

# Aljinik Asit ve Tuzlarının Eczacılıkta Kullanımı

Sevgi TAKKA\*, Füsün ACARTÜRK\*<sup>o</sup>

## Aljinik Asit ve Tuzlarının Eczacılıkta Kullanımı

**Özet :** İlk kez 1880 yılında Stanford tarafından kahverengi alglerden elde edilen aljinik asit ve tuzları olan aljinatlar hidrofilik kolloidal yapıda maddelerdir. Aljinatlar blok polimer yapısındadır ve farklı kısımları M blokları, G blokları ve MG blokları olarak adlandırılır.

Aljinatların en önemli özellikleri jel oluşturmalarıdır. İki veya çok değerli katyonlar ( $Mg^{++}$  hariç) aljinatlarla çapraz bağ yaparak reaksiyona girerler. Kalsiyum, baryum veya stronsiyum çapraz bağ ajanı olarak kullanılabilir.

Aljinatlar besin endüstrisinde, tekstil ve kağıt sanayiinde, tıp alanında, diş hekimliğinde ve farmasötik teknoloji alanında yaygın bir kullanım alanına sahiptir. Son yıllarda, aljinat jel sistemi ile etkin maddeyi kontrollü salın boncuk yapısındaki ilaç şekli hazırlama önem kazanmıştır. Jel boncukların özelliklerine ve bu boncuklardan etkin maddenin salın hızına çeşitli faktörlerin etkisi değişik araştırmacılar tarafından çalışılmıştır. Kitosan, polilisin ve poliakrilik asit gibi bazı yardımcı polimerler etkin maddenin salın hızını kontrol etmek amacıyla kullanılmaktadır. Aljinatlar mikroorganizmaların, enzimlerin ve Langerhans adacıklarının kaplanması amacıyla matris materyali olarak da kullanılmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Aljinat, aljinik asit, aljinat-jel boncukları, kontrollü salın

Geliş : 6.11.1997

Düzeltilerek geliş : 9.1.1998

Kabul : 9.1.1998

## The Use of Alginic Acid and its Salts in the Pharmaceutical Field

**Summary :** Alginic acid and its salts, alginates, are naturally hydrophilic colloidal polymers which are extracted from brown seaweed by Stanford in 1880. Alginates can be considered as block polymers. The different parts are referred to as M blocks, G blocks and MG blocks.

One of the most useful properties of alginates is the ability to form gels. Addition of di or polyvalent cations (except  $Mg^{++}$ ) to alginate solutions causes gel formation by cross-linking. Calcium, barium or strontium can be used as crosslinking agents.

Alginates has been widely used in food industry, textile processing, paper making, medicine, pharmaceutical technology applications and also most commonly used as dental impression material. Alginates have received much attention in pharmaceutical preparations, particularly as a vehicle for controlled drug delivery of gel beads. The effect of the various formulation factors on the properties of gel beads and the release rate of drug from alginate-gel beads have been investigated by several authors. Some additive polymers such as chitosan, polylysine and polyacrylic acid can be used to control the release of drug from the beads. Alginates are also used as a matrix material for the encapsulation of microbial cells, enzymes and islets of Langerhans.

**Key words:** Alginate, alginic acid, alginate-gel beads, controlled release

## GİRİŞ

Gıda sanayiinde uzun yıllardır kullanılmakta olan aljinik asit ve aljinatlar günümüzde eczacılık alanında gittikçe artan bir önem kazanmaya başlamıştır. Polimerik yapıda olan bu maddeler, doğal olarak bulunabilmeleri ve biyolojik olarak geçimli olmaları nedeniyle tercih edilmektedirler. Özellikle

kontrollü salın sistemlerinin hazırlanmasında çeşitli aljinat tiplerinden yararlanılmaktadır. Ayrıca son yıllarda biyoteknoloji alanında da aljinatlar kullanılmaktadır.

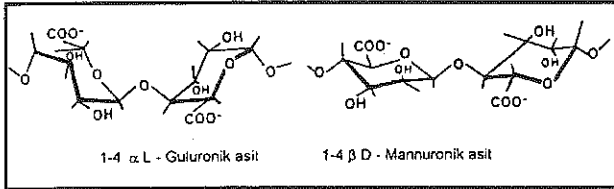
## Yapısı, Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

Kahverengi alglerin(Phaeophyta) yapı taşı olan al-

\* Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Etiler-ANKARA

<sup>o</sup> Correspondence

jinik asit  $\beta(1-4)$ -D- manuronik asit ve  $\alpha(1-4)$ -L- guluronik asit yapısında bir biyopolimerdir. İlk kez 1880 yılında Stanford tarafından kahverengi alglerden izole edilmiştir. Aljinatlar hidrofilik koloidal yapıda maddelerdir<sup>1</sup>(Şekil 1).



Şekil 1. Guluronik ve manuronik asit içeren aljinik asitin yapısı<sup>3</sup>

Aljinik asidin aşağıda gösterilen değişik tuzlarla muamelesi sonucu ticari aljinat ürünleri elde edilir<sup>2</sup>.

#### Aljinik asit

Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	→ Na-aljinat
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	→ K-aljinat
NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub>	→ NH <sub>4</sub> -aljinat
MgCO <sub>3</sub>	→ Mg-aljinat
CaCO <sub>3</sub>	→ Ca-aljinat

Aljinik asit içerisindeki karboksil gruplarının alkol veya glikollerle esterleşmesi ile propilen glikol aljinat elde edilir<sup>3</sup>.

Aljinatların molekül ağırlıkları 12.000 -190.000 arasında değişmektedir. Hazırlama yönteminin değiştirilmesiyle farklı molekül ağırlıklarına sahip aljinatlar elde edilmektedir.

Literatürde viskozite, molekül ağırlığı ve polimerizasyon derecesi arasındaki ilişki aşağıdaki şekilde verilmektedir<sup>1</sup>.

Aljinat tipi	Molekül ağırlığı	Polimerizasyon derecesi
Düşük viskoziteli aljinatlar	12.000-80.000	60-400
Orta viskoziteli aljinatlar	80.000-120.000	400-600
Yüksek viskoziteli aljinatlar	120.000-190.000	600-1000

Nelson ve Cretcher, 1930 yılında aljinik asidin yapısında D-mannuronik asitin olduğunu, 1955 yılında Fischer ve Dörfel ise manuronik asit(M) ile birlikte guluronik asidin(G) varlığını da saptamışlardır<sup>3</sup>. Aljinatlar blok polimer yapısındadır ve farklı kısımları M blokları, G blokları ve MG blokları olarak adlandırılır. Blokların kom-

pozisyonu aljinik asit kaynağının yetiştiği bölgeye, aljinik asit türüne, mevsim ve coğrafi bölgeye göre değişmektedir<sup>1-5</sup>.

Aljinatın yapısındaki bu bloklar asit hidroliz işlemi uygulandıktan sonra<sup>6,7</sup> X-ışını kristalografisi, NMR spektroskopisi<sup>8-15</sup> ve UV sirküler dikroizm yöntemi<sup>3,16</sup> ile saptanmaktadır. Aljinatların, çok değerli kationlarla birleşmek için seçicilik özelliği ve viskozite gibi özellikleri, elde edildiği algin kaynağına ve yapısında yer alan manuronik ve guluronik asidin birbirine oranına göre değişmektedir<sup>17</sup>. Seçicilik özelliği aljinatın sodyuma göre diğer bir metale olan ilgisinin bir ölçüsüdür. Mannuronik ve guluronik asidin disosiasyon katsayıları farklı olup, manuronik asidin pKa'sı 3.38, guluronik asidin pKa'sı 3.65'dir<sup>2,4</sup>.

