

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YARA ÖRTÜSÜ OLARAK HAZIRLANAN PEKTİN ESASLI İLAÇ DAĞITIM
SİSTEMLERİNE METAL ORGANİK KAFES YAPILARIN (MOF) KATKISI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gamze BAĞIMSIZ

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Kimya Mühendisliği Programı

HAZİRAN 2019

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YARA ÖRTÜSÜ OLARAK HAZIRLANAN PEKTİN ESASLI İLAÇ DAĞITIM
SİSTEMLERİNE METAL ORGANİK KAFES YAPILARIN (MOF) KATKISI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Gamze BAĞIMSIZ
(506171017)**

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Kimya Mühendisliği Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. F.Seniha GÜNER

HAZİRAN 2019

İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 506171017 numaralı Yüksek LisansÖğrencisi GamzeBAĞIMSIZ, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “YARA ÖRTÜSÜ OLARAK HAZIRLANAN PEKTİN ESASLI İLAÇ DAĞITIM SİSTEMLERİNE METAL ORGANİK KAFES YAPILARIN (MOF) KATKISI” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. F. Seniha GÜNER**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Ahmet SİRKECİOĞLU**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Dr. Öğr. Üye Ayça BAL ÖZTÜRK
İstinye Üniversitesi

Teslim Tarihi : 03 Mayıs 2019
Savunma Tarihi : 10 Haziran 2019





Aileme ve sözlüme,



ÖNSÖZ

Tez çalışmalarımı yürüten, araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek engin fikirleriyle gelişmeye katkıda bulunan ve her türlü konuda yanımda olup beni destekleyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. F. Seniha GÜNER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca tez çalışmalarım süresince yardımlarını gördüğüm, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Banu KOCAAĞA'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım, boyunca MOF teminimi sağlayan başta Prof. Dr. Ahmet SİRKECİOĞLU'na ve öğrencileri İbrahim Avni ALEV ve Mehran Aliari MİAVAGHİ'e teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarım, boyunca her daim yanımda olan yardımlarını esirgemeyen Caner TOPUZ'a teşekkür ederim. Beni bugünlere getiren her zaman gösterdikleri sevgi, destek, sabır ve emek için aileme sonsuz teşekkür ederim.

Haziran 2019

Gamze BAĞIMSIZ
(Biyomühendis)



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
KISALTMALAR.....	xi
SEMBOLLER.....	xiii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xv
ŞEKİL LİSTESİ.....	xvii
ÖZET.....	xix
SUMMARY.....	xxi
1. GİRİŞ.....	1
2. TEORİ.....	3
2.1 Yara İyileşmesi ve Yara Örtüsü	3
2.2 İlaç Taşıyıcı Sistemler	5
2.2.1 Pektin	7
2.2.1.1 Pektin kaynakları	8
2.2.1.2 Pektin esterifikasyon derecesi	9
2.2.1.3 Pektinin genel özellikleri	11
2.2.1.4 Pektinin kullanım alanları	12
2.2.2 Metal organik kafes (MOF) yapıları.....	14
2.2.2.1 MIL-101(Fe).....	15
2.3 Prokain.....	16
3. DENEYSEL ÇALIŞMA.....	19
3.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler	19
3.2 Sentezde Kullanılan Karışımların Hazırlanması	19
3.3 Film Hazırlama.....	19
3.3.1 İlaç yüklü MOF içeren pektin film.....	19
3.3.1.1 MOF'a ilaç yüklenmesi	20
3.3.1.2 Pektin-gliserin çözeltisinin hazırlanması	20
3.3.1.3 Karıştırma.....	20
3.3.1.4 Çapraz bağlama	20
3.3.2 Karşılaştırma örnekleri	20
3.3.2.1 Pektin film.....	21
3.3.2.2 MOF katkılı pektin film.....	21
3.3.2.3 İlaç yüklü pektin film.....	21
3.3.2.4 MOF katkılı ilaç yüklü film	21
3.4 Karakterizasyon Yöntemleri	23
3.4.1 Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi	23
3.4.2 X-ışını kırınımı (XRD)	23
3.4.3 Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC).....	23
3.4.4 Taramalı elektron mikroskobu (SEM).....	23

3.4.5 Temas açısı	23
3.4.6 Reolojik analiz	23
3.4.7 Su buharı iletim hızı	24
3.4.8 Filmlerin su tutma kapasitesi	24
3.5 Filmlerin <i>In Vitro</i> İlaç Salımı	25
3.6 Filmlerin <i>In Vitro</i> Yara Örtüsü Karakterizasyonu	25
3.6.1 Birim alan başına ortalama kütle ve kalınlık	25
3.6.2 Filmlerin sertliği ve esnekliği	26
3.6.3 Yara örtülerinin sıvı taşıma kapasiteleri.....	26
3.6.4 Yara örtüsünün su kaybı hızı	26
3.6.5 Yara örtüsünün sıvı ortamda dağılma özelliği.....	27
3.6.6 Yara sargısı ortamının pH'nın belirlenmesi.....	27
3.7 <i>In Vitro</i> Hücre Canlılığı Deneyi.....	27
3.8 <i>In Vitro</i> Hücre Kültürü Ve Yara İyileşme Deneyi.....	28
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	29
4.1 Sentez Etkileşimleri Analizi	29
4.2 Filmlerin Karakterizasyonu	33
4.2.1 FTIR analizi	33
4.2.2 XRD analizi	35
4.2.3 DSC analizi.....	35
4.2.4 SEM analizi	36
4.2.5 Temas açısı analizi	37
4.2.6 Reolojik analiz	38
4.2.7 Filmlerin su tutma analizi.....	39
4.3 Filmlerden <i>In Vitro</i> İlaç Yükleme ve Salımı	41
4.4 Filmlerin <i>In Vitro</i> Yara Örtüsü Karakterizasyonu	45
4.5 <i>In Vitro</i> Hücre Canlılığı Sonuçları	48
4.6 <i>In Vitro</i> Yara İyileşme Modeli Analizi	49
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	51
KAYNAKLAR.....	53
EKLER	59
ÖZGEÇMİŞ.....	65

KISALTMALAR

MOF	: Metal Organik Kafes Yapısı
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi
DSC	: Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
T_g	: Camı geçiş sıcaklığı
T_m	: Erime sıcaklığı
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
HGA	: Homogalakuronan
RG-I	: Ramnogalakuronan-I
RG-II	: Ramnogalakuronan-II
ED	: Esterleşme Derecesi
YM	: Yüksek Metoksi
DM	: Düşük Metoksi
MIL	: Lavoisier Enstitü Materyalleri
DMF	: Dimetilformamid
XRD	: X-ışını Kırınımı
NaKMS	: Sodyum Karboksimetilselüloz
GalA	: D-galakuronik Asit
İYB	: İkincil Yapı Birimi
ATRA	: All-trans Retinoik Asit
SBİH	: Su buharı iletim hızı
İDFH	: İnsan dermal fibroblast hücreleri
TYVA	: Tek yönlü varyans analizi



SEMBOLLER

T	: Zaman
G'	: Depolama modülü
G''	: Kayıp modülü
η^*	: Kompleks Viskozite





ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 : Pektin jelleri oluşturmak için incelenen polikasyonlar.	10
Çizelge 3.1 : Hidrojel hazırlarken kullanılan formülasyonlar.	22
Çizelge 4.1 : Hidrojel filmlerin T_g ve T_m değerleri.....	36
Çizelge 4.2 : Filmlerin, yara sargı malzemeleri olarak <i>in vitro</i> karakterizasyonu.	46





ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Pektin yapısındaki polisakkaritlerin gösterimi	8
Şekil 2.2 : Ca^{+2} 'nin neden olduğu pektinin jelleşmesini gösteren şematik. (a) Pektin molekülleri, (b) Ca^{+2} ilavesinin ardından yumurta kutusu jelleşme modeli iyonları.	10
Şekil 2.3 : Domates ürünüde pektin-protein etkileşiminin şematik modeli.....	12
Şekil 2.4 : MIL-101(Fe)'in sentez gösterimi.	15
Şekil 2.5 : MIL-101'in yapısı. (a) İYB; (b) MIL-101(Fe) kafes yapısı	16
Şekil 2.6 : Prokain hidroklorürün moleküler yapısı.	17
Şekil 2.7 : Prokainin iyonlaşması.....	18
Şekil 3.1 : pH 6.4'de prokain kalibrasyon doğrusu.....	25
Şekil 4.1 : Pektin-gliserin ve MOF etkileşimleri.	30
Şekil 4.2 : (a) MOF-gliserin etkileşimleri; (b) MOF- $CaCl_2$ etkileşimleri..	30
Şekil 4.3 : (a) İlaçlı film sentez etkileşimleri; (b) DMF içeren MOF ile ilaçlı film sentezi etkileşimleri.	31
Şekil 4.4 : Pektin-gliserin-DMF etkileşimleri.....	32
Şekil 4.5 : (a) MOF-ilaç karışımı; (b) MOF-ilaç-DMF karışımı etkileşimleri.	33
Şekil 4.6 : Filmlerin FTIR spektrumları.	34
Şekil 4.7 : Pektin, MOF, 30M-K ve 50M-K (pH 5.8), 30M30PC5.8'in XRD desenleri.	35
Şekil 4.8 : SEM görüntüleri: (a) Pektin film; (b) MOF; (c) 30M-K; (d) 50M-K; (e) 30M30PC5.8.	37
Şekil 4.9 : Filmlerin temas açısı ölçümleri (a) Pektin film, (b) 30M-K, (c) 50M-K..	37
Şekil 4.10 : DM pektin-MOF ıslak hidrojellerinin osilasyon analizi. ...	38
Şekil 4.11 : Su tutmuş MOF içeren pektin film.	39
Şekil 4.12 : (a) Farklı pH'da ilaç yüklenmiş MOF içeren pektin filmlerin su tutma kapasitesi; (b) Farklı pH'da hazırlanmış MOF içeren pektin filmlerin su tutma kapasitesi; (c) Farklı pH'da ilaç yüklenmiş pektin filmlerin su tutma kapasitesi ...	40
Şekil 4.13 : Farklı miktarlarda MOF içeren pektin filmlerin su tutma kapasitesi.....	41
Şekil 4.14 : İlaç yüklü MOF (30M30PC5.8) ve MOF katkılı ilaç yüklü karşılaştırma (30M30PC5.8-K) filmlerinin su tutma kapasitesi.	41
Şekil 4.15 : Filmlere ilaç yükleme.....	42
Şekil 4.16 : (a) Farklı pH'da ilaç yüklenmiş pektin filmlerin ilaç salım miktarı; (b) Farklı pH'da ilaç yüklenmiş MOF içeren pektin filmlerin ilaç salım miktarı. ...	43
Şekil 4.17 : (a) Sentez sonrası MOF'un XRD deseni; (b) 24 saat pH 5.8 ortamında karıştırılmış MOF'un XRD deseni	43
Şekil 4.18 : Farklı MOF ve ilaç miktarlarında sentezlenen filmlerin ilaç salım miktarı....	44
Şekil 4.19 : MOF katkılı ilaç yüklü (30M30PC5.8-K) ve ilaç yüklü MOF içeren (30M30PC5.8) filmlerin ilaç salımı. ...	45

Şekil 4.20 : DMF içeren MOF ile sentezlenmiş filmler ile DMF içermeyen MOF'lu filmlerin ilaç salımı.	45
Şekil 4.21 : (a) 30M-K kuru film; (b) 30M-K ıslak film dispersiyon karakteri	47
Şekil 4.22 : Su buharı geçirgenliği testi....	48
Şekil 4.23 : WST-1 testi ...	48
Şekil 4.24 : 30M-K ve 50M-K yara iyileşme deneyi ...	49
Şekil A.1 : İlaç yüklü MOF içeren ve karşılaştırma örneği ilaç/MOF katkılı filmlerin FTIR spektrumları.	60
Şekil B.1 : Pektin DSC eğrisi.	61
Şekil B.2 : MOF DSC eğrisi ...	61
Şekil B.3 : 30M-K DSC eğrisi.....	62
Şekil B.4 : 50M-K DSC eğrisi...	62
Şekil B.5 : 30M30PC5.8 DSC eğrisi.....	63



YARA ÖRTÜSÜ OLARAK HAZIRLANAN PEKTİN ESASLI İLAÇ DAĞITIM SİSTEMLERİNE METAL ORGANİK KAFES YAPILARIN (MOF) KATKISI

ÖZET

Meyve suyu yan sanayinin atık ürünü olan pektin, insan vücudundaki hücreler arası matrisin ana bileşenlerine yapısal benzerliği bulunan anyonik ve doğal bir polisakkarittir. Toksik değildir, biyoyumludur ve düşük üretim maliyetine sahiptir. Ayrıca antioksidan, antitümör ve anti-enflamatuar özelliklerine sahiptir.

Koordinasyon polimerleri olarak bilinen metal organik kafes yapılar (MOF), yüksek ilaç yükleme kapasiteli ve biyoyumlu hibrit malzemelerdir. MOF içeren pektin filmlerin ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılmaları son yıllarda ilgi çeken bir araştırma konusudur.

Bu çalışmada, ilaç yüklü MOF içeren pektin filmler hazırlanmıştır. Metal organik kafes yapısı olarak MIL-101(Fe), ilaç taşıyıcı sistem olarak ve pektinin daha iyi mekanik özellik kazanmasını sağlamak için kullanılmıştır. Filmler farklı pH, farklı ilaç ve MIL-101(Fe) miktarlarında sentezlenmiştir. Filmler tek yöntemle sentezlendi. Diğer karşılaştırma örneği olarak hazırlandı. Sistemimizde ilaç olarak lokal antezik bir ilaç olan prokain kullanılmıştır.

Sisteme ilaç yükleme ve ilaç salım çalışmalarında UV-Vis spektrofotometre kullanılmıştır. Sisteme MOF ve ilacın başarılı bir şekilde eklendiğini incelemek için Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi kullanılmıştır. Polimerlerin ısı karakterizasyonu, diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) kullanılarak azot atmosferinde incelenmiş ve camsı geçiş sıcaklığı (T_g) ve erime sıcaklığı (T_m) belirlenmiştir. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak kurutulmuş filmlerin morfolojisi incelenmiştir. Polimerlerin viskoelastik özelliklerinin belirlenmesi için reolojik analiz yapılmıştır. Filmlerin hidrofilik-hidrofobik karakterleri temas açısı ölçer ile belirlenmiştir. Esneklik, birim alan başına ortalama kütle ($g\ m^{-2}$), filmin kalınlığı (mm), sıvı taşıma kapasitesi, dehidrasyon hızı, dispersiyon özelliği ve çözelti pH'ına etkisi gibi çeşitli yara örtüsü özellikleri incelenmiştir.

Çalışma sonunda elde edilen verilere göre, ilaç yüklü MOF partikülleri pektin içerisine başarıyla dağıtıldığı sonucuna varılmıştır. Hidrojel filmlerin ani ilaç salımı yapmadığı ve kontrollü ilaç salımına uygun davrandığı belirlenmiştir. Sentezlenen filmler arasında pH 5.8'de 30mg ilaç yüklenmiş 30 mg MOF partikülü içeren filmlerin, en iyi ilaç salımı davranışı gösterdiği belirlenmiş, yara örtüsü olarak kullanım için gerekli olan mekanik özelliklere sahip olması nedeniyle ve hücre canlılığı üzerindeki olumlu etkileri göz önüne alındığında yara örtüsü olarak kullanılabileceğine karar verilmiştir.



CONTRIBUTION OF METAL ORGANIC FRAMEWORKS (MOFs) ON PECTIN-BASED DRUG DELIVERY SYSTEMS PREPARED AS WOUND DRESSING

SUMMARY

The wound dressing material supplies pain relief, exudate absorption, infection and protection against contamination of contaminants, non-toxic, gas permeability, moisture, optimum pH and temperature environment.

The natural polymers used as a drug carrier have many advantages, including good biocompatibility, non-toxicity and adjustable controlled drug release properties. Pectin is an important polysaccharide commonly worked on as a drug delivery matrix.

Pectin consists of three polysaccharide regions, Homogalacturonan (HGA), Ramnogalacturonan-I (RG-I) and Ramnogalacturonan-II (RG-II). HGA is a linear homopolymer of α -(1 $\rightarrow$ 4) bound D-galacturonic acid. Pectin is an eco-friendly raw material, mainly derived from by-products of the juice and cider industry.

According to the degree of esterification (DE), which is the percentage of the esterified carboxyl groups, the pectins are divided into two classes. High methoxyl (HM) pectins (with DE > 50%) necessitate relatively high soluble solids concentration and low pH for gel formation. Low methoxy (LM) pectins (with DE < 50%) form hard gels under the influence of calcium or polyvalent cations that crosslinking galacturonic acid chains. The interaction of carboxyl group of LM pectin structure with Ca^{2+} induces the formation of the “egg box” structure.

Non-toxicity and low production costs, due to the simple gelling mechanism, the ability to rapidly form viscous solutions and stable gels in contact with aqueous solutions have led to the demand for pectin in biomedical applications such as drug delivery, gene transport, tissue engineering, wound healing and wound dressing. For application of pectin hydrogels to drug delivery, it is preferred to use a low molecular weight pectin with a low degree of esterification in the structure of the desired pectin.

Metal-organic frameworks (MOFs), a fastly growing interdisciplinary area in the last 20 years, have arisen as a wide variety of crystal materials associated with very high porosity and enormous internal surface areas, combined with metal cation and organic binder. These properties enabled MOFs to be commonly used in gas storage, catalysis, drug transport and adsorption.

The MIL family is important due to its attractive qualities such as large pores (25-34 Å), outstanding surface area (3100-5900 m²/g) and the ability to associate functional groups into the frame. MIL (Lavoisier Institute Materials) is the first MOF group whose family has been underresearched as a potential drug delivery system.

A less toxic analogue, biocompatible and much more favorable drug carrier MIL-101 (Fe) was synthesized by Taylor-Pashowet. The zeotype crystal structure of MIL-101(Fe) is consisted of trimer iron (III) octahedral clusters linked together by 1,4-benzenedicarboxylate anions.

The use of MOF-containing pectin films as a drug delivery system is a research topic. It is advantageous that the pectin films containing MOF can be used as dressings due to their biocompatibility and high mechanical properties.

In this study, pectin film with MOF were synthesized. The drug was loaded into the MOF particles and the pectin film containing the drug loaded MOF particles was prepared. MIL-101(Fe) is used as a controlled drug delivery system and to provide better mechanical properties of pectin film.

There are many factors known to be effective in wound healing and intracellular and extracellular pH is particularly significant. Schneider and colleagues showed that pH is an important additive factor in the healing process and different pH ranges are necessary for the healing stages. Studies have also informed that changes in pH may influence wound closure, graft uptake, microbial infection rates, bacterial virulence, and biofilm formation.

The regeneration of the natural acidic environment in the skin can help to efficiently decrease the microbial load on the body surface, even if they are very resistant to antibiotics. As the innate plea of the body, the wound pH value shifts to acidic medium. Chronic wound pH values range from 5.45 to 8.65 with an average pH of 7.42. Low pH and higher wound temperature are suitable for recovery.

pK values vary according to the DE of pectin; the pK value of pectin with a degree of % 65 esterification was 3.55, whereas the pK value of pectin with 0% esterification degree was 4.10. The pH 3.5, where approximately 50% chargeable groups are ionized, which are equal to the pectin pKa value (3.38-4.10), may be connected to the lower ionized carboxyl group. In fact, a higher charge density is informed when the pH of a solution is above the apparent pKa of the pectin. Furthermore, the binding of Ca^{2+} ions increases with pH, with a maximum level of pH 5-7.5. Because of this, the films were synthesized in different pH (5.8, 8.2, 9.1 and 9.8).

Procaine (2-(diethylamino) ethyl- 4-aminobenzoate) was used as a drug in this study. Procaine is an anesthetic agent specified for induction of local or regional anesthesia, especially for oral surgery. It was first suggested in 1909 that local anesthetic drugs had antibacterial properties and procaine was reported to inhibit 65.8% of the 1279 clinical bacteria isolates at concentrations up to 2.0%. pKa value of procaine is 8.05.

In order to understand the MOF drug carrying capacity, the films containing different amounts of drugs (30mg and 60mg) and MOF (30mg and 50mg) were synthesized. The synthesis was performed using matrix diffusion (comparison examples) and membrane diffusion methods.

Membrane diffusion systems; the drug is placed in a tank surrounded by a swelling or non-swelling polymeric layer. Membrane systems can be prepared in a variety of ways such as sheet, film, capsule, microcapsule. In matrix diffusion systems, the drug is dissolved or dispersed in the solid polymer. Fabrication of matrix systems is easier and cheaper than membrane systems.

Drug delivery and drug release analysis to the system were determined using UV-Vis spectrophotometer. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy was used to examine the successful addition of MOF and drug to the pectin film.

Crystal structures of MOF particles and synthesized films were investigated by X-ray diffraction (XRD) method. The thermal characterization of the polymers was investigated using differential scanning calorimetry (DSC).

Morphological examination of dried films using scanning electron microscopy (SEM) was performed. The rheological analysis was performed to determine the viscoelastic properties of the films. The contact angle analysis was performed to determine the hydrophilic-hydrophobic character of the films.

Modern dressings have many desirable features, including biodegradability, bioabsorbability and ease of administration, flexibility, comfort and bacterial resistance. The standard properties required for various dressings such as elasticity, average mass per unit area (g m^{-2}) and thickness (mm) of hydrogel films, fluid handling capacities, dehydration rate, dispersion properties and pH shift capacity of wound dressings were tested. Hydrogel films are hydrophilic structures that allow water to penetrate and swell with water. Therefore, swelling rates of films were examined.

As a result of FTIR analysis, specific peaks of pectin, MOF and the procaine were observed in FTIR spectrum. In the SEM images the smooth structure of the pectin and the MOF particles scattered over the pectin surface were observed.

XRD patterns of MOF were found to be in accordance with the literature. The XRD patterns of the crystal structure of MOF were seen in the XRD pattern of pectin-MOF film. According to the SEM, XRD and FTIR results, drug-loaded MOF was successfully distributed to pectin film. As expected, hydrogels were swollen up to 100 times their weight and controlled drug release.

With the contact angle value of films increased after adding MOF, the hydrophilic pectin film has gained hydrophobic properties. As a result of the rheological analysis, all samples showed a typical gel-like behavior.

Burst drug release was observed in a high amount of drug loading. Controlled drug release was observed in relatively low drug release. Among the synthesized films, films containing 30 mg of MOF particle (30M30PC5.8), 30 mg drug loaded at pH 5.8, showed the best drug release.

As a result of *in vitro* dressing tests, 30 mg MOF containing films had the essential mechanical properties. It was appropriate for the wound dressing material.

As a result of *in vitro* tests for cytotoxicity and wound healing properties of selected hydrogels, no negative effect on wound healing and cell viability was observed. It was observed that it had a positive effect on the cells and increased the number of cells.

When all properties of MOF-containing pectin films are evaluated together, it can be said that 30M30PC5.8 coded sample with good drug release and swelling rates has the potential to be used as a wound dressing.

It is known that the preparation of MOF-pectin hydrogels and the controlled drug release performance is examined for the first time.



1. GİRİŞ

Hidrojeller, büyük miktarda su tutabilen üç boyutlu çapraz bağlı hidrofilik polimer ağlarıdır. Yumuşak kontakt lensler, yara sargısı, süper emici maddeler, ilaç salım sistemleri gibi çeşitli biyomedikal uygulamalar için hidrojeller uzun zamandır kullanılmaktadır. Polisakkaritler, genel olarak toksik olmama, biyouyumluluk, biyobozunurluk, düşük maliyet ve memeli dokularının hücre dışı matrisindeki biyoaktif glikozaminoglikan moleküllerine kimyasal benzerlik gibi birçok avantajları olan glikosidik bağlarla bir araya getirilen monosakkaritlerden oluşan biyopolimerlerdir. Polimer üretimi için nişasta, kitin, hyaluronik asit, selüloz, pektin ve agaroz gibi çeşitli doğal polisakkaritler kullanılır.

Pektin, karasal bitki hücre duvarında bulunan ve çoğunlukla α -(1→4) zincirlerinde esterleşmiş d-galakturonik asit kalıntılarından oluşan bir heterosakkarittir. Kalsiyum ile jelleşmesi sonucu, jel yapısının içindeki biyoaktif bileşenlerin veya hücrelerin immobilizasyonunu sağlayan yumurta kutusu benzeri yapılar oluşur. Pektin bazlı biyomalzemeler zayıf mekanik özellikleri nedeniyle, çoğunlukla diğer polimerlerle harmanlanır. Yiyecek içecek endüstrisinde uzun yıllardan beri kalınlaştırıcı, jelleştirici ve kolloidal stabilizatör olarak başarıyla kullanılmakta olan pektin ayrıca, çeşitli ilaçların, proteinlerin ve hücrelerin yakalanması veya salınması için bir matris olarak kullanılmasını sağlayan çeşitli benzersiz özelliklere sahiptir. Fakat polisakkaritlerin suda kolay çözünürlüğü nedeniyle, kararlı hidrojel oluşturamazlar. Kararlı bir polimer ağı oluşturmak için polisakkaritleri kimyasal olarak modifiye etmek gerekmektedir [1-3].

