and particles were obtained with ionic gelation method. In this process, characteristic analyses of particles were performed and their sizes were determined, and the amount of active ingredient and encapsulation efficiency were measured. Citrus flavonoids, which have low solubility, bioavailability and stability problems, are vital for the regular functioning of metabolism. The aim was to examine the effect of encapsulated flavonoids on Alzheimer's disease by inhibiting cholinesterase enzymes. In this respect, the study is an innovative study in which pH-sensitive release of Pickering emulsion and ionic gelation was applied. The study is especially important in terms of developing encapsulated products with high stability at intestinal pH. Dissolution analysis was performed by simulating the stomach and intestinal environment and enzyme kinetics were determined. As a result of the optimization studies, the appropriate method, appropriate oil-in-water (W/Y) ratio and the amount of active ingredient to be encapsulated were found. As a result of the studies, it was decided to load each active ingredient at 7.5 mg, 15 mg and 30 mg. Dissolution studies were performed at two different pH values (pH 1.2 and pH 7.4) simulating the stomach and intestinal environment. As predicted in the study, the particles released more in the intestinal environment than in the stomach environment. When evaluated together with the encapsulation efficiency, release profile and effects on the anticholinesterase enzyme, it was observed that 30 mg naringin active ingredient encapsulated with olive oil showed higher acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase enzyme inhibition compared to other active ingredients and encapsulated particles on the enzyme inhibition desired to be highlighted in the thesis.

In this study, which we conducted to increase the bioavailability of flavonoids in intestinal pH and to obtain an encapsulated product with high stability, the particles were completely disintegrated at pH 7.4 and the active ingredients were released. While the release in the stomach environment (pH 1.2) was approximately 25%, early substance release was between 75% and 82% after 96 hours in the intestinal environment (pH 7.4).

By means of electrospinning technique, it is aimed to develop potential applications in different areas such as drug delivery systems, food packaging and cosmetic products by increasing the bioavailability of flavonoids. The distribution and release behaviors of flavonoids in the fiber matrix were determined by morphological studies of the obtained fibers. At the same time, the antibacterial activity of nanofibers against *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) bacteria was evaluated. As a result of the study, in the dissolution analysis performed at intestinal pH (pH 7.4), the active substances in PLA-MIX fiber were released at a rate of 20-25% and in PCL-MIX fiber at a rate of 21-28%. The results of the antibacterial effect study showed that nanofibers caused more bacterial inhibition in 45% PLA mixture.

**Keywords:** Alzheimer's disease, anticholinesterase enzyme inhibition, hesperidin, rutin hydrate, naringin, Pickering emulsion



## ÖNSÖZ

*Kıymetli babaanneciğim Müşerref hanıma,  
bitmeyecek bir hasret ve derin bir özlemle...*

Doktora eğitimim ve tez sürecim boyunca desteğini esirgemeyen kıymetli tez danışmanım Prof. Dr. Erdal KOCABAŞ'a, her daim bilgisine başvurabildiğim sevgili hocam Prof. Dr. Meltem DEMİREL KARS'a, tez izleme komitesi üyesi Prof. Dr. Esra MALTAŞ ÇAĞIL'a, tez çalışmaları boyunca bana yol gösteren ve hep yardımcı olan ikinci danışmanım Doç. Dr. Kemal ÇETİN'e teşekkürü bir borç bilirim.

Tez jürisindeki değerli akademisyenlere, Necmettin Erbakan Üniversitesi Kimya Anabilim dalına ve Biyoteknoloji bölümüne teşekkür ederim. Tez çalışmalarımı gerçekleştirdiğim BİTAM Gıda ve İlaç Laboratuvarı ve Hücre Biyolojisi ve Genetik Laboratuvarlarına, antikolinesteraz enzim inhibisyonu çalışmalarını gerçekleştiren Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK'e, Doç. Dr. Yusuf SİCAK'a ve Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Fakültesi Laboratuvarları'nda birlikte çalıştığım herkese çok teşekkür ederim. Doktora çalışmam boyunca sürekli yardımcı olan Dr. Emre Fatih EDİZ'e ve analizler boyunca her daim ulaşabildiğim ve danışabildiğim Ant Teknik ailesine de teşekkür ederim.

TÜBİTAK 2244 Üniversite Sanayi Rekabet Öncesi İşbirliği kapsamında bursiyeri olarak doktora sürecimi tamamladığım TÜBİTAK'a ve Helvacızade Şirketler Grubu'na teşekkür ederim.

Canım annem ve babam, bana inancınız ve güveniniz sayesinde bu süreci de başarı ile tamamlıyorum, varlığınız için şükran doluyum. Gönülden sevdiğim kıymetli ailem, desteğiniz sayesinde hep daha ileriye hedefledim, hepinize teşekkür ediyorum. Batuhan, İrem, İzem ile Zade ve Zade Vital Laboratuvarlarında birlikte çalıştığım iş arkadaşlarıma bu süreci kolaylaştırdıkları için çok teşekkür ederim. REGENEU ailesi, birlikte geçirdiğimiz keyifli zamanlar hatıramda hep en güzel yerde kalacak, sizinle çalışma fırsatı bulduğum için çok şanslıyım, edindiğim bütün bilgiler ve çalışma fırsatı bulduğum laboratuvarlara teşekkür ederim.

Deniz Tuğçe ALGAN  
KONYA-2024

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                             |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| ÖZET .....                                                                                  | iv        |
| ABSTRACT .....                                                                              | vi        |
| ÖNSÖZ .....                                                                                 | viii      |
| İÇİNDEKİLER.....                                                                            | ix        |
| ŞEKİLLER VE ÇİZELGELER DİZİNİ .....                                                         | xii       |
| SİMGELER VE KISALTMALAR.....                                                                | xv        |
| <b>1. GİRİŞ.....</b>                                                                        | <b>1</b>  |
| 1.1. Fenolik Bileşikler .....                                                               | 2         |
| 1.1.1. Fenolik Asitler .....                                                                | 2         |
| 1.1.2. Stilbenler .....                                                                     | 2         |
| 1.1.3. Lignanlar .....                                                                      | 3         |
| 1.1.4. Tanenler.....                                                                        | 3         |
| 1.1.5. Flavonoidler .....                                                                   | 3         |
| 1.2. Flavonoidlerin Yapısı ve Özellikleri .....                                             | 4         |
| 1.2.1. Flavonlar.....                                                                       | 4         |
| 1.2.2. Flavonoller .....                                                                    | 4         |
| 1.2.3. Flavanonlar .....                                                                    | 5         |
| 1.2.4. İzoflavonlar .....                                                                   | 5         |
| 1.2.5. Kateşinler (Flavanoller).....                                                        | 6         |
| 1.2.6. Antosiyaninler .....                                                                 | 6         |
| 1.2.7. Özellikleri.....                                                                     | 7         |
| 1.2.8. Rutin, Naringin ve Hesperidin .....                                                  | 8         |
| 1.3. Pickering Emülsiyonu .....                                                             | 10        |
| 1.3.1. Pickering Emülsiyonlarında Emülsiyon Tipi, Damlacık Boyutu ve Stabilitesi .....      | 11        |
| 1.3.1.1. Partikül Islanabilirliği: Üç Faz Denge Açısı .....                                 | 11        |
| 1.3.1.2. Yağ Fazı ve Yağ/Su Fazı Oranı.....                                                 | 11        |
| 1.3.1.3. Arayüzde Partikül Adsorpsiyonu .....                                               | 12        |
| 1.3.1.4. Partikül Konsantrasyonu, Yüzeyde Kapladığı Alan, Partikül Büyüklüğü ve Şekli ..... | 12        |
| 1.4. Alzheimer Hastalığı.....                                                               | 12        |
| 1.5. Antikoliesteraz Enzim Mekanizması .....                                                | 14        |
| <b>2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....</b>                                                           | <b>17</b> |
| 2.1. Enkapsülasyon.....                                                                     | 17        |
| 2.1.1. Enkapsüle Edilen Malzemeler.....                                                     | 18        |
| 2.1.2. Enkapsülasyonda Kullanılan Kaplama Malzemeleri .....                                 | 19        |
| 2.1.2.1. Sodyum Aljinat .....                                                               | 19        |
| 2.1.2.2. Polilaktik asit (PLA) ve Polikaprolakton (PCL) .....                               | 20        |
| 2.1.3. Enkapsülasyon Teknikleri .....                                                       | 21        |
| 2.1.3.1. Kokristalizasyon.....                                                              | 21        |

|           |                                                                                                            |           |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.1.3.2.  | Koaservasyon .....                                                                                         | 21        |
| 2.1.3.3.  | Emülsifikasyon/ Emülsiyon Prosesi .....                                                                    | 22        |
| 2.1.3.4.  | İyonik jelasyon .....                                                                                      | 22        |
| 2.1.3.5.  | Lipozom .....                                                                                              | 23        |
| 2.1.3.6.  | Liyofilizasyon.....                                                                                        | 23        |
| 2.1.3.7.  | Sprey Kurutma .....                                                                                        | 23        |
| 2.2.      | Enterik kaplama.....                                                                                       | 23        |
| 2.3.      | Kontrollü Salım .....                                                                                      | 24        |
| 2.3.1.    | İlaç salım kinetiği .....                                                                                  | 24        |
| 2.3.1.1.  | Sıfırıncı derece model .....                                                                               | 25        |
| 2.3.1.2.  | Birinci derece model .....                                                                                 | 26        |
| 2.3.1.3.  | Higuchi modeli .....                                                                                       | 26        |
| 2.3.1.4.  | Korsmeyer-Peppas modeli .....                                                                              | 26        |
| 2.3.1.5.  | Hixson- Crowell modeli .....                                                                               | 27        |
| 2.4.      | Literatür Çalışmaları .....                                                                                | 27        |
| <b>3.</b> | <b>MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>                                                                             | <b>32</b> |
| 3.1.      | Materyal .....                                                                                             | 32        |
| 3.1.1.    | Kullanılan Malzemeler .....                                                                                | 32        |
| 3.1.2.    | Kullanılan Cihazlar .....                                                                                  | 32        |
| 3.1.2.1.  | HPLC Cihazı .....                                                                                          | 32        |
| 3.1.2.2.  | UV- Vis Spektroskopisi Cihazı .....                                                                        | 33        |
| 3.1.2.3.  | FTIR- ATR Cihazı .....                                                                                     | 33        |
| 3.2.      | Yöntem .....                                                                                               | 33        |
| 3.2.1.    | HLB Değerinin Hesaplanması .....                                                                           | 33        |
| 3.2.2.    | S/Y Emülsiyon Çözeltilerinin Hazırlanması ve İyonik Jelasyon Yöntemi ile Partiküllerin Oluşturulması ..... | 34        |
| 3.2.3.    | Elektroegirme Liflerinin Hazırlanması .....                                                                | 36        |
| 3.2.4.    | Enkapsülasyon Verimliliğinin Belirlenmesi .....                                                            | 36        |
| 3.2.5.    | Karakterizasyon.....                                                                                       | 37        |
| 3.2.5.1.  | UV- Vis Spektroskopisi ve HPLC .....                                                                       | 37        |
| 3.2.5.2.  | Liflerin Karakterizasyonu .....                                                                            | 38        |
| 3.2.6.    | Enzim İnhibisyonu Çalışmalarının Yapılması .....                                                           | 39        |
| 3.2.6.1.  | Asetilkolinesteraz İnhibisyon Aktivitesi Tayin Yöntemi.....                                                | 39        |
| 3.2.6.2.  | Bütirilkolinesteraz İnhibisyon Aktivitesi Tayin Yöntemi.....                                               | 39        |
| 3.2.7.    | Antibakteriyel Aktivite Testi.....                                                                         | 40        |
| 3.2.8.    | Dissolüsyon Yöntemi ile Salım Kinetiğinin Belirlenmesi .....                                               | 40        |
| <b>4.</b> | <b>BULGULAR VE TARTIŞMA .....</b>                                                                          | <b>41</b> |
| 4.1.      | Etken Maddelerin UV- Vis Spektroskopi ve HPLC’de Yapılan Kalibrasyon Çalışmaları .....                     | 41        |
| 4.2.      | Enkapsülasyon Etkinliği, Verim ve Yükleme Kapasitesi Değerleri .....                                       | 43        |
| 4.3.      | FT-IR Analizi Sonuçları.....                                                                               | 47        |
| 4.4.      | FESEM Analizi Sonuçları.....                                                                               | 58        |
| 4.5.      | <i>In Vitro</i> Salım (Dissolüsyon) Analizi Sonuçları .....                                                | 60        |
| 4.6.      | Antibakteriyel Aktivite Değerlendirmesi .....                                                              | 78        |
| 4.7.      | Antikolinesteraz İnhibisyon Aktivite Değerlendirmesi.....                                                  | 80        |
| <b>5.</b> | <b>SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....</b>                                                                           | <b>88</b> |

|                          |            |
|--------------------------|------------|
| 5.1. Sonuçlar.....       | 88         |
| 5.2. neriler.....       | 94         |
| <b>6. KAYNAKLAR.....</b> | <b>96</b>  |
| <b>7. EKLER.....</b>     | <b>109</b> |



## ŞEKİLLER VE ÇİZELGELER DİZİNİ

### ŞEKİLLER

|                                                                                                                                                                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1. 1 Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması .....                                                                                                                                                                  | 2  |
| Şekil 1. 2 Flavonoidlerin kimyasal gösterimi.....                                                                                                                                                                        | 4  |
| Şekil 1. 3 Flavonların kimyasal gösterimi.....                                                                                                                                                                           | 4  |
| Şekil 1. 4 Flavonların kimyasal gösterimi.....                                                                                                                                                                           | 5  |
| Şekil 1. 5 Flavanonların kimyasal gösterimi .....                                                                                                                                                                        | 5  |
| Şekil 1. 6 İzoflavonların kimyasal gösterimi .....                                                                                                                                                                       | 6  |
| Şekil 1. 7 Flavanollerin kimyasal gösterimi.....                                                                                                                                                                         | 6  |
| Şekil 1. 8 Antosiyaninlerin kimyasal gösterimi .....                                                                                                                                                                     | 7  |
| Şekil 1. 9 Rutin'in kimyasal gösterimi .....                                                                                                                                                                             | 8  |
| Şekil 1. 10 Naringinin kimyasal gösterimi.....                                                                                                                                                                           | 9  |
| Şekil 1. 11 Hesperidin'in kimyasal gösterimi.....                                                                                                                                                                        | 10 |
| Şekil 1. 12 Asetilkolinin hidrolizi .....                                                                                                                                                                                | 16 |
| Şekil 1. 13 Bütirilkolinin hidrolizi .....                                                                                                                                                                               | 16 |
| Şekil 3. 1 Pickering Emülsiyonu yöntemiyle partiküllerin oluşturulması .....                                                                                                                                             | 35 |
| Şekil 3. 2 Elektroegirme liflerinin hazırlanması ve üretimi .....                                                                                                                                                        | 36 |
| Şekil 4. 1 A) Hesperidin, B) Naringin ve C) Rutin hidrat etken maddelerine ait UV-Vis kalibrasyon eğrileri.....                                                                                                          | 41 |
| Şekil 4. 2 A) Hesperidin (1-5 ppm), B) Hesperidin (5-40 ppm), C) Naringin (1-5 ppm), D) Naringin (5-40 ppm), E) Rutin hidrat (1-5 ppm), F) Rutin hidrat (5-40 ppm) etken maddelerine ait HPLC kalibrasyon eğrileri ..... | 43 |
| Şekil 4. 3 (a) Hesperidin, (b) Naringin (c) Rutin hidrat ait transmitans spektrumu.....                                                                                                                                  | 49 |
| Şekil 4. 4 Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan ayçiçek yağı ve rutin hidrat etken maddesi içeren bir dispersiyonun transmisyon spektrumu ile etken ve yardımcı maddelerin karşılaştırılması .....               | 50 |
| Şekil 4. 5 Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan zeytinyağı ve rutin hidrat etken maddesi içeren bir dispersiyonun transmisyon spektrumu ile etken ve yardımcı maddelerin karşılaştırılması .....                 | 51 |
| Şekil 4. 6 Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan ayçiçek yağı ve hesperidin etken maddesi içeren bir dispersiyonun transmisyon spektrumu ile etken ve yardımcı maddelerin karşılaştırılması .....                 | 52 |
| Şekil 4. 7 Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan zeytinyağı ve hesperidin etken maddesi içeren bir dispersiyonun transmisyon spektrumu ile etken ve yardımcı maddelerin karşılaştırılması .....                   | 54 |
| Şekil 4. 8 Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan ayçiçek yağı ve naringin etken maddesi içeren bir dispersiyonun transmisyon spektrumu ile etken ve yardımcı maddelerin karşılaştırılması .....                   | 55 |
| Şekil 4. 9 Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan zeytinyağı ve naringin etken maddesi içeren bir dispersiyonun transmisyon spektrumu ile etken ve yardımcı maddelerin karşılaştırılması .....                     | 56 |
| Şekil 4. 10 Narenciye flavonoidleri, PCL ve PCL-MIX fiberinin FT-IR spektrumu .....                                                                                                                                      | 57 |
| Şekil 4. 11 Narenciye flavonoidleri, PLA ve PLA-MIX fiberinin FT-IR spektrumu.....                                                                                                                                       | 58 |
| Şekil 4. 12 PCL-MIX fiberinin A) 1kx, B) 5kx, C) 20kx FESEM görüntüleri.....                                                                                                                                             | 59 |
| Şekil 4. 13 PLA-MIX fiberinin A) 1kx, B) 5kx, C) 20kx FESEM görüntüleri .....                                                                                                                                            | 59 |

|                                                                                                                                                                                      |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 4. 14 Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 7,5 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin in vitro pH 1,2 dissolüsyon karşılaştırma grafikleri ..... | 61 |
| Şekil 4. 15 Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 15 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin in vitro pH 1,2 dissolüsyon karşılaştırma grafiği .....     | 62 |
| Şekil 4. 16 Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 30 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin in vitro pH 1,2 dissolüsyon karşılaştırma grafiği .....     | 63 |
| Şekil 4. 17 Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 7,5 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin in vitro pH 7,4 dissolüsyon karşılaştırma grafiği .....    | 64 |
| Şekil 4. 18 Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 15 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin in vitro pH 7,4 dissolüsyon karşılaştırma grafiği .....     | 65 |
| Şekil 4. 19 Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 30 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin in vitro pH 7,4 dissolüsyon karşılaştırma grafiği .....     | 66 |
| Şekil 4. 20 Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 7,5 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin in vitro dissolüsyon karşılaştırma grafikleri .....        | 67 |
| Şekil 4. 21 Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 15 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin in vitro dissolüsyon karşılaştırma grafiği .....            | 68 |
| Şekil 4. 22 Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 30 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin in vitro dissolüsyon karşılaştırma grafikleri .....         | 70 |
| Şekil 4. 23 Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 30 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin in vitro dissolüsyon karşılaştırma grafiği (8 saat) .....   | 71 |
| Şekil 4. 24 pH 1,2 mide ortamı için kinetik modeli grafikleri .....                                                                                                                  | 72 |
| Şekil 4. 25 Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 30 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin in vitro dissolüsyon karşılaştırma grafiği (96 saat) .....  | 74 |
| Şekil 4. 26 pH 7,4 bağırsak ortamı için kinetik modeli grafikleri.....                                                                                                               | 75 |
| Şekil 4. 27 Elektroegirme fiberleri pH1,2 mide ortamı in vitro salım profili .....                                                                                                   | 77 |
| Şekil 4. 28 Elektroegirme fiberleri pH 7,4 bağırsak ortamı in vitro salım profili.....                                                                                               | 77 |
| Şekil 4. 29 (a)PLA-MIX ve (b)PCL- MIX için bakteriyel inhibisyon ( <i>S. aureus</i> ) yüzdeleri...                                                                                   | 79 |
| Şekil 4. 30 <i>Staphylococcus aureus</i> bakterisinin PLA-MIX ve PCL- MIX fiberlerindeki inhibisyonu.....                                                                            | 79 |
| Şekil 4. 31 50-100-200-400 $\mu$ M konsantrasyon aralığında asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi .....                                                                           | 80 |
| Şekil 4. 32 50-100-200-400 $\mu$ M konsantrasyon aralığında bütirilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi .....                                                                          | 81 |
| Şekil 4. 33 pH1,2 Dissolüsyon analizi hesperidin inhibisyon aktivitesi ( $IC_{50}$ ) değerleri.....                                                                                  | 83 |
| Şekil 4. 34 pH1,2 Dissolüsyon analizi naringin inhibisyon aktivitesi ( $IC_{50}$ ) değerleri.....                                                                                    | 83 |
| Şekil 4. 35 pH1,2 Dissolüsyon analizi rutin hidrat inhibisyon aktivitesi ( $IC_{50}$ ) değerleri .....                                                                               | 84 |
| Şekil 4. 36 pH 7,4 Dissolüsyon analizi hesperidin inhibisyon aktivitesi ( $IC_{50}$ ) değerleri.....                                                                                 | 84 |
| Şekil 4. 37 pH 7,4 Dissolüsyon analizi naringin inhibisyon aktivitesi ( $IC_{50}$ ) değerleri.....                                                                                   | 85 |
| Şekil 4. 38 pH 7,4 Dissolüsyon analizi rutin hidrat inhibisyon aktivitesi ( $IC_{50}$ ) değerleri .....                                                                              | 85 |
| Şekil 4. 39 Dissolüsyon analizi hesperidin inhibisyon aktivitesi ( $IC_{50}$ ) değerleri .....                                                                                       | 86 |
| Şekil 4. 40 Dissolüsyon analizi naringin inhibisyon aktivitesi ( $IC_{50}$ ) değerleri.....                                                                                          | 86 |
| Şekil 4. 41 Dissolüsyon analizi rutin hidrat inhibisyon aktivitesi ( $IC_{50}$ ) değerleri .....                                                                                     | 87 |

## ÇİZELGELER

|                                                                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Çizelge 3. 1 Partiküllerin ortalama çapları ve standart sapma değerleri .....                                                     | 35 |
| Çizelge 3. 2 Hesperidin için HPLC cihazı analiz koşulları (Chimagave ve ark., 2022) .....                                         | 37 |
| Çizelge 3. 3 Rutin hidrat için HPLC cihazı analiz koşulları (Bishnoi ve ark., 2018) .....                                         | 38 |
| Çizelge 3. 4 Naringin için HPLC cihazı analiz koşulları (Budel ve ark., 2020) .....                                               | 38 |
| Çizelge 4. 1 Ayçiçek yağı- Hesperidin içeren partiküllerin enkapsülasyon etkinliği, verim ve yükleme kapasitesi değerleri .....   | 43 |
| Çizelge 4. 2 Zeytinyağı- Hesperidin içeren partiküllerin enkapsülasyon etkinliği, verim ve yükleme kapasitesi değerleri .....     | 43 |
| Çizelge 4. 3 Ayçiçek yağı- Naringin içeren partiküllerin enkapsülasyon etkinliği, verim ve yükleme kapasitesi değerleri .....     | 44 |
| Çizelge 4. 4 Zeytinyağı- Naringin içeren partiküllerin enkapsülasyon etkinliği, verim ve yükleme kapasitesi değerleri .....       | 44 |
| Çizelge 4. 5 Ayçiçek yağı- Rutin hidrat içeren partiküllerin enkapsülasyon etkinliği, verim ve yükleme kapasitesi değerleri ..... | 45 |
| Çizelge 4. 6 Zeytinyağı- Rutin hidrat içeren partiküllerin enkapsülasyon etkinliği, verim ve yükleme kapasitesi değerleri .....   | 45 |
| Çizelge 4. 7 PLA-MIX ve PCL-MIX elektroegirme fiberlerindeki etken maddelerin enkapsülasyon etkinliği .....                       | 46 |
| Çizelge 4. 8 Etken ve yardımcı maddelerin FT-IR spektrumu tablosu .....                                                           | 47 |
| Çizelge 4. 9 7,5 mg etken madde yüklenmiş partiküllerin mide ortamında (pH 1,2) kümülatif salım yüzdeleri .....                   | 60 |
| Çizelge 4. 10 15 mg etken madde yüklenmiş partiküllerin mide ortamında (pH 1,2) kümülatif salım yüzdeleri .....                   | 61 |
| Çizelge 4. 11 30 mg etken madde yüklenmiş partiküllerin mide ortamında (pH 1,2) kümülatif salım yüzdeleri .....                   | 62 |
| Çizelge 4. 12 7,5 mg etken madde yüklenmiş partiküllerin bağırsak ortamında (pH 7,4) kümülatif salım yüzdeleri .....              | 63 |
| Çizelge 4. 13 15 mg etken madde yüklenmiş partiküllerin bağırsak ortamında (pH 7,4) kümülatif salım yüzdeleri .....               | 64 |
| Çizelge 4. 14 30 mg etken madde yüklenmiş partiküllerin bağırsak ortamında (pH 7,4) kümülatif salım yüzdeleri .....               | 65 |
| Çizelge 4. 15 7,5 mg etken madde yüklenmiş partiküllerin ardışık (pH 1,2+ pH 7,4) kümülatif salım yüzdeleri .....                 | 67 |
| Çizelge 4. 16 15 mg etken madde yüklenmiş partiküllerin ardışık (pH 1,2+ pH 7,4) kümülatif salım yüzdeleri .....                  | 68 |
| Çizelge 4. 17 30 mg etken madde yüklenmiş partiküllerin ardışık (pH 1,2+ pH 7,4) kümülatif salım yüzdeleri .....                  | 69 |
| Çizelge 4. 18 in vitro mide (pH 1,2) 8 saat salım sonuçları .....                                                                 | 70 |
| Çizelge 4. 19 pH 1,2 mide ortamı için kinetik modeli $R^2$ sonuçları .....                                                        | 71 |
| Çizelge 4. 20 in vitro bağırsak (pH 7,4) 96 saat salım sonuçları .....                                                            | 73 |
| Çizelge 4. 21 pH 7,4 bağırsak ortamı için kinetik modeli $R^2$ sonuçları .....                                                    | 74 |
| Çizelge 4. 22 Elektroegirme fiberleri pH 1,2 mide ortamı in vitro salım değerleri .....                                           | 76 |
| Çizelge 4. 23 Elektroegirme fiberleri pH 7,4 bağırsak ortamı in vitro salım değerleri .....                                       | 77 |
| Çizelge 4. 24 Antikolinesteraz inhibisyon aktivite $IC_{50}$ ( $\mu M$ ) değerleri .....                                          | 81 |

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Simgeler

a/h: ağırlık/hacim

AChE: Asetilkolinesteraz

AcI: Asetiltiyokolin iyodür

AH: Alzheimer hastalığı

ALS: Amyotrofik Lateral Skleroz

API: Aktif farmasötik içerik

A $\beta$ : Amiloid beta

BChE: Bütirilkolinesteraz

BuI: Bütiriltiyokolin klorür

CAG: Sitozin- adenin- guanin

DR: Geciktirilmiş salım

DTNB: 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit)

FTIR: Fourier Transfer Kızılötesi Spektrumu

h/h: hacim/ hacim

HLB: Hidrofilik- lipofilik denge

HPLC: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi

LDL: Low density lipoprotein (düşük yoğunluklu yağ proteini)

MR: Modifiye (değiştirilmiş) salım

MS: Multiple Skleroz

PDI: Polidispersite indeksi

PCL: Polikaprolakton

PLA: Polilaktik asit

PVA: Polivinil alkol

S/Y: Su içinde yağ

SA: Sodyum aljinat

UV-Vis: Ultraviyole ve Görünür Absorpsiyon Spektrofotometrisi

VLDL: Very low density lipoprotein (çok düşük yoğunluklu yağ proteini)

Y/S: Yağ içinde su

**Kısaltmalar**

AH1: Ayçiçek +7,5 mg hesperidin

AH2: Ayçiçek +15 mg hesperidin

AH3: Ayçiçek +30 mg hesperidin

ZH1: Zeytinyağı+ 7,5 mg hesperidin

ZH2: Zeytinyağı+ 7,5 mg hesperidin

ZH3: Zeytinyağı+ 7,5 mg hesperidin

AN1: Ayçiçek +7,5 mg naringin

AN2: Ayçiçek +15 mg naringin

AN3: Ayçiçek +7,5 mg naringin

ZN1: Zeytinyağı+ 7,5 mg naringin

ZN2: Zeytinyağı+ 7,5 mg naringin

ZN3: Zeytinyağı+ 7,5 mg naringin

AR1: Ayçiçek +7,5 mg rutin hidrat

AR2: Ayçiçek + 15 mg rutin hidrat

AR3: Ayçiçek + 30 mg rutin hidrat

ZR1: Zeytinyağı+ 7,5 mg rutin hidrat

ZR2: Zeytinyağı+ 15 mg rutin hidrat

ZR3: Zeytinyağı+ 30 mg rutin hidrat

PLA-MIX: PLA çözeltisi içerisinde rutin hidrat- hesperidin ve naringin karışımı

PCL-MIX: PCL çözeltisi içerisinde rutin hidrat- hesperidin ve naringin karışımı

## 1. GİRİŞ

Alzheimer hastalığı (AH), günümüzün en önemli sağlık sorunlarından biri olarak kabul edilmektedir. Beyin hücrelerinin zamanla hasar görmesi ve ölmesiyle karakterize olan bu hastalık, hafıza kaybı, yön bulma güçlüğü ve kişilik değişiklikleri gibi belirtilerle kendini gösterir. Alzheimer hastalığının kesin nedeni henüz tam olarak bilinmemekle birlikte, oksidatif stres, iltihap ve protein birikimi gibi faktörlerin önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Bu hastalığın tedavisi ve önlenmesi için yapılan araştırmalar, doğal kaynaklardan elde edilen bileşiklere yönelmiştir. Bu bağlamda, narenciye meyvelerinde bol miktarda bulunan flavonoidler, Alzheimer hastalığına karşı koruyucu etkileriyle öne çıkmaktadır (Silva ve ark., 2019, Borghi ve ark., 2023, Ullah ve ark., 2020).

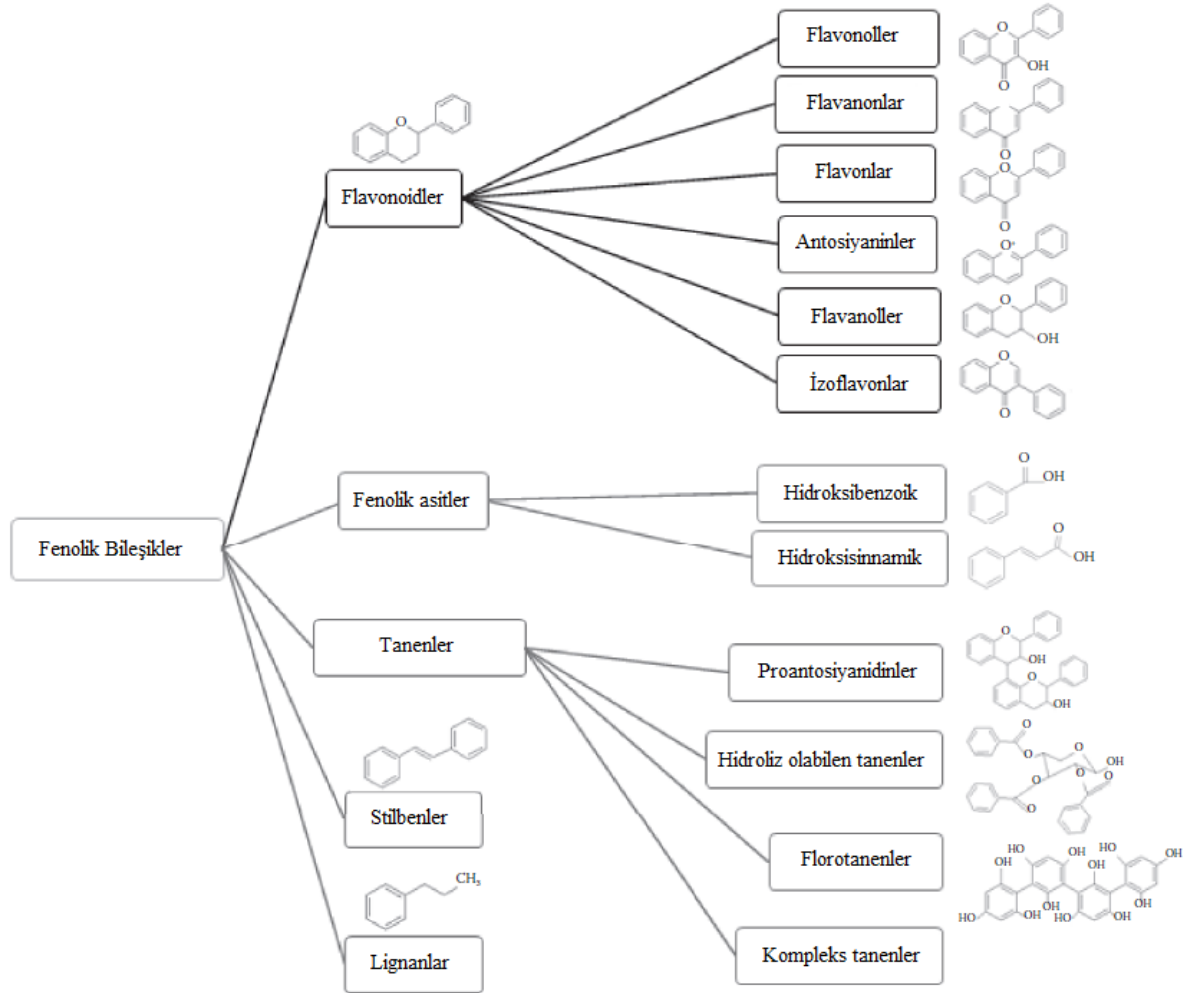
Narenciye meyveleri, zengin antioksidan içeriği sayesinde sağlık üzerindeki olumlu etkileriyle bilinmektedir. Bu meyvelerde bulunan flavonoidler, güçlü antioksidan özellikleri sayesinde serbest radikalleri nötralize eder ve oksidatif stresi azaltır. Oksidatif stres, Alzheimer hastalığının ilerlemesinde önemli bir faktör olduğundan, flavonoidlerin bu etkisi hastalığın seyrini yavaşlatabilir. Ayrıca, flavonoidlerin iltihap önleyici, amiloid beta plağı oluşumunu engelleyici, kolinesteraz enzimlerindeki değişkenlikler ve sinaptik plastisiteyi artırıcı gibi çeşitli mekanizmalarla Alzheimer hastalığına karşı koruyucu etkileri olduğu düşünülmektedir (Silva ve ark., 2019, Borghi ve ark., 2023, Ullah ve ark., 2020).

Çalışmada, narenciye flavonoidlerinin kimyasal yapısı, biyolojik aktiviteleri ve Alzheimer hastalığına etkileri üzerine yapılan bilimsel çalışmaların sonuçları derlenerek değerlendirilmiştir. Özellikle, naringin, hesperidin ve rutin gibi yaygın olarak bilinen narenciye flavonoidlerinin Alzheimer hastalığında önemli enzimlerin aktivitelerine karşı potansiyel tedavi etkileri üzerinde durulmuştur. Ayrıca, bu alandaki gelecek araştırmalar için öneriler sunulmuştur.

Yapılan doktora çalışması TÜBİTAK 2244 Rekabet Öncesi Üniversite-Sanayi İş birliği Programı kapsamında 119C100 nolu proje tarafından desteklenmekte olup, çalışmada uygulanacak yöntemin proje ortakları olan Zade Vital A. Ş. Ve Helvacızade Gıda A. Ş.'nin üretim teknolojilerine katkı sağlayacaktır.

## 1.1. Fenolik Bileşikler

Meyvelerde bulunan bileşiklerden olan fenolik bileşikler beş ana gruba ayrılır. Bunlar, fenolik asitler, stilbenler, lignanlar, tanenler (proantosiyanidinler) ve flavonoidlerdir (Rupasinghe ve ark., 2014).



Şekil 1. 1 Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması

### 1.1.1. Fenolik Asitler

Fenolik asitler hemen hemen tüm meyvelerde bulunur. Başlıca fenolik asitler kumarik asit, kafeik asit, sinapik asit ve ferulik asittir (Rupasinghe ve ark., 2014).

### 1.1.2. Stilbenler

Monomer veya oligomerler olarak bulunan stilbenler, aromatik halkalar üzerine yerleşmiş hidroksillere sahip 1,2-difeniletilenin varlığı ile karakterize edilir (Rupasinghe ve ark., 2014).

### **1.1.3. Lignanlar**

Lignanlar, iki fenilpropan biriminden oluşur ve kuru erik, armut gibi meyvelerde bulunur (Rupasinghe ve ark., 2014).

### **1.1.4. Tanenler**

Tanenler, yoğunlaştırılmış ve hidrolize edilebilir tanenlere ve yaygın olarak alkaloidler, polisakkaritler ve proteinler ile kompleksler olarak alt bölümlere ayrılan, moleküler ağırlıkları 500 ila 3000 arasında olan suda çözünmeyen bir fenolik bileşik grubudur. Üzüm, şeftali, elma, armut ve böğürtlenlerde bulunan bu yoğunlaştırılmış tanenler, tükürük proteinleri ile komplekslerin oluşumu yoluyla burukluktan sorumludur (Rupasinghe ve ark., 2014).

### **1.1.5. Flavonoidler**

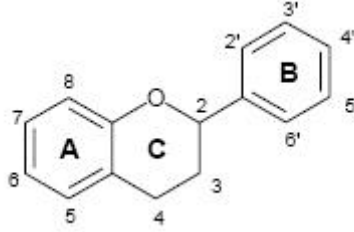
Flavonoidler, yapısında benzen ve heterosiklik halka bulunduran, bitkilerde sarı, kırmızı, mavi gibi renk pigmentlerinin olmasını sağlayan, meyve, sebze ve çay gibi içeceklerde bulunan polifenolik bileşiklerdir. Antosiyaninler, flavonoller, flavonlar, kateşinler, flavanonlar ve izoflavonoidler olarak altı gruba ayrılırlar (Karakaya ve ark., 1997).

Fenolik bileşiklerden olan flavonoidler, biyolojik aktivitesi en dikkat çeken gruptur ve meyve ile sebzelerde bulunur. Bir heterosiklik piran halkası aracılığıyla birleştirilen iki fenil halkası ve bir fenil benzopiran iskeleti içerirler (Rupasinghe ve ark., 2014).

Flavonoidler birçok hastalığın tedavisinde de kullanılmaktadır. Rutin ve kuersetin, serum trigliserid düzeyini azaltmak için kullanılırken; hesperidin ve rutin, kılcal damar çatlaklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Antioksidan, antienflamatuvar, antikarsinogenik gibi özelliklere de sahiptir. Çay flavonoidlerinin LDL ve VLDL üzerinde yapılan çalışmalarında antioksidan etkileri sayesinde damar iç duvarında yağlanmaya bağlı kalınlaşmanın ve yağlı yumru oluşumunun önlenebileceği belirtilmiştir (Karakaya ve ark., 1997).

## 1.2. Flavonoidlerin Yapısı ve Özellikleri

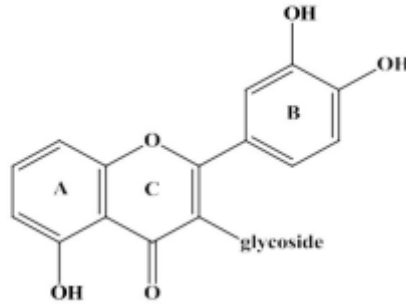
Flavonoidler; flavonlar, flavonoller, izoflavonlar, antosiyaninler, flavanoller ve flavanonlar olarak altı alt gruba ayrılır (Rupasinghe ve ark., 2014).



Şekil 1. 2 Flavonoidlerin kimyasal gösterimi

### 1.2.1. Flavonlar

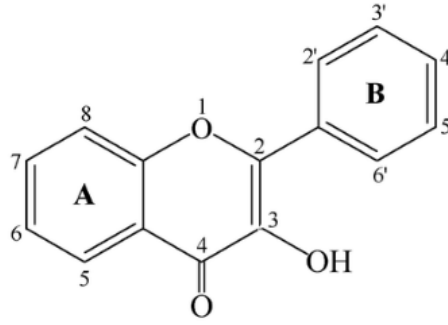
Flavonlar narenciye meyvelerinde yaygın olarak bulunur. Flavonların yapısında, merkez halkanın ikinci ve üçüncü karbonları arasında çift bağ ve C halkasının dördüncü noktasında bir karbonil bağı bulunur. Apigenin, krisin, mirisetin, rutin, sibelin ve kuersetin gibi formları içeren bu flavanoid türü açık sarı renktedir (Ruiz- Cruz ve ark., 2017, Rupasinghe ve ark., 2014).



Şekil 1. 3 Flavonların kimyasal gösterimi

### 1.2.2. Flavonoller

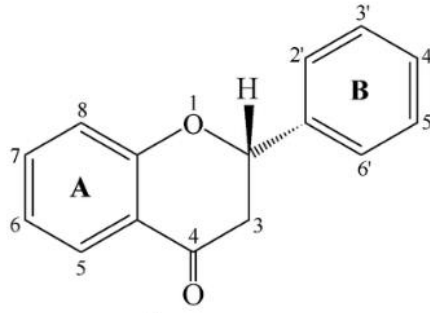
Flavonoller, elma kabuğu, yaban mersini, domates, kırmızı üzüm gibi meyve ve sebzelerde bulunur. Kuersetin, ramnetin ve kamferolün yapısında bulunan flavonollerin yapısında, ikinci ve üçüncü karbonlar arasında çift bağ vardır, C halkasındaki dördüncü karbondaki karbonil grubu ve üçüncü karbondaki hidroksil grubu bağlıdır (Ruiz- Cruz ve ark., 2017, Rupasinghe ve ark., 2014).



**Şekil 1. 4** *Flavonların kimyasal gösterimi*

### 1.2.3. Flavanonlar

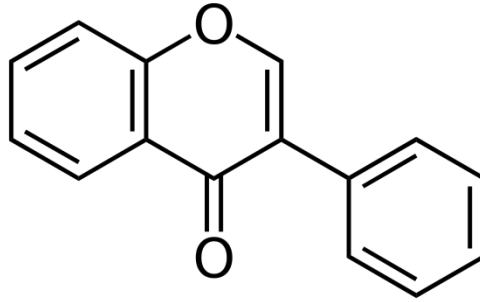
Flavanonlar, greyfurtta naringenin, portakalda hesperetin ve limonda eriodictyol gibi aglikonlar halinde bulunur. Narenciye flavonoidleri naringenin ve hesperidin, sıçanlarda kimyasal olarak indüklenen kolon kanserini inhibe eder. 2-fenilbenzopiran-4-on yapısından oluşan flavanonlar, diğer flavonoidlerin oluşumunda önemli bir yere sahiptir. Kalkon, flavon, dihidroflavonol ve izoflavonlar flavanonlardan biyosentezlenir. Bazı çeşitleri renksiz (hesperidin), bazıları açık sarı (naringenin, eriodiktiyol) ve bazıları da sarı renkte (neohesperidin) olan flavanonların kimyasal yapısında C halkasında üçüncü karbona bağlı bir hidroksil grubu bulunur (Ruiz- Cruz ve ark., 2017, Rupasinghe ve ark., 2014).



**Şekil 1. 5** *Flavanonların kimyasal gösterimi*

### 1.2.4. İzoflavonlar

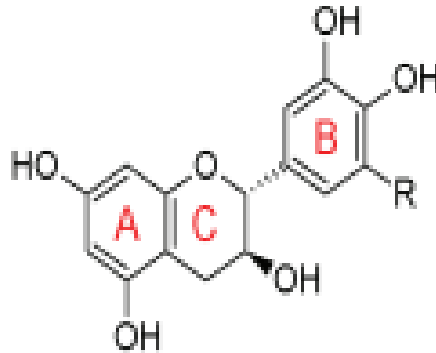
İzoflavonlar, anti-inflamatuar, antioksidan ve antikanser özellikleri gibi birçok biyolojik aktivite gösterir. A, B ve C halkalarında aynı fenolik halkayı ve 3-fenil kromon iskeletini barındıran izoflavonlar, bazen ayrı bir heterosiklik halkaya (D halkası) sahip olabilirler. Bunlardan bazıları, rotenoid, pretokarpan ve kumestandır (Ruiz- Cruz ve ark., 2017, Rupasinghe ve ark., 2014).



Şekil 1. 6 İzoflavonların kimyasal gösterimi

### 1.2.5. Kateşinler (Flavanoller)

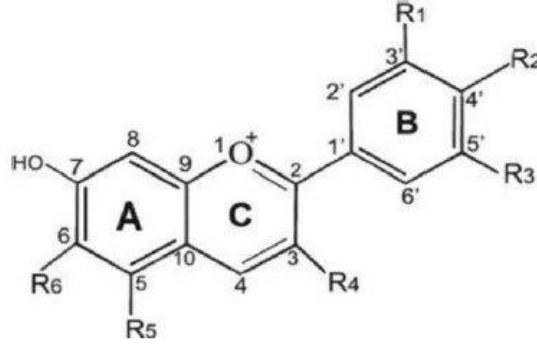
Flavanoller, proinflamatuvar ve onkogenik özellikleri sayesinde yüksek meyve ve sebze tüketimi ile kanserden korur. Kateşin veya flavan-3-oller olarak da bilinen flavanoller, C halkasının üçüncü karbonunda hidroksil grup barındırır ve karbonil grubu yoktur. Bazıları renksizdir (kateşin, gallokateşin, epigallokateşin, epikateşin ve gallat) ve bazıları da sarı renklidir (prosiyanidin) (Ruiz- Cruz ve ark., 2017, Rupasinghe ve ark., 2014).



Şekil 1. 7 Flavanollerin kimyasal gösterimi

### 1.2.6. Antosiyaninler

Antosiyaninlerin *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar sonucunda antikarsinojenik antikanserojenik aktivitesi, radikal süpürücü aktivitesini, faz II detoksifiye edici enzimlerin uyarılmasını, hücre proliferasyonunu azalttığını göstermiştir. Suda çözünebilir moleküller olan antosiyanidinler, C halkası üçüncü ve dördüncü karbonları arası çift bağa sahiptir ve üçüncü karbona hidroksil grubu bağlanmıştır. Bitkilere kırmızıdan mora kadar olan renkleri vermekteler (Ruiz- Cruz ve ark., 2017, Rupasinghe ve ark., 2014).



Şekil 1. 8 Antosiyaninlerin kimyasal gösterimi

### 1.2.7. Özellikleri

Flavonoidlerin canlılar üzerinde antitümör, antiviral, antitrombotik, antiinflamatuvar, antialerjik, aterosklerozis ve kalp hastalıklarından koruma, vazodilatasyon ve hücrel immünitenin stimülasyonu etkisi bulunmaktadır. Hücreler arası iletişimi güçlendirerek ilgili reseptörleri bloke eder ve antiproliferatif etki gösterir. Mast hücre ve histamin salımını engeller (Kahraman ve ark., 2002).

Flavonoidler doğal oksidan özellik göstermektedir ve gıda sanayinde besinlerin bozulmasını engellemek ve rengini korumak amacıyla kullanılmaktadır. Aktif oksijen formları hücrelere saldırarak zarar görmesine sebep olur. Flavonoidler, aktif oksijenin bu gibi zararlı etkilerini korumak için savaşmaktadır (Özyurt, 2005).

Kan sızdırmanın önlenmesinde, kırılgenlik ve geçirgenliğin ortadan kalkmasında rol oynayan flavonoidler damar koruyucu görev üstlenmektedir. Eritrosit ve akyuvar oluşumunu da destekler. Kalbi kuvvetlendirir ve nabızı normalleştirir. Zayıf hipotansif etki gösterirler (Çıkrıkçı, 2005).

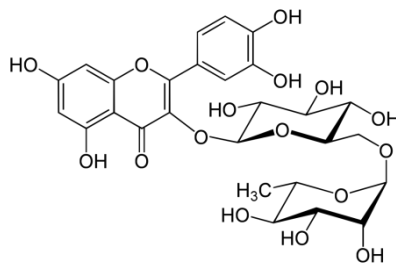
Flavonoidlerin, kanser, Alzheimer hastalığı (AH), ateroskleroz gibi çeşitli hastalıklarla ilişkili çeşitli olumlu biyokimyasal ve antioksidan etkileri vardır. Asetilkolinesteraz (AChE), merkezi sinir sisteminde anahtar bir enzimdir ve bunun inhibisyonu, hafif ila orta dereceli AH'nin semptomatik rahatlaması için tedavilerden biri olan nöral asetilkolin düzeylerinin artmasına neden olur. AChE inhibitörleri, flavonoid türevlerinin çoğunun AChE'ye karşı inhibitör aktivite özelliklerine sahip olduğunu gözlemledi. Ayrıca, ksantin oksidaz, siklo-oksijenaz, lipoksijenaz ve fosfoinositid 3-kinaz gibi çeşitli enzimler için güçlü inhibitörler oldukları bilinmektedir (Panche ve ark., 2016).

### 1.2.8. Rutin, Naringin ve Hesperidin

Doğal bir flavonoid glikozit olan rutin, bitkilerin yaygın ikincil metabolitlerinden biridir ve bazen rutozid, kersetin-3-O-rutinosid, soforin veya vitamin P olarak adlandırılır. Kimyasal olarak 2-(3,4-dihidroksifenil) olarak bilinir. Molar kütlesi 610.521 g/mol olan sarımsı bir tozudur. Suda az çözünürken piridinde kolayca çözünür. Biyoyararlanımı zayıf olması sebebiyle tam anlamıyla emilimi gerçekleşmez. Antioksidatif, antihipertansif, antidiyabetik, antiinflamatuvar ve kardiyoprotektif aktiviteleri de geçmişte bildirilmiştir (Semwal ve ark. 2021, Beyoğlu ve ark., 2020).

Rutin, kuşkonmaz, karabuğday gibi bitkilerde bulunan flavon alt sınıfına ait bir flavonoiddir ve radikal süpürme aktivitesi sayesinde antioksidan, antiinflamatuvar ve antikanser özelliklere sahiptir. Partisyon katsayısı (etkin maddenin çözücü ve su arasında nasıl bir dağılım gösterdiğinin ifadesidir) 6,37 olan ve suda çözünürlüğü az olan bu flavon, hastalığı önleyici ve tedavi edici bir gıda bileşenidir. Rutinin dağılılabılme özelliğini iyileştirmek ve gıdadaki diğer bileşenlerle etkileşimi engellemek için rutin su içinde yağ (S/Y) emülsiyonu şeklinde enkapsülasyonu bir çözüm olabilir (Dammak ve ark., 2018b).

Rutin, geniş farmakolojik potansiyeli ve toksik olmayan doğası nedeniyle yüksek ilgi gören bir molekül haline gelmiştir. Bununla birlikte, zayıf biyoyararlanım ve stabilite, kullanımını klinik uygulamalarla sınırlı hale getirir. İlginç bir şekilde, yeni ilaç dağıtım sistemleri, biyoaktif bir bileşiğin farmakodinamiğini ve farmakokinetiğini geliştirme potansiyeline sahiptir. Bu nedenle, yeni bir ilaç dağıtım sistemi kullanılarak rutin sınırlamalarının üstesinden gelinebilir (Semwal ve ark. 2021).



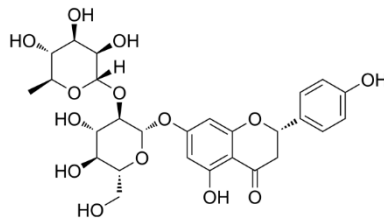
Şekil 1. 9 Rutin'in kimyasal gösterimi

Narenciye flavanonu olan ve portakal limon, domates, mandalina gibi meyvelerde ve greyfurt kabuğunda yer alan naringinin, suda çözünürlüğü ve gastrointestinal bölgede emiliminin az olması dolayısıyla, enkapsülasyon teknikleri kullanılarak formülü, emilimi ve stabilitesi salım sistemleri kullanılarak iyileştirilebilir. Bu fitokimyasal maddenin antioksidan,

antitümör, antibakteriyel ve kalp koruyucu etkileri vardır. Kimyasal adı 4',5,7-Trihydroxyflavanone-7-rhamnoglucoside olan naringinin kapalı formülü  $C_{27}H_{32}O_{14}$  olup molekül ağırlığı 580,54 g/mol'dür (Salehi ve ark. 2019, Smhurtı ve ark., 2022).

Hem *in vitro* hem de *in vivo* hayvan çalışmalarından elde edilen kanıtlar, hepatoprotektif, anti-aterojenik, anti-inflamatuar, anti-mutajenik, antikanser, antimikrobiyal ajan ve hatta kardiyovasküler, gastrointestinal, nörolojik, metabolik, romatolojik, bulaşıcı ve kötü huylu hastalıkların kontrolü ve yönetimi dâhil olmak üzere naringenin farmakolojik etkilerini güçlendirmiştir (Salehi ve ark. 2019).

