

**KANSER TEDAVİSİNDE KULLANILAN RESVERATROLÜN  
İLAÇ TAŞIYICI SİSTEM OLARAK KİTOSAN-ALJİNAT  
KOMPOZİT BİYOJELLERE YÜKLENMESİ VE SALIMININ  
İNCELENMESİ**

**INVESTIGATION OF LOADING AND RELEASE OF  
RESVERATROL USING IN CANCER THERAPY ON  
CHITOSAN-ALGINATE COMPOSITE BIOGELS AS DRUG  
CARRIER SYSTEM**

**AYŞE BURCU NAZLI**

**PROF. DR. YEŞİM SAĞ AÇIKEL**

**Tez Danışmanı**

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

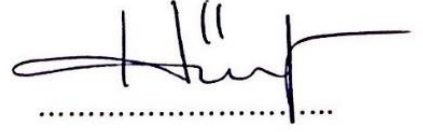
Biyomühendislik Anabilim Dalı için Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2018

AYŞE BURCU NAZLI' nın hazırladığı "Kanser Tedavisinde Kullanılan Resveratrolün İlaç Taşıyıcı Sistem Olarak Kitosan-Aljinat Kompozit Biyojellere Yüklenmesi Ve Salımının İncelenmesi" adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI' nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

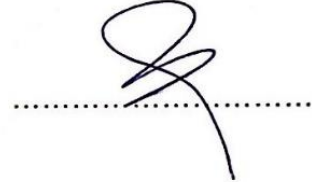
Prof. Dr. Hülya YAVUZ ERSAN  
Başkan



Prof. Dr. Yeşim SAĞ AÇIKEL  
Danışman



Doç. Dr. Macid NURBAŞ  
Üye



Doç. Dr. Mehtap ERŞAN  
Üye



Dr. Öğretim Üyesi Eda ÇELİK AKDUR  
Üye



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Menemşe GÜMÜŞDERELİOĞLU  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## YAYINLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanması zorunlu metinlerin yazılı izin alarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

- Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.  
(Bu seçenikle teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etmeniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirirse bile, tezinizin arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir.)
- Tezimin/Raporumun 2021 tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç Kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.  
(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı ve ya tamamının fotokopisi alınabilir)
- Tezimin/Raporumun ..... tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum, ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.
- Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi

07 / 06 / 2018

  
(imza)

Öğrencinin Adı Soyadı

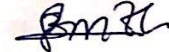
Ayşe Burcu NAZLI

## ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
  - görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
  - başkalarının eserlerinden yararlanması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
  - atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
  - kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
  - ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı
- beyan ederim.

07/06/2018



Ayşe Burcu NAZLI

## ÖZET

# KANSER TEDAVİSİNDE KULLANILAN RESVERATROLÜN İLAÇ TAŞIYICI SİSTEM OLARAK KİTOSAN-ALJİNAT KOMPOZİT BİYOJELLERE YÜKLENMESİ VE SALIMININ İNCELENMESİ

**Ayşe Burcu NAZLI**

**Yüksek Lisans, Biyomühendislik A.B.D.**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Yeşim SAĞ AÇIKEL**

**Haziran 2018, 105 sayfa**

Bu tez çalışması kapsamında Ca – Aljinat küreler, Aljinat – Kitosan hibrit küreler ve Resveratrol çapraz bağlı kitosan nanopartiküller sentezlenmiştir. Kitosan ve aljinat biyopolimerleri kullanılarak biyokompozit küreler haline getirilmiş, kitosan ve aljinatın özellikleri birleştirilerek her iki bileşenden daha üstün özelliklere sahip ilaç taşıyıcı sistemler elde etmek hedeflenmiştir. Anyonik özellikteki aljinat ile katyonik özellikteki kitosan birleşerek polielektrolit kompleks oluşturulmuş ve “damlatma tekniği” kullanılarak kompozit küreler sentezlenmiştir. Yapılan çalışmada resveratrol yüklü kitosan nanopartikülleri “çapraz bağlama tekniği” ile sentezlenmiştir.

Sentezlenen Ca – Aljinat küreler ile Aljinat – Kitosan hibrit kürelere, kanser tedavisinde kullanılan resveratrol ilacı yüklenmiş ve salım profilleri incelenmiştir. Ayrıca sentezlenen resveratrol çapraz bağlı kitosan nanopartiküllerden resveratrol salımı incelenmiştir. Söz konusu partiküllerin enkapsülasyon verimlilikleri, yükleme kapasiteleri ve kümülatif salım belirlenmiştir. En yüksek enkapsülasyon verimi % 96 ile 1:1 kütle oranındaki hibrit kürelerde elde edilmiştir.

Resveratrol kanser tedavisinde önemli yeri bulunan stilbene ailesinden polifenolik bir bileşiktir. Kapsülleme ile resveratrolün suda disperse hale getirilebilirliğinin artırılması, kimyasal kararlılığı, oral yolla alındığında biyoyararlanımının artırılması, pH değişimlerine, UV etkisine karşı kararlılığının artırılması amaçlanmıştır.

Serbest resveratrol konsantrasyonu ölçümleri, UV detektörlü Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000 HPLC kullanılarak yapılmış, analiz için gerekli absorban değerleri 306 nm olarak bulunmuştur. Partiküllerden resveratrol salım değerlerinin bulunabilmesi için *in-vivo* ortam oluşturmak amacıyla fosfat buffer ve hidroklorik asit tamponları kullanılmıştır. Resveratrolün salımı mide-bağırsak sisteminin pH seviyeleri olan 1.2 – 5.5 – 6.8 – 7.4 tampon çözeltilerde incelenmiştir.

Sentezlenen partiküllerin karakterizasyon çalışmaları Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) kullanılarak yapılmıştır ve partiküllerin ısıtma esnasında geçirdiği fiziksel ve kimyasal değişimler termogravimetrik analiz cihazı (TGA) ve diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC)' de incelenmiştir. Ca – Aljinat kürelerin ve Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin yüzey ve gözenek yapıları BET analizi ile belirlenmiştir. Ayrıca partiküllerin morfolojilerinin belirlenmesinde taramalı elektron mikroskopu (SEM) kullanılmıştır. Ca – Aljinat kürelerin ve farklı kütle oranlarında hazırlanan Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı pH tamponlarındaki şişme davranışları belirlenmiştir.

Aljinat - Kitosan hibrit kürelerden resveratrol salımına kompozit kütle oranı, ilaç miktarı ve pH değeri etkisi incelenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucu en yüksek salım verimi pH 5.5 seviyesinde 70 mg resveratrol yüklü 1:2 kütle oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerde elde edilmiştir. 1:2 kütle oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerde ilaç salım mekanizmasının belirlenmesi ve matematiksel olarak analiz edilmesi amacıyla farklı pH değerlerindeki salım verilerinin Zero-order, First-order, Higuchi, Korsmeyer – Peppas ve Baker – Lonsdale ilaç salım kinetiği modellerine uyumu incelenmiştir. *In-vitro* ortamda elde edilen verilerin kinetik modellere yerleştirilmesiyle  $R^2$ , k ve n difüzyon üsteli değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen  $R^2$  değerlerine göre ilaç salımının Korsmeyer – Peppas salım kinetik modeline daha uyum sağladığı belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Aljinat – Kitosan hibrit küreler, Resveratrol, Kanser, İlaç yükleme, Kontrollü salım, Karakterizasyon, Biyokompozitler

## **ABSTRACT**

### **INVESTIGATION OF LOADING AND RELEASE OF RESVERATROL USING IN CANCER THERAPY ON CHITOSAN-ALGINATE COMPOSITE BIOGELS AS DRUG CARRIER SYSTEM**

**Ayşe Burcu NAZLI**

**Master of Science, Bioengineering Division**

**Supervisor: Prof. Dr. Yesim SAG AÇIKEL**

**June 2018, 105 pages**

In this thesis, Ca - Alginate spheres, Alginate - Chitosan hybrid spheres and resveratrol cross - linked chitosan nanoparticles were synthesized. By using chitosan and alginate biopolymers, biocomposite spheres were synthesized and chitosan and alginate properties were combined to obtain drug delivery systems with superior properties of both components. The anionic alginate and the cationic chitosan combine to form a polyelectrolyte complex and composite spheres are synthesized using the "drip technique". In the study, resveratrol-loaded chitosan nanoparticles were synthesized by "cross-linking technique".

The synthesized Ca - Alginate spheres and Alginate - Chitosan hybrid spheres were investigated release profiles and loaded with resveratrol drug which is using in the therapy of cancer. In addition, resveratrol release from synthesized resveratrol cross-linked chitosan nanoparticles was investigated. The encapsulation efficiencies, loading capacities and cumulative release of the particles were determined. The highest encapsulation was obtained in hybrid spheres with a mass ratio of 1: 1 and was found to be 96%.

Resveratrol is a polyphenolic compound from the family of stilbene, which is of great importance in the treatment of cancer. Encapsulation is intended to increase the dispersibility of water in resveratrol, increase chemical stability, increase bioavailability when taken orally, increase pH stability, and increase UV stability.

Free resveratrol concentration measurements were made using a UV detector Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000 HPLC, and the absorbance required for the assay was found to be 306 nm. In order to establish the in vivo medium for

resveratrol release values from the particles phosphate buffer and hydrochloric acid buffers were used. Resveratrol release was studied in 1.2 - 5.5 - 6.8 - 7.4 buffer solutions with pH levels of the gastrointestinal tract.

Characterization studies of the synthesized particles were carried out using Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and the physical and chemical changes during the heating of the particles were investigated in thermogravimetric analyzer (TGA) and differential scanning calorimetry (DSC). Surface and pore structures of Ca - Alginate spheres and Alginate - Chitosan hybrid spheres were determined by BET analysis. Scanning electron microscopy (SEM) was also used to determine the morphology of the particles. Swelling behavior of Ca - Alginate spheres and Alginate - Chitosan hybrid spheres prepared at different mass ratios were determined at different pH buffers.

Composite mass ratio, drug amount and pH value effect of resveratrol release from alginate - chitosan hybrid spheres were investigated. The results of the studies were obtained in Alginate - Chitosan hybrid spheres with a mass ratio of 1: 2 with 70 mg resveratrol loaded at the highest release pH of 5.5. In the 1: 2 mass ratio Alginate - Chitosan hybrid spheres, in order to determine the drug release mechanism and to analyze mathematically; Zero-order, First-order, Higuchi, Korsmeyer - Peppas and Baker-Lonsdale drug delivery kinetics models the compatibility of the release data at different pH values has been investigated. The *in-vitro* data obtained were fitted to kinetic models to calculate  $R^2$ , k and n diffusing exponents. According to the obtained  $R^2$  values, it was determined that the drug release better conformed to the Korsmeyer - Peppas release kinetic model.

**Keywords:** Alginate - Chitosan hybrid spheres, Resveratrol, Cancer, Drug loading, Controlled release, Characterization, Biocomposites



## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmam boyunca desteğini esirgemeyip yanımda olan, bana yol gösteren ve yönlendiren saygı değer hocam **Prof. Dr. Yeşim Sağ Açıkel'** e,

Hayattaki en büyük destekçilerim olan ve bugüne kadar benim için hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, her zaman her koşulda bana güvenip yanımda olan, vazgeçtiğim her an beni yeniden cesaretlendiren canım ailem; annem **Selma Nazlı'** ya, babam **İsmail Nazlı'** ya ve kardeşlerim **Esra Nazlı** ve **Oğuzhan Nazlı'** ya,

Çalışmam süresince bilgi ve tecrübeleriyle, manevi destekleriyle daima yanımda olan laboratuvar arkadaşlarım **Merve Öztekin, Ezgi Türkeş, Görkem Polat'** a

Dünyanın diğer ucunda da olsalar yardım edebileceğim bir şey var mı cümlesiyle aslında yanı başımda olduklarını hissettiren, yorulduğumda beni cesaretlendiren canım arkadaşlarıma,

Karakterizasyon çalışmalarımın tamamlanabilmesi için analizlerimi yapma imkanı bulduğum ODTÜ Merkez Laboratuvarı çalışanlarına ve Hacettepe Yer Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezi Elektron Mikroskopi Laboratuvarına,

Çalışmam boyunca yanımda olup küçük ya da büyük yardımını esirgemeyen herkese,

Sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

**Ayşe Burcu Nazlı**

**Ankara, 2018**

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	iii
TEŞEKKÜR .....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
ÇİZELGELER .....	viii
ŞEKİLLER .....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	xv
1. GİRİŞ .....	1
2. KANSER .....	2
2.1. Kanserin Tanımı ve Önemi .....	2
2.2. Kanserin Nedenleri .....	3
2.3. Kanser Tedavisi .....	4
2.3.1. Cerrahi Yöntem .....	4
2.3.2. Radyoterapi .....	4
2.3.3. İmmünoterapi .....	5
2.3.4. Kemoterapi .....	5
3. İLAÇ SALIM SİSTEMLERİ .....	6
3.1. İlaç Salım Sistemlerinde Kullanılan Mekanizmalar .....	7
3.2. İlaç Salım Sistemleri ve Hidrojeller .....	9
3.3. İlaç Salım Sistemlerinde Kullanılan Biyomalzemeler .....	12
3.3.1. Kitosan .....	12
3.3.2. Aljinat .....	15
3.3.3. Aljinat - Kitosan Kompoziti .....	16
3.4. İlaç Salım Sisteminde Kullanılan İlaç: Resveratrol .....	17
3.4.1. Resveratrolün Sağlık Üzerine Etkisi ve Kanserin Tedavisindeki Rolü ..	18
3.5. Literatür Özeti .....	19
4. İLAÇ SALIM KİNETİĞİNİN MATEMATİKSEL TANIMLANMASI .....	21
4.1. Zero-order Model .....	22
4.2. First-order Model .....	22
4.3. Higuchi Model .....	23
4.4. Korsmeyer- Peppas Model .....	24
4.5 Baker- Lonsdale Model .....	26

5. DENEYSEL YÖNTEMLER .....	27
5.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	27
5.2. Ca – Aljinat Kürelerin Hazırlanması .....	27
5.3. Aljinat – Kitosan Hibrit Kürelerin Hazırlanması .....	28
5.4. Ca – Aljinat Kürelere Resveratrol Yüklenmesi .....	28
5.5. Aljinat – Kitosan Hibrit Kürelere Resveratrol Yüklenmesi .....	29
5.6. Resveratrol Çapraz Bağlı Kitosan Nanopartiküllerin Hazırlanması .....	29
5.7. Karakterizasyon Çalışmaları .....	30
5.7.1. Partiküllerin Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüleri (SEM) ve EDS Analizi - Mapping .....	30
5.7.2. FT-IR, TGA ve DSC Analizleri .....	30
5.7.3. Yüzey Karakterizasyonu için BET Analizi .....	30
5.7.4. Şişme Çalışmaları .....	30
5.8. Resveratrol Salım Çalışmaları .....	31
5.8.1. Resveratrolün HPLC Saptama Yöntemi .....	33
6. SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME .....	35
6.1. Karakterizasyon Çalışmaları .....	35
6.1.1. Partiküllerin Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüleri (SEM) ve EDS Analizi – Mapping .....	35
6.1.2. FT-IR, TGA ve DSC Analizleri .....	43
6.1.3. BET Analizi .....	55
6.1.4. Şişme Çalışmaları .....	56
6.2. Resveratrol Salım Çalışmaları .....	58
6.2.1. Resveratrol Kalibrasyon Eğrilerinin Çıkarılması .....	58
6.2.2. Enkapsülasyon Verimliliklerinin ve Yükleme Kapasitelerinin Hesaplanması .....	60
6.2.3. Ca – Aljinat Kürelerden Resveratrol Salımının İncelenmesi .....	62
6.2.4. Aljinat - Kitosan Hibrit Kürelerden Resveratrol Salımının İncelenmesi .....	64
6.2.5. Yüklenen Resveratrol Miktarının Değiştirilmesi ve Salıma Etkisi .....	71
6.2.5. Resveratrol Çapraz Bağlı Kitosan Nanopartiküllerden Resveratrol Salımının İncelenmesi .....	80
6.3. Resveratrol Salımının Matematiksel Modellere Uygulanması ve Analizi ....	85
7. DEĞERLENDİRME VE ÖNERİLER .....	92
KAYNAKLAR .....	99
ÖZGEÇMİŞ .....	104

# ÇİZELGELER

## Sayfa

<b>Çizelge 3. 1</b> Doğal Kaynaklı ve Sentetik Polimerler .....	11
<b>Çizelge 3. 2</b> Literatürde yapılan diğer çalışmalarda elde edilen enkapsülasyon verimlilikleri verilmiştir.....	21
<b>Çizelge 4. 1</b> Difüzyon üsteli $n$ ve farklı morfolojik yapıdaki kontrollü salım sistemlerinden ilaç salım mekanizması .....	26
<b>Çizelge 5. 1</b> Trans-resveratrol' ün tayini için kullanılan HPLC analiz yöntemi.....	34
<b>Çizelge 6. 1</b> BET analizi sonucu elde edilen verilerin gösterimi .....	56
<b>Çizelge 6. 2</b> Enkapsülasyon Verimlilikleri .....	61
<b>Çizelge 6. 3</b> Farklı miktarlarda ilaç yüklü 1:2 kütle oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin enkapsülasyon verimlilikleri ve yükleme kapasiteleri .....	62
<b>Çizelge 6. 4</b> Farklı pH tamponlarındaki Zero - order kinetik modeli $k_0$ ve $R_2$ değerleri .....	86
<b>Çizelge 6. 5</b> Farklı pH tamponlarındaki First - order kinetik modeli $k_1$ ve $R_2$ değerleri .....	87
<b>Çizelge 6. 6</b> Farklı pH tamponlarındaki Higuchi kinetik modeli $k_H$ ve $R_2$ değerleri .....	88
<b>Çizelge 6. 7</b> Farklı pH tamponlarındaki Korsmeyer – Peppas kinetik modeli $k$ , $n$ , $R_2$ değerleri ve ilaç salım mekanizmaları .....	90
<b>Çizelge 6. 8</b> Farklı pH tamponlarındaki Baker - Lonsdale kinetik modeli $k$ ve $R_2$ değerleri .....	91
<b>Çizelge 7. 1</b> Partiküllerin yüklenen ilaç miktarına göre enkapsülasyon ve yükleme kapasiteleri .....	93
<b>Çizelge 7. 2</b> Partiküllerin farklı pH tamponlarında elde edilen kümülatif salım yüzdeleri.....	95

<b>Çizelge 7. 3</b> farklı miktarlarda ilaç yüklü 1:2 kütle oranındaki hibrit kürelerin 48. saatin sonunda ortama saldıkları ilaç konsantrasyonları (pH= 5.5, T= 37°C, t= 2880.dk) .....	97
<b>Çizelge 7. 4</b> farklı pH tamponlarındaki ilaç salımı kinetik modellerinin R2 değerleri .....	97



# ŞEKİLLER

## Sayfa

<b>Şekil 3. 1</b> Kontrollü salımda zamana karşı ilaç derişimi .....	7
<b>Şekil 3. 2</b> Sıcaklık ve pH değişimi ile hidrojellerden ilaç salım mekanizması .....	10
<b>Şekil 3. 3</b> Kitosan bazlı ilaç salım sistemleri (oval şema) ve hazırlanması için farklı yöntemler (dikdörtgen şema) .....	13
<b>Şekil 3. 4</b> Kitosanın çok yönlülüğünün şematik çizimi .....	14
<b>Şekil 3. 5</b> Aljinatın yapısı ve tekrar eden üniteler .....	15
<b>Şekil 3. 6</b> Polielektrolit kompleksin (PEC) random oluşumu .....	17
<b>Şekil 3. 7</b> Trans-resveratrol ve cis- resveratrol' ün kimyasal yapısı. ....	18
<b>Şekil 4. 1</b> Şişme kontrollü ilaç dağıtım sistemi. Camsı hidrojel su ile temas ettiğinde, polimer matrisi şişmeye başlar ve kauçuksu faz görünür. İlaç molekülleri kauçuksu fazda dağılır. ....	25
<b>Şekil 5. 1</b> Resveratrol dalga boyu taraması .....	32
<b>Şekil 5. 2</b> Mide – Bağırsak sistemi pH seviyeleri .....	33
<b>Şekil 6. 1</b> SEM görüntüleri (A) Ca – Aljinat küre, (B) Ca – Aljinat kürelerin yüzey görünümü .....	35
<b>Şekil 6. 2</b> SEM görüntüleri (A) Ca – Aljinat kürelerin yüzey görünümü, (B) Ca – Aljinat küre kesit .....	35
<b>Şekil 6. 3</b> SEM görüntüleri (A) Aljinat – Kitosan hibrit küre (2:1), (B) ve (C) Aljinat – Kitosan hibrit küre (2:1) yüzey görünümü, (D) Aljinat – Kitosan hibrit küre (2:1) kesit .....	36
<b>Şekil 6. 4</b> SEM görüntüleri (A) Aljinat – Kitosan hibrit küre (1:1), (B) ve (C) Aljinat – Kitosan hibrit küre (1:1) yüzey görünümü, (D) Aljinat – Kitosan hibrit küre (1:1) kesit .....	37
<b>Şekil 6. 5</b> SEM görüntüleri (A) Aljinat – Kitosan hibrit küre (1:2), (B) ve (C) Aljinat – Kitosan hibrit küre (1:2) yüzey görünümü, (D) Aljinat – Kitosan hibrit küre (1:2) kesit .....	38

<b>Şekil 6. 6</b> SEM görüntüleri (A) Aljinat – Kitosan hibrit küre (4:1), (B) Aljinat – Kitosan hibrit küre (4:1) yüzey görünümü, (C) Aljinat – Kitosan hibrit küre (4:1) kesit.....	39
<b>Şekil 6. 7</b> SEM görüntüleri (A) Resveratrol çapraz bağlı kitosan nanopartikülleri genel görünüm, (B) ve (C) Resveratrol çapraz bağlı kitosan nanopartikülü tek başına .....	40
<b>Şekil 6. 8</b> Yukarıdan aşağıya; Ca – Aljinat kürelerin EDS analizi ve Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin EDS analizi .....	41
<b>Şekil 6. 9</b> Mapping (SEM haritalama) görüntüleri; (A) Ca – Aljinat kürelerin ve (B) Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin .....	42
<b>Şekil 6. 10</b> Aljinat – Kitosan hibrit küre (1:2), saf sodyum aljinat ve saf kitosana ait FT-IR spektrumları (Yukarıdan aşağıya) .....	43
<b>Şekil 6. 11</b> Ca – Aljinat küre, Aljinat – Kitosan hibrit küre (1:1), Aljinat – Kitosan hibrit küre (1:2) ve Aljinat – Kitosan hibrit kürelere (2:1) ait FT-IR spektrumları (Yukarıdan aşağıya) .....	44
<b>Şekil 6. 12</b> Resveratrol, Resveratrol yüklü Aljinat – Kitosan hibrit küre (1:2) ve Boş Aljinat – Kitosan hibrit kürelere (1:2), ait FT-IR spektrumları (Yukarıdan aşağıya).....	45
<b>Şekil 6. 13</b> Resveratrol, Resveratrol çapraz bağlı kitosan nanopartikülüne ait FT-IR spektrumları (Yukarıdan aşağıya) .....	46
<b>Şekil 6. 14</b> Saf sodyum aljinat, Ca – Aljinat küre, ve Resveratrol yüklü Ca – Aljinat kürelere ait FT-IR spektrumları (Yukarıdan aşağıya).....	46
<b>Şekil 6. 15</b> Saf sodyum aljinat, Saf kitosan, Ca – Aljinat küre ve Aljinat – Kitosan hibrit kürelere ait FT-IR spektrumları sırasıyla; (1:1), (1:2), (2:1), (4:1) (Yukarıdan aşağıya) .....	47
<b>Şekil 6. 16</b> TGA analizleri: 1) Aljinat – Kitosan Hibrit Küre (1:2), 2) Ca – Aljinat Küre ve 3) Saf kitosan.....	48
<b>Şekil 6. 17</b> Aljinat – Kitosan Hibrit Küre (2:1) TGA analizi.....	49
<b>Şekil 6. 18</b> Aljinat – Kitosan Hibrit Küre (1:1) TGA analizi.....	50
<b>Şekil 6. 19</b> Aljinat – Kitosan Hibrit Küre (1:2) TGA analizi.....	50
<b>Şekil 6. 20</b> Resveratrol yüklü Aljinat – Kitosan Hibrit Küre (1:2) TGA analizi .....	51
<b>Şekil 6. 21</b> Resveratrol çapraz bağlı kitosan nanopartiküllerinin TGA analizi .....	52
<b>Şekil 6. 22</b> Yukarıdan aşağıya; Aljinat – Kitosan Hibrit Küre (1:2), Saf kitosan ve Ca – Aljinat Kürelerin DSC Analizleri .....	53
<b>Şekil 6. 23</b> Aljinat – Kitosan Hibrit Kürelerin farklı kütle oranlarının DSC Analizleri, Yukarıdan aşağıya; (1:2), (2:1) ve (1:1).....	54

<b>Şekil 6. 24</b>	Resveratrol çapraz bağlı kitosan nanopartiküllerinin DSC analizi .....	54
<b>Şekil 6. 25</b>	Resveratrol DSC analizi .....	55
<b>Şekil 6. 26</b>	Ca – Aljinat kürelerin ve farklı kütle oranlarında Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin şişme dereceleri.....	57
<b>Şekil 6. 27</b>	Farklı kütle oranlarında Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin pH 7.4' de göstermiş oldukları şişme davranışları .....	58
<b>Şekil 6. 28</b>	Etanol çözeltisi ortamında Resveratrolün kalibrasyon grafiği .....	59
<b>Şekil 6. 29</b>	0.1 M HCL tamponunda Resveratrolün kalibrasyon grafiği .....	59
<b>Şekil 6. 30</b>	0.1 M PBS tamponunda Resveratrolün kalibrasyon grafiği .....	60
<b>Şekil 6. 31</b>	Ca – Aljinat kürelerden farklı pH' lardaki zamana karşı <i>in-vitro</i> resveratrol salım profilleri .....	63
<b>Şekil 6. 32</b>	Ca – Aljinat kürelerden farklı pH' lardaki zamana karşı <i>in-vitro</i> resveratrol salım profilleri; ilk 4 saat .....	63
<b>Şekil 6. 33</b>	Ca – Aljinat kürelerin farklı tamponlardaki zamana karşı resveratrol salım profili.....	64
<b>Şekil 6. 34</b>	2:1 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı pH' lardaki zamana karşı <i>in-vitro</i> resveratrol salım profilleri.....	65
<b>Şekil 6. 35</b>	2:1 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı pH' lardaki zamana karşı <i>in-vitro</i> resveratrol salım profilleri; ilk 4 saat.....	66
<b>Şekil 6. 36</b>	2:1 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı tamponlardaki zamana karşı resveratrol salım profili .....	67
<b>Şekil 6. 37</b>	1:1 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı pH' lardaki zamana karşı <i>in-vitro</i> resveratrol salım profilleri.....	67
<b>Şekil 6. 38</b>	1:1 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı pH' lardaki zamana karşı <i>in-vitro</i> resveratrol salım profilleri; ilk 4 saat.....	68
<b>Şekil 6. 39</b>	1:1 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı tamponlardaki zamana karşı resveratrol salım profili.....	68
<b>Şekil 6. 40</b>	1:2 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı pH' lardaki zamana karşı <i>in-vitro</i> resveratrol salım profilleri.....	70
<b>Şekil 6. 41</b>	1:2 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı pH' lardaki zamana karşı <i>in-vitro</i> resveratrol salım profilleri; ilk 4 saat.....	70
<b>Şekil 6. 42</b>	1:2 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı tamponlardaki zamana karşı resveratrol salım profili.....	71



<b>Şekil 6. 43</b> 35 mg RSV yüklü 1:2 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı pH' lardaki zamana karşı <i>in-vitro</i> resveratrol salım profilleri .....	73
<b>Şekil 6. 44</b> 35 mg RSV yüklü 1:2 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı pH' lardaki zamana karşı <i>in-vitro</i> resveratrol salım profilleri; ilk 4 saat .....	73
<b>Şekil 6. 45</b> 35 mg RSV yüklü 1:2 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı tamponlardaki zamana karşı resveratrol salım profili .....	74
<b>Şekil 6. 46</b> 100 mg RSV yüklü 1:2 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı pH' lardaki zamana karşı <i>in-vitro</i> resveratrol salım profilleri .....	75
<b>Şekil 6. 47</b> 100 mg RSV yüklü 1:2 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı pH' lardaki zamana karşı <i>in-vitro</i> resveratrol salım profilleri; ilk 4 saat .....	76
<b>Şekil 6. 48</b> 100 mg RSV yüklü 1:2 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı tamponlardaki zamana karşı resveratrol salım profili .....	76
<b>Şekil 6. 49</b> Resveratrol yükleme miktarının pH 7.4 tampon çözeltisinde resveratrol salımına resveratrol salımına etkisi .....	77
<b>Şekil 6. 50</b> Resveratrol yükleme miktarının pH 6.8 tampon çözeltisinde resveratrol salımına resveratrol salımına etkisi .....	78
<b>Şekil 6. 51</b> Resveratrol yükleme miktarının pH 5.5 tampon çözeltisinde resveratrol salımına resveratrol salımına etkisi .....	79
<b>Şekil 6. 52</b> Resveratrol yükleme miktarının pH 1.2 tampon çözeltisinde resveratrol salımına resveratrol salımına etkisi .....	79
<b>Şekil 6. 53</b> Kitosan nanopartiküllerin farklı pH' lardaki zamana karşı <i>in-vitro</i> resveratrol salım profilleri .....	80
<b>Şekil 6. 54</b> Kitosan nanopartiküllerin farklı pH' lardaki zamana karşı <i>in-vitro</i> resveratrol salım profilleri; ilk 4 saat .....	81
<b>Şekil 6. 55</b> RSV çapraz bağlı kitosan nanopartiküllerin farklı tamponlardaki zamana karşı resveratrol salım profili.....	82
<b>Şekil 6. 56</b> Resveratrol salımının partiküllere göre karşılaştırılması (pH=5.5, T=37°C, RSV= 70 mg).....	83
<b>Şekil 6. 57</b> Resveratrol salımının partiküllere göre karşılaştırılması; ilk 4 saat (pH=5.5, T=37°C, RSV= 70 mg) .....	83
<b>Şekil 6. 58</b> Resveratrol salımının partiküllere göre karşılaştırılması (pH=1.2, T=37°C, RSV= 70 mg).....	84
<b>Şekil 6. 59</b> Resveratrol salımının partiküllere göre karşılaştırılması (pH=6.8, T=37°C, RSV= 70 mg).....	84

<b>Şekil 6. 60</b> Resveratrol salımının partiküllere göre karşılaştırılması (pH=7.4, T=37°C, RSV= 70 mg).....	85
<b>Şekil 6. 61</b> Resveratrolün 1:2 oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerden salımının Zero - order kinetik modele uyumu (T= 37°C, RSV= 70 mg).....	86
<b>Şekil 6. 62</b> Resveratrolün 1:2 oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerden salımının First - order kinetik modele uyumu (T= 37°C, RSV= 70 mg) .....	87
<b>Şekil 6. 63</b> Resveratrolün 1:2 oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerden salımının Higuchi kinetik modele uyumu (T= 37°C, RSV= 70 mg, t= 240 dk).....	88
<b>Şekil 6. 64</b> Resveratrolün 1:2 oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerden salımının Korsmeyer – Peppas kinetik modele uyumu (T= 37°C, RSV= 70 mg, ilk % 60 ilaç salımı verileri).....	89
<b>Şekil 6. 65</b> Resveratrolün 1:2 oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerden salımının Baker - Lonsdale kinetik modele uyumu (T= 37°C, RSV= 70 mg, t= 240 dk).....	91

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Simgeler

°C	Santigrat derece
nm	Nanometre
L	Litre
mL	Mililitre
g	Gram
mg	Miligram

### Kisaltmalar

ALJ	Aljinat
KTN	Kitosan
RSV	Resveratrol
PEC	Polielektrolit kompleks
PLGA	poly(lactic-co-glycolic acid)
HCL	Hidroklorik Asit
PBS	Fosfat Buffer Solution
EDS	Energy Dispersive Xray Spectroscopy
FTIR	Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
TGA	Termogravimetrik Analiz
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre Cihazı
BET	Brunauer-Emmet ve Teller Analizi

# 1. GİRİŞ

Son yıllarda biyomateryal alanındaki ilerlemeler, alternatif biyo-uyumlu materyaller üzerinde çeşitli araştırmalara ve bu malzemelerin özelliklerine, faydalarına, sınırlamalarına ve alternatif kaynakların kullanımına odaklanarak geliştirilmesine yönelmiştir. En çok çalışılan biyomateryaller arasında bulunan hidrojeller biyoyumluluk, biyo-bozunabilirlik, mekanik özellikler gibi avantajları nedeniyle öne çıkmaktadır.

Hidrojeller, suda veya biyolojik sıvılarda şişebilen üç boyutlu hidrofilik polimer ağlarından oluşan yumuşak malzemelerdir. Hidrojellerin biyolojik koşullardaki şişme kabiliyeti, biyolojik bileşiklerin ve ilaçların difüzyonuna izin vererek, bunları doğal dokulara çok benzer kılar ve biyomedikal uygulamalarına olanak tanır. Hidrojeller aynı zamanda uyarana duyarlı özellikleri sayesinde akıllı materyaller olarak da adlandırılır ve ilacın salımı pH, ışık, manyetik alan, sıcaklık ve benzerleri gibi harici bir uyarandan kontrol edilebilir.

Ek olarak, bu materyaller kontrollü ilaç salımı, kontakt lensler, iskeleler, hücre büyümesi, tarım ve rejeneratif tıp dahil olmak üzere oldukça geniş bir uygulama alanına sahiptir.

İlaç taşıyıcı sistemler aktif bir madde, taşıyıcı veya cihaza yüklendikten sonra, belirli bir yerde ve belirli bir hızda kontrollü ve sürekli ilaç salımı sağlayarak, aşırı dozajı önleyerek ve yan etkileri azaltarak, alternatif bir tedavi yöntemi olarak ortaya çıkmıştır. Gelecekte kanserin tedavisinde etkin kullanımı için günümüzde birçok çalışmalar yapılmaktadır.

Geleneksel kemoterapi tedavisindeki ana dezavantaj, ilaçların özgüllüğüdür. Bu bağlamda enjekte edilebilir pH duyarlı hidrojeller, anti-kanser ilaç dağıtımı için oldukça ilgi odağıdır. *In-situ* olarak hidrojeller oluşturulduktan sonra tümör bölgesine intratümöral enjeksiyonu ilacın biyoyararlılığını artırabilir ve aynı zamanda sistemik toksisiteyi azaltabilir. Tümör terapisine uygun ilacın salımı ise *in-vitro* pH' lara bağlı jel yıkımı sayesinde gerçekleşir [1].

Bu tez çalışmasında sentezlenecek kanser tedavisinde kullanılan resveratrol ilacı ile yüklenmiş Aljinat – Kitosan bazlı hibrit hidrojel kürelerin hedefi, özellikle antikanser ilaçların yan etkilerini azaltan ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilerek

geleneksel tedaviyle ilgili problemlerin üstesinden gelmek ve gelecekte daha başarılı biyomedikal uygulamalar elde etmektir.

## **2. KANSER**

Kanser günümüzde tüm dünyada çok önemli bir sağlık problemi olarak kabul edilir. Özellikle çevresel karsinojenlerle maruz kalmanın artmış olması nedeniyle gelişmiş ülkelerde karşılaşılan hastalıklar arasında birinci sırada yer almaktadır. Bununla birlikte ilerleyen günümüz teknolojisi ile tanı imkanlarının artmasının yanı sıra kanser tedavisinde de önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Hala erken tanının tedavi sürecinde çok büyük önemi bulunmaktadır.

### **2.1. Kanser Tanımı ve Önemi**

Kanser çok karmaşık bir biyolojik oluşumdur ve en basit şekilde tanımlayacak olursak hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalmalarıdır. Kanserli hücrelerin ayırt edici özelliklerinden biri, hızla ve kontrol dışı olarak bölünmeleri ve çoğalmalarıdır. Vücudumuzu oluşturan, organizmanın en küçük birimi olan hücreler normal durumda belirli bir hızda ve kontrollü olarak çoğalır ve de aynı zamanda yaşlanan hücreler de yine aynı oranda yıkılırlar. Kanserli bir yapıda bu denge bozulmuştur. Hücreler bu şekilde kontrol dışı çoğalarak organ ve dokuları işgal eder, işlevlerini yerine getirmelerini engeller. Karsinogenez çoğalma evresi, yayılma evresi ve uzak doku ve organlara metastaz evrelerinin hepsini kapsar [2].

Tümör dönüşümüne mutasyonlar sebep olur. Bu mutasyonlar bazı genlerin aktivasyonunu sağlarken bazılarını da inaktive eder. Örneğin proto-onko genler mutasyonla aktive edilirken tümör baskılayıcı genler inaktive olur. Yine apoptozisin inaktive edilmesi de bu mutasyonlar nedeni ile olabilir. Proto-onko genlerin aktive olması büyüme ve hücre çoğalmasını tetikleyen bir sonuca yol açar. Apoptozis ise programlanmış hücre ölümüdür ve vücut ihtiyacı olmayan, yaşlı veya anormalleşmiş bu hücreleri yok eder [3].

Her yıl dünya genelinde 14 milyon kişinin kansere yakalandığı tahmin edilmektedir ve ölüm nedenleri arasında birinci sıradadır. Bu nedenle dünyanın birçok yerinde önemli bir halk sağlığı sorunudur. Erkeklerde prostat, akciğer ve bronş kanseri ve kolorektal kanserler, tüm vakaların yaklaşık yarısını oluşturur. Bunun yanı sıra tek başına prostat kanseri yeni tanılarının yaklaşık dörtte birini oluşturmaktadır. Kadınlarda ise en sık rastlanan 3 kanser, meme, akciğer ve bronş kanseridir.

Sadece meme kanserinin kadınlarda tüm yeni kanserlerin % 29'unu oluşturduğu düşünölmektedir [4].

Günümüzde kanser hastalarını tedavi etmek için kullanılan terapi türü, birçok kişinin hayatını kurtarmıştır. Kanser için güncel tedavi kemoterapi, radyasyon, tümörlerin cerrahi olarak çıkarılması olarak planlanıyor olsa da çoğu zaman bu yöntemlerin bir kombinasyonunu içerir. Kemoterapi, tüm hızlı bölünen hücreleri yok etmeyi amaçlamaktadır. Bununla birlikte, geleneksel kemoterapiler, sağlıklı ve kanserli hücreler arasında ayırım yapmaz ve nonspesifik biyo-dağılım ile sonuçlanır. Bu nedenle, verilen ilacın sadece küçük bir kısmı kanser hücrelerine ulaşır ve öldürür. Bu tedavinin olumsuz tarafı, vücudun diğer hızlı çoğalan hücrelerinin, örneğin saç folikülleri ve bağırsak epitelyumunun da öldürölmesidir ve hasta, yaşamını değıştiren bu yan etkilerle de başa çıkmak zorunda kalır. Hastalara tedavinin etkili olması için ilacın çok yüksek seviyelerde verilmesini gerektirir. Gerekli olan bu yüksek dozlar ve özgüllük eksikliği tipik olarak sağlıklı dokulara önemli ve zayıflatıcı yan etkilere yol açar. Bu doz sınırlayıcı toksisiteler, hastaların tedaviler arasında iyileşmek için uzun süreler beklemesini gerektirir. Bu süre zarfında, ilaca maruz kalmış, ancak öldürölmemeyen kanserli hücreler de tedaviden kurtulma ve direnç geliştirme fırsatına sahiptir. İlaç taşıyıcı sistemler ile tümör bölgesinde hedeflenen ilaç uygulaması, diğer normal doku ve organlara karşı toksik etkilerden büyük ölçüde kaçınmayı sağlayabilir [5, 6].

## **2.2. Kanser Nedenleri**

Kanserin meydana gelme sebebi tam olarak bilinmemekle birlikte genetik faktörlerin yanında çevresel faktörlerin de bu oluşumda önemli olduğu bir gerçektir. Bu çevresel kanser yapıcı faktörler aşağıdaki şekilde sıralanabilir.

- ❖ İyonize radyasyon
- ❖ Hava kirliliğı
- ❖ Kimyasal kanser yapıcılar
- ❖ Ultraviyole ışınları
- ❖ Beslenme alışkanlıkları
- ❖ Sigara ve alkol kullanımı
- ❖ Bazı virüsler

Kanser tek bir nedene bağlı olarak ortaya çıkılmaz genetik faktörler de oldukça önem taşır. Ancak bu nedenler ne kadar çok açıklığa kavuşursa kanserle mücadelede de bir o kadar avantaj sağlanmış olur [7].

### **2.3. Kanser Tedavisi**

Kanser tedavisinde başarılı bir sonuca ulaşmada kanserin türü ve vücuda ne kadar yayılmış olması ne kadar önemli ise düzenli bir tedavi de bir o kadar önem taşımaktadır. Tedavi genellikle konusunda uzmanlaşmış bir ekip tarafından yürütülür. Tedavide tek tip bir yöntem kullanılmaz genellikle cerrahi, radyoterapi, kemoterapi ve immünoterapi kanserin türüne göre seçilen ve birlikte uygulanan başlıca yöntemlerdir.

#### **2.3.1. Cerrahi Yöntem**

Günümüzde hala ilk tedavi olarak başvurulan bir yöntemdir. Cerrahi yöntem farklı amaçlarla uygulanabilir. Tanısal cerrahi olarak anormallik gösteren dokudan örnek alınır ya da tüm doku çıkarılır. Önleyici cerrahi olarak gelecekte kansere dnseceği bilinen veya dönüşme riski çok yüksek olan dokulara uygulanır. Küratif cerrahi olarak kanserli hücrelerin yayılma riskinin fazla olduğu komşu dokular vücuttan alınır. Genellikle erken tanı konulan hastalarda uygulanır ve tedavinin başarılı sonuçlanmasında önemli rol oynamaktadır. Son olarak palyatif cerrahi ise çok ilerlemiş kanser vakalarında uygulanan bir yöntemdir ve hastanın yaşam süresini uzatmak amacıyla ve işlevini yerine getiremeyen doku ve organların işlevlerini düzenlemek için uygulanır [7].

#### **2.3.2. Radyoterapi**

Bu tedavide tümörleri yok etmek için radyasyon dalgaları kullanılır. Genel bir terim olarak radyasyon, ışık ya da ısı gibi enerji dalgaları anlamına gelir. Kanser tedavisinde kullanılan radyasyon formu, iyonlaştırıcı radyasyon olarak bilinen yüksek enerjili bir tiptir. Radyasyonun kanser tedavisi için tam olarak nasıl çalıştığı karmaşıktır ancak basit bir seviyede, kanser hücrelerinin DNA'sını etkilemekte ve bölünmelerini bozacak ve hatta onları öldürebilecek şekilde parçalara ayırır. Radyasyon terapisi bazen kendi başına kullanılırken bazı durumlarda ise örneğin kemoterapi gibi diğer tedavi yöntemleri ile birlikte uygulanabilir [8].

### **2.3.3. İmmünoterapi**

İmmünoterapide vücudun bağışıklık sistemi iç ve dış uyaranlara karşı kullanılarak kanserli hücrelere karşı bir cevap oluşturulur. Bu tedavide sitokinler, antikolar ve hücreler çok sık kullanılır. İmmün sistem uyarılarak vücudun kansere karşı bir saldırı oluşturması amaçlanır [9].

### **2.3.4. Kemoterapi**

Kemoterapi herhangi bir hastalığı tedavi etmek için herhangi bir ilacın kullanımınıdır. Ancak çoğu insan için kemoterapi kelimesi, kanser tedavisi için kullanılan ilaçlar anlamına gelir. Cerrahi ve radyasyon tedavisi belirli bir bölgedeki kanser hücrelerini kaldırır, öldürür veya hasar verirken kemoterapi tüm vücut boyunca çalışabilir. Bu nedenle kemoterapi, orjinal (primer) tümörden çok uzağa vücudun bölümlerine yayılan veya metastaz yapan kanser vakalarında uygulanır. Kanser tedavisinde kemoterapide üç ana hedef vardır. Bunlar; tedavi etme, kontrol altına alma ve hafifletme yani palyatif bakımdır. Semptomları azaltmak veya konforu artırmak için kullanılan tedavilere palyatif bakım denir. Örneğin, bulantı karşıtı tedaviler veya ağrı ilaçları palyatif olarak nitelendirilir ve tedavinin tüm aşamalarında kullanılabilir. Kemoterapi, palyatif tedavi olarak kullanıldığında kafa karıştırıcı olabilir çünkü en çok kanseri tedavi etmek veya kontrol etmek için kullanılır [10].

Ayrıca ilaç salım sisteminin uygulanması, kimyasalları kanser hastalarına kontrollü bir şekilde taşıyarak lezyonlarda ilaç konsantrasyonunu arttırabilir ve normal dokularda ilaç yan etkilerini azaltabilir. Günümüzde kanser tedavisinde kontrollü salım giderek daha fazla ilgi çekmiştir. Geleneksel bu yöntemlere ek olarak akıllıca tasarlanmış ek tedavi yollarının bulunması kanserle mücadelede büyük önem taşımaktadır.



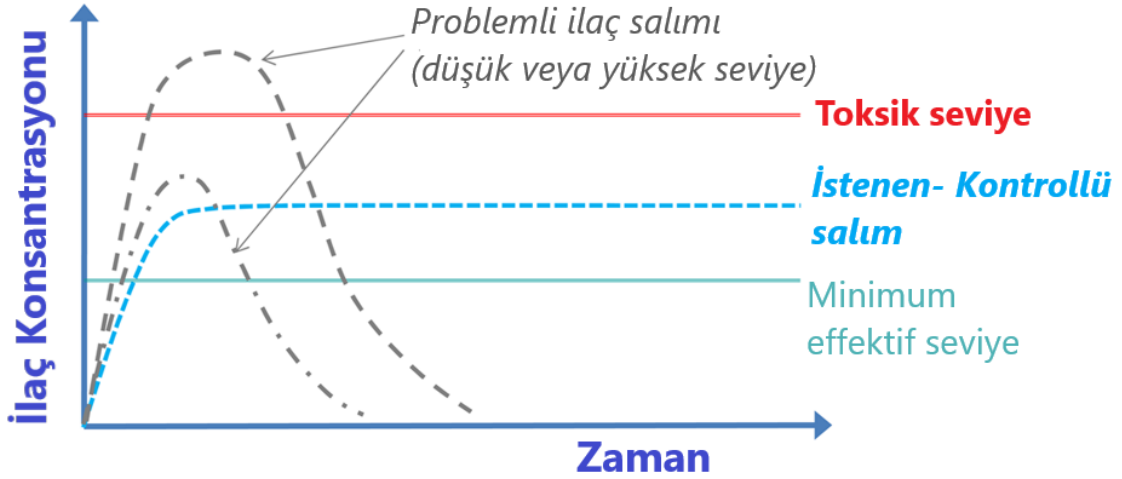
### 3. İLAÇ SALIM SİSTEMLERİ

Kontrollü ve hedefe yönelik bir ilaç salım sisteminin geliştirilmesi, etkili bir farmakolojik terapinin tanımlanması için oldukça önemlidir. Kontrollü salım veya kontrollü iletim sistemleri, spesifik terapötik ihtiyaçları karşılamak için ilacı veya ilaca ait bileşiği vücut içerisinde spesifik olarak önceden belirlenmiş bir bölgeye geçici veya uzamsal bir biçimde sağlamaktadır. Maksimum etkiyi elde etmek için, seçilen ajan hem doz hem de serbest bırakma periyodunu optimize ederek hedef dokuya verilir ve böylece istenmeyen yan etkiler minimum seviyeye düşürülür.