Demir metali çevreye zarar vermeyen, bol miktarda bulunan, ucuz ve toksik olmayan bir bileşendir. MIL-101(Fe), demir(III) ve 1,4-benzendikarboksilik asidin oktahedral zincirlerinden oluşturulan demir bazlı bir metal organik kafes (MOF) yapısıdır. MIL-101(Fe) mükemmel gözeneklilik, yüksek yüzey alanı ve çok miktarda demir içermektedir [4].

Bu tez çalışmasında, ilaç yüklü MOF içeren pektin filmler sentezlenmiştir. Filmler, 5.8, 8.2, 9.1, 9.8 olmak üzere dört farklı pH, 30 mg ve 50 mg MOF, 30 mg ve 60 mg ilaç ile hazırlanmıştır.

Filmlerin yapısal analizi için Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi kullanılmıştır. Polimerlerin ısı karakterizasyonu, diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) kullanılarak azot atmosferinde incelenmiş, erime sıcaklığı (T_m) ve camsı geçiş sıcaklığı (T_g) belirlenmiştir. Polimerlerin viskoelastik özelliklerinin belirlenmesi için reolojik analiz yapılmıştır. MOF içeren filmlerin kristaliniteleri, hem X-ışını kırınımı (XRD) çalışmaları ile hem de diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) verileriyle incelenmiştir. Filmlerin 6.4 tampon çözeltide şişme oranları ve ilaç salım özellikleri incelenmiştir.

Çalışmada *in vitro* yara örtüsü testleri yapılarak filmlerin yara örtüsü olarak uygunluğu incelenmiştir. Seçilen hidrojellerin sitotoksikite ve yara iyileşme özellikleri için yapılan *in vitro* testler sonucunda, yara iyileşmesi ve hücre canlılığı üzerinde olumsuz bir etki yaratmadığı, hücre sayısını arttırdığı görülmüştür.

2. TEORİ

2.1 Yara İyileşmesi ve Yara Örtüsü

Kronik yaralar, genellikle tekrar eden ve 12 hafta içinde iyileşmeyen doku yaralanmaları olarak tanımlanmaktadır. Büyüme faktörleri ve yüksek eksüda seviyesini düşüren, kronik yara iyileşmesini geciktiren birçok faktör vardır. Normal olarak, eksüda nemi koruyarak ve yara dokusuna besin sağlayarak yaranın iyileşmesinin tüm aşamalarında önemli bir rol oynamaktadır. Bununla birlikte, kronik dokudaki eksüda, yara dokusunda daha fazla korozyona neden olabilen göreceli olarak daha yüksek seviyede proteinaz bulunduğu için akut yaradan farklıdır. Bu nedenle, doku rejenerasyonu uyarılmasında ve yara eksüda yönetiminde kronik yara için terapötik yaklaşım vurgulanmalıdır [5].

Kronik yaralarda doku bozulması ve doku birleştirme arasındaki fizyolojik denge kaybolmuştur ve katabolik süreçler baskındır. Bu, kronik yara ortamında bulunan proteolitik enzimlerin fazla miktarda olmasını açıklar. Yara iltihaplı faz olarak kaldığı sürece, katabolik enzimler dokuda aktif kalır. İyileşme sonuna gelindiğinde ve iltihap azaldığında, fizyolojik denge yavaşça geri döner ve proteaz aktivitesi azalır [6].

Yara iyileşmesi “normal” biyolojik olaylar dizisi boyunca devam ederse, etkili iyileşme meydana gelir ve homeostaz geri yüklenir. Normal biyolojik olaylar serisi, hemostaz, iltihaplanma, proliferasyon ve olgunlaşma olmak üzere dört aşamayı kapsayan çok yönlü rejeneratif bir süreçtir [7]. Hemostaz sırasında kan damarları büzülme ve pıhtı oluşmaktadır. Vazodilatasyon, antikorların, lökositlerin, büyüme faktörlerinin ve enzimlerin, bakteri ve döküntüleri içine almak için yaralanma bölgesine göç ettiği iltihaplanma aşamasında meydana gelir. Yara, proliferasyon fazı sırasında esas olarak kolajen ve ekstraselüler matriks içeren yeni granülasyon dokusu ile yeniden oluşturulur. Olgunlaşma, kollajen III-I’in yeniden düzenlenmesinin, hücresel bağ dokularının oluşumu ile birlikte ortaya çıktığı son aşamadır [8].

Pek çok faktörün yaranın iyileşmesi üzerinde etkili olduğu bilinmektedir ve özel önem taşıyan alanlardan biri hücre içi ve hücre dışı pH'dır. Enzim aktivitesi, makromoleküler sentez, metabolitlerin taşınması ve hücre döngüsü ilerlemesini içeren hücresel işlemler, hem hücre içi hem de hücre dışı pH'a bağlıdır. Normal koşullar altında normal cildin pH değeri, cilt yüzeyinde asidik bir ortam bulunduğu, 1892 yılında Hesus ve arkadaşları tarafından belirlenmiş ve daha sonra 1928 yılında Schade ve Marchionini tarafından tekrar onaylanmıştır. Kişinin anatomik konumuna ve yaşına bağlı olarak pH 4 ile 6 arasında değişmekte olan bu asidik ortam, her zaman cildin bariyer fonksiyonunun önemli bir yönü olarak görülmüştür. Bu pH ortamı, dış kimyasallara karşı direnç için de önemlidir.

Schneider ve arkadaşları, pH'ın iyileşme sürecinde önemli bir katkı faktörü olduğunu ve özellikle iyileşmenin çeşitli aşamaları için farklı pH aralıklarının gerekli olduğunu göstermişlerdir. Pek çok iyileşme süreci, anjiyogenez, kollajen oluşumu ve makrofaj aktivitesi dahil olmak üzere pH'daki değişikliklerden etkilenmektedir. Çalışmalar ayrıca pH'daki değişikliklerin yaranın kapanmasını, greft alımını, mikrobiyal enfeksiyon oranlarını, bakteriyel virülansı ve biyofilm oluşumunu etkileyebileceğini bildirmiştir.

Derideki doğal asidik ortamın yenilenmesi, antibiyotiklere çok dirençli olsalar bile, vücut yüzeyindeki mikrobiyal yükü azaltmada yardımcı olabilir. Vücudun doğuştan gelen savunması olarak, yara pH değeri asidik ortama doğru kaymaktadır.

Kronik yara pH değeri ortalama 7.42 iken 5.45 ile 8.65 arasında değişmektedir. Düşük pH ve daha yüksek yara sıcaklığı iyileşmeye elverişlidir. Genel olarak, başlangıçta incelenen yaraların çoğunluğunun pH'ının 8,5'ten büyük olduğunu, ancak yaraların iyileşme belirtileri gösterdiğinde pH'ın 8'den daha düşük olduğu görülmüştür. Kronik yaralarda modern yara örtüleri kullanıldığında, yara ortamındaki pH değerleri çeşitli şekillerde değiştirilebilmektedir [6,7].

1980'lerin ortalarında, nem ve sıvıları emen önemli özellikler sunan ilk modern yara örtüsü piyasaya sürülmüştür. 1990'lı yılların ortalarında, sentetik yara örtüleri hidrojeller, hidrokolloidler, aljinatlar, sentetik köpük örtü, silikon örgüler, doku yapıştırıcılar, buhar geçirgen yapışkan filmler ve gümüş/kollajen içeren örtü olarak çeşitli ürün grubuna yayılmıştır [9]. Yara örtüsü ağrıyı hafifletme, eksüdayı emme, enfeksiyona ve kontaminantların bağlanmasına karşı koruma, toksik olmama, gaz

geçirebilme, nemli, uygun pH ve sıcaklıkta bir ortam sağlamalıdır. Ayrıca, modern yara örtüleri biyolojik olarak parçalanabilirlik, biyolojik olarak emilebilirlik, uygulama kolaylığı, esneklik, rahatlık ve bakteri geçirmezlik olmak üzere çok sayıda istenen özellik içermektedir.

Hidrokolloid yara örtüleri, en yaygın şekilde kullanılan modern yara örtüleri arasındadır ve sodyum karboksimetilselüloz (NaKMS), jelatin, pektin ve aljinat gibi jel oluşturuıcı maddeler içeren örtülerdir. Yara eksüdası ile temas ettiklerinde bu polimerler eksüdayı emer ve şişer. Hidrokolloid yara örtüleri, bakteriye karşı iyi bir performans dahil olmak üzere yara örtüsü uygulamaları için birçok temel özelliğe sahiptir. Tıkayıcı olduklarından hidrokolloid yara örtüleri su, oksijen veya bakterilerin yaraya girmesine izin vermez. Bu, anjiyogenez ve granülasyonun kolaylaştırılmasına yardımcı olabilir. Hidrokolloidler ayrıca yara yüzeyinin pH'nın düşmesine neden olur; asidik ortam bakteri üremesini engelleyebilir. Ayrıca, hidrokolloid yara örtülerinin önemli bir yararı hastanın vücuduna uyumludur ve topuklar gibi yüksek sürtünme alanlarına iyi yapışır.

Hidrojeller, biyolojik sıvı içinde şişen çapraz bağlı polimerik ağlardır. İlaç dağıtımı ve doku/organ onarımlarında yaygın olarak kullanılırlar. Hidrojel yara örtüleri su veya gliserin bazlı ürünlerdir. Hidrojel yara sargısı üretiminde karboksimetilselüloz (KMS), agar, gliserol ve pektin kullanılabilir. Bir hidrojel kütlesinin %30-90'ını veya daha fazla miktarda suyu emebilir. Hidrojeller, temiz, sağlıklı, granüle edici bir yara üzerinde nemli yara çevresini korur [10].

2.2 İlaç Taşıyıcı Sistemler

Günümüzde ilaç kullanımında ortaya çıkan problemleri en aza indirmek için spesifik ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir. Bu sistemler, kimyasal reaksiyonda biyoaktif ajanların belli hızda belli bir yapıya özgü olacak şekilde serbestlenmesi sonucu ortaya çıkmıştır [11].

İdeal bir ilaç dağıtımı veya biyomedikal vektörün özellikleri aşağıdaki gibidir:

- (1) İlacın büyüklüğü ve şekli üzerinde yapısal kontrol,
- (2) Biyoyumlu, toksik olmayan, biyobozunur bir polimer,
- (3) Yüksek ilaç veya görüntüleme maddesi kapasitesine sahip hassas, nano ölçekli yapı özellikleri,

- (4) Hücreye özgü hedefleme grupları için iyi tanımlanmış iskele veya yüzey değiştirilebilirlik,
- (5) Sitoplazma da veya çekirdekte terapötik dağıtım veya görüntülemeye izin vermek için uygun hücresel yapışma, endositoz ve hücre içi geçiş işlemleri,
- (6) Kontrollü veya tetiklenebilir ilaç salımı,
- (7) Moleküler seviye izolasyonu ve ilacın hedef hücrelere geçişte etkisizleşmeye karşı korunması,
- (8) Tutarlı, tekrarlanabilir, klinik dereceli sentez kolaylığı [12].

İlaç taşıyıcı sistemlerden bazıları lipozomlar, mikropartiküller, nano-birleşimler, nanopartiküller, etkin madde-polimer konjugatları ve polimerik misellerdir. Son yıllarda, polimerik miseller artan bilimsel ilginin hedefi olmuştur. Polimerik miseller suda çözünmeyen ilaçları iç çekirdeğinde çözebildikleri için potansiyel bir taşıyıcı olarak ortaya çıkmışlardır. Genellikle küçük bir boyuta (<100 nm) sahip olma ve mononükleer fagosit sistemi tarafından atılma eğiliminden kaçınma gibi çekici özellikler sunarlar. Polimerik miseller bir çekirdek kabuğu yapısı ile karakterize edilir. Genellikle biyobozunur bir polimerden oluşan hidrofobik çekirdek, çözünmeyen bir ilacın rezervuar olarak işlev görerek sulu ortamla temas etmesini önlemektedir [13]. Miseller ve veziküller, en çok çalışılan nanoboyutlu ilaç taşıyıcı sınıfıdır.

Biyobozunur nanopartiküller, suda çözünebilir/çözünmeyen tıbbi ilaçların ve biyoaktif moleküllerin terapötik değerini, biyoyararlanımını, çözünürlüğünü ve alıkonma süresini iyileştirmek için sıklıkla kullanılmaktadır. Bu nanoparçacık-ilac formülasyonu alıkonma süresini arttırarak hasta masraflarını ve toksisite risklerini azaltmaktadır. Nanopartiküller; nanoküreler ve nanokapsüller olarak iki formda bulunur. Nanokapsüller tıbbi ilaçların ilaç etkinliğini, özgüllüğünü, tolere edilebilirliğini ve karşılık gelen ilaçların terapötik indeksini arttırır. Bu nanokapsüller, erken bozunma ve biyolojik çevre ile etkileşimin korunmasında, seçilen bir dokuya emilimin arttırılmasında, biyoyararlanımda, alıkonma süresinde ve hücre içi penetrasyonun geliştirilmesinde birçok avantaja sahiptir. Nanokapsülün formülasyonu, maksimum kapsülleme, biyoyararlanımın iyileştirilmesi ve alıkonma süresinin arttırılmasıyla uygun polimerik sistemin seçimine bağlıdır. Polimerik nanoparçacıklarla kapsülleme işlemi, diğer nanoparçacık sistemlerine kıyasla daha

ileri durumdadır. Nanokapsüllerin hedefleme yetenekleri partikül büyüklüğü, yüzey yükü, yüzey modifikasyonu ve hidrofobik özellikten etkilenir [14].

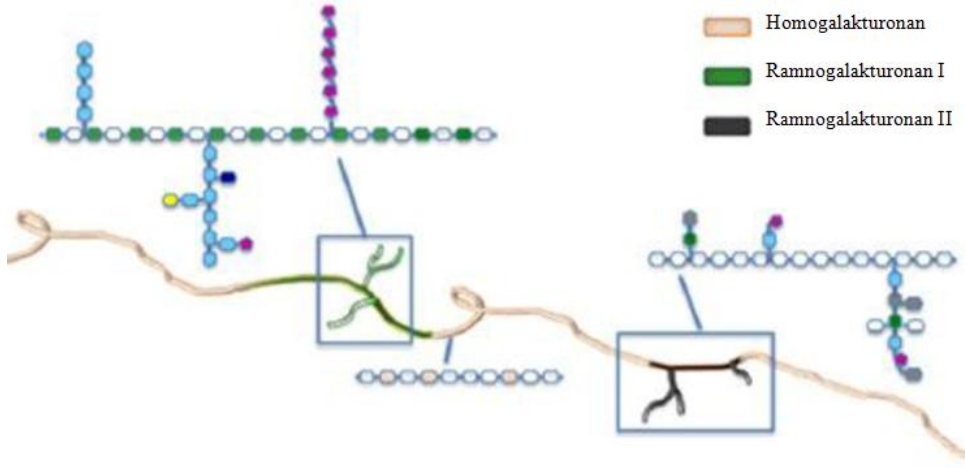
Lipozomlar, amfipatik fosfolipidlerden yapılan eş merkezli iki katmanlı yapılardır ve çift tabakanın sayısına bağlı olarak, çoklameller, küçük teklameller veya büyük teklameller olarak sınıflandırılır. Boyutları 0,025-10 μ arasında değişmektedir. Lipozomların büyüklüğü ve morfolojisi, hazırlama ve kompozisyon yöntemiyle düzenlenir. Lipozomlar, çeşitli rahatsızlıklar için ilaçların, aşılarda ve genlerin verilmesinde kullanılır. Suyu eklenen suda çözünür ilaçlar, hidrofobik uçların oluşturduğu küme içerisinde tutulur; yağda çözünen ilaçlar olduğu gibi fosfolipid tabakasına dahil edilmiştir. Bazı durumlarda lipozomlar hücre zarlarına bağlanır ve bu zarlarla kaynaşır, ilaçları hücreye salgılar. Fagositik hücrelerde lipozomlar alınır, fosfolipid duvarlar lizozom adı verilen organeller tarafından etkilenir ve ilaç salınır [15].

Pektin, ilaç dağıtım matrisi olarak geniş çapta araştırılan önemli bir polisakkarittir [16].

2.2.1 Pektin

Pektin, yüksek bitkilerin hücre duvarlarında bulunan ve selülozik ağ için nemlendirici bir madde olarak işlev gören kompleks bir polisakkarit sınıfıdır [17]. Bitkilerden izolasyonu, bitki materyallerinin depolanması ve işlenmesi sırasında pektin yapısı değişebileceğinden dolayı pektin yapısını belirlemek çok zordur.

Pektinin esas olarak D-galakturonik asit (GalA) birimleri, α -(1 $\rightarrow$ 4) glikosidik bağlantı zincirleriyle birleştirilmesiyle oluşmuştur. Bu üronik asitlerin, bazıları doğal olarak metil esterler olarak mevcut olan karboksil gruplarıyla, diğerleri de karboksiamid grupları üretmek için ticari olarak amonyakla muamele edilmiştir [2]. Pektin, en az üç polisakkarit alanından oluşmaktadır: Homogalakturnan (HGA), Ramnogalakturnan-I (RG-I) ve Ramnogalakturnan-II (RG-II). HGA α -(1 $\rightarrow$ 4) bağlı-D-galakturonik asidin doğrusal bir homopolimeridir ve 100-200 GalA birimi içerdiği düşünülmektedir [18]. Pektinin temsili yapısı Şekil 2.1’de gösterilmiştir.



Şekil 2.1: Pektin yapısındaki polisakkaritlerin gösterimi [19].

Pektin, zincir benzeri bir konfigürasyonda birkaç yüz ile yaklaşık 1000 arasında değişen sakkarit birimi içerir; bu, yaklaşık 50.000 ile 150.000 dalton arasındaki ortalama moleküler ağırlığa karşılık gelir [2]. Pektin, çoğunlukla meyve suyu ve elma şarabı endüstrisinin yan ürünlerinden elde edilir, bu nedenle hidrojel biyomalzemelerinin üretimi için kullanılabilecek çevre dostu bir hammaddedir [20]. Ayrıca, pektinlerin antioksidan, antitümör ve anti-enflamatuar özellikler gibi çok çeşitli biyolojik aktiviteler gösterdiği belirlenmiştir [21].

2.2.1.1 Pektin kaynakları

Karboksil gruplarına sahip galakturonik asitten oluşan pektin, narenciye ve elma kabuklarında doğal olarak bulunmaktadır [22]. Turunçgil meyvelerinden limon en önemli pektin kaynağıdır ancak portakal ve greyfurt da kullanılmaktadır. Tat yağının ekstraksiyonu, meyve kabuğu ve meyve suyu üretimi için meyvenin kullanılmasının ardından pektin üretilmektedir.

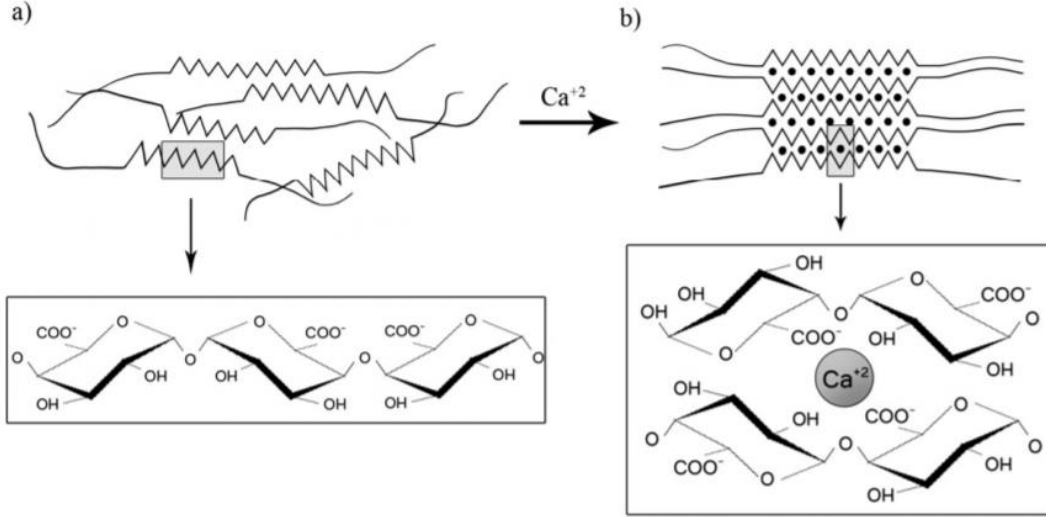
Elmanın içindeki pektin içeriği kuru madde bazında yaklaşık olarak %10-15'tir, oysa narenciye kabuğunda %20-30 oranında bulunmaktadır. Narenciye ve elmadan elde edilen pektinler uygulamada esasen eş değerdedir [23]. Pancar şekeri üretiminden elde edilen katı maddeler, yani şekerin çıkarılmasından sonraki kalıntılar, pektin bakımından zengindir. Şeker pancarı pektini asetil esterinin varlığı nedeniyle düşük kalitededir ve bu nedenle batı ülkelerinde üretilmemektedir. Önerilen diğer kaynaklar arasında yemeklik yağ üretiminden elde edilen ayçiçeği artıkları ve mango yer almaktadır. Ayçiçeği pektini ayrıca şeker pancarı pektinine benzer asetil grupları içermektedir [24].

Pektin çözeltilerinin moleküler ağırlığı, dağılımı ve stabilitesi, pektini izole etmek için kullanılan ekstraktanın doğasına, türüne ve hazırlamak için kullanılan ısıl işlemin derecesine önemli ölçüde bağlıdır [25].

2.2.1.2 Pektin esterifikasyon derecesi

Esterleşmiş karboksil gruplarının yüzdesi olarak ifade edilen esterleşme derecesi (ED), pektinlerin sınıflandırılmasında önemli bir araçtır. Yüksek metoksi (YM) pektinleri ($ED > \%50$) nispeten yüksek çözünür katı madde konsantrasyonu ve jel oluşumu için düşük bir pH gerektirir. Düşük metoksi (DM) pektinler ($ED < \%50$) galakturonik asit zincirlerini çapraz bağlayan kalsiyum veya çok değerlikli katyonların etkisiyle sert jeller oluşturur [26].

DM pektin omurgasının karboksil gruplarının Ca iyonları ile etkileşimleri, başlangıçta aljinatlar için tanımlanan “yumurta kutusu” modelinden biraz farklı olsa da “yumurta kutusu” yapısının (Şekil 2.2) oluşumunu indükler [27,28]. DM pektinler için hipotezlenen “yumurta kutusu” modeline göre, katyon jelasyonu iki aşamalı bir işlemde gerçekleşir; ilk olarak, kuvvetli bir şekilde bağlanmış dimer kümelerinin bir oluşumu, ardından esas olarak elektrostatik etkileşimler tarafından yönetilen daha zayıf bir dimer toplanması oluşumu vardır. Paralel homojen zincirlerin Ca iyonları ile birbirine paralel köprülenmesiyle ilk dimerizasyon aşaması gerçekleşir. Homogalakturonik zincirler nispeten katı olduğu için kooperatiflik mümkündür ve birinci kalsiyum katyonunun iki pektin zinciri ile bağlanması, sırayla bir sonraki kalsiyum iyonunun bir diğerine daha kolay bağlanmasını izin verir ve böylece sıra boyunca birbirine bağlanmasını kolaylaştırır. İki zincirin antiparalel oryantasyonu en uygun düzenleme gibi görünmektedir ve bu ilk dimer birleşimi, elektrostatik etkileşimlere ek olarak hidrojen bağı ile kuvvetli bir şekilde dengelenmiştir [19,29].



Şekil 2.2: Ca²⁺'nin neden olduğu pektinin jelleşmesini gösteren şematik. (a) Pektin molekülleri, (b) Ca²⁺ ilavesinin ardından yumurta kutusu jelleşme modeli iyonları [30].

Kalsiyum iyonlarının yanı sıra, DM pektin jellerinin oluşumu için diğer iki değerli veya üç değerlikli katyonlar da kullanılabilir. Çizelge 2.1'de jelleşmede kullanılan iyonun türüne göre jelin gücü gösterilmiştir.

Çizelge 2.1: Pektin jelleri oluşturmak için incelenen polikasyonlar [19].

	Kasyon	Jel Gücü
İki değerli iyonlar	Ca ²⁺	+++
	Cu ²⁺	++
	Sr ²⁺	+++
	Ni ²⁺	++
	Zn ²⁺	++
	Cd ²⁺	++
	Pb ²⁺	++
	Mg ²⁺	-
Üç değerli iyonlar	Al ³⁺	++
	La ³⁺	+
	Fe ²⁺	+

2.2.1.3 Pektinin genel özellikleri

Pektin saf suda çözünür. Tek değerli katyon pektin tuzları ve pektik asitler genellikle suda çözünür; iki ve üç değerlikli katyon tuzları zayıf biçimde çözünür veya çözünmezdir. Kuru toz halinde pektin, suya eklendiğinde, çok hızlı bir şekilde hidratlaşma ve kümelenmeler oluşturma eğilimindedir. Kümelenme oluşumu, pektin tozunun suda çözünür taşıyıcı malzeme ile karıştırılması veya üretim sırasında özel işlemle geliştirilmiş dağıtılabilirliğe sahip pektin kullanımı ile önlenabilir.