Naringin *in vitro* biyolojik etkilerine ilişkin büyük miktarda veriye rağmen, terapötik bir molekül olarak kullanımına ilişkin az sayıda çalışma mevcuttur. Bununla birlikte, naringin içeren karmaşık polifenolik karışımların kullanıldığı çeşitli çalışmalarda olduğu gibi saf takviye bileşikler altında da bazı spesifik etkiler belirlenmiştir. En umut verici aktivite, özellikle zaten tehlikede olan hastalarda kardiyovasküler hastalık koruması ile ilgili görünmektedir. Bununla birlikte, naringin patolojik veya fizyolojik koşullar üzerindeki etki mekanizmasını daha iyi anlamak için bu birkaç veri acilen genişletilmelidir. Bununla birlikte, şu ana kadar ticari kullanımından ödün veren çok az sayıda klinik çalışma yapılmıştır. İnsanlarda naringin güvenliği, etkinliği, iletimi ve biyoyararlanımının daha iyi ele alınması için daha fazla klinik çalışmaya ihtiyaç vardır (Salehi ve ark. 2019).

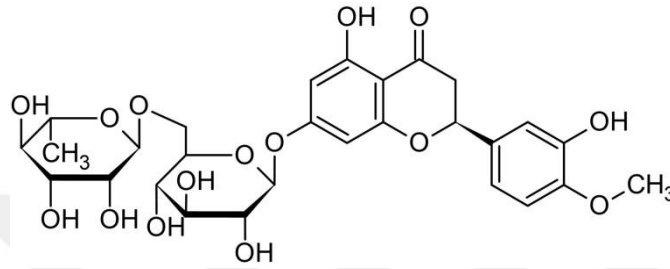


**Şekil 1. 10** Naringinin kimyasal gösterimi

Covid-19'dan korunmak için pek çok bileşiğin antiviral ve antienflamatuvar özellikleri öne çıkmıştır. B, D ve E vitaminleri ile Omega-3 yağ asitleri ile flavonoidler de Covid-19'dan korunmak için tüketilmesi önerilen yapılardır (Alberca ve ark. 2020). Turunçgil ailesinin bol ve ucuz bir yan ürünü olan hesperidin, portakal ve limonda da en çok bulunan flavonoiddir. Kolesterol düşürücü, antioksidan, ödem azaltıcı, hipolipidemik ve damar koruyucu özelliklere

sahiptir. Suda çözünürlüğü düşük olan hesperidin'in biyoyararlanımı da düşüktür (Dammak ve ark., 2018a).

Hesperidin'in, benz-(a)-piren ile indüklenen mutasyona karşı *Salmonella typhimurium* üzerinde ve metil-N-amilnitrozamin ile indüklenen tümör oluşumuna karşı sıçanlar üzerinde antimutajenik bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Onun metaboliti hesperetin ve ayrıca naringenin, yüksek derecede metastatik murin B16-F10 melanom hücreleri üzerinde *in vitro* antiproliferatif aktivite göstermiştir (Sansone ve ark., 2009).



Şekil 1. 11 Hesperidin'in kimyasal gösterimi

### 1.3. Pickering Emülsiyonu

Su ve yağ karışımlarının katı parçacıklarla stabil hale getirildiği emülsiyonlara Pickering emülsiyonu adı verilir. Bu emülsiyonlarda, katı partiküller yağ- su arayüzünde adsorbe olur ve bu şekilde katı bariyerler oluşturur. Birleşmeye karşı yüksek direnç gösterirler. Pickering emülsiyonlarının stabilizasyon mekanizması, yağ-su arayüzündeki katı parçacıkların yoğun bir şekilde dolgulu bir tabaka halinde birikmesine dayanır, sonuç olarak emülsiyon flokülasyonunu ve sterik engelleme ile birleşmeyi önler ve / veya Pickering emülsiyonlarının stabilitesi, parçacıkları yüzey aktif maddeleri koloidal birleştirerek kontrol edilebilir. Gıda endüstrisinde son yıllarda kullanılmaya başlanan bu teknik sayesinde yüzey aktif madde kullanılmadan pürüzsüz emülsiyonlar elde edilmektedir. Pickering emülsiyonları, hedeflenmiş ilaç sistemleri, mikroenkapsülasyon ve yüzey modifikasyonu açısından uygun bir emülsiyon çeşididir. Geleneksel yüzey aktif madde bazlı emülsiyonların aksine ekstra taşıyıcılar eklenmeden yüksek yağ yüklü ve akıcı tozlar üretmek için püskürtülerek kurutma işlemi de yapılabilir (Zhang ve ark., 2020, Dammak ve ark., 2018a).

Arayüzde küçük katı parçacıkların geri dönüşümsüz adsorpsiyonu ile stabilize edilen Pickering emülsiyonları, ortaya çıktıklarından beri çok dikkat çekmiştir. Pickering emülsiyonu, geleneksel yüzey aktif madde emülsiyonuna göre çok sayıda özel avantaj göstermektedir. Bunlar; sağlam ve tekrarlanabilir formülasyonlar sayesinde yüksek stabilite, azaltılmış

köpüklenme sorunları ve daha düşük toksisitedir. Bu nedenle, Pickering emülsiyonları, yaygın emülsiyonlara kıyasla, ilaç dağıtımı, kozmetik, gıda endüstrileri ve diğer birçok alanda önemli ilgi görmüştür. Genellikle sodyum aljinat ve  $Ca^{2+}$  arasındaki jel-bağından elde edilen aljinat partikülleri, biyolojik olarak parçalanabilir ve istenilen pH aralığında kullanılabilir (Zhang ve ark. 2017).

Yara yatak örtüsü, krem, jel ve aşı gibi türleri olan emülsiyonlar farmasötik uygulamalarda yaygın olarak kullanılır. Enjeksiyon (damar içi, kas içi), oral alım, cilt üzerine sürme, göze yapılan uygulamalar, akciğer ve nazal yollarla farmasötik emülsiyonlar kullanılabilir (Albert ve ark., 2019).

Hidrofilik aktif farmasötik içerikler (API) su damlacıklarının içinde yağ içinde su (Y/S) emülsiyonu, hidrofobik API'ler ise yağ damlacıklarının içinde su içinde yağ emülsiyonu yöntemiyle kaplanır. Farmasötik emülsiyonların esas amacı API'nin biyoyararlanımını ve çözünürlüğünü artırmaktır (Albert ve ark., 2019).

Emülsiyonların stabilitesini artırmak için stabilizatörler kullanılmaktadır. Biyopolimer veya katı partiküllerin kullanıldığı sistemler daha az toksik stabilizatörlerin gerekliliğinden doğmuştur (Albert ve ark., 2019).

### **1.3.1. Pickering Emülsiyonlarında Emülsiyon Tipi, Damlacık Boyutu ve Stabilité**

#### **1.3.1.1. Partikül Islanabilirliği: Üç Faz Denge Açısı**

Pickering emülsiyonunda kullanılan katı partiküller, hidrofilik- lipofilik denge (HLB) için yüzey aktif madde yerine geçerek stabilize emülsiyon tipinin hangisi olacağına (S/Y, Y/S veya her ikisi birlikte) karar verir. Katı partiküllerin sıvılarla yaptığı açı  $<90^\circ$  ise, yapı hidrofilik davranış gösterir ve partiküller su fazında hapsedilerek S/Y emülsiyonu oluşur. Eğer yapılan açı  $>90^\circ$ , yapı hidrofobik davranış gösterir ve partiküller yağ fazında hapsedilerek Y/S emülsiyonu oluşur (Albert ve ark., 2019).

#### **1.3.1.2. Yağ Fazı ve Yağ/Su Fazı Oranı**

Emülsiyon tipi ve stabilitesi yağın polaritesi ile değişebilir. Emülsiyon stabilitesi ve damlacık boyutu yağ fazının viskozitesinden ve yağ su fazı oranından etkilenir. Bu oran eğer 60:40 ise partiküller yağa hapsedilmiş, 40:60 ise partiküller eşit olarak yağa ve suya hapsedilmiş, eğer oran 65:35 ise partiküller suya hapsedilmiştir. Bu oranların altındaki emülsiyonlar Y/S emülsiyonları, üstündeki emülsiyonlar ise S/Y emülsiyonlarıdır (Albert ve ark., 2019).

### 1.3.1.3. Arayüzde Partikül Adsorpsiyonu

Arayüzeydeki adsorpsiyon hızı önemli bir parametredir, eğer; adsorpsiyon hızı damlacıkların birleşme hızından yavaşsa, damlacıklar topaklanarak birleşebilir.  $\Theta=90^\circ$ 'de, arayüzeydeki partikülleri ayırmak için yüksek enerji gerekmektedir. Aynı çap ve açıdaki partiküller için, S/Y arayüz gerilimi adsorpsiyon enerjisini de etkiler (Albert ve ark., 2019).

### 1.3.1.4. Partikül Konsantrasyonu, Yüzeyde Kapladığı Alan, Partikül Büyüklüğü ve Şekli

Emülsifikasyon prosesinde, yavaş, orta ve hızlı olmak üzere üç farklı rejim oluşmaktadır. Stabilize eden partiküllerin çapı, en küçük damlacıktan daha küçük olmalıdır. Partikül çapı arttıkça emülsiyon damlalarının da çapı artar (Albert ve ark., 2019).

Stabil S/Y ve Y/S emülsiyonları, stabil çoklu emülsiyonlarda olduğu gibi, kürecik şeklinde olmayan partiküllerle elde edilmiştir. Bu tür partiküllerin stabilizasyon mekanizmaları küre partiküllerin stabilizasyon mekanizmalarıyla aynı değildir ve tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (Albert ve ark., 2019).

pH duyarlılığına gelince, aljinat partikülleri kademeli olarak çözündükçe; genellikle pH> 6'da şişer; düşük bir pH'ta (örneğin pH 1,5), aljinatlar bir jel formundan aljinik asit formuna dönüştükleri için çözünmezler, bu nedenle, aljinat partikülleri gömülü içeriği, düşük bir pH'ta (örneğin pH 1,5) koruyan kontrollü salıverme olarak tavsiye edilen sistemler olmuştur. Bununla birlikte, alglerden türetilen ve büyük miktarda hidroksil ve karboksil gruplarından oluşan aljinat partikülleri, Pickering emülsiyonunu doğrudan stabilize etmek için katı emülgatörler olamayacak kadar hidrofiliktir (Zhang ve ark. 2017).

## 1.4. Alzheimer Hastalığı

Nörodejeneratif hastalıklar, beyin ve omurilik hücrelerinin kademeli olarak kaybıyla karakterize edilen, fonksiyonel kayıp (ataksi) veya duyuşal işlev bozukluğu (demans) ile ilişkili, nihai ölüm ve beyin atrofisine yol açan bir grup kronik bozukluk olarak bilinir. Nörodejeneratif hastalıklar, kanser ve kardiyovasküler hastalıklardan sonra üçüncü ölüm sebebidir. Alzheimer, Parkinson, Multiple Skleroz (MS) ve Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS) gibi türleri olan sinir sistemini etkileyen bu rahatsızlıklarda, merkezi sinir sisteminde oksidatif hasar bulguları gözlenmiştir. Kafa travmaları, virütik enfeksiyonlar, yaşlanmaya bağlı nöral bozukluklar Alzheimer riskini artırmaktadır. Tam iyileşmenin sağlanamadığı bu hastalıklarda, hastalıkların gelişmesi için iki önemli faktör bulunmaktadır. Bunlar; hücre içinde gerçekleşen tau proteininin

yüksek düzeyde fosforilasyonu ve yanlış katlanması, hücre dışında ise amiloid plaklarda  $\beta$ -amiloid proteinin birikimidir (Gezici ve ark., 2021, Öztürk ve ark.,2009, Öztürk Özkan ve ark., 2022, Hajialyani ve ark., 2019).

Proteinopati, nörodejeneratif hastalıkların kaynağı olarak görülmektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda görülmektedir ki, Alzheimer hastalığında beta amiloid ( $\beta$ - amiloid) kalıntıları ile nörofibriler yumaklar oluşmaktadır ve Alzheimer hastalığında nöronların yaygın hasarı hipokampus ve nörokortekste çok ciddi düzeydedir (Gezici ve ark., 2021, Öztürk ve ark.,2009, Öztürk Özkan ve ark., 2022).

Sinir hücrelerinin kendilerini yenileyememesi sebebiyle, nöronların doğrudan etkilendiği ve sinir iletiminde kayıplar olduğunda hasar geri dönülemezdir. Sinir iletim yollarındaki rahatsızlıklarda, genlerin mutasyona uğraması ile sitozin- adenin guanin (CAG) serileri sürekli tekrar eder. Bu durumda gereğinden fazla glutamin aminoasidi üretilerek, yanlış protein katlanmalarına, hücre içi lokalizasyon bozukluklarına ve diğer proteinler ile anormal interaksiyonlar ile meydana gelen toksik formdaki kaskadların oluşumu gözlenir (Gezici ve ark., 2021, Öztürk ve ark.,2009, Öztürk Özkan ve ark., 2022).

Bu bozuklukların ilerlemesine, beyindeki ve periferik organlardaki fizikokimyasal özelliklerin değişmesi eşlik eder. Bu hastalık grubu Alzheimer hastalığı (AH), Parkinson hastalığı, Huntington hastalığı, Multipl Skleroz (MS) ve Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS) içerir. Bu hastalıklar çoğunlukla yaşlılarda kendini gösterir ve hafıza bozukluğu, hareket bozuklukları, duygusal ve davranışsal bozukluklar ve bilişsel kusurlar gibi çeşitli sorunlara neden olur. Hesperidinin anti-oksidatif savunmayı artırma yeteneği, hesperidinin bilişsel işlevi geliştirdiği mekanizmalardan biri olabilir (Hajialyani ve ark., 2019).

Alzheimer hastalığının oluşumunda ve ilerlemesinde genetik, oksidatif stres, inflamasyon, amiloid beta peptidi ve mitokondriyal fonksiyon kaybının tümü rol oynar. Bu hastalığın gelişimine, amiloid beta ve tau proteinlerinin yüksek seviyelerde fosforilasyonu yardımcı olur. Artan amiloid beta sentezi sonucu amiloid plaklar ortaya çıkar ve plak birikimi gözlenir. Nöral hücre hasarına, amiloid plakların birikmesi ve yüksek derecede tau protein fosforesansı neden olur. Genetik, oksidatif stres, iltihaplanma, amiloid beta peptid mitokondriyal arıza ve hormon dengesizliği, Alzheimer hastalığının başlangıcını etkileyen faktörlerdir. Alzheimer hastalığının ana semptomları, nöronal sinapsın bozulması, beyinde amiloid plakların birikmesi, nöronal hücrelerde nörofibriler yumakların oluşması, hücrel homeostazın kaybı ve oksidatif stres birikimidir (Öztürk Özkan, 2022).

Amiloid Beta, monomer, dimer, trimer gibi farklı formlarda bulunmaktadır. Alzheimer hastalığında amiloid plaklar en sık görülen bulgudur. A $\beta$  bulgusu hastalığın başladığına işaret etmektedir (Saka, 2010).

Asetilkolin (AChE) ve bütirilkolinesteraz (BChE) enzimlerinin aktivitelerinin azalması Alzheimer hastalığına yol açabilir. AChE, sinir iletiminin yerine getirilebilmesi için önemli bir enzimdir ve asetil-ko-A'dan gelen asetil ve kolinin birleştirilmesi sonucu tanımlanan ilk nörotransmitterdir. BChE enzimi ise, Alzheimer hastalarında nörofibril yumaklar ve amiloid plaklarda bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda Alzheimer hastalarında BChE düzeyinin çok yüksek olduğu görülmüştür (Gezici ve ark., 2021, Öztürk ve ark.,2009, Öztürk Özkan ve ark., 2022).

Nörolojik rahatsızlıkların en yaygın şekli olan AH, kademeli hafıza düşüşü ve kişinin günlük aktivitelerini yapma yeteneğinin tüm yönlerini etkileyen bilişsel eksiklikler ile karakterizedir. AH'ye, sırasıyla amiloid-beta (A $\beta$ ) ve hiperfosforile tau'dan oluşan nörofibriler yumakların yanı sıra amiloid plakların agregasyonu eşlik eder. Fosfokinazın aktivasyonu, glikojen sentaz kinaz 3 $\beta$ , tau'nun hiper fosforilasyonuna katılır (Nouri ve ark., 2019).

Serbest radikaller, reaktif oksijen türleri ve oksidatif stresin Alzheimer hastalığı da dâhil olmak üzere yaşlanmaya ve yaşa bağlı nörodejeneratif hastalıklara sebep olduğu düşünülmektedir. Antioksidanların beyni Alzheimer hastalığına karşı koruduğuna dair çalışmalar yapılmaktadır. Beyin, enerji üretmek için çok fazla oksijen ve doymamış yağ asidi kullandığından, beyin hasara açık hale gelmektedir. Düşük antioksidan seviyesi bu durumlarda beyni koruyamayacaktır (Sıcak ve ark., 2019).

Alzheimer, demans ve Parkinson gibi sinir sistemi hastalıklarının önlenmesinde flavonoidlerin önemi yapılan çalışmalarla açıklanmaktadır. Yapılan çalışmalarda flavonoidlerin nöral fonksiyonları düzenleyerek bu hastalıkların oluşumunu engellemeye yönelik aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Alzheimer hastalarının %25'inde düşük miktarda flavonoid alımının hastalığa pozitif yönde etki ettiği gözlenmiştir (Engin, 2015).

### **1.5. Antikoliesteraz Enzim Mekanizması**

Enzim inhibitörleri, enzimlerin aktivitesini azaltan veya tamamen bloke eden moleküllerdir ve çeşitli hastalıkları tedavi etmek için ilaç olarak kullanılabilir. Örneğin, asetilkolinesteraz inhibitörleri Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılır. Bu inhibitörler, asetilkolinin parçalanmasını engelleyerek beyindeki asetilkolin seviyelerini artırır (Patadiya ve ark., 2021).

Enzim inhibitörleri, etki mekanizmalarına göre rekabetçi, rekabetçi olmayan ve geri dönüşsüz olarak sınıflandırılabilir. Rekabetçi inhibitörler, enzimin aktif bölgesine substrat ile

rekabet eder. Rekabetçi olmayan inhibitörler ise enzimin aktif bölgesinden farklı bir bölgeye bağlanır ve enzimin konformasyonunu değiştirerek substratın bağlanmasını engeller. Geri dönüşsüz inhibitörler ise enzime kovalent olarak bağlanır ve enzimi kalıcı olarak inaktive eder (Anand ve ark., 2013, Vecchio ve ark., 2021).

Enzim inhibitörleri, enzim kinetiğini inceleyerek karakterize edilebilir. Enzim kinetiği, enzimlerin reaksiyon hızlarını ve substrat konsantrasyonuna olan bağımlılıklarını inceler. Enzim inhibitörleri, enzim kinetiği parametrelerini (örneğin,  $K_m$  ve  $V_{max}$ ) değiştirerek enzim aktivitesini etkiler (Anand ve ark., 2013, Vecchio ve ark., 2021).

Enzim inhibitörlerinin önemli bir uygulama alanı, Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisidir. Örneğin, asetilkolinesteraz inhibitörleri Alzheimer hastalığının tedavisinde yaygın olarak kullanılır. Bu inhibitörler, asetilkolinin parçalanmasını engelleyerek beyindeki asetilkolin seviyelerini artırır. Asetilkolin, hafıza ve öğrenme gibi önemli bilişsel işlevlerde rol oynayan bir nörotransmitterdir (Vecchio ve ark., 2021, McGleenon ve ark., 1999).

Kolinesteraz enzim mekanizması, asetilkolin (ACh) gibi nörotransmitterlerin hidrolizini sağlayarak sinir iletimini düzenleyen önemli bir biyokimyasal süreçtir. Bu mekanizma, ACh'nin sinapslarda hızlı bir şekilde parçalanmasını sağlar ve böylece sinir impulslarının iletimini sonlandırır.

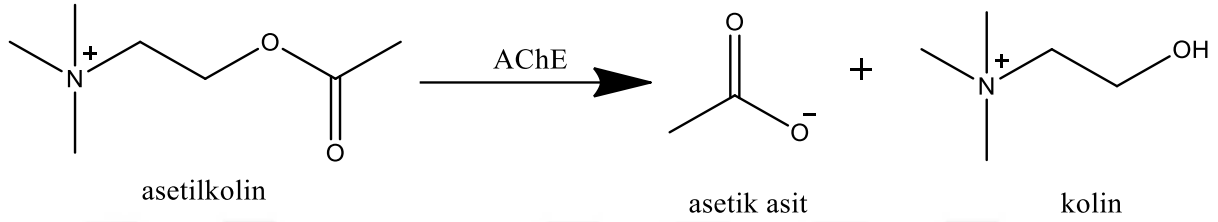
- Asetilkolinesteraz (AChE): ACh'nin hızlı hidrolizinden sorumlu olan bu enzim, sinapslarda ve nöromüsküler kavşaklarda bulunur.
- Bütirikolinesteraz (BChE): ACh'nin yanı sıra diğer kolin esterlerini de hidrolize eden bu enzim, plazmada ve karaciğerde bulunur.

Kolinesterazların mekanizması genel olarak şu adımları içerir:

- Substrat Bağlanması: Asetilkolin, AChE'nin aktif bölgesine bağlanır. Bu bölgede, enzim ile substrat arasında hidrojen bağları ve van der Waals etkileşimleri oluşur (Karalı, 2014, Demir ve ark., 2022).
- Hidroliz Reaksiyonu: AChE'nin aktif bölgesindeki serin amino asidi, asetilkolinin ester bağına kırarak kolin ve asetik asit üretir. Bu işlem, enzim-substrat kompleksinin oluşumuyla başlar ve ardından su molekülü ile etkileşime girerek asetil grubunun ayrılmasına neden olur (Karalı, 2014, Demir ve ark., 2022).
- Enzimin Geri Kazanılması: Asetil grubunun ayrılmasıyla birlikte enzim geri kazanılır ve tekrar başka bir asetilkolin molekülünü hidrolize edebilmek için hazır hale gelir (Karalı, 2014, Demir ve ark., 2022).

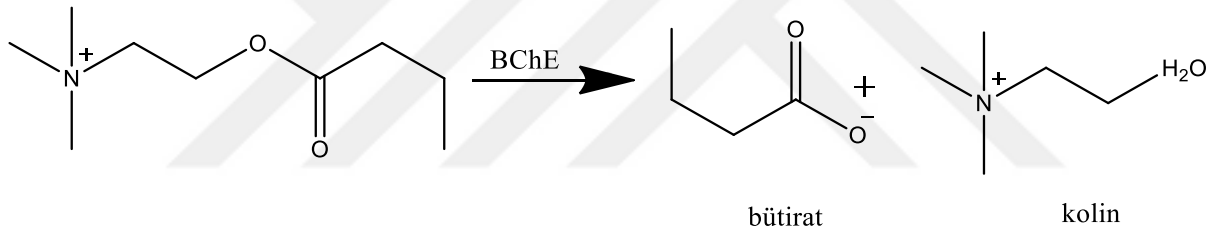
- Son Ürünlerin Geri Alımı: Hidroliz sonucunda oluşan kolin ve asetik asit, presinaptik hücre tarafından geri alınarak yeniden kullanılabilir hale getirilir (Karalı, 2014, Demir ve ark., 2022).

Kolinesteraz enzimleri, sinaptik boşlukta asetilkolinin hızlı bir şekilde parçalanmasını sağlayarak gereksiz uyarılmaları önler ve nörotransmitter seviyelerini dengeler. Bu mekanizma, özellikle merkezi sinir sistemi işlevleri için kritik öneme sahiptir; çünkü aşırı asetilkolin birikimi, kas paralizine veya aşırı uyarılmaya yol açabilir (Uludağ, 2015, Işık ve ark., 2022).



**Şekil 1. 12** Asetilkolinin hidrolizi

(Koçancı ve ark., 2016).



**Şekil 1. 13** Bütirilkolinin hidrolizi

(Koçancı ve ark., 2016).

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. Enkapsülasyon

Enkapsülasyon, parçacık formundaki homojen ya da heterojen bir matriks içine hassas olan aktif bileşiklerin hapsedildiği ve dış etkenlerden korunarak salımının gerçekleştirildiği sistemlerdir. Tekstil, kozmetik, gıda, farmakoloji gibi alanlarda kullanılmaktadır (Gökbulut ve ark., 2018).

İlaç dağıtım sistemleri, ABD'deki ulusal sağlık enstitüsü tarafından “Terapötik maddelerin vücuda girmesini sağlayan, hız, zaman ve yeri kontrol ederek etkinlik ve güvenliği artıran bir cihazın formülasyonu” olarak tanımlanmaktadır. İlaç verme süreci esas olarak şu şekilde ayrılabilir:

- İlacın veya terapötik ürünün uygulanması. Oral, topikal (cilt), nazal ve inhalasyon yolları gibi cildi veya mukozayı geçmeden bitirilen tıbbi uygulama. İlacın verilme yöntemi enjeksiyon veya nanoiğne dizisidir.
- İlacın aktif kısmının ürün tarafından salınması.
- Eylemi gerçekleştirmek için aktif bileşenlerin biyolojik zardan hedef bölgeye taşınması (Wanigasekara, 2016).

Geleneksel ilaç verme sistemleri tatmin edici düzeyde değildir. Zayıf biyoyararlanım, yan etkiler oluşturma, düşük ilaç yükleme kapasitesi, boyut aralığını kontrol etme yeteneği, ilaç seviyelerinin plazma dalgalanması, düşük terapötik etkinlik, düşük *in vivo* stabilitesi, düşük çözünürlük, ilacın salım zamanı üzerinde kontrol olmaması gibi birçok dezavantaj vardır. İlacın doku veya organa hedeflenememesi ve bazı ilaçların aktivite aralığının dar olması da dezavantajlar arasındadır (Wanigasekara, 2016).

Nanoteknoloji, özel alım mekanizmalarının sonucu olarak ilaçların oral biyoyararlanımını artırır. Nanoparçacıklar kanda uzun süre kalabilmekte ve ilaçları kontrollü bir şekilde hedef dokuya bırakabilmektedir. Kendi kendini kontrol eden ilaç salma sistemi, plazma dalgalanmasını azaltmaya ve yan etkileri en aza indirmeye yardımcı olur (Wanigasekara, 2016). Polimerik konjugatlar, polimerik miseller, polimerik nanopartiküller, dendrimerler, polimerzomlar, lipozomlar, karbon nanotüpler ve altın nanopartiküller günümüzde sıklıkla kullanılan lipid, polimer ve inorganik bazlı nanotaşıyıcı sistemlerdir (Tüylek, 2017).

İlaç salım sistemleri, terapötik etki sağlayacak farmasötiklerin vücuda alımı olarak tanımlanmaktadır. İlaç vücutta, kan yoluyla uygulanması sonucu sistemik ya da belirli bir

bölgeye yapılan uygulama ile lokal etki sağlayabilmektedir. Konvansiyonel ilaçlar hap, krem, bukkal vb. gibi uygulama yöntemleriyle kullanılmaktadır (Şahin ve ark. 2018).

İlacın gerekli bölgeler haricindeki bölgelere de iletimi hem yeterli ilaç miktarının etki etmesi istenen bölgeye ulaşamamasına hem de ilacın etki etmemesi gereken yerlere etki etmesiyle sistemik toksisiteye sebep olabilir. Ayrıca, bu ilaçlar vücuda alındığında hızlı bir şekilde vücuttan atımı gerçekleşebilir ve gerekli terapötik etki sağlanamayabilir. İlaç konsantrasyonunu kanda belli bir terapötik etki sağlayacak seviyede tutmak için konvansiyonel ilaçların sık doz alımları ile kullanılması gerekmektedir (Şahin ve ark. 2018).

Konvansiyonel ilaçların dezavantajlarından dolayı tedaviler için kullanılacak alternatif ilaç sistemleri geliştirilmektedir. Geliştirilen ve geliştirilmekte olan bu ilaç sistemleri uzun süreli, rötarlı ve kontrollü salım yapabilen sistemleri kapsamaktadır. Bu sistemlerden salınan ilaç miktarı ve süresi kontrol edilerek hastalarda minimum ya da daha az yan etkiye sebep olması hedeflenmektedir (Şahin ve ark. 2018).

Gastrointestinal enzimlerin sindirim etkisine dirençli oldukları için bütünlüklerini koruyan polisakkaritlerin matrikslerinin mide ve ince bağırsağın fizyolojik ortamında bozulmadan kaldıkları varsayılır, ancak kolona ulaştıklarında bakteriyel polisakkaritler tarafından etki edilirler ve matrikslerin bozulmasına neden olurlar (Choundhary ve ark., 2020).

Çok sayıda polisakkarit, kolon hedefli ilaç dağıtım sistemlerinde kullanımları için araştırılmıştır. Kolon hedefli ilaç dağıtımı için polisakkarit türevlerinin geliştirilmesindeki en önemli gerçek, uygun biyolojik olarak parçalanabilen polisakkaritlerin seçilmesidir (Choundhary ve ark., 2020).

Kolon için polisakkarit bazlı bir dağıtım sisteminin geliştirilmesinin mantığı, insan kolonunda büyük miktarlarda polisakkaritlerin mevcudiyetine bağlıdır, çünkü kolonda çok sayıda ve çeşitli enzimler salgılayan çok sayıda bakteri bulunur (Choundhary ve ark., 2020). Enkapsülasyon prosesi üç adımda oluşur. Prosesler aşağıda anlatılan şekilde gerçekleşir.

- İlk proste, çekirdekteki madde kaplanır.
- İkinci proste, salımın gerçekleşmemesi için çekirdekteki maddenin polimer içinde kalması sağlanır.
- Üçüncü proste, etken maddenin doğru zamanda ve hızda salımı sağlanır (Ed. Mishra, 2016).

### **2.1.1. Enkapsüle Edilen Malzemeler**

Katı, sıvı ve gaz haldeki maddelerin, hücre materyalinin veya protein/ karbonhidrat bazlı malzemelerin bir kaplama materyali ile kaplanmasına enkapsülasyon denir. Kimya, gıda, ziraat,

tıp, dişçilik, biyoteknoloji gibi birçok alanda kullanılan bu teknik kaplanan materyali dış etmenlerden koruyarak stabilitesini sağlamaya yardımcı olur. Probiyotiklerin kaplanması ve meyve ile sebzelerden elde edilen doğal renklendiricilerin stabil kalması için bu yöntem kullanılır (Gökmen ve ark., 2012).

### **2.1.2. Enkapsülasyonda Kullanılan Kaplama Malzemeleri**

Enkapsülasyonda kullanılan kaplama malzemeleri doğal ve sentetik polimerler olarak iki grupta incelenmektedir. Doğal polimerler için kitin, aljinat, selüloz, ipek, kolajen ve hyalüronik asit sayılabilir. İn vivo koşullarda zararsız olarak değerlendirilen bu polimerler medikal ve dental uygulamalarda kullanılmaktadır. Kolay modifiye edilebilmeleri ve kolaylıkla bulunabilmeleri avantaj iken, mikrobiyal kontaminasyon ve zayıf mekanik dayanım dezavantajları arasında yer almaktadır (Aydın ve ark., 2021).

Sentetik polimerler için polietilenoksit, polietilen glikol ve polikaprolakton örnek verilebilir. Ucuz ve biyobozunur olmaları tercih sebebidir. Polikaprolaktonun kristal özelliği yüksek oranda hidrofobikliğe neden olmaktadır, bu şekilde degradasyon yavaşlamaktadır. Biyonik bozulmaya duyarlı bir polimerdir (Aydın ve ark., 2021).

#### **2.1.2.1. Sodyum Aljinat**

Kaplama materyali olarak sıklıkla kullanılan polisakkaritler doğa açısından da sürdürülebilirdir. Suda çözünabilirliği, biyouyumluluğu, biyoçözünürlüğü ve toksik olmaması açısından aljinat hidrojelieri son yıllarda revaçtır. İlaç, bitki ekstraktı ve yiyeceklerin enkapsülasyonu için istenen özelliklere sahiptir.  $Ca^{+2}$  ve aljinatla oluşturulan sistemde yumurta kutusu modeli sayesinde farklı büyüklükteki moleküller yüksek verimle kaplanabilmektedir. Aljinat omurgasında bulunan serbest hidroksil ve karboksil grupları nedeniyle hidrofilik olduğundan dolayı kimyasal modifikasyon gerekmektedir (Wong ve ark., 2021).

Sodyum aljinat, Azotobakter ve Pseudomonas bakterileri tarafından sentezlenen veya deniz yosunlarında bulunan toksik olmayan bir polimerdir. (1,4)- bağlantılı  $\beta$ -D-mannuronat (M) ve  $\alpha$ -L-guluronat (G) monomerlerinden oluşan bir blok kopolimer olan aljinatın, kanıtlanmış biyouyumluluğu ve hafif fizyolojik koşullar altında hidrojelieri oluşturma yeteneği nedeniyle biyomedikal uygulamalarda kullanımına büyük ilgi vardır. Ek olarak, kontrol edilebilir bozunması, kimyasal modifikasyon ve dağıtım kolaylığı, kendi kendini iyileştirme özellikleri, aljinatı ilaçta özellikle çekici kılmaktadır (Banks ve ark., 2019, Szekalska ve ark. 2018, Gökbulut ve ark., 2018).

Emülsifikasyon metodu kullanılarak  $\text{CaCl}_2$ 'ün sodyum aljinat mikroparçacıkları ile çapraz bağlanması sonucu oluşan jel yapı en çok kullanılan ve bilinen yöntemdir. Bu yöntemin dezavantajları; enkapsülasyon verimliliğinin düşük olması, suda çözünebilen ilaçların etkinliği, organik çözücü kalıntıları ve düşük üretim verimidir (Szekalska ve ark. 2018).

Aljinat bazlı yapılar, kemik ve doku rejenerasyonu, tedavisi, yara ve ilaç salım sistemleri için yaygın olarak kullanılmaktadır. Aljinat hidrojel mikro boncuklar fizyolojik koşullar altında şişmeye meyilli olmalarına rağmen, genellikle stabil kalırlar ve gastrointestinal kanalda (GIT) kontrollü terapötik ilaç salımına ilişkin olarak oral ilaç dağıtımı için yavaş kalırlar. Bazik fonksiyonel gruplara sahip kimyasal modifikasyonlarla yapılan aljinat mikro boncukların, asidik veya bazik çözeltilere maruz kaldıklarında asidik fonksiyonel gruplara sahip olanlara göre ters şekilde işlev göreceği varsayılmıştır. Bu nedenle, aljinat polimerinin kimyasal modifikasyonu, istenen bir pH'ta aljinatın şişme kapasitesini ve/veya suda çözünürlüğünü artırarak salım hızının kontrol edilmesi için bir seçenek olacaktır. Kimyasal ve fiziksel çapraz bağlamaya dayalı hidrojel polimerleri, oluşumu ve özellikleri üzerine bir dizi çalışma, büyük ölçüde malzemenin ağ yapısına ve geçirgenliğine dayanmaktadır (Banks ve ark., 2019).

Sodyum aljinat ve  $\text{Ca}^{+2}$  iyonunun tepkimesiyle jel yapıda oluşan aljinat partikülleri, pH sorumluluğu, biyolojik olarak parçalanabilirlik, biyolojik olarak yapışma ve toksik olmama gibi özellikler gösterir. pH duyarlılığı konusunda, aljinat parçacıkları, aljinatın yavaşça çözünmesiyle  $\text{pH} > 6$  civarında şişer; ancak düşük pH değerlerinde jel içinde çözünmeyen aljinik aside dönüşür. Bu sebeple kontrollü salım sistemlerinde kullanılabilen aljinat çözeltilerinde düşük pH'ta salım gerçekleşmez, yüksek pH derecelerinde ise salım gerçekleşir. İçerisinde bulunan çok sayıda hidroksil ve karboksil grubundan oluşan aljinat parçacıkları hidrofilik olduğu için Pickering emülsiyonlarında kullanılırken modifikasyona ihtiyaç duyar (Zhang ve ark., 2017).

### **2.1.2.2. Polilaktik asit (PLA) ve Polikaprolakton (PCL)**

Elektroeğirme, iyi kapsülleme verimliliğine sahip kuru, gıda sınıfı, nano ölçekli malzemeleri etkili bir şekilde ürettiğinden, gıda biyoaktif maddelerinin kapsülasyonu için uygun bir yöntemdir (Li ve ark., 2020, İnce Yardımcı ve ark., 2020).

PLA, biyolojik sıvılarla doğrudan temas için FDA onaylıdır. PLA'yı ilaç taşıyıcıları için avantajlı kılan temel özelliklerden biri de biyolojik olarak parçalanabilirliğidir. PLA, hücre dışı ortamlarda kolayca çözünebilir ve bozunma hızı, istenen etkiyi elde edecek şekilde modüle edilebilir. Özellikle ilaç taşıyıcı sistemler için, bu bozunmanın kinetiği, tıbbi maddelerin sürekli salınımını muhafaza edecek şekilde genişletilebilir. Bu, ilacın etkisini göstermesi için yeterli

zamanı sağlar; bu çok önemlidir çünkü bu terapötik strateji, metabolik süreçler tarafından potansiyel olarak azaltılabilir (DeStefano ve ark., 2020).

PCL, olağanüstü mekanik mukavemeti, biyouyumluluğu ve biyolojik olarak parçalanabilirliği nedeniyle yara örtüsü uygulamaları için oldukça değerli bir polimerdir. Polikaprolakton (PCL), kolay eğrilebilirliği nedeniyle elektroegirme işleminde yaygın olarak kullanılan bir polimerdir. Biyouyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilir özellikleri nedeniyle PCL, FDA onayı almış ve yara örtüsü uygulamaları ve dağıtım sistemleri gibi biyomedikal uygulamalarda kullanım için umut vadeden yarı kristal bir polyesterdir. Cilt yenilenmesi için en popüler biyopolimerlerden biri, filmler, matlar, membranlar ve lifler dahil olmak üzere çeşitli formlara kolayca işlenebilir (Ramamoorthy ve ark., 2023, Chacor ve ark., 2022).

### **2.1.3. Enkapsülasyon Teknikleri**

Enkapsülasyon teknikleri yedi başlık altında incelenmektedir. Bunlar kokristalizasyon, koaservasyon, emülsifikasyon, iyonik jelasyon, miselleme- lipozomal kaplama, liyofilizasyon ve sprey kurutmadır.

#### **2.1.3.1. Kokristalizasyon**

Kokristalizasyon prosesi, çekirdek materyalinin birleştirilmesinde sükrozun matris olarak kullanılmasıdır. Sükroz- çekirdek materyali kokristalizasyon işlemi, çekirdek materyalinin aşırı doymuş sükroz şurubuna güçlü mekanik çalkalama altında karıştırılmasıyla gerçekleşir (Ed. Mishra, 2016).

#### **2.1.3.2. Koaservasyon**

Çeşitli organik moleküllerin hidrofobik kuvvetler tarafından bir arada tutulduğu 1-100 µm aralığında olan küçük küresel damlacıklara koaservat adı verilir. Basit ve kompleks koaservat olarak ikiye ayrılan bu yöntemde, çözücü giderme ajanının faz ayrımı için kullanılması basit koaservat, iki farklı yükle yüklenmiş polimerin kompleks oluşturulmasına kompleks koaservasyon denir. Sıvı çökeltinin faz ayrımı veya iki hidrofilik kolloidin çözeltisinin uygun şartlarda karıştırılmasıdır (Ed. Mishra, 2016).

### 2.1.3.3. Emülsifikasyon/ Emülsiyon Prosesi

Suda çözünen veya lipofilik aktif madde taşıyıcı sistem olarak kullanılan emülsiyonlarda, yüzey aktif madde suda çözünür ve miselin iç kısmı polimerizasyon için gerekli yeri sağlar. Polimerizasyon ilerledikçe, misel büyüyerek aktif maddeyi kaplar. (Ed. Mishra, 2016)

Lipofilik aktif maddeler S/Y emülsiyonu yöntemiyle kaplanabilir. Üniform emülsiyon damlacıklarının üretilebilmesi için birden çok teknoloji geliştirilmiştir. Kapsüllenmiş aktif maddelerin salım mekanizması, üniform/dar dağılmış emülsiyonlarla daha iyi anlatılabilir. Emülsiyonlar kuru toz form için sprey kurutma veya dondurarak kurutma yöntemiyle kurutulabilir (Ed. Mishra, 2016).

### 2.1.3.4. İyonik jelasyon

Kapsüllenmiş malzeme hazırlamak için en kolay yollardan biri olan iyonik jelasyon yöntemi, biyopolimer jel ağıyla aktif maddenin mikropartiküller halinde oluşturulmasıdır. Enzim, maya, aroma, probiyotik gibi aktif maddeler içeren yağ damlalarının enkapsüle edilerek jel boncuklar haline getirilmesinde kullanılan kalsiyum aljinat jeli en yaygın olarak kullanılan iyonik jelasyon kaplama sistemidir. +2 ve +3 yüklü katyonlar varlığında gerçekleşen aljinat jelasyonunda, jel polimerlerden oluşturulan mikroküreler pipet, şırınga veya titreşimli nozul gibi araçlarla mikrodamlacık haline getirilirler. Bu damlacıklar kalsiyum klorür çözeltisi gibi bir çapraz bağlı duvar materyali sayesinde sertleştirilir (Ed. Mishra, 2016).

Polimer çözeltisinin S/Y oranını değiştirerek veya boyut küçültücü yöntemler kullanılarak mikroküre boyutu kontrol edilebilir. Özel olarak oluşturulmuş emülsiyonlarla da mikroküreler elde edilebilir. Kalsiyum klorür, su damlacıklarının olduğu aljinat emülsiyonuna eklenerek etken maddeyi taşıyan yağ damlacıklarını kapsülleyerek aljinat mikroküreler elde edilir (Ed. Mishra, 2016).

Hidrojeller, doğal şişme/su tutma özelliklerinin yanı sıra terapötik ajanların tutarlı ve öngörülebilir salım oranları nedeniyle ilaç dağıtım çalışmaları için kilit bir odak noktası olmuştur. Ayrıca oral ilaç dağıtımı sırasında terapötik ilaçları asidik mide ortamı gibi zararlı koşullardan koruma aracı olarak kullanılırlar. Birçok ilaç taşıyıcı hidrojel, hipertansiyon, ağrı yönetimi, enfeksiyonlar ve yanık sargıları dâhil olmak üzere çok çeşitli terapötik uygulama sargıları için halihazırda piyasada bulunmaktadır. pH duyarlılığına dayalı ilaç salımı, asidik mide pH'ı (<3.0) ve daha nötr bağırsak pH'ı arasındaki büyük fark nedeniyle ağızdan ilaç dağıtımı için yararlıdır (Banks ve ark., 2019).

### 2.1.3.5. Lipozom

Hem hidrofilik hem hidrofobik etken maddeleri kaplayabilen 25 nm-10 µm boyutlarında fosfolipidlerden oluşan veziküllere lipozom denir. Bir veya daha fazla lipid katmanından oluşur ve aşı, hormon, enzim ve vitaminlerin taşınımında kullanılır (Ed. Mishra, 2016).

### 2.1.3.6. Liyofilizasyon

Dondurarak kurutma veya diğer adıyla liyofilizasyon işleminde, aroma, suda çözünür maddeler gibi sıcaklık duyarlı malzemelerde kullanılan basit bir enkapsülasyon tekniğidir. Uzun bir dehidrasyon prosesi gerekmektedir (Ed. Mishra, 2016).

### 2.1.3.7. Sprey Kurutma

Yağ, rahiya ve aromaların mikroenkapsülasyonunda kullanılan püskürterek kurutma yöntemi, sıvı maddeleri kuru toz maddeye çevirmek amacıyla 1950’li yılların sonlarından beri kullanılmaktadır (Ed. Mishra, 2016).

## 2.2. Enterik kaplama

Enterik kaplama, bir kapsülün midede çözünmeyerek bağırsakta çözülerek emilmesi için yapılan kaplamaya verilen addır. İntestinal sistemde çözünmenin sağlanması için, kapsülün mide ortamı pH’ına dayanıklı olması gerekmektedir. Hem ilacın midede çözünmesinin mide ortamına zarar vermesini engellemek hem de ülseratif kolit gibi bağırsak rahatsızlıklarının iyileştirilebilmesi ve polipeptidlerin emilmesi için ilaçların mide ortamından çözünmeden geçmesi gerekmektedir. Geçiş süresinin uzun olması ve endojen enzimlerin kolonda bulunmaması sebebiyle polipeptidlerin emilimi kolaylaşabilir (Kattamuri ve ark., 2020).

Enterik kaplamanın ana amaçları;

- Etkin maddeyi mide ortamındaki düşük pH’tan korumak.
- İlacın yarattığı mide rahatsızlıklarını önlemek
- Bağırsakta emilmesi gereken ilaçların bağırsakta emilimini sağlamak
- Gecikmiş salım sağlamak.
- İlaçların ilk geçiş etkisini azaltmak (Hussan ve ark., 2012)

Enterik kaplama malzemesinin özellikleri

- Gastrik ortama direnç
- Bağırsak ortamına uyumlu ve geçirimli yapı
- Çoğu kaplama materyali ve ilaç katmanlarıyla geçimlilik

- Toksik olmama, ucuz ve kolay üretim (Hussan ve ark., 2012)

Modifiye (değiştirilmiş) salımda (MR) polimerlerin kullanım amacı, ilaç içeriğinin asitli mide ortamından etkilenmeden bağırsağa geçebilmesidir. Bu sistem geciktirilmiş salım (DR) olarak da literatürde yer alır. Polimerler çözünürlüğü az olan aktif farmasötik içeriklerin (API) biyoyararlanım ve çözünürlüğünün artması için kaplama prosesinde de kullanılır (İslam ve ark., 2016).

Kaplama yapmak için üç önemli sebep vardır. Bunlar; mideyi ilaçtan korumak, ilacı mideden korumak, ilacın bağırsakta emilimini sağlamak (İslam ve ark., 2016).

Vücut içerisinde, su, tuz ve gazlar tarafından çözünebilen polimerlere biyoçözünür polimerler denir. Ester, eter ve amid fonksiyonel gruplarını içeren bu yapıları doğal veya sentetik olarak bulunurlar (İslam ve ark., 2016).

İlacın kontrollü veya gecikmiş salımının kontrolü için kullanılan kaplamalar sayesinde oral yolla alınan ilaçlarda ilaç midenin asiditesinden etkilenmemektedir. Asidik ortamda (pH ~3) değil ince bağırsağın alkali ortamında çözünen polimerlerden bazıları, yağ asitleri, plastikler ve bitki lifleridir (İslam ve ark., 2016).

Enterik kaplamada kullanılan malzemelerde;

- Midenin asidik yapısına dayanabilme,
- Midede rahatsızlık yapmama,
- Bağırsak ortamında aktifleşme,
- Bağırsak ortamında absorplanma,
- Eğer gerekiyorsa geciktirilmiş salım yapma gibi özellikler aranmaktadır (İslam ve ark., 2016).

Enterik kaplamanın amaçları;

- Düşük pH'larda etken maddenin asit ataklarından korunması
- İlaçların mideyi rahatsız etmesini engellemek
- İlacın absorpsiyonunun mideden uzak olacak şekilde olmasına izin vermek
- Bağırsaktaki belirli bölgedeki planlanan eylem için ilaç taşınımı (İslam ve ark., 2016).

## 2.3. Kontrollü Salım

### 2.3.1. İlaç salım kinetiği

pH, enzim, manyetik alan, sıcaklık veya konsantrasyon farkı gibi uyarıların cevapları veya zaman doğrultusunda bileşiklerin taşınımı ve ortamda bulunması durumu kontrollü salım

sistemini anlatmaktadır. Etken maddenin istenilen zaman, yer ve hızda ortamda bulunması olarak da açıklanabilir (Ed. Mishra, 2016).

İlaç, tarım, kozmetik, gıda bilimleri ve kişisel bakım gibi alanlarda çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadır. Bu terminoloji genel olarak oral doz formülasyonlarında zamana bağlı salım, sürekli salım ve gecikmeli salım anlamına gelir. Kontrollü salım sistemi tasarlamının birçok avantajı olduğu kadar biyouyumluluk, biyolojik olarak parçalanamıyorsa kontrollü salım sisteminin akıbeti, formülasyon maliyeti gibi zorlukları da vardır. Aktif bileşenin salımı genellikle kabuk malzemesinin çözünmesi, bozulması veya parçalanması ile gerçekleştirilir. Enterik kaplamalar dâhil diğer kapsülleme teknolojileri, salım profillerini daha da değiştirebilir. Mikroenkapsülasyon, çözünme profillerini kontrol edebilen bir teknolojidir. Çözünme hızları, mikrokapsülü çözünmeyen maddelerle daha fazla kaplayarak daha da kontrol edilebilir (Ed. Mishra, 2016).

İlaç salım kinetikleri, ilaçların vücutta zamanla nasıl yayıldığını, emildiğini ve atıldığını inceleyen bir bilim dalıdır. Bu alandaki çalışmalar, özellikle kontrollü ilaç salım sistemlerinin geliştirilmesi açısından büyük önem taşır. İlaçların vücutta yayılması genellikle difüzyon mekanizmaları ile açıklanır. Fick'in difüzyon yasası, bu süreçte önemli bir rol oynamaktadır. İlaç salımı sırasında, moleküllerin konsantrasyon farkı nedeniyle hareket ettiği varsayılır. Bu mekanizma, özellikle hidrojel gibi yapılar için geçerlidir (Öncel, P. 2013, Kızılhan, E., 2022) *In vitro* ilaç salım kinetikleri birkaç farklı matematiksel modelleme ile ifade edilebilir.

#### 2.3.1.1. Sıfırıncı derece model

Sıfırıncı derece kinetik modeli, ilaçların vücutta belirli bir hızda serbest bırakıldığı durumları tanımlamak için kullanılan önemli bir matematiksel modeldir. Bu model, özellikle ilaçların belirli bir konsantrasyona ulaşmadan ve bu konsantrasyondan bağımsız olarak sabit bir hızda salındığı durumlarda geçerlidir. Kontrollü ilaç sistemleri ve farmasötik formülasyonlarda uygulanmaktadır (Şimşek, C., 2016, Kızılhan, E., 2022, Ediz, E. F., 2023).

$$Q = kt + Q_0 \quad (1)$$

Q: t zamanda salınan etken madde miktarı

Q<sub>0</sub>: t=0 anında bulunan etken madde miktarı

k: hız sabiti

t: zaman (Treenate ve ark., 2017)

### 2.3.1.2. Birinci derece model

Birinci derece kinetik modeli, ilaçların vücutta zamanla nasıl salındığını ve konsantrasyonlarının nasıl değiştiğini açıklamak için kullanılan bir matematiksel modeldir. Bu model, özellikle ilaçların emilimi ve eliminasyonu gibi süreçlerde yaygın olarak uygulanır. Salım hızı, mevcut ilaç konsantrasyonuna bağlıdır. Yani, ilaç miktarı azaldıkça salım hızı da azalır (Şimşek, C., 2016, Ediz, E. F., 2023).

$$Q = Q_0 e^{kt} \quad (2)$$

Q: t zamanda salınan etken madde miktarı

$Q_0$ : t=0 anında bulunan etken madde miktarı

k: hız sabiti

t: zaman (Treenate ve ark., 2017)

### 2.3.1.3. Higuchi modeli

Higuchi modeli, çeşitli farmasötik dozaj formlarının (örneğin, matris tabletler ve transdermal sistemler) ilaç salım profillerini tanımlamak için kullanılır. Özellikle suya çözünebilen ilaçların salımında etkili bir şekilde uygulanır. Higuchi modeli, ilaç salım mekanizmalarının anlaşılmasında önemli bir araçtır. Bu model sayesinde, ilaçların matris sistemlerinden nasıl serbest bırakılacağı ve hangi koşullar altında bu sürecin gerçekleşeceği daha iyi anlaşılmaktadır. Uygulamalarda elde edilen veriler, bu model aracılığıyla analiz edilerek ilaç formülasyonlarının optimize edilmesine katkı sağlamaktadır (Şimşek, C., 2016, Ediz, E. F., 2023).

$$Q = kt^{0.5} \quad (3)$$

Q: Belirli bir zamanda serbest bırakılan ilaç miktarı.

k: Higuchi çözünme sabiti.

t: Zaman (genellikle saat cinsinden). (Treenate ve ark., 2017)

### 2.3.1.4. Korsmeyer-Peppas modeli

Korsmeyer-Peppas kinetik modeli, ilaç salım kinetiklerini analiz etmek için yaygın olarak kullanılan bir matematiksel modeldir. Bu model, özellikle polimerik sistemlerde ilaç salım mekanizmasını anlamak için geliştirilmiştir ve hem difüzyon hem de erozyon süreçlerini içerir (Öncel, P., 2013, Şimşek, C., 2016, Ediz, E. F., 2023).

$$Q = \frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad (4)$$

$M_t/M_\infty$ : t zamanında salınan etken madde fraksiyonu

k: Salım hız sabiti

n: Salım kuvveti

t: Zaman (Treenate ve ark., 2017)

Korsmeyer-Peppas modelinde, “n” değeri, salım mekanizmasının karakterizasyonu açısından kritik öneme sahiptir:

- $n < 0.5$ : Fickian difüzyon (basit difüzyon).
- $0.5 < n < 1.0$ : Anomal difüzyon (hem difüzyon hem de erozyon etkili).
- $n = 1.0$ : Sıfırıncı derece kinetik (sabit hızda salım).