Aljinik asit suda çözünmez<sup>3,18</sup>, fakat amonyum ve alkali metal tuzları olan aljinatlar soğuk suda çözünerek viskoz çözelti oluşturur. Tüm toprak alkali metaller ve 3.grup metaller, suda çözünür aljinat tuzlarının çözeltilerine ilave edildiğinde çökelti oluşmaktadır<sup>3,19</sup>.

Aljinat çözeltileri mikroorganizma üremesi sonucunda bozunur ve viskozluk azalır<sup>20</sup>. Aljinatlar besin, kozmetik ve farmasötik amaçlı kullanıldığında, koruyucu olarak % 0.1-0.2 oranında sorbik asit, sodyum benzoat, benzoik asit, salisilik asit, p-hidroksi benzoik asit esterleri ve potasyum sorbat kullanılmaktadır<sup>4</sup>.

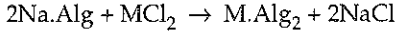
Aljinik asit gibi polisakkaritlerin serbest asit şekillerinin stabilitesi çok düşüktür, buna karşılık aljinik asit tuzları daha stabildir. Polimerizasyon derecesi 500 olan sodyum aljinatın 10-20°C'de üç yıl bozunmadan saklandığı bildirilmektedir. Yüksek polimerizasyon derecesine(600-1000) sahip sodyum aljinatın ise bozunduğu, özellikle yüksek sıcaklıklarda (50°C) ve nem varlığında depolimerizasyon hızının arttığı gözlenmiştir<sup>3</sup>. Aljinatların biyolojik olarak parçalandığı ve hiçbir organda birikmediği bildirilmektedir<sup>21</sup>.

#### Aljinatların Çok Değerli Kationlarla Reaksiyonu ve Jel Oluşumu

Aljinatların en önemli özelliklerinden biri de jel oluşturmalarıdır<sup>3,22</sup>. Jel oluşturmak için kullanılan

aljinat konsantrasyonu % 0.5-2 arasında değişmektedir. İki veya çok değerli katyonlar ( $Mg^{++}$  hariç) aljinatlarla çapraz bağ yaparak reaksiyona girerler ve etkileşerek hidrofilik jel oluştururlar.

Kasyon tuzu ile aljinat çözeltisi arasındaki reaksiyon aşağıda gösterilmiştir:



M : İki değerli katyon

İki değerli katyonların aljinata olan ilgisi seçicilik katsayısı (K) ile hesaplanmaktadır. Seçicilik katsayısı, aljinatın sodyuma kıyasla diğer katyonlara ilgisinin ölçüsüdür. Aljinat içindeki guluronik asit miktarı arttıkça, seçicilik katsayısı artmaktadır<sup>3,22</sup>. Seçicilik katsayısı aşağıdaki eşitlikle hesaplanmaktadır.

$$K = \frac{[M_g] [Na_1]^2}{[Na_g]^2 [M_1]}$$

M: Katyon

g : Jel

1 : Sıvı

Elde edildikleri kaynağa göre içerikleri farklı iki algin, katyonlara olan ilgisi içerdiği mannuronik asit ve guluronik asit miktarına göre değişmektedir<sup>23</sup>. Katyonlara karşı olan afinite aşağıdaki sıraya göredir:

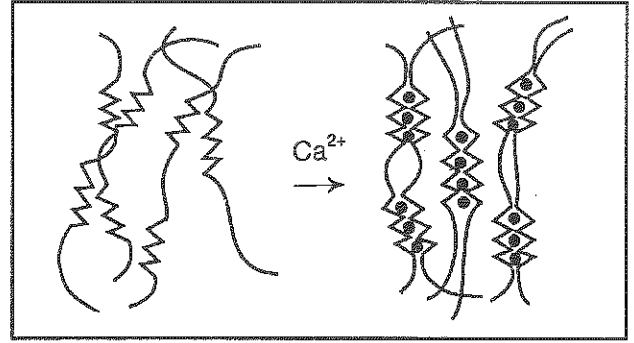
L.digitata(mannuronik asitçe zengin):

Pb>Cu>Cd>Ba>Sr>Ca>Co>Ni>Zn>Mn>Mg

L.hyperborea(guluronik asitçe zengin):

Pb>Cu>Ba>Sr>Cd>Ca>Co>Ni>Zn>Mn>Mg

Aljinat çözeltisinin akışını, viskozitesini ve jel özelliklerini değiştirmek için en çok kullanılan iki değerli katyon kalsiyumdur. Jel oluşumu aljinat ile kalsiyum arasındaki iyon değişimi sonucu olmaktadır<sup>4</sup>. Sodyum aljinat çözeltisine kalsiyum iyonları ilave edildiğinde, kalsiyum iyonları aljinat çözeltisindeki karboksil ve hidroksil gruplarına bağlanarak egg-box(Şekil 2) modeli oluşmaktadır. Guluronik asitçe zengin aljinatlarda bu bağlanma daha güçlüdür<sup>24,25</sup>. Çünkü guluronik asit yapısındaki karboksil ve hidroksil gruplarının arasındaki mesafenin mannuronik aside göre daha kısa olmasından dolayı kalsiyum ile guluronik asit ara-



Şekil 2. Egg-box modeli<sup>2</sup>

sında daha güçlü bir bağlanma gerçekleşmektedir. G blokları kalsiyum ile doyduğunda, M ve MG bloklarına bağlanma önemli değildir. Sonuçta reaksiyon tüm aljinatın, kalsiyum aljinat olarak çöküşüne kadar devam eder. İlave edilen kalsiyum oranı arttıkça tiksotropik davranış artar, karışımı sıvılaştırmak için daha yoğun karıştırma gereklidir. Oluşan jel daha katıdır ve daha hızlı jel oluşumu gözlenmektedir. Aljinat ile kalsiyum arasındaki reaksiyon oda sıcaklığında veya soğukta olabilir. Yüksek sıcaklıklarda ise jel oluşumu daha yavaş gerçekleşir.

Yüksek polimerizasyon derecesine sahip aljinatlar, daha az miktarda kalsiyum ile reaksiyona girerken, düşük polimerizasyon dereceli aljinatlar daha çok miktarda kalsiyum ile reaksiyona girer.

Guluronik asitçe zengin aljinatlar yüksek porozite özelliği gösterirler ve ısıya dayanıklı, sert fakat kolaylıkla kırılabilen jel oluştururlar. Jel oluşumu sırasında büzülme azdır ve kuruduktan sonra süyle temas ettiğinde şişme görülmez. Mannuronik asitçe zengin aljinatlar ile hazırlanan jel ise daha yumuşak ve elastiktir, çok fazla büzülür ve porozitesi düşüktür. Isıya dayanıklılığı ise daha düşüktür<sup>1,26,27</sup>.

## ALJİNİK ASİT VE TUZLARININ UYGULAMA ALANLARI

Aljinik asit ve tuzları besin endüstrisinde, tekstil ve kağıt sanayiinde, tıp alanında, diş hekimliğinde, kozmetik, farmasötik teknoloji ve farmasötik biyoteknoloji alanında yaygın bir kullanım alanına sahiptir<sup>3,4,28</sup>.

## Aljinik Asit ve Tuzlarının Eczacılıkta Kullanılışı

Aljinik asit ve tuzları farmasötik teknoloji ve farmasötik biyoteknoloji alanlarında oldukça yaygın bir kullanıma sahiptir. Örneğin;

\* Y/S tipi emülsiyonlarda, süspansiyonlarda stabilizatör olarak<sup>29</sup>

\* Yarı katı ve kozmetik preparatlarda(krem,pat ve jel tipi) kalınlaştırıcı ve süspansiyon ajanı olarak<sup>3,4,30</sup>

\* Tabletlerde dağıtıcı ve bağlayıcı ajan olarak<sup>4,31</sup>

\* Çözünme hızını artırmak amacıyla<sup>32</sup>

Aljinatların hidroliz ürünleri orijinal formlarından farklı fizikokimyasal özelliklere sahiptir ve oldukça farklı davranış göstermektedir. Aljinatın hidroliz ürünü olan düşük molekülü aljinat, suda az çözünen etkin maddelerin çözünürlüğünü artırmakta, buna bağlı olarak da çözünme hızı artmaktadır<sup>32</sup>.

