



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



RETİNOİK ASİDİN KİTOSAN ESASLI POLİMERİK PARTİKÜLLERDEN SALINIMININ İNCELENMESİ

BEDRİYE AYŞE TOPAL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Anabilim Dalı
Organik Kimya Programı

DANIŞMAN

Doç. Dr. Emrah ÇAKMAKÇI

İSTANBUL, 2021



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



RETİNOİK ASİDİN KİTOSAN ESASLI POLİMERİK PARTİKÜLLERDEN SALINIMININ İNCELENMESİ

BEDRİYE AYŞE TOPAL
520817009

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Anabilim Dalı
Organik Kimya Programı

DANIŞMAN

Doç. Dr. Emrah ÇAKMAKÇI

İSTANBUL, 2021

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması, Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı, Organik Kimya programında gerçekleştirilmiştir.

Öncelikle tez çalışması süresince benden sürekli ilgi ve desteğini esirgemeyen, sonsuz yardımları için tez danışmanım Doç. Dr. Emrah ÇAKMAKÇI'ya,

Sonsuz ve koşulsuz sevgileri ve tüm destekleri için öncelikle babam Selçuk TETİK' e, annem Hatice TETİK' e ve sevgili eşim Anıl TOPAL' a,

Teşekkürü bir borç bilirim.

..... 2021

Bedriye Ayşe TOPAL

İÇİNDEKİLER

Sayfa Numarası

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
SEMBOLLER.....	vi
KISALTMALAR.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ	viii
TABLO LİSTESİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Giriş	1
1.2. Tezin Amacı.....	1
1.3. İlaç Taşıyıcı Sistemleri	3
1.4. Hidrojeller.....	7
1.4.1. Sıcaklığa Duyarlı Hidrojeller.....	10
1.4.2. pH Duyarlı Hidrojeller.....	11
1.4.3. Fiziksel Hidrojeller	13
1.4.4. Kimyasal Hidrojeller	14
1.5. Hidrofobik İlaç Taşıyıcı Hidrojeller	15
1.5.1. Retinoik Asit.....	16
1.5.2. Kitosan.....	17
1.5.3. İlaç Taşınması İçin Kitosan Esaslı Hidrojeller	18
1.6. Zeolitler ve İlaç Taşıyıcı Sistemlerde Kullanımları	19
1.7. Literatür Özeti.....	19
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	22
2.1. Materyaller.....	22
2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	22
2.1.2. Kullanılan Solüsyonlar	23
2.1.3. Kullanılan Cihazlar	24

2.2. Deneyisel Yöntemler	25
2.2.1. Jellerin Hazırlanması	25
2.2.2. Yüzde Jelleşme	26
2.2.3. Şişme Deneyi	26
2.2.4. Jellere İlaç Yüklenmesi.....	26
2.2.5. Salınım Deneyleri	27
2.2.6. Karakterizasyon	28
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	29
3.1. FTIR Analizi	29
3.2. Jelleşme ve Şişme Sonuçları.....	31
3.3. İlaç Yüklenmesi	35
3.4. İlaç Salınım Sonuçları.....	36
4. SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME	38
KAYNAKLAR.....	40
ÖZGEÇMİŞ	

ÖZET

RETİNOİK ASİDİN JELATİN YÜKLÜ POLİMERİK PARTİKÜLLERDEN SALINIMININ İNCELENMESİ

İlaç salınım sistemleri, kimyasal bir uyarıya cevap olarak ilacın salıverildiği sistemlerdir. İlaç salınım sistemlerinde etken madde, bölgesel veya sistematik olarak önceden belirlenmiş oranlarda ve belirli zaman aralıklarında salınım yapmasını sağlar. Etkin madde salınımı, dozaj formu içerisinde kullanılan polimerin özellikleri ile bağlantılıdır. Bu nedenle kullanılacak olan polimerin özelliklerinin, formülasyona olan uygunluğunun ayrıntılı olarak kontrol edilmesi gerekmektedir. Etkin madde olarak Retinoik asit ise düşük molekül ağırlıklı bir lipofilik moleküldür. Büyüme ve gelişme için gerekli olan A1 vitamini işlevlerine aracılık eden bir A1 vitamini metabolitidir. Erken embriyonik gelişim sırasında, embriyonun belirli bir bölgesinde üretilen all-trans-retinoik asit, embriyonun arka kısmının gelişmesine rehberlik eden, hücreler arası bir sinyal molekülü olarak hizmet ederek konum belirlemeye yardımcı olur. Kitosan ise; doğada selülozdan sonra en çok bulunan ikinci polisakkarittir. Selüloz ve kitosan arasındaki tek fark, C-2 pozisyonunda selülozda bulunan hidroksil (-OH) grubu yerine kitosanda amin (-NH₂) grubunun yer almasıdır. Böylece kitosan pozitif yüke sahip olur. Bu çalışmada kitosan partiküllere, akne tedavisinde kullanılan ilaç olan retinoik asitin bağlanması ve kontrollü ilaç salınımı için uygun üretim ve kullanım koşulları araştırılacaktır. Bu çalışma, polimer kullanımı ile kontrollü ilaç salınımı sağlayan materyal geliştirmeye yönelik bir çalışmadır. Retinoik asitin bu çalışma için seçilmiş olması onun hem akne, sedef hastalığı gibi cilt hastalıkları tedavisi hem de lösemi vb kanser hastalığı gibi tedavisi zor olan hastalıklarda kullanılabilen bir ilaç olmasıdır. İlaç taşıyıcı kitosan polimeri ile retinoik asit kullanılarak oluşturulacaktır. İlacın partiküllerden salım çalışmaları farklı yapay vücut sıvılarında gerçekleştirilecektir. Bu çalışma sonuçlarının retinoik asit salımı yapabilecek toksik olmayan doğal polimerlerden oluşmuş sistemlerin üretilme ve uygulama koşullarının belirlenmesine katkı yapması beklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Retinoik Asit, Kitosan, Polimer, İlaç Salınımı, Kanser Tedavisi.

....., 2021

Bedriye Ayşe TOPAL

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE RELEASE OF RETINOIC ACID FROM CHITOSAN BASED POLYMERIC PARTICLES

Drug release systems are systems in which the drug is released in response to a chemical stimulation. Controlled release systems enable the active agent to release at regional or systematic predetermined rates and at specific time intervals. The release of the active ingredient is related to the properties of the polymer used in the dosage form. For this reason, the properties of the polymer to be used, the suitability of the formulation to the formulation should be examined in detail. Retinoic acid as active ingredient is a low molecular weight lipophilic molecule. It is a metabolite of vitamin A1 that mediates the functions of vitamin A1, which are essential for growth and development. During early embryonic development, all-trans-retinoic acid produced in a particular region of the embryo helps determine location by serving as an intercellular signaling molecule that guides the development of the posterior part of the embryo. Chitosan; It is the second most polysaccharide found after cellulose in nature. The only difference between cellulose and chitosan is that the amine (-NH₂) group is replaced by the hydroxyl (-OH) group in the cellulose at the C-2 position. Therefore chitosan has a positive charge. In this study, suitable production and usage conditions for binding and controlled release of retinoic acid, a drug used in the treatment of acne, to chitosan particles will be investigated. This is a study on the development of controlled drug release material with using polymer. Retinoic acid has been selected for this study because it is a drug that can be used both in the treatment of skin diseases such as acne, psoriasis and cancerous diseases such as leukemia and cancer. Drug carrier particles will be formed by using retinoic acid with chitosan. Release studies of the drug from particles will be carried out in different artificial body fluids. The results of this study are expected to contribute to the determination of production and application conditions of systems made of natural non-toxic polymers capable of releasing retinoic acid.

Keywords: Retionic Acid, Chitosan, Polymer, Drug Release, Cancer Treatment.

....., 2021

Bedriye Ayşe TOPAL

SEMBOLLER

q	: Denge Şişme Oranını
W_s	: Şişmiş Hidrojellerin Ağırlığı
W_d	: Kurutulmuş Hidrojellerin Ağırlığı
R²	: Belirleme Katsayısı



KISALTMALAR

İTS	: İlaç taşıyıcı sistemleri
MBA	: Metilen-bis-akrilamid
TEMED	: Tetrametiletildiamin
LCST	: Faz geçiş sıcaklığı
PAA	: Poli akrilik asit
PDEAEM	: Poli (N, N'-dietilaminoetil metakrilat)
PVA	: Poli vinil alkol
RA	: Renitoik Asit
ADH	: Alkol Dehidrojenaz
RETINOL	: A vitamini
RALDH	: Retinaldeid Dehidrojenaz
UV	: Ultraviyole
XRD	: X-ışını Kırınımı
ATR-FTIR	: Fourier Dönüşümü Kızılötesi
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
HPN	: Hibrit polimer ağları
IPN	: İç içe geçen polimer ağları
SIPN	: Yarı iç içe geçen polimer ağları

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. 1.	İlacın zamana karşı kontrollü salınımı.....	3
Şekil 1. 2.	Salım hızı belirli olan ilaç taşıyıcı sistemlere örnek	6
Şekil 1. 3.	Hidrojellerin farklı özelliklere göre sınıflandırılması.....	9
Şekil 1. 4.	Aljinat ve kalsiyum iyonları arasında kimyasal çapraz bağlanma ve iyonik etkileşim kullanılarak yerinde hidrojel oluşumu.	9
Şekil 1. 5.	Yaban turpu peroksidazı (HRP) ve H ₂ O ₂ ile enzimatik çapraz bağlanma reaksiyonu kullanılarak yerinde hidrojel oluşumu..	10
Şekil 1. 6.	Sıcaklığa bağlı hidrojel.	11
Şekil 1. 7.	Ph'a bağlı polielektrolitlerin iyonizasyonu poli (akrilik asit) (üst) ve poli (N, N-dimetilaminoetil metakrilat) (alt).	12
Şekil 1. 8.	Biyolojik olarak bozunabilir ve pH'a duyarlı hidrojeller kullanılarak oral kolona özgü ilaç iletiminin şematik gösterimi.....	12
Şekil 1. 9.	Molekül İçi Etkileşimler (a), Moleküller arası Etkileşimler (b).	13
Şekil 1.10.	pH'a bağlı olarak iyonik hidrojellerin şişme davranışı; a) Monomerinde mevcut iyonize grup içeren katyonik jel; b) Monomerinde mevcut iyonize grup içeren anyonik jel; c) Monomerinde mevcut iki iyonize grup içeren anyonik jel.....	13
Şekil 1. 11.	Polimer-polimer kompleksi oluşturma (a); Hidrofobik birleşme (b), Zincir agregasyonu (c), hidrojen bağlama ile çapraz bağlanmış (d) fiziksel hidrojel örnekleri	14
Şekil 1.12.	Kimyasal hidrojellerin yapısındaki çapraz bağ yapısı.	14
Şekil 1.13.	Surfaktan içeren jellerin mikro yapılarının şematik görüntüsü.....	15
Şekil 1.14.	Retinoik Asidin kimyasal formülü.....	16
Şekil 1.15.	Kitin molekül yapısı.....	17
Şekil 1.16.	Kitosan molekül yapısı.	17
Şekil 2.1.	Radikal başlatma için potasyum persülfat-N, N, N, N-tetrametiletilendiamin (KPS-TEMED) redoks sisteminin şematik açıklaması.	25
Şekil 2.2.	Retinoik Asit'in Absorpsiyon Spektrumu.....	27
Şekil 2.3.	Retinoik Asit'in Kalibrasyon Eğrisi.....	27

Şekil 2.4.	İlaç çözeltisi içerisinde yer alan kitosan esaslı hidrojel	28
Şekil 3.1.	Retinoik asitin FTIR spektrumu.....	29
Şekil 3.2.	Kitosanın FT-IR spektrumu.	30
Şekil 3.3.	G-kitosanın FT-IR Spektrumu.	30
Şekil 3.4.	%5 Zeolit içeren hidrojin FT-IR Spektrumu.....	31
Şekil 3.5.	%0, %5, %10 ve %20 oranlarında kitosan içeren sentezlenmiş hidrojel görüntüleri.....	31
Şekil 3.6.	pH 1.2 tampon çözeltisinde farklı oranda zeolit içeren hidrojinlerin şişme dereceleri.....	33
Şekil 3.7.	pH 7.4 tampon çözeltisinde farklı oranda zeolit içeren hidrojinlerin şişme dereceleri.....	33
Şekil 3.8.	Liyofilizatörde kurutulmuş jel ve pH 7.4 ortamında bekletilerek şişen jellerin görüntüleri.	34
Şekil 3.9.	pH 9.0 tampon çözeltisinde farklı oranda zeolit içeren hidrojinlerin şişme dereceleri.....	34
Şekil 3.10.	Tampon çözeltisinde şişmesi için bekletilen hidrojel görüntüsü	35
Şekil 3.11.	Zeolit içermeyen, % 5, % 10 ve % 20 oranında zeolit içeren hidrojinlerin ilaç bağlanma yüzdeleri.....	35
Şekil 3.12.	İlaç yüklü hidrojinlerin görüntüleri.....	36
Şekil 3.13.	Retinoik asitin üç ayrı hidrojelde zamana bağlı salınımı.....	36

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1.	Tez çalışmasında kullanılan kimyasal maddelerin özelliklerine göre Sınıflandırılması.....	22
Tablo 2.2.	Tez çalışmasında kullanılan kimyasal maddelerin moleköl formüllerine göre Sınıflandırılması.....	23
Tablo 2.3.	Tez çalışmasında kullanılan solüsyonların hazırlanış yöntemlerine göre Sınıflandırılması.....	23
Tablo 2.4.	Tez çalışmasında kullanılan cihazların sınıflandırılması	24
Tablo 2.5.	Farklı oranlarda zeolit içeren hidrojellerin formöl reçeteleri.....	25
Tablo 3.1.	Farklı oranlarda zeolit içeren hidrojellerin oluşumundan sonra bağlanma yüzdeleri	32

1. GİRİŞ

1.1. Giriş

İlaç sektöründe mevcut ilaçları kimyasal ağırlıklı olan konvansiyonel ilaçlar ve biyoteknolojik ilaçlar olmak üzere 2 şekilde sınıflandırabiliriz. Konvansiyonel ilaç olarak belirttiğimiz türde, etken madde kimyasal bir sentez yoluyla üretilen ilaçlardır. Biyoteknolojik ilaç ise, temelini peptid ve proteinler oluşturduğu için konvansiyonel ilaçlara göre daha yüksek molekül ağırlığına sahip, canlı hücrelerden elde edilen biyolojik ürünlerdir. Bu ilaçlar bağışıklık sistemine yönelik olarak üretilen, kan ürünleri, ileri tıbbi tedavi ürünleri, rekombinant DNA teknolojisi ile üretilmiş ürünler olarak örneklendirilebilir. Biyoteknolojik ilaçlar başta kanser olmak üzere alzheimer, kalp hastalıkları ve diyabeti de içeren kronik hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır.

Biyoteknolojik ilaçlar; etkili tedavi sunması, yan etkilerinin diğer ilaçlara kıyasla daha az olması, insan vücuduyla daha uyumlu üretilmesi nedeniyle canlı organizmalar kullanılarak üretilmektedir. Biyolojik etken madde, hücre veya organizma içerisinde bulunan diğer moleküllerden saflaştırılarak üretildiğinden üretim süreci karmaşık ve kullanılan ekipmanlar açısından gelişmiş teknolojiye ihtiyaç duyulmaktadır. Biyoteknolojik ilaçlar konvansiyonel ilaçlara göre daha büyük ve karmaşık moleküllerden oluşur. Dolayısıyla, biyoteknolojik ilaçların Ar-Ge süreci yüksek maliyetli ve karmaşık olmakla birlikte geniş bir zaman aralığına yayılmaktadır.

1.2. Tezin Amacı

Hidrojeller; insan vücudu ile biyoyumluluk göstermeleri, doğal dokuyla benzerlik göstermesi, yüksek su tutma kapasitesi, dış etken uyarılarına olan hassasiyet gibi özellikleri nedeniyle biyosensörler, yapay deri uygulamaları, kontakt lensler, kontrollü ilaç salınım sistemleri gibi ilaç ve biyomedikal vb uygulamalar için geniş kullanım alanına sahip malzemelerdir.

