T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DEKSTRAN KAPLI SİLİKA AEROJELLERİN KOLON KANSERİ TEDAVİSİ İÇİN İLAÇ SALIM SİSTEMİ OLARAK GELİŞTİRİLMESİ

ECEM TİRYAKİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI
BİYOMÜHENDİSLİK PROGRAMI

DANIŞMAN
PROF. DR. SEVİL YÜCEL

EŞ DANIŞMAN
ARŞ. GÖR. DR. YELİZ BAŞARAN ELALMIŞ

İSTANBUL, 2017

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DEKSTRAN KAPLI SİLİKA AEROJELLERİN KOLON KANSERİ TEDAVİSİ İÇİN İLAÇ SALIM SİSTEMİ OLARAK GELİŞTİRİLMESİ

Ecem TİRYAKİ tarafından hazırlanan tez çalışması 08.06.2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Sevil YÜCEL

Yıldız Teknik Üniversitesi

Eş Danışman

Arş. Gör. Dr. Yeliz BAŞARAN ELALMIŞ

Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Sevil YÜCEL

Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Doç. Dr. Serap DERMAN

Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. F. Seniha GÜNER

İstanbul Teknik Üniversitesi _____

Bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü' nün 2016-07- 04-YL08 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Bu çalışmamda engin bilgi ve tecrübelerini, zaman ve mekan gözetmeden her koşulda benimle paylaşan değerli danışman ve eş danışman hocalarım Prof. Dr. Sevil YÜCEL ve Arş. Gör. Dr. Yeliz Başaran ELALMIŞ'a,

Deneysel çalışmam esnasında yardımlarını esirgemeyen, her fırsatta çalışmamla yakından ilgilenen sevgili laboratuvar arkadaşlarım Burcu KARAKUZU, Tülay Merve TEMEL, İlkay TURHAN, Deniz ISMIK, Gökay VARDAR, Seda AVERBEK, Ali Can ÖZARSLAN, Anıl Tevfik Koçer ve Tayfun ACAR' a,

Ayrıca sevgilerini ve desteklerini hayatımın her alanında hissettiğim sevgili aileme çok teşekkür ederim.

Mayıs, 2017

Ecem TİRYAKİ

İÇİNDEKİLER

Sayfa

SİMGE LİSTESİ ix

KISALTMA LİSTESİ x

ÇİZELGE LİSTESİ xiv

ÖZET xvi

ABSTRACT xviii

BÖLÜM 1

GİRİŞ 1

1.1 Literatür Özeti 1
1.2 Tezin Amacı 4
1.3 Hipotez 4

BÖLÜM 2

AEROJELLER 5

2.1 Silika Aerojeller 6
2.1.1 Silika Aerojellerin Sentezlenmesi 7
2.1.1.1 Jelin Oluşumu 7
2.1.1.2 Jelin Yaşlandırılması 9
2.1.1.3 Jelin Kurutulması 10
2.1.2 Silika Aerojellerin Yüzey Modifikasyonu 10
2.1.3 Silika Aerojellerin Uygulama Alanları 18
2.1.3.1 Silika Aerojellerin İlaç Salım Sistemleri Olarak Kullanılması 18

BÖLÜM 3

KONTROLLÜ İLAÇ SALIM SİSTEMLERİ 21

3.1 Kontrollü Salım Sistemleri 23
3.1.1 Biyoaşınır ve Biyobozunur Sistemler 23
3.1.2 Şişme Kontrollü Sistemler 23

3.1.3 Ozmotik Kontrollü Sistemler 24
3.1.4 Difüzyon kontrollü sistemler 25
3.1.4.1 Rezervuar Sistemler 25
3.1.4.2 Matris Sistemler 26
3.1.4.3 Biyobozunur Sistemler 27
3.2 Kolona Özgü İlaç Salım Sistemleri 27
3.2.1 Kolona Özgü İlaç Salımını Etkileyen Faktörler 28
3.2.1.1 Gastrointestinal (GI) Geçiş 28
3.2.1.2 Gastrik Boşalma 29
3.2.1.3 İnce Bağırsak Geçiş Süresi 29
3.2.1.4 Kolonik Geçiş 29
3.2.1.5 Gastrointestinal Kanal pH' ı 30
3.2.1.6 Kolonik Mikroflora 30
3.2.1.7 Kolonik Absorpsiyon 31
3.2.1.8 Kolonik Hastalıklar 31
3.2.1.9 Taşıyıcı Tipi 31
3.2.2 Kolona Özgü İlaç Taşıma Sistemleri için Farmakolojik Yaklaşımlar 32
3.2.2.1 Ön İlaç Dizaynı 32
3.2.2.2 Polimerler ile Kaplama 33
3.2.2.3 Matris Sistemler 33
3.2.2.4 Zaman Kontrollü Sistemler 33
3.2.2.5 Basınç Duyarlı Sistemler 34
3.3 Kolon Kanseri Tedavisinde Kullanılan 5 Fluorourasil (5-FU) 34
3.3.1 Silika Aerojel-5 FU Etkileşimi 36
3.3.2 Kolona Özgü İlaç Salım Sistemleri Olarak Kullanılan Biyobozunur Sistemler: Polisakkaritler 38
3.3.2.1 Dekstran 38
3.3.2.2 Dekstran Aldehit 42
3.3.2.3 Amin-Glutaraldehit Bağlanma Mekanizması 43
3.3.2.4 Glutaraldehit-Dekstran Çapraz Bağlanma Mekanizması 46

BÖLÜM 4

DENEYSEL ÇALIŞMA 48

4.1 Materyal 48
4.2 Kullanılan Cihazlar 49
4.3 Metod 50
4.3.1 Silika Aerojellerin Sol-Jel Yöntemi ile Sentezlenmesi 51
4.3.2 Silika Aerojel Yüzeyinin 3-(aminopropil)trietoksisilan (APTES) Modifikasyonu 52
4.3.3 Amin ile Fonksiyonelleştirilmiş Silika Aerojellere 5-FU Yüklenmesi 54
4.3.3.1 İlaç Konsantrasyonunun, Çözelti pH' ının ve Aerojel Yüzeyindeki Amin Gruplarının İlaç Yükleme Kapasitesine Etkisinin İncelenmesi 54
4.3.3.2 Farklı Oranlarda APTES ile Modifiye Edilmiş Silika Aerojellerin İlaç Yükleme Davranışlarının İncelenmesi 56
4.3.4 Silika Aerojel Yüzeyinin Kolona Hedefli Kaplanması 56
4.3.4.1 Silika Aerojellerin Glutaraldehit Kullanılarak Dekstran ile Kaplanması 56

4.3.4.2 Silika Aerojellerin Dekstran Aldehit (D-CHO) ile Kaplanması 57
Dekstran Aldehit Sentezi: 57
4.3.5 Silika Aerojellerden 5-Fluorourasil in-vitro Salım Çalışması 59
4.3.6 5-FU Salım Profilinin İncelenmesi 60
4.3.7 Sentezlenen ve Kaplanan Silika Aerojellerin Karakterizasyonu 61
4.3.7.1 Azot (N_2) Adsorbsiyon/Desorpsiyon Analizi 61
4.3.7.2 Asit-Baz Geri Titrasyon Analizi 61
4.3.7.3 Zeta Potansiyel Analizi 61

BÖLÜM 5

SONUÇLAR 63

5.1 Sol-Jel Yöntemi ile Sentezlenen ve APTES ile Modifiye Edilen Silika Aerojellerin Karakterizasyonu 64
5.1.1 Azot (N_2) Adsorbsiyon/Desorpsiyon Analizi Sonuçları 64
5.1.2 Asit-Baz Geri Titrasyon Analizi 67
5.1.3 Zeta Potansiyel Ölçümü 68
5.1.4 FT-IR Spektrofotometre Analizi 69
5.1.4.1 Saf Silika Aerojellerin FT-IR Analizi Sonuçları 69
5.1.4.2 3-(aminopropil)trietoksisilan (APTES) ile Modifiye Edilmiş Silika Aerojellern FT-IR Analizi Sonuçları 71
5.1.5 Silika Aerojellerin SEM ve EDS Analizleri 76
5.2 5 Fluorourasil Yüklü Silika Aerojellerin Karakterizasyonu 80
5.2.1 İlaç Konsantrasyonunun, Çözelti pH' ının ve Aerojel Yüzeyindeki Amin Gruplarının İlaç Yükleme Kapasitesine Etkisinin İncelenmesi 80
5.2.2 Zeta Potansiyel Ölçümü 83
5.2.3 5 Fluorourasil Yüklü Silika Aerojellerin SEM ve EDS Analizleri 84
5.3 Amin Grupları ile Modifiye ve 5-FU Yüklü Silika Aerojellerin Dekstran ve Dekstran Aldehit ile Kaplanması 87
5.3.1 Glutaraldehit Çapraz Bağlayıcısı Kullanılarak Dekstran Kaplanan Silika Aerojellerin Karakterizasyonu 87
5.3.1.1 Dekstran Kaplı Silika Aerojellerin FT-IR Analizi 87
5.3.1.2 Dekstran ile Kaplı Silika Aerojellerin Yüzey Yükünün Belirlenmesi 93
5.3.1.3 Dekstran ile Kaplı Silika Aerojellerin SEM ve EDS Analizi 93
5.3.2 Silika Aerojellerin Dekstran Aldehit (D-CHO) ile Kaplanması 94
5.3.2.1 Dekstran Aldehit (D-CHO) ile Kaplanan Silika Aerojellerin FT-IR Görüntüleri 94
5.3.2.2 Dekstran Aldehit ile Kaplı Silika Aerojellerin Yüzey Yükünün Belirlenmesi 96
5.3.2.3 Dekstran Aldehit ile Kaplı Silika Aerojellerin SEM ve EDS Analizi 97
5.4 Dekstran ve Dekstran Aldehit ile Kaplı 5-FU Yüklü Silika Aerojellerin in-vitro Salım Deneyleri 99
5.4.1 Yapay Mide (pH 1.2) ve Bağırsak (pH 6.8) Sıvılarında Salım 99
5.4.2 Asetat Tamponunda (pH 5.5) Salım 101

BÖLÜM 6

TARTIŞMA VE ÖNERİLER 104

KAYNAKLAR 107
ÖZGEÇMİŞ 113

SİMGE LİSTESİ

A	Alan
AN	Anyon
CFU	Koloni oluşturan ünite
cm	Santimetre
g	Gram
U	Ünite
K	Dağılım kat sayısı
kDa	Kilodalton
L	Litre
m	Metre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimolar
mV	Milivolt
mW	Moleküler ağırlık
nm	Nanometre
Ɛ	Molar absorbsiyon katsayısı
µl	Mikrolitre

KISALTMA LİSTESİ

APTES	3-(aminopropil)trietoksisilan
APTMS	3-(aminopropil)trimetoksisilan
BET	Brunauer-Emmett-Teller
CPTES	Siyanopropiltrietoksisilan
D-CHO	Dekstran aldehit
D-MA	Dekstran metakrilat
EDS	Elektron Dağılım Spektroskopisi
FT-IR	Fourier Dönüşüm Kızılötesi
GA	Glutaraldehit
GI	Gastrointestinal
GMD	Glisidil metakrilit dekstran
HA	Hyaluronik asit
HMDS	Hekzametildisiloksan
HMDZ	Hekzametildisilazan
LC-MS	Sıvı Kromotografi-Kütle Spektroskopisi
PAA	Poliakrilikasit
PBS	Fosfat tampon çözeltisi
PEG	Polietilenglikol
PEDS	Polietoksidisiloksan
PGLA	Poli(glikolik asit-ko-laktik asit)
PHEMA	Polihidroksietilmetakrilat
PVA	Polivinilalkol
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
TEOS	Tetraetilortosilikat
TMCZ	Trimetilklorosilan
TMOS	Tetrametilortosilikat
UV	Ultraviyole
5-ASA	5-aminosalisilik asit
5-FU	5-Fluorourasil

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2. 1 Toz haldeki silika aerojel ve silika aerojelin 3 boyutlu yapısı [6] 6
Şekil 2. 2 Asit (a) ve baz (b) katalizörleri ile oluşan jel yapıları [14] 9
Şekil 2. 3 Kondenzasyon aşaması ile birlikte jelleşme ve 3 boyutlu ağ yapısının oluşması [4] 9
Şekil 2. 4 Silika yüzeyinin silanlanması [11] 11
Şekil 2. 5 TMCZ ve HMDZ silan bağlama ajanları ile hidrofilik aerojellerin hidrofobik özellik kazanması [12] 13
Şekil 2. 6 Silika yüzeyinde silan tabakası oluşma mekanizması ve glutaraldehit ile modifikasyon [26]. 14
Şekil 2. 7 3-(Aminopropil)trietoksisilan (APTES) yapısı [27]. 15
Şekil 2. 8 APTES ile yüzeyi fonksiyonelleştirilmiş silika jel [28]. 15
Şekil 2. 9 APTES' in silika yüzeyine modifikasyonunda etanol (EtOH) ve su varlığında hidroliz ve kondenzasyon basamakları [29] 16
Şekil 2. 10 Silika aerojellere farklı yollar ile ilaç yüklenmesi: (a) sol-jel prosesi esnasında sol oluşumu adımında, (b) sol jel prosesi esnasında çözücü değiştirme adımında, (c) sentez sonrası ilaç yükleme [35]. 19
Şekil 3. 1 Konvansiyonel ve kontrollü ilaç salım sistemlerinin zamana bağlı salım profilleri [11]. 22
Şekil 3. 2 İlacın en iyi terapötik etki gösterdiği plazma konsantrasyonu aralığı [39]. 22
Şekil 3. 3 Sıfırıncı derece salım sistemlerinin şematik olarak gösterimi [39]. 25
Şekil 3. 4 Kolonun yapısı 31
Şekil 3. 5 Urasil, Timin ve 5-Fluorourasil yapıları [47] 35
Şekil 3. 6 5-Fluorourasil ilacının alkali pH' larda anyon (AN_1, AN_3) ve dianyon formları [38]. 37
Şekil 3. 7 Dekstran moleküler yapısı: (a) 2 boyutlu yapı, (b) 3 boyutlu yapı [58] 39
Şekil 3. 8 Dekstranın dekstranaz enzimi ile enzimatik hidrolizi 40
Şekil 3. 9 Sodyum periyodat ile dekstran oksidasyonu [62] 42
Şekil 3. 10 Dekstran aldehit ve PEG amin reaksiyonu[61] 43
Şekil 3. 11 Glutaraldehit yapısı 43
Şekil 3. 12 Proteinler ve glutaraldehit arasındaki (1) Schiff baz, (2) Michael-tip bağlanmaların oluşumu [67] 44

Şekil 3. 13 Glutaraldehit ile amin grupları arasında oluşan sekonder amin bağları [68] 45
Şekil 3. 14 İndirgen aminasyon reaksiyonu [69] 45
Şekil 3. 15 Silika yüzeyinin amin grupları ile fonksiyonelleştirilmesi (a), amin grupları silika yüzeyinin glutaraldehit ile reaksiyonu (b) [70] 46
Şekil 3. 16 Hidroksil grubu içeren polimer ile glutaraldehit arasındaki çapraz bağlanma reaksiyonu [73] 47
Şekil 4. 1 Sol-jel yöntemi ile silika aerojel sentezinin şematik gösterimi 52
Şekil 4. 2 Sol-jel yöntemi ile sentezlenen silika aerojellerin jelleşme ve kurutma sonrası görüntüleri 52
Şekil 4. 3 Silika aerojellerin APTES ile modifikasyonu 53
Şekil 4. 4 Silika aerojellere 5-FU ilacının yüklenmesi 55
Şekil 4. 5 Dekstran aldehit ile silika yüzeyinin arasındaki Schiff baz reaksiyonunun durdurma basamakları 58
Şekil 5.1 Farklı oranlarda APTES ile modifiye silika aerojellerin azot (N_2) adsorbsiyon/desorpsiyon izotermleri: (a) Saf SiO_2, (b) %0,5 APTES-SiO_2, (c) %1 APTES-SiO_2, (d) %2 APTES-SiO_2, (e) %5 APTES-SiO_2, (f) %10 APTES-SiO_2 66
Şekil 5. 2 Saf silika aerojellerin FT-IR sonucu 69
Şekil 5. 3 Silika aerojellerin 3 boyutlu ağ yapısı içerisindeki silanol (Si-OH) ve siloksan bağları (Si-O-Si) 71
Şekil 5. 4 Farklı çözücüler kullanılarak APTES ile modifiye edilen silika aerojellerin FT-IR sonucu 71
Şekil 5. 5 Toluen ve APTES-Toluen içerisinde reaksiyona sokulan silika aerojellerin FT-IR sonucu 73
Şekil 5. 6 Farklı yüzdelerde APTES ile fonksiyonelleştirilen silika aerojellerin FT-IR sonucu 75
Şekil 5. 7 Saf silika aerojellerin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri (x10.00, x20.00, x40.00) 77
Şekil 5. 8 Saf silika aerojellerin EDS analiz sonuçları 77
Şekil 5. 9 %5 APTES ile silanlanan silika aerojellerin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri (x10.00, x20.00, x40.00) 78
Şekil 5. 10 %10APTES ile silanlanan silika aerojellerin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri (x10.00, x20.00, x40.00) 79
Şekil 5. 11 APTES (%10) ile fonksiyonelleştirilmiş silika aerojellerin EDS analiz sonuçları 79
Şekil 5. 12 5-FU/su çözeltisine ait kalibrasyon eğrisi grafiği 80
Şekil 5. 13 5-FU silika aerojellerin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri (x10.00, x20.00, x40.00) 85
Şekil 5. 14 5-FU yüklü silika aerojellerin EDS analiz sonuçları 85
Şekil 5. 15 5-FU yüklü %10 APTES ile modifiye silika aerojellerin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri (x10.00, x20.00, x40.00) 86
Şekil 5. 16 APTES (%10) ile fonksiyonelleştirilmiş 5-FU yüklü silika aerojellerin EDS analiz sonuçları 86
Şekil 5. 17 %5 ve %10 konsantrasyonlarındaki glutaraldehit ile bağlı ilaçsız %1 APTESli silika aerojellerin FT-IR sonucu 88
Şekil 5. 18 Dekstran kaplı %5 GA ile bağlanan silika aerojellerin FT-IR sonucu 89
Şekil 5. 19 Dekstran kaplı %10 GA ile bağlanan silika aerojellerin FT-IR sonucu 89

Şekil 5. 20 %10 GA ile bağlı 5-FU yüklenmiş ve yüklenmemiş silika aerojellerin FT-IR sonucu 90
Şekil 5. 21 %10 GA ve dekstran ile kaplı ilaçlı silika aerojellerin FT-IR sonucu 90
Şekil 5. 22 %10 GA ve dekstran ile kaplı %10 APTES ile modifiye edilmiş silika aerojellerin FT-IR sonucu 91
Şekil 5. 23 %10 APTESli silika aerojeller ve %10 GA bağlanmış silika aerojellerin FT-IR sonucu 92
Şekil 5. 24 Dekstran kaplı silika aerojellerin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri (x20.00, x40.00) 94
Şekil 5. 25 Dekstran kaplı silika aerojellerin EDS analiz sonuçları 94
Şekil 5. 26 Dekstran ve dekstran aldehit karşılaştırmalı FT-IR sonucu 95
Şekil 5. 27 Dekstran aldehit kaplı %10 APTES bağlı silika aerojellerin FT-IR analizi sonucu 96
Şekil 5. 28 Dekstran aldehit kaplı silika aerojellerin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri (x10.00, x20.00, x40.00) 98
Şekil 5. 29 Dekstran aldehit ile kaplı silika aerojellerin EDS analiz sonuçları 98
Şekil 5. 30 Kristal haldeki ve silika aerojellere yüklü 5-FU' nun mide ve bağırsak sıvılarındaki zamana bağlı yüzde salım grafiği 101
Şekil 5. 31 Amin bağlı, dekstran kaplı ve dekstran aldehit kaplı silika aerojellere yüklü 5-FU' nun mide ve bağırsak sıvılarındaki zamana bağlı yüzde salım grafiği 101
Şekil 5. 32 Kristal haldeki ve silika aerojellere yüklü 5-FU' nun asetat tamponundaki zamana bağlı yüzde salım grafiği 103
Şekil 5. 33 Dekstran kaplı ve dekstran aldehit kaplı silika aerojellere yüklü 5-FU' nun 2U/ml dekstranaz bulunan asetat tamponundaki zamana bağlı yüzde salım grafiği 103

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2. 1 Aerojellerin Genel Özellikleri 6
Çizelge 2. 2 Farklı kaynaklardan sentezlenen silika aerojellerin hidroliz ve kondenzasyon basamakları [11], [12] 8
Çizelge 2. 3 Farklı silan bağlama ajanları ile silika aerojel yüzeyinin modifikasyonu [21], [22], [23] 12
Çizelge 3. 1 GI sistemin farklı bölgelerinin pH değerleri ve küçük moleküllerin geçiş süreleri 29
Çizelge 4. 1 Kullanılan kimyasal malzemeler ve markaları 48
Çizelge 4. 2 Deney akış şeması 50
Çizelge 4. 3 Silika aerojellerin farklı çözücüler kullanılarak silanlanma parametreleri 53
Çizelge 4. 4 Silika yüzeyinin amin modifikasyonunda kullanılan silika aerojel:APTES ve yüzde APTES değerleri 54
Çizelge 4. 5 % 10 APTES ile modifiye silika aerojellere ilaç yükleme koşulları 55
Çizelge 4. 8 Fosfat tamponu hazırlanması için kullanılan kimyasallar ve miktarları .. 62
Çizelge 5. 1 Üretilen silika aerojellerin yüzey ve gözenek özellikleri 64
Çizelge 5. 2 Farklı konsantrasyonlarda APTES ile modifiye silika aerojellerin yüzeylerindeki amin grubu miktarları 67
Çizelge 5. 3 Saf ve farklı konsantrasyonlarda APTES ile fonksiyonelleştirilmiş silika aerojellerin pH 3 ve 8' deki zeta potansiyelleri 68
Çizelge 5. 4 Silika aerojellerin FT-IR spektrum pikleri 70
Çizelge 5. 5 Farklı çözücüler içerisinde fonksiyonelleştirilen silika aerojellerin FT-IR spektrum pikleri 74
Çizelge 5. 6 Farklı oranlarda APTES ile silanlanan silika aerojellerin FT-IR spektrum pikleri 76
Çizelge 5. 7 Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ilaç çözeltilerinin silika aerojellere ilaç yüklenmesine etkisi 82
Çizelge 5. 8 Amin bağlı silika aerojellere farklı pH' larda ilaç yüklenme değerleri 83
Çizelge 5. 9 Farklı konsantrasyonlarda APTES ile silanlanmış ilaç yüklü silika aerojellerin pH 3 ve pH 8' deki zeta potansiyelleri 84
Çizelge 5. 10 %10 APTESli silika aerojeller ve %10 GA bağlanmış silika aerojellerin FT-IR spektrum pikleri 91
Çizelge 5. 11 Dekstran ile kaplama sonucunda elde edilen FT-IR spektrum pikleri 92
Çizelge 5. 12 Dekstran ile kaplı silika aerojellerin pH 3 ve pH 8' deki zeta potansiyel değerleri 93

Çizelge 5. 13 Dekstran aldehit kaplı silika aerojellerin pH 3 ve pH 8’ deki zeta potansiyel değerleri..... 97

ÖZET

DEKSTRAN KAPLI SİLİKA AEROJELLERİN KOLON KANSERİ TEDAVİSİ İÇİN İLAÇ SALIM SİSTEMİ OLARAK GELİŞTİRİLMESİ

Ecem TİRYAKİ

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sevil YÜCEL

Eş Danışman: Arş. Gör. Dr. Yeliz BAŞARAN ELALMIŞ

Kanser tedavilerinde kullanılan ilaçların yan etkilerinin gözlenmesi ve etkin tedavi sağlanamaması gibi problemler nedeniyle ilaçların etkin bir şekilde istenilen bölgeye ulaştırılmasını sağlayacak taşıyıcı sistemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Silika aerojeller, yüksek yüzey alanları, geniş gözenek hacimleri, düşük yoğunlukları ve iyi adsorblama kapasiteleri sayesinde ilaç taşıma sistemi olarak kullanılabilen inorganik malzemelerdir. Biyouyumlu ve biyobozunur yapıya sahip silika aerojeller, kolay ve maliyetsiz bir yöntem olan sol-jel yöntemi ile sentezlenebilmekte ve yüzeyleri farklı fonksiyonel gruplar ile istenilen şekilde modifiye edilebilmektedir. Kolon kanseri tedavisinde kullanılan 5 Fluorourasil (5-FU) kanser ilacının kısa yarılanma ömrü, kan dolaşımından hızlıca uzaklaştırılması, yan etkilerinin görülmesi gibi dezavantajlar 5-FU' nun kolondaki tümörlü bölgeye etkinliğini kaybetmeden hedeflendirilmesini gerektirmektedir. Doğal bir polimer olan dekstran, mide ve bağırsak ortamındaki pH değişimlerinden etkilenmeden sadece kolondaki dekstranaz enzimleri ile bozunan bir polisakkarittir. Bu özelliği, kolona hedefli sistemlerin geliştirilmesinde dekstranın önemli bir rol oynamasına neden olmaktadır.

Bu tez çalışmasında silika aerojeller sol-jel yöntemi ile sentezlenerek kolon kanser ilacı 5-FU yüklemesi yapılmıştır. Aerojellere adsorblanmış ilacın pH ve enzim uyaranlarına bağlı olarak salım davranışı incelenmiştir. 5-FU ile silika aerojellerin daha iyi etkileşmesi

amacıyla aerojellerin yüzeyi farklı konsantrasyonlarda 3-(aminopropil)trietoksisilan (APTES) ile fonksiyonelleştirilerek adsorbe edilen ilacın miktarı arttırılmaya çalışılmıştır. Kolona hedeflenmiş taşımayı sağlamak amacıyla ilaç yüklü silika aerojeller dekstran ve dekstran aldehit ile kaplanarak salımın sadece dekstranı parçalayan enzimlerin bulunduğu kolon bölgesinde gerçekleşmesi sağlanmıştır.

Dekstran kaplı ve 5-FU yüklü silika aerojellerin karakterizasyonları için Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FT-IR) Spektroskopi, Azot (N_2) adsorbsiyon/desorpsiyon analizi, zeta potansiyel, asit-baz geri titrasyon, Taramalı Elektron Mikroskop (SEM), Elektron Dağılım Spektroskopi (EDS), Ultraviyole-Görünür Bölge Spektroskopi (UV-Vis) ve Sıvı Kromotografi-Kütle Spektroskopi (LC-MS) analizleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre yüksek yüzey alanına ve geniş gözenek hacimlerine sahip, mezogözenekli ve küresel silika aerojeller elde edilmiştir. Silika aerojel modifikasyonunda kullanılan APTES konsantrasyonu arttıkça yüzeye bağlanan amin gruplarının arttığı ve buna bağlı olarak yüklenen ilaç miktarının arttığı tespit edilmiştir. Yüzeyleri dekstran ile kaplanmayan silika aerojeller, mide ve bağırsak sıvılarında 5-FU ilacının %86' sına yakınını salarken; dekstran ile kaplanan aerojellerden salınan ilaç miktarının %3' lerde kaldığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Dekstran, İlaç salım sistemleri, Kolon kanseri, Silika aerojel, Sol-Jel yöntemi, 5 Fluorourasil

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF DEXTRAN-COATED SILICA AEROGELS AS A DRUG RELEASE SYSTEM FOR COLON CANCER TREATMENT

Ecem TİRYAKİ

Deparment of Bioengineering

MSc. Thesis

Adviser: Prof. Dr. Sevil YÜCEL

Co-Adviser: Res. Asst. Dr. Yeliz BAŞARAN ELALMIŞ

Drug delivery systems are needed to effectively deliver the drugs to the desired site due to problems in cancer treatments such as the inability of drugs to provide effective treatment and their side effects. Silica aerogels are inorganic materials that can be used as drug delivery systems due to their high surface area, large pore volumes, low densities and good adsorption capacities. Silica aerogels with biocompatible and biodegradable structure can be synthesized by sol-gel method which is an easy and cost-free method and their surfaces can be modified as desired with different functional groups. The disadvantages of 5 Fluorouracil (5-FU) cancer drugs used in the treatment of colon cancer, such as short half-life, rapid removal of blood from the bloodstream and side effects, require to being targeted without losing the efficacy of 5-FU on the tumor side. A natural polymer, dextran, is a polysaccharide which is degraded only by the dextranase enzymes at the colon without being affected by pH changes in the stomach and intestine. This feature of dextran causes to play an important role in the development of colon targeted systems.

In this thesis study, silica aerogels were synthesized by sol-gel method and 5-FU was loaded on silica aerogels. The release behavior of the drug adsorbed on aerogels was investigated depending on the pH and enzyme stimuli. In order to better interact with 5-FU and silica aerogels, the surface of the aerogel was functionalized with 3-

(aminopropyl)triethoxysilane (APTES) at different concentrations to increase the amount of adsorbed drug. The drug loaded silica aerogels are coated with dextran and dextran aldehyde in order to provide targeting so that the release occurs only in the colon side where the enzymes that break down the dextran are present.

Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectroscopy, Nitrogen (N_2) adsorption/desorption analysis, zeta potential, acid-base back titration, Scanning Electron Microscope (SEM), Electron Distribution Spectroscopy (EDS), Ultraviolet-Visible Spectroscopy (UV-Vis) and Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy (LC-MS) analyzes were performed for characterizations of dextran coated and 5-FU loaded silica aerogels. Mesoporous and spherical silica aerogels with high surface area and large pore volumes were obtained according to the obtained results. It has been found that as the APTES concentration used in silica aerogel modification increases, the number of amine groups attached to the surface increases and thus the amount of drug loaded increases. Silica aerogels, whose surfaces are uncoated with dextran, release about 86% of the 5-FU drug in the stomach and intestinal fluids; the amount of drug released from dextrane-coated aerogels was found to be 3%.

Keywords: Dextran, Colon Cancer, Drug Delivery Systems, Silica Aerogels, Sol-gel Method, 5 Fluorouracil

BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Tedavi amaçlı kullanılan ilaçların yan etkilerinin gözlenebilmesi, dozajının ayarlanamaması veya fazla kullanımları, sağlıklı hücre ve dokulara zarar verebilmeleri ve zamansız salınımları gibi birçok dezavantajları nedeniyle kontrollü ilaç salım sistemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Kontrollü ilaç salım sistemleri olarak bugüne kadar nanopartiküller, lipozomlar, dendrimerler, miseller, hidrojeller, polimerik yapılar gibi birçok sistem geliştirilerek tedavinin en etkin şekilde kontrollü ve hedefli salım ile gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır. İlaç taşıyıcı sistemler olarak yaygın olarak incelenen polimerik taşıyıcıların yanı sıra, inorganik taşıyıcı sistemlere olan ilgi son yıllarda giderek artmaktadır. Oldukça kolay uygulanabilir olan sol-jel yöntemi ile yüksek oranda gözenekli, amorf yapıda, biyouyumlu, ışığa ve sıcaklığa karşı kararlı halde kalabilen, insan vücuduna ve çevreye zararı olmayan seramik malzemeler sentezlenebilmektedir. Özellikle silika kaynaklı malzemelerin toksik olmamaları, biyouyumlu olmaları, istenilen şekillerde sentezlenebilmeleri gibi özellikleri, silika malzemelere olan ilgiyi arttırmaktadır. Silika aerojeller, sahip oldukları yüksek gözeneklilik, geniş yüzey alanı ve gözenek çapı, büyük gözenek boyutları ve buna bağlı olarak yüksek adsorplama kapasiteleri sayesinde potansiyel ilaç salım sistemleri olarak kullanılabilmektedirler. Aerojel yüzeyinin kolaylıkla fonksiyonelleştirilebilmesi, yüzey özelliklerinin istenilen yönde değiştirilmesine olanak sağlamaktadır. Silika aerojellerin geniş gözenek hacimleri

sayesinde fazla miktarda ilaç gözeneklere hapsedilebilmekte, yüzey modifikasyonları ile ilaçların hedeflenmesi ve kontrollü salımı gerçekleştirilebilmektedir.

Kanser tedavisinde kullanılan kemoterapi ilaçlarının gösterdikleri yan etkiler, dozajlarının ayarlanamaması, peptid-protein bazlı ilaçların vücut çevre şartlarından etkilenebilmeleri ve buna bağlı olarak oral yolla ilaç kullanımının kısıtlanması, ilaçların kan dolaşımından hızlıca temizlenmeleri ve kısa yarı ömürleri gibi dezavantajlar, kanser tedavilerinde yeni yaklaşımların geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır. Kolon kanseri kolon ve rektumda görülen, dünyada en yaygın kanserler arasında dördüncü sırada olan kanser çeşididir. 5-FU, kolon kanseri tedavisinde yaygın olarak kullanılan önemli bir antikanser ilacıdır ve pirimidin nükleotit sentezini sınırlayıcı olan timidilat sentaz enzimini inhibe ederek kanser hücrelerinin yok edilmesini sağlamaktadır. Potansiyel antikanser etkisine rağmen 5-FU kolon kanser ilacının kısa yarılanma ömrü, tümör hücrelerinin yanı sıra sağlıklı hücrelere de zarar verebilmesi, kan dolaşımından hızlıca uzaklaştırılması ve dozajının ayarlanamaması gibi problemler oral yolla kullanımını kısıtlamaktadır. Bu dezavantajlar, hastaların tedavi sırasında rahat ve etkin ilaç kullanımını sağlayacak şekilde ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesi ihtiyacını doğurmaktadır. Kolona hedefleme için farklı yaklaşımlar söz konusudur. Kullanılacak olan ilaç taşıyıcı sistemin ilacı kolona ulaştırmadan salmayacak ve gastrointestinal sistemin üst kısımlarındaki pH değişimlerinden etkilenmeyecek şekilde dizaynedilmesi, ilacın etkinliğini kaybetmeden kolona taşınması gerekmektedir. Kolonda kalış süresinin mide ve ince bağırsağa göre daha uzun olması, sindirim aktivitelerinin kolon bölgesinde diğer bölgelere göre daha düşük olması, mikrofloranın oldukça geniş olması gibi avantajlar kolona ilaç molekülü hedeflenmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu amaçla, biyobozunur yapıdaki doğal polisakkaritler kolon hedeflenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. İlaç taşıyıcı sistemler olarak kullanılan polisakkaritler, yalnızca kolonda bulunan enzimler ile bozunmaya uğrayarak, sadece pH' a bağlı değil enzim uyaranına da bağlı kolona spesifik salım gerçekleştirilmektedir. Doğal bir polisakkarit olan dekstran, kolonda bulunan dekstranaz enzimi ile bozunarak kolona hedefli sistemler olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Schulz ve arkadaşları (2011), TEOS başlatıcısından sentezlenen silika çekirdeğe ve ona kimyasal olarak konjuge edilen dekstran kabuğa sahip nanopartiküller üretmişlerdir. Silika nanopartiküller, Rhodamine B boyasının

yüklenmesi için kullanılarak kararlı bir yapı elde edilmesi sağlanmış ve APTES ile fonksiyonelleştirilen silika çekirdek üzerine doğal bir polimer olan dekstran kaplanarak biyouyumlu bir nanopartikül elde edilmiştir. Amin grupları ile fonksiyonelleştirilen silika yüzeyi, aktive edilen dekstranın kararlı bir şekilde silika yüzeyine kovalent bağlanma ile konjuge edilmesini sağlamaktadır.

1.2 Tezin Amacı

Kolon kanseri tedavisinde yaygın olarak kullanılan 5 Fluorourasil ilacının biyouyumlu ve yüksek adsorpsiyon kapasitesine sahip dekstran ile kaplı silika aerojellere yüklenerek, ilacın toksik ve yan etkilerinin azaltılıp, mide ve ince bağırsak bölgelerindeki istenmeyen salımların önlenmesi ve kolona etkin bir şekilde hedeflenmesi amaçlanmıştır.

1.3 Hipotez

Silika aerojeller, hala tedavi arayışında olunan kanser hastalıklarında ilaç tedavilerinin yan etki gözlenmeden ve kanser hücrelerine efektif olarak teslim edilmesinde önemli bir taşıyıcı olarak katkıda bulunacaktır. Enjeksiyon ile alınan kemoterapik ilaçlar yerine hastaların rahatı açısından oral yolla alınabilecek taşıyıcı malzemelere yüklü ilaçlar, tedaviye avantaj sağlayacak ve daha etkili bir tedavi sağlanacaktır.

Klinik uygulamalarda yaygın olarak kullanılan 5-FU kanser ilacının kan dolaşımından kısa sürede uzaklaştırılması ve buna bağlı olarak kolona özgü ilaç etkisinin azalması, geliştirilen dekstran ile kaplanmış silika aerojeller ile vücut içerisindeki çevresel (pH, enzimatik vb.) etkenlerden korunarak, ilacın etkinliğini kaybetmeden kolondaki kanserli bölgeye ulaşabilmesini sağlayacaktır. Kolonda bulunan dekstranaz enzimleri ile bozunan dekstran kaplı silika aerojellerden salınacak 5-FU ilacının, serbest haldeki ilaca göre daha etkin bir tedavi gerçekleştireceği düşünülmektedir.

BÖLÜM 2

AEROJELLER

Aerojeller, yüzeyleri süngerimsi yapıda, yüksek gözenekliliğe sahip, gözenekleri içerisinde %99.98 miktarında hava bulunduran, yüzey alanları oldukça yüksek, şeffaf, 3 boyutlu ağ yapısına sahip katı maddelerdir. Bugüne kadar üretilen en düşük öz kütleli katıların içerisinde olmaları, aerojelleri dünyanın bilinen en hafif katısı olarak kayda geçirmiştir. Başlatıcı olarak organik, inorganik veya hibrid moleküller kullanılarak sol-jel yöntemi ile sentezlenebilen aerojeller ilk olarak 1930' lu yıllarda Kistler tarafından elde edilmiştir. Kistler, elde ettiği gözenekleri sıvı ile dolu ıslak jeli süperkritik kurutma ile kurutarak gözenekler içerisindeki sıvıyı hava ile değiştirmiş ve böylece dünyanın en hafif katısı olan aerojeller ortaya çıkmıştır [1], [2]. Aerojeller, sahip oldukları yüksek yüzey alanları, yüksek gözeneklilik, açık gözenek yapısı, düşük yoğunluk, iyi termal yalıtım değeri, çok düşük dielektrik sabiti ve düşük kırılma indisi, yüzeylerinin değiştirilebilir olması gibi eşsiz özellikleri sayesinde birçok uygulama alanında kullanılmaktadır [2].

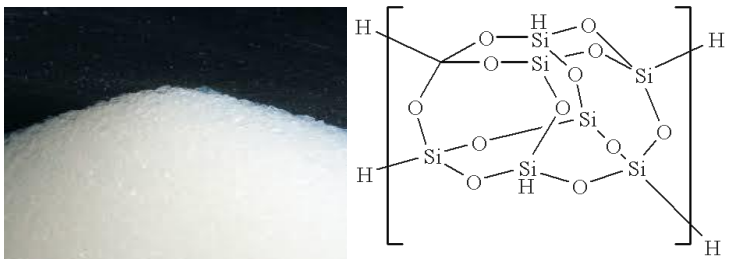
Aerojeller; silisyum dioksit, titanyum oksit, alüminyum oksit, aljinat, karbon, selüloz gibi farklı organik ve inorganik kaynaklardan sentezlenebilmektedir. Organik aerojeller sulu çözelti içindeki resorsinol ile formaldehitin sol-jel polikondenzasyon reaksiyonları ile sentezlenmektedir. İnorganik aerojeller ise iki şekilde üretilir. Bunlar; metal alkoksitlerin polikondenzasyonundan sentezlenen çapraz bağlı ve şeffaf hidrojellerden üretilen aerojeller ve sodyum silikatın silisik asit vermek üzere su ile reaksiyona girmesinden sonra silisik asidin polimerize olmasıyla elde edilen aerojellerdir [3].

Çizelge 2. 1 Aerojellerin Genel Özellikleri

Aerojel Özellikleri	**Değeri**
Yüzey alanı	200-1200 m^2/g
Gözeneklilik	%90-99
Gözenek boyutu	3-10 nm
Yoğunluk	0.003 -0.15 g/cm^3
Termal yalıtım değeri	0.005 W/mK
Dielektrik sabiti	1.0-2.0
Kırılma indisi	1.05

2.1 Silika Aerojeller

Silika aerojeller, yüksek yüzey alanı (300-1200 m^2/g), yüksek gözeneklilik (%80-99.8), düşük yoğunluk (0.003 g/cm^3), iyi termal yalıtım değeri (0.005 W/mK), çok düşük dielektrik sabiti (1.0-2.0) ve düşük kırılma indisi (1.05) gibi özelliklere sahip silika kaynaklarından genellikle sol-jel yöntemi ile sentezlenen inorganik yapıdaki aerojel çeşididir [2], [4], [5]. Aerojel malzemelerin kimyasal yapısı esnektir; aerojellerin gözenek boyutları ve yüzey alanları sentezlenmeleri sırasında sentez koşulları, çözücü ve katalizör tipi veya konsantrasyonları değiştirilerek aerojellere istenilen özellikler kazandırılabilir. Silika aerojeller; kimyasal olarak inerttir, insan vücudu için zararlı değildir ve yüksek sıcaklıklara karşı dayanıklıdır [2].



Şekil 2. 1 Toz haldeki silika aerojel ve silika aerojelin 3 boyutlu yapısı [6]

2.1.1 Silika Aerojellerin Sentezlenmesi

Silika aerojeller genel olarak sol-jel yöntemi ile sentezlenirler. Sol-jel yöntemi, başlatıcı olarak kullanılan alkoksitlerin, hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonları vererek jel oluşturmaları prensibine dayanmaktadır [2], [7]. Sol-jel yönteminin avantajları; yöntemin oldukça basit uygulanabilir ve ekonomik olması, istenen morfolojide, küçük boyutlarda ve yüksek kalitede partiküller üretmeye olanak sağlamasıdır [8].

Sol-jel prosesi sırasında, silika içeren organik bileşikler silisyum dioksit (SiO_2) oluşturacak şekilde reaksiyon verirler. Reaksiyonun başlangıcında bu karışım sıvı haldedir, reaksiyon devam ettikçe giderek viskoz bir çözelti haline gelir. Reaksiyon tamamlandığında, çözelti akışkanlığını kaybetmiş ve jeline dönüşmüş olur. Jel, içerisinde çözücüsünü barındıran silisyum dioksitin 3 boyutlu ağ yapısındadır. Jelin özel kurutma prosedürleri sırasında, silisyum oksit ağ yapısı içerisinde bulunan çözücü, hava ile yer değiştirir. Bu adımda elde edilen ürüne "aerojel" denir [9].

Sol-jel yöntemi 3 basamaktan oluşmaktadır. Bunlar [10]:

1. Jelin oluşumu,

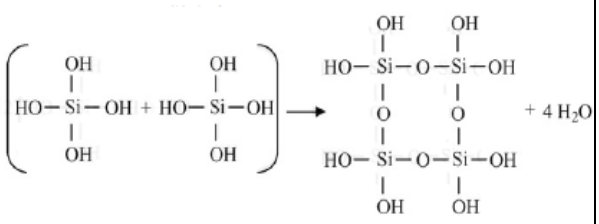
2. Jelin yaşlandırılması,

3. Çözücünün uzaklaştırılması

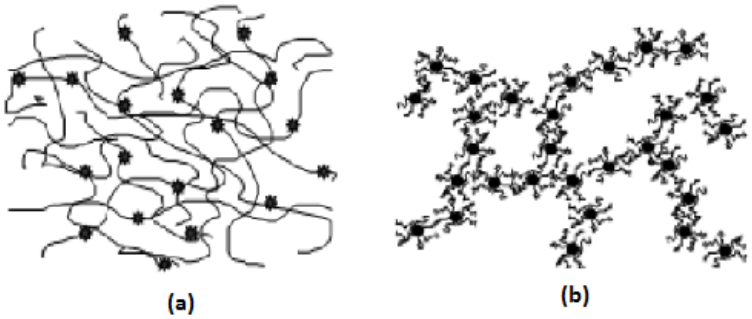
2.1.1.1 Jelin Oluşumu

Jel eldesi; sol ve jel oluşumu olmak üzere 2 adımda gerçekleştirilir. İlk adımda oluşan sol; silika kaynağı, çözücüsü ve suyun içerisinde bulunduğu homojen bir karışım ile elde edilir, bu aşamada silika kaynağının hidrolizi söz konusudur [7]. Başlatıcıların yapıları genel olarak $Si(OR)_4$ şeklindedir [9]. Silisyum dioksit yapısının hidrolizi ile silanol grupları (Si-OH) oluşumu gerçekleşmektedir. Katalizör ilave edilmesi ile hidroliz ile oluşan silanol grupları ortamda bulunan oligomerler arasında kondenzasyon reaksiyonu gerçekleşmesi sonucu siloksan grupları (Si-O-Si) oluşarak, 3 boyutlu ağ yapısında jel oluşumu gözlenir. Oluşan jeller dağıtıcı ara maddesine göre hidrojel, aquajel, alkojel ve aerojel olarak adlandırılmaktadır [7]. Kondenzasyon reaksiyonu sonucu, yan ürün olarak su ve alkol çıkışı gözlenmektedir [9].

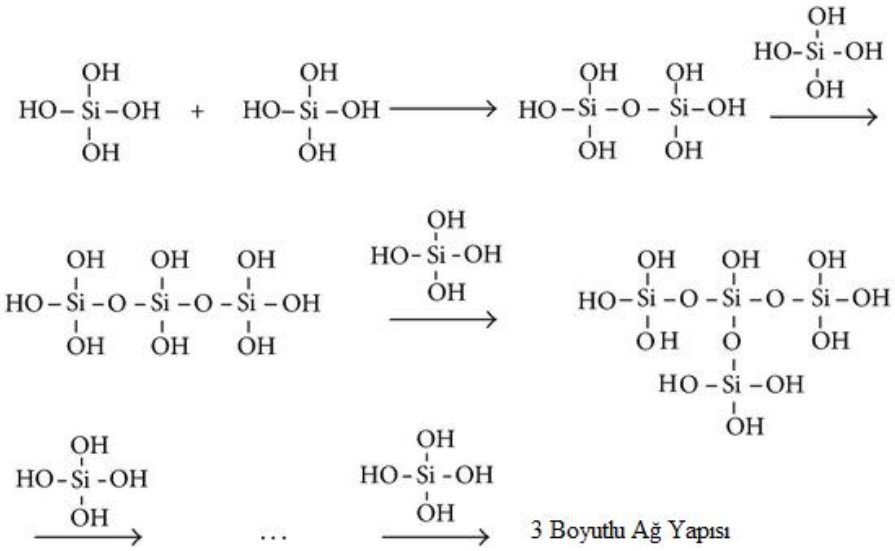
Çizelge 2. 2 Farklı kaynaklardan sentezlenen silika aerojellerin hidroliz ve kondenzasyon basamakları [11], [12]

Sol-jel yöntemi-Jel oluşum reaksiyonları	Ortosilisik asit (Tetraetilortosilikat, TEOS) kaynaklı silika aerojel	Sodyum silikat kaynaklı silika aerojel (Na_2SiO_3)
Hidroliz reaksiyonu	$\equiv Si\,OC_2H_5 + H_2O \rightarrow \equiv Si\,OH + C_2H_5\,OH$	$Na_2SiO_3 + H_2O + 2CH_3COOH \rightarrow Si{-}(OH)_4 + 2CH_3COONa$
Kondenzasyon reaksiyonu	$\equiv Si\,OC_2H_5 + HO\,Si\equiv \rightarrow \equiv Si\,O\,Si\equiv + C_2H_5OH$ (a) $\equiv Si\,OH + HO\,Si\equiv \rightarrow \equiv Si\,O\,Si\equiv + H$ (b) (a). Alkol kondenzasyonu, (b). Su kondenzasyonu	

Katalizör eşliğinde gerçekleştirilen hidroliz esnasında asit katalizörü, baz katalizörü veya iki aşamalı asit-baz katalizörü kullanılmaktadır. Yapılan araştırmalar neticesinde asit katalizörü kullanıldığında genellikle hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonlarının zayıf dallanmalara ve mikro gözeneklere neden olduğu ve lineer veya rastgele zincirlenmiş yapılar oluştuğu görülmektedir [7], [13]. Asit katalizörlerine HCl, H_2SO_4, HNO_3, HF, oksalik asit, formik asit, asetik asit örnek olarak verilebilir. Baz katalizörü kullanıldığında, sol içerisinde uniform bağlantılar kurulması daha kolay gerçekleşmektedir. Baz katalizörlerine örnek olarak NaOH, NH_3, NH_4OH verilebilir. İki aşamalı asit–baz katalizörü kullanıldığında ise oluşan çapraz bağların arttığı, mikro gözenekliliğin azaldığı ve silika jel içerisinde daha yoğun gözenek dağılımının gözlendiği belirlenmiştir [14].



Şekil 2. 2 Asit (a) ve baz (b) katalizörleri ile oluşan jel yapıları [14]



Şekil 2. 3 Kondenzasyon aşaması ile birlikte jelleşme ve 3 boyutlu ağ yapısının oluşması [4]

Silika aerojeller tetraetilortosilikat (TEOS), tetrametilortosilikat (TMOS), polietoksidisiloksan (PEDS) gibi farklı inorganik başlangıç maddeleri kullanılarak sentezlenebilmektedir [15]. TEOS gibi su ile kolay karışmayan maddeler kullanıldığında karışımı homojenize etmek için alkol, aseton, dioksan gibi farklı çözücüler kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar neticesinde farklı başlangıç maddeleri ve farklı parametrelerle çalışarak farklı özelliklerde silika aerojeller elde edildiği gözlenmiştir [13].

2.1.1.2 Jelin Yaşlandırılması

Yaşlandırma işlemi, oluşan jelin çözücü içerisinde silika ağına yeni monomerlerin eklenmesi ve siloksan gruplarının çapraz bağ derecesinin artması işlemidir. Temel amacı, jelin ağ yapısındaki bağların kuvvetlenmesi ve mekanik kuvvetinin

arttırılmasıdır. Silika kaynağının ana çözücüsü kullanılarak silika ağı içerisindeki suyun uzaklaştırılması sağlanır [13]. Yaşlandırma işlemi, jelin ana çözücü içerisinde farklı pH, zaman ve sıcaklıkta bekletilmesi ile gerçekleştirilebilmektedir. Kullanılan parametreler, oluşan jelin gözenekliliğini, gözenek boyutlarını ve yüzey alanı gibi özelliklerini etkilemektedir [1].

2.1.1.3 Jelin Kurutulması

Kurutma işleminin yapılmasındaki amaç jel yapısının yığılmasına engel olmak, jelin iskelet yapısını korumak ve büzülmeyi en aza indirgemektir. Bu amaçla çözücüyü jelden uzaklaştırmak gerekir [13]. Jeli kurutmak için 3 farklı yöntem kullanılabilir. Bunlar [16];

1. Süperkritik kurutma
2. Ortam basıncında kurutma
3. Dondurarak kurutma

Kurutma aşamasında, jelin gözeneklerindeki sıvı, jelin ağ yapısında bir değişikliğe neden olmadan hava ile yer değiştirir ve böylece aerojel elde edilir [11], [17].

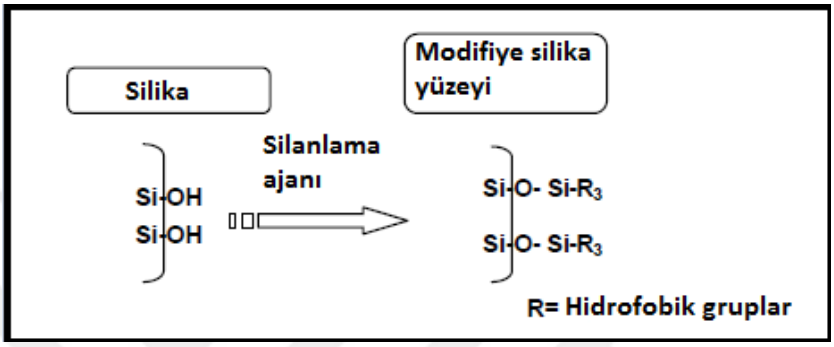
2.1.2 Silika Aerojellerin Yüzey Modifikasyonu

Yüzey modifikasyonu, malzemelerin yüzey özelliklerinin iyileştirilmesi ve değiştirilmesi olarak tanımlanır. Pek çok taşıyıcının fizikokimyasal özelliklerinin ve farmakolojik etkinliklerinin iyileştirilmesinde yüzey modifikasyonu çeşitli avantajlar sağlamaktadır. Taşıyıcı malzemenin yüzey özellikleri organizmada gösterdikleri biyolojik davranışlarda önemli rol oynamaktadır. Taşıyıcının yüzey özelliklerinin modifikasyonu ile;

- Hedeflendirme potansiyelleri ve hücresel tutulum düzeyleri arttırılmakta,
- Kan dolaşımında kalış süreleri uzamakta,
- Özellikle tümörlü dokularda daha yüksek birikimleri söz konusu olmaktadır [18].

Silika aerojellerin yüzey yapıları, istenilen morfolojide fonksiyonelleştirilebilmelerine olanak sağlamaktadır. Silikatların organik modifikasyonu; gözenekli silikanın yüzey özelliklerinin ve gözenek büyüklüğünün kontrol edilebilmesine izin verirken; aynı zamanda malzemenin hidrolize karşı kararlı kalmasını da sağlamaktadır [19]. Silika

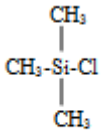
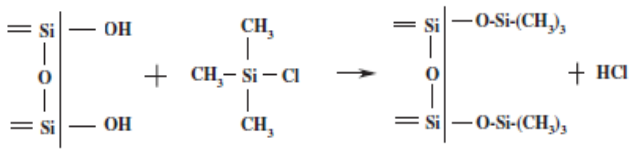
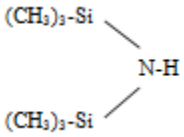
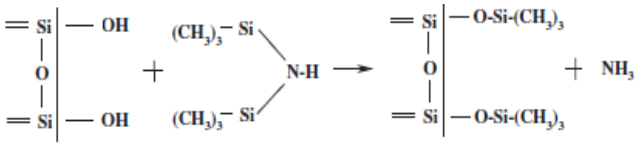
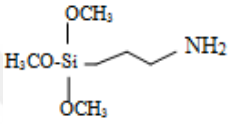
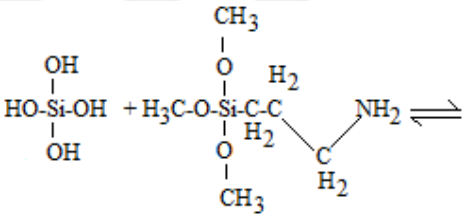
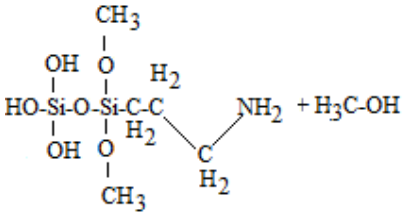
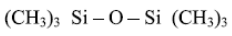
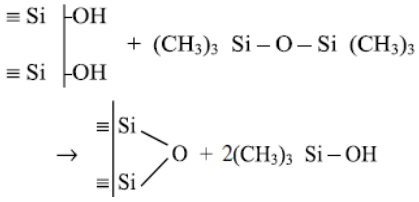
aerojeller sentezlenme koşullarına bağlı olarak hidrofobik veya hidrofilik özellik göstermektedir. Aerojel yapısındaki silanol (Si-OH) polar grubu hidrofiliklik kaynağıdır, bu grup suyu adsorplanmaya teşvik etmektedir. Genel olarak aerojellere yüksek sıcaklıklarda süper kritik kurutma yapıldığında hidrofobik, CO_2 ile düşük sıcaklıkta kurutma yapıldığında hidrofilik özellik kazanmaktadır. Bu farklılık kurutma prosesi boyunca farklı yüzey gruplarının oluşmasından kaynaklanmaktadır [9].



Şekil 2. 4 Silika yüzeyinin silanlanması [11]

Aerojellerin yüzey modifikasyonu silanlama ajanları kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Silanlama ile iç yüzeyde kimyasal modifikasyon gerçekleştirilmektedir. Öncelikle jelin porları içindeki su-alkol karışımı, su içermeyen bir çözücü ile yer değiştirilir. Daha sonra silanlama ajanları (örneğin: TMCS, HMDZ, APTES) ile Si-OH grupları arasında reaksiyon gerçekleşir. Si-OH grupları içindeki hidrojenin, hidrolitik olarak kararlı Si-R grupları ile yer değiştirmesi sonucunda oksijen bağları boyunca suyun adsorpsiyonunu engellenir böylece hidrofobik aerojeller oluşur [2]. [20]

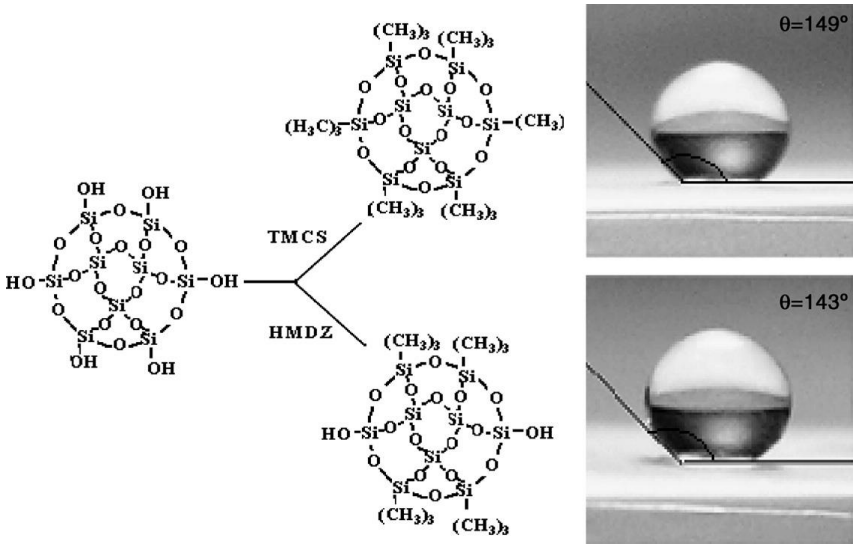
Çizelge 2. 3 Farklı silan bağlama ajanları ile silika aerojel yüzeyinin modifikasyonu [21], [22], [23]

Silanlama Ajanı	Yapısı	Silika aerojel yüzey modifikasyon reaksiyonu
Trimetilklorosilan (TMCS)		
Hekzametildisilazan (HMDZ)		
3-(Aminopropil) trimetoksisilan (APTMS)		 
Hekzametildisiloksan (HMDS)		

Hidrofobikliği artırmak için iki yol bulunmaktadır:

1. Kurutma sırasında ajan eklemek veya jelleşme esnasında yüzey modifikasyonu için ajan eklemek,

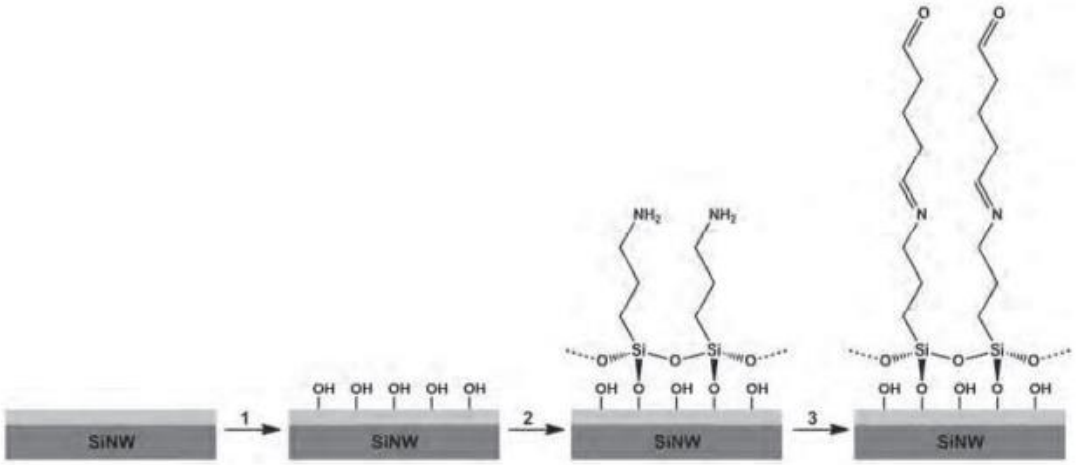
2. Kurutma işleminden sonra ısıl olarak yüzey modifikasyonu yapmak.



Şekil 2. 5 TMCZ ve HMDZ silan bağlama ajanları ile hidrofilik aerojellerin hidrofobik özellik kazanması [12]

Aerojellerin fonksiyonelleştirilmesi malzemenin adsorbsiyon ve salınım özelliklerini etkilemektedir. Silika aerojellerin hidrofobik yapıda olanları, hidrofiliklerden oldukça farklı özellikler gösterir; hidrofilik aerojeller su ile etkileşime girdiklerinde yapılarında çökme gözlenirken, hidrofobik aerojeller su içerisinde ıslanmadan yüzer halde kalabilirler [2], [11].

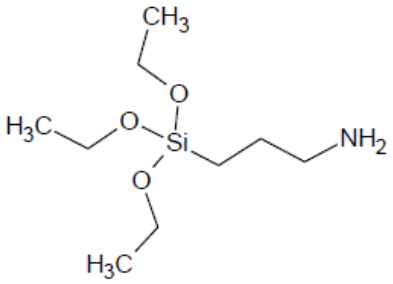
Silika partiküllerin yüzeylerinin modifiye edilmesi, inorganik yapıdaki silikanın organik çevrede de kararlı halde kalabilmesine olanak sağlamaktadır [24]. Silika yüzeyinin fonksiyonelleştirilmesinde en çok tercih edilen yöntem, organofonksiyonel alkoksisilan ve klorosilan moleküllerinin kendiliğinden birleşme reaksiyonları vermesi reaksiyonlarıdır. Fonksiyonelleştirme reaksiyonlarında genel olarak hidroksilleştirilmiş silika yüzeyi, silanlama ajanının bulunduğu organik bir çözücü içerisinde reaksiyona girmektedir. Bu yönteme alternatif olarak gaz fazı yöntemleri de kullanılmaktadır [25].



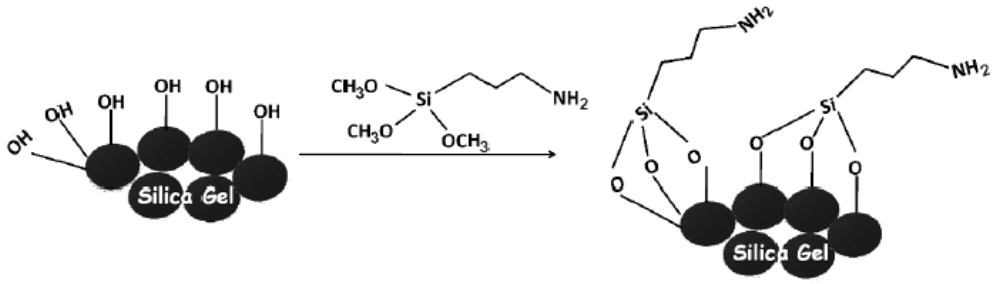
Şekil 2. 6 Silika yüzeyinde silan tabakası oluşma mekanizması ve glutaraldehit ile modifikasyon [26].

Alnaief ve Smirnova (2014), sentezledikleri silika aerojelleri sentez sonrasında gaz faz içerisinde, sentez sırasında yaşlandırma adımında sıvı faz içerisinde ve kondenzasyon adımında sıvı faz içerisinde olmak üzere üç farklı yol izleyerek 3-(aminopropil)-trimetoksisilan (APTMS) ile fonksiyonelleştirmişlerdir. Azot adsorbsiyon/desorpsiyon analizleri sonucunda üç farklı metod ile fonksiyonelleştirilen silika aerojellerin hepsinde yüzey alanlarında düşüş gözlenirken, yoğunluk ve gözenek boyutlarının arttığı tespit edilmiştir. Fonksiyonelleştirme sırasında kullanılan silan ajanı konsantrasyonu artıkça ilaç yükleme kapasitelerinin arttığı gözlenmiştir. Sentez sırasında sıvı faz içerisinde APTMS ile fonksiyonelleştirilen silika aerojellerin yapısında, sentez sonrasında gaz faz ile fonksiyonelleştirilen silika aerojellere göre daha fazla değişim gözlenmiştir. Bunun nedeni, gaz faz fonksiyonelleştirme sırasında aerojeller sadece buhar ile etkileşime girerken; sıvı faz içerisindeki fonksiyonelleştirme reaksiyonlarında kullanılan sıvının, aerojel gözeneklerinin içerisine girerek aerojelin iç yapısını değiştirebilmesidir. Ancak sıvı faz ile fonksiyonelleştirilen silika aerojellerin yüzeylerinde daha fazla amin grubunun oluştuğu gözlenmiştir [21].

3-(aminopropil)trietoksisilan (APTES), silika yüzeyinin kimyasal olarak fonksiyonelleştirilmesinde yaygın olarak kullanılan bir silan ajanıdır. Silika yüzeyinin APTES ile fonksiyonelleştirilmesi, APTES' in etanol ve su içeren bir çözelti içerinde hidroliz olup, silika yüzeyindeki hidroksil (-OH) gruplarına bağlanmasını veya toluen, aseton gibi organik çözücüler içerisinde kendiliğinden birleşme reaksiyonu göstermesini içermektedir [25].

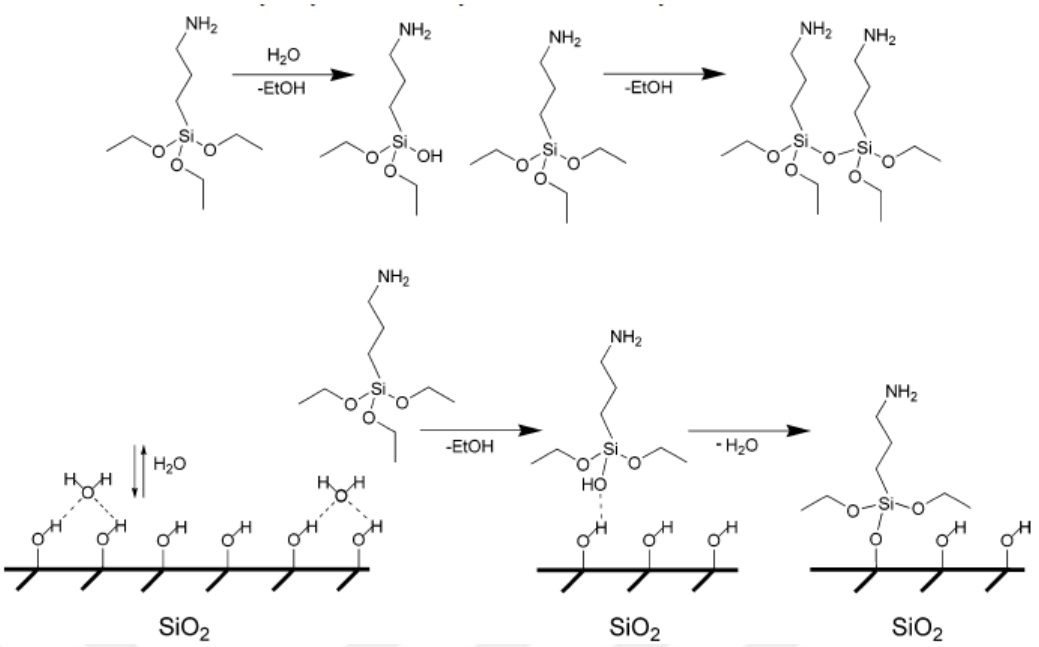


Şekil 2. 7 3-(Aminopropil)trietoksisilan (APTES) yapısı [27].



Şekil 2. 8 APTES ile yüzeyi fonksiyonelleştirilmiş silika jel [28].

Çözücü olarak etanol kullanılması, etanolün kendisinde de hidroksil (-OH) gruplarının bulunması nedeniyle silika yüzeyindeki hidroksil gruplarına bağlanacak olan APTES' in silanlama reaksiyonunda bazı engellere neden olmaktadır. Bu nedenle birçok makale, silika–APTES modifikasyon reaksiyonlarında toluen gibi polar olmayan çözücüler kullanılmasını önermektedir. Önemli olan bir diğer noktada, uygun bir çözücü içeris inde APTES, silika yüzeyinde bir tabaka oluşturur ancak etkili bağlanmaların oluşturulabilmesi için reaksiyonun belli miktarda sıcaklık verilerek gerçekleştirilmesi gerekmektedir [29].



Şekil 2. 9 APTES' in silika yüzeyine modifikasyonunda etanol (EtOH) ve su varlığında hidroliz ve kondenzasyon basamakları [29].

APTES gibi organotrialkoksisilanlar, hidroliz reaksiyonu ile silanol grupları oluşturarak silika yüzeyindeki Si-OH gruplarına bağlanıp kararlı siloksan (Si-O-Si) bağları oluşturmaktadır. Bunun yanı sıra, birkaç saat içerisinde baz katalizörü varlığında kendi aralarında kondenzasyon reaksiyonu vererek oligomer yapıları oluşturma eğilimi göstermektedir. Bu yapılar, silika yüzeyindeki Si-OH gruplarına bağlanarak tek tabaka oluşturmak yerine daha kalın tabakaların oluşumuna neden olabilmektedir. Silika modifikasyonu, susuz organik çözücüler veya polar alkolik çözücülerde APTES molekülündeki amin gruplarının kendiliğinden katalizör etkisi göstermesiyle gerçekleştirilebilmektedir. Ancak APTES' in suda çözünebilmesi ve nötral pH' larda kendi aralarında kondenzasyona uğraması yapının kararlılığını azaltır ve çözünmeyen jellerin oluşumuna neden olarak silika yüzeyi ile APTES arasındaki etkileşimleri kısıtlar.

APTES ile silanlama reaksiyonunun optimum şekilde gerçekleşmesi; reaksiyon süresine, çözelti konsantrasyonuna ve sıcaklığa bağlıdır. Silanlama reaksiyonu süresi arttıkça, yüzeyde oluşan APTES film tabakası kalınlığı da artmaktadır. APTES konsantrasyonun artmasının yüzeyde oluşan tabaka kalınlığı ve pürüzlülüğü arttırıcı etkisi olmamaktadır [25]. Silika yüzeyindeki pürüzlülük, APTES' in silika yüzeyinde polimerizasyonu ve çözelti içerisinde oluşan birikmelerin yüzeyde toplanması ile meydana gelmektedir. Pürüzlülük 60°C' nin üzerinde meydana gelmemektedir [29]. Düşük sıcaklıklarda,

ortamda bulunan su silika yüzeyine adsorblanır, bu da silan ajanlarının silika yüzeyi ile etkileşimini kısıtlamaktadır [30].

Silika yüzeyinin modifikasyonu sırasında amin gruplarının konsantrasyonu arttıkça elde edilen partiküllerin boyutları da artmaktadır. Amin grupları kondenzasyonu arttırır ve buna bağlı olarak partikül boyutlarında büyüme gözlenir. Ko-kondenzasyon metodunda, partikül boyutları modifikasyon esnasında gerçekleşen hidroliz ve kondenzasyon miktarlarına bağlı olduğu için bu iki reaksiyonun kontrolü ile reaksiyon sonunda elde edilecek olan partikülün boyutunu ve boyut dağılımını ayarlamaya olanak sağlamaktadır. Diğer yandan, kullanılan çözeltinin vizkozitesinin arttırılması, elde edilecek partikül boyutlarının küçülmesine neden olur; bunun sebebi partiküller arasındaki çarpışmaların azalması ve buna bağlı olarak reaksiyon hızının düşmesidir. Çözücü olarak kullanılan etanol, metanolden iki kat daha viskoz bir çözücü olduğu için reaksiyon sırasında metanol kullanılması reaksiyon hızını arttırarak daha büyük boyutlu partiküller elde edilmesini sağlamaktadır [24].

Silika yüzeyindeki amin gruplarının varlığı asidik pH' larda yüzeyin pozitif zeta potansiyele (+ 33 mV) sahip olmasına neden olurken, yüzeyde kalan Si-OH grupları bazik koşullarda (pH 8.8) negatif zeta potansiyel vermektedir. İzoelektrik nokta (zeta potansiyelin 0 mV olduğu), pH 7 civarındadır ve amin ile fonksiyonelleştirilmiş silika nanopartiküllerin yığın oluşturma eğilimi göstermesine neden olmaktadır [31].

Rosenholm ve Linden (2008), TEOS kaynaklı mezo gözenekli silika partiküller üreterek, sentez sonrasında silika yüzeyini APTES ile fonksiyonelleştirmişlerdir. Fonksiyonelleştirme öncesinde silika partiküller vakum etüv içerisinde 100°C' de bekletilmiş ve yüzeydeki su moleküllerinin uzaklaştırılması sağlanmıştır. Partiküller azot altında, toluen çözücüsü içerisine konulmuş ve karıştırmaya devam edilirken silika yüzeyinde bulunan silanol gruplarına karşılık gelecek şekilde APTES, bu karışım içerisine eklenmiştir. Silanlama işlemi, 100°C' de, geri soğutucu altında gece boyunca devam etmiştir. Silanlama reaksiyonun ardından örnekler filtre edilmiş, toluen ile yıkanmış ve 80°C' de 3 saat yaşlandırıldıktan sonra 45°C' de vakum altında kurutulmuştur. Azot adsorpsiyon/desorpsiyon analiz sonuçlarına göre, APTES ile fonksiyonelleştirme sonrasında silika partiküllerin yüzey alanları azalmış ve gözenek çapları küçülmüştür.

Gözenek çapının küçülmesi, silanlama sonrası gözenek duvarlarında oluşan organik fonksiyonel grupların varlığıyla ilişkilendirilmektedir [32].

2.1.3 Silika Aerojellerin Uygulama Alanları

Silika aerojeller, sahip oldukları fiziksel ve kimyasal özellikler nedeniyle birçok uygulama alanında tercih edilen, nano gözenekli, inorganik malzemelerdir [16]. Düşük yoğunlukları ve termal iletkenlikleri, geniş yüzey alanları, yüksek gözeneklilikleri, iyi termal yalıtım değeri, sıcaklık ve ışığa karşı dirençli olmaları ve optik özellikleri sayesinde adsorban olarak kimya ve boya sanayinde, termal ve ses yalıtım malzemesi olarak inşaat ve yapı sektöründe, uçak ve uzay araçları yapımında, immobilizasyon çalışmalarında (enzim, biyolojik moleküller), ilaç taşıma sistemlerinde, atık su ve hava temizliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır [1], [14].

2.1.3.1 Silika Aerojellerin İlaç Salım Sistemleri Olarak Kullanılması

Silika aerojeller, sentezlenme koşullarına bağlı olarak değiştirilebilir özellikleri ile birçok alanda kullanıma uygun bir malzemedir. Silika aerojellerin, biyouyumlu ve biyobozunur olmaları, toksik özellik göstermemeleri, yüksek yüzey alanları ve gözenek yapıları, değiştirilebilir yüzey ve gözeneklere sahip olmaları ve yüksek adsorblama kapasiteleri onları ideal ilaç taşıma sistemleri yapmaktadır. Aerojellerin geniş yüzey alanları ve geniş gözenek hacimleri ve buna bağlı olarak yüksek adsorbsiyon kapasiteleri, aerojellerin içerisine yüksek miktarlarda ilaç molekülü yüklenmesine olanak sağlar [33]. Yüklenecek hedef bileşenler, ya aerojellerin iç yüzeyine adsorbe olurlar ya da aerojel gözeneklerinde kristalleşirler. Adsorbsiyon ve kristalizasyonu etkileyen faktörler; yüklenecek bileşiğin fiziko-kimyasal yapısı, konsantrasyonu, yükleme sırasında oluşan moleküler etkileşimler, sıcaklık, basınç gibi parametrelerdir [2], [34].

Silika aerojellere ilaç yüklenmesi, sol-jel prosesi esnasında ve sentez sonrasında (kurutma sonrası) olmak üzere 2 farklı şekilde gerçekleştirilebilmektedir.

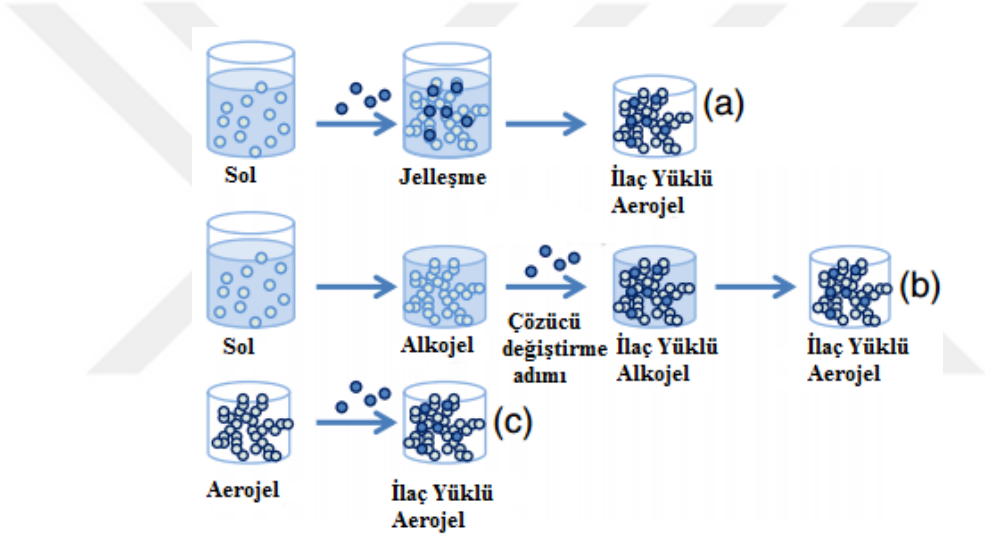
Sol-jel prosesi esnasında ilaçlar;

- Sol oluşumu sırasında,
- Yaşlandırma adımında çözücü içerisinde çözülerek,

Kurutma adımında;

- Sıvı fazın ilaç çözeltisi ile yer değiştirmesi ve çözücünün uçurulması gibi farklı yöntemler ile yüklenebilmektedir.

Sentez sonrasında ilaç yüklemesinde ise toz halindeki silika aerojellerin ilaç çözeltisi ile muamelesi sonucu ilacın, sıvı fazdan aerojel gözeneklerine adsorblanması söz konusudur. Ancak hidrofilik silika aerojellere sıvı içerisinden adsorbsiyonla ilaç yüklenmesi uygun bir metod değildir çünkü su içerisinde, hidrofilik silika aerojellerin gözenek yapılarında çökme meydana gelmektedir. Bu yönteme alternatif olarak süper kritik karbondioksit (CO_2) çözeltisi içerisinden ilaçların silika aerojellere adsorbsiyonu önerilebilir [9].



Şekil 2. 10 Silika aerojellere farklı yollar ile ilaç yüklenmesi: (a) sol-jel prosesi esnasında sol oluşumu adımında, (b) sol jel prosesi esnasında çözücü değiştirme adımında, (c) sentez sonrası ilaç yükleme [35].

Silika aerojellerin sentezlenmesi sırasında ilaç moleküllerinin silika ağ yapısı içerisine hapsedilmesi tek adımda ilaç yüklü silika aerojellerin sentezlenmesi açısından oldukça avantajlı bir yöntemdir. Ancak, ilaç etken maddelerinin çözünürlükleri sentez sırasında silika aerojellere ilaç yüklenmesine bazı sınırlamalar getirmektedir. Aynı zamanda silika aerojel içerisine yüklenmek istenen ilaç molekülleri, sentez koşullarına ve bir sonraki sentez adımlarına karşı dayanıklı olmak zorundadır [32].

Silika aerojellerin gözenekliliği, silika aerojellere yüklenecek olan ilaç miktarı ile doğrudan ilişkilidir ve salım hızları da yüklenen ilaç miktarına bağlı olarak farklılık

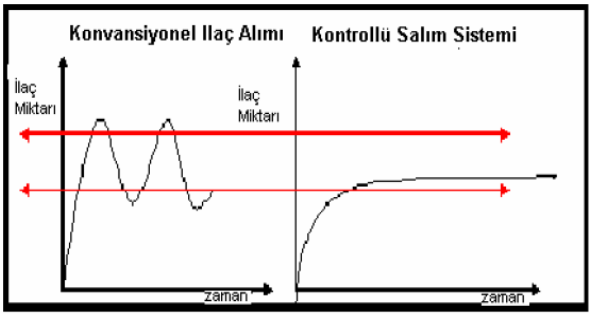
göstermektedir. Bu durum, sentez ve uygulama koşullarını istenilen yönde gerçekleştirme konusunda kısıtlamalara neden olmaktadır. Bir diğer problem ise; sentez sırasında yüklenen ilaç moleküllerin kapalı gözenekler içerisinde kalması ve salım ortamında bu gözenekler içerisinden dışarı çıkamamasıdır. Sentez sırasında ilaç yüklemesi; doğrudan sıkıştırma, yaş granülasyon veya solün ve ilaç moleküllerinin fiziksel olarak karıştırılması uygulamalarını içerdiği için silika aerojeller içerisinde ilaç moleküllerinin homojen bir dağılımı söz konusu olmayabilir ve deneyin tekrarlanabilirliğini azaltmaktadır [32]. Silika aerojellerin sentezlenmeleri sonrası, ilaç moleküllerinin çözücü içerisinden aerojel tarafından adsorblanması ve adsorbsiyon sonrasında çözücünün evaporasyonu daha avantajlı ve etkin bir yöntemdir. Bu yöntem, özellikle suda çözünmeyen ilaçlar için uygun çözücü kullanılmasına olanak sağlamaktadır. Aynı zamanda adsorbsiyon koşullarının değiştirilebilmesine bağlı olarak silika aerojellere yüklenecek olan ilaç miktarları da ayarlanabilmektedir. Aerojel özelliklerinin istenilen yönde değiştirilmesi için sentez esnasında yapılacak değişiklikler, sentez sırasında eklenen ilaç moleküllerinin kararlılıklarını etkileyebilirken sentez sonrasında ilaç yükleme prosesi bu dezavantajı ortadan kaldırmaktadır [32]. Smirnova ve arkadaşları [2], silika kaynağı olarak tetrametiloksisilan (TMOS) kullanarak asit ve baz katalizörlü sol-jel yöntemi ile silika aerojeller üretmişlerdir. Elde edilen hidrofilik aerojelleri etüv içerisindeki metanol buharı ile hidrofobikleştirmişlerdir. Silika aerojellere ketoprofen ilacının yüklenmesi, karbondioksitli otoklavda belirli basınç ve sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak ketoprofen, hidrofilik aerojellere daha fazla yüklenmiş ve hidrofobik aerojellerden daha yavaş salım gerçekleşmiştir. Silika aerojel yüzeylerinin farklı silan ajanları ile fonksiyonelleştirilmesi, silika aerojellerin ilaç yükleme kapasitelerini önemli ölçüde etkilemektedir. Sevimli ve Yılmaz (2012), mezo gözenekli silika nanopartiküllerin yüzeyini farklı ajanlar ile fonksiyonelleştirerek Amoxicillin yüklenmesinin yüzeydeki fonksiyonel grupların türüne göre değiştiğini göstermişlerdir. [36]. Tomoiaga ve arkadaşları (2013), manyetik mezo gözenekli silika nanopartikülleri amin grupları ile fonksiyonelleştirerek 5 Fluorouracil ilacının yüklenme kapasitesinin fonksiyonelleştirilmemiş partiküllere göre arttığını gözlemişlerdir. [37]. Bunun yanı sıra silika partiküllerin şekil yapısının ilaç yüklenmesini etkilediği ve boşluklu yapıya sahip partiküllerin daha fazla ilaç enkapsüle ettiği görülmüştür [38].

BÖLÜM 3

KONTROLLÜ İLAÇ SALIM SİSTEMLERİ

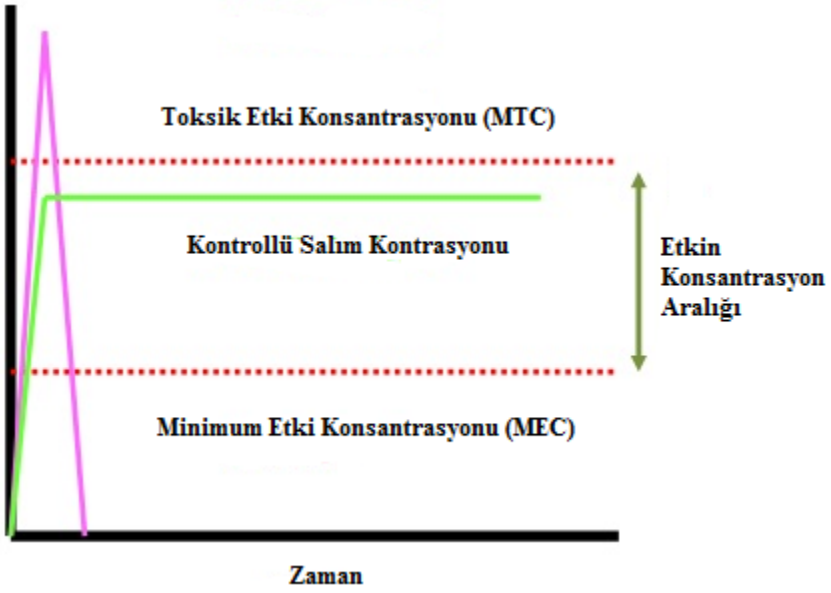
Tedavi sırasında kullanılan ilaçların yan etki göstermeleri, istenilen dozajda ve etkinlikte hedeflenen bölgeye ulaşamamaları, kan dolaşımından hızlı bir şekilde temizlenmeleri, düşük çözünürlükleri, özellikle kanser tedavisinde kullanılan antikanser ilaçlarının tümör hücrelerinin yanı sıra sağlıklı hücrelere de zarar vermeleri gibi birçok problemle karşılaşılmaktadır. Bu problemler, ilaçların etkinliğini ve biyoyararlılığını arttıracak bir taşıyıcı sisteme ihtiyaç duyulmasına neden olmaktadır. Son yıllarda ilaç salım sistemlerine artan ilgi ile birçok ilaç taşıyıcı malzeme geliştirilmiştir. Bu taşıyıcılara örnek olarak nanopartiküller, lipozomlar, miseller, dendrimerler, polimerik malzemeler örnek verilebilmektedir [11].

