



**İLAC SALIMI İÇİN MOLEKÜLER BASKILANMIŞ KRİYOJEL  
MEMBRANLAR**

**MOLECULAR IMPRINTED CRYOGEL MEMBRANES FOR  
DRUG DELIVERY**

**PINAR ÖNCEL**

**DOÇ. DR. HANDAN YAVUZ ALAGÖZ**

**Tez Danışmanı**

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Biyomühendislik Anabilim Dalı için Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır

2013

**Pınar ÖNCEL**'in hazırladığı 'Kontrollü İlaç Salımı İçin Moleküler Baskılanmış Kriyojel Membranlar' adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **BIYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Üye (Başkan)

(Prof. Dr. Adil DENİZLİ)

Danışman

(Doç. Dr. Handan YAVUZ ALAGÖZ)

Üye

(Prof. Dr. Nursel PEKEL BAYRAMGİL)

Üye

(Doç. Dr. Mehmet ODABAŞI)

Üye

(Doç. Dr. Lokman UZUN)

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof.Dr. Fatma SEVİN DÜZ  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

*Canım babam, Haluk Öncel'e*

## ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

27/09/2013

Pınar ÖNCEL

## ÖZET

### İLAÇ SALIMI İÇİN MOLEKÜLER BASKILANMIŞ KRİYOJEL MEMBRANLAR

Pınar ÖNCEL

**Yüksek Lisans, Biyomühendislik Anabilim Dalı**  
**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Handan YAVUZ ALAGÖZ**  
**Eylül 2013, 73 sayfa**

Kontrollü ilaç salımının amacı ilacın vücudun en uygun bölgesine terapötik doz ile salımını sağlamaktır. Bunun yanında ilacın yan etkilerini azaltmak, hastaya en uygun doz şeklinde verilmesini sağlamak ve ilacın farmakolojik etkisini uzun süre tutmaktır. Moleküler baskılama işlemi, kalıp molekül ile çevresindeki fonksiyonel monomer ve çapraz bağlayıcının üç boyutlu etkileşimlerine dayalı bir teknolojidir. Moleküler baskılanmış ilaç salım sistemlerinin geliştirilmesi ve uygulamasını içeren çalışma ve patentlerin sayısı, depo gibi davranarak terapötik ilaç salımının yavaş gerçekleşmesini sağlamaları; yükleme kapasitesini güçlendirmeleri; çevre koşullarına bağlı olarak terapötik salımın gerçekleştirilebilmesi; enantiyoseçici yükleme veya eutomer salımının yapılabilmesi sayesinde giderek artmaktadır. Kriyojeller, kısmen donmuş monomer veya polimer çözeltileriyle hazırlanan üç boyutlu jel matriksleridir. Makrogözenekli yapıları sayesinde hızlı şişme kinetiği ile ilaç salım sistemlerinde kullanılabilirler. Mitomisin C çok geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Antiproliferatif özelliğinden dolayı göğüs, prostat kanserlerinde kullanılır. Mesane yüzey kanseri tedavisi için ilk tercih edilen ilaçtır. Oftalmolojide, glokom hastalıklarında ve trabulektomi hastalıklarında yardımcı ajan olarak kullanılmaktadır.

Bu çalışmada Mitomisin C'nin kontrollü salımı için Mitomisin C baskılanmış PHEMA temelli kriyojel membranlar hazırlanmış *in-vitro* ortamda ilaç salım performansı belirlenerek ve ilaç salımının matematiksel analizi gerçekleştirilmiştir. Mitomisin C ile etkileşecek fonksiyonel monomer olarak N-metakriloil-(L)-glutamik

asit (MAGA) seçilmiştir. Mitomisin C baskılanmış (MIP) PHEMA kriyojel membranların sentezi, -20°C sıcaklıkta, 18 saat süreyle gerçekleştirilmiştir. Moleküler olarak baskılanmış PHEMA kriyojel membranlar monomer çapraz bağlayıcı oranları değiştirilerek dört farklı içerikte hazırlanmıştır. Çapraz bağlayıcı oranının artması ile kriyojellerin şişme ve makrogözeneklilik oranı azalmaktadır. BET yöntemi ile kriyojelin yüzey alanı ortalama 25 m<sup>2</sup>/g olarak bulunmuştur. Gözeneklerin çapı 20 – 245 Å aralığında değişmektedir ve ortalama çap 78.2 Å'dür. SEM fotoğrafları, sentezlenen kriyojellerin birbiriyle bağlantılı, 10-100 µm çapında makrogözeneklere sahip olduğunu göstermektedir. Çapraz bağlayıcı miktarının artmasıyla kriyojellerden Mitomisin C salım hızının ve miktarının azaldığı gözlenmiştir. Baskılanan kalıp molekülün miktarının artması, kriyojel membranlarda Mitomisin C'ye özgü kavitelemlerin sayısını arttırmıştır, buna bağlı olarak polimere daha fazla Mitomisin C molekülü girmiş ve salım miktarının da arttığı gözlenmiştir. İlaç yükleme miktarının artması ile birlikte salım hızın da arttığı gözlenmiştir. Mitomisin C baskılanmış membranların ilaç salımı, güç yasası olarak ifade edilen, Fickian eşitliği kullanılarak matematiksel olarak analizi yapılmıştır. Elde edilen ilaç salım mekanizmasını belirleyen 'n' salım üsteli, tüm salım çalışmalarında 0.5 ile 1 arasında bulunmuştur. Bu değerler arasında kalan 'n' değeri güç yasasına göre, salımın non-fickian kanuna uyduğunu göstermektedir. Güç yasasından elde edilen ve difüzyon katsayısı olarak ifade edilen 'k' değeri, kriyojel yapısındaki monomer çapraz bağlayıcı oranının ve kalıp molekül miktarlarının artmasıyla artmıştır. Bu sonuç, Mitomisin C baskılanmış kriyojel membranlardan deneysel olarak elde edilen verileri desteklemektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Mitomisin C, kontrollü ilaç salımı, moleküler baskılama, PHEMA, kriyojel membran

## **ABSTRACT**

### **MOLECULAR IMPRINTED CRYOGEL MEMBRANES FOR DRUG DELIVERY**

**Pınar ÖNCEL**

**Master of Science, Bioengineering Division**

**Supervisor: Assoc. Prof. Handan YAVUZ ALAGÖZ**

**September 2013, 73 pages**

The aim of the controlled drug delivery is to release drug with a therapeutic dose to the defined part of the body. Besides that, decreasing the side effects, providing a minimum dose usage and prolonging the pharmacological effect of the drug are the other purposes. Molecular imprinting is a technology based on the three dimensional interactions of functional monomer and cross-linker around the template molecule. The number of studies and patents on development and application of molecular imprinted drug release systems are gradually increasing because they actualize slow therapeutic drug release; strengthen the loading capacity; actualize the therapeutic release depending on environmental aspects; enantioselective or eutomer release. Cryogels are partially frozen gel matrices which are being prepared with the monomer or polymer solutions. They can be used at drug release systems with their macropore structure and thus fast swelling kinetics. Mitomycin C is a broad spectrum antibiotic. It is used at breast and prostate cancer because of its anti-proliferative character. It is the first preferred drug at the treatment of bladder surface cancer. It is used as an assistant agent at ophthalmology, glaucoma and trabulectomia.

In this study, for the controlled release of Mitomycin C, Mitomycin C imprinted PHEMA based cryogel membranes are prepared and in vitro drug release performance is determined and the mathematical analysis of release is performed.



N-Methacryloyl-(L)-glutamic acid is chosen as functional monomer to interact with Mitomycin C. Synthesis of Mitomycin C imprinted and nonimprinted (MIP-NIP) PHEMA cryogel membranes is performed at  $-20^{\circ}\text{C}$  for 18 hours. Molecularly imprinted PHEMA cryogel membranes are prepared by four different ways by changing the monomer and cross linker ratios. With the increase of cross linker ratios, the swelling and macropore ratios are decreased. Surface area of the cryogel is found as around  $25\text{ m}^2/\text{g}$  by BET technique. The pore diameters are changing between  $20\text{-}245\text{ \AA}$  and average pore diameter is  $78.2\text{ \AA}$ . SEM pictures are showed that cryogels have interconnected macropores in diameter from  $10\text{ to }100\text{ }\mu\text{m}$ . It is observed that the release rate and the amount of Mitomycin C released from cryogel are decreasing with the increase of cross-linker ratio. The increase in the amount of imprinted template molecules has increased the number of the cavities specific for Mitomycin C at cryogel membranes. Therefore, more Mitomycin C is entered into the polymer and the release amount is increased. It is observed that release rate has also been increased with the drug loading capacity. The Mitomycin C release from imprinted membranes is mathematically analyzed with Fickian equation which is expressed as power law. "n" which is known as drug release mechanism determinant, is found between 0.5 and 1.0 in all release studies. According to the power law "n" value between these values shows that release is suited to non-fickian law. "k" value which is obtained from power law and known as diffusion coefficient, is increased by the increment of cross-linker ratios in cryogel structure and template molecule amount This result supports the obtained data; drug release is occurred at Mitomycin C imprinted cryogel membranes by experimentally.

**Keywords:** Mitomycin C, controlled drug release, molecular imprinting, PHEMA, cryogel membrane.

## TEŞEKKÜRLER

Tez çalışmalarımın yürütülmesi ve sonuçlandırılması için engin bilgi ve tecrübeleriyle desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, disiplinli çalışması ve yol göstericiliğiyle her zaman örnek alacağım kıymetli bilim insanı, tez danışmanım, çok değerli hocam Doç. Dr. Handan Yavuz Alagöz'e

Tezimin deneysel çalışmalarını yürütebilmem için bana laboratuvarını açan, bilimsel bilgilerini alçak gönüllülikle bizlerle paylaşan, değerli bilim insanı Sayın hocam Prof. Dr. Adil Denizli'ye,

Laboratuvar çalışmalarım sırasında bilgi ve tecrübesiyle, dostluğu ve desteğiyle hep yanımda olduğunu bildiğim sevgili arkadaşım Bahar Ergün'e

Sevgili hocalarım ve çalışma arkadaşlarım; Doç. Dr. Lokman Uzun, Dr. Fatma Yılmaz, Dr. Müge Andaç, Dr. Erkut Yılmaz, Dr. Veyis Karakoç, Dr. Deniz Türkmen, Dr. Daryoush Majidi, Dr. Engin Bayram, Dr. Nilay Bereli, Recep Üzek, Tuğba Doğan, Gülsu Şener, Canan Armutçu, Mehmet Emin Çorman, Yeşeren Saylan, Ilgım Göktürk, Duygu Çimen, Gözde Baydemir Peşint, Işık Perçin Demirçelik, Ahmet Hamdi Demirçelik, Cemil Aydoğan, Sevgi Aslıyüce Çoban, Mehmet Lütfi Yola, Erdoğan Özgür, Semra Akgönüllü, Ali Derazshamshir, Huma Shaik, Emir Alper Türkoğlu, Kazım Köse, İlker Koç, Aykut Arif Topçu, Esmâ Sarı, Gizem Ertürk, Kadir Erol ve diğer BIOREG üyelerine,

Dostluklarını ve yardımlarını hiç esirgemeyen canım arkadaşlarım Zeynep Keskin Kamiloğlu'na, Elif Kaya'ya, Ceyda Güngör'e, Gülsen Koçoğlu'na, Şeyma Akdoğan'a,

Manevi desteğiyle her zaman yanımda olan canım arkadaşım ve dostum Olga Bayraktaroğlu'na,

Tüm yaşamım boyunca iyi ve kötü günümde yanımda olmasada kalben benimle olan çok sevgili babacığım ve beni hep sevgiyle destekleyen biricik anneme ve kardeşime,

Sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Pınar Öncel

Ankara, 2013

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	iii
TEŞEKKÜRLER .....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİLLER .....	ix
ÇİZELGELER.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	4
2.1. Kontrollü İlaç Salım Sistemleri .....	4
2.1.1. Kontrollü Salım Mekanizmaları .....	6
2.1.2. İlaç Salım Kinetiğinin Matematiksel Analizi.....	7
2.2. Moleküler Baskılama Yöntemi .....	8
2.2.1. Moleküler Baskılamanın Temel Bileşenleri.....	10
2.2.1.1. Kalıp Molekül .....	10
2.2.1.2. Fonksiyonel Monomer.....	10
2.2.1.3. Çapraz Bağlayıcı .....	11
2.2.1.4. Çözücü.....	14
2.2.1.5. Başlatıcılar .....	15
2.2.2. Moleküler Baskılama .....	15
2.2.2.1. Kovalent Baskılama .....	16
2.2.2.2. Kovalent Olmayan Baskılama.....	16
2.2.2.3. Kovalent ve Kovalent Olmayan Baskılama Yöntemlerinin Avantajları ve Dezavantajları .....	16
2.3. Moleküler Baskılama Yöntemi ile İlaç Salımının Düzenlenmesi.....	17

