



**BİOMEDİKAL ALANDA KULLANILMAK ÜZERE BİYOLOJİK UYUMLU
HİDROJELERİN HAZIRLANMASI, BİYO-UYUMLULUK ÇALIŞMALARI
VE MODEL ANTİ-KANSER İLAÇ 5-FLOROURASİL'İN SÜREKLİ AKIŞ
SİSTEMİNDE KONTROLLÜ SALIMI**

Alican YÜKSEL

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ŞUBAT 2018

Alican YÜKSEL tarafından hazırlanan “BİOMEDİKAL ALANDA KULLANILMAK ÜZERE BİYOLOJİK UYUMLU HİDROJELERİN HAZIRLANMASI, BİYO-UYUMLULUK ÇALIŞMALARI VE MODEL ANTİ-KANSER İLAÇ 5-FLOROURASİL’İN SÜREKLİ AKIŞ SİSTEMİNDE KONTROLLÜ SALIMI” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Gülay BAYRAMOĞLU

Kimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

İkinci Danışman: Prof. Dr. M. Yakup ARICA

Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Başkan: Prof. Dr. Bekir SALİH

Kimya Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye: Prof. Dr. Mehlika PULAT

Kimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye: Doç. Dr. Hayrettin TÜMTÜRK

Kimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Tez Savunma Tarihi: 01/02/2018

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Prof. Dr. Sena YAŞYERLİ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Alican YÜKSEL

01/02/2018

BİOMEDİKAL ALANDA KULLANILMAK ÜZERE BİYOLOJİK UYUMLU
HİDROJELERİN HAZIRLANMASI, BİYO-UYUMLULUK ÇALIŞMALARI VE
MODEL ANTİ-KANSER İLAÇ 5-FLOROURASİL'İN SÜREKLİ AKIŞ SİSTEMİNDE
KONTROLLÜ SALIMI
(Yüksek Lisans Tezi)

Alican YÜKSEL

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Şubat 2018

ÖZET

Kanser tüm dünyada hızla artmakta ve ölüm nedenlerinin başlıca sebepleri arasında yer almaktadır. Kanser teşhis ve tedavisinde kullanılan yöntemler arasında kemoterapi büyük bir öneme sahiptir. Ancak, kandaki değişken ilaç kinetiği, sistematik toksisite ve enfeksiyon kemoterapi için ciddi sorunlar oluşturmaktadır. Kanser tedavisinde yapılan bilimsel çalışmalar da ortaya çıkan bu sorunları önlemek amacıyla daha yeni ve etkili yöntemlerin geliştirilmesi üzerine yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Bu nedenle, biyomateryallerin biyoyumluluk özelliklerinden faydalanarak, antikanser ilaçların polimer taşıyıcılar yardımıyla kontrollü salımı çalışmaları önem kazanmış bulunmaktadır. Bu tez çalışmasının amacı, biyomedikal alanda kontrollü salım sistemi olarak kullanılmak üzere model anti-kanser ilaç “5-Flourouracil” için biyo-uyumlu yeni bir polimerik sistem geliştirmektir.. Antikanser ilacın kontrollü salımı için taşıyıcı sistem olarak kullanılan poli((2-hidroksipropil) metakrilat/polietilenglikol metakrilat/hidroksipropilkitosan), poli(HPM-PEG-MA-HPC) hidrojel, UV ışığı kullanılarak fotopolimerizasyon yöntemi ile azobisisobutyronitril (AIBN) başlatıcısı varlığında farklı kompozisyonlarda sentezlendi. Hidrojellerin karakterizasyonu için FTIR, temas açısı, SEM analizleri yapılmıştır. Bunların yanında hidrojinin biyoyumluluk özellikleri de incelenmiştir. Hazırlanan polimerik taşıyıcı içerisine değişik oranlarda model antikanser ilacı 5-flourourasil eklenmiş ve model ilacın poli(HPM-PEG-MA-HPC) hidrojelinden kontrollü salımı çalışılmıştır. Hazırlanan 5-flourouracil yüklü polimerik hidrojelden ilacın kontrollü salımı üzerine etki eden parametreler araştırılmış ve model ilacın kontrollü salım kinetiği incelenerek sistem optimize edilmiştir.

Bilim Kodu : 20107
Anahtar Kelimeler : Kontrollü salım, 5-flourourasil, Biyomateryal, Kitosan
Sayfa Adedi : 73
Danışman : Prof. Dr. Gülay BAYRAMOĞLU
İkinci Danışman : Prof. Dr. M. Yakup ARICA

PREPARATION OF BIO-COMPATIBLE HYDROGELS FOR USE IN BIOMEDICAL
AREA: BIO-COMPATIBILITY STUDIES AND CONTROLLED RELEASE OF
MODEL ANTI-CANCER DRUG 5-FLUOROURACIL IN A CONTINUOUS FLOW
SYSTEM

(M.Sc. Thesis)

Alican YÜKSEL

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

February 2018

ABSTRACT

Cancer is growing rapidly all over the world and is one of the main causes of death. Among the methods used in the diagnosis and treatment of cancer, chemotherapy has a great precaution. However, variable side effects, systemic toxicity and infection are serious problems for chemotherapy. Several studies in cancer treatment have been carried out intensively on the development of new and effective methods to prevent these problems. For this reason, taking advantage of the biocompatibility of biomaterials, it has become important to study the controlled release of anticancer drugs from the polymer carriers. In this thesis, we will develop a new biocompatible polymeric system for controlled release of a model anti-cancer drug "5-Fluorouracil" for use in biomedical field. Poly((2-hydroxypropyl) methacrylate / polyethyleneglycol methacrylate / hydroxypropylchitosan), poly (HPM-PEGMA-HPC) hydrogel formulations prepared as carrier system for controlled release of the anticancer drug, it was synthesized in the presence of azobisisobutyronitrile (AIBN) initiator by photopolymerization using UV light. FTIR, contact angle, SEM analyzes were performed for the characterization of the hydrogels. Besides these properties, the hydrogel formulations were also examined. The model anticancer drug 5-fluorouracil was added at different ratios to the polymeric carrier, and the controlled release of the model drug from poly (HPM-PEGMA-HPC) hydrogel was studied in a continuous flow system. The parameters affecting the controlled release of 5-Fluorouracil-loaded from the polymer polymer formulations were investigated, and the system was optimized by examining the controlled release kinetics of the drug.

Science Code : 20107
Key Words : Controlled release, 5-fluorouracil, Biomaterial, Chitosan
Page Number : 73
Supervisor : Prof. Dr. Gülay BAYRAMOĞLU
Co-Supervisor : Prof. Dr. M. Yakup ARICA

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, değerli bilgilerini benimle paylaşan, kendisine ne zaman danışsam bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle elinden gelenden fazlasını sunan, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Gülay BAYRAMOĞLU'na teşekkürü bir borç biliyor ve şükranlarımı sunarım. Yine çalışmamda konu, kaynak ve yöntem açısından yardımda bulunarak yol gösteren, engin bilgisiyle her konuda danışabildiğim değerli hocam Prof. Dr. M. Yakup ARICA'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Kanser hücrelerinin aktivitesi “Bilkent Üniversitesi, Mikrobiyoloji Bölümü'nde” Sayın Prof. Dr. Can Kamil AKÇALI'nın Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Katkıları ve yardımlarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım boyunca her türlü fedakarlığı gösterip yanımda olan, desteğini hep hissettiğim ailem başta olmak üzere, değerli arkadaşlarıma sevgilerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	x
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. TEMEL BİLGİLER.....	5
2.1. Biyomateryaller.....	5
2.1.1. Biyouyumluluk	6
2.2. Hidrojeller	7
2.2.1. Biyomedikal alanda kullanılan hidrojeller.....	9
2.3. Kontrollü Salım Sistemleri.....	13
2.3.1. Kontrollü salım sistemleri için tasarlanan hidrojeller.....	15
2.4. Antikanser (Antineoplastik) İlaçlar	18
2.4.1. 5-Fluorourasil.....	18
2.5. Taşıyıcı Materyallerden Aktif Molekül Salım Kinetiği	23
3. MATERYALLER	27
3.1. Materyaller	27
3.1.1. Kimyasal malzemeler	27
3.1.2. Cihazlar.....	27
3.2. Hidroksipropil Kitosanın Hazırlanması	28
3.3. p(HPM / PEG-MA/HPC) Hidrojel Filmlerinin Hazırlanması.....	28

	Sayfa
3.4. Hidrojellerin Karakterizasyonları.....	29
3.4.1. Hidrojellerin FTIR analizi	29
3.4.2. Hidrojellerin yüzey görüntüsü	30
3.4.3. Hidrojellerin denge su içeriği	30
3.4.4. Hidrojellerin yoğunluğu.....	30
3.4.5. Spesifik yüzey alanı	30
3.4.6. Hidrojellerin yüzey özellikleri	31
3.4.7. Hidrojel yapıda hazırlanan filmlerin geçirgenliğinin belirlenmesi.....	31
3.4.8. Kan uyumluluk ölçümleri	32
3.5. Hidrojel Film Formülasyonlarından 5-FU'nun Kontrollü Salım Çalışmaları	33
3.6. 5-FU Yüklü Hidrojel Formülasyonlarının Antitümör Aktivitesi	34
3.7. İstatistik Analiz	35
4. DENEYSEL SONUÇLAR	37
4.1. Hidrojellerin Sentezi ve Karakterizasyonu	37
4.1.1. p(HPM/PEG-MA/HPC) hidrojelinin SEM görüntüsü.....	38
4.1.2. p(HPM/PEG-MA/HPC) hidrojelinin FTIR analizi.....	39
4.1.3. Hidrojel formülasyonlarının denge su içerikleri.....	41
4.1.4. Hidrojel formülasyonlarının hidrofilitesi.....	43
4.1.5. Hidrojel fomülasyonlarının kan biyolojik uyumluluklarının belirlenmesi.....	44
4.2. Hidrojel Formülasyonlarına 5-FU Antikanser İlacının Yüklenmesi.....	48
4.3. Hidrojel Formülasyonlarından 5-FU Antikanser İlacının In Vitro Kontrollü Salım Çalışmaları	49
4.4. 5-FU Yüklü Hidrojel Formülasyonlarından Salınan İlacın Kansere Hücresinin Çoğalma Özellikleri Üzerine Olan Etkileri.....	55
5. SONUÇLAR.....	57
KAYNAKLAR	61
ÖZGEÇMİŞ	73

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Hazırlanan hidrojellerin formülasyonları	29
Çizelge 4.1. Farklı HPM:PEG-MA:HPC oranlarında sentezlenen hidrojellerin mekanik dayanıklılığına hidrojel hazırlama kompozisyonunun etkisi.....	38
Çizelge 4.2. Hidrojel örneklerinin su ile verdiği temas açısı değerleri.....	44
Çizelge 4.3. p(HPM/PEG-MAC)-1 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 hidrojel formülasyonlarının PT ve aPTT Zamanlarına Etkisi	47
Çizelge 4.4. p(HPM/PEG-MA)-1 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 hidrojel formülasyonlarının %hemoliz değerleri	47
Çizelge 4.5. p(HPM/PEG-MA)-1 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 hidrojin formülasyonlarının 5-FU'e karşı belirlenen geçirgenlik ve ilaç yükleme verimliliği	49
Çizelge 4.6. Düşük doz ilaç yüklü hidrojel formülasyonları için sıfırıncı ve birinci derece kinetik analizi.....	53
Çizelge 4.7. Düşük doz ilaç yüklü hidrojel formülasyonları için Higucci, Hixson-Crowell, ve Korsmeyer-Peppas kinetik analizi	54
Çizelge 4.8. Yüksek doz ilaç yüklü hidrojel formülasyonları için Sıfırıncı ve birinci derece kinetik analizi.....	54
Çizelge 4.9. Yüksek doz ilaç yüklü hidrojel formülasyonları için Higucci, Hixson-Crowell, and Korsmeyer-Peppas kinetik analizi	54
Çizelge 4.10. 5-FU salımı yapan hidrojellerin farklı formülasyonlarının varlığında Snu398 hücrelerinin hücre sayıları (Kültürün 6.gününde sayılmıştır). D0, 1. günde yerleştirilen hücrelerin başlangıç sayısını ve kontrol grubu ise, hidrojellerin hariç tutulduğu 6. gündeki hücre sayılarını temsil etmektedir.	56

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Hidrojellerin moleküler etkileşimlerinin şematik olarak gösterilmesi	8
Şekil 2.2. Kitinden kitosan elde edilmesi.....	10
Şekil 2.3. Kandaki ilaç derişiminin zamanla değişiminin kontrollü salım sistemleri ve alışılmış dozaj şekilleri için karşılaştırılması.....	14
Şekil 2.4. 5-Florourasil'in kimyasal yapısı	18
Şekil 2.5. a) Urasilin, b) 5-Florourasilin kimyasal yapısı	19
Şekil 2.6. 5-Florourasilin etki mekanizmasının şematik gösterimi	20
Şekil 4.1. p(HPM/PEG-MA/HPC)-4 hidrojel örneğinin FTIR spektrumu	40
Şekil 4.2. 5-FU yüklü p(HPM/PEG-MA/HPC)-4 hidrojel örneğinin FTIR spektrumu	41
Şekil 4.3. p(HPM/PEG-MA)-1, p(HPM/PEG-MA/HPC)-2, p(HPM/PEG-MA/HPC)-3, p(HPM/PEG-MA/HPC)-4, p(HPM/PEG-MA/HPC)-5 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 hidrojellerinin su içerisindeki şişme davranışları	42
Şekil 4.4. p(HPM/PEG-MA)-1, p(HPM/PEG-MA/HPC)-2, p(HPM/PEG-MA/HPC)-3, p(HPM/PEG-MA/HPC)-4, p(HPM/PEG-MA/HPC)-5 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 hidrojellerinin fizyolojik tampon içerisindeki şişme davranışları	43
Şekil 4.5. p(HPM/PEG-MA)-1 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 hidrojeline, albumin bağlanma miktarına başlangıç albumin derişiminin etkisi	45
Şekil 4.6. p(HPM/PEG-MA)-1 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 hidrojeline, fibrinojen bağlanma miktarına başlangıç fibrinojen derişiminin etkisi.....	45
Şekil 4.7. 20 µg/mL derişime sahip olan 5-FU için spektrum eğrisi	50
Şekil 4.8. 5-FU için elde edilen kalibrasyon eğrisi	50
Şekil 4.9. 35 mg/mL 5-FU yüklü p(HPM/PEG-MA)-1, p(HPM/PEG-MA/HPC)-2 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-3 hidrojel formülasyonlarından ilaç salımı	51
Şekil 4.10. 35 mg/mL 5-FU yüklü p(HPM/PEG-MA/HPC)-4, p(HPM/PEG-MA/HPC)-5 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 hidrojel formülasyonlarından ilaç salımı.....	52
Şekil 4.11. 70 mg/mL 5-FU yüklü p(HPM/PEG-MA)-1, p(HPM/PEG-MA/HPC)-2 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-3 hidrojel formülasyonlarından ilaç salımı	52

Şekil**Sayfa**

Şekil 4.12. 70 mg/mL 5-FU yüklü p(HPM/PEG-MA/HPC)-4, p(HPM/PEG-MA/HPC)-5 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 hidrojel formülasyonlarından ilaç salımı	53
--	----



RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Polimerik jel yapısının şematik gösterimi	7
Resim 2.2. Karbon nanotüp içeren hidrojel	9
Resim 4.1. p(HPM/PEG-MA/HPC)-2 hidrojelinin SEM görüntüsü	39



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklamalar

°C

Derece Celcius

t

Zaman

T

Sıcaklık

Kısaltmalar

Açıklamalar

5-FU

5-florourasil

aPTT

Aktif kısmi tromboplastin zamanı

DOX

Doksorubisin

EPR

Arttırılmış geçiş ve alıkonma

FTIR

Fourier Transform İnfrared Spektrometresi

HCC

Hepatoküller karsinoma

HEMA

2-hidroksietil metakrilat

HPC

Hidroksipropil kitosan

HPM

2-hidroksipropil metakrilat

HPMA

N-(2-hidroksipropil) metakrilamit

PEG

Polietilen glikol

PT

Protrombin zamanı

SEM

Taramalı Elektron Mikroskobu

UV

Ultraviyole

1. GİRİŞ

Biyomalzemelerin biyomedikal alanlarda kullanılmalarıyla çeşitli hastalıkların daha hızlı tedavi edilmesi ve daha konforlu bir yaşam tarzına kavuşma amacı doğrultusunda yapılan çalışmalar günümüze kadar süregelmiştir. Bu alanda yapılan çalışmaların büyük bir kısmı kontrollü olarak bazı biyolojik aktif maddelerin salımında kullanılmak üzere biyomalzeme tasarlamaya yöneliktir [1]. Biyomalzeme olarak hazırlanan polimerik yapının yüzey özellikleri, yüzey alanı, geometrik şekli uygulama yerine göre performansını belirleyen önemli parametreler arasında yer almaktadır. Ayrıca, canlı sistemlerde kullanılmak üzere hazırlanan biyomalzemelerin biyolojik uyumluluk özelliğinin yüzey özellikleri ile doğrudan ilgili olduğu çok sayıda araştırmacı tarafından rapor edilmiştir. Bu nedenle biyomalzeme sistemini oluşturan yapı taşlarının biyolojik uyumlu özelliklere sahip olması gerekmektedir. Bu doğrultuda kullanılacak biyomateryaller, doğal kökenli ve/veya yapıya daha uygun özellikler kazandırılmak üzere sentetik olarak hazırlanabilen polimerlerdir [2-7].

Biyomedikal alanda kontrollü olarak bazı biyolojik aktif maddelerin salımı ile ilgili çalışmaların temel amacı; salımı yapılan biyolojik aktif maddelerin konsantrasyonunu minimum düzeyde tutmak, dozajlama aralığını uzatmak, kişilerin zararlı ve diğer etkilerden etkilenmemesini mümkün kılarak yaşam kalitesini arttırmaktır. “*Kontrollü salım sistemleri*” bu beklentileri en iyi karşılayan sistemlerdir. Farklı türdeki hastalıkları etkili bir şekilde kontrol etme ihtiyacı, kontrollü ilaç salım kavramını ortaya çıkarmıştır. Lokal-özellikli kontrollü salım sistemi, klasik ilaç dağılım sisteminden daha farklı avantajlar sağlar. Vücudun belirli bölümlerine bunlardan bazıları ilacın sınırlandırılmış dağılımı, tedavinin devamlılığında güvenilirlik, ilaç kararlılığının artırılması, tedavi için gerekli ilaç miktarının azalması ve optimum ilaç adsorpsiyonudur [8]. Geleneksel tedavi yöntemlerinde, ilaç, hormon veya proteinin plazmada etkili dozda tutulabilmesi için ilgili maddenin sıklıkla alınması gerekmektedir. Kontrollü salım sistemlerinde ise istenilen dozda ilacın plazma içerisinde derişimi arzu edilen süre kadar sabit kalması sağlanmaktadır. Bu yolla, sürekli ilaç hormon ve protein alma gereksinimi ortadan kalkmaktadır [9]. Ayrıca sürekli salım sistemi vasıtası ile ilaç tedavisinin istenilen bölgede, organda ve hatta hücrede yapılmasının olası olduğu rapor edilmiştir. Kontrollü salım sistemlerinin kullanılması sonucunda toksik etkilerin en az düzeyde görülmesi, günlük

sürekli dozlarda ilaç alınımına gereksinim duyulmamasının hastaya büyük kolaylık sağladığı önceki çok sayıda çalışmalarda rapor edilmiştir [10].

Kontrollü salım, etkin bir ilacın bir sistem içerisinde istenilen sürede, belirlenmiş bir hızla ve gereken miktarda salımını sağlayacak şekilde tasarımının yapıldığı genellikle polimer sistemlerden oluşturulmaktadır. Kontrollü salımda iki ana bileşen vardır; bunlar aktif madde ve aktif maddenin salımını düzenleyen polimerik destek madde şeklindedir [11]. Hidrojellerin kontrollü salım sistemi olarak kullanımı üzerine çok sayıda çalışmalar bulunmaktadır. Kontrollü salım sistemlerinde kullanılan hidrojeller, genellikle üç boyutlu, ağ yapılı ve çapraz bağlı polimerlerdir. Hidrojeller, fazla miktarlarda su adsorplama kabiliyetine sahip üç boyutlu hidrofilik yapılardır. Şişen ağ yapının yüksek su içeriği ve yumuşak yapısından dolayı, ilaç salım uygulamalarında kullanıldığı gibi biyomateryal olarak da kullanılırlar. Bu yapılar hidrat halinde, yumuşak dokularinkine benzer su içeriğine sahiptirler ve bu nedenle yüksek biyoyumluluk gösterirler. Hidrojeller dış ortama bağlı şişme davranışı gösterirler. Uyarıya hassas bu hidrojeller, pH, iyonik şiddet, sıcaklık ve elektromagnetik ışımadaki değişimlere cevap olarak, geçirgenlik ya da mekanik güç gibi, ağ yapısının şişme davranışında önemli değişiklikler gösterirler [12-14]. Kontrollü salım sistemlerinde kullanılan biyomalzemeler, doğal veya sentetik olarak elde edilebilen polimerik makro-moleküllerdir. Hedef biyolojik molekül veya ilaç yüklü bu sistemlerin olası enfeksiyonları en aza indirmeleri sonucunda kardiyoloji, oftalmoloji, onkoloji ve immünoloji dahil olmak üzere çok çeşitli tıp uygulamalarının hemen her dalında etkili ve başarılı bir şekilde kullanımı sağlanmıştır.

Son dönemlerdeki araştırmalar, çoğu doğal kökenli olan biyoyumlu polimerler üzerine yoğunlaşmıştır [15, 16]. Kitosanın poli(N-izopropil akrilamid) ile oluşturduğu aşı kopolimer sıcaklığa duyarlı oftalmik (göz ile ilgili) ilaçların sürekli salımında kullanılmıştır [17]. Prabakaran ve diğerleri karboksimetil kitosana fosfatidiletanolaminin aşı kopolimerizasyonunu sodyum tripolifosfat çapraz bağlayıcısı varlığında gerçekleştirmişler ve elde edilen taşıyıcı desteği hidrofobik model ilaç olarak ketoprofen'in kontrollü salım çalışmalarında kullanmışlardır [18]. 2-hidroksietil metakrilat monomeri ve vinilbenzilpoli(etilen oksit) makromonomerinin kopolimerizasyonu ile sentezlenen hidrojel yapıdaki biyoyumlu membran ise vankomisin kontrollü salımında kullanılmak üzere hazırlanmıştır [19]. Bu kapsamda yapılan bir başka çalışmada ise ağ yapılı poli(hidroksietilmetakrilat)/kitosan membranından amoksilin salımı araştırılmıştır.

Biyouyumlu membranlardan amoksisilin salım çalışmalarından erişilen sonuçlardan, bu taşıyıcı sistemin biyomoleküller için kontrollü salım sistemi olarak kullanım potansiyelinin bulunduğu rapor edilmiştir [20].

Sunulan tez çalışmasında, biyomedikal alanda kontrollü salım alanında kullanılmak üzere model kanser ilacı olarak seçilen 5-florourasil için hidroksipropil kitosan makromonomeri içeren biyouyumlu poli(hidroksipropilmetakrilat/hidroksipropil kitosan), p(HPM/HPC) farklı formülasyonlarda polimerik taşıyıcı sistemin sentezlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda, kanser ilacının kontrollü salımında kullanılmak üzere hazırlanacak olan polimerik taşıyıcı sistemin mekanik dayanıma sahip, kimyasal ve mikrobiyal bozunmaya karşı dirençli olması hedeflenmiştir. Farklı monomer / polimer oranına sahip bir seri hidrojel kompozisyonu hazırlanarak, taşıyıcı sistemin hazırlanması işleminde monomer oranı, başlatıcı vb. sistem parametrelerin etkisi araştırılmıştır. Hazırlanan taşıyıcı hidrojel materyalinin yüzey yapısı taramalı elektron mikroskobu (SEM), yapıdaki grupların varlığı FTIR spektrumu ile belirlenmiştir. Hidrojelin karakterizasyon çalışmaları (denge su içeriği, yoğunluğu, geçirgenlik, hidrofilite, yüzey temas açısı, yüzey serbest enerjisi ve parametreleri vb.) araştırılarak tamamlanmıştır. Temas açısı ölçümleri, hazırlanan hidrojel materyallerin ıslanabilirliğini belirlemek için kullanılmıştır. Kurutulmuş hidrojel örneklerle, farklı test sıvıları durgun damlatma yöntemi ile damlatılarak, temas açısı değerleri dijital optik temas açısı ölçer cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Belirlenen temas açıları değerleri kullanılarak hidrojellerin yüzey enerjisi ve parametreleri hesaplanmıştır. Kontrollü salım sisteminde taşıyıcı destek materyali olarak kullanılan hidrojellerin biyouyumluluğu, önemli kan proteinlerine karşı göstereceği eğilim ve platelet adhezyonlarının belirlenmesi ile araştırılmıştır.

Tez çalışmasının ikinci aşamasında, kanser ilacının kontrollü salımında kullanılmak üzere hazırlanan taşıyıcı implant sistemine, model kanser ilacı olarak seçilen 5-florourasil farklı dozlarda yüklenerek kontrollü salımları sürekli sistemde takip edilmiştir. Bu amaçla, Hixson-Crowell, Korsmeyer-Peppas tarafından önerilen salım modelleri, sıfırıncı ve Higuchi eşitlikleri kullanılarak deneysel olarak elde edilen ilaç salım kinetiğinin uyduğu matematiksel model araştırılarak salım kinetiği ve ilgili model parametreleri belirlemiştir. Kullanılan hidrojellerin üzerine uygulanan hücre hattının bu biyomalzemeler üzerinde yaşama süreleri, hücrelerin morfolojileri ve hücrelere olan sitotoksik etkileri saptanmaya çalışılmıştır.

Bu çalışmadaki ikinci hedefimiz, 5-Florourasil içeren polimer hidrojellerin kanser tedavisinde kullanılabilirliğinin araştırılmasıdır. Yapılan hücre sayım testleri ile karaciğer kanseri hücre hattı Snu398'in çoğalmasının ilaç içeren hidrojellerin varlığında engellendiği gösterilmiştir. Bu sonuçlar, hidrojellerin ilaç taşıyıcısı olarak kullanıldığında karaciğer kanseri tedavisinin etkisini arttırma potansiyelinin olduğunu göstermiştir.



2. TEMEL BİLGİLER

2.1. Biyomateriyaller

Biyomalzemeler, insan vücudundaki herhangi bir organ, doku veya fonksiyonel kısmın tedavi edilmesi ya da tamamen değiştirilmesi için kullanılabilen doğal kökenli olabildiği gibi yapay olarak da üretilen malzemelerdir [21]. Biyomalzemeler, belirli bir fonksiyonu yerine getirmek üzere canlı sistemle vücut dışında (in vitro) veya içinde (in vivo) belli sürelerle temas eden malzeme ve cihazlarda yer alan tüm materyaller olarak da tanımlanabilir [22]. Biyomateriyallerin görevlerini yerine getirebilmeleri ve vücuda zararlı olmamaları için aşağıda sıralanan bazı özelliklere sahip olmaları gerekir. Bu özellikler şu şekilde sıralanabilir;

1. Dayanıklılık, esneklik, geçirgenlik, kristalinite, elektrik ve termal özellikler gibi fiziksel özellikler,
2. Saflaştırma, şekillendirme veya sterilize edilebilme gibi işletim ile ilgili özelliklere,
3. Uygulama süresince fiziksel özelliklerini ve fonksiyonlarını kaybetmemesi gibi kullanım ile ilgili özellikler ve
4. Kan pıhtılaşması, doku hasarı veya ölümü, alerjik tepki gibi konaklama reaksiyonları vermeyecek etkileşimi özelliklerine sahip olmalıdır.

