



**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOMEDİKAL UYGULAMALARINDA AKILLI POLİMER
KULLANILMASI VE KARAKTERİZASYON YÖNTEMİNİN
KUARTZ KRİSTAL MİKRO DENGELİYİCİ SİSTEMLER İLE
GELİŞTİRİLMESİ**

NAZLI NADİRE SÖZMEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA

2008

**BİYOMEDİKAL UYGULAMALARINDA AKILLI POLİMER
KULLANILMASI VE KARAKTERİZASYON YÖNTEMİNİN
KUARTZ KRİSTAL MİKRO DENGELİYİCİ SİSTEMLER İLE
GELİŞTİRİLMESİ**

**SMART POLYMERS AS IN BIOMEDICAL APPLICATIONS
AND IMPROVEMENT OF CHARACTERIZATION TECHNIQUE
BY QCMs**

NAZLI NADİRE SÖZMEN

Başkent Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
BİYOMEDİKAL Mühendisliği Anabilim Dalı İçin Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

2008

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bu çalışma, jürimiz tarafından **BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI 'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan :.....
(Doç. Dr. Osman EROĞUL)

Üye (Danışman) :.....
(Yrd. Doç. Dr. Dilek ÇÖKELİLER)

Üye :.....
(Yrd. Doç. Dr. İ.Cengiz KOÇUM)

ONAY

Bu tez/...../..... tarihinde Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

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

Prof. Dr. Emin AKATA

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

TEŐEKKÜR

Çalışmalarımın tüm aşamalarında danışmanlığını, yol gstericiliğini esirgemeyen, edindiği engin bilgi ve tecrübeyi benimle paylaşmaktan çekinmeyen ve tez çalışmamın başından sonuna kadar benimle birlikte aynı heyecanı yaşayan, danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Dilek ÇÖKELİLER'e en derin saygılarımla teőekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca; karşılaştığım tüm zorluklarda bilgisini ve tecrübelerini esirgemeyerek bana destek olan

Sayın Dr. Aykut ERDAMAR'a,

imkânlarını bizden hiç esirgemeyerek ihtiyaç duyduğumuz her zaman bize yardımcı olan Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Mehmet MUTLU'ya ve çalışma ekibine,

kısıtlı zamanını bizden esirgemeyerek ihtiyacımız olduğu her zaman bize yardımcı olan Hacettepe Üniversitesi Biyomühendislik Yüksek Lisans Öğrencisi Sayın Başak BEYHAN'a,

her zaman yanımda olan ve kısıtlı zamanlarına rağmen desteklerini esirgemeyen aileme ve yakın dostlarıma,

en derin saygı, sevgi ve şükranlarımı sunarım.

ÖZ

BİYOMEDİKAL UYGULAMALARINDA AKILLI POLİMER KULLANILMASI VE KARAKTERİZASYON YÖNTEMİNİN KUARTZ KRİSTAL MİKRO DENGELİYİCİ SİSTEMLER İLE GELİŞTİRİLMESİ

Nazlı Nadire SÖZMEN

Başkent Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Bu çalışmanın amacı akıllı polimerlerin karakterizasyon yöntemine yeni bir yaklaşımla quartz kristal mikro dengeleyici sistemlerle (QCM) daha hızlı, gerçek zamanlı, uygulaması kolay, hassas, sürekli tekrarlanan işlemler nedeni ile takip etme zorunluluğu olmayan etkin bir alternatif yöntem geliştirmek ve geliştirilen bu yöntemin uygulanabilirliğinin ilaç salınım sistemi ile ispat edilmesidir.

İlk olarak farklı derişimlerde hazırlanan ksantan gam hidrojel örneklerinin (5 g/l, 10 g/l, 20 g/l) farklı pH değerlerindeki (pH:5, pH:6, pH:7 ve pH:9) şişme-büzüşme davranışları sonucunda oluşan, QCM ile ölçülen frekans değerlerinden yola çıkılarak hesaplanan kütle değişimleri tespit edilmiştir. Ardından aynı hidrojel örneklerinin farklı sıcaklıklardaki (40°C, 60°C ve 80°C) şişme-büzüşme davranışları aynı şekilde incelenmiştir.

İlaç salınım sisteminin uygulanması için pH:7 değerindeki insülin solüsyonu hidrojel örneklerinin içerisine şişme davranışı sayesinde nüfuz etmesi ve ortamın pH değerlerinin değiştirilmesi ile nüfuz ettikleri insülin solüsyonunun bir miktarının dışarı tekrar salınması sağlanmış, kütle tespitleri QCM ile yapılan frekans ölçümleri sayesinde gerçekleştirilmiştir.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Akıllı polimerler, ksantan gam, QCM, ilaç salınımı, insülin.

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Dilek ÇÖKELİLER, Başkent Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü.

ABSTRACT

SMART POLYMERS AS IN BIOMEDICAL APPLICATIONS & IMPROVEMENT OF CHARACTERIZATION TECHNIQUE BY QCMs

Nazlı Nadire SÖZMEN

Baskent University Institute of Science

Department of Biomedical Engineering

The aim of this project is to perform the characterization of smart polymers with a new approach, quartz crystal microbalance systems (QCM), faster, easy to apply system with real-time and sensitive measurement and without indispensability of purpose that is requirement because of the iterative procedures, and to demonstrate the applicability of the performed method with drug release system.

First the frequency measurements are accrued with QCM as the results of the swelling and disswelling behavior at different pH values (pH:5, pH:6, pH:7, pH:9) of the prepared as different concentrations xanthan gum hydrogels (5 g/l, 10 g/l, 20 g/l). After that the mass changes are calculated via the frequency measurements. Then the same procedures are applies for the different temperature values (40°C, 60°C, 80°C).

For the application of drug release system, the insulin solution at pH:7 is permeated as the result of the swelling behavior of the hydrojels. Then pH value of the medium is changed and the permeated insulin solution released from inside the hydrojels. The masses of permeated and released insulin solutions are calculated via the frequency measurements.

Keywords: Smart polymers, xanthan gum, QCM, drug release, insulin.

Advisor: Asist. Prof. Dr. Dilek Cokeliler, Baskent University, Department of Biomedical Engineering.

İÇİNDEKİLER LİSTESİ

	Sayfa
ÖZ	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER LİSTESİ	iii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vi
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	x
SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Akıllı Polimerler	3
2.1.1 Akıllı polimer çeşitleri	4
2.1.1.1 <u>Sıcaklık hassas polimerler</u>	5
2.1.1.2 <u>pH hassas polimerler</u>	5
2.1.1.3 <u>İyon hassas polimerler</u>	6
2.1.1.4 <u>Kimyasal maddelere hassas polimerler</u>	6
2.1.1.5 <u>Işık hassas polimerler</u>	7
2.1.1.3 <u>Elektrik alana hassas polimerler</u>	7
2.1.1.4 <u>Manyetik alana hassas polimerler</u>	7
2.1.2 Akıllı polimerlerin kullanım alanları	8
2.1.3 Akıllı polimerlerin karakterizasyonu	10
2.1.4 Akıllı polimerlerin karakterizasyon uygulamaları	11
2.2 İlaç Salınımı	13
2.2.1 Kontrollü ilaç salınım sistemleri.....	14
2.2.2 Polimerik kontrollü ilaç salınım sistemlerinin sınıflandırılması	15
2.2.2.1 <u>Difüzyon kontrollü sistemler</u>	16
2.2.2.2 <u>Kimyasal kontrollü sistemler</u>	18
2.2.2.3 <u>Çözücünün harekete geçirdiği sistemler</u>	21
2.2.2.4 <u>Diğer sistemler</u>	22
2.2.3 Kontrollü ilaç salınım sistemlerinin kullanım alanları	23
2.2.3.1 <u>Oral sistemler</u>	24
2.2.3.2 <u>Gastrointestinal sistemler</u>	26
2.2.4 Kontrollü ilaç salınım sistemlerinde kullanılan doğal polimerler	28
2.2.4.1 Ksantan.....	29

2.3 Quartz Kristal Mikro Dengeleyici Sistemler	30
2.3.1 Piezoelektrik kristaller	30
2.3.1.1 <u>Pezoelektrik özellik gösteren kristaller</u>	31
2.3.1.2 <u>Kristalin yapısı</u>	32
2.3.1.3 <u>Piezoelektrik ölçüm</u>	33
2.3.2 Quartz kristal mikro dengeleyici sistemlerin kullanım alanları	34
2.3.3 Quartz kristal mikro dengeleyici sistemlerin akıllı polimer uygulamaları	34
2.4 İnsülin	37
2.4.1 İnsülinin keşfi ve nitelendirilmesi	38
2.4.2 İnsülin kristalleri	38
2.4.3 İnsülin tipleri	41
2.4.3.1 <u>Kısa etkili insülin</u>	41
2.4.3.2 <u>Orta etkili insülin</u>	41
3. MATERYAL VE METOD	43
3.1 Kimyasal Malzemeler	43
3.2 Kristallerin Temizlenmesi	44
3.2.1 Fiziksel temizlik	44
3.2.2 Plazma tekniği ile temizlik	45
3.2.3 Deterjanla temizlik	45
3.2.4 Ultrasonik banyo ile yıkama	45
3.3 Ksantan Gam Hidrojelinin Hazırlanışı	46
3.4 Hidrojel Karakterizasyonu	50
3.4.1 pH ölçümleri	51
3.4.2 Sıcaklık ölçümleri	51
3.5 İlaç Salınım Deneyleri	53
3.5.1 5 g/l ksantan çözeltisi ile insülin salınım deneyleri	54
3.5.2 10 g/l ksantan çözeltisi ile insülin salınım deneyleri	55
3.5.3 20 g/l ksantan çözeltisi ile insülin salınım deneyleri	56
4. SONUÇ ve TARTIŞMA	58
4.1 Karakterizasyon Çalışmaları	58
4.1.1 pH ölçümleri	54
4.1.1.1 <u>Denge şişme oranının hesaplanması</u>	60
4.1.1.2 <u>Su tutma miktarının hesaplanması</u>	63
4.1.2 Sıcaklık ölçümleri	71

4.1.2.1 <u>Denge şişme oranının hesaplanması</u>	73
4.1.2.2 <u>Su tutma miktarının hesaplanması</u>	76
4.2 İlaç Salınım Deneyleri	82
4.2.1 Salınan insülin miktarının hesaplanması	87
4.3 Gelecekteki Çalışmalar	89
KAYNAKLAR LİSTESİ	90

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 Membran sistemler.....	16
Şekil 2.2 Matris sistemler	17
Şekil 2.3 Biyolojik aşınabilir sistemler	19
Şekil 2.4 Zincire takılı sistemler	20
Şekil 2.5 Ksantanın kimyasal yapısı	29
Şekil 2.6 Kristaldeki boyut değiştirme	30
Şekil 2.7 Kuartz kristellerdeki kesme	33
Şekil 2.8 İnsan insülinlerinin etki süresi	42
Şekil 3.1 5 MHz'lik Ti/Au alaşım elektrotlu quartz kristal.....	44
Şekil 3.2 Ksantan gam hidrojenlerinin karıştırmalı ortamda hazırlanışı.....	46
Şekil 3.3 (a) 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojeninin sertleşme öncesi hali, (b) 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojeninin sertleşme öncesi hali, (c) 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojeninin sertleşme öncesi hali.....	48
Şekil 3.4 (a) 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojeninin sertleşme sonrası hali, (b) 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojeninin sertleşme sonrası hali, (c) 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojeninin sertleşme sonrası hali.	49
Şekil 3.5 QCM probunun yatay konumda kullanılması.	50
Şekil 3.6 QCM probunu hazırlanan uzatma kablosu ile etüv içerisine yerleştirilmesi.....	52
Şekil 3.7 Kristal osilatörü ile probun hazırlanan uzatma kablosu ile bağlanması...52	
Şekil 4.1 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojeninin pH:5, pH:6, pH:7 ve pH:9 değerindeki tampon çözeltilerindeki ölçüm frekans değişim grafiği.	59
Şekil 4.2 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojeninin pH:5, pH:6, pH:7 ve pH:9 değerindeki tampon çözeltilerindeki ölçüm frekans değişim grafiği.	59
Şekil 4.3 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojeninin pH:5, pH:6, pH:7 ve pH:9 değerindeki tampon çözeltilerindeki ölçüm frekans değişim grafiği.	60
Şekil 4.4 Farklı derişimlerdeki ksantan gam hidrojeninin farklı pH değerlerindeki denge şişme oranları.....	63

Şekil 4.5 (a) 5 g/l derişimdeki ksantan gam hidrojelinin pH:5, pH:6, pH:7 ve pH:9 değerlerindeki su tutma miktarı grafiği. (b) 10 g/l derişimdeki ksantan gam hidrojelinin pH:5, pH:6, pH:7 ve pH:9 değerlerindeki su tutma miktarı grafiği. (c) 20 g/l derişimdeki ksantan gam hidrojelinin pH:5, pH:6, pH:7 ve pH:9 değerlerindeki su tutma miktarı grafiği.	64
Şekil 4.6 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (a) pH:5 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden önceki, (b) pH:5 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.	66
Şekil 4.6 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (c) pH:6 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden önceki, (d) pH:6 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.	66
Şekil 4.6 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (e) pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden önceki, (f) pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.	67
Şekil 4.6 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (g) pH:9 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden önceki, (h) pH:9 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.	67
Şekil 4.7 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (a) pH:5 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden önceki, (b) pH:5 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.	68
Şekil 4.7 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (c) pH:6 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden önceki, (d) pH:6 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.	68
Şekil 4.7 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (e) pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden önceki, (f) pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.	69
Şekil 4.7 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (g) pH:9 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden önceki, (h) pH:9 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.	69
Şekil 4.8 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (a) pH:5 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden önceki, (b) pH:5 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.	70

Şekil 4.8 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (c) pH:6 değerindeki tampon çöztisi ile etkileşiminden önceki, (d) pH:6 değerindeki tampon çöztisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.....	70
Şekil 4.8 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (e) pH:7 değerindeki tampon çöztisi ile etkileşiminden önceki, (f) pH:7 değerindeki tampon çöztisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.....	71
Şekil 4.8 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (g) pH:9 değerindeki tampon çöztisi ile etkileşiminden önceki, (h) pH:9 değerindeki tampon çöztisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.....	71
Şekil 4.9 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin 40°C, 60°C ve 80°C sıcaklık değerlerindeki ölçüm frekans değişim grafiği.....	72
Şekil 4.10 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin v sıcaklık değerlerindeki ölçüm frekans değişim grafiği.....	73
Şekil 4.11 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin 40°C, 60°C ve 80°C sıcaklık değerlerindeki ölçüm frekans değişim grafiği.....	73
Şekil 4.12 Farklı derişimlerdeki ksantan gam hidrojelinin farklı sıcaklık değerlerindeki denge şişme oranları.....	76
Şekil 4.13 (a) 5 g/l derişimdeki ksantan gam hidrojelinin 40°C, 60°C ve 80°C sıcaklık değerlerindeki su tutma miktarı grafiği. (b) 10 g/l derişimdeki ksantan gam hidrojelinin 40°C, 60°C ve 80°C sıcaklık değerlerindeki su tutma miktarı grafiği. (c) 20 g/l derişimdeki ksantan gam hidrojelinin 40°C, 60°C ve 80°C sıcaklık değerlerindeki su tutma miktarı grafiği.....	78
Şekil 4.14 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (a) 40°C sıcaklığında pH:7 tampon çöztisi ile etkileşiminden önceki, (b) 40°C sıcaklığında pH:7 değerindeki tampon çöztisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.....	79
Şekil 4.14 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (c) 60°C sıcaklığında pH:7 tampon çöztisi ile etkileşiminden önceki, (d) 60°C sıcaklığında pH:7 değerindeki tampon çöztisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.....	80
Şekil 4.14 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (e) 80°C sıcaklığında pH:7 değerindeki tampon çöztisi ile etkileşiminden önceki, (f) 80°C sıcaklığında pH:7 değerindeki tampon çöztisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.....	80

Şekil 4.15 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (a) 40°C sıcaklığında pH:7 tampon çözeltisi ile etkileşiminden önceki, (b) 40°C sıcaklığında pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.....	80
Şekil 4.15 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (c) 60°C sıcaklığında pH:7 tampon çözeltisi ile etkileşiminden önceki, (d) 60°C sıcaklığında pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.....	81
Şekil 4.15 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin (e) 80°C sıcaklığında pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden önceki, (f) 80°C sıcaklığında pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.....	81
Şekil 4.16 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (a) 40°C sıcaklığında pH:7 tampon çözeltisi ile etkileşiminden önceki, (b) 40°C sıcaklığında pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.....	81
Şekil 4.16 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (c) 60°C sıcaklığında pH:7 tampon çözeltisi ile etkileşiminden önceki, (d) 60°C sıcaklığında pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.....	82
Şekil 4.16 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (e) 80°C sıcaklığında pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden önceki, (f) 80°C sıcaklığında pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.	82
Şekil 4.17 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin pH:7 değerindeki insülin solüsyonu ile şişirilerek pH:5 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileştirilmesi sonucunda meydana gelen insülin salınımı frekans değişim grafiği.	83
Şekil 4.18 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin pH:7 değerindeki insülin solüsyonu ile şişirilerek pH:9 ve pH:6 değerlerindeki frekans değişim grafiği.....	84
Şekil 4.19 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin pH:7 değerindeki insülin solüsyonu ile şişirilerek pH:5 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileştirilmesi sonucunda meydana gelen insülin salınımı frekans değişim grafiği.	85
Şekil 4.20 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin pH:7 değerindeki insülin solüsyonu ile şişirilerek pH:9 ve pH:6 değerlerindeki frekans değişim grafiği.....	86
Şekil 4.21 20 g/l ksantan gam hidrojelinin pH:7 değerindeki insülin solüsyonu ile etkileştirilmesi sonucunda oluşan frekans değişim grafiği.	87

ÇİZELGELER LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 4.1 Farklı derişimlerdeki ksantan gam hidrojelinin farklı pH ortamlarındaki denge şişme oranı çizelgesi.....	61
Çizelge 4.2 Farklı derişimlerdeki ksantan gam hidrojellerinin farklı pH verdiklerin cevapların neden olduğu frekans değişim değerleri çizelgesi.....	62
Çizelge 4.3 Farklı derişimlerdeki ksantan gam hidrojelinin farklı sıcaklık ortamlarındaki denge şişme oranı çizelgesi.....	74
Çizelge 4.4 Farklı derişimlerdeki ksantan gam hidrojelinin farklı sıcaklık ortamlarındaki frekans değişim değerleri çizelgesi..	75
Çizelge 4.5 Farklı derişimdeki ksantan gam hidrojellerinden salınan insülin miktarları çizelgesi.....	87
Çizelge 4.6 Farklı derişimdeki ksantan gam hidrojellerinden salınan insülin miktarlarını gösteren frekans değişim değerleri çizelgesi.....	88

SİMGELER VE KISALTMALAR

A	elektrot alanı
Ag/AgCl	gümüş/gümüş klorür
Ba ⁺⁺	Baryum iyonu
BSA	Bovin Serum Albumin
Ca ⁺⁺	Kalsiyum iyonu
CMC	karboksimetilselüloz
Cu ⁺⁺	Bakır iyonu
f	rezonans frekansı
GA	Glutaraldehit
HA	İHyaluronik Asit
Hz	Hertz
H ₃ BO ₄	Borik Asit
IU	Uluslar arası Birim (International Unit)
IU/ml	Uluslar arası Birim/mililitre
kDa	kilodalton
KH ₂ PO ₄	potasyum dihidrojen fosfat
LCST	Düşük Kritik Sıcaklık
M	Molar
m	kristal kütlesi
MA	Molekül Ağırlığı
MAA	Metil Metakrilat
MEMS	Mikro-Elektro-Mekanik-Sistem
Mg ⁺⁺	magnezyum iyonu
MHz	MegaHertz
N	Frekans Katsayısı
Na ⁺⁺	Sodyum iyonu
Na ₂ HPO ₄	Disodyum hidrojen fosfat
NaOH	Sodyum hidroksit
NaKC ₄ H ₄ O ₆ .4H ₂ O	Rochelle tuzu
O ₂	Oksijen
OA	Okadayik Asit

PBS	Fostat Tampon Çözletisi
PEI	Polietilenin
PHEMA	Poli(hidroksietil metakrilat)
PNIPAAm	Poli(N-izopropilakrilamit)
QCM	Quartz Kristal Mikro Dengeleyici Sistem
QCM-D	Harcanım izlemeli Quartz Kristal Mikro Dengeleyici Sistem
Q_d	bir jel örneğinin denge şişme oranı
rpm	rotate per minute
Ti/Au	Titanyum/Altın
V	Volt
W_d	bir jel örneğinin kuru ağırlığı
W_s	bir jel örneğinin tümüyle şişmiş ağırlığı
W_t	t zamanındaki ıslak jel örneğinin belirlenen sıcaklık/pH'daki ağırlığı
w/w	ağırlık/ağırlık
Δq	kristalin yoğunluğu
Δx	quartz kalınlığı
Ω	Ohm (direnç birimi)
3-D	3 boyutlu

1. GİRİŞ

Akıllı polimerler buldukları ortamdaki uyarılara karşı şişme ve büzüşme davranışı göstererek cevap verme özelliğine sahiptirler. Akıllı polimerlerin şişme ve büzüşme davranışlarının incelenmesi için gerekli olan karakterizasyon işlemi şişme ve büzüşme sonucunda oluşan kütle değişimlerinin incelenmesi ile ilintilidir. İlerleyen bölümlerde açıkça anlatıldığı gibi bu işlem kısa aralıklarla tekrarlanması gereken rutin bir çalışmayı gerektirmektedir ve bu çalışma süresi akıllı polimerin çeşidi ve ortamın özelliğine bağlı olarak 24 saatten haftalara kadar uzayabilmektedir.

Akıllı polimerler, ortamdaki pH, sıcaklık, iyon gücü gibi çevresel uyarılara güçlü yapısal farklılıklarla cevap verebilirler. Bu farklılıklar sulu çözeltilerde faz ayrımı ya da hidrojel büyüklüğünde farklar olarak sonuçlanabilir. Akıllı polimerler biyoseperasyonda, ilaç salınımında, biyomimetik aktüatörlerde ve hidrofobik-hidrofilik yüzeylerde kullanılabilir.

Bu çalışmada ise kütle değişimlerinin incelenmesi için mikrogravimetrik ölçüm yöntemi olan Quartz Kristal Mikro Dengeleyici Sistemin (QCM) kullanılması ile gerekli olan rutin tekrarlardan kurtularak gerçek zamanlı, nanogram derecesindeki değişimleri bile algılayabilecek kadar hassas bir ölçüm ile daha hızlı ve kolay uygulanabilir etkin bir karakterizasyon işleminin gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

Model bileşik olarak kullanılan ksantan gam hidrojelini doğal bir akıllı polimer çeşididir. Bu biyopolimer türü xanthomonas campestris bakterisi tarafından üretilen hem sıcaklık hem de pH hassas bir akıllı polimerdir. Ksantan gam hidrojelini, toksik özellik göstermemesi ve biyoaktif materyal olmaması nedeniyle kontrollü ilaç salım sistemlerinde ve daha pek çok biyoteknoloji alanında kullanılmaktadır.

Bu çalışmada ksantan gam hidrojelleri karakterizasyon işlemlerinde kullanılmak üzere u farklı derişimde hazırlanmıştır (5 g/l, 10 g/l ve 20 g/l) ve pH:5, pH:6, pH:7 ve pH:9 değerleri ile 40°C, 60°C ve 80°C sıcaklık değerlerinde çalışılarak bu pH ve sıcaklık değerlerine verdikleri tepkiler incelenmiştir

Karakterizasyon işlemlerinin tamamlanmasının ardından polipeptit yapılı ve vücuttaki karbonhidrat metabolizmasının düzenlenmesinde rol alan bir hormon olan insülin hormonunun farklı koşullarda salınım deneyleri gerçekleştirilmiştir. Kullanılan insülin solüsyonunun pH:7 değerinde olmasından dolayı salınım deneylerinin gerçekleştirilmesi için ksantan gam hidrojelinin pH:7 değerindeki şişme davranışlarından yararlanılarak insülinin hidrojel içerisine hapsedilmesi sağlanmış, farklı pH değerlerinde ise hidrojelin büzüşerek içerisinde bulundurduğu insülinin bir miktarının hidrojel içerisinden dışarıya salınması sağlanmıştır.

Tüm bu işlemlerin gerektirdiği kütle hesaplamaları QCM ile kolay, gerçek zamanlı, hızlı, hassas ve etkin bir şekilde gerçekleştirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

Bu bölümde yapılan çalışmanın temelini oluşturan konularla ilgili literatür bilgisi sunulmuştur. İlk olarak akıllı polimerler ve çeşitleri, kullanım alanları hakkında bilgi verilmiştir. Daha sonra, akıllı jellerle devam edilmiş, çeşitleri ve kullanım alanları ile ilgili bilgi verilmiştir. Ardından akıllı polimerlerin karakterizasyon yöntemleri anlatılarak uygulamalardan örnekler verilmiştir. Sonraki aşamada, hidrojellerin bir uygulama alanı olan kontrollü salım sistemleri çeşitleri ve uygulama alanları hakkında bilgi verilmiştir. Oral sistemlerle devam edilmiş, bunun yanında gastrointestinal sistemle de ilgili temel bilgiler sunulmuştur. Quartz kristal mikro dengeleyici sistemler (QCM) ile ilgili bilgiler verilerek çalışma prensibi ve piezoelektrik ölçüm hakkında açıklamalar yapılmıştır. Son olarak insülin hakkında genel bilgi ve tarihsel geçmişine değinilmiştir.

2.1 Akıllı Polimerler

Akıllı polimerler, yaygın olarak bilinen diğer bir adı ile hidrojeller, çift bağlı polimerlerden oluşan üç boyutlu elastik bir ağ yapısıdır ve nüfuz edebilme özelliğine sahip bir çözücüdür. Suda çözünebilme özelliği olan hidrojeller, %90-99 w/w su içeren interstitial boşluklara sahip elastik ağlardan oluşmaktadır ve insan vücudu için tasarlanan ilk biyomalzeme olma özelliğine sahiptir [1,2].

Hidrojeller katı-benzeri ve sıvı-benzeri özelliklerinin her ikisini de sağlayabilen yapılardır. Kuru durumunda hidrojel katı gibi davranır, bunun yanında hidrojel çözücüyü absorbe ederek kendi şişme dengesine ulaşana kadar şişme özelliğine sahiptir, bu da daha çok sıvı benzeri özelliğinden kaynaklanan bir eğilimdir. Bir uyarıcı cevaplı hidrojel bir uyarıcı ile karşılaştığında kendi hacminin bin katı belki de daha da fazla hacim değişikliği şeklinde tepki vermektedir. Uyarıcı olarak ortamın pH'ı, iyonik kuvveti, sıcaklık olabildiği gibi ışık verme, dış elektrik alan sayısı gibi etkiler de olabilmektedir. Hidrojelin makroskopik özelliklerindeki eş zamanlı değişim ve hacim değişikliği 4 önemli moleküler etkileşimle sağlanmaktadır; hidrojen bağlanması, hidrofobik etkileşim, elektrostatik etkileşim

ve Van der Waals etkileşimi. Bu etkileşimler ozmotik basınçla yükselişe neden olmakta, bununla birlikte hidrojelin elastik gerilimi şişme özelliğini tanımlamaktadır [3].

Yukarıda da belirtildiği gibi hidrojeller biyolojik algılama olaylarına karşılık olarak özelliklerini değiştirebilmektedirler. Moleküler bir hedefle karşılaştığında (büyüme faktörü, reseptör, anti body, enzim ya da hücrenin tümü), moleküler tanımlama olayları moleküler etkileşimlere neden olmaktadır, bu da makroskobik cevaplara dönüşmektedir. Bu makroskobik cevaplar büyüme ve şişme ya da solüsyonun jele dönüşümü gibi değişimler şeklinde gözükmektedir [2].

1948'de hidrojellerin hacim değişimlerini ispatlayan Kuhn, jellerin kimyasal enerjiyi mekanik enerjiye dönüştürebildiğini göstererek belki de bir ilk olmuştu. O zamandan bu yana birçok uyarıcı belirlenmiş ve çok sayıdaki laboratuvar yapımı hidrojeller sentezlenmiştir [3].

2.1.1 Akıllı polimer çeşitleri

Uyarıya cevap verebilen akıllı polimerler, ortamdaki pH, sıcaklık, iyon gücü gibi çevresel uyarılara güçlü yapısal farklılıklarla cevap verebilen makromoleküler yapılardır. Bu farklılıklara, sulu çözeltilerde faz ayrımı ya da hidrojel büyüklüğünde değişimler örnek olarak verilebilir. Akıllı jeller biyoseperasyonda, ilaç salınımında ve hidrofobik-hidrofilik yüzeylerde kullanılabilir.

Uyarıya cevap canlı sistemlerde görülen temel bir işlemdir. Sıcaklığa, ışığa, elektrik alanına, kimyasallara ve iyonik güce cevap verebilen polimerler geliştirilmektedir. Uyarıya cevap şekil, yüzey karakteristik özelliği, çözünürlük, akışkanlık gibi özelliklerde değişim şeklinde ortaya çıkabilir. Uyarıya cevap verebilen polimerler cevap verdikleri uyarı türlerine göre sınıflandırılabilir.

- Sıcaklık hassas polimerler
- pH hassas polimerler
- İyonik güce hassas polimerler
- Kimyasal maddelere hassas polimerler
- Işığa hassas polimerler
- Elektrik alana hassas polimerler
- Manyetik alana hassas polimerler

2.1.1.1 Sıcaklık hassas polimerler

Örnek olarak sıcaklıkta artışa bağlı olarak şişen poli-izopropilakrilamid ve polivinilmetileter verilebilir. Sıcaklık belli bir dereceye kadar artarken faz ayrımı oluşur ve polimer şişer. Sıcaklığa bağlı şişme ve büzüşme davranışları geri dönüşümlüdür.