2.3.1. Fonksiyonel Monomer, Çapraz Bağlayıcı ve Kalıp Molekül Oranlarının Etkileri .....	19
2.3.2. Seçici Enantiyomerik Salım Sistemi .....	20
2.3.3. Sulu Ortamda Moleküler Baskılama .....	21
2.3.4. Kontrollü Salım Sistemleri için Moleküler Baskılanmış Hidrojeller .....	21
2.3.5. Moleküler Baskılanmış Polimerlerle Yapılan Diğer Kontrollü Salım Çalışmaları .....	22
2.4. Kriyojeller .....	23
2.4.1. Kriyotropik Jelleşme .....	25
2.4.2. Kriyojellerin Diğer Jellerden Farkı.....	26
2.5. Mitomisin C .....	26
2.5.1. Mitomisin C'nin Farmakolojik Özellikleri .....	27
2.5.2. Mitomisin C'nin Farmakokinetik Özellikleri .....	27
2.5.3. Mitomisin C'nin Endikasyonları.....	28
3. DENEYSEL YÖNTEMLER .....	29
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	29
3.2. Mitomisin C Baskılanmış PHEMA Kriyojel Membranların Hazırlanması ....	29
3.2.1. MAGA Fonksiyonel Monomerinin Hazırlanması .....	30
3.2.2. Mitomisin C/MAGA Kompleksinin Hazırlanması.....	30
3.2.3. Membranların Hazırlanması .....	30
3.3. Karakterizasyon Çalışmaları .....	31
3.3.1. Kriyojel Membranların SEM Görüntüsü .....	31
3.3.2. Şişme Özelliklerinin Belirlenmesi.....	31
3.3.3. Yüzey Alanı Ölçümleri .....	32
3.3.4. FTIR Çalışmaları .....	32
3.3.5. Kan Uyumluluğu Testleri .....	32
3.4. Mitomisin C Salım Çalışmaları .....	33
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	34
4.1. Karakterizasyon Çalışmaları .....	34
4.2. Kan Uyumluluğu Çalışmaları .....	37
4.3. Mitomisin C Salım Çalışmaları .....	38
4.3.1. Çapraz Bağlayıcı Oranının Mitomisin C Salımına Etkisi .....	38

4.3.2. Kalıp Molekül Miktarının Salıma Etkisi .....	40
4.3.3. Yüklenen İlaç Miktarının Salıma Etkisi .....	41
4.4. Mitomisin C Baskılanmış Kriyojel Membranlardan Mitomisin C Salımının Matematiksel Analizi .....	42
4.4.1. Farklı Çapraz Bağlayıcı Oranına Sahip Kriyojellerin Matematiksel Analizi.....	43
4.4.2. Farklı Kalıp Molekül Miktarına Sahip Kriyojellerin Matematiksel Analizi .....	44
4.4.3. Farklı Miktarlarda Mitomisin C Yüklenmesinin Matematiksel Analizi ...	44
5. YORUM .....	46
6. KAYNAKLAR .....	50
ÖZGEÇMİŞ .....	58

## ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Plazmadaki ilaç derişiminin zamanla değişimi .....	5
Şekil 2.2. Moleküler baskılama bileşenleri .....	9
Şekil 2.3. Kullanılan fonksiyonel monomerler .....	11
Şekil 2.4. Moleküler baskılama işleminde kullanılan çapraz bağlayıcılar.....	13
Şekil 2.5. Moleküler baskılama .....	15
Şekil 2.6. Moleküler baskılanmış ilaç salım sistemleri .....	19
Şekil 2.7. Kriyojellerin kullanım tipleri .....	24
Şekil 2.8. Mitomisin C baskılanmış kriyojellerin gözenek yapısını gösteren SEM görüntüsü .....	25
Şekil 2.9. Kriyojelasyon basamakları.....	26
Şekil 2.10. Mitomisin C'nin kimyasal yapısı .....	27
Şekil 3.1. Mitomisin C yüklemesi yapılmış (b) ve yapılmamış (a) kriyojel membranlar .....	33
Şekil 4.1. N-Metakriloil-(L)-glutamik asitin (MAGA) kimyasal yapısı.....	34
Şekil 4.2. Mitomisin C baskılanmış kriyojel membranlar.....	35
Şekil 4.3. PHEMA kriyojel ve Mitomisin C baskılanmış kriyojellerin FTIR spektrumları. ....	35
Şekil 4.4. Kriyojel membranların SEM fotoğrafları.....	36
Şekil 4.5. Farklı oranlarda çapraz bağlayıcı oranına sahip Mitomisin C baskılanmış kriyojel membranlardan ilaç salımı .....	39
Şekil 4.6. Baskılanan kalıp molekül Mitomisin C miktarının Mitomisin C salımına etkisi .....	40
Şekil 4.7. Mitomisin C yükleme miktarının Mitomisin C salımına etkisi.....	41
Şekil 4.9. Farklı çapraz bağlayıcı oranına sahip kriyojellerin matematiksel analizi. ....	43
Şekil 4.10. Farklı kalıp miktarına sahip kriyojellerin matematiksel analizi.....	44
Şekil 4.11. Farklı miktarlarda Mitomisin C yüklenmesinin matematiksel analizi....	45

## ÇİZELGELER

Çizelge 2.1. Kontrollü Salım Mekanizmaları .....	6
Çizelge 2.2. 5 FU-baskılanmış polimerlerin hazırlanma koşulları .....	23
Çizelge 3.1. Mitomisin C baskılanmış kriyojel membranların bileşimi.....	31
Çizelge 4.1. Mitomisin C baskılanmış kriyojel membranların şişme ve makrogözeneklilik oranları.....	37
Çizelge 4.2. Pıhtılaşma zamanları.....	38
Çizelge 4.3. Güç yasasının difüzyon üsteli ve farklı geometrideki polimerik salım sistemlerindeki ilaç salım mekanizmaları .....	42
Çizelge 4.4. Farklı HEMA/MBAAm oranlarına sahip MIP kriyojellerin n ve k değerleri .....	43
Çizelge 4.5. Farklı kalıp miktarlarına sahip polimerlerin n ve k değerleri.....	44
Çizelge 4.6. Farklı derişimde ilaç yüklenen M-II kriyojelinin n ve k değerleri .....	45

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Kısaltmalar

APS	Amonyum persülfat
APTT	Tromboplastin zamanı
BET	Brunauer–Emmett–Teller
BJH	Barrett-Joyner-Halenda
CT	Pıhtılaşma zamanı
EGDMA	Etilen glikol dimetakrilat
MAGA	N-Metakriloil-(L)-glutamik asitin
MBAAm	N,N'-Metilen bisakrilamit
MIP	Moleküler baskılanmış polimer
HEMA	2-Hidroksietil metakrilat
PHEMA	Polihidroksietil metakrilat
PT	Protrombin zamanı
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
TEMED	N,N,N,N-tetrametil etilendiamin



# 1. GİRİŞ

Kontrollü salım ilk defa 1950'li yıllarda çeşitli tarım ilaçlarının polimerik taşıyıcılar kullanarak salımı ile denenmeye başlanmıştır. 1960'ların ortalarında bu denemeler tıp alanına da girmiştir. 1970'li yıllarda çalışmalar büyük molekül ağırlıklı (MA>600) ilaçların katı polimerlerden sürekli salımı yönünde çalışmalar başlamıştır [1]. İlaç salımını kontrol eden bir araç olarak polimerlerin kullanıldığı sisteme "Kontrollü salım sistemi" denir. Kontrollü salım sistemlerinde ilaç polimer yapıdan belli bir süre salınır. Son on yıldır akıllı ilaç sistemleri biyomedikal ve farmakolojik alanda bilim adamlarının ilgisini çekmektedir. Yeni malzeme ve teknolojilerin gelişimiyle birlikte bilim adamları salım sistemlerini sadece farmakolojik alanda değil terapötik ajanlarda örneğin proteinlerde de kullanmaya başlamışlardır. Bütün kontrollü salım sistemlerinin amacı ilaçların güvenliğini ve tedavinin etkinliğini arttırmaktır [2]. Etken madde kontrollü ilaç salımının hedefi ilacın vücudun en uygun bölgesine terapötik doz ile salımını sağlamaktır. Bunun yanında ilacın yan etkilerini azaltmak, hastaya en az doz şeklinde verilmesini sağlamak ve ilacın farmakolojik etkisini uzun süre tutmaktır. İlacın verilmesinde kullanılan klasik yöntemlerde ilaç derişim profili oldukça dalgalıdır. Yani, ilaç plazma derişimi etkin düzeyin altına düşebilmekte veya güvenilir düzeyin (toksik sınır) üstüne çıkabilmektedir. İlaç derişiminin etkin düzeyin altına düşmesi veya toksik sınırın üstüne çıkması, etken maddenin boşa harcandığını ifade etmekle birlikte hasta için istenmeyen durumlar yaratabilmektedir. Kontrollü ilaç salımında ise yüksek ya da düşük doz ayırımı olmaksızın ilacın optimum değerinde kararlı bir şekilde uzun bir periyot boyunca salınması amaçlanır. Kontrollü salım sistemleri artık birçok alanda (örneğin tıp, tarım, besin ve temizlik malzemeleri) kullanılmaktadır.

Moleküler baskılama işlemi, kalıp molekül ile çevresindeki fonksiyonel monomer ve çapraz bağlayıcının üç boyutlu etkileşimlerine dayalı bir teknolojidir [3]. Moleküler baskılama kavramı ilk defa 1972'de Günter Wulff ve çalışma grubu tarafından tanımlanmıştır [4]. Moleküler baskılanmış polimerlerin (MIP) ucuz olmaları, moleküler tanımaya elverişli olmaları büyük bir avantajdır. MIP'ler yüksek sıcaklık, basınç ve geniş pH aralığında fiziksel ve kimyasal faktörlere karşı oldukça dayanıklıdır. Ayrıca MIP'ler birkaç yıl boyunca saklanabilir ve tekrar tekrar kullanılabilirler.

Moleküler baskılama teknolojisindeki sürekli gelişmeler, çok farklı alanlarda farklı uygulamalar için çeşitli şekillerde, farklı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip malzemelerin elde edilmesini mümkün hale getirmektedir. Son zamanlarda, moleküler baskılama çok karmaşık ortamlardan belirli maddelerin ayrılması ve miktar tayini için analitik amaçlarla iyi geliştirilmiş bir araçtır. Moleküler baskılanmış polimerlerin (MIP'ler) hedef analitleri seçici olarak adsorplaması kullanımlarını kromatografik destek malzemeleri ve katı faz ekstraksiyon dolgu kartuşları olarak genişletmiştir. MIP'ler çevresel kirleticilerin uzaklaştırılması için de kullanılabilir. MIP'lerin immünotayinlerde biyolojik antibadilerin yerine kullanılmalarının avantajları ile ilgili uzun bir liste rapor edilmiştir. Eczacılık alanında biyolojik reseptörleri taklit eden baskılanmış malzemeler, potansiyel olarak farmakolojik etkiye sahip olabilecek yeni maddelerin taranması için, biyolojik sıvılarda belirli ilaçların ve bağımlılık yapıcı ilaçların tayini için giderek artan ilgi görmektedir. Ayrıca moleküler baskılanmış ilaç salım sistemlerinin geliştirilmesi ve uygulamasını içeren çalışma ve patentlerin sayısı giderek artmaktadır. MIP'lerin ilaç salımı için avantajları; rezervuar gibi davranarak terapötik ilaç salımının yavaş gerçekleşmesini sağlamaları; yükleme kapasitesini güçlendirmeleri; çevre koşullarına bağlı olarak terapötik salımın gerçekleştirilebilmeleri; enantiyoseçici yükleme veya eutomer salımının yapılabilmesidir. Kalıp molekülün fonksiyonel monomere afinitesi sayesinde uzun süre salım gerçekleşebilir [5].

Hidrojel suda çözünemeyen, hidrofilik kopolimerlerden oluşmuş, çapraz bağlı ve üç boyutlu yapıya sahip polimerik yapılarıdır. Bu özelliklerinden dolayı hidrojel normal dokuya benzer ve biyomedikal uygulamalarda kullanılır [5]. Hidrojel düşük çapraz bağ yoğunluğuna sahip olduğu için çeşitli ilaçlar, peptidler ve proteinler için taşıyıcı olarak kullanılırlar. Hidrojel dış çevreye (pH, sıcaklık, iyon derişimi) karşı cevap verdikleri için, şişme özellikleri ve ilaç moleküllerinin difüzyonunu kontrol ettiği için kontrol salım sistemlerinde oldukça kullanışlı polimerlerdir [5]. Bu nedenle hidrojel moleküler baskılama teknolojisinde çok kullanılır.