Günümüzde yaygın olarak kullanılan biyomalzemeler; polimer, kompozit, metal ve alaşımları, seramikler, karbonlar, doğal dokular ve bazı biyolojik malzemelerden veya bu sayılanların yer aldığı bileşik yapılardan oluşmaktadır. Polimerler, şekillendirme, fabrikasyon ve sterilizasyon aşamalarındaki kolaylık, yığın ve yüzey özelliklerinin çeşitliliği dolayısı ile kompozit yapıların hazırlanmasının mümkün olması, yumuşak elastomerlerden, sert yapılara kadar farklı malzemelerin üretilmesi nedeni ile biyomateriyal olarak kullanımı en çok tercih edilen materyallerdir [25, 26]. Geçtiğimiz yıllarda, fiziksel ve mekanik özellikler, malzeme seçiminde belirleyici parametre iken; günümüzde bu malzemelerin gösterdiği biyolojik performans da önem kazanmıştır. Bu hedef, malzeme çalışmalarında fonksiyonellik kazandırılmış doğal yapıların (proteinler, polisakkaritler ve biyokompozitler) özellikle biyomedikal uygulamalarda kullanımını ön plana çıkarmıştır [23, 24].

Günümüzde suni kalp, suni böbrek, karaciğer destek üniteleri gibi birçok suni organ sisteminde, sistemin tamamı biyomateriyallerden üretilmektedir. Suni organ sistemleri dışında kalp kapakçıkları, kateterler, yapay damarlar, kemek, kas, doku protezleri şeklinde kullanılan sistemler de biyomateriyallerden imal edilmektedir. Bu sistemler vücut içine yerleştirilerek (implant) veya vücut dışında (ekstrakorporal) kullanılabilirler.

2.1.1. Biyouyumluluk

Biyouyumluluk, herhangi bir materyalin canlı dokular ile temas halindeyken, herhangi bir cevap oluşturmaması, lokal veya sistemik olarak toksit etki göstermemesi, konak tarafından yıkıma uğratılmaması anlamına gelmektedir [27]. Bir başka deyişle; materyalin kendine özgü uygulamaları sonrası, uygun konak doku cevabı oluşturabilme yeteneğidir [28].

Biyouyumluluk terimi, bir materyalin doku veya fizyolojik sistem üzerindeki yan etkilerini ve aynı zamanda fizyolojik çevrenin de materyal üzerindeki etkileşimini içermektedir. Bir materyal canlı dokulara yerleştirildiğinde karmaşık biyolojik sistemle materyal arasında bir etkileşim oluşmaktadır. Materyalin biyolojik olarak inert olması demek bu tarz etkileşimlerin olmaması demektir. Bu anlamda, inert materyal yoktur [28]. Herhangi bir materyalin biyouyumluluğu, materyalin türüne, yerleştirildiği bölgeye ve kendisinden beklenen fonksiyona bağlıdır [29].

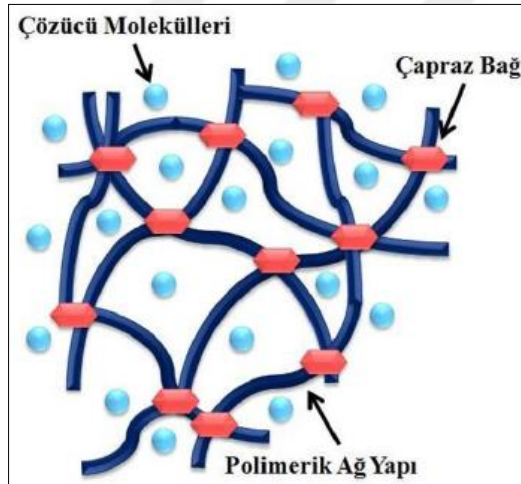
Biyouyumluluk, statik olmayan, dinamik ve devam eden bir durumdur. Vücut, hastalık veya yaşlanmanın etkisiyle, materyalde (implant) korozyon, yorulma ve çığneme kuvvetlerinin etkisiyle sürekli değişmektedir. Bu değişim, vücut ve materyal arasındaki cevaba da dinamizm kazandırmaktadır. Yukarıdaki şartların değişmesiyle başlangıçta biyouyumlu olan bir materyal, zamanla uyumsuz hale gelebilmektedir. Materyal, vücut ve fonksiyon arasındaki etkileşim sürekli olduğundan materyale karşı oluşan cevap da süreklilik göstermektedir [30].

Biyouyumluluk; implant olarak kullanılacak polimerin varlığı ile doku etrafında hiçbir şekilde bir reaksiyon oluşmaması demektir. Aslında istenen ve ideal olan, polimerin bu özelliğinin önceden yapılan in vitro testlerle saptanabilmesidir. Kullanılan tüm polimerlerin sürekli parçalanma özellikleri konusunda bilgi eksikliği ve kararlı bir

polimerin az olması, gerçek bir dokunun yerini alacak polimerik bir sistemin tasarımındaki ana kısıtlamadır. Kıkırdak, kemik, periodontal doku gibi birçok doku tipinin temel madde ekstraktlarının kollajen gibi doğal maddeler kullanılarak yeniden yapılabileceği in vivo olarak gösterilmiştir. Ancak doğal maddelerin mekanik kuvvetlerinin yetersiz olması üretimlerini zorlaştırmaktadır. Vücut dokuları ile temas eden biyomateryal ve sistemlerin (kateterler, kontak lensler, ekstrakorporeal sistemler ve diyaliz membranları) klinik uygulamaları modern tıpta hatırı sayılır derecede önemlidir. Bu sebeple gerçek bir dokunun yerini alacak polimerik bir sistemin tasarımı sırasında özellikle polimer kararlılığının sağlanması ve parçalanma problemlerinin ortadan kaldırılması gerekmektedir [31-34].

2.2. Hidrojeller

Hidrojeller, hem çapraz bağlı hem de su ile şişebilen üç boyutlu polimerik ağ yapılarıdır. Başka bir ifade ile hidrofilik polimer ağ yapısı ile ağ yapı içindeki sudan oluşan iki bileşenli sistemlerdir [35, 36]. Polimerik jelin ağ yapısı şekil 2.1’de gösterilmiştir.



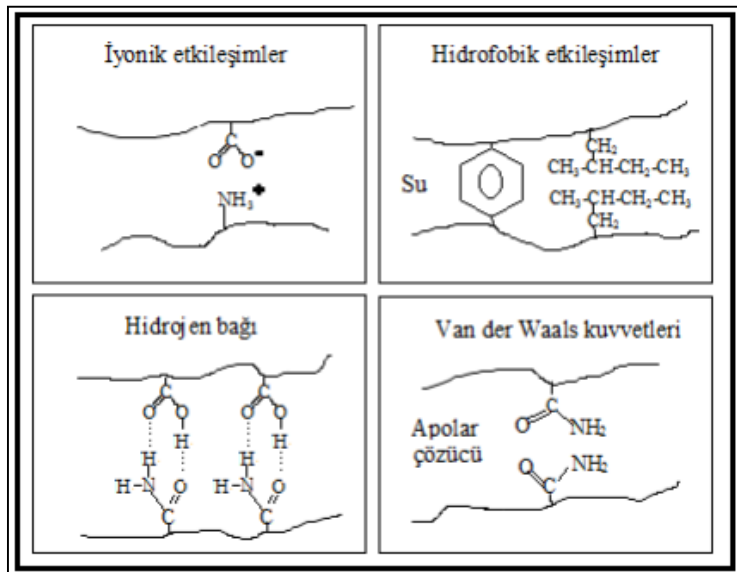
Resim 2.1. Polimerik jel yapısının şematik gösterimi

Hidrojellerin, çapraz bağlı olmaları ve ağ yapıları sebebiyle absorpsiyon ve şişebilme yetenekleri yüksektir. Aynı zamanda, kendi ağırlıklarından çok daha fazla ağırlığa sahip suyu yapısında adsorplayabilmektedir. Bu özellikleri onların zirai uygulamalarda su tutucu ajan ve yapay toprak olarak kullanılmakla birlikte, farmakolojide kontrollü ilaç salınım uygulamalarında, kayak alanlarının yapımında yapay kar, sağlıklı kişisel bakım ürünleri olarak kullanılmalarını sağlamaktadır. Bir başka özellikleri ise, su içeriğinin yüksek,

yapısının yumuşak ve elastik olmasıyla biyolojik dokulara benzemeleridir. Biyomalzeme alanında ise yapılarını aydınlatabilmek için kullanılan önemli bir malzeme dokuları taklit edebilmesidir [37-39].

Hidrojellerin jel olarak nitelendirilmesinin nedeni, dışarıdan gelen sinyallere, şeklini veya özelliklerini değiştirerek cevap verebilmeleridir. Akıllı jeller farklı çevre koşullarına (pH, sıcaklık, çözelti derişimi, çözücü, ışık, UV, elektrik alan, manyetik alan) olan duyarlılıklarına göre sınıflandırılır. Bu özelliklerinden dolayı hidrojeller, yapay organ üretimi, robotik aletler için yapay kas üretimi gibi gelecek vaat eden farklı birçok teknolojik uygulama alanlarına sahiptir.

Hidrojellerin üç boyutlu yapısı kimyasal bağlar ya da iyonik etkileşim, hidrojen bağı, fiziksel etkileşimler, van der Waals kuvvetleri, hidrofobik etkileşimler gibi kohezyon kuvvetleri aracılığıyla gerçekleşir (Şekil 2.1) [39]. Hidrofobik etkileşimler, fiziksel çapraz bağ benzeri etkileşimler olduğundan jelin şişme davranışını doğrudan etkilemektedir. Hidrojeller, çapraz bağlayıcı varlığında hidrofilik monomerlerin polimerizasyonu ile ya da hidrofilik polimer zincirlerinin çapraz bağlanmasıyla elde edilebilir. Hidrojellerin çözünmemesi, yapısındaki kimyasal ya da fiziksel çapraz bağların sonucu iken; yapısına çok miktarda su alması, suyu seven (hidrofilik) karakteri ve ağ şeklindeki gözenekli yapısından kaynaklanır. Hidrojellerin eşsiz özelliklerinden biri, izotropik şişmeye bağlı olarak şişme boyunca ve sonrasında orijinal şekillerini koruyabilme özelliğidir [38].



Şekil 2.1. Hidrojellerin moleküler etkileşimlerinin şematik olarak gösterilmesi

Hidrojeller yapısında $-OH$, $-NH_2$, $-COOH$, $-COOR$, vb. gibi polar ve su sever fonksiyonel gruplar içerir [40]. Bu gruplar su ile etkileşerek hidrojen bağları oluştururlar. Bağlı duruma geçen su moleküllerinin varlığı ile hidrofilik fonksiyonel gruplar çevresinde kütsel bir büyüme olur ve çapraz bağlı polimer şişmeye başlar. Hidrofilik grupların fazlalığı ile şişmenin miktarı arasında bir ilişki vardır [41-43]. Hidrojellerin diğr bir özelliğı, tek bir polimer jel molekülü olmasıdır. Diğr bir deyişle; jelin ağ zincirleri makroskopik ölçekte büyük bir molekül oluşturmak için birbirine bağlıdır. Bu hidrojeller ne tamamen sıvı, ne de tamamen katı durumdadır. Bu yarı sıvı benzeri, yarı katı benzeri özellik saf bir sıvıda ya da saf bir katıda bulunmayan farklı relaksiyon davranışına neden olur [44].

2.2.1. Biyomedikal alanda kullanılan hidrojeller

Hidrojeller, hidrofilik homopolimer veya kopolimerlerin suyla şişirilmesiyle oluşan üç boyutlu polimerik materyallerdir. Suda şişebilen çapraz bağlı hidrojeller farmasötik ve tıp alanlarında farklı uygulamalarda kullanılmaktadırlar. İlk çalışmalar Wichterle ve Lim tarafından 1954 yılında çapraz bağlı poli(2-hidroksietil metakrilat), p(HEMA), hidrojelleri üzerine yapılan çalışmalarla gerçekleştirilmiştir. Araştırmalar sonucunda hidrojellerin biyoyumlu olduklarını ve hidrofilik olduklarını belirlenmiştir [45].

Hidrojellerin biyoyumlu, hidrofilik ve esnek olmaları onların ilaç salım matriksi olarak kullanımlarını sağlayan özelliklerdir. Hidrojellerin kanla ve diğr vücut sıvılarıyla iyi uyum sağlamaları nedeni ile, kontak lens, yara örtü bezleri, ve canlı yüzeyleri kaplama gibi uygulama alanları bulunmaktadır. Doğal ve sentetik kökenli polimerler yara örtü bezleri olarak ve özellikle son zamanlarda, doku mühendisliğinde, çeşitli dokuların ve organların onarılması veya tekrar yenilenmesi amacı ile destek materyali olarak kullanılmaktadırlar [46-49].

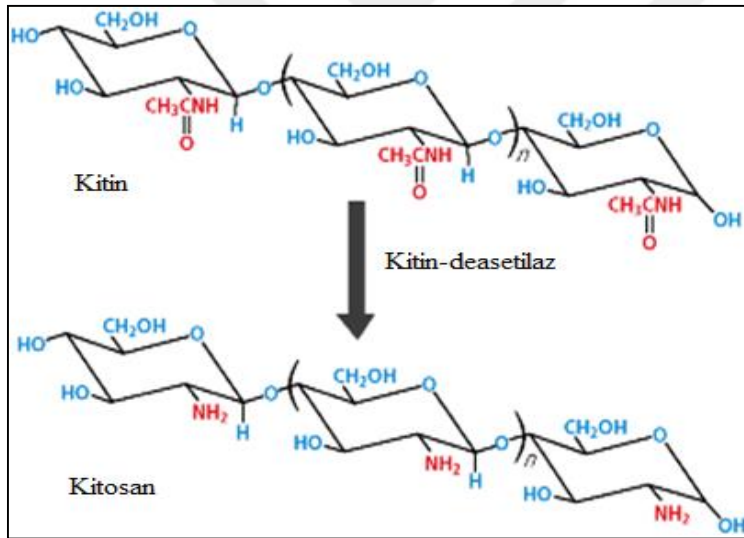


Resim 2.2. Karbon nanotüp içeren hidrojel

Kitosan

Kitin, poly-(164)-N-asetil-D-glukozamin yapısında olan, yapısı selüloza benzeyen ve selülozdan sonra dünyada en yaygın olarak bulunan ikinci yenilebilir biyopolimerdir [50]. Doğada mantar hücre duvarının, kabuklular (yengeç, ıstakoz, karides gibi) ve karıncalarla kelebeklerin dahil olduğu böcekler gibi eklembacaklıların dış iskeletinin, yumuşakçaların radulalarının (dişli dil) ve ahtapotla mürekkepbalığının dahil olduğu kafadan bacaklıların ağız kısmının ana bileşenidir.

Kitinin birçok türevi bulunmakla beraber, bunlar arasında en önemlisi kitosandır. Kitosan, kitinin alkalın deasetilasyonu ile elde edilen (Şekil 2.2) amorf yapıda bir poliaminosakkarit ve doğal olarak meydana gelebilen birkaç katyonik polielektrolitten biridir [51, 52].



Şekil 2.2. Kitinden kitosan elde edilmesi

Kitosan, kitinin deasetilasyonu ile elde edildiği için molekül kütlesi daha düşüktür (1×10^5 - 3×10^5) ve buna bağlı olarak da seyreltik asidik ortamda geniş bir viskozite aralığı vardır. Suda çözünmeyen kitosan, moleküldeki amino gruplarının varlığından dolayı asidik çözeltilerde kolayca çözünür. Kitosanın yapısında bulunan amino grupları kitosanı katyonik bir polielektrolit haline getirmektedir. Doğal bir polimer olan kitosanın suda şişebilmesi, viskoz çözelti oluşturabilmesi ve jel formuna geçebilmeleri gibi özelliklere sahip olması, çok sayıda farklı alanlardaki endüstriyel ürün üretiminde kullanılabilmesine olanak sağlamaktadır [53, 54]. Ayrıca kitosanın biyoyumlu bir polimer olması, antimikrobiyal özelliği, biyolojik ortamlarda parçalanıp zararsız ürünlere dönüşebilmeleri,

proteinlere olan yüksek ilgileri, bakteri, tümör ve kolesterol karşıtı etkinliğe sahip oluşları, kullanım alanlarını daha da genişletmektedir. Polianyonlarla agregasyonu ve asidik çözeltide çözünürlüğü, kitosanın iyi bir jel oluşturma kapasitesine sahip olduğunun göstergesidir. Farklı geometrilerde hazırlanabilen kitosanın çok sayıda hidroksil grubu sayesinde gösterdiği yüksek hidrofilite, taşıdığı çok sayıda amin grubu ile sunduğu yüksek aktivite ve polimer zincirinin esnek yapısı sayesinde metal iyonları ile uygun konformasyon oluşturabilmesi gibi özellikleri, bu polimerin kullanılabilirliğini artıran diğer önemli özellikleridir [54].

Kitosan ayrıca, yara iyileşmesinde fibroplaziyi engelleyerek doku gelişimi, farklılaşması ve yeniden yapılanmasını teşvik eden doğal bir polimerdir [55]. Genel olarak kitosanın yara iyileşmesini hızlandırıcı etkisi, fibröz doku oluşumunu engellemesi ve organize olmuş dokunun yeniden yapılanmasını desteklenmesi ile açıklanmıştır. Reynold ve diğerleri, 1960 yılında şeker yapısındaki N-asetilglukozamin monomerinin yara iyileşmesine katkısının bilimsel temellerini açıklamışlardır [56].

Hidroksipropil kitosan

Kitosan pH 6,5'un altındaki seyreltik asit çözeltileri içerisinde çözünür olmasına rağmen, suda ve organik çözücülerin çoğunda çözünmez. Kitosanın bu zayıf çözünürlüğü bazı kullanım alanları için büyük bir sınırlayıcı unsurdur. Bu nedenle, kitosanın modifikasyon ve depolimerizasyon ile daha geniş bir pH aralığında suda çözünür türevlerinin elde etmesi önem kazanmıştır. Kitosanın çözünürlüğünün artırılması, kitosan türevleri ve oligomerlerinin farklı birçok alanlarda kullanımını da beraberinde getirmiştir. Örneğin, fosforile edilmiş kitosan hemorajik pnömoniye karşı önemli bir anti-inflamatuvar etki gösterirken, amino türevlendirilmiş katyonik kitosanlar, tümör hücre hatlarının çoğalması üzerine doza bağlı inhibisyon etkileri ortaya çıkarmaktadır. Kitosan sülfatlar antikoagülan aktiviteye sahip olduğu ve karboksimetil kitosan sülfatın, heparin ile yapısal benzerliği nedeniyle fibrinojene fibrine dönüşmesini engellediği rapor edilmiştir. Ayrıca, son yıllarda kimyasal fungisid ajanlarla ilgili sorunlara yönelik olarak kitosan türevlerinin antimikrobiyal aktivitelerinden yararlanıldığı bilinmektedir. Kitosanın kuaterner amonyum tuzlarının, kitosandan daha yüksek antibakteriyel aktivite sergilemesi bu amaçla kullanımını gerektiren uygulama alanların önemli bir üstünlük kazanmasına neden olmuştur [57-67].

Hidroksipropil kitosan (HPC), kitosanın birincil amin gruplarının özellikli kimyasal modifikasyonu sonucunda elde edilen fonksiyonel bir türevidir [68]. Son zamanlarda, yara iyileşmesi ve deri yanıklarında HPC temelli materyallerin potansiyel uygulamaları üzerine yapılan çalışmalar literatürde yer almaktadır [69]. Wang, HPC'nın yüksek bir antikoagülan etkiye sahip olduğunu ve HPC'na dayalı yapay göz yaşlarının klinik etkisi, göz kuruluğu hastalığında hidroksipropilmetilselüloz'dan daha iyi sonuç verdiğini rapor etmiştir [70, 71].

HPC'nın serbest hidroksipropil gruplarının keratin ile hidrojen bağı ve diğer zayıf bağlarla etkileşime girebileceği ve ilaç taşıyıcı ve salım sistemlerinin geliştirilmesine katkı sağlayacağı Sparavigna ve diğerleri tarafından literatürde rapor edilmiştir [71,72]. Bu araştırmacılar tarafından HPC tırnak cilasının, tırnak distrofinin belirtilerini ve bulgularını hafifletmeye yönelik bir tıbbi cihaz olarak tıp alanında kullanımına yönelik çalışmalar yürütülmüştür. HPC biyopolimer filminin tırnak yüzeyine uygulandığında koruyucu ve uzun süreli bir bariyer oluşturabilme özelliği gösterdiği ve onikomikozun önlenmesinde son derece önemli olduğu bilinmektedir. Ayrıca, herhangi bir farmakolojik veya toksikolojik etki göstermemesi diğer önemli avantajı olarak sunulmaktadır [72].

2-hidroksipropil metakrilat

2-hidroksipropil metakrilat (HPM) monomeri sulu ortamda çok yüksek çözünürlüğe sahip olmasına rağmen, polimerleri suda çözünmez. Hidroksipropil metakrilat monomeri, akrilik reçinelerin hazırlanmasında, kumaş dokumalarında bağlayıcı olarak ve deterjan madeni yağ katkı materyali olarak kullanılmaktadır. HPM monomerinin, sulu ortamda kolaylıkla hidrojel oluşturacak şekilde polimerleştirilebildiği, emülsiyon polimerizasyonu tekniği kullanılarak % 10'a kadar monomer içeriğe sahip poli(2-hidroksipropil metakrilat), pHPM, latekslerinin hazırlanmasının mümkün olduğu literatürde rapor edilmiştir [73]. 2-hidroksipropil metakrilat, hidroksidonör grubu ve karbonil kabul grubu içeren özel bir kimyasal yapıya sahiptir. 2-hidroksipropil metakrilat, ilacın ve biyomoleküllerin bağlanması, mekanik dayanımının ve fiziksel direncinin yüksek olması gibi yararlı özellikleri ve biyolojik uygulamaları nedeniyle oldukça dikkat çekmektedir. HPM monomerinin hidrofilik özelliği bu monomerin homo veya kopolimerlerinden hazırlanan hidjellerin kontrollü salım veya adsorpsiyon çalışmalarında başarı ile kullanılabilmesini mümkün kılmaktadır [73-75].

Doğal veya sentetik kökenli polimerler ilaç taşıyıcı sistemler olarak kullanılabilir. Akrilat kökenli polimerik hidrojeller biyomoleküllerin yüklenmesinde ve kontrollü salımında etkin bir şekilde kullanılabilir [74]. Polimer-ilac konjugantlarının kavramı, düşük molekül ağırlıklı ilaçların kanser hücreleri üzerindeki özgüllük eksikliğini gidermek amacıyla geliştirilmiştir. Kopecek, bu yaklaşımın endositik yolu lysosomotropic ilaç verilmesi için uygun olduğunu göstermişlerdir. HPM, taşıma esnasında stabil olan bir polimer ilaç bağlayıcı ihtiva eder ve konjugantın yeterli fiziko kimyasal özellikleri sayesinde (çözünürlük, biyolojik ortamda konformasyon) bir hedef hücrenin lizozomal bölmesine önceden belirlenmiş oranda ilacı serbest bırakmak mümkündür. Ayrıca hastalıklı hücre veya doku aktif (reseptör ligand) ya da pasif (patofizyolojik) mekanizmasını hedef alma özelliği vardır. Birçok ilaçların etkinliği kendi hücre içi konumuna bağlıdır. Bu kopolimer ilacın hücre içindeki konumlanmasına fayda sağlamaktadır [76].

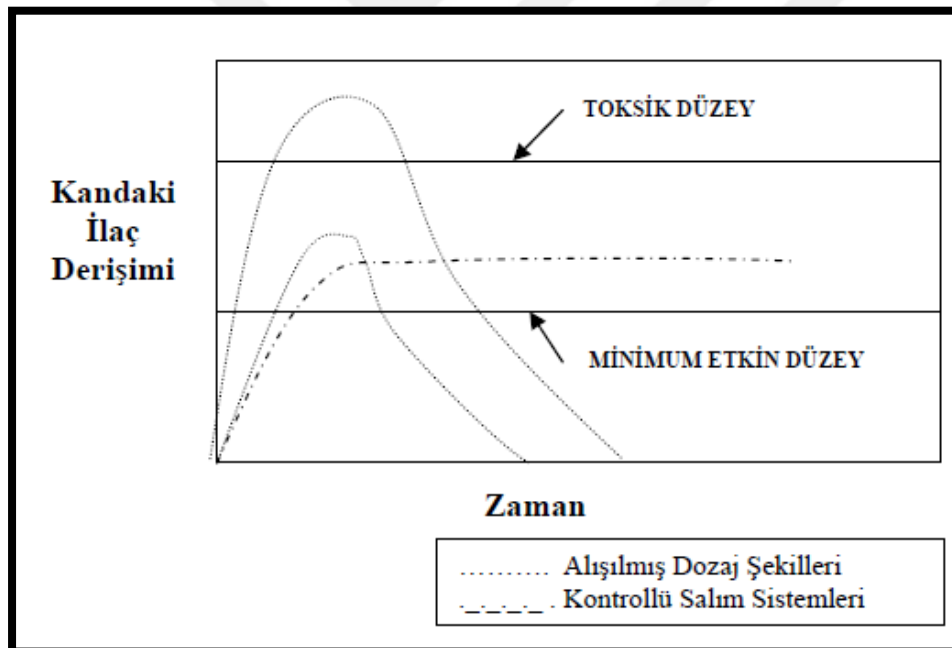
Düşük molekül ağırlıklı ilaçlara kıyasla polimer bağlı ilaçların avantajları;

- a) Sıvı faz pinositoza aktif alınımı veya reseptör aracılı endositoz
- b) Hedefleyerek tümör yerinde ilacın aktif birikimi artmıştır.
- c) Artan permeabilite ve yayılma (EPR) etkisi ile tümör bölgesinde ilacın pasif birikimi artmıştır.
- d) Kan dolaşımı sirkülasyonunun uzun ömürlü olmasını sağlar.
- e) Konjuge ilacın spesifik olmayan toksisitesi azaltır.
- f) Bağışıklık seferberlik faaliyetleri.

2.3. Kontrollü Salım Sistemleri

İlaç alanında birçok çalışma yapılmaktadır. Bu çalışmalarda amaç ilacın dozunu en düşük seviyede tutmak, dozlama aralığını uzatmak ve hastanın ilacın olumsuz etkilerini almasını önleyerek yüksek kalitede yaşamasını sağlamaktır. “*Kontrollü salım sistemleri*” olarak adlandırılan bu sistemler, beklentileri üst seviyede uygulamaktadır. Kardiyoloji, immünoloji, endokrinoloji, oftalmoloji ve onkoloji dahil olmak üzere bu yeni ilaç sistemleri birçok tıp alanında etkili olmuştur.