Kontrollü salım sistemleri, belirli bir ilacın zamansal ve mekansal olarak istenilen şekilde vücut içerisine verilmesini sağlayan, ilacın vücut içerisinde çevre ortamdan etkilenip, fizyolojik olarak bozulmasını engelleyen ve ilacın etkinliğini arttıran sistemlerdir [39]. Kontrollü salım sistemlerindeki amaç, kanda yüksek ve kararlı ilaç düzeyi ile uzun süreli ve kontrol edilebilen salımın sağlanmasıdır. Klasik salım sistemleri veya enjekte edilebilir sistemlerde, ilaç düzeyinde maksimum ile minimum değerler arasında dalgalanmalar gözlenebilirken kontrollü ilaç salımları ile, optimum değerde ve kararlı bir şekilde uzun periyotlarla ilaç salımı sağlanabilmektedir.



Şekil 3. 1 Konvansiyonel ve kontrollü ilaç salım sistemlerinin zamana bağlı salım profilleri [11].

Kontrollü ilaç salım sistemlerinden sıfırıncı dereceden salım, ilacın kandaki ilaç konsantrasyon değişimlerinin minimuma inmesini sağlayan sistemlerdir. Hızlı salımlar, kandaki ilaç moleküllerinin hızlı bir şekilde artmasına ve bunu takiben ilaç konsantrasyonun hızlı düşüşüne neden olur. Kandaki ilaç konsantrasyonunun ani artışı ilacın göstereceği minimum toksik etki konsantrasyonun üstüne çıkmasına ve daha sonra ilacın hızlı bir şekilde elimine edilerek konsantrasyonundaki ani düşüşü teröpatik etkinin gösterilmesi için gereken vücut içerisinde kalma süresinin azalmasına buna bağlı olarak da minimum etki konsantrasyonun altında kalmasına neden olmaktadır [39].



Şekil 3. 2 İlacın en iyi terapötik etki gösterdiği plazma konsantrasyonu aralığı [39].

3.1 Kontrollü Salım Sistemleri

3.1.1 Biyoaşınır ve Biyobozunur Sistemler

Biyoaşınır sistemlerde, bir taşıyıcı sistemin (polimer gibi) yüzeyinin kimyasal bozunma veya çözünmeye uğraması ile ilacın taşıyıcı sistemden salımı söz konusudur. Biyoaşınma, suyun difüzlenme hızının hidroliz hızından daha yavaş olduğu durumlarda gerçekleşmektedir. Taşıyıcı malzeme olarak kullanılan polimer, yüksek molekül ağırlıklı, yüksek camsı geçiş sıcaklığına sahip ve yüksek oranda kristalin ise hidrolize karşı dirençlidir. Bu gibi taşıyıcı malzemeler hidrofilik polimerlerle kopolimerler oluşturularak malzemenin hidroliz hızı arttırılabilir. Poli (glikolik asit-ko-laktik asit) (PGLA), biyobozunur ve hidrofilik yapıda bir polimerdir ve kontrollü salım sistemlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu sistemlerde bozunma, bağların hidrolize uğraması ile gerçekleşmektedir. Biyobozunma, kullanılan taşıyıcı malzemenin yüzeyinde olabildiği gibi malzemenin içerisinde de oluşabilmektedir. Yüksek molekül ağırlıklı polimerler taşıyıcılardan ilaç salımı difüzyon kontrollü olarak gerçekleşmektedir. Bu sistemlerin dezavantajı; polimerin hidrolize uğraması sonucu ani ilaç salımı gerçekleşmesidir. Biyobozunma, kimyasal olarak gerçekleşebileceği gibi enzimatik olarak da gerçekleşmektedir. Armandt ve arkadaşları (1997), selüloz, nişasta, dekstran gibi polisakkaritlerin enzimatik bozunma davranışlarını inceleyerek ilaç salım sistemlerinde kullanılabileceklerini önermişlerdir. Bu çalışmayı takiben enzimatik olarak bozunan polisakkaritlerden üretilen hidrojeller ile ilaç salım çalışmaları gerçekleştirilmiştir [40].

3.1.2 Şişme Kontrollü Sistemler

Şişme kontrollü sistemlerin prensibi, ilaç taşıyıcı matrisin çözücü adsorbsiyonu sonucu şişerek ilaç salımını kontrollü olarak gerçekleştirmesidir. Bu sistemlerde ilaç, polimer yapı içerisinde dağıtılır ve kararlı haldeki polimer taşıyıcı sıvı içerisine alındığında şişme davranışı göstermesi ile ilacın dış ortama difüzyonu gerçekleşmektedir [40].

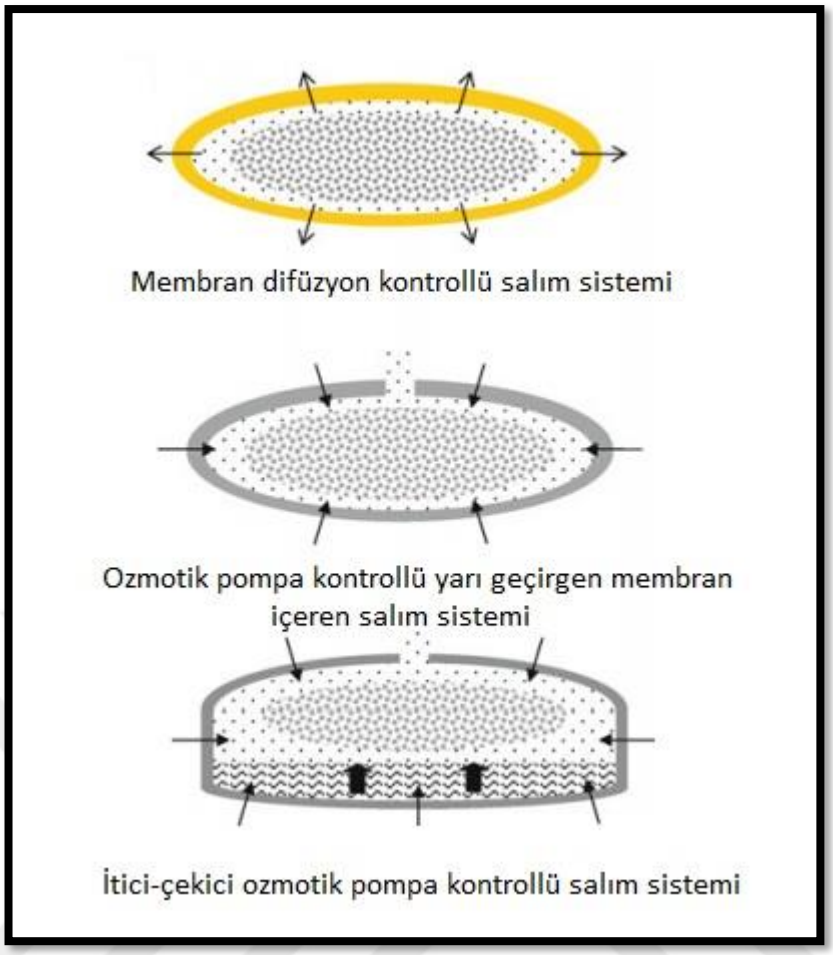
Şişme kontrollü membran sistemlerinde, sistemin salım ortamı ile etkileşmeleri sonucu, polimer yapısı şişerek suyun çekirdek kısma difüzyonunu ve buna bağlı olarak ilacın denge konsantrasyonuna ulaşana kadar çözülmesini sağlar. İlaç salımı, doymuş çekirdek kısımdan polimer membran aracılığı ile gastrointestinal sıvı içerisine difüzyon

ile gerçekleşmektedir. Çekirdekteki sabit ilaç konsantrasyonu sayesinde zar boyunca sabit bir konsantrasyon gradyanı sağlanır ve ilacın salımı sabit bir hızda gerçekleşir. Sonunda, çekirdekteki çözünmüş ilaç konsantrasyonu doygunluk değerinin altına düşerek konsantrasyon gradyanını düşürür ve dolayısıyla sıfırıncı dereceden salım gerçekleşir (Şekil 3.3 (a)) [39].

Taşıyıcı olarak molekül ağırlığı düşük olan bir polimerin seçimi, hızlı çözünmeye ve buna bağlı olarak hızlı bir ilaç salımına neden olacaktır. Daha yüksek molekül ağırlıklarında polimerlerin kullanılması polimer yapısının şişerek jel haline gelmesine ve daha kontrollü bir salım gerçekleştirmesine olanak sağlamaktadır. Eğer kullanılan membran, molekül ağırlığı yüksek, suda çözünebilen bir polimer ise; sulu ortama konulan yapı başta şişerek jel haline gelecek ve ilacın difüzyonuna neden olacaktır. Zar yapısının kalınlığı başlangıçta şişmeye bağlı olarak artacak fakat daha sonra polimer zincirlerinin çözünmesine bağlı olarak incelmeye başlayacaktır. Belirli bir zaman sonra membran kalınlığı sabit bir kalınlıkta kalacak ve ilaç salım hızı da sabit olarak devam edecektir [39].

3.1.3 Ozmotik Kontrollü Sistemler

Ozmotik salım sistemlerinde, taşıyıcı malzeme içerisinde çözünmüş halde bulunan ilaç molekülleri, ozmotik basınç kontrolünde membran yapı içerisinden dış ortama difüzlenir. Oluşan basınç farkı, kullanılan membran yapının suya karşı geçirgen, ilaca karşı geçirgen olmayışından kaynaklanmaktadır. Bu sistemlerde, ilacın bulunduğu bir çekirdek kısım ve bu kısmı çevreleyen bir membran yapısı vardır. Membran içerisine küçük bir delik açılarak suyun çekirdek kısma ozmotik olarak girmesi ve ilacın çözülmesi sağlanır. Çekirdek ile dış kısım arasındaki sabit ozmotik basınç sayesinde ilaç da sabit bir hızda salınır (Şekil 3.3 (b)) [39]. Ozmotik kontrollü salım sistemlerinin en önemli avantajı, pH veya çalkalanma gibi dış etkenlerden bağımsız olarak salım yapılması ve in vivo ve in vitro çalışmalarda uyumlu sonuçların elde edilmesidir [40]. Ozmotik sistemler, çekirdek kısma ilaca itici güç uygulayarak ilacın salımını sağlayacak suda çözünür polimerlerin eklenmesi ile geliştirilebilmektedir (Şekil 3.3 (c)) [39].



Şekil 3. 3 Sıfırıncı derece salım sistemlerinin şematik olarak gösterimi [39].

3.1.4 Difüzyon kontrollü sistemler

Hidrojel sistemlerde kullanılan bir diğer salım mekanizması ise dış ortam ile ilacın bulunduğu ortam arasındaki konsantrasyon farkı sonucu ilacın dış ortama difüze olmasıdır. Bu tarz salım sistemleri, konsantrasyon farkının sürücü güç olduğu Fick Yasası'na göre modellenebilmektedir. Difüzyon kontrollü sistemler; rezervuar sistemler, matris sistemler ve biyobozunur sistemler olarak sınıflandırılmaktadır [40].

3.1.4.1 Rezervuar Sistemler

Rezervuar sistemler, ilacın bulunduğu bir çekirdek kısım ve bu kısmı çevreleyen bir membran sistemini içermektedir. Hızı etkileyen mekanizma, polimer membrandan ilacın difüzyonudur. Rezervuar sistemlere mikrokapsüller ve lipozomlar örnek verilebilir. Rezervuar sistemlerden ilacın salım hızı, kullanılan sistemin yüzey alanı ile

doğrudan ilişkili olduğu için kullanılan malzemenin şekli ve membranın kalınlığı difüzyon hızını etkilemektedir [40].

Levha şeklindeki bir rezervuar sistemde Eşitlik (3.1) kullanılmaktadır.

$$\frac{dMt}{dt} = \frac{A.D.K.cs}{\delta} \tag{3.1}$$

Burada dMt/dt salım hızı, D difüzyon katsayısı, A yüzey alanı, K dağılım katsayısı, δ hidrojel membran kalınlığı, c_s ilacın çözünürlük konsantrasyonudur. Difüzyon hızı, hidrojel kalınlığı ile ters orantılıdır.

Silindir şeklindeki rezervuar sistemlerde, salım hızı silindir uzunluğu (L) ile orantılıdır ve Eşitlik (3.2) kullanılmaktadır. Membran kalınlığı silindirik sistemlerdeki salım hızını önemli ölçüde etkilememektedir.

$$\frac{dMt}{dt} = \frac{2.\pi.L.D.K.cs}{\ln(r0/ri)} \tag{3.2}$$

Küre şeklindeki sistemlerde Eşitlik (3.3) kullanılmaktadır. Küresel sistemler, membran kalınlığından en az etkilenen sistemlerdir [40].

$$\frac{dMt}{dt} = \frac{4.\pi.D.K.cs.r0.ri}{r0/ri} \tag{3.3}$$

3.1.4.2 Matris Sistemler

İlacın, polimerik bir matris içerisinde çözülerek veya dağıtılarak hapsedilip, ilaç salımının matristen difüzyon ile gerçekleştirildiği sistemlerdir. Hidroksietil selüloz, hidroksipropil selüloz, hidroksipropil metil selüloz, polietilenoksit, poliakrilik asit ve polihidroksietilmetakrilat (PHEMA) türevleri bu sistemlerde en çok kullanılan polimerlerdir. Bu sistemlerde ilaç salımı, alternatif olarak polimerik yapının aşınması ile de sağlanabilmektedir. Bu durumda ilaç salım hızı matrisin bozunmasını takiben gözeneklerden difüzyon ile kontrol edilebilmektedir. Matris sistemlerde, ilaç salım hızını etkileyen en önemli faktör matris olarak kullanılan polimerin yapısıdır [40].

3.1.4.3 Biyobozunur Sistemler

İlaçların kontrollü salımı, biyobozunur yapıdaki hidrojellerin bozunması ile gerçekleşmektedir. Hidrojelin bozunması, polimer zincirinin, çapraz bağ ajanının veya yan zincirlerin bozunmasını içermektedir. İlaç salımı, hidrojelin bozunmasına ve ilacın difüzyonuna bağlı olarak değişmektedir. Biyobozunur sistemler, bozunmaya uğradıkları bölgelere göre; biyobozunur polimer ana zinciri (çapraz bağlı ve çapraz bağlı olmayan hidrojeller), bozunur çapraz bağ ajanları ve bozunur yan zincirler olmak üzere 3' e ayrılmaktadır [40].

3.2 Kolona Özgü İlaç Salım Sistemleri

Kolona özgü ilaç salım sistemleri, ilacı polimerik bir yapı içerisinde hedeflenen kolon bölgesine taşıyarak ilacın gastrointestinal sistem boyunca kararlı halde kalıp, tamamının kolonda salınmasını ve buna bağlı olarak gözlenebilecek toksisite ve yan etkileri minimuma indirmeyi sağlayan sistemlerdir. Bu sistemlerin geliştirilmesiyle, sadece kolon kanser hücrelerine hedeflenmiş ve sağlıklı hücrelere zarar vermeyen, hastaların rahatı açısından daha uygun bir yol olan oral yolla uygulanabilen, ilaç dozajının ayarlanabildiği ve etkin olarak kolona taşındığı tedavi söz konusu olmaktadır. Kolona hedefleme, Crohn's hastalığı, ülseratif kolit ve kolorektal kanser gibi kolon hastalıklarının tedavisinde büyük öneme sahiptir [40], [41].

Klinik tedavi esnasında oral yolla uygulamada, ilaç formulasyonlarının ağızdan kolona geçişi sırasında karşılaşılan farklı pH koşulları ve uzun geçiş zamanları, ilacın kolona ulaşamadan etkinliğini kaybetmesine neden olmaktadır. Bu soruna çözüm olarak geliştirilen pH duyarlı hidrojeller ve kolonik bakterilerle bozunan, mide ve ince bağırsakta erimeyen polisakkarit kaplamalar, kolona özgü hedeflemede taşıyıcı olarak kullanılmaktadır [40].

Kolona hedefleme; oral, parenteral ve rektal yollar ile yapılabilmektedir. Parenteral uygulamada, ilacın emiliminin düşük olabilmesi ve buna bağlı gözlenebilen efektif etkinin düşerek toksik etkinin artması gibi dezavantajlar ile karşılaşılabilmektedir. Rektal yolla uygulamada, ilacın dağılımında görülen değişiklikler etkinliğin sağlanamamasına neden olabilmektedir. Oral yolla ilaç alımı sırasında, hedeflenmesi istenilen ilaç, mide ve bağırsak sıvılarında çözülerek ilacın fizikokimyasal yapısına göre

gastrointestinal (GI) sistemin belirli bölgelerinden adsorblanabilmektedir. Bu nedenle oral yolla uygulanacak olan tedavi için kullanılacak ilaç taşıyıcı sistemin gastrointestinal sistemin üst bölgelerinden etkilenmeyecek şekilde dizayn edilmesi gerekmektedir [40].

Kolon, ilaçların kalış sürelerinin uzun olması ve gastrointestinal sistemin üst bölgelerindeki sindirim aktivitelerinin burada daha düşük olması nedeniyle hedefleme açısından avantajlı bir bölgedir. Kolona hedefleme, pH, zaman veya enzim kontrollü sistemler ile gerçekleştirilebilmektedir. pH duyarlı sistemlerin kullanılması, kolon ve ince bağırsak pH' larının birbirlerine çok yakın olması nedeniyle hedefleme için tek başına yeterli değildir. Gastrointestinal sistemden geçiş sürelerinin değişiklik gösterebilmesi de zaman kontrollü sistemlerin sınırlanmasına neden olmaktadır. Enzim kontrollü ön ilaç dizaynları, kolona spesifik hedefleme sağladıkları için en çok tercih edilen sistemlerdir. Enzim uyaranına bağlı sistemler, hem kullanılan nanotaşıyıcılar ile pasif hedefleme yaparken hem de belli enzimlerin aktivitesi ile bozunmaya uğrayacaklarından seçicilik sağlanmaktadır [40]. Kolona hedefleme, ilaç taşıyıcı sistemin oral yollu alınmasını takiben yaklaşık 8 saat sonra kolon bölgesine ulaşmasından dolayı geciktirilmiş salım olarak sınıflandırılmaktadır [42].

3.2.1 Kolona Özgü İlaç Salımını Etkileyen Faktörler

Kolona özgü ilaç salımını etkileyen in vivo faktörler: gastrointestinal (GI) geçiş, gastrik boşalma, ince bağırsaktan geçiş süresi, kolondan geçiş süresi, mide-bağırsak kanalının pH' ı, kolonik mikroflora, kolonik adsorpsiyon, kolonik hastalıklar ve ilaç taşıyıcı tipidir.

3.2.1.1 Gastrointestinal (GI) Geçiş

Kolona hedefleme yapılırken, ilaç yüklü taşıyıcı sistemin mide ve bağırsaklardan geçiş süreleri göz önüne alınmalıdır. Taşıyıcı sistem mideden geçerken, midenin pH' ı, mide salgısının hacmi, yapısı ve gastrik mukoza; ince bağırsaklardan geçerken, ince bağırsaklardaki pH değişimi, yüksek adsorbsiyon kapasitesi ve sindirim aktiviteleri gibi etkenler ilaç salımı ve adsorbsiyonunu etkileyebilmektedir. Bu nedenle kolona hedeflenecek olan taşıyıcı sistemin GI sistemden geçişi esnasında karşılaşabileceği engellere karşı kararlı kalabilecek şekilde dizayn edilmesi gerekmektedir.

Gastrointestinal kanaldan geçiş mide ve bağırsaklarda süre ve pH' a bağlı olarak değişim göstermektedir.

Çizelge 3. 1 GI sistemin farklı bölgelerinin pH değerleri ve küçük moleküllerin geçiş süreleri

	Mide	Duodenum	Jejenum	İleum	Kolon	Rektum
pH	1-1,5	5-7	6-7	7	5,5-7	7
Geçiş Süresi (saat)	>3	3-4	3-4	3-4	20-30	-

3.2.1.2 Gastrik Boşalma

Kolona hedefleme, taşıyıcı sistemin mideden geçiş hızından büyük oranda etkilenmektedir. Kolonik taşıyıcı sistemlerin mide ortamından etkilenmemesi için midede az zaman harcaması istenilmektedir. Gastrik boşalma, kişinin açlık-tokluk durumu, cinsiyet, stres, yaş, obezite, midenin fizyolojik durumu ve hedeflenen ilacın dozajı ve boyutu gibi birçok parametreye göre değişkenlik göstermektedir.

3.2.1.3 İnce Bağırsak Geçiş Süresi

İnce bağırsaktan geçiş, mideden farklı olarak midedeki besinlerin varlığından, ilacın dozaj formundan ve boyutundan etkilenmemektedir. Alınan ilacın ileumdan mukoz kıvrımlarına ulaşması yaklaşık 3-4 saatte gerçekleşmektedir. İnce bağırsaktan geçiş sırasında yüksek adsorbsiyon ve sindirim enzimlerinin aktiviteleri ile karşılaşılabileceğinden bu faktörler ilaçların salımını ve protein/peptid yapılı ilaçların kararlılığını etkileyebilmektedir.

3.2.1.4 Kolonik Geçiş

Mide ve ince bağırsaktan geçen ilaç yaklaşık 5 saat sonra kolona, 10-12 saat sonrada kıvrımlı geçiş bölgesine ulaşmaktadır. İlacın kolondan geçiş hızı, ilacın biyoyararlanımını doğrudan etkileyen bir faktördür. İnce bağırsağın aksine, kolondan geçiş hızı kolon bölümlerine göre değişiklik göstermektedir. İlacın kolondan geçiş hızı, ilacın boyutuna bağlı olarak değişmektedir. Kolondan geçiş süresinin uzun olması, kolonda kalım

süresini arttırarak biyoyararlanımı ve taşıyıcı malzemenin kolonik mikroflora ile etkileşimini arttırmaktadır. Kolondan geçiş hızı, ilaç taşıyıcı malzemenin fiziksel özelliklerinin yanı sıra cinsiyet, stres, mevcut besin miktarı ve hastalık durumu gibi faktörlerden etklenmektedir.

3.2.1.5 Gastrointestinal Kanal pH'ı

Gastrointestinal kanal pH'ı, oral yolla alınan ilaçların etkinliğini önemli ölçüde etkileyen bir parametredir. Açlık-tokluk durumuna göre mide pH' ı, sırasıyla 1,5-2 ve 2-6 arasında değişmektedir. İlaç salım sistemlerinin mide pH' ından etkilenmeyecek şekilde dizayn edilmesi hedefleme çalışmaları için önem arz etmektedir. İnce bağırsak pH' ı ortalama 6,6 olup, ileuma geçişte pH 6,6' dan 7,5 değerine artmaktadır. Taşıma kolonu ile inen kolon arasında pH ortalama 6,6-7 aralığındadır. İleumdan kolona geçişte büyük bir pH değişimi gözlenmemesi nedeniyle, kolona hedeflemede yalnızca pH duyarlı polimerlerin kullanılması yeterli olmamaktadır.

3.2.1.6 Kolonik Mikroflora

İnsan GI sisteminde bulunan bakteriler aerobik ve anaerobik olacak şekilde büyük bir ekosistem oluşturmaktadır. Bir bireyin kolonik florasında 400' den fazla bakteriyel tür bulunmaktadır. Midedeki ve duodenumdaki mikroflora konsantrasyonu genellikle 10^3-10^4 CFU/ml' den daha azdır ve başlıca Streptococcus, Staphylococcus ve Lactobacillus' tan oluşmaktadır. İnce bağırsağın başlangıç ve son kısmında aerobik, gram pozitif ve gram negatif bakteriler baskındır, ileumun kolona geçiş kısmı ise kolonik bakterilerle benzerlik göstermektedir. İnsan kolonunda bakteri konsantrasyonu 10^{11}-10^{12} CFU/ml konsantrasyonu aralığındadır. Kolonda baskın olarak bulunan bakteriler; Bacteroides, Bifidobacterium, Eubacterium, Peptococcus, Peptostreptococcus, Ruminococcus, Veillonella' dır. Kolondaki bakteriler enerji ihtiyaçlarını ince bağırsakta sindirime uğramayan disakkaritler, trisakkaritler ve polisakkaritlerin fermantasyonundan karşılamaktadır. Karbonhidratların fermantasyonu, bu bakterilerin ürettikleri enzimler ile sağlanmaktadır [40], [43].

3.2.1.7 Kolonik Absorpsiyon

Kolon yüzey alanının ince bağırsaklardan çok daha düşük olması nedeniyle kolon absorbsiyon için uygun bir bölge değildir. Ancak kolonda sindirim enzimlerinin bulunmaması, kolonda kalış süresinin çok daha uzun (10-24 saat) olması, ilaç absorbsiyonu için olumlu etki yaratmaktadır. İlaçların kolonda absorpsiyon süresini etkileyen faktörler; ilacın fiziksel özellikleri, GI kanal geçiş hızı, kolonda kalış süresi, bakteriyel enzimlerin bozunması, hastalık durumu ve ilaçların yan etkileri olarak sayılabilmektedir. Kolon, zayıf adsorbe edilen ilaç moleküllerinin biyoyararlanımını arttırdığından ilgi çekmektedir.



Şekil 3. 4 Kolonun yapısı

3.2.1.8 Kolonik Hastalıklar

Kolonda görülen, Crohn's hastalığı, ülseratif kolit bağırsak tembelliği ve diyare gibi hastalıklar kolondaki mikroflorayı ve absorbsiyon özelliklerini etkilemektedir. Tedavi amaçlı kullanılan antibiyotiklerin mukoza üzerinden plaka oluşumuna neden olması, antibiyotiğe dirençli bakterilerin gelişmesi ve kolon akışının bozulması sonucu ilaçların absorbsiyonunda azalma meydana gelebilmektedir.

3.2.1.9 Taşıyıcı Tipi

Kolona hedefleme sistemlerinde, kaplama ajanı ve matris olarak kullanılan malzemelerin tipi, pH duyarlılıkları ve ilaç salım özellikleri hedeflemenin etkin gerçekleştirilmesinde doğrudan etkisi olan parametrelerdir. Bu nedenle kolona

hedeflemede kullanılacak olan ilaç taşıyıcı sistemin seçimi oldukça önemli rol oynamaktadır [40].

3.2.2 Kolona Özgü İlaç Taşıma Sistemleri için Farmakolojik Yaklaşımlar

İlaçların kolona hedeflenmesi amacıyla kullanılan birçok farklı yaklaşım bulunmaktadır. Bunlar; ön ilaç dizaynı, polimer kaplamalar, matris sistemleri, basınç duyarlı sistemler, çoklu kaplamalar ile zaman kontrollü sistemlerdir [42], [43].

3.2.2.1 Ön İlaç Dizaynı

Kolona hedeflenecek olan ilaçlar, taşıyıcı sistemler ile konjugatları oluşturularak hedefleme gerçekleştirilir. Bu ilaçlara örnek olarak siklodekstrin konjugatlar, dekstran konjugatlar, azo konjugatlar, polipeptid konjugatlar, polimerik ön ilaçlar örnek verilebilir [40], [43]. Bu sistemlerde kullanılan ilaç, konjugat yapı enzimlerle parçalanana kadar inaktif durumda iken kolona ulaştıktan sonra kolonda bulunan enzimler ile parçalanma sonucu aktif duruma gelerek kolon ortamında spesifik olarak etkinlik göstermektedir [43]. Polimer ile ilaç arasındaki kovalent bağların enzimatik reaksiyonlar sonucu gerçekleşen hidrolizinin hızı, ilacın salım hızını doğrudan etkilemektedir [44]. Kolon kanseri tedavisinde yaygın olarak kullanılan 5-FU ilacının yan etkilerinin önlenmesi amacıyla 5-FU, 1-(tetrahydro-2-furanyl)-5-Fluorouracil ve 5-fluorouridine monomerik ön ilaçlara dönüştürülüp klinik uygulamalarda kullanılmaktadır [45]. Zang ve arkadaşları (2009), 5-FU ilacını, suda çözünen ve kırmızı alglerden elde edilen bir polisakkarit olan porpiran ile ester bağları aracılığı ile bağlayarak konjugatın kimyasal karakteristiğini ve ilaç salım davranışını incelemişlerdir [44].

Popat ve arkadaşları (2012), mezogözenekli silika nanokürelere sülfasalazin (ön ilaç) ve 5-aminosalisik asit (5-ASA) ilacını kovalent olarak bağlayarak ilacın sadece kolonda bulunan azo-redüktaz enzimleriyle etkileşimi sonucu bağların kırılmasıyla salım gerçekleşmesi amaçlanmıştır. Azo-redüktaz enzimi sülfapiridin (SP) ile 5-ASA arasındaki azo bağlarının kırılmasını sağlamaktadır. Salım için mide (pH 1.2) ve enzimsiz ve enzimli fosfat tamponu çözeltisi (PBS) (pH 7.4) ortamları kullanılmış ve mide sıvısı ve enzimsiz

PBS ortamında salım gözlenmezken enzimin bulunduğu salım ortamında salımın gerçekleştiği gözlenmiştir [46].

3.2.2.2 Polimerler ile Kaplama

Kolona hedefleme sistemleri olarak pH duyarlı polimerler ve biyobozunur polimerler ile kaplamalar yapılarak ilacın etkin salımı gerçekleştirilebilmektedir.

pH Duyarlı Polimerler: Birçok polimerin eşik değerindeki pH' da gösterdikleri hacim değişikliklerine bağlı olarak kolona hedeflenecek pH kontrollü sistemler geliştirilebilmektedir. pH duyarlı polimerler ile kaplanan ilaç taşıyıcı sistemler, uzun süreli salım gösterirler ve gastrik akışkan pH' ından ilaç maddesini korurlar [40].

Eudragit®(metakrilik asit-metilmetakrilat kopolimeri), kolon spesifik ilaç taşıma sistemleri olarak geliştirilen pH duyarlı polimerdir. Bu polimer, asidik ortam pH' ında çözünmezken, pH 6 ve üzerinde çözünerek taşınan ilacın mide ortamından korunmasını sağlamaktadır [43].

Biyobozunur Polimerler: Kolonun geniş mikroflorasından yararlanılarak sadece kolonda bulunan bakterilerin enzimleri ile bozunan polimerik kaplamalardır. Kolona özgü ilaç taşıma sistemlerinde, biyobozunur yapıda ve toksik olmamaları nedeniyle kolona özgü enzimlerle bozunmaya uğrayan polisakkaritler yaygın olarak kullanılmaktadır.

3.2.2.3 Matris Sistemler

pH duyarlı ve biyobozunur matris sistemler içerisine ilacın gömülmesi ile kolona hedeflenmiş ilaç salımları gerçekleştirilmektedir.

3.2.2.4 Zaman Kontrollü Sistemler

Kolona hedeflenecek olan ilaç, bir yüzü hidrofobik bir yüzey aktif madde ile kaplanmış diğer yüzü hidrofilik olan hidrojellerin içerisine yerleştirilerek aşınma ile salım gerçekleştirilir. Kaplamanın aşınması ve hidrojelin şişip ilacın salınmaya başlaması kolona hedeflenecek süreye göre ayarlanmaktadır. Bu sistemlere örnek olarak Macneil ve Stevens (1990)' ın geliştirdiği Pulsincap® örnek verilebilir [40].

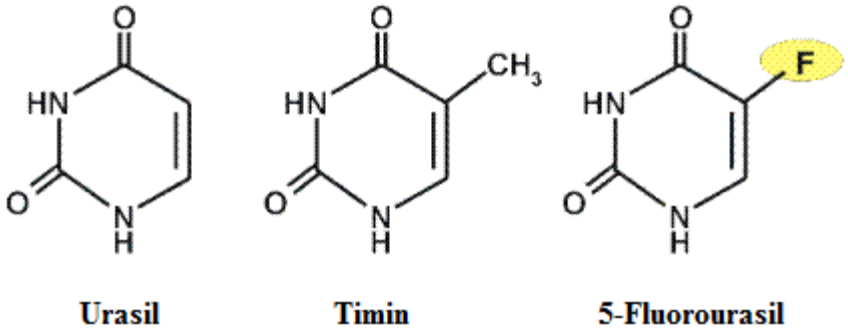
3.2.2.5 Basınç Duyarlı Sistemler

Bu sistemler kolondaki güçlü peristaltik dalgalanmalar sonucu oluşan basınç kaynaklı salım gerçekleştiren sistemlerdir [43].

3.3 Kolon Kanseri Tedavisinde Kullanılan 5 Fluorourasil (5-FU)

Kolon kanseri, kanserli büyümenin kolon, rektum veya çekumda oluşumu ile ortaya çıkmaktadır. Akciğer ve göğüs kanserlerini takiben, kolon kanserine yakalanan yılda 940.000 yeni vaka hesaplanmaktadır. Kolon kanseri yaygın olarak Kuzey Amerika, Avustralya, Yeni Zelanda, Japonya ve Batı Avrupa' da görülmektedir [47]. Kolorektal kanser en yaygın dördüncü ve ölümle sonuçlanan en yaygın üçüncü kanser tipidir [48], [49]. Kolon kanseri için tedavi yöntemleri arasında ameliyat, radyofrekans ablasyon, kriyoterapi, kemoterapi, radyasyon terapisi ve hedefli terapi bulunmaktadır. Kemoterapi yönteminde kanser hücresinin büyümesini azaltmak için farklı ilaçlar veya ilaç kombinasyonları kullanılmaktadır [48]. Kolon kanser tedavisinde kemoterapi, uygulanması zorunlu tedavi yaklaşımı olmaya devam etmektedir. Ancak kolon kanseri tedavisinde kemoterapi ajanları olarak kullanılan 5-Fluorourasil, Oksaliplatin, Mitomisin ve Doksorubisin gibi ilaçların sağlıklı hücreler üzerinde toksik etki yaratmaları ve düşük dozlarında zayıf etki göstermeleri nedeniyle ciddi yan etkilere neden olmaktadırlar [49].

5-FU, kolon ve rektum kanserlerinde yaygın olarak kullanılan ve karsinoma hücrelerinin pirimidin nükleotit sentezini sınırlayıcı olan timidilat sentaz enzimini inhibe ederek kanser hücrelerinin öldürülmesini sağlayan bir antikanser ilacıdır [47], [48]. 5-FU, kolon kanseri tedavisinde ameliyat sonrası klinik olarak yaygın bir şekilde uygulanan kemoterapi ajanıdır [48]. Ancak bu ilacın kanser hücrelerinin yanında birçok sağlıklı hücreye de zarar vermesi, birçok yan etkiye neden olması, tümöre spesifik olmayışı ve düşük biyoyararlanımı ilacın kullanımını kısıtlamaktadır [47], [48].



Şekil 3. 5 Urasil, Timin ve 5-Fluorourasil yapıları [47]

Mevcut kemoterapi uygulamalarında, ilaçlar vücuda enjeksiyon veya infüzyon yoluyla verilmektedir. Kanser tedavisinde etkili olmasına rağmen, yüksek konsantrasyonda kanser ilacının kan dolaşımına direkt olarak verilmesinden kaynaklanan yan etki ve kemoterapi sırasında oluşan aksaklıklar, klinik tedavinin etkililiğini etkilemektedir. Oral anti kanser ilaçları uygulaması, optimum kan ilaç konsantrasyonunu sürdürebildiği ve hastaların rahatlığını ve uygunluğunu geliştirdiği için intravenöz uygulamaya alternatif olarak uygulanabilir bir yöntemdir. Bununla birlikte, özellikle Doksorubisin hidroklorür (DOX) ve Taxanes (paklitaksel ve dosetaksel) gibi oldukça iyi antikanser etkilere sahip olan çoğu ilaç, bağırsak epiteli boyunca yetersiz nakilleri nedeniyle oral olarak biyoyararlanım gösterememektedir [50].

5-FU' nun klinik uygulamalarında, ilacın dozu en yüksek 15mg/kg/gün olacak şekilde 24 saat boyunca devamlı enjeksiyon uygulanmaktadır. Bu uygulama, birçok yan etkiye yol açabileceği gibi hastanın rahatı açısından olumsuz etki yaratır ve maliyetlidir. Oral yolla tedavi sırasında, ilacın çevre pH' tan etkilenmesinin yanı sıra gastrointestinal sistemin üst kısımlarında kolona göre daha fazla ilaç adsorbsiyonu gerçekleşir ve ilaç kandan hızlıca uzaklaştırılır [51], [52]. Kolona hedeflenmiş taşınım, ilacın kolondaki konsantrasyonunun arttırılarak antikanser aktivitesinin yükseltilmesini ve üst gastrointestinal bölgeler tarafından emiliminin azaltılarak toksisitesinin düşürülmesini amaçlamaktadır. Kolon tarafından 5-FU' nun absorbsiyonu aktif taşımayı içermemektedir. İlacın geçirimlilik katsayısı gastrointestinal sisteminin üst kısımlarında kolona göre daha yüksektir [51]. Sıçanlarla yapılan çalışmalarda (Goto ve arkadaşları 2004; Wei ve arkadaşları 2008), oral yolla alınan 5-FU ilacının kolona yönlendirilmesi ile dolaşıma karışan ilaç miktarı azaltılmış ve kolona daha fazla miktarda ilaç ulaştırılması sağlanmıştır [51].

Kolona özgü ilaç salım sistemleri ile uzun süre kararlı halde tutulabilen ilaçlar, kolona daha yüksek konsantrasyonlarda ulaşabilmekte ve buna bağlı olarak daha yüksek antikanser etkisi göstermektedir. Ayrıca gastrointestinal sistemin üst kısımlarından geri emilen ilaç miktarının azaltılması ile ilacın vücuda olan toksisitesi azaltılmaktadır [51].

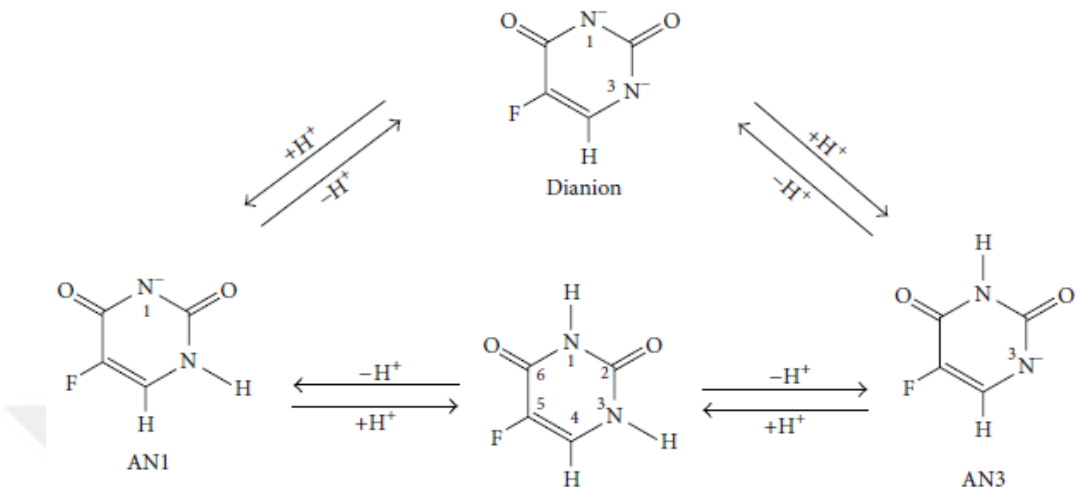
Kai Liu ve arkadaşları (2015), hyaluronik asit (HA) biyomolekülü ile kimyasal olarak konjuge edilen silika nanopartiküller sentezleyerek bu nanopartiküllerin içerisine 5-Fluorourasil ilacı yüklemişlerdir. HA biyomolekülü ile kolon kanser hücrelerinin eksprese ettiği CD44' e aktif hedefleme yapılarak kanser hücreleri ile nanopartiküller arasında spesifik bağlanma gerçekleştirilmiştir. Hyaluronik asit bağlanması için silika nanopartikül yüzeyleri APTES ile fonksiyonelleştirilmiştir. 5-FU ile yüklü silika nanopartiküllerin kontrollü ve 120 saat süren devamlı bir salım gerçekleştirdiği gözlenmiştir. Geliştirilen taşıyıcı malzeme, kolon kanser hücrelerine özgü hedefleme yaparak ilacın normal halinden daha fazla etkinlik göstermesini sağlamıştır [52].

3.3.1 Silika Aerojel-5 FU Etkileşimi

Mezo gözenekli silika partiküllerin, yüksek yüzey alanları ve geniş gözenek hacimleri olmasına rağmen kolon kanser ilacı 5-Fluorourasil ile arasındaki zayıf elektrostatik etkileşimler nedeniyle ilacın silika partiküllere yüklenme kapasitesi düşüktür. Tedavi sırasında kullanılan ilacın istenilen dozajda olabilmesi için silika yüzeyi fonksiyonelleştirilerek ilaç ile silika yüzeyi arasındaki etkileşim güçlendirilebilmektedir [53]. Ashish Datt (2012), mezo gözenekli silika nanopartikül ve zeolit sentezleyerek bu malzemeleri ilaç salım sistemleri olarak kullanmıştır. Sentezlediği ilaç taşıma sistemlerini ko-kondenzasyon ve sentez sonrası aşılama metodları ile amin fonksiyonelleştirerek 5-FU ve aspirin ilaçlarının yüklenmesini sağlamıştır [53].

5-Fluorourasil, alkali koşullarda negatif yüklü anyon ve dianyonlar oluşturma özelliğine sahiptir. pH 7-10 arasında anyon ve dianyonları bir arada bulunmaktadır. Asidik koşullarda ise daha az proton vererek veya hiç vermeyerek düşük miktarda yüzey yükü bulundururlar. Amin grupları ile fonksiyonelleştirilen silika yüzeyinin pozitif yük kazanması sonucu alkali koşullarda negatif yüklü hale gelen 5-FU arasında güçlü elektrostatik etkileşimler sonucu yüksek miktarda ilaç yüklenmesi gerçekleşmektedir. Fonksiyonelleştirilmemiş silika yüzeyinde bulunan negatif yüklü gruplar nedeniyle 5-FU

ile bağlanma pH' a bağlı olarak değişmemektedir. İlaç ile silanol grupları arasındaki bağlanma elektrostatik etkileşimlerden çok hidrojen bağı ile gerçekleşmektedir [38].



Şekil 3. 6 5-Fluorourasil ilacının alkali pH' larda anyon (AN_1, AN_3) ve dianyon formları [38].

Kanser hücrelerinde gerçekleşen anaerobik glukoz metabolizması sonucu ortaya çıkan laktik asit, ortamın asidik olmasına neden olmaktadır (pH 5,5-6) [47]. Bu sayede kanserli ortamın asidik pH' ında 5-FU ilacının anyonik özelliğini kaybetmesi ve silika yüzeyi ile etkileşiminin azalarak ortama salınması gözlenebileceği düşünülmektedir.

She ve arkadaşları (2015), mezo gözenekli silika nanopartiküller sentezleyerek nanopartiküllere antikanser ilacı 5-FU yüklemişlerdir. İlacın yüklenmesi için silika yüzeyini 3-(aminopropil)trietoksisilan (APTES), siyanopropiltrietoksisilan (CPTES), oktadesiltrimetoksisilan (OTMS) ve karboksil grupları ile modifiye ederek ilacın en iyi yüklenme kapasitesi gösterdiği silanlama ajanı APTES olarak tespit edilmiştir. Bunun nedeni, modifiye edilen amin gruplarının ve ilacın her ikisinin de hidrofilik yapıda olması ve sahip oldukları yüklere bağlı aralarındaki elektrostatik etkileşimlerin kuvvetli olması olarak açıklanmıştır. APTES ile modifiye silika nanopartiküllerin 5-FU yükleme kapasitesi %28,89 ve 288,9 mg 5-FU/g silika nanopartikül olarak gözlenmiştir [38].

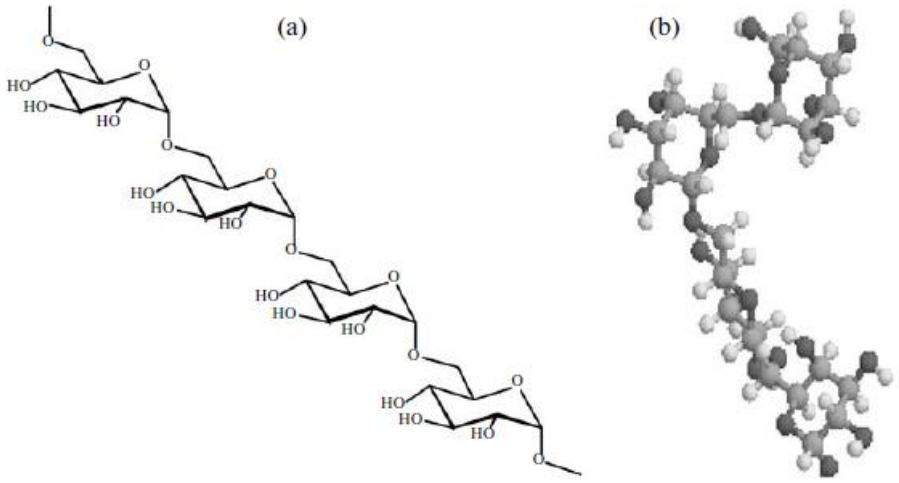
3.3.2 Kolona Özgü İlaç Salım Sistemleri Olarak Kullanılan Biyobozunur Sistemler: Polisakkaritler

Birçok protein ve peptid yapılı ilaç, oral kullanımlarında mide ve ince bağırsaktan geçişleri sırasında bu bölgelerde bulunan enzimler tarafından bozunmaya uğrar ve kolonik bölgeye ulaşamadan etkinliklerini yitirirler. Kolona hedeflenmek istenen ilaçların oral yolla kullanımlarını sınırlayan bu dezavantajın önüne geçilebilmek için mide ve ince bağırsaktaki pH değişiklikleri ve enzimatik aktivitelerden etkilenmeyecek ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesinde doğal polisakkaritler oldukça önemli rol oynamaktadır. Polisakkaritler, kimyasal ve biyokimyasal olarak kolaylıkla modifiye edilebilen, oldukça kararlı, toksik olmayan, hidrofilik yapıda ve jel oluşturma yapısına sahip, biyobozunur özellikte olan potansiyel ilaç taşıma sistemleridir. Kolona spesifik ilaç taşıma sistemlerinde kullanılan polisakkaritler; alg kaynaklı (aljinat), bitki kaynaklı (pektin, guar gum), mikrobiyal kaynaklı (dekstran) ve hayvan kaynaklı (kitosan) olarak sınıflandırılan kolonik enzimlerin substratı olan polisakkartilerdir ve şişme, film oluşturma, biyobozunma, biyouyumluluk gibi özelliklerine bağlı olarak kolon hedefli salım sistemleri olarak kullanılmaktadırlar. Polisakkaritlerin tek başına kullanımlarına göre farklı polimerler ile (çapraz bağlayıcı polimerler vb.) modifikasyonları, kolona hedeflemede bu malzemelerin daha efektif olmasını sağlamaktadır. Polisakkarit modifikasyonlarına; polivinilalkol (PVA) ile modifiye edilmiş guar gum, kalsiyum pektinat, dekstran metakrilat (D-MA) örnek verilebilir [54], [55], [56].

3.3.2.1 Dekstran

Çoğunlukla α-(1→6) ve kısmen α-(1→3) glikozidik bağlanmalara sahip, uzun dallanmış zincirine bağlı α-D-glukopiranoz ünitelerinden oluşan, mikrobiyal kaynaklı (*Leuconostoc mesenteroides ve Streptococcus lactis*) ve suda çözünebilen dekstran, reaktif hidroksil grupları sayesinde kolaylıkla modifiye edilebilen doğal bir polisakkarit çeşididir [57],[58]. Dekstran yapısı içerisinde bulunan bu bağlanmalar, dekstrana ayırt edici fiziksel özellikler kazandırmaktadır. Dekstran, bu özellikleri sayesinde antidiyabetik, antikanser ilaçları, antibiyotik, peptid ve enzim taşımak üzere ilaç taşıyıcı sistemler olarak oldukça tercih edilmektedir. Dekstran, çözünürlüğü kontrol edilerek veya reaktif gruplar oluşturularak kolayca türetilebilmektedir. Dekstran ve dekstran türevleri, gıda,

ilaç ve endüstriyel alanlarda geniş uygulama alanına sahiptir [58]. Ticari olarak üretilen dekstranların molekül ağırlıkları 5-500 kDa arasında değişmektedir. Düşük molekül ağırlıklı (20-70 kDa) dekstranlar, genel olarak kan plazma genişleticiler olarak kullanılmaktadır. Düşük molekül ağırlıklı dekstran sülfat, kan pıhtılaşmasına yardımcı olmak için heparin yerine geçmekte ve izomaltooligosakkaritler prebiyotik olarak kullanılmaktadır [59].

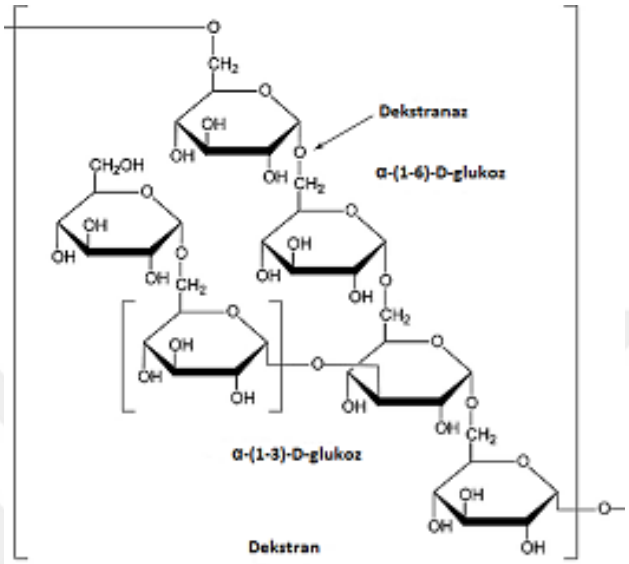


Şekil 3. 7 Dekstran moleküler yapısı: (a) 2 boyutlu yapı, (b) 3 boyutlu yapı [58]

Biyolojik sistemler içerisinde inert, hücre canlılığına zarar vermeyen, biyobozunur ve biyouyumlu bir doğal polimer olan dekstran, kolon kanseri tedavisi çalışmaları için oldukça önemli bir polisakkarittir. Dekstran, gastrointestinal sistemde sadece kolonda bulunan bakteriler (Bakteroides, gram negatif, anaerob kolonik bakteri [41]) tarafından aktive edilen dekstranaz enzimi ile parçalanarak molekül ağırlığına göre vücuttan böbrekler yolu ile atılır. Bu sayede, oral yolla alımı kısıtlanan ilaçların kararlı bir şekilde kolona iletilmesinde rol oynamaktadır. Dekstranın klinik kullanımlarda tercih edilmesi, geniş molekül ağırlığı dağılımı, toksik olmayışı ve vücuttan kolayca elimine edilebilmesinden kaynaklanmaktadır [43].

Dekstranaz (-(1→6)-d-glukan-6-glukanhidrolaz), dekstran polimerik zincirindeki α-(1→6) glikozidik bağlarını parçalayarak dekstranın oligomerlerine dönüşmesini sağlayan indüklenebilir bir enzimdir [59]. Goulas ve arkadaşları (2004), dekstransükraz ve dekstranaz enzimlerini kullanarak izomaltooligosakkarit ve oligodekstranların sentezlenmesini gerçekleştirmişlerdir. Enzim aktivitesi sonucu, %36' sı şekerden oluşan ve polimerizasyon dereceleri 10 ile 60 arasında değişen oligodekstranlar elde

etmişlerdir [60]. Dekstranaz konsantrasyonu, dekstranın molekül ağırlığı üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Düşük konsantrasyondaki dekstranaz enzimi, reaksiyon süresi arttırıldığında dekstranı düşük molekül ağırlıklı parçalarına hidroliz etmektedir [59].



Şekil 3. 8 Dekstranın dekstranaz enzimi ile enzimatik hidrolizi

Doğal polisakkaritler, ilaçların kolona spesifik olarak tesliminde yaygın olarak kullanılan araçlardır. Bu polisakkaritler midenin fizyolojik çevre koşullarında bozulmadan kalırken, kolona ulaştıklarında enzimatik olarak bozunarak ilacın salınmasını sağlarlar. Bununla birlikte, polimerlerin mide ve ince bağırsak ortamlarında yüksek şişme ve hidrofilik özelliklerinden dolayı korunmaya ihtiyaçları vardır. Bunun için kimyasal çapraz bağlama veya koruyucu bir kaplamanın eklenmesi gibi stratejiler geliştirilebilir. Kaplama ile hazırlanmış polimerlerin içerisindeki ilaç, pH alkali değerlere yaklaştıkça salınmaya başlar. Polimerler ile korunan ilaç maddesinin mideyi geçtikten 3-5 saat sonra salınması beklenir ki bu zaman taşıyıcı malzemenin ince bağırsaktan geçiş süresine denk gelmektedir [43]. Dekstran hidrojeller, kolona hedeflenen ilaç taşıma sistemleri olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Kolonda bulunan dekstranaz enzimleri, polimerik hidrojellerin bozunmasını sağlayarak hedeflenen ilaç moleküllerinin kolonda salınmasını gerçekleştirirler [61].

Kim ve arkadaşları (2005), glisidil metakrilat dekstran (GMD)-poliakrilikasit (PAA) hidrojelini sentezleyerek kolona özgü ilaç taşıma sistemi olarak kullanmışlardır.

Sentezlenen hidrojelin mide pH' ında minimum şişme gösterirken intestinal kısımda pH yükseldikçe karboksil gruplarının iyonizasyonundan dolayı şişme kapasitesinin arttığı gözlenmiştir. Hidrojel içerisine yüklenen 5-aminosalisilik asit (5-ASA) etken maddesinin salımının, mide ve bağırsak sıvılarında düşük düzeyde iken pH 7.4' teki ortama 2U/ml dekstranaz enzimi ilavesi ile arttığı ve 2 gün içerisinde %60'a ulaştığı görülmüştür. Dekstranaz enzimi, GMD/PAA hidrojel matriksini glikozidik bağların hidrolizi ile bozunmaya uğratarak ilaç moleküllerinin hidrojel içerisinden çıkmasını sağlayacak yolların açılmasını sağlamıştır [56].

Prof. Dr. Menemşe ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada (2004), farklı çapraz bağlayıcılar varlığında üretilen dekstran hidrojellerin içerisine BSA ve IgG proteinleri yüklenerek kolona özgü ilaç salım sistemi oluşturulmuştur. Dekstran hidrojellerin salım profilleri, mide ve bağırsak sıvılarında (enzim varlığında/yokluğunda) incelenmiştir. Dekstranın bozunması, dekstranaz enzim varlığında gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda yüksek derecede şişebilen dekstran hidrojellerin, yüksek molekül ağırlıklı proteinlerin kolona özgü salımı açısından uygun olduğu görülmüştür [40].

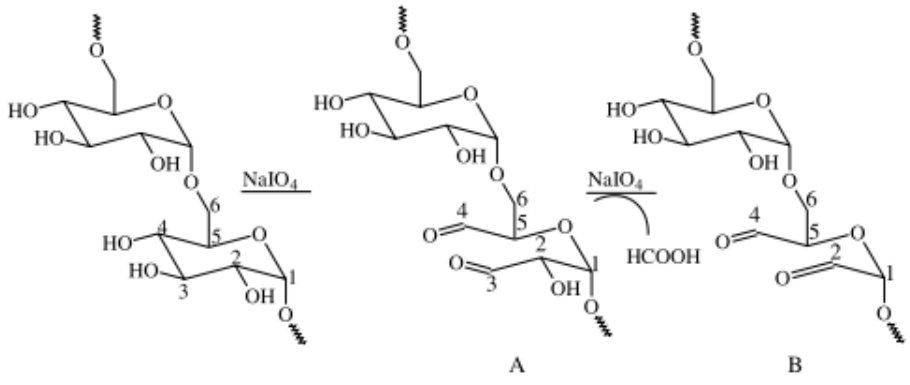
Hogwaard ve arkadaşları (1995), çapraz bağlama ile dekstran hidrojel diskler sentezleyerek içerisine hidrofobik bir ilaç olan hidrokortizon yüklemişler ve dekstranaz varlığında/yokluğunda karşılaştırmalı olarak in vitro salım çalışmasını gerçekleştirmişlerdir. Salım ortamında dekstranaz enzimi yokken salım yavaş ve difüzyon kontrollü olarak 2 saatte %30 olarak gerçekleşirken, dekstranaz enzimi varlığında 2 saat sonunda %100'e ulaşmıştır. Sonuç olarak enzim varlığında ilaç salımının ilk olarak difüzyona bağlı olduğu daha sonra dekstranın bozunmasına bağlı olarak degradasyon kontrollü gerçekleştiği tespit edilmiştir [41].

Schulz ve arkadaşları (2011), TEOS başlatıcısından sentezlenen silika çekirdeğe ve ona kimyasal olarak konjuge edilen dekstran kabuğa sahip nanopartiküller üretmişlerdir. Silika nanopartiküller, Rhodamine B boyasının yüklenmesi için kullanılarak kararlı bir yapı elde edilmesi sağlanmış ve APTES ile fonksiyonelleştirilen silika çekirdek üzerine doğal bir polimer olan dekstran kaplanarak biyouyumlu bir nanopartikül elde edilmiştir. Amin grupları ile fonksiyonelleştirilen silika yüzeyi, aktive edilen dekstranın kararlı bir şekilde silika yüzeyine kovalent bağlanma ile konjuge edilmesini sağlamaktadır [31].

3.3.2.2 Dekstran Aldehit

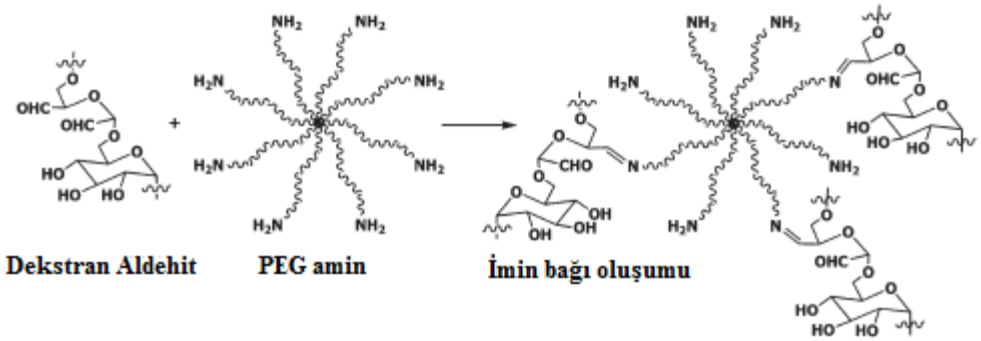
Aldehit grupları, uzun yıllardır çapraz bağlanma reaksiyonlarında kullanılan fonksiyonel gruplardır. Glutaraldehit ve formaldehit, amin grupları ile kimyasal olarak reaksiyona girerek imin grupları oluşturarak çapraz bağlanma reaksiyonları vermektedir. Yüksek reaktivitelerine rağmen kısa karbon iskeletine sahip aldehit gruplarının toksik etkileri, biyouyumluluk gerektiren biyolojik uygulamalarındaki kullanımlarını kısıtlamaktadır. Dekstran gibi toksik olmayan, hidrofilik ve biyouyumlu yapıdaki, yüksek molekül ağırlıklı malzemeler üzerinde aldehit grupları oluşturularak, aldehit kaynaklı toksik etkiler azaltılabilmektedir [62].

Glukozidik bağlara ve geniş molekül ağırlığına sahip doğal bir polisakkarit olan dekstranın yüksek oranda hidroksil gruplarına sahip olması bu polimerlerin oldukça hidrofilik yapıda olmasına ve kimyasal olarak kolayca fonksiyonelleştirilmesine olanak sağlamaktadır. Dekstranın hidroksil grupları, sodyum periyodat ile reaksiyonu sonucunda indirgenerek okside edilebilmektedir. Periyodat iyonları, dekstran yapısındaki C_3-C_4 veya C_2-C_3 arasındaki C-C bağlarını kırarak bir glukoz ünitesinde iki adet aldehit grup oluşumuna neden olmaktadır. C_3 pozisyonundaki aldehitin sahip olduğu hidroksil grubu nedeniyle ikinci bir oksidasyon gerçekleşebilir ve bu pozisyondaki karbon, formik asit şeklinde yapıdan uzaklaşır [63], [64].



Şekil 3. 9 Sodyum periyodat ile dekstran oksidasyonu [62]

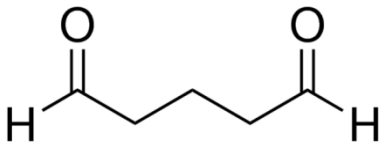
Artzi ve arkadaşları, dekstranı (Mw: 8500-11500) sodyum periyodat ile reaksiyona sokarak dekstran aldehit elde etmişler ve dekstran aldehit ile amin grupları bağlı PEG polimeri arasında imin bağları oluşturarak çapraz bağlanma reaksiyonu gerçekleştirmişlerdir [62].



Şekil 3. 10 Dekstran aldehit ve PEG amin reaksiyonu[61]

3.3.2.3 Amin-Glutaraldehit Bağlanma Mekanizması

Bifonksiyonel yapıdaki glutaraldehit, düşük konsantrasyonlarda kullanılarak toksisitesi azaltılabilen, maliyeti düşük, etkili bir çapraz bağlama ajanıdır [65]. Glutaraldehit, yüksek reaktiviteye sahip, su, alkol ve birçok organik çözücüde çözünebilen, lineer yapıdaki 5 karbonlu dialdehittir. Nötral pH' larda amin grupları ile hızlıca reaksiyona girer ve kimyasal olarak kararlı çapraz bağların oluşumunda diğer çapraz bağlayıcılara göre daha etkilidir [66], [67].

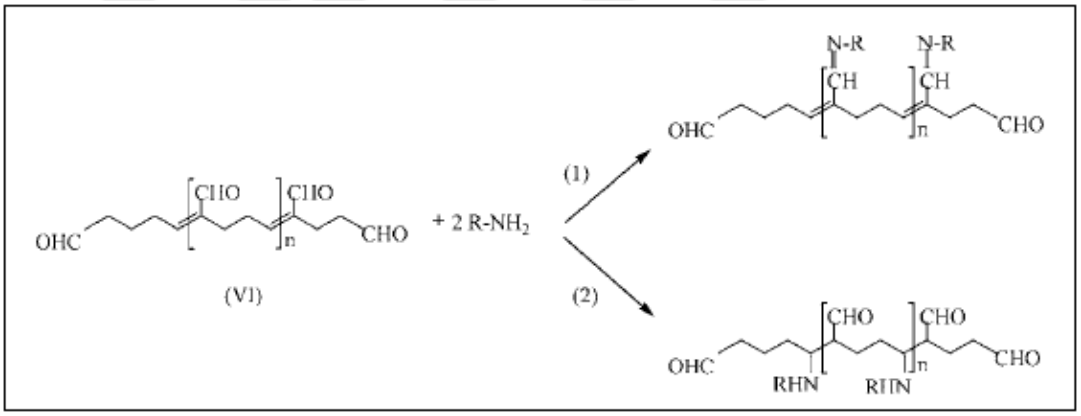


Şekil 3. 11 Glutaraldehit yapısı

Amin gruplarına sahip malzemelerin çapraz bağlama reaksiyonlarında, glutaraldehitteki aldehit grupları amin grupları ile imin bağı oluşturma reaksiyonu vermektedir. Amin grupları, glutaraldehit ile Schiff baz oluşturarak reaksiyona girmektedir. Bu reaksiyonda, amin grubundaki nükleofilik nitrojen (N), aldehitteki oksijen (O) ile yerdeğiştirerek C=N bağı oluşturmaktadır [68]. Glutaraldehit, amin grupları ile geniş pH

aralığında (pH≥3) geri dönüşümlü olarak reaksiyon verirken; pH 7-9 arasında reaksiyonda daha az geri dönüşüm gözlenmektedir [67].

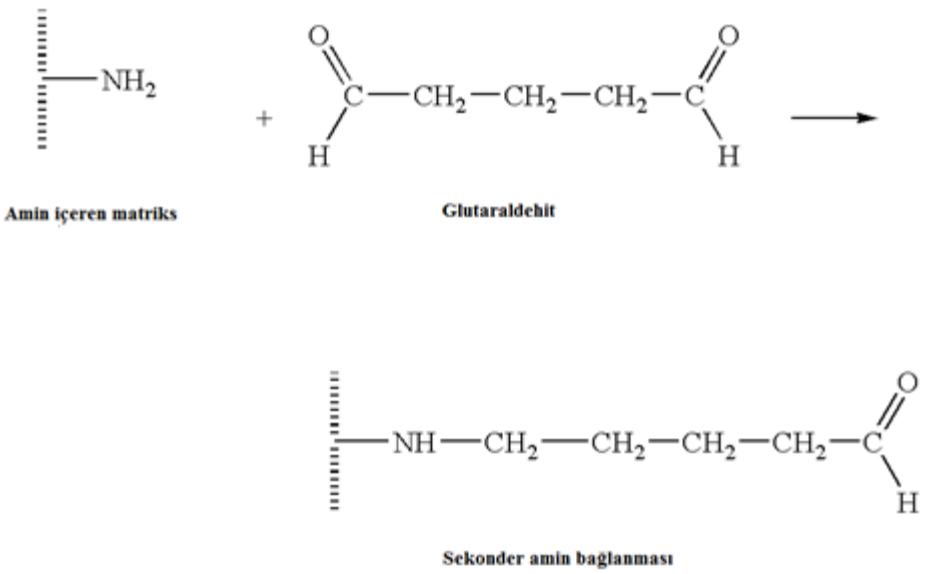
Glutaraldehit-amin reaksiyonları alkali pH' larda gerçekleştirilmektedir. Yüksek pH' larda daha etkili Schiff baz oluşumu gözlenmektedir [69]. Boucher (1970), polimerlerin asidik ve nötral pH' larda sıcaklık veya radyasyon gibi etkenler ile monomerlerine dönüşebilirken alkali koşullarda geri dönüşümlerinin olmadığını belirtmiştir [70]. Schiff baz oluşumu sırasında karbonil ile amin grupları arasındaki bağlanmanın gerçekleşmesi için protonlanmamış amin grupları varlığına ihtiyaç duyulmaktadır. Amin grupları, asidik pH' larda protonlanırken pH yükseldikçe protonlarını verme eğilimi gösterir böylece serbest halde kalan amin grupları çapraz bağlanmaya uygun halde gelir [65]. Bu nedenle aldehit-amin reaksiyonları alkali pH' larda gerçekleştirilmektedir. Yüksek pH' larda daha etkili Schiff baz oluşumu gözlenmektedir [69].



Şekil 3. 12 Proteinler ve glutaraldehit arasındaki (1) Schiff baz, (2) Michael-tip bağlanmaların oluşumu [67]

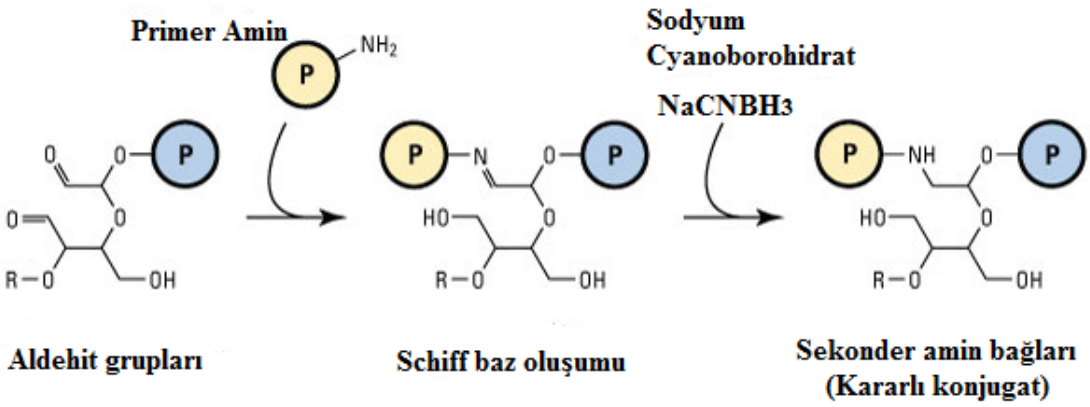
Schiff baz reaksiyonları, geri dönüşümsüz bağlanmalar için yeterince kararlı bağlar oluşturmamaktadır. Bu bağlar, sodyum borohidrat veya sodyum siyanoborohidrat gibi uygun indirgeyiciler ile kararlı hale getirilmektedir. Bu indirgeyici ajanlar, aldehit bileşiği ve amin grubu içeren molekülün bulunduğu reaksiyon ortamına eklenerek Schiff bazın hızlıca indirgenmesini ve kovalent bağın oluşumunu sağlamaktadır. İndirgeme reaksiyonları ile amin ile aldehit grupları arasında daha kararlı yapıda olan sekonder amin bağları oluşmaktadır. İndirgen olarak sodyum borohidratlar, oldukça etkili ajanlardır. Borohidrat ile gerçekleştirilen indirgeme reaksiyonları, siyanoborohidratlara göre 5 kat daha etkilidir, Schiff baz bağlarının indirgenmesinin yanı sıra aldehit gruplarını da etkileyerek hidroksil oluşumuna neden olmaktadır. Siyanoborohidratlar

ise aldehit gruplarını etkilemeden sadece Schiff baz bağlarını sekonder amine dönüştürürler [69].



Şekil 3. 13 Glutaraldehit ile amin grupları arasında oluşan sekonder amin bağları [68]

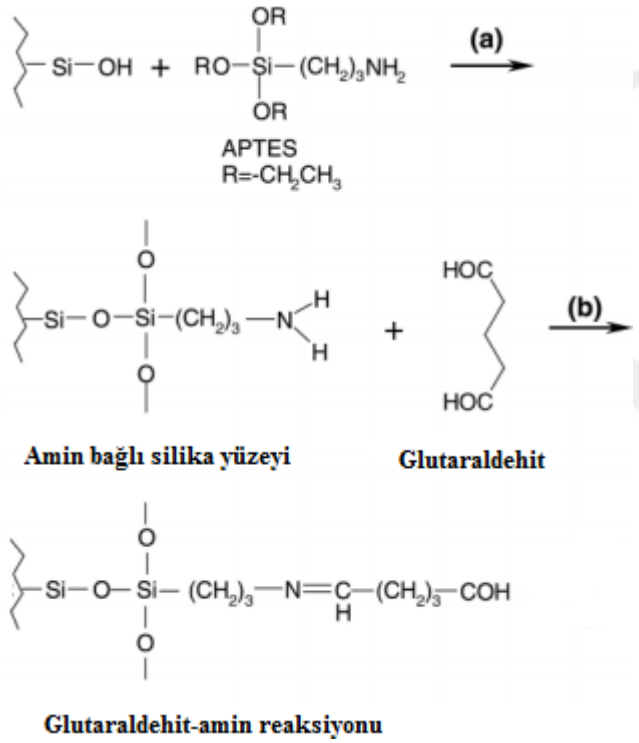
Glutaraldehitte bulunan aldehit gruplarından biri amin grupları ile Schiff baz bağlanması gerçekleştirirken, bir diğer aldehit grubu başka moleküller ile bağlanmak üzere serbest halde kalmaktadır [69].



Şekil 3. 14 İndirgen aminasyon reaksiyonu [69].

Glutaraldehit ile amin grupları arasındaki reaksiyon zamana bağlı olarak iki adımda gerçekleşmektedir. İlk yarım saatte aldehit grupları amin grupları ile hızlı bir şekilde reaksiyona girmekte ve yüzeye bağlanan karbon miktarı hızlıca artmaktadır. İkinci adımda, karbon miktarı daha yavaş bir hızla yüzeyde artmaya devam etmektedir [68].

Silika yüzeyinin APTES ile fonksiyonelleştirilip glutaraldehit ile bağlanması protein immobilizasyonunda oldukça yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Yuan ve ark. (2001), silika fiber yüzeyini APTES ile modifiye ettikten sonra glutaraldehit ile reaksiyona sokarak yüzeyde aldehit grupları oluşturmuşlar ve amin grupları içeren antikorların silika yüzeyine bağlanmasını sağlamışlardır. Silika nanopartiküllerin yüzeyindeki amin grubu miktarı, silikanın yüzey alanına bağlı olarak değişmektedir. Silika nanopartikül yüzey alanı arttıkça amin grubu, buna bağlı olarak da amin gruplarına bağlanan glutaraldehit miktarı artmaktadır [71].



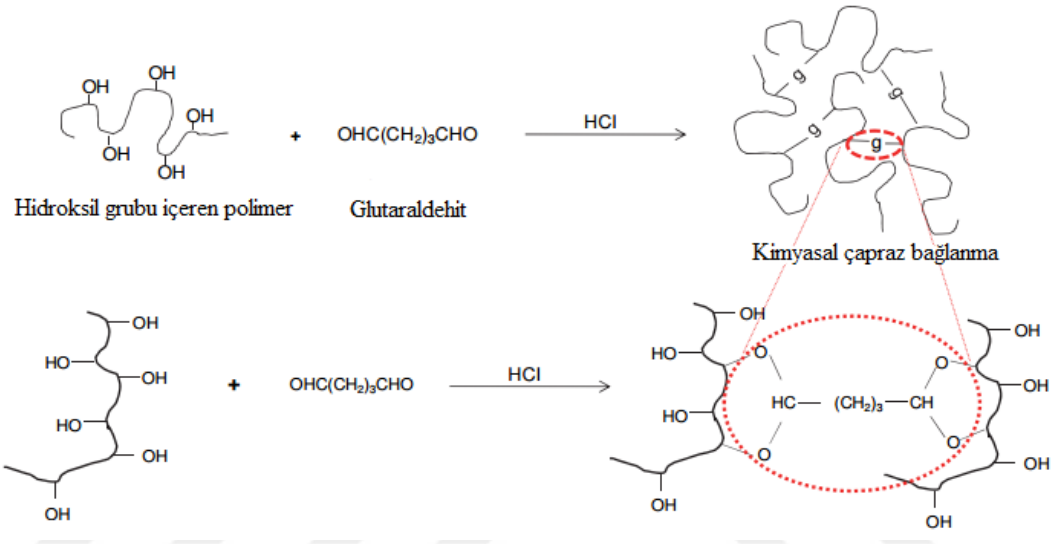
Şekil 3. 15 Silika yüzeyinin amin grupları ile fonksiyonelleştirilmesi (a), amin grupları silika yüzeyinin glutaraldehit ile reaksiyonu (b) [70]

3.3.2.4 Glutaraldehit-Dekstran Çapraz Bağlanma Mekanizması

Monomer-monomer veya polimer-monomer şeklinde polimer zincirlerinin birbirlerine bir çapraz bağlama ajanı kullanılarak bağlanmasına çapraz bağlama reaksiyonu adı verilmektedir. Çapraz bağlama reaksiyonları; kimyasal, fiziksel ve biyolojik olmak üzere 3' e ayrılmaktadır [72].

Dekstran ile glutaraldehit arasındaki çapraz bağlanma reaksiyonu, kimyasal çapraz bağlanma sınıfına girmektedir. Çapraz bağlanacak olan polimerlerin -OH, -COOH, -NH_2

gibi fonksiyonel grupları ile çapraz bağlama ajanı (aldehit grubu içeren vb.) arasında kimyasal bağlanmalar gerçekleşmektedir [73]. Kimyasal çapraz bağlama reaksiyonu geri dönüşümsüzdür ve ısı, sıcaklık, basınç, ışık, manyetik alan veya pH değişimlerinden etkilenmemektedir [72]. Dekstran ile glutaraldehit çapraz bağlanma reaksiyonu sırasında asidik koşullar tercih edilmektedir. Düşük pH' larda aldehit gruplarındaki α-karbon oldukça reaktif karbokatyon haline gelerek dekstran yapısında bulunan –OH grupları tarafından nükleofilik saldırıya uğramaktadır [66].



Şekil 3. 16 Hidroksil grubu içeren polimer ile glutaraldehit arasındaki çapraz bağlanma reaksiyonu [73]

BÖLÜM 4

DENEYSEL ÇALIŞMA

4.1 Materyal

Çizelge 4. 1 Kullanılan kimyasal malzemeler ve markaları

Kimyasal Malzeme	**Marka**	**Kimyasal Malzeme**	**Marka**
Sodyum Silikat (%wt $Na_2O.\ SiO_2$=3,2)	Ege Kimya	Sodyum hidroksit (NaOH)	MERCK
Dekstran (Leuconostoc mesenteroides)	Sigma-Aldrich	Sodyum fosfat monobazik dihidrat	Sigma-Aldrich
Etanol (absolute)	MERCK	Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4)	Sigma-Aldrich
n-hekzan	MERCK	Asetik Asit (glasiyal)	Merck
3-aminopropiltrietoksisilan (APTES)	Sigma-Aldrich	Dextranase® Plus L (Chaetomium erraticum)	Novozymes
Toluen	MERCK	Sodyum (meta)periyodat ($NaIO_4$)	Sigma-Aldrich
5-Fluorouracil (5-FU)	Sigma-Aldrich	Sodyum siyano borhidrür ($NaCNBH_3$)	Sigma-Aldrich
Glutaraldehit (%50 sulu)	Sigma-Aldrich	Potasyum Klorür (KCl)	MERCK

4.2 Kullanılan Cihazlar

Ultraviyole Görünür Işık Spektrofotometre Cihazı (UV-Visible): Silika aerojellere yüklenen ve aerojellerden salınan ilaç miktarlarının belirlenebilmesi amacıyla Scinco S-3100 marka UV-Görünür Bölge Spektrofotometre cihazı kullanılmıştır. 5-Fluorourasil ilacının absorbans değerleri 266 nm dalga boyunda okunmuştur.

Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrofotometre Cihazı (FT-IR): SHIMADZU CORP, IRPrestige21 marka cihaz kullanılmış ve 650-4000 cm^{-1} dalga boyları arasında ölçüm yapılmıştır.

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM): Sentezlenen ve kaplama yapılan silika aerojellerin partikül boyutu ve morfolojisinin incelenmesi için Zeiss, EVO® Ls 10T model cihaz kullanılmıştır. Görüntüler 5 kV' de çekilmiştir.

Enerji Dağılım Spektroskopi Cihazı (EDS): Sentezlenen, modifiye edilen ve yüzeyi kaplanan silika aerojellerin elemental analizlerinin yapılması amacıyla EDAX-Element EDS cihazı (AMETEK, INC., PA 19312, ABD) kullanılmıştır.

Yüzey Alanı ve Gözeneklilik Cihazı: Sentezlenen silika aerojellerin spesifik yüzey alanı ve azot adsorpsiyon izotermleri, Micromeritics TriStar II yüzey alanı ve gözeneklilik cihazı ile analiz edilmiştir. Silika aerojellerin spesifik yüzey alanları (SBET, m^2/g) Brunauer-Emmett-Teller (BET) metodu kullanılarak tespit edilmiştir. Aerojellerin gözenek boyutları ve hacimleri Barrett-Joyner-Halenda (BJH) metodu ile nitrojen adsorbsiyon/desorpsiyon izotermleri kullanılarak tespit edilmiştir.

Püskürtmeli Kurutucu: Sentezlenen silika aerojeller, giriş sıcaklığı 190°C, çıkış sıcaklığı 80°C olarak ayarlanan havalı püskürtmeli kurutucuda (BÜCHI Mini Spray Dryer B-290) kurutulmuştur.

Zetasizer: Aerojellerin yüzey yük dağılımı, Malvern marka zetasizer cihazı kullanılarak zeta potansiyeli ölçümü ile belirlenmiştir.

Sıvı Kromotografi-Kütle Spektroskopi Cihazı (LC-MS): Silika aerojellerden salınan ilaç miktarının tayini için Shimadzu marka LC-MS cihazı kullanılmıştır. 5-FU tayini için 265 nm dalga boyu kullanılmıştır.

4.3 Metod

Çizelge 4. 2 Deney akış şeması

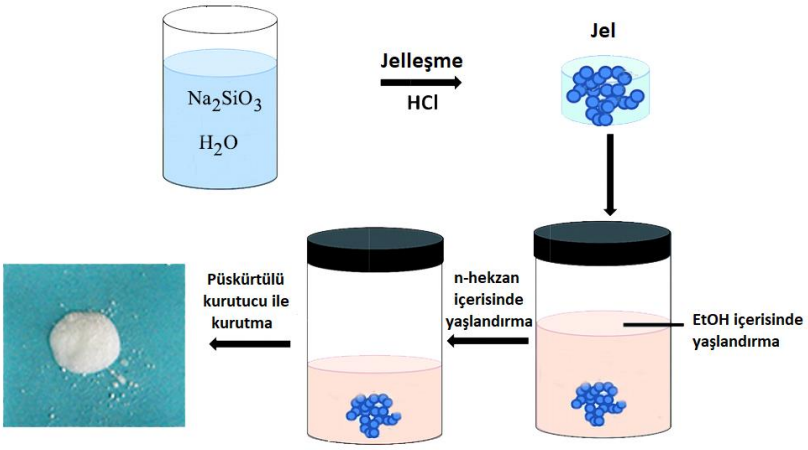
<table>
<tr><td>Silika Aerojel Sentezi</td><td colspan="2">Sol Oluşumu
(Sodyum silikat + dH_2O)
Jelleşme ↓ + HCl (1M)
Jel Oluşumu (pH 3)
Yaşlandırma ↓ 24 saat, 50°C
+ dH_2O ile yıkama (x3)
Jel yapısı
Çözücü Değiştirme ↓ (+EtOH ve n hekzan)
Alkojel
Kurutma ↓ (Püskürtülü Kurutucu)
Aerojel</td></tr>
<tr><td>Silika Aerojel Yüzeyinin APTES ile Modifikasyonu</td><td colspan="2">Silika Aerojel
Yüzey Modifikasyonu ↓ APTES + Toluen
24 saat, 75°C
↓
Toluen ile yıkama (x3)
Amin Grupları Bağlı Silika Aerojel</td></tr>
<tr><td>Silika Aerojellere 5 Fluorourasil Yükleme</td><td>Silika Aerojel
İlaç Yükleme ↓ 5-FU + dH_2O
(pH 5)
5-FU Yüklü Silika Aerojel</td><td>Amin Bağlı Silika Aerojel
İlaç Yükleme ↓ 5-FU + dH_2O
(pH 8)
5-FU Yüklü-APTES ile modifiye Silika Aerojel</td></tr>
</table>

Çizelge 4.2 Deney akış şeması (devam)

Silika Aerojellerin Dekstran ile Kaplanması	**5- FU Yüklü ve Amin Bağlı Silika Aerojel** Schiff Baz Reaksiyonu ↓ %5 ve %10 GA (pH 8,5) **GA bağlı Silika Aerojel** Dekstran Kaplama ↓ Dekstran + dH_2O (pH 2) **Dekstran Kaplı Silika Aerojel**	**5- FU Yüklü ve Amin Bağlı Silika Aerojel** Schiff Baz Reaksiyonu ↓ Dekstran Aldehit (pH 8,5) **Dekstran Aldehit Kaplı Silika Aerojel**

4.3.1 Silika Aerojellerin Sol-Jel Yöntemi ile Sentezlenmesi

Sodyum silikat kaynaklı silika aerojellerin üretimi için 1:10 oranında sodyum silikat:su oda sıcaklığında karıştırılarak sol oluşturulmuştur. Karıştırma esnasında pH' ı 3 olacak şekilde 1 M HCl ilavesi yapılarak jelleşme pH' ı ayarlanmıştır. Oluşan jelin ağ yapısının güçlendirilmesi amacıyla jel, 50°C' lik havalı kurutucuda 24 saat yaşlandırılmıştır. Yaşlandırma adımından sonra jel yapısı içerisindeki tuzların uzaklaştırılması amacıyla su ile 3' er defa yıkama yapılmıştır. Su ile yıkama sonrası gözeneklerdeki suyun uzaklaştırılması amacıyla etanol ile 3' er defa yıkama yapılmış ve yıkama sonrası etanol içerisine konulan jeller 24 saat boyunca 50°C' lik havalı kurutucuda bekletilmiştir. 24 saatlik süre esnasında etanol ile yıkama işlemi 3 defa tekrar edilmiştir. 24 saat sonunda jelin gözeneklerindeki etanolün uzaklaştırılması amacıyla n-hekzan ile 3 defa yıkama yapılarak, jeller 24 saat boyunca 50°C' lik havalı kurutucuda n-hekzan içerisinde bekletilmiş ve bu süre boyunca n-hekzan ile yıkama işlemi 3 defa tekrarlanmıştır. Sentezlenen silika aerojeller, giriş sıcaklığı 190°C, çıkış sıcaklığı 80°C olarak ayarlanan havalı püskürtmeli kurutucuda (BÜCHI Mini Spray Dryer B-290) kurutulmuştur.



Şekil 4. 1 Sol-jel yöntemi ile silika aerojel sentezinin şematik gösterimi



Şekil 4. 2 Sol-jel yöntemi ile sentezlenen silika aerojellerin jelleşme ve kurutma sonrası görüntüleri

4.3.2 Silika Aerojel Yüzeyinin 3-(aminopropil)trietoksisilan (APTES) Modifikasyonu

Sentezlenen silika aerojellerin yüzeyi, APTES kullanılarak modifiye edilmiştir. APTES, silika malzemelerin yüzeyine amin (-NH_2) fonksiyonel gruplarının kazandırılması amacı ile kullanılan bir silanlama ajanıdır. Silika aerojellerin yüzeylerinin fonksiyonelleştirilmesi sırasında kullanılan çözücülerin ve silan ajanının konsantrasyonunun reaksiyona etkisi incelenmiştir.

Çözücülerin yüzey modifikasyonuna etkisini belirlemek amacıyla, APTES ile silika aerojel yüzey modifikasyonu etanol ve toluen çözücüleri varlığında gerçekleştirilmiştir.

Bu amaç ile 50 mg silika aerojel, 50 ml toluen veya etanol içerisinde dağıtılmış ve 25 µl APTES eklenmiştir. Her iki reaksiyon da 24 saat manyetik karıştırıcı ile karıştırılmış ve 24 saat sonunda silika aerojeller çözücüleri ile yıkanmıştır. Etanol kullanılan aerojeller 50°C, toluen kullanılan aerojeller ise 80°C etüvde 24 saat kurumaya bırakılmıştır. Reaksiyon parametreleri Çizelge 4.3' te verilmiştir.

Çizelge 4. 3 Silika aerojellerin farklı çözücüler kullanılarak silanlanma parametreleri

Silika Aerojel (g)	**Çözücü tipi ve miktarı (L)**	**Reaksiyon Sıcaklığı (°C)**	**Kurutma Sıcaklığı (°C)**	**Reaksiyon Süresi (saat)**
0,05	Toluen – 0,05	75	80	24
0,05	Etanol – 0,05	50	50	24

Modifikasyon sırasında APTES ve toluenin silika aerojel üzerindeki etkilerinin ayrı ayrı görülebilmesi amacıyla silika aerojeller toluen içerisinde dağılıtılıp bir reaksiyona ortamına APTES eklenip diğerine eklenmeden aynı şartlar altında 24 saat karıştırma işlemi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4. 3 Silika aerojellerin APTES ile modifikasyonu

(sağ; APTES/toluen içeren, sol; yalnızca toluen içeren modifikasyon çözeltisi)

APTES ile silika yüzeyinin silanlanma reaksiyonunun optimizasyonu için farklı APTES konsantrasyonlarında çalışılarak optimum APTES konsantrasyonu elde edilmeye çalışılmıştır. Bu amaç ile silika aerojeller farklı oranlarda APTES (%0,5-%1-%2-%5-%10) ile muamele edilmiştir. 500 mg silika aerojel tozu, 250 ml toluen içerisinde ultrasonik

olarak dağıtılmış ve üzerine farklı oranlarda APTES (%0,5, %1, %2, %5, %10) eklenmiştir. Oluşturulan karışım, 24 saat 75°C sıcaklıkta manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. 24 saat sonunda oda sıcaklığına getirilen karışım, bağlanmayan silan ajanların uzaklaştırılması amacıyla toluen ile yıkama işlemine tabi tutularak 4800 rpm' de 10 dakika santrifüj edilmiş ve yıkama işlemi 3 defa tekrarlanmıştır. Yıkama sonrası elde edilen amin modifiye silika aerojeller, 80°C' de havalı etüvde kurutulmuştur.

Çizelge 4. 4 Silika yüzeyinin amin modifikasyonunda kullanılan silika aerojel:APTES ve yüzde APTES değerleri

SiO_2:APTES (g:ml)	0,1:0,25	0,1:0,5	0,1:1	0,1:4	0,1:8
Toluen içerisindeki APTES yüzdesi	0,5	1	2	5	10

4.3.3 Amin ile Fonksiyonelleştirilmiş Silika Aerojellere 5-FU Yüklenmesi

4.3.3.1 İlaç Konsantrasyonunun, Çözelti pH' ının ve Aerojel Yüzeyindeki Amin Gruplarının İlaç Yükleme Kapasitesine Etkisinin İncelenmesi

Silika aerojellerin adsorblama kapasitesi ve yüzeyi amin grupları ile fonksiyonelleştirilmiş silika aerojellerin ilaçla etkileşiminin karşılaştırılması saf (SiO_2) ve amin grupları ile modifiye edilmiş (SiO_2-NH_2) silika aerojellere ayrı ayrı ilaç yüklemesi yapılmıştır.

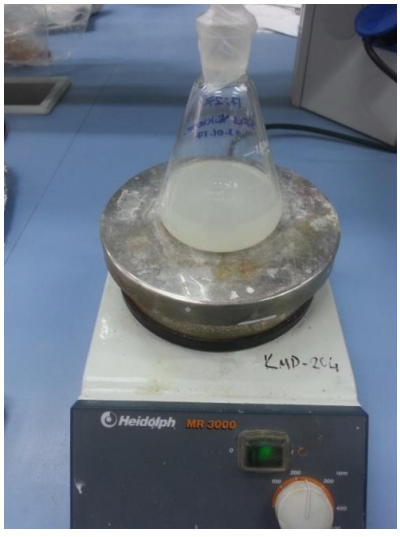
İlaç yükleme kapasitesine pH' ın etkisinin gözlenebilmesi amacıyla 3 mg/ml konsantrasyonunda 5-FU ilaç çözeltisi hazırlanarak amin grupları ile fonksiyonelleştirilmiş silika aeroejellere ilaç yüklemesi yapılmıştır. Amin grupları ile 5-FU arasındaki elektrostatik etkileşimin pH' a bağlı değişiminin yükleme kapasitesine etkisinin incelenmesi amacıyla amin grupları ile fonksiyonelleştirilmiş silika aerojellerin içerisinde bulunduğu yükleme çözeltisi, pH 5 ve pH 8' e ayarlanmış ve 5 dakika ultrasonik banyoda sonike edilerek aerojellerin çözelti içerisinde homojen olarak dağılması sağlanmıştır. Yükleme işlemi 24 saat, oda sıcaklığında, manyetik karıştırma ile

gerçekleştirilmiştir. 24 saat sonunda ilaç yüklü silika aerojeller santrifüj edilerek süpernatanttan ayrılmış ve 40°C' lik etüvde, 24 saat kurumaya bırakılmıştır.

Çizelge 4. 5 % 10 APTES ile modifiye silika aerojellere ilaç yükleme koşulları

Yükleme Koşulları	**pH**	**İlaç konsantrasyonu (mg/ml)**	**Silika aerojel miktarı (g)**	**İlaç çözeltisi miktarı (L)**
1	5	3	0,1	0,05
2	8	3	0,1	0,05

İkinci adım olarak farklı konsantrasyonlarda 5-FU/su çözeltileri hazırlanarak ilaç konsantrasyonun yükleme davranışına etkisi incelenmiştir. Konsantrasyonun yükleme kapasitesine etkisinin görülmesi için SiO_2 ve SiO_2-NH_2 aerojellere farklı konsantrasyonlarda yükleme yapılmıştır. Yükleme öncesinde silika aerojeller, 105°C' de 1 saat bekletilerek aerojel yüzeyindeki nemin uzaklaştırılması sağlanmıştır. Yükleme için 5 FU ilacı, su içerisinde farklı konsantrasyonlarda çözülerek (3mg/ml ve 6mg/ml), 50 ml ilaç çözeltisi içerisine 0,1 gram silika aerojel tozu olacak şekilde çözelti içerisine silika aerojel eklenmiştir. Oluşturulan karışım, 5 dakika ultrasonik banyoda tutularak silika tozlarının çözelti içerisinde homojen olarak karışması sağlanmıştır. Yükleme işlemi 24 saat boyunca, oda sıcaklığında, manyetik karıştırıcı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4. 4 Silika aerojellere 5-FU ilacının yüklenmesi

24 saat sonunda, ilaç yüklü silika aerojel karışımı 10 dakika santrifüj edilerek silika aerojeller ile yüklenmeyen ilaç moleküllerini bulunduran süpernatantın ayrılması sağlanmıştır. Üstte kalan süpernatantın 266 nm' de absorbansı ölçülerek silika aerojellere yüklenen ilaç konsantrasyonu hesaplanmıştır. Süpernatanttan ayrılan ilaç yüklü aerojeller, 50°C' de havalı etüvde 24 saat boyunca bekletilerek kurutulmuştur.

4.3.3.2 Farklı Oranlarda APTES ile Modifiye Edilmiş Silika Aerojellerin İlaç Yükleme Davranışlarının İncelenmesi

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan APTES/toluen çözeltileri ile silanlanan silika aerojellerin ilaç yükleme kapasiteleri karşılaştırılarak silika yüzeyindeki amin grubu miktarının ilaç yüklemesine etkisi incelenmiştir.

0,1 gram APTES modifiye silika aerojel tartılarak 50 ml 5-FU ilaç çözeltisi (6mg/ml) içerisine konulmuş ve ilaç yükleme prosedürü aynı şekilde tekrarlanmıştır.

4.3.4 Silika Aerojel Yüzeyinin Kolona Hedefli Kaplanması

Silika aerojel yüzeyinin dekstran ile kaplanması için dekstran-glutaraldehit ile çapraz bağlama ve dekstran aldehit ile bağlama olmak üzere iki farklı yöntem izlenmiştir. Her iki yöntemde de aldehit gruplarının silika yüzeyine bağlanması amacıyla silika aerojeller APTES ile fonksiyonelleştirilerek silika yüzeyinde amin grupları oluşturulması sağlanmıştır.

4.3.4.1 Silika Aerojellerin Glutaraldehit Kullanılarak Dekstran ile Kaplanması

Amin grupları ile fonksiyonelleştirilen ve 5 FU ilacı ile yüklenen silika aerojeller, glutaraldehit çapraz bağlayıcısı kullanılarak dekstran (Mw: 75.000) ile kaplanmıştır. Farklı konsantrasyonlarda dekstran ve glutaraldehit çözeltileri hazırlanarak silika aerojelin en iyi kaplandığı çözelti konsantrasyonunun optimizasyonu yapılmıştır.

Glutaraldehit (GA) ile Bağlama Reaksiyonu

pH 8,5 olan sodyum bikarbonat çözeltisi ($NaHCO_3$) hazırlanarak (50 ml), ilaç yüklü ve amin bağlı silika aerojel partikülleri (0,1 g) bu çözeltinin içerisinde dağıtılmış ve çözelti pH' ı, amin grupları ile aldehit gruplarının Schiff baz reaksiyonu vermesi için uygun pH olan 8,5' e ayarlanmıştır. Elde edilen karışım üzerine farklı oranlarda (%5 ve %10 w/w

GA/çözelti) glutaraldehit eklenerek, 3 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. 3 saat sonunda karışıma sodyum siyanoborohidrür ($NaBH_3CN$) eklenerek reaksiyonun durdurulması sağlanmıştır. Reaksiyon sonunda elde edilen partiküller diyaliz membran kullanılarak gece boyunca distile suya karşı yıkanmış ve yıkama işlemi sonunda, glutaraldehit bağlanmış silika aerojeller 50°C' de havalı etüvde kurutulmuştur.

Dekstran ile Kaplama Reaksiyonu

Belirli konsantrasyonlarda dekstran, pH' ı 2 olan potasyum klorür (KCl) çözeltisi (50 ml) içerisinde çözülmüştür. Glutaraldehit ile bağlanmış silika aerojeller (0,1 g) dekstran çözeltisi içerisine eklenerek, 24 saat boyunca oda sıcaklığında karışması sağlanmıştır. Reaksiyon sonunda elde edilen dekstran kaplı silika aerojellere bağlanmayan moleküllerin uzaklaştırılması için su ile yıkama yapılarak, aerojeller 50°C' lik havalı etüvde 24 saat kurutulmuştur.

4.3.4.2 Silika Aerojellerin Dekstran Aldehit (D-CHO) ile Kaplanması

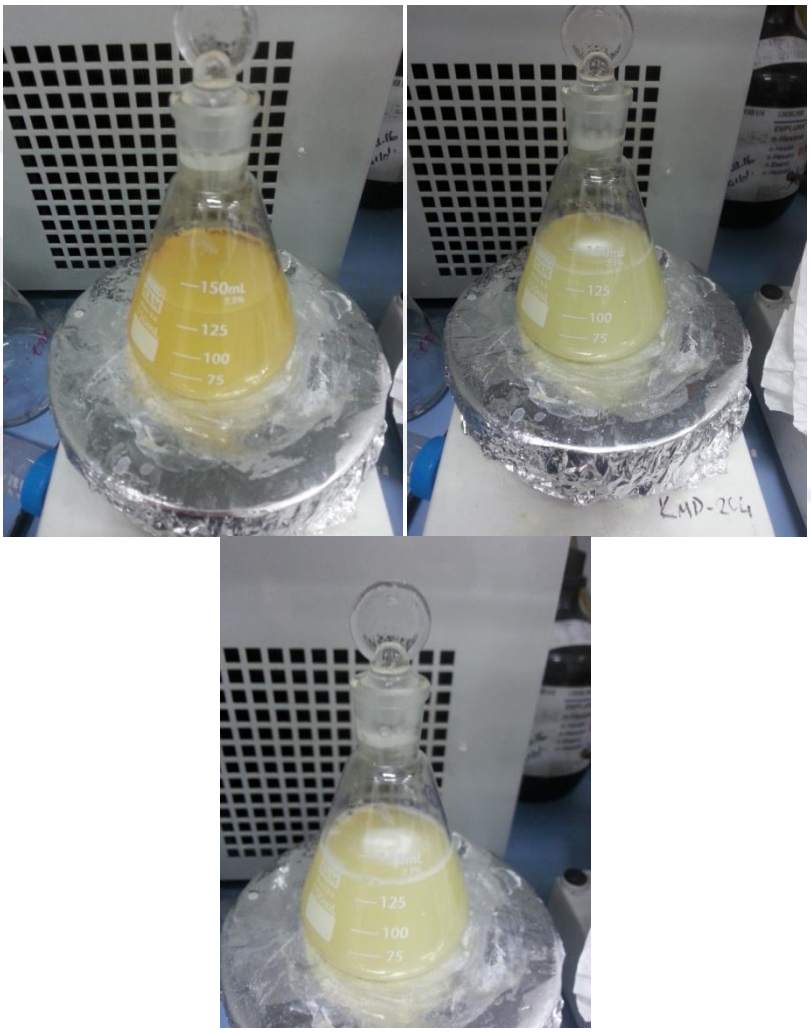
Dekstran Aldehit Sentezi:

Dekstran aldehit sentezi için, 3,3 gram dekstran (Mw: 75.000), 30 ml distile su içerisinde, 8 gram sodyum (meta) periyodat ($NaIO_4$), 70 ml distile su içerisinde çözülmüştür. $NaIO_4$ çözeltisi, dekstran çözeltisi içerisine yavaş yavaş ilave edilip, 24 saat boyunca manyetik karıştırıcı ile karanlık ortamda, oda sıcaklığında karıştırılmıştır. 24 saat sonunda elde edilen karışımdan fazla $NaIO_4$' ın uzaklaştırılması amacı ile gece boyunca diyaliz membran ile distile suya karşı karanlık ortamda, oda sıcaklığında yıkama yapılmıştır. Yıkama sonrası elde edilen çözelti liyafilizatör ile dondurularak kurutulmuştur.

Silika Aerojellerin Dekstran Aldehit ile Kaplanması

Amin grupları ile fonksiyonelleştirilen ve 5-FU ilacı ile yüklenen silika aerojeller, dekstran aldehit ile reaksiyona sokularak kaplanmıştır. Silika aerojellerin kaplanması için bir önceki adımda sentezlenen dekstran aldehit, distile su (50 ml) içerisinde çözülmüştür. İlaç yüklü silika aerojeller (0,1 g), dekstran aldehit çözeltisi içerisine konularak çözelti pH' ı 8.5' e ayarlanmış ve 24 saat boyunca oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı ile karışmaları sağlanmıştır. 24 saat sonunda karışım içerisine sodyum

borhidrür ($NaBH_4$) (1mg/ml) eklenerek, 15 dakika karışması sağlanmıştır. 15 dakika sonunda tekrar $NaBH_4$ (1mg/ml) eklenerek 30 dakika daha karışması sağlanmıştır. Sodyum borhidrür ile dekstran aldehitin aldehit gruplarının indirgenmesi sağlanarak reaksiyon durdurulmakta ve amin grupları ile aldehit grupları arasında daha kararlı bağlanmalar gerçekleşmektedir. Reaksiyona girmeyen maddelerin uzaklaştırılması için diyaliz membran kullanılarak gece boyunca distile su ile yıkama yapılmıştır. Yıkama sonrası elde edilen dekstran aldehit kaplı silika aerojeller 50°C' de havalı etüvde kurutulmuştur.



Şekil 4. 5 Dekstran aldehit ile silika yüzeyinin arasındaki Schiff baz reaksiyonunun durdurma basamakları

4.3.5 Silika Aerojellerden 5-Fluorourasil in-vitro Salım Çalışması

Dekstran kaplı silika aerojellerden 5 Fluorourasil salımı, pH ve enzim varlığına bağlı olarak gerçekleştirilmiştir. Dekstran kaplı olan ve olmayan silika aerojeller ilk olarak yapay mide sıvısına konularak mide pH' ında (1.2) salım davranışları ve dekstranın salıma olan etkisi incelenmiştir. 2 saat sonunda pH 6.8 olan yapay bağırsak sıvısına konulan aerojeller 15-18 saat bağırsak sıvısında bekletilerek ilaç yüklü silika aerojellerin gastrointestinal sistemdeki pH değişimlerine karşı salım davranışları karşılaştırılmıştır.

Dekstran kaplı silika aerojellerin enzim varlığına bağlı salımının incelenmesi amacıyla dekstranaz enzimi içeren salım ortamında (asetat tamponu, pH 5.5) silika aerojellerin salım profili incelenmiştir. Dekstranaz enzimi, kolonda yüksek konsantrasyonda bulunan anaerobik gram negatif bakterilerin aktivasyonu sonucu oluşur. Kanser hücrelerinin bulunduğu ortamın asidik (pH:5.5-6) olması nedeniyle salım ortamı kanserli ortamınkine benzer pH' ta hazırlanmıştır. Dekstranaz enzimi varlığında silika aerojelleri kaplayan dekstranın bozulması ile silika aerojellere yüklü ilaç, asidik (pH 5.5) salım ortamı ile etkileşime girerek ilaç salımı tetiklenmiştir. Salım çalışmaları için diyaliz membran kullanılmış ve ilacın difüzyona bağlı salım profili UV-Vis Spektrofotometre ve Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometre cihazları ile 266 nm' de incelenmiştir.

Salım çalışması için, ilaç yüklü silika aerojeller diyaliz membran içerisine yerleştirilerek salım ortamı bulunan erlenlerin içerisine konulmuştur. 37°C' lik su banyosunda, 100 rpm' de çalkalama ile salım gerçekleştirilmiştir. Belirli zamanlarda erlendeki salım ortamından 3 ml örnek alınarak salınan ilaç absorbansı 266 nm dalga boyunda ölçülmüş, alınan 3 ml örnek yerine, 3 ml taze salım ortamı eklenmiştir.

Yapay Bağırsak Sıvısı (pH 1.2) Hazırlanması:

Yapay bağırsak sıvısı hazırlanması için bir miktar distile suda 0.896 g sodyum hidroksit (NaOH) çözülerek ve 6.805 g potasyum fosfat monobazik (KH_2PO_4) eklenerek, çözelti 100 ml' ye tamamlanmıştır. pH 6,8' e ayarlanabilmesi için 1 M HCl kullanılmıştır.

Yapay Mide Sıvısı (pH 6.8) Hazırlanması:

Yapay mide sıvısı hazırlanması için 2.045 g sodyum klorür (NaCl) belli bir miktar distile su içerisinde çözülerek ve 0.1 M hidrojen klorür (HCl) eklenerek pH' ın 1.2 değerine ulaşması sağlanmıştır.

Kolon Ortamı Hazırlanması (Asetat Tamponu, pH 5.5):

5,7 ml asetik asit (%100), belirli miktarda su ile karıştırılarak pH' ı 1M NaOH ile 5,5' e ayarlanmış ve çözelti 1L' ye tamamlanmıştır. Salım ortamına 2U/ml konsantrasyonunda dekstranaz enzimi eklenerek enzimin dekstranı parçalayarak salımın tetiklenmesi amaçlanmıştır.

4.3.6 5-FU Salım Profilinin İncelenmesi

Silika aerojellerden salınan 5-FU konsantrasyonunun belirlenebilmesi amacıyla UV-Görünür Bölge Spektrofotometre ve Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometre ile zamana bağlı ölçümler alınmış ve kümülatif salım değerleri hesaplanmıştır. 5-FU konsantrasyonunun belirlenebilmesi için ilk olarak distile su ile farklı konsantrasyonlara seyreltilerek hazırlanan ilaç çözeltilerinin absorbansları 266 nm' de ölçülmüş ve konsantrasyon-absorbans kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Salım çalışması sırasında belirli zamanlarda ölçülen ilaç absorbansları ile, kalibrasyon grafiği yardımıyla konsantrasyonlar hesaplanmıştır.

4.3.7 Sentezlenen ve Kaplanan Silika Aerojellerin Karakterizasyonu

4.3.7.1 Azot (N_2) Adsorbsiyon/Desorpsiyon Analizi

Sentezlenen ve amin grupları ile modifiye edilen silika aerojellerin yüzey alanları, gözenek boyut ve hacimlerinin tayin edilmesi amacı ile azot (N_2) adsorpsiyon/desorpsiyon analizleri yapılmıştır. Analiz öncesinde hazırlanan numunelerin nemi, nem tayini cihazı ile 120°C' de uzaklaştırılmıştır. Nemleri uzaklaştırılan numuneler örnek tüpleri içerisinde tartılarak, 1 saat 90°C ve 2 saat 250°C sıcaklık değerlerinde azot gazı akışı altında degaz işlemine tabi tutulmuşlardır.

4.3.7.2 Asit-Baz Geri Titrasyon Analizi

Silika aerojel yüzeyindeki amin grupları miktarının belirlenebilmesi amacıyla asit-baz geri titrasyon deneyleri yapılmıştır. Titrasyon deneyi için farklı oranlarda APTES ile silanlanmış silika aerojeller (10 mg), 20ml 1mM HCl içerisinde 30 dakika karıştırılmıştır. 30 dakika sonunda örnekler 30 dakika santrifüj edilerek süpernatanttan 10 ml alınmış, 5 damla fenolfitaleyin indikatörlüğünde standardize edilmiş 1mM NaOH ile titre edilmiştir. Kontrol deneyi için 10 mg APTES ile fonksiyonelleştirilmemiş silika aerojel ile aynı prosedür tekrarlanmıştır.

4.3.7.3 Zeta Potansiyel Analizi

Sol-jel yöntemi ile sentezlenen ve dekstran/dekstran aldehit kaplanan silika aerojellerin yüzey yük dağılımının belirlenebilmesi amacıyla zeta potansiyel ölçümleri yapılmıştır. Ölçüm için pH 3 ve pH 8 olacak şekilde iki farklı PBS tamponu hazırlanmıştır. Hazırlanan tampon çözeltileri içerisine, 0,1 mg/ml konsantrasyonda olacak şekilde silika aerojel eklenmiş ve ultrasonik banyo kullanılarak tampon içerisindeki partiküllerin homojen olarak dağılması sağlanmıştır. Analiz için küvet içerisine 800 µl partikül-PBS karışımı konulmuş ve ölçüm alınmıştır.

Fosfat Tamponu Çözeltisi (PBS) Hazırlanması

Fosfat tamponu çözeltisi hazırlanması için 800 ml distile su içerisine 8 gr NaCl eklenip çözülmüş, daha sonra 0,2 g KCl, 1,44 g Na_2HPO_4 and 0,24 g KH_2PO_4 eklenerek hazırlanan çözelti manyetik karıştırıcı kullanılarak karıştırılmıştır. Hazırlanan tampon çözeltisinin pH' ı HCl ve NaOH kullanılarak pH 3 ve pH 8' e ayarlanmış ve çözelti 1 litreye tamamlanmıştır.

Çizelge 4. 6 Fosfat tamponu hazırlanması için kullanılan kimyasallar ve miktarları

Kimyasal	**Miktar (gram) (1 litre için)**
Sodyum Klorür (NaCl)	8,0
Potasyum Klorür (KCl)	0,2
Sodyum fosfat dibazik (Na_2HPO_4)	1,44
Potasyum fosfat monobazik (KH_2PO_4)	0,24

BÖLÜM 5

SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında sol-jel yöntemi ile sentezlenen silika aerojellerin, dekstran ile kaplanarak kolon kanseri tedavisinde kullanılan 5 Fluorourasil' in mide ve bağırsak pH' larından etkilenmeden kolona hedeflenmesi amaçlanmıştır. Farklı oranlarda APTES ile fonksiyonelleştirilen silika aerojellerin yüzeyleri glutaraldehit-dekstran ve dekstran aldehit ile kaplanarak 5 FU kanser ilacının mide, bağırsak ve kolon ortamlarında salım davranışı incelenmiştir. Sol-jel yöntemi ile sentezlenen ve dekstran ile kaplanan fonksiyonelleştirilmiş ve ilaç yüklü silika aerojellerin, bileşimindeki kimyasal bağların analizi için FT-IR Spektrofotometre cihazı, aerojellerin gözenek yapısı ve yüzey alanları tayini için Yüzey Alanı ve Gözeneklilik Cihazı (N_2 adsorbsiyon/desorpsiyon analizi), morfolojilerinin ve şekillerinin tayini için Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), yapılarında bulunan elementlerin tayini için Enerji Dağılımı Spektroskopisi (EDS), yüklenen ve salınan ilaç miktarlarının tayini için UV-Vis Spektrofotometre ve Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometre cihazları (LC-MS), yüzey yüklerinin tayini için Zeta Potansiyel Analizi, yüzeydeki amin grubu miktarlarının tayini için Asit-Baz Geri Titrasyon Analizleri yapılmıştır.

5.1 Sol-Jel Yöntemi ile Sentezlenen ve APTES ile Modifiye Edilen Silika Aerojellerin Karakterizasyonu

Sol-jel yöntemi ile sentezlenen ve APTES ile fonksiyonelleştirilen silika aerojellerin yüzey özellikleri, gözenek hacmi ve boyutu azot adsorpsiyon analizi, fonksiyonel grupları FT-IR, morfolojisi ve elementel bileşimi SEM ve EDS analizi, yüzeyine bağlanan amin grubu miktarı asit-baz geri titrasyon, yüzey yükü ise zeta potansiyel analizleri ile incelenmiştir.

5.1.1 Azot (N_2) Adsorbsiyon/Desorpsiyon Analizi Sonuçları

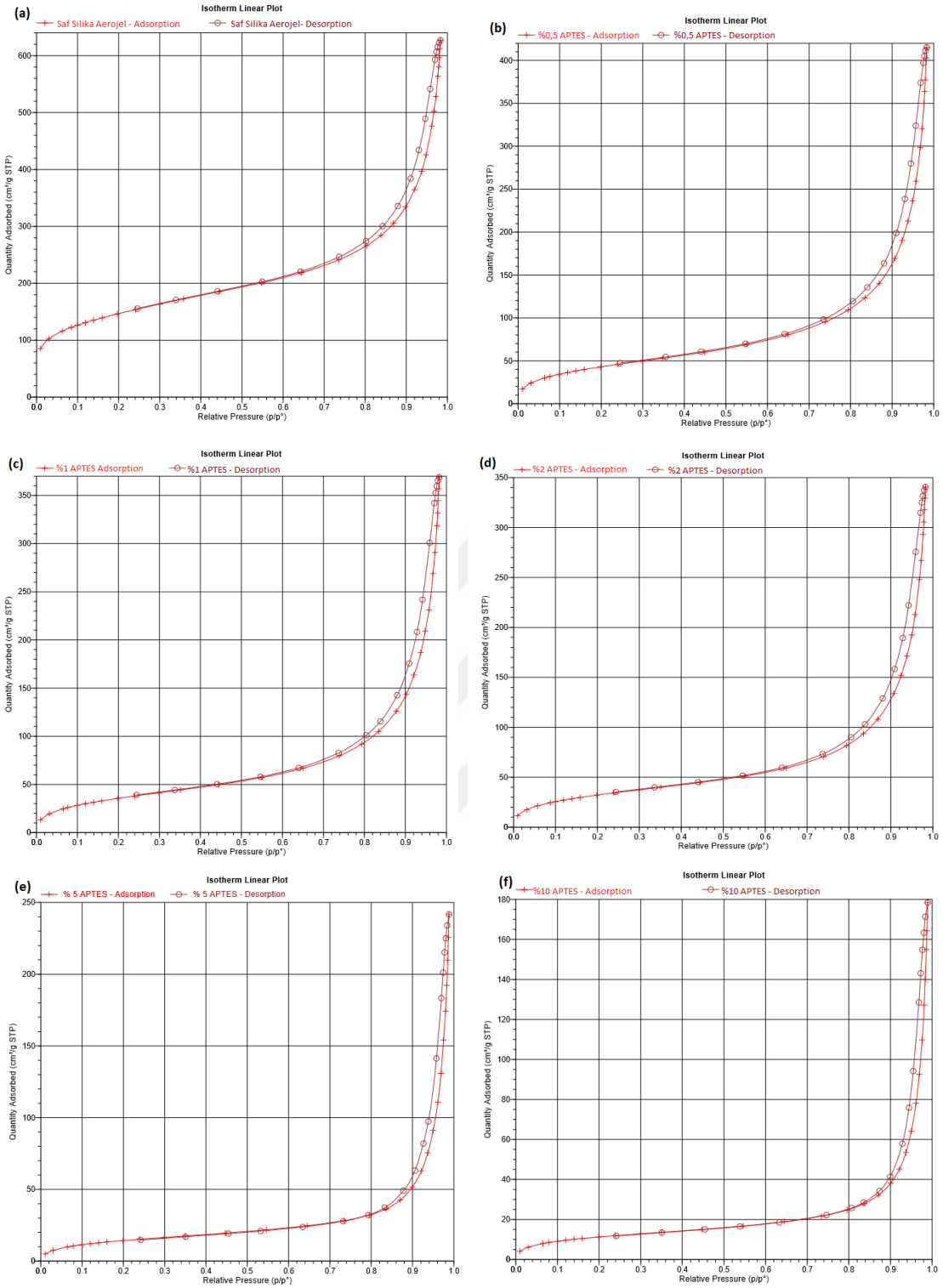
Sol-jel yöntemi ile sentezlenen ve yüzeyi APTES ile fonksiyonelleştirilen silika aerojellerin spesifik yüzey alanları ve azot adsorpsiyon/desorpsiyon izoterm ölçümleri Micromeritics TriStar II Yüzey Alanı ve Gözeneklilik Cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Adsorpsiyon izotermleri sıvı azot sıcaklığı olan 77 K'de ölçülmüştür.

Çizelge 5. 1 Üretilen silika aerojellerin yüzey ve gözenek özellikleri

	Yüzey Alanı (m^2/g)	**Gözenek Hacmi (cm^3/g)**	**Gözenek Boyutu (nm)**
SiO_2	520,53	0,42	5,73
SiO_2-NH_2 (%0,5 APTES)	160,30	0,25	6,71
SiO_2-NH_2 (%1 APTES)	133,88	0,23	6,99
SiO_2-NH_2 (%2 APTES)	120,78	0,21	7,14
SiO_2-NH_2 (%5 APTES)	53,32	0,078	7,16
SiO_2-NH_2 (%10 APTES)	41,32	0,062	7,54

Elde edilen spesifik yüzey alanı, gözenek boyutu ve hacmi sonuçları Çizelge 5.1' de, adsorpsiyon/desorpsiyon izotermleri ise Şekil 5.1' de verilmiştir. Sol-jel yöntemi ile sentezlenen fonksiyonelleştirilmemiş silika aerojellerin yüzey alanı ve gözenek hacmi değerlerinin, amin ile fonksiyonelleştirilmiş silika aerojellerin yüzey alanı ve gözenek hacmi değerlerinden yüksek olduğu, gözenek boyutu değerlerinin ise küçük olduğu Çizelge 5.1' de görülmektedir. Silan ajanı (APTES) ile silika aerojellerin yüzeylerinin fonksiyonelleştirilmesi sonucu aerojellerin yüzey alanları ve gözenek hacimlerinin düştüğü, gözenek boyutlarının ise arttığı görülmektedir.

Fonksiyonelleştirme reaksiyonu sonrasında silika aerojel yüzeyinin fonksiyonel gruplar ile kaplanması ve partikül boyutlarının artması, aerojel yüzey alanının azalmasına sebep olmaktadır. Benzer olarak gözenek duvarlarında fonksiyonel grup tabakalarının oluşumu, gözenek hacminin azalmasına neden olmaktadır. APTES ile yüzey modifikasyonu sonucunda gözenek boyutlarının arttığı görülmektedir. Saf silika aerojellerin yüzeyinde bulunan Si-OH grupları arasındaki hidrojen bağları, fonksiyonelleştirme sonrasında organik yapılı fonksiyonel grupların oluşumu ile kaybolmaktadır. Yüzeye bağlanan fonksiyonel gruplar birbirlerini itme eğilimi göstererek gözenek boyutlarının artışına sebep olmaktadır. Kullanılan silan ajanının konsantrasyonu arttıkça yüzeye bağlanan fonksiyonel grupların artışına bağlı olarak aerojellerin yüzey alanı ve gözenek hacmi düşmekte, gözenek boyutları artmaktadır.



Şekil 5.1 Farklı oranlarda APTES ile modifiye silika aerojellerin azot (N_2) adsorbsiyon/desorpsiyon izotermleri: (a) Saf SiO_2, (b) %0,5 APTES-SiO_2, (c) %1 APTES-SiO_2, (d) %2 APTES-SiO_2, (e) %5 APTES-SiO_2, (f) %10 APTES-SiO_2

Şekil 5.1' de verilen azot adsorpsiyon/desorpsiyon izotermleri incelendiğinde saf silika aerojel ve amin ile fonksiyonelleştirilmiş silika aerojellerin benzer olarak mezo gözenekli malzemelerin karakteristik izotermi olan tip IV izoterm gösterdikleri ve mezogözeneklere sahip oldukları görülmektedir. Saf silika aerojellerin azot adsorbsiyon kapasiteleri en yüksek değerdeyken modifikasyon için kullanılan APTES konsantrasyonu arttıkça azot adsorbsiyonu azalmaktadır. Bunun nedeni silika aerojel yüzeyine bağlanan APTES konsantrasyonu arttıkça silika aerojel yüzey alanının azalmasıdır.

5.1.2 Asit-Baz Geri Titrasyon Analizi

Sol-jel yöntemi ile sentezlenen ve amin grupları ile fonksiyonelleştirilen silika aerojellerin yüzeylerine bağlanan amin grubu miktarının tespit edilmesi amacıyla asit-baz geri titrasyon analizi yapılmıştır. APTES ile fonksiyonelleştirilen silika aerojellerin yüzeyinde bulunan amin gruplarının, ortamda bulunan HCl ile etkileşmesi sonucu amin grupları proton yüklenerek asidin proton kaybetmesine neden olmaktadır. Proton kaybeden asit çözeltisinin sodyum hidroksit (NaOH) ile titrasyonu yapılarak harcanan NaOH miktarı ile çözeltide kalan asit miktarı ve buna bağlı olarak HCl ile etkileşime giren amin grubu miktarı tayin edilmektedir.

Çizelge 5. 2 Farklı konsantrasyonlarda APTES ile modifiye silika aerojellerin yüzeylerindeki amin grubu miktarları

Silika aerojel	**Silika aerojel yüzeyindeki amin grubu miktarı (molekül/nm^2)**
SiO_2-NH_2 (%0,5 APTES)	2,88
SiO_2-NH_2 (%1 APTES)	3,67
SiO_2-NH_2 (%2 APTES)	4,31
SiO_2-NH_2 (%5 APTES)	13,32
SiO_2-NH_2 (%10 APTES)	19,78

Elde edilen sonuçlara göre modifikasyon sırasında kullanılan APTES' in konsantrasyonu arttıkça yüzeye bağlanan amin grubu miktarı artmaktadır.

5.1.3 Zeta Potansiyel Ölçümü

Silika aerojellerin APTES ile fonksiyonelleştirilmesi sonucunda yüzeye bağlanan amin gruplarının yüzey yük dağılımına etkisinin karakterizasyonu, Zeta Sizer (Malvern Instruments) kullanılarak zeta potansiyel ölçümü ile gerçekleştirilmiştir. Zeta potansiyel ölçümü 25°C sıcaklıkta, pH 3 ve pH 8 olacak şekilde iki farklı pH' da PBS tamponu içerisinde, konsantrasyon 1mg/ml olacak şekilde silika aerojellerin dağıtılması ile gerçekleştirilmiştir. Her pH değeri için saf silika ve APTES ile fonksiyonelleştirilmiş silika aerojeller (%0.5, %1, %2, %5 ve %10 APTES/Toluen) ayrı ayrı analiz edilerek karşılaştırma yapılmıştır.

Çizelge 5. 3 Saf ve farklı konsantrasyonlarda APTES ile fonksiyonelleştirilmiş silika aerojellerin pH 3 ve 8' deki zeta potansiyelleri

Silika Aerojel	**Zeta potansiyel mV (pH 3)**	**Zeta potansiyel mV (pH 8)**
Saf SiO_2	-2,10 ± 0,62	-16,0 ± 0,46
SiO_2-NH_2 (%0,5)	28,3 ± 2,11	8,48 ± 0,74
SiO_2-NH_2 (%1)	29,8 ± 0,82	8,39 ± 0,18
SiO_2-NH_2 (%2)	27,0 ± 2,15	7,51 ± 0,76
SiO_2-NH_2 (%5)	27,2 ± 1,14	9,93 ± 0,5
SiO_2-NH_2 (%10)	27,0 ± 0,89	11,6 ± 0,41

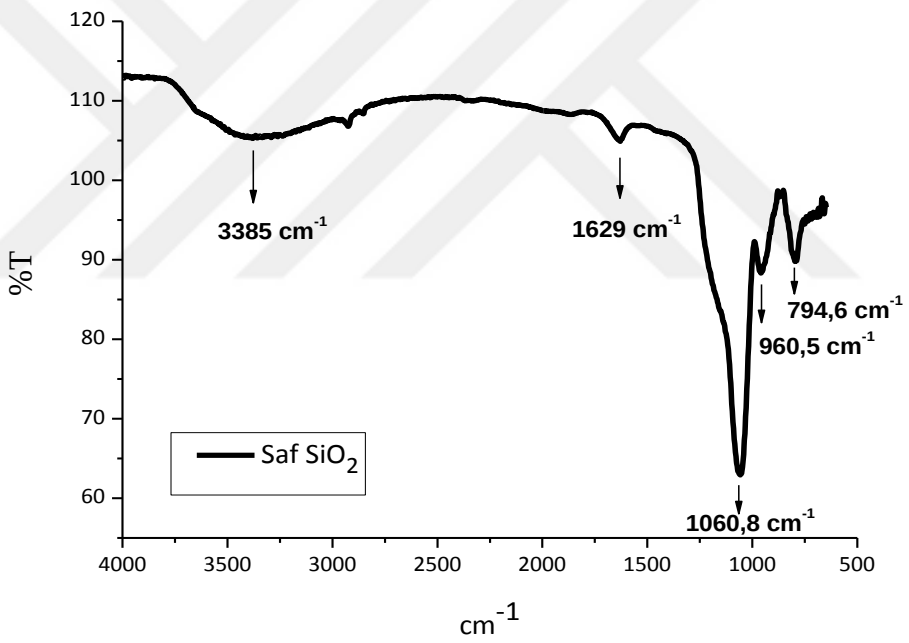
Silika yüzeyinin modifikasyonu, silisyum üzerindeki hidroksil (-OH) gruplarının APTES' teki silanol grupları (Si-OH) ile etkileşimini gerektirmektedir. Silika aerojellerin yüzeyindeki Si-OH gruplarından kaynaklı negatif yüzey yükü, APTES ile modifikasyon sonucunda yüzeye bağlanan amin grupları nedeniyle azalmakta ve daha pozitif hale gelmektedir. Saf silika aerojelin yüzeyinde bulunan silanol grupları (Si-OH), bazik koşullarda negatif yüklenirken pH' ın azalması ile asidik koşullarda negatif yük miktarları azalmaktadır. APTES ile modifiye edilmiş silika aerojellerin yüzeylerindeki amin grupları yüzeyin pozitif yüklenmesine neden olurlar. Silika aerojel yüzeyindeki amin gruplarının asidik koşullarda pozitif yükleri artarken, pH yükseldikçe pozitif yük miktarı azalmaktadır. Zeta potansiyel analizlerinden elde edilen sonuçlara göre,

fonksiyonelleştirilmeden önce yüzeyindeki hidroksil grupları nedeniyle oldukça negatif olan silika aerojellerin yüzey yükü, fonksiyonelleştirme sonrasında APTES konsantrasyonuna bağlı olarak pozitif yüklü hale gelmiştir.

5.1.4 FT-IR Spektrofotometre Analizi

Sol-jel yöntemi ile sentezlenip farklı oranlarda APTES ile fonksiyonelleştirilen silika aerojellerin yapısında bulunan bağların karakterizasyonu için FT-IR spektroskopi analizleri yapılmıştır. Elde edilen spektrumlar, sentezlenen silika aerojellerin çeşitli yapısal birimlerine karşılık gelen bantları göstermektedir.

5.1.4.1 Saf Silika Aerojellerin FT-IR Analizi Sonuçları



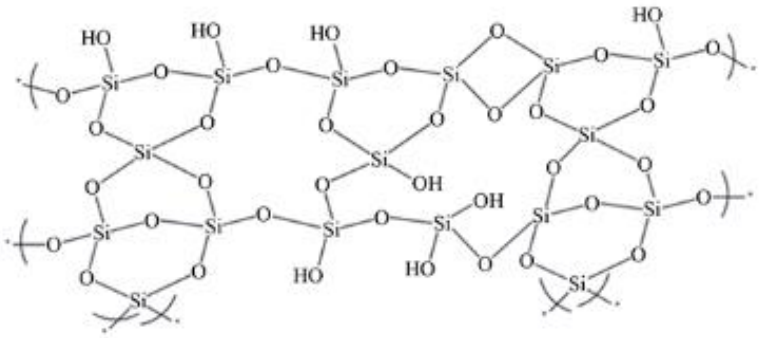
Şekil 5. 2 Saf silika aerojellerin FT-IR sonucu

Çizelge 5. 4 Silika aerojellerin FT-IR spektrum pikleri

Pik	**Bağ**
3385 cm^{-1}	-OH gerilmesi (yüzeye adsorbe edilmiş su)
1629 cm^{-1}	H_2O deformasyonu (fiziksel olarak silika yüzeyine soğurulmuş su)
1060,85 cm^{-1}	Si-O-Si asimetrik gerilmesi (siloksan bağı)
960,55 cm^{-1}	Si-OH bükülmesi (silanol bağı)
794,67 cm^{-1}	Si-O-Si simetrik gerilmesi (siloksan bağı)

Şekil 5.2' de saf silika aerojellerin moleküler yapısındaki çeşitli titreşimlerden kaynaklı karakteristik pikleri görülmektedir. 3300-3500 cm^{-1} aralığında ortaya çıkan geniş bant, su molekülleri arasındaki hidrojen bağları kaynaklı –OH gerilme ve su molekülleri ile hidrojen bağı yapmış (Si-OH···H_2O) yüzeydeki silanol gruplarının (Si-OH) gerilme bantlarının örtüşme spektrumudur. Yüzey silanol gruplarının (Si-OH) gerilme titreşimleri kaynaklı bantlar 960 cm^{-1}' de ortaya çıkmıştır. 1629 cm^{-1}' de yüzeye adsorbe edilen su moleküllerinin deformasyon titreşimleri görülmektedir. Su moleküllerinin silika aerojel yüzeyine adsorblanmasının nedeni aerojel yüzeyindeki silanol gruplarının varlığıdır ve bu gruplar sol-jel yöntemi ile sentezlenen silika aerojellere oldukça hidrofilik bir özellik kazandırmaktadır.

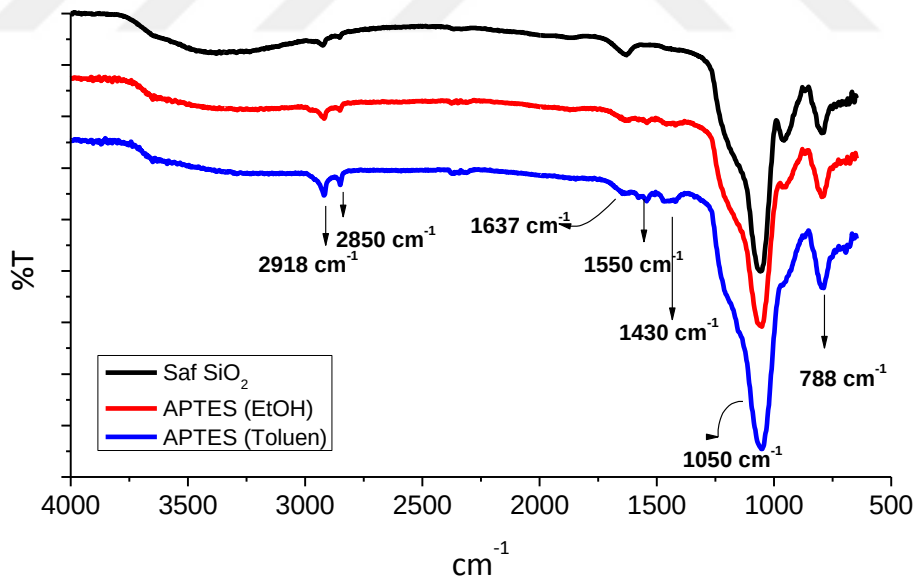
1000-1200 cm^{-1} aralığında silikon ve oksijen arasındaki kovalent bağlarının titreşimleri güçlü bir pik şeklinde görülmektedir. Oksijen atomları, iki silikon atomu arasında köprü görevi görerek siloksan bağlarını (Si-O-Si) oluşturmakta ve silika ağ yapısının ortaya çıkmasını sağlamaktadır. 1060 cm^{-1}' de ortaya çıkan oldukça yoğun ve geniş bant ve 1200 cm^{-1} çevresinde görülen omuz; Si-O-Si asimetrik gerilme titreşimlerini temsil etmektedir. 790-800 cm^{-1}' de siloksan bağlarının (Si-O-Si) simetrik gerilmesi kaynaklı titreşimlerin bandı görülmektedir. [74].



Şekil 5. 3 Silika aerojellerin 3 boyutlu ağ yapısı içerisindeki silanol (Si-OH) ve siloksan bağları (Si-O-Si)

5.1.4.2 3-(aminopropil)trietoksisilan (APTES) ile Modifiye Edilmiş Silika Aerojellern FT-IR Analizi Sonuçları

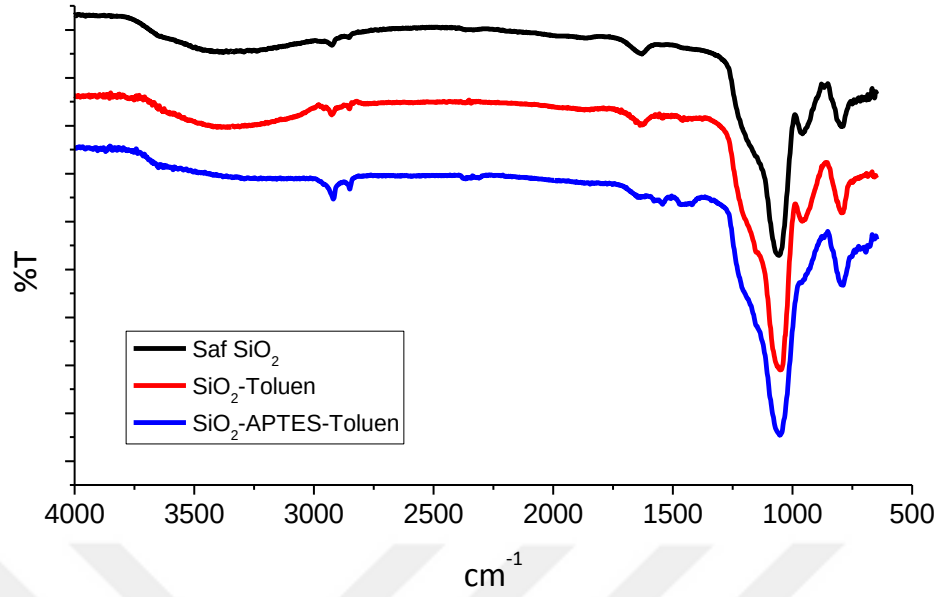
Silika aerojeller, farklı oranlarda APTES ile fonksiyonelleştirilerek yüzeylerinde amin gruplarının oluşması sağlanmıştır. APTES ile silika yüzeyinin modifiye edilmesi amacıyla ilk olarak farklı çözücüler kullanılarak etanol ile toluen arasındaki farkın silanlama reaksiyonuna etkisi gözlenmiştir.



Şekil 5. 4 Farklı çözücüler kullanılarak APTES ile modifiye edilen silika aerojellerin FT-IR sonucu

Etanol ile gerçekleştirilen reaksiyonlarda APTES' in etanol varlığında hidroliz gerçekleştirmesi ve daha sonra silika yüzeyine bağlanması söz konusu iken toluen gibi polar olmayan çözücülerin varlığında APTES, hidrolize uğramadan kendiliğinden silika yüzeyine bağlanma eğilimi göstermektedir. Çözücü olarak etanol kullanılması, etanolün kendisinde de hidroksil (-OH) gruplarının bulunması nedeniyle silika yüzeyindeki hidroksil gruplarına bağlanacak olan APTES' in silanlama reaksiyonunda bazı engellere neden olmaktadır. Bu nedenle birçok makalede, APTES ile modifikasyon reaksiyonlarında toluen gibi polar olmayan çözücüler kullanılması önerilmektedir. Önemli olan bir diğer nokta da, uygun bir çözücü içerisinde APTES, silika yüzeyinde bir tabaka oluşturur ancak etkili bağlanmaların oluşturulabilmesi için reaksiyonun belli miktarda sıcaklık verilerek gerçekleştirilmesi gerekmektedir.

Şekil 5.4' te farklı çözücüler kullanılarak yapılan silanlama reaksiyonlarının FT-IR görüntülerinin karşılaştırılması sonucunda toluen çözücüsü kullanılarak gerçekleştirilen modifikasyon reaksiyonlarında 2918 cm^{-1}-2850 cm^{-1} (CH asimetrik ve simetrik gerilmeleri), 1546-1579 cm^{-1} (-NH deformasyonu), 1456 cm^{-1}- 1429 cm^{-1} (-CH_2 ve –CH_3 titreşimleri) piklerinde etanol çözücüsü kullanılana göre daha fazla artış gözlenirken; 1637,56 cm^{-1} (yüzeye adsorblanmış su molekülleri) ve 964,41 cm^{-1} (Si-OH bükülmesi) piklerinde daha fazla azalma gözlenmektedir. FT-IR spektroskopisi analiz sonuçlarına göre toluen ile gerçekleştirilen reaksiyon sonucunda amin gruplarının silika aerojellerin yüzeyine daha iyi bağlandığı görülmüş ve optimizasyon çalışmalarına çözücü olarak toluen kullanılarak devam edilmiştir.

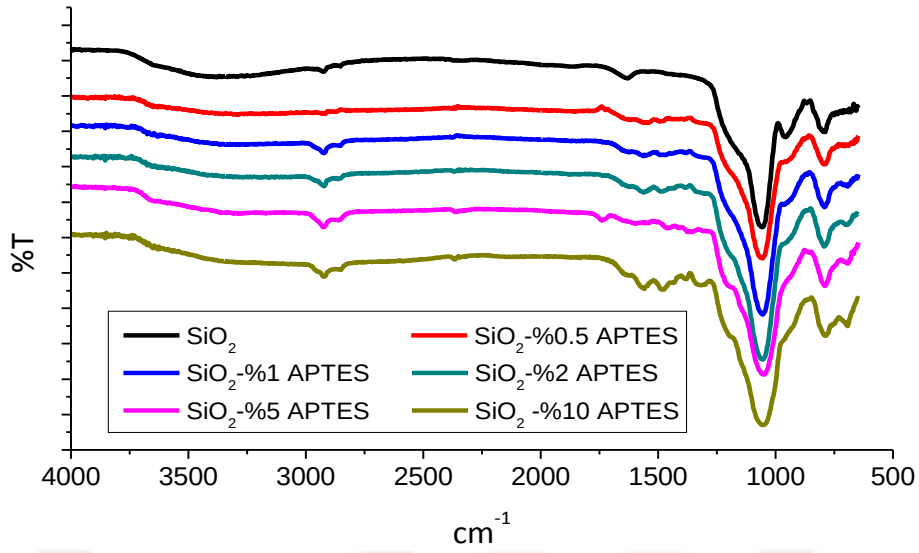


Şekil 5. 5 Toluen ve APTES-Toluen içerisinde reaksiyona sokulan silika aerojellerin FT-IR sonucu

Silanlama reaksiyonun gerçekleştirildiği koşullar sabit tutulup APTES eklemeden sadece toluenin bulunduğu ortamda reaksiyon gerçekleştirilmiş ve toluen ile APTES' in silika yapısında gerçekleştirdiği değişiklikler ayrı ayrı tespit edilmiştir. Yalnızca toluen bulunan ortamda 2922 cm^{-1} ve 2864 cm^{-1} (-CH asimetrik ve simetrik gerilmeleri), 1485 cm^{-1} ($-CH_2$ titreşimleri) pikleri APTES bulunan ortamdakine benzer olarak görülmektedir. Ancak APTES'leme sonrasında azalan, yüzeye adsorbe olmuş su moleküllerini temsil eden 3385 ve 1629 cm^{-1} piklerinde ve 958 cm^{-1} (Si-OH bükülmesi) pikinde azalma meydana gelmemiştir. Ayrıca APTES karakteristik piki olan 1560 cm^{-1} (-NH deformasyonu) pikinin, sadece toluenin bulunduğu reaksiyon ortamında ortaya çıkmadığı görülmüştür. APTES ile silika yüzeyinin silanlanma reaksiyonunun optimizasyonu için farklı APTES konsantrasyonlarında ve Silika:APTES (g/ml) oranlarında çalışılarak optimum APTES konsantrasyonu elde edilmeye çalışılmıştır. Bunun için silika aerojellerin yüzeyi farklı oranlarda APTES (%0,5-%1-%2-%5-%10) ile fonksiyonelleştirilmiştir.

Çizelge 5. 5 Farklı çözücüler içerisinde fonksiyonelleştirilen silika aerojellerin FT-IR spektrum pikleri

Pik	**Bağ**
2918 cm^{-1}- 2850 cm^{-1}	-CH asimetrik ve simetrik gerilmeleri, (-CH_3 ve –CH_2 kaynaklı)
1637,56 cm^{-1}	H_2O deformasyonu (fiziksel olarak silika yüzeyine soğurulmuş su)
1546-1579 cm^{-1}	-NH deformasyonu
1456 cm^{-1}	-CH_2 titreşimleri
1429 cm^{-1}	-CH_3 titreşimleri
1051 cm^{-1}	Si-O-Si asimetrik gerilmesi
964,41 cm^{-1}	Si-OH bükülmesi
788,89 cm^{-1}	Si-C ve Si-O gerilme titreşimlerinin örtüşmesi



Şekil 5. 6 Farklı yüzdelerde APTES ile fonksiyonelleştirilen silika aerojellerin FT-IR sonucu

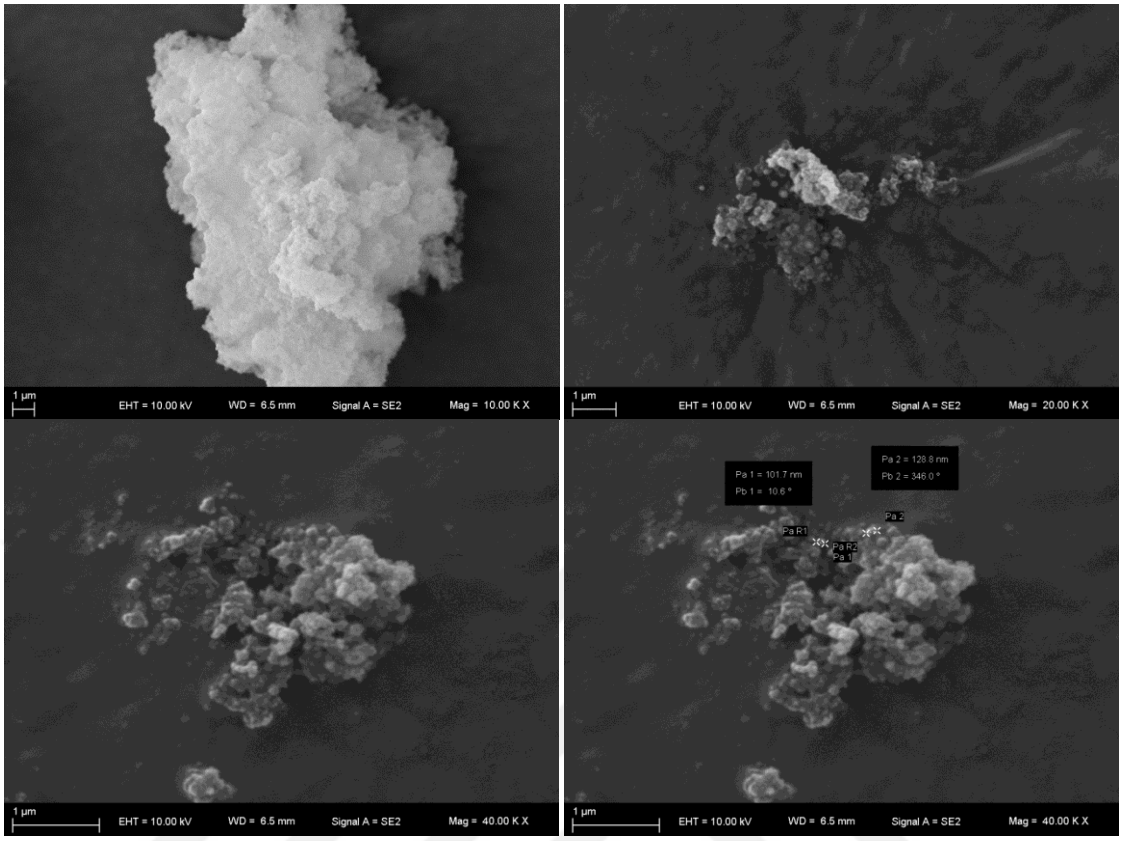
Şekil5.6' da elde edilen FT-IR görüntüsüne göre; APTES ile modifikasyon sonrasında, saf silika aerojellerde yüzeye adsorbe olmuş su moleküllerini temsil eden 3385 ve 1629cm^{-1} bantlarının azaldığı görülmektedir. APTES karakteristik 1560 cm^{-1} (-NH deformasyonu) pikinde, silanlama reaksiyonunun gerçekleştirildiği organik çözücü kaynaklı 2922 cm^{-1} ve 2864 cm^{-1} (-CH asimetrik ve simetrik gerilmeleri) piklerinde, 1485 cm^{-1} (-CH_2 titreşimleri) ve 1440 cm^{-1} (-CH_3 titreşimleri) piklerinde artış gözlenmiştir. Saf silika aerojellerde gözlenen 958 cm^{-1} (Si-OH bükülmesi) piki yüzeydeki –OH bağlarının APTES molekülü ile bağ yapmasından dolayı gözden kaybolmuştur.

Çizelge 5. 6 Farklı oranlarda APTES ile silanlanan silika aerojellerin FT-IR spektrum pikleri

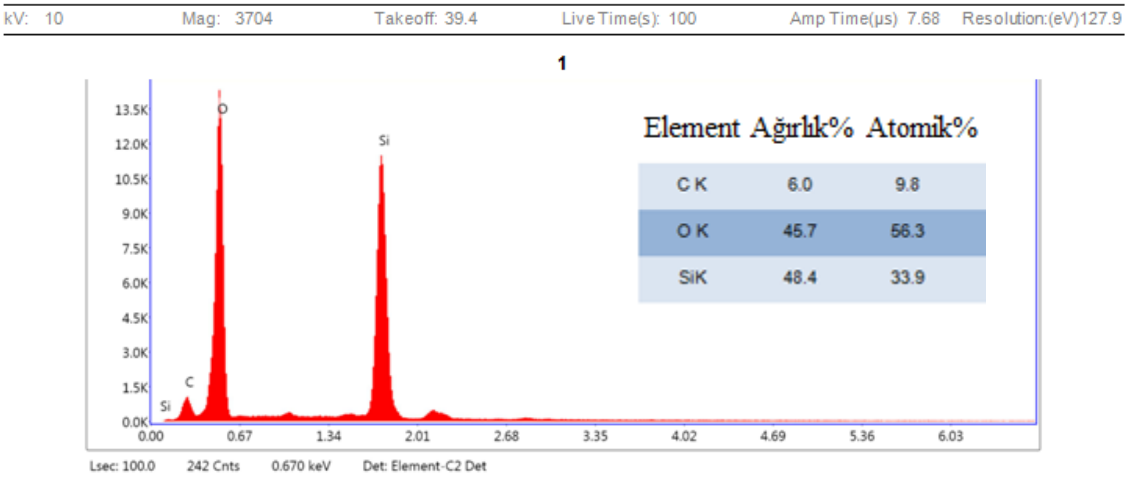
Pik	**Bağ**
2922 cm^{-1}- 2864 cm^{-1}	-CH asimetrik ve simetrik gerilmeleri, (-CH_3 ve –CH_2 kaynaklı)
1625 cm^{-1}	H_2O deformasyonu (fiziksel olarak silika yüzeyine soğurulmuş su)
1560 cm^{-1}	-NH deformasyonu
1485 cm^{-1}	-CH_2 titreşimleri
1440 cm^{-1}	-CH_3 titreşimleri
1055 cm^{-1}	Si-O-Si asimetrik gerilmesi
958 cm^{-1}	Si-OH bükülmesi
794,67 cm^{-1}	Si-C gerilmesi

5.1.5 Silika Aerojellerin SEM ve EDS Analizleri

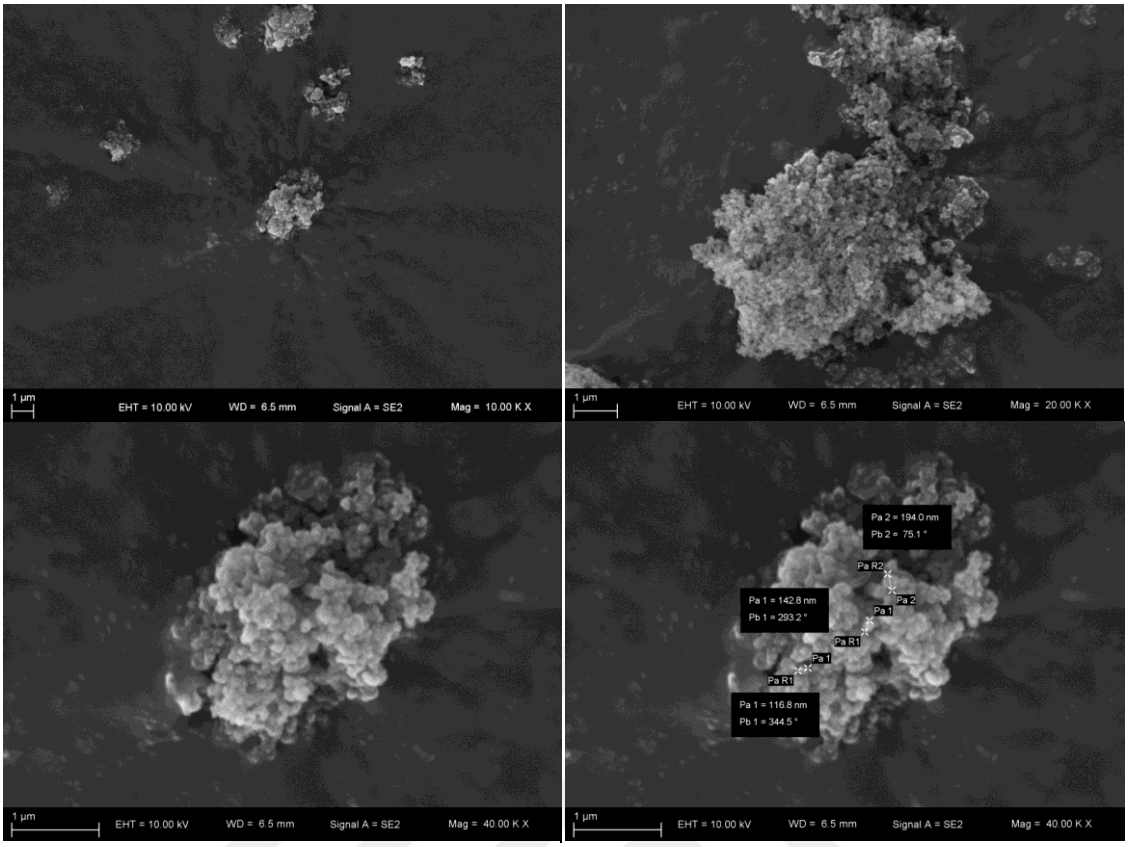
Sol-jel yöntemi ile sentezlenen ve farklı oranlarda APTES ile modifiye edilen silika aerojellerin yüzey özellikleri ve şekilleri, taramalı elektron mikroskobu ile 10 kV' da, farklı büyütmelerde görüntülenmiştir. Elde edilen görüntülere göre, tüm silika aerojeller küresel yapıdadır ve partikül boyutları oldukça küçüktür. APTES ile silanlama reaksiyonunda, amin grupları kondenzasyonu arttırır ve buna bağlı olarak partikül boyutlarında büyüme meydana gelir. Modifikasyonda kullanılan amin gruplarının konsantrasyonu arttıkça elde edilen silika partiküllerin de boyutları artmaktadır. Elde edilen EDS verilerinde, saf silika aerojellerde silisyum (Si), oksijen (O) elementlerinin pikleri görülürken; APTES ile modifiye silika aerojellerde oksijen (O) elementine ait pikte azalma, azot (N) ve karbon (C) piklerinde artış görülmektedir.



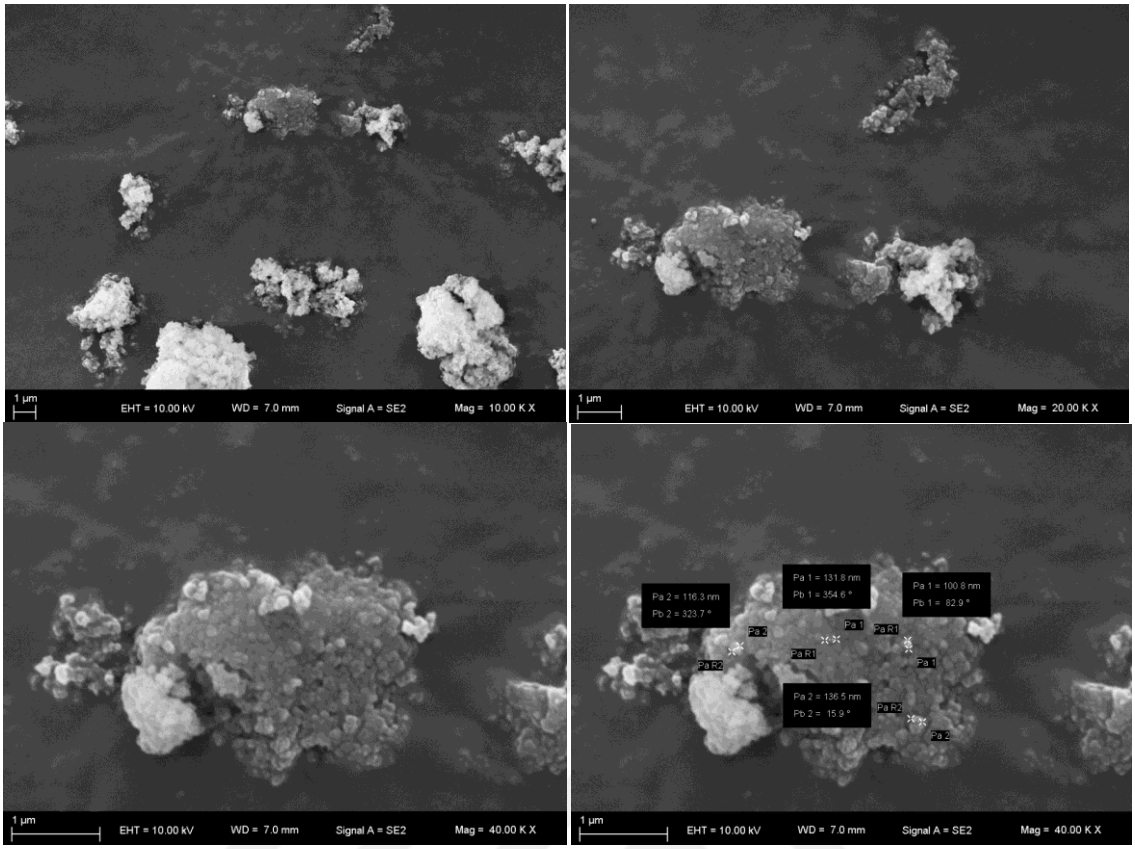
Şekil 5. 7 Saf silika aerojellerin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri (x10.00, x20.00, x40.00)



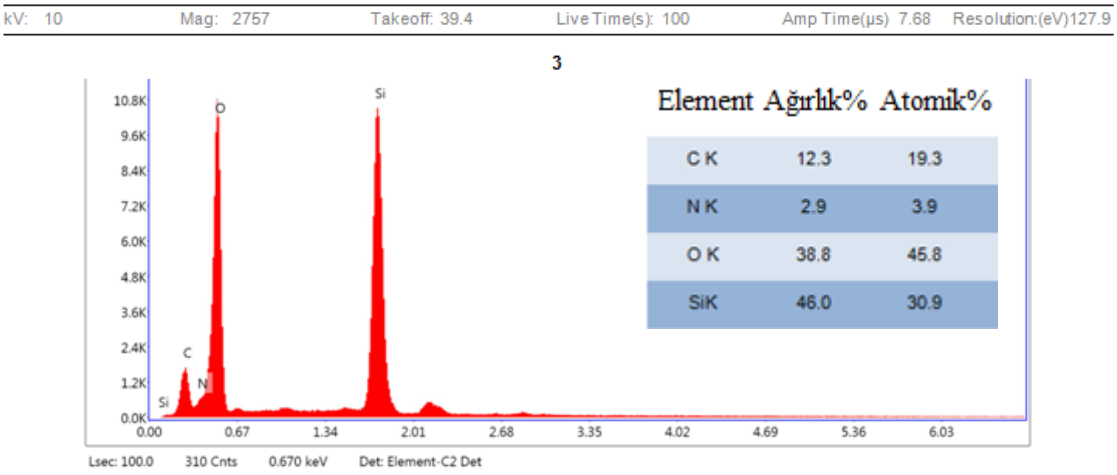
Şekil 5. 8 Saf silika aerojellerin EDS analiz sonuçları



Şekil 5. 9 %5 APTES ile silanlanan silika aerojellerin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri (x10.00, x20.00, x40.00)



Şekil 5. 10 %10APTES ile silanlanan silika aerojellerin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri (x10.00, x20.00, x40.00)

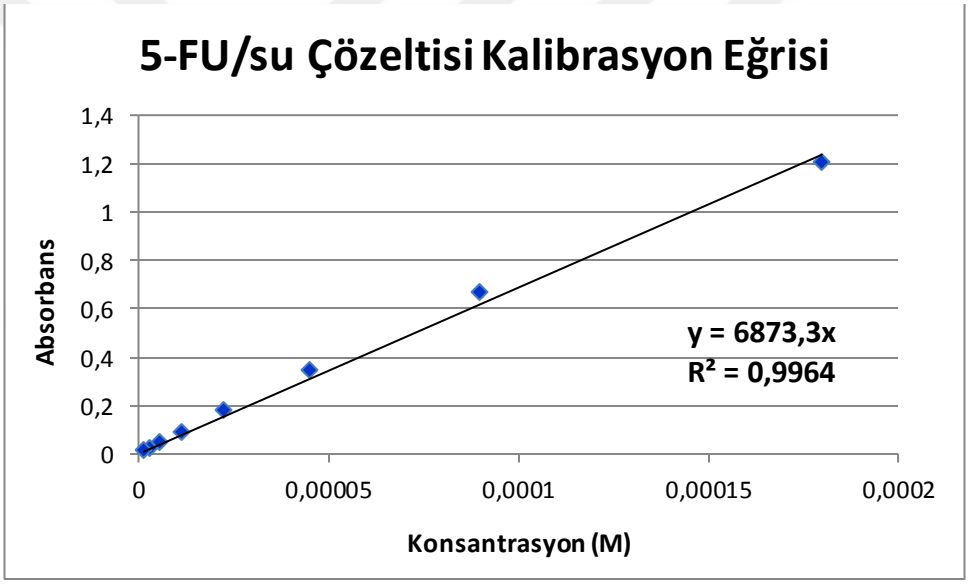


Şekil 5. 11 APTES (%10) ile fonksiyonelleştirilmiş silika aerojellerin EDS analiz sonuçları

5.2 5 Fluorourasil Yüklü Silika Aerojellerin Karakterizasyonu

5.2.1 İlaç Konsantrasyonunun, Çözelti pH' ının ve Aerojel Yüzeyindeki Amin Gruplarının İlaç Yükleme Kapasitesine Etkisinin İncelenmesi

Silika aerojellere 5-FU ilacının yüklenmesi için farklı ilaç konsantrasyonları ve farklı pH değerleri kullanılmış, APTES ile fonksiyonelleştirilmiş silika aerojeller ile saf silika aerojellerin yükleme davranışları karşılaştırılarak optimum yükleme kapasitesi belirlenmeye çalışılmıştır. Silika aerojellere yüklenen ilaç miktarlarının hesaplanması için öncelikle hazırlanan 5-FU/su çözeltisinin farklı konsantrasyonlardaki absorbans değerleri UV-Görünür Bölge Spektrofotometre ile 266 nm dalga boyunda okunarak 5-FU/su kalibrasyon eğrisi çizilmiştir.



Şekil 5. 12 5-FU/su çözeltisine ait kalibrasyon eğrisi grafiği

UV-Görünür bölge spektrum ölçümlerinde absorbansa karşı konsantrasyon hesaplamalarında Eşitlik (5.1)' de verilen "Lambert Beer Eşitliği" kullanılmaktadır.

$$A = \varepsilon . b . C \qquad (5.1)$$

Lambert Beer Eşitliği' nde A, absorbans; Ɛ, molar absorbsiyon katsayısı (L/mol.cm); b, ışığın çözelti içerisinde kat ettiği yol (cm); C, konsantrasyon (mol/L)' dir.

Hazırlanan ilaç çözeltisinden elde edilen kalibrasyon eğrisi grafiğinin eğimi, Lambert Beer Eşitliği' ndeki molar absorbsiyon katsayısını vermektedir. Yükleme ve salım

çalışmalarında ilaç konsantrasyonun hesaplanması için kalibrasyon eğrisinden elde edilen molar absorbsiyon katsayısı kullanılmıştır.

Yükleme çalışmalarından elde edilen süpernatantların UV absorbans değerleri ölçülerek silika aerojellere yüklenen 5-FU miktarı hesaplanmıştır.

1 gram silika aerojele yüklenen ilaç miktarının (mg) hesaplanabilmesi için Eşitlik (5.2)' de kullanılmıştır.

$$q_e = \frac{V_x(C_0 - C_t)}{m} \quad (5.2)$$

Eşitlikteki q_e, 1 gram silika aerojele yüklenen ilaç miktarı (mg); V, salım ortamı hacmi (L); C_0, yükleme için hazırlanan ilaç başlangıç konsantrasyonu (mg/L); C_t, yüklenme sonrası süpernatantta kalan ilaç konsantrasyonu (mg/L); m, silika aerojel miktarı (g) ' yi temsil etmektedir.

İlaç yükleme kapasitesinin yüzde olarak hesaplanması için Eşitlik (5.3) kullanılmıştır.

$$\%(wt) = \frac{m_{ilaç/aerojel}}{m_{aerojel}} \quad (5.3)$$

İlaç yükleme etkinliğinin yüzde olarak hesaplanması için Eşitlik (5.4) kullanılmıştır.

$$\frac{(C_0 - C_t)}{C_0} x100 \quad (5.4)$$

Eşitlik (5.4)' teki C_0, yükleme için hazırlanan ilaç başlangıç konsantrasyonu (mg/L); C_t, yükleme sonrası süpernatantta kalan ilaç konsantrasyonunu (mg/L) temsil etmektedir.

Çizelge 5.7' de farklı ilaç çözeltisi konsantrasyonları kullanıldığında saf haldeki ve amin grupları ile fonksiyonelleştirilmiş silika aerojellere yüklenen ilaç miktarları verilmiştir. Silika aerojel gözenek boyutları (5-7 nm), 5-FU ilaç moleküllerinin boyutlarından (~0,5 nm' den daha büyüktür. İlaç molekülleri ilk olarak aerojel yüzeyi ile etkileşime girerek daha sonra gözenekler içerisine geçmeye başlar. Aerojel yüzeyinde farklı fonksiyonel grupların bulunması ilaç adsorbsiyonunu önemli ölçüde etkilemektedir. Silika aerojellerin yüzeyinde bulunan silanol grupları (Si-OH), ilaç moleküllerindeki polar

gruplar ile hidrojen bağı yaparak ilacın adsorbsiyonunu sağlamaktadır. Amin grupları ile fonksiyonelleştirilen silika aerojellerin ilaç adsorbtivitesi, hem amin grupları ile 5-FU' nun benzer hidrofilik yapıya sahip olmaları hem de yüzeydeki pozitif yüklü amin grupları ile negatif yüklü ilaç arasında elektrostatik etkileşimler sayesinde artmaktadır. Saf silika aerojellere 5-FU yüklenme kapasitesi %29,33 iken amin grupları ile fonksiyonelleştirme sonrasında %61,19' a çıktığı gözlemlenmiştir.

Çizelge 5. 7 Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ilaç çözeltilerinin silika aerojellere ilaç yüklenmesine etkisi

Silika aerojel	**5 FU ilaç çözeltisi konsantrasyonu (mg/ml)**	**qE (mg/g)**	**% İlaç yükleme kapasitesi**	**%Yükleme Etkinliği**
SiO_2	3	246,48	24,65	16,58
SiO_2	6	293,32	29,33	9,86
SiO_2-NH_2	3	369,29	36,92	24,27
SiO_2-NH_2	6	611,96	61,19	19,27

Çizelge 5.8' de amin bağlı silika aerojellerin farklı pH değerlerinde ilaç yükleme kapasiteleri belirtilmiştir. 5-FU ilacı ve silika yüzeyindeki amin gruplarının yükleri pH' a bağlı olarak değişim göstermektedir. 5-FU, bazik koşullarda anyon ve dianyonlarına dönüşerek negatif yüklü hale gelmektedir. pH 7-10 aralığında negatif yüklü hale gelen 5- FU ilacı pH azaldıkça (4 ve 5.5) negatifliğini kaybederek daha az yüzey yüküne sahip hale gelmektedir. pH farklılıklarının silika aerojellere ilaç yüklenmesine etkisinin gözlenmesi amacıyla pH 5 ve pH 8 olacak şekilde iki farklı pH değerinde ilaç çözeltileri hazırlanarak yüklemeye etkisi gözlemlenmiştir. Bazik koşullarda negatif yüklü 5-FU ilaç molekülleri, pozitif yüklü amin grupları ile elektrostatik etkileşimler yaparak ilaç yükleme kapasitesinin artmasına neden olmuştur. Amin ile fonksiyonelleştirilmemiş saf silika aerojellerin yüzeylerinde bulunan negatif yüklü silanol grupları (Si-OH) nedeniyle,

saf silika aerojeller amin bağlı aerojellere göre her pH değerinde daha düşük ilaç yükleme etkinliği göstermektedir. Bu nedenle saf silika aerojellere 5-FU ilaç moleküllerinin enkapsülasyonu, elektrostatik etkileşimlerden çok hidrojen bağları oluşumu ile gerçekleşmektedir. Bunun yanı sıra pH 5' ten daha düşük pH değerlerinde silika aerojel yüzeyinin daha negatif hale gelmesi nedeniyle ilaç molekülleri ile silika yüzeyi arasındaki itme kuvvetleri nedeniyle ilaç yükleme etkinliğinde düşme olduğu bilinmektedir.

Çizelge 5. 8 Amin bağlı silika aerojellere farklı pH' larda ilaç yüklenme değerleri

Silika aerojel	**pH**	**qE (mg/g)**	**%Yükleme Etkinliği**	**% İlaç yükleme kapasitesi**
%10 APTESli silika aerojel	5	243,58	16,4	24,35
%10 APTESli silika aerojel	8	369,29	24,27	36,92

5.2.2 Zeta Potansiyel Ölçümü

5-FU ilacı yüklenen saf ve APTES ile modifiye edilmiş silika aerojellerin yüzey yükleri, pH 3 ve pH 8 olacak şekilde iki farklı pH değerinde zeta potansiyel ölçümü ile analiz edilmiştir. 5-FU ilacının bazik pH' larda negatif yüklü hale gelmesi sebebiyle silika aerojel yüzeyinin ilaç yüklendikten sonra negatif yüklenmesi beklenmektedir.

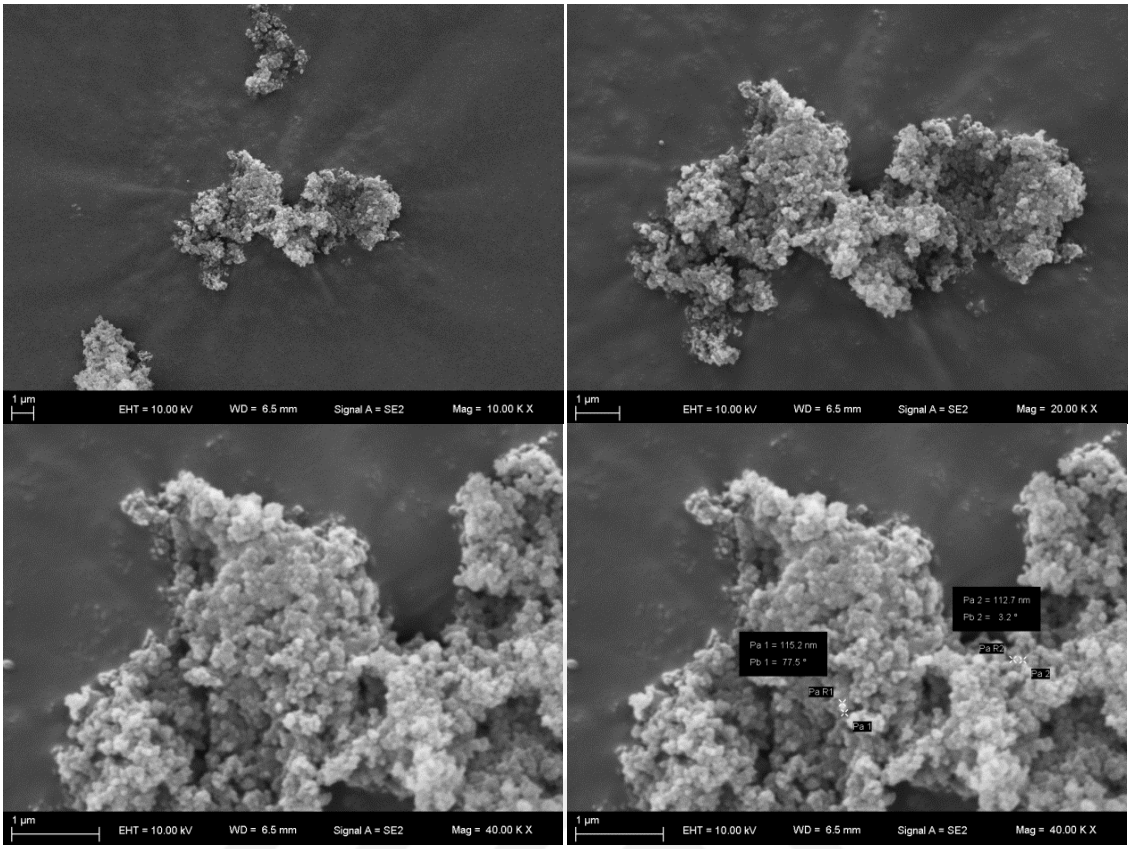
Çizelge 5.9' da verilen zeta potansiyel sonuçlarına göre amin gruplarının varlığı nedeniyle bazik koşullarda oldukça pozitif yüklü olan APTES ile modifiye silika aerojellerin ilaç yüklendikten sonra yüzey yüklerinin pozitifliğini kaybettiği görülmektedir.

Çizelge 5. 9 Farklı konsantrasyonlarda APTES ile silanlanmış ilaç yüklü silika aerojellerin pH 3 ve pH 8' deki zeta potansiyelleri

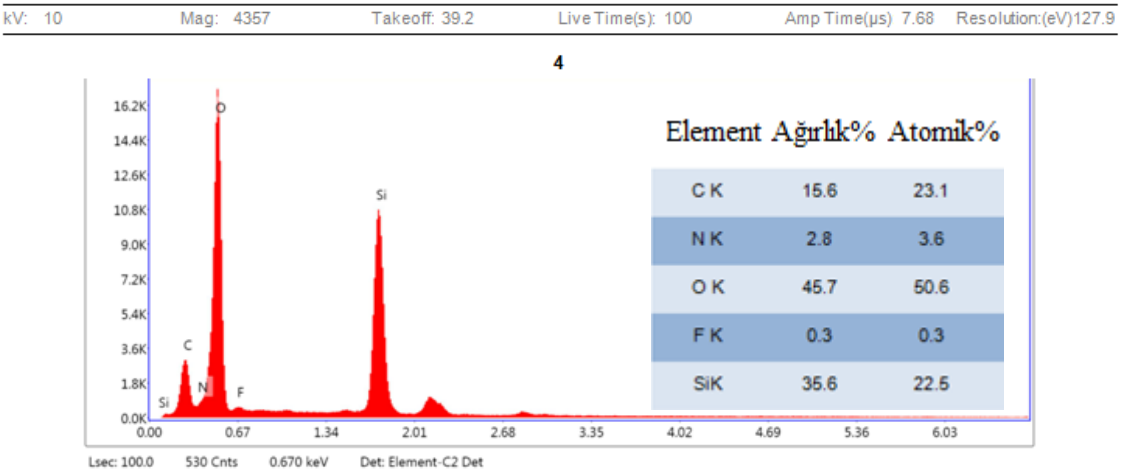
Silika Aerojel	**Zeta Potansiyel mV (pH 3)**	**Zeta potansiyel mV (pH 8)**
Saf SiO_2	-2,09 ± 0,71	-17,6 ± 1,08
SiO_2-NH_2 (%0,5)	24,5 ± 1,11	-0,46 ± 2,07
SiO_2-NH_2 (%1)	23,0 ± 1,10	-0,58 ± 1,41
SiO_2-NH_2 (%2)	19,7 ± 0,66	-1,39 ± 0,97
SiO_2-NH_2 (%5)	23,3 ± 1,31	3,97 ± 0,24
SiO_2-NH_2 (%10)	26,1 ± 0,78	4,62 ± 0,43

5.2.3 5 Fluorourasil Yüklü Silika Aerojellerin SEM ve EDS Analizleri

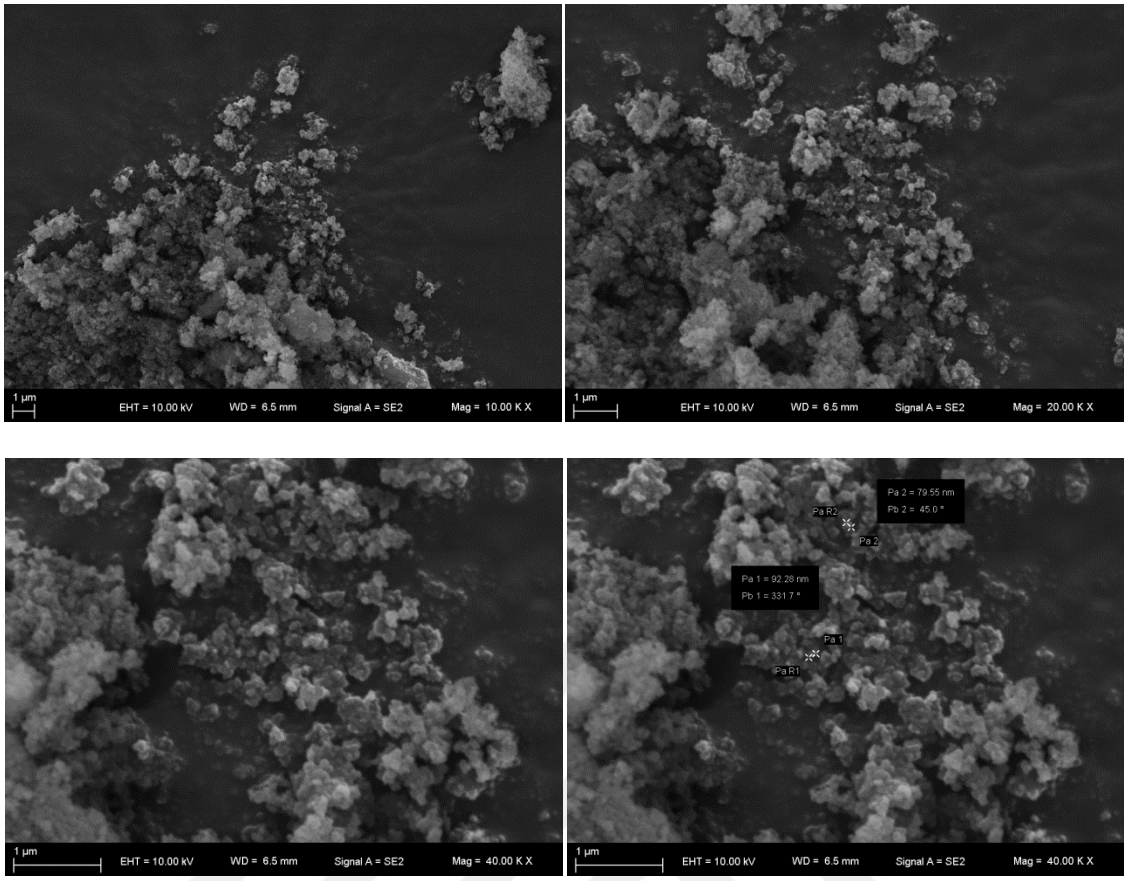
5 Fluorourasil ile yüklü olan saf ve %10 APTES ile modifiye edilmiş silika aerojellerin yüzey özellikleri ve şekil yapıları SEM analizi, kimyasal bileşimleri ise EDS analizleri ile karakterize edilmiştir. Elde edilen SEM görüntülerine göre ilaç yüklü silika aerojeller, saf silika aerojellere benzer şekilde küresel yapıda ve oldukça küçük boyutlardadır. EDS analiz sonuçlarında ilaç yükleme sonrasında saf silika aerojellerin ve APTES ile modifiye silika aerojellerin yapısında flor ve azot elementine rastlanmaktadır. İlaç yükleme sonuçlarına paralel şekilde EDS analizlerinde de APTES ile modifiye silika aerojellerin yapısındaki flor (F) elementine ait pikin, saf aerojellerdeki flor pikine kıyasla daha büyük olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar, APTES ile modifiye silika aerojellere 5-FU yüklenmesinin daha fazla olduğunu doğrulamaktadır. Flor elementi dışında her iki aerojelde de silikanın yapısından kaynaklı silisyum (Si) ve oksijen (O) pikleri belirgin bir şekilde görülmektedir.



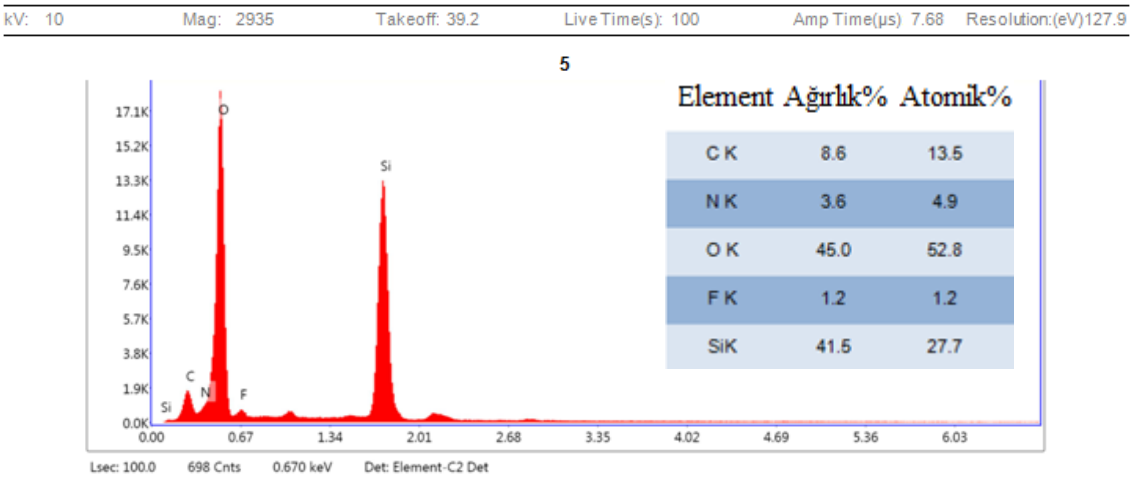
Şekil 5. 13 5-FU silika aerojellerin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri (x10.00, x20.00, x40.00)



Şekil 5. 14 5-FU yüklü silika aerojellerin EDS analiz sonuçları



Şekil 5. 15 5-FU yüklü %10 APTES ile modifiye silika aerojellerin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri (x10.00, x20.00, x40.00)



Şekil 5. 16 APTES (%10) ile fonksiyonelleştirilmiş 5-FU yüklü silika aerojellerin EDS analiz sonuçları

5.3 Amin Grupları ile Modifiye ve 5-FU Yüklü Silika Aerojellerin Dekstran ve Dekstran Aldehit ile Kaplanması

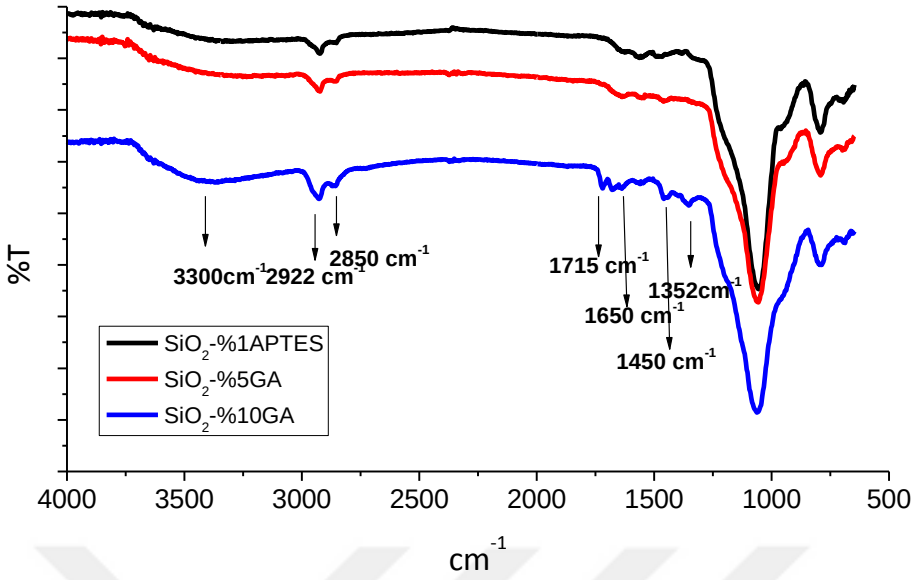
Amin grupları ile fonksiyonelleştirilen ve 5-FU ilacı yüklenen silika aerojel yüzeyinin dekstran kaplanması için glutaraldehit-dekstran kaplama ve dekstran aldehit kaplama olmak üzere iki farklı yol izlenmiştir.

5.3.1 Glutaraldehit Çapraz Bağlayıcısı Kullanılarak Dekstran Kaplanan Silika Aerojellerin Karakterizasyonu

Dekstran kaplanan silika aerojellerin karakterizasyonu için FT-IR, Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM), Enerji Dağılım Spektroskopi (EDS), zeta potansiyel analizleri yapılmıştır.

5.3.1.1 Dekstran Kaplı Silika Aerojellerin FT-IR Analizi

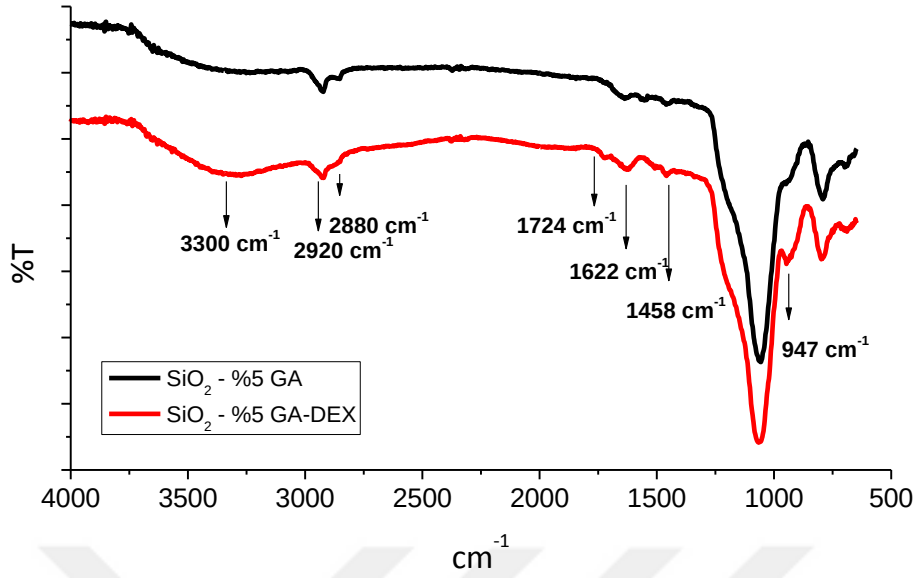
Silika aerojellerin yüzeylerinin dekstran ile kaplama çalışmalarında farklı konsantrasyonlarda glutaraldehit çapraz bağlayıcısı kullanılarak glutaraldehitteki aldehit grupları ile dekstranın hidroksil grupları arasında bağlanmaların gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır. Glutaraldehit molekülünün yapısında iki adet aldehit grubu bulunmaktadır. Aldehit gruplarından biri silika aerojellerin yüzeyinde bulunan amin grupları ile bazik ortamda Schiff baz reaksiyonu vererek sekonder amin bağları oluşturmaktadır. Amin ile fonksiyonelleştirilen silika aerojeller, %5 ve %10 (v/v) glutaraldehit ile alkali koşullarda (pH 8.5) reaksiyona sokularak glutaraldehit konsantrasyonunun kaplamaya etkisi incelenmiştir.



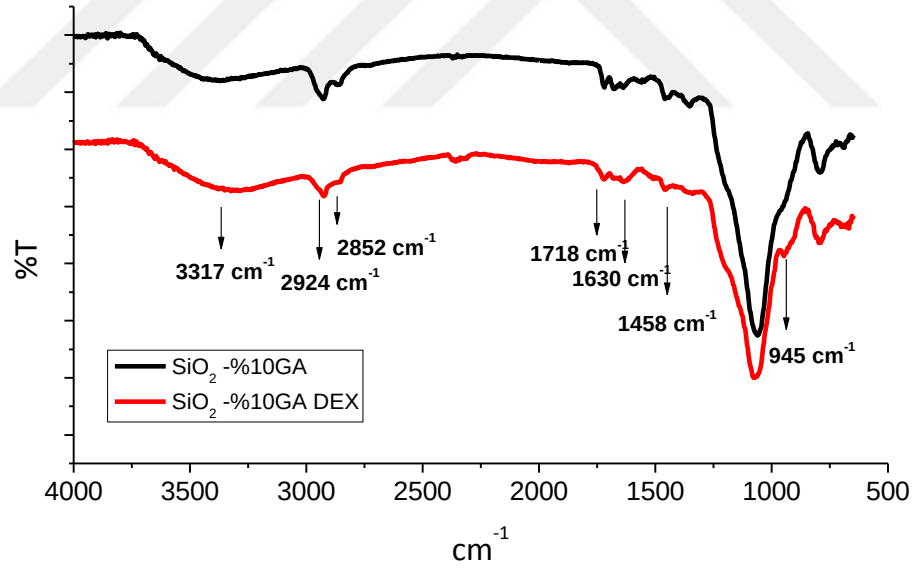
Şekil 5. 17 %5 ve %10 konsantrasyonlarındaki glutaraldehit ile bağlı ilaçsız %1 APTESli silika aerojellerin FT-IR sonucu

%5 ve %10 konsantrasyonlarında gerçekleştirilen aldehit-amin bağlama reaksiyonlarının FT-IR görüntülerinden %10 (v/v) konsantrasyonunda glutaraldehit kullanılmasının yüzeye olan bağlanmayı arttırdığı görülmüştür. %10 oranında glutaraldehit ile gerçekleştirilen reaksiyonlarda aldehit gruplarının karakteristik piki olan 1715 cm^{-1} karbonil (C=O) pikinde, 2922-2850 cm^{-1} (C-H gerilme titreşimleri), 1450 cm^{-1} ve 1350 cm^{-1} (-CH_3 grupları kaynaklı -CH deformasyonu) piklerinde belirgin artışlar görülmektedir. 3300 cm^{-1} ve 1650 cm^{-1} piklerinin artışı, kullanılan glutaraldehitin %50 sulu olmasından kaynaklı hidroksil (–OH) bağlarının varlığı ile açıklanabilir.

Silika aerojel yüzeyindeki amin grupları ile glutaraldehit arasındaki bağlanmalardan sonra dekstran ile kaplama reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Dekstran ile glutaraldehit arasında etkileşimlerin gerçekleşmesi amacıyla asidik ortam kullanılmış ve 24 saat reaksiyondan sonra elde edilen dekstran kaplı aerojeller su ile yıkanıp kurutularak FT-IR analizleri yapılmıştır.



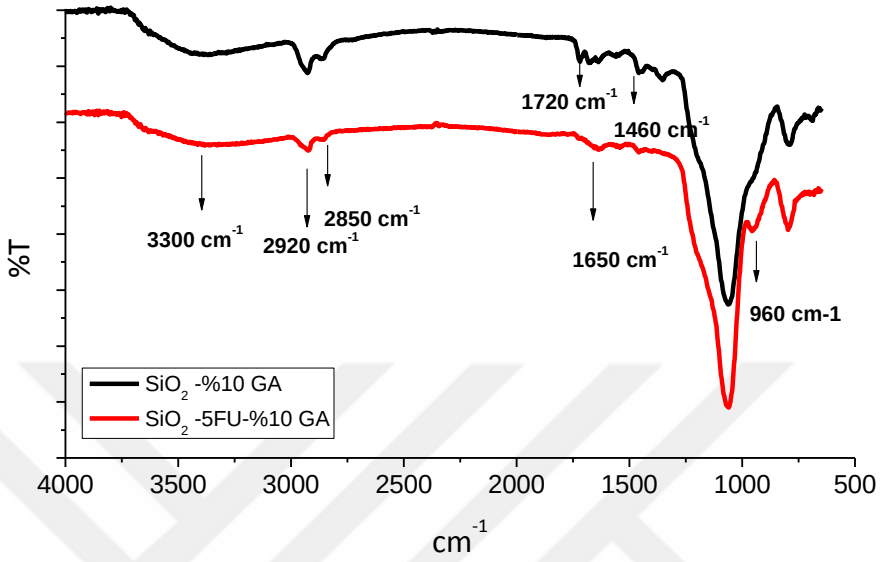
Şekil 5. 18 Dekstran kaplı %5 GA ile bağlanan silika aerojellerin FT-IR sonucu



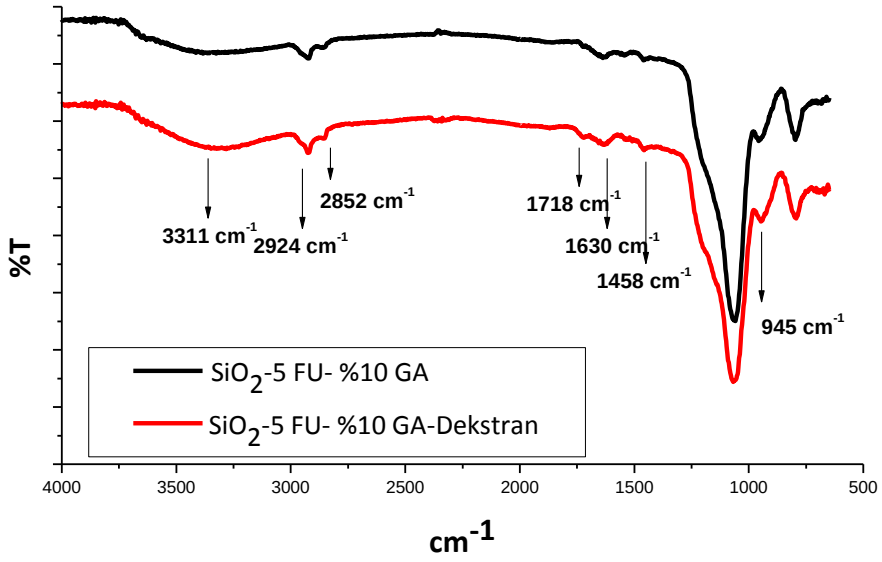
Şekil 5. 19 Dekstran kaplı %10 GA ile bağlanan silika aerojellerin FT-IR sonucu

%5 ve %10 GA ile çapraz bağlanma reaksiyonları gerçekleştirilen silika aerojellerin dekstran ile kaplanmış hallerinin FT-IR sonuçları şekil 5.18 ve şekil 5.19' da verilmiştir. Elde edilen FT-IR sonuçlarına göre; her iki aerojelde de dekstran ile kaplama sonrası dekstranın –OH grupları kaynaklı oluşan 3300cm^{-1} ve 945 cm^{-1} piklerinde artış

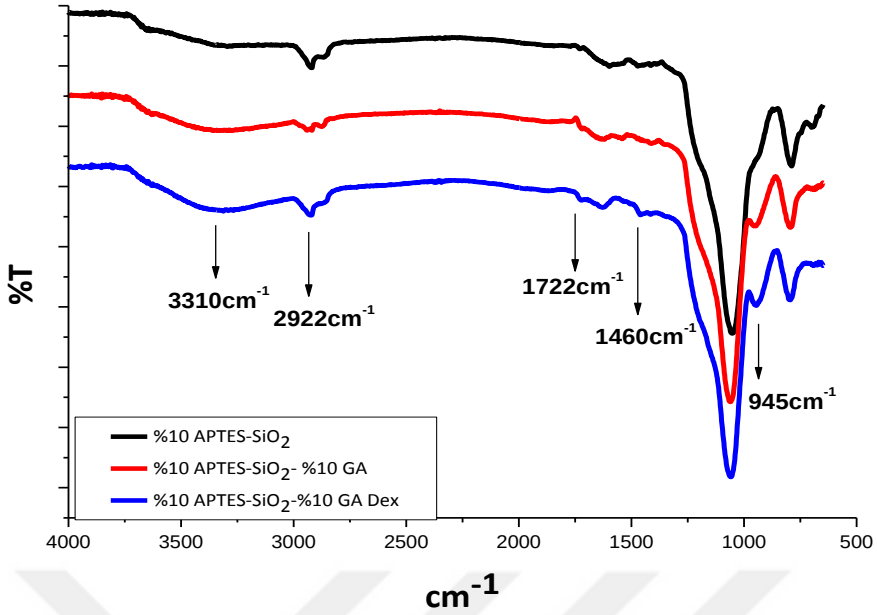
gözlenmektedir. Glutaraldehit bağlandıktan sonra $–CH_3$ ve $–CH_2$ bağları kaynaklı oluşan 2920 cm^{-1}, 2850 cm^{-1}, 1450 cm^{-1} ve 1350 cm^{-1} piklerinde dekstran ile kaplama sonrasında azalma meydana gelmiştir.



Şekil 5. 20 %10 GA ile bağlı 5-FU yüklenmiş ve yüklenmemiş silika aerojellerin FT-IR sonucu



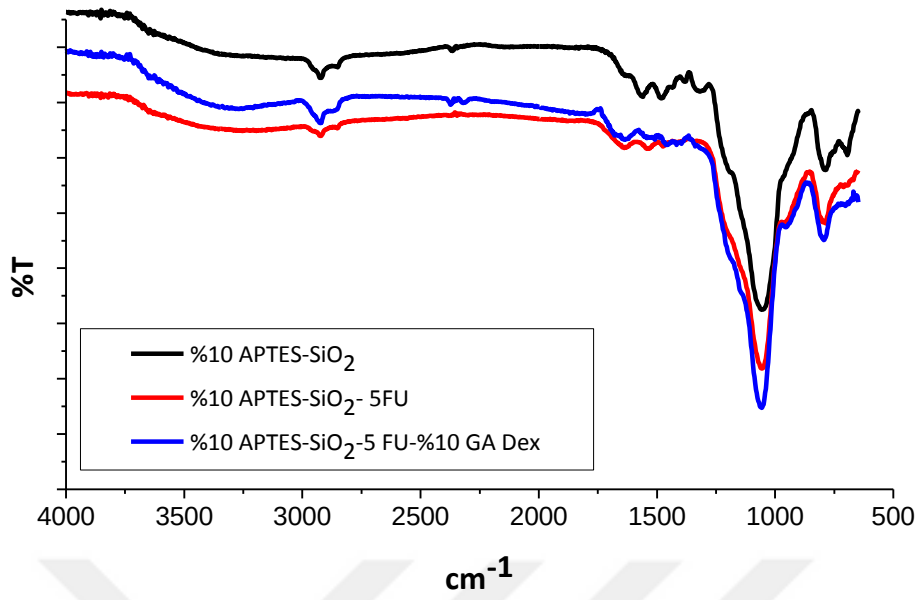
Şekil 5. 21 %10 GA ve dekstran ile kaplı ilaçlı silika aerojellerin FT-IR sonucu



Şekil 5. 22 %10 GA ve dekstran ile kaplı %10 APTES ile modifiye edilmiş silika aerojellerin FT-IR sonucu

Çizelge 5. 10 %10 APTESli silika aerojeller ve %10 GA bağlanmış silika aerojellerin FT-IR spektrum pikleri

Pik	**Bağ**
3310 cm^{-1}	-OH gerilmesi (Hidrojen bağı)
2922 cm^{-1}	-CH gerilmesi
1722 cm^{-1}	C=O gerilmesi (aldehit)
1680-1630 cm^{-1}	C=O gerilmesi- Amid I bağı (sekonder amid)
1420-1400 cm^{-1}	C-N gerilmesi- Amid III bağı (primer amid)
945 cm^{-1}	-OH gerilmesi



Şekil 5. 23 %10 APTESli silika aerojeller ve %10 GA bağlanmış silika aerojellerin FT-IR sonucu

Çizelge 5. 11 Dekstran ile kaplama sonucunda elde edilen FT-IR spektrum pikleri

Pik	**Bağ**
3600-3400 cm^{-1}	-OH gerilmesi (CH-OH glukopiranoz üniteleri, H-O-H)
2950- 2930 cm^{-1}	-CH gerilmesi
2870 cm^{-1}	-CH gerilmesi
1740-1720 cm^{-1}	-C=O gerilmesi (alifatik aldehit kaynaklı)
1640-1620 cm^{-1}	-C-O-C gerilmesi
1460 cm^{-1}	-CH bükülmesi
1420-1400 cm^{-1}	C-N gerilmesi- Amid III bağı (primer amid)
945 cm^{-1}	-OH (Yüzeydeki su molekülleri)

5.3.1.2 Dekstran ile Kaplı Silika Aerojellerin Yüzey Yükünün Belirlenmesi

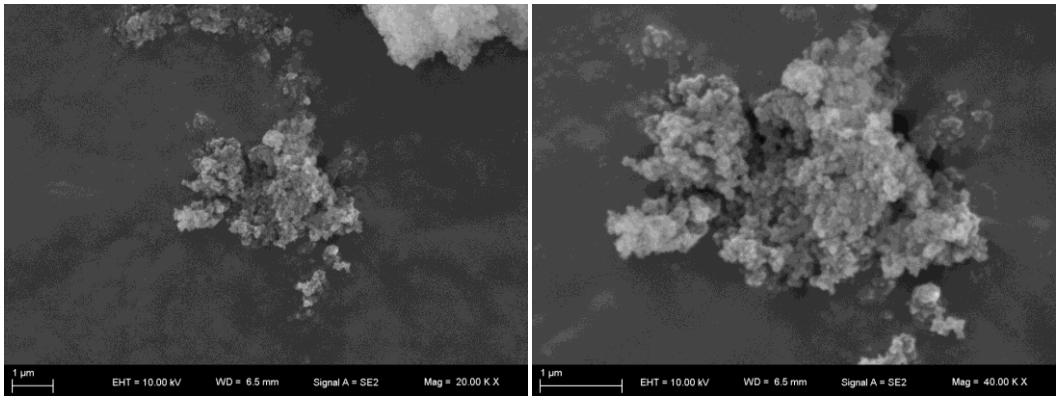
Dekstran ile glutaraldehit çapraz bağlayıcısı kullanılarak kaplanan ilaç yüklü ve amin modifiye silika aerojellerin yüzey yük dağılımının belirlenmesi amacıyla iki farklı pH değerinde (pH 3 ve pH 8) zeta potansiyel ölçümü gerçekleştirilmiştir. Çizelge 5.12' de görüldüğü gibi dekstrandaki hidroksil grupları varlığı dolayısıyla silika aerojellerin yüzey yükü, bazik koşullarda daha negatif hale gelmiştir. APTES (%10) ile modifiye ve ilaç yüklü silika aerojellerin yüzey yükü bazik koşullarda (pH 8) +4,62 mV iken dekstran ile kaplama sonrasında -1,95 mV olduğu görülmektedir. Asidik koşullarda (pH 3) amin grupları dolayısıyla oldukça pozitif yüklü (+26,1 mV) olan silika aerojellerin yüzey yükü, dekstran ile kaplama sonrasında asidik koşullarda +8,96 mV potansiyel vererek pozitifliğini kaybetmiştir.

Çizelge 5. 12 Dekstran ile kaplı silika aerojellerin pH 3 ve pH 8' deki zeta potansiyel değerleri

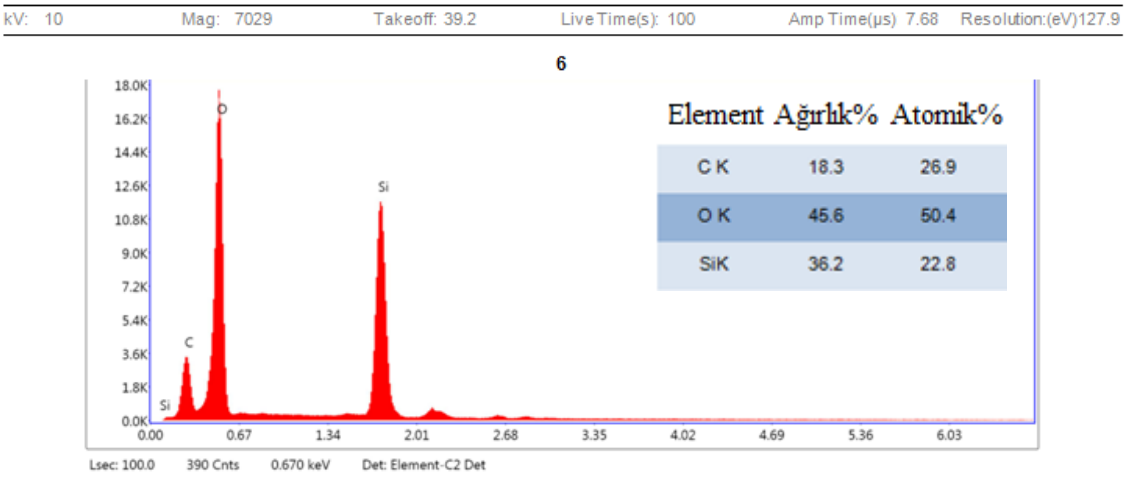
Silika Aerojel	**Zeta potansiyel mV (pH 3)**	**Zeta potansiyel mV (pH 8)**
SiO_2-NH_2 (%10)- Dekstran	8,96 ± 1,77	-1,95 ± 0,91

5.3.1.3 Dekstran ile Kaplı Silika Aerojellerin SEM ve EDS Analizi

Dekstran ile kaplı silika aerojellerin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri şekil 5.24'te verilmiştir. Elde edilen görüntülerde saf silika aerojellerdekine benzer olarak dekstran kaplı silika aerojeller de küresel şekil yapılarını korumaktadır. Şekil 5.25' te verilen EDS analizlerinden elde edilen verilere göre dekstran kaplı silika aerojellerin yapısında yüksek oranda silisyum (Si) ve oksijen (O) bulunmaktadır. Dekstran ile kaplama sonucunda, saf silika aerojellerden farklı olarak yapıda karbon (C) elementine rastlanmaktadır.



Şekil 5. 24 Dekstran kaplı silika aerojellerin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri (x20.00, x40.00)

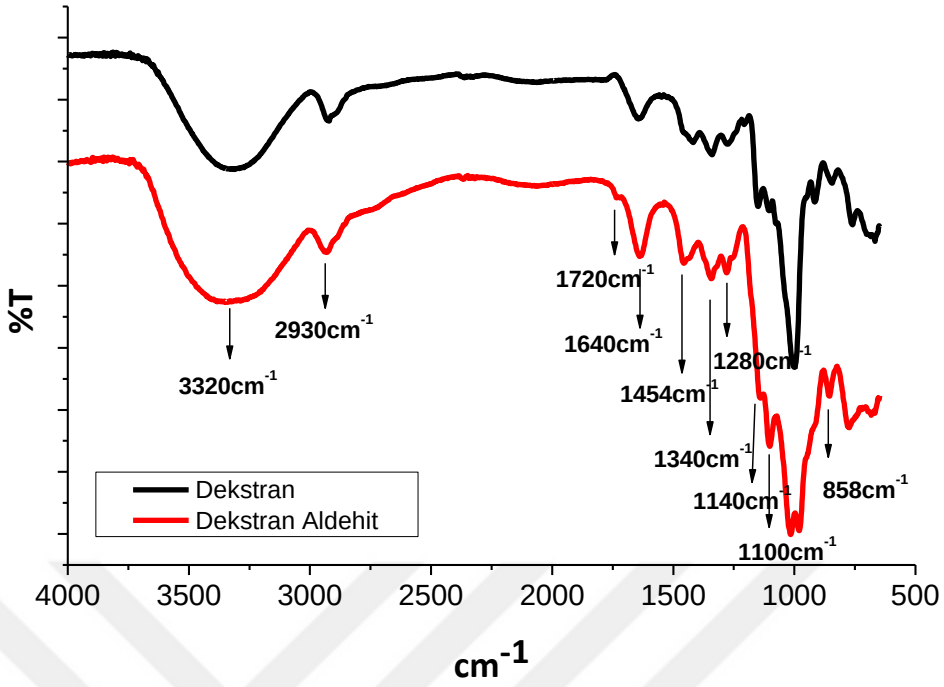


Şekil 5. 25 Dekstran kaplı silika aerojellerin EDS analiz sonuçları

5.3.2 Silika Aerojellerin Dekstran Aldehit (D-CHO) ile Kaplanması

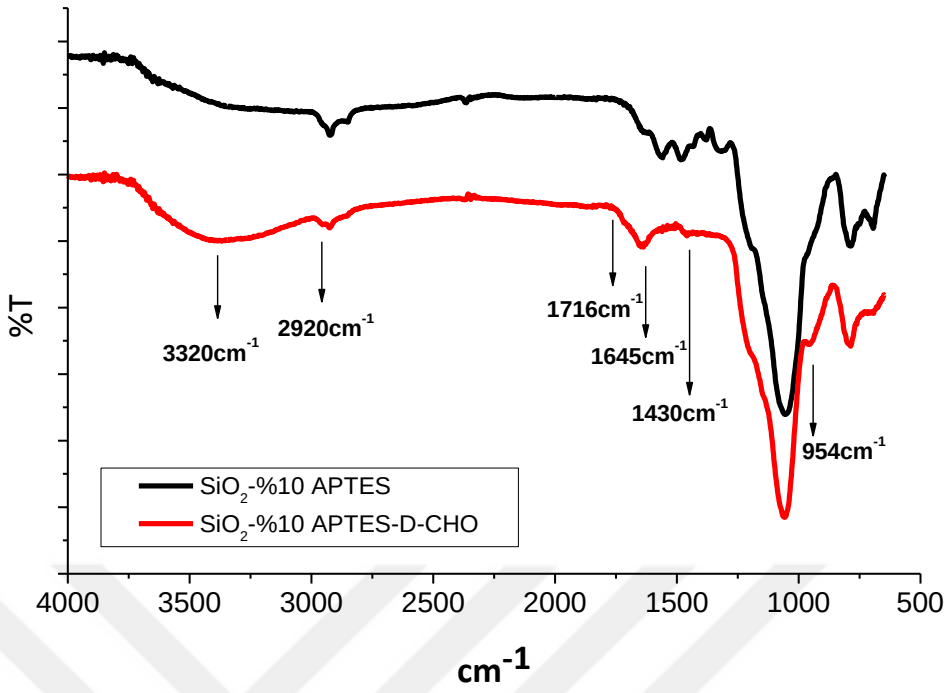
5.3.2.1 Dekstran Aldehit (D-CHO) ile Kaplanan Silika Aerojellerin FT-IR Görüntüleri

Amin grupları ile fonksiyonelleştirilen silika aerojeller, dekstran aldehit ile kaplanmıştır. Dekstran aldehit, dekstranın sodyum periyodat aracılı oksidasyonu reaksiyonu ile sentezlenmiştir. Oksidasyon, dekstran ünitesindeki C_3-C_4 ve/veya C_3-C_2 bağlarında gerçekleşerek bir glukoz ünitesinde iki aldehit oluşumuna neden olmaktadır. Oksidasyon sonucunda elde edilen aldehit grupları sayesinde dekstran üniteleri alkoller, karboksilik asitler ve aminler ile bağlanma reaksiyonu verebilmektedir.



Şekil 5. 26 Dekstran ve dekstran aldehit karşılaştırmalı FT-IR sonucu

Şekil 5.26' da elde edilen FT-IR sonucuna göre; dekstranın oksidasyonu ile oluşan dekstran aldehit yapısındaki karbonil (C=O) grubunu temsil eden 1720 cm^{-1} piki ortaya çıkmıştır. Bunun yanı sıra hidroksil gruplarını (-OH) temsil eden 3320 cm^{-1}, 1640 cm^{-1} piklerinin şiddeti artış göstermektedir. Glukoz ünitelerindeki aldehitler, su molekülleri ile kolayca reaksiyona girerek hidrojen bağları oluşturma eğilimindedir. Bu nedenle dekstran oksidasyonu sonucu elde edilen FT-IR sonuçlarında, hidrojen bağları kaynaklı oluşan piklerin şiddetinde artış görülmektedir.



Şekil 5. 27 Dekstran aldehit kaplı %10 APTES bağlı silika aerojellerin FT-IR analizi sonucu

Amin bağlı silika aerojellerin yüzeyinin dekstran aldehit ile kaplanması sonucunda elde edilen FT-IR sonuçlarında, dekstran yapısında bulunan –OH grupları kaynaklı 3500-3300 cm^{-1}, dekstran aldehitteki aldehit yapısında bulunan karbonil grupları (-C=O) kaynaklı 1716 cm^{-1}, dekstran aldehitte bulunan -OH bağı kaynaklı 1640 cm^{-1} ve 954 cm^{-1} piklerinde artış olduğu görülmektedir. Dekstran aldehit ile bağlanma sonucunda yapıda –OH gruplarının artışı, FT-IR görüntülerindeki 3320 cm^{-1} pikinin şiddetinin artışı ile de doğrulanmaktadır. Dekstran aldehit ile APTES kaynaklı amin grupları arasındaki bağlanmalar nedeniyle dekstran aldehit ile kaplama sonrasında APTES kaynaklı $–CH_2$, $-CH_3$ ve $–NH_2$ gruplarını temsil eden 2920 cm^{-1}, 1430 cm^{-1} piklerinin şiddetinde azalma meydana gelmiştir.

5.3.2.2 Dekstran Aldehit ile Kaplı Silika Aerojellerin Yüzey Yükünün Belirlenmesi

Dekstran aldehit ile kaplanan ilaç yüklü ve amin modifiye silika aerojellerin yüzey yük dağılımının belirlenmesi amacıyla iki farklı pH değerinde (pH 3 ve pH 8) zeta potansiyel ölçümü gerçekleştirilmiştir. Çizelge 5.13' te görüldüğü gibi asidik koşullarda (pH 3) +2,9 mV olan yüzey yükü bazik koşullarda (pH 8) -13 mV olarak oldukça negatif hale

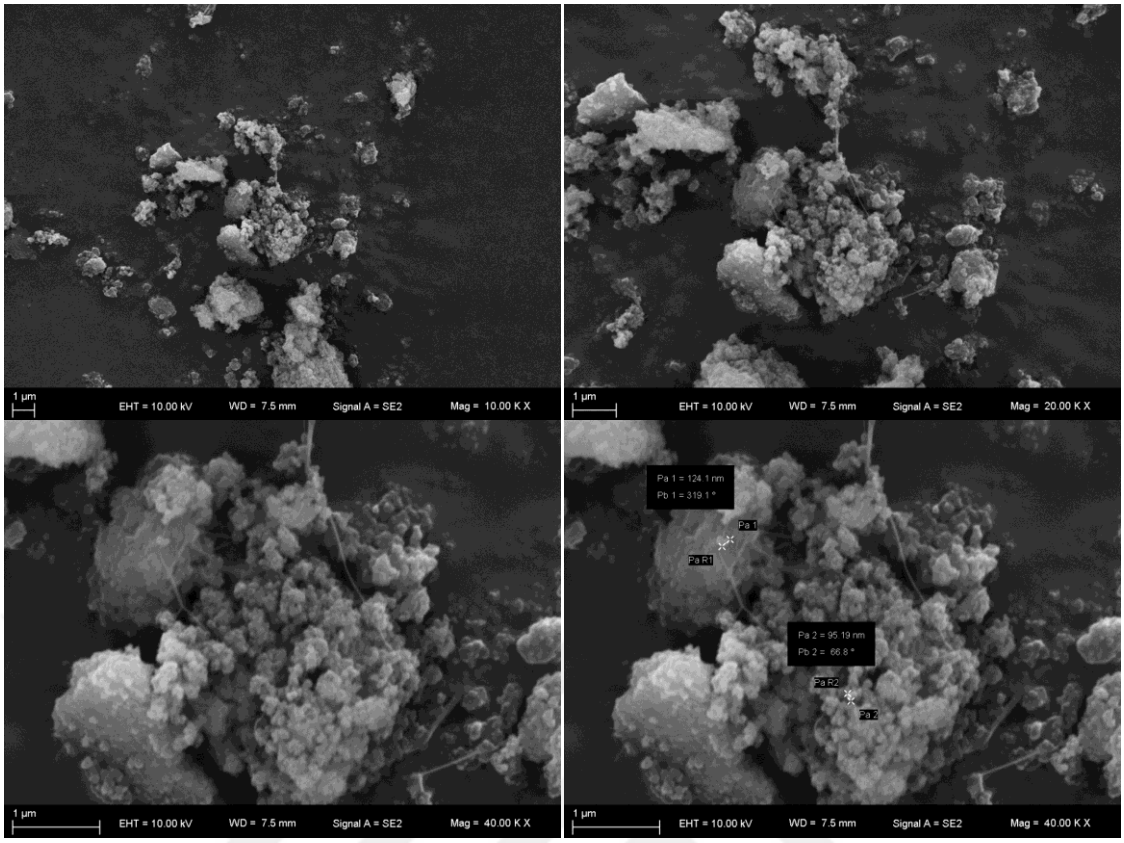
gelmiştir. Aynı zamanda dekstran aldehit ile kaplanmadan önce APTES ile modifiye ve ilaç yüklü silika aerojellerin bazik koşullarda yüzey yükü +4,62 mV iken dekstran aldehit ile kaplama sonrasında -13 mV olması, dekstran aldehit yapısındaki hidroksil gruplarının (-OH) varlığı ile alakalıdır. Dekstran aldehit ile kaplama sonucu yapıdaki hidroksil gruplarının artması, bazik koşullarda daha negatif hale gelen –OH grupları sayesinde zeta potansiyel yükünü pozitiften negatife çevirmiştir.

Çizelge 5. 13 Dekstran aldehit kaplı silika aerojellerin pH 3 ve pH 8' deki zeta potansiyel değerleri

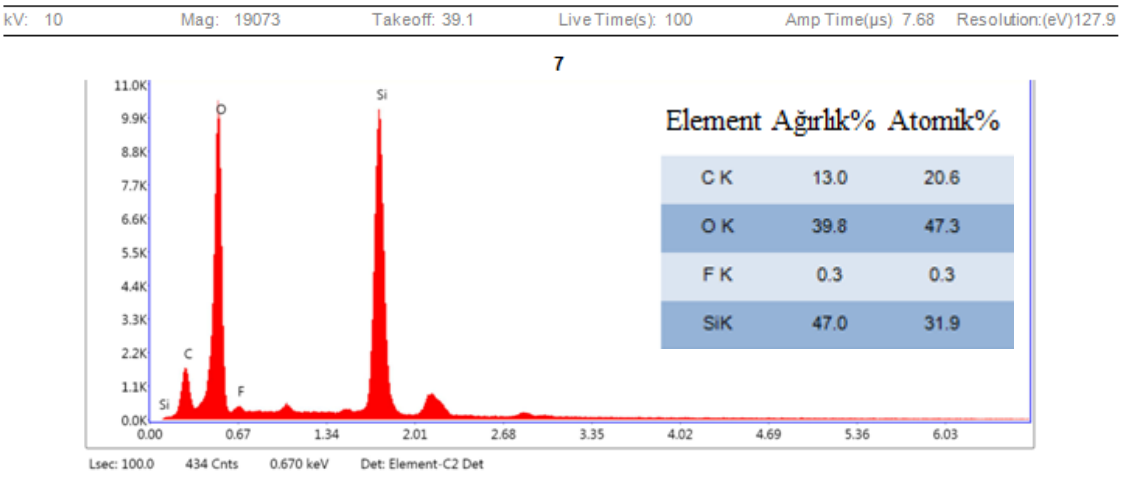
Silika Aerojel	**Zeta potansiyel mV (pH 3)**	**Zeta potansiyel mV (pH 8)**
SiO_2-NH_2 (%10)- Dekstran Aldehit	2,9 ± 0,36	-13 ± 1,65

5.3.2.3 Dekstran Aldehit ile Kaplı Silika Aerojellerin SEM ve EDS Analizi

Dekstran aldehit ile kaplı silika aerojellerin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri şekil 5.28' te verilmiştir. Elde edilen görüntülerde saf silika aerojellerdekine benzer olarak dekstran aldehit kaplı silika aerojeller de küresel şekil yapılarını korumaktadır. Şekil 5.29' da verilen EDS analizlerinden elde edilen verilere göre dektran aldehit kaplı silika aerojellerin yapısında yüksek oranda silisyum (Si) ve oksijen (O) bulunmaktadır. Dekstran aldehit ile kaplama sonucunda, saf silika aerojellerden farklı olarak yapıda karbon (C) elementine ve ilaç yüklü olmaları nedeniyle flor (F) elementine rastlanmaktadır.



Şekil 5. 28 Dekstran aldehit kaplı silika aerojellerin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri (x10.00, x20.00, x40.00)



Şekil 5. 29 Dekstran aldehit ile kaplı silika aerojellerin EDS analiz sonuçları

5.4 Dekstran ve Dekstran Aldehit ile Kaplı 5-FU Yüklü Silika Aerojellerin in-vitro Salım Deneyleri

Dekstran ve dekstran aldehit kaplı silika aerojellerden 5-FU' nun salım davranışının incelenmesi amacıyla yapay mide sıvısı (pH 1.2), yapay bağırsak sıvısı (pH 6.8) ve enzimli/enzimsiz kolon ortamları (asetat tamponu pH 5.5) hazırlanarak dört farklı salım ortamında ilaç salım çalışması yapılmıştır. Salım çalışmaları için belirli miktarlarda tartılan silika aerojeller, bir gece önceden distile su içerisinde bekletilen diyaliz membranların içerisine konularak salım ortamına bırakılmış ve 37 °C' lik su banyosunda 100 rpm' de çalkalanmaları sağlanmıştır. Belirli zamanlarda ortamdan 3 ml sıvı alınarak UV-Görünür Bölge Spektrofotometre ve Sıvı Kromotografi-Kütle Spektrometre (LC-MS) cihazları ile salım ortamına salınan 5-FU miktarı tayin edilmiştir. Alınan 3 ml salım örneği yerine 3 ml taze salım sıvısı salım ortamına eklenmiştir. İlaç molekülünün gastrointestinal sistemden geçiş süreleri baz alınarak salım davranışı incelenmiştir.

Salım miktarının hesaplanması için zamana bağlı kütle hesaplaması eşitliği kullanılmıştır;

$$M_t = C_t \times V + \sum C_{t-1} \times V_s \qquad (5.5)$$

M_t, t zamanındaki ilaç miktarı (mg), C_t, t zamanındaki ilaç konsantrasyonu (mg/L), V, salım ortamı hacmi (L), Vs, ölçüm için belirli zamanlarda alınan salım ortam hacmi (L).

Salım miktarının yüzde olarak hesaplanması için;

$$\%M = \frac{M_t}{M_0} \times 100 \qquad (5.6)$$

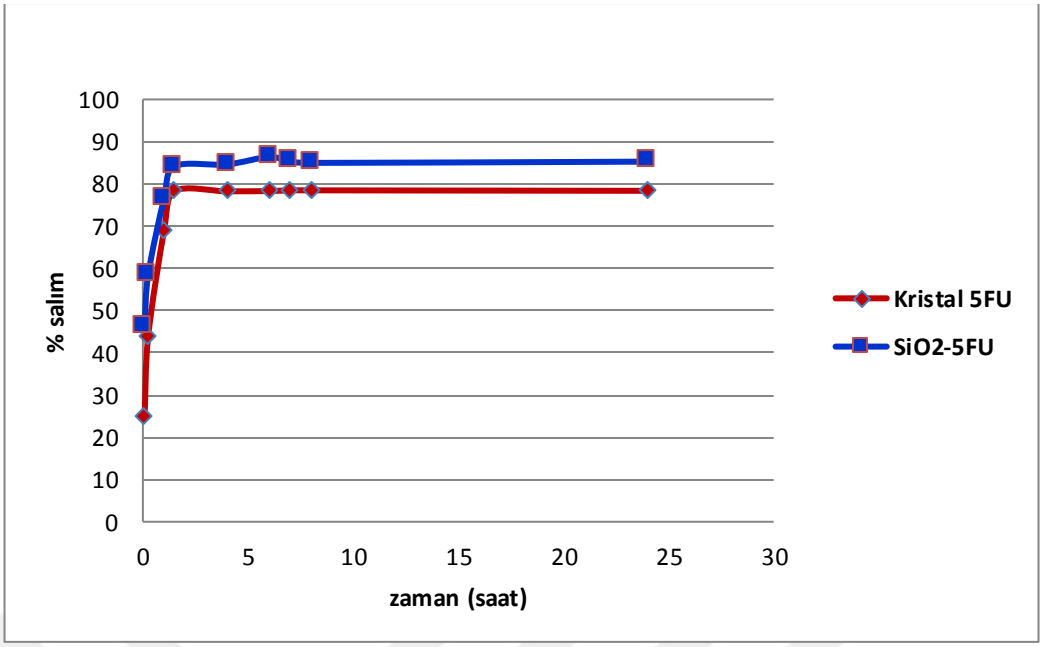
M_t, t zamanındaki ilaç miktarı (g), M_0, başlangıçta silika aerojellere yüklenen ilaç miktarı (g).

5.4.1 Yapay Mide (pH 1.2) ve Bağırsak (pH 6.8) Sıvılarında Salım

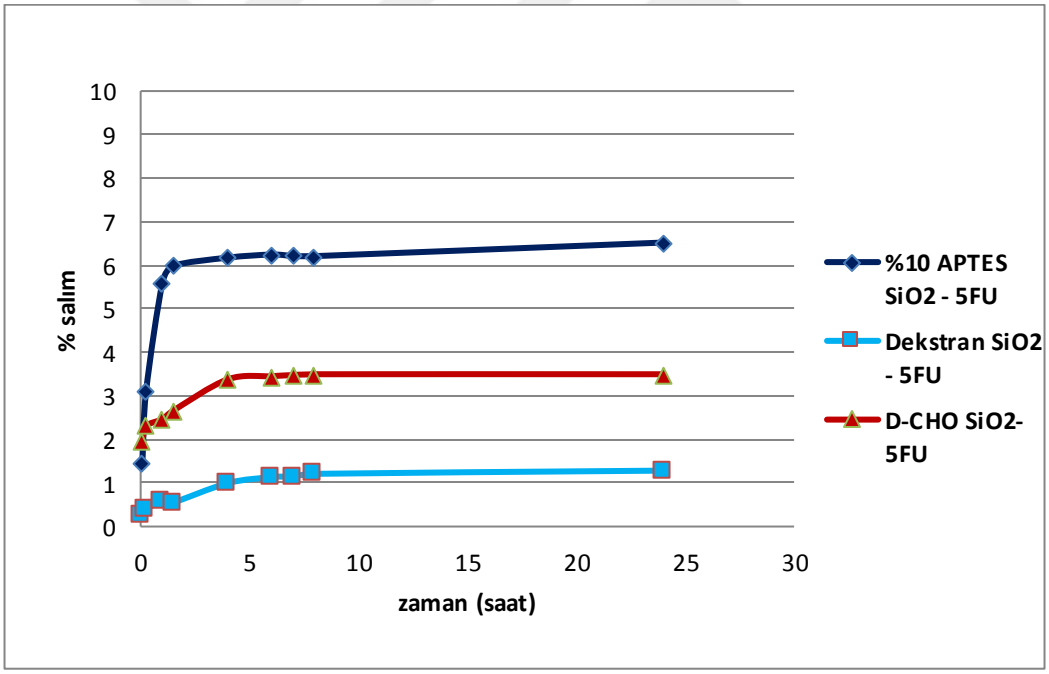
Sentezlenen ve 5-FU yüklenen silika aerojellerin salım davranışının yapay mide ve bağırsak sıvılarında incelenmesi için 37 °C' de pH 1.2 ve pH 6.8 olan mide ve bağırsak sıvıları hazırlanmıştır. İlaç yüklü aerojeller ilk olarak mide sıvısında (pH 1.2) 2 saat boyunca bekletilmiş ve belirli sürelerde salım ortamından örnek alınarak absorbansı ölçülmüştür. 2 saat sonunda salım ortamı, yapay bağırsak sıvısı (pH 6.8) ile

değiştirilerek ilaç salım davranışı gastrointestinal sistemden geçiş aşamalarına benzetilmeye çalışılmıştır. 24 saate kadar bağırsak ortamında bekletilen ilaç yüklü silika aerojellerden belirli zamanlarda örnek alınarak absorbansları ölçülmüştür. Salım çalışmalarında kristal haldeki 5-FU, 5-FU yüklü saf silika aerojeller (SiO_2- 5-FU), 5-FU yüklü ve amin bağlı silika aerojeller (%10 APTES SiO_2- 5-FU), 5-FU yüklü dekstran kaplı (Dekstran SiO_2-5-FU) ve dekstran aldehit kaplı silika aerojellerin (D-CHO SiO_2- 5-FU) salım davranışları ayrı ayrı incelenerek karşılaştırma yapılmıştır. Şekil 5.30 ve Şekil 5.31' de silika aerojellerin yapay mide ve bağırsak sıvılarındaki salım davranışları zaman-yüzde salım grafikleri şeklinde karşılaştırılmalı olarak verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre kristal haldeki 5-FU ve saf silika aerojellere yüklü 5-FU' nun yapay mide ve bağırsak sıvılarında 24 saat sonunda sırasıyla %78,36 ve %86,38' inin salındığı görülmektedir. Kristal haldeki 5-FU' nun ilk 5 dakikada diyaliz membran içerisine konulan miktarının %24,80' i salım ortamında tespit edilirken; silika aerojellere yüklü 5-FU' nun ilk 5 dakikada %46,17' sinin yapay mide sıvısına salındığı görülmüştür. Smirnova ve arkadaşlarının (2004), silika aerojeller ile yaptıkları bir çalışmada benzer bir sonuç elde edilmiş ve silika aerojellere yüklenen ketoprofen ilacının, kristal haline göre daha fazla salındığı gözlenmiştir. Silika aerojellere yüklü ilacın daha hızlı ve fazla miktarlarda salımının nedeni; ilaç moleküllerinin aerojel yüzeyine adsorplandıktan sonra yüzey alanlarının genişlemesi ve hidrofilik yapıdaki saf silika aerojellerin sulu ortama girmesi ile ağ yapısının ve gözeneklerinin çökerek hızlı salıma neden olması olarak yorumlanmıştır.

Amin grupları bağlı, dekstran ve dekstran aldehit ile kaplı silika aerojellerden yapay mide ve bağırsak sıvılarında 5-FU salımı, saf silika aerojellerden salımına göre değişiklik göstermiştir. %10 APTES bağlı silika aerojellerden 5-FU salımı, 24 saat sonunda %6,52 iken; dekstran-GA kaplı ve dekstran aldehit kaplı silika aerojellerden 24 saatteki 5-FU salımı sırasıyla %1,28 ve %3,49 olarak gözlenmiştir. Silika aerojellerin amin grupları ile fonksiyonelleştirilmesinin ve dekstran ile kaplanmasının mide ve bağırsak koşullarında 5-FU salımını oldukça düşürdüğü görülmektedir.



Şekil 5. 30 Kristal haldeki ve silika aerojellere yüklü 5-FU' nun mide ve bağırsak sıvılarındaki zamana bağlı yüzde salım grafiği

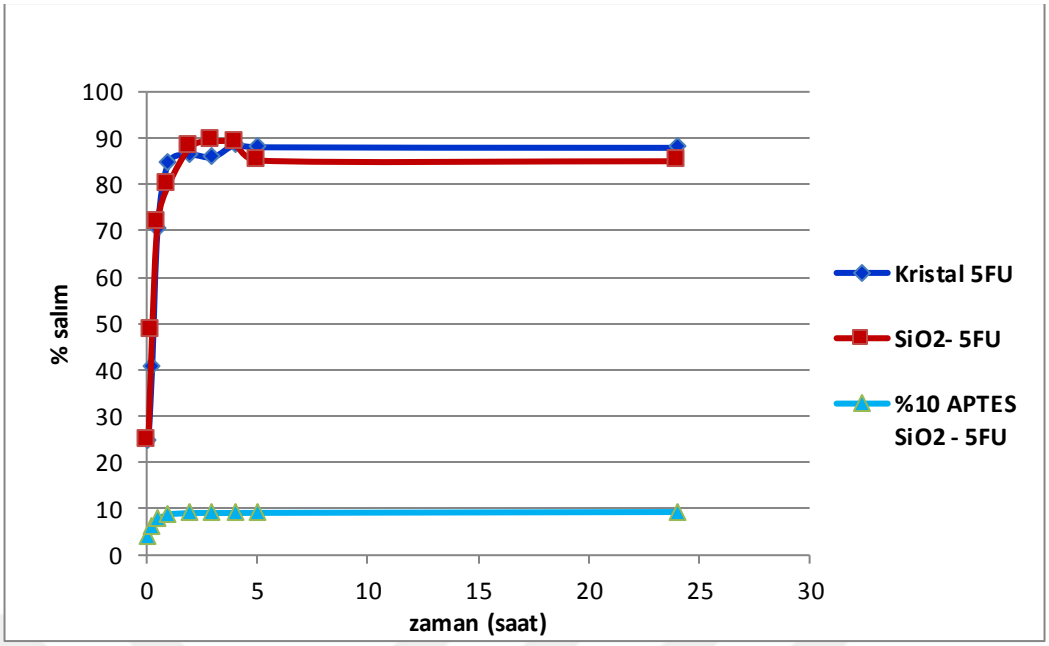


Şekil 5. 31 Amin bağlı, dekstran kaplı ve dekstran aldehit kaplı silika aerojellere yüklü 5-FU' nun mide ve bağırsak sıvılarındaki zamana bağlı yüzde salım grafiği

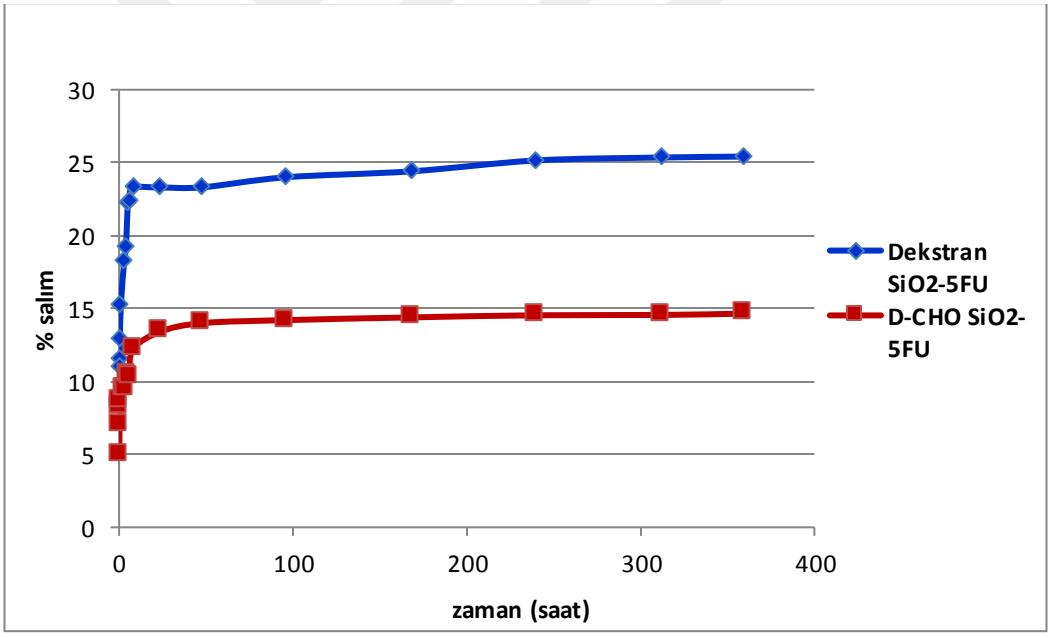
5.4.2 Asetat Tamponunda (pH 5.5) Salım

Mide ve bağırsak sıvılarında salınmadan, kolon ortamındaki kanserli ortama hedeflenmesi amaçlanan dekstran ve dekstran aldehit kaplı silika aerojellere yüklü 5-FU' nun kolon ortamındaki salım davranışı pH 5.5' te asetat tamponunda, 2U/ml

dektranaz enzimi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Salım çalışmalarında kristal haldeki 5-FU, 5-FU yüklü saf silika aerojeller (SiO_2- 5-FU), 5-FU yüklü ve amin bağlı silika aerojeller (%10 APTES SiO_2- 5-FU), 5-FU yüklü dekstran kaplı (Dekstran SiO_2- 5-FU) ve dekstran aldehit kaplı silika aerojellerin (D-CHO SiO_2- 5-FU) salım davranışları ayrı ayrı incelenerek karşılaştırma yapılmıştır. Kristal haldeki 5-FU, 5-FU yüklü saf silika aerojeller (SiO_2- 5-FU), 5-FU yüklü ve amin bağlı silika aerojellerin (%10 APTES SiO_2- 5-FU) kolon ortamındaki salımı için enzim içermeyen, pH 5.5 asetat tamponu (37°C) kullanılarak aerojeller diyaliz membran içerisine yerleştirilmiş ve su banyosunda, 37 °C-100 rpm' de salınan ilaç miktarı takip edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; 24 saatte kristal formdaki 5-FU' nun %88,53' ünün, saf silika aerojellere yüklü 5-FU' nun %89,99' unun ve amin grupları bağlı silika aerojellere yüklü 5-FU' nun %9,31' nin yapay kolon ortamına salındığı görülmüştür. Enzim eklenmeyen asetat tamponunda dekstran-GA kaplı ve dekstran aldehit kaplı silika aerojellerden 5-FU salımı 24 saatte sırasıyla %4,21 ve %0,97 olarak gözlenmiştir. Dekstran kaplı silika aerojellerden 5-FU salımının dekstranaz enzimi etkisi ile gerçekleştirilmesi amacıyla asetat tamponu içerisine 2U/ml dekstranaz enzimi ilave edilerek dekstran-GA ve dekstran aldehit kaplı silika aerojellerin salım davranışı incelenmiştir. Enzim eklendikten sonra, 24 saat sonunda dekstran-GA kaplı silika aerojellere yüklü 5-FU' nun %24,02' sinin; dekstran aldehit kaplı silika aerojellere yüklü 5-FU' nun %13,42' sini salındığı gözlenmiştir. 15 gün boyunca salım davranışı gözlenen dekstran kaplı silika aerojellerden 5-FU salımı yavaş bir şekilde artarak devam etmiştir (15.gün D-GA %salım; %25,52, D-CHO %salım; %14,8).



Şekil 5. 32 Kristal haldeki ve silika aerojellere yüklü 5-FU' nun asetat tamponundaki zamana bağlı yüzde salım grafiği



Şekil 5. 33 Dekstran kaplı ve dekstran aldehit kaplı silika aerojellere yüklü 5-FU' nun 2U/ml dekstranaz bulunan asetat tamponundaki zamana bağlı yüzde salım grafiği

BÖLÜM 6

TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Kanser tedavisinde kullanılan ilaçların yan etki göstermesi, istenilen bölgeye etkin bir şekilde ulaşamaması, dozajlarının ayarlanamaması gibi sonuçlar tedavinin olumlu yanıt vermesini engelleyen önemli problemlerden bazılarıdır. Bu problemlerin önüne geçebilmek adına büyük önem taşıyan ve oldukça popüler çalışma konuları arasında yer alan ilaç salım sistemleri kullanılarak, etkin ve kontrol edilebilir tedavilerin geliştirilmesi mümkün hale gelmiştir. Bu tez çalışmasında, kolon kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan 5 Fluorourasil ilacı sol-jel yöntemi ile sentezlenen ve APTES ile yüzeyi modifiye edilen silika aerojellere yüklenerek ilaç yüklü silika aerojellerin yüzeyi dekstran-glutaraldehit ve dekstran aldehit ile kaplanmış ve oral yolla etkin ve hedefli tedavinin gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

- Bu amaçla bir silika kaynağı olan sodyum silikattan sol-jel yöntemi ile silika aerojeller sentezlenmiştir. Sentezlenen silika aerojellerin, yüksek yüzey alanı, gözenek hacmi ve gözenek boyutuna sahip, mezo gözenekli ve küresel şekillerde oldukları belirlenmiştir.
- Sentezlenen aerojellerin yüzeyi, 5-FU ilacının yükleme kapasitesini arttırmak ve dekstran-glutaraldehit ve dekstran aldehit kaplamalarında aldehit-amin grupları etkileşimlerinin gerçekleştirilmesi amacıyla APTES ile fonksiyonelleştirilmiştir. Farklı oranlarda APTES ile modifiye edilen silika aerojellerin, çözelti içerisindeki APTES konsantrasyonu arttıkça daha fazla fonksiyonel grup kazanmasına bağlı olarak yüzey alanlarının ve gözenek hacimlerinin düştüğü, gözenek çaplarının ise arttığı görülmektedir.

- Silika aerojellerin yüzey modifikasyonu hem 5-FU yükleme hem de glutaraldehit ve dekstran aldehit ile bağlanma kapasitelerini etkilemektedir. Yüzeyinde daha fazla amin bulunan silika aerojellerin ilaç ile amin grupları arasındaki elektrostatik etkileşimden dolayı saf silika aerojellere ve konsantrasyonu düşük APTES ile modifiye silika aerojellere göre daha fazla ilaç (%61,16) yüklediği tespit edilmiştir.
- 5-FU ilaç moleküllerinin bazik koşullarda anyon ve dianyonlarına dönüşmesi nedeniyle amin grupları ile arasındaki elektrostatik etkileşimlerin arttığı ve buna bağlı olarak yükleme kapasitesinin arttığı görülmüştür.
- İlaç yüklü silika aerojeller dekstran-glutaraldehit ve dekstran aldehit ile kaplanarak ilacın sadece dekstranaz enzimi bulunan kolon ortamında salınması amaçlanmıştır. Dekstran-glutaraldehit kaplaması için iki farklı glutaraldehit konsantrasyonu (%5 ve %10 v/v) kullanılmış ve %10 (v/v) glutaraldehit kullanıldığında aerojel yüzeyine dekstran kaplamanın daha iyi gerçekleştiği görülmüştür.
- Dekstran-glutaraldehit ve dekstran aldehit ile 2 farklı şekilde kaplanan ilaç yüklü silika aerojellerin 5-FU salım davranışları mide (pH=1.2), bağırsak (pH=6.8) ve kolon tümör (pH=5.5) ortamlarında ayrı ayrı incelenmiştir. Dekstran ile kaplı olmayan saf silika aerojeller, mide-bağırsak ve kolon pH' larında 24 saat içerisinde 5-FU ilacının %85-86' sını salmıştır. Yüzeyi APTES(%10) ile modifiye edilmiş silika aerojellerin 5-FU ilacını mide ve bağırsak sıvılarında 24 saatte %6,52; kolon pH' ında ise %9,31 saldığı görülmektedir. Salımın saf aerojellere göre oldukça düşmesi, silika yüzeyindeki amin grupları ile 5-FU ilacı arasındaki elektrostatik etkileşimlerin kuvvetli olması ile açıklanabilir.
- Dekstran ve dekstran aldehit ile kaplandıktan sonra silika aerojellerden 5-FU ilacının salımı mide ve bağırsak sıvılarında 24 saat içerisinde sırasıyla %1,68 ve %3,49 değerlerinde iken enzimsiz kolon pH' ında sırasıyla %4,21 ve %0,97 olacak şekilde gerçekleşmiştir.
- Kanserli kolon pH' ının sağlandığı asetat tamponu içerisine 2U/ml dekstranaz enzimi eklenerek enzim varlığının salıma etkisi araştırılmıştır. Enzim eklendikten

24 saat sonra dekstran ve dekstran aldehit kaplı silika aerojellerden 5-FU ilacının salımı %24,02 ve %13,42 olacak şekilde artış göstermiştir.

- Elde edilen sonuçlara göre doğal bir polimer olan dekstran ve dekstran türevi dekstran aldehit ile silika aerojellerin yüzeyinin kaplanması, 5-FU ilacının pH değişiminden etkilenmeden ve etkinliğini kaybetmeden kolon ortamına ulaşmasını ve enzim etkisi ile kontrollü salım gerçekleştirilmesini sağlamaktadır.
- Bu tez çalışmasında elde edilen kolona hedefli silika aerojel taşıyıcı sisteminin kolon kanseri hücreleri üzerindeki etkisinin, hücre deneyleri yapılarak incelenmesi ve enzim konsantrasyonu ile ilaç salım miktarı arasındaki ilişkinin anlaşılabilmesi için farklı enzim konsantrasyonları ile salım çalışmaları gerçekleştirilmesi önerilebilir.

KAYNAKLAR

[1] Maleki, H., (2016). "Recent Advances in Aerogels for Environmental Remediation Applications: A Review", Chemical Engineering Journal, 300: 98-118.

[2] Smirnova, I., Suttiruengwong, S. ve Arlt, W., (2005). "Aerogels: Tailor-made Carriers for Immediate and Prolonged Drug Release", KONA Powder Part. J. 23 86–97.

[3] Aegerter, M., Leventis, N. ve Koebel, M.M., (2011). Aerogels Handbook, Advanced in Sol-Gel Derived Material and Technologies, Springer Science & Business Media.

[4] Shi, H.X., Cui, J.T., Shen, H.M. ve Wu, H.K., (2014). "Preparation of Silica Aerogel and Its Adsorption Performance to Organic Molecule", Advances in Materials Science and Engineering.

[5] Wagh, P., Begag, R., Pajonk, G., Rao, A.V. ve Haranath, D., (1999). "Comparison of Some Physical Properties of Silica aerogel Monoliths Synthesized by Different Precursors", Materials Chemistry and Physics, 57: 214-218.

[6] McDevitt, T.A. ve Mohondro, R.D., (2002). Treatment of dielectric materials, US 6417115 B1, United States Patents.

[7] Prokopowicz, M., Łukasiak, J. ve Przyjazny, A., (2005). "Synthesis and Application of Doxorubicin-Loaded Silica Gels as Solid Materials for Spectral Analysis", Talanta, 65: 663-671.

[8] Gurav, J.L., Jung, I.K., Park, H.H., Kang, E.S. ve Nadargi, D.Y., (2010). "Silica Aerogel: Synthesis and Applications", Journal of Nanomaterials, 2010: 23.

[9] Smirnova, I. ve Arlt, W., (2004). "Synthesis of Silica Aerogels and Their Application as Drug Delivery System", Supercritical Fluids as Solvents and Reaction Media, 381.

[10] Özdemir, C., Akın, A.N. ve Yıldırım, R., (2004). "Low Temperature CO Oxidation in Hydrogen Rich Streams on Pt-SnO_2/Al_2O_3 Catalyst Using Taguchi Method", Applied Catalysis A: General, 258: 145-152.

[11] Giray, S., (2011). PEG-Hydrogel Coated Silica Aerogels: a Novel Drug Delivery System, Yüksek Lisans Tezi, Koç Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

[12] Shewale, P.M., Rao, A.V. ve Rao, A.P., (2008). "Effect of Different Trimethyl Silylating Agents on the Hydrophobic and Physical Properties of Silica Aerogels", Applied Surface Science, 254: 6902-6907.

[13] Dorcheh, A.S. ve Abbasi, M., (2008). "Silica Aerogel; Synthesis, Properties and Characterization", Journal of Materials Processing Technology, 199: 10-26.

[14] Ülker, Z., (2011). Preparation and Characterization of Silica Aerogel Polymer Composites, Yüksek Lisans Tezi, Koç Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

[15] Tang, Q. ve Wang, T., (2005). "Preparation of Silica Aerogel from Rice Hull Ash by Supercritical Carbondioxide Drying", The Journal of Supercritical Fluids, 35: 91-94.

[16] Patel, R.P., Purohit, N.S. ve Suthar, A.M., (2009). "An Overview of Silica Aerogels", International Journal of ChemTech Research, 1: 1052-1057.

[17] Kumar, R., Vinjamur, M. ve Mukhopadhyay, M., (2013). "A Simple Process to Prepare Silica Aerogel Microparticles from Rice Husk Ash", International Journal of Chemical Engineering and Applications, 4: 321.

[18] Caras, A., (2011). "Glucan Particle Delivery of Mesoporous Silica-drug Nanoparticles", UMASS Medical School.

[19] Yang, D., Hou, Z., Cheng, Z., Li, C. ve Lin, J., (2015). "Current Advances in Lanthanide Ion (Ln 3+)-based Upconversion Nanomaterials for Drug Delivery", Chemical Society Reviews, 44: 1416-1448.

[20] Shi, F., Wang, L. ve Liu, J., (2006). "Synthesis and Characterization of Silica Aerogels by a Novel Fast Ambient Pressure Drying Process", Materials Letters, 60: 3718-3722.

[21] Alnaief, M. ve Smirnova, I., (2010). "Effect of Surface Functionalization of Silica Aerogel on Their Adsorptive and Release Properties", Journal of Non-Crystalline Solids, 356: 1644-1649.

[22] Mahadik, D., Rao, A.V., Rao, A.P., Wagh, P., Ingale, S. ve Gupta, S.C., (2011). "Effect of Concentration of Trimethylchlorosilane (TMCS) and Hexamethyldisilazane (HMDZ) Silylating Agents on Surface Free Energy of Silica Aerogels", Journal of Colloid and Interface Science, 356: 298-302.

[23] Rao, A.V., Nilsen, E. ve Einarsrud, M.A., (2001). "Effect of Precursors, Methylation Agents and Solvents on the Physicochemical Properties of Silica Aerogels Prepared by Atmospheric Pressure DryingMmethod", Journal of Non-Crystalline Solids, 296: 165-171.

[24] Rahman, I., Jafarzadeh, M. ve Sipaut, C., (2009). "Synthesis of Organo-functionalized Nanosilica via a Co-condensation Modification Using γ-aminopropyltriethoxysilane (APTES)", Ceramics International, 35: 1883-1888.

[25] de Smet, L.C., Ullien, D., Sudhölter, E.J. ve Mescher, M., (2011). "Organic Surface Modification of Silicon Nanowire-based Sensor Devices", INTECH Open Access Publisher, Netherlands.

[26] Aswal, D., Lenfant, S., Guerin, D., Yakhmi, J. ve Vuillaume, D., (2006). "Self assembled Monolayers on Silicon for Molecular Electronics", Analytica Chimica acta, 568: 84-108.

[27] Appiah-Kubi, G., Seaton, K. ve Vasiliev, A., (2014). "Functionalization of Silica Surface using Chan–Lam Coupling", Tetrahedron Letters, 55: 2722-2726.

[28] Sakpal, T., Kumar, A., Kamble, S. ve Kumar, R., (2012). "Carbondioxide Capture Using Amine Functionalized Silica Gel".

[29] Howarter, J.A. ve Youngblood, J.P., (2006). "Optimization of Silica Silanization by 3-aminopropyltriethoxysilane", Langmuir, 22: 11142-11147.

[30] Jung, H.S., Moon, D.S. ve Lee, J.K., (2012). "Quantitative Analysis and Efficient Surface Modification of Silica Nanoparticles", Journal of Nanomaterials, 2012: 48.

[31] Schulz, A. Woolley, R. Tabarin, T. ve McDonagh, C., (2011). "Dextran-Coated Silica Nanoparticles for Calcium-Sensing", Analyst, 136: 1722-1727.

[32] Rosenholm, J.M. ve Lindén, M., (2008). "Towards Establishing Structure–Activity Relationships for Mesoporous Silica in Drug Delivery Applications", Journal of Controlled Release, 128: 157-164.

[33] Smirnova, I., Mamic, J. ve Arlt, W., (2003). "Adsorption of Drugs on Silica Aerogels", Langmuir, 19: 8521-8525.

[34] Gorle, B.S., Smirnova, I. ve McHugh, M.A., (2009). "Adsorption and Thermal Release of Highly Volatile Compounds in Silica Aerogels", The Journal of Supercritical Fluids, 48: 85-92.

[35] Ulker, Z. ve Erkey, C., (2014). "An Emerging Platform for Drug Delivery: Aerogel Based Systems", Journal of Controlled Release, 177: 51-63.

[36] Sevimli, F. ve Yılmaz, A., (2012). "Surface Functionalization of SBA-15 Particles for Amoxicillin Delivery", Microporous and Mesoporous Materials, 158: 281-291.

[37] Tomoiaga, A.M., Cioroiu, B.I., Nica, V. ve Vasile, A., (2013). "Investigations on Nanoconfinement of Low-Molecular Antineoplastic Agents into Biocompatible Magnetic Matrices for Drug Targeting", Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 111: 52-59.

[38] She, X., Chen, L., Li, C., He, C., He, L. ve Kong, L., (2015). "Functionalization of Hollow Mesoporous Silica Nanoparticles for Improved 5-FU Loading", Journal of Nanomaterials, 16: 108.

[39] Siegel, R.A. ve Rathbone, M.J., (2012). "Overview of Controlled Release Mechanisms", Fundamentals and Applications of Controlled Release Drug Delivery, Springer, 19-43.

[40] Gümüşderelioğlu, M., (2004). "Dekstran-Bazlı Kolona Özgü İlaç Salım Sistemi; Biyobozunma ve pH Duyarlılığın BSA ve IgG Salım Kinetiğine Etkisinin İncelenmesi", Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu, Ankara.

[41] Simonsen, L., Hovgaard, L., Mortensen, P.B. ve Brøndsted, H., (1995). "Dextran Hydrogels for Colon-Specific Drug Delivery, V. Degradation in Human Intestinal Incubation Models", European Journal of Pharmaceutical Sciences, 3: 329-337.

[42] Şengel-Türk, C.T., Hasçiçek, C. ve Gönül, N., (2006). "KOLONA HEDEFLENEN İLAÇ TAŞIYICI SİSTEMLER", Ankara Eczacılar Fakültesi Dergisi, 35(2): 125-148, 2006

[43] Sinha, V. ve Kumria, R., (2001). "Polysaccharides in Colon-Specific Drug Delivery", International Journal of Pharmaceutics, 224: 19-38.

[44] Zhang, Z., Zhang, Q., Wang, J., Shi, X., Zhang, J. ve Song, H., (2010). "Synthesis and Drug Release in vitro of Porphyran Carrying 5-Fluorouracil", Carbohydrate Polymers, 79: 628-632.

[45] Ouchi, T., Banba, T., Fujimoto, M. ve Hamamoto, S., (1989). "Synthesis and Antitumor Activity of Chitosan Carrying 5-Fluorouracils", Macromolecular Chemistry and Physics, 190: 1817-1825.

[46] Popat, A., Ross, B.P., Liu, J., Jambhrunkar, S., Kleitz, F. ve Qiao, S.Z., (2012). "Enzyme-Responsive Controlled Release of Covalently Bound Prodrug from Functional Mesoporous Silica Nanospheres", Angewandte Chemie International Edition, 51: 12486-12489.

[47] Aydin, R. ve Pulat, M., (2012). "5-Fluorouracil Encapsulated Chitosan Nanoparticles for pH-stimulated Drug Delivery: Evaluation of Controlled Release Kinetics", Journal of Nanomaterials, 2012: 42.

[48] Anitha, A., Sreeranganathan, M., Chennazhi, K.P., Lakshmanan, V.K. ve Jayakumar, R., (2014). "In vitro Combinatorial Anticancer Effects of 5-Fluorouracil and Curcumin Loaded N, O-Carboxymethyl Chitosan Nanoparticles toward Colon Cancer and in vivo Pharmacokinetic Studies", European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 88: 238-251.

[49] Feng, C., Li, J., Kong, M., Liu, Y., Cheng, X.J., Li, Y., Park, H.J. ve Chen, X.G., (2015). "Surface Charge Effect on Mucoadhesion of Chitosan based Nanogels for Local Anti-colorectal Cancer Drug Delivery", Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 128: 439-447.

[50] Feng, C., Sun, G., Wang, Z., Cheng, X., Park, H., Cha, D., Kong, M. ve Chen, X., (2014). "Transport Mechanism of Doxorubicin Loaded Chitosan based Nanogels across Intestinal Epithelium", European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 87: 197-207.

[51] Bose, A., Elyagoby, A. ve Wong, T., (2014). "Oral 5-Fluorouracil Colon-Specific Delivery Through in vivo Pellet Coating for Colon Cancer and Aberrant Crypt Foci Treatment", International Journal of Pharmaceutics, 468: 178-186.

[52] Liu, K., Wang, Z.Q., Wang, S.J., Liu, P., Qin, Y.H., Ma, Y., Li, X.C. ve Huo, Z.J., (2015). "Hyaluronic Acid-Tagged Silica Nanoparticles in Colon Cancer Therapy: Therapeutic Efficacy Evaluation", International Journal of Nanomedicine, 10: 6445.

[53] Datt, A., (2012). "Applications of Mesoporous Silica and Zeolites for Drug Delivery".

[54] Peppas, N.A. ve Langer, R., (1994). "New Challenges in Biomaterials", Science, 263: 1715-1721.

[55] Kikuchi, A. ve Okano, T., (2002). "Pulsatile Drug Release Control Using Hydrogels", Advanced Drug Delivery Reviews, 54: 53-77.

[56] Kim, I.S. ve Oh, I.J., (2005). "Drug Release from the Enzyme-Degradable and pH-sensitive Hydrogel Composed of Glycidyl Methacrylate Dextran and Poly (Acrylic Acid)", Archives of Pharmacal Research, 28: 983-987.

[57] Shukla, R.K. ve Tiwari, A., (2012). "Carbohydrate Polymers: Applications and Recent Advances in Delivering Drugs to the Colon", Carbohydrate Polymers, 88: 399-416.

[58] Nikolić, G., Cakić, M., Mitić, Ž., Ilić, B. ve Premović, P., (2009). "Attenuated Total Reflectance-Fourier Transform Infrared Microspectroscopy of Copper (II) Complexes with Reduced Dextran Derivatives", Russian Journal of Physical Chemistry A, Focus on Chemistry, 83: 1520-1525.

[59] Wu, D.T., Zhang, H.B., Huang, L.J. ve Hu, X.Q., (2011). "Purification and Characterization of Extracellular Dextranase from a Novel Producer, Hypocrea lixii F1002, and Its Use in Oligodextran Production", Process Biochemistry, 46: 1942-1950.

[60] Goulas, A.K., Cooper, J.M., Grandison, A.S. ve Rastall, R.A., (2004). "Synthesis of Isomaltooligosaccharides and Oligodextrans in a Recycle Membrane Bioreactor by the Combined Use of Dextransucrase and Dextranase", Biotechnology and Bioengineering, 88: 778-787.

[61] Hovgaard, L. ve Brøndsted, H., (1995). "Dextran Hydrogels for Colon-specific Drug Delivery", Journal of Controlled Release, 36: 159-166.

[62] Artzi, N., Shazly, T., Crespo, C., Ramos, A.B., Chenault, H.K. ve Edelman, E.R., (2009). "Characterization of Star Adhesive Sealants Based on PEG/dextran Hydrogels", Macromolecular Bioscience, 9: 754-765.

[63] Maia, J., Ferreira, L., Carvalho, R., Ramos, M.A. ve Gil, M.H., (2005). "Synthesis and Characterization of New Injectable and Degradable Dextran-based Hydrogels", Polymer, 46: 9604-9614.

[64] Mu, C., Guo, J., Li, X., Lin, W. ve Li, D., (2012). "Preparation and Properties of Dialdehyde Carboxymethyl Cellulose Crosslinked Gelatin Edible Films", Food Hydrocolloids, 27: 22-29.

[65] Farris, S., Schaich, K.M., Liu, L., Piergiovanni, L. ve Yam, K.L., (2009). "Development of Polyion-Complex Hydrogels as an Alternative Approach for the Production of Bio-based Polymers for Food Packaging Applications: a Review", Trends in Food Science & Technology, 20: 316-332.

[66] Yan, E.K., Cao, H.L., Zhang, C.Y., Lu, Q.Q., Ye, Y.J., He, J., Huang, L.J. ve Yin, D.C., (2015). "Cross-linked Protein Crystals by Glutaraldehyde and Their Applications", RSC Advances, 5: 26163-26174.

[67] Migneault, I., Dartiguenave, C., Bertrand, M.J. ve Waldron, K.C., (2004). "Glutaraldehyde: Behavior in Aqueous Solution, Reaction with Proteins and Application to Enzyme Crosslinking", Biotechniques, 37: 790-806.

[68] Monsan, P., (1978). "Optimization of Glutaraldehyde Activation of a Support for Enzyme Immobilization", Journal of Molecular Catalysis, 3: 371-384.

[69] Hermanson, G.T., (2013). Bioconjugate Techniques, Second Edition, Academic press of Elsevier, USA.

[70] Boucher, M., (1972). "Advances in Sterilization Techniques: State of the Art and Recent Breakthroughs", Wave Energy Systems, Inc., New York.

[71] Yuan, H., Mullett, W.M. ve Pawliszyn, J., (2001). "Biological Sample Analysis with Immunoaffinity Solid-Phase Microextraction", Analyst, 126: 1456-1461.

[72] Mane, S., Ponrathnam, S. ve Chavan, N., (2015). "Effect of Chemical Cross-linking on Properties of Polymer Microbeads: A review", Canadian Chemical Transactions, 3: 473-485.

[73] Gulrez, S.K., Al-Assaf, S. ve Phillips, G.O., (2011). "Hydrogels: Methods of Preparation, Characterization and Applications", In Progress in Molecular and Environmental Bioengineering-From Analysis and Modeling to Technology Applications. InTech.

[74] Al-Oweini, R. ve El-Rassy, H., (2009). "Synthesis and Characterization by FTIR Spectroscopy of Silica Aerogels Prepared Using Several $Si(OR)_4$ and $R''Si(OR')_3$ Precursors", Journal of Molecular Structure, 919: 140-145.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ecem TİRYAKİ

Doğum Tarihi ve Yeri : 20.01.1994 İstanbul

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : ecmtiryaki@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Biyomühendislik	Yıldız Teknik Üniversitesi	2017
Lisans	Biyomühendislik	Yıldız Teknik Üniversitesi	2015
Lise	Sayısal	Selimpaşa Atatürk A.L.	2011

Yayınları

1. **Tiryaki, E.,** Titirinli, M., Elalmış, Y., Karakuzu, B., Yücel, S., "Mesoporous Silica Nanoparticles for Controlled Release of Vitamin C", Uluslararası İlaç ve Eczacılık Kongresi, Istanbul, Kasım, 2015.
2. Terzioğlu, P., Karakuzu, B., **Tiryaki, E.,** Yücel, S., "Controlled Release of L-Ascorbic Acid from Nanoporous Zeolites", Uluslararası İlaç ve Eczacılık Kongresi, Istanbul, Kasım, 2015.
3. **Tiryaki, E.,** Cernencu, A., Elalmış, Y., Karakuzu, B., Yücel, S., "Effect of Nanoporous Silica Aerogel Structure for Vitamin C Release", NanoWorld Conference, Boston, USA, Nisan, 2016.
4. Karakuzu, B., Yücel, S., Temel, T. M., **Tiryaki, E.,** Ismık, D., "Nanoporous Metal Doped Silica Aerogel Synthesis and Characterization**",** NanoWorld Conference, Nisan, 2016.

5. **Tiryaki, E.,** Elalmış, Y., Yücel, S., "Evaluation of Silica Aerogel with Amine Functionalization for Drug Delivery System", 1st International Mediterranean Science and Engineering Congress (IMSEC), Adana, Ekim, 2016.
6. **Tiryaki, E.,** Elalmış, Y., Yücel, S., "Potansiyel İlaç Taşıma Sistemleri: Nano Yapılı Silika Aerojeller", V. Ulusal Nanoteknoloji Kongresi, İstanbul, Mart, 2017.
7. Özel, C., **Tiryaki, E.,** Elalmış, Y., Yücel, S., "Investigaton of L-Ascorbic Acid release from Hexamethyl Disilazane (HMDZ) modifed and unmodifed silica aerogels: Efect of hydrophobicity", 3. İlaç ve Eczacılık Kongresi (IVEK), Nisan, 2017.
8. **Tiryaki, E.,** Elalmış, Y., Yücel, S., "Development of Dextran-Coated Silica Aerogels as a Drug Release System for Colon Cancer Treatment", 3. İlaç ve Eczacılık Kongresi (IVEK), Nisan, 2017.

Projeleri

1. **TÜBİTAK 3001** Pirinç Kabuğu Silikasından Yapay Kemik Olarak Kullanılabilecek Biyoaktif Camların Üretimi ve Osteosit Hücreleri Üzerine Etkisi, 2014-2015
2. **TÜBİTAK 1005** Metal Katkılı Yeni Bir Adsorban Üretimi, Karakterizasyonu ve Adsorpsiyon Performansının İncelenmesi, 2016-2017
3. **YTÜ BAP-YULAP** Dekstran Kaplı Silika Aerojellerin Kolon Kanseri Tedavisi için İlaç Salım Sistemleri Olarak Geliştirilmesi, 2016-2017