Lipid kaplı naylon kapsüllerde ve polikarbonat-sıvı kristal kompozit membranlarda sıcaklık değişimine bağlı olarak geçirgenlik değişimi gözlenmiştir [4,5].

Son yıllarda şekil bellekli jeller geliştirilmektedir. Sıcaklık değiştirildikçe, jel bantlar kare, beşgen gibi farklı geometrilerde şekiller oluştururlar. Sıcaklığa cevap verebilen akıllı polimerler kontrollü ilaç salımında da kullanılmaktadır [6].

2.1.1.2 pH hassas polimerler

Ortam pH'ındaki değişikliğe cevap verebilecek, iyonlaşabilen fonksiyonel gruplara sahip polimerlerdir.

Bu tür polimerler, polielektrolit yapısında olup, ortam pH'ına bağlı olarak tersinir iyonlaşma özelliği gösterirler. İyonlaşma, polimerin polaritesini ve fonksiyonel gruplar arasındaki etkileşimleri değiştirir, dolayısıyla polimer özellikleri değişir.

Bu özellikler arasında, çözelti viskozitesi, çözünürlük, polimerik membranın şişme ve geçirgenlik özellikleri sayılabilir [6].

Ayrıca, poli (akrilik asit)-poli(metakrilik asit) kompozit membranı kullanılarak yapılan çalışmalarda, tersinir uzama-kısalma hareketleri gösterebilen ve yapay kas olarak kullanılabilecek bir sistem de oluşturulmuştur [7,8].

pH'a duyarlı akıllı polimerler için sindirim sistemi uygulamaları için uygundur. Elektrostatik çekim sonucunda, polimer zincirinde yük yaratılarak polimerin hidrodinamik hacminde artış sağlanır [9].

2.1.1.3 İyon hassas polimerler

Polielektrolit yapısındaki polimerlerdir. Bu tür bir polimerik membranın özellikleri, tersinir olarak, dış ortamdaki iyonlar uyarı aracı olarak kullanılmak üzere değiştirilebilir. Uyarı için yaygın olarak kullanılan katyonlar, Ca⁺⁺, Mg⁺⁺, Ba⁺⁺, Na⁺, Cu⁺⁺'dir.

2.1.1.4 Kimyasal maddelere hassas polimerler

Belirli bir kimyasal madde ile etkileşim sonucunda tersinir yapı değişimine uğrayabilen polimerlerdir. Bu tür polimerlere tipik örnek olarak Osada ve arkadaşları tarafından hazırlanan polietilenoksit-polimetakrilik asit kompozit membranı verilebilir [10]. Bu membran, çözünenin geçiş hızını kimyasal bir vana gibi davranarak kontrol edebilmektedir.

2.1.1.5 Işık hassas polimerler

Bu tür polimerle yapılarında, yan veya ana zincire bağlanmış durumda ya da polimer ile fiziksel karışım halinde veya polimerik yapıda çapraz bağ oluşturmuş

durumda fotokromik maddeler içerirler. Bu maddeler, ışığa karşı fonksiyonel özellik gösterebilen gruptan oluşmuş olup, ışık ile etkileşimleri sonucu tersinir yapısal değişiklikler gösterirler. Bu tür maddelere örnek olarak, azobenzen, spiropiran ve trifenil metan verilebilir.

Işığa duyarlı polimerlerle mikrosistemlerde, doku mühendisliği uygulamalarında çalışılmaktadır. Optik ya da veri depolama, güvenlik kontrollü bant uygulamalarında kullanılmaktadır. Dokular yakın IR'ye karşı transparan özellik gösterdiklerinden biyomedikal araştırmalar önem kazanmaktadır. Kanseri hücrelerin kırılma indisinin normal hücrelerden farklı olduğu düşünülürse, yakın IR bölgesindeki ışığa cevap verebilen materyallerle tümörler görüntülenebilir [9].

2.1.1.6 Elektrik alana hassas polimerler

Akıllı polimerlerin şişme ve büzülme davranışları elektrik alan kontrolünde de gerçekleşebilir. Bu tür jeller membrana benzer şekilde gözenekli hazırlanırlar. Jel şiştiğinde gözenekler açılır ve içindeki moleküllerin dışarı çıkmasına izin verir. Bu tür sistemlerde molekülleri büyüklüklerine göre ayırmak da mümkündür. Elektriksel alandaki değişime cevap olarak sıvı kristali polimerlerde optik özellik değişimi gözlenmiştir [11].

2.1.1.7 Manyetik alana hassas polimerler

Jel içine ferromanyetik bir madde yerleştirilerek hazırlanır. Manyetik alana girdiğinde jel ısınır, manyetik alandan kurtulduğunda ise tekrar soğur.

Bu tür jellerin şişme ve büzülme davranışları ilaçların kontrollü salımında ve yapay kas uygulamalarında kullanılır.

1983'te Langer tarafından, dışarıdan manyetik alan uygulayarak EVA kopolimerinden insülinin kontrollü salımı incelenmiştir [12].

2.1.2 Akıllı polimerlerin kullanım alanları

Hidrojeller biyolojik algılamalarda, ilaç salınımında ve doku dejenerasyonunda kullanılmaktadır çünkü:

- Hidrojeller moleküler düzeyde biyolojik etkileşimler için uygun yarı ıslak 3-D ortamı sağlamaktadırlar.
- Bir çok hidrojel proteinlerin spesifik olmayan adsorbsiyonlarını önleyen (anti fouling özelliği) inert yüzey oluşturmaktadır.
- Biyolojik moleküller hidrojellerin yapısına kovalent olarak dâhil olabilmektedirler.
- Hidrojellerin ayarlanabilir mekanik özellikleri yüksektir.
- Hidrojeller, hedefe yapılan external uygulamalar ile (sıcaklık, elektrik/manyetik alan, ışık ya da küçük (biyo)moleküller gibi) cevap özelliklerini (şişme/büzüşme ya da çözelti-jel dönüşümü) değiştirecek tasarımların uygulanmasına olanak sağlamaktadır [2].

Bu alanların dışında yapay kaslarda, mikro vanalar ve mikro akışkanlık denetleyiciler gibi mikro-elektro-mekanik-sistem (MEMS) aletlerinde kullanılmaktadır.

Bunlara ek olarak günlük hayatta da çocuk bezleri, sulama ve akıllı pencereler örnek olarak verilebilmektedir [3].

Rekombinan DNA teknolojisindeki hızlı gelişme, ilerleme ile geniş çeşitliliğe sahip protein ve peptit ilaçları kanser, kronik hastalıklar ve bulaşıcı hastalıklar gibi kontrolünün zayıf, güç olduğu hastalıkların tedavisinde kullanılmak üzere

geliştirilmeye başlanmıştır. Proteinlerin yüksek moleküler ağırlığı ve hassas uzaysal yapısından dolayı birleştirilmiş kontrollü salınım teknikleri daha meydan okuyucudur. Günümüz ilaç taşıyıcı malzemeler arasında hidrojeller, daha eşsiz ve özellikle hidrofilik makromoleküler ilaçların güçlü salınımı için daha uygun bir özelliktedir.

Hidrojeller temel yapılarını korurken büyük miktarlardaki su ya da biyolojik sıvıyı içerilerine çekebilme özelliğine sahiptirler. Çift bağlı poly(hidroksietil metakrilat) (PHEMA) hidrojelleri üzerindeki 1960'taki çalışması ile bir öncü olan Witcherle ve Lim'in ardından, hidrojellere son 10 yıldır biyomalzeme bilimcileri büyük ilgi göstermektedir. Hidrojeller çevredeki uyarana bağlı olarak jel yapısını değiştirmesi ile ilaç salınımını kontrol edebilmektedir. Isı hassas hidrojeller çevreleyen sıvının sıcaklığının değişimine göre şişme ya da büzüşme özelliğinden dolayı farmasötik alanda önemli bir düzeyde dikkat çekmektedir.

Hidrojeller mükemmel doku uyumu, kullanım kolaylığı ve çözünen geçirgenliği özellikler ile ilaç salınımı sistemlerinin geliştirilmesine büyük katkı sağlamaktadır. Isı hassas polimerler, sulu ortamlarda bir düşük ya da yüksek kritik çözelti sıcaklığı göstermektedirler. Polimerlerin düşük kritik sıcaklık (LCST) gösterdiği durumlarda bu polimerler LCST'nin altındaki sıcaklık değerlerinde suda çözünür özellik taşımaktadırlar. Ancak LCST'nin üstündeki sıcaklıklarda ise daha az suda çözünebilme ya da suda çözünememe özelliğini gösterirler. LCST çözeltinin opak olmaya başladığı sıcaklıktır.

Jia-You Fang ve arkadaşlarının ısı hassas hidrojellerle yapmış oldukları ilaç salınımı çalışmalarında poli(N-isopropiakrilamid) (PNIPAAm) polimerine ekledikleri chitosan ve HA ile sentetik ve doğal polimer karışımı elde ederek PNIPAAm'in ısı hassas özelliğinin sağlanmasına yardım ederek aynı zamanda kısmi olarak biyouyumluluğunu arttırarak biyomedikal uygulamalarını geliştirmişlerdir. Yüklenmek üzere akut ve kronik ağrı tedavilerinde kullanılan nalbufin seçilmiştir. Bu çalışmada PNIPAAm, CPN ve CPNHA sulu çözeltilerinin tıslı cevap faz geçişleri UV/görünür spektrometre kullanılmıştır. Örneklerin 2.0 absorbans

değerinden büyük absorbans değeri gösterdikleri sıcaklıklar LCST değeri olarak alınmıştır [13].

2.1.3 Akıllı polimerlerin karakterizasyonu

Isı ve/veya pH hassas hidrojeller sıcaklığın değiştirildiği dış ortamlara karşı şişme/büzüşme şeklinde cevap vermektedir. Hidrojellerin şişme oranının, şişme oranının sıcaklığa olan bağımlılığının ve şişme kinetiğinin karakterize edilmesi için uygulanan farklı işlemlerin ardından ağırlık ölçümleri yapılması gerekmektedir.

Aşağıda da belirtilmiş olan, hidrojelin şişme davranışlarının incelenmesinde kullanılan denge şişme oranı formülünün hesaplanabilmesi için jel örneğinin kuru ağırlığı ve tümüyle şişmiş haldeki ağırlığının ölçülmesi gerekmektedir. Şişme oranının sıcaklığa olan bağımlılığını ölçmek için denge şişme oranı belirlenen her bir sıcaklık için ayrı olarak ölçümler alınarak hesaplanır. Şişme kinetiğinin incelenmesinde hidrojel belirlenen bir sıcaklıkta ve belirlenen bir zaman sonra bulunduğu sulu ortamdan çıkartılarak su tutma miktarı hesaplanmaktadır. Su tutma hesaplamalarında kullanılan formül aşağıda belirtilmiştir.

Denge şişme oranı:

$$Q_d = (W_s - W_d) / W_d \quad (2.1)$$

Q_d: Bir jel örneğinin denge şişme oranı

W_d: Kuru örneğin ağırlığı

W_s: Tümüyle şişmiş örneğin ağırlığı

Su tutma miktarı:

$$[su\ tutması]_t = [(W_t - W_d) / (W_s - W_d)] \times 100 \quad (2.2)$$

W_t: t zamanındaki ıslak hidrojelin belirlenen sıcaklıktaki/pH'daki ağırlığı

2.1.4 Akıllı polimerlerin karakterizasyon uygulamaları

Xiao-Ding Xu ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada bir sıcaklık hassas akıllı polimer olan poli(N-izopropil-3-butenamit) hidrojelinin karakterizasyon işlemi için klasik gravimetrik yöntemler kullanılmıştır. Hidrojel hazırlanışını takip eden denge şişme oranının ölçülmesi için oda sıcaklığında çalışılmıştır. Tüm hidrojel örnekleri oda sıcaklığında en az 24 saat boyunca, kendi denge durumlarına ulaşınca kadar distile suya daldırılmakta ve şişmeye bırakılmaktadır. Ardından hidrojel örnekleri sulu ortamdan çıkartılıp, nemlendirilmiş filtre kâğıtları ile yüzeydeki fazla su temizlendikten sonra tartılmaktadır. Her bir örnek için bu ölçüm işlemi üç kere uygulanmakta ve bu üç ölçümün ortalaması alınmaktadır. Alınan bu ölçüm değerleri önceden belirtilmiş olan denklem (2.1)'de yerlerine konularak denge şişme oranı hesaplanmaktadır. Aynı şekilde kullanılan hidrojel denge şişme oranının sıcaklığa olan bağımlılığı gravimetrik olarak 5-60°C sıcaklık aralığında çalışılmıştır. Hidrojel örneği şişmesi için en az 24 saat, önceden belirlenen sıcaklıktaki distile suya daldırılmaktadır. 24 saatlik suya daldırma işleminin ardından, yüzeydeki fazla su ıslak filtre kâğıdı ile kurutulmaktadır. Ardından şişmiş olan hidrojel örneği tartılmaktadır. Bu ağırlık ölçümünün ardından, hidrojel örneği distile suda, önceden belirlenmiş olan başka bir sıcaklıkta tekrar dengelenmekte ve yukarıda belirtilen şekilde tartılmaktadır. Her bir örneğin kuru ağırlığı 45°C'de 24 saat boyunca, sabit bir ağırlığa ulaşınca kadar vakum altında kurutulduktan sonra ölçülmektedir. Benzer olarak her bir örnek üç kere ölçülmekte ve üç ölçümün ortalaması alınmaktadır. Denklem (2.1)'deki gibi her bir sıcaklık için şişme oranı hesaplanmaktadır. Kullanılan hidrojel şişme kinetiği ise 50°C'de çalışılmaktadır. Önceden belirlenen zaman aralıklarında, hidrojel örneği sıcak sudan çıkarılmakta ve ıslak filtre kağıdı ile yüzeydeki fazla su kurutulduktan sonra tartım işlemi uygulanmaktadır. Her bir örnek için benzer şekilde üç kere ölçüm yapılmakta ve bu üç ölçümün ortalaması alınmaktadır. Ölçülen değerler denklem (2.2)'de yerine koyularak su tutması hesaplanmaktadır. Bu işlemlerin ardından son olarak tekrar şişme kinetiği hesaplanmaktadır. Bu işlem için kurutulmuş hidrojel örnekleri oda sıcaklığındaki distile suyun içerisine yerleştirilmekte ve düzenli zaman aralıklarında sudan uzaklaştırılmaktadır. Tartım işlemleri tekrar uygulanmaktadır. Her bir ölçüm benzer şekilde üç kere tekrarlanmakta ve üç

ölçümün ortalaması alınarak denklem (2.2)'de yerine koyularak t zamanında yükseltelen su hesaplanmaktadır [14].

Jia-You Fang ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada bir sıcaklık hassas akıllı polimer olan poli(N-izopropilacrilamit)'e ilaç salınımında enjekte edilebilir taşıyıcılar olarak kullanılan bilen çitosan ve hiyaluronik asit eklenmektedir. Oluşturulan %15 (w/w)'lik sudaki bu polimer çözeltisi, 37°C'deki fırında 1 saat boyunca jelleştirilmektedir. Ardından örnekler 1 ml çift-distile su eklenmektedir. 24 saat sonra, pipet ile fazla su alınmakta ve sonra katı matrisler tartılarak kaydedilmektedir. Kaydedilen ölçümler denklem (2.1)'de yerine koyularak hidrasyon oranı yani denge şişme oranı hesaplanmaktadır [13].

Biaobing Wang ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada ise F127-oligoCL-DA makromer tabanlı hidrojellerin sıcaklık hassas davranışlarının incelenmesi için farklı sıcaklıklarda şişme davranışları ölçülmektedir. Şişme oranları üç kopya halinde gravimetrik olarak tespit edilmiştir. Sıcaklık olarak 4°C ile 37°C arasındaki sıcaklıklarda çalışılmaktadır. Şişme deneyleri için, bilinen ağırlıktaki kurutulmuş hidrojel filmleri pH.7,4 PBS (fosfat tampon çözeltisi) içerisinde önceden belirlenmiş sıcaklıkta inkübe edilmektedir. 12 saat sonrasında denge oluşmakta ve ıslak ağırlık ölçülmektedir. Hidrojel filmleri PBS içerisinde dikkatlice filtre kâğıdı ile temizlenerek ölçmeden önce fazla su uzaklaştırılmaktadır. Ölçülen ağırlık değerleri denklem (2.1)'de yerlerine koyularak şişme oranı hesaplanmaktadır.

Ali Emileh ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada hem bir sıcaklık hem de bir pH hassas akıllı polimer olan poli((2-dimetil amino) etil metakrilat-co-butyl metacrilat) hidrojelinin şişme davranışlarının incelenmesi için 1,5 mm kalığında ve 4 mm çapında hazırlanmış olan kuru jel diskleri, üç kopya halinde, pH:3-9 aralığındaki tampon çözeltisine belli bir sıcaklıkta daldırılmaktadır. pH:3,4,ve 5 için asetat tamponu, pH:6,7 ve 8 için fosfat tamponu ve pH:9 için de borat tamponu kullanılmaktadır. Periyodik olarak hidrojel diskleri tampon çözeltisinden geri çekilmekte ve yüzeydeki fazla suyun uzaklaştırılmasının ardından tartılmaktadır. Hidrojel disk ağırlıkları sonraki ölçüm ile %1 değişim gösterene kadar bu işlemler

tekrarlanmaktadır. Bu işlemlerin uygulama süresi kopolimerin kompozisyonuna ve de pH ve sıcaklık değerine bağlı olarak 24 saat ile 4 hafta arasında değişmektedir. Bir sıcaklıkta dengelendikten sonra örnekler başka bir sıcaklıkta tekrar dengelenmektedir. Ölçülen değerler denklem (2.1)'de yerlerine koyularak denge şişme oranı hesaplanmaktadır [15].

2.2 İlaç Salınımı

Hidrojellerin pH, sıcaklık gibi değişimlerle şişip büzülmesinden ilaç salınımında çokça yararlanır, çünkü ilacın partiküllerden difüzyonu jelin durumuna bağlıdır [16,17]. Akıllı polimerler mikro kapsül duvarı ya da lipozomal lipid çift katmanı ile birleştirildiğinde polimerin yapısal geçişi mikro kapsül ya da lipozomu etkiler ve mikro kapsül ya da lipozomda hapsedilmiş ilacın serbest bırakılmasına izin verir [18].

Hidrojel bazlı ilaç ürünlerinin hazırlanması ya lineer polimerlerin çapraz bağlanmasını ya da monomerlerin polimerizasyonundan veya çapraz bağlanmalarını içerir. Düşük oranda çapraz bağlı hidrojellerin mekanik olarak güçlendirilmeleri için çeşitli yöntemler kullanılabilir. Hidrojeller doğal, sentetik ya da yarı sentetik kaynaklı olabilirler. Genellikle yan zincirlerinde hidroksil, amin, amid, eter, karboksilat, sülfonat fonksiyonel gruplarını içeren polimerler kullanılır [19].

Akıllı bir hidrojel içine enzim immobilize edildiğinde enzimatik reaksiyon ürünleri jelin faz geçişini tetikleyebilir.

Böylece kimyasal uyarı (substrat varlığı), çevresel uyarıya (pH değişikliği) ve son olarak da mekanik uyarıya (akıllı jelin şişme ya da büzülmesi) çevrilmesi mümkün olabilir. Bu uyarı cevap tekniği, akıllı polimerlerin ilaç salınımında da kullanılabilirliğine dikkat çekmiştir [20].

İlaç salım sistemleri kimyasal bir uyarıya cevap olarak ilacın serbest bırakıldığı sistemlerdir. Örnek olarak artan glikoz konsantrasyonuna bağlı olarak insülin salımı verilebilir.

pH'a duyarlı polimer, poli(N,N-dimetilamino etilmetakrilat-ko-etilakrilamid, glikoz oksidaz, bovin serum albümin ve insülin ile mekanik olarak karıştırılarak insülin dolu bir matris elde edilmiştir. Ortama glikoz verildiğinde glikoz oksidaz aktivitesi ile glukonik asit oluşması pH'ı düşürmüştür, protonasyon polimerin şişmesini ve insülinin ortama yayılmasını sağlamıştır. Ortamdaki glikoz bittiğinde, insülin salımı da 10 dakikada durmuş, tekrar glikoz eklendiğinde yeniden uyarılma sağlanmıştır [21].

İlaç salınımında akıllı polimerlerin uygulamaları hakkında ayrıntılı bilgi kontrollü ilaç salınım sistemlerinde verilmiştir.

2.2.1 Kontrollü ilaç salınım sistemleri

Çeşitli ilaçların polimerik taşıyıcılar ile birlikte kullanılması denemelerine 1950'lerde tarım ilaçları ile başlanmıştır. 1960'ların ortalarında bu denemeler tıp alanına da girmiştir. İlk çalışmalarda etken madde diyaliz tüpü [22] veya silikon kauçuk tüp [23] içine konmuş veya bir polietilen matris içinde homojen olarak dağıtılmıştır [24]. 1970'lerde çalışmalar büyük moleküllü (M.A.>600) ilaçların katı polimerlerden sürekli ve kontrollü bir şekilde salınımını sağlayacak şekilde gelişmiştir. Bu yaklaşımlardan, özellikle etilen-vinil asetat kopolimerleri ve değişik hidrojellerin kullanıldığı sistemler çok başarılı olmuştur [25].

Son yıllarda polimer-ilaç sistemlerinin çeşitli uygulamaları tasarlanmıştır. Polimerlerin taşıyıcı olarak kullanıldığı sistemlerle, ilaçlar çok uzun süreler boyunca (bazı durumlarda bir yıldan fazla) sürekli ve kontrollü olarak salınabilmektedir. Bu sistemlerde ilacın salınımında hız kısıtlayıcı basamak ilacın polimerden difüzyonu olduğu için ilaç kullanımında hastalar arasında görülen farklılıklar azalmıştır [26].

2.2.2 Polimerik kontrollü ilaç salınım sistemlerinin sınıflandırılması

Polimerik kontrollü ilaç salınım sistemleri ilaç salınımını kontrol eden mekanizma ve uygulama alanları göz önüne alınarak iki grup altında sınıflandırılabilir. Salınım işleminde hız sınırlayıcı basamak, ilacın Fick kanunu ile ifade edilen difüzyonu polimer ile ortam ara yüzeyinde katı fazın parçalanmasına yol açan kimyasal reaksiyon (kimyasal kontrollü sistemler) veya polimer içine ortamın girmesi ile yapının şişmesi ve ters yönde ilaç difüzyonu (şişme kontrollü sistemler) olabilir.

Salınım mekanizmasına göre:

Difüzyon kontrollü sistemler

- Membran sistemler
- Matriks sistemler

Kimyasal kontrollü sistemler

- Vücutta aşınan sistemler
- Zincire takılı sistemler

Çözücünün harekete geçirdiği sistemler

- Şişme kontrollü sistemler
- Ozmotik kontrollü sistemler

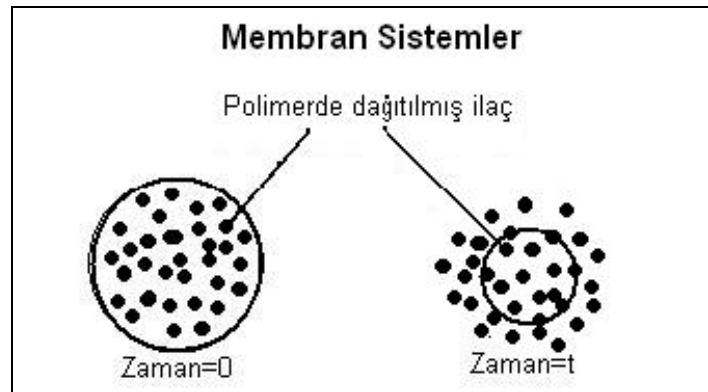
Diğer sistemler

2.2.2.1 Difüzyon kontrollü sistemler

Difüzyon kontrollü sistemler membran ve matriks olmak üzere iki şekilde hazırlanabilirler.

Membran sistemler

Bu sistemlerde ilaç, şişen veya şişmeyen polimerik tabaka ile çevrili bir depoya konur. İlacın polimerik tabakadan difüzyonu bu sistemlerde salım hızını kontrol eden basamaktır. Membran sistemler tabaka, film, kapsül, mikrokapsül, içi boş elyaf gibi çeşitli şekillerde hazırlanabilir. Şekil 2.1'de membran sistemlerin gösterimi yer almaktadır.



Şekil 2.1 Membran sistemler [27].

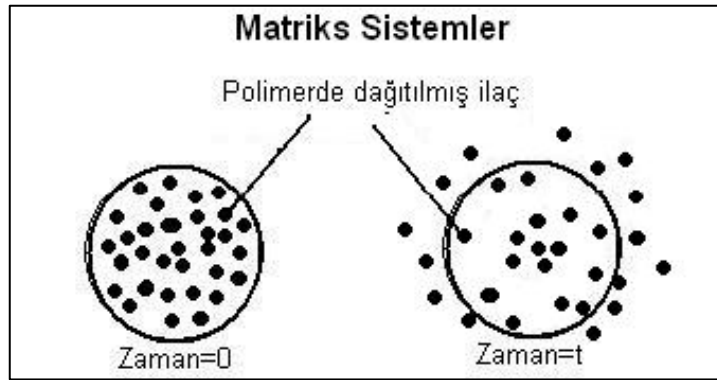
Membran sistemlerin farmosötik açıdan en önemli üstünlükleri sıfırıncı dereceden salım kinetiğine, başka bir ifade ile sabit salım hızına kolaylıkla ulaşmasıdır [28]. Bunun için sistemin ilacı taşıyan depo bölümünde ilaç konsantrasyonunun sabit tutulması yeterlidir. Bunun için depo bölümüne doymuş ilaç çözeltisi konur ve bu fazladan toz ilaç bu çözeltide dağıtılır. Böylece, ilacın depo bölümünde her zaman sabit doygunluk konsantrasyonunda kalması sağlanır ve bunun sonucu olarak da sistemden sıfırıncı dereceden salım gözlenir.

Membran sistemlerin dezavantajı ise genellikle vücutta parçalanmamalarıdır, bu nedenle deri altı implantasyon şeklinde kullanımdan sonra cerrahi işlemle uzaklaştırılmaları gerekir. Polimerik yapıda oluşabilecek çatlak veya yırtılmalar, ilacın aşırı yüklenmesine neden olur, bu da tehlikeli bir durumdur [26].

Matris sistemler

Bu sistemlerde ilaç katı polimer içinde çözülür veya dağıtılır. Membran sistemlerde olduğu gibi burada da salım hızını kontrol eden basamak ilacın polimer matris içindeki difüzyonudur. Şekil 2.2'de matris sistemlerin gösterimi yer almaktadır.

Membran sistemlere göre matris sistemlerin fabrikasyonu daha kolay ve ucuzdur. Ancak ilacın polimer yapıda dağılımı nedeniyle genellikle sıfırıncı dereceden salım kinetiğine ulaşamaz [27].



Şekil 2.2:Matris sistemler [27].

Dikdörtgen kesitli bir polimer matristen ilacın salım hızı zamanla azalır. Böyle bir matristen önce yüzeye yakın ilaç molekülleri salınır. Daha sonra matrisin derinlerindeki moleküller difüze olur. Difüzyon hızı sabit olduğundan, gitmesi gereken yolu daha uzun olan derinlerdeki moleküllerin matristen çıkması daha uzun zaman alır, dolayısıyla salım hızı düşer.

Matris sistemlerde sıfırıncı dereceden kinetiğe dolayısıyla sabit salım hızına ulaşılması için matrisin özel geometrik şekillerde hazırlanmıştır. Difüzyon uzaklığının artması ile salım hızındaki azalmanın, uzaklıkla salım yüzeyinin artırılarak giderilebileceği düşüncesinden hareketle, değişik geometrik şekillerde matrisler hazırlanmıştır. En iyi sonuçlar yalnızca iç yüzeyinden salım olduğu silindirik bir elemanda ve yalnız merkezinde küçük bir bölümü salım için bırakılmış

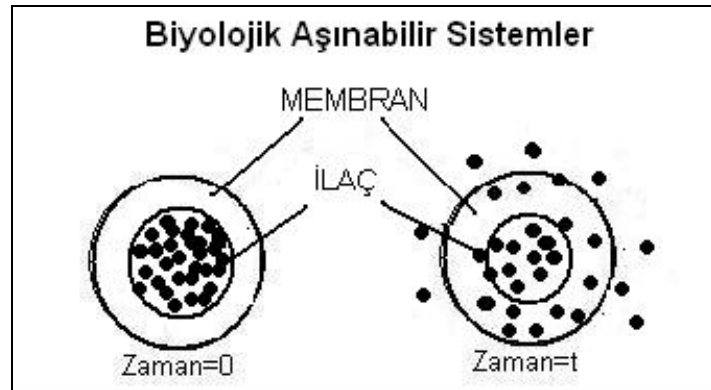
diğer yüzeyleri ilacı geçirmeyecek şekilde kaplanmış bir yarı küre ile elde edilmiştir [27].

2.2.2.2 Kimyasal kontrollü sistemler

Kimyasal kontrollü sistemler vücutta aşınan sistemler ve zincire takılan sistemler olmak üzere iki şekilde hazırlanabilirler.

Vücutta aşınan sistemler

İnert polimerlerin, deri altına implante edilen sistemler ve benzeri uygulamalarda kullanımları sınırlıdır. Bu uygulamalarda, ilaç salımı tamamlandıktan sonra sistemin cerrahi operasyonla çıkarılması gerekir. Bu nedenle implant ve benzeri uygulamalarda vücutta aşınan matrisler tercih edilir. Vücutta aşınan polimerlere, vücutta parçalanan veya vücutta absorbe olan polimerler de denebilir. Canlı organizmada hidroliz olabilen sentetik veya doğal polimerler bu kelimelerle tanımlanır [10]. Şekil 2.3'de biyolojik aşınabilir sistemlerin gösterimi yer almaktadır.



Şekil 2.3:Biyolojik aşınabilir sistemler [27].

Bu sistemlerde matrislerde olduğu gibi ilaç polimer içinde dağıtılır. Ancak matris sistemlerde salım süresince polimer faz değişmeden kalıp ilaç difüzyon ile salınırken vücutta aşınan sistemlerde aşınmayla polimer faz zamanla azalır.