Anlamı yunanca krios (buz yada donma) kelimesinden gelen, kriyojel, kısmen donmuş monomerik veya polimerik çözeltilerle hazırlanan üç boyutlu jel matriksleridir. Kriyojel ilk olarak 1960'lı yıllarda rapor edilmiş ve biyoteknoloji potansiyelleri yeni keşfedilmeye başlamıştır [6]. Kriyojel, kısmen donmuş

monomerik veya polimerik çözeltileriyle hazırlanan üç boyutlu jel makrogözenekli veya süper makrogözenekli yapıya, süngersi morfolojiye sahip matriksleridir. Makrogözenekli yapısı sayesinde difüzyon akışı ve kütle aktarımı etkin bir şekilde gerçekleşir.

Kriyojeller ozmotik, kimyasal ve mekanik kararlılıkları nedeniyle biyolojik uygulamalarda önem kazanmıştır. Bu uygulamalar arasında; biyolojik nanopartiküllerin (plazmidler, virüsler, hücre organelleri) kromatografisinde [7,10] veya biyopolimerlerin [11,15] veya hücrelerin [16] immobilizasyonunda kullanılmışlardır. Ayrıca kriyojeller makrogözenekli yapısı sayesinde hızlı şişme kinetiği ile ilaç salım sistemlerinde ve biyosensör gibi sistemlerin tasarımında kullanılır. Son zamanlarda kriyojeller moleküler baskılama tekniklerinde de kullanılmaktadır. Bugüne kadar, agaroz, dekstran, poliakrilamid, polivinilalkol, polidimetilakrilamidden kriyojeller üretilmiştir [17, 18]. Kriyojeller istenilen silindirik, granüller veya disk şeklinde üretilirler.

Mitomisin C'ler 1950 yıllarında *Sterptomyces caespitosus* veya *Streptomyces lavendulae*'den elde edilen aziridin içeren doğal ürünler ailesine ait bir anti-tümör antibiyotiktir. Mitomisin C çok etkili bir DNA çapraz bağlayıcısıdır [19]; tümör hücrelerinde DNA'ya bağlanır ve DNA çift sarmalının iki kolu arasında çapraz bağlar oluşturur. Böylece DNA replikasyonunu önleyerek antitümöral etki gösterdiği düşünülmektedir.

Mitomisin C çok geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Antiproliferatif özelliğinden dolayı göğüs, prostat kanserlerinde kullanılır. Mesane yüzey kanseri tedavisi için ilk tercih edilen ilaçtır. Oftalmolojide, glokom hastalıklarında ve trabulektomi hastalıklarında yardımcı ajan olarak kullanılmaktadır. Diğer endikasyonlar; kronik lenfositik lösemi, kronik miyelositik lösemi, mide kanseri, metastatik kolorektal kanser, akciğer kanseri, pankreas kanseri, karaciğer kanseri, serviks kanseri, endometrium kanseri, meme kanseri, baş ve boyun tümörü ve mesane tümörüdür.

Bu tez çalışmasında Mitomisin C'nin kontrollü salımı için Mitomisin c baskılanmış PHEMA temelli kriyojel membranlar hazırlanmış in-vitro ortamda ilaç salım performansı belirlenerek ve salımın matematiksel analizi gerçekleştirilmiştir.

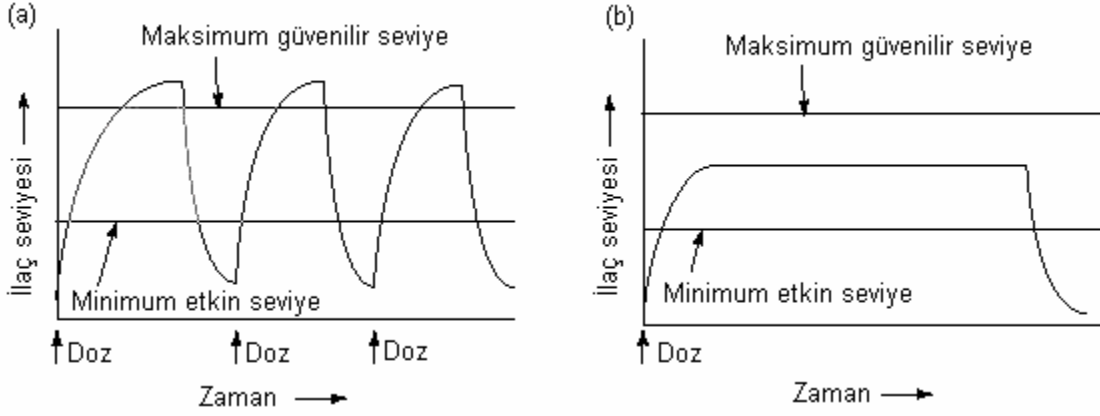
## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kontrollü İlaç Salım Sistemleri

Kontrollü salım kavramı 1938 yılına kadar gitmektedir [20]. 1950'li yıllarda çeşitli tarım ilaçlarının polimerik taşıyıcılar kullanarak salımı denenmeye başlanmıştır. 1960'ların ortalarında bu denemeler tıp alanına da girmiştir. İlk çalışmalarda etken madde diyaliz tüpü [21] veya silikon kauçuk tüp [22] içine konmuş veya bir polietilen matris içinde homojen olarak dağıtılmıştır [23]. 1970'li yıllarda çalışmalar büyük moleküllü (MA>600) ilaçların katı polimerlerden sürekli salımı yönünde olmuştur [1]. İlaç salımını kontrol eden bir araç olarak polimerlerin kullanıldığı sisteme "Kontrollü Salım Sistemi" denir. Kontrollü salım sistemlerinde ilaç bir polimer yapıdan belli bir süre salınır. Son on yıldır akıllı ilaç sistemleri biyomedikal ve farmakolojik alanda bilim adamlarının odak noktası olmuştur. Yeni malzeme ve teknolojilerin gelişimiyle birlikte bilim adamları salım sistemlerini sadece farmakolojik alanda değil terapötik ajanlarda örneğin proteinlerde de kullanmaya başlamışlardır.

Bütün kontrollü salım sistemlerinin amacı ilaçların güvenliğini ve tedavinin etkinliğini arttırmaktır [2]. Her etken maddenin etkili olduğu bir plazma aralığı vardır ve buna "terapötik pencere" denir. Etken madde kontrollü ilaç salımının hedefi ilacın vücudun en uygun bölgesine terapötik doz ile salımını sağlamaktır. Bunun yanında ilacın yan etkilerini azaltmak, hastaya en az doz şeklinde verilmesini sağlamak ve ilacın farmakolojik etkisini uzun süre tutmaktır.

İlacın verilmesinde kullanılan klasik yöntemlerde ilaç derişim profili oldukça dalgalıdır. İlacın zamana karşı değişimini gösteren grafik Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



**Şekil 2.1.** Plazmadaki ilaç derişiminin zamanla değişimi (a) ağızdan kullanım; (b) kontrollü salım.

Şekilde görüldüğü gibi klasik salım sistemlerinde ilaç düzeyi, maksimum ile minimum değerler arasında dalgalanmalar gösterir. Yani, ilaç plazma derişimi etkin düzeyin altına düşebilmekte veya güvenilir düzeyin (toksik sınır) üstüne çıkabilmektedir. İlaç derişiminin etkin düzeyin altına düşmesi veya toksik sınırın üstüne çıkması, etken maddenin boşa harcandığını ifade etmekle birlikte hasta için istenmeyen durumlar yaratabilmektedir. Kontrollü ilaç salımında ise yüksek ya da düşük doz ayırımı olmaksızın ilacın optimum değerde kararlı bir şekilde uzun bir periyot boyunca salınması amaçlanır (Şekil 2.1(b)).

Kontrollü ilaç salım sistemleri artık birçok alanda (örneğin tıp, tarım, besin ve temizlik malzemeleri) kullanılmaktadır. Tıp uygulamalarında klinik açıdan önemli avantajları vardır. Bunlar;

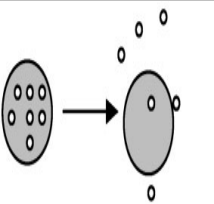
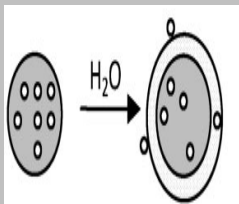
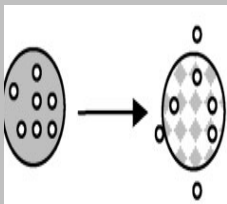
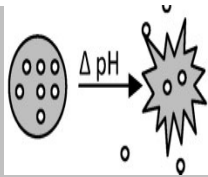
1. İlacın istenilen süre ve terapötik pencerede sabit kalması
2. İlacın toksik etkilerinin ortadan kalkması
3. İn-vivo yarılanma ömrü kısa olan ilaçların parçalanmasının önlenmesi
4. Yüksek dozlu ilaçların parenteral yolla birçok kez verilmesi yerine sürekli, az miktarda kontrollü salım ile hastaya verilmesi ve oluşacak sıkıntıların ortadan kaldırılmasıdır.

### 2.1.1. Kontrollü Salım Mekanizmaları

Kontrollü ilaç salım mekanizmaları şu şekilde karakterize edilir.

1. Difüzyon kontrollü sistemler
2. Şişme kontrollü sistemler
3. Erozyon kontrollü sistemler
4. Dışsal kontrollü sistemler

**Çizelge 2.1.** Kontrollü Salım Mekanizmaları [24].

Difüzyon Kontrollü	Şişme Kontrollü	Erozyon Kontrollü	Dışsal Kontrollü
Salım, difüzyon derişim gradiyenti ile gerçekleşir.	Salım şişme derecesi ile gerçekleşir.	Salım fiziksel ve kimyasal yollarla gerçekleşir.	Salım dışardan bir uyarı ile gerçekleşir.
Fickian modelleri	Su penetrasyonu ilacın difüzyonuna izin verir.	Yüzeysel veya yığın olabilir.	Fiziksel ve kimyasal olabilir.
Matriks bazlı veya rezervuar bazlı	Kısa periyotlarla doğrusal olabilir.		
Örnek;PEVAC	Örnek;PHEMA, PVA	Örnek;PLGA,PCL	Örnek; PNIPAM
			

### Difüzyon Kontrollü Sistemler

İlaç, ince bir polimerik zar ile çevrelenen bir çekirdek görünümündedir. İlaç salımı zardan difüzyonla gerçekleşir. Salım Fick difüzyon kurallarına göre gerçekleşmektedir. Bu tür sistemlerin çok sayıda ticari ürünü piyasada mevcuttur.

Ocusert® adıyla bilinen ürün, glokom hastalığının (körüğe neden olan bir göz hastalığı) tedavisinde kullanılmak üzere pilokarpin isimli bir ilacı salan rezervuar sistemden ibarettir.

### **Şişme Kontrollü Sistemler**

Bu sistemde polimerin su alarak şişmesine bağlı olarak kontrollü salım gerçekleşir. Şişme polimerin elastikiyetini artırır ve büyük gözenek oluşumunu sağlar. Sonuç olarak kısa periyotlarla salım pseudo-doğrusal olarak gerçekleşir.

### **Erozyon Kontrollü Sistemler**

Biyobozunur polimerlerin gelişimiyle bu sistem oldukça yaygınlaşmıştır. Salım oldukça karmaşıktır. Kimyasal, fiziksel erozyonla gerçekleşmektedir. Bu erozyon madde taşınımı, ilacın çözülmesi, polimer bozunması, mikroçevre pH değişimleri, polimer matriksinde difüzyon veya gözenek yapımı ile gerçekleşebilir.

### **Dışsal Uyarı ile Kontrollü Sistemler**

İlacın salımı fiziksel (sıcaklık, pH, kimyasal bileşim) veya kimyasal bir uyarı ile gerçekleşmektedir.

## **2.1.2. İlaç Salım Kinetiğinin Matematiksel Analizi**

Matrise yüklenen ilacın salımı, ortamdaki çözücü moleküllerinin matrise girişiyle ve ardından matrisin şişmesiyle kontrol edildiği salım sistemleri, şişme kontrollü sistemler olarak tanımlanır. Şişme kontrollü sistemlerde salım, polimerin bir çözücü varlığında camsı durumdan kauçuğumsu duruma geçişi ve bu durumda ortaya çıkan makromoleküler gevşemesi sonucu gerçekleşir.