İlaç alımında sıklıkla kullanılan klasik yöntemler, tablet/kapsüllerin ağızdan alımı ya da enjeksiyon şeklindedir. Bu tip alışılmış dozaj şekillerinde ilacın plazma düzeyini etkili dozda tutabilmek için ilacın sık ve tekrarlanan dozlarda alınması gerekmektedir. Kandaki ilaç düzeyinin zamana karşı değişimini gösteren Şekil 2.3 incelendiğinde ilaç alımını takiben, başlangıçta kandaki ilaç derişiminin bir süre arttığı daha sonra çok kısa bir süre sabit kalarak hızla azaldığı görülmektedir. Alışılmış dozaj şekillerinde ilaç alındıktan bir süre sonra konsantrasyon düşer ve yeni bir doz uygulanarak etkin madde-plazma düzeyi etkili alanda tutulmaya çalışılır, tedavi ancak bu işlemin birçok defa tekrarlanmasıyla sağlanabilir. Derişimin düşme süresi, ilacın metabolize edilme, parçalanma ya da etki alanından uzaklaşma gibi nedenlerle vücuda yararsız hale gelme hızına bağlıdır, bu nedenlerden dolayı ilacın kan plazmasındaki derişimi etkin düzeyin altına düşebilir veya güvenilir düzeyin (toksik bölge) üzerine çıkabilir.



Şekil 2.3. Kandaki ilaç derişiminin zamanla değişiminin kontrollü salım sistemleri ve alışılmış dozaj şekilleri için karşılaştırılması

Etkin düzeyin altındaki ve toksik düzeydeki bölgeler yararlanılmamış ilaç miktarını ifade eder ve bu durum, hastada istenmeyen yan etkilere neden olur. Buna karşın, kontrollü salım sistemlerinde belirli bir doz alındıktan sonra etkin madde plazma düzeyi istenilen sürede (10-12 saat, bir gün, bir hafta veya bir yıl) sabit kalır. Bu yolla, hasta sık sık ilaç almaktan kurtulur, plazmanın etkin madde düzeyi değişmediği için de tedavi düşük dozda ve aynı seviyedeki aktif madde ile sağlanmış olur.

Kontrollü salım sistemlerinin son yıllardaki bu hızlı gelişimi, sadece sundukları avantajlara bağlı olarak açıklanmamalıdır. Yeni bir ilacın geliştirilmesi ve patentinin alınması 10 yıldan daha uzun süren araştırma ve geliştirme faaliyetlerini gerektirir. Bu nedenle ilaç firmaları araştırmalarını, yeni ilaç geliştirmek yerine var olan ilaçların kullanım ömrünü ve etkinliğini uzatmaya yöneltirler. Bunun nedenle kontrollü salım formülasyonları geliştirmektedirler. Bu alanda üretilen ilk ticari ürün, Spansules® olarak adlandırılmıştır. 1950’li yılların başında geliştirilen bu ürün, oral yolla alınan ilaçların etki süresini uzatmak için tasarlanmış olup çözünebilen kaplama materyaline sahip küçük kürelerden oluşur [77].

2.3.1. Kontrollü salım sistemleri için tasarlanan hidrojeller

Doğal ve yapay olarak çok sayıda hidrojel bulunmaktadır. Göz boşluğumuzu dolduran sıvı, kan damarlarının duvarları ve iskeletteki eklemlere hareket imkanı sağlayan akışkan, doğal jel yapısındadır. Yumuşaklıkları, elastik boşlukları, çok miktarda suyu emerek yapılarında tutabilmeleri ve vücutla uyumlu biyomalzemeler olarak sentezlenebilmelerinden dolayı hidrojeller; biyoteknolojik ve tıbbi uygulamalarda özellikle de kontrollü ilaç salım teknolojisinde yaygın olarak kullanılan çok önemli malzemelerdir.

Hidrojeller cerrahi işlem后会 sonra trombozu ve adhezyonları önlemede kullanılmaktadır ve mikro düzeyde üretilen hidrojeller biyosensör olarak da kullanılmaktadır. Günümüzde hidrojeller kıkırdak doku mühendisliğinde, oral hidrojel sistemlerinde, transdermal ve implante edilebilen cihazlarda ve BioMEMS cihazlarında önemli bir rol oynamaktadır. Bu uygulamalar arasında, hidrojel temelli ilaç salım sistemleri en önemli uygulama alanlarından birisini oluşturmaktadır [78].

Palazzo ve diğerleri 2005’te yaptıkları çalışmada, farklı gözenek derecelerindeki (%40 ve %60) sentetik hidroksiapatit parçacıklarının kontrollü ilaç taşıyıcı sistemler olarak kullanılabilirliğini araştırmışlardır. Parçacık gözeneklerinin etkisi, ilacın sterik olarak engellenmesi ve ilacın başlangıç konsantrasyon miktarı gibi durumların ilaç salımındaki rolünü İbuprofen-lysine ve Hidrokortizon Na-süksinat gibi antiinflamatuvar ilaçlar kullanarak incelemişlerdir [79].

Poli (akrilik asit), poli (metakrilik asit), poli (L-glutamik asit) gibi karboksil grupları içeren polimerler ve sülfonamid grupları içeren polimerler, ilaç salımı için tipik asidik pH duyarlı polimerler olarak kullanılmıştır [80-82]. Poli (2- (dimetilamino) etil metakrilat) ve poli (2-

(dietilamino) etil metakrilat), poli (2-vinilpiridin) gibi poli(tersiyer amin metakrilat) ve biyolojik olarak parçalanabilen poli (β -amino ester) ise ilaç taşıyıcı sistemi olarak kullanılan temel polielektrolitlere örnekler olarak verilebilir [84-86].

Özellikle, sentetik hidrojel, yüksek mekanik özelliği, biyobozunurluk, biyolojik uyumluluğunun ve kimyasal bileşiminin kontrol edilebilir olması nedeni ile bazı avantajlar sağlamaktadır [74,75].

Bu amaçla, reaktif gruplar içeren hidrofilik çok işlevli polimerler yaygın olarak çapraz bağlı hidrojel oluşturmak için kullanılmaktadır. Örnek olarak, polikondansasyon reaksiyonu ile hidrofilik çok fonksiyonlu poli (amik asit) (PAA) ve amino terminalli polietilen glikole dayanan, pH'a duyarlı hidrojel sentezi verilebilir. Donna T. Padavan ve diğerleri, PVA mekanik özelliklerini geliştirmek için bir PAA aşılana / çapraz bağlı poli (vinil alkol) (PVA) hidrojelini sentezlemiş ve PAA'nın biyoyuymululuk özelliğini araştırmışlardır [87, 88].

Kamada ve diğerleri pH'ye duyarlı poli (vinilpirolidon-kodimetil maleik anhidrid) (PVD) hidrojelini doxorubicin (DOX) ilacının yüklenmesi için taşıyıcı polimer olarak sentezlenmiştir [89]. pH'daki değişikliklere yanıt olarak biyomolekülün hidrojelden salım davranışı araştırılmıştır [89].

Dolatabadi-Farahani ve ark tarafından kolonspesifik ilaç salım sistemi için kitosan ile kaplanan aljinat-N, O karboksimetil kitosan (NOCC) jel kürecikleri hazırlanmış ve şişme davranışları araştırılmıştır. Hidrojin pH 7,4'de asidik pH değerlerine kıyasla önemli derecede yüksek şişme değerine sahip olduğun rapor edilmiştir [90]. Hidrojin şişme derecesinin, hidrojen bağı oluşumu ve polimer zincirlerinin fonksiyonel gruplarının iyonik etkileşimine bağlı olduğu gözlenmiştir.

Ende ve Peppas tarafından, poli (akrilik asit) (PAA) ve poli (akrilik asit-ko-2-hidroksietilin hidrojel metakrilat) [P (AA-co-HEMA)] hidrojel, farklı derecelerde hidrofilisite ve çapraz bağlanma yoğunluğuna sahip olacak şekilde hazırlanmış ve kontrollü salımında kullanım potansiyeli araştırılmıştır [92].

Yapılan bir başka çalışmada, poli (metakrilik asit-co-metakriloksietil glukosid) ve poli (metakrilik asit-glikol glikolid) hidrojelleri, insülin salım sistemi olarak kullanımı çalışılmıştır [92]. Hidrojellerin, asidik ortamda yavaş insülin salınımı gösterirken, alkali pH'da daha hızlı bir salıma sahip olduğu rapor etmişlerdir.

Klumb ve Horbett, tetraetilen glikol dimetakrilatın çapraz bağlayıcı olarak kullanıldığı, pH'ya duyarlı poli (2-hidroksietil metakrilat-ko-N, N-dimetilaminoetil metakrilat) katyonik polimerik hidrojelini sentezleyerek glükoz oksidaz enzimi için taşıyıcı sistem olarak kullanmışlardır. Hidrojinin şişme davranışının amin miktarı ile doğru orantılı arttığı, çapraz bağlayıcı konsantrasyonun artırılması ile ise azaldığı rapor etmişlerdir [93].

Kontrollü bir şekilde ilaç salınımını görmek için Angadi ve ark bir antitüberküloz ilaç olan izoniazidini taşıyıcı olarak kitosan ve hidroksietil selüloz polimer ağ yapı içerisine tutuklamışlardır. İlaç yükleme verimi % 50-66 aralığı olarak rapor edilmiştir. İlaçın taşıyıcı mikroküreden % 75 mertebesine kadar 16 saat süresince uzatılmış kümülatif salımı ile sonuçlandığını rapor etmişlerdir [94].

Changez ve diğerleri, doğal polimerden oluşan hidrojelden antibiyotiklerin kontrollü bir şekilde salımının göstermek için % 0,3 mol N, N-metilen bisakrilamid ve % 1.0 w / w glutaraldehit ile çapraz bağlı akrilik asit polimerlerini sentezlemişlerdir. Bu polimerler, vancomisin hidroklorid ve gentamisin sülfat ilaçları için taşıyıcı polimerik sistem olarak kullanılmıştır. Boş ve ilaç yüklü hidrojel implant, osteomyelitin tavşan tedavisinde uygulanmıştır [95].

Jiang ve diğerleri , poli (etilen glikol) -g-kitosan (PEG-g-CS) hidrojelini hazırlamışlar ve in vivo bozunum ve aşılınmış polimerden siklosporin A salımı ve sitotoksitesi çalışmalarının sonuçlarını rapor etmişlerdir. PEG-g-CS polimerinin, ilaç konsantrasyonu 3 mg/ml'nin altında olduğu zaman belirgin bir sitotoksite göstermediği görülmüştür. Hidrojelden, üç hafta boyunca siklosporin A'nın sürekli salımının gerçekleştiği ve beş haftadan fazla süre boyunca etkili ilaç konsantrasyonunu sağladığı rapor edilmiştir [96].

Hezaveh ve Muhamad, toksik olmayan, doğal kappakarajenan / polivinil alkol hidrojelini farklı çapraz bağlayıcı konsantrasyonlarında hazırlamış ve genipin yüklenmesi için kullanılmıştır. Elektron mikroskobu görüntüleri, çapraz bağlayıcının artmasıyla yüzey

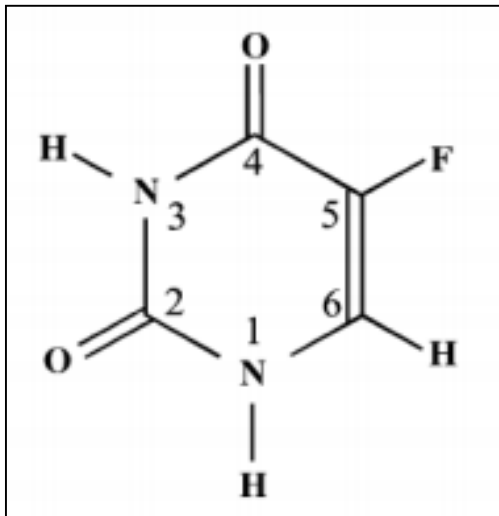
pürüzlülüğünün arttığını ortaya çıkarmıştır. Bu, çapraz bağlı jellerin daha az şişerek, malzeme difüzyonu engellediği ve dolayısıyla daha az ilaç salımına neden olduğu rapor edilmiştir [97].

2.4. Antikanser (Antineoplastik) İlaçlar

Antineoplastik kemoterapinin ana ilkesi, hastanın veya konakçının normal hücrelerine zarar vermeksizin tümör hücresinin büyümesini ve çoğalmasını durdurmak veya onları yok etmektir. Antineoplastik ilaçların kanser hücresine karşı selektiflikleri azdır. Kanser hücrelerini yok ettikleri gibi, hızlı bir biçimde çoğalmakta olan normal hücreleri de yok edebilirler. Bazılarının immünosüpresif etkileri vardır. Antineoplastik ilaçların terapötik indeksleri, antimikrobik ilaçlara göre genellikle çok düşüktür. Bu ilaçların mutajenik, teratojenik ve karsinojenik etkileri de vardır. Antineoplastik ilaçların ortak bir özelliği hemen hemen hepsinin hücre bölünmesini ve dolayısıyla çoğalmasını inhibe etmeleridir.

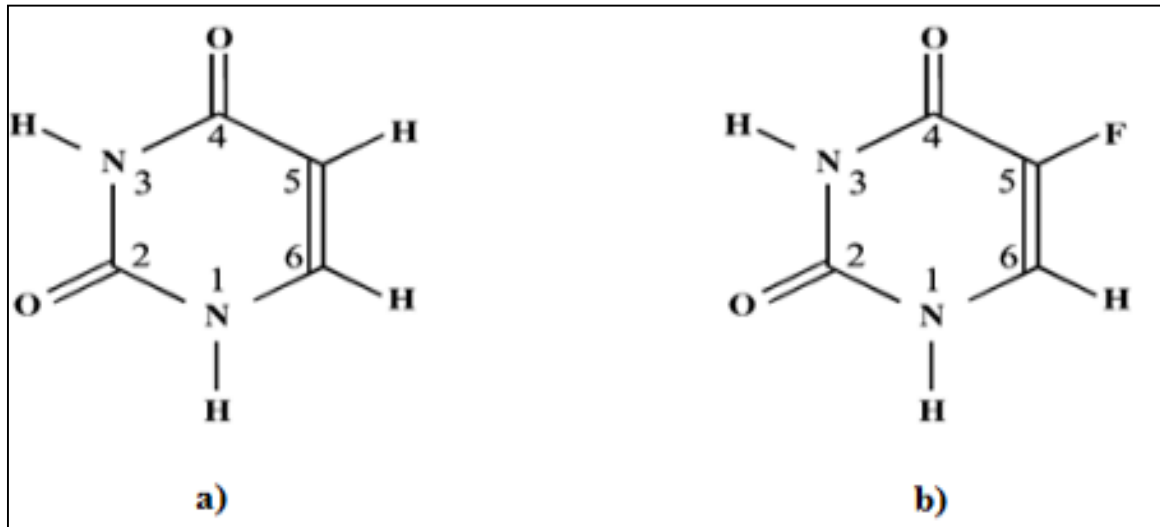
Antineoplastik ilaçların çoğu anti tümör etkilerini doğrudan DNA üzerine etki ederek veya hücre bölünmesini önleyerek gösterirler. İdeal bir kanser ilacı sadece tümör hücrelerini hedef almalı, sitotoksik veya sitostatik etki ile tümör çoğalmasını azaltmalıdır. Gerçekte spesifitenin az olması nedeniyle çoğu kanser ilacının normal hücre ve organlar üzerine de yan etkileri vardır [98, 99].

2.4.1. 5-Fluorourasil



Şekil 2.4. 5-Fluorourasil'in kimyasal yapısı

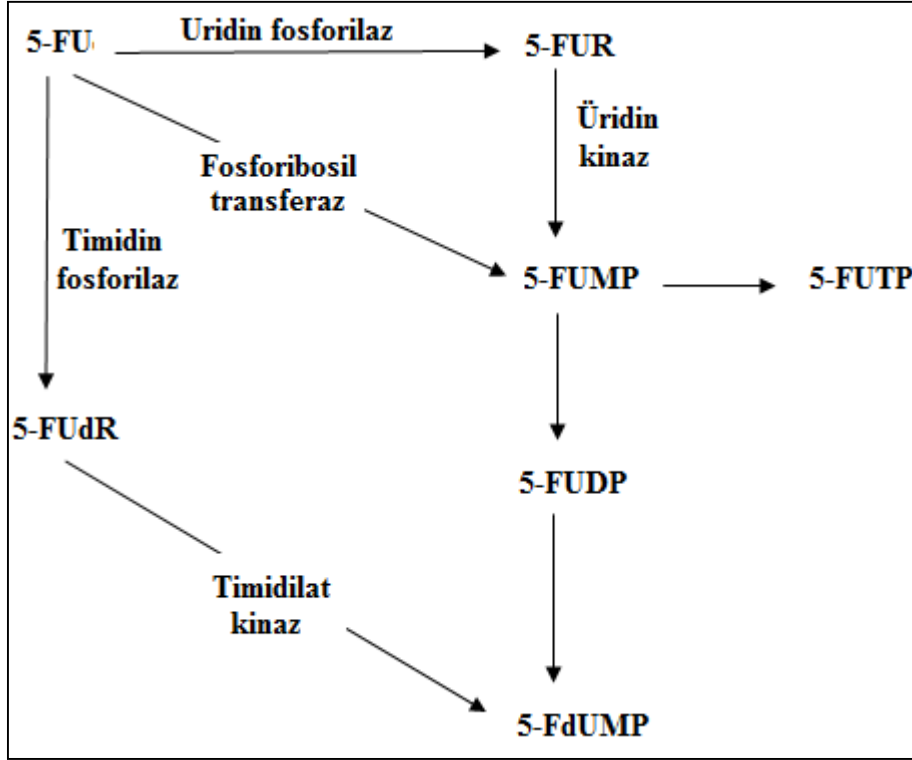
5-Florourasil (IUPAC ismi, 5-floro-1H-pirimidin-2,4-dion; Kapalı Formülü, $C_4H_3FN_2O_2$; Molekül kütlesi, 130,077 g/mol), pirimidinin florlanmış analogudur (Şekil 2.6). Tümör türlerinden bazılarında hücrelerin pirimidin bazlı olan urasili normal vücut hücrelerine göre daha fazla kullandığı gözlenmiştir. İlk olarak Dr. Charles Heidelberger tarafından 1950’li yıllarda urasilin C-5 konumundaki hidrojenin yerine flor gelmesiyle 5-florourasil sentezlenmiştir (Şekil 2.7).



Şekil 2.5. a) Urasilın, b) 5-Florourasilin kimyasal yapısı

Vücutta önce fluorouridilata ve daha sonra bir dezoksinukleotid olan flourodezoksiuridilata (5-fluoro-2’-dezoksiüridin 5’-monofosfat) yani FdUMP’ye dönüştürüldükten sonra etkinlik kazanır (Şekil 2.6) [100]. Bu aktif metabolit, folatlı kofaktör olan N^{5-10} metilentetrahidrofolat ile birlikte timidilat sentaz ile birleşerek üçlü kompleks yapar ve timidilat sentaz enzimini inhibe eder. Sonraki aşamada timidilat sentaz, Uridilat(dUMP)+ $CH_3 \rightarrow$ Timidilat(dTMP) reaksiyonunu katalize eder.

Timidilat (timin’in dezoksiribotid’i) oluşması azalınca, hücrede timin sentezi bozulmuş olur ve DNA sentezi duraklar. Fluorourasil, ikincil bir mekanizma ile de sitotoksik etki yapar. Fluorourasil’den vucutta oluşan fluorouridilat (FUMP), RNA yapısına katılır ve böylece RNA fonksiyonlarını ve protein sentezini bozar [101, 102]. 5-FU’nun en önemli antitümör etkisi timidilat sentazın inhibisyonu şeklinde açıklanabilir [103].



Şekil 2.6. 5-Florourasilin etki mekanizmasının şematik gösterimi

5-Fluorourasil'in kontrollü salım sistemlerinde kullanımı

Literatürde, 5-florourasilin kontrollü salımını çalışmak üzere geliştirilen kontrollü salım sistemleri rapor edilmiştir [102-129]. Fu ve diğerleri poli(D,L-laktik/glikolikasit) (PLGA) mikrokürelerine 5-fluorourasil antikanser ilacını püskürterek kurutma (spray drying) yöntemiyle yüklemişlerdir. Hazırlanan mikrokürelerin in vitro ortamda salım profilleri belirlenmiştir [104]. Zinutti ve diğerleri farklı ilaç/polimer oranları ve çözücü türlerinde 5-fluorourasil yüklü etilselüloz mikroküreleri hazırlamışlar, ilaç/polimer oranı ve çözücü türünün ilaç salımı üzerine etkisini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, çözücü olarak aseton yerine etanol kullanıldığında ilaç salımının daha hızlı gerçekleştiği ve 1/3 ilaç/polimer oranının 1/3 olduğu koşullarda, mikrokürelerden %90 oranında en yüksek ilaç salımının gerçekleştiği rapor edilmiştir [105]. Zhang ve diğerleri tarafından 5-fluorourasil içeren kitosan kaplı bovine serum albumin (BSA) mikrokürelerini hazırlayarak karakterize edilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda galaktosil kitosanla kaplanarak hazırlanmış BSA mikrokürelerinin karaciğer hedefli kontrollü ilaç salımı için umut vaat edici olduğunu gösterilmiştir [106]. Çiftçi ve diğerleri pasif olarak karaciğer kanseri tedavisinde kullanılması amacıyla çözücü buharlaştırma yöntemiyle hazırladıkları 5-fluorourasil içeren poli(DL-laktitko-glikolit), PLAGA, mikrokürelerin in vitro ve in vivo salım profillerini

incelemişlerdir. İlaç salımının tutuklanan ilaç miktarına, polimerin molekül ağırlığına ve çözünme ortamının pH'ına bağlı olduğunu bulmuşlardır [107]. Babu ve diğerleri N,N'-metilen bisakrilamid (NNMBA) ile çapraz bağlanmış poli(akrilamid-metilmetakrilat) polimerik mikrokürelerini, değişik miktarlarda akrilamid (AAm), metilmetakrilat (MMA) ve NNMBA kullanılarak serbest radikal emülsiyon polimerleşmesi ile hazırlamışlardır. 5-fluorourasil, mikrokürelere polimerleşme sırasında ve adsorpsiyon tekniğiyle olmak üzere iki farklı yöntem ile yüklenmiştir. In vitro ilaç salımı, parçacık boyutu ve salım kinetiğinin; kopolimer bileşimine, kullanılan çapraz bağlayıcı miktarına ve mikrokürelerdeki 5-fluorourasilin miktarına bağlı olduğu sonucuna ulaşmışlardır [108]. Zinutti ve diğerleri buharlaştırma/ekstraksiyon yöntemiyle hazırladıkları 5-fluorourasil yüklü etilselüloz mikrokürelerinin, tavşanlardaki absorpsiyon karakteristiğini incelemişlerdir. 5-fluorourasil hem damar içine enjekte edilerek hem oral olarak hem de mikroküre halinde oral olarak tavşanlara uygulanmış ve çalışma sonucunda istatistiksel olarak iki oral tedavi arasında belirgin farklılıkların olduğu rapor edilmiştir [109]. Daoyong ve diğerleri antikanser ilaç 5-fluorourasil (5-FU) için yeni bir taşıyıcı olarak metoksi modifiye kaolinit kullanmışlardır. Metoksi modifiye kaolinitin ara tabakası alanına 5 FU'nun seçici yüklenmesi sağlanmıştır. Eklenen 5FU, katyonitin ara yüzeyi ile kuvvetli afiniteye (elektrostatik kuvvet ve hidrojen bağlama) sahiptir. Kolonik sıvıdaki (pH 5,5) modifiye edilmiş metoksi kaolinitten 5 FU'nun kontrollü salımı çalışılmıştır [110]. Liangliang ve diğerleri, kitosan / kondroitin sülfat kompleksi mikrokapsülleri, anti-kanser ilacı olan 5-fluorourasili, emülsiyon-kimyasal çapraz bağlama yöntemi ile kapsüllemek üzere hazırlamışlardır. Kızıl ötesi spektroskopi (IR), taramalı elektron mikroskopisi (SEM) ile birlikte enerji dağılımlı X-ışını spektrometresi (EDS) ve lazer kırınım parçacık boyutu analizleri ile mikrokapsülleri karakterize etmişlerdir. Mikrokapsüllerden 5-FU'nun in vitro ilaç salınım davranışını UV-görünür spektrofotometre ile incelemişlerdir. Mikrokapsüllerin salım performansının, çapraz bağlama reaktif miktarına, yüklenen ilaç miktarına ve salım ortamının pH'ı ile önemli derecede etkilendiği ilacın salım kinetiği çalışmalarından belirlenmiştir [111]. Marcin ve diğerleri, 5-Fluorourasil'in (5FU) alifatik poliamit üretanlardan (PUR) kontrollü olarak salımını in vitro koşullarda çalışılmışlardır. PUR'lardan 5-FU salımının oligoester ünitelerinin yapısına bağlı olduğunu bulmuşlardır [112]. Kunkun ve diğerleri, lizozim (Ly) ve sodyum karboksimetil selülozu (CMC), Ly'nin denaturasyon sıcaklığının sağlanması için basit ısıtma haricinde herhangi bir kimyasal işlem yapılmadan uygun bir yöntemle nanojellerin imalatı için kullanılmışlardır. Nanojellerin tutunma verimliliğini ve salınım yeteneğini araştırmak için model ilaç olarak 5-fluorourasil kullanılmıştır [113]. Thayyath

ve diğerleri, araştırmalarında, bir antikanser ilacı olan 5-Fluorouracil'in kontrollü salınması için aminlenmiş glisidilmetakrilat aşılınmış, selüloz aşılınmış polimetakrilik asit-süksinil siklodekstrin (Cell-g- (GMA / en) -PMA-SCD) kullanarak yeni bir ilaç dağıtım sisteminin geliştirilmesi ve değerlendirilmesi yönünde çalışmışlardır. MCF-7 (insan göğüs karsinoması) hücrelerinde sitotoksikite analizi ile, ilaç taşıyıcının hedef bölgeye ilacın sürekli ve kontrollü salınımını gösterdiğini belirlemişlerdir [114]. Raghavendra ve diğerleri, doğal *Lycopodium clavatum* (kurt pençesi) sporlarına yüklenen kemoterapötik ajan 5-fluorourasil'in üç farklı kapsülleme tekniği (pasif, sıkıştırma ve vakum yükleme) ile hazırlanmıştır. Araştırmaları sonucunda, EUD polimeri ile kaplı 5-FU yüklü doğal *L. clavatum* sporlarının gastrointestinal kanser ve diğer ilgili hastalıklara karşı tedavi seçeneklerine yardımcı olacak kontrollü bir salınım formülasyonu sağladığını rapor etmişlerdir [115]. Hamid ve diğerleri, çalışmalarında, polidopamin kullanarak manyetik moleküler baskılanmış polimer (MIP) sentezlemişlerdir. Balb / c farelerinde harici bir manyetik alan varlığında spontan bir meme adenokarsinom modelinde kontrollü 5-fluorourasil (5-FU) salınımı için sentezlenmiş olan MIP'i kullanılmışlardır. Elde ettikleri sonuçlar, manyetik alanlı 5-FU-IP ile tedavi edilen grupta 5-FU'nun belirgin şekilde çökmesini göstermiştir. Bu nedenle, manyetik 5-FU-IP'nin meme kanseri tedavisinde kullanılmasında umut verici olduğunu göstermişlerdir [116]. Antonio ve diğerleri, 5-Fluorourasil (5-FU) ve Temozolomid (TMZ) 'nin eş zamanlı kapsüllenmesi ve kontrollü salınımı sağlamak için, kitosan, alginik ve poligalakturonik asit kullanarak kompleksleştirme yöntemi ile polisakarit esaslı nanokompleksler geliştirmişlerdir. Araştırmalarında, yüklenen ilaçların miktarının ve salınım hızının, polisakaritlerin ağırlık oranı ve ortamın pH'sı ile bağlantılı olduğunu ileri sürmüşlerdir [117]. Antonio ve diğerleri, aynı anda iki antikanser ilacı olan doksorubisin ve 5-Fluorourasil yüklenmesinin yanı sıra serbest bırakılmalarını kontrol altına alarak başlangıç salınımını azaltmak amacıyla karboksi modifiye polilaktik asit (SPLA) ile aşılınan kitosana dayanan nanokompleksler hazırlamışlardır. Araştırmaları sonucunda, nanokomplekslerin çaplarının ve potansiyellerinin sırasıyla 120-200 nm ve 20-37 mV aralığında olduğunu ortaya koymuşlardır. SEM ve TEM analizleri ile de, nanokomplekslerin küresel şeklini ve boyutlarını doğrulamışlardır [118]. Li ve diğerleri, biyolojik olarak parçalanabilir nano-ilac taşıyıcı sistemlerin sürekli salım özelliklerini vücuttaki kemoterapötik maddenin kalış süresini iyileştirmek için kullanmışlardır. Bu ilaç dağıtım sistemlerini, kemoterapötik ilaç olan 5-Fluorourasil yüklü kitosan nanopartiküllerinin salınımı için kullanmışlardır [119]. Suriyakala P. ve diğerleri, çalışmalarında, kolorektal kanseri tedavi etmek için 5-

Fluorourasil'in hemoterapi olarak kullanılmasının zorluklarına değinmişler ve 5-Fluorourasil'in geliştirilmiş terapötik sonucu için nano ilaç dağıtım sisteminin etkilerini tartışmışlardır [120].