Polimer matris aşınmaya uğrarken ilaç salınır [27]. Vücutta aşınan matris tipi ilaç alım sistemlerinde salınım hızı difüzyon veya aşınma ile kontrol edilir. Eğer matrisin aşınması ilacın difüzyonuna göre oldukça yavaş ise, salım difüzyon kontrollüdür. Eğer ilaç matris içinde immobilize edilmiş ise, dolayısıyla difüzyon aşınmaya göre yavaşsa, ilaç salım hızı aşınma kontrollüdür [26].

Bu özellik aşınmaya uğramayan sistemlere göre önemli bir üstünlük sağlar. Aşınmaya uğrayan polimer matris vücut tarafından absorbe edildiği için bu tür implantların kullanımında cerrahi işlem gerektirmez. Ancak parçalanma ürünlerinin toksik, immunojenik veya kanser yapıcı olabilecekleri göz önünde tutulmalıdır.

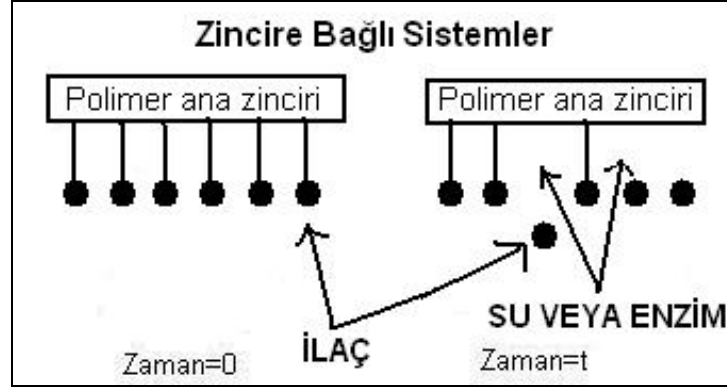
Moleküler düzeyde polimerlerin aşınmasını açıklayan üç mekanizma vardır [29]. Birinci mekanizmaya göre aşınma polimer yapısındaki çapraz bağların hidroliziyle olur. İkinci mekanizma suda çözünmeyen ancak, yan grupların hidrolizi, iyonizasyonu veya protonasyonu ile çözünür hale geçen polimerlerin aşınmasını açıklar. Üçüncü mekanizmada aşınma suda çözünmeyen polimer ana zincirin hidroliz ürünleri düşük molekül ağırlıklı, suda çözünen moleküllerdir.

Pratikte yalnızca yüzey aşınmasının gözlemlendiği ideal ilaç salım sistemleri çok az sayıdadır. Yüzey aşınmasının yanı sıra kütle aşınması da gözlenir. Bu yaklaşımla kullanılan polimerik matrislerde aşınmayla birlikte difüzyon da ilaç salım hızını kontrol eder. Dolayısıyla vücutta aşınan sistemlerde salım olayını incelemek oldukça güçtür.

Zincire takılı sistemler

Bu sistemlerde ilaç bir polimer zincire kimyasal olarak bağlıdır ve bağın hidrolitik veya enzimatik olarak kopması ile ilaç salınır. Bu tür polimer-ilaç bileşimleri, zehirlenmeyi azaltmak, tedavi etkinliğini artırmak veya ilacı belirli hücre veya organlara hedeflemek amacı ile kısa süreli (bir kaç saat) uygulamalarda kullanılmaktadır. Şekil 2.4'de zincire takılı sistemlerin gösterimi yer almaktadır.

Zincire takılı sistemleri diğer kontrollü salım sistemlerine göre bir üstünlüğü, sistemin ağırlıkça % 80'inin ilaç olmasıdır. Geleneksel pek çok taşıyıcı sistemde yapının ağırlıkça % 70-90'ının polimer faz olduğu düşünülürse, ekonomik açıdan avantaj kabul edilebilir.



Şekil 2.4:Zincire takılı sistemler [27].

2.2.2.3 Çözücünün harekete geçirdiği sistemler

Çözücünün harekete geçirdiği sistemler şişme kontrollü sistemler ve ozmotik kontrollü sistemler olmak üzere iki şekilde hazırlanabilirler.

Şişme kontrollü sistemler

Şişme kontrollü sistemlerde ilaç salınımı, salınımın gerçekleştiği ortam sıvısının (su veya biyolojik sıvı) başlangıçta camsı olan polimerin içine difüzyonu sırasında ilacın polimerden dışarı doğru difüzyonu esasına dayanır [30].

Bu sistemlerde ilaç bir polimer çözeltisinde çözülür, dağıtılır. Daha sonra çözücü buharlaştırılarak uzaklaştırılır, çözücsüz camsı polimer matris elde edilir. Bu sistem tipik şişebilen bir farmasötik formülasyondur [30]. İlacın bu katı faz içindeki difüzyonu göz önüne alınmayacak boyutlardadır. Bu polimer-ilaç bileşimi çözünme ortamına (kullanım ortamı genellikle sudur) konulunca, çözücünün polimer matris

içine geçişi başlar, polimer şişer ve camsı geçiş sıcaklığı ortam sıcaklığının altına düşer. Şişmiş polimer kauçuğumsu durumdadır ve ilaç bu durumdaki polimer içinde difüze olarak dışarı doğru salınır.

Bu şişme biçiminde iki ara yüzey dikkat çeker. Bunlardan ilki camsı bölgeyi kauçuğumsu bölgeden ayıran sınır olup şişme ara yüzeyi olarak tanımlanır ve V hızı ile camsı bölgeye doğru ilerler. İkinci bölge kauçuğumsu polimeri çözünme ortamından (polimer ara yüzeyi) ayıran sınırdır ve dışarı doğru hareket eder. Polimer moleküllerin çapraz bağlı olmadığı durumda çözücünün polimer faz içine difüzyonu sonucu polimer çözünür. Çözünmeyi önlemek için yarı kristalin halde, çapraz bağırsız veya amorf, çok az çapraz bağlı polimerlerle çalışılabilir. Kristalin bölgeler ve çapraz bağlar çözünmeyi engellerler. Bu sistemlere şişebilen, vücutta aşınmayan salım sistemleri adı verilir. Çözünmeyi engelleyen çapraz bağlara rağmen, polimer kimyasal parçalanma (hidroliz gibi) veya biyolojik yıkım nedeniyle çözünebilir [26].

Şişmenin neden olduğu, camsı ve kauçuğumsu bölgeleri ayıran hareketli yüzeyin yakınındaki jelimsi bölgede görülen makro moleküler gevşeme ve salım ortamının polimer içindeki konsantrasyonu, bu tür sistemlerde salım hızını kontrol eder.

Ozmotik kontrollü sistemler

Bu sistemlerde ilaç yarı geçirgen bir membran içindedir. Genellikle ilaç konsantrasyonu doyumluk sınırının üstündedir ve ozmotik işlemi içeren bir tuz içerebilir. Ozmotik sistem su veya biyolojik sıvı ile temas ettiğinde, su yarı geçirgen bir membranın gözeneklerinden içeri girer ve ilacı çözmeye başlar. İlaç bu membrandan difüze olamayacağı için tek çıkış yolu olan sistemin uygun bir yerine, lazer ile açılmış olan delikten salınır. Bu sistemlerden salım genellikle sıfırıncı derecedendir, yalnızca ozmos olayı ile kontrol eder [27].

2.2.2.4 Diğer sistemler

İlaçları değiştirilebilen hızlarda salınan başka sistemler de geliştirilmiştir.

Manyetik kontrollü sistemler

Bu sistemlerde ilaç ve manyetik taneler bir polimer matrisi içinde düzgün olarak dağıtılmıştır. Sistem sulu bir ortamla temas ettiğinde ilaç, difüzyon kontrollü matris sistemlere benzer biçimde salınır. Ancak, manyetik alan uygulanınca ilaç çok daha hızlı salınır.

Manyetik kontrollü sistemler, ilacın salım hızının dışarıdan kontrol edilebilmesine ve hızın istenen şekilde ayarlanabilmesine olanak verir [27].

Ultrasonik sistemler

Bu sistemlerde de manyetik sistemlerde kullanılan polimerler kullanılır. Ancak salım işleminin başlatılması ultra ses dalgaları ile sağlanır. Bu sistemler şeker hastalarının tedavisinde kontrollü insülin verilmesi için kullanılmak üzere planlanmıştır [27].

Ortama duyarlı sistemler

pH, sıcaklık, sistemin bulunduğu ortam türü ve bu ortamdaki etken maddeler gibi ortam koşulları değiştirilerek ilaç taşıyan polimer yapının şişme büzülme davranışları değiştirilmekte ve ilaç salımı kontrol edilmektedir. Bu çalışmalarda hidrojeller kullanılmaktadır [27].

2.2.3 Kontrollü ilaç salım sistemlerinin kullanım alanları

Kontrollü ilaç salım sistemleri vücuttaki farklı uygulama yerlerine göre sınıflandırılabilir.

Uygulama yerine göre kontrollü ilaç salım sistemleri

- Oküler sistemler
- Nazal sistemler
- Oral sistemler
- Bukal sistemler
- Transdermal sistemler
- Implant sistemler
- Jinekolojik sistemler
- Rektal sistemler

2.2.3.1 Oral sistemler

En yaygın kullanılan ilaç serbestleştirme sistemleri, oral sistemlerdir. Sürekli salım sistemlerinde, ilaç dozaj formülasyonunun tasarımı ve test edilmesi, ilacın geçiş (alıkların) zamanının araştırılmasında oral uygulamalar önemli yer tutmaktadır. Bu yüzden oral yolla oluşturulan dozajlarda, parenteral yoldan çok daha fazla esneklik vardır [31].

Oral sistemlerin etkili olabilmesinde çeşitli fizyolojik faktörler rol oynar. Bunların başında pH, gastrointestinal sistemden geçiş süresi, gastrointestinal sistem hastalıkları, ilacın absorblandığı bölge, mukoza ve karaciğerden geçişte metabolize olma oranı gelir [31,32].

Oral sistemler tablet, kapsül ve sıvı ürün şeklinde oluşturulabilir. Bu tip sistemler genellikle hemen serbestleşen ve kandaki ilaç düzeyini kısa sürede istenen terapötik düzeye getirecek olan bir başlangıç dozuna sahiptir. Sürdürme dozu adı verilen ve kontrollü olarak serbestleşen etken madde ise bu düzeyi korur. İdeal durumda ilacın organizmaya, eliminasyon hızına eşit hızla verilmesi istenir. Bu

şekilde hazırlanan preparatın klasik oral preparatlara göre çeşitli üstünlükleri vardır:

- İlacın plazma seviyesi istenilen süre boyunca istenilen terapötik düzeyde tutulabilir. Klasik preparatlarda ise tek doz alındığında kan düzeyi kısa sürede yükselir, fakat absorpsiyon sona erdikten sonra belli hızla düşer. Bu durum yarılanma ömrü kısa olan ilaçlarda sık sık ilaç almayı gerektirir ve kan düzeyinin inişli çıkışlı olması toksik sınırın aşılmasına neden olabilir, dolayısıyla yan etkiler görülebilir. Bunun tam tersi bir durum olarak kan düzeyi en düşük etkili konsantrasyon altına düşebilir. Kontrollü salım sistemlerinin başlıca amacı, bu konsantrasyon değerlerinin belli bir değerde tutmak ve konsantrasyon değişimlerine engel olmaktır. Böylece toksik yan etki ya da etki azalması olasılıkları ortadan kalkar.

- Bu tür sistemlerde kan düzeyini belli süre boyunca sürdürmek için gereken toplam ilaç miktarı daha azdır. İlaç kaybını önlediği için daha ekonomiktir, aynı zamanda da organizmada yüklemeye neden olmaz.

- İlacın parenteral yolla büyük dozda birçok kere verilmesi yerine sürekli az miktarda verilmesi sağlanır. Böylece tedavi hastanın uygulamalardan doğacak sıkıntılarını ortadan kaldırır, hasta daha kolay uyum sağlayabilir. Sık sık ilaç alma gereği kalkacağından, ilaç almayı unutma, gece uyanamama gibi nedenlerle kan düzeyinin bozulması söz konusu değildir.

- Kontrollü salım uygulamalarında ortaya çıkabilecek bazı zararlar da göz önünde bulundurulmalıdır.

- Kullanılan polimer maddenin zehirli ya da biyolojik açıdan uyumsuz olması, ayrıca vücutta aşınan tipte polimerler kullanıldığında zararlı yan ürünlerin oluşması tehlikeli olabilir.

- Polimeri uygun bölgeye yerleştirmek için cerrahi müdahale gerekebilir, yerleştirilen sistem ağrıya neden olabilir.
- Sistem yerleştirildikten sonra etki süresi boyunca ilacın salımını kesmek çok zordur. Toksik ilaçlar için hazırlanmış sistemlerin uygulamalarında beklenmedik bir durumda tehlikeli durumlar ortaya çıkabilir.
- Salım kontrolünün bozulmasına yol açabilecek çatlaklar veya başka faktörlerin etkisi ile istenmeyen durumlar ortaya çıkabilir.
- Yüksek dozda etkili olan ve yarılanma ömrü kısa olan maddelerin bu şekilde hazırlanması güçtür, yutulamayacak boyutlarda preparatlar ortaya çıkar.
- Eliminasyonu çok yavaş olan ilaçların etkileri belli süre devam eder, vücutta birikme tehlikesi ortaya çıkar.
- Difüzyonla kontrol edilen sistemlerde etken madde suda yeterli ölçüde çözünmeyebilir. Molekül ağırlığı 700-1000'den fazla olan etken maddelerin difüzyon hızı hazırlamaya uymayacak derecede düşüktür [26,27].

Oral sistemlerin başarılı bir şekilde hazırlanabilmesi için sindirim sistemi hakkında bilgi sahibi olmak gerekir.

2.2.3.2 Gastrointestinal sistemler

Mide sindirim kanalının en geniş yeridir. Normal olarak kapasitesi 1000-1500 ml'dir, bu miktar zorlandığında 5000 ml'ye kadar çıkabilir. Midenin iç yüzeyi mukoza tabakası ile kaplıdır. Mide anadamları kenarlardadır ve dallarını her iki yüze gönderir. Mide mukozasında özel mide salgısı yapan bezler bulunur. Su, mukus, tuzlar, hidroklorik asit, enzimler içerir [32]. Salgılanan mide özsuyu miktarı

8-15 ml olup, şiddetli asidik reaksiyon gösterir, pH'sı 1-2'dir. Bu değer yiyeceklerle değişir ve pH 6 değerine kadar çıkar [33].

Midenin fonksiyonları besini geçici bir süre için depo etmekte ve bu sırada mide özsuyu ile karışarak incebağırsağın kabul edilebileceği şekle yani kimus denilen yarı sıvı bir hale getirmek, protein sindirimini başlatmasını sağlamak, kimusu sindirim ve emilim için ince bağırsağa iletmek şeklinde özetlenebilir. [34]. Etken maddelerin çoğu için iyi bir absorpsiyon bölgesi değildir [32].

İnce bağırsak, sindirim sisteminin en önemli bölümüdür, ortalama 5m uzunluğundadır ve birbirinin devamı olan üç bölümden oluşur: duodenum (onikiparmak bağırsağı), jejunum (boşbağırsak), ileum (kıvrım bağırsak).

Duodenum 25 cm kadardır. Safra ve pankreas kanalları buraya açılır. Jejunum ve ileum ise bağırsağın en hareketli bölümleridir. Jejunum ortalama 2m, ileum ise ortalama 2.5m uzunluğundadır. İkisi arasında belirgin bir sınır yoktur. Jejunum kısmı damarca daha zengindir.

İnce bağırsağın peristaltik hareketlerini periton tabazas altındaki düz kaslar gerçekleştirir. İç yüzeyi kaplayan mukoza absorpsiyonu arttıracak iki oluşuma sahiptir. Bunlar sayesinde alan genişleyerek, 100-200 m² değerine ulaşır. Bu oluşumların ilki, plisa deilen kıvrımlardır. Bunlar ince bağırsağın etrafını bir iki kere dolandır, yukarıdan aşağıya hareket edebildikleri için bağırsak içeriğini kalın bağırsağa doğru iterler. İkinci yapı ise parmaksı çıkıntılardır. Mukoza epitelindeki bez hücreleri, mucus ve ince bağırsak salgısını verir [32]. Karmaşık organik maddeler, proteinler, yağlar ve karbonhidratların ayrıştırma işlemi ince bağırsakta biter. En kuvvetli sindirim duodenumda olur [34]. Bağırsaklarda pH 6.8'den başlayarak 10-11 değerine kadar çıkabilir.

Kalın bağırsak 1.5-2 m uzunluğundadır, ince bağırsakları bir çerçeve şeklinde sarmıştır. Esas görevi içindeki maddelerin suyunu emmektir. Mukozasında parmaksı çıkıntılar bulunmaz. Rektumla sonuçlanır [32].

İlacın midede kalış süresi midenin dolu olup olmamasına, preperatın yemekten önce veya yemekten sonra veya yemekle birlikte alınmasına göre değişebilir. Mide boşalmasını etkileyen faktörler, yemeğin şekli ve kalori değeri, hidrojet iyonu konsantrasyonu, fizyolojik durum, hacim, viskozite, geçirgenlik, ilaçların birlikte verilmesi, vücut durumu, egzersiz yapma, üzgün olma, hastalık gibi durumlardır. [33].

Çözeltiler, küçük partiküller ve pelletler, mideden hızla boşaltılır, pelletlerin geçişi yiyeceklerle yavaşlar. Ağır bir yemekten sonra alınan tek üniteli sistemler midede çok uzun süre (10 saat veya daha fazla) kalır. Midede ilaçlar kimyasal yolla belli oranda sindirilir, absorpsiyon önemli değildir.

İnce bağırsaktan geçiş hızı ise oldukça sabittir. 3+1 saat sürer. Yiyecek ve preperat şeklinden etkilenmez (Pişkin ve ark., 1989). Bu yüzden gastrointestinal sistemden farol geçiş süreleri farol mide boşalma sürelerinden kaynaklanır (Robinson and Lee, 1987; Yacobi and Walega, 1988). 12 saat ve daha uzun olan kontrollü salım sistemlerinin oluşturulması yalnızca yavaş mide boşalması ile sağlanır [31].

Gastrointestinal sistemden toplam geçiş süresi yaklaşık 24 saattir. Bu süre fizyolojik yapıya bağlı olarak 6-8 saate inebilir. Bağırsağın son bölgesinin absorpsiyon kapasitesi az olduğu için absorpsiyon için geçerli süre daha kısadır. Genellikle kontrollü salım sistemleri etken maddeyi 8-12 saat süresince belli bir hızla açığa çıkaracak şekilde tasarlanır [35,36].

2.2.4 Kontrollü ilaç salınım sistemlerinde kullanılan doğal polimerler

Kontrollü ilaç salım sistemlerinde kullanılan en yaygın materyaller, doğal ve sentetik polimerlerdir.

Doğal polimerlerin sentetik polimerlere göre doğal ürünler olmaları, hazır bulunmaları, pahalı olmamaları gibi avantajları vardır. Doğal polimerlerin ilaç dağıtım sistemlerinde matris olarak kullanılmasına yönelik çalışmalar, proteinler (kollojen, jeltin ve albümin), polisakkaritler (nişasta, dekstran, inulin, selüloz, aljinik asit) zerine yoğunlaşmıştır [37].

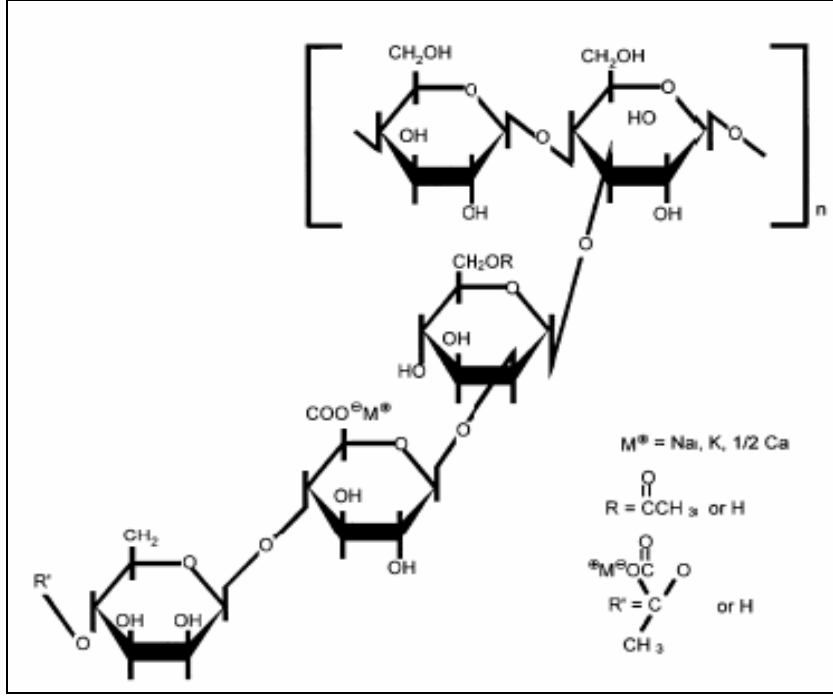
Aşağıda, bu çalışmada kullanılan ksantan hakkında temel bilgiler verilmiştir.

2.2.4.1 Ksantan

Ksantan, lahana ve benzeri bitkilerin yapraklarında bulunan bir bakteri, *xanthomonas campestris* tarafından üretilir. Ksantan molekülünün ana zinciri selüloz ile aynı zincire sahiptir (şekil 2.5).

Ksantan molekülünde ana zincirdeki α -D-galaktopiranozil birimlerine birer atlayarak O-3 pozisyonundan trisakkarit birimleri bağlanmıştır. Bu trisakkarit α -D-mannopiranoz, β -D-glukopiranoz ve β -D-mannopiranozdan oluşmuştur. Yan zincirin ana zincire bağlandığı noktadaki D-mannoz biriminde O-6 pozisyonunda bir asetil grubu vardır.

Ksantan gam, sıcak ve soğuk suda çözünebilir, düşük konsantrasyonda yüksek viskozite sağlar. 0-100°C sıcaklık aralığında çözelti viskozitesi stabildir. Süspansiyon ve emülsiyonları stabilize etme özelliklerine sahiptir. Donma ve çözünme aşamalarından sonra çözeltide stabiliteyi sağlar. Bu özelliklerinden dolayı gıda endüstrisinde süt ürünlerinde, salata soslarında, donmuş ürünlerde yaygın kullanılır [38].



Şekil 2.5:Ksantanın kimyasal yapısı

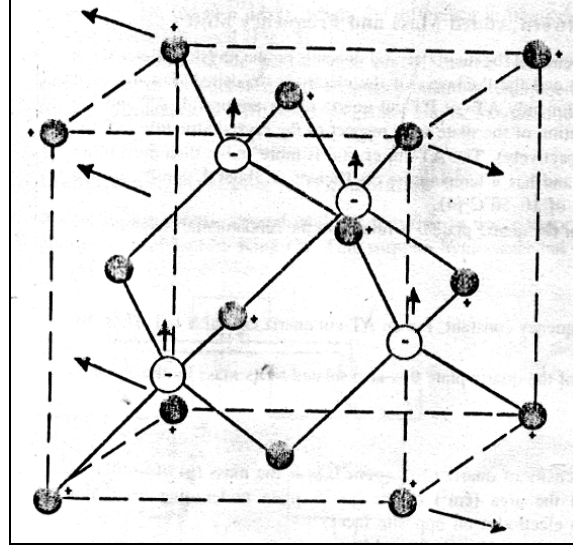
2.3 Quartz Kristal Mikro Dengeleyici Sistemler

Quartz kristal mikro dengeleyici sistemler (QCM) son yıllarda kullanımı yaygınlaşan mikrogravimetrik bir ölçüm yöntemidir. QCM'in çalışma prensibinin anlaşılması açısından en önemli bileşeni olan piezoelektrik kristaller hakkında ayrıntılı bilgi verilmektedir

2.3.1 Piezoelektrik kristaller

Piezoelektrik etki ilk kez 1880 yılında Jaques ve Pierre Curie tarafından gözlenmiştir. Araştırmacılar bazı kristallerin yüzeylerine mekanik kuvvet (gerilim) uygulandığında kristal yüzeyleri arasında, uygulanan bu gerilimin şiddeti ile doğru orantılı olarak artan bir elektriksel potansiyel farkının oluştuğunu rapor etmişlerdir. Bu etki, Latince bastırmak (push) anlamına gelen (piezein) sözcüğünden türetilmiş olan piezoelektrik etki olarak adlandırılmıştır. Ancak sonraki yıllarda bu adlandırmanın çok doğru olmadığı, elektrik potansiyel farkının oluşmasının uygulanan mekanik gerilimin direkt sonucu değil, bu gerilimin ortaya çıkarttığı

kristaldeki boyut değişimi ile ilişkili olduğu anlaşılmıştır. Şekil 2.6'da kristaldeki boyut değişirme gösterilmektedir.



Şekil 2.6:Kristaldeki boyut değişirme

Curie kardeşler sonraki yıllarda yaptıkları çalışmalarda, piezoelektrik kristalinin iki yüzeyi arasına uygulanan elektriksel gerilim farkının kristallerde boyut değişirmeye, gerinime yol açtığını göstermişlerdir. Başka bir ifadeyle, ters piezoelektrik etki olarak bilinen bu etkiyi kullanarak, kristal yüzeyleri arasına uygulanan elektriksel gerilimin şiddetini değiştirerek piezoelektrik kristalin boyutlarını bununla orantılı olarak değişirmek mümkün olmaktadır.

Kristallerde vibrasyon söz konusudur. Vibrasyon kristal içindeki atomların belli bir zaman içinde orijinal konumlarından deforme olmuş konuma geçmeleri, buradan yine orijinal konuma dönmeleri ve bunu izleyen evrede tersi yönde deforme konuma geçmeleri ve yine orijinal konuma dönmeleri şeklinde devam eden sürekli aynı şekilde tekrarlanan bir davranışı ifade etmektedir. Bu döngülerin birim zamanda tekrarlanma sayısı kristalin rezonans (temel) frekansı olarak tanımlanır. Piezoelektrik kristallerde pozitif ve negatif yüklü iyonlar vardır. Vibrasyon sonucu yük dağılımı değişir, başka bir ifadeyle polarizasyon oluşur. Dolayısıyla bu salınım

frekansına karşı salınan elektrik alan oluşumu söz konusudur. Elektrik alan salınım frekansı rezonans frekansı ile aynıdır [39].

2.3.1.1 Piezoelektrik özellik gösteren kristaller

Aralarında kuartz, Rochelle tuzu ($\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), turmalin, amonyum dihidrojen fosfat, etilen diamin tartarat ve baryum titanatın bulunduğu birçok kristal piezoelektrik özellik gösterir. Rochelle tuzu akustik uygulamalar gibi hassasiyetin öne çıktığı uygulamalar için önemlidir.

Ancak 55°C 'de dekompoze olması önemli bir dezavantajdır. Baryum titanat sıcaklığa ve neme daha az hassastır. Pratikte en yaygın olarak kullanılan piezoelektrik kristal kuartzdır. Doğal olarak bulunduğu gibi sentetik olarak da üretilen tamamen okside olmuş bir kristalin bileşiktir (silisyum dioksit). Suda çözünmez ve 579°C 'e kadar sıcaklığa dayanıklıdır.

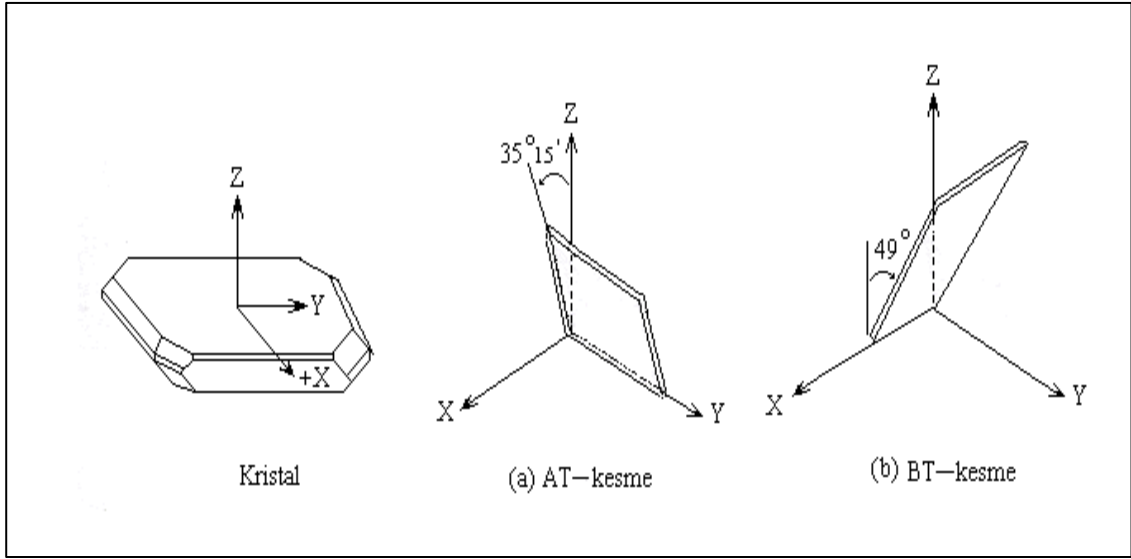
2.3.1.2 Kristalin yapısı

Piezoelektrik uygulamalarında kristal iki metal elektrot arasına sandviç edilmiştir. Elektrotların bu şekilde yerleştirilmesi salınan elektrik alanının kristal yüzeyine dik yönde olmasını sağlar. Oluşan elektrik alanı kristal yığın yapısında mekanik salınımına yol açar. Mekanik salınım, elektrotlar bir birinin tam olarak karşısına geldiği durumda en yüksektir. Mekanik salınımın yol açtığı kayma ise elektrotlara paralel yöndedir. Elektrotlar kristal yüzeyine metal buharlarının depozite edilmesiyle hazırlanır. Kristalin çalışma frekans seviyesi depozite edilen metal miktarıyla ayarlanır.[Cengiz hoca] Piezoelektrik uygulamalarında kullanılan kristaller 10-16 mm boyutlarında, yaklaşık 0.15 mm kalınlığında disk, kare veya dikdörtgen şeklindedir.

Rezonans frekansları 5, 9 veya 10 MHz olan kuartz kristaller tercih edilir. Metal elektrotlar altın, gümüş, alüminyum veya nikel olabilir. Elektrot çapları 3-8 mm

kalınlıkları ise 0.3-1.0°nm aralığındadır. Altın elektrotlar inert olmaları nedeniyle birçok uygulamada tercih edilmektedir. Gümüş elektrotların sulu ortamlarda uzun süreli kararlılığı düşüktür. Paladyum ile kaplı olanlarda bu sorun ortadan kalkmıştır. Anodik olarak okside edilmiş (Ag/AgCl'e karşı 1.4 V'da) paladyum elektrotlarda, modifiye edilmemiş olanlara göre yüzey hidroksil gruplarında önemli bir artış söz konusudur.

Piezoelektrik detektör özelliğinin sağlanması için kuartz kristaller belli bir açıyla kesilir. AT- ve BT-kesilmiş kuartzlar örnek olarak Şekil 2.7 'de verilmiştir. Kristal yapının karakteristik düzlemi ile kesme tabakasının arasındaki açı AT ve BT kesmelerde sırasıyla 35°15' ve -49°00' dir. AT-kesme kristaller diğerlerine göre çok daha karardır ve sıcaklık katsayıları 1 ppm/°C düşük bir değerdir.



Şekil 2.7: Kuartz kristellerdeki kesme

2.3.1.3 Piezoelektrik ölçüm

Bir kuartz kristalde kalınlığı (Δx) ile rezonans frekansı (f) arasındaki ilişki aşağıda verilmiştir. Burada "N" frekans katsayısı olup, AT-kesme kuartz kristallerde değeri 1.67×10^5 cm Hz dir.

$$\Delta x = N / f \quad (2.3)$$

Kalınlık aynı zamanda kütlesi ile de aşağıdaki gibi ilişkilidir.

$$\Delta x = m / A \cdot \Delta q \quad (2.4)$$

Burada, m: kristal kütlesi (g); A: kristal üzerindeki elektrodun altında kalan alan (cm²); ve .Δq: kristal yoğunluğu (kuartz için: 2.65 g/cm³) dir. Yukarıdaki iki denklik birleştirilir ve yeniden düzenlenirse aşağıdaki şekle gelir.

$$f = \Delta q \cdot N \cdot A / m \quad (2.5)$$

Eğer kristal elektrodlardan birinin yüzeyine Δm kadar kütle ilave edilirse bu bir frekans kaymasına (Δf) neden olur, ki bu da aşağıdaki gibi ifade edilebilir.

$$\Delta f = -(f^2 / \Delta q \cdot N \cdot A) (\Delta m / 1 + \Delta m / m) \quad (2.6)$$

Bu ifade, kuartz kristaller için, ilgili sabitler yerine konulursa şu şekli alır:

$$\Delta f = - 2.26 \times 10^{-6} f^2 \Delta m / A \quad (2.7)$$

Burada görüldüğü gibi “Kristal üzerine ilave edilen kütle (Δm), kristalin salınım frekansında kaymaya neden olur (Δf), ki bu kayma ölçülebilirse kütle artışı yukarıdaki basit ifadeyle hesaplanabilir.” Bu denklik ilk kez Sauerbery tarafından türetilmiş olup onun adıyla anılmaktadır.

2.3.2 Quartz kristal mikro dengeleyici sistemlerin kullanım alanları

Günümüzde birçok uygulamada kristallerin piezoelektrik özelliğinden yararlanılmaktadır. Piezoelektrik kristaller, ateşleyicilerde, saatlerde,

mikroskoplarda, yüksek frekansta ses üretiminde, ses iletimi ve algılanmasında, yarı iletken teknolojilerinde, hassas sıcaklık ölçümünde kullanılmaktadır.

Kristallerin sensör olarak uygulanması kütle ölçümü dışında basınç, gaz, akış, ağırlık, nem sensörleri ve kaplama kalınlığı ölçümlerinde kullanılmaktadır. Kristallerin yüzeyine biyolojik ligand molekül immobilizasyonu ile hedef moleküllerin algılanması amacıyla da kullanılmaktadır.

2.3.3 Quartz kristal mikro dengeleyici sistemlerin akıllı polimer uygulamaları

Megan S. Lord ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada bir seri biyomolekülün (gözyaşı analogları, müsin ve kolesterol) harcanım izlemeli quartz kristal mikro dengeleyici sistem (QCM-D) kullanımı ile poli(metilmetakrilat)'e (PMMA) ve üç tane HEMA-tabanlı hidrojele (HEMA, HEMA+metakrilik asit (P(HEMA-MMA), HEAM+metakrilik asit+N-vinilpirrolidon (P(HEMA-MAA-NVP)) bağlanmaları incelenmektedir. QCM-D frekans ve harcanım ölçümleri yoluyla değişiklikler, kütle ve absorbe edilmiş tabakanın viskoz sabiti şeklinde hesaplanmaktadır. Lizozomun P(HEMA-MAA) ile etkileşimi dışında, her bir test malzemesinin protein ile etkileşimi net bir kütle artışına neden olmaktadır ve bu artış da protein bağlanmasını göstermektedir. Lizozomun P(HEMA-MAA) ile etkileşiminde net bir kütle düşüşü gözlemlenmektedir, bu durum lizozomun suyu uzaklaştırarak hidrojelin çökmesine bağlı olduğu düşünülmektedir. Her bir hidrojel malzemesi ile kolesterolün etkileşiminde net bir kütle düşüşü elde edilirken PMMA ile etkileşiminde ise kütle artışı elde edilmiştir [40].

Yine Megan S. Lord ve aynı çalışma arkadaşlarının yapmış olduğu başka bir çalışmada lizozomun bir akrilik tabanlı hidrojel olan poli(2-hidroksietil metakrilat) co-metakrilikasit (P(HEMA)-MAA)) ile etkileşimi, harcanımlı quartz kristal mikro dengeleyici sistem (QCM-D), yüzey plasmon rezonansı ve çift polarizasyon interferometrinin kombinasyonu ile incelenmektedir. Tekniklerin bu kombinasyonu, lizozomun ilk olarak matrisin içerisine absorbe edildiğini ve hidrojeldeki su ile sonradan eklenen lizozomların hidrojel malzemesinin yüzeyi üzerine absorbe

edildiği sırada yer değiştirdiğini göstermektedir. QCM-D, bağlanan suya hassas oluşu ile kütlede bir düşüş göstermektedir [41].

Alice X.J. Tang ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada okadayik asidin (OA) tespit edilmesi için quartz kristal mikro dengeleyici sistem kullanılarak bir immunosensör geliştirilmekte ve standart çözeltisi ile optimize edilmektedir. Birçok teknik çiftlemesi incelenmekte, protein A, protein G ve polietilenin (PEI) glutaraldehit (GA) ile çift bağlanması, en iyi sonuç PEI-GA çiftlemesinden elde edilmektedir. PEI çiftlemesi yöntemi ile GA kullanımı ile PEI'nin kristal yüzeyindeki aktivasyonu için gereken inkübasyon zamanının optimizasyonu, OA-bovin serum albümin (BSA) birleşiminin dilüsyon faktör etkisi ve kristaldeki toplam antibadinin frekansı çalışılmaktadır. OA'nın BSA'ya farklı oranları incelenmektedir (4:1, 14:1, 30:1) ve ELISA ve QCM ile elde edilen sonuçlardan, 14:1'in en iyi oran olduğu anlaşılmaktadır. Çift bağlanmasının altın yüzeyine güçlü tutunması ile mükemmel bir saklama süresi elde edilmektedir, bu süre 38 gündür. Ancak algılama limiti (1.9 µl/ml) ve sensörün hassasiyeti tatmin edici bir düzeyde değildir. Bir antibasi-BSA hidrojelini birleştirilmesi ile cihazın performansında belirgin bir artış elde edilmektedir [42].

J.H. Teichroeb ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada en sık kullanılan biyomalzemelerden biri olan pliHEMA'nın lizozim, bovin serum albümin (BSA) ve laktiferrin ile etkileşimleri quartz kristal mikro dengeleyici sistem (QCM) kullanılarak incelenmektedir. Adsorbsiyonun konsantrasyona olan bağımlılığı lizozim-BSA ve lizozim-laktoferrin kombinasyonları için olduğu gibi yukarıda bahsedilen proteinler için de tek tek ölçülmektedir. Voinova'nın viskoelastik modelinin n katmanlı uygulaması için genişletilmiş hali, adsorbsiyonun kalınlık-zaman grafiklerinin oluşturulması için kullanılmaktadır. Her ne kadar adsorbsiyon mekanizmaları her ikisi arasında fark yaratıyormuş gibi gözükse de, laktoferrin ve lizozimin her biri için belirgin olarak iki farklı zaman yelpazesi ayırt edici olabilmektedir. Negatif harcanım kaymaları lizozimin düşük konsantrasyonları için ölçülmekte, yüksek konsantrasyonlarda da lizozim, pozitif harcanım eğilimi göstermektedir. Buradan başlangıçta lizozimin matris içerisine adsorblandığı

anlaşılmaktadır, hidrojelin sertleştirilmesinin ardından lizozimin poliHEMA'nın yüzeyinde adsorblandığı anlamı çıkarılmaktadır. Sonuç olarak protein karışımları, tek bir proteinden oluşan tek bir kombinasyonun bazı durumlarda adsorbsiyon deneylerinde farklılık gösterdiği ortaya koymaktadır [43].

Shawn D. Carrigan ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada sepsisin gelecekteki diagnostik uygulamaları için hızlı, uygulanabilir, gerçek zamanlı bir bağışıklık izleme sistemi tasarımı amaçlanmakta ve polietilenin (PEI) karboksietilselülozdan (CMC) oluşan bir biyoarabirim geliştirilmektedir. Bu biyoarabirim ile birçok ileti ve kolay immunoassay sağlamak amaçlanmaktadır.

Biyoarabirim derleyici, gerekli olan tüm hazırlıkları ve harcama sensörlü quartz kristal mikrogravimetri (QCM-D) ölçümleri ile izlemesi dâhil 30 dakika içerisinde tamamlanana bir sistem hazırlanmaktadır. İmmobilize edilmiş antijenin kütlesi, antijen tespitinin derecesi ve spesifik olmayarak bağlanmış insan serum albümininin miktarı ile belirlenen optimize edilmiş biyoarabirim birleşimi 0.5 mg/ml PEI alt tabakasına çift bağ ile bağlanmış 4.0 mg/ml CMC hidrojel tabakasından oluştuğu tespit edilmektedir [44].

2.4 İnsülin

İnsülin, moleküler ağırlığı 5.8 kilodalton (kDa) olan, polipeptit yapılı ve vücuttaki karbonhidrat metabolizmasının düzenlenmesinde rol alan bir hormondur. Pankreasın hormonal salgı birimleri olan Langerhans adacıklarından salgılanan insülinin adı da Latince'de "ada" anlamına gelen "insula" sözcüğünden türetilmiştir. İnsülinin, karbonhidrat metabolizmasının birincil dengeleyicisi olmanın yanında, karbonhidrat metabolizması ile ilişki halinde bulunan yağ ve protein metabolizmaları üzerinde de rolü vardır ve kandaki insülin konsantrasyonu değişikliklerinin tüm bedende yaygın etkileri bulunmaktadır. Bu hormonun mutlak yokluğu, şeker hastalığının 1. tipine; görece azlığı veya insüline karşı direnç ya da her ikisinin birlikte olması ise 2. tip şeker hastalığına yol açmaktadır. Bu doğrultuda, endüstriyel olarak üretilmiş olan insülin, 1. tip şeker hastalığında ve

başka ilaçların yetersiz kaldığı 2. tip şeker hastalığı vakalarında ilaç olarak da kullanılmaktadır.

İnsülinin yapısı hayvanlar arasında görece küçük farklara bağlı bir çeşitlilik göstermektedir ve insan insülinine en benzer yapıdaki insülin, arada tek bir aminoasit biriminin farklı oluşuyla, domuz insülinidir. İnsülinin karbonhidrat metabolizması üzerindeki düzenleyici işlevinin etkinliği de insandan insana değişkenlik gösterebilmektedir

2.4.1 İnsülinin keşfi ve nitelendirilmesi

1869 yılında Berlin'de bir tıp öğrencisi olan Paul Langerhans, mikroskopla pankreasın yapısını incelerken, pankreasın dış salgı (ekzokrin) dokusunun içinde yayılmış ve daha önce belirlenememiş hücre kümelerine rastlamıştır. Bir süre sonra Eduard Laguesse, daha sonraları "Langerhans adacıkları" diye adlandırılacak olan ve o dönemde işlevleri bilinmeyen bu hücreler için, sindirimde rolü olan bir salgı üretiyor olabilecekleri fikrini öne sürmüştür.

2.4.2 İnsülin kristalleri

1889'da Polonya asıllı Alman tıp doktoru Oscar Minkowski, Joseph von Mehring ile birlikte yürüttükleri bir çalışmada, pankreasın sindirim üzerindeki bu öngörölmüş rolünü gösterebilmek için sağlıklı bir köpeğin pankreasını çıkarmıştır. Bundan birkaç gün sonra, Minkowski'nin hayvan bakıcısı tarafından köpeğin idrarının üzerinde sineklerin uçtuğunu farkedilmiş ve köpeğin idrarı test edildiğinde de içinde şeker olduğu ortaya çıkmıştır. Bu, pankreas ve şeker hastalığı arasındaki ilişkiyi ortaya koyan ilk bulgu olmuştur. 1901 yılında ise, Eugene Opie'nin Langerhans adacıkları ile şeker hastalığı arasındaki ilişkiyi "Şeker hastalığının nedeni, Langerhans adacıklarındaki harabiyettir ve yalnızca bu adacıkların kısmen ya da tamamen harab olmasıyla gelişir" cümlesi ile açıkça ortaya koymasıyla, bir başka önemli adım atılmıştır.

Ondan sonraki 20 yıl boyunca, adacıkların salgılarını toplayıp, ilaç olarak kullanmak için birçok çalışma yapılmıştır. 1906 yılında, George Ludwig Zuelzer köpeklerin pankreas özütüyle iyileştirilmesinde kısmen başarı sağlamış, fakat çalışmalarını sürdürememiştir.

1911'le 1912 yılları arasında, Chicago Üniversitesi'nden E. L. Scott sulandırılmış pankreas özütlerini kullanmış ve glikozüride hafif bir azalma gözlediğini not etmiştir ama şefini ikna edememiş ve araştırması da durdurulmuştur.

1919'da ise Rockefeller Üniversitesi'nden Israel Kleiner benzer etkileri göstermiştir ama O da I. Dünya Savaşı nedeni ile kesilen çalışmalarına bir daha dönememiştir. Romen Tıp Okulu'nda fizyoloji profesörü olan Nicolae Paulescu, Fransa'da sürdürülüp Romanya'da da patenti alınmış benzer bir çalışmayı 1921'de yayımlamıştır ve o zamandan beri de Romenler, insülini keşfeden kişi olma unvanının Nicolae Paulescu'ya ait olduğunu savuna gelmişlerdir.

Ancak, 1923'de Nobel ödülleri komitesi, insülinin eldesine yönelik kullanışlı bir yöntem buldukları için Toronto Üniversitesi'nden bir ekibi ödüllendirmeyi uygun bulmuştur. Bu ödülü getiren gelişmelerin oluşu şöyledir:

Kasım 1920'de, Minkowski'nin makalelerinden birini gözden geçirmekte olan Frederick Banting, Minkowski'nin üzerinde çalıştığı sindirim salgılarının kendi kendini yıktığı ve bunun sonucunda da başarılı bir özüt elde etmenin imkânsız hale gelişi sonucuna varır, kendisine de bir not yazar: "Köpeğin pankreas kanallarını bağla. Salgı bezleri dejenere olana ve adacıklar kalana dek köpeği yaşat. Elde ettiğin adacıkların salgılarını ayırmaya çalış ve glikozüriyi tedavi et."

Banting Toronto'ya, J. J. R. Macleod ile görüşmeye gider ama Macleod Banting'in fikrinden pek etkilenmez. Yine de Banting'e üniversitede bir laboratuvar, bir asistan, Charles Best adlı bir tıp öğrencisi ve 10 da köpek sağlar ve kendisi de 1921 yazı

boyunca tatile çıkar. Banting ve ekibinin uygun salgı eldesi için kullandığı yöntem şöyledir:

Köpeklerin pankreas kanalını bağlar ve birkaç hafta beklerler. Bu süreç içerisinde, pankreasın dış salgı bezlerinden salgılanan ve bağırsağa akamayıp, pankreas içinde hapsolan sindirim salgısı bezlerin kendisini yıkar, artıklar bağışıklık sistemi tarafından temizlenir ve geriye binlerce adacık kalır. Sonra, bu adacıkların salgısından "isletin" adını verdikleri proteini ayırıştırırlar ve bu salgıyı kullanan Banting ve Best, pankreası çıkartılmış bir köpeği yaz boyunca yaşatmayı başarırlar.

Yolculuğundan dönen Macleod bu araştırmanın değerini görür ama yöntemin kesinlikle çalıştığına kanıtlanması için çalışmanın tekrar edilmesini ister. Haftalar sonra bir kez daha yöntemin başarılı olduğu görüldüğünde de ekibin sonuçlarını Kasım ayında ve Toronto'da yayınlamalarına özel olarak yardım eder. Ancak, bu yöntem ile isletin eldesi için 6 haftaya gerek duymaları ve bunun da deneyleri büyük oranda yavaşlatıyor olması nedeniyle Banting, fetal dönemde henüz sindirim bezleri gelişmemiş olan dana pankreası kullanmayı önerir ve bu metodun iyi çalıştığı görülür.

Gerekli salgının bolca eldesi sorunu ortadan kalkınca, sıra bir sonraki önemli adım olan protein saflaştırılmasına gelir. Bunun için, Aralık 1921'de Macleod, biyokimyacı James Collip'i yardıma çağırır ve o da bir ay içinde deney yapmak için hazır duruma gelir.

11 Ocak 1922'de, 14 yaşında bir şeker hastası olan Leonard Thompson'a ilk enjeksiyon yapılır. Ancak, elde edilen özütün yeterince saf olmaması nedeniyle, hastada ciddi bir alerjik reaksiyon gelişir ve sonraki enjeksiyonlar ertelenir. Ondan sonraki 12 gün boyunca gece gündüz çalışan Collip, özütü daha saf hale getirmeyi başarır ve 23 Ocak'da ikinci doz enjekte edilir. Bu enjeksiyon, yalnız belirgin yan etkilerin görülmemesi açısından değil, şeker hastalığının belirtilerini tamamen gidermesi ile de çok başarılı olur. Ancak, Collip'i araya giren biri olarak

değerlendiren Banting ve Best, onunla başından beri iyi çalışamazlar ve Collip de kısa süre sonra ayrılır.

Best, 1922 yılı ilkbaharı boyunca, tekniklerini istenildiğinde büyük miktarlarda insülinin ayrıştırılabileceği hale geliştirir ama elde edilen özüt hala yeterince saf değildir. Ancak, 1921'deki ilk yayınları üzerine kendilerine yardım önerisi ile gelmiş olan Eli Lilly'nin bu önerisini Nisan 1922'de kabul ederler ve Kasım 1922'de büyük bir adım atan Eli Lilly, büyük miktarlarda insülini saflaştırmayı başarır. Bundan kısa bir süre sonra da insülinin satışına geçilmesi önerilir.

Tüm bu büyük buluş için, Macleod ve Banting'e 1923 yılının Fizyoloji ya da Tıp'da Nobel Ödülü verilir. Best'in ödüle dâhil edilmemesini eleştiren Banting, ödülünü Best ile paylaşır; Macleod da gecikmez ve kendi ödülüne Collip'i dâhil eder. İnsülinin patenti ise 1 dolar karşılığında Toronto Üniversitesi'ne satılır.

İnsülin molekülünü oluşturan aminoasitlerin tam dizilimi (birincil yapı) ise İngiliz moleküler biyolog Frederick Sanger tarafından belirlenmiştir ve yapısı tamamen çözümlenebilen ilk protein insülin olurken, Sanger'de bunun için 1958 yılının Kimya'da Nobel Ödülü'ne layık görülmüştür. Dorothy Crowfoot Hodgkin ise, yıllar süren uğraşlardan sonra 1967'de, molekülün 3 boyutlu yapısını X ışını saçılımı çalışmaları ile belirlemiş ve o da Nobel Ödülü'ne layık görülmüştür.

2.4.3 İnsülin tipleri

Kullanılan insülinler domuz, sığır veya insan kaynaklı olabilmektedir. İnsan insülinleri son yıllarda daha sıklıkla kullanılmaktadır. Tip I diyabette ve gebelikte şeker hastalığı olanlarda mutlaka insan insülini kullanılmalıdır. İnsülinler etki sürelerine göre 2'ye ayrılmaktadır:

2.4.3.1 Kısa etkili insülin

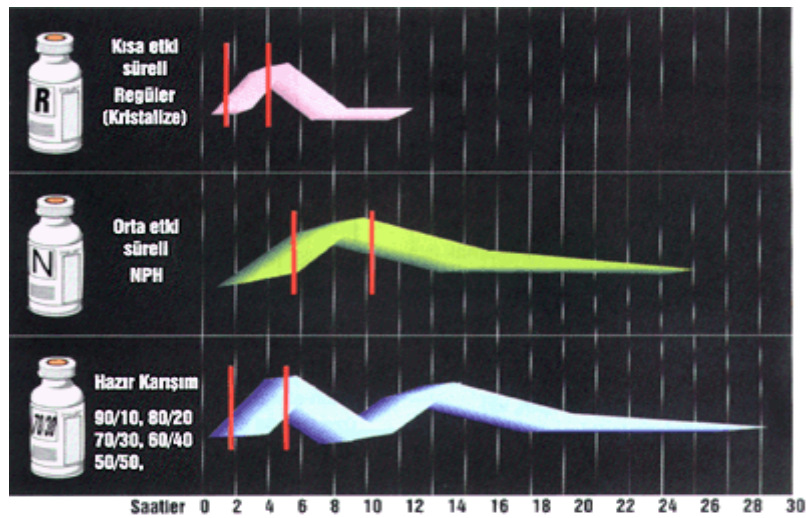
Kristalize insülin, regüler insülin adları ile bilinmektedir. Berrak görünümlüdür. Cilt altına verildikten 30 dakika kadar sonra etkisi başlamakta ve en iyi etkisi 2-4 saat sonra görünmektedir. Etkisi çabuk başladığından bu insülini yaptıktan sonra 30 dakika içinde yemeğe başlanmalıdır. Aksi halde kan şekeri hızla düşebilmektedir. Bu durum çok önemlidir.

2.4.3.2 Orta etkili insülin

NPH insülin adı ile bilinmekte olan bu insülin türü bulanık görünümdedir. Alındıktan 1-2 saat sonra etkisi başlamaktadır.

En etkin olduğu zaman 6-8 saat sonradır. Etkisi 24 saate kadar sürmektedir. Kısa ve orta etkili insülinin belli oranda karıştırıldığı hazır karışım insülinler de vardır. Şekil 2.8'de insan insülinlerinin etki sürelerini anlatan bir grafik yer almaktadır.

İnsülin miktarı ünite ile ölçülmektedir. Ülkemizdeki insülin şişelerinin her mililitresinde 100 ünite insülin vardır. Uluslar arası standarda göre 1 IU insülin 45.5µg insüline eşittir [45].



Şekil 2.8: İnsan insülinlerinin etki süresi (www.diyabet.com 'dan alıntıdır)

Bu çalışmada kısa etki süreli olan Lilly firmasına ait HUMULIN R 100IU/mL solüsyon içeren 10 ml'lik flakonu kullanılmaktadır. Bu ilaç rekombinant DNA kökenli regüler insan insülini içermektedir.

3. METERYAL METOD

Sunulan bu çalışmada ksantan gam hidrojelinin farklı sıcaklık ve pH değerlerinde göstermiş olduğu şişme ve büzüşme davranışları yeni bir yaklaşımla, QCM ile incelenerek hidrojelin karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışılan sıcaklık değerleri; 40°C, 60°C ve 80°C'dir. Çalışılan pH değerleri ise; pH:5, pH:6, pH:7 ve pH:9'dur. Karakterizasyon işleminin QCM ile başarılı sonuç vermesinin ardından biyomedikal uygulaması olarak insülin salınım deneyleri gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışma kimyasal malzemeler, kristallerin temizlenmesi, hidrojelin hazırlanışı, farklı sıcaklık ve pH değerlerinde ölçümler yapılarak hidrojelin karakterizasyonu ve ilaç salınım deneyleri şeklinde aşağıda ayrıntılı şekilde anlatılmaktadır.

3.1 Kimyasal Malzemeler

Üzerinde çalışılan polimer ksantan gam Sigma-Aldrich (Almanya) firmasından sağlanmıştır. Farklı pH değerlerinde çalışılmak üzere hazırlanan tampon çözeltileri için kullanılan potasyum dihidrojenfosfat (KH_2PO_4) ve sodyum hidrojenfosfat (Na_2HPO_4) Sigma-Aldrich (Almanya) firmasından temin edilmiştir. sodyum hidroksit (NaOH) ve borik asit (H_3BO_3) Merck (Almanya) firmasından temin edilmiştir. KH_2PO_4 ve Na_2HPO_4 pH:5, pH:6 ve pH:7 değerlerindeki tampon çözeltilerinin hazırlanışında, NaOH ve H_3BO_3 ise pH:9 değerindeki tampon çözeltilerinin hazırlanışında kullanılmıştır. Kristallerin temizlenmesinde kullanılan NaOH, aseton ve metanol Merck (Almanya) firmasından temin edilmiştir.

3.2 Kristallerin Temizlenmesi

Bu çalışmada kullanılan kristaller Maxtek firmasına (U.S.A) ait olan 5 MHz'lik Ti/Au alışımlı elektrotlara sahip kristallerdir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 5 MHz'lik Ti/Au alaşım elektrotlu quartz kristal.

Çalışmada kullanılan kristaller daha önceden üzerinde çalışılmış kristaller olduğu için ilk olarak yüzeye tutunmuş olan kimyasalların uzaklaştırılması için ilk olarak fiziksel bir temizlik yapılmış, ardından plazma tekniği ile kristallerin yüzeyine oksijen (O_2) bombardımanı gerçekleştirilmiş, böylece bağlanan kimyasalların yüzeyden kopmaları sağlanmıştır. Plazma ile temizlenmiş kristaller ile yapılan deneylerin sonuçlarının tutarsız olması kristallerin tam olarak temizlenmediğinin düşünülmesine neden olmuştur. Kristal yüzeylerinin tam olarak temizlenmesi için plazma ile temizlenmiş olan kristaller deterjanla temizlenmiştir. Deterjan ile temizleme işlemi ucu pamuklu çubuklarla yapılarak yüzeyin çizilmesi engellenmiştir. Deterjanla temizlenen kristaller durulandıktan sonra ultrasonik banyoda yıkanmışlardır.

3.2.1 Fiziksel temizlik

Kristaller ilk olarak 0.5 M'lık NaOH çözeltisi ile 30 dakika etkileştirildikten sonra saf aseton çözeltisine daldırılarak 15 dakika etkileştirilmiştir. Son olarak da %95'lik

metanol çözeltilisinde 15 dakika boyunca tutulduktan sonra saf su ile 5 dakika yıkanmıştır. Tüm etkileştirme ve yıkama işlemleri karıştırılmalı ortamda gerçekleştirilmiştir. Manyetik karıştırıcı karıştırma işlemelerinde 360 rpm'lik sabit hıza ayarlanmıştır. Saf su ile yıkamanın ardından 25°C'deki etüv içerisinde 30 dakika boyunca kurutulmaya bırakılmıştır.

3.2.2 Plazma tekniği ile temizlik

Fiziksel temizlemenin ardından kristaller, plazma cihazında yüzeye tutunmuş olan kimyasalların koparılması amacıyla 20 dakika boyunca 100 watt güçteki 13,56 MHz'lik RF dalgasına maruz bırakılmıştır.

Deneysel işlemlere geçmeden önce kristallere tekrar fiziksel temizlik yapılmıştır.

3.2.3 Deterjanla temizlik

Plazma tekniği ile yapılan temizliğin ardından uygulanan deneysel işlemlerin sonucunda tutarsızlık oluşu nedeniyle bazı kristallerin tam olarak temizlenmediğine karar verilmiştir. Kristalleri tam olarak temizlenmeleri için ise deterjanla yüzeyler yıkanmıştır. Deterjanın kristal yüzeyine uygulanması ucu pamuklu çubuklarla gerçekleştirilmiştir, böylece kristal yüzeyinin çizilmesi engellenmiştir. Kristaller durulandıktan sonra ultrasonik banyoda yıkanmışlardır.

3.2.4 Ultrasonik banyo ile yıkama

Ultrasonik banyo, suda oluşturduğu titreşimler ile kristal yüzeyinde tutunmuş olarak bulunan son kimyasalların da uzaklaştırılmasını sağlamıştır. Ultrasonik banyoda kristaller 40°C'de, 30 dakika boyunca yıkanmışlardır.

Temizlik işleminin bitmesinin ardından temizlenen kristaller ile hiç kullanılmamış bir sıfır kristal aynı pH değerindeki (pH:9) çözelti ile etkileştirilerek frekans ölçümleri yapılarak karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma sonucunda sıfır kristal ile temizlenmiş olan kristallerin cevap karakteristiklerinin aynı olduğu gözlemlenmiştir. Böylece kristallerin tam olarak temizlenmesi gerçekleştirilmiştir.

