

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

KONTROLLÜ İLAÇ SALIM SİSTEMİNDE KULLANILACAK BİYOUYUMLU
TAŞIYICI İMPLANT MATERYALLERİNİN KARAKTERİZASYON TAYİNİ

PINAR ERDEM

Temmuz 2014

Biyoloji Anabilim Dalında Pınar ERDEM tarafından hazırlanan “KONTROLLÜ İLAÇ SALIM SİSTEMİNDE KULLANILACAK OLAN BİYOUYUMLU TAŞIYICI İMPLANT MATERYALLERİNİN KARAKTERİZASYON TAYİNİ” adlı Yüksek Lisans Tezinin Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. İlhami TÜZÜN

Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumu ve tezin **Yüksek Lisans Tezi** olarak bütün gereklilikleri yerine getirdiğini onaylarım.

Doç. Dr. Sema ÇETİN

Danışman

Jüri Üyeleri

Başkan : Doç. Dr. Hikmet KATIRCIOĞLU _____

Üye (Danışman) : Doç. Dr. Sema ÇETİN _____

Üye : Yrd. Doç. Dr. Tarık DANIŞMAN _____

...../...../.....

Bu tez ile Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onaylamıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Doç. Dr. Erdem Kamil YILDIRIM

ÖZET

KONTROLLÜ İLAÇ SALIM SİSTEMİNDE KULLANILACAK OLAN BİYOUYUMLU TAŞIYICI İMPLANT MATERYALLERİNİN KARAKTERİZASYON TAYİNİ

Erdem, Pınar

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Sema ÇETİN

Temmuz 2014, 54 sayfa

Bu çalışmanın amacı, pHEMA, Ksantan gam ve p(HEMA-MMA)'nın karakterizasyon çalışmaları yapılarak çıkarılan profillerin kıyaslanması ile kontrollü ilaç salım sisteminde kullanılabilir biyomateryaller geliştirmektir. Biyomateryaller, UV başlatıcılı fotopolimerizasyon yöntemi ile silindir şeklinde hazırlandı. İlaç salımında taşıyıcı implant pHEMA ve/veya p(HEMA-MMA)'nın yapılarına PEG ve serum albümin eklenerek biyoyumlulukları artırıldı. Yapılan karakterizasyon çalışmaları ile en iyi sonuçlar, HEMA:MMA monomerlerinin 1.00:1.00 (v/v) oranında tespit edildi. Ksantan gam monomeri distile su eklenerek hazırlandı. Hazırlanan kopolimerlerin karakterizasyonu için FTIR, SEM, DSC, temas açısı değerlendirmeleri yapıldı. Şişme davranışını saptayabilmek için şişebilen bu hidrojellere çözücü moleküllerin transferi yapıldı. Biyoyumlu bir hidrojel olan pHEMA'ya MMA eklenerek elde edilen p(HEMA-MMA) taşıyıcı implantının, pHEMA ve Ksantan gam ile kıyaslandığında daha fazla biyoyum gösterdiği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Biyomateryal, pHEMA, p(HEMA-MMA), kontrollü salım, hidrojel, şişme davranışı, temas açısı.

ABSTRACT

THE DETERMINATION OF THE CHARACTERIZATION OF BIOCOMPATIBLE CARRIER IMPLANT MATERIALS THAT ARE TO BE USED IN A CONTROLLED MEDICINE RELEASE SYSTEM

ERDEM, Pınar

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, MSc. Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Sema CETIN

July 2014,54 Pages

The proposal of this study, to make characterization studies of pHEMA, Xanthan gum and p(HEMA-MMA) and to develop biomaterial with the comparison extracted profile to be used in a controlled medicine release system. Biomaterials were cylindrically prepared with UV-initiated photopolymerization method. PEG and serum albumin were added to the structure of pHEMA and/or p(HEMA-MMA), carrier implant in medicine release system, to increase biocompatibility. But results in the characterization studies with HEMA:MMA monomers were detected at 1.00:1.00 (v/v) ratio. Monomer Xanthan gum was prepared by adding distilled water. FTIR, SEM, DSC, contact angle studies were done for characterization of co-polymers prepared. To determine the swelling behavior, solvent molecules were transferred to swellable hydrogels. Biocompatible hydrogel pHEMA with MMA form carrier

implant and this polimer compared with pHEMA and Xanthan gum. The results were shown p(HEMA-MMA) were more biocompatible than pHEMA an Xantam gum.

Keywords: Biomaterial, pHEMA, p(HEMA-MMA), controlled release, hydrogel, swelling behavior, the contact angle.

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın her safhasında bilgi ve tecrübesi ile yol gösterici olan, tezimi yönlendirirken emeğini ve desteğini esirgemeyen sayın hocam Doç. Dr. Sema ÇETİN'e teşekkürlerimi sunarım. Çıktığım bu yolda yardımlarını, bilgisini, her konuda tecrübelerini paylaşan kıymetli hocam Ufuk Üniversitesi Öğr. Gör. Dr. Hesna URAL'a şükranlarımı sunarım.

Aynı yolda yürüdüğüm değerli arkadaşlarım İrem AKIN'a, Gizem GÜLTEKİN'e, Deniz BOZBIYIK'a, Seda ÖCAL'a, Güven Emre SARIKAYA'ya, Dürdane KAYA'ya, Berkan GÜREL'e desteklerinden dolayı, gülümsemesi, neşesi ve verdiği pozitif enerjisi için de Emine YILDIRIM'a teşekkür ederim.

Yüksek lisans programının başından sonuna kadar yanımda olan ve hep destekleyen annem Hafize ERDEM'e, babam Celal ERDEM'e, kardeşlerim Emel Çınar ERDEM ve Hazal ERDEM'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak bir ömrü paylaşmaya hazırlandığım müstakbel eşim Serkan ÇAYIR'a sabrından ve desteğinden ötürü teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
KISALTMALAR DİZİNİ	x
1.GİRİŞ	1
1.1. Biyomateryal.....	2
1.1.1. Biyomateryallerin Sınıflandırılması ve Polimerler	3
1.2. Kontrollü İlaç Salım Sistemi.....	8
1.2.1. Kontrollü İlaç Salımında Kullanılan Biyomateryaller.....	9
1.2.2. Biyomateryal-Biyouyumluluk İlişkisi.....	10
1.2.3. Biyouyumluluğu Artırma Çalışmaları.....	11
1.2.4. Kontrollü İlaç Salımının Avantaj ve Dezavantajları.....	12
1.3. Hidrojeller.....	12
1.3.1. Hidrojellerin Sınıflandırılması.....	14
1.3.2. Çalışmamızda Kontrollü İlaç Salım Sisteminde Kullanılan Hidrojeller.....	15
1.3.3. Hidrojellerin Biyouyumluluğu.....	16
1.3.4. Hidrojellerin Kullanım Alanları.....	16
1.4. Kontrollü İlaç Salım Sistemlerinde İlaçların Taşıyıcı İmplanttan Salım Mekanizmaları	17
1.4.1. Difüzyon-Kontrollü Sistemler.....	17
1.4.1.1. Membrandan Difüzyon İle Kontrol.....	18
1.4.1.2. Matriksten Difüzyon İle Kontrol.....	19
1.4.2. Kimyasal-Kontrollü Sistemler	19
1.4.3. Şişme-Kontrollü Sistemler.....	20
1.5. Karakterizasyon Metodları.....	20
1.6. Çalışmanın amacı.....	21

2. MATERYAL VE METOD	22
2.1. Materyaller.....	22
2.2. Biyomateryallerin Sentezi.....	22
2.3. Biyomateryallerin Karakterizasyonu.....	25
2.3.1. Temas Açısı ve Yüzey Serbest Enerjisi.....	27
2.3.1.1.Kritik Yüzey Gerilimi (Zisman Yöntemi).....	27
2.3.1.2. Geometrik İfade (Fowkes Yöntemi).....	28
2.3.1.3. Harmonik İfade (Wu Yöntemi).....	28
2.3.1.4. Asit-Baz (van Oss Yöntemi).....	29
2.4. Serum Protein Adsorbsiyonu.....	29
2.5. Kan Uyumluluk Analizi.....	29
3. ARAŞTIRMA BULGULARI	30
3.1. Biyomateryallerin Karakterizasyonu.....	31
3.2. Biyomateryallerin Kan uyumluluk Analizleri.....	41
4. TARTIŞMA-SONUÇ	44
KAYNAKLAR	48

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>ŞEKİL</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Hidrojel yapısı	12
1.2. Hidrojeller içindeki dört temel etkileşimin şematik olarak gösterilmesi.....	13
2.1. N,N,metilenbisakrilamit'in toz hali.....	22
2.2. Amonyum persülfat'ın toz hali.....	23
2.3. Polietilenglikol'ün toz hali	23
2.4. Polimerin jel hali	24
2.5. Ksantan Gam'ın toz hali.....	24
2.6. Ksantan gam'ın jelleşme hali	25
3.1. Kontrollü salım sisteminde kullanılan taşıyıcı implant p(HEMA)nın SEM görüntüsü.....	33
3.2. Kontrollü salım sisteminde kullanılan taşıyıcı implant p(HEMA-MMA)nın SEM görüntüsü	33
3.3. pHEMA hidrojelinin farklı tampon sistemlerindeki şişme davranışı.....	34
3.4. p(HEMA-MMA) hidrojelinin farklı tampon sistemlerindeki şişme davranışı	35
3.5. pHEMA (1) ve p(HEMA-MMA) (2) hidrojellerinin DSC grafiği	36
3.6. pHEMA hidrojelinin FTIR spektrumu	37
3.7. p(HEMA-MMA) hidrojelinin FTIR spektrumu	38

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. Farklı MMA oranlarında sentezlenen kompozit hidrojelinin mekanik dayanıklılığa membran hazırlama kompozisyonunun etkisi.....	32
3.2. Taşıyıcı implant için deneme sıvılarıyla ölçülen yüzey temas açıları	39
3.3. Van Oss'a göre membranların serbest yüzey enerjisi parametreleri (mJ/m^2)	40
3.4. pHEMA ve p(HEMA-MMA) yapısına adsorplanan serum protein miktarları	43

KISALTMALAR DİZİNİ

pHEMA	poli hidroksietil metakrilat
pHEMA-MMA	poli(hidroksietil- metimetakrilat)
MMA	Metilmetakrilat
HA	Hidroksiapatit
PE	Polietilen
PMMA	Polimetilmetakrilat
PP	Polipropilen
PVC	Polivinilklorür
HEMA	2-hidroksietilmetakrilat
PEG	poli (etilenglikol)
NaCl	Sodyum klorür
NVP	N vinil 2 pirolidon
PNIPAM	poli (N-izopropilakrilamid)
PVME	poli(vinilmetileter)
PLA	poli (laktik asit)
PEO	poli(etilenoksit)
PVA	poli (vinilalkol)
FTIR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
DSC	Differential Scanning Calorimetry
HSA	Human serum albümin
SEM	Scanning Electron Microscope

1. GİRİŞ

Biyomalzeme bilimi, günümüzde büyük ilerleme kaydeden bilim dallarından biridir. Gelişen teknolojiye ve sistemlere uyum sağlayabilmek için ülkemizde de biyomalzemelerin (biyomateryal) biyoloji alanında kullanımlarına yönelik pek çok çalışma yapılmaktadır. Sentetik ya da doğal orijinli olan biyomateryaller, çevre dokularla uyum içerisinde olacak şekilde hazırlanan ve biyolojik ortama onarma amacıyla yerleştirilen materyallerdir [1,2]. Her geçen gün önemi gittikçe artan biyomateryaller, insan vücuduna yerleştirildiklerinde kan gibi vücut sıvıları ile ya belirli aralıklarla ya da sürekli olarak temas ederler.

Son yıllarda biyomateryallerin geliştirilmesi için yapılan çalışmalar, son yıllarda ilaç sektöründe aktif olarak kullanılan kontrollü ilaç salım sistemine yöneliktir. Kontrollü ilaç salımı, etkin maddenin bir sistem içerisinde istenilen hız ve sürede, gerekli miktarda salımını sağlayacak biçimde tasarlanmaktadır. Bu yöntemde iki esas bileşen bulunmaktadır ki bunlardan ilki etken madde, ikincisi ise etken maddenin salımını düzenleyen polimerik destek materyalidir. Kontrollü ilaç salımında destek materyali olarak hidrojeller kullanılır. Bu jeller suda çözünmeden şişebilen, hidrofilitesi yüksek, esnek, genellikle üç boyutlu, mekanik kararlılığı yüksek, ağ yapılı ve çapraz bağlı yapılardır. Hidrojeller salım sistemi ile sınırlı kalmayıp, biyoteknoloji, tıp, biyomedikal, doku mühendisliği gibi alanlarda da kullanılmaktadır.

Sentetik polimer olan polihidroksietilmetakrilat (pHEMA), dayanıklı, kimyasal ve biyolojik parçalanmalara karşı dirençli, antibakteriyel ve biyolojik uyumu yüksek olan bir materyaldir. Kökeni akrilat olan bir diğer sentetik polimer ise metilmetakrilattır (MMA). MMA bir destek materyalidir. Sentetik polimer sınıfından olan Ksantan gam ise düşük konsantrasyonda yüksek viskozite sağlayan bir diğer polimerdir.

İlaç salım sistemleri yapılırken ve sentezlenirken iki amaç hedeflenir: İlki etken maddenin hedef organ veya dokuya taşınarak en kısa zaman diliminde istenen kan konsantrasyonuna ulaşması, diğeri ise ulaşımı hedeflenen etken maddenin istenilen

süre içerisinde kontrollü bir şekilde devam ettirilmesidir. Bu doğrultuda biyoyumlu olan pHEMA ve p(HEMA-MMA) silindir yapıda sentezlenerek, Ksantan gam ise daha büyük oranlarda sentezlenmeye çalışılarak karakterizasyon tayininin yapılması hedeflenmiştir. Bu amaca yönelik olarak HEMA monomeri ve/veya MMA monomerinin UV fotopolimerizasyon yöntemi ile kopolimerizasyonu gerçekleştirildi. İlaç salım sisteminde implant olarak kullanılacak bu kopolimerler Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Scanning Electron Microscope (SEM), Differential Scanning Calorimetry (DSC), yüzey temas açısı ölçümü ve biyoyumluluk testleri kullanılarak biyoyumlulukları incelenip karakterize edilmişlerdir.

1.1. Biyomateryal

Biyomateryaller, sentetik ya da doğal orijinli olup, çevre dokularla uyum içerisinde olacak şekilde hazırlanan ve biyolojik ortama onarma işlemi için yerleştirilen materyallerdir [1,2]. Bilimsel anlamda yeni bir alan olmasına karşın, uygulama açısından biyomalzeme kullanımı tarihin çok eski zamanlarına kadar uzanmaktadır. Mısır mumyalarında bulunan yapay göz, burun ve dişler bunun en güzel kanıtlarıdır. Altının diş hekimliğinde kullanımı 2000 yıl öncesine kadar uzanmaktadır. Bronz ve bakır kemik implantlarının kullanımı milattan önceye kadar gitmektedir. Bakır iyonunun zehirleyici etkisi bilinmesine rağmen 19. yüzyıl ortalarına kadar uygun malzeme bulunamadığından bu implantların kullanımı devam etmiştir. 19. yüzyıl ortasından itibaren yabancı malzemelerin vücut içerisinde kullanımına yönelik ciddi çalışmalar gözlenmiştir. Örneğin 1880’de fildişi protezler vücuda yerleştirilmiştir. İlk metal protez, vitilyum alaşımından 1938’de üretilmiştir. 1960’lara kadar kullanılan bu protezler, metal korozyona uğradığından ciddi sorunlar yaratmıştır. 1972’de alumina ve zirkonya adlı iki seramik yapı herhangi bir biyolojik olumsuzluk yaratmaksızın kullanılmaya başlanmış, ancak inert yapıdaki bu seramikler dokuya bağlanamadıklarından çok çabuk zayıflamışlardır. 1950’lerde kan damarlarının değişimini ve yapay kalp vanalarının geliştirilmesini, 1960’larda kalça protezleri izlemiştir. Kalp ile ilgili cihazlarda esnek yapılı sentetik bir polimer olan poliüretan

kullanılırken, kalça protezlerinde paslanmaz çelik öne çıkmıştır. Bunun yanı sıra, ilk olarak 1937’de diş hekimliğinde p(MMA) (diş akriliği olarak da bilinir) ve yüksek molekül ağırlıklı polietilen (PE) de kalça protezi olarak kullanılmıştır. I. Dünya Savaşından sonra, paraflüt bezi damar protezlerinde kullanılmıştır. İlk sentetik bozunur yapıdaki ameliyat ipliği, 1970’lerde poli(glikolik asit) (PGA)’den üretilmiştir. Son 35 yılda 40’ı aşkın metal, seramik ve polimer, vücudun 40’tan fazla değişik parçasının onarımı ve yenilenmesi için kullanılmıştır [3].

1.1.1. Biyomateryallerin Sınıflandırılması ve Polimerler

Biyomateryaller, kendi aralarında Polimerler, Metaller, Seramikler, Doğal malzemeler ve Kompozitler olarak alt başlıklara ayrılırlar [4]. Alüminyum oksit, biyoaktif cam, karbon ve hidroksiapatit (HA) biyoyumlu seramik malzemelere örnek olarak verilebilir.

Biyomalzeme olarak kullanılan metaller ve alaşımlar ise, altın, tantal, paslanmaz çelik ve titanyum alaşımlarıdır. Polietilen (PE), poliüretan (PU), politetrafloroetilen (pTFE), poliasetal (PA), polimetilmetakrilat (pMMA), polietilenteraftalat (PET), silikon kauçuk (SR), polisülfon (PS), polilaktik asit (PLA) ve poliglikolik asit (PGA) gibi çok sayıda polimer, tıbbi uygulamalarda kullanılmaktadır [4]. Metallerin biyomalzeme şeklinde ilk olarak insan vücuduna uygulanması “Sherman-Vanadyum Çeliği” ile olmuştur. Biyomalzeme üretiminde kullanılan demir, bakır, krom, kobalt, nikel, titanyum, tantal, molibden ve vanadyum gibi çok sayıda metal, az miktarda kullanılmak koşuluyla canlı vücuduna uygunluk gösterirler. Vücut içerisinde fazla miktarda bulunması zararlı olan bu metaller, metabolik faaliyetler sırasında da oluşabilirler. Örnek olarak kobaltın B12 vitamininden sentezlenmesi ya da demirin hücre fonksiyonu olarak meydana gelmesi verilebilir.

Milyonlarca yıl öncesinde ateşin bulunması ile kilin seramik çanak çömleğe dönüştürülmesi, insan topluluklarının göçebe avcılıktan yerleşik tarımsal yaşama geçişinde en büyük faktör olmuştur. Seramiklerin insan yaşamında yarattığı bir diğer

büyük devrimse, geçtiğimiz 50 yılda vücudun zarar gören veya işlevini yitiren parçalarının tamiri, yeniden yapılandırılması ya da yerini alması için özel tasarımı seramiklerin geliştirilmesi ve kullanımıyla gerçekleşmiştir. Bu amaçla kullanılan seramikler, “biyoseramikler” olarak adlandırılırlar. Biyoseramikler, polikristalin yapıya seramik (alümina ve hidroksiapatit), biyoaktif cam, biyoaktif cam seramikler veya biyoaktif kompozitler (polietilen–hidroksiapatit) şeklinde hazırlanabilir. İnorganik malzemelerin önemli bir grubunu oluşturan bu malzemeler, sağlık sektöründe çok çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadırlar. Bunlar arasında, gözlük camları, teşhis cihazları, termometreler, doku kültür kapları, endoskopide kullanılan fiber optikler sayılabilir.

Kompozitler, farklı kimyasal yapıda iki ya da daha fazla sayıda materyalin, sınırlarını ve özelliklerini koruyarak oluşturduğu malzeme olarak tanımlanabilir. Dolayısıyla kompozit malzeme, kendisini oluşturan bileşenlerden birinin tek başına sahip olmadığı özelliklere sahip olur. Kompozit malzeme, “matris” olarak adlandırılan bir malzeme içerisine çeşitli güçlendirici malzemelerin katılmasıyla hazırlanır. Matris olarak çeşitli polimerler, güçlendirici olaraksa çoğunlukla cam, karbon ya da polimer lifler, bazen de mika ve çeşitli toz seramikler kullanılır. Kompozitler, yüksek dayanıma ve düşük elastik yapıya sahip olduklarından, özellikle ortopedik durumlar için uygundur. Ayrıca, kompozit malzemenin bileşimi değiştirilerek, implantın vücuttaki kullanım alanlarına göre mekanik ve fizyolojik şartlara uyum sağlaması kolaylaştırılabilir. Kompozit malzemelerin homojen malzemelere oranla, yapısal uyumluluğun sağlanması açısından daha avantajlı oldukları görülmektedir. Polimer kompozitlerin sağladığı diğer üstünlükler, korozyona direnç, metal yorgunluğunun ve metal iyonlarının salımının görülmemesi ve kırılma azalması şeklinde sıralanabilir. Kompozitler, ortopedi ve diş hekimliği uygulamaları dışında, yumuşak doku implantı olarak da kullanılırlar.

Kullanım yelpazesi en geniş olan polimerler; C, N, O, Si gibi atomların kendi aralarında kovalent bağ yapmaları ile meydana gelirler. Polimer molekülü içerisinde tekrarlayan, küçük, basit yapıya kimyasal birime’ tekrarlayan birim’, polimeri elde etmek için başlangıçta kullanılan küçük molekülü organik maddelere de ‘monomer’

adı verilir [5]. Polimerizasyon sırasında, monomerler doymuş hale gelerek (zincir polimerizasyonu) veya küçük moleküllerin yapıdan ayrılmasıyla (H_2O veya HCl) değişir ve “mer” halinde zincire katılırlar. Polimerlerin özellikleri, yapı taşları olan monomerlerden çok büyük farklılıklar gösterir.

Polimerler, çok sayıda aynı veya farklı atomik grubun kimyasal bağlarla az veya çok, düzenli biçimde bağlanarak oluşturduğu uzun zincirli yüksek molekül ağırlıklı bileşiklerdir ve kendi aralarında iki gruba ayrılırlar:

1-Doğal Polimerler: Nişasta, selüloz, doğal kauçuk ve DNA (genetik materyal)

2-Sentetik Polimerler: Polietilen (PE), pMMA, HEMA, Etilenglikoldimetakrilat (EGDMA), Polipropilen (PP), Politetrafloroetilen (PTFE), Polivinilklorür (PVC), Polidimetilsiloksan (PDMS)

1.1.1.1. Doğal polimerler

Biyomalzeme alanının vazgeçilmez kaynakları olan doğal polimerler, biyolojik ortamdaki makro moleküllerin benzeri veya aynısı olduklarından, canlı vücuduyla temas ettiklerinde zehir etkisi ve iltihaplanma gibi istenmeyen reaksiyonlar vermezler. Ancak, kaynaklarına bağlı olarak bileşimlerinde değişme olması, yüksek sıcaklıklarda bozulmaları ve bu nedenle şekillendirilmelerinde güçlük çekilmesi ve immünojenik olmaları önemli dezavantajlardır. Enzim varlığında yapılarının bozulması (biyobozunur oluşları), geçici uygulamalarda kullanılan biyomalzemeler açısından avantajdır. Yaşayan organizmaların karmaşık yapılarından dolayı üretim maliyetlerinin yüksek oluşu ve yeterince büyük ölçeklerde üretilmemeleri, karşılaşılan başlıca sorunlardır. Doğal polimerler; sahip oldukları işlevsel özellikler nedeniyle değişik kullanım alanlarına sahiptirler, kalınlaştırıcı, jel yapıcı, bağlayıcı, dağıtma ajanı, kayganlaştırıcı, yapıştırıcı ve biyomalzeme olarak kullanılabilirler.

1.1.1.2. Sentetik polimerler

Genellikle çok sayıda tekrarlanan monomerlerden oluşmaktadırlar. Sentetik polimerlerden Polietilenin, en basit monomeri “etilen”dir ($H_2C=CH_2$).

pMMA ise hidrofobik, doğrusal yapıda bir zincirpolimeridir. Oda sıcaklığında camsı halde bulunur. Lucite ve Plexiglas ticari isimleriyle tanınır. Işık geçirgenliği, sertliği ve kararlılığı sayesinde göz içi lensler ve sert kontakt lenslerde kullanımı yaygındır. Yumuşak kontakt lenslerse, aynı ailenin bir başka polimerinden hazırlanır. Bu polimer, metil metakrilata metilol ($-CH_2OH$) grubunun eklenmesiyle oluşan 2-hidroksietilmetakrilat (HEMA) monomerinden sentezlenir. Yumuşak kontakt lensler, p(HEMA)’nın az miktarda (EGDMA) ile çapraz bağlanmasıyla hazırlanırlar. Çapraz bağlanma, sulu ortamda polimerin çözünmesini engeller ve bu durumdaki polimer “şişmiş hidrojel” olarak adlandırılır.

Polipropilen (PP), PE’ye benzer, ancak daha sert yapıdadır. Kimyasal direnci yüksek ve çekmedayanımı iyidir. PE’nin yer aldığı uygulamalarda PP de kullanılabilir.

Ticari adı ‘Teflon’ olarak bilinen Politetrafloroetilen (PTFE), PE benzeri yapıda olup, PE’deki hidrojenlerin flor atomlarıyla yer değiştirmesi sonucu sentezlenir. PTFE, hem ısısal, hem de kimyasal açıdan çok kararlı olmasına rağmen işlenmesi zor bir polimerdir. Çok hidrofobik ve kaygandır. Gore-Tex olarak bilinen hidrofobik formu, damar protezlerin de kullanılır.

Polivinilklorür (PVC), tıbbi uygulamalarda tüp formunda kullanılır. Bu uygulamalar, kan nakli, diyaliz ve beslenme amaçlı olabilir. Sert ve kırılabilir bir malzeme olmasına karşın, plastikleştirici ilavesiyle yumuşak ve esnek hale getirilebilir. PVC, uzun-dönem uygulamalarda, plastikleştiricinin yapıdan sızması nedeniyle problemlere yol açabilir. Polidimetilsiloksan (PDMS), karbon ana zinciri yerine silisyum-oksijen ana zincirine sahiptir. Diğer kauçuklara nazaran sıcaklığa

daha az bağımlıdır, drenaj borularında ve kateterlerde, bazı damar protezlerin de ve yüksek oksijen geçirgenliği sayesinde membran oksijenatörlerin de (solunum cihazları) kullanılır. Mükemmel esneklik ve kararlılığından dolayı da parmak eklemleri, kan damarları, kalp kapakçıkları, göğüs implantları, dış kulak, çene ve burun implantları gibi çok sayıda protez de kullanılır [3].

Ksantan gam, sıcak ve soğuk suda çözünebilir, düşük konsantrasyon da yüksek viskozite sağlar. 0-100 °C sıcaklık aralığında çözelti viskozitesi stabildir. Süspansiyon ve emülsiyonları stabilize etme özelliklerine sahiptir.

Görüldüğü gibi her malzemenin kendine özgü uygulama alanı mevcuttur. Polimerler, çok değişik bileşimlerde ve şekillerde (lif, film, jel, boncuk, nanopartikül) hazırlanabilmeleri nedeniyle biyomalzeme olarak birçok alanda kullanılırlar. Ancak, bazı uygulamalar için örneğin, ortopedik alanda mekanik dayanımları zayıf olduğundan tercih edilmezler. Sıvıları yapısına alarak şişebilir ya da istenmeyen zehirli ürünler (monomerler, antioksidanlar gibi) salgılayabilirler. Daha da önemlisi, sterilizasyon işlemleri (otoklavlama, etilen oksit radyasyonu) polimer özelliklerini etkileyebilir. Metaller; sağlamlıkları, şekillendirilebilir olmaları ve yıpranmaya karşı dirençli olmaları nedeniyle biyomalzeme olarak bazı uygulamalarda tercih edilirler. Metallerin olumsuz tarafları ise, alerjik doku reaksiyonlarına neden olabilecek metal iyonu salımı olarak sıralanabilir. Seramikler son derece biyouyumlu ve korozyona dayanıklı malzemelerdir. Fakat bu avantajlarının yanı sıra, kırılğan, işlenmesi zor, düşük mekanik dayanıklılığa ve yüksek yoğunluğa sahip malzemelerdir. Homojen özellik gösteren ve kullanım açısından dezavantajlara sahip olan tüm bu malzeme gruplarına alternatif olarak da kompozit malzemeler geliştirilmiştir.

Tıbbi uygulamalarda kullanılan biyomalzemeler: sert doku yerine kullanılacak biyomalzemeler ve yumuşak doku yerine kullanılacak biyomalzemeler olarak iki grupta toplamak da mümkündür. Ortopedik ve diş implantları, genelde sert doku yerine kullanılacak malzeme grubuna giren metal ve seramiklerden hazırlanırken, kalp-damar sistemi ve genel plastik cerrahi malzemeleri polimerlerden üretilmektedir. Ancak, böyle bir gruplandırma her zaman geçerli değildir. Örneğin,

bir kalp kapakçığı polimer, metal ve karbondan hazırlanabilir ya da bir kalça protezi metal ve polimerlerin kompozitlerinden oluşabilir.

Günümüzde biyouyumlu olan bu biyomateryallerin en çok tercih edildiği ve çalışmaların üzerinde yoğunlaştığı alan kontrollü ilaç salım sistemleridir.

1.2. Kontrollü İlaç Salım Sistemi

Etkin maddenin bölgesel veya sistematik olarak, önceden belirlenmiş oranlarda ve spesifik zaman aralıklarında salım yapmasını sağlayan sistemlere ‘kontrollü ilaç salım sistemleri’ denir [6]. Bilinen tedavi yöntemlerinde ilaç, hormon veya proteinin plazmada etkili dozda tutulabilmesi için ilgili maddenin sıklıkla alınması gerekmektedir. Kontrollü salım sistemlerinde istenilen dozda, ilacın plazma içerisinde derişiminin, belirlenen süre kadar sabit kalması sağlanabilmektedir. Bu yöntemle, sürekli ilaç, hormon ve protein alma gereksinimi ortadan kaldırılmaktadır. Ayrıca salım sistemi aracılığı ile ilaç tedavisinin istenilen bölgede, organda ve hatta hücrede yapılmasının olası olduğu rapor edilmiştir. Bugün henüz hedefleme işleminde istenilen noktaya gelinmemiş olmasına karşın başarılı sonuçlar elde edilmektedir.

Kontrollü salım sistemlerinin kullanılması sonucunda, toksik etkilerin en az düzeyde olması ve günlük sürekli dozlarda ilaç alınımına gereksinim duyulmamasının hastaya büyük kolaylık sağladığı çok sayıda araştırmacı tarafından rapor edilmiştir [6]. Biyomedikal ilaç alanındaki çalışmaların asıl hedefi; ilaç dozunu minimuma indirmek, dozlama aralığını uzatmak, hastanın yan etkilerden etkilenmesinin önüne geçilerek yaşam kalitesini arttırmak olmuştur. Bu beklentilere en iyi yanıt veren sistemler, kontrollü salım sistemleridir [7].

Son yıllarda kontrollü salım sistemlerinde görülen gelişme, sadece sundukları avantajlara bağlanmamalıdır. Bir ilacın geliştirilmesi ve patentinin alınması on yıldan daha fazla süren araştırma ve geliştirme gerektirdiğinden, ilaç firmaları çalışmalarını yeni ilaç geliştirmek yerine, var olan ilaçların kullanım ömrünü ve etkinliğini

uzatmaya yöneltmekte ve bunun için de kontrollü salım formülasyonları geliştirmektedirler [8].

Kontrollü salım; tıp, eczacılık, kimya, çevre, tarım ve veterinerlik alanlarında gereksinim duyulan ve çeşitli uygulamaları da olan önemli bir araştırma konusudur. Çevrenin korunmasıyla ilgili biyoteknolojik uygulamalarda, kontrollü ilaç salım sistemi ile gübre veya böcek öldürücüler düşük miktarlarda kullanılarak doğaya zarar vermeden yüksek etkinlikte sonuçlar alınmıştır.

1.2.1. Kontrollü İlaç Salımında Kullanılan Biyomateryaller

Kontrollü salım sistemlerinin hazırlanmasında da yaygın olarak biyomalzemeler kullanılmaktadır. Doğal biyomalzemelerden protein yapısında olanlar albumin, jelatin, kollajen, gluten, kazein, fibrinojen, fibronektin, antikolar; şeker yapısında olanlar aljinat, dekstran, kitin, kitosan, nişasta, selüloz, pektin; lipid yapısında olanlar stearik asit, etil stearat, tristearin, hidrojenlenmiş bitkisel yağlar, fosfolipidler; nükleotid yapısında olanlar plazmit DNA ve diğerleri kalsiyum fosfat ve seramiklerdir [9].

Biyomalzemelerin yapay olanları ise kendi aralarında biyoparçalanabilir ve biyoparçalanmaz olarak alt başlıklara ayrılmaktadır. Biyoparçalanabilir olanlarına, poli(alkilsiyanoakrilatlar) (PACA), poli (α -hidroksi asitler), poli (laktik asit) (PLA), poli (glikolik asit) (PGA), poli (laktik –ko-glikolik asit) (PLGA), poli (ortoesterler), poli (amino asitler), poli (kaprolakton), poli (üretan) örnek verilebilirken biyoparçalanmaz olanlarından hidrojellere; p(HEMA), poli(vinilasetat) (PVA), poli(metoksietilmetakrilat), poli (vinilalkol) (PVA), poli(etilenoksit) (PEO), (PEG), silikonlara; poli(dimetilsiloksan) (PDMS), Etilen-vinil asetat kopolimeri (PEVA) örnek verilebilir.

Bir materyalin biyomateryal olabilmesi için kullanılacak olan polimerin bazı biyolojik özellikleri taşıması gerekmektedir. Bunlar: 1-Polimerin biyolojik çevreyle iyi uyuşması, 2-Dokuyla temas ettiğinden dolayı iltihaba yol açmaması, 3-

Kanserojen veya teratojen etki göstermemesi ve 4-Toksik olmaması olarak sıralanabilir.

1.2.2. Biyomateryal-Biyouyumluluk İlişkisi

Araştırmacılar, “biyomalzeme” ve “biyouyumluluk” terimlerini, malzemelerin biyolojik performanslarını belirtmek için kullanmışlardır. Biyolojik özellikleri taşımayan biyomateryalin başarısından söz etmek imkansızdır. Biyouyumlu olan malzemeler, biyomalzeme olarak adlandırılmış ve biyouyumluluk, uygulama sırasında malzemenin vücut sistemine uygun cevap verebilme yeteneği olarak tanımlanmıştır. Bir biyomateryalin başarısı büyük oranda, kullanıcının durumu ve uygulamayı yapan kişinin becerisine bağlıdır [10]. Biyouyumlu, yani ‘vücutla uyuşabilir’ bir biyomalzeme, kendisini çevreleyen dokuların normal değişimlerine engel olmayan ve dokuda istenmeyen tepkiler (iltihaplanma, pıhtı oluşumu, vb) meydana getirmeyen malzemedir. Wintermantel ve Mayer bu terimi biraz genişleterek, biyomalzemenin yapısal ve yüzey uyumluluğunu ayrı ayrı tanımlamışlar. Yüzey uyumluluğu, bir biyomalzemenin vücut dokularına fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak uygun olmasıdır. Yapısal uyumluluk ise, malzemenin vücut dokularının mekanik davranışına sağladığı optimum uyumdur. Biyouyumluluğu yüksek olan malzemeler, bedene yerleştirilebilir cihazların ya da implantın hazırlanmasında kullanılırlar.

Biyomateryaller arasında en çok tercih edilenlerden olan polimerin bir organizmaya uygulanışı, doku-polimer etkileşimini de beraberinde getirmektedir. Yapılan çalışmaların hedefi, istenmeyen doku etkileşimlerini en aza indirmek veya ortadan kaldırmaktır. Bu nedenle, kimyasal ve fiziksel yönden inert ve biyouyumlu polimerlerin tasarlanması önemlidir. Biyouyumluluk; polimerin ilavesi ile doku etrafında hiçbir şekilde reaksiyon oluşmaması demektir ve ideali, polimerin bu özelliğinin önceden yapılan invitro testlerle saptanabilmesidir. Kullanılan tüm polimerlerin sürekli parçalanma özellikleri konusundaki bilgi eksikliği ve stabil polimerin az sayıda olması, gerçek bir dokunun yerini alacak polimerik bir sistemin tasarlanmasındaki ana kısıtlamalardır. Kıkırdak, kemik, periodontal doku gibi birçok

doku tipinin temel madde ekstraktlarının kollajen gibi doğal maddeler kullanılarak yeniden yapılabileceği invitro olarak gösterilmiştir. Ancak doğal maddelerin mekanik kuvvetlerinin yetersiz olması üretimlerini zorlaştırmaktadır. Vücut dokuları ile temas eden biyomateryal ve sistemlerin (kateterler, kontak lensler, ekstrakorporeal sistemler ve diyaliz membranları) klinik uygulamaları modern tıpta oldukça önemlidir. Bu sebeple gerçek bir dokunun yerini alacak polimerik bir saç, elmacık kemiği, mekanik parmaklar, kalp, dirsek protezi, kalp kapakçıkları, suni pankreas, kalça kemiği protezi, diz kapağı protez sisteminin tasarlanmasında özellikle polimer stabilitesinin sağlanması ve parçalanma problemlerinin ortadan kaldırılması gerekmektedir [11,12-14].

Günümüzde halen tam bir biyoyumluluğa sahip materyal sentezi gerçekleştirilemediğinden biyoyumluluk-biyomateryal çalışmaları sürekli olarak devam etmektedir.

1.2.3. Biyoyumluluğu Arttırma Çalışmaları

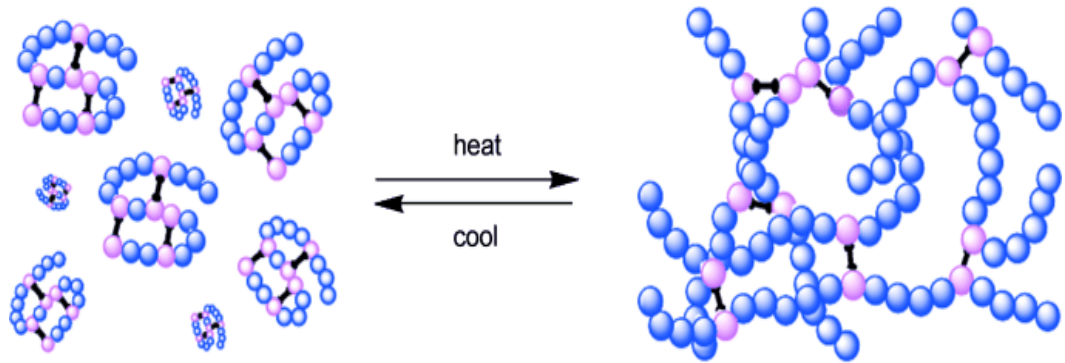
Biyoyumluluğu arttırma çabaları; seçicilik azaltma ve arttırmada yoğunlaşmıştır. Örneğin, hücre-yüzey ilişkileri, protein adsorbsiyonundaki azalmayla veya seçicilikle sınırlandırılmıştır. Hücre adhezyonunda adsorbsiyon artışı ile veya adsorblanan proteinlerin seçiciliği ile sağlanmıştır [15,16]. Fosfatidilkolin (PC) kullanarak materyalin yüzey özelliklerinin iyileştirilmesi esasına dayanan bir teknikte Chapman tarafından 1970'lerin sonunda biyoyumlu yüzey oluşturma çalışması denenmiştir. Bu uygulamada PC ile hücre ve proteinler arasında düşük derecede etkileşimden yararlanarak biyoyumluluklarının arttırılması düşünülmüştür. Sonuçlar PC kaplı yüzeylerin koagülasyon testlerinde aktif olmadığını ve trombojenik olmadığını göstermiştir [17]. Günümüzde karakterizasyon çalışmaları halen devam etmektedir.

1.2.4. Kontrollü İlaç Salımının Avantaj ve Dezavantajları

Kontrollü ilaç salım sistemleri ile tek uygulamada ilacın kanda uzun süre istenilen düzeyde kalması sağlanır, fizyolojik ortamda proteinler gibi kolay parçalanan ilaçlar enzimlerin yıkıcı etkisinden korunur, bölge hedeflenebildiği için hastanın bütün vücudunun olumsuz etkilenmesi önlenir, doz sayısı azaldığı için hasta uyumu artar ve hastanın bakımı kolaylaşır [18]. Dezavantajları ise; istendiğinde tedavinin kesilememesi, tek bir yararlı doz veya bunun katları şeklinde sınırlı olması, geliştirilmesinin ve üretiminin daha pahalı olması, salım hızlı olursa vücutta toksik düzeyler oluşturabilmesi, beklenenden hızlı ya da yavaş salım olması, stabilite problemlerine yol açması olarak sıralanabilir [19].

1.3. Hidrojeller

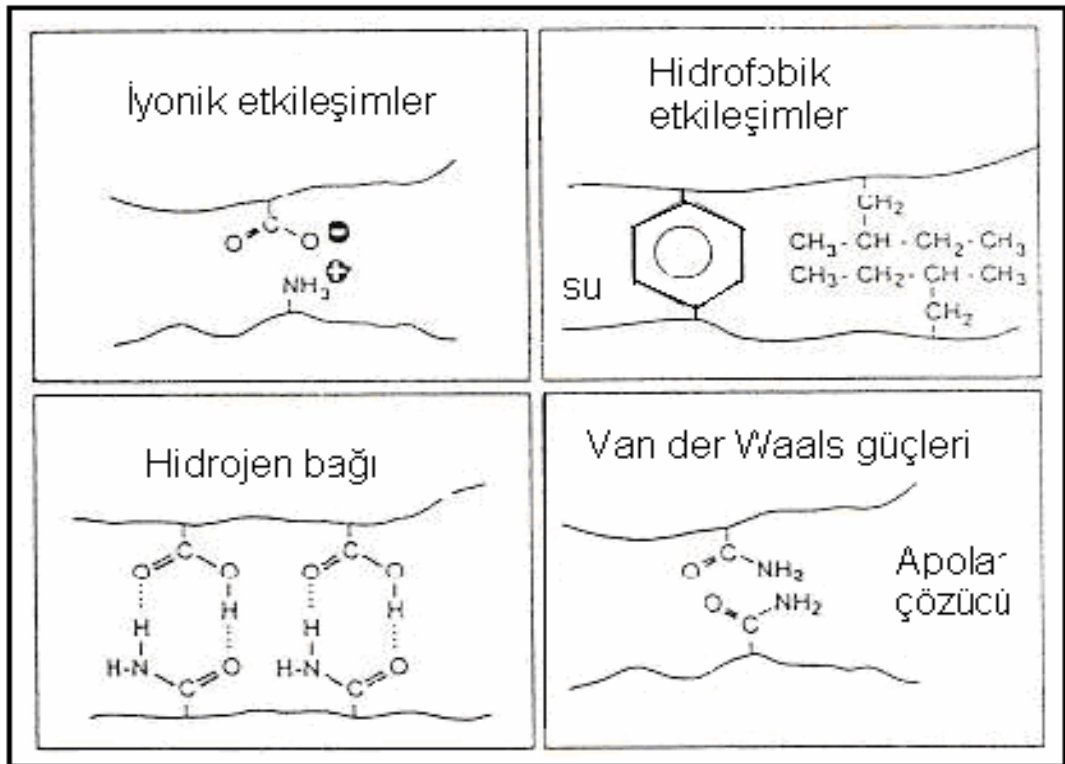
Kontrollü salım sistemlerinde etken madde (ilaç vb.) ve etken maddenin salımını sağlayan ve düzenleyen polimerik destek materyalleri bulunmaktadır. Kullanılan polimerler doğal ya da sentetik olabilmektedir. Sentetik polimer yapılarına en iyi örnek hidrojellerdir.



Şekil 1.1. Hidrojel yapısı [20]

Şekil 1.1.' de mavi küreler hidrojel oluşturulan monomerleri temsil etmektedir. Mavi kürelerin aralarındaki pembe küreler ise monomerlerin kendi aralarında yapmış oldukları çapraz bağları göstermektedir. Şekilden de görüldüğü gibi hidrojeller buldukları şartlara göre yapılarında değişiklik göstermektedirler.

Hidrojeller; suda çözünmeyen, mekanik kararlılığı yüksek olan, üç boyutlu ve çapraz bağlı yapılardır. Kendi kuru kütlelerinin en az % 20'den fazlası kadar su absorblayabilirler [21]. Homopolimer veya kopolimerlerden oluşabilirler. Çözünmezliklerini sağlayan kovalent, iyonik ve fiziksel çapraz bağlar (kristalinite) ile birbirlerine bağlanabilirler. Hidrojellerin üç boyutlu yapı kazanmasını kimyasal bağlar ya da iyonik etkileşim, hidrojen bağı, fiziksel etkileşimler, Van der Waals kuvvetleri, hidrofobik etkileşimler gibi kohezyon kuvvetleri sağlamaktadır [22].



Şekil 1.2. Hidrojeller içindeki dört temel etkileşimin şematik olarak gösterilmesi [20]

Hidrojeller polimer iskeletlerinde buldukları spesifik fonksiyonel gruplarından dolayı fiziksel koşullardan çabuk etkilenirler ve şişme-büzüşme davranışı gösterebilirler. Dış çevrede meydana gelen pH, sıcaklık, iyonik şiddet, çözücü bileşimi ve elektromanyetik radyasyon değişimleri hidrojeller üzerinde etkili olan fiziksel şartlara örnek verilebilir. Bu etki sonucu en fazla değişim şişme oranlarında görülür. Bu şekilde etkilenen hidrojellere “uyarı-cevap hidrojelleri” denir [22].

1.3.1. Hidrojellerin Sınıflandırılması

Hidrojeller, buldukları ortam koşullarına duyarlılıkları açısından farklılıklar gösterir ve bu özelliklerine göre de çeşitli sınıflara ayrılırlar. Bunlardan ilki sıcaklığa duyarlı jellerdir; üzerinde çalışılan en önemli polimerleri de poli (N-izopropilakrilamid) (PNIPAM) ve poli(vinilmetileter) (PVME)' dir. Bu polimerlerin en önemli özellikleri diğer materyallerin aksine sıcaklık artışı ile büzüşmesidir. Bu iki polimer, sıcaklık belli bir değerin üzerine çıktığında faz ayrımı oluşarak büzülür. Bu sınır sıcaklık değerine, en düşük kritik çözelti sıcaklığı (Lower Critical Solution Temperature, LCTS) adı verilir. Bu sıcaklığın altında polimer zincirleri genişlerken polimer suda çözünür, üzerinde ise polimer çözünmez. PNIPAM ve PVME 'in sıcaklık değişimlerine karşı gösterdikleri şişme ve büzüşme tepkileri geri dönüşümlüdür.

Diğer bir sınıf ise pH'a duyarlı jellerdir. pH' a bağlı olarak şişme ya da büzüşme davranışının gözlendiği iyonik ağ yapısındadırlar. Bu iyonik ağ şeklindeki yapılar zincirlerine takılı hem asidik, hem de bazik gruplar içerirler. Bu gruplar uygun pH ve iyonik güce sahip sulu ortamda iyonlaşarak jelde sabit bir elektriksel yük (negatif yada pozitif) oluştururlar. Bu elektrostatik kuvvetlerin birbirini itmesi sonucunda, ağ yapıya çözücü girişi olur. Örneğin; ağzın nötral pH'ında (pH=7.0) polimer düşük şişme derecesine sahiptir ve içerisindeki ilaç salınmaz. Ancak midenin asidik ortamında (1,5-2) pH düşer ve ilaç salımı gerçekleşir. Başka bir grup elektriksel alana duyarlı jeller; aseton su karışımına batırılmış poliakrilamid jelde yarım voltluk elektriksel alan uygulanmasıyla milimetreye uygulanan 5 voltluk elektrik akımı jel

partiküllerini büzer ve 1 mikron çapındaki partiküller 1 milisaniyede orijinal hacimlerinin % 4'üne büzüşürler. Bu hızlı cevap, insan protezlerin de kas olarak kullanılmasını sağlar. Son hidrojel grubu magnetik alana duyarlı jeller; koloidal haldeki manyetik parçacıkların çapraz bağlı NIPA ve PVA hidrojelerinin içine yerleştirilmesiyle oluşur. Jel manyetik alana girdiğinde ısınırken, manyetik alan kaldırıldığında jel soğuyarak başlangıç haline geri gelir. İlaç salımı ile ilgili manyetik alan sağlayan bobinler kullanılmaktadır. Bu bobinler hastanın vücuduna yerleştirilmektedir. Jel bu bobinlerin üzerine geldiğinde, bobinlerin düğmesine basılarak manyetik alan harekete geçirilip jelin ilacı salması sağlanmaktadır.

1.3.2. Kontrollü İlaç Salım Çalışmalarında Kullanılması Hedeflenen Hidrojeller

Bu çalışmanın amacı; pHEMA, ksantan gam ve p(HEMA-MMA)'nın karakterizasyon çalışmaları yapılarak, çıkarılan profillerin kıyaslanması ile kontrollü ilaç salım sisteminde kullanılabilir biyomateryaller geliştirmektir. pHEMA hidrojel, kanla doğrudan temas eden yumuşak doku protezlerinde ve biyoteknolojik alanda kullanılan bir biyomateryaldir [24]. Hidrofilikliği en önemli özelliğidir, suda ve elektrolitik çözücülerde şişme yeteneği mevcuttur[25]. pHEMA'nın matriks olarak kullanıldığı çalışmalar incelendiğinde, polimerizasyon yöntemiyle (DMSO) (MeOH) $Cu_2(\text{benzene-1,3-dikarboksilate-5-OH})_2$ 'nin [26], sol-gel yöntemi ile silika [27], ve TiO_2 [28]'nin ve doğrudan karıştırma ile silikanın nano kompozitlerinin hazırlandığı görülmüştür. Elde edilen ürünlerde camsı geçiş sıcaklığında [26], transparanlıkta ve termal kararlılıkta artış [27] meydana geldiği gözlenmiştir.

Kullanılacak olan diğer jel p(HEMA-MMA); uzun ömürlü sentetik bir polimerdir. Biyomedikal ve biyoteknolojide; yapay damar, kontakt lens, ilaç salınım sistemleri gibi uygulama alanlarına sahiptir. Enzim immobilizasyonu ve protein saflaştırılmasında da yaygın olarak kullanılmaktadır [29].

Ksantan gam ise, lahana ve benzeri bitkilerin yapraklarında bulunan bir bakteri, *Xanthomonas campestris* tarafından üretilmektedir. Ksantan gam, sıcak ve soğuk

suda çözünebilir, düşük konsantrasyonda yüksek viskozite sağlar. 0-100 °C sıcaklık aralığında çözelti viskozitesi stabildir. Süspansiyon ve emülsiyonları stabilize etme özelliğine sahiptir. Donma ve çözünme aşamalarından sonra çözeltide stabiliteyi sağlar. Bu özelliklerinden dolayı gıda endüstrisinde süt ürünlerinde, salata soslarında, donmuş ürünlerde yaygın olarak kullanılır [30]. Çalışmamızda kullanılan bu jellerden kontrollü ilaç salımı için hangisinin daha fazla biyoyumlu olduğuna karakterizasyon tayinleri yapılarak belirlenmiştir.

1.3.3. Hidrojellerin Biyoyumluluğu

Hidrojeller, çapraz bağları, suda çözünmeyip su absorblayabilmeleri, çapraz bağlı üç boyutlu yapıları ve düşük yüzey gerilimlerinden dolayı insan dokusuna benzerlik göstermekte vesahip oldukları bu özelliklerle kendilerine de farklı pek çok uygulama alanı bulmaktadır [24,25].

Yapılan tez çalışması kapsamında biyomateryal olan pHEMA'nın mekanik dayanıklılığını arttırmak için metilmetakrilat ile kopolimerleştirildi. Biyoyumluluğunu arttırmak için hidrojel matriksin içine, PEG ve insan serum albümini (HSA) matriks içi tutuklama yöntemiyle yerleştirildi. pHEMA, ve PEG içeren p(HEMA-MMA) kopolimeri silindirik şekilde hazırlandı ve biyomateryallerin kan uyumluluk deneyleri ve yüzey özellikleri detaylı olarak araştırıldı.

1.3.4. Hidrojellerin Kullanım Alanları

Hidrojeller yapısal özellikleri sayesinde birçok alanda kullanılabilir hale gelmişlerdir. Biyoteknoloji alanında kirleticilerin uzaklaştırılmasında, kromatografik tekniklerle biyolojik moleküllerin saflaştırılmasında, biyomedikal alanda kontak lens yapımında, farmasötik ve tarım alanında kontrollü ilaç salım sistemlerinde ve biyotıp alanında doku mühendisliği ve doku geliştirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Oksijen geçirgenliğine ve uygun kırınım indisine sahip olduklarından kontak lenslerde,

fiziksel olarak kararlı yapı gösterdiklerinden yapay kalp, kas ve tendon materyallerinde, biyoyapışkan madde olarak yara iyileşmesinde, destek materyali olarak da yapay böbrek zarları, yapay deri, estetik cerrahi, kontrollü ilaç salım sistemleri ve enzim immobilizasyonların da hidrojeller kullanılır [26]. Biyoteknolojik uygulamalarda biyoaktif proteinlerin ayrılmasında kullanılmaktadır. Tıbbi uygulamalarda yaygın olarak kullanılan hidrojel, çapraz bağlı pHEMA'dır. Sahip olduğu su içeriği sayesinde, doğal dokulara büyük benzerlik göstermektedir. Normal biyolojik reaksiyonlarda durağandır. Bozunmaya karşı dirençli, vücut tarafından emilmeyen, ısıyla steril edilebilen farklı formlarda hazırlanabilmektedirler.

Tıp alanında kullanılan hidrojeller, poliakrilamid, HEMA ve akrilamid monomerleri, N vinil 2 piroolidon (NVP), metakrilik asit (MAA), metil metakrilat (MMA) ve maleik anhidrit (MAH)'tır. Örneğin NVP, yumuşak kontakt lenslerde kullanılmaktadır. Az miktardaki MMA, pHEMA'nın şişmesini büyük ölçüde arttırmakta ve MMA-HEMA kopolimerlerinin şişmesiye saf pHEMA ile kıyaslandığında düşüktür. MMA destek materyali olmasından dolayı HEMA'nın gözeneklerinin daha sıkı olmasını sağlamaktadır.

1.4. Kontrollü İlaç Salım Sistemlerinde İlaçların Taşıyıcı İmplanttan Salım Mekanizmaları

1.4.1. Difüzyon-Kontrollü Sistemler

Zarın kontrolünde ya da rezervuar olarak adlandırılan ilaç salım cihazları, ilacın ince bir membran ile etrafını sardığı çekirdek görünümündedir. Zardan ilaç salımı difüzyon ile gerçekleşir. Salım hızı, önceden belirlenen ilaç taşıyıcı sistemlerde etken maddenin, suda çözünmeyen bir polimerden difüzyonuyla kontrol edilir. İçinde etken madde bulunduran çekirdek, suda çözünmeyen bir membranla kaplanmıştır. Polimerik membrandan difüzyonla salım hızının kontrol edildiği sistemler denir. Eğer etkin madde hareketsiz polimerik bir matriksten çözdürülmüş veya dağıtılmış ise, bu sistemlerin salım hızı matriksten difüzyonla kontrol edilir.

1.4.1.1. Membrandan Difüzyon İle Kontrol

Bu taşıyıcı sistemde etken maddenin etrafı suda çözünmeyen polimerik bir zar ile kaplanmıştır. Etkin madde, membranın içinde dağılır ve sistemi çevreleyen ortama difüze olur. Bu sistemlere zardan difüzyonla salım hızını kontrol eden sistemler de denir. Hidrojellerden difüzyon ile salımı olan etkin maddenin şişme davranışını, Stefan-Maxwell [31] veya Fick [32] yasaları hidrojellerden difüzyon ile salımı gösteren en iyi yasalarlardır.

$$J = - D \frac{dC_m}{dx} \quad (1.1)$$

Eşitlikte J, etken maddenin azalan konsantrasyon yönünde membrandan salımını $g.cm^2 / sn$ (miktar/yüzey.zaman); D, membrandan difüze olan etken maddenin difüzyon katsayısını cm^2 / sn (alan/zaman) ve dC_m / dx ise membranın içindeki ilaç konsantrasyonunun x uzaklığındaki değişimini göstermektedir.

Salım hızı; membrandan difüzyonla kontrol edilen bu sistemlerde; etken maddenin dağılma ve difüzyon katsayıları, membranın kalınlığı saptanarak önceden belirlenebilir. Membrandan difüzyonla salım kontrol eden sistemler sıfırıncı dereceden salım sağlarlar. Etkin maddenin membran düzeyinden uzaklaştırılması yavaş olup, etken madde konsantrasyonu zamanla membran yüzeyinde artar. Suda çözünürlüğü sınırlı olan etken maddeler membran yüzeyindeki doygunluk konsantrasyonuna ulaşarak bu noktada difüzyonu durdururlar. Kontrollü salım sistemlerinde salım mekanizmasının açıklanmasında kullanılan bir diğer ampirik eşitlik ise Peppas ve arkadaşları tarafından fonksiyonun zamana bağlı olduğu varsayılarak geliştirilen eşitliktir [22].

$$M_t / M_\infty = k \cdot t^n \quad (1.2.)$$

Bu eşitlikte, M_t ; madde t süresinde salınan molekülün miktarını, M_∞ salınan molekülün ortamdaki bakiye miktarı, k belirli bir sistem için yapısal/geometrik sabiti ve n ise salım mekanizmasını gösteren üstel büyüklüktür.

1.3.1.2. Matriksten Difüzyon İle Kontrol

Etkin madde kristal yüzeyinden matriksin içine geçer, basit difüzyon işlemi ile membrandan dışarı çıkar. Tamamı sink koşullardaki (etkin maddenin herhangi bir t anındaki konsantrasyonunun, doyum konsantrasyonundan %15 kadar daha düşük olduğu koşullar) matriksi çevreleyen sıvıya geçer. Matriksi çevreleyen sıvı, porlardan ve granüller arası boşluklardan matriksin içine siner ve ilacı çözer. Çözünmüş olan ilaç difüzyonla matriksin dışına çıkar. Granül içi difüzyonun, ihmal edilebilir düzeyde olduğu varsayılmaktadır. Salımı kontrol eden matriks homojen ve granüler yapıda olabilir.

1.4.2. Kimyasal-Kontrollü Sistemler

Bu sistemlerde, polimer ile salınacak ilaç arasında gerçekleşen tersinir veya tersinmez reaksiyonların sonucunda hidrolitik veya enzimatik yolla polimer zinciri parçalanır. Salınan molekülün tanımlanması için taşıyıcı matriksin içinde oluşan reaksiyondan yararlanır. Kimyasal-kontrollü salımlar, ilacın salımı sırasında gerçekleşen kimyasal reaksiyona bağlı olarak sınıflandırılabilirler. İlaçların suda çözünebilen taşıyıcı implanta kimyasal olarak bağlanması, ilaçlara “dokuya hedeflenme” ve “bağışıklık eksikliğini azaltılması” gibi yeni özellikler katmaktadır.

1.4.3. Şişme-Kontrollü Sistemler

Salım sisteminde etken maddenin difüzyonu hidrojelın şişme derecesinden daha hızlı ise, bu durumda şişme kontrollü salım mekanizması ile açıklanabilmektedir. Örneğin; hidroksipropilmetilselüloz hidrojel tabletinden pek çok küçük ilaç molekülünün salımı, bu mekanizma kullanılarak modellenmektedir [23].

Yapmış olduğumuz çalışmada yukarıda açıkladığımız sistemlerden yararlanarak hidrojellerin fiziksel ve kimyasal özellikleri saptanmıştır.

1.5. Karakterizasyon Metodları

Polimer bazlı malzemelerin sentezini, moleküler özellikleri ile fiziksel özellikleri arasındaki ilişkiyi anlamak için karakterizasyon yöntemlerinin kullanılması gerekmektedir. Örneğin molekül ağırlığı ile reoloji arasındaki ilişki, üretilen polimerin üretim sırasındaki özelliklerini anlamak ve polimer yapısını kontrol etmek için kullanılabilir. Polimerik malzemeyi daha iyi anlamak ve kontrol etmek için kullanılan karakterizasyon yöntemleri, polimer alanının temelini oluşturur. Her bir karakterizasyon yöntemi kendi içinde laboratuvar şartlarında geliştirilerek ya da diğer yöntemlerle birleştirilerek yeni veriler elde edilebileceği gibi, başka yöntemlerle de veri elde etmek de mümkündür.

Yapılacak olan analizleri, karakterize etmek istediğimiz özelliklere göre şu şekilde sınıflandırabiliriz:

- i) Moleküler Yapı Analiz Yöntemleri; Jel Geçirgenlik Kromatografi (GPC), Kızılötesi Spektroskopi (FTIR, ATR), Kütle Spektroskopi (MALDI-TOF, MS)
- ii) Termal Karakterizasyon Yöntemleri; Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC), Termal Gravimetrik Analiz (TGA), Dinamik Mekanik Termal Analizi (DMA, DMTA) dir.

- iii) Mekanik Karakterizasyon Yöntemleri; Reoloji, Monoton Gerilme ve Kırılma Testleri (Çekme, Basma, Bükme)'dir
- iv) Yüzey Yapısı Analiz Yöntemleri; Atomik Kuvvet Mikroskop (AFM), X-Işını Fotoelektron Spektroskopisi (XPS), Taramalı Elektron Mikroskop (SEM)'dir.
- v) Morfoloji Analiz Yöntemleri; X-Işını Kırınımı (XRD), Elektron Mikroskopu (SEM ve TEM), Atomik Kuvvet Mikroskop (AFM) şeklindedir.

1.6. Çalışmanın Amacı

Çalışmamızda, pHEMA, Ksantan gam ve p(HEMA-MMA)'nın optimum pH'ları şişme davranışları, termal kararlılıkları, kan uyumluluk analizleri belirlenerek, çıkarılan profillerin kıyaslanması ile kontrollü ilaç salım sisteminde kullanılabilir biyomateryaller geliştirilmesi hedeflenmiştir.

2. MATERYAL VE METOD

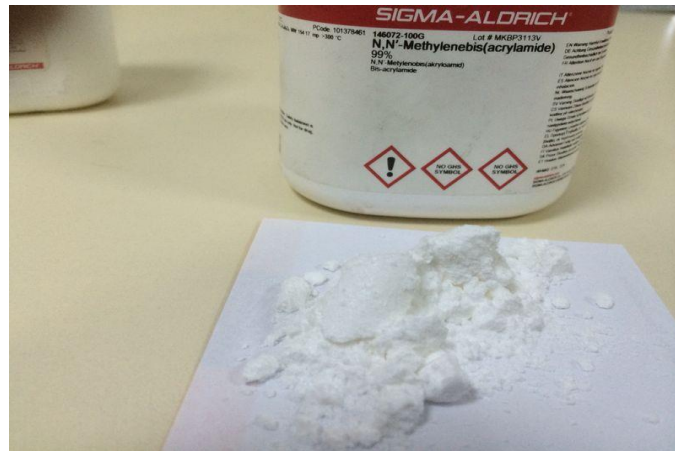
2.1. Materyaller

Yapılan tez kapsamındaki çalışmalarda kullandığımız kimyasallardan, Amonyum persülfat, Dimetil sulfoksit, N',N',N',N' Tetrametiletilediamin, Ksantan gam, HEMA, MMA, alfa, beta ve gama globülinler ile fibrinojenler Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Germany), PEG Merck AG (Darmstadt, Almanya) ve NaCl Baxter-Eczacıbaşı Firmasından temin edildi.

Çalışmamızın her aşamasında kullanılan distile su, Barnstead (Dubuque, IA, USA) ROPure LP marka ters ozmoz, Barnstead D3804 NANOpure organik/kolloid uzaklaştırıcı yüksek akışlı selüloz asetat membran (Barnstead D2731) üniteleri ve iyon-değişimi dolgulu yatak kolonundan oluşan ultra-saf su sisteminden elde edildi.

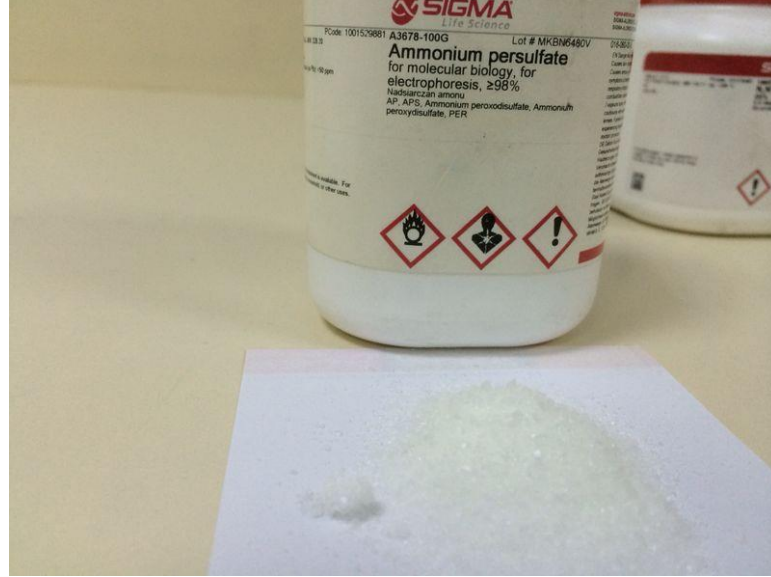
2.2. Biyomateryallerin Sentezi

Son monomer oranı 1.00:1.00 (v/v) olacak şekilde hazırlanan HEMA ve MMA monomerleri farklı oranlarda denendi. Çapraz bağlayıcı olarak N,N,metilenbisakrilamit (0,01 mg) yapıya eklendi.



Şekil 2.1. N,N,metilenbisakrilamit'in toz hali

Redoks başlatıcısı olarak amonyum persülfat (0,01 mg) yapıya eklendi. Taşıyıcı materyalin biyoyoumluluğunu arttırmak amacıyla 0,01mg HSA ve 0,02 mg PEG yapıya eklendi.



Şekil 2.2. Amonyum persülfat'ın toz hali



Şekil 2.3. PEG'in kristal hali

Polimer çözeltisinden 2 dakika süresince azot gazı geçirildi. Hızlandırıcı olarak %10'luk 250µl TEMED eklenen polimerizasyon karışımı içerisinde 1 dakika boyunca azot gazı geçirilerek, 0.4 cm çapında ve 10 cm uzunluğunda olan silindirik kalıplara dökülerek oda sıcaklığında UV ışığı fotopolimerizasyon yöntemi ile sentezlendi.



Şekil 2.4. Polimerin jel hali

Ksantan gum distile suda çözülerek 5 g/l, 10 g/l ve 20 g/l şeklinde farklı konsantrasyonlarda hazırlandı ve 25 ml'lik beherlere dökülerek homojen bir hal alabilmesi için 24saat 360 rpm hızda karıştırıldı. Polimerleşme için etüvde 40°C'de 24 saat bekletildi.



Şekil 2.5. Ksantan gam'ın toz hali



Şekil 2.6. Ksantan gam'ın jöle kıvamındaki hali

2.3. Biyomateryallerin Karakterizasyonu

Kontrollü salım için tasarlanan sistemlerin yüzey morfolojisi yeterli uygunluğa sahip olmalıdır. Yüzey alanı, ilaç salım oranını belirleyen önemli faktörlerden biridir [33]. Gözeneksiz biyomateryaller ile geliştirilen sistemlerde ilaç salım oranının oldukça düşük olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda kullandığımız hidrojellerin yüzey morfolojisini incelemek için, taşıyıcı sistemlerinin SEM mikrografları (JSM5600

30kV'luk) Taramalı Elektron Mikroskobu ile elde edilirken, spesifik yüzey alanı ve gözenekliliği BET (Micromeritics ASAP 2020) yöntemi ile belirlendi. Polimerlerin yoğunlukları çözünmedikleri bir sıvı (n-dekan) içerisinde piknometre yardımıyla belirlendi. Hidrojelin ıslak haldeki kalınlığı ise dijital kumpas ile ölçüldü.

Piknometre, küçük, hafif, genellikle camdan yapılmış malzemedir ve sıvıların özgül ağırlığının tespitinde laboratuvarında sıklıkla kullanılır. Piknometre yardımıyla aynı hacimdeki su ve sıvıların eşit şartlardaki ağırlıkları doğrudan tartılır.

Brunauer-Emmett-Teller (BET) yardımıyla toz veya yığınsal numunelerde yüzey alanı ölçümleri ile nano, mezo ve makro por boyutu ve por boyut dağılımı analizlerinde kullanılmaktadır. Farmasötik, medikal implant, seramik, aktif karbon, katalizör, boya ve kaplamalar, kozmetik, yakıt hücreleri, yerbilimi, adsorbanlar, yapı malzemeleri, filtreleme teknolojileri, elektronikler, maden, plastik ve polimerler, kalsinasyon, metal tozları gibi çalışmalarda kullanımı yaygındır.

FTIR Spektroskopisi (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) (Bruker, Vertex 70V,USA) ile pek çok grup için karakteristik pikler alınmaktadır. Böylece spektrumu alınan maddede hangi karakteristik grupların olduğu anlaşılabilir maddenin yapısı yorumlanır. Özellikle bir kimyasal tepkimeyi izlemede önemli rol oynamaktadır. Bu amaçla; tarım, ilaç, petrol, metal, polimer, gıda sanayilerinde kullanım alanı bulmuştur.

Taşıyıcı polimerlerin FTIR spektrumu, FTIR spektrofotometresi ile alındı. Kuru hidrojel, KBr ile karıştırılarak pelet hale getirildi ve FTIR spektrumları alındı. MMA'in yapıya katılması, kontrol amaçlı kullanılan pHEMA spektrumundan oluşan farklı fonksiyonel gruplara ait bantların yardımı ile tespit edildi. P(HEMA-MMA) membranların ıslak durumdaki kalınlığı dijital kumpas yardımı ile belirlendi. pHEMA ve p(HEMA-MMA) taşıyıcı implantlarının mekanik dayanımı DSC (Differential Scanning Calorimetry) (Model DSC-60-DTG-60H, Shimadzu, Japan) analizi ile belirlendi.

Hidrojel yapıdaki biyomateryalin şişme özelliği, serum fizyolojik ve distile su içerisinde, oda sıcaklığında tampon sistemi içerisinde (pH2.5-8.5) gravimetrik yöntemle belirlendi. Çözelti pH'sı direkt olarak ölçüldü ve iyonik şiddet 0.2'ye ayarlanarak sabit tutuldu. Örnekler ilk olarak şişme ortamına yerleştirildi. Denge anına ulaşıldıktan sonra ortam değiştirildi. Biyomateryalin şişme oranı aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

$$\% \text{ Denge su içeriği (w/w)} = [(W_d - W_k) / W_k] \times 100 \quad (1.3.)$$

Eşitlikteki, W_k kuru hidrojel ağırlığı, W_d ise denge su içeriğine ulaşmış hidrojel ağırlığıdır.

2.3.1. Temas Açısı ve Serbest Yüzey Enejisi

Test edilen biyomateryalin serbest yüzey enerjisini hesaplamak ve polariteyi tanımlamak için temas açısı ölçümleri kullanılmaktadır. Hidrojel örnekleri kurutulduktan sonra, farklı test sıvılarının (su, gliserol ve diiyodometan) temas açısı değerleri, 25°C'de durgun damla yöntemiyle, dijital optik temas açıölçer cihazı kullanılarak belirlendi. Mikro şırınga yardımıyla polimer yüzeyinde bir damla oluşturularak sağ ve sol temas açıları ve damla boyut parametreleri dijital görüntüden otomatik olarak hesaplandı. Ölçümler, en az 12 temas açısının ortalaması alınarak değerlendirildi. Katı yüzeyin bir sıvıyla ıslatılması ve temas açısı (θ) kavramı, ilk olarak Young tarafından formüle edilmiştir [33].

$$\gamma_l \cos \theta = \gamma_s - \gamma_{sl} \quad (1.4.)$$

Eşitlikte, γ_l sıvının yüzey enerjisi, γ_{sl} katı/sıvı arayüzeyinin, arayüzey enerjisi ve γ_s katının yüzey enerjisidir. Temas açısı verilerinden yüzey enerjisinin belirlenmesi için kararlaştırılmış tek bir yaklaşım yoktur [34]. Bu sonuçlar (a) Zisman'ın kritik yüzey gerilimi, (b) Fowkes'in geometrik ifadesi, (c) Wu'un harmonik ifadesi, (d) vanOss'un asit-baz yöntemlerine göre değerlendirilirler [35-38].

2.3.1.1. Zisman Yöntemi- Kritik Yüzey Gerilimi

Kritik yüzey gerilimini (γ) belirlemek için, Zisman'nın geliştirdiği, deneysel bir yöntemdir. Bu yöntemde, farklı sıvıların temas açısının θ kosinüsü ölçülür ve eşitlik 2.3'e göre sıvıların yüzey gerilimine karşı grafiğe geçirilir.

$$\cos \theta = 1 - b (\gamma_l - \gamma_s) \quad (1.5.)$$

Eşitlikte b , korelasyon çizgisinin eğimidir ve verilen γ değerinde, $\cos \theta = 1$ 'e yaklaşan bir doğru verdiği bulunmuştur ki bu çoğunlukla bir sıvının, katı yüzeyini tamamen ıslatan en yüksek yüzey gerilim değeri olarak tanımlanır. Bu teorik sıvı yüzey gerilimi, γ 'ya eşittir ve katının yüzeyini karakterize etmek için kullanılır.

2.3.1.2. Fowkes Yöntemi- Geometrik İfade

Bu yöntem, yüzey enerjisini dispersif ve polar olarak bileşene böler ve bunların katkılarının birleştirilmesi için geometrik bir yaklaşım kullanır. Young eşitliği ile birleştirildiğinde, ortaya çıkan eşitlik şu şekildedir:

$$\gamma_l (1 + \cos \theta) = 2 [(\gamma_l^p \gamma_s^p)^{1/2} + (\gamma_l^d \gamma_s^d)^{1/2}] \quad (1.6.)$$

Burada, θ temas açısıdır, γ_l ve γ_s sırasıyla, sıvı ve katı yüzey gerilimi ya da serbest yüzey enerjisidir. Üst indisteki d ve p , her birinin dispersif ve polar bileşenlerini göstermektedir. Katı yüzey geriliminin bileşenleri, Owens ve Wendt'e göre, $(\gamma_l^p)^{1/2} / (\gamma_l^d)^{1/2}$ 'ye karşı $\gamma_l (1 + \cos \theta) / (\gamma_l^d)^{1/2}$, nin grafiğe geçirilmesi ile eğimden, $(\gamma_s^p)^{1/2}$ ve kayma değerinden de, $(\gamma_s^d)^{1/2}$ parametreleri hesaplanır. Toplam serbest enerji (γ_s), iki bileşen kuvvetinin toplamıdır [$\gamma_s = (\gamma_s^d + \gamma_s^p)$].

2.3.1.3. Wu Yöntemi - Harmonik İfade

Bu yöntemde dispersif ve polar katkıların toplamı için harmonik bir ifade eşitliği kullanılır. γ^d ve γ^p değerleri bilinen iki sıvı için temas açıları ölçülür ve her bir deneyin değeri, aşağıdaki eşitliğe yerleştirilir.

$$\gamma_l (1 + \cos \theta) = 4 [(\gamma_l^d - \gamma_s^d) / (\gamma_l^d + \gamma_s^d) + (\gamma_l^p - \gamma_s^p) / (\gamma_l^p + \gamma_s^p)] \quad (1.7.)$$

Yüzey polaritesi, X_p , şu şekilde verilir:

$$X^p = \gamma_s^p / \gamma_s \quad (1.8.)$$

2.3.1.4. van Oss Yöntemi - Asit-Baz

Bu yöntemde, γ^d , γ^+ ve γ^- değerleri bilinen en az üç sıvı için temas açısı ölçülür. Burada üst indisler (d), (+) ve (-) sırasıyla, dispersif, Lewis asit ve baz bileşenlerini ifade eder. Her deneyin değerleri, aşağıdaki eşitliğe yerleştirilir.

$$(1 + \cos \theta) \gamma_l = 2 [(\gamma_s^{LW} \times \gamma_l^{LW})^{1/2} + (\gamma_s^+ \times \gamma_l^-)^{1/2} + (\gamma_s^- \times \gamma_l^+)^{1/2}] \quad (1.9.)$$

Toplam yüzey enerjisi γ_s , Lifshitz- van der Walls, Lewis asit ve baz bileşenlerinin toplamı olarak verilir.

$$\gamma_s = \gamma_s^{LW} + \gamma_s^{AB} \quad (1.10.)$$

Burada, γ_s^{LW} , uzun mesafeli etkileşimleri gösteren diiyodometan (DIM) ile temas açısının ölçülmesinden hesaplanan Lifshitz-van der Walls etkileşimini belirtir, γ_s^{AB} ise hidrojen bağları gibi asit-baz etkileşimlerini belirtir ve γ^+ ve γ^- sırasıyla, proton ve elektron veren karakteri göstermektedir.

2.4. Serum Proteinleri Adsorpsiyonu

Kırıkkale Üniversitesi-Tıp Fakültesi'nden temin edilen kan örneklerinden 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek kan hücreleri ayrıştırıldı. pHEMA, p(HEMA-MMA) biyomateryalleri, kan uyumluluğunu saptamak amacıyla, 1/5 oranında fosfat tamponuyla (7.5 ml, 50 mM, pH 7.4) seyreltilmiş insan kan serumu içerisine aktarıldı ve 37°C'de 120 dakika manyetik karıştırıcıda temasları sağlandı. Taşıyıcı implanta adsorplanan protein miktarı floresans spektrofotometresi ile ölçüldü [39].

2.5. Kan Uyumluluk Analizi

pHEMA, p(HEMA-MMA) taşıyıcı implantları, 0.5 cm boyunda kesilerek, %0.85 NaCl çözeltisi içinde dengeye getirildi. Sağlıklı bir bireyden alınan venöz kan örneği, 1/9 oranında sodyum sitratla karıştırıldı ve 3000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenerek plazması elde edildi. Sodyum sitratlı plazmadan, 300 µl alınarak, polimer tüpleriyle temas ettirildi ve 1 saat inkübe edildi. Polimerlerle temas etmemiş plazma kontrol olarak kullanıldı [40].

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

Kontrollü salım sistemlerinde kullanılan sentetik polimerler üzerindeki çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır. Yeni polimer yapıları bulunmakta ve biyouyumlulukları üzerine yapılan çalışmalar hız kazanmaktadır. Kontrollü salım sistemlerinin ilk örnekleri kaplı tablet, kapsül ve küreciklerden oluşan mikro parçacıklı sistemlerdir. Yapılan tüm çalışmaların genel amacı, etken madde uygulamalarının biyomalzemelerle kontrollü olarak yapılabilmesidir. Kontrollü salım sistemlerinde ilacın yalnız hasta bölgede etkili olması amaçlanır ve çalışmalar bu yöne kaymaktadır.

Son yıllardaki en önemli uygulamalar farmasötik alanda, kontrollü ilaç salım sistemlerindeki çalışmalarda görülür. Bu çalışmalar sayesinde ilacın plazma içerisinde istenilen dozda ve belirlenen sürede stabil kalması sağlanır. Bu sayede hastanın sürekli ilaç, hormon veya protein almasına gerek kalmamaktadır. Kontrollü salım sistemlerinin esas elemanı polimerlerdir. Polimerler aracılığı ile ilacın salım hızı, polimerik implant sistemi ile ayarlanır. Kullanılış şekli, amacı ve ilacın özelliklerine göre bir veya birkaç polimer kullanarak kompozit sistemde hazırlanabilir.

Tıp ve eczacılık alanlarında yapılan çalışmalarda çoğunlukla pHEMA ve pHEMA temelli hidrojeller kullanılmaktadır. Hidrofilik özelliği sayesinde, doğal dokulara büyük bir benzerlik gösteren pHEMA normal biyolojik reaksiyonlarda inert durumdadır. Kimyasal ve fiziksel bozulmaya karşı direnç gösteren pHEMA vücut tarafından emilmeyen, ısı ile steril edilebilen, çok değişik şekil ve biçimlerde hazırlanabilen bir polimerdir [15,19,40].

Çalışmamızda, protein adsorpsiyonuna karşı dirençli ve kan uyumluluk özelliği artırılmış kontrollü ilaç salımında kullanılmak üzere pHEMA temelli yeni bir taşıyıcı implant sisteminin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Polimerizasyon işleminin

optimizasyonu ile sentezlenen salım sistemi taşıyıcı implantının karakterizasyonu ve biyouyumlu materyallerin geliştirilmesi hedeflenmiştir.

Çalışmamızda hidrojel yapıdaki pHEMA, p(HEMA-MMA) UV fotopolimerizasyon yöntemi ile sentezlendi [32]. Ksantan gam ise belirli miktarlarda alınıp distile su ile magnetik karıştırıcıda 24 saat karıştırıldı ve sertleşmesi için 24 saat etüvde bekletildi. Kontrollü salım sisteminde taşıyıcı görev yapması için sentezlenen pHEMA ve p(HEMA-MMA) hidrojelinin biyouyumluluğunu artırabilmek için insan serum albümini (HSA) ve polietilen glikol (PEG) yapıya eklendi. HSA ve PEG aynı amaçla Ksantan gam üzerine de eklenmiştir.

3.1. Biyomateryalin Karakterizasyonu

Kontrollü salım sisteminde kullanılmak üzere hazırlanan taşıyıcı implantların polimerizasyonunun ilk aşamasında çapraz bağlayıcı olarak kullanılan bisakrilamit oranı (0.01mg) ve redoks başlatıcısı olarak kullanılan amonyum persülfat (0.01mg) miktarlarının optimizasyonu yapıldı. En uygun değer bisakrilamit ve APS için 0.01mg olarak tespit edildi. Daha sonra elde edilen optimize değerler varlığında ko-polimer membranı oluşturan HEMA:MMA ko-monomer oranı 1:0 ile 0:1 (v/v) arasında değiştirilerek hidrojel oluşumu, hazırlanan kompozisyondaki membranların yeterli mekanik güce etkisi, deneysel işletim koşulları altında incelendi.

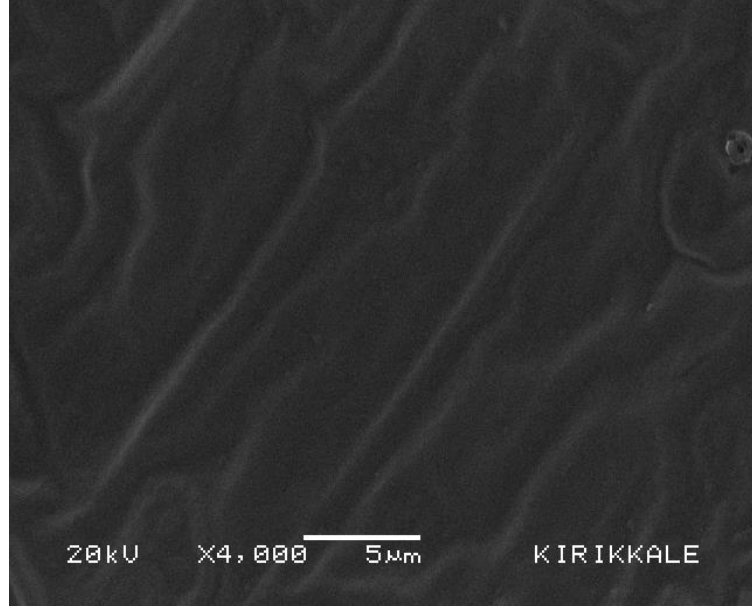
Elde edilen sonuçlarda p(HEMA-MMA) membranının mekanik gücünün ko-monomer oranına bağlı olarak değiştiği gözlemlendi (Çizelge 3.1). Monomer oranı 1:1 olan p(HEMA-MMA) membran kompozisyonu, yeterli mekanik dayanıklılığa sahip olduğundan çalışmanın daha sonraki aşamalarında tercih edildi.

Çizelge 3.1. Farklı HEMA:MMA oranlarında sentezlenen kompozit
Hidrojelinin mekanik dayanıklılığa etkisi

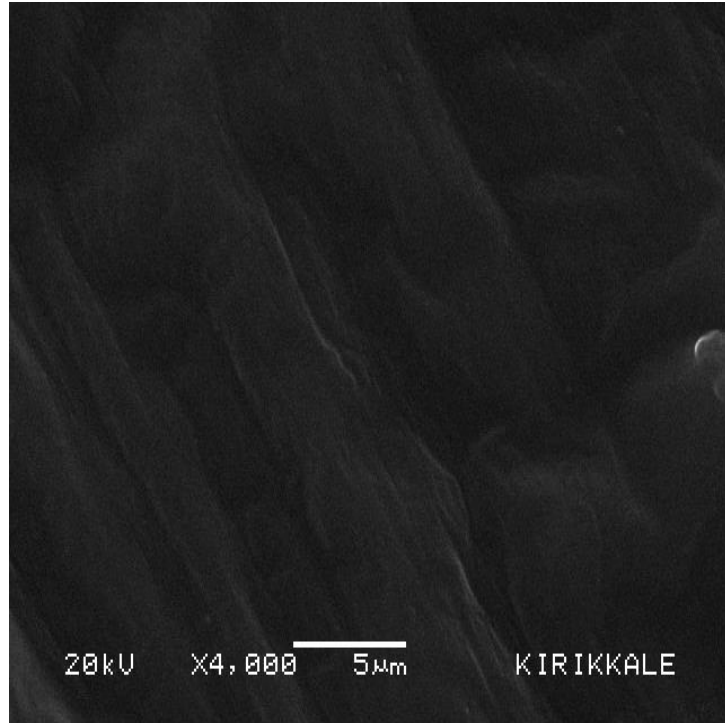
HEMA:MMA oranı (v/v)	Polimerizasyon	Mekanik dayanıklılık
A)1.00:0.00	Gerçekleşti	Orta (Sıvı-katı form)
B) 1.00:0.25	Gerçekleşti	Orta (Sıvı- katı form)
C) 1.00:0.50	Gerçekleşti	Yeterli (Katı jel formu)
D) 1.00:1.00	Gerçekleşti	Yeterli (Katı jel formu)
E) 0.00:1.00	Gerçekleşmedi	Yetersiz (Sıvı halde)
F) 0.25:1.0	Gerçekleşmedi	Yetersiz (Sıvı halde)
G) 0.5:1.0	Gerçekleşmedi	Yetersiz (Sıvı halde)

Destek materyalinin ıslak durumdaki kalınlığı 2.60 mm olarak bulundu. Membran yapıdaki taşıyıcı implantın yoğunluğu Gay Lussac piknometresi yardımıyla materyal için çözücü olmayan bir sıvı (n-dekan) kullanılarak yapıldı ve hidrojel yoğunluğunun 1.14 g/cm^3 olduğu bulundu. 2 gün 30°C sıcaklıktaki vakumlu etüvde kurutulan kompozit hidrojel, azaltılmış basınç altında paladyum ile kaplandı ve membranların elektron mikrografları taramalı elektron mikroskobu kullanılarak elde edildi.

Taşıyıcı implantların uygun morfolojiye sahip olup olmadıklarına SEM mikrografları ile karar verilir. Taşıyıcı implantların yüzeyi, uygun morfolojiye sahip ise başarılı bir kontrollü salım gerçekleşmesi beklenir.



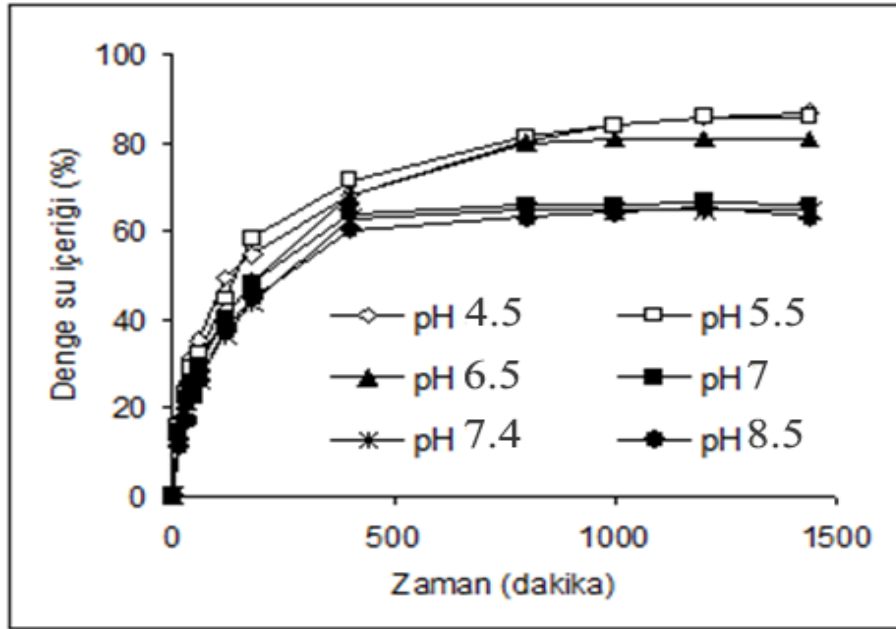
Şekil 3.1. Kontrollü salım sisteminde kullanılan taşıyıcı implant pHEMA'nın SEM görüntüsü



Şekil 3.2. Kontrollü salım sisteminde kullanılan taşıyıcı implant pHEMA-MMA'nın SEM görüntüsü

Hidrojel yapıdaki pHEMA ve p(HEMA-MMA)'nın bakılan SEM mikrograflarının görüntüsünden düzgün bir yüzey morfolojisine ve gözeneksiz bir yapıya sahip olduğu görülmektedir (Şekil 3.1 ve Şekil 3.2). Bu özellik biyomateryalin ilaç salım hızının yavaş ve kontrollü olmasını sağlamaktadır.

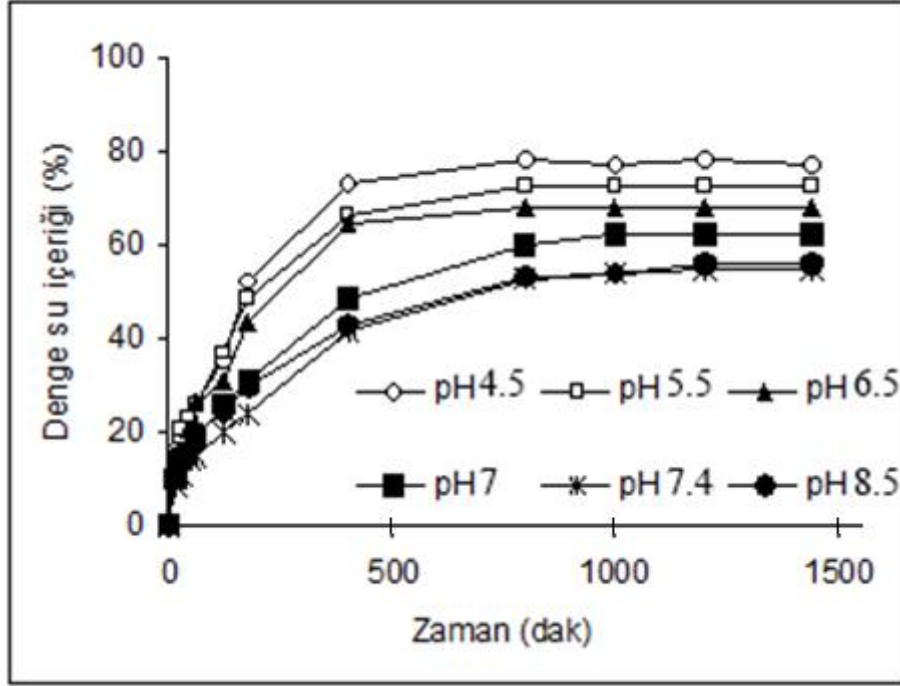
Kontrollü ilaç salımında kullanılacak taşıyıcı implantların farklı çözeltilerde şişme ve en kısa sürede dengeye ulaşma özelliği olmalıdır. Bu özelliğinden yararlanılarak etken maddenin difüzyonu kontrol edilebilmekte ve ilaç molekülünün salım profili modellenebilmektedir.



Şekil 3.3. pHEMA hidrojelinin farklı pH'lardaki tampon sistemlerinde görülen şişme davranışı

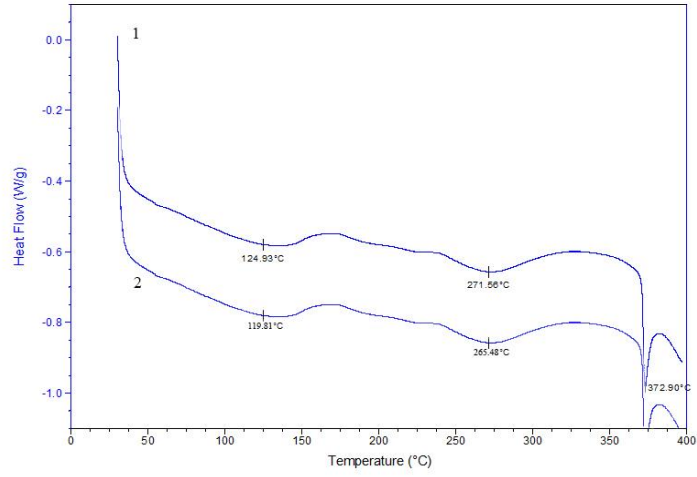
Kontrollü ilaç salımında kullanılmak için hazırlanan pHEMA ve p(HEMA-MMA) hidrojelinin 25 °C'de, farklı pH'larda hazırlanan tampon çözeltilerdeki şişme yüzdeleri görülmektedir (Şekil 3.3, Şekil 3.4). Fizyolojik fosfat tamponu içerisinde

pHEMA-MMA kopolimer hidrojelinin denge su içeriğinin pHEMA ile kıyaslandığında daha düşük olduğu gözlenmiştir.



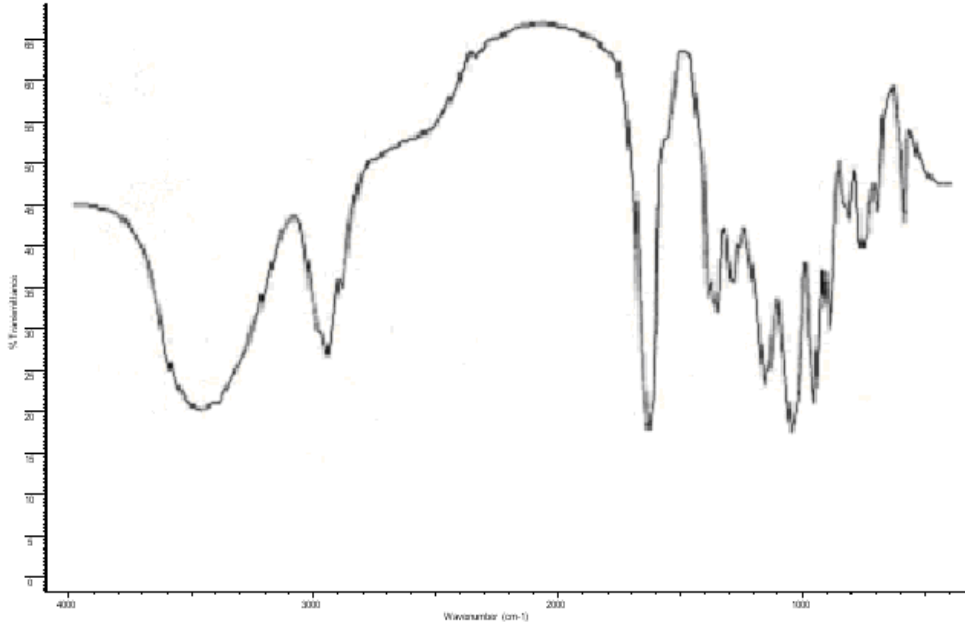
Şekil 3.4. pHEMA-MMA hidrojelinin farklı pH'lardaki tampon sistemlerinde görülen şişme davranışı

Kontrollü ilaç salımları, polimerin esnekliğine ve yapısına bağlı bir parametre olan camsı geçiş (T_g) sıcaklık değerine bağlı olarak değişebilmektedir. Polimerin yapısında bulunan polar gruplar camsı geçiş sıcaklık değerini yükseltir. Bunun nedeni, ana zincir etrafındaki hareketin azalmasıdır. Polimerin camsı sıcaklık değeri DSC analizleri ile ölçülmektedir [41]. DSC analizleri ile azot atmosferi altında $10^\circ\text{C}/\text{dk}$ ısıtma oranında elde edilen veriler, ko-polimerizasyonun termal kararlılıklar üzerine etkisinin değerlendirilmesinde kullanılmıştır. pHEMA hidrojelinin yapısına MMA monomerinin katılması ile termal kararlılığın azaldığı görülmüştür (Şekil 3.5).



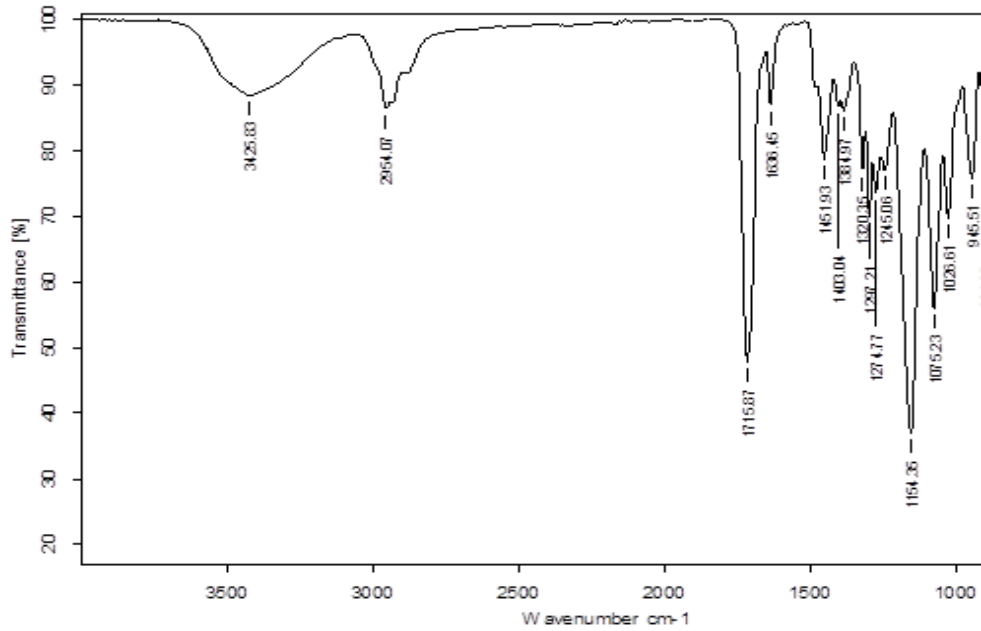
Şekil 3.5. pHEMA (1) ve pHEMA-MMA (2) hidrojenlerinin DSC grafiği

Taşıyıcı olarak kullanılacak polimerlerin yapılarında buldukları bağlar FTIR spektrumu yardımı ile karakterize edilmektedir. Çalışmamızda kullandığımız hidrojenimizin bağ yapıları Şekil 3.6 ve Şekil 3.7’de verilmiştir.



Şekil 3.6. pHEMA hidrojeninin FTIR spektrumu

Şekil 3.6.'dan da görüldüğü gibi $\sim 2945 \text{ cm}^{-1}$ de görülen metilen titreşimleridir. 1720 cm^{-1} de görülen titreşim hidroksietil metakrilat ester konfigürasyonunu ifade eden absorpsiyon pikleridir. 1275 cm^{-1} deki C-O karakteristik piki, 1450 deki C-H gerilim ve titreşim bantlarına ait piklerdir. 3550 cm^{-1} ve 1720 cm^{-1} deki pikler sırası ile biyomateryalin sahip olduğu O-H grubunun ve ester gruplarından ileri gelen C=O gerilme titreşimine ait karakteristik bantlardır. 1600 ve 1200 cm^{-1} aralığındaki bazı bantlar PEG'e ait parmak izi bölgesi pikleridir.



Şekil 3.7. pHEMA-MMA hidrojelinin FTIR spektrumu

Şekil 3.7.'de görülen pHEMA-MMA'nın 1154 ve 1636 cm^{-1} aralığındaki bazı bantlar PEG'e ait parmak izi bölgesi pikleridir. 1274 cm^{-1} deki C-O karakteristik piki, 1451'deki ise C-H gerilim ve titreşim bantlarına ait piklerdir. 1715 cm^{-1} 'de görülen titreşim hidroksietil metakrilat ve metil metakrilat'ın ester konfigürasyonunu ifade eden absorpsiyon pikleridir. 1715-3425 cm^{-1} 'deki absorpsiyon bantları C=O piki biyomateryalin sahip olduğu O-H grubunun ve ester gruplarından ileri gelen C=O gerilme titreşimine ait karakteristik bantlardır. ~ 2954 cm^{-1} 'de görülen ise metilen titreşimleridir.

Islatma gücünün değişimi, yüzey tabakası kalınlığındaki (en az 10Å) ve sıvı fazla doğrudan temasındaki fonksiyonel grupların etkisini yansıttığından yüzey karakteristikleri oldukça hassastır.

Çizelge 3.2. Taşıyıcı implant için deneme sıvılarıyla ölçülen yüzey temas açıları

	Test sıvısı ve yüzey gerilimleri (γ_l)		
	Su ($\gamma_l=70.9$) (θ°)	Gliserol ($\gamma_l=64.3$) (θ°)	Diiodometan ($\gamma_l=51.2$) (θ°)
pHEMA	60.7	54.9	34.7
p(HEMA-MMA)	57.6	60.0	36.3

pHEMA ve pHEMA-MMA polimerik yapılarına, farklı test sıvısı (su, gliserol, diiodometan) damlatılarak ölçülen temas açısı değerleri, durgun damla metoduyla belirlendi ve Çizelge 3.2'de verildi. Daha küçük yüzey gerilimli deneme sıvıları ile ölçülen temas açısı, daha küçük olmalıdır [53].

Polimer özelliğindeki yapıların serbest yüzey enerjisi parametreleri, araştırılan sıvıların temas açıları kullanılarak hesaplandı.

Çizelge 3.3. van Oss'a göre membranların serbest yüzey enerji parametreleri

	γ^{LW} mN/m ²	γ^+ mN/m ²	γ^- mN/m ²	γ^{AB} mN/m ²	γ^{Toplam} mN/m ²	Polarite (%)
pHEMA	41.8	0.7	4.5	4.0	45.5	8.5
p(HEMA- MMA)	44.0	0.5	4.9	5.5	49.1	10.9

Membran örneklerinin Fowkes ve Wu yöntemlerine göre hesaplanan yüzey enerjilerinin birbirlerine yakın olduğu, fakat Wu yönteminin Fowkes'e göre, daha düşük bir yüzey enerjisi polar bileşenine (γ^p) sahip olduğu gözlemlendi. Her iki yöntemde de, bütün test edilen membranlar için, toplam serbest yüzey enerjisine esas katkıyı, dipersif bileşenlerin yaptığı görüldü.

Belirlenen toplam serbest yüzey enerjisi (γ^{Toplam}), van Oss yöntemi kullanılarak hesaplandı. van Oss yöntemi, araştırılan tüm membranlara farklı değerlerde uygulanan, Lifshitz-van der Waals (γ^{LW}) ve asit-baz bileşenlerinin (γ^{AB}) toplamıdır. Membranların baz bileşenlerinin (γ^-), asit bileşenlerine (γ^+) kıyasla daha yüksek olduğu görüldü (Çizelge 3.3).

3.2. Biyomateryalin Kan Uyumluluk Analizleri

Biyomateryalin biyouyumluluğu, taşıyıcı implanta kan proteinlerinin adsorpsiyonunun yapılması açısından büyük önem taşır. Kanın bileşenlerini, hücreler ve sıvı kısım oluşturur. Plazmanın % 90'ı sudur. % 10'luk kısmın % 7.5' ini proteinler, % 0.9'unu inorganik tuzlar geri kalan kısmı ise aminoasitler, vitaminler ve hormonlar gibi farklı kaynaklardan gelen organik bileşikler oluşturur. Plazma proteinleri serum albümin, alfa, beta ve gama globülinler ile fibrinojendir. Albümin, insan ve diğer memeli hayvanların kan plazmasında bulunan en yaygın proteindir ve kanda bulunan proteinlerin %60'ını oluşturur. Ayrıca doku sıvılarında, özellikle kas ve deride, az miktarda gözyaşı, ter, mide suları ve safrada da bulunur. Vücuttaki toplam albüminin %30-40'ı kanda bulunur. Yağ asitleri ve diğer maddeleri kanda taşımalarının yanı sıra en önemli işlevi, kan ile doku sıvıları arasında suyun dengelenmesini sağlamaktır.

Tüm serum proteinleri negatif yüklü olduklarından elektroforez de anota göç ederler. Bu göçte en hızlı ayrılanlar albüminler, en yavaş ayrılanlar ise gamma globülinlerdir. Vücuda giren yabancı maddelere karşı, vücudun korunma mekanizması harekete geçer ve antikor oluşur. Antikorların büyük bir kısmı gamaglobülinler sınıfına girer. Gamaglobülinler, plazma proteininin yaklaşık % 12'sini oluşturur. Molekül ağırlığı 160.000-930.000 arasında olup, % 2.5 karbonhidrat içerir, heterojen proteinlerdir, saf suda çözünmezler ve seyreltik nötral tuz eriyiklerinde çözünürler.

Fibrinojen, kanın pıhtılaşmasının son kademesinde gerekli proteindir [42]. Kan plazmasının yaklaşık %5'i fibrinojendir. Fibrinojen ısıtıldığında pıhtılaşır. Kan pıhtılaşmasında meydana gelen "fibrin" in öncü maddesidir. Pıhtılaşma gerçekleşirken, fibrinojen trombin maddesi etkisiyle ve iyonize kalsiyumla fibrine dönüşerek pıhtıyı oluşturur. Fibrinojen sadece kan plazmasında değil, aynı zamanda çeşitli vücut sıvılarında (lenf sıvısı, iltihabi sıvı birikintileri vb.) da bulunur. Plazmadaki fibrinojen miktarı yaklaşık olarak 5 gr/litre'dir. Çeşitli karaciğer rahatsızlıklarında kandaki fibrinojen miktarı azalır. Gebelik, eklem romatizması ve iltihabi durumlarda da kanda fibrinojen miktarı artar.

İlaç salımında kullanılmak üzere sentezlenen pHEMA ve/veya pHEMA-MMA taşıyıcı implant sistemlerinde albumin adsorpsiyonu, biyouyumluluk açısından önemlidir. Bunun yanında, biyomateryal yüzeyine fibrinojen adsorpsiyonu hazırlanan biyomateryalin biyolojik uyumluluğunu azaltmaktadır. Albumin trombosit dirençli bir özelliğe sahiptir ve bu nedenle trombositlerin biyomateryal yüzeyine yapışmasını engeller. Fibrinojen ise biyomateryal yüzeyine trombositlerin yapışmasını başlatıcı özelliğe sahiptir. Bu nedenle, hazırlanan biyomateryale matriks içi tutuklama yöntemiyle albumin ve polietilenglikol yerleştirilerek, biyomateryalin kan uyumluluğunda bir artış sağlanması amaçlanmıştır [42].

Polimer özellikte olan materyallerin aktiflikleri, bazı sistem parametreleri tarafından önemli derecede etkilenmektedir. Bir materyalde olması beklenen biyolojik özellikler, polimerin biyolojik çevreyle iyi uyuşması, dokuyla temas ettiğinde iltihaba yol açmaması, kanserojen etki göstermemesi ve toksik olmamasıdır. Ayrıca taşıyıcı matriks yüzeylerinin minimum protein adsorpsiyonu göstermesi, kan uyumlu implantların dizaynı da oldukça önemlidir. Membran yüzeyinin hidrofilik özelliğinin artırılması ile protein adsorpsiyonu azaltılabilmekte ve kan uyumluluk özelliği artırılabilir. Uygun hidrofilik yüzeylerinin oluşturulması, çeşitli modifikasyon yöntemleri ile mümkündür. Bu yöntemlerden anti-fouling özellikteki monomerlerin, polimerik yapının yüzeyine aşılması geniş kullanım alanı bulmuştur. Yüzeyinde PEG taşıyan polimerik destek materyallerinin düşük protein adsorpsiyon ve hücre adhezyonu özelliği sergilediği belirlenmiştir [43].

PEG'nin yüksek hidrofilik özelliği ve sulu ortamda su molekülleri ile organizasyonu sonucu protein adsorpsiyonuna karşı direnç gösterdiği düşünülmektedir. Bununla birlikte PEG'nin yapıya ilave edilmesiyle polimerin yüzey geriliminde bir azalma bekleneyeceği de çalışmamızda göz önünde bulundurulmuştur. Farklı moleküler ağırlıkta PEG ile aşılabilir poliüretan membranları ve PEG zincir uzunluğundaki artış sonucu membran yüzey hidrofilitésinin de ve hareketliliğinde önemli derece bir artış ile biyouyumluluğun arttığını Han ve arkadaşları bildirmişlerdir [44].

PEG ile modifiye edilebilen taşıyıcı implantların yapısında bulunan PEG, ilaçlara veya lipitlere kovalent bağlandığında oluşan konjugant misel yapısı oluşturulabilmektedir. Bu yol ile ilacın immünojenik özellikleri azalmakta, dolaşımında daha fazla kalarak dağılım hacmi küçülmekte ve ilacın yarı ömrünün uzadığı rapor edilmektedir [45].

Çizelge 3.4. pHEMA ve p(HEMA-MMA) yapısına adsorplanan serum protein miktarları

	Plazma proteinleri		
	HSA (ng/cm ²)	γ -globulin (ng/cm ²)	Fibrinojen (ng/cm ²)
pHEMA	365	200	110
p(HEMA-MMA)	200	135	40

Çalışmamızda, yapısında albumin ve PEG bulunan pHEMA ve p(HEMA-MMA) taşıyıcı implantlarının adsorplanan kan serum protein miktarlarının ihmal edilebilir düzeyde olduğu görülmüştür (Çizelge 3.4.). Elde edilen sonuçlar literatürde rapor edilen sonuçlarla kıyaslandığında literatüre uyum sağlamaktadır [53].

4.TARTIŞMA VE SONUÇ

Kontrollü salım sistemlerini hazırlamakta kullanılan biyomalzemeler, doğal veya sentetik olarak elde edilebilen polimerik moleküllerdir ve her geçen gün üzerinde yapılan çalışmalarda artış görülmektedir. Farklı aktivasyon ve/veya modifikasyon yöntemleri kullanılarak doğal malzemelerin yüzeyi değiştirilebilir. Aynı yöntem ile hedef molekülün salım hızı istenilen düzeyde tutularak kontrol edilebilir. Kontrollü salım sistemlerinde kullanılmak üzere tasarlanan taşıyıcı implantalarda dikkat edilmesi gereken hususlar, etken madde özellikleri, ilacın veriliş biçimi, hedef bölge, tedavinin süresi, hastalığın ve hastanın durumu, şeklinde sıralanabilir.

Çalışmamızda bu özellikleri taşıması hedeflenen hidrojel yapıdaki pHEMA ve p(HEMA-MMA), literatür taraması ve denemeler sonucu belirlenen monomer oranlarında hazırlandı. N,N,metilenbisakrilamid çapraz bağlayıcı, amonyum persülfat redoks başlatıcı, PEG ve HSA biyoyumluluğu artırıcı ve TEMED hızlandırıcı etki göstermesinden dolayı sırasıyla yapıya eklendi ve azot gazından geçirildi. 1 dakika boyunca azot gazından geçirildiğinde jel oluşmadı. Daha sonra azot gazından 1.5dk geçirildi yine bir jel yapısı oluşmadı. Son olarak 2dk boyunca azot gazından geçirilen ko-monomerinde jel oluşumu gözlenmeye başlandı. Ko-monomer yapıya, hızlandırıcı özelliğinden ötürü TEMED eklenmesi ve 1dk daha azot gazından geçirilmesi ile jelleşme görülmüştür ve oda sıcaklığında UV polimerizasyon yöntemi ile sentezlenmiştir.

Ksantan gam, kağıt ve tekstil endüstrisinde kalınlaştırıcı, süspansiyonları ve emülsiyonları stabilize edici pek çok endüstriyel uygulamada kullanılabilir. Bunların yanı sıra sıcak ve soğuk suda çözünebilmesinden, düşük konsantrasyonlarda (% 0.05-2) yüksek viskoziteli çözeltiler oluşturmasından ve geniş sıcaklık ve pH stabilitesine sahip olmasından dolayı gıda endüstrisinde de yoğun kullanım alanı bulmaktadır [46,47,48]. Gıdalarda kalınlaştırıcı, stabilize ve emülsifiye edici ajan olarak kullanılabilir [49].

Ksantan gam hidrojelinin sentez basamaklarının diğer jel sentezlerine göre daha basitmiş gibi görünmesine rağmen, daha zor bir sürecin işlediği görülmüştür. Yapılan tüm denemelere rağmen tam anlamıyla jel formülasyonu ortaya çıkarılamamıştır (Şekil 2.6.) [50,51]. Beher içinde hazırlanan Ksantan gam'ın beherden düzgün şekilde çıkarılması mümkün olmamıştır.

Tam anlamı ile kıvam almayan Ksantan gam jel yapısı üzerinden şişme davranışı, FTIR spektrumu, DSC ölçümü, temas açısı ölçümlerini almak da mümkün olmamıştır. Çünkü Ksantan gamın hidrojel oluşturma yeteneği çok düşüktür bu nedenle de jel oluşturmayan bir polisakkarit olarak kabul edilmektedir [52]. Dolayısı ile karakterizasyon çalışmaları pHEMA ve p(HEMA-MMA) için yapılmıştır.

UV fotopolimerizasyon yöntemi ile sentezlenen pHEMA ve p(HEMA-MMA); yeterli mekanik güce sahip olması, biyolojik ve kimyasal degradasyona karşı dirençli olması, istenilen yüzey yapısında ve gözenekliliği istenilen düzeyde hazırlanmaya uygun olması, hidrofilik bir yapıya sahip olması bu taşıyıcı sistemin kontrollü ilaç salımında kullanılmasındaki sunduğu avantajlar olarak düşünülmektedir.

Temas açısı ölçümleri, biyomateryal yüzeyinin karakterizasyonunda kullanılan ölçütlerden biridir. Destek materyalinin hidrofobisitesi, yüzey özelliklerine bağlı olarak değişir. Kompozit membranların hidrofobik ve polar karakterleri yüzey gerilimi bilinen farklı test sıvılarının kullanıldığı temas açısı ölçümleri ile belirlenir. Bu doğrultuda, biyomateryallerin mikro çevreleri ile etkileşimi hakkındaki önemli sonuçlar, ıslanabilirlik özellikleri araştırılarak belirlenebildiğinden, çalışmamızda, taşıyıcı implant yüzey polaritesinin belirlenmesi için temas açısı ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Islatma gücünün değişimi, yüzey tabakası kalınlığındaki (en az 10Å) ve sıvı fazla doğrudan temasındaki fonksiyonel grupların etkisini yansıttığından yüzey karakteristiklerine fazla hassastır. Su, gliserol ve diiyodometan test sıvıları kullanılarak kompozit membranların temas açıları ölçümleri yapılmıştır (Çizelge 3.2.). Sonuç olarak daha küçük yüzey gerilimli deneme sıvıları ile ölçülen temas açıları, daha küçük olmaktadır.

Çözücü transferi ile şişebilen hidrojellerde şişme davranışı araştırıldı ve polimer/kopolimer ile kopolimer/ilaç etkileşimlerini azalttığı bulundu (Şekil3.3 ve 3.4.). Ayrıca 16'şar saat boyunca her yarım saatte bir alınan ölçüm sonuçlarına göre de pHEMA'nın 16, p(HEMA-MMA)'nın 12 saatte suyu yapısına alarak dengeye ulaştığı görülmüştür. Silindir membran kalınlığı ve yoğunluğu sırasıyla 2,60 mm ve $1,05 \text{ g cm}^{-3}$ olarak bulunmuştur.

Polimer silindirlerinin porsuz yüzey yapılarının SEM görüntüsü çıkarılmıştır (Şekil 3.1. ve 3.2.). Sonuçta p(HEMA-MMA)'nın daha porsuz bir yapıya sahip olduğundan kontrollü ilaç salımında daha uygun bir yüzey morfolojisine sahip olduğu kanaatine varılmıştır.

Çalışmamızda, pHEMA ve p(HEMA-MMA) yapısında albumin ve PEG varlığının taşıyıcı implant yüzeyine adsorplanan kan serum protein miktarlarının ihmal edilebilir düzeyde olduğu görülmüştür (Çizelge3.4.). Elde edilen sonuçlar literatürde rapor edilen sonuçlarla kıyaslandığında literatüre uyum sağlamaktadır [53].

Sonuç olarak yapmış olduğumuz analizlerin verileri sonucunda pHEMA, P(HEMA-MMA) ve Ksantan gam materyalleri arasından pHEMA ve p(HEMA-MMA)'nın kontrollü ilaç salımında taşıyıcı implant olarak başarıyla uygulanabileceğini ve insan vücudu için en uyumlu hidrojelin p(HEMA-MMA) olduğu gösterilmiştir. Ayrıca bu sonuçlar kolay sterilizasyon, numune dozunun ayarlanması, toksisiteye yol açmaması ve organik çözücülerin kullanılmaması gibi pek çok farklı avantajda sağladığını göstermektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda biyouyumluluk açısından Ksantan gam'ın ve pHEMA'nın kontrollü ilaç salımında uygun taşıyıcı implant oldukları gösterilmiş olsa da [50,51], yapmış olduğumuz çalışmada p(HEMA-MMA)'nın yukarıda açıkladığımız analizler sonucunda, kontrollü ilaç salım sisteminde taşıyıcı implant olarak diğer biyomateryallerden (Ksantan gam ve pHEMA) daha biyouyumlu olduğu sonucuna varılmıştır.

Düşük maliyetli ve sürekli kullanılan polimerik salım sistemlerinin daha fazla geliştirilmesi gerekmektedir. Çalışmamızda geliştirdiğimiz bu biyouyumlu taşıyıcı implantların, düşük biyouyumluluğa neden olan kan proteinlerine ve hücrelerine karşı olan yüksek adhezyon olumsuzluğunu giderme özelliğine sahip olması dolayısıyla bu alanda kullanılabileceğini göstermiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Bora A.G 'Diş Hekimliği'nde Kullanılan Biyomateryaller' Mezuniyet tezi,1996.
- [2] Öner, Ö., Çelik, A., Gediz Nehri Aşağı Gediz Havzası'ndan Alınan Su ve Sediment Örneklerinde Bazı Kirlilik Parametrelerinin İncelenmesi. Ekoloji 20 (78): 48-52, 2011.
- [3] BİLİM ve TEKNİK 2002Temmuzsayısı Prof. Dr. Menemşe Gümüşderelioğlu Hacettepe Üniversitesi - Kimya Mühendisliği Bölümü
- [4] Hasırcı, N., "Artificial substance in our body:Biomaterials" 1st National Symposium on Biomedical Science&Technology, Bildiri Özeti s.21, Ankara (1994).
- [5] J.M.G. Cowie, Polymers: Chemistry & Physics of Modern materials, 2nd Edition, Chapman & Hall, united Kingdom, 1991.
- [6] Chen et. al.2010, Nair et al. 2010,Rajput et al.
- [7] R. S. Langer ve N. A. Peppas. Present and future applications of biomaterials in controlled drug delivery systems. Biomaterials, 2, 201(1981)
- [8] J. Heller, ve R. W. Baker. In Controlled Release of Bioactive Materials. R. W. Baker, Inc., New York. 1980
- [9] J. D. Andrade ed. Surface and Interfacial Aspects Of Biomedical Polymers New York. 1985. 61
- [10] <http://dergiler.ankara.edu.tr/dergiler/24/1084/12995>
- [11] Park, J.B.,"Biomaterials An Introduction " , Plenum Press, N.Y. (1979)

- [12] Wood, D.A., "Biodegradable Drug Delivery System", *Int. J. Pharm.*, 7 , s.1-18(1980).
- [13] Langer,R., Peppas,N.A., "Present and Application of Biomaterials in Controlled Drug Delivery Systems", *Biomaterials*, 2, October, s.201-214 (1981).
- [14] Ashar, B.V., "Characterization and Testing of Biomaterials and Medical Devices", *MD&DI* January, s.57-63 (1987).
- [15] Hubbel, J.A., "Chemical Modification of Polymer Surfaces to Improve Biocompatibility", *TRIP*, 2(1), s.20-25 (1994).
- [16] Ikada, Y., "Surface Modification of Polymers for Medical Applications" , *Biomaterials* ,15 (10), s.725-736 (1994).
- [17] Yianni,J.P., "Making PVC More Biocompatible", *Medical Devices Technology*, September, s.20-29 (1995).
- [18] R. S. Langer. New methods of drug delivery. *Science*, 249, 1527(1990).
- [19] Sam T., Fokkens J.G. "The expanding role of drug delivery systems in modern health care " 6-21, *Inovations in Drug Delivery, Impact on Pharmacotherapy*, ed. Sam T. and Fokkens J.G., The anselmus Foundation, The Netherlands (1995)
- [20] <https://www.google.com.tr/search/=hidrojeller>
- [21] M.E. Bryn, K. Park, N.A. Peppas, 'Molecular imprinting within hydrogels' *ADV. Drug Deliver Rev.* 54,149 (2002).
- [22] S. Duran, D. Şolpan O., Güven, 'Synthesis and characterization of arylamide- acrylic acid hydrogels and adsorption of some textile dyes' A Thesis of Science, The İnstitute for Graduated Studies in Pure and Applied Sciences of Hacettepe University, Ankara, 2000.

- [23] N.A. Peppas, P. Bures, W. Leabendung, H.,Inhikawa,'Hydrogels in pharmaceutical formulations', Eur. J. Pharm. Biopharm. 50, 27(2000).
- [24] K. Christensen R., Larsson, E. G. Emanuelsson, A., Larsson Heparin coating of stent graft-effects on platelets coagulation and compliment activation, Biomaterials, 22, 349(2001).
- [25] Abdel-Razek, E. M., "Influence of FeCl₃ filler on the structure and physical properties of polyethyl-methacrylate", Physica B, (2007) 200(1-2), 26.
- [26] Mohamed, K.,Gerasimov, T. G., Abourahma, M. J., Zaworotko, M. J. ve Harmon, J. P., Mater. Sci. Eng., A, (2005) 409, 227.
- [27] Huang, S-L, Chin W-K, Yang, W. P.,"Structural characteristics and properties of silica/poly(2-hydroxyethyl methacrylate) (PHEMA) nanocomposites prepared by mixing colloidal silica or tetraethoxysilane(TEOS) with PHEMA", Polymer, (2005) 46 1865.
- [28] Prashantha, K., Rashmi, B. J., Venkatesha, T. V., Lee, J-H., "Spectral characterization of apatite formation on poly(2-hydroxyethylmethacrylate)-TiO₂ nanocomposite film prepared by sol-gel process", Spectrochim. Acta A, (2006) 65
- [29] M.Y. Arica, Epoxy-Derived pHEMA Membrane for Use Bioactive Macromolecules Immobilization: Covalently Bound Urease in a Continuous Model System. Journal of Applied Polymer Science, 77, 2000(2000).
- [30] H. Köksel, Karbonhidratlar, İ. Saldamlı (eds.) Gıda Kimyası, H. Ü.Yayınları, Ankara, 1998
- [31] N.A. Peppas, Hydrogels in medicine and pharmacy. 180, 1(1986).

- [32] N.A. Peppas, Y. Huang, M. Torres-Lugo, J.H. Ward, J. Zhang. Physicochemical, foundations and structural design of hydrogels in medicine and biology, *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 2, 9 (2000).
- [33] R. Blanco, A. Arai, N. Grinberg, D.M. Yarmush, B.L. Karger. Role of association on protein adsorption isotherms. β -lactoglobulin adsorbed on a weakly hydrophobic surface, *Journal of chromatography.* 482, 1(1989).
- [34] T.A. Mykhaylyk, S.D. Evans, C.M. Fernyhough, L.W. Hamley, J.R. Henderson, Ellipsometric study of adsorption on nanopatterned block copolymer substrates. *J. Colloid Interf. Sci.* 260, 234(2003).
- [35] W.A. Zisman. Influence Of Constitution On Adhesion *Ind. Eng. Chem.* 55, 19(1963).
- [36] F.M. Fowkes, *Microscopic Aspects of Adhesion and Lubrication J. Adhes Sc. Technol.* 1, 7(1987) 42.
- [37] S.J. Wu, *Colloid Surface Sci.* 71, 605(1979)
- [38] C.J., van Oss, R.J., Good, M.K., Additive and nonadditive surface tension components and the interpretation of contact angles. *Chaudury Langmiur* 4, 884(1988).
- [39] M.Y. Arıca, G. Bayramođlu. B. Arıca, E. Yalçın K. Ito and Y. Yagci Design of a novel hydrogel membrane for various biomedical applications based on poly(hydroxyethylmethacrylate/vinylbenzyl-poly(ethyleneoxide)): properties and its drug release characteristics, *Macromolecular Bioscience* 5(10), 983(2005).
- [40] M. Yılmaz Polihidroksi Etilmetakrilat Kökenli Yapay Damarların Hazırlanması Ve Biyo-Uyumluluk Özelliklerinin Arttırılması Ve Karakterizasyonu, Kırıkkale Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2006.

- [41] S. Lakshmi, A. Jayakrishnan, Migration resistant, blood-compatible plasticized polyvinyl chloride for [Medical and related applications] *Artif Organs*; 22, 222(1998).
- [42] R.K. Murray, D.K. Granner, P.A. Mayes, and V.W. Radwell, *Hepers Biochemistry* 1996.
- [43] D. Tan, B. Zhao, S. Moochhala, Y. Yang. Sustained-Release of Caffeine from a Polymeric Tablet Matrix: an in Vitro and Pharmacokinetic Study, *Materials Science and Engineering B* 132, 143(2006)
- [44] D.K. Han, K.D. Park, Y.H. Kim, Plasma protein adsorption to sulfonated poly(ethyl oxide) grafted polyurethane, *J.Biomed Mater Res.* 30, 2(1999).
- [45] L.C. Winterton, I.D. Andrade, J. Feijen, SW. Kim. Heparin interaction with protein with protein-adsorbed surfaces. *J. Coll. Interface Sci.*, 111, 314(1986).
- [46] Basavaraju, K.C., Jayaraju, J., Rai, S.K., Damappa, T., Miscibility Studies of Xanthan Gum with Gelatin in Dilute Solution, *Journal of Applied Polymer Science*, 109, 2491–2495, 2008
- [47] Garcia-Ochoa, F., Santos, V.E., Casas, J.A., GOMEZ, E., Xanthan gum: Production, recovery and properties, *Biotechnol. Adv.* 18, 549–579, 2000.
- [48] Silca, M.F., Fornari, R.C.G., Mazutti, M.A., Oliveria, D., Padilha, F.F., Cichoski, A.J., Cansian, R.L., Di Luccio, M., Treichel, H., Production and characterization of xanthan gum by *Xanthomonas campestris* using cheese whey as sole carbon source, *Journal of Food Engineering*, 90, 119–123, 2009.
- [49] Lopez, M.J., Moreno, J., Ramos-Cormenzana, A., *Xanthomonas campestris* strain selection for xanthan production from olivemill waste waters, *Water Research*, 35, 1828–1830, 2001.

- [50] Bařkent Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomedikal Uygulamalarında Akıllı Polimer Kullanılması ve Karakterizasyon Yönteminin Kuartz Kristal Mikro Engeleyici Sistemler ile Geliştirilmesi, Nazlı Nadire SÖZMEN, Yüksek Lisans Tezi, ANKARA 2008.
- [51] Sosis Üretiminde Kullanılan Farklı Hidrokolloidlerin Termal Özellikleri VE Ürün Kalitesi Üzerine Etkileri.Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin Gıda Mühendisliğı Anabilim Dalı için Öngördüğü, Doktora Tezi 2013.
- [52] Takahashi, M., Iijima, M., Kimura, K., Hatakeyama, T., Hatakeyama, H., Thermal and viscoelastic properties of xanthan gum/chitosan complexes in aqueous solutions, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 85, 3, 669–674, 2006.
- [53] İnsulin Hormonunun Kontrollü Salımında Kullanılmak Üzere Biyoyumlu Taşıyıcı İmplantın Hazırlanması ve Uygulaması Hesna URAL Yüksek Lisans Tezi Haziran 2007.