2.5. Taşıyıcı Materyallerden Aktif Molekül Salım Kinetiği

Hidrojellerden biyoaktif molekül salım mekanizması hidrofobik polimerden çok farklıdır. Hem basit hem de komplike modeller öncelikle zamanın bir fonksiyonu olarak bir hidrojelden, aktif bir biyomolekül ajanının salımını önceden anlamak için geliştirilmiş teorik modellerdir. Bu modeller, i) Difüzyon, ii) Şişme ve iii) kimyasal olarak kontrollü olarak sınıflandırılmaktadır [121]. Difüzyon kontrollü sistemler, hidrojellerden ilaç salımının tanımlanması için en yaygın kullanılan mekanizmadır ve Fick'in difüzyon kanunu kontrollü salım sistemi için tanımlayıcı bir model olarak kullanılır [121]. Şişme kontrollü salım, ilacın difüzyonu hidrojel şişmesinden daha hızlı olduğu zaman geçerlidir. Hidroksi propil metilselüloz hidrojel tabletlerden çoğu küçük ilaç moleküllerin salımı yaygın olarak, bu mekanizma kullanılarak modellenmektedir [122, 123]. Kimyasal olarak kontrollü salım, taşıyıcı matrikste meydana gelen reaksiyonlarla kesin salınan molekülü tanımlamak için kullanılır. Hidrojel taşıyıcı sistemleri ile meydana gelen en yaygın reaksiyonlar, hidrolitik ya da enzimatik indirgenme veya hidrojel matriks ve salınana ilaç arasında meydana gelen tersinir ya da tersinmez reaksiyonlar yoluyla polimer zincirlerinin ayrılması şeklindedir. Belirli şartlar altında, hidrojellerin yığın veya yüzey aşınması ilaç salım hızı ile kontrol edilebilir.

Kontrollü salımın matematiksel modellemesi, polimerden çözünür maddenin salım hızının ve difüzyon davranışının önceden belirlenmesinde kullanılmaktadır. Teorik olarak üretilen salım kinetik modelleri ile deneysel olarak elde edilen salım verilerinin değerlendirilmesi sonucunda, aktif molekülün salımına yönelik fiziksel mekanizmaları açıklanabilmektedir [124-128].

Kontrollü ilaç salım sistemlerinde salım mekanizmasının aydınlatılmasında kullanılan ve Hixson-Crowell tarafından önerilen karekök salım modeli, yaygın olarak kullanılan kinetik eşitliklerden bir tanesi olarak bilinmektedir [129]. Bu modelde, salım hızına etki eden en önemli parametre aktif molekülün (ilacın) konsantrasyonu, ilaç taşıyıcı sistemin yüzey alanı ve karıştırma olduğunu ileri sürülmüştür [129].

$$100^{1/3} - M^{1/3} = K_{HC} t \quad (2.1)$$

Bu eşitlikte yer alan K_{HC} , karekök salım hız sabitini ve M , ise t anında salınmadan kalan ilacın yüzdesini ifade etmektedir.

Salım mekanizmalarının aydınlatılması amacı ile öne sürülen bir diğer yaklaşım olan Korsmeyer-Peppas modeli ise polimerik sistemlerden ilaç salım davranışlarının belirlenmesinde sıklıkla uygulanan bir modeldir [130].

$$M_t / M_{\infty} = K_{KP} t^n \quad (2.2)$$

Bu eşitlikte, M_t t süresinde salınan aktif molekül miktarını, M_{∞} salınan aktif molekülün ortamdaki bakiye miktarını, K_{KP} belirli bir sistem için yapısal/geometrik sabiti ve n ise salım mekanizmasını gösteren üstel büyüktür.

Bu eşitlik genellikle, kontrollü salımı çalışılacak ilaç yüklü implantın geometrik şeklinden bağımsız olmak üzere, salımın tn ile doğrusal olarak değiştiği salım eğrilerin analizi için kullanılmaktadır. Kontrollü salım sistemlerinden elde edilen deneysel verilerin yukarıda verilen eşitliğe uygulanması ile elde edilen “ n ” salım parametresinin değeri salım mekanizması hakkında bilgi vermektedir. Bu modele göre “ n ” parametresinin 0,5’e eşit olması Fick’in difüzyon mekanizması (Durum I), $0,5 < n < 1,0$ aralığındaki değerlere sahip olması Fick olmayan (anormal geçiş) taşınım, 1’e eşit olması halinde sıfırıncı-derece (Durum II) ve $n > 1,0$ olması durumunda ise özel durum II (Supercase II) aktarım mekanizmaları ile tanımlanmaktadır [131].

Genellikle, salım mekanizmasında bir membrandan etkin maddenin difüzyonu veya etkin maddenin çözünmesiyle salım hızı önceden tasarlanabilmektedir. Difüzyon kontrollü ilaç salım sistemlerinde, etken maddenin salımı suda çözünmeyen bir polimerin difüzyonu ile kontrol edilir. Bu sistemlerde etken maddenin polimerik membrandan difüzyonu hız sınırlayıcı basamaktır ve etken madde salımı Fick difüzyon eşitliği ile tayin edilmektedir. Membran sistemlerden etken madde salımı sıfırıncı derece kinetikle sağlanmaktadır yani maddenin sistemden salımı süresince salım hızı sürekli sabittir, değişmez.

Kontrollü ilaç salım sistemlerinde ilacın salım kinetiğinin araştırılmasında matematiksel modellemeler arasında yaygın olarak kullanılan sıfırıncı ve birinci derece eşitliği.

$$M_t = M_\infty k_o t \quad (2.3)$$

$$M_t = M_\infty e^{k t} \quad (2.4)$$

olarak verilmektedir [131]. Bu eşitlikte M_t , t anında salınan ilacın miktarını; k_o ve k , sıfırcı ve birinci derece salım hız sabitini göstermektedir.

Çözünmeyen ve biyolojik olarak bozunmayan matrislerden ilaçların difüzyon kontrollü salımı için Higuchi eşitliği kullanılmaktadır. Matrisin homojen veya heterojen oluşu ve matrisin geometrisi gibi koşullara bağlı olarak Higuchi Eşitliğinin farklı formülasyonları kullanılmaktadır [132]. Homojen matrikse sahip olan düzlemsel bir sistemden aktif maddenin salımına ilişkin Higuchi eşitliği aşağıda ifade edildiği şekli ile veya daha basitleştirilmiş olarak Eşitlik 2.5 ile verilmektedir.

$$M_t = M_\infty k_H t^{1/2} \quad (2.5)$$

Eşitlikte yer alan k_H , Higuchi salım hız sabitidir.



3. MATERYALLER

3.1. Materyaller

3.1.1. Kimyasal malzemeler

2-hidroksipropil metakrilat (HPM), polietilen glikol-metileter metakrilat (PEG-MA; ortalama molekül kütlesi, 300: ortalama PEG zincir uzunluğu), α,α -bis azobisizobutironitril (AIBN), kitosan Sigma-Aldrich Chemicals GmbH (Almanya) 'dan elde edildi. İnsan serum albumini (HSA), insan immüno-globulinleri (Ig) ve fibrinojen, Sigma-Aldrich'den tedarik edildi ve alındığı gibi kullanıldı. 5-Florourasil, 5-FU, Fresenius Ltd., İngiltere tarafından tedarik edildi ve alındığı gibi kullanıldı. Kimyasal formülü Şekil 2.6'da gösterilmiştir. Diğer tüm kimyasallar analitik saflık derecesinde olup ve Merck AG (Darmstadt, Almanya) 'dan temin edilmiştir.

3.1.2. Cihazlar

UV-VIS spektrofotometre

Sulu ortamdan antikanser ilacı 5-FU ve kan proteini adsorpsiyonu çalışmalarında deney ortamındaki başlangıç ve bakiye protein miktarları, UV-VIS spektrofotometre (PG Instrument Ltd., Model T80+; PRC) ile belirlendi.

FTIR spektrofotometre

Hidrojel örneklerinin FTIR spektrumları, FTIR spektrometre (Mattson 1000 FTIR, İngiltere) kullanılarak elde edildi. Burada kullanılacak tabletler 0.1 g kuru partikül ve 0.1 g KBr karıştırılarak elde edildi ve spektrumları alındı.

Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

Vakum etüvünde kurutulmuş hidrojel örneği, azaltılmış basınç altında altın ile kaplandı ve elektron mikrografları JEOL (JSM 5600) taramalı elektron mikroskobu kullanılarak elde edildi.

3.2. Hidroksipropil Kitosanın Hazırlanması

Kitosanın biyouyumluluk özelliğini iyileştirmek için, kitosanın suda çözünür bir türevi olan hidroksipropil kitosan (HPC) literatürde verilen yöntem kullanılarak hazırlandı [133, 134]. Kitosanın modifikasyonu için, 2 g kitosan polimeri NaOH çözeltisi (% 50' lik) içerisinde oda sıcaklığında bekletilerek şişmesi sağlandı. Kitosan polimeri bu işlem basamağının ardından, alkalizasyon için 12 saat süresi boyunca -18 °C'de NaOH çözeltisi içerisinde bekletildi. Alkali hale getirilen kitosan reaktöre aktararak, izopropil alkol ilave edildi ve 40 °C'de 1.0 saat süresince inkübe edildi. Bu işlem basamağının ardından kitosanın bulunduğu reaktöre propilen epoksit ilave edildi ve 2 saat süresince 60 °C de geri soğutucu altında sürekli karıştırılarak distillendi. Reaksiyon karışımının pH'ı mineral asit çözeltisi (HCl; 1:1 (v/v)) kullanılarak 7,0'ye ayarlandı. Reaksiyon tamamlandıktan sonra modifiye edilerek türevlendirilen kitosan polimeri süzüldü ve hidroksipropil kitosan ürünü sırası ile aseton, mutlak alkol ve % 75'lik (v/v) alkol ile yıkandı ve vakum etüvünde 60 °C'de kurutuldu.

3.3. p(HPM / PEG-MA/HPC) Hidrojel Filmlerinin Hazırlanması

Biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak kullanılan PEG-MA makromonomeri, 2-hidroksipropil metakrilat (HPM) monomeri ve kitosanın modifikasyonu ile sentezlenen hidroksipropilkitosan (HPC) polimerinin azobisisobutironitril (AIBN) başlatıcısı varlığında UV-ışığı fotopolimerizasyonu yöntemi ile poli(2-hidroksipropil metakrilat/polietilen glikol-metileter metakrilat/hidroksipropil kitosan) [p(HPM/PEG-MA/HPC)] hidrojeli hazırlandı.

Film formundaki p(HPM/PEG-MA/HPC)] hidrojel formülasyonları, UV fotopolimerizasyon yöntemi kullanılarak hazırlandı. Farklı polimer ve monomer oranının şişme davranışı, ilaç tutma etkinliği ve salım oranları üzerindeki etkisi araştırıldı. Bu amaçla Çizelge 3.1'de verilen, belirli molekül kütlesine ve sabit orana sahip olan polietilenglikol dimetakrilat (MW: 300 g/mol); 1,25 mL) makromonomeri içeren polimerizasyon karışımında farklı oranlarda hidroksipropil kitosan polimer çözeltisi (%2'lik; 0-2,0 mL) ve 2-hidroksipropil metakrilat monomeri (1,5-3,5 mL) kullanılarak hidrojel yapıdaki filmler sentezlendi. Çizelge 3.1'de sunulduğu gibi farklı formülasyondaki hidrojeller sırası ile p(HPM/PEG-MA)-1, p(HPM/PEG-MA/HPC)-2, p(HPM/PEG-

MA/HPC)-3, p(HPM/PEG-MA/HPC)-4, p(HPM/PEG-MA/HPC)-5 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 olarak isimlendirildi. 4,75 mL hacimli monomer ve polimer çözeltisi karışımı üzerine başlatıcı olarak α,α -bis azobisisobutironitril içeren 20 mg/2,25 mL çözelti ilave edililerek karıştırıldı. Polimerizasyon karışımları termostatik bir su banyosunda 30 dakika boyunca 4 °C'da termal dengeye getirildi. Her bir polimerizasyon karışımı düz bir cam polimerizasyon kalıbına (iç çap: 6,5 cm) aktarıldı. Polimerizasyon kabının sızdırmazlığının sağlanmasının ardından, polimer çözeltisi içerisinden sürekli olarak azot gazı geçişi sağlandı, polimerizasyon çözeltisi, 1 saat süresi boyunca UV ışınına (TUW serisi, Philips; UV-C, 254 nm kısa dalga, 24 W, Ankara, Türkiye) maruz bırakıldı. Elde edilen hidrojel diskler 0,75 cm olan delgeç kullanılarak, yaklaşık 0,75 cm çapına ve 600 μ m kalınlığında sahip diskler halinde kesildi ve kullanıma kadar aynı tampon içerisinde 4 °C'ta saklandı. İlaç yüklü formülasyonların hazırlanması için, antikanser ilacı 5-FU polimerizasyon karışımına iki farklı derişimde (35 ve 70 mg/mL) ilave edildi. İlaç yüklü hidrojel diskler fizyolojik fosfat tamponu (50mM) ile yıkandı. Bir kurutma kağıdı üzerinde fazla suyu uzaklaştırılan ilaç yüklü hidrojel diskleri hücre kültür kaplarına aktararak 4 °C'da saklandı.

Çizelge 3.1. Hazırlanan hidrojellerin formülasyonları

Hidrojel	HPM (mL)	PEG-MA (mL)	HPC (mL)	Sulu faz (mL)
p(HPM/PEG-MA)-1	3,5	1,25	0	2,25
p(HPM/PEG-MA/HPC)-2	3,25	1,25	0,25	2,25
p(HPM/PEG-MA/HPC)-3	3,0	1,25	0,5	2,25
p(HPM/PEG-MA/HPC)-4	2,5	1,25	1,0	2,25
p(HPM/PEG-MA/HPC)-5	2,0	1,25	1,5	2,25
p(HPM/PEG-MA/HPC)-6	1,5	1,25	2,0	2,25

3.4. Hidrojellerin Karakterizasyonları

3.4.1. Hidrojellerin FTIR analizi

p(HPM/PEG-MA/HPC)-4 ve 5-FU yüklü p(HPM/PEG-MA/HPC)-4 hidrojel örneklerinin FTIR spektrası bir FTIR spektrofotometre (FTIR 8000 series, Shimadzu, Tokyo, Japan) kullanılarak elde edildi. Kuru polimer (yaklaşık 0,1 g) KBr (0,1 g) ile karıştırıldı ve tablet formunda FTIR spektrumu kaydedildi.

3.4.2. Hidrojellerin yüzey görüntüsü

p(HPM/PEG-MA/HPC)-2 hidrojelinin yüzeyi ince altın tabakasıyla kaplandı ve taramalı elektron mikroskop görüntüleri, bir taramalı elektron mikroskobu kullanılarak (SEM) (Model: JEOL,JSM 5600, Tokyo,Japonya) elde edildi.

3.4.3. Hidrojellerin denge su içeriği

p(HPM/PEG-MA)-1, p(HPM/PEG-MA/HPC)-2, p(HPM/PEG-MA/HPC)-3, p(HPM/PEG-MA/HPC)-4, p(HPM/PEG-MA/HPC)-5 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 hidrojellerinin şişme davranışı, 25°C’de gravimetrik metot kullanılarak tayin edildi. Kütlesi bilinen kurutulmuş hidrojel örnekleri su ve pH 7,4 fosfat tamponu (50mM) içerisine aktararak belirli sürelerde bekletildi ve şişmiş hidrojeller sulu ortamdan uzaklaştırıldı. Hidrojel yüzeyindeki suyun fazlası uzaklaştırılarak, hidrojel örnekleri duyarlı bir terazide tartıldı. Aşağıdaki eşitlik hidrojellerin şişme oranını belirlemek için kullanıldı:

$$\text{Şişme (\%)} = \left[\frac{(w_s - w_d)}{w_d} \right] \times 100 \quad (3.1)$$

Burada w_s ve w_d sırasıyla şişmiş ve kuru hidrojellerin kütlelerini göstermektedir.

3.4.4. Hidrojellerin yoğunluğu

p(HPM/PEG-MA)-1, p(HPM/PEG-MA/HPC)-2, p(HPM/PEG-MA/HPC)-3, p(HPM/PEG-MA/HPC)-4, p(HPM/PEG-MA/HPC)-5 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 hidrojel örneklerinin yoğunluğu Gay Lussac piknometresi (Dahlewitz, Germany) ile, 25 °C sıcaklığında hidrojel örnekleri için çözücü olmayan bir sıvı (n-Dekan) kullanılarak belirlendi.

3.4.5. Spesifik yüzey alanı

p(HPM/PEG-MA)-1, p(HPM/PEG-MA/HPC)-2, p(HPM/PEG-MA/HPC)-3, p(HPM/PEG-MA/HPC)-4, p(HPM/PEG-MA/HPC)-5 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 hidrojel örneklerinin gözenek hacmi civa porozimetresi ile spesifik yüzey alanı ise BET (Brunauer-Emmett-

Teller) metodu kullanılarak bir yüzey analizi cihazı (Quantachrome Nova 2200 E, ABD) kullanılarak ölçüldü.

3.4.6. Hidrojellerin yüzey özellikleri

p(HPM/PEG-MA)-1, p(HPM/PEG-MA/HPC)-2, p(HPM/PEG-MA/HPC)-3, p(HPM/PEG-MA/HPC)-4, p(HPM/PEG-MA/HPC)-5 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 hidrojel örneklerinin su ile verdiği temas açısı durgun damla yöntemi ile dijital optik temas açısı ölçer (Phonex 150, Surface Electro Optics, Kore) cihazı kullanılarak belirlendi. Hem sol hem de sağ temas açıları ve damla boyut parametreleri dijital resimlerden otomatik olarak ölçülerek hesaplandı. Ölçümler beş temas açısının ortalaması alınarak belirlendi.

3.4.7. Hidrojel yapıda hazırlanan filmlerin geçirgenliğinin belirlenmesi

Tüm geçirgenlik testleri, iki silindir bölmesi (160 mL hacim) ve bir bağlantı hidrojel film tutucusu (iç çapı 2,0 cm) olan bir difüzyon hücresi kullanılarak 25 ° C'de gerçekleştirildi. Ana bölme (üstteki) fizyolojik fosfat tampon çözeltisi (PBS, pH 7,4, 10 mM, % 0,85 NaCl) içinde sulu 5-FU çözeltisi ile dolduruldu. Alttaki bölme PBS ile dolduruldu ve manyetik olarak karıştırıldı. Alttaki bölmeye, 20 mL / saat'lik bir akış hızında peristaltik pompa ile aynı tampon çözeltisinin sürekli geçişi sağlandı ve bir fraksiyon kolektörü aracılığıyla belirli sürelerde örnekler toplandı. Geçirgenlik deneyi 24 saat devam sürdürüldü ve toplanan numunelerdeki salınan 5-FU miktarı 266 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak değerlendirildi. Her bir geçirgenlik deneyi üç kez tekrarlandı ve 5-FU'in film formülasyonlarından geçirgenliği aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplandı:

$$C_t / C_0 = PSt / vh \quad (3.2)$$

burada P, filmin geçirgenliği (cm^2 / s); C_t ve C_0 , üst bölmedeki 5-FU'in sırasıyla t ve t_0 zamanlarındaki konsantrasyonunu; S, iki hücre arasına yerleştirilen hidrojel filmin alanını (cm^2); t, zamanı (s); v üst silindir hacmini (mL) ve h, film kalınlığını (cm) göstermektedir. In C_t / C_0 'a karşı çizilen PS / vh eğrisinin eğimden geçirgenlik hesaplandı.

3.4.8. Kan uyumluluk ölçümleri

Kan proteini adsorpsiyon çalışmaları

5-FU antikanser ilacı yüklü p(HPM/PEG-MA)-1, p(HPM/PEG-MA/HPC)-2, p(HPM/PEG-MA/HPC)-3, p(HPM/PEG-MA/HPC)-4, p(HPM/PEG-MA/HPC)-5 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 hidrojel örneklerinin kan uyumluluğunu belirlemek için, insan serum proteinlerinin (albümin (HSA) ve fibrinojen) adsorpsiyonu kesikli sistemde 37 °C’de 18 saat çalışılarak belirlendi. Her bir adsorpsiyon ortamında proteinin başlangıç konsantrasyonu 0,1 mg/ml olarak kullanıldı. Hidrojel yüzeyine adsorplanan protein miktarı aşağıda verilen eşitlik yardımıyla hesaplandı:

$$q = [(C_o - C) \times V] / S \quad (3.3)$$

burada, q hidrojel yüzeyine adsorplanan proteinin miktarını($\mu\text{g}/\text{cm}^2$); C_o ve C sırasıyla adsorpsiyondan önce ve sonra çözelti ortamındaki proteinin konsantrasyonlarını ($\mu\text{g}/\text{ml}$); V, protein çözeltisinin hacmi ve S ise hidrojellerin yüzey alanı ifade etmektedir. Hidrojel örneği üzerine adsorplanan protein miktarı, 280 nm dalga boyunda, UV-vis spektrofotometre (PG Instrument Ltd., Model T80+; PRC) kullanılarak belirlendi. İnsan serum albumin ve fibrinojen için hazırlanan kalibrasyon eğrileri, çözeltilerdeki protein miktarının hesaplanmasında kullanıldı.

Platelet adezyonu çalışmaları

Platalet adezyon çalışmaları için p(HPM/PEG-MA)-1, p(HPM/PEG-MA/HPC)-2, p(HPM/PEG-MA/HPC)-3, p(HPM/PEG-MA/HPC)-4, p(HPM/PEG-MA/HPC)-5 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 hidrojel örnekleri fosfat tamponunda (pH 7,4) 2 saat inkübe edildi. Sağlıklı insanlardan taze insan kanı elde edildi. Plataletçe zengin plazma (PRP) taze kanın (sitrat antikuagulantı ile) 4°C’de 2500 rpm de 5 dakika santrifüjlenmesi ile hazırlandı. Materyaller steril küçük düz cam yüzeylere serildi ve PRP (3,0 ml) ile 37°C’de 1 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda, hidrojeller yapışmayan plataletleri uzaklaştırmak için fosfat tamponu ile yıkandı. Yapışan plataletlerin sabitlenmesi için fosfat tamponu içinde %5,0 glutarik dialdehit çözeltisi ile oda sıcaklığında 6 saat muamele edildi. Bu

işlemin ardından hidrojel­ler fosfat tamponu ile yıkandı ve eosin-metilen bul­u ile boyandı ve optik mikroskopta (Nikon, Japonya) analiz edildi. PRB örneklerindeki platelet sayımı hidrojel­lerin inkübasyon periyodundan önce ve sonra yapıldı ve optik mikroskop kullanılarak tayin edildi.

Hemolitik aktivite çalışmaları

p(HPM/PEG-MA)-1, p(HPM/PEG-MA/HPC)-2, p(HPM/PEG-MA/HPC)-3, p(HPM/PEG-MA/HPC)-4, p(HPM/PEG-MA/HPC)-5 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 hidrojel örneklerinin kırmızı kan hücreleri (RBC) hemolizi üzerine etkisini belirlemek için, oksalatlı tam kan (0,2 ml) tuz çözeltisi ile (2,8 ml, 0,85%) 15 kat seyreltil­di. Polimerler eklendi (yaklaşık 0,5 g) ve 1 saat 37°C’de inkübe edildi. İnkübasyondan sonra, RBC 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edilerek ayrıldı. Hemoglob­in salım miktarı 545 nm’de UV/Vis spektrofotometre ile tayin edildi. Hemolitik aktivite negatif kontrolün (tuz çözeltisi) absorbansının çıkarılmasıyla hesaplandı.

3.5. Hidrojel Film Formülasyonlarından 5-FU’nun Kontrollü Salım Çalışmaları

Antikanser ilacı 5-FU için taşıyıcı destek materyali olarak kullanılacak olan (HPM/PEG-MA)-1, p(HPM/PEG-MA/HPC)-2, p(HPM/PEG-MA/HPC)-3, p(HPM/PEG-MA/HPC)-4, p(HPM/PEG-MA/HPC)-5 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 hidrojelinden model ilacın kontrollü salım çalışmasının gerçekleştirilmesi amacı ile, hidrojinin hazırlanması aşamasında 5-FU doğrudan çözelti ortamına aktarılaraq matriks içi tutuklama yolu ile yüklendi. Bu amaçla, p(HPM/PEG-MA)-1, p(HPM/PEG-MA/HPC)-2, p(HPM/PEG-MA/HPC)-3, p(HPM/PEG-MA/HPC)-4, p(HPM/PEG-MA/HPC)-5 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 hidrojel­lerine farklı oranda ilaç (35 mg ve 70 mg / mL) yüklemesi yapılarak sistem parametrelerinin salım profiline ve kinetiğine etkisi araştırıldı.