Şişebilen polimer sistemlerinde, çevreden absorplanan su, sistemin fizikokimyasal özelliklerini değiştirmekte, bu da ilaç salım kinetiğini etkilemektedir. Yapılan çalışmalarda, şişebilen polimer sistemlerden ilaç salımı için birçok matematiksel modelleme rapor edilmesine rağmen tek bir matematiksel modelleme, tüm deneysel gözlemleri ortaya koymakta yetersiz kalmaktadır [25]. Çünkü matematiksel modellemeler karmaşıktır, tüm sisteme uyan tek bir formül üretemez ve sayısal çözümlene tekniklerine ihtiyaç duyarlar. Yapısına su alarak şişebilen ve

bu sayede yapısındaki ilacı ortama salan camsı polimeri açıklamak için genelleştirilmiş ampirik denklemler kullanılmaktadır. Peppas ve Ritgars, şişebilen sistemlerden ilaç salımını incelemek için eşitlik 2.1'te gösterilen ve güç kanunu olarak bilinen denklemi kullanmışlardır [26].

$$M_t/M_{eq}=kt^n \quad (2.1)$$

Bu eşitliğe göre,  $M_t$ , belli bir zamanda salımı gerçekleşen ilaç miktarını,  $M_{eq}$  ise sistem dengeye ulaştığında salınmış olan ilaç miktarını vermektedir. Eşitlikteki  $k$  ve  $n$  değerleri ise sırasıyla, difüzyon katsayısını ve ilaç salım mekanizmasını belirten salım üstelini göstermektedir.  $\ln(M_t/M_{eq})$  ve  $\ln t$ 'ye göre çizilen bir grafiğin eğimi  $n$  değerini, kesim noktası ise  $k$  değerini vermektedir. Bu eşitlik toplam salınan ilacın %60'lık kısmına kadar uygulanabilmektedir. Denklemden elde edilen  $n$  değerinin iki özel durumda iki ayrı anlamı vardır.  $n=0.5$  değeri Normal Fickian Difüzyonu ifade eder ve ilaç salımının difüzyon kontrollü olduğunu ve  $n=1$  değeri ise Case II difüzyonunu tanımlar ve ilaç salımının şişme kontrollü gerçekleştiğini belirtir. Salım üsteli olan  $n$  değeri 0 ve 1 arasında bir değer aldığı anda Fickian ve Case II difüzyonun bir karışımını ifade eder ve Non-Fickian Difüzyonu olarak adlandırılır.

## 2.2. Moleküler Baskılama Yöntemi

Moleküler tanıma kavramı bir molekülün diğer molekülle bağlanarak tamamlayıcı bir yapı oluşturmasıdır. Biyolojide, moleküler tanıma ligand ve reseptör etkileşimleri (antijen-antikor) örnek olarak verilebilir. Yapay reseptörler bilgisayarda veya moleküler model olarak kimyagerler tarafından sentezlenir. Bu yaklaşımla yapay reseptör molekülü ile fonksiyonel monomer seçilerek karakterize edilir. Yapay reseptörlerin bazı dezavantajları bulunmaktadır. Bunlar büyük ölçekli uygulamalarda pahalı olmaları, büyük moleküller için tasarımlarının zor olması ve uygun tepkime ortamı yaratmanın oldukça güç olmasıdır.

Moleküler baskılama kavramı, moleküler afiniteli polimer matriksten kalıp molekül tasarımını sağlamak için yapay bir yaklaşımdır [27]. Moleküler baskılama işlemi, kalıp molekül ile çevresindeki fonksiyonel monomer ve çapraz bağlayıcının üç boyutlu etkileşimlerine dayalı bir teknolojidir [3]. Moleküler baskılama kavramı ilk defa 1972'de Günter Wulff ve çalışma grubu tarafından tanımlanmıştır [4].



Moleküler baskılanmış polimerlerin ucuz olmaları, moleküler tanıma elverişli olmaları büyük bir avantajdır. MIP'ler yüksek sıcaklık, basınç ve geniş pH aralığında fiziksel ve kimyasal faktörlere karşı oldukça dayanıklıdır. Ayrıca MIP'ler birkaç yıl boyunca saklanabilir ve tekrar tekrar kullanılabilirler.

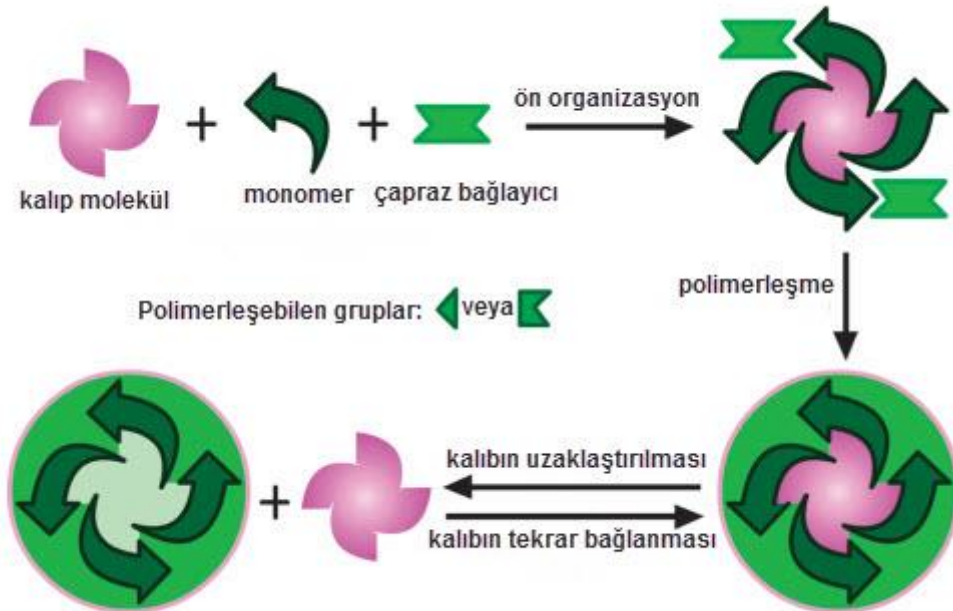
Baskılanmış polimerlerin uygulamaları temel olarak 3 gruba ayrılabilir; ayırma malzemeleri, katalitik uygulamalarda enzim taklidi yapılar, biyosensör ve immunoassay uygulamalarında tanıma elemanı olarak kullanılmaktadır [28].

Moleküler baskılama yöntemi üç basamaktan oluşur:

**1. Ön-kompleksleşme:** Kalıp molekül ile fonksiyonel monomerler kovalent veya kovalent olmayan etkileşimlerle bir kompleks oluştururlar.

**2. Polimerizasyon:** Bu kompleks yapı, uygun bir çapraz bağlayıcı ve başlatıcı kullanılarak işlevsel monomer üzerinden polimerleştirilir.

**3. Kalıp molekülün uzaklaştırılması:** Polimerizasyon gerçekleştikten sonra baskılanan molekül, yıkama işlemiyle polimerik yapıdan uzaklaştırılır. Böylelikle geride baskılanmış bağlanma bölgelerine sahip bir polimer kalır. Artık bu polimer hedef molekül için yüksek seçicilik ve ilgiye sahiptir.



**Şekil 2.2.** Moleküler baskılama bileşenleri [29].

## **2.2.1. Moleküler Baskılamanın Temel Bileşenleri**

### **2.2.1.1. Kalıp Molekül**

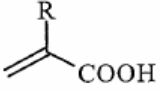
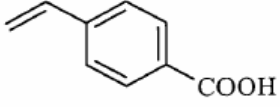
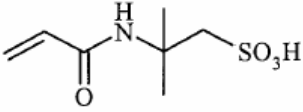
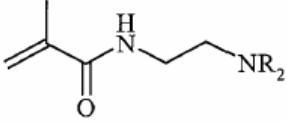
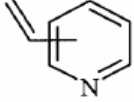
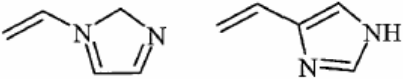
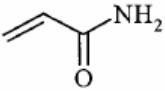
Kalıp molekülde istenen özellikler şöyle özetlenebilir;

1. Polimerleşebilecek bir gruba sahip olması
2. Serbest radikal polimerizasyon sürecinde kimyasal olarak inert olması (tiyol ya da hidrokinon grupları taşımaması)
3. Yüksek sıcaklıklarda kararlı olması
4. UV ışınına dayanıklı olması, istenen özellikler arasındadır.

MIP yönteminde kalıp molekül derişimi fonksiyonel monomere bağlı olarak optimize edilir [3]. Kalıp molekülü, çapraz bağların arasından kolaylıkla uzaklaştırabilmek için genellikle küçük moleküller kalıp olarak kullanılır. Baskılanacak molekül olarak ilaçlar, aminoasitler, karbonhidratlar, proteinler, nükleotit bazlar, hormonlar, pestisitler, koenzimler ve iyonlar kullanılabilir [29].

### **2.2.1.2. Fonksiyonel Monomer**

Fonksiyonel monomer ile kalıp molekül yüksek afinite de bağlanma etkileşimlerinden sorumludur. Kalıp molekül ile fonksiyonel monomer arasındaki etkileşim birbirinin tamamlayıcısı olmalıdır. Kovalent olmayan bağlanmalarda, ideal bağlanma için fazla oranda fonksiyonel monomer kullanılır (kalıp molekül/fonksiyonel monomer oranı  $\frac{1}{4}$  veya üzerinde olabilir). Kalıp molekül ile fonksiyonel monomer oranı çok az olursa yeterli bağlanma bölgeleri oluşmaz veya çok yüksek olursa spesifik olmayan adsorpsiyon bölgeleri meydana gelir [30]. Kalıp molekül ile fonksiyonel monomer arasındaki kompleks yapı Le Chatelier prensibine dayanır. Le Chatelier prensibine göre ön-polimerizasyon sırasında kompleks yapı şekil alır, bileşenlerin derişimi artar veya kompleks yapının bağlanma afinitesi artar. Baskılanmış polimerlerin bağlanma bölgeleri sayısındaki artış, polimerin her gramında seçicilik veya bağlanma faktörü sağlar [3].

Fonksiyonel Monomer		Etkileşim Tipi
	Akrilik asitler ( $R = H, CH_3, CF_3, CH_2COOH$ )	İyonik etkileşimler Hidrojen bağ yapma özelliği
	Vinilbenzoik asitler	İyonik etkileşimler Hidrojen bağ yapma özelliği
	Akrilamidosulfonik asitler	İyonik etkileşimler
	Aminometakrilamidler ( $R = H_2, C_2H_5$ )	İyonik etkileşimler
	Vinilpiridinler	İyonik etkileşimler Hidrojen bağ yapma özelliği Yük transferi
	Vinilimidazoller	İyonik etkileşimler Hidrojen bağ yapma özelliği Metal koordinasyon
	Akrilamidler	Hidrojen bağ yapma özelliği

**Şekil 2.3.** Kullanılan fonksiyonel monomerler [32].

### 2.2.1.3. Çapraz Bağlayıcı

Moleküler baskılamada en önemli noktalardan biri çapraz bağlayıcı seçimidir. Çapraz bağlayıcının işlevleri şunlardır;