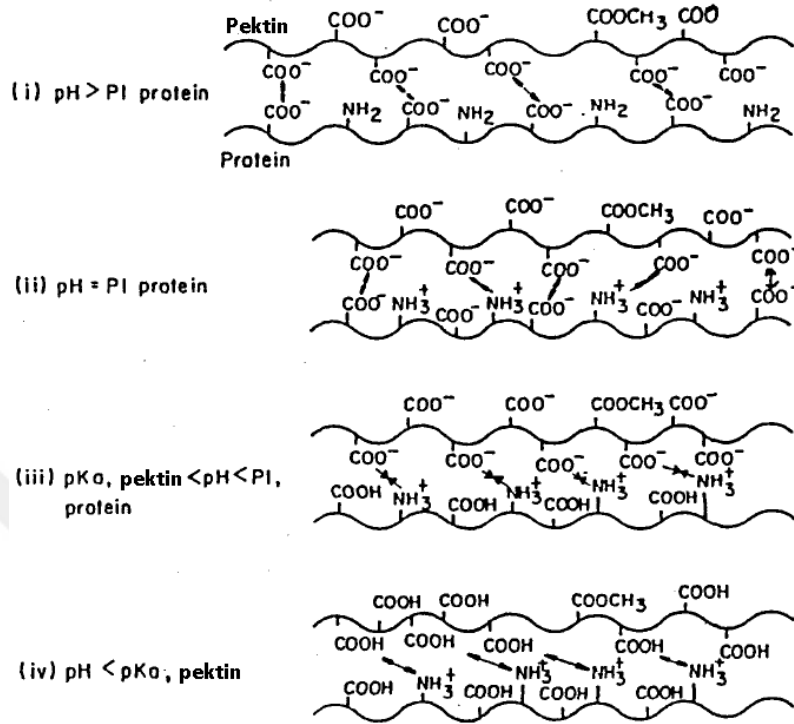
Seyreltik pektin çözeltileri Newton tipi akış davranışı gösterirlerken, orta konsantrasyonda Newtonian olmayan pseudoplastik davranış özellikleri sergilerler. Çözünürlükte olduğu gibi, bir pektin çözeltisinin viskozitesi; molekül ağırlığı, esterifikasyon derecesi, konsantrasyonu ve çözeltideki iyonların pH'ı ile ilgilidir. Viskozite, çözünürlük ve jelasyon genel olarak birbiriyle ilişkilidir. Pektinlerin bu özellikleri, lineer bir polianyonun (polikarboksilat) yapısının bir fonksiyonudur.

pH düşürüldüğü zaman, karboksilat gruplarının iyonlaşması baskılanır ve bu karboksilik asit gruplarının hidrasyonunda bir azalmaya neden olur. Düşük iyonizasyonun bir sonucu olarak, polisakkarit molekülleri tüm uzunlukları boyunca birbirlerini iterler ve sonuç olarak, birleştirilip ve bir jeli oluşturabilirler.

pK değerleri, pektinin ED'sine göre değişir; esterifikasyon derecesi %65 olan pektinin pK değeri 3.55 iken, esterifikasyon derecesi %0 olan pektinin pK değeri 4.10'dur. Pektin pKa değerine (3.38-4.10) eşit olan, yaklaşık %50 oranında yüklenebilir grupların iyonize olduğu pH 3.5, daha düşük iyonize karboksil grubuna bağlanabilir. Pektinin pKa değerinin üzerinde olan pH 6.2'de çapraz-bağlamanın artırılmasıyla, metil olmayan esterlenmiş karboksil gruplarının iyonizasyonu hemen hemen tamamlanır. Aslında, bir çözeltinin pH'ı, pektinin görünür pKa değerinin üstünde olduğunda daha büyük bir yük yoğunluğu bulunur. Şekil 2.3'de pH'ın pektin pKa değerinin üzerinde veya altında olması durumunda yük yoğunluğu ve pektin-protein etkileşimleri gösterilmektedir. Ayrıca, Caiyonlarının bağlanması pH ile artar, pH 5-7.5'te maksimum seviyededir [31].

Çözünmüş pektinler, kendiliğinden deesterifikasyon ve depolimerizasyon ile ayrışır; bunun oranı ayrışma pH'ı, su aktivitesi ve sıcaklığa bağlıdır. Genel olarak, pH 4'te maksimum stabilitede bulunurlar. Pektin çözeltisindeki şekerin varlığı belirli bir koruyucu etkiye sahip iken, yüksek sıcaklıklar bozunma oranını artırır. Düşük pH

değerlerinde ve yüksek sıcaklıklarda glikosidik bağlantıların hidrolizi nedeniyle bozulma gözlenir. Deesterifikasyon da düşük pH ile desteklenmektedir [23].



Şekil 2.3: Domates ürünüde pektin-protein etkileşiminin şematik modeli [17].

2.2.1.4 Pektin kullanım alanları

Pektin, yiyecek ve içecek endüstrisinde uzun yıllardır kullanılmaktadır. Başlıca uygulamaları, jelleştirici ve kıvam arttırıcı, dengeleyici, emülgatör madde ayrıca terapötik özelliklere sahip olabilecek önemli diyet lifi kaynağıdır. Pektin, yenilebilir ve biyobozunur filmler, yapıştırıcılar, kağıt ikame maddeleri, köpükler ve plastikleştiriciler, tıbbi cihazlar için yüzey değiştiriciler, biyomedikal implantasyon ve ilaç dağıtım malzemeleri dahil olmak üzere çeşitli özel ürünlerin üretiminde de kullanılır. Gıda endüstrisindeki öneminin yanı sıra, kontrollü ilaç salımı veya biyoaktif salınım için bir taşıyıcı olarak yara iyileşmesi için kullanılmaktadır. Farmasötik alanında; prebiyotik etkisi, glukoz seviyesine etkisi, kolesterol seviyesine etkisi, metal iyonlarının giderilmesi, kanser önleme, kontrollü ilaç salım matrisi olarak kullanılmıştır [32,33].

Son zamanlarda, hidrojel matrislerine dayanan birçok kontrollü ilaç salım formülasyonları geliştirilmiştir. Pektinler kontrollü ilaç salım sistemi için başarılı bir seçim olmuştur [20]. Toksik olmama ve düşük üretim maliyetleri, kontrollü ilaç salım dozaj formlarının formülasyonu için pektinlere büyük ilgi olmasını sağlamıştır

[34]. Ayrıca sulu çözeltiler ile temas halinde hızla viskoz çözeltiler ve stabil jeller oluşturma kapasitesi, basit jelleşme mekanizmasından dolayı biyomedikal uygulamalarda pektine büyük ilgi gösterilmesini sağlamıştır [35].

Bazı pektin hidrojellerinin ilaç taşınımına yönelik uygulamaları için, yüksek esterifikasyon derecesine sahip pektin kullanılmıştır. Ancak sudaki yüksek moleküler ağırlık ve zayıf çözünürlük gibi değişkenler, kapsüllenen ilaçları önemli ölçüde etkileyebilmektedir. Bu durum ilaç göçüne, ilacın erken salınmasına veya kapsülün aşınmasına neden olabilir. Dolayısıyla, istenen pektinin yapısı açısından, düşük moleküler ağırlığa sahip olan, düşük oranda esterifikasyon dereceli pektinin kullanılması tercih edilir [32].

Yeni geliştirilen pektin kompozitleri, mevcut pektin bazlı formülasyonlara kıyasla birçok gelişmiş özelliğe sahiptir. Bunlar:

- daha yüksek ilaç yükleme etkinliği;
- daha az erken ilaç salımı;
- peptit ve protein ilaçlarının kontrollü salımı için daha yüksek verimlilik;
- biyoyumlulukta artış, çünkü kompozit üretimi için sadece biyopolimerler kullanılmaktadır;
- şişme ve bozunma davranışları, dahil edilen ilaçların ve hedeflenen doku bölgelerinin gereksinimlerini karşılamak için kolayca uyarlanabilir.

Kontrol edilebilir şişme ve bozunabilirlik, esas olarak, gözeneklilik ve çeper kalınlığı gibi bileşimlerin veya fiziksel özelliklerin değiştirilmesiyle gerçekleştirilir [36].

Kompozit matrisler, çoğunlukla, sulu film-kaplama dispersiyonu veya harmanlanmış toz formunda tablet kaplama için veya koakservat formunda ilaç yükleme için kullanılır. Difüzyon metodu ile ilaç kompozit matrise yüklenebilir veya koaservasyondan önce bileşenlerden biriyle karıştırılabilir [37]. Biyomedikal uygulamalarda yeni pektin kullanımları, aminoasitlerin spesifik dizilerinin, iltihap önleyici maddelerin, pıhtılaşma önleyicilerin ve yara iyileştirici maddelerin doku bölgelerine verilmesini kolaylaştırır. Bu şekilde kullanılmak üzere, pektin bazlı kompozitler membranlara, mikro kürelere, iskelelere veya enjekte edilebilir jellere dönüştürülebilir [38].

2.2.2 Metal organik kafes (MOF) yapıları

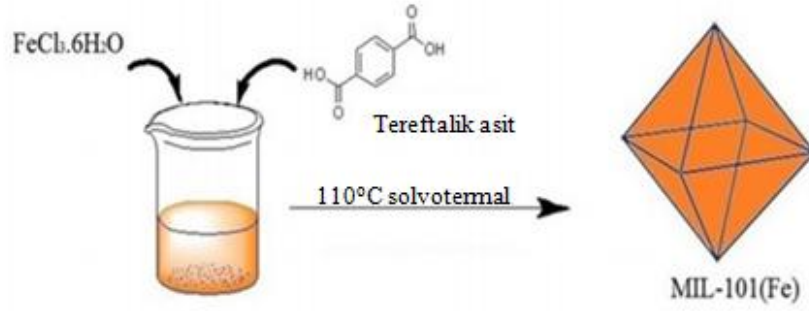
Son zamanlarda, moleküler inorganik-organik hibrit bileşikler alanında dikkate değer bir ilerleme kaydedilmiştir. Sonsuz yapılara sahip olan koordinasyon bileşikleri özellikle, metal iyonlarından bağlayıcı olarak oluşturulmuş omurgalara sahip bileşikler ve bağlayıcı olarak ligandlar, koordinasyon polimerleri olarak yoğun bir şekilde incelenmiştir. “Koordinasyon polimerleri” ifadesi 1960'ların başında ortaya çıkmış ve bu alan ilk kez 1964'te incelenmiştir [39]. Koordinasyon polimerleri veya MOF olarak bilinen metal-organik kafes yapıları, son yirmi yılda hızla genişleyen disiplinler arası bir alan oluşturmaktadır [40]. Metal organik kafes yapıları metal katyon ve organik bağlayıcı ile birleştirilen, ultra yüksek gözenekliliğe (%90 serbest hacme kadar) ve 6.000 m²/g'ın ötesine uzanan muazzam iç yüzey alanına sahip geniş kristal malzeme sınıfı olarak ortaya çıkmıştır [41]. Bu özellikler, MOF'ların iç kısımlarının gaz depolamada, ilaç taşınımında, adsorpsiyon ve katalizde yaygın olarak kullanılmasını sağlamıştır [4,42].

İlaç dağıtımı için MOF'ların geliştirilmesinde amaç, hem metal hem de köprü ligandının biyouyumluluğunu dikkate alarak vücutta çok az toksisite gösteren taşıyıcılar tasarlamaktır. Krom ve diğer metaller oldukça zehirli olsa da, bazı metaller vücutta kayda değer miktarlarda bulunur. Örneğin, demir hemoglobinde bir bileşendir ve kan plazmasında yaklaşık 22 mM'dir. Doku ayrıca bakır (68 mM), manganez (180 mM), nikel (2 mM) ve çinko (180 mM) gibi çeşitli metaller içerir. Yeni ortaya çıkan bir ilaç taşıyıcı sınıfı olduğundan, bu sistemlerin biyolojik etkisi hakkında sınırlı veri bulunmaktadır. Demir oksit nanoparçacıkları klinik olarak MRI kontrast ajanları olarak onaylanmıştır ve *in vitro* analizler bu parçacıkların toksisite göstermediğini belirtmiştir.

Potansiyel bir ilaç dağıtım sistemi olarak araştırılan ilk MOF grubu, Fe'ye ve arkadaşları tarafından öncülük edilen MIL (Lavoisier Enstitü Materyalleri) ailesidir. MOF'ların MIL ailesi, üç değerlikli metal merkezlerinden ve karboksilik asit köprü ligandlarından üretilir. MIL ailesi, büyük gözenekler (25–34 °A), olağanüstü yüzey alanı (3100-5900 m²/g) ve fonksiyonel grupları çerçeveye dahil etme yeteneği gibi çekici özellikleri nedeniyle ilaç taşınım sisteminde kullanmada büyük umut vaat etmektedir. Daha az toksik bir analog olan MIL-101(Fe) biyouyumlu bir alternatif olarak geliştirilmiş ve çok daha uygun bir ilaç taşıyıcısı olmuştur [43].

2.2.2.1 MIL-101(Fe)

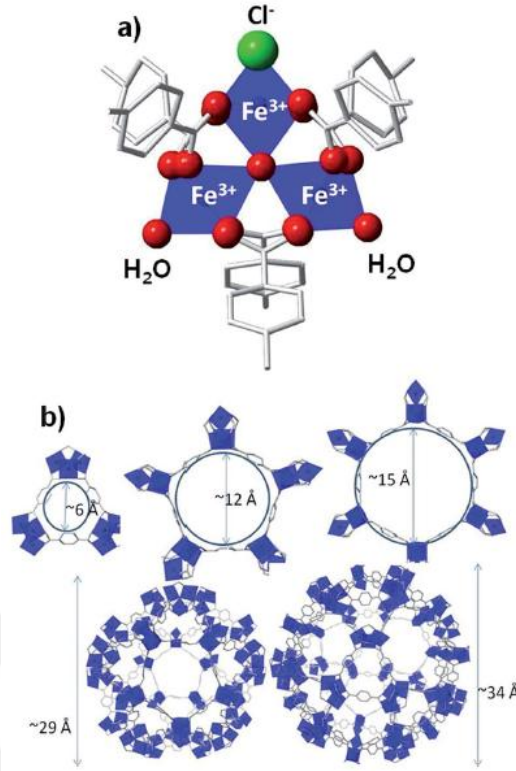
MOF'lar iki ana bileşenden oluşmuştur: inorganik ikincil bir yapı birimi (İYB) ve organik bağlayıcı. İYB'ler genellikle geçiş iyonları veya küçük metal kümelerinden oluşur. Organik bağlayıcılar, en yaygın olarak kullanılan ligandlar arasında 1,4-benzen dikarboksilik asit (H_2BDC) olan dikarboksilatlar gibi geniş bir molekül yelpazesini içerir [44].



Şekil 2.4: MIL-101(Fe)'in sentez gösterimi [45].

Taylor-Pashowet ve arkadaşları demir içeren bir analog olan MIL-101(Fe)'i sentezledi. MIL-101(Fe)'in zeotip kristal yapısı 1,4-benzendikarboksilat anyonları ile birbirine bağlanmış trimer demir(III) oktahedral kümelerden oluşur (Şekil 2.4) [46]. Terminal su moleküllerinin MIL-101 çerçevesinden vakumla ısıtılarak çıkarılmasından sonra, oluşturulan aktif koordineli doymamış bölgeler, Lewis asit bölgeleri veya katalitik olarak aktif bölgeler olarak rol oynayan, konuk moleküller için erişilebilir alanlar sağlayabilir. MIL-101, $5500 \text{ m}^2/\text{g}$ yüksek Langmuir yüzey alanına, 34 ve 29 °Å çapındaki kafeslere, pentagonal ve altıgen pencereler için sırasıyla 16 ve 12 °Å büyük pencere açıklıklarına sahiptir (Şekil 2.5) [47,48].

MIL-101(Fe), yalnızca inanılmaz derecede büyük gözenek büyüklüğü ve yüksek spesifik yüzey alanı nedeniyle değil, aynı zamanda su ve hava ortamlarındaki uzun süreli kararlılığı nedeniyle konakçı matris olarak tercih edilmektedir. Ayrıca, açıkta kalan metal alanlar ve ligandlar, MOF'ların işlevselleşmesini sağlamak için elverişlidir [49].



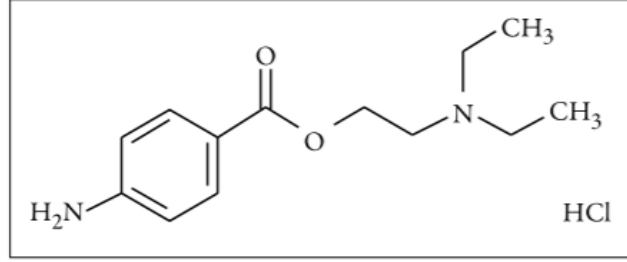
Şekil 2.5: MIL-101(Fe)'in yapısı. (a) İYB (mavi Fe; kırmızı O; çubuk C; yeşil Cl; H netlik için ihmal edilmiştir). (b) MIL-101(Fe) 'in kafes yapısı (Cl ve O atomlarına sahip pencereleri ve gözenekleri netlik için ihmal edilmiştir) [44].

2.3 Prokain

1905 yılından kısa süre sonra Einhorn, Novokain'i, yani prokaini, keşfetti. 1906 yılından 1925 yılına kadar birçok araştırmacı, saf anestezi bölgesi dışında yerel olarak uygulanan prokainin faydası hakkında bilgi verdi. 1906'da Speiss, bölgesel prokain infiltrasyonu ile gelişmiş yara iyileşmesini rapor etti. 1906'da Vichnevski, prokainin anti-enflamatuar etkilerini rapor etti. Modern sinir terapisinin babası Ferdinand Huneke, ilk olarak kronik migren ağrıları tedavisinde IV prokain kullandığını bildirdi [50].

Prokain (2- (dietilamino) etil-4-aminobenzoat) (Şekil 2.6), özellikle oral cerrahi, lokal veya bölgesel anestezi indüksiyonu için belirtilen bir anestezik maddedir. Farmasötik uygulama formları infiltrasyon anestezisinde genellikle %0.25 ile 0.5, periferik sinir bloğu için %0.5 ile 2.0 ve spinal blok için %10 prokain içerir [51]. Prokain, lidokain gibi diğer lokal anesteziklerin aksine kanamayı azaltan, kan damarlarını daraltma avantajına sahiptir. Prokainin bir başka kullanımı, anestezik rolü hariç, yaşlanmayı geciktirici rol oynayarak pazarlanan Romen ürünlerine dahil

edilmesidir [52]. Lokal anestezik ilaçların antibakteriyel özelliklere sahip olduğu ilk olarak 1909'da belirtilmiştir. Prokain, %2.0'a kadar konsantrasyonlarında 1.279 klinik bakteri izolatının %65.8'ini inhibe etmiştir. *P.aeruginosa*'nın ilaç geçirgenliğinin olmaması ya da hücre duvarının bazı benzersiz biyokimyasal özelliklere bağlı sitotoksik etkiyi yok etmesinden dolayı prokaine dirençli olan tek gram-negatif bakteridir. Ayrıca prokain, *Escherichia Coli*'nin canlılık kaybına neden olduğu literatürde bildirilmiştir [53].

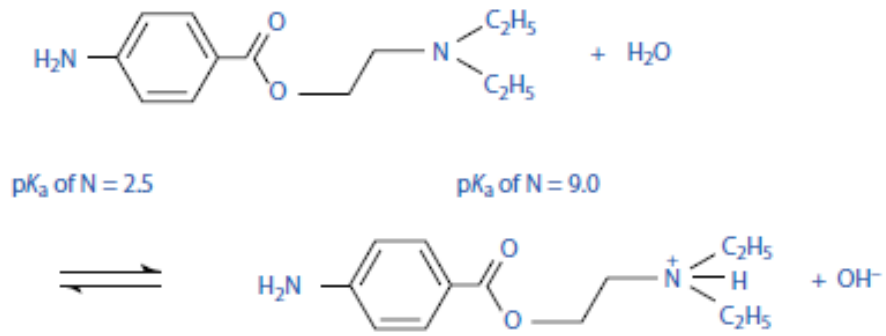


Şekil 2.6: Prokain hidroklorürün moleküler yapısı. Hidroklorür formu, tersiyer amin grubunun protonlanmasıyla oluşturulur [54] .

Antiromatizmal ve ağrı kesici ilaçlar, akut ve kronik ağrının tedavisi için en çok reçete edilen ilaçlardır. Bu ajanların sık sık uygulanması, genellikle olumsuz etkilere neden olmaktadır. Bu nedenle, yan etkilerin görülmemesi için lokal ağrı kesiciler, lokalize kas ağrıları için tercih edilen tedavi yöntemidir. Lokal ağrı kesiciler, oral ağrı kesiciler tarafından sağlanan ağrı kesici etkiyi sağlar, ancak minimum yan sistemik etkileye neden olmaktadır. Prokain HCl lokal ağrı kesici bir ajandır [55]. Prokainin insan lösemi hücrelerinin büyümesini durdurduğunu ve "all-trans retinoik asit" (ATRA) ile kombinasyon halinde kanser hücresi farklılaşmasına neden olduğu gösterilmiştir. Prokain, DNA metiltransferaz ekspresyonunun da azalmasına neden olmuştur. İnsan lösemi hücrelerinin prokainle tedavisi, farklılaşma ve apoptoz ile ilişkili moleküllerin ekspresyonunu arttırmıştır [56].

Prokainde olduğu gibi, bazı ilaçlar genellikle suda çözünür tuzları halinde kullanılmaktadır. Aminler azot atomundaki yalnız elektron çifti nedeniyle bazı özellik göstermektedir. Yalnız elektron çifti molekülün başka bir yerindeki etkileşimlere karışırsa, o zaman amin bazik olmayacaktır. Bu durum, lokal anestezik prokainin bazıları dikkate alınarak Şekil 2.7 gösterilmektedir. Dietilamino grubundaki azot üzerinde yalnız elektron çifti yoğunlaşmıştır ve bu elektron çifti bir protonu

kabul edebilir. Yani, prokain insan plazmasının pH'ında (pH 7.4) iyonize olabilmektedir.



Şekil 2.7: Prokainin iyonlaşması [57].

3. DENEYSEL ÇALIŞMA

3.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

%31 oranında esterleşme oranına sahip düşük metoksil narenciye pektini Herbstrith & Fox şirketinden (Almanya) temin edilmiştir. Plastikleştirici olarak kullanılan gliserin ve çapraz bağlayıcı olarak $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ Labkim, model ilaç olarak kullanılan prokain Sigma Aldrich firmasından sağlandı. Deneyler boyunca ultra deiyonize su kullanıldı.

3.2 Sentezde Kullanılan Karışımların Hazırlanması

DM pektin tozu, ağırlıkça %2 (ağ ağ^{-1}) olacak şekilde ultra deiyonize su ile 24 saat boyunca manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak DM pektin çözeltisi hazırlanmıştır. Sıvı haldeki gliserin, ultra deiyonize su ile 10 dakika manyetik karıştırıcıda karıştırılarak %5 (ağ ağ^{-1}) olacak şekilde gliserin çözeltisi hazırlanmıştır. %0.7 (ağ ağ^{-1}) olacak şekilde etüvde kurutulmuş olan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, ultra deiyonize su ile karıştırılıp CaCl_2 çözeltisi hazırlanmıştır.

İlaç çözeltisi, 30 mg prokain 10 ml tampon çözeltide karıştırılacak şekilde hazırlandı. Tampon çözeltisinin pH'ı 5.8, 8.2, 9.1 ve 9.8 olarak ayarlandı.

3.3 Film Hazırlama

3.3.1 İlaç yüklü MOF içeren pektin film

İlaç yüklü MOF içeren pektin film hazırlanması 4 aşamada gerçekleştirildi. Bunlar;

1. MOF'a ilaç yüklenmesi,
2. Pektin-gliserin karışımının hazırlanması,
3. İlaç yüklü MOF ile pektin-gliserin çözeltisinin karıştırılması,
4. İlaç yüklü MOF-pektin-gliserin çözeltisinin CaCl_2 ile çapraz bağlanması.

3.3.1.1 MOF'a ilaç yüklenmesi

İlaç yüklenmeden önce, MOF partikülleri bir gece boyunca 150°C'de etüvde kurutuldu. Hazırlanmış olan prokain çözeltisinden 10 ml (30 mg prokain) alınarak, 30 mg MOF ile karıştırıldı ve daha sonra karışımın üzerine 5 ml etanol eklendi. Bu karışım 5 saat boyunca +5°C'de ve 100 rpm'de orbital çalkalayıcı üzerinde karanlık ortamda karıştırıldı.