Hidrojellerin sağladığı önemli bir avantaj, uyarıya karşı hassasiyet gösteren polimerlerin üretilmesine imkan sağlamalarıdır. Sıcaklık, pH, manyetik güç gibi belirli uyarıcılara cevap verebilme yeteneğine sahip hidrojellerin kontrollü ilaç salım sistemlerinde kullanımı ile ilaç, vücut içerisinde mevcut dış etkilere karşı korunabilmektedir.

İyonlaşabilen fonksiyonel gruplarına sahip olması nedeniyle pH'a duyarlı hidrojeller kontrollü ilaç salınım sistemlerinde sıklıkla kullanılmaktadır. Bu amaçla, hedef bölgede

ilaç salımının gerçekleştirilmesi için anyonik ya da katyonik yapıya sahip monomerler kullanılarak hidrojel, kompozit ya da ağ yapılar hazırlanabilmektedir.

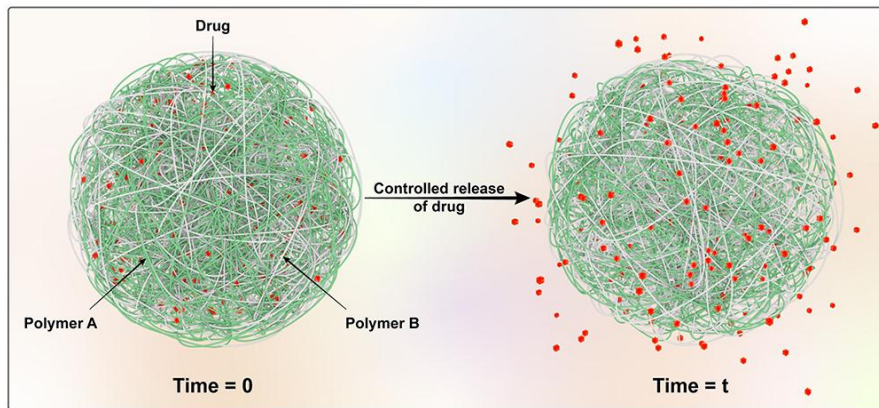
Hidrojellerin önemli dezavantajlarından biri ise, mekanik dayanımlarının oldukça düşük olmasıdır. Gelişen nanoteknoloji ile birlikte nano boyutta malzemelerin üstün özellik gösterdiği gözlenmiş ve hidrojellerin de hem mekanik özelliklerinin hem de adsorpsiyon özelliklerinin iyileştirilmesi amacıyla polimerik yapıya kitosan gibi nanopartiküller ilave edilerek nanokompozit yapıların sentezlenmesi ile ilgili çalışmalar hızlanmıştır.

Çapraz bağlı poliakrilik asit yaygın olarak kullanılan hidrojellerden birisidir. Yüksek miktarda su absorplayabilme özelliğine sahip olması, yapısındaki karboksil grubu akrilik asit monomerinin hidrofilik ve iyonik hidrojel üretiminde sıklıkla kullanılmasını sağlamaktadır. Kağıt kaplamalarında ve esnek ambalaj filmlerinde kullanıldığı gibi; toksik olmaması, kanserojen etkisinin olmaması, biyouyumluluğunun iyi olması ve sulu çözeltilerde yüksek derecede şişebilme özelliği sayesinde biyomedikal uygulamalarda da rahatlıkla kullanılabilmektedir. Kolaylıkla polimerleşebilmeleri, kopolimer oluşturabilmeleri, biyouyumluluk göstermeleri bu polimerlerin tercih edilmesine yol açmaktadır. Ayrıca bu sistemler ilaç dozunun azaltılması, dozlama aralığının uzatılması ve yan etkilerin azaltılması gibi avantajlar da sağlayabilmektedir.

Bu çalışmada, bu esaslardan yola çıkılarak, akrilik asit monomeri, hem organik bir çapraz bağlayıcı (metilen-bis-akrilamid) hem de farklı malzemeler kullanılarak hidrojellerin ve hidrojel nanaokompozitlerinin sentezlenmesi amaçlanmıştır. Farklı oranlarda kullanılan zeolitin hidrojin şişme ve ilaç salınımı üzerindeki etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Tez kapsamında öncelikle konuya ilişkin genel bilgiler ve literatür bilgileri verilmiş, takiben malzeme ve yöntem kısmında sentez yöntemleri ve kullanılan cihazlara ilişkin bilgiler verilmiştir. Bu kısımda sentezi ayrıntılı olarak anlatılan ürünlerin FTIR spektroskopisi ve hidrojellerin destile suda ve farklı pH çözeltileri içindeki şişme davranışları incelenmiş ve gerek çapraz bağlayıcı oranının gerekse zeolit oranının etkileri analiz sonuçları ile birlikte bulgular kısmında verilmiştir. Bunun yanı sıra ilaç yüklü ürünlerin salım davranışları yine bulgular kısmında açıklanmıştır. Tartışma ve sonuç kısmında ise elde edilen bulgular her grup deneme için kendi içinde ve birbiri ile karşılaştırılmış ve tez çalışmasında elde edilen kazanımlar ve çalışmanın geliştirilmesi için yapılması gereken araştırmalar ortaya konmuştur.

1.3. İlaç Taşıyıcı Sistemleri

Gelişen teknoloji ile birlikte farmasötik uygulamalarda hastanın tedavisini esas alan yeni ilaç molekülleri geliştirmenin yanı sıra yaşam kalitesini arttırmaya yönelik araştırmalar da önem kazanmıştır. Kontrollü ilaç salım sistemlerinde doğal veya sentetik polimerlerin, ilaç veya aktif bir ajanla birleştirilip, bu ilaç veya aktif ajanın önceden tasarlanan formlardan kontrollü olarak “etkin ilaç seviyesinde” salınması söz konusudur. Kontrollü salım sistemlerinde taşıyıcı polimer, ilacın salım mekanizmasını ve hızını uzun süre kontrol eder. Polimerin yapısı değiştirilerek salım mekanizması ve hızı ayarlanabilir. Kontrollü ilaç salım sistemleri ilaç dozunu azaltma, dozlama aralığını uzatma, yan ve zararlı etkileri en aza indirme, hatta ilacı hedef bölgeye gönderme gibi geleneksel salım sistemlerinin karşılayamadığı ihtiyaçları karşılamaktadır (Albayrak, 2011). Her ilacın terapötik aralığı denilen ve minimum ve maksimum kan konsantrasyonu aralığını tanımlayan bir aralık vardır. İlaç maksimum kan konsantrasyonu üzerinde toksik etki gösterirken, minimum kan konsantrasyonu altında ise yetersiz kalmaktadır. Konvansiyonel (geleneksel) ilaç şekilleri, etkin maddeyi aniden salıveren sistemlerdir. Bu ilaç şekilleri kısa zamanda maksimum kan konsantrasyonu düzeyine ulaşır ve hemen plazma düzeyi düşmeye başlar. Kontrollü ilaç salım sistemleri ile düzenli bir dozlama aralığı ile, ilacın uygulaması sırasında sürekli olarak terapötik aralıkta kalması sağlanmaya çalışılır [1].



Şekil 1. 1. İlacın zamana karşı kontrollü salınımı [1].

Kontrollü salım sistemleri günümüzde pek çok hastalığın tedavi edilmesinde kullanılmaktadır. Fakat bu sistemlerin yararlı etkilerinin beraberinde bazı dezavantajları da mevcuttur.

- Hastada uzun süre ve uygun farmakolojik cevap sağlayan sürekli etken madde terapötik kan düzeylerini sağlamaktadır.
- Kandaki etken madde düzeyinde iniş-çıkışları elimine etmekte ve böylece vücutta eşit düzeyde etken madde konsantrasyonu sağlamaktadır.
- Hastanın günde birkaç kez ilaç alma gereksinimi ortadan kalkmakta, dozların sayısı ve sıklığı azalmaktadır.
- Derhal salım yapan klasik preparatlar verildiğinde ortaya çıkabilen pik konsantrasyonların sebep olabildiği istenmeyen yan etkilerin şiddeti ve sıklığını azaltabilmektedir.
- Kullanılan toplam etkin madde miktarını azaltmaktadır.
- Uzun süreli kullanımda, etkin maddenin birikimini minimuma indirmektedir. [2]

Yüksek konsantrasyonlarda dokuları tahriş edebilen etkin maddelerin gastrointestinal sistem mukozasındaki zararlı etkilerini azaltabilmekte veya önleyebilmektedir. Ancak kontrollü salım sistemlerinin yararları yanı sıra doğabilecek zararları da göz önüne alınmalıdır. Bu sistemlerin dezavantajları şöyle sıralanabilir:

- Bu tip ilaçların geliştirilmesi ve üretimi daha pahalı olmaktadır.
- Formülasyonlarda kullanılan etkin madde miktarı yüksek olduğundan hızlı salım olduğunda, vücutta toksik düzeyler oluşabilmektedir.
- Uzun süre etkili preparatların formülasyonu özellikle önemlidir. Eşer ilaç, gastrointestinal sistemi geçiş sırasında yararlanabilecek şekilde formüle edilmemişse, tedavi sağlanamayabilir
- Dozaj seçimi, tek bir yararlı doz veya bunun katları olması nedeniyle sınırlıdır.
- Sürekli etkili ilaçların formülasyonlarının kompleks oluşu, beklenenden daha hızlı veya yavaş salımla sonuçlanan stabilite problemlerine yol açabilmektedir.
- Bu tip ilaçlarla tedavi sırasında, istendiğinde veya gerektiğinde tedavi hemen kesilememektedir. Özellikle implantlar ancak ikinci bir cerrahi işlemle çıkartılabilmektedir, oral olarak alınanlarda bile ilacın salım süresi uzun olduğu için tedavinin kesilmesi zaman almaktadır.
- İmplant formlarının cerrahi işlemle vücuda yerleştirilmesi ağırlı olabilir.

- Kullanılan polimer maddenin toksikliği ve biyolojik açıdan uyumsuzluğu olabilmektedir [3].

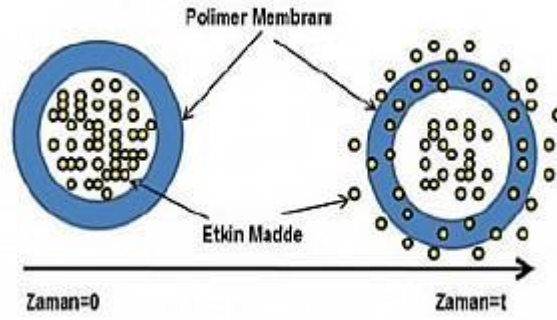
Ticari olarak piyasada mevcut ve hali hazırda geliştirilmekte olan kontrollü ilaç salınım sağlayan sistemler aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir:

- **Salınım hızı önceden belirlenen ilaç taşıyıcı sistemler**

Bu tarz kontrollü salınım sistemlerinde etken maddenin salınma hız profili daha öncesinde belirlenmiştir. Genelde bu salınım hız profilinin daha öncesinde belirlenebilmesi, etken maddenin spesifik bir membran ya da matriksten Fick Yasasına göre difüze olması ile ilişkilidir. Diğer bir mekanizma ise, çözünmeyle salınım hızının öncesinde belirlenmesidir [4].

Difüzyon yöntemi ile kontrollü salınım sistemlerinde etken maddenin salınma hızı, etken maddenin hidrofobik yapıda bir polimerden difüzyon yöntemi ile kontrol edilir. Prensip olarak çözelti içerisinde yer alan moleküllerin çok yoğun olduğu ortamdan daha az yoğun olduğu ortama geçmesini hedefleyen iki sistemden oluşur. Bu sistemlerde ilaç gözenekli yapıya sahip membrandan ya da polimer matriksinden arasından geçerek belirli zaman aralıklarında ve belirli miktarlarda yapılan salınımı kontrol eder [5].

Monolitik difüzyon kontrollü salınım sistemlerinde, polimerin içerisinde dağılmış olarak bulunan ilaç etken maddesinin difüzyon yolu ile sisteme salınması ile gerçekleşir. Salınım hızı zamana ve mesafeye göre değişir. Zar kontrollü (rezervuar) olarak adlandırılan ilaç salınım sistemlerinde ise ilaç ince bir polimerik zar ile çevrelenmiş bir çekirdek görünümündedir, difüzyon yöntemi ile ilaç salınımı gerçekleştirilir. Çözünme kontrollü sistemlerde yavaş salınımlı ilaç etken maddeleri, kendiliğinden kontrollü/sürekli salınım sistemleri gibi davranma eğilimi göstermektedir. Temelde suda çok çözünen maddelerin, çözünme hızını yavaşlatarak kontrollü bir salınım sisteminin hazırlanması mümkün değildir. Bu durumda ilaç etken maddenin daha hidrofobik bir formu hazırlanarak kullanılabilir veya etken madde hidrofobik bir maddeyle kaplanabilir. Bu tarz sistemlere, vücut içerisine yerleştirilebilen veya deri üzerine yapıştırma yolu ile kullanılabilen rezervuar sistemler örnek olarak verilebilir. Deri üzerine yapıştırılarak kullanılan sistemler, transdermal sistemler olarak isimlendirilir ve bu tür sistemlerde, ilaç deriden belirli zaman aralıklarında vücuda salınarak dolaşım sistemine katılır [6].



Şekil 2. 2. Salım hızı belirli olan ilaç taşıyıcı sistemlere örnek.

- **Aktivasyon sonucu kontrollü salınım sağlayan ilaç taşıyıcı sistemler**

Bu tarz sistemlerde etken madde salınımı; fiziksel, kimyasal ya da biyokimyasal yöntemlerle veya ilaç taşıyıcı sistemlere enerji transferi yöntemiyle gerçekleştirilen aktivasyonla sağlanır. Salınım hızı, uygulanan yöntemin ya da transfer edilen enerjinin belirlenmesi ile kontrol sağlanır. Bu tarz sistemlerde; ozmotik basınç, manyetik kuvvet gibi fiziksel bir aktivasyon yöntemiyle; pH veya iyonizasyon yöntemi ile kimyasal bir aktivasyon yöntemiyle; enzim gibi bazı organik maddelerin kullanılması ile biyokimyasal aktivasyon yöntemiyle ilaç etken maddesinin salınım hızı kontrol edilebilir. Bazı sistemlerde ise hidrasyon ile aktive olabilen veya ozmotik olarak kontrollü sağlanan ilaç salınım sistemleri kullanılabilir. Bu tür sistemlerde oluşan makromoleküllerdeki gevşemeler ve ortamdaki derişim yoğunluğu, etken maddelerin salınım davranışlarını kontrol etmektedir. Polimerin şişmesi sonucu, jel benzeri bölgede makromoleküler genleşmenin arttığı gözlenmektedir. Ozmotik sistemlerde ise su veya biyolojik bir sıvı ile temas ettiğinde, su yarıgeçirgen membran gözeneklerinden difüze olur ve böylelikle etken maddenin çözünmesine imkan sağlar. Etken maddenin difüze olarak salınması membran yüzeyine açılan boşluklardan sağlanır [7].

Biyokimyasal aktivasyonla salınım hızı kontrol edilen sistemler, vücut içerisinde bozunarak daha küçük ve zararsız moleküllere dönüşebilen polimerlerin taşıyıcı olarak kullanıldığı biyobozunabilir sistemler olarak tasarlanabilirler. En önemli avantajı, ilacı çevreleyen zarın biyobozunur olmasıdır. Bu tür sistemlerin polimer bozuldukça salınımın gerçekleştiği ya da salınım bittikten sonra polimerin bozunarak vücuttan uzaklaştığı görülmektedir. Biyobozunur sistemlerin en önemli avantajı, uygulama sonrası vücuttan uzaklaştırılmaları için herhangi bir müdahaleye gerek olmamasıdır. Bu da kullanım açısından hastaya kolaylık sağlamaktadır [8].

- **Kendi kendini kontrol eden ilaç taşıyıcı sistemler**

Kendi kendini kontrol edebilen sistemler genellikle çevreye duyarlı olarak tasarlanmaktadır. Substrat-duyarlı sistemlerde ilaç salınımı bir dış moleküle cevap olarak başlatılmaktadır.

Bu sistemlere, uyuşturucu vb tehlikeli madde bağımlılığının tedavisi için geliştirilen, normalde ilaç salınımı göstermeyen ancak morfine maruz kaldığında bir narkotik ajan salan ve vücuda yerleştirilebilen sistemler örnek olarak verilebilir. [9].

