

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sıcaklığa Duyarlı Poli(N,N-Dietilakrilamid)'in Aljinata Aşılması ve 5-Fluorourasil
Salımında Kullanımı

Zeynep ALTINIŞIK

TEMMUZ 2016

ÖZET

SICAKLIĞA DUYARLI POLİ(N,N-DİETİLAKRİLAMİD)'İN ALJİNATA AŞILANMASI VE 5-FLUOROURASİL SALIMINDA KULLANIMI

ALTINIŞIK, ZEYNEP

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Nuran IŞIKLAN

Temmuz 2016, 159 sayfa

Tez çalışmasında, sodyum aljinata (NaAlg), N,N-dietilakrilamid (DEAAm) monomeri aşılandı ve sıcaklığa duyarlı oral ilaç taşıyıcı sistemlerin oluşturulması gerçekleştirildi. Sulu fazda sodyum aljinat-aşı-poli(N,N-dietilakrilamid) kopolimerleri, potasyum persülfat başlatıcıyla ve hızlandırıcı olarak N,N,N',N'-tetrametiletilendiamin (TEMED) kullanılarak mikrodalga fırında sentezlendi. Aşı yüzdesi ve aşılama verimi üzerine tepkime süresi, tepkime sıcaklığı, başlatıcı, TEMED, DEAAm, NaAlg derişimlerinin ve UV ışını etkileri incelendi. Optimum koşullarda aşı yüzdesi ve aşılama verimi sırasıyla % 301,06 ve % 55,35 olarak bulundu. Sodyum aljinat-aşı-poli(N,N-dietilakrilamid) kopolimerlerin yapıları ATR-FTIR, Raman, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, DSC, TGA ve GPC analizleri ile aydınlatıldı. Termal analiz sonuçlarından sentezlenen kopolimerlerin NaAlg'ye göre termal dayanımının yüksek olduğu bulundu.

Yapıları aydınlatılan kopolimerler 5-Fluorourasil'in (5-FU) oral mikroküre uygulamasında kullanıldı. Sodyum aljinat-aşı-poli(N,N-dietilakrilamid) mikroküreleri gluteraldehit ile HCl katalizörlüğünde çapraz bağlanarak hazırlandı. İlaç yüklü mikroküreler tutuklanma verimleri, partikül boyutları ile karakterize edildi. Boş mikrokürelerin farklı pH ve sıcaklıktaki şişme dereceleri incelendi. Mikrokürelerden ilaç salımına aşı yüzdesinin, polimer derişiminin, ilaç/polimer oranının, çapraz bağlayıcı derişiminin, çapraz bağlama süresinin, pH ve sıcaklığın etkileri araştırıldı. Aşı yüzdesi 20 olan mikrokürelerde sıcaklığın 25 °C'den 37 °C'ye artırılmasıyla yüzde 5-FU salım sonucu 95'den 75'e, aşı yüzdesi 110 olan mikrokürelerde 75'den 43'e azaldı. Mikrokürelerin 5-FU yüzde salımı ve şişme derecesi verilerinden sıcaklığa duyarlılık sağladıkları, kontrollü salım gerçekleştirdikleri tespit edildi. Mikrokürelerde ilacın kimyasal kararlılığı ATR-FTIR ölçümleri ile doğrulandı. DSC analizi sonucundan mikrokürelere ilaç yüklenmesiyle camsı geçiş sıcaklığının arttığı ve XRD analizi sonuçları ile ilacın kristalin yapısını koruduğu görüldü. Yüzey morfolojileri SEM ve AFM analizleri ile incelendi.

Kinetik parametreler salım sonuçlarından yararlanılarak hesaplandı. Difüzyon katsayısı polimerik mikrokürelerden ilacın difüzyonu için hesaplandı ve salım sonuçları ile uyumlu değerler bulundu. Gluteraldehit derişimi, HCl derişimi, çapraz bağlama süresinin artmasıyla difüzyon katsayılarında azalma görüldü.

Anahtar Kelimeler: Aşı kopolimer, Kontrollü salım sistemleri, Sodyum aljinat (NaAlg), Poli(N,N-dietilakrilamid) (PDEAAm), 5-Fluorourasil (5-FU), Sıcaklığa duyarlı polimerler

ABSTRACT

GRAFTING OF TEMPERATURE RESPONSİVE POLY(N,N-DIETHYLACRYLAMİDE) ONTO ALGİNATE USAGE OF THEM IN 5-FLUOROURACİL RELEASE

ALTINIŞIK, ZEYNEP

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry, M.Sc. Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Nuran IŞIKLAN

July 2016, 159 pages

In this study, N,N-diethylacrylamide (DEAAm) were grafted onto sodium alginate (NaAlg) and investigated formation of temperature sensitive oral drug delivery systems. Sodium alginate-graft-N,N-diethylacrylamide copolymers were synthesized in aqueous solutions by using potassium peroxodifulfate as initiator and N,N,N',N'-tetrametiletilendiamin (TEMED) as accelator in the microwave oven. The effect of reaction time, reaction temperature, TEMED, DEAAm, NaAlg concentrations and effect of UV irradiation onto grafting percentage and grafting efficiency were examined. The grafting percentage and grafting efficiency in optimum conditions were found to be 301.06 % and 55.35 %, respectively. The structures of sodium alginate-graft-poly(N,N-diethylacrylamide) copolymers were characterized by ATR-FTIR, Raman, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, DSC, TGA and GPC

analyses. Thermal stability of synthesized copolymers was found higher than that of NaAlg.

Copolymers characterized were used in oral microspheres application of 5-Fluorouracil (5-FU). Sodium alginate-graft-poly(N,N-diethylacrylamide) microspheres were prepared by crosslinking with glutaraldehyde in hydrochloric acid medium. Drug loaded microspheres were characterized with entrapment efficiency and particles size. Swelling degrees of empty microspheres were carried out at different pH and temperature. Effect of grafting yield, polymer concentration, drug/polymer ratio, crosslinking agent concentration, crosslinking time, pH and temperature on release of drug from microspheres were examined. 5-FU release from microspheres with 20 grafting percentage decreased from 95 to 75 with increasing temperature from 25 °C to 37 °C while release from microspheres with 110 grafting percentage decreased from 75 to 43. Release behavior and swelling degree of microspheres showed that obtained microspheres are thermoresponsive and be able to control the drug release. Chemical stability of drug in the microspheres was confirmed by ATR-FTIR measurements. DSC result showed that glass transition temperature increases with drug loading and XRD results demonstrated drug exist in crystalline structure. The surface morphology was investigated with SEM and AFM analysis.

Kinetic parameters were determined by using release results. The diffusion coefficients were calculated for the transport of drug through the polymeric microspheres and the results were found in accordance with the release results. It was shown that diffusion coefficients decreased with increasing glutaraldehyde concentration, HCl concentration, crosslinking time to glutaraldehyde.

Key words: Graft copolymer, Controlled release systems, Sodium alginate (NaAlg), Poly(N,N-diethylacrylamide) (PDEAAm), 5-Fluorouracil (5-FU), Temperature sensitive polymers



TEŞEKKÜR

Çalışmalarım süresince karşılaştığım bütün zorluklarda bana değerli zamanını ayırarak yol gösteren, bilgi birikimi ve tecrübelerini paylaşan, her zaman çalışma prensibini örnek aldığım kıymetli hocam ve danışmanım Sayın Prof.Dr. Nuran IŞIKLAN'a sonsuz teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen ve laboratuvar çalışmalarını eğlenceli hale getirdiğimiz laboratuvar arkadaşlarım Alper AKIN, Enes GÜNCÜM, Fatma KURŞUN, Hacer KAZAN, Şeyma TOKMAK ve Ümit Haydar EROL'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Tez çalışmamda maddi destek sağlayan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK'a) (Proje No:113Z271) teşekkürlerimi sunarım.

Sentezlenen kopolimer ve mikrokürelerin yapılarının aydınlatılmasında yardımlarından dolayı Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Merkezi Araştırmalar Laboratuvarları Çalışanları'na, ODTÜ ve Bilkent Merkezi Laboratuvar Çalışanları'na, Selçuk Üniversitesi Kimya Bölümü, NMR Laboratuvar Çalışanları'na teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca ve tez çalışmam süresince maddi manevi desteklerini benden hiçbir şekilde esirgemeyen BİRİCİK ANNEME tüm kalbimle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xvi
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvii
1.GİRİŞ.....	1
1.1. Polimerik Maddeler	3
1.1.1. Sıcaklığa Duyarlı Polimerler	4
1.1.2. pH'ya Duyarlı Polimerler	7
1.1.3. Uyarıya Duyarlı Diğer Polimerler	7
1.2. Polimerlerde Moleküller Arası Etkileşimler	8
1.2.1. Hidrojen Bağları	8
1.2.2. Moleküllerarası Kuvvetler	9
1.3. Polimerik Maddelerin Kontrollü İlaç Salımında Kullanımı	9
1.4. Kontrollü Salım Sistemlerinin Klasik Dozaj Şekillerinden Üstünlükleri	11
1.5. Kontrollü Salım Sistemlerinin Sakıncaları	12
1.6. Kontrollü Salım Sistemlerinin Kinetiği	13
1.7. Aşı Kopolimerizasyon	16
1.7.1. Mikrodalga Fırında Gerçekleştirilen Aşı Kopolimerleşme	17

1.8. Mikroküre Sistemleri.....	19
1.9. Sodyum Aljinat (NaAlg)	20
1.10. Poli (N,N-dietilakrilamid)	21
1.11. 5-Fluorourasil (5-FU)	22
2.MATERYAL VE YÖNTEM.....	25
2.1. Kimyasal Maddeler.....	25
2.2. Cihazlar	25
2.3. NaAlg-aşı-PDEAAm Kopolimerinin Mikrodalga Destekli Olarak Sentezlenmesi.....	27
2.4. 5-FU Yüklü NaAlg-aşı-PDEAAm Mikrokürelerin Hazırlanması	30
2.5. Tutuklanma Verimi (TV).....	33
2.6. Mikrokürelerden 5- FU'nun İn-vitro Salım Çalışması.....	33
2.7. Boş Mikrokürelerin Şişme Denge Derecelerinin Belirlenmesi.....	34
3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	35
3.1. NaAlg-aşı-PDEAAm Aşı Kopolimer ve Mikrokürelerin Karakterizasyonu	36
3.1.1. Element Analiz Sonuçları	36
3.1.2. NaAlg, PDEAAm ve NaAlg-aşı-PDEAAm Kopolimerinin FTIR ve Raman Sonuçları.....	37
3.1.3. NaAlg, PDEAAm ve NaAlg-aşı-PDEAAm Kopolimerinin ¹ H-NMR Sonuçları	40
3.1.4. NaAlg, PDEAAm ve NaAlg-aşı-PDEAAm Kopolimerinin ¹³ C-NMR Sonuçları	43
3.1.5. NaAlg, PDEAAm ve NaAlg-aşı-PDEAAm Kopolimerinin DSC Sonuçları	45

3.1.6. NaAlg, PDEAAm ve NaAlg-aşı-PDEAAm Kopolimerinin TGA	
Sonuçları	47
3.1.7. NaAlg ve NaAlg-aşı-PDEAAm'nin XRD Sonuçları	53
3.1.8. NaAlg ve NaAlg-aşı-PDEAAm'nin SEM Analiz Sonuçları	54
3.1.9. NaAlg ve NaAlg-aşı-PDEAAm Kopolimerinin GPC-SEC Analiz	
Sonuçları	56
3.2. Aşılama İçin Ortam Koşullarının Etkisi	58
3.2.1. Aşılama Süresinin Aşı Yüzdesi ve Aşılama Verimine Etkisi.....	59
3.2.2. Ortam Sıcaklığının Aşı Yüzdesi ve Aşı Verimine Etkisi	61
3.2.3. Mikrodalga Gücünün Aşı Yüzdesi ve Aşı Verimine Etkisi.....	63
3.2.4. Monomer Derişiminin Aşı Yüzdesi ve Aşı Verimine Etkisi	64
3.2.5. Başlatıcı Derişiminin Aşı Yüzdesi ve Aşı Verimine Etkisi.....	65
3.2.6. TEMED Derişiminin Aşı Yüzdesi ve Aşı Verimine Etkisi	66
3.2.7. Polimer Miktarının Aşı Yüzdesi ve Aşı Verimine Etkisi	69
3.2.8. UV Lambasının Aşı Yüzdesi ve Aşı Verimine Etkisi	70
3.3. NaAlg, PDEAAm ve NaAlg-aşı-PDEAAm'nin LCST Sonuçlarının	
Değerlendirmesi.....	71
3.4. NaAlg-aşı-PDEAAm Mikrokürelerinin Karakterizasyonu.....	74
3.4.1. NaAlg-aşı-PDEAAm Mikrokürelerinin FTIR Sonuçlarının	
Değerlendirilmesi.....	74
3.4.2. NaAlg-aşı-PDEAAm Mikrokürelerinin DSC Sonuçlarının	
Değerlendirilmesi.....	76
3.4.3. NaAlg, NaAlg-aşı-PDEAAm Kopolimer, NaAlg-aşı-PDEAAm	
Mikrokürelerin MTT Sonuçları ve İkili Boyama Metodu ile	
Apoptozun/Nekrozun Belirlenmesi	78

3.4.4. NaAlg-aşı-PDEAAm Mikrokürelerin ve 5-FU'nun XRD	
Sonuçlarının Değerlendirilmesi	83
3.4.5. NaAlg ve NaAlg-aşı-PDEAAm Mikrokürelerin SEM Analizleri	84
3.4.6. NaAlg ve Mikrokürelerin AFM Sonuçları	87
3.4.7. NaAlg ve Aşı Kopolimer Mikrokürelerinin Verimi, Tutuklanma	
Verimi ve Çaplarının Değişimi	89
3.5. NaAlg-aşı-PDEAAm Mikrokürelerinden In-Vitro 5-FU Salım Çalışmaları	91
3.5.1. Aşı Yüzdesinin 5-FU Salımına Etkisi	91
3.5.2. Polimer Derişiminin 5-FU Salımına Etkisi	95
3.5.3. İlaç/Polimer Oranının 5-FU Salımına Etkisi	97
3.5.4. Çapraz Bağlayıcı Derişiminin 5-FU Salımına Etkisi	100
3.5.5. Çapraz Bağlama Süresinin 5-FU Salımına Etkisi	102
3.5.6. HCl Yüzdesinin 5-FU Salımına Etkisi	104
3.5.7. 5-FU Salımına Sıcaklığın Etkisi	106
3.5.8. 5-FU Salımına pH'nın Etkisi	112
3.6. 24 Saatlik Aynı pH'da 5-FU Salımına Sıcaklığın Etkisi	115
3.6.1. Düşük Verimli Aşı Kopolimerden Elde Edilen Mikrokürelerin	
Salıma Etkisi	116
3.6.2. Orta Verimli Aşı Kopolimerden Elde Edilen Mikrokürelerin Salıma	
Etkisi	120
3.6.3. Yüksek Verimli Aşı Kopolimerden Elde Edilen Mikrokürelerin	
Salıma Etkisi	123
3.7. Mikrokürelerin LCST Sonuçları	126
3.8. Kinetik Hesaplamalar	127

4.SONUÇLAR.....	131
KAYNAKLAR.....	133



ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL	Sayfa
1.1. Akıllı polimerlerin ilaç salımında kullanılması.....	4
1.2. Sıcaklığa duyarlı polimerlerin faz diyagramları.....	5
1.3. NaAlg'nin kimyasal yapısı.....	20
1.4. PDEAAm'nin kimyasal yapısı.....	22
1.5. 5-FU'nun kimyasal yapısı.....	23
2.1. Aşı kopolimerin sentezlenme işleminin şematik gösterimi.....	28
2.2. NaAlg-aşı-PDEAAm yapısı.....	29
2.3. Mikroküreleri oluşturma şeması.....	31
2.4. NaAlg ile GA arasındaki çapraz bağlanma mekanizması.....	32
3.1. NaAlg, PDEAAm ve NaAlg-aşı-PDEAAm FTIR spektrumu.....	37
3.2. NaAlg, PDEAAm ve NaAlg-aşı-PDEAAm Raman spektrumu.....	39
3.3. NaAlg'nin ¹ H-NMR spektrumu.....	41
3.4. PDEAAm'nin ¹ H-NMR spektrumu.....	41
3.5. NaAlg-aşı-PDEAAm'nin ¹ H-NMR spektrumu.....	42
3.6. NaAlg'nin ¹³ C-NMR spektrumu.....	43
3.7. PDEAAm'nin ¹³ C-NMR spektrumu.....	44
3.8. NaAlg-aşı-PDEAAm'nin ¹³ C-NMR spektrumu.....	44
3.9. NaAlg ve aşı kopolimerlerin DSC diyagramı.....	46
3.10. PDEAAm'nin DSC diyagramı.....	47
3.11. NaAlg'nin TGA termogramı.....	48
3.12. PDEAAm'nin TGA termogramı.....	49

3.13. NaAlg-aşı-PDEAAm'nin (aşı verimi % 331,16) TGA termogramı.....	50
3.14. NaAlg ve aşı kopolimerlerin karşılaştırmalı TGA termogramları.....	52
3.15. NaAlg ve aşı kopolimerlerin karşılaştırmalı DTGA termogramları.....	52
3.16. NaAlg, iki farklı aşı yüzdesine sahip kopolimerlerin XRD sonuçları.....	53
3.17. NaAlg ve aşı kopolimerlerin SEM görüntüleri.....	54
3.18. NaAlg ve kopolimerlerin SEC alıkonma hacim değişimleri.....	57
3.19. NaAlg-aşı-PDEAAm kopolimerinin oluşum mekanizması.....	59
3.20. Aşı yüzdesi ve aşılama verimine sürenin etkisi.....	61
3.21. Aşı yüzdesi ve aşılama verimine sıcaklığın etkisi.....	62
3.22. Aşı yüzdesi ve aşılama verimine mikrodalga gücünün etkisi.....	63
3.23. Aşı yüzdesi ve aşılama verimine monomer derişiminin etkisi.....	65
3.24. Aşı yüzdesi ve aşılama verimine başlatıcı derişiminin etkisi.....	66
3.25. Aşı yüzdesi ve aşılama verimine TEMED derişiminin etkisi.....	67
3.26. KPS/TEMED arasındaki reaksiyon mekanizması.....	68
3.27. Aşı yüzdesi ve aşılama verimine polimer yüzdesi etkisi.....	69
3.28. PDEAAm'nin LCST davranışı.....	72
3.29. Aşı kopolimerlerin, homopolimerin ve NaAlg'nin LCST değerleri.....	73
3.30. NaAlg-aşı-PDEAAm boş mikroküre, 5-FU ve 5-FU yüklü NaAlg-aşı- PDEAAm mikrokürelerin FTIR Spektrumları.....	75
3.31. 5-FU yüklü NaAlg-aşı-PDEAAm mikrokürelerin ve NaAlg-aşı-PDEAAm boş mikrokürelerin DSC termogramı.....	77
3.32. 5-FU'nun DSC termogramı.....	78
3.33. NaAlg, kopolimer ve mikrokürenin % hücre canlılığı-derişim değişimi.....	80
3.34. İkili boyama ile apoptotik ve nekrotik hücrelerin gösterilmesi.....	82

3.35. 5-FU, NaAlg-aşı-PDEAAm boş mikroküre ve 5-FU yüklü NaAlg-aşı- PDEAAm mikrokürelerin XRD sonuçları.....	84
3.36. NaAlg ve mikrokürelerin SEM görüntüleri.....	85
3.37. NaAlg mikrokürenin ve % 58 aşı yüzdeli mikrokürenin AFM görüntüsü.....	88
3.38. 5-FU'nun polimerler ile etkileşimleri.....	92
3.39. Aşı yüzdeleri farklı mikrokürelerden 5-FU salımı.....	94
3.40. Aşı yüzdeleri farklı mikrokürelerin % şişme derecesi-zaman değişimi.....	95
3.41. Polimer derişimi farklı mikrokürelerden 5-FU salımı.....	96
3.42. Polimer derişimi farklı mikrokürelerin % şişme derecesi-zaman değişimi.....	97
3.43. Farklı ilaç/polimer oranlarındaki mikrokürelerden 5-FU salımı.....	99
3.44. Farklı ilaç/polimer oranlarındaki mikrokürelerin % şişme derecesi- zaman değişimi.....	99
3.45. Farklı çapraz bağlayıcı yüzdesindeki mikrokürelerden 5-FU salımı.....	101
3.46. Farklı çapraz bağlayıcı yüzdesindeki mikrokürelerin % şişme derecesi- zaman değişimi.....	101
3.47. Farklı çapraz bağlama sürelerindeki mikrokürelerden 5-FU salımı.....	103
3.48. Farklı çapraz bağlama sürelerindeki mikrokürelerin % şişme derecesi- zaman değişimi.....	103
3.49. Farklı HCI derişimindeki mikrokürelerden 5-FU salımı.....	105
3.50. Farklı HCI derişimindeki mikrokürelerin % şişme derecesi- zaman değişimi.....	105
3.51. Sıcaklığın salıma etkisi.....	106
3.52. % 20 aşı yüzdeli mikrokürelerin farklı sıcaklıklardaki 5-FU salımları.....	108
3.53. % 20 aşı yüzdeli mikrokürelerin farklı sıcaklıklardaki % şişme derecesi- zaman değişimi.....	108

3.54. % 58 aşı yüzdeli mikrokürelerin farklı sıcaklıklardaki 5-FU salımları.....	109
3.55. % 58 aşı yüzdeli mikrokürelerin farklı sıcaklıklardaki % şişme derecesi- zaman değişimi.....	110
3.56. % 110 aşı yüzdeli mikrokürelerin farklı sıcaklıklardaki 5-FU salımları.....	111
3.57. % 110 aşı yüzdeli mikrokürelerin farklı sıcaklıklardaki % şişme derecesi-zaman değişimi.....	111
3.58. Farklı pH'lardaki formülasyonların salım sonuçları.....	113
3.59. Farklı pH'lardaki formülasyonların % şişme derecesi sonuçları.....	114
3.60. NaAlg'nin düşük (a) ve yüksek (b) pH'da şişmesinin şematik gösterimi.....	112
3.61. 5-FU'nun pH ile iyonize olması (a) ve bazik ortamdaki (b) mekanizması.....	115
3.62. % 20 aşı yüzdeli mikrokürelerin pH 1,2 (a), pH 5,5 (b), pH 7,4'te (c) 5-FU salımları.....	118
3.63. % 20 aşı yüzdeli mikrokürelerin pH 1,2 (a), pH 5,5 (b), pH 7,4'de (c) % şişme derecesi-zaman değişimi.....	119
3.64. % 58 aşı yüzdeli mikrokürelerin pH 1,2 (a), pH 5,5 (b), pH 7,4'de (c) 5-FU salımları.....	121
3.65. % 58 aşı yüzdeli mikrokürelerin pH 1,2 (a), pH 5,5 (b), pH 7,4'de (c) % şişme derecesi-zaman değişimi.....	122
3.66. % 110 aşı yüzdeli mikrokürelerin pH 1,2 (a), pH 5,5 (b), pH 7,4'de (b) 5-FU salımları.....	124
3.67. % 110 aşı yüzdeli mikrokürelerin pH 1,2 (a), pH 5,5 (b), pH 7,4'de (c) % şişme derecesi-zaman değişimi.....	125
3.68. NaAlg ve farklı aşı yüzdelerindeki mikrokürelerin şişme dereceleri değişimi.....	127

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE

Sayfa

1.1. Farklı geometrik şekiller için n değerleri ve ilaç salım mekanizmaları.....	15
1.2. Aljinatın kullanım alanları.....	21
2.1. Kullanılan kimyasal maddeler ve kaynakları.....	25
2.2. Kullanılan cihazlar, markaları ve analizlerin yapıldığı yerler.....	26
3.1. NaAlg-aşı-PDEAAm kopolimerlerin element analiz sonuçları.....	36
3.2. NaAlg ve kopolimerinin T _g değerleri.....	46
3.3. NaAlg ve kopolimerlerin % 50 kütle kaybı sıcaklıkları.....	51
3.4. NaAlg ve aşı kopolimerlerin mol kütlesi değişimleri.....	58
3.5. Mikrodalgasız ve mikrodalgada gerçekleştirilen aşılarda yüzdeleri değişimi.....	61
3.6. 5-FU içeren mikrokürelerin hazırlanma koşulları.....	90
3.7. Farklı formülasyonların kinetik hesaplamaları.....	129
3.8. Aynı pH'da gerçekleştirilen formülasyonların kinetik hesaplamaları.....	130

KISALTMALAR DİZİNİ

NaAlg	Sodyum Aljinat
PDEAAm	Poli(N,N-dietilakrilamid)
DEAAm	(N,N-dietilakrilamid)
KPS	Potasyum Persülfat
GA	Gluteraldehit
HCl	Hidroklorik asit
5-FU	5-Fluorourasil
FTIR	Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi
TGA	Termogravimetrik Analiz
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
XRD	X Işını Kırınımı
LCST	Alt Kritik Çözünme Sıcaklığı
UCST	Üst Kritik Çözünme Sıcaklığı
UV	Ultraviyole
L	Litre
mL	Mililitre
μ L	Mikrolitre
mg	Miligram
μ g	Mikrogram
μ m	Mikrometre
nm	Nanometre

1.GİRİŞ

Kontrollü ilaç salım teknolojisi geleneksel tedavi yöntemleriyle karşılaştırıldığında ilacın yan etkisini azaltarak biyoaktivitesini korur ve böylece tedavinin etkisini artırır. Kontrollü ilaç salım teknolojisi alışlagelmiş ilaç şekillerinin ortaya çıkardığı bazı sorunları çözmek ve yetersizliklerin giderilmesi amacıyla sıkça kullanılmaktadır. Doxorubicin ve 5-Fluorourasil gibi toksik özelliği fazla olan ilaçlar kontrollü ilaç salım teknolojisinde özel yere sahiptir [1].

Kontrollü salım yapan sistemlerde, etkin madde istenen doku veya organa hedeflendirilebilir. Etkin maddenin kandaki terapötik derişimi sağlanarak, bu derişim istenilen zaman aralığında sürdürülebilir. Bu sistemler ilaç hedef bölgeye gönderirken ilaç dozunu azaltma, dozlama aralığını uzatma, yan etkileri minimuma indirme gibi özellikler açısından avantaj sağlamaktadır [2, 3].

Çalışmada kullanılan NaAlg, kahverengi su yosunları gibi doğal ya da bakteriyel kaynaklardan elde edilebilen anyonik bir polisakkarittir [4]. pH'ya duyarlı, biyoyumlu ve düşük maliyetlidir [5]. Doğal polimerlerden olan polisakkaritler biyoyumlu ve biyobozunur özelliğe sahip olmalarından dolayı ilaç uygulamalarında sıkça kullanılmaktadır. Aljinat polimeri kolay elde edilir ve suda çözünerek jel haline gelme gibi özelliklerden dolayı ilaç taşıyıcı sistemlerinde önemli yere sahiptir [6].

Sıcaklığa duyarlı özellik gösteren Poli(N,N-dietilakrilamid) polimeri ilaç salım sistemlerinde tercih edilmektedir. PDEAAm alt kritik çözünme sıcaklığı (LCST)'na sahiptir ve yapısında bulunan hidrofilik/hidrofobik etkileşimler sayesinde ilacın sıcaklıkla kontrollü salımına imkan sağlar [7].

5-Fluorourasil, urasilin bir primidin analogu olan antineoplastik bir ajandır. Kolon, meme, mide ve pankreas kanserlerinin tedavilerinde kullanılmaktadır. 5-Fluorourasil timidilat sentaz aktivitesini inhibe ederek DNA hasarına neden olur. 5-Fluorourasil'in yarılanma ömrü 10-20 dakika arasındadır [8]. Yarılanma ömrü kısa olduğundan ilacın terapötik seviyede tutulması ve antitümör etki gösterebilmesi için yüksek dozda ilaç verilmesi gerekir. Toksik bir ilaç olması sebebiyle bu durum mide-bağırsak zehirlenmelerine, şiddetli kemik ağrılarına ve kanda ağır yan etkilere neden olabilmektedir [9, 10]. İlacın tümörlü bölge için seçici bir salım gerçekleştirilmesi ve aynı zamanda kan plazmasındaki derişimini uzun süre terapötik seviyede tutulması, biyopolimerler ile mikroküre/nanoküre haline getirilerek kontrollü salım sistemleri ile sağlanmaktadır [11].

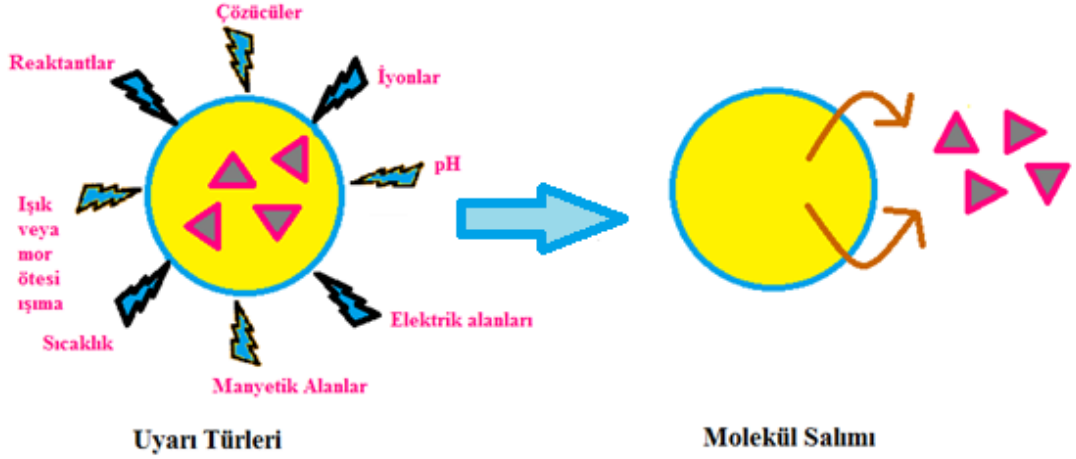
Tez çalışmasının ilk kısmında, sıcaklığa duyarlı PDEAAm ile pH'ya duyarlı doğal polimer NaAlg'nin kopolimerini mikrodalga destekli serbest radikalik katılma polimerizasyonu ile sentezlemek, optimum aşılama koşullarını belirlemek ve kopolimerlerin yapılarını aydınlatmak hedeflenmiştir.

Çalışmanın ikinci kısmında sentezlenen pH/sıcaklığa duyarlı akıllı kopolimerlerin kontrollü salım model uygulamasında kullanılabilirliği araştırılmıştır. Aşı kopolimerin 5-FU yüklü mikrokürelerinin sıcaklık kontrollü salım formları hazırlanmıştır ve ilaç/polimer oranı, çapraz bağlayıcı derişimi, çapraz bağlama süresi, polimer derişimi gibi değişik parametrelerde optimum salım koşulları belirlenmiştir. Mikrokürelere yüklenen toksik özellikteki 5-FU'nun vücut sıcaklığında salımını azaltarak ve daha uzun salım süresinde daha az ilaç kullanmak hedeflenmiştir.

1.1. Polimerik Maddeler

Doğal polimerik maddeler yiyeceklerin, giyeceklerin, yapı ve taşıt malzemesinin temel ögesidir. İnsanın günlük gereksinimlerinde yararlandığı hemen bütün maddeler, doğal organik ürünlerden sağlanır. Ağaç, et, kâğıt, yün, pamuk, ipek, deri, kauçuk gibi günlük yaşantıda kullandığımız bu maddelerin uzun bir çizelgesi yapılabilir. Bu tür maddelerin temeli olan doğal organik polimerler, selüloz, lignin, reçine, nişasta, proteinler v.b. bileşikler canlı evrenin ürünleridir ve büyük moleküllerden oluşurlar. Moleküllerinin büyük oluşu bu maddelerin son derece değişik ve üstün özellik göstermelerine yol açar [12]. Polimerik maddelerden dışarıdan gelen uyarılara karşı duyarlı polimerlerin uygulamaları son yıllarda artma göstermiştir [7]. Bu polimerler sıcaklık, pH, iyonik kuvvet, ışık ve elektrik alan gibi uyarılara yapısal farklılıklarla cevap verebilmeleri sayesinde pek çok biyomedikal uygulamalarda kullanılabilir. Uyarıya cevap veren polimerler bu özelliğinden dolayı akıllı polimerler olarak literatüre geçmişlerdir [8-14]. Uyarıya cevap; şekil, yüzey karakteristik özelliği, çözünürlük, akışkanlık gibi özelliklerde değişim şeklinde ortaya çıkabilir.

Şekil 1.1’de uyarılara duyarlı akıllı polimerlerin ilaç salımında kullanılması şematik olarak gösterilmektedir. Şekilde ilaç salım sistemlerinde kullanılan polimerik malzeme kimyasal bir uyarıya cevap olarak molekül salımını gerçekleştirmesi şematize edilmiştir.



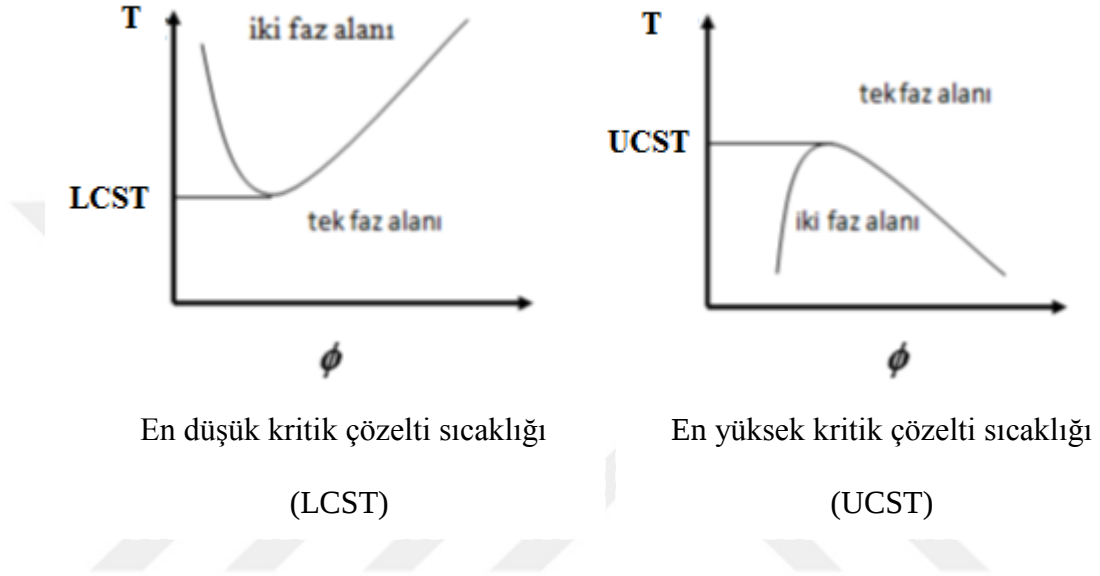
Şekil 1.1. Akıllı polimerlerin ilaç salımında kullanılması [15]

Uyarıya cevap verebilen polimerler cevap verdikleri uyarı türlerine göre aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir [16].

1.1.1. Sıcaklığa Duyarlı Polimerler

Sıcaklığa duyarlı polimerler sıcaklığa maruz kaldıklarında yapılarında tersinir bir değişim gözlenmektedir [17]. Bu tersinir değişim yavaş yavaş olabildiği gibi, ani bir değişim şeklinde de gözlenebilmektedir. Polimer çözeltisinin bir fazdan iki faza geçtiği sıcaklık kritik çözelti sıcaklığı olarak adlandırılır. Dış uyarının sıcaklık olmasıyla bu geçişin gerçekleştiği sıcaklık ise termodinamik olarak hacimsel faz geçişi olarak tanımlanır. Kritik sıcaklığın altında gerçekleşen hacimsel faz geçiş sıcaklığı, alt kritik çözelti sıcaklığı ‘‘LCST’’, üzerinde gerçekleşen hacimsel faz geçiş sıcaklığı, üst kritik çözelti sıcaklığı ‘‘UCST’’ olarak adlandırılmaktadır. Sonuç

olarak, sıcaklığa duyarlı polimerler kritik çözelti sıcaklığının altında veya üstünde hacimsel olarak ani değişiklik göstermektedir [18]. Şekil 1.2’de sıcaklığa duyarlı polimerlerin faz diyagramları değişimi gösterilmektedir.



Şekil 1.2. Sıcaklığa duyarlı polimerlerin faz diyagramları [18]

LCST sıcaklığına sahip polimerler, sıcaklığın artması ile hidrofilikten hidrofobikliğe geçiş gösterirken, UCST özelliğine sahip polimerler bunun tam tersi özellik gösterirler. UCST özelliği sergileyen polimerler ilaç salım sistemlerinde ilaç moleküllerine ve biyomoleküllere zarar getirebileceğinden tercih edilmemektedir. Poli(N-izopropilakril amid), poli(N,N-dietilakrilamid), poli(vinil-eter), poli(N-vinilalkilamid), poli(N-vinilkaprolaktam), polifosfazen türevleri, poli(N-(2-hidroksipropil) metakrilamid mono/di laktat) LCST özelliği gösteren bazı polimerlerdir [19].

Çapraz bağı sıcaklığa duyarlı hidrojel­ler oda sıcaklığında suda çözünmeksizin su absorplarlar, ısıtıldıklarında LCST değeri­nin üzerinde aldıkları suyu bırakırlar. Bir jelin en önemli özelliği çözücü absorplama kapasitesi olduğundan, bir dış uyarı uygulamak suretiyle jelin absorpladığı çözücü miktarını kontrol etme olanağı, bu maddelerin teknolojik açıdan kullanımının genişlemesine yol açmıştır [20].

Sıcaklık duyarlı polimerlerin ortak özelliği, polimer yan gruplarındaki, hidrofilik ve hidrofobik grupların bir denge içinde olmasıdır. Sıcaklığın neden olduğu faz ayrılması, hidrofobik gruplar arasındaki etkileşimden kaynaklanmaktadır. Düşük sıcaklıklarda, polimerdeki hidrofilik gruplar ile su molekülleri arasında oluşmuş kuvvetli hidrojen bağları polimerin suda çok iyi çözünmesini sağlar. Sıcaklığın artmasıyla birlikte, hidrofobik yan gruplar arasındaki hidrofobik etkileşimler artarken hidrojen bağları zayıflar. LCST'nin üzerindeki sıcaklıklarda, hidrofobik gruplar arasındaki etkileşimler baskın gelir ve polimer zincirlerinde entropinin neden olduğu çökme (collapse) ve faz ayrılması gözlenir. Polimer zincirlerinin hareketlerinde azalma, polimerin hidrofobik grupları etrafında yüksek bir düzen içinde yapılanmış su moleküllerinin yerlerinden ayrılması sonucu entropi artar. Eğer sıcaklık duyarlı polimerin hidrofilik içerikleri artırılır veya azaltılırsa, polimer çözeltisinin LCST değeri, sırasıyla artar veya azalır. Hidrofobik monomerlerin katılmasıyla LCST'nin düştüğü, hidrofilik monomerlerin katılmasıyla da LCST'nin arttığı izlenmiştir [21].

1.1.2. pH'ya Duyarlı Polimerler

pH'ya duyarlı polimerler ile ilgili çalışmalar ilk olarak 1955 yılında akrilik ve metakrilik asit esaslı hidrojellerin, ortamın pH'sının değişmesi sonucu şişme denge değerlerinin değişmesinin gözlenmesiyle başlamıştır [22]. pH'ya duyarlı polimerler yapılarında iyonlaşabilen fonksiyonel gruplar sayesinde pH'daki değişmeye cevap verebilen polimerlerdir. Bu grupların varlığıyla, ortamın pH'sındaki değişme sonucu polimerin iyonizasyonu ve özellikleri değişir. Gastrointestinal salım sistemlerinde pH'ya duyarlı polimerlerin uygulamaları kullanılmaktadır [23].

pH'ya duyarlı polimerler yapılarında karboksil gibi iyonlaşabilen fonksiyonel gruplar bulundurlar. Bu iyonlaşabilen gruplar sayesinde polimerin şişme değerlerinde değişiklikler oluşur [23].

1.1.3. Uyariya Duyarlı Diğer Polimerler

Uyariya duyarlı olan diğer polimer şekilleri aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir [24].

- Biyokimyasal maddelere duyarlı polimerler
- Elektrik alana duyarlı polimerler
- Manyetik alana duyarlı polimerler
- Işığa duyarlı polimerler

1.2. Polimerlerde Moleküller Arası Etkileşimler

Atomları kovalent bağlar ile birbirine bağlanmış olan polimer moleküllerinde birincil kuvvetlerden sonra, moleküller arasında etkin olan bazı ikincil kuvvetlerin varlığı deneysel olarak kanıtlanmıştır. Bunlar genellikle atomlar arasında değil moleküller arasında etkin olan hidrojen bağları ve moleküller arası çekme-itme kuvvetleridir [25].

1.2.1. Hidrojen Bağları

Hidrojen bağları moleküller arası etkin kuvvetlerin en önemlisi ve gerçek kimyasal bağlara en çok benzeyenidir. Hidrojen bağları proteinler gibi doğal polimerlerde dahil elektronegatif bir atoma bağlı hidrojen bulunan tüm polimerler için çok önemlidir. Canlılardaki birçok prosesin temelini oluşturur [25].

Hidrojen bağı, aynı ya da farklı polimer molekülünde bulunan iki farklı fonksiyonel grup arasında oluşur. Hidrojen bağının oluşmasında rol alan hidrojen atomu genellikle proton verici bir asidik gruba bağlanır. Hidrojen bağı yapacak olan hidrojen atomunun kendisi de genellikle karbonil, eter veya hidroksillerdeki oksijen gibi veya amit ve aminlerdeki azot gibi bazende halojenler gibi bazik gruplarda bulunur. Öyleyse bu fonksiyonel grupları içeren tüm polar polimer molekülleri arasındaki önemli yapısal etkilerin kaynağı hidrojen bağlarıdır [25].

1.2.2. Moleküllerarası Kuvvetler

Hidrojen bağından sonra polimerlerin fiziksel özelliklerini etkileyen ikincil kuvvetler van der Waals kuvvetleri de denilen dipol kuvvetleri, indüksiyon kuvvetleri ve dispersiyon kuvvetleridir [25]. Dipol kuvvetleri, sürekli dipol momente sahip polar gruplar arasında dipol-dipol etkileşmelerine neden olur. Sıcaklığa çok bağlıdır. İndüksiyon kuvvetleri, polar bir grubun etkisi ile sürekli dipol momentine sahip olmayan apolar gruplarda meydana gelen geçici dipoller arasındaki küçük ve sıcaklığa bağlı olmayan kuvvetlerdir. Dispersiyon kuvvetler de polar olmayan moleküllerde elektron ve çekirdeklerin kısa süreli farklı konumlarda bulunmalarından kaynaklanan dalgalanmalar nedeniyle komşu atomların elektron bulutlarındaki bozulmaların neden olduğu kuvvetlerdir. Apolar moleküllerde sadece dispersiyon kuvvetleri bulunur. Bu kuvvetlerde indüksiyon kuvvetleri gibi sıcaklığa bağlı değildir [25].

1.3. Polimerik Maddelerin Kontrollü İlaç Salımında Kullanımı

Kontrollü ilaç salım sistemleri, ilaç dozunu minimuma indirmek, dozlama periyodunu uzatmak, hastanın yan etkilerden etkilenmemesini sağlamak amacıyla son yıllarda sıkça kullanılmaktadır [3]. İlaç salımını kontrol etmenin amacı daha etkin bir tedavi yöntemi sağlamaktır. Bu kontrol, ilacın kana karışmasından sonra kandaki etkin madde seviyesinin terapötik bölge aralığında kalmasının sağlanması şeklindedir [2, 26].

Kontrollü salım formülasyonları tasarlanırken göz önünde bulundurulması gereken faktörler önemlidir. Optimum dozaj formu (dozaj formu ve vücut arasındaki

karşılıklı etkileşimler), ilacın özellikleri (molekül ağırlığı, kararlılık, çözünürlük), uygulama yolu (oral, pulmoner, transdermal, parenteral, implant), taşıyıcı araç (polimer, hücre, doku), biyouyumluk (dozaj formu ve vücut arasındaki karşılıklı etkileşimler), hedeflendirme (organ, doku, hücre, hücre bileşeni) ve salım mekanizması (salım süresi) gibi faktörlere bağlıdır [27]. Öncelikle kullanılış yolu değerlendirilir. Etkin maddeler değişik yollarla vücuda verilirler. Oral, nazal, bukal, oküler, rektal ve vajinal yollar dışında enjeksiyon ve transdermal yollar kullanılır. Her kullanılış yolunun kendine ait avantaj ve dezavantajları vardır. Doğru seçimin yapılmasına etkin maddenin cinsi, dozu ve etki süresi önemli rol oynar [28].

Uzun yıllar ilaç alanındaki çalışmaların başlıca amacı, çeşitli hastalıkları tedavi edici yeni bir molekül geliştirmek olmuştur. Ancak bu araştırmaların uzun zaman alması, ekonomik yükü ve her zaman beklenen sonucu vermemesi alternatif arayışları başlatmıştır. Bu arayıştaki amaç hastanın tedavisi yanı sıra yaşam kalitesini arttırmaktır. İlaç dozunu azaltma, dozlama aralığını uzatma, yan ve zararlı etkilerden arındırma hatta ilacı hedef bölgeye gönderme çalışmaları bu amaca yöneliktir ve bu beklentilere en iyi yanıt veren kontrollü salım sistemleridir [28].

Kontrollü salım sistemlerinde kullanılan polimerler;

- Suda çözünebilir
- Biyolojik olarak parçalanabilen
- Biyolojik olarak parçalanmayan

polimerler olarak üç ana grupta incelenebilir [28].

1.4. Kontrollü Salım Sistemlerinin Klasik Dozaj Şekillerinden Üstünlükleri

Etkin maddenin plazma düzeyinin belirlenen süre sabit kalması: Alışılmış dozaj şekillerinde ilacın plazma düzeyinin etkili dozda tutabilmek için ilacın sık sık alınması gerekmektedir. Örneğin, alışılmış dozaj şekli alındıktan bir süre sonra etkin maddenin plazma konsantrasyonu yükselmeye başlar ve 3-4 saat gibi kısa bir süre sonra konsantrasyon düşer ve yeni bir doz alınarak etkin madde plazma düzeyi etkili alanda tutulur ve bu işlem birçok defa tekrarlanarak tedavi sağlanabilir [28]. Fakat bütün bu tedavi sırasında plazma düzeyi toksik alana çıkabilir veya etkisiz alana düşebilir. Oysa kontrollü salım sistemlerinde belirli doz alındıktan sonra etkin madde plazma düzeyi istenilen süre (10-12 saat, bir gün, bir hafta veya bir yıl) sabit kalır ve böylece hasta sık sık ilaç almaktan kurtulur ve plazmanın etkin madde düzeyi değişmediği için başarılı bir tedavi oldukça düşük doz ile sağlanabilir [28].

Düşük dozlarla tedavi sağlanabilmesi dolayısıyla etkin maddenin yan ve toksik etkilerinin çok azalması veya tamamen ortadan kalkması: Toksik ve yan etkisi çok fazla olan ve kontrollü salım sistemleri içinde verilebilen ilaçlar örneğin, antikanser ilaçlarda bu etki çok belirgindir [28].

İn vivo yarılanma ömrü kısa olan etkin maddenin parçalanmasının önlenmesi ve yarılanma ömrünün uzaması: Kontrollü salım sistemi ile verilen etkin madde kapalı bir sistem içinde olduğu için bulunduğu ortam koşullarından etkilenmez. Kontrollü salım sistemleri bir bilgisayar gibi önceden programlanan hız ve düzeyde salım yaparlar ve ortam şartlarından etkilenmezler. Bu durum hastalar arası farklılıkları en aza indirir. Oysa alışılmış dozaj şekilleri bulundukları ortamdan etkilenirler [28].

Kontrollü salım sistemlerinin hedeflendirilebilmesi: Etkin madde tedavisi istenilen bölgeye, organa, dokuya veya hücreye gönderilebilmektedir [28].

Hastaların yaşam kalitesinin artması ve hasta bakımının kolaylaşması: Tedavi sırasında etkin maddenin yan ve toksik etkilerinin görülmemesi, sık sık ilaç alınmasına gereksinim olmaması hastaya ve hasta bakımını yapan kişilere büyük kolaylık sağlar. Çoğu kez hasta kendi bakımını sürdürebilir. Tedavinin kolay ve düzenli olması sağlanmış olur [28].

1.5. Kontrollü Salım Sistemlerinin Sakıncaları

Kontrollü salım sistemleri bugün birçok hastalığın tedavisinde başarıyla uygulanmaktadır. Ancak bu sistemlerin yararları yanı sıra sakıncaları da vardır:

Polimerlerin kendisinin veya parçalanma ürününün toksik etki ve biyolojik uyumsuzluk gösterme ihtimali: Kontrollü salım sistemlerinden birçoğunun yapıtaşı polimerlerdir ve ilaç salım hız ve süreleri polimerlerle ayarlanır. Kullanılış yoluna, amaca ve ilacın özelliklerine göre bir veya birkaç polimer kullanılarak sistem hazırlanır. Her ne kadar sistemler hazırlanmadan önce polimerlerle ilgili gerekli kontroller yapılsa da polimer yapı ve metabolitleri sorun çıkarabilir [28].

Sistemin vücuda verildikten veya yerleştirildikten sonra istenildiği an ilaç salımının durdurulamaması: İmalat sırasında veya sonrası oluşmuş problemler dolayısıyla sistemin güvenilirliğinin garanti edilememesi gibi ihtimaller söz konusu olabilir [28].

Polimer veya sistemin formülasyonu için gereken harcama fazla olabilir: Her ilacın kontrollü salım sistemi hazırlanamayacağı gibi, her ilaca uygun tek bir hazırlama yöntemi olmamasıdır [28].

1.6. Kontrollü Salım Sistemlerinin Kinetiği

Kontrollü salım sistemlerinin salım kinetiğini inceleyen matematiksel modeller genellikle Fick difüzyon eşitliği ile hesaplanmaktadır [29, 30].

Sıfırıncı derece kinetik: Matematiksel olarak sıfır derece hız ifadesi aşağıdaki eşitlikle hesaplanmaktadır:

$$-\frac{dC}{dt} = k_0$$

Bu ifadenin $0 \rightarrow t$ arasında integrali alındığında aşağıdaki eşitlik elde edilmektedir.

$$C_t = C_0 - k_0 t$$

Bu eşitlikte; C_t , salımda t anındaki çözünmeden kalan etken madde miktarı; C_0 , başlangıçtaki etken madde miktarı; k_0 ise sıfırıncı derece çözünme hız sabitini göstermektedir. Sıfırıncı dereceden kinetik hesaplama için t 'ye karşı C değerleri grafiğe geçirildiğinde eğimi k_0 olan bir doğru elde edilir ve bu kinetiğe göre her bir zaman aralığında salım ortamına geçen etken madde miktarı sabittir. Kontrollü salım

ve sürekli salım yapan dozaj formlarının bu tip çözünme kinetiğiyle uyumlu olması beklenmektedir [29, 30].

Birinci derece kinetik: Matematiksel olarak birinci derece hız ifadesi aşağıdaki eşitlikle hesaplanmaktadır:

$$- \frac{dC}{dt} = kC$$

Bu ifadenin $0 \rightarrow t$ arasında integrali alındığında aşağıdaki eşitlik elde edilmektedir.

$$\ln C_t = \ln C_0 - k t$$

Bu eşitlikte; C_t , t anında salınmadan kalan etken madde miktarı; C_0 , başlangıçtaki etken madde miktarı; k ise birinci derece çözünme hız sabitidir. Birinci dereceden kinetik hesaplama için $\ln C$ değerleri t 'ye karşı grafiğe geçirildiğinde eğimi k_0 olan bir doğru elde edilir ve bu kinetiğe göre zamana bağlı olarak çözeltiye geçen etken madde miktarı üssel şekilde azalmaktadır. Klasik dozaj şekillerinin çoğu ve uzatılmış etkili salım yapan sistemler bu tür salım kinetiğine uymaktadırlar [29, 30].

Peppas eşitliği: İlacın salımı gerçekleşmeden önce etken madde polimer içerisinde dağıtılmış ya da çözünmüş olarak bulunmaktadır. İlaç katı polimerden dışarı difüzenemez. Ancak çözücü molekülleri polimerik matrikse girince polimer şişer ve şişen polimer ilacın difüzyonuna izin verir [31].

Çözücü difüzyonuyla aynı anda fakat ters yönde oluşan ilaç salımı Peppas tarafından deneysel olarak aşağıdaki şekilde ifade edilmiştir [31].

$$M_t / M_{\infty} = k t^n$$

Bu eşitliğin logaritmasını aldığımızda, aşağıdaki eşitlik elde edilir,

$$\log (M_t / M_{\infty}) = \log k + n \log t$$

Bu eşitlikte; M_t , t zamanında toplam salım miktarını; M_{∞} , dengeye ulaştığı zamandaki toplam salım miktarını; k, sistemin geometrik karakteristikleri ile ilgili hız sabiti; n ise ilaç salım mekanizmasını belirten difüzyonal sabittir. Bu eşitlik salım mekanizması göz önüne alınmaksızın tabaka, silindir, küre ve disk gibi farklı geometrik şekillere sahip sistemlerden etkin madde salımını tanımlamaktadır ve etkin madde salımının % 60'lık ($M_t/M_{\infty} \leq 60$) ilk kesri için geçerlidir [32].

Farklı geometrik şekiller için n parametresinin değerleri ve bu değerlerin hangi salım mekanizmalarına uyduğu Çizelge 1.1'de gösterilmektedir [32].

Çizelge 1.1. Farklı geometrik şekiller için n değerleri ve ilaç salım mekanizmaları

Film	Silindir	Küre	İlaç taşınma Mekanizması
0,5	0,45	0,43	Fick difüzyonu (Durum I)
$0,5 < n < 1$	$0,45 < n < 0,89$	$0,43 < n < 0,85$	Fick difüzyon yasasına uymayan (Anormal geçiş)
1	0,89	0,85	Durum II

Ayrıca mikrokürelerden ilaç salımı için difüzyon katsayısı aşağıda belirtilen eşitlik ile hesaplanır. Eşitlikte belirtilen θ , $M_t/M_{\infty} - \sqrt{t}$ grafiğinin eğimi; r,

mikrokürelerin yarıçapları; M_{∞} ise mikrokürelerden sonsuz zamanda salınabilecek maksimum ilaç miktarıdır [33, 34]

$$D = \left(\frac{r\theta}{6M_{\infty}} \right)^2 \pi$$

1.7. Aşı Kopolimerizasyon

Polimerlerin kullanım alanlarının genişlemesini sağlayan en önemli özelliklerden birisi de onların değişik işlemlerle özelliklerinin değiştirilebilmesidir. Bu durum onların bazı kullanım alanları için yetersiz kalan özelliklerini iyileştirebilme imkanı sağlar. Bir polimer molekülünde aktif bölgelerden farklı bir monomerin polimerleşmesiyle aşı kopolimer meydana gelir [25]. Çoğu aşı kopolimerleri radikalik zincir polimerleşmesi ile meydana getirilir. Birçok örnekte, transfer tepkimesi bir hidrojen atomunun koparılmasını gerektirir. Ayrıca UV veya iyonlaştırıcı ışınlar ile redoks başlatıcıları kullanarak aşı kopolimeri oluşturacak polimer radikallerin üretilmesi sağlanabilmektedir [25].

İki ya da daha çok monomer birimlerinin bir polimer içinde bağlanması olayına kopolimerizasyon, böyle bir reaksiyonla elde edilen ürüne ise kopolimer denir. Çeşitli kopolimer moleküllerinde ve hatta bir tek kopolimer molekülünün değişik kısımlarında farklı monomer birimlerinin sayılarının birbirlerine göre hep aynı oranda olması zorunlu değildir. Ancak kopolimerler, iki çeşit homopolimerin bir karışımı değildir ve her kopolimer molekülünde farklı monomer birimleri birbirine kimyasal bağlarla bağlanmışlardır [35].

Kopolimerleşme ve kopolimer tanımında sentezde kullanılan monomer sayısından daha çok polimer molekülünde yer alan tekrarlanan birimlerin yapısı dikkate alınmalıdır. Molekül formülünde iki farklı kimyasal yapıya sahip tekrarlanan birim bulunan polimerler kopolimer, üç farklı kimyasal yapıya sahip tekrarlanan birim bulunan polimerlere de terpolimer denir. Bu tanım hem basamaklı hem de zincir polimerleşme mekanizmasında geçerli bir tanımdır [25].

1.7.1. Mikrodalga Fırında Gerçekleştirilen Aşı Kopolimerleşme

Mikrodalgalar elektromanyetik spektrumunda 300 MHz ile 300 GHz frekans aralığındaki ışınları içerir. Hidroksil, amino, karboksilik asit ve üronik asit gibi polar gruplar içeren guar gam, selüloz ve aljinat gibi polisakkaritlerin aşı kopolimerleri mikrodalga ışınlarıyla gerçekleşebilmektedir. Mikrodalga ışınları kullanılan aşı kopolimerleşmenin klasik yöntemlere göre daha kısa sürede gerçekleşmesi büyük avantaj sağlar. Klasik ısıtma ile gerçekleşen aşılamalarda mikrodalga ile gerçekleşen aşılamalara göre düşük aşı yüzdeleri elde edilmektedir [36].

Mikrodalga enerjisi ısıtılmak istenen ortamın her tarafına eşit olacak şekilde etki eder ve sadece ısıtılmak istenen maddenin kendisinin ısıtılmasıyla enerji tasarrufu sağlanır [37]. Mikrodalga ısıtmasını gerçekleştirebilmek için reaksiyon karışımındaki bileşenlerden birinin mikrodalgayı absorblaması gerekir ve reaksiyonun gerçekleştirildiği kap borosilikat camı, kuvarz, teflon gibi mikrodalga ışınını geçirgen maddelerden yapılmış olmalıdır [38]. Bilgisayar kontrollü mikrodalga fırınlarının üretilmesiyle geleneksel yöntemlerle gerçekleştirilen birçok

reaksiyon mikrodalga ısıtma ile daha kısa sürelerde gerçekleştirilmiş ve yüksek verimli reaksiyonlar elde edilmiştir [39].

Geleneksel yöntemlerle kıyaslandığında, mikrodalga yöntemiyle gerçekleşen reaksiyonlarda ısıtma işlemi çok daha hızlıdır ve ısıtma hızı kolaylıkla değiştirilebildiği için ısı kontrolü de daha kolaydır [40].

Mikrodalga yöntemiyle ısıtmanın avantajları şu şekilde sıralanabilir:

-Geleneksel yöntemler ile dıştan içe bir sıcaklık geçişi oluşarak ısıtma sağlanırken, mikrodalga ile homojen bir ısınma sağlanabilmektedir

-Mikrodalga reaksiyon kabını ısıtmadan sadece istenen reaksiyon karışımını eş zamanlı olarak ısıttığı için ısı kaybına neden olmaz. Reaksiyon kabı ısınmadığı için reaksiyon sistemi etrafında soğutma veya izolasyona gerek kalmaz.

-Reaksiyon sıcaklığının kontrolü oldukça hızlı yapılabilmektedir ve gerektiğinde anında müdahale edilerek sıcaklık değiştirilebilir.

-Geleneksel yöntemlerle gerçekleştirilemeyecek reaksiyonların, mikrodalga ile gerçekleştirilme imkanı vardır.

-Reaksiyon kabı ısınmadığı için aşırı ısınmalara veya yanmalara neden olmamaktadır.

-Bazı kimyasal reaksiyonlar ve fiziksel işlemler hızlandırılabilir. Mikrodalga ile ısıtma kurutma, ergitme, jelleşme ve benzeri reaksiyonlar için idealdir.

-Mikrodalga ile yapılan reaksiyonlarda sıcak hava sirkülasyonu, infrared ve vakum sistemleri ile birlikte çalışma imkanı bulunmaktadır. Sirküle eden sıcak havayla yüzeye yakın olan suyun kütleden uzaklaştırılması sağlanmaktadır. Reaksiyon karışımının ortasında serbest hale gelen su buharının dışarıya difüzyonu daha kolay olmaktadır.

-Çözücüsüz ortamda da çalışma imkanı sağladığı için, oluşan ürünlerin saflaştırılması da kolaylaşmaktadır ve bu tip reaksiyonlar temiz kimya (Green Chemistry) sınıfına girmektedirler.

-Reaksiyon süresi kısaldığı için zaman tasarrufu sağlamaktadır [40].

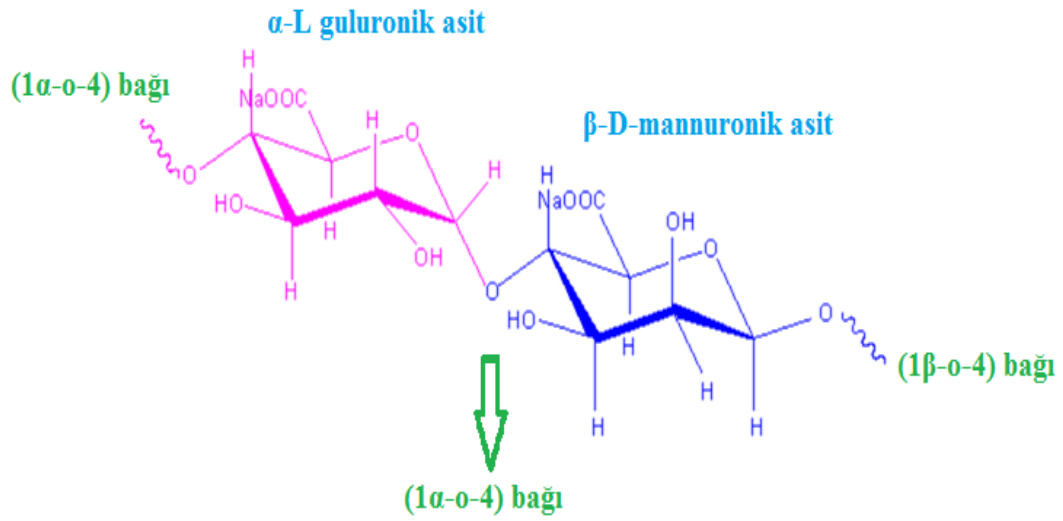
1.8. Mikroküre Sistemleri

Çapları birkaç μm 'den birkaç mm 'ye kadar değişen, katı, küresel partiküler sistemlerdir [28]. Mikrokürelerin pek çok avantajları bulunmaktadır. Özellikle boyutları, yoğunlukları, yüzey ve yığın yapısı, gözenekliliği olması açısından sıklıkla kullanılmaktadır. Mikrokürelerin kullanım alanlarının başında farmasötik olarak etken maddenin ilaç taşıyıcı sistem olarak hazırlanarak kullanılması gelir. Mikrokürelerin en önemli uygulama alanlarından birisi de fiziksel ya da kimyasal olarak istenen hücre, doku veya organa hedeflendirilebilmeleridir [41].

Mikroküre hazırlarken kullanılan mikrokürelerin belli özellikte olmaları gerekir. Hazırlanan mikroküre etken maddeyi kontrollü bir şekilde salmalı, etken maddenin yapısını ve aktivitesini değiştirmemeli, etken maddeyi hedef organ, doku ve hücreye taşınması sırasında hedefe ulaşana dek etken maddeyi korumalıdır. Ayrıca düşük dozda ilaç kullanımına olanak sağlamalı, *in-vitro* ve *in-vivo* çalışma koşullarına dayanıklı olmalı, biyo-uyumlu olmalı, biyolojik olarak parçalanabilmeli ve parçalanma ürünleri toksik olmamalıdır. Mikrokürelerin uzun bir raf ömrüne sahip olmaları da saklama koşulları açısından önemlidir [28].

1.9. Sodyum Aljinat (NaAlg)

Sodyum Aljinat, α -L-guluronik asit ve β -D-mannuronik asitin kopolimerinden meydana gelen polianyonik lineer polimerdir. Biyouyumlu, biyobozunur ve toksik özellik göstermeme gibi özelliklere sahiptir [6]. Aljinatı oluşturan bu iki sakkarit blokları değişik boyutlardadır ve birbirini izleyen şekilde oluşabileceği gibi rastgele bloklar şeklinde de oluşabilmektedir [42]. Aljinatlar kahverengi deniz yosunlarından elde edilir ve kontrollü salım sistemlerinde tercih edilen polimerler arasındadır [43]. Şekil 1.3'te Sodyum Aljinat'ın yapısı belirtilmiştir. Endüstriyel amaçlar için sıklıkla tercih edilen Aljinatın Çizelge 1.2'de bazı kullanım alanları belirtilmiştir.



Şekil 1.3. NaAlg'nin kimyasal yapısı

Polisakkarit sınıfındaki doğal polimerlerin avantajlarının yanı sıra bu polimerlerin zayıf mekanik dayanım ve mikrobiyal kirlenme gibi dezavantajları da

vardır. Bu dezavantajlardan kurtulabilmek için polimerlere başka polimerlerin aşılması veya karıştırılması ile kimyasal olarak modifiye edilerek doğal matrisler hazırlanmaktadır [44].

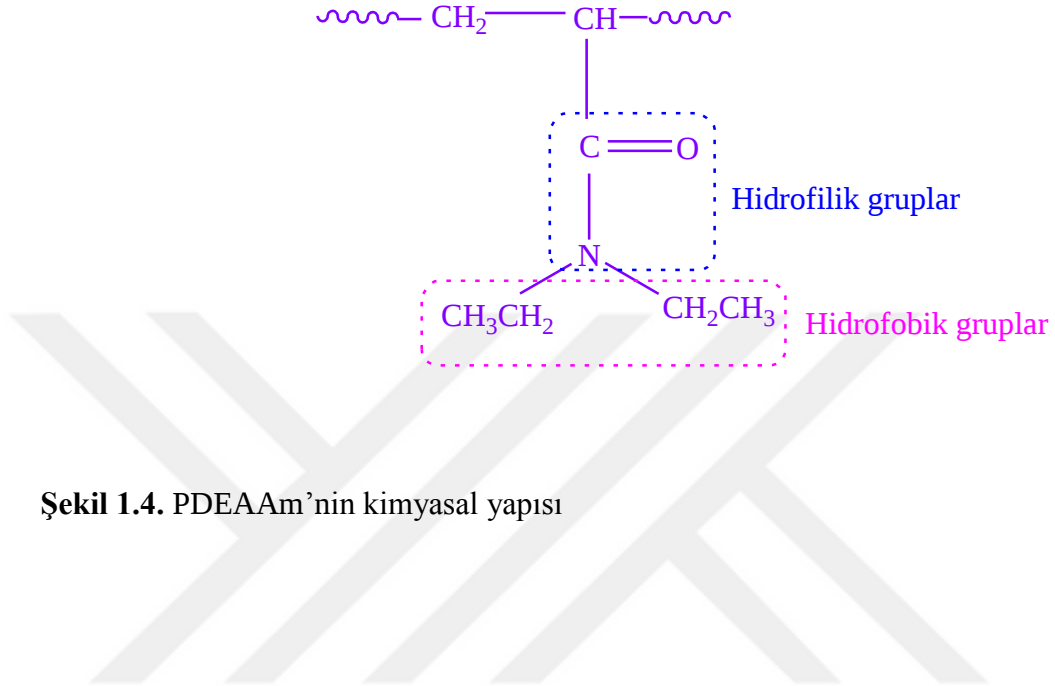
Çizelge 1.2. Aljinat'ın kullanım alanları [42]

Uygulama alanı	Fonksiyonu
Yiyecek içecek endüstrisi	Stabilizatör, kalınlaştırıcı
Etanol endüstrisi	Maya hücrelerini kapsülleme materyali
Hücre kültürü ve organ nakli	Kapsülleme materyali
Dişçilik	Kalıp
Tabletler	Yapıştırıcı madde, sürekli-salın
Yara bandı	Kan tutucu
Kumaş endüstrisi	Kalınlaştırıcı
Kağıt	Yapıştırıcı, doldurucu madde
Diş macunu	Stabilizatör, kalınlaştırıcı

1.10. Poli (N,N-dietilakrilamid)

Şekil 1.4'te Poli(N,N-dietilakrilamid)'in kimyasal yapısı gösterilmiştir. Poli(N,N-dietilakrilamid) sıcaklığa duyarlı olan hidrofilik amid grupları ve hidrofobik dietil yan gruplara sahip bir polimerdir [45, 46]. Bu grupların sıcaklığa duyarlılıkları polimerin yapısındaki hidrofilik/hidrofobik grupları arasındaki hassas denge sayesinde. Düşük sıcaklıklarda polimer yapısındaki hidrofilik grupların kendilerini çevreleyen su molekülleri ile güçlü hidrojen bağları oluşturmaktadır. Sıcaklığın artmasıyla hidrofobik etkileşimler ile hidrojen bağlarını kırılacak ve polimerik yapıda çökme gerçekleşecektir [47, 48, 49]. Sıcaklığa duyarlı polimerlerin hidrofilik içerikleri artırılır veya azaltılırsa, polimer çözeltisinin LCST değeri,

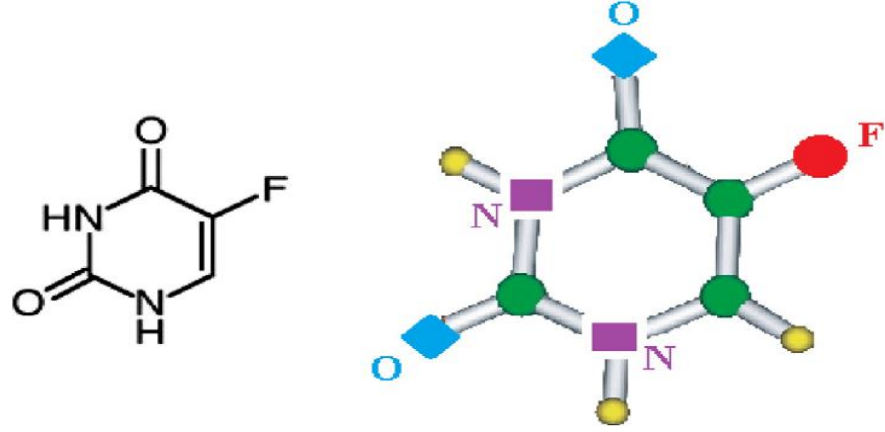
sırasıyla artar veya azalır. Literatürde polimer sistemlerine hidrofobik monomerlerin katılmasıyla LCST'nin düştüğü, hidrofilik monomerlerin katılmasıyla da LCST'nin arttığı belirtilmektedir [50].



Şekil 1.4. PDEAAm'nin kimyasal yapısı

1.11. 5-Fluorourasil (5-FU)

Şekil 1.5'de 5-Fluorourasil'in açık kimyasal formülü belirtilmiştir. Urasilin C-5 formülasyonundaki hidrojenin yerinde flor olan beyaz kristalin bir ilaçtır. Kapalı formülü $\text{C}_4\text{H}_3\text{FN}_2\text{O}_2$, IUPAC ismi 5-floro-1H,3H-pirimidin-2,4-dion'dur. Molekül kütlesi 130,08 g/mol, erime noktası genellikle 282-283 °C arasındadır ve pK_a değeri 7,98'dir [51, 52].



Şekil 1.5. 5-FU'nun kimyasal yapısı [8]

5-Fluorourasil florlanmış bir pirimidin analogudur. Yapılan çalışmalarda tümör hücrelerinin, normal hücelere göre pirimidin bazı olan urasili daha fazla kullandığının tespit edilmesi üzerine sentezlenmiş ve ilaç haline getirilmiştir [53]. 5-Fluorourasil; asidik, hidrofilik karakterli, solid tümör tedavisinde kullanılan antineoplastik ajandır [54]. Kolon, mide, meme ve pankreas kanserlerinin tedavisinde kullanılan metabolizmada kısa yarılanma ömrüne sahip kemoterapötik bir ilaçtır [55]. 5-Fluorourasil'in yarılanma ömrü 10-20 dakika arasındadır. Yarılanma ömrü kısa olduğundan ilacın terapötik seviyede tutulması ve antitümör etki gösterebilmesi için yüksek dozda ilaç verilmesi gerekir. Toksik bir ilaç olması sebebiyle bu durum mide-bağırsak zehirlenmelerine, şiddetli kemik ağrılarına ve ağır yan etkilere neden olabilmektedir [8, 9, 10].

5-Fluorourasil antitümör etkisini RNA sentezi ve fonksiyonunun inhibisyonu, timidilat sentaz aktivitesinin inhibisyonu ve DNA içine yerleşmek ve DNA kol kırıklarına yol açmak şeklinde gösterir [56]. 5-Fluorourasil, DNA replikasyonunda

deoksiribon kleotidler için gerekli olan timidilat sentaz aktivitesini inhibe ederek timini t k tir ve DNA'da deoksiüridin trifosfatla birleşerek hücre ölümüne neden olur. Timin sentezi bozulunca DNA sentezini yapılamaz hale gelir. Ayrıca Fluorourasil'den oluşan fluorouritidat RNA sentezine katılarak protein sentezini de engeller [57, 54].



2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Kimyasal Maddeler

Çizelge 2.1’de kullanılan kimyasal maddeler ve temin edildikleri firmalar belirtilmiştir. Kimyasal maddelerden (N,N-dietilakrilamid) monomeri distillendikten sonra, diğer kimyasalların hepsi alındığı halleriyle kullanılmıştır.

Çizelge 2.1. Kullanılan kimyasal maddeler ve kaynakları

No	Kimyasal Maddeler	Kaynak
1	Sodium aljinat (% 2’lik çözeltisinin, 25°C’deki viskozitesi 3500 cps), N,N,N’,N’-tetrametiletildiamin (TEMED), tetrahidrofuran (THF), aseton, 5-Fluorourasil	Sigma Aldrich
2	(N,N-dietilakrilamid)	TCI
3	Potasyum peroksidisülfat, gluteraldehit ($\text{HOC}(\text{CH}_2)_3\text{COH}$) %25 (v/v) sulu çözeltisi, hidroklorik asit	Merck
4	Monohidrojen fosfat (Na_2HPO_4), Monosodyum dihidrojen fosfat (NaH_2PO_4)	Fluka

2.2. Cihazlar

Çizelge 2.2’de deneysel çalışmalarda kullanılan cihazların markaları/modelleri ve analizlerin yapıldığı yerler belirtilmiştir.

Çizelge 2.2. Kullanılan cihazlar, markaları ve analizlerin yapıldığı yerler

No	Cihaz Adı	Marka, Model	Analizin yapıldığı yer
1	FTIR Spektrofotometresi	Bruker Vertex 70v, USA	Kırıkkale Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı
2	Termogravimetrik Analiz (TGA)	TA TGA Q 500, USA	Kırıkkale Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı
3	Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC)	TA DSC Q 2000, USA	Kırıkkale Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı
4	Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	Jeol, JSM 5600, JAP	Kırıkkale Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı
5	Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM)	Veeco, Multi Mode V, USA	ODTÜ Merkez Laboratuvarı
6	X-Işını Difraksiyonu (XRD)	Rigaku, Ultima IV, USA	ODTÜ Merkez Laboratuvarı

Yukarıdaki temel cihazlara ek olarak aşağıdaki cihazlarda kullanılmıştır;

- UV Spektrofotometresi (Perkin Elmer Lambda 35, USA)
- Çalkalamalı su banyosu (Medline BS-21)
- Isıtmalı su banyosu (Nüve SI 402)
- Manyetik karıştırıcı (Corning PC-420)
- pH metre (Hanna instruments HI 221)
- Vakum Etüvü (VacuCell VUS-B2V)
- Analitik terazi (Pioneer PA214C)
- Mikrodalga Fırın (Milestone, Stars)

2.3. NaAlg-aşı-PDEAAm Kopolimerinin Mikrodalga Destekli Olarak Sentezlenmesi

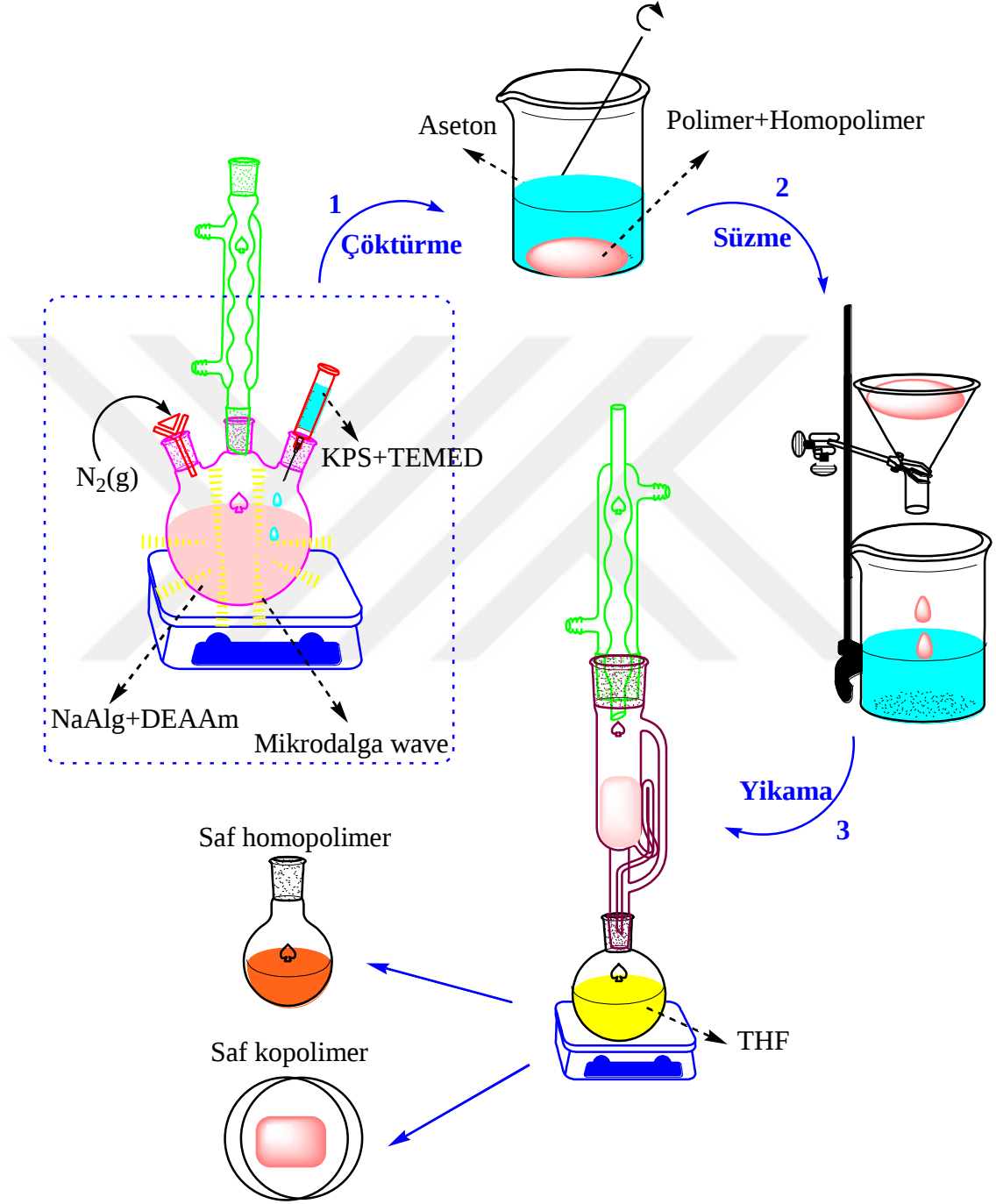
NaAlg-aşı-PDEAAm kopolimerinin sentezlenme şeması Şekil 2.1’de ve NaAlg-aşı-PDEAAm yapısı Şekil 2.2’de belirtilmiştir. Aşı kopolimerizasyon azot gazı atmosferinde, 250 mL’lik üç boyunlu balonda, geri soğutucu altında mikrodalga fırında gerçekleştirilmiştir. % 1’lik NaAlg çözeltisi saf su içerisinde, oda sıcaklığında 1 gün süreyle karıştırılarak elde edilmiştir. Aşılacak çözeltiye gerekli miktarda distillenmiş DEAAm monomeri ilave edilerek 30 dakika süreyle azot gazı geçirilmiştir. Daha sonra karışıma 5 mL saf suda çözünmüş olan KPS ve TEMED karışımı ilave edilerek toplam çözelti hacmi saf su ile 100 mL’ye tamamlanmıştır. Mikrodalga koşulları istenilen süre sıcaklık ve güç değerlerine ayarlanmıştır. Tepkime süresince ortamdan sürekli azot gazı geçirilmeye devam edilmiştir.

Polimerleşme sonunda polimer çözeltisi 800 mL soğuk aseton ile çöktürülmüştür. Süzme sonrası elde edilen ürün, homopolimerin uzaklaştırılması amacıyla soksalet içerisinde tetrahidrofuran ile toplamda (aktif ve pasif yıkama) 48 saat olacak şekilde yıkanmıştır. Homopolimeri uzaklaştırılan aşı kopolimer 40 °C’de etüvde sabit tartıma gelene kadar kurutulmuştur. Kopolimerlerin aşı yüzdesi kütle artışından, % aşılama verimi ise aşağıdaki formül yardımı ile hesaplanmıştır.

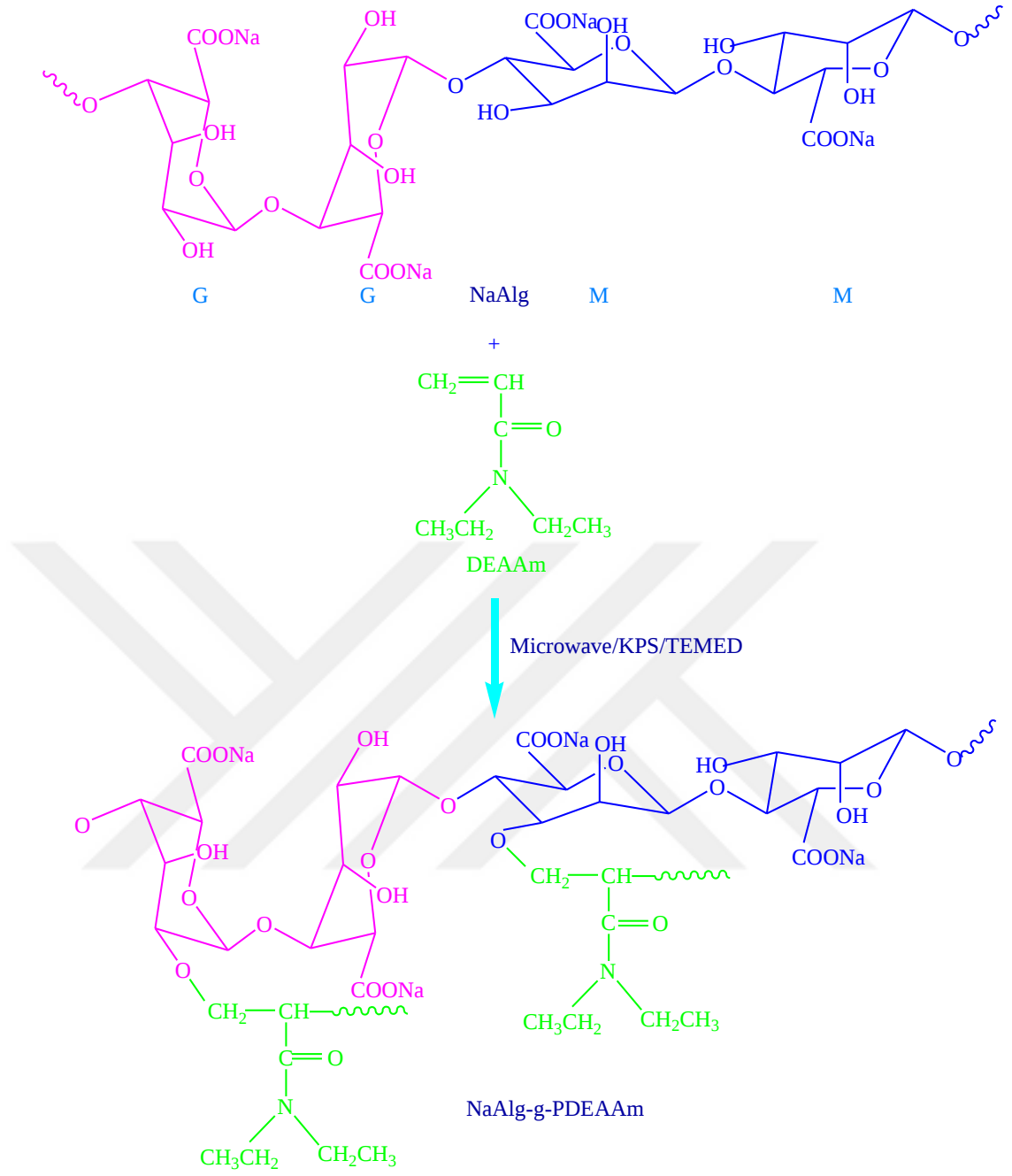
$$\% \text{ Aşılama Verimi} = \frac{m_{\text{kopolimer}} - m_{\text{polimer}}}{(m_{\text{kopolimer}} - m_{\text{polimer}}) + m_{\text{homopolimer}}} \times 100$$

Farklı aşı yüzdesinde kopolimer elde etmek için aşılama süresinin, sıcaklığın, mikrodalga gücünün, monomer, başlatıcı, TEMED derişimlerinin, polimer

yüzdesinin ve mikrodalga ile aktive olabilen elektrotsuz UV ışınının aşılama üzerine etkileri incelenmiştir.



Şekil 2.1. Aşı kopolimeri sentezlenme işleminin şematik gösterimi

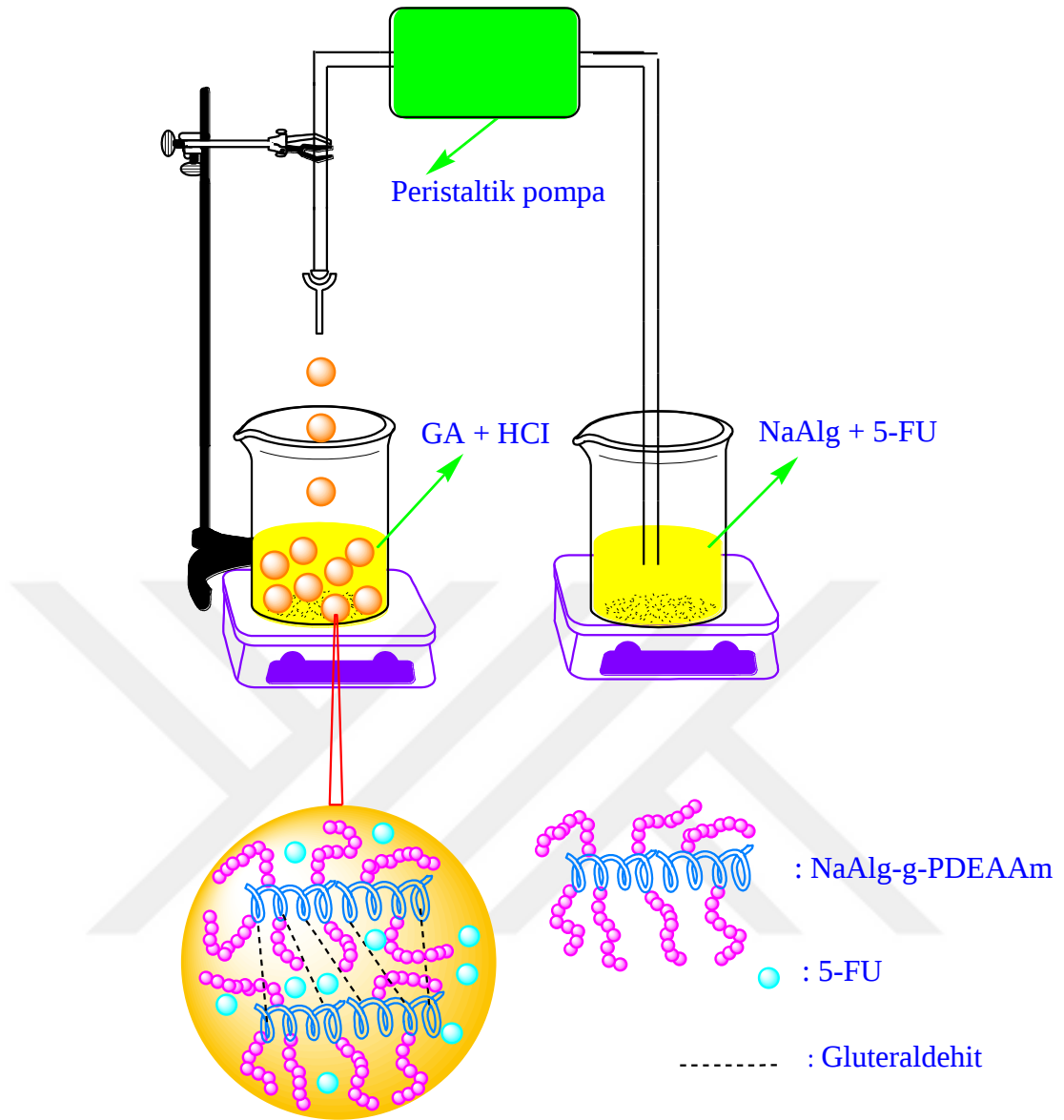


Şekil 2.2. NaAlg-aşı-PDEAAm yapısı

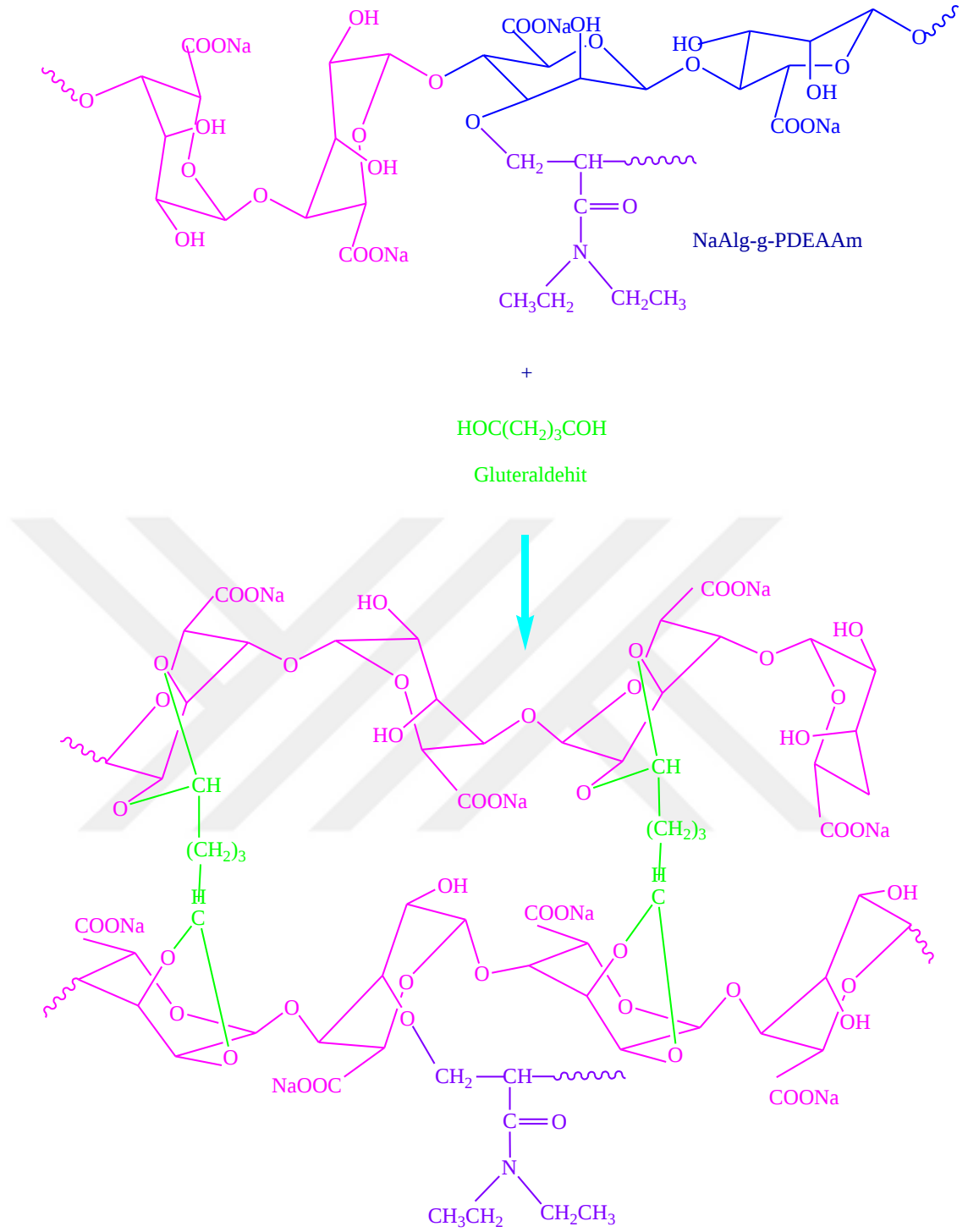
2.4. 5-FU Yüklü NaAlg-aşı-PDEAAm Mikrokürelerin Hazırlanması

NaAlg-aşı-PDEAAm mikroküreler peristaltik pompa yardımıyla sıvıda olgunlaştırma yöntemi kullanılarak hazırlanmıştır. NaAlg-aşı-PDEAAm aşı kopolimerlerinden mikroküreleri hazırlama şematik olarak Şekil 2.3’de verilmiştir. NaAlg ile GA arasındaki çapraz bağlanma mekanizması Şekil 2.4’te verilmiştir.

NaAlg saf suda çözülerek ve çeşitli 5-FU/NaAlg (İ/P) oranında formülasyonlar hazırlanmıştır. 50 mL (GA+HCl) karışımı petrol eterinde çözülerek çapraz bağlama çözeltisi oluşturulmuş ve mikroküreler bu çözelti üzerine damlatılmıştır. Mikrokürelerin çapraz bağlama çözeltisi ile sürekli temasını sağlamak için çözelti manyetik karıştırıcı ile 100 devir/dakika hızda, 30 dakika olgunlaştırılmıştır. Sonrasında mikroküreler süzülerek saf su ile yıkanmıştır. Elde edilen mikroküreler ilk olarak 24 saat oda sıcaklığında daha sonra sabit tartıma gelene kadar etüvde 40 °C’de kurutulmuştur. Şişme derecesi belirlenen boş mikroküreler de benzer şekilde ilaç içermeyecek şekilde hazırlanmıştır.



Şekil 2.3. Mikroküreleri oluşturma şeması



Şekil 2.4. NaAlg ile GA arasındaki çapraz bağlanma mekanizması

2.5. Tutuklanma Verimi (TV)

Mikroküreler içerisine teorik olarak yüklenmesi gereken ilaç miktarının gerçekte ne kadar yüklendiğinin belirlenebilmesi için tutuklanma verimi hesabı yapılmıştır. Tutuklanma verimi hesaplanması için ilaç yüklü mikrokürelerden 25 mg alınarak agat havanında toz haline getirilmiştir. Daha sonra bir balona alınarak üzerine 50 mL pH 7,4 $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$ tamponu eklenmiş ve geri soğutucu altında 4 saat boyunca ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstrakt süzülerek 5-FU içeriği UV spektrofotometresi ile 5-FU'nun maximum absorpsiyon gösterdiği dalgaboyu olan 266 nm'de tayin edilmiştir. Tutuklanma verimi çalışmaları her bir formülasyondaki ilaç yüklü mikroküreler için üçer defa tekrarlanarak hesaplanmıştır. Tutuklanma verimi aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmaktadır.

$$\% \text{TV} = \frac{\text{Mikroküre içindeki deneysel 5-FU miktarı}}{\text{Mikroküre içindeki teorik 5-FU miktarı}} \times 100$$

2.6. Mikrokürelerden 5- FU'nun *In-vitro* Salım Çalışması

In-vitro salım çalışmaları 25, 32 ve 37 °C'de mide sıvısına benzer pH 1,2 hidroklorik asit çözeltisinde 3 saat, duodenum sıvısına benzer pH 5,5 asetik asit/asetat çözeltisinde 2 saat, son olarak bağırsak sıvısına benzer pH 7,4 $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$ fosfat tamponu ortamlarında toplamda 24 saat süre olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Farklı formülasyonlardaki mikrokürelerin belirli miktarları erlene konulmuş ve 50 ml tampon çözeltisi eklenerek 100 devir/dakika çalkalama hızındaki su banyosuna yerleştirilmiştir. Mikrokürelerin tamponda bulunma

sürelerinin sonunda mikroküreler süzülerek bir sonraki pH'daki tampon çözeltiye aktarılmıştır. Mikrokürelerden salınan ilaç miktarını belirlemek için 30 dakika aralıklarla salım ortamından pipet yardımıyla 3'er mL örnekler alınmıştır ve yerine 3 mL tampon çözeltisi salım ortamına ilave edilmiştir. Salım ortamından alınan 3 mL'lik örneklerin UV spektrofotometresi ile 266 nm'de absorbans değerleri belirlenmiştir. Aşı veriminin etkisi, sıcaklığın etkisi, gluteraldehit yüzdesi, gluteraldehit ile çapraz bağlama süresi, ilaç/polimer oranı, polimer derişimi ve hidroklorik asit yüzdesi gibi çeşitli etkenlerin 5-FU salımına etkisi incelenmiştir. Salım çalışmaları her bir formülasyondaki ilaç yüklü mikroküreler için üçer defa tekrarlanarak standart sapmalarıyla birlikte verilmiştir.

2.7. Boş Mikrokürelerin Şişme Denge Derecelerinin Belirlenmesi

İlaç içermeyen boş mikrokürelerin denge su içeriklerini belirlemek amacıyla 25 mg mikroküre örnekleri 50 mL pH 1,2, pH 5,5 ve pH 7,4 tamponu içeren ortamlarda 25, 32 ve 37 °C'de şişme dengesine gelene kadar 24 saat süreyle bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda kürelerin yüzeyindeki çözeltiler uzaklaştırılarak şişen mikroküreler tartılmıştır. % Şişme derecesi çalışmaları her bir formülasyondaki ilaç içermeyen mikroküreler için üçer defa tekrarlanarak % şişme derecesi miktarları standart sapmaları ile birlikte hesaplanmıştır. Boş mikrokürelerin denge şişme derecesi hesaplanma eşitliği aşağıda sunulmuştur.

$$\% \text{ Şişme Derecesi (w/w)} = \frac{W_{\text{şişmiş mikroküre}} - W_{\text{kuru mikroküre}}}{W_{\text{kuru mikroküre}}} \times 100$$

3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Çalışmanın ilk kısmında, NaAlg'ye DEAAM, potasyum persülfat başlatıcısı kullanılarak mikrodalgada aşılantmıştır. Aşılama için ortam koşullarının etkisini incelemek amacıyla, aşılama süresi, ortam sıcaklığı, mikrodalga gücü, monomer derişimi, başlatıcı derişimi, TEMED derişimi, polimer miktarı gibi parametrelerin aşılama üzerine etkisi incelenmiştir. Aşı kopolimerlerin optimum aşılama koşulları bulunmuştur. Sentezlenen aşı kopolimerler FTIR-Raman, NMR, DSC, TGA, SEM ve GPC ile karakterize edilmiştir.

Çalışmanın ikinci kısmında, sentezlenen aşı kopolimerlerin 5-FU içeren mikroküreleri, glutaraldehit ile HCl katalizörlüğünde çapraz bağlanarak oluşturulmuştur. 5-FU'nun *in-vitro* ilaç salımına etkisini incelemek amacıyla, aşı yüzdesi, sıcaklığın etkisi, polimer derişimi, ilaç/polimer oranı, çapraz bağlayıcı derişimi, çapraz bağlama süresi, HCl yüzdesi gibi parametrelerin farklı pH ve sıcaklıkta salımları çalışılmıştır. Mikroküreler tutuklanma verimleri, şişme dereceleri, partikül boyutları ile karakterize edilmiştir. Boş mikrokürelerin farklı pH ve sıcaklıktaki şişme dereceleri incelenmiştir. Mikrokürelerin ATR-FTIR ölçümleri ile kimyasal kararlılığı, DSC analizi ile camsı geçiş sıcaklığı, XRD analizi sonuçları ile kristalin yapısı, SEM ve AFM analizleri ile yüzey morfolojileri incelenmiştir.

3.1. NaAlg-aşı-PDEAAm Aşı Kopolimer ve Mikrokürelerin Karakterizasyonu

3.1.1. Element Analiz Sonuçları

Mikrodalga fırında elde edilen NaAlg-aşı-PDEAAm aşı kopolimerlerin element analizi sonuçları Çizelge 3.1’de verilmiştir. Süre ve sıcaklık değişimi ile aşı kopolimerlerin element analizi sonuçları farklılık göstermiştir. Aşı kopolimerlerin element analizleri ile kütle artışı sonuçlarının birbiriyle uyumlu olduğu görülmüştür. PDEAAm birimlerinin artmasından dolayı element analizinden elde edilen azot miktarı da artmıştır.

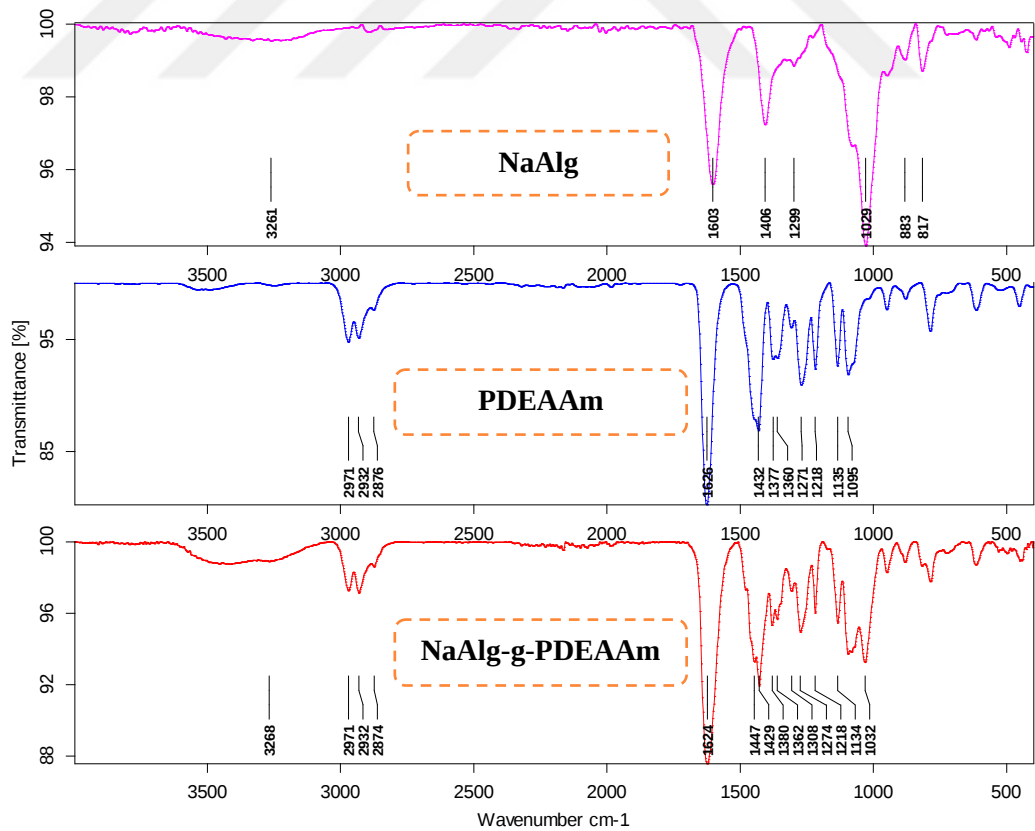
Çizelge 3.1. NaAlg-aşı-PDEAAm aşı kopolimerlerin element analizi sonuçları

Çalışma koşulları	Aşılama koşulları	% N	% C	% H	Aşı Yüzdesi
T: 25 °C [DEAAm]: 0,219 M [KPS]: $4,55 \times 10^{-4}$ M [TEMED]: $0,66 \times 10^{-3}$ M [NaAlg]: % 1 MG: 500 Watt	1 saat	0,24	29,97	4,535	2,18
	2 saat	1,92	35,53	5,392	17,44
	3 saat	3,32	38,30	5,886	30,16
	4 saat	3,54	39,84	5,714	32,16
	5 saat	3,34	38,30	5,386	30,34
t: 4 saat [DEAAm]: 0,219 M [KPS]: $4,55 \times 10^{-4}$ M [TEMED]: $0,66 \times 10^{-3}$ M [NaAlg]: % 1 MG: 500 Watt	30 °C	2,47	38,86	7,567	22,43
	35 °C	4,29	58,18	8,952	38,97
	40 °C	8,63	62,01	9,101	78,40
	45 °C	3,65	40,9	5,862	33,16

3.1.2. NaAlg, PDEAAm ve NaAlg-aşı-PDEAAm Kopolimerinin FTIR ve Raman

Sonuçları

Şekil 3.1’de NaAlg, PDEAAm ve NaAlg-aşı-PDEAAm’nin FTIR spektrumları görülmektedir. NaAlg’nin FTIR spektrumunda, 3261 cm^{-1} ’de gözlenen geniş bandın (OH) gerilmesine, 1603 ve 1406 cm^{-1} ’deki keskin ve şiddetli bandların karbonil (C=O) grubuna ait asimetrik ve simetrik gerilmelere, 1299 cm^{-1} ’deki bandın (OH) eğilmesine, 1029 cm^{-1} ’de gözlenen bandın (COC) gerilmesine ve 883-817 cm^{-1} ’de görülen bandların NaAlg’nin Guluronik ve Mannuronik gruplarında bulunan (NaO) gerilmelerine ait olduğu belirlenmiştir [58, 59, 60]. Literatürde sodyum aljinatın FTIR spektrumunda benzer sonuçlar rapor edilmiştir [61, 62, 63].

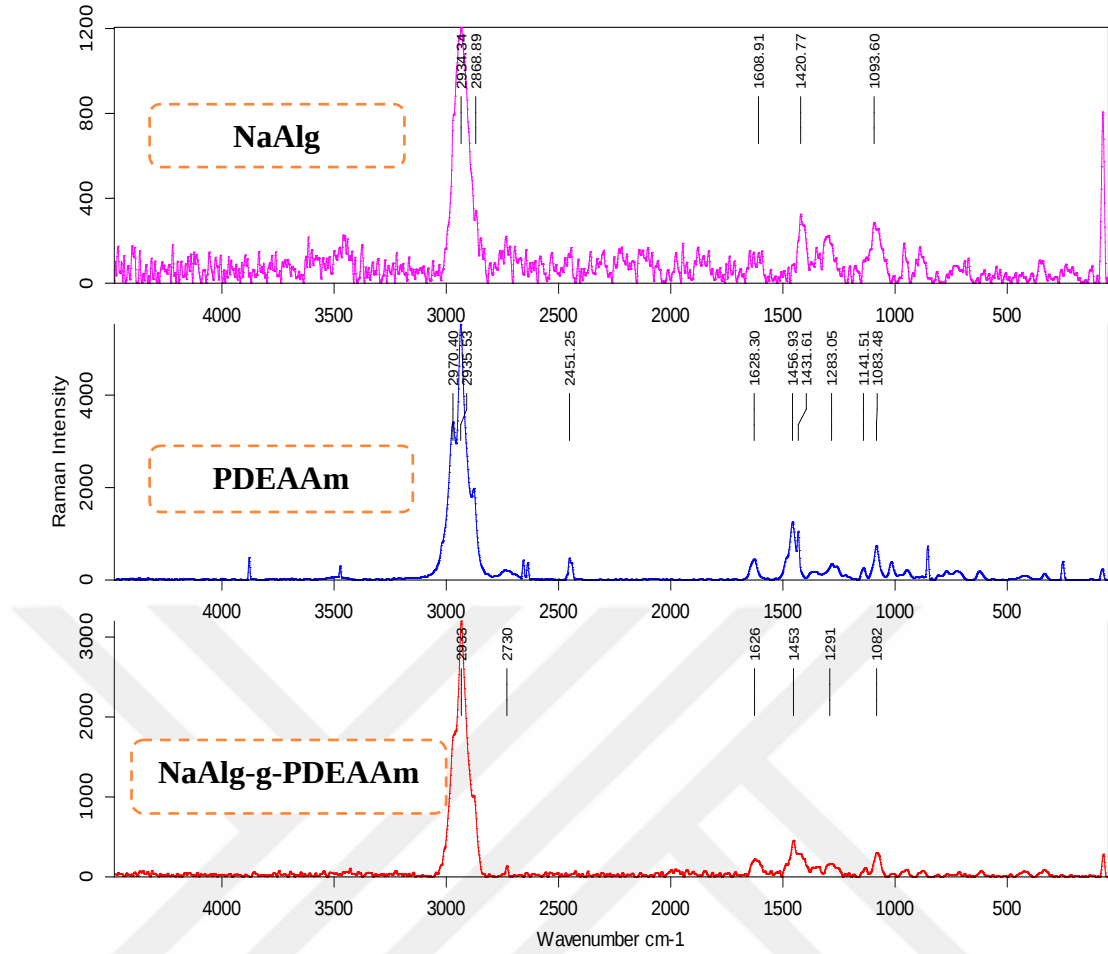


Şekil 3.1. NaAlg, PDEAAm ve NaAlg-aşı-PDEAAm FTIR spektrumu

PDEAAm homopolimeri'nin FTIR spektrumunda 2971, 2932 ve 2876 cm^{-1} 'de gözlenen bandların (CH) gerilmelerine, 1626 cm^{-1} 'de gözlenen bandın azota bağlı (C=O) gerilmesine ait olduğu saptanmıştır [64, 65]. 1377 cm^{-1} PDEAAm uç gruplarındaki (CH_2)'ye ait (CH) düzlem dışı, 1360 cm^{-1} , 1218 cm^{-1} 'deki bandların sırasıyla (CH_3)'e ait düzlem dışı ve düzlem içi (CH) eğilmelerine, 1432 cm^{-1} ve 1271 cm^{-1} 'deki bandların sırasıyla (CN) asimetrik/ simetrik gerilmelerine, 1135 cm^{-1} ' de bulunan band ise (CN) eğilmesi olarak belirlenmiştir. Literatürde benzer sonuçlara rastlanmıştır [1, 66, 67].

NaAlg-aşı-PDEAAm kopolimerine ait FTIR spektrumda 3268 cm^{-1} 'de gözlenen bandın (OH) gerilmesine, 2971 cm^{-1} , 2932 cm^{-1} ve 2874 cm^{-1} 'de gözlenen bandların (CH) gerilmelerine, 1624 cm^{-1} 'de görülen bandın (C=O) gerilmesine, 1380 cm^{-1} 'de ve 1362 görülen bandın (CH_2) ve (CH_3) grubundaki (CH) düzlem dışı eğilme titreşimlerine, 1447/1275 cm^{-1} 'deki bandlar (CN) asimetrik/simerik gerilmelerine, 1134 cm^{-1} ve 1032 cm^{-1} 'de görülen bandların sırasıyla (CN) eğilmesi ve (COC) gerilmelerine karşılık geldiği saptanmıştır. NaAlg-aşı-PDEAAm kopolimerinin FTIR spektrumundan aşılamanın başarılı bir şekilde gerçekleştiği doğrulanmıştır.

Şekil 3.2'de NaAlg, PDEAAm ve NaAlg-aşı-PDEAAm'nin Raman spektrumları görülmektedir. NaAlg'ye ait Raman spekturumunda 2934 cm^{-1} 'de gözlenen bandın (OH) gerilmesine, 2868,90 cm^{-1} 'de gözlenen bandın alifatik (CH) grubu gerilmesine, 1608/1420 cm^{-1} 'de gözlenen bandların asimetrik ve simetrik (C=O) gruplarının gerilmesine ait olduğu ve 1093,60 cm^{-1} 'de gözlenen bandın (COC) grubuna ait gerilme titreşimi olduğu belirlenmiştir [68, 69].



Şekil 3.2. NaAlg, PDEAAm ve NaAlg-aşı-PDEAAm'nin Raman spektrumu

Homopolimer PDEAAm'nin FTIR spektrumuna benzer şekilde Raman spektrumunda 2970 cm^{-1} , 2935 cm^{-1} , 2451 cm^{-1} 'de gözlenen bandların (CH) grubu gerilmelerine, 1628 cm^{-1} 'de gözlenen bandın (C=O) grubuna ait gerilmeye, 1456 cm^{-1} görülen bandın polimerin uç grubudaki (CH₂)'ye ait (CH) düzlem içi eğilmesine, 1431 cm^{-1} 'deki ve 1283 cm^{-1} 'de bulunan bandların sırasıyla (CN) asimetrik/simetrik gerilmelerine, 1141 cm^{-1} 'deki bandın (CN) eğilmesine ait olduğu belirlenmiştir.

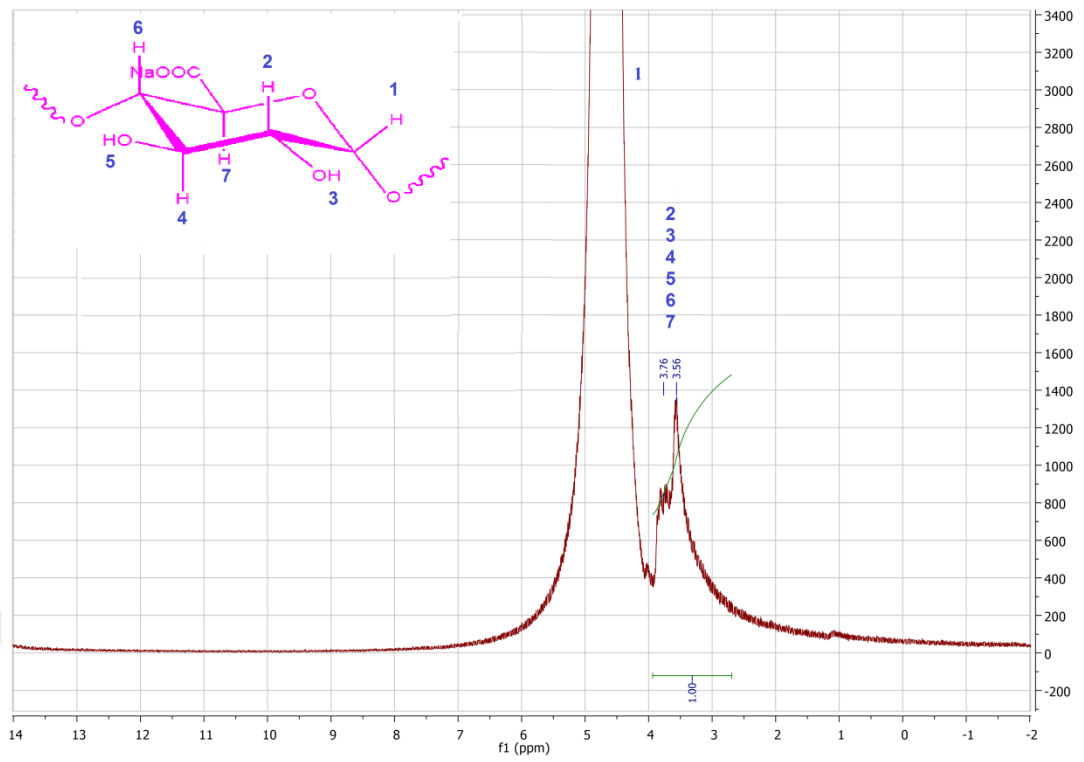
NaAlg-aşı-PDEAAm'nin Raman spektrumunda 2933 cm^{-1} ve 2730 cm^{-1} 'de gözlenen bandın alifatik (CH) grubu gerilmesine, 1626 cm^{-1} 'deki bandın (C=O)

gerilmesine, 1453/1291 cm^{-1} 'deki bandların (CH_2) grubundaki düzlem içi (CH) eğilme ve (CN) simetrik gerilmesine ait olduğu belirlenmiştir. Ayrıca 1093 cm^{-1} 'deki banda karşılık gelen (COC) gerilme titreşiminin aşılamaıyla birlikte dalga sayısı 1082 cm^{-1} 'e kaydığı görülmüştür.

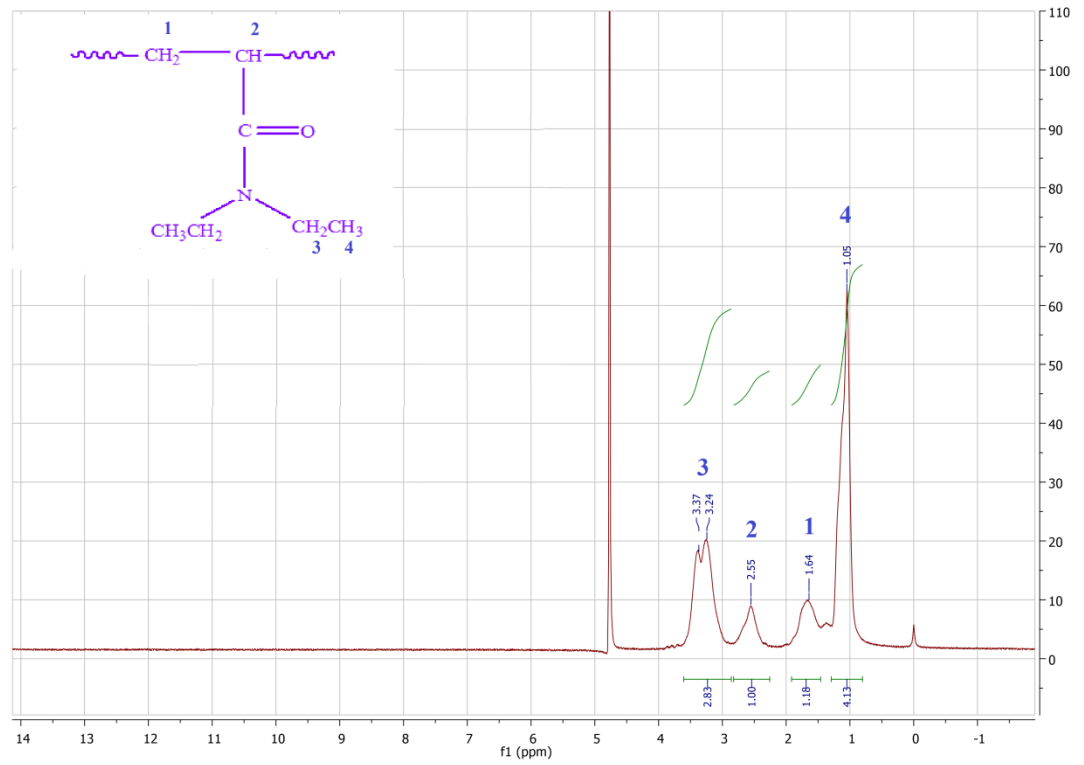
3.1.3. NaAlg, PDEAAm ve NaAlg-aşı-PDEAAm Kopolimerinin ^1H -NMR Sonuçları

NaAlg'nin ^1H -NMR spektrumu Şekil 3.3'te verilmiştir. ^1H -NMR spektrumunda altılı halkadaki (CH) ve (OH) protonlarına ait pikler 3,0-4,0 ppm arasında pik çokluğu şeklinde ve anomerik karbondaki protona ait pikler ise 4,0-5,0 ppm arasında çıkmıştır. 4,6 ppm'da görülen pik D_2O 'ya (dötero su) ait olduğu düşünülmektedir. Literatürde benzer sonuçlara rastlanmıştır [70, 71, 72].

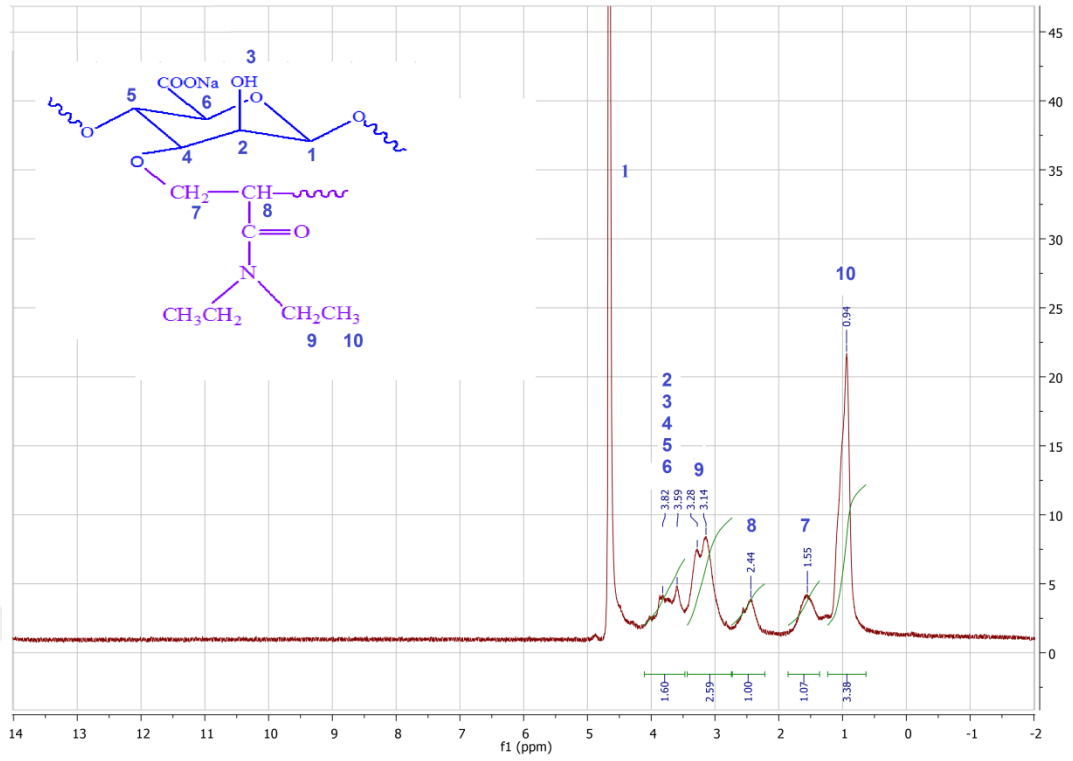
PDEAAm'nin ^1H -NMR spektrumu Şekil 3.4'te sunulmuştur. Spektrumda bulunan 3,37-3,24 ppm'de bulunan piklerin (CH_2) protonlarına ve 1,05 ppm'deki pikin (CH_3) protonuna ait olduğu düşünülmektedir. PDEAAm ana zincirindeki (CH_2) ve (CH) protonlarına ait pikler 1,64 ppm ve 2,55 ppm arasında belirlenmiştir [73, 1, 74].



Şekil 3.3. NaAlg'nin ¹H-NMR spektrumu



Şekil.3.4. PDEAAm'nin ¹H-NMR spektrumu



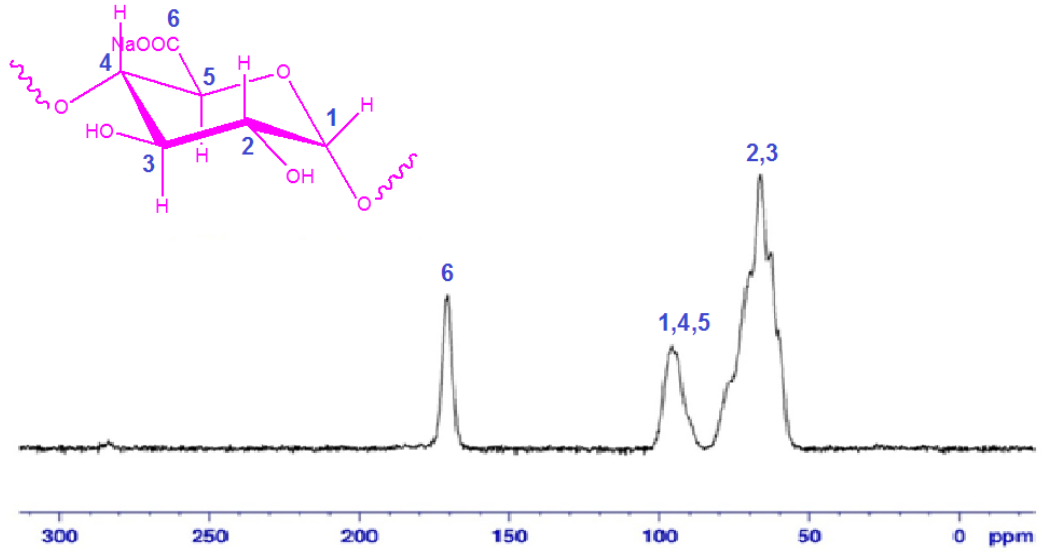
Şekil 3.5. NaAlg-aşı-PDEAAm'nin ^1H -NMR spektrumu

Şekil 3.5'te NaAlg-aşı-PDEAAm kopolimerinin ^1H -NMR Spektrumu görülmektedir. Aşılamayla birlikte, aljinatın karakteristik piklerine ilave olarak 3,28-3,14 ppm'de bulunan pikler (CH_2) protonlarından, 2,44-1,55 ppm'deki pikler PDEAAm ana zincirindeki (CH_2) ve (CH) protonlarından, 0,94 ppm'deki pikin (CH_3) protonundan geldiği gözlenmiştir. Bu ^1H -NMR verileri doğrultusunda NaAlg'ye PDEAAm aşılama işleminin başarılı olarak gerçekleştiği söylenebilir.

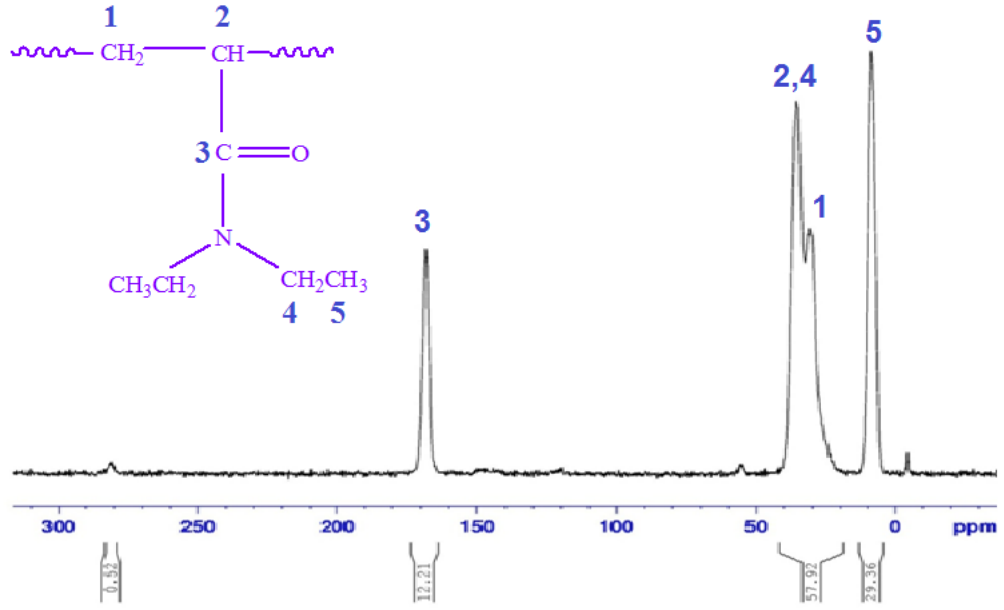
3.1.4. NaAlg, PDEAAm ve NaAlg-aşı-PDEAAm Kopolimerinin ^{13}C -NMR

Sonuçları

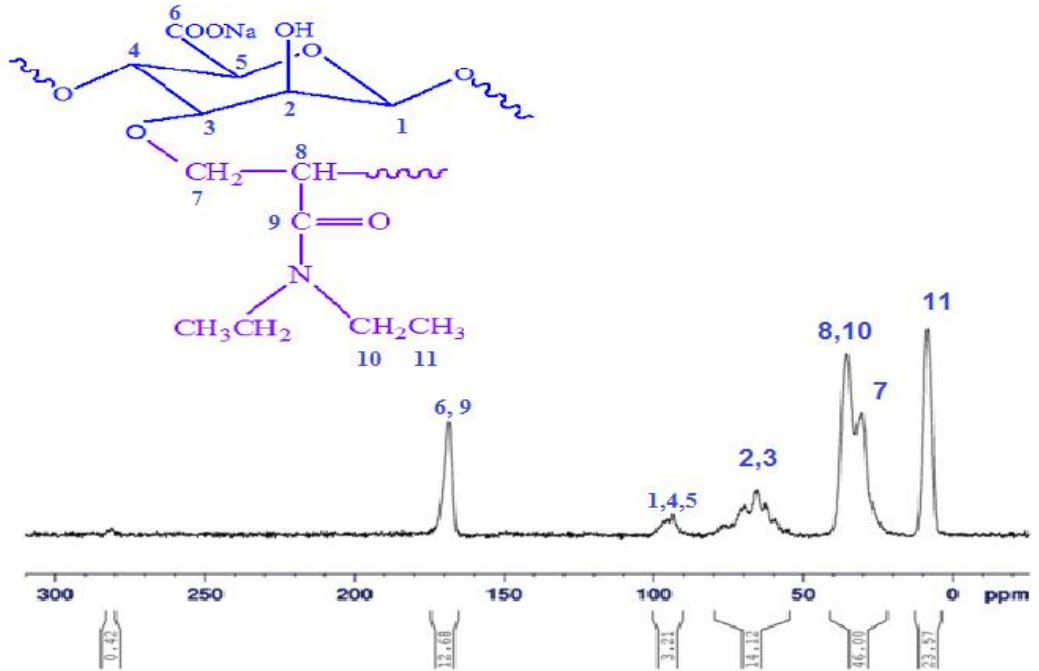
NaAlg'nin katı ^{13}C -NMR spektrumu Şekil 3.6'da verilmiştir. Spektrumdaki 50-85 ppm'deki kimyasal kaymalar NaAlg'nin yapısında bulunan mannuronik asit ve gulunorik asit birimlerindeki hidroksile bağlı karbonlara ait pikler ve 170 ppm'deki kimyasal kayma NaAlg'nin karboksilat grubundaki karbona ait pik olduğu düşünülmüştür. Kimyasal kayma değeri 95 ppm olan pik NaAlg'nin anomerik karbonu olarak belirlenmiştir [75]. NaAlg'ye ait benzer NMR analiz sonuçları literatürde bulunmaktadır [76].



Şekil 3.6. NaAlg'nin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.7. PDEAAm'nin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.8. NaAlg-aşı-PDEAAm'nin ^{13}C -NMR spektrumu

PDEAAm'nin ^{13}C -NMR spektrumu Şekil 3.7'de verilmiştir. Kimyasal kayma değeri 168 ppm'de görülen pikin karbonil karbonuna, 8 ppm'deki pikin (CH_3) karbonuna, 20-40 ppm aralığındaki piklerin (CH_2) ve (CH) karbonlarına ait olduğu düşünülmektedir. Benzer pikler Ngadaonye ve arkadaşlarının çalışmasında da rapor edilmiştir [16].

NaAlg-aşı-PDEAAm'nin ^{13}C -NMR spektrumu Şekil 3.8'de verilmiştir. Aşılamayla birlikte NaAlg yapısında belirlenen 170 ppm'deki karboksilat grubundaki karbona, 95 ppm'deki anomerik karbona ait pikleri aşı kopolimerde de aynı bölgelerde çıkmıştır. Ayrıca PDEAAm gruplarından geldiği düşünülen 8 ppm'de bulunan pik (CH_3) karbonuna ait ve 20-40 ppm aralığında (CH_2) ve (CH) karbonlarına ait olduğu belirlenen piklerin spektrumda görülmesi aşılamanın gerçekleştiğinin diğer bir kanıtıdır.

3.1.5. NaAlg, PDEAAm ve NaAlg-aşı-PDEAAm Kopolimerinin DSC Sonuçları

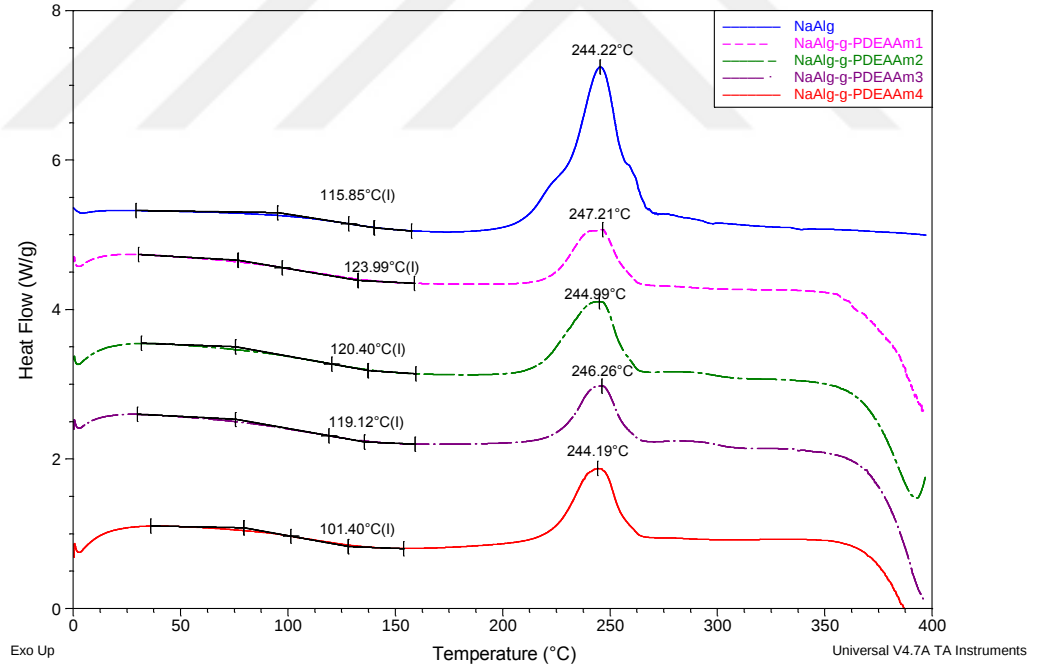
NaAlg ve NaAlg-aşı-PDEAAm aşı kopolimerlerin DSC diyagramları Şekil 3.9'da görülmektedir. DSC diyagramlarından elde edilen kopolimerinin T_g değerleri sırasıyla Çizelge 3.2'de verilmiştir.

T_g değeri NaAlg için 115,85 °C, % 49,78, % 157 ve % 301 aşı yüzdeli aşı kopolimerler için sırasıyla 123,99, 120,40, 119,12 °C olarak bulunmuştur. % 49,78, % 157 ve % 301 aşı yüzdeli aşı kopolimerlerinin T_g değerlerinin NaAlg T_g 'sinden büyük olması NaAlg üzerine PDEAAm aşılama işlemi sonrasında serbest hacmin azalmasına, aşı yüzdesinin artmasıyla T_g 'nin azalması ise PDEAAm birimlerinin arttığından dolayı daha amorf yapının oluşmasına atfedilebilir. Miure ve arkadaşları

NaAlg'nin T_g değerini 119 °C tespit etmişlerdir [77, 78]. Literatürde NaAlg'ye ait DSC diyagramlarında benzer sonuçlar elde edilmiştir [79, 80].

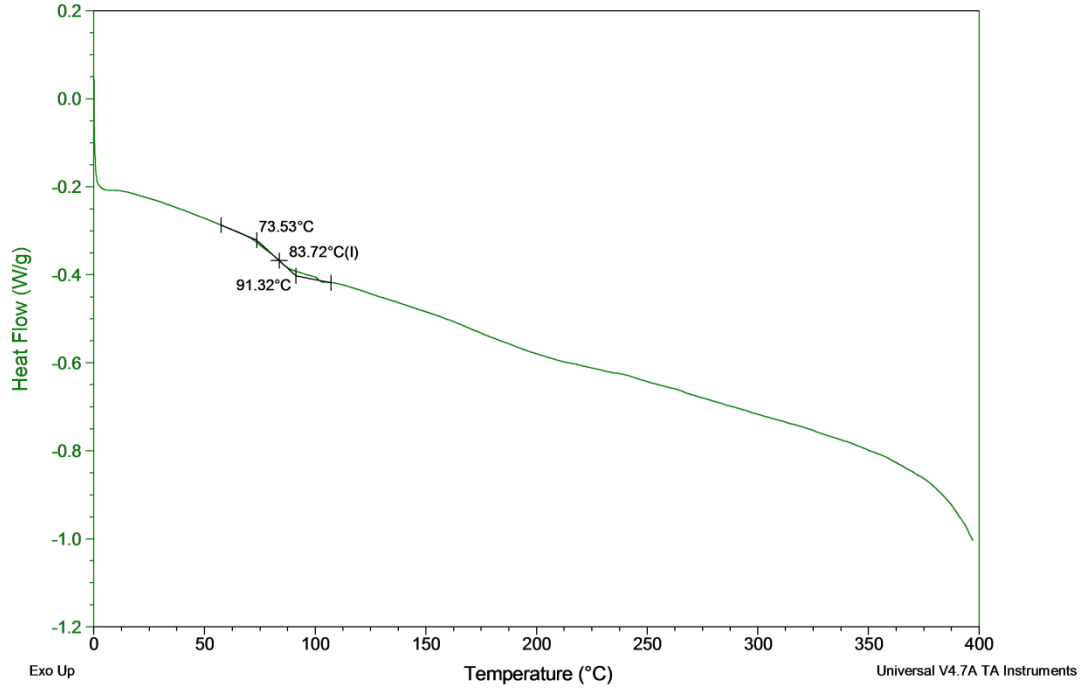
Çizelge 3.2. NaAlg ve kopolimerinin T_g değerleri

	Aşı yüzdesi	T_g (°C)
NaAlg	-	115,85
NaAlg-aşı-PDEAAm1	49,78	123,99
NaAlg-aşı-PDEAAm2	157	120,40
NaAlg-aşı-PDEAAm3	301	119,12
NaAlg-aşı-PDEAAm4	331,16	101,40



Şekil 3.9. NaAlg ve aşı kopolimerlerin DSC diyagramı

Şekil 3.10’da PDEAAm’nin DSC termogramı verilmiştir. Yaklaşık 83 °C’da camsı geçiş sıcaklığı gözlenmiş ve 400 °C civarında da endoterm bozunma göstermiştir. Literatürde PDEAAm’ye ait T_g değerleri DSC yöntemiyle bulunmuştur ve benzer sonuçlar rapor edilmiştir [64].

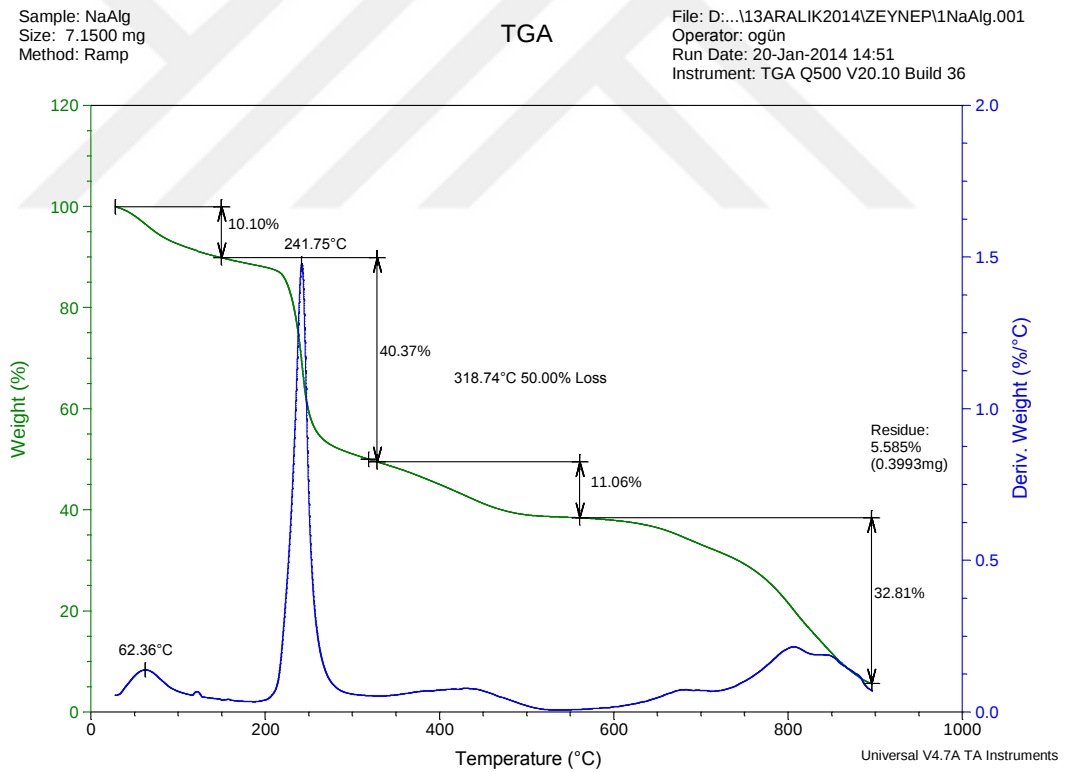


Şekil 3.10. PDEAAm’nin DSC diyagramı

3.1.6. NaAlg, PDEAAm ve NaAlg-aşı-PDEAAm Kopolimerinin TGA Sonuçları

Şekil 3.11,3.12,3.13 ve 3.14’te NaAlg, PDEAAm ve NaAlg-aşı-PDEAAm aşı kopolimerlerin TGA sonuçları görülmektedir. NaAlg’nin TGA termogramında, dört aşamada ısıl bozunmaya uğradığı görülmektedir. 0-160 °C sıcaklık aralığında % 10,10 kütle kaybına neden olan bozunmanın polimer içerisindeki suyun

uzaklaşmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. 200-300 °C sıcaklık aralığında 241,75 °C’de maksimum bozunma hızını gösteren % 40,37 kütle kaybına neden olan değişim NaAlg’nin yapısındaki mannuronik ve guluronik asit degradasyonuna atfedilmiştir. 300-600 °C sıcaklık aralığında % 11,06 kütle kaybına CO₂ ve suyun uzaklaşmasına atfedilir [75, 81]. 600-900 °C aralığındaki % 32,81 kütle kaybına neden olan değişim yapıdan CO uzaklaşması şeklinde yorumlanmıştır. NaAlg’nin termogramından kütesinin % 50’sini kaybettiği sıcaklık 318,74 °C olarak tespit edilmiştir.

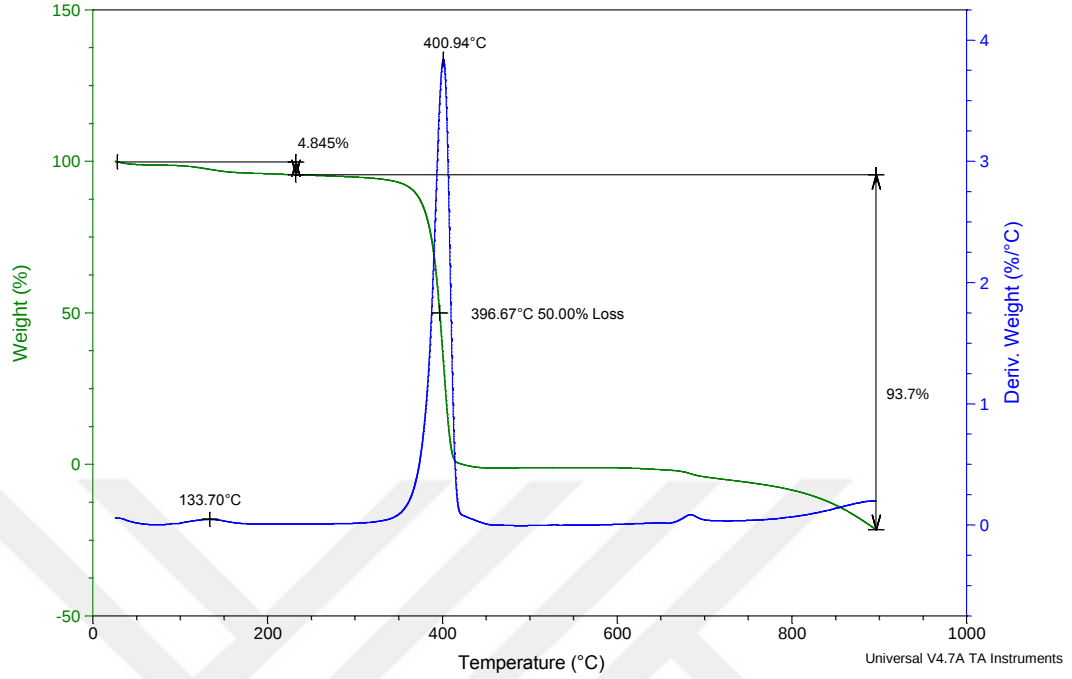


Şekil 3.11. NaAlg’nin TGA termogramı

Sample: PDEAAm
Size: 2.1830 mg
Method: Ramp

TGA

File: D:\...13ARALIK2014\ZEYNEP\PDEAAm.001
Operator: ogün
Run Date: 24-Jan-2014 13:56
Instrument: TGA Q500 V20.10 Build 36

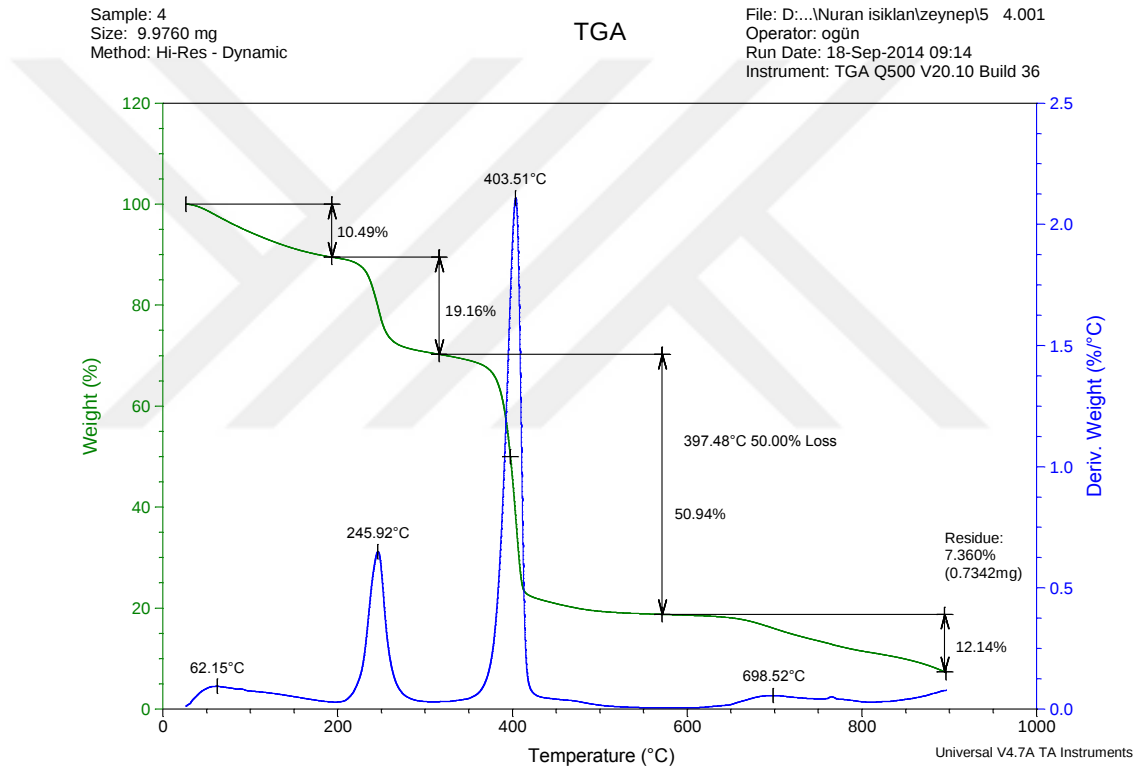


Şekil 3.12. PDEAAm'nin TGA termogramı

Şekil 3.12'de PDEAAm'nin termogramında % 4,845'lik su kaybından sonra 350-450 °C sıcaklık aralıklarında tek aşamada ısıl bozunmaya uğradığı görülmektedir. 300-350 °C sıcaklık aralığında polimer kütlesinin % 93,7'sini kaybetmiştir ve bu aralıkta yapıdan CH₄, H₂O, CO çıkışıyla polimer degrade olmuştur. PDEAAm'nin termogramından kütlesinin % 50'sini kaybettiği sıcaklık 396,67 °C olarak bulunmuştur. Benzer sonuçlar literatürde bulunmaktadır [82].

Şekil 3.13'te NaAlg-aşı-PDEAAm'nin (aşı verimi % 331,16) termogramında 4 basamaklı bozunma görülmektedir. Birincisi 30-200 °C aralığında % 10,49 kütle kaybının gerçekleştiği NaAlg-aşı-PDEAAm üzerindeki absorbe suyun uzaklaştığı bozunmadır. Aşı kopolimer için ikinci bozunma 200-300 °C sıcaklık aralığında %

19,16 kütle kaybı ile NaAlg birimlerinin bozunmasına atfedilebilir. Kütlelerinin yaklaşık % 50,94'ünü kaybettiği ve maksimum bozunma hızını gösterdiği sıcaklık 403,51 °C'dedir ve bu bozunma yapıdan CH₄, CO₂ ve suyun uzaklaşması şeklinde yorumlanmıştır. Polimer kütlesi, dördüncü bozunmasını 600-950 °C sıcaklık aralığında, CO gurubunun ayrılmasıyla gerçekleştirmektedir. Benzer sonuçlar literatürde de bildirilmiştir [82].



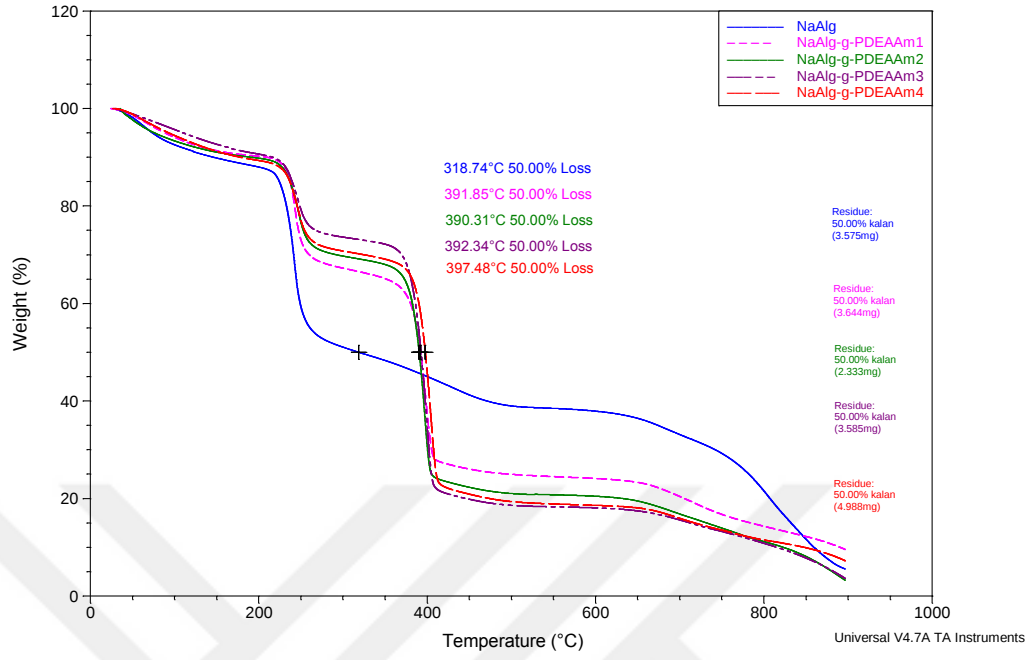
Şekil 3.13. NaAlg-aşı-PDEAAm'nin (aşı verimi % 331,16) TGA termogramı

Şekil 3.14 ve 3.15'de NaAlg ve farklı aşı yüzdelerindeki kopolimerlerin karşılaştırmalı olarak TGA ve DTGA termogramları görülmektedir. Şekillerden

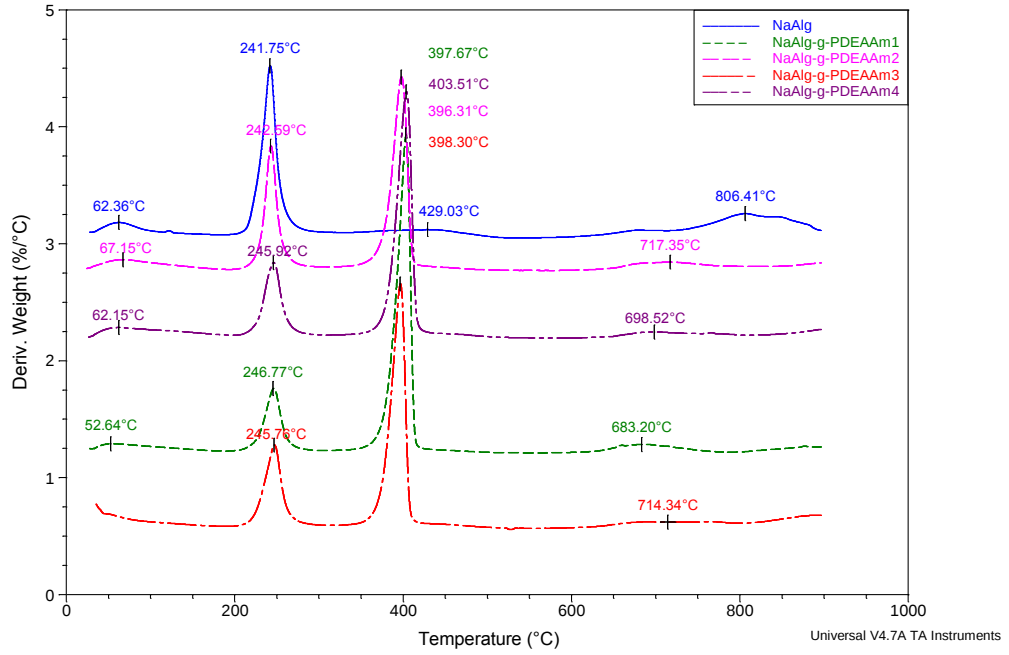
aşılama ile aljinatin termal davranışının değiştiği açıkça görülmektedir. Aşı kopolimerlerin NaAlg'ye göre 400 °C'ye kadar daha basamaklı bozunduğu, bu sıcaklıktan sonra NaAlg'ye göre daha hızlı degrade olduğu görülmüştür. Ayrıca Çizelge 3.3'de aşı kopolimerlerin % 50 kütle kayıp sıcaklıklarının aşı yüzdesi ile değişimi verilmiştir. Aşı kopolimerdeki PDEAAm birimlerinin artmasıyla % 50 kütle kayıp sıcaklıklarının arttığı görülmektedir. Aşı kopolimer oluşumuyla kovalent bağ ve moleküler arası etkileşimlerden dolayı termal dayanımın arttığı söylenebilir. Aşılama ile termal dayanımlarının arttığı benzer çalışmalar literatürde bulunmaktadır [77].

Çizelge 3.3. NaAlg ve kopolimerlerin % 50 kütle kaybı sıcaklıkları

	Aşı yüzdesi	% 50 Kütle kaybı sıcaklığı (°C)
NaAlg	-	318,74
NaAlg-aşı -PDEAAm1	86	391,85
NaAlg-aşı-PDEAAm2	157	390,31
NaAlg-aşı-PDEAAm3	301	392,34
NaAlg-aşı-PDEAAm4	331,16	397,48



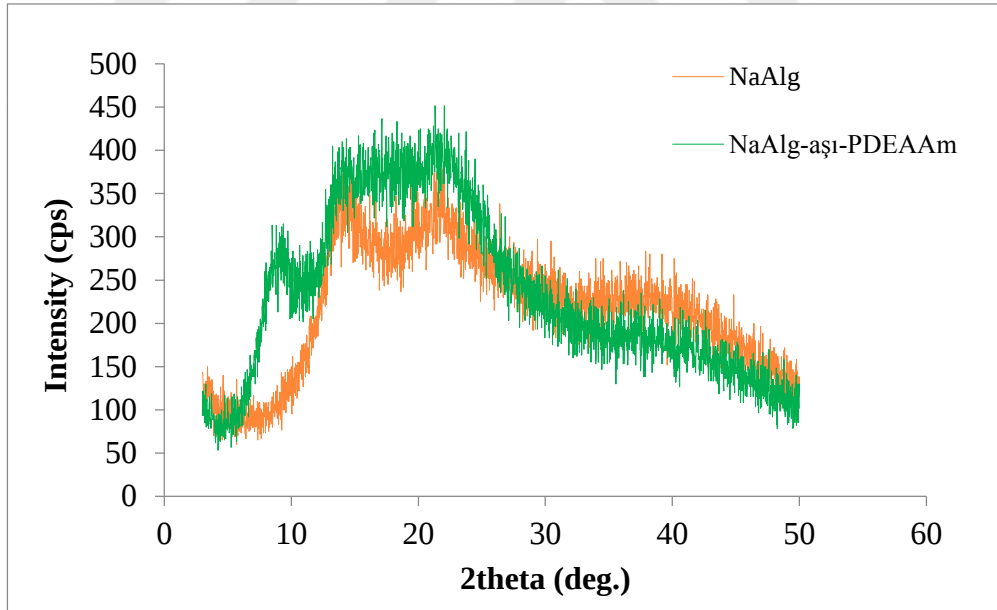
Şekil.3.14. NaAlg ve aşı kopolimerlerin karşılaştırmalı TGA termogramları



Şekil.3.15. NaAlg ve aşı kopolimerlerin karşılaştırmalı DTGA termogramları

3.1.7. NaAlg ve NaAlg-aşı-PDEAAm'nin XRD Sonuçları

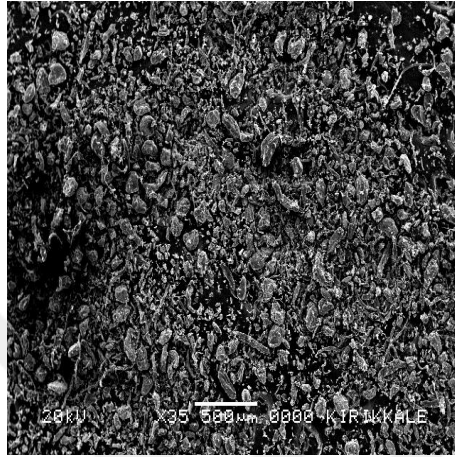
NaAlg ve NaAlg-aşı-PDEAAm (aşı yüzdesi 110) kopolimerinin XRD sonuçları Şekil 3.16'da verilmiştir. NaAlg-aşı-PDEAAm₂ $2\theta=8,5^\circ$, $8,82^\circ$, $9,24^\circ$, $12,7^\circ$, $13,24^\circ$, 14° , $15,3^\circ$, $16,5^\circ$, $17,14^\circ$, $18,32^\circ$, $20,02^\circ$, $23,18^\circ$, $21,32^\circ$, $22,04^\circ$ de keskin pikler vermiştir. NaAlg $2\theta=13,05^\circ$, $16,42^\circ$, $16,54^\circ$, $17,78^\circ$ de keskin pikler ve $19,7^\circ$ de yayvan pik vermiştir. Yayvan pikler amorf yapıda olduklarını göstermektedir. Aşı kopolimer oluşmasıyla kristalinite artmıştır. Bu değişim NaAlg'nin amorf bölgelerinde PDEAAm girişiyle polimer zincirinin düzenliliğinin artırmasına atfedilebilir. Benzer yorumlar literatürde bulunmaktadır [8].



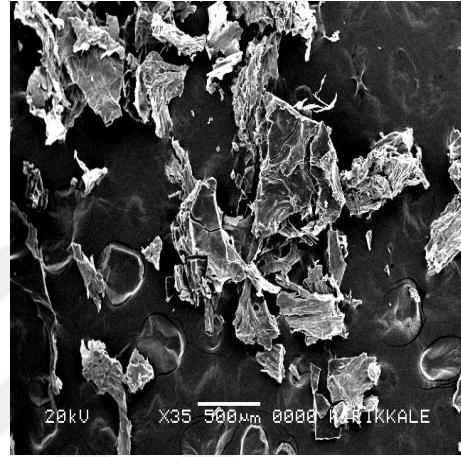
Şekil 3.16. NaAlg, iki farklı aşı yüzdesine sahip kopolimerlerin XRD sonuçları

3.1.8. NaAlg ve NaAlg-aşı-PDEAAm'nin SEM Analiz Sonuçları

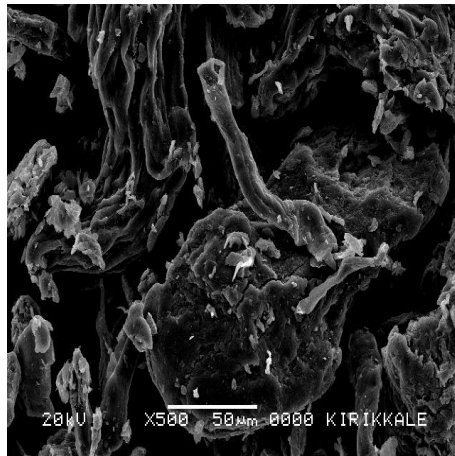
Şekil 3.17 (a)-(h)'de NaAlg'nin aşılanmış ve aşılanmamış halinin farklı büyütme ölçekleri kullanılarak çekilen SEM fotoğrafları görülmektedir.



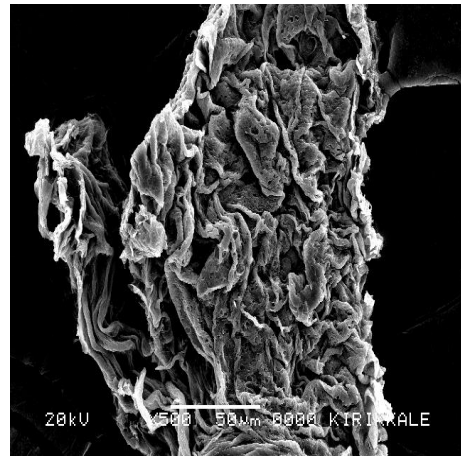
(a) NaAlg'ye ait SEM görüntüsü
(x35)



(b) NaAlg-aşı-PDEAAm
kopolimerine ait SEM görüntüsü
(x35)

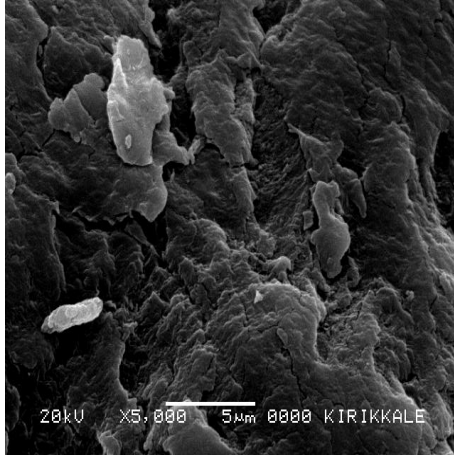


(c) NaAlg'ye ait SEM görüntüsü
(x500)

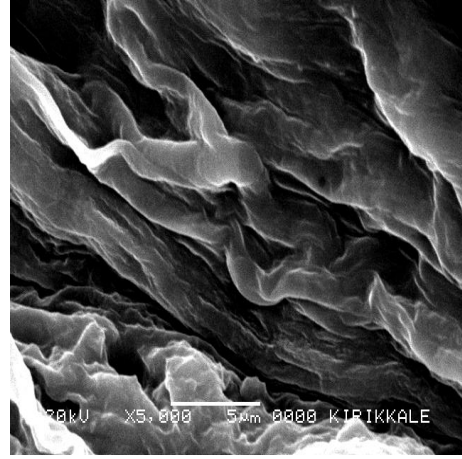


(d) NaAlg-aşı-PDEAAm
kopolimerine ait SEM görüntüsü
(x500)

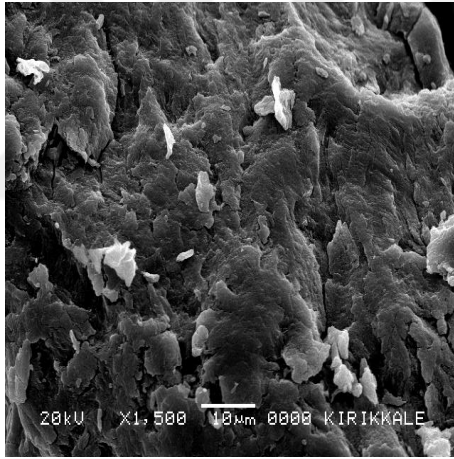
Şekil 3.17. NaAlg ve aşı kopolimerlerin SEM görüntüleri



(e) NaAlg'ye ait SEM görüntüsü
(x5000)



(f) NaAlg-aşı-PDEAAm
kopolimerine ait SEM görüntüsü
(x5000)



(g) NaAlg'ye ait SEM görüntüsü
(x1500)



(h) NaAlg-aşı-PDEAAm
kopolimerine ait SEM görüntüsü
(x1500)

Şekil 3.17. (Devam)

Şekil 3.17 (a)-(h)'de NaAlg'nin yüzey morfolojisinde aşılamayla birlikte değişim görülmüştür. Aşılama ile yüzeyin daha pürüzsüz ve tabakalı olduğu

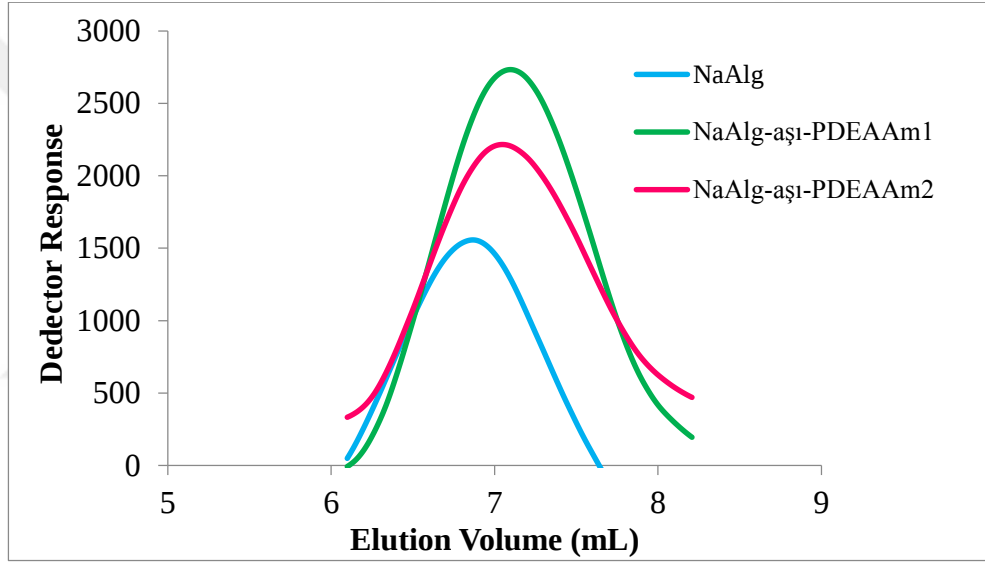
görülmektedir (f-h). Aşılanmanın yapısını daha iyi anlayabilmek için büyültme yapıldığında NaAlg'nin aşı kopolimere göre farklı olduğu belirgin şekilde görülmektedir. Yapıdaki bu farklılık NaAlg ve PDEAAM'nin polaritelerinin farklı olmasına atfedilebilir. NaAlg iskeleti üzerine PDEAAM aşılansından dolayı, granül yapısından ince dilimler haline geçmiştir. Benzer değişimler literatürde bulunmaktadır [83].

3.1.9. NaAlg ve NaAlg-aşı-PDEAAM Kopolimerinin GPC-SEC Analiz Sonuçları

Suda çözülmüş % 1'lik NaAlg ve iki farklı aşı yüzdeli kopolimerlerin SEC analizleri kolonların bir günlük şartlanmasından sonra yapılmış ve sonuçlar Şekil 3.18'de sunulmuştur. Hareketli faz olarak 1 mL/min akış hızında 0.1 M NaNO₃ ve kolon olarak PL aquagel - OH mixed (8µm) (MW: 100-10⁷) kullanılmıştır. Kalibrasyon için farklı mol kütlelerindeki polisakkarit standartlar ve dedektör olarak ise RI dedektörü kullanılmıştır.

Aşı kopolimerlerin alıkonma hacimlerinin daha fazla olduğu şekilden görülmektedir. Alıkonma hacimleri ve kalibrasyon doğrusu yardımı ile mol kütlelerine geçilmiştir. Farklı türden mol kütleleri Çizelge 3.4'te verilmiştir. Bu veriler doğrultusunda NaAlg'ye PDEAAM gruplarının aşılansması ile mol kütlelerinin öncelikle düştüğü, aşı veriminin artması ile ise yükseldiği görülmektedir. Mol kütlelerindeki düşme serbest radikalik polimerizasyon sırasında mikrodalganın etkisiyle meydana gelen halka açılmaları ve zincir kırılmalarının olmasına atfedilebilir. Mol kütlelerindeki artışın ise aşı kopolimerdeki aşılansan PDEAAM birimlerinin artmasıyla daha uzun polimer zincirlerinin oluşmasından kaynaklandığı

düşünülmüştür. Mol kütlelerine benzer şekilde polidispersite indisi (PDI)'nin aşılama ile azaldığı ve aşı yüzdesinin artmasıyla arttığı görülmektedir. Polidispersite indisindeki bu değişim ise PDEAAm birimlerinin artmasıyla daha fazla aynı boy ve kütlede polimer zincirlerinin oluşmasına atfedilebilir. Aşı kopolimer elde edilmesiyle mol kütlelerinde ve polidispersite indisinde benzer değişimler literatürde bulunmaktadır [84-88].



Şekil 3.18. NaAlg ve kopolimerlerin SEC alıkonma hacim değişimleri

Çizelge 3.4. Sodyum aljinat ve aşı kopolimerlerin mol kütlesi değişimleri

	Mn	Mw	Mp	D
NaAlg	318950	778220	479870	2,4400
NaAlg-aşı-PDEAAm1	251310	482200	402970	1,9187
NaAlg-aşı-PDEAAm2	270390	538820	452730	1,9927

3.2. Aşılama İçin Ortam Koşullarının Etkisi

NaAlg-aşı-PDEAAm sentezlenirken öncelikle KPS/TEMED başlatıcı sisteminden sulu ortamda serbest radikaller oluşturulur. Bu serbest radikaller NaAlg hidrosilleri ile etkileşerek hidrojen çıkarılmasıyla NaAlgO makro radikaller oluşturur. Bu radikallerin başlattığı zincir polimerizasyonu ile kopolimer oluşturulur. Bu oluşumun mekanizması Şekil 3.19’da verilmiştir.



Şekil 3.19. NaAlg-aşı-PDEAAm kopolimerinin oluşum mekanizması

3.2.1. Aşılama Süresinin Aşı Yüzdesi ve Aşılama Verimine Etkisi

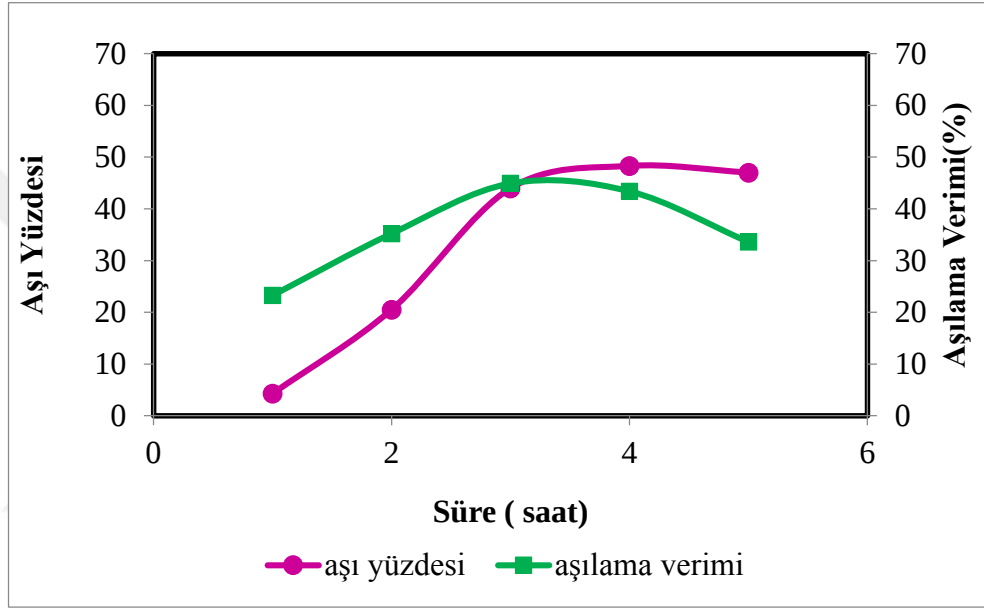
Sıcaklık, mikrodalga gücü, monomer derişimi, başlatıcı derişimi, TEMED derişimi, polimer derişimi sabit tutularak aşılama süresi 1-5 saat aralığında değiştirilmiştir. Gerçekleştirilen kopolimerin aşı yüzdesi ve aşılama verimi sonuçlarının zamana karşı değişimi Şekil 3.20’de verilmiştir. Elde edilen verilere

göre maksimum aşı yüzdesi ve aşılama verimi değerleri 4 saatlik aşılama değerinde görülmektedir. Benzer aşılama süresinde gerçekleştirilen çalışmalar literatürde bulunmaktadır [82, 89].

Şekil 3.20 incelendiğinde aşı yüzdesi ve aşılama verimi tepkime süresinin artırılmasıyla önce artmış maksimum noktaya ulaştıktan sonra aşı yüzdesi sabit kalmış, aşılama verimi azalmıştır. Süre ile birlikte NaAlg zinciri üzerindeki aktif merkezlere eklenen DEAAm birimleri artar ve bu durum aşı parametrelerinin artmasına neden olur. Aşı yüzdesinin aşılama süresinin artmasıyla sabitlenmesi, ortamda DEAAm ve KPS miktarının azalmasından dolayı, NaAlg zincirlerinin yüzeyindeki aktif merkezlerin belli bir süre sonunda doygunluğa erişmesine atfedilir. Ayrıca polimer oluşumu ile ortam viskozitesinin artması NaAlg zinciri üzerindeki aktif merkezlere monomer difüzyonunu yavaşlatabilir ve aşılama yüzdesinin bir süre sonra sabit kalmasına sebep olabilir. Benzer sonuçlar literatürde de bulunmaktadır [90, 91, 92, 4]. Optimum aşı yüzdesi ve aşılama verimi değeri sırasıyla % 48,28 ve % 54 olarak bulunmuştur. Çalışma koşulları: T: 25 °C, [DEAAm]: 0,219 M, [KPS]: $4,55 \times 10^{-4}$ M, [TEMED]: $0,66 \times 10^{-3}$ M, [NaAlg]: % 1, olacak şekilde mikrodalga dışında gerçekleştirilen aşılama sonuçları Çizelge 3.5'te verilmiştir. Mikrodalgada gerçekleştirilen aşı yüzdesi daha yüksek olduğu için optimizasyona mikrodalga fırında devam edilmiştir.

Çizelge 3.5. Mikrodalgasız ve mikrodalgada gerçekleştirilen aşılarda aşıların yüzdeleri değişimi

	Aşı yüzdesi
Mikrodalgasız	36,70
Mikrodalgada	48,28



Çalışma koşulları: T: 25 °C, [DEAAm]: 0,219 M, [KPS]: $4,55 \times 10^{-4}$ M, [TEMED]: $0,66 \times 10^{-3}$ M, [NaAlg]: % 1, Mikrodalga gücü: 500 Watt

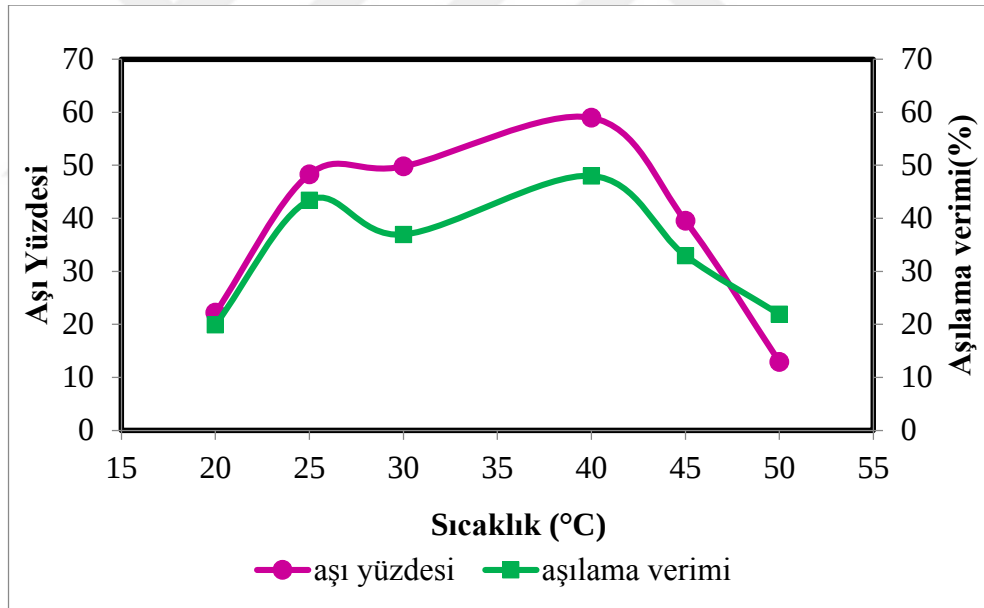
Şekil 3.20. Aşı yüzdesi ve aşılama verimine sürenin etkisi

3.2.2. Ortam Sıcaklığının Aşı Yüzdesi ve Aşı Verimine Etkisi

Şekil 3.21’de bütün parametreler sabit tutularak gerçekleştirilen kopolimerde aşı yüzdesi ve aşılama veriminin sıcaklığa karşı değişimi verilmiştir. Elde edilen

verilere göre maksimum aşı yüzdesi ve aşılama verimi sıcaklık 40 °C olduğu aşılama değerinde sırasıyla % 58,96 ve % 48 olarak bulunmuştur.

Şekil 3.21 incelendiğinde aşı yüzdesi ve aşılama verimi sıcaklığın artırılması ile artmıştır. Bu artmanın nedeni DEAAm moleküllerinin NaAlg makroradikallerine difüzyonunun artmasından kaynaklanabilir. 40 °C’den daha yüksek sıcaklıklarda aşı yüzdesi ve aşılama veriminin homopolimer oluşumunun artması sebebiyle azaldığı düşünülmektedir. Bu azalmanın bir diğer sebebi yüksek sıcaklıklarda serbest radikallerin daha fazla olmasıyla aşılama zincirlerin sonlanma tepkimelerinin artmasına atfedilebilir [93, 94, 95].

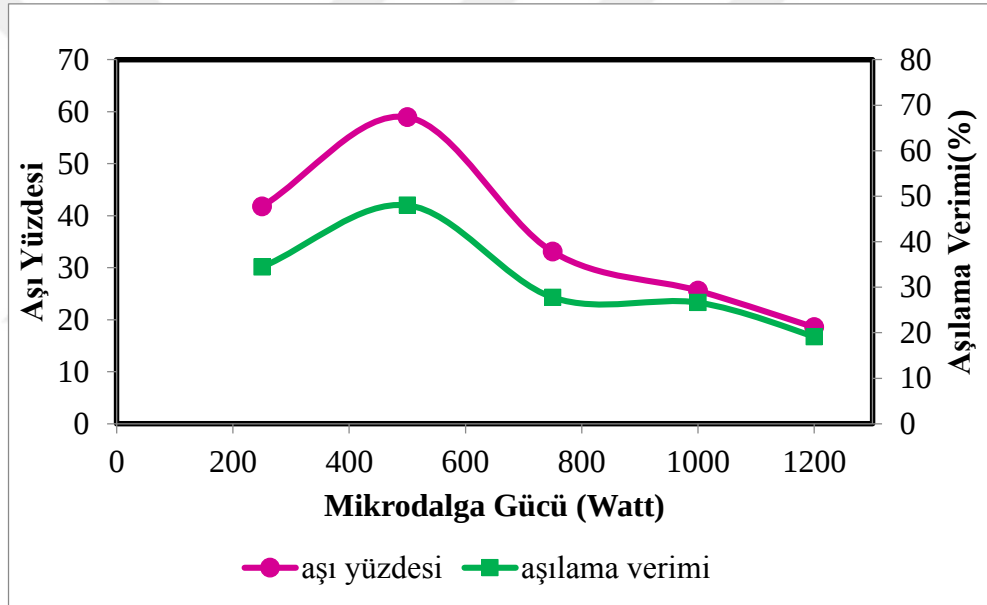


Çalışma koşulları: t: 4 saat, [DEAAm]: 0,219 M, [KPS]: $4,55 \times 10^{-4}$ M, [TEMED]: $0,66 \times 10^{-3}$ M, [NaAlg]: % 1, Mikrodalga gücü: 500 Watt

Şekil 3.21. Aşı yüzdesi ve aşılama verimine sıcaklığın etkisi

3.2.3. Mikrodalga Gücünün Aşı Yüzdesi ve Aşı Verimine Etkisi

Aşı yüzdesi ve aşılama verimi sonuçlarının mikrodalga gücüne karşı değişimi Şekil 3.22’de verilmiştir. Diğer tüm parametreler sabit tutularak mikrodalga gücü 250-1200 Watt aralığında değiştirilmiştir. Optimum aşı yüzdesi ve aşılama verimi mikrodalga gücü 500 Watt olduğu aşılama değerinde görülmektedir. Benzer mikrodalga gücüyle gerçekleştirilen çalışmalar literatürde rapor edilmiştir [96, 97].



Çalışma koşulları: T: 40 °C, t: 4 saat, [DEAAm]: 0,219 M, [KPS]: $4,55 \times 10^{-4}$ M, [TEMED]: $0,66 \times 10^{-3}$ M, [NaAlg]: % 1

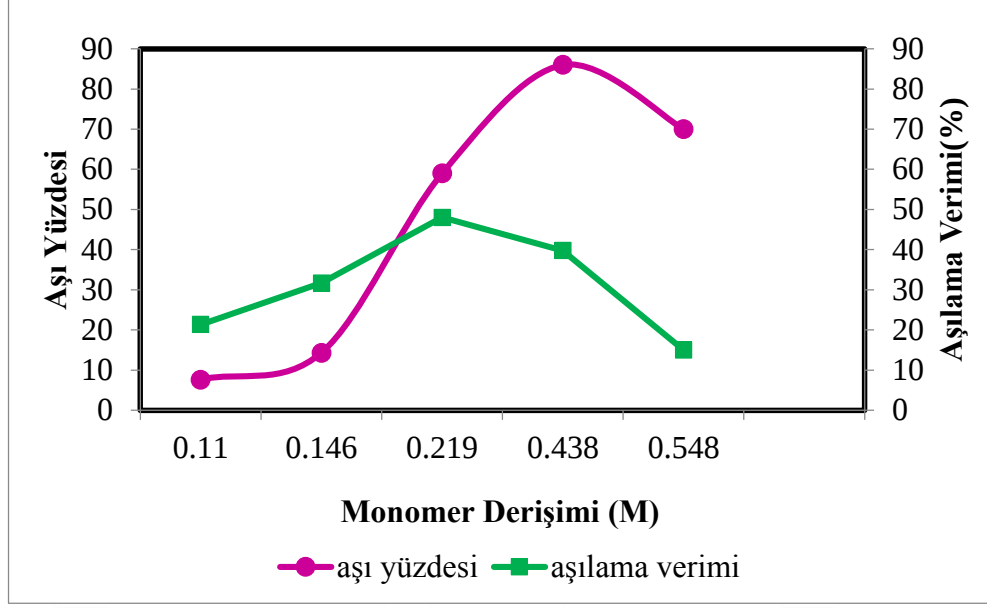
Şekil 3.22. Aşı yüzdesi ve aşılama verimine mikrodalga gücünün etkisi

Şekil 3.22 incelendiğinde mikrodalga gücü artışı ile aşı yüzdesindeki artış mikrodalga ışınının daha çok makro radikaller oluşturmasıyla açıklanabilir. 500 Watt'lık mikrodalga gücünden sonra aşı yüzdesinin düşüşü yüksek güç değerlerinde artan radikallerin sonlanma tepkimeleri vermesine ve homopolimer oluşmasına atfedilmiştir. Mikrodalga gücünün etkisinin incelendiği benzer sonuçlar literatürde bildirilmiştir [98, 99]

3.2.4. Monomer Derişiminin Aşı Yüzdesi ve Aşı Verimine Etkisi

Şekil 3.23'te aşı yüzdesi ve aşılama verimi sonuçlarının monomer derişimine karşı değişimi verilmiştir. Elde edilen verilere göre optimum aşı yüzdesi ve aşılama verimi monomer derişimi 0,438 M olduğu aşılama değerinde görülmüştür ve bu değerler sırasıyla % 86 ve % 39,76 olarak bulunmuştur.

Şekil 3.23 incelendiğinde reaksiyon ortamında DEAAm derişiminin artırılması ile NaAlg üzerindeki aktif merkezlere bağlanan monomer sayısının artmasına bağlı olarak aşılama parametreleri artmıştır. Aşılama artma zamanla ortam viskozitesini artırarak PDEAAm'nin aktif radikallerinin NaAlg molekülüne difüzyonunu zorlaştırabilir. Bu nedenle monomer miktarındaki daha fazla artış aşı yüzdesi ve aşılama verimini azaltmıştır. Literatürde monomer derişiminin artması ile aşılama yüzdesinin düştüğü benzer sonuçlar mevcuttur [100, 101, 102, 103].



Çalışma koşulları: T: 40 °C, t: 4 saat, [KPS]: $4,55 \times 10^{-4}$ M, [TEMED]: $0,66 \times 10^{-3}$ M, [NaAlg]: % 1, Mikrodalga gücü: 500 Watt

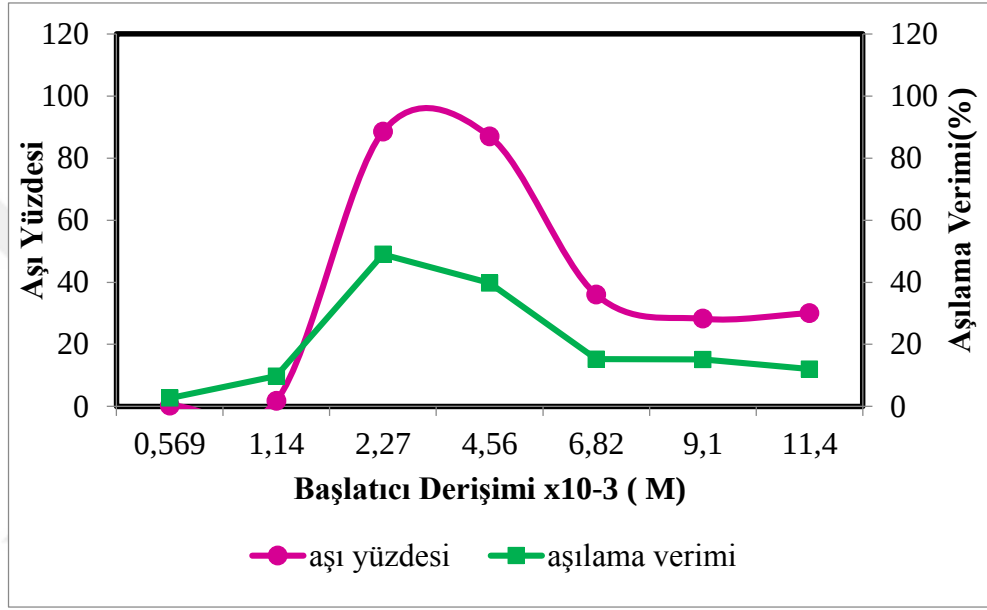
Şekil 3.23. Aşı yüzdesi ve aşılama verimine monomer derişiminin etkisi

3.2.5. Başlatıcı Derişiminin Aşı Yüzdesi ve Aşı Verimine Etkisi

Şekil 3.24'te tüm parametreler sabit tutularak kopolimerin aşı yüzdesi ve aşılama veriminin başlatıcı derişimi ile değişimi verilmiştir. Başlatıcı derişiminin $0,57-11,4 \times 10^{-3}$ M çalışma aralığında optimum aşı yüzdesi ve aşılama verimi $2,27 \times 10^{-3}$ M olduğu değerde görülmüştür ve sırasıyla % 88,51 ve % 49 olarak bulunmuştur.

Şekil 3.24 incelendiğinde aşı yüzdesi ve aşılama verimi KPS miktarının artması ile artmıştır. NaAlg iskeletinde ve monomerde aktif merkezler oluşturan KPS derişiminin artmasıyla birlikte aktif merkez sayısının artmasına bağlı olarak aşılama

parametreleri artar. Başlatıcı miktarının daha fazla artması ile polimer üzerindeki aktif merkezlerin sonlanma reaksiyonu vermesinden ve homopolimer oluşmasından dolayı aşı yüzdelерinin azaldığı düşünülmektedir. Benzer sonuçlar literatürde de gözlenmiştir [104, 105].



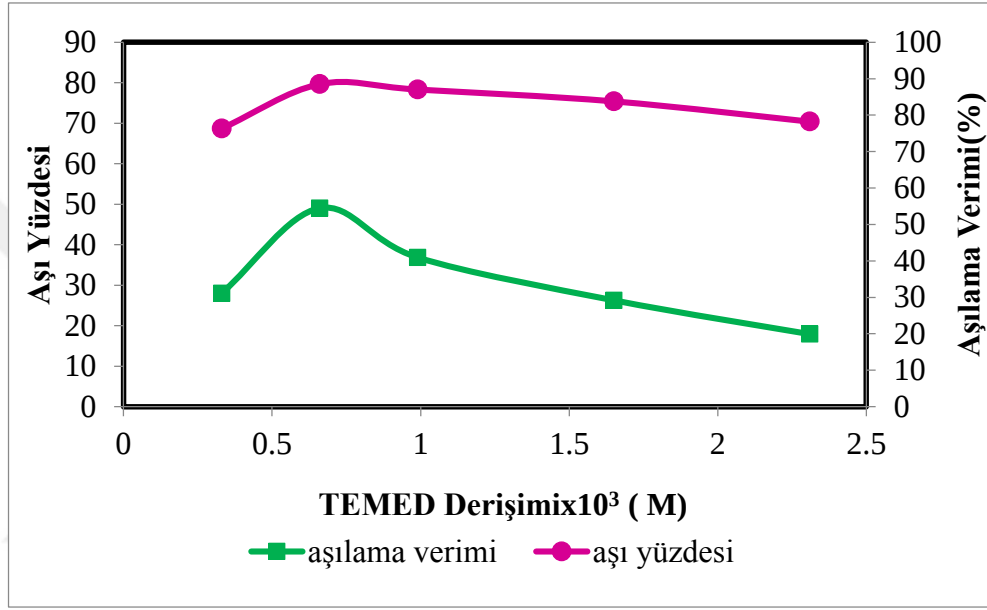
Çalışma koşulları: T: 40 °C, t: 4 saat, [DEAAm]: 0,438 M, [TEMED]: $0,66 \times 10^{-3}$ M, [NaAlg]: % 1
Mikrodalga gücü: 500

Şekil 3.24. Aşı yüzdesi ve aşılama verimine başlatıcı derişiminin etkisi

3.2.6. TEMED Derişiminin Aşı Yüzdesi ve Aşı Verimine Etkisi

Aşılama üzerine TEMED derişiminin etkisi $0,33$ - $2,31 \times 10^{-3}$ M aralığında diğer parametreler sabit tutularak incelenmiştir. Elde edilen aşı yüzdesi ve aşılama verimi

sonuçları Şekil 3.25'te ve KPS/TEMED arasındaki reaksiyon mekanizması Şekil 3.26'da verilmiştir. Çalışma aralığında optimum aşı yüzdesi ve aşılama verimi TEMED derişimi $0,66 \times 10^{-3}$ M olduğu aşılama da görölmektedir. Bu değerde aşı yüzdesi ve aşılama verimi sırasıyla % 88,51 ve % 49 olarak bulunmuştur.



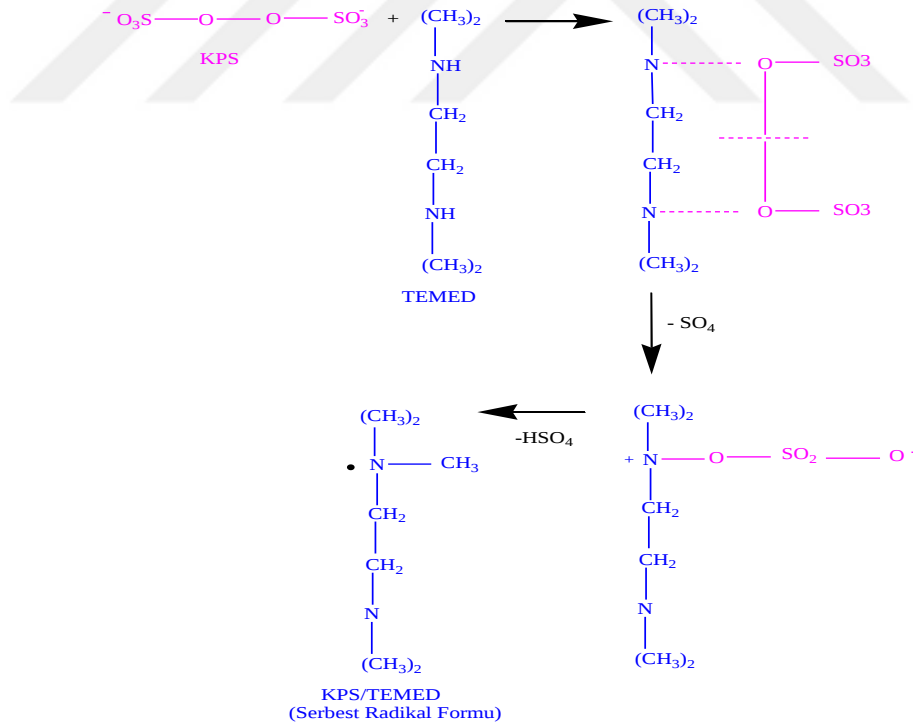
Çalışma koşulları: T: 40 °C, t: 4 saat, [DEAAm]: 0,438 M, [KPS]: $2,27 \times 10^{-3}$ M, [NaAlg]: % 1, Mikrodalga gücü: 500 Watt

Şekil 3.25. Aşı yüzdesi ve aşılama verimine TEMED derişiminin etkisi

Şekil 3.25 incelendiğinde aşı yüzdesi ve aşılama verimi TEMED derişiminin artması ile $0,66 \times 10^{-3}$ M değerine kadar artmıştır sonrasında aşılama parametreleri azalmıştır. Belli değere kadar artması reaksiyonun mekanizması Şekil 3.26 üzerinden açıklanabilir. KPS ve TEMED kullanılan sistemlerde reaksiyon sonucunda iki

maddenin de serbest radikalleri üretilir ve bu radikallerle aşı kopolimer meydana getirilir. Bu nedenle aşı yüzdesi ve aşılama verimi başlatıcı derişimi optimum değere ulaşana kadar artmıştır. Başlatıcı derişiminin daha fazla artmasıyla aşı yüzdesi ve aşılama verimi azalmaktadır. Bu azalma KPS/TEMED radikallerinin sonlanma reaksiyonu vermesi veya büyüyen polimer zincirindeki sonlanma kombinasyonları gerçekleşmesine atfedilmiştir [106,107].

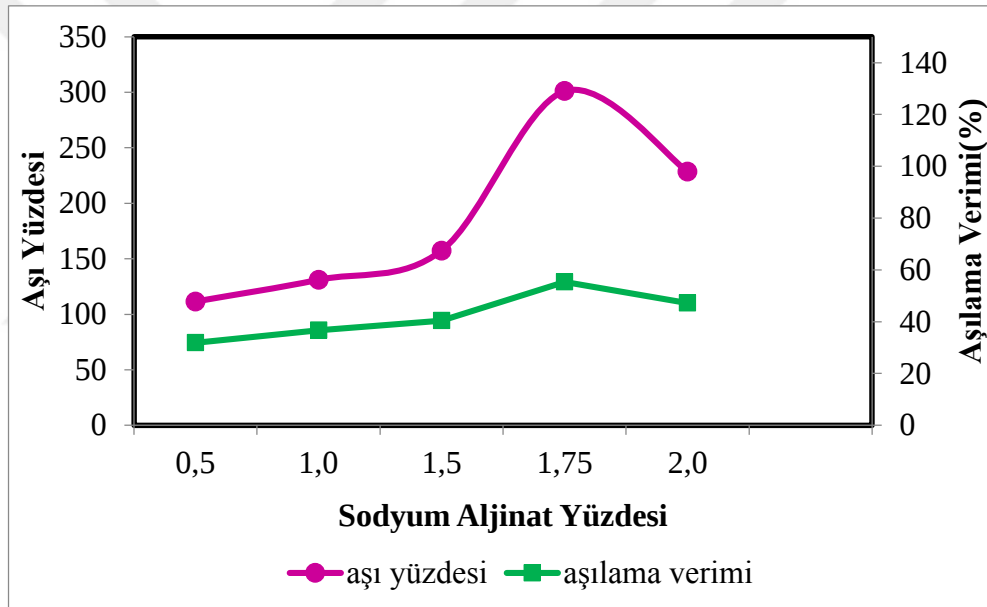
Çalışma koşulları: T: 40 °C, t: 4 saat, [PDEAAm]: 0,438 M, [KPS]: $2,27 \times 10^{-3}$ M, [NaAlg]: % 1, Mikrodalga gücü: 500 Watt olacak şekilde TEMED kullanılmayan aşı kopolimerin aşı yüzdesi % 14 aşılama verimi ise % 34,92 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.26. KPS/TEMED arasındaki reaksiyon mekanizması [21]

3.2.7. Polimer Miktarının Aşı Yüzdesi ve Aşı Verimine Etkisi

Diğer parametreler sabit tutulup, polimer yüzdesi 0,5-2,0 aralığında değiştirilmiş ve elde edilen sonuçlar Şekil 3.27’de sunulmuştur. Elde edilen verilere göre maksimum aşı yüzdesi ve aşılama verimi polimer yüzdesinin 1,75 (w/v) olduğu aşılama görülmektedir. Optimum aşı yüzdesi ve aşılama verimi sırasıyla % 301,06 ve % 55,35 olarak bulunmuştur.



Çalışma koşulları: T: 40 °C, t: 4 saat, [DEAAm]: 0,438 M, [KPS]: $2,27 \times 10^{-3}$ M, [TEMED]: $0,66 \times 10^{-3}$ M, Mikrodalga gücü: 500 Watt

Şekil 3.27. Aşı yüzdesi ve aşılama verimine polimer yüzdesi etkisi

Şekil 3.27 incelendiğinde NaAlg'nin % 1,75 derişime kadar aşı yüzdesinin ve aşılama veriminin arttığı bu derişim değerinden sonra aşılama parametrelerinin azaldığı görölmektedir. NaAlg derişiminin artmasıyla polimer zinciri üzerinde daha fazla aktif merkez oluşmuş ve bu da aşılama parametrelerini artırmıştır. NaAlg yüzdesinin 1,75'ten sonra görülen azalmanın sebebi ise aljinat yüzdesinin artmasıyla ortam viskozitesinin artmasına atfedilebilir. Ortam viskozitesinin artması KPS PDEAAm'nin hareketliliğini zorlaştıracaktır. Bunun yanı sıra yüksek aljinat yüzdesinde, sodyum aljinat makroradikalleri sonlanma tepkimeleri vererek aşı kopolimerizasyonu azaltabilir. Polimer derişiminde benzer eğilimler literatürde bulunmaktadır [92].

3.2.8. UV Lambasının Aşı Yüzdesi ve Aşı Verimine Etkisi

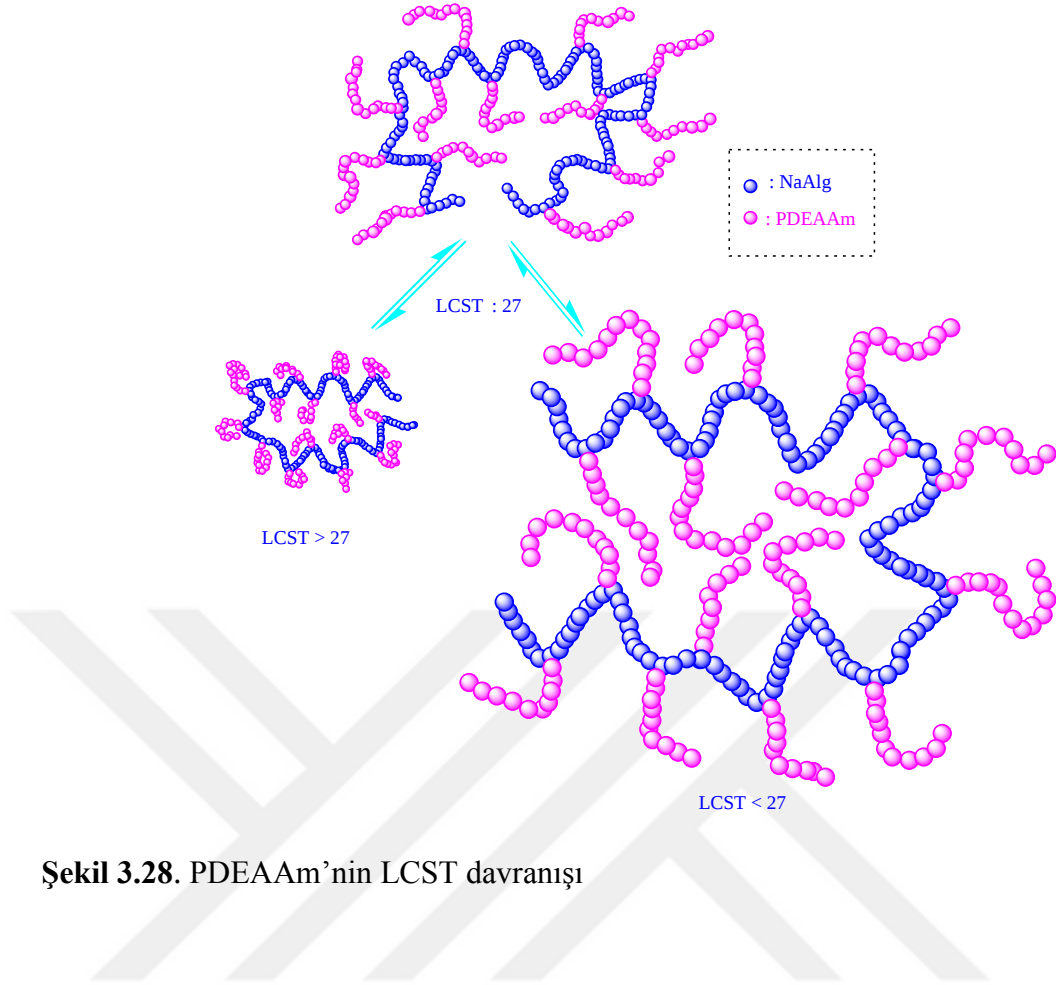
Optimizasyon çalışmasında ayrıca UV lambasının aşı yüzdesi ve aşı verimine etkisi incelenmiştir. Sıcaklık 40 °C, aşılama süresi 4 saat, monomer derişimi 0,438 M, başlatıcı derişimi $2,27 \times 10^{-3}$ M, TEMED derişimi $0,66 \times 10^{-3}$ M, mikrodalga gücü 500 Watt olacak şekilde ortam koşulları sabit tutularak mikrodalga ışınına ek olarak mikrodalga ile aktive olabilen eletrotsuz UV lambası kullanılmıştır. Aşı yüzdesi % 301,06'dan % 331,16'ya artma göstermiştir.

Aşı kopolimerler, geleneksel yöntem ile serbest radikalik başlatıcı kullanarak, yüksek enerjili radyasyon olan gama ışınları veya hızlandırılmış elektron ışını kullanarak, UV ışını ve mikrodalga ışını kullanarak sentezlenebilirler. Ancak aşı kopolimer sentezleme işlemlerinde en sık elektromanyetik spektrumun 300 MHz ile 300 GHz aralığında bulunan mikrodalga ışınının kullanımı görölmektedir.

Mikrodalga ışını polar bandların seçici uyarımı gerçekleştirerek serbest radikaller üretilmesini sağlar. UV ışını mikrodalga ışınından yüksek enerjili ışıdır ve ortamda UV lambasının bulunması daha fazla makroradikallerin üretilmesine ve aşı yüzdesinin artmasına neden olmuştur [108].

3.3. NaAlg, PDEAAm ve NaAlg-aşı-PDEAAm'nin LCST Sonuçlarının Değerlendirmesi

Poli(N-izopropilakrilamid) polimeri sıcaklığa duyarlı polimerlerden en sık kullanılanıdır. Son yıllarda PDEAAm polimerinin de bu polimere alternatif olarak kullanıldığı görülmektedir [109]. Bu polimerler LCST değerine sahiptirler ve düşük sıcaklıklarda sulu çözeltide çözünerek polimer zincirleri gelişigüzel yapılandırma sergilerler. Bununla birlikte sıcaklık artması ile LCST değerinin üstünde polimer zincirlerinin hidrofobik etkileşimi artar ve polimer çöker. Bu değişim Şekil 3.28'de şematik olarak verilmiştir. PDEAAm polimerinin LCST değerinin 25-32 °C aralığında değiştiği için ilaç salım sistemlerinde kullanıldığı literatürde belirtilmiştir [2].

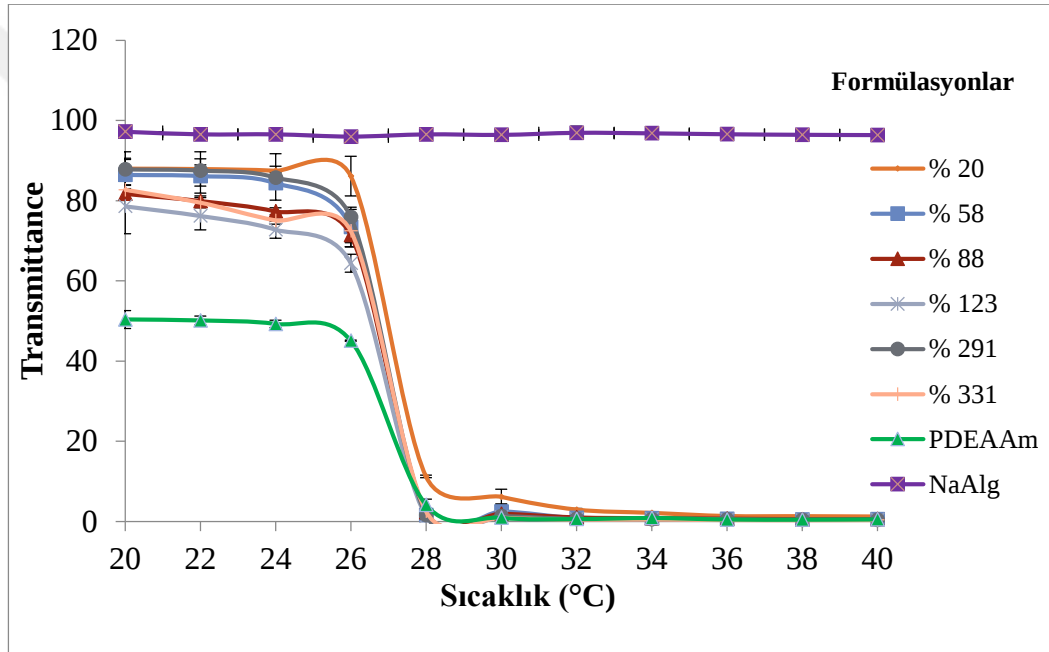


Şekil 3.28. PDEAAm'nin LCST davranışı

Zincirsel polimerler için, ilk defa 1968 yılında Heskins ve Guillet tarafından "bulutlanma noktası" (cloud point: CP) metodu, olarak adlandırılan basit bir LCST ölçüm yöntemi geliştirilmiştir. Çokça kullanılan bu yöntemde standart bir UV-VIS spektrofotometresi ile 500 nm veya 600 nm dalga boylarında çalışılmaktadır. Dalga boylarından yararlanarak çöken partiküllerin minimum boyutları belirlenebilir [110].

NaAlg-aşı-PDEAAm aşı kopolimerlerinin LCST değerlerinin tespiti için 0,01 g/10 ml derişimli numuneler hazırlanmış ve 500 nm dalga boyunda geçirgenlikleri ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar Şekil 3.29'da sunulmuştur. Şekilden NaAlg'nin LCST değerinin olmadığı, aşı kopolimerlerin PDEAAm'ye benzer şekilde geçirgenliklerinin yaklaşık 27 °C da hızlı bir azalma gösterdiği görülmektedir. Elde

edilen sonuçlardan sentezlenen kopolimerlerin sıcaklığa duyarlı kopolimerler olduğu ve aşı yüzdesinin değişmesiyle LCST değerlerinin değişmediği görülmektedir. Benzer sonuçlar literatürde belirtilmiştir [111, 112]. Gan ve arkadaşları PDEAAm'nin ve PDEAAm-aşı-akrilikasit kopolimerlerinin LCST değerlerini 400-720 nm aralığında ölçmüşler ve PDEAAm LCST değerini 30,5 °C aşı kopolimerin LCST değerini 28,1 °C olarak bulmuşlardır [7].



Çalışma koşulları: 0,01 g/ 10 mL örnek derişimi, 500 nm dalga boyu

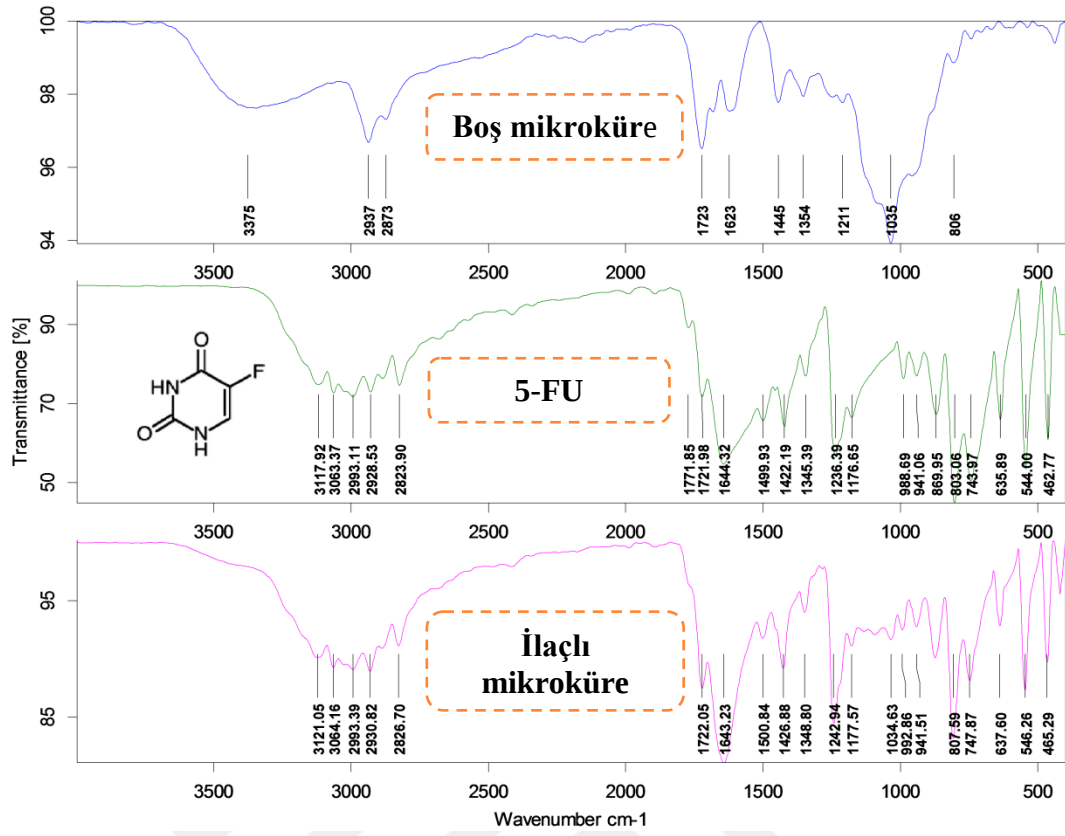
Şekil 3.29. Aşı kopolimerlerin, homopolimerin ve NaAlg'nin LCST değerleri

3.4. NaAlg-aşı-PDEAAm Mikrokürelerinin Karakterizasyonu

3.4.1. Nalg-aşı-PDEAAm Mikrokürelerinin FTIR Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Şekil 3.30'da NaAlg-aşı-PDEAAm (% 58 aşı yüzdeli) boş mikroküre, 5-FU ve 5-FU yüklü NaAlg-aşı-PDEAAm (% 58 aşı yüzdeli) mikrokürelerin FTIR spektrumları verilmiştir.

Boş mikrokürenin spektrumunda 3375 cm^{-1} 'de gözlenen geniş bandın (OH) gerilmesine, 2937 cm^{-1} ve 2873 cm^{-1} 'de görülen bandların (CH) gerilmelerine, 1623 ve 1445 cm^{-1} 'de görülen bandların (C=O) grubuna ait asimetrik ve simetrik gerilmelerine ait olduğu belirlenmiştir [113]. Ayrıca 1354 cm^{-1} , 1211 cm^{-1} 'deki bandlarının PDEAAm uç gruplarındaki (CH) eğilmelerine, 1035 cm^{-1} 'de görülen bandın (COC) gerilmesine, 806 cm^{-1} 'de görülen bandın (NaO) gerilmesine ait olduğu saptanmıştır [114, 115, 116]. NaAlg'in (OH) gruplarının GA'in karbonil grubu ile çapraz bağlanmasından dolayı (OH) gerilmesi 3263 cm^{-1} 'den 3375 cm^{-1} 'e, (OH) eğilmesi 1298 cm^{-1} 'den 1211 cm^{-1} 'e kaymıştır. Çapraz bağlanmayla gelen 1035 cm^{-1} 'de bulunan pik (COC) eter grubu gerilmesi ve 1723 cm^{-1} 'de görülen pik, çapraz bağlanmış mannuronik asit birimlerindeki karbonil pikidir. Bu kaymalar sonucunda NaAlg ile GA moleküllerinin çapraz bağlandığı açıkça görülmektedir.



Şekil 3.30. NaAlg-aşı-PDEAAm boş mikroküre, 5-FU ve 5-FU yüklü NaAlg-aşı-PDEAAm mikrokürelerin FTIR spektrumları

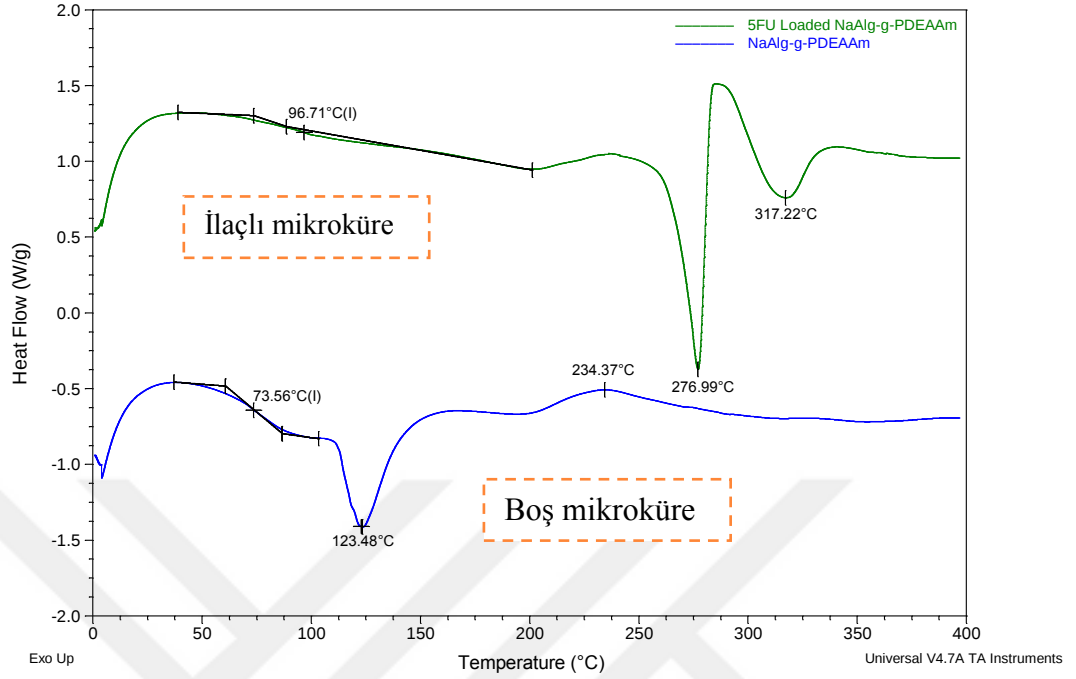
5-FU antikanser ilacının FTIR spektrumunda, 3000-3500 cm⁻¹ aralığında gözlenen geniş bandın ilacın aromatik (CH) grubuna ve (NH) grubuna ait gerilmelere, 1499 cm⁻¹'deki bandın (NH) eğilmesine, 1236 cm⁻¹'de görülen bandın (CF) gerilmesine, 1422 cm⁻¹'de görülen pik düzlem içi konumunda (CH) (-CF=CH-) gerilmesine ve 869 cm⁻¹'de görülen pikin ise düzlem dışı (CH) (-CF=CH-) gerilmesine ait olduğu belirlenmiştir. Ayrıca 1721 cm⁻¹'de ve 1644 cm⁻¹'deki piklerin çevreleri farklı olan (C=O) gerilmelerine ait olduğu belirlenmiştir ve 1600 cm⁻¹

civarındaki (C=C) gerilmesi bu pikin altında kalmıştır. Benzer sonuçlar literatürde rapor edilmiştir [11, 54, 117, 118].

İlaçlı mikrokürelerin FTIR spektrumunda 5-FU'ya ait 2500-3500 cm^{-1} aralığındaki (CH) gerilme piklerinin, 1500 cm^{-1} ve 1242 cm^{-1} 'de sırasıyla (NH) eğilmesinin ve (CF) gerilmesinin bulunması ilacın mikrokürelere başarıyla yüklendiğini göstermektedir. Ayrıca ilacın spesifik piklerinin mikroküre içinde de aynı bölgede olması ilacın kristalin yapısını koruduğunu göstermektedir. Benzer sonuçlar literatürde bulunmaktadır [119].

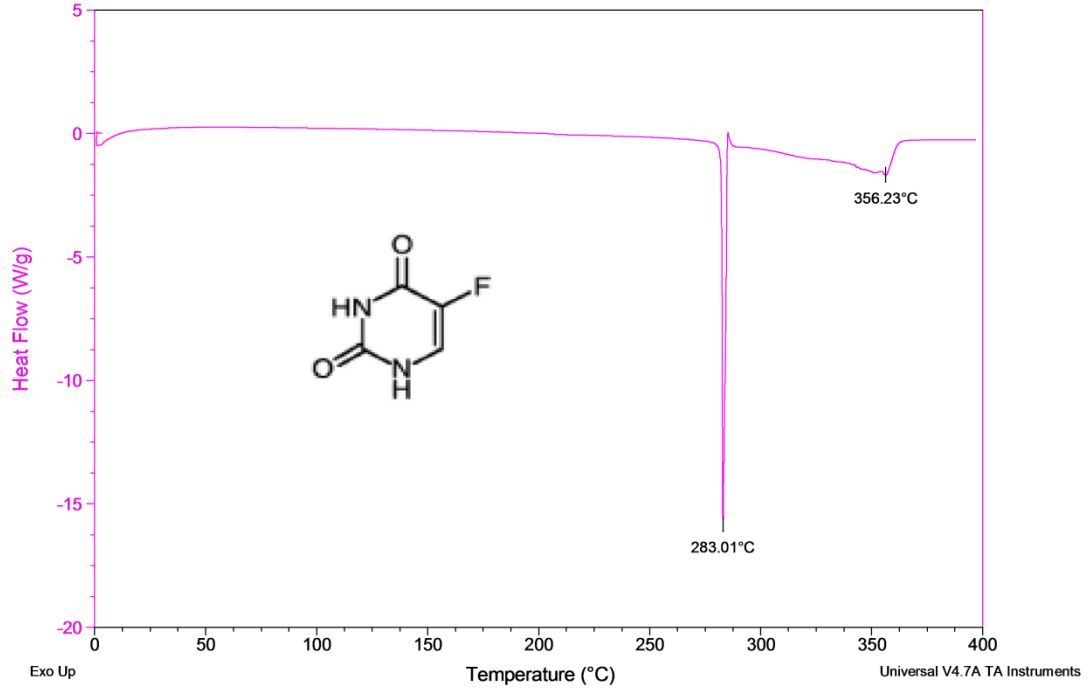
3.4.2. NaAlg-aşı-PDEAAm Mikrokürelerinin DSC Sonuçlarının Değerlendirilmesi

NaAlg-aşı-PDEAAm (% 58 aşı yüzdeli) boş mikroküre, 5-FU ve 5-FU yüklü NaAlg-aşı-PDEAAm (% 58 aşı yüzdeli) mikrokürelerin DSC termogramları Şekil 3.31'de görülmektedir. Termogramlarda endoterm camsı geçiş ve sonrasında bozunmalar görülmektedir. DSC diyagramından ilaçlı mikrokürelerin T_g değeri 96,71 °C, boş mikrokürelerin T_g değeri 73,56 °C olarak belirlenmiştir. Mikrokürelere ilaç yüklenmesiyle birlikte polimer ağının içerisindeki amorf bölgelerdeki serbest kısımlar ilaç kristalleriyle dolmaktadır. Böylece serbest hacim azalmasından dolayı T_g değerinde artma görülmektedir. 243,37 °C'da NaAlg'ye ait ekzotermik bozunma piki bulunmaktadır [79]. Çapraz bağlanma ile NaAlg'ye ait ana zincirin bozunma sıcaklığı 244,22 °C'den 234,37 °C'a düşmüştür.



Şekil 3.31. 5-FU yüklü NaAlg-aşı-PDEAAm mikrokürelerin ve NaAlg-aşı-PDEAAm boş mikrokürelerin DSC termogramı

5-FU termogramı Şekil 3.32’de verilmiştir ve erime noktası 283°C olarak tespit edilmiştir. Literatürde Babu ve arkadaşları 5-FU’nun erime noktasını 285,16 °C olarak tespit etmişlerdir [120]. 5-FU erime noktasının benzer olarak belirtildiği çalışmalar literatürde bulunmaktadır [121]. İlaç yüklü mikrokürelerin diyagramında ilacın erime noktasının hidrojen bağları etkileşimlerinden dolayı 276,99 °C’ye kaydığı düşünülmektedir. İlaç yüklü mikrokürelerin termogramında 5-FU’ya ait 317,22 °C’de bir bozunma piki gözlenmektedir. Bu sonuçlar doğrultusunda antikanser ilacı mikrokürelere başarılı bir şekilde yüklenmiştir. Benzer sonuçlar literatürde rapor edilmiştir [55].



Şekil 3.32. 5-FU'nun DSC termogramı

3.4.3. NaAlg, NaAlg-aşı-PDEAAm Kopolimer, NaAlg-aşı-PDEAAm Mikrokürelerin MTT Sonuçları ve İkili Boyama Metodu ile Apoptozun/Nekrozun Belirlenmesi

NaAlg, % 58 aşı yüzdeli kopolimer, % 58 aşı yüzdesindeki kopolimerin boş mikroküresine ait *in-vitro* sitotoksosite çalışmasından elde edilen sonuçlar Şekil 3.33'da verilmiştir.

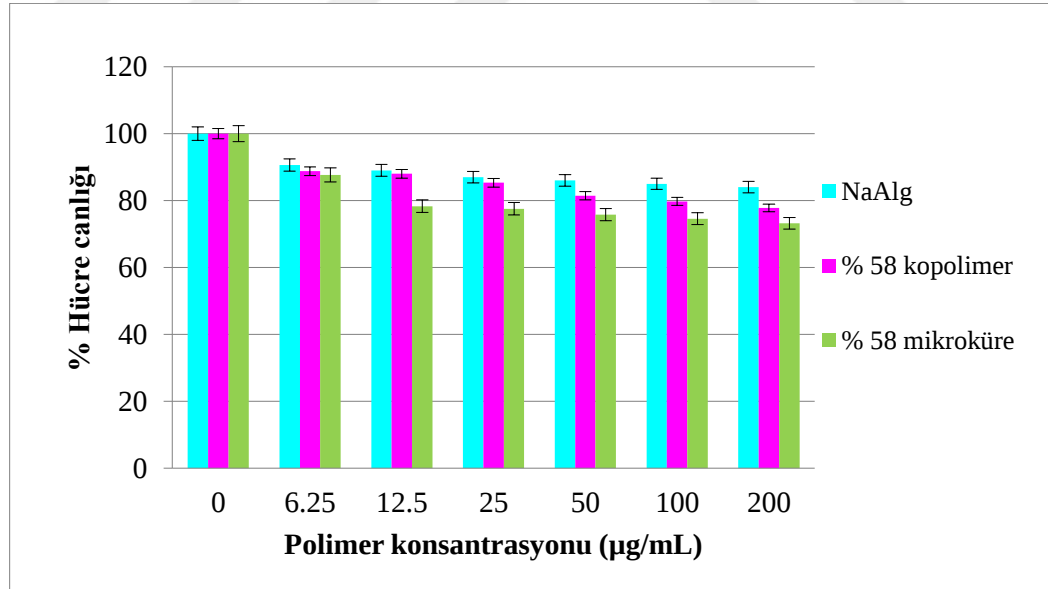
Sitotoksosite, MTT yöntemi kullanılarak 10993-5 standartlarına uygun şekilde yapılmıştır. Bu yöntem hücre proliferasyonunun ölçülmesi için 3,[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) tetrazolyumtuzu'nun kullanıldığı hassas bir yöntemdir. MTT, metabolik aktivite ile ilgili mitokondrial

enzimler tarafından suda çözünmeyen formazan boyaya indirgenmektedir. MTT'nin indirgenmesi primer olarak hücre içerisindeki glikolitik aktivite ile ilgili olmakla birlikte NADH (Nicotinamide Adenine Dinucleotide) ve NADPH (Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate) varlığına bağlıdır. MTT solüsyonu canlı veya apoptozun erken evresindeki hücrelerin mitokondrileri aracılığı ile oluşturduğu reaksiyonda, çözeltide bulunan tetrazolium halkası hücre mitokondrilerinde bulunan dehidrojenaz enzimlerince parçalanarak renkli formazan kristalleri oluşturur. Canlı hücrelerde gözlenen renk değişimi Elisa readerda yapılan okuma sonundaki absorbans değerlerini verir.

L929 fibroblast hücreleri 48 well platelere her bir kuyucuğa 10×10^3 hücre olacak şekilde ekimi yapılmıştır. Hücreler 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Daha önceden hazırlanan 1 mg/mL'lik polimer örneklerinden belirlenen konsantrasyonlarda (0 - 6,25 $\mu\text{g/mL}$ - 12,5 $\mu\text{g/mL}$ - 25 $\mu\text{g/mL}$ - 50 $\mu\text{g/mL}$ - 100 $\mu\text{g/mL}$ - 200 $\mu\text{g/mL}$) hücrelerin üzerine uygulanıp, 24 saat inkübe edilmiştir. Örnekler 3 tekrarlı olarak çalışılmıştır. Pozitif kontrol olarak sadece besi ortamı hücrelere uygulanmıştır. 24 saat sonunda kuyucuklardaki vasatlar atılarak her kuyucuğa 100 μL besiyeri ve 20 μL MTT çözeltisi ilave edilmiştir. 37 °C'de 3,5 saat inkübasyondan sonra kuyucuklara 150 μL MTT solventi (DMSO) eklenerek 15 dakika inkübe edilmiştir. Hücre canlılığının tespiti için 24 kuyucukluplate'in absorbans değerleri ELİSA plate okuyucuda 570 nm'de okutulmuştur. Kontrol grupları baz alınarak % canlılık hesaplanmıştır.

Şekil 3.33'te NaAlg, kopolimer ve mikrokürelerin uygulandığı L929 fibroblast hücrelerine ait % canlılık grafiği incelendiğinde kontrol grubunda (0 $\mu\text{g/mL}$) toksisitenin olmadığı gözlenmiştir. Düşük konsantrasyonda (6,25 $\mu\text{g/mL}$) en yüksek hücre canlılığı NaAlg'nin uygulandığı hücrelerde görülmüştür ve % 91

oranındadır. Aynı konsantrasyonda % 58 aşı yüzdeli kopolimerin mikroküresinin uygulandığı hücrelerin canlılığı % 89, % 58 aşı yüzdeli kopolimerin uygulandığı hücrelerin canlılığı % 88 olarak hesaplanmıştır ve polimerlerin düşük derişimlerde sitotoksik etkiye sahip olmadığı görölmektedir. Polimer konsantrasyonu arttıkça % hücre canlılığında çok az azalma görölmektedir. % 58 aşı yüzdeli kopolimer mikrokürenin, % 58 aşı yüzdeli kopolimerin ve NaAlg'nin toksik etki göstermediği görölmüştür. En yüksek konsantrasyonda (200 µg/mL) uygulandığı L929 fibroblast hücrelerindeki canlılık sırasıyla yaklaşık % 84, % 78 ve % 73 olup sırasıyla NaAlg, % 58 aşı yüzdeli kopolimer ve % 58 aşı yüzdeli kopolimerin mikroküresine aittir. NaAlg'nin toksik özellik göstermediği benzer çalışmalar literatürde bulunmaktadır [122, 123].

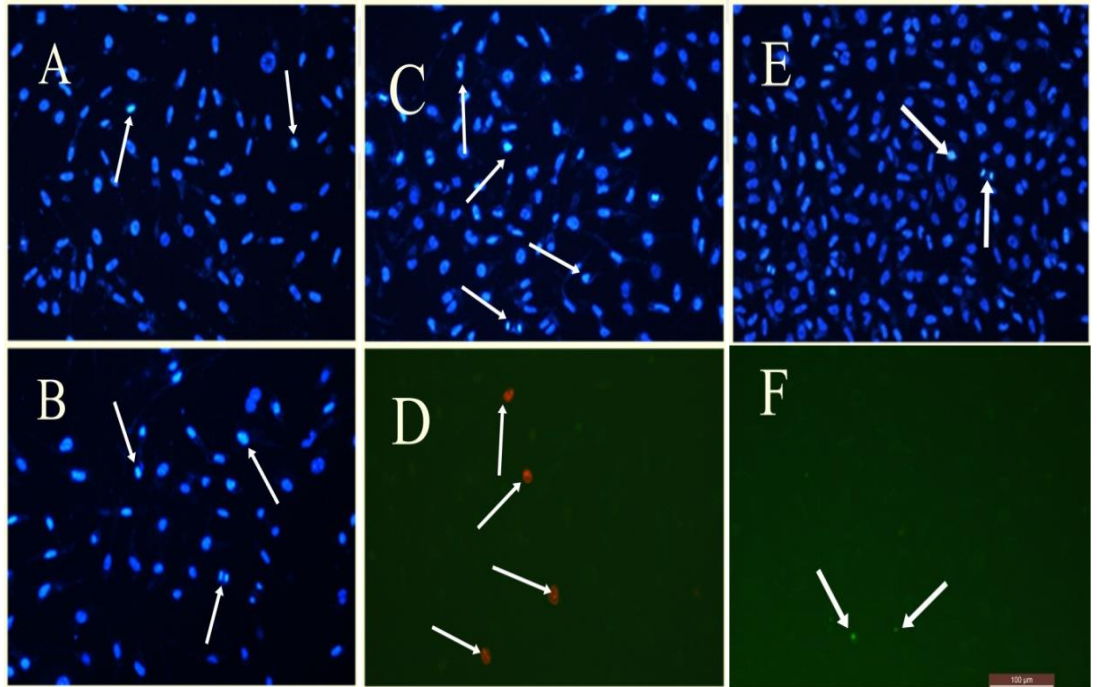


Şekil 3.33. NaAlg, kopolimer ve mikrokürenin % hücre canlılığı-derişim değişimi

İkili boyama metodu çekirdeği boyamakta ve bu sayede apoptozu ve nekrozu göstermektedir. Ribonükleaz A: -20°C’de saklanır. Ribonükleaz A RNA’yı boyamaz bu sayede sitoplazmik RNA’yı yok eder. Hoechst boyama: +4 °C’da saklanır ve apoptotik hücreleri boyar. Böylece gerçek apoptotik hücreler belirlenir. Propidiumiodide: +4 °C’de saklanır. DNA’yı ve RNA’yı boyar. Kırmızıya boyayarak sekonder nekrozu gösterir. İkili boyama için 48 well plate kullanılmıştır. Hücre sayımından sonra canlı hücre sayısına göre her well’de 10×10^3 hücre olacak şekilde hesaplama yapılmıştır. 48 well plate’de her kuyucuğa 100 µL hücre koyulmuş ve 24 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat sonunda kuyucuklardaki medyum boşaltılmıştır. 48 well plate’in tüm kuyucuklarına 150 µL medyum koyulmuştur. Daha önceden hazırlanan 1 mg/mL lik polimer örneklerinden belirlenen konsantrasyonlarda (0 - 6,25 µg/mL - 12,5 µg/mL – 25 µg/mL – 50 µg/mL – 100 µg/mL – 200 µg/mL) hücrelerin üzerine uygulanıp, 24 saat inkübe edilmiştir. Kontrol grubuna sadece medyum eklenip, 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda kuyucuklardaki medyum boşaltılır ve her kuyucuğa 70 µL ikili çalışma solüsyonu (doublestaining çalışma solüsyonu) eklenip, 48 well plate hiç ışık görmeyecek şekilde kapatılıp 15 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda floresan mikroskopta DAPI filtresi kullanılarak apoptoza uğramış hücrelerin ve FITC (480 – 520 nm dalga boyunda) nekroza uğramış hücrelerin değerlendirilmesi yapılmıştır.

NaAlg (A), % 58 aşı yüzdeli kopolimer (B), % 58 aşı yüzdesindeki kopolimerin mikroküresine ait apoptoz (C) nekroz (D) görüntüleri Şekil 3.34’de verilmiştir. Şekil 3.34. A’da, 100 µg/mL konsantrasyonda NaAlg uygulanmış L929 fibroblast hücreleridir ve apoptotik hücreler Hoechst 33342 ile parlak mavi renkte görülmektedir. Şekil 3.34 (B)’de, 12,5 µg/mL % 58 aşı yüzdeli kopolimer

uygulanmış L929 fibroblast hücreleridir, apoptotik hücreler Hoechst 33342 ile parlak mavi renkte görülmekte ve DAPI filtresinde incelenmektedir. Şekil 3.34 (C)'de, 200 µg/mL % 58 aşırı yüzdeli kopolimer uygulanmış L929 fibroblast hücreleridir ve apoptotik hücreler Hoechst 33342 ile parlak mavi renkte görülmektedir. Şekil 3.34 (D)'de, 200 µg/mL konsantrasyonda % 58 aşırı yüzdeli mikroküre L929 fibroblast hücreleri olup kırmızı görünen hücreler propodiumiodide ile boyanmış, nekrotik hücrelerdir. Nekrotik hücreler FITC filtresinde görülmektedir. Şekil 3.34 (E) ve (F), sadece kültür ortamı uygulanmış kontrol grubu hücreleridir.



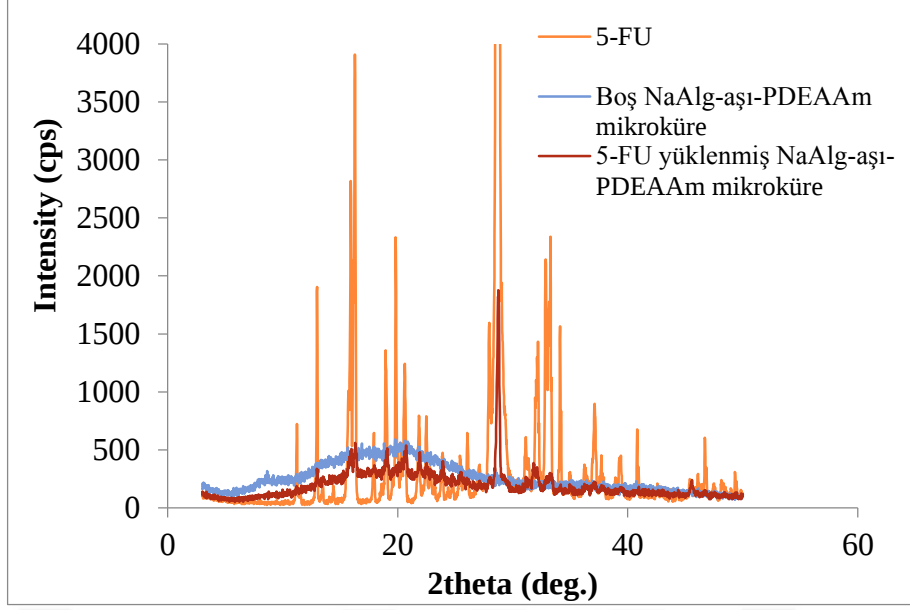
Şekil 3.34. İkili boyama ile apoptotik ve nekrotik hücrelerin gösterilmesi

3.4.4. NaAlg-aşı-PDEAAm Mikrokürelerin ve 5-FU'nun XRD Sonuçlarının Değerlendirilmesi

XRD analizi çalışma prensibi örneğe X-ışını göndererek kırılma ve dağılma verileri toplamasıdır. Kristal yapısına göre ışını farklı açılarda ve şiddette kıran örneklerin kırılma açıları hesaplanmaktadır. 5-FU, NaAlg-aşı-PDEAAm boş mikroküre ve 5-FU yüklü NaAlg-aşı-PDEAAm mikrokürelerin kristal yapılarını belirlemek amacıyla gerçekleştirilen X-ışını kırınım sonuçları Şekil 3.35'te verilmiştir. Şekil 3.35'te 5-FU, NaAlg-aşı-PDEAAm boş mikroküre ve 5-FU yüklü NaAlg-aşı-PDEAAm mikrokürelerin XRD diyagramında $2\theta=2-50^\circ$ arasındaki X-ışını kırınım çıktıları elde edilmiştir.

5-FU'nun X-ışını kırınım deseninde $2\theta=12,96^\circ, 19,82^\circ, 28,9^\circ, 11,24^\circ, 37,16^\circ$ ve $46,7^\circ$ 'deki pikler ilacın kristalin yapısına atfedilir. Benzer şekilde Azhar ve arkadaşları, 5-FU'ya ait benzer kırınım deseni sonuçları rapor etmişlerdir [124].

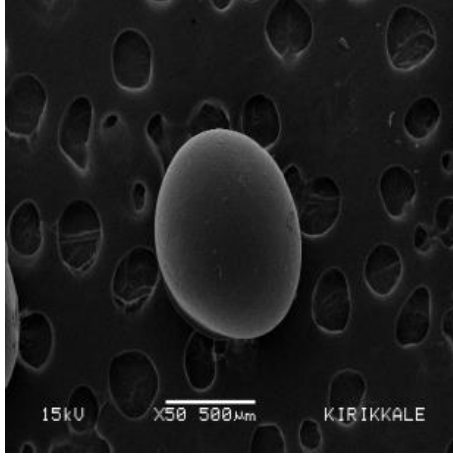
NaAlg-aşı-PDEAAm boş mikrokürenin X-ışını kırınım deseninde $2\theta=19,08^\circ$ 'de NaAlg polimerine ait yayvan bir pik vermiştir. Bu pik ilaç içermeyen mikrokürenin amorf yapıda olduğunu göstermektedir. Literatürde NaAlg'ye ait benzer kırınım desenleri elde edilmiştir [125, 126]. 5-FU yüklü NaAlg-aşı-PDEAAm mikrokürelerin XRD diyagramında ise 5-FU'ya benzer şekilde $2\theta=12,98^\circ, 15,88^\circ, 16,28^\circ, 19,49^\circ, 20,72^\circ, 21,86^\circ, 23,88^\circ, 28,6^\circ, 32,9^\circ, 34,74^\circ, 45,5^\circ$ 'de keskin kristalin pikler gözlenmiştir. Bu piklerin varlığı ilacın polimer yapılı mikroküre içerisinde kristalin olarak kaldığını göstermektedir.



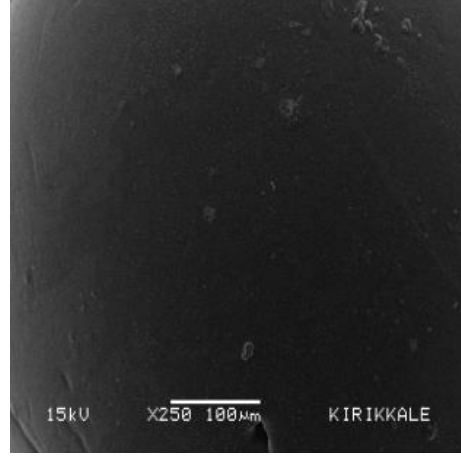
Şekil 3.35. 5-FU, NaAlg-aşı-PDEAAm boş mikroküre ve 5-FU yüklü NaAlg-aşı-PDEAAm mikrokürelerin XRD sonuçları

3.4.5. NaAlg ve NaAlg-aşı-PDEAAm Mikrokürelerin SEM Analizleri

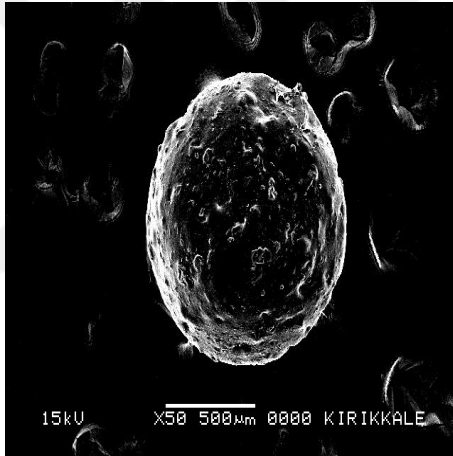
Şekil 3.36’da NaAlg ve aşı kopolimerlerden elde edilen mikrokürelerin yüzey özelliklerinde meydana gelen değişiklikler hakkında bilgi sahibi olmak amacıyla farklı büyütme ölçekleri kullanılarak çekilen SEM resimleri görülmektedir.



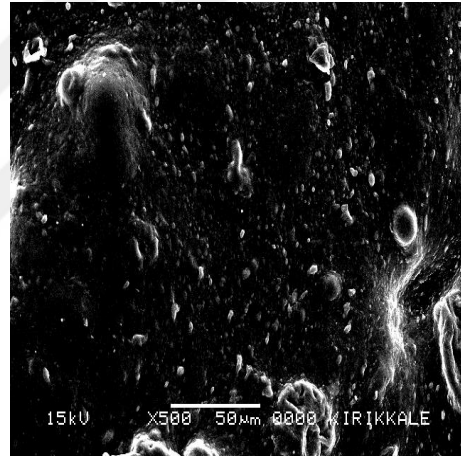
(a). NaAlg mikroküreye
(İ/P:1/1) ait SEM görüntüsü
(x50)



(b). NaAlg mikroküreye
(İ/P:1/1) ait SEM görüntüsü
(x250)

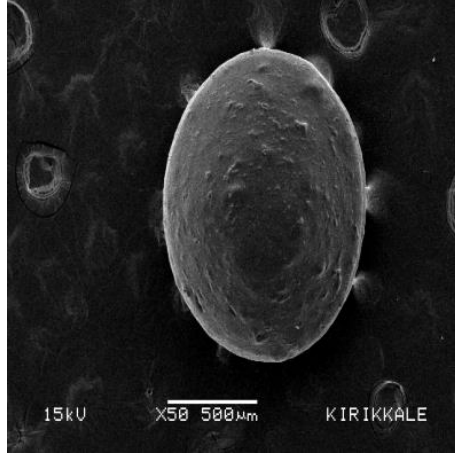


(c). % 58 aşı yüzdeli (İ/P:1/1)
mikroküreye ait SEM görüntüsü
(x50)

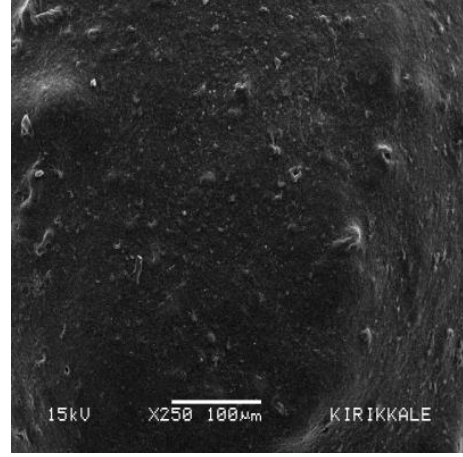


(d). % 58 aşı yüzdeli (İ/P:1/1)
mikroküreye ait SEM görüntüsü
(x500)

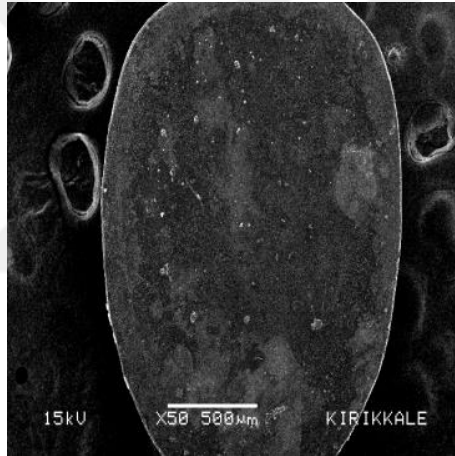
Şekil 3.36. NaAlg ve mikrokürelerin SEM görüntüleri



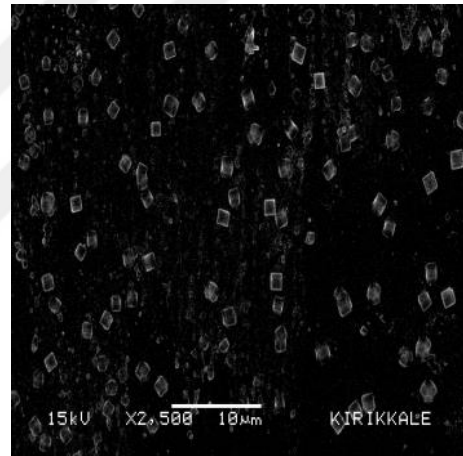
(e). % 58 aşı yüzdeli boş NaAlg-aşı-PDEAAm'nin mikroküresine ait SEM görüntüsü (x50)



(f). % 58 aşı yüzdeli boş NaAlg-aşı-PDEAAm'nin mikroküresine ait SEM görüntüsü (x250)



(g). % 58 aşı yüzdeli (İ/P:1/4) mikrokürenin çapraz kesitli SEM görüntüsü (x50)



(h). % 58 aşı yüzdeli (İ/P:1/4) mikrokürenin çapraz kesitli SEM görüntüsü (x2500)

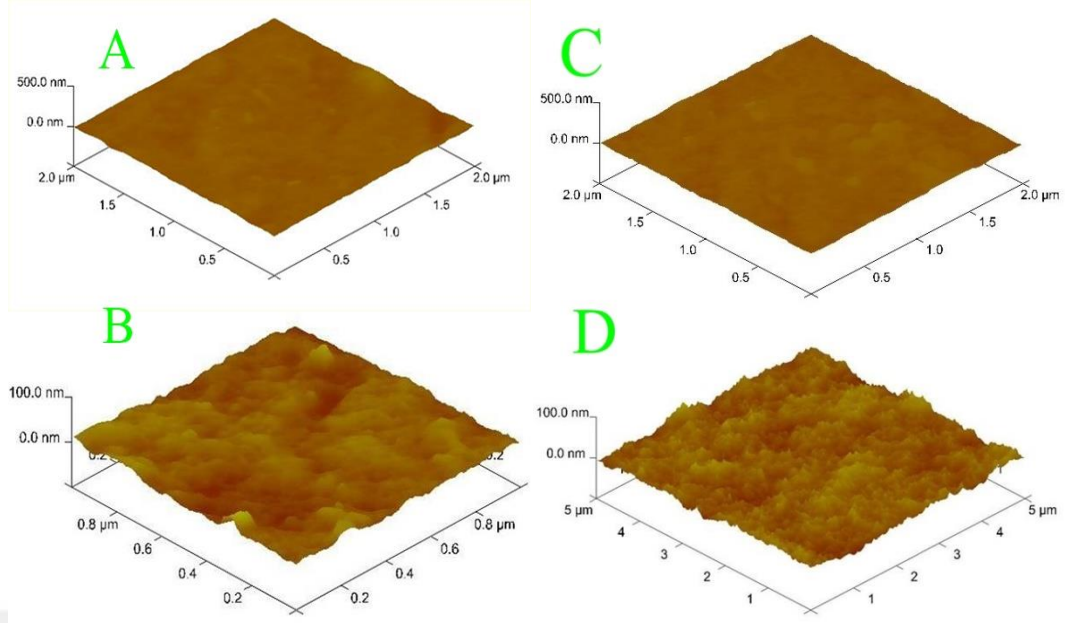
Şekil 3.36. (Devam)

Şekil 3.36 (a),(b) ve (c),(d) incelendiğinde NaAlg mikrokürelerin SEM görüntüsünün aşı kopolimerler mikrokürelerin SEM görüntülerinden oldukça farklı

olduğu görülmektedir. NaAlg daha pürüzsüz bir yüzeye sahiptir ve aşılama ile yüzey pürüzlülüğünün arttığı sonucuna varılmaktadır. Şekil 3.34 (e) ve (f)'de % 58 aşılı yüzdeli ilaç içermeyen mikrokürelere (x50 ve x250 büyütme) ait SEM görüntüsü incelendiğinde boş mikrokürelerin yüzeylerinin pürüzsüz olduğu görülmektedir. Mikrokürelerin yapısına 5-FU girmesiyle yüzeylerinin boş mikrokürelere göre daha pürüzlü ve çatlaklı olduğu gözlenmiştir. Şekil 3.34 (g) ve (h) incelendiğinde mikrokürelerin çapraz kesitlerinden elde edilen görüntülerden ilacın homojen olarak mikroküre içine dağıldığı görülmektedir. Benzer SEM görüntülerine literatürde rastlanmaktadır [116, 121, 126, 127].

3.4.6. NaAlg ve Mikrokürelerin AFM Sonuçları

Atomik Kuvvet Mikroskopu (AFM) nanometre seviyelerinde (yüzey topografisini angstrom mertebesinde 100 mikrona kadar ölçebilen) topografik yüzey analizini gerçekleştirmek amacıyla kullanılır. AFM sonuçlarını değerlendirmek amacıyla verilerin yüzey pürüzlülüğünün ölçüsü olan RMS değerlerine bakılmaktadır. RMS değeri yüzeyler üzerindeki çukur ve tepeciklere göre hesaplanan ortalama bir değerdir. Buna göre açık renkli bölgeler yüzeydeki tepecikleri ve koyu renkli bölgeler ise yüzeydeki çukurları göstermektedir [128]. SEM resimlerini desteklemek amacıyla NaAlg ve % 58 aşılı yüzdeli kopolimerden elde edilen mikrokürelerin Atomik Kuvvet Mikroskopisi görüntüleri elde edilmiştir.



Şekil 3.37. NaAlg mikrokürenin ve % 58 aşı yüzdeli mikrokürenin AFM görüntüsü

Şekil 3.37’de NaAlg mikrokürenin (A ve B) ve % 58 aşı yüzdeli mikrokürenin (C ve D) farklı ölçeklerdeki AFM görüntüsü sunulmuştur. NaAlg yüzeyin düşük pürüzlülüğe sahip olduğu görülmektedir. RMS değeri 6,84 nm olarak hesaplanmıştır. Şekillerden aşı kopolimer mikrokürenin yüzeyinin NaAlg’ye göre daha pürüzlü olduğu görülmektedir. Yüksek hesaplanan 70,4 nm RMS değeri yüzeyin pürüzlü ve tepeciklerin olduğunun kanıtıdır. AFM görüntüleri incelendiğinde aşılama ile yüzey pürüzlülüğünün arttığı sonucuna varılabilir. Literatürde benzer tespitler bulunmaktadır [127, 129].

3.4.7. NaAlg ve Aşı Kopolimer Mikrokürelerinin Verimi, Tutuklanma Verimi ve Çaplarının Değişimi

5-FU içeren mikrokürelerin hazırlanma koşulları Çizelge 3.6'da verilmiştir. NaAlg-aşı-PDEAAm mikrokürelerinde çapraz bağlayıcı derişiminin 0,5'ten (SP5) 1,5'e (SP6) artmasıyla mikroküre çaplarının 0,96'dan 0,79'a azaldığı ve çapraz bağlama süresinin 15 dakikadan (SP7) 60 dakikaya (SP8) artması ile mikroküre çaplarında 0,95'ten 0,82'ye azaldığı görülmüştür. Ayrıca çapraz bağlanma çözeltisindeki katalizör olarak kullanılan HCl derişiminin 0,5'ten (SP9) 1,5'e (SP10) artmasıyla mikroküre çaplarında 0,87'den 0,76'ya azalma olduğu görülmüştür. Mikroküre çaplarındaki bu azalmaların, çapraz bağ oranının artmasından ve daha sıkı bir ağ yapısı oluşmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Çapraz bağlama derecelerinin değiştirilmesiyle mikroküre çaplarının azaldığı benzer çalışmalar literatürde bulunmaktadır [116]. İlaç/polimer oranının 1/4'ten (SP4) 2/1'e (SP1) artması ile mikroküre çaplarında 0,74'ten 1,04'e artma görülmektedir. Mikrokürelerdeki ilaç oranı arttıkça çap değerlerindeki artma mikrokürelerdeki serbest hacimlerin dolmasına atfedilebilir. Mikroküre çaplarının benzer şekilde değiştiği çalışmalar literatürde mevcuttur [120, 92, 130, 131]. Aşılama ile mikroküre çaplarında azalma görülmesi NaAlg'ye aşılana DEAAm birimlerinin çapraz bağlanmayı azaltmasına atfedilir.

% Mikroküre verim değerleri NaAlg-aşı-PDEAAm mikroküreleri için 51,09 ile 96,77 aralığında hesaplanmıştır. % Mikroküre verim değerlerinin formülasyonların değişmesine bağlı olarak belirgin bir şekilde değişmediği görülmüştür.

Çizelge 3.6. 5-FU içeren mikrokürelerin hazırlanma koşulları

Kod	Aşı (%)	NaAlg Derişimi (%w/v)	GA Derişimi (%)	HCl Derişimi (%)	İ/P (w/w)	Süre (dk)	TV (%)	Mikroküre Çapı (µm)	Mikroküre Verimi (%)
A	-	4	1	1	1/1	30	80,00±1,7	0,85±0,11	78,62±0,5
A1	20	4	1	1	1/1		70,24±1,5	0,88±0,08	86,97±0,7
A2	34	4	1	1	1/1		61,00±2,1	0,86±0,01	96,77±1,1
A3	58	4	1	1	1/1		76,34±1,6	0,71±0,07	86,00±0,6
A4	88	4	1	1	1/1		73,99±2,6	0,80±0,08	77,82±0,9
A5	110	4	1	1	1/1		58,24±3,1	0,72±0,08	78,77±0,5
A6	20	5	1	1	1/1		75,16±1,9	0,98±0,08	47,24±0,8
A7	110	5	1	1	1/1		65,11±1,4	0,79±0,13	53,04±1,8
SP	58	6	1	1	1/1		76,00±1,0	0,95±0,15	95,65±1,4
SP1	58	5	1	1	2/1		82,00±1,5	1,04±0,09	51,09±0,5
SP2	58	5	1	1	1/1		79,62±2,2	0,97±0,09	85,93±1,4
SP3	58	5	1	1	1/2		40,92±3,5	0,91±0,09	92,72±1,3
SP4	58	5	1	1	1/4		37,00±2,6	0,74±0,07	46,77±0,9
SP5	58	5	0,5	1	1/1		89,00±0,8	0,96±0,08	71,90±1,2
SP6	58	5	1,5	1	1/1		54,00±0,9	0,79±0,05	62,35±1,4
SP7	58	5	1	1	1/1	15	65,20±3,1	0,95±0,09	78,5±1,2
SP8	58	5	1	1	1/1	60	54,56±2,8	0,82±0,06	71,6±0,7
SP9	58	5	1	0,5	1/1	30	87,00±0,9	0,87±0,07	75,32±0,9
SP10	58	5	1	1,5	1/1		57,00±0,6	0,76±0,07	65,42±0,3

Mikrokürelerin % Tutuklanma verimi değerleri 37 ila 87 aralığında değiştiği bulunmuştur. TV değerlerinin GA derişiminin 0,5'ten (SP5) 1,5'e (SP6), HCl derişiminin 0,5'ten (SP9) 1,5'e (SP10) ve çapraz bağlama süresinin 15 dakikadan (SP7) 60 dakikaya (SP8) artması ile azaldığı görülmüştür. Derişimlerdeki artmanın TV değerlerini azaltmasının, çapraz bağlanma yoğunluğunun artmasıyla mikrokürelerin daha katı bir yapı oluşturmamasından dolayı polimer içinde serbest hacimlerin azalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Rao ve arkadaşları

Poli(vinilalkol)/Sodyum karboksimetil selüloz mikroküreleri için benzer yorumlar yapmışlardır [131]. Ayrıca TV değerinin ilaç/polimer oranının 1/4'ten 2/1'e değişmesiyle mikrokürelerdeki ilaç miktarının artmasından dolayı arttığı görülmüştür. NaAlg üzerine PDEAAm aşılansması ile viskozite azalmasına bağlı olarak TV değerlerinde azalma görülmüştür.

3.5. NaAlg-aşı-PDEAAm Mikrokürelerinden *In-Vitro* 5-FU Salım Çalışmaları

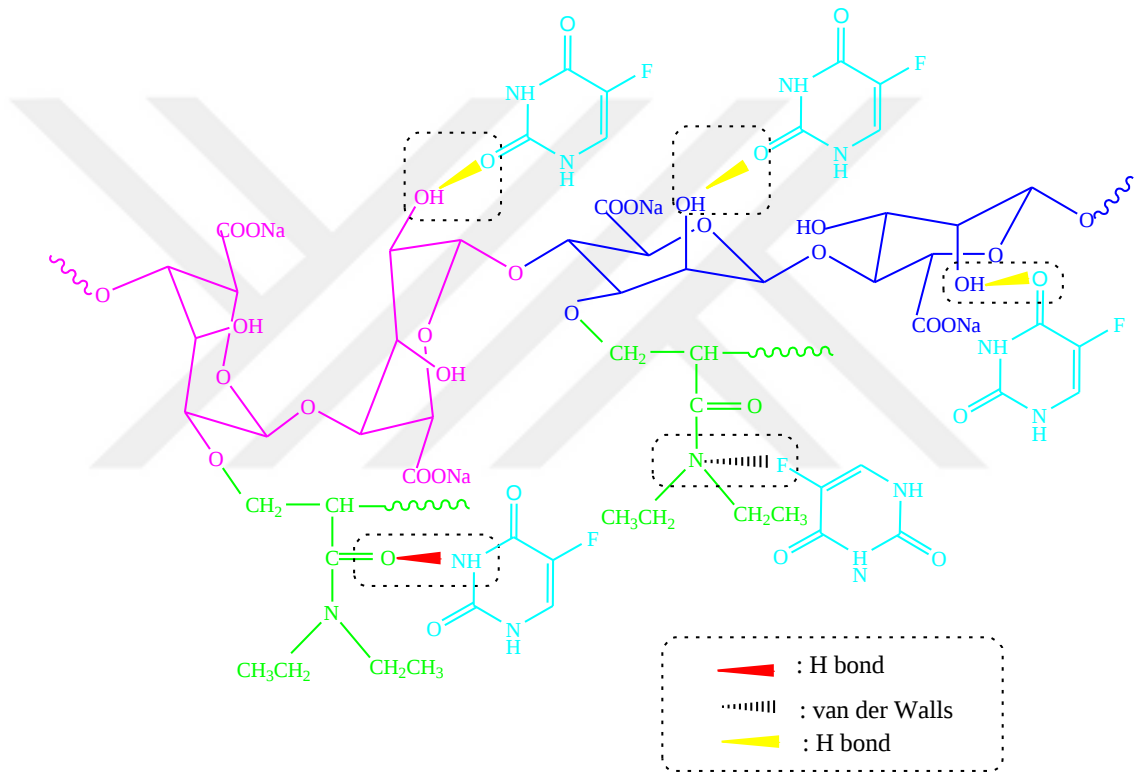
3.5.1. Aşı Yüzdesinin 5-FU Salımına Etkisi

NaAlg-aşı-PDEAAm mikrokürelerinden *in-vitro* salım çalışmaları için ilk olarak, aşı kopolimerlerin aşı yüzdelilerinin 5-FU ilacının salımına etkisi çalışılmıştır. Aşı yüzdesinin 5-FU salımına etkisi Şekil 3.39'da ve % şişme derecesi sonuçları Şekil 3.40'da verilmiştir. % 4 polimer derişiminde NaAlg (A), % 20, % 34, % 58, % 88, % 110 (A1, A2, A3, A4, A5) aşı yüzdeli formülasyonlar ve serbest 5-FU kullanılmıştır. Şekil 3.38'de belirtilen salım sonuçlarından aşı kopolimerlerin salımlarının NaAlg'ye göre daha kontrollü salım profili gösterdiği görülmüştür. Serbest 5-FU'nun salımı 4 saat sonunda % 100 olarak bulunmuştur. Şekilden aşı yüzdesindeki artış ile 5-FU salımının azaldığı görülmektedir.

% 58 aşı yüzdeli NaAlg-aşı-PDEAAm mikroküreleri için pH 1,2 HCl çözeltisinde 3 saatin sonunda 37 °C'de % salım 29,70 iken, NaAlg için bu değer 35,92'dir. Aynı koşullarda pH 5,5 asetik asit/asetat tampon çözeltisinde 2 saatin sonunda kopolimer mikroküreleri için % salım 54,77 iken NaAlg için bu değer

68,18'dir. pH 7,4 tamponunda 24 saatin sonunda mikrokürelerin % salım değeri 65 iken NaAlg için bu değer 83,01 olarak hesaplanmıştır.

24 saatin sonunda en yüksek aşı yüzdeli (% 110) A5 formülasyonunda % salım 52,77 iken, en düşük aşı yüzdeli (% 20) A1 formülasyonunda % salım 76,61'e yükselmiştir. Bu fark aşı kopolimerizasyonu ile elde edilen mikroküre yapılarının çok farklı olduğu göstermektedir.



Şekil 3. 38. 5-FU'nun polimerler ile etkileşimleri

5-FU'nun polimerler ile etkileşimleri Şekil 3.38'de gösterilmiştir. Aşı yüzdesinin 5-FU salımına etkileri aşağıda verilmiştir:

1. PDEAAm'nin aşılansıyla polimer yapısına hidrofobik dietil yan grupları girmektedir. Hidrofobikliğin artması kopolimerlerin salımının NaAlg'den daha düşük olmasına neden olmuş olabilir.

2. PDEAAm'ye ait (C=O)/(N) ve (-CH₂CH₃) gruplarının su ile arasındaki hidrofilik/hidrofobik etkileşimlerinden dolayı kopolimerin NaAlg'ye göre şişme derecelerinin düşük olmasının salımı yavaşlattığı düşünülmüştür.

3. PDEAAm'nin sıcaklığa duyarlı polimer olması sebebiyle, 37 °C çalışma sıcaklığında (bu değer PDEAAm LCST'sinin üzerindedir) polimerin polar gruplarıyla su molekülleri arasındaki hidrojen bağları azalacağından salım değerlerinde düşmeye neden olmuş olabilir.

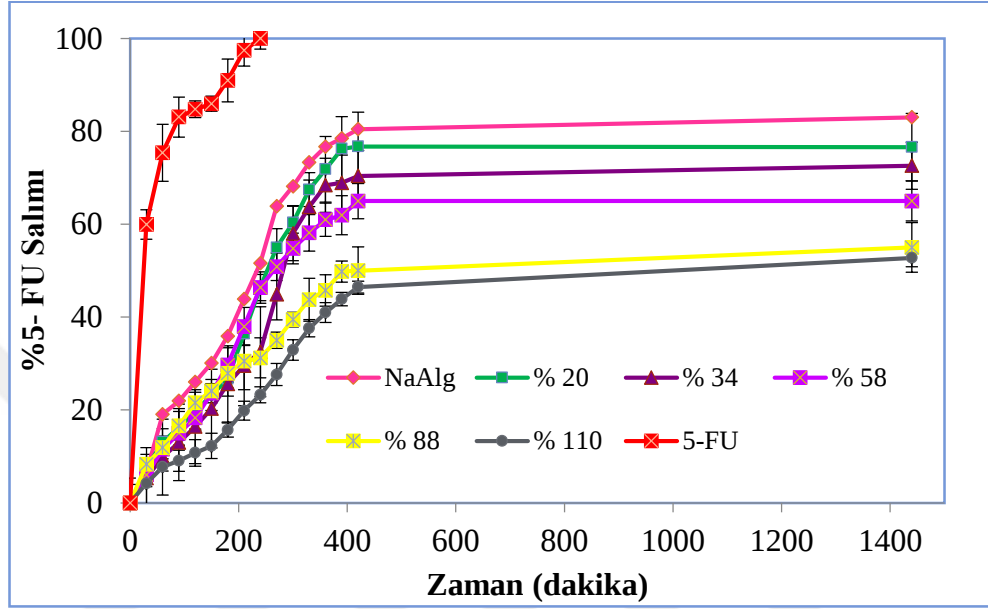
4. Aşı yüzdesinin artmasıyla PDEAAm grup sayısının artmasına bağlı olarak polimerin karbonil grupları ile 5-FU'nun (NH) grupları hidrojen bağ etkileşimi yapabilir ve bu etkileşimler salımı düşürebilir.

5. NaAlg'nin (OH) grupları ile 5-FU'nun (C=O) grupları arasındaki hidrojen bağları ve PDEAAm azot atomuyla ile 5-FU'nun (F) atomu arasında van der Waals etkileşimleri gerçekleşmesi salımı azaltmış olabilir.

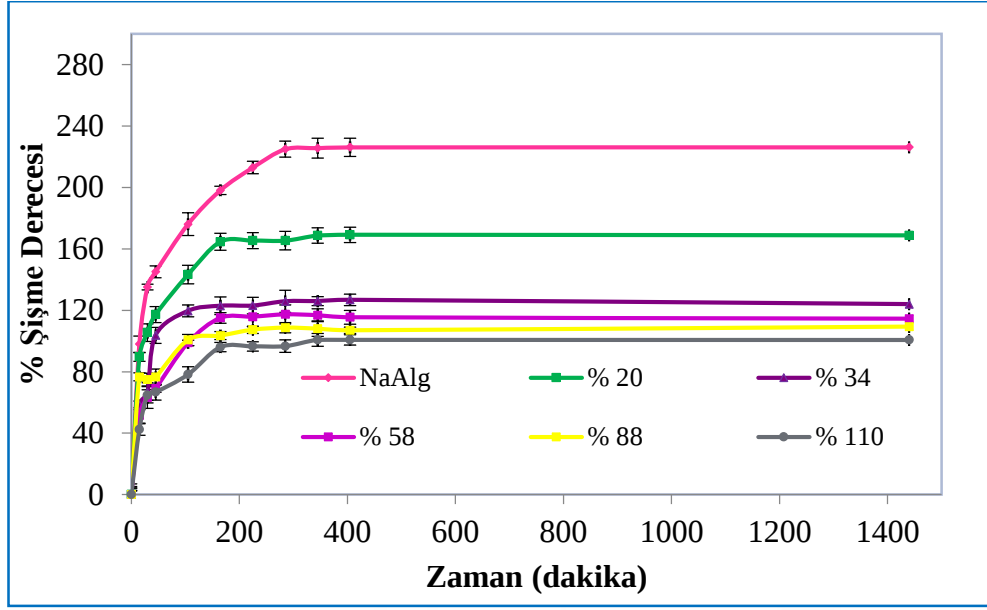
Şekil 3.40'de aşı yüzdesi ile mikrokürelerin şişme derecelerinin değişimleri sunulmuştur. NaAlg'nin % şişme derecesi 226,2 olarak bulunmuştur. % 58 aşı yüzdeli formülasyonda bu değer 114,53 olarak hesaplanmıştır. Aşı mikroküreleri 3 saatte dengeye ulaşırken, NaAlg mikroküreleri 4 saatte denge şişmeye ulaşmıştır. Ayrıca aşı yüzdesi arttıkça % şişme derecelerinin azaldığı görülmüştür.

Literatürde kopolimerdeki aşı yüzdesinin artmasıyla salım verilerinin azaldığı benzer çalışmalar bulunmaktadır [98, 132, 133]. Çalışılan formülasyonlardan % 58

aşı yüzdeleri mikroküre kontrollü 5-FU salım davranışı ve uygun tutuklanma veriminden dolayı bir sonraki parametrede kullanılmak üzere seçilmiştir.



Şekil 3.39. Aşı yüzdeleri farklı mikrokürelerden 5-FU salımı



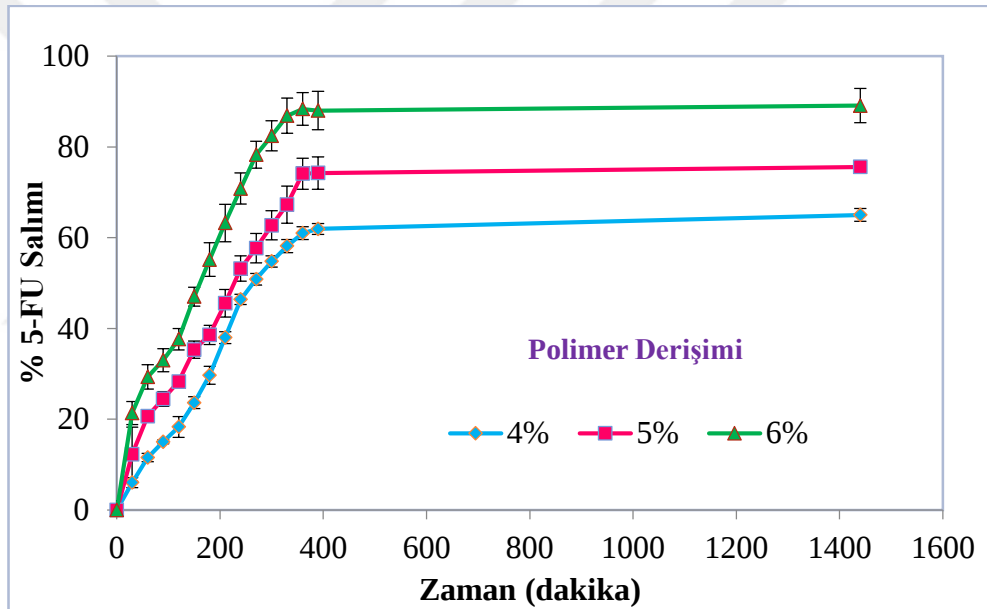
Şekil 3.40. Aşı yüzdeleri farklı mikrokürelerin % şişme derecesi-zaman değişimi

3.5.2. Polimer Derişiminin 5-FU Salımına Etkisi

Polimer derişimleri farklı mikrokürelerden 5-FU salımı Şekil 3.41’de ve % şişme derecesi Şekil 3.42’de gösterilmiştir. 5-FU salımına polimer derişiminin etkisini incelemek üzere NaAlg-aşı-PDEAAm mikroküreleri için % 4, % 5 ve % 6 (A3, SP2 ve SP) polimer derişimli formülasyonlarla çalışılmıştır.

Elde edilen sonuçlardan polimer derişiminin azalması ile mikrokürelerin daha kontrollü ilaç salım profiline sahip olduğu görülmüştür. NaAlg-aşı-PDEAAm mikroküreleri için polimer derişiminin % 6’dan % 4’e azalmasıyla 37 °C’de pH 1,2 HCl çözeltisi tamponunda 3 saatin sonunda % salım 55,16’dan 29,70’e, pH 5,5 asetik asit/asetat tamponunda 2 saatin sonunda % salım 82,46’dan 54,77’ye ve son olarak pH 7,4 tamponunda 24 saatin sonunda % salım 89,10’dan 65’e düşmüştür.

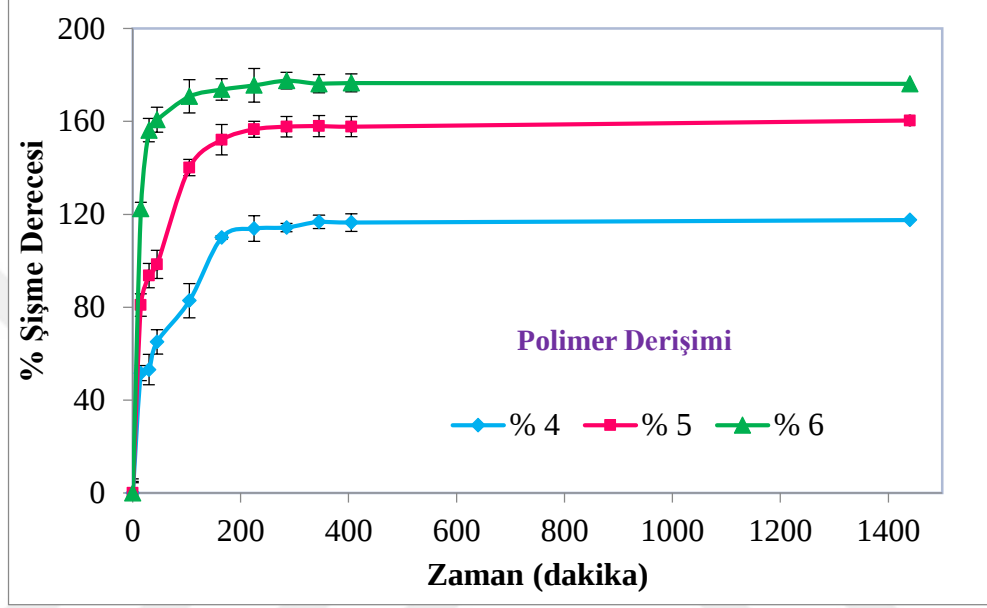
Polimer derişimindeki artmayla polimerin viskozitesini artırmıştır. Bu durum oluşan mikrokürelerin küresel şekillerinin bozulup kuyruklu olmasına neden olmuştur ve bu nedenle salım değerleri de artmıştır. İdeal mikroküre şekilleri % 5 derişimli SP2 formülasyonda elde edilmiştir. Diğer formülasyonların küreselliklerinde bozulmalar görülmüştür. % 5 derişimli mikroküre formülasyonu bir sonraki parametrede kullanılmak üzere seçilmiştir. Polimer derişiminin artmasıyla salım profilinde artma görülen benzer çalışmalar literatürde bildirilmiştir [75, 134].



Şekil 3.41. Polimer derişimi farklı mikrokürelerden 5-FU salımı

Şişme sonuçlarından polimer derişiminin % 6 olduğu SP formülasyonun 24 saat sonunda % şişme derecesi 176,26 olarak bulunmuştur. Derişimin % 5 olduğu SP2 formülasyonunda % şişme derecesi 160,4 iken % 4 olduğu A3 formülasyonunda

bu değer % 117'dir. Salım sonuçlarıyla benzer eğilimli olarak şişme değerleri de polimer derişiminin artmasıyla artmıştır. Mikroküreler yaklaşık 3 saatte denge şişme derecesine ulaşmıştır.



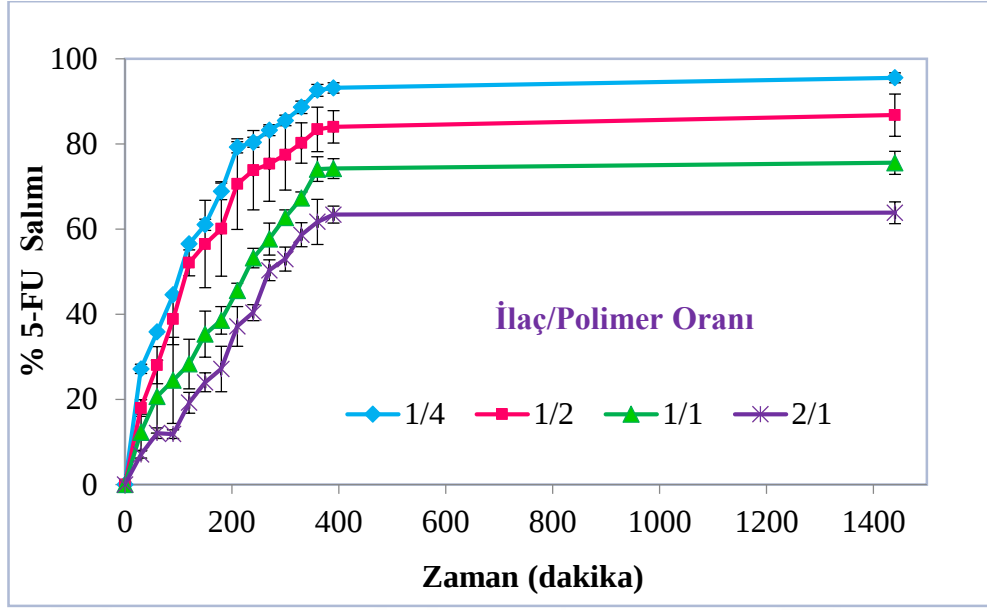
Şekil 3.42. Polimer derişimi farklı mikrokürelerin % şişme derecesi-zaman değişimi

3.5.3. İlaç/Polimer Oranının 5-FU Salımına Etkisi

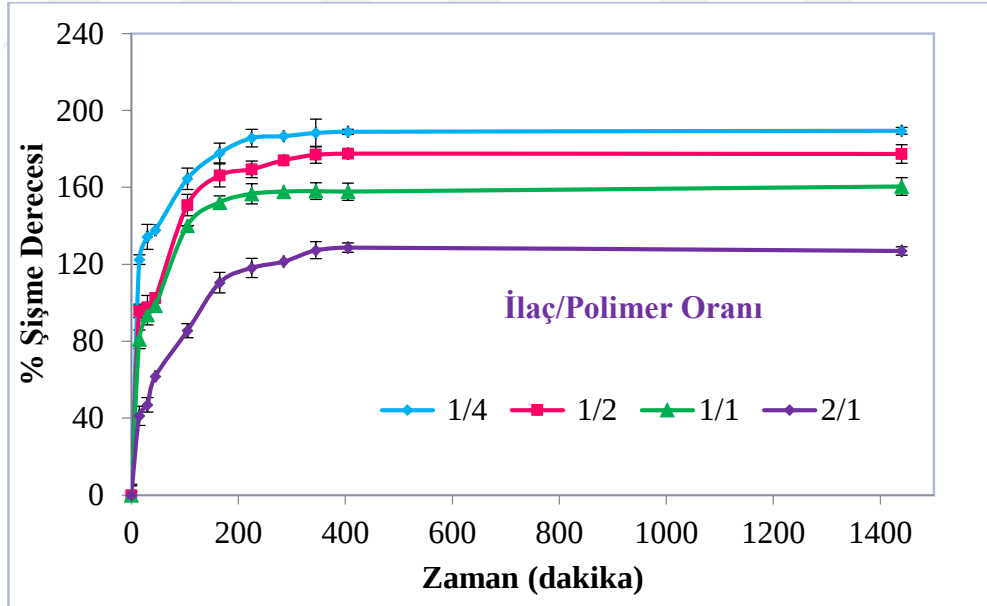
Farklı ilaç/polimer oranlarında 5-FU salımının NaAlg-aşı-PDEAAm mikrokürelerindeki değişimi Şekil 3.43'de ve % şişme dereceleri Şekil 3.44'te verilmiştir. 5-FU salımına etkisini incelemek üzere ilaç/polimer oranları 1/2, 1/4, 1/1 ve 2/1 (SP3, SP4, SP2, SP1) olan formülasyonlarla çalışılmıştır.

Şekil 3.43’de İlaç/polimer oranının 2/1’den 1/4’e azalmasıyla mikrokürelerden % ilaç salımının 24 saat sonunda 63,84’ten 95,57’ye arttığı görülmektedir. İ/p oranının artması ile mikrokürelerdeki 5-FU miktarının arttığı, bunun sonucu olarak da çözücü girişinin zorlaştığı ve şişmenin azaldığı için ilaç salımının azaldığı düşünülmektedir. Çalışılan formülasyonlardan 1/1 ilaç/polimer içeren SP2 formülasyonlu mikroküre yüksek tutuklanma veriminden ve uygun salım profilinden dolayı bir sonraki parametrede kullanılmak üzere seçilmiştir. Swamy ve arkadaşları NaAlg-aşı-Poli(N-vinilkaprolaktam) hidrojellerin farklı ilaç/polimer oranlarının 1/2’den 1/6’ye düşmesiyle % 5-FU salımının 75’den 91’e arttığını bildirmişlerdir [116].

Şekil 3.44 incelendiğinde önerilen mekanizmanın doğruluğu görülmektedir. İlaç miktarının artması ile % şişme dereceleri azalmıştır bunun aksine düşük ilaç içeren formülasyonlarda daha fazla şişme görülmektedir. Şişme sonuçlarından ilaç/polimer oranının 1/4 olduğu formülasyonun % şişme derecesi 189,4 olarak 2/1 olduğu formülasyonun % şişme derecesi 127’dir. Mikroküreler ilaçlı olduğu için daha geç dengeye ulaşmışlardır. Böylece düşük ilaç içeren mikrokürelerden 5-FU salımı daha hızlı olmuştur. Benzer çalışmalar literatürde rapor edilmiştir [120, 135, 136].



Şekil 3.43. Farklı ilaç/polimer oranlarındaki mikrokürelerden 5-FU salımı



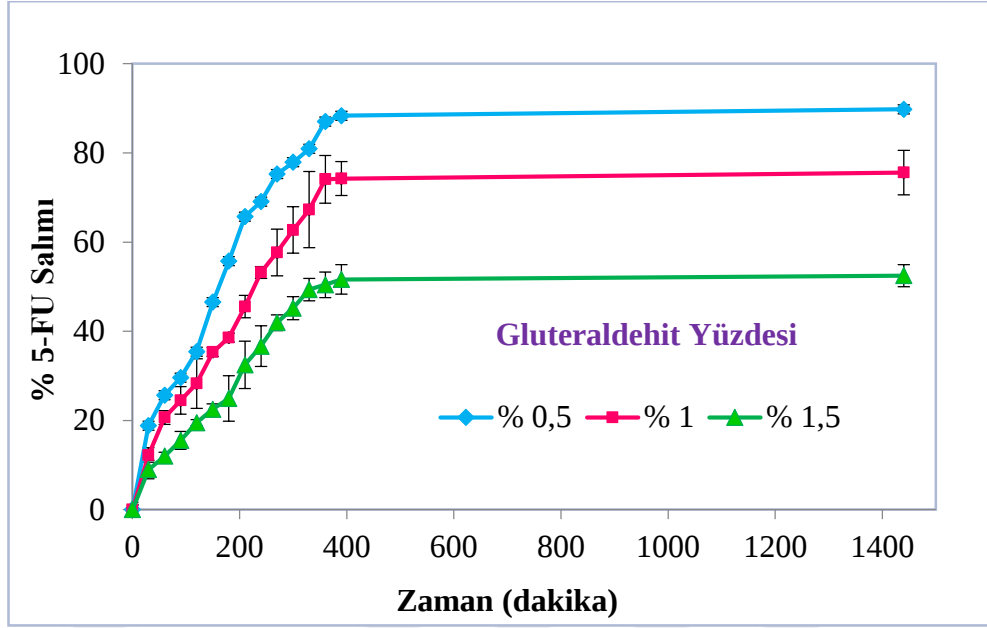
Şekil 3.44. Farklı ilaç/polimer oranlarındaki mikrokürelerin % şişme derecesi-zaman değişimi

3.5.4. Çapraz Bağlayıcı Derişiminin 5-FU Salımına Etkisi

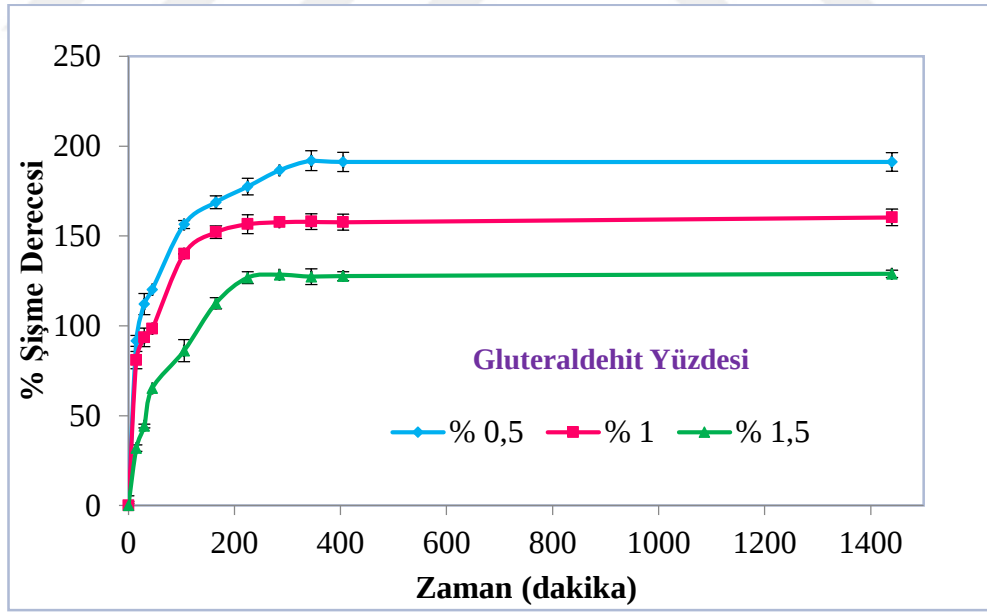
Farklı çapraz bağlayıcı derişimlerinin 5-FU salımına etkisi Şekil 3.45'te ve % şişme derecesi değişimi Şekil 3.46'da gösterilmiştir. 5-FU salımına çapraz bağlayıcının etkisini incelemek üzere % 0,5, % 1 ve % 1,5 (SP5, SP2, SP6) gluteraldehit derişimli NaAlg-aşı-PDEAAm mikrokürelerle çalışılmıştır.

Şekil 3.45'te % 0,5 oranında çapraz bağlayıcı kullanılarak hazırlanan SP5 formülasyonunda % ilaç salım değeri 24 saatin sonunda 89,78 olarak bulunmuştur ve bu formülasyonun çapraz bağlanma derecesi düşük olduğundan etken maddenin hızla salındığı düşünülmektedir. Çapraz bağlayıcı derişiminde artma ile salım değerlerinde düşme gözlenmiştir. % 1 derişimli SP2 ve % 1,5 derişimli SP6 formülasyonlarındaki % ilaç salım değerleri sırasıyla 75,60 ve 52,49'dur. GA derişimindeki bu artış ile aş kopolimerin hidroksil birimleri ile gluteraldehitin aldehit birimleri arasında bağların artması, ilacın difüzyonu için gereken serbest hacmin azalmasıyla sonuçlanır. Bundan dolayı da gluteraldehit derişiminin artması ile mikrokürelerdeki ilaç salımının azaldığı düşünülmektedir. Çalışılan formülasyonlardan SP2 formülasyonlu mikroküre bir sonraki parametrede kullanılmak üzere seçilmiştir. GA derişiminin salımı benzer şekilde etkilediği çalışmalar literatürde bulunmaktadır [134, 137, 138].

Şekil 3.46 incelendiğinde GA derişimindeki artma ile mikrokürelerin şişme derecelerinin azaldığı görülmektedir. Bu durum çapraz bağ derecesinin artmasına atfedilebilir. Şişme sonuçları ile salım profilleri birbirini doğrular niteliktedir. GA derişiminin % 0,5'ten % 1,5'e artırılmasıyla % şişme dereceleri 191,2'den 128,9'a düşmüştür. Benzer çalışmalar literatürde rapor edilmiştir [139, 140, 141].



Şekil 3.45. Farklı çapraz bağlayıcı yüzdesindeki mikrokürelerden 5-FU salımı



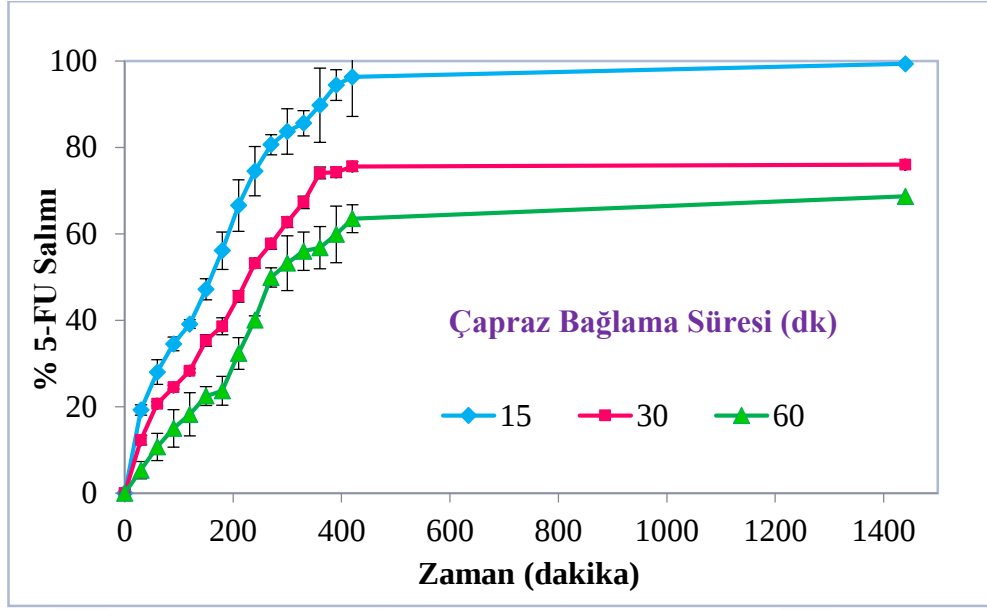
Şekil 3.46. Farklı çapraz bağlayıcı yüzdesindeki mikrokürelerin % şişme derecesi- zaman değişimi

3.5.5. Çapraz Bağlama Süresinin 5-FU Salımına Etkisi

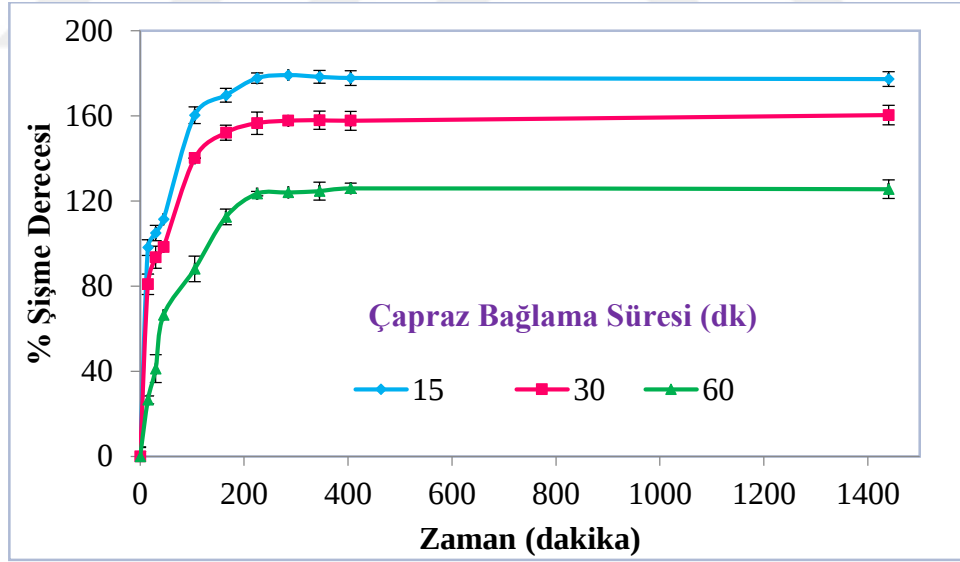
Çapraz bağlama derecesini değiştirmenin diğer bir yöntemi de çapraz bağlama süresini farklılandırmaktır. Farklı çapraz bağlama sürelerinde gerçekleştirilen mikrokürelerden 5-FU salımını incelemek üzere 3 farklı formülasyonlu SP7, SP2 ve SP8 mikroküreler kullanılmıştır. Formülasyonlardaki çapraz bağlama süreleri sırasıyla 15, 30 ve 60 dakikadır. Elde edilen salım sonuçları Şekil 3.47’de ve % şişme derecesi değişimi 3.48’de sunulmuştur.

Şekil 3.47’te çapraz bağlama süresi 15 dakikadan 1 saate arttığında mikrokürelerdeki 5-FU salımı % 99’dan % 69’a azalmıştır. Mikrokürelerin çapraz bağlama süresi arttıkça çapraz bağ yoğunluğu artar ve bu da daha sıkı yapılı mikroküreler oluşturulur. Sıkı yapılı mikrokürelere çözücü difüzyonu zorlaşır ve bu da mikrokürelerin şişme derecesini düşürür. Şişme derecesi az olan mikrokürelerden ilacın difüzyonu zorlaşır ve böylelikle 5-FU salımı yavaşlar. Literatürde çok miktarda benzer eğilimler tanımlanmıştır [139, 142, 143].

Şekil 3.48’da şişme verileri incelendiğinde, farklı sürelerde çapraz bağlanan mikrokürelerin yaklaşık 3 saatte denge şişme değerine geldiği görülmektedir. Daha kısa çapraz bağlama süreli SP7 formülasyonlu mikrokürelerin % şişme derecesi değeri 177,3 olarak bulunmuştur. Buna karşılık uzun çapraz bağlama süresinde gerçekleştirilen SP8 formülasyonunda bu değer 125,6 olarak görülmektedir.



Şekil 3.47. Farklı çapraz bağlama sürelerindeki mikrokürelerden 5-FU salımı



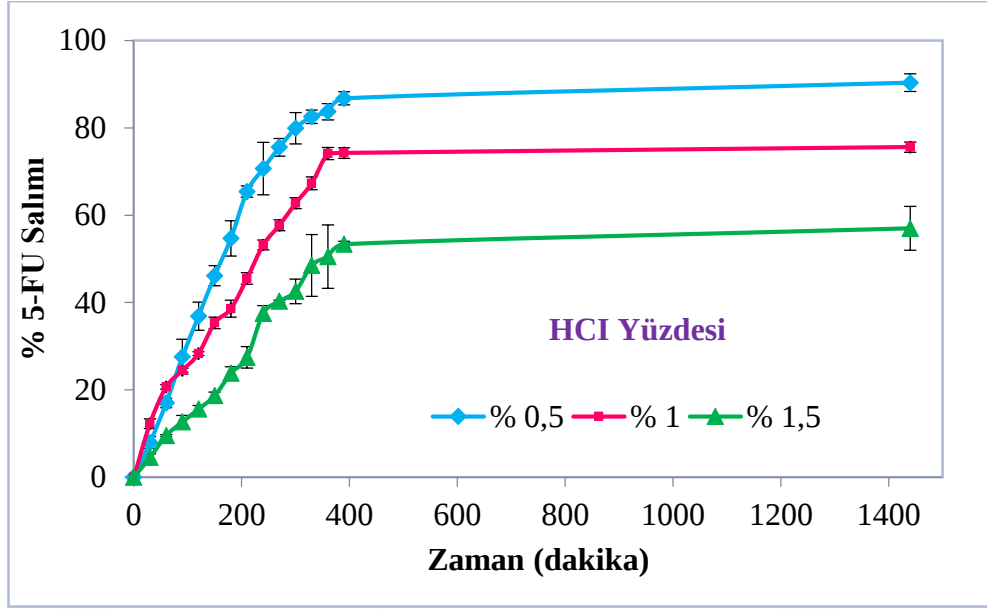
Şekil 3.48. Farklı çapraz bağlama sürelerindeki mikrokürelerin % şişme derecesi- zaman değişimi

3.5.6. HCl Yüzdesinin 5-FU Salımına Etkisi

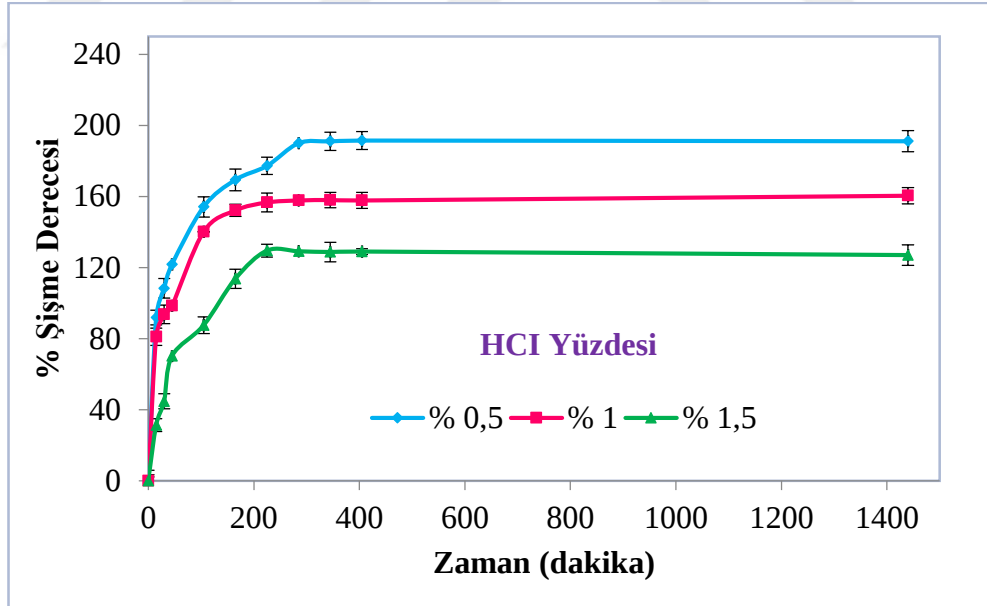
HCl, aldehit ile hidroksil grubu arasında eter oluşum tepkimesinde katalizör görevi görmektedir. HCl yüzdesinin etkisini incelemek için diğer parametreler sabit tutularak (GA yüzdesi % 0,5, çapraz bağlama süresi 30 dakika) üç farklı yüzdede % 0,5 % 1 ve % 1,5 (SP9, SP2, SP10) formülasyonlar hazırlanmıştır. HCl yüzdesinin 5-FU salımına etkisi Şekil 3.49'da ve şişme derecesine etkisi 3.50'de verilmiştir.

Şekil 3.49'da HCl yüzdesinin 0,5'den 1,5'e artmasıyla % 5-FU salımı 90'dan 57'ye düşmüştür. Bu sonuç artan HCl yüzdesi ile çapraz bağlanan birimlerin sayısının artmasına atfedilebilir. Swamy ve arkadaşları NaAlg-aşı-Poli(N-vinilkaprolaktam) hidrojel için 5-FU salımına HCl etkisini incelemişler ve derişiminin 0,2 M'dan 0,6 M'a artırılmasıyla ilaç salımının % 90'dan % 40'a düştüğünü bildirmişlerdir [116].

Farklı HCl derişimindeki mikrokürelerin % şişme derecesi sonuçları Şekil 3.50'de salım profillerini desteklemektedir. HCl derişiminin % 0,5'ten % 1,5'e artırılmasıyla % şişme dereceleri 191'den 127'ye düşmüştür. Katalizör yüzdesinin artmasıyla mikrokürelerde çapraz bağlanma derecesi artmış ve su moleküllerinin mikrokürelerin içine difüzyonunu zorlaşmıştır. % 1,5 HCl derişimiyle hazırlanan SP10 formülasyonu daha az şişme derecesine sahip olduğu için 5-FU salımı daha yavaş olmuştur. Yaklaşık 5 saatte mikroküreler denge derecelerine ulaşmışlardır.



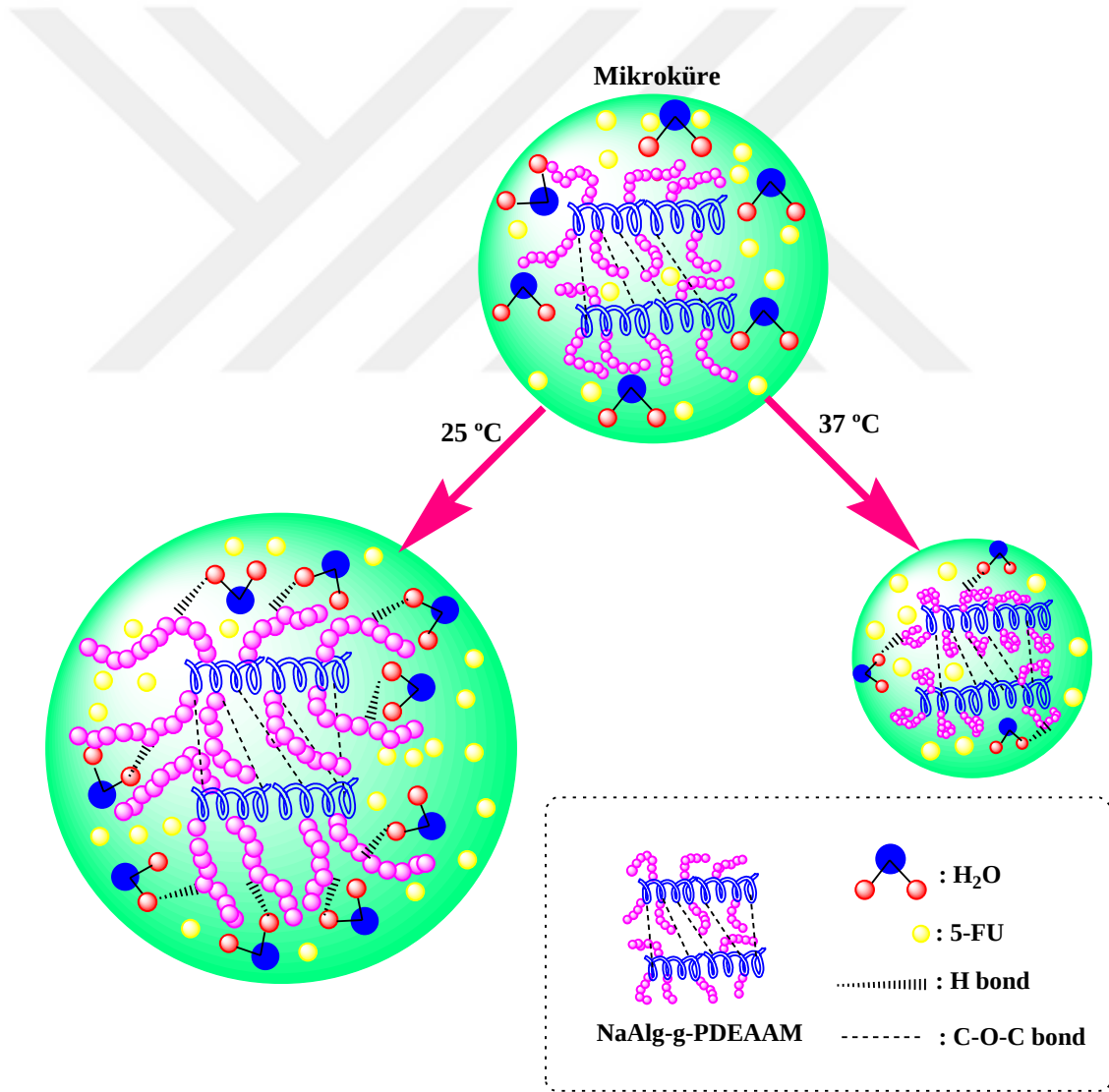
Şekil 3.49.Farklı HCl derişimindeki mikrokürelerden 5-FU salımı



Şekil 3.50. Farklı HCl derişimindeki mikrokürelerin % şişme derecesi-zaman değışimi

3.5.7. 5-FU Salımına Sıcaklığın Etkisi

Aşı mikrokürelerden 5-FU salımını farklı sıcaklıklarda incelemek üzere 3 farklı aşı verimi ile mikroküreler oluşturulmuş ve 25, 32 ve 37 °C’da salımları incelenmiştir ve Şekil 3.52-3.57 aralığında verilmiştir. Daha önceki verilerden tüm formülasyonlar en yüksek ilaç salımını 25 °C’de, en düşük 5-FU salımı da 37 °C’da göstermiştir. Literatürde sıcaklık artması ile ilaç salımının azaldığı çalışmalar mevcuttur [144, 145, 146].

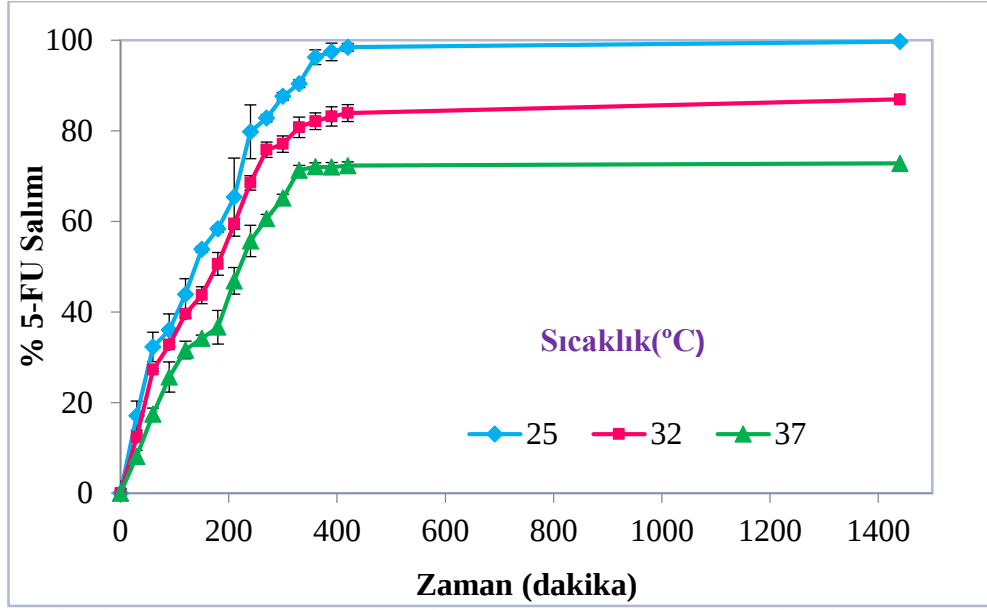


Şekil 3.51. Sıcaklığın salıma etkisi

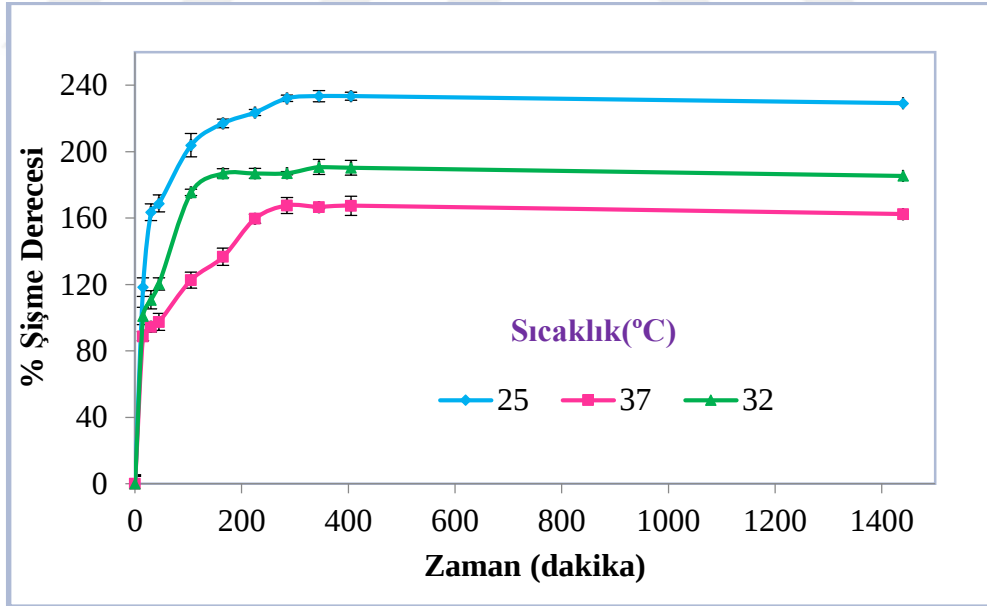
İlaç salımlarına bakıldığında tüm parametrelerde PDEAAm polimerinin LCST değerinin üzerinde bir sıcaklık olan 37 °C’de düşük salım görülmektedir. Yüksek sıcaklıklarda düşük salım gerçekleşmesi mikrokürelerin şişmesinin PDEAAm gruplarından dolayı azalmasına ve büzülme davranışına atfedilebilir. Düşük sıcaklıklarda PDEAAm grupları ile su molekülleri arasındaki etkileşim artacak, bundan dolayı şişme dereceleri artacak ve 5-FU salımı daha fazla gerçekleşecektir. Bu durum şematik olarak Şekil 3.51’de verilmiştir.

Şekil 3.52’de % 20 aşı yüzdeli A1 formülasyonlu mikrokürelerin üç sıcaklıktaki 5-FU salım profilleri gösterilmiştir. NaAlg-aşı-PDEAAm mikroküreleri için pH 1,2 HCl çözeltisinde 25 °C’de 3 saatin sonunda % 5-FU salımı 58,34, pH 5,5 asetikasit/asetat tamponunda 2 saatin sonunda 87,62, pH 7,4 fosfat tamponunda 99,69’a yükselmiştir. 32 °C’de pH 1,2 HCl çözeltisinde % 5-FU salımı 50,61, pH 5,5 asetikasit/asetat tamponunda 77,07, pH 7,4 fosfat tamponunda 86,95’e yükselmiştir. 37 °C’de pH 1,2 HCl çözeltisinde % 5-FU salımı 36,65, pH 5,5 asetikasit/asetat tamponunda 65,14, pH 7,4 fosfat tamponunda 72,81’e yükselmiştir.

A1 formülasyonunun ilaç içermeyen mikrokürelerinin üç farklı sıcaklıktaki şişme sonuçları Şekil 3.53’te belirtilmiştir ve sıcaklığın 25 °C’den 37 °C’ye artırılmasıyla % şişme dereceleri 229,2’den 162,4’e düşmüştür.



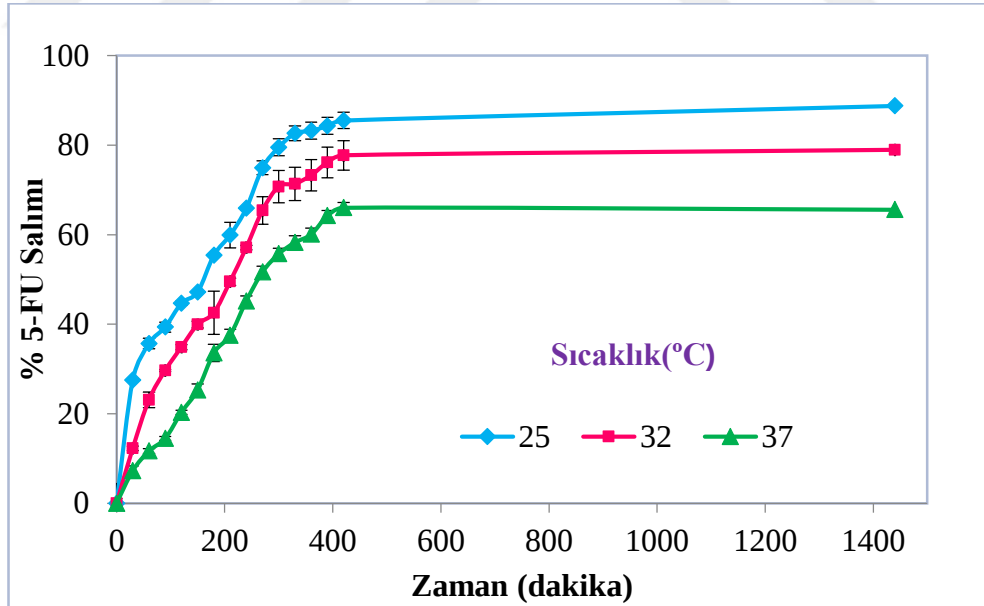
Şekil 3.52. % 20 aşırı yüzdeli mikrokürelerin farklı sıcaklıklardaki 5-FU salımları



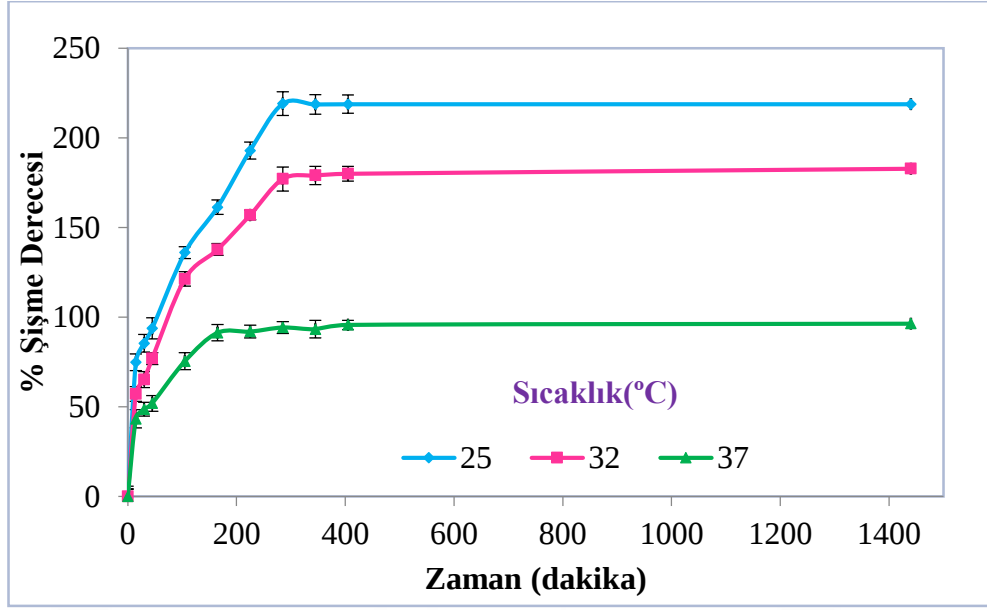
Şekil 3.53. % 20 aşırı yüzdeli mikrokürelerin farklı sıcaklıklardaki % şişme derecesi- zaman değişimi

Şekil 3.54'te % 58 aşı yüzdeli A3 formülasyonlu mikrokürelerin 5-FU salımları ve Şekil 3.54'te % şişme derecesi zaman değişimleri gösterilmiştir. Bu veriler doğrultusunda en yüksek salımın gerçekleştiği sıcaklık 25 °C olarak tespit edilmiştir. NaAlg-aşı-PDEAAm mikroküreleri için 24 saatin sonunda % 5-FU salımı 25 °C'de 88,78, 32 °C'de 78,93, 37 °C'de 65,59'tur.

Sıcaklığın şişme derecelerine etkisini incelemek için A3 formülasyonlu mikrokürelerin ilaç içermeyen formülasyonu hazırlanmıştır. Şişme sonuçları Şekil 3.55'te sunulmuştur ve salım sonuçlarını destekler niteliktedir. 37 °C da mikroküreler 3 saatte denge şişmesine erişirken 25 ve 32 °C da 5 saatte denge şişmesine erişmişlerdir. Sıcaklığın 25 °C'den 37 °C'ye artırılmasıyla % şişme dereceleri 218,8'den 96,4'e düşme göstermiştir.

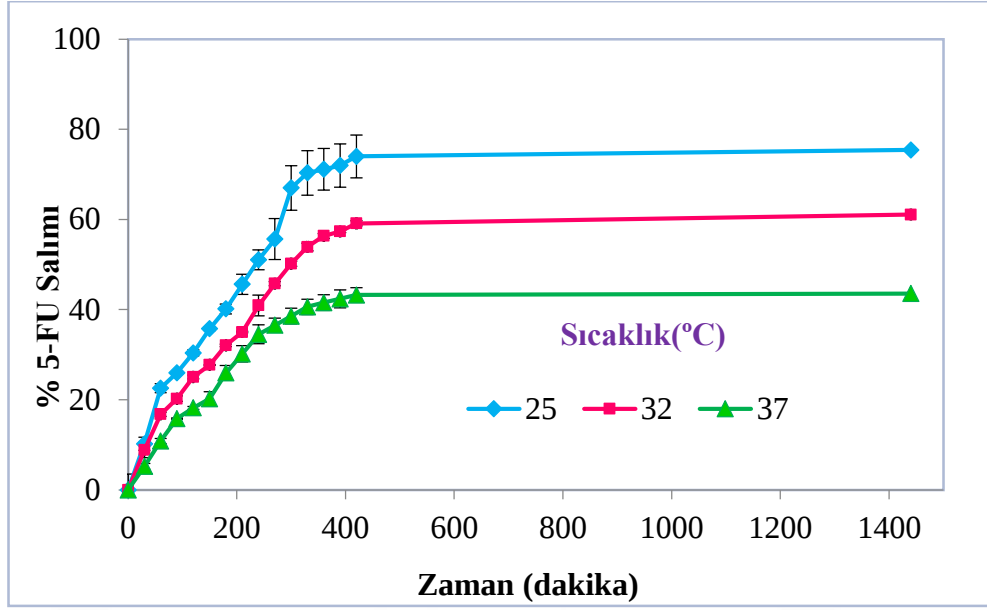


Şekil 3.54. % 58 aşı yüzdeli mikrokürelerin farklı sıcaklıklardaki 5-FU salımları

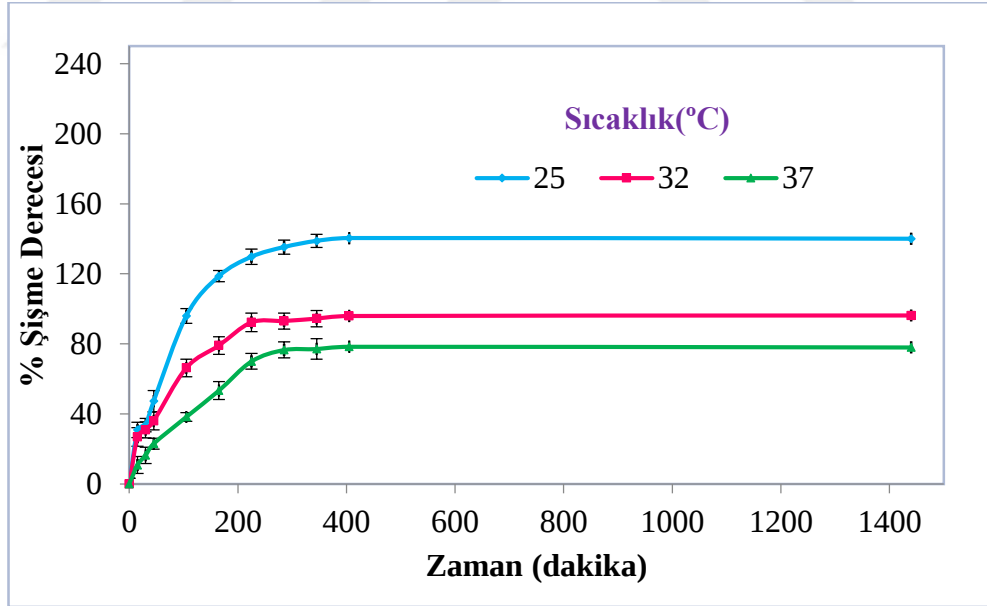


Şekil 3.55. % 58 aşılı mikrokürelerin farklı sıcaklıklardaki % şişme derecesi-zaman değişimi

Şekil 3.56’da % 110 aşılı A5 formülasyonlu mikrokürelerin üç farklı sıcaklıktaki 5-FU salımları ve Şekil 3.57’de aynı formülasyonun ilaç içermeyen formunun % şişme dereceleri gösterilmiştir. Bu veriler doğrultusunda en yüksek salımın gerçekleştiği sıcaklık 25 °C olarak tespit edilmiştir. Ayrıca şekilden aşılı yüzdesinin artması ile 5-FU salımının 3 sıcaklıkta daha belirgin ayrımlarda salım yaptığı görülmektedir. NaAlg-aşı-PDEAAm mikroküreleri için 25 °C’de % 5-FU salımı 75,42, 32 °C’de 61,07, 37 °C’de 43,57’dir. Şişme sonuçları Şekil 3.57’de verilmiştir ve sıcaklığın 25 °C’den 37 °C’ye artırılmasıyla % şişme dereceleri 140’dan 78’e düşme göstermiştir.



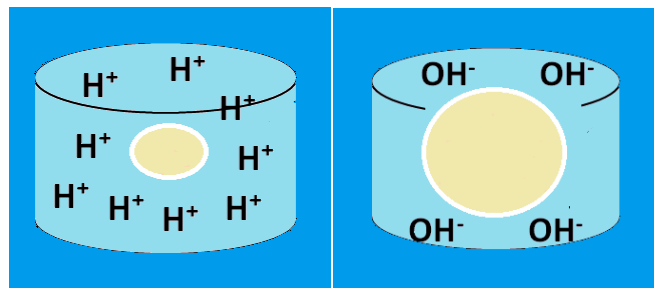
Şekil 3.56. % 110 aşırı yüzdeli mikrokürelerin farklı sıcaklıklardaki 5-FU salımları



Şekil 3.57. % 110 aşırı yüzdeli mikrokürelerin farklı sıcaklıklardaki % şişme derecesi-zaman değişimi

3.5.8. 5-FU Salımına pH'nın Etkisi

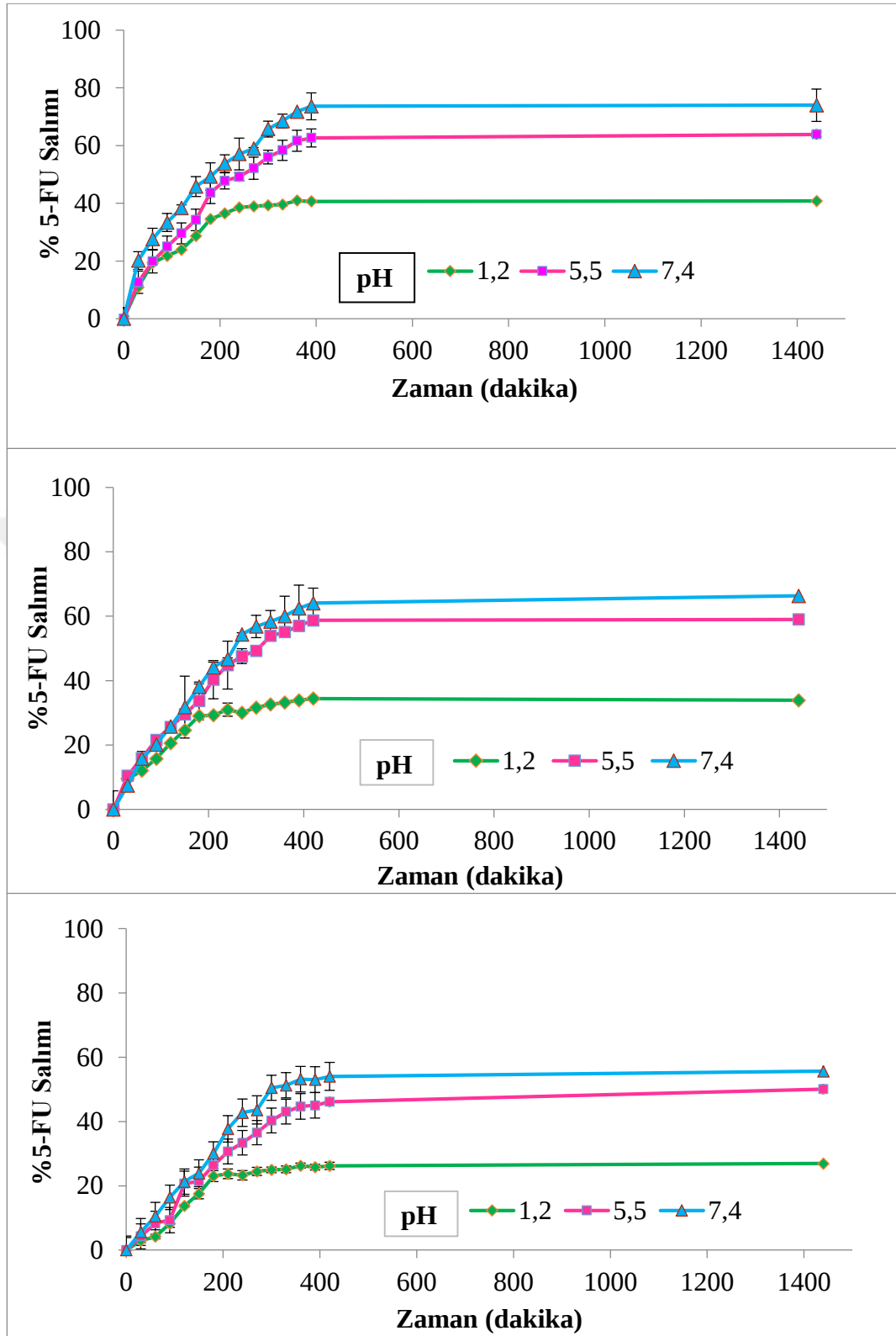
Farklı formülasyonlarda salım çalışmaları 24 saat süreyle pH 1,2 HCl çözeltisi, pH 5,5 asetik asit/asetat çözeltisi ve pH 7,4 $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$ tamponunda gerçekleştirilmiştir ve elde edilen sonuçlar Şekil 3.58'de, şişme sonuçları Şekil 3.59'da verilmiştir. NaAlg-aşı-PDEAAm mikrokürelerinin bütün formülasyonlarda 5-FU'nun pH 1,2 HCl çözeltisinde az salım yaptığı, pH 5,5 asetik asit/asetat tamponunda ve pH 7,4 fosfat tamponunda daha hızlı salım yaptığı görülmüştür. Bütün formülasyonlar için pH arttıkça % şişme değerlerinin artmış ve en yüksek şişme değerleri bazik pH 7,4'de elde edilmiştir. Şişme verileri göz önüne alındığında düşük pH'larda daha az şişme sonuçları elde edilmesi NaAlg'nin asidik pH'da şişmesinin az olmasına atfedilebilir [147, 148]. Düşük pH'larda NaAlg aljinik asite dönüşür, üzerindeki (-COOH) ve (-OH) grupları arasındaki hidrojen bağlarından dolayı mikroküreler daha sıkı yapıya sahiptir ve şişmeleri daha düşüktür. pH arttırıldığında ise karboksil grupları kısmen iyonlaştığı için oluşan karboksilat anyonları arasındaki elektrostatik itme kuvvetinden dolayı şişme artmaktadır [145]. Bu olay şematik olarak Şekil 3.60'da gösterilmiştir.



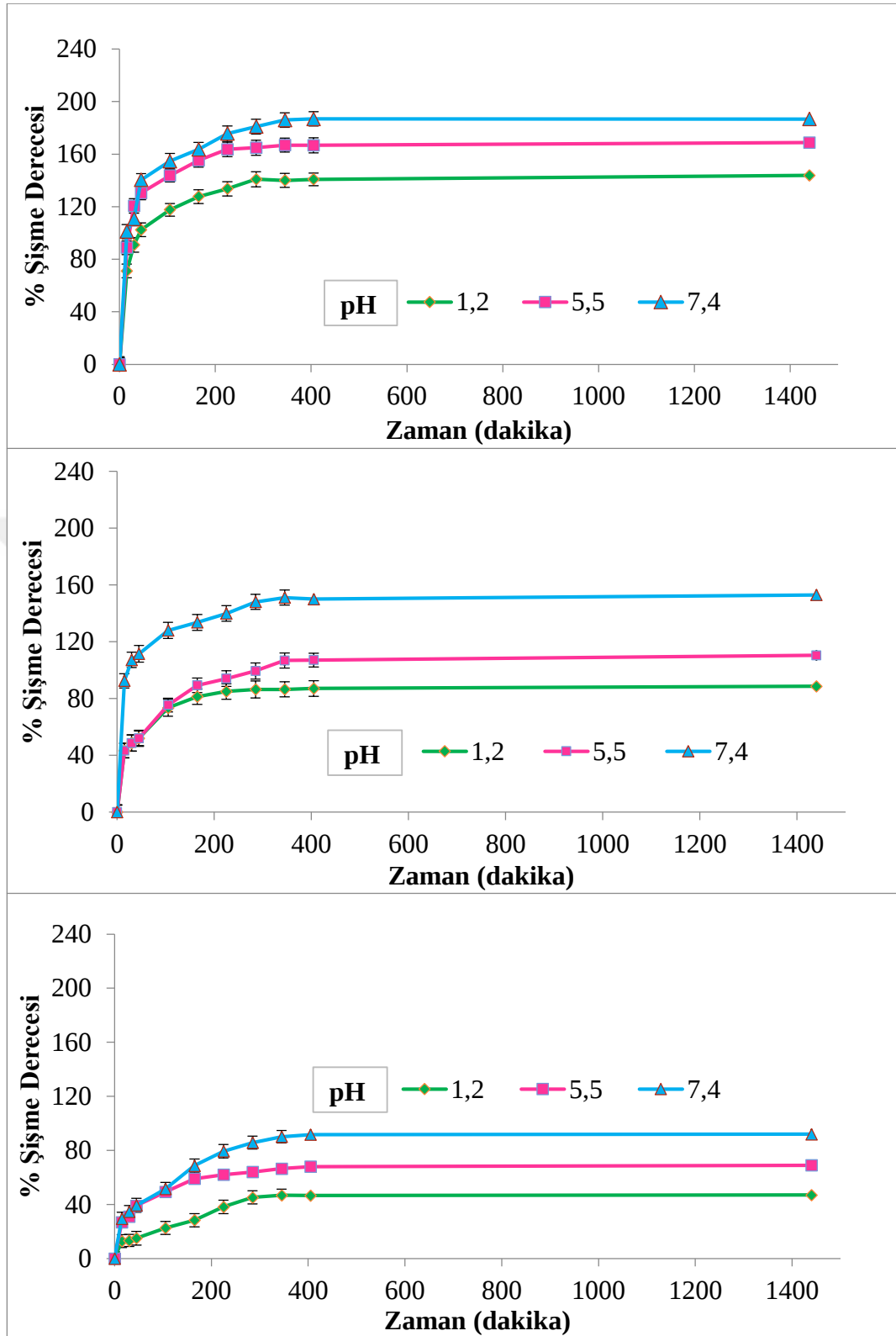
(a) Düşük pH

(b) Yüksek pH

Şekil 3.60. NaAlg'nin düşük (a) ve yüksek (b) pH'da şişmesinin şematik gösterimi

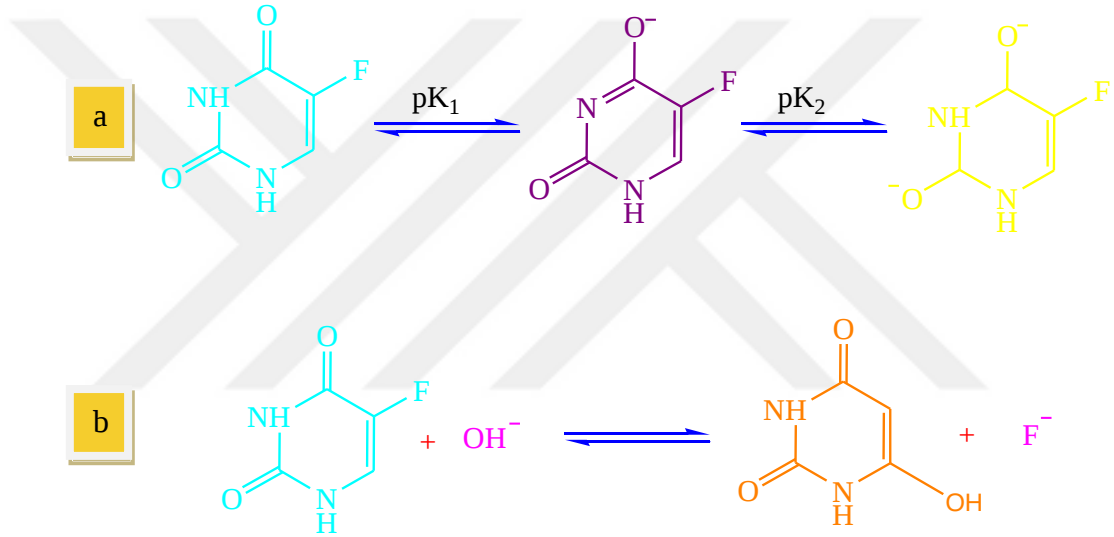


Şekil 3.58. Farklı pH’lardaki formülasyonların salım sonuçları



Şekil 3.59. Farklı pH’lardaki formülasyonların % şişme derecesi sonuçları

5-FU pKa değeri 7,98 olan hidrofilik ve asidik karakterli bir ilaçtır. Asidik ortamda çözünürlüğü az, yüksek pH'larda ise çözünürlüğü yüksektir. Bazik ortamda iyonize olarak negatif yüklenir ve elektrostatik itmeler ilaç moleküllerinin salımı artırır. 5-FU'nun pH'nın artması ile iyonize olması (a) ve bazik ortamdaki (b) mekanizması Şekil 3.61'de verilmiştir. Literatürde yapılan diğer çalışmalarda benzer sonuçlara rastlanmıştır [1, 11, 52, 144, 149].



Şekil 3.61. 5-FU'nun pH ile iyonize olması (a) ve bazik ortamdaki (b) mekanizması

3.6. 24 Saatlik Aynı pH'da 5-FU Salımına Sıcaklığın Etkisi

5-FU salımına sıcaklığın etkisinin incelemek amacıyla, aşı yüzdesi farklı olan kopolimerlerin mikrokürelerinin salımları ve şişme deneyleri tüm gün boyunca aynı

tamponda olacak şekilde gerçekleştirilmiştir ve elde edilen sonuçlar Şekil 3.62-67’de verilmiştir.

3.6.1. Düşük Verimli Aşı Kopolimerden Elde Edilen Mikrokürelerin Salıma Etkisi

Şekil 3.62 ’de % 20 aşı yüzdeli mikrokürelerin farklı pH’da 5-FU salımları gösterilmiştir. NaAlg-aşı-PDEAAm mikroküreleri için pH 1,2 HCl çözeltisinde (a) 25 °C’de % 5-FU salımı 90,71, 32 °C’de % 5-FU salımı 80,18, 37°C’de % 5-FU salımı 24 saatin sonunda 41,31 olarak bulunmuştur. Sabit pH’da 24 saatlik işlem sonucunda 3 farklı sıcaklıkta salım sonuçlarının birbirlerinden daha fazla farklılaştığı görülmüştür. Sıcaklığın 25 °C’den 37 °C’ye artmasıyla 24 saatin sonundaki % salım 2 kat azalmıştır.

Şekil 3.62 (b)’de pH 5,5 tamponunda aşı yüzdesi 20 olan mikrokürelerden bir günlük 5-FU salım profili sunulmuştur. Şekilden pH 5,5 tamponunda 24 saat sonunda 25 °C’de % 94, 37 °C’de % 64 5-FU salımı elde edilmiştir.

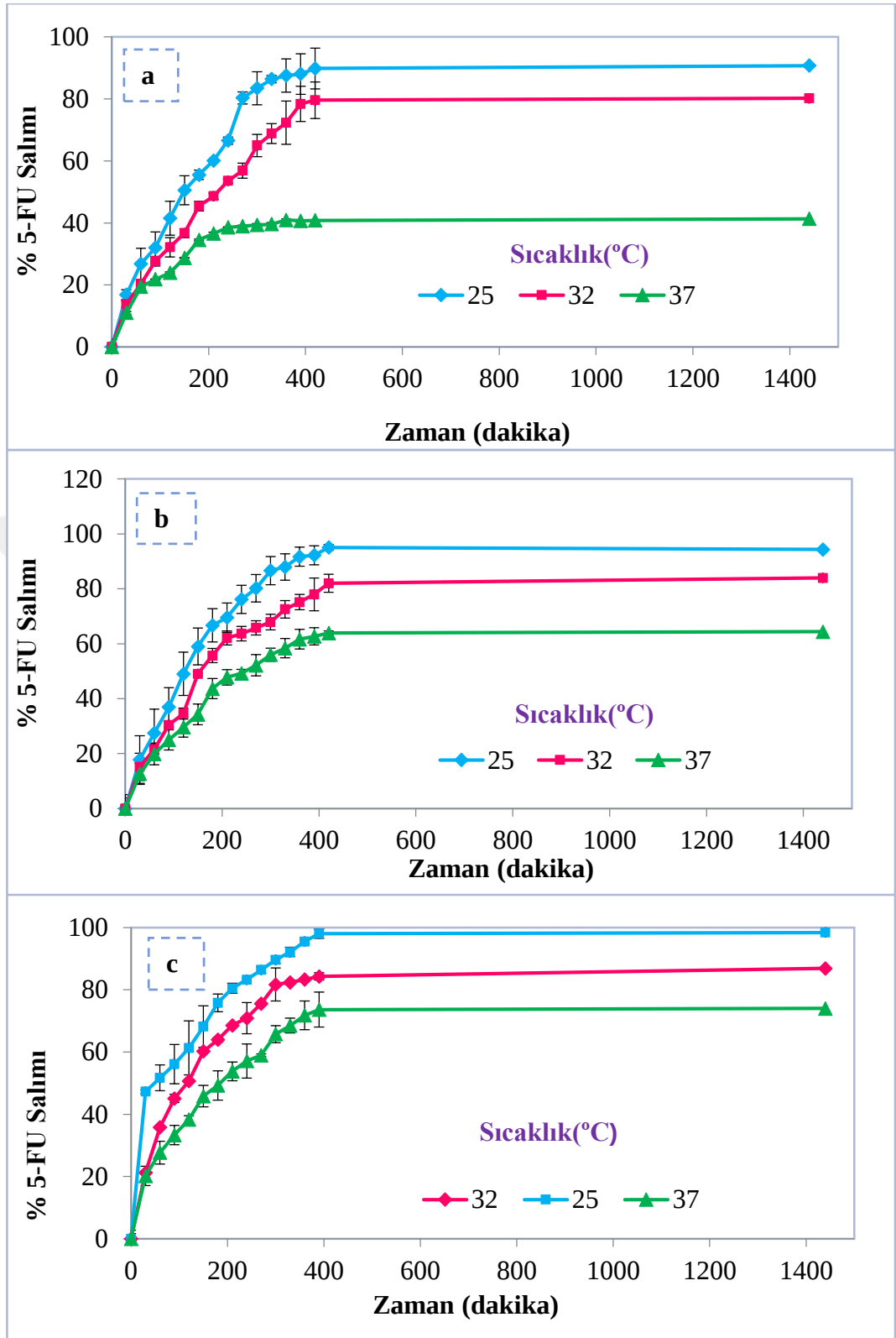
NaAlg-aşı-PDEAAm mikroküreleri için pH 7,4 fosfat tamponunda (c) 25 °C’de % 5-FU salımı 98,40, 32 °C’de % 5-FU salımı 86,88, 37 °C’de % 5-FU salımı 24 saatin sonunda 74 olarak bulunmuştur. Sıcaklığın 37 °C’den 25 °C’ye azalmasıyla pH 7,4 ortamında 24 saatin sonunda % 5-FU salımı yaklaşık 1,5 kat artmıştır.

% 20 aşı yüzdeli mikrokürelerin farklı pH’da şişme sonuçları Şekil 3.63’de belirtilmiştir ve salım sonuçlarını desteklemektedir. pH 1,2 HCl çözeltisinde (a) yaklaşık 4 saatte mikroküreler denge şişmelerine ulaşmışlar ve 25 °C’de daha yüksek

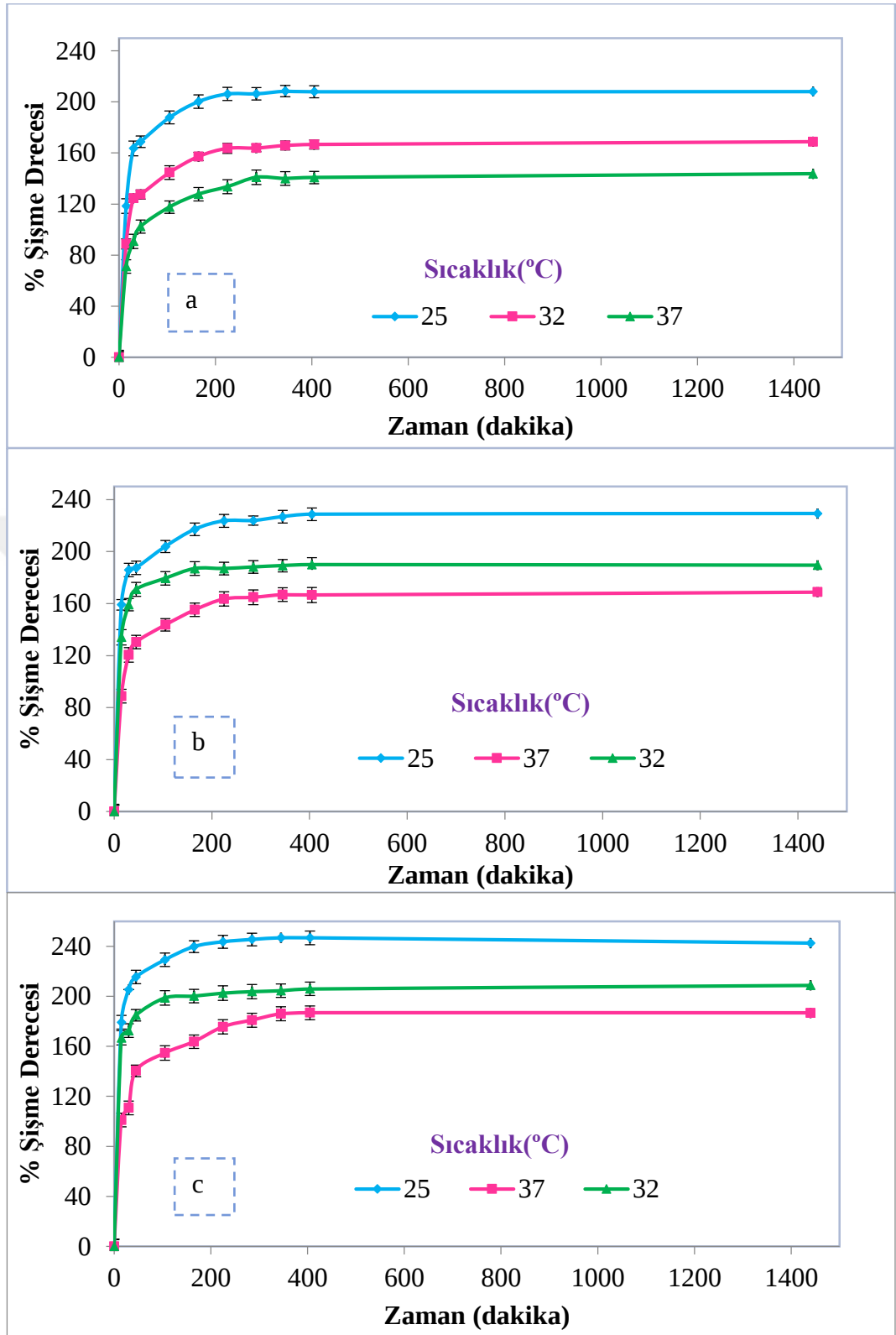
şişme göstermişlerdir. Sıcaklığın 25 °C'den ve 37 °C'ye artırılmasıyla % şişme derecesi 208'den 143'e azalmıştır.

pH 5,5 tamponunda (b) şişme derecesi 25 °C ve 37 °C'de sırasıyla % 229, % 168 olarak bulunmuştur. Şekil 3.63 (c)'de pH 7,4'te elde edilen şişme sonuçları verilmiştir ve salım sonuçlarını desteklemektedir. Sıcaklığın 25 °C'den ve 37 °C'ye artırılmasıyla % şişme derecesi 242'dan 186'ya azalmıştır. Elde edilen tüm bu sonuçlardan aşı yüzdesi düşük olmasına rağmen kopolimerik mikroküreye sıcaklığa duyarlılık kazandırılmıştır.





Şekil 3.62. % 20 aşırı yüzdeli mikrokürelerin pH 1,2 (a), pH 5,5 (b), pH 7,4'te (c) 5-FU salımları

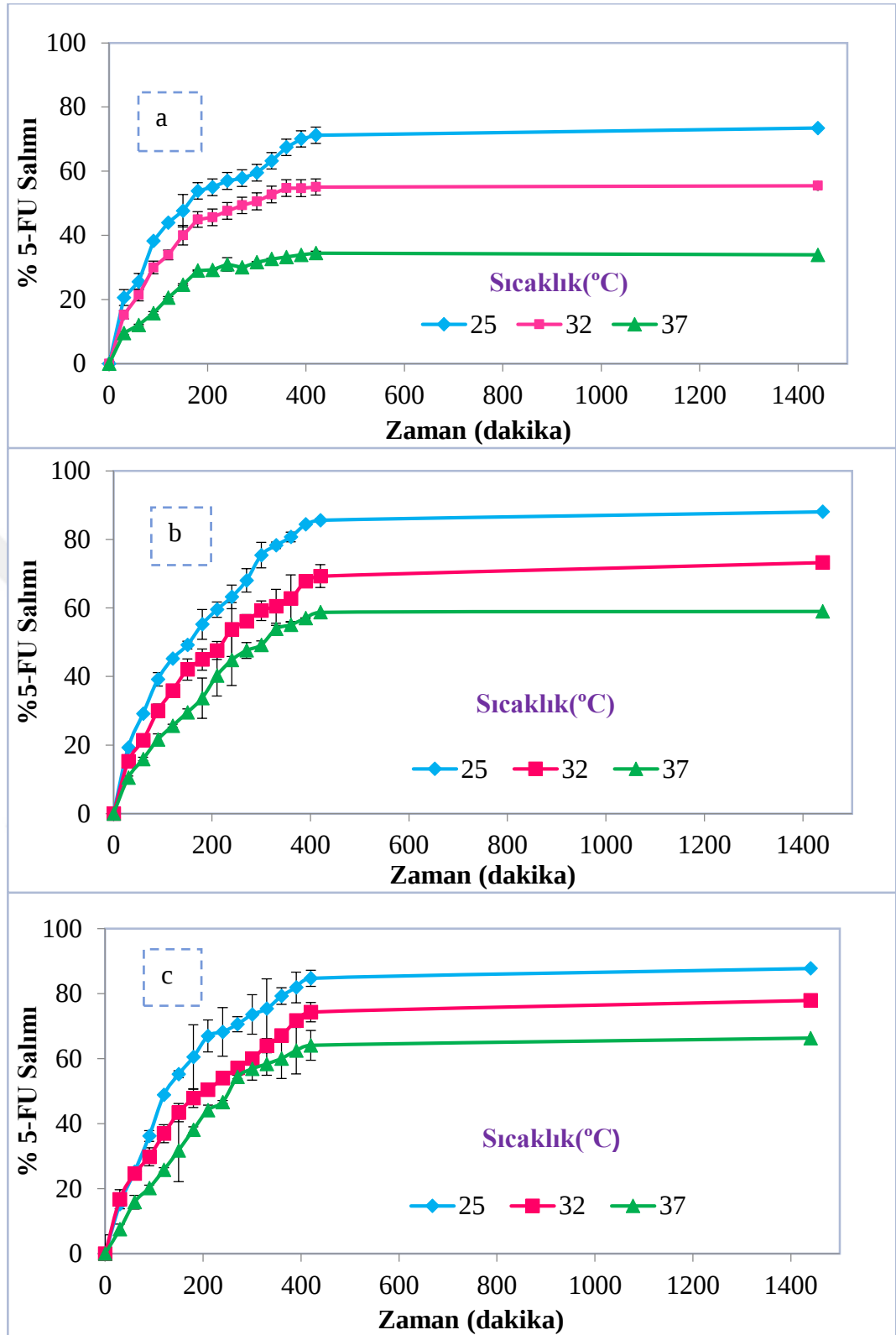


Şekil 3.63. % 20 aşı yüzdeli mikrokürelerin pH 1,2 (a), pH 5,5 (b), pH 7,4'de (c) % şişme derecesi-zaman değişimi

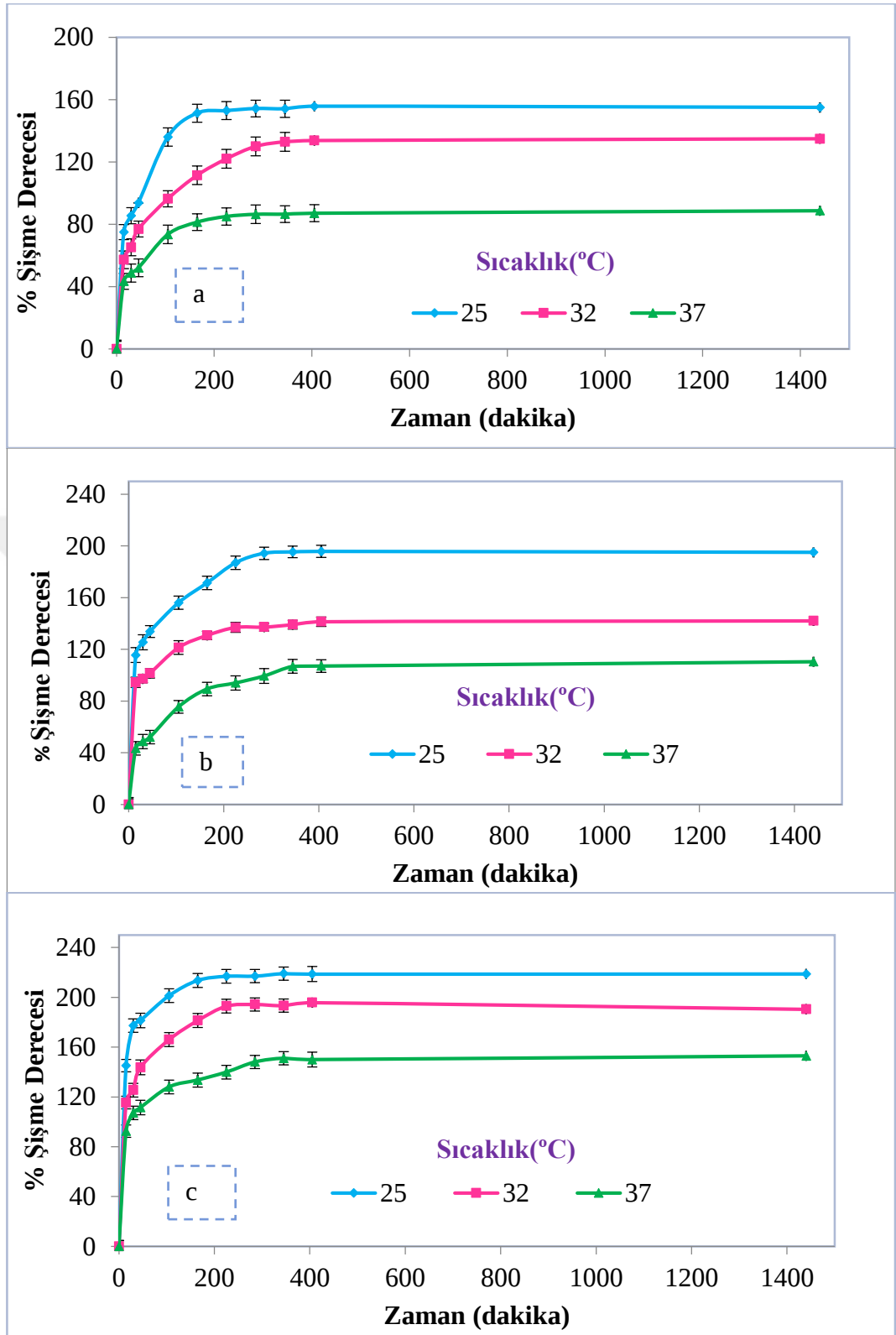
3.6.2. Orta Verimli Aşı Kopolimerden Elde Edilen Mikrokürelerin Salıma Etkisi

Şekil 3.64'te %58 aşı yüzdeli mikrokürelerin farklı pH'larda salımları belirtilmiştir. pH 1,2'de (a) gün boyu 5-FU salımı 24 saatin sonunda 25 °C'de % 5-FU salımı 73,41, 32 °C'de % 5-FU salımı 55,46, 37 °C'de % 5-FU salımı 33,89 olarak bulunmuştur. Orta aşı verimindeki mikrokürelerde sıcaklığın 37 °C'den 25 °C'ye değişimi ile 5-FU salımı yaklaşık 2 kat belirgin biçimde farklılanmıştır. Şekil 3.64 (b)'de % 58 aşı yüzdeli mikrokürelerin pH 5,5'de 5-FU salımları gösterilmiştir. NaAlg-aşı-PDEAAm mikroküreleri için pH 5,5 asetik asit/asetat tamponunda 25 °C'de % 5-FU salımı 88,05, 32 °C'de % 5-FU salımı 73,24, 37 °C'de % 5-FU salımı 60 olarak bulunmuştur. Şekil 3.64 (c)'de % 58 aşı yüzdeli mikrokürelerin pH 7,4'de 5-FU salımları gösterilmiştir. NaAlg-aşı-PDEAAm mikroküreleri için pH 7,4 fosfat tamponunda 25 °C'de % 5-FU salımı 87,74, 32 °C'de % 5-FU salımı 77, 37 °C'de % 5-FU salımı 24 saatin sonunda 66 olarak bulunmuştur.

Şekil 3.65'te %58 aşı yüzdeli mikrokürelerin farklı pH'larda şişme dereceleri vermiştir. pH 1,2'de (a) şişme sonuçlarında salım ile benzer eğilimler elde edilmiştir. 25 °C'da % 58 aşı yüzdeli mikrokürelerin pH 1,2'de % şişme derecesi 155 bulunurken 37 °C daki şişme yüzdesi 89 olarak hesaplanmıştır. pH 5,5'te şişme sonuçları Şekil 3.65 (b)'de belirtilmiştir ve 37 °C da mikrokürenin denge şişmesine daha geç (yaklaşık 6 saat) ulaştığı gözlenmiştir. 25 °C da şişme derecesi % 195 iken 37 °C da 110 olarak bulunmuştur. Şekil 3.65 (c)'de pH 7,4'te şişme sonuçları belirtilmiştir ve 24 saat sonunda 25 °C'de 218 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.64. % 58 aşı yüzdeli mikrokürelerin pH 1,2 (a), pH 5,5 (b), pH 7,4'de (c) 5-FU salımları

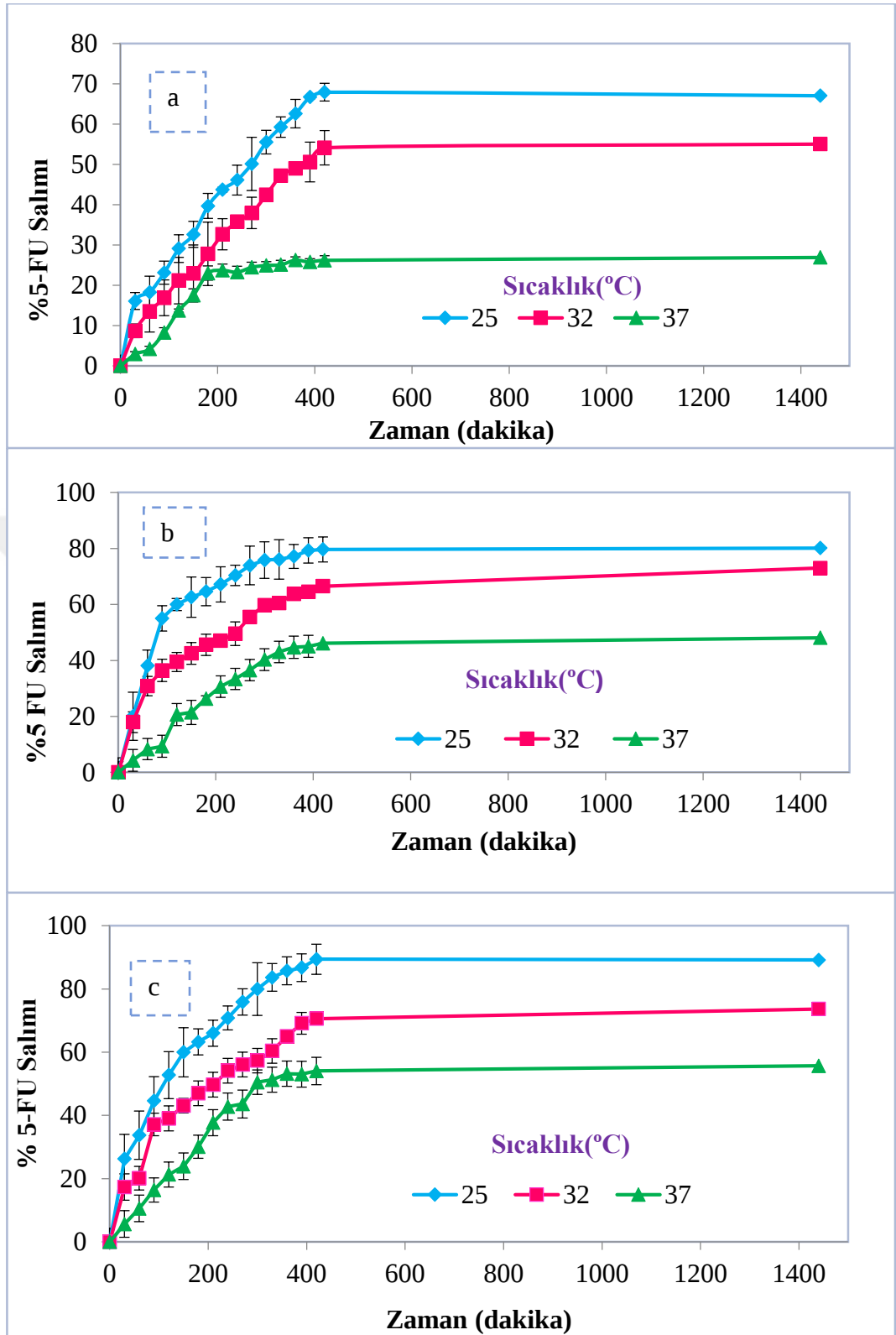


Şekil 3.65. % 58 aşı yüzdeli mikrokürelerin pH 1,2 (a), pH 5,5 (b), pH 7,4'de (c) % şişme derecesi-zaman değişimi

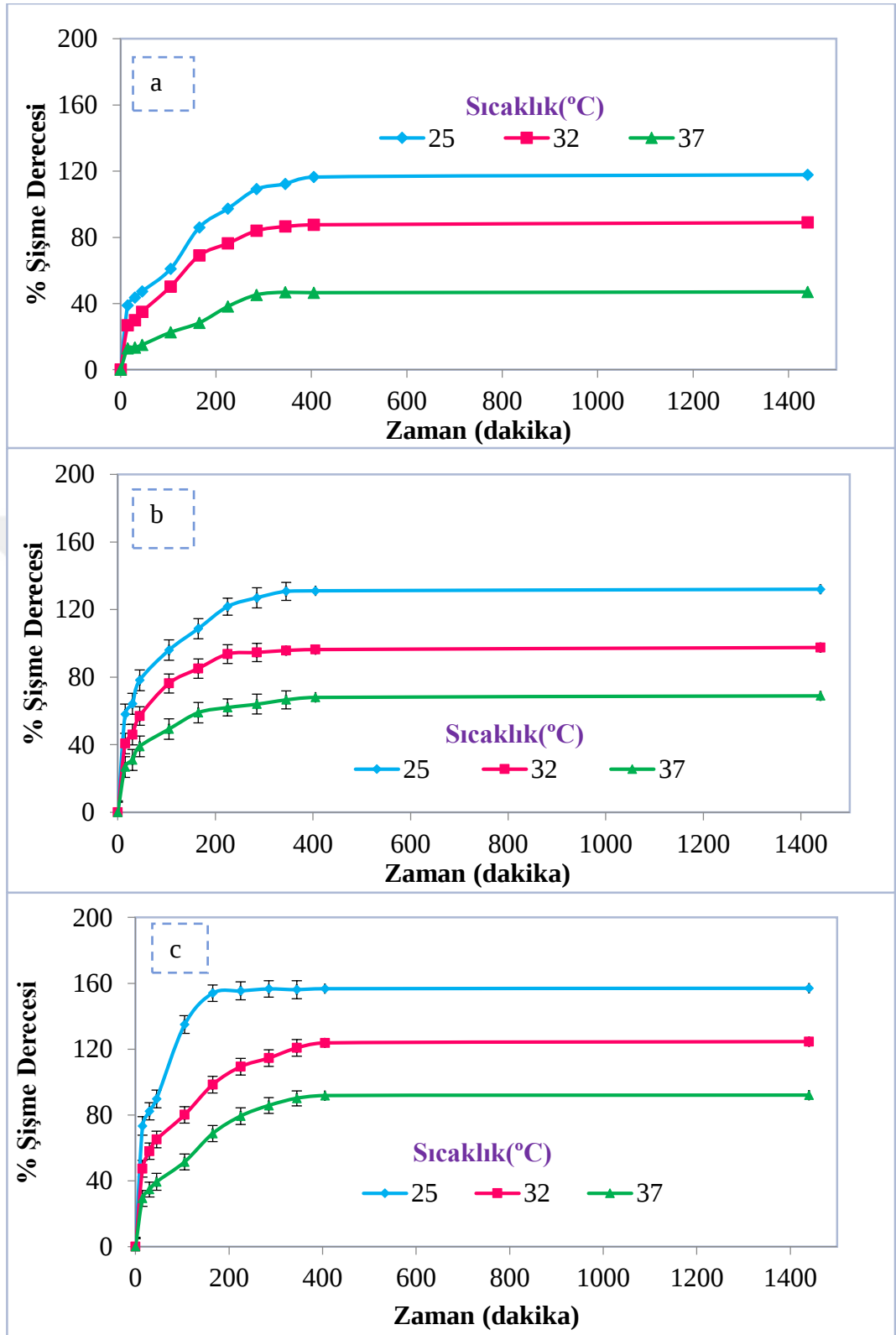
3.6.3. Yüksek Verimli Aşı Kopolimerden Elde Edilen Mikrokürelerin Salıma Etkisi

Şekil 3.66'da % 110 aşı yüzdeli mikrokürelerin farklı pH'larda salımları verilmiştir. pH 1,2 HCl çözeltisinde (a) 25 °C'de % 5-FU salımı 67,02, 32 °C'de % 5-FU salımı 55,03, 37 °C'de % 5-FU salımı 24 saatin sonunda 26,93 olarak bulunmuştur. Salım yaklaşık 3 kat azalmıştır. Şekil 3.66 (b)'de % 110 aşı yüzdeli mikrokürelerin pH 5,5 asetik asit/asetat tamponunda 25 °C'de % 5-FU salımı 80,15, 32 °C'de % 5-FU salımı 72,97, 37 °C'de % 5-FU salımı 24 saatin sonunda 48 olarak bulunmuştur. Şekil 3.66 (c)'de % 110 aşı yüzdeli mikrokürelerin pH 7,4 fosfat tamponunda 25 °C'de % 5-FU salımı 89,16, 32 °C'de % 5-FU salımı 73,64, 37 °C'de % 5-FU salımı 24 saatin sonunda 55,68 olarak bulunmuştur. Sıcaklığın artmasıyla salım 1,5 kat azalmıştır. Formülasyonlar incelendiğinde yüksek aşı yüzdeli mikrokürelerde sıcaklığa duyarlılığın arttığı görülmektedir.

% 110 aşı yüzdeli mikrokürelerin farklı pH'larda şişme sonuçları Şekil 3.67'de belirtilmiştir. pH 1,2'de (a) 24 saatin sonunda % 110 aşı yüzdeli mikrokürelerin 25 °C'de şişme derecesi 117 iken 37 °C'de 47 olarak bulunmuştur. pH 5,5'te şişme sonuçları Şekil 3.67 (b)'de belirtilmiştir. Mikrokürelerin 24 saat sonunda 25 °C'deki şişme derecesi 132 iken 37 °C'de 69'dur. pH 7,4'te (c) şişme sonuçları incelendiğinde mikrokürelerin 24 saat sonunda 25 °C'de % şişme derecesi 157 iken 37°C'de bu değer 92'dir.



Şekil 3.66. % 110 aşı yüzdeli mikrokürelerin pH 1,2 (a), pH 5,5 (b), pH 7,4’de (b) 5-FU salımları



Şekil 3.67. % 110 aşı yüzdeli mikrokürelerin pH 1,2 (a), pH 5,5 (b), pH 7,4'de (c) % şişme derecesi-zaman değişimi

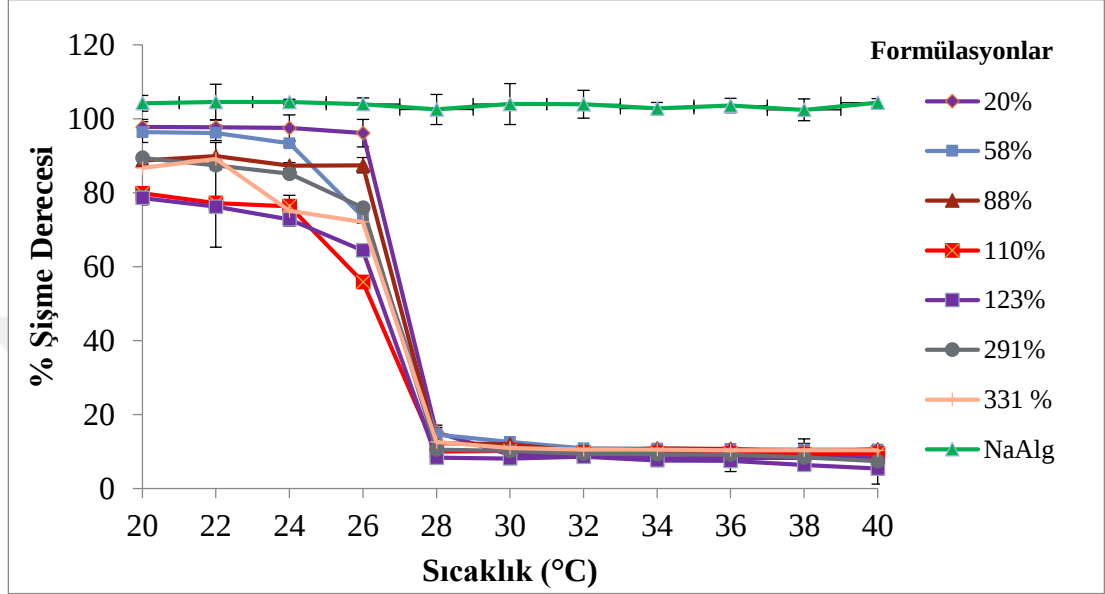
Sonuçlar değerlendirildiğinde aşı yüzdesi düşük kopolimerden elde edilen mikrokürelerin salımlarının daha fazla olduğu görülmüştür. Ayrıca pH 1,2’de sıcaklığa duyarlılık davranışı artmaktadır. PDEAAm’nin hidrofilik (-CON) ve hidrofobik (-CH₂CH₃) grupları arasında LCST değerinin altındaki sıcaklıklarda polimer zincirleri ve su arasında hidrojen bağ etkileşimleri sayesinde yüksek şişme dereceleri elde edilmektedir. LCST değerinin üzerindeki sıcaklıklarda polimer zincirleri ve su arasında hidrojen bağları azalacak ve PDEAAm’nin hidrofobik etkileşimleri artacaktır ve mikrokürelerin polimer yapılarında çökme ile 5-FU salım miktarı azalacaktır. PDEAAm gruplarındaki çökmenin ilaç salımı için gerekli gözenekleri daralttığı düşünülmektedir. PDEAAm gibi sıcaklığa duyarlı olan polimerlerin şişme derecelerindeki değişimleri ile salım sonuçları değişmektedir. Bu özelliğinden dolayı PDEAAm gibi polimerler kontrollü ilaç salım çalışmalarında sıkça kullanılmaktadır [150] ve çalışmamızda tercih edilmiştir.

3.7. Mikrokürelerin LCST Sonuçları

Şekil 3.68’te NaAlg ve aşı kopolimerlerin mikrokürelerinin LCST sonuçları verilmiştir. Mikrokürelerin sıcaklığa duyarlılıkları 20-40 °C aralığında ölçülmüştür. Mikrokürelerin belirlenen sıcaklıklarda denge şişmesine gelmesi beklenmiş (24 saat) ve o sıcaklıktaki % şişme derecesi değeri kaydedilmiştir.

Mikrokürelerin yapısında bulunan sıcaklığa duyarlı polimerden dolayı, LCST değerinin varlığı şekilden görülmüştür. Mikroküreler 27 °C de LCST değeri verdiği ve LCST değerinin altındaki sıcaklıklarda yüksek şişme derecesi ve LCST değerinin üzerindeki sıcaklıklarda düşük şişme dereceleri verdiği görülmüştür. NaAlg

mikrokürelerin çalışılan sıcaklık aralığında şişmelerinin hemen hemen sabit olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 3.68. NaAlg ve farklı aşı yüzdelerindeki mikrokürelerin şişme dereceleri değişimi

3.8. Kinetik Hesaplamalar

Peppas eşitliği kullanılarak salım sonuçlarından ilaç salım mekanizması aydınlatılmıştır. Çizelge 3.7’de salım hız sabiti olan k , salım mekanizmasını belirleyen n , korelasyon katsayısının karekökü olan r değerleri, Çizelge 3.8’de aynı pH’da gerçekleştirilen formülasyonların kinetik hesaplamaları verilmiştir.

İlaç salımı gerçekleşmeden önce etken madde polimer içerisinde dağıtılmış ya da çözünmüş olarak bulunmaktadır. İlaç katı polimerden dışarı difüzenemez. Ancak çözücü molekülleri polimerik matrikse girince polimer şişer ve şişen polimer ilacın difüzyonuna izin verir. Böylece polimer tabakasından çözücü difüzyonuyla aynı anda fakat ters yönde oluşan ilaç salımı gerçekleşir. Genel olarak, sistemlerin şişme davranışları Fick tipi (difüzyon kontrollü) ve Fick olmayan (şişme ve difüzyon kontrollü) olarak sınıflandırılır [31].

$n=0,43$ olduğunda Fick yasasına uygun ilaç geçişini, $n=0,85$ olduğunda Durum II (şişme kontrollü) ilaç geçişini göstermektedir. $0,43 < n < 0,85$ ise Fick yasasına uymayan ya da anormal ilaç geçişini gösterir. Fick difüzyonu olduğunda salım ilaç difüzyonuyla gerçekleşir. Fick olmayan ya da anormal geçişte ise difüzyon ile polimer zincirlerinin gevşeme hızları birbirlerine yakın durumda olmaktadır. İlaç salımı iki eş zamanlı difüzyona bağlıdır. İlki çözücünün mikroküreye difüzyonu, ikincisi ilacın difüzyonudur. Durum II difüzyonu (gevşeme kontrollü taşıma) olduğunda relaksasyon prosesiyle hızlı difüzyon gerçekleşir. Polimer relaksasyonu tarafından suyun geçişi kontrol edilir ve ilaç salımı şişme kontrollü olarak gerçekleşir [151].

Çizelge 3.6'da kinetik sonuçların yorumlanması için, ilacın serbest bırakılma mekanizmasını açıklayan n değerine bakılmıştır. Mikroküreler için difüzyon mekanizmasının Fick yasasına uymayan davranış sergilediği görülmüştür ve böylece polimerik maddeden ilaç salımının difüzyon ve şişme kontrollü olarak gerçekleştiği söylenebilir. Mikrokürelerden ilaç salımı aynı zamanda difüzyon katsayısı (D) değerlerinin hesaplanması ile karakterize edilmiştir. Mikrokürelerin difüzyon katsayılarının $0,59 \times 10^{-12}$ ile 102×10^{-12} m/s aralığında değiştiği görülmüştür. Formülasyonlar incelendiğinde çapraz bağlayıcı derişiminin, çapraz bağlama

süresinin, HCl derişiminin artmasıyla ilaç salımının azalmasına bağı olarak D değerlerinin azaldığı görülmüştür. Aynı pH'da gerçekleştirilen formülasyonların kinetik hesaplamalara bakıldığında 25 °C'de gerçekleştirilen salımların D değerlerinin daha yüksek olduğu ve mikrokürelerin n değerlerinden Fick yasasına uymayan davranış sergilediği görülmüştür. Benzer sonuçlar literatürde de bulunmaktadır [152, 153].

Çizelge 3.8. Farklı formülasyonların kinetik hesaplamaları

Kod	D(x10 ¹²) (m/s)	Kx10 ⁵	n	r	Sıcaklık (°C)	Difüzyon mekanizması
A	6,30	8,02	0,89	0,99	37	Durum II
A1	5,17	9,56	0,86	0,99		Durum II
A2	4,44	15,3	0,80	0,99		Fick Yasasına uymayan
A3	1,85	43,5	0,69	0,99		Fick Yasasına uymayan
A4	1,19	28,0	0,56	0,97		Fick Yasasına uymayan
A5	0,59	34,9	0,87	0,99		Durum II
A6	16,5	13,5	0,79	0,99		Fick Yasasına uymayan
A7	2,98	14,9	0,70	0,99		Fick Yasasına uymayan
SP	16,6	19,9	0,58	0,96		Fick Yasasına uymayan
SP1	102	14,4	0,58	0,95		Fick Yasasına uymayan
SP2	18,0	34,5	0,81	0,99		Fick Yasasına uymayan
SP3	9,82	685,	0,74	0,99		Fick Yasasına uymayan
SP4	16,3	414	0,55	0,99		Fick Yasasına uymayan
SP5	62,1	110	0,67	0,99		Fick Yasasına uymayan
SP6	24,8	143	0,55	0,99		Fick Yasasına uymayan
SP7	62,2	333	0,54	0,99		Fick Yasasına uymayan
SP8	29,9	3,52	0,88	0,99		Durum II
SP9	7,81	64,2	0,70	0,99		Fick Yasasına uymayan
SP10	4,84	5,94	0,89	0,99		Durum II
A6	29,4	45,9	0,76	0,99	32	Fick Yasasına uymayan
SP2	29,6	64,4	0,71	0,99		Fick Yasasına uymayan
A7	6,71	42,5	0,72	0,99		Fick Yasasına uymayan
A6	46,0	104,1	0,69	0,99	25	Fick Yasasına uymayan
SP2	46,3	99,4	0,74	0,99		Fick Yasasına uymayan
A7	11,9	41,8	0,75	0,99		Fick Yasasına uymayan

Çizelge 3.9. Aynı pH’da gerçekleştirilen formülasyonların kinetik hesaplamaları

Kod	D(x10 ¹²) (m/s)	Kx10 ⁵	n	r	pH	Sıcaklık (°C)	Difüzyon mekanizması
A6	29,4	122	0,66	0,99	1,2	25	Fick Yasasına uymayan
	16,5	94,3	0,66	0,99		32	Fick Yasasına uymayan
	7,36	241	0,53	0,99		37	Fick Yasasına uymayan
A6	90,2	38,1	0,53	0,97	5,5	25	Fick Yasasına uymayan
	46,0	35,6	0,77	0,99		32	Fick Yasasına uymayan
	16,5	2,12	0,56	0,99		37	Fick Yasasına uymayan
A6	90,2	743	0,63	0,99	7,4	25	Fick Yasasına uymayan
	66,2	193	0,53	0,96		32	Fick Yasasına uymayan
	16,5	143	0,52	0,95		37	Fick Yasasına uymayan
SP2	29,6	380	0,53	0,99	1,2	25	Fick Yasasına uymayan
	16,7	264	0,54	0,99		32	Fick Yasasına uymayan
	1,85	99,4	0,60	0,99		37	Fick Yasasına uymayan
SP2	16,6	270	0,57	0,99	5,5	25	Fick Yasasına uymayan
	7,41	193	0,60	0,99		32	Fick Yasasına uymayan
	1,85	56,4	0,69	0,99		37	Fick Yasasına uymayan
SP2	90,7	54,2	0,75	0,99	7,4	25	Fick Yasasına uymayan
	46,3	23,8	0,57	0,99		32	Fick Yasasına uymayan
	16,6	17,3	0,82	0,99		37	Fick Yasasına uymayan
A7	6,71	141	0,61	0,99	1,2	25	Fick Yasasına uymayan
	2,98	40,7	0,71	0,99		32	Fick Yasasına uymayan
	0,74	132	0,60	0,99		37	Fick Yasasına uymayan
A7	18,6	44,2	0,52	0,99	5,5	25	Fick Yasasına uymayan
	6,71	64,7	0,56	0,99		32	Fick Yasasına uymayan
	2,98	16,9	0,57	0,99		37	Fick Yasasına uymayan
A7	18,6	61,9	0,51	0,99	7,4	25	Fick Yasasına uymayan
	2,98	29	0,54	0,99		32	Fick Yasasına uymayan
	6,71	4,53	0,56	0,99		37	Fick Yasasına uymayan

4. SONUÇLAR

Tez çalışmasından elde edilen sonuçlar aşağıda belirtilmiştir.

1. Doğal bir polimer olan Sodyum aljinat'a N,N-dietilakrilamid monomeri potasyum persülfat/TEMED sisteminde, mikrodalgada başarı ile aşılانmıştır ve yapısı FTIR-Raman, NMR, DSC/TGA ve GPC ile aydınlatılmıştır.
2. Optimum aşılama koşulları: T: 40 °C, t: 4 saat, [DEAAm]: 0,438 M, [KPS]: 2,27 x10⁻³ M, [TEMED]: 0,66x10⁻³ M, Mikrodalga gücü: 500 Watt olarak bulunmuştur.
3. Optimum koşullarda aşı yüzdesi ve aşılama verimi sırasıyla % 301,06 ve % 55,35 olarak hesaplanmıştır.
4. Mikrodalgada UV lambası varlığında aşılama aşısı yüzdesi 331.16'ya aşılama verimi 56,14'e artmıştır.
5. NaAlg'ye PDEAAm'nin aşılانması ile TGA sonuçlarından termal dayanımın arttığı görülmüştür.
6. NaAlg'ye PDEAAm gruplarının aşılانması ile sıcaklığa duyarlılık özelliği kazandırılmıştır. Geçirgenlik ölçümlerinden aşı kopolimerlerin LCST değerleri 27 °C olduğu ve NaAlg'nin LCST değerinin olmadığı görülmüştür.
7. Aşı kopolimerlerin yüzey morfolojilerinin NaAlg'ye göre daha pürüzsüz olduğu görülmüştür.
8. NaAlg-aşı-PDEAAm mikrokürelerine hidrofilik karakterli 5-FU, yüksek tutuklanma verimi ile yüklenmiştir.
9. NaAlg-aşı-PDEAAm mikroküreler hazırlanma koşulları optimize edilerek 5-FU salımı incelenmiştir. Aşı yüzdesinin, çapraz bağlayıcı derişiminin, ilaç/polimer

oranının artmasıyla salımın azaldığı, polimer derişiminin artması ile salımın arttığı tespit edilmiştir.

10. PDEAAm grup yüzdesinin artması ile 5-FU salımı daha kontrollü bir hızda gerçekleşmiştir.

11. % 20 aşı yüzdeli NaAlg-aşı-PDEAAm mikrokürelerde en yüksek 5-FU salımı 25 °C çalışma sıcaklığında % 1 GA+ % 1 HCl derişimindeki çapraz bağlama çözeltisinde 30 dakika olgunlaştırma süresine sahip mikrokürelerde % 99,69 olarak hesaplanmıştır.

12. % 110 aşı yüzdeli NaAlg-aşı-PDEAAm mikrokürelerin en düşük ilaç salımı ise 37 °C çalışma sıcaklığında % 1 GA+ % 1 HCl derişimindeki çapraz bağlama çözeltisinde 30 dakika olgunlaştırılan mikrokürelerde % 43,57 olarak hesaplanmıştır.

13. NaAlg-aşı-PDEAAm mikrokürelerin LCST değeri 27 °C olarak bulunmuştur.

14. NaAlg-aşı-PDEAAm mikrokürelerde ilaç salımının sıcaklıktan etkilendiği, LCST değerinin altında yüksek salım sonuçları, LCST değerinin üzerindeki sıcaklıklarda düşük salım sonuçları verdiği görülmüştür. Sıcaklığın 25 °C'dan 37 °C'ye artırılması ile 5-FU salımı düşmüştür.

15. Mikrokürelerin salım davranışlarının genelde Fick Yasası'na uymadığı görülmüştür.

16. Yapılan çalışmalar aşı kopolimerlerden elde edilen mikrokürelerin 5-FU gibi asidik ve hidrofilik karakterli ilaçların salım çalışmalarında başarılı bir şekilde uygulanabileceğini göstermiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Ma, L, Liu, M., Shi, X., pH- and temperature-sensitive self assembly microcapsules/microparticles: Synthesis, characterization, in vitro cytotoxicity, and drug release properties, Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, 100B(2), 305-313, 2012.
- [2] Qiu, Y., Park, K., Environment-sensitive hydrogels for drug delivery, Advanced Drug Delivery Reviews, 53(3), 321-339, 2001.
- [3] Singh, B.N., Kim, K.H., Floating drug delivery systems: an approach to oral controlled drug delivery via gastric retention, Journal of Controlled Release, 63(3), 235-259, 2000.
- [4] Patel, G.M., Patel, C.P., Trivedi, H.C., Ceric-Induced grafting of acrylonitrile onto sodium salt of partially carboxymethylated sodium alginate, European Polymer Journal, 35(2), 201-208, 1999.
- [5] Liu, Y., Yang, L., Li, J., Grafting of Methly Methacrylate Onto Sodium Alginate Initiated By Potasium Ditelluratoargentate(III), Journal of Applied Polymer Science, 97(4), 1688, 2005.

- [6] George, M., Abraham, T.E., Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: alginate and chitosan, *Journal of Control Release*, 114, 1-14, 2006.
- [7] Gan, L-H., Cai, W., Tam, K.C., Studies of phase transition of aqueous solution of poly(N,N-diethylacrylamide-co-acrylic acid) by differential scanning calorimetry and spectrophotometry, *European Polymer Journal*, 37, 1773-1778, 2001.
- [8] Azhar, F.F., Olad, A., A study on sustained release formulations for oral delivery of 5-fluorouracil based on alginate–chitosan/montmorillonite nanocomposite systems, *Applied Clay Science*, 101, 288-296, 2014.
- [9] Zhang, N., Yin, Y., Xu, S.J., Chen, W.S., 5-Fluorouracil: mechanisms of resistance and reversal strategies, *Molecules*, 13, 1551-69, 2008.
- [10] Arias, J.L., Ruiz, M.A., López-Viota, M., Delgado, A.V., Poly(alkylcyanoacrylate) colloidal particles as vehicles for antitumor drug delivery: a comparative study, *Colloids and Surfaces B*, 62, 64-70, 2008.
- [11] Huang, L., Sui, W., Wang, Y., Jiao, Q., Preparation of chitosan/chondroitin sulfate complex microcapsules and application in controlled release of 5-fluorouracil, *Carbohydrate Polymers*, 80, 168-173, 2010.

- [12] Baysal, B., Polimer Kimyası Cilt-1, Polimerizasyon Reaksiyonları, ODTÜ Basım İşbirliği, Ankara, 1983.
- [13] Gil, E.S., Hudson, S.M., Stimuli-responsive polymers and their bioconjugates, Progress in Polymer Science, 29, 1173-1222, 2004.
- [14] Cirillo, G., Spataro, T., Curcio, M., Spizzirri, U.G., Nicoletta, F.P., Picci, N., Iemma, F., Tunable thermo-responsive hydrogels: Synthesis, structural analysis and drug release studies, Materials Science and Engineering C, 48, 499-510, 2015.
- [15] Ö., Çevik, Visible-Light-Induced Synthesis of Novel pH Responsive Hybrid Hydrogels for Controlled Drug Delivery, Yüksek Lisans Tezi, Koç Üniversitesi, İstanbul, 2014.
- [16] Kim, S.J., Park, S.J., Kim, S.I., Properties of smart hydrogels composed of poly(acrylic acid)/poly(vinyl sulfonic acid) responsive to external stimuli, Smart Materials and Structures, 13, 317-322, 2004.
- [17] Ngadaonye, J.I., Geever, L.M., Cloonan, M.O., Higginbotham, C.L., Photopolymerised thermo-responsive poly(N,N-diethylacrylamide)-based copolymer hydrogels for potential drug delivery, Journal of Polymer Research, 19, 9822, 2012.

- [18] Gandhi, A., Paul, A., Sen, S.O., Sen, K.K., Studies on thermoresponsive polymers: Phase behaviour, drug delivery and biomedical applications, Asian Journal of Pharmaceutical Sciences, 10, 99-107, 2015.
- [19] He, C, Kim, S.W., Lee, D.S., In situ gelling stimuli-sensitive block copolymer hydrogels for drug delivery, Journal of Controlled Release, 127, 189-207, 2008.
- [20] A., Allı, Yeni Bazı Graft Kopolimerlerin Sentezi ve Fizikokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi , Zonguldak, 2008.
- [21]. M., Çetik Erkol, Farklı Çapraz Bağlayıcılarla Hazırlanmış Poliakrilamit Ve Poli(2-Hidroksietil Metakrilat) Hidrojellerinin Sentezi ve Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz MART Üniversitesi, Çanakkale, 2010.
- [22] Bridsted, H., Kopecek, J., “pH Sensitive Gels”, “Polyelectrolyte Gels”, ACS Symposium Series, 480, 1992.
- [23] Lin, C.C., Metters, A.T., Hydrogels in controlled release formulations: Network design and mathematical modeling, Advanced Drug Delivery Reviews, 58,1379-1408, 2006.

- [24] N.N., Sözman, Biyomedikal Uygulamalarında Akıllı Polimer Kullanılması ve Karakterizasyon Yönteminin Kuartz Kristal Mikro Dengeleyici Sistemler İle Geliştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Başkent Üniversitesi, Ankara, 2008.
- [25] Basan, S., Polimer Kimyası, Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları, no:88, 2001.
- [26] Gupta, P., Vermani, K., Grag, S., Hydrogels in controlled release formulations: Network design and mathematical modeling, Drug Discovery Today, 7, 569-579, 2002.
- [27] Tandia, A., Mammucari, R., Dehghani, F., Foster, N.R., Dense Gas Processing of Polymeric Controlled Release Formulations, International Journal of Pharmaceutics, 328, 1-11, 2007.
- [28] Gürsoy, A. Z., Kontrollü Salım Sistemleri, Kontrollü Salım Sistemleri Derneği, İstanbul, 2002.
- [29] N., Ay, Poli(Vinil Alkol/Sodyum Aljinat Ve Akrilamid-Aşı-Poli(Vinil Alkol/Sodyum Aljinat Mikrokürelerden Diklofenak Sodyumun Kontrollü Salımı, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara, 2004.
- [30] İ., Karaca, Poli(Vinil Alkol/Sodyum Aljinat ve Poli(Vinil Alkol)/Kitosan Mikrokürelerden Salisilik Asitin Kontrollü Salımı, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara, 2006.

- [31] Peppas N. A., “Difüzyon kontrollü sistemler” Kontrollü ilaç serbestleştirme sistemler, Tekno Grafik Ada Ofset Matbaası, İstanbul, 1989.
- [32] Ritger, P.L., Peppas, N.A., A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices, *Journal of Controlled Release*, 5, 37-42, 1987.
- [33] Agnihotri, S.A., S. J., Sheetal, Aminabhavi, T.M., Controlled release of cephalexin through gellan gum beads: Effect of formulation parameters on entrapment efficiency, size, and drug release, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 63, 249-261, 2006.
- [34] Arifin, D.Y., Lee, L.Y., Wang, C., Mathematical modeling and simulation of drug release from microspheres: implications to drug delivery systems, *Advanced Drug Delivery*, 58, 1274-1325, 2006.
- [35] Beşergil, B., *Polimer Kimyası*, Gazi Kitabevi, 2003.
- [36] Singh, V., Kumar, P., Sanghi, R., Use of microwave irradiation in the grafting modification of the polysaccharides, *Progress in Polymer Science*, 37, 340-364, 2012.
- [37] Danks, T. N., Microwave Assisted Synthesis of Pyrroles, *Tetrahedron Letters*, 40, 3957-3960, 1999.

- [38] Fini, A., Breccia, A., Chemistry by microwaves, Pure and Applied Chemistry, 71, 573-579, 1999.
- [39] Lidström, P., Tierney, J., Wathey, B., Westman, J., Microwave Assisted Organic Synthesis- A Review, Tetrahedron, 57, 9225-9283, 2001.
- [40] D., Evren, Mikrodalga ile Nonperiferal Süstitüe Ftalosiyeninlerin Sentezi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul, 2013.
- [41] E., Bulut, Donepezil Hidroklorür'ün Sodyum Aljinat, Sodyum Aljinat/Sodyum Karboksimetil Selüloz ve Sodyum Aljinat/Sodyum Karboksimetil Selüloz/Poli(Vinil Alkol)-aşı-Akrilamid Mikrokürelerden Salımı, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara, 2011.
- [42] Goh C. H., Heng, P. W. S., Chan L.W., Alginate as useful natural polymer for microencapsulation and therapeutic applications, Carbohydrate Polymers, 88, 1-12, 2012.
- [43] Draget, K.I., Philips, G.O., Williams (Eds.), P.A., Handbook of Hydrocolloids, Wood head Publishing, Cambridge, 379-395, 2000.
- [44] Işıklan, N., İnal, M., Kurşun, F., Ercan, G., pH responsive itaconic acid grafted alginate microspheres for the controlled release of nifedipine, Carbohydrate Polymers, 84, 933-943, 2011.

- [45] Hrouz, J., Ilavsky, M., Ulbrich, K., Kopecek, J., The photoelastic behaviour of dry and swollen networks of poly(N, N-diethylacrylamide) and of its copolymer with N-tert. Butylacrylamide, *European Polymer Journal*, 17, 361-6, 1981.
- [46] Freitag, R., Baltes, T., Eggert, M., A comparison of thermoreactive water-soluble poly-N,N-diethylacrylamide prepared by anionic and by group transfer polymerization, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 32, 3019-30, 1994.
- [47] Bian, F., Liu, M., Complexation between poly(N,N-diethylacrylamide) and poly(acrylic acid) in aqueous solution, *European Polymer Journal*, 39, 1867-1874, 2003.
- [48] Schild, H.G., Poly(N-isopropylacrylamide): experiment, theory and application, *Progress Polymer Science*, 17,163-249, 1992.
- [49] Kim, S.Y., Cho, S.M., Lee, Y.M., Kim, S.J., Thermo- and pH-responsive behaviors of graft copolymer and blend based on chitosan and Nisopropylacrylamide, *Journal of Applied Polymer Science*, 78, 1381-91, 2000.
- [50] B., Kurtuluş, İyonik Poli(N-İzopropilakrilamid) Kopolimerlerinin Hazırlanması ve Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 2009.

- [51]. Bayomi, F.S.M., Al-Badr, A.A., Department of Pharmaceutical Chemistry College of Pharmacy, King Saud University, Analytical Profiles of Drug Substances, Volume 18.
- [52]. Guerra, G. D., Cerrai, P., Tricoli, M., Maltinti, S., Release of 5-Fluorouracil by biodegradable poly(ester-ether-ester)s. Part I: release by fused thin sheets, Journal of Materials Science: Materials In Medicine, 12, 313, 2001.
- [53] M., Çavuş Özkan, Topikal 5-Fluorourasil Uygulamasının Epinörektomi Yapılan Sıçan Siyatik Sinir Çevresinde Skar Dokusu Oluşumu Üzerine Etkisinin Araştırılması, Uzmanlık Tezi, Uludağ Üniversitesi, Bursa, 2012.
- [54] Babu, V.R., Sairam, M., Hosamani, K.M., Aminabhavi, T.M., Development of 5-fluorouracil loaded poly(acrylamide-co-methylmethacrylate) novel core-shell microspheres: In vitro release studies, International Journal of Pharmaceutics, 325, 55-62, 2006.
- [55] Chaturvedi, K., Kulkarni, A.R., Aminabhavi, T.M., Blend Microspheres of Poly(3-hydroxybutyrate) and Cellulose Acetate Phthalate for Colon Delivery of 5-Fluorouracil, Industrial and Engineering Chemistry Research, 50, 10414-10423, 2011.
- [56] M., Olukman, Kanser İlacı 5-Fluorourasilinİyonik Çapraz Bağlı Aljinat Esaslı Mikrokürelerden pH Kontrollü Salımı, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara, 2010.

- [57] Kevadiya, B.D., Patel, T.A., Jhala, D.D., Thumbar, R.P., Brahmbhatt, H., Pandya, M.P., Rajkumar, S., Jena, P.K., Joshi, G.V., Gadhia, P.K., Tripathi, C.B., Bajaj, H.C., Layered inorganic nanocomposites: a promising carrier for 5-fluorouracil (5-FU), *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 81, 91-101. 2012.
- [58] Fan, L., Du, Y., Huang, R., Wang, Q., Wang, X., and Zhang, L., Preparation and characterization of alginate/gelatin blend fibers, *Journal of Applied Polymer Science*, 96,1625-1629, 2005.
- [59] Wang, W., Wang, A., Synthesis and swelling properties of pH-sensitive semi-IPN superabsorbent hydrogels based on sodium alginate-g-poly(sodium acrylate) and polyvinylpyrrolidone, *Carbohydrate Polymers*, 80, 1028-1036, 2010.
- [60] Hazra, M., Mandal, D.D., Mandal, T., Bhuniya, S., Ghosh, M., Designing polymeric microparticulate drug delivery system for hydrophobic drug quercetin, *Saudi Pharmaceutical Journal*, 23(4), 429-436, 2015.
- [61] Phadke K.V., Manjeshwar, P.L.S., Aminabhavi, T.M., Novel pH-sensitive blend microspheres for controlled release of nifedipine – An antihypertensive drug, *International Journal of Biological Macromolecules*, 75, 505-514, 2015.

- [62] Giri, T.K., Thakur, D., Alexander, A., H. Badwaik, A., Tripathy, M., Tripathi, D.K., Mater, J., Biodegradable IPN hydrogel beads of pectin and grafted alginate for controlled delivery of diclofenac sodium, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 24 (5), 1179-1190, 2013.
- [63] Swamy, B.Y., Yun, Y-S, In vitro release of metformin from iron (III) cross-linked alginate–carboxymethyl cellulose hydrogel beads, *International Journal of Biological Macromolecules*, 77, 114-119, 2015.
- [64] Ruiz-Rubio, L., Laza, J.M., Pérez, L., Rioja, N., Bilbao, E., Polymer–polymer complexes of poly(N-isopropylacrylamide) and poly(N,N-diethylacrylamide) with poly(carboxylic acids): a comparative study, *Colloid Polymer Science*, 292, 423-430, 2014.
- [65] Chu, L-Q., Zou, X-N., Knoll, W., Förch, R., Thermosensitive surfaces fabricated by plasma polymerization of N,N-diethylacrylamide, *Surface and Coatings Technology*, 202, 2047-2051, 2008.
- [66] Chen, J., Liu, M., Chen, S., Synthesis and characterization of thermo- and pH-sensitive kappa-carrageenan-g-poly(methacrylic acid)/poly(N,N-diethylacrylamide) semi-IPN hydrogel, *Materials Chemistry and Physics*, 115, 339-346, 2009.
- [67] Chen, J., Liu, M., Liu, H., Ma, L., Gao, C., Zhu, G., Zhang, S., Synthesis and properties of thermo- and pH-sensitive poly(diallyldimethylammonium

chloride)/poly(N,N-diethylacrylamide) semi-IPN hydrogel, Chemical Engineering Journal, 159, 247-256, 2010.

- [68] Pieleś, A., Klimczak, M., Biak, K., Raman spectroscopy and WAXS method as a tool for analysing ion-exchange properties of alginate hydrogels, International Journal of Biological Macromolecules, 43, 438-443, 2008.
- [69] Campos-Valette, M.M., Chandia, N.P., Clavijo, E., Leal, D., Matsuhira, B., Osorio-Roman, I.O., Torres, S., Characterization of sodium alginate and its block fractions by surface-enhanced Raman spectroscopy, Journal of Raman Spectroscopy, 41, 758-763, 2010.
- [70] Işıklı, N., Küçükbalcı, G., Microwave-induced synthesis of alginate-graft-poly(N-isopropylacrylamide) and drug release properties of dual pH- and temperature-responsive beads, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 82, 316-331, 2012.
- [71] Aida, T. M., Yamagata, T., Watanabe, M., Smith Jr., R. L., Depolymerization of sodium alginate under hydrothermal conditions, Carbohydrate Polymers, 80, 296-302, 2010.
- [72] Kim, M.H., Kim, J.-C., Lee, H.Y., Kim, J.D., Yang, J.H., Release property of temperaturesensitive alginate beads containing poly(N-isopropylacrylamide), Colloids and surfaces B: Biointerfaces, 46, 57, 2005.

- [73] Liu, H., Liu, M., Ma, L., Chen, L., Thermo- and pH-sensitive comb-type grafted poly(N,N-diethylacrylamide-co-acrylic acid) hydrogels with rapid response behaviors, *European Polymer Journal*, 45, 2060-2067, 2009.
- [74] Spevacek, J., Geschke, D., Ilavsky, M., ¹H NMR study of temperature collapse of linear and crosslinked poly(N,N-diethylacrylamide) in D₂O, *Polymer*, 42, 463-468, 2001.
- [75] Samanta, H.S., Ray, S.K., Synthesis, characterization, swelling and drug release behavior of semi-interpenetrating network hydrogels of sodium alginate and polyacrylamide, *Carbohydrate Polymers*, 99, 666-678, 2014.
- [76] Chhatbar, M., Meena, R., Prasad, K., Siddhanta, A.K., Microwave assisted rapid method for hydrolysis of sodium alginate for M/G ratio determination, *Carbohydrate Polymers*, 76, 650-656, 2009.
- [77] Yang, J., He, W., Synthesis of lauryl grafted sodium alginate and optimization of the reaction Conditions, *International Journal of Biological Macromolecules*, 50, 428-431, 2012.
- [78] Miura, K., Kimura, N., Suzuki, H., Miyashita, Y., Nishio, Y., Thermal and viscoelastic properties of alginate/poly(vinyl alcohol) crosslinked with calcium tetraborate, *Carbohydrate Polymer*, 39, 139-144, 1999.

- [79] Bekin, S., Sarmad, S., Gürkan, K., Keçeli, G., Gürdağ, G., Synthesis, characterization and bending behavior of electroresponsive sodium alginate/poly(acrylic acid) interpenetrating network films under an electric field stimulus, *Sensors and Actuators B*, 202, 878-892, 2014.
- [80] Zohuriaan, M.J., Shokrolahi, F., Thermal studies on natural and modified gums, *Polymer Testing*, 23, 575-579, 2004.
- [81] Sand, A., Yadav, M., Mishra, D., K., Behari, K., Modification of alginate by grafting of N-vinyl-2-pyrrolidone and studies of physicochemical properties in terms of swelling capacity, metal-ion uptake and flocculation, *Carbohydrate Polymers*, 80, 1147-1154, 2010.
- [82] Mishra, D. K., Tripathy, J., Behari, K., Synthesis of graft copolymer (k-carrageenan-g-N,N-dimethylacrylamide) and studies of metal ion uptake, swelling capacity and flocculation properties, *Carbohydrate Polymers*, 71, 524-534, 2008.
- [83] Işıklan, N., İnal, M., Kurşun, F., Graft copolymerization of itaconic acid onto sodium alginate using ceric ammonium nitrate as initiator, *Journal of Applied Polymer Science*, 114, 40-48, 2009.
- [84] Gungor, F.S., Kiskan, B., One-pot synthesis of poly(triazole-graft-caprolactone) via ring-opening polymerization combined with click chemistry

as a novel strategy for graft copolymers, *Reactive and Functional Polymers* 75, 51-55, 2014.

- [85] Gür, Ş.A., *Ultrasenin Suda Çözünen Polimerik Malzemelere Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Afyon, 2013.*
- [86] Xu, Z., Yang, Y., Jiang, Y., Sun, Y., Shen, Y., Pang, J., Synthesis and Characterization of Konjac Glucomannan-Graft-Polyacrylamide via γ -Irradiation, *Molecules*, 13, 490-500, 2008.
- [87] Haridharan, N., Kumar V., Dhamodharan, R., Exploration of Novel Pyrene Labeled Amphiphilic Block Copolymers: Synthesis Via ATRP, Characterization and Properties, *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, 47, 918-926, 2010.
- [88] Akın, A., Işıklan, N., Microwave assisted synthesis and characterization of sodiumalginate-graft-poly(N,N-dimethylacrylamide), *International Journal of Biological Macromolecules*, 82, 530-540, 2016.
- [89] Taşkın, G., Şanlı, O., Asman, G., Swelling assisted photografting of itaconic acid onto sodium alginate membranes, *Applied Surface Science*, 257, 9444-9450, 2011.

- [90]. Işıklan, N., Kurşun, F., Inal, M., Graft copolymerization of itaconic acid onto sodium alginate using benzoyl peroxide, *Carbohydrate Polymers*, 79, 665-672, 2010.
- [91] Wan, Z., Xiong, Z., Ren, H., Huang, Y., Liu, H., Xiong, H., Wu, Y., Han, J., Graft copolymerization of methyl methacrylate onto bamboo cellulose under microwave irradiation, *Carbohydrate Polymers*, 83, 264-269, 2011.
- [92] Shah, S.B., Patel, C.P., Trivedi, H.C., Ceric induced grafting of ethyl-acrylate onto sodium alginate, *Die Angewandte Makromolekulare Chemie*, 214, 75-89, 1994.
- [93] Kumbar, S.G., Soppimath, K.S., Aminabhavi, T.M., Synthesis and Characterization of Polyacrylamide-Grafted Chitosan Hydrogel Microspheres for the Controlled Release of Indomethacin, *Journal of Applied Polymer Science*, 87, 1525-1536, 2003.
- [94] Verma, S.K., Pandey, V.S., Yadav M., Behari, K., Gellan gum-g-N-vinyl-2-pyrrolidone: Synthesis, swelling, metal ion uptake and flocculation behavior, *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 1292-1300, 2015.
- [95] Assaf, S.M., Abul-Haija, Y.M., Fares, M.M., Versatile Pectin Grafted Poly (N-Isopropylacrylamide); Modulated Targeted Drug Release, *Journal of*

Macromolecular Science, Part A: Pure And Applied Chemistry, 48, 493-502, 2011.

- [96] Singh, V., Kumari, P.L., Tiwari, A., Pandey, S., Alumina-supported microwave synthesis of Cassia marginata seed gum-graft polyacrylamide, Journal of Applied Polymer Science, 117, 3630-3638, 2010.
- [97] Liu, L., Li, Yu, Fang, Y., Chen, L., Microwave-assisted graft copolymerization of 3-caprolactone onto chitosan via the phthaloyl protection method, Carbohydrate Polymers, 60, 351-356, 2005.
- [98] Rani, P., Sen, G., Mishra, S., Jha, U., Microwave assisted synthesis of polyacrylamide grafted gum ghatti and its application as flocculant, Carbohydrate Polymers, 89, 275-281, 2012.
- [99] Boppanaa, R., Mohanb, G.K., Nayakc, U., Mutalikc, S., Sad, B., Kulkarnia, R.V., Novel pH-sensitive IPNs of polyacrylamide-g-gum ghatti and sodium alginate for gastro-protective drug delivery, International Journal of Biological Macromolecules, 75, 133-143, 2015.
- [100] Pandey, S., Mishra, S.B., Graft copolymerization of ethylacrylate onto xanthan gum, using potassium peroxydisulfate as an initiator, International Journal of Biological Macromolecules, 49(4), 527-535, 2011.

- [101] Mostafa, T.B., Naguib, H.F., Sabaa, M.W., Mokhtar, S.M., Graft copolymerization of itaconic acid onto chitin and its properties, *Polymer International*, 54, 221-225, 2005.
- [102] Behari, K., Pandey, P.K., Kumar, R., Taunk, K., Graft copolymerization of acrylamide onto xanthan gum, *Carbohydrate Polymers*, 46, 185-189, 2001.
- [103] Banerje, E. J., Kumar, R., Srivastava, A., Behari, K., Graft copolymerization of 2-acrylamido-2-methyl-1-propanesulphonic acid onto carboxymethylcellulose (sodium salt) using bromate/thiourea redox pair, *Journal Applied Polymer Science*, 100(1), 26-34, 2006.
- [104] Vijayakumar, M.T., Reddy, C.R., Joseph, K.T., Grafting of poly(glycidyl methacrylate) onto alginic acid, *European Polymer Journal*, 21(4), 415-419, 1985.
- [105] Varma, L.K., Singh, O.P., Sandle, N.K., Graft-copolymerization of starch with acrylamide, *Die Angewandte Makromolekulare Chemie*, 119, 183, 1983.
- [106] Fanta, G. F., Synthetics of graft and block copolymers of starch, *Block and graft copolymerization*, 1, 1-4, 1973.
- [107] Lanthong, P., Nuisin, R., Kiatkamjornwong, Graft copolymerization, characterization, and degradation of cassava starch-g-acrylamide/itaconic acid superabsorbents, *Carbohydrate Polymers*, 66, 229-245, 2006.

- [108] Rani, U., G., Mishra, S., Sen, G., Jha, U., Polyacrylamide grafted Agar: Synthesis and applications of conventional and microwave assisted technique, Carbohydrate Polymers, 90, 784-791, 2012.
- [109] Wu, G., Li, Y., Han, M., Liu, X., Novel thermo-sensitive membranes prepared by rapid bulk photo-grafting polymerization of *N,N*-diethylacrylamide onto the microfiltration membranes Nylon, Journal of Membrane Science, 283, 13-20, 2006.
- [110] S., Emik, Uyariya Duyarlı Hidrojeller, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 2003.
- [111] Plamper, F.A., Steinschulte, A.A., Hofmann, C.H., Drude, N., Mergel, O., Herbert, C., Erberich, M., Schulte, B., Winter, R., Richtering, W., Toward Copolymers with Ideal Thermosensitivity: Solution Properties of Linear, Well-Defined Polymers of *N*-Isopropyl Acrylamide and *N,N*-Diethyl Acrylamide, Macromolecules, 45, 8021-8026, 2012.
- [112] Taylor, L.D., Cerankowski, L.D., Preparation of films exhibiting a balanced temperature dependence to permeation by aqueous solution a study of low consolute behavior, Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition, 13, 2551-2570, 1975.

- [113] Lencina, M.M.S., Ciolino, A.E., Andreucetti, N.A., Villar, M.A., Thermoresponsive hydrogels based on alginate-g-poly (N-isopropylacrylamide) copolymers obtained by low doses of gamma radiation, *European Polymer Journal*, 68, 641-649, 2015.
- [114] Ma, L., Liu, M., Liu, H., Chen, J., Gao, C., Cui, D., Dual crosslinked pH- and temperature-sensitive hydrogel beads for intestine-targeted controlled release, *Polymer Advanced Technology*, 21, 348-355, 2010.
- [115] Abd El-Ghaffara, M.A., Hashema, M.S., El-Awadyb, M.K., Rabiec, A.M., pH-sensitive sodium alginate hydrogels for riboflavin controlled release, *Carbohydrate Polymers*, 89, 667-675, 2012.
- [116] Swamy, B.Y., Chang, J.H., Ahn, H., Lee, W-K., Chung, I., Thermoresponsive N-vinyl caprolactam grafted sodium alginate hydrogel beads for the controlled release of an anticancer drug, *Cellulose*, 20, 1261-1273, 2013.
- [117] Spanakis, M., Bouropoulos, N., Theodoropoulos, D., Sygellou, L., Ewart, S., Moschovi, A.M., Siokou, A., Niopas, I., Kachrimanis, K., Nikolakis, V., Cox, P.A., Vizirianakis, I.S., Fatouros, D.G., Controlled release of 5-fluorouracil from microporous zeolites, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 10, 197-205, 2014.
- [118] Li, G., Guo, L., Wen, Q., Zhang, T., Thermo- and pH-sensitive ionic-crosslinked hollow spheres from chitosan-based graft copolymer for 5-

fluorouracil release, *International Journal of Biological Macromolecules*, 55, 69-74, 2013.

- [119] Akalin, E., Akyuz, S., Akyuz, T., Adsorption and interaction of 5-Fluorouracil with montmorillonite and saponite by FT-IR spectroscopy, *Journal of Molecular Structure*, 834-836, 477-481, 2007.
- [120] Babu, V.R., Sairam, M., Hosamani, K.M., Aminabhavi, T.M., Development of 5-fluorouracil loaded poly(acrylamide-co-methylmethacrylate) novel core-shell microspheres: In vitro release studies, *International Journal of Pharmaceutics*, 325, 55-62, 2006.
- [121] Ganguly, K., Aminabhavi, T.M., Kulkarni, A.R., Colon Targeting of 5-Fluorouracil Using Polyethylene Glycol Cross-linked Chitosan Microspheres Enteric Coated with Cellulose Acetate Phthalate, *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 50, 11797-11807, 2011.
- [122] Mellati, A., Valizadeh Kiamahalleh, M., Dai, S., Bi, J., Jin, B., Zhang, H., Influence of polymer molecular weight on the in vitro cytotoxicity of poly (N-isopropylacrylamide), *Materials Science and Engineering C* 59, 509-513, 2016.
- [123] Dabiri, S.M.H., Lagazzo, A., Barberis, F., Farokhi, M., Finocchio, E., Pastorino, L., Characterization of alginate-brushite in-situ hydrogel composites, *Materials Science and Engineering C* 67, 502-510, 2016.

- [124] Olad, A., Farshi Azhar, F., A study on the adsorption of chromium(VI) from aqueous solutions on the alginate–montmorillonite/polyaniline nanocomposite, *Desalination and Water Treatment*, 2548-2559, 2013.
- [125] Hosseinia, S.M., Hosseinia, H., Mohammadifara, M.A., Germanb, J.B., Mortazaviana, A.M., Mohammadia, A., Khosravi-Daranic, K., Shojaee-Aliabadia, S., Khaksara, R., Preparation and characterization of alginate and alginate-resistant starch microparticles containing nisin, *Carbohydrate Polymers*, 103, 573-580, 2014.
- [126] Yıldızlı, E., Aljinat Aşı Kopolimerlerinin Hazırlanması ve Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 2011.
- [127] Çakmak, S., Çakmak, A.S., Gümüşderelioğlu, M., PNIPAAm-grafted thermoresponsive microcarriers: Surface-initiated ATRP synthesis and characterization, *Materials Science and Engineering C*, 33, 3033-3040, 2013.
- [128] E., Öztürk, Yüzeyde Başlatılan Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu Tekniğiyle Ultrahidrofobik Yüzey Tasarımı, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara, 2009.
- [129] S., Demirci, Tersinir Katılma-Ayrılma Zincir Transfer Polimerizasyonu ile Silikon Disk Yüzeyine Kovalent Bağlı Poli[(Ar-Vinilbenzil)Trimetilamonyum Klorür] Fırça Sentezi ve DNA

İmmobilizasyonunda Kullanımı, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara, 2011.

- [130] Babu, V.R., Sairam, M., Hosamani, K.M., Aminabhavi, T.M., Preparation of sodium alginate–methylcellulose blend microspheres for controlled release of nifedipine, *Carbohydrate Polymers*, 69, 241-250, 2007.
- [131] Rao, K.M., Mallikarjuna, B., Krishna Rao, K.S.V., Prabhakar, M.N., Chowdoji Rao, K., Subha, M.C.S., Preparation and characterization of pH sensitive poly(vinyl alcohol)/sodium carboxymethyl cellulose IPN microspheres for in vitro release studies of an anti-cancer drug, *Polymer Bulletin*, 68, 1905-1919, 2012.
- [132] Mundargi, R.C., Patil, S.A., Aminabhavi, T.M., Evaluation of acrylamide-grafted-xanthan gum copolymer matrix tablets for oral controlled delivery of antihypertensive drugs, *Carbohydrate Polymers*, 69, 130-141, 2007.
- [133] Al-Kahtani, A.A., Sherigara, B.S., Semi-interpenetrating network of acrylamide-grafted-sodiumalginate microspheres for controlled release of diclofenac sodium, preparation and characterization, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 115, 132-138, 2014.
- [134] Bajpai, A.K., Bhanu, S., Controlled release of a Digestive Enzyme from a Swellable Semi-Interpenetrating Polymer Network(IPN), *Journal of Macromolecular Science*, A40, 3, 265-292, 2003.

- [135] Mundargi, R.C., Rangaswamy, V., Aminabhavi, T.M., A Novel Method to Prepare 5-Fluorouracil, an Anti-cancer Drug, Loaded Microspheres from Poly(N-vinyl caprolactam-co- acrylamide) and Controlled Release Studies, Designed Monomers and Polymers, 13, 325-336, 2010.
- [136] Agnihotri, S.A., Aminabhavi, T.M., Novel interpenetrating network chitosan-poly(ethylene oxide-*g*-acrylamide) hydrogel microspheres for the controlled release of capecitabine, International Journal of Pharmaceutics, 324, 103-115, 2006.
- [137] Angadi, S.C., Manjeshwar, L.S., Aminabhavi, T.M., Interpenetrating polymer network blend microspheres of chitosan and hydroxyethyl cellulose for controlled release of isoniazid, International Journal of Biological Macromolecules, 47, 171-179, 2010.
- [138] Mundargi, R.C., Shelke, N.B., Rokhade, A.P., Patil, S.A., Aminabhavi, T.M., Formulation and in-vitro evaluation of novel starch-based tableted microspheres for controlled release of ampicillin, Carbohydrate Polymers, 71, 42-53, 2008.
- [139] Mitra, S., Maity, S., Sa, B., Effect of different cross-linking methods and processing parameter on drug release from hydrogel beads, International Journal of Biological Macromolecules, 74, 489-497, 2015.

- [140] Kurkuri, M.D., Aminabhavi, T.M., Poly(vinyl alcohol) and poly(acrylic acid) sequential interpenetrating network pH-sensitive microspheres for the delivery of diclofenac sodium to the intestine, *Journal of Controlled Release*, 96, 9-20, 2004.
- [141] Denkbaş, E.B., Odabaşı, M., Kiliçay, E., Özdemir, N., Human Serum Albumin(HSA) Adsorption with Chitosan Microspheres, *Journal of Applied Polymer Science*, 86, 3035-3039, 2002.
- [142] Zhang, C., Cheng, Y., Qu, G., Wu, X., Ding, Y., Cheng, Z., Yu, L., Ping, Q., Preparation and characterization of galactosylated chitosan coated BSA microspheres containing 5-fluorouracil, *Carbohydrate Polymers*, 72, 390-397, 2008.
- [143] Peng, Z., Li, Z., Shen, Y., Preparation and in vitro Characterization of Gelatin Microspheres Containing 5-fluorouracil, *Journal of Macromolecular Science Part B: Physics*, 51, 1117-1124, 2012.
- [144] Varaprasad, K., Vimala, K., Ravindra, S., Reddy, N.N., Reddy, G.S.M., Raju, K.M., Biodegradable Chitosan Hydrogels for In Vitro Drug Release Studies of 5-Fluorouracil an Anticancer Drug, *Journal of Polymers and Environment*, 20, 573-582, 2012.
- [145] Lee, W-F, Yuan, W-Y, Thermoreversible Hydrogels X: synthesis and swelling behavior of the poly(N-isopropylacrylamide-co-sodium 2-

acrylamido-2-methylpropyl sulfonate) copolymeric hydrogels, Journal of Applied Polymer Science, 77, 1760-1768, 2000.

[146]. Shin, B.C., Jhon, M.S., Lee, H.B., Yuk, S.H., pH/ temperature Dependant Phase Transition of an Interpenetrating Polymer Network : Anomalous Swelling Behavior Above Lower Critical Solution Temperature, European Polymer Journal, 34(II), 1675-81, 1998.

[147] Kulkarni, A.R., Soppimath, K.S., Aminabhavi, T., Dave, A.M., Mehta, H.M., Glutaraldehyde crosslinked sodium alginate beads containing liquid pesticide for soil application, Journal of Controlled Release, 63, 97-105, 2000.

[148] Pişkin, E., Gürsoy, A., Dortunç, B., Peppas, N.A., “Mikrokapsüller ve mikroküreler” Kontrollü İlaç Serbestleştirilen Sistemler, Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi yayınları, İstanbul, 120-152, 1989.

[149] L. El-Sherbiny, İ., Enhanced pH-responsive carrier system based on alginate and chemically modified carboxymethyl chitosan for oral delivery of protein drugs: preparation and in-vitro assessment, Carbohydrate polymers, 80, 1125-1136, 2010.

[150] Chen, J., Liu, M., Jin, S., Liu, H., Synthesis and characterization of K-carrageenan/poly(N,N-diethylacrylamide) Semi-interpenetrating polymer network hydrogels with rapid response to temperature, Polymer For Advanced Technologies, 19, 1656-1663, 2008.

- [151] Işıklan, N, İnal, M., Yiğitoğlu, M., Synthesis and Characterization of Poly (NVinyl-2-Pyrrolidone) Grafted Sodium Alginate Hydrogel Beads for the Controlled Release of Indomethacin, Journal of Applied Polymer Science, 110, 481-493, 2008.
- [152] Langer, R.S., Peppas, N.A., Present and future applications of biomaterials in controlled drug delivery systems, Biomaterials, 2, 201-214, 1981.
- [153]. S., Küçüktepe, İki basamaklı polimerizasyon yöntemiyle mikrogözenekli poli[2-(dietilamino)etilmetakrilat-ko-N,N-dimetilakrilamit] hidrojellerin hazırlanması ve karakteriasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara, 2006.