İlaç yükleme kinetiğini belirlemek amacıyla, tek kullanımlık küvetler içeren bir LAMBDA 1050 UV/vis spektrofotometre kullanılarak MOF-prokain çözeltisinden düzenli olarak örnek alınarak pH 6.4 TRIS tampon çözeltisinde ve 289.9 nm'de ölçüm alınıp çözeltideki ilaç konsantrasyonu belirlendi.

3.3.1.2 Pektin-gliserin çözeltisinin hazırlanması

%2 (ağ ağ⁻¹) olacak şekilde hazırlanmış DM pektin çözeltisi ile ağırlıkça %5 (ağ ağ⁻¹) gliserin çözeltisi hazırlandı. 30 g pektin çözeltisi ile 6 ml gliserin çözeltisi oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda 2 saat boyunca karıştırıldı.

3.3.1.3 Karıştırma

2 saat karışmış olan pektin-gliserin karışımı üzerine ilaç yüklenmiş olan MOF partikülleri eklendi ve oda sıcaklığında karanlık ortamda manyetik karıştırıcıda 24 saat boyunca karıştırıldı.

3.3.1.4 Çapraz bağlama

24 saat karışmış olan pektin-gliserin-ilâç yüklü MOF karışımı, 10 ml ağırlıkça %0.7 (ağ ağ⁻¹) CaCl₂ çözeltisi ile karıştırıldı ve orbital çalkalayıcıda 100 rpm'de 25°C'de kuruyuncaya kadar tutuldu.

Örnekler XMYPCZ olarak kodlandı. X MOF miktarını, Y prokain miktarını, Z ilaç yükleme pH değerini göstermektedir.

3.3.2 Karşılaştırma örnekleri

- ✓ Pektin film:MOF'un pektin film yapısına katkısını gösterebilmek için ilaç ve MOF içermeyen pektin film hazırlandı.
- ✓ MOF katkılı pektin film: MOF'un yara örtüsü özelliklerine katkısını göstermek için ilaç yüklenmemiş MOF katkılı pektin film hazırlandı.
- ✓ İlaç yüklü pektin film:MOF'a ilaç yüklemenin katkısını göstermek için pektin-gliserin çözeltisine ilaç eklenerek pektin film hazırlandı.

- ✓ MOF katkılı ilaç yüklü pektin film: MOF'a ilaç yüklemenin katkısını göstermek için pektin-gliserin çözeltisine MOF ve ilaç aynı anda eklenerek pektin film hazırlandı.

3.3.2.1 Pektin film

Filmler, iyonotropik jelleşme metodu kullanılarak hazırlandı. Tartılan 30 g pektin çözeltisi üzerine nazik bir şekilde 6 ml gliserin çözeltisi eklendi ve manyetik karıştırıcıda oda sıcaklığında 2 saat boyunca karıştırıldı. Çapraz bağlı hidrojel oluşturmak için, petri kabına konulan 10 ml CaCl_2 çözeltisi üzerine DM pektin-gliserin karışımı eklendi, orbital çalkalayıcıda 25°C 'de 100 rpm'de kuruyuncaya kadar tutuldu.

3.3.2.2 MOF katkılı pektin film

30 mg MOF, 5 ml ultra deiyonize su ve 5 ml etanol (veya 50 mg MOF, 7.5 ml ultra deiyonize su ve 7.5 ml etanol) ile ultrasonik su banyosunda 10 dakika karıştırıldı. MOF partikülleri süzülmeden 2 saat karışmış olan DM pektin-gliserin karışımına eklendi ve manyetik karıştırıcıda 100 rpm'de 24 saat karıştırıldı. 10 ml CaCl_2 eklenerek DM pektin-gliserin-MOF karışımı orbital çalkalayıcıda 25°C 'de 100 rpm'de kurutuldu.

Örnekler XM-K olarak kodlandı. X MOF miktarını ve K karşılaştırma grubu olduğunu göstermektedir.

3.3.2.3 İlaç yüklü pektin film

30 mg prokain ile 10 ml tampon çözelti veya ultra deiyonize su karıştırılarak ilaç çözeltisi hazırlandı. Bu ilaç çözeltisi, 2 saat karışmış olan DM pektin-gliserin karışımı üzerine eklendi ve manyetik karıştırıcıda 24 saat boyunca 100 rpm'de karanlık ortamda karıştırıldı. 24 saat sonra, 10 ml CaCl_2 çözeltisi ve DM pektin-gliserin-prokain karışımı petri kabına ilave edildi ve orbital bir çalkalayıcıda 100 rpm 25°C 'de karanlık ortamda kurutuldu.

Örnekler XPCY-K olarak kodlandı. X prokain miktarını, Y ilaç yükleme pH değerini ve K karşılaştırma grubu olduğunu göstermektedir.

3.3.2.4 MOF katkılı ilaç yüklü film

2 saat karışmış olan DM pektin-gliserin karışımı üzerine hazırlanmış olan prokain çözeltisi ile MOF çözeltisi aynı anda eklendi. 24 saat boyunca oda sıcaklığında

karanlık ortamda karıştırılmış olan MOF-ilaç-pektin-gliserin çözeltisi, CaCl_2 çözeltisi ile çapraz bağlandı ve manyetik karıştırıcıda 100 rpm'de 25°C'de karanlık ortamda kuruyana kadar tutuldu.

Örnekler XMYPCZ-K olarak kodlandı. X MOF miktarını, Y prokain miktarını, Z ilaç yükleme pH değerini, K karşılaştırma grubu olduğunu göstermektedir. Çizelge 3.1'de hazırlanan filmlerin kodları, içerikleri ve ilaç yükleme pH'ları verildi.

Çizelge 3.1: Hidrojel hazırlarken kullanılan formülasyonlar.

Kod	MOF miktarı (mg)	Prokain miktarı (mg)	İlaç yükleme pH'ı
Pektin film	-	-	-
30M5.8-K	30	-	-
30M8.2-K	30	-	-
30M9.1-K	30	-	-
30M9.8-K	30	-	-
50M5.8-K	50	-	-
30PC5.8-K	-	30	5.8
30PC8.2-K	-	30	8.2
30PC9.1-K	-	30	9.1
30PC9.8-K	-	30	9.8
30M30PC5.8	30	30	5.8
30M30PC8.2	30	30	8.2
30M30PC9.1	30	30	9.1
30M30PC9.8	30	30	9.8
30M60PC9.1	30	60	9.1
50M30PC9.1	50	30	9.1
30M30PC5.8-K	30	30	5.8

3.4 Karakterizasyon Yöntemleri

3.4.1 Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi

MOF, pektin toz ve filmler KBr pellet hazırlanarak 4000-400 cm^{-1} dalga boyu aralığında ya da ATR modunda 4000-650 cm^{-1} dalga boyu aralığında Perkin-Elmer marka Spectrum One model FTIR spektroskopisi kullanılarak oda sıcaklığında analiz edildi.

3.4.2 X-ışını kırınımı (XRD)

MOF'un atomik ve moleküler yapısı, her kristal fazın spesifik atom dizilerine bağlı olarak, X ışınlarının karakteristik bir sırada kırılmasına dayanan X-ışını kırınımı yöntemi (XRD) ile araştırıldı. XRD desenleri, PANalytical Marka X'pert Pro marka cihaz ile alındı.

3.4.3 Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC)

Filmlerin ısı özelliklerini belirlemek için Perkin-Elmer 4000 DSC cihazı kullanıldı. Analizler -50 ila 300 $^{\circ}\text{C}$ arasında, azot atmosferi altında 10 $^{\circ}\text{C}$ dk^{-1} tarama hızında gerçekleştirildi. Azot, 50 ml dk^{-1} akış hızında temizleme gazı olarak kullanıldı. DSC analizi her bir örnek için en az 2 kez tekrarlandı.

3.4.4 Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

Filmlerin morfolojik özellikleri, bir Jeol (JSM-6390) marka taramalı elektron mikroskobu kullanılarak farklı büyütme oranlarında incelendi. Film 5 dakika azot içerisine daldırılarak donduruldu ve soğuk cımbız kullanarak elle çapraz kırıldı.

3.4.5 Temas açısı

Filmin yüzeyindeki suyun statik temas açısı, film yüzeyine 5 μl distile su konularak KSV CAM 200 markalı temas açısı ölçüm cihazı ile oda sıcaklığında ölçüldü. Her filmin iki farklı bölgesinden numune alınarak, 3 tekrarlı ölçüm yapıldı.

3.4.6 Reolojik analiz

Reolojik analizler Anton Paarphysica MCR 301 markalı cihazda PP25 ölçüm plakası kullanılarak yapıldı. Numune sıcaklığı viskoterm VT2 ile kontrol edildi. Filmlereşit sürede şişirildikten sonra reometreye yerleştirilerek ölçümler alındı. Reometrede

plakalar arası boşluk yaklaşık $2,7 \pm 0,3$ mm idi. İlk olarak, doğrusal viskoelastik bölgeyi belirlemek için her bir numune için 10 rad s^{-1} açısal frekansında bir gerilme taraması yapıldı. Daha sonra, depolama modülünü (G') ve kayıp modülünü (G'') oluşturmak için $10 - 0.1 \text{ rad s}^{-1}$ aralığında frekans tarama testi yapıldı.

3.4.7 Su buharı iletim hızı

Su buharı iletim hızı (SBİH), ASTM E96-02 standartlarına uygun olarak 25°C 'de ölçüldü [58]. Filmler, küçük cam şişelerin dairesel girişine alimünyum folyo ile sabitlendi. Cam şişeler, şişe ağzının 0.5 cm altında bir yüksekliğe kadar silikat parçacıkları ile dolduruldu. İlk olarak her bir şişenin ağırlığı (W_1) kaydedildi, daha sonra şişeler 25°C sıcaklıkta doymuş sodyum klorür çözeltisi kullanılarak %75 bağıl nemde tutulan bir kurutucuda tutuldu. Şişe bir günün sonunda tartıldı (W_2). Su buharı geçiş hızı eşitlik 3.1'e uygun olarak hesaplandı.

$$\text{Su buharı geçiş hızı} = \frac{W_2 - W_1}{W_1} \quad (3.1)$$

3.4.8 Filmlerin su tutma kapasitesi

Su tutma kapasitesini belirlemek için, filmler $1 \text{ cm} \times 1 \text{ cm}$ boyutunda kesilip, 25°C 'de vakum etüvünde bir gece boyunca kurutuldu. Numunelerin kuru ağırlıkları tartılıp, bir Petri kabında oda sıcaklığında 15 ml pH 6.4 TRIS tampon çözeltisine daldırıldı. Belirli zaman aralıklarında, numuneler tampondan çıkarıldı, tartıldı ve sonra tampon çözeltisine geri konuldu. Her tartımdan önce film iki filtre kağıdı yaprağı arasına hafifçe yerleştirilerek, yüzeyindeki fazla nem giderildi. Filmlerin su tutma kapasitesi eşitlik 3.2 kullanılarak hesaplandı.

$$\text{Su tutma kapasitesi} = \frac{W_2 - W_1}{W_1} \quad (3.2)$$

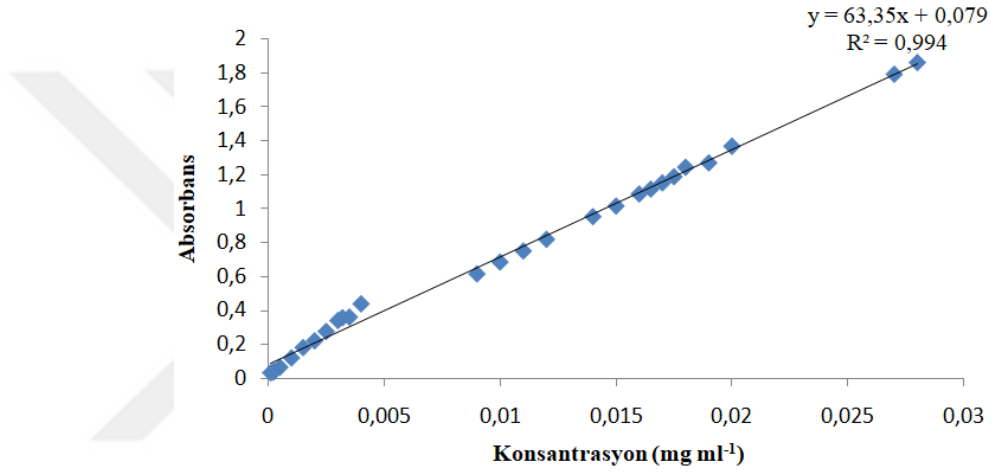
Burada;

W_1 = Kuru film ağırlığı (g),

W_2 = Su tutmuş filmin ağırlığı (g)'dir.

3.5 Filmlerin *In Vitro* İlaç Salımı

Filmlerin *in vitro* ilaç salım profilleri, pH 6.4 TRIS tampon çözeltide belirlendi. İlaç yüklü kuru hidrojel film diskleri, tampon çözelti içeren şişelere konuldu ve bir orbital çalkalayıcıda 25 ± 1 °C'de karıştırıldı. İlaç salımı 289.9 nm'de UV / Vis spektrometre (LAMBDA 1050) ile belirlendi. Çözeltiden, düzenli aralıklarla 850 µl pipet kullanılarak, tek kullanımlık küvetlere örnekler alındı ve absorbensları ölçüldükten hemen sonra şişeye geri konuldu. Çözeltideki ilaç konsantrasyonu, bilinen konsantrasyonlarda ilaç çözeltileri kullanılarak hazırlanan kalibrasyon doğrusu (Şekil 3.1) yardımıyla hesaplandı.



Şekil 3.1: pH 6.4'de prokain kalibrasyon doğrusu.

3.6 Filmlerin *In Vitro* Yara Örtüsü Karakterizasyonu

Film kalınlığı (mm), birim alan başına ortalama kütle (g m⁻²), esneklik, sertlik, sıvı taşıma kapasitesi, dehidrasyon hızı, dispersiyon özellikleri ve yara örtülerinin pH kayma kapasitesi gibi çeşitli özellikleri belirlendi ve ticari bir ürün olan Kaltostat[®] aljinat kalsiyum sodyum sargısı ile sonuçlar karşılaştırıldı. Kaltostat[®] kimyasal yapısı DM pektin bazlı hidrojellere çok benzediği için karşılaştırma örneği olarak seçildi [59].

3.6.1 Birim alan başına ortalama kütle ve kalınlık

Birim alan başına ortalama kütle (g m⁻²) ve filmlerin kalınlığı (mm), BS EN 12127: 1998 [60] ve BS EN ISO 9073-2: 1997 standartlarına [61] göre belirlendi. Kuru filmler 5cm x 5 cm kare kesildi, tartıldı ve ağırlığı kütle tayini içinalana bölündü.

Kalınlık elektronik bir kumpas ile ölçüldü. Tüm ölçümler en az üç kez tekrarlandı ve her analiz için bir ortalama hesaplandı.

3.6.2 Filmlerin sertliği ve esnekliği

Filmlerin Shore A sertliği, ASTM D2240'a [62] göre bir durometre ile tespit edildi. Numunelerin esnekliği, 2 ile 32 mm çapındaki 14 paslanmaz çelik mandrele sahip Erichsen Model 266S silindirik mandrel bükme test cihazı ile ölçüldü [63]. Test, bir numunenin bükülmeden sonra kırılma veya dökülme göstermediği en küçük silindir çapını belirleme prensibine dayanır. Yüzey kaplayıcılar için uygulanan bu test çalışmamıza uyarlandı. DM pektin-MOF hidrojel numuneleri önce bir teneke levhaya sabitlendi. Daha sonra plaka test cihazında ters çevrildi ve çatlaklar gözlemlendi. Filmde çatlamaya neden olmayan en küçük silindirin çapı rapor edildi.

3.6.3 Yara örtülerinin sıvı taşıma kapasiteleri

Numunelerin sıvı taşıma kapasiteleri BS EN 13726-1: 2002 [64] test yöntemleriyle belirlendi. İlk olarak filmler 5 cm x 5 cm boyutlarında kesilip, tartıldı (W_{D1}) ve Petri kabına yerleştirildi. 2.298 g NaCl ve 0.368 g $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 1 litre deiyonize suya ilave edilerek test çözeltisi A hazırlandı. Numunenin ağırlığına göre test çözeltisi A 1:40 oranında Petri kabına ilave edilip inkübatörde 30 dakika 37 ± 1 °C'ye ısıtıldı. Daha sonra inkübatörden filmler çıkarılıp tartıldı. Film, üzerindeki aşırı çözeltinin 30 saniye boyunca damlamasını sağlamak için bir cımbız kullanarak bir köşesinden askıya alındı. Absorbe edilen çözelti kütlesini hesaplamak için film yeniden tartıldı (W_W). Kütle kaybı hesaplamasında eşitlik 3.3 kullanıldı.

$$\text{Kurutma sonrası kütle kaybı (\%)} = \frac{W_{D1} - W_W}{W_W} \times 100 \quad (3.3)$$

3.6.4 Yara örtüsünün su kaybı hızı

Film numuneleri 5 cm x 5 cm boyutunda kesilerek 24 saat 37 ± 1 °C'de inkübatörde kurutuldu. Kuru numunelerin kütlesi, 30 dakika boyunca 37 ± 1 °C'de aşırı bir A çözeltisi hacmine batırılmadan önce belirlendi. Örnekler sıvıdan alındı ve fazla suyu uzaklaştırmak için 30 saniye boyunca bir köşesinden askıya alındı. Petri kaplarına kondu ve 24 saat boyunca 37 ± 1 °C'de bir etüvde tutuldu. Su kaybı oranı eşitlik 3.4 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Su kaybı hızı (g dk}^{-1}\text{)} = \frac{W_W - W_{D2}}{T} \quad (3.4)$$

W_W örneklerin ıslak kütlesi, W_{D2} örneklerin kuru kütlesi, T dakika cinsinden test süresidir.

3.6.5 Yara örtüsünün sıvı ortamda dağılma özelliği

Yara örtüsünün sıvı ortamda dağılma özelliği, BS EN 13726-2: 2001 [65] primer yara örtüleri test yöntemlerine göre belirlendi. 5 cm x 5 cm kesilen film, 250 ml'lik bir behere yerleştirildi ve 50 ml'lik test A çözeltisi ilave edildi. Şişe, bir girdaba neden olmadan 60 saniye boyunca yavaşça döndürülüp, filmin bütünlüğü görsel olarak incelendi. Sonuçlar, standartlara uygun bir dağılma (bütünlüğün bozulması) olup olmadığı şeklinde ifade edildi. Bütün ölçümler en az üç kez yapıldı.

3.6.6 Yara sargısı ortamının pH'ının belirlenmesi

Filmler 1:100 (ağ hacim⁻¹) oranında deiyonize suda askıya alındı, 24 saat oda sıcaklığında tutuldu [59]. WTW-Portable pH metre kullanılarak, filmin suya atılmadan önce ve atıldıktan sonra suyun pH'ı belirlendi. Ölçümler en az üç kez tekrarlandı ve ölçümlerin ortalaması rapor edildi.

3.7 In Vitro Hücre Canlılığı Deneyi

Numunelerin hücre canlılığı üzerindeki etkileri, üreticinin talimatlarına göre WST-1 hücre çoğalma tahlili (Roche, Mannheim, Almanya) ile değerlendirildi. PCS-201-012'de insan dermal fibroblast hücreleri (İDFH), 5×10^3 hücre/oyuk yoğunluğunda 96 oyuklu plakalara ekilip ve hücrelerin bağlanması için 24 saat boyunca %5 CO₂ ile nemlendirilmiş bir atmosferde 37°C'de kültürlendirildi. Daha sonra, ortam uzaklaştırıldı ve 350 µl taze ortam ile dolduruldu. Her bir oyuğa 2 mg örnek yerleştirildi. 24 saat inkübasyondan sonra, ortam ve numuneler çıkarılıp, 100 µL taze kültür ortamı ve 10 µL WST-1 reaktifi ile değiştirildi. Formazan kristallerinin absorbansı bir mikropilaya okuyucu (Molecular Devices, CA, US"111A) kullanılarak 440 nm'de ölçüldü. Numunelerin absorbans değerleri kontrol grubuna göre absorbans yüzdesi olarak sunuldu. Her bir deneyde örneklerin üç kopyaları kullanılıp ve üç bağımsız deney yapıldı. Sonuçlar, tek yönlü varyans analizi (TYVA) ve ardından

SPSS versiyon 13.0 (SPSS, Chicago, IL, ABD) kullanılarak Bonferroni post hoc testi ile analiz edildi.

3.8 *In Vitro* Hücre Kültürü Ve Yara İyileşme Deneyi

Filmlerin yara iyileşmesi üzerindeki etkisi, *in vitro* yara iyileşme deneyi ile değerlendirildi. PCS-201-012 insan dermal fibroblast hücreleri (American Tissue Culture Collection, VA, ABD), %10 fetal sığır serumu (Biochrom, Berlin, Almanya) ve penisilin/streptomisin (PAN Biotech GmbH, Aidenbach, Almanya) ile desteklenmiş DMEM'e (PAN Biotech GmbH, Aidenbach, Almanya) yetiştirildi. Hücreler, 24 oyuklu doku kültürü plakalarına ekildi. Hücreler birleştğinde, hücrelerin tek tabakası bir mikropipet ucu ile çizildi. Daha sonra, 23 mg hidrojel parçaları, kuyucuklardaki 1500 µl ortam içerisine yerleştirildi ve 48 saat süreyle kuluçkalandırıldı. Serbest hücre alanı resimleri(Carl Zeiss, Jena, Almanya), mikroskop ile inkübasyondan önce ve sonra çekildi.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Çalışmada, karşılaştırma grupları da dahil olmak üzere 5 farklı grupta hidrojel film hazırlandı. Bunlar;

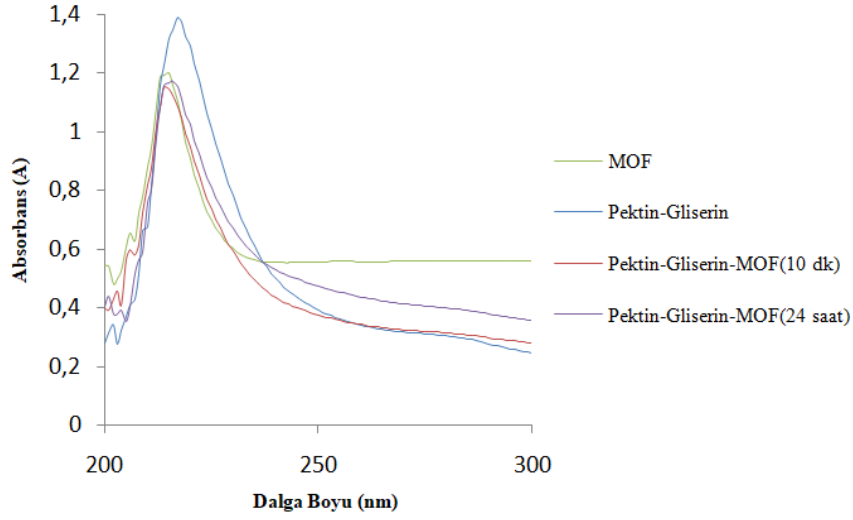
- İlaç yüklü MOF içeren filmler,
- MOF katkılı filmler,
- İlaç ve MOF katkılı filmler,
- İlaç yüklü pektin filmler,
- Pektin film.

Hazırlanmış bu filmlerin karakterizasyonu, yara örtüsü testleri ve ilaç salım özellikleri incelendi. Sonuçlar karşılaştırılarak, MOF'un filmin yapısına, ilaç salımına ve yara örtüsü özelliklerine katkısı incelendi.