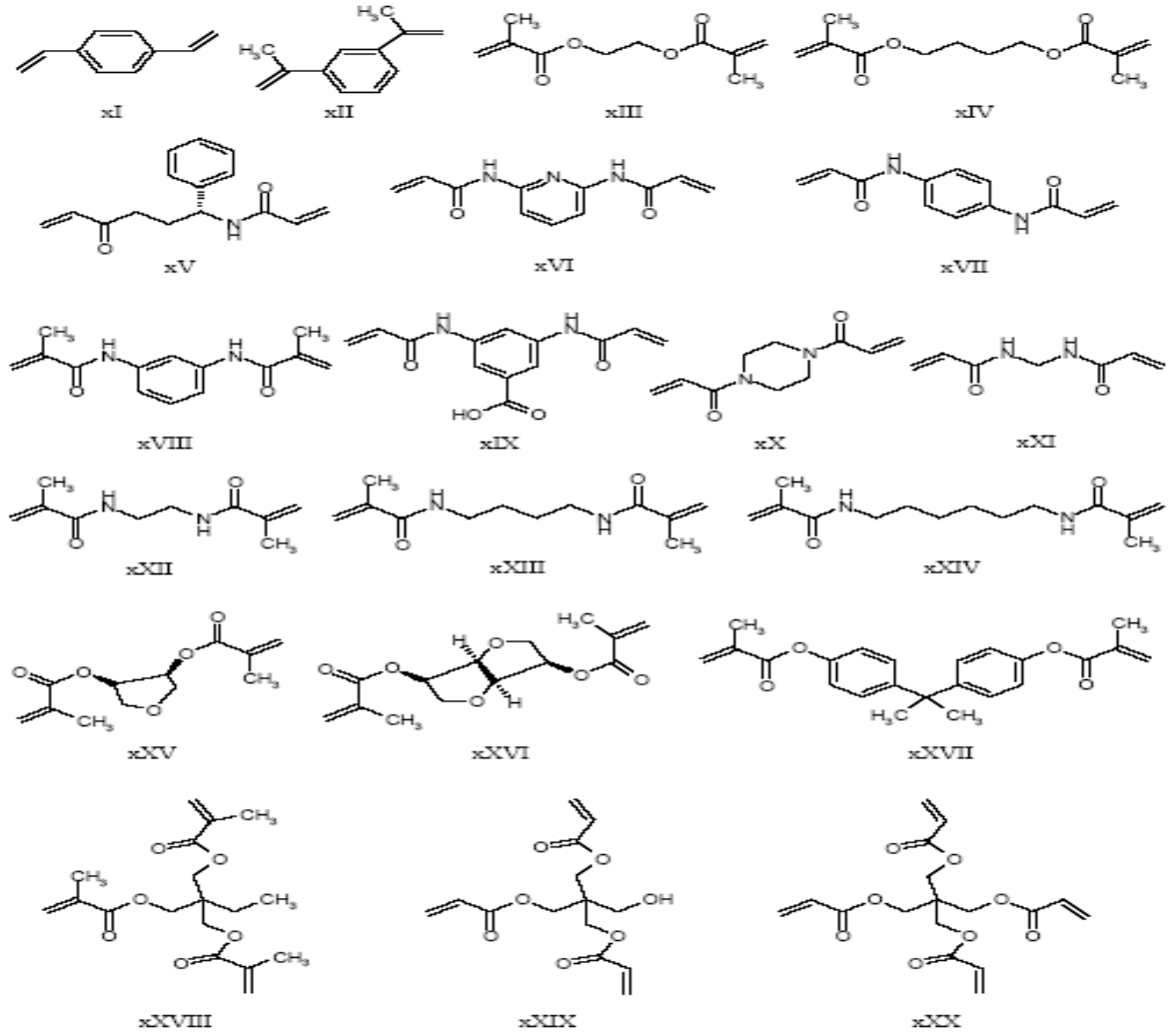
1. Polimerin gözenek yapısından sorumludur. Bu yüzden molekülleri tanıma yeteneği vardır ve kalıp molekülün difüzyonundan sorumludur [31].

2. Polimer matriksinin morfolojisinin (jel tipi, makro gözenekli ya da mikro jel halinde olması) kontrolünü sağlar.
3. Polimerde baskılanmış bağlanma bölgelerinin kararlı olmasını sağlar.
4. Polimerin mekanik kararlılığını sağlar [33,34].

Moleküler baskılama işlemlerinde çapraz bağlayıcı oranı %10-80 olmalıdır [31]. Polimerin mekanik dayanıklılığı ve kararlı olabilmesini sağlamak için moleküler baskılama işlemlerinden genellikle çok yüksek oranda çapraz bağlayıcı kullanılır. Etkili bir moleküler baskılama olabilmesi için, çapraz bağlayıcı ile fonksiyonel monomerin mol oranı oldukça önemlidir. Eğer oranlar çok küçükse hedef molekül bağlanma bölgeleri birbirine oldukça yaklaşır ve bağımsız bir şekilde çalışmayabilirler. Böylece etkin bir sonuç elde edilemez. Eğer oranlar yüksek olursa baskılama etkinliği zarar görür ve kovalent olmayan etkileşimler ortaya çıkabilir [33,35]. Fonksiyonel monomerden veya çapraz bağlayıcıdan biri polimerizasyon sırasında baskın çıkarsa da homojen kopolimerizasyon gerçekleşemez.

Farklı çapraz bağlayıcı/fonksiyonel monomer derişim oranları, moleküler baskılı polimerlerdeki farklı sayıda bağlanma bölgelerinin oluşumuna neden olur ve bu da seçiciliği etkiler [36].

Polimerizasyonda yüksek çapraz bağlayıcı oranları, yeterli mekanik kararlılığa sahip ve makrogözenekli malzemelerin oluşması için genellikle tercih edilmektedir. Organik çözücülerde moleküler baskılama için etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) ve divinil benzen (DVB) en sık kullanılan çapraz bağlayıcılardır. Şekil 2.4'de çapraz bağlayıcılar gösterilmiştir.



**Şekil 2.4.** Moleküler baskılamada kullanılan çapraz bağlayıcılar [33].

**xI:** p-divinilbenzen (DVB), **xII:** 1,3-diizopropenil benzen (DIP), **xIII:** Etilen glikol dimetakrilat (EGDMA), **xIV:** Tetrametilendimetakrilat (TDMA), **xV:** N,O-bisakriloil-1-fenilaloinol, **xVI:** 2,6-bisakriloilamidopridin, **xVII:** 1,4-fenilen diakrilamid, **xVIII:** N,N'-1,3, fenilenbis(2-metil-2-propenamide) (PDBMP), **xIX:** 3,5-bisakrilamido benzoik asit, **xX:** 1,4-diakriloil piperazin (DAP), **xXI:** N,N-metilen bisakrilamid, **xXII:** N,N-etilenbisakrilamid, **xXIII:** N,N,tetrametilenbismetakrilamid, **xXIV:** N,N-hekzametilenbismetakrilamid, **xXV:** anhidroeritritoldimetakrilat, **xXVI:** 1,4;3,6-dianhidro-d-sorbitol-2,5-dimetakrilat, **xXVII:** İzopropilenbis(1,4-fenilen) dimetakrilat, **xXVIII:** Trimetilpropantrimetakrilat (TRIM), **xXIX:** Pentaeritritoltriakrilat (PETRA), **xXXX:** Pentaeritritoltetraakrilat (PETEA).

#### 2.2.1.4. Çözücü

Çözücüler, polimerizasyonda kalıp molekül, fonksiyonel monomer, çapraz bağlayıcı, başlatıcı gibi tüm bileşenlerin tek fazda bulunmasını ve polimerde gözeneklerin oluşmasını sağlayan önemli bir ajandır. MIP'lerin seçiciliği ve bağlanma afiniteleri gözeneğin yapısına bağlıdır [3]. Gözeneğin morfolojik özelliğinden ve yüzey alanları çözücü çeşidine göre şekillendiğinden dolayı çözücü yerine "porojen" kelimesi de kullanılmaktadır.

Polimerizasyon esnasında çözücü molekülleri polimer yapı içinde dağılır ve polimerizasyon sonrasında çözücünün uzaklaşmasıyla polimer yapıda gözenekler oluşur. Bu makrogözenekli polimerik yapı, porojenin özellikleri, polimerin morfolojisinin ve toplam gözenek hacminin kontrol edilmesinde kullanılabilir.

Çözücülerin bir diğer rolü de polimerizasyon sırasında reaksiyon ısısını eşit olarak yaymaktır. Aksi takdirde, polimerizasyon sırasında reaksiyon sıcaklığı bölgesel olarak artar ve istenmeyen yan ürünlerin oluşumuna neden olur. Bir çok çalışmada MIP'lerin düşük sıcaklıkta sentezlendiği görülmektedir.

Çözücü seçimi baskılamanın çeşidine bağlıdır. Kovalent baskılamada, tüm bileşenleri iyi çözebilecek bir çok çözücü kullanılabilir. Kovalent olmayan baskılamada, etkileşimin oluşumunu ve baskılama etkisini arttırmak için çözücü seçimi daha önemlidir [35]. Ancak kovalent olmayan baskılama proseslerinde, çözücü, kalıp ve fonksiyonel monomer arasındaki etkileşim, kompleks oluşumunda kritik bir rol oynar. Çözücü, monomerlerle baskılanacak molekül arasındaki hidrojen bağları ve elektrostatik etkileşimler gibi polar etkileşimlerin oluşmasını sağlamak için az polar ve aprotik olmalıdır. Genellikle sentez için polar olmayan organik çözücülerin kullanıldığı MIP'ler, polar organik çözücülerin kullanıldığı MIP'lerden daha iyi seçiciliğe sahiptir [37].

En çok kullanılan çözücü kloroformdur ama polimeri yüksek derecede çözdüğü için kompleks yapıda az veya hiç gözenek yapısı sağlamaz. Kloroform, fosgen oluşumundan kurtulmak için çözücü etanol ile stabilize edilir. Bu işlem nedeniyle kalıp molekül ve polimer arasında hidrojen bağ oluşumu engellenir. Bu yüzden moleküler baskılama işlemi için iyi bir çözücü değildir. Bunun için kloroform kullanılmadan önce damıtılmalıdır [37].

Güçlü polar çözücüler ise ön-kompleks yapıda kovalent olmayan etkileşimlerle çözülme eğilimindedirler [3]. En iyi çözücüler, toluen ve diklorometan gibi dielektrik sabiti düşük olan çözücülerdir.

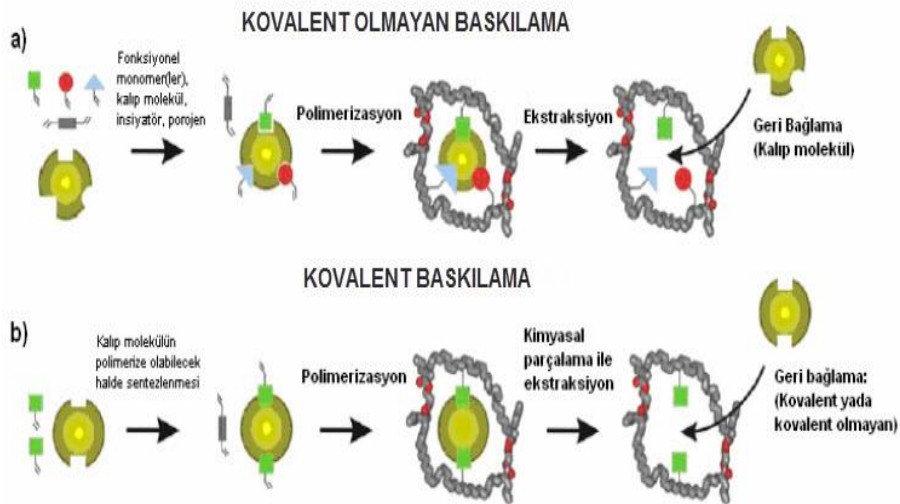
### 2.2.1.5. Başlatıcılar

Monomer ile kalıp molekül arasındaki kovalent olmayan etkileşimlerin çok zayıf olduğu durumlarda çok yüksek sıcaklıklarda polimerizasyon gerçekleşemez. Bu nedenle düşük sıcaklıklarda etkili olan başlatıcılar tercih edilir. Genellikle 2,2'-azobis(izobütironitril) (AIBN) ve 2,2'-azobis(2,4-dimetilvaleronitril) (ADVN) kullanılır.

Bu koşullarda, ısıl bozunma yerine UV bozunma tercih edilmektedir. Kalıp molekül ile fonksiyonel monomer arasındaki etkileşimin hidrojen bağı ile sağlandığı durumlarda düşük polimerizasyon sıcaklığı tercih edileceğinden düşük sıcaklıklarda kullanılacak fotokimyasal başlatıcılar seçilmelidir [37].

### 2.2.2. Moleküler Baskılama

Moleküler baskılama, fonksiyonel monomer ile kalıp molekül arasında oluşan bağın çeşidine göre ikiye ayrılır: Kovalent ve kovalent olmayan baskılama.



Şekil 2.5. Moleküler baskılama [38].

### **2.2.2.1. Kovalent Baskılama**

İlk kovalent moleküler baskılama 1977 yılında Wulff ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir [39]. Polimerizasyondan önce kalıp molekül ile fonksiyonel monomer arasında kuvvetli, tersinir bir kovalent bağ oluşur. Kovalent bağlarının bozulmadığı yerde kovalent konjugatları polimerize olur. Polimerizasyon işleminden sonra kovalent bağlar kırılır ve kalıp molekül polimerden uzaklaştırılır. Hedef molekül, baskılanmış polimerlerle etkileştirildiğinde aynı kovalent bağ yeniden oluşur [40, 41].

### **2.2.2.2. Kovalent Olmayan Baskılama**

Mosbach ve arkadaşları kalıp molekül ile fonksiyonel monomer arasında kovalent bağlanmanın her zaman gerekli olmadığını ortaya koymuştur [42]. Fonksiyonel monomer ile kalıp molekül arasında kovalent olmayan (hidrojen bağı, elektrostatik etkileşimler ve koordinasyon bağı oluşumu gibi) etkileşimlerle gerçekleşir. Polimerizasyondan sonra uygun çözücülerle kalıp molekül polimerden uzaklaştırılır. Hedef molekül ile baskılanmış polimerler kovalent olmayan etkileşimlerle bağlanır [43].