- **Hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemler**

Hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemlerde amaç, geleneksel olarak uygulanan tedavide gözlenen olumsuzlukları minimuma indirmek, hücresel seviyelere taşınmayı artırmak, etken maddenin vücut içerisinde dolaşım/biyolojik sıvılardaki konsantrasyonunu ve salınım dinamiklerini optimize etmek, ilaçların farmakokinetik özelliklerini düzenlemek, ilacın tüm dozlarında aynı seviyede etkili ve güvenli tedaviyi sağlamak ve vücutta meydana gelebilecek yan etkileri minimum seviyede gösteren, hedef bölgede beklenen seviyede bir farmakolojik yanıt elde edebilmektir. İlaçların hedeflendirilmesinde genel olarak iki farklı yaklaşım mevcuttur. İlk yaklaşım, etken maddenin istenen/hedeflenen bölgeye taşınmasını ya da bu bölgede aktif hale dönüşmesini sağlayan kimyasal bir modifikasyondur. İkinci yaklaşım ise, ilacın aktif bölgeye bazı mikropartikül sistemlerinin ilaç formülasyonunda kullanılarak taşınmasıdır. İlk yaklaşımda belirtilen kimyasal modifikasyon ile elde edilen konjugant moleküler yapısı, uygulanma yöntemine göre hedef bölgede kimyasal/enzimatik degradasyonla taşıyıcı kısmından ayrılması ve ilaç aktif şekline dönüşmesidir. Bu yaklaşım ön ilaç (prodrug) tasarımı olarak da adlandırılabilir. Bu tarz sistemler; ilacın yapısını, vücutta dağılımını ve bazı fizikokimyasal, farmakodinamik ve farmakokinetik özelliklerini değiştirmektedir [10].

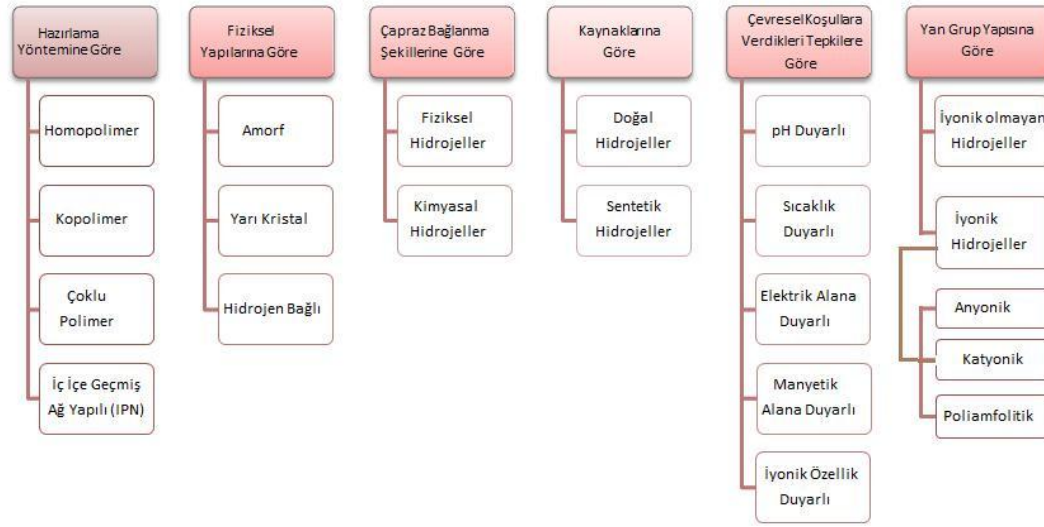
1.4. Hidrojeller

Hidrojeller, çözünmeden belirli bir derecede şişebilen, katı ile sıvı arası bir davranış gösteren çapraz bağlı üç boyutlu hidrofilik polimer ağyapıların suda şişmeleriyle oluşan malzemedir. Hidrojeller, suda çözünmeyip bazı türleri kendi ağırlığının 1000 katı kadar suyu yapılarında tutabilmektedir. Bu moleküller canlı dokular ile yüksek oranda

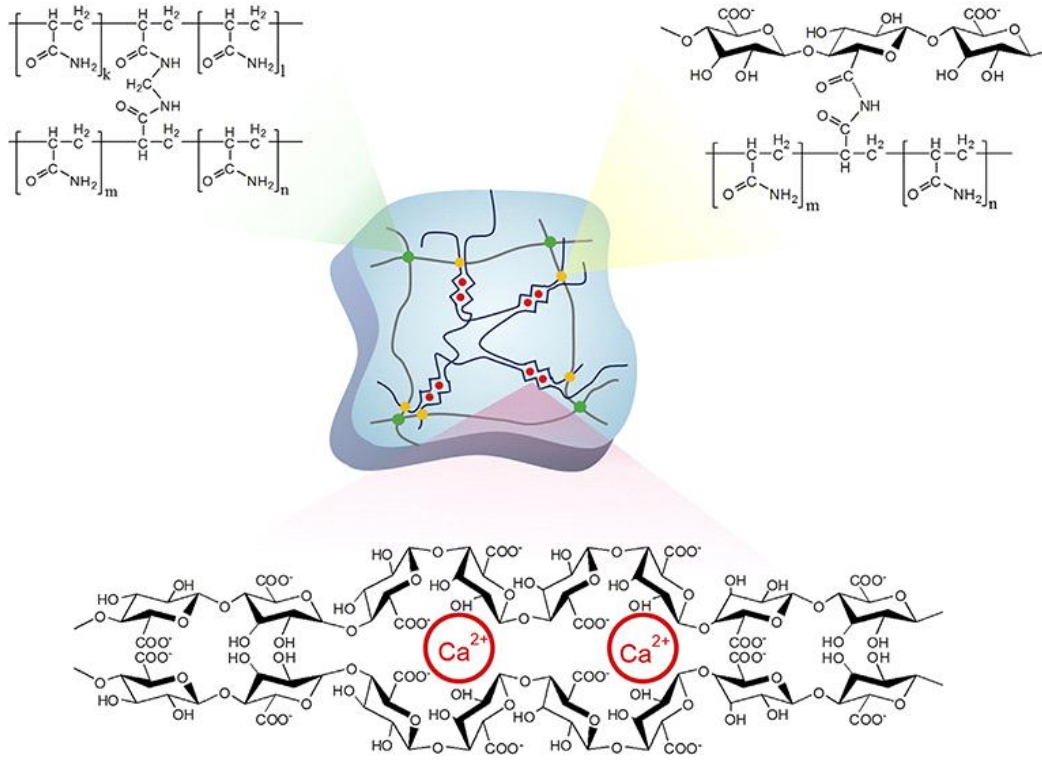
benzerlik göstermektedir. Buna yapısında çok fazla miktarda su tutabilmesi, yumuşak ve esnek bir yapıya sahip olması gibi özellikler örnek olarak verilebilir. Hidrojeller genel olarak biyolojik reaksiyonlarda inert olarak davranırlar, vücut tarafından emilime uğramazlar ve ısıyla sterilize edilebilirler. Hidrojellerin kuru haldeki formları polimerlerle yüksek oranda benzerlik gösterir ancak şişme davranışı gösterdikleri zaman diğer polimerlerden katı gibi yapısal bütünlük ve sıvı gibi difüzyonel taşınım özelliği bulundurması sebebiyle ayrılırlar [11].

Hidrojeller ilk olarak Wichterle ve Lím (1960) tarafından rapor edilmiştir. Tanım gereği, bir malzemenin hidrojel olması için su toplam ağırlığın (veya hacmin) en az % 10' unu oluşturmalıdır. Hidrojeller ayrıca önemli su içeriklerinden dolayı doğal dokuya çok benzer bir esneklik derecesine sahiptir. Ağın hidrofilikliği, $-NH_2$, $-COOH$, $-OH$, $-CONH_2$, $-CONH-$ ve $-SO_3H$ gibi hidrofilik grupların varlığından kaynaklanmaktadır. Hidrojeller, belirli fiziksel ve kimyasal uyaranlara yanıt olarak önemli bir hacim faz geçişine veya jel-sol faz geçişine maruz kalır. Fiziksel uyaranlar arasında sıcaklık, elektrik ve manyetik alanlar, çözücü bileşimi, ışık yoğunluğu ve basınç yer alırken, kimyasal veya biyokimyasal uyaranlara pH, iyonlar ve özel kimyasal bileşimler dahildir. Bununla birlikte, çoğu durumda bu tür konformasyonel geçişler tersine çevrilebilir; bu nedenle, hidrojeller, girdikleri reaksiyon sonucu başlangıç durumlarına geri dönebilirler. Hidrojellerin dış uyaranlara tepkisi esas olarak monomerin doğası, yük yoğunluğu, asılı zincirler ve çapraz bağlanma derecesine göre belirlenir. Yanıtın büyüklüğü de uygulanan dış uyaranla doğru orantılı olarak değişmektedir. [12].

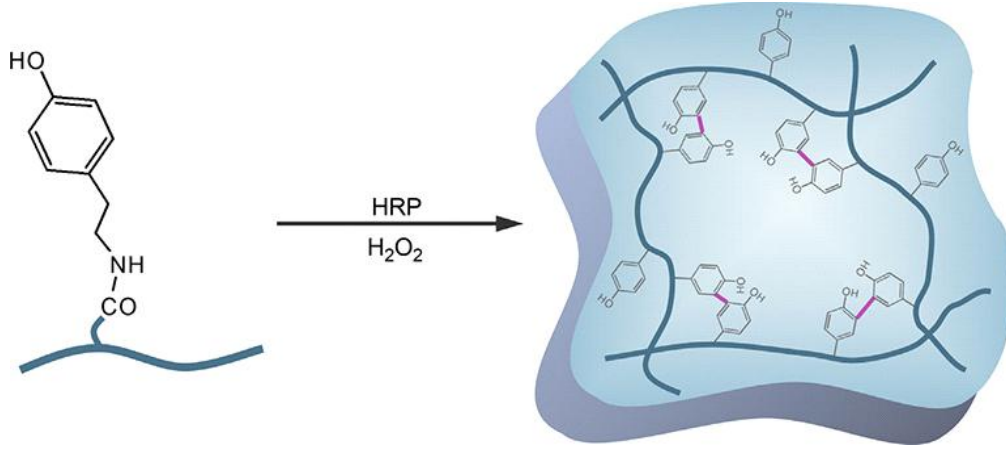
Hidrojeller, hazırlanma yöntemine, içerdikleri yan gruplara, fiziksel yapılarına, çapraz bağlanma durumlarına, kaynaklarına ve kimyasal kararlılıklarına göre aşağıda belirtildiği şekilde sınıflandırılabilirler.



Şekil 3. 3. Hidrojellerin farklı özelliklere göre sınıflandırılması.



Şekil 4. 4. Aljinat ve kalsiyum iyonları arasında kimyasal çapraz bağlanma ve iyonik etkileşim kullanılarak yerinde hidrojel oluşumu.



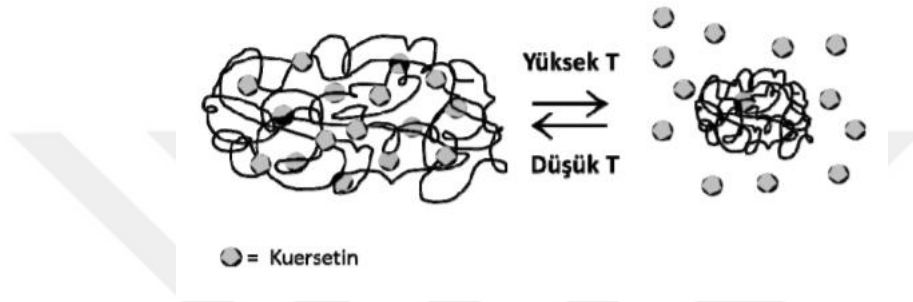
Şekil 5. 5. Yaban turpu peroksidazı (HRP) ve H₂O₂ ile enzimatik çapraz bağlanma reaksiyonu kullanılarak yerinde hidrojel oluşumu.

Hidrojellerin benzersiz fiziksel özellikleri, ilaç uygulamaları için kullanımlarına özel ilgi uyandırmıştır. Oldukça gözenekli yapıları, jel matrisindeki çapraz bağların yoğunluğu ve hidrojellerin şiştikleri sulu ortama afinitesinin kontrol edilerek kolayca ayarlanabilir olması tercih sebebi olmuştur. Gözeneklilikleri ayrıca ilaçların jel matrisine yüklenmesine ve ardından küçük molekülün veya makromolekülün jel ağı boyunca difüzyon katsayısına bağlı bir hızda salımına olanak sağlar. Hidrojellerin ilaç dağıtımı için faydası daha çok farmakokinetik olarak mevcuttur. Özellikle, ilaçların yavaşça salınmasını sağlayan bir formülasyonun oluşturulması, uzun bir süre boyunca çevredeki dokularda yüksek bir ilaç konsantrasyonunu muhafaza etmesi için kullanılabilirler. Hidrojeller, peritonda ve in vivo diğer bölgelerde başarılı kullanımlarında yansıtıldığı gibi, genellikle yüksek düzeyde biyouyumludur. Biyolojik uyumluluk, hidrojellerin yüksek su içeriği ve hidrojellerin doğal hücre dışı matrise fizyokimyasal benzerliği ile hem bileşimsel olarak hem de mekanik olarak desteklenir [13].

1.4.1. Sıcaklığa Duyarlı Hidrojeller

Sıcaklığa duyarlı hidrojelere, sıcaklık artışına bağlı olarak şişme davranışı gösteren poli-izopropilakrilamid ve polivinilmetileter verilebilir. Sıcaklık belli bir dereceye kadar artarken faz ayrımı oluşur ve polimer şişme davranışı gösterir. Sıcaklığa bağlı şişme ve büzüşme davranışları geri dönüşümlü olarak gerçekleşir. Son yıllarda şekil bellekli (şekil hafızasına sahip) hidrojeller geliştirilmektedir [14].

Literatürde sıcaklığa duyarlı hidrojel sentezlenmesine örnek olarak kuersetin molekülünün hidrojele yüklenmesi ve farklı sıcaklıklar kullanılarak yapı değişimi gözlemlenmek istenmiştir. İzopropilakrilamid bazlı polimerler 32°C faz geçiş sıcaklığına sahip olmaları açısından sıcaklığa duyarlı hdrojel sentezi için kullanılmıştır. LCST olarak adlandırılan faz geçiş sıcaklığının altındaki sıcaklıkta, polimerler su ile etkileşime girerek hidrojen bağları oluşturur ve bu bağ sonucunda polimerler şişer. Bu sıcaklığın üzerindeki değerlerde ise bağların kopmasıyla polimerler büzölmeye başlar [15].



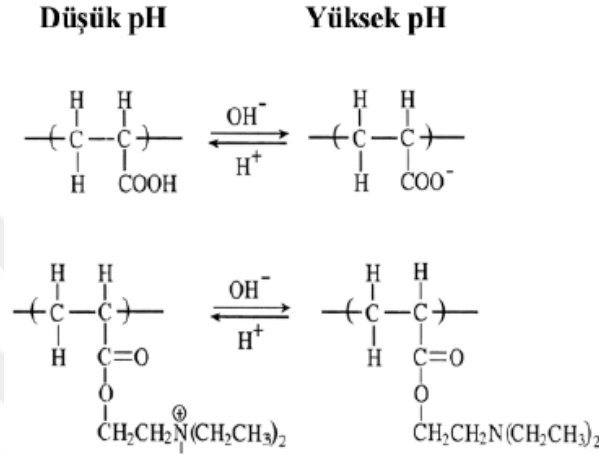
Şekil 1. 6. Sıcaklığa bağı hidrojel.

Bu çalışmada kullanılan kuerstinin sıcaklık artırıldığında hidrojel içinde yer aldığı, sıcaklığın düşürölmesi durumunda ise salınımın olduğı gösterilmiştir. Farklı miktarlarda kuerstinin yüklenmesi ile kuersetinin hidrojelden salınımı incelenmesi amaçlanmış olup, bu hidrojel içerisindeki molekülölerin belirli etkenler tarafından değışime uğramadığı gösterilmiştir. Böylece, bu molekülölerin vücut içerisinde alındığında etkilenmeden kalabilmesi polimerler sayesinde olabilir [16].