Hidrojel formülasyonlarından salınan ilaç miktarının belirlenmesi amacı ile hazırlanan başlangıç derişimleri bilinen standart 5-FU çözeltileri ile kalibrasyon eğrisi hazırlandı ve ilaç miktarı 266 nm dalga boyunda UV-Vis spektrofotometre ile ölçülerek belirlendi ve hesaplamalarda kullanıldı. Bu amaçla, 5-FU stok çözeltisi, pH’sı 4,3 olan asetat tampon çözeltisi içinde hazırlandı. 1,0 – 40 µg / mL konsantrasyon aralığında 5 - FU içeren üç set

standart çözelti hazırlandı. Her set için ayrı ayrı, dalga boyu 266 nm'de absorbans ölçüldü ve ortalama değer hesaplanarak kalibrasyon grafiği oluşturuldu.

p(HPM/PEG-MA)-1, p(HPM/PEG-MA/HPC)-2, p(HPM/PEG-MA/HPC)-3, p(HPM/PEG-MA/HPC)-4, p(HPM/PEG-MA/HPC)-5 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 hidrojellerine yüklenen ilaç yüzdesi aşağıda verilen eşitlik kullanılarak hesaplandı.

$$\text{İlaç yükleme verimi (\%)} = (\text{Yüklenen ilaç} / \text{Teorik olarak yüklenen ilaç}) \times 100 \quad (3.4)$$

Taşıyıcı implanttan 5-FU salımı ve salım hızı iki farklı ilaç yüklemesinde (30 mg ve 70 mg / mL polimerizasyon çözeltisi içerisinde) çalışıldı. 5-FU yüklü altı farklı hidrojel formülasyonu (0,5 g) sürekli akışlı ilaç salınım hücrelerine yerleştirildi ve akış hücresinin alt giriş kısmından fizyolojik tampon çözeltisinin (pH 7,4), 10 mL /s boyunca 37 °C'de sürekli geçişi bir peristaltik pompa (model IPC, Ismatec, Düsseldorf, Almanya) yardımıyla gerçekleştirildi. Belirli zaman aralılıklarında alınan örneklerden salınan ilaç miktarı spektrofotometre ile, 266 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak takip edilerek belirlendi. Analiz edilen çözelti, sabit hacmi korumak için ortama geri aktarıldı. 5-FU yüklemesinin salınım oranı üzerindeki etkisini incelemek için benzer işlemler 1,0 mL ilaç yüklü numuneler için tekrar uygulandı. Tüm deneyler hata varyasyonunu en aza indirmek için üç kez tekrarlandı. Dolayısıyla, grafiklerdeki veriler üç deneyin ortalama değerlerini göstermektedir. Derişimi bilinen örneklerle elde edilen kalibrasyon eğrisi, toplam salınan ilaç miktarlarının hesaplanmasında kullanıldı.

3.6. 5-FU Yüklü Hidrojel Formülasyonlarının Antitümör Aktivitesi

Farklı 5-FU salım hidrojel formülasyonları ve onların ilaç salınımsız karışıkları, 3 kat halinde 24 gözlü plakalara yerleştirildi. 3×10^4 SNU398 hücreleri 1,0 mL ortamda her göz üzerinde geliştirildi. Herhangi bir hidrojel olmadan geliştirilmiş $2,8 \times 10^4$ hücre içeren kontrol grubu da eklendi. Ortam 3. günde değiştirildi ve hücre sayımı 6. günde tripsinizasyon sonrası hemositometre ile yapıldı. Bu çalışmalar, Bilkent Üniversitesi, Mikrobiyoloji Bölümü'nde Sayın Prof. Dr. Can Kamil AKÇALI'nın Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.7. İstatistik Analiz

Tüm sonuçlar ANOVA ile analiz edildi. Deney grubu ile kontrol grubu karşılaştırmalarını yapmak için Minitab® 15 İstatistik Yazılım kullanılmıştır. Bütün karşılaştırmalar % 95 güven aralığında Fisher's testi kullanılarak yapıldı. Grafikler GraphPad® programı kullanılarak çizilmiştir.





4. DENEYSEL SONUÇLAR

Hidrojeller, sulu ortamlarda şişme özelliğine sahip fakat çözülmeyen çapraz bağlı polimerik makromoleküler ağlardır. Hidrojeller, biyolojik dokuları taklit etme potansiyelleri nedeniyle, kontrollü ilaç salım sistemi de dahil olmak üzere biyomedikal alanda uygulamalar için uygunluk göstermektedir. Çok sayıda çapraz bağlı hidrojeller, farklı farmasötik ve tıbbi alanlardaki uygulamalara yönelik olarak tasarlanmış ve üretilmiştir. Bu çalışmanın amacı, 5-florourasil antikanser ilacının kontrollü salımında kullanılmak üzere çapraz bağlı hidrojel ilaç taşıyıcı sisteminin tasarımı, bu hidrojellerden biyoaktif molekülün salım profili ve ilaç salım kinetiği ile ilgili olan matematiksel modellemelerin uygulanarak değerlendirilmesini kapsamaktadır.

4.1. Hidrojellerin Sentezi ve Karakterizasyonu

Hidrojel yapıdaki pHPM/HPC membranları, UV fotopolimerizasyon yöntemi ile sentezlendi. Kontrollü salım sisteminde taşıyıcı destek materyali olarak kullanılmak üzere pHPM/kitosan hidrojel membranları farklı monomer: polimer (HPM:HPC) oranları ve polimerizasyon koşullarının altında sentezlenmiş ve ilaç salım profili üzerine etkileri araştırılmıştır. Sonraki aşamada ise, elde edilen uygun değerler varlığında, PEG-MA makromonomerinin oranı sabit tutularak, HPC polimerinin ve HPM monomerinin oranı değiştirilerek hazırlanan kompozisyondaki hidrojellerin mekanik dayanımı ve ilaç salım kinetikleri deneysel işletim koşulları altında incelenmiştir. Polimerizasyon sistem parametreleri çalışmalarında belirlenen PEG-MA makromonomerinin sabit değerine karşılık %2'lik HPC çözeltisi ve HPM oranı değiştirilerek altı farklı kompozisyonda hidrojel hazırlanmıştır. Çizelge 3.1'de gösterildiği gibi HPM:HPC oranı 3,5:0 – 1,5:2,0 (v/v; mL/mL) aralığında değiştirilmiş ve p(HPM/PEG-MA)-1 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 formülasyonlarının kontrollü ilaç salımında kullanılmak üzere yeterli mekanik dayanıma sahip olduğu ve gözlemlendi ve kontrollü salım işlemlerinde kullanıldı (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Farklı HPM:PEG-MA:HPC oranlarında sentezlenen hidrojellerin mekanik dayanıklılığına hidrojel hazırlama kompozisyonunun etkisi

Hidrojel formülasyonu HPM:PEG-MA:HPC (%2'lik) (v/v/v)	Polimerizasyon	Mekanik dayanıklılık	Yoğunluk (g/cm ³)	Spesifik Yüzey alanı (g/m ²)
p(HPM/PEG-MA)-1: 3,5:1,25	+	Yüksek	1,01	1.6
p(HPM/PEG-MA/HPC)-2: 3,25:1,25:0,25	+	Oldukça yeterli	1,08	2.3
p(HPM/PEG-MA/HPC)-3: 3,0:1,25:0,5	+	Yeterli	1,11	2.8
p(HPM/PEG-MA/HPC)-4: 2,5:1,25:1,0	+	Yeterli	1,09	3.1
p(HPM/PEG-MA/HPC)-5: 2,0:1,25:1,5	+	Yeterli	1,12	3.5
p(HPM/PEG-MA/HPC)-6: 1,5:1,25:2,0	+	Orta	1,14	3.9

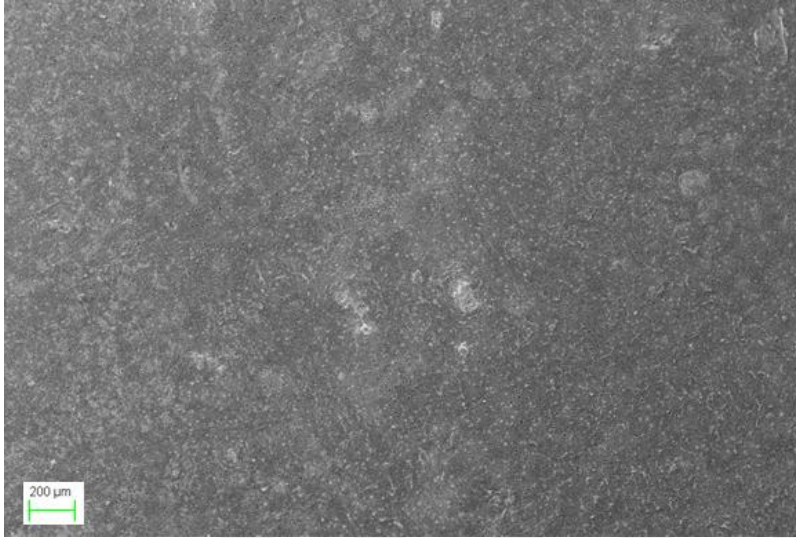
p(HPM/PEG)-1 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 hidrojel filimlerinin şişmiş haldeki kalınlığının 0,1 cm ve yoğunluğunun da 1,01- 1,14 g/cm³ aralığında değiştiği belirlendi (Çizelge 4.1). Hidrojel formülasyonlarının spesifik yüzey alanı ise 1,6 ve 3,9 g/m² aralığında bulundu (Çizelge 4.1).

5-FU ilacın kontrollü salımı için geliştirilen hidrojeller modifiye edilmiş doğal polimer HPC'nin farklı ortarlarda HPM monomeri katılarak ve polimerizasyon karışımına PEG-MA makromonomeri ilave edilerek hidrojelin yüzeyinde hidrofilik ve biyo uyumlu PEG zincirlerinin oluşturulmasını mümkün kılmak için yapıya katılmıştır. İlave olarak, kontrollü ilaç salım sisteminde kullanılması planlanan sistemin bu yol ile hazırlanması, herhangi bir aktivasyon veya modifikasyon işlem basamaklarını içermemesi, kısa sürede ve dolayısı ile düşük işlem maliyeti gerektirmesi sistemin sunduğu önemli avantajlar olarak düşünülmektedir. Polimerizasyon kısa sürede ve oda sıcaklığında gerçekleştirilebilmesi hidrojel yapılara yüklenecek antikanser ilacı olan 5-FU'nin yapısında herhangi bir bozulmaya neden olmadan aktifliğini koruması, kontrollü salım sistemlerinde bir diğer önemli parametredir.

4.1.1. p(HPM/PEG-MA/HPC) hidrojinin SEM görüntüsü

30 °C sıcaklıktaki vakum etüvünde kurutulan p(HPM/PEG-MA/HPC)-2 hidrojel örneği azaltılmış basınç altında altın ile kaplandı ve elektron mikrografları JEOL (JSM 5600)

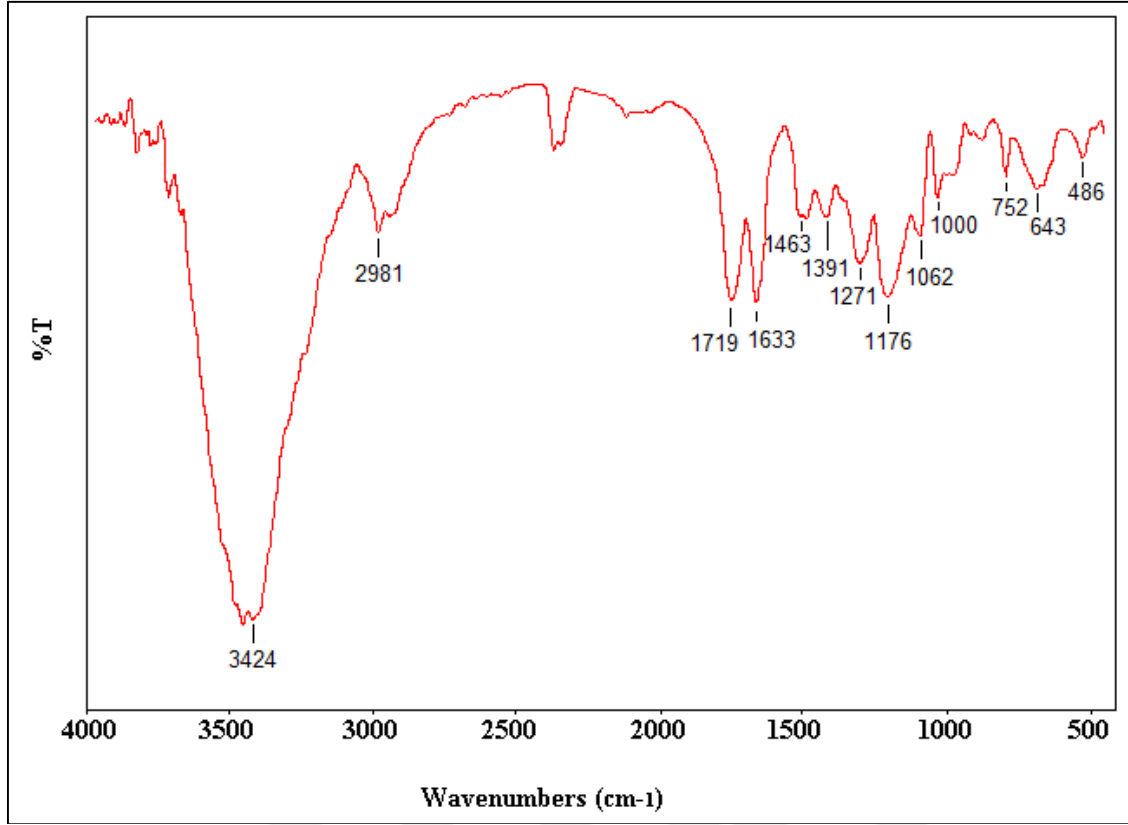
taramalı elektron mikroskobu kullanılarak elde edildi. Membranın bileşenlerinden biri olan 2-hidroksipropil metakrilat monomeri materyalin yeteri mekanik güce sahip olmasını sağlamaktadır. hidrojel SEM mikrograflarından düzgün bir yüzeye sahip olduğu görüldü (Resim 4.1). Bu özellik materyalin ilaç salım hızının oldukça yavaş ve kontrollü olmasını sağlayacağını düşündürdü.



Resim 4.1. p(HPM/PEG-MA/HPC)-2 hidrojelinin SEM görüntüsü

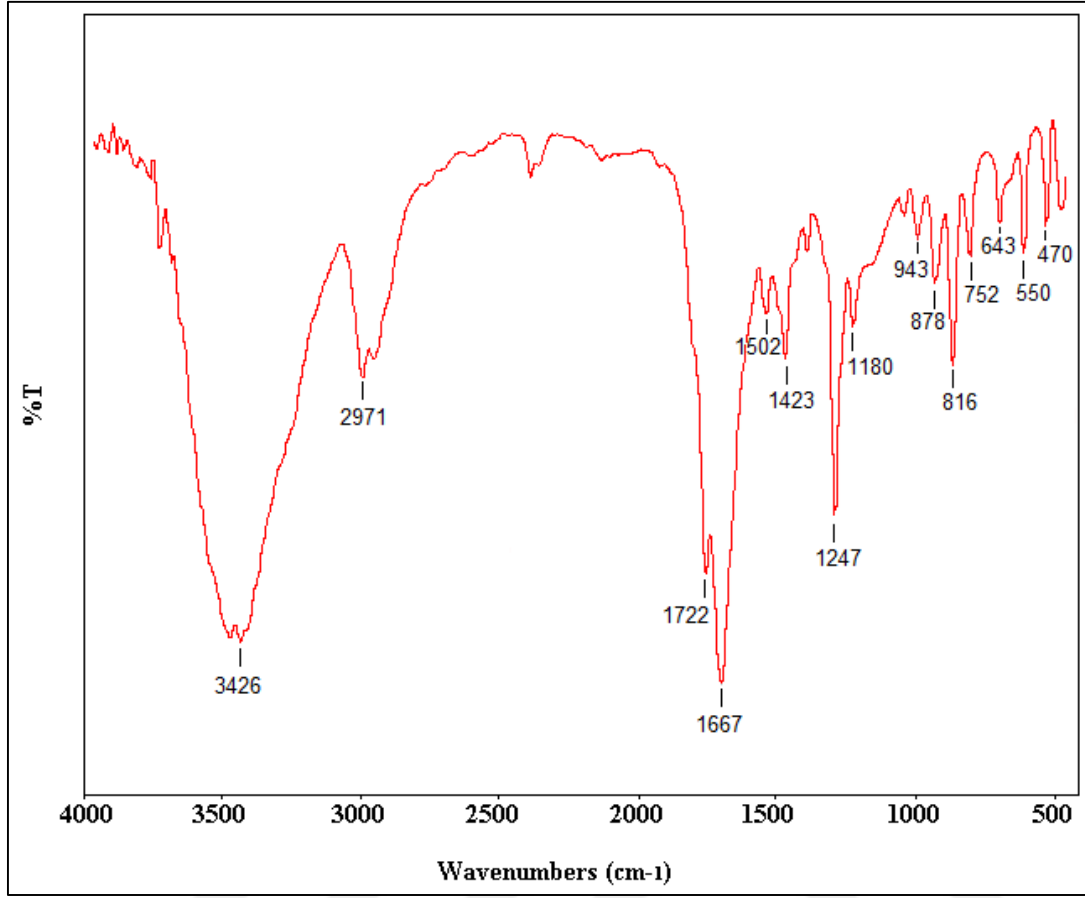
4.1.2. p(HPM/PEG-MA/HPC) hidrojelinin FTIR analizi

p(HPM/PEG-MA/HPC)-4 hidrojel örneğinin FTIR spektrumunda, 2972, 2981 ve 1391 cm^{-1} de görülen bandlar hidrojel yapısındaki CH_3 grubunun C-H gerilmesi ve bükülmesine atfedilen piklerdir (Şekil 4.1). 1062 cm^{-1} ve 1176 cm^{-1} de gözlenen karakteristik pikler, kitosanın 6 OH ve 3 OH'da oluşan hidroksipropilasyon reaksiyonunu ifade etmektedir. 1650 cm^{-1} de gözlenen pik HPC polimerinden kaynaklanan amid gruplarına karşılık gelmektedir. Diğer yandan, p(HPM/PEG-MA/HPC)-4 yapıları üzerinde 1600 ve 1200 cm^{-1} arasında PEG için parmak izi bölgesinde birkaç bandın ortaya çıktığı görüldü. Bu pikler sırasıyla 1391 ve 1271 cm^{-1} de PEG'in simetrik ve anti-simetrik gerdirme bantları ($-\text{OCH}_2-\text{CH}_2$) ve 1463 cm^{-1} de ise PEG'in $-\text{CH}_2$ makaslama bandıdır. FTIR spektrumunda 3424 cm^{-1} de gözlemlenen keskin ve geniş $-\text{OH}$ bandı hidrojel yapısındaki hidroksipropil metakrilat monomerinin yapıya katılmasından kaynaklanmaktadır.



Şekil 4.1. p(HPM/PEG-MA/HPC)-4 hidrojel örneğinin FTIR spektrumu

3000 ve 3500 cm^{-1} arasındaki geniş bir bant, 5-FU spektrumundaki NH gerilme titreşimlerine atfedilebilir. p(HPM/PEG-MA/HPC)-5 ve 5-FU yüklü hidrojel örneklerinin FTIR spektrumlarından 3424 cm^{-1} civarında hidrojene bağlı alkolün (-OH) karakteristik gerilme titreşim bandı görüldü (Şekil 4.2). 1247 cm^{-1} 'deki pik, 5-FU spektrumundaki C-F gerilme bandına aittir. 1667, 1722 ve 1180 cm^{-1} 'de gözlenen karakteristik pikler 5-FU ilacına ait sırası ile C-N gerilmesi, C=O gerilmesi ve C-O bandlarıdır. Ek olarak, Şekil 4.2 de verilen spektrumda, 1000-1271 cm^{-1} (alkolün C-O gerilimi bandı) ve 643-943 cm^{-1} 'de (düzlem O-H bükülmesinden) gözlemlenen bantlar 5-FU ilacının hidrojel yapısına yüklendiğini göstermektedir.



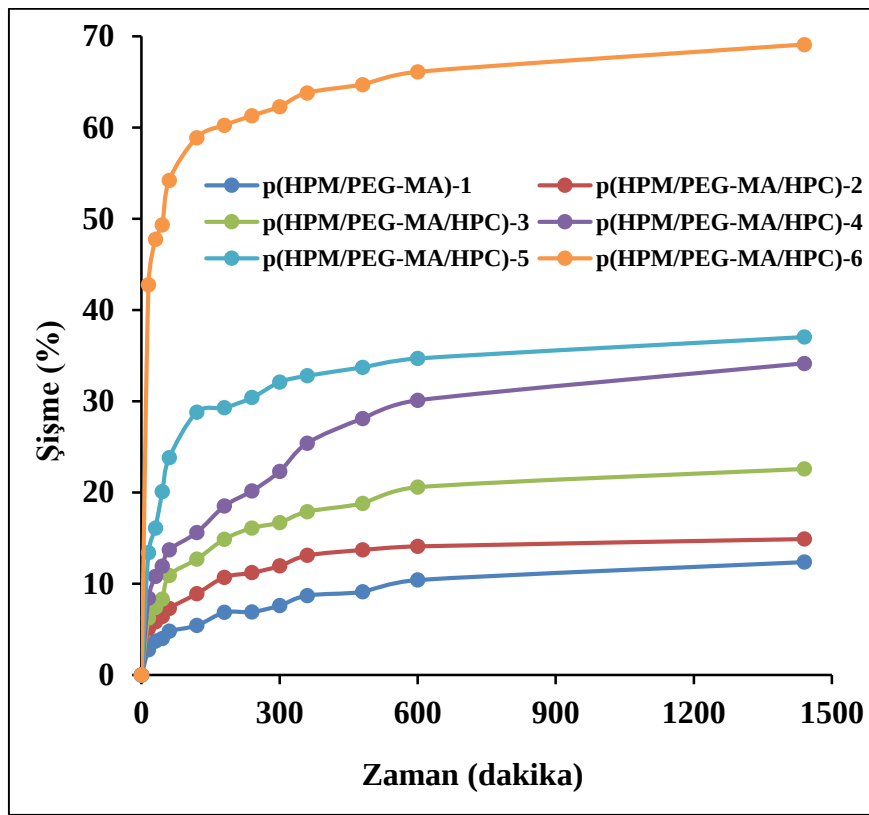
Şekil 4.2. 5-FU yüklü p(HPM/PEG-MA/HPC)-4 hidrojel örneğinin FTIR spektrumu

4.1.3. Hidrojel formülasyonlarının denge su içerikleri

Son yıllarda hem bilimsel hem de teknolojik açıdan önemi gittikçe artan hidrojeller, suda şişebilen, üç boyutlu hidrofilik ağ yapılarıdır. Hidrojeller, yapılarında çok fazla miktarda su içermeleri, yumuşak ve esnek yapılara sahip oldukları birçok fiziksel özellikleri açısından canlı dokularla karşılaştırıldıklarında büyük benzerlik göstermektedir.

HPM monomeri, PEG-MA makromonomeri ve HPC polimeri kullanılarak sentezlenen p(HPM/PEG-MA)-1, p(HPM/PEG-MA/HPC)-2, p(HPM/PEG-MA/HPC)-3, p(HPM/PEG-MA/HPC)-4, p(HPM/PEG-MA/HPC)-5 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 hidrojellerinin, hidrofilik yapısı nedeni ile, sulu ortamda şişme özelliğinin hidrojel formülasyonuna göre önemli derecede değiştiği görüldü (Şekil 4.3). Yapıda HPC polimer oranının artması ile hidrojinin su alım kapasitesinin arttığı belirlenmiştir. p(HPM/PEG-MA)-1 formülasyonu ile gösterilen ve HPC içermeyen hidrojinin denge su içeriği % 12.4 olarak belirlenirken, farklı oranlarda HPC içeren p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 hidrojellerinin denge su içeriğinin

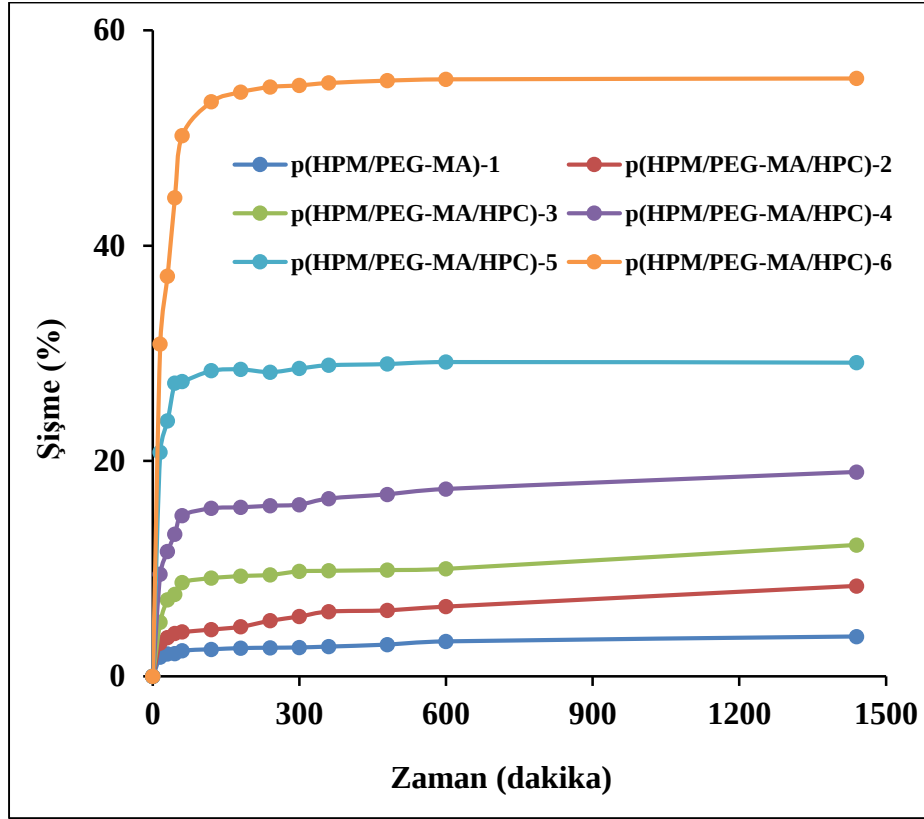
ise % 14,9 ile % 69,1 aralığında değiştiği belirlendi (şekil 4.3). Hidrojel yapısına hidroksipropil kitosanın eklenmesi ile daha fazla hidrofilik fonksiyonel grupların ($-NH_2$ ve $-OH$) polimer yapısında bulunması sağlandı ve bu yolla şişme derecesi arttırıldı. HPC makromoleküllerinin polimerizasyon karışımında bulunması, polimer zincirinde 2-hidroksipropil metakrilat monomerinin daha az tekrarlanan sayıda olması nedeni ile polimerin molekül ağırlığının azalmasında etkili olduğu dűřünűldű. Bu nedenle, su molekűllerinin polimer zincirleri ile etkileşiminin artması denge su içeriğinde artış gűzlenmesi ile sonuçlandı.