Aljinik asit ve tuzları, farmasötik teknoloji ve farmasötik biyoteknoloji alanında yapılan çalışmalarda oral, rektal, parenteral ve transdermal yoldan uygulanmaktadır.

### A. Oral Uygulama

#### 1. Aljinat - Jel Boncuk İlaç Şekli

Aljinat - jel sistemi ile boncuk ilaç şekli hazırlama son yıllarda önem kazanmıştır. Aljinat-jel boncuk sistemi aljinatların çok değerli katyonlarla çapraz bağ yaparak verdikleri reaksiyon sonucunda hazırlanmaktadır. Sistem etken madde içeren aljinat çözeltisinin çok değerli katyon içeren sulu çözeltiye damlatılması ile oluşan boncukların kısa sürede sertleşmesi esasına dayanmaktadır. Bu jel boncuklar özellikle kontrollu salım sistemlerinin hazırlanmasında kullanılmaktadır.

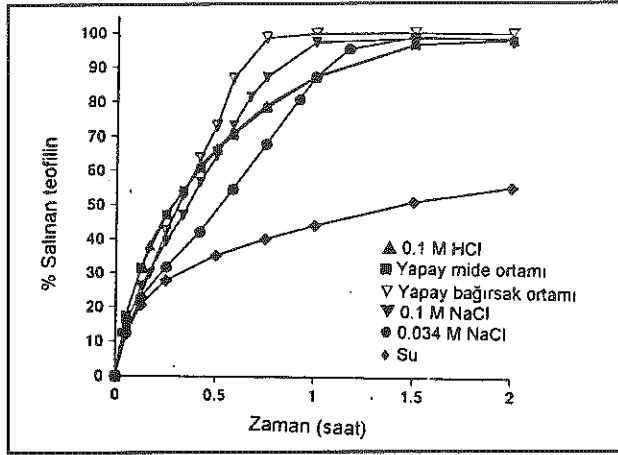
Aljinat-jel boncukların özelliklerine ve etkin madde salımına etki eden faktörler aşağıda gösterilmiştir:

- aljinat tipi, aljinat içindeki mannuronik ve guluronik asit miktarı ve oranı<sup>33,34</sup>

- aljinat:etkin madde oranı<sup>35,37</sup>
- aljinat konsantrasyonu<sup>3,38</sup>
- çapraz bağ oluşturan ajanın (örn.CaCl<sub>2</sub>) konsantrasyonu<sup>33,38,39</sup>
- sertleştirme süresi<sup>37,39</sup>
- kurutma süresi ve şekli<sup>35,37,40,41</sup>
- boncuk büyüklüğü<sup>37</sup>
- çözünme ortamının pH'sı<sup>36,38,42</sup>
- etkin maddenin çözünürlüğü ve pKa'sı<sup>42,43</sup>

Aljinat ile yapılan önformülasyon çalışmalarında araştırmacılar, yıkama ve kurutmaya dayanıklı sert boncukların oluşması için minimum CaCl<sub>2</sub> konsantrasyonunun 0.02 M olduğunu ve kurutma sırasında boncuklarda görülen büzülmenin kullanılan aljinatın tipine ve jelleşme koşullarına bağlı olduğunu gözlemişlerdir. Guluronik asit oranı düşük aljinatlar kullanıldığında kalsiyum konsantrasyonu ve sertleştirme süresi arttığında boncuklardaki büzülmenin arttığı belirtilmiştir<sup>41</sup>. Daha sonraki çalışmalarda, kalsiyum konsantrasyonunun, sertleştirme süresinin, aljinat konsantrasyonunun, disperse edilen etkin madde miktarının ve aljinat içindeki M/G oranının etkin madde salım süresine etkisi  $2\sqrt{5-1}$  faktöryel tasarım ile incelenmiştir. Kalsiyum konsantrasyonu, jelleşme zamanı, aljinat konsantrasyonu, etkin madde ilavesi yüksek tutulduğu zaman ve guluronik asit oranı yüksek aljinat kullanıldığında, ilaç salımının yavaşladığı belirtilmektedir<sup>33,39</sup>. Aljinatın molekül ağırlığındaki artışın matrisin salım özelliklerini değiştirmedeği<sup>33</sup>, fakat kalsiyum aljinat matrisden ilaç salımının, çözünme hızı ortamından etkilendiği gözlenmiştir. Şekil 3'de teofilinin farklı çözünme ortamlarındaki salım profilleri görülmektedir<sup>36</sup>. Acartürk ve Takka etkin madde:polimer oranı, CaCl<sub>2</sub> konsantrasyonu ve sertleştirme süresinin salım hızına etkisini  $2^3$  faktöryel tasarımla incelemişlerdir. Sertleştirme süresinin salım hızını etkilemediği ( $p>0.005$ ) ancak diğer iki faktörün salım hızında etkili olduğu görülmüştür<sup>44-46</sup>. Aynı araştırmacılar düşük ve yüksek viskoziteli aljinat kullanarak hazırladıkları formülasyonlarda, aljinat viskozitesinin etkin madde salımını etkilemediğini gözlemişlerdir<sup>47,48</sup>.

Johson ve Medlen'in yaptığı bir çalışmada ise, deney koşullarına dayanıklı, yuvarlak boncuklar oluşturmak için % 2 konsantrasyonda sodyum aljinat çözeltisinin 0.2 M CaCl<sub>2</sub> çözeltisi ile reaksiyona



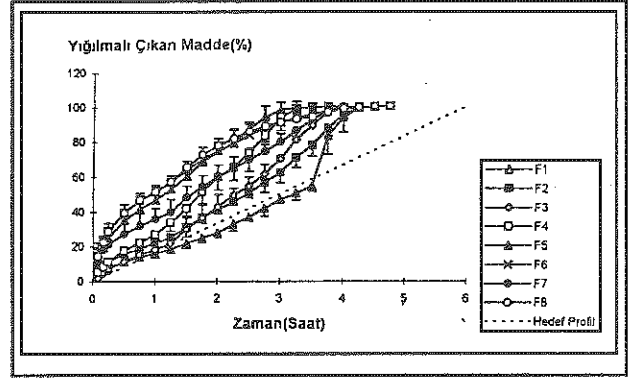
Şekil 3. 0.08 M CaCl<sub>2</sub> kullanılarak hazırlanan aljinat-jel matrisden teofilinin farklı ortamlardaki salım profilleri<sup>36</sup>

girmesi ve boncuk oluştuğundan sonra sertleştirme süresinin iki saat olması gerektiği belirtilmektedir<sup>49</sup>.

Farklı molekül ağırlığındaki ve farklı manuronik:guluronik asit oranına sahip aljinatlardan, bir boya olan brilliant mavisinin salımı incelendiğinde, düşük molekül ağırlıklı aljinattan, brilliant mavisinin salımı daha hızlı bulunmuş ve M:G oranının farklı olmasının salımı değiştirmedeği gözlenmiştir. Buna karşılık molekül ağırlıkları yakın olmakla birlikte, manuronik asitçe zengin jelden salımın guluronik asitçe zengin jele göre biraz daha hızlı olduğu belirtilmektedir<sup>50</sup>. Takka ve ark. farklı manuronik ve guluronik asit oranlarına sahip aljinatlarla hazırlanan formülasyonlardan nikardipin hidroklorürün salımını incelediklerinde, guluronik asitçe zengin aljinatlar ile hazırlanan formülasyonlardan etkin madde salımının yavaş olduğunu, manuronik asit miktarı arttıkça etkin madde salımının hızlandığını gözlemişlerdir. Bu formülasyonlara ait salım profilleri Şekil 4'de görülmektedir<sup>48</sup>.