### **2.2.2.3. Kovalent ve Kovalent Olmayan Baskılama Yöntemlerinin Avantajları ve Dezavantajları**

Genellikle kovalent olmayan baskılama, başarılması daha kolay ve kalıp moleküller için uygun spektruma sahip olan baskılamadır. Aşağıda her iki baskılamanın avantaj ve dezavantajları açıklanmaktadır.

### **Kovalent Olmayan Baskılama**

#### ***Avantajları:***

1. Monomer-kalıp molekülün sentezine gerek yoktur.
2. Polimerizasyondan sonra kalıp molekül polimerden kolayca uzaklaştırılır, çünkü kovalent olmayan etkileşimler oldukça zayıftır.
3. Hedef molekülün bağlanma kinetiği hızlıdır [44].



**Dezavantajları:**

1. Polimerizasyon koşulları oldukça sınırlıdır (kalıp molekül ve monomer yakınlaşması değişkendir ve kesinlikle sitokiyometrik oranlarda birleşmezler.
2. Fonksiyonel monomerler bağ oluşum dengesini arttırmak amacıyla fazlaca kullanılır ve spesifik olmayan bağlanma bölgelerinin oluşumuna neden olabilir [45,46].

**Kovalent Baskılama****Avantajları:**

1. Fonsiyonel monomer-kalıp molekül sentezi oldukça kararlıdır ve sitokiyometrik oranlarda gerçekleşir.
2. Polimerizasyon koşulları (yüksek sıcaklık, yüksek veya düşük pH ve polar solventler gibi) istenildiği gibi uygulanabilir, çünkü konjugatlar kovalent bağlarla oluşturulmuştur ve oldukça kararlıdır [47].

**Dezavantajları:**

1. Monomer-kalıp molekül konjugatının sentez işlemi pek ekonomik değildir.
2. Hedef molekülün polimere tersinir olarak bağlanma sayısı sınırlıdır.
3. Kovalent bağ oluşumu nedeniyle bağlanma kinetiği oldukça yavaştır [48].

**2.3. Moleküler Baskılama Yöntemi ile İlaç Salımının Düzenlenmesi**

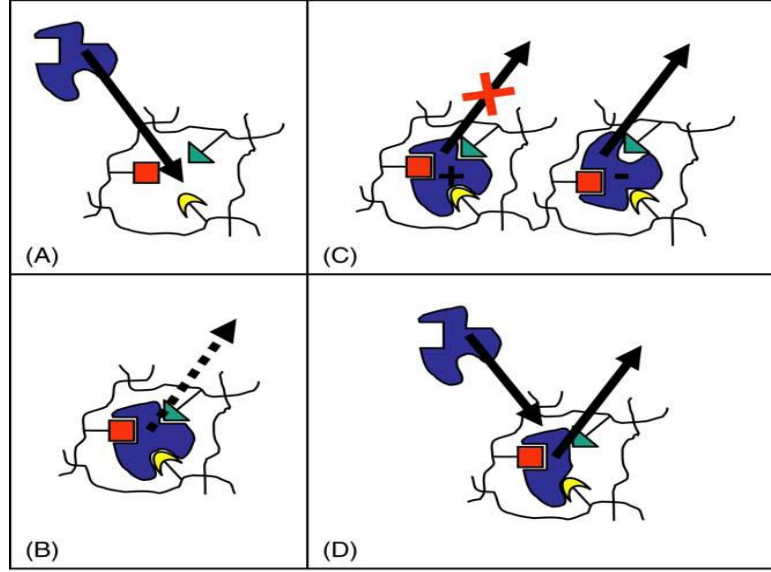
Moleküler baskılama teknolojisindeki sürekli gelişmeler, çok farklı alanlarda farklı uygulamalar için çeşitli şekillerde, farklı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip malzemelerin elde edilmesini mümkün hale getirmektedir. Son zamanlarda, moleküler baskılama çok karmaşık ortamlardan belirli maddelerin ayrılması ve miktar tayini için analitik amaçlarla iyi geliştirilmiş bir araçtır. Moleküler baskılanmış polimerlerin (MIP'ler) hedef analitleri seçici olarak adsorplaması kullanımlarını kromatografik destek malzemeleri ve katı faz ekstraksiyon dolgu kartuşları olarak genişletmiştir. MIP'ler çevresel kirleticilerin uzaklaştırılması için de kullanılabilir. MIP'lerin immünotayinlerde biyolojik antibadilerin yerine kullanılmalarının avantajları ile ilgili uzun bir liste rapor edilmiştir. Eczacılık alanında biyolojik

reseptörleri taklit eden baskılanmış malzemeler, potansiyel olarak farmakolojik etkiye sahip olabilecek yeni maddelerin taranması için, biyolojik sıvılarda belirli ilaçların ve bağımlılık yapıcı ilaçların tayini için giderek artan ilgi görmektedir. Ayrıca moleküler baskılanmış ilaç salım sistemlerinin geliştirilmesi ve uygulamasını içeren çalışma ve patentlerin sayısı giderek artmaktadır.

Moleküler baskılama, ilaç salımını kontrol etmek için son yıllarda en çok kullanılan yöntemlerden biridir. İlk gelişim MIP'lerin kontrollü salımda kullanımı farmakolojik alanda olmuştur. Vtakis ve ark. ilk kez teofilin ve diapezam için kovalent olmayan MIP bazlı sistemler geliştirmiştir ama kontrollü ilaç sisteminde kullanmamıştır [49]. Farklı gruplar basit sentezlerle ilaç salımında MIP'leri kullanmıştır. Bu gruplar fonksiyonel monomer olarak MAA, çapraz bağlayıcı olarak EDGMA ile MIP sentezini gerçekleştirmiştir. MAA seçiminin nedeni iyonik etkileşimlerdir (Amino grubu ve hidrojen bağları ile polar fonksiyonel grupları etkileşim açısından oldukça önemlidir). Çözücü seçimi de optimal bağlama ve seçicilik özelliklerine dayalı olmuştur. Bu özellikler sayesinde MIP'ler farmakolojik alanda dikkati çekmiştir [24].

MIP'lerin ilaç salımındaki avantajları;

1. MIP'ler rezervuar gibi davranarak terapötik ilaç salımını yavaş gerçekleşmesini sağlar.
2. Yükleme kapasitesini güçlendirir.
3. Çapraz bağlayıcı miktarı ve değişimi avantaj sağlar.
4. Çevre koşullarına bağlı olarak terapötik salım gerçekleştirebilir.
5. Enantiyoseçici yükleme veya eutomer salım yapılabilir.
6. Kalıp molekülün fonksiyonel monomere afinitesi sayesinde uzun süre salım gerçekleştirebilir [31].



**Şekil 2.6.** Moleküler baskılanmış ilaç salım sistemleri [50].

**A- İlaç yükleme aşaması:** MIP'de yer alan bağlama bölgeleri baskılanan ilaç için yüksek yükleme kapasitesi sağlamaktadır.

**B- Uzatılmış salım:** Baskılanan ilaç molekülleri MIP'ye olan yüksek afinitesi nedeniyle yavaş salınmaktadır.

**C-Enantiyoseçici salım:** Baskılanan enantiyomer (+) MIP'de kalırken baskılanmayan enantiyomer (-) bağlanma bölgesine tam uyum sağlamadığı için salınacaktır.

**D- Etki duyarlı salım:** Düşük afiniteli ilaç dışarıdan bir uyarı ile bağlanma bölgesine daha yüksek afiniteli hale gelmektedir.

Teofilin astım tedavilerinde kullanılır ve terapötik penceresi dardır (30-110  $\mu\text{M}$ ). Eğer 110  $\mu\text{M}$ 'den yüksek olursa oldukça toksiktir. Yapılan bir çalışmada kovalent olmayan baskılama için fonksiyonel monomer olarak MAA, çapraz bağlayıcı olarak EDGMA kullanılmıştır. Bu çalışmanın sonucu olarak düşük miktarda yüklenen teofilin pH 7'de saatlerce salım göstermiştir [51].

### 2.3.1. Fonksiyonel Monomer, Çapraz Bağlayıcı ve Kalıp Molekül Oranlarının Etkileri

Alvarez-Lorenzo ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda ilaç salımı için monomer (MAA), çapraz bağlayıcı (EGDMA) ve kalıp molekül (timolol) oranlarında

değişiklikler yapmışlardır [52]. MIP sentezinde, çapraz bağlayıcı ve monomer oranına göre fazla miktarda kalıp molekül kullanıldığında gözenekler oluşmuş fakat yeteri kadar fonksiyonel monomer içermediği için ilaç molekülü ile güçlü bağlanma gerçekleşmemiştir. Bu yüzden ilaç salımı hızlı gerçekleşmiştir. Kalıp molekül az miktarda kullanılıp, fonksiyonel monomer çok fazla miktarda kullanıldığında her kavitede fonksiyonel monomer yer almakta ve yüksek afiniteli bağlanma bölgeleri oluşmaktadır. Bu durumda salımın oldukça yavaş gerçekleştiği gözlenmiştir [31].

Polimerizasyon işleminde çapraz bağlayıcı miktarı genellikle %10-80 oranında kullanılmaktadır. Çapraz bağlayıcı, bağlanma bölgelerinin 3 boyutlu yapıda kalmasını sağlar. Gözenek oluşumunu ve yapısını etkilediği için tanıma kabiliyeti ve kalıp molekül difüzyonundan sorumludur. Yüksek oranda çapraz bağlayıcı kullanıldığında yapının hidrofobik özelliği artar ve konformasyonun değişmesine engel olur. Yüksek çapraz bağ oranı nedeniyle dokularda sürtünmeye bağlı hasarlar olabilir (örneğin göz içi implantlar) [53]. Bu yüzden MIP bazlı kontrollü ilaç salım sistemlerinde yüksek ve düşük oranlarda çapraz bağlayıcı kullanılmaz.

### **2.3.2. Seçici Enantiyomerik Salım Sistemi**

MAA/EDGMA bazlı MIP sistemleri seçici enantiyomer salım sistemlerinde de kullanılır. Sudee ve arkadaşları kiral  $\beta$ -engelleyiciler ve non-steroid anti-inflamatuar ilaçlarını kullanarak oral ve transdermal MIP bazlı salım sistemi gerçekleştirmişlerdir [54]. S-propranol salımı için MAA ile EDGMA iki farklı polimerizasyonla üretilmiştir; yığın polimerizasyonu ve süspansiyon polimerizasyonu. Süspansiyon polimerizasyonu, küresel matrisler yaratır ve enantiyomerik S-propranol salımında oldukça etkili olduğu ispatlanmıştır. R ve S-propranol MIP bazlı ilaç salımları karşılaştırıldığında baskılanmış enantiyomer, baskılanmamış izomere göre daha yavaş salım gerçekleştirmiştir. Sudee ve arkadaşları bu çalışmalarında baskılanmış polimerlerin enantiyomer salımında kullanılabileceğini göstermiştir [55, 56].

### **2.3.3. Sulu Ortamda Moleküler Baskılama**

Çözücü sistemlerde hidrofobik moleküller için analitik uygulamalarda yüksek spesifik sistemler geliştirilmektedir. Ancak ilaç sistemlerinde en son uygulama sulu çevrede gerçekleşebilir ve bu yüzden MIP sentezinde su etkileşimlerinin dikkate alınması gerekir. Bu durum bir çok baskılamanın polimerizasyon sırasında aynı çözücüler kullanılırsa en iyi çalışacağını gösterir [57]. Fakat bu durum farmakolojik alanda bazı sorunlara yol açabilir. Çünkü su, kalıp molekül ve fonksiyonel monomer arasındaki hidrojen bağ oluşumunu engelleyerek iki molekül arasında yeterince güçlü etkileşimlerin oluşmasının önüne geçer ve iki molekülün birbirini tanıma özelliği kısıtlanır [5,58]. Bir çok araştırmacı bu sorunu farklı yöntemlerle çözmüştür. Oral ve Peppas'ın teorilerine göre, çeşitli zayıf etkileşimler sulu ortamda yeterli derecede güçlü etkileşimler verebilirler. Hidrofilik bir monomer olan HEMA hidrojen bağı yapabilecek bir çok fonksiyonel grup içerir. Bu özelliğinden dolayı HEMA, MIP için elverişli bir monomerdır. Araştırmacılar çok sayıda zayıf etkileşimlerin seçiciliği arttırabildiğini ve baskılanmış sistemlerde diğer monomerlerle birlikte HEMA'nın kullanılabilirliğini göstermiştir [5].