şekil 4.3. p(HPM/PEG-MA)-1, p(HPM/PEG-MA/HPC)-2, p(HPM/PEG-MA/HPC)-3, p(HPM/PEG-MA/HPC)-4, p(HPM/PEG-MA/HPC)-5 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 hidrojellerinin su içerisindeki şişme davranışları

HPM monomeri, PEG-MA makromonomeri ve HPC polimeri kullanılarak sentezlenen p(HPM/PEG-MA)-1, p(HPM/PEG-MA/HPC)-2, p(HPM/PEG-MA/HPC)-3, p(HPM/PEG-MA/HPC)-4, p(HPM/PEG-MA/HPC)-5 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 hidrojellerinin fizyolojik tampon içerisindeki şişme davranışı ise şekil 4.5’de gűsterildi. Farklı oranlarda HPC içeren p(HPM/PEG-MA)-1 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 hidrojellerinin, pH’sı 7,4

olan fizyolojik tampon içerisindeki şişme yüzdelерinin % 3,7 ile % 55,6 aralığında değiştiğı belirlendi (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. p(HPM/PEG-MA)-1, p(HPM/PEG-MA/HPC)-2, p(HPM/PEG-MA/HPC)-3, p(HPM/PEG-MA/HPC)-4, p(HPM/PEG-MA/HPC)-5 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 hidrojelлерinin fizyolojik tampon içerisindeki şişme davranışları

4.1.4. Hidrojel formülasyonlarının hidrofilitesi

Hazırlanan p(HPM/PEG-MA)-1, p(HPM/PEG-MA/HPC)-2, p(HPM/PEG-MA/HPC)-3, p(HPM/PEG-MA/HPC)-4, p(HPM/PEG-MA/HPC)-5 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 hidrojel formülasyonlarının polar karakteri, hidrojel örneklerinin su ile verdiği temas açısı ölçümlerinden belirlendi. Destek materyalinin hidrofilitesi, yüzey özelliklerine bağlı olarak değişir. Islatma gücünün değişimi, yüzey tabakası kalınlığındaki (en az 10Å) ve sıvı fazla doğrudan temasındaki, fonksiyonel grupların etkisini yansıttığından yüzey karakteristiklerine, oldukça hassastır. Hidrojel formülasyonundaki HPC oranı arttıkça su ile belirlenen temas açılarının da azalmaların olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.2). Hidrojel yapısına eklenen HPC oranının arttırılması ile de polimerlerin hidrofilitesinde bir artış olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.2. Hidrojel örneklerinin su ile verdiği temas açısı değerleri

Hidrojel	°θ
p(HPM/PEG-MA)-1	64,31
p(HPM/PEG-MA/HPC)-2	58,62
p(HPM/PEG-MA/HPC)-3	51,83
p(HPM/PEG-MA/HPC)-4	49,24
p(HPM/PEG-MA/HPC)-5	46,17
p(HPM/PEG-MA/HPC)-6	42,08

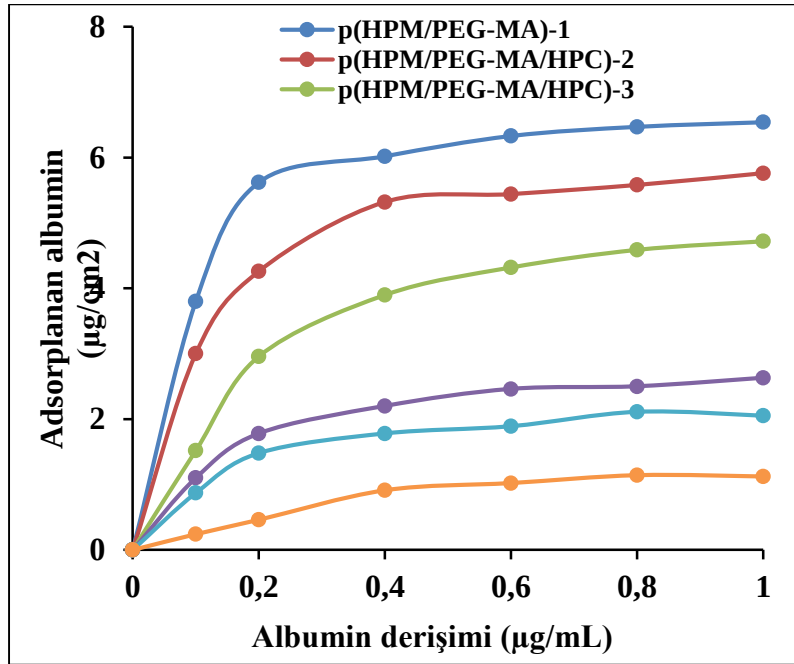
4.1.5. Hidrojel fomülasyonlarının kan biyolojik uyumluluklarının belirlenmesi

Hidrojel formülasyonlarının serum proteinleri ile etkileşimi

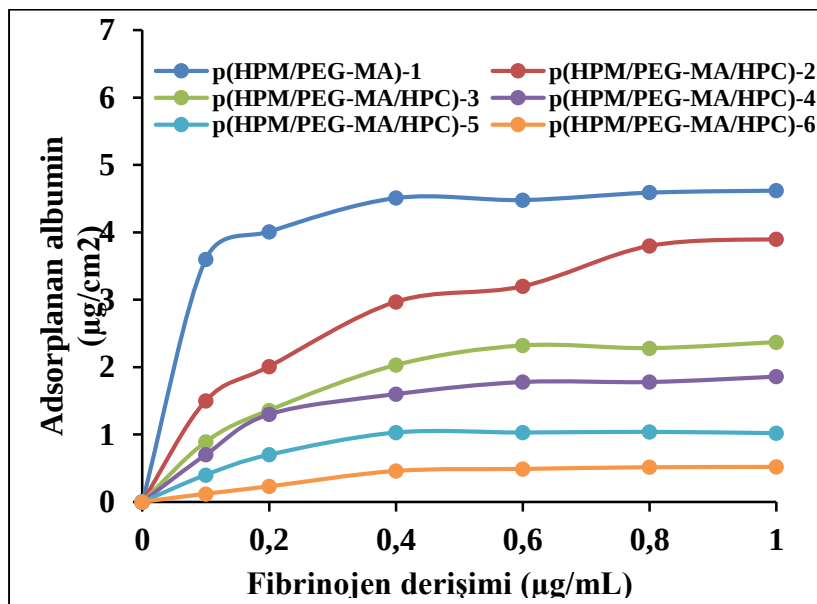
Polimerik ilaç taşıyıcı sistemlerde, polimerin biyolojik çevre ile iyi uyum sağlaması, doku ile temas sonrasında iltihaba yol açmaması, toksik, kanserojen ve teratojen etki göstermemesi gibi bazı biyolojik özellikleri içermesi beklenmektedir. Kitosan temelli materyaller veya modifiye kitosan (türevlendirilmiş) temelli ağ yapılı polimerler; nano boyutta partiküller veya küre, jel, membran, kapsül, sünger, boncuk, içi boş tüp gibi çeşitli geometrilerde hazırlanabilmektedir. Doğal bir polimer olan kitosan ve türevlendirilmiş yapıları, yara iyileşmesinde fibroplaziyi engelleyerek doku gelişimini, farklılaşmasını ve yeniden yapılanmasını teşvik ettiği literatürde rapor edilmiştir [53, 75]. Kitin, kitosan ve kitosan türevlerinin biyo-uyumluluğu, biyolojik yolla bozunması, toksik olmaması, fizyolojik olarak inert olması, proteinlere karşı yüksek afiniteye sahip olması, antibakteriyel, hemostatik, fungistatik, antitümoral ve antikolestremik özellikleri nedeniyle kontrollü salım sistemlerinde, doku mühendisliği, biyosensör uygulamalarında ve çevresel sorunların giderilmesi işlemlerinde geniş bir uygulama potansiyeline sahip olduğu çok sayıda araştırmacı tarafından rapor edilmiştir [53].

Bu amaçla, hazırlanan hidrojel formülasyonlarının biyouyumluluğu ve ilaç salım sisteminde hedeflenen etkin dozlamayı gerçekleştirebilmek amacı ile farklı oranda HPC ve polietilen glikol içeren ağ yapılı hidrojeller hazırlanarak karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. p(HPM/PEG-MAC)-1 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 hidrojellerinin kan uyumluluğu, plazma proteinleri adsorpsiyonu ve platelet adezyonu incelenerek belirlenmiştir.

Serum proteinlerinin polimerik yapılar üzerine adsorpsiyonu, fizyolojik pH değerinde (pH 7,4), farklı albumin ve fibrinojen başlangıç derişimlerinde, kesikli sistemde çalışıldı. Şekil 4.5'te ve Şekil 4.6'de, p(HPM/PEG-MA)-1 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 hidrojeline, farklı konsantrasyondaki (0,05 – 2,0 mg/mL) albumin ve fibrinojen adsorpsiyon sonuçları sırasıyla verilmiştir.



Şekil 4.5. p(HPM/PEG-MA)-1 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 hidrojeline, albumin bağlanma miktarına başlangıç albumin derişiminin etkisi



Şekil 4.6. p(HPM/PEG-MA)-1 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 hidrojeline, fibrinojen bağlanma miktarına başlangıç fibrinojen derişiminin etkisi

Şekil 4.5 ve 4.6'den görüldüğü gibi, hidrojel yüzeyine adsorplanan albumin ve fibrinojen miktarları, p(HPM/PEG-MA)-1'ya kıyasla, yapıya HPC eklenmesi ile önemli ölçüde azalmıştır. p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 hidrojel yapılarında artan HPC oranı ile azalan protein adsorpsiyonu, hazırlanan antikanser ilacı taşıyıcı sistem için biyolojik uyumluluğunu artırdığını düşündürmektedir. Hidrojel formülasyonlarında bulunan polietilen oksit zincirlerinin varlığı ve HPC polimeri ile membran yapıların sahip oldukları kısmı negatif yüzey yük dağılımları negatif yüzey yüklü kan proteinlerine karşı itici kuvvet oluşturduğu ve bu yolla ihmal edilebilir düzeyde düşük protein adsorpsiyona neden olduğu düşünülmüştür. Hidrojel formülasyonlarının bu özelliği, onları minimum protein adsorpsiyonu ile kontrollü ilaç salımı için taşıyıcı sistemleri olarak uygun araçlar haline getirmektedir.

Amiji [133] ve Winterton [134] tarafından, biyouyumlu bir yüzey elde etmek için sentezlenen polimerik biyomateryal, heparin ile kaplanmış ve fizyolojik pH değerinde plazma proteini olan fibrinojen ve albuminin biyomateryale bağlanma afinitesi göstermediği, çok düşük adsorpsiyon kapasitesi elde edildiği ve bu yolla, biyouyumlu yüzey hazırlandığı rapor edilmiştir. Han ve diğerleri [135, 136], poliüretan membranının yüzey özelliklerinin polietilenoksit aşılması ile önemli ölçüde iyileştirildiği, artan hidrofilitate ve yapışmazlık nedeni ile biyouyumluluk özelliğinin artırıldığını bildirmişlerdir.

Hidrojel formülasyonlarının PT ve aPTT zamanlarına etkisi

Kanın koagülasyon kaskadını izlemekte kullanılan temel testler, protrombin zamanı (PT) ve aktif kısmi tromboplastin zamanı (aPTT) testleridir. Protrombin zamanı testi (PT) ile, doku tromboplastini varlığında, doku faktörü yolundan ve ortak yoldan meydana gelen pıhtılaşma reaksiyonları birlikte değerlendirilir. Testin uygulanmasında, sitratlı plazma örneğine kalsiyum ve tromboplastin eklenir ve doku faktörü yolundan fibrin pıhtısı oluşana kadar geçen zaman ölçülür.

Heparin tedavisinin takibinde, genellikle PT ve aPTT kullanılır. PT normal iken, aPTT'nin uzun bulunması heparin varlığını destekler. PT, tüm hidrojel formülasyonları için normal sınırlarda kalmıştır. aPTT, kontrol plazmasına kıyasla, oldukça fazla artış göstermiştir. En büyük artışı, p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 hidroجلي ile inkübe edilen plazma göstermiştir

(Çizelge 4.3). Çizelge 4.3’de p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 formülasyonları için verilen aPTT sonuçları bu hidrojelilerin, heparin etkinliğinin bulunduğunu ve hidrojinin, pıhtılaşma reaksiyonlarını aktive etmediğini göstermektedir.

Çizelge 4.3. p(HPM/PEG-MA)-1 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 hidrojel formülasyonlarının PT ve aPTT Zamanlarına Etkisi

	PT (normal 10-14 sn)	aPTT (normal 20-40 sn)
Kontrol plazması	11,8	33,06
p(HPM/PEG-MA)-1	12,7	48,9
p(HPM/PEG-MA/HPC)-2	13,6	89,7
p(HPM/PEG-MA/HPC)-3	13,2	92,5
p(HPM/PEG-MA/HPC)-4	12,9	101,6
p(HPM/PEG-MA/HPC)-5	12,4	108,9
p(HPM/PEG-MA/HPC)-6	13,1	116,7

Hemolitik aktivite

Hemolitik aktivite, spektrofotometrik olarak test edildi. p(HPM/PEG-MA)-1 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 hidrojelileri, EDTA’lı insan kanı ile, 37°C’de 1,0 saat inkübe edilerek, tüplerde kalan kan örnekleri, 3000 devir/dakikada 20 dakika santrifüj edildi. Serbest kalan hemoglobin miktarı UV/VIS spektrofotometreyle, 545 nm’de tayin edildi. Kontrol olarak, aynı koşullarda izotonik çözeltide inkübe edilen serbest kan kullanıldı. Distile su içerisinde inkübe edilen kandan serbest bırakılan hemoglobinin oranı %100 kabul edildi. Çizelge 4.4’den görüldüğü gibi, p(HPM/PEG-MA) yapısına HPC polimerinin eklenmesi hemolitik aktiviteyi oldukça azaltmıştır.

Çizelge 4.4. p(HPM/PEG-MA)-1 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 hidrojel formülasyonlarının %hemoliz değerleri

	(%) Hemoliz
Damıtık su	100
p(HPM/PEG-MA)-1	0,71
p(HPM/PEG-MA/HPC)-2	0,56
p(HPM/PEG-MA/HPC)-3	0,49
p(HPM/PEG-MA/HPC)-4	0,37
p(HPM/PEG-MA/HPC)-5	0,24
p(HPM/PEG-MA/HPC)-6	0,18

Kan hücrelerinin yapışması

Diğer bir kan uyumluluk deneyi olan, kan hücrelerinin yapışması deneyi için tam kan sayımı yapıldı. p(HPM/PEG-MA)-1 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 hidrojel formülasyonları ile inkübasyondan önce ve sonra yapılan tam kan sayımı ile, platelet sayısı değişimi gözlemlendi. Platelet yapışması oranının %6,4-7,8 ve yapışan platelet sayısının da 41-37 platelet mm^{-2} aralığında değiştiği belirlenmiştir. Bu oranlar literatüre göre oldukça düşük bulunmuştur (1586 hücre/ mm^2) [137, 138].

4.2. Hidrojel Formülasyonlarına 5-FU Antikanser İlacının Yüklenmesi

Kontrollü ilaç salınım kavramı, çeşitli hastalıkları etkili bir şekilde kontrol etme ihtiyacından ortaya çıkmıştır. Lokal-spesifik kontrollü salınım sistemi, klasik ilaç dağılım sisteminden daha farklı avantajlar sağlar. Bunlardan bazıları ilacın vücudun belirli bölümlerine lokalize dağılımı, nokturnal fazda tedavinin devamlılığında güvenilirlik, ilaç kararlılığı, tedavinin tamamlanmasındaki ihtiyacın azalması ve optimum ilaç adsorpsiyonudur. Hidrojellerin kontrollü salınım sistemi olarak kullanımı üzerine çok sayıda çalışmalar yapılmaktadır [19, 20,74].

Tez çalışmasında, p(HPM/PEG-MA)-1 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 hidrojel formülasyonları UV ışığı-fotopolimerizasyonu yöntemi ile hazırlandı ve karakterizasyon çalışmaları tamamlandı. Aynı formülasyonlar 5-FU antikanser ilacının yüklenmesi için kullanıldı. Bu amaçla polimerizasyon çözeltisi içerisinde iki ayrı derişimde 5-FU (35 ve 70 mg/mL) içerecek şekilde ilaç ilave edilerek aynı polimerizasyon tekniği kullanılarak matriks içi tutuklama yöntemi ile yüklendi. 5-FU yüklü p(HPM/PEG-MA)-1 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 hidrojel formülasyonları, antikanser ilacının salım çalışmalarında kullanıldı. 5-FU salımı, beş farklı HPC polimer oranına sahip hidrojel yapıları kullanarak, ilaç salımı ve ilaç salımın SNU398 insan HCC hattının çoğalması üzerine etkileri incelenmiştir.

Bir ilacın % yükleme verimi, ilaç taşıyıcı sistemi olarak kullanılan malzemesinin türüne, ilacın yüklenmesi yöntemine ve polimer ağlarının hazırlanma koşullarına bağlıdır. Bu çalışmada, hidrojel film formülasyonlarının ilaç yükleme verimliliğinin, formülasyonların HPC oranına bağlı olduğu görüldü (Çizelge 4.5) Hidrojel formülasyonlarındaki PEG

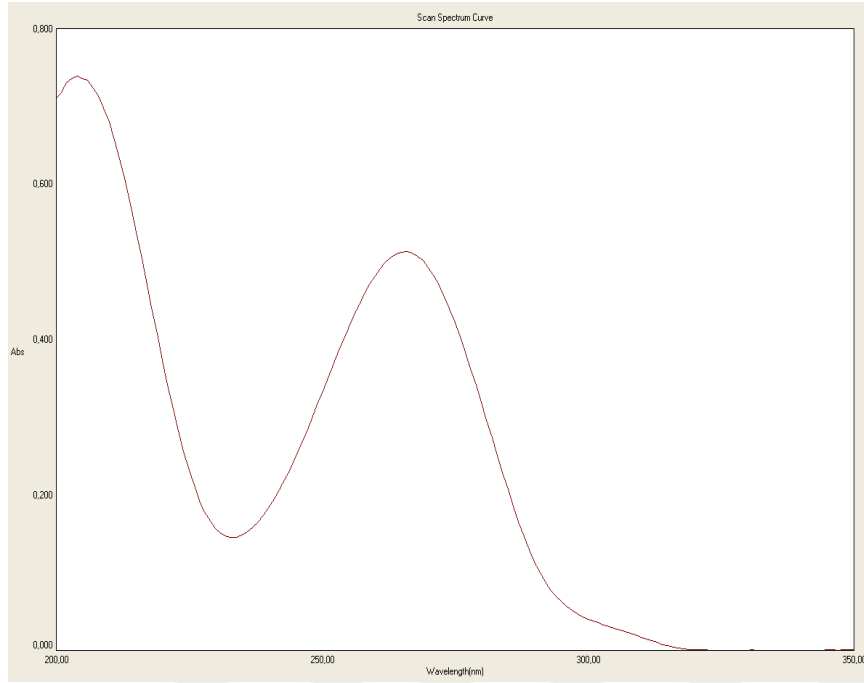
zinciri uzunluğu sabit tutularak, artan HPC oranı ile hidrojin artan hidrofilisitesi nedeni ile 5-FU salım hızın arttığı belirlenmiştir. Çizelge 4.5’de görüldüğü gibi p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 hidrojel formülasyonu en yüksek HPC oranına sahiptir ve dolayısıyla su içeriği daha yüksektir (Şekil 4.5) ve 5-FU'ya karşı geçirgenlik özelliği de daha yüksektir. HPC oranının azalması ile geçirgenliğin de azaldığı görülmektedir. 5-FU yükleme verimliliğinin p(HPM/PEG-MA/HPC)-6’dan, p(HPM/PEG-MA/HPC)-2’ye doğru gidildikçe arttığı gözlenmiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. p(HPM/PEG-MA)-1 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 hidrojin formülasyonlarının 5-FU'e karşı belirlenen geçirgenlik ve ilaç yükleme verimliliği

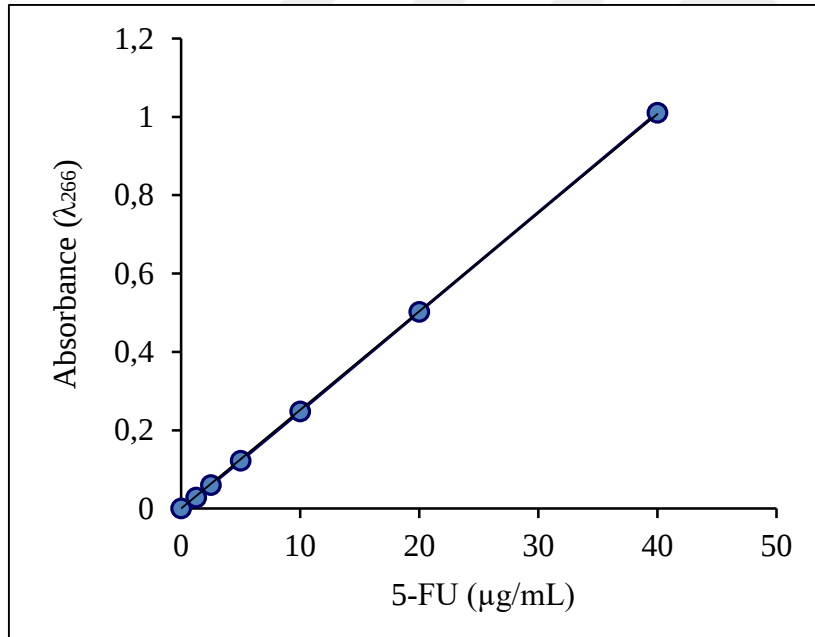
Hidrojin formülasyonu	Monomer/Makro- monomer/Polimer oranı (mL/mL/mL)	5-FU’e geçirgenlik (cm ² /s x 10 ⁻⁹)	İlaç yükleme verimi (%)
p(HPM/PEG-MA)-1	3,5/1,250/0,0	21,3	91
p(HPM/PEG-MA/HPC)-2	3,25/1,25/0,25	36,8	87
p(HPM/PEG-MA/HPC)-3	3,0/1,25/0,5	52,9	83
p(HPM/PEG-MA/HPC)-4	2,5/1,25/1,0	75,4	81
p(HPM/PEG-MA/HPC)-5	2,0/1,25/1,5	81,6	76
p(HPM/PEG-MA/HPC)-6	1,5/1,25/2,0	97,2	72

4.3. Hidrojin Formülasyonlarından 5-FU Antikanser İlacının In Vitro Kontrollü Salım Çalışmaları

5-FU antikanser ilacı yüklü p(HPM/PEG-MA)-1 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 hidrojin formülasyonları sürekli sistem reaktörüne yerleştirilerek sisteme sabit akış hızında, peristaltik pompa ile (Ismatec, IPG Model, Almanya) fizyolojik tampon çözeltisi girişi sağlandı. Belirli zaman aralıklarında alınan örneklerle salınan 5-FU miktarı spektrofotometre kullanılarak, ilacın verdiği maksimum dalga boyu olan 266 nm dalga boyunda (Şekil 4.7) spektrofotometrik olarak takip edilerek belirlendi. Salınan ilaç miktarının belirlenebilmesi için, 1,0 – 40 µg / mL derişim aralığında 5 - FU içeren üç set standart çözelti hazırlandı ve 266 nm’de absorbans değerleri ölçülerek kalibrasyon grafiği oluşturuldu (Şekil 4.8).



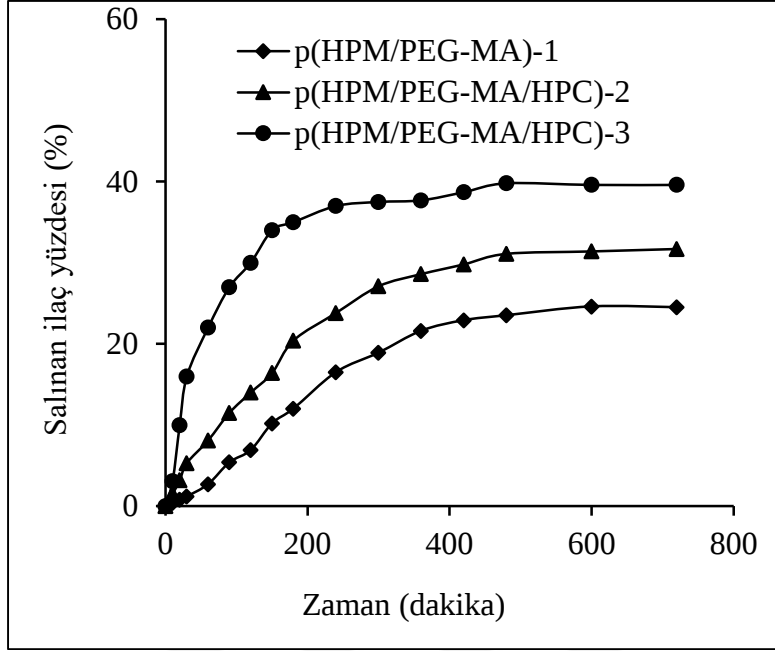
Şekil 4.7. 20 µg/mL derişime sahip olan 5-FU için spektrum eğrisi



Şekil 4.8. 5-FU için elde edilen kalibrasyon eğrisi

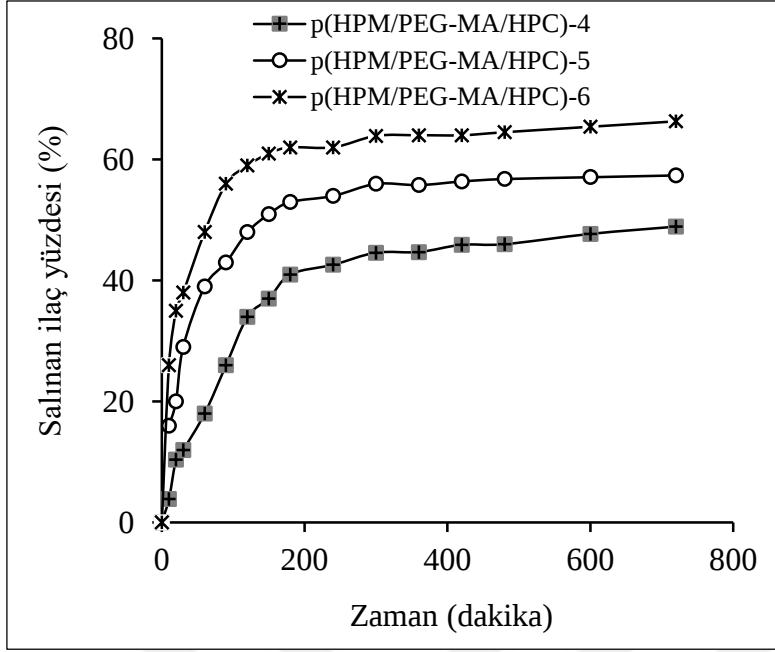
Hidrojel ağ yapı ilaç taşıyıcı sistemlerinden kontrollü ilaç salımı, hidrojin şişme özelliği, gözenekliliği ve hidrojel matrisinin erozyonunun yanı sıra ilaç-polimer etkileşimleri gibi çok sayıda faktörden etkilenmektedir. Bu çalışmada, p(HPM/PEG-MA)-1 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 hidrojin formülasyonlarından, 5-FU salımı, belirli zaman aralıklarında alınan örneklerin analizi ile belirlenmiştir. Antikanser ilacı yüklü p(HPM/PEG-MA)-1 ve

p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 hidrojelinden 5-FU'in kümülatif salım profili zamana bağlı olarak çalışılmış ve iki farklı ilaç yükleme dozu için elde edilmiş ve salım profilleri Şekil 4.9 ve 4.10'de verilmiştir. 5-FU salınımında hidrojel formülasyonunda yer alan HPC polimer oranının ve yüklenen ilaç dozunun etkisi sürekli salım sisteminde çalışılmıştır.