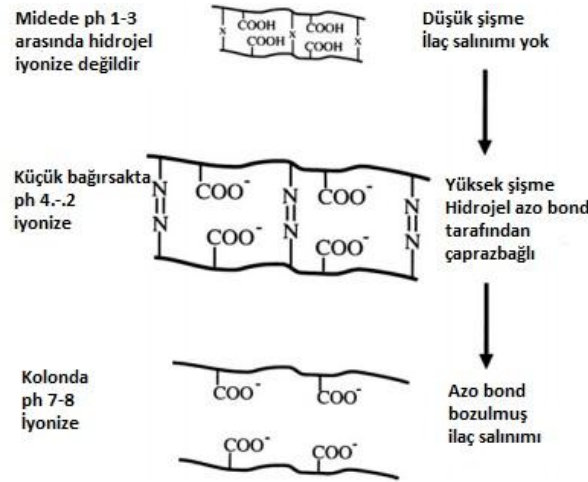
1.4.2. pH Duyarlı Hidrojeller

Bu polimerler, normalde polimer iskeletine asidik veya bazik fonksiyonel grupların eklenmesi ile oluşturulabilir. Sulu ortamda, uygun pH ve iyonik kuvvet değışikliklerine tepki olarak, protonlar alınmakta veya verilmektedir. Bütün pH'a duyarlı polimerlerde asidik (örneğin karboksilik veya sülfonik asitler) ya da bazik (örneğin amonyum tuzları) gruplar bulunmaktadır. Çok sayıda iyonlaşabilen grupların polimerleri polielektrolitler olarak bilinir [17]. Şekil 1.7' de anyonik ve katyonik polielektrolitlerin yapıları ve pH'a bağı iyonizasyonları gösterilmiştir. Poli (N, N-dimetilaminoetil metakrilat) (PDEAEM) düşük pH'da iyonize olurken, Poli (akrilik asit) (PAA) yüksek pH'da iyonize olmaktadır. Böylece, çapraz bağlanmış PDEAEM gibi katyonik polielektrolitler düşük pH'larda şişerken, PAA gibi polianyonlar yüksek pH'larda şişerler. Polielektrolit

hidrojellerin şişmesi, polimer zincirinde mevcut yükler arasında elektrostatik itme kuvvetinden kaynaklanmaktadır. Bu yüzden; pH, iyonik kuvvet ve karşı iyon türü gibi elektrostatik itmeyi azaltan herhangi bir durum şişme derecesini etkiler. Sulu ortamda uygun pH ve iyonik kuvvet askıdaki grupları iyonize eder ve polimer ağında sabit yükleri geliştirir. Bu yüklerden kaynaklanan elektrostatik itme kuvvetleri, hidrojin pH'a bağlı şişme ya da büzüşmesine neden olur [18].



Şekil 1. 7. pH' a bağlı polielektrolitlerin iyonizasyonu poli (akrilik asit) (üst) ve poli (N, N-dimetilaminoetil metakrilat) (alt).



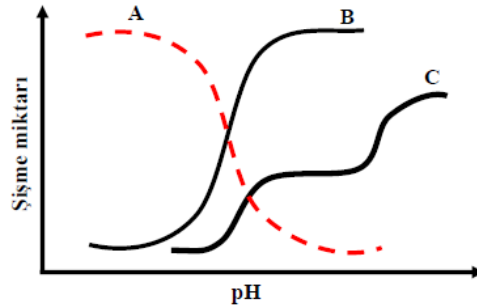
Şekil 1. 8. Biyolojik olarak bozunabilir ve pH'a duyarlı hidrojeller kullanılarak oral kolona özgü ilaç iletiminin şematik gösterimi.

1.4.3. Fiziksel Hidrojeller

Tersinir yapıdaki kovalent bağ içermeyen hidrojellerdir. Fiziksel ağlar ya polimer zincirlerindeki karışmalar ya da iyonik etkileşimler, hidrojen bağları (F, N, O ve H atomları arasında gerçekleşir), veya hidrofobik etkileşimler (Van der Waals kuvvetleri) gibi fiziksel etkileşimlerden doğan geçici bağlara sahiptir. Konformasyon değişiklikleri nedeniyle fiziksel hidrojeller tersinirdir. Aljinat, jelatin ve kitosan (polimer-polimer kompleksi oluşturma) fiziksel hidrojellere örnek olarak verilebilir [19].



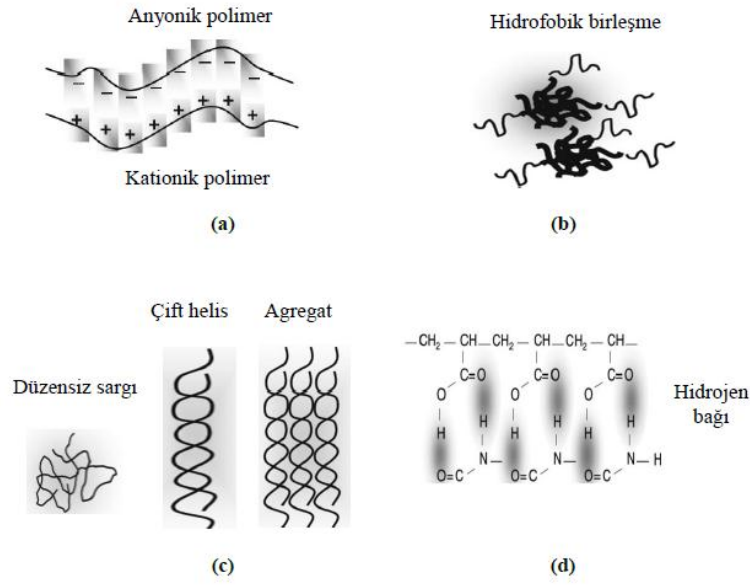
Şekil 1. 9. Molekül İçi mevcut etkileşimler (a), Moleküller arası olan etkileşimler (b)



Şekil 1. 10. pH' a bağlı olarak iyonik hidrojellerin şişme davranışı; a) Monomerinde mevcut iyonize grup içeren katyonik jel; b) Monomerinde mevcut iyonize grup içeren anyonik jel; c) Monomerinde mevcut iki iyonize grup içeren anyonik jel.

Fiziksel hidrojelleri bir arada tutan kuvvetlere örnek olarak:

- Hidrofobik etkileşimler. (Örnek olarak; LCST polimerler, hidrofilik-hidrofobik blok kopolimerler verilebilir.)
- Hidrojen bağları. (Örnek olarak; jelatin ve poli vinil alkol verilebilir.)
- İyonik kuvvetler. (Örnek olarak; sodyum aljinat, divalent katyonların çapraz bağlanması ile tuz köprüleri meydana getirir.)
- Kristal segmentler (Örnek olarak; poli vinil alkol, poli metakrilik asit verilebilir.) [20].
- Protein Etkileşimleri verilebilir. [8]

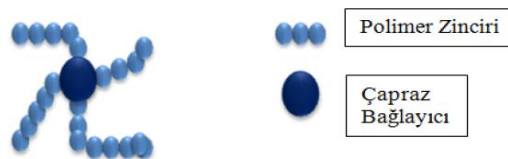


Şekil 1. 11. Polimer-polimer kompleksi oluşturma(a); Hidrofobik birleşme (b), Zincir agregasyonu (c), hidrojen bağlama ile çapraz bağlanmış (d) fiziksel hidrojel örnekleri.

1.4.4. Kimyasal Hidrojeller

Kimyasal hidrojel yapısı incelendiğinde, zincirlerin birbirlerine kovalent bağlarla bağlandığı görülmektedir. Bu da kalıcı bir ağ yapısının oluşmasına neden olmaktadır. Kimyasal hidrojellerde je yapısında mevcut zincir bağları çok kuvvetli olup tersinmez bir yapıya sahiptir. Ancak fiziksel hidrojellere bakıldığında bu durum tam tersidir. Hidrojel yapısındaki sekonder etkileşimlerin ortadan kaldırılması ile düğüm noktaları bozulur ve böylelikle hidrojinin 3 boyutlu yapısında bozulmalar meydana gelir [21].

Kimyasal çapraz bağlı jel yapısı, hidrofilik monomerlerin çapraz bağlanma ve polimerizasyon reaksiyonları ile oluşmaktadır. Polimerizasyon reaksiyonu sırasında mevcut konsantrasyonu jellerin şişme ve elastik özelliklerini etkileyen ve kimyasal çapraz bağlı jellerin sentezinde kullanılan 3 veya daha fazla sayıda fonksiyonlu monomerlere çapraz bağlayıcı denir. Şekil 1.11’de kimyasal hidrojellerin yapısında oluşabilen çapraz bağ yapısı gösterilmektedir [22].



Şekil 1. 12. Kimyasal hidrojellerin yapısındaki çapraz bağ yapısı

1.5. Hidrofobik İlaç Taşıyıcı Hidrojeller

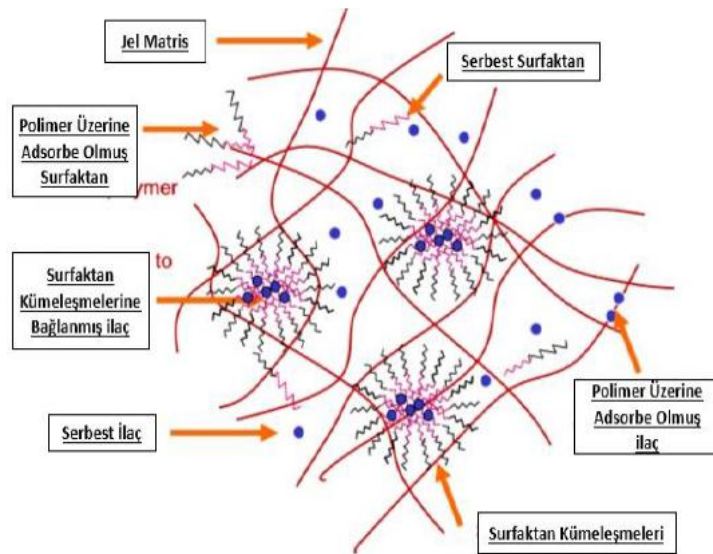
Hedeflendirme, etken maddenin etki ya da absorpsiyon bölgesine seçici olarak yönlendirilmesiyle ilaç konsantrasyonunun istenilen bölgede diğer bölgelere oranla daha fazla artmasını hedefler. İlaçların hedeflendirilmesinde iki sebep vardır:

1. İlacın etki etmesi istenilen bölgede ve istenen hızda dağılması sonucu en uygun etkileşiminin sağlanması,
2. Vücuda alınacak olan ilaç dozunun azaltılması ve etken madde dağılımının sadece belirli bir hedef bölgeyle sınırlandırılmasıdır [23].

Yukarıda belirtilen koşullar sağlandığında ilacın hasta tarafından daha az dozlarda daha etkili olması sağlanır ve oluşabilecek yan etkiler de böylelikle azaltılmış olur. Hedeflendirmedeki temel esas;

- Etken madde dozunun azaltılmasına bağlı olarak yan etkilerin de azalması
- İlacın vücutta spesifik olarak belirlenen ya da hastalıklı bölgelere yönlendirilmesi
- Reseptöre spesifik ve dayanıksız moleküllerin kanda korunması ve hedef dışı reseptörlerle etkileşmemesidir [24].

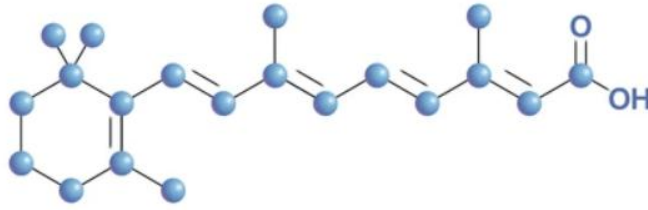
Bilimsel ve endüstriyel olarak önemi her geçen gün artan yüzey aktif maddeler, hem hidrofilik hem de hidrofobik kısımlara sahip olmaları sebebiyle, polimer matrisi ile birleşerek jel sistemi içerisinde misel adı verilen özel yapılar oluştururlar (Şekil 1.12). İlaçların yüzey aktif madde ile etkileşimlerinin artması sonucunda da ilacın etki süresi artarak, ilaç salımı da azalmış olur [25].



Şekil 1. 13. Sürfaktan içeren jellerin mikro yapılarının şematik görüntüsü.

1.5.1. Retinoik Asit

Retinoik asit, büyüme ve gelişme için gerekli A1 vitamini işlevlerine aracılık eden bir A1 vitamini (all-trans-retinol) metabolitidir. Hücre farklılaşmasını indükleyen ve hücre büyümesini baskılayan bir anti-kanser ilacıdır. Embriyonik gelişimde all-trans-retinoik asidin anahtar rolü, kanser ve akne tedavisinde kullanılan izotretinoin (13-cis-retinoik asit) gibi retinoid farmasötiklerin yüksek teratojenitesine aracılık eder. Önceden oluşturulmuş vitamin A'nın (retinil palmitat) oral megadozları ve all-trans-retinoik asidin kendisi de aynı mekanizma ile teratojenik potansiyele sahiptir [26].



Şekil 1. 14. Retinoik Asidin kimyasal formülü.

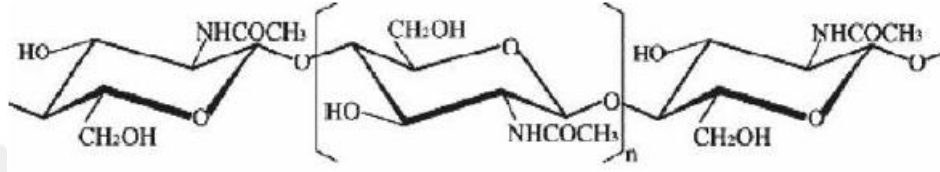
Retinoidler, hemen hemen her hücre ve organ sisteminde, özellikle görme, hücre çoğalması, hücre farklılaşması, bağışıklık işlevi, sinir işlevi ve erken gelişim sırasında vücut planının oluşturulması gibi pek çok önemli ve çeşitli işlevleri yerine getirir. Retinoidler esas olarak gen ekspresyonunu düzenleyerek etki eder.

Vücuda alımdan sonra RA, iki ardışık reaksiyonla retinolden üretilir. İlk tersine çevrilebilir reaksiyonda, retinol, alkol dehidrojenaz enzimi (ADH) tarafından her yerde eksprese edilen enzim tarafından retinaya oksitlenir. Daha sonra, mezenterik lenf düğümleri ve peyer yamaları ile ilişkili bağırsak epitel hücrelerinde, DC'lerde ve makrofajlarda, retinal RA oluşturmak için retinal dehidrojenaz enzimi (RALDH) tarafından oksitlenir. Üç RALDH izoformu (RALDH1, RALDH2 ve RALDH3) vardır ve bunların ekspresyonu sıkı bir şekilde düzenlenir ve yukarıda bahsedilen hücrelerde sınırlıdır. Bu nedenle RALDH, RA üretebilen hücre popülasyonlarını tanımlayan ana enzim olarak kabul edilir. Bağırsak epitel hücreleri, retina ve RA'ya emildikten sonra A vitaminini de metabolize edebilir ve bunlar doğrudan bağırsak mukozasına salınabilir.

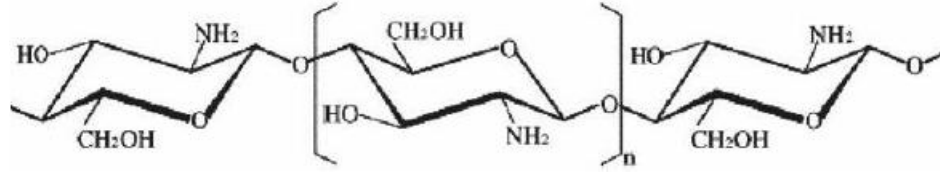
Retinoik asit, lipozom-hidrojel biyolojik olarak uyumlu bir ilaç taşıyıcısıdır. Diğer birçok ilaçta olduğu gibi, lipozom-hidrojelde RA'nın kapsüllenmesinin etken maddenin toksik etkilerini azalttığı ve terapötik etkisini arttırdığı gösterilmiştir. Lipozom-hidrojele dahil edilen etken madde in vitro toksisitesini azaltmıştır ve tam biyolojik aktivitesini korumuştur [27].

1.5.2. Kitosan

Kitin, istakoz, yengeç, karides gibi eklembacaklıların kabuklarında bulunur ve fungus, kahverengi alg gibi organizmalar tarafından ekstraselüler olarak üretilirler. Kitosan ise kitinin deasetilenmiş bir formu olup selülozdan sonra doğada en çok bulunan organik bir polimerdir. Kitinin asetil grupları, kuvvetli baz ile reaksiyona girerek ile uzaklaştırılır, bu şekilde kitosan eldesi sağlanır. Şekil 1.13 ve Şekil 1.14' te kitin ve kitosanın moleküler yapısı gösterilmektedir [28].



Şekil 1. 15. Kitin molekül yapısı.



Şekil 1. 16. Kitosan molekül yapısı.

Kitosan, suda çözünmez ancak pH'ı 6' dan daha düşük olan asidik çözeltilerde çözünür. Kitosanın inorganik asit çözeltilerinde çözünürlüğü sınırlı olmakla birlikte laktik asit, formik asit, asetik asit gibi bazı organik asitler de ise çözünürlüğü yüksektir. Kitosan içeren polimer çözeltisinin pH' ı 7' den daha yüksek olduğunda, presipitasyon ve jelleşmeye bağlı olarak çözelti stabilitesinde düşüş gerçekleşebilir. Kitosan, yapısında bulunan pozitif iyon yükleri sayesinde, kolesterol, lipidler, yağlar, proteinler, metal iyonları ve bazı makromoleküllere yapılarında bulunan negatif iyon yükleri nedeniyle kimyasal olarak bağlanabilmektedirler. Bu özellikleri sayesinde kitin ve kitosan, ticari anlamda da biyobozunurluk, adsorbsiyon özellikleri, biyoyumluluk göstermesi, metal iyonlarını şelatlama ve film oluşturabilmeleri nedeniyle çok sıklıkla tercih edilmektedir [29].

Biyomedikal alanında ise sıklıkla non-toksik ve yüksek molekül ağırlığına sahip kitosan polimerleri sıklıkla kullanılmaktadır. Örnek olarak, doku mühendisliği uygulamalarında biyoyumluluk ve yüksek molekül ağırlığına sahip olması nedeniyle iskele olarak kullanılmasıyla ilgili çok sayıda çalışma mevcuttur. Kemik ve kıkırdak dokularında, rejenerasyon işlemlerinde enjekte edilebilme özelliği sayesinde kitosan ve türevleri sıklıkla tercih edilmektedir.

Gen terapi uygulamalarında ise vektör olarak kullanılması mümkündür. Bunun yanı sıra enzim immobilizasyonu için de kullanılmaktadır [30].

1.5.3. İlaç Taşınması İçin Kitosan Esaslı Hidrojeller

Hidrojeller tarımda, gıda endüstrisinde ve ilaç alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Farmasötik alanda sistemik ve lokalize ilaç dağıtımı ve doku mühendisliği için uygulanmaktadır. Hidrojeller hem ilaçlar hem de gen dağıtımı için platformlar olarak kullanılır. Hidrojeller, makromolekül ilaçları, özellikle proteinleri polimerik zincirlerine kapsülleyebilir. Polimerik hidrojel ağı, ilaçları hızlı çözünmeden korur ve matrislerden salınım hızını kontrol eder. Hidrojeller oral, oküler, nazal, vajinal ve deri altı yollarla verilebilir. Hidrojeller doku onarımlarında da yaygın olarak kullanılmaktadır [31].

Kitosanın polisakkarit zincirleri arasındaki moleküller arası kuvvetler hidrojen, hidrofobik ve iyonik etkileşimlerdir. Bu etkileşimler moleküler ağırlık ve iyonik kuvvetten etkilenir. Kitosan polimerlerinin çapraz bağlanması, ilaç verilmesi amacıyla stabilite ve dayanıklılık gibi kitosan özelliklerinin iyileştirilmesi için gereklidir. Kitosan bazlı hidrojel ağları, kitosan çapraz bağlama ve hazırlama yöntemine göre kategorize edilir. Kimyasal olarak çapraz bağlı hidrojeller, kitosan makromerlerinin kovalent bağlanmasıyla oluşturulur, burada bağ oluşumu geri döndürülemez. Kimyasal çapraz bağlı hidrojeller, dört oluşum halinde bulunur: a) kitosan çapraz bağlı sistem, b) hibrit polimer ağları (HPN), c) iç içe geçen polimer ağları (IPN) ve d) yarı iç içe geçen polimer ağları (SIPN). En basit kimyasal hidrojel oluşumu türü, kitosan kendi başına başka bir polimerik zincirle çapraz bağlanma reaksiyonuna girdiğinde meydana gelir. İkinci zincir, türetmede birinci yapısal birime benzer veya farklı olabilir. Kitosan zincirleri üzerinde bulunan aminler ve hidroksil grupları, kimyasal çapraz bağlanmadan sorumludur. Kimyasal çapraz bağlanma, çapraz bağlayıcılar veya fotopolimerizasyon reaksiyonu yoluyla gerçekleşebilir [32].

Kitosan özelliklerinin modifikasyonu için kullanılan moleküller kitosan bazlı hidrojel özelliklerini iyileştirmek için kitosan türevleri sentezlenmiş ve değerlendirilmiştir. Kitosan zincirleri üzerindeki fonksiyonel amino grupları, polimerin muko-adhezyon, yüksek ilaç yüklemesi ve gen transferi yeteneği gibi geliştirilmiş özelliklere sahip türevler üreten kimyasal reaksiyonlara girmesine yardımcı olur.

Fotopolimerize edilebilir kitosan türevlerini hazırlamak veya kitosanın suda çözünürlüğünü geliştirmek için bazı diğer kimyasal modifikasyonlar ilgi çekmiştir. 4-azido-benzoik asit, metil akrilol glisin, polietilen glikol bunlara örnek olarak verilebilir [33].

1.6. Zeolitler ve İlaç Taşıyıcı Sistemlerde Kullanımları

Zeolitler kristal yapıda hidrasyona uğramış alüminyum silikatlardır. Genel formülleri $M_{x/n}Al_2O_3 \cdot xSiO_2 \cdot yH_2O$ şeklindedir. Burada M; sodyum, potasyum, kalsiyum, magnezyum gibi n değerlikli bir katyondur. Zeolitlerin iyon değişikliği yapabilme, silis içeriği, adsorbsiyon özellikleri, moleküler elek yapısı, hafif olması ve küçük kristallerin gözenekli bir yapıya sahip olması endüstriyel anlamda pek çok farklı alanda kullanılması için büyük bir avantaj sağlamaktadır. Zeolitlerin adsorbent olarak yüksek kapasiteli olmaları, büyük boşluk hacimleri ve çok geniş iç yüzey alanına sahip olmaları sayesinde. Bununla birlikte, yapısındaki gözenek ve kanallardaki belirlilik ve düzenlilik sayesinde diğer adsorbentlere göre daha avantajlı olduğu söylenebilir. Kullanım ve uygulama alanlarına örnek olarak; doğal gazın saflaştırılması, güneş enerjisini depolama-soğutma, havadan azot ve oksijen elde edilmesi sayılabilmektedir [34].

Zeolitler, diğer nano-yapılı gözenekli malzemelere kıyasla göze çarpan avantajlara sahiptir. Bunlar; normal hücre ve dokular üzerinde istenmeyen etkileri sınırlandırabilen düşük sitotoksite, zeolit gözeneklerinin yükleme içeriğini arttırmak için uygun olan ayarlanabilir yüksek taşıma kapasitesi ve ilaç verme uygulamalarına fayda sağlayan geliştirilmiş hücre içi hedefleme özgülüğü ve etkinliğidir [35].

1.7. Literatür Özeti

Retinol metaboliti olan retinoik asit (RA), hücre farklılaşmasını indükleyen ve hücre büyümesini baskılayan bir anti-kanser ilacıdır. Embriyonik gelişimde all-trans-retinoik asidin anahtar rolü, kanser ve akne tedavisinde kullanılan izotretinoin (13-cis-retinoik asit) gibi retinoid farmasötiklerin yüksek teratojenitesine aracılık eder. hemen hemen her hücre ve organ sisteminde, özellikle görme, hücre çoğalması, hücre farklılaşması, bağışıklık işlevi, sinir işlevi ve erken gelişim sırasında vücut planının oluşturulması gibi pek çok önemli ve çeşitli işlevleri yerine getirir.

Bu işlevler tez çalışmasında kullanılacak etken madde olarak seçiminde oldukça etkili olmuştur [36].

Sağlık alanındaki pek çok uygulamada polimerik biyomateriyaller en sık kullanılan materyallerdir. Özellikle antimikrobiyal özelliklere sahip olması, bulundukları ortamda meydana getirdikleri doku etkileşimleri, biyoaktivite gibi pek çok özellikleri sayesinde tıp ve diş hekimliği alanında da geniş bir uygulama alanına sahiplerdir. Günümüzde gelişmiş ilaç toleransı, vücutta minimum seviyede yan etkiye neden olması, retansiyon etkisi, vücutta daha uzun süreli dolaşım ve yüksek geçirgenlik seviyesi, gelişmiş ilaç toleransı gibi avantajları sayesinde ilaç yüklü nanopartiküllerin kullanımı yaygınlaşmıştır. Polimerik biyomateriyaller genel olarak jel, boncuki lif, film vb yapılardan meydana gelebilmektedir.

İlacın, tümör gibi hastalıklı dokulara taşınması esnasında diğer dokular üzerinde istenmeyen yan etkiler olabilir. Bu istenmeyen yan etkileri gidermek veya minimum seviyeye indirmek için kontrollü ilaç salınım sistemleri geliştirilmiştir. Bu geliştirilen mikro ve nano ölçekli akıllı sistemler, pek çok sayıda terapötik tedavi için etki düzeyini maksimum seviyeye çıkaracak yeteneğe sahiptir. Aynı zamanda hastanın yaşam kalitesini de artırmaktadır [37].

Ancak günümüzde mevcut ilaçlarının çoğunluklu olarak hidrofobik olması, hidrofilik özellikteki hidrojellere ilaç yüklenmesinin homojenliği ve miktarı konusunda sınırlı kalabilir. Bu sınırlamaları minimum düzeye indirmek ve ilaç salınımını mümkün mertebe artırmak için pek çok çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Genellikle formülasyona nanopartikül eklenmesi, hem modern bir çözüm getirmiş olup hem de bu kısıtlamaları minimum seviyeye indirmek için bir yöntem olarak geliştirilmiştir.

Zeolit içeren hidrojel çalışmalarına örnek olarak; sıralı gözenekli zeolit/kitosan monolitleri tek yönlü dondurarak kurutma yöntemiyle hazırlanmış ve özellikleri/yapıları çeşitli aletsel yöntemlerle karakterize edilmiştir. Gözenekli zeolit/kitosan monolitlerinin metal iyonu adsorpsiyonu ve ilaç salım performansı incelenmiştir. İlaç yüklü zeolit/kitosan monolitlerinden sefaleksın salım hızı, monolitlerin bileşimine ve gözenekli yapısına bağlıdır. Zeolit/kitosan monolitlerinin metal iyonu adsorpsiyon kapasitesi, metal iyonlarının konsantrasyonu, adsorpsiyon süresi ve zeolit/kitosan oranı ile ilişkilidir. Cu^{2+} iyonları için deneysel olarak maksimum 89 mg/g adsorpsiyon elde edilmiştir.

Adsorbe Cu^{2+} iyonlarına sahip zeolit/kitosan monolitleri, 4-nitrofenolün 4-aminofenole indirgenmesini etkili bir şekilde katalize etmiş olup iyi bir geri dönüştürülebilirliğe sahiptir. Sadece reaksiyon sisteminden çıkarılarak ve suyla durulanarak kolayca geri kazanılmıştır [38].



2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyaller

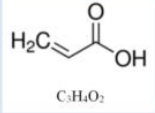
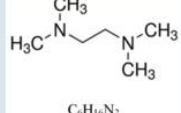
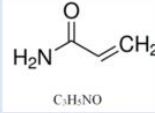
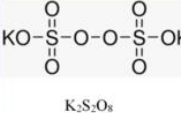
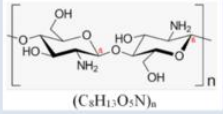
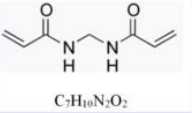
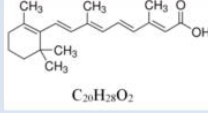
2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kullanılan kimyasal maddeleri özellikleri ile birlikte aşağıdaki tabloda sınıflandırabiliriz.

Tablo 2.1. Tez çalışmasında kullanılan kimyasal maddelerin özelliklerine göre sınıflandırılması

	Kimyasal Madde İsmi	Molekül Ağırlığı (g/mol)	Çözünürlük	Kaynama Noktası (°C)	Erime Noktası (°C)
1	Akrilik Asit	72.06	Suda çok iyi çözünür. Etanol, etil eter, aseton, benzen ve karbon tetraklorür ile çok iyi karışabilmektedir.	141,2	13,5
2	Akrilamid	71,08	Su, etanol, eter ve kloroform içinde çözünür.	175-300 °C'de ayrışır.	84,5
3	Kitosan	3.200-2.000.000	Su, organik çözücüler ve sulu bazlarda çözünmez. Ancak asetik, nitrik, hidroklorik, perklorik, fosforik vs. gibi asitlerde karıştırarak çözünür.	-	-
4	MBA (Metilen-bis-akrilamid)	71,1	Su, metanol, etanol, dimetil eter ve aseton içerisinde çözünebilirken benzende ve heptanda çözünmez.	125	85
5	TEMED (Tetrametiletilendiamin)	116.20	-	121	-58,6
6	KPS (Potasyum-per-sülfat)	270.322	Soğuk suda az, ancak ılık suda çok çözünür. Potasyum hidroksit çözeltileri ve saf etanolde çözünmez.	1689	< 100 °C
7	Zeolit	210.16	-	244.6	< 100 °C
8	Retinoik Asit	300,4351	Suda çözünmez, yağlarda çözünür.	462,8	180

Tablo 2.2. Tez çalışmasında kullanılan kimyasal maddelerin molekül formüllerine göre sınıflandırılması

Kimyasal Madde İsmi	Molekül Formülü	Kimyasal Madde İsmi	Molekül Formülü
Akrilik Asit	 C ₃ H ₄ O ₂	TEMED (Tetrametiletilendiamin)	 C ₆ H ₁₆ N ₂
Akrilamid	 C ₃ H ₅ NO	KPS (Potasyum-per-sülfat)	 K ₂ S ₂ O ₈
Kitosan	 (C ₆ H ₁₁ O ₄ N) _n	Zeolit	(C ₂ H ₅) ₄ N(Br)
MBA (Metilen-bis-akrilamid)	 C ₇ H ₁₀ N ₂ O ₂	Retinoik Asit	 C ₂₀ H ₂₈ O ₂

2.1.2. Kullanılan Solüsyonlar

Tablo 2.3. Tez çalışmasında kullanılan solüsyonların hazırlanış yöntemlerine göre sınıflandırılması

Çözelti İsmi	Çözelti Hazırlanışı
pH 1.2 HCl Solüsyonu	50 mL potasyum klorür solüsyonu içeren 200 mL'lik balon jojeye, 0.2 M HCl çözeltisinden 85 mL eklenir, ardından hacmine su ile tamamlanır.
pH 7.4 Fosfat Solüsyonu	50 mL monobazik potasyum fosfat solüsyonu içeren 200 mL'lik balon jojeye, 0.2 M HCl çözeltisinden 39.1 mL eklenir, ardından hacmine su ile tamamlanır.
pH 1.2 Alkali Borat Solüsyonu	50 mL borik asit ve potasyum klorür solüsyonu içeren 200 mL'lik balon jojeye, 0.2 M HCl çözeltisinden 20.8 mL eklenir, ardından hacmine su ile tamamlanır.

2.1.3. Kullanılan Cihazlar

Tablo 2.4. Tez çalışmasında kullanılan cihazların sınıflandırılması

Cihaz İsmi	Cihaz Markası	Cihaz Model Resmi
Spektrofotometre	Perkin Elmer Spectrum 100 FTIR spectrophotometer	
UV Spektrofotometre Cihazı & Spektrofotometre Kuvvetleri	Shimadzu UV-Visible Spektrofotometre UV-2450 & Helma 3 mL'lik kuvvet	
Etüv Cihazı	Memmert	
Su Banyosu Cihazı	Wise Clean Ultrasonic Bath	
pH Metre Cihazı	LCS LD 108 Dijital pH Metre	
Isıtıcı & Manyetik Karıştırıcı Cihazı	IKA-Magnetic Stirrer	
Hassas Terazı Cihazı	Precisa Analitik Terazı	
Saf su Cihazı	Növe	

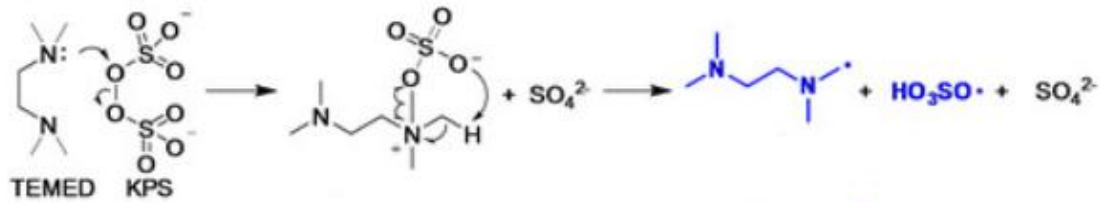
2.2.Deneysel Yöntemler

2.2.1. Jellerin Hazırlanması

Tablo 2.5. Farklı oranlarda zeolit içeren hidrojellerin formül reçeteleri.

	Akrilik Asit	Akrilamid	Kitosan	MBA (Metilen-bis-akrilamid)	TEMED (Tetrametiletilen diamin)	KPS (Potasyum-per-sülfat)	Zeolit	Su
K	0,05 mol	0,025 mol	0.15 g	2 mmol	0,5 ml	0,5 mmol	0 g	30 ml
KZe 5	0,05 mol	0,025 mol	0.15 g	2 mmol	0,5 ml	0,5 mmol	0,269 g	30 ml
KZe 10	0,05 mol	0,025 mol	0.15 g	2mmol	0,5 ml	0,5 mmol	0,538 g	30 ml
KZe 20	0,05 mol	0,025 mol	0.15 g	2 mmol	0,5 ml	0,5 mmol	1,076 g	30 ml

Tabloda da görüldüğü üzere, farklı oranlarda zeolit içeren kitosan bazlı poliakrilik ko akrilamid hidrojelleri sentezlenmiştir. Öncelikle formülde kullanılan zeolit, bir gün öncesinde 150°C'lik etüvde gece boyu kurutmaya bırakılmıştır. Daha sonrasında hidrojel içerisine kurutulmuş olan zeolit; Akrilik Asit ve Akrilamid toplam molekül ağırlıklarının % 5, 10 ve 20' si olacak şekilde eklenmiştir. Kitosan ise tüm formüllerde aynı miktar olacak şekilde (0.15 gram) eklenmiştir. Hidrojel içerisinde eklenen TEMED ve KPS (Potasyum-per-sülfat); başlatıcı olarak, MBA (Metilen-bis-akrilamid) ise çarpaz bağlayıcı olarak reaksiyonu devam ettirmek üzere eklenmiştir. TEMED ise en son ilave edilerek hidrojellerin sentezlenmesi sağlanmıştır. Deney tüpleri içine aktarılan hidrojel çözeltileri, polimerizasyonun tamamlanması için 24 saat odasıklığında bekletilmiştir. Redoks reaksiyonları persülfatlardan radikaller oluşturur ve bir redoks hızlandırıcısı polimerizasyonu başlatır.



Şekil 6. Radikal başlatma için potasyum persülfat-N, N, N, N-tetrametiletilendiamin (KPS-TEMED) redoks sisteminin şematik açıklaması [18].

2.2.2. Yüzde Jelleşme

Polimerizasyonun tamamlanmasından sonra jelleşme değerlerinin hesaplanabilmesi için hazırlanan bütün jellerin tamamen kuruması için etüvde belirli bir süre bekletilmiştir.

Etüvde kurutulan jellerin terazide ağırlıkları belirlenmiştir. Daha sonrasında reaksiyona hiç girmemiş monomerlerin bir başka molekülden saflaştırılması amacıyla jeller 1 hafta boyunca saf su ile doldurulmuş beherlerde bekletilmiştir ve günlük olarak içerisindeki su değiştirilmiştir. Bir hafta sonunda, sudan çıkarılan jeller sabit bir ağırlığa gelene kadar tekrar kurutulmuştur ve sonrasında terazide ağırlıkları belirlenmiştir.

Jelleşme yüzdesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır;

$$\text{Jelleşme Oranı (\%)} = (\text{M}_{\text{kuru başlangıç}} / \text{M}_{\text{kuru son}}) \times 100$$

2.2.3. Şişme Deneyi

Hidrojellerin denge şişme oranını (q) belirlemek için, hazırlanan hidrojeller ilk olarak 1 hafta süreyle liyofilize edilmiştir. Daha sonrasında, hidrojeller kapalı kaplarda oda sıcaklığında 1 hafta süreyle denge şişme durumuna ulaşana kadar distile suya bekletilmiştir. 1 hafta sonunda, fazla yüzey suyu bir filtre kağıdı ile uzaklaştırıldıktan sonra denge halindeki şişmiş hidrojeller sudan çıkarılmıştır ve ağırlıkları belirlenmiştir. Hidrojin denge şişme oranı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır;

$$\% q = (W_s - W_d) / W_d \times 100$$

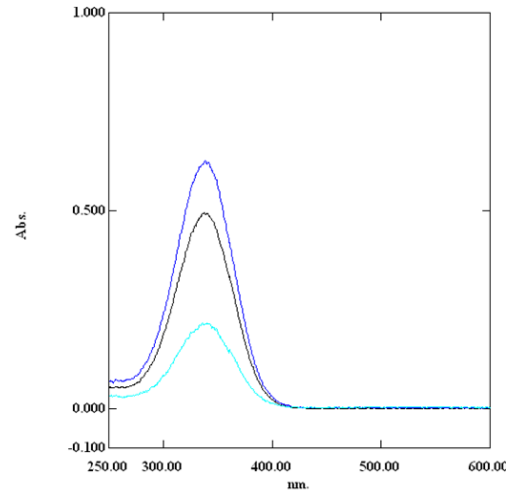
q = denge şişme oranı

Ws = şişmiş hidrojellerin ağırlığı

Wd = kurutulmuş hidrojellerin ağırlığı temsil eder.

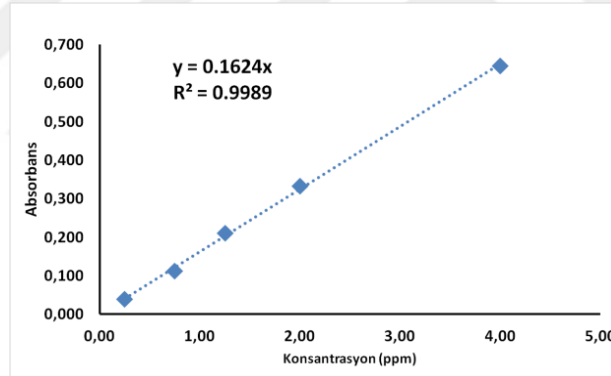
2.2.4. Jellere İlaç Yüklenmesi

Bu çalışmada, Retinoik Asit model ilaç olarak kullanılmıştır. Öncelikle 100 ml pH 7.4 fosfat tamponu ile 100 ml etanol karıştırılarak tampon bir çözelti hazırlanmıştır. Daha sonrasında 20 mg Retinoik asit etken maddesi, hazırlanan 200 ml tampon çözelti içerisine eklenerek çözünmesi sağlanmıştır. Bu çözeltiden 20 ml hacimlerde alınarak ağzı kapalı ve alüminyum folyo sarılı kavanozlara eklenerek içerisine ağırlıkları tartılarak önceden belirlenmiş zeolit içeren küçük hidrojellerden eklenmiştir ve 24 saat bekletilmesi sağlanmıştır.



Şekil 7. Retinoik Asit'in Absorpsiyon Spektrumu.

Farklı konsantrasyonlarda retinoik asit içeren çözeltilerin absorpsiyon spektrumundan yola çıkılarak ilaç konsantrasyonları hesaplanmıştır. Hidrojel içerisine yüklenen ilaç miktarları; başlangıçtaki ilaç konsantrasyonunun, yükleme sonrası çözeltideki ilaç konsantrasyonundan çıkartılarak belirlenmiştir.



Şekil 8. Retinoik Asit'in Kalibrasyon Eğrisi

İlaç yüklenmesinin ardından bir gün sonra jel ile ilaç çözeltisi ayrılmıştır. Bununla birlikte standart çözelti olarak 20 mg ilaç 200 ml tampon çözeltisinden 0.25-4.00 ppm arası çözeltiler hazırlanarak UV spektrofotometre cihazı ile okumalar yapılarak grafik çizilir. Maksimum absorbansı 340 nm de gösterdiği görülmektedir. Şekil 2.2.'de Retinoik Asit'in absorpsiyon spektrumu, Şekil 2.3.'de ise kalibrasyon eğrisi görülmektedir.

2.2.5. Salınım Deneyleri

Salınım deneyi için, ilaç yüklü çözeltiden çıkartılan jeller ışıktan korumak amaçlı alüminyum folyo kaplı kavanozlarda bekletilmiştir. Ağırlıkları önceden belirlenmiş

küçük boyutlardaki hidrojel, 20 ml yeniden hairlanan tampon çözelti içine konulmuştur. Belli zaman aralıklarında (30, 60, 120,.. dk), hidrojel içeren çözeltilerden 1 mL alınıp, yerine aynı miktarda yeni tampon çözeltisi eklenmiştir. Alınan numuneler seyreltme yapılarak uygun konsantasyona getirilmiştir ve UV spektrofotometre cihazında 340 nm dalga boyunda okumalar yapılmıştır. Burada amaç, elde edilen grafikten ilacın salınım yüzdesinin belirlenmesidir.



Şekil 9 İlaç çözeltisi içerisinde yer alan kitosan esaslı hidrojel

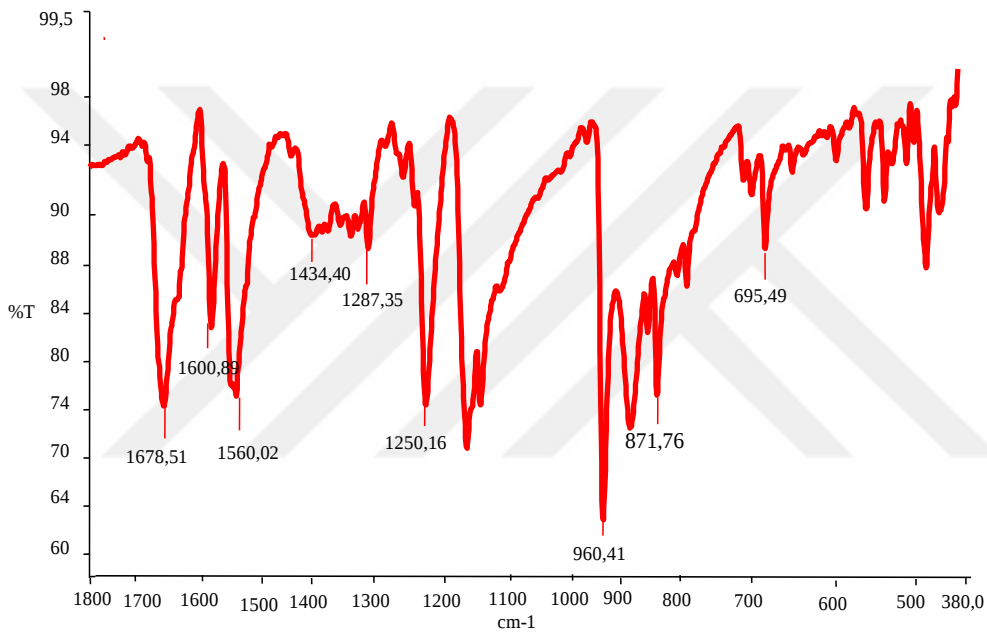
2.2.6. Karakterizasyon

Hidrojellerin yapısal özellikleri fourier dönüşümü kızılötesi (ATR-FTIR) spektroskopisi ile incelenmiş olup Perkin-Elmer Spectrum 100 ATR-FTIR'de $400-4000\text{ cm}^{-1}$ aralığında kaydedilmiştir.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

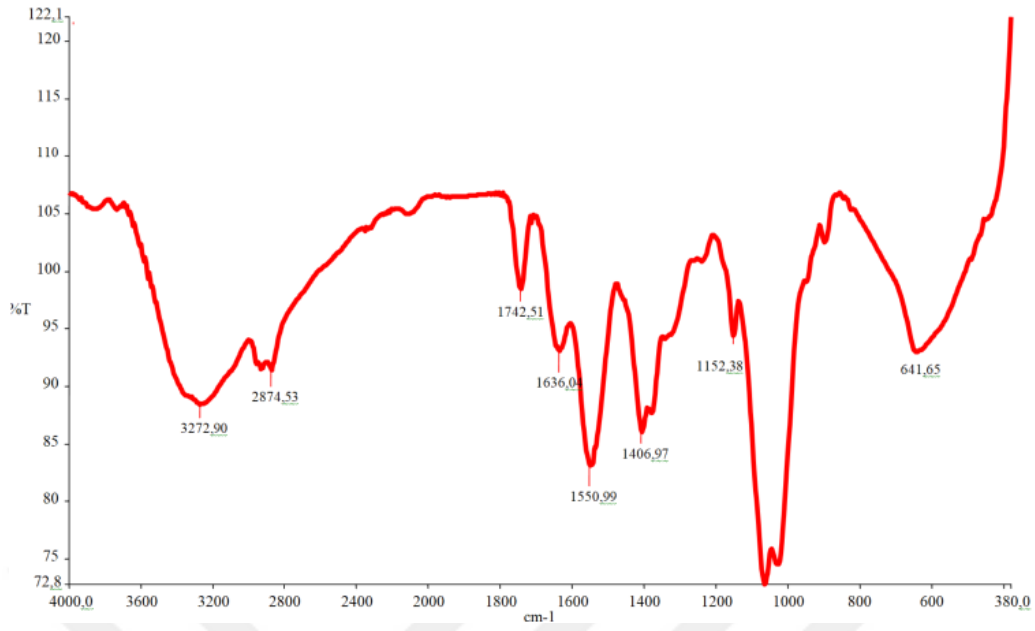
3.1. FTIR Analizi

FTIR analizleri sırasıyla Retinoik asit, kitosan, zeolit içermeyen ve %5 oranında Zeolit içeren hidrojel için yapılmıştır. Kitosan temelli farklı miktarlarda zeolit içeren hidrojel sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Şekil 3.1’da retinoik asidin FTIR spektrumu gösterilmiştir. Bu spektrumda 1680 cm^{-1} ’de görülen bant asit karbonil grubuna 1600 cm^{-1} ’deki titreşim bantları ise C=C çifte bağlarına aittir.

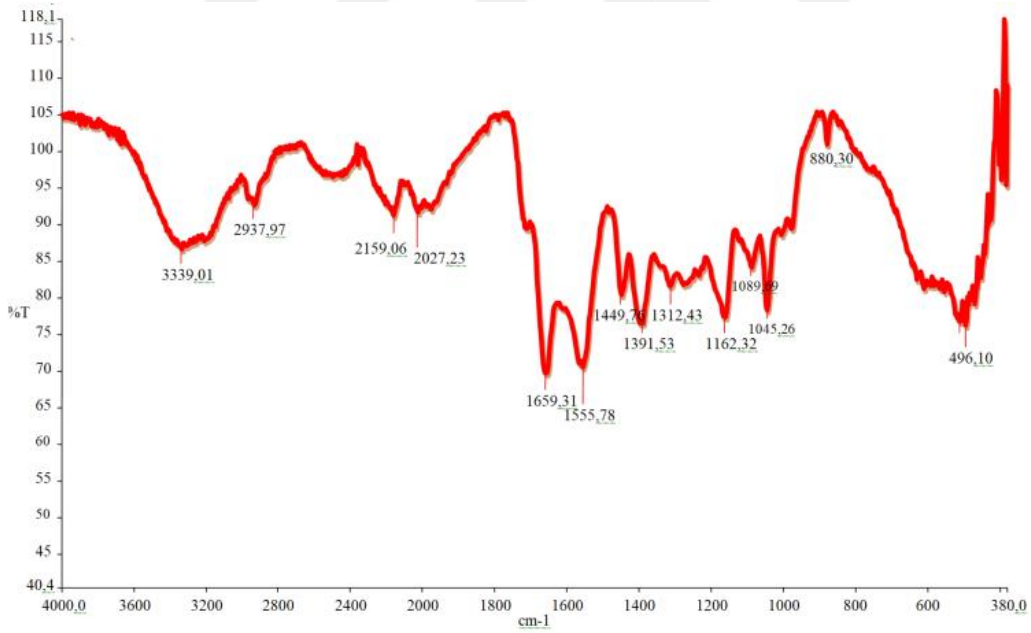


Şekil 10 Retinoik asitin FTIR spektrumu

Şekil 3.2’de kitosanın FTIR spektrumu verilmiş olup burada 3273 cm^{-1} ’deki pik hidroksil gruplarına karşılık gelmektedir. Dahası, 1638 cm^{-1} ve 1551 cm^{-1} ’deki pikler ise $-\text{NH}_2$ eğilme bandlarından kaynaklanmaktadır.

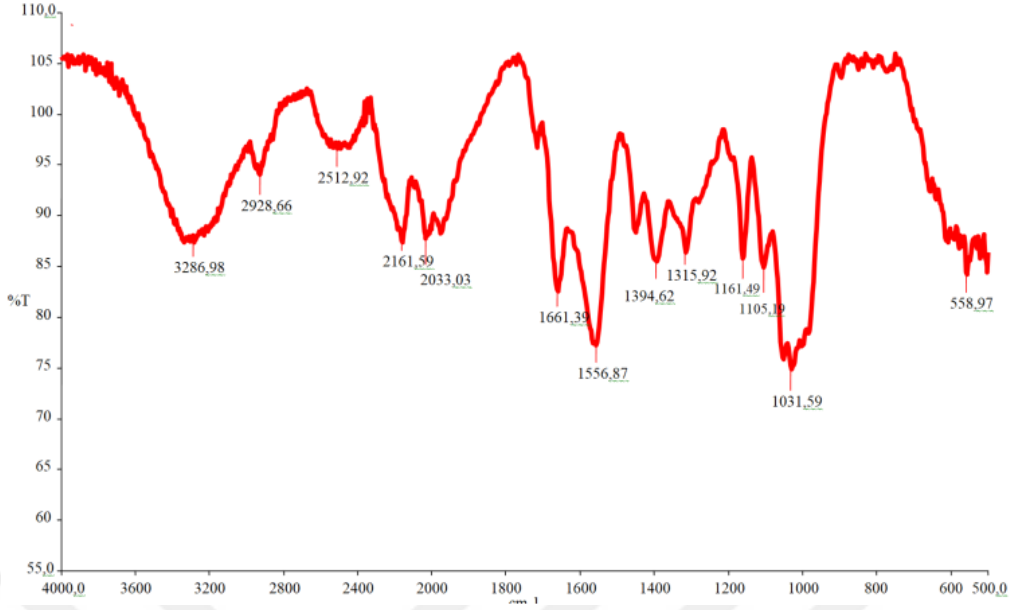


Şekil 11 Kitosanın FT-IR spektrumu.



Şekil 12 K-kitosanın FT-IR Spektrumu.

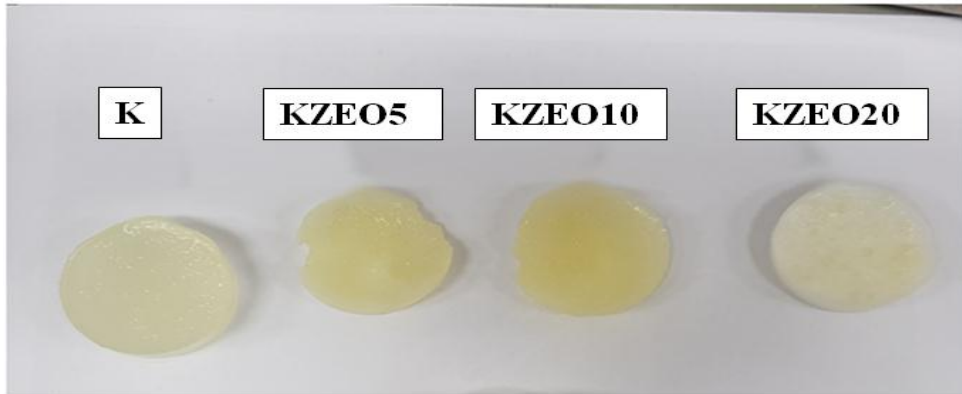
K-hidrojelinde (sadece kitosan içeren hidrojel) akrilat karbonil (C=O) grupları nedeniyle 1659 cm^{-1} 'de kuvvetli bir bant görülmüştür (Şekil 3.3). Şekil 3.4'de verilen %5 zeolit içeren hidrojin FT-IR spektrumunda K hidrojeline benzer pikler görülmüştür. Zeolitin miktarı az olduğu için onun bantları görülmemektedir.



Şekil 13 % 5 Zeolit içeren hidrojinin FT-IR Spektrumu.

3.2. Jelleşme ve Şişme Sonuçları

Yapılan araştırmalar sonucu parçacık boyutunun küçültülmesi ile kitosanın sahip olduğu adsorpsiyon kapasitesi, ilaç salım kapasitesi gibi özellikleri arttırmakta olduğu görülmüştür [18]. Bu yüksek lisans tezinde ilk adım olarak kitosan esaslı farklı miktarlarda zeolit içeren hidrojinler sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Sırasıyla zeolit içermeyen, % 5, %10 ve %20 oranlarında zeolit içeren hidrojinlere eklenen zeolit miktarları, formül içerisinde yer alan akrilik asit ve akrilamid toplam molekül ağırlıklarının yüzdesi ile orantılı olarak eklenmiştir. Şekik 3.5’de görüldüğü üzere zeolit içermeyen hidrojel, % 5 ve % 10 zeolit içeren hidrojinler ile kıyaslandığında aralarında renk farklılığı olduğu görülmektedir.



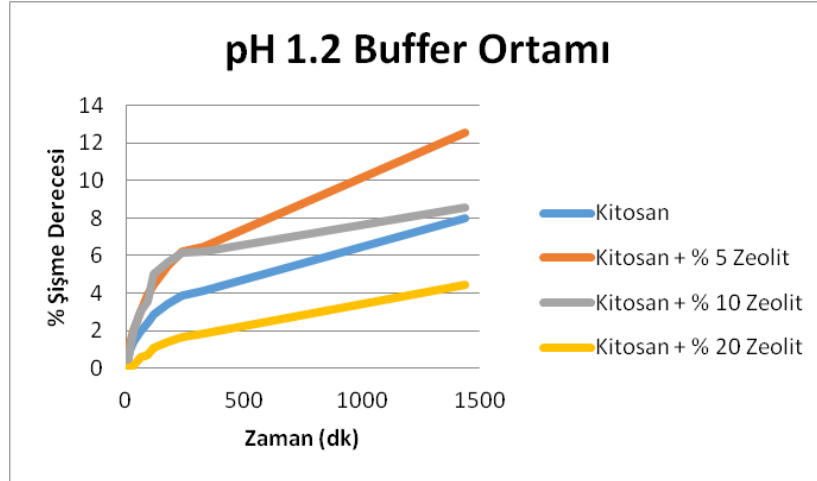
Şekil 14 %0, %5, %10 ve %20 oranlarında kitosan içeren sentezlenmiş hidrojin görüntüleri.

Tablo 3.1’de jellerin çapraz bağlanma oranları hesaplanan hidrojellerin yüzde oranlarını içeren tablo mevcuttur. İlk ve son tartıma göre yüzde oranı hesaplanmıştır. Tabloda yukarıdan aşağıya zeolit içermeyen, % 5, % 10 ve % 20 oranında zeolit içeren hidrojellerin tartımları gösterilmiştir. Zeolit içermeyen hidrojelin ilk ve son tartım arasındaki farka göre hesaplanan bağlanma yüzdesi % 94 iken, % 20 oranında zeolit içeren hidrojelin çapraz bağlanma yüzdesi % 90 olarak bulunmuştur. Görüldüğü üzere zeolit oranı arttıkça çapraz bağlanma yüzdesi düşmüştür. Zeolit oranının artması vizkoziteye neden olup radikalleşmeyi engellemiştir, bu da reaksiyona girmeyi geciktirerek jelleşmeyi bir miktar azalttığı gözlemlenmiştir.

Tablo 3.1. Farklı oranlarda zeolit içeren hidrojellerin oluşumundan sonra bağlanma yüzdeleri

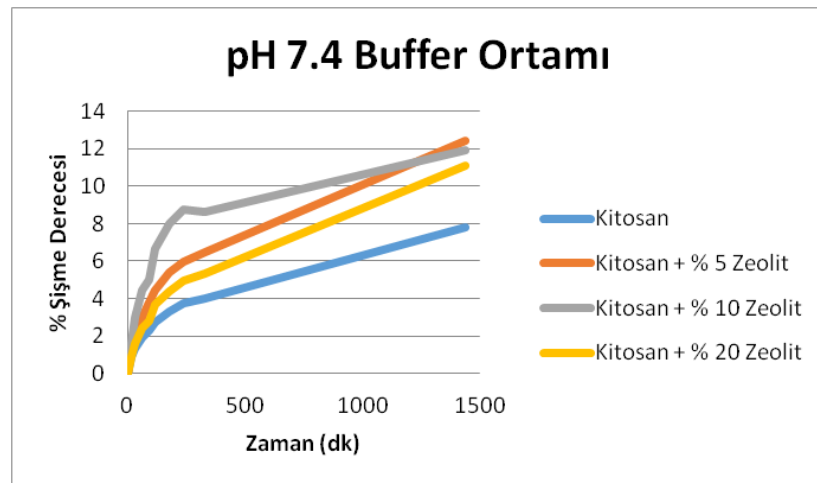
	% Jel Oranı		
	İlk Tartım (g)	Son Tartım (g)	Yüzde Şişme (%)
K	0,3544	0,3328	93,9
KZeo5	0,3987	0,3674	92,1
Kzeo10	0,4951	0,4518	91,3
Kzeo20	0,2765	0,2488	90,0

Hidrojellerin pH değişimlerine duyarlılığını belirlemek için, elde edilen jeller 1 –10 aralığında farklı pH solüsyonlarında değerlendirilmiştir. Hidrojeller hazırlandıktan sonra sırasıyla pH 1.2, pH 7.4 ve pH 9.0 tampon çözeltilerinde yüzde şişme dereceleri hesaplanmıştır. Şekil 3.6’da, farklı oranda zeolit içeren hidrojellerin pH 1.2 tampon çözeltisindeki şişme dereceleri incelenmiştir.



Şekil 3.6. pH 1.2 tampon çözeltisinde farklı oranda zeolit içeren hidrojellerin şişme dereceleri

Grafik incelendiğinde, zaman arttıkça şişme derecelerinin her üç hidrojelde de arttığı gözlemlenmiştir. % 5 oranında zeolit içeren hidrojin en yüksek şişme derecesine sahip olduğu görülmektedir. % 10 oranında zeolit içeren hidrojin ise, zeolit içermeyen hidrojele kıyasla daha yüksek bir şişme derecesine sahip olduğu görülmektedir. Buna rağmen en yüksek oranda (% 20) zeolit içeren hidrojin şişme derecesi beklenenden daha az olduğu gözlenmektedir.

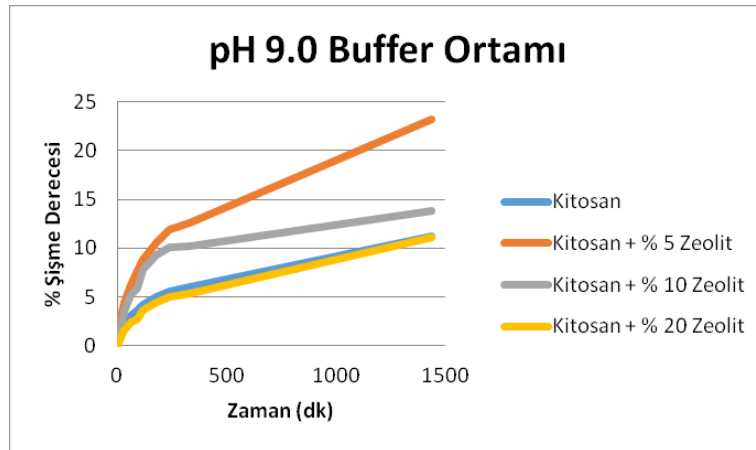


Şekil 3.7. pH 7.4 tampon çözeltisinde farklı oranda zeolit içeren hidrojellerin şişme dereceleri



Şekil 3.8. Liyofilizatörde kurutulmuş jel ve pH 7.4 ortamında bekletilerek şişen jellerin görüntüleri

Şekil 3.6’ da pH 7.4 tampon çözeltisinde bekletilen hidrojellerin zamana karşı şişme derecesini gösteren grafik gösterilmektedir. Şekil 3.7’ de ise, liyofilizatörde kurutulup ağırlıkları belirlenen jeller ve pH 7.4 tampon çözeltisinde bekletilip şişmesi sağlanan hidrojellerin görüntüleri mevcuttur. Grafik incelendiğinde, zaman arttıkça elde edilen şişme derecelerinin her üç hidrojelde de arttığı gözlemlenmiştir. Ancak en az oranda (% 5) zeolit içeren hidrojin en fazla şişme derecesine sahip olduğu görülmektedir.



Şekil 3.9. pH 9.0 tampon çözeltisinde farklı oranda zeolit içeren hidrojellerin şişme dereceleri

Şekil 3.8’ de pH 9.0 tampon çözeltisinde bekletilen hidrojellerin zamana karşı şişme derecesini gösteren grafik gösterilmektedir. Grafik incelendiğinde, zamana bağlı olarak

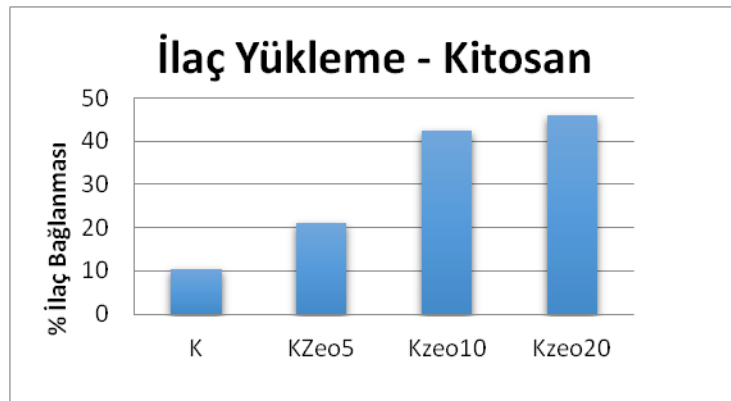
en az zeolit içeren (% 5) hidrojinin en çok şişme derecesine sahip olduğu gör÷lmektedir. Her üç pH tampon çözeltisinde de bu durum benzer şekilde gözlenmiştir. Ayrıca üç ayrı pH değerine sahip tampon çözeltilerinin şişme yüzdeleri kendi aralarında karşılaştırıldığında pH yükseldikçe şişme derecelerinin de arttığı gözlemlenmiştir.

3.3. İlaç Yüklenmesi

Retinoik asitin absorpsiyon spekturumundan elde edilen değerler ile ilaç konsantrasyonları hesaplanmıştır. İlk ilaç konsantrasyonundan, ilaç yüklenmesi sonrasındaki konsantrasyon çıkarılarak, hidrojel içerisinde ne kadar ilaç alındığı belirlenmiştir. Küçük boyutlarda ve ağırlıkları önceden belirlenmiş hidrojeller, 20 mg ilaç 200 ml (100 ml pH 7.4 tampon çözeltisi + 100 ml etanol) ortamında çözülür ve 20 ml'lik hacimlerde alınarak dengeye ulaşana kadar şişmesi için bekletilir.



Şekil 3.10. Tampon çözeltisinde şişmesi için bekletilen hidrojel görüntüsü.



Şekil 3.11. Zeolit içermeyen, % 5, % 10 ve % 20 oranında zeolit içeren hidrojellerin ilaç bağlanma yüzdeleri.

Hidrojellere ilaçların yüklenmesinin ardından hidrojellere eklenen zeolit miktarı attıkça retinoik asitin yüklenme yüzdesinin de arttığı gözlemlenmiştir. Bu oran, zeolit

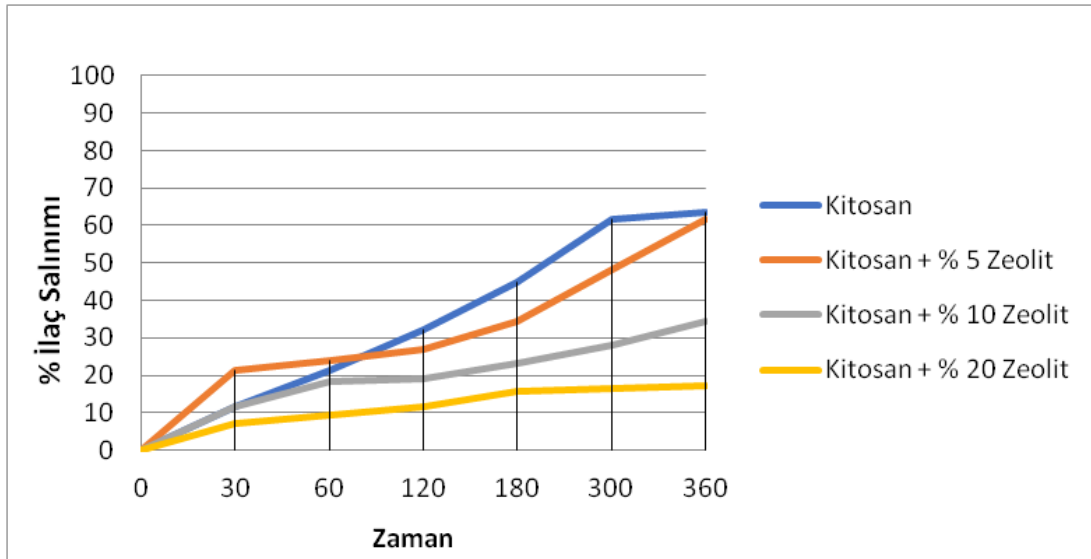
içermeyen hidrojellerde % 10 iken, % 5, % 10 ve % 20 oranında zeolit içeren hidrojellerde Retinoik asit'in yüklenme yüzdeleri sırasıyla % 20, % 40 ve % 45 oranlarında bulunmuştur.

3.4. İlaç Salınım Sonuçları



Şekil 3.12. İlaç yüklü hidrojellerin görüntüleri.

İlaç yüklemesi yapılan hidrojeller salınım deneyleri için; 37 °C' ye ayarlanmış çalkalayıcı su banyosunda, 20 ml tampon çözeltisi içerisine konulur. Belirli zaman aralıklarında çözeltilerden 1'er ml numune alınmasının ardından yeni tampon çözeltisi aynı oranda çözeltilere eklenir. Alınan numuneler 340 nm dalga boyunda UV spektrofotometre cihazında okutulur ve salınım sonucu elde edilen ilaç konsantrasyonlarının zamana karşı grafiği çizilir. Hidrojellerin içerisine yüklenmiş olan retinoik asitin salınım değerleri incelenir.



Şekil 15 Retinoik asitin üç ayrı hidrojelde zamana bağlı salınımı.

Retinoik asit'in zamana bağlı salınımı Şekil 3.11' de % salınım değerleri verilmiştir.

Grafik değerlendirildiğinde, zeolit içermeyen hidrojelde bu salınım zamanla çok hızlı olduğu gözlemlenirken, % 10 ve % 20 oranında zeolit içeren hidrojellerde Retinoik asit salınımının yavaş olduğu görölmektedir. Zeolit oranı arttıkça ilacın salınma yüzdesi azalmıştır. Zeolit yapısında bulunan –OH vb grupların ilaç molekül yapısı ile farklı etkileşimlere girdiği için ilacın daha geç salınmasına neden olmaktadır. Bu durum, uzatılmış salınımlı ilaç formölasyonlarında avantaj sağlamaktadır.

4. SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME

Bu tez kapsamında kanser gibi tedavisi zor pek çok hastalığın iyileştirilmesi amacıyla yan etkileri azaltılmış bir ilaç taşıyıcı sistem geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu hedef doğrultusunda zeolit içeren nanopartiküler taşıyıcı sistem geliştirilmiştir. Bu sistemin pH duyarlı olması sağlanarak kullanılan aktif madde olan retinoik asitin asidik olması özelliğinden faydalanılmak istenmiştir. Bu amaçla, kitosan esaslı hidrojelleri farklı oranlarda zeolit kullanarak hazırladık. Özellikle kitosan ve zeolit kullanılmasının sebebi, bu hidrojellere biyopolimer katarak biyoyuumluluklarını artırmak amaçlanmıştır. Böylece çevreci, insan vücuduna uygun ve minimum toksisiteye sahip hidrojellerin oluşturulması hedeflendi.

Farklı pH tamponlarında hazırlanan ve farklı oranlarda zeolit içeren hidrojellerin öncelikle çapraz bağlanma yüzde jel oranları belirlendi. Jel çözeltisine eklenen zeolit miktarının artması, az da olsa çapraz bağlanma yüzdesini azalttığı gözlemlendi. Zeolit oranının artması; vizkozitenin artmasına neden olup radikalleşmeyi engellemiştir, reaksiyona girmeyi geciktirerek jelleşmeyi bir miktar azaltmıştır. Daha sonrasında ise, hidrojellerin şişme dereceleri belirlenmiştir. Hidrojeller, içleri ilaç molekülleri tarafından işgal edilen şişmiş polimerik ağlardan oluşmaktadır, bu nedenle uygulama süresi boyunca salınım mekanizmasını anlamak için bazı çalışmalar yapılmıştır. Zamana bağlı olarak üç hidrojelinde şişme oranlarının arttığı gözlemlenmiştir. Sonuçlara bakılarak pH arttıkça şişme oranlarının arttığı belirtilmiştir. pH yükseldikçe ortamın bazikliği artar. Böylelikle kitosan esaslı bu hidrojellerde bulunan amin grupları ($-NH_2$) arasında zincilerin uzaklaşmasıyla daha fazla su alınımı nedeniyle şişme oranı artmıştır. Son olarak model ilaç olarak kullanılan retinoik asitin hidrojellere yüklenmesi ve salınımı incelenmiştir. Zeolit miktarının artması ile retinoik asitin yüklenme değerleri artmıştır ancak salınım dereceleri incelendiğinde ise, zeolit miktarının arttırılması ile retinoik asit salınımında yavaş bir grafik gösterdiği ve salınımında azalma olduğu belirlenmiştir. Zeolit yapısında bulunan $-OH$ vb grupların ilaç molekül yapısı ile farklı etkileşimlere girdiği için ilacın daha geç salınmasına neden olmaktadır. Bu durum, uzatılmış salınımlı ilaç formülasyonlarında avantaj sağlamaktadır.

Bu tezden elde edilen sonuçlar, sonraki çalışmalara ışık tutacaktır. Hidrojellere, günümüzde yaygın olan hastalıklı bölge odaklı tedavinin daha iyi sonuçlar vereceği hastalıklarda kullanılmak üzere, tıp ve eczacılık gibi farklı disiplinlerle de işbirliği içerisinde çalışılarak ilgili ilaçlar yüklenebilir. Bu hidrojeller kullanılarak öncelikle hayvan deneylerinde ve sonrasında hasta odaklı çalışmalar gerçekleştirilebilir. Geliştirilecek modeller yardımıyla da ilaç salım mekanizması önceden ortaya konabilir.

KAYNAKLAR

- [1] Abd Ellah, N.H., Abouelmagd, S.A. (2017) Surface functionalization of polymeric nanoparticles for tumor drug delivery: approaches and challenges. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 14, 201–214.
- [2] S. Pirtarighat, M. Ghannadnia, S. Baghshahi. (2018). Green synthesis of silver nanoparticles using the plant extract of *Salvia spinosa* grown in vitro and their antibacterial activity assessment, *J. Nanostruct. Chem.*(1–9).
- [3] Kewal K. Jain, (2020). *An Overview of Drug Delivery Systems.*, Third Edition Springer Protocols.
- [4] Tian, B., Hua, S., Tian, Y., & Liu, J. (2020). Chemical and physical chitosan hydrogels as prospective carriers for drug delivery: a review. *Journal of Materials Chemistry B*.
- [5] Wilczewska AZ, Niemirowicz K, Markiewicz KH, Car H. (2012). Nanoparticles as drug delivery systems. *Pharmacol Rep.* 64(5):1020-1037.
- [6] Hoffman AS. (2002). Hydrogels for biomedical applications. *Adv Drug Deliv Rev.*54(1):3-12.
- [7] Hamidi M, Azadi A, Rafiei P. (2008). Hydrogel nanoparticles in drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.*60(15):1638-1649.
- [8] Dreiss C.A. (2020). Hydrogel design strategies for drug delivery. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. Volume 48, Pages 1-17.
- [9] Sandeep C., Harikumar SL and Kanupriya. (2012). Hydrogels :A Smart Drug Delivery System. *Int. J. Res. Pharm. Chem.* 2231-2781, 603.
- [10] Trapasso, E & Cosco, Donato & Celia, Christian & Fresta, Massimo & Paolino, Donatella. (2009). Retinoids: New use by innovative drug-delivery systems. *Expert opinion on drug delivery*. 6. 465-83.
- [11] GME. (2008). Gelatin Manufacturers of Europe.. Available from: <http://www.gelatine.org/en/gelatine/overview/127.htm>.
- [12] V. Crescenzi, A. Francescangeli, and A. Taglienti. (2002). New gelatin-based hydrogels via enzymatic networking. *Biomacromolecules* 3, 1384–1391.
- [13] Derakhshankhah H, Jafari S, Sarvari S, et al. (2020). Biomedical Applications of Zeolitic Nanoparticles, with an Emphasis on Medical Interventions. *Int J Nanomedicine*. 15:363-386.

- [14] Ivkovic, S. and Brezak, D. (2008) Nanoparticles of the thermo-mechanically activated zeolite in the design and synthesis of new drugs generation. *TechConnect Briefs* 2, 375–378.
- [15] Amorim, R., Vilaça, N., Martinho, O., Reis, R. M., Sardo, M., Rocha, J., Neves, I. C. (2012). Zeolite Structures Loading with an Anticancer Compound As Drug Delivery Systems. *The Journal of Physical Chemistry C*, 116(48), 25642–25650.
- [16] Mishra B, Upadhyay M, Reddy Adena SK, Vasant BG and Muthu MS. (2017). Hydrogels: An Introduction to a Controlled Drug Delivery Device, Synthesis and Application in Drug Delivery and Tissue Engineering. *Austin J Biomed Eng.* 4(1): 1037.
- [17] Gonzalez, J. S., Mijangos, C., & Hernandez, R. (2019). Polysaccharide Coating of Gelatin Gels for Controlled BSA Release. *Polymers*, 11(4), 702.
- [18] Cohen J. IL-12 deaths: explanation and a puzzle. (1995); *Science*. 270:908–908.
- [19] Lee, K., Kim, K., Yoon, H., & Kim, H. (2018). Chemical Design of Functional Polymer Structures for Biosensors: From Nanoscale to Macroscale. *Polymers*, 10, 551.
- [20] Karavasili, C. et al. (2016) Dissolution enhancement of the poorly soluble drug nifedipine by co-spray drying with microporous zeolite beta. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 35, 91–97.
- [21] M, Bindu & Vadithya, Ashok & Chatterjee, Arkendu. (2012). As A Review on as Drug Delivery in the Pharmaceutical Field. *International Journal of Pharmaceutical and Sciences*. 1. 642-661.
- [22] Kocaaga, B, Kurkcuglu, O, Tatlier, M, Batirel, S, Guner, FS. (2019). Low- methoxyl pectin–zeolite hydrogels controlling drug release promote in vitro wound healing. *J. Appl. Polym. Sci.*, 136, 47640.
- [23] Amorim, R., Vilaça, N., Martinho, O., Reis, R. M., Sardo, M., Rocha, J., Neves, I. C. (2012). Zeolite Structures Loading with an Anticancer Compound As Drug Delivery Systems. *The Journal of Physical Chemistry C*, 116(48), 25642–25650.
- [24] Spatarelu CP, Radu Chiriac AL, Cursaru B, Iordache TV, Gavrilă AM, Cojocaru CT, Botez RE, Trica B, Sarbu A, Teodorescu M, Tofan V, Perrin FX, Zaharia A. (2020). Composite Nanogels Based on Zeolite-Poly(ethylene glycol) Diacrylate for Controlled Drug Delivery. *Nanomaterials (Basel)*.10(2):195.
- [25] Mishra B, Upadhyay M, Reddy Adena SK, Vasant BG and Muthu MS. (2017). Hydrogels: An Introduction to a Controlled Drug Delivery Device, Synthesis and

Application in Drug Delivery and Tissue Engineering. *Austin J Biomed Eng.* 4(1): 1037.

- [26] <https://www.asit.gen.tr/retinoik-asit.html>.
- [27] Kommareddy, Sushma & Shenoy, Dinesh & Amiji, Mansoor. (2007). Gelatin Nanoparticles and Their Biofunctionalization.
- [28] Kanjickal, Deenu & Lopina, Stephanie & Evancho-Chapman, Michelle & Schmidt, Steven & Donovan, Duane. (2005). Improving delivery of hydrophobic drugs from hydrogels through cyclodextrins. *Journal of biomedical materials research. Part A.* 74. 454-60. 10.1002/jbm.a.30374.
- [29] Lee, K., Kim, K., Yoon, H., & Kim, H. (2018). Chemical Design of Functional Polymer Structures for Biosensors: From Nanoscale to Macroscale. *Polymers*, 10, 551.
- [30] Nam, C., Zmudz, T. J., Gese, G. M., & Hckner, M. A. (2016). Increased Hydrogel Swelling Induced by Absorption of Small Molecules. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 8(22), 14263–14270.
- [31] Gonzalez, J. S., Mijangos, C., & Hernandez, R. (2019). Polysaccharide Coating of Gelatin Gels for Controlled BSA Release. *Polymers*, 11(4), 702.
- [32] Cohen J. IL-12 deaths: explanation and a puzzle. (1995);*Science.* 270:908–908.
- [33] Li, J., & Mooney, D. J. (2016). Designing hydrogels for controlled drug delivery. *Nature reviews. Materials*, 1(12), 16071.
- [34] Nikolaos A Peppas, Hydrogels and drug delivery. (1997). *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, Volume 2, Issue 5, Pages 531-537, ISSN 1359-0294.
- [35] Li, D., Huang, Y., Ratinac, K. R., Ringer, S. P., & Wang, H. (2008). Zeolite crystallization in crosslinked chitosan hydrogels: Crystal size control and chitosan removal. *Microporous and Mesoporous Materials*, 116(1-3), 416–423.
- [36] Bakravi, Asghar & Ahamadian, Yashar & Hashemi, Hamed & Namazi, Hassan. (2018). Synthesis of gelatin- based biodegradable hydrogel nanocomposite and their application as drug delivery agent. *Advances in Polymer Technology.* 37.
- [37] Gonzalez, J. S., Mijangos, C., & Hernandez, R. (2019). Polysaccharide Coating of Gelatin Gels for Controlled BSA Release. *Polymers*, 11(4), 702.
- [38]. Bashir, Shahid, Teo, Yin Yin, Ramesh, S., Ramesh, K., Rizwan, Muhammad, & Rizwan, Muhammad. (2019). Synthesis and Characterization of pH-Sensitive N-Succinyl Chitosan Hydrogel and Its Properties for Biomedical Applications. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 64(3), 4571-4574.

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad :BEDRİYE AYŞE TOPAL

Eğitim Durumu

Lise

Erenköy Kız Lisesi, (2004-2010)

Lisans

Marmara Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi/Kimya Bölümü (2010-2014)