### **2.3.4. Kontrollü Salım Sistemleri için Moleküler Baskılanmış Hidrojeller**

Hidrojeller suda çözünmeyen, hidrofilik kopolimerlerden oluşmuş, çapraz bağlı ve üç boyutlu yapıya sahip polimerik yapılarıdır. Bu özelliklerinden dolayı hidrojeller normal dokuya benzer ve biyomedikal uygulamalarda kullanılır [5]. Hidrojeller düşük çapraz bağ yoğunluğuna sahip olduğu için çeşitli ilaçlar, peptidler ve proteinler için taşıyıcı olarak kullanılırlar. Hidrojeller dış çevreye (pH, sıcaklık, iyon derişimi) karşı cevap verebilmeleri, şişme özellikleri ve ilaç moleküllerinin difüzyonunu kontrol ettiği için kontrollü salım sistemleri için oldukça kullanışlı polimerlerdir [5]. Bu özelliklerinden dolayı hidrojeller moleküler baskılama teknolojisinde oldukça çok kullanılır.

Alvarez-Lorenzo ve arkadaşları, glukom tedavisinde kullanılan bir ilaç olan timolol maleatı, moleküler baskılayarak kontrollü salım sistemlerinde kullanmışlardır. Timolol baskılanmış yumuşak kontak lenslerin hazırlanmasında, timolol ile hidrojen bağı ve iyonik etkileşimler verebilen metakrilik asit fonksiyonel monomer olarak kullanılmış ve polimerizasyon ortamına düşük miktarda eklenmiştir. HEMA bazlı ve

DEAA bazlı baskılanmış hidrojel lensler iki farklı MAA (1.28-5.12 mol %) ve EGDMA (çapraz bağlayıcı) (0.32-8.34 mol %) oranlarında sentezlenmiştir. Sonuç olarak düşük oranda MAA ve yüksek oranda EGDMA kullanılarak hazırlanan lenslere, kullanılabilir terapötik miktarlarda timolol yüklenebilmiştir ve lenslerin göz yaşı sıvısında ilaç salımını 12 saatten daha fazla devam etmiştir [52].

Hiratani ve arkadaşları yaptıkları çalışmada farklı oranlarda kalıp molekül ve fonksiyonel monomerlerle hazırlanan hidrojellerle timolol salımını incelemiştir. Timolol maleat, glukoma tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. Bir grupta 400 mmol MAA, 600 mmol EDGMA ve kalıp molekül /fonksiyonel monomer oranı 1:16, 1:32 oranlarında, ikinci grupta 200 mmol MAA, 300 mmol EDGMA ile kalıp molekül/fonksiyonel monomer oranı 1:16, 1:32 olarak hazırlanmıştır. Sonuç olarak ilk grupta timolol salımı 72 saat sürerken ikinci grupta 24 saat sürmüştür. İlk grupta düşük kalıp molekül ve fonksiyonel monomer oranı yüksek afinite göstermiştir. İkinci grupta kalıp molekül ile fonksiyonel monomer oranları büyük farklılık göstermemiştir ve afiniteler aynıdır. Sonuç olarak fonksiyonel monomer ve kalıp molekül oranları ile çapraz bağlayıcı oranları oldukça önemli parametrelerdir [59].

Singh ve arkadaşları 5-FU antikanser ilacını hidrojelere baskılayarak ilaç salımını incelemiştir. MIP ve NIP, optimum çapraz bağlayıcı derişiminde sentezlenmiştir. Şişme çalışmaları ve in-vitro ilaç salım sistemleri çalışılmıştır. Üç farklı oranda çapraz bağlayıcı içeren ( $1.297 \times 10^{-2}$ ,  $3.89 \times 10^{-2}$  ve  $6.487 \times 10^{-2}$  mol MBAAm) ve iki farklı derişimde kalıp molekül içeren (50 ve  $25 \text{ g ml}^{-1}$  5-FU) MIP hidrojel sentezlenmiştir. Şişme çalışmaları sonucunda, en uygun polimer olarak  $3.89 \times 10^{-2}$  mol çapraz bağlayıcı içeren polimer seçilmiştir. Yüksek kalıp molekül miktarına sahip polimerin, ilaç salım miktarının daha çok olduğu rapor edilmiştir [60].

### **2.3.5. Moleküler Baskılanmış Polimerlerle Yapılan Diğer Kontrollü Salım Çalışmaları**

Braga ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada süperkritik akışkan kullanılarak moleküler baskılama yöntemiyle yumuşak kontak lenslere hidrofobik ilaç yüklemeyi hedeflemiştir. Geleneksel yöntemlerle kontak lenslere ilaç yüklemek oldukça etkisizdir ve yüksek su geçirgenliği sınırlıdır [61].

Puoci ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada 5-fluorouracil'in biyolojik sıvı özellikle gastrointestinal sıvılarda kontrollü salımın moleküler baskılanmış polimerlerle çalışabilme olasılığını araştırmışlardır. 5-FU bir çok kanserde (kolorektal, göğüs gibi) kullanılan antineoplastik bir ajandır. Çalışmada 5-FU'nun analoğu olan urasil polimeri de test edilmiştir. MIP sentezinde fonksiyonel monomer olarak MAA, çapraz bağlayıcı olarak EDGMA kullanılmıştır. Çizelge 2.2'de üç farklı MIP hazırlanma koşulları gösterilmiştir [62].

**Çizelge 2.2.** 5 FU-baskılanmış polimerlerin hazırlanma koşulları [62].

Polimer	5-FU (mmol)	MAA (mmol)	EDGMA (mmol)	AIBN (mg)
MIP- 1	2.0	8.0	32.0	103
MIP-2	2.0	8.0	40.0	103
MIP-3	2.0	16.0	20.0	103

Suda (pH 1.0) ve fosfat tamponunda (pH 7.4) bağlanma yeteneklerinde bakıldığında MIP-3 polimeri daha güçlü bir yapı sergilemektedir. Analoğu olan urasile bakıldığında polimerler urasille etkileşime girmemiştir. 5-FU molekülünde florun fonksiyonel monomerle bağlanma önemli rol oynadığını gösterir. Polimerlerin salım profillerine bakıldığında MIP-3 polimeri ile NIP polimerleri karşılaştırılmıştır. MIP-3 polimerinin NIP polimerine göre 30 saatten daha fazla salım yaptığı görülmektedir. Sonuç olarak in-vitro salım çalışmalarında polimerin biyolojik sıvılarda kullanılabileceği gösterilmiştir.

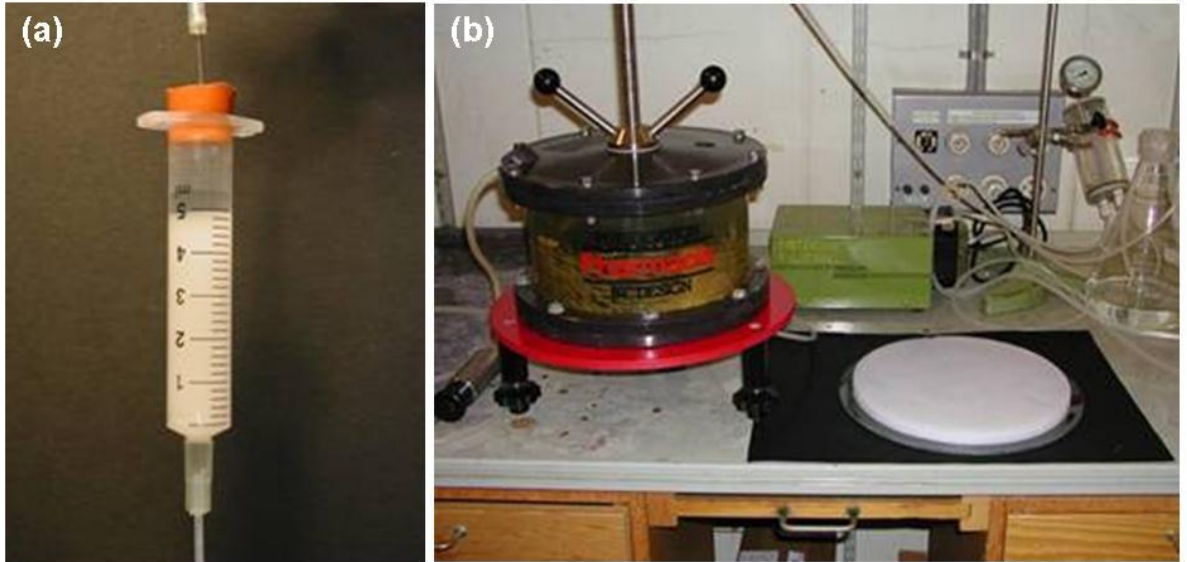
#### 2.4. Kriyojeller

Kriyojeller ilk olarak 1960 yıllarında rapor edilmiş ve biyoteknoloji potansiyelleri ise yeni keşfedilmiştir [6]. Anlamı yunanca krios (buz yada donma) kelimesinden gelen, kriyojeller, kısmen donmuş monomerik veya polimerik çözeltilerle hazırlanan üç boyutlu jel matrisleridir. Kriyojeller makrogözenekli veya süper makrogözenekli yapıda, süngerimsi morfolojiye sahip jellerdir. Sahip olduğu bu

makrogözenekli yapısı sayesinde difüzyon akışı ve kütle aktarımı etkin bir şekilde gerçekleşir.

Kriyojeller ozmotik, kimyasal ve mekanik kararlılıkları nedeniyle biyolojik uygulamalarda önem kazanmıştır. Bu yüzden birçok uygulamalarda kullanılmıştır. Bunlar; biyolojik nanopartiküllerin (plazmidler, virüsler, hücre organelleri) kromatografisinde [7,10] veya biyopolimerlerin [11,15] veya hücrelerin [16] immobilizasyonunda kullanılmışlardır. Ayrıca kriyojeller makrogözenekli yapısı sayesinde hızlı şişme kinetiği göstermektedir. Bu özelliği sayesinde kriyojeller, biyosensör uygulamaları ve ilaç salım sistemlerin tasarımında kullanılmaktadır. Son zamanlarda kriyojeller moleküler baskılama tekniklerinde de kullanılmaktadır. Bugüne kadar, agaroz, dekstran, poliakrilamid, polivinilalkol, polidimetilakrilamid, polihidroksietilmetakrilat kriyojeller üretilmiştir [17, 18].

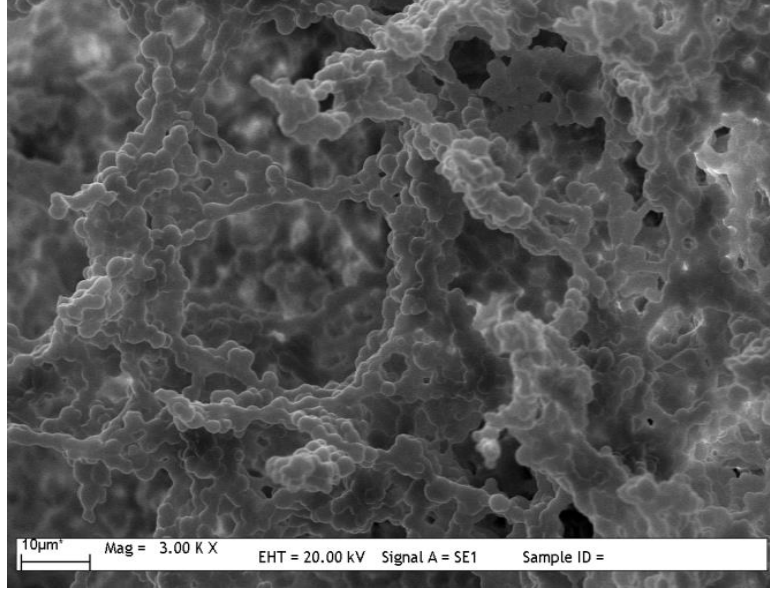
Kriyojeller polimer ağlarının fiziksel veya kimyasal çapraz bağlanmasıyla oluşturulabilir. Kriyojeller, fiziksel veya kovalent çapraz bağlanmış heterojen polimer ağlarla elde edilebilir. Kriyotropik jelleşme ile elde edilen polimer morfolojisi donmamış sistemlere göre oldukça farklıdır. Kriyojeller, kullanım amaçlarına göre silindirik, granüller veya disk şeklinde üretilebilirler.