Kontrollü salım sistemleri sayesinde taşıyıcı kısım olan polimerden ilacın serbestleşme mekanizması ve hızı belli bir süre içinde kontrol edilir. Geleneksel yöntemlere göre avantajı ilacın dozajını toksik düzeye çıkmadan istenilen süre boyunca etkili düzeyde tutmasıdır. Ayrıca geleneksel yöntemlerde ilaç konsantrasyonu ve biyoyararlanımı kontrol etmek ve dolayısıyla beklenen terapötik sonucu sınırlamak mümkün değildir. Bu bağlamda, ilaç salım sistemlerinin geliştirilmesi alternatif klinik tedavileri destekler ve zaman içinde etkili bir salım sağlar [11].

Bununla birlikte, ilacı vermek için bir taşıyıcı kullanıldığında bile, istenen kontrollü salım oranını yakalamak zordur. Spesifik olarak, bir ilacın verilmesi genellikle sorunludur çünkü hedef alandaki serbest bırakılan ilacın konsantrasyonu Şekil 3.1' de görüldüğü üzere ya çok düşük ya da çok yüksektir. Grafikte gri noktalı çizgilerle gösterilmiştir ve ilaç salımının çok kısa sürede bittiğini ve bazı durumlarda minimum efektif seviyenin altında ya da toksik seviyeden daha yüksek olduğunu ifade eder. İstenen kontrollü kinetik hız ve arzu edilen kontrollü ilaç salımı ise grafikte mavi çizgi ile gösterilmiştir ve kolayca elde edilemez [12].

Sonuç olarak "akıllı" polimerik taşıyıcılar ilaçları vermek için kullanılır. Bu taşıyıcılar, ilacın doğru zamanda ve konsantrasyonda verilmesini, ilacın sadece bir dış uyarana cevap olarak serbest bırakılmasını sağlar [12].



**Şekil 3. 1** Kontrollü salımda zamana karşı ilaç derişimi [12]

İlaç salım sistemlerinde polimerlerin avantajları bilinen bir gerçektir. Polimerik malzemelerde sürekli iyileştirme ve hızlanmaya yönelik araştırma ve geliştirme, çoğu kontrollü salınım teknolojisinin gelişiminde hayati bir rol oynamıştır. Son 25 yılda, sentetik ve aynı zamanda doğal olarak oluşan polimerik materyaller kullanan kontrollü ilaç salım sistemleri alanında yapılan çalışmaların ve yayınların sayısındaki artış bu teknolojiye olan ilgiyi açıkça göstermektedir [13].

Tekrarlanabilir ve önceden öngörülebilir salım kinetiğine sahip sistemler çoklu uygulama gerektirmez. Bu amaç için, mikro-küreler, özellikle biyo-emilebilir polimerlerden oluştuğunda, değerli bir seçenek olarak kabul edilir. Kontrollü salım sistemlerinde hem sentetik hem de doğal polimerler kullanılabilir ancak doğal olarak türetilmiş olanlar içsel bir biyolojik afinite özellikleri sayesinde daha ön plana çıkmaktadır [11].

### 3.1. İlaç Salım Sistemlerinde Kullanılan Mekanizmalar

İlacın kontrollü bir şekilde salımının gerçekleştiği bu sistemlerde kullanılan serbestleşme mekanizmaları dört ana kategori altında sınıflandırılabilir:

- A. Difüzyon Kontrollü Sistemler
  - ❖ Rezervuar Sistemler
  - ❖ Matriks Sistemler

## B. Çözücü ile Aktive Sistemler

- ❖ Ozmotik Kontrollü Sistemler
- ❖ Şişme Kontrollü Sistemler

## C. Kimyasal Kontrollü Sistemler

- ❖ Zincire Takılı Sistemler
- ❖ Biyolojik Olarak Aşınabilir Sistemler

## D. Manyetik Kontrollü Sistemler

[13].

### **Difüzyon Kontrollü Sistemler**

Difüzyon kontrollü sistemler rezervuar ve matriks sistemler olmak üzere iki alt gruba kapsar.

Bir rezervuar sistem genellikle küresel, silindirik veya disk şeklindedir. İlacın yavaş yavaş yayıldığı bir biyolojik olarak parçalanamayan polimerik malzeme tabakası, çekirdekte bulunan ilacı çevreler. İlacın ve polimerin özellikleri, ilacın kan dolaşımındaki yayılma hızını ve salım oranını etkiler. İlaç dağıtımının tekdüzeliğini korumak için, polimerin kalınlığı tutarlı olmalıdır. Rezervuar sistemi ile ilgili problemlerden biri, polimerin sağlam kalması nedeniyle ilaç tükendikten sonra bu tür bir sistemin vücuttan çıkarılması gereklidir. Bir başka potansiyel sorun ise, rezervuar zarının kazara yırtılması halinde, çok miktarda ilacın ani olarak kan dolaşımına salınmasıdır.

Difüzyon kontrol sisteminin matriks tipinde, ilaç polimer matrisi boyunca homojen olarak dağılır ve ilaç partikülleri polimer ağından çıkarken matriksten eşit bir hızla serbest bırakılır. Böyle bir sistemde, rezervuardan farklı olarak, zarın kazara kopması durumunda ani ilaç dökümü tehlikesi yoktur.

### **Çözücü İle Aktive Sistemler**

Çözücü ile aktive olan sistemler ozmotik olarak kontrol edilen sistemler ve şişme kontrollü sistemler olmak üzere iki tiptir.

Ozmotik olarak kontrol edilen sistemde, ilaç içermeyen veya ilacın düşük bir konsantrasyonunu içeren bir dış sıvı, yarı geçirgen bir zar boyunca, ilacın yüksek konsantrasyonda olduğu, sistemin içine doğru hareket eder. Ozmotik basınç, membranın bir tarafı ile diğeri arasındaki konsantrasyon farkını azaltma

eğilimindedir. Akışkanın içe doğru hareketi, çözülmüş ilacı küçük bir açıklıktan taşıyıcı sistemin dışına itmektedir.

Şişme kontrollü sistemlerde, polimer çözülmeden büyük miktarda su tutar. Sistem üç boyutlu bir ağ yapısı gibi çapraz bağlı hidrofilik makromoleküllerden oluşmaktadır. Bu tür sistemlerin özelliği, polimer şişirilirken kontrollü bir hızda, düşük molekül ağırlıklı çözücüler için geçirgenliğidir. Bu şekilde ilaç çözülür ve dağıtılır.

### **Kimyasal Kontrollü Sistemler**

Kimyasal olarak kontrol edilen sistemler zincire takılı sistemler ve biyolojik olarak aşınabilir sistemler olmak üzere iki sınıfı vardır.

Zincire takılı sistemlerde, ilaç molekülü polimerin omurgasına kimyasal olarak bağlıdır. İlaç doğrudan polimere veya bir "ara grup" ile bağlanabilir.

İlaç vücutta, enzimlerin ve biyolojik sıvıların varlığında, kimyasal hidroliz veya enzimatik ayrılma ile kontrollü bir hızda eşzamanlı olarak salınır.

Biyolojik olarak aşınabilir sistemlerde ise, ilacın kontrollü salınımı yavaş yavaş ayrılan polimerler aracılığı ile gerçekleşir. İlaç, polimer boyunca muntazam bir şekilde dağılmıştır ve polimer parçalandığı için yavaş yavaş salınmaktadır. İlaçların tükenmesinden sonra polimerlerin vücuttan çıkarılması ve ilacın suda çözünebilir olması gerekmediğinden bu sistem uygulamada önemli derecede avantaj sağlamaktadır.

### **Manyetik Kontrollü Sistemler**

Manyetik olarak duyarlı ilaç taşıyıcı sistemler kanser kemoterapisinde kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Bu sistemde ajanların seçici hedeflemesi toksik etkileri en aza indirebilir. Manyetik özellikleri nedeniyle, bu mikroküreler teorik olarak bölgeye özgü lokalizasyonu güçlendirir. Fakat salım için gerekli olan manyetik alan uygulaması ilacın hızlı bir şekilde vücuda salımını gerçekleştirebilir bu da istenmeyen bir durumdur [13].

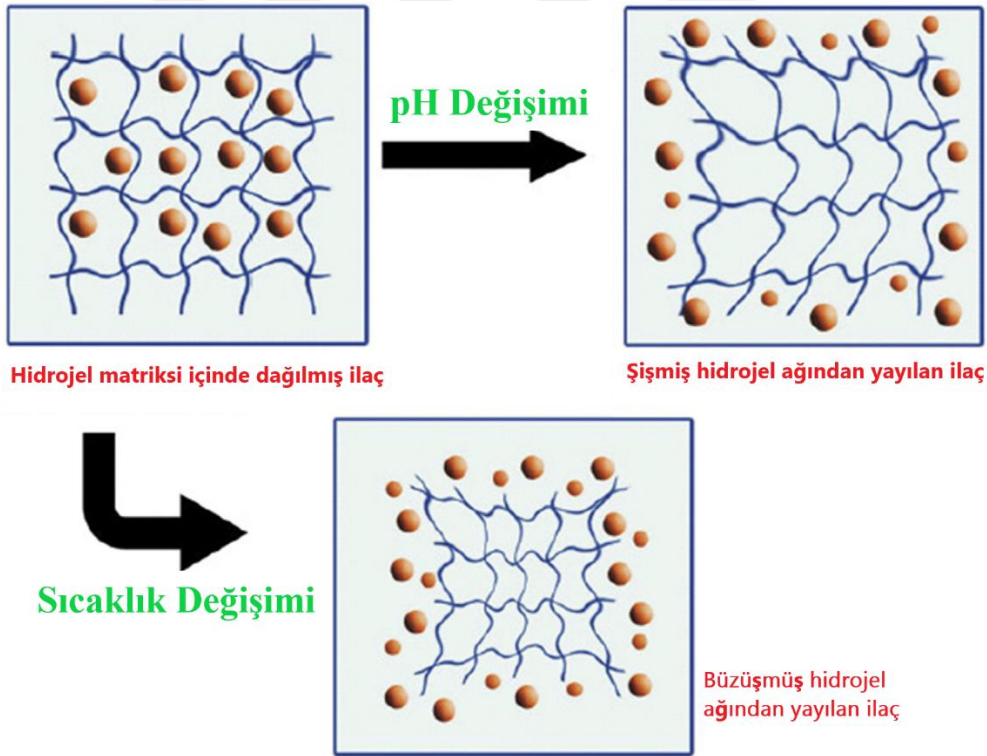
### **3.2. İlaç Salım Sistemleri ve Hidrojeller**

Hidrojeller, ilaç salımı için akıllı sistemlerin geliştirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Düşük moleküler ağırlıklı ilaçlardan peptitler, büyüme faktörleri ve insülin gibi makromoleküler ilaçlara kadar çeşitli ilaçların çalışılması için uygundur.

Ayrıca son yıllarda yeni ilaç dağıtım sistemleri geliştirmek için kapsamlı çabalar sarf edilmiştir.

Hidrojeller ilacı alabilir ve hidrasyon durumuna bağlı olarak difüzyon veya erozyon yoluyla yavaş salınım için etken maddeyi düşman ortamlara karşı korur. Sıcaklık, pH, elektrik ve manyetik alanlar, solvent bileşimi, ışık, iyonlar ve bunun gibi çevresel uyarılara cevap olarak yapıyı değiştirerek ilaç verme hızını da kontrol edebilirler. Şekil 3.2 tipik bir hidrojinin pH ve sıcaklıktaki değişimi ile basitleştirilmiş bir ilaç salımı davranışı konseptini tasvir eder.

Hidrojel yapıların diğer önemli özelliği de porözitedir. Hidrojellerin gözenekliliği, matrislerine ilaç yüklemesine izin verirken ayrıca jel ağ yapısından küçük veya makromoleküllerin difüzyon katsayısına bağlı olarak belirli bir hızda kontrollü salımını gerçekleştirmesine izin verir.



**Şekil 3. 2** Sıcaklık ve pH değişimi ile hidrojellerden ilaç salım mekanizması [14]

### Hidrojel Yapılarda Kullanılan Polimerler

Hidrojellerin hazırlanmasında doğal kaynaklı veya sentetik polimerler kullanılır. Polimerik biyomateryallerin sentezinde kullanılan doğal ve sentetik monomerler Çizelge 3.1' de gösterilmektedir [14].

**Çizelge 3. 1** Doğal Kaynaklı ve Sentetik Polimerler

<b>Sentetik Polimerler ve Kısaltmaları</b>	<b>Doğal Polimerler</b>
Hydroxyethyl methacrylate (HEMA)	Kitosan
Hydroxyethoxyethyl methacrylate (HEEMA)	Aljinat
Hydroxydiethoxyethyl methacrylate (HDEEMA)	Kollajen Dekstran
Methoxyethyl methacrylate (MEMA)	Selüloz
Methoxyethoxyethyl methacrylate (MEEMA)	Hyaluronik Asit
Methoxydiethoxyethyl methacrylate (MDEEMA)	DNA Kitin
Ethylene glycol dimethacrylate (EGDMA)	Jelatin
N-vinyl-2-pyrrolidone (NVP)	Fibrin
N-isopropyl AAm (NIPAAm)	
Vinyl acetate (VAc)	
Acrylic acid (AA)	
N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide (HPMA)	
Ethylene glycol (EG)	
Poly (ethylene glycol) (PEG)	
PEG acrylate	
PEG methacrylate	
PEG diacrylate	
PEG dimethacrylate	
Methacrylic acid	

### **3.3. İlaç Salım Sistemlerinde Kullanılan Biyomalzemeler**

Doğal biyolojik makromolekül bazlı malzemeler ilaç dağıtım sistemlerinde oldukça ilgi çekicidir. Biyolojik aktif bileşikleri spesifik dokulara ve hücrelere iletirken minimum immün yanıtı ve aynı zamanda bu bileşikler salma yetenekleri, onları potansiyel taşıyıcı sistemleri haline getirmektedir. Doğal polimerler çeşitli fizikokimyasal özellikleri sayesinde, ilaçların tutulmasını ve korunma sürelerini bununla birlikte de biyoyararlanımını arttırabilen, polimerik taşıyıcı sistemlerinin üretilmesine olanak verirler. Diğer bir avantajı ise ilaçların dozaj sıklığını ve yan etkilerini de azaltmasıdır.

Bu tez çalışmasında, doğal kaynaklı polimelerden aljinat ve kitosan, mikroküre bazlı bir terapötik stratejide kullanılmak üzere seçilmiştir.

Kitosan kitinin deasetilasyonu ile elde edilen doğal kaynaklı bir polimerdir ve en önemli biyolojik makromoleküllerden biridir. İlaç endüstrisi tarafından, ucuz ve kolay bulunabilirliği nedeniyle oldukça çok tercih edilmiştir. Ayrıca katyonik doğası, yüksek biyo-çözünürlüğü, biyouyumluluğu, toksik olmaması kitosanın önemli ayırt edici özelliklerindedir [15].

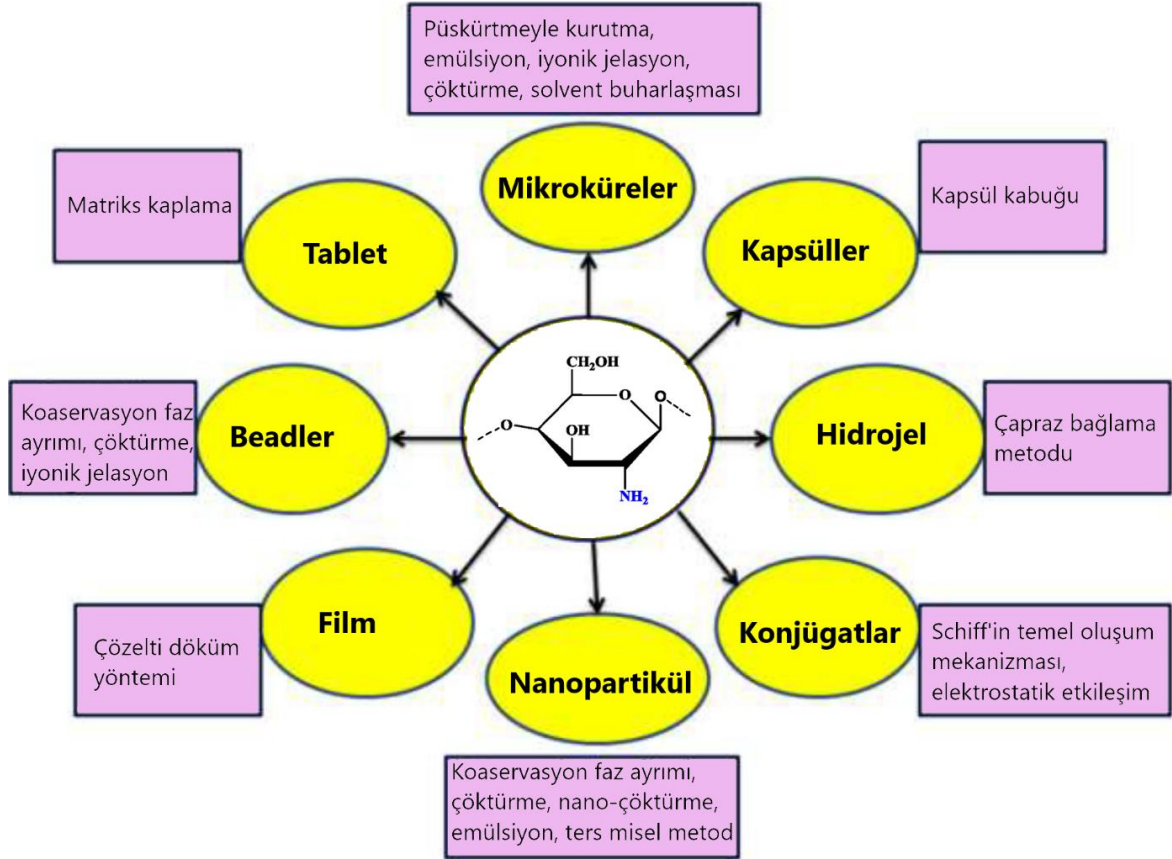
Aljinat, mannuronik asit ve guluronik asit alt birimlerinden oluşan doğrusal bir kopolimerdir ve yaygın olarak alglerden ve bazı bakterilerden üretilir. Aljinatlar, gıda endüstrisinin yanı sıra ilaç taşınımı, enzim kapsülleme, tanısal görüntüleme için kontrast madde gelişimi gibi biyomedikal amaçlar için ve ilaç endüstrisi gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Aljinatların aynı zamanda su arıtımı için mükemmel malzemeler olduğu da kanıtlanmıştır. Çok fazla araştırma kalsiyum-aljinat jeli boncuklarının ağır metalleri endüstriyel atık sularından uzaklaştırabildiğini göstermiştir.[16].

#### **3.3.1. Kitosan**

Kitosan, biyomalzeme formülasyonunda çok büyük önem kazanması ve ilaç dağıtım sistemlerinde kapsamlı araştırmalarda olağanüstü biyolojik özellikler sunmaktadır. Kitosan mükemmel biyouyumluluk ve biyolojik bozunurluğa sahiptir. Bunun yanı sıra, hemostatik, bakteriyostatik, antikanserojen ve fungistatik özellikler de gösterir. Bu nedenle tercih sebebidir.

Kitosan, taşıyıcının işlevi ve uygulamalarına bağlı olarak çeşitli şekillerde kullanılabilir. Şekil 3.3 ilaç salım sistemleri ve diğer biyomedikal uygulamalarda

kitosanın çeşitli preparasyon yöntemleri ile birlikte çeşitli formülasyonlarını temsil etmektedir.



**Şekil 3. 3** Kitosan bazlı ilaç salım sistemleri (oval şema) ve hazırlanması için farklı yöntemler (dikdörtgen şema) [17]

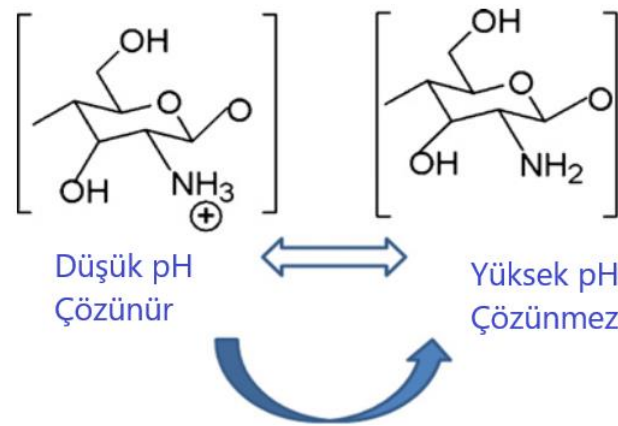
Kitosan molekülü, asetillenmiş kısımların derecesine bağlı olarak farklı derecelerde mevcut olan N-acetyl-D-glucosamine ve D-glucosamine birimlerinden oluşan bir kopolimerdir. Kitosanın çok yönlülüğü, çeşitli yeni grup ekleri için aktif bölge olarak faaliyet gösteren aktif amino gruplarından kaynaklanır. Tekrarlayan glukozid ünitelerinde bir amino grubu ve iki hidroksil grubu içerir ve polikasyonik polimerdir. Karbohidrat omurgası,  $\beta$ -1,4, bağlantılı d-glukozamin içeren selüloza çok benzer özellik gösterir ancak N-asetilasyon derecesi değişkendir. Ayrıca asetilamino grubu C2 pozisyonundaki hidroksil grubunun yerini almıştır. Böylece  $\beta$  (1→4) bağlı 2-acetoamido-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopyranose ve 2-amino-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopyranose biriminden oluşan linear ikili kopolimerdir. Bu uzantılar KTN zinciri boyunca



raslantısal olarak dağılmıştır. Kitosanın ortalama linear yük yoğunluğu asetilasyon derecesi ve aynı zamanda çözeltinin pH'ı tarafından belirlenir. Asetilasyon derecesi yük taşıyabilen amino gruplarının yoğunluğunu saptar ve pH amino gruplarının protonlaşma derecesini belirler.

Kitosanın kaynağı, doğal olarak oluşan doğada en fazla bulunan iki polisakkaritten biri olan kitindir. Doğada en bol bulunan ise selülozdur. Kitin, kabuklular, böcekler ve bazı mantarların dış iskeletinde bulunur. Kitin ana ticari kaynakları, karides, ıstakoz ve yengeçlerin kabuk atıklarıdır. Dünyada her yıl birkaç milyon ton kitin hasat edilmektedir ve bu nedenle bu biyopolimer ucuz ve kolayca bulunabilen bir kaynağı temsil etmektedir. Kitosan, alkalinin varlığında kitinin termokimyasal deasetilasyonu ile elde edilir ve doğal olarak sadece belirli *Mucoraceae* mantarlarında oluşur. Kitinin, % 40-45 (w / v) NaOH çözeltisi ile 4 - 5 saat boyunca 90-120 ° C'de muameleye tabi tutulması, kitin N-deasetilasyonu ile sonuçlanır. Deasetilasyon için kullanılan koşullar polimer moleküler ağırlığını ve deasetilasyon derecesini (DD) belirler.

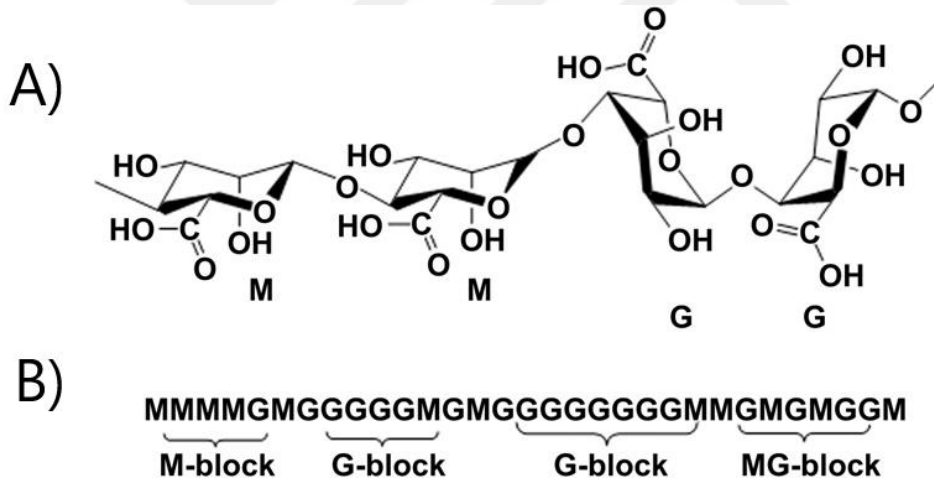
Şekil 3.4' de görüldüğü gibi molekül üzerinde aktif primer amino grupları, reaksiyon koşullarında çeşitli yan grup ekleri için sahalar sağlar. Düşük pH' da (< 6) kitosanın amin grupları kitosan için polikationik davranış sergiler ve daha yüksek pH' da (> 6.5), kitosanın aminleri deprotonlanmış ve reaktiftir [18].



**Şekil 3. 4** Kitosanın çok yönlülüğünün şematik çizimi [18].

### 3.3.2. Aljinat

Aljinat doğal bir anyonik polisakkarid olup kahverengi deniz algelerinden ekstrakte edilir. Aljinat (1→4)-bağlı  $\beta$ -D-mannuronik asid (M) ve  $\alpha$ -L-guluronik asid uzantılarından oluşan bir linear ikili kopolimerdir (Şekil 3.5). İki üronik asit monomerinin bağıl miktarı ve onların polimer zinciri boyunca ardışık düzenlenmesi, aljinatın kaynağına bağlı olarak önemli ölçüde değişebilir. Üronik asit uzantıları blokların bir kalıbında polimer zinciri boyunca dağılmıştır. Bu blok kalıbında G uzantılarının (G-blokları) homopolimerik blokları, M uzantılarının homopolimerik blokları (M blokları) ve M ve G birimlerinin değişen dizilimine sahip olan bloklar birlikte bulunabilirler. Aljinatlar diğer monomerik diziler ile tasarlanabilir ve biyoteknolojik yöntemler kullanılarak üretilebilir. Aljinatın en önemli özelliği pH' a duyarlı olmasıdır. Midenin asidik pH' ında stabildir fakat bağırsak alkali pH' ında şişer ve çözülür [19].



Şekil 3. 5 Aljinatın yapısı ve tekrar eden üniteler [20].

Aljinat jeller, biyoyapışkanlık ve pH'a duyarlılık özellikleri nedeni ile oral uygulamalar için uygundur. Düşük pH' da (mide koşulları) aljinat jellerin büzülmesi ve bağırsak koşullarında aljinatın çözünmesi, bağırsakta hedeflenen yerde biyoaktif maddenin salınmasına imkan tanır.

Tüm bunlara rağmen, aljinat saf olarak kullanıldığında jellerin büyük gözenek boyutundan dolayı biyoaktif bileşenlerin kaybına neden olabilir. Bu probleme bir çözüm olarak bu çalışmada aljinat ve kitosan hibrit küreleri sentezlenmiştir.

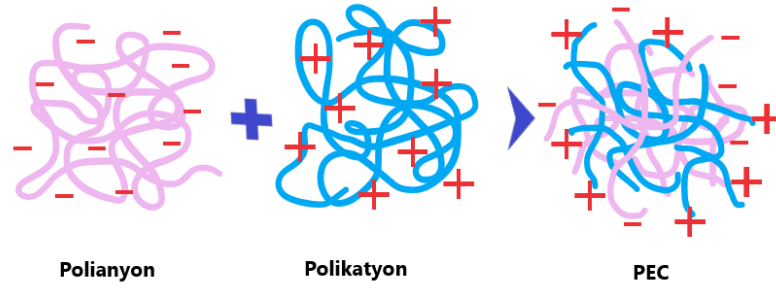
### 3.3.3. Aljinat - Kitosan Kompoziti

En az iki birbirinden farklı materyallerden oluşan kompozitler ilaç salım sistemlerinde taşıyıcı olarak kullanılabilirler. Kompozit oluşturmadaki amaç tek başına kullanıldıklarında dezavantajları olan polimerlerin birlikte kullanıldığında birbirlerinin iyi özellikleri ile dezavantajlarını en aza indirgeyerek daha gelişmiş materyaller elde etmektir.

Bilinen bir anyonik polimer olan aljinat, fiziksel olarak geniş ölçüde araştırılmıştır. Aljinat hidrojeller hidrofilitik çözücülerde kolayca işlenebilir ve mükemmel biyouyumluluk, kontrol edilebilir bozunma, kendi kendini iyileştirme özellikleri ve toksik olmaması avantajlarındanır. Ancak saf aljinat hidrojelleri zayıf viskoelastik özellik gösterir ve oldukça geçirgendir. Fizikokimyasal özelliklerini geliştirmek için, diğer doğal / sentetik polimerlerle aljinatin kompozit hidrojelleri kullanılır.

Aljinat, kitosan gibi polikasyonlarla kolaylıkla bir polielektrolit kompleks oluşturur ve iki polimerin kimyasal, reolojik (polimer akış özellikleri) ve mekanik özelliklerde sinerjizm gösterdiği bilinmektedir. Kitosan biyo-bozunur özellikte, fizyolojik pH' da enzimatik ve kimyasal modifikasyona biyolojik olarak uyumludur ve farklı şekillerde kolayca işlenebilir. Bütün bu özellikler onu güçlü bir biyomateryal yapar; fakat pozitif yüklü bir polisakkarit olması nedeniyle hücrelere bağlanma ve tutunma için uygun değildir. Aynı zamanda düşük sulu çözünürlüğü, formülasyonlarının önemli bir dezavantajdır.

Kitosan / aljinat polielektrolit komplekslerine dayanan hidrojeller son yıllarda oldukça dikkat çekmiştir. İlaçların, oligonükleotidlerin, proteinlerin ve hatta hücrelerin enkapsülasyonunda ve ilaç salım sistemleri çalışılmış ve ümit vaad eden sonuçlar alınmıştır. Bu tür kompozit hidrojeller biyolojik olarak uyumlu ve bozunabilir özellikte olup, toksik olmayan potansiyel ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılabilirler.

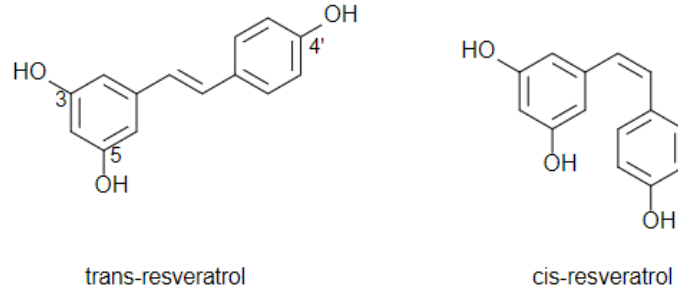


**Şekil 3. 6** Polielektrolit kompleksin (PEC) random oluşumu

Şekil 3.6' da görüldüğü üzere polielektrolit-kompleksin (PEC) oluşması sırasında kitosan bir proton transferi ile aljinat ile etkileşir ve oluşan kompleksin stabilitesi pH, yük yoğunluğu, nispi konsantrasyon, iyonik güç ve sıcaklığa bağlı olarak değişkenlik gösterir. Aljinatın karboksil gruplarının pKa değeri 3,5' dür, bu nedenle viskozitesi pH'ın artmasıyla azalır. Kitosanın amino gruplarının ise pKa değeri 6.5' dur. Bu nedenle pH 4 ila 6 arasında iken güçlü bir kompozit hidrojel oluşumuyla sonuçlanır [21].

#### **3.4. İlaç Salım Sisteminde Kullanılan İlaç: Resveratrol**

Resveratrol (3,5,4'-Trihidroksistilben), stilben yapılı bir doğal polifenoldür. Kimyasal yapısı 1940' da Takaoka tarafından *Veratrum grandiflorum'* un kökünden izole ederek karakterize edilmiştir. Temel yapısı, 3,5,4-Trihidroksistilbeni oluşturan bir çift stiren bağı ile birbirine bağlanmış iki fenolik halkadan oluşur. Bu çift bağ, resveratrolün izometrik cis- ve trans formlarından sorumludur (Şekil 3.7). Trans-izomeri en kararlı yapıya sahiptir. Resveratrolün kimyasal yapısı, Emilimini etkileyen düşük suda çözünürlüğe (<0.05mg / mL) yol açar. Çözünürlüğünü arttırmak için, etanol (50mg / mL) veya organik çözücüler kullanılabilir. Molekül ağırlığı 228.25 g / mol 'dür. Kapalı formülü  $C_{14}H_{12}O_3$  şeklindedir.



**Şekil 3. 7** Trans-resveratrol ve cis- resveratrol' ün kimyasal yapısı [22].

Resveratrol bir fitoaleksindir. Bu kimyasallar, düşük moleküler ağırlıkları ve belirli enfeksiyonların ilerlemesini önleme yetenekleriyle karakterize edilir. Bu maddeler bitkilerde parazit ve mantar enfeksiyonu, UV radyasyonu, kimyasal maddeler ve genel olarak bitki için stresli faktörler gibi diğer olumsuz koşullara karşı bir direnç mekanizması ile üretilir. Aslında, resveratrol bu tür stresli durumlara yanıt olarak 70' den fazla bitki türü tarafından üretilmektedir. Resveratrol sentezi, üzüm olgunlaşması sürecinde düzenli olarak azalır ve bu da olgun meyvelerin *Botrytis cinerea* tarafından enfeksiyona karşı artan duyarlılığını açıklar. *Botrytis cinerea* kurşuni küf olarak bilinir.

Resveratrol, yaban mersini (*Vaccinium spp.*), böğürtlen (*Morus spp.*) ve yer fıstığı (*Arachis hypogaea*) gibi insan beslenmesinin bir parçası olan bazı meyvelerde de bulunur. Ancak Akdeniz diyetinin bir parçası olan kırmızı şarap resveratrolün ana kaynağı olarak bilinir. Kırmızı şarapta resveratrol içeriği üzümlerden (*Vitaceae*) gelir. Özellikle, üzümün resveratrolce en zengin kaynakları deri, tohum, yaprak sapı ve odunsu kısımlarıdır. Cis- ve trans-izomerler bitkilerde ve şarapta bir arada bulunurlar. Bununla birlikte, cis-resveratrol üzüm özünde hiç bulunmamıştır. Trans-izomeri doğada daha baskın ve kararlı formu olarak karşımıza çıkar. Trans izomerinin güneşe, 254 nm veya 366 nm dalga boyundaki suni ışığa veya ultraviyole radyasyona maruz kaldığında cis izomerine dönüştüğü bilinmektedir.

Bilinen biyolojik özellikleri arasında fitoöstrojenik özelliği, antioksidan özelliği, antitümör etkisi, kardiyovasküler etkileri yer almaktadır.

#### **3.4.1. Resveratrolün Sağlık Üzerine Etkisi ve Kanserin Tedavisindeki Rolü**

Resveratrolün çok aşamalı karsinogenezi inhibe etmedeki kemopreventif etkilerini gösteren ilk olarak 1997' de Meishiang Jang ve arkadaşları olmuştur; bu polifenolik

bileşiminin, çok çeşitli preklinik hayvan çalışmalarına yol açmış çok çeşitli insan tümör hücrelerinin in vitro proliferasyonunu baskıladığı gösterilmiştir [23].

Daha sonra yapılan çalışmalarda resveratrolün meme kanseri hücre hatlarına ait MCF-7 hücrelerinde  $\alpha V\beta 3$  integrin reseptörü ile etkileşime girerek apoptosisi indüklediği gösterilmiştir. Antitümör etkisi, tümör gelişiminde aktif rol oynayan Siklooksijenaz 1 (COX-1) enzimini inhibe ederek hücre büyümesini durdurmasından kaynaklanmaktadır. Yine yapılan *in-vivo* çalışmalar, in vitro çalışmalarda görülen antitümör etkilerini destekleyen niteliktedir. Örneğin, haftada iki doz resveratrol verilen bir deri kanseri hayvan modelinde kanserin başlatılması üzerindeki önleyici etkisi belirlenmiştir [22].

Aynı zamanda resveratrolün anti-inflamatuar ve anti-koagulant özelliğe sahip olduğu da bilinmektedir. Arterioskleroz yani damar sertliğine karşı ve kalp hastalıklarına karşı yararlı etkileri vardır. Bunu LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein) oksidasyonunu ve trombosit agregasyonunu engelleyerek yapar [24].

Tüm bu yararlı etkilerine rağmen resveratrolün uygulamalarını kısıtlayan faktörler şu şekilde sıralanabilir:

- ❖ Yükseltgenmeye karşı düşük kararlılık,
- ❖ Yüksek fotoduyarlılık,
- ❖ Suda çözünmeme veya düşük çözünürlük,
- ❖ Kısa biyolojik yarılanma,
- ❖ Düşük biyoyararlanım ve
- ❖ Yetersiz sistemik taşıdır.

Buna ek olarak, resveratrol yüksek sıcaklıklarda, pH değişimlerinde, ultraviyole ışığı altında ve belirli tipte enzimlerin varlığında kimyasal olarak da bozunmaya uğrar [25].

### **3.5. Literatür Özeti**

Resveratrolün ilaç salım sistemlerinde etkin kullanımı için günümüze değin yapılan çalışmalardan bazıları bu bölümde verilmiştir.

Resveratrolün, vanillin ile çapraz bağlanmış tek başına KTN partiküllerde yapılmış bir çalışmada ise KTN partiküllerde kapsüllenen RSVün, UV-ışığına ve yüksek

sıcaklıklara maruz kaldıktan sonra izomerizasyona karşı korunduğu kayıt edilmiştir [26].

Yapılan bir diğer çalışmada KTN ve pektin gibi mikrokürelerde RSV' ün kapsüllenmesi saklama esnasında kimyasal kararlılığını arttırmıştır. Pektin partiküllerde tutuklanan RSV' ün oda sıcaklığında altı aydan daha çok kararlı kaldığı kaydedilmiştir [27].

RSV, mPEG-poly( $\epsilon$ -caprolactone)'a yüklendiğinde, serbest biyomolekülün eşdeğer dozu ile karşılaştırıldığında, malignant (habis) glioma hücrelerine karşı önemli ölçüde daha yüksek sitotoksosite göstermiştir [28].

Diğer bir çalışmada ise RSV ile yüklenmiş katı-lipid nanopartiküller, hücre çoğalmasını azaltmada ilacın etkinliğine katkı sağladığı ve deri kanserinin önlenmesi için potansiyel yararlar gösterdiği kaydedilmiştir [29], [30].

Aljinat – Kitosan hibrit yapıdaki biyojel kürelere resveratrol yüklemesi ise bu çalışmada yapılmış ve biyopolimer mikrokürelerden RSV' ün salımı difüzyon, şişme ve/veya erozyon gibi mekanizmalara bağlı olduğu düşünülmektedir. Biyopolimer matriksten salımın başlangıçta hızlı olacağı, sonrasında ise bir platoya erişeceği öngörülmektedir.

Literatür incelemesine göre, yüksek kapsüllenme verimi, iyi alıkonma kapasitesi, biyopolimer mikroküreler içerisinde RSV' ün artırılan kararlılığı, ilaç taşıyım sistemleri olarak iyi adaylar olabilecekleri düşünülmektedir.

Çizelge 3.2' de literatürde yapılan diğer çalışmalarda elde edilen enkapsülasyon verimlilikleri verilmiştir.

**Çizelge 3. 2** Literatürde yapılan diğer çalışmalarda elde edilen enkapsülasyon verimlilikleri verilmiştir.

<b>Materyal</b>	<b>Enkapsülasyon Verimliliği</b>	<b>Referans</b>
RSV - solid lipid partikül	% 73	[31]
RSV – kitosan- biotin/avidin	% 66.4	[32]
RSV – karboksimetil- kitosan partikülü	% 44.5	[33]
RSV- mikrokapsül kitosan/PLGA ve aljinat/PLGA	% 40 - %52	[34]

#### **4. İLAÇ SALIM KİNETİĞİNİN MATEMATİKSEL TANIMLANMASI**

Kontrollü salım dozaj formlarının geliştirilmesi ile ilaç salımı alanında önemli tıbbi ilerlemeler kaydedilmiştir. Kontrollü ilaç salımına ayrılan çok çeşitli formülasyonlar vardır ve ayrıca bu formülasyonlardan ilaç salımını etkileyen çeşitli fiziksel özellikler de vardır.

Kontrollü salım sistemlerinin amacı, kandaki veya hedef dokulardaki ilaç konsantrasyonunu mümkün olduğu kadar uzun bir sürede mevcut tutmaktır. Başka bir deyişle, ilaç salım hızı ve süresi üzerinde bir kontrol uygulanmaktadır. Bu amaçla, genellikle kontrollü salım sistemi, ilacın etkin terapötik konsantrasyonunu hızlıca elde etmek için başlangıçta dozun bir kısmını serbest bırakır. Daha sonra, ilaç salım kinetikleri, istenen ilaç konsantrasyonunun elde edilmesini sağlayan idame dozunu sağlamak için iyi tanımlanmış bir davranışı takip eder.

Modele bağlı yöntemler, çözünme profilini açıklayan farklı matematiksel modellere dayanır.



#### 4.1. Zero-order Model

İlacın taşıyıcı sistemden kolay ayrılmadığı ve yavaş yavaş çözünmenin gerçekleştiği salımı temsil eder ve aşağıdaki eşitlikle ifade edilir:

$$Q_t = Q_0 + K_0 t$$

Burada,  $Q_t$ : t anındaki salınan ilaç miktarını,

$Q_0$ : başlangıçta çözelti içinde bulunan ilaç miktarını (genellikle bu değer 0' dır.) ve

$K_0$ : sıfırıncı derece salım kinetiği sabitini ifade etmektedir.

Serbest salım kinetiklerini incelemek için, in vitro ilaç salım çalışmalarından elde edilen veriler, zamana karşı salınan kümülatif ilaç miktarı olarak grafiğe geçirilir.

Bu ideal uygulama, antibiyotikler, kalp ve kan basıncını koruyucu ilaçlar, ağrı kontrolü ve antidepresanlar gibi belirli ilaç sınıflarında özellikle önemlidir. Bu model, bazı transdermal sistemlerde olduğu gibi, kaplanmış formlarda, ozmotik sistemlerde düşük çözünebilir ilaçlara sahip matris tabletlerde ve değişik tipte modifiye salımlı farmasötik dozaj formlarının ilaç salımını açıklamak için kullanılabilir [35].

#### 4.2. First-order Model

Bu mekanizmayı teorik bir temelde kavramsallaştırmak zor olsa da, bazı ilaçların emilimini ve / veya eliminasyonunu tanımlamak için kullanılmıştır.

Birinci dereceden salım kinetiği aşağıdaki eşitlikle ifade edilir:

$$\log C = \log C_0 - Kt/2.303$$

Burada,  $C_0$ : başlangıçtaki ilaç konsantrasyonunu,

K: birinci derece salım kinetiği sabitini ve

t: zamanı ifade etmektedir.

İn vitro salım çalışmalarından elde edilen veriler, zamana karşı kalan ilacın logaritmik kümülatif yüzdesi olarak grafiğe geçirilir.

Bu model, gözenekli matrislerde suda çözünür ilaçlar içeren farmasötik dozaj formlarından ilaç salımını tanımlamak için kullanılabilir [35].

### 4.3. Higuchi Model

Matriks sisteminden ilaç salınımını açıklamayı amaçlayan bir matematiksel modelin ilk örneğidir ve 1961'de Higuchi tarafından önerilmiştir. Başlangıçta düzlemsel sistemler için tasarlanmıştır ancak daha sonra farklı geometrilere ve gözenekli poröz sistemlere kadar genişletilmiştir. Birçok kontrollü salım ürünleri, ilacın gözenekli bir matris içine yerleştirilmesi prensibi üzerine tasarlanmıştır.

Bu modele göre, matristeki ilk ilaç konsantrasyonu ilaç çözünürlüğünden çok daha yüksektir, ilaç difüzyonu sadece bir boyutta gerçekleşir, polimer matrisin şişmesi ve çözünmesi ihmal edilebilir, ilacın difüzyonu ve yayılımı sabittir.

Higuchi salım kinetiği aşağıdaki eşitliklerle ifade edilir:

$$f_t = Q = A\sqrt{D(2C - C_s)C_s t}$$

$$f_t = Q = \sqrt{\frac{D\delta}{\tau}} (2C - \delta C_s)C_s t$$

Burada, D: çözücü içindeki ilaç molekülünün difüzyon katsayısı,

$\delta$ : matrisin gözenekliliği,

$\tau$ : matrisin çarpıklığı

Q: birim alan A başına t zamanında salınan ilaç miktarı,

C: ilaç başlangıç konsantrasyonu,

$C_s$ : matris ortamındaki ilaç çözünürlüğü ve

D: difüzyon katsayısını ifade etmektedir.

Matrisin çarpıklığı olarak tanımlanan  $\tau$  yapıdaki gözeneklerin ve kanalların yarıçap ve dallanma boyutlarına karşılık gelir.

Genel olarak, Higuchi modeli basitleştirilirse genellikle basitleştirilmiş Higuchi modeli olarak bilinir ve aşağıdaki gibi ifade edilir:

$$f_t = Q = K_H \times \sqrt{t}$$

Burada,  $K_H$ : Higuchi çözünme sabitidir.

Elde edilen veriler, zamanın kareköküne karşı kümülatif yüzde ilaç salımı olarak grafiğe çizilir.

Bu model bazı transdermal sistemler ve suda çözünür ilaçlar ile matris tabletler şeklindeki salım dozaj formlarından, ilaç salımını ve çözünmesini tanımlamak için kullanılabilir [35].

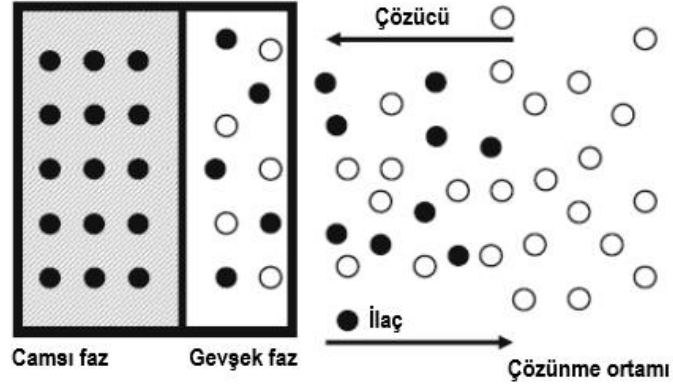
#### 4.4. Korsmeyer- Peppas Model

Polimerik bir sistemden ilaç salımını açıklayan bu matematiksel model Korsmeyer ve arkadaşları tarafından ilk olarak 1983' de tanımlanmıştır [35].

Şişme kontrollü ilaç salım sisteminde, hidrofilik polimer matriksindeki su akışı ve sistemin şişmesi ilacın salınmasını kontrol eder. İlaç başlangıçta camsı polimer matrisinde homojen olarak dağılmış şekilde bulunmaktadır. Camsı polimerden olası bir ilaç difüzyonu gerçekleşemez. Polimer su veya biyolojik sıvılar ile temas ettiğinde, polimer matrisi şişmeye başlar ve şişmiş kauçuksu bir hal alarak gevşer. Polimerin gevşemesiyle ilaç molekülleri kauçuksu fazdan yayılıp difüzyona uğrayabilirler.

Şekil 4.1' de gösterilen şişme kontrollü sistemlerde camsı haldeki polimerin çözücü bir ortama maruz kalarak kauçuksu hale geçmesi ile ilaç, iki farklı mekanizmanın ardından serbest bırakılabilir:

- ❖ Polimer zincirinde meydana gelen gevşemeler ve
- ❖ Difüzyon



**Şekil 4. 1** Şişme kontrollü ilaç dağıtım sistemi. Camsı hidrojel su ile temas ettiğinde, polimer matrisi şişmeye başlar ve kauçuksu faz görünür. İlaç molekülleri kauçuksu fazda dağılır [36].