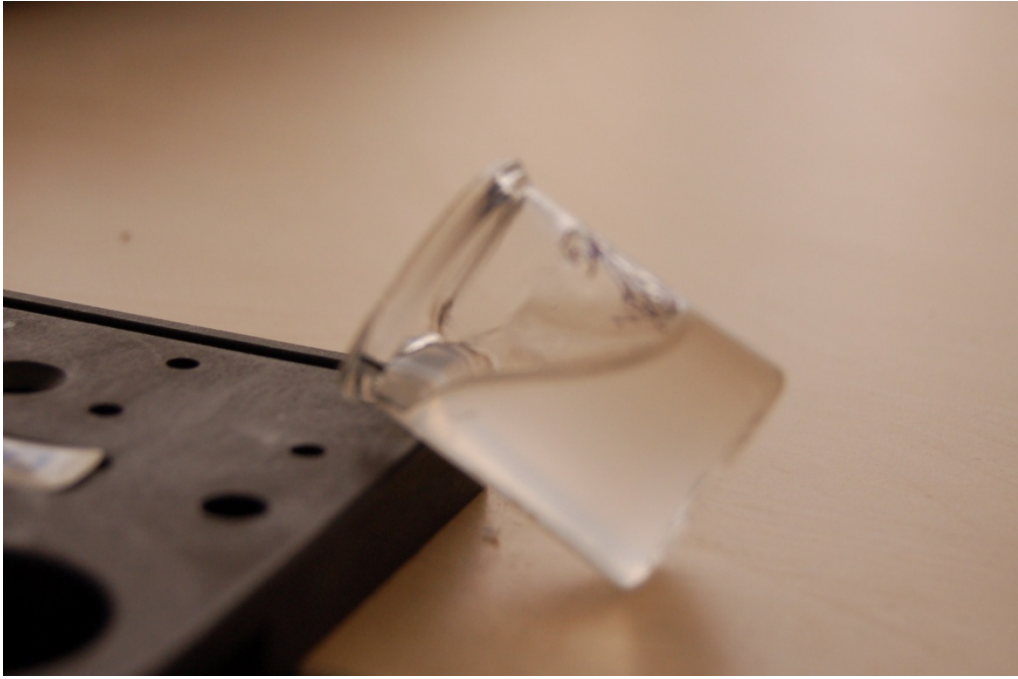
3.3 Ksantan Gam Hidrojelinin Hazırlanışı

Ksantan gam tozu distile suda çözünerek farklı konsantrasyonlarda sulu çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan konsantrasyonlar 5 g/l, 10 g/l ve 20 g/l şeklindedir. Ksantan gam tozunun çözünerek sulu çözeltinin homojen bir hal alabilmesi için 24 saat manyetik karıştırıcıda 360 rpm hızda karıştırılmaya bırakılmıştır (Şekil 3.2.). Sulu çözeltinin sertleşmesi için 40°C'deki etüvde 24 saat bekletilmiştir.



Şekil 3.2 Ksantan gam hidrojellerinin karıştırırmalı ortamda hazırlanışı.

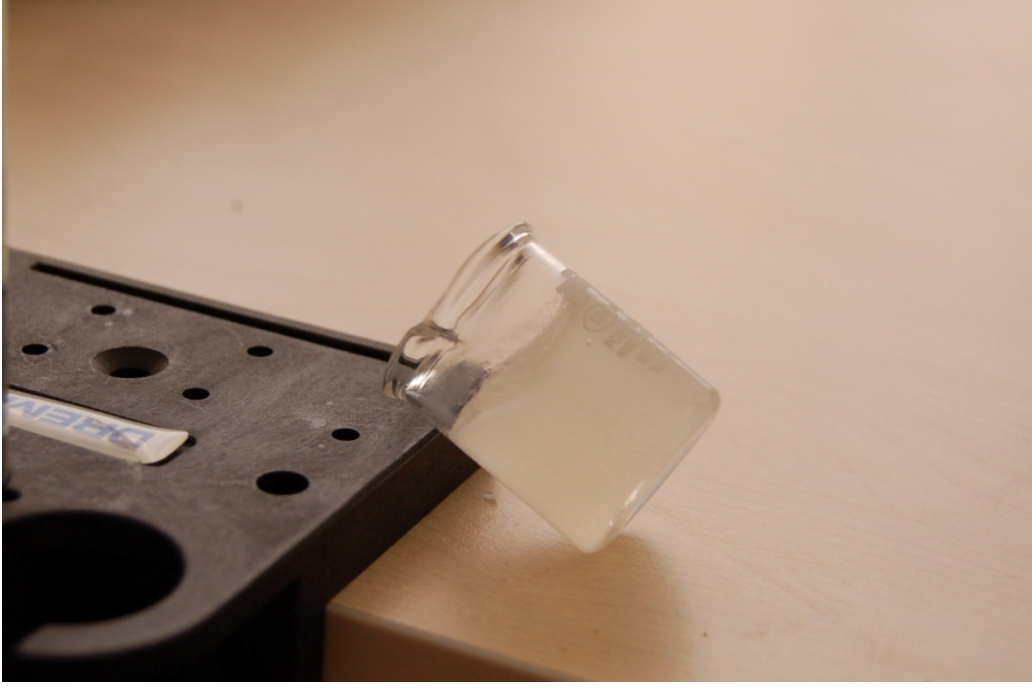
2 gün süren bu işlemlerin sonucunda hidrojel hazır olmaktadır. Şekil 3.3 ve 3.4'te hidrojellerin sertleşme öncesi ve sertleşme sonrası durumları gösterilmektedir.



(a)

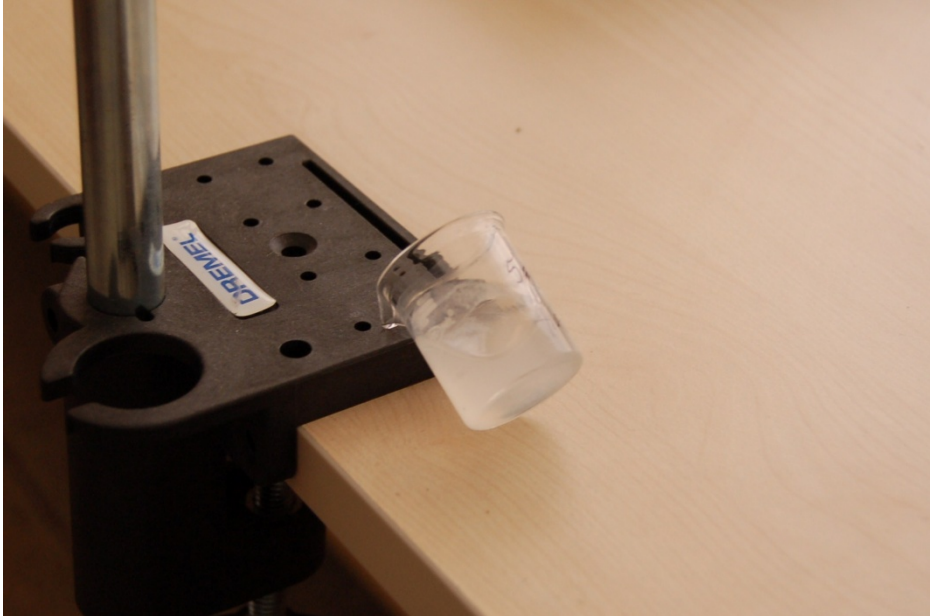


(b)



(c)

Şekil 3.3 (a) 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin sertleşme öncesi hali, (b) 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin sertleşme öncesi hali, (c) 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin sertleşme öncesi hali.



(a)



(b)



(c)

Şekil 3.4 (a) 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin sertleşme sonrası hali, **(b)** 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin sertleşme sonrası hali, **(c)** 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin sertleşme sonrası hali.

3.4 Hidrojel Karakterizasyonu

Hidrojellerin karakterizasyon işleminin QCM ile yapılabilmesi için QCM probu Şekil 3.5’de görüldüğü gibi yatay konumda tutulmuştur. İlk olarak dikey konumda yerleştirilen probdaki hidrojel örneği, kristal yüzeyine yüzey etkileşimleri ile tutunmuş ancak belli bir süre sonra belli bir miktarda şişmesi ile oluşan kütle artışından dolayı kristal yüzeyinden aşağıya doğru kaymalara neden olmuştur. Bu nedenle prob yatay konumda tutularak, probun üzerindeki boş hacim değerlendirilmiş ve karakterizasyon işlemi bu şekilde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.5 QCM probunun yatay konumda kullanılması.

3.4.1 pH ölçümleri

İlk olarak kristal yüzeyine 5 g/l konsantrasyonuna sahip hidrojel otomatik pipet ile enjekte edilmiş ve kütlesi, ölçülen frekans değerinden hesaplanmıştır. Ardından probun üzerindeki hazneye pH:5 tampon çözeltisinden 200 µl otomatik pipet ile enjekte edilerek 15 dakika boyunca frekans ölçümleri alınarak hidrojin şişme-büzüşme davranışları incelenmiştir. Ölçümü yapılan frekans değerleri zamana karşı çizdirilerek hidrojel ölçüm grafiği elde edilmiştir. Tüm pH ölçümleri sabit sıcaklıkta, oda sıcaklığında, gerçekleştirilmiştir.

Yukarıda anlatılan tüm işlemler 5 g/l konsantrasyonundaki ksantan gam hidrojel için pH:6, pH:7 ve pH:9 tampon çözeltileri ile aynı şekilde tekrarlanmıştır.

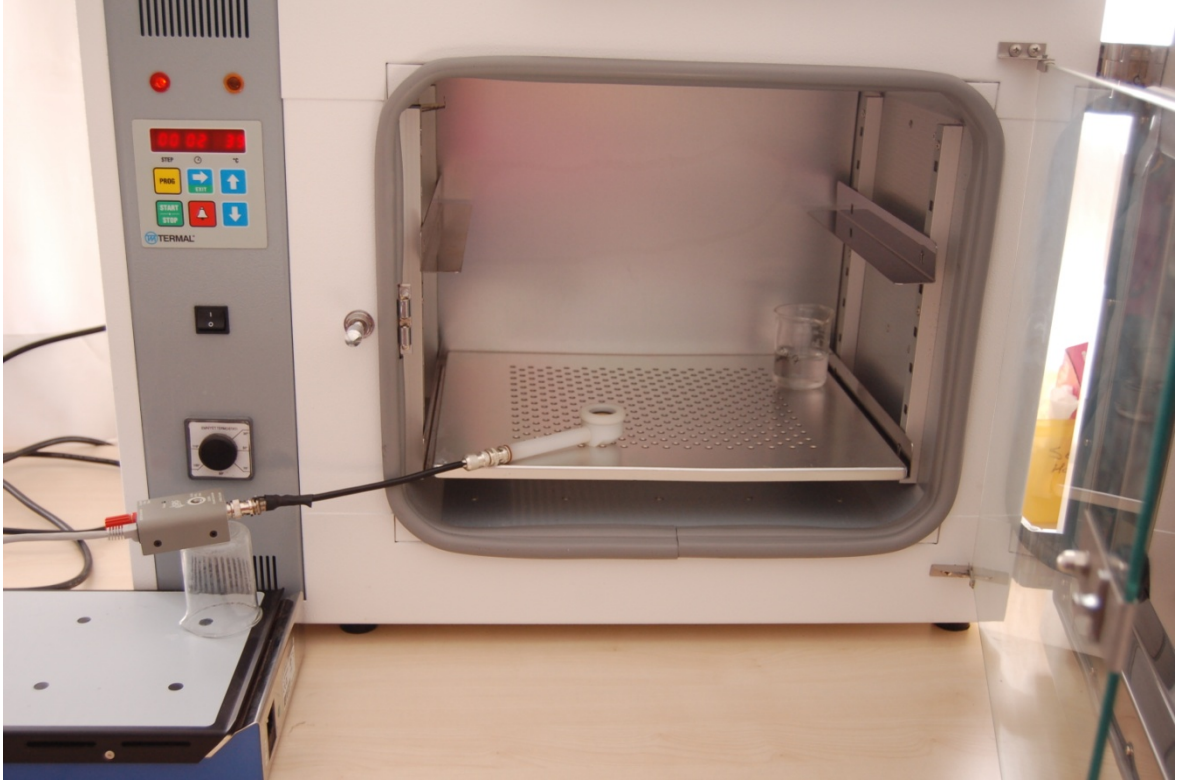
Yukarıda anlatılan tüm işlemler 10 g/l konsantrasyonundaki kasantan gam hidrojel için pH:5, pH:6, pH:7 ve pH:9 tampon çözeltileri ile aynı şekilde tekrarlanmıştır.

Yukarıda anlatılan tüm işlemler 20 g/l konsantrasyonundaki kasantan gam hidrojel için pH:5, pH:6, pH:7 ve pH:9 tampon çözeltileri ile aynı şekilde tekrarlanmıştır.

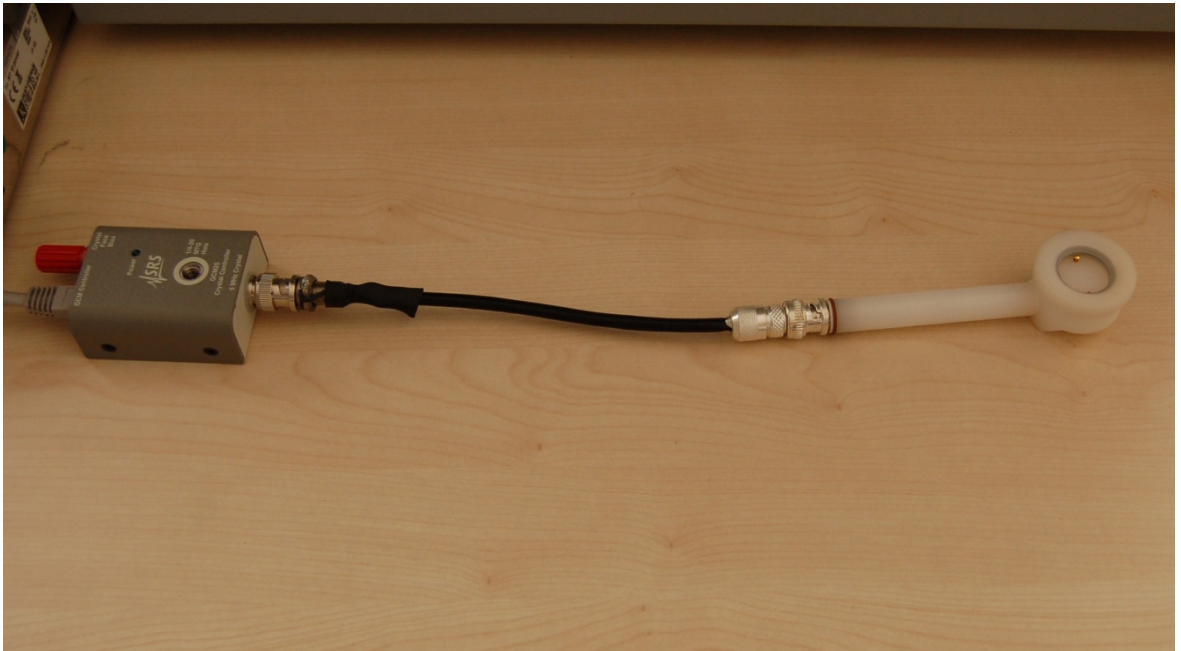
Tüm pH ölçümleri üç kere tekrarlanmış ve bu üç ölçümün ortalaması alınmıştır.

3.4.2 Sıcaklık ölçümleri

Sıcaklık ölçümleri istenilen çalışılan sıcaklık değerlerine ayarlanmış etüv içerisinde gerçekleştirilmektedir. Ancak QCM cihazının frekans kristal osilatörü çalışılan sıcaklık değerlerinde çalışmaya uygun değildir. Bu nedenle frekans kristal osilatörü ile probu birbirine bağlayabilecek, aynı zamanda etüv içerisinde ölçüm yapılırken sıcaklıktan etkilenmeyecek ve kristal osilatörünün etüvün dışında kalmasına olanak sağlayacak ve yanı zamanda ölçüm değerlerinde değişime neden olmayacak uzunluğa sahip bir uzatma kablosu yapılmıştır (Şekil 3.6). Kullanılan bu kablo 50 Ω'luk direnca sahip bir kablodur (Şekil 3.7).



Şekil 3.6 QCM probunu hazırlanan uzatma kablosu ile etüv içersine yerleştirilmesi.



Şekil 3.7 Kristal osilatörü ile probun hazırlanan uzatma kablosu ile bağlanması.

Tüm sıcaklık ölçümleri sabit pH değerindeki, pH:7, tampon çözeltisi ile gerçekleştirilmiştir. İlk olarak kristal yüzeyine 5 g/l konsantrasyonuna sahip hidrojel otomatik pipet ile enjekte edilmiş ve kütlesi, ölçülen frekans değerinden hesaplanmıştır. Ardından probun üzerindeki hazneye pH:7 tampon çözeltisinden 200 µl otomatik pipet ile enjekte edilerek 15 dakika boyunca 40°C'deki etüv içerisine yerleştirilmiş ve frekans ölçümleri alınarak hidrojin şişme-büzüşme davranışları incelenmiştir. Ölçümü yapılan frekans değerleri zamana karşı çizdirilerek hidrojel ölçüm grafiği elde edilmiştir. Yukarıda anlatılan tüm işlemler 5 g/l konsantrasyonundaki ksantan hidrojel için 60°C ve 80°C sıcaklıkları için aynı şekilde tekrarlanmıştır.

Yukarıda anlatılan tüm işlemler 10 g/l konsantrasyonundaki ksantan hidrojel için 40°C, 60°C ve 80°C sıcaklıkları için aynı şekilde tekrarlanmıştır.

Yukarıda anlatılan tüm işlemler 20 g/l konsantrasyonundaki ksantan hidrojel için 40°C, 60°C ve 80°C sıcaklıkları için aynı şekilde tekrarlanmıştır.

Tüm sıcaklık ölçümleri üç kere tekrarlanmış ve bu üç ölçümün ortalaması alınmıştır.

3.5 İlaç Salınım Deneyleri

İlaç salınım deneylerinde kullanılmak üzere hazırlanan hidrojeller karakterizasyon işlemleri için hazırlanan hidrojeller ile aynı şekilde hazırlanmıştır.

İlaç salınım deneylerinde kullanılan insülin solüsyonu pH:7 değerindedir. Bu nedenle hazırlanan hidrojeller ilk olarak insülin solüsyonunda şişirilerek hidrojel içerisine insülin depolanması sağlanmıştır. Ardından farklı derişimlerdeki hidrojellerin karakterizasyon işlemlerinden elde edilen sonuçlara göre farklı pH değerindeki tampon çözeltiler ile etkileştirilerek büzüşme sonucunda içerisindeki

insülini dışarı salması ya da tampon çözeltisini içerisine alarak daha da çok şişmesi frekans ölçümleri ile kütle değişimleri hesaplanarak tespit edilmiştir.

Her bir derişimdeki ksantan gam çözeltisinin insülin ile şişirilme ve şişirilme sonucunda içerisine depoladığı insülinin salınması deneyleri aşağıda ayrıntılı olarak anlatılmaktadır.

3.5.1 5 g/l ksantan çözeltisi ile insülin salınım deneyleri

Önceden anlatılan şekilde hazırlanan 5 g/l derişimindeki ksantan çözeltisi sertleştirildikten bir miktar alınarak kristal üzerine yerleştirilmiş ve frekans ölçümleri alınmıştır. Ardından pH:7 değerindeki insülin solüsyonundan 200 µl hidrojel üzerine enjekte edilmiştir. 15 dakika boyunca şişme bırakılmış, bu süre boyunca frekans ölçümleri kaydedilmiştir. 15 dakikalık bu süre sonucunda kristal üzerindeki fazla sıvı filtre kâğıdı ile uzaklaştırılmıştır. Karakterizasyon işlemlerinin sonucunda 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin hangi pH değerlerinde ne kadar şiştiği belirlenmiştir.

Karakterizasyon sonuçlarına göre 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojeli pH:9 değerinde pH:7 değerinde şiştiğinden daha çok şişmekte, pH:6 değerinde ise pH:9 değerinde şiştiğinden daha çok içerisine su alarak şişmektedir. pH:5 değerinde ise pH:7 değerinde olduğundan daha az şişmektedir. Karakterizasyon sonuçları ile ilgili daha ayrıntılı bilgiye sonuç tartışma bölümünden ulaşılabilir. Karakterizasyon sonuçlarından yola çıkarak kristaldeki şişmiş olan hidrojel üzerine 200 µl pH:9 değerindeki tampon çözeltisi eklenmiştir. 15 dakika boyunca etkileştirilmeye bırakılmıştır ve etkileştirme süresince frekans ölçümleri kaydedilmiştir. 15 dakika sonunda kristal üzerindeki fazla sıvı filtre kâğıdı ile uzaklaştırılarak 200 µl pH:6 değerindeki tampon çözeltisi eklenerek tekrar 15 dakika etkileşime bırakılmıştır. Frekans ölçümleri yine etkileşim süresince kaydedilmiştir. Frekans ölçümleri sonucunda elde edilen değerler ile kütle değişimleri hesaplanmıştır.

Karakterizasyon sonuçlarında görüldüğü gibi 5 g/l konsantrasyonundaki ksantan gam hidrojeli pH:5 değerinde pH:7 değerinde şiştiğinden daha az şişmektedir. Bu

nedenle insülin solüsyonu ile şişirilen hidrojelin pH:5 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileştirildiğinde büzüşmesi beklenmektedir. Karakterizasyon sonuçları ile ilgili daha ayrıntılı bilgiye sonuç tartışma bölümünden ulaşılabilir. Bu sonucu elde etmek için yapılan büzüşme deneyinde kristal üzerine hidrojelden bir miktar yerleştirilmiş ve frekans ölçümleri yapılmıştır. Ardından 200 µl insülin solüsyonu ile 15 dakika etkileştirilerek şişmeye bırakılmıştır ve bu esnada frekans değerleri kaydedilmiştir. 15 dakikalık sürenin ardından kristal yüzeyindeki fazla sıvı filtre kâğıdı ile uzaklaştırılmıştır. Hidrojel üzerine 200 µl pH:5 değerindeki tampon çözeltisi eklenmiş, 15 dakika boyunca etkileştirilerek büzüşmeye bırakılmıştır. Bu süre boyunca frekans değerleri kaydedilmiş ve hidrojel içerisinden salınan insülin miktarı kütle değişimi şeklinde hesaplanmıştır.

Tüm insülin salınım deneyleri üç kere tekrarlanmış ve bu üç deneyin sonuçlarının ortalaması alınmıştır.

3.5.2 10 g/l ksantan çözeltisi ile insülin salınım deneyleri

Önceden anlatılan şekilde hazırlanan 10 g/l derişimindeki ksantan çözeltisi sertleştirildikten bir miktar alınarak kristal üzerine yerleştirilmiş ve frekans ölçümleri alınmıştır. Ardından pH:7 değerindeki insülin solüsyonundan 200 µl hidrojel üzerine enjekte edilmiştir. 15 dakika boyunca şişme bırakılmış, bu süre boyunca frekans ölçümleri kaydedilmiştir. 15 dakikalık bu süre sonucunda kristal üzerindeki fazla sıvı filtre kâğıdı ile uzaklaştırılmıştır. Karakterizasyon işlemlerinin sonucunda 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin hangi pH değerlerinde ne kadar şiştiği belirlenmiştir.

Karakterizasyon sonuçlarına göre 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojeli pH:9 değerinde pH:7 değerinde şiştiğinden daha çok şişmekte, pH:6 değerinde ise pH:9 değerinde şiştiğinden daha çok içerisine su alarak şişmektedir. pH:5 değerinde ise hidrojel büzüşmektedir. Karakterizasyon sonuçları ile ilgili daha ayrıntılı bilgiye sonuç tartışma bölümünden ulaşabilirsiniz. Karakterizasyon sonuçlarından yola çıkarak kristaldeki şişmiş olan hidrojel üzerine 200 µl pH:9 değerindeki tampon

çözeltisi eklenmiştir. 15 dakika boyunca etkileştirilmeye bırakılmıştır ve etkileştirme süresince frekans ölçümleri kaydedilmiştir. 15 dakika sonunda kristal üzerindeki fazla sıvı filtre kâğıdı ile uzaklaştırılarak 200 µl pH:6 değerindeki tampon çözeltisi eklenerek tekrar 15 dakika etkileşime bırakılmıştır. Frekans ölçümleri yine etkileşim süresince kaydedilmiştir. Frekans ölçümleri sonucunda elde edilen değerler ile kütle değişimleri hesaplanmıştır.

Karakterizasyon sonuçlarında görüldüğü gibi 10 g/l konsantrasyonundaki ksantan gam hidrojel pH:5 değerinde büzüşmektedir. Bu nedenle insülin solüsyonu ile şişirilen hidrojel pH:5 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileştirildiğinde de büzüşmesi beklenmektedir. Karakterizasyon sonuçları ile ilgili daha ayrıntılı bilgiye sonuç tartışma bölümünden ulaşılabilir. Bu sonucu elde etmek için yapılan büzüşme deneyinde kristal üzerine hidrojelden bir miktar yerleştirilmiş ve frekans ölçümleri yapılmıştır. Ardından 200 µl insülin solüsyonu ile 15 dakika etkileştirilerek şişmeye bırakılmıştır ve bu esnada frekans değerleri kaydedilmiştir. 15 dakikalık sürenin ardından kristal yüzeyindeki fazla sıvı filtre kâğıdı ile uzaklaştırılmıştır. Hidrojel üzerine 200 µl pH:5 değerindeki tampon çözeltisi eklenmiş, 15 dakika boyunca etkileştirilerek büzüşmeye bırakılmıştır. Bu süre boyunca frekans değerleri kaydedilmiş ve hidrojel içerisinden salınan insülin miktarı kütle değişimi şeklinde hesaplanmıştır.

Tüm insülin salınım deneyleri üç kere tekrarlanmış ve bu üç deneyin sonuçlarının ortalaması alınmıştır.

3.5.2 20 g/l ksantan çözeltisi ile insülin salınım deneyleri

Önceden anlatılan şekilde hazırlanan 20 g/l derişimindeki ksantan çözeltisi sertleştirildikten bir miktar alınarak kristal üzerine yerleştirilmiş ve frekans ölçümleri alınmıştır. Ardından pH:7 değerindeki insülin solüsyonundan 200 µl hidrojel üzerine enjekte edilmiştir. 15 dakika boyunca şişme bırakılmış, bu süre boyunca frekans ölçümleri kaydedilmiştir. Karakterizasyon sonuçlarına göre 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojel pH:7 değerinde hızlı ve aşırı şekilde

büzüşmektedir. Karakterizasyon sonuçları ile ilgili daha ayrıntılı bilgiye sonuç tartışma bölümünde ulaşılabilir. İnsülin solüsyonu ile etkileştirildiğinde kaydedilen frekans ölçümleri sonucunda hidrojelın hızlı ve aşırı büzüşme davranışı kütle değişimi şeklinde hesaplanmıştır. 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelının pH:7 değerinde gösterdiği bu büzüşme davranışı nedeniyle insülin solüsyonunu içerisine alamamaktadır.

Tüm insülin salınım deneyleri üç kere tekrarlanmış ve bu üç deneyin sonuçlarının ortalaması alınmıştır.

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

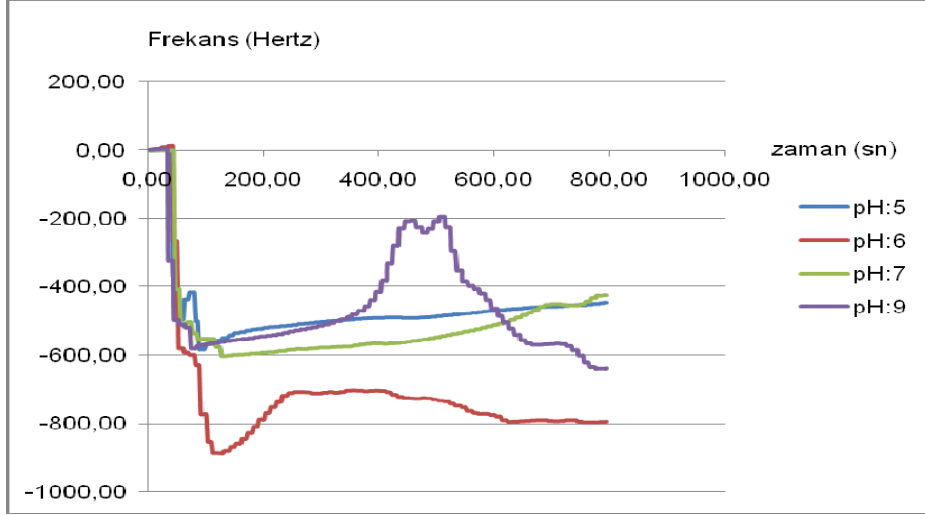
Bu bölümde, yapılan karakterizasyon çalışmalarının ve ilaç salınım deneylerinin sonuçları, frekans ölçümlerinden elde edilen grafiklerle ve de şişme-büzüşme davranışlarının fotoğrafları ile ayrıntılı şekilde anlatılmaktadır.

4.1 Karakterizasyon Çalışmaları

Bu bölümde, farklı sıcaklıklarda ve pH değerlerinde gerçekleştirilen ksantan gam hidrojelinin karakterizasyon çalışmaları pH ölçümleri ve sıcaklık ölçümleri başlıkları altında anlatılmaktadır.

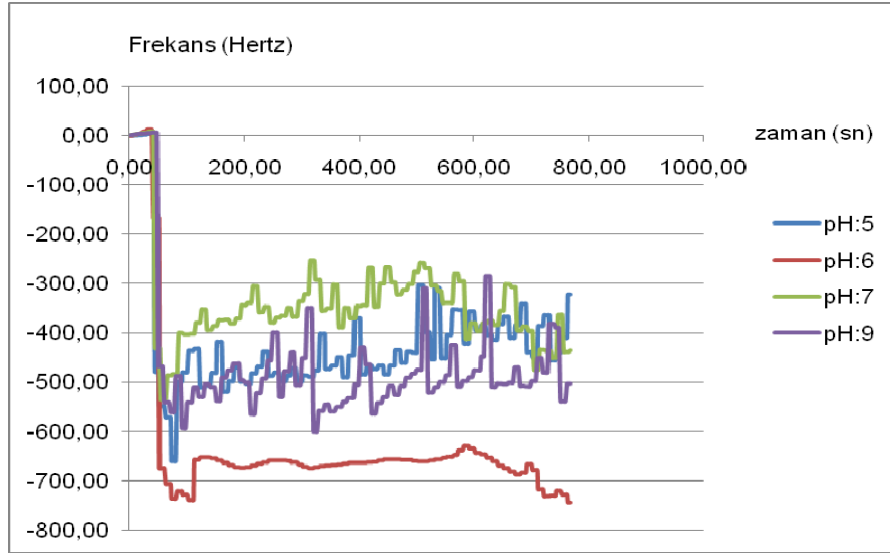
4.1.1 pH ölçümleri

5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin şişme ve büzüşme davranışlarının incelenmesi ama ile yapılan çalışmada ilk olarak kristal üzerine otomatik pipet ile bir miktar hidrojel koyularak kütlesi denklem (2.7)'deki şekilde hesaplanmıştır. Ardından üzerine 200 µl pH: 5 değerindeki tampon çözeltisi eklenerek 15 dakikalık etkileşim süresinden sonra frekans ölçümleri alınarak frekans ölçüm grafiğı oluşturulmuştur. Bu işlemler 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojeli için pH:6, pH:7 ve pH:9 değerindeki tampon çözeltileri için de tek tek uygulanmıştır. Elde edilen ölçüm frekans değışim grafiğı şekil 4.1'de gösterilmektedir.



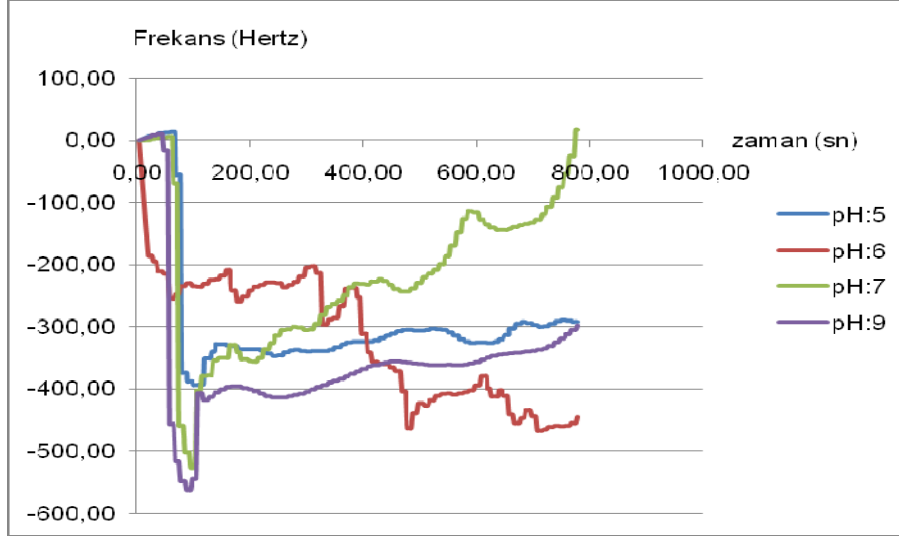
Şekil 4.1 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin pH:5, pH:6, pH:7 ve pH:9 değerindeki tampon çözeltilerindeki ölçüm frekans değişim grafiği.

Yukarıda anlatılan ölçüm işlemleri 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinde pH:5, pH:6, pH:7 ve pH:9 değerlerindeki tampon çözeltileri için aynı şekilde uygulanmış, frekans ölçümleri yapılmıştır. Elde edilen ölçüm frekans değişim grafiği şeklinde şekil 4.2’de gösterilmektedir.



Şekil 4.2 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin pH:5, pH:6, pH:7 ve pH:9 değerindeki tampon çözeltilerindeki ölçüm frekans değişim grafiği.

Yukarıda anlatılan ölçüm işlemleri 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinde pH:5, pH:6, pH:7 ve pH:9 değerlerindeki tampon çözeltileri için aynı şekilde uygulanmış, frekans ölçümleri yapılmıştır. Elde edilen ölçüm frekans değişim grafiği şeklinde şekil 4.3'de gösterilmektedir.



Şekil 4.3 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin pH:5, pH:6, pH:7 ve pH:9 değerindeki tampon çözeltilerindeki ölçüm frekans değişim grafiği.

4.1.1.1 Denge şişme oranının hesaplanması

Genel bilgiler kısmında anlatıldığı gibi QCM sistemlerinde kristal üzerindeki kütle değişimleri Sauerbery denklemi ile hesaplanabilmektedir.

Kullanılan alan kristalin alanı $5,067 \text{ cm}^2$ dir.

pH ölçümleri ile yapılan karakterizasyon işlemlerinden elde edilen frekans ölçümleri ile hidrojel kuru ağırlığını ve pH tampon çözeltileri ile etkileşimleri sonrasındaki ağırlıklarının hesaplanmasında denklem (2.7)'deki Sauerbery eşitliği kullanılarak elde edilen sonuçlar çizelge 4.1'da gösterilmektedir.

Hesaplanan kütle değerleri denklem (2.1)'de yerlerine koyularak her bir derişimdeki ksantan gam hidrojelinin farklı pH ortamlarındaki denge şişme oranları hesaplanmıştır. Hesaplanan kütle değerleri ve denge şişme oranları çizelge 4.1'de ve karşılık gelen frekans değişim çizelge 4.2'de gösterilmektedir.

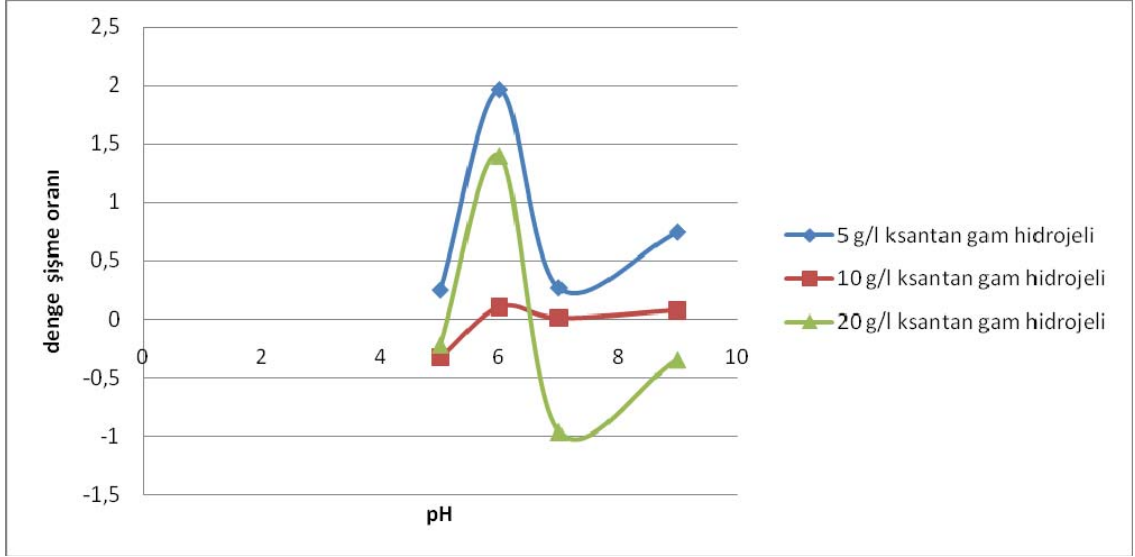
Çizelge 4.1 Farklı derişimlerdeki ksantan gam hidrojelinin farklı pH ortamlarındaki denge şişme oranı çizelgesi.

Ksantan hidrojelinin derişimi	Ortam pH'sı	Hidrojelin kuru ağırlığı	Hidrojelin etkileşim sonucundaki ağırlığı	Denge şişme oranı
5 g/l	pH:5	33,00x10 ⁻⁶ g	41,25x10 ⁻⁶ g	0,250
	pH:6	23,94x10 ⁻⁶ g	70,94x10 ⁻⁶ g	1,963
	pH:7	36,41x10 ⁻⁶ g	46,24x10 ⁻⁶ g	0,270
	pH:9	29,06x10 ⁻⁶ g	50,67x10 ⁻⁶ g	0,745
10 g/l	pH:5	42,96x10 ⁻⁶ g	28,88x10 ⁻⁶ g	-0,328
	pH:6	60,53x10 ⁻⁶ g	66,81x10 ⁻⁶ g	0,104
	pH:7	38,65x10 ⁻⁶ g	39,01x10 ⁻⁶ g	0,010
	pH:9	41,97x10 ⁻⁶ g	45,11x10 ⁻⁶ g	0,075
20 g/l	pH:5	33,54x10 ⁻⁶ g	26,18x10 ⁻⁶ g	-0,219
	pH:6	16,68x10 ⁻⁶ g	40,00x10 ⁻⁶ g	1,398
	pH:7	41,16x10 ⁻⁶ g	1,52x10 ⁻⁶ g	-0,963
	pH:9	40,98x10 ⁻⁶ g	26,72x10 ⁻⁶ g	-0,348

Çizelge 4.2: Farklı derişimlerdeki ksantan gam hidrojellerinin farklı pH verdiklerin cevapların neden olduğu frekans değişim değerleri çizelgesi.

Ksantan hidrojelinin derişimi	Ortam pH'sı	Hidrojinin kuru durumuna Δf	Hidrojinin etkileşim sonucundaki Δf
5 g/l	pH:5	-375,00 Hz	125,00 Hz
	pH:6	272,00 Hz	-275,00 Hz
	pH:7	83,00 Hz	55,00 Hz
	pH:9	-339,00 Hz	5,00 Hz
10 g/l	pH:5	-479,00 Hz	-322,00 Hz
	pH:6	-675,00 Hz	-745,00 Hz
	pH:7	-431,00 Hz	-435,00 Hz
	pH:9	-468,00 Hz	-503,00 Hz
20 g/l	pH:5	-374,00 Hz	-292,00 Hz
	pH:6	-186,00 Hz	-446,00 Hz
	pH:7	-459,00 Hz	17,00 Hz
	pH:9	-457,00 Hz	-298,00 Hz

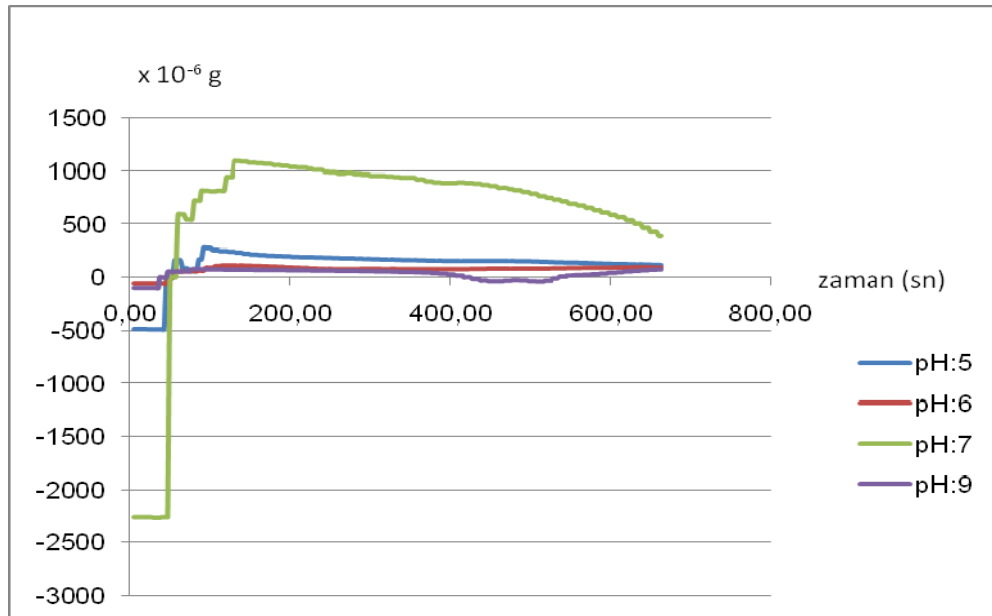
Farklı derişimlerde hazırlanmış olan ksantan gam hidrojelinin çalışılan pH değerlerindeki gösterdikleri şişme ve büzüşme davranışlarının sonucunda hesaplanan denge şişme oran grafiği şekil 4.4'de yer almaktadır.



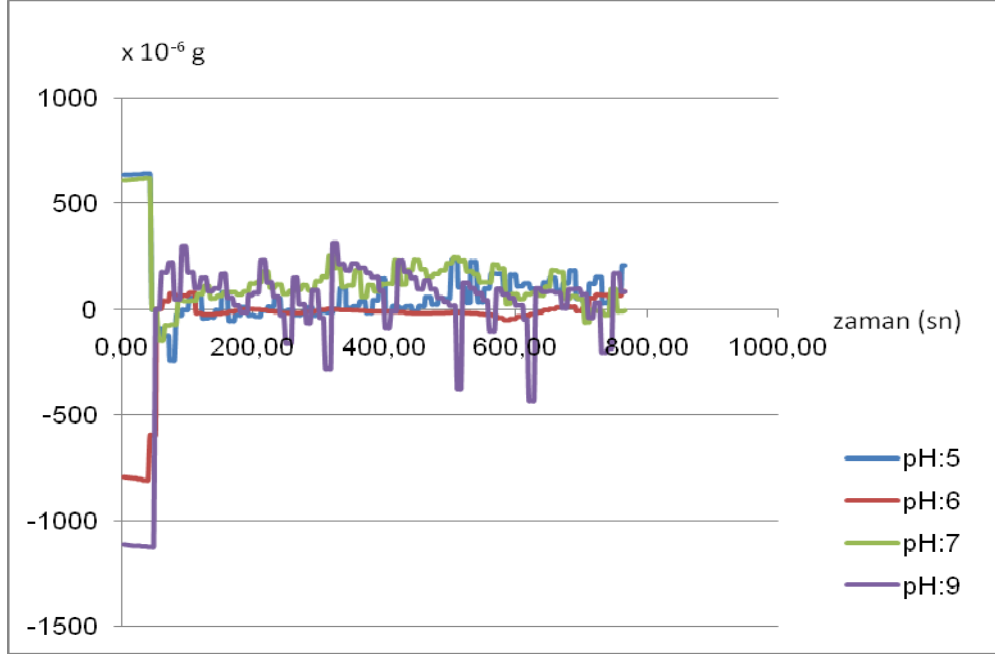
Şekil 4.4 Farklı derişimlerdeki ksantan gam hidrojelinin farklı pH değerlerindeki denge şişme oranları.

4.1.1.2 Su tutma miktarının hesaplanması

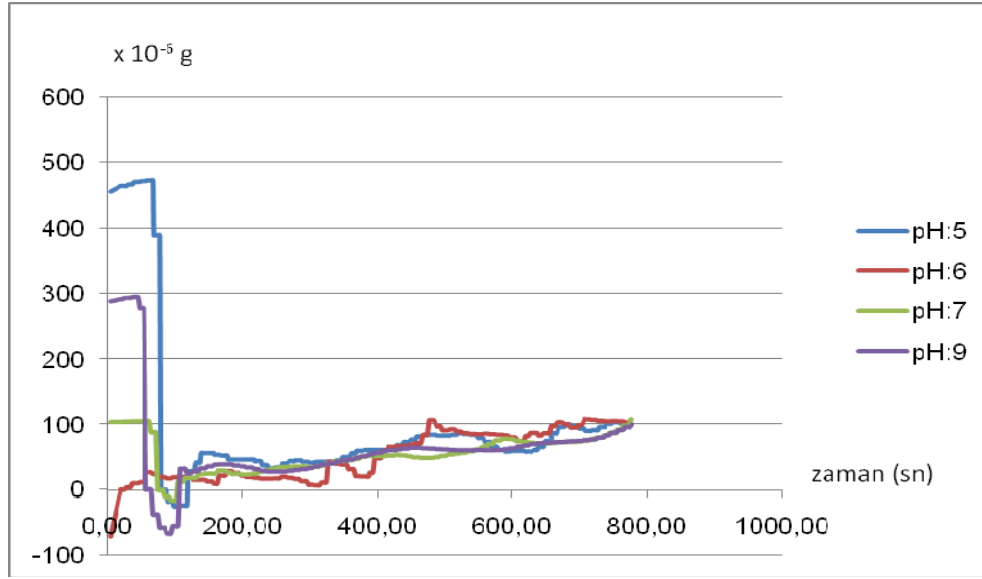
Aynı şekilde hesaplanan kütle değerleri denklem (2.2)'de yerine koyularak her bir derişimdeki hidrojelinin farklı pH değerlerindeki su tutma miktarları hesaplanmıştır. Su tutma miktarının zaman göre grafikleri şekil 4.5'de gösterilmektedir.



(a)



(b)



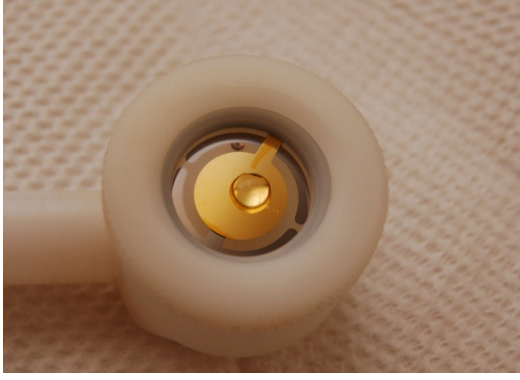
(c)

Şekil 4.5 (a) 5 g/l derişimdeki ksantan gam hidrojelinin pH:5, pH:6, pH:7 ve pH:9 değerlerindeki su tutma miktarı grafiği. **(b)** 10 g/l derişimdeki ksantan gam hidrojelinin pH:5, pH:6, pH:7 ve pH:9 değerlerindeki su tutma miktarı grafiği. **(c)** 20 g/l derişimdeki ksantan gam hidrojelinin pH:5, pH:6, pH:7 ve pH:9 değerlerindeki su tutma miktarı grafiği.

Grafiklerden ve kütle hesaplamalarından yola çıkılarak ksantan gam hidrojelinin şişme ve büzüşme davranışları şu şekilde özetlenebilir:

- 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojeli pH:6 değerinde en fazla miktarda sıvıyı içerisine alarak şişmektedir. Bu sıralamayı pH:9, pH:7 ve pH:5 değerleri takip etmektedir.
- 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojeli çalışılan pH değerlerinin hiçbirinde büzüşmemektedir. Çalışılan tüm pH değerlerinde şişme davranışı göstermektedir.
- 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojeli pH:6 değerinde en fazla miktarda sıvıyı içerisine alarak şişmektedir. Bu sıralamayı pH:9 ve pH:7 değerleri izlemektedir.
- 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojeli pH:5 değerinde bir miktarda sıvı dışarı salarak büzüşmektedir.
- 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojeli pH:6 değerinde en fazla sıvıyı içerisine alarak şişmektedir.
- 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojeli pH:7 değerinde en fazla sıvıyı dışarı salarak büzüşmektedir. Bu sıralamayı pH:5 ve pH:9 değerleri izlemektedir.

Farklı derişimlerdeki ksantan gam hidrojelinin farklı pH değerlerindeki şişme ve büzüşme davranışları aynı zamanda deney esnasında çekilen fotoğraflarla da gözlemlenebilmektedir (Şekil 4.6, 4.7, 4.8).

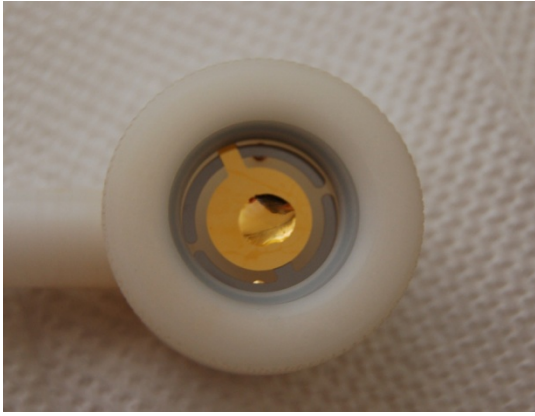


(a)

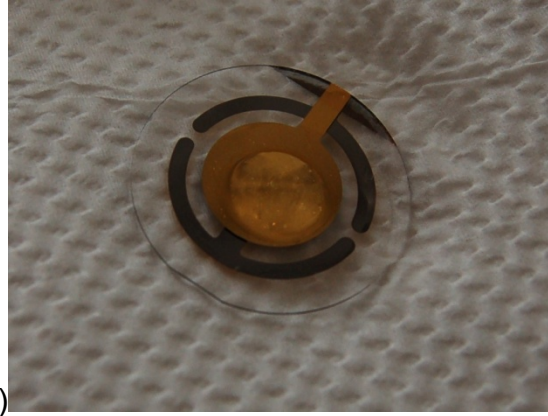


(b)

Şekil 4.6 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (a) pH:5 değerindeki tampon çöztisi ile etkileşiminden önceki, (b) pH:5 değerindeki tampon çöztisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.

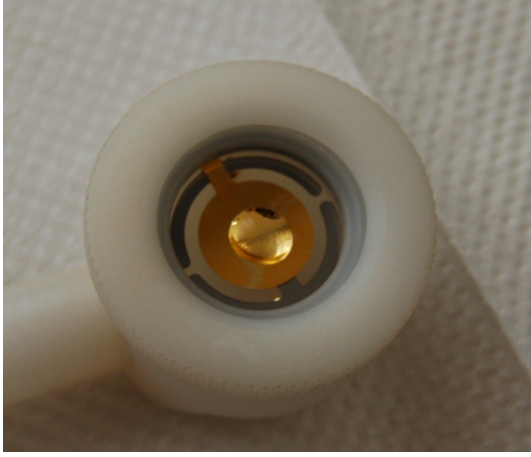


(c)



(d)

Şekil 4.6 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (c) pH:6 değerindeki tampon çöztisi ile etkileşiminden önceki, (d) pH.6 değerindeki tampon çöztisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.

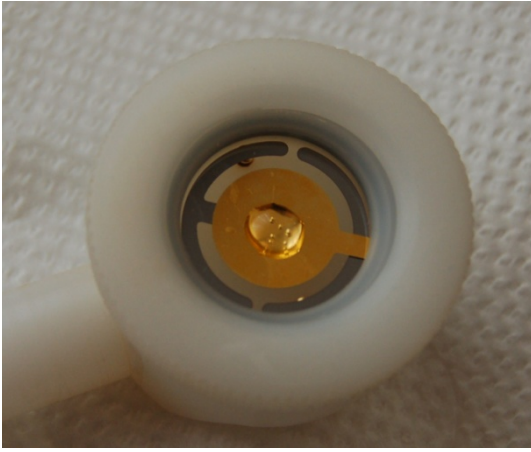


(e)

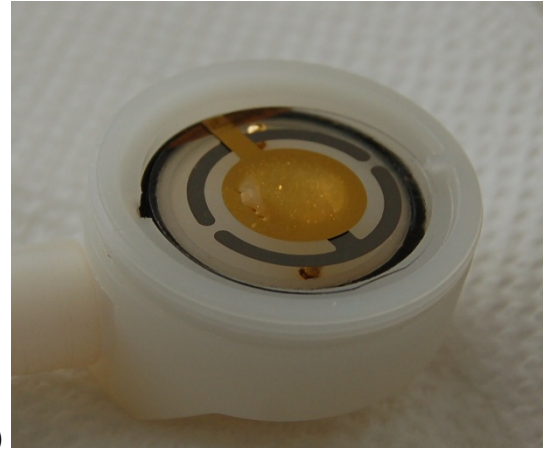


(f)

Şekil 4.6 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; **(e)** pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden önceki, **(f)** pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.



(g)

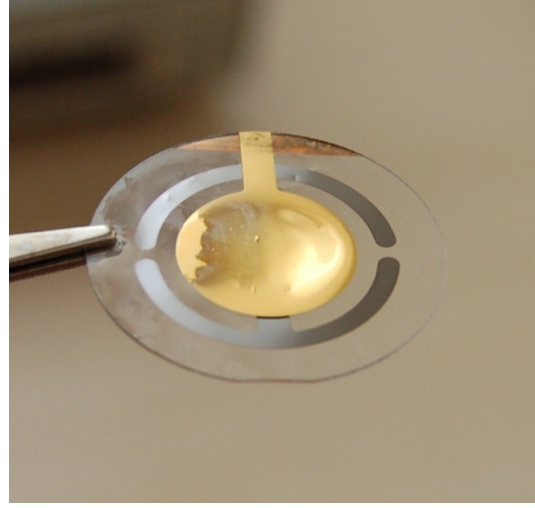


(h)

Şekil 4.6 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin **(g)** pH:9 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden önceki, **(h)** pH:9 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.

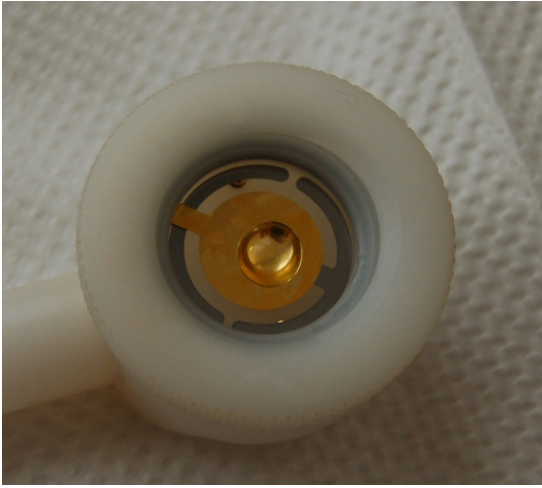


(a)



(b)

Şekil 4.7 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; **(a)** pH:5 değerindeki tampon çözeltilisi ile etkileşiminden önceki, **(b)** pH:5 değerindeki tampon çözeltilisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.

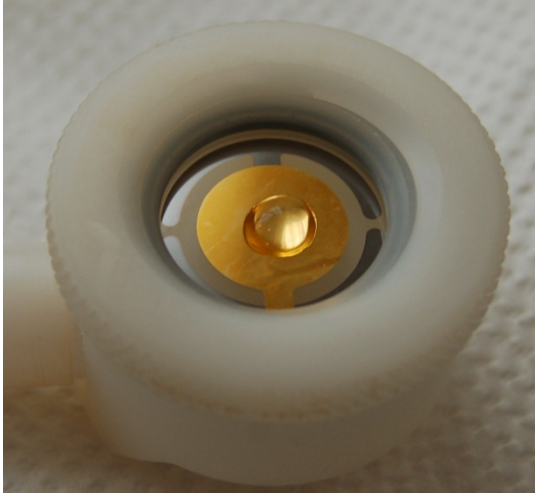


(c)

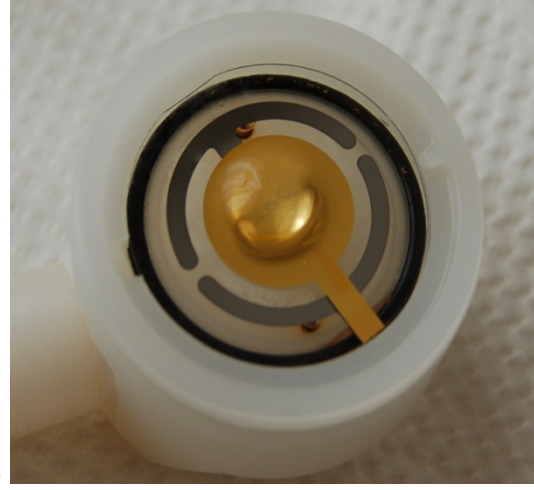


(d)

Şekil 4.7 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; **(c)** pH:6 değerindeki tampon çözeltilisi ile etkileşiminden önceki, **(d)** pH:6 değerindeki tampon çözeltilisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.

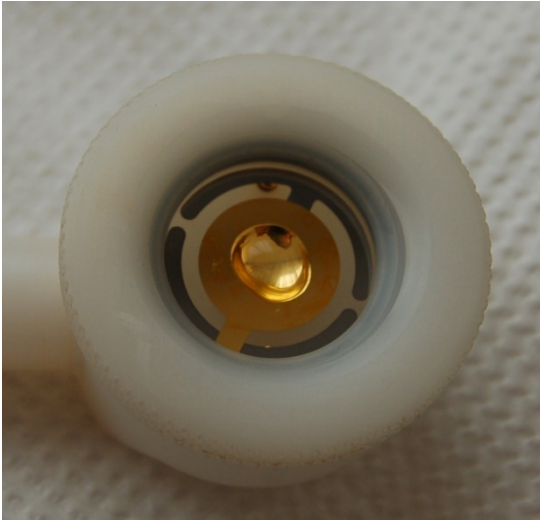


(e)

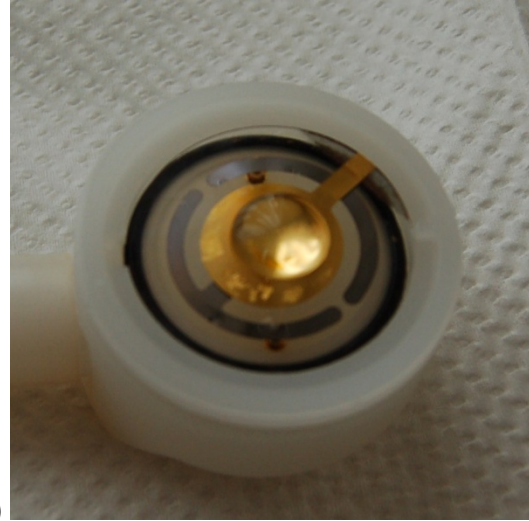


(f)

Şekil 4.7 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; **(e)** pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden önceki, **(f)** pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.



(g)



(h)

Şekil 4.7 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; **(h)** pH:9 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.