Aljinat-jel boncuk hazırlarken, katyonik özellikte maddelerle çalışıldığında, katyonik madde ile Ca<sup>++</sup> arasında aljinat içindeki karboksilik gruplara bağlanmak için yarışma olduğu gözlenmiştir. Aljinat ile katyonik madde arasındaki reaksiyonun ilaç yüklemesini artırdığı, fakat aljinat-jel boncuktan difüzyon hızının azaldığı belirtilmektedir<sup>43,51</sup>.

Salib ve ark. yaptıkları çalışmada, etkin maddenin çözünürlüğüne bağlı olarak aljinat - jel matrikse

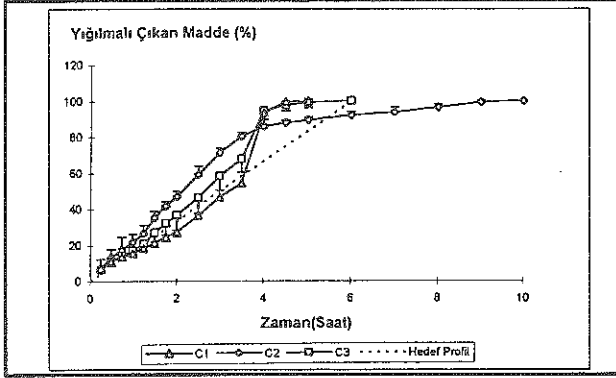


Şekil 4. M/G içerikleri ve viskoziteleri farklı aljinatlarla hazırlanan formülasyonların invitro salım profilleri<sup>48</sup>. F1, F2, F3 → Guluronik asitçe zengin aljinatlarla hazırlanan formülasyonlar F4, F5, F6, F7 ve F8 → Mannuronik asitçe zengin aljinatlarla hazırlanan formülasyonlar.

ilaç yükleme yüzdesinin değişebileceğini bildirmektedirler. Etkin maddenin salım hızını etkileyen faktörün ise, polimer:etkin madde oranı olduğu ve polimer oranı arttıkça salım hızının yavaşladığı gözlenmiştir<sup>42</sup>. Çözünme ortamlarına göre salım hızları karşılaştırıldığında asit ortamda kalsiyum aljinatın aljinik aside dönüşmesinden dolayı etkin madde salımı yavaştır, buna karşılık sodyum bikarbonat çözeltisinde kalsiyum aljinat, çözünürlüğü daha fazla olan sodyum aljinata dönüşür ve polimer parçalandığı için etkin madde salımı hızlıdır. Kaş ve ark. diklofenak sodyumun aljinat jel boncuklardan salımında çözünme ortamının pH'sının etkili olduğunu gözlemişlerdir<sup>52</sup>.

Jel boncukları oluşturmak amacıyla kalsiyumun yanısıra değişik çapraz bağ yapıcı ajanlar kullanılmaktadır. Bunlar arasında baryum ve stronsiyum en çok kullanılanlardır. İlaç yükleme ve farklı çapraz bağ ajanlarının etkisinin incelendiği bir çalışmada, % 20 konsantrasyonda asetaminofen içeren formülasyondan ilacın % 50'si 2 saatte salınırken, % 5 asetaminofen içeren formülasyondan ilacın % 50'si bir saatte salınmaktadır. Kullanılan çapraz bağ yapıcı ajanlardan kalsiyum klorür, kalsiyum asetat ve alüminyum sülfatın ise % 5 konsantrasyonda kullanıldığında boncuklardan ilaç salımını değiştirmedeği gözlenmiştir<sup>53</sup>. Rekombinant insan tümör nekroz faktörünün düşük viskoziteli aljinatlarla jel boncuklarının hazırlanmasında üç farklı jel oluşturucu ajan kullanılmıştır. Bu ajanların salım hızlarına olan etkisi hızlıdan yavaş

doğru  $Ca > Ba > Sr$  sırasına göre dir<sup>54</sup>. Takka ise  $BaCl_2$  ve  $SrCl_2$  ile hazırlanan formülasyonların,  $CaCl_2$  ile hazırlanan formülasyona göre etkin maddenin daha hızlı salındığını gözlemiştir<sup>55</sup>.  $Ba^{++}$  ve  $Sr^{++}$ 'un aljinata olan ilgisi  $Ca^{++}$ 'a göre daha fazladır. Dolayısıyla oluşan aljinat-jel boncukların yapısının daha sert ve dayanıklı olduğu ve salım boyunca boncukların  $Ca^{++}$  ile hazırlananlara göre daha geç parçalandığı ancak etkin madde salımının daha hızlı olduğu belirtilmektedir (Şekil 5).



Şekil 5. Farklı jel oluşturucu ajanlar kullanılarak hazırlanan formülasyonların invitro salım profilleri<sup>55</sup>  
(C1 →  $CaCl_2$ , C2 →  $BaCl_2$ , C3 →  $SrCl_2$ )

Suda çözünmeyen etkin maddelerin aljinat-jel boncuklarının hazırlanmasında, etkin maddenin önce yüzey etken madde içeren yağlı fazda dağıtılması ve daha sonra sodyum aljinat içeren sulu fazla emülsiyon oluşturulmasıyla hazırlanan emülsiyonun kalsiyum klorür çözeltisine damlatılması yönteminden yararlanılmaktadır<sup>56,57</sup>.

Yapılan çalışmalar sonunda denenen parametrelerin gerek hazırlanışa gerekse etkin madde salım hızına etkisi çalışmalar arasında farklılık göstermektedir. Salım hızı üzerine en etkili parametrenin mannuronik asit/gluronik asit oranı olduğu görülmektedir. Diğer parametrelerin etkisi ise aljinatın elde edildiği kaynağa, türüne ve etken maddenin özelliklerine bağlı olarak değişmektedir.

### 1a. Yardımcı Maddeler İlavesi İle Hazırlanan Aljinat-Jel Boncuklar

Aljinat-jel boncuklarla etkin maddenin hedeflenen salım hızına erişilemediği durumlarda salımı uzatmak amacıyla aljinat çözeltisine çeşitli yardımcı polimer maddeler ilave edilmektedir. Bu maddeler

arasında polilisin<sup>58,59</sup>, poliakrilik asit<sup>60</sup>, kitosan<sup>61-63</sup> ve Eudragit<sup>64,65</sup> sayılabilir.

Aljinat-polilisin mikroküreleri hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemleri olarak denenmiştir<sup>58,59</sup>. Polk ve ark. kitozan-aljinat mikrokapsüllerinden protein salımını ve bu salıma etkiyen faktörleri incelemişlerdir<sup>61</sup>. Düşük molekül ağırlıklı kitozan kullanıldığında albuminin mikrokapsüllerden hızla salındığını, buna karşılık yüksek ve düşük molekül ağırlıklı kitozanların karışımı kullanıldığında, albumin salımının yavaşladığı gözlenmiştir.

Takka ve Acartürk aljinat-kitozan jel boncuklarından nikardipin hidroklorürün salımını incelemişler ve kitozanın, aljinatın pH 7-7.5'deki parçalanmasını engelliyerek salımı geciktirdiğini bildirmişlerdir<sup>46,47</sup>.