4.1 Sentez Etkileşimleri Analizi

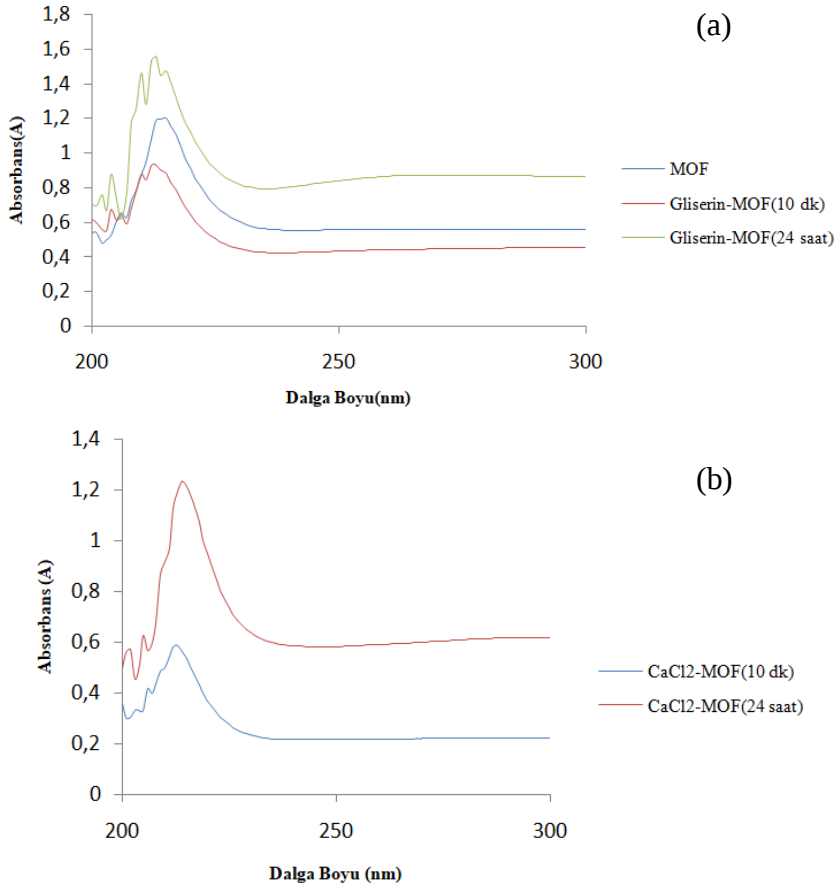
Tez çalışması kapsamında hazırlanan filmler pektin, gliserin, CaCl_2 , MOF ve prokain içermektedir. Bu nedenle öncelikle bileşenlerin birbirleriyle etkileşimleri incelendi. Reaktanlar film hazırlama şartlarında birbirleriyle karşılaştırılıp, belirli süre sonunda UV/Vis spektrofotometre kullanılarak çözeltide değişim olup olmadığı belirlendi.

Şekil 4.1'de; MOF çözeltisinin, pektin-gliserin karışımının hazırlanmasından 10 dakika sonraki, bu karışıma MOF eklendikten sonraki 10.dakika ve 24. saat ölçümleri görülmektedir. Pektin-gliserin ve MOF'un 24 saat boyunca etkileşmesi sonucu çözeltiden alınan örneklerdeki ölçümlerde farklı bir pik belirlenmedi. Bu da yapıda bir bozunma olmadığını göstermektedir. Sadece 216 nm'de pik görüldü, ancak absorbans değeri azaldı. Absorbans değerindeki azalmanın nedeni ortamdaki iyonların etkileşmesi olabilir.



Şekil 4.1: Pektin-gliserin ve MOF etkileşimleri.

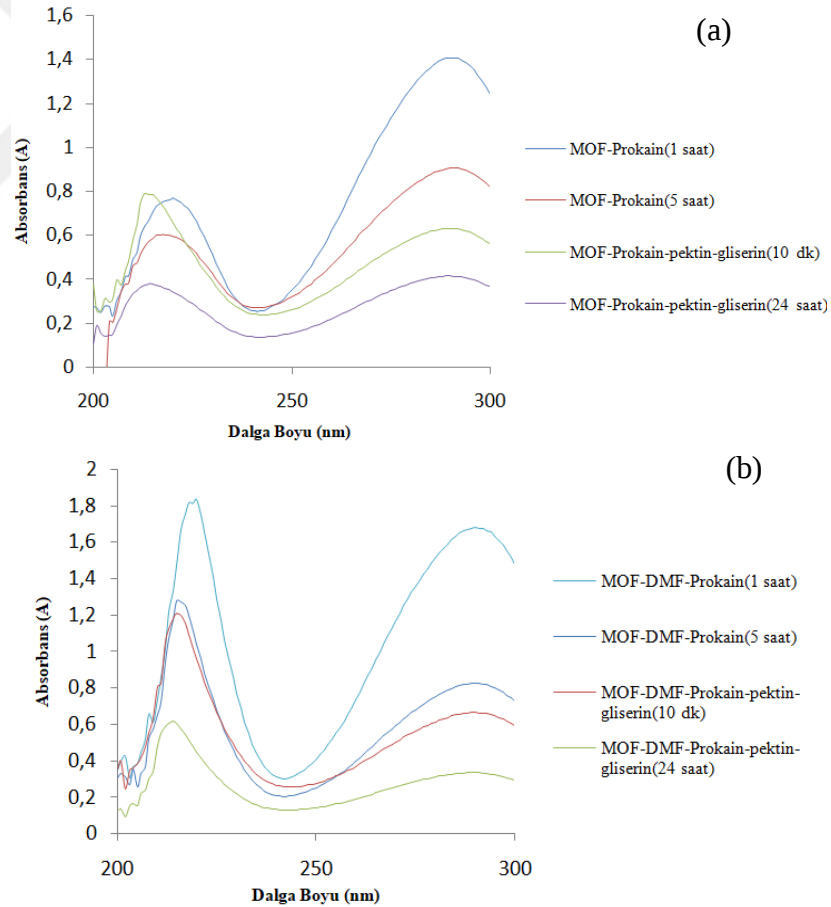
Şekil 4.2(a) gliserin-MOF ve Şekil 4.2(b)'de MOF-CaCl₂ arasındaki etkileşim incelendi. İki sistemde de dalga boyu değerinin aynı kaldığı ve etkileşim olmadığı belirlendi. Gliserin-MOF etkileşiminde absorbans artarken, MOF-CaCl₂ etkileşiminde absorbans azaldı bu azalma iyonların etkileştiğini gösterebilir.



Şekil 4.2: (a) MOF-gliserin etkileşimleri; (b) MOF-CaCl₂ etkileşimleri.

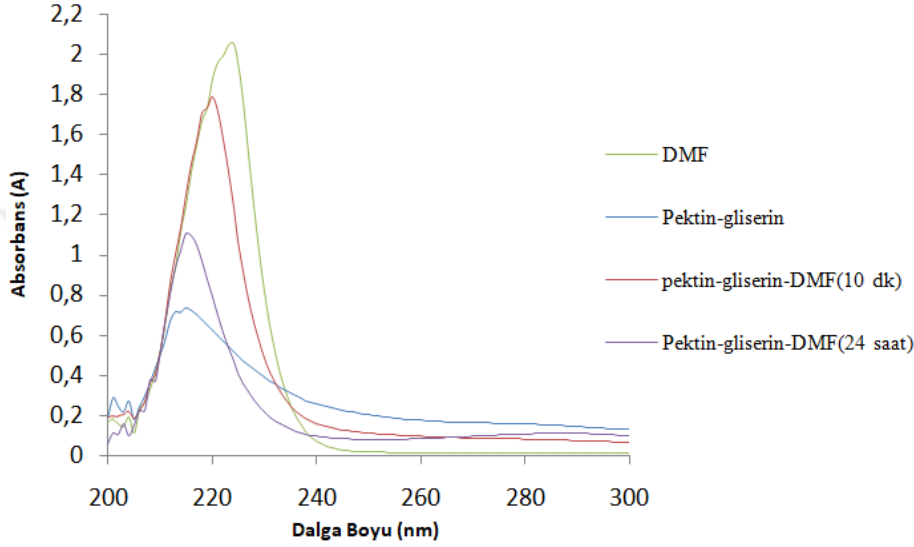
Şekil 4.3(a)'da ilaçlı film sentez aşamasındaki etkileşimleri ve Şekil 4.3(b)'de DMF içeren MOF ile yapılan ilaçlı film sentezi etkileşmelerinin sonuçları verildi. Şekil 4.3(a)'da görüldüğü gibi ilacın spesifik piki olan 289.9 nm'de görülen absorbans değeri etkileşim süresi arttıkça azaldı. Absorbansdaki azalma çözeltideki ilaç konsantrasyonunun azaldığını, sistemimize ilacın yüklendiğini göstermektedir.

MOF üretimi aşamasında DMF kullanılmaktadır. DMF'in tamamen uzaklaştırılmaması ihtimaline karşı DMF'in sentez bileşenleriyle etkileşimi incelendi. Şekil 4.3(a) ve (b) karşılaştırıldığında, MOF-DMF karışımı pektin ile karıştırıldıktan sonra, dalga boyunun bir dereceye kadar kaydığı ve belirli bir süre sonra tepenin tekrar ilaç dalga boyuna geri döndüğü görüldü, sonuç olarak DMF sisteme etki etmedi. Hem DMF içeren hemde içermeyen çözeltilerde, MOF ve prokainin 5 saat karışması sonucu yaklaşık %99 oranında ilaç yüklenmesi gerçekleşti. Bu da sistemimize ilacın başarılı bir şekilde yüklendiğini göstermektedir.



Şekil 4.3: (a) İlaçlı film sentez etkileşimleri; (b) DMF içeren MOF ile ilaçlı film sentezi etkileşimleri.

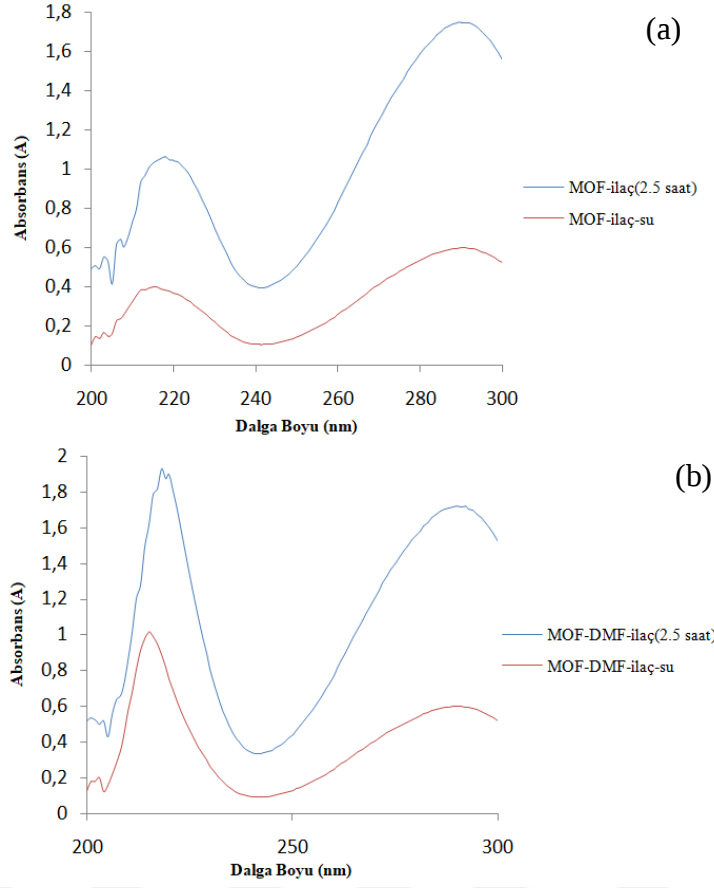
Şekil 4.4’de pektin-gliserin-DMF etkileşimi çalışmasının sonucu görülmektedir. DMF, pektin-gliserin ve pektin-gliserin-DMF’in ölçümleri alındı. Pektin-gliserin çözeltisine DMF’in eklenmesi çözeltiden elde edilen pikin dalga boyunu değiştirdi ve absorbansını arttırdı. 10. dakikadaki absorbansa göre, 24 saat sonunda alınan ölçümde etkileşimlerden dolayı pikin absorbansının azaldığı ve DMF miktarının pektin-gliserin miktarına göre çok az olmasına rağmen çözelti pikine etki ettiği ancak çözeltinin pektin-gliserin pikine daha yakın bir dalga boyunda pik verdiği görüldü.



Şekil 4.4: Pektin-gliserin-DMF etkileşimleri.

Şekil 4.5(a)’da MOF-ilaç ve Şekil 4.5(b)’de MOF-DMF-ilaç pektin-gliserin içeriğindeki su miktarı kadar su içeren ortamdaki etkileşiminden elde edilen veriler görülmektedir. Genel olarak, DMF sistem pikinin en yüksek olduğu absorbans değerini ve tepe genişliğini değiştirdi. Ancak sistem 24 saat sonra başlangıç dalga boyu değerine geldi. Sonuç olarak, DMF, ilaç yüklenmesini ve sistemin dalga boyunu değiştirmedir.

Pektin-gliserin çözeltisi ile MOF-ilaç etkileşimini incelemek için Şekil 4.3(a) ve Şekil 4.5(a) karşılaştırıldı. Şekil 4.3(a)’da pektin-gliserin-MOF-ilaç karışımı etkileşimi, 4.5(a)’da MOF-ilacın pektin-gliserin içeriğindeki su miktarı kadar su ile karıştırıldığı durumdaki etkileşimi gösterildi. İki sistemin karşılaştırılması sonucunda, pik kayması gözlenmedi. Yani, pektin-gliserin yapısı MOF-ilaç karışımında herhangi bir bozunmaya neden olmadı.



Şekil 4.5: (a) MOF-ilaç karışımı; (b) MOF-ilaç-DMF karışımı etkileşimleri.

4.2 Filmlerin Karakterizasyonu

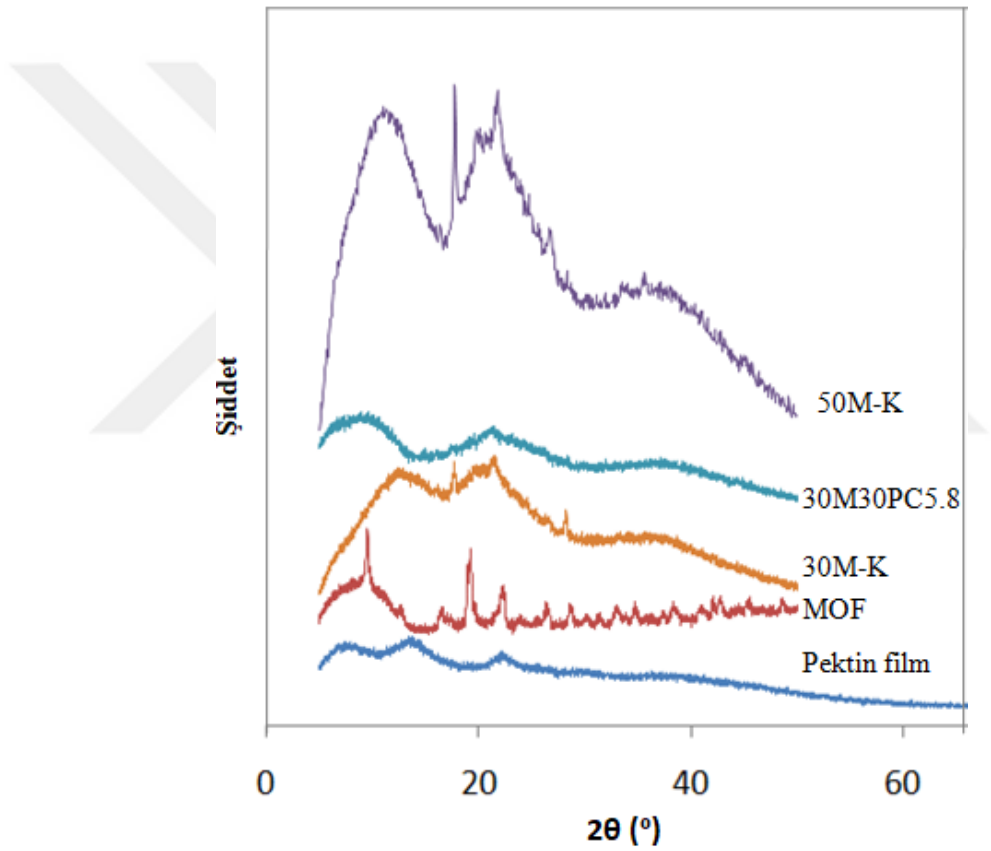
4.2.1 FTIR analizi

Şekil 4.6’da verilen FTIR spektrumları, pektin, MOF ve ilaç etkileşimlerini incelemek için analiz edildi. Saf pektine ait spektrumda 3383 cm^{-1} , 2928 cm^{-1} ve 1748 cm^{-1} ’de pik görülmektedir. Literatürde, pektin yapısındaki O-H bağlarının gerilme titreşimlerinden dolayı 3366 cm^{-1} civarında geniş bir absorblama bandı, 2931 cm^{-1} ’de karakteristik -CH alifatik gerilme bandı ve 1734 cm^{-1} asimetrik karboksilat iyonları titreşimlerine ait pikler verilmektedir [1].

MOF’a ait spektrumda 1394 cm^{-1} , 1505 cm^{-1} ve 1602 cm^{-1} , 748 cm^{-1} ’de pik görülmektedir. 1394 cm^{-1} ’de ki simetrik gerilme bandı ile 1506 cm^{-1} ve 1681 cm^{-1} ’de asimetrik gerilme bantları, MOF yapısında bulunan karboksil gruplarının karakteristik tepe noktalarını göstermektedir. 748 cm^{-1} ’deki tepe noktası, benzen halkasındaki C-H gruplarının düzlem dışı eğilme titreşimine atanmaktadır [66].

4.2.2 XRD analizi

Şekil 4.7’de,pektin film, MOF, MOF katkılı pektin film ve ilaç yüklü MOF içeren hidrojelin XRD deseni gösterilmektedir. Pektin film, yaklaşık 9°, 15°ve 40°’de pik verirken amorf yapıda olduğu belirlendi. Literatürde belirtildiği gibi, MIL-101(Fe)’in 10° ve 20°’de karakteristik pikleri görülmektedir [45]. MIL-101(Fe) XRD desenleri, MOF’lu pektin filminin XRD spektrumunda gözlemlendi. Bu, MOF partiküllerinin pektin matrisine gömülmüş olsalar bile kristallik özelliklerini koruduğunu kanıtlamaktadır. MOF’un ve ilacın spesifik XRD desenleri filme ait XRD desenlerinde görüldü. Filmin içerdiği MOF miktarı arttıkça kristalinite arttı.



Şekil 4.7: Pektin, MOF,30M-K ve 50M-K (pH 5.8), 30M30PC5.8’in XRD desenleri.

4.2.3 DSC analizi

Sentezlenen pektin, MOF katkılı pektin ve ilaç yüklü MOF içeren filmlerin DSC verilerinden elde edilen camsı geçiş sıcaklığı (T_g) ve erime sıcaklığı (T_m) Çizelge 4.1’de gösterilmektedir. Pektinin T_g değeri 45.1°C’dir. MOF’uneklenmesi, filmin T_g değerini arttırdığı belirlendi. İlaç yüklü MOF içeren pektin film ise en yüksek T_g değerine sahiptir. İlaç eklenmesi T_m değerini düşürdü, en düşük erime sıcaklığının

30M30PC5.8'e ait olduğu belirlendi. En yüksek T_m değeri 30M-K'da görülmüştür. Bu numunenin farkı diğer bölümlerde incelenecektir.

Çizelge 4.1: Hidrojel filmlerin T_g ve T_m değerleri.

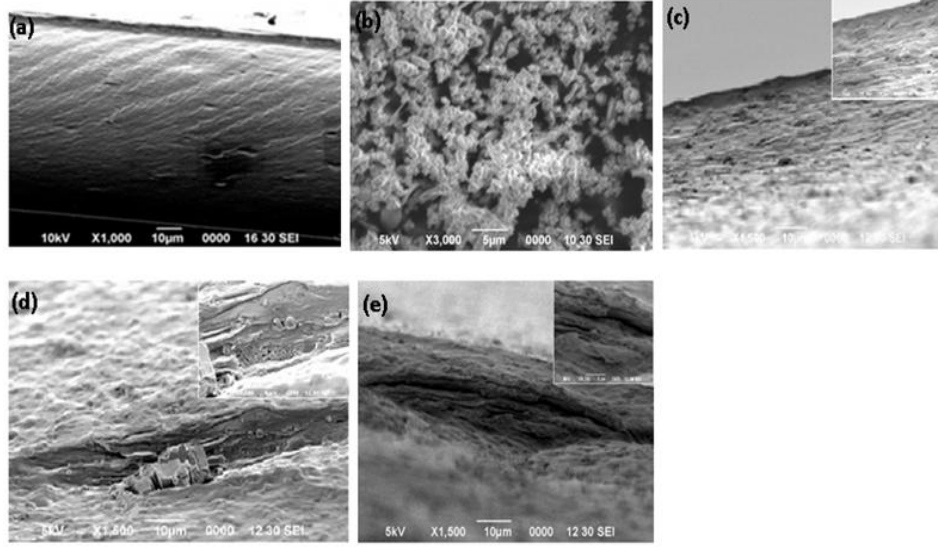
	T_g (°C)	T_m (°C)
Pektin	45.1	219.8
30M-K	69.4	221.3
50M-K	69.9	220.1
30M30PC5.8	85.9	212.1

Ek-B'de sentezlenen tüm filmlerin DSC eğrileri ayrı ayrı verilmiştir.

4.2.4 SEM analizi

Film kesitlerinin SEM görüntüleri Şekil 4.8'de görülmektedir. Şekil 4.8(a), pektin filmin pürüzsüz yapısını göstermektedir. Bu örnekte ~ 4 μm çapında elips şeklinde gözenekler belirlendi. Şekil 4.8(b)'de MOF oktohedral yapısı gösterilmektedir. Pektin matrisine MOF partiküllerinin eklenmesiyle, MOF partikülleri ve genişlemiş gözenekler Şekil 4.8(c) ve (d)'de görülmektedir. Bu karakterizasyon verilerinden MIL-101(Fe)'in pektin matrisine başarıyla dahil olduğu gösterildi. Şekil 4.8(d) sağ üst kısımda verilen ufak görüntüde MOF'un spesifik oktohedral yapısı açıkça görülmektedir. Şekil 4.8(e)'de ilaç yüklü MOF içeren pektin filmin SEM görüntüsü ve genişlemiş yumurta kutusu modeli gösterilmektedir.

MOF'un pektin filme eklenmesi, sıvı birikimini ve ilaç salımını destekleyebilecek daha gözenekli bir yapı oluşturdu. Sıvı birikimini sağlaması, yara örtüsünün yara eksüdasını emmesini ve yara iyileşmesi için daha uygun şartların oluşmasını sağlayabilir.

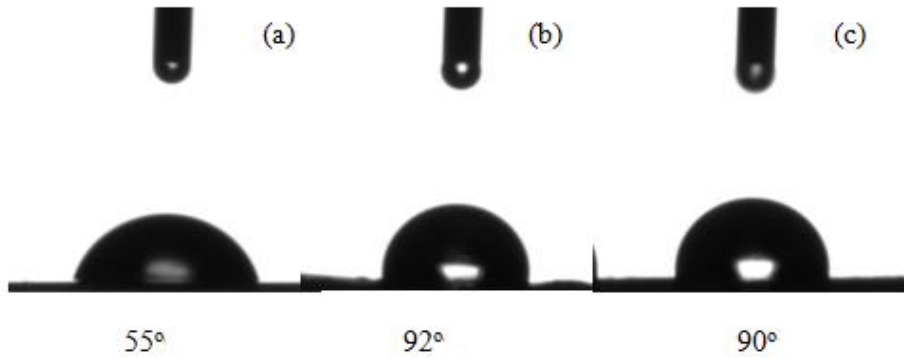


Şekil 4.8: SEM görüntüleri: (a) Pektin film; (b) MOF; (c) 30M-K; (d) 50M-K; (e) 30M30PC5.8.

4.2.5 Temas açısı analizi

Pektin film ve pektin-MOF filmlerin su ile ıslanma özellikleri, temas açıları ölçülerek doğrudan görüntü analizi ile belirlendi (Şekil 4.9) ve pektin-MOF hidrojel filmlerindeki MOF konsantrasyonunun temas açıları üzerindeki etkisi değerlendirildi. Hazırlanmış olan pektin film ile MOF katkılı (pH 5.8) filmler karşılaştırıldı.

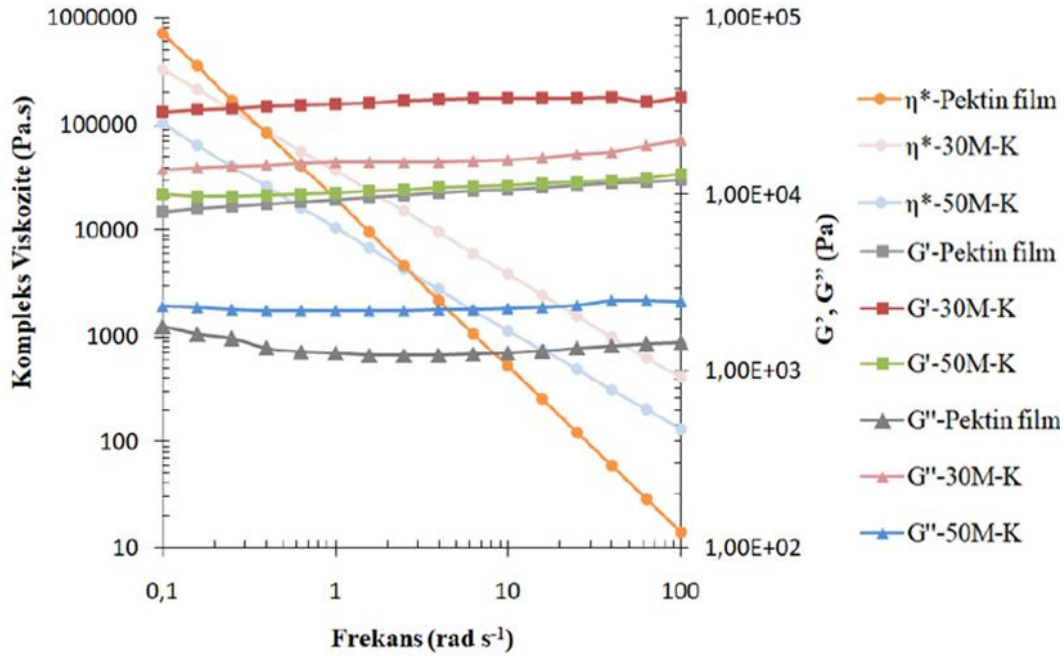
Beklenildiği gibi, MOF partikülleri pektin filminin temas açısı değerini önemli ölçüde arttırdı. Pektin filmin su ile temas açısı 55° iken MOF eklenmesi filmin su ile temas açısını $90-92^\circ$ 'ye yükseltti. MOF miktarının artırılması filmin temas açısını önemli derecede arttırmadı. Şekil 4.9'da görüldüğü üzere hidrofilik pektin filme, MOF ilave edilmesi sonucu hidrofobik filmler elde edildi.