Ritger ve Peppas genel ilaç salım süreci üzerinde difüzyon ve makromoleküler rahatlamamanın nispi önemini belirlemek için basit bir denklem önermişlerdir:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n$$

Bu denklemde  $M_t$  ve  $M_\infty$  sırasıyla t zamanında ve dengede salınan ilaç miktarlarıdır. k ise orantı sabiti ve n difüzyon katsayısıdır.

Ritger ve Peppas, polimerik matrislerden ilaç salım davranışını tanımlamak için bu üssel denklemi ortaya koymuşlar ve Fickian ve nonFickian difüzyonel davranışın, n'nin değeri ile ilişkili olarak analizi gerçekleştirmişlerdir. Buna göre n difüzyon üsteli farklı yapılarda olabilen, düzlemsel, silindirik ve küresel ilaç salım sistemleri için difüzyon mekanizmasının türünü açıklamaktadır ve Çizelge 4.1' de belirtilmiştir [36].

**Çizelge 4. 1** Difüzyon üsteli n ve farklı morfolojik yapıdaki kontrollü salım sistemlerinden ilaç salım mekanizması [36]

Difüzyon üsteli, n			İlaç Salım Mekanizması
İnce Film	Silindirik Yapı	Küresel Yapı	
0.5	0.45	0.43	Fickian Difüzyonu
$0.5 < n < 1.0$	$0.45 < n < 1.0$	$0.43 < n < 1.0$	Anomalous Taşınım (Non Fickian Difüzyon)
1.0	1.0	1.0	Case II Taşınımı (Zero-order release)

İn vitro salım çalışmalarından elde edilen veriler, zamanın logaritmasına karşı ilacın logaritmik kümülatif yüzdesi olarak grafiğe geçirilir. Grafiğin eğimi difüzyon üsteli olan n değerini verir.

#### 4.5 Baker- Lonsdale Model

Bu model, Higuchi modelinden sonra Baker ve Lonsdale (1974) tarafından geliştirilmiş ve küresel matrislerden ilaç salımını açıklamıştır.

Baker- Lonsdale kinetiği aşağıdaki eşitlikle ifade edilir:

$$f_1 = \frac{3}{2} \left[ 1 - \left( 1 - \frac{M_t}{M_\infty} \right)^{\frac{2}{3}} \right] M_t / M_\infty = k t$$

Burada  $M_t$  ve  $M_\infty$  sırasıyla t zamanında ve dengede salınan ilaç miktarlarıdır. Serbest bırakma hızı sabiti olan  $k_t$  ise eğime karşılık gelir [35].

Matematiksel modeller, ilaç salım sistemlerinde en uygun geometriyi, formülasyon yöntemini ve büyüklüğünü seçerek yeni sistemler tasarlamak için kullanılabilir. Matematiksel modelleme, uygun bir modelin çözümü ile bu sistemlerden ilaç salma oranlarını ve difüzyon davranışını tahmin etmede yardımcı olmakta, böylece ihtiyaç duyulan deneylerin sayısını azaltmaktadır.

Kontrollü ilaç uygulamasının matematiksel modellemesi, ilaç salımının kontrolünde yer alan kitle taşıma mekanizmalarına ilişkin bilimsel bir bilgi tabanı oluşturulmasına yardımcı olabilir. Böylece, mevcut ve yeni farmasötik ürünlerin geliştirilmesinin optimizasyonunu önemli ölçüde kolaylaştırabilir. Aynı zamanda modellerin sistematik kullanımı para ve zaman tasarrufu sağlayabilir. Matematiksel yaklaşımlar, araştırmacıların yüksek etkili ilaç formülasyonları ve daha doğru doz rejimleri geliştirmelerine yardımcı olabilir [37].

## 5. DENEYSEL YÖNTEMLER

Bu bölümde tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasal maddeler, partiküllerin hazırlanmasında kullanılan deneysel yöntem ve metod, partiküllere ilaç yüklemesi, karakterizasyon çalışmaları ve in – vitro salım çalışmaları ile ilgili ayrıntılar yer almaktadır.

### 5.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kitosan low molecular weight) %75-85 deasetilasyon derecesi Brookfield viskozitesi 20-300 cP (Sigma Aldrich), Sodyum Aljinat (Sigma Aldrich), Asetik Asit 100 % puriss (glacial)  $C_2H_4O_2$  M= 60.05 g/ mol (Sigma Aldrich), Formik Asit puriss 98.0 – 100 %  $CH_2O_2$  MW= 46.03 g/ mol (Sigma Aldrich), Asetonitril CHROMASOLV gradient grade for HPLC  $\geq 99.9$  %  $C_2H_3N$  MW= 41.05 g/ mol (Sigma Aldrich), Potassium Phosphate Monobasic puriss  $KH_2PO_4$  M= 136.09 g / mol (Sigma Aldrich), Ethanol absolut puriss  $C_2H_6O$  M= 46.07 g/ mol (Sigma Aldrich), Resveratrol (Trans-resveratrol) HPLC  $\geq 99.9$  %  $C_{14}H_{12}O_3$  MW= 228.24 g/ mol (Sigma Aldrich).

### 5.2. Ca – Aljinat Kürelerin Hazırlanması

2 g sodyum aljinat 100 mL saf su içerisinde manyetik karıştırıcı altında ve oda sıcaklığında içerisinde tamamen çözünene kadar karıştırılır. Sodyum aljinat iyice çözüldükten sonra manyetik karıştırıcı altından alınır ve 100 mL saf suda 2 g kalsiyum klorür içeren çözeltiye bir enjeksiyon iğnesi yardımıyla damla damla eklenir ve Ca – Aljinat küreler sentezlenmiş olur. Jel formundaki küreler 24 sa kalsiyum klorür çözeltisinde bekletildikten sonra saf su ile yıkama işlemi yapılır ve yıkama işleminden sonra 24 saat boyunca liyofilizatörde kurutulur. Desikatörde saklanır.

### **5.3. Aljinat – Kitosan Hibrit Kürelerin Hazırlanması**

Aljinat – Kitosan hibrit küreler “ drop – wise” yani damlatma tekniği kullanılarak sentezlenmiştir. 2% (w/v) Sodyum aljinat ve kitosan içeren çözelti farklı kütle oranlarında; (2:1), (1:1), (1:2), (4:1) olacak şekilde hazırlanmıştır. Bunun için ilk olarak 2 g sodyum aljinat 100 mL saf su içerisinde manyetik karıştırıcı altında ve oda sıcaklığında içerisinde tamamen çözünene kadar karıştırılır. Sodyum aljinat iyice çözüldükten sonra manyetik karıştırıcı altından mekanik karıştırıcı ortamına alınan çözeltiliye hazırlanacak kütle oranına göre kitosan eklenir. Kitosanın çözünmesini sağlamak için çözeltiliye 1 mL asetik asit eklenir ve çözeltinin pH' ı 5' e ayarlanır. İki biyopolimerin homojen bir karışım oluşturması için oda sıcaklığında 60 dakika kadar karıştırılır. Böylece anyonik özellikteki aljinat ile katyonik özellikteki kitosan polielektrolit bir kompleks oluşturur. Daha sonra hazırlanan karışım bir enjeksiyon iğnesi ile 2% (w/v) kalsiyum klorür çözeltisine damlatılarak aljinat – kitosan biyojel kürelerin sentezlenmesi sağlanır. Jel formundaki küreler 24 sa kalsiyum klorür çözeltisinde bekletildikten sonra saf su ile yıkama işlemi yapılır ve yıkama işleminden sonra 24 saat boyunca liyofilizatörde kurutulur. Desikatörde saklanır.

### **5.4. Ca – Aljinat Kürelere Resveratrol Yüklenmesi**

Boş Ca – Aljinat küreler Resveratrol ilacının yüklenmesi için öncelikle, ilacın güneş veya suni ışığa maruz kalmaması için kullanılan cam malzemeler alüminyum folyo ile kaplanır ve karanlık ortam sağlanır. 2 g sodyum aljinat 100 mL saf su içerisinde manyetik karıştırıcı altında ve oda sıcaklığında içerisinde tamamen çözünene kadar karıştırılır. Sodyum aljinat iyice çözüldükten sonra 10 mL 30mM Resveratrol çözeltisi karışıma eklenir ve mekanik karıştırıcı altında ve karanlık ortamda 60 dakika karıştırılır. 30mM Resveratrol çözeltisi, 70 mg ilacın 10 mL Etanol içerisinde çözünmesi ile hazırlanır. Daha sonra hazırlanan ilaç yüklü çözelti 2% (w/v) kalsiyum klorür çözeltisine bir enjeksiyon iğnesi yardımıyla damlatılarak damla damla eklenir ve böylelikle ilaç yüklü Ca – Aljinat kürelerin sentezlenmesi sağlanır. Jel formundaki küreler 24 sa kalsiyum klorür çözeltisinde bekletildikten sonra saf su ile yıkama işlemi yapılır ve yıkama işleminden sonra 24 saat boyunca liyofilizatörde kurutulur. Desikatörde saklanır.

### **5.5. Aljinat – Kitosan Hibrit Kürelere Resveratrol Yüklenmesi**

Boş Aljinat – Kitosan hibrit kürelere Resveratrol ilacının yüklenmesi için öncelikle, ilacın güneş veya suni ışığa maruz kalmaması için kullanılan cam malzemeler alüminyum folyo ile kaplanır ve karanlık ortam sağlanır. Bunun için ilk olarak 2 g sodyum aljinat 100 mL saf su içerisinde manyetik karıştırıcı altında ve oda sıcaklığında içerisinde tamamen çözünene kadar karıştırılır. Sodyum aljinat iyice çözüldükten sonra manyetik karıştırıcı altından mekanik karıştırıcı ortamına alınan çözeltiliye hazırlanacak kütle oranına göre kitosan eklenir. Kitosanın çözünmesini sağlamak için çözeltiliye 1 mL asetik asit eklenir ve iki biyopolimerin homojen bir karışım oluşturması için karıştırılır. 20 dakika karıştıktan sonra 10 mL 30mM Resveratrol çözeltisi karışıma eklenir ve mekanik karıştırıcı altında ve karanlık ortamda 60 dakika karıştırılır. 30mM Resveratrol çözeltisi yine aynı şekilde, 70 mg ilacın 10 mL Etanol içerisinde çözünmesi ile hazırlanır. Daha sonra hazırlanan karışım bir enjeksiyon iğnesi ile 2% (w/v) kalsiyum klorür çözeltilisine damlatılarak ilaç yüklü aljinat – kitosan kompozit biyojel kürelerin sentezlenmesi sağlanır. Jel formundaki küreler 24 sa kalsiyum klorür çözeltilisinde bekletildikten sonra saf su ile yıkama işlemi yapılır ve yıkama işleminden sonra 24 saat boyunca liyofilizatörde kurutulur. Desikatörde saklanır.

Farklı kütle oranlarında hazırlanan; (2:1), (1:1) ve (1:2), 2% (w/v) Sodyum aljinat ve kitosan içeren hibrit kürelere ilaç yükleme işlemi yapılmıştır.

### **5.6. Resveratrol Çapraz Bağlı Kitosan Nanopartiküllerin Hazırlanması**

Tez çalışmasında aynı zamanda kompozit kürelerle karşılaştırma yapabilmek adına tek başına kitosana da ilaç yükleme yapılmıştır. Bunun için resveratrol çapraz bağlı kitosan nanopartikülleri sentezlenmiştir [38]. 2 g kitosan 1% (v/v) oranında asetik asit sulu çözeltisi içerisinde manyetik karıştırıcı altında oda sıcaklığında yaklaşık 2 saat karıştırılarak çözülür. Yine aynı şekilde kullanılan cam malzemeler karanlık ortam sağlamak amacıyla alüminyum folyo ile kaplanmıştır. Kitosan homojen bir şekilde çözüldükten sonra 10 mL 30 mM Resveratrol çözeltiliye eklenir ve ultrasonikatörde 5 dakika sonike edilir. Ultrasonikasyon işleminden sonra +4°C' de 24 saat su banyosunda bekletilir. Ertesi gün su banyosundan çıkarılan solüsyon +4°C' de 5000 rpm' de 45 dakika santrifüjlenir. Süpernatant kısmı dökülüp 3 kez saf



suyla yıkama işlemi yapılır. Yıkama işleminden sonra 24 saat boyunca liyofilizatörde kurutulur ve desikatörde saklanır.

## **5.7. Karakterizasyon Çalışmaları**

### **5.7.1. Partiküllerin Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüleri (SEM) ve EDS Analizi - Mapping**

Hazırlanan Ca – Aljinat, Aljinat – Kitosan hibrit, Kitosan nanopartiküllerinin morfolojik yapıları ODTÜ Merkez Araştırma Laboratuvarında QUANTA 400F Field Emission model Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve Hacettepe Yer Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezi Elektron Mikroskopi Laboratuvarında CARL ZEISS AG EVO 50 model SEM cihazı ile incelenmiştir. SEM analizi için örneklerin kuru ve nemli olmaması gerektiğinden hazırlanan partiküller dondurularak kurutulmuş ve de analiz öncesinde vakum altında altınla kaplanmıştır. Ayrıca partiküllerin elementel kompozisyonlarının belirlenmesi amacıyla EDS (Energy Dispersive Xray Spectroscopy) analizi ve mapping(haritalama) yapılmıştır.

### **5.7.2. FT-IR, TGA ve DSC Analizleri**

Hazırlanan partiküllerin FT-IR, TGA ve DSC analizleri Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği Merkez Laboratuvarında yapılmıştır. Örnekler dondurularak kurutulduktan sonra analizi gerçekleştirilmiştir.

### **5.7.3. Yüzey Karakterizasyonu için BET Analizi**

Kürelerin Yüzey alanı ve gözenek boyutu dağılımını belirlemek amacıyla ODTÜ Merkez Araştırma Laboratuvarında Yüzey Karakterizasyon Cihazı I (AUTOSORB-1C/MS) kullanılarak çok noktalı Brunauer-Emmett-Teller (BET) analizi yapılmıştır.

### **5.7.4. Şişme Çalışmaları**

Şişme çalışmalarında hazırlanan Ca – Aljinat, Aljinat – Kitosan hibrit küreler dondurularak kurutulmuş olarak deneyler gerçekleştirilmiştir. Bunun için 60 mg partikül 40 mL' de 37°C' de ilk iki saat mide pH'ını temsilen (simulated gastric fluid; SGF) pH' ı 1.2 olan 0.1 M HCL çözeltisinde tutulmuş ve daha sonra bağırsak pH' ını temsilen (simulated intestinal fluid; SIF) pH' ı 6.8 olan 0.1 M PBS içerisine transfer edilmiştir. Belirli zaman aralıklarında partiküller şişme ortamından çıkarılarak tartımları gerçekleştirilmiştir. Ayrı olarak pH 7.4' de 0.1 M PBS içerisinde de şişme davranışları incelenmiştir.

Kürelerin şişme oranları aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır:

$$S\% = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100 \quad [19]$$

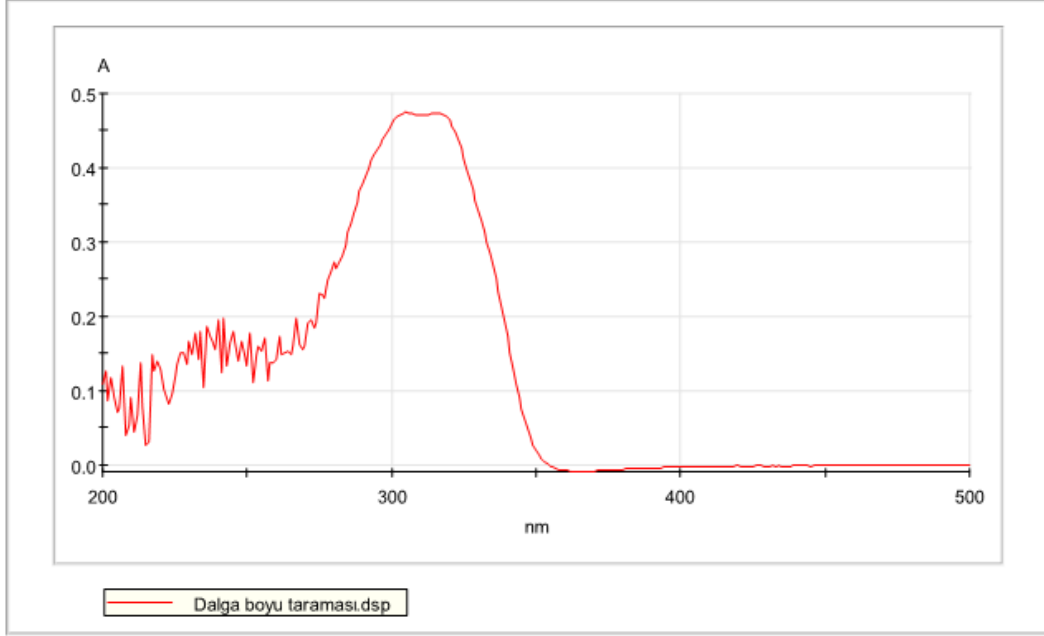
Bu eşitlikte  $S\%$  şişme oranı,  $W_t$  kürelerin herhangi bir  $t$  anındaki ağırlığı ve  $W_0$  ise kürelerin başlangıçtaki kurutulmuş ağırlığıdır.

### **5.8. Resveratrol Salım Çalışmaları**

Yapılan tez çalışmasında Kitosan nanopartiküllere, Ca – Aljinat kürelere ve Aljinat – Kitosan hibrit kürelere resveratrol ilacı yüklemesi yapılmış ve salımı incelenmiştir. Söz konusu partiküllerin enkapsülasyon verimlilikleri hesaplanmıştır. Farklı kütle oranlarında hazırlanan Aljinat – Kitosan hibrit kürelerden salım verimleri incelenmiş, optimum olarak seçilen orandan yüklenen ilaç miktarı azaltılıp ve artırılarak verim değerleri karşılaştırılmıştır. Serbest resveratrol konsantrasyonu ölçümleri, UV dedektörlü Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000 HPLC kullanılarak yapılmıştır.

Gerekli absorbans değerinin bulunması için Spectrophotometer Genesys 10S UV-Vis Spektrofotometre cihazı kullanılarak UV analizi yapılmış ve aynı zamanda literatür çalışması yapılarak dalga boyu 306 nm olarak bulunmuştur (Şekil 5.1).

Spectrum: Dalga boyu taraması.dsp  
Description:  
Operator: USER-ECFA77CF50\acer  
Created: 24.01.2017 18:01:43  
Spectrophotometer: GENESYS 10S UV-Vis  
Serial number: 2L9R269203  
Firmware: 4.005  
Baseline: 24.01.2017 17:59:38

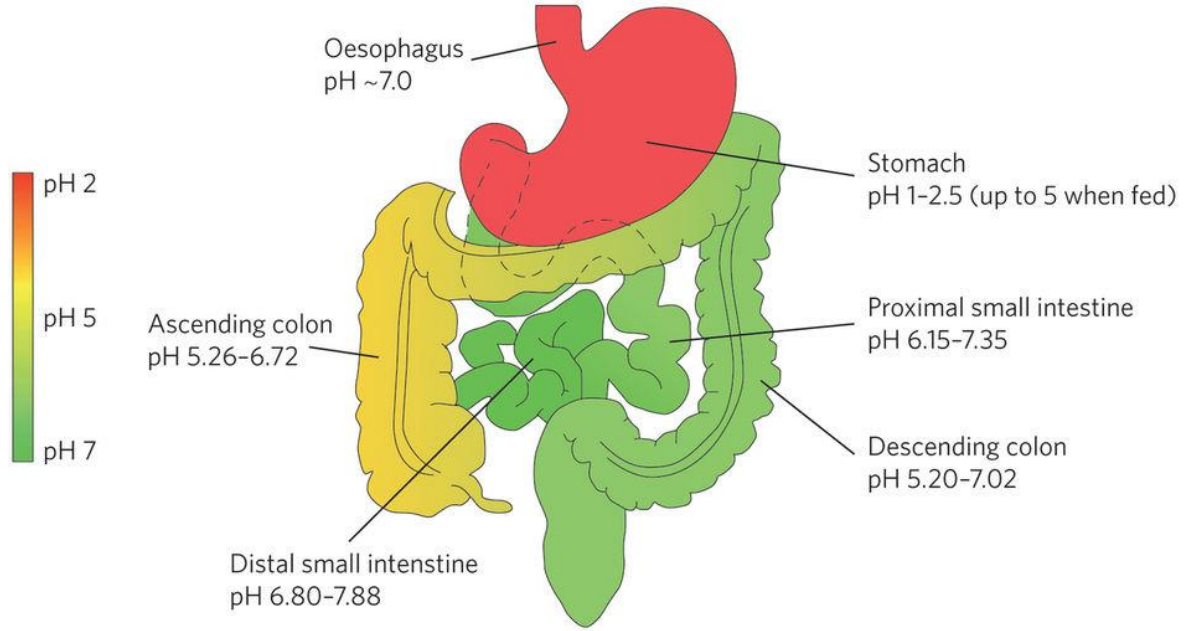


**Şekil 5. 1** Resveratrol dalga boyu taraması

Salım deneyleri yapılırken ilaç yüklü partiküllerin ve salım ortamının güneş veya suni ışığa maruz kalmaması için kullanılan cam malzemeler alüminyum folyo ile kaplanarak karanlık ortam sağlanmıştır. Salım çalışmaları Edmund Bühler GmbH marka Incubator Hood TH 30 model çalkalamalı inkübatörde 37°C' de ve 110 rpm karıştırma hızında 100 mL çözelti hacminde 0.1 g partikül eklenerek yapılmış ve belirli zaman aralıklarında salım ortamından ependorfa 1.5 mL' lik örnekler alınmıştır. Ependorflara alınan örnekler 6000 rpm' de 5 dakika olmak üzere Hettich marka HERMLE Z300 model mikro santrifüj cihazında santrifüjlenmiştir. Santrifüjlenen örnekler UV detektörlü Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000 HPLC' de analiz edilmiştir.

Salım deneyleri için dört farklı pH değerlerinde çalışılmıştır. Bunlar 1.2 – 5.5 – 6.8 – 7.4 pH seviyeleridir. Bu değerler mide-bağırsak sistemine ait pH seviyelerini temsil etmektedirler. Şekil 5. 2' de ayrıntılı olarak verilmiştir. 1.2 pH seviyesi mide ortamını,

5.5 pH seviyesi kalın bağırsağın yükselen ve alçalan kolonlarını; daha çok ince bağırsağa yakın olan bölgesini ve son olarak 6.8 ile 7.4 pH seviyesi ince bağırsağın ortamını temsil etmektedir.



**Şekil 5. 2** Mide – Bağırsak sistemi pH seviyeleri [39]

### 5.8.1. Resveratrolün HPLC Saptama Yöntemi

Resveratrolün UV detektörlü Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000 HPLC' de en uygun analiz yöntemi için literatür araştırması yapılmış ve tez çalışmasında Trans-resveratrol' ün tayini için kullanılan HPLC analiz yöntemi aşağıda Çizelge 5.1' de gösterilmiştir [31].

**Çizelge 5. 1** Trans-resveratrol' ün tayini için kullanılan HPLC analiz yöntemi [40]

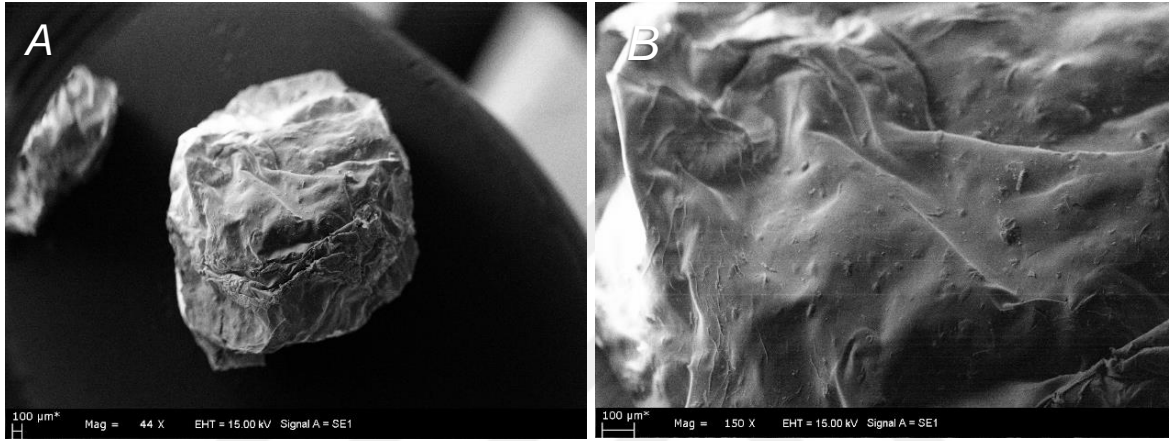
<b>Taşıyıcı Faz</b>	A: Asetonitril – B: 0.2% Formikasit içeren su (25:75, v/v)
<b>Örnek Miktarı</b>	10 µL
<b>Akış Hızı</b>	0.8 ml/min
<b>Kolon</b>	Thermo Scientific Hypersil GOLD C18 kolonu (particle size:5 µm, Dim: 250 x 4.6 mm )
<b>Dalga Boyu</b>	306nm
<b>Dedektör</b>	UV dedektörü
<b>Sıcaklık</b>	25°C
<b>Program süresi / Resveratrol için pik verdiği dakika</b>	15 dakika / 14.-14.30. dakikaları arası

## 6. SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME

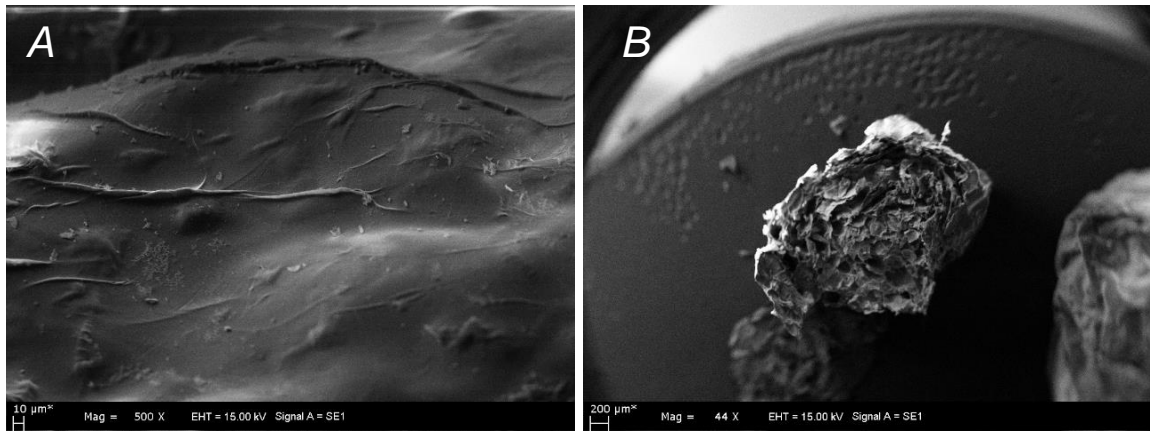
### 6.1. Karakterizasyon Çalışmaları

#### 6.1.1. Partiküllerin Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüleri (SEM) ve EDS Analizi – Mapping

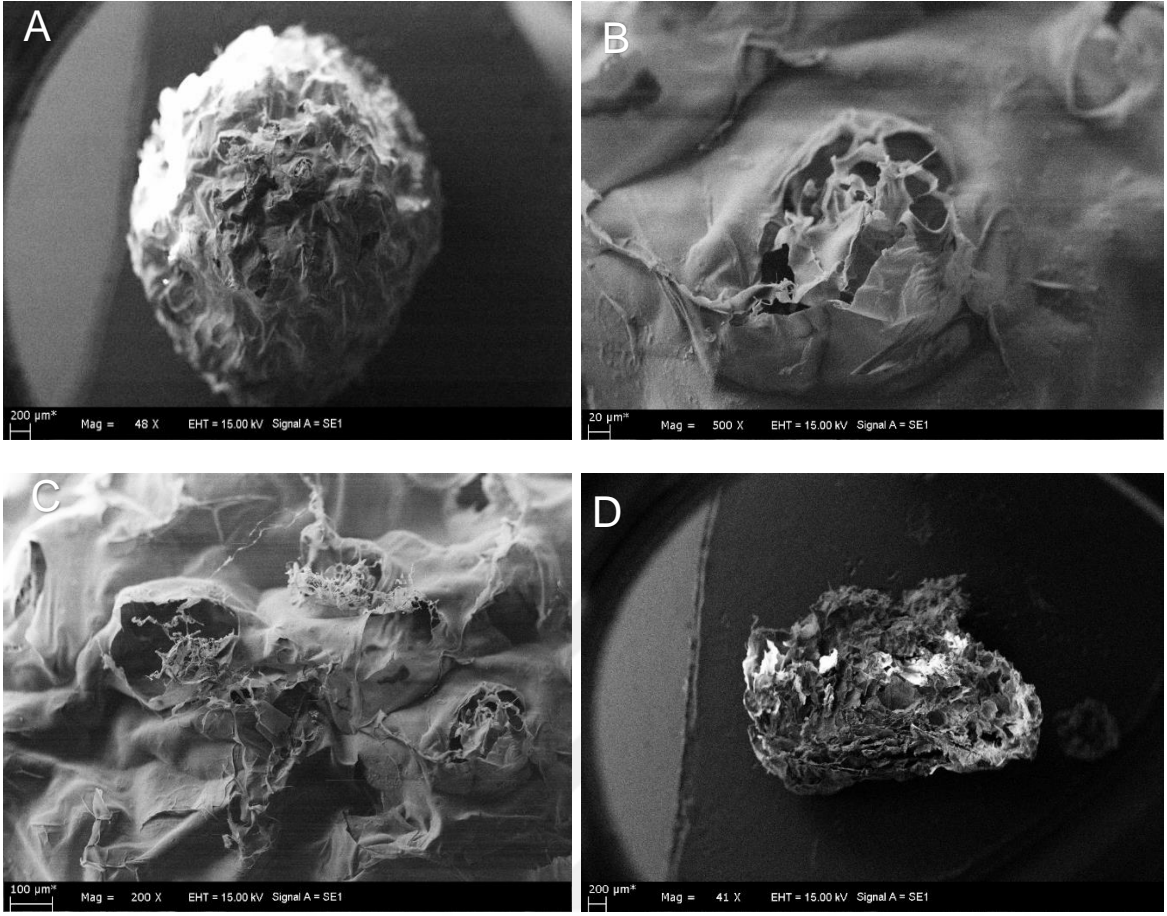
Şekil 6.1, Şekil 6.2, Şekil 6.3, Şekil 6.4, Şekil 6.5 ve Şekil 6.6’ da Ca – Aljinat ve Aljinat – Kitosan Hibrit kürelerin taramalı elektron mikroskobu ile çekilen fotoğrafları görülmektedir.



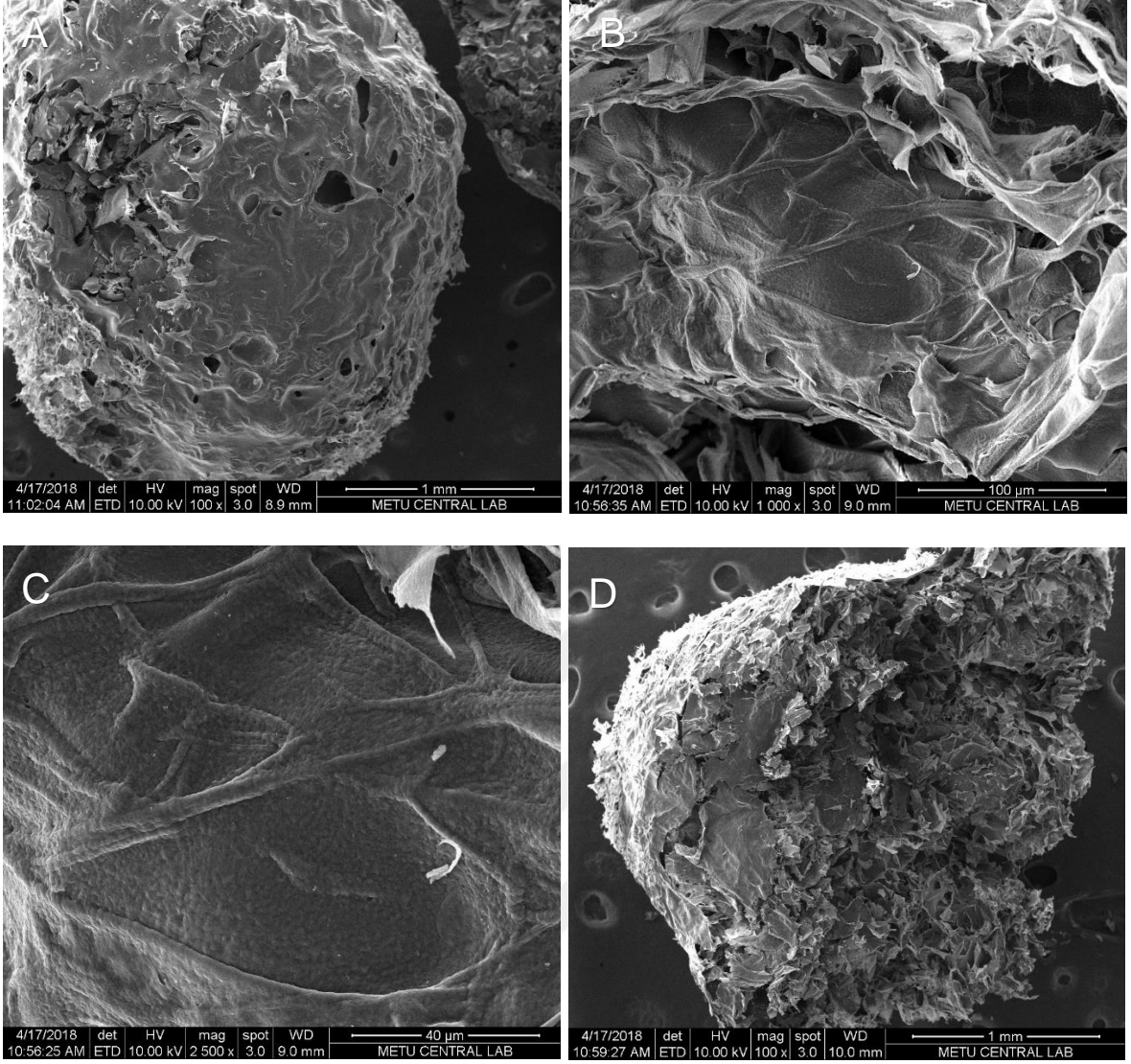
**Şekil 6. 1** SEM görüntüleri (A) Ca – Aljinat küre, (B) Ca – Aljinat kürelerin yüzey görünümü



**Şekil 6. 2** SEM görüntüleri (A) Ca – Aljinat kürelerin yüzey görünümü, (B) Ca – Aljinat küre kesit

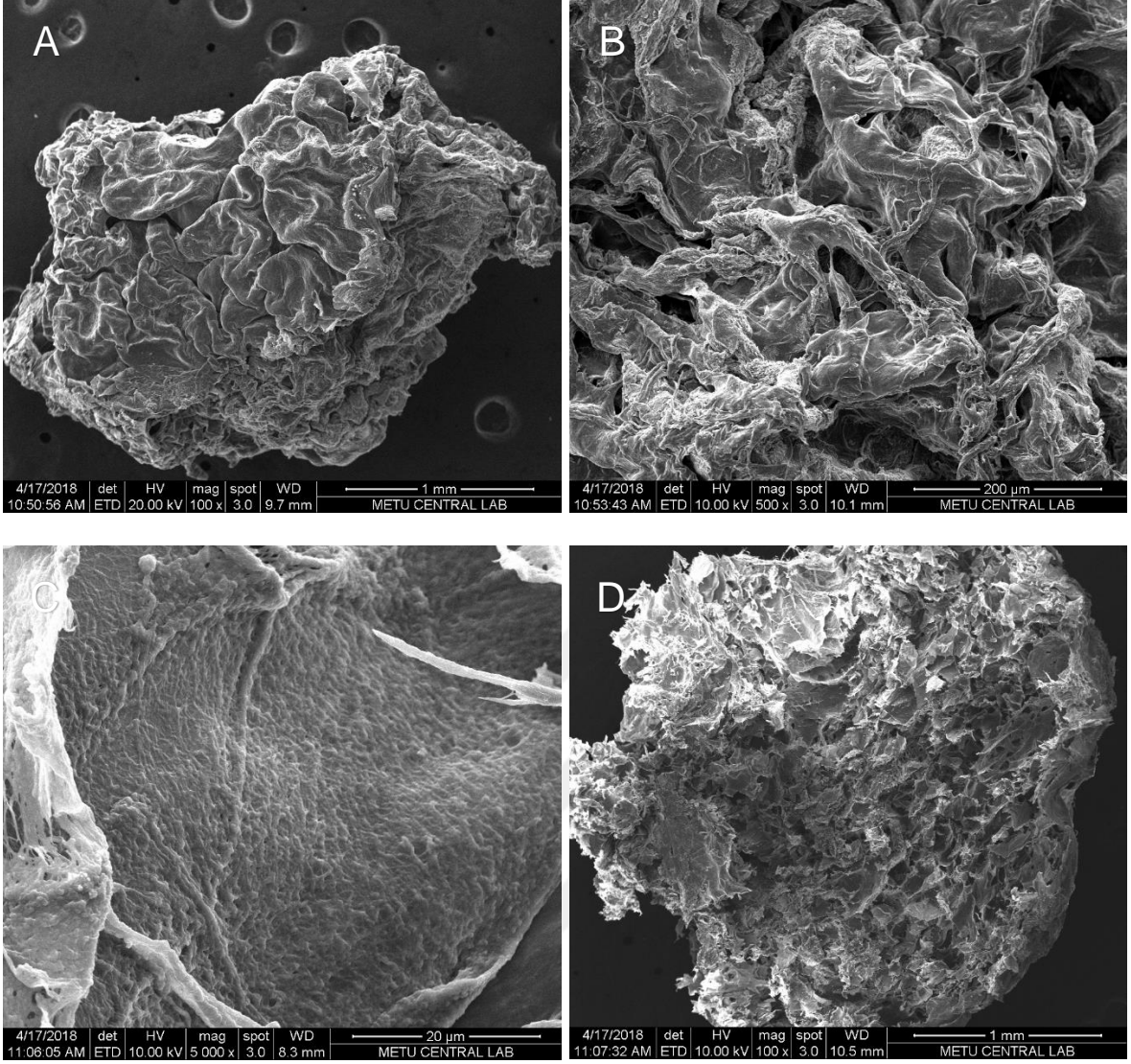


**Şekil 6. 3** SEM görüntüleri (A) Aljinat – Kitosan hibrit küre (2:1), (B) ve (C) Aljinat – Kitosan hibrit küre (2:1) yüzey görünümü, (D) Aljinat – Kitosan hibrit küre (2:1) kesit

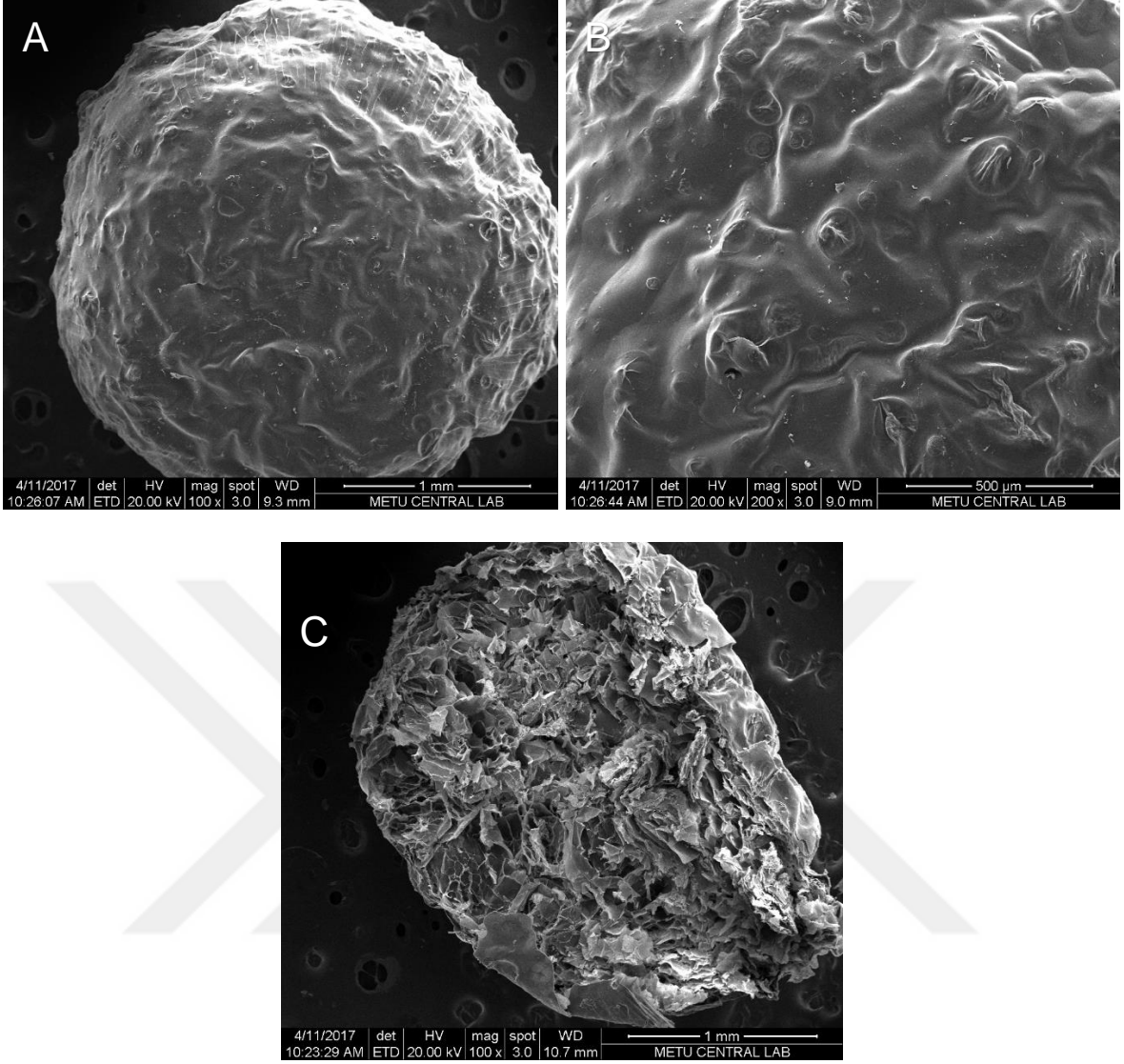


**Şekil 6. 4** SEM görüntüleri (A) Aljinat – Kitosan hibrit küre (1:1), (B) ve (C) Aljinat – Kitosan hibrit küre (1:1) yüzey görünümü, (D) Aljinat – Kitosan hibrit küre (1:1) kesit





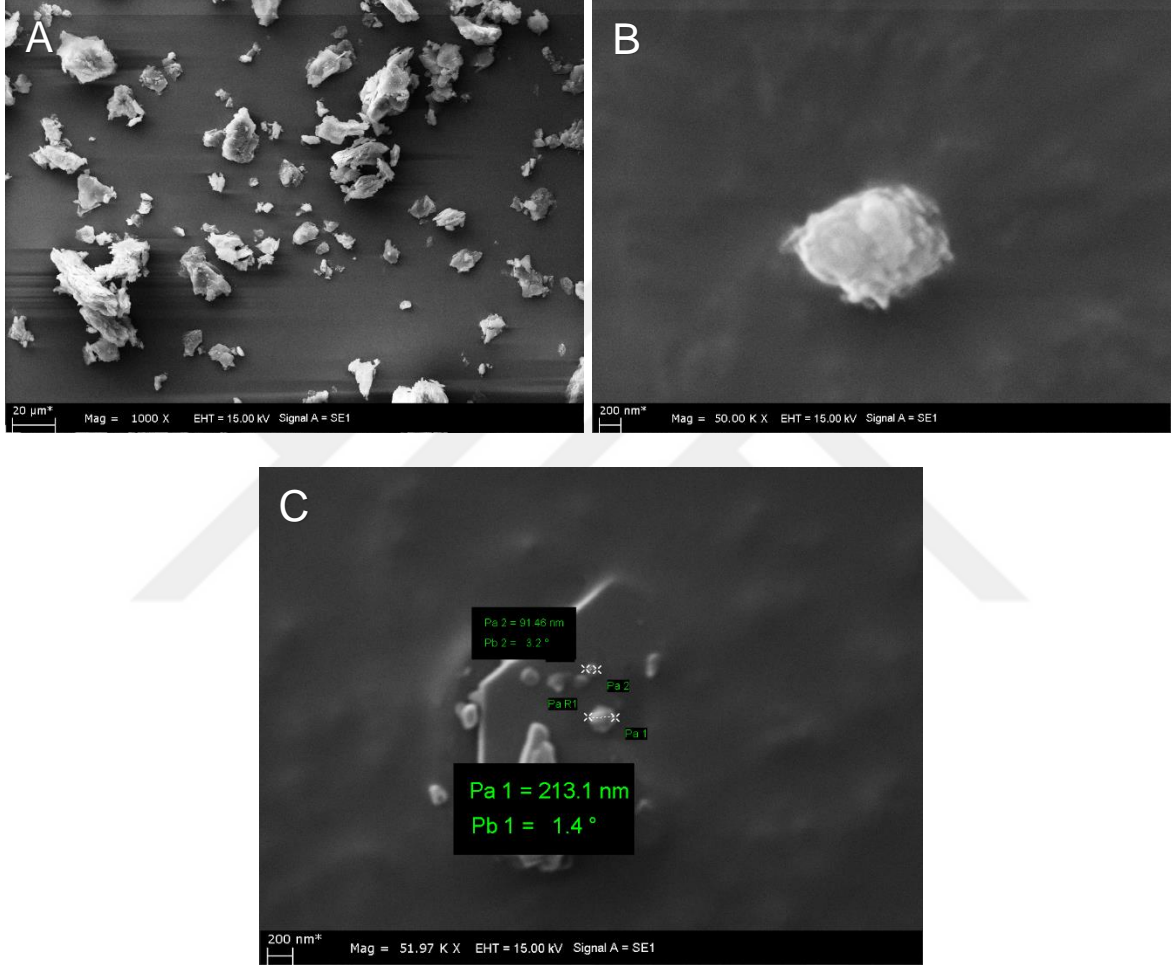
**Şekil 6. 5** SEM görüntüleri (A) Aljinat – Kitosan hibrit küre (1:2), (B) ve (C) Aljinat – Kitosan hibrit küre (1:2) yüzey görünümü, (D) Aljinat – Kitosan hibrit küre (1:2) kesit



**Şekil 6. 6** SEM görüntüleri (A) Aljinat – Kitosan hibrit küre (4:1), (B) Aljinat – Kitosan hibrit küre (4:1) yüzey görünümü, (C) Aljinat – Kitosan hibrit küre (4:1) kesit

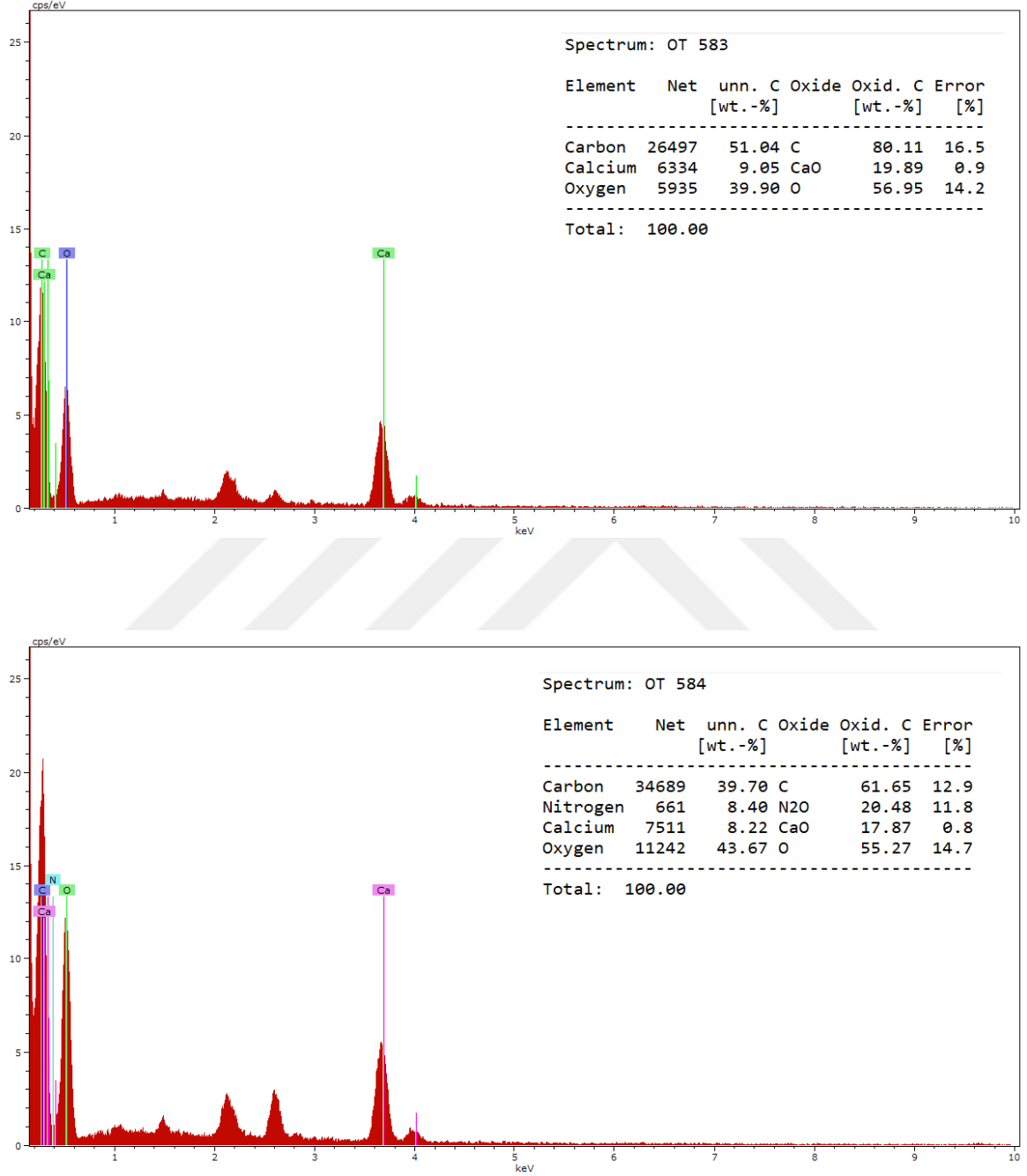
SEM analizlerinde saf aljinat küreleri olan Ca – Aljinat kürelerin daha homojen ve düzenli bir şekilde sahip olduğu, nispeten pürüzsüz bir yüzeye sahip olduğu görülmektedir. Kitosan ile yapının güçlendirilmesi sonucu, Aljinat – Kitosan hibrit kürelerde bir doku modifikasyonu ortaya çıkardığı görülmektedir. Aljinat – Kitosan hibrit küreler heterojen bir yüzey, çatlaklar ile daha düzensiz bir şekil göstermektedir. Pürüzsüz olan yüzey morfolojisi kitosanın yapıya girmesiyle dalgalanmalar oluşturmuştur. Bu morfolojik değişiklikler, kitosanın, aljinat ile iyi etkileşime girdiğini ve yüzey morfolojilerinin fizikokimyasal etkileşimlerle modifiye edildiğini göstermiştir. Farklı kütle oranlarında hazırlanan kürelerde kitosanın kütle oranı arttıkça morfolojik düzensizliklerin ve heterojenliğin de arttığı gözlemlenmiştir.

Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin hazırlanması aşamasında çözeltinin pH' ının 5' e ayarlanması, aljinatın karboksil grupları ile kitosanın amin grupları arasındaki etkileşimi arttırmıştır. Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin oluşan bu yeni dokusu elektrostatik etkileşimlerin bir sonucudur.

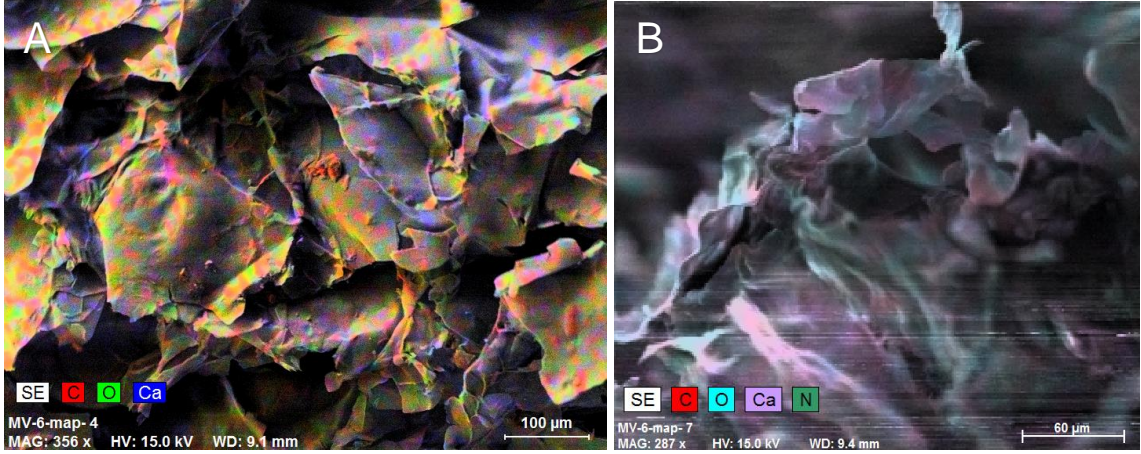


**Şekil 6. 7** SEM görüntüleri (A) Resveratrol çapraz bağlı kitosan nanopartikülleri genel görünüm, (B) ve (C) Resveratrol çapraz bağlı kitosan nanopartikülü tek başına kurutulmuş olarak SEM görüntüleri çekilen nanopartiküller gridlere yayılarak hazırlanmıştır ve Şekil 6.7 A' da görülmektedir. Kitosan nanopartiküllerin küresel bir yapıya sahip olduğu gözlemlenmiştir. Şekil 6.7 C' de yine kitosan resveratrol ile çapraz bağlandığında oluşan partikül boyutları 213 nm ile 91.4 nm olarak saptanmıştır.

Ayrıca Şekil 6.8’ de Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin ve Ca – Aljinat kürelerin EDS analizi ve Şekil 6.9’ da Mapping (SEM haritalama) görüntüleri görülmektedir. EDS analizlerinde yapıya kitosanın girdiği hibrit kürelerde bulunan Azot (N) elementinden anlaşılmaktadır.



**Şekil 6. 8** Yukarıdan aşağıya; Ca – Aljinat kürelerin EDS analizi ve Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin EDS analizi



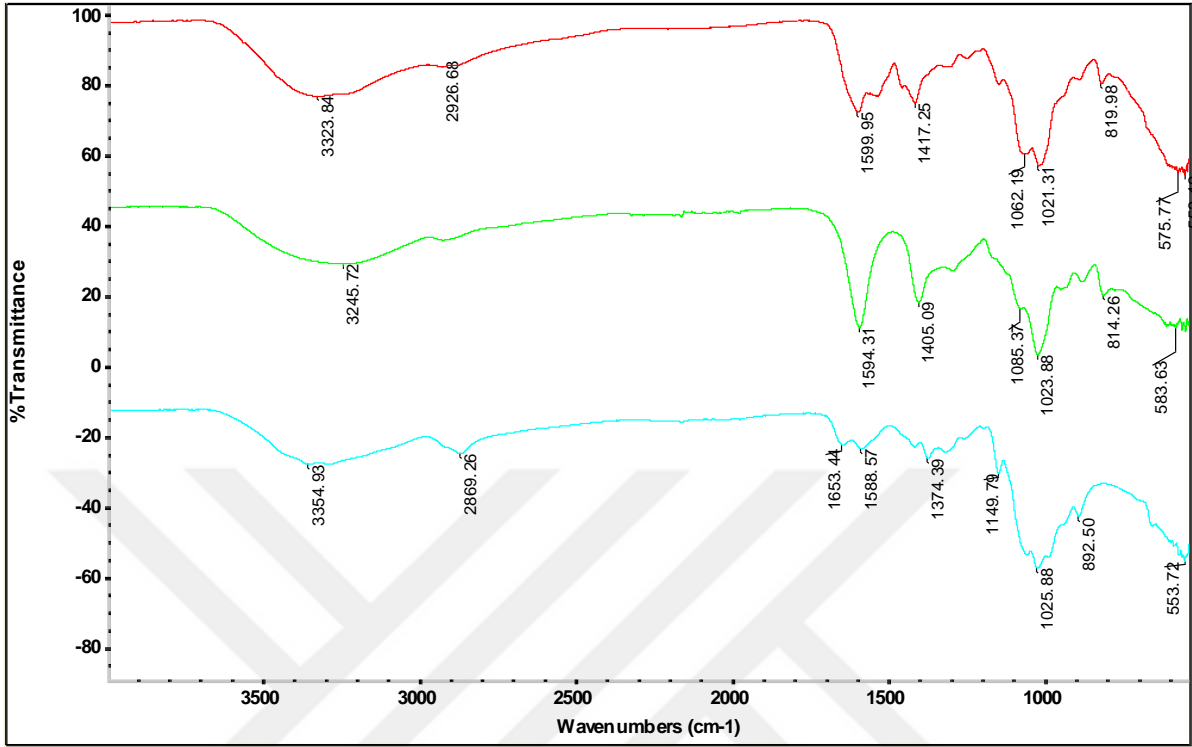
**Şekil 6. 9** Mapping (SEM haritalama) görüntüleri; (A) Ca – Aljinat kürelerin ve (B) Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin

SEM çalışmalarında ayrıca haritalama da yapılmıştır. Şekil 6.9 A' da görülen Ca – Aljinat kürelerin Sem görüntüsü üzerinde yapılan haritalamada kırmızı bölgeler karbon (C) içeren kısımları, yeşil bölgeler oksijen (O) içeren kısımları ve mavi bölgeler ise kalsiyum içeren kısımları göstermektedir. Yine aynı şekilde Şekil 6.9 B' de görülen Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin SEM görüntüsü üzerinde yapılan haritalamada kırmızı bölgeler karbon (C) içeren kısımları, açık mavi bölgeler oksijen (O) içeren kısımları, mor bölgeler kalsiyum içeren kısımları ve koyu yeşil bölgeler ise azot (N) içern kısımları göstermektedir.



## 6.1.2. FT-IR, TGA ve DSC Analizleri

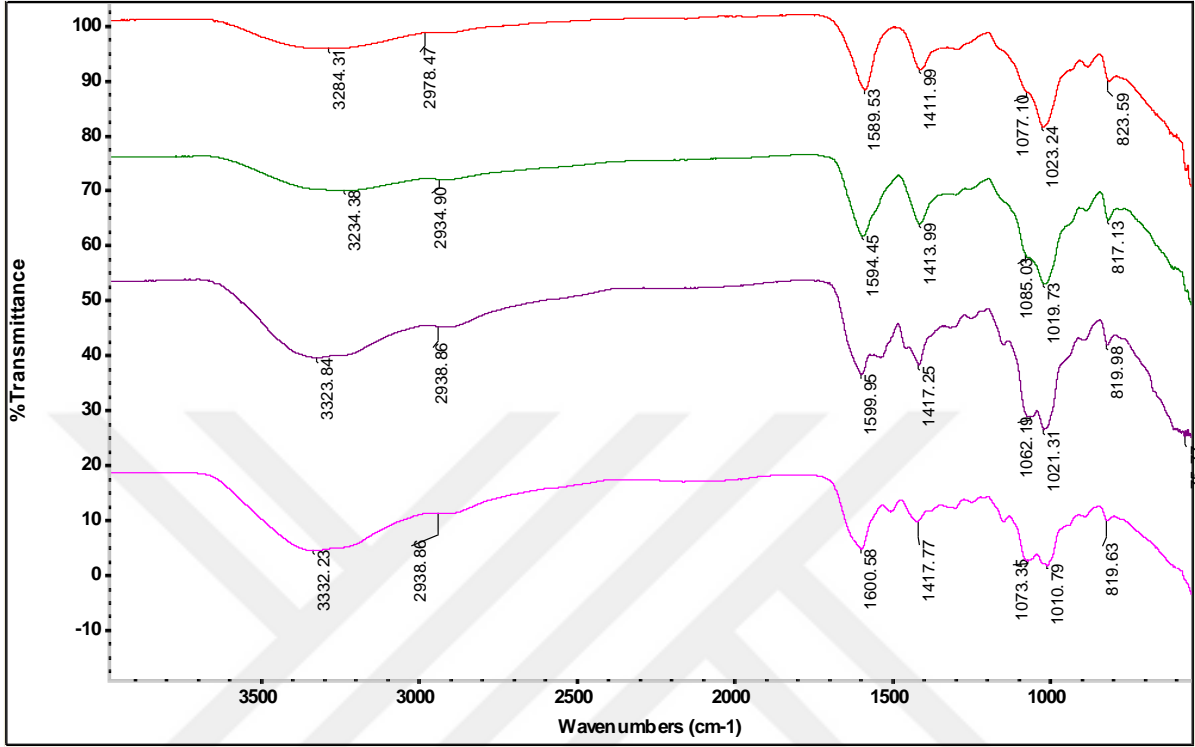
### ❖ FT – IR Çalışmaları



**Şekil 6. 10** Aljinat – Kitosan hibrit küre (1:2), saf sodyum aljinat ve saf kitosana ait FT-IR spektrumları (Yukarıdan aşağıya)

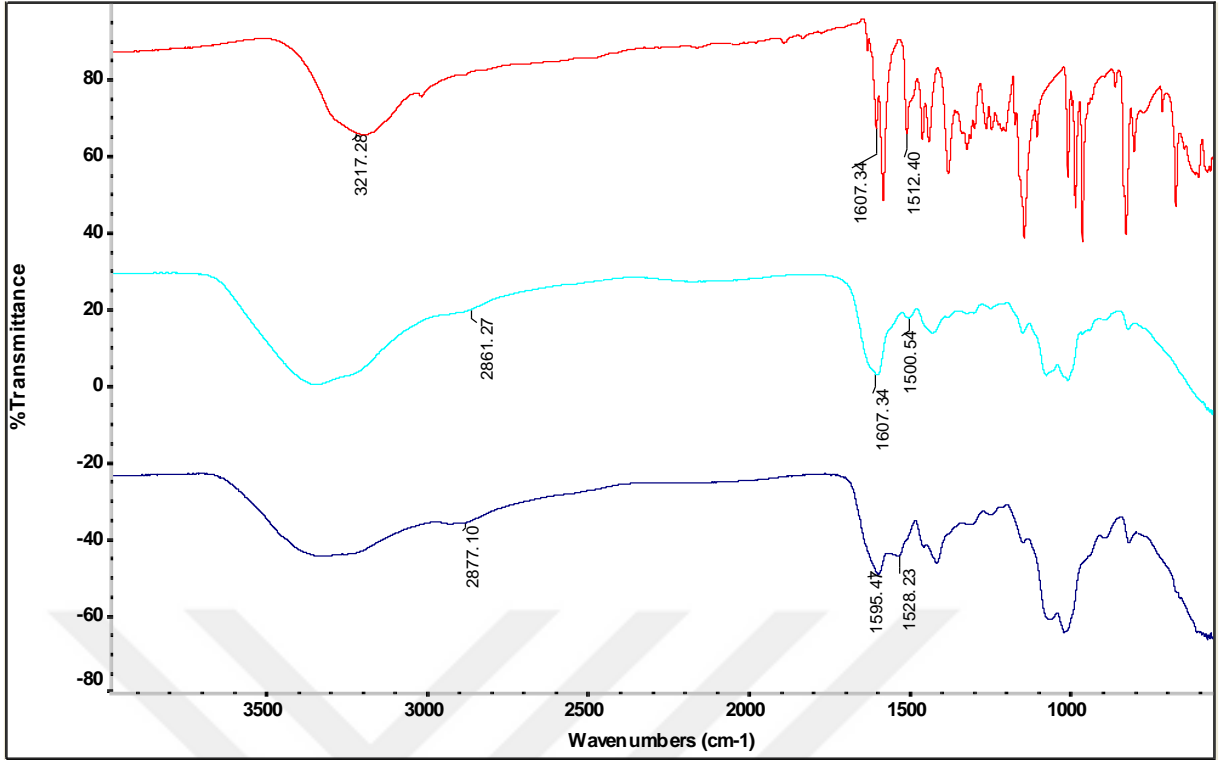
Şekil 6.10' da Saf sodyum aljinat, saf kitosan ile Aljinat – Kitosan kompozitinin FT-IR spektrumları yer almaktadır. Saf aljinat spektrumunda görülen  $3245,72 \text{ cm}^{-1}$  de görülen pik değeri hidroksil gruplarının titreşimlerine denk gelmektedir.  $1594,31 \text{ cm}^{-1}$  ve  $1405,09 \text{ cm}^{-1}$  de görülen pik değerleri aljinatın karakteristik karboksil gruplarını temsil eder. Bunlardan  $1594,31 \text{ cm}^{-1}$ 'deki pik simetrik – COO gerilimi titreşimlerinden,  $1405,09 \text{ cm}^{-1}$ 'deki pik ise asimetrik – COO gerilimi titreşimlerinden kaynaklanmaktadır.  $1085,37 \text{ cm}^{-1}$  ve  $1023,88 \text{ cm}^{-1}$  pik değerleri aljinatın G ve M bloklarının – C – O gerilimi titreşimlerine karşılık gelmektedir. Kitosanın ana karakteristik pik değerleri;  $2869,26 \text{ cm}^{-1}$  (C – H gerilimi),  $1653,44 \text{ cm}^{-1}$  (N – H gerilimi),  $1374,39 \text{ cm}^{-1}$  (C – N gerilimi),  $1149,79 \text{ cm}^{-1}$  (köprü – O – gerilimi) ve  $1060,23 \text{ cm}^{-1}$  (C – O gerilimi) şeklindedir. Aljinat – Kitosan hibrit kürelere ait olan spektrumda  $2926,68 \text{ cm}^{-1}$ 'de kitosanın CH<sub>2</sub> grubunun gerilme titreşimlerine bağlı olarak, yapıya girmesiyle yeni bir pik gözlemlenmiştir. Amino, karboksil ve amid

gruplarının absorpsiyon bantlarındaki artış, aljinatın karbonil grubu ve kitosanın amino grubu arasındaki iyonik etkileşime atfedilebilir.



**Şekil 6. 11** Ca – Aljinat küre, Aljinat – Kitosan hibrit küre (1:1), Aljinat – Kitosan hibrit küre (1:2) ve Aljinat – Kitosan hibrit kürelere (2:1) ait FT-IR spektrumları (Yukarıdan aşağıya)

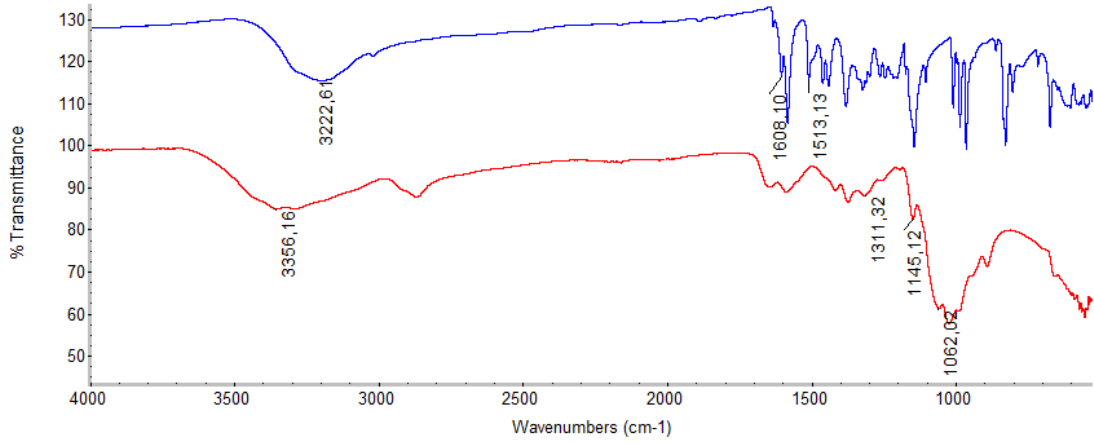
Şekil 6.11' de Ca – Aljinat küreler ile Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı kütle oranlarında hazırlanmış spektrumları görülmektedir. Kompozit kürelerde aljinat ve kitosanın elektrostatik etkileşimleriyle aljinat kürelere göre piklerin nispeten genişlediği görülmektedir.



**Şekil 6. 12** Resveratrol, Resveratrol yüklü Aljinat – Kitosan hibrit küre (1:2) ve Boş Aljinat – Kitosan hibrit kürelere (1:2), ait FT-IR spektrumları (Yukarıdan aşağıya)

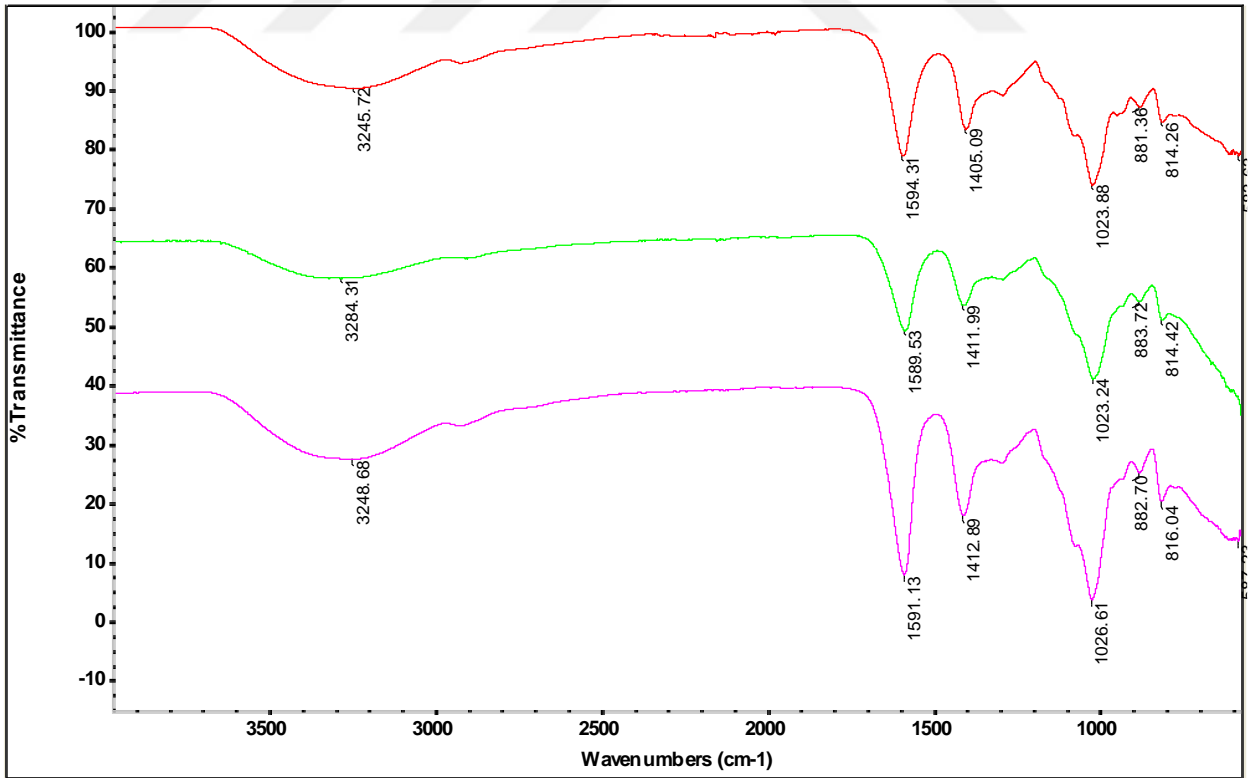
Şekil 6.12' de görülen Resveratrol ilacının spektrumunda  $3217,29\text{cm}^{-1}$  pik değeri resveratrolün fenolik hidroksil gruplarının absorpsiyon pik değeridir.  $1607,34\text{cm}^{-1}$  ve  $1512,40\text{cm}^{-1}$  de görülen pikler ise benzen halkasının karakteristik pikleridir. Kompozit kürelere ilaç yüklemesiyle  $3200\text{cm}^{-1}$  civarı görülen fenolik hidroksil gruplarının pikinin genişlediği ve  $1528,23\text{cm}^{-1}$  de bulunan pik değerinin  $1500,54\text{cm}^{-1}$  ye kaydığı gözlenmiştir. Ayrıca ilacın yapıya girmesiyle de resveratrole ait pik değerlerinin de baskılandığı görülmektedir.





**Şekil 6. 13** Resveratrol, Resveratrol çapraz bağlı kitosan nanopartikülüne ait FT-IR spektrumları (Yukarıdan aşağıya)

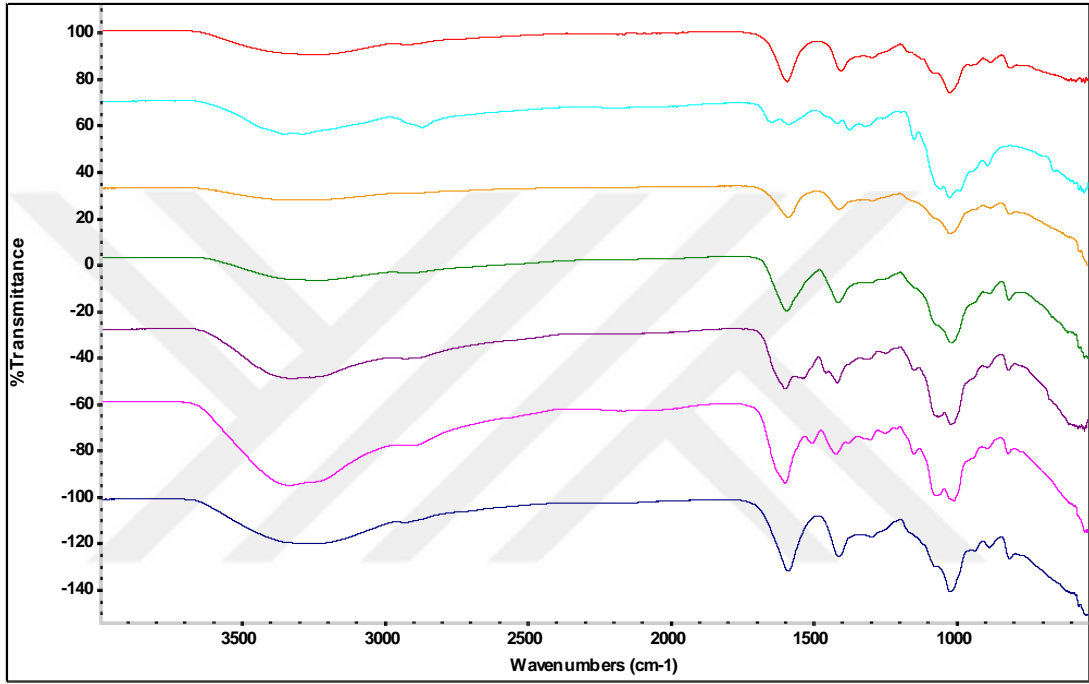
Şekil 6.13' de ilaç yüklü kitosan nanopartikülleri ile ilaca ait pik değerleri verilmiştir. Burada da yine aynı şekilde resveratrol kitosana çapraz bağlandıktan sonra pik değerlerinin baskılandığı görülmektedir. Kitosanın karakteristik piki olan  $2870\text{cm}^{-1}$  yakınlarındaki pik değerinin ise belirginleştiği görülmektedir.



**Şekil 6. 14** Saf sodyum aljinat, Ca – Aljinat küre, ve Resveratrol yüklü Ca – Aljinat kürelere ait FT-IR spektrumları (Yukarıdan aşağıya)

Ca – Aljinat küreler ile ilaç yüklü Ca – Aljinat kürelerin FT-IR spektrumlarının karşılaştırılması Şekil 6.14’ de görülmektedir. Resveratrolün yapıya girmesiyle  $3248,68\text{cm}^{-1}$ ,  $1591,13\text{cm}^{-1}$ ,  $1412,89\text{cm}^{-1}$  ve  $1026,61\text{cm}^{-1}$  pik değerlerinin genişlediği gözlenmektedir.

Farklı kütle oranlarıyla hazırlanmış Aljinat – Kitosan hibrit kürelere ait spektrumlar ile Saf aljinat ve aljinat kürelerin spektrumlarının hepsini bir arada görmek için FT-IR spektrumları Şekil 6.15’ de birleştirilmiştir.



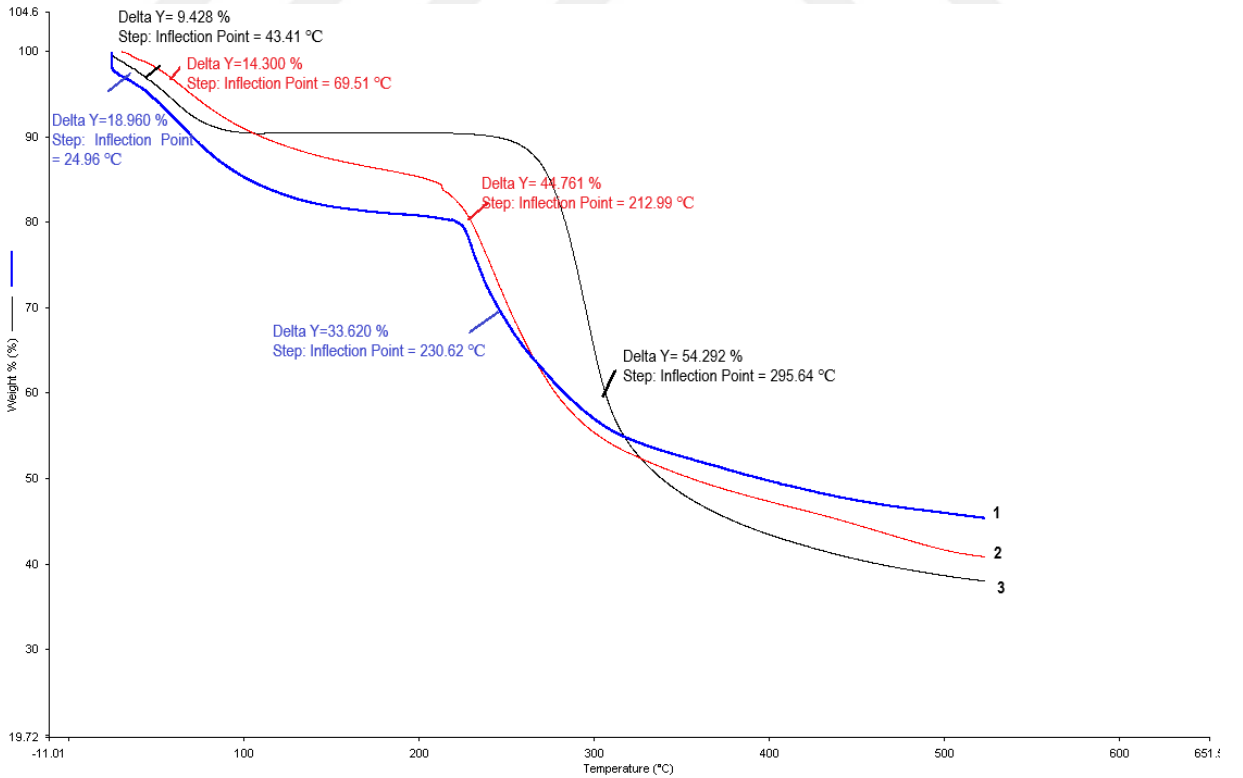
**Şekil 6. 15** Saf sodyum aljinat, Saf kitosan, Ca – Aljinat küre ve Aljinat – Kitosan hibrit kürelere ait FT-IR spektrumları sırasıyla; (1:1), (1:2), (2:1), (4:1) (Yukarıdan aşağıya)

#### ❖ TGA Analizleri

Söz konusu partiküllerin sıcaklığın giderek artırılmasına bağlı olarak yapıda oluşan kütle kaybı ve/veya kazanımlarının belirlenmesi için Termogravimetrik analizleri çalışılmıştır. Analiz esnasında kütle değişimi sıcaklığın artırılmasıyla ölçülüp kaydedilir. Partiküllerin kütlelerinin sıcaklığa karşı çizilen grafiği olan TG eğrileri, bozunmanın gerçekleştiği sıcaklık ve materyalin ne kadarının bozunduğu bilgileri aşağıdaki grafiklerde verilmiştir.

Şekil 6.16’ da Aljinat – Kitosan hibrit küre (1:2 kütle oranında), Ca – Aljinat küre ve saf kitosana ait TG eğrileri görülmektedir. Grafikler incelendiğinde, Ca – Aljinat

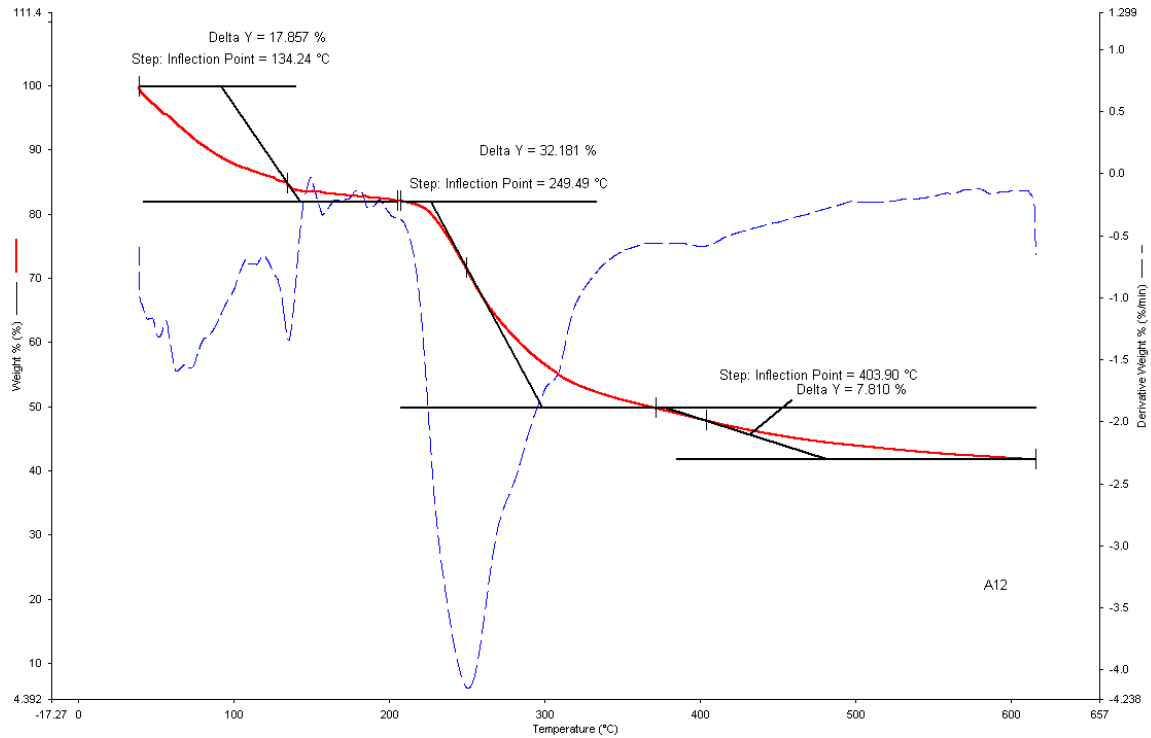
küreleri için elde edilen sıcaklığa bağlı yüzde kütle değişim eğrilerinde iki aşamada gerçekleşen bozunmanın ilk aşamasında 69.51°C' de %14.3' lük bir kayıp meydana geldiği görülmektedir. İkinci aşamasında ise 212.99°C' de % 44.76'lık bir kayıp meydana gelmiştir. Toplam kütle kaybı ise %59.06 olarak hesaplanmıştır. Saf kitosana ait TG eğrileri incelendiğinde ilk aşamada 43.41°C' de % 9.43' lük ve ikinci aşamada 295.64°C' de % 54.29'luk bir bozunma görülmektedir. Toplamda yapıda % 64'lük bir bozunma oluşmuştur. 1:2 oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit küreler incelendiğinde 24.96 °C' de %18.9'luk bir kayıp meydana gelmiştir. Düşük sıcaklıklarda gerçekleşen bu erken bozunmalar partiküllerin yapısındaki suyun buharlaşmasından kaynaklanmaktadır. Kitosanın yapıya girmesiyle kompozit kürelerde aljinattaki 212.99°C' de meydana gelen bozunma 230.62 °C' de % 33.62'lik bir kütle kaybıyla kayma göstermiştir ve termal kararlılığı arttırmıştır. 200 - 300°C' de meydana gelen bu bozunmaların nedeninin aljinatın yapısında bulunan hidroksil gruplarının yapıdan ayrılması olduğu düşünülmektedir. Aynı zamanda bu sıcaklıkta gerçekleşen bozunmada aljinat ve kitosana göre kaybedilen kütle yüzdece azalmıştır. Toplam kütle kaybı ise %52.5 olarak hesaplanmış ve buradan Ca –Aljinata kürelere kıyasla termal kararlılığının daha iyi olduğu yorumu yapılabilir.



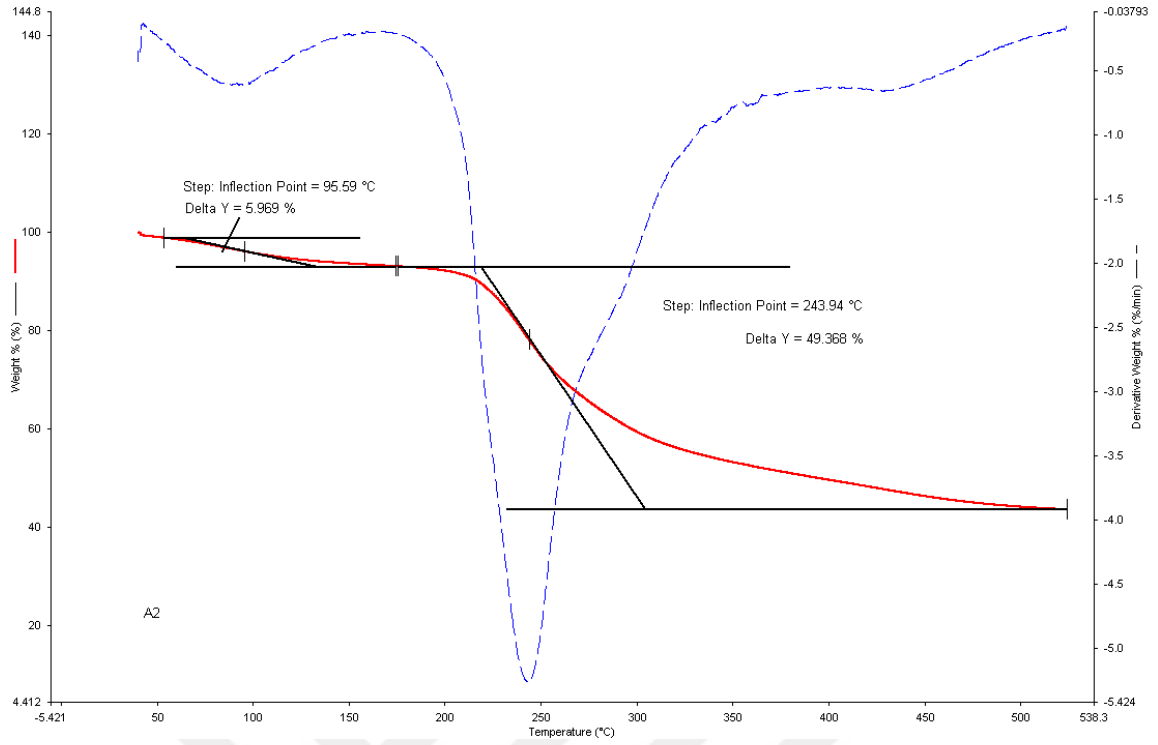
**Şekil 6. 16** TGA analizleri: 1) Aljinat – Kitosan Hibrit Küre (1:2), 2) Ca – Aljinat Küre ve 3) Saf kitosan

Şekil 6.17' de 2:1 kütle oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelere ait TG eğrileri görülmektedir. Grafik incelendiğinde, 2:1 kütle oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit küreleri için elde edilen sıcaklığa bağlı yüzde kütle değişim eğrilerinde üç aşamada bozunma meydana geldiği görülmektedir. Bozunmanın ilk aşamasında 134.24°C' de % 17.86' lık bir kayıp, ikinci aşamasında ise 249.49°C' de % 32.18 'lik bir kayıp meydana gelmiştir. Bozunmanın son aşamasında ise 403.9°C' de %7.81'lik bir kütle kaybı hesaplanmıştır. Bu kompozit kürelerde toplam kütle kaybı ise % 57.85 olarak hesaplanmıştır. 1:2 kütle oranında hazırlanan Aljinat – Kitosan hibrit kürelere kıyasla bu kürelerde kitosan oranının azalması ve aljinatın artması ile kütle kaybının arttığı görülmektedir.

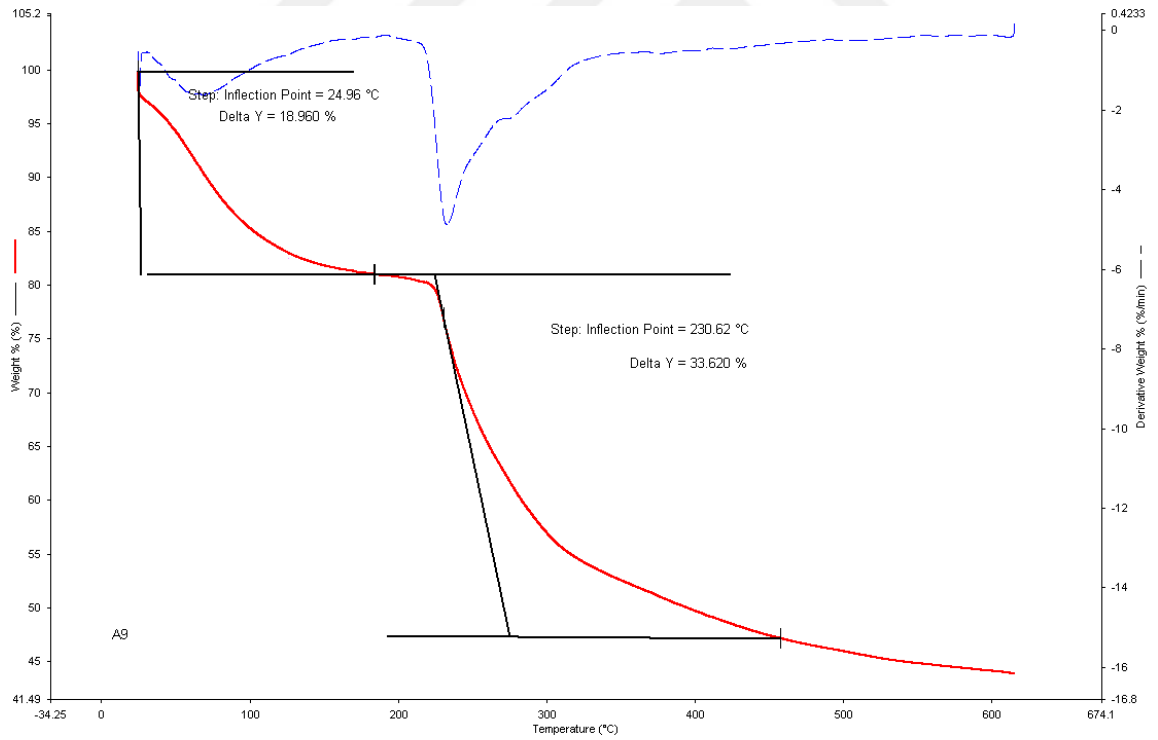
Şekil 6.18' de 1:1 kütle oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelere ait TG eğrileri görülmektedir. Grafik incelendiğinde, 1:1 kütle oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit küreleri için elde edilen sıcaklığa bağlı yüzde kütle değişim eğrilerinde iki aşamada bozunma meydana geldiği görülmektedir. Bozunmanın ilk aşamasında 95.59°C' de % 5.97' lik bir kayıp, ikinci aşamasında ise 243.94°C' de % 49.37 'lik bir kayıp meydana gelmiştir. Bu kompozit kürelerde toplam kütle kaybı ise % 55.34 olarak hesaplanmıştır. 1:2 kütle oranında hazırlanan Aljinat – Kitosan hibrit kürelere kıyasla bu kürelerde kitosan oranının azalması ile kütle kaybının arttığı görülmektedir.



Şekil 6. 17 Aljinat – Kitosan Hibrit Küre (2:1) TGA analizi

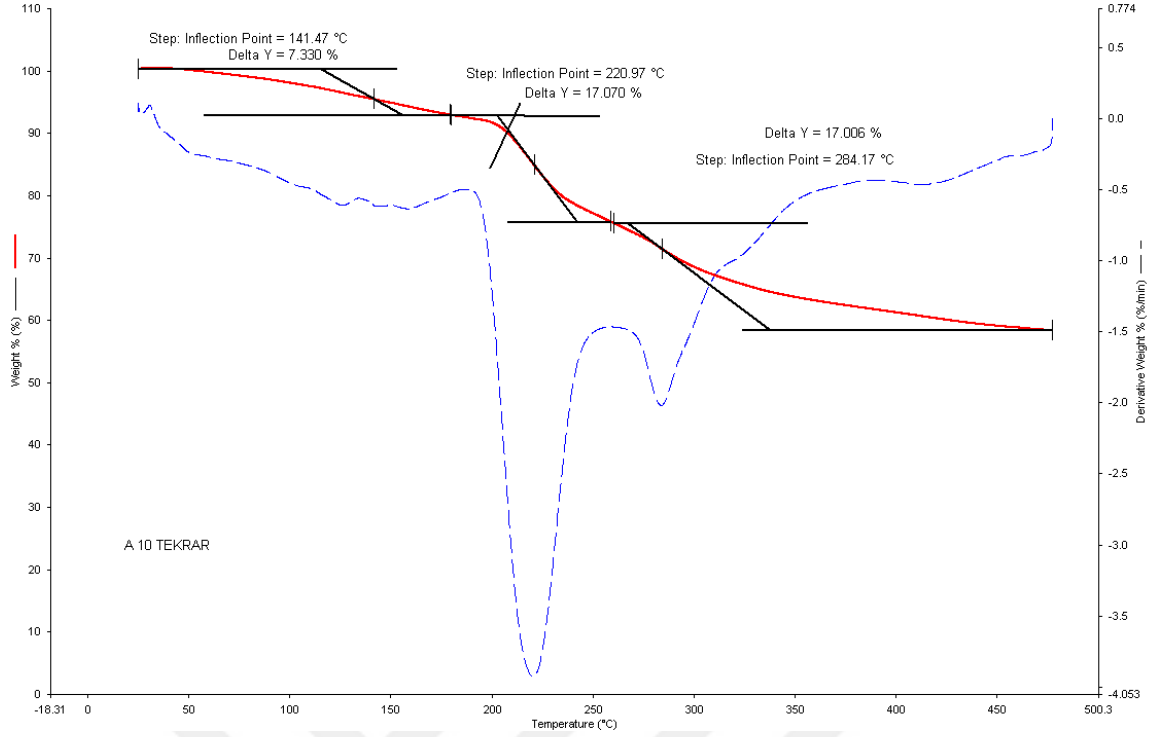


**Şekil 6. 18** Aljimat – Kitosan Hibrit Küre (1:1) TGA analizi



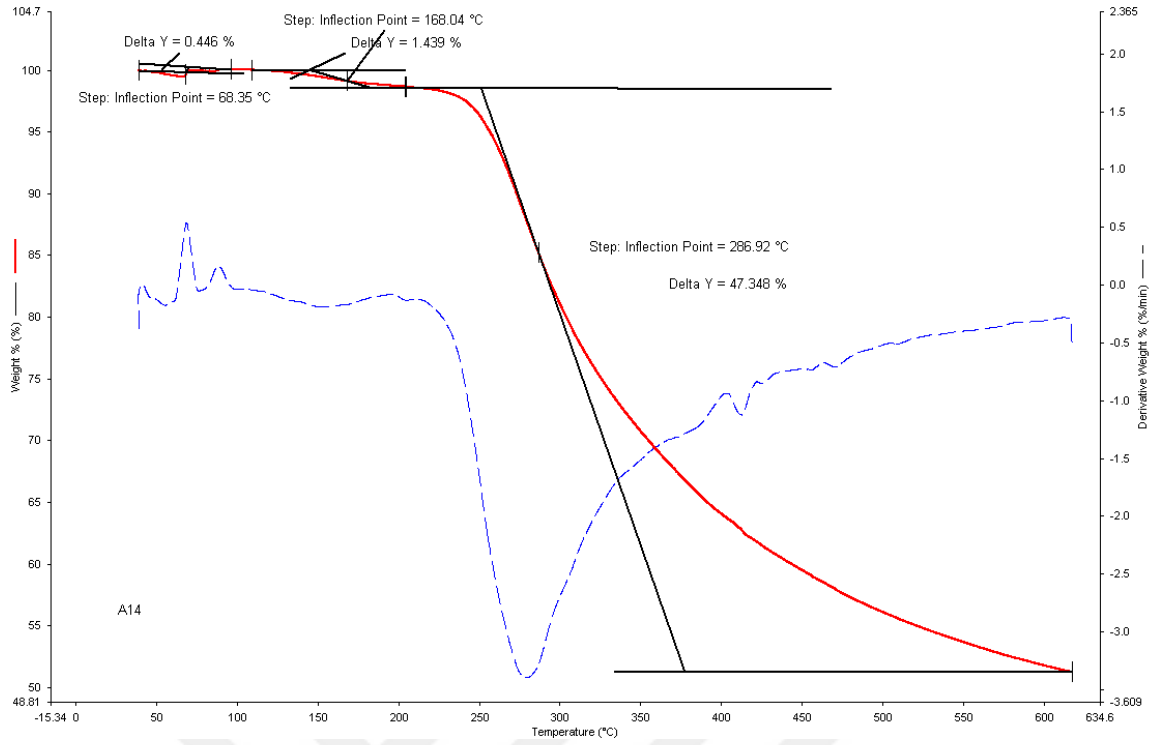
**Şekil 6. 19** Aljimat – Kitosan Hibrit Küre (1:2) TGA analizi

Şekil 6.19' da 1:2 kütle oranındaki Aljimat – Kitosan hibrit kürelere ait TG eğrileri tek başına görülmektedir.



**Şekil 6. 20** Resveratrol yüklü Aljinat – Kitosan Hibrit Küre (1:2) TGA analizi

Şekil 6.20’ de Resveratrol yüklü 1:2 kütle oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelere ait TG eğrileri görülmektedir. Grafik incelendiğinde, ilaç yüklü 1:2 kütle oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit küreleri için elde edilen sıcaklığa bağlı yüzde kütle değişim eğrilerinde boş kürelerden farklı olarak üç aşamada bozunma meydana geldiği görülmektedir. Bozunmanın ilk aşamasında 141.47°C’ de % 7.33’ lük bir kayıp, ikinci aşamasında ise 220.97°C’ de % 17.07’ lik bir kayıp meydana gelmiştir. Bozunmanın son aşamasında ise 284.17°C’ de %17’lik bir kütle kaybı hesaplanmıştır. Bu ilaç yüklü kompozit kürelerde toplam kütle kaybı ise % 41.4 olarak hesaplanmıştır.

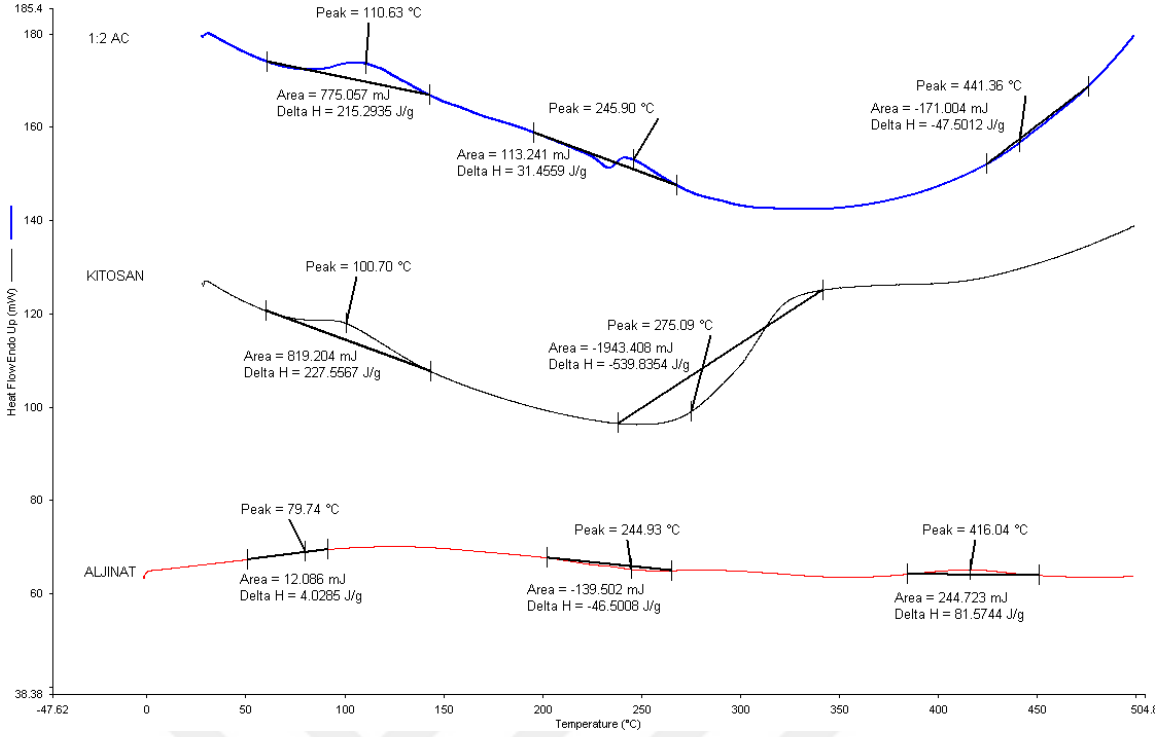


**Şekil 6. 21** Resveratrol çapraz bağlı kitosan nanopartiküllerinin TGA analizi

Şekil 6.21' de Resveratrol çapraz bağlı kitosan nanopartiküllere ait TG eğrileri görülmektedir. Grafik incelendiğinde, nanopartiküllerde sıcaklığa bağlı yüzde kütle değişim eğrilerinde üç aşamada bozunma meydana geldiği görülmektedir. Bozunmanın ilk aşamasında  $68.35^{\circ}\text{C}$ ' de % 0.446' lık çok düşük bir kayıp gözlemlenmiştir bu bozunmanın nedeni su ve ortamdaki nemin kaybedilmesidir. İkinci aşamasında ise  $168.04^{\circ}\text{C}$ ' de % 1.44'lük bir kayıp meydana gelirken bozunmanın son aşamasında ise  $286.92^{\circ}\text{C}$ ' de %47.35' lik bir kütle kaybedilmiştir. Bu ilaç yüklü partiküllerde toplam kütle kaybı ise % 49.23 olarak hesaplanmıştır.

#### ❖ DSC Analizleri

Bu teknikte, referans ile örnekten gelen ya da uzaklaşan ısı farkı sıcaklığa veya zamana bağlı olarak grafiğe aktarılır. Diferansiyel taramalı kalorimetre analizinde örnek ısıtılırken, soğutulurken veya sabit bir sıcaklıkta tutulurken soğurulan ya da salıverilen enerji miktarını ölçmektedir.



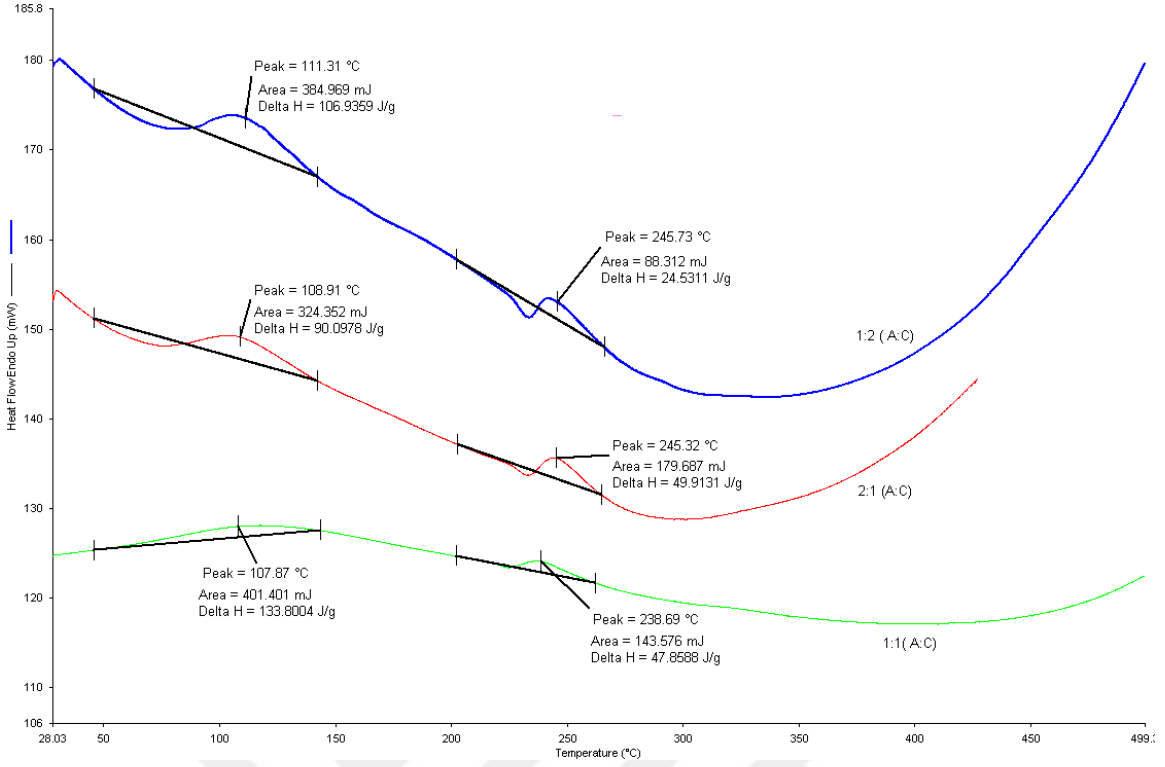
**Şekil 6. 22** Yukarıdan aşağıya; Aljinat – Kitosan Hibrit Küre (1:2), Saf kitosan ve Ca – Aljinat Kürelerin DSC Analizleri

Şekil 6.22 DSC çalışmalarından elde edilen, 1:2 kütle oranında Aljinat – Kitosan hibrit kürelere, saf kitosana ve Ca - Aljinat kürelere ait verileri göstermektedir. Saf kitosanda 100°C’ de endotermik pik ve 275°C’ de bir ekzotermik pik görülmektedir. Ca – Aljinat kürede ise 79°C, 244°C’ endotermik ve 416°C’ de ekzotermik pik görülmektedir. Kompozit kürelerde ise bu değerler 110°C - 245°C ve 441°C şeklindedir.

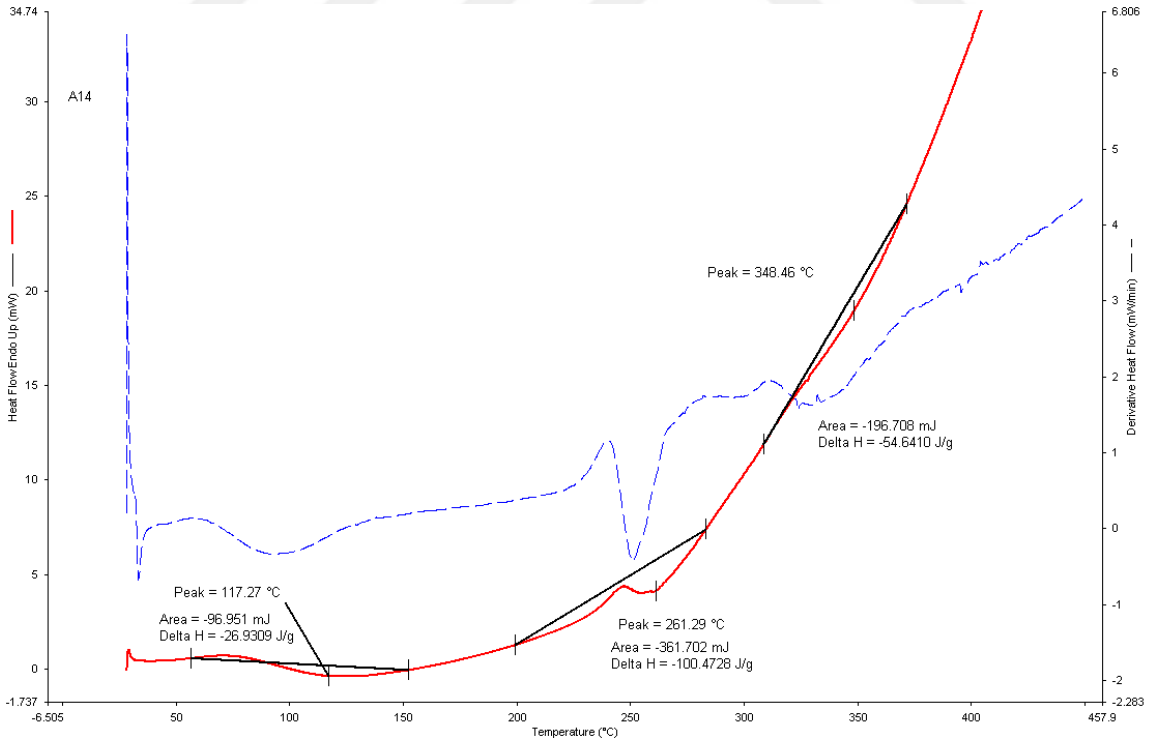
Endotermik pikler, hidrofilik polimer gruplarına bağlı su kaybı ile ilişkilidir. Ekzotermik pikler, dehidrasyon ve depolimerizasyon reaksiyonlarına bağlı polielektrolitlerin parçalanmasından kaynaklanırken, büyük olasılıkla protonlanmış karboksilik grupların kısmi dekarboksilasyonuna ve polielektrolitlerin oksidasyon reaksiyonlarına neden olmuştur.

Farklı kütle oranlarıyla hazırlanan hibrit kürelerin DSC analizi sonucu elde edilen veriler Şekil 6.23’ de verilmiştir. Kompozit küreler birbirleriyle uyumlu olarak 250 - 300°C aralıklarında pik gösterirlerken, 1:1 oranındaki kürelerde pik 238°C’ ye kaymıştır. Resveratrol çapraz bağlı kitosan nanopartiküllerinin DSC analizinde ise bu pikler 117°C, 261°C ve 348 °C’ de yer almaktadır ve Şekil 6.24’ de verilmiştir.

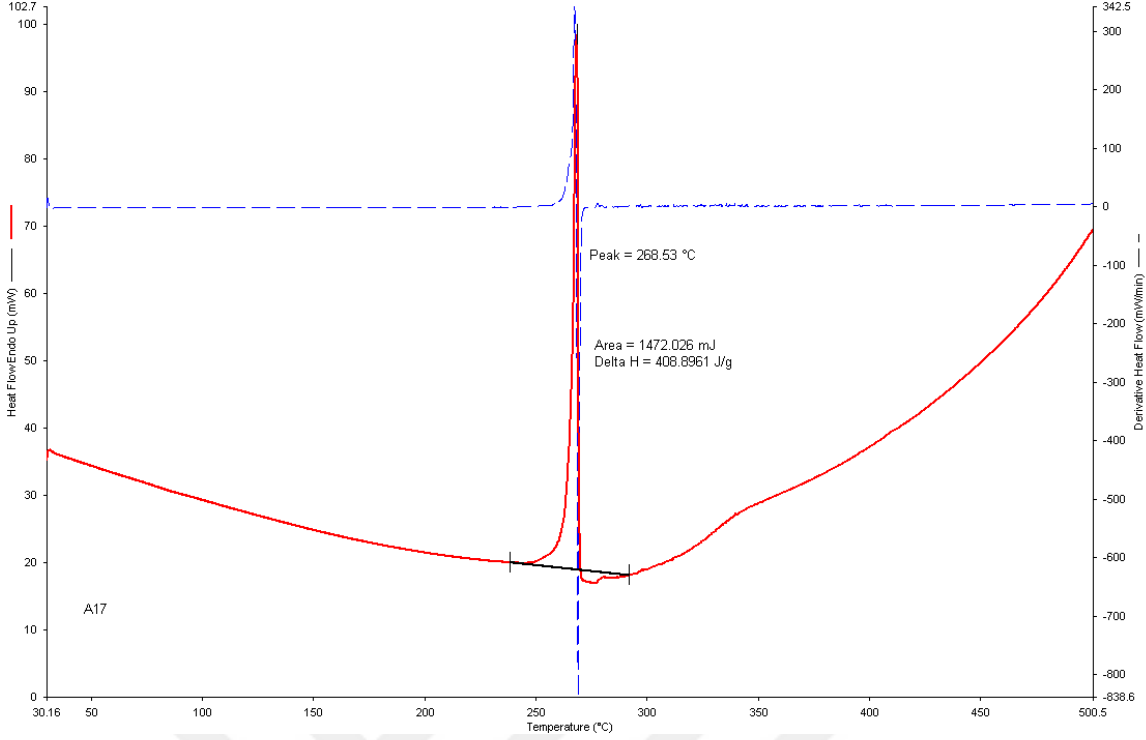




**Şekil 6. 23** Aljimat – Kitosan Hibrit Kürelerin farklı kütle oranlarının DSC Analizleri, Yukarıdan aşağıya; (1:2), (2:1) ve (1:1)



**Şekil 6. 24** Resveratrol çapraz bağlı kitosan nanopartiküllerinin DSC analizi



**Şekil 6. 25** Resveratrol DSC analizi

Resveratrole ait DSC analizi eğrisi Şekil 6.25' de verilmiştir; resveratrolün kristal yapısının erimesine karşılık gelen 268°C' de keskin bir endotermik pik vermiştir.

### 6.1.3. BET Analizi

Deney öncesinde örnekler saflaştırma ve sudan arıtma işlemi için vakumlu ısıtma altında kurutulmuş ve analiz edilmiştir. Bunun için kurutulmuş partiküllere analiz öncesinde 80°C' de azot gazıyla 6 saat süre ile ön ısıtma işlemi yapılmıştır. Saf Ca - Aljinat küreler ile Aljinat – Kitosan Hibrit kürelerin analizi yapılmış yapıya kitosanın girmesi ile yüzeyde gerçekleşen değişiklikler incelenmiştir. Çizelge 6.1 söz konusu partiküllerin yüzey alanı, gözenek çapı ve gözenek hacmi için BET ölçümünün bir özetini göstermektedir.

Ca – Aljinat kürelerin BET spesifik yüzey alanının değeri Aljinat – Kitosan kompozit küreninkine göre daha yüksek bulunmuştur. Kitosanın aljinatla etkileşimi sonucu meydana gelen hibrit yapıda kitosanın yapıya girmesi gözenek çapı ve toplam gözenek hacminin de küçülmesine yol açmıştır.

**Çizelge 6. 1** BET analizi sonucu elde edilen verilerin gösterimi

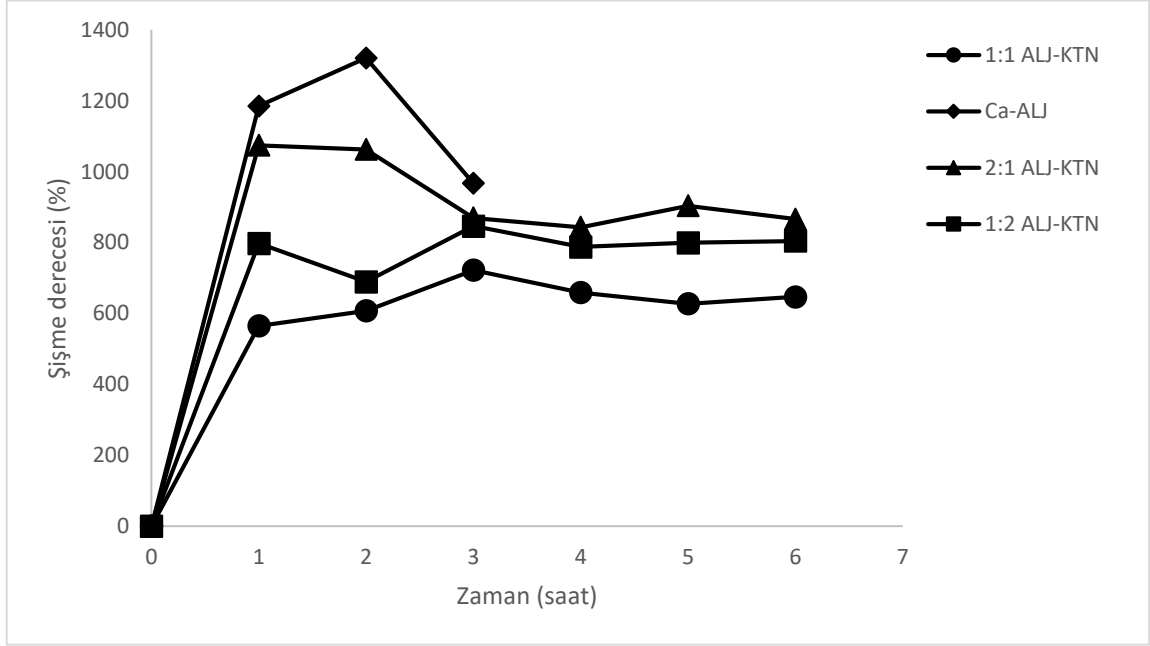
<b>Partikül</b>	<b>BET Yüzey Alanı (m<sup>2</sup>/g)</b>	<b>Gözenek Çapı (nm)</b>	<b>Toplam Gözenek Hacmi (cm<sup>3</sup>/g)</b>
Aljinat küre	51.50	0.4424	0.1252
Aljinat – Kitosan Kompozit Küre (1:2)	22.02	0.2808	0.05147

#### **6.1.4. Şişme Çalışmaları**

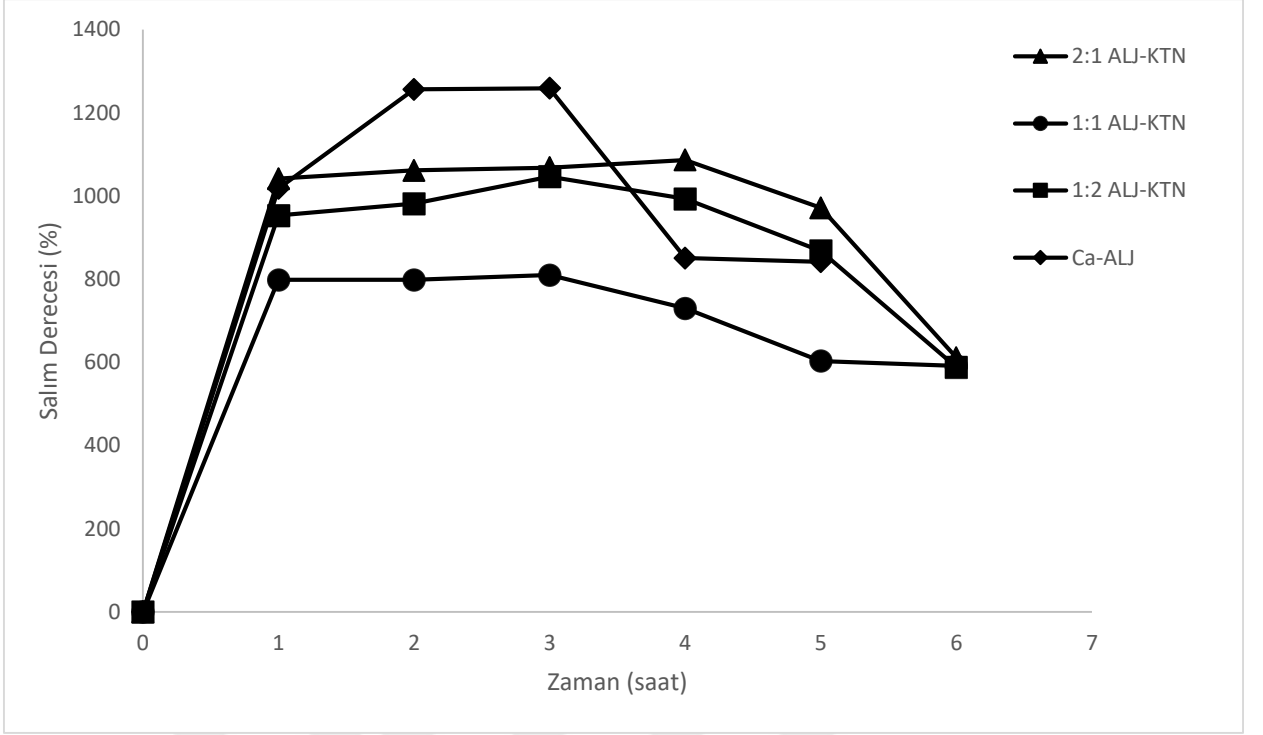
Partiküller şişme davranışları incelenmek üzere mide ortamını temsilen pH'ı 1.2 olan HCL tamponunda ilk iki saat bırakılmış, 2. saatten sonra bağırsak sistemi ortamını temsilen 6.8 pH'lı PBS tampon çözeltisinde bekletilmiş, 24 saat sonunda deney sonlandırılmıştır ve şişme dereceleri Şekil 6.26' da gösterilmektedir. Şişme oranı ilk 6 saat boyunca artış göstermiş ve 24 saatin sonunda kürelerin aşamalı olarak ayrışması, yani kompozit yapılarındaki amino grupları ve hidroksil grupları arasındaki bağlantıların ayrışması başlamıştır. Bu ayrışma Ca – Aljinat kürelerde daha hızlı gerçekleşmiş ve 3. saatin sonunda küreler erimeye başlamış ve tartım gerçekleştirilememiştir. Aljinatın mide ortamı koşullarında yani düşük pH'larda daha stabil olduğu,alkali pH'larda çözünmeye başladığı bilinmektedir ve burada da bu sonuç gözlemlenmiştir. Kompozit kürelerde ise kitosan içeriğinin artmasıyla şişme dereceleri azalmış, kürelerin yapısı güçlenmiş ve böylece bağırsak alkali pH' ında stabiliteleri artmıştır. 24 saatin sonunda şişme oranları kompozit kürelerden 2:1, 1:1, 1:2 kütle oranlarına göre sırasıyla, % 635, % 526 ve % 448 olarak hesaplanmıştır.

Asidik ortamda, kitosanın amino gruplarının % 95' i pozitif yüklü NH<sub>3</sub>(+) olarak bulunur ve aljinatın karboksil grupları negatif yüklü olarak COO(-) olarak bulunur. Saf aljinat kürelerde zincirler boyunca bu negatif yüklü karboksil (COO-) grupları itme kuvveti uygular ve ağı genişleterek polimerin yapısını gevşetir. Bu nedenle daha fazla su emebilir. Ayrıca matriks içindeki iyon konsantrasyonundaki artış, termodinamik itme kuvvetleri nedeniyle suyun yapıya yayılmasını kolaylaştırır, bu da asidik solüsyonda daha yüksek bir şişme oranına yol açar.

Şekil 6.27' de ise pH 7.4 tampon çözeltisinde ki şişme oranlarının zamana karşı değişimleri görülmektedir. Burada da kitosan ve aljinatın etkileşmesi sonucu iyonik etkileşimlerin de artmasıyla şişme oranının azalması gözlemlenmiştir. Aljinatın kitosanla iyonik etkileşimi sonucu oluşan kitosanla meydana gelen çapraz bağlar kürelerin yapısında daha katı bir ağ oluşturduğu ve içeri su alımının daha güç gerçekleşmesine neden olduğu düşünülmektedir.



**Şekil 6. 26** Ca – Aljinat kürelerin ve farklı kütle oranlarında Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin şişme dereceleri



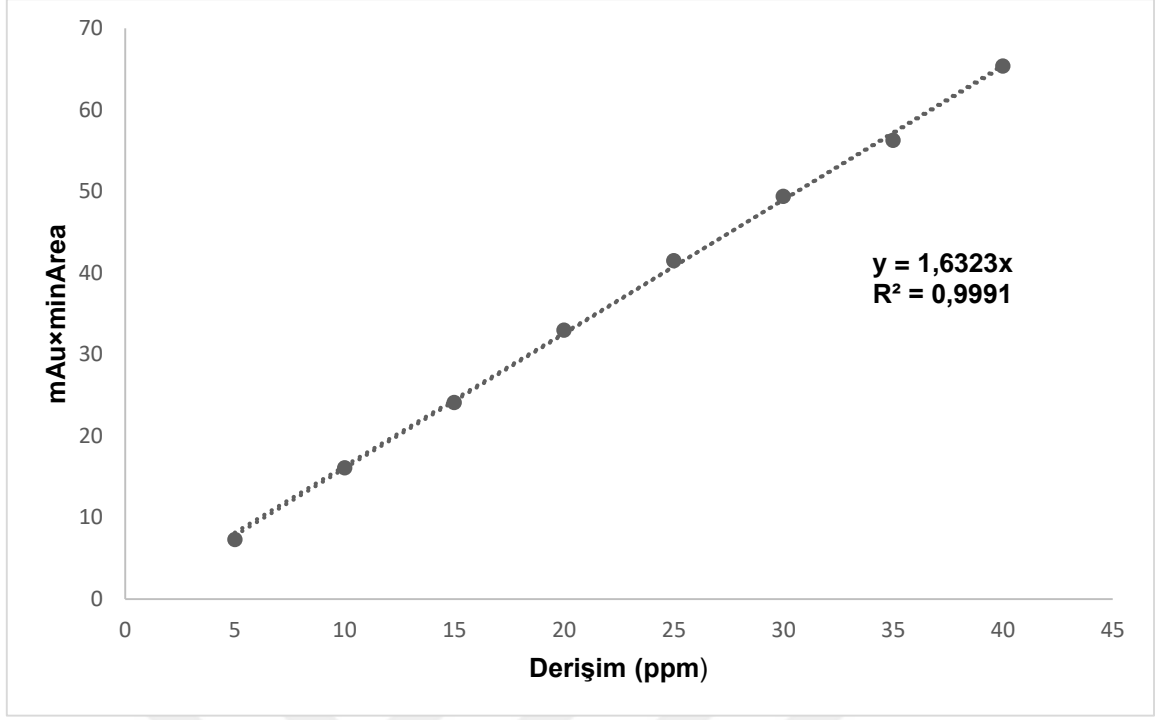
**Şekil 6. 27** Farklı kütle oranlarında Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin pH 7.4’ de göstermiş oldukları şişme davranışları

## 6.2. Resveratrol Salım Çalışmaları

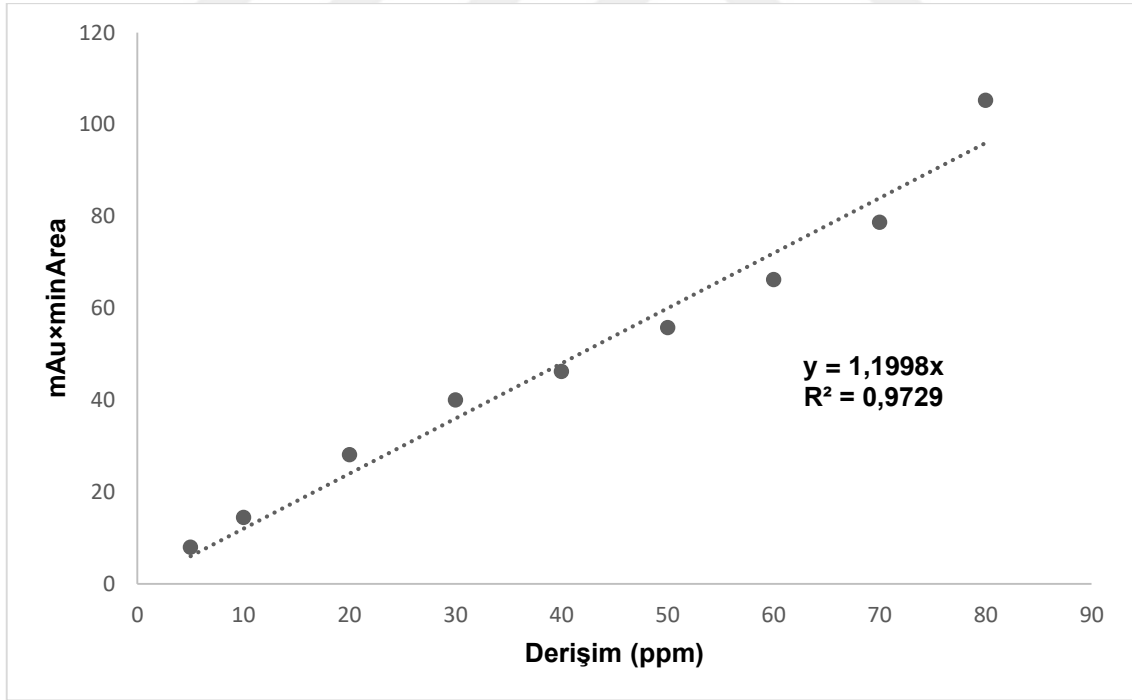
Bu tez çalışmasında Ca – Aljinat kürelere, Aljinat – Kitosan kompozit kürelere ve tek başına kitosana kanser tedavisinde gelecek vaad eden resveratrol ilacı yüklenmiş belirli zaman aralıklarında ve salımı incelenmiştir. Resveratrol salımına pH, ilaç miktarı ve aljinat – kitosan kütle oranlarının etkisi araştırılmıştır. Ayrıca her bir hazırlanan partikül için enkapsülasyon verimlilikleri hesaplanmıştır.

### 6.2.1. Resveratrol Kalibrasyon Eğrilerinin Çıkarılması

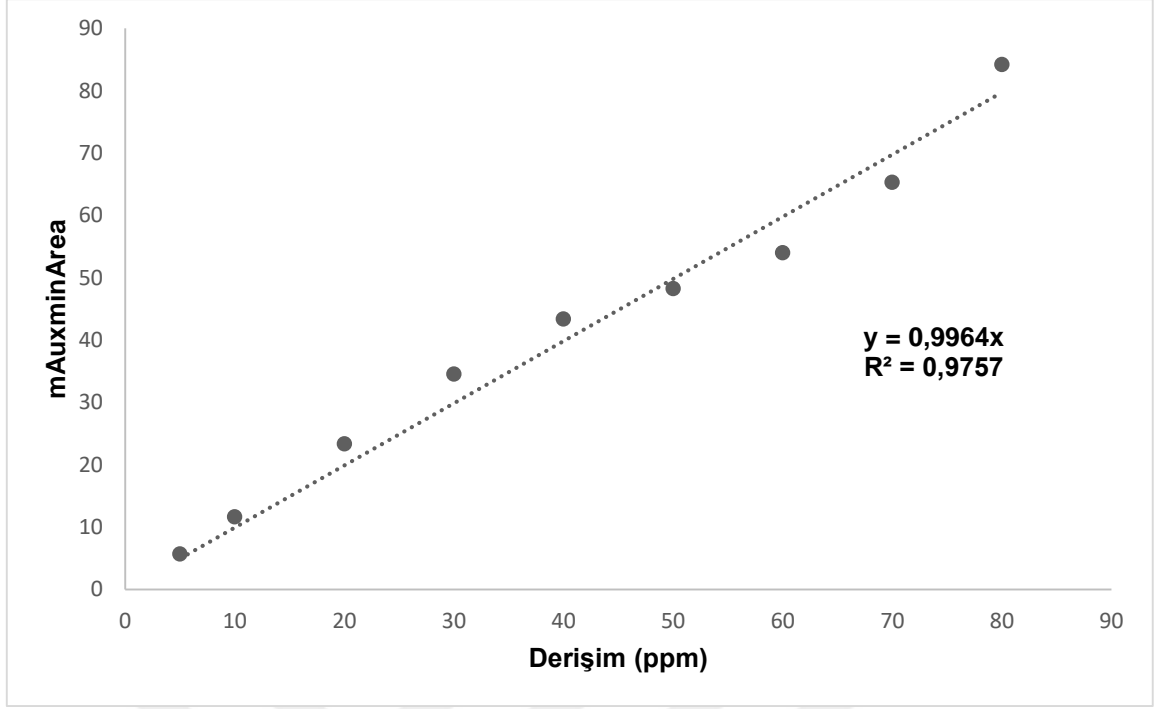
Öncelikle, salım çalışmalarında resveratrolün tayini için gerekli kalibrasyon eğrileri UV dedektörlü Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000 HPLC kullanılarak 306 nm’ de ilacın bilinen farklı derişimleri ölçülerek elde edilmiştir. Bunun için ilacın çözücü ortamı olan etanolde, mide ortamını temsilen 0.1 M HCL tamponunda ve 0.1 M PBS tamponunda ilacın bilinen farklı derişimlerdeki kalibrasyon eğrileri çıkarılmıştır, aşağıda Şekil 6.28, Şekil 6.29 ve Şekil 6.30’ da grafikler verilmiştir.



Şekil 6. 28 Etanol çözeltisi ortamında Resveratrolün kalibrasyon grafiği



Şekil 6. 29 0.1 M HCL tamponunda Resveratrolün kalibrasyon grafiği



**Şekil 6. 30** 0.1 M PBS tamponunda Resveratrolün kalibrasyon grafiği

### 6.2.2. Enkapsülasyon Verimliliklerinin ve Yükleme Kapasitelerinin Hesaplanması

Resveratrol terapötik etkilerine rağmen, suda düşük çözünürlük ve düşük biyoyumluluğu ile klinik uygulamalarda sınırlıdır. Tez çalışmasında kapsülleme ile resveratrolün suda disperse hale getirilebilirliğinin artırılması, kimyasal kararlılığının artırılması, oral yolla alındığında biyoyararlanımının artırılması, pH değişimlerine, UV ışık etkisine karşı kararlılığının artırılması amaçlanmıştır.

Bu amaç doğrultusunda her bir partikül için kapsülleme verimliliğini ölçmek ve yükleme kapasitelerini belirlemek için, partiküller ilacın çözücüsü olan etanol içerisine atılmış ve karıştırılmıştır. Çözeltiden alınan süpernatant, 6000 rpm' de 10 dakika santrifüjlenmiş ve 306 nm' de HPLC ile analiz edilmiş ve böylece çözeltideki serbest resveratrol miktarı bulunmuştur.

Pariküllerin “Enkapsülasyon verimliliği (EE)” aşığıdaki denklemlle hesaplanmıştır:

$$\text{Enkapsülasyon verimliliği (EE)\%} = \frac{\text{Başlangıçtaki RSV miktarı} - \text{Serbest RSV}}{\text{Başlangıçtaki RSV miktarı}} \times 100$$

[38, 41]

Partiküllerin “Yükleme Kapasitesi” aşağıdaki denklemlerle hesaplanmıştır:

$$\text{Yükleme Kapasitesi \%} = \frac{\text{Başlangıçtaki RSV miktarı} - \text{Serbest RSV}}{\text{Toplam partikül miktarı}} \times 100$$

Aşağıda, ilaç yüklemesi yapılan Ca –Aljinat kürelerin, Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı kütle oranlarının ve tek başına kitosan nanopartiküllerinin enkapsülasyon verimlilikleri Çizelge 6.2’ de verilmiştir.

**Çizelge 6. 2** Enkapsülasyon Verimlilikleri

<b>Partikül</b>	<b>EE (%)</b>	<b>Yükleme Kapasitesi (%)</b>
Ca –Aljinat Küre	% 69	3.22
Aljinat – Kitosan Hibrit Küre 2:1	% 53.3	2.41
Aljinat – Kitosan Hibrit Küre 1:1	% 96	2.86
Aljinat – Kitosan Hibrit Küre 1:2	% 74	1.24
Kitosan Nanopartikülü	% 63	31.5

Ayrıca salım profillerine göre optimum olarak seçilen 1:2 kütle oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelere yüklenen resveratrol miktarı azaltılıp ve artırılarak da salım deneyleri gerçekleştirilmiş ve enkapsülasyon verimlilikleri ile yükleme kapasiteleri hesaplanmıştır. Aşağıda Çizelge 6.3’ de gösterilmektedir.



**Çizelge 6. 3** Farklı miktarlarda ilaç yüklü 1:2 kütle oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin enkapsülasyon verimlilikleri ve yükleme kapasiteleri

Yüklenen ilaç miktarı	EE (%)	Yükleme Kapasitesi (%)
100 mg	% 72	3.20
70 mg	% 74	1.24
35 mg	% 84.2	1.23

### 6.2.3. Ca – Aljinat Kürelerden Resveratrol Salımının İncelenmesi

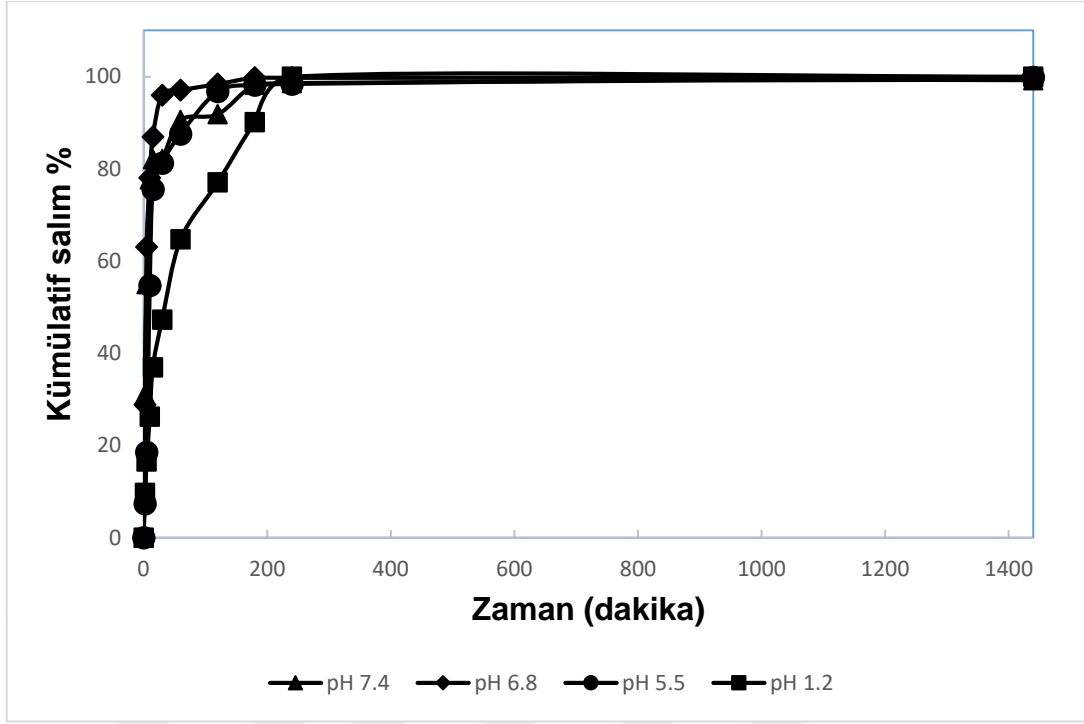
Liyofilizatörde kurutulmuş kürelerden 100 mL çözelti hacminde, 37°C vücut sıcaklığında farklı pH' larda (1.2 HCL, 5.5 PBS, 6.8 PBS ve 7.4 PBS) resveratrol salımı incelenmiştir. Bunun için Ca – Aljinat küreler 100 mg hassas terazide tartılmış ve 100 mL tampon çözeltiye atılmıştır ve belirli zaman aralıklarında (t= 2, 5, 10, 15, 30, 60, 120, 180, 240, 1440 ve 2880. dakikalar) alınan örnekler santrifüjlendikten sonra 306 nm' de HPLC ile yapılan ölçümler ile ilaçmiktarı tayin edilmiş ve alınan veriler grafiğe geçirilmiştir.

Resveratrolün kümülatif salımı, aşağıdaki denklemden türetilen standart bir eğriden hesaplanmıştır:

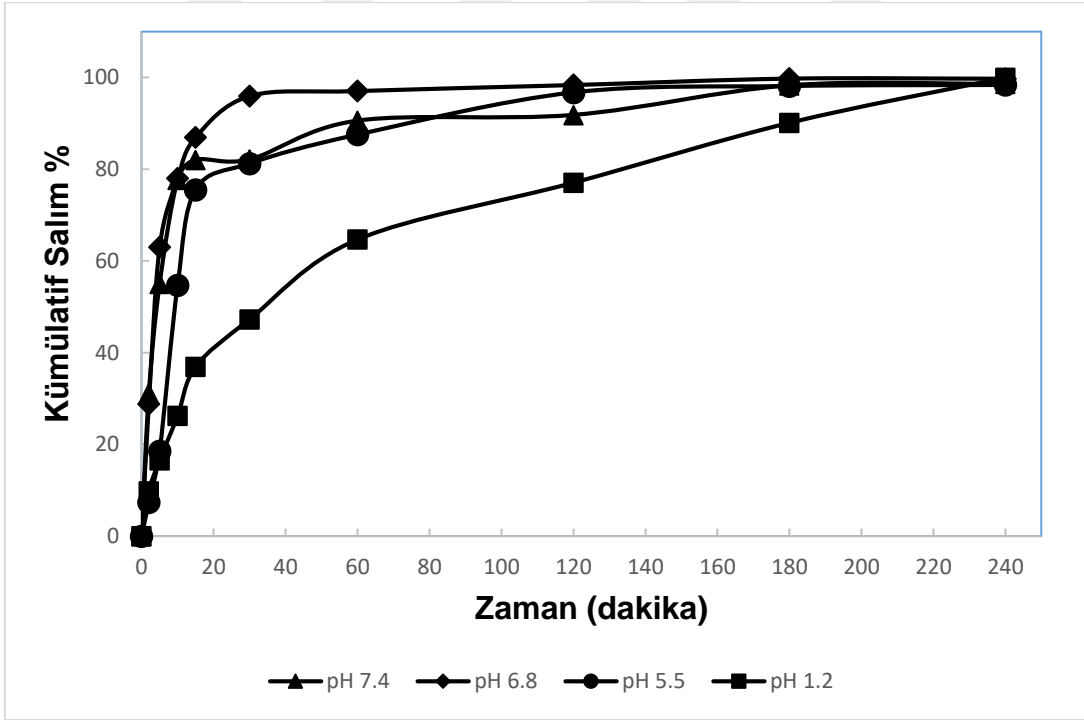
$$Kümülatif\ Salım\ \% = \frac{Salınan\ RSV\ miktarı}{Toplam\ RSV\ miktarı} \times 100 \quad [41]$$

Buradaki eşitlikte belirtilen “toplam resveratrol miktarı” enkapsülasyon verilerine göre 100 mg partikül içerisinde bulunan toplam resveratrol miktarıdır.

70 mg RSV yüklemesi yapılan Ca – Aljinat kürelerin farklı pH' lardaki salım profilleri her bir farklı pH ortamında 48 saat boyunca incelenmiştir ve salım profilleri Şekil 6.31 ve Şekil 6.32' de gösterilmektedir.



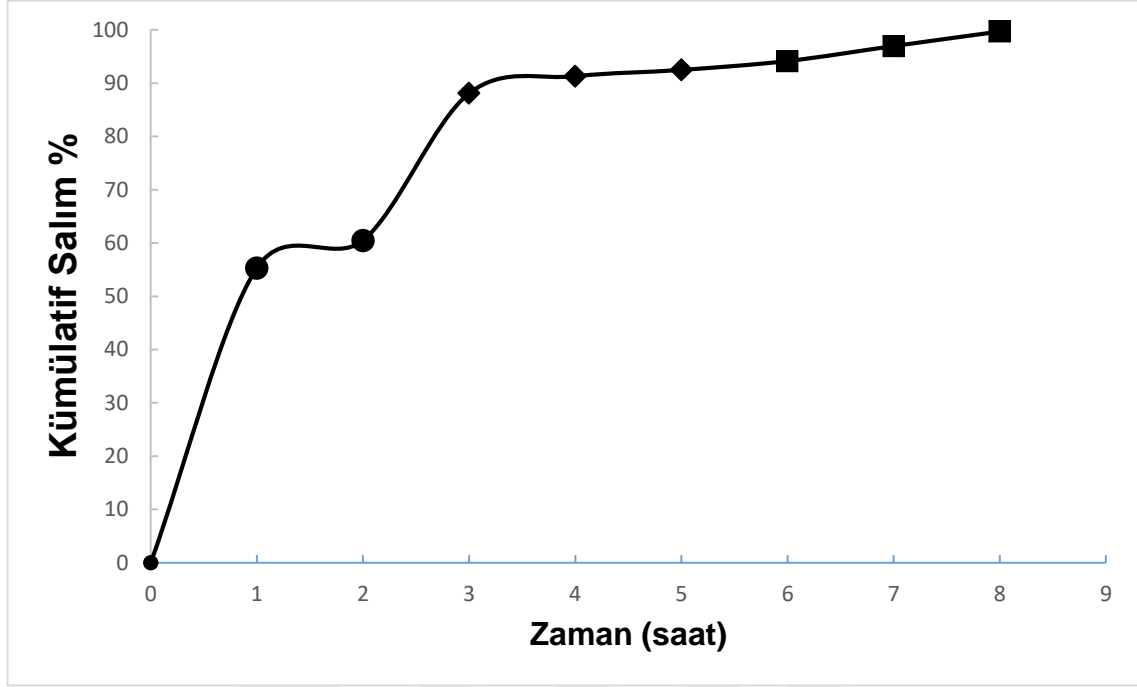
**Şekil 6.31** Ca – Aljinat kürelerden farklı pH' lardaki zamana karşı *in-vitro* resveratrol salım profilleri



**Şekil 6.32** Ca – Aljinat kürelerden farklı pH' lardaki zamana karşı *in-vitro* resveratrol salım profilleri; ilk 4 saat

Ayrıca partiküller ilk olarak 2 saat mide sıvısına karşılık gelen pH 1.2 ye atılmış (1. ve 2. saat) daha sonra farklı tamponlara transferi sağlanmıştır. Bağırsak sistemi pH'

ları olan 6.8' de 3 saat (3. – 4. ve 5. saat) ve en son 7.4' de de 3 saat tutularak (6. – 7. ve 8. saat) salım profilleri çıkarılmıştır. Şekil 6. 33' de gösterilmektedir.



**Şekil 6. 33** Ca – Aljinat kürelerin farklı tamponlardaki zamana karşı resveratrol salım profili

(●: pH=1.2, ◆: pH=6.8 ve ■ :pH=7.4)

Genel olarak tüm tamponlarda hızla gerçekleşen aljinat kürelerden gözlenen kümülatif salımda, pH 6.8 tamponunda 30. dakikada ilacın % 95' inin salımının tamamlanmış olması göze çarpmaktadır. Ca – Aljinat kürelerin ilk 3 saat içerisinde 7.4, 5.5 ve 6.8 pH değerlerinde daha hızlı gerçekleşen salımı %98 değerlerinde iken pH 1.2' de biraz daha yavaş olarak 4. saatinde bu değere ulaşmıştır.

Şekil 6.33' de ise farklı tamponlara partiküllerin transferiyle elde edilen grafikte 2. saatten sonra salım ortamının pH' ının değişimi ile bir patlama etkisi yaşanmıştır. Bu Ca – Aljinat kürelerin asidik ortamda daha kararlı olmalarından ve aljinatın yüksek pH değerlerinde çözünmesinden kaynaklanmaktadır.

#### **6.2.4. Aljinat - Kitosan Hibrit Kürelerden Resveratrol Salımının İncelenmesi**

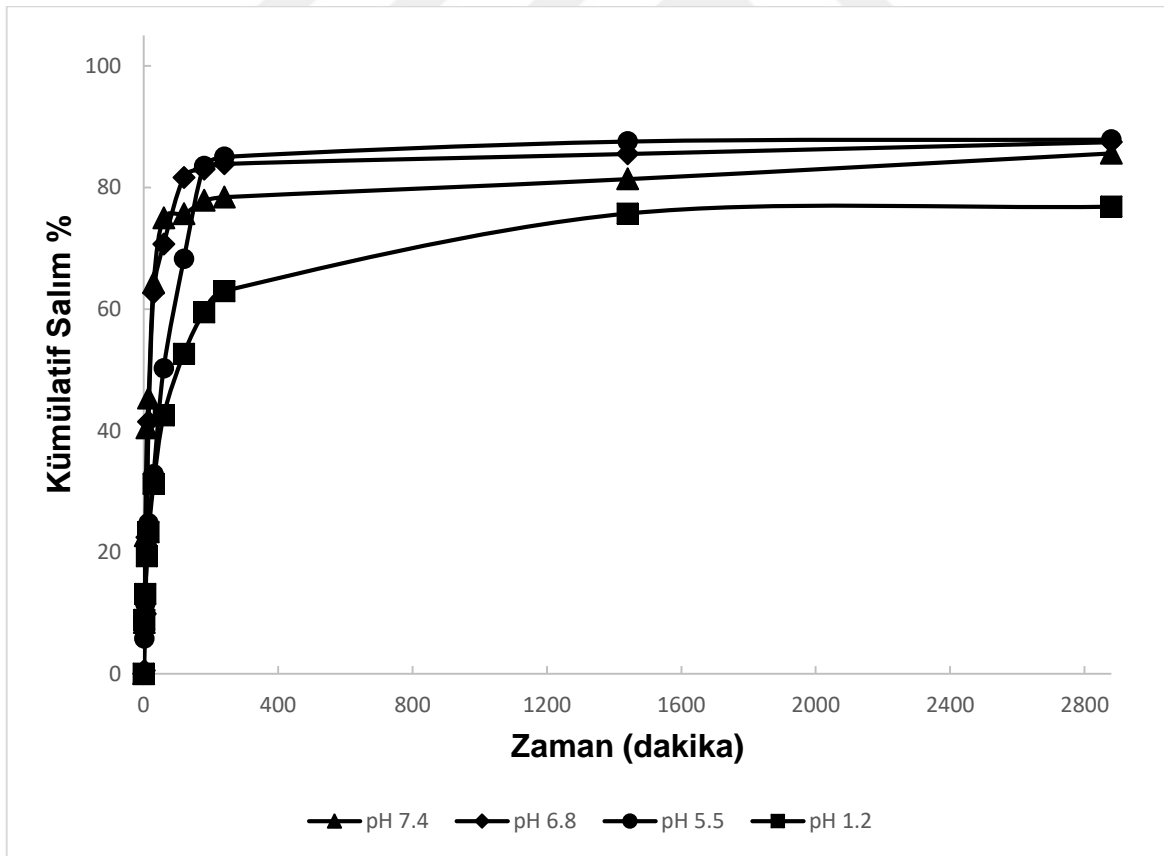
Farklı kütle oranlarındaki Aljinat – Kitosan kompozit kürelerin 100 mL çözelti hacminde, 37°C vücut sıcaklığında farklı pH' larda (1.2 HCL, 5.5 PBS, 6.8 PBS ve 7.4 PBS) resveratrol salımı incelenmiştir. Bunun için küreler 100 mg hassas terazide

tartılmış ve 100 mL tampon çözeltiye atılmıştır ve belirli zaman aralıklarında (t= 2, 5, 10, 15, 30, 60, 120, 180, 240, 1440 ve 2880. dakikalar) alınan örnekler santrifüjlendikten sonra 306 nm' de HPLC ile yapılan ölçümler ile ilaç miktarı tayin edilmiş ve alınan veriler grafiğe geçirilmiştir.

70 mg RSV yüklemesi yapılan farklı kütle oranlarındaki Aljinat – Kitosan kompozit kürelerin (2:1, 1:1 ve 1:2) farklı pH' lardaki salım profilleri her bir farklı pH ortamında 48 saat boyunca incelenmiştir.

Ayrıca her bir farklı kütle oranındaki kompozit küreler ilk olarak 2 saat mide sıvısına karşılık gelen pH 1.2 ye atılmış (1. ve 2. saat) daha sonra farklı tamponlara transferi sağlanmıştır. Bağırsak sistemi pH' ları olan 6.8' de 3 saat (3. – 4. ve 5. saat) ve en son 7.4' de de 3 saat tutularak (6. – 7. ve 8. saat) salım profilleri çıkarılmıştır.

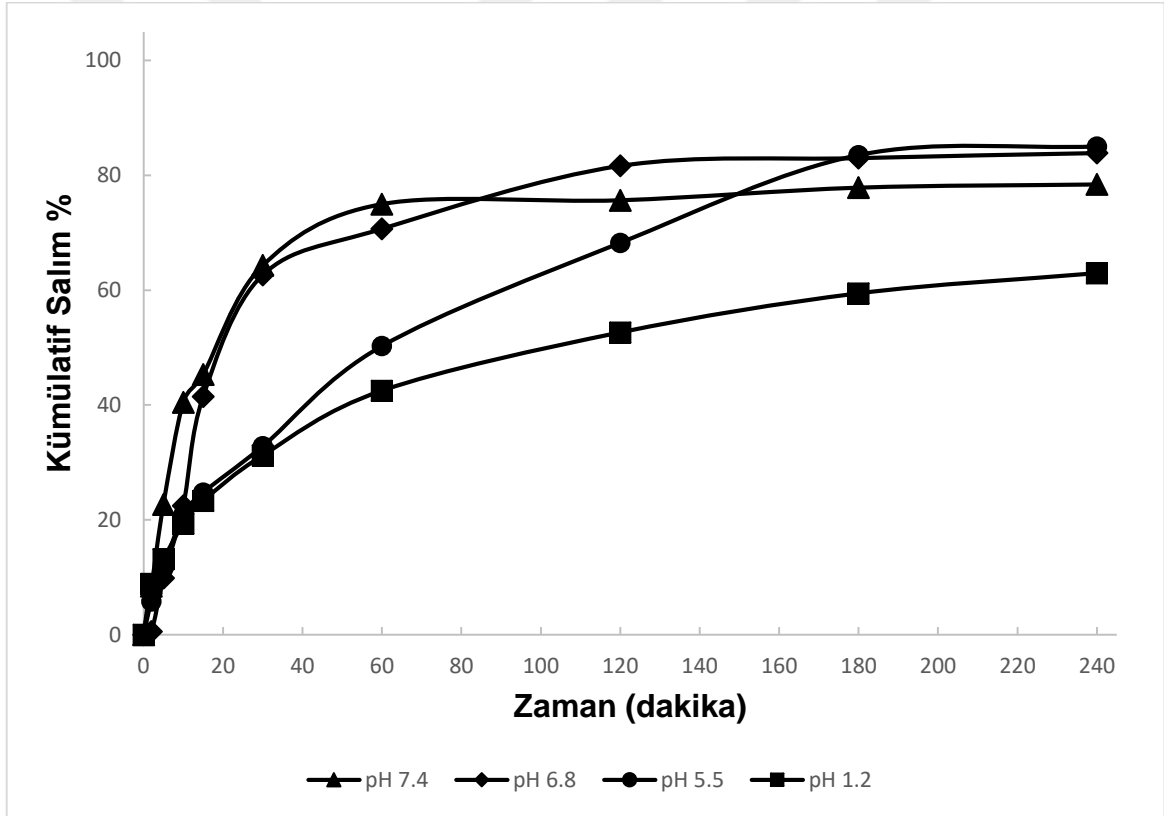
#### ❖ 2:1 Oranındaki Aljinat – Kitosan Kompozit Kürelerin Salım Profilleri



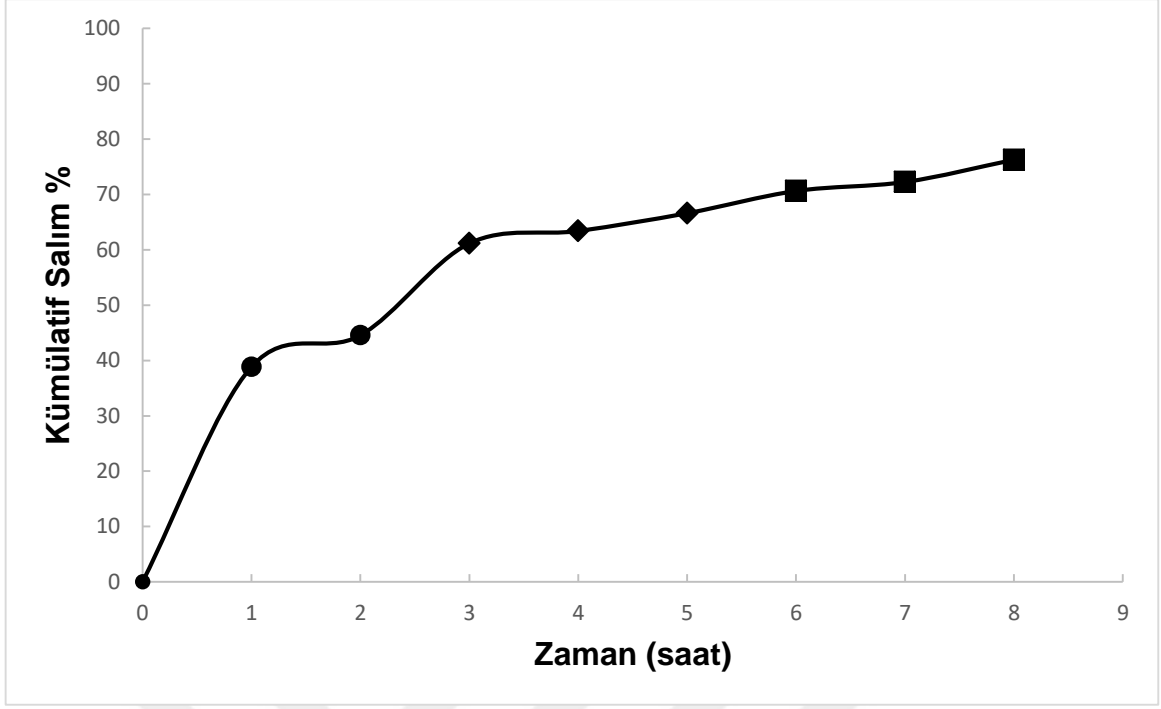
**Şekil 6. 34** 2:1 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı pH' lardaki zamana karşı *in-vitro* resveratrol salım profilleri

2:1 kütle oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin salım davranışları Şekil 6.34, Şekil 6.35 ve Şekil 6.36' da verilmiştir. pH' ı 5.5 ve 6.8 olan tampon çözeltisinde diğer ortamlara göre en yüksek salım verimi gözlenirken mide ortamını temsil eden pH 1.2' de ise % 76' lık bir değer ile en düşük verim elde edilmiştir. Saf Ca – aljinat kürelere kıyasla yapıya kitosanın girmesiyle kontrol altına alınan daha yavaş bir salım profili gözlemlenmiştir.

Ayrıca Şekil 6.36' da farklı tamponlara transferi ile resveratrol salımının incelendiği grafikte mide ortamını temsil eden 1.2 pH değerinde 2 saatin sonunda % 44' lük salım verimi gözlemlenirken, bağırsak sistemi ortamını temsil eden 6.8 ve 7.4 pH değerlerinde ise % 32' lik salım gerçekleşmiştir. 8 saatin sonunda partikül ilacın % 76' sını salmıştır.



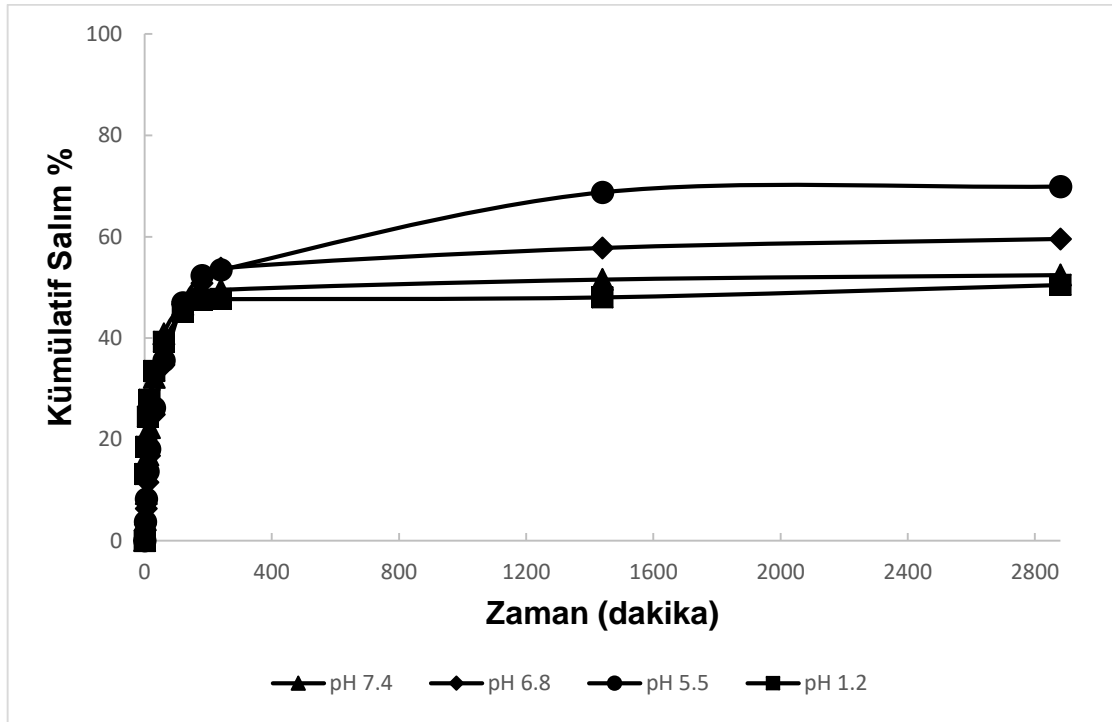
**Şekil 6. 35** 2:1 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı pH' lardaki zamana karşı *in-vitro* resveratrol salım profilleri; ilk 4 saat



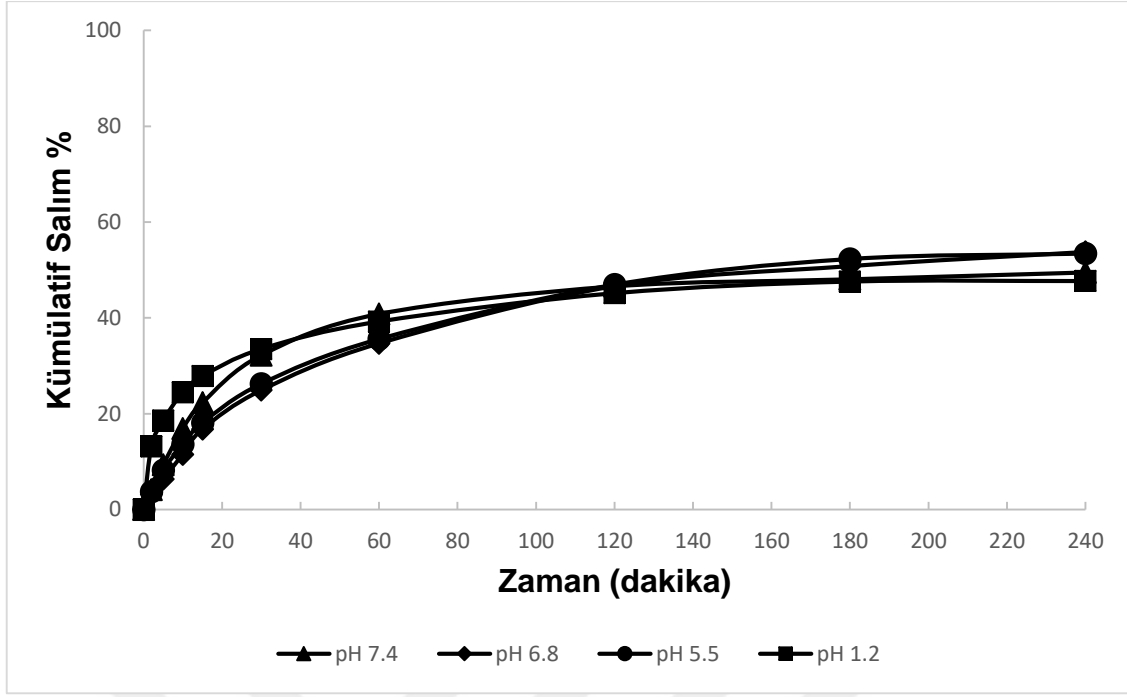
**Şekil 6. 36** 2:1 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı tamponlardaki zamana karşı resveratrol salım profili

(●: pH=1.2, ◆: pH=6.8 ve ■ :pH=7.4)

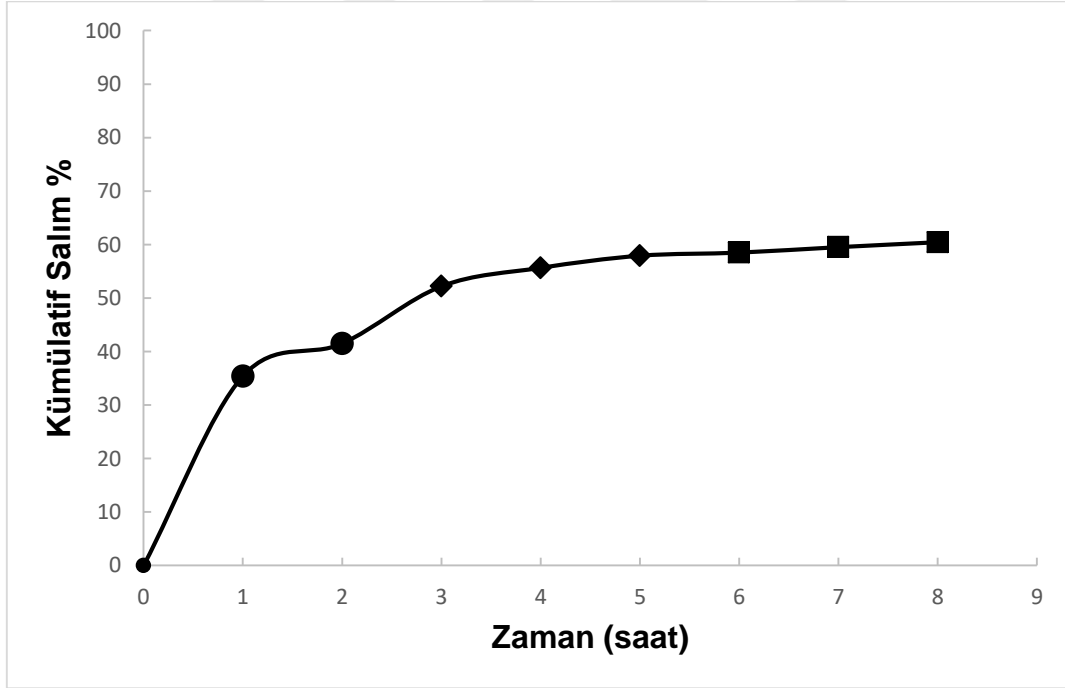
#### 1:1 Oranındaki Aljinat – Kitosan Kompozit Kürelerin Salım Profilleri



**Şekil 6. 37** 1:1 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı pH' lardaki zamana karşı *in-vitro* resveratrol salım profilleri



**Şekil 6. 38** 1:1 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı pH' lardaki zamana karşı *in-vitro* resveratrol salım profilleri; ilk 4 saat



**Şekil 6. 39** 1:1 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı tamponlardaki zamana karşı resveratrol salım profili

(●: pH=1.2, ◆: pH=6.8 ve ■ :pH=7.4)

Enkapsülasyon verimi %96 olan 1:1 kütle oranına sahip bu kompozit küreler en yüksek kapsülleme özelliği göstermesine rağmen salım verimi düşüktür. Şekil 6.37 ve Şekil 6.38' de görüldüğü üzere pH' ı 5.5 olan tampon çözeltisinde en yüksek salım verimi gözlenirken mide ortamını temsil eden pH 1.2' de ise en düşük verim elde edilmiştir. Buradaki ilaç salım veriminin düşük olması 1:1 kütle oranına sahip bu partiküllerin şişme dereceleri ile doğru orantılıdır. Aljinat ve kitosanın aynı orandaki etkileşimi sonucu oluşan 3 boyutlu çapraz bağlar içerisine ilaç fiziksel olarak daha çok hapsolmuş ancak şişme oranının da azlığı ile ilaç ortama salınamamıştır.

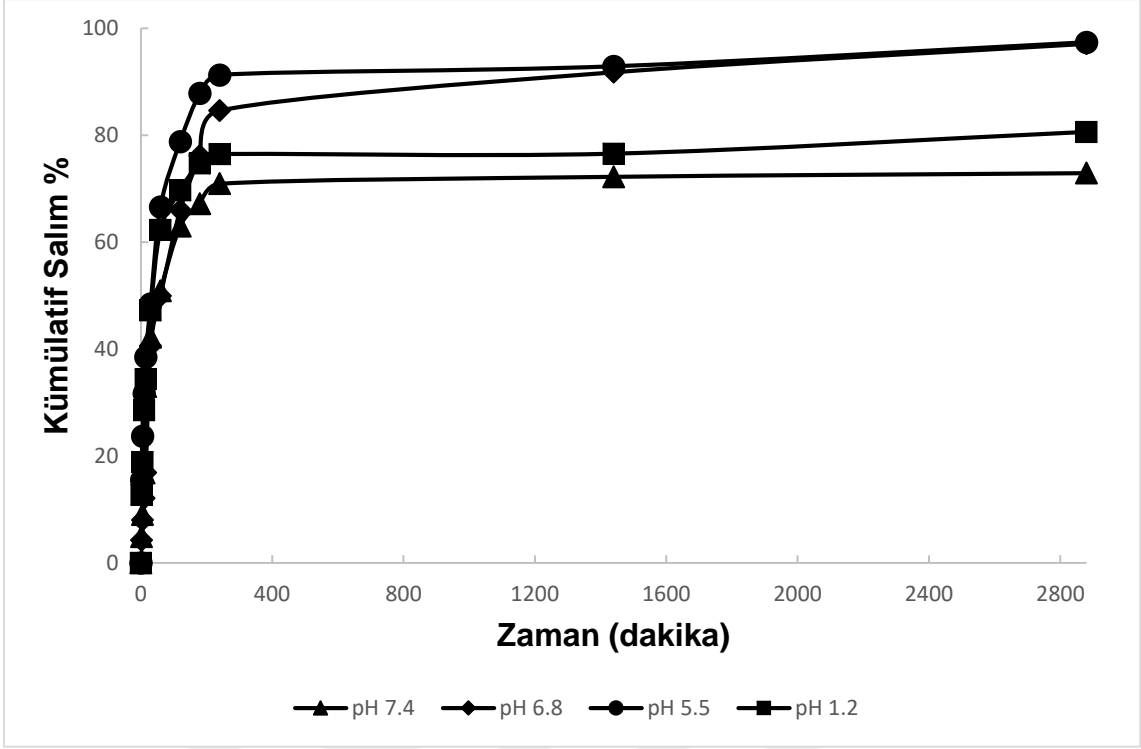
Ayrıca Şekil 6.39' da farklı tamponlara transferi ile resveratrol salımının incelendiği grafikte 8 saatin sonunda partikül ilacın % 60' ını salmıştır. Alkali pH'da daha çok su çekerek şişen kürelerin bu ortamdaki ilaç salımı mide ortamı pH' ına göre yükselmiştir.

#### ❖ 1:2 Oranındaki Aljinat – Kitosan Kompozit Kürelerin Salım Profilleri

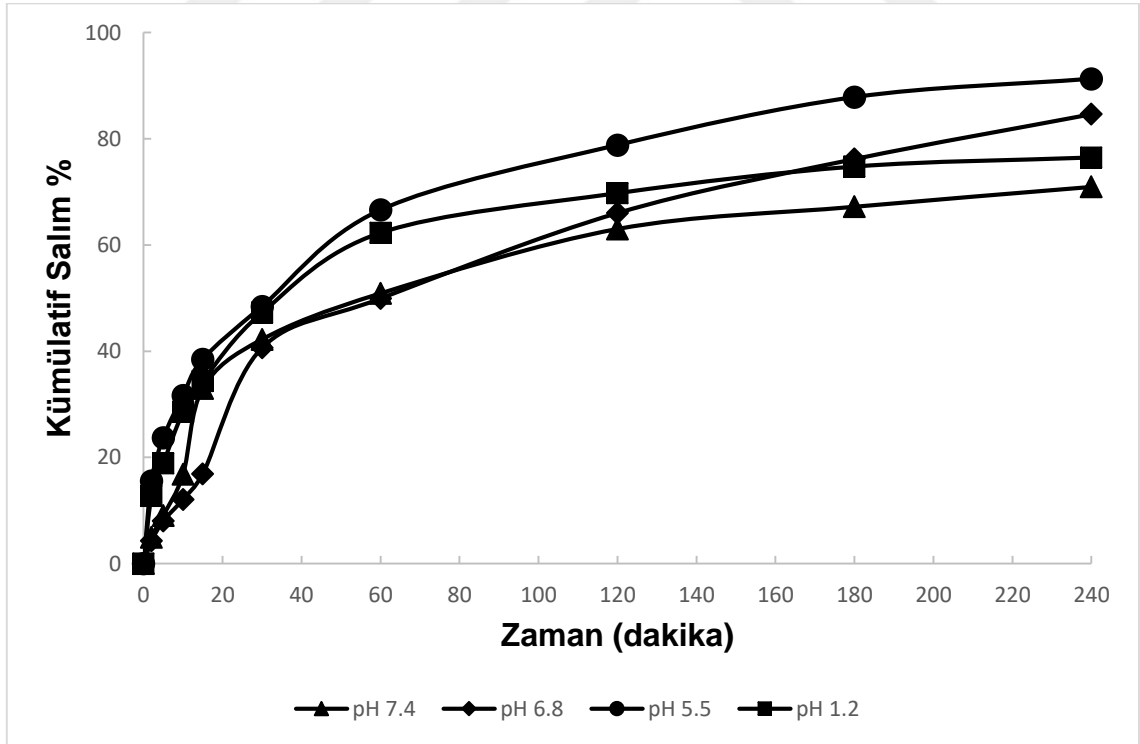
1:2 kütle oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin salım davranışları Şekil 6.40, Şekil 6.41 ve Şekil 6.42' de verilmiştir. pH' ı 5.5 ve 6.8 olan tampon çözeltisinde en yüksek salım verimi gözlenirken kalın bağırsak ortamını temsil eden pH 7.4' de ve mide pH' ında ise en düşük verim elde edilmiştir.

Ayrıca Şekil 6. 42' de farklı tamponlara transferi ile resveratrol salımının incelendiği grafikte mide ortamını temsil eden 1.2 pH değerinde 2 saatin sonunda % 64' lük salım verimi gözlemlenirken, bağırsak sistemi ortamını temsil eden 6.8 ve 7.4 pH değerlerinde ise % 23' lük salım gerçekleşmiştir. 8 saatin sonunda partikül ilacın % 87' sini salmıştır. En yüksek salım verimi bu partikülde gözlemlenmiştir.

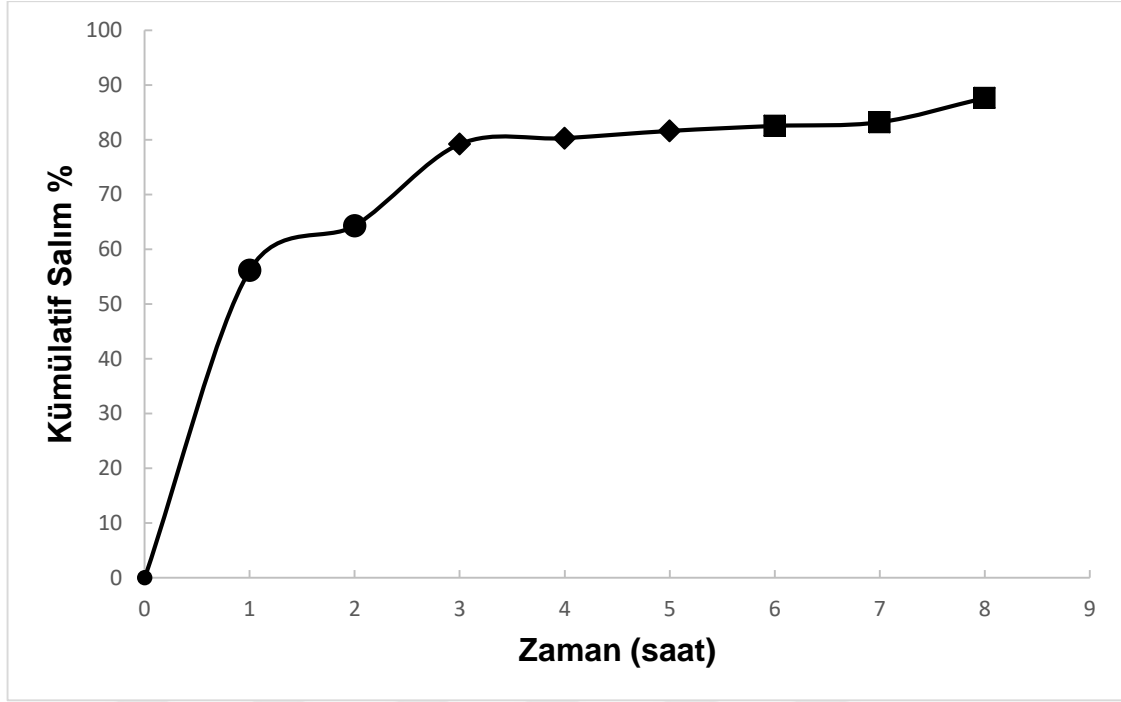




Şekil 6. 40 1:2 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı pH' lardaki zamana karşı *in-vitro* resveratrol salım profilleri



Şekil 6. 41 1:2 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı pH' lardaki zamana karşı *in-vitro* resveratrol salım profilleri; ilk 4 saat



**Şekil 6. 42** 1:2 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı tamponlardaki zamana karşı resveratrol salım profili

(●: pH=1.2, ◆: pH=6.8 ve ■ :pH=7.4)

Aljinat – Kitosan hibrit kürelerde kitosan oranının kütlece artırılması resveratrol salımı veriminin de artmasına neden olmuştur. 1:1 oranındaki küreler ilacı daha çok yüklemesine rağmen farklı tampon çözeltilerinde yapılan salım deneylerinin sonuçlarına göre tutukladığı ilacı ortama verememektedir. Enkapsülleme önemli bir parametredir ancak ilacın kapsüllemesi kadar ortama salımı da büyük önem taşır. 2:1 oranındaki kürelerin ise 1:2 oranındaki kürelere göre enkapsülasyonu daha düşüktür. Salım verimliliği de daha düşük gözlemlenmiştir. Bu nedenle 1:2 oranındaki Aljinat – Kitosan küreler seçilmiş, ve ilaç miktarının salıma etkisi bu partiküllerde çalışılmıştır.

#### 6.2.5. Yüklenen Resveratrol Miktarının Değiştirilmesi ve Salıma Etkisi

Enkapsülasyon ve kümülatif salım verilerine göre 1:2 kütle oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit küreler diğer partiküllere göre daha düzgün bir salım profili göstermiş ve bu kompozit küreler optimum partiküller olarak seçilmiştir. Buna göre her partiküle sabit olarak yüklenen 70 mg ilaç miktarı bu kürelerde değiştirilerek enkapsülasyonu hesaplanmış ve kümülatif salım davranışına ilaç miktarının etkisi

incelenmiştir. Bu amaçla 1:2 kütle oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelere ilaç miktarı azaltılarak 35 mg ve ilaç miktarı artırılarak 100 mg resveratrol yüklemesi yapılmıştır.

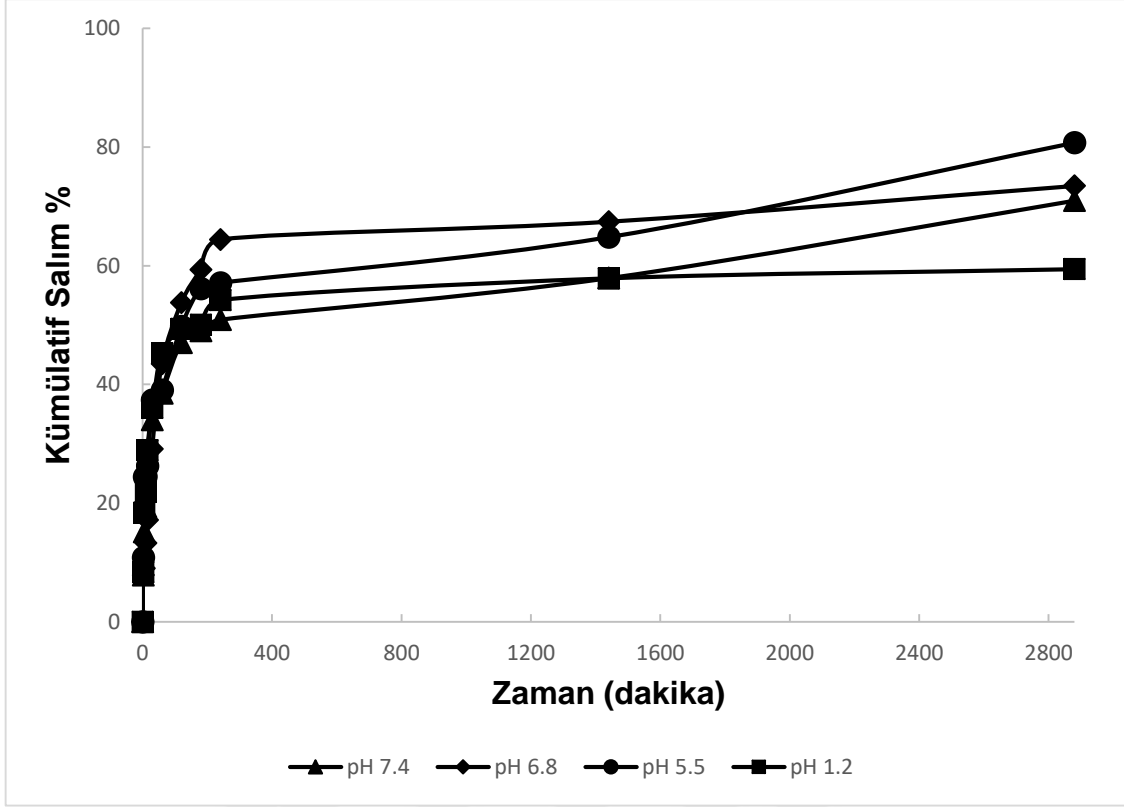
#### ❖ 1:2 Kütle Oranındaki Aljinat – Kitosan Hibrit Kürelere İlaç Miktarının Azaltılması

1:2 kütle oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelere ilaç miktarı azaltılarak 35 mg ilaç yüklemesi yapılmış, bu kürelerin enkapsülasyon verimliliği ve yükleme kapasiteleri hesaplanmıştır. 35 mg RSV yüklemesi yapılan kompozit kürelerin farklı pH' lardaki salım profilleri her bir farklı pH ortamında 48 saat boyunca incelenmiştir.

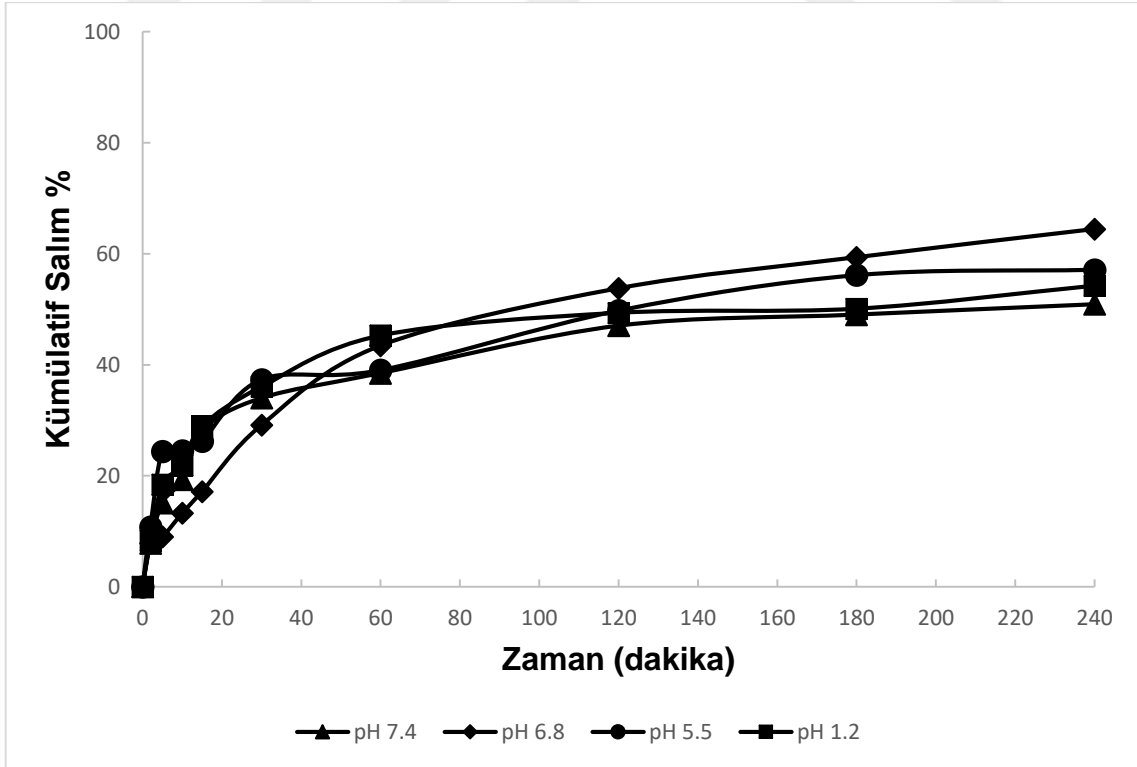
Ayrıca 35 mg RSV yüklü bu küreler, ilk olarak 2 saat mide sıvısına karşılık gelen pH 1.2 ye atılmış (1. ve 2. saat) daha sonra farklı tamponlara transferi sağlanmıştır. Bağırsak sistemi pH' ları olan 6.8' de 3 saat (3. – 4. ve 5. saat) ve en son 7.4' de de 3 saat tutularak (6. – 7. ve 8. saat) salım profilleri çıkarılmıştır.

35 mg RSV yüklemesi yapılan 1:2 kütle oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin salım davranışları Şekil 6.43, Şekil 6.44 ve Şekil 6.45' de verilmiştir.

İlaç miktarının 35 mg' a düşürülmesi sonucu 1:2 kütle oranındaki Aljinat – Kitosan kompozit kürelerin enkapsülasyon verimi % 84.2 olarak hesaplanmıştır. Bununla birlikte yükleme kapasitesi de % 1.23 değerinde bulunmuştur.



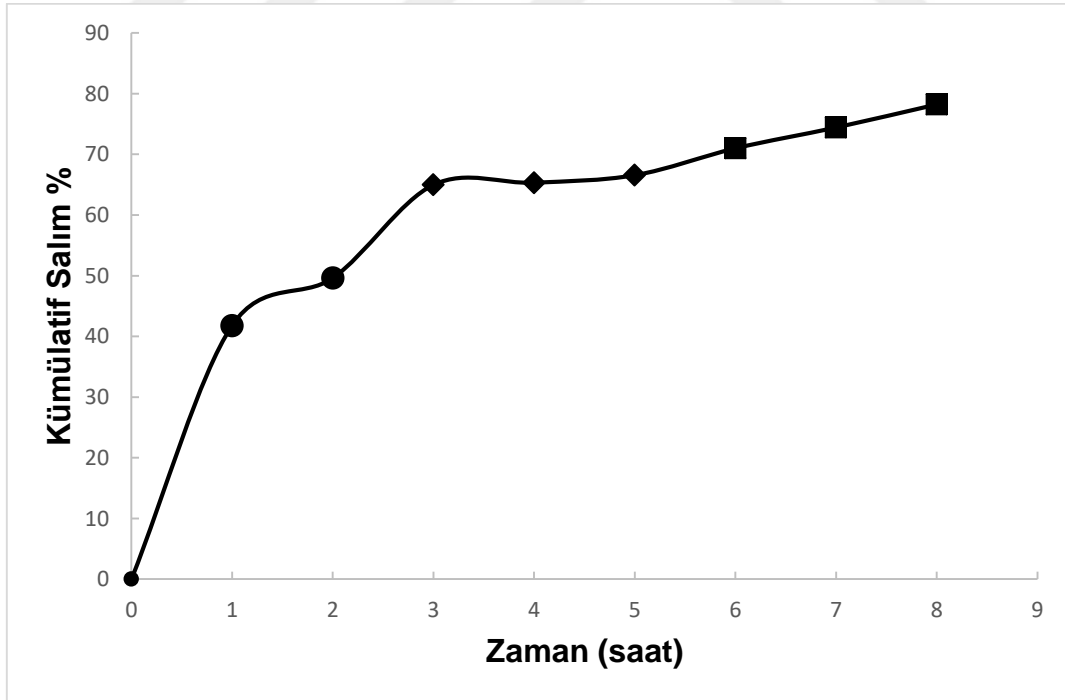
Şekil 6. 43 35 mg RSV yüklü 1:2 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı pH' lardaki zamana karşı *in-vitro* resveratrol salım profilleri



Şekil 6. 44 35 mg RSV yüklü 1:2 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı pH' lardaki zamana karşı *in-vitro* resveratrol salım profilleri; ilk 4 saat

İlaç miktarının düşük olduğu bu kürelerin salım grafikleri incelendiğinde 48. Saatin sonunda en yüksek salım verimi pH' ı 5.5 olan tampon çözeltisinde % 80.75 olarak bulunmuş bunu pH değeri 6.8 olan tampon çözeltisi %73.46 ile takip etmiştir. En düşük verim mide ortamını temsil eden 1.2 pH değerine sahip HCL tampon çözeltisinde % 59.43 olarak hesaplanmıştır. pH değeri 7.4 olan tampon çözeltisindeki elde edilen salım verimi ise % 70.98' dir. İlk 4 saatlik veriler değerlendirildiğinde ise pH 6.8 seviyesinde salımda düzenli olarak bir artış söz konusudur. Ancak 48. saatin sonunda 5.5 pH seviyesindeki tamponda gerçekleşen salım 6.8 pH çözeltisindeki salımdan daha iyi bir seviyeye çıkarak verim yükselmiştir.

Şekil 6.45 incelendiğinde ise mide ortamında 2 saat süre ile salım başlatılmış ve 2. Saatin sonunda mide ortamından kürelerin pH seviyesi 6.8 olan tampon çözeltisine aktarılmasıyla ilacın ortama salımı da farkedilecek seviyede artmıştır. Kompozit kürelerde aljinatın asidik mide ortamında kitosan ve ilacın stabilitesini koruduğu düşünülmektedir.



**Şekil 6. 45** 35 mg RSV yüklü 1:2 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı tamponlardaki zamana karşı resveratrol salım profili

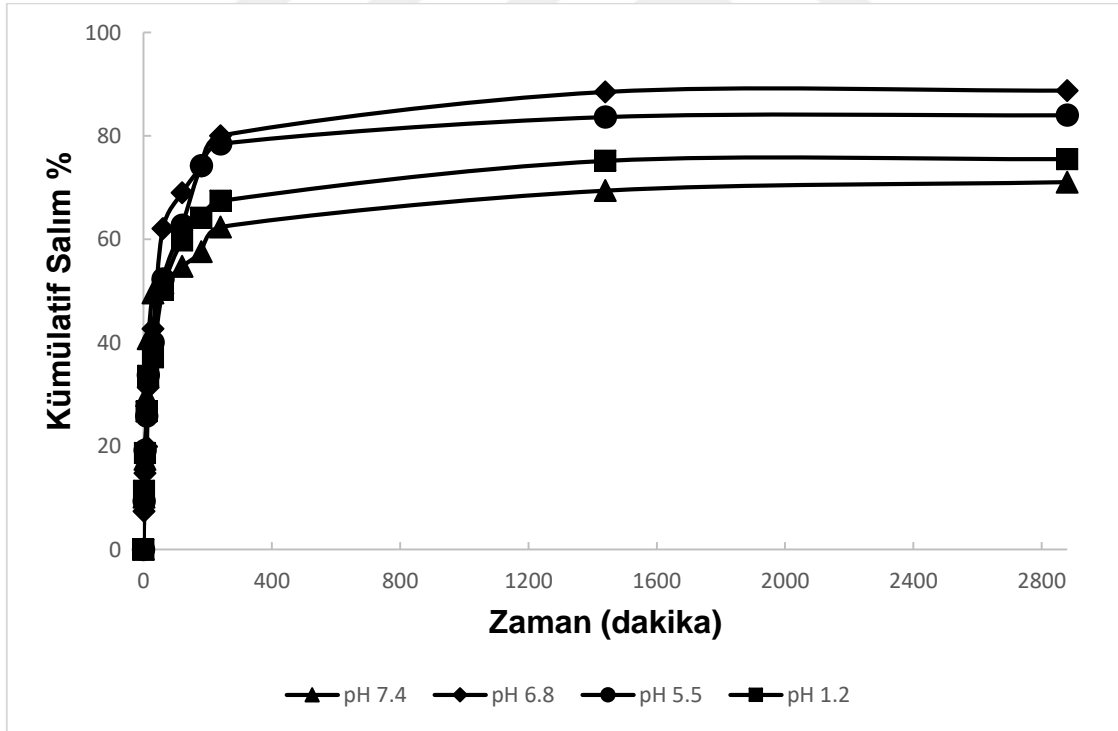
(●: pH=1.2, ◆: pH=6.8 ve ■ :pH=7.4)

### ❖ 1:2 Kütle Oranındaki Aljinat – Kitosan Hibrit Kürelere İlaç Miktarının Arttırılması

1:2 kütle oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelere ilaç miktarı arttırılarak 100 mg ilaç yüklemesi yapılmış, bu kürelerin enkapsülasyon verimliliği ve yükleme kapasiteleri hesaplanmıştır. 100 mg RSV yüklemesi yapılan kompozit kürelerin farklı pH' lardaki salım profilleri her bir farklı pH ortamında 48 saat boyunca incelenmiştir.

Ayrıca 100 mg RSV yüklü bu küreler, ilk olarak 2 saat mide sıvısına karşılık gelen pH 1.2 ye atılmış (1. ve 2. saat) daha sonra farklı tamponlara transferi sağlanmıştır. Bağırsak sistemi pH' ları olan 6.8' de 3 saat (3. – 4. ve 5. saat) ve en son 7.4' de de 3 saat tutularak (6. – 7. ve 8. saat) salım profilleri çıkarılmıştır.

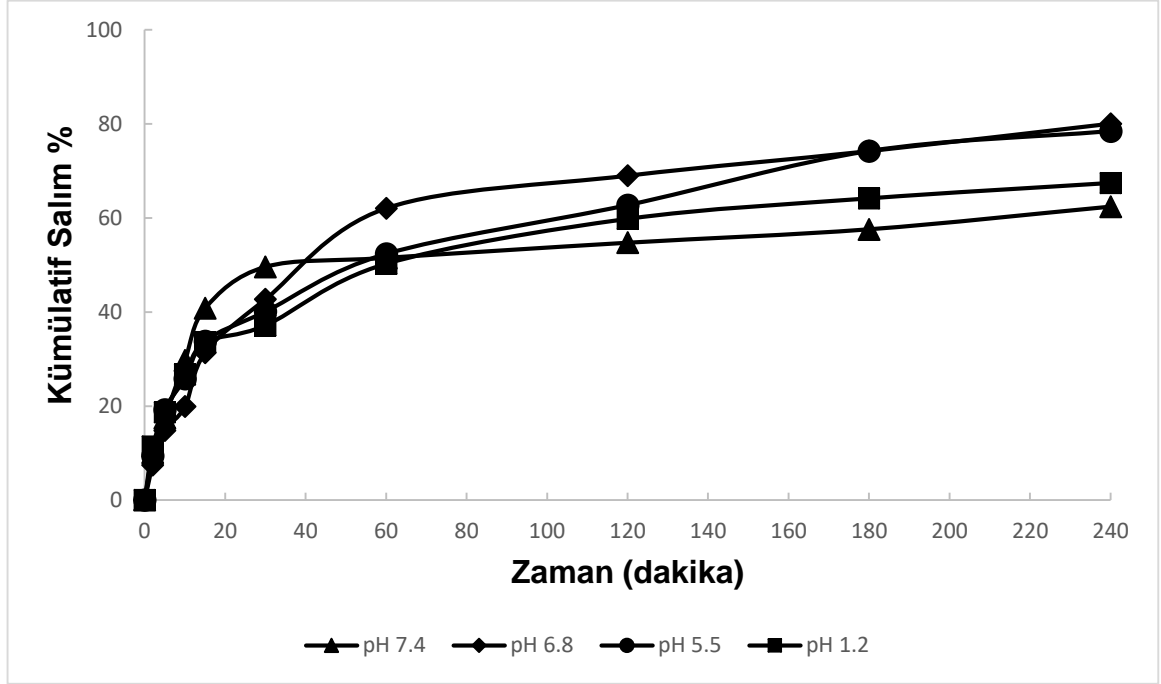
100 mg RSV yüklemesi yapılan 1:2 kütle oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin salım davranışları Şekil 6.46, Şekil 6.47 ve Şekil 6.48' de verilmiştir.



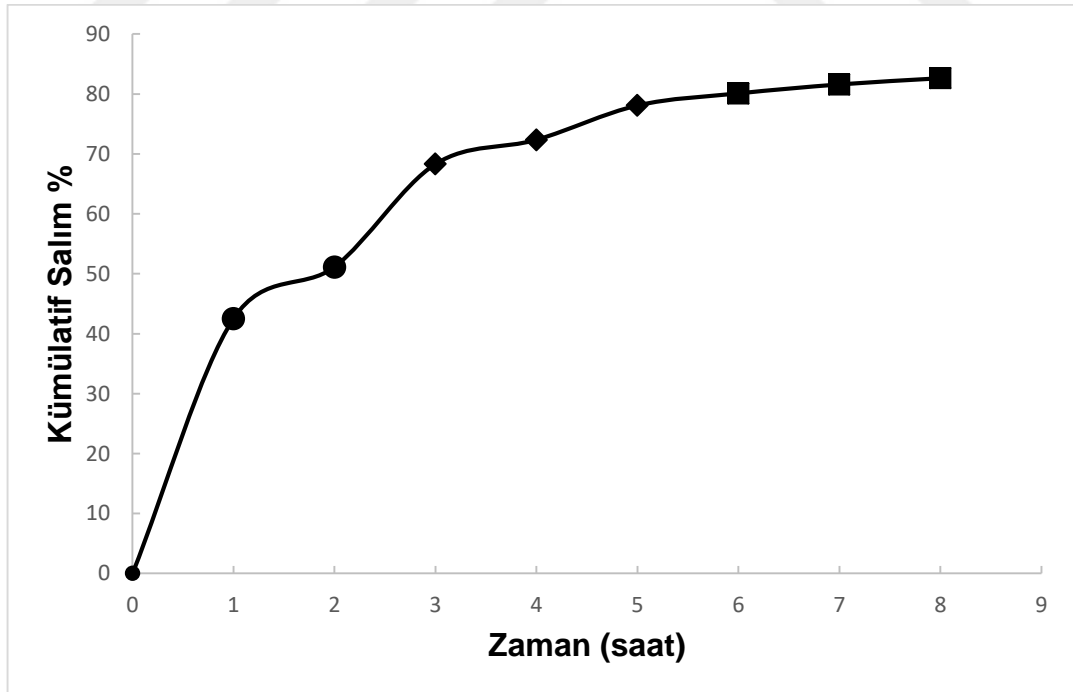
**Şekil 6. 46** 100 mg RSV yüklü 1:2 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı pH' lardaki zamana karşı *in-vitro* resveratrol salım profilleri

1:2 kütle oranındaki yüklenen ilaç miktarının 100 mg' a çıkarılarak hazırlanan kompozit kürelerde ilaç miktarının artması ile enkapsülasyon verimliliği % 72 ve

yükleme kapasitesi % 3.20 olarak hesaplanmıştır. Kürelere yüklenen ilaç miktarının artması ile elde edilen enkapsülasyon verimleri düşmüştür.



**Şekil 6. 47** 100 mg RSV yüklü 1:2 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı pH' lardaki zamana karşı *in-vitro* resveratrol salım profilleri; ilk 4 saat

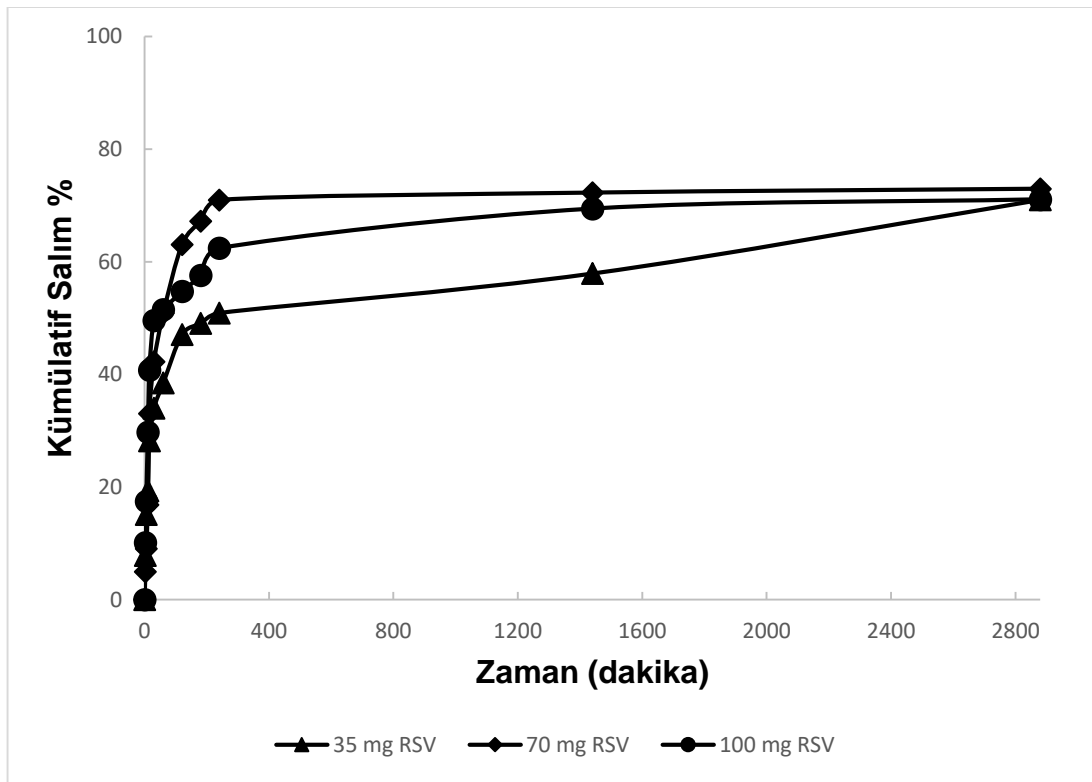


**Şekil 6. 48** 100 mg RSV yüklü 1:2 Oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerin farklı tamponlardaki zamana karşı resveratrol salım profili

(●: pH=1.2, ◆: pH=6.8 ve ■ :pH=7.4)

Şekil 6.49, Şekil 6.50, Şekil 6.51 ve Şekil 6.52' de başlangıçta partiküllere yüklenen ilaç miktarının farklı tampon çözeltilerindeki resveratrol salımına etkisi gösterilmektedir. Grafiklerde de görüldüğü üzere 70 mg ilaç yüklemesi yapılan küreler tüm farklı pH tamponlarında salım verimi en yüksektir. 70 mg ilaç yüklü kürelerin salım verimleri pH seviyeleri 7.4, 6.8, 5.5 ve 1.2' olan çözeltilerde sırasıyla % 72, % 97, %97.42 ve % 80 olarak gözlemlenmiştir.

pH seviyesi 7.4 olan tampon çözeltide gerçekleşen ilaç salımında, salım verimlilikleri 48 saatin sonunda 100 mg ilaç yüklü kürelerde, 70 mg ilaç yüklü kürelerde ve 35 mg ilaç yüklü kürelerde sırasıyla %71, %72 ve % 70 olarak bulunmuştur.



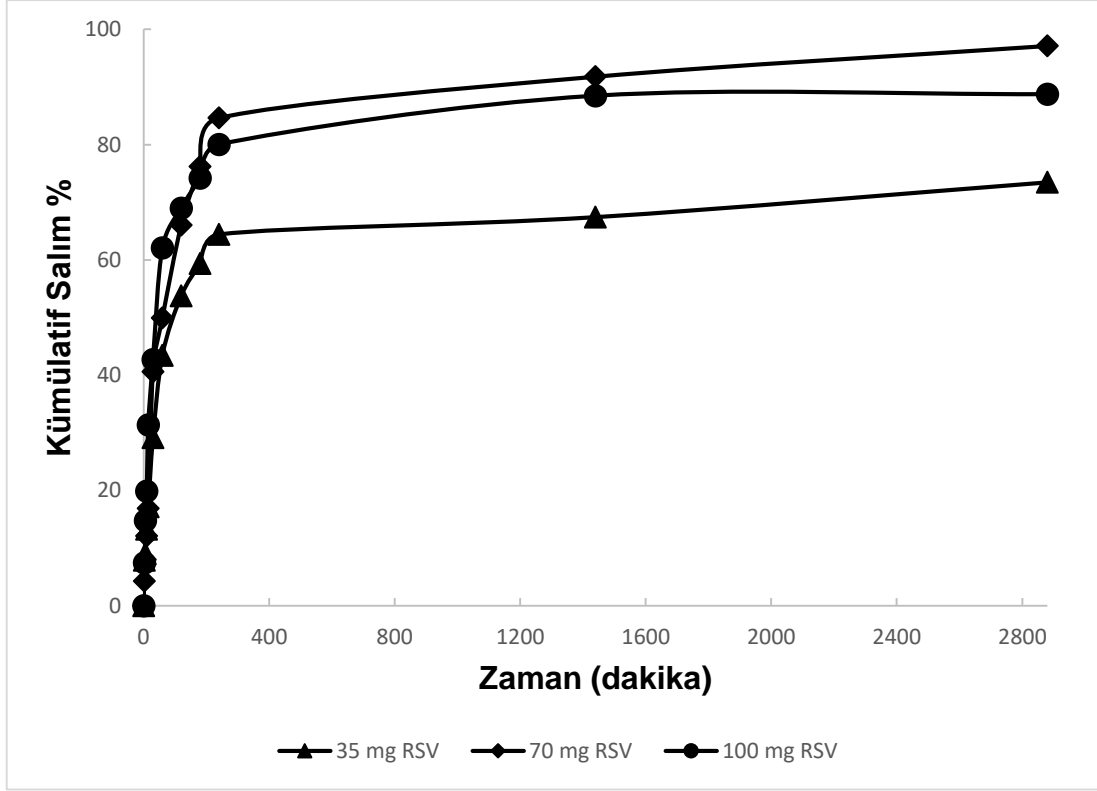
**Şekil 6. 49** Resveratrol yükleme miktarının pH 7.4 tampon çözeltisinde resveratrol salımına etkisi

pH seviyesi 6.8 olan tampon çözeltide gerçekleşen ilaç salımında, salım verimlilikleri 48 saatin sonunda 100 mg ilaç yüklü kürelerde, 70 mg ilaç yüklü kürelerde ve 35 mg ilaç yüklü kürelerde sırasıyla % 88, % 97 ve % 73 olarak bulunmuştur.

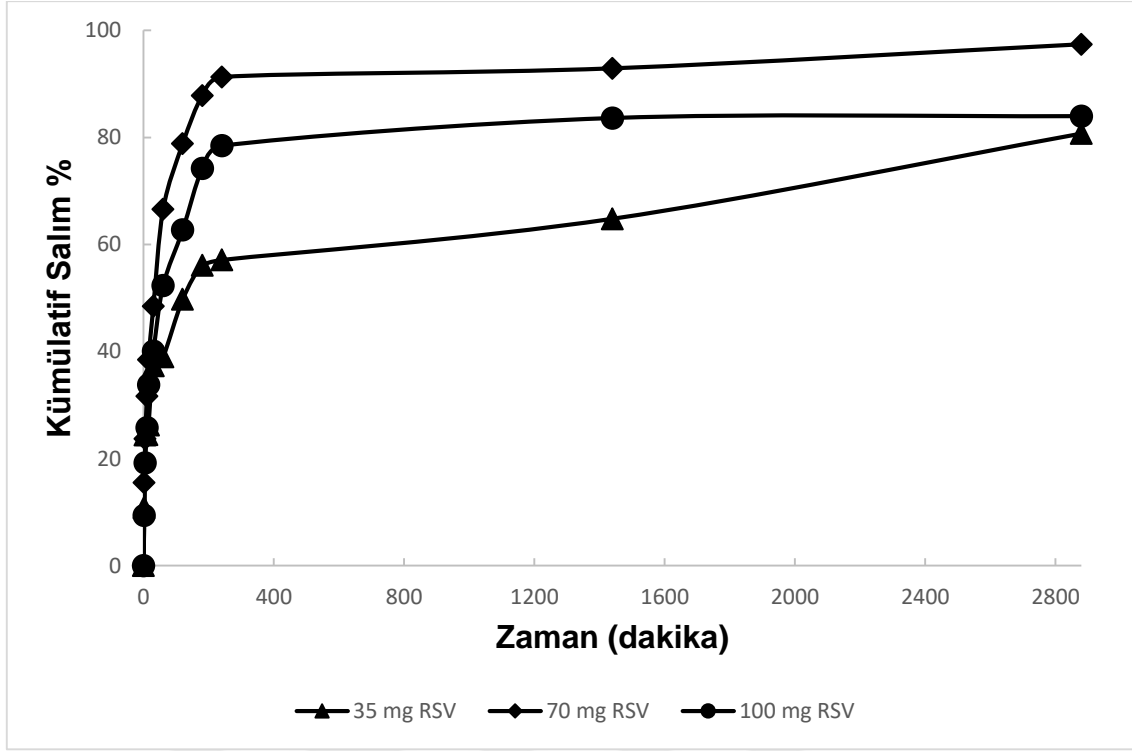
pH seviyesi 5.5 olan tampon çözeltide gerçekleşen ilaç salımında, salım verimlilikleri 48 saatin sonunda 100 mg ilaç yüklü kürelerde, 70 mg ilaç yüklü kürelerde ve 35 mg ilaç yüklü kürelerde sırasıyla % 84, % 97 ve % 80 olarak bulunmuştur. pH seviyesi 1.2 olan mide ortamını temsil eden tampon çözeltide gerçekleşen ilaç salımında,



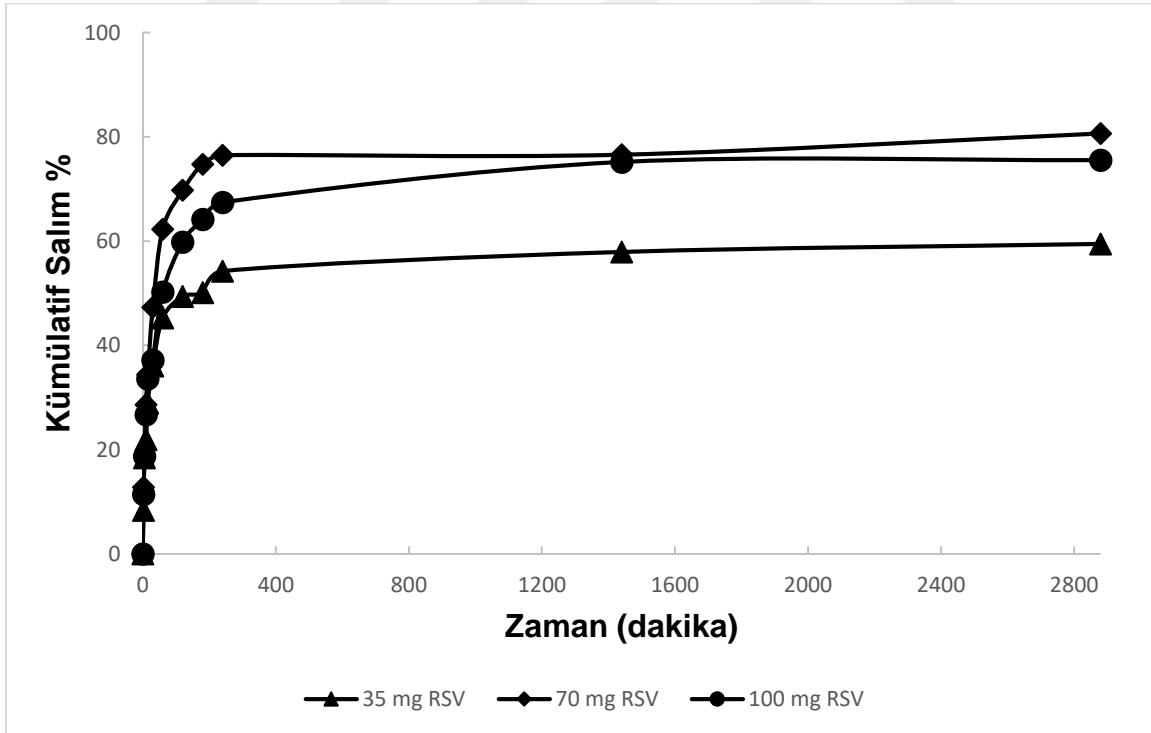
salım verimlilikleri 48 saatin sonunda 100 mg ilaç yüklü kürelerde, 70 mg ilaç yüklü kürelerde ve 35 mg ilaç yüklü kürelerde sırasıyla % 75, %80 ve % 59 olarak bulunmuştur.



**Şekil 6. 50** Resveratrol yükleme miktarının pH 6.8 tampon çözeltisinde resveratrol salımına resveratrol salımına etkisi



Şekil 6. 51 Resveratrol yükleme miktarının pH 5.5 tampon çözeltisinde resveratrol salımına etkisi



Şekil 6. 52 Resveratrol yükleme miktarının pH 1.2 tampon çözeltisinde resveratrol salımına etkisi

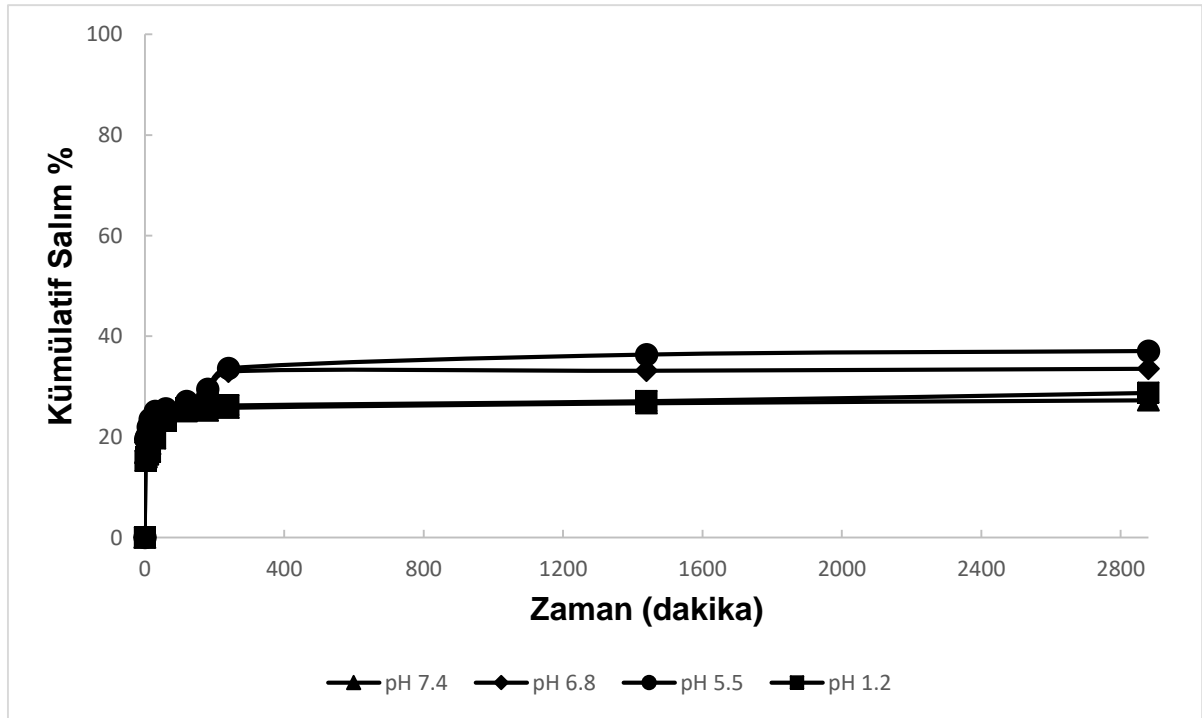
### 6.2.5. Resveratrol Çapraz Bağlı Kitosan Nanopartiküllerden Resveratrol Salımının İncelenmesi

Resveratrol çapraz bağlı kitosan nanopartiküllerinden 1mg / 1mL çözelti oranında, 37°C vücut sıcaklığında farklı pH' larda (1.2 HCL, 5.5 PBS, 6.8 PBS ve 7.4 PBS) resveratrol salımı incelenmiştir.

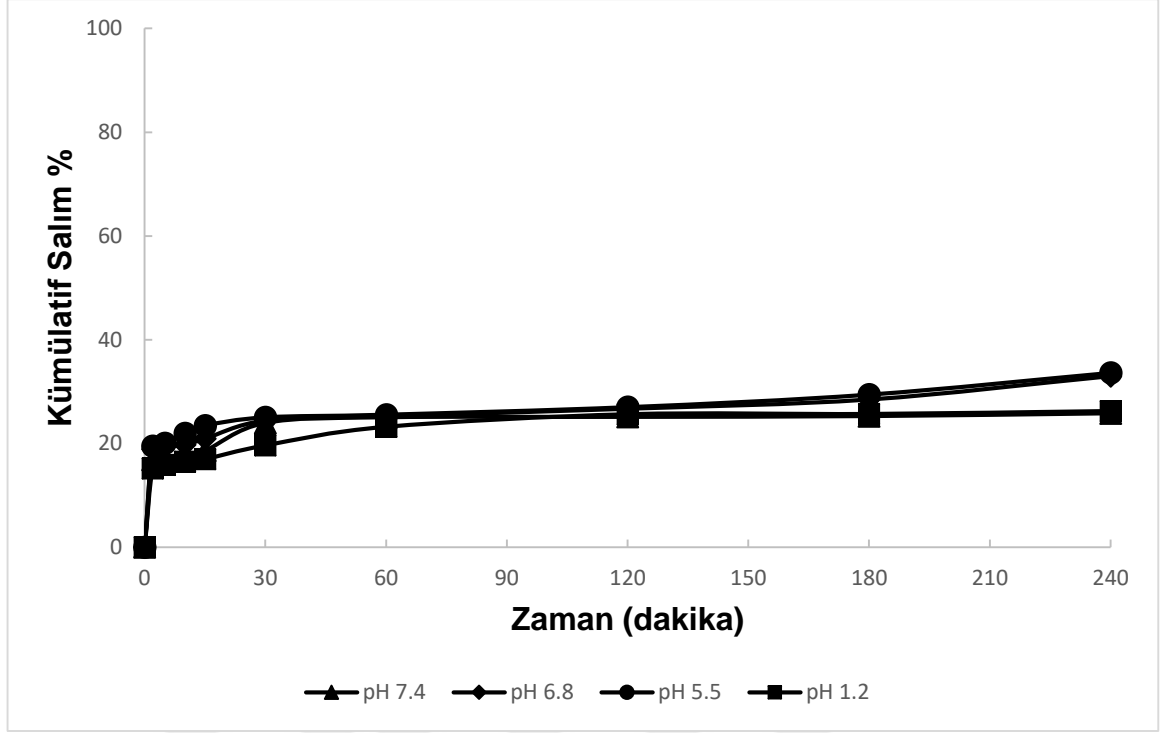
70 mg RSV yüklemesi yapılan partiküllerden farklı pH' lardaki salım profilleri her bir farklı pH ortamında 48 saat boyunca incelenmiştir ve salım profilleri Şekil 6.53 ve Şekil 6.54' de gösterilmektedir.

Ayrıca partiküller ilk olarak 2 saat mide sıvısına karşılık gelen pH 1.2 ye atılmış (1. ve 2. saat) daha sonra farklı tamponlara transferi sağlanmıştır. Bağırsak sistemi pH' ları olan 6.8' de 3 saat (3. – 4. ve 5. saat) ve en son 7.4' de de 3 saat tutularak (6. – 7. ve 8. saat) salım profilleri çıkarılmıştır. Şekil 6.55' de gösterilmektedir.

Tek başına kitosana ilaç yüklemesi gerçekleştirildiğinde bu partiküllerdeki enkapsülasyon verimi % 63 ve yükleme kapasitesi ise % 31.5 olarak bulunmuştur. Burada yükleme kapasitesinin yüzdesinin diğer partiküllere oranla yüksek olmasının sebebi farklı bir yöntemin kullanılarak nano boyutta partikül elde edilmesinin sonucudur.

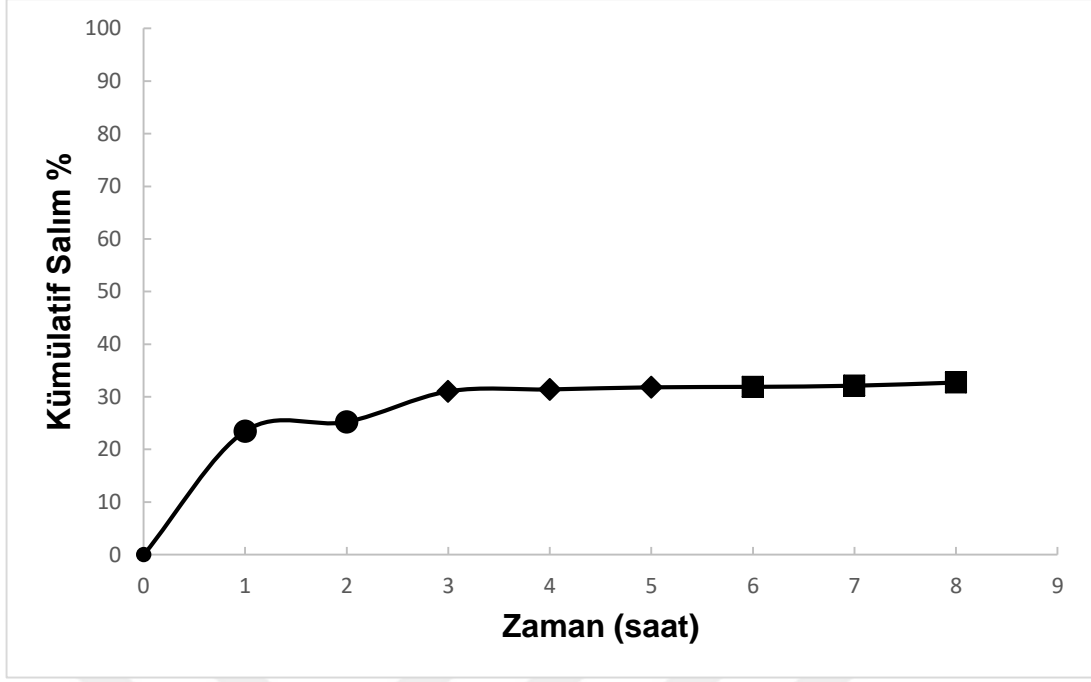


Şekil 6. 53 Kitosan nanopartiküllerin farklı pH' lardaki zamana karşı *in-vitro* resveratrol salım profilleri



**Şekil 6. 54** Kitosan nanopartiküllerin farklı pH' lardaki zamana karşı *in-vitro* resveratrol salım profilleri; ilk 4 saat

Tek başına kitosandan resveratrol salımı profillerini içeren grafikler incelendiğinde 48 saatlik salım sonucunda en yüksek salım verimi % 37 ile pH seviyesi 5.5 olan tampon çözeltisinde gerçekleşmiştir. Bunu % 33.53 ile pH seviyesi 6.8 olan tampon çözeltisi takip etmiştir. En düşük salım verimi 7.4 pH seviyesinde % 27 ve 1.2 pH seviyesinde ise % 28.74 ile bu çözeltilerde elde edilmiştir.



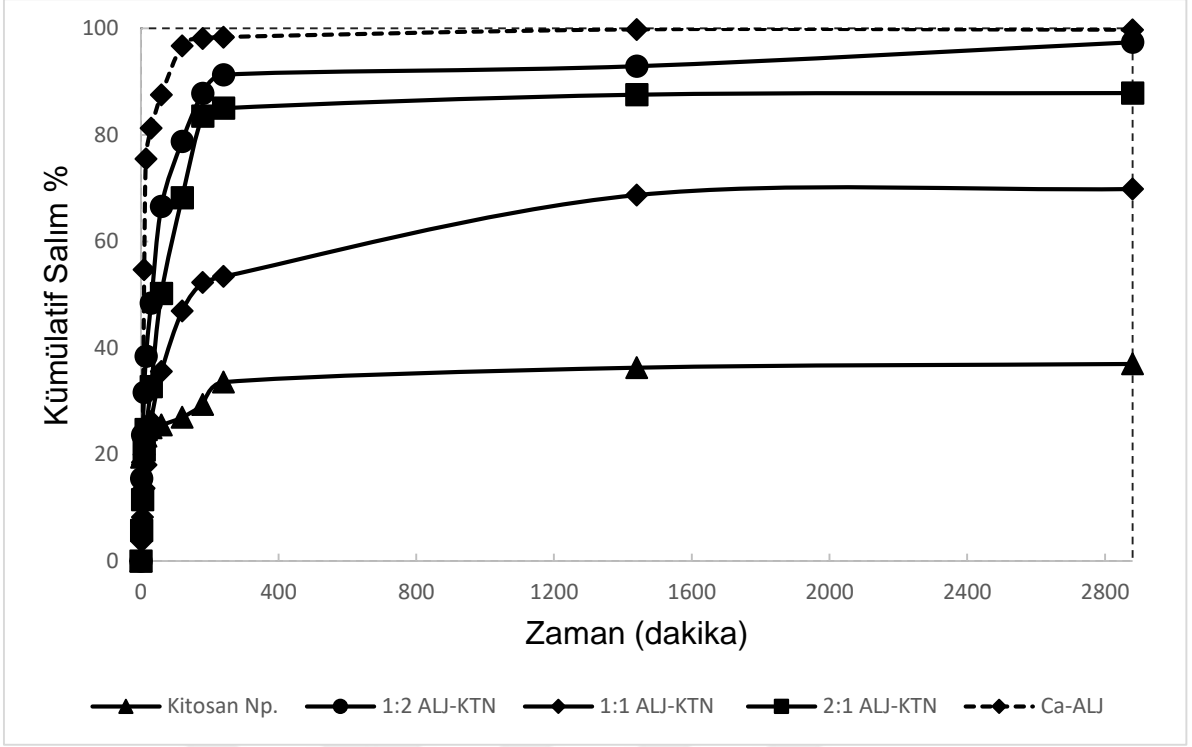
**Şekil 6. 55** RSV çapraz bağlı kitosan nanopartiküllerin farklı tamponlardaki zamana karşı resveratrol salım profili

(●: pH=1.2, ◆: pH=6.8 ve ■ :pH=7.4)

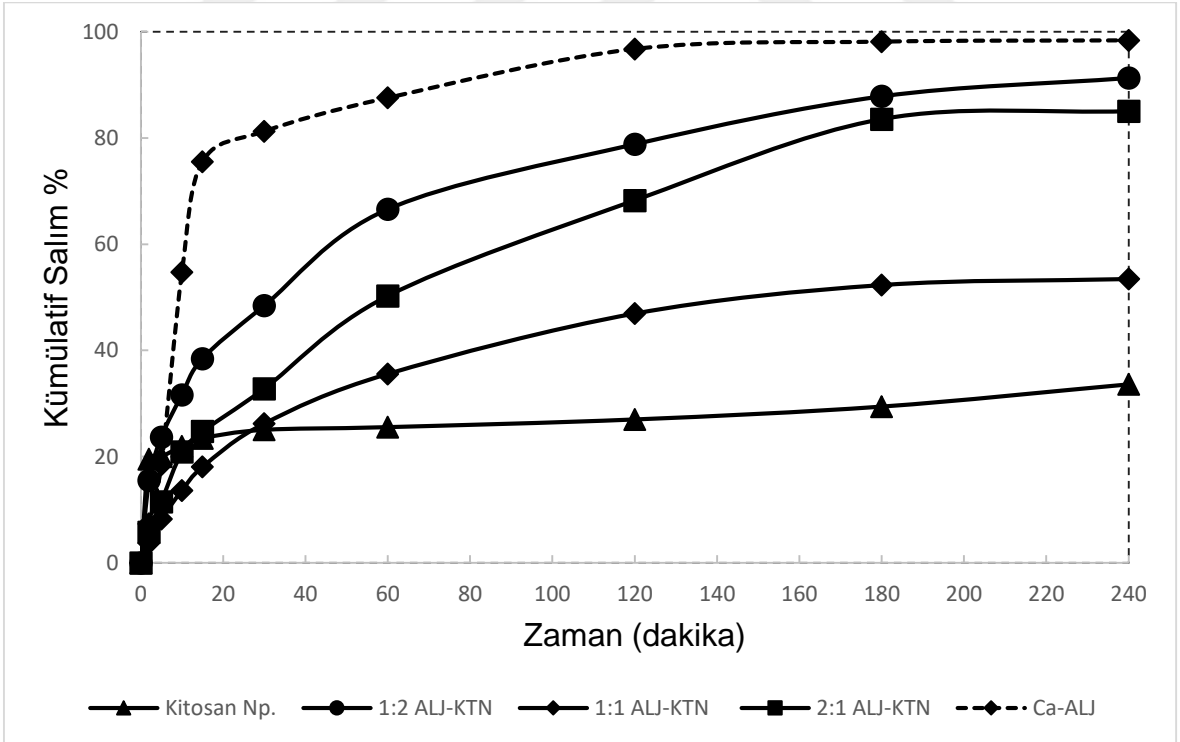
Kompozit kürelerin salım verimliliklerini karşılaştırmak amacı ile tek başına kitosana ilaç yüklemesi yapılmıştır. Çapraz bağlama yöntemi ile yüklenen resveratrolün salım verileri Ca –Aljinat kürelere ve Aljinat – Kitosan kompozit kürelere göre oldukça düşük salım değerleri vermiştir.

Farklı tamponlara transferi ile salımı incelenen nanopartiküller Şekil 6.54' de görüldüğü gibi 8 saatin sonunda taşıdığı ilacın % 32' lik kısmını ortama vermiştir. Mide ortamından bağırsak ortamı pH seviyelerine transfer edildikten sonra ilacın salımı neredeyse 3. saatin sonunda dengeye ulaşmıştır.

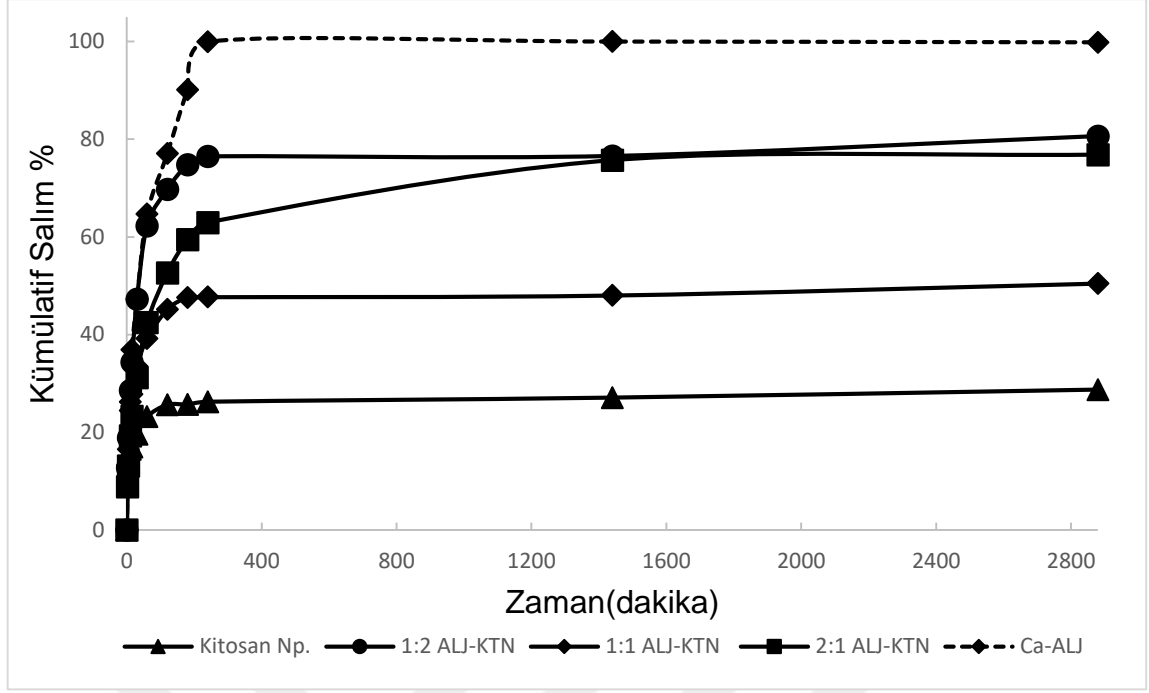
Şekil 6.56, Şekil 6.57, Şekil 6.58, Şekil 6.59 ve Şekil 6.60' da söz konusu partiküllerin Resveratrol salımının farklı pH seviyelerindeki karşılaştırılması gösterilmektedir. Grafikler incelendiğinde 1:2 oranındaki Aljinat – Kitosan kompozit kürelerin salım veriminin tüm pH değerlerinde yüksek olduğu görülmektedir. Farklı pH değerlerindeki verimler karşılaştırıldığında ise partiküllerin en yüksek verime çıktığı pH seviyesi 5.5 olmuştur. Ek olarak pH 5.5 seviyesindeki partiküllerin ilk 4 saatteki ilaç salım profili de aşağıda verilmiştir.



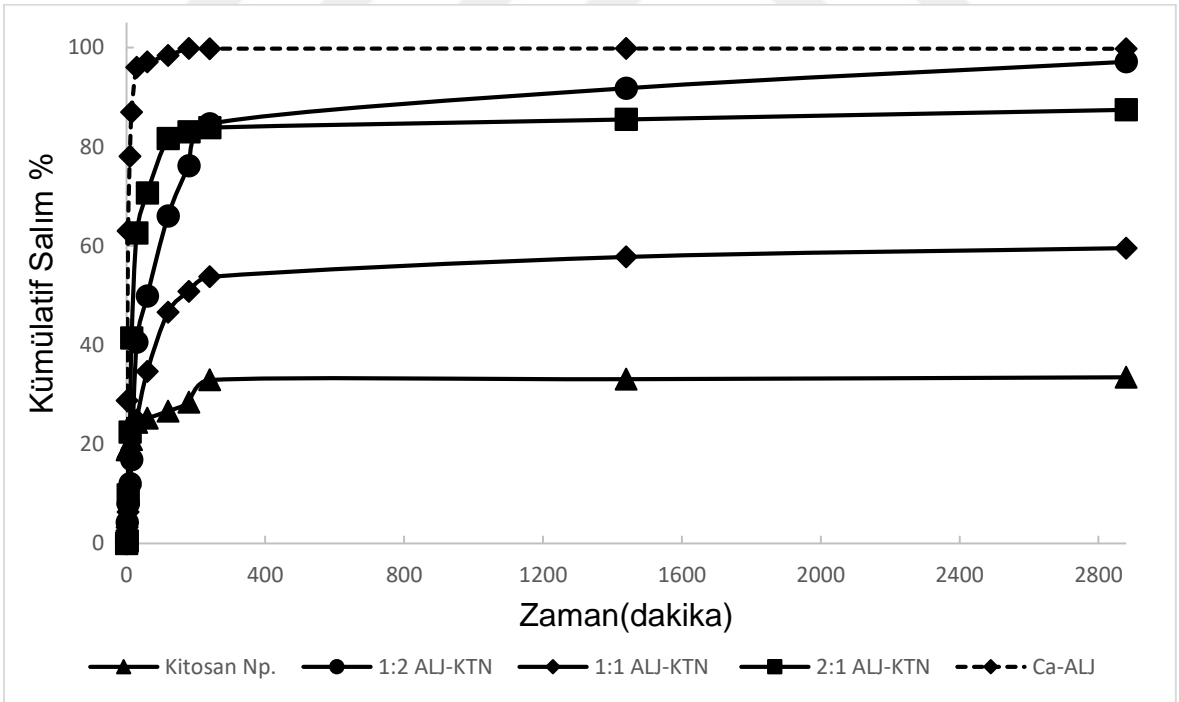
**Şekil 6. 56** Resveratrol salımının partiküllere göre karşılaştırılması (pH=5.5, T=37°C, RSV= 70 mg)



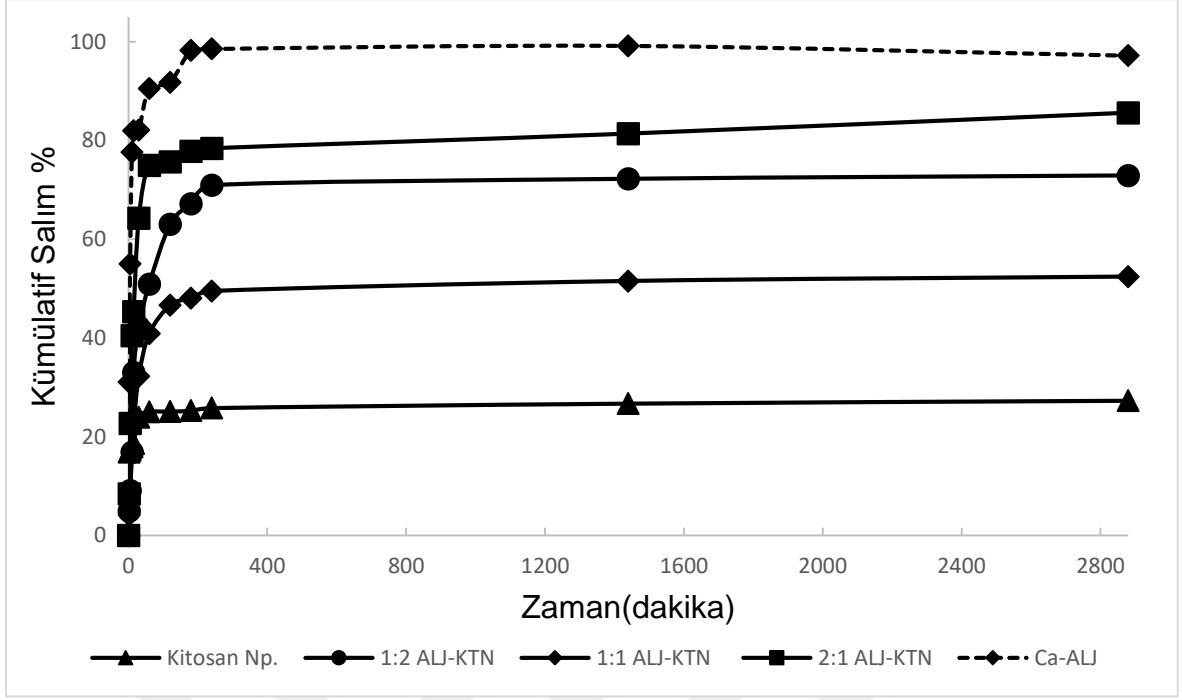
**Şekil 6. 57** Resveratrol salımının partiküllere göre karşılaştırılması; ilk 4 saat (pH=5.5, T=37°C, RSV= 70 mg)



**Şekil 6.58** Resveratrol salımının partiküllere göre karşılaştırılması (pH=1.2, T=37°C, RSV= 70 mg)



**Şekil 6.59** Resveratrol salımının partiküllere göre karşılaştırılması (pH=6.8, T=37°C, RSV= 70 mg)



**Şekil 6.60** Resveratrol salımının partiküllere göre karşılaştırılması (pH=7.4, T=37°C, RSV= 70 mg)

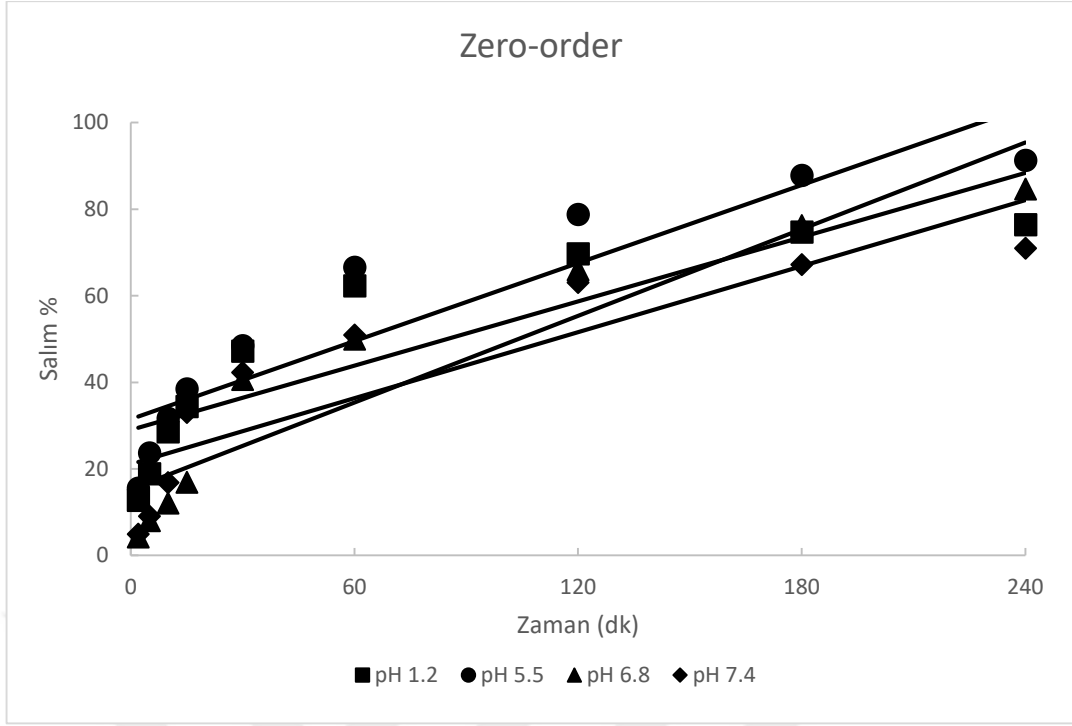
### 6.3. Resveratrol Salımının Matematiksel Modellere Uygulanması ve Analizi

70 mg RSV yüklü 1:2 Aljinat – Kitosan hibrit kürelerden resveratrol salımı kinetik matematiksel modellere uyumu incelenmiştir. Farklı pH tamponlarında gerçekleşen *in-vitro* salım çalışmalarından elde edilen veriler Zero- order, First- order, Higuchi, Korsmeyer- Peppas ve Baker- Lonsdale salım modellerine yerleştirilmiştir. Her bir model için k sabiti ve  $R^2$  değeri, Korsmeyer Peppas modeli için n difüzyon üsteli hesaplanmıştır.

Kontrollü ilaç salım sistemleri karmaşıktır. İlacın salımının tek bir matematiksel modelleme ile açıklanabilmesi beklenemez. Bu nedenle bu çalışmada difüzyonla ve pH duyarlı şişebilen sistemlerden ilaç salımını açıklayabilen matematiksel modellere uyum incelenmiştir.

Şekil 6.61' de 70 mg RSV yüklü 1:2 kompozit kürelerin 37 °C' de farklı pH ortamlarında gerçekleşen *in-vitro* salım çalışmalarından elde edilen veriler zero-order kinetik modeline yerleştirilmiştir ve Çizelge 6. 4' de pH seviyelerine karşılık gelen  $k_0$  ve  $R^2$  değerleri verilmiştir.

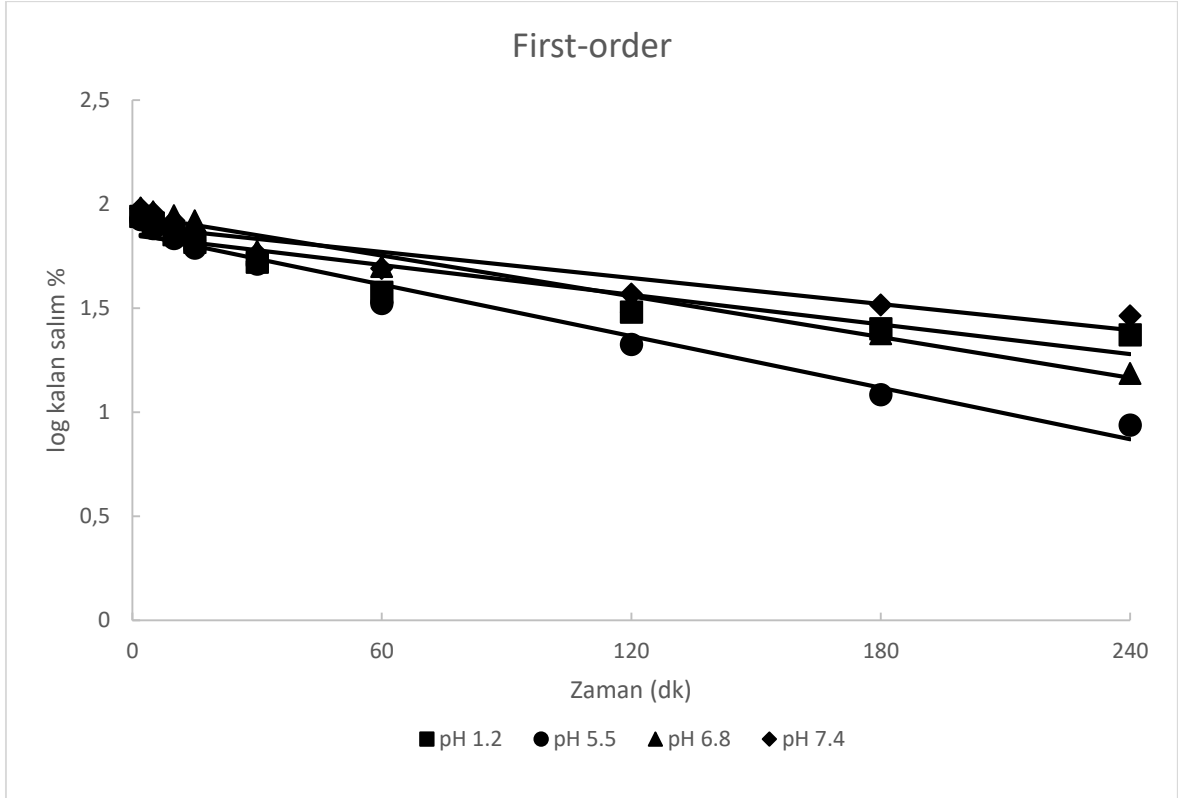




**Şekil 6. 61** Resveratrolün 1:2 oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerden salımının Zero - order kinetik modele uyumu (T= 37°C, RSV= 70 mg)

**Çizelge 6. 4** Farklı pH tamponlarındaki Zero - order kinetik modeli  $k_0$  ve  $R^2$  değerleri

pH	$k_0$	$R^2$
1.2	0.2474	0.7643
5.5	0.3004	0.8436
6.8	0.3337	0.8765
7.4	0.2541	0.7627



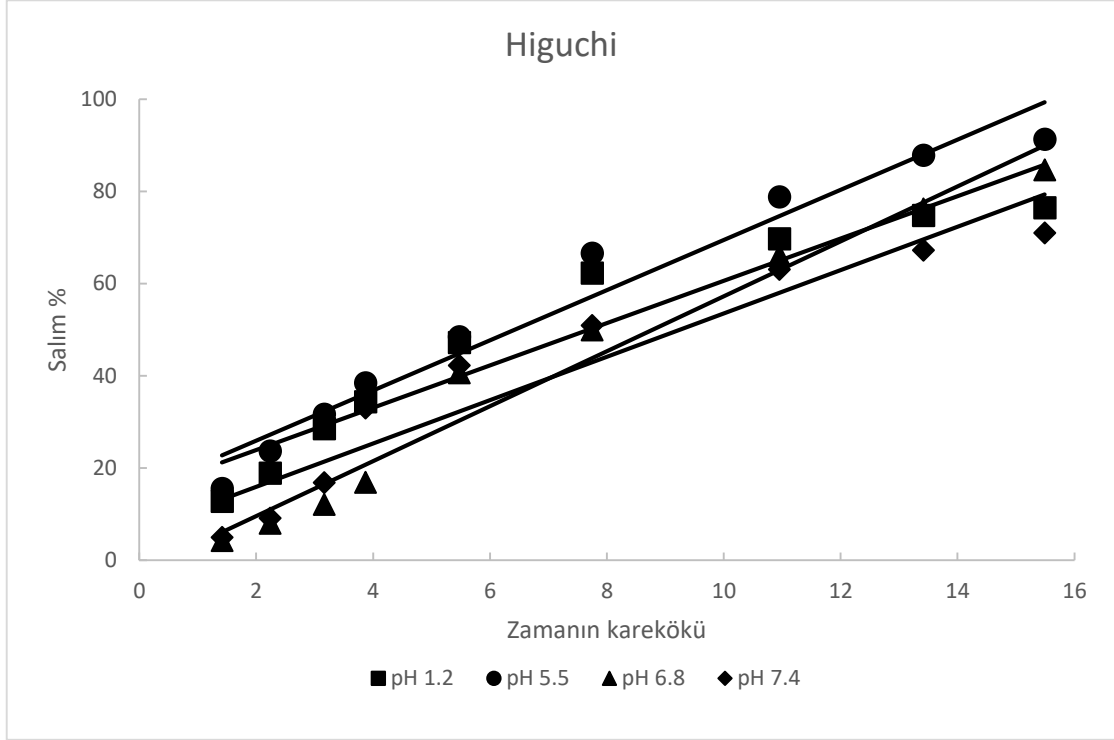
**Şekil 6. 62** Resveratrolün 1:2 oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerden salımının First - order kinetik modele uyumu (T= 37°C, RSV= 70 mg)

**Çizelge 6. 5** Farklı pH tamponlarındaki First - order kinetik modeli  $k_1$  ve  $R^2$  değerleri

pH	$k_1$	$R^2$
1.2	-0.0055	0.87
5.5	-0.0094	0.9776
6.8	-0.0076	0.979
7.4	-0.0048	0.8734

Şekil 6.62' de 70 mg RSV yüklü 1:2 kompozit kürelerin 37 °C' de farklı pH ortamlarında gerçekleşen *in-vitro* salım çalışmalarından elde edilen veriler first-

order kinetik modeline yerleştirilmiştir ve Çizelge 6. 5' de pH seviyelerine karşılık gelen  $k_1$  ve  $R^2$  değerleri verilmiştir.



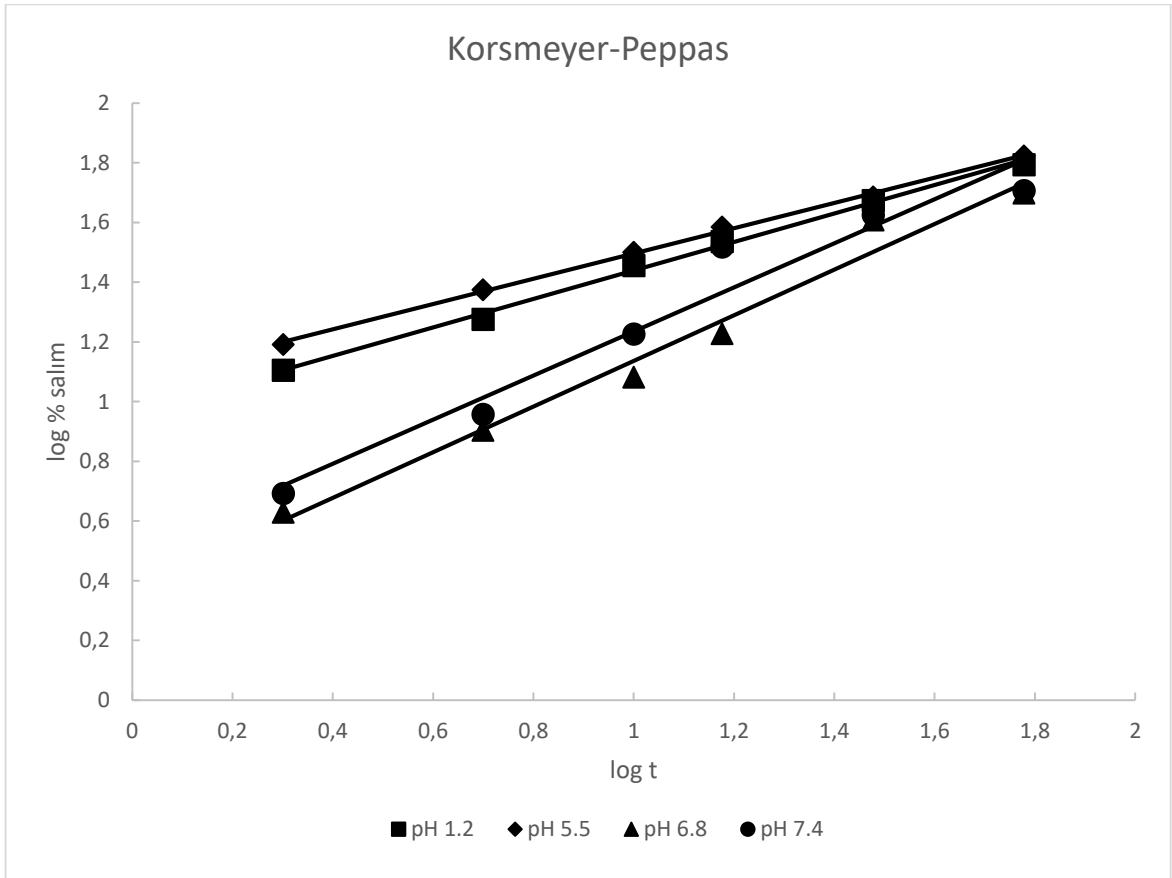
**Şekil 6. 63** Resveratrolün 1:2 oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerden salımının Higuchi kinetik modele uyumu (T= 37°C, RSV= 70 mg, t= 240 dk)

**Çizelge 6. 6** Farklı pH tamponlarındaki Higuchi kinetik modeli  $k_H$  ve  $R^2$  değerleri

pH	$k_H$	$R^2$
1.2	4.5897	0.9126
5.5	6.0262	0.972
6.8	5.96	0.9701
7.4	4.6994	0.9055

Şekil 6.63' de 70 mg RSV yüklü 1:2 kompozit kürelerin 37 °C' de farklı pH ortamlarında gerçekleşen *in-vitro* salım çalışmalarından elde edilen veriler Higuchi kinetik modeline yerleştirilmiştir ve Çizelge 6. 6' da pH seviyelerine karşılık gelen  $k_H$  ve  $R^2$  değerleri verilmiştir.

Şekil 6.64' de 70 mg RSV yüklü 1:2 kompozit kürelerin 37 °C' de farklı pH ortamlarında gerçekleşen *in-vitro* salım çalışmalarından elde edilen veriler Korsmeyer – Peppas kinetik modeline yerleştirilmiştir ve Çizelge 6. 7' de pH seviyelerine karşılık gelen  $n$ ,  $k$  ve  $R^2$  değerleri verilmiştir.



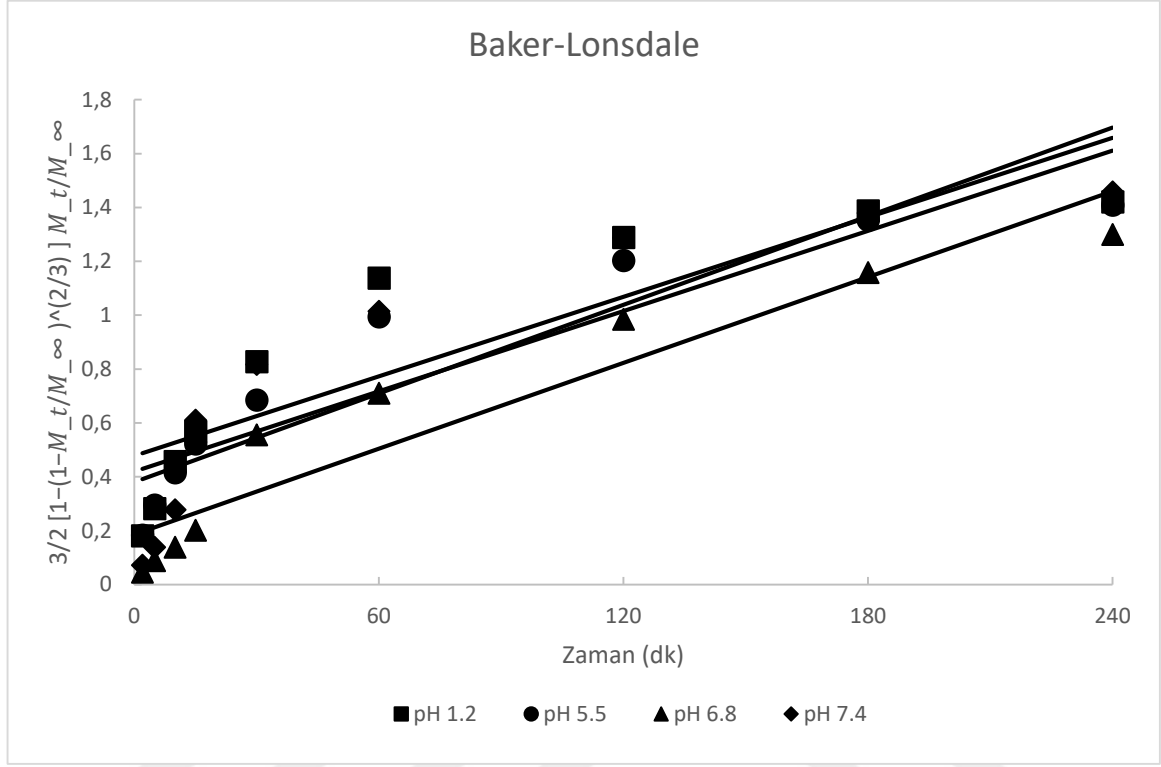
**Şekil 6. 64** Resveratrolün 1:2 oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerden salımının Korsmeyer – Peppas kinetik modele uyumu (T= 37°C, RSV= 70 mg, ilk % 60 ilaç salımı verileri)

**Çizelge 6. 7** Farklı pH tamponlarındaki Korsmeyer – Peppas kinetik modeli k, n,  $R^2$  değerleri ve ilaç salım mekanizmaları

pH	k	$R^2$	n	İlaç Salım Mekanizması
1.2	2.6190	0.9964	0.4767	Anomalous Taşınım (Non Fickian Difüzyon)
5.5	2.9259	0.998	0.4468	Anomalous Taşınım (Non Fickian Difüzyon)
6.8	1.4508	0.9784	0.7645	Anomalous Taşınım (Non Fickian Difüzyon)
7.4	1.6428	0.9513	0.7385	Anomalous Taşınım (Non Fickian Difüzyon)

Korsmeyer – Peppas eşitliğine yerleştirilen veriler sonucu k,  $R^2$  ve n değerleri hesaplanmıştır. n difüzyon üsteline göre her bir pH seviyesinde gerçekleşen salımın ilaç salım mekanizması belirlenmiştir. Çizelge 6.7’ de de görüldüğü üzere farklı pH seviyelerindeki tampon çözeltilerindeki ilaç salımı mekanizması n difüzyon üsteli incelendiğinde “Anomalous taşınım” a uygun gerçekleştiği bulunmuştur. Bu modele göre küresel bir geometriye sahip kompozit kürelerde n değeri 0.43’ ün altında ise salım Fickian taşınım, 0.43 ila 1 arasında bir değer alıyorsa Anomalous Taşınım ve 1 değerini alıyorsa Case II taşınımı ile gerçekleşiyor anlamı taşımaktadır. Bu kürelerde n değerleri 0.43 ila 1 arasında hesaplanmıştır. Anomalous taşınımında ortamda hem Fickian taşınımına uygun olarak yani difüzyonla ilacın sistemden ortama salımı hem de Case II taşınımı yani şişme kontrollü bir salım söz konusudur. Korsmeyer – Peppas modeline göre  $R^2$  değerleri incelendiğinde farklı pH seviyelerinin her birinde 1’ e yakın değerler verdiği görülmektedir. Bu nedenle ilaç salım mekanizmasının bu modelle daha iyi uyum sağladığı ve bu mekanizma ile ilacın salımının kontrol edildiği söylenebilir. Ayrıca

düşük pH seviyelerinde hesaplanan n değerleri 0.43' e daha yakın bulunurken 6.8 ve 7.4 Alkali pH seviyelerinde 1' e daha yakın değerler hesaplanmıştır.



**Şekil 6. 65** Resveratrolün 1:2 oranındaki Aljinat – Kitosan hibrit kürelerden salımının Baker - Lonsdale kinetik modele uyumu (T= 37°C, RSV= 70 mg, t= 240 dk)

**Çizelge 6. 8** Farklı pH tamponlarındaki Baker - Lonsdale kinetik modeli k ve  $R^2$  değerleri

pH	k	$R^2$
1.2	0.0049	0.7738
5.5	0.005	0.8541
6.8	0.0053	0.8993
7.4	0.0055	0.782

Şekil 6.65' de 70 mg RSV yüklü 1:2 kompozit kürelerin 37 °C' de farklı pH ortamlarında gerçekleşen *in-vitro* salım çalışmalarından elde edilen veriler Baker – Lonsdale kinetik modeline yerleştirilmiştir ve Çizelge 6. 8' de pH seviyelerine karşılık gelen *k* ve  $R^2$  değerleri verilmiştir.

## 7. DEĞERLENDİRME VE ÖNERİLER

Sunulan tez çalışmasında aljinat ve kitosan biyopolimerleri kullanılarak hibrit kompozit küreler sentezlenmiştir.

Kanser tedavisinde önemli bir noktada olan resveratrol ilacı kompozit kürelere yüklenmiş ve ilaç taşıyıcı sistem olarak kompozit kürelerden salım profilleri çıkarılmıştır.

Aljinat ve kitosanın iyonik etkileşimleri sonucu polielektrolit kompleks yapısı oluşturulmuş ve damlatma tekniği kullanılarak hibrit kürelerin sentezi gerçekleştirilmiştir. Aljinat ve kitosanın bu iyonik etkileşimleri FT-IR analizlerinde açıklanmıştır.

Amaç kitosanın ve aljinatın tek başına olduğundan daha güçlü ve stabil yapıda kompozit ilaç taşıyıcı sistem elde etmek olduğundan kompozitle karşılaştırma yapabilmek adına RSV yüklü Ca – Aljinat ve RSV çapraz bağlı kitosan nanopartiküller sentezlenmiş, salım profilleri çıkarılmıştır.

Kontrollü ilaç salımına pH, kompozit kütle oranı ve ilaç miktarının etkisi incelenmiş tüm bu parametreler değiştirilerek enkapsülasyon, yükleme kapasitesi ve kümülatif olarak ilacın salım yüzde verimlilikleri hesaplanmıştır.

Çizelge 7.1' de yüklenen ilaç miktarına göre çalışılan tüm partiküllerin enkapsülasyon ve yükleme kapasiteleri verilmiştir.

**Çizelge 7. 1** Partiküllerin yüklenen ilaç miktarına göre enkapsülasyon ve yükleme kapasiteleri

<b>Partikül</b>	<b>Yüklenen RSV miktarı (mg)</b>	<b>Enkapsülasyon (%)</b>	<b>Yükleme Kapasitesi (%)</b>
Ca – Aljinat Küre	70 mg	69	3.22
1:1 ALJ – KTN Küre	70 mg	96	2.86
1:2 ALJ – KTN Küre	70 mg	74	1.24
2:1 ALJ – KTN Küre	70 mg	53.3	2.41
1:2 ALJ – KTN Küre	100 mg	72	3.20
1:2 ALJ – KTN Küre	35 mg	84.2	1.23
RSV - KTN	70 mg	63	31.5

1:1 ALJ – KTN Kürelerde en yüksek enkapsülasyon yüzdesi elde edilmiştir. Enkapsülasyon; kürelerin yapısındaki kitosanın mevcudiyeti ile desteklenen yüksek çapraz bağlanma yoğunluğu ile oluşan polielektrolit komplekste resveratrolün fiziksel olarak sıkışması ile arttırılmıştır.

SEM görüntülerindeki morfolojik yapıdaki değişikliklerle doğru orantılı olarak elde edilen BET analizlerindeki gözenek çapının, yüzey alanının ve gözenek hacminin aljinat kürelere kitosanın eklenmesi ile azaldığı sonucu elde edilmiştir. Salım çalışmalarından da bu sonuç doğrulanmıştır.

Ca – Aljinat küreler gözeneklerinin büyük olması nedeniyle yüklediği ilaç miktarını kompozit kürelere kıyasla daha erken ortama bırakmıştır. Kitosarla etkileşen aljinatın oluşturduğu hibrit yapının daha küçük morfolojisi ilacın salım ortamına



difüzyonunu kontrol altına alarak yavaşlatmış daha uzun sürelerde ilacın ortamda kalmasını sağlamıştır.

Ayrıca bu çalışmada kürelerin şişme davranışları da incelenmiştir. Kürelerin şişme oranı ilk 6 saat boyunca artış göstermiş ve 24 saatin sonunda kürelerin aşamalı olarak ayrışması, yani kompozit yapılarındaki amino grupları ve hidroksil grupları arasındaki bağlantıların ayrışması başlamıştır. Bu ayrışma Ca – Aljinat kürelerde daha hızlı gerçekleşmiştir.

Kompozit kürelerde ise kitosan içeriğinin artmasıyla şişme dereceleri azalmış, kürelerin yapısı güçlenmiş ve böylece bağırsak alkali pH'ında stabiliteleri artmıştır. 24 saatin sonunda şişme oranları kompozit kürelerden 2:1, 1:1, 1:2 kütle oranlarına göre sırasıyla, % 635, % 526 ve % 448 olarak hesaplanmıştır. Aljinatin kitosana iyonik etkileşimi sonucu oluşan kitosana meydana gelen çapraz bağların, kürelerin yapısında daha katı bir ağ oluşturduğu ve içeri su alımının daha güç gerçekleşmesine neden olduğu düşünülmektedir.

İlacın salım çalışmaları *in-vitro* ortamda gerçekleştirilmiştir, ancak oral yolla alınan bir ilacın maruz kaldığı mide-bağırsak yolunun pH seviyeleri dikkate alınarak mide-bağırsak sisteminin pH seviyeleri seçilmiştir. Vücut sıcaklığı dikkate alınarak tüm salım çalışmaları 37 °C'de gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 7.2' de çalışılan tüm pH seviyelerinde yüklenen ilaç miktarına göre partiküllerin 48 saatin sonunda elde edilen kümülatif ilaç salım yüzdeleri verilmiştir.

**Çizelge 7. 2** Partiküllerin farklı pH tamponlarında elde edilen kümülatif salım yüzdeleri

<b>Partikül</b>	<b>Yüklenen RSV miktarı (mg)</b>	<b>pH= 1.2 HCL Kümülatif Salım (%)</b>	<b>pH= 5.5 PBS Kümülatif Salım (%)</b>	<b>pH= 6.8 PBS Kümülatif Salım (%)</b>	<b>pH= 7.4 PBS Kümülatif Salım (%)</b>
Ca – Aljinat Küre	70 mg	99.83	99.74	99.73	97.23
1:1 ALJ – KTN Küre	70 mg	50.47	69.87	59.55	52.42
1:2 ALJ – KTN Küre	70 mg	80.64	97.42	97.13	72.96
2:1 ALJ – KTN Küre	70 mg	76.81	87.88	87.46	85.63
1:2 ALJ – KTN Küre	100 mg	75.52	84.01	88.75	71.06
1:2 ALJ – KTN Küre	35 mg	59.43	80.74	73.45	70.97
RSV - KTN	70 mg	28.74	37.03	33.52	27.29

70 mg ilaç yüklemesi yapılan partiküller arasında en düşük verim RSV çapraz bağlı kitosan nanopartiküllerinde 7.4 pH seviyesindeki PBS tamponu içerisinde % 27.29 olarak bulunmuştur.

Kompozit küreler içerisinde en yüksek verim ise 1:2 kütle oranındaki kürelerde ve pH 5.5 seviyesindeki PBS tamponu içerisinde % 97.42 olarak bulunmuştur.

Çizelge incelendiğinde Ca – Aljinat kürelerin tüm pH tamponlarındaki yüksek verimi göze çarpmaktadır ancak bu küreler taşıdığı ilaç miktarını adeta bir patlama etkisi

göstererek çok kısa bir süre içerisinde ortama bırakmıştır. Kontrollü salımda bu durum istenen bir durum değildir. Kompozit kürelerin eldesiyle bu duruma müdahalede bulunulmuş ve ilacın ortama salımı zamana yayılmıştır. Bunun nedeni ise kitosanın aljinatla üç boyutlu çapraz bağlar meydana getirerek polielektrolit bir kompleks oluşturması, böylece gözenek boyutunu küçültmesidir.

Kompozit kürelerde en düşük verim ise 1:1 kütle oranına sahip kürelerde pH 1.2 seviyesindeki HCL tampon çözeltisinde elde edilmiş ve % 50.47 olarak hesaplanmıştır.

Çalışmada öncelikle partiküllere 70 mg ilaç yüklemesi yapılmış ve enkapsülasyon ile yükleme kapasiteleri belirlenmiştir. Daha sonra salım deneylerinden elde edilen salım verimlilikleri değerlendirilerek kompozit kürelerde hem enkapsülasyonu yüksek olan hem de salımı yüksek olan 1:2 kütle oranındaki hibrit küreler optimum olarak seçilmiştir.

Optimum olarak seçilen bu hibrit kürelerden salıma ilaç miktarının etkisi yine farklı dört pH seviyelerindeki tampon çözeltilerde incelenmiştir. Buna göre ilaç miktarının 35 mg' a düşürülmesi enkapsülasyonu artırırken 100 mg' a çıkarılması enkapsülasyonu düşürmüştür. Ancak 100 mg ilaç yüklü partiküllerde partikül başına yüklenen ilaç miktarı artarak 3.20 olarak hesaplanmıştır.

İlaç miktarının değiştirilmesi taşıyıcı sistemlerden ortama salınan ilaç konstanrasyonunu da etkilemiştir. Çizelge 7.3' de pH 5.5 seviyesindeki PBS tamponu içerisinde farklı miktarlarda ilaç yüklü 1:2 kütle oranındaki hibrit kürelerin 48. saatin sonunda ortama saldıkları ilaç konsantrasyonları ppm olarak verilmiştir. Başlangıçta yüklenen ilaç miktarı arttıkça ortamda ölçülen ilaç miktarı da artmıştır.

**Çizelge 7. 3** farklı miktarlarda ilaç yüklü 1:2 kütle oranındaki hibrit kürelerin 48. saatin sonunda ortama saldıkları ilaç konsantrasyonları (pH= 5.5, T= 37°C, t= 2880.dk)

Partikül	İlaç miktarı (mg)	Ortama salınan ilaç konsantrasyonu (ppm)
1:2 ALJ – KTN Küre	35 mg	9.93 ppm
1:2 ALJ – KTN Küre	70 mg	12.04 ppm
1:2 ALJ – KTN Küre	100 mg	26.89 ppm

İlaç miktarı değiştirilen kompozit kürelerde en yüksek salım verimi 70 mg RSV yüklü kürelerde elde edildiğinden ilaç salımının matematiksel analizi bu kürelerde yapılmıştır. Bunun için elde edilen veriler Zero- order, First- order, Higuchi, Korsmeyer- Peppas ve Baker- Lonsdale salım modellerine yerleştirilmiştir. Çizelge 7.4' de uygulanan bu kinetik modellerin  $R^2$  değerleri verilmiştir.

**Çizelge 7. 4** farklı pH tamponlarındaki ilaç salımı kinetik modellerinin  $R^2$  değerleri

pH	Zero- order $R^2$	First- order $R^2$	Higuchi $R^2$	Korsmeyer- Peppas $R^2$	Baker- Lonsdale $R^2$
1.2	0.7643	0.87	0.9126	0.9964	0.7738
5.5	0.8436	0.9776	0.972	0.998	0.8541
6.8	0.8765	0.979	0.9701	0.9784	0.8993
7.4	0.7627	0.8734	0.9055	0.9513	0.782

$R^2$  değerleri incelendiğinde ilaç salımının Korsmeyer – Peppas kinetik modeline diğer kinetik modellere göre daha iyi uyum sağlamıştır. 1:2 kütle oranındaki RSV yüklü bu kürelerde gerçekleşen salım mekanizmasının uygulandığı Zero – order,

First – order, Higuchi ve Baker – Lonsdale kinetik modellerinden elde edilen  $R^2$  değerlerine göre kendi içlerinde tutarlılığı ve 1' e yakınlığı düşük olduğundan salım bu kinetik modellere uyum sağlamamıştır ve bu mekanizmalarla açıklanamaz.



## KAYNAKLAR

- [1] M. C. G. Pellá, M. K. Lima-Tenório, E. T. Tenório-Neto, M. R. Guilherme, E. C. Muniz, and A. F. Rubira, "Chitosan-based hydrogels: From preparation to biomedical applications," *Carbohydrate Polymers*, vol. 196, pp. 233-245, 2018/09/15/ **2018**.
- [2] M. E. Robson, C. D. Storm, J. Weitzel, D. S. Wollins, and K. Offit, "American Society of Clinical Oncology Policy Statement Update: Genetic and Genomic Testing for Cancer Susceptibility," *Journal of Clinical Oncology*, vol. 28, no. 5, pp. 893-901, **2010**.
- [3] Ş. İ. PAŞALAK and M. SEVEN, "Onkolojide Genetik Gelişmeler ve Hemşirenin Rollerine Etkisi Genetic Advances in Oncology and the Effects on Nursing Roles," *HEMŞİRELİKTE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA DERGİSİ*, pp. 212-217, **2017**.
- [4] R. L. Siegel, K. D. Miller, and A. Jemal, "Cancer statistics, 2015," *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, vol. 65, no. 1, pp. 5-29, **2015**.
- [5] S. A. A. Rizvi and A. M. Saleh, "Applications of nanoparticle systems in drug delivery technology," *Saudi Pharmaceutical Journal*, vol. 26, no. 1, pp. 64-70, 2018/01/01/ **2018**.
- [6] A. M. Wagner, D. S. Spencer, and N. A. Peppas, "Advanced architectures in the design of responsive polymers for cancer nanomedicine," (in English), *Journal of Applied Polymer Science, Review* vol. 135, no. 24, p. 17, Art. no. 46154, Jun **2018**.
- [7] T. Kutluk and A. Kars, *Kanser Konusunda Genel Bilgiler*. T.C. Sağlık Bakanlığı Kanser ve Savaş Daire Başkanlığı, **1992**.
- [8] Anonim, "What's to know about radiation therapy?," <https://www.medicalnewstoday.com/articles/158513.php> , (Mayıs, **2018**).
- [9] O. Baykara, "KANSER TEDAVİSİNDE GÜNCEL YAKLAŞIMLAR CURRENT MODALITIES IN TREATMENT OF CANCER," *BALIKESİR SAĞLIK BİLİMLERİ DERGİSİ / BALIKESİR HEALTH SCIENCES JOURNAL*, pp. 154-165, **2016**.

- [10] Anonim, "How Is Chemotherapy Used to Treat Cancer?," <https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects/treatment-types/chemotherapy/how-is-chemotherapy-used-to-treat-cancer.html>, (Mayıs, **2018**).
- [11] C. Del Gaudio et al., "Natural polymeric microspheres for modulated drug delivery," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 75, pp. 408-417, 2017/06/01/ **2017**.
- [12] M. A. Ward and T. K. Georgiou, "Thermoresponsive Polymers for Biomedical Applications," *Polymers*, vol. 3, no. 3, p. 1215, **2011**.
- [13] H. M. A. Ranade V.V., *Drug Delivery Systems*, Second Edition ed. CRC Press, **2003**.
- [14] M. Mahinroosta, Z. Jomeh Farsangi, A. Allahverdi, and Z. Shakoori, "Hydrogels as intelligent materials: A brief review of synthesis, properties and applications," *Materials Today Chemistry*, vol. 8, pp. 42-55, 2018/06/01/ **2018**.
- [15] T. Niaz, H. Nasir, S. Shabbir, A. Rehman, and M. Imran, "Polyionic hybrid nano-engineered systems comprising alginate and chitosan for antihypertensive therapeutics," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 91, pp. 180-187, 2016/10/01/ **2016**.
- [16] K. Yu et al., "Copper ion adsorption by chitosan nanoparticles and alginate microparticles for water purification applications," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 425, pp. 31-41, 2013/05/20/ **2013**.
- [17] A. Ali and S. Ahmed, "A review on chitosan and its nanocomposites in drug delivery," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 109, pp. 273-286, 2018/04/01/ **2018**.
- [18] M. Dash, F. Chiellini, R. M. Ottenbrite, and E. Chiellini, "Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications," *Progress in Polymer Science*, vol. 36, no. 8, pp. 981-1014, 2011/08/01/ **2011**.
- [19] D. Tahtat, M. Mahlous, S. Benamer, A. N. Khodja, H. Oussedik-Oumehdi, and F. Laraba-Djebari, "Oral delivery of insulin from alginate/chitosan

- crosslinked by glutaraldehyde," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 58, pp. 160-168, 2013/07/01/ **2013**.
- [20] S. N. Pawar and K. J. Edgar, "Alginate derivatization: A review of chemistry, properties and applications," *Biomaterials*, vol. 33, no. 11, pp. 3279-3305, 2012/04/01/ **2012**.
- [21] S. Afzal, M. Maswal, and A. A. Dar, "Rheological Behavior of pH responsive Composite Hydrogels of Chitosan and Alginate: Characterization and its use in Encapsulation of Citral," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **2018**.
- [22] J. Gambini et al., "Properties of Resveratrol: In Vitro and In Vivo Studies about Metabolism, Bioavailability, and Biological Effects in Animal Models and Humans," *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol. 2015, p. 13, Art. no. 837042, **2015**.
- [23] I. A. Siddiqui, V. Sanna, N. Ahmad, M. Sechi, and H. Mukhtar, "Resveratrol nanoformulation for cancer prevention and therapy," *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 1348, no. 1, pp. 20-31, **2017**.
- [24] İ. K. Mustafa Evren\*, "Resveratrol ve Sağlık Üzerine Etkisi " Türkiye 10. Gıda Kongresi;Erzurum, 21-23 Mayıs **2008**.
- [25] G. Davidov-Pardo and D. J. McClements, "Resveratrol encapsulation: Designing delivery systems to overcome solubility, stability and bioavailability issues," *Trends in Food Science & Technology*, vol. 38, no. 2, pp. 88-103, 2014/08/01/ **2014**.
- [26] H. Peng et al., "Vanillin cross-linked chitosan microspheres for controlled release of resveratrol," *Food Chemistry*, vol. 121, no. 1, pp. 23-28, 2010/07/01/ **2010**.
- [27] S. Das, K.-Y. Ng, and P. C. Ho, "Formulation and Optimization of Zinc-Pectinate Beads for the Controlled Delivery of Resveratrol," *AAPS PharmSciTech*, journal article vol. 11, no. 2, pp. 729-742, June 01 **2010**.
- [28] J. Shao et al., "Enhanced growth inhibition effect of Resveratrol incorporated into biodegradable nanoparticles against glioma cells is mediated by the induction of intracellular reactive oxygen species levels," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 72, no. 1, pp. 40-47, 2009/08/01/ **2009**.



- [29] K. Teskač and J. Kristl, "The evidence for solid lipid nanoparticles mediated cell uptake of resveratrol," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 390, no. 1, pp. 61-69, 2010/05/05/ **2010**.
- [30] C. Caddeo, K. Teskač, C. Sinico, and J. Kristl, "Effect of resveratrol incorporated in liposomes on proliferation and UV-B protection of cells," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 363, no. 1, pp. 183-191, 2008/11/03/ **2008**.
- [31] E. H. Gokce, E. Korkmaz, E. Dellera, G. Sandri, M. C. Bonferoni, and O. Ozer, "Resveratrol-loaded solid lipid nanoparticles versus nanostructured lipid carriers: evaluation of antioxidant potential for dermal applications," *International Journal of Nanomedicine*, vol. 7, pp. 1841-1850, 04/11 **2012**.
- [32] L. Bu et al., "Trans-resveratrol loaded chitosan nanoparticles modified with biotin and avidin to target hepatic carcinoma," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 452, no. 1, pp. 355-362, 2013/08/16/ **2013**.
- [33] Y. Zu et al., "Preparation and in vitro/in vivo evaluation of resveratrol-loaded carboxymethyl chitosan nanoparticles," *Drug Delivery*, vol. 23, no. 3, pp. 971-981, 2016/03/23 **2016**.
- [34] V. Sanna et al., "Development of novel cationic chitosan-and anionic alginate-coated poly(d,l-lactide-co-glycolide) nanoparticles for controlled release and light protection of resveratrol," *International Journal of Nanomedicine*, vol. 7, pp. 5501-5516, 10/17 **2012**.
- [35] S. Dash, P. N. Murthy, L. Nath, and P. Chowdhury, "Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems," (in eng), *Acta Pol Pharm*, vol. 67, no. 3, pp. 217-23, May-Jun **2010**.
- [36] L. Serra, J. Doménech, and N. A. Peppas, "Engineering design and molecular dynamics of mucoadhesive drug delivery systems as targeting agents," *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 71, no. 3, pp. 519-528, 2009/03/01/ **2009**.
- [37] R. V. K. Hina Kouser Shaikh, S. G. Patil, "MATHEMATICAL MODELS FOR DRUG RELEASE CHARACTERIZATION: A REVIEW," *WORLD JOURNAL*

OF PHARMACY AND PHARMACEUTICAL SCIENCES, Review vol. 4, no. 04, pp. 324-338, **2015**.

- [38] H. Jeong et al., "Resveratrol cross-linked chitosan loaded with phospholipid for controlled release and antioxidant activity," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 93, pp. 757-766, 2016/12/01/ **2016**.
- [39] M. T. Cook, G. Tzortzis, D. Charalampopoulos, and V. V. Khutoryanskiy, "Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery," *Journal of Controlled Release*, vol. 162, no. 1, pp. 56-67, 2012/08/20/ **2012**.
- [40] M. Ji, Q. Li, H. Ji, and H. Lou, "Investigation of the distribution and season regularity of resveratrol in *Vitis amurensis* via HPLC–DAD–MS/MS," *Food Chemistry*, vol. 142, pp. 61-65, 2014/01/01/ **2014**.
- [41] K. Suktham, T. Koobkokkruad, T. Wutikhun, and S. Surassmo, "Efficiency of resveratrol-loaded sericin nanoparticles: Promising bionanocarriers for drug delivery," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 537, no. 1, pp. 48-56, 2018/02/15/ **2018**.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı : Ayşe Burcu NAZLI  
Doğum Yeri : Ankara  
Medeni Hali : Bekar  
E-posta : brcnazli@gmail.com  
Adresi : Yıldızevler Mahallesi Cezayir Caddesi Tuna Apt. 5/11  
Çankaya / ANKARA

### Eğitim

Ortaokul : 1997 - 2005 Halide Edip Adıvar İlköğretim Okulu  
ÇANKAYA / ANKARA  
Lise : 2005 - 2009 Bahçelievler Deneme Lisesi  
ÇANKAYA / ANKARA  
Lisans : 2009 – 2013 Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji  
Bölümü ANKARA

### Yabancı Dil ve Düzeyi

İngilizce: İleri Düzey

### İş Deneyimi

Stajyer Biyolog / Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Ulusal Moleküler Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarı (Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitüsü) Ankara - 07.2013

Biyoloji Öğretmenliği Staj / Yıldırım Beyazıt Anadolu Lisesi Ankara 05.2014 – 06.2014

Biyolog / İntergen Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi Ankara 10.2014 - 02.2015

Biyolog / Ertunç Özcan Ankara 01.06.2017 –

**Deneyim Alanları**

Moleküler mikrobiyoloji, Moleküler biyoloji ve genetik, Genetik hastalıklar, Biyomedikal, Yoğun bakım biyomedikal ürünleri

**Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi**

-

**Tezden Üretilmiş Yayınlar**

-

**Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar**

-





HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ  
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA

Tarih: 07/06/2018

Tez Başlığı / Konusu: KANSER TEDAVİSİNDE KULLANILAN RESVERATROLÜN İLAÇ TAŞIYICI SİSTEM OLARAK KİTOSAN-ALJİNAT KOMPOZİT BİYOJELERE YÜKLENMESİ VE SALIMININ İNCELENMESİ  
Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Giriş, c) Ana bölümler d) Sonuç kısımlarından oluşan toplam 123 sayfalık kısmına ilişkin, 07/06/2018 tarihinde tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 5 'tir.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kaynakça hariç
- 2- Alıntılar hariç
- 3- 5 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Çalışması Orjinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

07/06/2018

Tarih ve İmza

Adı Soyadı: Ayşe Burcu NAZLI  
Öğrenci No: N14226181  
Anabilim Dalı: Biyomühendislik Anabilim Dalı  
Programı: Biyomühendislik  
Statüsü:  Y.Lisans  Doktora  Bütünleşik Dr.

**DANIŞMAN ONAYI**

UYGUNDUR.

Prof. Dr. Yeşim SAĞ AÇIKEL

(Unvan, Ad Soyad, İmza)