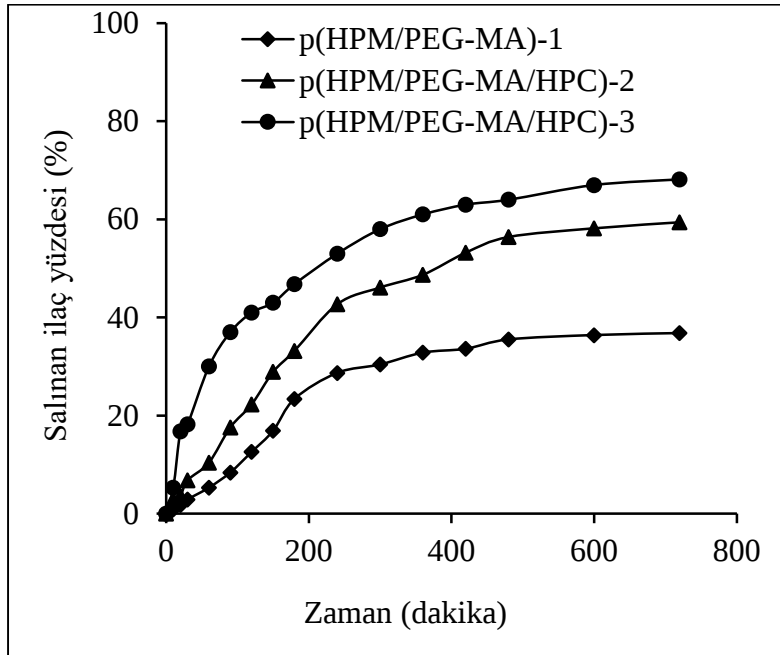
Şekil 4.9. 35 mg/mL 5-FU yüklü p(HPM/PEG-MA)-1, p(HPM/PEG-MA/HPC)-2 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-3 hidrojel formülasyonlarından ilaç salımı

Salınım profilleri, hidrojel formülasyonundaki HPC oranının artması ile, salınan 5-FU miktarının ve salınım hızının arttığını göstermiştir. 37 ° C'de 35 mg/mL 5-FU yüklemesiyle 780 dakikada p(HPM/PEG-MA)-1, p(HPM/PEG-MA/HPC)-2 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 hidrojel formülasyonları, sırasıyla % 24,5, %31,7 ve % 39,6 oranında ilaç salımı gözlenirken, aynı ilaç yükleme dozunda p(HPM/PEG-MA/HPC)-4, p(HPM/PEG-MA/HPC)-5 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 hidrojel formülasyonları için aynı süre sonunda salınan ilaç yüzdeleri sırası ile, % 48,9, % 57,4 ve % 66,3 olarak bulunmuştur (Şekil 4.9 ve 4.10).

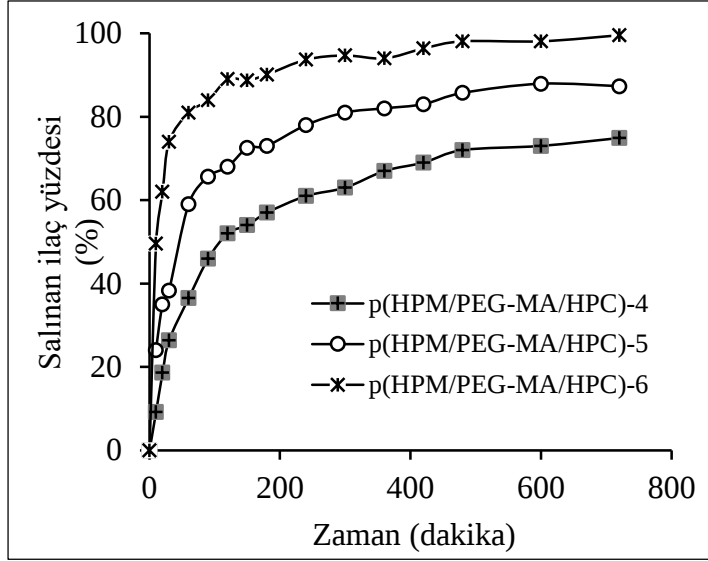


Şekil 4.10. 35 mg/mL 5-FU yüklü p(HPM/PEG-MA/HPC)-4, p(HPM/PEG-MA/HPC)-5 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 hidrojel formülasyonlarından ilaç salımı

Farklı formülasyondaki hidrojellerin salım kinetiğine yüklenen ilaç dozunun etkisini belirlemek için 70 mg/mL 5-FU yüklemesi yapıldı ve belirlenen salım profilleri Şekil 4.11 ve 4.12’de gösterildi.



Şekil 4.11. 70 mg/mL 5-FU yüklü p(HPM/PEG-MA)-1, p(HPM/PEG-MA/HPC)-2 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-3 hidrojel formülasyonlarından ilaç salımı



Şekil 4.12. 70 mg/mL 5-FU yüklü p(HPM/PEG-MA/HPC)-4, p(HPM/PEG-MA/HPC)-5 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 hidrojel formülasyonlarından ilaç salımı

Hidrojel formülasyonları, farklı 5-FU içeriklerine rağmen benzer salım profilleri elde edildi. p(HPM/PEG-MA)-1, p(HPM/PEG-MA/HPC)-2 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 hidrojel formülasyonları, sırasıyla % 36,8, %59,4 ve % 68,2 oranında ilaç salımı gözlenirken, aynı ilaç yükleme dozunda p(HPM/PEG-MA/HPC)-4, p(HPM/PEG-MA/HPC)-5 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 hidrojel formülasyonları için aynı süre sonunda salınan ilaç yüzdeleri sırası ile, % 74,9, %87,3 ve % 99,6 olarak belirlendi (Şekil 4.11 ve 4.12).

İlaç salım mekanizmasını değerlendirmek için, elde edilen deneysel veriler farklı salım kinetik modellerine (sıfır dereceli, birinci dereceden, Higuchi, Hixon-Crowell ve Korsmeyer-Peppas "güç yasası") uygulandı ve model sabitleri düşük dozda 5-FU yüklü hidrojel formülasyonları için Çizelge 4.6 ve 4.7'de verildi.

Çizelge 4.6. Düşük doz ilaç yüklü hidrojel formülasyonları için sıfırıncı ve birinci derece kinetik analizi

Formulation	Sıfırıncı Derece		Birinci Derece	
	$k_0 \times 10^2$ (dak^{-1})	R^2	$k \times 10^3$ (dak)	R^2
p(HPM/PEG-MA)-1	3,98	0,935	0,48	0,794
p(HPM/PEG-MA/HPC)-2	4,52	0,926	3,29	0,801
p(HPM/PEG-MA/HPC)-3	4,07	0,826	1,96	0,723
p(HPM/PEG-MA/HPC)-4	5,61	0,819	2,34	0,790
p(HPM/PEG-MA/HPC)-5	4,69	0,791	1,25	0,726
p(HPM/PEG-MA/HPC)-6	4,23	0,748	0,89	0,714

Çizelge 4.7. Düşük doz ilaç yüklü hidrojel formülasyonları için Higucci, Hixson-Crowell, ve Korsmeyer-Peppas kinetik analizi

Formulasyon	Higucci		Hixson-Crowell		Korsmeyer-Peppas		
	$k_H \times 10^2$ ($\text{min}^{-1/2}$)	R^2	$k_{HC} \times 10^2$ ($\text{min}^{-1/3}$)	R^2	$K_{KP} \times 10^{-2}$ (min^{-n})	n	R^2
p(HPM/PEG-MA)-1	1,25	0,978	3,01	0,862	9,73	1,04	0,951
p(HPM/PEG-MA/HPC)-2	1,46	0,975	2,49	0,835	8,38	0,98	0,967
p(HPM/PEG-MA/HPC)-3	1,41	0,981	1,73	0,778	7,45	1,38	0,978
p(HPM/PEG-MA/HPC)-4	1,92	0,992	2,18	0,748	6,02	0,86	0,952
p(HPM/PEG-MA/HPC)-5	1,64	0,896	1,37	0,749	5,87	1,19	0,976
p(HPM/PEG-MA/HPC)-6	1,47	0,943	1,04	0,893	5,45	0,92	0,963

Yüksek dozda 5-FU yüklü hidrojel formülasyonları için belirlenen model sabitleri ise Çizelge 4.8 ve 4.9’da verildi.

Çizelge 4.8. Yüksek doz ilaç yüklü hidrojel formülasyonları için Sıfırıncı ve birinci derece kinetik analizi

Formulation	Sıfırıncı Derece		Birinci Derece	
	$k_o \times 10^2$ (dak^{-1})	R^2	$k \times 10^3$ (dak)	R^2
p(HPM/PEG-MA)-1	5,72	0,918	4,30	0,782
p(HPM/PEG-MA/HPC)-2	8,76	0,930	2,61	0,701
p(HPM/PEG-MA/HPC)-3	7,94	0,889	2,29	0,767
p(HPM/PEG-MA/HPC)-4	7,62	0,857	1,92	0,716
p(HPM/PEG-MA/HPC)-5	7,30	0,803	1,04	0,634
p(HPM/PEG-MA/HPC)-6	4,85	0,796	0,60	0,679

Çizelge 4.9. Yüksek doz ilaç yüklü hidrojel formülasyonları için Higucci, Hixson-Crowell, and Korsmeyer-Peppas kinetik analizi

Formulasyon	Higucci		Hixson-Crowell		Korsmeyer-Peppas		
	k_H ($\text{min}^{-1/2}$)	R^2	$k_{HC} \times 10^2$ ($\text{min}^{-1/3}$)	R^2	$K_{KP} \times 10^{-2}$ (min^{-n})	n	R^2
p(HPM/PEG-MA)-1	1,83	0,968	0,32	0,840	8,46	0,92	0,996
p(HPM/PEG-MA/HPC)-2	2,77	0,982	0,34	0,864	8,15	0,78	0,960
p(HPM/PEG-MA/HPC)-3	2,60	0,965	0,25	0,791	7,61	0,80	0,981
p(HPM/PEG-MA/HPC)-4	2,53	0,942	0,22	0,871	7,02	0,77	0,966
p(HPM/PEG-MA/HPC)-5	2,50	0,919	0,16	0,747	6,45	1,15	0,952
p(HPM/PEG-MA/HPC)-6	1,68	0,947	0,09	0,794	4,78	0,82	0,965

Her iki dozda ilaç yüklü hidrojel formülasyonları için, deneysel sonuçların Hixson-Crowell modeli ile yeterli derecede uyumlu olmadığı görüldü. Korsmeyer-Peppas modelleri için doğrusal regresyon katsayısının ($R^2 > 0,95$) yüksek değerleri, bu analizin iki farklı ilaç yükleme konsantrasyonuna sahip hidrojel filmler için geçerli olduğunu doğrulamıştır. n

değerlerinin 0,77 ile 1,38 aralığında değiştiği gözlemlendi (Çizelge 4.7 ve Çizelge 4.9). Bu nedenle, hidrojel film formülasyonlarında in vitro serbest bırakma mekanizması, anormal aktarım ve Case II taşınım mekanizması ile tarif edilebilir. Model salım parametresi olan K_{KP} hidrojel formülasyonları için daha yüksek bulunmuştur.

4.4. 5-FU Yüklü Hidrojel Formülasyonlarından Salınan İlacın Kanser Hücrelerinin Çoğalma Özellikleri Üzerine Olan Etkileri

Hidrojel formülasyonları UV ile 1 saat sterilize edildikten sonra, Snu398 hücreleri 24 hazneli plakalara ekildi ve ilaç salınmayan mukabil kısımlar da dahil olmak üzere hidrojellerin tüm formülasyonları haznelere ilave edildi. Snu398 hücreleri tripsinize edildi ve hemositometre ile kültürün 6. gününde sayıldı. 5-FU varlığında ve yokluğunda HPC'nın ilaç salımı ve çoğalma özellikleri arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için hücre sayılarını gösteren grafikler çizildi (Çizelge 4.10).

Sonuçlar, Snu398 hücrelerinin sayısının, 5-FU salınımı yapan hidrojel formülasyonlarının beşinin de varlığında kültürlendiğinde önemli ölçüde azaldığını göstermiştir (Çizelge 4.10). Hidrojel formülasyonlarının iki farklı 5-FU konsantrasyonu (I1 ve I2) içermesi kalinde, hücre sayıları arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Tek başına hidrojellerin, ilaç salınımı olmadığında hücre çoğalmaları üzerinde hiçbir etkisinin olmadığı bulunmuştur. Birinci günde, $2,8 \times 10^4$ adet hücrenin her bir haznenin üzerine ekildiği ve kontrol grubunun hidrojelleri hariç tuttuğu önemle belirtilmelidir. Kültürün 6. gününde, kontrol grubunun hücre sayısındaki yaklaşık 31,4 kat artışı görüldü. İlaç yüklenmeyen formülasyonlar göz önüne alındığında, hücre sayılarındaki benzer artışın olduğu görüldü. Buna ek olarak, 5-FU salımı, tüm formülasyonlar için Snu398 hücrelerinin çoğalmasının yaklaşık olarak 62 ila 95 kat arasında azalmaya neden olmuştur. Bu sonuçlar 5-FU'dan salınımı yapan hidrojellerin in vitro olarak Snu398 hücrelerinin çoğalmasını engellediğini ve deri ve meme kanserlerinin tedavinde kullanılmak üzere yüksek bir potansiyele sahip olduğunu ve umut verici bir strateji olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Çizelge 4.10. 5-FU salımı yapan hidrojellerin farklı formülasyonlarının varlığında Snu398 hücrelerinin hücre sayıları (Kültürün 6.gününde sayılmıştır). D0, 1. günde yerleştirilen hücrelerin başlangıç sayısını ve kontrol grubu ise, hidrojellerin hariç tutulduğu 6. gündeki hücre sayılarını temsil etmektedir

Hidrojin formülasyonu	Hücre sayısı
D0	27546 ±1352
Kontrol	865012 ±12684
p(HPM/PEG-MA)-1	605108±10962
p(HPM/PEG-MA)-1-I1	9704 ±287
p(HPM/PEG-MA)-1-I2	7595 ±168
p(HPM/PEG-MA/HPC)-2	753173 ±28071
p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-I1	10211 ±406
p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-I2	9607 ±375
p(HPM/PEG-MA/HPC)-3	927056 ±30189
p(HPM/PEG-MA/HPC)-3-I1	10712 ±253
p(HPM/PEG-MA/HPC)-3-I2	9945 ±138
p(HPM/PEG-MA/HPC)-4	870056 ±31207
p(HPM/PEG-MA/HPC)-4-I1	10641 ±362
p(HPM/PEG-MA/HPC)-4-I2	9315 ±291
p(HPM/PEG-MA/HPC)-5	760122 ±32460
p(HPM/PEG-MA/HPC)-5-I1	8806 ±284
p(HPM/PEG-MA/HPC)-5-I2	7984 ±201
p(HPM/PEG-MA/HPC)-6	706503 ±39106
p(HPM/PEG-MA/HPC)-6-I1	27546 ±282
p(HPM/PEG-MA/HPC)-6-I2	3768 ±119

5. SONUÇLAR

Hidrojeller yan grupların yapısına göre nötr veya iyonik olarak sınıflandırılabilir. Hidrojeller ayrıca hazırlama yöntemlerine göre homopolimer veya kopolimer olarak da sınıflandırılır. Hidrojel doğal veya sentetik polimerlerden hazırlanabilir. Hidrojeller, midede düşük pH ve enzim varlığı gibi koşullara karşı ilaçları bu ortamlardan koruyabilir. Hidrojellerin gözenekli yapısı, ilaçların jel matrisi içine yüklenmesini olanaklı kılar ve sonrasında da önceden belirlenmiş bir oranda ve hızda ilaç salımına izin verir. Hidrojeller aynı zamanda, pH, sıcaklık, iyonik kuvvet ve elektrik alanı gibi çevresel uyarılara yanıt olarak jel yapısını değiştirerek ilaç salımını kontrol edebilecek şekilde tasarlanabilmektedirler.

Tez çalışmasında, film formundaki poli (2-hidroksipropil metakrilat/polietilen glikol-metakrilat/hidroksipropil kitosan) [p(HPM/PEG-MA/HPC)1-6] hidrojel formülasyonları hazırlandı, karakterizasyon çalışmaları tamamlandı ve 5-FU salımında kullanılmak üzere taşıyıcı sistem olarak kullanılma potansiyeli araştırıldı. Membranın bileşenlerinden biri olan 2-hidroksipropil metakrilat monomeri materyalin yeteri mekanik güce sahip olmasını sağlamaktadır. 5-FU ilacın kontrollü salımı için geliştirilen hidrojeller, modifiye edilmiş doğal polimer HPC ile farklı oranlarında HPM monomeri katılarak ve polimerizasyon karışımına PEG-MA makromonomeri ilave edilerek hidrojinin yüzeyinde hidrofilik ve biyo uyumlu PEG zincirlerinin oluşturulmasını mümkün kılmak için yapıya katılmıştır. İlave olarak, kontrollü ilaç salım sisteminde kullanılması planlanan sistemin bu yol ile hazırlanması, herhangi bir aktivasyon veya modifikasyon işlem basamaklarını içermemesi, kısa sürede ve dolayısı ile düşük işlem maliyeti gerektirmesi sistemin sunduğu önemli avantajlar olarak düşünülmektedir. Polimerizasyon kısa sürede ve oda sıcaklığında gerçekleştirilebilmesi hidrojel yapılara yüklenecek antikanser ilacı olan 5-FU'in yapısında herhangi bir bozulmaya neden olmadan aktifliğini koruması, kontrollü salım sistemlerinde bir diğer önemli parametredir.

Hidrojel yapıdaki pHPM/HPC membranları, UV fotopolimerizasyon yöntemi ile sentezlendi. Kontrollü salım sisteminde taşıyıcı destek materyali olarak kullanılmak üzere pHPM/kitosan hidrojel membranları farklı monomer : polimer (HPM:HPC) oranları ve polimerizasyon koşullarının altında sentezlenmiş ve ilaç salım profili üzerine etkileri

araştırılmıştır. Sonraki aşamada ise, elde edilen uygun değerler varlığında, PEG-MA makromonomerinin oranı sabit tutularak, HPC polimerinin ve HPM monomerinin oranı değiştirilerek hazırlanan kompozisyondaki hidrojellerin mekanik dayanımı ve ilaç salım kinetikleri deneysel işletim koşulları altında incelenmiştir.

HPM:HPC oranı 3,5:0 – 1,5:2,0 (v/v; mL/mL) aralığında değiştirilmiş ve p(HPM/PEG-MA)-1 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 formülasyonlarının kontrollü ilaç salımında kullanılmak üzere yeterli mekanik dayanıma sahip olduğu ve gözlemlenmiştir.

Hidrojellerin, hidrofilik yapısı nedeni ile, sulu ortamdaki şişme özelliklerinin hidrojel formülasyonuna göre önemli derecede değiştiği belirlenmiştir. Hidrojel formülasyonundaki HPC oranı arttıkça su ile belirlenen temas açılarında azalmaların olduğu gözlenmiştir.

Serum proteinlerinin polimerik yapılar üzerine adsorpsiyonu, fizyolojik pH değerinde (pH 7,4), farklı albumin ve fibrinojen başlangıç derişimlerinde, kesikli sistemde çalışılmıştır. p(HPM/PEG-MA)-1'ya kıyasla, yapıya HPC eklenmesi ile hidrojel yüzeyine adsorplanan albumin ve fibrinojen miktarlarının önemli ölçüde azaldığı görülmüştür. p(HPM/PEG-MA)-1 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 hidrojel formülasyonları ile inkübasyondan önce ve sonra yapılan tam kan sayımı ile, platelet yapışması oranının %6,4-7,8 ve yapışan platelet sayısının da 41-37 platelet mm⁻² aralığında değiştiği belirlenmiştir. Bu oranlar literatüre göre oldukça düşük bulunmuştur (1586 hücre/mm²).

Tez çalışmasının ikinci aşamasında, kontrollü salım sistemi olarak kullanılmak üzere hazırlanan taşıyıcı implant sistemine [p(HPM/PEG-MA)-1 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 hidrojel formülasyonları] iki ayrı dozda yüklenen antikanser ilacı 5-florourasil'in salımı sürekli sistemde takip edilerek, salım kinetiği ve ilgili parametreleri belirlenmiştir. Sürekli sistem reaktörüne yerleştirilen, 5-FU antikanser ilacı yüklü p(HPM/PEG-MA)-1 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-2-6 hidrojel formülasyonlarının, sabit akış hızında, kontrollü salım çalışmaları yürütülmüştür. Salınım profilleri, hidrojel formülasyonundaki HPC oranının artması ile salınan 5-FU miktarının ve salınım hızının arttığını göstermiştir.

37 ° C'de 35 mg/mL 5-FU yüklemesiyle 780 dakikada p(HPM/PEG-MA)-1, p(HPM/PEG-MA/HPC)-2 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-3 hidrojel formülasyonları, sırasıyla % 24,5, %31,7 ve % 39,6 oranında ilaç salımı gözlenirken, aynı ilaç yükleme dozunda p(HPM/PEG-

MA/HPC)-4, p(HPM/PEG-MA/HPC)-5 ve p(HPM/PEG-MA/HPC)-6 hidrojel formülasyonları için aynı süre sonunda salınan ilaç yüzdeleri sırası ile, % 48,9, % 57,4 ve % 66,3 olarak bulunmuştur.

İlaç salım mekanizmasını değerlendirmek için, elde edilen deneysel veriler farklı salım kinetik modellerine (sıfır dereceli, birinci dereceden, Higuchi, Hixon-Crowell ve Korsmeyer-Peppas "güç yasası") uygulanmıştır. Korsmeyer-Peppas modelleri için doğrusal regresyon katsayısının ($R^2 > 0,95$) yüksek değerleri, bu analizin iki farklı ilaç yükleme konsantrasyonuna sahip hidrojel filmler için geçerli olduğunu doğrulamıştır.

Hidrojel formülasyonları UV ile 1 saat sterilize edildikten sonra, Snu398 hücreleri 24 hazneli plakalara ekildi ve ilaç salınmayan mukabil kısımlar da dahil olmak üzere hidrojellerin tüm formülasyonları haznelere ilave edildi. Snu398 hücreleri tripsinize edildi ve hemositometre ile kültürün 6. gününde sayılmıştır. Sonuçlar, Snu398 hücrelerinin sayısının, 5-FU salınımı yapan hidrojel formülasyonlarının beşinin de varlığında kültürlendiğinde önemli ölçüde azaldığını göstermiştir. Hidrojel formülasyonlarının iki farklı 5-FU konsantrasyonu (I1 ve I2) içermesi halinde, hücre sayıları arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Bu sonuçlar 5-FU'dan salımı yapan hidrojellerin in vitro olarak Snu398 hücrelerinin çoğalmasını engellediğini ve deri ve meme kanserlerinin tedavisinde kullanılmak üzere yüksek bir potansiyele sahip olduğunu ve umut verici bir strateji olarak kullanılabileceğini göstermiştir.



KAYNAKLAR

1. Baker, M.V., Brown, D.H., Casadio, Y.S. and Chirila, T.V. (2009). The preparation of poly(2-hydroxyethyl methacrylate) and poly{(2-hydroxyethyl methacrylate)-co-[poly(ethylene glycol) methyl ether methacrylate]} by photoinitiated polymerisation-induced phase separation in water. *Polymer Science*, 50(25), 5918-5927.
2. Knuth, K., Amiji, M. and Robinson, J.R. (1993). Hydrogel delivery systems for vaginal and oral applications: Formulation and biological considerations. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 11(1-2), 137-167.
3. Bayramoğlu, G. (2003). Poly(2-hydroxyethylmethacrylate)/chitosan dye and different metal-ion-immobilized interpenetrating network membranes: Preparation and application in metal affinity chromatography. *Journal of Applied Polymer Science*, 88(7), 1843-1853.
4. Kost, J. and Langer, R. (2001). Sonophoretic Enhanced Transdermal Transport *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46(12), 125.
5. Ju, H.K. and Kim, S.Y. (2001). pH/temperature-responsive behaviors of semi-IPN and comb-type graft hydrogels composed of alginate and poly(*N*-isopropylacrylamide). *Polymer*, 42(16), 6851-6857.
6. Hsiue, G., Guu, J. and Cheng, C. (2001). Poly(2-hydroxyethyl methacrylate) film as a drug delivery system for pilocarpine. *Biomaterials*, 22(13), 1763-1769.
7. Gupta, P., Vermani, K. and Garg, S. (2002). Hydrogels: from controlled release to pH-responsive drug delivery. *Drug Discovery Today*, 7(10), 569-579.
8. Kavruk, M., Celikbicak, O., Ozalp, V.C., Borsa, B.A., Hernandez, F.J., Bayramoglu, G., Salih, B. ve Arica, M.Y. (2015). Antibiotic loaded nanocapsules functionalized with aptamer gates for targeted destruction of pathogens. *Chemical Communications*, 51(40), 8492-8495.
9. Peppas, N.A. (2004). Devices based on intelligent biopolymers for oral protein delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 277(1-2), 11-17.
10. Muniz, E.C. and Geuskens, G. (2000). Influence of temperature on the permeability of polyacrylamide hydrogels and semi-IPNs with poly(*N*-isopropylacrylamide). *Journal of Membrane Science*, 172(1-2), 287-293.
11. Lombello, C.B., Malmonge, S.M. and Wada, M.L.F. (2000). PolyHEMA and polyHEMA-poly(MMA-co-AA) as substrates for culturing Vero cells. *Materials in Medicine*, 11(9), 541-546.
12. Shantha, K.L. and Harding, D.R.K. (2003). Synthesis, characterisation and evaluation of poly[lactose acrylate-*N*-vinyl-2-pyrrolidinone] hydrogels for drug delivery. *European Polymer Journal*, 39(1), 63-68.

13. Wolthius van Dijk, W.N.E., Hoogeboom, J.A.M., van Steenberghe, M.J., Tsang, S.K.Y. and Hennink, W.E. (1997). Degradation and release behavior of dextran-based hydrogels. *Macromolecules*, 30(16), 4639-4645.
14. Sawhney, A.S., Pathak, C.P. and Hubbel, J.A. (1993). Bioerodible hydrogels based on photopolymerized poly(ethylene glycol)-co-poly(alpha-hydroxy acid) diacrylate macromers. *Macromolecules*, 26(4), 581-587.
15. Huang, S.F., Chen, J.L., Yeh, M.K. and Chiang, C.H. (2005). Physicochemical Properties and *In Vivo* Assessment of Timolol-Loaded Poly(D,L-Lactide-co-Glycolide) Films for Long-Term Intraocular Pressure Lowering Effects. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 21(6), 445-453.
16. De Faria, T.J., De Campos, A.M. and Senna, E.L. (2005). Preparation and Characterization of Poly(D,L-Lactide) (PLA) and Poly(D,L-Lactide)-Poly(Ethylene Glycol) (PLA-PEG) Nanocapsules Containing Antitumoral Agent Methotrexate. *Macromolecular Symposia*, 229(1), 228-233.
17. Cao, Y., Zhang, C. and Ping, Q. (2005). Preparation and Characterization of a Novel poly(N-isopropyl acrylamide)-chitosan. *Polymeric Materials Science & Engineering*, 21(6), 236.
18. Prabakaran, M., Reis, R.L. and Mano, J.F. (2007). Carboxymethyl chitosan-graft-phosphatidylethanolamine: Amphiphilic matrices for controlled drug delivery. *Reactive and Functional Polymers*, 67(1), 43-52.
19. Arica, M.Y., Bayramoğlu, G., Arica, B., Yalçın, E., Ito, K. ve Yağcı, Y. (2005). Novel Hydrogel Membrane Based on Copoly(hydroxyethyl methacrylate/p-vinylbenzyl-poly(ethylene oxide)) for Biomedical Applications: Properties and Drug Release Characteristics. *Macromolecular Bioscience*, 5(10), 983-992.
20. Bayramoğlu, G. ve Arica, M.Y. (2003). A novel pH sensitive porous membrane carrier for various biomedical applications based on pHEMA/chitosan: preparation and its drug release characteristics. *Macromolecular Symposia*, 203(1), 213-218.
21. Park, J. and Lakes, R.S. (2007). *Biomaterials: an introduction*. New York: Springer Science & Business Media (Third Edition), 2.
22. Reddy, N., Reddy, R. and Jiang, Q. (2015). Crosslinking biopolymers for biomedical applications. *Trends in Biotechnology*, 33(6), 362-369.
23. Korhonen, H. and Pihlanto, A. (2006). Bioactive peptides: production and functionality. *International Dairy Journal*, 16(9), 945-960.
24. Li, M., Mondrinos, M. J., Gandhi, M.R., Ko, F.K., Weiss, A.S. and Lelkes, P.I. (2005). Electrospun protein fibers as matrices for tissue engineering. *Biomaterials*, 26(30), 5999-6008.
25. Chawia, A.S. and Sipehia, R. (1986). Characterization of plasma polymerized polypropylene coatings. *Biomaterials*, 7(2), 155-157.

26. Cooper, S.L., Peppas, N.A., Hoffman, A.S. and Ratner, B.D. (1982). *Biomaterials: Interfacial Phenomene and Applications*. Advances in Chemistry Series, 199-211.
27. Edgerton, M. and Levine, M.J. (1993). Biocompatibility: its future in prosthodontic research. *The Journal of Prosthetic Denstistry*, 69(4), 406-415.
28. Williams D.F. (1987). *Definitions of biomaterials*. Proceeding of consensus conference of the Europen Society for Biomaterials, Chester, England.
29. Kenneth, R.S.J. (2017). Biocompatibility of dental materials. *Dental Clinics North America*, 51(3), 747-760.
30. Wataha J.C. (2001). Principles of biocompatibility for dental practitioners. *Journal Prosthet Denstistry*, 86(2), 203-209.
31. Park, J.B. (1979). *Biomaterials: An introduction*. New York: Plenum Press.
32. Wood, D.A. (1980). Biodegradable drug delivery system. *International Journal of Pharmaceutics*, 7(1), 1-18.
33. Langer, R.S. and Peppas, N.A. (1981). Present and future application of biomaterials in controlled drug delivery systems. *Biomaterials*, 2(4), 201-214.
34. Ashar, B.V. (1987). Characterization and testing of biomaterials and medical devices. *MD&DI*, 122(2), 57-63.
35. Tanaka, T. (1981). Gels. *Scientific American*, 244(1), 110-123.
36. Shibayama M. and Tanaka T. (1993). Phase transition and related phenomena of polymer gels. *Advances in Polymer Science*, 109, 1-62.
37. Arğun, A. (2013). *Kendi kendini onarabilen hidrofobik modifiye poliakrilamid hidrojelinin mekanik özelliklerine bileşenlerinin etkisinin incelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
38. Park, H. (2002). Superporous hydrogels for pharmaceutical and other applications. *Drug Deliver Technology*, 38(2), 40-44.
39. Duran, S. (2000). *Synthesis and characterization of acrylamide-acrylic acid hydrogels and adsorption of some textile dyes*. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
40. Peppas, N.A. and Khare, A.R. (1993). Preparation, structure and diffusional behavior of hydrogels in controlled release. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 11(1-2), 1-35.
41. Alvarez-Lorenzo, C. and Concheiro, A. (2002). Reversible adsorption by a pH and temperature-sensitive acrylic hydrogel. *Journal of Controlled Release*, 80(1-3), 247-257.
42. Karadağ, E., Saraydın, D. and Guven, O. (1997). Cationic dye adsorption by acrylamide/itanconic acid hydrogels in aqueous solutions. *Polymers for Advanced Technologies*, 8, 574-578.

43. Kundakçı, S., Üzüm, Ö.B. ve Karadağ, E. (2009). A new composite sorbent for water and dye uptake: Highly swollen acrylamide/2-acrylamido-2-methyl-1-propanesulfonic acid/clay hydrogels crosslinked by 1,4-butanediol dimethacrylate. *Polymer Composites*, 30(1), 29-37.
44. Almdal, K., Dyre, J., Hvidt, S. and Kramer, O. (1993). What is a 'gel'? *Makromolecular Symposia*, 76(1), 49-51.
45. Hoffman, A.S. (2002). Hydrogels for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54(1), 3-12.
46. Peppas, N.A., Keys, K.B., Torres-Lugo, M. and Lowman, A.M. (1999). Poly(ethyleneglycol) containing hydrogels in drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 62(1-2), 81-87.
47. Bajpai, A.K., Shulka, S., Bhanu, S. and Kankane, S. (2008). Responsive polymers in controlled drug delivery. *Progress in Polymer Science*, 33(11), 1088-1118.
48. Hennink, W.E. and Nostrum, C.F. (2002). Novel crosslinking methods to design hydrogels. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54(1), 13-36.
49. Lin, C.C. and Metters, A.T. (2006). Hydrogels in controlled release formulations: Network design and mathematical modeling. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58(12-13), 1379-1408.
50. Ayhan H. (2002). Yeni Ufuklara-Biyomalzemeler. *Bilim Teknik Dergisi*, 12(3), 11.
51. Guang, W.Y. (2002). *The effect of chitosan and its derivatives on the dyeability of silk*. Doktora Tezi, Hong Kong Politeknik Üniversitesi, Hong Kong.
52. Bayramoğlu, G., Yılmaz, M. ve Arıca, M.Y. (2010). Preparation and characterization of epoxy-functionalized magnetic chitosan beads: Laccase immobilized for degradation of reactive dyes. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 33(4), 439-448.
53. Arıca, M.Y., Yılmaz, M. ve Bayramoğlu, G. (2007). Chitosan-grafted poly(hydroxyethyl methacrylate-co-glycidyl methacrylate) membranes for reversible enzyme immobilization. *Journal of Applied Polymer Science*, 103(5), 3084-3093.
54. Çimen, H.S. (2006). *Lizozim saflaştırılması işleminde kullanılmak üzere yeni affinite destek materyalinin hazırlanması: Destek materyalinin yüzey özelliklerinin, adsorpsiyon mekanizmasının aydınlatılması*. Yüksek Lisans Tezi, Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kırıkkale.
55. Muzzarelli, R., Conti, F. and Ferrara, P. (1988). Biological activity of chitosan: ultrastructural study. *Biomaterials*, 9(3), 247-252.
56. Reynolds, B.L. (1960). Wound healing III: artificial maturation of arrested regenerate with an acetylated amino sugar. *The American Surgeon*, 26, 113-117.
57. Kumar, M.N.V. (2000). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers*, 46(1), 1-27.

58. Hirano, S., Yamaguchi, Y. and Kamiya, M. (2002). Novel *N*-saturated-fatty-acyl derivatives of chitosan soluble in water and in aqueous acid and alkaline solutions. *Carbohydrate Polymers*, 48(2), 203–207.
59. Shahidi, F., Arachchi, J.K.V. and Jeon, Y. F. (1999). Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science and Technology*, 10(2), 37–51.
60. Miyatake, K., Okamoto, Y., Shigemasa, Y., Tokura, S. and Minami, S. (2003). Anti-inflammatory effect of chemically modified chitin. *Carbohydrate Polymers*, 53(4), 417–423.
61. Lee, J.K., Lim, H.S. and Kim, J.H. (2002). Cytotoxic activity of aminoderivatized cationic chitosan derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 12(20), 2949–2951.
62. Nishimura, S.I., Hideaki, K., Shinada, K., Yoshida, T., Tokura, S., Kurita, K., Nakashima, H., Yamamoto, N. and Uryue, T. (1998). Regioselective syntheses of sulfated polysaccharides: specific anti-HIV-1 activity of novel chitin sulfates. *Carbohydrate Research*, 306(3), 427–433.
63. Huang, R., Du, Y. and Yang, J. (2003). Preparation and anticoagulant activity of carboxybutyrylated hydroxyethyl chitosan sulfates. *Carbohydrate Polymers*, 51(4), 431–438.
64. Rabea, E.I., Badawy, M.T., Rogge, T.M., Stevens, C.V., Smagghe, G., Hofte, M. and Steurbaut, W. (2003). *Processing of the 9th International Chitin-Chitosan Conference*. Montreal, Quebec, Canada, 103–104.
65. Jia, Z., Shen, D. and Xu, W. (2001). Synthesis and antibacterial activities of quaternary ammonium salt of chitosan. *Carbohydrate Research*, 333(1), 1–6.
66. Avadi, M.R., Sadeghi, A.M.M., Tahzibi, A., Bayati, Kh., Pouladzadeh, M., Zohuriaan-Mehr, M.J. and Rafee-Tehrani, M. (2004). Diethylmethyl chitosan as an antimicrobial agent: Synthesis, characterization and antibacterial effects. *European Polymer Journal*, 40(7), 1355–1361.
67. Badawy, M.E.I., Rabea, E.I., Rogge, T.M., Stevens, C.V., Smagghe, G., Steurbaut, W. and Höfte, M. (2004). Synthesis and Fungicidal Activity of New *N,O*-Acyl Chitosan Derivatives. *Biomacromolecules*, 5(2), 589–595.
68. Prabakaran, M. and Mano, J.F. (2005). Hydroxypropyl chitosan bearing beta-cyclodextrin cavities: synthesis and slow release of its inclusion complex with a model hydrophobic drug. *Macromolecular Bioscience*, 5(10), 965–973.
69. Lu, G., Ling, K., Zhao, P., Xu, Z.H., Deng, C., Zheng, H., Huang, J. and Chen, J.H. (2009). A novel in situ-formed hydrogel wound dressing by the photocross-linking of a chitosan derivative. *Wound Repair and Regeneration*, 18(1), 70–79.
70. Sparavigna, A., Caserini, M., Tenconi, B., De Ponti, I. and Palmieri, R. (2014). Effects of a novel nail lacquer based on hydroxypropyl-chitosan (HPCH) in subjects with fingernail onychoschizia. *Journal of Dermatology and Clinical Research*, 2(2), 1013.

71. Lusiana, R.S. and Müller-Goymann, C.C. (2013). Infected nail plate model made of human hair keratin for evaluating the efficacy of different topical antifungal formulations against *Trichophyton rubrum* in vitro. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 84(3), 599-605.
72. Sparavigna, A., Setaro, M. and Frisenda L. (2008). Physical and microbiological properties of a new nail protective medical device. *Journal of Plastic Dermatology*, 4, 1.
73. Gözen D. (2013). *Applications of Biomaterials in Cancer Diagnosis and Treatment*. Yüksek Lisans Tezi, Bilkent Üniversitesi Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
74. Bayramoğlu, G., Ertan, B. ve Arica, M.Y. (2009). Preparation and Drug-Release Behavior of Minocycline-Loaded Poly[hydroxyethyl methacrylate-co-poly(ethyleneglycol)-methacrylate] Films. *Journal of Applied Polymer Science*, 112(2), 1012–1020.
75. Bayramoglu, G., Akcalı, K.C., Gültekin, S., Bengü, E. ve Arica, M.Y. (2011). Preparation and Characterization of Poly(hydroxyethyl methacrylate-co-poly(ethyleneglycol-methacrylate)/Hydroxypropyl-chitosan) Hydrogel Films: Adhesion of Rat Mesenchymal Stem Cells. *Macromolecular Research*, 19(4), 385-395.
76. Kopeček, J. (2007). Hydrogel biomaterials: A smart future? *Biomaterials*, 28(34), 5185-5192.
77. İnternet: URL:
<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.odevsel.com%2Ftip%2F5466%2Fkontrollu-ilac-salimi.html&date=2018-02-03>, Son Erişim Tarihi: 31.12.2017.
78. Lin, C.C. and Metters, A.T. (2006). Hydrogels in controlled release formulations: Network design and mathematical modeling. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58(12-13), 1379-1408.
79. Palazzo, B., Sidoti, M.C., Roveri, N., Tampieri, A., Sandri, M., Bertolazzi, L., Galbusera, F., Dubini, G., Vena, P. and Contro, R. (2005). Controlled drug delivery from porous hydroxyapatite grafts: An experimental And theoretical approach. *Materials Sceince and Engineering*, 25(2), 207-213.
80. Bai, L., Gu, F., Feng, Y. and Liu, Y. (2008). Synthesis of microporous pH-sensitive polyacrylic acid/poly (ethylene glycol) hydrogels initiated by potassium diperiodatocuprate (III). *Iranian Polymer Journal*, 17(5), 325- 332.
81. Torres-Lugo, M. and Peppas, N.A. (1999). Molecular design and in vitro studies of novel pH-sensitive hydrogels for the oral delivery of calcitonin. *Macromolecules*, 32(20), 6646-6651.
82. Yang, Z., Zhang, Y., Markland, P. and Yang, V.C. (2002). Poly(glutamic acid) poly(ethylene glycol) hydrogels prepared by photo induced polymerization:

- synthesis, characterization, and preliminary release studies of protein drugs. *Journal of Biomedical Materials Research*, 62(1), 14-21.
83. Park, S.Y. and Bae, Y.H. (1999). Novel pH-sensitive polymers containing sulfonamide groups. *Macromolecular Rapid Communications*, 20(5), 269-273.
 84. Bütün, V., Armes, S.P. and Billingham, N.C. (2001). Synthesis and aqueous solution properties of near-monodisperse tertiary amine methacrylate homopolymers and diblock copolymers. *Polymer*, 42(14), 5993-6008.
 85. Gohy, J., Lohmeijer, B.G.G., Varshney, S.K., Decamps, B., Leroy, E., Boileau, S. and Schubert, U.S. (2002). Stimuli-responsive aqueous micelles from an ABC metallo-supramolecular triblock copolymer. *Macromolecules*, 35(26), 9748-9755.
 86. Lynn, D.M., Amiji, M.M. and Langer, R. (2001). pH-responsive polymer microsphere: Rapid release of encapsulated material within the range of intracellular pH. *Angewandte Chemie International Edition*, 40(9), 1707-1710.
 87. Padavan, D., Hamilton, A., Boughner, D. and Wan, W.K. (2011). Synthesis and in vitro biocompatibility assessment of a poly(amic acid) derived from ethylenediaminetetraacetic dianhydride. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 22(4-6), 683-700.
 88. Padavan D.T., Amanda, M.H., Leonardo, E.M., Derek, R.B. and Wankei, W. (2011). Synthesis, characterization and in vitro cell compatibility study of a poly(amic acid) graft/cross-linked poly(vinyl alcohol) hydrogel. *Acta Biomaterialia*, 7(1), 258–267.
 89. Kamada, H., Tsutsumi, Y., Yoshioka, Y., Yamamoto, Y., Kodaira, H., Tsunoda, S., Okamoto, T., Mukai, Y., Shibata, H., Nakagawa, S. and Mayumi, T. (2004). Design of a pH-sensitive polymeric carrier for drug release and its application in cancer therapy. *Clinical Cancer Research*, 10(7), 2545-2550.
 90. Dolatabadi-Farahani, T., Vasheghani-Farahani, E. and Mirzadeh, H. (2005). Swelling behaviour of alginate N,O-carboxymethyl chitosan gel beads coated by chitosan. *Iranian Polymer Journal*, 15(5), 405-415.
 91. Ende, M.T. and Peppas, N.A. (1996). Transport of Ionizable Drugs and Proteins in Crosslinked Poly(acrylic acid) and Poly(acrylic acid-co-2-hydroxyethyl methacrylate) Hydrogels. 1. Polymer Characterization. *Journal of Applied Polymer Science*, 59, 673.
 92. Kim, B. and Peppas, N.A. (2003). In vitro release behavior and stability of insulin in complexation hydrogels as oral drug delivery carriers. *International Journal of Pharmaceutics*, 266(1-2), 29-37.
 93. Klumb, L.A. and Horbett, T.A. (1993). The effect of hydronium ion transport on the transient behavior of glucose sensitive membranes. *Journal of Controlled Release*, 27(2), 95-114.
 94. Angadi, S.C., Manjeshwar, L.S. and Aminabhavi, T.M. (2010). Interpenetrating polymer network blend microspheres of chitosan and hydroxyethyl cellulose for

- controlled release of isoniazid. *International Journal of Biological Macromolecules*, 47(2), 171-179.
95. Changez, M., Koul, V. and Dinda, A.K. (2005) Efficacy of antibiotics-loaded interpenetrating network (IPNs) hydrogel based on poly (acrylic acid) and gelatin for treatment of experimental osteomyelitis: in vivo study. *Biomaterials*, 26(14), 2095-2104.
 96. Jiang, G., Sun, J. and Ding, F. (2014). PEG-g-chitosan thermosensitive hydrogel for implant drug delivery: cytotoxicity, in vivo degradation and drug release. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 25(3), 241-256.
 97. Hezaveh, H. and Muhamad, I.I. (2013). Controlled drug release via minimization of burst release in pH-response kappa-carrageenan/polyvinyl alcohol hydrogels. *Chemical Engineering Research and Design*, 91(3), 508–519.
 98. Kintzel, P.E. (2001). Anticancer drug-induced kidney disorders. *Incidence, Prevention and Management. Drug Safety*, 24(1), 19-38.
 99. Viale, S.B. and Minetti-Ottone M.A. (2003). Preclinical in vitro evaluation of hematotoxicity of the cisplatin-procaine complex DPR. *Anti-cancer Drugs*, 14(2), 163-166.
 100. Correale, P., Cerretani, D., Marsili, S., Pozzessere, D., Petrioli, R., Messinese, S., Sabatino, M., Roviello, F., Pinto, E., Francini, G. and Giorgi, G. (2003). Gemcitabine increases systemic 5-fluorouracil exposure in advanced cancer patients. *European Journal of Cancer*, 39(11), 1547-1551.
 101. Xian, C.J., Howard, G.S., Cool, J.C. and Foster, B.K. (2004). Effects of acute 5-fluorouracil chemotherapy and insulin-like growth factor-1 pretreatment on growth plate cartilage end metaphyseal bone in rats. *Bone*, 35(3), 739-749.
 102. Toyoda, K., Shibutani, M., Sato, H., Uneyama, C., Takahashi, M., Hayashi, Y. and Hirose, M. (2000). Lack of Carcinogenicity and increased survival in F344 rats treated with 5- fluorouracil for two years. *Food and Chemical Toxicology*, 38(2-3), 187-193.
 103. Dökmeci, İ. (1996). *Farmakoloji: İlaç Uygulamalarında Temel Kavramlar*. Türkiye: Saray Medikal Yayıncılık, 900-901.
 104. Fu, Y.J., Shyu, S.S., Su, F.H. and Yu, P.C. (2002). Development of biodegradable copoly(D,L-lactic/glycolic acid) microspheres for the controlled release of 5-FU by the spray drying method. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 25(4), 269-279.
 105. Zinutti, C., Kedzierewicz, F., Hoffman, M., Benoit, J.P. and Maincent, P. (1996). Influence of the casting solvent on the physico-chemical properties of 5- fluorouracil loaded microspheres. *International Journal of Pharmaceutics*, 133(1-2), 97-105.
 106. Zhang, C., Cheng, Y., Qu, G., Wu, X., Ding, Y., Cheng, Z., Yu, L. and Ping, Q. (2008). Preparation and characterization of galactosylated chitosan coated BSA microspheres containing 5-fluorouracil. *Carbohydrate Polymers*, 72(3), 390-397.

107. Çiftçi, K., Kaş, H.S., Hıncal, A.A., Ercan, T.M., Güven, O. ve Ruacan, Ş. (1996). In vitro and in vivo evaluation of PLGA (50/50) microspheres containing 5-fluorouracil prepared by a solvent evaporation method. *International Journal of Pharmaceutics*, 131(1), 73-82.
108. Babu, V.R., Sairam, M., Hosamani, K.M. and Aminabhavi, T.M. (2006). Development of 5-fluorouracil loaded poly(acrylamide-co-methylmethacrylate) novel core-shell microspheres: in vitro release studies. *International Journal of Pharmaceutics*, 325(1-2), 55-62.
109. Zinutti, C., Barberi-Heyob, M., Hoffman, M. and Maincent, P. (2003). In-vivo evaluation of sustained release microspheres of 5-FU in rabbits. *International Journal of Pharmaceutics*, 166(2), 231-234.
110. Daoyong, T., Peng, Y., Faqin, D., Hongping, H., Shiyong, S. and Zongwen, L. (2017). Selective loading of 5-fluorouracil in the interlayer space of metoxy-modified kaolinite for controlled release. *Applied Clay Science*, 12(22), 118-129.
111. Liangliang, H., Weiping, S., Yuanxiu, W. and Qiang J. (2010). Preparation of chitosan/chondroitin sulfate complex microcapsules and application in controlled release of 5-fluorouracil. *Carbohydrate Polymers*, 80(1), 168–173.
112. Marcin, S., Magdalena, H., Piotr, G., Ewa, O. and Wacław, L.K. (1999). Use of aliphatic poly(amide urethane)s for the controlled release of 5-fluorouracil. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46(3), 914-918.
113. Kunkun, Z., Ting, Y., Jinjin, L., Zheng, P., Shasha, X., Jieqiong, L., Hongbing, D. and Bin, L. (2013). Nanogels fabricated by lysozyme and sodium carboxymethyl cellulose for 5-fluorouracil controlled release. *International Journal of Pharmaceutics*, 441(1-2), 721–727.
114. Thayyath S.A., Jayachandran, N. and Peethambaran, L.D. (2003). Synthesis, characterization and in vitro cytotoxicity analysis of a novel cellulose based drug carrier for the controlled delivery of 5-fluorouracil, an anticancer drug. *Applied Surface Science*, 355(12), 64–73.
115. Raghavendra C.M., Ee-Lin, T., Jeongeun, S. and Nam-Joon, C. (2016). Encapsulation and controlled release formulations of 5-fluorouracil from natural *Lycopodium clavatum* spores. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 36, 102–108.
116. Hamid H.M., Saeed K.B., Mahdi, J. and Saeed, Z. (2016). Evaluation of magnetic nanoparticles coated by 5-fluorouracil imprinted polymer for controlled drug delivery in mouse breast cancer model. *International Journal of Pharmaceutics*, 497(1-2), 228–238.
117. Antonio, D.M., Alena, P., Sandra, M., Saulute, B. and Vladimir, S. (2016). Polysaccharide-based nanocomplexes for co-encapsulation and controlled release of 5-Fluorouracil and Temozolomide. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 92(22), 276–286.

118. Antonio, D.M., Pavel, K., Zdenka, C., Petr, H. and Vladimir, S. (2003). Chitosan-based nanocomplexes for simultaneous loading, burstreduction and controlled release of doxorubicin and 5-fluorouracil. *International Journal of Biological Macromolecules* 102(11), 613–624.
119. Li, S., Yunna, C., Yali, Z., Dongdong, G., Yufan, F., Fangyan, G., Yufeng, Z. and Weidong, C. (2017). Preparation of 5-fluorouracil-loaded chitosan nanoparticles and study of the sustained release in vitro and in vivo. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 12(5), 418-423.
120. Suriyakala, P.C., Satheesh, B.N., Sowmiya, C. and Masliza, S.B.M.S. (2017). Nano drug delivery strategy of 5-fluorouracil for the treatment of colorectal cancer. *Journal of Cancer Research and Practice*, 4(2), 45-48.
121. Amsden, B. (1998). Solute diffusion within hydrogels. Mechanisms and models. *Macromolecules*, 31(23), 8382–8395.
122. Siepmann, J. and Peppas, N.A. (2001). Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64(10), 163–174.
123. Bettini, R., Colombo, P., Massimo, G., Catellani, P.L. and Vitali, T. (1994). Swelling and drug-release in hydrogel matrices: polymer viscosity and matrix porosity effects. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(3), 213–219.
124. Shahinpoor, M. and Kim, K.J. (2002). Novel ionic polymer–metal composites equipped with physically loaded particulate electrodes as biomimetic sensors, actuators and artificial muscles. *Sensors and Actuators A: Physical*, 96(2-3), 125–132.
125. Shahinpoor, M. and Kim, K.J. (2004). Ionic polymer–metal composites: III. Modeling and simulation as biomimetic sensors, actuators, transducers, and artificial muscles. *Smart Materials and Structures*, 13(6), 1362–1388.
126. Schild, H.G. (1992). Poly (n-isopropylacrylamide): experiment, theory and application. *Progress in Polymer Science*, 17(2), 163–249.
127. Brazel, C.S. and Peppas, N.A. (1995). Synthesis and characterization of thermomechanically and chemomechanically responsive poly (n-isopropylacrylamide-co-methacrylic acid) hydrogels. *Macromolecules*, 28(24), 8016–8020.
128. Chen, G.H. and Hoffman, A.S. (1995). Graft-copolymers that exhibit temperature-induced phase transitions over a wide range of pH. *Nature*, 373(13), 49–52.
129. Hixson, A.W. and Crowell, J.H. (1931). Dependence of reaction velocity upon surface and agitation. *Industrial & Engineering Chemistry*, 23(10), 1160-1168.
130. Korsmeyer, R.W. and Peppas, N.A. (1984). Solute and penetrant diffusion in swellable polymers III. drug release from glassy poly (HEMA-co-NVP) copolymers. *Journal of Controlled Release*, 1(2), 89-98.

131. Yolcu, F. (1997). *Biyoaktif molekülün kontrollü salımında kullanılmak üzere biyouyumlu taşıyıcı implantların sentezlenmesi ve kontrollü salım mekanizmasının belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
132. Bayramoğlu, G., Yılmaz, M., Batislam, E. ve Arıca, M.Y. (2008). In vitro hemocompatibility evaluation of heparin coated poly(hydroxyethyl methacrylate/albumin) for vascular biomaterials. *Journal of Applied Polymer Science*, 109(2), 749-757.
133. Amiji, M.M. (1996). Surface modification of chitosan membranes by complexation interpenetrating of anionic polysaccharides for improved blood compatibility in hemodialysis. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 8(4), 281-298.
134. Winterton, L.C., Andrade, I.D., Feijen, J. and Kim, S.W. (1986). Heparin interaction with protein with protein-adsorbed surfaces. *Journal of Colloid and Interface Science*, 111(2), 314-342.
135. Han, D.K, Park, K.D., Ahn, K.D. and Jeong, S.Y. (1989). Preparation and surface characterization of PEO-grafted and heparin-immobilized polyurethanes. *Journal of Biomedical Materials Research*, 23(2), 87-104.
136. Han, D.K, Park, K.D. and Kim, Y.H. (1999). Plasma protein adsorption to sulfonated poly(ethyl oxide) grafted polyurethane. *Journal of Biomedical Materials Reserch*, 30(1), 23-30.
137. Lin, W.C., Liu, T.Y. and Yang, M.C. (2004). Hemocompatibility of polyacrylonitrile dialysis membrane immobilized with chitosan and heparin conjugate. *Biomaterials*, 25(10), 1947-1957.
138. Dion, I., Baquey, C., Candelon, B. and Monties, J.R. (1992). Hemocompatibility of titanium nitride. *The International Journal Artificial Organs*, 15(10), 617-621.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : YÜKSEL, Alican
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 07.02.1990, Ankara
Medeni hali : Bekâr
Telefon : 0 (506) 051 59 39
e-mail : yuksel.alican@gazi.edu.tr



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi /Kimya Bölümü	Devam Ediyor
Lisans	Gazi Üniversitesi /Kimya Bölümü	2012
Lise	Keçiören Kanuni Lisesi	2007

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2017-2018	Sınav Temel Lisesi	Kimya Öğretmeni
2016-2017	Onur Koleji, Sınav Temel Lisesi	Kimya Öğretmeni
2015-2017	Nen Mühendislik ve Laboratuvar Hzm.	Deney Sorumlusu
2013-2014	Gazi Üniversitesi	Öğrenci Asistanlığı

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

-

Hobiler

Yüzme, Futbol, Sinema



GAZİ GELECEKTİR...