Şekil 4.9: Filmlerin temas açısı ölçümleri: (a) Pektin film, (b) 30M-K, (c) 50M-K.

4.2.6 Reolojik analiz

Şekil 4.10'da DM pektin-MOF ıslak hidrojenlerinin küçük deformasyon osilatör ölçümünün sonuçlarını görülmektedir. η^* kompleks vizkoziteyi, G' depolama modülünü ve G'' kayıp modülünü göstermektedir. pH 5.8'de hazırlanan 30 mg MOF ve 50 mg MOF katkılı DM pektin hidrojenleri ve pektin hidrojeninin kompleks viskozitesi frekansın bir fonksiyonu olarak gösterilmektedir. Şekil 4.10'da 30 mg MOF içeren DM pektin hidrojel ve 50 mg MOF içeren DM pektin hidrojeninin kompleks viskozitenin, frekansla doğrusal olarak azaldığı görülmektedir. Bu nedenle, DM pektin ve MOF içeren DM pektin hidrojenlerin elastik davranışı başlıca DM pektin, MOF ve CaCl_2 arasındaki elektrostatik etkileşimlerden etkilenir [67].



Şekil 4.10: DM pektin-MOF ıslak hidrojenlerinin osilasyon analizi.

Tüm çapraz bağlanmış hidrojel örneklerinin G' ve G'' değerlerinin frekans artışı ile arttığı ve G' değerlerinin, G'' değerlerinden önemli ölçüde yüksek olduğu tespit edildi. Bu bulgu jel benzeri bir yapının oluşumunu göstermektedir [68].

Kayıp modülünün depolama modülüne oranı olan tan delta değeri hesaplanmıştır. 50M-K filminin tan delta değeri 30M-K filminden daha düşüktür. Bunun nedeni, eşit süre sonunda 50M-K filmi 30M-K filmine göre daha çok şişmiş ve zincirler arasına daha çok su molekülü girip mukavemeti azaltmıştır. Bu nedenle 50M-K daha elastik bir davranış göstermiştir.

Düşük G' değerine sahip DM pektin hidrojel [67], MOF katkılı filmlerden daha zayıftır. Test edilen örnekler arasında gözlenen farklılıklar, MOF ilavesinin DM pektin hidrojelinin mekanik özelliklerini arttırdığını kanıtlamıştır.

4.2.7 Filmlerin su tutma analizi

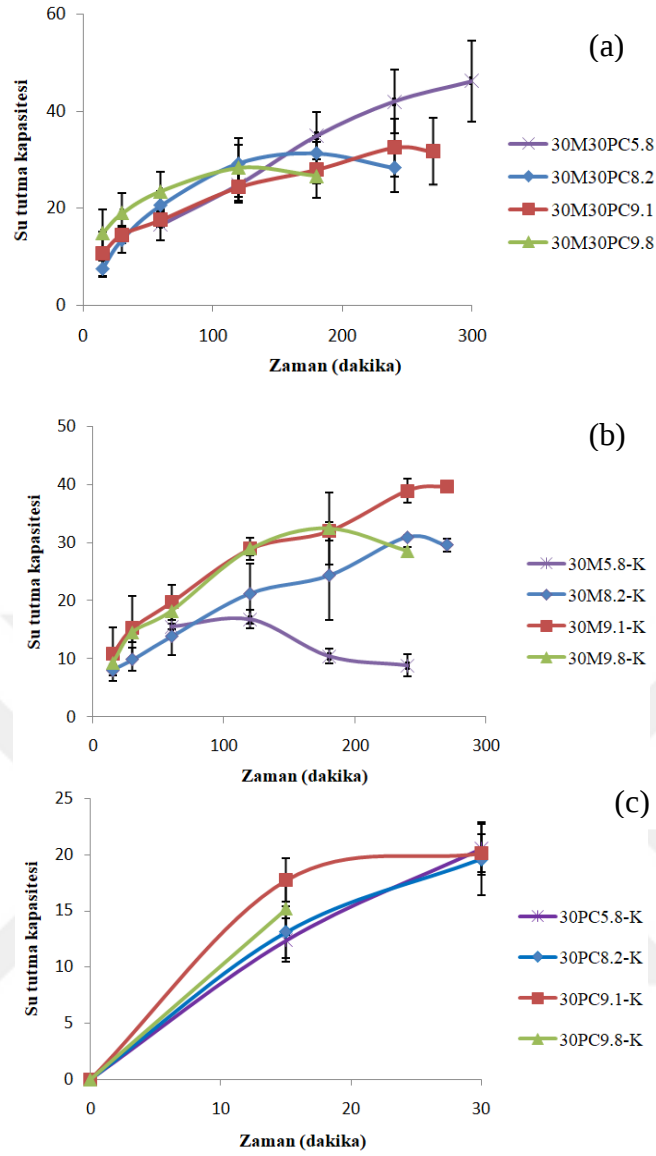
Hidrojeller, suyun nüfuz etmesine izin veren ve suyla şişen hidrofilik yapılardır [10]. Şekil 4.11’de MOF’lu pektin filmin şişmiş hali gösterilmektedir.



Şekil 4.11: Şu tutmuş MOF içeren pektin film.

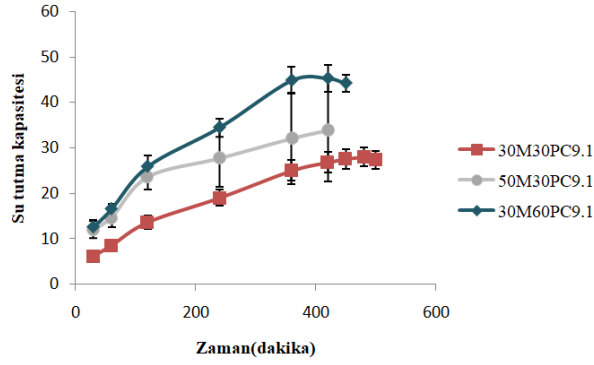
Şekil 4.12 (a)’da farklı pH’da ilaç yüklenmiş MOF içeren pektin filmlerin, Şekil 4.12 (b)’de karşılaştırma örneği olarak farklı pH’da hazırlanmış MOF içeren pektin filmlerin ve Şekil 4.12 (c)’de karşılaştırma örneği olarak farklı pH’da ilaç yüklenmiş pektin filmlerin su tutma kapasiteleri gösterilmektedir. İlaç yüklü MOF içeren pektin filmlerde en yüksek su tutma kapasitesi düşük pH’da görülürken, sadece MOF içeren pektin filmlerde düşük pH’da en düşük su tutma kapasitesi görüldü. 30M30PC5.8 filmi yaklaşık %50 su tutarken, 30M5.8-K filmi yaklaşık %15 su tuttu. İlaç eklenmesi sistemin pH’a karşı farklı su tutma özelliği göstermesine neden oldu.

MOF içermeyen ilaç yüklü pektin filmler çok kısa sürede bozundu. Bu nedenle su tutabilme davranışları ancak 30 dakikaya kadar incelenebildi. pH 9.8’de hazırlanan ilaç yüklü pektin film ise çok daha kısa bir sürede parçalandı. Şekil 4.12(a)’da ilaç yüklenmiş MOF içeren pektin filmlerin daha uzun sürede bozunmadan kaldığı ve daha çok su tuttuğu gözlenirken, Şekil 4.12(c)’de MOF içermeyen ilaç yüklü pektin filmlerin daha kısa sürede bozunduğu ve daha az su tuttuğu görüldü. Bu sonuçlara göre, geniş yüzey alanlarına sahip MOF partiküllerinin filme eklenmesiyle filmlerin su tutma kapasitesinin arttığı ve MOF’un pektinin mekanik özelliklerini arttırdığı söylenebilir.



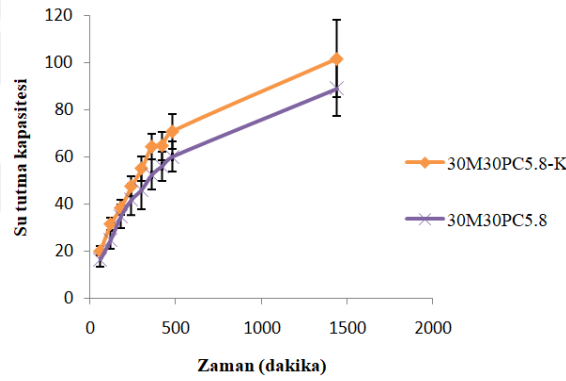
Şekil 4.12: (a) Farklı pH'da ilaç yüklenmiş MOF içeren pektin filmlerin su tutma kapasitesi; (b) Farklı pH'da hazırlanmış MOF içeren pektin filmlerin su tutma kapasitesi; (c) Farklı pH'da ilaç yüklenmiş pektin filmlerin su tutma kapasitesi.

Şekil 4.13'de farklı miktarlarda ilaç yüklü MOF içeren pektin filmlerin su tutma kapasiteleri gösterilmektedir. MOF miktarının artırılmasının filmin su tutma davranışına etkisini belirlemek için pH 9.1'de, 30 mg prokain yüklenmiş MOF'dan, 30 mg g⁻¹ film ve 50 mg g⁻¹ film olmak üzere eklendi. Şekil 4.13'de görüldüğü gibi 50 mg MOF içeren film, 30mg MOF içeren filme göre daha çok su tuttu, ancak yaklaşık 100 dakika daha erken parçalandı. Daha hızlı su tutan filmlerde bozunma daha erken görülmektedir. Bu nedenle 30 mg ilaç yüklenmiş filme göre 50 mg MOF içeren pektin film daha çok su tuttu ancak daha çabuk bozundu.



Şekil 4.13: Farklı miktarlarda MOF içeren pektin filmlerin su tutma kapasitesi.

Şekil 4.14’de ilaç yüklü MOF ve MOF katkılı ilaç yüklü filmlerin şişme oranları verilmektedir. İlaç yüklü MOF içeren film ile MOF katkılı ilaç yüklü karşılaştırma filminin standart sapmaları dikkate alındığında; şişme miktarları aynı seviyededir. Yani MOF’a ilaç yükleme ile MOF ve ilacın aynı anda sisteme katılması arasında filmin şişmesi açısından farklılık görülmedi.

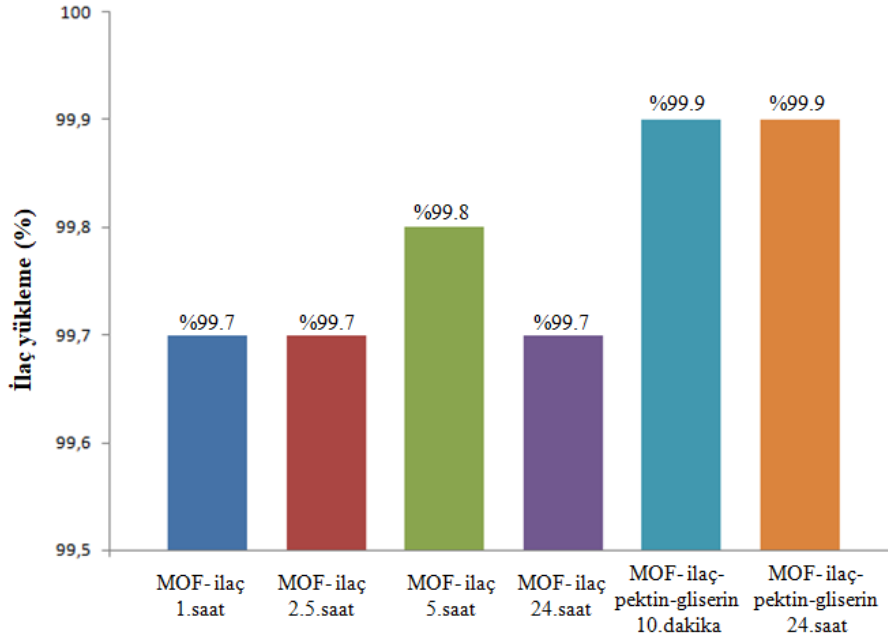


Şekil 4.14: İlaç yüklü MOF (30M30PC5.8) ve MOF katkılı ilaç yüklü karşılaştırma (30M30PC5.8-K) filmlerinin su tutma kapasitesi.

4.3 Filmlerden *In Vitro* İlaç Yükleme ve Salımı

30 mg ilacın pH 5.8’de 30 mg MOF partikülüne 24 saat boyunca yüklenmesi ve ilacın MOF’a 5 saat yüklendikten sonra pektin-gliserin ile birleştirilmesi sonucundaki ilaç yüklenme yüzdeleri Şekil 4.15’de görülmektedir. 1 saatin sonunda çözeltideki ilacın %99.7’si MOF partiküllerine yüklendi ve 24 saat içinde ilaç MOF yapısından ayrılmadı.

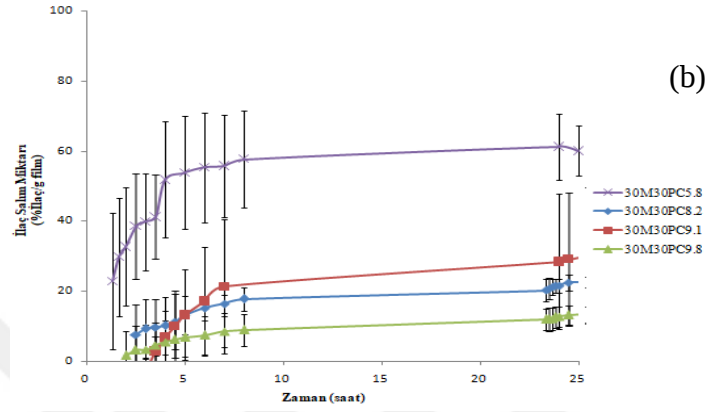
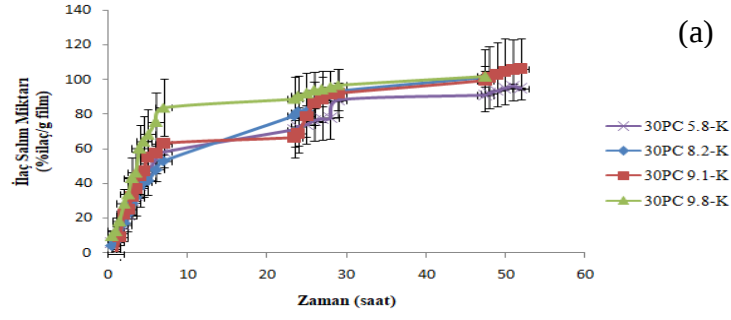
Sentez sırasında MOF-ilac-pektin-gliserin karışımı 24 saat boyunca karıştırıldığından dolayı, bu süre içerisinde yüklenen ilaç miktarındaki farklılığı incelemek için pektin-gliserin-MOF-ilac karışımının 10. dakika ve 24. saat ölçümleri alındı ve sisteme %99 oranında ilaç yüklendiği belirlendi.



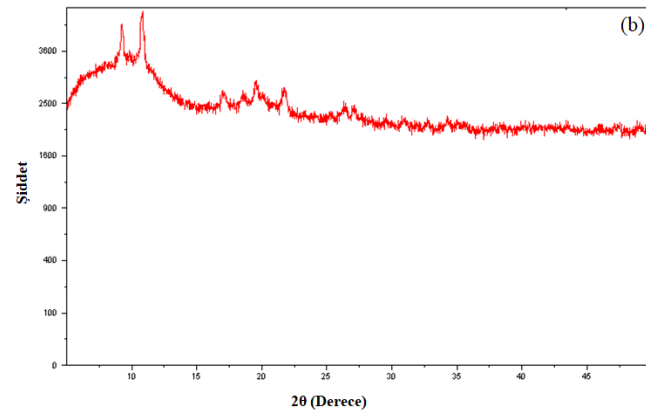
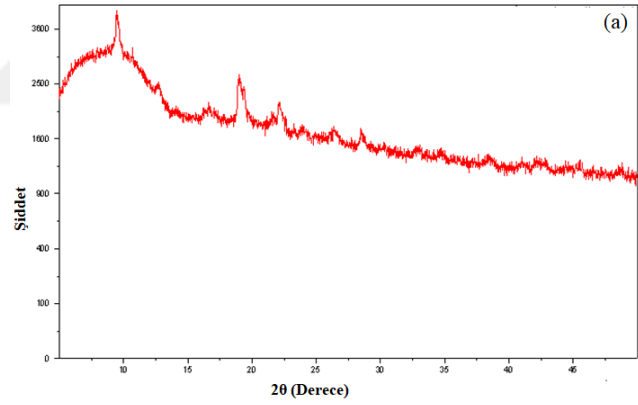
Şekil 4.15: Filmlere ilaç yükleme.

Filmler, farklı pH değerlerinde ilaç yüklenerek sentezlendi. İlaç salımında MOF'un etkisinin belirlenebilmesi için MOF içermeyen ilaçlı pektin filmler karşılaştırma örneği olarak hazırlandı. Her verinin standart sapmaları, grafiklerde hata çubukları kullanılarak verildi. Şekil 4.16(a) ilaç yüklü pektin filmlerin ve Şekil 4.16(b) ilaç yüklü MOF içeren pektin filmlerinin ilaç salımı miktarını göstermektedir. İlaç yüklü pektin filmlerde, ilaç yüklü MOF içeren pektin filmlere göre daha yüksek ilaç salımı gözlemlendi. İki grup, değişen pH'a göre ters ilaç salım eğilimi gösterdi. İlaç yüklü pektin filmi, yüksek pH'da daha yüksek ilaç salımı gösterse de, MOF içeren filmler ters bir profil göstermektedir. Bu fark, asidik ortamda MOF'ta bulunan demir iyonlarının ayrılmasıyla yapıdaki bozunmayla açıklanabilir [49].

Bu yorumu desteklemek için MOF partikülleri 24 saat pH 5.8 ortamında karıştırıldı ve XRD analizi yapıldı (Şekil 4.17). Asidik ortamda bekletilen MOF'ların XRD desenlerinde 8° ve 12° 'de pik belirdiği görüldü. XRD analizi sonucunda MOF'un yapısındaki bozunma görülmektedir. Bu bozunma nedeniyle, ilaç yüklü MOF içeren filmlerde düşük pH'da daha fazla ilaç salımı gözlemlendi.



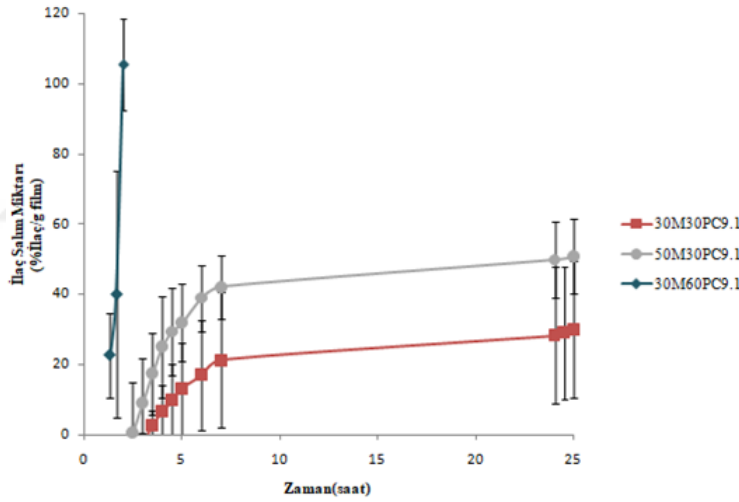
Şekil 4.16: (a) Farklı pH’da ilaç yüklenmiş pektin filmlerin ilaç salım miktarı; (b) farklı pH’da ilaç yüklenmiş MOF içeren pektin filmlerin ilaç salım miktarı.



Şekil 4.17: (a) Sentez sonrası MOF’un XRD deseni; (b) 24 saat pH 5.8 ortamında karıştırılmış MOF’un XRD deseni.

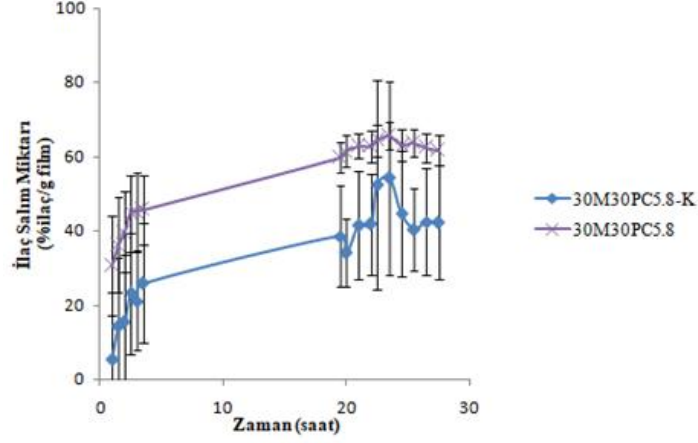
Karşılaştırma örneği olarak sentezlenen ilaç yüklü pektin filmlerinde en düşük salım pH 5.8'de olduğu görüldü. Bunun nedeni, artan pH ile pektin pKa değerinin üzerine çıkılması ve böylece çapraz bağlanmayı kolaylaştırarak metil ester olmayan karboksil gruplarının tamamen iyonlaşmasının sağlanmasıdır. Ralet ve arkadaşları bir çözeltinin pH'ının pektinin pKa değerinin üzerinde olduğu durumlarda daha fazla yük olduğunu bildirmiştir [31]. MOF içermeyen pektin matrislerinin daha hızlı ilaç salımı yapmasının nedeni MOF partiküllerinin kafes yapısından ilacın çıkmasının daha zor olmasıdır.

Şekil 4.18, farklı MOF ve ilaç miktarlarında sentezlenen filmlerin ilaç salım davranışlarını göstermektedir. 60 mg ilaç yüklü filmde ani ilaç salınımı gözlemlendi. Ani salınımın nedeni MOF'un ilaç yükleme kapasitesi ile ilgili olabilir. İlaç miktarları aynı farklı MOF miktarıyla sentezlenen 50M30PC9.1 ve 30M30PC9.1 kodlu filmlerin ilaç salım davranışı aynıdır.



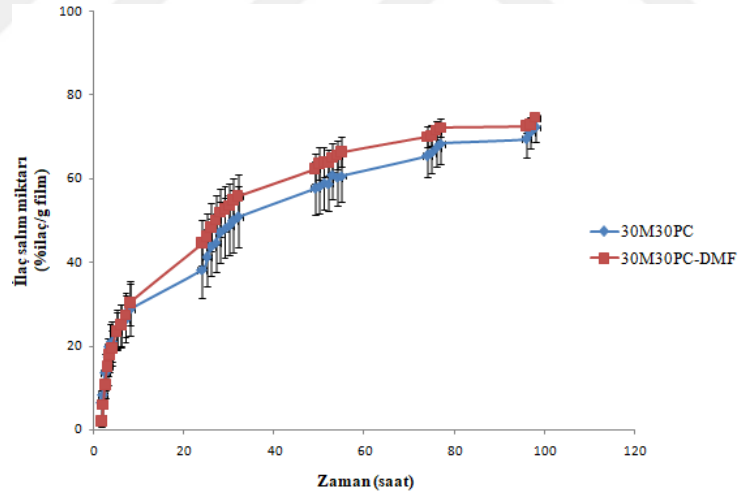
Şekil 4.18: Farklı MOF ve ilaç miktarlarında sentezlenen filmlerin ilaç salım miktarı.

Şekil 4.19, pH 5.8'de ilaç yüklü MOF içeren ve karşılaştırma örneği olarak hazırlanan MOF/ilaç yüklü filmlerin ilaç salımı gösterilmektedir. İlaç ve MOF'un aynı anda pektin-gliserin karışımına eklendiği karşılaştırma filmleri daha az miktarda ilaç salımı gösterirken, MOF'a ilaç yüklenerek hazırlanmış olan filmlerde daha kontrollü ilaç salınımı olmaktadır. Bu sonuca göre, MOF'a ilaç yüklenerek hazırlanmış filmlerin ilaç salımı için daha uygun olduğu belirlendi. 30M30PC5.8-K filmleri, 30M30PC5.8 filmlerinden daha fazla şişti ancak daha az ilaç salımı gerçekleştirdi.



Şekil 4.19: MOF katkılı ilaç yüklü (30M30PC5.8-K) ve ilaç yüklü MOF içeren (30M30PC5.8) filmlerin ilaç salımı.

Şekil 4.20’de pH 5.8’de DMF içeren MOF’a ilaç yüklenerek sentezlenmiş filmler ile MOF’lu filmlerin ilaç salımı verildi. DMF ile karıştırılmış MOF’lar ile gerçekleştirilen sentezde elde edilen filmlerin, DMF içermeyen MOF ile sentezlenen filmlerle eşit miktarda ilaç salınımı yaptığı söylenebilir. Bu sonuca göre DMF’in ilaç salınımı üzerinde bir etkisinin olmadığı söylenebilmektedir .



Şekil 4.20: DMF içeren MOF ile sentezlenmiş filmler ile DMF içermeyen MOF’lu filmlerin ilaç salımı.

4.4 Filmlerin *In Vitro* Yara Örtüsü Karakterizasyonu

Filmlerin *in vitro* karakterizasyonları, MOF’un yara örtüsü özelliklerine katkısını göstermek için 30 mg MOF katkılı pektin film (30M-K) ve 50 mg MOF katkılı pektin film (50M-K) pH 5.8’de ilaçsız olarak hazırlandı. Bu hidrojel filmlerin özellikleri, ticari bir ürün olan Kaltostat aljinat kalsiyum sodyum sargısı ile

karşılaştırıldı. Kaltostat, kimyasal yapısı DM pektin bazlı hidrojellere çok benzer olduğu için karşılaştırma örneği olarak seçildi. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.2’de görülmektedir.

30M-Kve 50M-K filmlerinin, en küçük çaplı (2 mm) silindir ile büküldükten sonra çatlamadıkları görüldü. Bu sonuca göre bu örneklerin yara iyileşmesi uygulaması için oldukça esnek olduğu sonucuna ulaşıldı.

Çizelge 4.2: Filmlerin, yara sargı malzemeleri olarak *in vitro* karakterizasyonu.

Test	30M-K	50M-K	Kaltostat ^a
Shore A sertlik	73	- ^b	Veri yok
Esneklik ^c (mm)	2	2	Veri yok
Su tutma (g g ⁻¹)	8.61±0.45	- ^b	18.44±1.30
Dehidrasyon hızı x 10 ⁴ (g dak ⁻¹)	13.5±3	- ^b	350 ^d
Dispersiyon karakteri	Dağılma yok	Dağılma yok	Dağılma var
Çözelti pH’ı:			
3 saat sonra	5.73	6.06	6.00 ^d
24 saat sonra	5.7	5.77	6.08 ^d
Birim alandaki ağırlık (g m ⁻²)	198±7	- ^b	148±4.2
Kalınlık (mm)	0.125±0.03	0.159±0.013	2.00

^a: Kaynak 59

^b: Ölçülmedi.

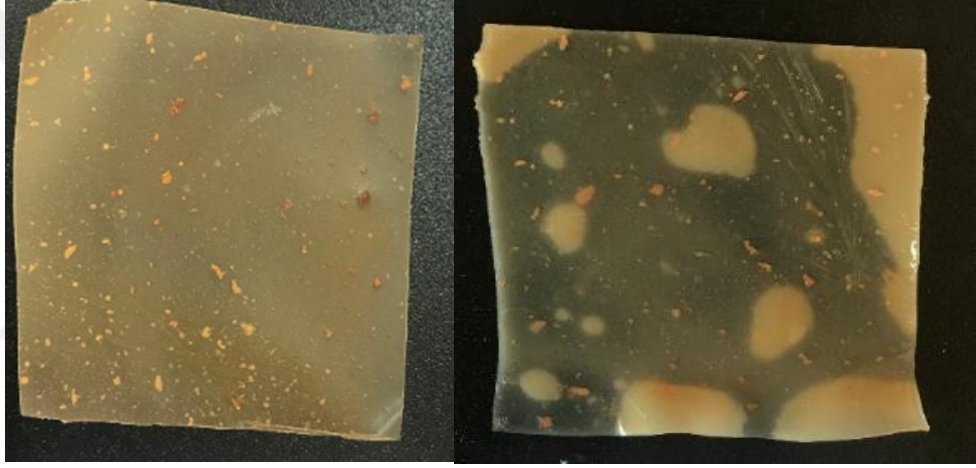
^c: filmde kırılma oluşturmayan silindirin çapı

^d: Veriler ilgili grafiklerden elde edilmiştir.

Optimum bir film sargısı 2.3 g g⁻¹ su emilimine sahiptir [69]. 30M-Kfilmlerin su tutma kapasitelerinin Kaltostat^aa göre daha düşük olduğu ancak optimum bir film sargısından daha yüksek olduğu belirlendi. Ayrıca, filmlerin yara iyileşmesinde

uygulanabilirliğini desteklemek için dehidrasyon hızı incelendi. Örneklerimizin dehidrasyon hızı ve sıvı tutma kapasitesi birlikte değerlendirildiğinde, sentezlenen pektin-MOF filmler, Kaltostat^aa göre daha az su tutarken, filmde suyun dehidrasyon hızı da düşük olmaktadır. Bu sonuç pektin-MOF filmin daha nemli ortam sağlayacağını göstermektedir. Bu da yara iyileşmesi için bir avantajdır.

Yara ortamında yara sıvısıyla etkileşime girdiklerinde mekanik davranışlarını belirlemek için filmler tuzlu su ortamında bekletildi ve parçalanma özelliği incelendi. Kaltostat^a şeklini koruyamazken, Şekil 4.21’de görüldüğü gibi pektin temelli film deforme olmadan bütünlüğünü korudu. Bu sonuç, yara tedavisi sırasında filmlerin ağrısız bir sökme işlemi gerçekleştirilmesi için bütünlüklerini koruyabileceklerini göstermektedir.



Şekil 4.21: (a) 30M-K kuru film; (b) 30M-K ıslak film dispersiyon karakteri.

Yara ortamı başlangıçta baziktir. Yara iyileşmeye başladıkça, pH değeri önce nötr ve daha sonra asidik hale gelir [59]. Çizelge 4.2’de görüleceği gibi 30M-K ve 50M-K örnekleri, ticari ürün Kaltostat^a ile karşılaştırıldığında, yara bölgesi için bakterilere karşı bir engel görevi görebilecek daha asidik bir ortam sağladı.

Şekil 4.22’de gösterildiği gibi hazırlanılan su buharı geçirgenliği testi sonucunda filmlerin su buharı geçirgenliği $3290 \pm 83 \text{ g m}^{-2} \text{ gün}^{-1}$ olarak elde edilmiştir. İdeal bir yara örtüsü, su buharını optimum seviyede tutmalıdır. Aynı zamanda, yara örtüleri, eksüdadan aşırı su buharı çıkmasını önlemelidir. Filmlerin yara iyileşmesi için gerekli olan nemli ortamı sağladığı söylenebilir.

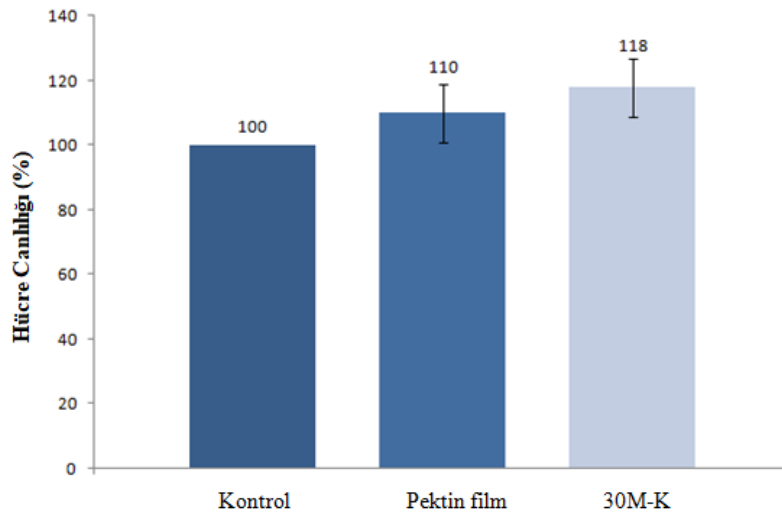


Şekil 4.22: Su buharı geçirgenliği testi.

Çizelge 4.2’de görüldüğü gibifilmlerin kalınlığının, rahat yara örtüsü materyali olan ticari sargınınkinden ~16 kat daha düşük olduğu belirlendi. Şeffaf ve ince olan pektin temelli filmler, yara iyileşmesinin yara örtüsü altından rahatça gözlemlenebilmesini sağlayacaktır.

4.5 *In Vitro* Hücre Canlılığı Sonuçları

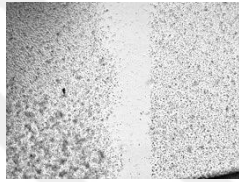
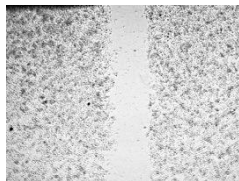
Pektin ve pektin-MOF filmlerinin hücre uyumluluğu, insan dermal fibroblast hücreleri kullanılarak WST-1 hücre çoğalması deneyi ile değerlendirildi. WST-1 testinin sonuçları Şekil 4.23’de görülmektedir. DM-pektin film ve DM-pektin-MOF filmi, kontrol grubuna kıyasla daha az sitotoksosite gösterdi. WST-1 testi (fibroblast hücreleri) ile yapılan hücre canlılığı analizinde, pektin filmi hücre sayısını 110’a yükseltirken, MIL-101(Fe) içeren pektin film hücre sayısını 118’e yükseltti. Bu sonuç MOF’un hücre sayısını arttırdığını göstermektedir.



Şekil 4.23: WST-1 testi.

4.6 In Vitro Yara İyileşme Modeli Analizi

30M-K ve 50M-K filmlerin fibroblast hücreleri üzerindeki yara iyileşme etkisini araştırmak için *in vitro* yara iyileşmesi çalışması yapıldı, sonuçlar Şekil 4.24’de görülmektedir. 24 saat sonra yapılan incelemede, filmlerdeki geri kazanılmış alanların genişliklerinin kontrol grubuyla aynı olduğu gözlemlendi. Bu da, filmlerin toksik olmadığını ve fibroblast hücrelerinin göç kabiliyetini değiştirmedığını göstermektedir.

	0 saat	24 saat
Kontrol		
30M-K		
50M-K		

Şekil 4.24: 30M-K ve 50M-K yara iyileşme deneyi.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, ilaç yüklü MOF içeren pektin filmleri ilaç salım sistemi olarak hazırlandı, karakterize edildi ve performansı belirlendi. Prokain, model ilaç olarak seçildi. Film sentezi, ilacın farklı pH'larda (5.8, 8.2, 9.1 ve 9.8) MOF'a yüklenmesi ve MOF-ilacın karışımının pektin-gliserin ile karıştırılmasıyla sentezlendi. MOF'un ilaç salımına, filmin yapısına ve yara örtüsü özelliklerine etkisini belirlemek için karşılaştırma filmleri hazırlandı.

Sentezlenen ilaç yüklü MOF-pektin filmlerin FTIR spektrumları incelendiğinde, pektin, MOF ve prokaine ait spesifik pikler gözlemlendi. Ancak malzemeler arasındaki etkileşimlere ait kayma pikleri görülmedi.

XRD sonuçlarından, MOF partiküllerinin pektin matrisine gömülmüş olsalar bile kristallik özelliklerini koruduğu belirlendi. MOF miktarı arttıkça kristalinite oranı arttığı görüldü.

DSC sonuçlarından, MOF eklenmesi sonucunda pektin filmlerin T_g değerlerini arttığı belirlendi. Genel olarak, sentezlenen filmlerin T_m değerleri vücut sıcaklığının üstünde olması, yara iyileşmesi uygun ortamı sağlamaktadır. Çünkü yara ortamının iyileşmesi için düşük pH ve yüksek yara sıcaklığı en etkili sonucu vermektedir. Bu durum biyomedikal uygulamalar açısından bu polimerlere avantaj sağlamaktadır.

SEM görüntülerinde pektin filmin pürüzsüz yapısı ve yapısındaki elips şeklindeki yarıklar, MOF partiküllerinin oktahedral yapısı görülmektedir. Pektinin oluşturduğu yumurta kutusu modelinin ilaç yüklü filmlerde genişlediği belirlendi.

Temas açısı ölçümleriyle, pektin filme MOF partiküllerinin eklenmesi sonucu filmlerin temas açısı değerinin arttığı ve filmlerin hidrofobik özellik kazandığı belirlendi.

Yapılan reolojik çalışmalarda tüm numunelerin tipik jel benzeri davranış gösterdiği belirlendi. Kompleks viskozitenin frekansla doğrusal olarak azaldığı görüldü. Hidrojelin içerdiği MOF miktarı arttıkça viskozite, depolama modülü ve kayıp modülünde azalma görüldü. Ancak pektin filmin, MOF içeren pektin filme göre daha düşük G' değerine sahip olduğu belirlendi. MOF ilavesinin DM pektin hidrojelinin kompleks viskozite,

kayıp modülü ve depolama modülünü arttırdığı yani mekanik özelliklerini artırdığı kanıtlandı. 50M-K filmi 30M-K filmine göre daha çok şiştiği için daha elastik özellik gösterdi.

Filmlerin su tutma kapasitesi sonuçlarından, MOF eklenmesinin pektin filmlerinin su tutma oranlarını ve bozunma süresini arttırdığı gözlemlendi. Yüksek yüzey alanına sahip olan MOF'lar daha fazla sıvı tutulmasını ve daha yüksek mekanik dayanımı sağladı. İlaç eklenmesi MOF içeren pektin filmlerin pH'a karşı farklı su tutma özelliği göstermesine neden oldu. Aynı miktar ilaç yüklenmiş farklı miktarda MOF içeren pektin filmlerde, yüksek miktarda MOF içeren filmin daha çok su tutabildiği ancak daha kısa sürede bozulduğu görüldü.

İlaç yüklü MOF içeren pektin filmler pH 5.8'de yüksek su tutma kapasitesi ve yüksek ilaç salımı gösterdi. pH 5.8'de MOF yapısının bozulduğu yapılan XRD analizleriyle gösterildi. Ayrıca pH 5.8 tampon çözeltide bekletilen MOF'ların çözeltide değişime neden olduğu da belirlendi. Bu sonuçlara göre pH 5.8'de daha fazla ilaç salımı ve su tutma meydana gelmesinin nedeni MOF yapısındaki değişim olduğu söylenebilir. Karşılaştırma örnekleri ile kıyaslandığında MOF'un kontrollü ilaç salımı sağladığı ve ilaç taşıyıcı sistem olarak avantaj yarattığı gösterilmektedir.

Filmlerin yara örtüsü olarak uygunluğu incelendiğinde, MOF içeren pektin filmlerin ağrısız bir sökme işlemi sağlayacağı, esnek olduğu, hava geçiren, nemli ve bakterilere karşı engel görevi görebilecek daha asidik bir ortam sağlayacağı belirlendi. Pektin film ve pektin-MOF film kompozitlerinin, yara iyileşmesinde hücre canlılığını arttırdığı ve fibroblast hücrelerinin hücre göçü üzerinde zararlı bir etkisi olmadığı gösterildi.

Sonuç olarak, MOF içeren pektin filmlerin tüm özellikleri birlikte değerlendirildiğinde, ilaç salımı ve su tutma kapasitesi iyi olan 30M30PC5.8 kodlu numunenin, yara örtüsü performansının da öne çıkması nedeniyle yara örtüsü olarak kullanılma potansiyelinin olduğu söylenebilir. Ancak öncelikle 30M30PC5.8 filminin *in vivo* çalışmaları ve yara örtüsü testleri yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

- [1] **N. Ninan, M. Muthiah, I. K. Park, A. Elain, S. Thomas, and Y. Grohens.**(2013)Pectin/carboxymethyl cellulose/microfibrillated cellulose composite scaffolds for tissue engineering, *Carbohydr. Polym.*, vol. 98, no. 1, pp. 877–885.
- [2] **P. Sriamornsak.**(2003). Chemistry of Pectin and Its Pharmaceutical Uses: A Review, pp. 206–228.
- [3] **K. Pal and Æ. A. K. Bantia.**(2008). Development of pH sensitive polyacrylamide grafted pectin hydrogel for controlled drug delivery system, pp. 2247–2253.
- [4] **M. J. Duan, Z. yu Guan, Y. W. Ma, J. Q. Wan, Y. Wang, and Y. F. Qu.** (2018). A novel catalyst of MIL-101(Fe) doped with Co and Cu as persulfate activator: synthesis, characterization, and catalytic performance,*Chem. Pap.*, vol. 72, no. 1, pp. 235–250.
- [5] **T. Phaechamud, K. Yodkhum, J. Charoenteeraboon, and Y. Tabata.**(2015).Chitosan–aluminum monostearate composite sponge dressing containing asiaticoside for wound healing and angiogenesis promotion in chronic wound,*Mater. Sci. Eng. C*, vol. 50, pp. 210–225.
- [6] **L. Alexander, S. Andreas, S. Grabbe, and J. Dissemmond.**(2007).Influence of pH on wound-healing : a new perspective for wound-therapy ?, pp. 413–420.
- [7] **S. L. Percival, S. McCarty, J. A. Hunt, and E. J. Woods.** (2014). The effects of pH on wound healing, biofilms, and antimicrobial efficacy,*Wound Repair Regen.*, vol. 22, no. 2, pp. 174–186.
- [8] **N. Ninan, M. Muthiah, I. K. Park, N.Kalarikkal, A. Elain, T. W. Wong, S. Thomas, Y. Grohens.**(2014). Wound healing analysis of pectin/carboxymethyl cellulose/microfibrillated cellulose based composite scaffolds,*Mater. Lett.*, vol. 132, pp. 34–37.
- [9] **S. Dhivya, V. Vijaya, and E. Santhini.** (2015). Wound dressings – a review,*Biomedicine*,vol. 5, no. 4, pp. 24–28.
- [10] **M. Uzun.** (2018). A review of wound management materials,*Journal of Textile Engineering & Fashion Technology*, vol. 4, no. 1, pp. 53–59.
- [11] **Z. Tüylek,** İlaç taşıyıcı sistemler ve nanoteknolojik etkileşim , *Bozok Tıp Dergisi* vol. 7, no. 3, pp. 89–98.
- [12] **M. Luciano Bruschi.** (2015).Classification of therapeutic systems for drug delivery 3, Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems 2015, pp 29-36.

- [13] **M. Jones and J. Leroux.** (1999) Polymeric micelles - a new generation of colloidal drug carriers, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 48, pp 101-111
- [14] **A. Kumari, S. K. Yadav, and S. C. Yadav.** (2010) Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 75, pp. 1–18.
- [15] **G. Tiwari, R. Tiwari B. Sriwastawa, L. Bhati, S. Pandey, S. K. Bannerjee.** (2012). Drug delivery systems : An updated review, *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, vol. 2, no. 1.
- [16] **C.Y. Yu, H. Cao, X. C. Zhang, F. Z. Zhou, S. X. Cheng, X. Z. Zhang, and R. Xi Zhuo.** (2009). Hybrid nanospheres and vesicles based on pectin as drug carriers, *Langmuir*, vol. 25, no. 19, pp. 11720–11726.
- [17] **B. R. Thakur, R. K. Singh, and A. K. Handa.** (1997). Chemistry and Uses of Pectin - A Review, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 37, no. 1, pp. 47–73.
- [18] **W. G. T. Willats, L. McCartney, W. Mackie, and J. P. Knox.** (2001). Pectin: Cell biology and prospects for functional analysis, *Plant Mol. Biol.*, vol. 47, no. 1–2, pp. 9–27.
- [19] **F. Munarin, M. C. Tanzi, and P. Petrini.** (2012) International Journal of Biological Macromolecules Advances in biomedical applications of pectin gels, *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 51, no. 4, pp. 681–689.
- [20] **P. Sriamornsak and J. Nunthanid.** (2008). Calcium pectinate gel beads for controlled release drug delivery: II . Effect of formulation and processing variables on drug release, *Journal of Microencapsulation*, vol. 2048.
- [21] **T. E. L. Douglassa, M. Dziadek, J. Schietsea, M. Boonee, H. A. Declercq, T. Coenyeg, V. Vanhoorneh, C. Vervaeth, L. Balcaeni, M. Buchweitzj, F. Vanhaeckei, F. Van Asschee, K. C. Kowalskad, A. G. Skirtacha.** (2019). Pectin-bioactive glass self-gelling , injectable composites with high antibacterial activity, *Carbohydrate Polymers*, vol. 205, pp. 427–436.
- [22] **J. C. Lee, M. G. Kaltchev, and C. S. Tritt.** (2014). Novel pectin-based carriers for colonic drug delivery Novel pectin-based carriers for colonic drug delivery, *Pharmaceutical Development and Technology*.
- [23] **P. Srivastava and R. Malviya.** (2011) Sources of pectin , extraction and its applications in pharmaceutical industry – An overview, *Indian Journal of Naturel Products and Resources*, vol. 2, no. March, pp. 10–18.
- [24] **P. Harris** (1990), *Food Gels*, London and New york, Elsevier Applied Science.
- [25] **L. N. Semenova and S. S. Rashidova.** (2000). Trends in the science and applications of pectins, *Chemistry of Natural Compounds*, vol. 36, no. 1, pp. 3–11.
- [26] **S. Sungthongjeen, P. Sriamornsak, T. Pitaksuteepong, A. Somsiri, and S. Puttipipatkachorn.** (2004). Effect of degree of esterification of pectin and calcium amount on drug release from pectin-based matrix tablets. *AAPS PharmSciTech*, vol. 5, no. 1, p. E9.

- [27] **Y. Fang, S. Al-assaf, and G. O. Phillips.** (2008). Binding behavior of calcium to polyuronates: Comparison of pectin with alginate, *Carbohydrate Polymers* vol. 72, pp. 334–341.
- [28] **P. Sikorski, F. Mo, G. Skjåk-bræk, and B. T. Stokke.** (2007). Evidence for Egg-Box-Compatible Interactions in Calcium - Alginate Gels from Fiber X-ray Diffraction, *Biomacromolecules*, vol. 8, pp. 2098–2103.
- [29] **B. A. Mckenna, T. M. Nicholson, J. B. Wehr, and N. W. Menzies.** (2010). Effects of Ca, Cu, Al and La on pectin gel strength: implications for plant cell walls, *Carbohydr. Res.*, vol. 345, no. 9, pp. 1174–1179.
- [30] **E. Kirtil, M. H. Oztop, A. Sirijariyawat, P. Ngamchuachit, D. M. Barrett, and M. J. McCarthy.** (2014). Effect of pectin methyl esterase (PME) and CaCl₂ infusion on the cell integrity of fresh-cut and frozen-thawed mangoes: An NMR relaxometry study, *FRIN*, vol. 66, pp. 409–416.
- [31] **C. Kyomugasho, S. Christiaens, D. Van de Walle, A. M. Van Loey, K. Dewettinck, and M. E. Hendrickx.** (2016). Evaluation of cation-facilitated pectin-gel properties: Cryo-SEM visualisation and rheological properties, *Food Hydrocoll.*, vol. 61, pp. 172–182.
- [32] **C. Lara-Espinoza, E. Carvajal-Millán, R. Balandrán-Quintana, Y. López-Franco, and A. Rascón-Chu.** (2018). Pectin and pectin-based composite materials: Beyond food texture, *Molecules*, vol. 23, no. 4.
- [33] **D. Mohnen.** (2008). Pectin structure and biosynthesis, *Curr. Opin. Plant Biol.*, vol. 11, no. 3, pp. 266–277.
- [34] **S. Sunghongjeen, T. Pitaksuteepong, A. Somsiri & P. Srimornsak.** (1999). Studies on Pectins as Potential Hydrogel Matrices for Controlled-Release Drug Delivery Studies on Pectins as Potential Hydrogel Matrices for Controlled-Release Drug Delivery, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, vol. 25, pp. 1271–1276.
- [35] **P. Srimornsak, N. Thirawong, Y. Weerapol, J. Nunthanid, and S. Sunghongjeen.** (2007). Swelling and erosion of pectin matrix tablets and their impact on drug release behavior, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 67, no. 1, pp. 211–219.
- [36] **L. S. Liu, M. L. Fishman, and K. B. Hicks.** (2007). Pectin in controlled drug delivery - A review, *Cellulose*, vol. 14, no. 1, pp. 15–24.
- [37] **L. Liu, M. L. Fishman, J. Kost, and K. B. Hicks.** (2003). Pectin-based systems for colon-specific drug delivery via oral route, *Biomaterials*, vol. 24, pp. 3333–3343.
- [38] **L. Liu, Y. J. Won, P. H. Cooke, D. R. Coffin, M. L. Fishman, K. B. Hicks, P X. Ma.** (2004). Pectin / poly (lactide-co-glycolide) composite matrices for biomedical applications, *Biomaterials*, vol. 25, pp. 3201–3210.
- [39] **S. Kitagawa, R. Kitaura, and S. Noro.** (2004). Functional Porous Coordination Polymers, *Angewandte Chemie-International Edition*, pp. 2334–2375.
- [40] **S. R. Batten, N. R. Champness, X. M. Chen, J. G. Martinez, S. Kitagawa, L. Öhrström, M. O’Keeffe, M. P. Suh and J. Reedijk.** (2013). Terminology of metal – organic frameworks and coordination polymers, *Pure Appl. Chem*, vol. 85, no. 8, pp. 1715–1724.

- [41] **H. C. Zhou, J. R. Long, O. M. Yaghi.** (2012). Introduction to Metal – Organic Frameworks,*Chemical Reviews*, pp. 673–674.
- [42] **T. A. Vu¹, G. H. Le, C. D. Dao, L. Q. Dang, K. T. Nguyen, P. T. Dang, H. T. K. Tran, Q. T. Duong, T.V. Nguyen and G. D. Lee.** (2014) Isomorphous substitution of Cr by Fe in MIL-101 framework and its application as a novel heterogeneous photo-Fenton catalyst for reactive dyes degradation, *RSC Advances*.
- [43] **S. Keskin and K. Seda.** (2011). Biomedical Applications of Metal Organic Frameworks, *Ind. Eng. Chem. Res.*, pp. 1799–1812.
- [44] **J. Shin, M. Kim, J. Cirera, S. Chen, G. J. Halder, T. A. Yersak, F. Paesani, S. M. Cohenb and Y. S. Meng.** (2015). MIL-101(Fe) as a lithium-ion battery electrode material: A relaxation and intercalation mechanism during lithium insertion, *J. Mater. Chem. A*, vol. 3, no. 8, pp. 4738–4744.
- [45] **C. Gecgel, U. Bulut, S. Belgin, and M. Turabik.** (2019). Comparison of MIL-101 (Fe) and amine-functionalized MIL-101 (Fe) as photocatalysts for the removal of imidacloprid in aqueous solution, *J. Iran. Chem. Soc.*
- [46] **J. Sun, G. Yu, Q. Huo, Q. Kan, and J. Guan.** (2014). Epoxidation of styrene over Fe(Cr)-MIL-101 metal-organic frameworks, *RSC Adv.*, vol. 4, no. 72, pp. 38048–38054.
- [47] **O. A. Kholdeeva, I. Y. Skobelev, I. D. Ivanchikova, K. A. Kovalenko, V. P. Fedin, and A. B. Sorokin.** (2014). Hydrocarbon oxidation over Fe- and Cr-containing metal-organic frameworks MIL-100 and MIL-101-a comparative study, *Catal. Today*, vol. 238, pp. 54–61.
- [48] **J. Gordon, H. Kazemian, and S. Rohani.** (2015). “MIL-53 (Fe), MIL-101 , and SBA-15 porous materials : Potential platforms for drug delivery,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 47, pp. 172–179.
- [49] **F. Cui, Q. Deng, and L. Sun.** (2015) Prussian blue modified metal-organic framework MIL-101(Fe) with intrinsic peroxidase-like catalytic activity as a colorimetric biosensing platform, *RSC Adv.*, vol. 5, no. 119, pp. 98215–98221.
- [50] **B. Tl, C. Mk, and L. Pj.** (2015). Neural Therapy : An Overlooked Game Changer for Patients Suffering Chronic Pain ?, *Journal of Pain & Relief*, vol. 4, no. 3.
- [51] **A. Fuliş, I. Ledetî, G. Vlase, C. Popoiu, A. Hegheş, M. Bilanin, T. Vlase, D. Gheorgheosu, M. Craina, S. Ardelean, D. Ferechide, O. Mărginean and L. Moş.** (2013). Thermal behaviour of procaine and benzocaine Part II: Compatibility study with some pharmaceutical excipients used in solid dosage forms, *Chem. Cent. J.*, vol. 7, no. 1, pp. 1–10.
- [52] **A. Fuliş, G. Vlase, C. Grigorie, and T. Vlase.** (2013). Thermal behaviour studies of procaine and benzocaine Part 1 . Kinetic analysis of the active substances under non-isothermal conditions, *Journal Of Thermal Analysis and Calorimetry*, pp. 265–271.

- [53] **Robert M . Schmidt and Herbert S . Rosenkranz.** (2018).Antimicrobial Activity of Local Anesthetics : Lidocaine and Procaine,*The Journal Of Infectious Diseases*, vol. 121, no. 6, pp. 597–607.
- [54] **D. R. Delgado, R. Sotomayor and D. Monterroza.** (2010)Thermodynamics of mixing of sodium naproxen and procaine hydrochloride in ethanol + water cosolvent mixtures Thermodynamics of mixing of sodium naproxen and procaine hydrochloride in ethanol + water cosolvent mixtures, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, Vol. 39 (2), pp 132-148.
- [55] **B. Angelovska, E. Drakalska, and B. Gjorgjeska.** (2017).Production of Gel with Menthol, Benzocaine and Procaine HCl for Topical Application in Rheumatoid Arthritis Patients,*Journal of Pharmacy and Pharmacology* vol. 5, pp. 245–248.
- [56] **V. Borutinskaite, J. Bauraitė-akaitė, and R. Navakasienė.** (2016).Anti-leukemic activity of DNA methyltransferase inhibitor procaine targeted on human leukaemia cells,*Open Life Sciences*, pp. 322–330.
- [57] **D. Cairns.** (2003). Essentials of Pharmaceutical Chemistry, Second Edition.
- [58] **ASTM International**, Astm 2000 doi:10.1520/D1653-03R08.2.
- [59] **M. Uzun, S. C. Anand, and T. Shah.** (2013). *In Vitro* Characterisation and Evaluation of Different Types of Wound Dressing Materials,*J. Biomed. Eng. Technol.*, vol. 1, no. 1, pp. 1–7.
- [60] **BS EN 12127:1998**, Textiles Fabrics Determination of mass per unit area using small samples, ISBN 0 580 29132 4, British Standard Institute.
- [61] **BS EN ISO 9073-2:1997**. Textiles, Test methods for nonwovens, Part 2: Determination of thickness, ISBN 0 580 26632 X, British Standard Institute.
- [62] **D2240-97** standard test method for rubber property - durometer hardness, American Society for Testing and Materials.
- [63] **D522-93a**, Standard test methods for mandrel bend test of attached organic coatings, American Society for Testing and Materials
- [64] **BS EN 13726-1:2002**, Test methods for primary wound dressings. Aspect of absorbency, BSI, ISBN 0 580 39510 3, British Standard Institute
- [65] **BS EN 13726-2:2001**, Test methods for primary wound dressings. Part 1: Aspect of Absorbency, Section 3.6, Dispersion characteristics, British Standard Institute
- [66] **M. M. Mostafavi and F. Movahedi.** (2018).Fe₃O₄/MIL-101(Fe) nanocomposite as an efficient and recyclable catalyst for Strecker reaction,*Appl. Organomet. Chem.*, vol. 32, no. 4, pp. 1–10.
- [67] **B. Kocaaga, O. Kurkcuglu, M. Tatlier, S. Batirel, and F. S. Guner.** (2019).Low-methoxyl pectin – zeolite hydrogels controlling drug release promote in vitro wound healing, vol. 47640, pp. 1–16.
- [68] **Q. Ru, Y. Wang, J. Lee, Y. Ding, and Q. Huang.** (2012).Turbidity and rheological properties of bovine serum albumin / pectin coacervates : Effect of salt concentration and initial protein / polysaccharide ratio,*Carbohydr. Polym.*, vol. 88, no. 3, pp. 838–846.

- [69] **P. Zahedi, I. Rezaeian, and S. Ranaei-siadat.** (2010). A review on wound dressings with an emphasis on electrospun nanofibrous polymeric bandages, *Polym. Adv. Technol.*, vol 21 pp 77–95.



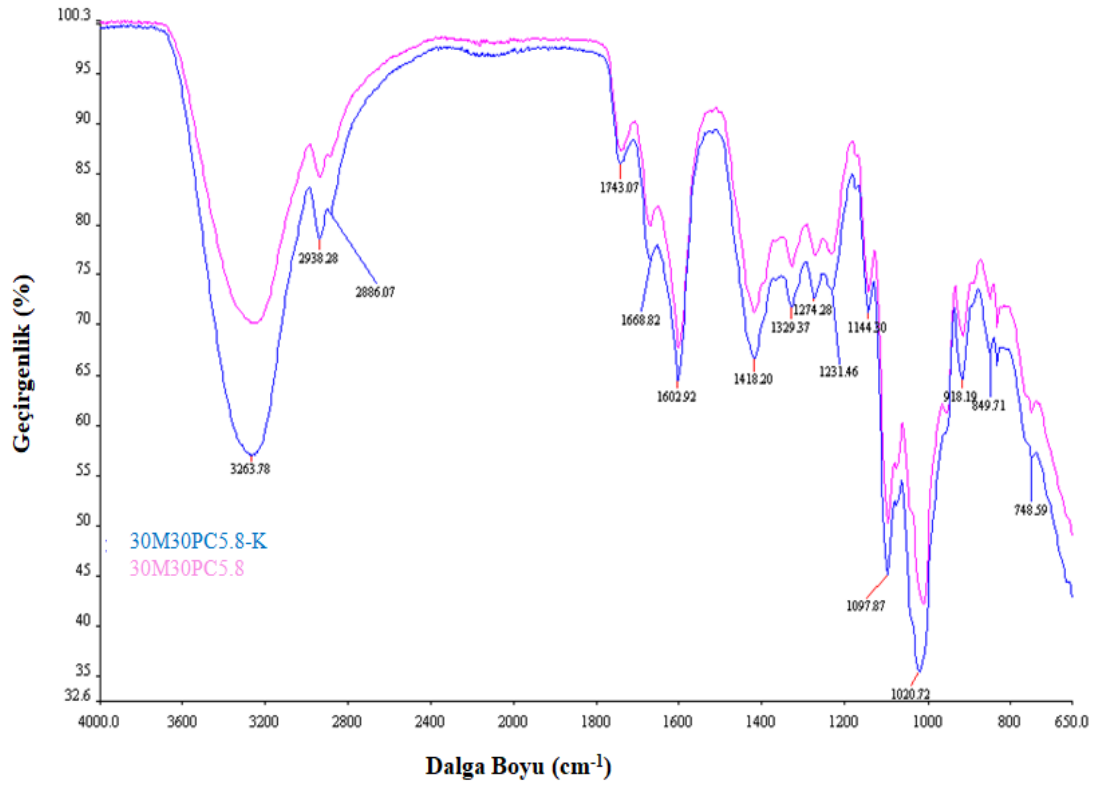
EKLER

EK A: FTIR spektrumları

EK B: DSC eğrileri.

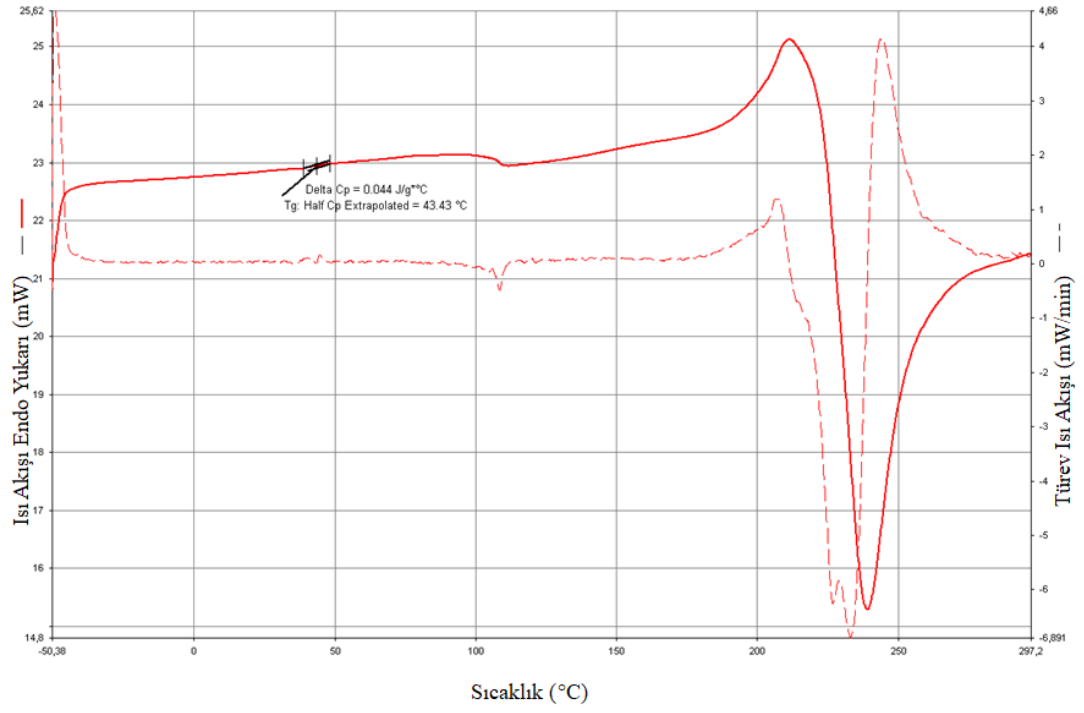


EK A

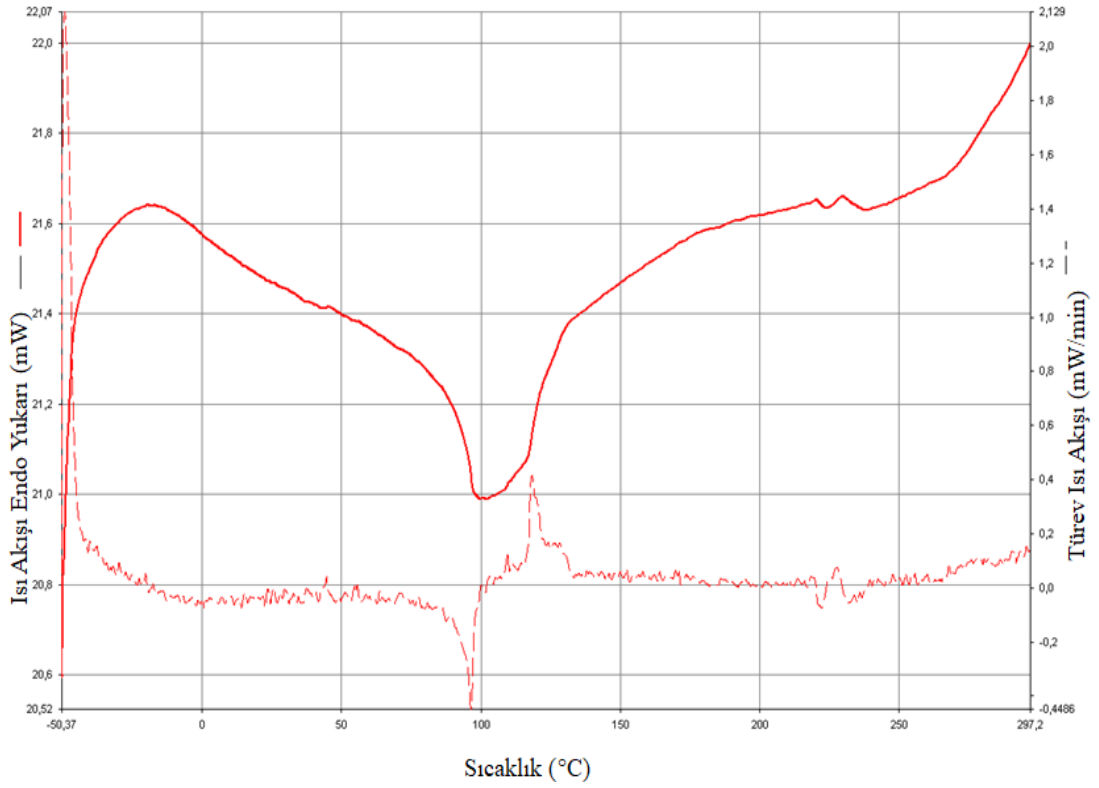


Şekil A.1: İlaç yüklü MOF içeren ve karşılaştırma örneği ilaç/MOF katkılı filmlerin FTIR spektrumları.

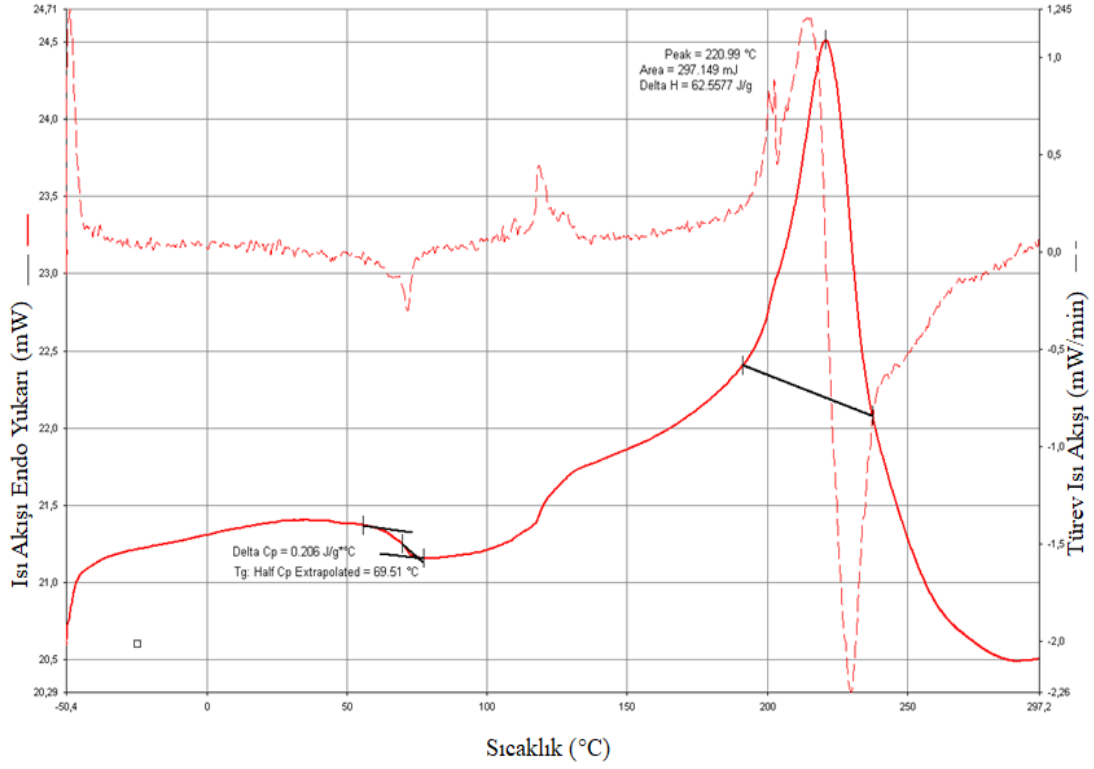
EK B



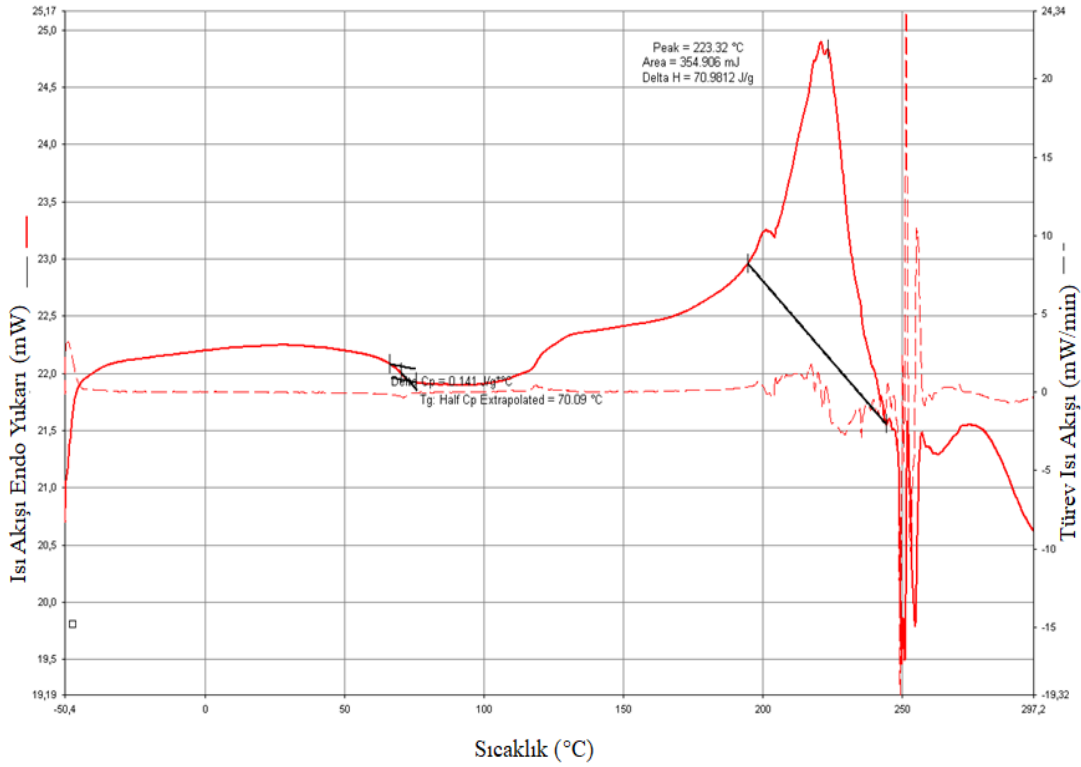
Şekil B1: Pektin DSC eğrisi.



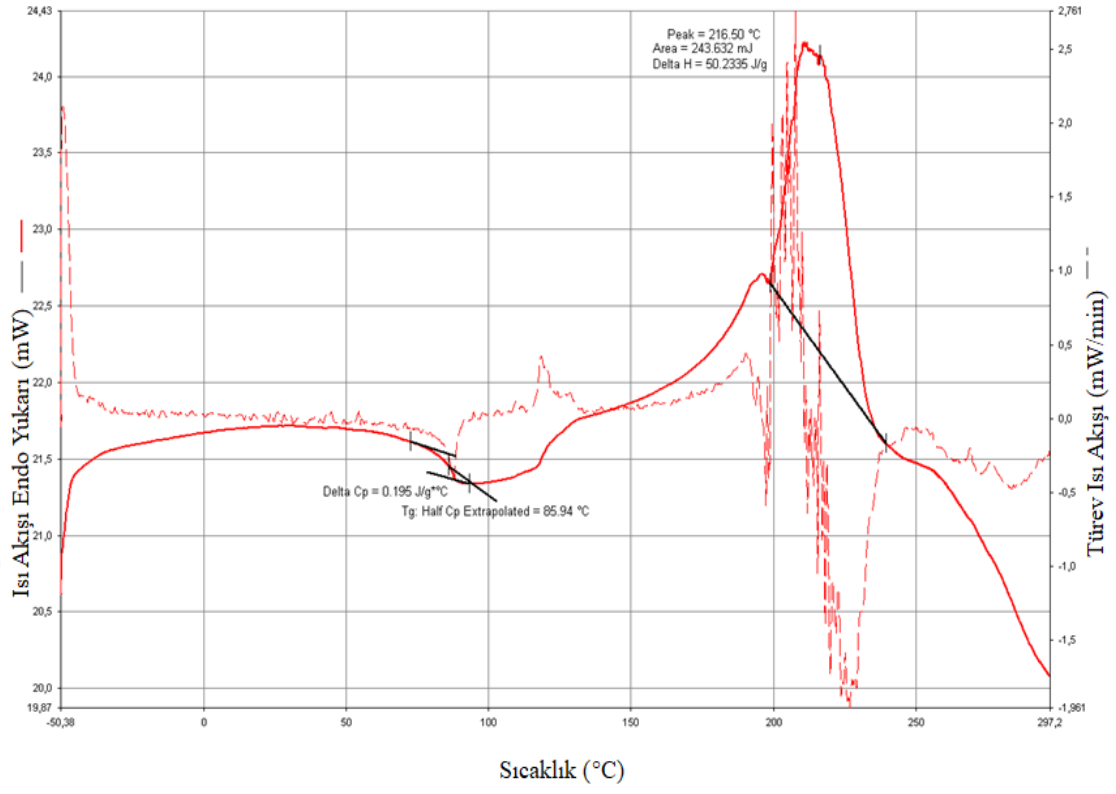
Şekil B.2: MOF DSC eğrisi.



Şekil B.3: 30M-K DSC eğrisi.



Şekil B.4: 50M-K DSC eğrisi.



Şekil B.5: 30M30PC5.8 DSC eğrisi.



ÖZGEÇMİŞ



Ad-Soyad : Gamze BAĞIMSIZ
Doğum Tarihi ve Yeri : İstanbul/ 1994
E-posta : gamzebagimsiz@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2017, Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü