T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

VİRAL HASTALIKLARI TEDAVİ POTANSİYELİNE SAHİP KİTOSAN BAZLI HİDROJEL SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE İLAÇ SALIM DAVRANIŞININ İNCELENMESİ

NUH YAMAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOTEKNOLOJİ VE GENETİK ANA BİLİM DALI

Tez Danışmanı: Doktor Öğretim Üyesi Sevil ERDOĞAN

EDİRNE-2022

Nuh YAMAN'ın hazırladığı "**VİRAL HASTALIKLARI TEDAVİ POTANSİYELİNE SAHİP KİTOSAN BAZLI HİDROJEL SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE İLAÇ SALIM DAVRANIŞININ İNCELENMESİ**" başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalında bir Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri (Ünvan, Ad, Soyad):

Doç. Dr. Gökhan KAÇAR

Doç. Dr. Mustafa ARSLAN

Dr. Öğr. Üyesi Sevil ERDOĞAN

Tez Savunma Tarihi: 06/01/2022

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

Dr. Öğr. Üyesi Sevil ERDOĞAN

Tez Danışmanı

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Prof. Dr. Hüseyin Rıza Ferhat KARABULUT

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

T.Ü. FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

DOĞRULUK BEYANI

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında, tüm verilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini, kullanılan verilerde tahrifat yapılmadığını, tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını, kullanılan tüm literatür bilgilerinin bilimsel normlara uygun bir şekilde kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını ve bu tezin tamamı ya da herhangi bir bölümünün daha önceden Trakya Üniversitesi ya da farklı bir üniversitede tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

06 / 01/ 2022

Nuh YAMAN

İmza

Yüksek Lisans Tezi

Viral hastalıkları tedavi potansiyeline sahip kitosan bazlı hidrojel sentezi, karakterizasyonu ve ilaç salım davranışının incelenmesi

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalı

ÖZET

Hepatit B ve HIV enfeksiyonları dünya çapında milyonlarca insanın hayatını olumsuz etkileyen ve ölüm riski yüksek olan enfeksiyonlardır. Oldukça uzun süreli tedavi gerektiren bu enfeksiyonların tedavisinde kullanılan antiviral ilaçların yarı ömürleri ve biyoyararlanımları düşük olduğundan hastalara daha sık ve yüksek ilaç dozlaması uygulanmaktadır. Bu da toksisiteye yol açmaktadır. Bu nedenle, antiviral ilaçların dozlama sıklığını azaltan ve kontrollü salım ile ilacın dozunu terapötik seviyede tutarak ilacın biyoyararlanımını arttıran polimerik ilaç salım sistemlerinin geliştirilmesi bir ihtiyaç haline gelmiştir. Bu çalışmada, antiviral ilaçlar Tenofovir ve Raltegravirin biyoyararlanımlarının iyileştirilmesi için kitosan/2-hidroksipropil-β-siklodekstrin (HP-β-CD) bazlı hidrojel sentezlenmesi, karakterizasyonunun yapılması ve ilaç salım davranışlarının incelenmesi amaçlandı. Biyouyumlu, biyobozunur ve toksik olmayan kitosan ve HP-β-CD biyopolimerleri kullanılarak gluteraldehit ile çapraz bağlı kitosan/HP-β-CD hidrojeli sentezlendi ve jelleşme yüzdesi hesaplandı. Sentezlenen hidrojelin karakterizasyonu Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR), Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), X-ışını Kırınımı (XRD) ve Proton Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (^{1}H-NMR) analizleriyle yapıldı. Ayrıca, sentezlenen hidrojellerin zamana karşı şişme miktarları belirlendi. UV spektrofotometre

analizleriyle hidrojellerin Raltegravir ve Tenofovir salım miktarları incelendi. Çalışma sonucunda, sentezlenen kitosan/HP-β-CD hidrojelinin %78 civarında bir jelleşme oranına ve hidrojelin içerdiği HP-β-CD oranına bağlı olarak saf suda kendi kuru ağırlığının 16 katına kadar şişme kapasitesine sahip olduğu görüldü. FTIR, SEM, XRD ve ^{1}H-NMR analizleri hidrojeli oluşturan hammadeler arasındaki etkileşimleri ortaya koyarak kitosan/HP-β-CD hidrojelinin başarılı bir şekilde sentezlendiğini ve antiviral ilaçlarla yüklendiğini gösterdi. SEM analizi sentezlenen hidrojelin hemen hemen homojen büyüklükte bir gözenek yapısına sahip olduğunu ortaya koydu. İlaç yüklü hidrojellerde ise gözeneklerin ilaç molekülleriyle dolu olduğu ve Evasif ilacının agregasyon oluşturduğunu gösterdi. XRD analizi sentezlenen hidrojelin 20° civarında geniş bir amorf pik verirken, antiviral ilaç raltegravir yüklü hidrojelin çok kristalin bir yapı sergilediğini gösterdi. ^{1}H-NMR analizi de sentezlenen ilaç yüklü hidrojellerin yapısını ve antiviral ilaçlarla olan etkileşimini ortaya koydu. Sentezlenen kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin antiviral ilaçlar Raltegravir ve Tenofovirin salımında sürekli salım potansiyeline sahip oldukları görülmüştür. Sentezlenen kitosan/HP-β-CD hidrojelinin özellikle antiviral ilaç Tenofovir için uygun bir ilaç salım sistemi olabileceği düşünülmektedir.

Yıl : 2022

Sayfa Sayısı : 117

Anahtar Kelimeler : Antiviral ilaç salımı, kopolimerizasyon, kitosan/HP-β-CD hidrojel, XRD, NMR

Master Thesis

Synthesis, characterization and study of drug release behavior of chitosan-based hydrogel that have the potential to treat viral diseases.

Trakya University Institute of Natural Sciences

Department of Biotechnology and Genetics

ABSTRACT

Hepatitis B and HIV are infections that negatively affect the lives of millions of people worldwide and bring a high risk of death. Since the half-lives and bio-availability of the antiviral drugs, used in the treatment of these infections which require quite long-term treatment, are low, more frequent and high drug dosing are applied to the patients. This leads to toxicity. For this reason, polymeric drug delivery systems that reduce the dosing frequency of antiviral drugs and increase the bioavailability of the drug by keeping the dose of the drug at the therapeutic level with controlled release have become a necessity. In this study, it was aimed to synthesize and characterize a chitosan/2-hydroxypropyl-β-cyclodextrine (HP-β-CD)-based hydrogel to improve the bioavailability of the antiviral drugs tenofovir and raltegravir, and to examine their drug release behavior. By using biocompatible, biodegradable and non-toxic chitosan and HP-β-CD biopolymers, glutaraldehyde cross-linked chitosan/HP-β-CD hydrogel was synthesized and the gelation percentage was calculated. Characterization of the synthesized hydrogel was performed by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Scanning Electron Microscopy (SEM), X-ray Diffraction (XRD) and Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (^{1}H-NMR) analyzes. In addition, the amount of time swelling of the synthesized hydrogels was investigated. The raltegravir and tenofovir release amounts of the hydrogels were investigated by UV

spectrophotometer analysis. As a result of the study, it was observed that the synthesized chitosan/HP-β-CD hydrogel had a gelation rate of around 78% and a swelling capacity of up to 16 times its dry weight in pure water, depending on the HP-β-CD content of the hydrogel. FTIR, SEM, XRD and ^{1}H-NMR analyzes revealed the interactions between the raw materials forming the hydrogel, showing that the chitosan/HP-β-CD hydrogel was successfully synthesized and loaded with antiviral drugs. SEM analysis revealed that the synthesized hydrogel had an almost homogeneous pore structure. On the other hand, in drug-loaded hydrogels, it was revealed that the pores were filled with drug molecules and the Evasive aggregated. XRD analysis revealed that the synthesized hydrogel had a broad amorphous peak around 20°, while the hydrogel loaded with the antiviral drug raltegravir exhibited a polycrystalline structure. ^{1}H-NMR revealed the structure of the synthesized drug-loaded hydrogels and their interaction with antiviral drugs. The synthesized chitosan/HP-β-CD hydrogels have been shown to have sustained-release potential in the release of the antiviral drugs raltegravir and tenofovir. It is thought that the synthesized chitosan/HP-β-CD hydrogel may be a suitable drug release system especially for the antiviral drug tenofovir.

Year : 2022

Number of Pages : 117

Keywords : Antiviral drug release, copolymerization, chitosan/HP-β-CD hydrogel, XRD, NMR

TEŞEKKÜR

Bana bu çalışmayı yapma fırsatı veren, değerli zamanını bana ayıran ve beni her anlamda yönlendiren danışmanım sayın Dr. Öğr. Üyesi Sevil ERDOĞAN'a en içten teşekkürlerimi borç bilir ve şükranlarımı sunarım.

Tez çalışmamın hidrojel sentezi ve ilaç salım aşamalarındaki yönlendirmeleri ve desteği için değerli hocam sayın Prof. Dr. Betül TAŞDELEN'E (Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi) teşekkürü borç bilirim.

Her zaman yanımda olan ve beni her koşulda destekleyen ailem başta sevgili annem Altun YAMAN'a ve babam Mehmet YAMAN'a, bana yol arkaşı olan, hiçbir desteğini benden esirgemeyen ağabeyim Fehmi YAMAN'a ve varlıklarıyla, destek ve sevgileriyle yanımda olan üçüz kardeşlerim Aslı YAMAN, Çiğdem YAMAN ve Kerem YAMAN'a ve bilgi birikimlerini ve tecrübelerini benimle paylaşan, beni her anlamda destekleyen ve yol gösteren sevgili amcam Cesim YAMAN'a ve değerli eşi Özlem YAMAN' a çok teşekkür ederim.

Tenefovir diproksil fumarat etken maddesinin teminindeki katkılarından dolayı Nobel İlaç San ve Tic. A.Ş. ilaç firmasına (Düzce) teşekkür ederim.

Bu tez çalışması, Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TÜBAP 2020/149 numaralı ve "Viral hastalıkları tedavi potansiyeline sahip kitosan bazlı hidrojel sentezi, karakterizasyonu ve ilaç salım davranışının incelenmesi" başlıklı proje kapsamında finansal olarak desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... İV

ABSTRACT ..... Vİ

TEŞEKKÜR ..... Vİİİ

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... Xİİİ

ŞEKİLLER DİZİNİ XV

ÇİZELGELER DİZİNİ ..... XVİİ

BÖLÜM I 1

GİRİŞ 1

BÖLÜM 2 6

2. GENEL BİLGİLER 6

2.1. Hidrojeller 6

2.1.1. Hidrojel Türleri 8

2.1.2. Hidrojel Üretme Yöntemleri 9

2.1.2.1 Fiziksel Çapraz Bağlama: 9

2.1.2.2 Kimyasal Çapraz Bağlama: 10

2.1.2.3 Aşılama (Grafting): 10

2.1.2.4 Radyasyon Çapraz Bağlama: 11

2.1.3. Hidrojellerin İlaç Salımında Kullanılması Açısından Avantajlı Özellikleri 11

2.2. Kitosan 12

2.2.1. Kitosanın İlaç Salınımındaki Rolü 15
2.2.2. Kitosan Hidrojelleri 15
2.2.3. Kitosan Hidrojelleri Hazırlama Yöntemleri 16
2.2.3.1. Kimyasal Çapraz Bağlama Yoluyla Kitosan Hidrojel Üretimi 17
2.2.3.2. Fiziksel Çapraz Bağlama Yoluyla Kitosan Hidrojel Üretimi 18
2.2.4. Kitosan Hidrojelden İlaç Salım Mekanizmaları 19
2.2.5. Kitosan Hidrojel Sistemi ile Çeşitli İlaçların Teslimi 19
2.3. Siklodekstrinler 20
2.3.1. β-Siklodekstrin Kullanım Alanları 24
2.3.2. Siklodekstrinlerin İlaç Salımında Kullanımı ve Avantajları 25
2.3.3. β-Siklodekstrin Hidrojeller 25
2.3.4. 2-Hidroksipropil-B-Siklodekstrin (HP-B-CD) 27
2.4. Antiviral İlaçlar 28
2.4.1. Tenofovir 28
2.4.2. Raltegravir 30
2.5. Literatür Taraması 31
3. MATERYAL VE METOD 34
3.1. Malzemeler 34
3.2. Kerevitten Kitin İzolasyonu 35
3.3. Kitosan Eldesi 36
3.4. Kitosan/HP-β-CD Hidrojel Sentezi 36
3.5. Kerevit Kitosanı ve Sentezlenen Hidrojellerin Karakterizasyonu 37
3.5.1. Elementel Analiz: 38
3.5.2. Moleküler Ağırlık (Ma): 38

3.5.3. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometresi (FTIR) 39
3.5.4. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) 39
3.5.5. X-Işını Kırınımı (XRD) 40
3.5.6. Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (1H-NMR) 40
3.6. Sentezlenen Hidrojellerin Fonksiyonelite Testleri 41
3.6.1. Hidrojellerin Jelleşme Ölçümleri 41
3.6.2. Hidrojellerin Şişme Ölçümleri 41
3.6.3. Antiviral İlaçların Standart Kalibrasyon Eğrilerinin Oluşturulması 42
3.6.4. Hidrojellere İlaç Yükleme ve Salım Testleri 43
4. SONUÇLAR 45
4.1. Kerevit *Astacus leptodactylus*'tan Elde Edilen Kitosanın Karakterizasyon Analiz Sonuçları 45
4.1.1. FTIR Analizi 45
4.1.2. Moleküler Ağırlık 46
4.1.3. Elementel Analiz 46
4.1.4. SEM Analizi 46
4.2. Sentezlenen Kitosan/HP-β-CD Hidrojellerinin Karakterizasyonu 47
4.2.1. Hidrojellerin FTIR Analiz Sonucu 48
4.2.2. Hidrojellerin SEM Analiz Sonucu 52
4.2.3. Hidrojellerin XRD Analiz Sonucu 53
4.2.4. Hidrojellerin ^{1}H-NMR Analiz Sonucu 56
4.3. Sentezlenen Kitosan/HP-β-CD Hidrojellerinin Fonksiyonelite Test Sonuçları 62
4.3.1. Hidrojellerin Jelleşme Yüzdesi (%) 62
4.3.2. Hidrojellerin Şişme Yüzdesi (%) 63
4.3.3. Antiviral İlaçların Standart Kalibrasyon Eğrileri 66

4.3.4. Hidrojellere İlaç Yükleme ve ilaç Salımı 69

5. TARTIŞMA 75

6. KAYNAKLAR 87

7. ÖZGEÇMİŞ 100

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

C	Karbon
CH_3COOH	Asetik asit
cm	Santimetre
cm^{-1}	1/santimetre (frekans)
cms^{-1}	Santimetre/saniye
dk.	Dakika
dmso	dimetil sülfoksit
EDX	Enerji Dağılımlı X Işını
FTIR	Fourier Dönüşüm Kızılötesi Spektroskopi
g	Gram
H	Hidrojen
HIV	insan immün yetmezlik virüsü
HP-β-CD	2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin
kDa	Kilodalton
keV	Kilo elektron volt
kV	Kilo volt
kGy	kilo grey
mA	Mili Amper
mg	miligram
mL	Mililitre
mm	Mili metre
mm/s	Milimetre/saniye
Ma	Moleküler ağırlık
N	Azot
nm	Nanometre

O	Oksijen
pbs	fosfat tamponu
ppm	milyonda bir
RAL	Raltegravir
rpm	Dakikadaki devir sayısı
s	Saniye
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
TFV	Tenofovir
v/v	Hacim/hacim
w/v	Ağırlık/hacim
Wt	Ağırlık
XRD	X-Işını Difraksiyonu
µm	Mikro metre
µL	Mikrolitre
µg/mL	Mikrogram/mililitre
%	Yüzde
% T	Yüzde geçirgenlik
º	Derece
ºC	Santigrat derece
λmax	maksimum absorbans

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1. Kitin ve kitosanın kimyasal yapısı.….....13
Şekil 2. 2. Siklodekstrin genel yapı.....21
Şekil 2. 3. Doğal siklodektrinlerin yapısı ve konformasyonu.....22
Şekil 2. 4. Yedi glukopiranoz ünitesinden oluşan 2-hidroksipropil-β-siklodekstrin (HP-β-CD) 27
Şekil 2. 5. Tenofovir disoproksil.....29
Şekil 2. 6. Tenofovir disoproksil fumarat 30
Şekil 2. 7. Raltegravir.....31
Şekil 3. 1. Sentezlenen hidrojellerin ilaç salım denemelerinde kullanılan antiviral ilaçlar. 35
Şekil 3. 2. Kerevit A. leptodactylus'tan kitosan eldesi 36
Şekil 3. 3. Kitosan/HP-β-CD hidrojelinin hazırlanması. 37
Şekil 3. 4. Kerevit kitosanının viskozite ortalama moleküler ağırlının belirlenmesi.....39
Şekil 3. 5. Sentezlenen hidrojellerin saf suda şişme deneyleri. 42
Şekil 4. 1. Kerevit A. leptodactylus'tan elde edilen kitosanın SEM görüntüsü.....47
Şekil 4. 2. Sentezlenen kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin genel görünüşü.....48
Şekil 4. 3. Sentezlenen hidrojel ve hammaddelerinin FTIR spektrumları 49
Şekil 4. 4. Boş ve ilaç (0.04 g) yüklü jellerin FTIR spektrumları.....51
Şekil 4. 5. Boş ve ilaç (0.04 g) yüklü hidrojellerin SEM görüntüleri 52
Şekil 4. 6. Boş ve antiviral ilaç (0.04 g) yüklü hidrojellerin X-ışını kırınım modelleri..54
Şekil 4. 7. Antiviral ilaçların X-ışını kırınım modelleri.....55
Şekil 4. 8. Kitosan/HP-β-CD hidrojelinin NMR spektrumu.....57
Şekil 4. 9. Evasif (0.04 g) yüklü kitosan/HP-β-CD hidrojelinin NMR spektrumu.....58
Şekil 4. 10. Tenofovir disoproksil fumarat (0.04 g) yüklü Kitosan/HP-β-CD hidrojelinin NMR spektrumu.....59
Şekil 4. 11. Isentress (0.04 g) yüklü kitosan/HP-β-CD hidrojelinin NMR spektrumu ...60

Şekil 4. 12. Antiviral ilaçların NMR spektrumları 61
Şekil 4. 13. 0.02 g HP-β-CD içeren kitosan/HP-β-CD hidrojelinin saf suda ortalama şişme indeksi 64
Şekil 4. 14. 0.03 g HP-β-CD içeren kitosan/HP-β-CD hidrojelinin saf suda ortalama şişme indeksi 65
Şekil 4. 15. 0.04 g HP-β-CD içeren kitosan/HP-β-CD hidrojelinin saf suda ortalama şişme indeksi 66
Şekil 4. 16. Evasif ilacı kalibrasyon eğrisi 67
Şekil 4. 17. Tenofovir diproksil fumarat'ın kalibrasyon eğrisi 68
Şekil 4. 18. Isentress'in kalibrasyon eğrisi 69
Şekil 4. 19. Kitosan/HP-β-CD hidrojelinin Evasif salım grafiği (37°C, pH: 7.4) 71
Şekil 4. 20. Kitosan/HP-β-CD hidrojelinin Evasif salım grafiği (%) (37°C, pH: 7.4) ... 71
Şekil 4. 21. Kitosan/HP-β-CD hidrojelinin Tenofovir disoproksil fumarat salım grafiği (37°C, pH: 7.4) 72
Şekil 4. 22. Kitosan/HP-β-CD hidrojelinin Tenofovir disoproksil fumarat salım grafiği (%) (37°C, pH: 7.4) 73
Şekil 4. 23. Kitosan/HP-β-CD hidrojelinin Isentress salım grafiği (37°C, pH: 7.4) 74
Şekil 4. 24. Kitosan/HP-β-CD hidrojelinin Isentress salım grafiği (%) (37°C, pH: 7.4) 74

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4. 1. *A. leptodactylus* kitosanı ve ticari kitosanın FTIR bantları karşılaştırması45
Çizelge 4. 2. 0.02 g HP-β-CD içeren kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin jelleşme oranı..62
Çizelge 4. 3. 0.03 g HP-β-CD içeren kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin jelleşme oranı..62
Çizelge 4. 4. 0.04 g HP-β-CD içeren kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin jelleşme oranı..62
Çizelge 4. 5. 0.02 g HP-β-CD içeren kitosan/HP-β-CD hidrojelinin saf suda şişme yüzdesi.....63
Çizelge 4. 6. 0.03 g HP-β-CD içeren kitosan/HP-β-CD hidrojelinin saf suda şişme yüzdesi 64
Çizelge 4. 7. 0.04 g HP-β-CD içeren kitosan/HP-β-CD hidrojelinin saf suda şişme yüzdesi.....65
Çizelge 4. 8. Evasif'in maksimum dalga boyundaki (261 nm) absorbans değerleri 67
Çizelge 4. 9. Tenofovir diproksil fumarat'ın maksimum dalga boyundaki (261 nm) absorbans değerleri.....68
Çizelge 4. 10. Isentress'in maksimum dalga boyundaki (280 nm) absorbans değerleri.69
Çizelge 4. 11. Evasif yüklü hidrojellerin zamana göre ilaç salım miktarları (pH: 7.4 ve 37°C) 70
Çizelge 4. 12. Tenofovir disoproksil fumarat yüklü hidrojellerin zamana göre ilaç salım miktarları (pH: 7.4 ve 37°C.....72
Çizelge 4. 13. İsentres yüklü hidrojellerin zamana göre ilaç salım miktarları (pH: 7.4 ve 37°C) 73

BÖLÜM I

GİRİŞ

Viral enfeksiyonlar başta insan sağlığı olmak üzere ekonomik ve sosyal kayıplara yol açmakta ve küresel çapta büyük bir yük oluşturmaktadır. Şu anda küresel çapta bir mücadele yürütülen Covid-19 salgını 29 Ekim 2021 itibariyle dünya genelinde 245.373.039 teyit edilmiş vaka sayısına ulaşmış ve 4.979.421 kişinin ölümüne yol açmıştır (DSÖ, 2021a). Yine uzun yıllardır mücadele edilen insan bağışıklık yetmezliği virüsü (HIV) ve Hepatit B enfeksiyonları da büyük can kayıplarına yol açmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), 2019 yılında 296 milyon insanın kronik Hepatit B enfeksiyonu ile yaşadığını, Hepatit B'ye bağlı 820.000 ölüm gözlendiğini ve her yıl 1,5 milyon kişinin enfekte olduğunun tahmin edildiğini rapor etmektedir (DSÖ, 2021b). HIV/AIDS Ortak Birleşmiş Milletler Programı (UNAID, 2021), 2020 yılında dünya genelinde 37,7 milyon insanın HIV ile yaşadığını, 680 000 kişinin AIDS'e bağlı hastalıklardan öldüğünü ve 1,5 milyon kişinin HIV ile yeni enfekte olduğunu rapor etmiştir. DSÖ (2021c), 2030 yılına kadar orta ve düşük gelirli 67 ülkede halk sağlığını tehdit eden bir viral hepatiti ortadan kaldırmak için toplam 58,7 milyar ABD dolarına ihtiyaç olduğunu belirtirken, UNAIDS, 2025 yılında daha önce üst gelirli ülkeler olarak kabul edilen ülkeler de dahil olmak üzere düşük ve orta gelirli ülkelerde AIDS müdahalesi için 29 milyar ABD doları gerekli olacağını tahmin etmektedir (UNAIDS, 2021).

Hepatit B virüsü, karaciğere saldırarak hem akut hem de kronik hastalığa neden olan ve dolayısıyla insanları siroz ve karaciğer kanserinden yüksek ölüm riskine sokan bir viral enfeksiyondur (DSÖ, 2021b). HIV virüsü ise Edinsel Bağışıklık Yetmezliği Sendromu (AIDS)'na yol açan, bağışıklık sistemini hasara uğratarak, enfeksiyon ve

hastalıklarla mücadele gücünü zayıflatarak yaşamı tehdit eden bir enfeksiyondur. Her iki viral hastalık da büyük bir küresel sağlık sorunu yaratmaktadır. HIV virüsü vücuda girdiğinde bir daha vücuttan dışarı atılamadığından tedavinin ana hedeflerinden birisi vücuttaki HIV'in çoğalmasını engellemektir (Kurt, Dönbak & Kayrayıldız, 2015). Aynı şekilde Hepatit B tedavisine başlayan çoğu insan da tedaviyi ömür boyu devam ettirmek zorundadır. Bu nedenle bu viral hastalıklar uzun süreli bir tedavi gerektirdiği için ilaç tedavilerinin etkili ve güvenli olması bir gerekliliktir (Yu ve Heathcote, 2011).

DSÖ, Hepatit B virüsünü baskılamak için en güçlü ilaçlardan biri olarak Tenofovir kullanılmasını önerirken, HIV enfeksiyonu için birinci basamak tedavisinde uygulanan ilaç kombinasyonlarında da Tenofovir kullanılmasını önermektedir (DSÖ, 2021b). Tenofovir, Hepatit B virüsü için ters transkriptaz inhibitorü ve insan bağışıklık eksikliği virüsü 1 (HIV-1) için ise ters transkriptaz/RNAazH inhibitörü olarak işlev görmektedir (Drugbank, 2020). Tenofovir, Hepatit B virüs DNA'sına dahil olmak için nükleotid deoksiadenozin 5´trifosfat ile rekabet ederek Hepatit B virüs DNA polimerazın aktivitesini inhibe eder, DNA zinciri uzamasını sonlandırır, böylece DNA replikasyonunu inhibe eder (Yu ve Heathcote, 2011). Tenofovir disoproksil fumarat, HIV ve Hepatit B virüsüne karşı aktiviteye sahip güçlü bir nükleotid analoğu reverse transkriptaz inhibitörü olan Tenofovirin biyolojik olarak kullanılabilir bir ön ilacıdır (Gallant ve Deresinski, 2003; Masquelier vd., 2004). Tenofovir disoproksil fumarat (TDF) Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından HIV tedavisi için 26 Ekim 2001 tarihinde, kronik Hepatit B tedavisi için ise 11 Ağustos 2008 tarihinde onaylanmıştır (Kurt vd., 2015; Yu ve Heathcote, 2011). Tenofovir disoproksil fumaratın oral biyoyararlanımının %25 ile %40 arasında değiştiği bildirilmiştir (Yu ve Heathcote, 2011). Tenofovir disoproksil fumarat ve intravenöz Tenofovir, toksikoloji çalışmalarında yüksek dozlarda uygulandığında kemik ve böbrek toksisitesine neden olmuştur (FDA, 2001; Gallant ve Deresinski, 2003; Kurt vd., 2015; Yu ve Heathcote, 2011).

En yeni antiretroviral ilaçlardan biri olan Raltegravir (RAL) şu anda klinik kullanımdaki en yaygın olan integraz inhibitörlerinden biridir (Zhang vd., 2018). Raltegravir, bir HIV integraz sarmal transfer inhibitörü olarak, viral genetik materyali insan kromozomlarına entegre eden bir HIV enzimi olan integrazının işlevini bloke ederek virüsün DNA'sının konak genomuna girmesini ve enfeksiyonun yayılmasını

önler (Deeks, 2017). Raltegravir, insan immün yetmezlik virüsü (HIV) enfeksiyonunun tedavisi için 2007 yılında ABD Gıda ve İlaç Dairesi tarafından onaylanmıştır (Pennington vd., 2018). Şu an Isentress® adı altında ticari olarak (MK-0518, Isentress®; Merck & Co.) pazarlanan bir ilaçtır. Raltegravir hızla emilir ve biyoyararlanımı yaklaşık %32'dir (Boesecke ve Gelgor, 2009). Bu nedenle, yıllarca günde iki kez dozlama gerektirmiştir (Boesecke ve Gelgor, 2009; Isentress, 2009).

Antiviral ilaçların birçoğunun hasta tarafından alındıktan sonra vücuttaki biyoyararlanımı oldukça zayıftır (Selvaraj, Niraimathi & Nappinnai, 2016). Pandey vd., 2021) mevcut topikal antiviral ajanların sınırlı biyoyararlanım ve kontrollü ilaç salım profili eksikliği gibi dezavantajlara sahip olduğunu belirtmiştir. Aynı sebepten, suda zayıf çözünürlük, kısa yarı ömür, zayıf emilim ve düşük oral biyoyararlanıma sahip olan antiviral ilaç asiklovir de hem günde birkaç kez, hem de yüksek dozlarda uygulanmak durumundadır (Al-Tabakha vd., 2021). Antiviral ilaçların daha yüksek dozda verilmesi ise canlı hücrelerinde toksisiteye neden olmaktadır (Bryan-Marrugo vd., 2015). Bu nedenle antiviral ilaçların hem daha düşük ve uygun dozlarda verilmesine hem de vücuttaki bulunma süresinin arttırılmasına ihtiyaç vardır (Machín, Isasi & Vélaz, 2012). Kontrollü salımın, ilacın dozunun terapötik seviyede tutulmasını sağlayarak ilacın uygulama sıklığını, toksisitesini ve olası yan etkileri azaltacağını belirtmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, antiviral ilaçlardaki bu eksikliklerin hidrojeller gibi polimerik ilaç dağıtım sistemleri aracılığıyla çözülebileceğini göstermiştir (Malik vd., 2020).

Hidrojeller, büyük miktarlarda su ve fizyolojik sıvıları emebilen ve tutabilen, sulu çözeltilerde çözünmeden kalan üç boyutlu (3B) çapraz bağlı polimerik ağlardır (Del Valle, Díaz & Puiggalí, 2017; Kono ve Teshirogi, 2015). Hidrofilik polimerik ağ yapısına sahip hidrojeller, çok miktarda sulu çözeltiyi emerek şişerler ve bu durumdayken lastik gibi yumuşak olduklarından canlı dokularla mükemmel benzerlik gösterme eğilimindedirler (Malik vd., 2020). Yüksek su içerikli materyaller olan hidrojellerin, çok çeşitli terapötik ajanların lokal ve gecikmeli teslimatını sağlama kapasitesi daha önce çeşitli polimerik hidrojel yapıları için kanıtlanmıştır (Peers, Montembault & Ladavière, 2020). Polisakkarit bazlı hidrojeller, toksik olmamaları, biyolojik olarak bozunabilirlikleri ve biyouyumlulukları nedeniyle biyomedikal ve farmasötik uygulamalarda ilaç taşıyıcı olarak kullanılmaktadır (Kono ve Teshirogi,

2015; Moukbil vd., 2018). Bu çalışmada hazırlanan hidrojel doğal polisakkaritler olan kitosan ve beta siklodektrinin suda kolay çözünebilen bir türevi olan 2-hidroksipropil-b-siklodektrin (HP-β-CD) kullanılarak hazırlanmıştır.

Kitosan, kitinin kısmi deastilasyonu sonucu oluşan bir biyoaktif polimerdir. Kitosan, toksik olmama, düşük alerjenite, biyouyumluluk, biyobozunurluk, biyoaktivite ve muko yapışkanlık gibi özelliklerinden dolayı farmasötik endüstrisinde ilaçlar için polimerik bir taşıyıcı olarak ilgi gören bir polisakkarittir (Cheung, Ng, Wong & Chan, 2015; El-banna, Mahfouz, Leporatti, El-Kemary & AN Hanafy, 2019; Zhao vd., 2018; Malik vd., 2020). Kitosan, hidrofilik yapısı sayesinde çok yüksek su tutma kapasitesine sahiptir ve bu yönüyle ilaç dağıtımı için mükemmel bir polimerdir (El-banna vd., 2019). Hidrofobik ilaçlar için bir hidrofobik merkez oluşturan miseller oluşturur (Abdou, Nagy & Elsabee, 2008). Böylece, hidrofobik ilaçlar, iyileştirilmiş çözünürlük ve biyoyararlanım ile merkezde korunmuş olur (Cheung vd., 2015). Ayrıca, kitosan ilaçların biyolojik engelleri daha kolay geçmesini sağlar (Peers vd., 2020). Son zamanlarda yapılan çalışmalar antiviral ajanların terapötik etkinliğini arttırıp terapötik dozu azaltacak bir ilaç dağıtım sistemi geliştirmede kitosan nanopartiküllerin etkisine dikkat çekmektedir (Loutfy vd., 2020). Kitosan hidrojelleriyle ilgili çeşitli ilaçların dağıtımına ilişkin çok sayıda çalışma bulunmakla birlikte biyoyararlanımları düşük olan antiviral ilaçların hidrojel sistemiyle iletimine ilişkin az sayıda çalışma bulunmaktadır. Tian, Hua, Tian & Liu (2020) yeni nesil kitosan-hidrojel ilaç dağıtım sistemlerinin geliştirilmesine tartışmasız bir ihtiyaç olduğunu öne sürmektedir.

Siklodekstrinler (CD'ler), nişastanın enzimatik olarak dönüştürülmesiyle üretilen doğal halkasal α-(1,4) bağlı-glikopiranosilin oligomerleridir (Mizrahy ve Peer, 2012). Bunlar arasında α-, β- ve γ-CD'ler sırasıyla 6, 7 ve 8 glikoz ünitesinden oluşan doğal siklodektrinlerdir (Zhang ve Ma, 2013). Siklodektrinlerin dış kısımları hidrofiliktir ve hidrofobik moleküller için konakçı görevi görmelerini sağlayan hidrofobik bir iç boşluğa sahiptirler (Saokham, Muankaew, Jansook & Loftsson, 2018). Siklodektrinler, hidrofobik moleküller ile kompleks oluşturma yeteneklerinden dolayı farmasötik endüstrisinde ilaç taşıyıcıları olarak önem kazanan biyolojik moleküllerdir (Barragan vd., 2018). Siklodektrinler biyouyumludur, düşük toksisiteye sahiptir ve immün yanıt ortaya çıkarmazlar (Mizrahy ve Peer, 2012; Zhang ve Ma, 2013). Siklodektrinler, ilaç çözünürlüğü ve stabilitesinin arttırılması, ilaç emiliminin arttırılması, ilaç salım

profillerinin kontrol edilmesi yerel ve sistemik toksisitenin hafifletilmesi gibi nedenlerle farmasötik uygulamalarda tercih edilmektedir (Barragan vd., 2018).

Çalışmanın Amacı;

Bu tez çalışması, biyouyumlu ve biyobozunur polimerlerden oluşan kitosan/beta-siklodekstrin hidrojelinin sentezlenmesi, karakterizasyonunun yapılması ve bu hidrojel sisteminin model antiviral ilaçlar olarak seçilen Tenofovir ve Raltegravir salım davranışının incelenmesini amaçlamaktadır.

Böylece;

- Anviral ilaçların etkin ve güvenli bir dozda ve uzun süreli salımını sağlayacak ve biyoyararlanımlarını arttıracak nitelikte bir hidrojel sistemi tasarlanması,

-Tasarlanan ilaç salım sisteminin biyouyumlu, biyobozunur ve güvenli olması ve hücreler açısından toksisiteyi minimuma indirecek bir özellikte olması,

-Hidrojel sisteminde kullanılan kitosan ve β-siklodektrinin virüsler üzerinde ayrıca direkt etkisi olduğundan, tasarlanan jel sisteminin genetik açıdan sürekli değişim gösteren bu hücre içi parazitlerin kontrolünde ilaç direncinin önüne geçme potansiyeli olması,

-Sentezlenen kitosan/HP-β-CD hidrojelinin Tenofovir ve Raltegravir salım özelliklerinin ortaya konması ve,

-Diğer antiviral ilaçların bu sentezlenen hidrojel sisteminde salımına yönelik ön bilgi oluşturulması hedeflenmiştir.

BÖLÜM 2

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hidrojeller

Hidrojeller, yüksek oranda sıvı emme ve şişme yeteneğine sahip, mekanik olarak stabil, 3 boyutlu ağsı polimerik yapılar olarak tanımlanmaktadırlar (Rajabi, McConnell, Cabral & Ali, 2021). Hidrofobik çapraz bağlı yapıları nedeniyle çözülmeden büyük miktarda sıvı emebilen polimerik matrisler, filmler, mikropartiküller, nanopartiküller veya kaplamalar halinde düzenlenebilirler ve çeşitli ilaç verme yöntemleri sağlarlar (Hamedi, Moradi, Hudson & Tonelli, 2018; Moukbil vd, 2018). Hidrojeller, ayarlanabilir fiziksel özellikleri, istenen şişme dinamiklerine sahip olmaları, mekanik mukavemet, kontrol edilebilir bozunmaları, enzimatik dirençleri ve kararsız ilaçları koruma yeteneklerinden dolayı ilaç dağıtım sistemlerinin tasarlanmasında önem kazanmışlardır (Al-Tabakha vd., 2021; Vigata, Malik vd., 2020; Meinert, Hutmacher & Bock, 2020). Bunların yanısıra, hidrofilik yapıları, esneklikleri, biyouyumlu ve biyobozunur oluşları, toksik olmamaları nedeniyle de ilaç taşıyıcı olarak tercih edilmektedirler (Malik vd., 2020; Rajabi vd., 2021).

Hidrojeller, kitosan, sodyum aljinat, hyaluronik asit, selüloz, karagenan, karboksimetil selüloz, kollajen, nişasta, ulvan, jelatin, pullulan, poliakrilik asit, polimetakrilat, poliakrilamid, polietilen glikol ve polivinil alkol, polietilen oksit, polivinil pirolidon, polilaktik asit gibi doğal ve sentetik malzemeler kullanılarak hazırlanabilmektedir (El-banna vd., 2019; Gulrez, Al-Assaf & Phillips, 2011; Hamedi vd., 2018; Moukbil vd., 2018). Doğal polisakkaritlerden hazırlanan hidrojeller biyouyumlu ve biyobozunur olduklarından özellikle doku mühendisliği, ilaç ve

biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak tercih edilmektedirler (Gulrez vd., 2011; Tian vd., 2020). Hidrojel sistemlerinin biyomedikal uygulamaları, diş malzemeleri, implantlar, enjekte edilebilir polimerik sistemler, oftalmik uygulamalar, doku mühendisliğinde kemik, kıkırdak ve yumuşak doku yenilenmesi, farmasötik alanda ilaç salım sistemi olarak kanser terapisinde kemoterapötik ajan iletimi, oküler ilaç dağıtımı, hücre proliferasyonu ve farklılaşması, rejeneratif ilaçlar, antimikrobiyal ajan, yara örtüsü, biyosensörler ve kozmetik uygulamaları içermektedir (Gulrez vd., 2011; Hamedi vd., 2018; Iglesias vd., 2020; Moukbil vd., 2018; Zhang vd. 2018). Ayrıca, biyolojik olarak aktif ajanların eklenmesi yoluyla hidrojellere antimikrobiyal, antitümör ve analjezik fonksiyonlar kazandırılabileceği belirtilmektedir (Moukbil vd., 2018).

Bir hidrojelin en önemli karakteristik özellikleri su tutma kapasitesi ve geçirgenliğidir (Gulrez vd., 2011). Hidrojeller, iskeletlerinde barındırdıkları hidrofilik gruplar nedeniyle, üç boyutlu yapılarını kaybetmeden çok büyük miktarlarda suyu veya fizyolojik sıvıyı emebilme ve şişme yetenekleriyle bilinirler (El-banna vd., 2019, Kaczmarek-Szczepańska, Sosik, Małkowska, Zasada & Michalska-Sionkowska, 2021; Malik vd., 2020; Malik vd., 2021). Ou ve Bo, (2017), hidrojellerin kendi hacimlerinin %10'u ile binlerce katı arasında değişen oranlarda su emebileceğini belirtirken, Malik vd. (2021) de hidrojellerin, kendi kuru ağırlıklarının binlerce katına kadar şişebileceğini ifade etmektedir. Hamedi vd. (2018) hidrofobik zincirlere sahip hidrojellerin, hidrofilik kafeslere göre daha düşük su şişme kapasitesine sahip olduğunu rapor etmektedir. Hidrojeller üç boyutlu ağsı yapıları sayesinde şişme sürecini dengeleyerek çözünmeden kalabilirler (Kaczmarek-Szczepa´nska vd. 2021). Hidrojeller su emerek genleşme yeteneklerini, sahip oldukları ya da molekül yapısına çeşitli modifikasyonlarla dahil edilen hidroksil (-OH), amin ($-NH_2$), amid ($-CONH-CONH_2$), sülfonik asit ($-SO_3H$) gibi hidrofilik fonksiyonel gruplara borçludurlar (Hamedi vd. 2018; Kaczmarek-Szczepa´nska vd., 2021; Uddin ve Ju, 2020). Hidrojellerin su absorplama kapasitesinin hidrojeli oluşturan polimerlerin doğasına, yoğunluğuna ve çapraz bağlanma derecesine bağlı olduğunu belirtmektedir (Kaczmarek-Szczepa´nska vd., 2021).

Hidrojellerin mekanik özellikleri, şişme davranışları, polariteleri, yüzey özellikleri kontrol edilerek hidrojellerin fizikokimyasal özellikleri ayarlanabilir veya polimerler graft polimerizasyon reaksiyonu ile -NH2 ve -OH gibi çeşitli fonksiyonel grupları üzerinden modifiye edilerek istenen özellikler kazandırılabilir (Gulrez vd.,

2011; Malik vd., 2020). Uygun bir çapraz bağlama ajanıyla, hidrojelin fiziksel gücü, şişme, esneklik ve parçalanabilirlik özellikleri ihtiyaç doğrultusunda ayarlanabilir (Iglesias vd., 2020; Ou ve Bo, 2017).

2.1.1. Hidrojel Türleri

PLGA-bazlı hidrojeller: Bu hidrojeller, endojen ve kolayca metabolize olan monomerlerden polilaktik asit veya polilaktid-ko-glikolit ile oluşturulabilen sınırlı su emme yeteneğine sahip hidrofobik polimerik ağlardır (Alexander, Ajazuddin, Khan, Saraf & Saraf, 2013).

Fotopolimerize hidrojeller: Fotopolimerizasyon, çapraz bağlı yapı polimerizasyonu sağlamak için farklı ışık spektrumlarını kullanan bir yöntem olup, spesifik biyomedikal uygulamalar için biyomateryal bazlı polimer ağlarının üretimi için önerilmektedir (Akdemir, 2009).

Nanotıp bazlı hidrojeller: Uzun vadeli stabiliteleri ve çok sayıda farklı ilacı kapsülleme yeteneği olan lipid nanokapsüller (LNC), bir yüzey aktif madde kabuğu ile çevrelenmiş yağlı bir trigliserit çekirdeğinden oluşan nano taşıyıcılardır (Moukbil vd., 2018).

Teranostik jelleşme hidrojelleri: Teranostik hidrojeller, ilaç birikiminin hedeflenmesi, ilaç salınımı üzerinde daha yüksek bir kontrol sağlanması ve hedeflenen ilaç salınımı yoluyla ilaçların etkinliğini ve terapötik etkilerini artırma gibi ihtiyaçları karşılamak için geliştirilmiş ve klinik ve biyomedikal uygulamalara uygun hidrojellerdir (Lee, Kang, Jeong, Han & Kim, 2020).

Termo-tersinir jelleşme polimerleri: Termo-tersinir jelasyon polimerleri, ısıya duyarlı bir polimer ve poli-Nisopropilakril amid ile birleştirilmiş polietilen glikolden oluşan, vücut sıcaklığında su ile tersinir hidrojen bağı yapabilen hidrojel sistemleridir (Akdemir, 2009).

Poli(akrilamid) ve poli(akrilik asit) hidrojelleri: Poliakrilamid ve poliakrilik asitten hazırlanan hidrojeller, hidrofobik birleşme yoluyla oluşan fiziksel, çapraz bağlı ağlardır ve birbirleriyle temas ettiklerinde yüksek bir yapışma kabiliyeti sergilerler (Li, vd., 2020).

2.1.2. Hidrojel Üretme Yöntemleri

Farmasötik ve biyomedikal uygulamalar için viskoelastisitesi ve mekanik özellikleri geliştirilmiş hidrojellerin hazırlanması için yaygın olarak kullanılan teknikler, kimyasal çapraz bağlama, fiziksel çapraz bağlama, radyasyon çapraz bağlama ve aşılama polimerizasyonudur (Alven ve Aderibigbe, 2020). Kimyasal çapraz bağlı polimerik ağlar kalıcı bağlantılara sahipken, fiziksel çapraz bağlı polimerik ağlar ise polimer zincir dolanmaları, iyonik etkileşimler, hidrojen bağları ve hidrofobik etkileşimler gibi fiziksel etkileşimler nedeniyle geçici bağlantılara sahiptir (Iglesias vd., 2020).

2.1.2.1. Fiziksel Çapraz Bağlama:

Fiziksel çapraz bağlamada çapraz bağlama maddelerine ihtiyaç duyulmaz. Bu tip hidrojellerin üretimi kolaydır. Özellikle gıda endüstrisi açısından ilgi çekici olan fiziksel hidrojeller, hidrojeli oluşturan hidrokolloid tipinin, konsantrasyonun ve pH'ın dikkatli seçimine bağlı olarak çeşitli jel dokuları oluşturabilir (Gulrez vd., 2011). Fiziksel veya geri dönüşümlü jeller iyonik, hidrojen bağı veya hidrofobik etkileşimler ile bir arada tutulmaktadır (Hamedi vd., 2018). Tersinir fiziksel çapraz bağlama oluşturabilmek için, moleküller arası etkileşimler (moleküler polimer zincirleri arasındaki etkileşim ve zincirleri arasındaki hidrofobik, elektrostatik, ve hidrojen bağları) moleküler ağda bir çapraz bağlama noktası oluşturmaya yetecek kadar güçlü olmalıdır (Uddin ve Ju, 2020). Fiziksel çapraz bağlama tekniği, formülasyonun kolaylığı ve çapraz bağlayıcılara ihtiyaç duyulmaması nedeniyle şu anda büyük ilgi görmektedir (Alven ve Aderibigbe, 2020).

Fiziksel olarak çapraz bağlı hidrojeller elde etmek için polimer çözeltisini ısıtma/soğutma tekniği, iyonik etkileşim, kompleks koaservasyon oluşumu, H-bağlama, ısı kaynaklı kümelenme tekniğiyle olgunlaşma ve donma-çözme tekniği gibi yöntemler kullanılmaktadır (Alven ve Aderibigbe, 2020; Gulrez vd., 2011).

Bir polimer çözeltisini ısıtma/soğutma: Hidrojel, sıcak jelatin veya karagenan gibi çözeltilerin soğutulması esnasında oluşan sarmalların birleşmesiyle ve birleşme bölgelerinin oluşmasıyla meydana gelmektedir (Gulrez vd., 2011).

İyonik etkileşim: Bir polielektrolit çözeltisinin çok değerlikli zıt yüklü iyonlarla jelleştirilmesi ilkesine dayanır (Akhtar, Hanif & Ranjha, 2016).

Kompleks koaservasyon: Kompleks koaservat jeller, ksantan gibi bir polianyonun kitosan gibi bir polikatyonla karıştırılması sonucu, zıt yüklere sahip polimerlerin birbirine yapışması ve çözeltilerin konsantrasyonuna ve pH'ına bağlı olarak çözünür ve çözünmez kompleksler oluşturması ilkesine dayanır (Hamad, Chen & Colby, 2018).

H-bağlama: Karboksimetil selüloz gibi karboksil grupları taşıyan polimerlerin sulu çözeltisinin pH'ının düşürülmesiyle karboksimetil selüllozdaki sodyumun sudaki H ile yer değiştirmesi esasına dayanarak H-bağlı hidrojellerin elde edildiği bir tekniktir (Akhtar vd., 2016).

Olgunlaşma (ısı kaynaklı kümelenme): Arap zamkı gibi yapısında karbonhidrat ve bir miktar (%2-3) protein içeren polimerlerde ısıl işlemle indüklenen proteinli bileşenlerin agregasyonu ile moleküler ağırlığın artmasıyla meydana gelen moleküler değişiklikler sonucu hidrojel üretilmektedir (Sandeep, Harikumar & Kanupriya, 2012).

Donma-çözme: Bu teknik donma-çözülme döngüleri kullanılarak polimerlerin hidrojelleşmesi esasına dayanan fiziksel çapraz bağlama yöntemlerinden biridir (Sandeep vd., 2012).

2.1.2.2 Kimyasal Çapraz Bağlama:

Polimerlerin üzerindeki fonksiyonel grupların, çapraz bağlayıcılar ile reaksiyonu sonucu polimer omurgası üzerindeki monomerlerin aşılandığı veya iki polimer zincirininin bağlandığı bir tekniktir. (Gulrez vd., 2011). Sentetik ve doğal polimerlerin karboksil, amin ve alkol grupları gibi fonksiyonel grupları üzerinden aldehitler (glutaraldehit) gibi çapraz bağlayıcılar yardımıyla reaksiyona sokularak çapraz bağlanması esasına dayanır (Alven ve Aderibigbe, 2020). Kimyasal çapraz bağlamada polimer zincirleri kovalent bağlarla bağlanır (Ou ve Bo, 2017). Kimyasal çapraz bağlar tipik olarak kalıcı ve geri döndürülemez bağlardır (Uddin ve Ju, 2020).

2.1.2.3 Aşılama (Grafting):

Polimere çeşitli fonksiyonel özellikleri kazandırmak için uygulanan aşılama tekniği monomerlerin polimer omurgasına kovalent bağ ile yan zincirler olarak

polimerize edildiği bir yöntemdir (Alven ve Aderibigbe, 2020). Kimyasal reaktiflerin veya yüksek enerjili radyasyon etkisiyle, aktifleştirilmiş makroradikaller üzerinde monomerler büyüyerek dallanırken aynı zamanda çapraz bağlanma gerçekleşir (Gulrez vd., 2011). Aşı polimerleri ana zincirden yapısal olarak farklı olan en az iki farklı monomer ünitesi içermektedir (Alven ve Aderibigbe, 2020).

Kimyasal aşılama (grafting): Polimerin makromoleküler omurgası bir kimyasal reaktif vasıtasıyla aktive edilerek hazırlanan ve pH'a bağlı mükemmel bir şişme davranışı gösteren jellerin sentezlendiği tekniktir (Choudhary, Sharma, Sharma & Kumar, 2020).

Radyasyon aşılama (grafting): Jelleşmenin, gama ve elektron ışını gibi yüksek enerjili radyasyon kullanımıyla başlatıldığı bir teknik olup geçici yara örtüleri ve pansumanlarda kullanılan hidrojellerin sentezi için uygundur (Choudhary vd., 2020).

2.1.2.4 Radyasyon Çapraz Bağlama:

Radyasyon çapraz bağlama, kimyasal çapraz bağlayıcılar kullanılmayan, biyopolimerin biyouyumluluğunu koruyan ve modifikasyon ve sterilizasyonun tek adımda gerçekleştirilebildiği bir hidrojel sentez tekniğidir (Gulrez vd. 2011). Radyasyon çapraz bağlama tekniği öncelikle polimer ortamında serbest radikallerin üretilmesine ve sonrasında polimerlerin gama ışını, x-ışını veya elektron ışını gibi yüksek enerji kaynaklarına maruz bırakılması esasına dayanır (Alven ve Aderibigbe, 2020). Polimerleşme polimer çözeltisinin özelliklerine bağlıdır. Bu teknik, doğal polimerlerin modifikasyonu için ekonomiktir ve ayrıca bu teknikle üretilen hidrojeller biyomedikal uygulamalar için elverişlidir (Alven ve Aderibigbe, 2020; Gulrez vd., 2011).

2.1.3. Hidrojellerin İlaç Salımında Kullanılması Açısından Avantajlı Özellikleri

Hidrojeller, ilaç dağıtım sistemleri olarak kullanılmaları için çok sayıda avantajlı özelliğe sahiptir. Bunlardan en önemli olanlarını şu şekilde sıralayabiliriz. Hidrojeller, ilaç salım hızının kontrol edilebilir olması ve ilacın dozajının ayarlanabilmesi açısından önemli bir avantaj sunmaktadır (Kono ve Teshirogi, 2015). Tamamen şiştiklerinde yumuşak ve elastik özelliktedirler ve bu açıdan canlı dokularla mükemmel bir fiziksel benzerlik göstermektedirler (El-banna vd., 2019; Malik vd., 2020). İmplante edildikleri dokunun şeklini alabilirler ve biyolojik sıvılar ve su ile arayüzey geriliminin azalmasını sağladıklarından çevre dokuların tahrişini azaltırlar (El-banna vd., 2019). Özellikle doğal polisakkaritlerden üretilen hidrojellerin toksik olmayan, biyouyumlu ve

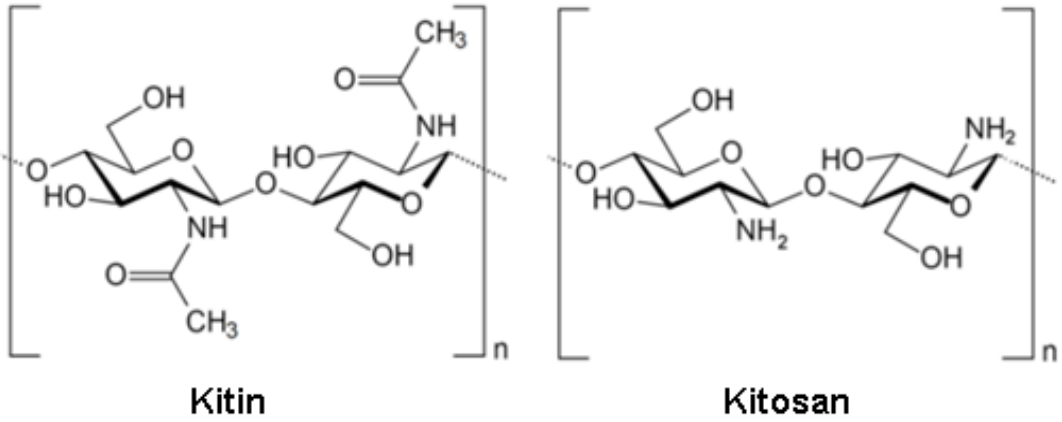
biyobozunur özellikleri polisakkarit bazlı hidrojellerin ilaç salımında tercih edilmesini sağlamaktadır (Kono ve Teshirogi, 2015; Zhang, Wang & Jin, 2018). Kararsız bağlar içerdiklerinden, fizyolojik koşullar altında enzimatik veya kimyasal olarak çoğunlukla hidroliz yoluyla bağlar kırılabilir ve hidrojel biyolojik olarak parçalanabilir ve böylece zararsız ürünlere metabolize olarak renal filtrasyon işlemi ile atılabilirler (Gulrez vd., 2011). Bunların yanısıra, hidrojellerin fiziksel özelliklerinin çeşitli grafting yöntemleriyle ayarlanabilir olması ve bu tekniklerle kararsız ilaçları koruma yeteneklerinin geliştirilebilir olması açısından da ilaç dağıtım sistemleri olarak tercih edilmektedirler (Al-Tabakha vd., 2021; Malik vd., 2020; Vigata vd., 2020).

2.2. Kitosan

Kitosan, azotlu organik bir polimer olan kitinin deasetilasyonu sonucu elde edilen bir polisakkarittir (Kono ve Teshirogi, 2015). Kitin, β-(1-4) bağlı N-asetil-D-glukozamin ünitelerinin lineer birleşiminden meydana gelen yapısal bir polisakkarittir. Doğada, yengeç, karides, ıstakoz, gibi krustase organizmalar ve böcek, örümcek ve çok ayaklılar gibi eklem bacaklıların yapısal dış iskeletini, kalamarlar, mürekkep balığı gibi kafadan bacaklıların iç iskeletini ve algler ve mantarların hücre duvarı bileşenini oluşturan sert yapıda bir polimerdir (Erdogan ve Kaya, 2016; Ou ve Bo, 2017; Peers vd., 2020; Zelencova, Erdoğan, Baran & Kaya, 2015). Kitin polimeri kabukluların iskeletinde çapraz bağlı proteinler, lipidler ve kalsiyum karbonat gibi mineraller ile birlikte sağlam bir koruyucu yapıyı teşkil etmektedir (Peers vd., 2020).

Kitosan ise kitinin baz çözeltisi ile deasetilasyonu sonucu elde edilen katyonik yapıda bir biyopolimerdir (Younes ve Rinaudo, 2015). Kitosan, polimer omurgasında rastgele dağılan ve deastilasyona uğramış olan D-glukozamin üniteleri ile N-asetil-D-glukozamin ünitelerinin β (1⟶4) glikosidik bağ ile bağlı olduğu lineer bir yapı sergiler (Şekil 2.1) (Malik vd., 2020; Ou ve Bo, 2017; Peers vd., 2020). Kitosan bir kitin türevi olmakla birlikte, mantarlar tarafından doğal olarak sentezlenebilmektedir (Rajabi vd., 2021). Bununla birlikte ticari kullanım amacıyla üretilen kitosan kitinin deasetilasyonu yoluyla üretilmektedir. Kitosan eldesinde kimyasal ve enzimatik üretim metodları kullanılabilir. Kimyasal metodda genellikle kitin NaOH bazı ile yüksek sıcaklıkta muamele edilerek kimyasal hidroliz yoluyla kitosan elde edilirken, enzimatik metotta

kitin deasetilaz enzimi vasıtasıyla enzimatik hidroliz yoluyla kitosan elde edilmektedir (Rajabi vd., 2021; Younes ve Rinaudo, 2015).



Şekil 2. 1. Kitin ve kitosanın kimyasal yapısı (Younes ve Rinaudo, 2015).

Kitosan, yapısında C-2, C-3 ve C-6 konumlarında çok sayıda amino (-NH_2) ve birincil ve ikincil hidroksil (-OH) grupları barındırmaktadır (Rajabi vd., 2021; Tian vd., 2020; Zhang vd. 2018). Yapısındaki amin grupları sayesinde katyonik yapıya sahip oldukça özel bir polisakkarittir. Katyonik yapı kitosana negatif yüklü olan diğer doğal veya sentetik polimerler ile elektrostatik etkileşime girme özelliği kazandırmaktadır (Cheung vd., 2015). Kitosanın bu reaktif grupları ve katyonik yapısı onun hem reaktivitesini hem de biyolojik aktivitesini arttırmaktadır (Zhang vd., 2018). Kitosan üzerindeki aktif birincil amino grupları çeşitli yan grupların bağlanması için uygun alanlar sağlayarak kitosanı fiziksel ve kimyasal olarak modifiye edilebilir bir biyomalzeme haline getirmektedir (Zhang vd., 2018; Pakdel ve Peighambardoust, 2018).

Kitosan sulu çözeltilerde, alkali ve nötr pH'ta çözünmemekle birlikte, zayıf asitlerde kolay çözünebilen bir polisakkarittir (Peers vd. 2020; Rajabi vd., 2021; Tian vd., 2020). Asetik asit, formik asit, laktik asit ve hidroklorik asit gibi seyreltik asit çözeltilerinde kitosanın yapısındaki amino gruplarının kolayca amonyum gruplarına (NH_3+) dönüştüğü ve böylece kitosanın çözünür hale geldiği belirtilmektedir (Rajabi

vd., 2021; Tian vd., 2020). Diğer çalışmalarda ise kitosanın çözünürlüğünün polimerin protonlanmış amino gruplarının sayısı, moleküler ağırlığı, deasetilasyon derecesi (DD), pH, sıcaklık ve polimer kristalliği gibi faktörlere bağlı olduğu rapor edilmiştir (Aranaz vd., 2021, Rajabi vd., 2021). Glukozamin birim sayısının Glukozamin+N-asetilglukozamin birim sayısına oranı olarak hesaplanan deasetilasyon derecesi ve moleküler ağırlık kitosanın biyolojik aktivitesini önemli ölçüde etkileyen özelliklerdir (Cheung vd., 2015; Rajabi vd., 2021).

Cheung vd. (2015), kitosanın gözenekli yapısı, yüksek yüzey alanı,iletkenlik özelliği ve çekme mukavemeti gibi üstün fiziksel özelliklerini rapor etmiştir. Bunların yanısıra, kitosan doğada bol miktarda bulunur ve üretim maliyeti düşüktür (Rajabi vd., 2021). Kitosan, sünger, film, membran, fiber, boncuk, toz, jel, yapı iskelesi, makro ve nanopartiküller ve çözeltiler gibi farklı şekil ve formlarda üretilip kullanılabilmektedir (Cheung vd., 2015; Kono ve Teshirogi, 2015, Peers vd., 2020). Bu nedenle gıda, tarım, su artımı, kozmetik, ilaç endüstrisi ve biyomedikal alanlarda geniş bir uygulama yelpazesine sahiptir (Rajabi vd., 2021).

Kitosan ve türevleri biyouyumluluk, biyobozunurluk, anti-inflamatuar aktivite, toksik olmama ve düşük alerjenite, mukoadezivite, antimikrobiyal, antioksidan, antitümör ve anti-HIV-1 aktivite gibi çeşitli biyoaktiviteleri, nedeniyle çok yönlü biyomalzemeler olarak kabul görmekte ve çeşitli biyomedikal uygulamalarda kullanılmaktadır (Cheung vd., 2015; Kono ve Teshirogi, 2015; Iglesias vd., 2020; Peers vd., 2020; Rajabi vd., 2021; Tian vd., 2020).

Kitosan, yara iyileştirici materyaller, ilaç katkı maddeleri yada ilaç taşıyıcıları olarak, doku mühendisliğinde yapı iskelesi, kontrollü salım için dozaj ayarlayıcı, jel absorpsiyon arttırıcı, yara iyileştirici ürünlerde ilaç çözünmesi, anti-HIV ilaç yüklü nanopartiküllerin geliştirilmesi, obezite tedavisinde, antitümör ve antioksidan ajan olarak farmasötik uygulamalarda başarılı olmuş doğal bir polimerdir **(**Cheung vd., 2015; El-banna vd., 2019). Bunların yanısıra kitosan, hücre dışı matrikse benzerliği nedeniyle doku oluşumu sırasında hücrelerin büyümesi, organizasyonu ve göçü için uygundur bir biyomalzemedir (Peers vd., 2020). İlaç dağıtımı ve gen aktarımı için bir taşıyıcı matris olarak doku mühendisliği, yara pansuman, kanser ilacı dağıtımı ve nanobiyoteknoloji alanında kullanılabilmektedir (Kono ve Teshirogi, 2015). Son zamanlarda, hidrojel veya

macun formundaki kitosan bazlı mürekkepler ve 3D baskı teknolojileri kullanılarak kemik, kıkırdak, sinir, kan damarlarının yenilenmesine ilişkin doku mühendisliği uygulamaları yapılmaya başlanmıştır (Rajabi vd., 2021).

2.2.1. Kitosanın İlaç Salımındaki Rolü

Kitosan, biyouyumluluğu, biyolojik olarak parçalanabilirliği ve toksik olmayan doğası nedeniyle ilaç dağıtım sistemlerinin geliştirilmesinde polimerik bir taşıyıcı olarak oldukça ilgi görmektedir (Malik vd., 2020). Kitosan bu güne kadar ilaç endüstrisinde, tablet, misel, aşı, film, sünger, yapı iskelesi, nanopartikül, mikroküre, hidrojel, aerojel, fiber, konjugat, mikroiğne, kaplı lipozom ve nanokompozit gibi çok değişik formlarda ilaç salım sistemi olarak uygulanmıştır (Aranaz vd., 2021; Cheung vd., 2015; El-banna vd., 2019).

Kitosan, lipidler, proteinler ve deoksiribonükleik asit gibi negatif yüklü biyomoleküller ve çeşitli hücre reseptörleri ile etkileşime girebilir **(**Rajabi vd., 2021). Kitosan katyonik yapısından dolayı, negatif yüklü biyomoleküllerle polielektrolit kompleksleri oluşturarak hücre zarları ile etkileşime girmektedir (El-banna vd., 2019). Böylece, ilaçların biyolojik engelleri daha kolay geçerek hedef dokuya taşınmasını sağlar (Peers vd., 2020). Kitosanın, nötr pH'daki düşük yük yoğunluğu biyomoleküllerin hücre içi salımını kolaylaştırır (El-banna vd., 2019). Kitosan, insan vücudunda bulunan β-(1-4) bağlarını hidrolize edebilen bir glikozidik hidrolaz enzimi olan lizozim vb. enzimler tarafından biyolojik olarak parçalanabilmekte ve vücuttan atılabilmektedir (Rajabi vd., 2021). Kitosan, dokularda herhangi bir inflamatuar reaksiyona neden olmadan ve toksik bir ürün üretmeden parçalanabilmektedir (Cheung vd., 2015). Elverişli boşluk yapıları sayesinde kitosan hidrojellerine birden fazla ilaç yüklenebilmekte ve hem in vivo hem de in vitro olarak ilaç dağıtımı yapılabilmektedir (Tian vd., 2020). Kitosan, ilaç emilimini artırır ve ilaç bileşenlerini stabilize edererek ilaç hedeflemesine imkan verir (Cheung vd., 2015).

2.2.2. Kitosan Hidrojelleri

Kitosan, biyouyumluluk, biyolojik bozunabilirlik, antimikrobiyal aktivite, muko-yapışkanlık, düşük toksisite gibi özelliklere sahip bir ilaç taşıyıcı polimer olduğundan hidrojel üretmede başvurulan mükemmel biyomalzemelerden biridir (Peers vd., 2020;

Tian vd., 2020). Kitosan bazlı hidrojeller, vücutta doğal enzimatik yollarla bozunabilmeleri, ısı ve pH duyarlılığına sahip olabilmeleri mukoz dokulara yapışma özellikleri, alerjik etki göstermemeleri ve biyouyumlu olmaları gibi özelliklerinden dolayı ilaç dağıtımı, doku mühendisliği, yara pansuman ve biyosensörler gibi biyomedikal uygulamalarda tercih edilmektedirler (Pakdel ve Peighambardoust, 2018). Ayrıca, kitosan toksik olmama, biyoyararlanım ve sterilize edilebilme gibi bir hidrojelde olması gereken harika özelliklere sahiptir (El-banna vd., 2019).

Kitosan hidrojelleri, insan vücudunda toksik yan etkilere yol açmadan küçük moleküllere metabolize edilmektedir (Tian vd., 2020). Kitosan hidrojelleri, küçük moleküllerden proteinler gibi kompleks yapılara kadar çok çeşitli ilaç moleküllerini taşıyabilme kapasitesine sahiptir (Tian vd., 2020). Kitosan hidrojeller implant edildikleri dokularda kolay şekil alabilir ve hacimde kolayca kalıplanabilirler (Cheung vd., 2015). Ayrıca kitosan hidrojeller, salımını gerçekleştirdikleri ilaçların yanı sıra kendi yapılarından kaynaklanan antitümör, antimikrobiyal, antioksidant ve diğer biyolojik özelliklerinden dolayı terapötik etki gösterebilirler. Kitosan hidrojellerinin şişme ve biyolojik bozunma özellikleri bu hidrojelleri ideal ilaç salım sistemleri haline getirmektedir (Tian vd., 2020).

2.2.3. Kitosan Hidrojelleri Hazırlama Yöntemleri

Kitosan hidrojelleri hem fiziksel hem de kimyasal çapraz bağlama yöntemleri kullanılarak sentezlenebilir (Rajabi vd., 2021). Bu yöntemler, iyonotropik jelleşme, emülsiyon çapraz bağlama, emülsiyon-çözücü ekstraksiyonu, emülsifikasyon çözücü difüzyonu, emülsiyon-damlacık kaynaşması, kompleks koaservasyon, ters mikroemülsiyon, kovalent çapraz bağlama, iyonik çapraz bağlama, kovalent modifikasyon, kendi kendine montaj, elektro eğirme işlemi, elektrostatik adsorpsiyon, çözücü buharlaştırılmış yöntem, sonikasyon uygulaması ve fiziksel adsorpsiyon tekniği gibi birçok alt yöntemi içermektedir (Cheung vd., 2015; El-banna vd., 201; Rajabi vd., 2021). Farklı çapraz bağlama teknolojileri, farklı uygulama gereksinimlerine göre tasarlanmış özel boyutlar, mekanik mukavemet ve gözeneklilik ile özelleştirilmiş çeşitli kitosan hidrojel türlerinin geliştirilmesini kolaylaştırmıştır (Tian vd., 2020).

2.2.3.1. Kimyasal Çapraz Bağlama Yoluyla Kitosan Hidrojel Üretimi

Kitosanın aktif fonksiyonel grupları olan amino (-NH_2) ve hidroksil (-OH) gruplarının çeşitli çapraz bağlayıcılar ile reaksiyonu sonucu hidrojel oluşmaktadır (Hamedi vd., 2018; Tian vd., 2020). Polisakkaritler, moleküller arası kombinasyonlar oluşturan kimyasal kovalent bağlar oluşturarak çapraz bağlayıcı ile reaksiyona girer ve bu sayede sentezlenen jeldeki moleküller daha kararlı hale gelir (El-banna vd., 2019). Çapraz bağlayıcılar, polimer zincirleri arasında bağ oluşumunu sağlayan en az iki reaktif fonksiyonel gruba sahip moleküllerdir (Hamedi vd., 2018). Kitosan hidrojellerin sentezinde tetrakis-(hidroksimetil)-fosfonyum-klorür (THPC), formaldehit, glutaraldehit, sinnamaldehit, etilen, epiklorohidrin, epoksi bileşikleri, esterler, glikol di-glisidil eter (EGDE), oksalik asit, genipin gibi çapraz bağlayıcıların kullanıldığı rapor edilmektedir (El-banna vd., 2019; Hamedi vd., 2018; Kono ve Teshirogi, 2015; Peers vd., 2020; Tian vd., 2020; Zhang vd., 2018).

Tetrakis-(hidroksimetil)-fosfonyum-klorür (THPC) hidrojelin rengini değiştirmesi, hidrojeli kırılgan hale getirmesi ve jeldeki oranı %36'ya ulaştığında hidrojelin ilaç salımında bozukluklara yol açması bakımından bazı dez avantajlara sahiptir (Tian vd., 2020). Aldehit grupları, kitosanın amino grupları ile kovalent imin bağları oluşturur (Hamedi vd., 2018). Di-aldehitler, sulu ortamda, yumuşak koşullar altında ve yardımcı moleküllere gereksinim olmadan doğrudan reaksiyona izin verir (Hamedi vd., 2018). Glutaraldehitin aldehit grubu, bir Schiff bazı oluşturmak için kitosanın amino grubu ile reaksiyona girer ve homojen gözeneklere sahip bir kitosan hidrojel oluşturur (Tian vd., 2020). Kitosanın çapraz bağlanması için sıklıkla kullanılan Genipin, amino grupları içeren polimerler için etkili bir çapraz bağlayıcı olarak çalışır (Hamedi vd., 2018).

Kimyasal olarak çapraz bağlı hidrojeller, bağ oluşumunun geri döndürülemez olduğu kitosan makromerlerinin kovalent bağlanmasıyla oluşturulur (Hamedi vd., 2018). Moleküller arasındaki kovalent bağlarla bir arada tutulan kimyasal çapraz bağlı hidrojellerin özellikleri çapraz bağlayıcının konsantrasyonundan ve çapraz bağlama işlemi süresinden etkilenir (El-banna vd., 2019). Ancak burada dikkat edilecek husus, özellikle de hidrojel biyomedikal uygulamalarda kullanılacaksa kimyasal çapraz bağlama ajanının toksik olmamasıdır (El-banna vd., 2019; Hamedi vd., 2018).

Kimyasal çapraz bağlama yöntemiyle üretilen hidrojellerin fiziksel çapraz bağlı olanlara kıyasla ana avantajı genellikle tek tip özelliğe sahip olmalarıdır (El-banna vd., 2019). Kovalent olarak çapraz bağlı hidrojeller, iyi mekanik özellikler sergiler ve aşırı pH koşullarında bile çözünmenin üstesinden gelebilir (Rajabi vd., 2021). Kimyasal çapraz bağlı hidrojeller su molekülleri tarafından yok edilemezler (Tian vd., 2020). Fakat kimyasal çapraz bağlama yöntemleri genellikle toksik reaktifler, yüksek sıcaklık, güçlü asit/baz ortamı gibi sert reaksiyon koşulları gerektirdiğinden kitosan bazlı hidrojellerin gıda, biyoloji ve eczacılık uygulamalarında büyük sınırlamalara neden olur (Zhang vd. 2018). Bu yüzden, son zamanlarda kitosan bazlı hidrojellerin sentezinde çapraz bağlama yoğunluğunun kontrolü ve toksik olmayan çapraz bağlayıcıların kullanımının geliştirilmesi gibi alternatif yaklaşımlar denenmektedir.

2.2.3.2. Fiziksel Çapraz Bağlama Yoluyla Kitosan Hidrojel Üretimi

Fiziksel çapraz bağlama yöntemleri ile oluşturulan hidrojeller, anyon-katyon etkileşimleri, hidrojen bağı veya hidrofobik bağ ile elde edilebilirler (Tian vd., 2020). Fiziksel çapraz bağlama, tersine çevrilebilir özellikte olup, hassas salım uyarımlarını kontrol etmeye imkan veren pH'a duyarlı hidrojeller üretilmesi açısından avantaj sağlamaktadır (El-banna vd., 2019).

Fiziksel yöntemler, çapraz bağlama ajanları kullanılmadan çapraz bağ oluşturma avantajına sahip olsa da, elde edilen jellerin kimyasal özelliklerinin (degradasyon, çözünme) kalitesinin kontrol edilememesi bakımından dezavantaj sergilerler (Kono ve Teshirogi, 2015). Kararsız olmaları, mekanik dirençlerinin düşük olması ve gözenek boyutunun kolay kontrol edilememesi fiziksel hidrojellerin diğer önemli dezavantajlarıdır (Hamedi vd., 2018; Tian vd., 2020). Fiziksel jellerin en önemli avantajı ise, sentez esnasında toksik çapraz bağlayıcıların kullanımını gerektirmemeleri ve biyouyumluluk özelliklerini korumalarıdır (El-banna vd., 2019; Rajabi vd., 2021). Ayrıca fiziksel çapraz bağlanan hidrojeller kendi kendini onarma yeteneğine sahiptir (El-banna vd., 2019).

2.2.4. Kitosan Hidrojelden İlaç Salım Mekanizmaları

Hidrojellerin ilaç salım mekanizmaları hidrojellerin fiziksel ve kimyasal özelliklerine bağlıdır (Tian vd., 2020). Kitosan hidrojellerinden ilaç salımının sırasıyla i) difüzyon kontrollü, ii) şişme kontrollü ve iii) kimyasal kontrollü salım olmak üzere üç farklı mekanizma ile gerçekleştiği belirtilmektedir (Peers, Montembault & Ladavière, 2021). İlk mekanizmada hidrojel difüzyon fenomeninden daha hızlı şiştiğinde, ikinci mekanizmada molekül difüzyonu hidrojel şişmesinden daha hızlı olduğunda, üçüncü mekanizmada ise hidrolitik veya enzimatik bozunma yoluyla polimer zincirinin kırılması sonucunda jellerden ilaç salımı gerçekleşmektedir (Peers vd., 2020). Hidrojelin şişme hızı ne kadar yüksekse, gözenekleri de o kadar büyüktür ve hidrojel boyunca küçük boyutlu ilaç difüzyonu o kadar hızlı olur (Peers vd., 2020).

Bunların yanısıra, uyarıya duyarlı kitosan hidrojelleri, farklı çevresel uyaranlara ve normal ve hastalıklı dokular arasındaki fizyolojik farklılıklara (örneğin, kanser dokularının pH'sının normal dokulardan daha düşük olması veya iki doku arasındaki enzimatik farklar) yanıt olarak gözenekleri aracılığıyla ilaç salımını etkin bir şekilde düzenler (Tian vd., 2020).

Kitosan hidrojelleri, hapsolmuş ilaçlar için difüzyon bariyerleri görevi görmesine rağmen bazı durumlarda jelin içerisine yüksek miktarda hapsolmuş olan ilaç uygulama sonrasında hızlı ve kontrolsüz bir şekilde salınarak patlama salımı gerçekleştirebilmektedir (Peers vd., 2021).

2.2.5. Kitosan Hidrojel Sistemi ile Çeşitli İlaçların Teslimi

Kitosan hidrojel sistemi kullanılarak, kademeli ilaç salımı ile olası yan etkileri azaltmak mümkündür.

Antibiyotiklerin uygun kullanılmamasına bağlı olarak ortaya çıkan antibiyotik direncinin kırılabilmesi için bir alternatif olan kitosan hidrojelleri antibiyotiklerin salımını etkin bir şekilde kontrol ederek ani salıverilmesinin önüne geçer ve yan etkileri azaltır (Harris vd., 2017). Daha önce kitosan hidrojelleri, Sefuroksim, Siprofloksasin hidroklorür, Gentamisin sülfat, Klindamisin, Diklofenak sodyum tuzu, Doksisiklin hidroklorür, Moksifloksasin, Rifampisin, Minosiklin, Vankomisin ve Amikasin gibi antibiyotik ilaçların iletilmesine yönelik çalışmalarda kullanılmıştır (Tian vd., 2020).

Kitosan hidrojeller, anestezik ilaçlar Lidokain, Prilokain, Tetrakain, Benzokain ve hipotensive ilaçlar Dorzolamid, Latanoprost, Lerkanidipin hidroklorür, Nitrendipin, Pilokarpin ve Propranolol hidroklorür'ün kademeli olarak verilmesinde uygulanmıştır (Tian vd., 2020).

Kitosan hidrojelleri kanser hastaları için de kemoterapi ilaçlarının doz ayarlaması, antikanser ilaçlarının suda çözünürlüklerinin arttırılması ve toksisitenin azaltılması gibi amaçlarla incelenmektedir. Kitosan hidrojellerin, 5-Fluorourasil, Metotreksat, Amigdalin, Kamptotesin, Sisplatin, Kurkumin, Dosetaksel, Doksorubisin, Gemsitabin, Naringenin, Kuersetin, Paklitaksel ve Polioksometalat gibi antikanser ilaçlarının iletimine yönelik uygulamalarda kullanıldığını rapor edilmiştir (Tian vd., 2020; Wei, Li, Yin & Tang, 2020).

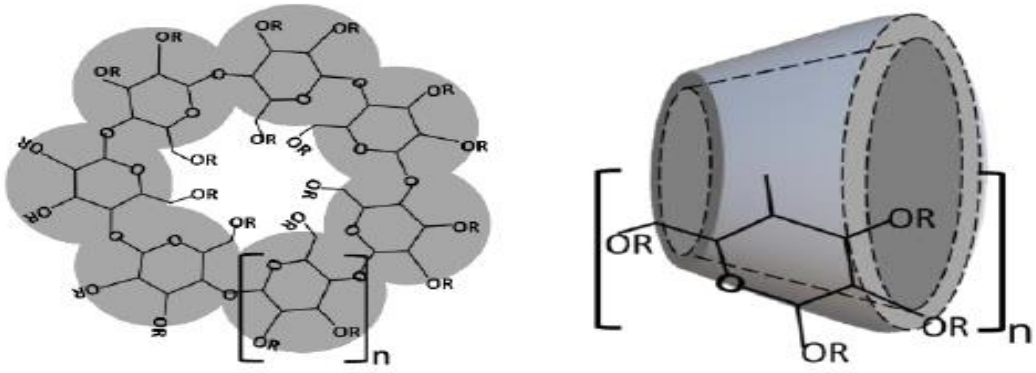
Hidrofobik ilaçlar, genellikle düşük bir terapötik indekse sahiptirler ve uygulamadan sonra lenf sistemi tarafından hızla emilirler, bu nedenle arzu edilen terapötik etkileri elde etmek için çok yüksek dozlarda kullanılmaları gerekir (Peers vd. 2020). Hidrofobik ilaçların biyoyararlanımlarını arttırmak, yani difüzyonu ve ilaç salımını geciktirmek için bu ilaçlar kitosan hidrojeller ile verilebilir (Wei, Li, Yin & Tang, 2020). Kitosan hidrojeller hidrofilik özellikte olduğundan, antikanser ilaçları gibi hidrofobik ilaçların dağıtımı için hidrojelin polimer zincirlerinin hidrofobik hale getirilmesi ve bunun için kimyasal olarak modifiye edilmesi gerekir (Peers vd., 2020).

Kimyasal veya fiziksek hidrojellerin 5-Fluorourasil, Benzoik asit, Amoksisilin, Aspirin, Benzidamin, Metilen mavisi, Kalsein, Klorfeniramin, Dipiridamol, Dopamin, Doksazosin, Doksepin, Doksorubisin, Gentamisin, Lidokain, Metronidazol, Papaverin, Timol, Venlafaksine gibi çeşitli hidrofilik ilaçlar ve Kamptotesin, Kurkumin, Hidrokortizon, Ibuprofen, I-norkolesterol, Latanoprost, Ornidazol, Paklitaksel, Repaglinid gibi çeşitli hidrofobik ilaçların dağıtımı için denendiği rapor edilmiştir (Peers vd., 2020).

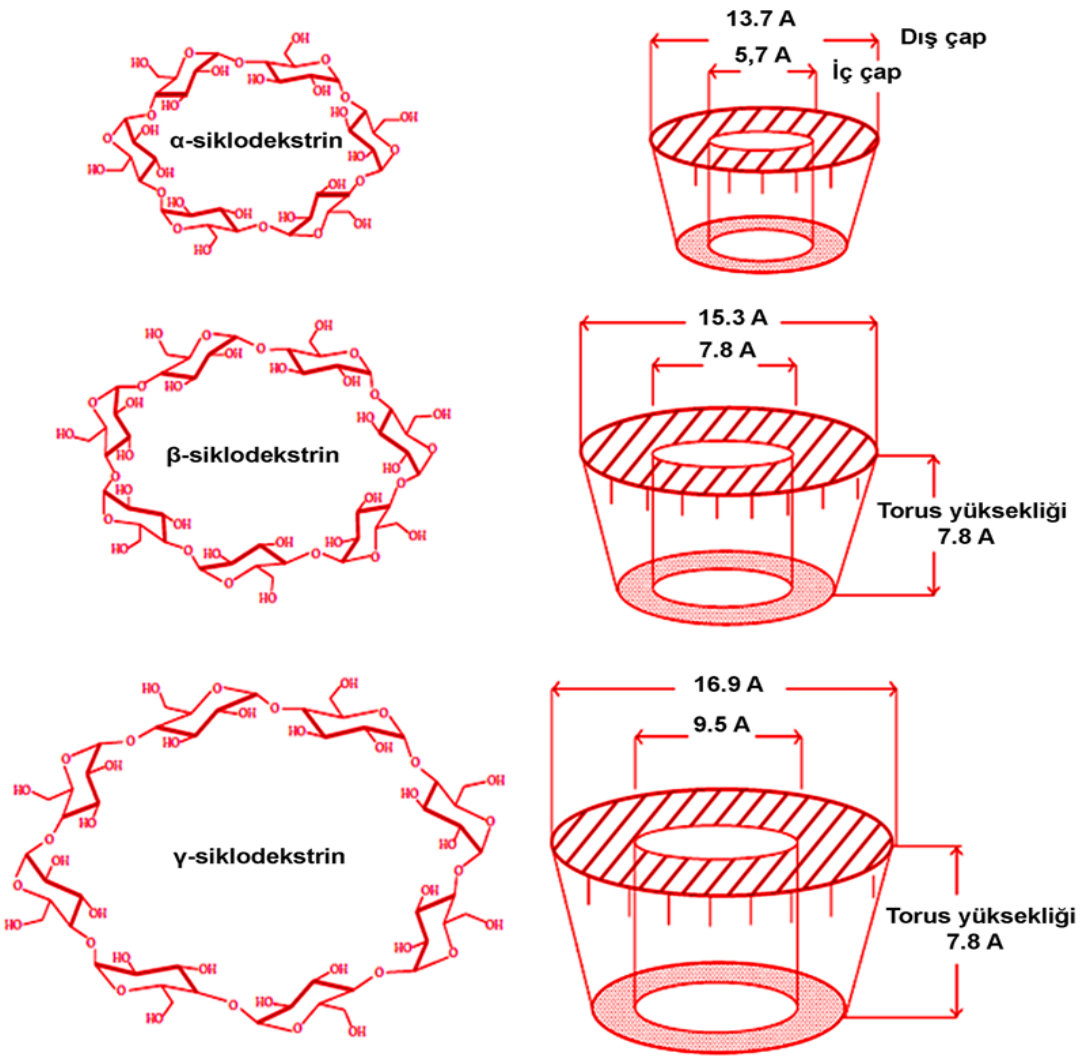
2.3. Siklodekstrinler

Siklodekstrinler nişastadan enzimatik (siklodekstrin glukosiltransferaz (CGTAz)) yolla türetilen oligosakkaritlerdir. Doğal siklodektrinler β (1-4) bağı ile bağlı 6, 7 veya 8 glukopiranoz ünitesi içeren ve sırasıyla α-CD, β-CD ve γ-CD olarak

adlandırılan polisakkaritler olup torus şekilli halkasal yapılar oluşturmaktadırlar (Şekil 2.2 ve Şekil 2.3) (Barragan vd., 2018; Jiang vd., 2018; Kono ve Teshirogi, 2015; Malik vd., 2021). Elektron bakımından zengin glikozidik oksijen atomlarının varlığı nedeniyle, torus şeklindeki halkasal yapının merkezi boşluğununun içi hidrofobiktir (Malik vd., 2021). Dış yüzeyleri ise hidroksil (-OH) grupları ile süslenmiş alt ve üst kenarlar nedeniyle hidrofilik özellik sergilemektedir (Pereva, Nikolova, Angelova, Spassov & Dudev, 2019; Saokham vd., 2018). Hidrofobik merkezi boşluğa sahip siklodekstrinler kendisi gibi hidrofobik ve lipofilik maddeleri bu boşluklarda taşıyabilirler (Machín vd., 2012; Pereva vd., 2019). β (1-4) bağlı siklodekstrinler çeşitli organik moleküllere bağlanabilir ve iç boşluklarının boyutuna bağlı olarak çeşitli moleküler yapılarla inklüzyon kompleksleri oluşturabilirler (Barragan vd., 2018; Pereva vd., 2019). Siklodekstrinlerin bu özel kesik koni yapısı konukçu-konuk etkileşimleri yoluyla taşınan uygun büyüklükteki organik moleküller için dikkate değer bir taşıma kapasitesine yol açmaktadır (Jiang vd., 2018; Machín vd., 2012). Jiang vd. (2018) siklodektrinlerin yapısındaki hidroksil gruplarının yüksek yoğunluğunun, polimerin belirli organik gruplarla reaksiyona girmesini mümkün kılarak, modifikasyon kapasitesini arttırdığını ve böylece siklodekstrini çok yönlü bir adsorban molekül haline getirdiğini rapor etmiştir. Siklodekstrinler ve konuk moleküller arasında hidrofobik etkileşimlere ilaveten hidrojen bağı da oluşmakta ve bu da siklodekstrinleri suda çözünmeyen ilaçların yanı sıra çeşitli biyoaktifleri barındıran uygun moleküller haline getirmektedir (Zarandona, Barba, Guerrero, de la Caba & Maté, 2020; Zhou, Lu, Zhou ve Liu, 2016).



Şekil 2. 2. Siklodekstrin genel yapı (Soakham vd. (2018).



Şekil 2. 3. Doğal siklodektrinlerin yapısı ve konformasyonu (Gidwani ve Vyas, 2015).

Alfa siklodekstrinin moleküler ağırlığı en düşük (972 Da) olup onu beta (1135 Da) ve gama (1297 Da) siklodektrinler takip etmektedir (Gidwani ve Vyas, 2015). Siklodekstrinlerin pKa değerlerinin 12.1 ile 13.5 arasında olduğu bildirilmiştir (Saokham vd., 2018). Doğal siklodekstrinlerden çözünürlüğü en yüksek (232 mg/mL) olanı gamma siklodekstrin olup onu alfa (145 mg/mL) ve beta (18.5 mg/mL) siklodekstrin takip etmektedir (Gidwani ve Vyas, 2015). Doğal siklodekstrinler arasında beta siklodekstrin (βCD) en az çözünen türev olmasına rağmen birçok ilaçla kompleks oluşumuna izin veren en uygun boyuttaki boşluğa sahiptir (Saokham vd., 2018). Doğal siklodekstrinlerin molekül içi hidrojen bağlarının varlığından dolayı, oldukça düşük suda çözünürlüğe sahip oldukları ve bunun da bu polimerlerin uygulamalarını

sınırladığı rapor edilmiştir (Han vd., 2020). Doğal siklodekstrinler sulu ortamda kendi kendilerine birleşerek çözünürlüklerini sınırlayan ve konsantrasyona bağlı olarak büyüyebilen agregatlar oluşturmaya eğilimlidirler (Saokham vd., 2018). Doğal siklodekstrinlerin, deneysel uygulamalarını sınırlayan sudaki düşük çözünürlüklerini arttırabilmek için geliştirilen 2-Hidroksipropil-β-siklodekstrin (HPβCD) ve sülfobütileter-β-siklodekstrin sodyum (SBEβCD) gibi türevler siklodekstrin molekülünün ikincil ve/veya birincil OH gruplarını çok çeşitli ikame edicilerle reaksiyona sokarak kimyasal olarak sentezlenmiştir (Saokham vd., 2018; Han vd. 2020). Doğal siklodekstrinlerin kimyasal olarak modifiye edilmesiyle elde edilen türevler; Hidroksipropil-β-siklodekstrin, Sülfobütileter-β-siklodekstrin, rastgele metillenmiş-β-siklodektrin ve Hidroksipropil-γ-siklodekstrin'dir (Gidwani ve Vyas, 2015). Rastgele metillenmiş-β-siklodektrin ve dimetil-β-siklodekstrinin çözünürlükleri 500 mg/mL civarında iken, hidroksipropil-β-siklodekstrin ve sülfobütileter-β-siklodekstrin türevlerinin çözünürlüklerinin 1200 mg/mL'den fazla olduğu rapor edilmiştir (Soakham vd., 2018). Siklodekstrin monomerlerinin özelliklerini geliştirmek için, kimyasal olarak elde edilen hidroksipropil-β-CD veya metil-β-CD gibi farklı türevler doğal siklodekstrinlerden daha yüksek oranda inklüzyon kompleksi oluşturma kapasitesine ve ilaç salım kapasitesine sahiptirler (Matencio vd., 2021).

Bai, Tian, Zhao, Huang & Wang (2017), siklodekstrinler tarafından katalize edilen çeşitli organik reaksiyonları rapor etmişlerdir. Bunlar;

1. Konvansiyonel oksidasyon reaksiyonu: Siklodekstrinlerin oksidasyon reaksiyonu (Örneğin, β-siklodekstrinin benzaldehiti karboksilik aside oksitlemesi) inklüzyon kompleksi oluşturma esnasında uygulanabilir.

2. Konvansiyonel indirgeme reaksiyonu: β-siklodekstrin ile inklüzyon kompleksi yoluyla nitroaromatik bileşikleri amin bileşiklerine indirgenebilir.

3. Konvansiyonel Ekleme Reaksiyonu: β-siklodekstrin ile inklüzyon kompleksi yoluyla olefinlerle tiyollerin eklenmesi, aminlerin β-siklodekstrinin aracılık ettiği alkenlerle eklenmesi gibi reaksiyonlar konvansiyonel ekleme reaksiyonlarıyla gerçekleştirilmektedir.

4. Konvansiyonel Yer Değiştirme Reaksiyonu: Bu reaksiyon tipinde, β-siklodekstrin bir katı-sıvı faz transfer katalizörü olarak, benzil halojenürlerin azid, siyanür,

tiyosiyanat ve asetat anyonları ile nükleofilik bir ikame reaksiyonunu gerçekleştirmektedir.

5. Konvansiyonel Hidroliz Reaksiyonu: Siklodekstrinler, organik kimyada hidroliz reaksiyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır.

2.3.1. β-Siklodekstrin Kullanım Alanları

Siklodekstrinlerin su arıtma, analitik ayırma, gıda endüstrisi, farmakoloji, kozmetik, kataliz ve çevre koruma gibi çeşitli uygulama alanlarında kullanımları bildirilmiştir (Machín vd., 2012; Pereva vd., 2019). Siklodekstrin türevleri ve bunların inklüzyon kompleksleri ise gıda, ilaç ve kozmetik endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Han vd., 2020). Saokham vd. (2018), rastgele metillenmiş, hidroksipropillenmiş ve sülfobütileter siklodekstrinlerin genellikle farmasötik ürünlerde kullanılırken, diğer siklodekstrin türevlerinin, kirleticilerin çevreden uzaklaştırılması amacıyla kullanıldığını rapor etmiştir. Siklodekstrinler gıda endüstrisinde gıda takviyesi, lezzet maskeleme, ekşilik, acılık ve buruk lezzet yoğunluğunun azaltılması veya termal stabilizasyon sağlama amacıyla kullanılmaktadır (Zarandona vd., 2020). Gidwani ve Vyas (2015), siklodekstrinlerin farmasötiklerde geniş kullanıma sahip olduğunu ve siklodekstrin türevlerini içeren yaklaşık 40 civarında farmasötik ürün veya formülasyon bulunduğunu rapor etmiştir. Siklodekstrinler çok çeşitli molekülleri boşluklarında barındırabilme kapasiteleri nedeniyle ilaç endüstrilerinde de yaygın olarak kullanılmaktadır (Zarandona vd., 2020). Şu ana kadar siklodekstrin inklüzyon komplekslerinin antiobezite, antikolesterol, antinörolojik, antidiyabetik, antikardiyovasküler, antiviral, antikanser, antimikrobiyal ve antioksidant gibi biyolojik uygulamaları gerçekleştirilmiştir (Matencio vd., 2021). β-siklodekstrin ve türevleri, antikanser ilaçlarının çözünürlüğünü ve stabilitesini arttırmak, biyoyararlanımını iyileştirmek, toksisitesini azaltmak ve antitümör aktivitesini iyileştirmek için 9-Nitro kamptotesin, Metotreksat, Lonidamin, Ekzemestan, Vorinostat, Imatinib, Doksorubisin, Sisplatin, Flutamid, Zerumbon, Melfalan, Oridonin ve 5-Fluorourasil gibi antikanser ilaçlarıyla inklüzyon kompleksleri oluşturarak çeşitli çalışmalarda kullanılmıştır (Gidwani ve Vyas, 2015).

2.3.2. Siklodekstrinlerin İlaç Salımında Kullanımı ve Avantajları

Siklodekstrinler, ilaçların çözünürlüğünü, stabilitesini ve geçirgenliğini arttırmak ve ilaçların organoleptik özelliklerini iyileştirmek amacıyla farmasötik teknolojide kullanım alanı bulmaktadırlar (Zarandona vd., 2020). Siklodekstrinler, ilaç moleküllerini hidrofobik boşluğa hapsederek birçok hidrofobik ilaçlarla inklüzyon kompleksleri oluşturma yeteneğinden dolayı ilaç taşıyıcılar olarak ilgi görmektedir (Barragán vd., 2018; Gidwani ve Vyas, 2015; Kono ve Teshirogi, 2015). Bu eşşiz özellikleri sayesinde siklodekstrinler hidrofobik molekülleri kapsülleyebilir onların kontrollü salımını sağlayarak biyoyararlanımlarını, stabilitelerini ve çözünürlüklerini iyileştirebilir (Barragán, vd., 2018; Kono ve Teshirogi, 2015; Machín, Isasi & Vélaz,2012; Zhang vd., 2018). İlaçlarla inklüzyon kompleksi oluşturmuş olan siklodekstrinler bu formda zayıf çözünür ilaçların çözünürlüklerini arttırırlar (Matencio vd., 2021). Böylece, ilaçların farmakolojik olarak aktif hale geçmesine olanak sağlarken, hidrofobik ilaçların da biyolojik zarlara nüfuz etmesini ve zardan geçişini kolaylaştırırlar (Barragan vd., 2018; Malik vd., 2021). Siklodekstrinler, kimyasal olarak kararsız ilaçların stabilitesini sağlarken, ilaçların ve diğer bileşiklerin fizyokimyasal özelliklerini değiştirebilir ve ilaç olmayan biyolojik olarak aktif bileşikleri terapötik olarak etkili ilaçlara dönüştürebilirler (Saokham vd., 2018). Doğal siklodekstrinlerin 2-hidroksipropil-β-siklodekstrin ve sülfobütileter-β-siklodekstrin gibi hidrofilik türevlerinin parenteral uygulamalar için güvenli olduğu onaylanmıştır (Gidwani ve Vyas, 2015).

2.3.3. β-Siklodekstrin Hidrojeller

Hidrojel sistemi içerisine dahil edilen siklodekstrinler, hidrojelin etkinliğini ve uygulanabilirliğini daha da arttırırken, hidrojellerin özelliklerini de büyük ölçüde iyileştirebilir (Machín vd., 2012; Zhang vd., 2018). Çapraz bağlama maddesi ile bağlanmış β-siklodekstrin polimerler yüksek su tutma kapasitesi ve kontrollü salım özelliklerinden dolayı ilaç taşıyıcıları olarak ilgi çekmektedirler (Machín vd., 2012). İlaçların farmakolojik olarak aktif olabilmeleri için suda çözünür olmaları gerekmektedir. Hidrojel içerisinde ilaçların siklodekstrinlerle kompleksleştirilmesi, hidrofobik ilaçları insan vücudunda taşımanın ve vermenin bir yoludur (Barragán, vd., 2018). Hidrojeller ayrıca, kontrollü salım yoluyla ilaçların dozunun terapötik seviyede

tutulmasını sağlayarak dozlama sıklığını, toksisiteyi ve olası yan etkileri azaltır (Machín vd., 2012).

Machin vd. (2012), β-siklodekstrini epiklorohidrin ile çapraz bağlayarak çözünmez polimer diskleri sentezlemişler ve bu disklerin anti-inflamatuar ilaçlar naproksen ve nabumeton ve antifungal ilaçlar naftifin ve terbinafin'in dağıtımı için kullanılma olasılığını araştırmışlardır. Yazarlar sentezlenen hidrojel matrislerinin, sürekli salım sistemleri olarak uygun olabileceğini önermiştir. Paun, Neagu, Tache & Radu (2014), gallik asidin enkapsülasyonu ve kontrollü salımı için geliştirdikleri kitosan/HP-β-CD kompozit membranın sadece kitosan kullanılarak hazırlanan membrana kıyasla daha gelişmiş bir antioksidan kapasite sergilediğini ve bu yeni sentezlenen membranların gıda, gıda ambalajı, biyomedikal ilaç ve kozmetik endüstrilerinde antioksidan olarak kullanılabileceğini öne sürmüştür. Jiang vd. (2018) ise **s**iklodekstrin ile modifiye edilmiş kitosan polimerinin özelliklerinin iyileştiğini ve bu hidrojellerin metal iyonları, organik kirleticiler ve boya maddeleri gibi ağır maddelerin adsorpsiyonunu arttırdığını belirtmiştir.

Arslan, Sanyal & Sanyal (2019), β-siklodekstrin hidrojellerinin sentezi için kullanılan çeşitli kovalent çapraz bağlama metodolojilerini rapor etmişlerdir. Bunlar;

1. Serbest radikal polimerizasyon çapraz bağlamaya dayalı yöntemler: Siklodekstrin içeren hidrojellerin hazırlanmasında, yaygın olarak uygulanan bu teknik, çeşitli hidrofilik yapı blokları ile siklodekstrin fonksiyonel monomerlerinin serbest radikal çapraz bağlanması esasına dayanır. Bu amaç için yaygın olarak kullanılan organik reaktifler; maleik anhidritler, akriloil/metakriloil klorürler ve vinil aminlerdir.

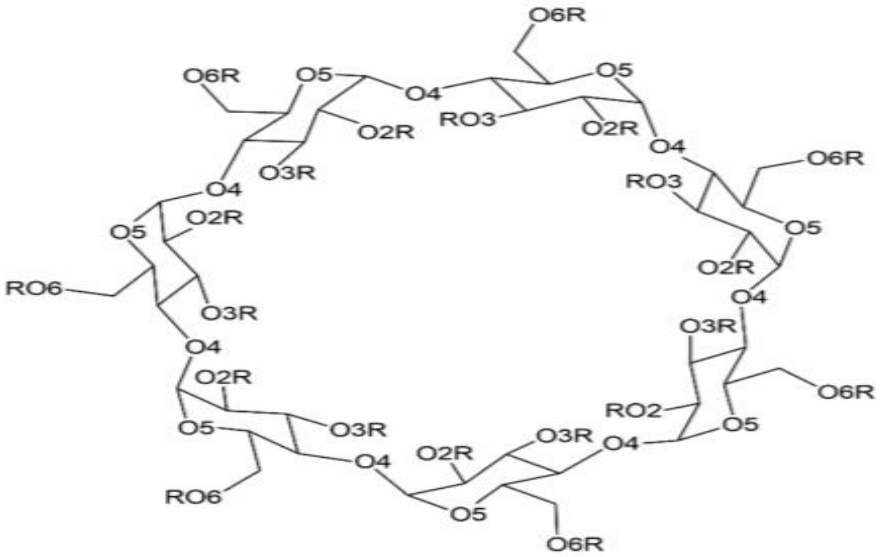
2 Nükleofilik ekleme/ikame temelli yöntemler: Bu yöntemler, siklodekstrinlerin, izosiyanatlar, epoksitler, alkil ve açil halojenürler, aldehitler veya aktifleştirilmiş karboksilik asitler gibi reaktif fonksiyon grupları taşıyan polimerler üzerine nükleofilik ekleme/ikame reaksiyonlarını içermektedir.

3. "Tıklama" reaksiyonlarına dayalı çapraz bağlama yöntemleri: Bu metotlar, hidrojellerin hem üretimi hem de işlevselleştirilmesi için kullanılmaktadır. Son yıllarda, siklodekstrin içeren hidrojeller elde etmek için bakır katalizörlü Huisgen tipi azid-alkin siklo ilavesi, nükleofilik ve radikal tiyol-en ve Diels-Alder reaksiyonları kullanılarak tıklama reaksiyonu bazlı jelleşme gerçekleştirilmiştir.

4. Jelleşme sonrası ek yoluyla siklodekstrinlerin dahil edilmesi: Siklodektrin içeren hidrojelleri elde etmeye yönelik yaklaşımlardan biri olup, siklodekstrinleri eklemek için birkaç jelasyon sonrası modifikasyonu içermektedir. Bu yöntem kimyasal ağ oluşumundaki bozulmaların önlenmesini sağlar.

2.3.4. 2-Hidroksipropil-β-Siklodekstrin (HP-β-CD)

HP-β-CD doğal siklodekstrinlerin pratik uygulamalarını iyileştirmek için sudaki çözünürlüklerini arttırmak amacıyla geliştirilmiş bir β-siklodekstrin türevidir (Şekil 2.4). HP-β-CD 6 angstrom iç boşluk çapına sahiptir ve 25°C de çözünürlüğünün 1200 mg/mL'den fazla olduğu belirtilmektedir (Jansook, Ogawa & Loftsson, 2018; Saokham vd., 2018). β-siklodekstrinin hidrofilik türevi olan HP-β-CD, parenteral uygulama için güvenli kabul edilen türevler arasındadır (Gidwani ve Vyas, 2015). HP-β-CD'nin Diels-Alder reaksiyonu vasıtasıyla kitosan bazlı bir hidrojel tasarlamak için doğal çapraz bağlayıcı olarak kullanılabileceği düşünülmektedir (Zhang vd., 2018).



Şekil 2. 4. Yedi glukopiranoz ünitesinden oluşan 2-hidroksipropil-β-siklodekstrin (HP-β-CD) (R=Hidrojen (-H) veya 2-Hidroksipropil (HP, $-CH_2CH(OH)CH_3$) (Paun vd., 2008).

2.4. Antiviral İlaçlar

2.4.1. Tenofovir

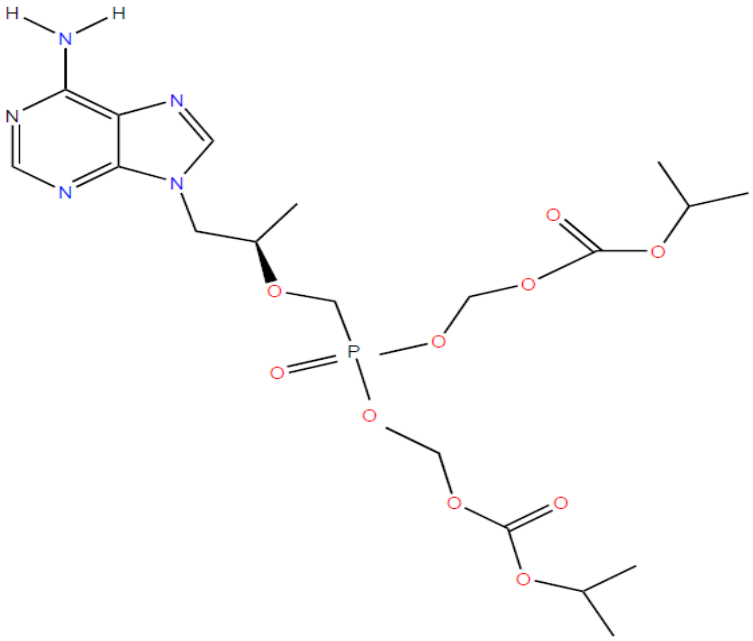
Tenofovir, HIV-1, -2 ve Hepatit B virüsüne karşı aktivitesi olan deoksiadenozin monofosfatın bir nükleotid analoğudur (Şekil 2.5) (Mulato ve Cherrington, 1997; Robbins, Srinivas, Kim, Bischofberger & Fridland, 1998). Tenofovir, Herpes simplex virüsü (Human herpesvirus 2 (strain 186)) için DNA polimeraz inhibitorü, Hepatit B virüs için ters transkriptaz inhibitorü ve insan bağışıklık eksikliği virüsü 1 (HIV-1) için ters transkriptaz/RNAazH inhibitörü olarak işlev görmektedir (Drugbank, 2020). Tenofovir disoproksil fumarat (TDF) Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından HIV tedavisi için 26 Ekim 2001 tarihinde, kronik hepatit B tedavisi için ise 11 Ağustos 2008 tarihinde onaylanmıştır (Kurt vd., 2015; Yu ve Heathcote, 2011).

Tenofovir disoproksil fumarat, insan immün yetmezlik virüsü (HIV) ve Hepatit B virüsüne karşı aktiviteye sahip güçlü bir nükleotid analoğu ters transkriptaz inhibitörü olan Tenofovirin biyolojik olarak kullanılabilir bir ön ilacıdır (Şekil 2.6) (Gallant ve Deresinski, 2003; Masquelier vd. 2004). Tenofovir disoproksil fumarat, vücuda alındıktan sonra hücre içinde diester bağlarının hidrolizi ile Tenofovire dönüştürülür ve hücresel enzimler tarafından fosforile edilerek Tenofovir difosfat oluşturulur (Kurt vd., 2015; Yu ve Heathcote, 2011). Tenofovir difosfat virüs DNA'sı ile birleştikten sonra DNA zincir terminalizasyonu yolu ile HIV-1 trifosfat aktivitesini inhibe eder (Kurt vd. 2015). Aynı şekilde, Hepatit B virüs DNA'sına dahil olmak için nükleotid deoksiadenozin 5′trifosfat ile rekabet ederek hepatit B virüs DNA polimerazın aktivitesini inhibe eder, DNA zinciri uzamasını sonlandırır, böylece DNA replikasyonunu inhibe eder (Delaney vd., 2006; Yu ve Heathcote, 2011).

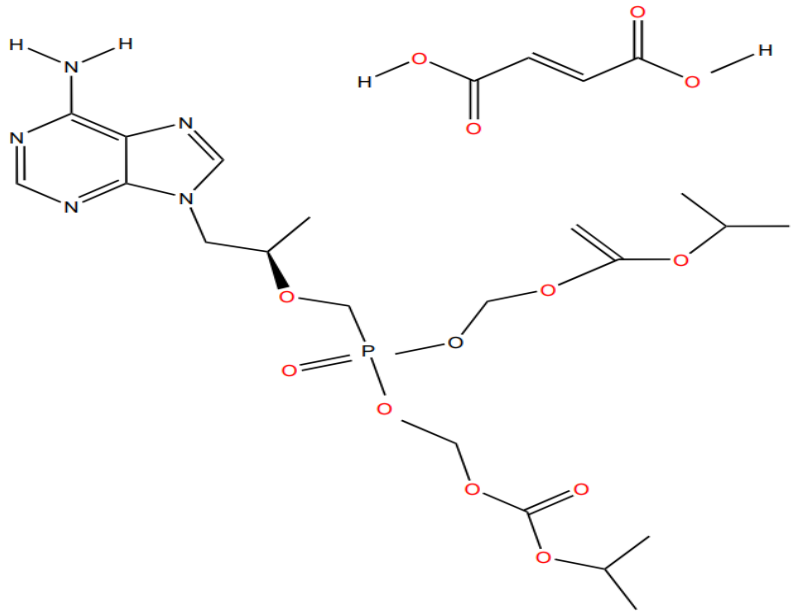
Tenofovir disoproksil fumarat, günde bir kez 300 mg'lık tek tablet olarak uygulanmaktadır (Gallant ve Deresinski, 2003). Tenofovir disoproksil fumaratın oral biyoyararlanımının aç bireylerde %25 ile yüksek yağlı bir yemekten (1000 kcal ve %50 yağ) sonra %40 arasında değiştiği bildirilmiştir (Gallant ve Deresinski, 2003; Masho, Wang & Nixon,2007; Yu ve Heathcote, 2011).

Tenofovir disoproksil fumaratın çeşitli klinik çalışmalarda iyi bir güvenlik profiline ek olarak, güçlü antiviral özellikler ve dirence karşı yüksek bir bariyer

gösterdiği (Yu ve Heathcote, 2011) ve tolere edilebilirliğinin yüksek olduğu (Gallant ve Deresinski, 2003) rapor edilmiştir. Bununla birlikte yüksek dozlarda alındığında toksisiteye yol açabilmektedir (Masho vd. 2007). Tenofovir disoproksil fumarat ve intravenöz Tenofovir, toksikoloji çalışmalarında yüksek dozlarda uygulandığında kemik ve böbrek toksisitesine neden olmuştur (FDA, 2001; Gallant ve Deresinski, 2003; Kurt vd. 2015; Yu ve Heathcote, 2011). HIV/AIDS tedavisinde uyumu etkileyen faktörlerin başında antiretroviral dozlama sıklığı ve hap yükünün geldiği belirtilmektedir (Masho vd. 2007).



Şekil 2. 5. Tenofovir disoproksil



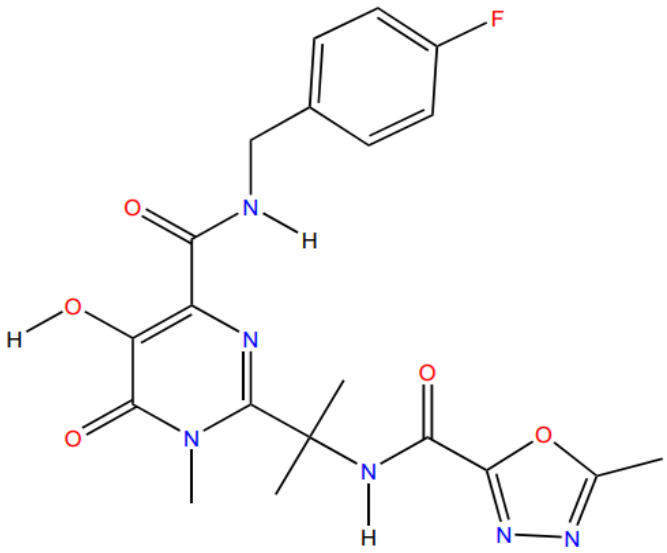
Şekil 2. 6. Tenofovir disoproksil fumarat

2.4.2. Raltegravir

En yeni antiretroviral ilaçlardan biri olan Raltegravir (RAL) şu anda klinik kullanımdaki en yaygın olan integraz inhibitörlerinden biridir (Şekil 2.7) (Zhang vd., 2018). Raltegravir, insan immün yetmezlik virüsü (HIV) enfeksiyonunun tedavisi için 2007 yılında ABD Gıda ve İlaç Dairesi tarafından onaylanmıştır (Pennington vd., 2018; Ramkumar ve Neamati, 2009). Şu an Isentress® adı altında ticari olarak (MK-0518, Isentress®; Merck &Co.) pazarlanan bir ilaçtır (Boesecke ve Gelgor, 2009). Raltegravir, bir HIV integraz sarmal transfer inhibitörü olarak, viral genetik materyali insan kromozomlarına entegre eden bir HIV enzimi olan integrazın işlevini bloke eder. (Brehm vd. 2019; Deeks, 2017; Stellbrink, 2008; Wikipedia, 2020). Böylece, virüsün DNA'sının konak genomuna girmesini ve enfeksiyonun yayılmasını önler (Boesecke ve Gelgor, 2009; Merck & Co, 2017; Deeks, 2017; Merck Sharp & Dohme, 2017).

Raltegravir, Dünya Sağlık Örgütü Temel İlaçlar Listesi'nde yer alan en güvenli ve en etkili ilaçlardan biridir (WHO, 2019). Raltegravir hızla emilir ve biyoyararlanımı yaklaşık %32'dir (Boesecke ve Gelgor, 2009; Kassahun vd., 2007; Temesgen, 2008). Yağlı yemekler, raltegravirin maruziyetini artırdığından (Temesgen ve Siraj, 2008),

hastalara, biyoyararlanımını artırmak için raltegraviri yiyecekle birlikte almaları önerilmektedir (Grinsztejn vd., 2014). Raltegravirin yarı ömrü oldukça hızlıdır ve başlangıç ve bitiş yarı ömrü 1 ve 9 saat arasındadır (Merck ve Co,. 2007; Temesgen ve Siraj, 2008). Bu nedenle, yıllarca günde iki kez dozlama gerektirmiştir (Boesecke ve Gelgor, 2009; Isentress, 2009; Ramkumar ve Neamati, 2009). Günde bir kez uygulamaya düşürmek ve ilacın maruziyetini ve biyoyararlanımını optimize etmek için yeni bir raltegravir film kaplı tablet formüle edilmiştir (Deeks, 2017). Raltegravirin (Isentress HD; Isentress 600 mg) 600 mg tablet formu, günde iki kez alınan 400 mg tablete göre biyoyararlanımı iyileştirmiştir ve önerilen doz günde bir kez 1200 mg'dır (yani iki 600 mg tablet) (Deeks, 2017).



Şekil 2. 7. Raltegravir

2.5. Literatür Taraması

Paun vd., (2014) gallik asidin kapsüllenmesi ve kontrollü salımı için kitosan/HP-β-CD bazlı, gallik asit içeren kompozit membranlar hazırlamışlar ve FTIR ve SEM analizleriyle karakterizasyonunu yapmışlardır. Ayrıca, kompozit membranın şişme ve değişik pH'larda gallik asit salım davranışlarını UV-VIS spektroskopi ile

incelemişlerdir. Sentezlenen kompozit membranların, pH 7'den büyük değerlerde sürekli yavaş salım hızıyla gallik asit verebildiği gözlenmiştir. Yazarlar, ayrıca CH/HP-β-CD kompozit membranın gallik asidin DPPH radikal süpürme kabiliyetini arttırarak, uzun etkili bir salım özelliği sergilediğini belirtmişlerdir.

Jiang vd. (2018), metil oranjın sulu çözeltiden seçici olarak uzaklaştırılması için Maleoil zincirleri ile köprüleme ve ardından glutaraldehit ile çapraz bağlama yoluyla kitosan/β-siklodekstrin kompoziti sentezlemişler ve onun adsorpsiyon performansı ve mekanizmasını incelemişlerdir. Yazarlar, sentezlenen kompozitin 10 mg / 50 mL'lik küçük bir adsorban dozajı ile metil oranj için mükemmel adsorpsiyon kapasitesi (392 mg/g) gösterdiğini gözlemlemişler ve adsorpsiyonun ekzotermik ve kendiliğinden oluşan bir süreç olduğu sonucuna varmışlardır. Adsorpsiyon mekanizmasını, amino gruplarının, kitosanın elektrostatik çekiminin ve β-siklodekstrin'in konak-konuk etkileşiminin sinerjistik etkisi ile açıklamışlardır. Yazarlar sentezledikleri bu kitosan/β-siklodekstrin adsorbanın, çapraz bağlı kitosan/β-siklodekstrin polimerinin benzersiz yapısından dolayı metil oranj'a karşı yüksek seçicilik gösterdiğini kaydetmişlerdir. Metil oranj için seçici ve biyobozunur olan bu adsorbanın, atık su arıtımında kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir.

Malik vd., (2021) antiviral ilaç asiklovirin kontrollü salımı için kullanılabilecek pH'a duyarlı β-siklodekstrin, kitosan, metakrilik asit ve N0-metilenbis-akrilamid hidrojellerini serbest radikal polimerizasyon tekniği ile sentezlemişler ve FTIR, SEM ve termal analiz ile karakterizasyonlarını yapmışlardır. Sonuçlar, sentezlenen hidrojellerin şişme dinamikleri ve ilaç salım davranışlarının pH'a duyarlı davranış gösterdiğini, ilacın biyoyararlanımında önemli bir artış olduğunu ortaya koymuştur. Yazarlar geliştirilen hidrojelin, biyouyumluluk, pH'a bağlı şişme ve ilaç salma davranışını göz önüne alarak, bu hidrojelin etkin ilaç taşıyıcı özellikler sergilediğini ve hem antiviral ilaç asiklovirin hem de diğer ilaçların kontrollü ilaç dağıtımı için potansiyel aday olarak kullanılabileceğini önermişlerdir.

Sultanova vd. (2020), antiviral tıbbi madde olan megosinin biyoyararlanımını uzatmak için sodyum tripolifosfat (STPP) ile çapraz bağlı megosin içeren kitosan hidrojelleri sentezlemişlerdir. Daha sonra sentezledikleri hidrojellerden kana megosin salımını incelemek için beyaz sıçan üzerinde deneyler gerçekleştirmişlerdir. Yazarlar,

kitosan hidrojellerinden megosinin salım kinetiğinin, 7 saat içinde megosinin %52'sine kadarının asidik çözeltiye (pH 4.5) salımına izin verdiğini ortaya çıkardı. Çalışma sonucu, megosinin kana salınmadığı en az 7 saatlik sürede ilacın biyoyararlanımını uzatma olasılığını göstermektedir.

Cova, Murtinho, Aguado, Pais & Valente (2021) mikro kirli su ortamlarındaki kirliliği temizlemek için adsorpsiyon malzemesi olarak siklodekstrin (CD) polimerleri ve siklodekstrin içeren polisakkaritlerin etkisini araştırmışlardır. CD polimerlerinin ve CD içeren polisakkaritlerin çok yönlü özelliklerinden yararlanarak, farklı kirleticiler tarafından oluşturulan su kirliliğini gidermek için çeşitli stratejiler araştırılmıştır (Cova vd., 2021). Yazarlar, siklodekstrinlerin suda çözünmeleri nedeniyle sulu ortamlarda adsorban olarak kullanılamamalarına rağmen, epiklorohidrin, polikarboksilik asitler ve glutaraldehit gibi farklı çapraz bağlayıcılar kullanılarak polimerize edilebileceklerini belirtmişlerdir. Bu doğrultuda, kitosan, selüloz, karboksimetil selüloz ve diğer karbonhidrat polimerlerinin siklodekstrinlerle işlevselleştirilmesi literatürde çokça bulunmaktadır. Böylece, siklodekstrinlerle modifiye edilmiş polisakkaritler doğal su ve atık sudan kirleticilerin uzaklaştırılmasını ve toksik bileşiklerin adsorpsiyonunu gerçekleştirebilmektedir. Metal iyonları, CD yapısının her iki kenarında bulunan protonlanmış veya protonu giderilmiş hidroksil grupları ile etkileşime girerek çevreden uzaklaştırılırlar. Bu nedenle CD tabanlı malzemelerle kirleticilerin giderilmesine öncelik verilmelidir (Cova vd., 2021).

BÖLÜM 3

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Malzemeler

Bu çalışmada kullanılan kitosan Kocahıdır Baraj Gölü'nden (Edirne/Türkiye) Temmuz 2020 tarihinde balıkçılar tarafından yakalanan kerevit türü *Astacus leptodactylus'*un kabuklarından elde edilmiştir.

Araştırmada kullandığımız HP-β-CD (ortalama Ma yaklaşık 1460, Pcode: 102363932, Slovakya), Gluteraldehit (%50 sulu çözelti, Pcode: 1003100323, USA) ve fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS, Pcode: 1003090549, P4417-100 tablet) Sigma Aldrich firmasından temin edilmiştir. Analitik reaktif sınıfından olan tüm kimyasallar herhangi bir arındırma veya saflaştırılma yapılmadan kullanılmıştır.

Sentezlenen kitosan/HP-β-CD hidrojelinin ilaç salım özelliklerini test etmek için etken madde olarak Tenofovir disoproksil içeren Evasif (245 mg film Kaplı Tablet) Santa Farma İlaç San. A.Ş., (İstanbul, Türkiye), etken madde olarak Raltegravir içeren Isentress (400 mg film kaplı tablet) Merck Sharp Dohme İlaçları Ltd. Şti. (İstanbul, Türkiye) ilaç firmasından ve Tenofovir disoproksil fumarat, Nobel İlaç (Düzce, Bolu) firmasından temin edilmiştir (Şekil 3.1).



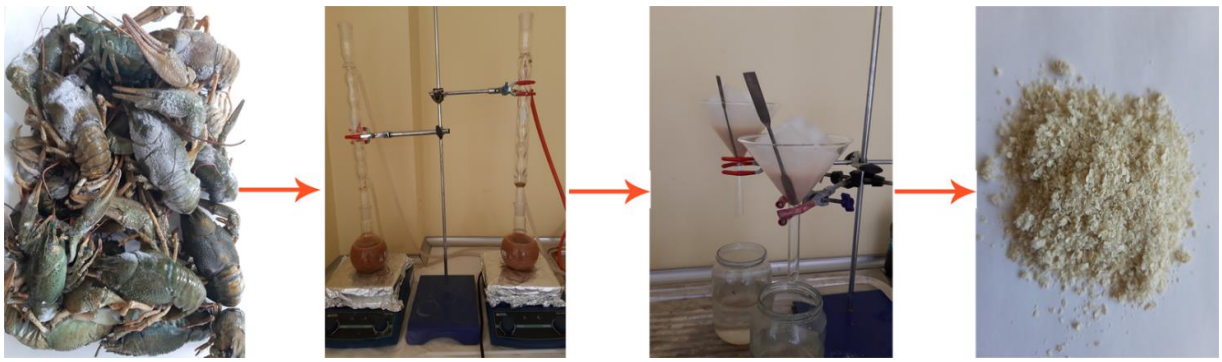
Şekil 3. 1. Sentezlenen hidrojellerin ilaç salım denemelerinde kullanılan antiviral ilaçlar.

3.2. Kerevitten Kitin İzolasyonu

Kerevit kabukları yıkanıp temizlendikten sonra fırında 50 ºC de 2 gün kurutuldular. Kurutulmuş kerevit kabukları blenderda çekilerek toz haline getirildiler ve kitin izolasyonu için 46.176 g öğütülmüş kabuk kullanıldı. Kitin izolasyonu deproteinizasyon, demineralizasyon aşamalarından geçerek gerçekleştirildi. İlk olarak kabuk yapısında bulunan minerallerin uzaklaştırılması için öğütülmüş kabuklar 6 saat boyunca manyetik karıştırıcıda 75-100 ºC arasında ve 700 rpm de karıştırılarak 2M 450 mL HCl çözeltisi (v/v) ile muamele edildi. Sonra filtre kağıdından pH nötr olana dek saf su ile yıkanarak süzüldü. Ardından yapıdaki proteinlerin uzaklaştırılması için süzüntü 2M 400 mL NaOH çözeltisi (w/v) içerisine konarak manyetik karıştırıcıda 75-100 ºC de 800 rpm de 24 saat boyunca muamele edildi. Sonrasında tekrar saf su ile yıkanarak pH nötr olana dek süzgeç kağıdından süzüldü. Bu işlem sonrasında elde edilmiş olan kitin fırında 50 ºC de 1 - 2 gün boyunca kurutuldu. Elde edilen kitinin kuru ağırlığı 8.710 g olarak tartıldı.

3.3. Kitosan Eldesi

Kerevit kitininden kitosan eldesi deasetilasyon işlemi ile gerçekleştirildi. Kitosan üretimine 8.710 gr kuru kitin ile başlandı. Kitin örneği 130 mL, %70'lik NaOH çözeltisi (w/v) ile 150-180 ºC de 3 saat 15 dk boyunca muamele edildi. Sonrasında saf su ile yıkanarak pH nötr olana kadar süzüldü. Saf su ile durulandı ve fırına kondu. Fırında 50 ºC de 2 gün boyunca kurutuldu. Kitosan Şekil 3.2'de görüldüğü gibi krem renkli bir malzeme olarak elde edildi. Elde edilen kitosanın kuru ağırlığı 7.100 gr olarak tartıldı.

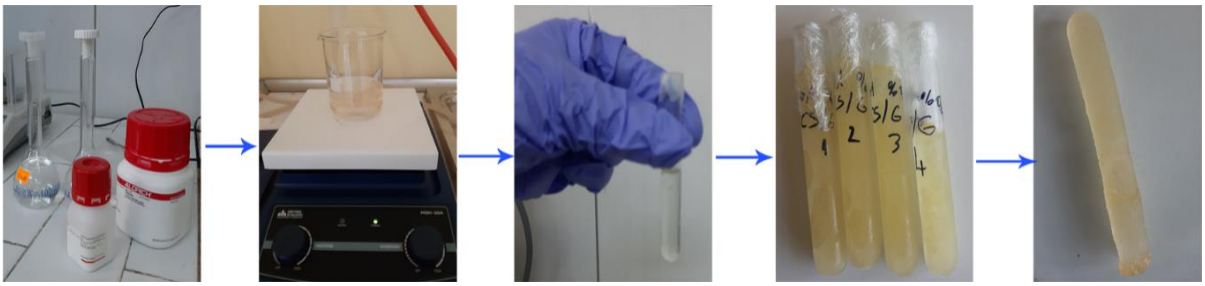


Şekil 3. 2. Kerevit *A. leptodactylus*'tan kitosan eldesi

3.4. Kitosan/HP-β-CD Hidrojel Sentezi

Kitosan ve HP-β-CD hidrojel sentezi optimum özellikteki hidrojel sistemi elde edilene kadar çeşitli denemeler yapılarak gerçekleştirildi. İlk denemelerde çok az miktarda kullanılan HP-β-CD polimerinin miktarı kademeli olarak arttırılarak farklı jeller üretildi. Sonraki denemelerde gluteraldehit çapraz bağlayıcısının konsantrasyonları değiştirilerek optimum jelleşme ve şişme kapasitesine sahip hidrojel elde edilene kadar çalışmalara devam edildi. %0.4, %0.6 ve %0.8 oranlarında kullanılan gluteraldehit çapraz bağlayıcının %0,4 oranında ve 0.02 g, 0.03 g ve 0.04 g olarak denenen HP-β-CD'in de 0.04 g olarak kullanılmasının en iyi sonucu verdiği gözlenmiştir. Hidrojelin sentezi aşağıda belirtildiği şekilde yapılmıştır.

Öncelikle 0.1 g kerevit kitosanı önceden hazırlanan 10 mL %1'lik asetik asit çözeltisi içerisinde oda sıcaklığında 10 dakika boyunca 500 rpm de karıştırılarak çözülmüştür. Karıştırılma esnasında kitosan çözeltisinin köpürtülmemesine dikkat edilmiştir. Temin edilen %50'lik gluteraldehit, asetik asit ile seyreltilerek ağırlıkça %0.4'lük gluteraldehit çözeltisi hazırlanmıştır. Elde edilen kitosan çözeltisi içerisine 2.5 mL gluteraldehit çözeltisi çapraz bağlayıcı olarak eklenmiş ve ekleme yapılırken kitosan çözeltisi köpürtülmemeye dikkat edilerek 10 dakika süreyle tekrar karıştırılmıştır. Daha sonra 0.04 g HP-β-CD bir iki damla %1'lik asetik asitte çözülüp hemen jel karışımına eklenmiştir. Viskoz halde bulunan çözelti, 10 cm uzunluk ve 5 mm iç çapa sahip cam tüp içerisine aktarılmış ve tüpün ağız kısmı parafilm ile kapatılmıştır. Cam tüp, -20 °C'de derin dondurucu içerisinde 48 saat bekletilerek, dondurarak jelleştirme tekniği uygulanmıştır. Bu aşamadan sonra hidrojeller 25 Kgrey (kGy) gama radyasyon ile ışınlanarak sterilize edilmiştir. Sentez sonrasında cam tüpün kırılmasıyla silindirik çubuk formundaki parçalar halinde kitosan/HP-β-CD hidrojeli elde edilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3. 3. Kitosan/ HP-β-CD hidrojelinin hazırlanması.

3.5. Kerevit Kitosanı ve Sentezlenen Hidrojellerin Karakterizasyonu

Kerevit *A. leptodactylus*'tan elde edilen kitosan FTIR, SEM, elementel analiz ve moleküler ağırlık analizleriyle karakterize edilirken, sentezlenen kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin karakterizasyonu da FTIR, XRD, SEM ve ^{1}H-NMR analizleriyle yapılmıştır.

3.5.1. Elementel Analiz:

Kerevit kabuklarından üretilen kitosanın Karbon (C), Hidrojen (H) ve Azot (N) içerikleri Thermo Finnigan, Flash EA 1112 Serisi elementel analiz cihazı kullanılarak ölçüldü. Kitosanın deasetilasyon derecesi (DD) aşağıdaki formüle göre hesaplandı (Abdou vd., 2008).

$$DD = \left[(C/N - 5.14)/1.72\right] x 100 \qquad \text{(Denklem 3.1)}$$

3.5.2. Moleküler Ağırlık (Ma):

Kerevit kitosanının viskozite-ortalama moleküler ağırlığını (Ma) belirlemek için Ubbelohde tipi bir seyreltme viskozimetresi kullanıldı (Şekil 3.4). 0.1 M asetik asit + 0.2 M NaCl (1:1, v/v) içeren bir solvent sistemi kullanılarak %1, %0.8, %0.6, %0.5 ve %0.4 (w/v) konsantrasyonlarında hazırlanan kitosan çözeltilerinin ubbelohde viskozimetresindeki akış süreleri kaydedilmiştir. Ölçümler, 25 ºC de gerçekleştirildi. Elde edilen sonuçlar Mark – Houwink denkleminde yerine konarak kerevit kitosanının viskozite-ortalama moleküler ağırlığı hesaplanmıştır (Wang, Bo, Li & Qin, 1991).

$$[\eta] = \mathrm{kMv}^{\alpha} \qquad \text{(Denklem 3.2)}$$

[η]: içsel viskozite

Mv: polimerin viskozite-ortalama moleküler ağırlığı

k ve α: Mark – Houwink – Sakurada sabitleri. k= 1.81 x 10-3 ve α = 0.93.



Şekil 3. 4. Kerevit kitosanının viskozite-ortalama moleküler ağırlının belirlenmesi

3.5.3. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometresi (FTIR)

FTIR, bir maddenin kimyasal yapısını belirlemek için kullanılan en yaygın tekniklerden biridir. Bu teknik, bir maddenin kimyasal bağlarının bağ tipine özgü frekanslarda uyarılarak kızılötesi ışığı absorbe edebilmesi esasına dayanır. Kızılötesi absorpsiyon spektrumunda elde edilen pikler incelenen numunenin bir parmak izini temsil eder. FTIR tekniği, hidrojeldeki yapısal düzenlemeyi başlangıç malzemeleriyle karşılaştırarak araştırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır (Gulrez vd., 2011).

Bu çalışmada, üretilen kitosanın yapısının doğrulanması ve kopolimer hidrojellerin yapısının aydınlatılması için FTIR spektrumları 400-4000 cm^{-1} aralığında ve 4 cm^{-1} spektral çözünürlükte Perkin Elmer ATR FTIR cihazında kaydedildi ve sentezlenen hidrojellerin içerisindeki fonksiyonel gruplar tanımlandı.

3.5.4. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

SEM, örneğin yüzey topografyası, bileşimi ve elektriksel iletkenlik gibi diğer özellikleri hakkında bilgi sağlamak için kullanılabilir. Bu teknik, hidrojellerdeki karakteristik “ağ” yapısını yakalamak için yaygın olarak kullanılan güçlü bir tekniktir (Gulrez vd., 2011).

Bu çalışmada üretilen kitosan ve sentezlenen hidrojellerin yapısal morfolojileri 500X ve 1000X gibi çeşitli büyütmelerde EVO LS 10 marka elektron mikroskobuyla görüntülendi. Analizden önce örneklere altın kaplama yapıldı.

3.5.5. X-Işını Kırınımı (XRD)

X-ışını kırınımı kristal malzemeleri karakterize etmek için kullanılan, tahribata yol açmayan güçlü bir tekniktir. Malzemelerin yapı, faz, tercih edilen kristal yönelim, ortalama tane boyutu, kristallik, gerinim ve kristal kusurları gibi yapısal parametreleri hakkında bilgi sağlar (Bunaciu, Udriştioiu & Aboul-Enein, 2015). X-ışını kırınım pikleri, bir numunedeki her bir kafes düzlemi kümesinden belirli açılarda saçılan monokromatik bir X-ışınları demeti vasıtası ile üretilir. Pik yoğunlukları, kafes içindeki atomların dağılımı ile belirlenir (Bunaciu vd., 2015). X-ışını kırınım paterni, bir malzemenin atomik düzenlemelerinin parmak izini temsil eder. X-ışını kırınımı, hidrojelin çapraz bağlı ağ jel yapılarının oluşumunu doğrulamak için kullanılır (Gulrez vd., 2011).

Amorf veya kristal yapı sergileyebilen, sentezlenmiş kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin doğasını araştırmak için X-ışını kırınımı analizi kullanıldı. XRD ölçümleri bir X-ışını difraktometresi (Bruker Smart Apex II Quazar marka) ve APEX II CCD dedektör kullanılarak, 40 kV, 40 mA ve 2θ, 5-50° kırınım açısıyla gerçekleştirilmiştir.

3.5.6. Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (^{1}H-NMR)

Hidrojellerdeki serbest ve bağlı su miktarını karakterize etmek ve ölçmek için kullanılan ana yöntemlerden biri nükleer manyetik rezonanstır. Proton NMR, sözde serbest ve bağlı durumlardaki su moleküllerinin değişimi hakkında bilgi verir (Gulrez vd., 2011).

Bu çalışmada sentezlenen hidrojellerdeki polimer-ilaç kompleks oluşumunu gözlemek için jeller ^{1}H-NMR spektrometresiyle analiz edildi. Analiz Bruker 500 NMR (Avance Neo Bruker konsol) spektrometre ile Gebze Teknik Üniversitesi'nde gerçekleştirildi. ^{1}H-NMR spektroskopisi, çözücücü olarak dötoro kloroform ($CDCl_3$) kullanılarak üzerinde oda sıcaklığında kaydedildi.

3.6. Sentezlenen Hidrojellerin Fonksiyonelite Testleri

Doğal biyopolimerler kullanılarak sentezlenen antiviral ilaç yüklü hidrojellerin şişme ve ilaç salım özelliklerinin test edilmesi aşağıda belirtildiği şekilde gerçekleştirildi.

3.6.1. Hidrojellerin Jelleşme Ölçümleri

Sentezlenen hidrojeller oda sıcaklığında kurutularak ilk tartımları (1. ci tartım: W1) alınmıştır (Şekil 3). Ardından jeller saf su içerisinde bekletilerek varsa jelleşmemiş kısımların uzaklaştırılması veya jele yapışmış cam kırıntılarının temizlenmesi sağlanmıştır. Bu işleme arada saf su değiştirerek 1 gün boyunca devam edilmiştir. Bu işlemden sonra jeller saf sudan çıkarılarak oda sıcaklığında kurutulmuşlardır. Ardından ikinci tartımları (2.ci tartım: W2) alınmıştır. Bu iki tartım değeri üzerinden % jelleşme oranı hesaplanmıştır.

$$Jelasyon\,(\%) = Wg\,/\,Wo\,x100 \qquad \text{(Denklem 3.3)}$$

Wg, ekstraksiyon sonrası numunenin ağırlığını temsil eder.
Wo, ekstraksiyondan önce numunenin ağırlığını temsil eder.

3.6.2. Hidrojellerin Şişme Ölçümleri

Sentezlenen hidrojeller 2 cm uzunluğunda kesilerek saf suda şişme oranları tespit edildi (Şekil 3.5). Hidrojellerin saf suda suda şişmesi 25 ºC'de belirlendi. Öncelikle hidrojel parçaları kuru tartımları (m0) alınarak, saf suya kondular ve T zamanda (5dk., 10 dk., 15 dk., 30 dk., 45 dk., 60 dk., 120 dk., 180 dk. ve 24 saat) hidrojellerin kazandığı ağırlıklar belirlendi. Böylece, zamana bağlı olarak numune ağırlığı ölçülerek şişme deneyleri yapıldı. Şişme yüzdesi, herhangi bir sabit zamanda hidrojel içinde tutulan suyun kuru hidrojel ağırlığına oranlanmasıyla aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$Şişme\,(\%) = \left[\left(mt - m0\right)/\,m0\right]x100 \qquad \text{(Denklem 3.4)}$$

m0: kuru jelin kütlesi
mt: t zamanında şişmiş jelin kütlesi



Şekil 3. 5. Sentezlenen hidrojellerin saf suda şişme deneyleri.

3.6.3. Antiviral İlaçların Standart Kalibrasyon Eğrilerinin Oluşturulması

UV-VIS spektrofotometresi ile kimyasal analizlerin yanı sıra, fiziksel yöntemlerle hem saf hem de madde karışımlarının karakterizasyonu gerçekleştirilir. UV/VIS spektroskopisinin çalışma prensibi, bir numune tarafından ışığın emilmesi esasına dayanır. Numune tarafından emilen ışık miktarına ve dalga boyuna bağlı olarak, numunenin miktarı ve saflığı gibi bilgiler elde edilebilir.

Bu çalışmada, hidrojele yüklenen ilaç miktarının ve jelin ilaç salım miktarının belirlenebilmesi için UV-VIS spektrometresi ile belirli dalga boylarında ölçümler yapıldı. Ölçümler, Shimadzu UV-1900i spektrofotometre kullanılarak 200 ila 900 nm aralığında gerçekleştirildi.

Raltegravir hammaddesini içeren Isentress ilacı 5 mL dimetilsülfoksit (dmso) + 5 mL fosfat tamponu (pbs) karışımında 1 mg olacak şekilde çözülerek UV spektrofotometrede 200-400 nm dalga boyu arasında okutuldu. Maksimum absorbans değeri (λ_{max}) 280 nm olarak bulundu. Daha sonra ilaç çözeltisi 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm ve 500 ppm konsantrasyonlarda hazırlandı ve UV spektrofotometrede maksimum absorbans değerinde okutularak kalibrasyon grafiği çizildi.

Tenofovir disoproksil fumarat hammaddesi ve etken madde olarak Tenofovir içeren Evasif ilacı 5 mL saf su + 5 mL metanol karışımında 1 mg olacak şekilde çözüldü ve 200-400 nm dalga boyu arasında okutularak maksimum absorbans değeri (λ_{max}) 261 nm olarak tespit edildi. Sonrasında, 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm ve 50

ppm’lik ilaç çözeltileri hazırlandı ve bunlar UV spektrofotometrede 261 nm’de okutularak kalibrasyon grafiği çizildi.

3.6.4. Hidrojellere İlaç Yükleme ve Salım Testleri

Sentezlenen kitosan/HP-β-CD hidrojellerine ilaç yüklemeleri jel sentezi esnasında yapıldı. Sentez esnasında hidrojel oluşumu için gerekli tüm malzemeler ilave edildikten sonra en son olarak jele yüklenecek olan antiviral ilaçlar 0.01 g, 0.02 g, 0.03 g ve 0.04 g oranlarda jelin içerisine eklendi ve manyetik karıştırıcıda karıştırılarak ilaçların jel içerisine dağılması sağlandı. Sonra jeller cam tüplere konarak buzdolabına kaldırıldı. Dondurulup, ışınlandıktan sonra tüpler kırılarak jeller çıkarıldı ve oda sıcaklığında kurutuldu.

İlaç yüklü hidrojellerin ilaç salım deneyleri fosfat tamponu içerisinde pH: 7.4 ve 37 ºC'de gerçekleştirildi. Periyodik aralıklarla ilaç içeren solüsyondan 3 mL örnek çekildi ve Shimadzu UV-1900i model UV-VIS spektrofotometrede daha önce belirlenen maksimum dalga boylarında absorbansları ölçüldü. Salınan antiviral ilaç miktarları, kalibrasyon eğrileri kullanılarak hesaplandı.

Raltegravir etken maddeli Isentress ilacını içeren jellerin ilaç salım miktarını konsantrasyona bağlı olarak tespit edebilmek için referans olarak ilaç etken maddesini içeren 0.5 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm ve 10 ppm konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanarak maksimum absorbans değeri olan 280 nm’de okutuldu. Kalibrasyon eğrisi çıkartılarak, regresyon denklemi ve R değerine ulaşıldı. Örnek ölçüm yapılacak jellerin ppm’leri ile hazırlanan referans standart ppm’ler karşılaştırılarak ilacın hangi aralıklarda salım doygunluğuna ulaştığı bulundu.

Tenofovir disoproksil fumarat hammaddesi ve etken madde olarak Tenofovir içeren Evasif ilaçlı jellerin ilaç salım miktarlarını konsantrasyona bağlı olarak tespit edebilmek için referans olarak 0.5 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm ve 10 ppm konsantrasyonda ilaç çözeltileri hazırlanarak maksimum absorbans değeri olan 261 nm’de okutuldu. Kalibrasyon eğrisi oluşturularak, regresyon denklemine ve R değeri ulaşıldı. Örnek ölçüm yapılacak jellerin ppm’leri ile hazırlanan referans standart ppm’ler karşılaştırılarak ilacın hangi aralıklarda salım doygunluğuna ulaştığı bulundu.

0.01 g, 0.02 g, 0.03 g ve 0.04 g ilaç içeren jellerden 1’er cm kesilerek kuru ağırlıkları tartıldı. Sonrasında bu jeller içindeki ilacın çözünmesi için daha önceden hazırlanan 20 mL’lik fosfat tampon çözeltisine kondular. Bu 4 farklı konsantrasyonda ilaç içeren jeller pH: 7.4’te fosfat tampon çözeltisinde çözünmeye, ilaç salımı gözlemlenmeye bırakıldı. Jeller çözücüye ilk atıldığında ve sonrasında başlangıçtan 15 dakika sonra, 30 dakika sonra, 45 dakika sonra ve 60 dakika sonraki absorbans değerleri 261 nm de okutularak tablolara işlendi. Ardından ilaç salımı yapılan fosfat tampon çözeltisi 48. saat ve 72. saatte spektrofotometrede tekrar okutularak absorbans değerleri bulundu. Jeller çözeltilerinden çıkartılarak kurutuldu ve tartımları alınarak tartım yoluyla salım ağırlıkları hesaplandı.

İlaç etken maddesi içeren hidrojeller için okunan absorbans değerleri kalibrasyon eğrisindeki denklemde yerine kondu ve 1 cm’lik jelin kaç mg salım yaptığı ve ilaç salım yüzdeleri hesaplanarak tablolar oluşturuldu.

BÖLÜM 4

4. SONUÇLAR

4.1. Kerevit *A. leptodactylus*'tan Elde Edilen Kitosanın Karakterizasyon Analiz Sonuçları

4.1.1. FTIR Analizi

Kerevit *A. leptodactylus'tan* elde edilen kitosanın FTIR spektrumu Çizelge 4.1 ve Şekil 4.3'te verilmiştir. Kerevit *A. leptodactylus* kitosanının FTIR pikleri Çizelge 1'de verilen ticari kitosanın absorpsiyon pikleriyle benzerlik göstermektedir. FTIR spektrumunda kitosanı tanıtan karakteristik amid piklerinin (Amid I: 1647 cm^{-1} ve Amid II: 1584 cm^{-1}) gözlenmesi kerevit *A. leptodactylus'*tan elde edilen malzemenin kitosan olduğunu doğrulamıştır.

Çizelge 4. 1. *A. leptodactylus* kitosanı ve ticari kitosanın FTIR bantları karşılaştırması

Dalgaboyu (cm^{-1}) frekans		**Titreşim modları**
***A. leptodactylus* kitosanı (Bu çalışma)**	**Ticari kitosan (Kaya vd. 2016, blue crab makalesi)**	
3362	3353	n(NH_2) birincil aminlerde ve n(OH) piranoz halkasında bağlantılı
2918	2921	CH_2OH grubunda asimetrik n(CH_2)

2852	2871	piranoz halkasında n(C-H)
1647	1652	n (C=O) $NHCOCH_3$ grubunda (Amid I bandı)
1584	1586	n (NH_2) $NHCOCH_3$ grubunda (Amid II bandı)
1417	1420	CH_2OH grubunda d(CH_2)
1376	1375	$NHCOCH_3$ grubundaki ds(CH_3)
1319	1317	piranoz halkasında d (C-H)
1249	1258	NHCO grubunun (Amide III bandı) karmaşık titreşimleri
1150	1149	n s(C-O-C) (glikozidik bağlantı)
1077	1062	n asimetrik (C-O-C) (glikozidik bağlantı)
1029	1021	n (C-O) ikincil OH grubunda
987	985	n (C-O) birincil OH grubunda
893	892	Piranoz halkası iskelet titreşimleri

4.1.2. Moleküler Ağırlık

Kerevit *A. leptodactylus*'tan elde edilen kitosanın viskozite ortalama moleküler ağırlığı Ubbelohde viskozimetresi ile zamana karşı akış hızı ölçülerek elde edilen değerlerin Mark–Houwink denkleminde yerine konmasıyla 17.82 kDa olarak hesaplanmıştır.

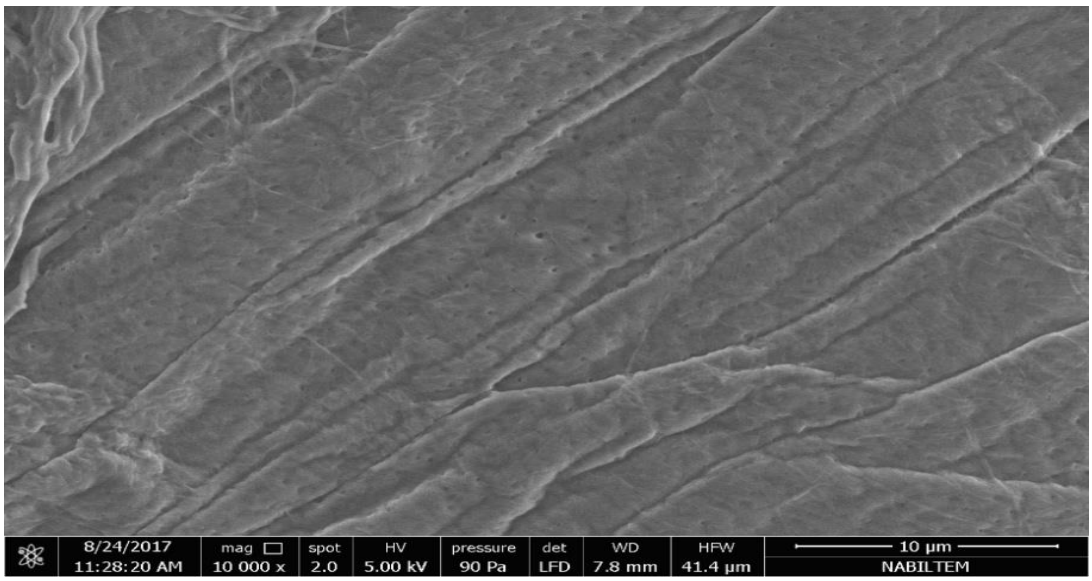
4.1.3. Elementel Analiz

Elementel analiz ile kerevit kitosanının %C, %H ve %N içerikleri sırasıyla %40.62, %6.74 ve %7.13 olarak belirlenmiştir. Kitosan polimerindeki D-glukozamin ünitelerinin ortalama sayısı olarak ifade edilen deasetilasyon derecesi kerevit kitosanı için %32.3 olarak hesaplanmıştır. Kerevit kitosanının deasetilasyon derecesinin düşük olduğu görülmektedir.

4.1.4. SEM Analizi

Kerevit *A. leptodactylus*'tan elde edilen kitosanın yüzey morfolojisi taramalı elektron mikroskobu ile incelenmiş ve elde edilen SEM görüntüsü Şekil 4.1.'de sunulmuştur. SEM analizi, kerevit kitosanının birbiri üzerine katlanmış kırışık yapı

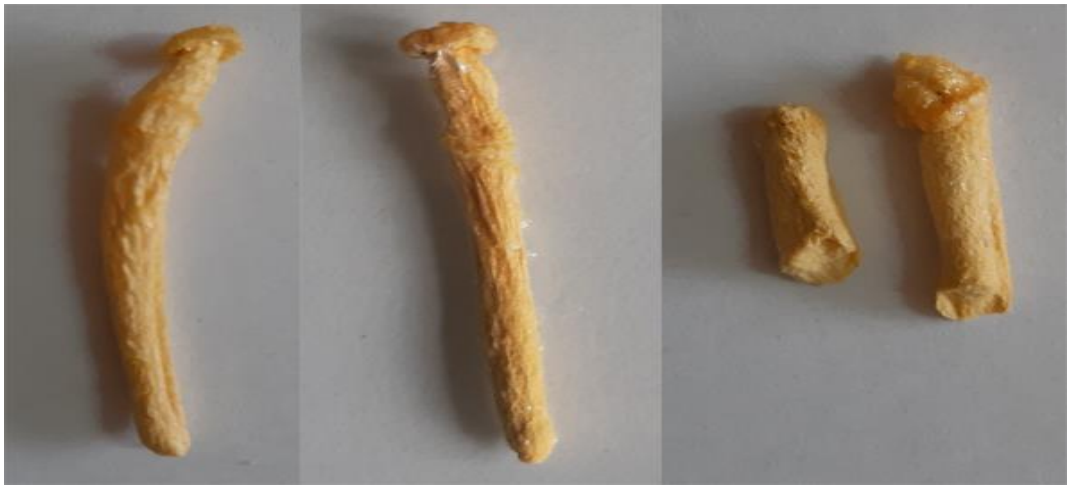
sergilediğini ve ayrıca fiberlere ve hemen hemen eşit büyüklükte homojen dağılmış porlara sahip olduğunu göstermektedir (Şekil 4.1).



Şekil 4. 1. Kerevit *A. leptodactylus*'tan elde edilen kitosanın SEM görüntüsü

4.2. Sentezlenen Kitosan/HP-β-CD Hidrojellerinin Karakterizasyonu

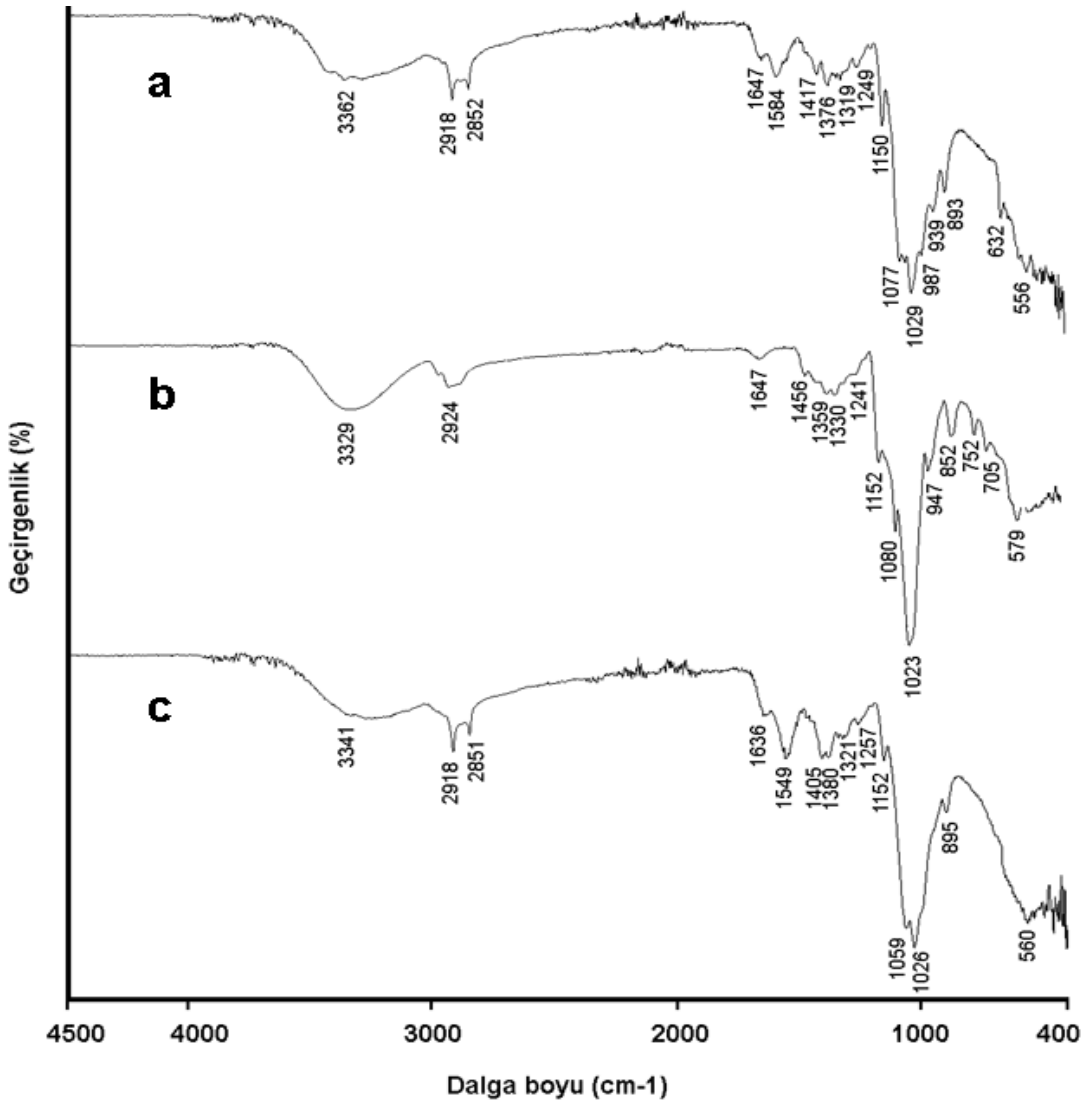
Kitosan/HP-β-CD hidrojelleri gluteraldehit çapraz bağlayıcısı ile sentezlendi ve 25 kGy radyasyona maruz bırakılarak sterilize edildi. Sentezlenen hidrojeller, yumuşak olup, sarı-krem renktedir ve gözenekli bir yapı sergilemektedir (Şekil 4.2).



Şekil 4. 2. Sentezlenen kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin genel görünüşü.

4.2.1. Hidrojellerin FTIR Analiz Sonucu

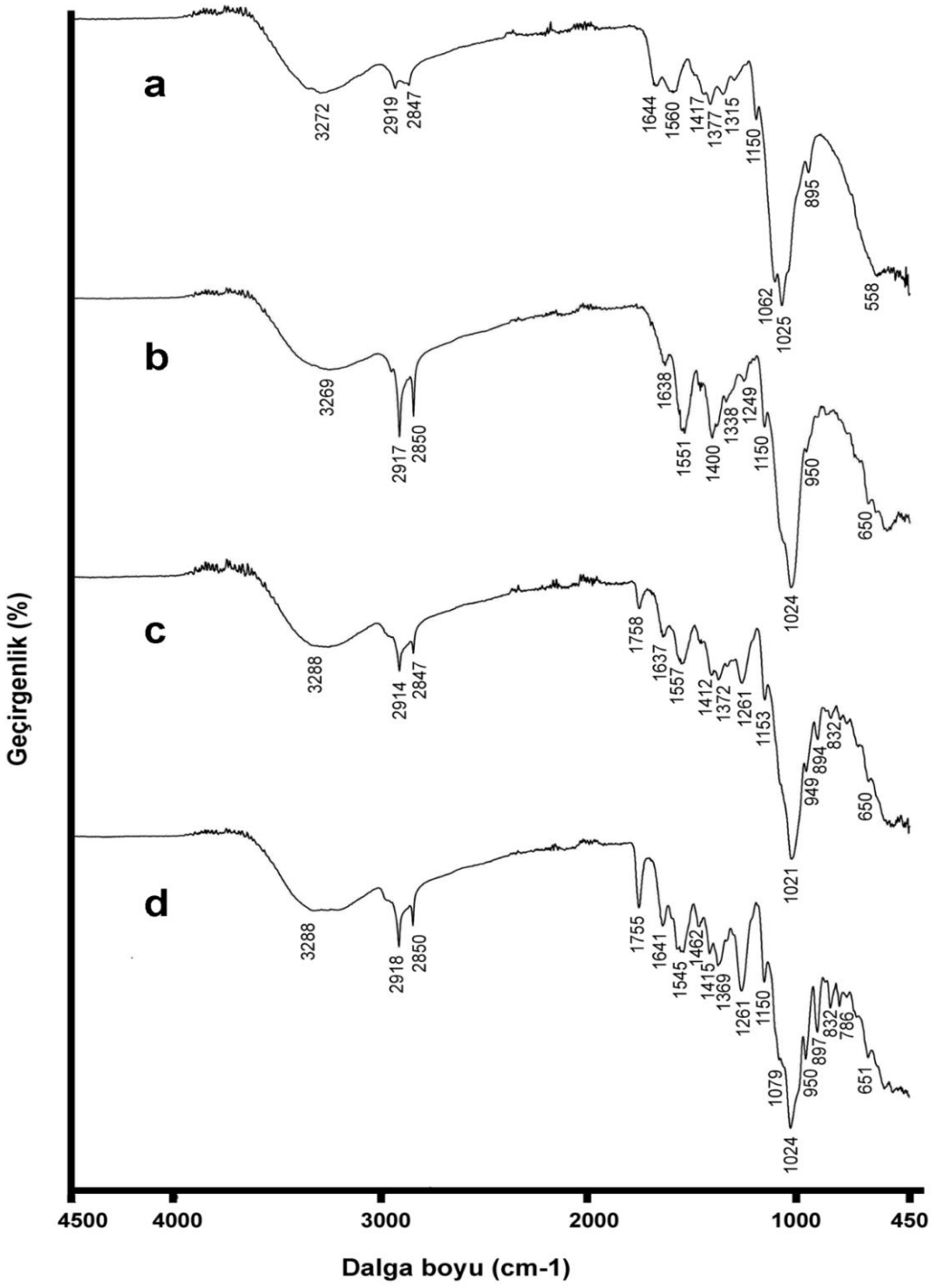
Hidrojel sentezinde kullanılan kitosanın, HP-β-CD'in ve sentezlenen kitosan/HP-β-CD hidrojelinin FTIR spektrumları Şekil 4.3.'te görülmektedir. Kerevit kitosanının FTIR spektrumu yukarıda tartışıldı ve kitosana özgü karakteristik amid I ve amid II piklerinin (1647 ve 1584 cm^{-1}) varlığı belirtildi (Şekil 4.3a). HP-β-CD'nin absorpsiyon spektrumunda ise 3329 cm^{-1} de (O-H germe titreşimi), 2924 cm^{-1} de (C-H germe titreşimi), 1647 cm^{-1} de (O-H eğilme titreşimi), 1152 cm^{-1} de (C-O titreşimi) ve 1023 cm^{-1} (C-O-C gerilme) de sakkaritlere ait karakteristik bantlar gözlemlendi (Şekil 4.3b). Sentezlenen kitosan/HP-β-CD hidrojelinin FTIR spektrumunda meydana gelen pik kaymaları ise hidrojelin hazırlanmasında kullanılan hammaddeler arasındaki etkileşimi ortaya koydu. Böylece kitosan/HP-β-CD hidrojelinin oluşumu FTIR spektrumu ile teyit edildi.



Şekil 4. 3. Sentezlenen hidrojel ve hammaddelerinin FTIR spektrumları. a) Kerevit kitosanı, b) HP-β-CD, c) Kitosan/HP-β-CD hidrojeli

Boş ve antiviral ilaç yüklü hidrojellerin FTIR spektrumları Şekil 4.4'te sunulmuştur. Boş hidrojelin FTIR spektrumunun, yukarıda belirtildiği gibi hidrojeli oluşturan ve her ikisi de sakkarit türevi olan kitosan ve HP-β-CD'e ait piklerde (Şekil 15 a ve 15b) hafif kaymalar sonucunda şekillendiği görülmektedir. Boş hidrojelde 2919 cm^{-1} ve 2847 cm^{-1} de gözlenen piklerin şiddeti antiviral ilaç yüklü hidrojellerde hafif azalmıştır. Boş hidrojelde 1644 cm^{-1} ve 1560 cm^{-1} civarında gözlenen kitosana ait absorbans değerleri ilaç yüklü jellerin FTIR spektrumlarında indirgenmeye uğramıştır.

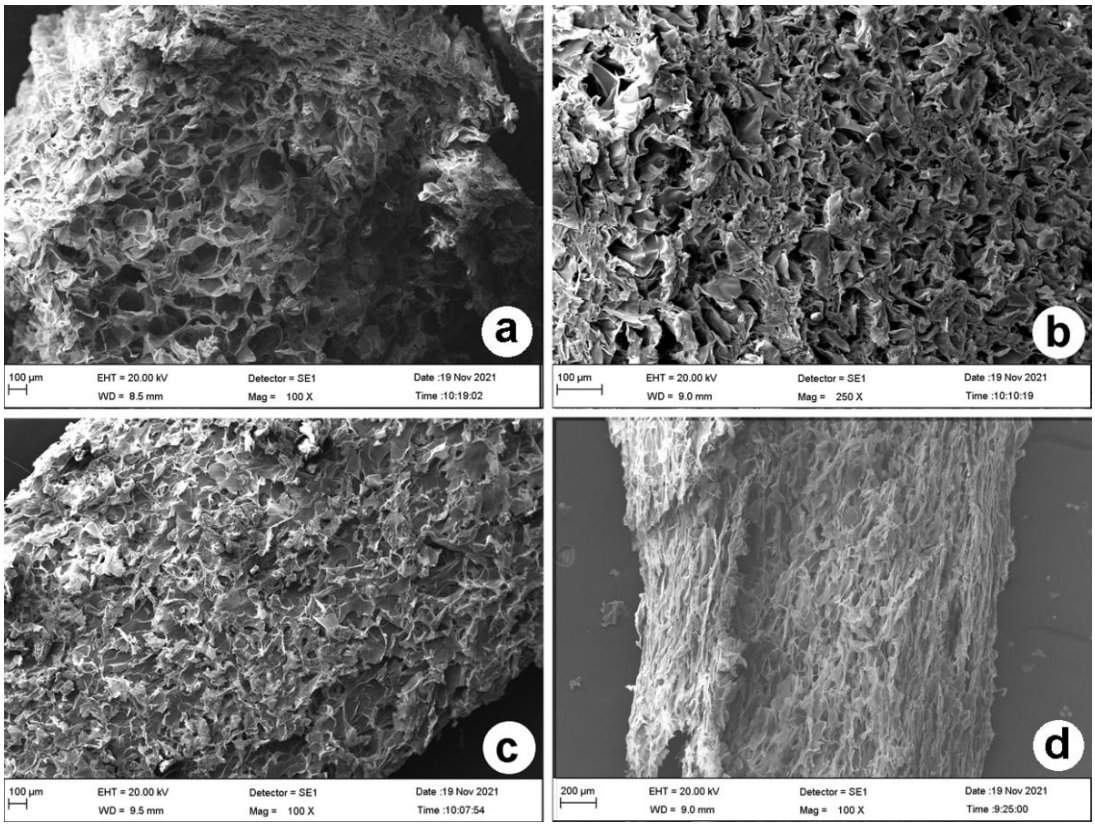
Ayrıca Evasif yüklü hidrojelde 1758 cm^{-1}'de ve Tenofovir disoproksil fumarat yüklü olduğu hidrojelde 1755 cm^{-1} de iki yeni absorpsiyon piki gözlenmiştir. Boş hidrojelde 1417 cm^{-1} de gözlenen absorpsiyon piki, Isentress yüklü hidrojelde 1400 cm^{-1} e kadar indirgenmiştir. Ayrıca, Isentress yüklü ilaçta 1249 cm^{-1} ve Evasif ve Tenofivir yüklü ilaçta 1261 cm^{-1} deki piklerin şiddeti artmıştır. Boş hidrojeldeki sakkaritleri temsil eden 1000 cm^{-1} ve 1600 cm^{-1} aralığındaki pikler ilaç yüklü hidrojellerde hafif pik kaymaları dışında hemen hemen değişmeden kalmıştır.



Şekil 4. 4. Boş ve ilaç (0.04 g) yüklü jellerin FTIR Spektrumları a) Boş kitosan/HP-β-CD hidrojeli b) Isentres yüklü hidrojel c) Evasif yüklü hidrojel d) Tenofovir disoproksil fumarat yüklü hidrojel

4.2.2. Hidrojellerin SEM Analiz Sonucu

Boş ve antiviral ilaç yüklü kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin yüzey analizleri SEM mikroskobu ile çeşitli büyütmelerde incelendi (Şekil 4.5). Boş hidrojelin hemen hemen homojen göz aralıklarına sahip gözenekli ve ağsı bir yapı sergilediği görüldü (Şekil 4.5a). Isentress yüklü hidrojelde ise ilaç moleküllerinin hidrojelin gözeneklerini doldurduğu görülmektedir (Şekil 4.5b). Evasif yüklü hidrojel kompakt bir yapı sergilerken, ilaç kristallerinin jel yüzeyindeki varlığı görünmekte ve ilaç moleküllerinin agregasyon oluşturduğu bir görünüm sergilemektedirler (Şekil 4.5c). Tenofovir disoproksil fumarat yüklü hidrojel ise daha çok lamelli bir yapı sergilemektedir (Şekil 4.5d).

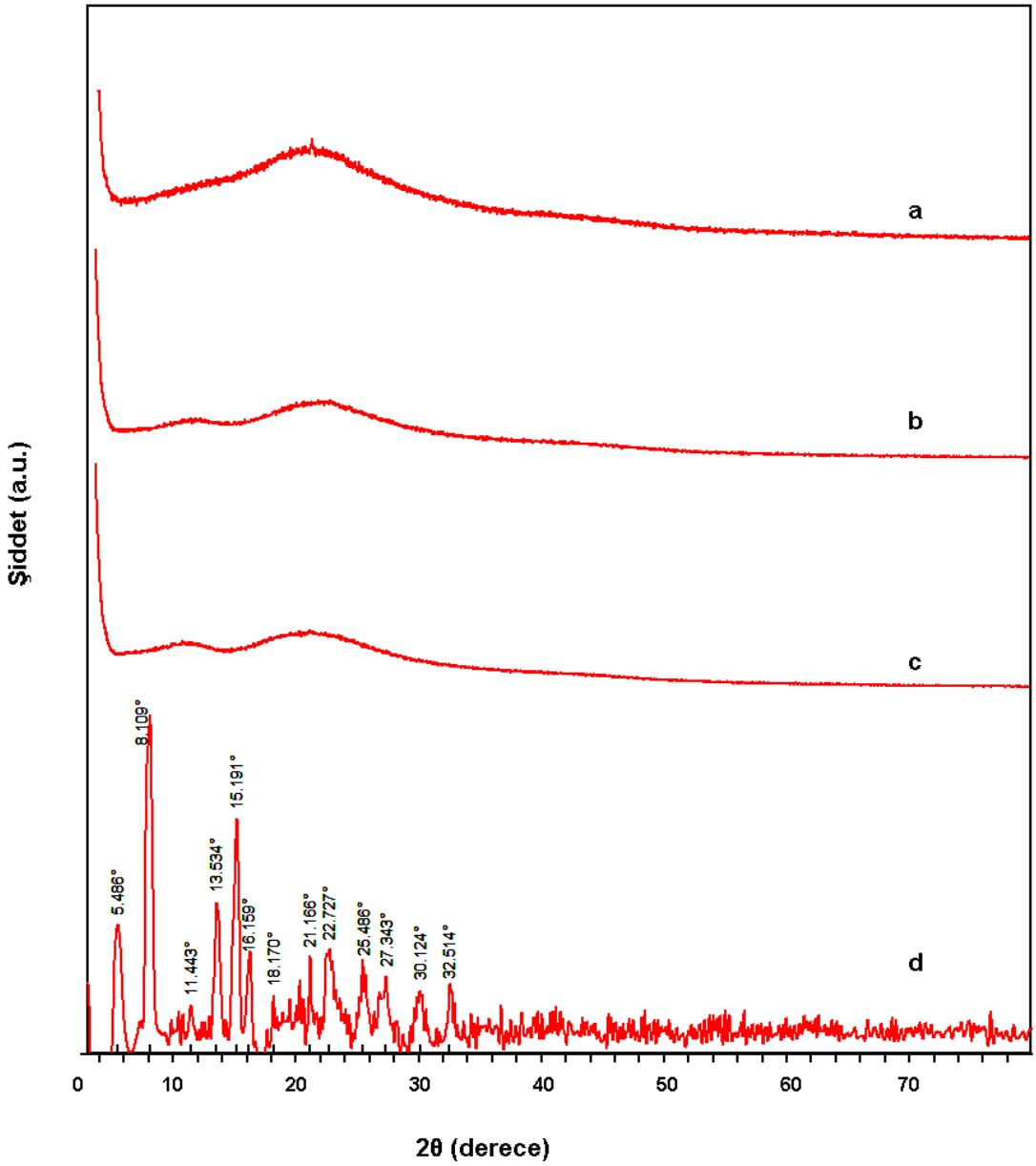


Şekil 4. 5. Boş ve ilaç (0.04 g) yüklü hidrojellerin SEM görüntüleri a) Boş kitosan/HP-β-CD hidrojeli, b) Isentress yüklü hidrojel c) Evasif yüklü hidrojel d) Tenofovir disoproksil fumarat yüklü hidrojel

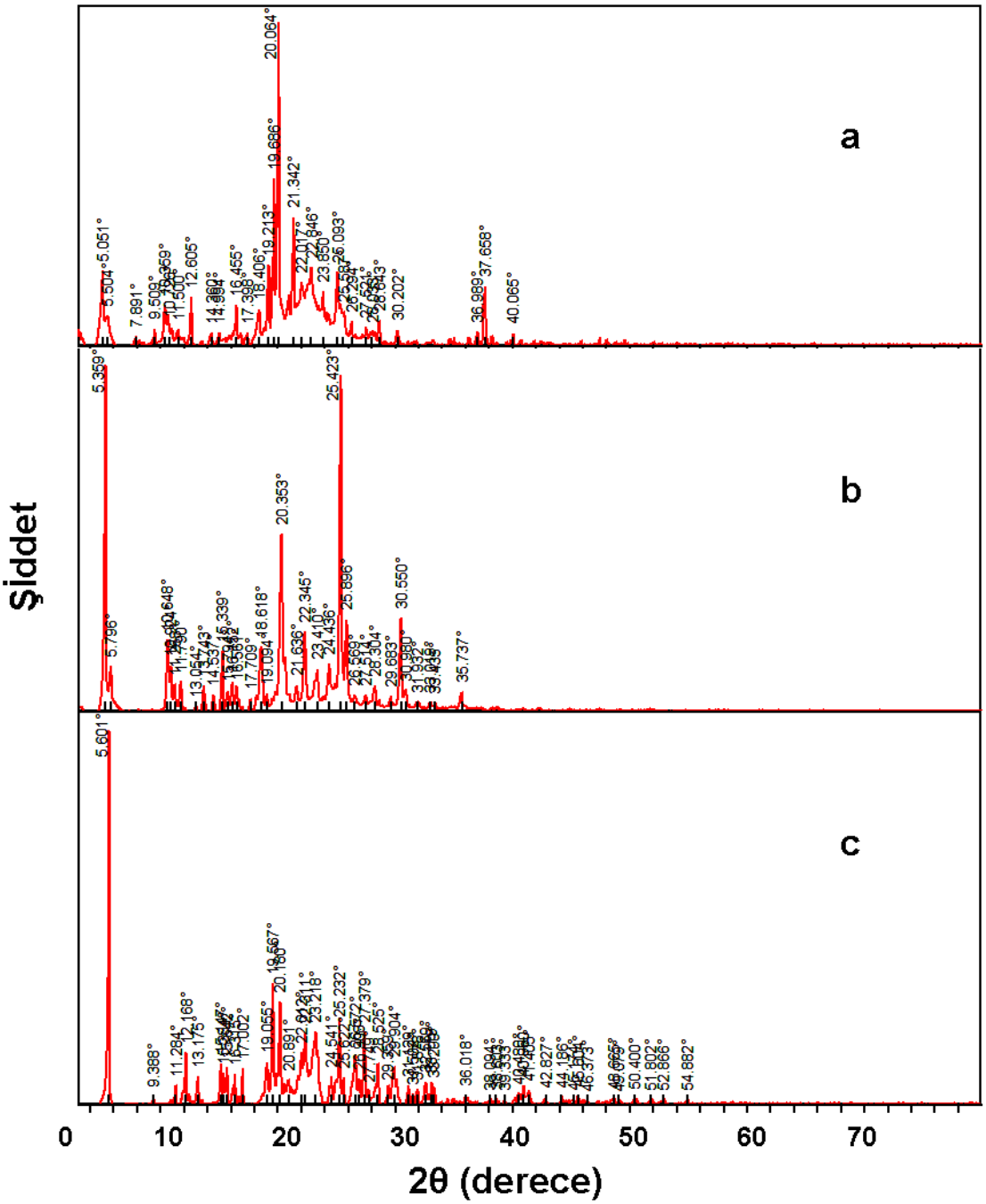
4.2.3. Hidrojellerin XRD Analiz Sonucu

Şekil 4.6, boş ve ilaç yüklü kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin X-ışını kırınım modellerini göstermektedir. Boş kitosan/HP-β-CD hidrojelinin X-ışını kırınım modeli 2θ=20° civarında tek bir geniş amorf pik sergilemektedir (Şekil 4.6a). Tenofovir disoproksil fumarat ve Tenofovir hammaddesini içeren Evasif yüklü kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin XRD spektrumunda 11° ve 21° civarında biri küçük biri büyük iki amorf pik görülmektedir (Şekil 4.6b,c). Raltegravir etken maddesini içeren Isentress yüklü kitosan/HP-β-CD hidrojelinin XRD spektrumu ise ilaç moleküllerinden dolayı oldukça kristalin bir yapı sergilemektedir (Şekil 4.6d).

Antiviral ilaçlar, Isentress, Evasif ve Tenofovir disoproksil fumarat'ın XRD spektrumları Şekil 4.7'de verilmektedir. Antiviral ilaçların hepsi içerisinde barındırdıkları moleküller nedeniyle oldukça kristalin bir yapı sergilemektedir. İlaçların XRD spektrumu kristalin yapıyı temsil eden çok sayıda ve keskin pikler vermiştir.



Şekil 4. 6. Boş ve antiviral ilaç (0.04g) yüklü hidrojellerin X-ışını kırınım modelleri a) Boş kitosan/HP-β-CD hidrojeli, b) Tenofovir disoproksil fumarat yüklü hidrojel, c) Evasif yüklü hidrojel, d) Isentress yüklü hidrojel



Şekil 4. 7. Antiviral ilaçların X-ışını kırınım modelleri. a) Tenofovir disoproksil fumarat, b) Evasif, d) Isentress

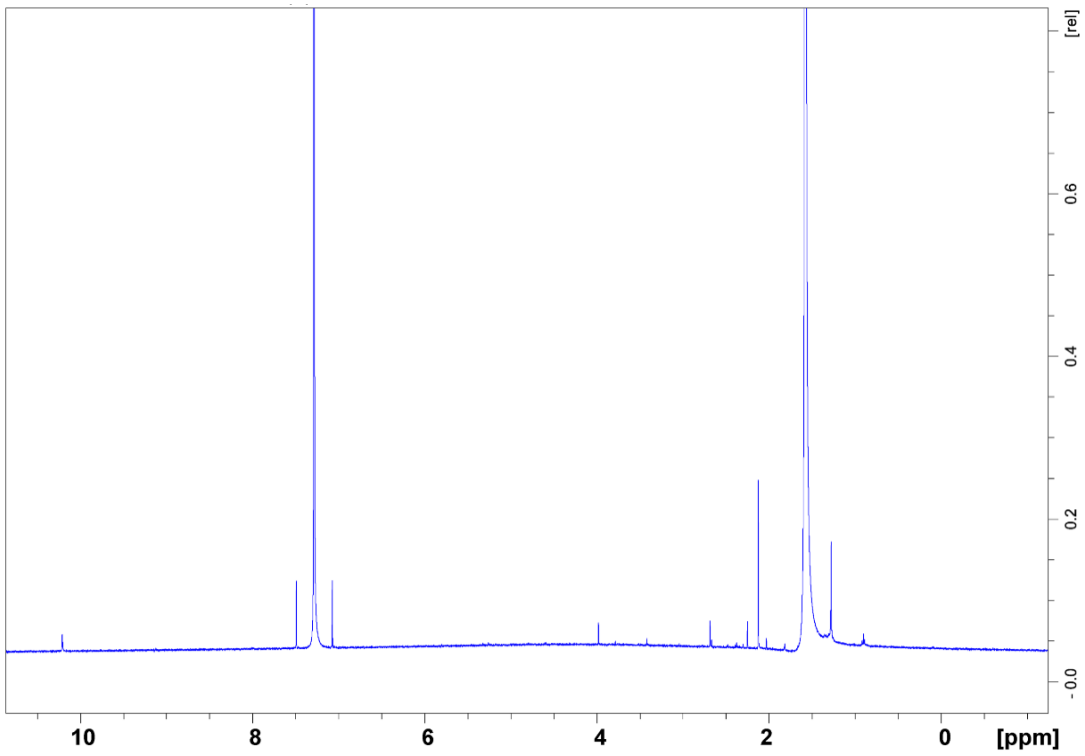
4.2.4. Hidrojellerin ^{1}H-NMR Analiz Sonucu

Sentezlenen kitosan/HP-β-CD hidrojelinin yapısını ortaya koymak ve jellerin antiviral ilaçlarla etkileşimini doğrulamak için ^{1}H-NMR spektroskopisi analizi kullanıldı. Boş ve antiviral ilaç yüklü kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin ve ayrıca antiviral ilaçlar Evasif, Tenofovir disoproksil fumarat ve Isentress'in ^{1}H-NMR spektrumları Şekil 4.8, Şekil 4.9, Şekil 4.10, Şekil 4.11 ve Şekil 4.12'de verilmektedir. Boş hidrojelin NMR spektrumunda, gözlenen 7.27 ppm civarındaki uzun pik çözücü olarak kullanılan $CDCl_3$ (Dötero kloroform)'e aittir. 10 ppm civarında gözlenen azalmış sinyal ise gluteraldehitten kaynaklanmaktadır. Kitosanın N-asetil grubuna ait hidrojenlerin 2 ppm civarında sinyal verdiği görülmektedir. Kitosanın glukozamin gruplarının protonlarına ait sinyallerin de 3 ppm ile 4 ppm arasında zayıf sinyaller şeklinde olduğu görülmektedir. HP-β-CD'e ait sinyallerde 1 ppm civarindaki NMR sinyali hidroksipropil grubunun CH_3 protonlarına ait olabilir. Ayrıca, 3 ve 4 ppm arasındaki pikler de hem HP-β-CD'e hem de kitosanın glukozamin ve N-asetilglukozamin gruplarına ait sinyallere işaret etmektedir. Kitosan ve HP-β-CD her ikisi de karbonhidrat türevi olduğundan muhtemelen bunların protonlarına ait sinyaller birbirine yakın olabilir veya çakışabilir.

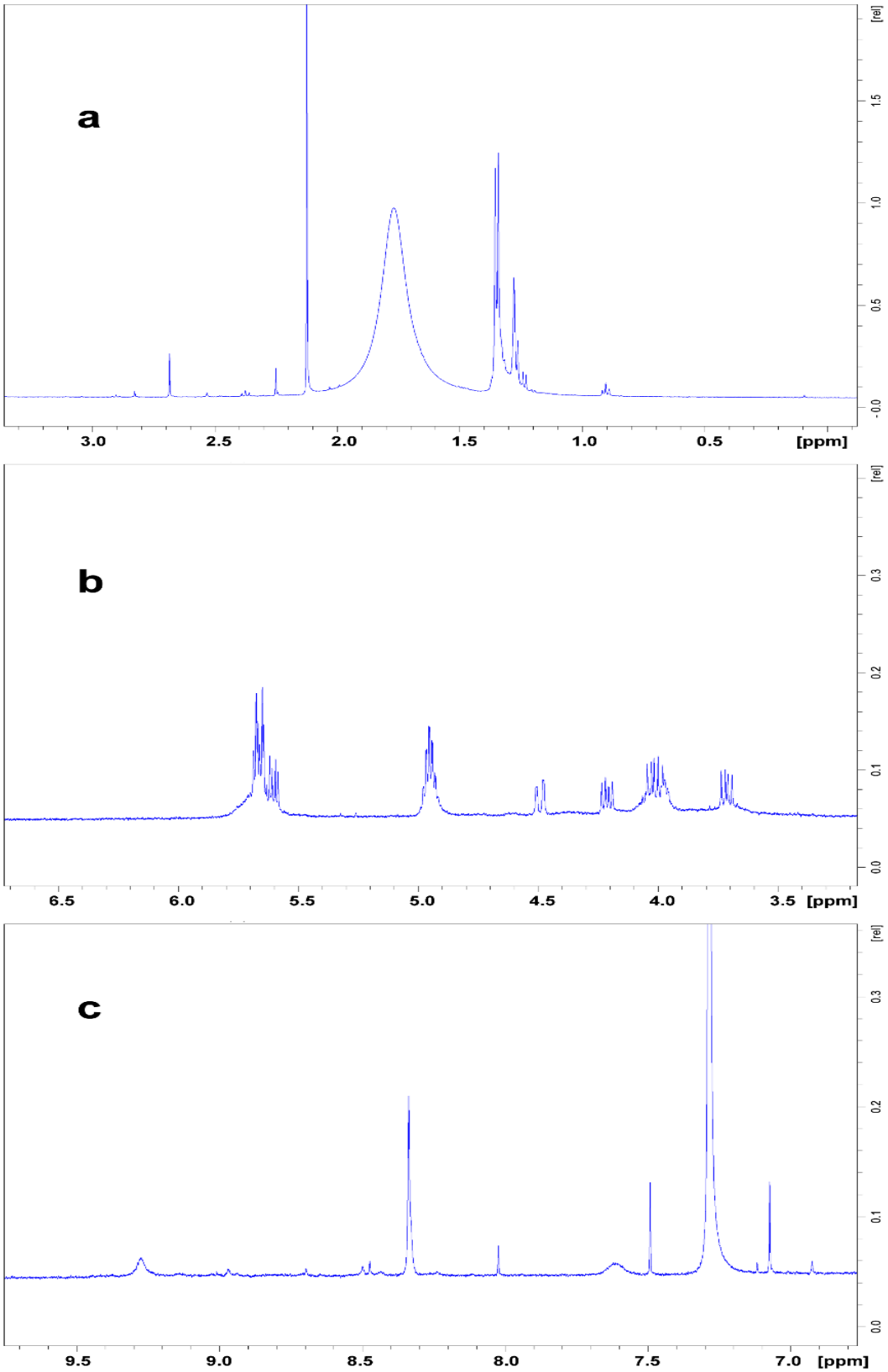
Antiviral ilaçların karmaşık kimyasal yapılarından dolayı NMR spektrumlarında çok sayıda ve çeşitli sinyaller göze çarpmaktadır. Antiviral ilaçlardan Evasif 1.4 ppm de zayıf, 1.8 ppm de bölünmüş ve çakışmış şiddetli sinyaller vermektedir. Aynı şekilde 3.5 ppm ile 6 ppm arasında 6 adet bölünmüş pik vermektedir. Bunun haricinde 7.2 ppm civarında çözüye ait sinyal ve 8.3 ppm civarında başka şiddetli bir pik vermektedir. Tenofovir disoproksil fumarat'ın NMR spektrumu etken maddesi Tenofovir olan Evasif ilacıyla aynı ppm'lerde sinyal vermiştir. Bunların dışında 8.7 ppm civarında azalmış bir sinyal de göze çarpmaktadır. Diğer antiviral ilaç raltegravir ise 0.5 ppm ile 4.7 ppm arasında zayıf ve şiddetli pikler vermiştir. Bunlardan 1.8 ppm ve 3.7 ppm civarindaki sinyalerin şiddeti yüksektir. Bunların yanı sıra 7 ve 8.5 ppm arasında ve 12 ppm de sinyaller gözlenmiştir.

Evasif ve Tenofovir disoproksil fumarat yüklü hidrojellerin ^{1}H-NMR sinyalleri hemen hemen birbirinin aynıdır. Bu sinyallerden 3.5 ppm ile 6.5 ppm arasındaki bölünmüş pikler antiviral ilaçlar Evasif ve Tenofovir disoproksil fumarattan

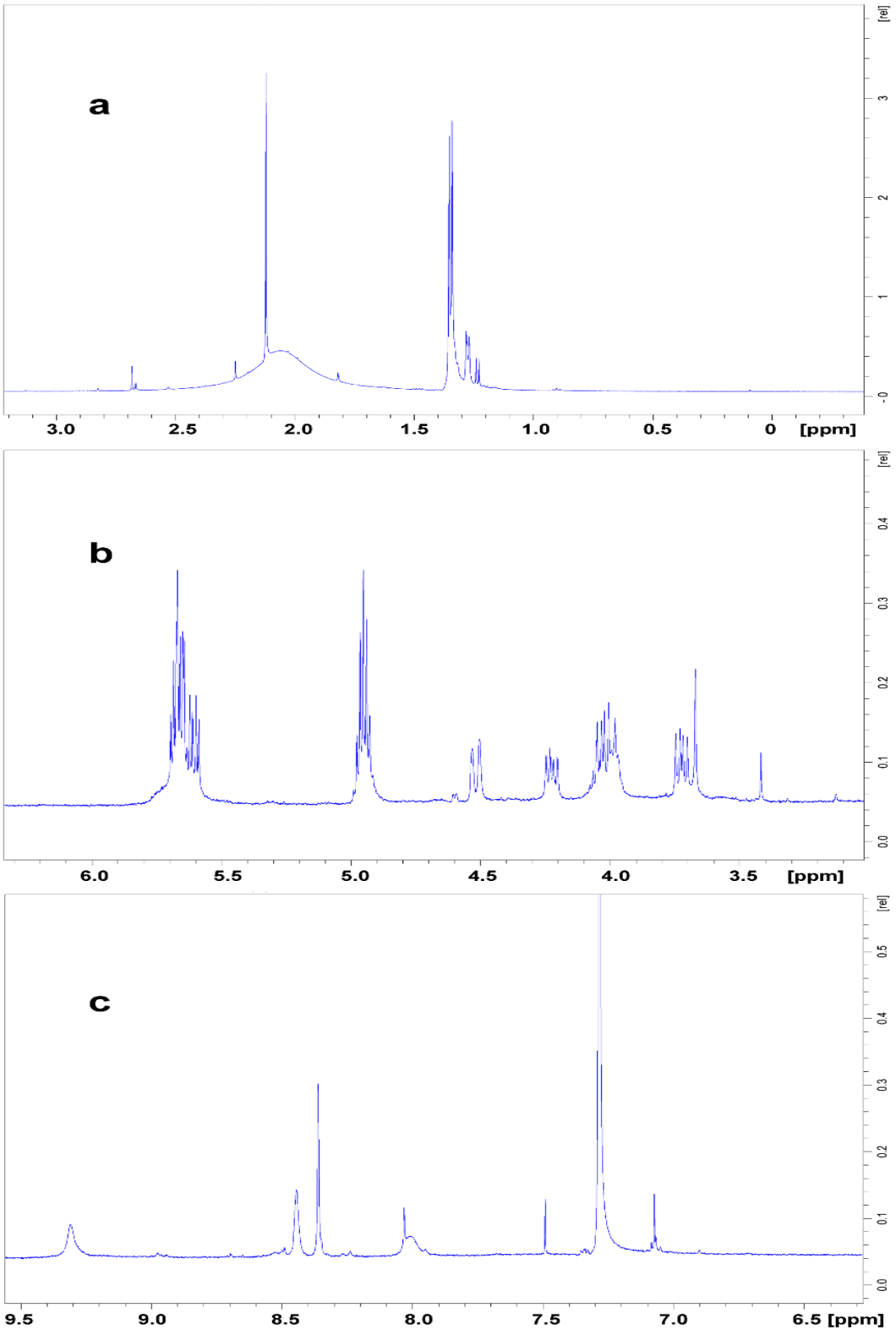
kaynaklanmaktadır. Evasif yüklü hidrojeldeki 1.8 ppm de görülen geniş pik hidroksil (OH) grubuna ait olabilir. Isentress yüklü hidrojelin NMR sinyalleri de Isentress ilacınınkiyle benzerlik göstermekle birlikte, pik kaymaları görülmektedir. İlaç yüklü hidrojellerin protonlarının verdiği sinyaller, sentezlenen kitosan/HP-β-CD hidrojeline ve jele yüklenmiş ilaçlara ait protonların sinyallerinin çakıştığına işaret etmektedir. Antiviral ilaç yüklü kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin ^{1}H-NMR spektrumları antiviral ilaçların hidrojel içerisindeki varlığını doğrulamaktadır.



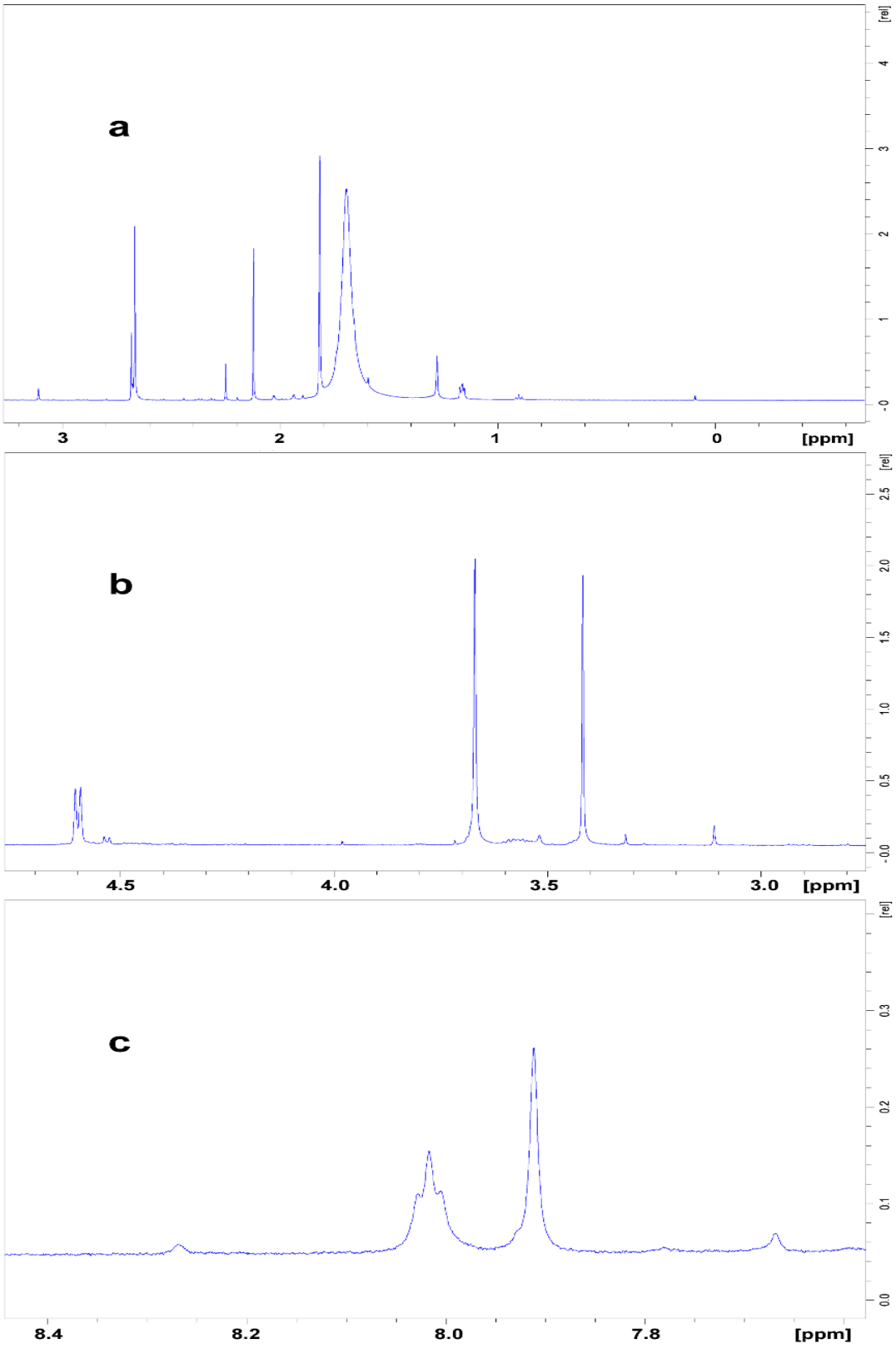
Şekil 4. 8. Kitosan/HP-β-CD hidrojelinin NMR spektrumu



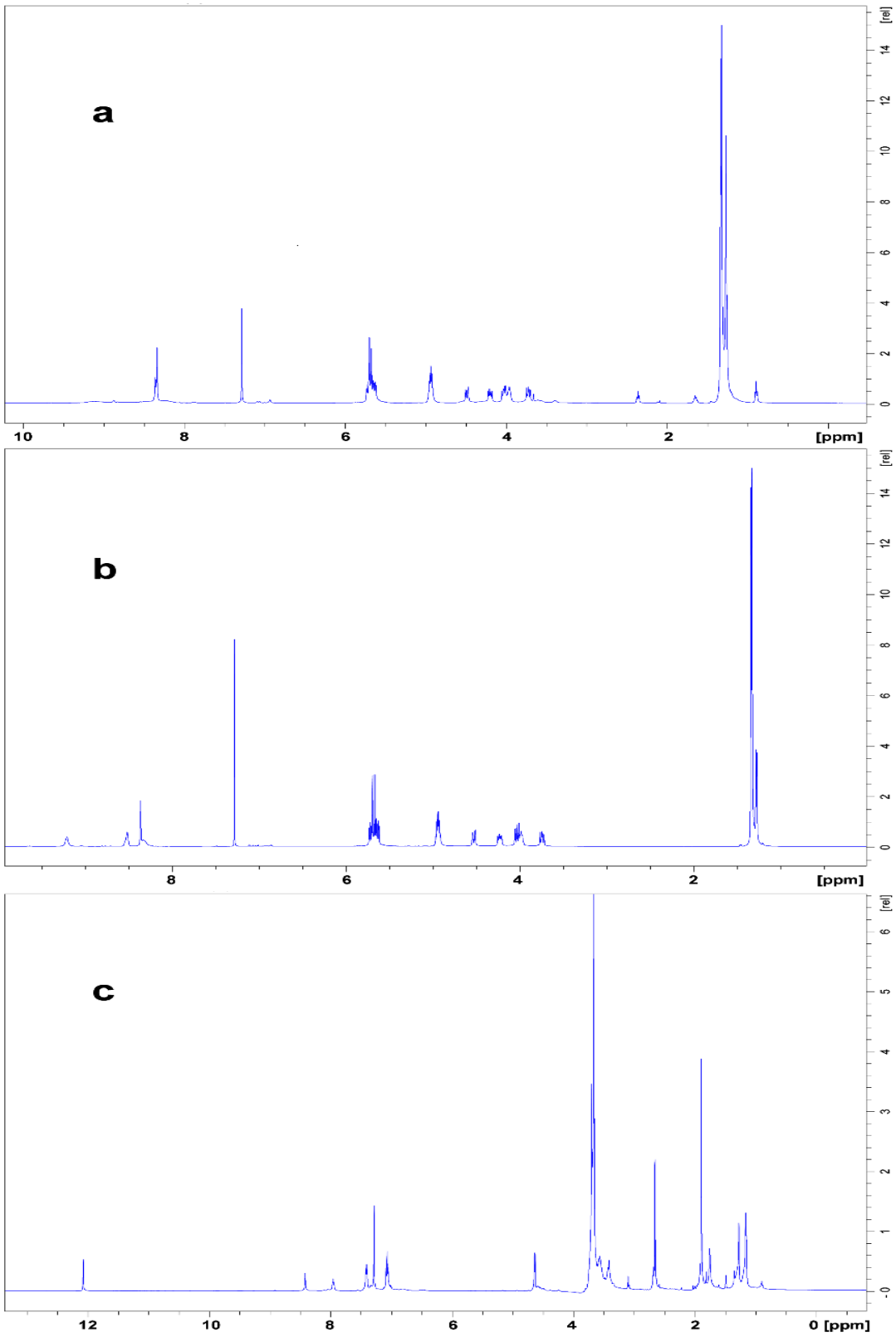
Şekil 4. 9. Evasif (0.04 g) yüklü kitosan/HP-β-CD hidrojelinin NMR spektrumu



Şekil 4. 10. Tenofovir disoproksil fumarat (0.04 g) yüklü kitosan/HP-β-CD hidrojelinin NMR spektrumu



Şekil 4. 11. Isentress (0.04 g) yüklü kitosan/HP-β-CD hidrojelinin NMR spektrumu



Şekil 4. 12. Antiviral ilaçların NMR spektrumları a) Evasif, b) Tenofovir disoproksil fumarat, c) Isentress

4.3. Sentezlenen Kitosan/HP-β-CD Hidrojellerinin Fonksiyonelite Test Sonuçları

4.3.1. Hidrojellerin Jelleşme Yüzdesi (%)

Kitosan polimeri ile jel oluşturması için 0.02 g, 0.03 g ve 0.04 g olacak şekilde farklı oranlarda HP-β-CD kullanılarak hidrojeller hazırlanmıştır. Sentezlenen kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin jelleşme ölçüm sonuçları Çizelge 4.2, Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4'te verilmektedir. Tablolar incelendiğinde, sentezlenen hidrojellerin jelleşme oranlarının %52 ile %78.99 arasında değiştiği görülmektedir.

Çizelge 4. 2. 0.02 g HP-β-CD içeren kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin jelleşme oranı

Hidrojel	**Jelleşme (%)**
1. parça	%69.58
2. parça	%77.10
3. parça	%78.07
4. parça	%75.63
5. parça	%75.32

Çizelge 4. 3. 0.03 g HP-β-CD içeren kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin jelleşme oranı

Hidrojel	**Jelleşme (%)**
1. parça	%70.5
2. parça	%70.22
3. parça	%70.22
4. parça	%59.25

Çizelge 4. 4. 0.04 g HP-β-CD içeren kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin jelleşme oranı

Hidrojel	**Jelleşme (%)**
1. parça	%70.38
2. parça	%78.99

3. parça %52.49
4. parça %72.72

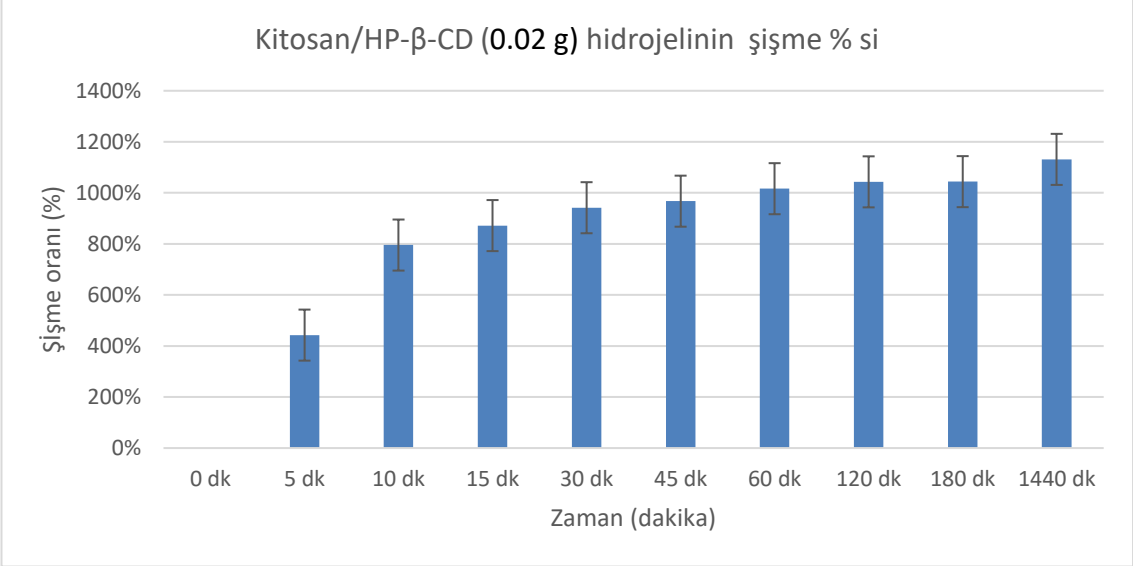
4.3.2. Hidrojellerin Şişme Yüzdesi (%)

Sentezlenen kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin saf suda şişme deneyi sonuçları Çizelge 4.5, Çizelge 4.6, ve Çizelge 4.7'de ve ayrıca Şekil 4.13, Şekil 4.14 ve Şekil 4.15'de verilmektedir. 0.02 g HP-β-CD içeren hidrojel kendi kuru ağırlığının 9 katı ile 16 katı arasında şişme göstermiştir. 0.03 g HP-β-CD içeren hidrojel kendi kuru ağırlığının 11,6-18,7 katı kadar şişmiştir. 0.04 g HP-β-CD içeren hidrojel ise kuru ağırlığının 18.9-21.74 katı kadar şişme göstermiştir. Kitosan hidrojele eklenen HP-β-CD oranındaki artışa bağlı olarak hidrojellerin şişme kapasitesi artmıştır. HP-β-CD miktarı en yüksek (0.04 g) olan hidrojel en yüksek şişme kapasitesine sahiptir. Genel olarak, sentezlenen hidrojeller hem kitosan hem de HP-β-CD kopolimerlerinin yüksek su tutma kapasiteleri nedeniyle oldukça yüksek bir şişme oranı sergilemişlerdir.

Çizelge 4. 5. 0.02 g HP-β-CD içeren kitosan/HP-β-CD hidrojelinin saf suda şişme yüzdesi

Zaman (dk)	**Hidrojelin şişme yüzdesi (%)**				
	1. parça	**2. parça**	**3. parça**	**4. parça**	**5. parça**
0 dk	%0	%0	%0	%0	%0
5 dk	%536.42	%820.31	%390.53	%322.81	%143.10
10 dk	%826.49	%1115.10	%869.40	%612.75	%553.44
15 dk	%912.58	%1158.33	%931.23	%665.10	%691.37
30 dk	%950.99	%1288.54	%1029.02	%716.10	%724.13
45 dk	%997.35	%1322.39	%1064.66	%709.39	%743.10
60 dk	%1018.54	%1388.02	%1125.86	%745.63	%803.44
120 dk	%1083.44	%1422.39	%1163.09	%763.75	%782.75
180 dk	%1047.68	%1438.54	%1149.21	%777.18	%806.89

1440 dk	%1121.19	%1557.81	%1225.23	%813.42	%937.93

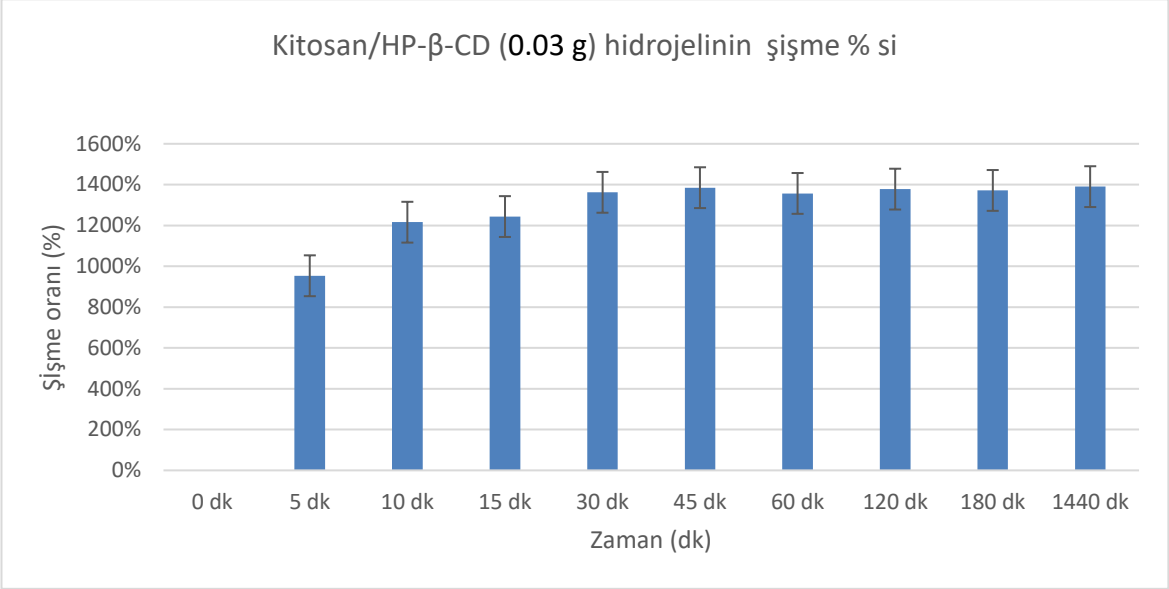


Şekil 4. 13. 0.02 g HP-β-CD içeren kitosan/HP-β-CD hidrojelinin saf suda ortalama şişme indeksi

Çizelge 4. 6. 0.03 g HP-β-CD içeren kitosan/HP-β-CD hidrojelinin saf suda şişme yüzdesi

Zaman (dk)	**Hidrojelin şişme yüzdesi (%)**			
	1. parça	**2. parça**	**3. parça**	**4. parça**
0 dk	%0	%0	%0	%0
5 dk	%778.57	%885.92	%967.38	%1182.24
10 dk	%1243.21	%1161.01	%1079.57	%1379.88
15 dk	%1148.57	%1250.18	%1088.17	%1487.57
30 dk	%1255	%1455.23	%1201.07	%1537.87
45 dk	%1141.07	%1664.98	%1179.57	%1554.43
60 dk	%997.50	%1561.37	%1245.16	%1623.66
120 dk	%1006.07	%1684.11	%1198.56	%1623.07

180 dk	%1050.71	%1539.71	%1263.44	%1632.54
1440 dk	%1067.85	%1441.51	%1275.26	%1775.74

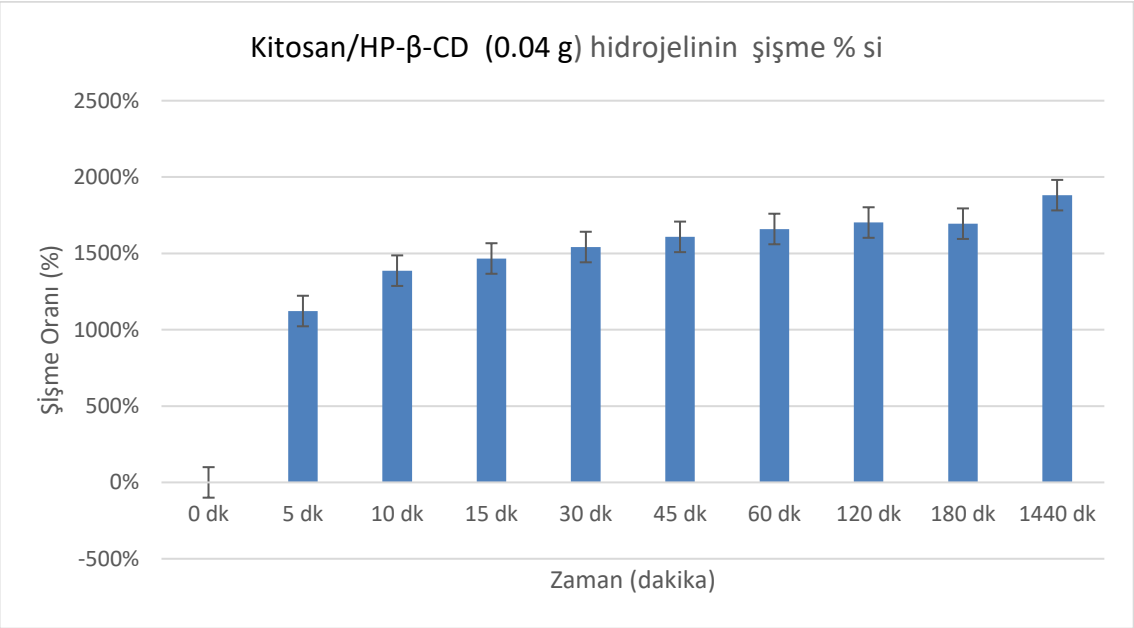


Şekil 4. 14. 0.03 g HP-β-CD içeren kitosan/HP-β-CD hidrojelinin saf suda ortalama şişme indeksi

Çizelge 4. 7. 0.04 g HP-β-CD içeren kitosan/HP-β-CD hidrojelinin saf suda şişme yüzdesi

Zaman (dk)	**Hidrojelin şişme yüzdesi (%)**			
	1. parça	**2. parça**	**3. parça**	**4. parça**
0 dk	%0	%0	%0	%0
5 dk	%985.79	%1003.60	%1286.06	%1214.28
10 dk	%1296.99	%1406.75	%1477.86	%1365.56
15 dk	%1446.72	%1460.81	%1521.31	%1436.99
30 dk	%1488.79	%1558.55	%1581.97	%1537.36
45 dk	%1578.68	%1593.69	%1638.53	%1621.97
60 dk	%1646.17	%1654.05	%1670.49	%1668.49

120 dk	%1701.09	%1634.68	%1760.65	%1711.72
180 dk	%1703.00	%1692.11	%1742.62	%1640.65
1440 dk	%2074.04	%1840.31	%1795.08	%1816.11



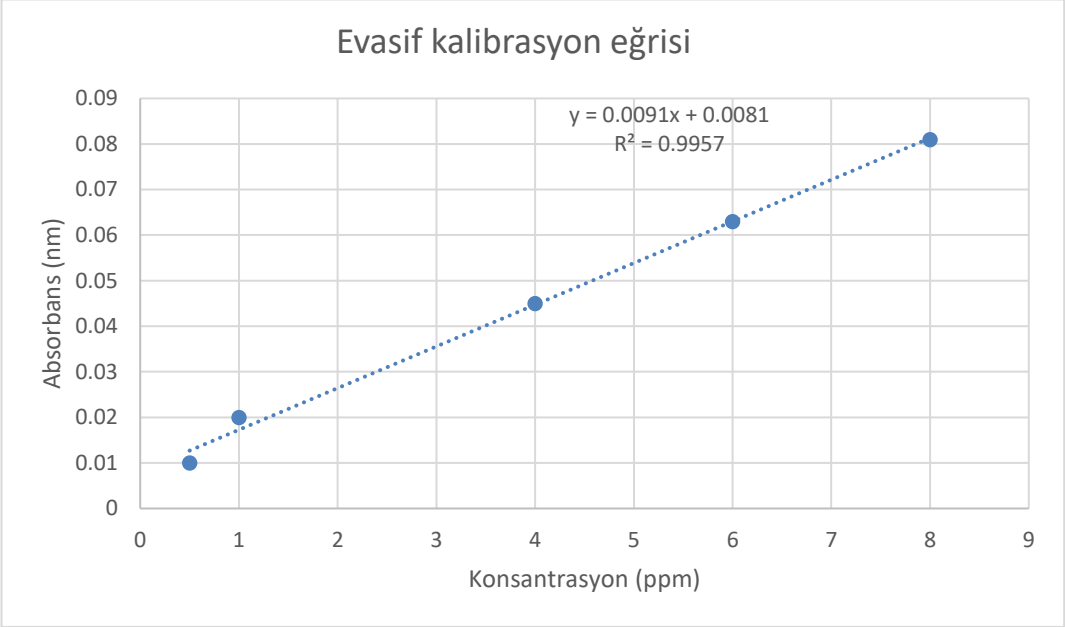
Şekil 4. 15. 0.04 g HP-β-CD içeren kitosan/HP-β-CD hidrojelinin saf suda ortalama şişme indeksi

4.3.3. Antiviral İlaçların Standart Kalibrasyon Eğrileri

Antiviral ilaçlar çözücüleri içerisinde UV spektrometrede 200-400 nm de okunarak maksimum absorbans değerleri (λ_{max}) Tenofovir diproksil fumarat ve etken maddesi Tenofovir olan Evasif için 261 nm ve etken maddesi Raltegravir olan Isentress için 280 nm olarak belirlendi. İlaçların kalibrasyon eğrileri çeşitli konsantrasyonlardaki (ppm) ilaç çözeltilerinin UV spektrofotometrede belirlenen dalga boylarında okutulmasıyla elde edilen değerler doğrultusunda hazırlandı (Çizelge 4.8, Çizelge 4.9 ve Çizelge 4.10 ve Şekil 4.16, Şekil 4.17 ve Şekil 4.18).

Çizelge 4. 8. Evasif'in maksimum dalga boyundaki (261 nm) absorbans değerleri

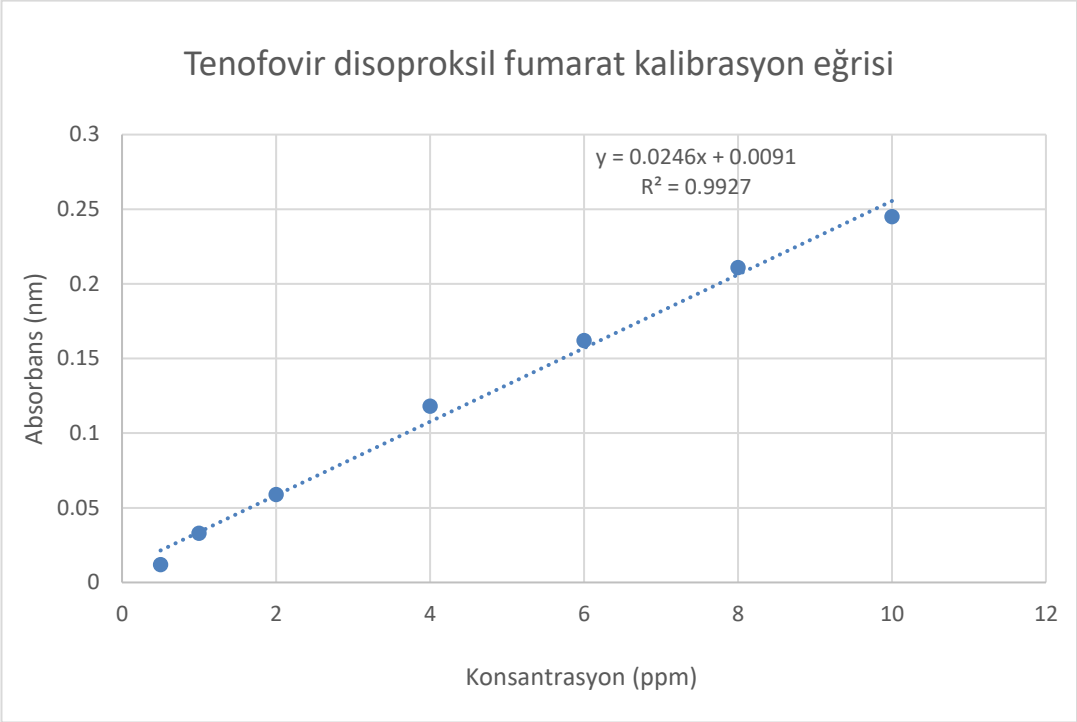
Konsantrasyon (ppm)	Absorpsiyon	Dalga boyu (nm)
0.5 ppm	0.01	261 nm
1 ppm	0.02	261 nm
4 ppm	0.045	261 nm
6 ppm	0.063	261 nm
8 ppm	0.081	261 nm
10 ppm	0.109	261 nm



Şekil 4. 16. Evasif ilacı kalibrasyon eğrisi

Çizelge 4. 9. Tenofovir diproksil fumarat'ın maksimum dalga boyundaki (261 nm) absorbans değerleri

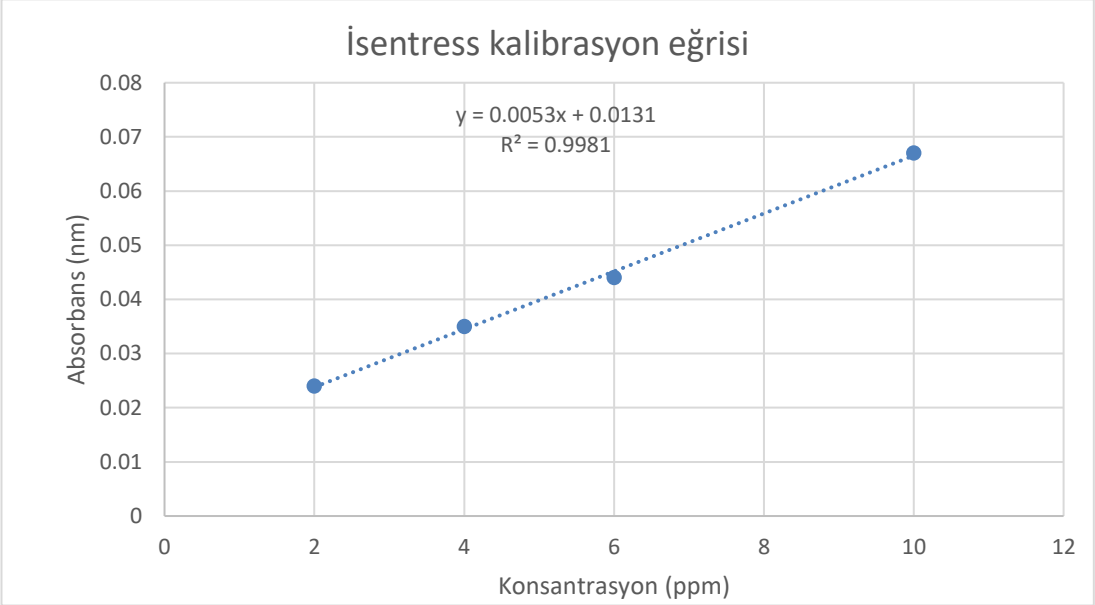
Konsantrasyon (ppm)	**Absorpsiyon**	**Dalga boyu (nm)**
0.5 ppm	0.012	261 nm
1 ppm	0.033	261 nm
2 ppm	0.059	261 nm
4 ppm	0.118	261 nm
6 ppm	0.162	261 nm
8 ppm	0.211	261nm
10 ppm	0.245	261 nm



Şekil 4. 17. Tenofovir diproksil fumarat'ın kalibrasyon eğrisi

Çizelge 4. 10. Isentres'in maksimum dalga boyundaki (280 nm) absorbans değerleri

Konsantrasyon (ppm)	Absorpsiyon	Dalga boyu (nm)
2 ppm	0.024	280 nm
4 ppm	0.035	280 nm
6 ppm	0.044	280 nm
10 ppm	0.067	280 nm



Şekil 4. 18. Isentres'in kalibrasyon eğrisi

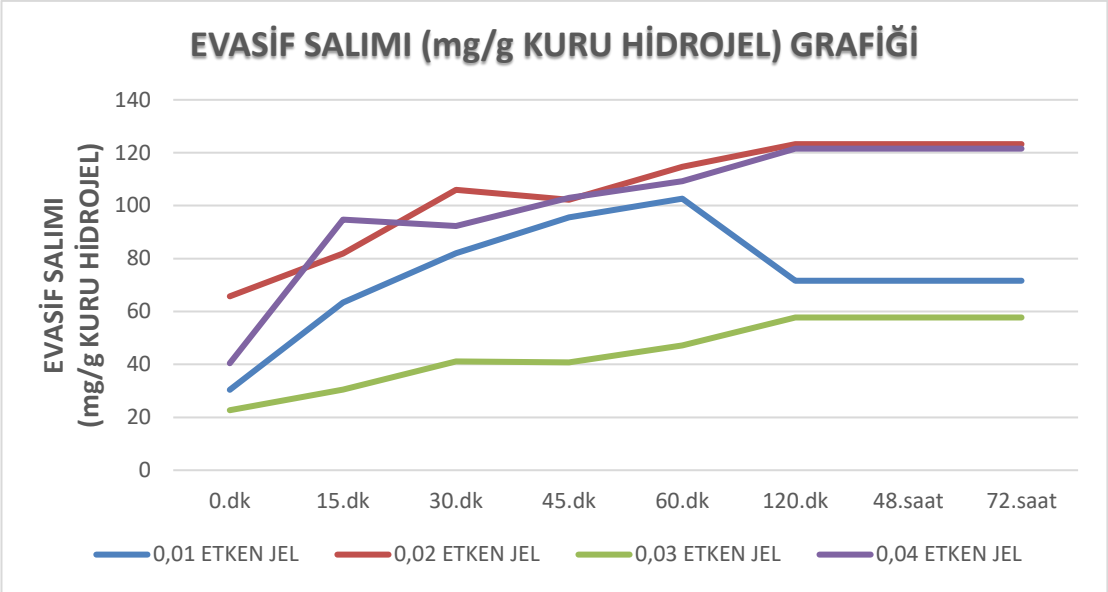
4.3.4. Hidrojellere ilaç yükleme ve ilaç salımı

Sentez esnasında 0.01 g, 0.02 g, 0.03 g ve 0.04 g antiviral ilaç yüklenmiş hidrojellerin fosfat tampon çözeltisinde (PBS) pH: 7,4'teki ilaç salım davranışları Çizelge 4.10, Çizelge 4.11 ve Çizelge 4.12'de ve ayrıca Şekil 4.19, Şekil 4.20, Şekil 4.21, Şekil 4.22, Şekil 4.23 ve Şekil 4.24'te verilmektedir. Sentezlenen kitosan/HP-β-CD hidrojeline 0.01 g ve 0.02 g olarak yüklenen Evasif ilacının ilk 15 dakika içerisinde hızlı bir salımla %100 lük salım oranına ulaştığı görülmektedir. 0.03 g ve 0.04 g Evasif

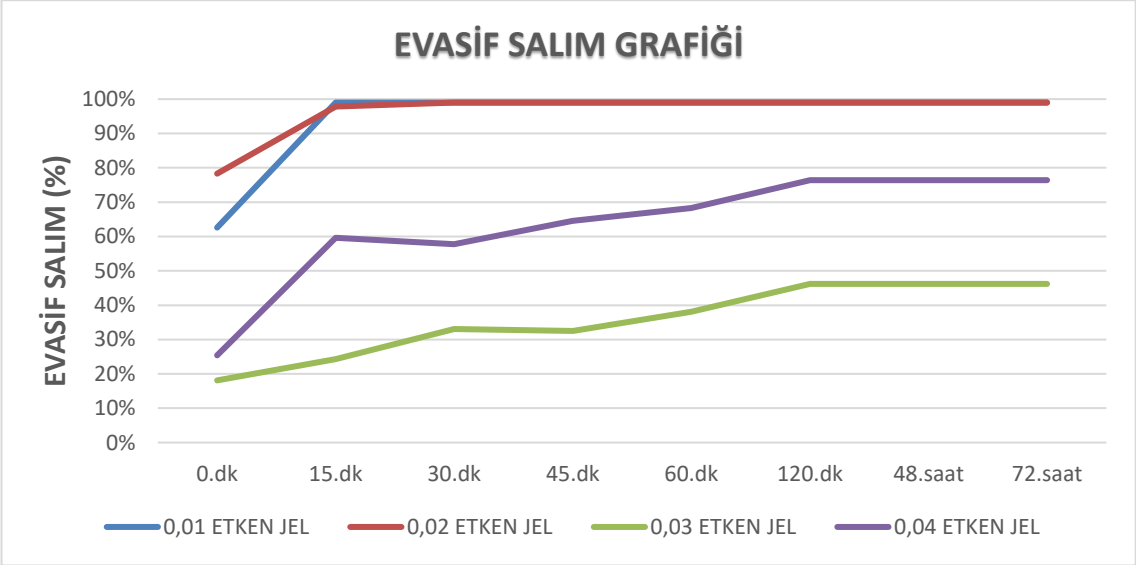
yüklenen hidrojellerde ise ilaç salımının daha kontrollü olduğu ve 120.ci dakika 0.03 g Evasif içeren hidrojelin %50 ve 0.04 g Evasif içeren hidrojelin %80 salım oranlarıyla dengeye ulaştıkları görülmektedir. Tenofovir disoproksil fumarat yüklü kitosan/HP-β-CD hidrojelinde ilaç salım miktarları zamana bağlı olarak kademeli olarak artmış ve 48.ci saatte dengeye ulaşmıştır. Farklı konsantrasyonlarda (0.01 g, 0.02 g, 0.03 g ve 0.04 g) Tenofovir disoproksil fumarat içeren bütün hidrojellerin ilaç salım dinamikleri birbirine benzerlik göstermektedir. Isentres yüklü hidrojellerdeki salım oranları ise 45.ci dakikaya kadar oldukça az olup, bu dakikadan sonra artış göstermiştir. 0.04 g Isentres yüklü hidrojelde ilk 15 dakika içinde, 0.02 g Isentress yüklü hidrojelde ise ilk 30 dakika boyunca ilaç salımı gözlenmemiştir. İlaç salım oranı 60.cı dakika ve 48.ci saatler arasında hızlı bir artış göstermiş ve 48.ci saatten sonra dengeye ulaşmıştır.

Çizelge 4. 11. Evasif yüklü hidrojellerin zamana göre ilaç salım miktarları (pH: 7.4 ve 37°C)

Evasif salımı (mg ilaç/g kuru jel)								
Zaman	**0.dk**	**15.dk**	**30.dk**	**45.dk**	**60.dk**	**120.dk**	**48.saat**	**72.saat**
0.01 ETKEN JEL	30.3875	63.4204	82.0411	95.5320	102.6386	71.6180	71.6180	71.6180
0.02 ETKEN JEL	65.7255	81.9147	105.953	102.273	114.6610	123.2462	123.2462	123.2462
0.03 ETKEN JEL	22.6722	30.4610	41.1283	40.7897	47.2239	57.7219	57.7219	57.7219
0.04 ETKEN JEL	40.4300	94.7261	92.3466	102.946	109.2195	121.5497	121.5497	121.5497



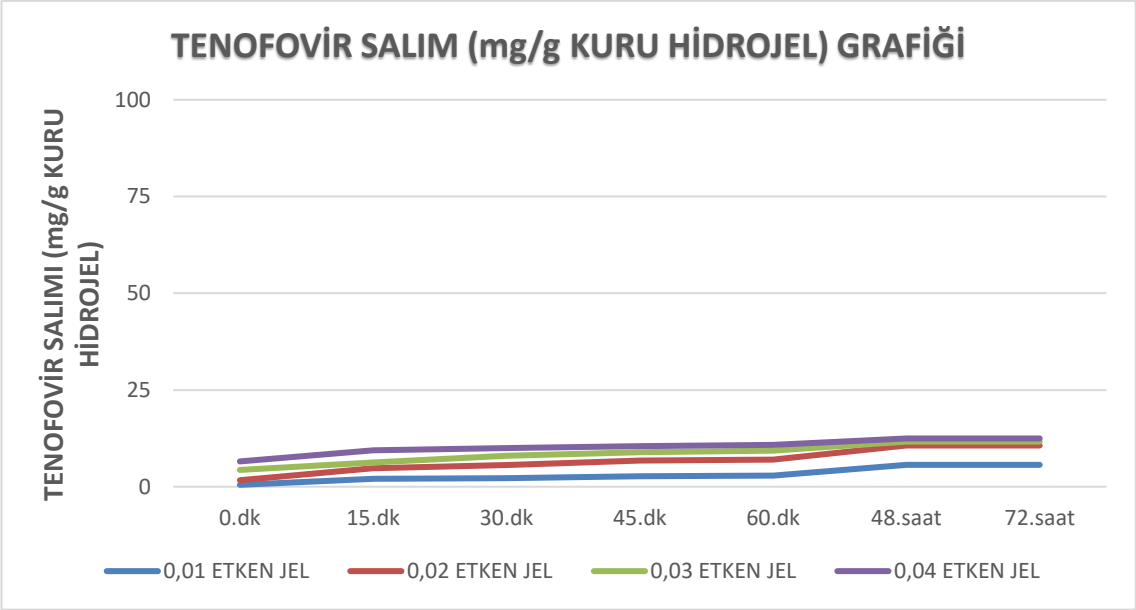
Şekil 4. 19. Kitosan/HP-β-CD hidrojelinin Evasif salım grafiği (37°C, pH: 7.4)



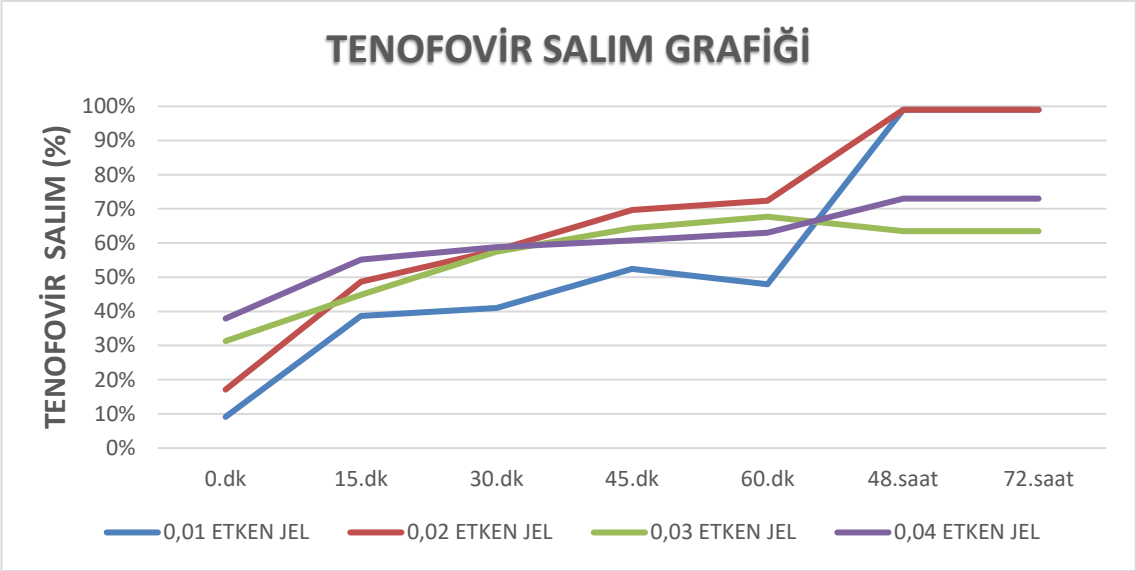
Şekil 4. 20. Kitosan/HP-β-CD hidrojelinin Evasif salım grafiği (37°C, pH: 7.4)

Çizelge 4. 12. Tenofovir disoproksil fumarat yüklü hidrojellerin zamana göre ilaç salım miktarları (pH: 7.4 ve 37°C

Tenofovir disoproksil fumarat salımı (mg ilaç/g kuru jel)							
Zaman	**0.dk**	**15.dk**	**30.dk**	**45.dk**	**60.dk**	**48.saat**	**72.saat**
0.01 ETKEN JEL	0.4896	2.0211	2.1913	2.7207	2.8909	5.6513	5.6513
0.02 ETKEN JEL	1.6857	4.7524	5.5963	6.7489	6.9959	10.6596	10.6596
0.03 ETKEN JEL	4.3467	6.2563	8.0147	8.9411	9.3382	11.6638	11.6638
0.04 ETKEN JEL	6.5417	9.3971	10.0317	10.4679	10.7852	12.4707	12.4707



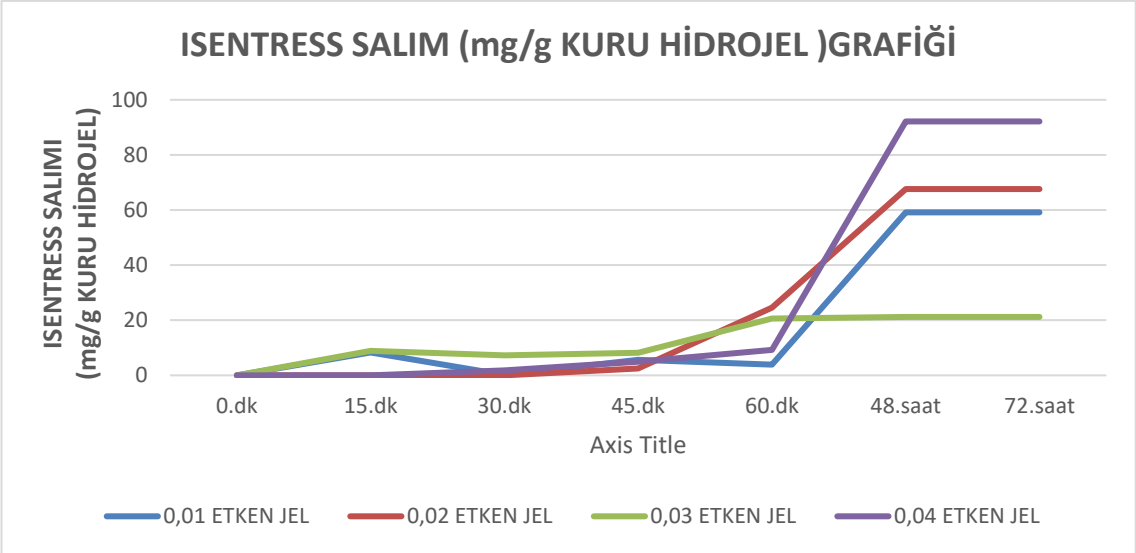
Şekil 4. 21. Kitosan/HP-β-CD hidrojelinin Tenofovir disoproksil fumarat salım grafiği (37°C, pH: 7.4)



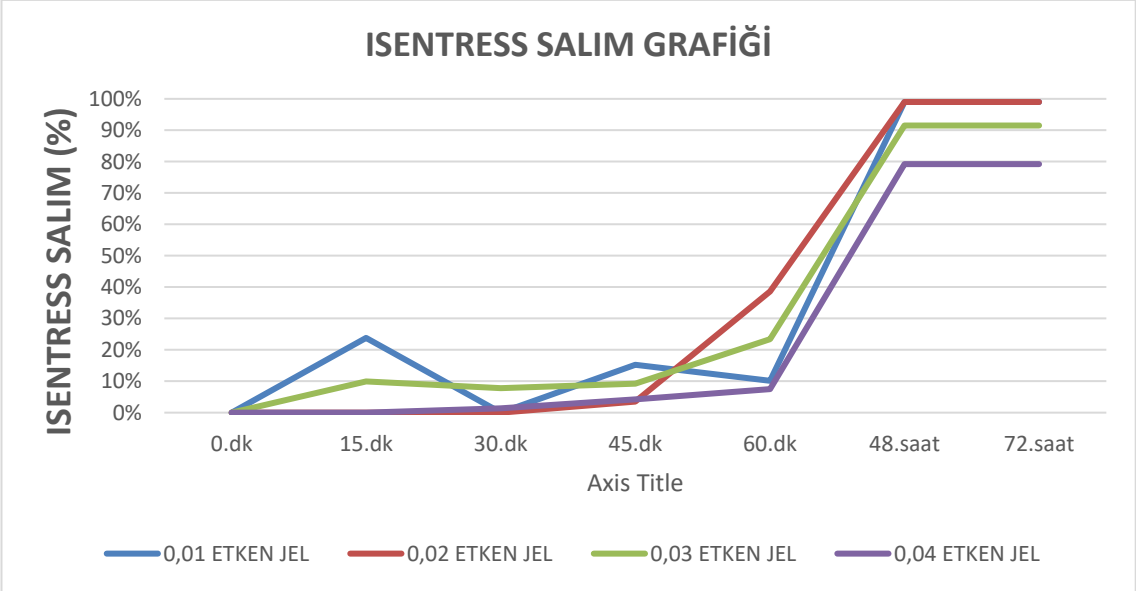
Şekil 4. 22. Kitosan/HP-β-CD hidrojelinin Tenofovir disoproksil fumarat salım grafiği (37°C, pH: 7.4)

Çizelge 4. 13. Isentres yüklü hidrojellerin zamana göre ilaç salım miktarları (pH: 7.4 ve 37°C)

Isentress salımı (mg ilaç/g kuru jel)							
Zaman	**0.dk**	**15.dk**	**30.dk**	**45.dk**	**60.dk**	**48.saat**	**72.saat**
0,01 ETKEN JEL	0	8.3053	0.1972	5.6757	3.9225	59.1457	59.145
0.02 ETKEN JEL	0	0	0	2.4877	24.5702	67.6170	67.6170
0,03 ETKEN JEL	0	8.8721	7.2334	8.1698	20.5768	21.2048	21.2048
0,04 ETKEN JEL	0	0	1.8352	4.9283	9.2586	92.1538	92.1538



Şekil 4. 23. Kitosan/HP-β-CD hidrojelinin Isentress salım grafiği (37°C, pH: 7.4)



Şekil 4. 24. Kitosan/HP-β-CD hidrojelinin Isentress salım grafiği (37°C, pH: 7.4)

BÖLÜM 5

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada kerevit *A. leptodactylus*'tan elde edilen kitosan ve HP-β-CD kullanılarak kitosan/HP-β-CD kopolimerik hidrojel sistemi hazırlanmış ve FTIR, SEM, XRD ve ^{1}H-NMR analizleriyle karakterize edilmiştir. Hazırlanan kitosan/HP-β-CD hidrojelinin fonksiyonel özellikleri incelenerek ilaç salım davranışları antiviral ilaçlar Isentress, Evasif ve Tenofovir disoproksil fumarat ile test edilmiştir.

Kerevit *A. leptodactylus'tan* elde edilen kitosanın FTIR spektrumu Çizelge 4.1 ve Şekil 4.3'te görülmektedir. Kerevit *A. leptodactylus* kitosanının FTIR pikleri Çizelge 4.1'te verilen ticari kitosanın absorpsiyon pikleriyle benzerlik göstermektedir. Ayrıca, Erdogan (2020) tarafından kerevit *A. leptodactylus*'tan üretilen kitosana ait 3356 cm^{-1}, 2867 cm^{-1}, 1654 cm^{-1}, 1591 cm^{-1}, 1420 cm^{-1}, 1375 cm^{-1}, 1320 cm^{-1}, 1149 cm^{-1}, 1056 cm^{-1}, 1022 cm^{-1} ve 890 cm^{-1} civarında gözlemlenen absorpsiyon spektrumları ile de benzerlik göstermektedir. Michailidou vd. (2021) kitosanın FTIR spektrumunda 3000–3600 cm^{-1}'deki geniş örtüşen tepe noktasının, O–H ve N–H bağlarının titreşimlerinden kaynaklandığını belirtmiştir. Yazarlar, 1651 cm^{-1} ve 1567 cm^{-1}'deki absorpsiyon bantlarının sırasıyla amid I ve II'ye atfedildiğini, 1421 cm^{-1}'deki bandın C–H ve O–H titreşimlerine, 1154 cm^{-1} deki bandın anti- C–O–C köprüsünün simetrik gerilmesine ve 1077 cm^{-1} deki bandın iskelet titreşimleri, C–O gerilmesine atfedildiğini bildirmişlerdir. FTIR spektrumunda kitosanı tanıtan karakteristik amid piklerinin gözlenmesi ve diğer çalışmalardaki kitosan pikleriyle olan uyumluluğu nedeniyle bu çalışmada kerevit *A. leptodactylus*'tan başarılı bir şekilde kitosan elde edildiği doğrulanmıştır.

Kerevit *A. leptodactylus*'tan elde edilen kitosanın viskozite ortalama moleküler ağırlığı 17.82 kDa olarak belirlenmiştir. Kaya vd. (2016) patates böceği ergin ve larvalarından sırasıyla 2.722 ve 2.676 kDa moleküler ağırlığa sahip kitosan üretirken, Gomes vd., (2021) kalamar türü *Loligo opalescens'*ten 206 kDa/Ma ve 294 kDa moleküler ağırlıklarda yüksek oranda saf β-kitosan elde etmişlerdir. Bir başka çalışmada kitosanın moleküler ağırlığının kitosan kaynağına bağlı olarak 200 ila 1000 kDa arasında değiştiği rapor edilmektedir (Joseph, Krishnamoorthy, Paranthaman, Moses & Anandharamakrishnan, 2021). Joseph vd. (2021), 300 kDa moleküler ağırlığın altındaki kitosanları düşük moleküler ağırlıklı kitosan, 300 kDa'un üzerindekileri ise yüksek moleküler ağırlıklı kitosan olarak sınıflandırmıştır. Bu çalışma dikkate alındığında kerevit kitosanının düşük moleküler ağırlıklı kitosan sınıfına girdiği söylenebilir. Moleküler ağırlık asetilasyon derecesi, kristalinite, pH ve sıcaklık gibi faktörlerin yanısıra polimerin çözünürlüğünü etkileyen önemli bir parametredir (Aranaz vd., 2021). Protein bazlı ilaçların teslimi ve kitosan bazlı ilaçların ve biyoaktif bileşiklerin bağırsaktan emiliminin artması için düşük moleküler ağırlığa sahip kitosanın daha elverişli olduğu bildirilmektedir (Joseph vd., 2021).

Elementel analiz ile kerevit kitosanının %C, %H ve %N içerikleri sırasıyla %40.62, %6.74 ve %7.13 olarak belirlenmiştir. Bu değerler üzerinden kerevit kitosanının deasetilasyon derecesi %32.3 olarak hesaplanmıştır. Deasetilasyon derecesi, kitosan polimerindeki D-glukozamin ünitelerinin ortalama sayısı olarak tanımlanmaktadır ve kitosanın çözünürlüğünü, kimyasal özelliklerini ve biyolojik aktivitesini önemli ölçüde etkilemektedir (Cheung vd. 2015; Rajabi vd., 2021; Aranaz vd. 2021; Kaczmarek-Szczepa´nska vd., 2021). Aranaz vd. (2021), kitosanın homojen deasetilasyonundan kaynaklı olarak %49'luk bir deasetilasyon derecesine sahip kitosan numunesinin suda çözünebildiğini belirtmektedir. Joseph vd. (2021), deasetilasyon derecesi %70-99 arasında olan kitosanı yüksek deasetilasyon dereceli kitosan olarak, deasetilasyon derecesi %55-70 arasında olan kitosanı ise düşük deasetilasyon dereceli kitosan olarak sınıflandırmaktadır. Yazarlar, %70'ten yüksek bir deasetilasyon derecesinin ilaç dağıtım uygulamaları için en uygun özellik olduğunu belirtmişlerdir. Zhou vd. (2008) ise hazırladıkları kitosan hidrojelin ısıya duyarlı özelliklerinin kitosanın deasetilasyon derecesinden etkilendiğini rapor etmiştir. Yazarlar ısıya duyarlı kitosan-ab-gliserofosfat (CS-ab-GP) hidrojeli için kitosanın optimal deasetilasyon

derecesinin %75.4 olduğunu bildirmişlerdir. Kerevit kitosanı bu sınıflandırmaya göre düşük deasetilasyon dereceli kitosan sınıfına girmektedir.

Kerevit *A. leptodactylus*'tan elde edilen kitosanın yüzey morfolojisi Şekil 4.1'de sunulmaktadır. SEM analizi kerevit kitosanının birbiri üzerine katlanmış kırışık yapı sergilediğini ortaya koymakta ve ayrıca fiberlere ve hemen hemen eşit büyüklükte homojen dağılmış porlara sahip olduğunu göstermektedir (Şekil 4.1). Bu çalışmada elde edilen sonuç Kaya vd. (2016) tarafından mavi yengeçten elde edilen kitosanın yüzey morfolojisiyle benzerlik göstermektedir.

Hidrojel sentezinde kullanılan hammaddeler kitosan ve HP-β-CD'in ve sentezlenen kitosan/HP-β-CD hidrojelinin FTIR spektrumları Şekil 4.4'te görülmektedir. Kerevit kitosanın FTIR spektrumu yukarıda tartışılmış olup, FTIR spektrumunda kitosana özgü karakteristik amid I ve amid II piklerinin (1647 cm^{-1} ve 1584 cm^{-1}) varlığı gözlenmiştir. Han vd. (2020) ise HP-β-CD'in FTIR spektrumunda 3415 cm^{-1} (O-H gerilme), 2929 cm^{-1} (C-H gerilme), 1645 cm^{-1} (H-O-H bükülme), 1157 cm^{-1} (C-O gerilme) ve 1031 cm^{-1} (C-O-C gerilme) de belirgin absorpsiyon bantları gözlemlediklerini bildirmiştir. Kitosan ve HP-β-CD her ikisi de karbonhidrat yapıda olduğundan FTIR spekrumlarında birbirine benzer absorpsiyon bantları sergilemişlerdir. Paun vd. (2014), sentezledikleri kompozit kitosan/HP-β-CD membranın ve gallik asit/HP-β-CD inklüzyon kompleksinin FTIR spektrumlarının, düşük miktarda HP-β-CD ve gallik asit kullanılması nedeniyle kitosan membranının FTIR spektrumuna benzediğini ifade etmiştir. Bu çalışmada da benzer sonuçlar gözlenmiştir. Sentezlenen hidrojelin FTIR spektrumu hidrojellerin hazırlanmasında kullanılan hammaddeler arasındaki etkileşimi ortaya koydu. Kitosanın FTIR spektrumunda 1647 cm^{-1} de gözlenen absorpsiyon bandının şiddetinde azalma olduğu ve bu pikin hidrojelin FTIR spektrumunda 1636 cm^{-1}'ya kaydığı, 1584 cm^{-1}'deki pikin ise 1549 cm^{-1}'a kaydığı gözlenmiştir. Sultanova vd. (2020) antiviral ilaç megosinin biyoyararlanımını uzatmak için geliştirdiği kitosan hidrojelinde, çapraz bağlanmamış kitosanın NH bükülmesinden sorumlu bandın yoğunluğunun azalarak 1636 cm^{-1}'e, yani daha düşük bir dalga boyuna hareket etmesinin jeldeki çapraz bağlantıyı gösterdiğini belirtmektedir. Bunların yanısıra kitosanın FTIR spektrumunda 1417 cm^{-1} civarında ve HP-β-CD spektrumunda 1456 cm^{-1}'de gözlenen piklerin şiddeti azalarak sentezlenen hidrojelde 1405 cm^{-1} civarında ortaya çıktığı görülmektedir. Sentezlenen hidrojeldeki 1380 cm^{-1} ve 1257 cm^{-}

^{1}'deki pikler ise kitosan ve HP-β-CD de gözlenen absorpsiyon bantlarının şiddetinin artması sonucu meydana gelen pik kaymalarıdır. FTIR spektrumlarındaki bu değişimler kitosan ve HP-β-CD'nin kimyasal etkileşime girdiğini göstermektedir. Böylece kitosan/HP-β-CD hidrojelinin oluşumu FTIR spektrumu ile teyit edilmiştir.

Şekil 4.4'te sunulan boş hidrojel ve ilaç yüklü hidrojellerin FTIR spektrumlarına göre, boş hidrojelde gözlenen absorpsiyon piklerinde meydana gelen kaymalar ve ilaç yüklü hidrojellerde gözlenen yeni piklerin varlığı hidrojeller ile antiviral ilaçlar arasında etkileşim olduğunu göstermektedir. Evasif antiviral ilacı Tenofovir etken maddesini içerdiğinden, Evasif ilacı ile Tenofovir disoproksil fumarat etken maddelerini içeren hidrojellerin FTIR spektrumları benzer çıkmıştır. Boş hidrojelde 2919 cm^{-1} ve 2847 cm^{-1} ve ayrıca 1644 cm^{-1} ve 1560 cm^{-1} civarında gözlenen piklerin ilaç yüklü hidrojellerin kızılötesi spektrumunda indirgenmiş olması jellerin ilaç molekülleriyle etkileşimine işaret etmektedir. Evasif yüklü hidrojelde 1758 cm^{-1}'de ve Tenofovir disoproksil fumarat yüklü hidrojelde 1755 cm^{-1} de gözlenen yeni absorpsiyon piklerinin ise ilaç moleküllerinin yapısındaki ester bağlarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu durum boş hidrojelin antiviral ilaçlar ile yüklendiğini göstermektedir. Bunların yanı sıra, boş hidrojelde 1417 cm^{-1} de gözlenen absorpsiyon pikinin Isentress yüklü hidrojelde 1400 cm^{-1}'e kadar indirgenmiş olması ve Isentress yüklü ilaçta 1249 cm^{-1} ve Evasif ve Tenofivir disoproksil fumarat yüklü ilaçta 1261 cm^{-1}'deki piklerin şiddetindeki artmalar bu etkileşimi desteklemektedir. Malik vd. (2021) antiviral ilaç asiklavir yüklü kitosan hidrojellerinin FTIR spektrumlarında meydana gelen değişimler sonucu kitosanın piklerinde kaymalar olduğunu rapor etmiş ve polimerik yapıyı oluşturan saf bileşiklerin piklerindeki hafif kaymaların ve bazı yeni piklerin polimerik ağda görünmesinin sentezlenen hidrojelde asiklovirin varlığını temsil ettiğini ve polimerik ağın antiviral ilaç asiklovir ile uyumluluğunu gösterdiğini belirtmiştir.

SEM analizi sonuçları boş kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin gözenekli ve ağsı yapısını ortaya koyarken, ilaç yüklü hidrojellerin de gözeneklerinde ilaç biriktiğini ortaya koymuştur (Şekil 4.5). İlaç yüklü hidrojellerin morfolojileri birbirinden farklılıklar göstermiştir. Zhou vd. (2016), hidrojele ilaç yüklenmesinin düzenli yapıya sahip boş hidrojelin morfolojisini değiştirerek düzensiz hale getirdiğini söylemektedir. Bu çalışmada da benzer bir durum tespit edilmiştir. Isentress ilacı hidrojelin gözeneklerinin içini doldururken, Evasif ilacı daha çok jel yüzyinde kümeleşmiş bir

görüntü sergiledi. Tenofovir disoproksil fumarat yüklü hidrojelin ise lamelli bir yapı sergilediği görüldü. Paun vd. (2014), gallik asiti kapsüllemek ve kontrollü salımını sağlamak için geliştirdikleri kitosan/HP-β-CD kompozit membranının SEM analizi sonuçlarını değerlendirdiklerinde kitosan çözeltisindeki gallik asitin membranda iyi dağılmadığını ve kümeleşme gösterdiğini rapor etmişlerdir. Malik vd. (2021) ise sentezledikleri β-siklodekstrin-kitosan bazlı hidrojellerin yüzeyinde ilaç kristallerinin varlığına rastlamış ve bunun ilaç moleküllerinin kurutma sırasında su ile birlikte yüzeye göç etmelerinden kaynaklanmış olabileceğini belirtmiştir. Bu durum, bu çalışmada Evasif yüklü hidrojelde gözlenmiştir. Zhou vd. (2016) farklı formülasyonlarla hazırladıkları kitosan-β-siklodekstrin (CS-β-CD) hidrojellerin belirgin lamel yapısı sergilerken, kullanılan malzemelerin oranının artmasıyla jelin yüzeyinin daha kompakt ve daha az kırıklı hale gelmesi gibi çeşitli morfolojik karakterler sergilediğini rapor etmiştir. Bu durum, bu çalışmada boş hidrojel yapısının tenefovir disoproksil fumarat ile yüklendikten sonra daha düzensiz, kompakt ve kırıklı bir hale gelen kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin durumuna benzerlik göstermektedir.

Boş ve ilaç yüklü kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin X-ışını kırınım modelleri Şekil 4.6'da sunulmuştur. Boş kitosan/HP-β-CD hidrojelinin X-ışını kırınım modeli 2θ=20° civarında tek bir geniş amorf pik sergilemektedir (Şekil 4.6a). Tenofovir disoproksil fumarat ve Evasif yüklü kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin XRD spektrumlarında 11° ve 21° civarında biri küçük biri büyük iki amorf pik görülmektedir (Şekil 4.6b,c). Raltegravir etken maddesini içeren kitosan/HP-β-CD hidrojelinin ise muhtemelen ilaç moleküllerinden dolayı oldukça kristal bir yapı sergilediği görülmektedir (Şekil 4.6d). Ali, Aboelfadl, Selim, Khalil & Elkady (2018), karides kabuklarından elde ettikleri kitosan ve kitosan nanopartiküllerinin XRD spektrumlarının 10° ve 20°'de iki karakteristik tepe noktası gösterdiğini, bu tepe noktalarının kitosan nanopartiküllerinin tripolifosfat (TPP) ile çapraz bağlandıktan sonra kaybolarak amorf bir yapı sergilediğini belirtmiştir. Yazarlar, polimer kristalliğinin azalmasının polimer zincirlerinin TPP tarafından birbirleriyle çapraz bağlanmasından kaynaklandığını ve bu nedenle, kitosan nanoparçacıklarının XRD modelinin amorf bir yapı sergilediğini öne sürmüşlerdir. Bu çalışmada da gluteraldehit ile çapraz bağlı kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin XRD spektrumu amorf bir yapı sergilemiştir. Wang, Qin, Kong, Wang &

Ma (2014) tarafından yapılan bir çalışmada HP-β-CD'in XRD spektrumunun 10º ve 20º civarında 2 geniş pik verdiğini ve amorf bir yapı sergilediği rapor edilmiştir.

Wang vd. (2014) skutellarin/HP-β-CD kompleksinin amorf bir XRD spektrumu gösterirken, bu iki maddenin fiziksel karışımının üst üste bindirilmesinden dolayı oldukça farklı olan halo modeli gösterdiğini ve bunun skutellarin ile HP-β-CD arasındaki inklüzyon kompleksinin oluşumunu gösterdiğini belirtmektedir. Han vd. (2020) HP-β-CD'in 19.5º merkezli yalnızca bir geniş tepe ile amorf bir yapı gösterirken, Mirisetin'in XRD desenlerinin bazı keskin tepeler sergilediğini ve bileşiğin kristal yapı gösterdiğini rapor etmiştir. Yazarlar, HP-β-CD ve mirisetin fiziksel karışımının bileşenlerin XRD modellerinin üst üste binmesiyle bu iki bileşik arasında kimyasal etkileşim olmadığını ve her iki maddenin de orijinal fiziksel özelliklerini koruduklarını belirtmiştir. Bununla birlikte, yazarlar HP-β-CD/mirisetin kompleksinin XRD desenlerinin amorf yapı sergileyerek tipik halo desenleri sergilediğini ve bunun mirisetinin HP-β-CD boşluğuna tamamen dahil olduğunun bir göstergesi olduğunu belirtmektedir (Han vd., 2020). Bu çalışmada Tenofovir disoproksil fumarat yüklü hidrojel ve Evasif yüklü hidrojellerin XRD modelleri yukarıda verilen referanslardaki bulgularla benzerlik göstermektedir. Bununla birlikte, Raltegravir etken maddesini içeren Isentress ilacı ile yüklü kitosan/HP-β-CD hidrojeli muhtemelen hidrojel ile ilaç arasında sadece fiziksel bir etkileşim olmasından dolayı jelin içerisinde depolanan ilacın sergilediği oldukça kristalin bir yapı göstermektedir.

Antiviral ilaçlar Isentress, Evasif ve Tenofovir disoproksil fumarat'ın XRD spektrumları Şekil 4.7'de verilmektedir. Antiviral ilaçların hepsi içerisinde barındırdıkları moleküller nedeniyle oldukça kristalin bir bir yapı sergilemektedirler. İlaçların XRD spektrumları kristalin yapıyı temsil eden çok sayıda ve keskin pikler göstermektedir. Malik vd. (2021) model ilaç asiklavirin XRD spektrumunda 18.50°, 21.50° ve 30.50°'de keskin, yoğun ve karakteristik pikler sergilediğini rapor etmiştir.

Sentezlenen kitosan/HP-β-CD hidrojelinin yapısını ortaya koymak ve jellerin antiviral ilaçlarla etkileşimini doğrulamak için boş ve antiviral ilaç yüklü kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin ve ayrıca antiviral ilaçlar Evasif, Tenofovir disoproksil fumarat ve Isentress'in ^{1}H-NMR spektrumları alınmıştır (Şekil 4.8, Şekil 4.9, Şekil 4.10, Şekil 4.11, ve Şekil 4.12). Boş hidrojelin NMR spektrumunda, gözlenen 7.27 ppm civarındaki

uzun pik çözücü olarak kullanılan $CDCl_3$ (Dötero kloroform)'a aittir. Fulmer vd. (2010), NMR'da solvent olarak kullanılan dötoro kloroformun 7.26 ppm de pik verdiğini belirtmiştir. 10 ppm civarında gözlenen azalmış sinyal ise gluteraldehitten kaynaklanmaktadır. López-Cervantes, Sánchez-Machado, Sánchez-Duarte & Correa-Murrieta (2018), çözücü olarak döteryumlu hidroklorür kullandıkları kitosan gluteraldehit biyosorbentinin ^{1}H-NMR spektrumunda gluteraldehitin aldehit grubunun protonlarının sinyallerini 9.6 ppm'de gözlemişlerdir.

Boş hidrojelin NMR spektrumunda, kitosanın glukozamin ve N-asetilglukozamin gruplarının protonlarına ait sinyallerin 3 ppm civarında kayma gösterdikleri tespit edilmiştir. 1ppm civarindaki NMR sinyali HP-β-CD'in hidroksipropil grubunun CH_3 protonlarına ait olabilir. Lopez-Cervantes vd. (2018), kitosanın asetil grubunun 1.8 ppm civarında sinyal verirken, D-glukozamin ve N-asetil glukozamin gruplarına ait H-3–H-6 protonlarının 3.4 ve 3.8 civarında bölünmüş sinyaller verdiğini, D-glukozamin fraksiyonunun H-2 protonunun ise 3 ppm de görünür bir sinyal ve 1.8 ppm de bir tekli sinyal verdiğini rapor etmişlerdir. Ayrıca, kitosanın gluteraldehit ile çapraz bağlanması sonucunda ise 3.0-3.8 ppm'deki piklerin yoğunluğundaki bir azalmanın, glukozamin gruplarının glutaraldehit ile çapraz bağlanmasını gösterdiğine işaret etmişlerdir. Chatterjee, Hui, Kan & Wang (2019), kitosanın NMR spektrumunda H-2 protonunun 2.68 ppm'de sinyal verirken, H-3 ila H-6 protonlarının da 3.85-3.55 ppm aralığında çoklu sinyaller verdiğini rapor etmiştir. Aytaç vd. (2016), HP-β-CD'in 1 ppm'deki proton sinyalinin hidroksipropil'in CH_3 grubundan kaynaklandığını belirtmiştir. Yazarlar ayrıca, HP-β-CD'in H-2, H-4 protonlarının 3.5 ppm civarında sinyal verirken, H-1, H-3, H-5 ve H-6 protonlarının da 4.5-5 ppm arasında zayıf sinyaller verdiğini rapor etmişlerdir. Yurtdaş Kırımlıoğlu (2020), HP-β-CD'in iç boşluğunda yer alan H-3 (3,7396 ppm) ve H-5 (3,6145 ppm) protonlarının sinyallerinde dikkate değer bir yukarı kayma gözlemlemişlerdir. Bu durumun HP-β-CD'in ilaç molekülleriyle inklüzyon kompleksi oluşturmasından kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir. Evangelista vd. (2020), kitosan/β-CD kompleksinin ^{1}H-NMR spektrumunun 2 ppm ile 5.5 ppm arasında hem kitosana ait hem de β-CD'e ait sinyaller verdiğini gözlemlemiştir. Bu çalışmada boş hidrojelin NMR spektrumundaki 3 ve 4 ppm arasındaki sinyaller de hem HP-β-CD'e hem de kitosanın glukozamin ve N-asetilglukozamin gruplarına ait sinyallere işaret etmektedir. Kitosan ve HP-β-CD her

ikisi de karbonhidrat türevi olduğundan muhtemelen bunların protonlarına ait sinyaller birbirine yakın olabilir veya çakışmış olabilir.

Antiviral ilaçlardan Tenefovir disoproksil fumarat ve etken maddesi Tenofovir olan Evasif ilacının NMR spektrumları, 1.2 ppm civarında şiddetli ve bölünmüş pikler, 3.8 ile 6 ppm arasında çok sayıda çoklu proton sinyalleri, 7.2 ppm de ise şiddetli tekli proton sinyali ve 8.4 ppm de ikili ve üçlü zayıf sinyaller sergilemiştir. Sichilongo vd. (2016), Tenofovir disoproksil fumarat'ın ^{1}H-NMR spektrumunda, 1 ppm'de (3H), 1.2 ppm'de (12 H), 3.9 ppm'de (2H), 4 ppm'de (1H) ve 4.2 ppm'de (1H) ikili, 4.8 ppm'de (2H) çoklu, 5.5 ppm'de (4H), 6.6 ppm'de (2H), 7.2 ppm'de (2H), 8 ppm'de (1H) ve 8.1 ppm'de (1H) tekli sinyaller gözlemlemişlerdir. Bu çalışmada, Tenofovir disoproksil fumarat ve Evasif ilaçları ve bu ilaçlarla yüklü kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin ^{1}H-NMR spektrumları hemen hemn aynı sinyalleri göstermiştir. Etken maddesi Raltegravir olan Isentress ilacı ve bu ilaç ile yüklü kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin ^{1}H-NMR sinyalleri de birbiriyle benzerlik göstermekle birlikte, bazı pik kaymaları görülmektedir. Antiviral ilaçlar ile yüklü hidrojellerin NMR spektrumları, ilaçların kitosan/HP-β-CD hidrojeli içerisinde depolandığını ve hidrojel ile ilaç molekülleri arasındaki etkileşimlerin fiziksel olduğunu ortaya koymaktadır. Muhtemelen HP-β-CD'in antiviral ilaçlar ile oluşturmuş olabileceği inklüzyon komplekslerine işaret etmektedir. Bunun yanısıra, Xie, Hu, Wang & Zeng (2014) kitosanın ^{1}H-NMR spektrumunun 3.1 ppm'de H-2 protonuna ait tek bir tepe noktası, 3.6−3.9 ppm'de ise H-3 ila H-6 protonlarına ait çoklu tepe noktaları ve 4.6 ppm'de H-1 protonuna ait küçük bir tepe noktası sergilediğini ve N-asetil grubunun üç protonunu temsil eden 2.0 ppm'de tek bir tepe noktası gözlediklerini rapor etmişlerdir. Beecher & Larive (2015) de glukozaminin amin gruplarının 8.2 ppm ve 8.4 ppm civarında sinyal vermişdiğini belirtmiştir. Görüldüğü üzere hem kitosan hem de antiviral ilaçlar NMR spektrumunda benzer ppm'lerde proton sinyalleri vermektedir. Bu nedenle, antiviral ilaç yüklü hidrojellerin NMR spektrumlarının antiviral ilaçlarınkilerle benzerlik göstermesinin sebebinin, sentezlenen kitosan/HP-β-CD hidrojeli ile antiviral ilaçların NMR sinyallerindeki çakışmadan dolayı olabileceği düşünülmektedir.

Sentezlenen kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin jelleşme ölçüm sonuçları Çizelge 4.2, Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4'te verilmektedir. Sentezlenen hidrojellerin jelleşme yüzdeleri %52 ile %78.99 arasında değişmektedir. Akalın, Karahan & Pulat (2014),

lipaz immobilizasyonunda kullanılmak üzere hazırladıkları, farklı oranlarda glutaraldehit çapraz bağlayıcısı içeren jelatin hidrojellerinin jelleşme yüzedelerinin %87.41 ile %95.10 arasında değiştiğini ve gluteraldehit konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak jelleşme %'sinde artış olduğunu bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada ise gama ışını ışınlaması ile sentezlenen hyaluronik asit/kitosan/hidroksiapatit (HA/CS/HAP) hidrojellerinin jelleşme oranının %84.5 ile %94.2 arasında olduğu ve HAP içeriğindeki artışa bağlı olarak jel fraksiyonunda bir artış ortaya çıktığı bildirilmektedir (Taşdelen, Kayaman-Apohan, Güven & Baysal, 2004). Bu çalışmadaki jelleşme %'leri diğer çalışmalarla kıyaslandığında daha düşüktür. Bu çalışmada kullanılan gluteraldehit konsantrasyonu %0.4'lük tutulurken, hidrojel sentezinde kullanılan HP-β-CD miktarı da düşük tutulmuştur ve HP-β-CD miktarındaki artışın jelleşme % üzerine pek etkisi olmamıştır.

Sentezlenen kitosan/HP-β-CD hidrojelinin pH 7.4'te gerçekleştirilen saf suda şişme deneyi sonuçları Çizelge 4.5, Çizelge 4.6, ve Çizelge 4.7'te ve ayrıca Şekil 4.13, Şekil 4.14 ve Şekil 4.15'de verilmektedir. Kitosan hidrojele eklenen HP-β-CD oranındaki artışa bağlı olarak hidrojellerin şişme kapasitesi artmıştır. HP-β-CD miktarı (0.04 g) en yüksek olan hidrojel en yüksek şişme kapasitesine (ağırlığının 21 katına kadar) sahip olmuştur. Genel olarak, sentezlenen hidrojeller hem kitosan hem de HP-β-CD kopolimerlerinin yüksek su tutma kapasiteleri nedeniyle oldukça yüksek bir şişme oranı sergilemişlerdir. Önceki çalışmalarda, hidrojellerin kendi kuru ağırlıklarının binlerce katına kadar şişebildiği rapor edilmektedir (Malik vd., 2021). Taşdelen (2018), HA/CS/HAP hidrojellerinin şişme oranının (%557) kitosan ve hyaluronik asidin yapısındaki hidrojen bağı yapma yeteneği yüksek amin ve hidroksil gruplarının varlığından kaynaklandığını belirtmişlerdir. El-banna vd. (2019), kitosanın yapısındaki hidrofilik amin ($-NH_2$) ve hidroksil (-OH) gruplarının, kitosanın sıvıları veya sulu çözeltileri emme potansiyelini oldukça arttırarak hidrojelin daha büyük hacimlerde şişmesini sağladığını belirtmiştir. Hamedi vd. (2018), kitosan hidrojellerinin düşük pH'da daha fazla şişerken, nötr ve bazik koşullarda şişme oranının düştüğünü belirtmiştir. Malik vd. (2021) ise etkili ve arzu edilen ilaç salım profili için daha yüksek pH'da belirgin şişme oranlarının oldukça önemli olduğunu ifade etmekte ve hidrojellerin şişme davranışının iyonize veya protonize olabilen fonksiyonel grupların varlığına,

hidrofilik-hidrofobik etkileşimlere ve polimerik zincirin gevşemesine bağlı olduğunu belirtmektedir.

İlaç yüklü kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin salım profilleri, canlı organizmaların fizyolojik koşullarını taklit etmek için pH 7.4'te fosfat tamponunda incelendi. İlaç salım oranlarındaki artış hidrojellerin içerdikleri ilaç miktarıyla doğru orantılı olarak gerçekleşmiştir. Evasif ve Teneofovir disoproksil fumarat yüklü hidrojellerde ilaç salımı jelin şişmeye başlamasıyla birlikte ilk dakikalardan itibaren gerçekleşirken, Isentress yüklü hidrojelde 30 ila 45.ci dakikalara kadar ilaç salım miktarı çok düşük olmuştur. Zhou vd. (2016), Asp'nin PBS içindeki kitosan/β-CD hidrojelinden kümülatif salımının (pH 6.8) 24 saat boyunca neredeyse %50 civarında olduğunu rapor etmiştir. Yazarlar, difüzyon kontrollü Asp salım mekanizmasının kısmen şişmiş hidrojel matrisi ve ısıya duyarlı hidrojeldeki suyla doldurulmuş gözenekler yoluyla olduğunu ve kitosan/siklodekstrin bazlı hidrojelin sürekli salımlı ilaç dağıtım potansiyeline sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Zhou vd. (2008), CS-ab-GP hidrojelden hem adriamisin hem de 6-merkaptopürinin salım hızının, kitosanın molekül ağırlığının artmasıyla azaldığını ve hidrofilik model adriamisinin, hidrofobik model 6-merkaptopurinden daha yavaş (24 saatte % 60-70 oranında) salındığını beyan etmiştir. Yazarlar, kitosan ve ab-gliserofosfat (ab-GP) termosensitif hidrojelinin ilaç salım duyarlılığının kitosanın moleküler ağırlığı ve deasetilasyon derecesinden etkilendiğini ve optimal değerlerin 1360 kDa moleküler ağırlığa ve %75.4 deasetilasyon derecesine sahip ve solüsyon konsantrasyonu %2 olan kitosanın termosensitif kitosan-ab-gliserofosfat (CS-ab-GP) hidrojelin hazırlanması için optimal olduğunu bildirmiştir.

Zhou vd. (2016), hidrojel sistemine eklenen beta-siklodekstrin oranının seçilen model ilacın salım davranışını etkilediğini belirtmektedir. Hidrojele katılan siklodekstrin oranının artmasının çözündürme etkisini arttırarak ilaç salım oranını arttırdığını belirtmiştir. Bu çalışmada da, hidrojele eklenen HP-β-CD miktarının hidrojelden salınan ilaç miktarını az da olsa arttırdığı gözlemlenmiştir. Fakat bu durum daha ziyade hidrojele katılan ilaç miktarıyla doğru orantılıdır. El-banna vd. (2019), hidrojelin gözenek boyutunun ve ilaç hidrodinamik boyutunun ilaç salımını kontrol eden ve düzenleyen en hayati öğeler olduğunu bildirmiştir. Peers vd. (2020), ilaç difüzyonunun, hidrojelin gözenek boyutu tarafından yönetildiğini ve hidrojelin şişme hızı ne kadar yüksek olursa, gözeneklerinin de o kadar büyük olduğunu ve dolayısıyla

hidrojelden ilaç difüzyonunun o derece hızlı olduğunu beyan etmiştir. Hidrojelin gözenek boyutu ne kadar küçükse ilacın o derece jelin içinde tutulacağını ilaç salımını yavaşlatacağını belirtmiştir. Yazarlar ayrıca, daha yüksek hidrodinamik yarıçapa sahip olan ilaç moleküllerinin salımının genellikle daha yavaş olduğunu öne sürmektedir. Bu çalışmada kitosan/HP-β-CD hidrojellerinin antiviral ilaç salım davranışları Peers (2020)'in beyanlarıyla uyuşmaktadır. Muhtemelen kitosan/HP-β-CD hidrojelinin gözenek boyutu ve antiviral ilaçların özelliklerinden dolayı, Evasif, Tenofovir disoproksil fumarat ve Isentress ilaçlarının kitosan/HP-β-CD hidrojelinden salım davranışlarında farklılıklar gözlenmiştir. Issentres ilacının salımında, ilaç içeren hidrojellerde ilk 45 dakika boyunca ilaç salım oranı çok düşükken, 60.cı dakika ve 48.ci saatler arasında yüksek ilaç salım oranı gözlenmiştir. Isentress ilacının yavaş salımı muhtemelen ilacın kendi özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca, ilacın tablet formda olması ve katkı maddeleri içermesinin de ilacın özelliğini ve salım davranışını etkilediği düşünülmektedir.

Peers vd. (2020), ilaç dağıtımında karşılaşılan en büyük sorunlardan birinin patlama salımı adı verilen, uygulamadan hemen sonra ani, hızlı ve kontrolsüz ilaç salınımı olduğunu olduğunu bunun da yüzeyde adsorbe edilen ilaçların salımından kaynaklandığını ve bu ilaçların matrisin içine dahil edilen ilaçlardan daha hızlı salındığını belirtmiştir. Bu çalışmada, Evasif ilacı ile yüklü kitosan/HP-β-CD hidrojelinde ilk 15 dakika içerisinde hızlı bir salım gerçekleşmiştir. Bunun nedeni SEM analiz sonuçlarından da görüleceği gibi Evasif ilacının hidrojelin yüzeyinde kümeleşerek birikmesidir. Bunun yanısıra, ilacın tablet formunda olması ve katkı maddesi içermesi de ilacın hidrojelden salım özelliklerini etkilemiş olabilir. Patlama salımı ilaçların yüksek salım oranlarında verilmesine neden olduğundan kontrollü salımlarda istenmeyen bir durumdur.

Bu çalışmada sentezlenen hidrojellerin sürekli salım potansiyeline sahip olduğu ve insan vücudundaki ilaç salım süreçleri için uygun bir alternatif olabileceği görülmektedir. Kitosan/HP-β-CD hidrojel sisteminin özellikle hem HIV hem de AIDS hastalarınca uzun süreli kullanılması gereken ve diğer ilaçlarla kombine olarak alınması tavsiye edilen antiviral ilaç Tenofovir'in salımı için uygun bir salım sistemi olabileceği düşünülmektedir.

Öneriler:

Bu çalışma, bir tatlı su organizması olan *A. leptodactylus*'un hidrojel üretiminde kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Böylece ülkemiz iç sularında yaygın olarak bulunan bu istilacı tür çeşitli amaçlarla kullanılan kitosan hidrojellerinin üretiminde kullanılabilir.

Daha sonraki çalışmalarda sentezlenen kitosan/HP-β-CD hidrojelinin biyouyumluluk ve biyobozunurluk çalışmaları in vitro ve in vivo koşullarda gerçekleştirilerek sağlık açısından etkileri ortaya konmalıdır.

Antiviral ilaçların çoğu hidrofobik yapıdadır ve β-siklodekstrinin hidrofobik ilaçların iletiminde kullanılabileceği bilinmektedir. Bu nedenle, sentezlenen hidrojel sistemi daha sonraki çalışmalarda diğer antiviral ilaçların salınımı açısından da denenebilir ve hidrojelin özellikleri daha da geliştirilebilir.

Bu çalışmada sentezlenen kitosan/HP-β-CD hidrojel sistemi geliştirilerek antiviral ilaçların yanısıra antikanser, anti-inflamatuar, antibiyotik, steroid, protein, peptit, amino asit, antidiyabetik ve diüretik ilaçların iletiminde kullanılabilir.

Bu çalışmada hazırlanan kitosan/HP-β-CD hidrojelinin oral, yüzeysel veya topikal olarak kullanım potansiyelleri vardır. Bu nedenle, mikroküre, mikrokapsül, nanopartikül, film ve mikroboncuk gibi formlarda düzenlenerek ilaç enkapsülasyonunda ve mikro ve nano ilaç taşıyıcısı olarak kullanılabilir.

Bunların yanısıra sentezlenen kitosan/HP-β-CD hidrojeli antimikrobiyal ve anti-inflamatuar özellikli geçici yara örtüsü olarak, transdermal ilaç dağıtımı amacıyla, mukoadesiv hidrojel olarak, gıda ambalajı olarak ve kozmetik uygulamalarda kullanılabilir.

KAYNAKLAR

Abdou, S.E., Nagy, K.S.A., & Elsabee, M.Z., (2008). Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. *Bioresource Technology, 99*(5), 1359-1367.

Akakuru, O. U., & Isiuku, B. O. (2017). Chitosan hydrogels and their glutaraldehyde-crosslinked counterparts as potential drug release and tissue engineering systems-synthesis, characterization, swelling kinetics and mechanism. *Journal of Physical Chemistry & Biophysics*, *7*(3), 1-7.

Akalın, G. O., Karahan, N. D., & Pulat, M. (2014). Kitosan Temelli Yarı-Ipn Hidrojellerin Şişme Özellikleri Ve Lipaz Salım Davranışları. V. Ulusal Polimer Bilim ve Teknolojisi Kongresi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi,1-4 Eylül, 2014.

Akdemir, Z. S. (2009). Doku Mühendisliğinde Kullanılacak Yeni Polimerik Biyomalzemelerin Geliştirilmesi (Doctoral dissertation, Marmara Universitesi (Turkey)).

Akhtar, M. F., Hanif, M., & Ranjha, N. M. (2016). Methods of synthesis of hydrogels ... A review. *Saudi Pharmaceutical Journal, 24,* 554–559.

Al-Tabakha, M. M., Khan, S. A., Ashames, A., Ullah, H., Ullah, K., Murtaza, G., & Hassan, N. (2021). Synthesis, Characterization and Safety Evaluation of Sericin-Based Hydrogels for Controlled Delivery of Acyclovir. *Pharmaceuticals*, *14*(3), 234.

Alexander, A., Ajazuddin, Khan, J., Saraf, S., & Saraf, S., (2013). Poly(ethylene glycol)–poly(lactic-co-glycolic acid) based thermosensitive injectable hydrogels for biomedical applications. *Journal of Controlled Release, 172,* 715–729.

Ali, M. E. A., Aboelfadl, M. M. S., Selim, A. M., Khalil, H. F., & Elkady, G. M. (2018). Chitosan nanoparticles extracted from shrimp shells, application for removal of

Fe (II) and Mn (II) from aqueous phases. *Separation Science and Technology, 53(18),* 2870-2881.

Alven, S., & Aderibigbe, B. A. (2020). Chitosan and Cellulose-Based Hydrogels for Wound Management. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(24), 9656.

Aranaz, I., Alcántara, A. R., Civera, M. C., Arias, C., Elorza, B., Heras Caballero, A., & Acosta, N. (2021). Chitosan: An Overview of Its Properties and Applications. *Polymers*, *13*(19), 3256.

Arslan, M., Sanyal, R. & Sanyal, A. (2019). Cyclodextrin embedded covalently crosslinked networks: synthesis and applications of hydrogels with nano-containers. *Polymer Chemistry,* DOI: 10.1039/c9py01679a.

Aytac, Z., Kusku, S. I., Durgun, E., & Uyar, T. (2016). Encapsulation of gallic acid/cyclodextrin inclusion complex in electrospun polylactic acid nanofibers: Release behavior and antioxidant activity of gallic acid. *Materials Science and Engineering: C*, *63*, 231-239.

Bai, C. C., Tian, B. R., Zhao, T., Huang, Q. & Wang, Z. Z. (2017). Cyclodextrin-Catalyzed Organic Synthesis: Reactions, Mechanisms, and Applications. *Molecules, 7, 22(9),* 1475.

Barragán, C. A. R., Balleza, E. R. M., García-Uriostegui, L., Ortega, J. A. A., Toríz, G., & Delgado, E. (2018). Rheological characterization of new thermosensitive hydrogels formed by chitosan, glycerophosphate, and phosphorylated β-cyclodextrin. *Carbohydrate polymers*, *201*, 471-481.

Beecher, C. N. & Larive, C. K. (2015). 1H and 15N NMR Characterization of the Amine Groups of Heparan Sulfate Related Glucosamine Monosaccharides in Aqueous Solution. *Analytical Chemistry, 87,* 6842-6848.

Boesecke, C., & Gelgor, L. (2009). A Review of Raltegravir and its Use in HIV-1 Infection. *Clinical Medicine. Therapeutics*, *1*, CMT-S1985.

Brehm, T. T., Franz, M., Hüfner, A., Hertling, S., Schmiedel, S., Degen, O., ... & Zur Wiesch, J. S. (2019). Safety and efficacy of elvitegravir, dolutegravir, and

raltegravir in a real-world cohort of treatment-naïve and-experienced patients. *Medicine*, *98*(32).

Bryan-Marrugo, O. L., Ramos-Jiménez, J., Barrera-Saldaña, H., Rojas-Martínez, A., Vidaltamayo, R., & Rivas-Estilla, A. M. (2015). History and progress of antiviral drugs: from acyclovir to direct-acting antiviral agents (DAAs) for Hepatitis C. *Medicina universitaria*, *17*(68), 165-174.

Bunaciu, A. A., UdriȘTioiu, E. G., & Aboul-Enein, H. Y. (2015). X-ray diffraction: instrumentation and applications. Critical reviews in analytical chemistry, 45(4), 289-299.

Chatterjee, S., Hui, P. C., Kan, C., & Wang, W. (2019). Dual-responsive (pH/temperature) Pluronic F-127 hydrogel drug delivery system for textile-based transdermal therapy. *Scientific Reports*, 9, 11658 | https://doi.org/10.1038/s41598-019-48254-6

Cheung, R. C. F., Ng, T. B., Wong, J. H., & Chan, W. Y. (2015). Chitosan: an update on potential biomedical and pharmaceutical applications. *Marine drugs*, *13*(8), 5156-5186.

Choudhary, S., Sharma, K., Sharma, V., & Kumar, V., (2020). Chapter 8 Grafting Polymers. Gutiérrez (ed.), *Reactive and Functional Polymers* (Vol. Two). https://doi.org/10.1007/978-3-030-45135-6_8. Springer Nature, Switzerland.

Cova, T. F., Murtinho, D., Aguado, R., Pais, A. A., & Valente, A. J. (2021). Cyclodextrin polymers and cyclodextrin-containing polysaccharides for water remediation. *Polysaccharides*, *2*(1), 16-38.

Deeks, E. D. (2017). Raltegravir once-daily tablet: a review in HIV-1 infection. *Drugs*, *77*(16), 1789-1795.

Del Valle, L. J., Díaz, A., & Puiggalí, J. (2017). Hydrogels for biomedical applications: cellulose, chitosan, and protein/peptide derivatives. *Gels*, *3*(3), 27.

Delaney IV, W. E., Ray, A. S., Yang, H., Qi, X., Xiong, S., Zhu, Y., & Miller, M. D. (2006). Intracellular metabolism and in vitro activity of tenofovir against hepatitis B virus. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *50*(7), 2471-2477.

Drugbank, (2020). https://go.drugbank.com/drugs/DB14126 (Erişim tarihi: 10.10.2020)

DSÖ (2021a). WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard, https://covid19.who.int/. (Erişim tarihi: 29.10.2021)

DSÖ (2021b). Hepatitis B, https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b. (Erişim tarihi: 29.10.2021)

DSÖ (2021c). https://www.who.int/news/item/26-07-2019-who-urges-countries-to-invest-in-eliminating-hepatitis. (Erişim tarihi: 29.10.2021)

El-banna, F. S., Mahfouz, M. E., Leporatti, S., El-Kemary, M., & AN Hanafy, N. (2019). Chitosan as a natural copolymer with unique properties for the development of hydrogels. *Applied Sciences*, *9*(11), 2193.

Erdogan, S. (2020). Textile finishing with chitosan and silver nanoparticles against *Escherichia coli* ATCC 8739. 21(1), 21-32.

Erdogan, S. & Kaya, M. (2016). High similarity in physicochemical properties of chitin and chitosan from nymphs and adults of a grasshopper. *International Journal of Biological Macromolecules, 89,* 118-126.

Evangelista, T. F., Andrade, G. R., Nascimento, K. N., Dos Santos, S. B., Santos, M. D. F. C., D'Oca, C. D. R. M., ... & Almeida, L. E. (2020). Supramolecular polyelectrolyte complexes based on cyclodextrin-grafted chitosan and carrageenan for controlled drug release. *Carbohydrate Polymers*, *245*, 116592.

Fulmer, G. R., Miller, A. J., Sherden, N. H., Gottlie, H. E., Nudelman, A., Stoltz, B. M., ... & Goldberg, K. I. (2010). NMR chemical shifts of trace impurities: common laboratory solvents, organics, and gases in deuterated solvents relevant to the organometallic chemist. *Organometallics*, *29*(9), 2176-2179.

Gallant, J. E., & Deresinski, S. (2003). Tenofovir disoproxil fumarate. *Clinical Infectious Diseases*, *37*(7), 944-950.

Gidwani, B., & Vyas, A. (2015). A comprehensive review on cyclodextrin-based carriers for delivery of chemotherapeutic cytotoxic anticancer drugs. *BioMed Research İnternational*, *2015*:198268.

Gomes, L. C., Faria, S. I., Valcarcel, J., Vázquez, J. A., Cerqueira, M. A., Pastrana, L., ... & Mergulhão, F. J. (2021). The Effect of Molecular Weight on the Antimicrobial Activity of Chitosan from Loligo opalescens for Food Packaging Applications. *Marine Drugs*, *19*(7), 384.

Grinsztejn, B., De Castro, N., Arnold, V., Veloso, V. G., Morgado, M., Pilotto, J. H., ... & ANRS 12 180 Reflate TB Study Group. (2014). Raltegravir for the treatment of patients co-infected with HIV and tuberculosis (ANRS 12 180 Reflate TB): a multicentre, phase 2, non-comparative, open-label, randomised trial. *The Lancet infectious diseases*, *14*(6), 459-467.

Gulrez, S. K., Al-Assaf, S., & Phillips, G. O. (2011). Hydrogels: methods of preparation, characterisation and applications. *Progress in molecular and environmental bioengineering-from analysis and modeling to technology applications*, 117-150.

Hamad, F. G., Chen, Q., & Colby, R. H. (2018). Linear viscoelasticity and swelling of polyelectrolyte complex coacervates. *Macromolecules*, 51(15), 5547-5555.

Hamedi, H., Moradi, S., Hudson, S. M., & Tonelli, A. E. (2018). Chitosan based hydrogels and their applications for drug delivery in wound dressings: A review. *Carbohydrate polymers*, *199*, 445-460.

Han, D., Han, Z., Liu, L., Wang, Y., Xin, S., Zhang, H., & Yu, Z. (2020). Solubility enhancement of myricetin by inclusion complexation with heptakis-o-(2-hydroxypropyl)-β-cyclodextrin: A joint experimental and theoretical study. *International journal of molecular sciences*, *21*(3), 766.

Harris, M., Alexander, C., Wells, C.M., Bumgardner, J.D., Carpenter, D.P., & Jennings, J.A. (2017). 6 - Chitosan for the delivery of antibiotics, J. A. Jennings, J. D. Bumgardner (Eds.), *Chitosan Based Biomaterials* (Vol. 2, pp., 147-173), Woodhead Publishing. https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100228-5.00006-7.

Iglesias, N., Galbis, E., Valencia, C., Díaz-Blanco, M. J., Lacroix, B., & de-Paz, M. V. (2020). Biodegradable double cross-linked chitosan hydrogels for drug delivery: Impact of chemistry on rheological and pharmacological performance. *International Journal of Biological Macromolecules*, *165*, 2205-2218.

Isentress, (January 2009). (package insert). Merck and Co., Inc., Whitehouse Station, NJ 08889, USA.

Jansook, P., Ogawa, N., & Loftsson, T. (2018). Cyclodextrins: structure, physicochemical properties and pharmaceutical applications. *International journal of pharmaceutics*, *535*(1-2), 272-284.

Jiang, Y., Liu, B., Xu, J., Pan, K., Hou, H., Hu, J., & Yang, J. (2018). Cross-linked chitosan/β-cyclodextrin composite for selective removal of methyl orange: Adsorption performance and mechanism. *Carbohydrate polymers*, *182*, 106-114.

Joseph, S. M., Krishnamoorthy, S., Paranthaman, R., Moses, J. A., & Anandharamakrishnan, C. (2021). A review on source-specific chemistry, functionality, and applications of chitin and chitosan. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, *2*, 100036.

Kaczmarek-Szczepańska, B., Sosik, A., Małkowska, A., Zasada, L., & Michalska-Sionkowska, M. (2021). Chitosan-based films enriched by caffeic acid with poly (ethylene glycol)–A physicochemical and antibacterial properties evaluation. *International Journal of Biological Macromolecules*, *192*, 728-735.

Kassahun, K., McIntosh, I., Cui, D., Hreniuk, D., Merschman, S., Lasseter, K., ... & Wenning, L. A. (2007). Metabolism and disposition in humans of raltegravir (MK-0518), an anti-AIDS drug targeting the human immunodeficiency virus 1 integrase enzyme. *Drug Metabolism and Disposition*, *35*(9), 1657-1663.

Kaya, M., Dudakli, F., Asan-Ozusaglam, M., Cakmak, Y. S., Baran, T., Mentes, A., & Erdogan, S. (2016). Porous and nanofiber α-chitosan obtained from blue crab (Callinectes sapidus) tested for antimicrobial and antioxidant activities. *LWT-Food Science and Technology*, *65*, 1109-1117.

Kono, H., & Teshirogi, T. (2015). Cyclodextrin-grafted chitosan hydrogels for controlled drug delivery. *International journal of biological macromolecules*, *72*, 299-308.

Kurt, K., Dönbak, L., & Kayrayıldız, A. (2015). AIDS Tedavisinde Tenofovir Disoproksil Fumarat. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, *24*(1), 119-134.

Lee, S. Y., Kang, M. S., Jeong, W. Y., Han, D. W., & Kim, K. S. (2020). Hyaluronic Acid-Based Theranostic Nanomedicines for Targeted Cancer Therapy. *Cancers, 12*, 940; doi:10.3390/cancers12040940.

Li, S. N., Li, B., Yu, Z. R., Li, Y., Guo, K. Y., Gong, L. X., Feng, Y., Jia, D., Zhou, Y., & Tang, L. C., (2020). Constructing dual ionically cross-linked poly(acrylamide-co-acrylic acid) /chitosan hydrogel materials embedded with chitosan decorated halloysite nanotubes for exceptional mechanical performance. *Composites Part B, 194*, 108046.

López-Cervantes, J., Sánchez-Machado, D. I., Sánchez-Duarte, R. G., & Correa-Murrieta, M. A. (2018). Study of a fixed-bed column in the adsorption of an azo dye from an aqueous medium using a chitosan–glutaraldehyde biosorbent. *Adsorption Science & Technology*, *36*(1-2), 215-232.

Loutfy, S. A., Elberry, M. H., Farroh, K. Y., Mohamed, H. T., Mohamed, A. A., Mohamed, E. B., ... & Mousa, S. A. (2020). Antiviral activity of chitosan nanoparticles encapsulating curcumin against hepatitis C virus genotype 4a in human hepatoma cell lines. *International journal of nanomedicine*, *15*, 2699.

Machín, R., Isasi, J. R., & Vélaz, I. (2012). β-Cyclodextrin hydrogels as potential drug delivery systems. *Carbohydrate polymers*, *87*(3), 2024-2030.

Malik, N.S., Ahmad, M., Minhas, M.U., Tulain, R., Barkat, K., Khalid, I. & Khalid, Q. (2020). Chitosan/Xanthan Gum Based Hydrogels as Potential Carrier for an Antiviral Drug: Fabrication, Characterization, and Safety Evaluation. *Frontiers in Chemistry*, *8, 50.* doi: 10.3389/fchem.2020.00050.

Malik, N. S., Ahmad, M., Alqahtani, M. S., Mahmood, A., Barkat, K., Khan, M. T., ... & Rashid, A. (2021). β-cyclodextrin chitosan-based hydrogels with tunable pH-responsive properties for controlled release of acyclovir: design, characterization, safety, and pharmacokinetic evaluation. *Drug Delivery*, *28*(1), 1093-1108.

Masho, S. W., Wang, C. L., & Nixon, D. E. (2007). Review of tenofovir-emtricitabine. Therapeutics and clinical risk management, 3(6), 1097.

Masquelier, B., Tamalet, C., Montès, B., Descamps, D., Peytavin, G., Bocket, L., ... & ANRS AC11 Resistance Study Group. (2004). Genotypic determinants of the

virological response to tenofovir disoproxil fumarate in nucleoside reverse transcriptase inhibitor-experienced patients. *Antiviral therapy*, *9*(3), 315-324.

Matencio Duran, A., Hoti, G., Monfared, Y., Rezayat, A., Rubin Pedrazzo, A., Caldera, F., & Trotta, F. (2021). Cyclodextrin Monomers and Polymers for Drug Activity Enhancement. *Polymers, 13,* 1684.

Merck & Co Inc. 2017. Isentress_ (raltegravir): US prescribing information. https://www.fda.gov. Accessed 19 Sept 2017.

Merck Sharp & Dohme Ltd. 2017. Isentress 600 mg film-coated tablets: EU summary of product characteristics. http://www.ema. europa.eu. Accessed 19 Sept 2017.

Michailidou, G., Koukaras, E. N., & Bikiaris, D. N. (2021). Vanillin chitosan miscible hydrogel blends and their prospects for 3D printing biomedical applications. *International Journal of Biological Macromolecules, 192,* 1266–1275.

Mizrahy, S., & Peer, D. (2012). Polysaccharides as building blocks for nanotherapeutics. *Chemical Society Reviews*, *41*(7), 2623-2640.

Moukbil, Y., Oktar, F. N., Ozbek, B., Ficai, D., Ficai, A., Andronescu, E., ... & Gunduz, O. (2018). Biohydrogels for medical applications: A short review. *Organic Communications, 11(3),* 123-141.

Mulato, A. S., & Cherrington, J. M. (1997). Anti-HIV activity of adefovir (PMEA) and PMPA in combination with antiretroviral compounds: in vitro analyses. *Antiviral research*, *36*(2), 91-97.

Pakdel, P. M., & Peighambardoust, S. J. (2018). Review on recent progress in chitosan-based hydrogels for wastewater treatment application. *Carbohydrate polymers*, *201*, 264-279.

Pandey, M., Choudhury, H., Abdul-Aziz, A., Bhattamisra, S. K., Gorain, B., Su, J. S. T., ... & Yip, K. Y. (2021). Advancement on sustained antiviral ocular drug delivery for herpes simplex virus keratitis: Recent update on potential investigation. *Pharmaceutics,* 13(1), 1.

Paun, G., Neagu, E., Tache, A., & Radu, G. L. (2014). New type of chitosan/2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin composide membrane for gallic acid encapsulation and controlled release. *Acta Chim Slov*, *61*(1), 27-33.

Peers, S., Montembault, A., & Ladavière, C. (2020). Chitosan hydrogels for sustained drug delivery. *Journal of Controlled Release*, *326*, 150-163.

Peers, S., Montembault, A., & Ladavière, C. (2021). Chitosan hydrogels incorporating colloids for sustained drug delivery. *Carbohydrate Polymers*, 118689.

Pennington, M. R., Voorhees, I. E., Callaway, H. M., Dehghanpir, S. D., Baines, J. D., Parrish, C. R., & Van de Walle, G. R. (2018). The HIV integrase inhibitor raltegravir inhibits felid alphaherpesvirus 1 replication by targeting both DNA replication and late gene expression. *Journal of virology*, *92*(20), e00994-18.

Pereva, S., Nikolova, V., Angelova, S., Spassov, T., & Dudev, T. (2019). Water inside β-cyclodextrin cavity: Amount, stability and mechanism of binding. *Beilstein journal of organic chemistry*, *15*(1), 1592-1600.

Rajabi, M., McConnell, M., Cabral, J., & Ali, M. A. (2021). Chitosan hydrogels in 3D printing for biomedical applications. *Carbohydrate Polymers*, 117768.

Ramkumar, K., & Neamati, N. (2009). Raltegravir: The evidence of its therapeutic value in HIV-1 infection. *Core evidence*, *4*, 131.

Robbins, B. L., Srinivas, R. V., Kim, C., Bischofberger, N., & Fridland, A. (1998). Anti-human immunodeficiency virus activity and cellular metabolism of a potential prodrug of the acyclic nucleoside phosphonate 9-R-(2-phosphonomethoxypropyl) adenine (PMPA), bis (isopropyloxymethylcarbonyl) PMPA. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *42*(3), 612-617.

Ross, K. (2015). *HIV integrase mechanisms of resistance to raltegravir, elvitegravir, and dolutegravir*. Wayne State University.

Selvaraj, S., Niraimathi, V., Nappinnai, M., (2016). Formulation and evaluation of acyclovir loaded chitosan nanoparticles. *International Journal of Pharmacy and Analytical Research, 5(4),* 619-629.

Sandeep, C., Harikumar, S. L., & Kanupriya, (2012). Hydrogels: A Smart Drug Delivery System. *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry*, IJRPC, 2(3). ISSN: 2231–2781.

Saokham, P., Muankaew, C., Jansook, P., & Loftsson, T. (2018). Solubility of cyclodextrins and drug/cyclodextrin complexes. *Molecules*, *23*(5), 1161.

Sichilongo, K., Keolopile, Z. G., Ndlovu, S., Mwando, E., Shaba, C., & Massele, A. (2016). Characterization of tenofovir, tenofovir disoproxil fumarate andemtricitabine in aqueous solutions containing sodium ions using ESI-MS, NMR and Ab initio calculations. *International Journal of Mass Spectrometry, 410,* 1-11.

Stellbrink, H. J., (2008). Raltegravir in the management of HIV-infected patients. *Drug Design, Development and Therapy*, *2*, 281-288.

Sultanova, E. M., Salakhutdinova, M. K., Oshchepkova, Y. I., Asrorov, A. M., Oripova, M. J., Ishimov, U. J., & Salikhov, S. I. (2020). Chitosan Hydrogel Improves Bioavailability of Megosin. *Acta Facultatis Pharmaceuticae*, *67*(1), 1-6.

Taşdelen, B. (2018). Preparation and characterization of conducting hydrogels composite made of polyaniline, polyacrylamide and kaolin. *Materials Today: Proceedings*, *5*(8), 15983-15989.

Taşdelen, B., Kayaman-Apohan, N., Güven, O., & Baysal, B. M. (2004). Swelling and diffusion studies of poly (N-isopropylacrylamide/itaconic acid) copolymeric hydrogels in water and aqueous solutions of drugs. *Journal of Applied Polymer Science*, *91*(2), 911-915.

Temesgen, Z., & Siraj, D. S. (2008). Raltegravir: first in class HIV integrase inhibitor. *Therapeutics and clinical risk management*, *4*(2), 493.

Tenofovir disoproxil fumarate. In: Proceedings of the FDA Antiviral Drug Products Advisory Committee Meeting. Silver Spring, MD: US Food and Drug Administration, 2001

Tian, B., Hua, S., Tian, Y., & Liu, J. (2020). Chemical and physical chitosan hydrogels as prospective carriers for drug delivery: a review. *Journal of Materials Chemistry B*, *8*(44), 10050-10064.

Uddin, M. S., & Ju, J. (2020). Effect of crosslinking agents on drug distribution in chitosan hydrogel for targeted drug delivery to treat cancer. *Journal of Polymer Research*, *27*(3), 1-10.

Umbarkar, M. G., Rindhe, P. S., Chandrawanshi, S. S., Chavan, M. J., & Manaskar, V. (2020). Formulation and Evaluation of Polymeric Nanoparticle by Nano-Precipitation Method. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, *10*(5-s), 136-142.

UNAIDS(2019).https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_FactSheet_en.pdf, (Erişim tarihi: 19.10.2020)

Xie, M., Hu, B., Wang, Y., & Zeng, X. (2014). Grafting of Gallic Acid onto Chitosan Enhances Antioxidant Activities and Alters Rheological Properties of the Copolymer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *62*, 9128-9136.

Vigata, M., Meinert, C., Hutmacher, D. W., & Bock, N. (2020). Hydrogels as drug delivery systems: A review of current characterization and evaluation techniques. *Pharmaceutics*, *12*(12), 1188.

Wang, M., Wang, S., Yang, H., Ku, W., Yang, S., Liu, Z., & Lu, G. (2020). Carbon-based electrocatalysts derived from biomass for oxygen reduction reaction: a minireview. *Frontiers in chemistry*, *8*, 116.

Wang, W., Bo, S., Li, S., & Qin, W. (1991). Determination of the Mark-Houwink equation for chitosans with different degrees of deacetylation. *International Journal of Biological Macromolecules*, *13*(5), 281-285.

Wang, Y. X., Qin, Y. P., Kong, Z. J., Wang, Y. J., & Ma, L. (2014). Glutaraldehyde cross-linked silk fibroin films for controlled release. In *Advanced Materials Research* (Vol. 887, pp. 541-546). Trans Tech Publications Ltd.

Wei, W., Li, H., Yin, C., & Tang, F. (2020). Research progress in the application of in situ hydrogel system in tumor treatment. *Drug Delivery*, *27(1)*, 460–468.

Wikipedia, 2020. https://en.wikipedia.org/wiki/Raltegravir (Erişim tarihi: 10.10.2020)

World Health Organization. (2019). *World Health Organization model list of essential medicines: 21st list 2019* (No. WHO/MVP/EMP/IAU/2019.06). World Health Organization.

Younes, I. & Rinaudo M. (2015). Chitin and CS preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Marine Drugs*, *13*(3), 1133-1174.

Yu, D., & Heathcote, J. (2011). Tenofovir in the treatment of chronic hepatitis B. *Clinical Practice*, *8*(5), 527.

Zarandona, I., Barba, C., Guerrero, P., de la Caba, K., & Maté, J. (2020). Development of chitosan films containing β-cyclodextrin inclusion complex for controlled release of bioactives. *Food Hydrocolloids*, *104*, 105720.

Zelencova, L., Erdoğan, S., Baran, T., & Kaya, M. (2015). Chitin extraction and chitosan production from Chilopoda (Scolopendra cingulata) with identification of physicochemical properties. *Polymer Science Series A*, 57(4), 437-444.

Zhang, C., Wang, X., Zhang, F., Dong, L., Wu, J., Cheng, Q., ... & Zhang, S. (2017). Phenylalanine ammonia-lyase2. 1 contributes to the soybean response towards Phytophthora sojae infection. *Scientific reports*, *7*(1), 1-13.

Zhang, J., & Ma, P. X. (2013). Cyclodextrin-based supramolecular systems for drug delivery: recent progress and future perspective. *Advanced drug delivery reviews*, *65*(9), 1215-1233.

Zhang, M., Wang, J., & Jin, Z. (2018). Supramolecular hydrogel formation between chitosan and hydroxypropyl β-cyclodextrin via Diels-Alder reaction and its drug delivery. *International journal of biological macromolecules*, *114*, 381-391.

Zhang, W. W., Cheung, P. K., Oliveira, N., Robbins, M. A., Harrigan, P. R., & Shahid, A. (2018). Accumulation of multiple mutations in vivo confers cross-resistance to new and existing integrase inhibitors. *The Journal of infectious diseases*, *218*(11), 1773-1776.

Zhao, D., Yu, S., Sun, B., Gao, S., Guo, S., & Zhao, K. (2018). Biomedical applications of chitosan and its derivative nanoparticles. *Polymers*, *10*(4), 462.

Zhou, H. Y., Chen, X. G., Kong, M., Liu, C. S., Cha, D. S., & Kennedy, J. F. (2008). Effect of molecular weight and degree of chitosan deacetylation on the preparation and characteristics of chitosan thermosensitive hydrogel as a delivery system. *Carbohydrate polymers*, *73*(2), 265-273.

Zhou, H. Y., Wang, Z. Y., Duan, X. Y., Jiang, L. J., Cao, P. P., Li, J. X., & Li, J. B. (2016). Design and evaluation of chitosan-β-cyclodextrin based thermosensitive hydrogel. *Biochemical engineering journal*, *111*, 100-107.

Zhu, X., Tan, W., Zhou, F., Li, Z., & Duan, L. (2012). The effect of phosphate buffer solutions on uniconazole complexation with hydroxypropyl-β-cyclodextrin and methyl-β-cyclodextrin. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, *73*(1-4), 193-198.

ÖZGEÇMİŞ

Nuh YAMAN 1991'de Ağrı 'nın Diyadin ilçesinde dünyaya geldi. İlköğretimini Havsa Sokollu İlköğretim Okulu'nda, lise eğitimini Gökçeada Atatürk Anadolu Öğretmen Lisesi'nde tamamladı. 2015 yılında Kütahya Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Öğretmenliği'nden mezun oldu. 2016-2017 yılları arası kişisel eğitim danışmanlığı yaptı. 2017-2018 yıllarında askerlik görevini tamamladı. 2018-2019 yıllarında Edirne'de Robotik Kodlama ve Akıl Zekâ Oyunları eğitmenlikleri görevlerini kendi kişisel eğitim kurumunda sürdürdü. 2019'da Trakya Üniversitesi Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başlayıp, tez aşamasındadır. Aynı zamanda 2019 yılında Nobel ilaç San. A.Ş. de Mikrobiyoloji Uzmanı olarak çalışmaya başlayıp halen daha görevine devam etmektedir.