(a)

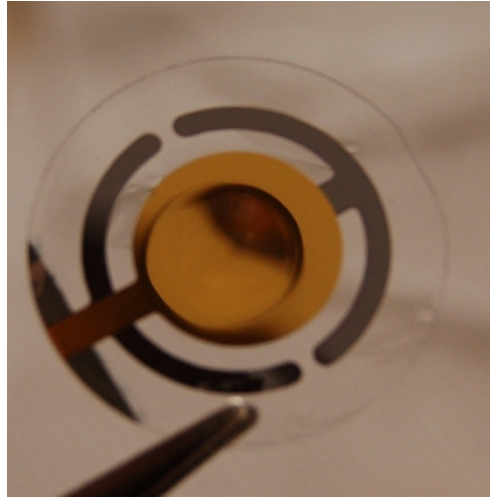


(b)

Şekil 4.8 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; **(a)** pH:5 değerindeki tampon çöztisi ile etkileşiminden önceki, **(b)** pH:5 değerindeki tampon çöztisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.

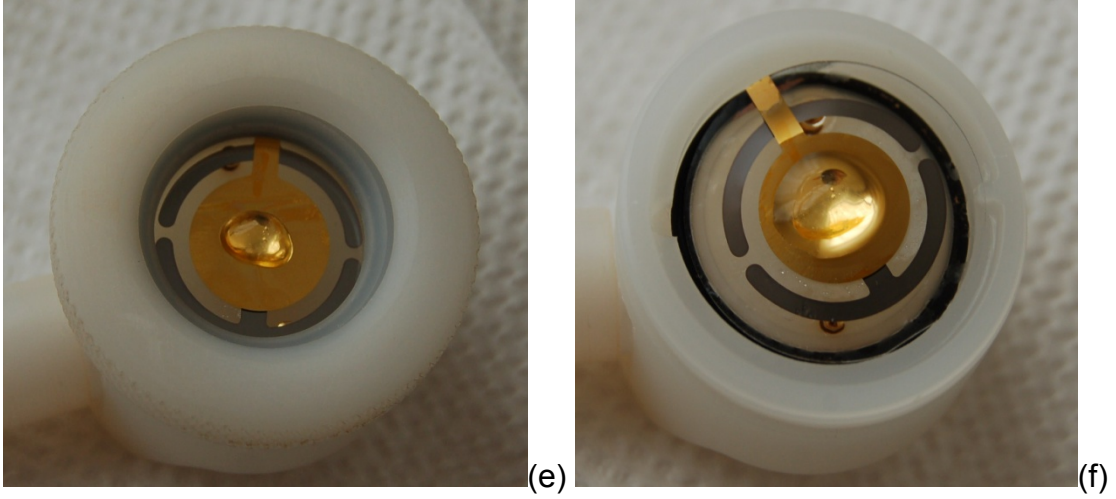


(c)

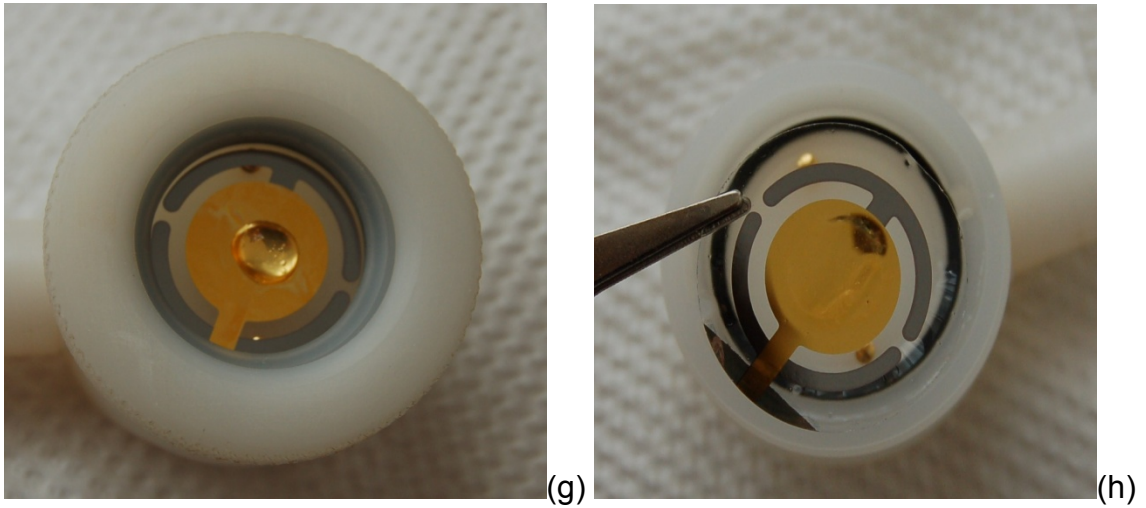


(d)

Şekil 4.8 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; **(c)** pH:6 değerindeki tampon çöztisi ile etkileşiminden önceki, **(d)** pH:6 değerindeki tampon çöztisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.



Şekil 4.8 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; **(e)** pH:7 değerindeki tampon çöztisi ile etkileşiminden önceki, **(f)** pH:7 değerindeki tampon çöztisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.

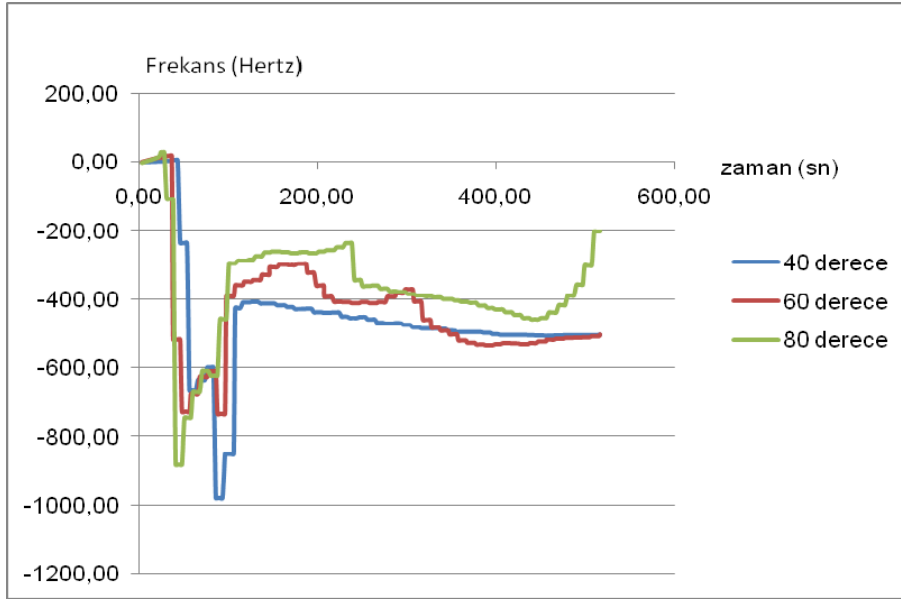


Şekil 4.8 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; **(g)** pH:9 değerindeki tampon çöztisi ile etkileşiminden önceki, **(h)** pH:9 değerindeki tampon çöztisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.

4.1.2 Sıcaklık ölçümleri

5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin şişme ve büzüşme davranışlarının incelenmesi ama ile yapılan çalışmada ilk olarak kristal üzerine otomatik pipet ile

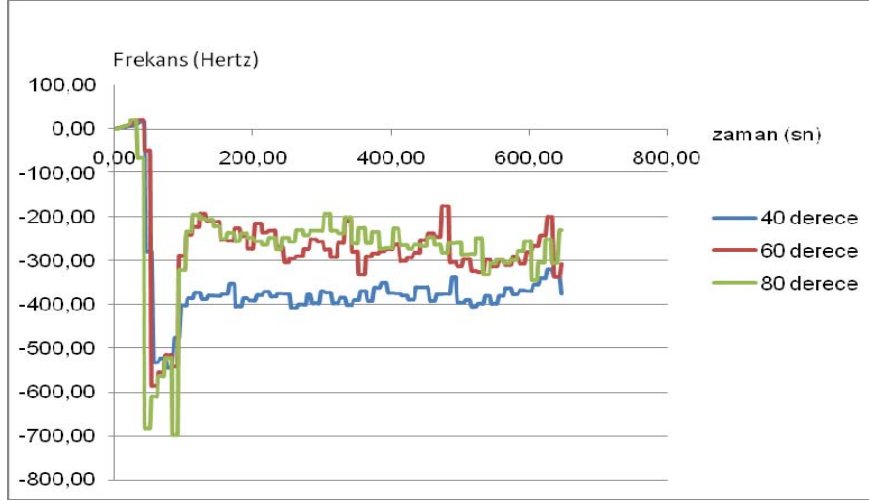
bir miktar hidrojel koyularak kütlesi denklem (2.7)'deki şekilde hesaplanmıştır. Ardından üzerine 200 µl pH: 7 değerindeki tampon çözeltisi eklenerek 40°C'deki etüv içerisinde 15 dakikalık etkileşim süresinden sonra frekans ölçümleri alınarak frekans ölçüm grafiği oluşturulmuştur. Tüm sıcaklık ölçümleri sabit pH değerinde pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile gerçekleştirilmiştir. Bu işlemler 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojel için 60°C ve 80°C sıcaklık değerleri için de tek tek uygulanmıştır. Elde edilen ölçüm frekans değişim grafiği şekil 4.9'da gösterilmektedir.



Şekil 4.9 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin 40°C, 60°C ve 80°C sıcaklık değerlerindeki ölçüm frekans değişim grafiği.

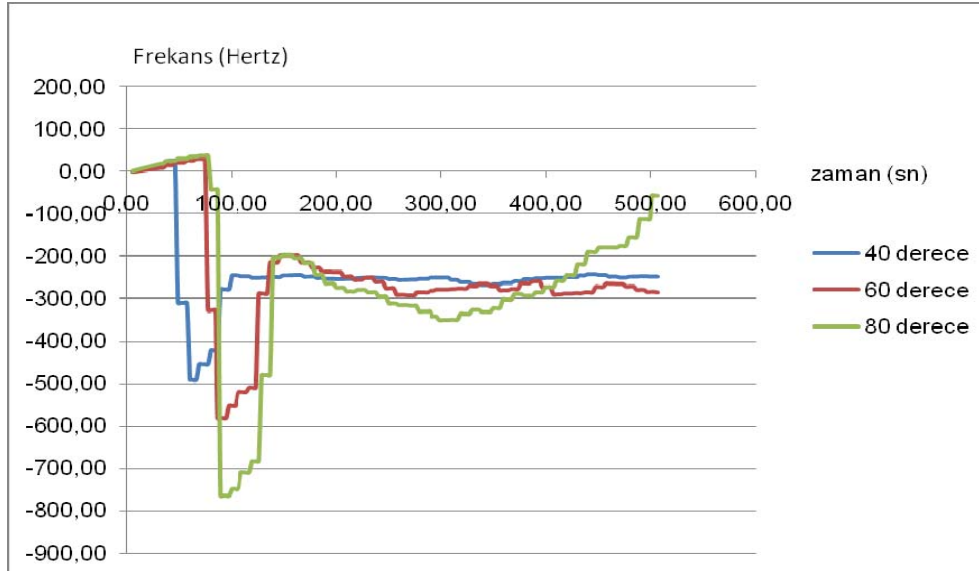
Yukarıda anlatılan ölçüm işlemleri 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinde 40°C, 60°C ve 80°C sıcaklık değerleri için aynı şekilde uygulanmış, frekans ölçümleri yapılmıştır.

Elde edilen ölçüm frekans değişim grafiği şeklinde şekil 4.10'da gösterilmektedir.



Şekil 4.10 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin v sıcaklık değerlerindeki ölçüm frekans değişim grafiği.

Yukarıda anlatılan ölçüm işlemleri 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojeli içinde 40°C, 60°C ve 80°C sıcaklık değerleri için aynı şekilde uygulanmış, frekans ölçümleri yapılmıştır. Elde edilen ölçüm frekans değişim grafiği şeklinde şekil 4.11'de gösterilmektedir.



Şekil 4.11 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin 40°C, 60°C ve 80°C sıcaklık değerlerindeki ölçüm frekans değişim grafiği.

4.1.2.1 Denge şişme oranının hesaplanması

Kütle hesaplamaları yukarıda pH ölçümlerinde anlatıldığı şekilde sıcaklık ölçümleri için de hesaplanmıştır.

Sıcaklık ölçümleri ile yapılan karakterizasyon işlemlerinden elde edilen frekans ölçümleri ile hidrojelın kuru ağırlığını ve farklı sıcaklıklarda pH:7 tampon çözeltisi ile etkileşimleri sonrasındaki ağırlıklarının hesaplanmasında denklem (2.7)'deki Sauerbery eşitliğini kullanılarak elde edilen sonuçlar çizelge 4.3'de gösterilmektedir.

Hesaplanan kütle değerleri denklem (2.1)'de yerlerine koyularak her bir derişimdeki ksantan gam hidrojelinin farklı sıcaklığa sahip ortamlardaki denge şişme oranları hesaplanmıştır. Hesaplanan kütle değerleri ve denge şişme oranları çizelge 4.3'de ve kütle değerlerine karşılık gelen frekans değişim değerleri çizelge 4.4'de gösterilmektedir.

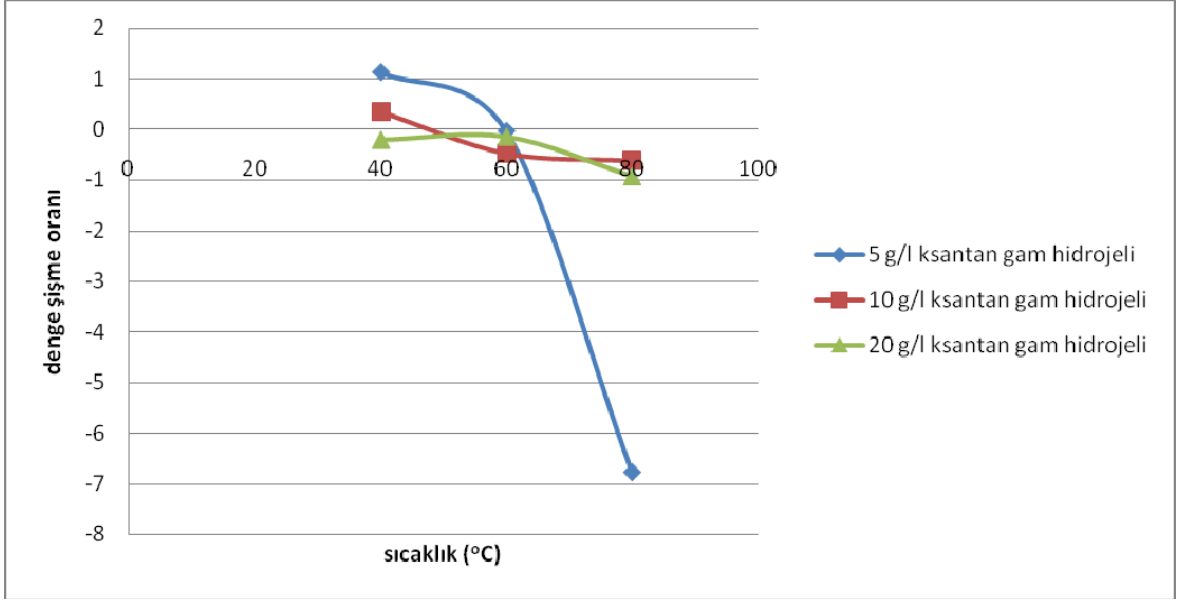
Çizelge 4.3 Farklı derişimlerdeki ksantan gam hidrojelinin farklı sıcaklık ortamlarındaki denge şişme oranı çizelgesi.

Ksantan hidrojelinin derişimi	Ortamin sıcaklığı	Hidrojelın kuru ağırlığı	Hidrojelın etkileşim sonucundaki ağırlığı	Denge şişme oranı
5 g/l	40°C	21,16 x 10 ⁻⁶ g	45,11 x 10 ⁻⁶ g	1,132
	60°C	46,45 x 10 ⁻⁶ g	45,11 x 10 ⁻⁶ g	-0,029
	80°C	79,01 x 10 ⁻⁶ g	18,03 x 10 ⁻⁶ g	-6,768
10 g/l	40°C	25,02 x 10 ⁻⁶ g	33,72 x 10 ⁻⁶ g	0,348
	60°C	52,46 x 10 ⁻⁶ g	27,62 x 10 ⁻⁶ g	-0,474
	80°C	54,71 x 10 ⁻⁶ g	20,72 x 10 ⁻⁶ g	-0,621
20 g/l	40°C	27,80 x 10 ⁻⁶ g	22,24 x 10 ⁻⁶ g	-0,200
	60°C	29,33 x 10 ⁻⁶ g	25,35 x 10 ⁻⁶ g	-0,136
	80°C	68,61 x 10 ⁻⁶ g	5,29 x 10 ⁻⁶ g	-0,923

Çizelge 4.4 Farklı derişimlerdeki ksantan gam hidrojelinin farklı sıcaklık ortamlarındaki frekans değişim değerleri çizelgesi.

Ksantan hidrojelinin derişimi	Ortamın sıcaklığı	Hidrojelini kuru durumuna Δf	Hidrojelini etkileşim sonucundaki Δf
5 g/l	40°C	-236,00 Hz	-503,00 Hz
	60°C	-518,00 Hz	-503,00 Hz
	80°C	-881,00 Hz	-201,00 Hz
10 g/l	40°C	-279,00 Hz	-376,00 Hz
	60°C	-585,00 Hz	-308,00 Hz
	80°C	-610,00 Hz	-231,00 Hz
20 g/l	40°C	-310,00 Hz	-248,00 Hz
	60°C	-327,00 Hz	-285,00 Hz
	80°C	-765,00 Hz	-59,00 Hz

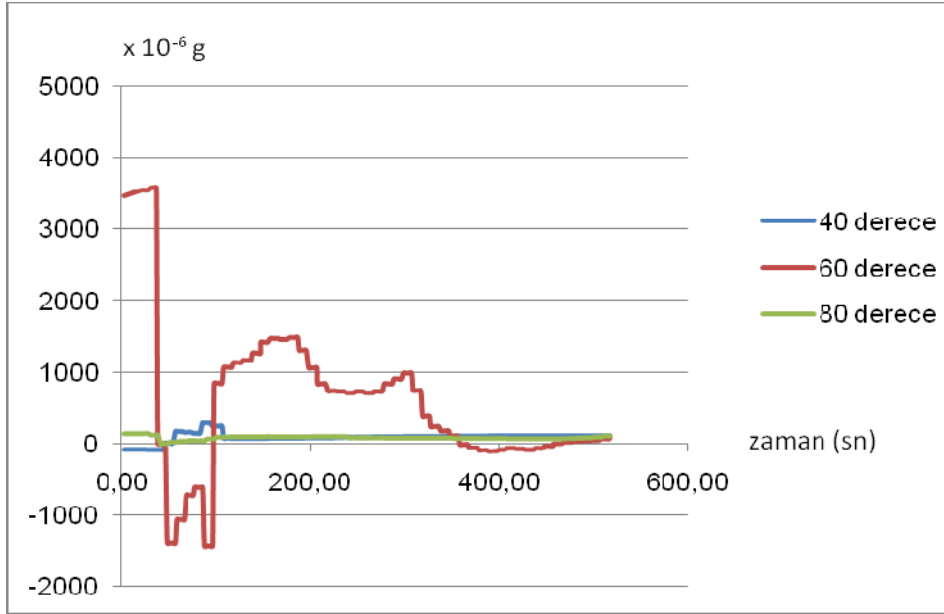
Farklı derişimlerde hazırlanmış olan ksantan gam hidrojelinin çalışılan sıcaklık değerlerindeki gösterdikleri şişme ve büzüşme davranışlarının sonucunda hesaplanan denge şişme oran grafiği şekil 4.12'de yer almaktadır.



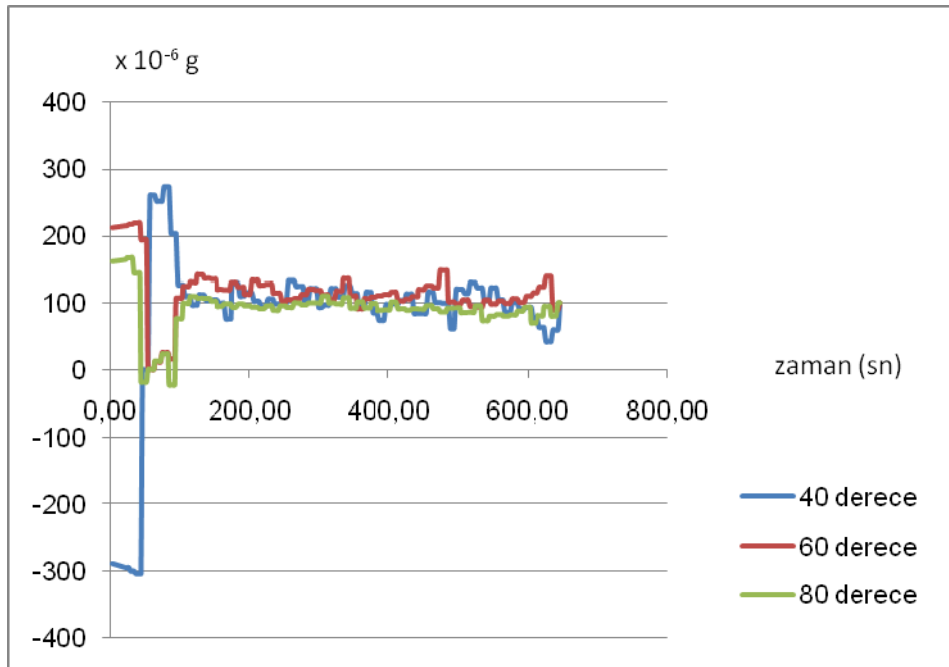
Şekil 4.12 Farklı derişimlerdeki ksantan gam hidrojelinin farklı sıcaklık değerlerindeki denge şişme oranları.

4.1.2.2 Su tutma miktarının hesaplanması

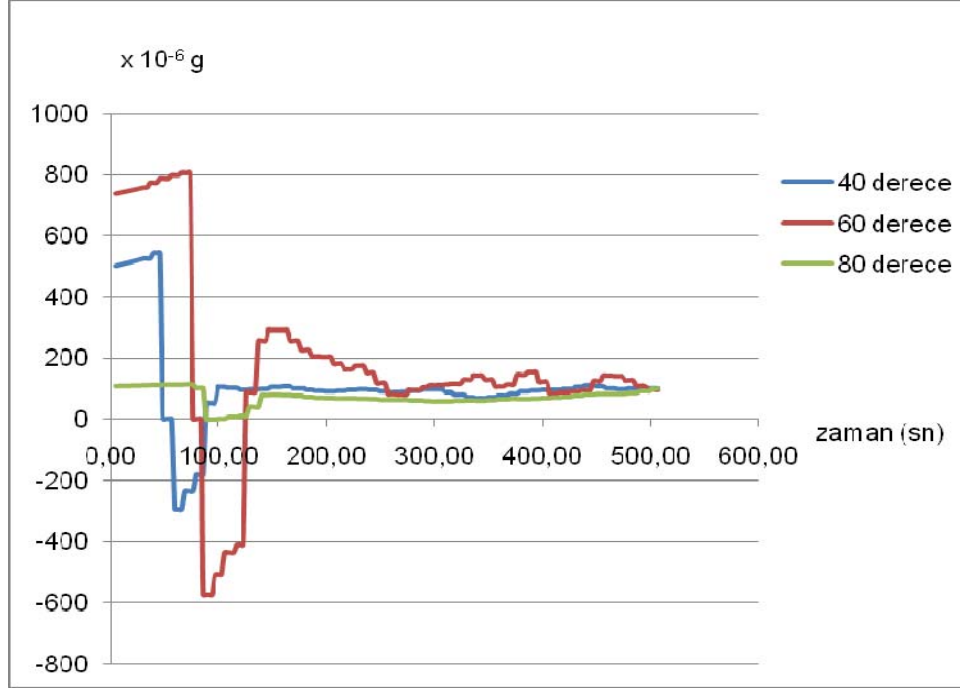
Aynı şekilde hesaplanan kütle değerleri denklem (2.2)'de yerine koyularak her bir derişimdeki hidrojel için farklı sıcaklık değerlerindeki su tutma miktarları hesaplanmıştır. Su tutma miktarının zaman göre grafiğı şekil 4.13'de gösterilmektedir.



(a)



(b)



(c)

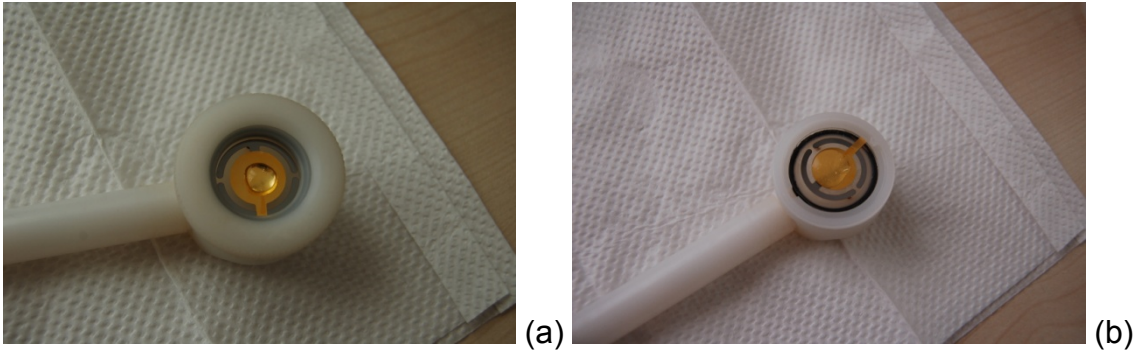
Şekil 4.13 (a) 5 g/l derişimdeki ksantan gam hidrojelinin 40°C, 60°C ve 80°C sıcaklık değerlerindeki su tutma miktarı grafiği. **(b)** 10 g/l derişimdeki ksantan gam hidrojelinin 40°C, 60°C ve 80°C sıcaklık değerlerindeki su tutma miktarı grafiği. **(c)** 20 g/l derişimdeki ksantan gam hidrojelinin 40°C, 60°C ve 80°C sıcaklık değerlerindeki su tutma miktarı grafiği.

Grafiklerden ve kütle hesaplamalarından yola çıkılarak ksantan gam hidrojelinin şişme ve büzüşme davranışları şu şekilde özetlenebilir:

- 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojeli 40°C sıcaklıkta sıvıyı içersine alarak şişmektedir. Şişme davranışı gösterdiği tek sıcaklık değeri budur.
- 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojeli 80°C sıcaklıkta en fazla miktarda sıvıyı dışarı salarak büzüşmektedir. Bu sıralamayı 60°C sıcaklık değeri takip etmektedir.

- 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelini 40°C sıcaklıkta sıvıyı içerisine alarak Şişmektedir. Bu sıralamayı Şişme davranışı gösterdiği tek sıcaklık değeri budur.
- 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelini 60°C ve 80°C sıcaklıklarında birbirlerine çok yakın bir büzüşme davranışı göstermektedir. Ancak 80°C sıcaklıkta hidrojel içerisine daha fazla sıvı almaktadır.
- 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelini çalışılan tüm sıcaklık değerlerinde büzüşme davranışı göstermektedir. 40°C ve 60°C sıcaklıklarında dıőarıya saldığı sıvı miktarı birbirine çok yakındır. Ancak 80°C sıcaklığında dıőarıya çok fazla miktarda sıvı salarak fazla bir büzüşme davranışı göstermektedir.

Farklı derişimlerdeki ksantan gam hidrojelinin farklı sıcaklık değerlerindeki Şişme ve büzüşme davranışları aynı zamanda deney esnasında çekilen fotoğraflarla da gözlemlenebilmektedir (Şekil 4.14, 4.15, 4.16).



Şekil 4.14 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; **(a)** 40°C sıcaklığında pH:7 tampon çözeltisi ile etkileşiminden önceki, **(b)** 40°C sıcaklığında pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden sonraki grntő.



(c)

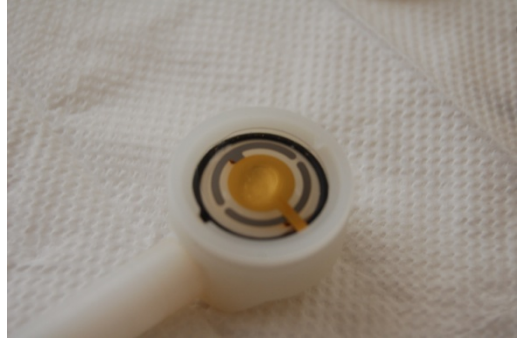


(d)

Şekil 4.14 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (c) 60°C sıcaklığında pH:7 tampon çözeltisi ile etkileşiminden önceki, (d) 60°C sıcaklığında pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.



(e)

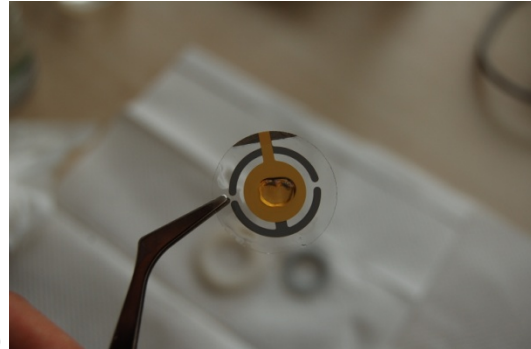


(f)

Şekil 4.14 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (e) 80°C sıcaklığında pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden önceki, (f) 80°C sıcaklığında pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.



(a)



(b)

Şekil 4.15 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (a) 40°C sıcaklığında pH:7 tampon çözeltisi ile etkileşiminden önceki, (b) 40°C sıcaklığında pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.



(c)



(d)

Şekil 4.15 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (c) 60°C sıcaklığında pH:7 tampon çözeltisi ile etkileşiminden önceki, (d) 60°C sıcaklığında pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.

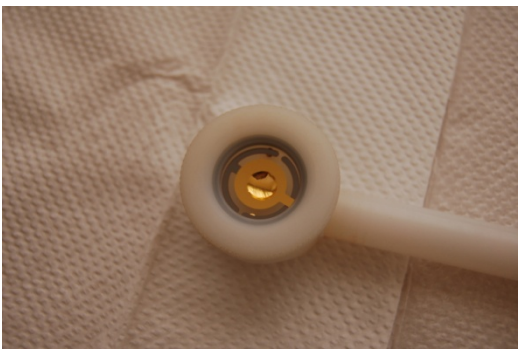


(e)



(f)

Şekil 4.15 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (e) 80°C sıcaklığında pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden önceki, (f) 80°C sıcaklığında pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.



(a)

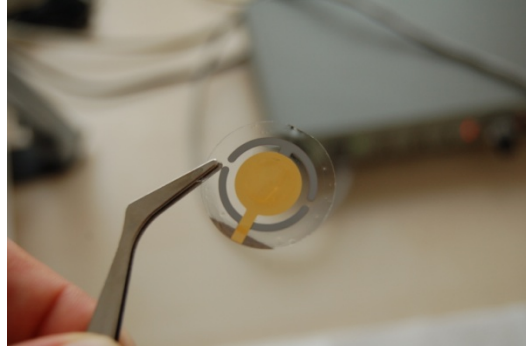


(b)

Şekil 4.16 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (a) 40°C sıcaklığında pH:7 tampon çözeltisi ile etkileşiminden önceki, (b) 40°C sıcaklığında pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.

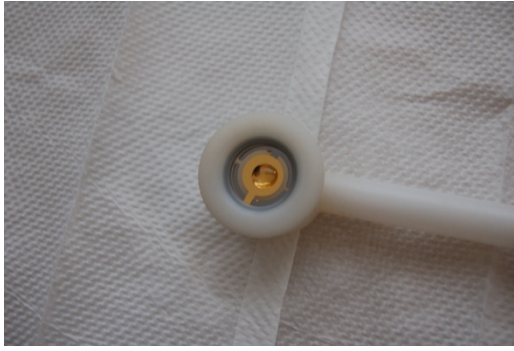


(c)

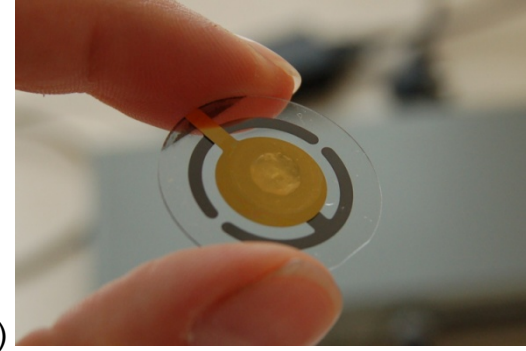


(d)

Şekil 4.16 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (c) 60°C sıcaklığında pH:7 tampon çözeltisi ile etkileşiminden önceki, (d) 60°C sıcaklığında pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.



(e)



(f)

Şekil 4.16 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin; (e) 80°C sıcaklığında pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden önceki, (f) 80°C sıcaklığında pH:7 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileşiminden sonraki görüntüsü.

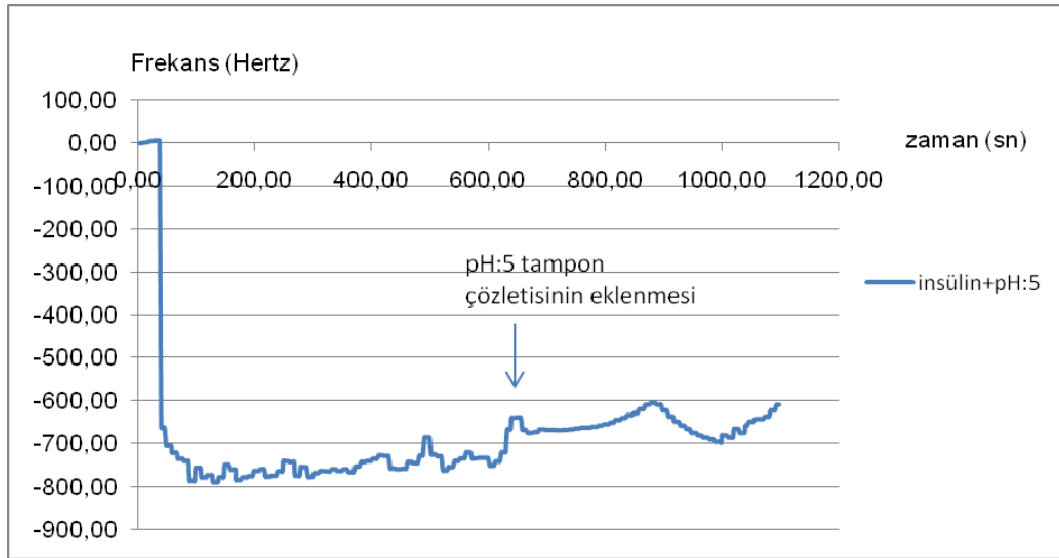
4.2 İlaç Salınım Deneyleri

İlaç salınım deneylerinde kullanılan insülin çözeltisi, pH:7 değerinde 100IU/ml insülin oranına sahip bir solüsyondur. İnsülinin yüksek sıcaklıklarda kimyasal yapısının bozulmasından dolayı ilaç salınım deneyleri sadece pH değerlerinin değiştirildiği sabit sıcaklıkta (oda sıcaklığı) gerçekleştirilmiştir.

İlk olarak 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin şişme ve büzüşme davranışlarının incelenmesi ama ile yapılan karakterizasyon çalışmalarının

sonucundan yola çıkarak hidrojel pH:7 değerindeki insülin solüsyonu ile etkileştirilmesi sonucunda şişerek içerisine bir miktar insülin alacağı tahmin edilmiştir. İnsülin solüsyonunu içerisine alarak şişen hidrojel pH:5 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileştirilmesi sonucunda büzülerek içerisindeki insülin solüsyonunu dışarı salacağı tahmin edilmiştir.

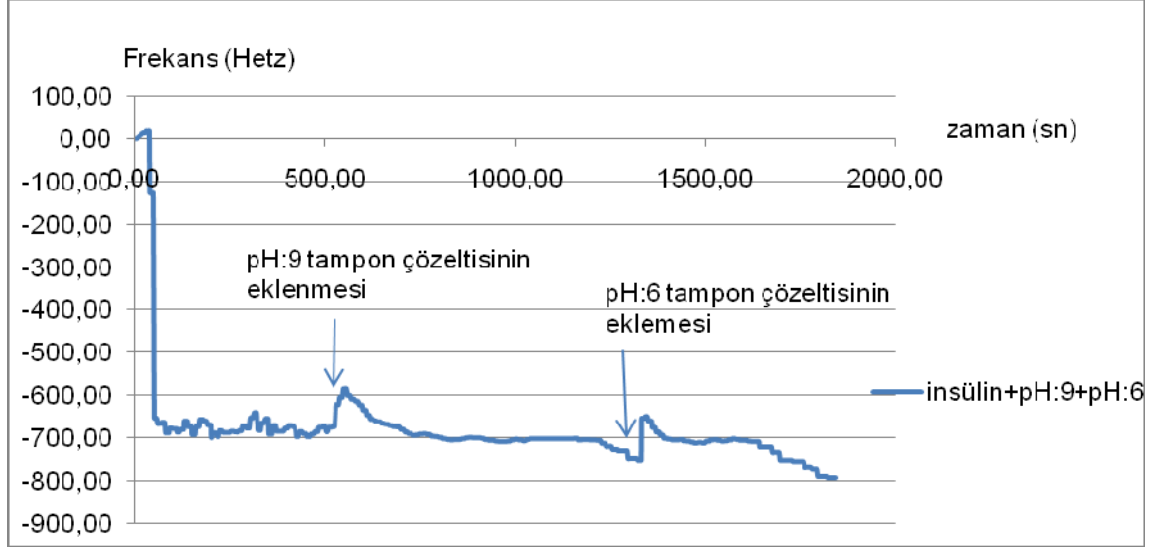
Beklenen bu sonuçlar doğrultusunda hazırlanan deney prosedürünün uygulanması sonucunda frekans değerleri kaydedilmiştir. Frekans değerleri denklem (2.7)'de yerine koyularak hidrojel kütlesi, hidrojel içerisine alınan insülin miktarı ile salınan insülin miktarı hesaplanmıştır. 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin insülin salınımı frekans değişim grafiği şekil 4.17'da gösterilmektedir.



Şekil 4.17 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin pH:7 değerindeki insülin solüsyonu ile şişirilerek pH:5 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileştirilmesi sonucunda meydana gelen insülin salınımı frekans değişim grafiği.

5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin pH:7 değerindeki insülin solüsyonu ile etkileştirilmesinin ardından pH:9 ve pH:6 değerindeki tampon çözeltileri ile tekrar etkileştirilerek şişme davranışlarının tekrarlandığı gözlemlenmiştir. Frekans değerleri denklem (2.7)'de yerlerine koyularak hidrojel kütlesi, içerisine aldığı

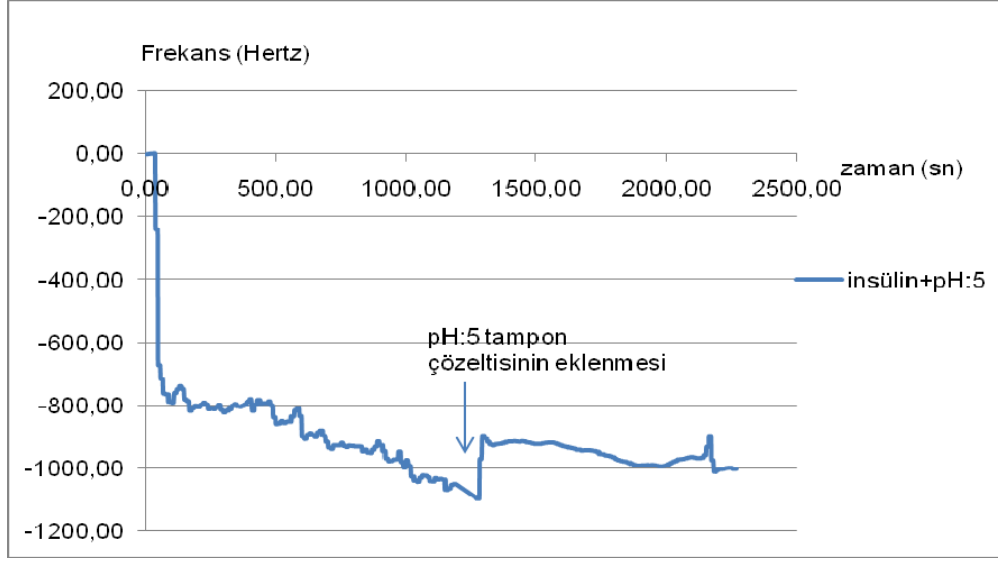
insülin miktarı ile diğer pH değerlerindeki şişme miktarları hesaplanmıştır. Elde edilen frekans değişim grafikleri şekil 4.18'de gösterilmektedir.



Şekil 4.18 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin pH:7 değerindeki insülin solüsyonu ile şişirilerek pH:9 ve pH:6 değerlerindeki frekans değişim grafiği.

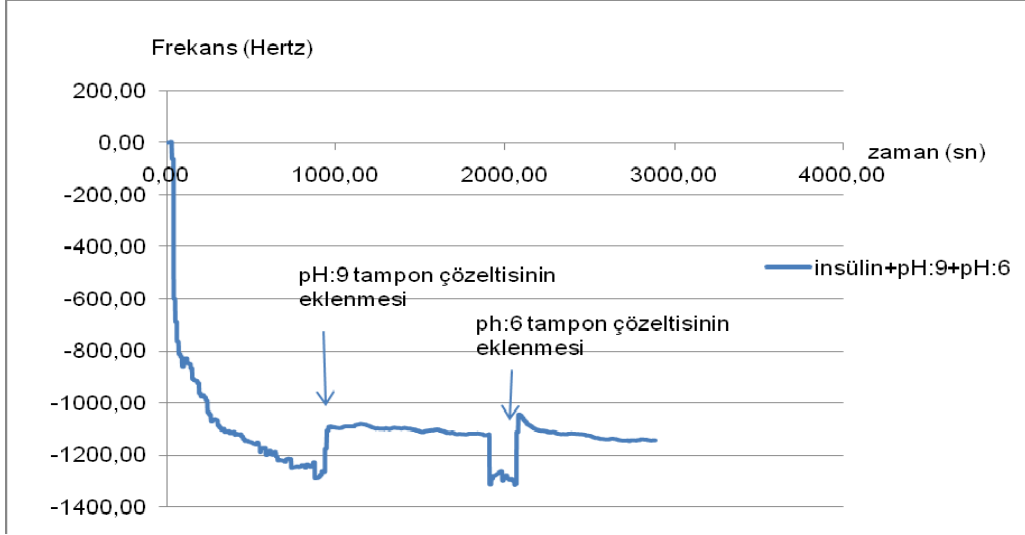
10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin şişme ve büzüşme davranışlarının incelenmesi ama ile yapılan karakterizasyon çalışmalarının sonucundan yola çıkarak hidrojel pH:7 değerindeki insülin solüsyonu ile etkileştirilmesi sonucunda şişerek içerisine bir miktar insülin alacağı tahmin edilmiştir. İnsülin solüsyonunu içerisine alarak şişen hidrojel pH:5 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileştirilmesi sonucunda büzüşerek içerisindeki insülin solüsyonunu dışarı salacağı tahmin edilmiştir.

Beklenen bu sonuçlar doğrultusunda hazırlanan deney prosedürünün uygulanması sonucunda frekans değerleri kaydedilmiştir. Frekans değerleri denklem (2.7)'de yerine koyularak hidrojel kütlesi, hidrojel içerisine alınan insülin miktarı ile salınan insülin miktarı hesaplanmıştır. 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin insülin salınımı frekans değişim grafikleri şekil 4.19'de gösterilmektedir.



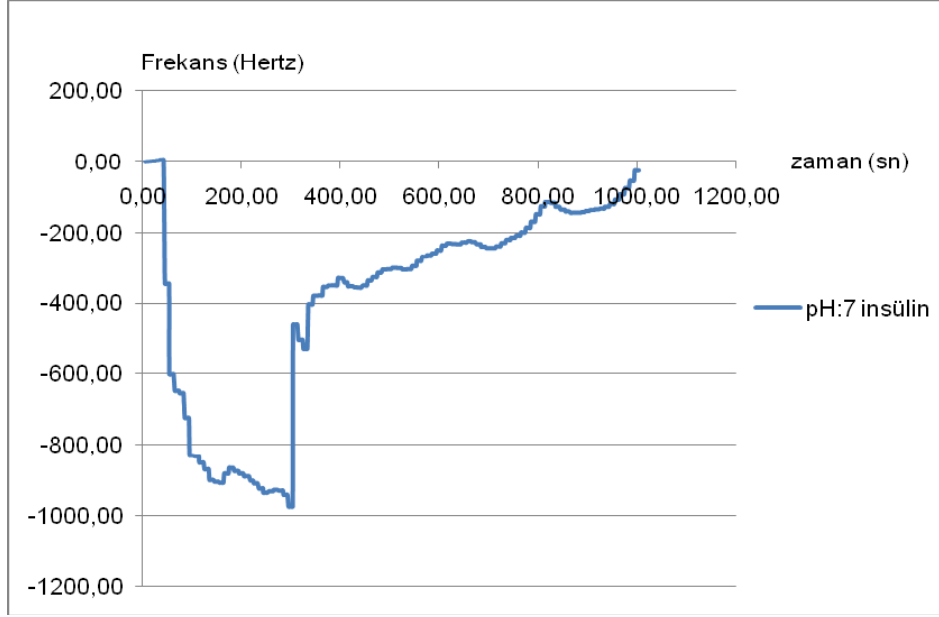
Şekil 4.19 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin pH:7 değerindeki insülin solüsyonu ile şişirilerek pH:5 değerindeki tampon çözeltisi ile etkileştirilmesi sonucunda meydana gelen insülin salınımı frekans değişim grafiği.

10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin pH:7 değerindeki insülin solüsyonu ile etkileştirilmesinin ardından pH:9 ve pH:6 değerindeki tampon çözeltileri ile tekrar etkileştirilerek şişme davranışlarının tekrarlandığı gözlemlenmiştir. Frekans değerleri denklem (2.7)'de yerlerine koyularak hidrojel kütlesi, içerisine aldığı insülin miktarı ile diğer pH değerlerindeki şişme miktarları hesaplanmıştır. Elde edilen frekans değişim grafikleri şekil 4.20'de gösterilmektedir.



Şekil 4.20 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelinin pH:7 değerindeki insülin solüsyonu ile şişirilerek pH:9 ve pH:6 değerlerindeki frekans değişim grafiği.

20 g/l ksantan çözeltisinin karakterizasyon işlemlerinin sonucundan elde edilen sonuçlar doğrultusunda, pH:7 değerindeki aşırı ve hızlı şekilde gösterdiği büzüşme davranışını insülin solüsyonu ile yapılan deneyler sonucunda da göstermesi beklenmiştir. Bu tahmin sonucunda uygulana deney prosedürü sonucunda yapılan frekans ölçümleri ile hidrojelın kütlesi ve insülin solüsyonu ile etkileşimi sonucunda meydana gelen kütle değişimleri hesaplanmıştır. 20 g/l ksantan gam çözeltisinin pH:7 değerindeki insülin solüsyonu ile şişirilme deneyinin sonucunda elde edilen frekans değişim grafiği şekil 4.21’de gösterilmektedir.



Şekil 4.21 20 g/l ksantan gam hidrojelinin pH:7 değerindeki insülin solüsyonu ile etkileştirilmesi sonucunda oluşan frekans değişim grafiği.

4.2.1 Salınan insülin miktarının hesaplanması

Salınan insülin miktarı frekans değerlerinin ölçülmesinin ardından denklem (2.7) ile hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar çizelge 4.5’de ve karşılık gelen frekans değişim değerleri çizelge 4.6’de gösterilmektedir.

Çizelge 4.5 Farklı derişimdeki ksantan gam hidrojellerinden salınan insülin miktarları çizelgesi.

Ksantan gam hidrojelinin derişimi	Hidrojel kuru ağırlığı	İnsülin ile etkileşimi sonucundaki ağırlığı	İnsülin salınımı sonucundaki ağırlığı	Salınan insülin miktarı
5 g/l	$56,55 \times 10^{-6}$ g	$67,53 \times 10^{-6}$ g	$54,79 \times 10^{-6}$ g	$12,74 \times 10^{-6}$ g
10 g/l	$21,43 \times 10^{-6}$ g	$93,09 \times 10^{-6}$ g	$89,77 \times 10^{-6}$ g	$9,32 \times 10^{-6}$ g
20 g/l	$30,94 \times 10^{-6}$ g	$9,32 \times 10^{-6}$ g		

Çizelge 4.6 Farklı derişimdeki ksantan gam hidrojellerinden salınan insülin miktarlarını gösteren frekans değişim değerleri çizelgesi.

Ksantan gam hidrojelinin derişimi	Hidrojelin kuru durumda Δf	İnsülin ile etkileşimi sonucunda Δf	İnsülin salınımı sonucunda Δf
5 g/l	-664,00 Hz	-753,00 Hz	-611,00 Hz
10 g/l	-239,00 Hz	-1038,00 Hz	-1001,00 Hz
20 g/l	-345,00 Hz	-107,00 Hz	

Grafiklerden ve kütle hesaplamalarından yola çıkılarak ksantan gam hidrojelinin insülin salınım sonuçları şu şekilde özetlenebilir:

- 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojelini pH:7 değerinde insülin solüsyonu içerisinde şişerek ne kadar miktarda insülin solüsyonu içerisine aldığı frekans değişim değerlerinden hesaplanmıştır.
- 5 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojeli pH: 5 değerinde pH:7 değerinde olduğunda daha şiştiğinden dolayı büzüşme davranışı göstererek içerisine aldığı insülin solüsyonunun bir miktarını dışarı saldığı frekans ölçümleri ile gözlemlenmiş ve frekans değişim değerleri ile salınan insülin solüsyonu miktarı hesaplanmıştır.
- 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojeli pH:7 değerindeki insülin solüsyonunu içerisinde şişerek ne kadar miktarda insülin solüsyonu içerisine aldığı frekans değişim değerlerinden hesaplanmıştır.
- 10 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojeli pH:5 değerinde büzüşme davranışı göstererek içerisine aldığı insülin solüsyonunun bir miktarını

dışarı saldığı frekans ölçümleri ile gözlemlenmiş ve dışarı saldığı insülin solüsyonunun miktarı frekans değiş değerleri ile hesaplanmıştır.

- 20 g/l derişimdeki ksantan gam hidrojeli pH:6 değerinde en fazla sıvıyı içerisine alarak şişmektedir.
- 20 g/l derişimindeki ksantan gam hidrojeli pH:7 değerinde en fazla sıvıyı dışarı salarak büzüşmektedir. Bu sıralamayı pH:5 ve pH:9 değerleri izlemektedir.

4.3 Gelecekteki Çalışmalar

Yapılan bu çalışmada akıllı polimerlerin karakterizasyon çalışması ksantan gam hidrojeli ile başarılı, hızlı, kolay, etkin ve hassas ölçümlerle gerçekleştirilmiştir. Ancak çalışmanın örneklerle çoğaltılmasının faydalı olacağı düşünölmektedir. Ksantan gam hidrojelinin dışında başka hidrojellerin karakterizasyon çalışmalarının gerçekleştirilmesi örnek genişliliğinin artması için yapılması gereken bir çalışmadır.

DeneySEL çalışmalara alternatif olarak hidrojelin kristal yüzeyine uygun bir immobilizasyon yöntemi ile tutturularak karakterizasyon ve ilaç salınım çalışmaları bu şekilde karıştırmalı bir ortamda gerçekleştirilebilir.

KAYNAKLAR LİSTESİ

- [1] KOPECEK, hydrogel Biomaterials: a Smart Future?, Biomaterials, Vol.3, No.12, s.1281-1286, 2007.
- [2] ULİJN, R.V., JAYAWARNA, V., THROTON, P., TODD, S.J., MART, R.J., SMİTH, A.M., GOUGH, J.E., Bioresponsive Hydrogels, vol.10, No.4, s.40-48, 2007.
- [3] BİRGERSSON, E., Lİ, H., WU, S., Transient Analysis of Temperature-Sensitive Hydrogels, Journal of the Mechanics and Physics of solids Vol.49, No.1, s.1-22, 2007.
- [4] OKAHATA, Y., HACHİYA, S., NAKAMURA, G., CHEM. Lett., 1719, 1982.
- [5] KAJİYAMA, T., NAGATA, Y., WASHİZU, S., J. MEMBRANE Sci., 11, 38, 1982.
- [6] ATİLLASAY, P., Yük Boşalımı Tekniğiyle Hazırlanan Akıllı Jel Materyallerinin Karakterizasyonu, Yük. M. Tezi, 2006,
- [7] KUHN, W., KATCHALSKY, A., EISENBERG, H., NATURE, 165, 514, 1950.
- [8] KATCHALSKY, A, Progr. Biophys. Chem., 4, 1., 1954.
- [9] JEONG, B. and GUTAWSKA A., Lessons from nature: stimuli responsive polymers and their biomedical applications, Trends in Biotechnology, 20, 7, 305-311, 2002.
- [10] OSADA, Y., TAKEUCHİ, Y., J. Polym.Sci.Polym.Lett., Ed.19, 303, 1981.
- [11] RİNGSDORF, H., ZENTEL, R., Macroöol. Chem, vol. 183, s. 1245, 1982.
- [12] HSİEH, D. S. T., LANGER, R., 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 78, 1963.

- [13] FANG, J., CHEN, J., LEU, Y., HU, J., Temperature-Sensitive Hydrogels Composed of Chitosan and Hyaluronic Acid as Injectable Carriers For Drug Delivery, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, s. 1-11, 2007.
- [14] XU, X., ZHANG, X., WANG, B., CHENG, S., ZHUO, R., WANG, Z., Fabrication of A Novel Temperature Sensitive Poly (N-isopropyl-3-butenamide) Hydrogel, *Colloids And Surface B*, vol. 59, s. 158-163, 2007.
- [15] EMİLEH, A., VASHEGHANI-FARAHANI, E., IMANI, M., Swelling Behavior, Mechanical Properties and Network parameters of pH-and Temperature-Sensitive Hydrogels of Poly((2-dimethyl amino) ethyl methacrylate-co-butyl metacrylate), *European Polymer Journal*, vol. 43, s. 1986-1995, 2007.
- [16] OKUYAMA, Y. et al., in *Polymer Biomaterials in Solution, as Interfaces and as Solids*. S.L. Cooper, C.H. Bamford and T. Tsurutaeds (eds.), pp. 100-111, Springer-Verlag, 1995.
- [17] KİM, Y. H., KWON, I. C., BAE, Y. H. and KİM, S. W., *Macromolecules*, 28, 939-944, 1995.
- [18] MEYER, O., PAPAHAZIOPOULOS, D. and LEROUX, J. *CFEBS Lett.*, 421, 61-64, 1998.
- [19] GEHRKE, S. H. and LEE, P. I., Hydrogels for drug delivery systems, in *Specialized Drug Delivery Systems*, P. Tyle (eds)., Marcel Dekker, pp. 333-392, 1990.
- [20] GANCARZ, I., POZNIAK, G., BRYJAK, M., TYLUS, W., 2002, Modification of polysulfone membranes 5. Effect of n-butylamine and allylamine plasma, *European Polymer Journal*, 38, 1937-1946.
- [21] GUPTA, ANJAN K., NG, K. W., Compact Coarse Approach Mechanism for Scanning Tunneling Microscope, *Rev. of Scien. Inst.*, Vol.72, No.9, s.3552-3555, 2001.

- [22] WAITZ, J. A., OLSZEWSKI, B. J. and THOMPSON, P.E., Science,141, 723, 1963.
- [23] FOLKMAN, J. and LONG, D. M., J. Surg. Res., 4, 139, 1964.
- [24] DESAI, S. J., SIMONELLI, A. P. and HIGUCHI, W. I., 196, J.Pharma Sci., 54, 1469.
- [25] LANGER, R., FOLKMAN, J., Nature, 263, 797, 1976,.
- [26] GÜMÜŞDERELİOĞLU, H., Ca-aljinat Jellerin Uyarı-cevap Karakteristikleri ve Bu Jellerin Ağızdan Alınan Geciktirilmiş İlaç Salım Sistemlerinde Kullanılabilirliğinin Araştırılması, Yük. M. Tezi, 1988.
- [27] KARTAL, A., Jelatin Matriksten Vitamin B₂'nin in-vivo Kontrollü Salımı ve Kan Plazma Seviyesine Etkisi, Yük. M. Tezi, 1994.
- [28] BRUCK, S. D., Pharmacological Basis of Controlled Drug Delivery, in Controlled Drug Delivery. S. D. Bruck (eds.) Vol. 1 Basic Concepts, 2-13, CRC Press, Florida, 1982.
- [29] LANGER, R. J., BREM, H. and TAPPER, D., J. Biomed. Mat. Res.,15, 267, 1981.
- [30] HOPFENBERG, H. B. and HSU, K. C., Polym. Engi. Sci., 18, 1186, 1978.
- [31] ROBINSON, J. R. and LEE,V. H. L. Controlled Drug Delivery: Fundamentals and Applications. Drugs and Pharmaceutical Sciences, 2.nd.edition,Vol.29, Marcel Dekker, New York ,1987.
- [32] PIŞKİN, E., GÜRSOY, A., DORTUNÇ, B. ve PEPPAS, N. A., Kontrollü İlaç Serbestleştiren Sistemler, İstanbul, 325, 1989.
- [33] YOCABI, A. and WALEGA, H. E., Oral Sustained Release Formulations: Design and Evaluation, Pergamon Press, 251 p, 1988.
- [34] SEMİZ, B. D., İnsan Anatomisi ve Fizyolojisi, M.Ü.Yayınları, No:476, Fen Fak. Yayınları, No:115, İstanbul, 1990.

- [35] DAVIS, S. S. J. *Controlled Release*, 2, 27, 1985.
- [36] CORTOT, A. *Pharm.Int.*, 5, 228, 1984.
- [37] BOGDANSKY, S., Natural polymers as drug delivery system, in *Biodegradable Polymers as Drug Delivery Systems*: M. Chasin and R. Langer, (eds.), *Drugs and the Pharmaceutical Sciences*, Vol. 45, Marcel Dekker, New York. 1990.
- [38] KÖKSEL, H. *Karbonhidratlar*, İ. Saldamlı (eds.) *Gıda Kimyası*, H. Ü. Yayınları, Ankara, 1998.
- [39] KOÇUM, i.,C, *Piezoelektrik Kristalli Biyosensörler*, Hacettepe Üniv. *Biyomühendislik*, Ankara, 2004.
- [40] LORD, M.,S., STENZEL, H., SIMMONS A., MİLTHORPE, B.,K., The Effect of Charged Groups On Protein Interactions With poly(HEMA) Hydrogels, *Biomaterials*, vol. 27, s. 567-575, 2006.
- [41] LORD, M.,S., STENZEL, H., SIMMONS A., MİLTHORPE, B.,K., Lysozyme interactions With Poly(HEMA)-Based Hydrogel, *Biomaterials*, vol. 27, s. 1341-1345, 2005.
- [42] TANG A., X., J., PRAVDA, M., GÜLBAULT, G., G., PİLETSKY, S., TURNER, A., P., F., Immunosensor For Okadaic Acid Using, Quartz Crystal Microbalance, *Analytica Chimica Acta*, vol. 471, s. 33-40, 2002.
- [43] TEİCHROEB, J., H., FORREST J., A., JONES, L., W., CHAN, J., DALTON, K., Quartz Crystal Microbalance Study of Protein Adsorption Kinetics on Poly(2-hydroxyethyl metacrylate), *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 325, s. 153-164, 2008.
- [44] CARRİGAN, S., D., SCOTT, G., TABRİZİAN, M., Rapid Three-Dimensional Bionterfaces for Real –Time Immunoassay Using hIL-18BP α As A Model Antigen, *Biomaterials*, vol. 26, s. 7514-7523, 2005.

- [45] KUMAR, A., LAHIRI, S., S., SINGH, H., Development of PEGDMA: MAA Based Hydrogel Microparticals For Oral Insulin Delivery, International Journal of Pharmaceutics, vol. 323, s. 117-124, 2006.