**Şekil 2.7.** Kriyojellerin kullanım tipleri: (a) silindirik blok, (b) disk şeklinde üretilmiş kriyojeller [63].



Birbiri ile bağlantılı makrogözenekler ve süngerimsi morfoloji kriyojellerin en tipik özelliğidir. Süngerimsi kriyojeller içerisinde bulunan suyun büyük bir kısmı makrogözeneklerin içerisinde ve mekanik olarak sıkıştırma ile makrogözeneklerden dışarı çıkarılabilir. Kriyojellerin özellikleri kriyojelasyon sıcaklığı, örneğin donmuş vaziyette kalma süresi, donma/erime hızları, çözücü cinsi, çözünen veya çözünmeyen katkı maddeleri ile değişir.



**Şekil 2.8.** Mitomisin C baskılanmış kriyojellerin gözenek yapısını gösteren SEM görüntüsü

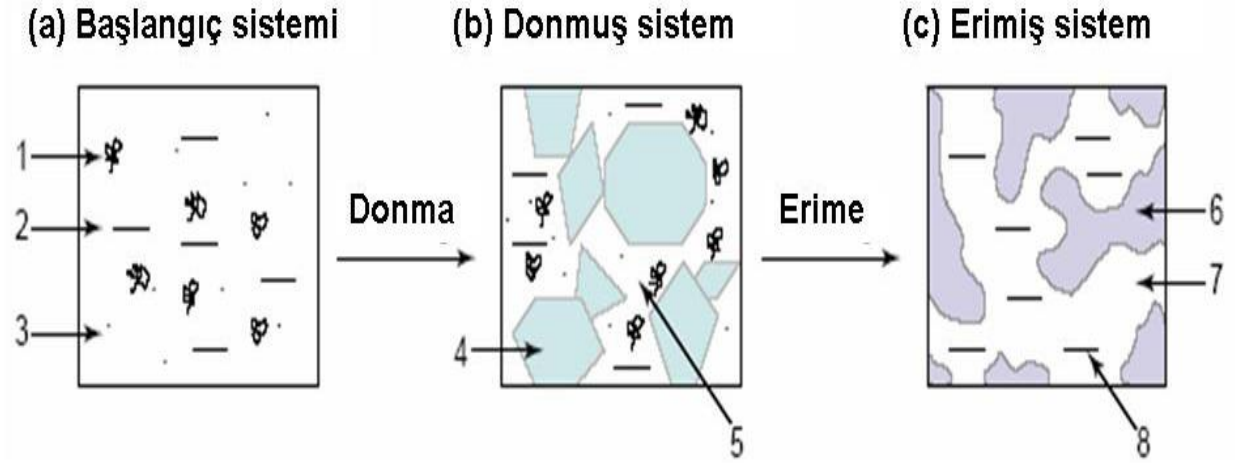
#### 2.4.1. Kriyotropik Jelleşme

Kriyotropik jel oluşumu makroskopik olarak donmuş karışım içerisinde yer alan donmamış sıvı mikrofaz içerisinde gerçekleşir. Donmamış sıvı mikrofaz içerisindeki jel başlatıcılarının konsantre hale gelmesi nedeni ile kriyojelasyon jelasyonun kritik derişiminin düşmesi ve geleneksel (donma noktası üzerindeki sıcaklıklarda üretilen jeller) jeller ile karşılaştırıldığında jelasyon hızlarının artışı ile karakterize edilir. Kriyojelasyon basamakları şunlardır;

- 1. Başlangıç sistemi:** Jel oluşumu ajanları içeren karışım çözücünün donma noktasının birkaç derece altında dondurulur.
- 2. Donmuş sistem:** Bu sistem tek parça halinde katı görünmesine rağmen donmamış sıvı mikrofaz içeren heterojen bir karışımdır. Mikrofaz içerisindeki

jel oluşum ajanları derişimi çözücünün donmasıyla birlikte yükselmiştir. Bu olaya kriyoderişim denir.

- 3. Erimiş sistem:** Çözücü eritildiğinde makrogözenekli bir ağ yapısı oluşur. Gözeneklerin şekli ve boyutları, monomer derişimine ve sıcaklığa bağlıdır.



**Şekil 2.9.** Kriyojelasyon basamakları: 1. çözeltideki makromoleküller; 2. çözücü; 3. düşük-moleküllü maddeler; 4. donmuş çözücünün polikristalleri; 5. donmamış sıvı mikrofaz; 6. Kriyojelin polimer duvarı; 7. makrogözenekler; 8. Çözücü [63].

#### 2.4.2. Kriyojellerin Diğer Jellerden Farkı

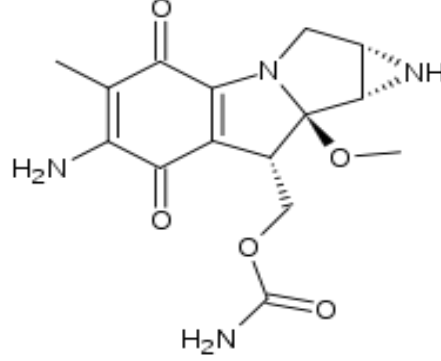
Son zamanlarda moleküler baskılanmış polimerler kriyojel şeklinde sentezlenmektedir. Kriyojellerin diğer jellerden farkı aşağıda özetlenmiştir;

1. Kriyojeller kimyasal-kovalent, iyonik veya kovalent olmayan bağlarla oluşabilirler.
2. İstenilen şekilde örneğin blok, silindir, tüp ve disk üretilmesi.
3. Birbiriyle bağlantılı üç boyutlu gözenekli yapıların elde edilmesi.
4. Üretimi oldukça ucuz ve uzun süreler kullanılması.
5. Yapıları heterofaz ve süngerimsi morfolojiye sahip olması oldukça avantajdır.

#### 2.5. Mitomisin C

Mitomisin C kimyasal olarak *IUPAC ismi*: [6-Amino-8a-metoksi-5-metil-4,7-dikso-1,1a,2,4,7,8,8a,8b oktahidroazireno [2',3':3,4] pirolo [1,2-a]indol-8-il] metil

karbamat ve *Sistemik ismi*:{11-Amino-7-metoksi-12-metil-10,13-diokso-2,5-diazatetrasiklo[7.4.0.0.0]trideca-1(9),11-dien-8-il} metilkarbamat olarak adlandırılır. Açık kimyasal formülü şekil 2.10'da görülmektedir.



**Şekil 2.10.** Mitomisin C'nin kimyasal yapısı

Mitomisin C'nin molekül ağırlığı  $334.33 \text{ g mol}^{-1}$  dür. Moleküler formülü ise  $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_5$ . Görünümü mavi lacivert kristaller halindedir.  $360 \text{ }^\circ\text{C}$ 'nin üzerinde erir. Suda çözünürlüğü  $8.43 \text{ g L}^{-1}$  ve izoelektrik noktası  $10.9$ 'dur. Suda, metanolde, asetonda kolay çözünür ama benzen, karbontetraklorürde ve eterde zor çözünür [64].

### 2.5.1. Mitomisin C'nin Farmakolojik Özellikleri

Mitomisin C'ler 1950 yıllarında *Sterptomyces caespitosus* veya *Streptomyces lavendulae*'den elde edilen aziridin içeren doğal ürünler ailesine ait bir anti-tümör antibiyotiktir. Mitomisin C çok etkili bir DNA çapraz bağlayıcısıdır [19]. Mitomisin C tümör hücrelerindeki DNA'ya bağlanır ve DNA çift sarmalının iki kolu arasında çapraz bağlar oluşturur. Böylece DNA replikasyonunu önleyerek antitümöral etki gösterdiği düşünülmektedir. Mitomisin C'ye duyarlılığın DNA'nın geç G1 fazından DNA sentezinin, erken S fazı boyunca yüksek olduğu ispatlanmıştır.

### 2.5.2. Mitomisin C'nin Farmakokinetik Özellikleri

Mitomisin C'nin farmakokinetik özellikleri aşağıdaki gibi sıralanmıştır:

1. Karaciğerde metabolize edilir.

2. Vücuttan idrarla atılır. Düşük miktarlarda feces ve safradan atılır.
3. İntravenöz olarak enjeksiyon edildiğinde kanda 17 dakika sonra kaybolur. Büyük oranda parçalanır fakat kan-beyin bariyerini aşamaz.

### **2.5.3. Mitomisin C'nin Endikasyonları**

Mitomisin C çok geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Antiproliferatif özelliğinden dolayı göğüs, prostat kanserlerinde kullanılır. Mesane yüzey kanseri tedavisi için ilk tercih edilen ilaçtır. Oftalmolojide, glokom hastalıklarında ve trabulektomi hastalıklarında yardımcı ajan olarak kullanılmaktadır. Diğer endikasyonlar; kronik lenfositik lösemi, kronik miyelositik lösemi, mide kanseri, metastatik kolorektal kanser, akciğer kanseri, pankreas kanseri, karaciğer kanseri, serviks kanseri, endometrium kanseri, meme kanseri, baş ve boyun tümörü ve mesane tümürüdür.

### 3. DENEYSEL YÖNTEMLER

#### 3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kalıp molekül Mitomisin C Kyowa, Hakko Kogyo Co (Tokyo, Japonya) firmasından, N-Metakriloil-(L)-glutamik asit (MAGA) sentezinde kullanılan bileşikler, L-glutamik asit metil ester, hidrokinon, diklorometan, trietilamin, metakroil klorür, sodyum hidroksit ve etanol, Merck firmasından (Darmstadt, Almanya) temin edilmiştir. 2-Hidroksietil metakrilat (HEMA) Sigma firmasından (St. Louis, MO, ABD), N,N,N,N-tetrametil etilendiamin (TEMED) ve amonyum persülfat (APS) BioRad firmasından (Hercule, CA, ABD), metilen-bis-akrilamid (MBAAm) Acros'tan (Geel, Belçika) temin edilmiş ve temin edildiği şekilde kullanılmıştır. Polimerizasyonda kullanılan çözücüler, tampon kimyasalları ve diğer kimyasallar, Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiş ve saflaştırılmadan kullanılmıştır. Deneylerde kullanılan bütün kimyasal maddeler analitik saflıktadır. Deneylerde kullanılan su, yüksek akışlı selüloz asetat membran (Barnstead D2731) ile ters ozmos Barnstead (Dubuque, IA) ROPure LP® birimi ve ardından Barnstead D3804 NANOpure® organik/kolloid uzaklaştırma birimi ve iyon değiştirici dolgulu kolon sistemi kullanılarak saflaştırılmıştır. Elde edilen saf suyun (deiyonize su) direnci, 18 MΩ/cm'dir. Deneylerde kullanılacak cam malzemeler, bir gece boyunca 4 M nitrik asitte bekletilmiştir.

#### 3.2. Mitomisin C Baskılanmış PHEMA Kriyojel Membranların Hazırlanması

Bu çalışmada, ilaç salımına yönelik olarak poli(2-hidroksietil metakrilat) (PHEMA) temelli Mitomisin C baskılanmış ve baskılanmamış membran formunda kriyojeller sentezlenmiştir. Mitomisin C baskılanması için fonksiyonel monomer olarak N-metakriloil-(L)-glutamik asit seçilmiştir. Kriyojel membranlar, farklı monomer-çapraz bağlayıcı oranlarında ve farklı miktarlarda kalıp molekül içermek üzere beş farklı tipte sentezlenmiş ve bu parametrelerin Mitomisin C salımı üzerine etkisi incelenmiştir. Ayrıca yükleme yapılan ilaç miktarındaki değişimin salıma etkisi incelenerek sonuçlar matematiksel olarak analiz edilmiştir. Aşağıda bu işlemler ayrıntılı olarak rapor edilmiştir.

### 3.2.1. MAGA Fonksiyonel Monomerinin Hazırlanması

Kalıp molekül Mitomisin C ile etkileşmek üzere seçilen fonksiyonel monomer N-Metakriloil-(L)-glutamik asitin (MAGA) sentezi ve karakterizasyonu literatürde detaylı şekilde rapor edilmiştir [1]. MAGA monomeri kısaca şu şekilde sentezlenmiştir; 5.0 g L-glutamik asit metil ester ve 0.2 g hidrokinon 100 mL diklorometanda çözülmüştür. Bu çözelti 0°C'ye soğutulmuştur. Daha sonra, 13.0 g trietilamin ve azot atmosferi altında 4.0 mL metakroil klorür yavaşça bu çözeltiliye eklenmiştir. Çözelti 2 saat süre manyetik karıştırıcıda oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Bu reaksiyon süresinin sonunda reaksiyona girmemiş metakroil klorür %10'luk NaOH çözeltisi ile ekstrakte edilmiştir. Sulu faz döner buharlaştırıcıda buharlaştırılmış ve kalan kısım (MAGA) etanolde çözülmüştür [65].

### 3.2.2. