

**YALOVA ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİTOSAN ESASLI YENİ DOĞAL HİDROJELLERİN SENTEZİ VE İLAÇ  
SALINIM SİSTEMİ UYGULAMALARINDA KULLANIMI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Merve ÜNAL**

**Polimer Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Polimer Mühendisliği Programı**

**EKİM 2016**



**YALOVA ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİTOSAN ESASLI YENİ DOĞAL HİDROJELLERİN SENTEZİ VE İLAÇ  
SALINIM SİSTEMİ UYGULAMALARINDA KULLANIMI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Merve ÜNAL  
145101024**

**Polimer Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Polimer Mühendisliği Programı**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Demet AYDINOĞLU**

**EKİM 2016**



YALOVA Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 145101024 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi **Merve ÜNAL** ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "**KİTOSAN ESASLI YENİ DOĞAL HİDROJELLERİN SENTEZİ VE İLAÇ SALINIM SİSTEMİ UYGULAMALARINDA KULLANIMI**" başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

**Tez Danışmanı :** **Doç. Dr. Demet AYDINOĞLU**  
Yalova Üniversitesi



**Jüri Üyeleri :** **Doç. Dr. Demet AYDINOĞLU**  
Yalova Üniversitesi



**Prof. Dr. Sinan ŞEN**  
Yalova Üniversitesi



**Yrd. Doç. Dr. Yeşim Müge ŞAHİN**  
İstanbul Arel Üniversitesi



**Teslim Tarihi :** **30 Ağustos 2016**  
**Savunma Tarihi :** **18 Ekim 2016**





**CANIM AILEME,**





## ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimim boyunca ve araştırmamın her aşamasında bilgisini, tecrübesini, zamanını ve desteğini esirgemeyen değerli tez danışmanım Doç. Dr. Demet Aydınolu'na,

Araştırmama katkı sağlayan başta Prof. Dr. Sinan Şen olmak üzere bütün Hocalarım'a,

Teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

Bu çalışma;

Hayatımın her döneminde varlıklarından her zaman gurur duyduğum sevgi, hoşgörü ve maddi manevi desteklerini esirgemedен sunan değerli aileme, başta sevgili babam ve annem olmak üzere tüm kardeşlerime ithaf edilmiştir.

Saygılarımla...

Ekim 2016

Merve ÜNAL  
Polimer Mühendisi



## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>vii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>ix</b>
<b>KISALTMALAR</b> .....	<b>xi</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....	<b>xiii</b>
<b>ÇİZELGE LİSTESİ</b> .....	<b>xv</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>xvii</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>xix</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1. Tezin Amacı.....	3
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>5</b>
2.1. Hidrojeller .....	5
2.1.1. Çapraz Bağ Yapılarına göre Hidrojeller: .....	6
2.1.2. Kaynağına göre Hidrojeller: .....	8
2.1.3. Çevreye Karşı Duyarlı Hidrojeller: .....	8
2.1.3.1. Sıcaklığa Duyarlı Hidrojeller: .....	9
2.1.3.2. pH'a Duyarlı Hidrojeller: .....	12
2.2. Hidrojellerin Genel Özellikleri: .....	14
2.2.1. Şişme Özellikleri ve Şişme Karakteristikleri .....	14
2.2.2. Hidrojellerin Mekanik Özellikleri .....	20
2.2.3. Hidrojellerin Morfolojik Özellikleri .....	21
2.3. Kitosan Bazlı Hidrojeller: .....	22
2.4. Spirulina Mikroalgi: .....	25
2.5. Kontrollü İlaç Salınım Sistemleri .....	26
2.5.1. Kontrollü İlaç Salınım Sistemlerinin Sınıflandırılması: .....	28
2.5.1.1. Difüzyon Kontrollü Sistemler: .....	28
2.5.1.2. Kimyasal Kontrollü Sistemler: .....	29
2.5.1.3. Çözücünün Harekete Geçirdiği Sistemler: .....	30
2.5.2. Hidrojellerin İlaç Salınımında Kullanılması .....	32
2.5.2.1. Kitosan Hidrojellerinin İlaç Salınımında Kullanımı: .....	35
<b>3. DENEYSEL YÖNTEM</b> .....	<b>37</b>
3.1. Deneyde Kullanılan Malzemeler .....	37
3.2. Çapraz Bağlı Kitosan Hidrojellerinin Hazırlanması .....	37

3.3. Kitosan Hidrojellerinin Suda ve Farklı pH Değerlerindeki Şişme Testleri: ...	39
3.4. Kitosan Hidrojellerine İlaç Yüklenmesi: .....	39
3.5. Kitosan Hidrojellerinin İlaç Salınım Denemeleri: .....	40
3.6. Suda Şişmiş Kitosan Hidrojellerinin Mekanik Testleri: .....	40
3.7. Kitosan Hidrojellerinin İlaçlı ve İlaçsız Formdaki Morfolojik Analizleri: .....	41
<b>4. SONUÇ VE TARTIŞMALAR .....</b>	<b>43</b>
4.1. Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Morfolojik Yapısı: .....	43
4.2. Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Şişme Davranışları: .....	46
4.3. Kitosan-Spirulina Hidrojeline 5- FU İlaç Etken Maddesinin Yüklenmesi: ....	52
4.4. İlaç Yüklenmiş Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Morfolojik Yapısı: .....	53
4.5. İlaç Etken Maddesi 5-FU Yüklenmiş Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin İlaç Salınım Davranışları: .....	55
4.6. Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Mekanik Özellikleri: .....	62
<b>5. SONUÇLAR .....</b>	<b>65</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>67</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>75</b>

## **KISALTMALAR**

**5-FU:** 5-Fluorourasil

**BMA:** Butilmetakrilat

**Ch:** Kitosan

**Gnp:** Genipin

**Sp:** Spirulina

**HEMA:** Hidroksietil metakrilat

**HPMA:** N-(2-hidroksipropil) metakrilat

**IPN:** iç içe geçmiş ağyapı

**LCST:** Alt kritik çözünme sıcaklığı

**UCST:** Üst kritik çözünme sıcaklığı

**MMA:** Metakrilik asit

**NIPA:** N-izopropil akrilamit

**NVP:** N-vinil-2-pirolidon

**PAAc:** poli(akrilik asit)

**PEO:** poli(etilen oksit)

**PPO:** poli(propilen oksit)

**PNIPA:** poli(N-izopropil akrilamit)

**SEM:** Taramalı elektron mikroskopu

**VAc:** Vinil asetat



## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

<b>Şekil 2.1:</b> Jelin Su içersinde Şişmesi Esnasında Jeldeki Makroskopik ve Mikroskopik Değişimi .....	5
<b>Şekil 2.2:</b> Fiziksel Çapraz Bağlı Hidrojeller; (A) Heliks oluşumu ile meydana gelen fiziksel çapraz bağlı hidrojeller, (B) İyonik etkileşim ile meydana gelen fiziksel çapraz bağlı jeller, (C) İyonik etkileşim ile oluşan poliyon kompleks hidrojeller, (D) Hidrojen bağı ile jel meydana oluşumu, (E) Mikrokristal yapıların ile oluşan fiziksel çapraz bağlı jeller .....	6
<b>Şekil 2.3:</b> Kondenzasyon Polimerizasyonu ile Kimyasal Hidrojel Elde Edilmesi.....	7
<b>Şekil 2.4:</b> Katılma Polimerizasyonu ile Kimyasal Hidrojel Elde Edilmesi .....	7
<b>Şekil 2.5:</b> Sıcaklığa Duyarlı Jellerin Şişme Grafiği .....	10
<b>Şekil 2.6:</b> Uyarana Duyarlı Hidrojellerin Sol- Jel Geçiş Gösterimi .....	11
<b>Şekil 2.7:</b> Uyarana Duyarlı Hidrojellerin Mikroskobik Sol- Jel Geçiş Gösterimi .....	11
<b>Şekil 2.8:</b> pH-Duyarlı Akıllı Polimerlerinin Sentezinde Kullanılan Monomerler A) Akrilik asit B) Metil akrilik asit C) Etil akrilik asit D) Propil akrilik asit E) Bütil akrilik asit F) Sülfonik asit .....	12
<b>Şekil 2.9:</b> pH-Duyarlı Akıllı Katyonik Polimerlerin Hazırlanmasında Kullanılan Kimyasal Yapılar A) N,N'- dimetilaminoetil metakrilat, B) N,N'- dietilaminoetil metakrilat, ve C) Vinil amin monomerleri.....	13
<b>Şekil 2.10:</b> Ortam pH'ına göre Akrilik Asit ve Sekonder Aminin İyonlaşması . .....	13
<b>Şekil 2.11:</b> pH'a Duyarlı Olarak Şişme Davranışı Gösteren Hidrojellerin Şişme Grafiği.....	14
<b>Şekil 2.12:</b> Şişmiş Bir Hidrojeldeki Suyun Konumları .....	15
<b>Şekil 2.13:</b> Jel İçindeki Fonksiyonel Grupların Birbirleriyle Etkileşimi.....	16
<b>Şekil 2.14:</b> Hidrojellerin Mekanik Sıkıştırma Testi .....	21
<b>Şekil 2.15:</b> Tipik Bir Hidrojelin SEM Görüntüsü .....	22
<b>Şekil 2.16:</b> Kitosanın Kimyasal Yapısı.....	23
<b>Şekil 2.17:</b> Kitin Deasetilasyonu ile Kitosanın Meydana Gelmesi .....	23
<b>Şekil 2.18:</b> Kitosan Polimerinin Fiziksel Etkileşimlerle Oluşturduğu Çapraz Bağlanmalara Örnekler .....	24
<b>Şekil 2.19:</b> Genipinin Kimyasal Formülü .....	24
<b>Şekil 2.20:</b> Spirulinanın Mikroskobik Görüntüsü .....	25
<b>Şekil 2.21:</b> Spirulina Mikroalginde Bulunan Kimyasalların Yüzdeleri .....	25
<b>Şekil 2.22:</b> Klasik İlaç uygulamaları İle Kontrollü Salım Sistemleri Uygulanmasının Kandaki İlaç Seviyesinin Zamana Bağlı Değişiminin Karşılaştırılması .	27

<b>Şekil 2.23:</b> Difüzyon Kontrollü Membran Sistemlerin Şematik Görünümü .....	28
<b>Şekil 2.24:</b> Difüzyon Kontrollü Matris Sistemlerin Şematik Görünüm.....	29
<b>Şekil 2.25:</b> Vücutta Aşınan Sistemlerin Şematik Gösterimi .....	29
<b>Şekil 2.26:</b> Zincire Takılı Sistemlerin Şematik Görünümü .....	30
<b>Şekil 2.27:</b> Şişme Kontrollü Sistemlerin Şematik Görünümü .....	30
<b>Şekil 2.28:</b> Çevreye Duyarlı Hidrojellerin Şişme-Büzülme Davranışı .....	33
<b>Şekil 2.29:</b> Osmotik Kontrollü Sistemlerin Şematik Görünümü .....	31
<b>Şekil 2.30:</b> İlacın Çapraz Bağlanmadan Önce ve Sonra Hidrojelerle Yüklenmesi ve Kimyasal Bağ ile Hidrojelerle Bağlanması Şeklinde Elde Edilen İlaç Salınım Sistemlerinin Çeşitli Bakımlardan Karşılaştırılması .....	34
<b>Şekil 3.1:</b> Çapraz Bağlı Kitosan-Spirulina Jellerinin Hazırlanmasının Şematik Gösterimi.....	37
<b>Şekil 3.2:</b> Genipinin Kitosanı Çapraz Bağlama Reaksiyon Mekanizması .....	38
<b>Şekil 3.3:</b> 5-Fluorocil'in Kimyasal Yapısı .....	39
<b>Şekil 4.1:</b> Kitosan ve Kitosan-spirulina hidrojellerinin iç yüzey morfolojilerinin düşük magnifikasyonlarındaki SEM görüntüsü: (A) Ch-Gnp, (B) Ch-Gnp-1,5Sp, (C) Ch-Gnp-4,5Sp.....	43
<b>Şekil 4.2:</b> Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Spirulina Bölgelerinin SEM Görüntüsü; (A) Ch-Gnp-1.5Sp, (B) Ch-Gnp-3Sp, (C) Ch-Gnp-4.5Sp.....	45
<b>Şekil 4.3:</b> Kitosan ve Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Farklı Ortamlarda Zamana Bağlı Şişme Eğrileri: (A) distile suda, (B) pH:2 ortamında, (C) pH:7,4 ortamında .....	48
<b>Şekil 4.4:</b> Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Şişme Davranışlarına Fick Yasasının Uygulanması; (A) Distile suda, (B) pH:2 ortamında, (C)pH:7,4 ortamında. .50	
<b>Şekil 4.5:</b> Farklı Oranda Spirulina İçeren Kitosan Hidrojellerinin Şişme Kinetik İlişkileri. ....	51
<b>Şekil 4.6:</b> İlaç Yüklenmiş Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin SEM Görüntüleri; (A)Ch-Gnp-1.Sp, (B) Ch-Gnp-3Sp, (C) Ch-Gnp-4.5Sp.....	54
<b>Şekil 4.7:</b> 65 ppm'de İlaç Yüklenmiş Kitosan-Spirulina Hidrojellerin Zamana Bağlı İlaç Salım Miktarları: (A) pH:2, (B) pH:7,4 'te. ....	56
<b>Şekil 4.8:</b> 130 ppm'de İlaç Yüklenmiş Kitosan-Spirulina Hidrojellerin Zamana Bağlı İlaç Salım Miktarları: (A) pH:2, (B) pH:7,4'te. ....	57
<b>Şekil 4.9:</b> 65 ppm'de İlaç Yükleme Yapılmış Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Şişme Davranışlarına Fick Yasasının Uygulanması: (A) pH:2, (B) pH:7,4...59	
<b>Şekil 4.10:</b> 130 ppm'de İlaç Yükleme Yapılmış Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Şişme Davranışlarına Fick Yasasının Uygulanması: (A) pH:2, (B) pH:7,4. ....	60
<b>Şekil 4.11:</b> Suda Şişmiş Jellerin Mekanik Özellikleri.....	63



## ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
<b>Çizelge 2.1:</b> Hidrojel Üretiminde Kullanılan Doğal Polimerler ve Sentetik Monomerler.....	8
<b>Çizelge 2.2:</b> Sıcaklığa Duyarlı Çeşitli Polimerlerin Alt Kritik Çözünme Sıcaklıkları (LSCT).....	9
<b>Çizelge 2.3:</b> Difüzyon Mekanizması ile “n” Değeri Arasındaki İlişki. ....	19
<b>Çizelge 2.4:</b> Gözenekli Hidrojellerin Gözenek Çap Aralıkları. ....	21
<b>Çizelge 2.5:</b> Spirulina Mikrolaginin Yapısında Bulunan Başlıca Kimyasallar .....	26
<b>Çizelge 2.6:</b> İlaç Salınımında Uyarılara Duyarlı Hidrojeller .....	32
<b>Çizelge 4.1:</b> Kitosan ve Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Distile Suda, pH:2 ve pH:7,4'teki Şişme Kinetik Parametreleri.....	49
<b>Çizelge 4.2:</b> Kitosan ve Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin 65 ve 130 ppm 5-FU Çözeltisindeki Yükleme Sonuçları. ....	52
<b>Çizelge 4.3:</b> Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin pH:2 ve pH:7,4'teki Kümülatif % İlaç Salım Değerleri. ....	58
<b>Çizelge 4.4:</b> 65 ppm'de İlaç Yüklenmiş Kitosan ve Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Distile Suda, pH:2 ve pH:7,4'teki Şişme Kinetik Parametreleri.....	61
<b>Çizelge 4.5:</b> 130 ppm'de İlaç Yüklenmiş Kitosan ve Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Distile Suda, pH:2 ve pH:7,4'teki Şişme Kinetik Parametreleri. ....	61
<b>Çizelge 4.6:</b> Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Su ve 5-FU Çözeltisinde Şişmiş Durumdaki Sıkıştırma Kuvveti ve Sıkıştırma Modül Değerleri. ....	63



## KİTOSAN ESASLI YENİ DOĞAL HİDROJELLERİN SENTEZİ VE İLAÇ SALINIM SİSTEMİ UYGULAMALARINDA KULLANIMI

### ÖZET

Hidrojeller yüksek miktarlarda su veya biyolojik sıvıları absorplayabilen, fiziksel veya kimyasal bağlarla çapraz bağlanmış yapılardır. Hidrofilik polimer zincirlerinden oluşan üç boyutlu ağ yapısına sahiptirler. Ağ yapısı, homopolimer ya da kopolimerlerden oluşabilmektedir. Hidrojeller yapılarında bulunan çapraz bağlar sebebiyle suda çözünmez, ancak hidrofilik polimerlerin etkisiyle şişme eğilimi gösterirler. Hidrojellerin önemli bir kullanım alanı olan etken madde salınımı genel olarak hidrojellerin şişme prosesi ile ilgili olup, şişme oranına ve çapraz bağ yoğunluğuna bağlıdır. Şişme oranının yüksek olduğu hidrojel taşıyıcı sistemlerinden fizyolojik ortamlarda ilaç etken madde salınımı daha çok ve daha hızlı bir şekilde gerçekleşmektedir.

Hidrojellerin ilaç salınım materyali olarak kullanımıyla ilgili yapılan çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Ancak bu çalışmalardaki sonuçları iyileştirmek ve mevcut yan etkileri ortadan kaldırmak adına her gün bu çalışmalara yenileri eklenmektedir. Hidrojellerin ilaç salınım materyali olarak kullanımı ile ilgili en çok çalışılan hidrojellerin başında hiç kuşkusuz doğal bir polimer olan kitosan hidrojelleri gelmektedir. Ancak mevcut çalışmalar incelendiğinde bunların pek çoğunun fiziksel çapraz bağlı-ki hidrojel mukavemetini olumsuz yönde etkiler, dayanıklılığı azaltır-ya da toksik etkiye sahip glüteraldehit ile kovalent bağlı kitosan hidrojellerinin kullanıldığı göze çarpmaktadır.

Sunulan bu çalışmada son yıllarda özellikle biyolojik amaçlı kullanıma uygun, kitosan zincirlerinin kovalent çapraz bağlanmasını sağlayan “genipin” çapraz bağlayıcısı kullanılarak hem kovalent bağlı hidrojeller hazırlanmış, hem de glüteraldehitin toksik etkisi bertaraf edilmiştir. Diğer taraftan hidrojel yapısı içine bir mikroalg türü olan “spirulina” immobilize edilerek hidrojellerin şişme oranları dolayısıyla ilaç salınım hızlarının değiştirilmesi amaçlanmıştır. Bu tez kapsamında ilk kez bir seri değişen spirulina oranlarına sahip genipin çapraz bağlı tamamen doğal kitosan hidrojelleri sentezlenmiştir. Hidrojellerin morfolojik yapısı ve mekanik özellikleri sırasıyla SEM analizleri ve sıkıştırma testleri ile karakterize edilmiş olup, distile su ve pH:2 ve7,4'teki gerek şişme gerekse kanser ilaçlarının bileşiminde bulunan 5-fluorourasil (5-FU) ilaç etken maddesinin salınım özellikleri araştırılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Hidrojel, kitosan, genipin, spirulina, 5-fluorourasil.



# **SYNTHESIS OF A NEW NATURAL CHITOSAN BASED HYDROGEL AND ITS USAGE IN DRUG DELIVERY APPLICATIONS**

## **SUMMARY**

Hydrogels which have ability to absorb high amount of water and physiological fluids are physically and chemically crosslinked structures. They have three dimensional network system formed from hydrophilic polymer chains. The network structure can occur from homopolymers or copolymers. Hydrogels do not dissolve in water due to their crosslinks but tend to swell owing to hydrophilic groups. The drug delivery which is one of the important application areas of hydrogels is related to swelling process and it depends on swelling ratios and crosslink density of hydrogels. Hydrogel carrier systems having high swelling degree perform drug delivery more and faster than the other systems.

There are a number of studies about drug delivery applications of hydrogels. However, everyday new searches are added to them to improve results and to eliminate present side effects. The most studied hydrogels in the subject of drug delivery applications are natural chitosan based hydrogels. Nevertheless, most of present studies about chitosan hydrogels consist of physical crosslinks, which are not stable and cause to lessen mechanical strength of hydrogels or crosslinker gluteraldehyde, which has toxic effect.

In this study, covalently crosslinked chitosan hydrogels with genipin, which has natural structure and can be used for biological purpose, were prepared. Thus, stable and strong hydrogels were obtained by natural genipin compound unlike mostly used gluteraldehyde thus eliminating undesired toxic effect. On the other hand it was aimed to change the swelling degrees and also drug delivery rates with incorporation of spirulina, which is a kind of microalg, compared to present drug delivery system. With this aim, the natural genipin crosslinked chitosan hydrogels having varied spirulina content were prepared. The morphological structure and mechanical properties of the hydrogels were characterized with SEM analysis and compression tests, respectively. In addition, the swelling degrees and 5-fluorouracil, which is present in the cancer treatment medicines, delivery properties were investigated in pH:2 and pH:7,4 media.

**Keywords:** Hydrogels, chitosan, genipin, spirulina, 5-fluorouracil.



## 1. GİRİŞ

Hidrojeller, suda çözünen polimerlerin çapraz bağlanması sonucu oluşan üç boyutlu ağ yapılarıdır. Yapısını oluşturan hidrofilik polimerler sayesinde su içine konulduklarında kendi ağırlığının yüzlerce katı kadar su absorplarlar. Hidrojellerin bu yüksek derecede su absorplama kapasiteleri, onların tıptan gıdaya, tarımdan kozmetiğe kadar geniş bir yelpazede kullanımlarına olanak sunar.

Hidrojellerin fizyolojik ortamlarda şişmesi ve biyouyumlu yapısı sayesinde belki de en önemli kullanım alanlarını biyomedikal uygulamalar oluşturur. Bu uygulamalara örnek olarak şu anda ticari üretimlerinin de söz konusu olduğu yara örtücü materyal, hijyenik ürünler, ilaç salınım sistemleri, yapay organlar ve dental materyallerin hazırlanması verilebilir [1].

Hidrojellerin şişme derecelerinin ayarlanabilir olması ve farklı fiziksel şartlarda farklı değerler alması, onların kontrollü ilaç salınım uygulamalarında kullanılabilen eşsiz bir malzeme olmalarını sağlamıştır [2].

Uygun bir hidrojel tasarımı ile, pek çok ilaç ve biyomolekül vücut içinde hedeflenen etkin bir bölgeye önceden belirlenmiş oranda ve zaman aralıklarında başarıyla gönderilebilir. Bu sayede ilaçların klasik yollarla vücuda verilmesinin oluşturacağı birçok yan etki bertaraf edilmiş olur. Bu konuda özellikle uyarıya cevap veren akıllı hidrojellerden yararlanır.

Bu tip hidrojeller, konuldukları ortamın pH, sıcaklık, iyonik kuvvet ve enzim gibi çeşitli fiziksel ve kimyasal özelliklerine bağlı olarak şişme veya büzülme davranışı gösteren hidrojellerdir. Sözü edilen bu davranışta jelin bileşimi önemli rol oynar. Örneğin yapısında zayıf asidik grup taşıyan hidrojeller pH'a göre şişme gösterirken (pH'a duyarlı hidrojeller), hidrofobik gruplar taşıyan hidrojeller sıcaklığa göre şişme davranışı (sıcaklığa duyarlı jeller) gösterir [3-5].

Diğer taraftan, doğaldır ki; ilaç salınım materyali olarak hazırlanacak bir hidrojinin vücuda herhangi bir toksik etkisi olmaması gerekir. Bu bakımdan kimyasal bir çapraz bağlayıcıya ve herhangi bir kimyasal modifikasyona gereksinim duyulmaması nedeniyle daha çok fiziksel çapraz bağlı ağ yapıların tercihi söz konusudur. Fakat bu hidrojinlerin yapısı gereği jelleşme süresi, ağ yapının gözenek boyutu, degradasyon süresi gibi değişkenlerinin belirlenmesindeki zorluk, bu tip jellerin ilaç salınım materyali olarak tasarlanmasında sınırlayıcı bir etken olarak karşımıza çıkmaktadır [6]. Buna ek olarak fiziksel çapraz bağlı hidrojinlerin düşük şişme dereceleri ve sık sık karşılaşılan şişme sonunda dağılma durumları da ayrı dezavantaj noktalarıdır. Tersine, kovalent çapraz bağlı hidrojinlerde dağılma gibi bir durum söz konusu olmamakta, jelin gözenek boyutu ve kimyasal yapısına bağlı olarak yüksek şişme değerleri elde edilebilmektedir. Ancak bu hidrojinlerde kullanılan ve jelleşme sonunda reaksiyona girmeden kalan, kalıntı çapraz bağlayıcının potansiyel toksisitesi de kimyasal çapraz bağlı jellerin kullanımı için önemli bir problem oluşturmaktadır.

Yapısı gereği yukarıda sözü edilen çeşitli avantaj ve dezavantajlara sahip jellerle ilgili özellikle ilaç salınım materyali olarak özelliklerinin araştırıldığı çok sayıda çalışma mevcuttur ve her geçen gün bunlara yenileri eklenmektedir. Bu çalışmalarda ağırlıklı olarak çeşitli jel yapıları tasarlanmakta, ilaç- hidrojel etkileşimi incelenmekte ve ilaç etken maddelerinin hedeflenen bölgeye istenilen oranda gönderilmesi amaçlanmaktadır. Çalışmaların büyük bir kısmını pH'a duyarlı poli(akrilik asit) (PAAc) ve PAAc bazlı hidrojinler ile sıcaklığa duyarlı poli(N-izopropilakrilamid) (PNIPA) ve PNIPA bazlı hidrojinler oluşturmaktadır [7-13].

Bununla birlikte özellikle son yıllarda doğal polimerlerden (kitosan, aljinat, jelatin, nişasta vb.) elde edilen hidrojinlerin bu alanda kullanımları dikkat çekmekte, toksik etkiye sahip olmamaları nedeniyle yoğun araştırma konusu olmaktadır. Bunların içinde kitosan, toksik olmayan etkisinin yanısıra, biyobozunur ve steril edilebilir yapısı nedeniyle özellikle biyomedikal ve biyoteknolojik uygulamalar için tercih edilen bir materyaldir [14,15].



Literatürde kitosan bazlı hidrojellerin protein gibi çeşitli makromoleküllerin ve yanısıra çeşitli ilaç etken maddelerinin salınımlarının araştırıldığı çeşitli çalışmalar mevcuttur. Bunların içinden özellikle doğal bir çapraz bağlayıcı olan genipin ile çapraz bağlı kitosan hidrojelleri, tamamen doğal kovalent çapraz bağlı yapısı nedeniyle pekçok avantaja sahip olmakta ve bundan dolayı ilgi çekmektedir [16-19].

Sunulan bu çalışmada, sözü edilen genipin çapraz bağlı kitosan hidrojelleri bir mikroalg türü olan Spirulina varlığında sentezlenmiş, spirulinanın jelin morfolojisine dolayısıyla ilaç salınım karakteristiklerine olan etkisi araştırılmıştır. Diğer taraftan protein deposu olarak lanse edilen ve gıda takviyesi olarak kullanılan spirulinanın vücut bağışıklık sistemini güçlendirdiği ve kanser tedavilerinden biri olan kemoterapinin yan etkilerinin azaltılmasında rol oynadığı literatürden bilinmektedir [20].

Bu anlamda sentezlenen bu hidrojeller kanser ilaçlarından biri olan ve çeşitli kanser tedavilerinde kullanılan 5-fluorourasil (5-FU) etken maddesinin salınımı için denenmiş, bu şekilde jel yapısı içinde bulunan spirulinanın jelin bileşimindeki miktarı sistematik olarak değiştirilerek jel bileşimi, morfolojisi, mekanik mukavemeti ile ilaç salınımı özellikleri arasındaki ilişki araştırılmıştır.

### **1.1. Tezin Amacı**

Literatürde genipin çapraz bağlı kitosan jellerinin ilaç salınım materyali olarak özelliklerinin incelendiği çeşitli çalışmalar mevcuttur. Bunların bir çoğunda ilaç etken maddesi hidrojel sentezi sırasında sentez ortamında bulundurulmuş olarak jel içine hapsedilmiş olur. Diğer kısım çalışmalarda ise ilk olarak çapraz bağlı jel elde edilip, jel ilaç çözeltisi içine konularak ilaç etken maddesinin jel içine absorbe olması sağlanır. Her 2 yöntemin de avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Örneğin sözü edilen ilk yöntemde etken maddenin fonksiyonel grupları polimer sentezinden etkilenebilmekte, polimerizasyonun inhibe olmasına, stabilitesinin bozulmasına ve reaksiyona girmeyen monomerlerin in vivo toksisitelerine sebep olabilmektedir. İkinci yöntemde ise en büyük dezavantaj ilacın jel tarafından yeteri kadar absorbe olamaması, dolayısıyla etkin bir ilaç salınım materyali olamaması olarak gösterilmektedir [21].

Sunulan bu çalışma kapsamında çeşitli araştırmalarda protein ve ilaç salınımlarının incelendiği genipin çapraz bağlı kitosan hidrojelleri, spirulina mikroalgi varlığında sentezlenerek, jellerin hem morfolojisi hem de kimyasal bileşiminin değiştirilmesi amaçlanmıştır. Bu sayede ilaç etken maddesinin jel içine daha çok absorplanarak daha etkin olabilecek bir ilaç salınım materyalinin hazırlanacağı öngörülmüştür.

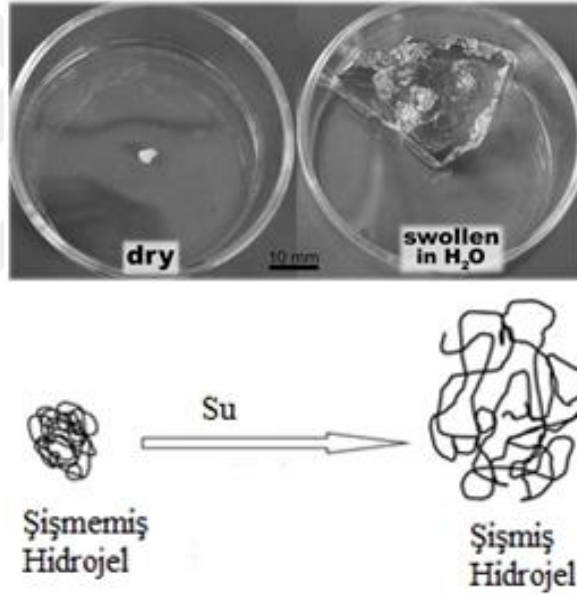
Diğer taraftan gerek genipinin doğal yapısı gerekse kitosanın biyobozunur olma özelliğinin yanısıra sentezde kullanılacak spirulina mikroalginin de hem doğal hem de vücut için son derece yararlı bir madde olması nedeniyle spirulina katkılı bu yeni hidrojellerin literatürdeki genipin çapraz bağlı hidrojellerden bu yönleriyle üstün olacağı düşünülmüştür.

Bu amaçla farklı oranlarda spirulina içeren genipin çapraz bağlı kitosan hidrojelleri sentezlenerek, farklı konsantrasyonlardaki 5-fluorourasil ( kanser ilaçlarındaki ilaç etken maddelerinden) çözeltisi içine konularak ilaç absorplamaları, başka bir deyişle ilaç yüklemeleri gerçekleştirilmiştir. İlaç yüklü bu jellerin pH:2 (mide ortamı) ve pH:7,4 (bağırsak ortamı) ortamında ilaç salınımları takip edilmiş, salınım mekanizmaları yorumlanmıştır. Diğer taraftan ilk kez bu çalışmada sentezlenen jellerin morfolojik yapısı ve mekanik özellikleri de sırasıyla SEM analizleri ve statik basma/sıkıştırma testleri ile karakterize edilmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Hidrojeller

Hidrojeller yapısında çok sayıda hidrofilik grup (hidroksil, karboksil, amino, sülfonik asit vb.) taşıyan polimerlerin çapraz bağlanması sonucunda oluşan 3 boyutlu ağ yapılar olarak tanımlanabilir. Hidrojeller su içine konulduklarında sahip oldukları çapraz bağlar nedeniyle çözünmezler ancak hidrofilik karakteri nedeniyle büyük miktarda su absorplayarak şişerler (Şekil 2.1).



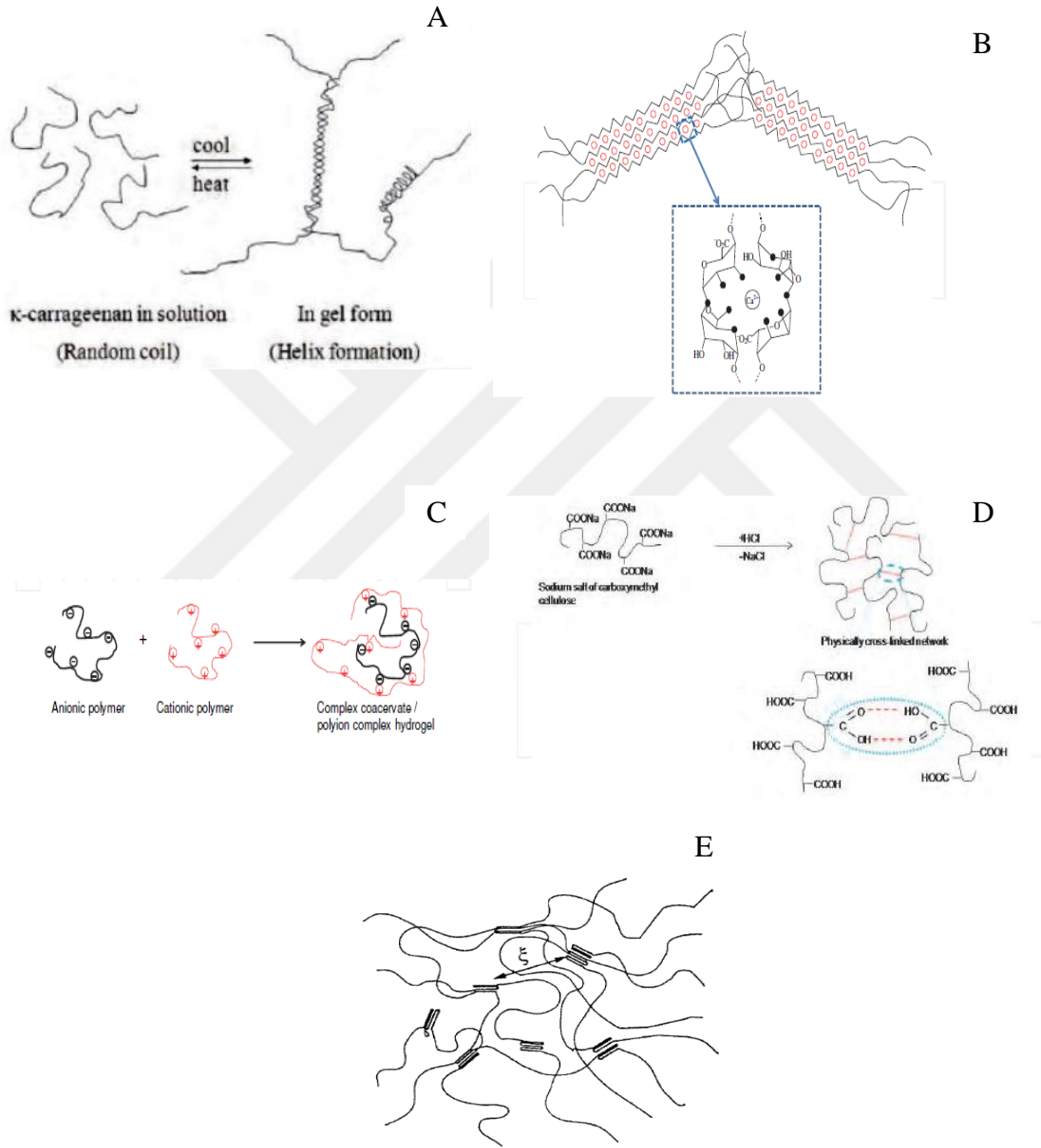
**Şekil 2.1:** Hidrojelin Su İçindeki Şişmesi Esnasında Makroskopik ve Mikroskopik Değişimi [22,23].

Şişmiş hidrojeller yumuşak ve kauçuğumsu yapıları nedeniyle canlı dokulara benzetilirler [24,25,26]. Bu nedenle yapay doku, yapay organ dahil olmak üzere, hidrojellerin biyomedikal alanda çok çeşitli uygulamaları söz konusudur. Bu uygulamaların önemli bir kısmını hidrojellerin ilaç salınım materyali olarak kullanımları oluşturmaktadır.

Hidrojeller fiziksel ve kimyasal bakımlardan farklılık göstermekte ve çeşitli sınıflara ayrılabilir:

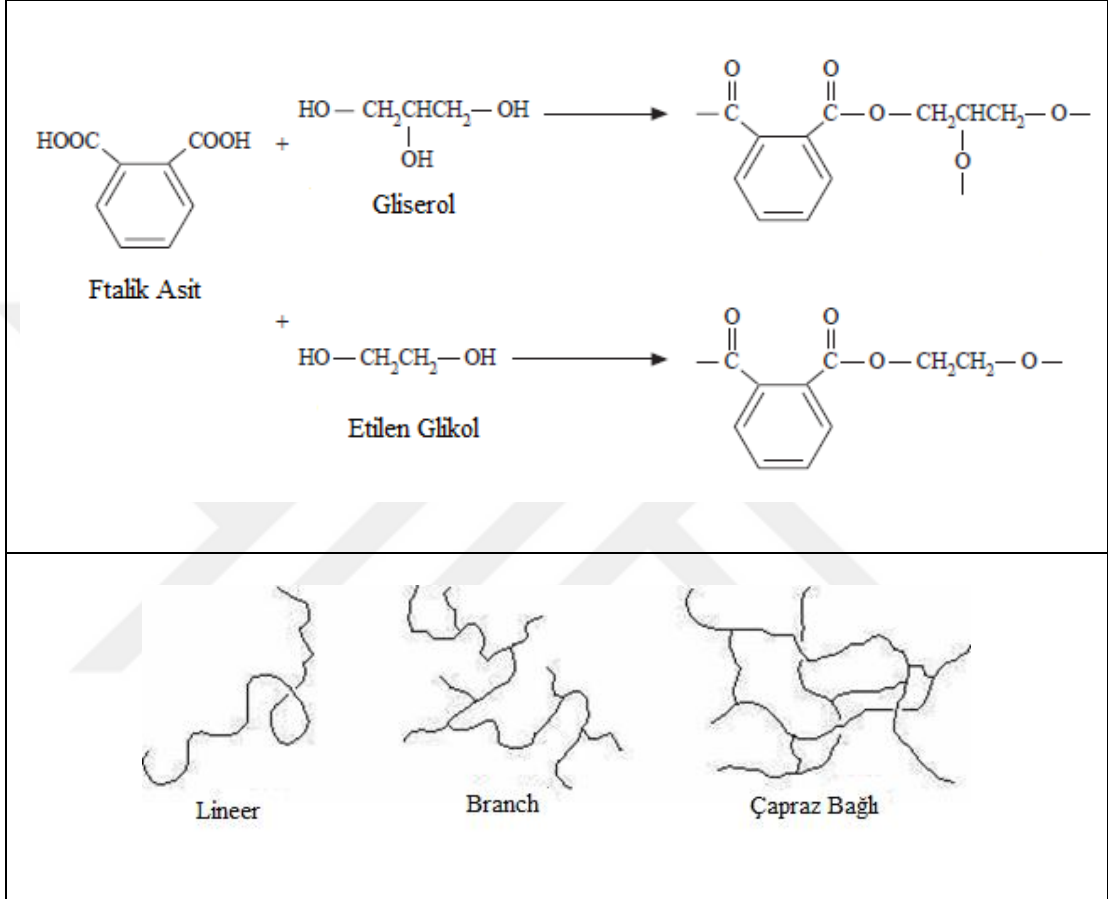
### 2.1.1. Çapraz bağ yapılarına göre hidrojeller:

Çapraz bağ yapılarına göre hidrojelleri fiziksel ve kimyasal çapraz bağlı hidrojeller olarak iki gruba ayırmak mümkündür (Şekil 2.2, Şekil 2.3 ve Şekil 2.4).

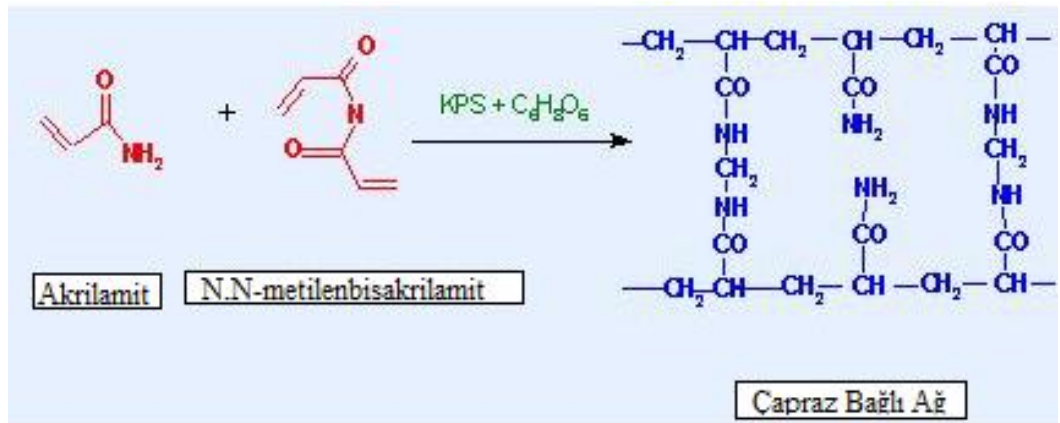


**Şekil 2.2:** Fiziksel Çapraz Bağlı Hidrojeller: (A) Heliks oluşumu ile meydana gelen fiziksel çapraz bağlı hidrojeller, (B) İyonik etkileşim ile meydana gelen fiziksel çapraz bağlı jeller, (C) İyonik etkileşim ile oluşan poliyon kompleks hidrojel, (D) Hidrojen bağı ile jel oluşumu, (E) Mikrokristal yapıların ile oluşan fiziksel çapraz bağlı jeller [27,28].

Fiziksel çapraz bağlı hidrojelde çapraz bağlanmayı polimer zincirlerine yan grup olarak bağlı fonksiyonel grupların birbirleriyle olan sekonder etkileşimleri (Hidrojen bağları, iyonik etkileşim, Van der Waals bağları ve hidrofobik etkileşimler) gerçekleştirirken, kimyasal çapraz bağlı jellerde tersinmez kovalent çapraz bağların oluşumu söz konusudur.



Şekil 2.3: Kondenzasyon Polimerizasyonu ile Kimyasal Hidrojel Elde Edilmesi [29,30].



Şekil 2.4: Katılma Polimerizasyonu ile Kimyasal Hidrojel Elde Edilmesi [31].

Bu kovalent bağlar ya difonksiyonel bir monomerin (örn: metilen bisakrilamit) varlığında vinil monomerlerinin (örn: akrilamit) katılma polimerizasyonu, ya en az bir monomer tipinin trifonksiyonel olduğu kondenzasyon polimerizasyonu ya da mevcut polimer zincirlerinin uygun kimyasal çapraz bağlayıcı veya yüksek enerjili ışın ile birbirine kovalent bağlanması sonucu elde edilir.

### 2.1.2. Kaynağına göre hidrojeller:

Jeller sentezlendikleri maddelere göre doğal ve sentetik hidrojeller olarak iki grupta incelenebilir. Doğal hidrojeller genellikle protein ve polisakkarit türevleri olan polimerlerin fiziksel olarak çapraz bağlanması ile elde edilirken, sentetik hidrojeller çeşitli sentetik monomerlerin veya polimerlerin genellikle kovalent çapraz bağlanmasıyla elde edilirler. Çizelge 2.1’de hidrojel üretiminde kullanılan bazı doğal polimer ve monomerler verilmiştir.

**Çizelge 2.1:** Hidrojel Üretiminde Kullanılan Doğal Polimerler ve Sentetik Monomerler [32].

Doğal Polimerler	Sentetik Monomerler/Polimerler
Kitosan	Hidroksietil metakrilat (HEMA)
Aljinat	N-(2-hidroksipropil) metakrilat (HPMA)
Fibrin	N-vinil-2-pirolidon (NVP)
Kollojen	N-izopropil akrilamit (NIPA)
Jelatin	Vinil asetat (VAc)
Hiyalüronik asit	Akrilik asit (AA)
Dekstran	Metakrilik asit (MAA)
	Polietilen glikol akrilat/dimetilakrilat (PEGA/PEGMA)
	Polietilen diakrilat/ dimetakrilat (PEGDA/PEGDMA)

### 2.1.3. Çevreye karşı duyarlı hidrojeller:

Birçok jel içinde bulunduğu ortamın fiziksel ve kimyasal özelliklerinden etkilenerek farklı oranda şişme gösterirler. Bunda jelin kimyasal ve fiziksel yapısı önemli bir faktör oluşturmaktadır. Jeller, uyarıcıya karşı verdikleri cevaba göre pH’a, sıcaklığa, ışığa, manyetik alana, elektrik alana ve çeşitli kimyasal ve biyolojik ortamlara duyarlı jeller olarak sınıflandırılabilirler. Burada kısaca en yaygın olarak kullanılan ve araştırılan çevreye duyarlı jellerden olan pH’a ve sıcaklığa duyarlı jellerden bahsedilecektir.

### 2.1.3.1. Sıcaklığa duyarlı hidrojel:

Sıcaklığa duyarlı hidrojel, negatif olarak sıcaklığa duyarlı, pozitif olarak sıcaklığa duyarlı ve sıcaklığa duyarlı olarak tersinir oluşan hidrojel olarak sınıflandırılabilir. Negatif olarak sıcaklığa duyarlı hidrojel alt kritik çözünme sıcaklığı (LCST) davranışına sahipken, pozitif olarak sıcaklığa duyarlı hidrojel üst kritik çözünme sıcaklığı (UCST) karakteri gösterirler [2]. Sıcaklığın artışı ile LCST polimerleri hidrofilitikten hidrofobikliğe doğru geçiş gösterir. Sıcaklığa duyarlı olarak tersinir oluşan hidrojelde ise sıcaklığın değişimi ile sol-jel geçişi gözlenir. Bu tip hidrojelde belli sıcaklıklarda jel oluşumu söz konusuysen, diğer sıcaklıklarda jelin çözünmesiyle sol meydana gelir. Bunlar fiziksel çapraz bağlı jeldir ve belli şartlarda çözünmesi bundan dolayıdır.

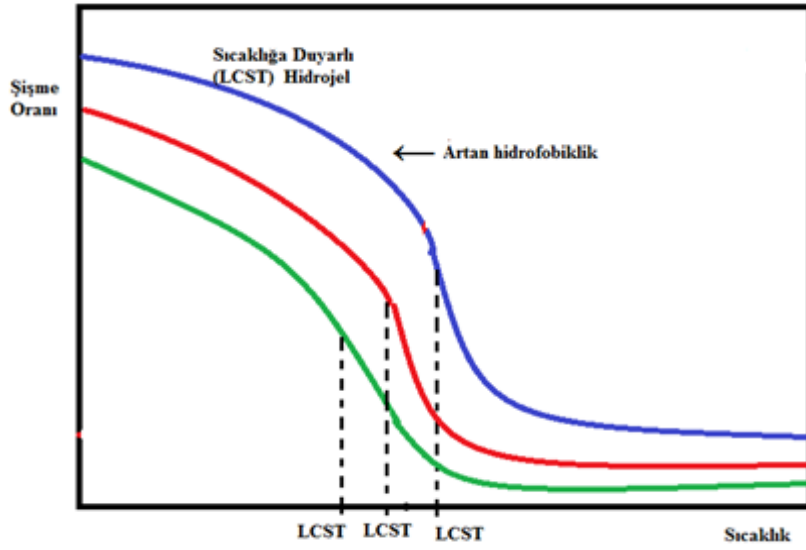
**a) Negatif olarak sıcaklığa duyarlı hidrojel:** Bu jeller, LCST'nin altındaki sıcaklıklarda şişme, üstündeki sıcaklıklarda ise büzülme eğilimi gösterirler. Tipik LCST polimerleri ve geçiş yaptıkları sıcaklık değerleri aşağıdaki Çizelge 2.2'de verilmiştir [33].

**Çizelge 2.2:** Sıcaklığa Duyarlı Çeşitli Polimerlerin Alt Kritik Çözünme Sıcaklıkları (LCST) [33].

Polimer	LCST (°C)
Poli(N-izopropil akrilamit) (PNIPA)	32
Poli(N,N-dietil akrilamit) (PDEAM)	25
Poli(N-etil metakrilamit) (PNEMAM)	58
Poli(metil vinil eter) (PMVE)	34
Poli(2-etoksietil vinil eter) (PEOVE)	20
Poli(N-vinil kaprolaktam) (PNVCa)	30-35
Poli(N-vinilizo bütiramit) (PNVIBAM)	39
Poli(N-vinil-n-bütiramit) (PNVIBAM)	32

LCST'nin altındaki sıcaklıklarda polimer ile su molekülleri arasında oluşan hidrojen bağlarının etkisi ile polimer moleküllerinin kendi arasındaki hidrofobik etkileşim arasında bir denge söz konusuysen, sıcaklık LCST'nin üstüne çıkarıldığında hidrojen bağları etkisini kaybederken, polimer molekülleri arasındaki hidrofobik etki baskın hale gelir, dolayısıyla polimer zincirleri birbirini çekerek jelin büzülmesine neden olurlar.

LCST davranışı gösteren hidrojelere arasında en çok bilineni ve en yaygın kullanılanı poli(N-izopropil akrilamit) (PNIPA)dır. PNIPA'nın LCST değeri 32 °C olup, vücut sıcaklığına yakın olması nedeniyle biyoloji ve tıp uygulamalarında sıkça kullanılmaktadır. Diğer taraftan NIPA'nın butilmetakrilat (BMA) gibi daha hidrofobik monomerlerle kopolimerizasyonu LCST değerini düşürürken, akrilik asit veya hidroksietil metakrilat gibi hidrofilik monomerlerle kopolimerizasyonu ise LCST değerini artırır.

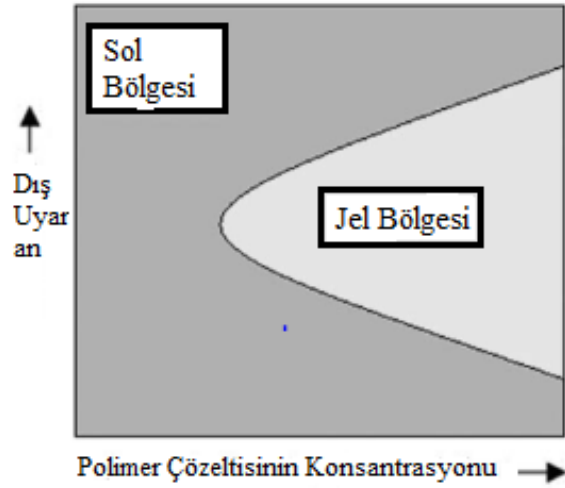


**Şekil 2.5:** Sıcaklığa Duyarlı Hidrojellerin Şişme Grafiği.

**b) Pozitif olarak sıcaklığa duyarlı hidrojelere:** IPN (iç içe geçmiş polimer ağ yapısı) şeklinde hazırlanan bazı jeller, pozitif olarak sıcaklığa duyarlılık özelliği, başka bir deyişle yüksek sıcaklıklarda şişme ve düşük sıcaklıklarda büzülme davranışı gösterirler. Poli(akrilik asit) ve poli(akrilamit)'ten oluşan IPN ve poli(akrilamit) ve poli(akrilamit-ko-butilmetakrilat)'tan oluşan IPN hidrojelere bu gruba örnek olarak verilebilir [34]. Burada BMA içeriği arttıkça geçiş sıcaklığı daha yüksek değerlere kayar.

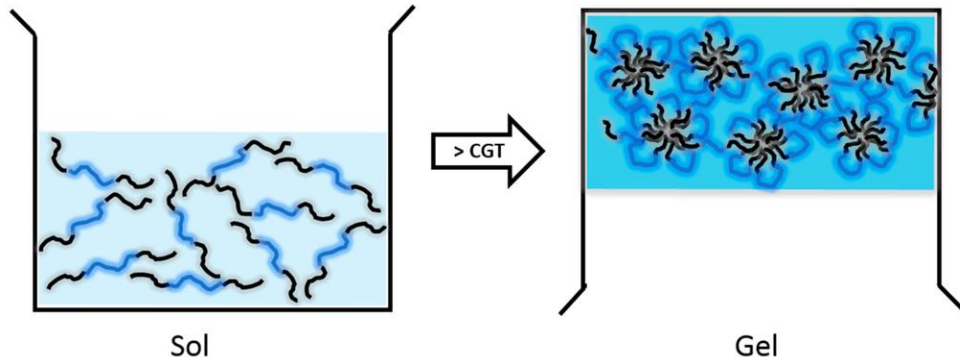
**c) Sıcaklığa duyarlı olarak tersinir oluşan hidrojelere:** Bazı polimerlerin sulu çözeltileri çeşitli uyarıcılara cevap olarak sol-jel geçişi gösterir [35]. Sıcaklığa karşı bu tip davranış gösteren jellere "sıcaklığa duyarlı olarak tersinir oluşan hidrojelere" denir.





**Şekil 2.6:** Uyarana Duyarlı Hidrojellerin Sol- Jel Geçiş Gösterimi [35].

Bu tip hidrojeller, hidrofobik kısımları bulunan polimerlerin sulu ortamda sıcaklığın artırılmasıyla elde edilirler. Sıcaklığın artması ile polimer zincirlerindeki hidrofobik kısımlar arasında meydana gelen sekonder etkileşimler fiziksel çapraz bağ noktalarını oluşturur (Şekil 2.7).



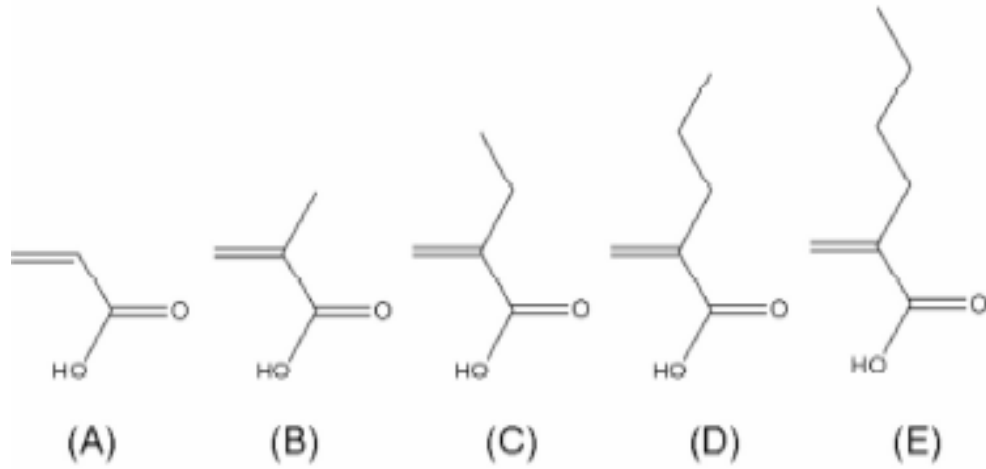
**Şekil 2.7:** Uyarana Duyarlı Hidrojellerin Mikroskopik Sol- Jel Geçiş Gösterimi [36].

En yaygın kullanılan ve en çok çalışılan örneği, poli(etilen oksit)-poli(propilen oksit)-poli(etilen oksit) (PEO-PPO-PEO) (Pluronic/Pluronic) [28]. Yapılan çalışmalarda 5-30 °C arasında jel oluşumu söz konusuyken, 35-50 °C arasında jelden sol fazına geçiş olduğu gözlenmiştir [37].

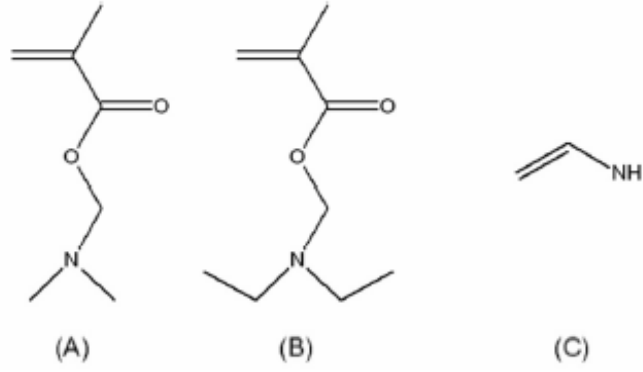
### 2.1.3.2. pH'a duyarlı hidrojel:

Yapısında pendant grup olarak iyonlaşabilen fonksiyonel gruplar taşıyan polimerlere “polielektrolitler” denir. Bu polimerlerden elde edilen hidrojel de “polielektrolit hidrojel” olarak isimlendirilir. Polimer zincirleri üzerinde iyonlaşabilen grupların bulunması, polielektrolit hidrojellerin iyonik olmayan, nonelektrolit hidrojellerden daha fazla şişmesine neden olur. Burada temel neden iyonik gruplar arasındaki elektrostatik itmenin zincirleri germesi, dolayısı ile suyun nüfus edebileceği boşluk miktarının artarak daha fazla suyun absorbe olmasıdır.

Polielektrolit jellerin taşıdığı bu grupların bazıları, karboksilik asit gibi zayıf asidik bazıları ise primer ve sekonder aminler gibi zayıf bazik karakterde olup, pH'a bağlı iyonlaşma gösterirler ve konuldukları ortamın pH'ına bağlı olarak farklı iyonlaşma derecelerine, dolayısıyla farklı şişme oranlarına sahip olurlar. Bundan dolayı bu hidrojelere “pH'a duyarlı hidrojel” denilir. Aşağıda pH'a duyarlı hidrojellerin sentezinde yaygın olarak kullanılan bazı örnek monomerler verilmiştir [38].

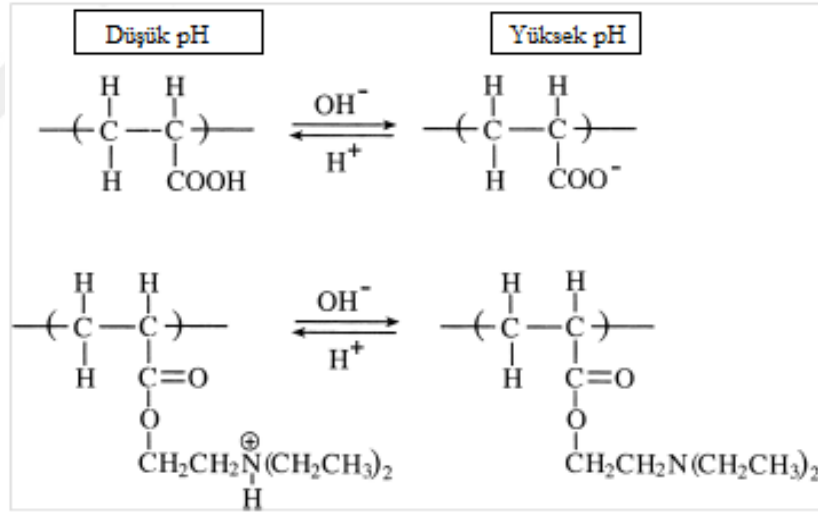


**Şekil 2.8:** pH-Duyarlı Akıllı Polimerlerinin Sentezinde Kullanılan Monomerler (A) Akrilik asit (B) Metil akrilik asit (C) Etil akrilik asit (D) Propil akrilik asit (E) Bütül akrilik asit [38].



**Şekil 2.9:** pH-Duyarlı Akıllı Katyonik Polimerlerin Hazırlanmasında Kullanılan Kimyasal Yapılar A) N,N'- dimetilaminoetil metakrilat, B) N,N'- dietilaminoetil metakrilat, ve C) Vinil amin monomerleri [38].

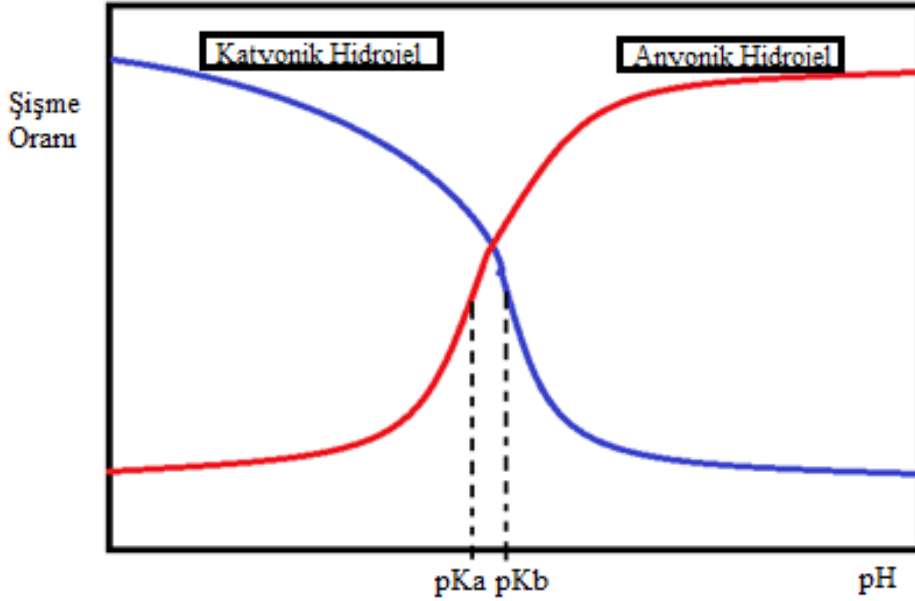
Şekil 2.10'da ortamın pH'ına, başka bir deyişle  $H^+$  konsantrasyonuna göre iyonlaşması değişen ve karboksilik asit taşıyan poli(akrilik asit) ve sekonder amin taşıyan poli(N,N'-dietilaminoetilmetakrilat) zincirlerinin iyonlaşmaları görülmektedir [39].



**Şekil 2.10:** Ortam pH'ına göre Akrilik Asit ve Sekonder Aminin İyonlaşması [39].

pH'a duyarlı hidrojellerde kritik değer jeldeki bu iyonik grubun iyonlaştığı pKa ve pKb değeridir. Hidrojel asidik gruplar içeriyorsa asidik grupların iyonlaştığı pKa değerinin üstündeki pH değerlerinde (bazik ortamda) jel iyonlaştığından dolayı daha çok şişerken, pKa değerinin altındaki pH değerlerinde daha az şişme gösterir. Benzer şekilde hidrojel bazik gruplar içeriyorsa bazik grupların iyonlaştığı pKb değerinin altındaki pH değerlerinde (asidik ortamda) jel iyonlaştığından dolayı daha çok

şişerken,  $pK_b$  değerinin üstündeki pH değerlerinde jel daha az şişme gösterir (Şekil 2.11).



**Şekil 2.11:** pH'a Duyarlı Olarak Şişme Davranışı Gösteren Hidrojellerin Şişme Grafiği.

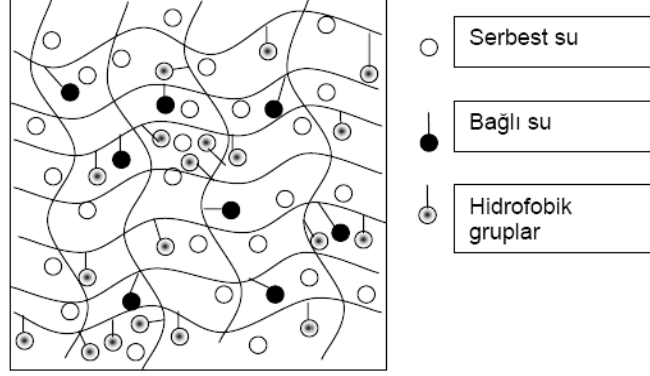
## 2.2. Hidrojellerin Genel Özellikleri:

Hidrojeller genel olarak maksimum şişme oranları, şişme kinetikleri, ıslak (şişmiş durumdaki) mekanik özellikleri ve gözenek yapısı ile karakterize edilirler.

### 2.2.1. Şişme özellikleri ve şişme karakteristikleri

Hidrojellerin en karakteristik özelliği hiç kuşkusuz şişme özellikleridir. Bir kuru hidrojel su içine konulduğunda suyun ilk yapacağı hareket jel içine nüfuz ederek yapıda bulunan polar hidrofilik grupları (hidroksil, karboksil, amit, amin vb.) hidrate etmektir. Polar hidrofilik gruplar tarafından tutulan bu suya “primer bağlı su” denilir. Bu şekilde başlangıçta büzölmüş durumda bulunan jel içinde birbirine maksimum derecede yakın konumda bulunan polimer zincirleri birbirinden bir miktar ayrılarak şişme prosesi başlatılmış olur. Bunun devamında hidrofobik grupların çevresi de su molekülleri tarafından sarılır. Bu suya da “sekonder bağlı su” denir. Primer ve sekonder bağlı suyun toplamı ise “toplam bağlı su” olarak adlandırılır. Toplam bağlı su ile bir dereceye kadar şişen jel ağ yapının sonsuz seyreltikliği doğrultusunda ozmotik basınç etkisiyle şişmeye devam eder. Sistemi,

bir miktar şişmiş jel ve jelin içinde bulunduğu su olmak üzere iki fazlı bir sistem olarak düşünürsek iki faz arasında polimer konsantrasyonunu eşitlemek için tek seçenek dışarıdan suyun jel fazı içine girmesidir. Ek olarak absorplanan bu suya da “serbest su” denilir [40] (Şekil 2.12). Bunun sonucunda ağ yapı içindeki tüm boşluklar dolar ve polimer zincirleri birbirinden maksimum derecede ayrılmış olur.



**Şekil 2.12:** Şişmiş Bir Hidrojeldaki Suyun Konumları [40].

Bununla birlikte şişme sonsuza dek devam etmez ve belli bir noktada ağ yapıdaki çapraz bağlayıcıların direnci ile karşılaşır. Elastik direnç denilen bu direnç şişmeye zıt yöndedir. Şişme lehine hareket eden ozmotik kuvvet ile şişme aleyhine hareket eden elastik direnç dengelendiği zaman şişme dengesine ulaşılmış olur. Buna “denge şişme oranı” denilir. Bu oran genellikle “yüzde denge ağırlıkça şişme oranı (%S<sub>w</sub>)” olarak verilip, aşağıdaki eşitlikle ifade edilir:

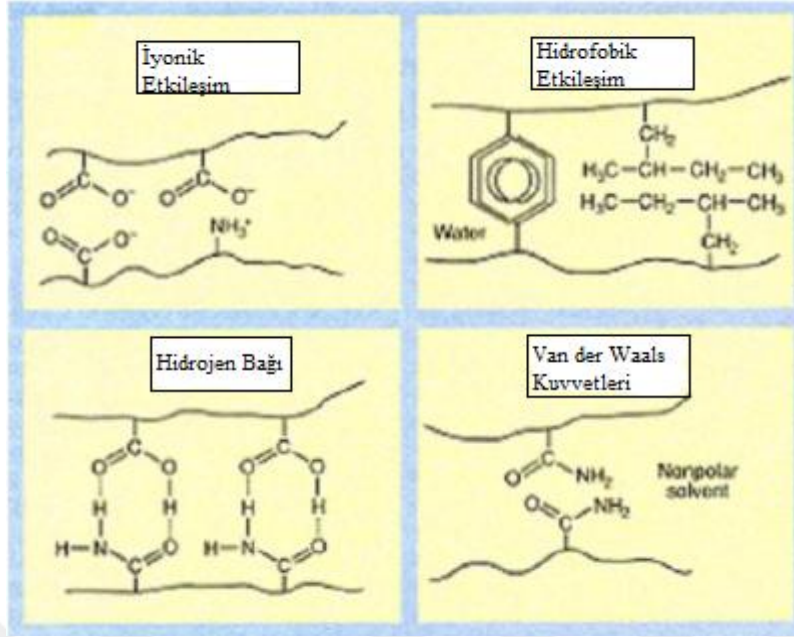
$$\%S_w = \frac{m_s}{m_o} \times 100 \quad (2.1)$$

$m_s$ : Şişmiş jelin ağırlığı (g)

$m_o$ : Kuru jelin ağırlığı (g)

%S<sub>w</sub>: Ağırlıkça yüzde şişme oranı

Hidrojellerin şişme prosesi ağ yapıda bulunan fonksiyonel grupların birbiriyle ve su molekülleri ile etkileşimleri üzerine kurulmuştur. Bu etkileşimleri hidrojen bağı, Van der Waals etkileşimi, iyonik (elektrostatik) etkileşim ve hidrofobik etkileşim olarak sıralayabiliriz [40] (Şekil 2.13).



**Şekil 2.13:** Hidrojel içindeki Fonksiyonel Grupların Birbirleriyle Etkileşimi [40].

- ✓ *Van der Waals Etkileşimi:* Hidrojeller su içine konulduklarında polimer-çözücü arasında meydana gelen hidrofilik etkileşime karşılık, hidrofobik bir ortama konulduklarında polimer-polimer etkileşimi baskın gelerek jel büzülür. Söz konusu bu polimer-polimer etkileşimi Van der Waals etkileşiminin bir sonucudur.
- ✓ *Hidrojen Bağları:* Elektronegativitesi çok yüksek olan oksijen, azot ve halojen atomlarına kovalent bağla bağlı hidrojen atomlarının, bir başka moleküldeki elektronegatif atomlarla oluşturduğu hidrojen köprüsü anlamına gelen hidrojen bağı polimer zincirleri arasında da olabilir. Bu durum hidrojin büzülmesi ile sonuçlanır.
- ✓ *Hidrofobik Etkileşim:* Hidrofobik gruplar taşıyan hidrojeller sudan kaçma, dolayısıyla birbirine yaklaşma eğilimi gösterirler. Bu durum jelin büzülmesi anlamına gelir. Diğer taraftan sıcaklık artışı hidrofobik etkiyi arttıracığından bu tip hidrojellerde sıcaklığın arttırılması jelin daha çok büzülmesine neden olur.
- ✓ *İyonik Etkileşim:* Bu etkileşim, yapısında iyonik veya iyonlaşabilen gruplar içeren hidrojeller için söz konusudur. Aynı yükle yüklü grupların birbirini itmesi ve zıt yükle yüklü grupların birbirini çekmesi sonucu jel şişer veya büzülür.

Bir hidrojelın şişme derecesi jelin kendi yapısına ve bulunduğu ortamın fiziksel ve kimyasal şartlarına (pH, sıcaklık, ışık, elektrik alan, iyonik kuvvet vb.) bağlı olarak değişir.

Jelin kendi yapısından kaynaklanan şişmeyi etkileyen başlıca faktörler şunlardır:

- ✓ *Polimerin kimyasal yapısı:* Hidrofilik, özellikle de iyonlaşabilen fonksiyonel gruplar hidrojellerin su içindeki şişme oranını yükseltirken, hidrofobik gruplar ağ yapınının daha az şişmesine neden olur.
- ✓ *Sentezde kullanılan monomer konsantrasyonu:* Monomer konsantrasyonun artışı hidrojeldeki katı kısmın artmasına, dolayısıyla suyu absorplayacak gözenek boyutunun azalmasına neden olacağından şişmeyi negatif yönde etkiler.
- ✓ *Çapraz bağ oranı:* Yüksek derecede çapraz bağlayıcı ağ yapınının gözenek boyutunu azaltır ve polimer zincirinin hareketliliğini kısıtlar. Bu durum da jelin daha az şişmesine neden olur [41].

Hidrojellerin denge şişme oranınının yanı sıra şişme hızı da jeli karakterize eden önemli parametrelerden biridir ve bazı uygulamalar için son derece önemlidir. Şişme hızı, şişme prosesi boyunca denge durumuna gelene kadar jelin birim zamanda ne kadar su absorpladığını gösterir. Hidrojellerin şişme kinetiklerinin belirlenebilmesi için deneysel olarak belirli zaman aralıklarında jelin kütlesindeki artışın zamana karşı grafiğe geçirilmesi gerekir. Grafikten elde edilen eğrilere “şişme eğrileri” denir [41]. Bu eğriler yardımıyla jelin şişme kinetik sabitleri belirlenip, kinetik modeller yardımıyla şişme mekanizması açıklanabilir.

Hidrojellerin şişme mekanizmaları Schott tarafından önerilen ve aşağıda verilen ikinci dereceden şişme kinetik modeli ile açıklanır [42].

$$\frac{dS}{dt} = k_s(S_{eq} - S)^2 \quad (2.2)$$

$k_s$ : Şişme hız sabiti

$S_{eq}$ : Denge durumundaki şişme derecesi

Yukarıdaki denklemin integrali alındığında aşağıdaki eşitlik elde edilir:

$$\frac{t}{S} = A + Bt \quad (2.3)$$

S: t anındaki ağırlıkça yüzde şişme oranı

A: Şişme sabiti  $k_s$  yi veren katsayı

B: Denge şişme derecesinin tersini veren sabit ( $A=1/(S_{eq}^2 \times k_s)$ )

Bu veriler göz önüne alınarak eşitlik düzenlendiğinde aşağıdaki ifade edilir:

$$\frac{t}{S} = 1/(S_{eq}^2 \times k_s) + (1/S_{eq})t \quad (2.4)$$

Eşitlikteki t/S değerleri jellerin t anındaki deneysel denge şişme oranlarından (% $S_w$ ) yararlanılarak hesaplanır. Elde edilen t/S değerleri t'ye karşı grafiğe geçirildiğinde doğrusal bir eğri elde edilir. Hidrojellerin şişme mekanizmasını belirleyen kinetik parametrelerden biri olan şişme hız sabiti ( $k_s$ ), bu doğrunun eğim ve kayım değerlerinden hesaplanır.

Yukarıdaki eşitlik özellikle biyomedikal, eczacılık, çevre ve tarım gibi çeşitli alanlar için son derece önemli olan başlangıç şişme aşamasını açıklamada yeterli değildir. Şişme eğrisinin ilk %60'ına karşılık gelen şişme başlangıç fazında, şişme mekanizması sıfırıncı mertebeden ilerler ve bu durum aşağıdaki eşitlikle ifade edilir:

$$F = m_s - m_d/m_d = k \times t^n \quad (2.5)$$

Eşitlikte F,  $m_s$  ve  $m_d$  sırasıyla şişme gücü, t anındaki şişmiş hidrojel ağırlığı ve kuru hidrojel ağırlığına karşılık gelirken; n, t ve k yine sırasıyla difüzyon üsteli, difüzyon süresi ve polimerin yapısı ile ilgili bir sabit olarak adlandırılır [43].

n, difüzyon üstelini hesaplamak için yukarıdaki eşitliğin logaritması alındığında eşitlik aşağıdaki gibi olur:

$$\ln F = \ln k + n \times \ln t \quad (2.6)$$

Eşitliğin matematiksel incelenmesiyle kolayca anlaşılacağı üzere,  $\ln F$  ile  $\ln t$  arasında çizilecek grafikteki doğrunun eğimi difüzyon tipini belirleyen n difüzyon üstelini verir. Difüzyon üsteli (n) ile difüzyon mekanizması arasındaki ilişki aşağıdaki şekilde açıklanabilir [44] (Çizelge 2.3).



**Çizelge 2.3:** Difüzyon Mekanizması ile “n” Değeri Arasındaki İlişki [44].

Difüzyon Üsteli	Difüzyon Mekanizması
$n \leq 0.5$	Fick Tipi Difüzyon
$0.5 < n < 1$	Fick olmayan Tipte Difüzyon
$n \geq 1$	Süper Durum Difüzyonu

n difüzyon üstelinin 0,5 olması durumunda suyun jel içine difüzyon hızı polimer zincirlerinin gevşeme hızından daha yavaştır. Şişme kontrollü olan bu tip difüzyona “Fick tipi difüzyon” denir. Burada şişme hızını difüzyon hızı belirler.

$0.5 < n < 1$  durumuna karşılık gelen difüzyon mekanizmasında ise suyun jel içine difüzyonu, polimer zincirlerinin gevşeme hızından daha büyüktür. “Fick olmayan tipte difüzyon” olan bu difüzyonda hidrojin şişme hızını polimer zincirlerinin gevşeme (relaksasyon) hızı belirler.

“Süper durum” olarak adlandırılan difüzyon tipinde ise n değeri 1’e eşit veya büyük olur. Burada şişme hızı üzerine hem suyun jel içine difüzyon hızı, hem de polimer zincirlerinin gevşeme hızı aynı anda etki eder [45-47].

Difüzyon üsteli “n” in değerinin bulunması difüzyon mekanizması hakkında bir bilgi vermekle birlikte tek başına yeterli değildir, difüzyon katsayısı “D” nin de hesaplanması gerekir. Difüzyon katsayısı “D” nin hesaplanması için literatürde çeşitli metodlar bulunmaktadır [48-50].

Bu metodların arasından en çok bilinen ve en çok kullanılan “kısa zaman yaklaşım metodu”dur. Bu metotta şişme prosesinin sadece ilk %60’lık kısmı kullanılır ve aşağıdaki eşitlikle ifade edilir [51].

$$F = 4(D \times t / \pi \times l^2)^n \quad (2.7)$$

*l* : Silindirik hidrojel örneklerinin çapı veya kalınlığı

*D*: Difüzyon katsayısı

*t*: Zaman

Eşitlikteki F değerleri ile  $t^n$  değerleri arasında grafik çizildiğinde doğrusal çizgiler elde edilir. Bu doğrusal çizgilerin eğiminden de “D”, difüzyon katsayısı değerleri hesaplanır. D değerlerinin artışı suyun jel içine daha hızlı difüzlendiğini, diğer bir deyişle hidrojin daha hızlı şiştiğini gösterir.

### 2.2.2. Hidrojellerin mekanik özellikleri

Hidrojellerin birçok uygulama için işlem boyunca fiziksel ve mekanik bütünlüğünün korunması istenir. Özellikle ilaç salınım materyali, yapay organ vb. uygulamaların söz konusu olduğu biyomedikal alanda bunun hayati bir önemi vardır.

Hidrojeller biyomedikal alanda kullanılabilir olacak eşsiz bir malzeme olmalarıyla birlikte, şişmiş hidrojeller mekanik olarak oldukça zayıftır, küçük deformasyonlar karşısında parçalanma ihtimalleri yüksektir. Bundan dolayı zaman içinde mekanik olarak kuvvetli hidrojellerin hazırlanması zaruri hale gelmiştir. Deformasyonlar karşısında bütünlüğünü bozmayan, çeşitli yüklemelere kadar dayanıklılığını sürdüren hidrojeller hazırlamak için çeşitli yaklaşımlar mevcuttur. Çapraz bağlayıcı oranının artırılması, yapıya dayanıklılık kazandırıcı komonomer ve çapraz bağlayıcıların eklenmesi, iç içe geçmiş ağ yapılar (IPN) ve nanokompozit hidrojeller bunlara örnek olarak verilebilir [52].

Hidrojellerin mekanik özelliklerinin belirlenmesinde sıkıştırma/germe testi, tokluk testi ve dinamik mekanik analizler gibi çeşitli testlerden yararlanılabilir.

Jellerin mekanik direnci genellikle “elastik modül” (G) olarak ifade edilir ve sıkıştırma testi ile belirlenir. Bu nedenle burada sadece sıkıştırma testinden bahsedilecektir.

Sıkıştırma testinde denge şişme değerine ulaşmış ve çapları belirlenmiş silindirik jeller cihazın paralel probaları (ölçüm uçları) arasına yerleştirilir ve farklı miktardaki yüklemeler karşısında jelde meydana gelen deformasyon oranı kaydedilir (Şekil 2.4). Burada jelin deforme olmadan önceki uzunluğu ( $L_0$ ), jelin sıkışma miktarı ( $\Delta L$ ) ve sıkışma miktarına karşılık gelen kuvvet (F) olarak gösterilerek, deformasyon oranı ( $\alpha$ ) aşağıdaki eşitliklerle verilir [53]:

$$L=L_0-\Delta L \quad ; \quad \alpha=1-\Delta L/l_0 \quad (2.8)$$

Jelde meydana gelen deformasyon oranı  $\alpha$ 'dan ve jele uygulanan deformasyon kuvveti f'ten yararlanarak, jelin elastik modül değeri aşağıdaki eşitlikle hesaplanır:

$$G = \frac{f}{\alpha-1/\alpha^2} \quad ; \quad f = F/A \quad (2.9)$$

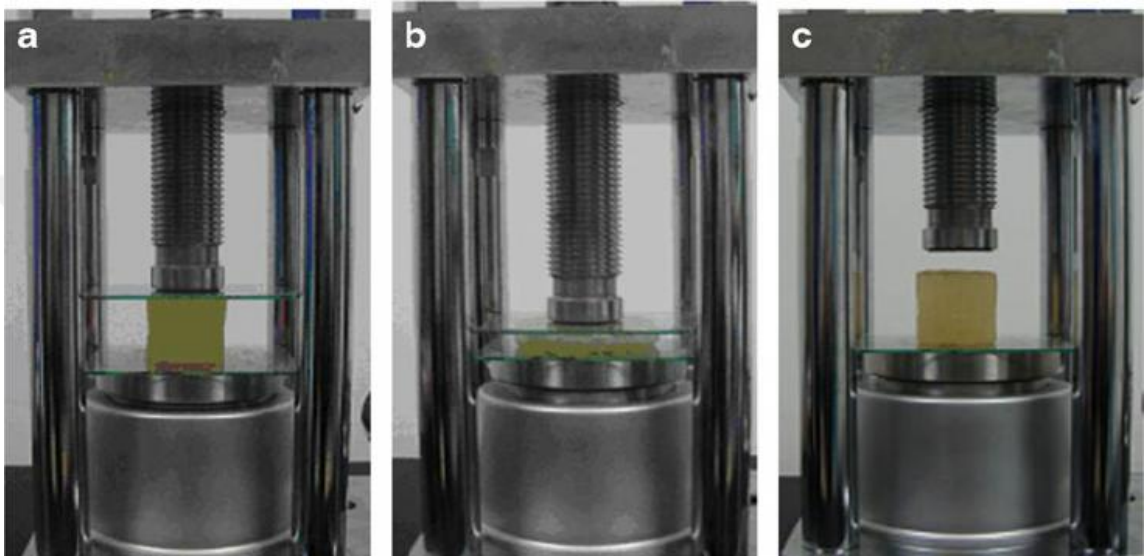
G: Elastik modül (Pa)

$\alpha$ : Deformasyon oranı

f: Jelin birim yüzey alanı başına düşen deformasyon kuvveti (N)

F: Jele uygulanan direkt kuvvet (g)

A: Kuvvet uygulanan yüzey alanı (m<sup>2</sup>)



**Şekil 2.14:** Hidrojellerin Mekanik Sıkıştırma Testi [54].

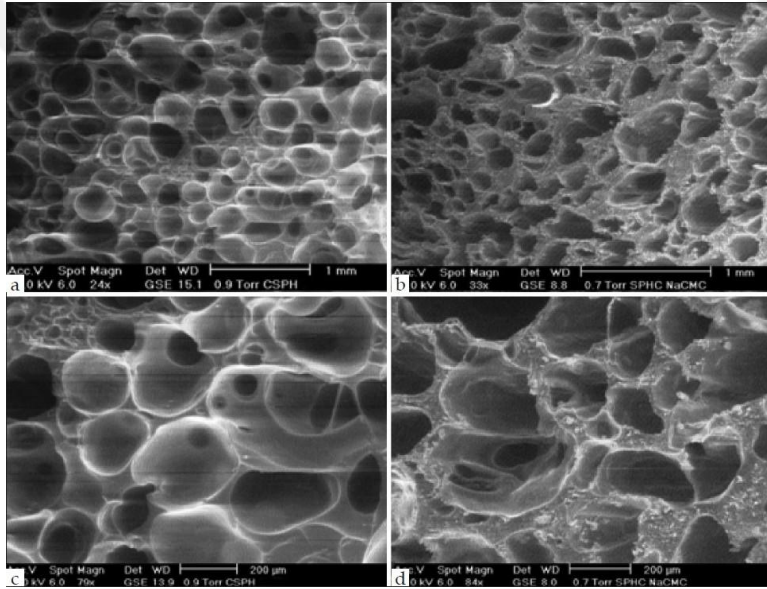
### 2.2.3. Hidrojellerin morfolojik özellikleri

Hidrojellerin morfolojik yapısını sahip olduğu çeşitli boyuttaki açık ve kapalı gözenekler meydana getirir. Bu gözenekler jelin şişme hızı ve denge şişme oranını belirleyen en önemli parametrelerden biridir. Büyük ve açık gözenekler hem daha fazla hem de daha hızlı şişmeye neden olurken, küçük ve kapalı gözenekler şişme oranını ve şişme hızını azaltır. Hidrojeller sahip oldukları gözenek boyutuna göre aşağıdaki şekilde sınıflandırılır (Çizelge 2.4):

**Çizelge 2.4:** Hidrojellerin Gözenek Çap Aralıkları.

Hidrojel	Gözenek Boyutu
Mikro gözenekli	10-100 nm
Mezo gözenekli	100-1000 nm
Makro gözenekli	1-10 $\mu$ m
Süper gözenekli	10-100 $\mu$ m

Jellerin morfolojik yapısı, “SEM analizi” olarak bilinen taramalı elektron mikroskobu kullanılarak gerçekleştirilen bir metodla aydınlatılır. SEM analizinde yüksek voltaj ile hızlandırılmış yüksek enerjili elektronların hidrojel üzerine odaklanması sağlanır. Bu elektron demetinin hidrojel yüzeyinde taratılması sırasında elektron ile numune atomları arasındaki etkileşim uygun alıcılarla toplanarak ekrana yansıtılır ve SEM görüntüsü dediğimiz hidrojel numunenin gözenek yapısını gösteren resimler elde edilir. SEM, ayırım gücü (resolution) ve odak derinliği bakımından üstün özelliklere sahip bir mikroskoptur ve hidrojin mikroyapısını üç boyutlu olarak görüntüleyebilir. Diğer taraftan SEM görüntüsünden yararlanarak gözenek boyutu analizi de yapılabilir. Şekil 2.15’te sembolik olarak bir hidrojin SEM grafiği verilmiştir [55].

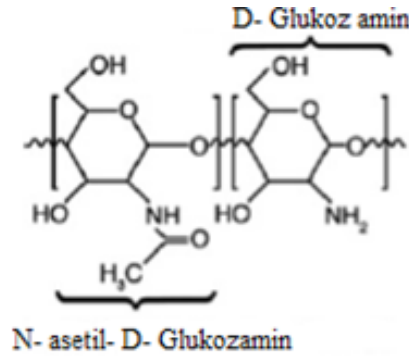


Şekil 2.15: Tipik Bir Hidrojin SEM Görüntüsü [55].

### 2.3. Kitosan Bazlı Hidrojeller:

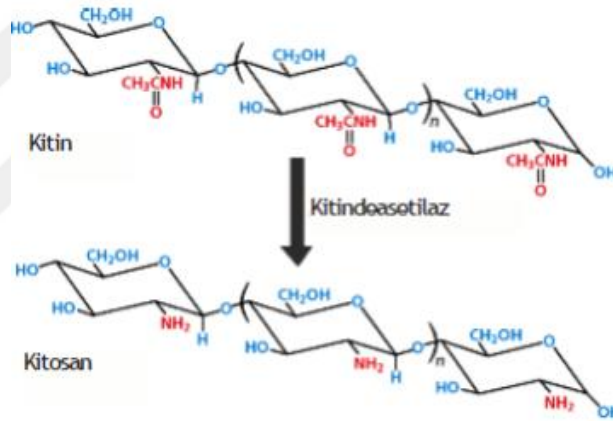
Polisakkaritler, proteinler gibi doğal polimerler hidrojel sentezinde sıkça kullanılırlar. Buna neden olarak biyoyumlu yapıları, düşük toksisiteleri ve enzimatik degradasyona uğrayabilmeleri gibi özellikleri gösterilebilir. Bu doğal polimerler arasında polisakkaritler, hayvansal kökenli patojen geçiş riski bulundurmamasından dolayı diğer doğal materyallerden daha avantajlıdır. Bu polisakkaritlerden en yaygın kullanılan ve araştırılan polimerler içinde “kitosan” başı çekmektedir.

Kitosan, rastgele dağılmış  $\beta(1-4)$ -bağlı D-glukozamin ve N-asetil-D-glukozamin ünitelerinden oluşmaktadır [56] (Şekil 2.16).



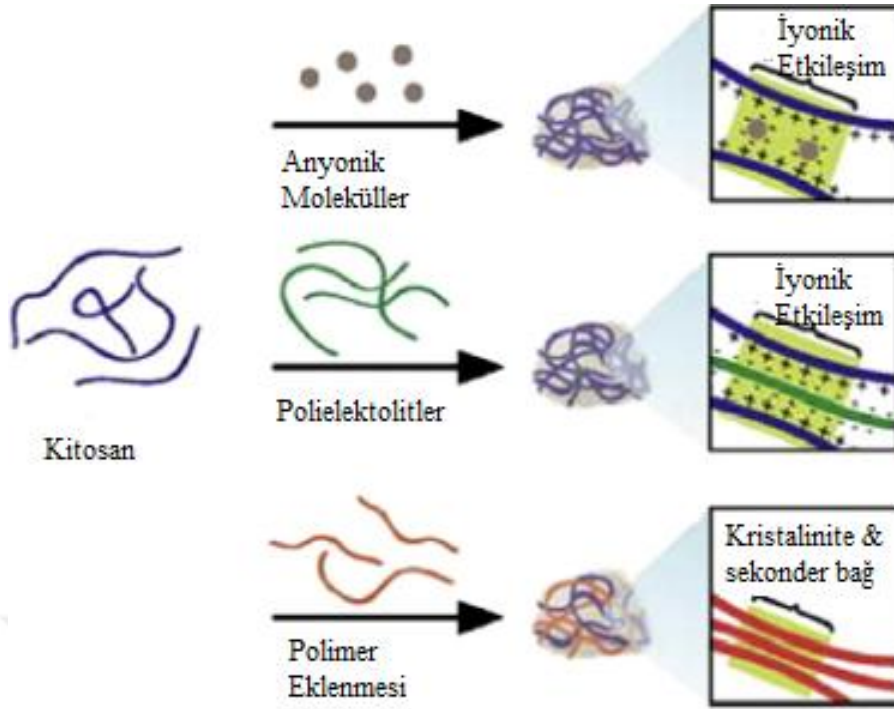
Şekil 2.16: Kitosanın Kimyasal Yapısı [56].

Kitosan, doğada selülozdan sonra en çok bulunan kitin biyopolimerinin deasetilasyonundan elde edilmektedir [57] (Şekil.2.17).



Şekil 2.17: Kitin Deasetilasyonu ile Kitosanın Meydana Gelmesi [57].

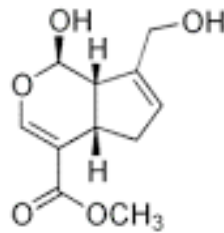
Kitosan non-toksik, kararlı, biyobozunur ve sterilize edilebilir yapısı ile mükemmel özelliklere sahiptir ve bu nedenle özellikle biyomedikal ve biyoteknolojik alanlarda yaygın olarak kullanılır [58,59]. Bu alandaki uygulamalardan birini de ilaç salınım sistemleri oluşturur. Kitosan hidrojelleri çeşitli formülasyon, geometri ve şekillerde (toz, küre, tablet, film, mikroküre, sünger, fiber vb.) hazırlanabilir [60]. Bunların her birinde fiziksel veya kimyasal yolla çapraz bağlanarak hidrojel oluşumu söz konusudur. Fiziksel çapraz bağlı kitosan hidrojellerinin oluşumunda daha önce de değinildiği üzere kitosan molekülleri elektrostatik, hidrofobik ve hidrojen bağı gibi etkileşimler üzerinden hidrojel oluşturur [56] (Şekil 2.17).



**Şekil 2.18:** Kitosan Polimerinin Fiziksel Etkileşimlerle Oluşturduğu Çapraz Bağlanmalara Örnekler [56].

Kimyasal çapraz bağlı kitosan jellerinde ise birçok difonksiyonel küçük molekül (gluteraldehit, diglisidileter, diizosiyanat, diakrilat vb.) kitosan moleküllerinin birbirine kovalent çapraz bağlanmasında kullanılır [56].

Kimyasal bağlı jeller başta mekanik dayanım olmak üzere birçok avantaja sahipken, biyouyumluluk açısından birçoğu uygun değildir. Bu açıdan özellikle doğal yapısı nedeni ile genipin son yıllarda dikkat çeken bir çapraz bağlayıcı olmuştur [61].



**Şekil 2.19:** Genipinin Kimyasal Formülü [61].

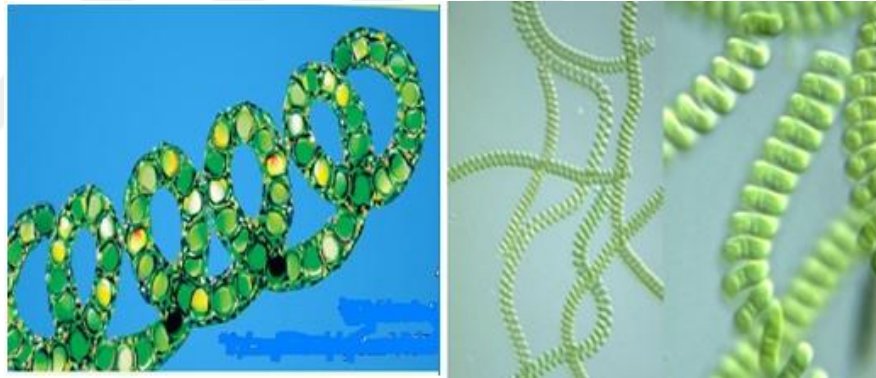
Genipin, gardenia bitkisinden ekstrakte edilerek elde edilen doğal bir çapraz bağlayıcı ajandır [62]. Literatürde genipinin kitosan ve jelatin gibi biyopolimerler ve biyolojik dokuları çapraz bağladığına yönelik çalışmalar mevcuttur [63].

Genipin, amino grupları taşıyan polimerlerin çapraz bağlanmasında etkindir ve glutraldehite kıyasla toksik olmaması nedeniyle daha avantajlıdır [64]. Diğer taraftan genipin çapraz bağlı kitosan hidrojeller glutraldehit çapraz bağlılara kıyasla daha yavaş degradasyon sağlar [65]. Bir diğer avantajı ise genipinin kitosan hidrojellerinden ilaç salınımını yavaşlatmasıdır [66,67].

#### 2.4. Spirulina Mikroalgi:

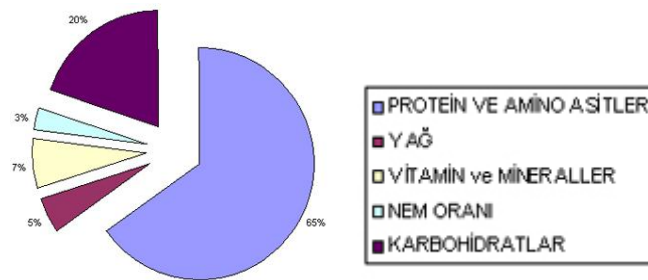
Spirulina mikroalgi ülkemizde yeni yeni tanınmaya başlayan, genel olarak gıda takviyesi olarak kullanılan bir mikroyosun türüdür. Gıda takviyesi olarak kullanımının yanısıra kozmetik ve yanık tedavisinde de kullanıldığı bilinmektedir. Spirulinanın bir diğer kullanım alanı da atık suların arıtılma işlemi oluşturmaktadır. Algler sudaki nitrat, fosfat, amonyum gibi tuzlarla beslendiği için sudaki organik kirliliğin giderilmesinde verimli bir şekilde kullanılmaktadır [68].

Spirulinanın mikroskopik görüntüsü Şekil 2.20’de verilmiştir [69].



Şekil 2.20: Spirulinanın Mikroskopik Görüntüsü [69].

Spirulinanın içinde başlıca bulunan maddeler Şekil 2.21 ve Çizelge 2.5’te verilmiştir [70].



Şekil 2.21: Spirulina Mikroalginde Bulunan Kimyasalların Yüzdeleri [70].

**Çizelge 2.5:** Spirulina Mikroalginin Yapısında Bulunan Başlıca Kimyasallar [70].

Amino Asitler	Vitaminler	Mine raller	Doğal Fitonutrientler	Doğal Karotenoidler	Doğal Pigmentler
<i>Temel Amino Asitler</i>	Beta Karoten	Kalsiyum	Gamma-Linolenik Asit	Karotenler	Fikosiyenin
İsoleucine	B1 Thiamine	Selenyum	Alfa-Linolenik Asit (ALA)	Beta Karoten	Klorofil
Leucine	B2 Riboflavin	Demir	Linoleic Asit (LA)	Diğer Karotenler	Karotenoidler
Lysine	B3 Niacin	Magnezyum	Stearidonic Asit (SDA)	Xanthophyllis	
Methionine	B5 Pantothenic Acid	Potasyum	Eicosa Pentaenoic Asit (EPA)	Myxoxanthophyll	
Phenylalanine	B6 Pyridoxine	Krom	Docosa Hexaenoic Asit (DHA)	Zeaxanthin	
Threonine	B9 Folate	Bakır	Arachidonic Asit (AA)	Cryptoxanthin	
Tryptophan	B12 Colobalimine	Germanyum	Glycolipidler	Echimenone	
Valine	Vitamin A	Manganez	Sulfolipidler	Diğer Xanthophyl	
<i>Temel Olmayan Amino Asitler</i>	Vitamin C (ascorbic acid)	Fosfor	Polisakkaridler		
Alanine	Vitamin D	Sodyum			
Arginine	Vitamin E	Çinko			
Aspartic Acid	Vitamin K	Klorid			
Cystine	Vitamin H Biotin	İyodin			
Glutamic Acid	Inositol				
Glycine					
Histidine					
Proline					
Serine					
Tyrosine					

## 2.5. Kontrollü İlaç Salınım Sistemleri

Kontrollü salınım sistemleri etken maddenin hedeflenen bölgeye önceden belirlenmiş oranda ve spesifik zaman aralıklarında salınım yapmasını sağlayan sistemlerdir. Bu sistemlerin temel amacı kan plazma konsantrasyonundaki etken madde miktarını sabit tutmaktır. Kontrollü ilaç sistemi olarak en çok kullanılan malzemelerin başında polimerler gelir. Etken maddenin salınımı kullanılan polimerin özellikleri ile olduğu kadar pH, iyonik kuvvet, sıcaklık ve enzim gibi fizyolojik koşullarla da yakından ilgilidir.

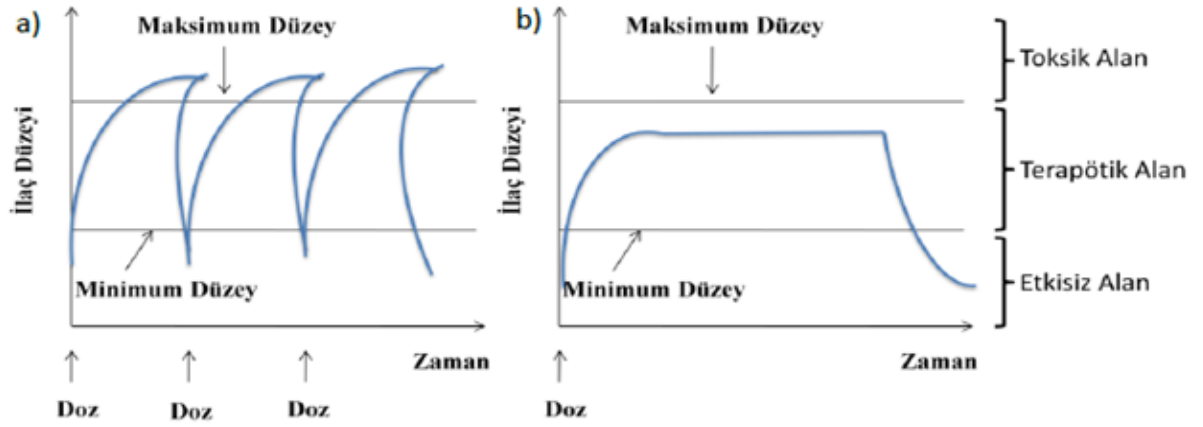
Klasik uygulamalarda plazmadaki ilaç konsantrasyonunun etkin düzeyin altına inebilme veya güvenilir düzeyin (toksik sınır) üstüne çıkabilme ihtimali söz konusudur. Sözü edilen etkili düzeyin altında ve güvenilir düzeyin üstündeki bölgeler boşa harcanmış etken madde miktarını ifade etmektedir (Şekil 2.22).

Kontrollü ilaç salınım sistemlerinin klasik ilaç uygulamalarına göre başlıca üstünlükleri şunlardır:

- İlaç düzeyinin tedavi edici oranda sabit tutulabilmesi
- İlacın istenilen bölgeye direkt olarak gönderilebilmesi nedeniyle vücuda karşı olabilecek muhtemel yan etkilerinin bertaraf edilmesi



- Tedavi için gerekli olan miktarın üzerinde ilaç kullanımına gerek duyulmaması bu bakımdan ekonomik olmaları



**Şekil 2.22:** Klasik İlaç Uygulamaları ile Kontrollü Salınım Sistemleri Uygulanmasının Kandaki İlaç Seviyesinin Zamana Bağlı Değişiminin Karşılaştırılması [21].

Kontrollü ilaç salınım sistemlerinin bu avantajlarının yanı sıra şu noktalara da dikkat etmek gerekir:

- İlacı taşıyan polimerin ya da bu polimerin degradasyon ürünlerinin toksisitelerinin olmaması gerekir.
- İlacı hızlı bir şekilde salıp vücut için tehlike arz etmemelidir.
- Sistemin kendisinden veya vücuda uygulanış şeklinden herhangi bir rahatsızlık olmamalıdır.
- Sistemi oluşturan polimerik malzemenin kendisi ve hazırlanış şekli maliyetli olmamalıdır.
- Sistemin yapısında ilacın aniden salınımına sebebiyet verecek herhangi bir çatlak bulunmamalı, mekanik özelliği iyi olmalıdır.

İlaç salınım sistemleri ilaç salınımı bakımından genel olarak üç gruba ayrılabilir:

- ✓ Geciktirilmiş salınım sistemleri: İlacın yan etkilerinin bertaraf edilmesi nedeni ile vücutta hedeflenen bölgede salınım yapan sistemler

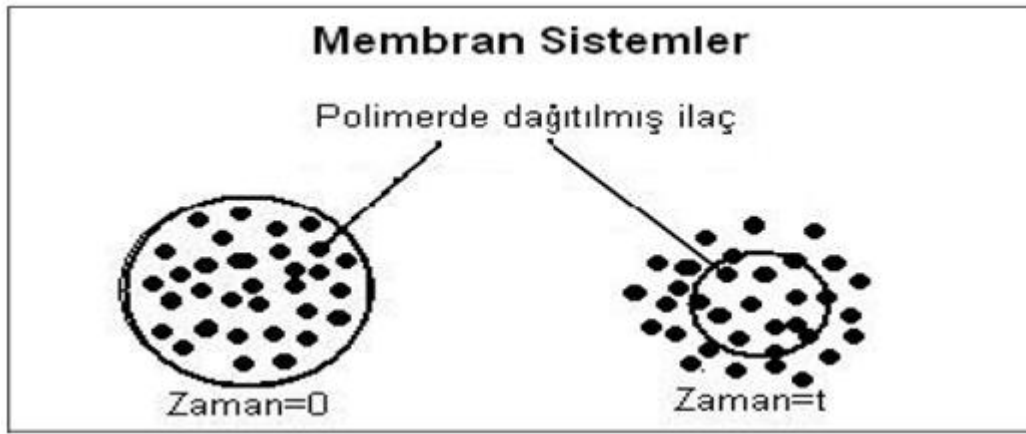
- ✓ Sürekli salınım sistemleri: İlacın sürekli bir şekilde salınarak kanda hep aynı seviyede kalmasını sağlayan sistemler
- ✓ Kontrollü salınım sistemleri: Salınımın dış ortamdaki bir değişkene cevap olarak gerçekleştiği sistemler [21].

### 2.5.1. Kontrollü ilaç salınım sistemlerinin sınıflandırılması:

İlaçların kontrollü salınım sistemlerinden salınımı başlıca aşağıdaki mekanizmaların biri veya birkaçının kombinasyonu üzerinden gerçekleşir:

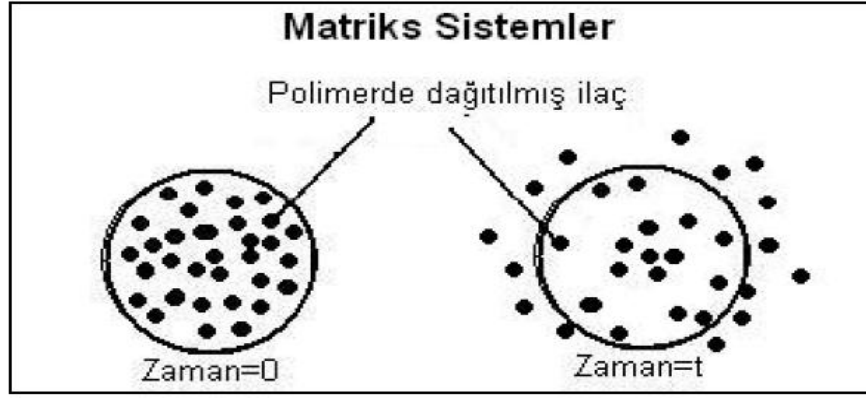
#### 2.5.1.1. Difüzyon kontrollü sistemler:

a) **Membran sistemler:** Bu sistemlerde tabaka, film, kapsül veya mikrokapsül şeklinde hazırlanan polimerler kullanılır. Salınımı yapılacak ilaç, çözülmüş veya dağılmış olarak bu membranlar içine konulur [71] (Şekil 2.23). Salınım esnasında ilaç membran içinden difüzlenerak membranın dış yüzeyine çıkar. İlacın membrandan difüzyonu hız belirleyici adımdır.



Şekil 2.23: Difüzyon Kontrollü Membran Sistemlerin Şematik Görünümü [71].

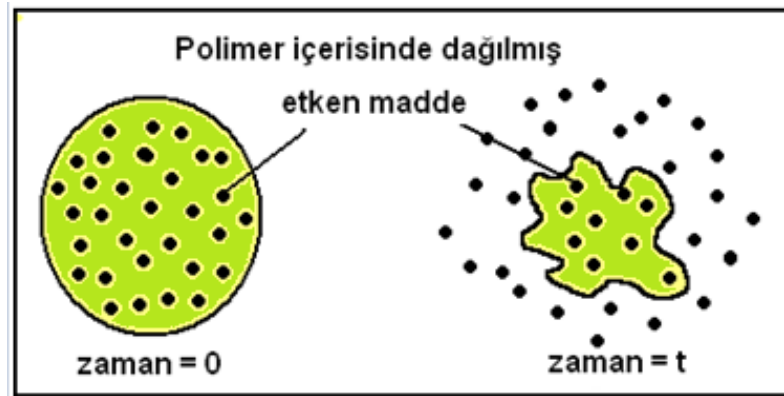
b) **Matris sistemler:** Bu sistemler ilacın katı bir polimer içinde çözünmesiyle veya homojen olarak dağıtılmasıyla hazırlanır. Üretimi kolay ve ucuzdur, ancak birinci dereceden salınım söz konusu olduğu için salınım hızı, dolayısıyla dış ortama verilen ilaç miktarı sürekli olarak azalmaktadır. Bu da sistemin bir dezavantajı olarak karşımıza çıkmaktadır [71] (Şekil.2.24).



Şekil 2.24: Difüzyon Kontrollü Matris Sistemlerin Şematik Görünümü [71].

### 2.5.1.2. Kimyasal kontrollü sistemler:

a) **Vücutta aşınan sistemler:** Bu sistemlerde yapı içinde hidrolitik olarak veya enzimatik yolla parçalanabilir bağlar bulunur. Bu nedenle bu sistemlere "biyoparçalanabilir sistemler" de denilir. Söz konusu bağların biyolojik yolla parçalanması sonucu polimerin aşınması ile ilaç salınımı gerçekleşir. Bu sistemlerin en büyük avantajı, cerrahi müdahaleye ihtiyaç duyulmadan vücuttan doğal yol ile atılabilmesidir. Ancak burada, kullanılacak olan malzemenin kendisinin ve parçalanma ürünlerinin sağlık açısından bir sakıncası olmaması gerekir [71] (Şekil 2.25).

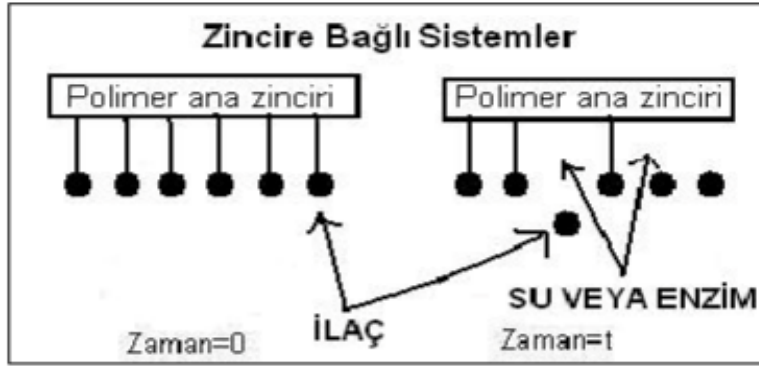


Şekil 2.25: Vücutta Aşınan Sistemlerin Şematik Gösterimi [71].

b) **Zincire takılı sistemler:** Bu sistemlerde vücuda gönderilmesi planlanan ilaç molekülü polimer zincirine enzimatik veya hidrolitik yolla parçalanabilecek kovalent bağlarla bağlı durumdadır ve bu yollarla parçalanarak ilacın vücuda salınımı

gerçekleşir. Polimer materyalin uygun tasarımıyla bağların parçalanması, dolayısıyla ilacın salınım hızı kontrol edilebilir.

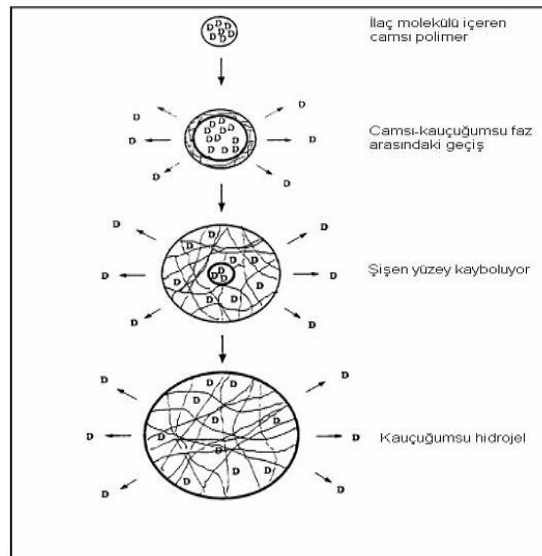
Bu sistemler genellikle kısa süreli ilaç salınım uygulamaları için kullanılır. Sistemin diğer sistemlere göre en büyük avantajı ağırlıkça yaklaşık %80 oranında ilaç ihtiva edebilmesidir [72] (Şekil 2.26).



Şekil 2.26: Zincire Takılı Sistemlerin Şematik Görünümü [72].

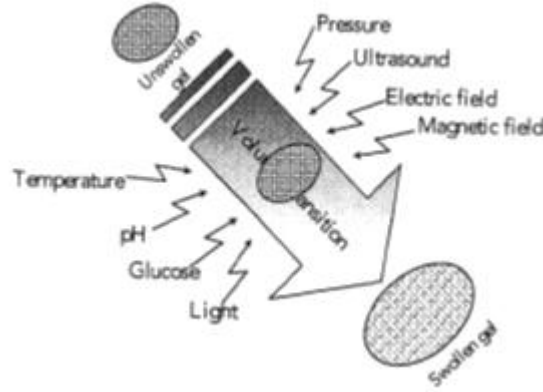
### 2.5.1.3. Çözücünün harekete geçirdiği sistemler:

a) **Şişme kontrollü sistemler:** Bu sistemlerin temelini çapraz bağlı hidrojel oluşturur. Hidrojelin içindeki ilaç molekülleri, salınım ortamı içinde (su veya biyolojik sıvı) hidrojin şişmesi ile dış ortama difüzenir. Burada, hidrojin kimyasal yapısı, çapraz bağ oranı, diğer bir deyişle gözenek boyutu önemli rol oynar ve ilacın salınım hızı ve miktarını belirler [72] (Şekil 2.27).



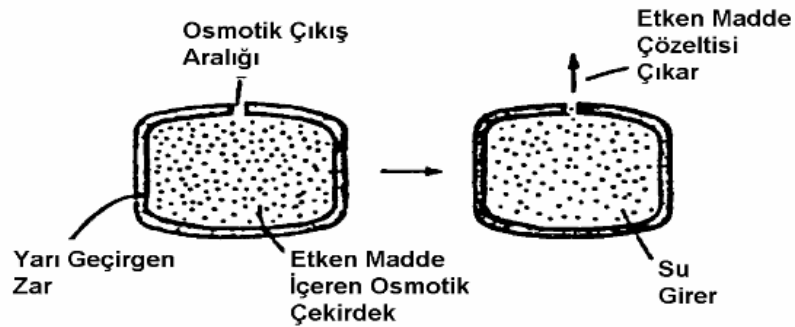
Şekil 2.27: Şişme Kontrollü Sistemlerin Şematik Görünümü [72].

Diğer taraftan çevreye (pH, sıcaklık, ışık, manyetik, elektrik alan vb.) duyarlı şişen hidrojellerin bu özelliklerinden yararlanarak da pH'a, sıcaklığa, ışığa, manyetik ve elektrik alana duyarlı ilaç salınımı gerçekleştiren kontrollü ilaç salınım sistemleri hazırlanabilir. Burada yine şişme mekanizması üzerinden ilaç salınımı söz konusudur [72] (Şekil 2.28).



**Şekil 2.28:** Çevreye Duyarlı Hidrojellerin Şişme-Büzülme Davranışı [72].

**b) Osmotik kontrollü sistemler:** Bu sistemler, yarı geçirgen bir zar ve bu zarın içine konulmuş ilaçtan meydana gelir. Su veya biyolojik sıvı içine konulduklarında, ortamdaki moleküller yarı geçirgen zarın gözeneklerinden içeri nüfuz ederek, içteki ilaç moleküllerini çözer. Ancak bu ilaç moleküllerinin membrandan difüze olması için sistemin uygun bir yerinden bir delik açmak gerekir. Bunun için lazer yönteminden yararlanır. Bu sistemlerde ilaç konsantrasyonu çok yüksek (doygunluk sınırının üstünde) olduğundan, salınım genellikle sıfırıncı mertebeden olup, osmoz kontrollüdür [72] (Şekil 2.29).



**Şekil 2. 29:** Osmotik Kontrollü Sistemlerin Şematik Görünümü [72].

## 2.5.2. Hidrojellerin ilaç salınımında kullanılması

Kontrollü ilaç salınımı alanında hidrojellerden çokça yararlanılır. Özellikle çevreye duyarlı hidrojellerin ilaç salınımı, başta pH ve sıcaklık olmak üzere çevre şartlarının kontrolü ile kolayca ayarlanabilir [73]. Hidrojellerin çoğu dehidrate şekilde camsı durumdadır. İlaç salınımı genellikle eş zamanlı olarak suyun absorpsiyonu ve ilacın şişme kontrollü desorpsiyonu şeklinde gerçekleşir [74]. Bununla birlikte az sayıda hidrojelde ise büzülme ile ilaç salınımının olduğu rapor edilmiştir [75].

Çevreye duyarlı hidrojellerin, vücut içi ve dışında meydana gelebilecek çeşitli uyarıcılara karşı, şişme davranışı, ağ yapının şekli, geçirgenlik veya mekanik direnç gibi özelliklerinde büyük değişimler söz konusu olabilir [76].

Çok sayıda çalışma tek tip uyarıcıya cevap veren hidrojellerin ilaç salınımı üzerinde yapılmıştır. Ancak fizyolojik şartlarda birden fazla değişkenin rol oynadığı gözönüne alınır, ikili uyarıcıya cevap veren hidrojellerle çalışmanın daha avantajlı olduğu görülür [77].

Uyarıcıya duyarlı hidrojel sistemlerinin çeşitli ilaç salınımlarında kullanımı Çizelge 2.6'da görülmektedir [77].

**Çizelge 2.6:** İlaç Salınımında Uyarılara Duyarlı Hidrojeller [77].

İlaç Salınımında Uyarılara Duyarlı Hidrojeller		
Uyarıcı	Polimer	İlaç
Manyetik alan	Etilen-ko-vinil asetat	İnsülin
Ultrasonik radyasyon	Etilen-ko-vinil alkol	İnsülin
Elektrik alan	Poli(2-hidroksietil metakrilat)	propanol hidroklorür
pH	Kitosan-poli(etilen oksit)	Amoksisilin, Metronidazol
	Poli(akrilik asit), poli(etilen oksit)	Salisilamid, Nikotinamid, Klonidin, Hidroklorid, Prednizolon
	Jelatin-poli(etilen oksit)	Riboflavin
	Poli(2-hidroksietil metakrilat)	Salisilik asit
	Poli(akrilamid-ko-maleik asit)	Terbinafin Hidroklorür
	N-vinil pirolidon, polietilen glikol diakrilat Kitosan-poli(etilen oksit)	Teofilin, 5-fluourasil
Sıcaklık	Poli(N-izopropil akrilamid)	Heparin
pH ve Sıcaklık	Poli(N-izopropil akrilamid-ko-butil metakrilat-ko-akrilik asit)	Kalsitonin

Vücutun çeşitli bölgelerinde pH değişiminin farklılık göstermesi, pH'a duyarlı salınım sistemlerinin kullanımına olanak sağlar. Örneğin tadı kötü ilaçların ağız içi nötral ortamda maskelenerek, mide ortamının asidik pH'ında salınarak vücuda gönderilmesi bu alandaki stratejilerden biridir.

Enkapsüle edilmiş ilacın difüzyonunun ayarlanmasında en önemli parametreler, hidrojelün gözenek boyutu ve ilacın hidrodinamik hacmidir [78,79]. Bununla birlikte ilacın enkapsülasyon (jel içine yüklenmesi) yönteminin de difüzyon hızında büyük önemi vardır.


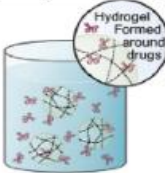

İlacın jel içine enkapsülasyonu ile ilgili aşağıdaki yöntemler mevcuttur:

**I) İlacın direkt olarak jel içine eklenmesi:** Bu yöntemde polimer zincirleri ilaç çözeltisinin olduğu ortamda çapraz bağlanarak ilaç moleküllerinin enkapsüle olması sağlanır. Enkapsülasyonun bir diğer yolu da önceden çapraz bağlanmış hidrojelün ilaç çözeltisine konulup ilacın hidrojel gözenekleri içine difüzyonunu sağlamaktır [80]. Her iki yöntem de hazırlama açısından pratiktir ve her ikisinde de hidrojelün şişme prosesinin başlangıç aşamasında ilacın hızlı bir şekilde salınımı söz konusudur. Bu hızlı salınmadan sonra jel içinde geriye kalan ilaç moleküllerinin salınımı bir müddet daha devam eder. Bahsi geçen ilk aşamadaki hızlı salınım (bazı durumlarda jel içindeki ilacın %70'inin başlangıç aşamasında salındığı kaydedilmiştir) çapraz bağ oranı arttırılarak %10-25'lere kadar düşürülebilir [81,82]. Ancak ilacın çapraz bağlanmadan önce veya sonra enkapsüle edilmesi salınım profillerini değiştirebilmektedir. Buna ilave olarak ilaç, çapraz bağlanmadan önce enkapsüle edilmiş olduğunda ilaç molekülleri fonksiyonel grupları vasıtasıyla reaksiyona girip polimer ana zinciri içinde yer alabilir. Bu durum hem sistemin değişimine hem de yüklenen ilaç miktarının azalmasına neden olur.

**II) Hidrojel içinde ayrı salınım sistemlerinin geliştirilmesi:** İlacın birkaç ay gibi uzun bir süre salınması isteniyorsa ve hidrojelün çapraz bağ yoğunluğunu arttırarak bu sağlanamamışsa bu yöntem kullanılır. Söz konusu yöntemde hidrojel içine ilaç içeren, mikro veya nanokapsüller yerleştirilir [83]. Bu konuda yapılan bir çalışmada polivinilalkol (PVA) bazlı hidrojellerin deksametazon etken maddesinin yaklaşık iki haftada salınımını gerçekleştirdiği, buna karşılık mikroküreler içine enkapsüle edilmiş steroidin salınımını ayda %6'sını salacak şekilde geciktirdiği görülmüştür [84]. İlaçların, salınım sistemlerinden yavaş salınımı konusunda bir başka yaklaşım

da; ilaç içeren mikropartiküllerin şişmeyen, ancak degrede olan bir hidrojel içine dispersiyonu ile elde edilmesidir. Burada hidrojel degrede olurken enkapüle edilmiş ilaç hidrojelden dışarı salınır [85].

**III) Hidrojele kovalent bağlı sistemler:** İlaç etken maddelerinin hidrojele yüklenmesi ile elde edilen ilaç salınım sistemlerinde, ilaç molekülleri hidrojeli hızlı bir şekilde terkeder. İlaç salınımını daha iyi kontrol etmek için ilaç molekülleri ile hidrojel ağ yapısı arasında kovalent bağ gerçekleştirilir. Bu şekilde ilaç salınımı, polimer-ilaç bağının kimyasal veya enzimatik olarak kırılması şeklinde ilerler [86]. Sözü edilen kovalent bağlı ilaç salınım sistemleri kullanılarak birkaç haftadan birkaç aya kadar süren salınım gerçekleştirilebilir. Bu konu ile ilgili sıcaklığa duyarlı kovalent bağlı polifosfazen-paclitaksel jeli ile yapılan bir çalışmada, paclitaksel moleküllerinin bir ay kadar bir süre boyunca salınmaya devam ettiği rapor edilmiştir [87]. Şekil 2.30'da ilacın çapraz bağlanmadan önce ve sonra hidrojele yüklenmesi ve kimyasal bağ ile hidrojele bağlanması şeklinde elde edilen ilaç salınım sistemleri çeşitli bakımlardan karşılaştırılmaktadır [56].

Süzülme	Hapsedilme	Kovalent bağ
		
<b>Yüklenebilen ilaç</b> Small molecules	Small molecules, peptides, roteins, micro/nanospheres	Small molecules, peptides, proteins
<b>Ağ Türleri</b> Physical, covalently cross-linked, and IPN gels	Physical and covalently cross-linked gels	Physical and covalently cross-linked gels
<b>İn-sitü jelleşme olanağı</b> No	Yes	Yes
<b>Patlama salınım derecesi</b> High	Moderate	None
<b>Akıllı taşıma mekanizması</b> pH-sensitive swelling, polymer dissolution and degradation	pH-sensitive swelling, polymer dissolution and degradation	Enzyme-sensitive release, polymer dissolution and degradation
<b>Salınım Süresi</b> Hours to days	Days to weeks	Days to months
<b>Değerlendirmeler</b> High loading efficiencies for hydrophilic drugs; Low chance of drug deactivation	Suitable for loading hydrophilic and hydrophobic drugs; Moderate chance of drug deactivation; Chance of toxic material leaching	Best suited for hydrophilic drugs; Possible drug deactivation during polymer bonding

**Şekil 2.30:** İlacın Çapraz Bağlanmadan Önce ve Sonra Hidrojele Yüklenmesi ve Kimyasal Bağ ile Hidrojele Bağlanması Şeklinde Elde Edilen İlaç Salınım Sistemlerinin Çeşitli Bakımlardan Karşılaştırılması [56].



### 2.5.2.1. Kitosan hidrojjellerinin ilaç salınımında kullanımı:

Kitosanın biyouyumlu, biyobozunur olma vb. üstün özelliklerinden yararlanarak özellikle biyomedikal ve biyoteknolojik alanda çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Bu bağlamda en çok çalışılan alanlardan birini de ilaç salınım sistemleri oluşturmaktadır. Bu çalışmalardan bazıları fiziksel çapraz bağlı kitosan ve kitosan türevlerinden oluşan hidrojjeller ile ilgiliyken, bir kısmında da kimyasal çapraz bağlı kitosan hidrojjelleri kullanılmıştır. Kitosan jellerinin ilaç salınımında kullanılmasıyla ilgili çalışmalardan biri Dai ve grubuna aittir [88]. Bu çalışmada iyonik olarak çapraz bağlanmış fiziksel süksinil kitosan (Suc-Ch)/aljinat hidrojjellerinin pH:1,5'ta içerdiği nifedipin etken maddesinin %11,6'sının salındığı, jelin mide ortamının bu düşük pH'ından etkilenerek üç saat sonra stabilitesinin bozulduğu, buna karşılık pH:7,4'te ilacın %76'sının salındığı ve stabil kaldığı kaydedilmiştir. Bir başka çalışmada ise kitosan-akrilamit-aşı-hidroksietilselüloz (AAM-g-HEC) yarı IPN mikrojjellerin ilaç salınımları incelenmiş pH:1,2'de salınımın yavaş, pH:7,4'te ise hızlı olduğu rapor edilmiştir [89]. Guo ve grubunun yaptığı bir araştırmada ise pH yanında sıcaklığa duyarlı olarak salınım yapan bir sistem geliştirilmek istenmiş ve poli(N-izopropil akrilamit)-kitosan hidrojjelleri hazırlanarak çeşitli ilaçların pH ve sıcaklığa bağlı olarak salınımları takip edilmiştir [90].

Yine fiziksel çapraz bağlı yapıda olan poli(metakrilikasit-vinil piroolidon)-kitosan (PMVC) ve N-vinil piroolidon (NVP)'dan oluşan muko-yapışkan kitosan hidrojjelleri iyonik yolla sentezlenmiş, yapıya NVP'nin eklenmesinin hem asidik ortamda insülin salınımını, hem de muko-yapışma özelliğini arttırdığı rapor edilmiştir [91].

Kitosan ile yapılan çalışmaların bir diğerinde de jelin enzime duyarlı olarak ilaç salınım özellikleri incelenmiştir. Tozaki ve grubunun yaptığı bu çalışmada kolonda salınan enzimlere duyarlı olarak insülin salınımı yapan kitosan kapsülleri sentezlenmiştir [92]. Patel ve grubu ise kitosan-polietilenoksit yarı-IPN hidrojjelleriyle çalışmış, amoksisilin ve metronidazol antibiyotiklerinin seçimli olarak mide ortamında salınımını incelenmiştir [93]. Bir diğer çalışmada da düşük ve yüksek molekül ağırlıklı kitosan ile çalışılarak ve gluteraldehit ile çapraz bağlanma gerçekleştirilerek farklı vizkozitelerde jeller sentezlenmiş, sentezlenen bu jellerin "klotrimazol" etken maddesinin salınımı araştırılmıştır. Salınım hızı ve miktarının jelin viskozitesine bağlı olarak ters orantılı şekilde değiştığı ortaya çıkarılmıştır [94].

Kitosan hidrojellerinin mide ortamında değil de bağırsak ortamında ilaç salınımının istendiği bir çalışmada ise nitrofurantoin etken maddesi içeren kitosan/aljinat mikrokapsül hidrojelleri sentezlenmiş, mide ortamına kıyasla seçimli olarak bağırsakta daha etkin bir salınım gözlenmiştir [95].

İlaç salınım uygulamaları özellikle kanser tedavilerinde kanser ilaçlarının vücuda verdiği zararı azaltmak ve ilacı hedeflenen tümörlü bölgeye göndermesi bakımından oldukça büyük öneme sahiptir. Kitosan ile yapılan çalışmaların birinde birçok kanser çeşidinde kullanılmakta olan 5-fluorourasil (5-FU) ilaç etken maddesinin salınımı incelenmiştir. Gürdağ ve grubunun yaptığı bu çalışmada 5-FU etken maddesi içeren kitosan-poli(akrilamit), kitosan-poli(N-hidroksimetil akrilamit) ve kitosan-poli(akrilamit-ko-N-hidroksimetil akrilamit) yarı IPN hidrojellerinin ilaç salınım özellikleri araştırılmıştır. Hidrojellerin mekanik özelliklerinin de incelediği çalışmada 5-FU salınımının pH:2,1'de pH:7,4'e kıyasla %10 daha fazla olduğu rapor edilmiştir [96].

Kitosanın ilaç salınımına dair yapılan çok sayıda çalışmadan bir diğerinde de 5-FU etken maddesinin tripolifosfat (TPP) ile çapraz bağlı kitosan nanopartikül hidrojellerinden salınımı incelenmiştir. pH:3-5 aralığında jellerin şişmesine karşılık, pH:5-7,4 aralığında büzülme gözlenmiş, hidrojel içinde bulunan 5-FU'nun yaklaşık %70'inin salındığı rapor edilmiştir [97].

Yukarıda bazı örnekleri verilen kitosan hidrojellerinin ilaç salınımına dair yapılan çalışmalar çok sayıda olup, her geçen gün farklı modifikasyonlarla kitosanın özel yapısı geliştirilerek çeşitli ilaçlar için ideal bir salınım sistemi oluşturulmaya çalışılmaktadır.

Sunulan bu tez kapsamında kitosanın doğal bir çapraz bağlayıcı olan genipin ile çapraz bağlanması, bu şekilde hem kararlı (kovalent çapraz bağlı olmasının jelle kazandırdığı avantaj), hem de toksik olmayan bir jel elde edilmesi hedeflenmiştir. Literatürde genipin çapraz bağlı kitosan hidrojelleri ve bu jellerin ilaç salınımına yönelik çalışmalar mevcuttur. Tez kapsamında gerçekleştirilmek istenen, yapıya daha önce çeşitli çalışmalarda hidrojellerin şişme, pH'a duyarlılık ve ağır metal absorplama gibi özelliklerini büyük ölçüde değiştirdiği kaydedilen spirulina mikrolaginin dahil edilmesi, bu şekilde kitosan hidrojelinin ilaç salınım özelliklerinin geliştirilmesidir [98-99].

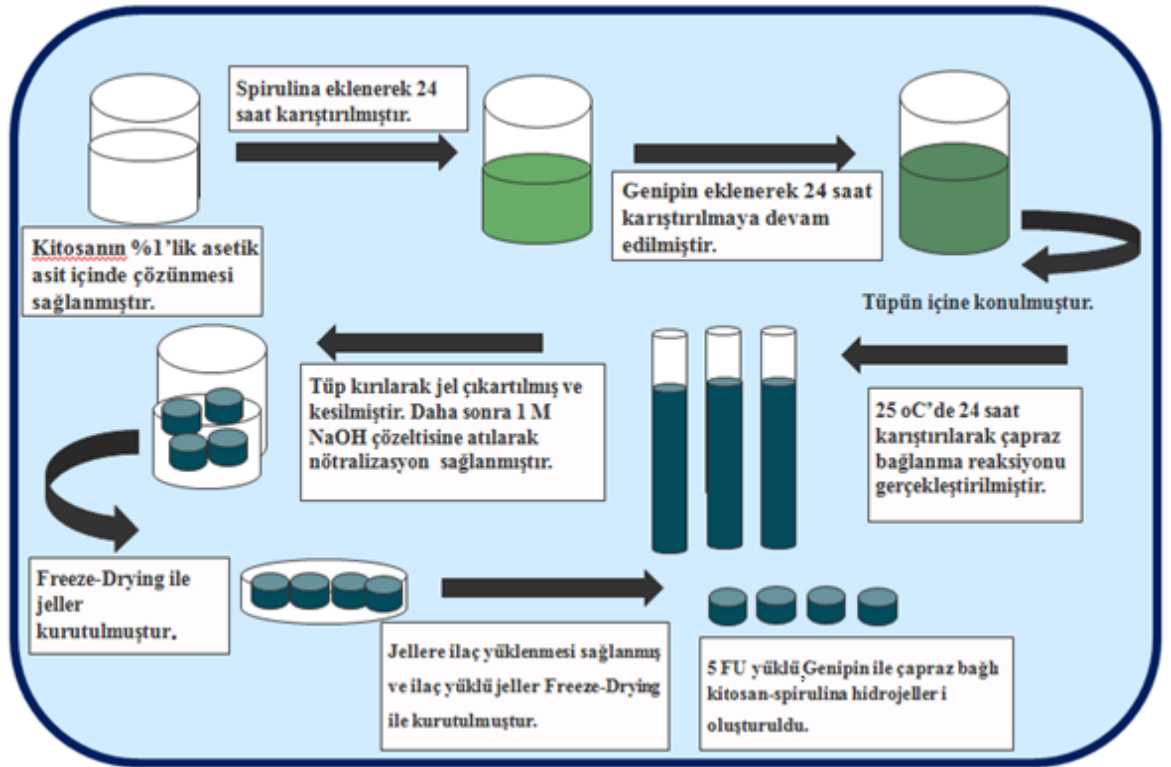
### 3. DENEYSEL YÖNTEM

#### 3.1. Deneyde Kullanılan Malzemeler

Genipin çapraz bağlayıcısı ve kitosan polimeri Sigma-Aldrich Chemicals (Milwaukee, US) firmasından satın alınmıştır. Kitosanın ortalama molekül ağırlığı 50-190 KDa'dur. Mikroalg türü olan spirulina ise Egert Doğal Ürünler Ltd. (İzmir, Türkiye) firmasından temin edilmiştir. Kanser hastalığı tedavisinde kullanılan 5-fluorourasil (5-FU) ilaç etken maddesi ise Sigma-Aldrich Chemicals firmasından alınmıştır.

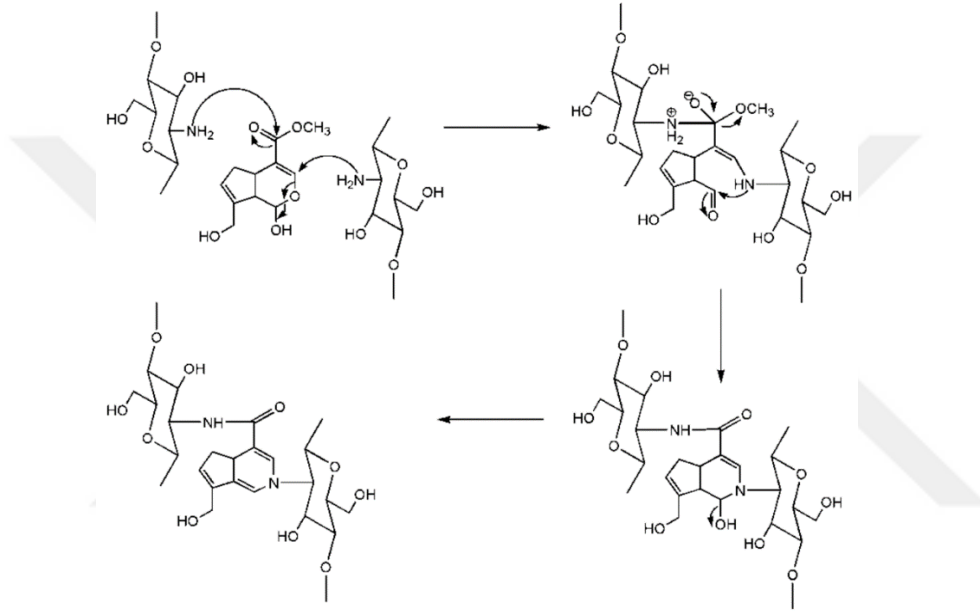
#### 3.2. Çapraz Bağlı Kitosan Hidrojellerinin Hazırlanması

Çapraz bağlı kitosan-spirulina hidrojelleri Şekil 3.1'de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 3.1: Çapraz Bağlı Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Hazırlanmasının Şematik Gösterimi.

Bu çalışmada ilk olarak 0,2 gr kitosan polimeri 8 ml %1 (%w/w)'lik asetik asit çözeltisi içinde çözülmüş ardından değişik oranlarda (% w/w 1,5 , 3 ve 4,5) spirulina mikroalgi eklenmiş ve spirulinanın iyice dağılması için 24 saat karıştırılmıştır. Daha sonra, kitosan-spirulina çözeltisi içine konsantrasyonu 0,2 mM olacak şekilde genipin çapraz bağlayıcısı eklenerek karışım 1 cm çapındaki cam tüplere konulmuş ve 25 °C de 24 saat boyunca çapraz bağlanma reaksiyonuna bırakılmıştır. Genipinin kitosanı çapraz bağlama mekanizması literatürde rapor edildiği gibi Şekil 3.2'de verilmiştir [100].



**Şekil 3.2:** Kitosan Polimerinin Genipin ile Çapraz Bağlanma Reaksiyon Mekanizması [100].

24 saat sonunda elde edilen jeller cam tüplerden çıkartılarak yaklaşık 0,5 cm kalınlığında diskler şeklinde kesilmiştir. İçindeki asetik asitin nötralizasyonu için 1 M NaOH çözeltisi içinde bekletilen hidrojeller daha sonra bol su ile yıkanarak saflaştırılmış ve dondurulup, liyofilizatörde kurutulmuştur.

Spirulina içermeyen hidrojeller Ch-Gnp olarak adlandırılmıştır. Sp içeren hidrojeller için ise Ch-Gnp-XSp notasyonu kullanılmıştır. Adlandırmada X, ağırlıkça % spirulinayı göstermektedir.

### 3.3. Kitosan Hidrojellerinin Suda ve Farklı pH Değerlerindeki Şişme Testleri:

Kuru formdaki Ch-Gnp ve Ch-Gnp-XSp hidrojellerin distile suda, pH:2 ve pH:7.4 tampon çözeltilerinde gravimetrik metodla şişme testleri gerçekleştirilmiş ve aşağıdaki formül kullanılarak şişme oranları hesaplanmıştır:

$$\%S_w = \frac{m_s}{m_o} \times 100 \quad (3.1)$$

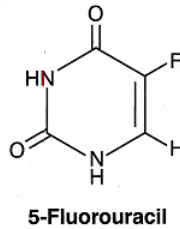
$m_t$  = t anında suda şişmiş hidrojelin kütlesi

$m_o$  = kuru hidrojelin kütlesi

$\%S_w$  = yüzde şişme oranı

### 3.4. Kitosan Hidrojellerine İlaç Yüklenmesi:

Tüm hidrojellerin ilaç yüklemeleri 65 ve 130 ppm olmak üzere iki farklı konsantrasyondaki 5-FU çözeltilerinde gerçekleştirilmiştir. Bunun için jeller ayrı ayrı 100'er mL'lik ilaç çözeltilerine konularak 7 gün boyunca 4 °C'de bekletilmişlerdir [101]. Tez kapsamında ilaç model olarak kullanılan 5-fluorourasil etken maddesinin kimyasal formülü Şekil 3.3'te görülmektedir [102].



**Şekil 3.3:** 5-Fluorourasilin Kimyasal Yapısı [102].

Hidrojellerin ilaç yükleme miktarlarının tespiti için ilaç yüklenmeden önce ve sonraki ilaç çözeltilerinin 5-FU konsantrasyonu 266 nm dalga boyuna ayarlanmış UV-spektrofotometre yardımıyla bulunmuş, bunun için aşağıdaki formülden yararlanılmıştır:

$$\text{Hidrojelin ilaç yükleme miktarı (mg 5FU/ g hidrojel)} = \frac{(C_b - C_s) \times V}{W} \quad (3.2)$$

$C_b$  = İlaç çözeltilerinin başlangıç 5-FU konsantrasyonu (mg 5 FU/ L)

$C_s$  = İlaç çözeltisinin son 5 FU konsantrasyonu (mg 5 FU/ L)

$V$  = Hidrojelin içine konulduğu ilaç çözeltisinin hacmi (L)

$W$  = Kuru hidrojel kütlesi (g)

### 3.5. Kitosan Hidrojellerinin İlaç Salınım Denemeleri:

İlaç yüklenmiş ve liyafilizatörde kurutulmuş hidrojellerin herbiri ayrı ayrı 100 mL'lik, sıcaklık değerleri (vücut sıcaklığını temsilen) 37 °C olarak sabit tutulan pH:2 ve pH:7,4 tampon çözeltilerine konulmuş ve belirli zaman aralıklarında çözeltiden 2'şer mL örnek alınarak UV spektrofotometrede (266 nm'de) 5-FU konsantrasyonları ölçülmüştür. Burada önemli bir nokta; spektroskopik ölçüm için ortamdan alınan 2'şer mL çözelti, ilaç salınım ortamının hacminin ( $V$ ) değişmemesi için ölçümden hemen sonra hidrojelin ilaç salınımı yaptığı ana çözelti içine geri konulmuştur. Hidrojelden salınan ilaç miktarı aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır:

$$\text{Hidrojelden salınan 5-FU miktarı (mg 5FU/ g hidrojel)} = \frac{c_t \times V}{W} \quad (3.3)$$

$c_t$  = t anında çözeltinin 5 FU konsantrasyonu. (mg 5 FU/ L)

$V$  = Jelin içine konulduğu çözeltinin hacmi (L)

$W$  = kuru hidrojel kütlesi (g)

### 3.6. Suda Şişmiş Kitosan Hidrojellerinin Mekanik Testleri:

Silindirik kesilmiş hidrojellerin mekanik ölçümleri 50 N'luk yük hüccesine sahip Zwick/Roell Z1.0 marka test cihazı kullanılarak tek yönlü sıkıştırma şeklinde gerçekleştirilmiştir. Tüm jeller ayrı ayrı suda şişmiş formda sıkıştırma testlerine maruz bırakılmışlardır. Bunun için yaklaşık 1 cm çapındaki jeller 1 cm'lik kalınlıkta kesilip 3 mm/dk hızda sıkıştırma testlerine tabi tutulmuşlar, %65 oranında deformasyona karşılık gerinim- gerilim değerleri kaydedilmiştir.

### **3.7. Kitosan Hidrojellerinin İlaçlı ve İlaçsız Formdaki Morfolojik Analizleri:**

Gerek suda gerekse ilaç çözeltilisinde şişmiş ve liyofilizatörde kurutulmuş hidrojellerin morfolojik yapısını aydınlatmak için taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntülerinin elde edildiği ESEM-FEG ve EDAX (Philips XL-30, Hollanda) kullanılmıştır.



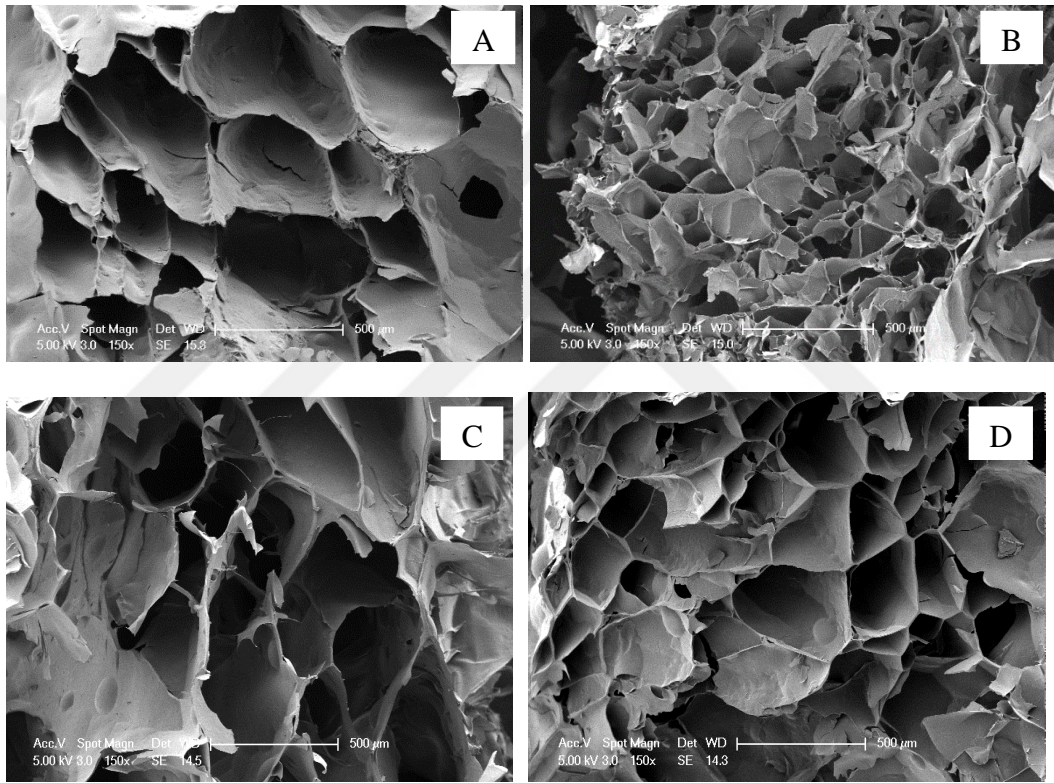




## 4. SONUÇ VE TARTIŞMALAR

### 4.1. Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Morfolojik Yapısı:

Kitosan ve kitosan-spirulina hidrojellerinin iç yüzey yapılarını gösteren SEM görüntüleri Şekil 4.1’de verilmiştir.



**Şekil 4.1:** Kitosan ve Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin İç Yüzey Morfolojilerinin Düşük Magnifikasyonlarındaki SEM görüntüsü: (A) Ch-Gnp, (B) Ch-Gnp-1,5Sp, (C) Ch-Gnp-3Sp (D) Ch-Gnp-4,5Sp.

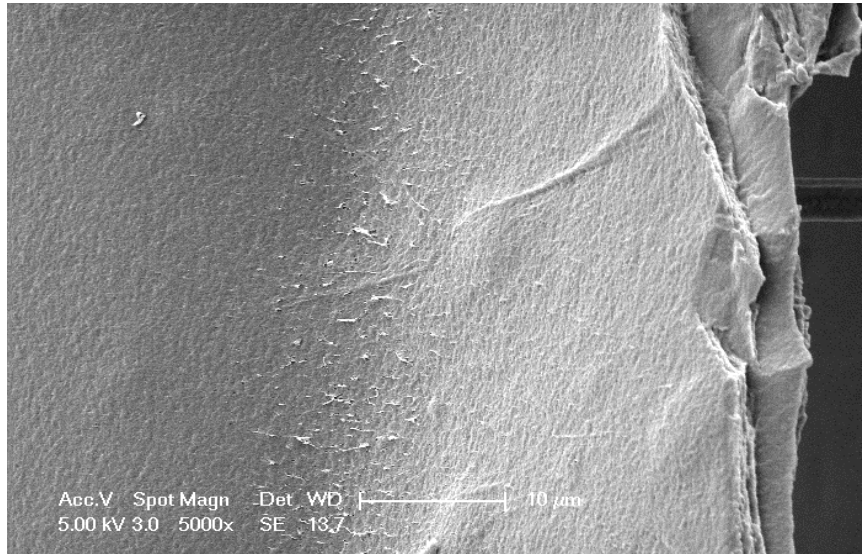
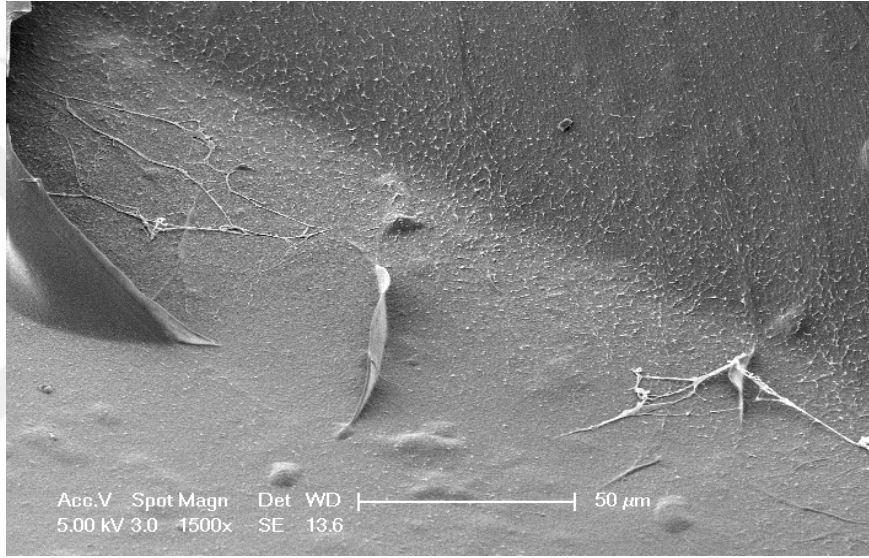
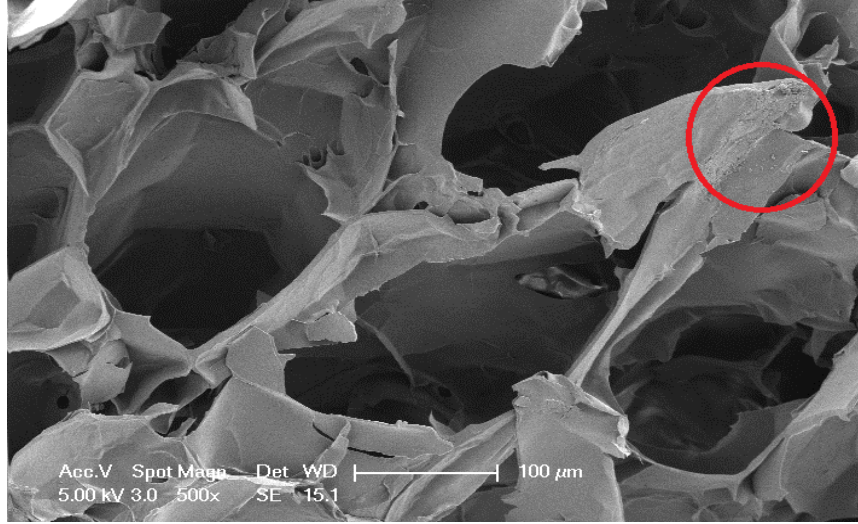
Şekilden görüldüğü gibi spirulina içermeyen kitosan hidrojelinde nispeten homojen dağılmış, yaklaşık 500 mikron büyüklüğünde kapalı gözenekler hakimken, %1,5 oranında spirulina eklenmesiyle gözenek boyutunda neredeyse yarı yarıya bir düşüş olduğu anlaşılmakta, bununla birlikte yapıyı nispeten heterojen dağılmış açık ve

kapalı gözenekler oluşturmaktadır. %3 oranında spirulina içeren Ch-Gnp-3Sp jelinin morfolojisi incelendiğinde (Şekil 4.1-C) ise gözenek boyutunun tekrar yüksek değerlere çıktığı gözlemlenmektedir.

Hidrojellerin gözenek yapılarındaki bu değişim şöyle açıklanabilir: Ch-Gnp-1,5Sp hidrojelinde yapıda bulunan bu orandaki Sp, kitosan ana matrisi içinde homojen bir şekilde dağılmış ve hidrojel her bölgesinde gerek kendi aralarında gerekse kitosan ana matrisi ile fonksiyonel gruplarının sekonder etkileşimleri sonucu ek fiziksel çapraz bağlar oluşturmuşlardır. Bu ek fiziksel çapraz bağların Ch-Gnp-1,5Sp hidrojelinin Ch-Gnp'ye göre daha küçük gözenek yapısına neden oldukları düşünülmektedir. Ch-Gnp-3Sp hidrojelinde ise %3 oranında Sp'nin eklenmesi ile daha yüksek gözenek boyutları gözlenmiştir. Muhtemeldir ki hidrojel sentezi esnasında %3 oranında bulunan spirulina molekülleri genipin çapraz bağlayıcı moleküllerinin çapraz bağlama reaksiyonu esnasında homojen dağılmasını ve kitosan moleküllerinin etkin çapraz bağlanmasını kısıtlamıştır. Bununla birlikte genipin moleküllerinin aglomer olmasına yol açıp, hidrojel çapraz bağ yoğunluğunun beklenenden az çıkmasına neden olmuştur. Bunun doğal bir sonucu olarak da SEM görüntülerinde gözenek boyutları daha yüksek olarak gözlenmiştir. Ch-Gnp-4,5Sp'de ise %4,5 oranında spirulinanın yapıda olmasının Sp'nin dağılımını olumsuz yönde etkilediği ve bununla birlikte artan Sp moleküllerinin hidrojel katı bileşen kısmını arttırması nedeniyle gözeneklerin Ch-Gnp-3Sp'ye göre daha küçük olduğu düşünülmüştür.

Hidrojellerin daha yüksek magnifikasyondaki görüntüleri Şekil 4.2'de verilmiştir.

Şekilde spirulina hidrojeldeki bazı bölgelerde iplikçik şeklinde gözlemlenebilmektedir. Özellikle Ch-Gnp-3Sp ve Ch-Gnp-4,5Sp hidrojelinin Ch-Gnp-1,5Sp'ye kıyasla daha fazla içerdiği spirulina, kitosan ana matrisinin duvarlarını kaplamış bir şekilde kendini açıkça belli etmektedir.



**Şekil 4.2:** Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Spirulina Bölge SEM Görüntüsü: (A) Ch-Gnp-1,5Sp, (B) Ch-Gnp-3Sp, (C) Ch-Gnp-4,5Sp.

#### 4.2. Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Şişme Davranışları:

Ağırlıkça %1,5-4,5 arasında değişen oranlarda spirulina içeren kitosan-spirulina hidrojellerinin şişme davranışı distile su, pH:2 ve pH:7,4 tampon çözeltilerinde olmak üzere üç farklı ortamda incelenmiş ve sonuçlar birbirleriyle karşılaştırılmıştır. Her üç ortamdaki şişme eğrileri Şekil 4.3’de gösterilmiştir.

Şekil 4.3’deki grafiklerden açıkça jellerin su ve pH:7,4 tampon çözeltisi içindeki şişme davranışlarının jellerin birbirleri arasındaki şişme oranı sıralaması açısından birbirine benzer, pH:2 ortamında ise farklı olduğu gözlenmiştir.

Jellerin şişme davranışları detaylı olarak incelenecek olursa her üç ortamda da saf Ch-Gnp hidrojelinin en az şişme oranına sahip olduğu anlaşılmaktadır. Bunun en büyük nedeni, bu jelin su absorplayacak ilave spirulina kaynaklı fonksiyonel gruplara sahip olmaması ve bunun yanısıra SEM analizlerinden elde edilen morfolojik yapısına göre kapalı gözeneklerden oluşması şeklinde düşünülebilir. Diğer taraftan yine Şekil 4.3’den görüldüğü gibi Ch-Gnp jelinin, kitosanın katyonik karakterinden beklenildiği üzere pH:2 ortamında şişme oranı yaklaşık %5500 iken, distile su içinde (pH:5,5-6) ve pH:7,4 ortamında azalarak sırasıyla 950 ve 608 değerlerini almaktadır. Saf Ch-Gnp hidrojelinin pH’a bağlı şişme oranındaki bu değişim şöyle açıklanabilir: Bilindiği üzere kitosan ana matrisindeki amin grupları pH:2’de protonlanmış durumda,  $\text{NH}^+$  şeklinde bulunurlar. Bu (+) yüklü grupların birbirini elektrostatik kuvvetle itmesi sonucu hidrojeldaki polimer zincirleri de birbirini iter ve ağ yapının gerilmesine, dolayısıyla hidrojel içindeki boşlukların artmasına ve daha çok su absorplayıp daha çok şişmesine neden olur. Buna ilave olarak ağ yapıdaki iyonik fonksiyonel gruplar ( $\text{NH}^+$ ) ile su molekülleri arasında oluşan iyon-dipol kuvvetleri de şişme oranının artmasını sağlayan bir diğer etkidir. pH:2’de bahsi geçen  $\text{NH}^+$  gruplarının sayıca fazla olması nedeniyle asidik ortamda saf Ch-Gnp hidrojelinin şişme oranı diğer pH değerlerindeki göre daha yüksek çıkmaktadır.

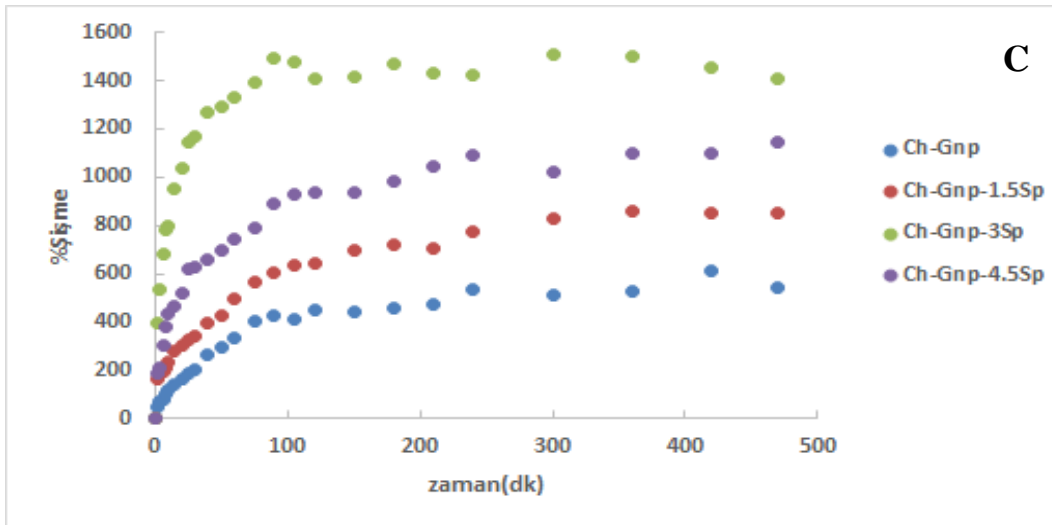
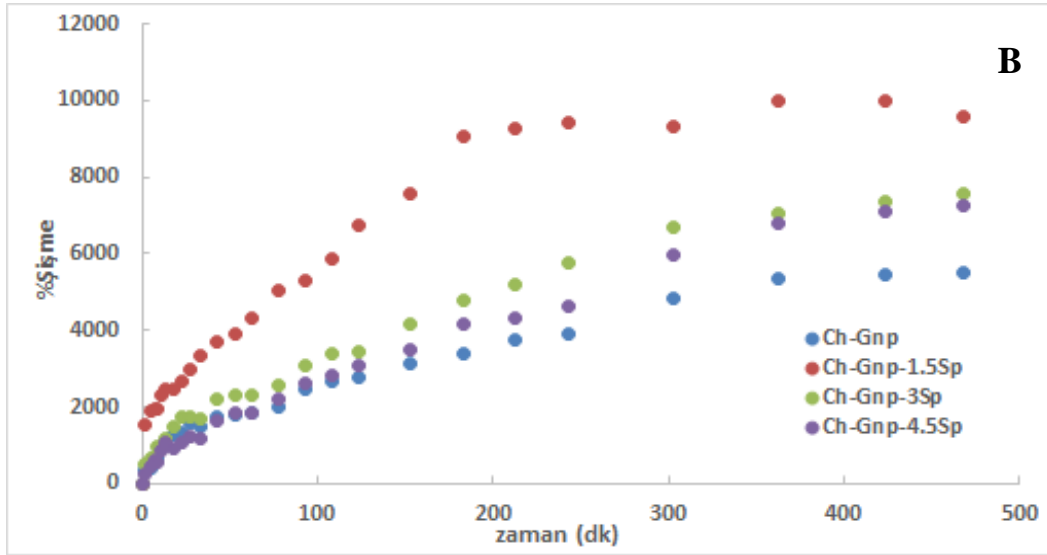
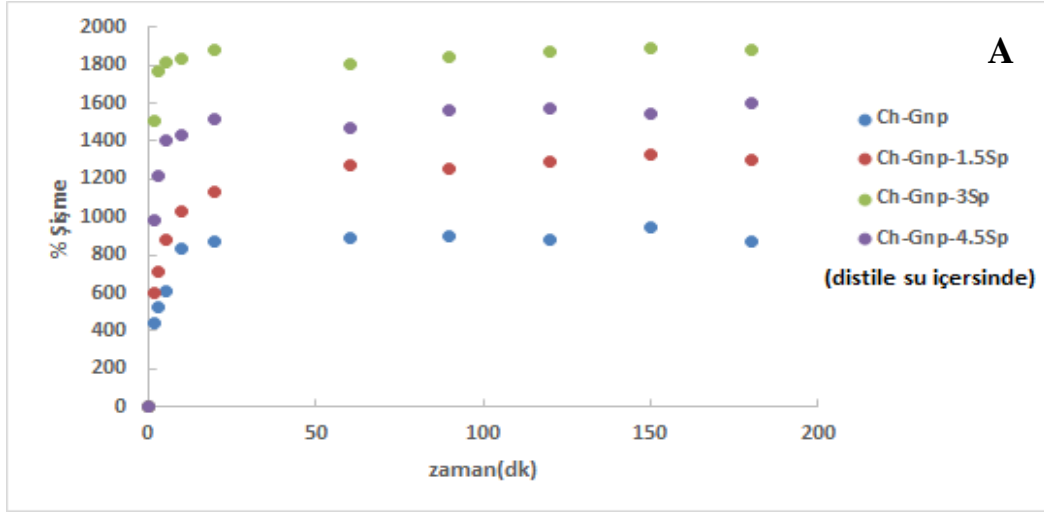
Spirulina içeren hidrojellerin şişme oranının saf Ch-Gnp’ye göre daha yüksek olması ise spirulinadaki başta amin grupları olmak üzere hidroksil, karboksil vb. çeşitli fonksiyonel grupların varlığıyla açıklanabilir. Bu gruplar spirulinadaki moleküllerin yeteri kadar dağılıp açık formda bulunmaları sonucunda gerek hidrojen bağları vasıtasıyla, gerekse iyon-dipol etkileşimleriyle su moleküllerini daha çok tutarak şişme oranının daha yüksek çıkmasına neden olurlar. Diğer taraftan yine spirulinayı

meydana getiren moleküllerin fonksiyonel gruplarının özellikle de amin gruplarının düşük pH'ta protonlanarak  $\text{NH}^+$  halini alması gerek spirulinadaki moleküllerin birbirini gerekse kitosan moleküllerini itmeleri sonucu hidrojel ağ yapının genişleyerek gözenek boyutunun artıp daha fazla su absorplaması da yine şişmeyi arttıran bir diğer etkidir.

Ancak her ne kadar spirulina hidrojeller saf Ch-Gnp'ye göre daha yüksek şişme oranına sahip olsalar da spirulina miktarının belli bir oranın üzerinde hidrojin şişmesini olumsuz yönde etkilediği görülmektedir. Diğer taraftan pH'ta şişme oranını büyük ölçüde değiştirmektedir. Ch-Gnp-1,5Sp hidrojel distile su ve pH:7,4 tampon çözeltisinde nispeten düşük şişme derecesine sahipken, pH:2'de çok yüksek miktarda su absorplayarak şişmiş ve yaklaşık 10.000 değerinde % şişme derecesine ulaştığı kaydedilmiştir. Ch-Gnp-1,5Sp jelinin bu yüksek şişme derecesi Ch-Gnp ağ yapısı içine %1,5 (w/w)'luk oranda spirulina eklenmesi sonucu spirulinanın etkin bir şekilde dağılması ve sahip olduğu hemen hemen tüm fonksiyonel grupların açık formda bulunarak şişmede etkin rol oynaması ile açıklanabilir.

Diğer taraftan muhtemeldir ki pH:7 civarında gerek kitosan ve spirulinadaki protonlanmış amin grupları ve gerekse spirulinadaki karboksilik asit vb. asidik grupların iyonik formları arasında elektrostatik çekim kuvveti nedeniyle ek fiziksel çapraz bağlar oluşmaktadır. Bu ek fiziksel çapraz bağlar gözenek boyutunu azaltarak şişme oranının asidik ortama göre daha düşük çıkmasına neden olmaktadır. Bu durumu hidrojin SEM görüntülerindeki Ch-Gnp'ye göre daha küçük gözenek yapısı da desteklemektedir.

Ch-Gnp-3Sp ise, yine kitosan ana matrisinden dolayı düşük pH'ta yüksek, pH'ın artışı ile ise daha düşük şişme oranlarına sahip olmaktadır. Bununla birlikte pH:6 (distile suda) ve pH:7,4'teki şişme eğrileri incelendiğinde pH:2'deki şişme grafiğinden farklı olarak en fazla şişen jelin Ch-Gnp-3Sp olduğu görülmektedir. Bunun nedeni olarak pH:2'de jeldeki Sp oranının %1,5'u geçmesiyle, bu pH'ta ana matris kitosan içinde Sp'nin açık formda dağılamaması, sahip olduğu fonksiyonel grupların bir kısmının kapalı kalarak şişmede etkin olamaması gösterilebilir. Diğer taraftan Ch-Gnp-3Sp'nin pH:6 ve pH:7,4'te en fazla şişen jel olduğu görülmektedir.

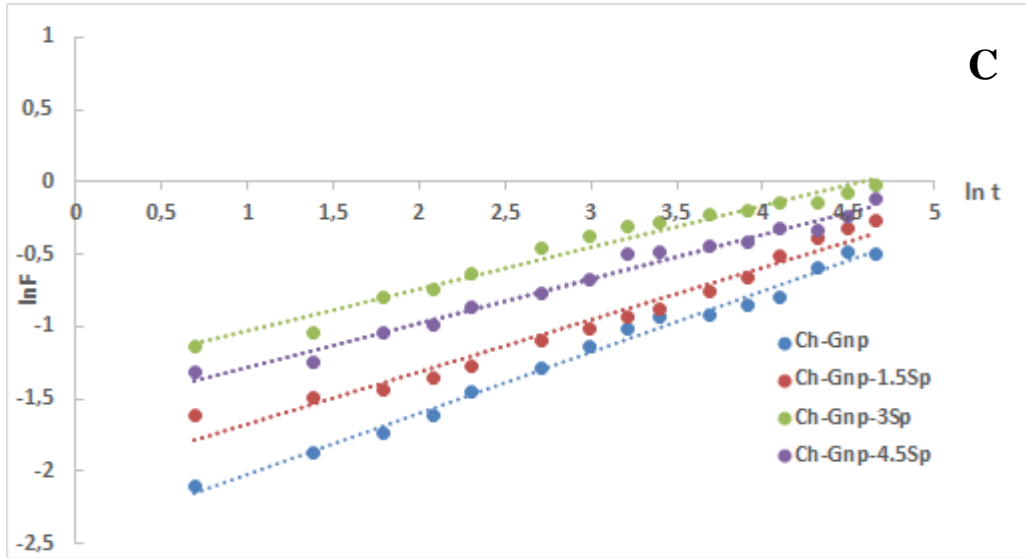
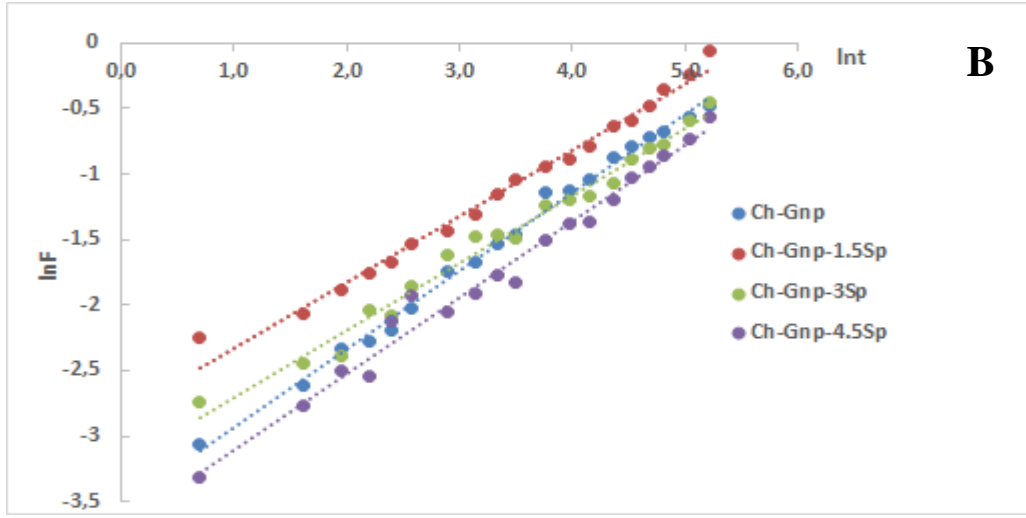
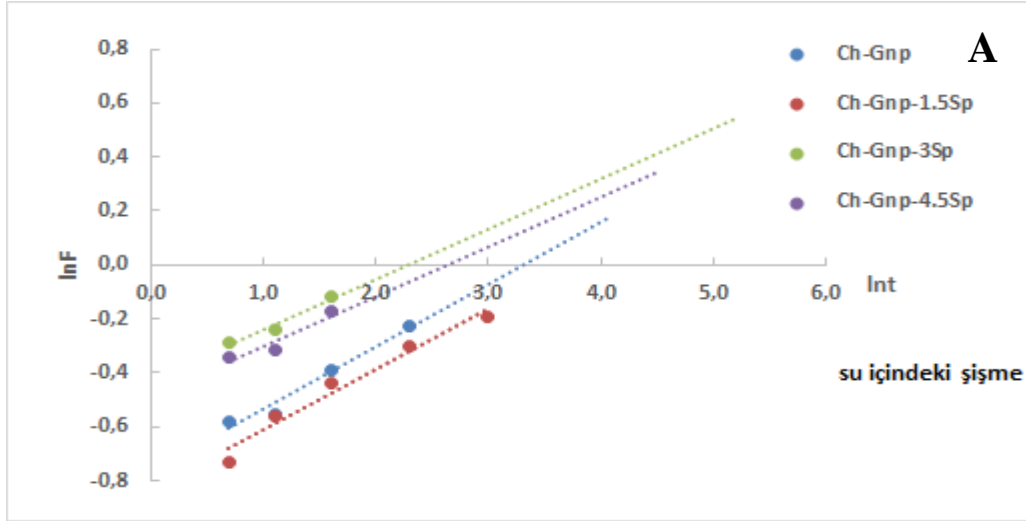


**Şekil 4.3:** Kitosan ve Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Farklı Ortamlarda Zamana Bağlı Şişme Eğrileri: (A) Distile suda, (B) pH:2 ortamında, (C) pH:7,4 ortamında.

Bu durum Şu Şekilde yorumlanabilir: Hidrojel sentezi esnasında muhtemeldir ki spirulina miktarı fazla olup, çapraz bağlayıcı genipinin homojen bir Şekilde dağılıp kitosan ana matrisini çapraz bağlamasını kısıtlamıştır. Bunun sonucu olarak beklenenden daha dŐŐük çapraz bağlanma oranı elde edilmiştir. Ch-Gnp-3Sp'nin SEM gŐruntŐleri de bunu desteklemektedir. GŐrŐldŐėŐ ũzere Ch-Gnp-1,5Sp hidrojeline göre daha bŐyŐk gözenek yapısı elde edilmiştir. Bu bŐyŐk ve kısmen açık gözenek yapısı bu hidrojelin diğerlerine göre daha yŐksek Şişme oranına sahip olmasının başlıca nedenidir. Ch-Gnp-4,5Sp ise bu çalışmada en fazla spirulina içeren hidrojeldir. Bu hidrojelin Şekil 4.3'den gŐrŐldŐėŐ gibi nötral ortamlarda Şişme oranı Ch-Gnp-3Sp jelinden daha az olup, pH:2'de ise spirulina jellerin arasında en az Şişen hidrojel olarak karşımıza çıkılmaktadır. Bu durum, pH:2'de %4,5 Sp oranının aŐırı gelmesi ve Ch-Gnp-3Sp'ye benzer Şekilde spirulinanın kitosan ana matrisi içinde iyi dağılmaması ve bu nedenle fonksiyonel gruplarının kapalı formda bulunarak Şişmede etkin olamaması ile açıklanabilir. pH:6 ve 7,4'te ise en fazla Şişen ikinci hidrojel olarak kaydedilmesi, Sp'nin artışı ile anyonik grupların da Şişmede kendini gŐstermesiyle yorumlanabilir. Ancak bu noktada gözenek boyutunun da bir hayli azalması jelin Şişme oranının Ch-Gnp-3Sp'den daha dŐŐük çıkmasına neden olmuştur.

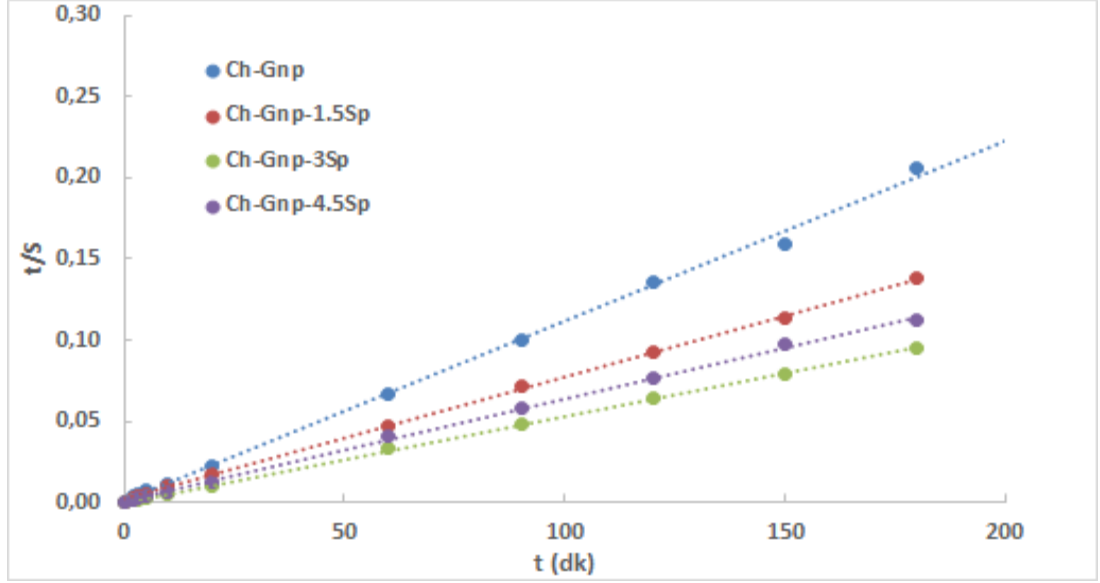
Jellerin Şişme eğrilerinden yararlanarak her ũ ortam için de Şişme kinetikleri incelenmiş, 2.4 eŐitliėine ve Şekil 4.4'deki grafiğe göre difŐzyon ũsteli (n) ve difŐzyon katsayısı (D), 2.6 eŐitliėine ve Şekil 4.5'teki Şişme kinetik grafiğine göre ise teorik Şişme oranı ( $S_{teo}$ ) hesaplanmıŐ ve izelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1'de gŐrŐldŐėŐ ũzere teorik ve deneysel Şişme değerleri birbirine oldukça yakın çıkılmaktadır. Hız sabitleri ( $k_s$ ) incelendiğinde, Ch-Gnp jelinin muhtemelen spirulinasız jellere göre gözenek boyutlarının yŐksek olması nedeniyle daha yŐksek  $k_s$  değerlerine sahip olduğu dŐŐŐnŐlmektedir.



**Şekil 4.4:** Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Şişme Davranışlarına Fick Yasasının Uygulanması: (A) Distile suda, (B) pH:2 ortamında, (C) pH:7,4 ortamında.





**Şekil 4.5:** Farklı Oranda Spirulina İçeren Kitosan Hidrojellerinin Şişme Kinetik İlişkileri.

**Çizelge 4.1:** Kitosan ve Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Distile Suda, pH:2 ve pH:7,4'teki Şişme Kinetik Parametreleri.

Jel Tipi	S (teo.)	Ks x10 <sup>-4</sup>	S (den.)	n			D (cm <sup>2</sup> /dk) x 10 <sup>-4</sup>		
				Distile su	pH:2	pH:7,4	Distile su	pH:2	pH:7,4
Ch-Gnp	909	9,3	873	0,232	0,598	0,422	2,90	6,82	2,94
Ch-Gnp-1,5Sp	1250	3,4	1305	0,226	0,502	0,364	1,67	5,80	0,21
Ch-Gnp-3Sp	2000	8,3	1884	0,186	0,513	0,289	1,87	3,26	2,67
Ch-Gnp-4,5Sp	1666	4,5	1602	0,184	0,583	0,306	1,22	4,24	1,90

Çizelge 4.1'den görüldüğü üzere distile suda (pH:6) ve pH:7,4'te, n değerleri 0,5'ten küçük olup, bu durum şişmenin Fick tipi gerçekleştiği anlamına gelmektedir. Bu durumda suyun jel içine difüzyon hızı, polimer zincirlerinin gevşeme hızından düşük olup, şişme difüzyon kontrollü olarak ilerlemektedir. pH:2 ortamında ise jellerin tümünün n değeri 0,5 ve üzerinde çıkmaktadır. Elde edilen sonuçlar jellerin pH:2 ortamında Fick olmayan tipte difüzyon gerçekleştirdiğini göstermektedir. Bu ortamda kitosan ana matrisinin de büyük katkısıyla iyonik grup sayısının yüksek olması nedeniyle suyun çok daha hızlı bir şekilde difüze olduğu ve böylece asidik ortamda difüzyon hızının polimer zincirlerinin gevşeme hızından daha büyük çıktığı sonucuna varılmaktadır.

Difüzyon katsayıları açısından değerlendirme yapıldığında ise yine benzer şekilde pH:2 ortamında jellerin iyonik grup sayısının yüksek olması nedeniyle difüzyon hızları, diğer pH ortamlarına göre daha yüksek çıkmaktadır (Çizelge 4.1). Jeller pH:2

hariç aynı pH ortamı için kendi aralarında kıyaslandığında, difüzyon katsayılarının birbirine yakın olduğu görülmektedir. pH:2’de ise Ch-Gnp ve Ch-Gnp-1,5Sp hidrojellerinin diğer jellere göre daha yüksek difüzyon katsayılarına sahip oldukları anlaşılmaktadır. Bu durum, kitosan ağ yapısının bu pH’ta iyonik hale geçmesiyle açıklanabilir. Spirulina hidrojellerinde ise kitosana ilave olarak Sp’den kaynaklanan bazik gruplar da devreye girmektedir. Özellikle spirulinadaki amin grupları bu pH’ta protonlanarak (+) yüklü gruplar oluşturmaktadırlar. Gerek bu (+) yüklü fonksiyonel grupların birbirini ve kitosan zincirlerini iterek hidrojel içinde suyun hızlı bir şekilde absorplanmasını sağlayacak büyük boşluklar oluşturması, gerekse su molekülleri ile aralarında meydana gelen iyon-dipol etkileşimleri suyun hidrojel içine daha hızlı difüzyonuna neden olduğu düşünülebilir. Ancak daha yüksek Sp oranlarında, Sp’nin etkin bir şekilde dağılamaması, fonksiyonel gruplarının açık formda bulunamaması ve aksine gözenek boyutunu azaltması nedeniyle difüzyon katsayılarının daha düşük çıktığı sonucuna varılabilir.

#### 4.3. Kitosan-Spirulina Hidrojeline 5- FU İlaç Etken Maddesinin Yüklenmesi:

Çizelge 4.2’de 65 ve 130 ppm 5-FU çözeltisinde ilaç yüklemesi yapılan hidrojellerin bir hafta sonunda gram kuru jel başına yüklemiş oldukları 5-FU miktarı görülmektedir. Çizelgeden anlaşıldığı gibi ilaç konsantrasyonunun 65 ppm’den 130 ppm’e çıkarılmasıyla tüm hidrojellere yüklenen ilaç miktarı artmıştır.

**Çizelge 4.2:** Kitosan ve Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin 65 ve 130 ppm 5-FU Çözeltisindeki Yükleme Sonuçları.

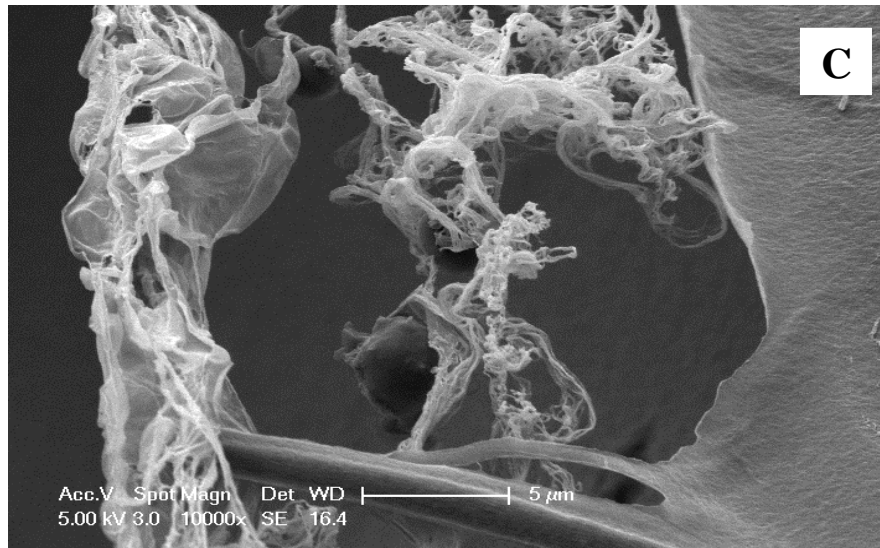
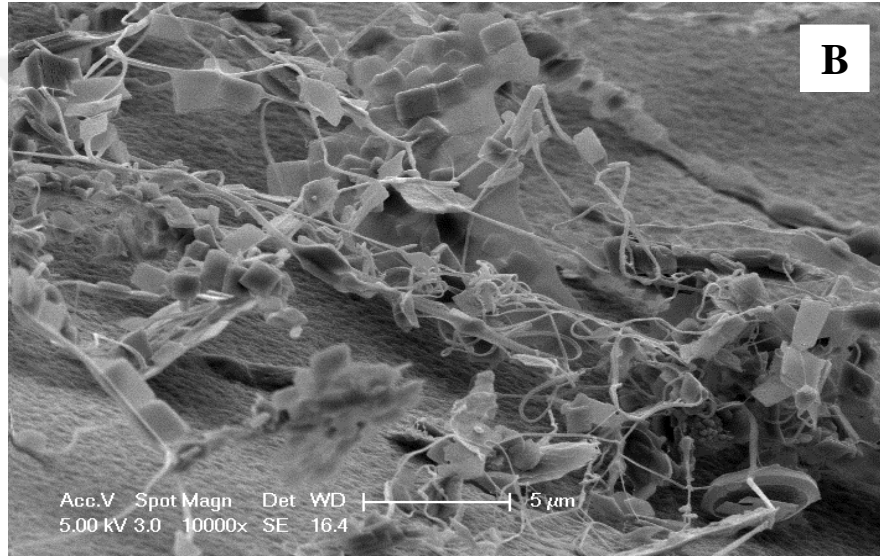
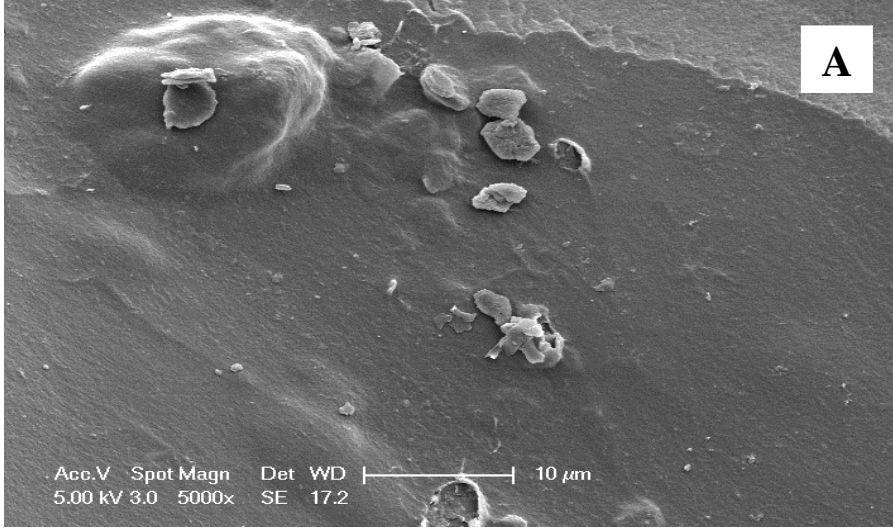
Hidrojel Tipi	65 ppm’de 5-FU yükleme miktarı mg 5-FU/g kuru jel	130 ppm’de 5-FU yükleme miktarı mg 5-FU/g kuru jel
Ch-Gnp	6,01	19,64
Ch-Gnp-1,5Sp	12,04	27,36
Ch-Gnp-3Sp	10,09	24,63
Ch-Gnp-4,5Sp	7,05	17,36

Çizelge 4.2’den görüldüğü üzere Ch-Gnp-1,5Sp hidrojelinin ilaç absorpsiyonu diğer hidrojellerden fazladır. Burada ilacın absorpsiyonuna etki eden en önemli faktör, başka bir deyişle itici kuvvet hidrojelin daha fazla şişmesidir. Hidrojellerin şişme

testi sonuçları kısmında da değinildiği gibi %1,5 oranında Sp içeren hidrojelde spirulinayı oluşturan moleküller kitosan ağ yapısı içinde homojen bir şekilde dağılarak fonksiyonel grupları açık forma geçmiştir. Açık formda bulunan fonksiyonel grup sayısı ne kadar fazla ise şişme o kadar fazla olmaktadır. Şişmenin yanısıra çalışmadaki ilaç etken maddesi 5-fluorourasil (5-FU) molekülünde bulunan flor, azot ve oksijen atomlarının da bu fonksiyonel gruplarla hidrojen bağı yapma durumu kuvvetle muhtemeldir. Bundan dolayıdır ki ağ yapısı içinde iyice dağılmış spirulina moleküllerinden kaynaklı açık durumda bulunan fonksiyonel gruplar daha fazla ilaç yüklenmesine neden olmuşlardır. Diğer taraftan yine ilaç molekülündeki halkalı yapının da hidrofobik karakteri dolayısıyla spirulinadaki hidrofobik kısımlarla sekonder etkileşime girdiği düşünülmektedir. Bu da ağ yapısı içinde iyice dağılmış spirulina moleküllerinin daha çok ilaç absorplamasını destekleyen bir başka durum olarak değerlendirilebilir. Yukarıda değinildiği gibi ilaç absorplama miktarı hidrojelde şişme oranı ile yakından ilgilidir. Ancak şişme testleri kısmında bahsedildiği gibi en fazla şişen hidrojel Ch-Gnp-3Sp iken, ilaç yükleme miktarı Ch-Gnp-1,5Sp'den daha düşük çıkmaktadır. Suda şişmenin en büyük nedeni Ch-Gnp-3Sp'nin SEM görüntülerinden de hatırlanacağı üzere büyük gözenek yapısıdır. Bu hidrojelde spirulina molekülleri ağ yapıdaki oranları nedeniyle açık formda bulunamamaktadır. Buradan, ilaç absorplamada gözenek boyutundan ziyade fonksiyonel grupların daha etkili olduğu anlaşılmaktadır. Spirulinanın hidrojeldeki yüksek oranı nedeniyle etkin dağılamaması Ch-Gnp-4,5Sp'nin de az ilaç absorplamasının nedeni olarak gösterilebilir. Diğer taraftan Çizelge 4.2'den de görüldüğü gibi 130 ppm ilaç çözeltisi içinde ilaç yüklemesi yapılan hidrojeller, 65 ppm'de yüklenenlerden yaklaşık iki kat fazla ilaç absorplamışlardır.

#### **4.4. İlaç Yüklenmiş Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Morfolojik Yapısı:**

İlaç yüklemesi yapılmış kitosan hidrojellerinin SEM görüntüleri Şekil 4.6'da verilmiştir. Saf kitosan hidrojelinin morfolojik görüntüsünde ilaç yüklenmiş formunun yükleme yapılmadan önceki haline göre belirgin bir farklılık görülmediği için burada yer verilmemiştir.



**Şekil 4. 6:** İlaç Yüklenmiş Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin SEM Görüntüleri: (A) Ch-Gnp-1,5Sp, (B) Ch-Gnp-3Sp, (C) Ch-Gnp-4,5Sp.

Şekilde Ch-Gnp-1,5Sp için muhtemelen spirulina oranının diğer hidrojellere kıyasla düşük olması nedeniyle açık bir spirulina yapısına ve onun tuttuğu ilaç kristallerine rastlanmamıştır. Yine de hücre duvarı üzerinde tutunmuş olan ilaç molekülleri topak şekilde görülmektedir. Ch-Gnp-3Sp ve Ch-Gnp-4,5Sp jellerinde ise spirulinanın bu yapılarda daha büyük yüzdelerde olması nedeniyle SEM görüntülerinde açılmış spirulina yapısının ilaç kristallerini tuttuğunun açık bir şekilde görüldüğü düşünülmektedir.

#### **4.5. İlaç Etken Maddesi 5-FU Yüklenmiş Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin İlaç Salınım Davranışları:**

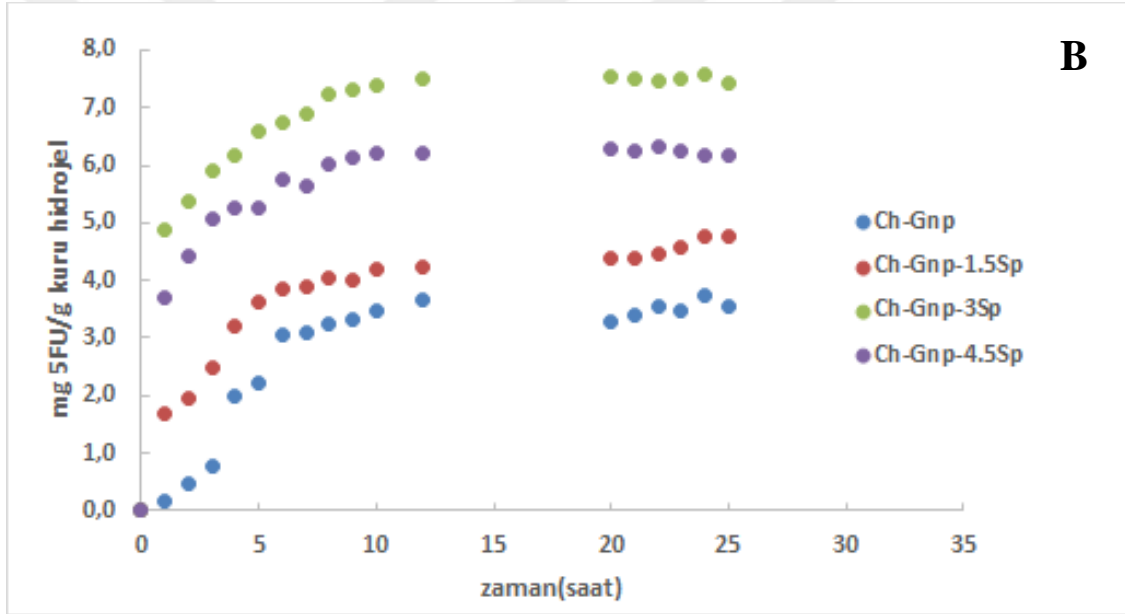
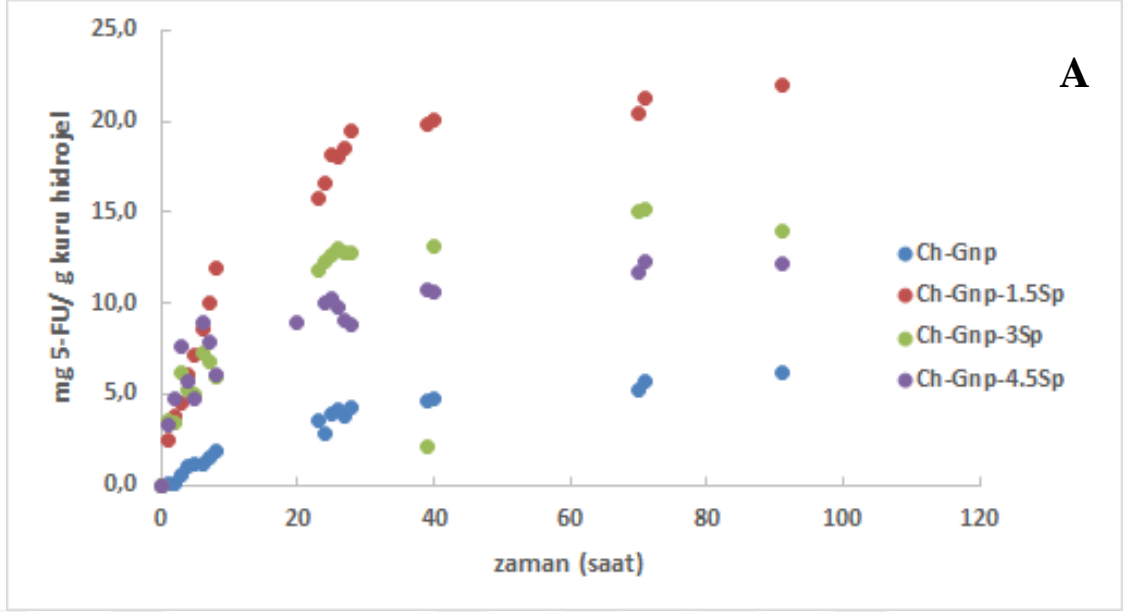
65 ppm 5-FU çözeltisinde bekletilerek ilaç yüklenmiş hidrojellerin pH:2 ve pH:7,4'teki ilaç salınım davranışları Şekil 4.7'de, 130 ppm 5-FU çözeltisinde bekletilen hidrojellerinki ise Şekil 4.8'de görülmektedir.

Şekildeki salınım grafikleri incelendiğinde her iki pH'ta da en az salınım yapan hidrojelin Ch-Gnp olduğu görülmektedir. Bu durum, Ch-Gnp'nin Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi bu hidrojelin en az oranda ilaç absorplamış olması ile de açıklanabilir. Ancak spirulina kitosan hidrojelleri incelendiğinde, ilaç salınım davranışının pH ile çok daha fazla değiştiği ortaya çıkmaktadır. Örneğin 130 ppm'de ilaç yüklemesi yapılmış jellerin arasında pH:2 ortamında 22 mg 5-FU/g kuru jel ile en fazla salınım yapan hidrojel Ch-Gnp-1,5Sp iken, pH:7,4'te 7,5 mg 5-FU/g kuru jel ile Ch-Gnp-3Sp olmuştur.

Görüldüğü gibi farklı pH'larda spirulina hidrojellerde ilaç salınım miktarları bakımından hidrojellerin sıralanışı büyük derecede değişmektedir. Bu durum daha detaylı olarak açıklanacak olursa; pH:2'de Ch-Gnp-1,5Sp yukarıda da bahsedildiği gibi Ch-Gnp'den daha yüksek ilaç salınımı yapmaktadır. Burada iki etken söz konusudur. Birincisi bu hidrojelin diğerlerinden daha çok ilaç absorplaması, ikincisi ise Ch-Gnp'ye kıyasla pH:2 ortamında daha yüksek şişme oranına sahip olmasıdır. pH:7,4'te ilaç salınımını gösteren grafik incelendiğinde ise en fazla ilaç salınımı yapan hidrojel olan Ch-Gnp-3Sp'nin bu pH'ta en fazla şişen hidrojel olması beklenen bir durumdur.



**Şekil 4.7:** 65 ppm'de İlaç Yüklendi Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Zamana Bağlı İlaç Salınım Miktarları: (A) pH:2 ortamında, (B) pH:7,4 ortamında.



**Şekil 4.8:** 130 ppm’de İlaç Yüklenmiş Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Zamana Bağlı İlaç Salınım Miktarları: (A) pH:2 ortamında,(B) pH:7,4 ortamında.

Sonuç olarak ilaç salınım davranışlarında hidrojelın şişme oranı ve absorplamış olduğu ilaç miktarının ilaç salınım oranlarını belirleyen başlıca iki parametre olduğu söylenebilir.

Hidrojellerin (130 ppm’de ilaç yüklemesi yapılmış olan) kümülatif % salınım değeri ise Çizelge 4.3’te verilmiştir.

**Çizelge 4.3:** Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin pH:2 ve pH:7,4'teki Kümülatif % İlaç Salınım Değerleri.

Hidrojel Tipi	Kümülatif % İlaç Salınım Değerleri	
	pH:2	pH:7,4
Ch-Gnp	31	19
Ch-Gnp-1,5Sp	81	18
Ch-Gnp-3Sp	61	28
Ch-Gnp-4,5Sp	70	36

Çizelge 4.3'ten görüldüğü üzere tüm jellerin pH:2'deki kümülatif % salınım değerleri pH:7,4'ten hidrojellerin asidik ortamda daha çok şişmeleri nedeniyle daha yüksek çıkmıştır.

Her iki pH değerindeki % salınım değerleri ayrı ayrı incelenecek olursa farklı bir sıralama karşımıza çıkmaktadır. pH:2'de, Ch-Gnp hidrojeli Ch-Gnp-1,5Sp'den daha az şişmekte ve % salınım değeri %31 olarak Ch-Gnp-1,5Sp jelinden daha düşük çıkmaktadır, tersine pH:7,4'te ise bu değer %19,12 ile Ch-Gnp-1,5Sp'den daha yüksek olarak kaydedilmektedir. Bunun nedeni olarak Ch-Gnp hidrojelinin Ch-Gnp-1,5Sp'den daha az ilaç absorplaması, Ch-Gnp-1,5Sp'den daha az şişme oranına sahip olsa bile absorpladığı bu 5-FU'nun % olarak daha fazlasını vermesi gösterilebilir.

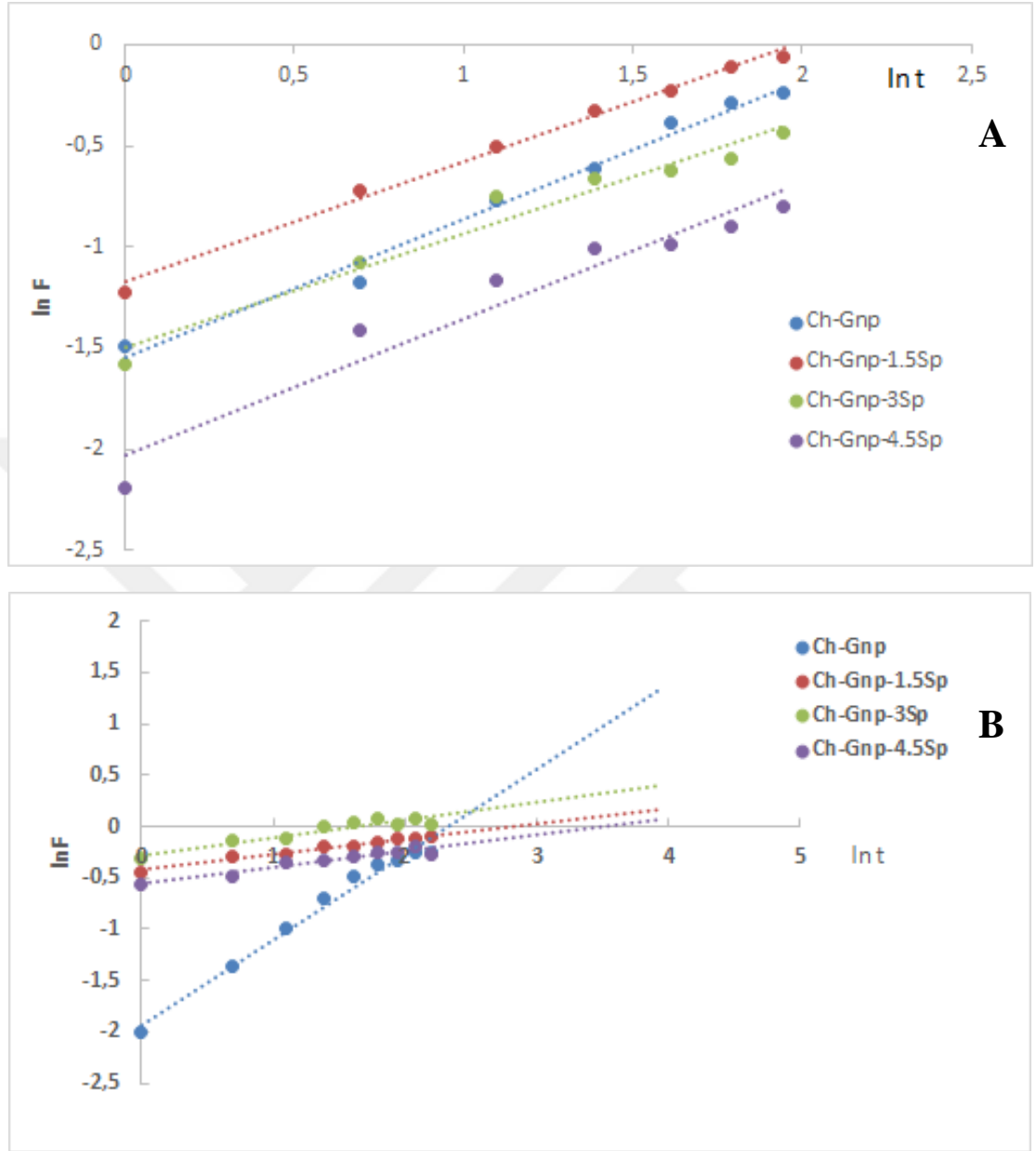
Ch-Gnp-1,5Sp hidrojeli, en yüksek derecede ilaç absorplayan hidrojel olarak kaydedilmiştir. pH:2'de ise bu hidrojel, en fazla şişen hidrojel olarak kendini göstermiştir (Şekil 4.8-A). Dolayısı ile pH:2'de %80 ile en yüksek salınım oranına sahip olmuşken, pH:7,4'te şişme derecesinin oldukça azalması (Şekil 4.8-B) neticesinde % salınım miktarı da azalmış, fazla miktarda ilaç absorplayıp düşük şişme oranı sergilemesi nedeniyle bu pH'ta Ch-Gnp jelinden bile daha az % salınım değerine sahip olmuştur.

Ch-Gnp-3Sp hidrojeli ise her iki pH için incelendiğinde Ch-Gnp-4,5Sp hidrojelinin daha düşük kümülatif % salınım yaptığı görülmektedir. Bunun en büyük nedeni Ch-Gnp-4,5Sp'nin Ch-Gnp-3Sp hidrojelinin daha az ilaç absorplamasıdır. Her ne kadar her iki pH'ta da Ch-Gnp-4,5Sp hidrojelinin şişme oranı Ch-Gnp-3Sp'den daha düşük olsa da (Şekil 4.8), Ch-Gnp-4,5Sp bu az şişme ile absorplamış olduğu ilacı daha kolay vermekte ve daha yüksek kümülatif % salınım değerine sahip olmaktadır.

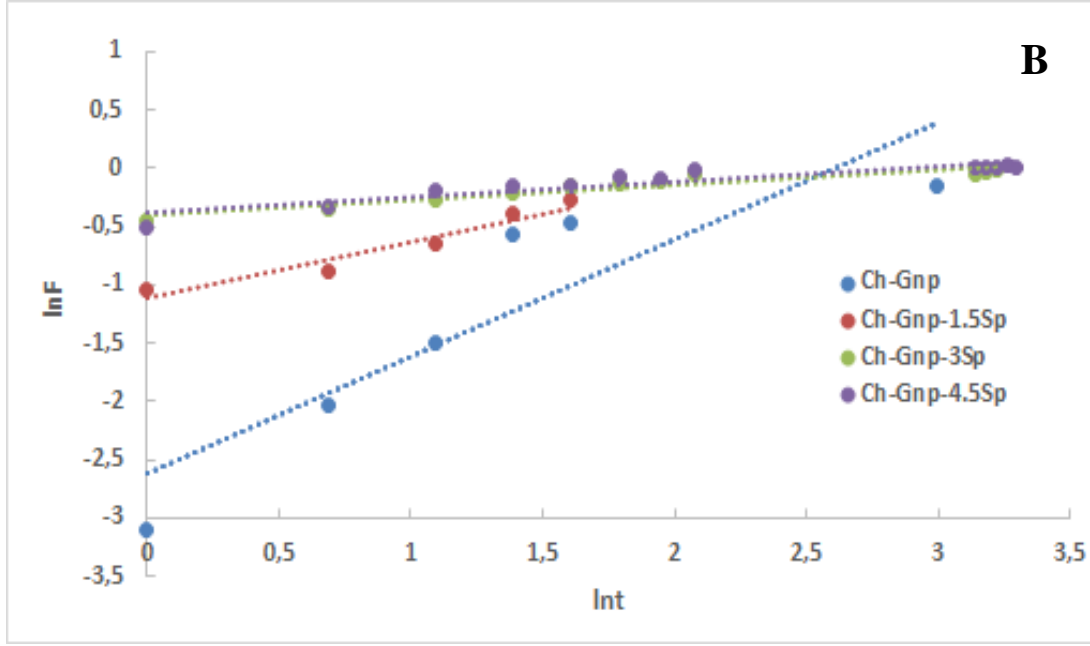
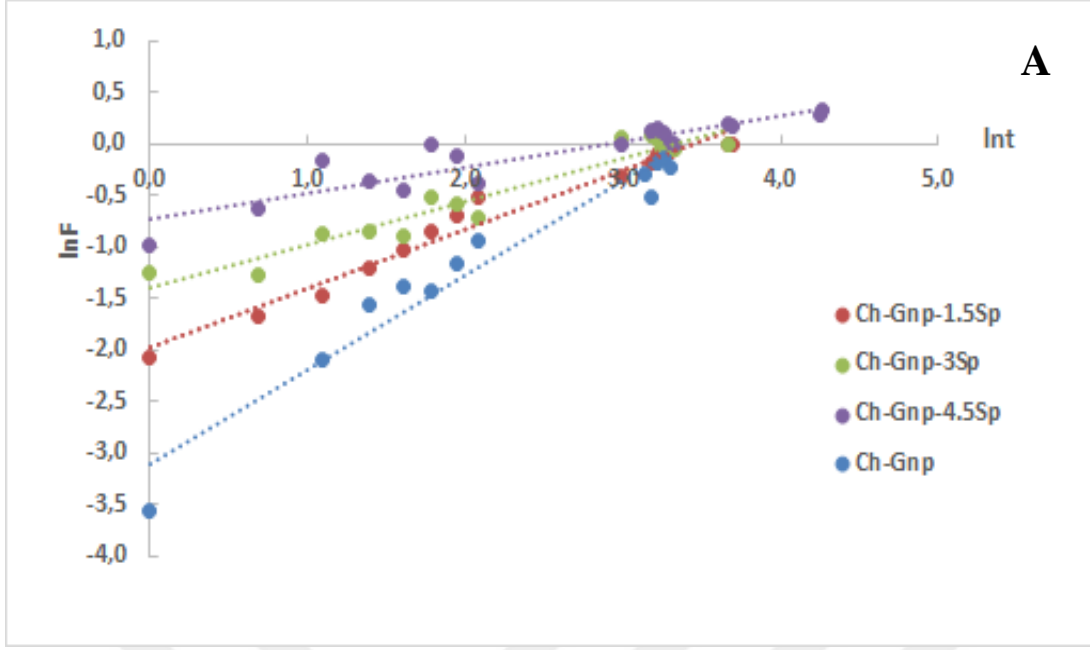
65 ppm'de ilaç yüklemesi yapılmış olan hidrojellerin pH:2 ve pH:7,4 ortamındaki ilaç taşınım difüzyon sabitlerinin bulunması için kullanılan ve ilaç difüzyon



kinetiklerini gösteren grafikler Şekil 4.9'da, 130 ppm'de ilaç yüklemesi yapılmış olan hidrojellerinki ise Şekil 4.10'da gösterilmiştir.



**Şekil 4.9:** 65 ppm'de İlaç Yüklemesi Yapılmış Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Şişme Davranışlarına Fick Yasasının Uygulanması: (A) pH:2 ortamında, (B) pH:7,4 ortamında.



**Şekil 4.10:** 130 ppm’de İlaç Yükleme Yapılmış Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Şişme Davranışlarına Fick Yasasının Uygulanması; (A) pH:2 ortamında, (B) pH:7,4 ortamında.

İlacın jel dışına difüzyonuna ait ilaç taşınım difüzyon sabitleri ( $n$ , difüzyon üsteli ve  $D$ , difüzyon katsayısı) ise Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5’te verilmiştir.

**Çizelge 4.4:** 65 ppm'de İlaç Yüklenmiş Kitosan ve Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Distile Suda, pH:2 ve pH:7,4'teki Şişme Kinetik Parametreleri.

Hidrojel Tipi	65 ppm'de İlaç Yüklenmiş Hidrojeller					
	pH:2			pH:7,4		
	n	k	D(cm <sup>2</sup> /sa.)x 10 <sup>-2</sup>	n	k	D(cm <sup>2</sup> /sa.) x 10 <sup>-2</sup>
Ch-Gnp	0,911	0,045	1,80	1,003	0,351	4,40000
Ch-Gnp-1,5Sp	0,573	0,138	0,68	0,196	0,551	0,00720
Ch-Gnp-3Sp	0,421	0,247	0,34	0,127	0,671	0,00017
Ch-Gnp-4,5Sp	0,251	0,480	0,05	0,134	0,867	0,00051

**Çizelge 4.5:** 130 ppm'de İlaç Yüklenmiş Kitosan ve Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Distile Suda, pH:2 ve pH:7,4'teki Şişme Kinetik Parametreleri.

Hidrojel Tipi	130 ppm'de İlaç Yüklenmiş Hidrojeller					
	pH:2			pH:7,4		
	n	k	D(cm <sup>2</sup> /sa.)x 10 <sup>-2</sup>	n	k	D(cm <sup>2</sup> /sa.)x 10 <sup>-2</sup>
Ch-Gnp	0,684	0,214	2,8	0,832	0,146	4,7000
Ch-Gnp-1,5Sp	0,593	0,309	3,0	0,150	0,654	0,0015
Ch-Gnp-3Sp	0,562	0,224	1,8	0,173	0,753	0,0160
Ch-Gnp-4,5Sp	0,675	0,131	1,8	0,157	0,555	0,0011

Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5 dikkatle incelenecek olursa her iki konsantrasyonda ve her iki pH değerinde Ch-Gnp hidrojelinin n difüzyon üstelinin spirulinalı hidrojellerden daha yüksek çıktığı ve bire yaklaştığı görülmektedir. Bu durum Ch-Gnp hidrojelinin ilaç salınımının Fick olmayan tipte olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan Ch-Gnp hidrojelinin D difüzyon sabitinin de yine spirulinalı hidrojellerden daha yüksek olduğu karşımıza çıkmaktadır. Bu sonuç, Ch-Gnp'nin ilaç salınımının diğer hidrojellerden daha hızlı gerçekleştiği anlamına gelmektedir. Ch-Gnp hidrojelinin diğer hidrojellerden daha büyük gözenek yapısı ve dolayısıyla daha hızlı şişmesinin bu durumu açıkladığı düşünülmektedir. Diğer taraftan ilaç salınım denemelerine ait olan D değerleri Çizelge 4.1'de verilen ilaç yüklenmemiş hidrojellerin pH:2 ve pH:7,4'teki şişme verilerine ait suyun jel içine difüzyon katsayıları ile de uyum içindedir. Sözü geçen durumda da Ch-Gnp hidrojelinin D değerleri spirulina içeren hidrojellerden daha yüksek olarak kaydedilmiştir.

Diğer taraftan spirulinalı hidrojellerin n ve D değerlerinin kendi içinde birbirine yakın olduğu görülmektedir. Elde edilen değerlerden, ilaç salınım mekanizmasının

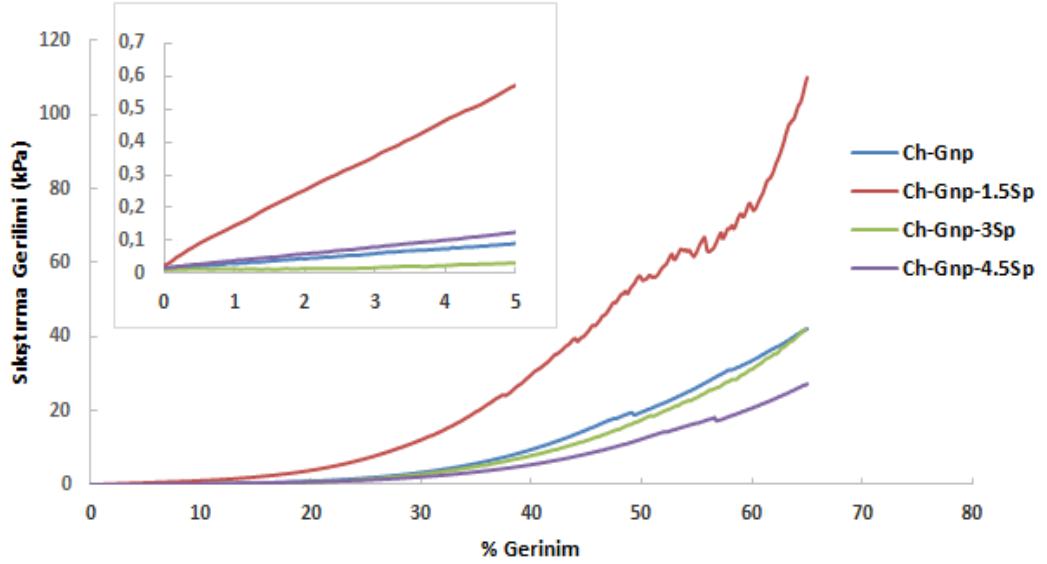
Ch-Gnp'ye göre farklı olduğu anlaşılmaktadır. Spirulinalı hidrojellerde n difüzyon üsteli pH:2 için 0,1 civarında seyretmekte, pH:7,4'te ise her ne kadar biraz artmış olsa da 0,5'ten küçük değerler almaktadır. Kaydedilen bu değerler her iki pH'ta da spirulinalı hidrojellerden ilaç salınımının Fick tipi difüzyon ile gerçekleştiğini göstermektedir. Diğer taraftan D difüzyon katsayısı ilaç salınım hızını gösteren bir parametredir ve ne kadar yüksek ise ilaç salınımının o kadar hızlı olduğu anlamına gelmektedir. Çizelgeden görüldüğü üzere tüm durumlarda Ch-Gnp hidrojelinin difüzyon katsayı değerleri spirulinalı hidrojellerden yüksek çıkmaktadır. Bu yüksek D değerleri Ch-Gnp'nin her ne kadar kapalı olsa da büyük gözenek yapısından kaynaklanan muhtemelen yüksek başlangıç şişme hızı ile ilgilidir. Spirulinalı hidrojellerdeki düşük D değerleri ise spirulina içindeki moleküllerin fonksiyonel grupları ile 5-FU molekülleri arasındaki sekonder etkileşimlerin bir sonucu olarak değerlendirilebilir. Bahsedilen bu etkileşimler spirulinalı hidrojellerin daha yüksek ilaç yükleme oranlarına sahip olmasını da destekler niteliktedir. Bunun doğal bir sonucu olarak da salınım sırasında bu güçlü sekonder etkileşimin bozulup 5-FU'nun dış ortama verilmesinin Ch-Gnp'ye göre daha uzun zamanda gerçekleşmesi, diğer bir deyişle D difüzyon katsayı değerlerinin düşük çıkması beklenilebilecek muhtemel bir durumdur.

Spirulinalı hidrojellerin difüzyon katsayı değerleri analiz edildiğinde difüzyon hızının pH:2'de, pH:7,4'e göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum, düşük pH'ta spirulinalı hidrojellerde yüksek miktarda bulunan protonlanmış amin gruplarının varlığı ve bu grupların birbirini itmesi sonucu oluşan büyük gözenek yapıları ile açıklanabilir. pH:7,4 civarında ise bu (+) yüklü grupların sayıca azlığı nedeniyle pH:2'ye kıyasla daha küçük gözenekler söz konusudur ve bu küçük gözenekler şişmenin dolayısıyla ilacın hidrojel dışına difüzyon hızını azaltan başlıca neden olarak karşımıza çıkmaktadır.