Aljinat-jel boncuklara kitosanın yanısıra kondroitin sulfat da ilave edilerek sodyum diklofenakın salımı incelenmiştir. Bu iki maddenin ilavesinin boncukların dağılmasını engellediği ancak salımı çok belirgin olarak etkilemediği görülmüştür<sup>63</sup>.

Lin ve Ayres, 5-aminosalisilik asidi (5-ASA) önce kalsiyum-aljinat boncuk dozaş şeklinde hazırlamışlar daha sonra farklı konsantrasyonlarda Eudragit L30D ile kaplama yapmışlardır<sup>64</sup>. Büyük miktarı ince bağırsakta emilen ve hepatik metabolizma ile inaktif hale geçen 5-ASA kaplama sonucu kolonda sürekli etkili salım göstermiştir. Eudragit L30D ilave edilmiş aljinat mikrokürelerinden sodyum diklofenakın optimum salım hızı ve yüksek antiinflamatuvar aktivite gösterdiği görülmüştür<sup>65</sup>.

### 2. Kapsül İlaç Şekli

Veski ve ark., yardımcı madde olarak farklı viskozlukta sodyum aljinat kullanarak sert jelatin kapsüller içinde kontrollü salım yapan ibuprofen formülasyonları hazırlamışlar ve formülasyonların sıfır derece kinetiğe uyum gösterdiğini belirtmişlerdir<sup>66</sup>. Yüksek viskoziteye sahip sodyum aljinat kullanıldığında ibuprofenin salım hızı düşük bulunmuştur. Farklı kimyasal ve fiziksel özelliklere sahip sodyum aljinatlar ile salım hızının değiştirilebileceği belirtilmektedir.

### 3. Tablet İlaç Şekli

Bu amaçla önce % 70 guaifenesin, % 20 kalsiyum asetat, % 10 sorbitol ve % 0.5 magnezyum stearat içeren tablet formülasyonları hazırlanmıştır. Bu tabletler molekül ağırlığı ve guluronik asit içeriği farklı olan sodyum aljinat çözeltilerinde bekletildiğinde, tablet içindeki kalsiyum asetat çözünerek ve aljinat ile çapraz bağ yaparak tablet etrafında çözünmeyen kalsiyum-aljinat filmi oluşturmaktadır<sup>67</sup>. Kalsiyum - aljinat ile kaplanmış guaifenesin tabletlerinden sıfır derece salım elde edilmiş ve aljinatın molekül ağırlığı ve kaplama kalınlığı arttıkça, guaifenesinin salım hızının yavaşladığı bulunmuştur.

Gürsoy iki farklı yöntemle hazırlanan aljinat-jel mikrokürelerinden dipiridamol tabletlerini hazırlamış ve çözünme hızlarını incelemiştir. Direk basım yöntemiyle hazırlanan tabletlerden etken maddenin salımı hızlı bulunurken, karragen veya hidroksipropilmetilselüloz ilavesiyle basılan tabletlerden salım geciktirilmiştir<sup>56</sup>.

### B. Rektal Uygulama

Rektal uygulama amacıyla, morfinin aljinik asit ile sürekli etkili supozituarları hazırlanmış ve oral verilen morfin çözeltisi ile karşılaştırılmıştır. Supozituarlardan daha yüksek biyoyararlanım ve uzatılmış rektal absorpsiyon elde edilmiştir<sup>68</sup>.

### C. Parenteral Uygulama

Aljinatlarla yapılan bir çalışmada, aljinatın antitümör etkiye sahip olduğu ve aljinat içindeki mannuronik asit blokları arttıkça antitümör etkinin arttığı bildirilmektedir<sup>69</sup>. Aljinatın bu özelliğinden yararlanarak yapılan bir çalışmada antitümör bir ajan olan daunomisin, aljinat ile kovalen bağlanarak konjugat oluşturulmuştur. Daunomisin - aljinat konjugatı farelere intraperitoneal olarak verildiğinde, tümör büyümesinin geciktirildiği, fakat istenen antitümör etkiye ulaşamadığı gözlenmiştir. Ancak gelecekteki klinik çalışmalara bu deneylerin temel bir potansiyel oluşturacağı belirtilmektedir<sup>70</sup>.

Proteinlerin polietilen glikol, metakrilamit gibi sentetik polimerlerle birleşmesi sonucu çiftleşmiş proteinlerin immunojenik özelliklerinde azalma görülmüştür.

Aljinatların immunostimulator etkiye sahip olmalarından dolayı Morgan ve ark.'ları peptit antijenini (peptit vp2) aljinatla konjuge ederek immunojenik etkisinde azalma olup olmadığını incelemiştir. Araştırmada aljinatların immunojenik özellik göstermediği, aljinatla kovalen bağlanmış peptit vp2'nin antijenik özelliğinde azalma görüldüğü belirtilmektedir<sup>71</sup>.

### D. Transdermal Uygulama

Aljinatlar, transdermal formülasyonlarda hız kontrol edici membran olarak kullanılmıştır. İlacın membrandan geçişi, aljinat konsantrasyonu ile birlikte membranın yapısı ve kalınlığına bağlı olarak oluşan dirence de bağlıdır. İlacın membrandan geçiş hızını, kullanılan aljinatın M/G oranı ve çapraz bağ oluşturmak için kullanılan  $Cr^{+3}$ ,  $Cu^{+2}$  ve  $Ca^{+2}$  metal çözeltileri etkilemektedir<sup>72</sup>.

### E. Biyoteknolojik Uygulamalar

Sodyum aljinat mikrokürelerine ilave edilen değişik aşılarda hayvanlarda oral aşı olarak denenmiştir. Sonuçlar değişik hayvan türlerinde aljinat ile hazırlanan aşılarda etkili olduğunu göstermektedir. Aljinat aşı sistemi; organik çözücü kullanılmaması, GI sisteme karşı dayanıklı olması, aljinatın adjuvan etki göstermesi açısından oral aşı hazırlanmasında avantaj sağlamaktadır<sup>73</sup>.

Canlı hücreleri kalsiyum aljinat ile kaplama son yıllarda en çok kullanılan tekniklerden birisidir<sup>74</sup>. Jel boncuk ile kaplanmış hücreler, serbest hücrelere göre daha kolay elde tutulduğu için kalsiyum aljinat ile kaplama tekniği hücre immobilizasyonunda önemli bir yer tutmaktadır<sup>17</sup>. Hücre süspansiyonu sodyum aljinat çözeltisi ile karıştırılmakta ve bu karışım çok değerli katyon içeren ( $Ca^{+2}$ ,  $Sr^{+2}$ ,  $Al^{+3}$ ) çözeltiliye damlatıldığında küresel jeller oluşmaktadır. Hücreleri aljinat- jel sistemi ile kaplamanın avantajları aşağıda belirtilmiştir<sup>4</sup>:

\* Immobilizasyon işlemi nötral pH'da isotonic fosfat tamponunda 0-100°C arasında olmaktadır. Hücreler kimyasal işlemlere maruz kalmamaktadır.

\* Jel boncukların  $CaCl_2$  çözeltisinde sertleştirme zamanı da dahil reaksiyon işlemi 30 dakika sürmektedir.

\* Jel kaplama işlemi steril koşullarda olmaktadır. Sodyum aljinat çözeltisi hücre ile karıştırılmadan önce otoklav veya filtrasyon yöntemi ile sterilize edilmektedir.

\* Kalsiyum - aljinat jeller canlı hücrelerin pekçoğu ile geçimlidir. Hücrelerin canlılığı veya enzim aktiviteleri uzun süre devam etmektedir.

Mikroorganizmaları (chlorella, anabena, botryococcus), bitki ve memeli hücrelerini (eritrositler, fibroblast ve lenfoblastoid hücreler, hibridoma hücreler, pankreas adacıkları, çeşitli tümör hücreleri ve hepatocytes ve adipocytes hücreleri) ve enzimleri immobilize etmede kalsiyum- aljinat<sup>75-77</sup> kalsiyum aljinat ile birlikte polilisın, polietilenimin, hidroksetil metakrilat<sup>76,78-80</sup> ve kitosan<sup>81</sup> polimerlerinin kullanımı oldukça yaygındır.

Aljinat ile immobilize edilmiş maya hücrelerinin etanol fermantasyonunda kullanıldığı ve aljinatın, maya hücrelerinin büyümesi için iyi bir ortam sağladığı bildirilmektedir.<sup>82-86</sup>

Aljinatların hormon üreten hücreler için implantasyon materyali olarak önemli potansiyele sahip olduğu belirtilmektedir. Araştırmacılar, Langerhans adacıklarını aljinatla kaplamışlar ve in vitro - in vivo çalışmalar sonucu kaplanmış adacıkların birkaç hafta içinde kültürle çoğaltılabildiği ve yine glukozu cevap olarak insülin salgıladığı ve birkaç ay içinde hiperglisemiyi düzelttiğini gözlemişlerdir.<sup>87-89</sup>

#### Aljinik Asit ve Tuzlarının Farklı Alanlarda Kullanılışı:

Kalsiyum aljinat cerrahi malzemelerde hemostatik (kan absorbe edici) özelliğinden dolayı kullanılmaktadır<sup>4</sup>. Ayrıca sodyum aljinat antasit özelliğe sahiptir. Diş tedavisinde dolgu maddesi olarak potasyum aljinat ve trietanolamin aljinattan yararlanılmaktadır<sup>3,4</sup>.

Besin endüstrisinde; dondurma, şerbet, salça, marmelat, reçel, şekerleme, salata sosu, peynir, margarin, pudding ve kremalarda kıvam verici, dispersiyon ajanı ve stabilizatör olarak kullanılmaktadır<sup>4</sup>.

Tekstil ve kağıt sanayiinde; baskı ve boyamada boyaların akış özelliklerini kontrol etmek için kullanılır<sup>4</sup>. Ayrıca tarım alanında da kullanılışı yaygındır<sup>90,91</sup>.

#### SONUÇ

Bugün gıda sanayiinde ve eczacılıkta oldukça geniş bir kullanım alanına sahip olan aljinik asit ve aljinatlar, yeni ilaç taşıyıcı sistemlerin hazırlanmasında ve biyoteknolojik çalışmalar için gelecek vadetmektedir. Ancak aljinatların özellikleri elde edilen kaynağa göre değişebilmektedir. Bu nedenle araştırmacılar, istenilen amaca ulaşabilmek için kullandıkları aljinatın kaynağını ve özelliklerini çok iyi bilerek değerlendirme yapmaları gerektiğinin bilincinde olmalıdırlar.

#### KAYNAKLAR

1. Anon. Kelco, Alginate Products for Scientific Water Control, Division of Merck & Co. Inc., Third ed., England.
2. Anon. Pronova, Alginate Applications, General Technical Information, Pronova Biopolymer, Drammen, Norway.
3. McDowell R.H. Properties of Alginates, Kelco Intern., Fifth ed., England, 1986.
4. Anon. Proton Alginates, Technical Information Alginate, Proton Biopolymers, Drammen, Norway.
5. Veluraja K, Atkins EDT. Electron Microscopic Study of Guronate-Rich Alginate, *Carbohydr. Res.*, 187, 313-316, 1989.
6. Haug A, Larsen B, Smidsrod O. A Study of the Constitution of Alginic Acid by Partial Acid Hydrolysis, *Acta Chem.Scand.*, 20, 183-190, 1966.
7. Haug A, Larsen B. Quantitative Determination of the Uronic Acid Composition of Alginates, *Acta Chem.Scand.*, 16, 1908-1918, 1962.
8. Grasdalen H, Kvam BJ. <sup>23</sup>Na NMR in Aqueous Solutions of Sodium Polyuronates Counterion Binding and Conformational Conditions, *Macromolecules*, 19, 1913-1920, 1986.
9. Skjak-Braek G, Paoletti S, Gianferrara T. Selective Acetylation of Mannuronic Acid Residues in Calcium Alginate Gels, *Carbohydr. Res.*, 185, 119-129, 1989.
10. Grasdalen H, Larsen B, Smidsrod O. A P.M.R. Study of the Composition and Sequence of Uronate Residues in Alginates, *Carbohydr. Res.*, 68, 23-31, 1979.
11. Larsen B, Grasdalen H. Investigation by n.m.r. Spectroscopy of the Site of Proton Exchange Catalysed by Poly(mannuronic acid) C-5 Epimerase, *Carbohydr. Res.*, 92, 163-167, 1981.
12. Grasdalen H, Larsen B, Smidsrod O. <sup>13</sup>C-N.M.R. Studies of Monomeric Composition and Sequence in Alginate, *Carbohydr. Res.*, 89, 179-191, 1981.
13. Penman A, Sanderson GR. A Method for the De-



- termination of Uronic Acid Sequence in Alginates, *Carbohydr., Res.*, 25, 273-282, 1972.
14. Grasdalen H. High-Field, <sup>1</sup>HN.M.R. Spectroscopy of Alginate: Sequential Structure and Linkage Conformations, *Carbohydr., Res.*, 118, 255-260, 1983.
  15. Steginsky CA, Beale JM, Floss HG, Mayer RM. Structural Determination of Alginic Acid and the Effects of Calcium Binding as Determined by High-Field N.M.R., *Carbohydr.Res.*, 225, 11-26, 1992.
  16. Yotsuyanagi T, Ohkubo T, Ohhashi T, Ikeda K. Calcium-Induced Gelation of Alginic Acid and pH-Sensitive Reswelling of Dried Gells, *Chem. Pharm. Bull.*, 35(4), 1555-1563, 1987.
  17. Skjak-Braek G. Alginates: Biosyntheses and Some Structure-Function Relationships Relevant to Biomedical and Biotechnological Applications, *Biochem. Plant. Polysacc.*, 20, 27-33, 1992.
  18. Haug A, Larsen B. The Solubility of Alginate at Low pH, *Acta Chem.Scand.*, 17, 1653-1662, 1963.
  19. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, John Wiley & Sons, Inc., New York, London, Sydney, Toronto Vol.17, 2nd ed., 763-784, 1968.
  20. Polyzois GL, Andreopoulos AG. Stability of Some Soluble Alginate Solutions, *Biomaterials.*, 6, 68-69, 1985.
  21. Al-Shamkhani A, Bhakoo M, Metzger AT, Duncan R. Evaluation of the Biological Properties of Alginates and Gellan and Xanthan Gums, *Proceed.Intern.Symp.Control.Rel.Bioact.Mater.*, 18, 213-214, 1991.
  22. Smidsrod O, Haug A. The Effect of Divalent Metals on the Properties of Alginate Solutions I. Calcium Ions, *Acta Chem.Scand.*, 19, 329-340, 1965.
  23. Haug A, Smidsrod O. The Effect of Divalent Metals on the Properties of Alginate Solutions II. Comparison of Different Metal Ions, *Acta Chem.Scand.*, 19, 341-351, 1965.
  24. Takahashi Y. Binding Properties of Alginic Acid and Chitin, *J.Inclusion Phenom.*, 5, 525-534, 1987.
  25. Johnson FA, Craig DM, Mercer AD. Characterization of the Block Structure and Molecular Weight of Sodium Alginates, *J.Pharm.Pharmacol.* 49, 639-643, 1997.
  26. Gacesa, P. Enzymic Degradation of Alginates, *Int.J.Biochem.*, 24, (4), 545-552, 1992.
  27. Atkins EDT, Mackie W, Parker KD, Smolko EE. Crystalline Structures of Poly-D-Mannuronic and Poly-L-Guluronic Acids, *Polymer Lett.*, 9, 311-316, 1971.
  28. Julian TN, Radebaugh GW, Wisniewski SJ. Permeability Characteristics of Calcium Alginate Films, *J.Control.Rel.*, 7, 165-169, 1988.
  29. Kawashima S, Yamada Y, Honda K, Tabata T, Naito M, Fujiwara H. Kinetic Behavior and Interaction of Bacampicillin in Alginic Acid Solution at Neutral pH Region, *Chem.Pharm.Bull.*, 37, 2485-2490, 1989.
  30. Zatz JL, Berry JJ, Alderman DA. Viscosity-Imparting Agents in Disperse Systems in Lieberman, H.A., Rieger, M.M., Bankers, G.S. (eds.) *Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems*, Marcel Dekker, Inc., New York and Basel, Vol.2, 171-203, 1989.
  31. Peck GE, Baley GJ, McCurdy VE, Banker GS. Tablet Formulation and Design in Lieberman, H.A., Lachman, L., Schwartz, J.B. (eds.) *Pharmaceutical Dosage Forms, Tablets*, New York and Basel, Vol.1, Second ed., 75-130, 1989.
  32. Shiraiishi S, Arahira M, Imai T, Otagiri M. Enhancement of Dissolution Rates of Several Drugs by Low-Molecular Chitosan and Alginate, *Chem. Pharm.Bull.*, 38(1), 185-187, 1990.
  33. Ostberg T, Graffner C. Calcium Alginate Matrices for Oral Multiple Unit Administration: III. Influence of Calcium Concentration, Amount of Drug Added and Alginate Characteristics on Drug Release, *Int.J.Pharm.*, 111, 271-282, 1994.
  34. Sugawara S, Imai T, Otagiri M. The Controlled Release of Prednisolone Using Alginate Gel, *Pharm.Res.*, 11, 272-277, 1994.
  35. Tateshita K, Sugawara S, Imai T, Otagiri M. Preparation and Evaluation of a Controlled Release Formulation of Nifedipine Using Alginate Gel Beads, *Biol.Pharm. Bull.*, 16(4), 420-424, 1993.
  36. Ostberg T, Lund EM, Graffner C. Calcium Alginate Matrices for Oral Multiple Unit Administration: IV. Release Characteristics in Different Media, *Int.J.Pharm.*, 112, 241-248, 1994.
  37. Kim C, Lee E. The Controlled Release of Blue Dextran from Alginate Beads, *Int.J.Pharm.*, 79, 11-19, 1992.
  38. Badwan AA, Abumalooch A, Sallam E, Abukalaf A, Jawan OA. Sustained Release Drug Delivery System Using Calcium Alginate Beads, *Drug Dev.Ind.Pharm.*, 11, 239-256, 1985.
  39. Ostberg T, Vesterhus L, Graffner C. Calcium Alginate Matrices for Oral Multiple Unit Administration: II. Effect of Process and Formulation Factors on Matrix Properties, *Int.J.Pharm.*, 97, 183-193, 1993.
  40. Bodmeier R, Paeratakul O. Spherical Agglomerates of Water-Insoluble Drugs, *J.Pharm.Sci.*, 78, 964-967, 1989.
  41. Ostberg T, Graffner C. Calcium Alginate Matrices for Oral Multiple Unit Administration I. Pilot Investigations of Production Method, *Acta Pharm. Nord.*, 4, 201-208, 1992.
  42. Salib NN, El-Menshawya MA, Ismail AA. Utilization of Sodium Alginate in Drug Microencapsulation, *Pharm.Ind.*, 40, 1230-1234, 1978.
  43. Segi N, Yotsuyanagi T, Ikeda K. Interaction of Calcium-Induced Alginate Gel Beads with Propranolol, *Chem.Pharm.Bull.*, 37, 3092-3095, 1989.
  44. Takka S, Acartürk F. Utilizing Factorial Design for the Preparation and Evaluation of Alginate Gel Beads with Nifedipine HCl. *Proceed. Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.*, 21, 740-741, 1994.
  45. Acartürk F, Takka S. Calcium Alginate Microparticles for Oral Administration: II. Effect of Formulation Factors on Drug Release and Drug Entrapment Efficiency, *J. Microencap.* (Yayın için gönderildi)
  46. Takka S, Ocak Ö, Acartürk F. Formulation and Investigation of Nifedipine HCl-Alginate Gel Beads with Factorial Design-Based Studies, *Eur. J. Pharm. Sci.*, (Baskıda).

47. Takka S, Acartürk F. Denetimli Salım Yapan Sodyum Aljinat-Nikardipin HCl Jel Boncukları Üzerinde Çalışmalar. 3.Ulusal Biyomedikal Bilim ve Teknoloji Sempozyumu, 11-14 Aralık 1996, Bursa, Bildiri Özetleri, s.20
48. Takka S, Acartürk F. Calcium Alginate Microparticles for Oral Administration: Effect of Sodium Alginate Type on Drug Release and Drug Entrapment Efficiency, *J.Microencap.*, (Yayın için gönderildi).
49. Johnson M, Medlen J. Attempts to Control the Release of the Dyestuff Proflavine Hemisulphate from Calcium Alginate Gels-I, *Eur.Polym.J.*, 21, 147-150, 1985.
50. Murata Y, Nakada K, Miyamoto E, Kawashima S, Seo SH. Influence of Erosion of Calcium-Induced Alginate Gel Matrix on the Release of Brilliant Blue, *J.Cont.Rel.*, 23, 21-26, 1993.
51. Mumper RJ, Hoffman AS, Puolakkainen PA, Bouchard LS, Gombotz WR. Calcium-Alginate Beads for the Oral Delivery of Transforming Growth Factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) Stabilization of TGF- $\beta$ 1 by the Addition of Polyacrylic Acid within Acid-Treated Beads, *J.Cont.Rel.*, 30, 241-251,1994.
52. Kaş S, Selek H, Nasiredeen S, Hıncal A. Calcium-induced Alginate Gel Beads of Diclofenac Sodium. I. In Vitro Release Studies. 10th International Symposium on Microencapsulation, September 26-28, 1995, Austin, Texas, Abstracts p.42.
53. Rubio MR, Ghaly ES. In-Vitro Release of Acetaminophen from Sodium Alginate Controlled Release Pellets, *Drug Dev.Ind.Pharm.*, 20, 1239-1251,1994.
54. Wee S, Gombotz WR. Controlled Release of Recombinant Human Tumor Necrosis Factor Receptor from Alginate Beads. *Proceed. Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.*, 21,730- 731, 1994.
55. Takka S. Doğal Polimerler Kullanılarak Hazırlanan Boncuk Şeklindeki Kontrollü Salım Sistemlerinin Tasarımı ve Gerçekleştirilmesi, Doktora Tezi, Ankara,1996.
56. Gürsoy A. Effective Factors for the Preparation and Lettling of Alginate Microspheres. Proc. Symposium 'Particulate systems, from Formulation to Production', 6/7 October 1997, pp. 45-46.
57. Srcic S., Vrečer F., Study of Stabilization of Benzimidazole Proton Pump Inhibitors by Incorporation into Alginate Beads. *Farm. Vestn.*, 48, 302-303, 1997.
58. Rajaonarivony M, Vauthier C, Couarraze G, Puisieux F, Couvreur P. Development of a New Drug Carrier Made from Alginate, *J.Pharm.Sci.*, 82, 912-917, 1993.
59. Kwok KK, Groves MJ, Burgess DJ. Production of 5-15  $\mu$ m Diameter Alginate-polylysine Microcapsules by an Air-Atomization Technique, *Pharm. Res.*, 8, 341-344, 1991.
60. Yuk SH, Cho SH, Lee HB. Electric Current-Sensitive Drug Delivery Systems Using Sodium Alginate/Polyacrylic Acid Composites, *Pharm.Res.*, 9, 955-957, 1992.
61. Polk A, Amsden B, De Yao K, Peng T, Goose NA. Controlled Release of Albumin from Chitosan-Alginate Microcapsules, *J.Pharm.Sci.*, 83,178-185, 1994.
62. Grcic JF, Maysinger D, Zorc B, Jalsenjak I. Macromolecular Prodrugs IV. Alginate-Chitosan Microspheres of PHEA-L-Dopa Adduct, *Int.J.Pharm.*,116, 39-44, 1995.
63. Murata Y., Miyamoto E., Kawashima S., Additive Effect of Chondroitin Sulfate and Chitosan on Drug Release from Calcium-Induced Alginate Gel Beads, *J.Control. Rel.*, 38,101-108, 1996.
64. Lin SY, Ayres JW. Calcium Alginate Beads as Core Carriers of 5-Aminosalicylic Acid, *Pharm. Res.*, 9, 1128-1131, 1992.
65. Gürsoy A., Türkoğlu M., Kalkan F., Sarıca Ö., Aydın S., Eroğlu, L. Diclofenac Sodium Microspheres: Preparation and In Vivo Evaluation in Rats, *Proceed.Intern. Symp. Control. Rel. Bioactiv. Mater.*, 21, 614-615, 1994.
66. Veski P, Marvola M. Sodium Alginates as Diluents in Hard Gelatin Capsules Containing Ibuprofen as a Model Drug, *Pharmazie*, 48, 757-760,1993.
67. Bhagat HR, Mendes RW, Mathiowitz E, Bhargava HN. Kinetics and Mechanism of Drug Release from Calcium Alginate Membrane Coated Tablets, *Drug Dev.Ind. Pharm.*, 20, 387-394, 1994.
68. Kawashima S, Inoue Y, Shimeno T, Fujiwara H. Studies on Sustained-Release Suppositories III. Rectal Absorption of Morphine in Rabbits and Prolongation of Its Absorption by Alginic Acid Addition, *Chem.Pharm.Bull.*, 38, 498-505, 1990.
69. Fujihara M, Nagumo T. The Effect of the Content of D-Mannuronic Acid and L-Guluronic Acid Blocks in Alginates on Antitumor Activity, *Carbohydr. Res.*, 224, 343-347, 1992.
70. Al-Shamkhani A, Duncan R. Synthesis, Controlled Release Properties and Antitumour Activity of Alginate-Cis-Aconityl-Daunomycin Conjugates, *Int. J. Pharm.*, 122, 107-119, 1995.
71. Morgan SM, Al-Shamkhani A, Callant D, Schacht E, Woodley JF, Duncan R. Alginates As Drug Carriers: Covalent Attachment of Alginates to Therapeutic Agents Containing Primary Amine Groups, *Int.J.Pharm.*, 122, 121-128, 1995.
72. Oraceska B, Nixon JR, Solomon MC. Alginate Transdermal Delivery Systems A Novel Approach to the Development of the Device and Its Evaluation, *Proceed. Intern.Symp. Cont. Rel. Bioact.Mat.*, 19, 198-199,1992.
73. Bowersock TL, HogenEsch H, Suckow M, Porter RE, Jackson R, Park H, Park K. Oral Vaccination with Alginate Microsphere Systems. *J. Control.Rel.*, 39, 209-220, 1996.
74. Kierstan M, Darcy G, Reilly J. Studies on the Characteristics of Alginate Gels in Relation to Their Use in Separation and Immobilization Applications, *Biotech.Bioeng.*, 24, 1507-1517, 1982.
75. Svensson B, Ottesen M. Entrapment of Chemical Derivatives of Glycoamylase in Calcium Alginate Gels, *Carlsberg Res.Comm.*, 46,13-24,1981.
76. Husain Q, Iqbal J, Saleemuddin M. Entrapment of Concanavalin A-Glycoenzyme Complexes in Calcium Alginate Gels, *Biotech.Bioeng.*, 27, 1102 -1107, 1985.
77. Robinson PK, Goulding KH, Mak AL, Trevan MD.

- Factors Affecting the Growth Characteristics of Alginate-Entrapped *Chlorella*, *Enzyme Microb. Technol.*, 8, 729-733, 1986.
78. Stevenson WTK, Sefton MV. Graft Copolymer Emulsions of Sodium Alginate with Hydroxyalkyl Methacrylates for Microencapsulation, *Biomaterials*, 8, 449-45, 1987.
  79. Wong H, Chang TMS. A Novel Two Step Procedure for Immobilizing Living Cells In Microcapsules for Improving Xenograft Survival, *Biomat.Art. Cells & Immob.Biotech.*, 19, 687-697, 1991.
  80. Lee PM, Lee KH, Siaw YS. Immobilization of Aminoacylase in Polyetheleneimine Stabilized Calcium Alginate Beads for L-Phenylalanine Production, *Biomat.Art.Cells & Immob. Biotechn.*, 21, 563-570, 1993.
  81. Vasishtha N, Barlow D, Brashear J, Rastellini C. Alginate-Chitosan Biomatrices for Islet Cell Encapsulation, *Proceed. Int'l. Symp. Control.Rel. Bioc. Mater.*, 24, 1013-1014, 1997.
  82. Chen KC, Huang C. Effects of the Growth of *Trichosporon Cutaneum* in Calcium Alginate Gel Beads Upon Bead Structure and Oxygen Transfer Characteristics, *Enzyme Microb. Technol.*, 10, 284-292, 1988.
  83. Johansen A, Flink JM. Influence of Alginate Properties on Sucrose Inversion by Immobilized Whole Cell Invertase, *Enzyme Microb.Technol.*, 8, 485-490, 1986.
  84. Flink JM, Johansen A. A Novel Method for Immobilization of Yeast Cells in Alginate Gels of Various Shapes by Internal Liberation of Ca-Ions, *Biotech. Lett.*, 7, 765-768, 1985.
  85. Johansen A, Flink JM. Immobilization of Yeast Cells by Internal Gelation of Alginate, *Enzyme Microb. Technol.*, 8, 145-148, 1986.
  86. Johansen A, Flink JM. Influence of Alginate Properties and Gel Reinforcement on Fermentation Characteristics of Immobilized Yeast Cells, *Enzyme Microb.Technol.*, 8, 737-748, 1986.
  87. Zekorn T, Siebers U, Horcher A, Schnettler R, Zimmermann U, Bretzel RG, Federlin K. Alginate Coating of Islets of Langerhans: In Vitro Studies on a New Method for Microencapsulation for Immuno-Isolated Transplantation, *Acta. Diabetol.*, 29, 41-45, 1992.
  88. Darquy S, Reach G. Immunoisolation of Pancreatic B Cells by Microencapsulation, *Diabetologia*, 28, 776-780, 1985.
  89. Fritschy WM, Wolters GHJ, Schilfgaarde RV. Effect of Alginate- Polylysine- Alginate Microencapsulation on In Vitro Insulin Release From Rat Pancreatic Islets, *Diabetes*, 40, 37-43, 1991.
  90. Pfister G, Bahadır M, Korte F. Release Characteristics of Herbicides from Ca-Alginate Gel Formulations, *J. Cont. Rel.*, 3, 229--233, 1986.
  91. Pepperman AB, Kuan CW, McCombs C. Alginate Controlled Release Formulations of Metribuzin, *J. Cont.Rel.*, 17, 105-112, 1991.