Bu değerler, sistemin yapısına ve kullanılan polimere bağlı olarak değişiklik gösterebilir.

#### 2.3.1.5. Hixson- Crowell modeli

Hixson-Crowell kinetik modeli, ilaçların salımını açıklamak için kullanılan bir matematiksel modeldir. Bu model, özellikle katı dozaj formlarında, partiküllerin yüzey alanı ve hacmindeki değişikliklerle ilişkili olarak ilaç salımını incelemek için geliştirilmiştir. İlaç salımı sırasında, partiküllerin yüzey alanı ve hacmi arasında bir ilişki vardır. Model, partikül hacminin küp kökü ile yüzey alanının değişimini dikkate alır. İlaç partiküllerinin boyutları, sistemin genel kalınlığından çok daha küçüktür (Ediz, E. F., 2023).

$$W_0^{1/3} - W_t^{1/3} = Kt \quad (5)$$

$W_0$ : başlangıç zamanındaki ilaç miktarı

$W_t$ : t zamanda kalan ilaç miktarı

K: sabit katsayı

t: zaman (Craciun ve ark., 2019)

#### 2.4. Literatür Çalışmaları

Smruthi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, kapsüllenmesinde PLA/PVA veya zein/pektin kullanılan naringenin yüklü nanokapsüller incelenmiştir. Gastrointestinal koşullar altında, serbest naringenin, PLA/PVA- naringenin veya zein/pektin- naringenin kıyaslandığında, naringenin biyoyararlanımı sırasıyla 4,7 ve 1,9 kat artmıştır (Smruthi ve ark., 2022).

Maity ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, diyabetik sıçanlarda oral yolla naringenin nanopartikülleri alımının toksik etki göstermediği, %91 kapsülasyon verimine sahip olduğu ve antidiyabetik etki gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır (Maity ve ark., 2017).

Rutin ve kuersitrinin seçilme sebebi, amfifilik yapılarından dolayı S/Y arayüzünde Pickering emülsiyonu oluşturabilme kabiliyetleridir, ancak cildin koruyucu katmanını oluşturan seramid dolgusunun açıl zincirlerini parçalar. Duftonun yaptığı çalışmada, rutin, izokuersetin ve kuersetin birlite Pickering emülsiyonunda kullanımının derinin en üst tabakası olan Stratum corneum'a nüfuz etme davranışının değiştirdiğini göstermiştir. Flavonoidlerin polaritesi, yağ ve flavonoidlerin emülsiyondaki yeri, formülasyon aşamasında çok önemlidir (Dufton, 2018).

Gliadin- sodyum aljinat koaservat parçacıklarının, trasglutaminaz ve  $Ca^{2+}$  ile pickering emülsiyonu yardımıyla kaplanmasının çalışıldığı çalışmada, gliadin ve sodyum aljinat arasındaki elektrostatik etkileşim pH 3-7 arasında gerçekleşmektedir. pH 3,5'ta %91,8 ile en yüksek yağ enkapsülasyon verimi elde edilmiştir. TG ve  $Ca^{2+}$  ile oluşturulan Pickering emülsiyonu ile çapraz bağlanan yapılarda sertlik, bağlayıcılık, yapışkanlık ve elastikiyet gibi özelliklerinin çapraz bağlanan yapı içermeyen yapılarla kıyaslandığında pozitif yönde etkilendiği görülmüştür (Wang ve ark., 2021).

Li ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, zeytin yağı nişasta ve  $\beta$ - siklodekstrin içeren Pickering emülsiyonu ile nano boyutta kaplanmıştır. Bu kaplama sayesinde raf ömrü 6 ay kadar uzamış olup, bu süreçte kremleşme değeri stabil kalmıştır. Konfokal mikroskobu ile incelenen nanopartiküllerde, nişasta ve  $\beta$ - siklodekstrinin yağ damlacıkları etrafında absorbe olduğu görülmüştür (Li ve ark., 2022).

Kitosan nanopartiküllerinin ortalama partikül boyutu  $280 \pm 11$  nm ve polidispersite indeksi (PDI)  $0,4 \pm 0,1$  olarak ölçülmüştür. S/Y Pickering emülsiyonu yöntemi ile hazırlanan hesperidin kapsüllerinin ortalama çapı  $5,4 \pm 2$   $\mu$ m ve PDI  $0,3 \pm 0,1$  olarak ölçülmüştür. Konfokal lazer mikroskobu ve taramalı elektron mikroskobunda incelenen partiküllerin, jelatin filmlerin reolojik ve yapısal özelliklerini pozitif yönde iyileştirdiği, stabilizasyonunu kolaylaştırdığını ortaya koymuştur (Dammak ve ark., 2019).

Dammak ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, hesperidinin lesitin ile güçlendirilmiş Pickering emülsiyonlarının kitosan nanopartikülleri ile stabil hale getirilmesi konusu çalışılmıştır. Yağda çözünebilen bileşenleri kapsüllemeye kullanılabilecek olan bu yöntemde, optimal formülasyonda kitosan nanopartikülleri ve lesitin konsantrasyonları sırasıyla %1,1 ve %4,4 olarak bulunmuştur. S/Y oranı 0,24 olan bu emülsiyonda ESI değeri  $0,8 \pm 0,02$  ile yüksek bir değer olarak ölçülmüştür (Dammak ve ark., 2018).

Elma, portakal, kahve, şarap gibi yiyecek ve içeceklerde bulunan flavonoidlerin inflamasyon mekanizmasını düzenleyerek nörodejenerasyonu engellediği veya gerilettiği düşünülmektedir. Antiviral, anti alerjenik, antioksidan, antikoagülan gibi özellikleri olan flavonoidlerin birçok hastalığa karşı koruyucu özelliği bulunmaktadır (Yıldırım ve ark., 2020).

Flavonoidler, başlıca farmakolojik aktiviteleri gerçekleştiren bitkilerde bulunan bir bileşik sınıfıdır. Meyveler, sebzeler, meyve suları, tahıllar, çay ve şarap ana besin kaynaklarıdır. Flavonoidler, antioksidanlar olarak hareket etmek de dâhil olmak üzere çeşitli biyolojik aktiviteler gerçekleştirir. Serbest radikalleri temizleyebilir, elektronları serbest radikallere aktarabilir ve kendi kendine oksidasyonu sınırlamak için metal katalizörleri birleştirebilir (Öztürk Özkan, 2022).

Flavonoidlerin, nörogelişim için tasarım ölçeğinde geniş önlemler ve değişikliklerle koruyucu ajanlar oldukları bilinmektedir. Nörodejeneratif stres tedavisinde oksidatif stres çok önemlidir. Alzheimer hastalığı evreleri oksidatif stres tarafından şiddetlenir. Prooksidanlar ve stabilizatörler açısından oksidatif stres kritiktir. Hafif nesnelerin üretilmesini sağlayan sistem ile bunların nötralizasyonunu sağlayan sistem arasındaki ilişki bu dengesizlikten arındırılır (Öztürk Özkan, 2022).

Tau proteininin birikmesi, aşırı fosforilasyonu, iltihaplanma, mitokondriyal aktivitenin kaybı ve metal birikimi Alzheimer hastalığında oksidatif stresin temel nedenleridir (Öztürk Özkan, 2022).

Flavonoidler, amiloid plaklarının oluşumunda ve birikmesinde rol oynayan anahtar enzimleri inhibe ederek amiloid plaklarının oluşumunu engeller. Ayrıca, yüksek seviyelerde tau protein fosforilasyonu önlenir. Antioksidan özellikleri, metal atılımını destekleyici özellikleri ve sinyal yollarıyla etkileşime girme potansiyelleri nedeniyle flavonoidler, Alzheimer hastalığının önlenmesinde önemlidir (Öztürk Özkan, 2022).

Flavonoid takviyesinin bilişsel yeteneği arttırdığı gösterilmiştir. Anti-inflamatuar yollar ayrıca flavonoidler tarafından Alzheimer hastalığıyla savaşmak için kullanılır (Öztürk Özkan, 2022).

Hesperitin, flavanon ailesine ait narenciye meyvelerinde bulunan bir flavonoiddir. Antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklerinden dolayı nöroprotektif özelliklere sahiptir. Bir birikimin sonucu olarak nöronlardaki insülin sinyalleri engellenir ve membran reseptör aktivitesi azalır. Bunun sonucunda Alzheimer hastalarının beyinlerindeki insülin seviyeleri ve glikoz taşıyıcıları düşer. Bir birikim, dokularda azalmış glikoz emilimiyle ve hücrel otofaji yoluyla nöron ölümüyle ilgilidir. Hesperitin, hücrel otofajiyi zayıflatırken nöronlar üzerinde koruyucu bir etki gösterir. Bu flavonoid davranış sorunları, Aβ birikimi ve nöroinflamasyon ile

bağlantılıdır. Hesperitin, amiloid beta oluşumunu ve APP oluşumunu iyileştirirken mikroglia aktivasyonunu inhibe edebilir (Öztürk Özkan, 2022).

Wu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, kamelya yağının stabilitesini ve biyoyararlanımını artırmak ve su bazlı çözeltilerdeki kullanımını genişletmek amacıyla soya fasulyesi protein izolatu (SPI) ve kuersetin (Qu) bileşenleri kullanılarak (SPIQU) oluşturuldu. Bunun ışığında, bu çalışma SPI ve Qu arasındaki hidrofobik temas ve hidrojen bağlarını kullanarak, kurkuminin yağda çözünebilen aktif bileşen olarak ve kamelya yağının yağ fazı olarak kullanıldığı emülsiyonları oluşturmak için kullanılan bir duvar malzemesi olan SPIQU'yu oluşturur. Amaç, yağlama sistemlerinde kullanılabilecek yeni bir SPIQU duvar malzemesi oluşturmak ve Pickering emülsiyonları üretmektir (Wu ve ark., 2023).

SPIQU kullanılarak duvar malzemesi olarak çeşitli işlevsel Pickering emülsiyon sistemleri oluşturulabilir, SPIQU, yağda çözünebilen aktif bileşenlerin yanı sıra kararsız, işlevsel veya tat iyileştirici yağ sistemlerinin (soya fasulyesi yağı, uçucu esansiyel yağlar, derin deniz balık yağları vb.) kapsülasyonu için de kullanılabilir. Gelecek çalışmalar, aktif bileşenleri ve yağ fazı gömme oranını, ayrıca emülsiyonların gıda hazırlama ve tüketimi süresince stabilitesini ve sindirilebilirliğini belirlemek için gereklidir (Wu ve ar., 2023).

Yapılan başka bir çalışmada, kitosan/hesperidin nanopartikülleri (Hes-Nanopartikülleri) iyonotropik jelleşme tekniği ile hazırlanmıştır. Bu, tıbbi ve biyolojik amaçlar için yüksek kapsülleme verimliliğine sahip mikro ve nanopartiküller üretmek için basit ve çok yönlü bir yöntemdir. Birçok ilaç bu teknik kullanılarak başarıyla kapsüllenmiştir. Karşıt yüklere sahip iki biyopolimer sulu bir kolloidal ortamda etkileşime girdiğinde, bir çözelti iki sıvı faza ayrılır; bu olaya kompleks koaservasyon denir (Almukainzi ve ark., 2024).

Yapılan çalışmada, iyonik jelleşme tekniği ile hazırlanan kitosan/hesperidin nanopartiküllerinin antioksidan ve antitümör aktiviteleri karşılaştırılmıştır. İyonik jelasyon tekniğinin, kapsülleme ile önemli ölçüde artırılan tıbbi formülasyonların biyoyararlanımı gibi birçok faydası vardır. Polimer ve ilaç arasındaki etkileşimler ideal olduğunda neredeyse %100 kapsülleme verimliliği mümkündür (Almukainzi ve ark., 2024).

Formülasyon, doğal ve biyolojik olarak parçalanabilir biyoyumlu polimerler kullanıldığı için muko-adezyonun yanı sıra diğer temel biyolojik özelliklere sahiptir. Hesperidinin hem iç hem de dış yolları indüklediği ve bunun da çeşitli kanser hücrelerinde apoptotik hücre ölümünü uyardığı gösterilmiştir. Mevcut yaklaşım, hesperidinin kitosan nanopartiküllerine eklenmesinin hesperetin bağlanmasını ve içselleşmesini iyileştirdiğini ve bunun da kanser hücrelerinin öldürülmesini artırdığını göstermiştir. Kemoterapötik ilaçlar, kanser hücreleri tarafından

nanopartiküllerin lizozomlara etkili bir şekilde içselleştirilmesiyle sonuçlanarak kanser hücresi ölümlerinde artışa yol açtığı gösterilmiştir (Almukainzi ve ark., 2024).



### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Kullanılan Malzemeler

Rutin hidrat (%94 HPLC), naringin ( $\geq$ %90 HPLC) ve hesperidin ( $\geq$ %80 HPLC) etken maddeleri Sigma- Aldrich (Almanya)'ten satın alınmıştır. Zeytinyağı ve ayçiçek yağı Helvacıade Şirketler Grubu Zade Yağları fabrikasından temin edilmiştir. Üretimde kullanılan yardımcı maddelerden aljinik asit sodyum tuzu ve  $\text{CaCl}_2$  Sigma- Aldrich (Almanya)'ten alınmıştır. HPLC ve UV-Vis analizlerinde kullanılan asetonitril, formik asit, o- fosforik asit ve metanol Merck (Almanya)'ten temin edilmiştir. Polilaktik asit (PLA) ( $M_w \sim 60.000$ ), polikaprolakton (PCL) ( $M_n 80.000$ ), hekzafloro-2-propanol (HFIP), metanol (MeOH), kloroform ve hidroklorik asit (HCl) Sigma-Aldrich, Almanya'dan tedarik edilmiştir. Jelatin SelJel Gelatin, Türkiye'den satın alınmıştır. Antikolinesteraz inhibisyon aktivite çalışmasında kullanılan asetiltiyokolin iyodür, bütiriltiyokolin iyodür, asetilkolin esteraz enzimi, bütirilkolin esteraz enzimi, DTNB ve  $\text{NaHCO}_3$  Merck (Almanya)'ten temin edilmiştir. Tampon çözeltiler laboratuvar ortamında hazırlanmıştır.

##### 3.1.2. Kullanılan Cihazlar

Ultrasonik homojenleştirici (BandelinGM 3200, 200 W, 20 kHz, KE 76 prop), Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (Prominence LC-20 A, Shimadzu), Santrifüj (Centurion Scientific K3), UV/Vis Spektrometre (UV-1800, Shimadzu), Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu (GeminiSEM 500, ZEISS), Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi (IRTracer-100, Shimadzu), Disintegration Tester (Logan DST-3/6, Logan Instruments), Hassas terazi (Aux-320, Shimadzu), Ultra safsu cihazı (Millipore UV Water Purification, Merck), Etüv (Jeitech OF-02), Çoklu karıştırıcı (Jeitech, MS-53M).

##### 3.1.2.1. HPLC Cihazı

Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC), bir karışım içindeki farklı bileşenleri ayırmak, tanımlamak ve miktarını belirlemek için kullanılan güçlü bir analitik tekniktir. Tıpkı bir karışımın farklı yoğunluktaki sıvılarla ayrıştırılması gibi, HPLC de bir sıvı akışı (mobil faz) ve bir sabit faz (genellikle bir kolon içindeki özel bir malzeme) kullanarak karışımdaki bileşenleri ayırır. Numune, yüksek basınç altında bir kolon içinden geçirilirken, farklı bileşenler kolon içindeki sabit fazla farklı etkileşimlerde bulunarak farklı hızlarda ilerler ve böylece

birbirlerinden ayrılırlar. Bu sayede, karmaşık karışımlardaki bileşenler bile yüksek hassasiyet ve seçicilikle analiz edilebilir. HPLC, ilaç, gıda, çevre ve biyoteknoloji gibi birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır (Nikolin ve ark., 2004, Ali, 2022).

### **3.1.2.2. UV- Vis Spektroskopisi Cihazı**

Ultraviyole ve Görünür Absorpsiyon Spektrofotometrisi (UV-Vis), maddelerin ultraviyole ve görünür ışık bölgelerindeki (yaklaşık 190-800 nm) ışığı ne kadar emdiğini ölçerek, bu maddeler hakkında detaylı bilgi veren bir analiz yöntemidir. Bu teknik, maddelerin kimyasal yapısı, konsantrasyonu ve bazı fiziksel özellikleri hakkında bilgi verir. UV-Vis, organik ve inorganik bileşiklerin, polimerlerin, biyolojik moleküllerin ve daha birçok maddenin analizinde kullanılır. Örneğin, bir maddenin belirli bir dalga boyundaki ışığı ne kadar emdiği, o maddedeki belirli bir kimyasal bağ veya fonksiyonel grubun varlığı hakkında bilgi verebilir. Bu sayede, UV-Vis spektroskopisi, malzeme karakterizasyonu, kimyasal reaksiyonların takibi, kalite kontrolü gibi birçok alanda kullanılır (Passos ve ark., 2019, Patel ve ark., 2022).

### **3.1.2.3. FTIR- ATR Cihazı**

Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) spektroskopisi, son yıllarda tıbbi teşhislerde önemli bir yer edinmiştir. Bu teknik, maddelerin moleküler titreşimlerini ölçerek, her bir maddenin kendine özgü bir "moleküler parmak izi" oluşturmaya dayanır. FTIR, tıpta doku örneklerinin incelenmesi, biyomoleküllerin tanımlanması ve hücresel değişikliklerin izlenmesi gibi birçok alanda kullanılır. Tıpkı bir parmak iziyle bir kişiyi tanımak gibi, FTIR de bir maddenin kimyasal yapısını belirlemek için kullanılabilir. Bu sayede, daha önceki yöntemlere göre daha hızlı, daha doğru ve daha az invaziv teşhisler yapılabilmektedir. Özellikle, doku görüntülemesi ve hücresel analizlerde FTIR, biyolojik dokuların yapısını bozmadan detaylı bilgi sağlaması sayesinde önemli bir araç haline gelmiştir (Berthomieu ve ark., 2009, Fadlelmoula ve ark., 2002).

## **3.2. Yöntem**

### **3.2.1. HLB Değerinin Hesaplanması**

Pickering emülsiyonlarında HLB değeri, doğru emülgatör seçiminden başlayarak stabilizeyi artırmaya kadar birçok aşamada kritik bir rol oynamaktadır. Bu nedenle, HLB değerinin bilinmesi ve uygulanması, başarılı bir emülsiyon formülasyonu için esastır. Eklenecek sürfaktan türü ve miktarına karar vermek için HLB (hidrofilik-lipofilik denge) değeri

hesaplanmıştır. Yapılan makale taramaları sonucunda Tween 80 ve Span 80'in sürfaktan olarak kullanılmasına karar verilmiştir.

$$\text{Yağların HLB değeri} = \frac{(\text{Tween 80 HLB değeri} \cdot x) + (\text{Span 80 HLB değeri} \cdot y)}{x+y} \quad (6)$$

Zeytinyağı ve ayçiçek yağının HLB değeri 7, Tween 80'in HLB değeri 15, Span80'in HLB değeri 4,3'tür. (Suyanto ve ark.)

Buna bağlı olarak Tween 80 %25 oranında, Span 80 %75 oranında eklenerek çözelti hazırlandı.

Tween 80 ve Span 80'in seçilme sebebi "genellikle güvenilir kabul edilen" sürfaktanlar olmasıdır. Span 80 ve Tween 80 toksik olmayan, biyouyumlu bir sürfaktandır ve farmasötik, kozmetik ve yiyecek endüstrisinde sıkça kullanılmaktadır. (Kriegel ve ark., 2019, Roque ve ark., 2020)

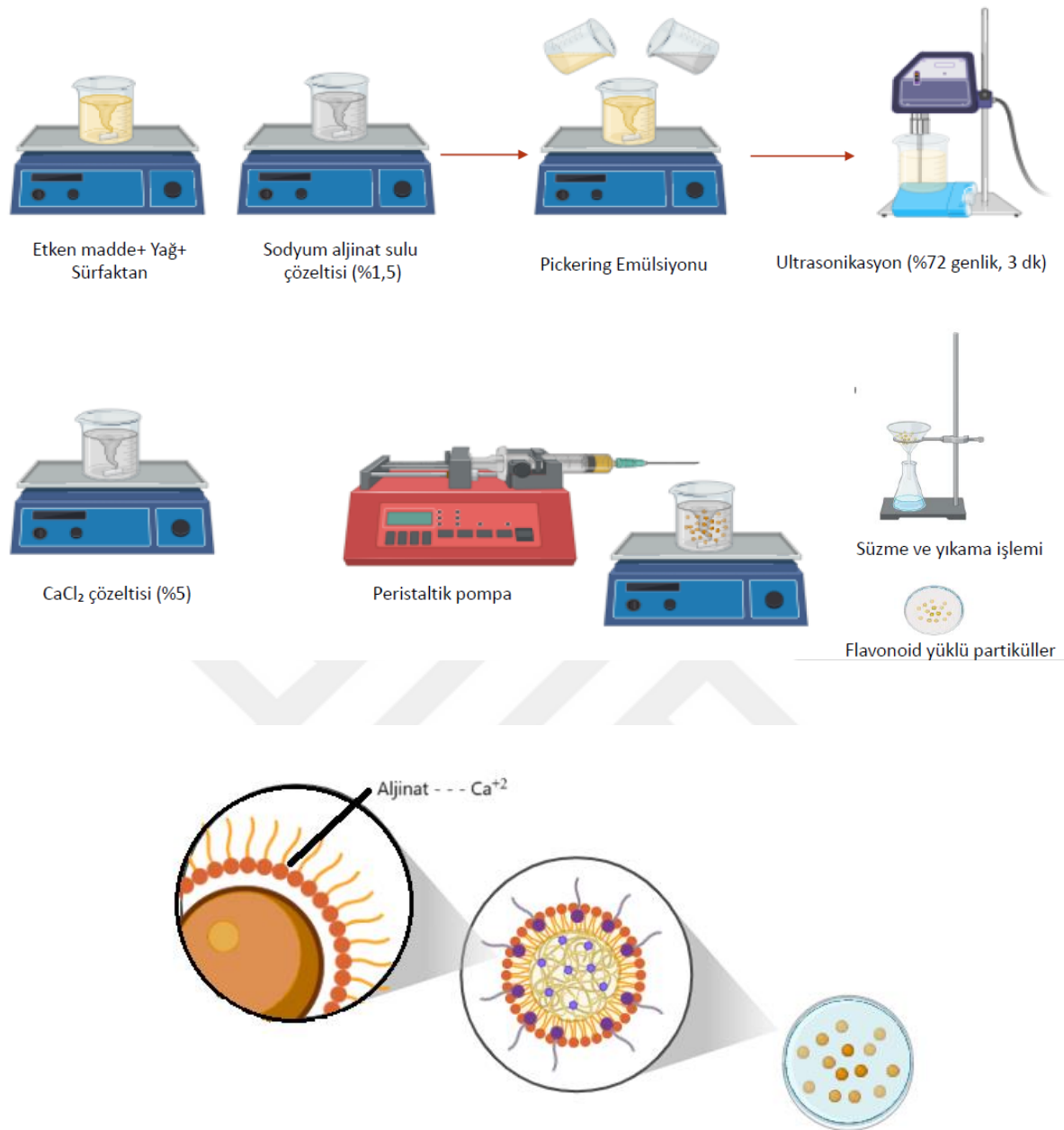
### 3.2.2. S/Y Emülsiyon Çözeltilerinin Hazırlanması ve İyonik Jelasyon Yöntemi ile Partiküllerin Oluşturulması

Farklı flavonoid türevlerinin Pickering emülsiyonu yöntemiyle kaplanarak pH duyarlı modifiye salım sistemi geliştirilmesi ile ilgili yöntem aşağıda verilmiştir.

Öncelikle, taze %1,5 (a/h) sodyum aljinat sulu çözeltisi hazırlanmıştır. Çözelti, homojen bir şekilde çözüldükten sonra kabarcıkların gitmesi için 24 saat dinlendirilmiştir. 3 mL zeytinyağı ve 3 mL ayçiçek yağı ayrı ayrı beherlere alınarak manyetik karıştırıcı yardımıyla 300 rpm'de karıştırılıp, yağların içerisine 100 µL Tween 80+Span 80 karışımı (sürfaktan) eklenmiştir. Boş kapsüller hazırlanacağı zaman yağ karışımı içerisine 7 mL sodyum aljinat sulu çözeltisi eklenmiş ve karıştırılmaya devam edilmiştir. Dolu kapsülleri hazırlamak için her bir S/Y emülsiyonuna etken madde 10 mg/mL olacak şekilde eklenmiştir.

Kalsiyum aljinat kürelerinin oluşturulması için %5'lik CaCl<sub>2</sub> sulu çözeltisi hazırlanmıştır. Yağ- SA çözeltisi Ultraturrax homojenizatörde 10000 rpm'de 30 saniye karıştırılmış daha sonra şırınga düzeneğine alınarak sürekli karıştırılan CaCl<sub>2</sub> çözeltisine damlaması sağlanmıştır.

Tüm çözelti CaCl<sub>2</sub> çözeltisine damlatıldıktan sonra, kalsiyum aljinat kürelerin oluşması için 15 dakika 300 rpm'de karıştırılmıştır. 15 dakika karıştırılan partiküller mavi bant süzgeç kâğıdında süzülmüş, saf su ile 2 kez yıkanmış ve 50°C'de etüvde bir gece kurutulmuştur. Pickering emülsiyonu yöntemi ile elde edilen partiküllerin yapılış şeması Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3. 1 Pickering Emülsiyonu yöntemiyle partiküllerin oluşturulması

Çizelge 3. 1 Partiküllerin ortalama çapları ve standart sapma değerleri

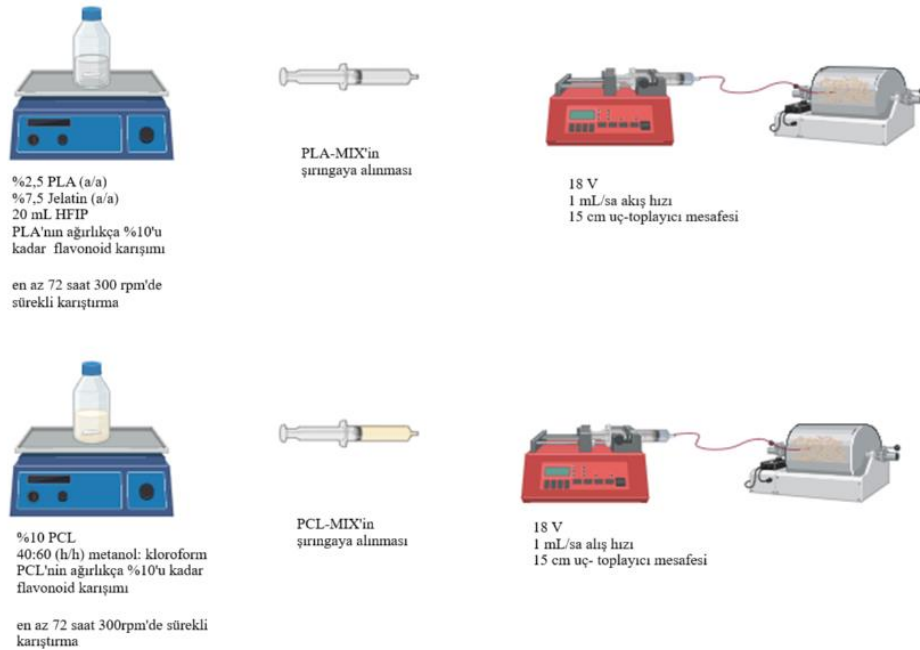
| Kod | Ortalama çap (mm) | Kod | Ortalama çap (mm) | Kod | Ortalama çap (mm) |
|-----|-------------------|-----|-------------------|-----|-------------------|
| AH1 | 2,016±0,419       | AN1 | 2,012±0,495       | AR1 | 1,69±0,237        |
| AH2 | 2,194±0,49        | AN2 | 2,08±0,495        | AR2 | 1,683±0,211       |
| AH3 | 1,801±0,248       | AN3 | 2,037±0,404       | AR3 | 1,802±0,238       |
| ZH1 | 2,278±0,374       | ZN1 | 1,998±0,375       | ZR1 | 1,994±0,264       |
| ZH2 | 2,023±0,359       | ZN2 | 1,949±0,45        | ZR2 | 2,121±0,277       |
| ZH3 | 1,962±0,386       | ZN3 | 2,149±0,39        | ZR3 | 2,003±0,245       |

Partiküllerin ortalama çapları 1,8 mm ila 2,3 mm arasında değişmiştir. Partiküllerin görüntüleri ve histogram grafikleri EK-1’de yer almaktadır.

### 3.2.3. Elektroeğirme Liflerinin Hazırlanması

Üç farklı flavonoid (rutin, naringin ve hesperidin) ve iki farklı polimer (PCL ve PLA) seçilmiştir. PLA (%2,5) ve jelatin (%7,5) 20 mL HFIP’de çözüldükten sonra PLA’nın ağırlıkça %10’ olacak şekilde üç flavonoid eşit miktarda karıştırılmış ve çözeltiye eklenmiştir.

PCL içeren elektroeğirme çözeltisini hazırlamak için, 80000 kDa PCL (%10), 40:60 metanol-kloroform karışımında çözülmüştür. Daha sonra PCL’nin ağırlıkça %10’ olacak şekilde üç flavonoid eşit miktarda karıştırılmış ve çözeltiye eklenmiştir. Elektroeğirme için, elde edilen çözelti 5 mL’lik bir şırıngaya konulmuştur. 18 kV’luk bir voltaj, 1 mL/saatlik bir akış hızı ve 15 cm’lik bir uç-toplayıcı mesafesi ile, elektroeğirme ile lifler oluşturulmuştur (Bogdanova ve ark., 2023, Ravichandran ve ark., 2019). Elektroeğirme liflerinin yapılış şeması Şekil 3.2’de gösterilmiştir.



Şekil 3. 2 Elektroeğirme liflerinin hazırlanması ve üretimi

### 3.2.4. Enkapsülasyon Verimliliğinin Belirlenmesi

Enkapsülasyon etkinliği, membran yüzeyi gibi fiziksel özellikleri (yük, hidrofobiklik ve rijitlik) kapsüllenecek materyalin özellikleri gibi veziküllerle ilgili birtakım faktörlere duyarlıdır. Kapsülleme verimliliği, vezikül içindeki bu konsantrasyonun orijinal yükleme

çözeltilisindeki moleküllerin konsantrasyonuna bölünmesiyle kolayca elde edilir (Sun ve ark., 2005).

Verim, yükleme kapasitesi ve enkapsülasyon verimliliği hesaplanırken denklem 7, denklem 8 ve denklem 9'dan yararlanılmıştır.

$$Verim (\%) = \frac{Oluşturulan mikrokürelerin ağırlığı (mg)}{Beslenen çözeltinin ağırlığı (mg)} * 100\% \quad (7)$$

$$Enkapsülasyon etkinliği (\%) = \frac{Toplam etken madde - Serbest etken madde}{Toplam etken madde} * 100 (\%) \quad (8)$$

$$Yükleme kapasitesi (\%) = \frac{Toplam kapsüllenen miktar}{Toplam partikül ağırlığı} * 100\% \quad (9)$$

### 3.2.5. Karakterizasyon

#### 3.2.5.1. UV- Vis Spektroskopisi ve HPLC

Çalışmada kullanılan etken maddelerden hesperidin ve rutin hidrat metanolde çözdürülerek, naringin ise asetronitrilde çözdürülerek 100 ppm ana stok çözeltileri hazırlandı. Daha sonra her bir etken maddenin ana stok çözeltisinden 1-5 ppm ve 5-40 ppm arası ara stok çözeltileri hazırlandı. Etken maddelerin hangi dalga boyunda UV-Vis cihazında ölçüleceğini belirlemek için 1100- 190 nm dalga boyunda tarama yapılmıştır.

Hesperidin etken maddesinin taramalar sonucunda 280 nm'de, naringin etken maddesinin 285 nm'de ve rutin hidrat etken maddesinin 281 nm'de ölçüm yapılmasına karar verilmiştir.

Hesperidin etken maddesinin HPLC analizlerinde Chimagave'nin yaptığı çalışmadan yararlanılmıştır. Koşullar Çizelge 3.2'de gösterilmiştir.

**Çizelge 3. 2** Hesperidin için HPLC cihazı analiz koşulları (Chimagave ve ark., 2022)

| Analiz Koşulları        |                                           |
|-------------------------|-------------------------------------------|
| <b>Kolon</b>            | Inertsil ODS-4                            |
| <b>Mobil faz</b>        | Asetonitril: %0,1 o-fosforik asit (50:50) |
| <b>Akış hızı</b>        | 1 mL/dk                                   |
| <b>Süre</b>             | 5 dk                                      |
| <b>Enjeksiyon hacmi</b> | 20 µL                                     |
| <b>Dalgaboyu</b>        | 280 nm (Hesperidin)                       |

Rutin hidrat etken maddesinin HPLC analizlerinde Bishnoi'nin yaptığı çalışmadan yararlanılmıştır. Koşullar Çizelge 3.3'te belirtilmiştir.

**Çizelge 3. 3** Rutin hidrat için HPLC cihazı analiz koşulları (Bishnoi ve ark., 2018)

| Analiz Koşulları        |                                             |
|-------------------------|---------------------------------------------|
| <b>Kolon</b>            | Inertsil ODS-4                              |
| <b>Mobil faz</b>        | Metanol: %0,05 (h/h) formik asit<br>pH @3,2 |
| <b>Akış hızı</b>        | 1 mL/dk                                     |
| <b>Süre</b>             | 5 dk                                        |
| <b>Enjeksiyon hacmi</b> | 20 µL                                       |
| <b>Dalgaboyu</b>        | 281 nm (Rutin hidrat)                       |

Naringin etken maddesinin HPLC analizlerinde Budel'in yaptığı çalışmadan yararlanılmıştır. Koşullar Çizelge 3.4'te gösterilmiştir.

**Çizelge 3. 4** Naringin için HPLC cihazı analiz koşulları (Budel ve ark., 2020)

| Analiz Koşulları        |                                     |
|-------------------------|-------------------------------------|
| <b>Kolon</b>            | Inertsil ODS-4                      |
| <b>Mobil faz</b>        | Asetonitril: USS (60:40)<br>pH @4,0 |
| <b>Akış hızı</b>        | 0,7 mL/dk                           |
| <b>Süre</b>             | 5 dk                                |
| <b>Enjeksiyon hacmi</b> | 20 µL                               |
| <b>Dalgaboyu</b>        | 285 nm (Naringin)                   |

### 3.2.5.2. Liflerin Karakterizasyonu

Nanofiberlerden yaklaşık 100-120 mg ağırlığında olan küçük parçalar kesildi ve 50 mL'lik falcon tüplerine aktarıldı. Lifler 1 mL kloroform, 1 ml HCl çözeltisi (%1 h/h) ve 3 ml MetOH karışımı ile çözüldü, 20 dakika boyunca 4000 rpm'de santrifüj edildi ve 5 dakika boyunca sonikasyona tabi tutuldu. Çözeltiler 0,45 µm PTFE filtresinden süzüldü ve uygun dalga boyunda UV-Vis spektroskopisi ile analiz edildi. Sonuçlar Tablo 1'de gösterilmektedir [14-16]. *In vitro* ilaç salınımı USP <711> ile gerçekleştirildi. Çözünme fazı boyunca araştırmada iki farklı pH aralığı kullanılmıştır. pH 1,2 ve pH 7,4 aralıkları bu şekilde belirlendi. Doğru tampon çözeltileri yapıldı ve çözünme süreci mide ve bağırsağın çeşitli kısımlarında indüklendi. Mide ortamından 0 ila 2 saat arasında her 15 dakikada bir ve 2 ila 3 saat arasında her saat numune alındı. Bağırsak ortamından 0 ila 2 saat arasında her 30 dakikada bir ve 2 ila 5 saat arasında her saat numune alındı. Numuneleri analiz etmek için HPLC-PDA kullanıldı (USP 711).

Elektroegirilmiş liflerin çapını ve morfolojisini incelemek için ZEISS GeminiSEM 500 taramalı elektron mikroskobu kullanıldı. Lif matının 1 cm<sup>2</sup>'lik bir parçası iridyum püskürtme ile kaplandı ve SEM numune tutucusuna yerleştirildi. SEM resimleri elde etmek için 20 kV'luk bir voltaj kullanıldı (Razavizadeh ve ark., 2020).

Lifin kimyasal içeriğini incelemek için Shimadzu IR Tracer-100 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi kullanıldı. Aktif farmasötik bileşenler (rutin hidrat, naringin ve

hesperidin), PLA, jelatin, PCL ve iki lif (PLA-MIX ve PCL-MIX) 16 tarama ile IR aralığında ( $4000-400\text{ cm}^{-1}$ ) incelendi (Razavizadeh ve ark., 2020).

### 3.2.6. Enzim İnhibisyonu Çalışmalarının Yapılması

Asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE) inhibisyon aktiviteleri (Ellman vd., 1961) reaksiyonuna göre belirlenmiştir. Asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi için enzim olarak elektrik balığından elde edilen asetilkolinesteraz enzimi ile substrat olarak asetiltiyokolin iyodür (AcI), butirilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi için enzim olarak at serumundan elde edilen butirilkolinesteraz enzimi ile butiritiyokolin klorür (BuI) substratı kullanılmıştır. 5,5'-ditiyobis(2-nitrobenzoik) asit (DTNB) her iki antikolinesteraz aktivitesinin ölçümü için kullanılmıştır. Galantamin ve donepezil pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

#### 3.2.6.1. Asetilkolinesteraz İnhibisyon Aktivitesi Tayin Yöntemi

Sentez ürünlerinin AChE inhibisyon aktivitesi Ellman yöntemine göre belirlendi (Ellman vd., 1961). 96 kuyucuklu mikrolakaların her bir kuyucuğuna 0,1 M pH=8.0 fosfat tamponundan 160  $\mu\text{L}$ , farklı konsantrasyonlarındaki 2 mL stok sentez ürünlerinin çözeltilerinden 10  $\mu\text{L}$  ve 10  $\mu\text{L}$  yılan balığından elde edilen AChE'in çözeltisinden ilave edilip ilk ölçüm alındı ve oda koşullarında 15 dk inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda her kuyucuğa 10  $\mu\text{L}$  DTNB çözeltisi ile substrat olarak 10  $\mu\text{L}$  AcI ilavesi yapılır yapılmaz 412 nm dalga boyunda 10 dk kinetik absorbans ölçümü yapıldı.

#### 3.2.6.2. Butirilkolinesteraz İnhibisyon Aktivitesi Tayin Yöntemi

Sentez ürünlerinin BChE inhibisyon aktivitesi Ellman yöntemine göre belirlendi (Ellman vd., 1961). Enzim olarak at serumundan elde edilen butirilkolinesteraz, substrat olarak butiritiyokolin klorür, aktivitenin ölçümü için ise sarı renkli 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) kullanıldı. 96 kuyucuklu mikrolakaların her bir kuyucuğuna 0,1M pH=8 fosfat tamponundan 160  $\mu\text{L}$ , farklı konsantrasyonlarındaki 2 mL stok sentez ürünlerinin çözeltilerinden 10  $\mu\text{L}$  ve 10  $\mu\text{L}$  at serumundan elde edilen BChE'in çözeltisinden ilave edilip ilk ölçüm alındı ve oda koşullarında 15 dk inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda her kuyucuğa 10  $\mu\text{L}$  DTNB çözeltisi ile substrat olarak 10  $\mu\text{L}$  BuCI ilavesi yapılır yapılmaz 412 nm dalga boyunda 10 dk kinetik absorbans ölçümü yapıldı.

### 3.2.7. Antibakteriyel Aktivite Testi

Koloni sayma yöntemi, nanofiberlerin *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ATCC6538 bakteri suşuna karşı antibakteriyel aktivitesini değerlendirmek için kullanıldı. Yaklaşık 1 X 1 cm çapındaki her fiber mat, yüzeyine  $1,5 \times 10^7$  koloni oluşturan birim (CFU/mL) içeren 100 µL bakteri solüsyonu eklendikten sonra steril bir filmle kaplandı. Nanofiberler, 37°C'de 24 saat boyunca inkübe edildi. İnkübasyondan sonra, filmler 1 mL PBS solüsyonu ile yıkandı ve 100 µL alınarak boş Nutrient agar ortamına ekildi. Canlı bakteri kolonilerinin sayısı, 37°C'de 24 saatlik bir inkübasyon süresinden sonra belirlendi. Bakteri sayısındaki azalma, denklem 10 kullanılarak hesaplandı: (Kusuma ve ark., 2020)

$$R(\%) = \frac{(B-A)}{A} * 100(\%) \quad (10)$$

R: % inhibisyon, A: Kontrol grubundaki koloniler, B: Nanofiber matındaki koloniler

### 3.2.8. Dissolüsyon Yöntemi ile Salım Kinetiğinin Belirlenmesi

Dissolüsyon aşamasında iki farklı pH aralığında ortam ile çalışma yapılmıştır. Bu pH aralıkları; pH 1,2 ve pH 7,4 olarak belirlenmiştir. Uygun tampon çözeltiler hazırlanarak mide ve bağırsakın farklı bölgeleri canlandırılarak dissolüsyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Dissolüsyon cihazındaki her bir test istasyonuna 900 mL tampon çözelti konulmuştur.

Mide ortamında *in vitro* salım çalışmaları pH 1,2'de Çizelge 3.1'de kodları yer alan küreler ile 100 mg küre kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Belirli zaman aralıklarında (0-8 saat arası saatte bir) 5 mL numune alınmış ve HPLC cihazında analizi gerçekleştirilmiştir. Alınan numune miktarı kadar taze pH 1,2 PBS eklenerek ortam hacmi sabit tutulmuştur.

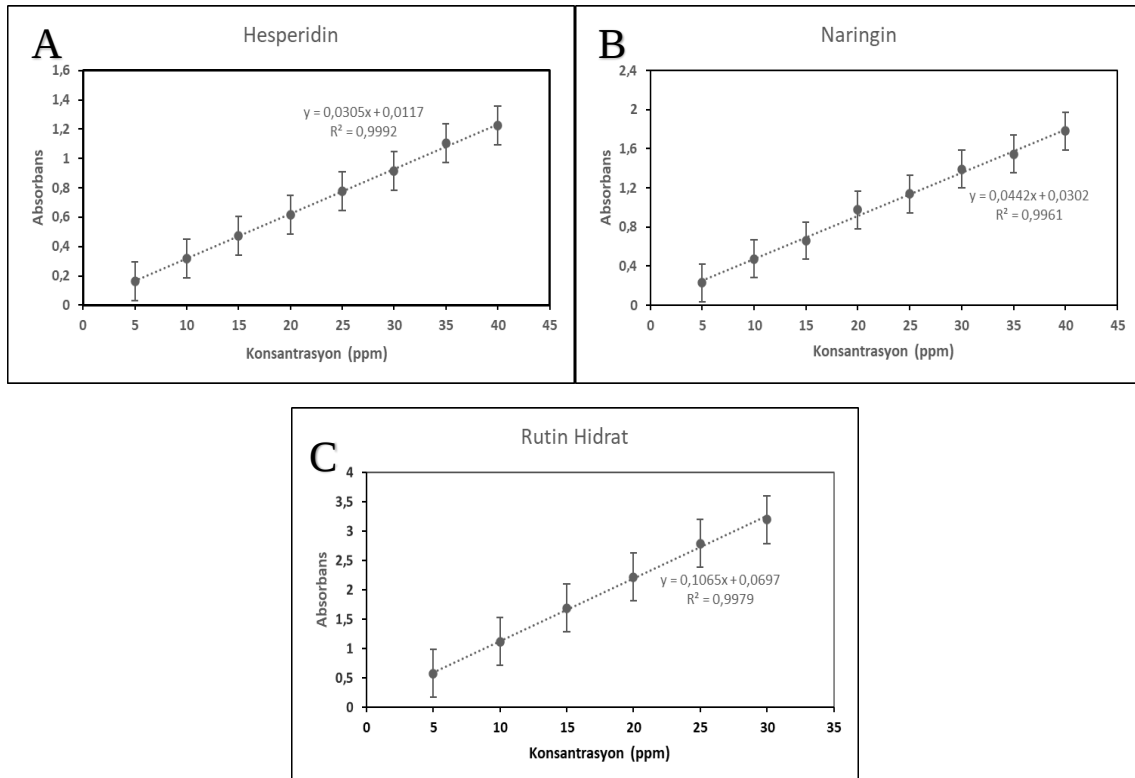
Bağırsak ortamında *in vitro* salım çalışmaları pH 7,4'te Çizelge 3.1'de kodları yer alan küreler ile 100 mg küre kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Belirli zaman aralıklarında (0-8 saat arası saatte bir, 24-96 saat arası 24 saatte bir) 5 mL numune alınmış ve HPLC cihazında analizi gerçekleştirilmiştir. Alınan numune miktarı kadar taze pH 7,4 PBS eklenerek ortam hacmi sabit tutulmuştur. Etken madde içerikleri 3 tekrarlı olacak şekilde analiz edilmiştir. (USP 711).

#### 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Yapılan çalışmada beş farklı etken madde miktarı ile çalışma kararı alınmıştır. Üretilen partiküllerde 7,5 mg, 15 mg, 30 mg, 60 mg ve 120 mg etken madde kullanılmış ancak 60 ve 120 mg etken madde içeren partiküllerde etken maddenin yeterince iyi çözünmemesi sebebiyle üretime 7,5 mg, 15 mg ve 30 mg etken madde miktarı ile devam edilmesine karar verilmiştir.

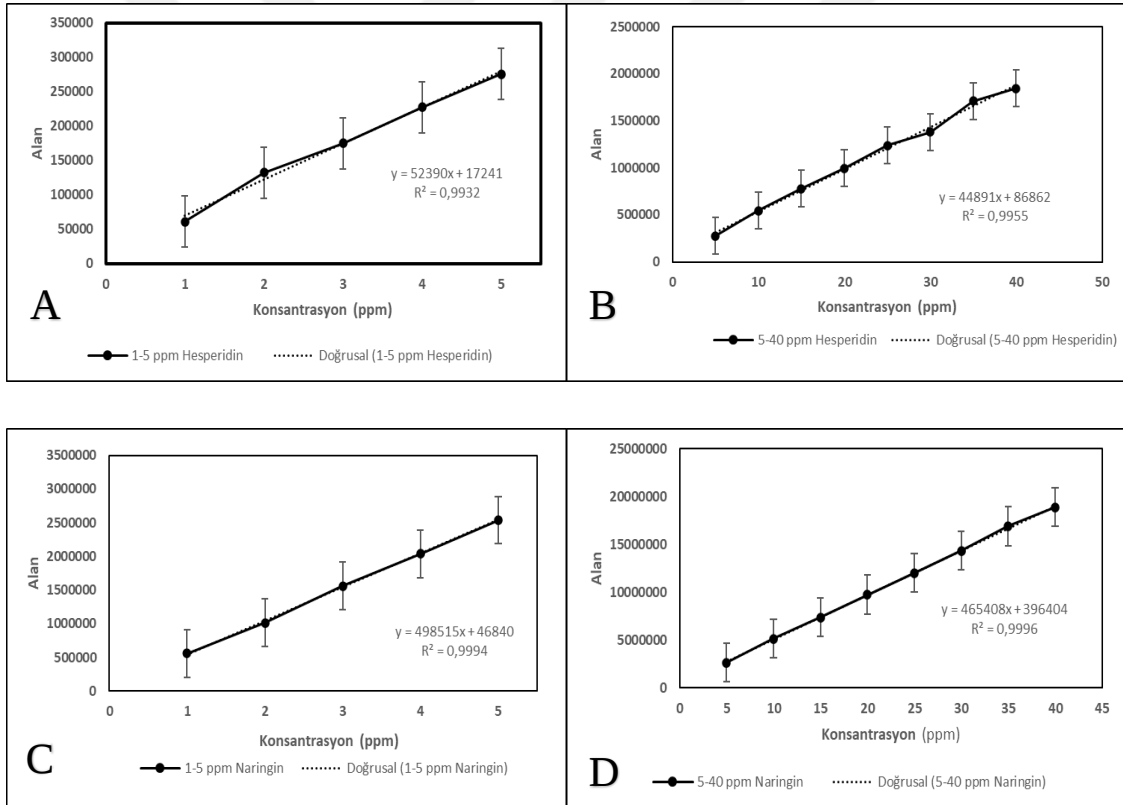
##### 4.1. Etken Maddelerin UV- Vis Spektroskopi ve HPLC’de Yapılan Kalibrasyon Çalışmaları

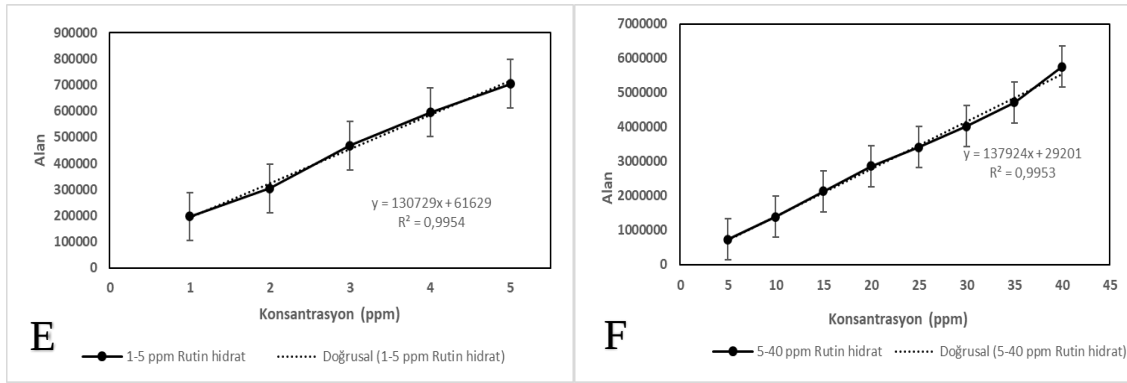
UV-Vis spektrofotometresi kullanılarak hazırlanan kalibrasyon eğrilerinin oluşturulması için her bir etken maddeden önce 100 ppm ana stok standart çözeltisi hazırlanmış, ana stok çözeltisi 5-10-15-20-25-30-35-40 ppm’e seyreltilmiştir. Bu sayede kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Hesperidin etken maddesi için UV- Vis spektroskopi cihazında 280 nm dalga boyunda ölçüm yapılarak kalibrasyon eğrisi korelasyon katsayısı  $R^2 = 0,9992$  olarak hesaplanmıştır. Naringin etken maddesi için UV- Vis spektroskopi cihazında 285 nm dalga boyunda ölçüm yapılarak kalibrasyon eğrisi korelasyon katsayısı  $R^2 = 0,9961$  olarak hesaplanmıştır. Rutin hidrat etken maddesi için UV- Vis spektroskopi cihazında 281 nm dalga boyunda ölçüm yapılarak kalibrasyon eğrisi korelasyon katsayısı  $R^2 = 0,9979$  olarak hesaplanmıştır. Kalibrasyon grafikleri Şekil 4.1’de gösterilmiştir.



Şekil 4. 1 A) Hesperidin, B) Naringin ve C) Rutin hidrat etken maddelerine ait UV-Vis kalibrasyon eğrileri

HPLC cihazı kullanılarak hazırlanan kalibrasyon eğrilerinin oluşturulması için her bir etken maddeden önce 100 ppm ana stok standart çözeltisi hazırlanmış, ana stok çözeltisi 1-2-3-4-5 ppm ve 5-10-15-20-25-30-35-40 ppm'e seyreltilmiştir. Bu sayede kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Hesperidin etken maddesi için HPLC cihazında 280 nm dalga boyunda 1-5 ppm ve 5-40 ppm kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. Kalibrasyon eğrileri korelasyon katsayısı  $R^2$  değerleri sırasıyla  $R^2 = 0,9932$  ve  $R^2 = 0,9955$  olarak hesaplanmıştır. Naringin etken maddesi için HPLC cihazında 280 nm dalga boyunda 1-5 ppm ve 5-40 ppm kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. Kalibrasyon eğrileri korelasyon katsayısı  $R^2$  değerleri sırasıyla  $R^2 = 0,9994$  ve  $R^2 = 0,9996$  olarak hesaplanmıştır. Rutin hidrat etken maddesi için HPLC cihazında 280 nm dalga boyunda 1-5 ppm ve 5-40 ppm kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. Kalibrasyon eğrileri korelasyon katsayısı  $R^2$  değerleri sırasıyla  $R^2 = 0,9954$  ve  $R^2 = 0,9953$  olarak hesaplanmıştır. Kalibrasyon grafikleri Şekil 4.2'de gösterilmiştir.