#### **4.6. Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Mekanik Özellikleri:**

Hidrojellerin suda şişmiş durumdaki mekanik dayanımını gösteren gerilim-gerinim eğrileri Şekil 4.11'de, sıkıştırma gerilimi ve sıkıştırma modülü değerleri ise Çizelge 4.6'da verilmiştir. Çizelgedeki verilere göre kitosan hidrojellerine %1,5 oranında spirulina eklenmesiyle suda şişmiş hidrojellerde gerek sıkıştırma gerilimi gerekse sıkıştırma modülünün arttığı görülmüştür. Bunun nedeni olarak %1,5 Sp eklenmesi

ile elde edilen daha küçük gözenek morfolojisi ve dolayısıyla deformasyona karşı artan direnç gösterilebilir. Ayrıca bu kompozisyonda daha küçük ve göreceli olarak daha fazla sayıda gözenek olması uygulanan basma kuvveti ile yaratılan gerilimin sistem içinde daha homojen olarak dağılmasına neden olduğu söylenilebilir. Diğer yandan spirulina dolgusu %1,5'tan daha yüksek miktarda kullanıldığında ise sıkıştırma gerilimi ve modülünde tekrar azalma gözlenmiştir. Ch-Gnp-3Sp ve Ch-Gnp-4,5Sp kompozisyonları için yapılan SEM morfolojik analizleri sonuçlarında gözlenen daha büyük gözenek boyutu buna neden olarak gösterilebilir. Ayrıca artan Sp miktarı ile kitosan molekülleri arasındaki etkileşimin bir kısmının tersinir ve viskoz bir karakter sunabilecek fiziksel çapraz bağlara dönüşmesi de bu azalmanın bir diğer nedeni olarak düşünülebilir.



**Şekil 4.11:** Suda Şişmiş Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Mekanik Özellikleri.

**Çizelge 4.6:** Kitosan-Spirulina Hidrojellerinin Suda Şişmiş Durumdaki Sıkıştırma Gerilimi ve Sıkıştırma Modül Değerleri.

Jel Tipi	Suda Şişmiş	
	Sıkıştırma Gerilimi (kPa)	Sıkıştırma Modülü (kPa)
Ch-Gnp	41,99	1,35
Ch-Gnp-1,5Sp	110,03	14,5
Ch-Gnp-3Sp	42,29	0,69
Ch-Gnp-4,5Sp	27,14	1,93



## 5. SONUÇLAR

Bu çalışma kapsamında kitosan-spirulina hidrojenleri kitosan polimerinin spirulina varlığında genipin doğal çapraz bağlayıcısı ile kovalent çapraz bağlanma reaksiyonu sonucunda başarıyla sentezlenmiştir. Farklı oranlarda spirulinanın gerek hidrojel in şişme oranlarına, gerekse ilaç absorpsiyon ve salınım özelliklerine olan etkisi pH'a bağlı olarak gravimetrik, mekanik ve morfolojik bakımdan detaylı bir şekilde araştırılmıştır. Hidrojellerin SEM analizi sonuçlarından Ch-Gnp'nin büyük, kapalı ve homojen dağılmış gözenek yapısına sahipken, Ch-Gnp-1,5Sp'de muhtemelen Sp'deki açık formda bulunan fonksiyonel grupların birbiri ve kitosan ana matrisi arasında oluşan fiziksel çapraz bağlar nedeniyle daha küçük gözenek yapısı gözlenmiştir. Ch-Gnp-3Sp'de ise gözenek boyutunun Ch-Gnp-1,5Sp'den daha yüksek olduğu anlaşılmıştır. Bu durum bu orandaki Sp'nin çapraz bağlanma reaksiyonu esnasında genipinin homojen olarak dağılıp istenilen etkinlikte çapraz bağlanmayı gerçekleştirememesi ve bundan dolayı çapraz bağ yoğunluğunun beklenenden az olması şeklinde yorumlanmıştır.

Hidrojellerin mekanik karakterizasyonundan ise kitosan hidrojenlerine %1,5 oranında spirulina eklenmesiyle suda şişmiş hidrojenlerde gerek sıkıştırma gerilimi gerekse sıkıştırma modülünün arttığı görülmüştür. Bu artışın nedeni olarak %1,5Sp eklenmesi ile elde edilen daha küçük gözenek morfolojisi ve dolayısıyla deformasyona karşı artan direnç gösterilmiştir. Diğer yandan spirulina dolgusu %1,5'tan daha yüksek miktarda kullanıldığında ise sıkıştırma gerilimi ve modülünde tekrar azalma gözlenmiştir. Ch-Gnp-3Sp ve Ch-Gnp-4,5Sp kompozisyonları için yapılan SEM morfolojik analizleri sonuçlarında gözlenen daha büyük gözenek boyutu buna neden olarak gösterilmiştir. Ayrıca artan Sp miktarı ile kitosan molekülleri arasındaki etkileşimin bir kısmının tersinir ve viskoz bir karakter sunabilecek fiziksel çapraz bağlara dönüşmesi de bu azalmanın bir diğer nedeni olarak düşünülmüştür.

Araştırma sonuçlarına göre kitosan-spirulina kompozit hidrojelleri distile su, pH:2 ve pH:7,4 olmak üzere her üç ortamda da saf kitosan hidrojelinin daha yüksek şişme oranlarına sahip olmuştur. Bu durum Ch-Gnp'nin gerek Sp'deki fonksiyonel grupları içermemesi ve gerekse SEM analizlerindeki kapalı gözenek yapısı ile ilişkilendirilmiştir. Spirulina hidrojellerinde ise farklı pH ortamlarında şişme oranlarının kendi aralarındaki sıralamasının değiştiği ortaya konulmuştur. pH:2'de en fazla şişen hidrojel, yapısında %1,5 Sp içeren Ch-Gnp-1,5Sp iken, pH:7,4'te maksimum şişme davranışı sergileyen hidrojel Ch-Gnp-3Sp olmuştur. Diğer taraftan en fazla oranda 5-FU ilaç etken maddesinin absorplandığı hidrojel Ch-Gnp-1,5Sp iken, en az ilaç yüklenen hidrojel muhtemelen spirulina'nın bu yüksek oranı sonucu sahip olduğu fonksiyonel gruplarının açık formda bulunamaması nedeniyle Ch-Gnp-4,5Sp olarak kaydedilmiştir. Gerek ilaç yükleme miktarlarının farklı olması, gerekse spirulina kaynaklı fonksiyonel grupların pH'a bağlı olarak iyonik hale geçmesi ve dolayısıyla şişme oranı ve hızını arttırması nedeniyle pH:2'de 22 mg 5-FU/ g kuru hidrojel ile en fazla ilaç salınımı yapan hidrojel Ch-Gnp-1,5Sp iken, pH:7,4'te ise 7,5 mg 5-FU/ g kuru hidrojel ile Ch-Gnp-3Sp olduğu rapor edilmiştir. Diğer taraftan ilacın dış ortama difüzyon kinetikleri incelenmiş ve difüzyon tipini belirleyen  $n$ , difüzyon üsteli ve  $D$ , difüzyon katsayıları pH'a bağlı olarak hesaplanmıştır. Ch-Gnp'ye ait  $n$  değerleri muhtemelen hidrojelin daha büyük gözenek yapısına sahip olması nedeniyle spirulina hidrojellerden daha yüksek çıkmıştır. pH:2 için bire yaklaşan bu değer spirulina hidrojellerde 0,45-1 arasında kaydedilmiştir. Bu durum pH:2 için tüm hidrojellerin ilaç salınımının Fick olmayan tipte olduğunu göstermiştir. pH:7,4'te ise Ch-Gnp için  $n$  değerinin yine bire yaklaştığı, spirulina hidrojellerde ise 0,1 civarında seyrettiği görülmüştür. Spirulina hidrojeller için bu düşük  $n$  değerleri pH:7,4'de ilaç difüzyonunun Fick tipi olduğunu göstermiştir.

Tüm bu analizlerin sonunda tez kapsamında ilk kez sentezlenmiş kitosan-spirulina hidrojelleri genipin ile çapraz bağlı olması dolayısıyla tamamen doğal karakterde olup, özellikle Ch-Gnp-1,5Sp formülasyonuna sahip kitosan-spirulina kompozit hidrojelinin literatürde benzer çalışmalara kıyasla bu yüksek salınım değerleri ile mide ortamı gibi asidik ortamda ilaç salınım materyali olarak kullanılabilceği, model ilaç 5-FU ile başarılı bir şekilde ortaya konulmuştur.



## KAYNAKLAR

- [1] **Tanaka, T., Phase Transition of Gels**, 1992, Polyelectrolyte gels, ACS Symposium series 480, pp. 1-24.
- [2] **Ganji F., Vasheghani-Farahani E.**, 2009, Hydrogels in controlled drug delivery systems, Iranian Polymer Journal, 18 (1), 63-88.
- [3] **Y. Qiu, K. Park**, 2001, Environment-sensitive hydrogels for drug delivery, Adv. Drug Deliv. Rev. 53, 321–339.
- [4] **L.E. Bromberg, E.S. Ron**, 1998, Temperature-responsive gels and thermogelling polymer matrices for protein and peptide delivery, Adv. Drug Deliv. Rev. 31, 197–221.
- [5] **J. Kost, R. Langer**, 2001, Responsive polymeric delivery systems, Adv. Drug Deliv. Rev. 46, 125–148.
- [6] **Hoare T.R., Kohane D.S.**, 2008, Hydrogels in drug delivery: progress and challenges, Polymer, 49: 1993-2007.
- [7] **Okuyama Y., Yoshida R., Sakai K., et al.**, 1993, Swelling controlled zero-order and sigmoidal drug release from thermoresponsive poly(N-isopropylacrylamide-co-butyl methacrylate) hydrogel., J Biomater Sci Polym; 4: 545-556
- [8] **Coughlan DC. Corrigan OI.**, 2006, Drug-polymer interactions and their effect on thermoresponsive poly(N-isopropylacrylamide) drug delivery systems, Int. J Pharm, 313:163-174.
- [9] **Coughlan DC. Corrigan OI.**, 2008, Release kinetics of benzoic acid and Its sodium salt from a series of poly(Nisopropylacrylamide) matrices with various percentage crosslinking, J. Pharm Sci, 97:318-330.
- [10] **Calixto G., Yoshii AC, Rocha Silva H., Strinheti Ferrera Cury B., Chorilli N.**, 2015, Polyacrylic acid polymers hydrogels intended to topical drug delivery: preparation and characterization, Pharm. Dev Technol, 20(4), 490-496.
- [11] **Sadeghi M.**, 2011, Synthesis of starch-g-poly(acrylic acid-co-2-hydroxy ethyl methacrylate) as a potential pH-sensitive hydrogel-based drug delivery system, Turk J. Chem. 35, 723-733.

- [12] **Sindhu S.K., Siddaramaiah, D.Vishakante Gowda, Vishnu M. Datta, Srivasta A.**, 2015, Formulation and evaluation of pH sensitive poly(acrylic acid-co-hydroxy ethyl methacrylate) hydrogels for spesific site drug delivery, Scholars Research Library Der Pharma Chemica, 7(1), 35-45.
- [13] **Ranjha N.M., Qureshi U.F.**, 2014 (6), Preparation and characterization of crosslinked acrylic acid/Hydroxypropyl methyl cellulose hydrogels for drug delivery, International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, issue 4 , 400-410.
- [14] **Muzzarelli R.A.A., Muzzarelli C.**, 2005, Chitosan chemistry: relevance to the biomedical sciences, Polysaccharides 1: Structure, Characterization and Use, pp. 151–209.
- [15] **Kumar M.N., Muzzarelli R.A., Muzzarelli C., Sashiwa H., Domb A.J.**, 2004, Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives, Chem. Rev. 104, 6017–6084.
- [16] **Muzarelli R.A.A.**, 2009, Genipin-crosslinked chitosan hydrogels as biomedical and pharmaceutical aids, Carohydrate Polymers, 77,(1), 1-9.
- [17] **Gao L., Gan H., Meng Z., Gu R., Wu Z.,Zhang L., Zhu X., Sun W., Li J., Zheng Y., Dou G.**, 2014 (1), Effecets of genipin crosslinking of chitosan hydrogels on cellular adhesion and viability, Colloids Surf B. Biointerfaces, 117, 398-405.
- [18] **Dimida S., Demitri C., Benedicts V.M., Scalera F., Gervaso F.,Sannino A.**, 2015 ( 132), Genipin-crosslinked chitosan based hydrogels: reaction kinetics and structure-related characteristics, Journal of Applied Polymer Sciences, 28, 42256-42264.
- [19] **Yang L.Q., Lan Y. Q., Guo H., Cheng L.Z., Fan J.Z., Cai X., Zhang L.M., Chen R.F.,and Zhou H.Z.**, 2010, Ophthalmic drug-loaded N,O-carboxymethyl chitosan hydrogels: synthesis, in vitro and in vivo evaluation, Acta Pharmacologica Sinica, 31: 1625–1634.
- [20] **Chammoro G., Salazor M., Araujo K.G., dos Santos C.P., Ceballos G., Castillo L.F.**, 2002, Update on the pharmacology of spirulina (Arthrospira) an unconventional food, Arch Latinoam Nutr., 52(3), 232-240.
- [21] **Baker, Ş.B.**, 2012, Kontrollü ilaç salım hidrojel sistemleri ve uygulama çalışmaları, Yüksek Lisans Tezi, Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir.
- [22] **Chavda, H.N., Patel, C.N.**, 2011, Preparation and in vitro evaluation of a stomach specific srug delivery system based on superporous hydrogel composite, Vol.73, pp.30-37.
- [23] **Şahan, A.**, 2007, Farmosetik maddelerin aktif çamur arıtma prosesinde abiyotik gideriminin incelenmesi, Çukurova Üni., Yüksek Lisans Tezi, sf.22-25.

- [24] **Hamidi M., Azadi A., Rafiei P.**, 2008, Hydrogel nanoparticles in drug delivery, *Adv. Drug Deliv. Rev.*60, 1638-1649.
- [25] **Ratner B.D., Hoffman A.S., Ratner A.S.**, 1976, Synthetic hydrogels for biomedical applications, in J.D. Andrade (Ed.), *Hydrogels for Medical and Related Applications*, ACS Symposium Series, 31, American Chemical Society, Washington DC, pp.1-36.
- [26] **Hennink W.E., van Nostrum C.F.**, 2002, Novel crosslinking methods to design hydrogels, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 54, 13-36.
- [27] **Gulrez, S.K.H., Al-Asaf, S. and Philips, G.**, 2011, Hydrogels: methods of reparation, characterization and applications, *Progress in Molecular and Environmental Bioengineering-from analysis and Modelling to Technology Applications*, Chapter 5, pp. 118-119.
- [28] **Hassan, C.M. and Peppas, N.A.**, 2000, Structure and applications of poly(vinylalcohol) hydrogels produced by conventional crosslinking or by freeze/ thawing methods, *Advance in Polymer Science*, Vol.153, pp. 37-65.
- [29] **Ebewele, R.O.**, 2000, *Polymer Science and Technology*, Department of Chemical Engineering, University of Benin City, Nigeria, CRC Press, Boca Raton, New York, pp.28
- [30] **Emik, S.**, 2003, Uyariya duyarlı hidrojeller , İstanbul Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi, sf.5.
- [31] **Nykanen, V.P.S., Nykanen, A., Puska, M.A., Silva, G.G. and Ruokolainen, J.**, 2011 Dual-responsive and super absorbing thermally crosslinked hydrogel based on methacrylate substituted polyphosphazene, *Soft Matter*, Vol.7, pp. 4414-4424.
- [32] **Lopes M.A., Felisberti M.I.**, 2003, Mechanical behavior and biocompatibility of poly(1-vinyl-2-pyrrolidinone)-gelatin IPN hydrogels, *Biomaterials*, 24, 1279-1284.
- [33] **He Ch., Kim S.W., Lee D.S.**, 2008, In situ gelling stimuli-sensitive Block Copolymer Hydrogels for Drug Delivery, *J Control Rel.*, 127, 189-207.
- [34] **Katono H., Maruyama A., Sanui K., Okano T., Sakurai Y.**, 1991, Thermo-responsive swelling and drug release switching of interpenetrating polymer networks composed of poly(acrylamide-co-butyl methacrylate) and poly(acrylic acid), *J Control Rel.*, 16, 215-227.
- [35] **Van Tomme S.R., Storm G., Hennink W.E.**, 2008, In situ gelling hydrogels for pharmaceutical and biomedical applications, *Int J Pharm.*, 355, 1-18.
- [36] **Kenzie M Mc, Betts D., Suh A., Bui K., Kim L.D., Cho H.**, 2015, Hydrogel-based drug delivery systems for poorly water-soluble drugs, *Molecules*, 20 (11), 20397-20408.

- [37] **Jeong B., Gutowska A.**, 2002, Lessons from nature: stimuli responsive polymers and their biomedical applications, *Trends Biotechnol*, 20, 305-311.
- [38] **Jabbari E., Khademhosseini A.** (ed.), 2010, Biologically-responsive hybrid biomaterials, A reference for material scientists and bioengineerings, World Scientific Publishing, Singapur, chapter 7.
- [39] **Yong Q., Kinam P.**, 2001, Environment-sensitive hydrogels for drug delivery, *Advanced Drug Delivery Reviews* 53, 321–339.
- [40] **Özgündüz, H.İ.**, 2006, Akrilik asit-akrilamid-poli(vinil alkol) içeren yarı-ıpn tipi hidrojellerin şişme özellikleri ve lipaz salım davranışları, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [41] **Baek, N., Park, K., Park, J. H., Bae, Y. H.**, 2001, Control of the swelling rate of superporous hydrogels, *Journal of bioactive and compatible polymers*, 16 (1), 47-57.
- [42] **Schott H.J.**, 1992, Swelling kinetics of polymers. *J Macromol Sci B: Phys.*, 31(1), 1–9.
- [43] **Jabbari E., Nozari S.**, 2000, Swelling behavior of acrylic acid hydrogels prepared by  $\gamma$ -radiation crosslinking of polyacrylic acid in aqueous solution. *Eur Polym J.*, 36(12):2685-92.
- [44] **Özkahraman B.**, 2009, Sıcaklığa duyarlı kopolimerik hidrojeller ile sulardan boyar madde ve ağır metal uzaklaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi İstanbul, Türkiye.
- [45] **Jin S., Bian F., Lin M., Chen S, Liu H.**, 2009, Swelling mechanism of porous P(VP-co-MAA)/PNIPAM semi-IPN hydrogels with various Pore size prepared by a freeze treatment, *Polymer International*, 58(2), 142-148.
- [46] **Escobar J.L., Garcia D., Valerino A., Zaldivar D., Hernaez E., Katime I.**, 2004, Cephazoline sodium release from poly(N-isopropyl acrylamido-co-N,N-dimethylacrylamide) hydrogels, *Journal of Applied Polymer Science* 91(6), 3433-3437.
- [47] **Muniz E.C., Geuskens G.**, 2001, Compressive elastic modulus of polyacrylamide hydrogels and semi-IPNs with poly(N-isopropylacrylamide), *macromolecules*, 34 (13), 4480-4484.
- [48] **Ritger P.L., Peppas N.A.**, 1987, A simple equation for description of solute release I Fickian and non-Fickian release from non-swelling devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs. *J. Control Rel.*, 5(1):23–36.
- [49] **Shankar V.**, 1979, Calculation of diffusion coefficients of organic vapours from short and longtime sorption data. *Polymer*, 20(2):254–6.
- [50] **Pomogailo A.D., Kestelman V.N., Dzhardimalieva G.I.**, 2010, Macromolecular metal carboxylates and their nanocomposites in material science, Berlin, Springer, 11 p.

- [51] **Sop E.S., 2013**, Doku genişletme amaçlı hidrojel sentezi, karakterizasyonu ve şişme kinetiği, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [52] **Anushree Datta B.E., 2005**, Characterization of polyethylene glycol hydrogels for biomedical applications, A Thesis in The Department of Chemical Engineering, University of Pune, India, August 2007, Submitted to the Graduate Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Chemical Engineering.
- [53] **Melekaslan Aydınoglu D., 2004**, Akrilamid esaslı anyonik hidrojellerin polimer çözeltileri içindeki şişme davranışları, Doktora Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [54] **Li S., Wang H., Huang W., Liu X., 2014**, Facile preparation of pH-sensitive poly(acrylic acid-co-acrylamide)/SiO<sub>2</sub> hybrid hydrogels with high strength by in situ frontal polymerization, *Colloidal and Polymer Science*, 292(1), 107-113.
- [55] **Chavda, H.N., Patel, C.N., 2011**, Preparation and in vitro evaluation of a stomach specific drug delivery system based on superporous hydrogel composite, Vol 73, pp.30-37.
- [56] **Bhattarai N., Gunn J., Zhang M., 2010**, Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery, *Advanced Drug Delivery Reviews*, Vol 62, pp. 83-99.
- [57] **Struszczyk H. Orlikowski B.L., Skrzypczak C., 2001**, Chitosan in the Control of Soil-Borne Pathogens, *Chitin Enzymology*, 197-205.
- [58] **Kumar M.N., Muzzarelli R.A., Muzzarelli C., Sashiwa H., Domb A.J., 2004**, Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives, *Chem. Rev.* 104 6017–6084.
- [59] **Muzzarelli R.A.A., Muzzarelli C., 2005**, Chitosan chemistry: relevance to the biomedical sciences, *Polysaccharides 1: Structure, Characterization and Use*, pp. 151–209.
- [60] **Denkbaş E.B., Ottenbrite R.M., 2006**, Perspectives on: chitosan drug delivery systems based on their geometries, *J. Bioact. Compat. Polym.* 21 351–368.
- [61] <http://www.genipin.org>, alındığı tarih: 01.01.2016.
- [62] **Jin J., Song M., Hourston D.J., 2004**, Novel chitosan-based films cross-linked by genipin with improved physical properties, *Biomacromolecules* 5, 162–168.
- [63] **Sung H.W., Liang I.L., Chen C.N., Huang R.N., Liang H.F., 2001**, Stability of a biological tissue fixed with a naturally occurring crosslinking agent (genipin), *J. Biomed. Mater. Res.* 55, 538–546.

- [64] **Sung H.W., Huang R.N., Huang L.L.H., Tsai C.C.**, 1999, In vitro evaluation of cytotoxicity of a naturally occurring cross-linking reagent for biological tissue fixation, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 10, 63–78.
- [65] **Mi F.L., Tan Y.C., Liang H.C., Huang R.N., Sung H.W.**, 2001, In vitro evaluation of a chitosan membrane cross-linked with genipin, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 12, 835–850.
- [66] **Bhattacharai N., Ramay H.R., Gunn J., Matsen F.A., Zhang M.Q.**, 2005, PEG-grafted chitosan as an injectable thermosensitive hydrogel for sustained protein release, *J. Control. Release* 103, 609–624.
- [67] **Chen S.C., Wu Y.C., Mi F.L., Lin Y.H., Yu L.C., Sung H.W.**, 2004, A novel pH-sensitive hydrogel composed of N, O-carboxymethyl chitosan and alginate cross-linked by genipin for protein drug delivery, *J. Control. Release* 96, 285–300.
- [68] <http://spirulinafaydalari.blogspot.com.tr/2013/01/spirulina-nn-faydalar.html>, alındığı tarih: 24.05.2016.
- [69] **Microscopic view of spirulina**, Alındığı tarih: 24.05.2016, adres: <http://www.kudamas.com.my/default.asp?iId=GFHGHF>
- [70] **Spirulinanın İçeriği**, alındığı tarih: 25.05.2016, adres: [http://www.spirulina.gen.tr/spirulina\\_icerigi.php](http://www.spirulina.gen.tr/spirulina_icerigi.php)
- [71] <http://www.frntr.com/tip-biyoloji-farmakoloji/698895-kontrollu-ilac-salimi.html>, alındığı tarih: 02.07.2016.
- [72] **Kişmir Y.**, 2011, Bazı polimerik jellerin hazırlanması ve ilaç aktif madde salınımında kullanılması, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul.
- [73] **Yin X., Hoffman A.S., Stayton P.S.**, 2006, Poly(N-isopropylacrylamide-co-propylacrylic acid) copolymers that respond sharply to temperature and pH, *Biomacromolecules*, 7, 1381-1385.
- [74] **Rao K.V.R., Devi K.P.**, 1988, Swelling controlled-release systems: recent developments and applications, *Int. J. Pharm.*, 48, 1-13.
- [75] **Gutowska A. et al.**, 1985, Squeezing hydrogels for controlled oral drug delivery, *J. Control Release* 48, 141-148.
- [76] **Lowman A.M., Peppas N.A.**, 1999, Hydrogels, In *Encyclopaedia of Controlled Drug Delivery* ( Mathiowitz, E., ed.), pp. 397-418, John Wiley & Sons.
- [77] **Gupta P., Vermani K., Garg S.**, 2002, Hydrogels: from controlled release to pH-responsive drug delivery, *Research Focus Reviews*, vol.7,10., 569-578.
- [78] **Cruise G.M., Scharp D.S., Hubbell J.A.**, 1998, Characterization of permeability and network structure of interfacially photopolymerized poly(ethylene glycol) diacrylate hydrogels, *Biomaterials* 19, 1287–1294.

- [79] **Lin C.C., Metters A.T.**, 2006, Hydrogels in controlled release formulations: network design and mathematical modeling, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 58, 1379–1408.
- [80] **Kim S.W., Bae Y.H., Okano T.**, 1992, Hydrogels: swelling, drug loading, and release, *Pharm. Res.* 9, 283–290.
- [81] **Huang X., Brazel C.S.**, 2003, Analysis of burst release of proxiphylline from poly(vinyl alcohol) hydrogels, *Chem. Eng. Commun.*, 190, 519–532.
- [82] **Jeong B., Bae Y.H., Kim S.W.**, 2000, Drug release from biodegradable injectable thermosensitive hydrogel of PEG-PLGA-PEG triblock copolymers, *J. Control. Release* 63 155–163.
- [83] **Leach J.B., Schmidt C.E.**, 2005, Characterization of protein release from photocrosslinkable hyaluronic acid-polyethylene glycol hydrogel tissue engineering scaffolds, *Biomaterials* 26 125–135.
- [84] **Galeska I., Kim T.K., Patil S.D., Bhardwaj U., Chattopadhyay D., Papadimitrakopoulos F., Burgess D.J.**, 2005, Controlled release of dexamethasone from PLGA microspheres embedded within polyacid-containing PVA hydrogels, *AAPS J.* 7, E231–E240.
- [85] **Ungaro F., Biondi M., d'Angelo I., Indolfi L., Quaglia F., Netti P.A., La Rotonda M.I.**, 2006, Microsphere-integrated collagen scaffolds for tissue engineering: effect of microsphere formulation and scaffold properties on protein release kinetics, *J. Control. Release* 113, 128–136.
- [86] **Kohane D.S., Langer R.**, 2008, Polymeric biomaterials in tissue engineering, *Pediatr. Res.* 63, 487–491.
- [87] **Chun C., Lee S.M., Kim S.Y., Yang H.K., Song S.C.**, 2009, Thermosensitive poly(organophosphazene)-paclitaxel conjugate gels for antitumor applications, *Biomaterials* 30, 2349–2360.
- [88] **Dai Y.N., Li P., Zhang J.P., Wang A.Q., Wei Q.**, 2008, A novel pH sensitive N-succinyl chitosan/alginate hydrogel bead for nifedipine delivery, *Biopharm. Drug Dispos.* 29, 173–184.
- [89] **Al-Kahtani Ahmed A., Bhojya Naik H.S., Sherigara B.S.**, 2009, Synthesis and characterization of chitosan-based pH-sensitive semi-interpenetrating network microspheres for controlled release of diclofenac sodium, *Carbohydr. Res.* 344, 699–706.
- [90] **Guo B.L., Gao Q.Y.**, 2007, Preparation and properties of a pH/temperature-responsive carboxymethyl chitosan/poly(N-isopropylacrylamide)semi-IPN hydrogel for oral delivery of drugs, *Carbohydr. Res.* 342, 2416–2422.
- [91] **Sajeesh S., Sharma C.P.**, 2011, Mucoadhesive hydrogel microparticles based on poly(methacrylic acid-vinyl pyrrolidone)- chitosan for oral drug delivery, *Drug Deliv.*, 18: 227-35

- [92] **Tozaki H., Komoike J., Tada C., Maruyama T., Terabe A., Suzuki T., Yamamoto A., Muranishi S.**, 1997, Chitosan capsules for colon-specific drug delivery: improvement of insulin absorption from the rat colon, *J. Pharm. Sci.* 86, 1016–1021.
- [93] **Patel V.R., Amiji M.M.**, 1996, Preparation and characterization of freeze-dried chitosanpoly(ethylene oxide) hydrogels for site-specific antibiotic delivery in the stomach, *Pharm. Res.* 13, 588–593.
- [94] **Prajapati B.G., Pater M.M.**, 2010, Crosslinked chitosan gel for local drug delivery of clotrimazole, *e-Journal of Science & Technology*, 43-52.
- [95] **Hari P.R., Chandy T., Sharma C.P.**, 1996, Chitosan/calcium alginate microcapsules for intestinal delivery of nitrofurantoin, *J. Microencapsul.* 13, 319–329.
- [96] **Özbaş, Z., Gürdağ, G.**, 2015, Swelling kinetics, mechanical properties and release characteristics of chitosan-based semi-IPN hydrogels, *Journal of Applied Polymer Science*, 132(16), 41886-41886X.
- [97] **Aydın S.T., Pulat M.**, 2012, 5-Fluorouracil encapsulated chitosan nanoparticles for pH-stimulated drug delivery; Evaluation of controlled release kinetics, *Journal of Nanomaterials*, Article ID 313961.
- [98] **Aydinoğlu D., Şen S., Helvacıoğlu E., Nugay T., Nugay N.**, 2013, Tuning of heavy metal removal efficiency from water via micro algae/hydrogel composites”, *e-Polymer*, Vol 13, pp. 163-179.
- [99] **Aydinoğlu D.**, 2015, Investigation of pH- dependent swelling behaviour and kinetic Parameters of novel poli(acrilamide-co-acrylic acid) hydrogels with spirulina, *e-Polymer*, Vol 15-pp.81-93.
- [100] **Xu L., Huang Y.A., Zhu Q.J., Ye C.**, 2015, Chitosan in molecularly-imprinted polymers: current and future prospect, 16(8), 18328-18347.
- [100] **Tasdelen B., Kayaman-Apohan N., Güven O., Baysal B.M.**, 2005, Anticancer drug release from poly(N-isopropylacrylamide/ itaconic acid) copolymeric hydrogels, *Radiation Physics and Chemistry* 73, 340–345.
- [101] <http://www.Iktlabs.com/products/>, alındığı tarih: 24.07.2016.





## ÖZGEÇMİŞ

**Ad Soyad:** : Merve ÜNAL  
**Doğum Yeri / Tarihi** : MAINBURG- 24/07/1991  
**Adres** : Yalı Mah. Zafer Sok. No: 6 Erdek/ Balıkesir  
**E-Posta** : [unalmerve10@gmail.com](mailto:unalmerve10@gmail.com)  
**Lisans** : Yalova Üniversitesi- Polimer Mühendisliği (2009-2014)

## TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR/ SUNUMLAR

- 1) Demet Aydınoglu, **Merve Ünal**, “Synthesis of a New Natural Chitosan Based Hydrogel and Its Usage in Drug Delivery Applications”, *MACRO 2016-46th Iupac World Polymer Congress*, İstanbul, Türkiye, Book Of Abstracts, sayfa 301, 17-21 Temmuz 2016.