Şekil 4. 2 A) Hesperidin (1-5 ppm), B) Hesperidin (5-40 ppm), C) Naringin (1-5 ppm), D) Naringin (5-40 ppm), E) Rutin hidrat (1-5 ppm), F) Rutin hidrat (5-40 ppm) etken maddelerine ait HPLC kalibrasyon eğrileri

#### 4.2. Enkapsülasyon Etkinliği, Verim ve Yükleme Kapasitesi Değerleri

Üç farklı oranda (7,5 mg, 15 mg ve 30 mg) hesperidin içeren partiküllerin enkapsülasyon etkinliği, verimi ve yükleme kapasitesi UV- Vis ve HPLC cihazında 280 nm dalga boyunda 3 kez ölçüm alınarak denklem 7, denklem 8 ve denklem 9 kullanılarak hesaplandı. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4. 1 Ayçiçek yağı- Hesperidin içeren partiküllerin enkapsülasyon etkinliği, verim ve yükleme kapasitesi değerleri

|        |     | %EE   | %Verim | %Yükleme Kapasitesi |
|--------|-----|-------|--------|---------------------|
| UV-Vis | AH1 | 91,06 | 24,67  | 5,89                |
|        | AH2 | 73,15 | 21,59  | 11,77               |
|        | AH3 | 89,18 | 19,92  | 29,85               |
| HPLC   | AH1 | 87,30 | 24,67  | 5,65                |
|        | AH2 | 75,56 | 21,59  | 13,02               |
|        | AH3 | 88,86 | 19,92  | 33,62               |

Çizelge 4. 2 Zeytinyağı- Hesperidin içeren partiküllerin enkapsülasyon etkinliği, verim ve yükleme kapasitesi değerleri

|        |     | %EE   | %Verim | %Yükleme Kapasitesi |
|--------|-----|-------|--------|---------------------|
| UV-Vis | ZH1 | 62,75 | 22,94  | 6,02                |
|        | ZH2 | 85,37 | 35,92  | 8,19                |
|        | ZH3 | 90,27 | 25,33  | 24,73               |
| HPLC   | ZH1 | 65,40 | 22,94  | 6,26                |
|        | ZH2 | 91,42 | 35,92  | 9,26                |
|        | ZH3 | 90,84 | 25,33  | 24,80               |

Ayçiçek yağı içine enkapsüle edilmiş hesperidin etken maddesinde en yüksek enkapsülasyon etkinliği AH1 (7,5 mg) partikülünde %91,06 olarak, zeytinyağı içine enkapsüle edilmiş hesperidin etken maddesinde en yüksek enkapsülasyon etkinliği ZH3 (30 mg) partikülünde %90,84 olarak ölçülmüştür.

Üç farklı oranda (7,5 mg, 15 mg ve 30 mg) naringin içeren partiküllerin enkapsülasyon etkinliği, verimi ve yükleme kapasitesi UV- Vis ve HPLC cihazında 285 nm dalga boyunda 3 kez ölçüm alınarak denklem 7, denklem 8 ve denklem 9 kullanılarak hesaplandı. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4'te verilmiştir.

**Çizelge 4. 3** Ayçiçek yağı- Naringin içeren partiküllerin enkapsülasyon etkinliği, verim ve yükleme kapasitesi değerleri

|               |     | %EE   | %Verim | %Yükleme<br>Kapasitesi |
|---------------|-----|-------|--------|------------------------|
| <b>UV-Vis</b> | AN1 | 71,28 | 29,44  | 4,69                   |
|               | AN2 | 64,52 | 21,03  | 12,69                  |
|               | AN3 | 69,36 | 20,80  | 23,54                  |
| <b>HPLC</b>   | AN1 | 80,59 | 29,44  | 4,76                   |
|               | AN2 | 65,99 | 21,03  | 12,32                  |
|               | AN3 | 66,71 | 20,80  | 20,97                  |

**Çizelge 4. 4** Zeytinyağı- Naringin içeren partiküllerin enkapsülasyon etkinliği, verim ve yükleme kapasitesi değerleri

|               |     | %EE   | %Verim | %Yükleme<br>Kapasitesi |
|---------------|-----|-------|--------|------------------------|
| <b>UV-Vis</b> | ZN1 | 82,88 | 22,33  | 6,14                   |
|               | ZN2 | 74,29 | 20,74  | 14,08                  |
|               | ZN3 | 68,77 | 19,92  | 22,88                  |
| <b>HPLC</b>   | ZN1 | 86,24 | 22,33  | 6,36                   |
|               | ZN2 | 72,01 | 20,74  | 12,83                  |
|               | ZN3 | 69,77 | 19,92  | 23,29                  |

Ayçiçek yağı içine enkapsüle edilmiş naringin etken maddesinde en yüksek enkapsülasyon etkinliği AN1 partikülünde %80,59 olarak, zeytinyağı içine enkapsüle edilmiş naringin etken maddesinde en yüksek enkapsülasyon etkinliği ZN1 partikülünde %86,44 olarak ölçülmüştür.

Üç farklı oranda (7,5 mg, 15 mg ve 30 mg) rutin hidrat içeren partiküllerin enkapsülasyon etkinliği, verimi ve yükleme kapasitesi UV- Vis ve HPLC cihazında 281 nm dalga boyunda 3 kez ölçüm alınarak denklem 7, denklem 8 ve denklem 9 kullanılarak hesaplandı. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6'de verilmiştir.

**Çizelge 4. 5** Ayçiçek yağı- Rutin hidrat içeren partiküllerin enkapsülasyon etkinliği, verim ve yükleme kapasitesi değerleri

|               |     | %EE   | %Verim | %Yükleme Kapasitesi |
|---------------|-----|-------|--------|---------------------|
| <b>UV-Vis</b> | AR1 | 94,78 | 19,44  | 8,25                |
|               | AR2 | 85,19 | 20,92  | 14,52               |
|               | AR3 | 86,71 | 24,36  | 24,72               |
| <b>HPLC</b>   | AR1 | 96,22 | 19,44  | 8,36                |
|               | AR2 | 84,95 | 20,92  | 15,43               |
|               | AR3 | 80,80 | 24,36  | 23,11               |

**Çizelge 4. 6** Zeytinyağı- Rutin hidrat içeren partiküllerin enkapsülasyon etkinliği, verim ve yükleme kapasitesi değerleri

|               |     | %EE   | %Verim | %Yükleme Kapasitesi |
|---------------|-----|-------|--------|---------------------|
| <b>UV-Vis</b> | ZR1 | 81,67 | 22,38  | 5,11                |
|               | ZR2 | 65,91 | 18,70  | 12,17               |
|               | ZR3 | 67,89 | 19,09  | 25,20               |
| <b>HPLC</b>   | ZR1 | 88,76 | 22,38  | 5,53                |
|               | ZR2 | 64,78 | 18,70  | 11,97               |
|               | ZR3 | 80,90 | 19,09  | 29,99               |

Ayçiçek yağı içine enkapsüle edilmiş rutin hidrat etken maddesinde en yüksek enkapsülasyon etkinliği AR1 partikülünde %94,87 olarak, zeytinyağı içine enkapsüle edilmiş rutin hidrat etken maddesinde en yüksek enkapsülasyon etkinliği ZR1 partikülünde %88,76 olarak ölçülmüştür.

Sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde, etken madde miktarının artmasının enkapsülasyon etkinliğinde azalmaya neden olduğu görülmüştür. Bu durum elde edilen partiküllerin kapasitesinin erken maddenin tamamını içerisine almak için yetersiz olabileceğini göstermektedir. Emülsiyon damlacık büyüklüğünün elverdiği en verimli formülasyonların kullanılmasının ekonomik olacağı sonucuna varılmıştır.

Hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren PLA-MIX ve PCL-MIX elektroegirme fiberlerinin enkapsülasyon etkinliği denklem 7'ye göre hesaplanmıştır ve sonuçlar Çizelge 4.7'de gösterilmiştir.

**Çizelge 4. 7** *PLA-MIX ve PCL-MIX elektroğirme fiberlerindeki etken maddelerin enkapsülasyon etkinliği*

| <b>API</b> | <b>PLA(%)</b> | <b>PCL(%)</b> |
|------------|---------------|---------------|
| RTN        | 29,80         | 15,88         |
| HSP        | 38,41         | 25,24         |
| NAR        | 5,09          | 1,30          |

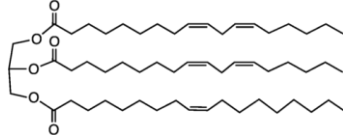
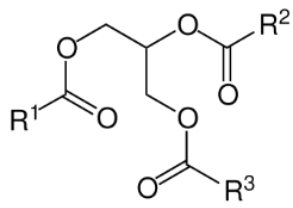
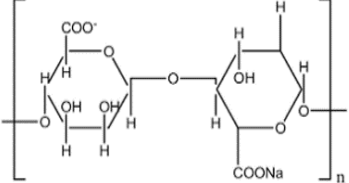
PLA- MIX elektroğirme fiberinin enkapsülasyon etkinliği oranları PCL-MIX elektroğirme fiberinden daha yüksektir. Etken maddelerin fiberden difüzyonu, fiberlerin gözenekliliği ve çapından etkilenir. Daha geniş yüzey alanı sağlayan ince lifler sayesinde etken maddeler daha iyi enkapsüle edilir.

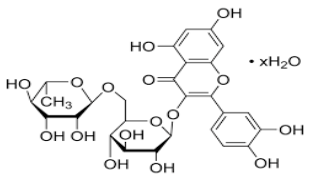
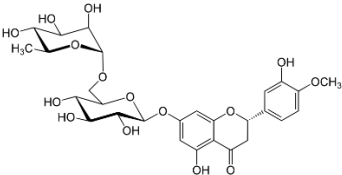
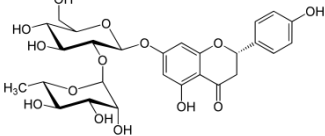
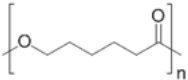
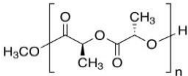
Çalışma kapsamında elde edilen PLA-MIX matındaki fiber çapları  $439,34 \pm 20,34$  nm aralığında olmasına rağmen etken madde karışımından yaklaşık %73 enkapsülasyon verimi sergilenmiştir. Bu durum PLA-MIX fiber matına etken maddelerin tek tek enkapsüle edilmesinin daha verimli olabileceğini göstermektedir.

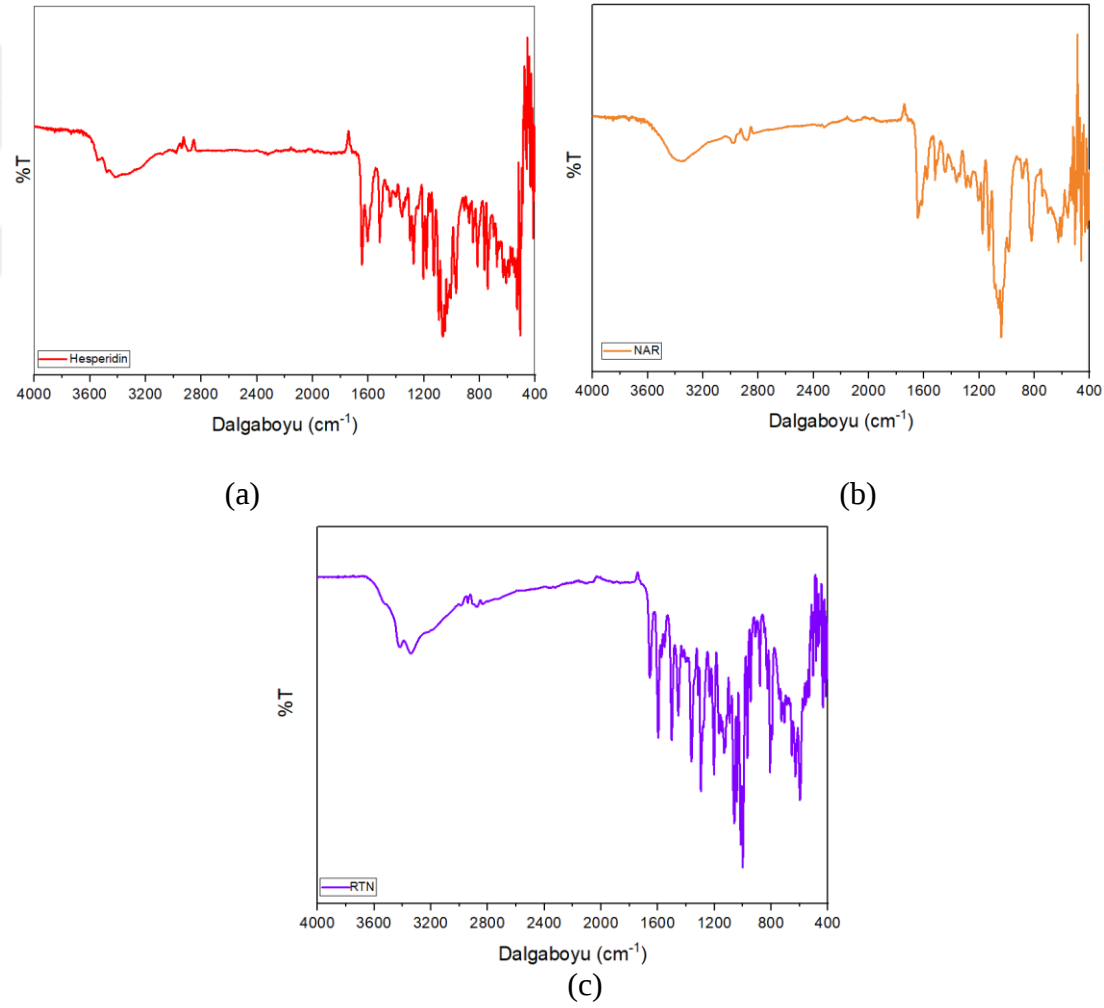
### 4.3. FT-IR Analizi Sonuçları

Hazırlanan partiküller, etken ve yabancı maddelerin FT-IR analizi yapılmıştır. Çizelge 4.8’de gösterilmiştir.

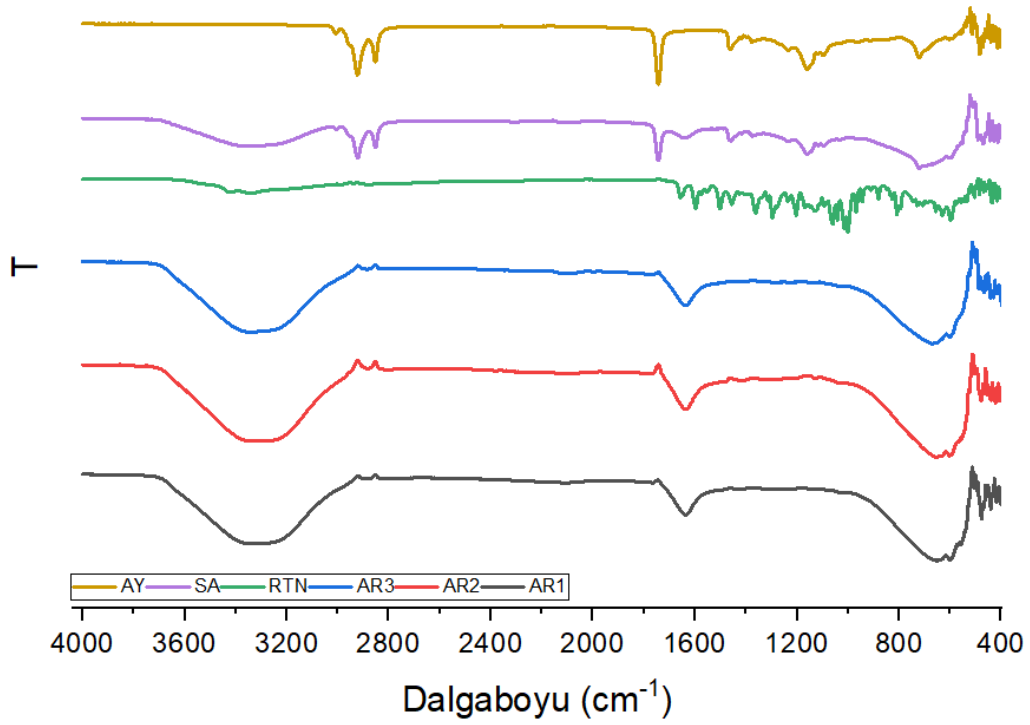
**Çizelge 4. 8** Etken ve yardımcı maddelerin FT-IR spektrumu tablosu

| Enkapsülasyon işleminde kullanılan malzemeler                                                                            | Hidroksil grubu (OH <sup>-</sup> ) | Hidrokarbon grubu (CH) | Ester grubu (C=O)     | C=C gerilmesi         | -C-O (gerilme/ titreşim) | Glikozidik bağ        | C-O-C gerilmesi |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------------|-----------------------|-----------------|
| <p>Ayçiçek yağı</p>                     |                                    | 2925 cm <sup>-1</sup>  | 1743 cm <sup>-1</sup> | 1650 cm <sup>-1</sup> |                          |                       |                 |
| <p>Zeytinyağı</p>                      |                                    | 2922 cm <sup>-1</sup>  | 1745 cm <sup>-1</sup> |                       |                          |                       |                 |
| <p>Sodyum aljinat sulu çözeltisi</p>  | 3340 cm <sup>-1</sup>              | 2922 cm <sup>-1</sup>  | 1744 cm <sup>-1</sup> |                       |                          | 1159 cm <sup>-1</sup> |                 |

| Enkapsülasyon işleminde kullanılan malzemeler                                                                | Hidroksil grubu (OH <sup>-</sup> ) | Hidrokarbon grubu (CH)                                                | Ester grubu (C=O)     | Aromatik halka (C=C)  | -C-O (gerilme/titreşim) | Glikozidik bağ | C-O-C gerilmesi                                                       |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------------|----------------|-----------------------------------------------------------------------|
| Rutin hidrat<br>            | 3341 cm <sup>-1</sup>              | 2920 cm <sup>-1</sup>                                                 | 1656 cm <sup>-1</sup> | 1597 cm <sup>-1</sup> | 1061 cm <sup>-1</sup>   |                |                                                                       |
| Hesperidin<br>              | 3370 cm <sup>-1</sup>              | 2941cm <sup>-1</sup>                                                  | 1645 cm <sup>-1</sup> | 1605cm <sup>-1</sup>  | 1064 cm <sup>-1</sup>   |                |                                                                       |
| Naringin<br>                | 3375 cm <sup>-1</sup>              | 2895 cm <sup>-1</sup>                                                 | 1643 cm <sup>-1</sup> | 1580 cm <sup>-1</sup> | 1130 cm <sup>-1</sup>   |                |                                                                       |
| Polikaprolakton (PCL)<br> |                                    | 2868 cm <sup>-1</sup> (simetrik)<br>2743 cm <sup>-1</sup> (asimetrik) | 1725 cm <sup>-1</sup> |                       | 1290 cm <sup>-1</sup>   |                | 1170 cm <sup>-1</sup> (simetrik)<br>1240 cm <sup>-1</sup> (asimetrik) |
| Polilaktik asit (PLA)<br> | 3298 cm <sup>-1</sup>              | 2996 cm <sup>-1</sup> (simetrik)<br>2946 cm <sup>-1</sup> (asimetrik) | 1756 cm <sup>-1</sup> |                       | 1188 cm <sup>-1</sup>   |                |                                                                       |



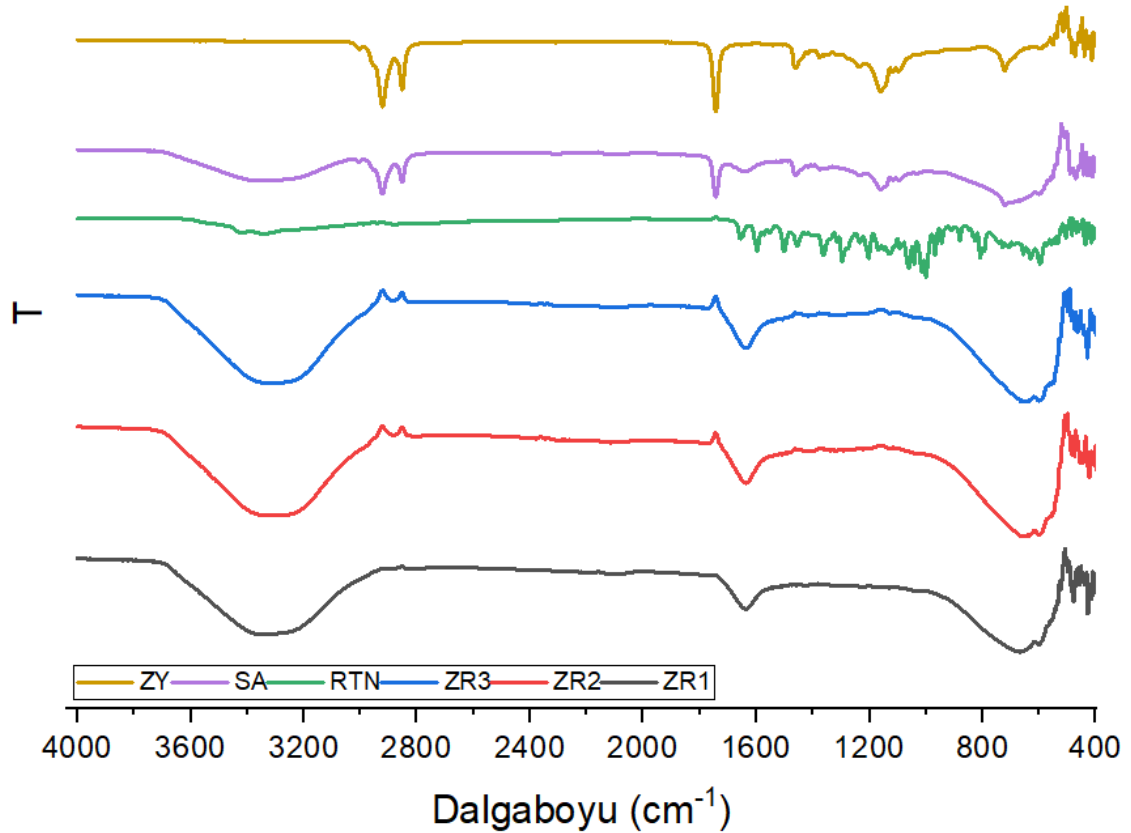
Şekil 4. 3 (a) Hesperidin, (b) Naringin (c) Rutin hidrat ait transmitans spektrumu



**Şekil 4. 4** Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan ayçiçek yağı ve rutin hidrat etken maddesi içeren bir dispersiyonun transmisyon spektrumu ile etken ve yardımcı maddelerin karşılaştırılması

Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan ayçiçek yağı ve rutin hidrat etken maddesi içeren bir dispersiyonun transmisyon spektrumu yer almaktadır. Şekil 4.4'te görülen spektrumda  $3341\text{ cm}^{-1}$ 'deki pik, hidroksil (OH) gruplarının O-H gerilme titreşimlerinden kaynaklanır. Ayçiçek yağı ve rutin, yapılarında birden fazla hidroksil grubu içerir.  $2920\text{ cm}^{-1}$ 'deki pikler, alkil (C-H) gruplarının gerilme titreşimlerinden kaynaklanır.  $1656\text{ cm}^{-1}$ 'deki pik, ester (C=O) gruplarının gerilme titreşimlerinden meydana gelir. Bu, Pickering emülsiyonlarında karboksil gruplarının hidrojen bağlarıyla etkileşime girerek stabilize edildiğini göstermektedir.  $1597\text{ cm}^{-1}$ 'deki pik, aromatik halkaların C=C gerilme titreşimlerinden dolayı oluşur.  $1600\text{ cm}^{-1}$  civarında karboksil gruplarından gelen asimetrik O=C=O gemesi ve  $1400\text{ cm}^{-1}$  civarında karboksil gruplarından gelen simetrik O=C=O gemesi absorpsiyon bantları görülmektedir.  $1260\text{ cm}^{-1}$ 'teki pik, C-O-C bağlarının gerilme titreşimlerinden kaynaklanır.  $1000\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$ 'deki pikler, C-O bağlarının gerilme titreşimlerinden kaynaklanır. Ayçiçek yağı ve rutin hidrat, yapılarında birden fazla C-O bağı içerir. Spektrumda  $800\text{ cm}^{-1}$  civarında bir pik gözlemlenmektedir. Bu pik, aromatik halkaların C-H eğilme titreşimlerinden kaynaklanabilir (de la Mata ve ark., 2012, Rohman ve ark., 2010, Tang ve ark., 2010, Wang ve ark., 2022).

Spektrumda, rutin hidratın karakteristik hidroksil ve karboksil gruplarından gelen absorpsiyon bantları görülmektedir. Örneğin,  $3341\text{ cm}^{-1}$  civarında hidroksil gruplarından gelen O-H gerimesi,  $1597\text{ cm}^{-1}$  civarında benzen halkasından gelen C=C gerimesi ve  $1656\text{ cm}^{-1}$  civarında ester gruplarından gelen C=O gerimesi absorpsiyon bantları görülmektedir. Rutin hidratın absorpsiyon bantları, emülsiyondaki rutin hidrat miktarı arttıkça artmaktadır (Gera ve ark., 2020).

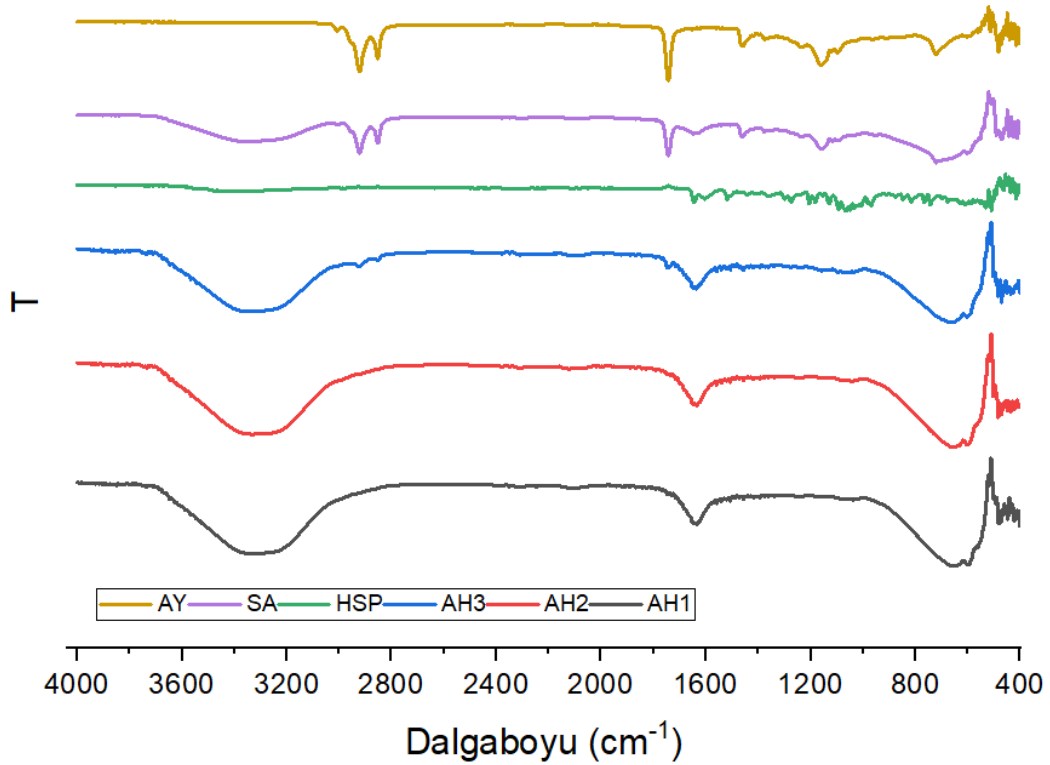


**Şekil 4. 5** Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan zeytinyağı ve rutin hidrat etken maddesi içeren bir dispersiyonun transmisyon spektrumu ile etken ve yardımcı maddelerin karşılaştırılması

Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan zeytinyağı ve rutin hidrat etken maddesi içeren bir dispersiyonun transmisyon spektrumu yer almaktadır. Şekil 4.5'te görülen spektrumda  $3341\text{ cm}^{-1}$ 'deki pikler, hidroksil (OH) gruplarının O-H gerilme titreşimlerinden kaynaklanır.  $2920\text{ cm}^{-1}$ 'deki pikler, alkil (C-H) gruplarının gerilme titreşimlerinden kaynaklanır. Zeytinyağı, doymamış ve doymuş yağ asitleri açısından zengindir.  $1656\text{ cm}^{-1}$ 'deki pik, ester (C=O) gruplarının gerilme titreşimlerinden meydana gelir. Bu, Pickering emülsiyonlarında karboksil gruplarının hidrojen bağlarıyla etkileşime girerek stabilize edildiğini göstermektedir.  $1597\text{ cm}^{-1}$ 'deki pik, aromatik halkaların C=C gerilme titreşimlerinden dolayı oluşur.  $1600\text{ cm}^{-1}$  civarında karboksil gruplarından gelen

asimetrik O=C=O germesi ve  $1400\text{ cm}^{-1}$  civarında karboksil gruplarından gelen simetrik O=C=O germesi absorpsiyon bantları görülmektedir.  $1260\text{ cm}^{-1}$ 'teki pik, C-O-C bağlarının gerilme titreşimlerinden kaynaklanır.  $1000\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$ 'deki pikler, C-O bağlarının gerilme titreşimlerinden kaynaklanır. Zeytinyağı ve rutin, yapılarında birden fazla C-O bağı içerir. Spektrumda  $800\text{ cm}^{-1}$  civarında bir pik gözlemlenmektedir. Bu pik, aromatik halkaların C-H eğilme titreşimlerinden kaynaklanabilir (de la Mata ve ark., 2012, Rohman ve ark., 2010, Tang ve ark., 2010, Wang ve ark., 2022).

Spektrumda, rutin hidratın karakteristik hidroksil ve karboksil gruplarından gelen absorpsiyon bantları görülmektedir. Örneğin,  $3341\text{ cm}^{-1}$  civarında hidroksil gruplarından gelen O-H germesi,  $1597\text{ cm}^{-1}$  civarında benzen halkasından gelen C=C germesi ve  $1656\text{ cm}^{-1}$  civarında karboksil gruplarından gelen C=O germesi absorpsiyon bantları görülmektedir. Rutin hidratın absorpsiyon bantları, emülsiyondaki rutin hidrat miktarı arttıkça artmaktadır (Gera ve ark., 2020).

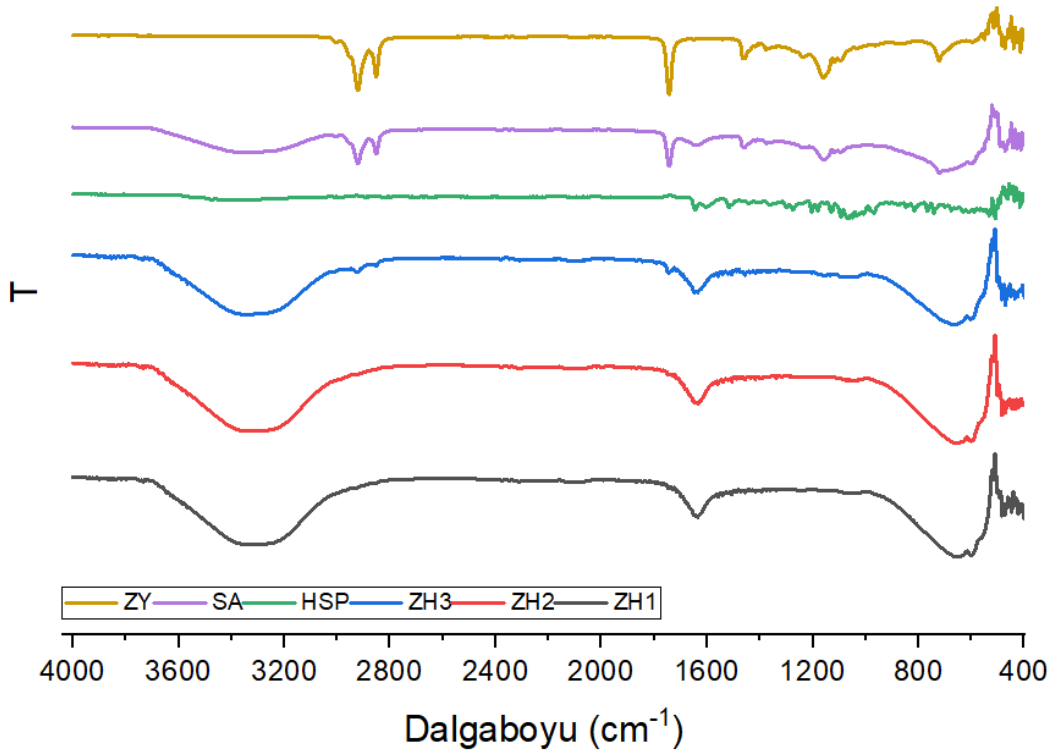


**Şekil 4. 6** Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan ayçiçek yağı ve hesperidin etken maddesi içeren bir dispersiyonun transmisyon spektrumu ile etken ve yardımcı maddelerin karşılaştırılması

Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan ayçiçek yağı ve hesperidin etken maddesi içeren bir dispersiyonun transmisyon spektrumunu göstermektedir. Şekil 4.6'da

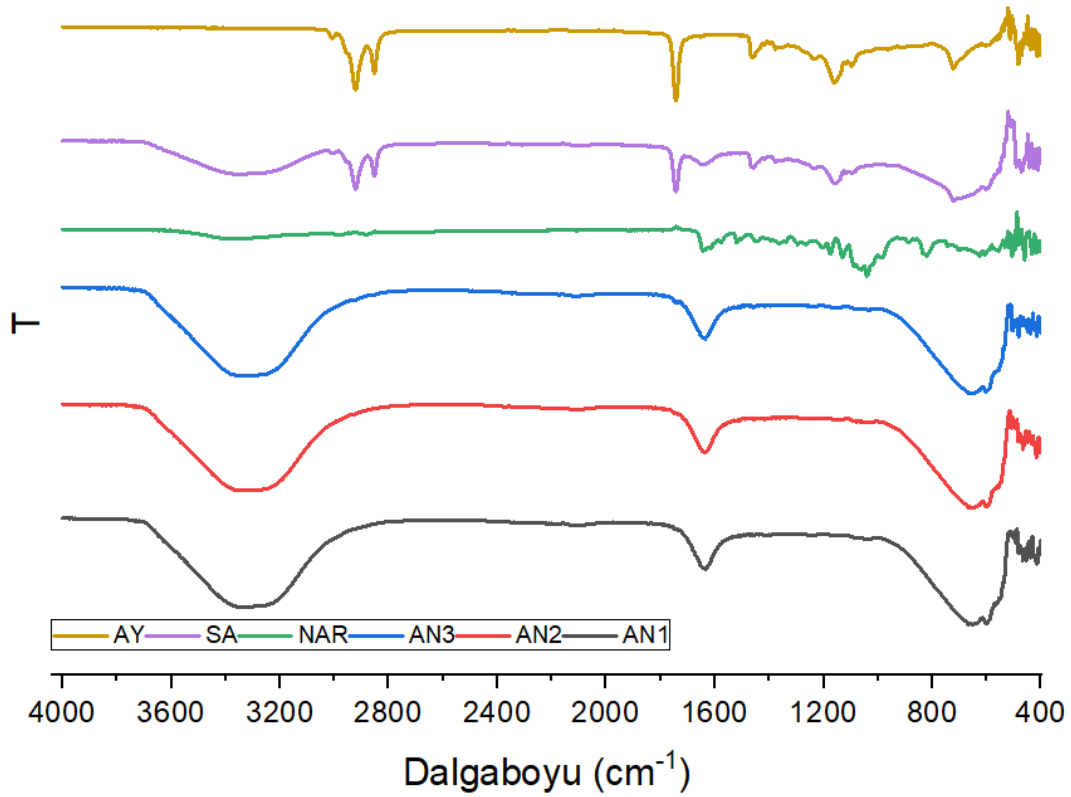
görülen spektrumda  $3370\text{ cm}^{-1}$ 'deki pikler, hidroksil (OH) gruplarının O-H gerilme titreşimlerinden kaynaklanır. Ayrıca  $3000\text{ cm}^{-1}$ 'deki pik, alken (C=C) gruplarının gerilme titreşimlerinden kaynaklanabilir. Ayçiçek yağı ve hesperidin, yapılarında birden fazla hidroksil grubu içerir.  $2920\text{ cm}^{-1}$ 'deki pikler, alkil (C-H) gruplarının gerilme titreşimlerinden dolayı oluşur. Ayçiçek yağı, doymamış ve doymuş yağ asitleri açısından zengindir.  $1645\text{ cm}^{-1}$ 'deki pik, ester (C=O) gruplarının gerilme titreşimlerinden kaynaklanır. Ayçiçek yağı, doymamış yağ asitlerinde bulunan karbonil gruplarından ve hesperidin aglikon kısmındaki karbonil gruplarından kaynaklanabilir.  $1597\text{ cm}^{-1}$ 'deki pikler, aromatik halkaların C=C gerilme titreşimlerinden meydana gelir. Hesperidin, aglikon kısmında aromatik halkalar içerir.  $1240\text{ cm}^{-1}$ 'deki pik, C-O-C bağlarının gerilme titreşimlerinden kaynaklanır. Ayçiçek yağı ve hesperidin, yapılarında birden fazla C-O-C bağı içerir.  $1170\text{ cm}^{-1}$ 'deki pikler, C-O bağlarının gerilme titreşimlerinden kaynaklanır. Ayçiçek yağı ve hesperidin, yapılarında birden fazla C-O bağı içerir. Spektrumda  $800\text{ cm}^{-1}$  civarında bir pik gözlemlenmektedir. Bu pik, aromatik halkaların C-H eğilme titreşimlerinden kaynaklanabilir (Dammak ve ark., 2019, Gözcü ve ark., 2024, Hosseini ve ark., 2020, Rohman ve ark., 2012, Vafakish ve ark. 2015, Wang ve ark., 2023).

Şekil 4.6'da gözlemlediğimiz üzere  $3370\text{ cm}^{-1}$  O-H gerilme titreşimi,  $2941\text{ cm}^{-1}$  C-H gerilmesi,  $1645\text{ cm}^{-1}$  C=O gerilmesi,  $1605\text{ cm}^{-1}$  C=C gerilmesi ve  $1064\text{ cm}^{-1}$  C-O gerilmesidir ve bu pikler hesperidin flavonoidinin karakteristik pikleridir (Ali ve ark., 2019).



**Şekil 4. 7** Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan zeytinyağı ve hesperidin etken maddesi içeren bir dispersiyonun transmisyon spektrumu ile etken ve yardımcı maddelerin karşılaştırılması

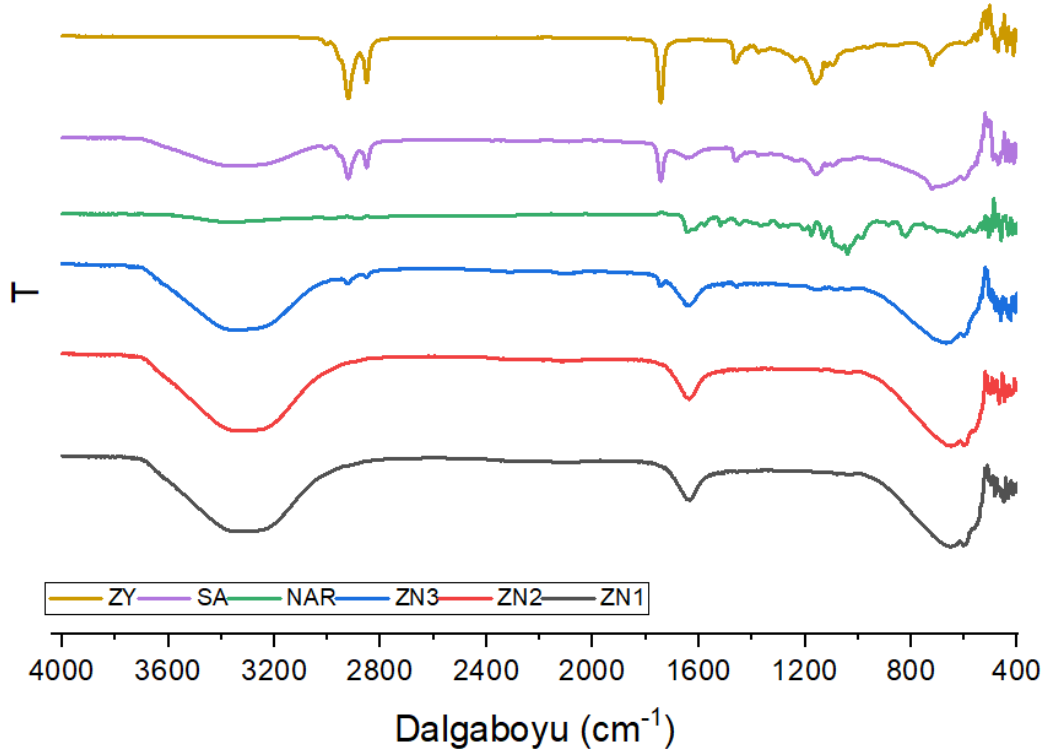
Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan zeytinyağı ve hesperidin etken maddesi içeren bir dispersiyonun transmisyon spektrumu yer almaktadır. Şekil 4.7’de görülen spektrumda  $3370\text{ cm}^{-1}$ ’deki pikler, hidroksil (OH) gruplarının O-H gerilme titreşimlerinden kaynaklanır. Zeytinyağı ve hesperidin, yapılarında birden fazla hidroksil grubu içerir.  $2941\text{ cm}^{-1}$ ’deki pikler, alkil (C-H) gruplarının gerilme titreşimlerinden kaynaklanır. Zeytinyağı, doymamış ve doymuş yağ asitleri açısından zengindir. Hesperidin ise şeker ve aglikon içerir.  $1645\text{ cm}^{-1}$ ’deki pik, karbonil (C=O) gruplarının gerilme titreşimlerinden meydana gelir. Zeytinyağı, doymamış yağ asitlerinde bulunan karbonil gruplarından ve hesperidin aglikon kısmındaki karbonil gruplarından kaynaklanabilir.  $1605\text{ cm}^{-1}$ ’deki pikler, aromatik halkaların C=C gerilme titreşimlerinden dolayı oluşur. Hesperidin, aglikon kısmında aromatik halkalar içerir.  $1064\text{ cm}^{-1}$ ’teki pik, C-O-C bağlarının gerilme titreşimlerinden kaynaklanır. Zeytinyağı ve hesperidin, yapılarında birden fazla C-O bağı içerir. Spektrumda  $800\text{ cm}^{-1}$  civarında bir pik gözlemlenmektedir. Bu pik, aromatik halkaların C-H eğilme titreşimlerinden kaynaklanabilir. Hesperidin, aglikon kısmında aromatik halkalar içerir (Dammak ve ark., 2019, de la Mata ve ark., 2012, Gözcü ve ark., 2024, Rohman ve ark., 2010, Hosseini ve ark., 2020, Wang ve ark., 2023).



**Şekil 4. 8** Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan ayçiçek yağı ve naringin etken maddesi içeren bir dispersiyonun transmisyon spektrumu ile etken ve yardımcı maddelerin karşılaştırılması

Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan ayçiçek yağı ve naringin etken maddesi içeren bir dispersiyonun transmisyon spektrumunu göstermektedir. Şekil 4.8’de görülen spektrumda 3375 cm<sup>-1</sup>’deki pik, hidroksil (OH) gruplarının gerilme titreşimlerinden kaynaklanır. Bu pik, naringinin ve ayçiçek yağındaki trigliseritlerin bir göstergesidir. 2895 cm<sup>-1</sup>’deki pik, alkanlar (CH<sub>2</sub> ve CH<sub>3</sub>) gruplarının simetrik gerilme titreşimlerinden dolayı meydana gelmektedir. 1643 cm<sup>-1</sup>’deki pik, karboksil ester gruplarının (C=O) gerilme titreşimlerinden dolayı oluşur. Bu pikler, ayçiçek yağındaki trigliseritlerin bir göstergesidir. 1580 cm<sup>-1</sup>’deki naringinin bir göstergesi olan bu pikler aromatik halkalarda (C=C) gerilme titreşimlerinden kaynaklanır. 1130 cm<sup>-1</sup> bölgesindeki pikler ise, C-O ve C-N bağlarının gerilme titreşimlerinden kaynaklanır. Bu pikler de naringin ve ayçiçek yağındaki trigliseritlerin bir göstergesidir. Spektrumda 800 cm<sup>-1</sup> civarında bir pik gözlemlenmektedir. Bu pik, aromatik halkaların C-H eğilme titreşimlerinden kaynaklanabilir (Rohman ve ark., 2012, Tang ve ark., 2010, Wang ve ark., 2022, Vafakish ve ark., 2015).

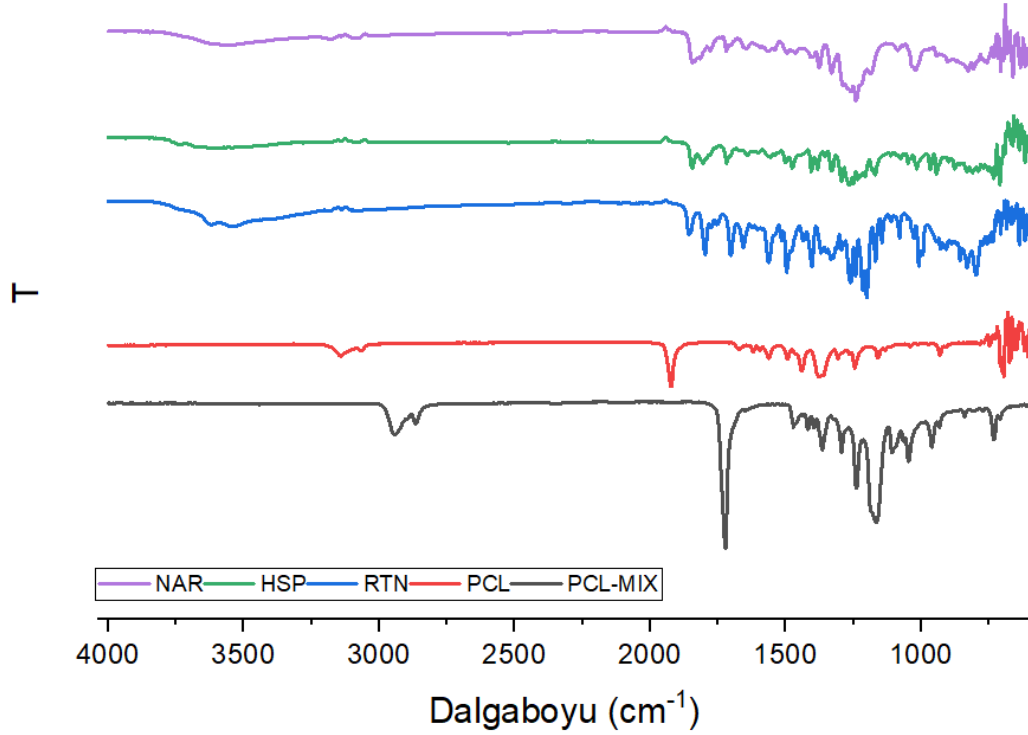
Şekil 4.8’de gözlemlediğimiz üzere  $3400\text{ cm}^{-1}$ ’de hidroksil gruplarından kaynaklanan O-H gerilme titreşimi,  $2920\text{ cm}^{-1}$ ’de C-H gerilmesi,  $1640\text{ cm}^{-1}$ ’de C=O gerilmesi,  $1510\text{ cm}^{-1}$ ’de C=C gerilmesi,  $1260\text{ cm}^{-1}$ ’de naringin yapısındaki C-O-C bağlarının asimetrik gerilme titreşimleri görülmektedir.  $1410\text{ cm}^{-1}$  ve  $1370\text{ cm}^{-1}$ ’de sırasıyla  $\text{CH}_2$  ve  $\text{CH}_3$ ’ün C-H absorpsiyon bandıdır ve  $1070\text{ cm}^{-1}$  ile  $1060\text{ cm}^{-1}$  eterin C-O-C gerilmesidir. Bu pikler naringin flavonoidinin karakteristik pikleridir (Hakim ve ark., 2019).



**Şekil 4. 9** Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan zeytinyağı ve naringin etken maddesi içeren bir dispersiyonun transmisyon spektrumu ile etken ve yardımcı maddelerin karşılaştırılması

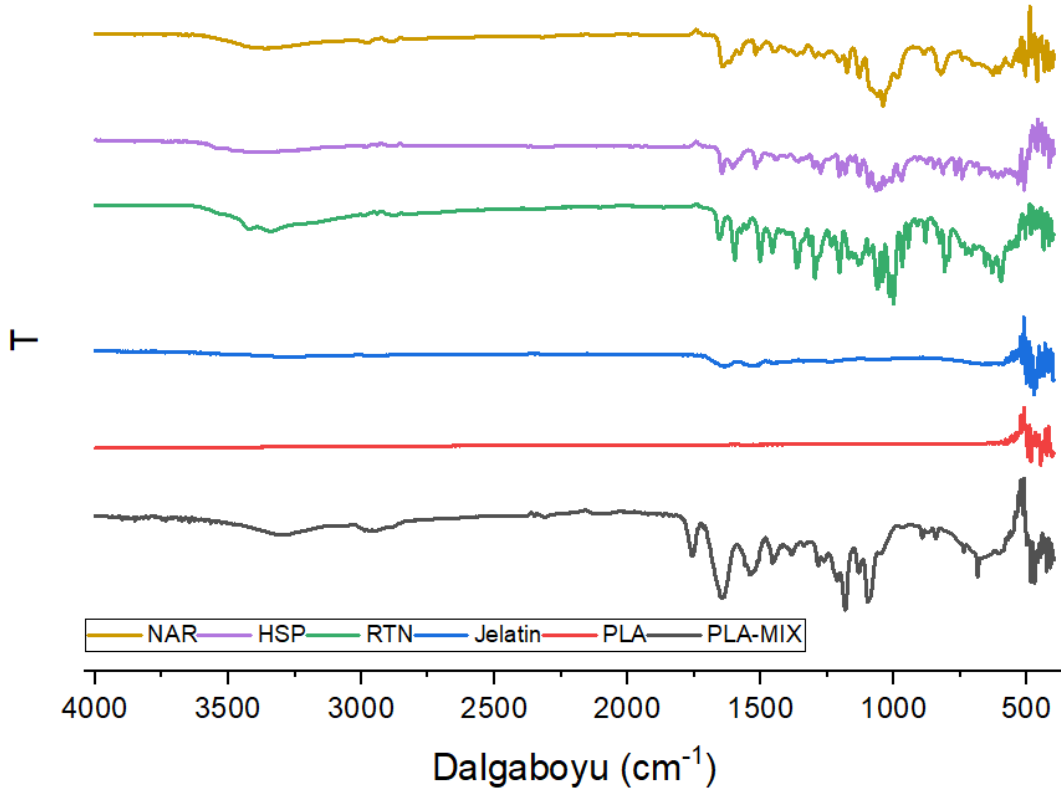
Şekil 4.9’da Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan zeytinyağı ve naringin etken maddesi içeren bir dispersiyonun transmisyon spektrumu yer almaktadır.  $3375\text{ cm}^{-1}$ ’deki pik, hidroksil (OH) gruplarının gerilme titreşimlerinden kaynaklanır. Bu pik, naringinin ve zeytinyağındaki trigliseritlerin bir göstergesidir.  $2895\text{ cm}^{-1}$ ’deki pik, alkanlar ( $\text{CH}_2$  ve  $\text{CH}_3$ ) gruplarının simetrik gerilme titreşimlerinden dolayı oluşur. Bu pik, zeytinyağındaki trigliseritlerin bir göstergesidir.  $1643\text{ cm}^{-1}$ ’deki pik, karboksil ester gruplarının (C=O) gerilme titreşimlerinden kaynaklanır. Bu pik, zeytinyağındaki trigliseritlerin bir göstergesidir.  $1580\text{ cm}^{-1}$ ’deki pik aromatik halkalarda (C=C) gerilme titreşimlerinden kaynaklanır. Bu pik, naringinin bir göstergesidir.  $1130\text{ cm}^{-1}$  bölgesindeki pikler, C-O ve C-N bağlarının gerilme titreşimlerinden kaynaklanır. Bu pikler naringin

ve zeytinyağındaki trigliseritlerin bir göstergesidir (de la Mata ve ark., 2012, Rohman ve ark., 2010, Tang ve ark., 2010, Wang ve ark., 2022).



Şekil 4. 10 Narenciye flavonoidleri, PCL ve PCL-MIX fiberinin FT-IR spektrumu

Şekil 4.10’da PCL polimeriyle hazırlanan elektro-eğrilmiş liflerin spektrumu, Simetrik alkil (C-H)  $2886\text{ cm}^{-1}$  'de, asimetrik alkil  $2743\text{ cm}^{-1}$  'de gözlenmiş olup, C=O bağı  $1725\text{ cm}^{-1}$  'de gözlenmiştir.  $1290\text{ cm}^{-1}$  'de bir -C-O bağı vardır.  $1240\text{ cm}^{-1}$  'de asimetrik O-C-O ve  $1170\text{ cm}^{-1}$  'de asimetrik O-C-O yapısı vardır (Wang ve ark., 2022, Wang ve ark., 2023, Tang ve ark., 2011, Stoyanova ve ark., 2023).

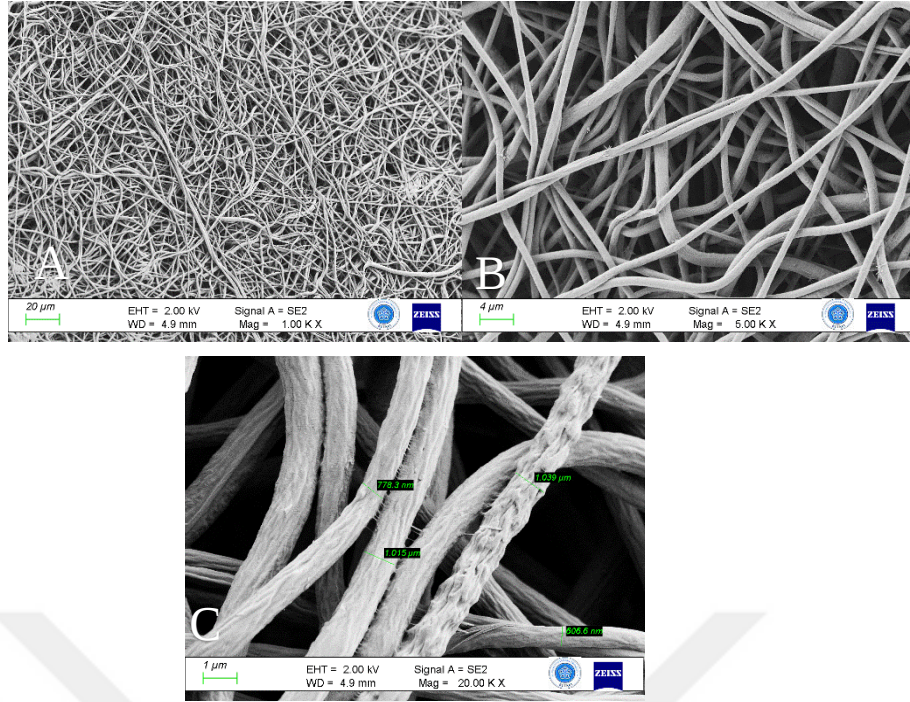


Şekil 4. 11 Narenciye flavonoidleri, PLA ve PLA-MIX fiberinin FT-IR spektrumu

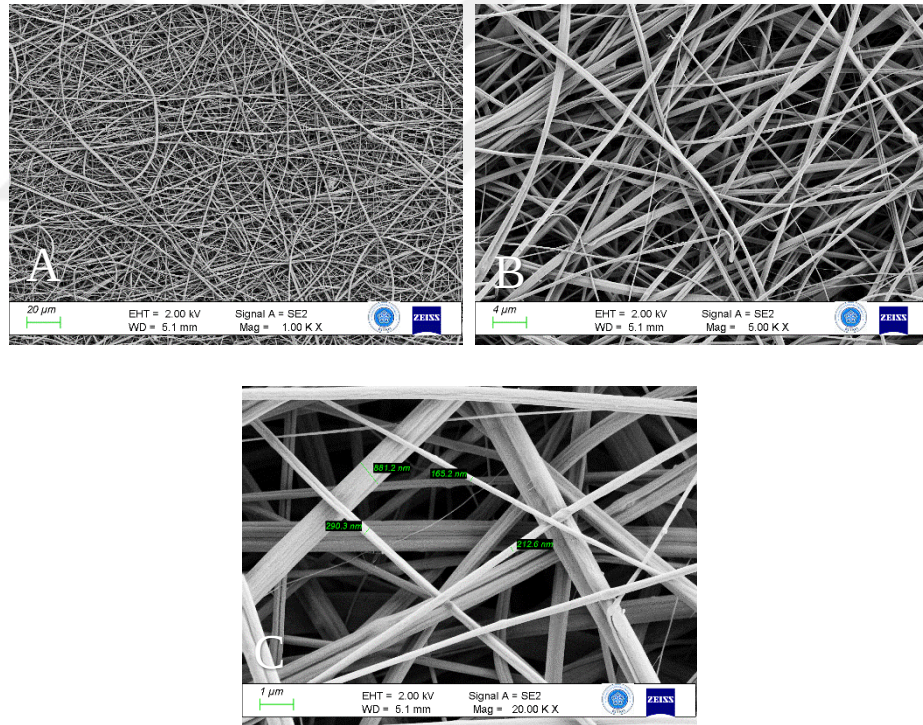
Şekil 4.11’de, PLA-Jelatin polimeri ile hazırlanan elektro-eğrilmiş liflerin spektrumunda, 3298 cm<sup>-1</sup>’de gözlenen pik hidroksil (-OH) pikidir. Simetrik alkil (C-H) 2996 cm<sup>-1</sup>’de, asimetrik alkil 2946 cm<sup>-1</sup>’de gözlenmiş olup, 1756 cm<sup>-1</sup>’de gözlenen pik C=O bağından kaynaklanmaktadır. 1650 cm<sup>-1</sup>’de gözlenen pik amid (C=O) grubudur. 1118 cm<sup>-1</sup>’de gözlenen tepe, -C-O bağlarının gerilme titreşimidir. 1240 cm<sup>-1</sup>’de gözlenen tepe, C-O-C bağlarından kaynaklanmaktadır (Wang ve ark., 2022, Wang ve ark., 2023, Tang ve ark., 2011, Stoyanova ve ark., 2023).

#### 4.4. FESEM Analizi Sonuçları

PCL-MIX ve PLA- MIX matının FE-SEM görüntülerinde, liflerin pürüzsüz olduğu ve boncuk oluşumunun gözlenmediği görüldü. Histogram grafikleri EK-1’de verilmiştir. Fiberlerin görüntüleri Şekil 4.12 ve Şekil 4.13’te verilmiştir.



Şekil 4. 12 PCL-MIX fiberinin A) 1kx, B) 5kx, C) 20kx FESEM görüntüleri



Şekil 4. 13 PLA-MIX fiberinin A) 1kx, B) 5kx, C) 20kx FESEM görüntüleri

Elektroeğirme liflerinin ortalama çapları ImageJ programı ile PCL-MIX matı için  $890,86 \pm 22,45$  nm, PLA-MIX matı için  $439,34 \pm 20,34$  nm olarak ölçülmüştür. Artan PCL konsantrasyonu ile fiber üretim sürecinde, konsantrasyonun artışıyla birlikte daha homojen ve temiz bir yapı elde edildiği, ayrıca "bead" olarak adlandırılan boncuk

oluşumlarının gözlenmediği tespit edilmiştir. Bununla birlikte, PCL konsantrasyonunun artması fiberlerin çap kalınlıklarında bir artışa neden olmuştur. (Çiçek, 2016, Onurlu ve ark., 2022) PCL-MIX matının ortalama çapının PLA-MIX matından yüksek olması PCL-MIX matının enkapsülasyon etkinliğinin düşük olmasını desteklemektedir.

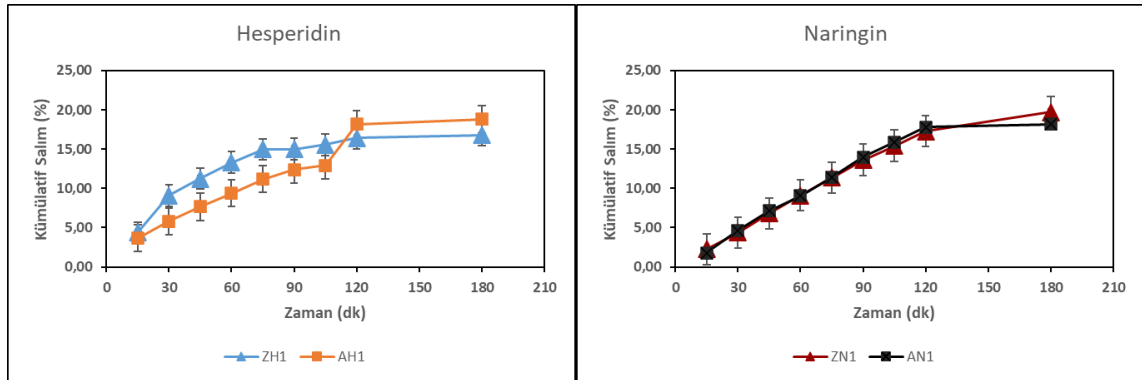
#### 4.5. *In Vitro* Salım (Dissolüsyon) Analizi Sonuçları

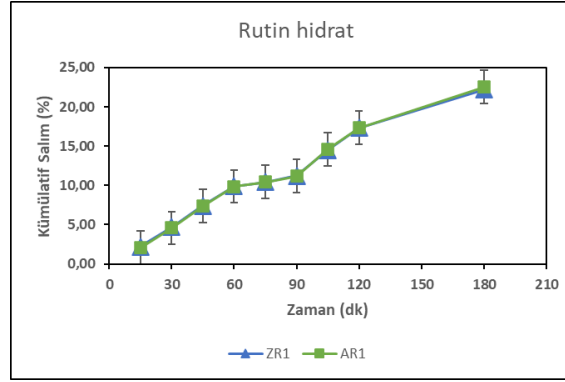
Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan ve etken madde içeren kürelerin, 3 saat boyunca pH 1,2 mide ortamında salım profili incelenmiştir.

Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 7,5 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin pH 1,2 *in vitro* mide ortamındaki salım profilleri incelendiğinde, zeytinyağı ve ayçiçek yağı ile oluşturulan partiküllerden etken maddenin salım yüzdeleri ve profilleri Çizelge 4.9 ve Şekil 4.14'te gösterilmiştir.

**Çizelge 4. 9** 7,5 mg etken madde yüklenmiş partiküllerin mide ortamında (pH 1,2) kümülatif salım yüzdeleri

| Zaman (dk) | ZH1         | AH1         | ZN1         | AN1         | ZR1         | AR1         |
|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 15         | 4,37±0,005  | 3,66±0,003  | 2,24±0,023  | 1,77±0,004  | 2,19±0,025  | 2,07±0,027  |
| 30         | 9,10±0,003  | 5,81±0,003  | 4,37±0,019  | 4,64±0,006  | 4,71±0,018  | 4,58±0,023  |
| 45         | 11,24±0,003 | 7,66±0,004  | 6,81±0,002  | 7,17±0,003  | 7,42±0,033  | 7,37±0,024  |
| 60         | 13,32±0,003 | 9,38±0,006  | 9,11±0,003  | 9,07±0,002  | 9,91±0,01   | 9,88±0,005  |
| 75         | 14,97±0,003 | 11,18±0,005 | 11,39±0,002 | 11,45±0,002 | 10,45±0,004 | 10,44±0,003 |
| 90         | 15,02±0,001 | 12,40±0,005 | 13,63±0,003 | 14,00±0,002 | 11,21±0,002 | 11,19±0,002 |
| 105        | 15,57±0,003 | 12,95±0,003 | 15,44±0,003 | 15,91±0,003 | 14,54±0,013 | 14,60±0,012 |
| 120        | 16,41±0,004 | 18,17±0,01  | 17,30±0,003 | 17,83±0,003 | 17,35±0,051 | 17,35±0,049 |
| 180        | 16,77±0,001 | 18,79±0,003 | 19,70±0,007 | 18,17±0,004 | 22,22±0,016 | 22,51±0,008 |





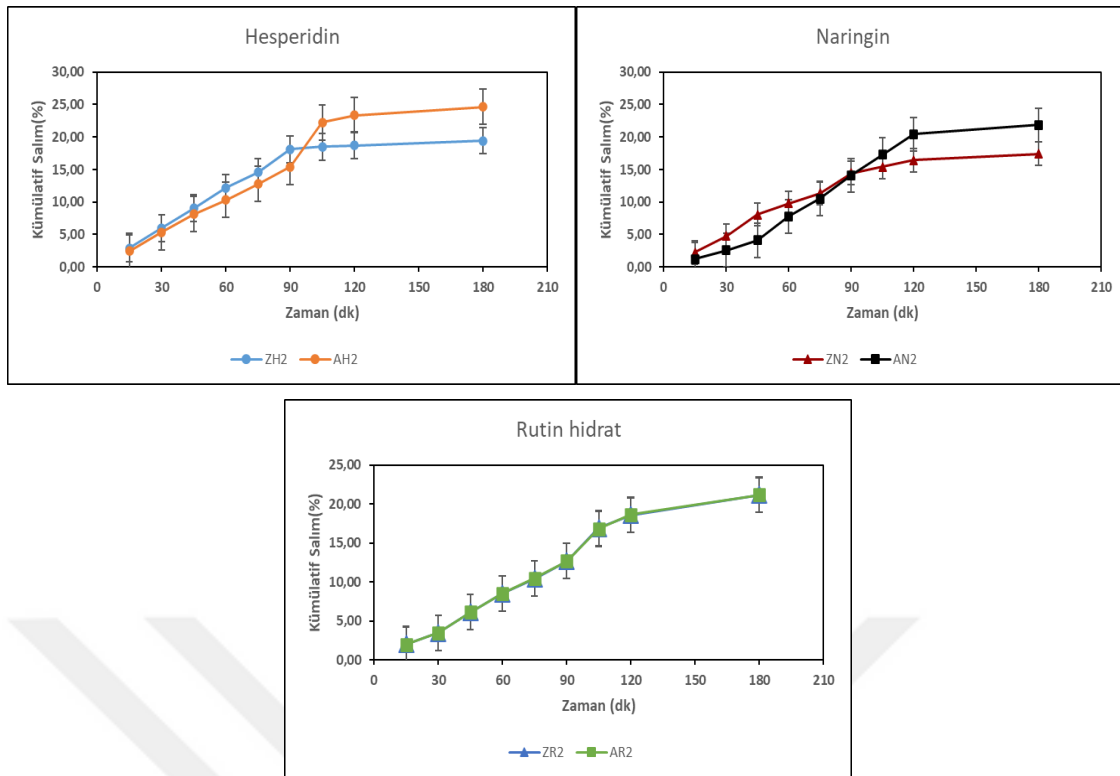
**Şekil 4. 14** Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 7,5 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin *in vitro* pH 1,2 dissolüsyon karşılaştırma grafikleri

pH 1,2 mide ortamı salım çalışmasında 7,5 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat yüklenmiş partiküllerin salım profilleri incelenmiş, her bir etken maddenin zeytinyağı ve ayçiçek yağı ile hazırlanmış partiküllerinin salım profillerinin birbirine paralel olduğu gözlenmiştir. En yüksek salım miktarı AR1 (7,5 mg) partikülünde %22,51 olarak hesaplanmıştır.

Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 15 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin pH 1,2 *in vitro* mide ortamındaki salım profilleri incelendiğinde, zeytinyağı ve ayçiçek yağı ile oluşturulan partiküllerden etken maddenin salım yüzdeleri ve profilleri Çizelge 4.10 ve Şekil 4.15'te gösterilmiştir.

**Çizelge 4. 10** 15 mg etken madde yüklenmiş partiküllerin mide ortamında (pH 1,2) kümülatif salım yüzdeleri

| Zaman (dk) | ZH2         | AH2         | ZN2         | AN2         | ZR2         | AR2         |
|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 15         | 2,91±0,002  | 2,47±0,002  | 2,24±0,003  | 1,21±0,002  | 2,04±0,032  | 1,99±0,034  |
| 30         | 5,97±0,004  | 5,33±0,008  | 4,77±0,003  | 2,61±0,002  | 3,48±0,036  | 3,48±0,042  |
| 45         | 9,04±0,003  | 8,13±0,001  | 8,09±0,001  | 4,10±0,005  | 6,14±0,006  | 6,11±0,017  |
| 60         | 12,17±0,003 | 10,30±0,004 | 9,82±0,001  | 7,79±0,003  | 8,55±0,007  | 8,55±0,006  |
| 75         | 14,59±0,006 | 12,76±0,004 | 11,37±0,004 | 10,53±0,003 | 10,44±0,032 | 10,46±0,029 |
| 90         | 18,11±0,002 | 15,42±0,004 | 14,44±0,003 | 14,15±0,003 | 12,69±0,03  | 12,71±0,031 |
| 105        | 18,49±0,002 | 22,22±0,28  | 15,38±0,002 | 17,28±0,004 | 16,92±0,008 | 16,85±0,016 |
| 120        | 18,72±0,002 | 23,36±0,002 | 16,44±0,002 | 20,44±0,003 | 18,57±0,041 | 18,66±0,038 |
| 180        | 19,43±0,004 | 24,66±0,001 | 17,44±0,003 | 21,89±0,003 | 21,16±0,005 | 21,19±0,012 |



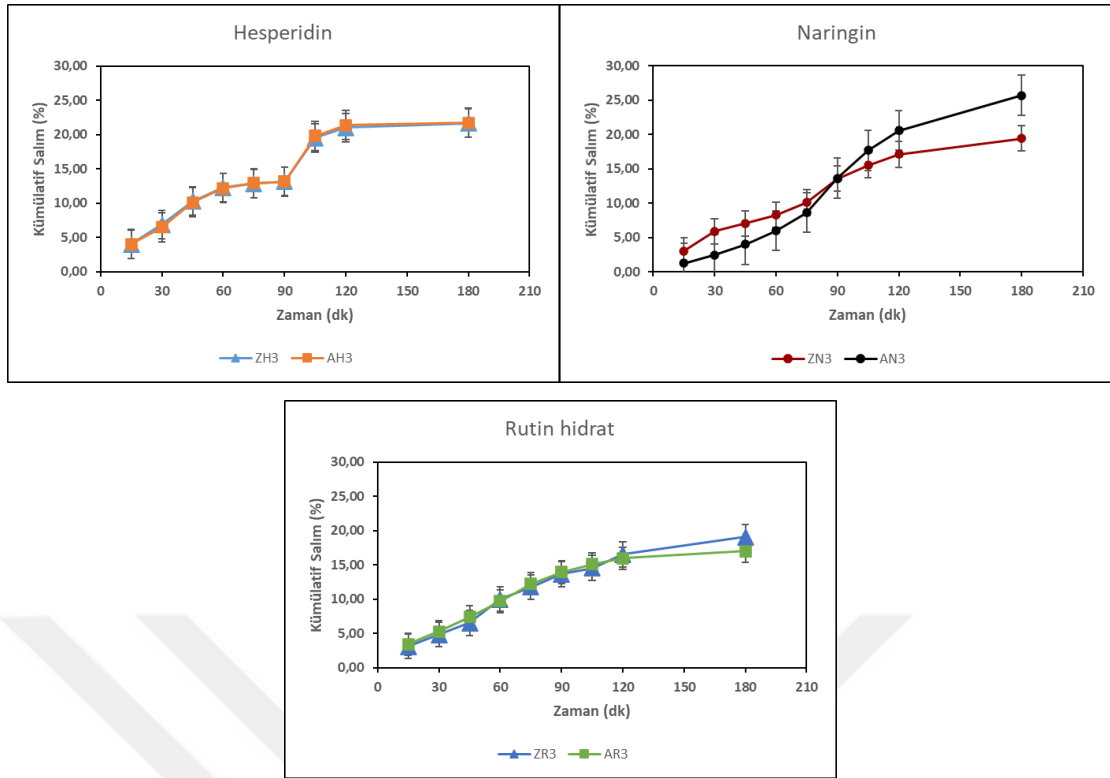
**Şekil 4. 15** Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 15 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin *in vitro* pH 1,2 dissolüsyon karşılaştırma grafiği

pH 1,2 mide ortamı salım çalışmasında 15 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin salım profilleri incelenmiş, her bir etken maddenin zeytinyağı ve ayçiçek yağı ile hazırlanmış partiküllerinin salım profillerinin birbirine paralel olduğu gözlenmiştir. En yüksek salım miktarı AH2 (15 mg) partikülünde %24,66 olarak hesaplanmıştır.

Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 30 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin pH1,2 *in vitro* mide ortamındaki salım profilleri incelendiğinde, zeytinyağı ve ayçiçek yağı ile oluşturulan partiküllerden etken maddenin salım yüzdeleri ve profilleri Çizelge 4.11 ve Şekil 4.16'da gösterilmiştir.

**Çizelge 4. 11** 30 mg etken madde yüklenmiş partiküllerin mide ortamında (pH 1,2) kümülatif salım yüzdeleri

| Zaman (dk) | ZH3          | AH3         | ZN3         | AN3         | ZR3         | AR3         |
|------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 15         | 3,99±0,002   | 4,03±0,002  | 3,06±0,001  | 1,27±0,001  | 3,10±0,002  | 3,42±0,008  |
| 30         | 6,87±0,002   | 6,47±0,001  | 5,90±0,001  | 2,49±0,002  | 4,84±0,001  | 5,28±0,01   |
| 45         | 10,28±0,002  | 10,12±0,009 | 7,05±0,001  | 4,01±0,001  | 6,52±0,001  | 7,41±0,007  |
| 60         | 12,26±0,001  | 12,16±0,001 | 8,26±0,004  | 6,00±0,003  | 10,00±0,065 | 9,68±0,016  |
| 75         | 12,88±0,001  | 12,94±0,003 | 10,10±0,001 | 8,63±0,001  | 11,76±0,057 | 12,25±0,008 |
| 90         | 13,15±0,0002 | 13,12±0,001 | 13,58±0,007 | 13,62±0,003 | 1,67±0,062  | 13,93±0,001 |
| 105        | 19,53±0,005  | 19,79±0,005 | 15,54±0,002 | 17,69±0,008 | 14,53±0,001 | 15,08±0,004 |
| 120        | 21,04±0,003  | 21,38±0,001 | 17,09±0,001 | 20,59±0,004 | 16,52±0,001 | 15,95±0,003 |
| 180        | 21,67±0,004  | 21,73±0,001 | 19,42±0,002 | 25,70±0,001 | 19,05±0,001 | 17,00±0,003 |



**Şekil 4. 16** Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 30 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin *in vitro* pH 1,2 dissolüsyon karşılaştırma grafiği

pH 1,2 mide ortamı salım çalışmasında 30 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin salım profilleri incelenmiş, her bir etken maddenin zeytinyağı ve ayçiçek yağı ile hazırlanmış partiküllerinin salım profillerinin birbirine paralel olduğu gözlenmiştir. En yüksek salım miktarı AN3 (30 mg) partikülünde %25,7 olarak hesaplanmıştır.

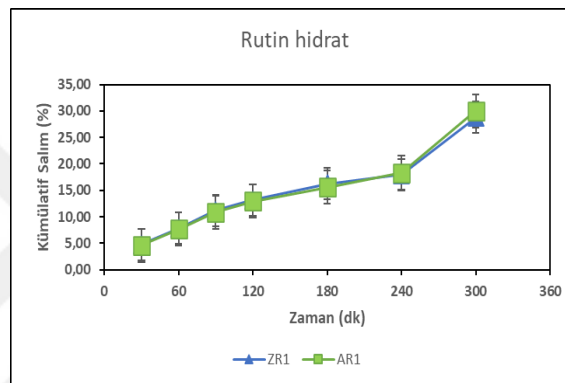
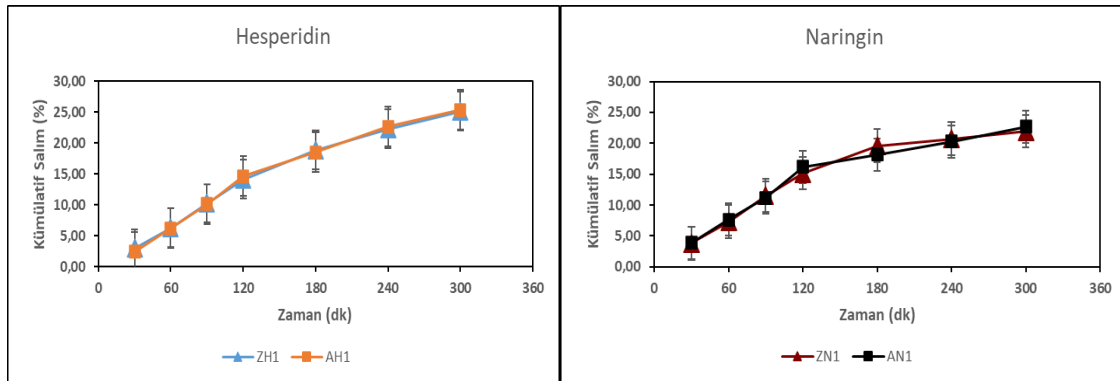
Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan ve etken madde içeren partiküllerin, 5 saat boyunca pH 7,4 bağırsak ortamında salım profili incelenmiştir.

Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 7,5 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin pH 7,4 *in vitro* bağırsak ortamındaki salım profilleri incelendiğinde, 5 saat sonunda zeytinyağı ve ayçiçek yağı ile oluşturulan partiküllerden etken maddenin salım yüzdeleri ve profilleri Çizelge 4.12 ve Şekil 4.17’de gösterilmiştir.

**Çizelge 4. 12** 7,5 mg etken madde yüklenmiş partiküllerin bağırsak ortamında (pH 7,4) kümülatif salım yüzdeleri

| Zaman (dk) | ZH1         | AH1         | ZN1         | AN1         | ZR1         | AR1         |
|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 30         | 2,98±0,002  | 2,46±0,003  | 3,78±0,015  | 3,86±0,027  | 4,74±0,04   | 4,62±0,036  |
| 60         | 6,32±0,003  | 6,23±0,004  | 7,30±0,015  | 7,64±0,031  | 7,83±0,021  | 7,63±0,013  |
| 90         | 10,26±0,007 | 10,12±0,003 | 11,52±0,027 | 11,16±0,007 | 11,17±0,026 | 10,88±0,024 |
| 120        | 14,16±0,002 | 14,67±0,026 | 15,13±0,015 | 16,21±0,015 | 13,22±0,031 | 12,94±0,032 |

|     |             |             |             |             |             |             |
|-----|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 180 | 18,85±0,003 | 18,47±0,002 | 19,60±0,027 | 18,16±0,027 | 16,23±0,018 | 15,58±0,002 |
| 240 | 22,27±0,003 | 22,67±0,001 | 20,74±0,003 | 20,27±0,003 | 18,00±0,01  | 18,33±0,032 |
| 300 | 25,16±0,002 | 25,38±0,003 | 21,93±0,003 | 22,70±0,006 | 28,80±0,023 | 30,00±0,005 |



**Şekil 4. 17** Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 7,5 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin *in vitro* pH 7,4 dissolüsyon karşılaştırma grafiği

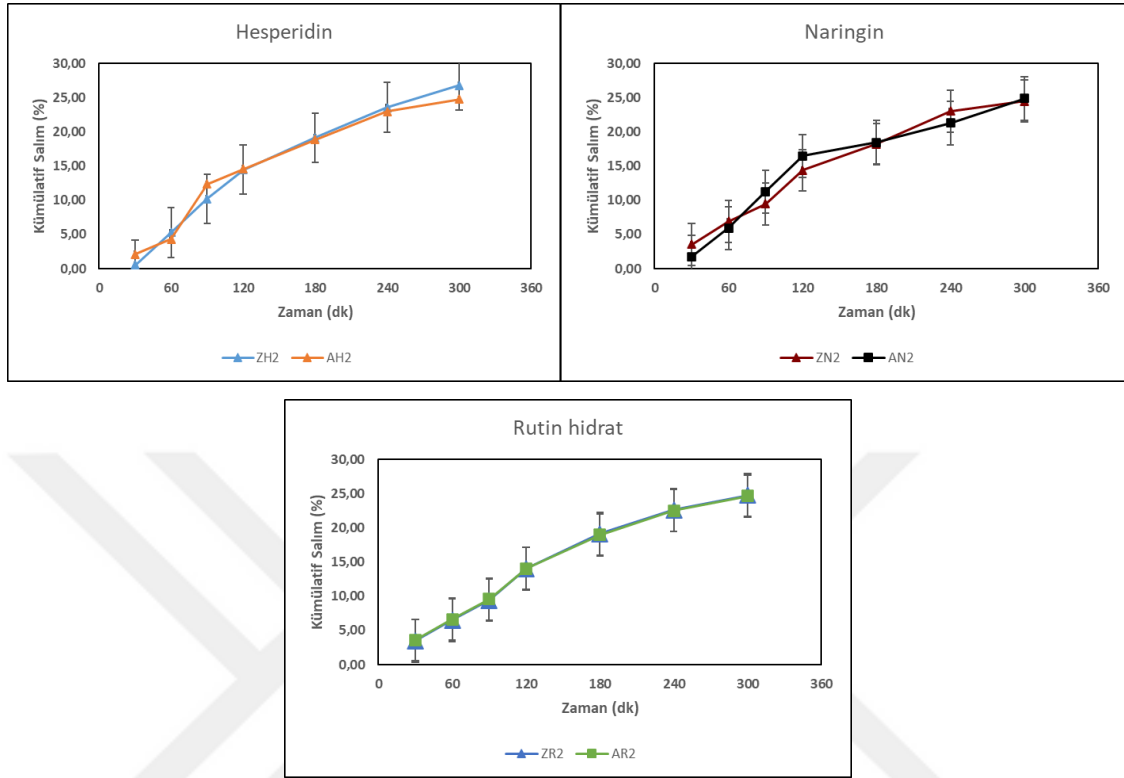
pH 7,4 bağırsak ortamı salım çalışmasında 7,5 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat yüklenmiş partiküllerin salım profilleri incelenmiş, her bir etken maddenin zeytinyağı ve ayçiçek yağı ile hazırlanmış partiküllerinin salım profillerinin birbirine paralel olduğu gözlenmiştir. En yüksek salım miktarı AR1 (7,5 mg) partikülünde %30,00 olarak hesaplanmıştır.

Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 15 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin pH 7,4 *in vitro* bağırsak ortamındaki salım profilleri incelendiğinde, 5 saat sonunda zeytinyağı ve ayçiçek yağı ile oluşturulan partiküllerden etken maddenin salım yüzdeleri ve profilleri Çizelge 4.13 ve Şekil 4.18’de gösterilmiştir.

**Çizelge 4. 13** 15 mg etken madde yüklenmiş partiküllerin bağırsak ortamında (pH 7,4) kümülatif salım yüzdeleri

| Zaman (dk) | ZH2         | AH2         | ZN2         | AN2         | ZR2         | AR2         |
|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 30         | 0,56±0,003  | 2,10±0,007  | 3,55±0,001  | 1,75±0,002  | 3,50±0,05   | 3,61±0,049  |
| 60         | 5,28±0,007  | 4,35±0,003  | 6,92±0,001  | 5,92±0,004  | 6,52±0,024  | 6,64±0,027  |
| 90         | 10,20±0,004 | 12,36±0,015 | 9,46±0,002  | 11,26±0,004 | 9,42±0,018  | 9,58±0,017  |
| 120        | 14,48±0,011 | 14,60±0,005 | 14,38±0,002 | 16,48±0,003 | 14,03±0,006 | 14,07±0,008 |

|     |             |             |             |             |             |             |
|-----|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 180 | 19,14±0,382 | 18,84±0,004 | 18,20±0,002 | 18,45±0,003 | 19,14±0,009 | 18,97±0,019 |
| 240 | 23,56±0,028 | 22,99±0,004 | 23,00±0,006 | 21,27±0,003 | 22,61±0,024 | 22,50±0,016 |
| 300 | 26,78±0,06  | 24,76±0,002 | 24,48±0,002 | 24,87±0,004 | 24,78±0,02  | 24,63±0,013 |



**Şekil 4. 18** Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 15 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin *in vitro* pH 7,4 dissolüsyon karşılaştırma grafiği

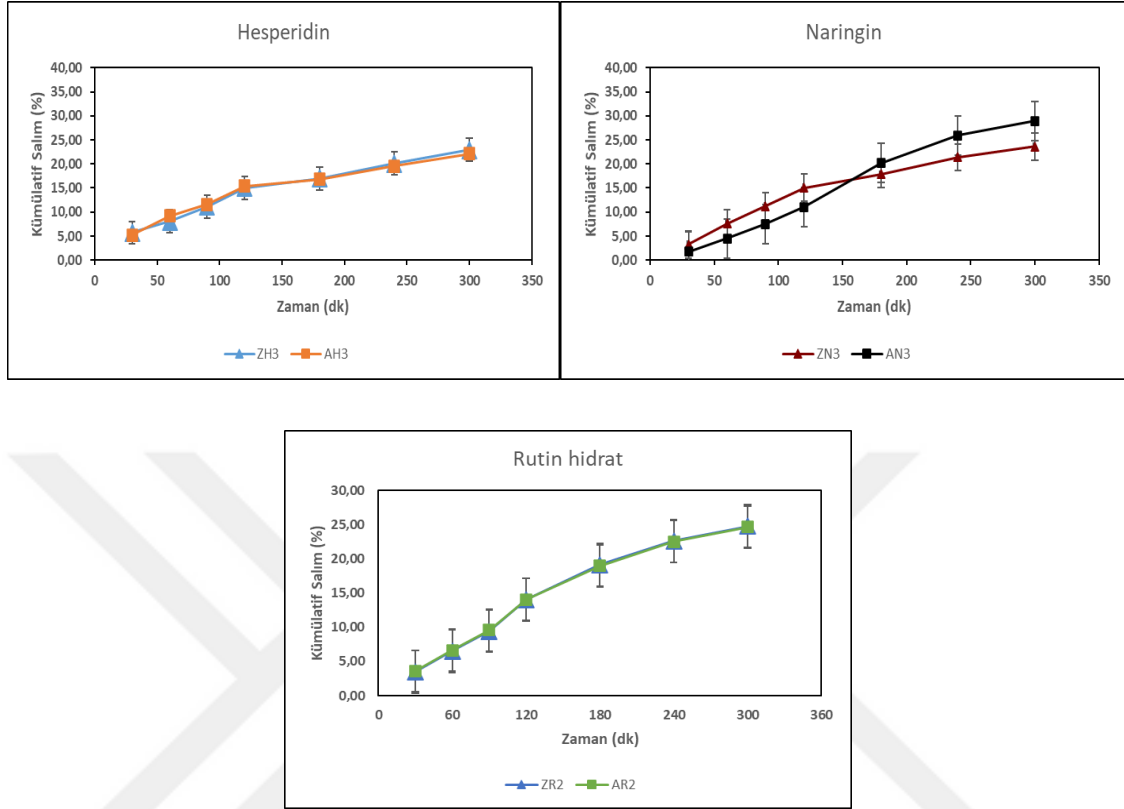
pH 7,4 bağırsak ortamı salım çalışmasında 15 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat yüklenmiş partiküllerin salım profilleri incelenmiş, her bir etken maddenin zeytinyağı ve ayçiçek yağı ile hazırlanmış partiküllerinin salım profillerinin birbirine paralel olduğu gözlenmiştir. En yüksek salım miktarı ZH2 (7,5 mg) partikülünde %26,78 olarak hesaplanmıştır.

Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 15 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin pH 7,4 *in vitro* bağırsak ortamındaki salım profilleri incelendiğinde, 5 saat sonunda zeytinyağı ve ayçiçek yağı ile oluşturulan partiküllerden etken maddenin salım yüzdeleri ve profilleri Çizelge 4.14 ve Şekil 4.19’da gösterilmiştir.

**Çizelge 4. 14** 30 mg etken madde yüklenmiş partiküllerin bağırsak ortamında (pH 7,4) kümülatif salım yüzdeleri

| Zaman (dk) | ZH3         | AH3         | ZN3         | AN3        | ZR3        | AR3        |
|------------|-------------|-------------|-------------|------------|------------|------------|
| 30         | 5,70±0,003  | 5,20±0,002  | 3,24±0,013  | 1,80±0,016 | 1,24±0,001 | 1,51±0,001 |
| 60         | 8,06±0,005  | 9,24±0,001  | 7,64±0,024  | 4,51±0,033 | 2,07±0,001 | 4,94±0,001 |
| 90         | 11,17±0,001 | 11,63±0,001 | 11,20±0,034 | 7,51±0,505 | 5,14±0,001 | 7,40±0,001 |

|     |             |             |             |             |             |             |
|-----|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 120 | 15,04±0,001 | 15,40±0,001 | 15,07±0,017 | 11,07±0,025 | 15,26±0,001 | 10,70±0,002 |
| 180 | 16,99±0,003 | 16,82±0,003 | 17,84±0,019 | 20,22±0,045 | 16,53±0,004 | 12,22±0,001 |
| 240 | 20,11±0,006 | 19,58±0,007 | 21,41±0,259 | 25,91±0,03  | 25,25±0,161 | 27,12±0,001 |
| 300 | 22,93±0,004 | 22,13±0,001 | 23,60±0,29  | 28,98±0,031 | 34,50±0,01  | 36,11±0,006 |



**Şekil 4. 19** Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 30 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin in vitro pH 7,4 dissolüsyon karşılaştırma grafiği

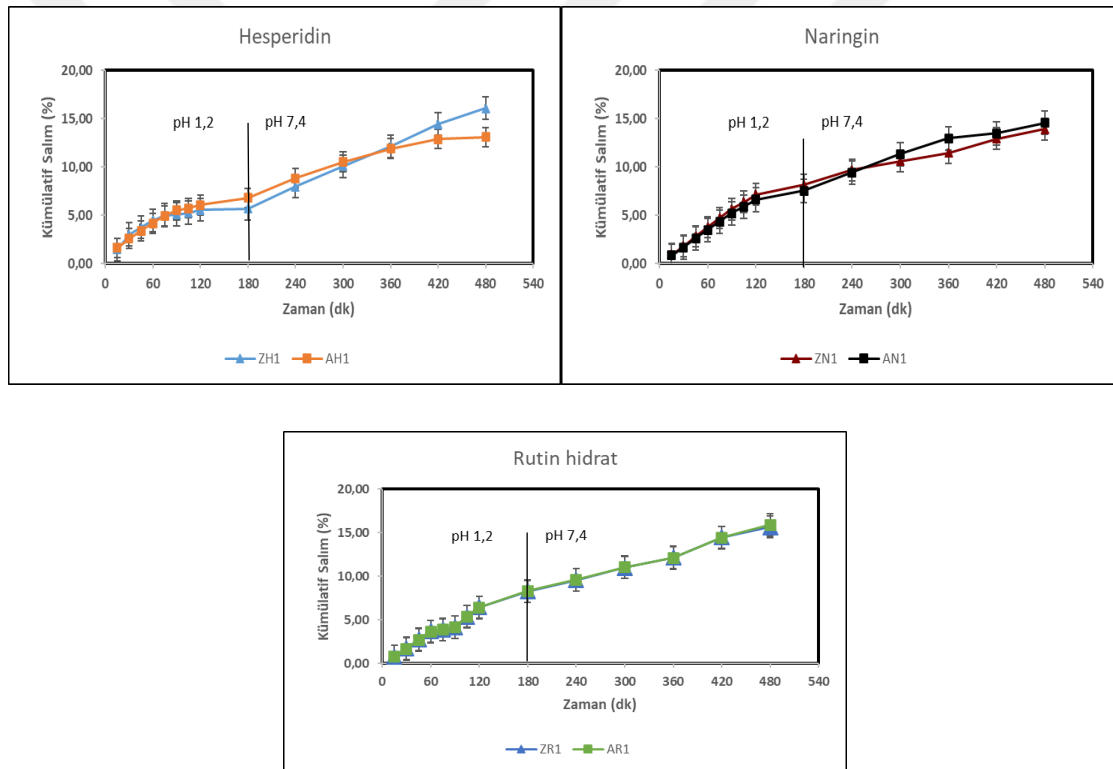
pH 7,4 bağırsak ortamı salım çalışmasında 30 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat yüklenmiş partiküllerin salım profilleri incelenmiş, her bir etken maddenin zeytinyağı ve ayçiçek yağı ile hazırlanmış partiküllerinin salım profillerinin birbirine paralel olduğu gözlenmiştir. En yüksek salım miktarı AR3 (30 mg) partikülünde %36,11 olarak hesaplanmıştır.

Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan ve etken madde içeren kürelerin, 3 saat boyunca pH 1,2 mide ortamında ve 5 saat boyunca pH 7,4 bağırsak ortamında salım profili incelenmiştir.

Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 7,5 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin ardışık şekilde mide ve bağırsak ortamındaki salım profilleri incelendiğinde, 8 saat sonunda zeytinyağı ve ayçiçek yağı ile oluşturulan partiküllerden etken maddenin salım yüzdeleri ve profilleri Çizelge 4.15 ve Şekil 4.20’de gösterilmiştir.

**Çizelge 4. 15** 7,5 mg etken madde yüklenmiş partiküllerin ardışık (pH 1,2+ pH 7,4) kümülatif salım yüzdeleri

| Zaman (dk) | ZH1         | AH1         | ZN1         | AN1         | ZR1         | AR1         |
|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 15         | 1,45±0,005  | 1,62±0,003  | 0,93±0,023  | 0,86±0,023  | 0,81±0,008  | 0,76±0,007  |
| 30         | 3,02±0,005  | 2,58±0,003  | 1,81±0,019  | 1,67±0,019  | 1,75±0,007  | 1,69±0,001  |
| 45         | 3,74±0,005  | 3,39±0,004  | 2,82±0,002  | 2,61±0,002  | 2,76±0,012  | 2,72±0,012  |
| 60         | 4,46±0,003  | 4,16±0,006  | 3,77±0,003  | 3,48±0,003  | 3,68±0,016  | 3,64±0,015  |
| 75         | 5,01±0,003  | 4,95±0,005  | 4,72±0,002  | 4,35±0,002  | 3,88±0,021  | 3,85±0,02   |
| 90         | 5,09±0,012  | 5,50±0,005  | 5,64±0,003  | 5,21±0,003  | 4,17±0,025  | 4,13±0,023  |
| 105        | 5,27±0,003  | 5,74±0,003  | 6,39±0,003  | 5,90±0,003  | 5,40±0,029  | 5,39±0,027  |
| 120        | 5,55±0,004  | 6,05±0,01   | 7,16±0,003  | 6,62±0,003  | 6,45±0,031  | 6,40±0,03   |
| 180        | 5,67±0,001  | 6,78±0,003  | 8,16±0,007  | 7,53±0,007  | 8,26±0,036  | 8,31±0,032  |
| 240        | 7,98±0,006  | 8,85±0,004  | 9,68±0,002  | 9,43±0,003  | 9,56±0,044  | 9,61±0,043  |
| 300        | 10,08±0,003 | 10,51±0,004 | 10,61±0,003 | 11,31±0,003 | 10,99±0,049 | 11,04±0,052 |
| 360        | 12,15±0,002 | 11,88±0,011 | 11,47±0,002 | 12,98±0,004 | 12,17±0,051 | 12,12±0,06  |
| 420        | 14,44±0,01  | 12,90±0,005 | 12,92±0,002 | 13,47±0,003 | 14,47±0,059 | 14,42±0,063 |
| 480        | 16,08±0,003 | 13,08±0,005 | 13,91±0,007 | 14,57±0,003 | 15,65±0,063 | 15,92±0,066 |



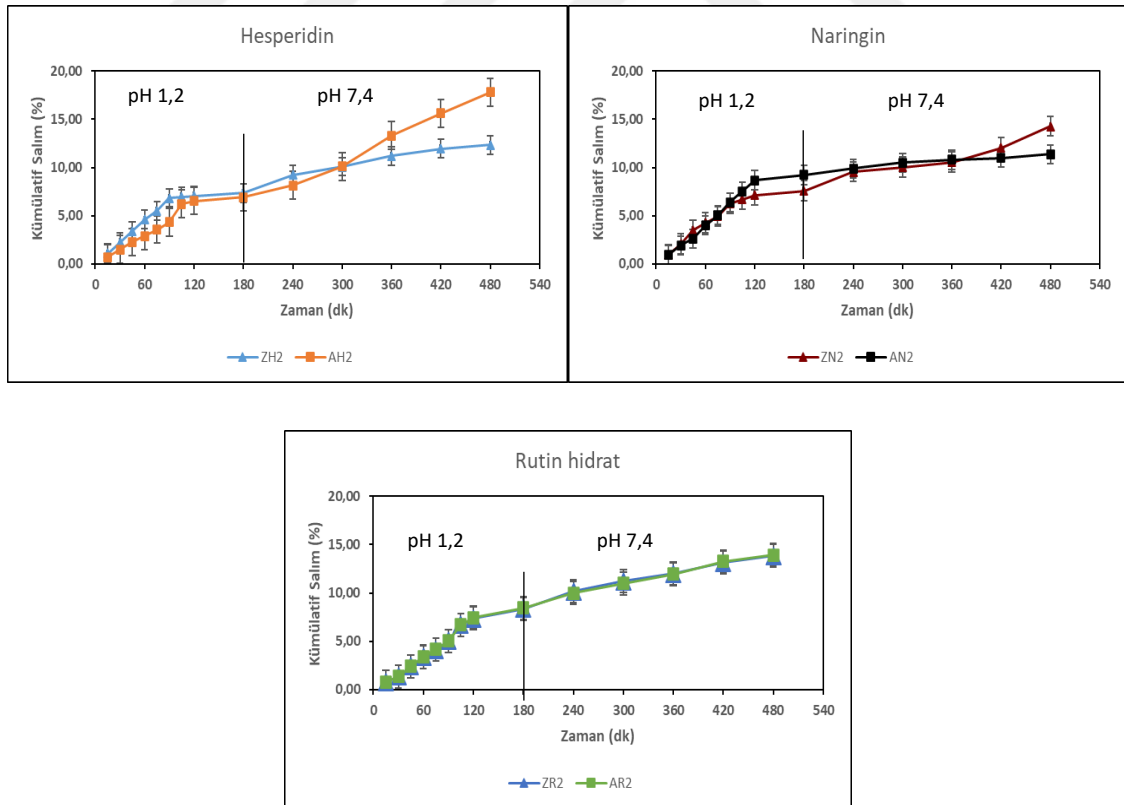
**Şekil 4. 20** Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 7,5 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin in vitro dissolüsyon karşılaştırma grafikleri

Ardışık salım çalışmasında 7,5 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat yüklenmiş partiküllerin salım profilleri incelenmiş, her bir etken maddenin zeytinyağı ve ayçiçek yağı ile hazırlanmış partiküllerinin salım profillerinin birbirine paralel olduğu gözlenmiştir. En yüksek salım miktarı ZH1 (7,5 mg) partikülünde %16,08 olarak hesaplanmıştır.

Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 15 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin ardışık şekilde mide ve bağırsak ortamındaki salım profilleri incelendiğinde, 8 saat sonunda zeytinyağı ve ayçiçek yağı ile oluşturulan partiküllerden etken maddenin salım yüzdeleri ve profilleri Çizelge 4.16 ve Şekil 4.21’de gösterilmiştir.

**Çizelge 4. 16** 15 mg etken madde yüklenmiş partiküllerin ardışık (pH 1,2+ pH 7,4) kümülatif salım yüzdeleri

| Zaman (dk) | ZH2         | AH2         | ZN2         | AN2         | ZR2         | AR2         |
|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 15         | 1,10±0,002  | 0,69±0,002  | 0,97±0,003  | 0,99±0,002  | 0,81±0,032  | 0,79±0,003  |
| 30         | 2,26±0,004  | 1,50±0,008  | 2,08±0,003  | 1,92±0,004  | 1,38±0,036  | 1,39±0,007  |
| 45         | 3,42±0,003  | 2,28±0,001  | 3,52±0,001  | 2,63±0,01   | 2,43±0,006  | 2,43±0,01   |
| 60         | 4,60±0,003  | 2,89±0,004  | 4,27±0,001  | 3,99±0,012  | 3,39±0,007  | 3,41±0,016  |
| 75         | 5,51±0,006  | 3,58±0,004  | 4,94±0,004  | 5,06±0,015  | 4,14±0,032  | 4,17±0,02   |
| 90         | 6,85±0,002  | 4,33±0,004  | 6,28±0,003  | 6,39±0,019  | 5,03±0,03   | 5,06±0,026  |
| 105        | 6,99±0,002  | 6,23±0,28   | 6,69±0,002  | 7,54±0,119  | 6,71±0,008  | 6,71±0,048  |
| 120        | 7,07±0,002  | 6,55±0,002  | 7,15±0,002  | 8,69±0,03   | 7,36±0,041  | 7,44±0,035  |
| 180        | 7,34±0,004  | 6,92±0,001  | 7,59±0,003  | 9,22±0,031  | 8,38±0,005  | 8,44±0,037  |
| 240        | 9,26±0,012  | 8,17±0,002  | 9,56±0,002  | 9,88±0,035  | 10,18±0,022 | 10,00±0,04  |
| 300        | 10,08±0,001 | 10,11±0,003 | 10,04±0,002 | 10,51±0,047 | 11,22±0,021 | 10,99±0,042 |
| 360        | 11,21±0,001 | 13,33±0,005 | 10,56±0,001 | 10,80±0,061 | 11,98±0,024 | 11,97±0,044 |
| 420        | 11,97±0,002 | 15,61±0,002 | 12,05±0,004 | 10,99±0,073 | 13,15±0,021 | 13,25±0,044 |
| 480        | 12,34±0,001 | 17,81±0,002 | 14,29±0,004 | 11,40±0,083 | 13,84±0,001 | 13,94±0,046 |



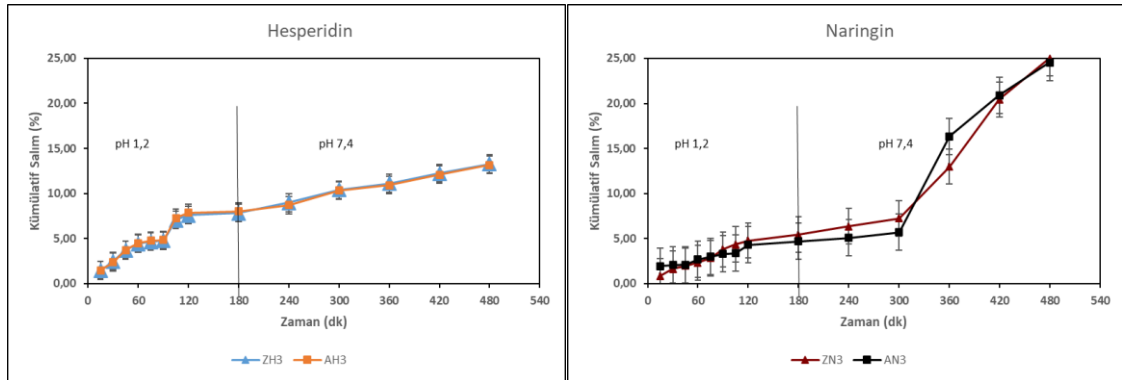
**Şekil 4. 21** Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 15 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin in vitro dissolüsyon karşılaştırma grafiği

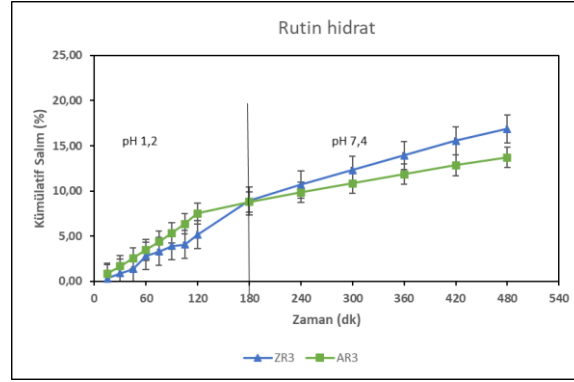
Ardışık salım çalışmasında 15 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat yüklenmiş partiküllerin salım profilleri incelenmiş, her bir etken maddenin zeytinyağı ve ayçiçek yağı ile hazırlanmış partiküllerinin salım profillerinin birbirine paralel olduğu gözlenmiştir. En yüksek salım miktarı AH2 (15 mg) partikülünde %17,81 olarak hesaplanmıştır.

Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 30 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin ardışık şekilde mide ve bağırsak ortamındaki salım profilleri incelendiğinde, 8 saat sonunda zeytinyağı ve ayçiçek yağı ile oluşturulan partiküllerden etken maddenin salım yüzdeleri ve profilleri Çizelge 4.17 ve Şekil 4.22’de gösterilmiştir.

**Çizelge 4. 17** 30 mg etken madde yüklenmiş partiküllerin ardışık (pH 1,2+ pH 7,4) kümülatif salım yüzdeleri

| Zaman (dk) | ZH3         | AH3         | ZN3         | AN3         | ZR3         | AR3         |
|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 15         | 1,44±0,002  | 1,48±0,002  | 0,86±0,001  | 1,94±0,001  | 0,31±0,001  | 0,84±0,004  |
| 30         | 2,48±0,002  | 2,38±0,001  | 1,65±0,001  | 2,05±0,003  | 0,89±0,12   | 1,68±0,001  |
| 45         | 3,72±0,002  | 3,72±0,009  | 1,97±0,001  | 2,08±0,001  | 1,34±0,054  | 2,55±0,004  |
| 60         | 4,43±0,001  | 4,47±0,001  | 2,31±0,004  | 2,67±0,002  | 2,82±0,176  | 3,47±0,005  |
| 75         | 4,65±0,001  | 4,76±0,003  | 2,83±0,001  | 2,99±0,001  | 3,28±0,056  | 4,38±0,014  |
| 90         | 4,75±0,002  | 4,83±0,001  | 3,80±0,007  | 3,31±0,002  | 3,90±0,073  | 5,35±0,002  |
| 105        | 7,06±0,005  | 7,28±0,005  | 4,35±0,002  | 3,37±0,001  | 4,07±0,001  | 6,37±0,003  |
| 120        | 7,60±0,003  | 7,86±0,001  | 4,78±0,001  | 4,30±0,002  | 5,16±0,002  | 7,49±0,003  |
| 180        | 7,83±0,004  | 8,00±0,001  | 5,43±0,002  | 4,71±0,001  | 8,89±0,01   | 8,78±0,011  |
| 240        | 8,98±0,006  | 8,71±0,068  | 6,36±0,002  | 5,09±0,004  | 10,70±0,003 | 9,83±0,037  |
| 300        | 10,40±0,003 | 10,32±0,002 | 7,23±0,004  | 5,71±0,002  | 12,30±0,001 | 10,85±0,016 |
| 360        | 11,11±0,003 | 10,92±0,001 | 12,99±0,019 | 16,33±0,009 | 13,92±0,013 | 11,86±0,017 |
| 420        | 12,25±0,008 | 12,09±0,004 | 20,44±0,016 | 20,90±0,008 | 15,56±0,009 | 12,83±0,008 |
| 480        | 13,28±0,004 | 13,18±0,001 | 25,00±0,028 | 24,54±0,008 | 16,86±0,001 | 13,71±0,026 |





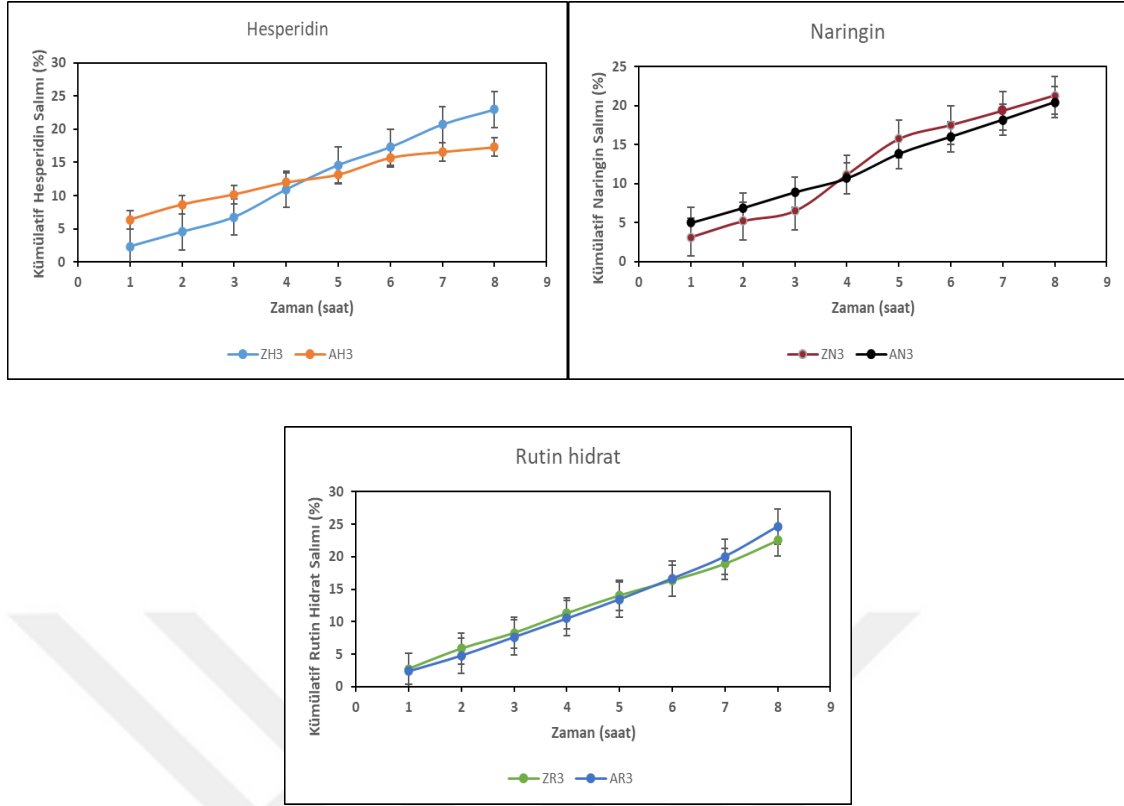
**Şekil 4. 22** Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 30 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin *in vitro* dissolüsyon karşılaştırma grafikleri

Ardışık salım çalışmasında 30 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat yüklenmiş partiküllerin salım profilleri incelenmiş, her bir etken maddenin zeytinyağı ve ayçiçek yağı ile hazırlanmış partiküllerinin salım profillerinin birbirine paralel olduğu gözlenmiştir. En yüksek salım miktarı ZN3 (730 mg) partikülünde %25,00 olarak hesaplanmıştır.

Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan, 30 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin pH 1,2 *in vitro* mide ortamında uzun süreli salımı gerçekleştirilmiştir. Partiküllerin pH 1,2’de 8 saatlik salım sonuçları ve salım profilleri Çizelge 4.18 ve Şekil 4.23’te verilmiştir.

**Çizelge 4. 18** *in vitro* mide (pH 1,2) 8 saat salım sonuçları

| Zaman (sa) | ZH3        | AH3        | ZN3        | AN3        | ZR3        | AR3        |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| 1          | 2,30±0,07  | 6,37±0,04  | 3,16±0,07  | 4,99±0,06  | 2,75±0,06  | 2,39±0,07  |
| 2          | 4,52±0,29  | 8,65±0,29  | 5,21±0,29  | 6,89±0,31  | 5,87±0,29  | 4,79±0,29  |
| 3          | 6,74±0,3   | 10,18±0,3  | 6,51±0,3   | 8,91±0,32  | 8,27±0,3   | 7,63±0,3   |
| 4          | 10,91±0,31 | 11,98±0,32 | 11,16±0,31 | 10,69±0,35 | 11,30±0,31 | 10,49±0,31 |
| 5          | 14,58±0,33 | 13,18±0,34 | 15,74±0,33 | 13,83±0,37 | 14,04±0,33 | 13,43±0,33 |
| 6          | 17,29±0,35 | 15,72±0,36 | 17,53±0,35 | 16,03±0,41 | 16,35±0,35 | 16,63±0,34 |
| 7          | 20,71±0,37 | 16,61±0,39 | 19,37±0,38 | 18,20±0,47 | 18,93±0,37 | 20,01±0,37 |
| 8          | 22,95±0,39 | 17,31±0,41 | 21,33±0,39 | 20,45±0,56 | 22,50±0,38 | 24,63±0,38 |



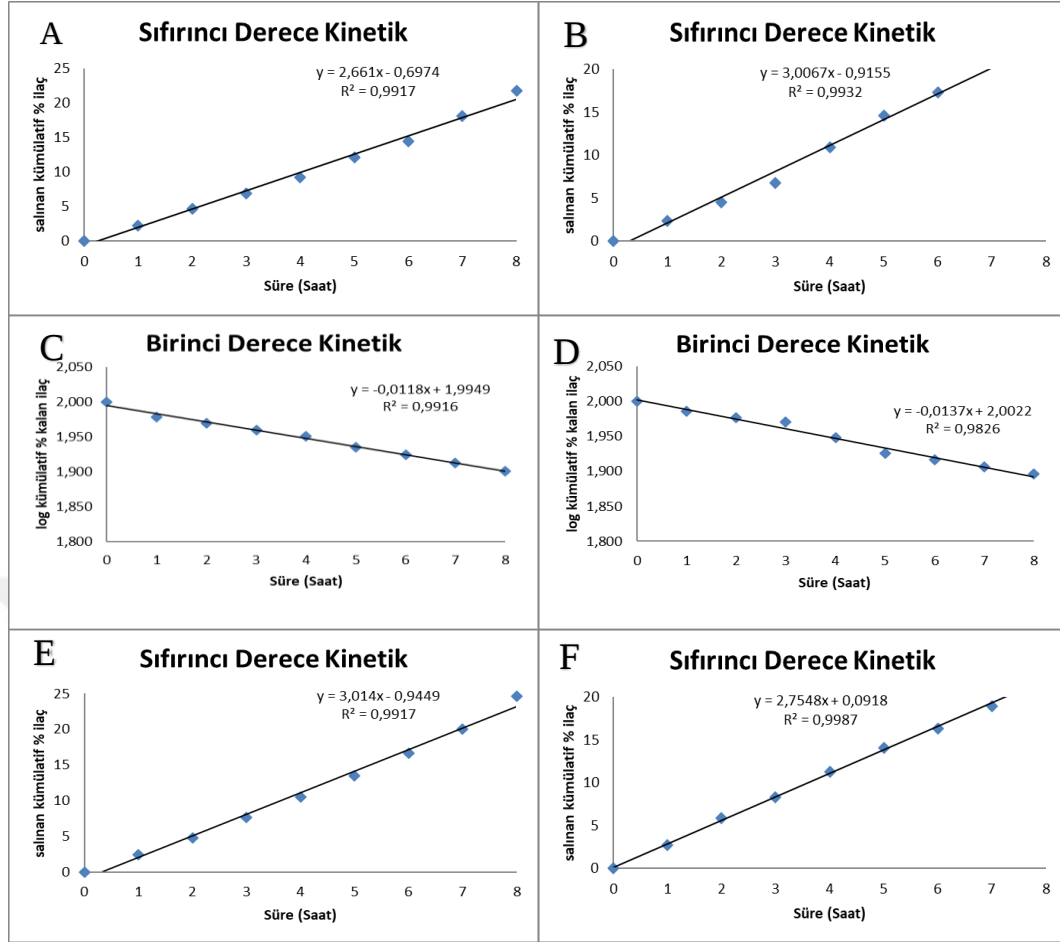
**Şekil 4. 23** Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 30 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin in vitro dissolüsyon karşılaştırma grafiği (8 saat)

pH 1,2 mide ortamı salım çalışmasında (8 saat) 30 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat yüklenmiş partiküllerin salım profilleri incelenmiş, her bir etken maddenin zeytinyağı ve ayçiçek yağı ile hazırlanmış partiküllerinin salım profillerinin birbirine paralel olduğu gözlenmiştir. En yüksek salım miktarı AR3 (30 mg) partikülünde %24,6 olarak hesaplanmıştır.

pH 1,2 mide ortamında gerçekleştirilen 8 saatlik salım sonuçları değerlerinden yararlanılarak kinetik modeller hesaplanmıştır. Kinetik modellere göre hesaplanan korelasyon katsayısı sonuçları ve grafikleri Çizelge 4.19 ve Şekil 4.24'te verilmiştir.

**Çizelge 4. 19** pH 1,2 mide ortamı için kinetik modeli  $R^2$  sonuçları

| Kod | Sıfıncı Derece | Birinci Derece | Korsmeyer-Peppas | Higuchi | Hixson Crowell |
|-----|----------------|----------------|------------------|---------|----------------|
| AH3 | 0,9917         | 0,9842         | 0,9554           | 0,8737  | 0,9871         |
| ZH3 | 0,9932         | 0,9898         | 0,958            | 0,8787  | 0,9913         |
| AN3 | 0,9821         | 0,9916         | 0,9096           | 0,8979  | 0,9827         |
| ZN3 | 0,9881         | 0,9826         | 0,7916           | 0,952   | 0,9806         |
| AR3 | 0,9917         | 0,9827         | 0,9527           | 0,8694  | 0,9862         |
| ZR3 | 0,9987         | 0,9972         | 0,9204           | 0,9168  | 0,998          |



Şekil 4. 24 pH 1,2 mide ortamı için kinetik modeli grafikleri

A) AH3, B) ZH3, C) AN3, D) ZN3, E) AR3, F) ZR3

Oral yolla alınan ilaçların pH 1-2 seviyesindeki mide ortamında kalış süresi, kişinin interdigestif ya da sindirim durumunda olmasına bağlı olarak 5 dakika ile 5 saat arasında değişebilmektedir. Mide dolu olduğunda ise bu süre 8 saate kadar uzayabilmektedir (Soppimath ve ark., 2001, Waterman, 2007, Ediz, 2023)

Bu çalışma kapsamında, 30 mg etken madde yüklü partiküllerin midede en fazla 8 saat kalacağı göz önünde bulundurularak *in vitro* salım kinetiği çalışmaları mide ortamında (pH 1,2) 8 saat devam ettirilmiştir.

Çizelge 4.19'daki sonuçlara göre hesperidin içeren partiküllere ait en yüksek korelasyon katsayısı AH3 için  $R^2 = 0,9917$ , ZH3 için  $R^2 = 0,9932$  olarak hesaplanmıştır. Bu hesaplama ya bağlı olarak sıfırıncı derece salım kinetiğine göre salım yapıldığı belirlenmiştir. Naringin içeren partiküllere ait en yüksek korelasyon katsayısı AN3 için  $R^2 = 0,9916$ , ZN3 için  $R^2 = 0,9826$  olarak hesaplanmıştır. Bu hesaplama ya bağlı olarak birinci derece salım kinetiğine göre salım yapıldığı belirlenmiştir. Rutin hidrat içeren partiküllere ait en yüksek korelasyon katsayısı AR3 için  $R^2 = 0,9917$ , ZR3 için  $R^2 = 0,9987$

olarak hesaplanmıştır. Bu hesaplama ya bağlı olarak sıfırıncı derece salım kinetiğine göre salım yapıldığı belirlenmiştir.

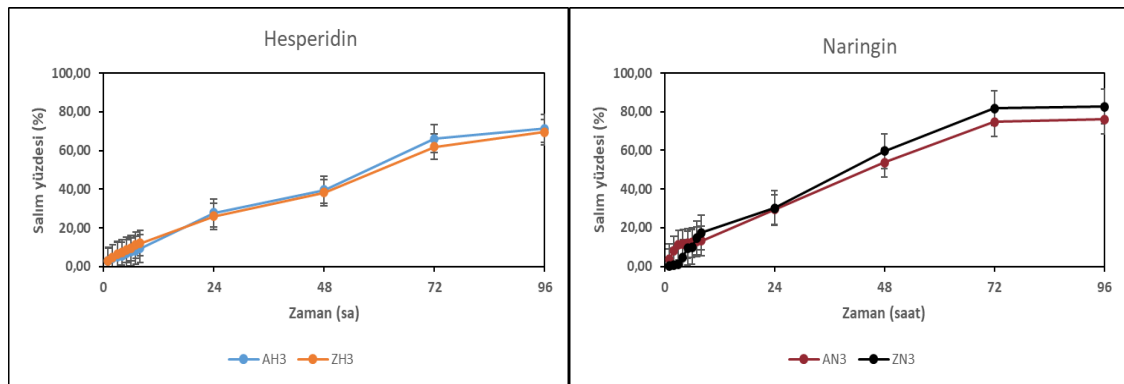
Kinetik modeli hesaplanan salım profillerinde hesperidin ve rutin hidrat yüklü partiküllerde sıfırıncı derece salım, naringin yüklü partiküllerde ise birinci derece salım gözlenmiştir. Sıfırıncı derece salım, ilaçların belirli bir konsantrasyona ulaşmadan ve bu konsantrasyondan bağımsız olarak sabit bir hızda salındığı durumlarda geçerlidir. Birinci derece salımda ise salım hızı, mevcut ilaç konsantrasyonuna bağlıdır.

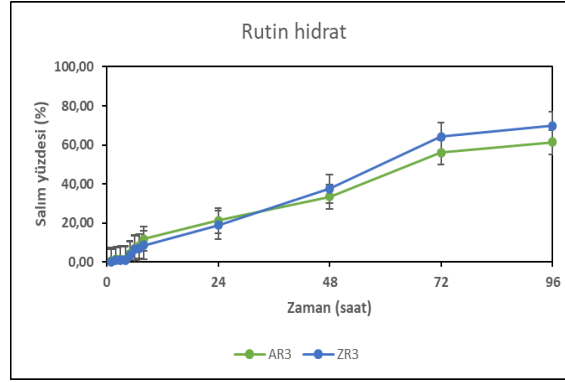
Sodyum aljinat düşük pH'larda aljinik asite dönüşür, üzerindeki (-COOH) ve (-OH) grupları arasında oluşan hidrojen bağ etkileşimlerinden dolayı partiküller daha sıkı bir yapıda oluşur ve daha az şişerler (Geyik, 2023). Sonuç olarak, jelin gözenekleri küçülür ve bağlantısı zayıflar, bu da salınacak ilaç miktarını azaltır (Cai ve ark., 2024).

Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan, 30 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin pH 7,4 *in vitro* bağırsak ortamında uzun süreli salımı gerçekleştirilmiştir.

**Çizelge 4. 20 *in vitro* bağırsak (pH 7,4) 96 saat salım sonuçları**

| Zaman (sa) | ZH3        | AH3        | ZN3        | AN3        | ZR3        | AR3         |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|
| 1          | 2,90±0,01  | 2,99±0,02  | 0,23±0,02  | 3,96±0,01  | 0,14±0,01  | 0,38±0,02   |
| 2          | 4,55±0,01  | 4,32±0,01  | 0,61±0,04  | 8,00±0,01  | 0,67±0,01  | 1,28±0,01   |
| 3          | 6,55±0,01  | 5,22±0,01  | 1,08±0,01  | 11,06±0,01 | 0,83±0,01  | 1,37±0,03   |
| 4          | 7,31±0,01  | 5,63±0,01  | 4,78±0,01  | 11,44±0,03 | 0,88±0,01  | 1,51±0,01   |
| 5          | 8,56±0,01  | 6,76±0,01  | 9,47±0,01  | 11,91±0,01 | 3,67±0,01  | 4,22±0,01   |
| 6          | 9,45±0,01  | 7,55±0,01  | 9,99±0,01  | 12,35±0,01 | 6,32±0,01  | 6,92±0,01   |
| 7          | 11,06±0,01 | 8,37±0,01  | 14,70±0,01 | 12,84±0,01 | 6,82±0,01  | 8,06±0,01   |
| 8          | 12,08±0,01 | 9,32±0,01  | 17,51±0,01 | 13,22±0,03 | 8,61±0,01  | 11,66±0,05  |
| 24         | 25,94±0,07 | 27,78±0,07 | 30,12±0,07 | 29,46±0,07 | 18,80±0,01 | 21,09±0,012 |
| 48         | 38,21±1,41 | 39,64±0,42 | 59,72±0,08 | 53,68±0,27 | 37,47±0,01 | 33,39±0,06  |
| 72         | 61,94±0,07 | 66,12±0,13 | 81,70±0,19 | 74,79±0,04 | 64,28±0,26 | 56,07±0,08  |
| 96         | 69,47±0,03 | 71,26±0,01 | 82,54±0,01 | 76,09±0,01 | 69,79±0,02 | 61,33±0,01  |





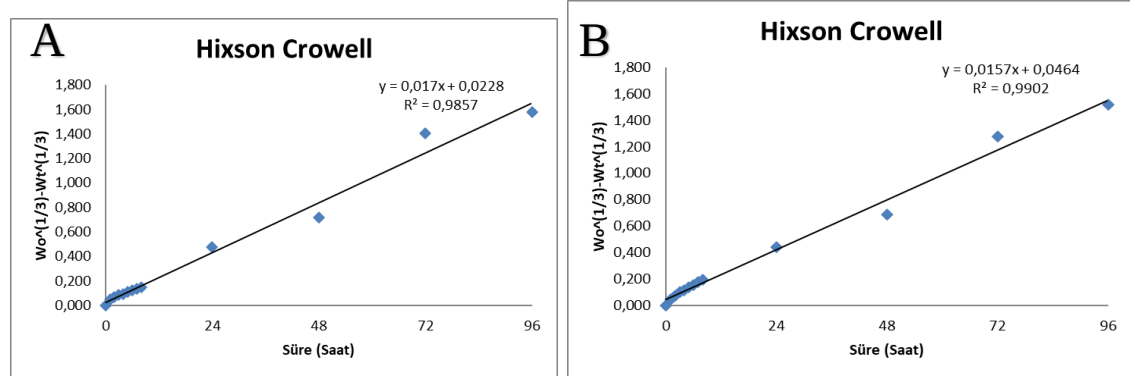
**Şekil 4. 25** Pickering emülsiyonu yöntemi ile oluşturulan 30 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat içeren partiküllerin in vitro dissolüsyon karşılaştırma grafiği (96 saat)

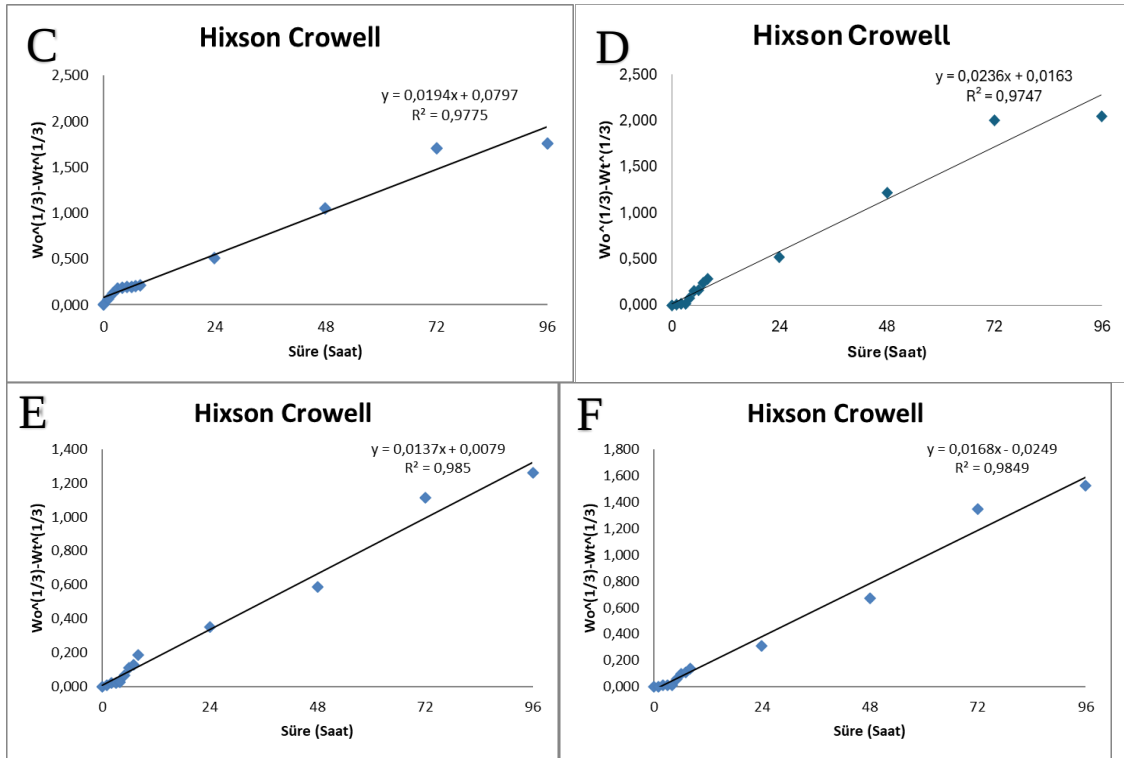
pH 7,4 bağırsak ortamı salım çalışmasında (96 saat) 30 mg hesperidin, naringin ve rutin hidrat yüklenmiş partiküllerin salım profilleri incelenmiş, her bir etken maddenin zeytinyağı ve ayçiçek yağı ile hazırlanmış partiküllerinin salım profillerinin birbirine paralel olduğu gözlenmiştir. En yüksek salım miktarı ZN3 (30 mg) partikülünde %82,54 olarak hesaplanmıştır.

pH 7,4 bağırsak ortamında gerçekleştirilen 96 saatlik salım sonuçları değerlerinden yararlanılarak pH 7,4 mide ortamı için kinetik modeller hesaplanmıştır. Kinetik modellere göre hesaplanan korelasyon katsayısı değerleri Çizelge 4.21 ve Şekil 4.26'da verilmiştir.

**Çizelge 4. 21** pH 7,4 bağırsak ortamı için kinetik modeli  $R^2$  sonuçları

| Kod | Sıfıncı Derece | Birinci Derece | Korsmeyer-Peppas | Higuchi | Hixson Crowell |
|-----|----------------|----------------|------------------|---------|----------------|
| AH3 | 0,9805         | 0,9831         | 0,9598           | 0,9641  | 0,9857         |
| ZH3 | 0,984          | 0,9879         | 0,9503           | 0,9734  | 0,9902         |
| AN3 | 0,9639         | 0,9774         | 0,889            | 0,9751  | 0,9775         |
| ZN3 | 0,9535         | 0,9752         | 0,8795           | 0,9705  | 0,9747         |
| AR3 | 0,9779         | 0,9848         | 0,9363           | 0,963   | 0,985          |
| ZR3 | 0,9849         | 0,9805         | 0,9044           | 0,9482  | 0,9849         |





Şekil 4. 26 pH 7,4 bağırsak ortamı için kinetik modeli grafikleri

A) AH3, B) ZH3, C) AN3, D) ZN3, E) AR3, F) ZR3

Bu çalışma kapsamında, 30 mg etken madde yüklü partiküllerin bağırsakta en fazla 96 saat kalacağı göz önünde bulundurularak *in vitro* salım kinetiği çalışmaları bağırsak ortamında (pH 7,4) 96 saat devam ettirilmiştir.

Çizelge 4.21'deki sonuçlara göre hesperidin içeren partiküllere ait en yüksek korelasyon katsayısı AH3 için  $R^2 = 0,9857$ , ZH3 için  $R^2 = 0,9902$  olarak hesaplanmıştır. Bu hesaplamaaya bağlı olarak Hixson- Crowell salım kinetiğine göre salım yapıldığı belirlenmiştir. Naringin içeren partiküllere ait en yüksek korelasyon katsayısı AN3 için  $R^2 = 0,9775$ , ZN3 için  $R^2 = 0,9747$  olarak hesaplanmıştır. Bu hesaplamaaya bağlı olarak Hixson Crowell salım kinetiğine göre salım yapıldığı belirlenmiştir. Rutin hidrat içeren partiküllere ait en yüksek korelasyon katsayısı AR3 için  $R^2 = 0,9985$ , ZR3 için  $R^2 = 0,9849$  olarak hesaplanmıştır. Bu hesaplamaaya bağlı olarak Hixson-Crowell salım kinetiğine göre salım yapıldığı belirlenmiştir.

Kinetik modeli hesaplanan salım profillerinde hesperidin, naringin ve rutin hidrat yüklü partiküllerde Hixson-Crowell salımı gözlenmiştir. Hixson-Crowell modeli, özellikle düşük çözünürlüklü etkin maddeler ve belirli fiziksel koşullar altında katı dozaj formlarının çözünme davranışlarını analiz etmek için en uygun matematiksel

yaklaşımlardan biridir. Hixson-Crowell modeli, katı dozaj formlarındaki ilaç salınım süreçlerini anlamak için önemli bir araçtır ve özellikle yüzey alanı değişimlerinin etkilerini dikkate alarak salınım dinamiklerini açıklamaktadır.

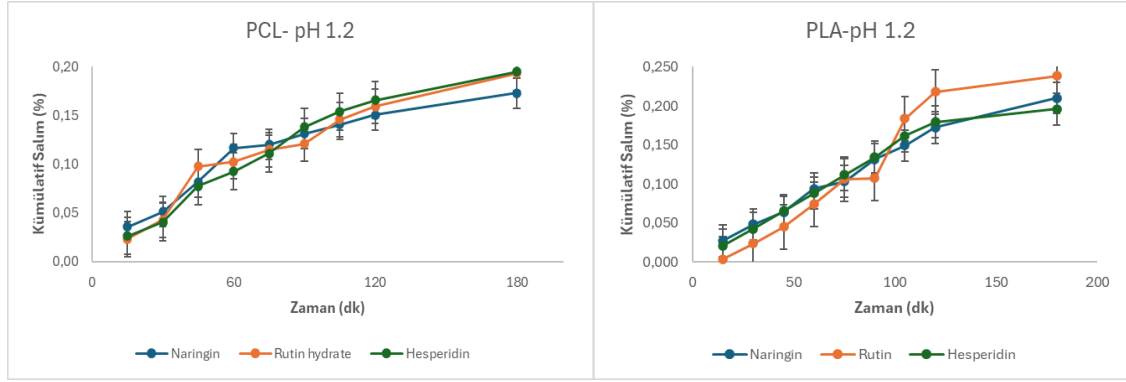
Yüksek pH'larda -COOH grupları kısmen iyonlaşır ve oluşan karboksilat anyonları arasında oluşan elektrostatik itme kuvvetinden dolayı şişme artmaktadır (Geyik, 2023).

Sonuç olarak, sodyum aljinat içeren Pickering emülsiyonlarının bağırsakta yüksek verimle çözünmeme sebebi, bu emülsiyonların stabilitesini artıran yapısal özellikleri ve bağırsakta sağladıkları koruyucu etkilerle ilişkilidir (Guo ve ark., 2019, Mackie ark., 2015, Nam ve ark., 2021). Sodyum aljinat içeren Pickering emülsiyonları, bağırsakta çözünmeme özellikleriyle dikkat çekmektedir. Bu emülsiyonlar, sindirim sürecinde enzimlerle doğrudan etkileşime girmeden önce, aktif bileşenler etrafında koruyucu bir tabaka oluşturarak stabilize sağlar. Bu koruyucu tabaka, yağ asitleri ve diğer besin maddelerinin bağırsak epitelinden geçişini yavaşlatır, böylece aktif maddelerin kontrollü ve uzun süreli salınımını destekler. Ayrıca, sodyum aljinatın yüksek viskozite özelliği, bağırsak içeriğinin transit süresini uzatarak emilim sürecini optimize eder ve biyoyararlanımı artırır. Bu özellikler, sodyum aljinatın kontrollü salınım sistemlerinde potansiyel bir taşıyıcı matriks olarak kullanılmasını mümkün kılmaktadır (Guo ve ark., 2019, Mackie ark., 2015, Nam ve ark., 2021).

Elektroegirme yöntemi ile oluşturulan PCL-MIX ve PLA-MIX fiberlerinin pH 1,2 mide ortamı *in vitro* salım değerleri Çizelge 4.22'de; salım profilleri Şekil 4.27'de gösterilmiştir.

**Çizelge 4. 22** *Elektroegirme fiberleri pH1,2 mide ortamı in vitro salım değerleri*

| Z(dk) | PCL         |             |             | PLA         |             |             |
|-------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|       | HSP         | NAR         | RTN         | HSP         | NAR         | RTN         |
| 15    | 2,63±0,001  | 3,59±0,001  | 2,32±0,003  | 2,11±0,002  | 2,73±0,003  | 0,36±0,001  |
| 30    | 4,07±0,001  | 5,12±0,003  | 4,31±0,003  | 4,26±0,004  | 4,83±0,001  | 2,37±0,001  |
| 45    | 7,76±0,004  | 8,17±0,004  | 9,75±0,001  | 6,54±0,003  | 6,36±0,007  | 4,49±0,001  |
| 60    | 9,26±0,014  | 11,64±0,141 | 10,25±0,003 | 8,82±0,006  | 9,41±0,003  | 7,39±0,003  |
| 75    | 11,09±0,003 | 12,00±0,001 | 11,47±0,001 | 11,16±0,007 | 10,33±0,001 | 10,65±0,004 |
| 90    | 13,80±0,001 | 13,11±0,003 | 12,10±0,001 | 13,45±0,003 | 13,16±0,001 | 10,75±0,001 |
| 105   | 15,37±0,001 | 14,07±0,002 | 14,57±0,408 | 16,15±0,001 | 14,93±0,003 | 18,37±0,003 |
| 120   | 16,55±0,003 | 15,04±0,002 | 15,93±0,002 | 17,93±0,004 | 17,23±0,001 | 21,81±0,002 |
| 180   | 19,46±0,001 | 17,27±0,001 | 19,31±0,001 | 19,57±0,002 | 21,01±0,002 | 23,82±0,003 |



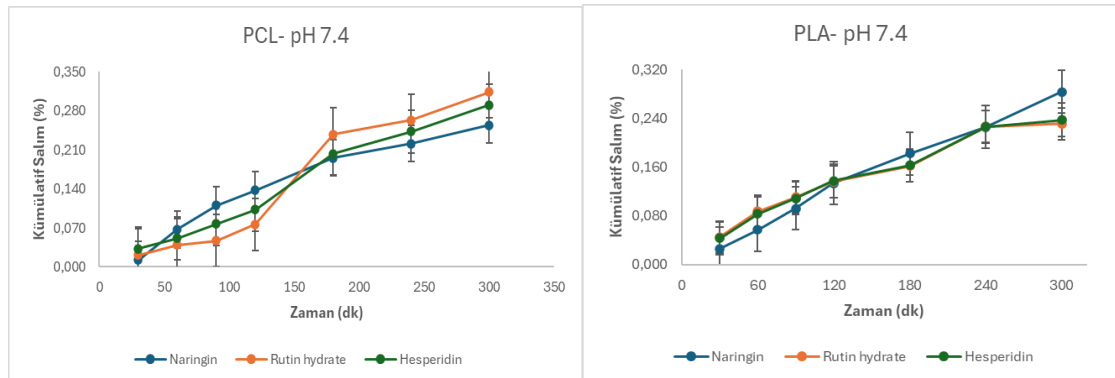
Şekil 4. 27 Elektroğirme fiberleri pH1,2 mide ortamı *in vitro* salım profili

pH 1,2 mide ortamı salım çalışmasında hesperidin, naringin ve rutin hidrat karışımı yüklenmiş fiberlerin salım profilleri incelenmiş, her bir etken maddenin fiberlerden salım profillerinin birbirine paralel olduğu gözlenmiştir. En yüksek salım miktarı PCL-MIX fiber için hesperidin etken maddesinden %19,46 olarak, PLA-MIX fiber için rutin hidrat maddesinden %23,82 olarak hesaplanmıştır.

Elektroğirme yöntemi ile oluşturulan PCL-MIX ve PLA-MIX fiberlerinin pH 7,4 bağırsak ortamı *in vitro* salım değerleri ve Çizelge 4.23'te ve salım profilleri ve Şekil 4.28'de gösterilmiştir.

Çizelge 4. 23 Elektroğirme fiberleri pH 7,4 bağırsak ortamı *in vitro* salım değerleri

| Z(dk) | PCL         |             |             | PLA         |             |             |
|-------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|       | HSP         | NAR         | RTN         | HSP         | NAR         | RTN         |
| 30    | 3,29±0,003  | 1,26±0,001  | 2,15±0,001  | 4,33±0,001  | 2,64±0,001  | 4,59±0,004  |
| 60    | 5,14±0,002  | 6,73±0,001  | 3,99±0,003  | 8,34±0,001  | 5,72±0,002  | 8,75±0,005  |
| 90    | 7,71±0,019  | 11,05±0,001 | 4,70±0,003  | 10,89±0,001 | 9,22±0,001  | 11,09±0,002 |
| 120   | 10,27±0,002 | 13,76±0,002 | 7,62±0,001  | 13,76±0,002 | 13,34±0,001 | 13,66±0,001 |
| 180   | 20,30±0,003 | 19,59±0,003 | 23,81±0,002 | 16,29±0,001 | 18,21±0,091 | 16,16±0,001 |
| 240   | 24,27±0,004 | 22,15±0,005 | 26,32±0,002 | 22,63±0,001 | 22,55±0,001 | 22,62±0,001 |
| 300   | 29,01±0,019 | 25,46±0,002 | 31,41±0,001 | 23,76±0,001 | 28,31±0,001 | 23,13±0,001 |



Şekil 4. 28 Elektroğirme fiberleri pH 7,4 bağırsak ortamı *in vitro* salım profili

pH 7,4 bağırsak ortamı salım çalışmasında hesperidin, naringin ve rutin hidrat karışımı yüklenmiş fiberlerin salım profilleri incelenmiş, her bir etken maddenin fiberlerden salım profillerinin birbirine paralel olduğu gözlenmiştir. En yüksek salım miktarı PCL-MIX fiber için rutin hidrat etken maddesinden %31,41 olarak, PLA-MIX fiber için naringin maddesinden %28,31 olarak hesaplanmıştır.

Ortalama fiber çapının küçülmesi, salım ortamında daha geniş bir yüzey alanı oluşturarak difüzyon hızını artırmakta ve dolayısıyla etkin maddenin salımını hızlandırmaktadır (Onurlu ve ark., 2022). Tez çalışması kapsamında üretilen nanofiber matların çapları 400-900 nm aralığında olduğundan enkapsülasyon etkinliği oranları düşük gözlenmiş ve çapların kalınlığına bağlı olarak yüzey alanı azaldığından salım miktarı da azalmıştır.

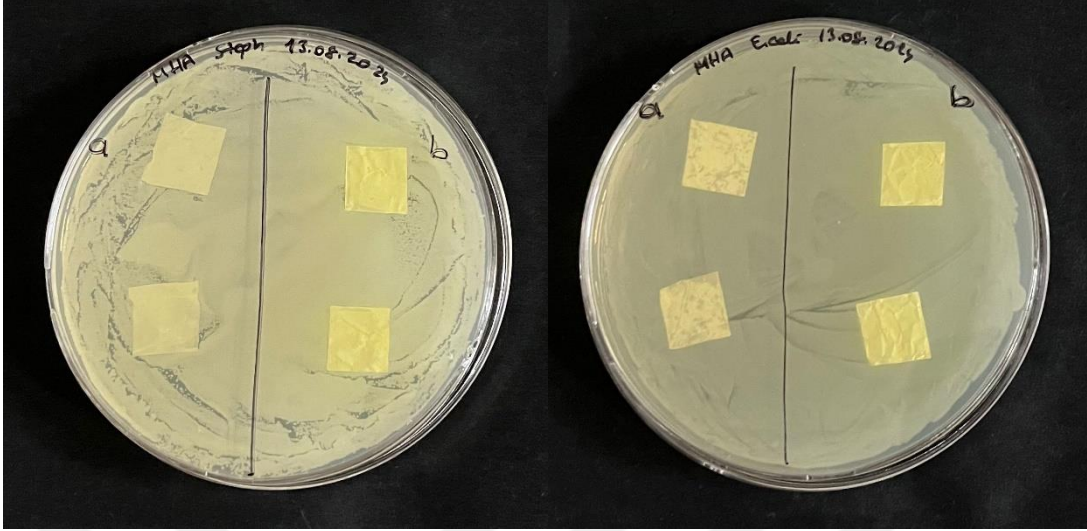
#### **4.6. Antibakteriyel Aktivite Değerlendirmesi**

Rutin hidratın önemli antibakteriyel özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir. Rutinin diğer maddeler ile antibakteriyel aktivitede artışa sebep olduğu gösterilmiştir ve bu sinerjik aktivite dirençli bakteri suşlarıyla mücadelede önemli bir rol oynayabilecek bir potansiyele işaret etmektedir. Bununda, özellikle metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ile mücadelede önemli olacağı ve böylelikle rutinin göstermiş olduğu antibakteriyel aktivite kapasitesinin daha etkili tedavi planları geliştirmeye yardımcı olabileceğini göstermektedir (Amin ve ark., 2015, Aurélio ve ark., 2023).

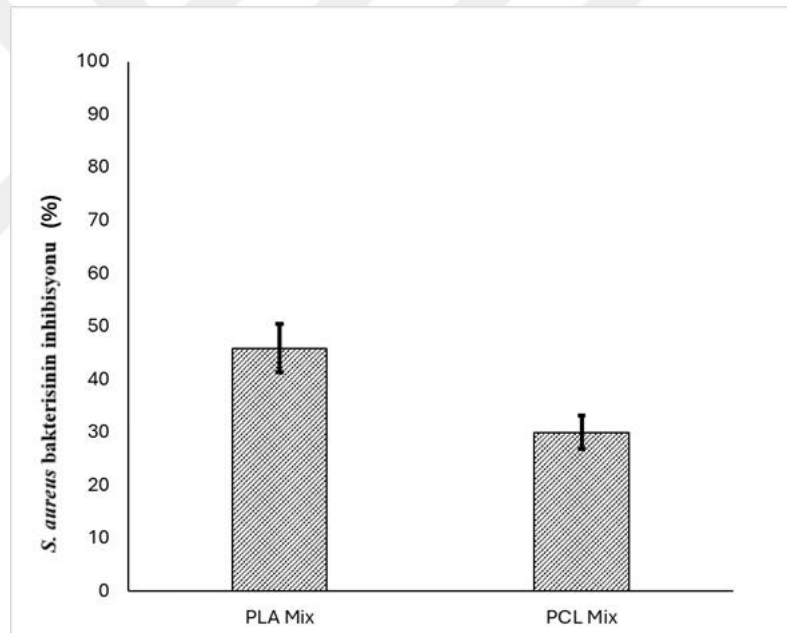
Aynı şekilde turunçgillerde bulunan bir diğer flavonoid olan naringin de önemli bir antibakteriyel aktiviteye sahiptir. Yapılan çalışmalar, naringinin özellikle osteomyelit hastalarında *Staphylococcus aureus*'un büyümesini engellemenin etkili bir yolu olduğunu göstermiştir. Naringin, özellikle bakteri membran sistemine hasar vererek veya bakterilerin büyümesinde etkili olan metabolik süreçleri inhibe ederek antibakteriyel aktivite göstermektedir. Bu özellikler, naringinin antibakteriyel aktivitesi ile bakteriyel enfeksiyonlara karşı tıbbi formülasyonlarda önemli bir bileşen olma potansiyelini ortaya çıkarmaktadır (Wang ve ark., 2024, Yang ve ark., 2022).

Naringin gibi, hesperidin de turunçgil kabuklarında bulunan ve antibakteriyel aktivite dahil olmak üzere sağlık alanında kullanılabilme potansiyeli taşıyan önemli bir flavonoiddir. Çalışmalar, hesperidin *Staphylococcus aureus* biyofilm oluşumunu baskılayabileceğini ortaya koymuştur. Hesperidin biyofilm oluşumunu önleme kapasitesi, biyofilmlerle bağlantılı enfeksiyonların tedavisinde ve bakteriyel direncin önlenmesindeki rolü bu flavonoidin diğer antibiyotiklerle birlikte kullanılma

potansiyelini göstermektedir. Ayrıca, hesperidinin antioksidan özellikler göstermesi kullanım avantajları arasında gösterilebilir (Fathy ve ark., 2022, Lopes ve ark., 2017).



Şekil 4. 29 (a)PLA-MIX ve (b)PCL- MIX için bakteriyel inhibisyon (*S. aureus*) yüzdeleri

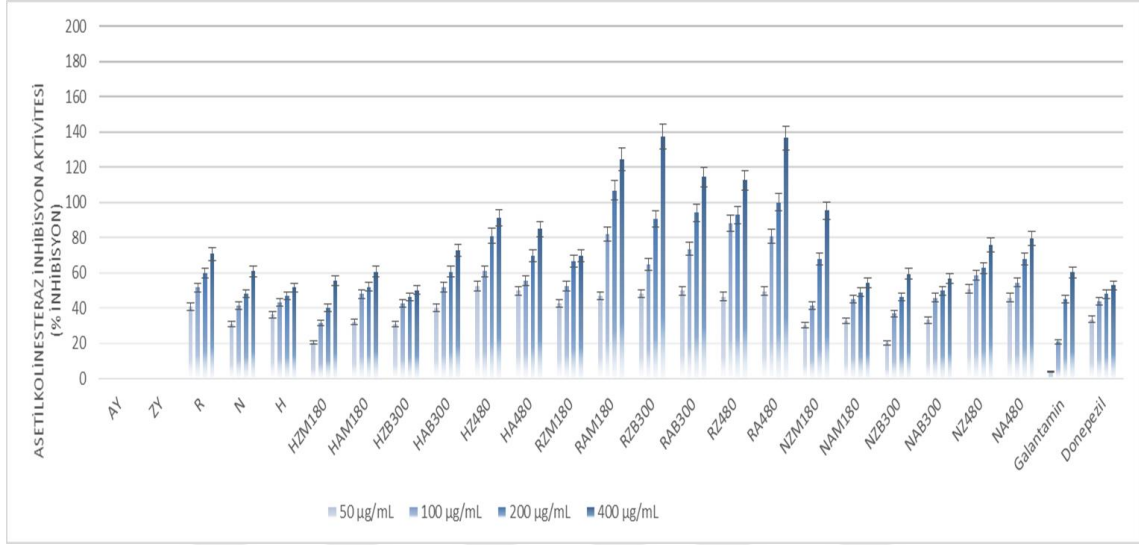


Şekil 4. 30 *Staphylococcus aureus* bakterisinin PLA-MIX ve PCL- MIX fiberlerindeki inhibisyonu

Bu çalışmada, agar difüzyon yönteminde Müller Hinton Agar (MHA) besiyerlerinde örneklerin etrafında herhangi bir inhibisyon bölgesi gözlenmedi. Bu ilgili fibröz matlardan madde difüzyonun yeterli olmaması ile açıklanabilir. Fakat, koloni sayma metodu ile fibröz matların yüzeyinde bakteri inkübasyonu sonunda ortaya çıkan bakteriyel inhibisyon yüzdelерinin PCL-MIX ve PLA-MIX için sırasıyla %30,04±3,15 ve %45,94±4,6 olarak ortaya çıkmıştır. Bu sonuçlar PLA-MIX nanofibröz matları yüzeyinin daha fazla bakteriyel inhibisyona neden olduğunu göstermektedir.

#### 4.7. Antikolinesteraz İnhibisyon Aktivite Değerlendirmesi

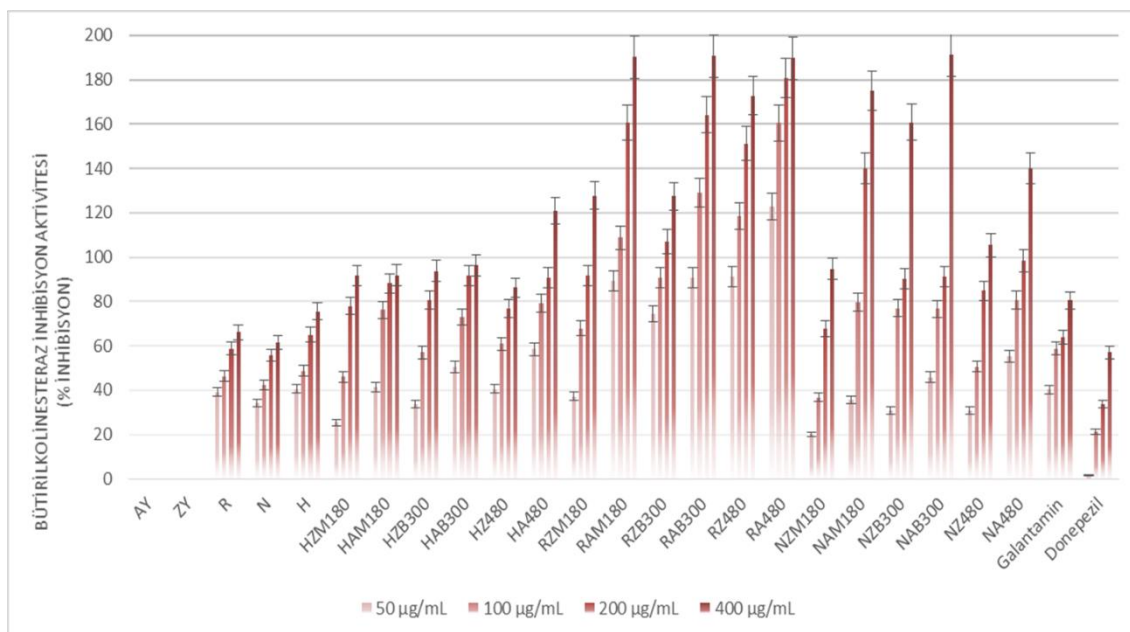
Partiküllerin antikolinesteraz inhibisyon aktivitelerinin, aktivite değerleri 3 paralel ölçümün ortalaması olup, standart sapma hatası olarak verilmektedir ( $p<0.05$ ). Galantamin ve donepezil, aktivite standart maddesi olarak kullanılmıştır. Analizler flavonoidlerin 50-100-200-400  $\mu\text{M}$  konsantrasyon aralığında gerçekleştirilmiştir.



H: hesperidin, R: rutin hidrat, N: naringin, Z: zeytinyağı, A: ayçiçek yağı, M: mide, B: bağırsak

HZM180: hesperidin- zeytinyağı-mide 180.dk, HAM180: hesperidin- ayçiçek yağı-mide 180.dk, HZB300: hesperidin- zeytinyağı-bağırsak 300.dk, HAB300: hesperidin- ayçiçek yağı- bağırsak 300.dk, HZ480: hesperidin- zeytinyağı- ardışık 480.dk, HA480: hesperidin- ayçiçek yağı- ardışık 480.dk, RZM180: rutin hidrat- zeytinyağı-mide 180.dk, RAM180: rutin hidrat- ayçiçek yağı-mide 180.dk, RZB300: rutin hidrat- zeytinyağı-bağırsak 300.dk, RAB300: rutin hidrat- ayçiçek yağı- bağırsak 300.dk, RZ480: rutin hidrat- zeytinyağı- ardışık 480.dk, RA480: rutin hidrat- ayçiçek yağı- ardışık 480.dk, NZM180: naringin- zeytinyağı-mide 180.dk, NAM180: naringin- zeytinyağı-bağırsak 300.dk, NZB300: naringin- zeytinyağı-bağırsak 300.dk, NAB300: naringin- ayçiçek yağı- bağırsak 300.dk, NZ480: naringin- zeytinyağı- ardışık 480.dk, NA480: naringin- ayçiçek yağı- ardışık 480.dk

**Şekil 4. 31** 50-100-200-400  $\mu\text{M}$  konsantrasyon aralığında asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi



H: hesperidin, R: rutin hidrat, N: naringin, Z: zeytinyağı, A: ayçiçek yağı, M: mide, B: bağırsak

HZM180: hesperidin- zeytinyağı-mide 180.dk, HAM180: hesperidin- ayçiçek yağı-mide 180.dk, HZB300: hesperidin- zeytinyağı-bağırsak 300.dk, HAB300: hesperidin- ayçiçek yağı- bağırsak 300.dk, HZ480: hesperidin- zeytinyağı- ardışık 480.dk, HA480: hesperidin- ayçiçek yağı- ardışık 480.dk, RZM180: rutin hidrat- zeytinyağı-mide 180.dk, RAM180: rutin hidrat- ayçiçek yağı-mide 180.dk, RZB300: rutin hidrat- zeytinyağı-bağırsak 300.dk, RAB300: rutin hidrat- ayçiçek yağı- bağırsak 300.dk, RZ480: rutin hidrat- zeytinyağı- ardışık 480.dk, RA480: rutin hidrat- ayçiçek yağı- ardışık 480.dk, NZM180: naringin- zeytinyağı-mide 180.dk, NAM180: naringin- zeytinyağı-bağırsak 300.dk, NZB300: naringin- zeytinyağı-bağırsak 300.dk, NAB300: naringin- ayçiçek yağı- bağırsak 300.dk, NZ480: naringin- zeytinyağı- ardışık 480.dk, NA480: naringin- ayçiçek yağı- ardışık 480.dk

Şekil 4. 32 50-100-200-400  $\mu$ M konsantrasyon aralığında bütirilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi

Partiküllerin antikolinesteraz inhibisyon aktivite sonuçları Çizelge 4.24'te verilmiştir.

Çizelge 4. 24 Antikolinesteraz inhibisyon aktivite  $IC_{50}$  ( $\mu$ M) değerleri

| Sentez Maddesi | Antikolinesteraz inhibisyon aktivite $IC_{50}$ ( $\mu$ g/mL) <sup>†</sup> |              |
|----------------|---------------------------------------------------------------------------|--------------|
|                | AChE                                                                      | BChE         |
| AY             | Aktivite yok                                                              | Aktivite yok |
| ZY             | Aktivite yok                                                              | Aktivite yok |
| H              | 35,77±0,14                                                                | 36,09±0,80   |
| N              | 29,37±0,32                                                                | 24,55±0,68   |
| R              | 40,21±0,94                                                                | 51,02±0,13   |
| Galantamin     | 4,57±0,66                                                                 | 47,53±0,15   |
| Donepezil      | 37,43±2,35                                                                | 2,65±2,59    |

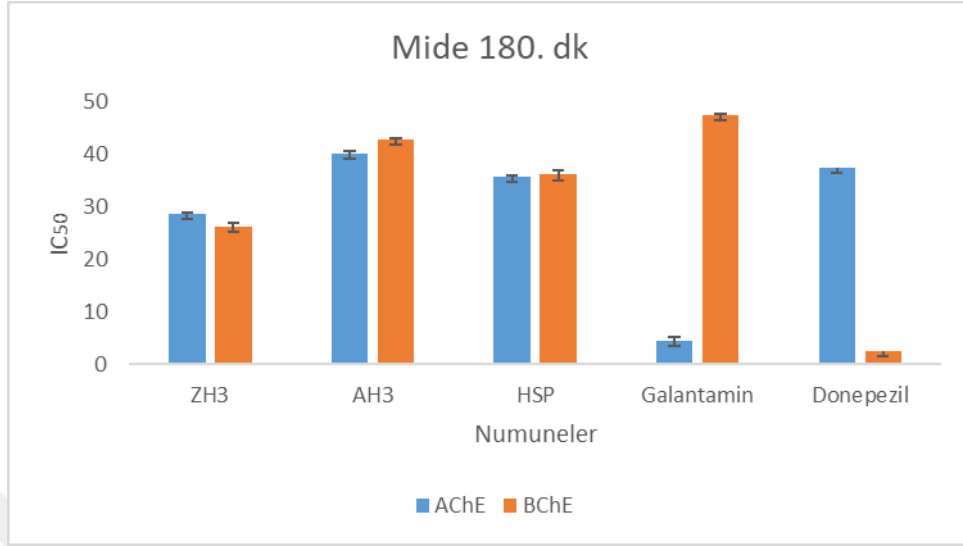
| Mide 180. dk     |             |             |
|------------------|-------------|-------------|
| ZH3              | 28,62±0,24  | 26,31±0,69  |
| AH3              | 40,11±0,58  | 42,85±0,12  |
| ZN3              | 25,30±0,29  | 22,31±0,71  |
| AN3              | 38,65±0,49  | 36,27±0,58  |
| ZR3              | 48,89±0,62  | 40,54±0,86  |
| AR3              | 85,18±0,70  | 96,30±0,68  |
| Bağırsak 300. Dk |             |             |
| ZH3              | 34,48±0,31  | 38,07±0,45  |
| AH3              | 46,44±0,18  | 52,63±0,55  |
| ZN3              | 29,12±0,81  | 32,46±0,02  |
| AN3              | 39,97±0,66  | 47,10±0,36  |
| ZR3              | 70,64±0,41  | 80,01±0,32  |
| AR3              | 91,22±0,77  | 105,13±0,75 |
| Ardışık 480. Dk  |             |             |
| ZH3              | 67,25±0,41  | 41,39±0,26  |
| AH3              | 50,16±0,99  | 63,20±0,19  |
| ZN3              | 52,56±0,33  | 37,85±0,76  |
| AN3              | 47,64±0,55  | 57,60±0,32  |
| ZR3              | 87,54±0,63  | 96,03±0,35  |
| AR3              | 108,88±0,27 | 127,24±0,66 |

pH 1,2 mide ortamından 180.dakikada alınan numuneler için enzim inhibisyonu çalışması sonuçları değerlendirildiğinde asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzimlerini inhibe eden en düşük  $IC_{50}$  değerlerine sırasıyla ZN3 numunesinde  $IC_{50}=25,30\pm0,29$   $\mu\text{g/mL}$  ve  $IC_{50}=22,31\pm0,71$   $\mu\text{g/mL}$  ulaşılmıştır.

pH 7,4 bağırsak ortamından 300.dakikada alınan numuneler için enzim inhibisyonu çalışması sonuçları değerlendirildiğinde asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzimlerini inhibe eden en düşük  $IC_{50}$  değerlerine sırayla ZN3 numunesinde  $IC_{50}=29,12\pm0,81$   $\mu\text{g/mL}$  ve  $IC_{50}=32,46\pm0,02$   $\mu\text{g/mL}$  değerleri ile ulaşılmıştır.

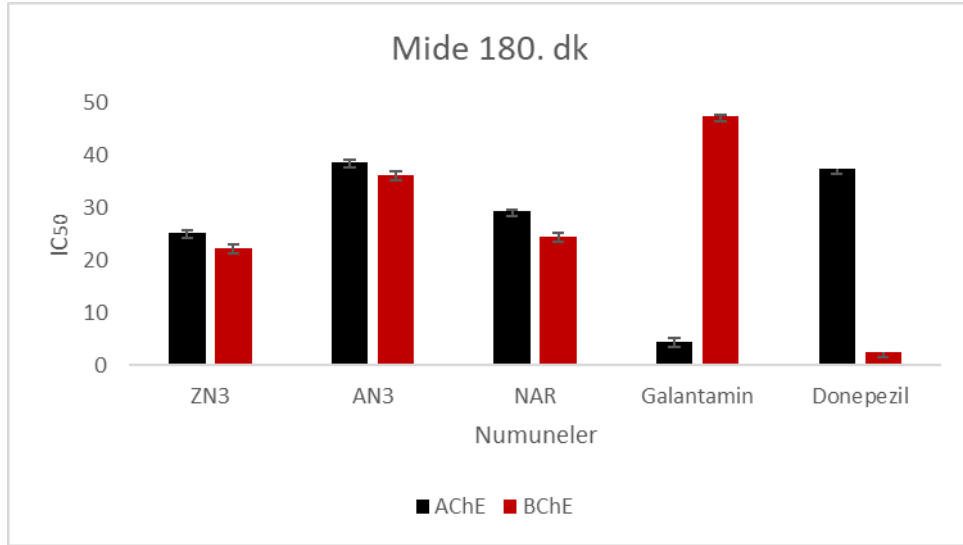
Ardışık salım ortamından 480.dakikada alınan numuneler için enzim inhibisyonu çalışması sonuçları değerlendirildiğinde asetilkolinesteraz enzimini inhibe eden en düşük  $IC_{50}$  değerine AN3 numunesinde  $IC_{50}=47,64\pm0,55$   $\mu\text{g/mL}$  ve bütirilkolinesteraz

enzimlerini inhibe eden en düşük  $IC_{50}$  değerine ZN3 numunesinde  $IC_{50}=37,85\pm0,76$   $\mu\text{g/mL}$  değerleri ile ulaşılmıştır.



Şekil 4.33 pH1,2 Dissolüsyon analizi hesperidin inhibisyon aktivitesi ( $IC_{50}$ ) değerleri

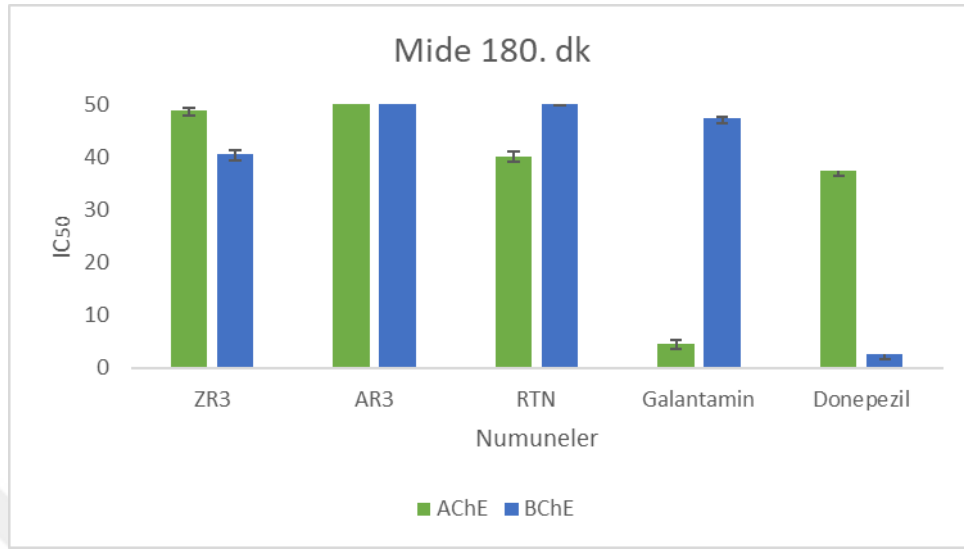
Şekil 4.31’de yer alan  $IC_{50}$  değerleri incelendiğinde ZH3 partikülüne ait  $IC_{50}$  değerinin AH3 ve kapsüllenmemiş hesperidine göre daha iyi inhibisyon davranışı gözlenmektedir. AChE ve BChE inhibisyon aktivitesi değerleri arasındaki ilişki  $ZH3 < HSP < AH3$  olarak yorumlanır.



Şekil 4.34 pH1,2 Dissolüsyon analizi naringin inhibisyon aktivitesi ( $IC_{50}$ ) değerleri

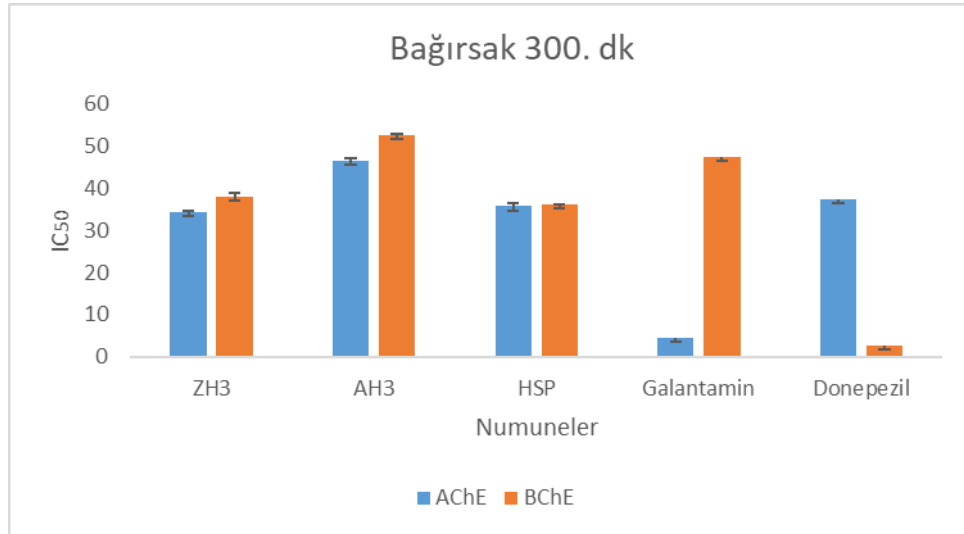
Şekil 4.32’de yer alan  $IC_{50}$  değerleri incelendiğinde ZN3 partikülüne ait  $IC_{50}$  değerinin AN3 ve kapsüllenmemiş naringine göre daha iyi inhibisyon davranışı gözlenmektedir.

AChE ve BChE inhibisyon aktivitesi değerleri arasındaki ilişki  $ZN3 < NAR < AN3$  olarak yorumlanır.



Şekil 4. 35 *pH 1,2 Dissolüsyon analizi rutin hidrat inhibisyon aktivitesi (IC<sub>50</sub>) değerleri*

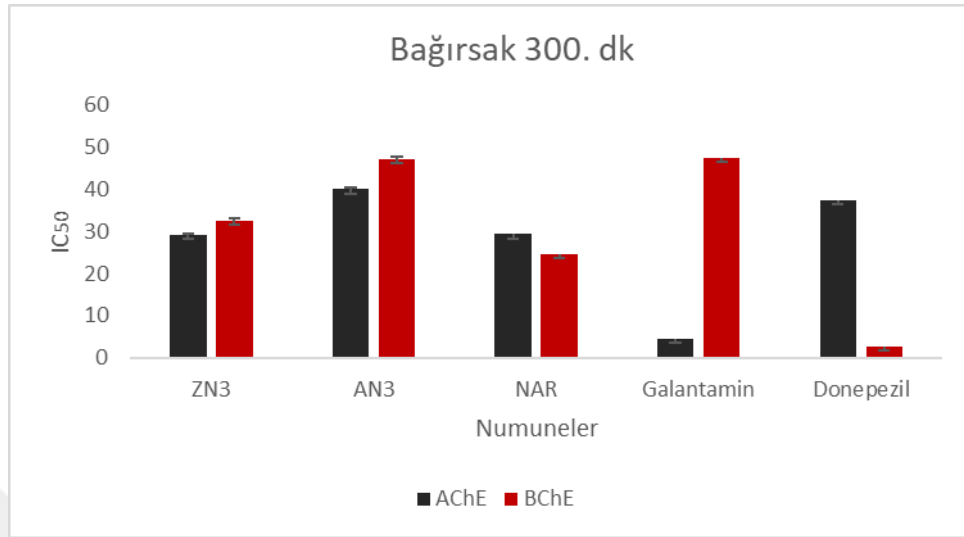
Şekil 4.33'te yer alan IC<sub>50</sub> değerleri incelendiğinde ZR3 partikülüne ait IC<sub>50</sub> değerinin AR3 ve kapsüllenmemiş naringine göre daha iyi inhibisyon davranışı gözlenmektedir. AChE ve BChE inhibisyon aktivitesi değerleri arasındaki ilişki  $ZR3 < RTN < AR3$  olarak yorumlanır.



Şekil 4. 36 *pH 7,4 Dissolüsyon analizi hesperidin inhibisyon aktivitesi (IC<sub>50</sub>) değerleri*

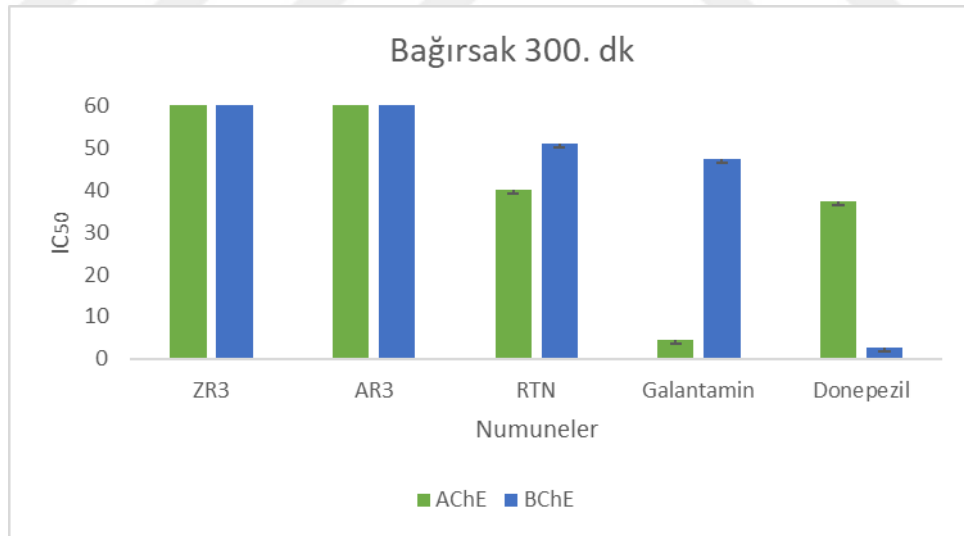
Şekil 4.34'te yer alan IC<sub>50</sub> değerleri incelendiğinde ZN3 partikülüne ait IC<sub>50</sub> değerinin AN3 ve kapsüllenmemiş naringine göre daha iyi inhibisyon davranışı gözlenmektedir.

AChE ve BChE inhibisyon aktivitesi değerleri arasındaki ilişki  $ZN3 < NAR < AN3$  olarak yorumlanır.



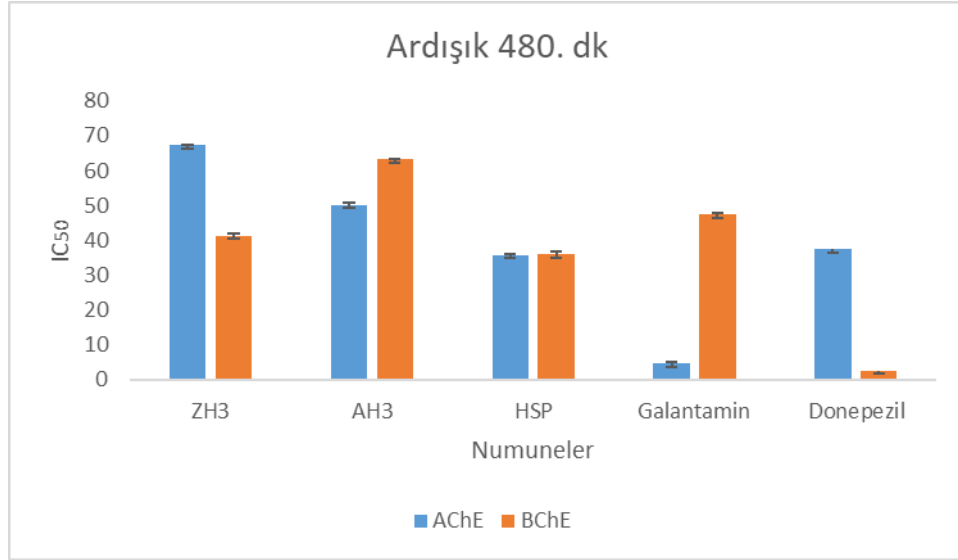
Şekil 4. 37 pH 7,4 Dissolüsyon analizi naringin inhibisyon aktivitesi ( $IC_{50}$ ) değerleri

Şekil 4.35'te yer alan  $IC_{50}$  değerleri incelendiğinde ZN3 partikülüne ait  $IC_{50}$  değerinin AN3 ve kapsüllenmemiş naringine göre daha iyi inhibisyon davranışı gözlenmektedir. AChE ve BChE inhibisyon aktivitesi değerleri arasındaki ilişki  $ZN3 < NAR < AN3$  olarak yorumlanır.

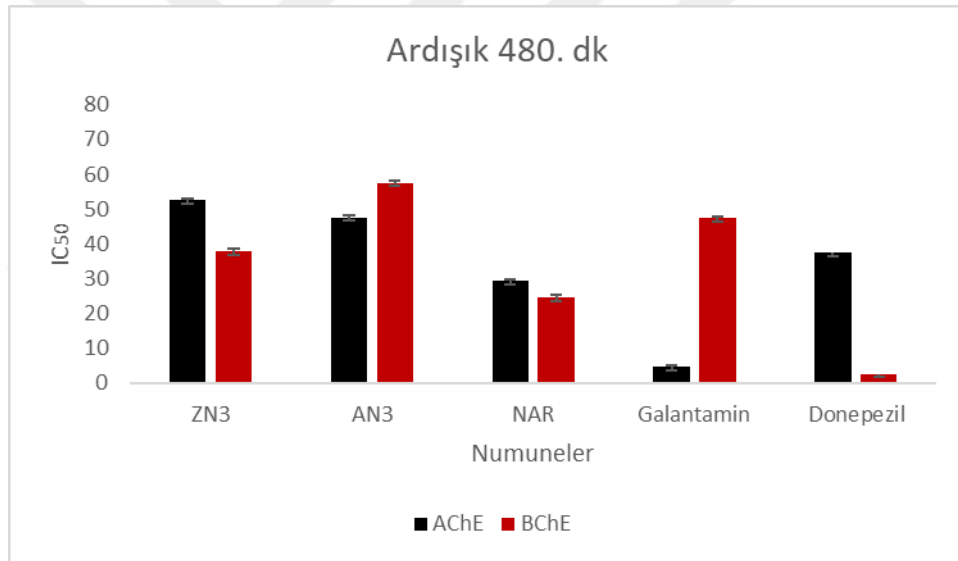


Şekil 4. 38 pH 7,4 Dissolüsyon analizi rutin hidrat inhibisyon aktivitesi ( $IC_{50}$ ) değerleri

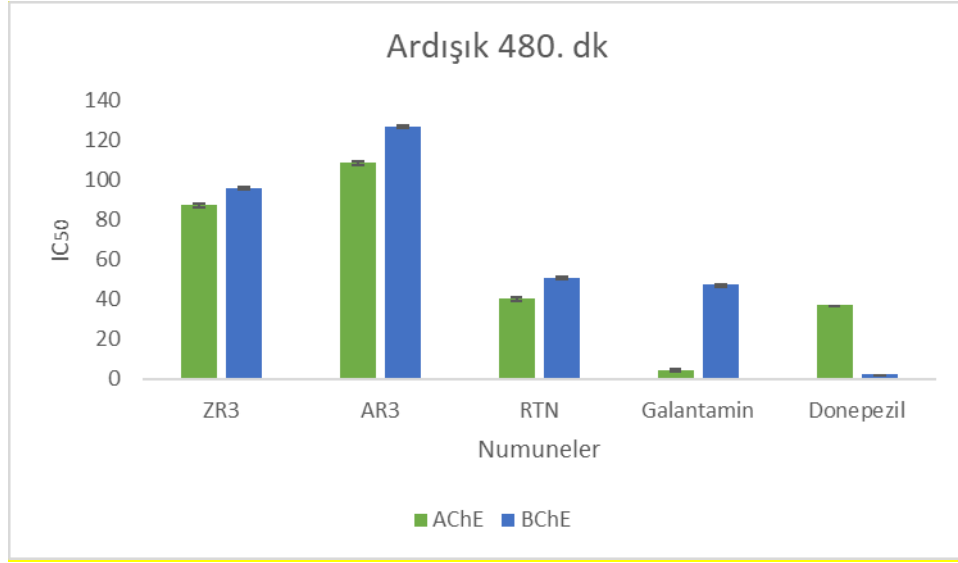
Şekil 4.36'da yer alan  $IC_{50}$  değerleri incelendiğinde ZR3 partikülüne ait  $IC_{50}$  değerinin AR3 ve kapsüllenmemiş naringine göre daha iyi inhibisyon davranışı gözlenmektedir. AChE ve BChE inhibisyon aktivitesi değerleri arasındaki ilişki  $ZR3 < RTN < AR3$  olarak yorumlanır.



**Şekil 4. 39** Dissolüsyon analizi hesperidin inhibisyon aktivitesi (IC<sub>50</sub>) değerleri



**Şekil 4. 40** Dissolüsyon analizi naringin inhibisyon aktivitesi (IC<sub>50</sub>) değerleri



**Şekil 4. 41** Dissolüsyon analizi rutin hidrat inhibisyon aktivitesi (IC<sub>50</sub>) değerleri

Şekil 4.39, Şekil 4.40 ve Şekil 4.41 incelendiğinde, salım süresi uzadıkça kapsüllenmiş etken maddenin antikolinesteraz inhibisyon yeteneğinin azaldığı görülmüştür.

## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

### 5.1. Sonuçlar

Doktora tez çalışmasında, farklı flavonoid türevlerinin (rutin hidrat, naringin ve hesperidin) Pickering emülsiyonu yöntemiyle kapsüllenerek enzim inhibisyonu üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışma, flavonoidlerin biyoyararlanımını artırmak ve Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklara karşı potansiyel terapötik etkilerini geliştirmek açısından önemli bir adımdır.

Pickering emülsiyonu yöntemi ile enkapsüle edilen flavonoidlerin enkapsülasyon etkinlikleri %60-95 arasında değişmiştir. Hesperidin yüklü partiküllerde AH1 (7,5 mg) partikülünde %91,06, ZH3 (30 mg) partikülünde %90,84 oranında enkapsülasyon etkinliğine ulaşılmıştır. Naringin yüklü partiküllerde AN1 (7,5 mg) partikülünde %80,59, ZN1(7,5 mg) partikülünde %86,44 oranında enkapsülasyon etkinliğine ulaşılmıştır. Rutin hidrat yüklü partiküllerde ise AR1 (7,5 mg) partikülünde %94,87, ZR3 (30 mg) partikülünde %88,76 oranında enkapsülasyon etkinliğine ulaşılmıştır. Enkapsülasyon etkinliği, formülasyonlara bağlı olarak farklılık göstermesine rağmen çalışmada enkapsüle edilen etken maddelerin miktarının en fazla olduğu formülasyon salım çalışmalarında kullanılmıştır.

FT-IR analiz sonuçları, flavonoidlerin karakteristik piklerinin kapsüllenmiş partiküllerde de gözlemlendiğini doğrulamaktadır. Bu, flavonoidlerin kimyasal yapılarının kapsülleme işleminden önemli ölçüde etkilenmediğini ve biyolojik aktivitelerini koruduklarını göstermektedir.

*İn vitro* salım çalışması için mide ortamında (pH 1,2) 3 saat, bağırsak ortamında (pH 7,4) 5 saat, mide ve bağırsak ortamında ardışık olarak 8 saat salım çalışması yapılmıştır. Cai ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada çapraz bağlı ağın yapısının önemi üzerinde durulmuştur. Çalışmada, kurkuminin salımı 4 saat sonra sabitlendiğinden, salım davranışını daha iyi anlamak için mevcut çalışmada 180 dakikadaki salım desenleri incelenmiştir (Cai ve ark., 2024). Çalışmada buna bağlı olarak pH 1,2 mide ortamında 8 saat ve pH 7,4 bağırsak ortamında 96 saat salım çalışması yapılarak etken madde salımının sabitlenmesi sağlanmıştır.

pH 1,2 mide ortamında 3 saatlik salım sonucunda en yüksek salım değerlerine AR1 (7,5 mg) partikülünde %22,51, AH2 (15 mg) partikülünde %24,66 ve AN3 (30 mg) partikülünde %25,7 oranları ile ulaşılmıştır. pH 7,4 bağırsak ortamında 5 saatlik salım sonucunda en yüksek salım değerlerine AR1 (7,5 mg) partikülünde %30, ZH2 (15 mg)

partikülünde %26,78 ve AR3 (30 mg) partikülünde %36,11 oranları hesaplanmıştır. Ardışık salım ortamında 8 saatlik salım sonucunda en yüksek salım değerlerine ZH1 (7,5 mg) partikülünde %16,08, AH2 (15 mg) partikülünde %17,81 ve ZH3 (30 mg) partikülünde %25 oranları ile ulaşılmıştır.

Etken madde salımının sabitlenmesi için yapılan pH 1,2 mide ortamında 8 saatlik salım sonucunda en yüksek salım değerine AR3 (30 mg) partikülünde %24,6 oranı ile pH 7,4 bağırsak ortamında 96 saatlik salım sonucunda en yüksek salım değerine ZH3 (30 mg) partikülünde %82,54 oranı ile ulaşılmıştır.

Sodyum aljinatın yüksek su tutma kapasitesi ve viskozitesi, bağırsakta çözünmesini güçleştirir ve sindirim sisteminde daha uzun süre kalmasını sağlar. Bu özellik, özellikle besinlerin veya ilaç bileşenlerinin kontrollü salımı açısından önemli bir rol oynar. Sodyum aljinatın bağırsakta çözünmezliği, aynı zamanda, Pickering emülsiyonları gibi sistemlerde yapısal ve kimyasal avantajlar sağlar. Yüzey aktif maddeler yerine hidrofilik veya hidrofobik partiküllerle stabilize edilen bu emülsiyonlar, çevre dostu bir alternatif sunar ve kimyasal bileşen ihtiyacını azaltır. Bu özellikler, sodyum aljinatı sürdürülebilir ve fonksiyonel uygulamalar için ideal bir bileşen haline getirmektedir (Güngör ve ark., 2013, Guo ve ark., 2019, Mackie ve ark., 2015, Nam ve ark., 2021).

Özellikle iki değerlikli katyonlar, örneğin kalsiyum iyonları ile etkileşime geçtiğinde sodyum aljinat güçlü ve stabil jeller oluşturur. Bu jeller, bağırsak ortamında çözünmeyerek koruyucu bir bariyer görevi görür ve sindirim enzimlerinin etkisini azaltır. Böylece, besinlerin emilimi gecikerek salım süresi uzar (Guo ve ark., 2019, Mackie ark., 2015, Nam ve ark., 2021).

Sodyum aljinat içeren Pickering emülsiyonlarının da benzer bir koruyucu kaplama özelliği vardır. Sindirim sırasında enzimlerle doğrudan temas etmeyen bu emülsiyonlar, yağ asitleri ve diğer besinlerin bağırsak duvarından geçişini yavaşlatır. Ayrıca, sodyum aljinatın sahip olduğu yüksek viskozite, bağırsak içeriğinin hareketini kısıtlayarak emilim sürecini düzenler ve optimize eder (Guo ve ark., 2019, Mackie ark., 2015, Nam ve ark., 2021).

Sodyum aljinatın sahip olduğu negatif yükler, asidik pH'ta sodyum aljinatın büzülmesine, nötral veya bazik pH'ta ise şişmesine neden olmaktadır. Bu durumdan dolayı sodyum aljinat polimeri pH duyarlıdır. Asidik pH'a sahip tampon çözeltide, sodyum aljinat hidrojel moleküllerindeki karboksil gruplarından bazıları protonlanarak jel içindeki yük yoğunluğunu artırır ve jel yapısını daha kompakt hale getirir. Ek olarak, pH düştükçe daha fazla  $Ca^{2+}$  iyonu salınır ve bu da ek çapraz bağlama ağlarının

oluşumunu teşvik ederek jel yapısını daha da katılaştırır ve sıkıştırır. Bu nedenle, düşük pH'larda saf kalsiyum aljinat boncuklarının etken madde salım yüzdeleri daha yüksek pH'lardaki salıma göre oldukça düşüktür. (Treenate ve ark., 2017, Nazlı ve ark., 2019, Cai ve ark., 2024).

Cai ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, sodyum aljinat konsantrasyonunun kurkumin salımı üzerinde etkisi incelenmiştir. Sodyum aljinat oranları %0,25, %0,5, %0,75 ve %1 olarak belirlenmiştir ve sodyum aljinat konsantrasyonu azaldıkça ilaç salım yüzdesinin arttığı gözlenmiştir. Bu durum, sodyum aljinat (SA) konsantrasyonunun jeldeki çapraz bağlama ağının kararlılığını etkilemesinden kaynaklanmaktadır. (Cai ve ark., 2024) Daha yüksek SA konsantrasyonu ağı sıkılaştırarak ilaç molekülü difüzyonunu engeller. Buna karşılık, daha düşük SA konsantrasyonu kolayca kırılan daha ince bir jel kabuğu oluşturarak daha fazla etken madde salınımına yol açar. (Cai ve ark., 2024)

Yaptığımız çalışmada optimizasyon sürecinde sodyum aljinat oranının %1,5 olmasına karar verilmiş ve buna göre partikül üretimi yapılmıştır. Bağırsak ortamındaki salımın düşük olması sodyum aljinat konsantrasyonunun yüksek olmasıyla açıklanabilir.

Polimer partikül sisteminden etken madde salımı üç farklı mekanizmayı içerir. Bunlar; polimer aşınması nedeniyle salım, şişmiş matrinden difüzyon ve partiküllerin yüzeyinden salımdır (Unagolla ve ark., 2017)

Salım kinetiği, etken madde dağıtım sisteminin verimli kullanımı için önemlidir. İlacın dağıtım sistemlerinden salımı hem ilacın hem de taşıyıcının gözeneklilik, yüzey pürüzlülüğü, kimyasal bileşim, moleküler ağırlık, bozunma hızı, partikül boyutu, etken madde dozaj formu miktarı ve etken madde-matris etkileşimi gibi birçok fiziksel ve kimyasal özelliğine bağlıdır (Unagolla ve ark., 2017).

Liang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, kalsiyum aljinat boncuklarının bağırsak hedefli özellikleri ve boncukların bağırsak ve mide ortamında çözünme profili araştırılmıştır. Kalsiyum aljinat boncukları mide ortamında şekil olarak önemli bir değişiklik göstermezken, bağırsak ortamında boncuk boyutunda önemli bir artış olmuştur. Kuluçka süresi uzatıldığında, boncuklar çözünme eğilimi göstermiştir (Liang 2016).

Daha sonra, boncukların PBS'deki kinetik salım profili ve sindirim enzimleriyle mide ortamındaki kümülatif salım profili izlenmiş, PBS ortamında, tüm formülasyonlar birinci dereceden salım profili göstermiş ve iki fazlı kinetik salım eğilimi görülmüştür, kısaca 2 saat içinde bir patlama etkisi gerçekleşmiş ve ardından 6 saate kadar sürekli salım ile iki farklı emülsiyonda yaklaşık %90 ve %80 etken madde salınmıştır (Liang 2016).

In vitro ilaç salım (dissolüsyon) analiz sonuçları, yukarıda anlatılan çalışmalara paralel olarak partiküllerin mide ortamında (pH 1,2) salınan etken madde yüzdesi yaklaşık %25 civarlarında gerçekleşmişken, bağırsak ortamında (pH 7,4) 96 saat sonunda etken maddelerin çoğunun salındığını göstermektedir. Bu, özellikle bağırsakta emilimi hedeflenen flavonoidler için önemli bir özelliktir ve bu sistemlerin oral ilaç dağıtım sistemlerinde kullanılabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, farklı flavonoid türleri ve yağ tipleri arasındaki salım profillerindeki farklılıklar, kapsülleme işleminin salım kinetiğini de etkileyebileceğini göstermektedir.

PLA-jelatin kullanılarak üretilen fiber mat için mide ve bağırsak ortamlarındaki salım yüzdeleri benzerdir. PCL polimeri ile yapılan fiber matta, mide ortamına kıyasla bağırsak ortamında salım daha fazladır. Yapılan bir çalışmada, etken madde kombinasyonlarının salımları incelendiğinde, etken maddelerin tekli yüklemelerde %50'sinin ilk bir saat içinde salındığı, ancak kombine yüklemelerde salımın daha yavaş gerçekleştiği ve izlenen 9 saatlik süre sonunda %80 oranında etken madde salımı gözlemlendiği belirlenmiştir. Fiberlerde, etken maddelerin kombinasyonlar halinde kullanıldığında, yüklenen miktarın daha yavaş bir salım gösterdiği tespit edilmiştir (Onurlu ve ark., 2022).

Çapraz bağlanmış pH duyarlı etken madde formlarının üretimi, mideyi rahatsız eden veya asidik ortamdan etkilenebilen etken maddelerin sorunlarının üstesinden gelebilir (Pillay ve ark., 1999).

Çalışmada, flavonoid karışımı yüklenmiş PLA ve PCL elektroegirme lifleri analiz edildi. Üretilen her iki lifte de boncuk oluşumu gözlenmedi ve lif matları düzgün bir şekilde üretildi. 3 saat mide pH'ında ve 5 saat bağırsak pH'ında çözünme analizi yapıldı ve her iki ortamda da kümülatif ilaç salımının %20'nin üzerinde olduğu görüldü. PCL-MIX lif matının FE-SEM görüntülerinde, liflerin homojen dağıldığı ve boncuk oluşumu gözlenmediği tespit edildi. Karşılaştırılan PCL-MIX lifi, PCL ve flavonoidlerin FT-IR spektrumlarında, flavonoidlerin PCL-MIX lif matında pik yaptığı gözlemlendi. Benzer şekilde, PLA-MIX lifi, PLA ve flavonoidleri karşılaştıran FT-IR spektrumlarında, flavonoidlerin PLA-MIX lif matında pik yaptığı görüldü. Elektroegirme liflerinin ortalama çapları PCL-MIX matı için  $890,86 \pm 22,45$  nm, PLA-MIX matı için  $439,34 \pm 20,34$  nm olarak ölçülmüştür.

*Staphylococcus aureus*, toksin üreten Gram pozitif, aerobik, oldukça patojenik bir bakteridir. Hem insanlarda hem de hayvanlarda çeşitli rahatsızlıklara neden olan birincil mikrobiyal gıda kirleticilerinden biridir. PCL-MIX lif matındaki bakteriyel inhibisyon yüzdesi  $30,04 \pm 3,15$  olarak ölçüldü. PLA-MIX fiber matındaki bakteriyel inhibisyon

yüzdesi %45,94±4,6 olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlar, rutin hidrat-hesperidin naringin yüklü PLA fiber matlarının farklı uygulamalar için antibakteriyel yüzeyler toplamak amacıyla kullanılabileceğini göstermiştir. PCL nanofiber matlarından maddelerin kümülatif salınımı, PLA nanofiber matlarından maddelerin salınımından daha yüksek olsa da PLA-MIX'in antibakteriyel aktiviteleri nanofiber morfolojileri ve çaplarından kaynaklanabilir (Erci ve ark., 2019, Veiko ve ark., 2023).

Antikolinesteraz inhibisyon aktivite değerlendirmesi sonuçları, kapsüllenmiş flavonoidlerin asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinesteraz (BChE) enzimleri üzerinde inhibisyon etkisi gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu, flavonoidlerin Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde potansiyel olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, farklı flavonoid türleri ve kapsülleme yöntemleri arasındaki inhibisyon aktivitelerindeki farklılıklar, kapsülleme işleminin flavonoidlerin biyolojik aktivitelerini etkileyebileceğini göstermektedir.

Polifenollerin, aromatik halkaları ve antioksidan özelliklere sahip olmalarını sağlayan hidroksil grupları nedeniyle özellikle ROS'u temizleme, metal iyonlarını şelatlama, inflamasyonu ve oksidatif stresi azaltabilecek sinyal yollarını kontrol etme gibi nöroprotektif etkileri vardır. Bu, özellikle milyonlarca insanı etkileyen ve hafıza kaybı, bilişsel gerileme ve sonunda bağımsızlık kaybıyla bağlantılı nörolojik bir hastalık olan AH düşünüldüğünde çok önemlidir. Aβ plaklarının hücre dışı birikimi ve esas olarak hiperfosforile edilmiş tau proteininden oluşan nörofibriler düğümlerin hücre içi birikimi AH'nin özellikleridir (Gonçalves ve ark., 2024).

Ancak dikkate alınması gereken önemli bir faktör var: Bu fenolik bileşiklerin kan-beyin bariyerini geçip geçemeyeceği. İn vitro sonuçların in vivo modellere çevrilmesinin mümkün olup olmadığını doğrulamak ve dolayısıyla bu biyoaktif bileşiklerin nöroprotektif aktivitelerini uygulayıp uygulayamayacağını doğrulamak için bu konuya çeşitli çalışmalar erişmiştir.

Zeytinyağının bileşenlerinin çok küçük bir kısmını oluşturan fenolik bileşikler, sağlık avantajlarının çoğundan sorumludur. Bu maddelerden oleuropein, hidroksitirozol ve oleokantal, nöroprotektif etkilere sahip olmalarını sağlayan antiinflamatuvar ve antioksidan özellikleri nedeniyle özellikle önemlidir. Oksidatif stres, nörodejeneratif bozuklukların başlangıcıyla yakından ilişkilidir. Bu bilgiler ışığında antioksidan yeteneğe sahip maddelerin oksidatif stresi ve sonuçlarını azaltmaya yardımcı olabileceği ve böylece hastalığın ilerlemesini veya başlangıcını durdurabileceği çıkarımı yapılabilir (Gonçalves ve ark., 2024).

Bharmoria ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, zeytinyağında bulunan antioksidanlar tarafından  $O_2^-$ ,  $RO^-$  ve  $OH^-$  gibi serbest radikallerin temizlenmesi yoluyla kurkuminin oto-oksidasyonuna karşı koruma sağlamıştır. Kurkumin nanoemülsiyon formülasyonunun jelatin ile kapsüllenmesi, oto-oksidasyona karşı direncini daha da güçlendirmiş ve hücrel alımını da artırmıştır (Bharmoria ve ark., 2021).

Zhang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, endojen fenolik bileşikler ve  $\alpha$ - tokoferol arasındaki etkileşimler zeytinyağı modelinde antioksidan deneyleriyle araştırılmış ve değerlendirilmiştir. Quercetin ve  $\alpha$ -tokoferol arasındaki sinerjik yapıya dayanarak, sonuçlar doğru etki oranını göstermiştir. Endojen ve doğal antioksidanların sinerjik korozyon direncinin korunması hakkında ilgili sonuçlara ulaşılmıştır (Zhang ve ark., 2023).

Zeytinyağı, zengin polifenol içeriği ve oksidatif stresi azaltma yeteneği ile nöroprotektif etkiler açısından daha avantajlı bir yağdır. Ayçiçek yağı ise düşük antioksidan içeriği ve yüksek omega-6 yağ asidi oranı nedeniyle nöroprotektif etkileri sınırlıdır. Bu nedenle, beyin sağlığını desteklemek için zeytinyağının tercih edilmesi önerilmektedir.

Galantamin ve donepezil, Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılan kolinesteraz inhibitörleridir. Hafif ve orta dereceli Alzheimer hastalığı olan bireylerde bilişsel işlevleri iyileştirmek amacıyla kullanılmaktadır. Galantamin ve donepezil, çalışmada kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Antikolinesteraz inhibisyon aktivite değerlendirmesi sonuçlarına göre, enzim inhibisyon aktiviteleri bakımından flavonoidler arasında şu karşılaştırmalar yapılabilir:

- **Asetilkolinesteraz (AChE) İnhibisyonu:**

- Naringin,  $IC_{50} = 29.37 \pm 0.32 \mu g/mL$   $IC_{50}$  değeri ile en güçlü AChE inhibisyon aktivitesine sahiptir. Bu, naringinin AChE enzimini en etkili şekilde inhibe ettiğini gösterir.
- Hesperidin,  $IC_{50} = 35.77 \pm 0.14 \mu g/mL$   $IC_{50}$  değeri ile orta düzeyde bir AChE inhibisyon aktivitesi gösterir.
- Rutin hidrat,  $IC_{50} = 40.21 \pm 0.94 \mu g/mL$   $IC_{50}$  değeri ile AChE'ye karşı en zayıf inhibisyonu gösteren flavonoiddir.

Yapılan çalışma sonucunda en güçlü AChE inhibisyon değeri  $29,12 \pm 0,81 \mu\text{g/mL}$  ile ZN3 kodlu partikülde ölçülmüştür.

• **Bütirilkolinesteraz (BChE) İnhibisyonu:**

- Naringin yine en düşük  $\text{IC}_{50}$  değeri olan  $\text{IC}_{50} = 24.55 \pm 0.68 \mu\text{g/mL}$  ile BChE'ye karşı da en güçlü inhibisyon aktivitesine sahiptir.
- Hesperidin,  $\text{IC}_{50} = 36.09 \pm 0.80 \mu\text{g/mL}$   $\text{IC}_{50}$  değeri ile naringine yakın bir BChE inhibisyon aktivitesi gösterir.
- Rutin hidrat,  $51.02 \pm 0.13 \mu\text{g/mL}$   $\text{IC}_{50}$  değeri ile BChE'ye karşı en zayıf inhibisyonu gösteren flavonoiddir.

Yapılan çalışma sonucunda en güçlü BChE inhibisyon değeri  $\text{IC}_{50} = 32,46 \pm 0,02 \mu\text{g/mL}$  ile ZN3 kodlu partikülde ölçülmüştür.

Genel olarak, naringin hem AChE hem de BChE'ye karşı en güçlü inhibisyon potansiyeline sahipken, rutin her iki enzime karşı da en zayıf inhibisyonu göstermiştir. Hesperidin ise orta düzeyde bir inhibisyon aktivitesi sergilemiştir. Bu sonuçlar, naringinin Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde potansiyel olarak kullanılabilecek güçlü bir doğal bileşik olduğunu göstermektedir.

Ayrıca, kapsüllenmiş flavonoidlerin enzim inhibisyon aktivitelerinin serbest flavonoidlere göre farklılık gösterdiği görülmüştür. Bu durum, kapsülleme işleminin flavonoidlerin biyolojik aktiviteleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu ve kapsülleme yöntemlerinin optimizasyonunun flavonoidlerin terapötik potansiyelini artırmak için kritik öneme sahip olduğunu göstermektedir.

Üretilen partiküller arasında hem AChE hem de BChE'yi inhibe edebilen partikülün ZN3 partikülü olduğu sonucuna ulaşılmaktadır. Gonçalves, Bharmoria ve Zhang'ın yaptığı çalışmalar da incelendiğinde zeytinyağında yer alan polifenoller ile naringin etken maddesinin sinerjik etki gösterdiği ifade edilebilir.

## 5.2. Öneriler

Gelecekte yapılacak çalışmalarda, farklı kapsülleme yöntemleri ve malzemeleri kullanılarak flavonoidlerin biyoyararlanımı ve stabilitesinin daha da geliştirilmesi hedeflenebilir. Ayrıca, *in vivo* hayvan çalışmaları ve klinik denemeler yapılarak, bu sistemlerin Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklara karşı terapötik etkileri

doğrulanabilir. Bu çalışmalar, flavonoidlerin ilaç dağıtım sistemlerinde kullanımını genişletebilir ve yeni tedavi seçenekleri sunabilir (Hajialyani ve ark., 2019, Nouri ve ark.,2019, Semwal ve ark., 2021).

Sodyum aljinat konsantrasyonunun, jelin çapraz bağlanmasına ve jel kabuğunun kalınlığına etkisi bulunmaktadır. Bu durumlar etken madde salımının hızlı veya yavaş gerçekleşmesini etkiler. Yapılacak çalışmalarda, etken madde salımının istenilen profile gerçekleşmesi için sodyum aljinat konsantrasyonunda modifikasyonlar yapılabilir (Cai ve ark., 2024).

Sodyum aljinatın pH 7,4 bağırsak ortamındaki yavaş salımını dengelemek için, farklı polimerlerden yararlanılabilir. Yapılan bir çalışmada sodyum aljinat ve karragenanın farklı oranları denenmiştir. Farklı oranları denen sodyum aljinat ve karragenanın birlikte kullanımı ile pH 7,4 bağırsak ortamında etken madde salımını artırmıştır (Geyik, 2024).

Elektroeğirme fiberleri ile ilgili yapılacak çalışmalarda ise, her bir etken maddenin ayrı ayrı fiber çözeltisine yüklenmesi ile bir ön çalışma yapılabilir. Bu şekilde etken maddelerin fiber çözeltisi ile geçimliliği de gözlenmiş olur. Yapılan çalışmalarda daha ince fiberlerden daha fazla etken madde salımı gerçekleştiği sonucuna ulaşılmıştır. Kullanılan polimer ağırlığı ve konsantrasyonu arttıkça, viskozitenin arttığı ve elektriksel alanın azaldığı görülmüştür. Bu durum, daha kalın fiberlere sebep olmaktadır. Çözeltideki polimer konsantrasyonu azaldıkça ise fiberlerde boncuk oluşumu gözlenebilir. Fiber üretimi esnasında özellikle polimer konsantrasyonu, voltaj ve yüklenen etken maddenin ağırlığı gibi parametrelerde değişiklikler yapılarak daha etkin bir enkapsülasyon sistemi geliştirilebilir (Onurlu ve ark., 2022).

## 6. KAYNAKLAR

- Alberca R.W., Teixeira F. M. E., Beserra D. R., de Oliveira E. A., Andrade M. M. S., Pietrobon A. J., Sato M. N., 2020. Perspective: The Potential Effects of Naringenin COVID-19, *Front. Immunol.*, 11 (570919). doi: 10.3389/fimmu.2020.570919.
- Albert, C., Beladjine, M., Tsapis, N., Fattal, E., Agnely, F., Huang, N., 2019. Pickering emulsions: Preparation processes, key parameters governing their properties and potential for pharmaceutical applications. *Journal of Controlled Release*, Elsevier, 309, 302-332. 10.1016/j.jconrel.2019.07.003. hal-02330281
- Ali, A.H., 2022. High-Performance Liquid Chromatography (HPLC): A review, *Annals of Advanced in Chemistry*, 6, 10-20. <https://doi.org/10.29328/journal.aac.1001026>
- Ali, S. H., Sulaiman, G. M., Al-Halbosiy, M. M. F., Jabir, M. S., & Hameed, A. H. (2019). Fabrication of hesperidin nanoparticles loaded by poly lactic co-Glycolic acid for improved therapeutic efficiency and cytotoxicity. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 47(1), 378–394. <https://doi.org/10.1080/21691401.2018.1559175>
- Almukainzi, M.; El-Masry, T.A.; El Zahaby, E.I.; El-Nagar, M.M.F. Chitosan/Hesperidin Nanoparticles for Sufficient, Compatible, Antioxidant, and Antitumor Drug Delivery Systems. *Pharmaceuticals* 2024, 17, 999. <https://doi.org/10.3390/ph17080999>
- Amin, M. U., Khurram, M., Khattak, B., & Khan, J. (2015). Antibiotic additive and synergistic action of rutin, morin and quercetin against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15, 59. <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0580-0>
- Anand, P., & Singh, B. (2013). A review on cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Archives of pharmacal research*, 36(4), 375–399. <https://doi.org/10.1007/s12272-013-0036-3>
- Aydın, Ö. & Ünlüel, İ. (2021). Enkapsülasyon Teknikleri ve Kontrollü Salım. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (32), 640 648.
- Banks, S. R., Enck, K., Wright, K., Opara, E. C., Welker, M. E., 2019. Chemical Modification of Alginate for Controlled Oral Drug Delivery, *J Agric Food Chem.*, 67(37), 10481–10488. doi: 10.1021/acs.jafc.9b01911.

- Berthomieu, C., Hienerwadel, R., 2009. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy, *Photosynth Res*, 101, 157–170. DOI 10.1007/s11120-009-9439-x
- Beyoğlu, G., Araç, Ö., Taşkın, D., Arayıcı, P. P., Kızılbey, K., Derman, S., 2020. Rutin Yüklü Kitosan Nanopartiküllerinin Sentezi, Karakterizasyonu ve Antioksidan Aktivitesinin Değerlendirilmesi, *Eurasian J Bio Chem Sci*, 3(2):93-99.
- Bharmoria, P., Bisht, M., Gomes, M. C., Martins, M., Neves, M. C., Mano, J. F., Bdikin, I., Coutinho, J. a. P., & Ventura, S. P. M. (2021). Protein-olive oil-in-water nanoemulsions as encapsulation materials for curcumin acting as anticancer agent towards MDA-MB-231 cells. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88482-3>
- Bishnoi RS, Kumar M, Shukla AK, JainCP, Development and validation of novel HPLC method for the estimation of Rutin in crude hydromethanolic leaf extract of *Prosopis cineraria*, *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 2018; 8(6):68-73. <http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v8i6.2016>
- Bogdanova, A., Pavlova, E., Polyanskaya, A., Volkova, M., Biryukova, E., Gleb Filkov, Trofimenko, A., Mikhail Durymanov, Dmitry Klinov, & Dmitry Bagrov. (2023). Acceleration of Electrospun PLA Degradation by Addition of Gelatin. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3535–3535. <https://doi.org/10.3390/ijms24043535>
- Borghi, S.M.; Pavanelli, W.R. Antioxidant Compounds and Health Benefits of Citrus Fruits. *Antioxidants* 2023, 12, 1526. <https://doi.org/10.3390/antiox12081526>
- Budel, R. G., da Silva, D. A., Moreira, M. P., Dalcin, A. J., da Silva, A. F., Nazario, L. R., Majolo, J. H., Lopes, L. Q., Santos, R. C., Antunes Soares, F. A., da Silva, R. S., Gomes, P., & Boeck, C. R. (2020). Toxicological evaluation of naringin-loaded nanocapsules *in vitro* and *in vivo*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 188, 110754. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110754>
- Cai, J., Guo, Y., Liang, Y., & He, Y. (2024). A curcumin sustained-release hydrogel prepared from Pickering emulsions stabilized by modified amorphous calcium phosphate nanoparticles. *Colloid & Polymer Science*, 302(5), 781–790. <https://doi.org/10.1007/s00396-024-05236-z>
- Chacor, A., Anaya-Mancipe, J. M., Oliveira, A., Santos-Oliveira, R., Dias, M. L., & Mara, R. (2022). Nanostructured Electrospun Polycaprolactone—Propolis Mats Composed of Different Morphologies for Potential Use in Wound Healing. *Molecules*, 27(16), 5351–5351. <https://doi.org/10.3390/molecules27165351>

- Chimagave, S. S., Jalalpure, S. S., Patil, A. K., & Kurangi, B. K. (2022). Development and validation of stability indicating RP-HPLC method for estimation of Hesperidin in nanotransferosome and Madhiphala Rasayana—an Ayurvedic marketed product. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. <https://doi.org/10.7324/japs.2023.130205>
- Costa, H. de, Dias, M. R. (2021). Alginate/bioactive glass beads: Synthesis, morphological and compositional changes caused by SBF Immersion Method. *Materials Research*, 24(4). <https://doi.org/10.1590/1980-5373-mr-2020-0587>
- Craciun, A., Barhalescu, M. L., Agop, M., & Ochiuz, L. (2019). Theoretical Modeling of Long-Time Drug Release from Nitrosalicyl-Imine-Chitosan Hydrogels through Multifractal Logistic Type Laws. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, 2019, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2019/4091464>
- Çiçek, P. K., Elektrodöndürme Tekniği ile Üretilen Kurkumin Yüklü Gliadin Nanoliflerinin Üretimi ve Karakterizasyonu, *Yüksek Lisans Tezi*, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul, 2016.
- Çıkrıkçı, S., 2005. 4'-Dioktilamino-3-Hidroksiflavon Temelli Floresans Problemlerin Sentezleri ve Özelliklerinin İncelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul.
- Dammak, I., Lourenço, R. V., & Sobral, P. J. 2019. Active gelatin films incorporated with Pickering emulsions encapsulating hesperidin: Preparation and physicochemical characterization. *Journal of Food Engineering*, 240, 9–20. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.07.002>
- Dammak, I., Sobral, P. J. A., 2018. Formulation Optimization of Lecithin-Enhanced Pickering Emulsions Stabilized by Chitosan Nanoparticles for Hesperidin Encapsulation, *Journal of Food Engineering*, 229 (2018), 2-11.
- Dammak, I., Sobral, P. J. A., 2018. Investigation Into The Physicochemical Stability and Rheological Properties of Rutin Emulsions Stabilized by Chitosan and Lecithin, *Journal of Food Engineering*, 229 (2018), 12-20.
- Demir, Z., & Türkan, F. (2022). Asetilkolinesteraz ve Bütirilkolinesteraz Enzimlerinin Alzheimer Hastalığı ile İlişkisi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 12(4), 2386–2395. <https://doi.org/10.21597/jist.1161271>
- de la Mata, P., Dominguez-Vidal, A., Bosque-Sendra, J. M., Ruiz-Medina, A., Cuadros-Rodríguez, L., Ayora-Cañada, M. J. (2012). Olive oil assessment in edible oil

- blends by means of ATR-FTIR and Chemometrics. *Food Control*, 23(2), 449–455.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.08.013>
- DeStefano, V., Khan, S., & Tabada, A. (2020). Applications of PLA in Modern Medicine. *Engineered Regeneration*, 1(1), 76–87.  
<https://doi.org/10.1016/j.engreg.2020.08.002>
- Ediz, E. F., Yumuşak Jelatin Kapsül ile Kanabidiol İçeren Kenevir Tohumu Yağı Uygulaması İçin Polikaprolakton Modifiye Salım Sistemi Geliştirilmesi, Doktora Tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi, 2023.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Featherstone, R.M., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, *Biochem. Pharmacol.*, 7 (1961), 88-95.
- Engin, C., 2015. Beyin Glioblastoma Hücre Hattı Üzerinde Hesperidin Antikarsinogenik Etkisinin İncelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, Moleküler Tıp Anabilim Dalı, İstanbul Üniversitesi, İstanbul.
- Erci, F., Torlak, E. 2019. Antimicrobial and antibiofilm activity of green synthesized silver nanoparticles by using aqueous leaf extract of *Thymus serpyllum*. *Sakarya University Journal of Science*, 23(3), 333–339.  
<https://doi.org/10.16984/saufenbilder.445146>
- Fadlelmoula, A.; Pinho, D.; Carvalho, V.H.; Catarino, S.O.; Minas, G. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy to Analyse Human Blood over the Last 20 Years: A Review towards Lab-on-a-Chip Devices. *Micromachines* 2022, 13, 187.  
<https://doi.org/10.3390/mi13020187>
- Fathy, H. M., Abd El-Maksoud, A. A., Cheng, W., & Elshagabee, F. M. F. (2022). Value-Added Utilization of Citrus Peels in Improving Functional Properties and Probiotic Viability of *Acidophilus-bifidus-thermophilus* (ABT)-Type Synbiotic Yoghurt during Cold Storage. *Foods*, 11(17), 2677.  
<https://doi.org/10.3390/foods11172677>
- Gera, S., Pooladanda, V., Godugu, C., Swamy Challa, V., Wankar, J., Dodoala, S., Sampathi, S. (2020). Rutin nanosuspension for potential management of osteoporosis: Effect of particle size reduction on oral bioavailability, *in vitro* and *in vivo* activity. *Pharmaceutical Development and Technology*, 25(8), 971–988.  
<https://doi.org/10.1080/10837450.2020.1765378>

- Gezici, S., Koçum, D., 2021. Nörodejeneratif Hastalıkların Tedavisinde Nöroprotektif Ajan Olarak Tıbbi Bitkiler ve Fitokimyasallar, *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 10 (2), 325-337.
- Gonçalves, M., Costa, M., Paiva-Martins, F., & Silva, P. (2024). Olive Oil Industry By-Products as a Novel Source of Biophenols with a Promising Role in Alzheimer Disease Prevention. *Molecules*, 29(20), 4841. <https://doi.org/10.3390/molecules29204841>
- Gonçalves, M., Vale, N., & Silva, P. (2024). Neuroprotective Effects of Olive Oil: A Comprehensive Review of Antioxidant Properties. *Antioxidants*, 13(7), 762. <https://doi.org/10.3390/antiox13070762>
- Gökbulut, İ., Öztürk, F. S., 2018. Gıda Mikroenkapsülasyonunda Aljinat Kullanımı, *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, 8 (1/2), 16-28.
- Gökmen, S., Palamutoğlu, R., Sarıçoban, C., 2012. Gıda Endüstrisinde Enkapsülasyon Uygulamaları, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 7 (1), 36-50
- Gözcü, S., Polat, H. K., Gültekin, Y., Ünal, S., Karakuyu, N. F., Şafak, E. K., Doğan, O., Pezik, E., Haydar, M. K., Aytekin, E., Kurt, N., & Laçın, B. B. (2024). Formulation of hesperidin-loaded *in situ* gel for Ocular Drug Delivery: A comprehensive study. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. <https://doi.org/10.1002/jsfa.13407>
- Güngör, Ö., Zungur, A., Koç, M., Kaymak Ertekin, F., 2013. Emülsiyonların Özellikleri ve Emülsifikasyon Kosullarının Aroma ve Yağların Mikroenkapsülasyonu Üzerine Etkisi, *Akademik Gıda*, 11(2), 116-124.
- Hajialyani, M., Farzaei, M. H., Echeverría, J., Nabavi, S. M., Uriarte, E., Sobarzo-Sánchez, E., 2019. Hesperidin as a Neuroprotective Agent: A Review of Animal and Clinical Evidence, *Molecules*, 24, 648. doi:10.3390/molecules24030648
- Hakim, A., Jamaluddin, Loka, I.N., Sukib and Prastiwi, N.W.W.S. (2019) New Method for Isolation of Naringin Compound from Citrus maxima. *Natural Resources*, 10, 299-304. <https://doi.org/10.4236/nr.2019.108019>
- Handbook of Encapsulation and Controlled Release, Ed. Munmaya Mishra, CRC Press, Florida, 2016.
- Hosseini, H., & Jafari, S. M. (2020). Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy of nanoencapsulated food ingredients. *Characterization of Nanoencapsulated Food Ingredients*, 347–410. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815667-4.00011-0>
- Hussan, S. D., Santanu, R., Verma P., Bhandari V., 2012. A review on recent advances of enteric coating, *IOSR Journal of Pharmacy*, 2(6), 5-11.

- Işık, A., Çevik, U. A., Ercetin, T., & Koçak, A. (2022). Yeni Tiyazolil-Hidrazin Türevlerinin Sentezi ve Asetilkolinesteraz (AChE) ve Bütirilkolinesteraz (BuChE) Aktivite Çalışmaları. *Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 9(1), 277–285. <https://doi.org/10.35193/bseufbd.1017849>
- İnce Yardımcı, A., Tarhan, Ö. (2020). Electrospun Protein Nanofibers and Their Potential Food Applications. *Mugla Journal of Science and Technology*, 6(2), 52–62. <https://doi.org/10.22531/muglajsci.731979>
- Kahraman, A., Serteser, M., Köken, T., 2002. Flavonoidler, *Kocatepe Tıp Dergisi*, 3, 01-08.
- Karakaya, S., El, S. N., 1997. Flavonoidler ve Sağlık, *Beslenme ve Diyet Dergisi / Journal of Nutrition and Diet*, 26 (2), 54-60.
- Karalı, G. M., Asetilkolinesteraz (AChE) Enzimine Bazı Kumarin Bileşiklerinin Etkisi, *Yüksek Lisans Tezi*, Marmara Üniversitesi, İstanbul, 2014.
- Kattamuri, S., Venkatesan, A., Balamurugan, S. D., Radhakrishnan, A., Kuppusamy, G., Singh, S. K., 2020. Preparation and Evaluation of Enteric Capsules, *Research J. Pharm. and Tech.*, 13(8), 3603-3609. DOI: 10.5958/0974-360X.2020.00637.X
- Kızılhan, E. Kontrollü İlaç Salımı İçin Hidrojel ve Organojel Hibrit Materyallerin Hazırlanması ve Karakterizasyonu, *Yüksek Lisans Tezi*, Pamukkale Üniversitesi, 2022.
- Koçancı, F. G., & Aslim, B. (2016). Structure and Functions of Acetylcholinesterase and Acetylcholinesterase Inhibitory Activity of Plants. *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences*, 6(1), 19–35. <http://journals.manas.edu.kg/mjavl/index.php/mjavl/article/download/28/28>
- Kriegel, C., Festag, M., Kishore, R. S., Roethlisberger, D., & Schmitt, G. (2019). Pediatric Safety of Polysorbates in Drug Formulations. *Children*, 7(1), 1. <https://doi.org/10.3390/children7010001>
- Kusuma, A., Asri, L. A. T. W., Heni Rachmawati, Khairurrijal Khairurrijal, & Bambang Sunendar Purwasasmita. (2020). Physical–Chemical Crosslinked Electrospun Colocasia esculenta Tuber Protein–Chitosan–Poly(Ethylene Oxide) Nanofibers with Antibacterial Activity and Cytocompatibility. *International Journal of Nanomedicine*, Volume 15, 6433–6449. <https://doi.org/10.2147/ijn.s261483>
- Li, B., Yang, X. (2020). Rutin-loaded cellulose acetate/poly(ethylene oxide) fiber membrane fabricated by electrospinning: A bioactive material. *Materials Science and Engineering: C*, 109, 110601. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110601>

- Liang, H., Zhou, B., Li, J., He, Y., Pei, Y., & Li, B. (2016). Engineering functional alginate beads for encapsulation of Pickering emulsions stabilized by colloidal particles. *RSC Advances*, 6(103), 101267–101276. <https://doi.org/10.1039/c6ra21755a>
- Lopes, L. A. A., dos Santos Rodrigues, J. B., Magnani, M., de Souza, E. L., de Siqueira-Júnior, J. P. (2017). Inhibitory effects of flavonoids on biofilm formation by *Staphylococcus aureus* that overexpresses efflux protein genes. *Microbial Pathogenesis*, 107, 193–197. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.03.033>
- Mackie, A. R., Macierzanka, A., Aarak, K., Rigby, N. M., Parker, R., Channell, G. A., Harding, S. E., & Bajka, B. H. (2015). Sodium alginate decreases the permeability of intestinal mucus. *Food Hydrocolloids*, 52, 749–755. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.08.004>
- McGleenon, B. M., Dynan, K. B., & Passmore, A. P. (1999). Acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. *British journal of clinical pharmacology*, 48(4), 471–480. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2125.1999.00026.x>
- Nam, S. Y., Lee, S. W., Jeon, S. W., & Kwon, Y. H. (2021). Effect of Sodium Alginate on Gastrointestinal Symptoms after Esophagogastroduodenoscopy with Biopsy: Randomized Controlled Trial. *Gut And Liver*, 16(1), 37–43. <https://doi.org/10.5009/gnl20298>
- Nazlı, A. B., & Açıkel, Y. S. (2019). Loading of cancer drug resveratrol to pH-Sensitive, smart, alginate-chitosan hydrogels and investigation of controlled release kinetics. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 53, 101199. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.101199>
- Nikolin, B., İmamović, B., Medanhodzic-Vuk, S., Sober, M., 2004. High Performance Liquid Chromatography In Pharmaceutical Analyses, *Bosnian Journal Of Basic Medical Sciences*, 4 (2), 5-9.
- Nouri, Z., Fakhri, S., El-Senduny, F., Sanadgol, N., Abd-ElGhani, G. E., Farzaei, M. H., Chen, J. T., (2019). On the neuroprotective effects of naringenin: Pharmacological targets, signaling pathways, molecular mechanisms, and Clinical Perspective. *Biomolecules*, 9(11), 690. <https://doi.org/10.3390/biom9110690>
- Onurlu, H. İ., Alkaya, D. B., Seyhan, S. A., Cesur, S., & Gündüz, O. (2022). Production and Characterization of Antituberculostatic Drug-Loaded Nanofibers by Electrospinning Method. *Afyon Kocatepe University Journal of Sciences and Engineering*, 22(3), 654–661. <https://doi.org/10.35414/akufemubid.1027082>

- Öncel, P. İlaç Salımı İçin Moleküler Baskılanmış Kriyojel Membranlar, *Yüksek Lisans Tezi*, Hacettepe Üniversitesi, 2013.
- Öztürk Özkan, G., 2022. Alzheimer Hastalığında Flavonoidlerin Etkisi, *Sağlık Bilimleri ve Yaşam Dergisi*, 6 (2), 25-38.
- Öztürk, G. B., & Karan, M. A. (2009). Alzheimer hastalığının fizyopatolojisi. *Klinik Gelişim*, 22(3), 36-45.
- Özyurt, D., 2005. Toplam Flavonoid Miktarının Geliştirilen Spektrofotometrik Yöntem ile Tayini, *Yüksek Lisans Tezi*, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul.
- Panche, A. N., Diwan, A. D., Chandra, S. R., 2016. Flavonoids: an overview, *Journal of Nutritional Science*, 5 (47), 1-15. doi:10.1017/jns.2016.41.
- Passos, M., Saraiva, M. L. (2019). Detection in UV-visible spectrophotometry: Detectors, detection systems, and detection strategies. *Measurement*, 135, 896–904. <https://doi.org/10.1016/j.measurement.2018.12.045>
- Patadiya, N., Panchal, N., & Vaghela, V. (2021). A Review On Enzyme Inhibitors. *International Research Journal of Pharmacy*, 12(6), 60–66. <https://doi.org/10.7897/2230-8407.1206145>
- Patel, D., Panchal, D., Patel, K., Dalwadi, M., Upadhyay, U., 2022. A Review on UV Visible Spectroscopy, *IJCRT*, 10 (10), 399-411.
- Pillay, V., Fassihi, R., 1999. In vitro release modulation from crosslinked pellets for site-specific drug delivery to the gastrointestinal tract I. Comparison of pH-responsive drug release and associated kinetics, *Journal of Controlled Release*, 59 (1999), 229–242.
- Ramamoorthy, R., Andra, S., Balu, S. K., Damiri, F., Krishnan N, G., Andiappan, M., Muthalagu, M., Berrada, M. (2023). Flavonoids, phenolics, and tannins loaded polycaprolactone nanofibers (NF) for wound dressing applications. *Results in Materials*, 18(18), 100407–100407. <https://doi.org/10.1016/j.rinma.2023.100407>
- Ravichandran, S., Radhakrishnan, J., Jayabal, P., Venkatasubbu, G. D. (2019). Antibacterial screening studies of electrospun Polycaprolactone nano fibrous mat containing Clerodendrum phlomidis leaves extract. *Applied Surface Science*, 484(484), 676–687. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.04.150>
- Razavizadeh, B. M., Niazmand, R. (2020). Characterization of polyamide-6/ propolis blended electrospun fibers. *Heliyon*, 6(8), e04784. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04784>

- Rohman, A., Man, Y. B. C. (2010). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for analysis of extra virgin olive oil adulterated with palm oil. *Food Research International*, 43(3), 886–892. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.12.006>
- Rohman, Abdul, Che Man, Y. B. (2012). Quantification and classification of corn and sunflower oils as adulterants in olive oil using chemometrics and Ftir Spectra. *The Scientific World Journal*, 2012, 1–6. <https://doi.org/10.1100/2012/250795>
- Roque, L., Fernández, M., Benito, J. M., & Escudero, I. (2020). Stability and characterization studies of Span 80 niosomes modified with CTAB in the presence of NaCl. *Colloids and Surfaces a Physicochemical and Engineering Aspects*, 601, 124999. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2020.124999>
- Ruiz- Cruz, S., Chaparro-Hernandez, S., Hernandez- Ruiz, K. L., Cira- Ciravez, L. A., Estrada- Alvarado, M. I., Gassos- Ortega, L. E., Ornelas- Paz, J. J., Mata, M. A. L., 2017, Flavonoids- From Biosynthesis to Human Health içinde Flavonoids: Important Biocompounds in Food, 353-369.
- Rupasinghe, H. P. V., Nair, S. V. G., Robinson, R. A., Chapter 8- Chemopreventive Properties of Fruit Phenolic Compounds and Their Possible Mode of Actions, Ed: Atta-ur-Rahman, *Studies in Natural Products Chemistry*, Elsevier, 42, 229-266, 2014. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63281-4.00008-2>.
- Saka, E., 2010. Alzheimer Hastalığı Patofizyolojisi: Deneysel ve Genetik Bulgular, *Türk Geriatri Dergisi*, 13 (3), 21-26.
- Sansone, F., Picerno, P., Mencherini, T., Villecco, F., D’Ursi, A., Aquino, R., & Lauro. (2010). Flavonoid microparticles by spray-drying: Influence of enhancers of the dissolution rate on properties and stability. *Journal of Food Engineering*, 103(2), 188–196. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.10.015>
- Semwal, R., Joshi, S. K., Semwal, R. B., Semwal, D. K., 2021. Health Benefits and Limitations of Rutin- A Natural Flavonoid with High Nutraceutical Value, *Phytochemistry Letters*, 46 (2021), 119–128.
- Sıcak, Y., Oruç Emre, E. E., Öztürk, M., Taşkın Tok, T., Karaküçük İyidoğan, A., 2019. Novel fluorine-containing chiral hydrazide-hydrazones: Design, synthesis, structural elucidation, antioxidant and anticholinesterase activity, and in silico studies, *Chirality*, 31,603–615.
- Silva, M.V.F., Loures, C.d.M.G., Alves, L.C.V. et al. Alzheimer’s disease: risk factors and potentially protective measures. *J Biomed Sci*, 26 (33) (2019). <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0524-y>

- Stoyanova, N., Spasova, M., Manolova, N., Rashkov, I., Kamenova-Nacheva, M., Staleva, P., & Tavlinova-Kirilova, M. (2023). Electrospun PLA-Based Biomaterials Loaded with *Melissa officinalis* Extract with Strong Antioxidant Activity. *Polymers*, 15(5), 1070. <https://doi.org/10.3390/polym15051070>
- Sun, B., Chiu, D.T., 2005. Determination of the Encapsulation Efficiency of Individual Vesicles Using Single-Vesicle Photolysis and Confocal Single-Molecule Detection, *Anal. Chem.*, 2005, 77, 2770-2776
- Szekalska, M., Sosnowska, K., Czajkowska- Kosnik, A., Winnicka, K., 2018. Calcium Chloride Modified Alginate Microparticles Formulated by the Spray Drying Process: A Strategy to Prolong the Release of Freely Soluble Drugs, *Materials*, 11 (9), 1522. doi:10.3390/ma11091522
- Şahin, M. 2018. Kontrollü İlaç Salım Sistemlerinin Modellenmesi ve Tasarlanması, *Yüksek Lisans Tezi*, TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Şimşek, C. İlaç İçeren NIPAAM Hidrojellerinin Salınım Kinetiğinin İncelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, İstanbul Üniversitesi, 2016.
- Tang, D., Zhu, C., Zhong, S., & Zhou, M. (2010). Extraction of naringin from Pomelo peels as Dihydrochalcone's precursor. *Journal of Separation Science*, 34(1), 113–117. <https://doi.org/10.1002/jssc.201000475>
- Tang, D.-M., Zhu, C.-F., Zhong, S.-A., & Zhou, M.-D. (2011). Extraction of naringin from pomelo peels as dihydrochalcone's precursor. *Journal of Separation Science*, 34(1), 113–117. <https://doi.org/10.1002/jssc.201000475>
- Treenate, P., Monvisade, P., 2017. In vitro drug release profiles of pH-sensitive hydroxyethylacryl chitosan/sodium alginate hydrogels using paracetamol as a soluble model drug, *International Journal of Biological Macromolecules*, 99 (2017), 71–78.
- Tüylek, Z. 2017. İlaç Taşıyıcı Sistemler ve Nanoteknolojik Etkileşim, *Bozok Tıp Derg*, 7(3), 89-98.
- Ullah, A., Munir, S., Badshah, S. L., Khan, N., Ghani, L., Poulson, B. G., Emwas, A.-H., & Jaremko, M. (2020). Important flavonoids and their role as a therapeutic agent. *Molecules*, 25(22), 5243. <https://doi.org/10.3390/molecules25225243>.
- Uludağ, Ö., 2015. Current Approaches in Diagnosis and Treatment of Organophosphate Poisoning, *Adıyaman Üniv Sağlık Bilim Derg*, 1(2), 126-138.

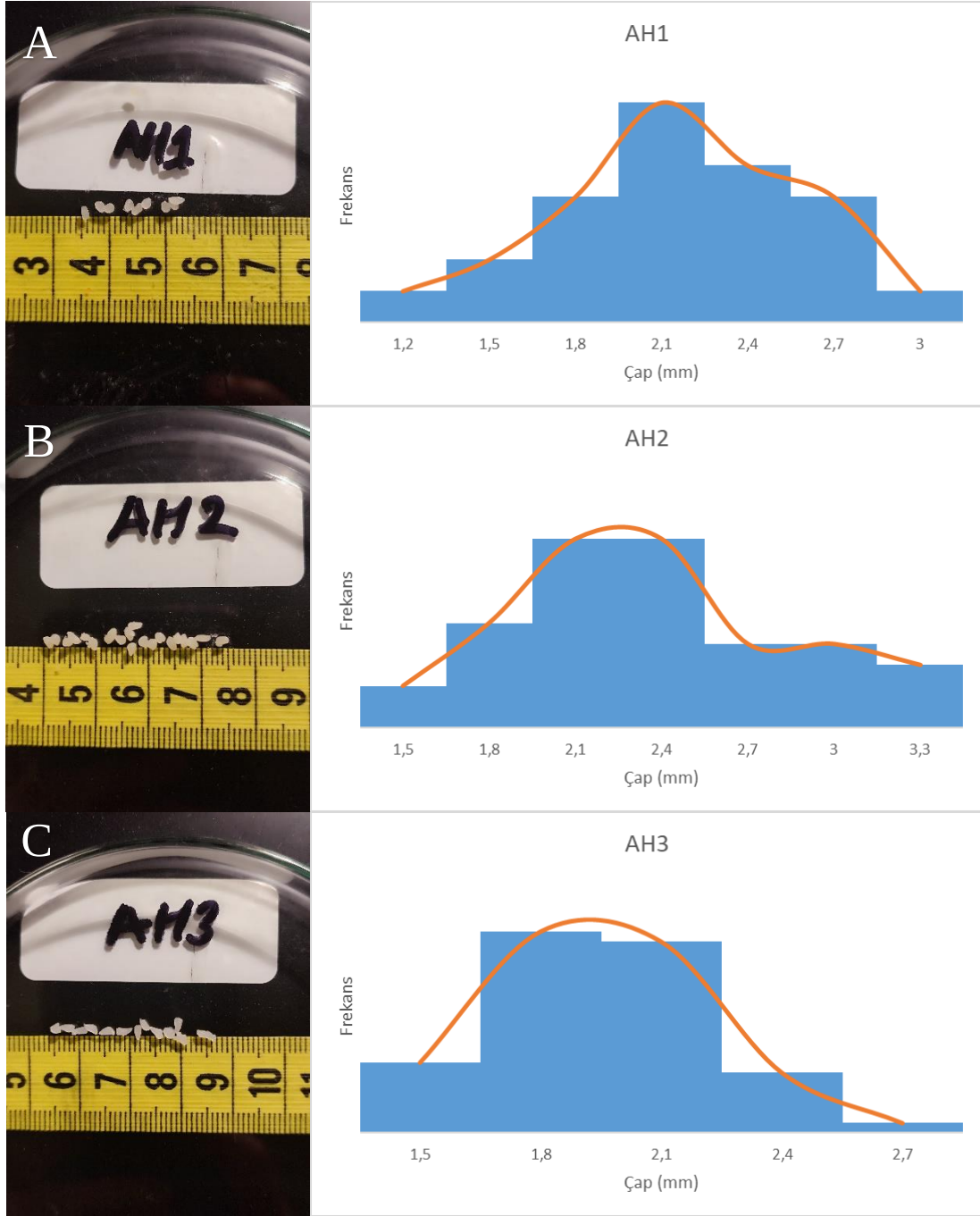
- Unagolla, J. M., & Jayasuriya, A. C. (2017). Drug transport mechanisms and in vitro release kinetics of vancomycin encapsulated chitosan-alginate polyelectrolyte microparticles as a controlled drug delivery system. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 114, 199–209. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.12.012>
- United States Pharmacopeia (2023). *General Chapter, <711> Dissolution*. USP-NF. Rockville, MD: United States Pharmacopeia. [https://doi.org/10.31003/USPNF\\_M99470\\_02\\_01](https://doi.org/10.31003/USPNF_M99470_02_01)
- Vafakish, B., Barari, M., Jafari, E., (2015). Sunflower seed oil polymerization by ion exchange resins: acidic heterogeneous catalysis, *Bulgarian Chemical Communications*, 47 (2), 558-564.
- Vecchio, I., Sorrentino, L., Paoletti, A., Marra, R., & Arbitrio, M. (2021). The State of The Art on Acetylcholinesterase Inhibitors in the Treatment of Alzheimer's Disease. *Journal of Central Nervous System Disease*, 13, 117957352110291. <https://doi.org/10.1177/11795735211029113>
- Veiko, A. G., Olchowik-Grabarek, E., Sekowski, S., Roszkowska, A., Lapshina, E. A., Dobrzynska, I., Zamaraeva, M., & Zavodnik, I. B. (2023). Antimicrobial Activity of Quercetin, Naringenin and Catechin: Flavonoids Inhibit *Staphylococcus aureus*-Induced Hemolysis and Modify Membranes of Bacteria and Erythrocytes. *Molecules*, 28(3), 1252. <https://doi.org/10.3390/molecules28031252>
- Wang, R., Wu, N., Zhan, D., & Chen, F. (2024). Naringin exerts antibacterial and anti-inflammatory effects on mice with *Staphylococcus aureus*-induced osteomyelitis. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 38(7). <https://doi.org/10.1002/jbt.23753>
- Wang, S., Xue, T., Niu, B., Wei, L., & Wang, H. (2022). Preparation, characterization and antibacterial property of naringin loaded PLGA nanospheres. *Progress in Natural Science: Materials International*, 32(4), 498–503. <https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2022.08.001>
- Wang, S., Xue, T., Niu, B., Wei, L., & Wang, H. (2022). Preparation, characterization and antibacterial property of naringin loaded PLGA nanospheres. *Progress in Natural Science: Materials International*, 32(4), 498–503. <https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2022.08.001>
- Wang, Y., Guo, Y., Zhang, L., Yuan, M., Zhao, L., Bai, C., & McClements, D. J. (2023). Impacts of hesperidin on whey protein functionality: Interacting mechanism,

- antioxidant capacity, and emulsion stabilizing effects. *Frontiers in Nutrition*, 9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1043095>
- Wang, Y., Guo, Y., Zhang, L., Yuan, M., Zhao, L., Bai, C., & McClements, D. J. (2023). Impacts of hesperidin on whey protein functionality: Interacting mechanism, antioxidant capacity, and emulsion stabilizing effects. *Frontiers in Nutrition*, 9(9). <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1043095>
- Wanigasekara, J., Withanara, C., 2016. Applications of Nanotechnology in Drug Delivery and Design- An Insight, *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 10 (1), 78-91
- Wong S. K., Lawrencina D., Supramaniam J., Goh B. H., Manickam S., Wong T. W., Pang C. H., Tang S. Y., 2021. In vitro Digestion and Swelling Kinetics of Thymoquinone-Loaded Pickering Emulsions Incorporated in Alginate-Chitosan Hydrogel Beads, *Front. Nutr.*, 8 (752207). doi: 10.3389/fnut.2021.752207
- Wu, Z., Yan, J., Zhou, Z., Xu, Q., Zhong, Q., Fang, X., Huang, C., He, X., Li, L., & Li, Q. (2023). Preparation of soybean protein isolate-quercetin particles and its application in curcumin-camellia oil pickering emulsion. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 18(3), 2086–2100. <https://doi.org/10.1007/s11694-023-02322-8>
- Yang, Z., Li, L., Chen, C., Zhang, Y., Yang, Y., Zhang, P., & Bao, G. (2022). Chemical composition and antibacterial activity of 12 medicinal plant ethyl acetate extracts using LC–MS feature-based molecular networking. *Phytochemical Analysis*, 33(3), 473–489. <https://doi.org/10.1002/pca.3103>
- Yıldırım, M. P., Ateş Özcan, B., 2020. Alzheimer hastalığı ve beslenme ile ilişkisi, *Sağlık ve Yaşam Bilimleri Dergisi*, 2 (2), 66-73. DOI: 10.33308/2687248X.202022165
- Zhang, W., Sun, X., Fan, X., He, G., 2017. Pickering Emulsions Stabilized by Hydrophobically Modified Alginate Nanoparticles: Preparation and pH-Responsive Performance in vitro, *Journal of Dispersion Science and Technology*, 39 (3), 367-374. DOI: 10.1080/01932691.2017.1320223
- Zhang, Z., Xiao, J., Huang, G., 2020. Pickering emulsions stabilized by ovalbumin-sodium alginate coacervates, *Colloids and Surfaces A*, 595 (2020) 124712. <https://doi.org/10.1016/j.olsurfa.2020.124712>.
- Zhang, Y., Wang, X., Zeng, Q., Deng, Y., Xie, P., Zhang, C., & Huang, L. (2023). A new insight into synergistic effects between endogenous phenolic compounds additive

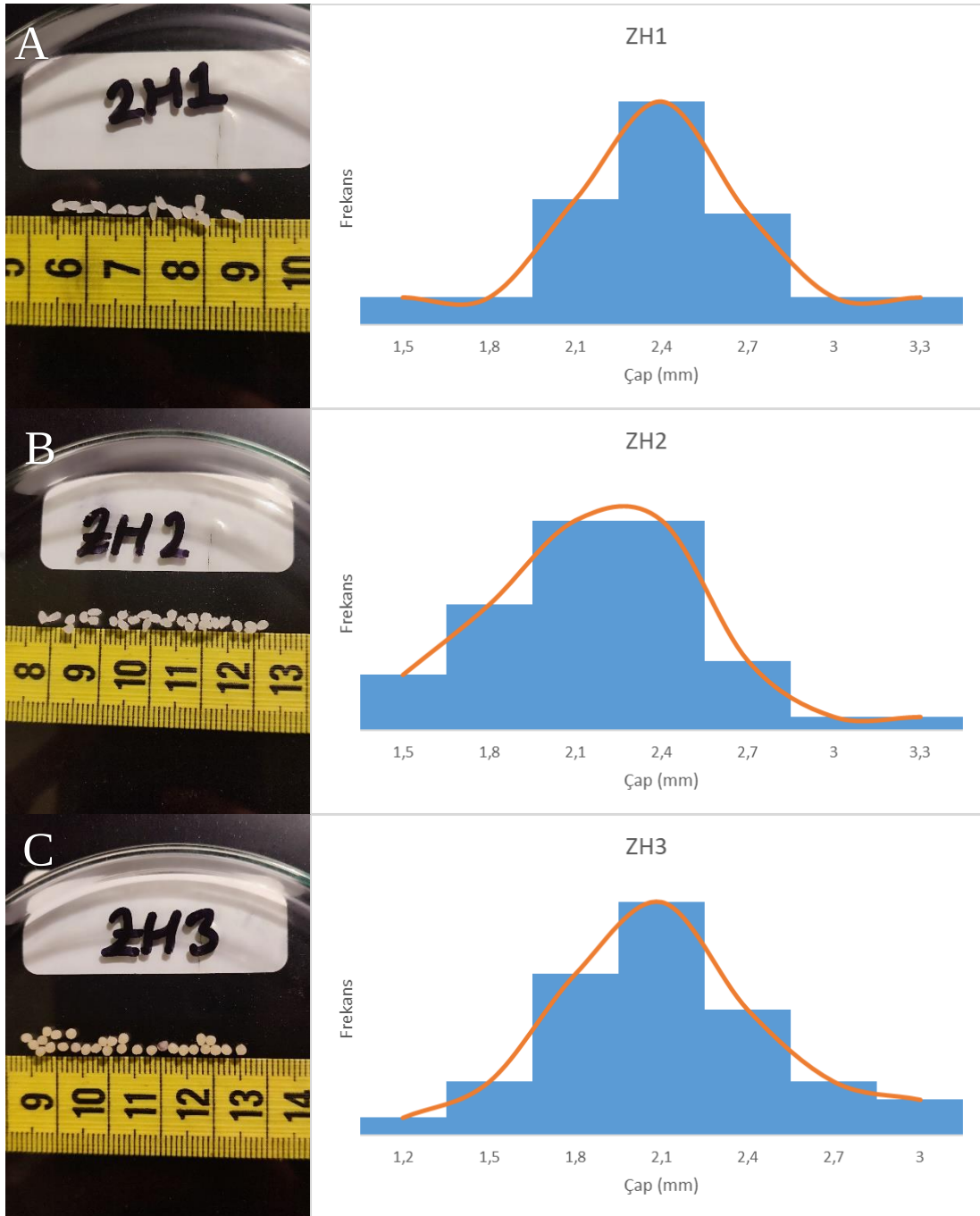
and  $\alpha$ -tocopherol for the stability of olive oil. *Food Chemistry*, 427, 136667.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136667>



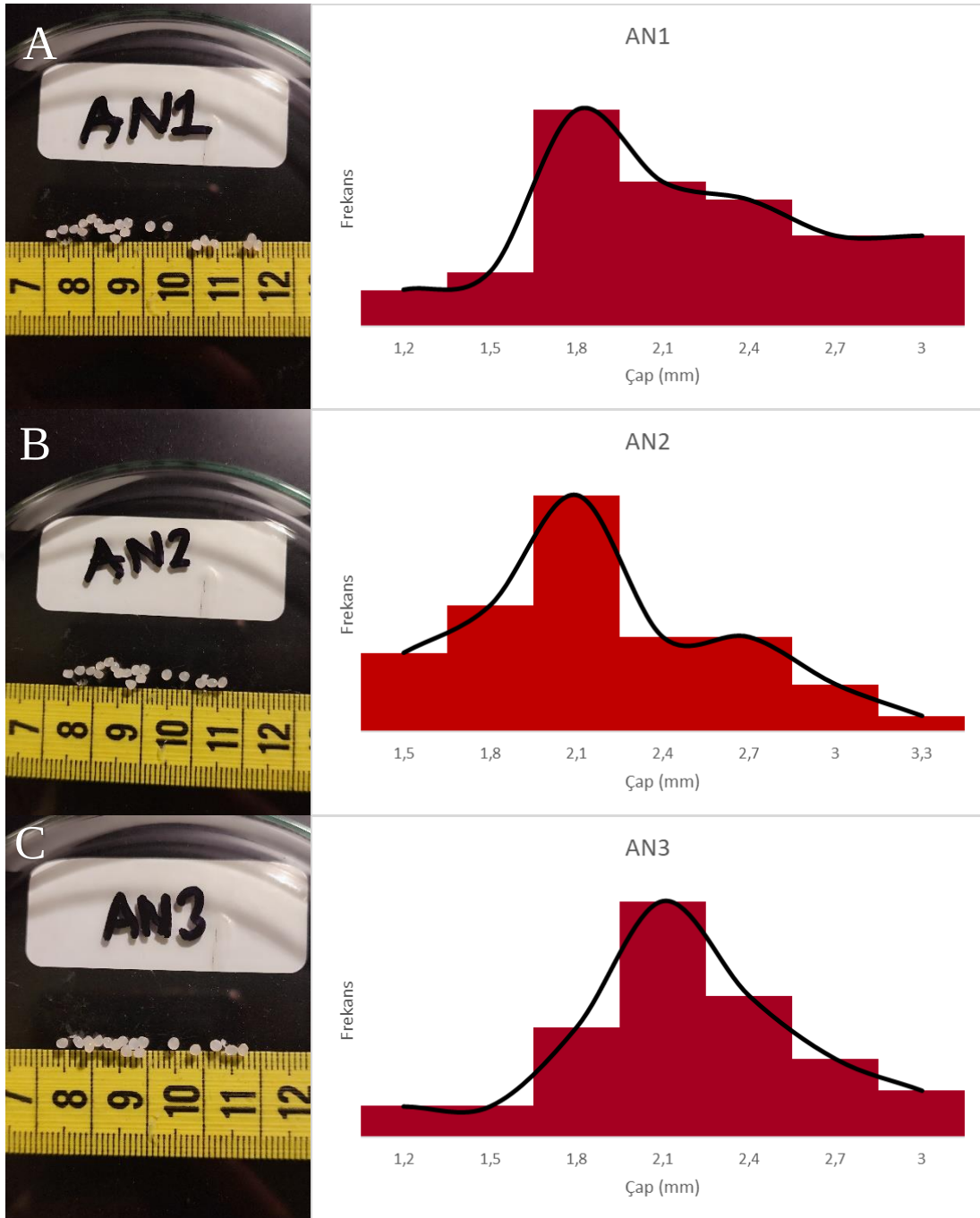
## 7. EKLER



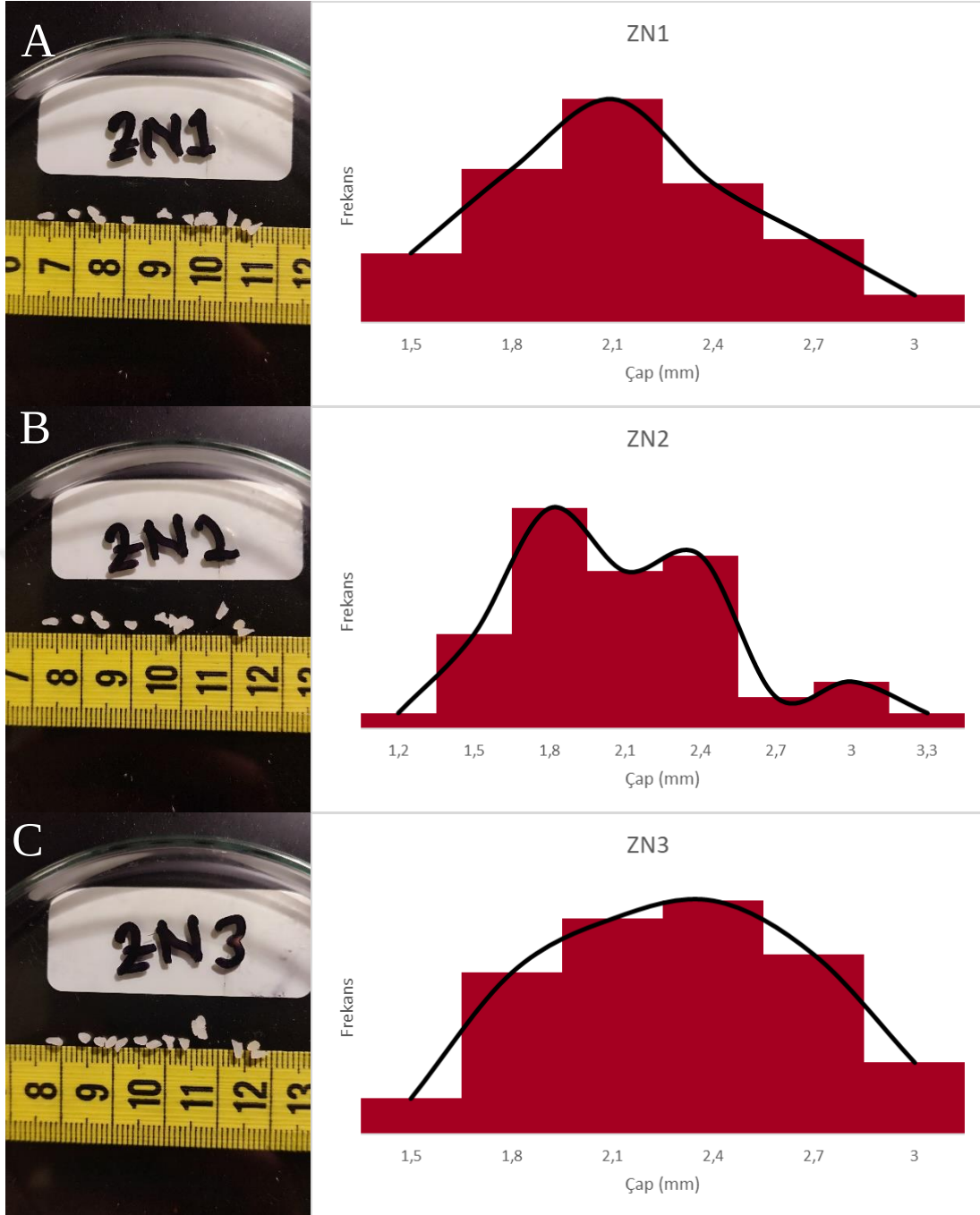
Şekil 1. Ayçiçek yağı- hesperidin ile oluşturulan kürelerin görüntüleri ve histogram grafiği  
A) AH1 B) AH2 C) AH3



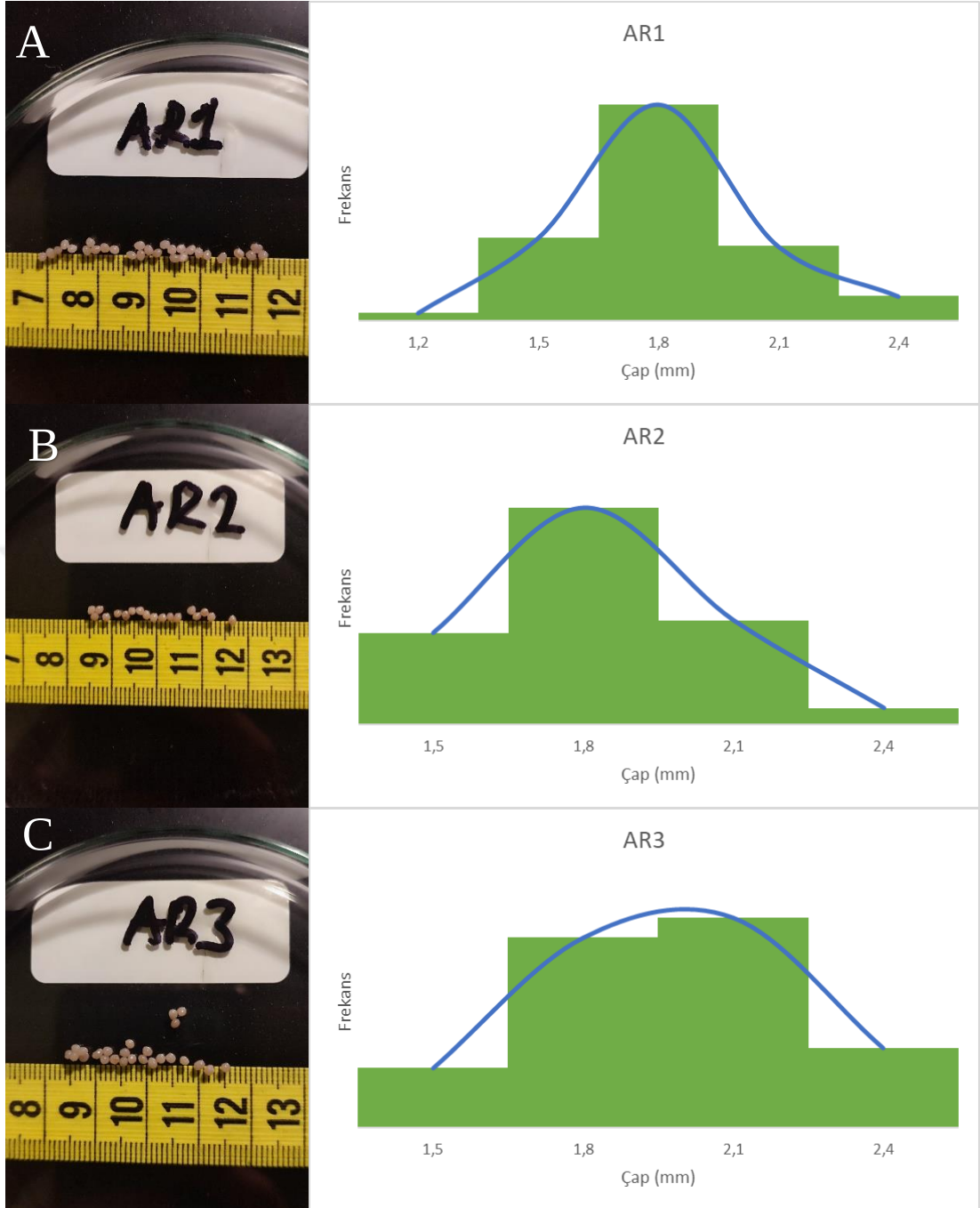
Şekil 2. Zeytinyağı- hesperidin ile oluşturulan kürelerin görüntüleri ve histogram grafiği  
A) ZH1 B) ZH2 C) ZH3



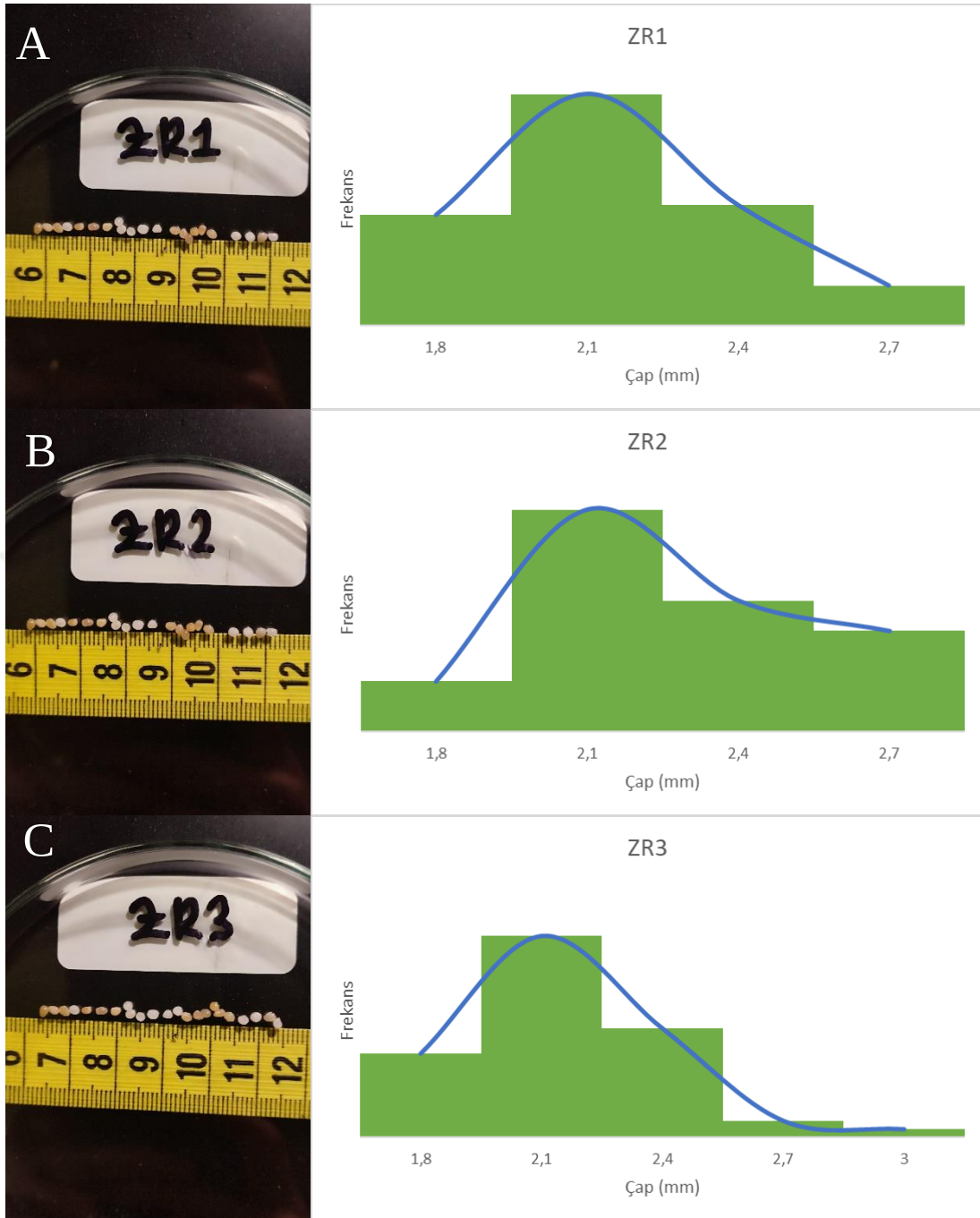
Şekil 3. Ayçiçek yağı- naringin ile oluşturulan kürelerin görüntüleri ve histogram grafiği  
A) AN1 B) AN2 C) AN3



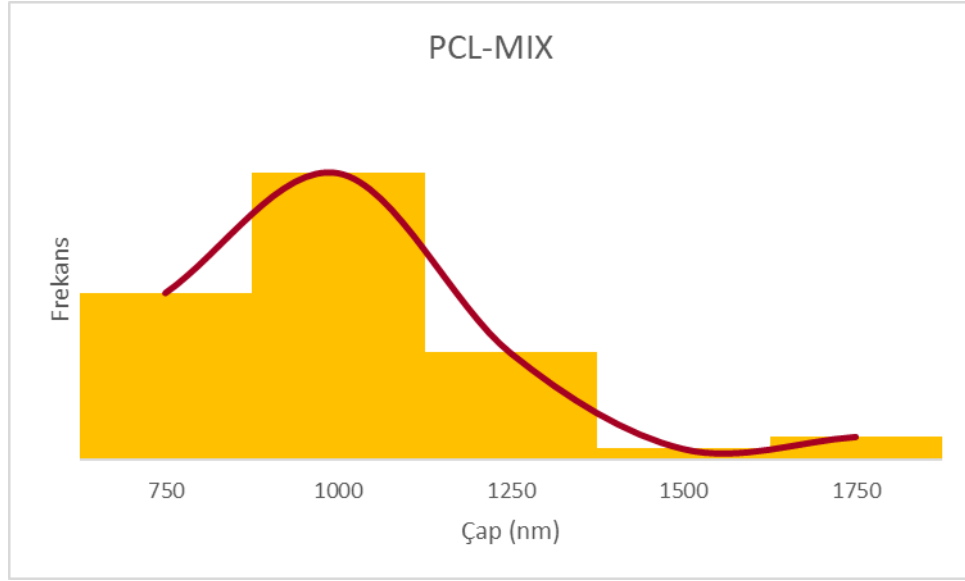
Şekil 4. Zeytinyağı- naringin ile oluşturulan kürelerin görüntüleri ve histogram grafiği  
A) ZN1 B) ZN2 C) ZN3



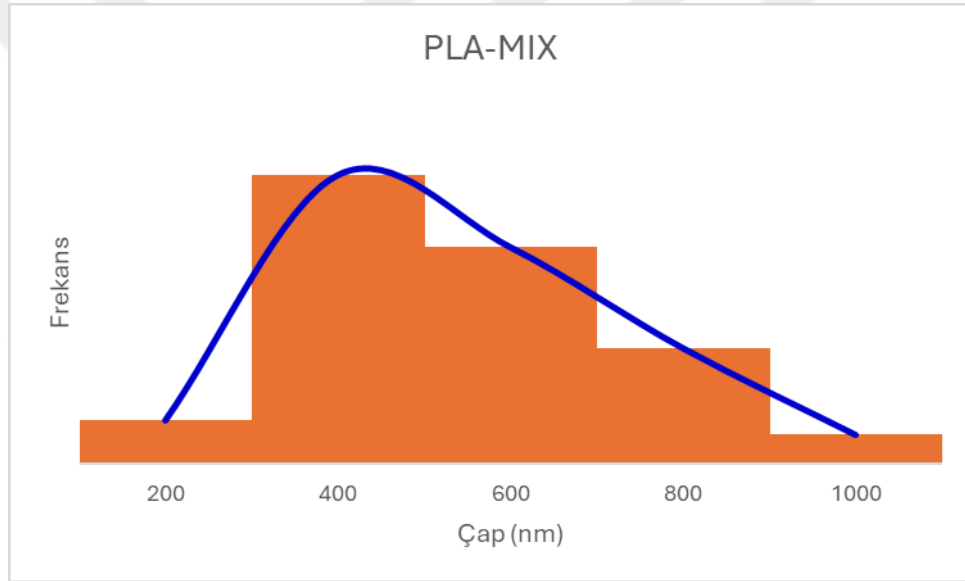
Şekil 5. Ayçiçek yağı- rutin hidrat ile oluşturulan kürelerin görüntüleri ve histogram grafiği  
A) AR1 B) AR2 C) AR3



Şekil 6. Zeytinyağı- rutin hidrat ile oluşturulan kürelerin görüntüleri ve histogram grafiği  
A) ZR1 B) ZR2 C) ZR3



**Şekil 7. PCL- MIX fiberinin histogram grafiği**



**Şekil 8. PLA- MIX fiberinin histogram grafiği**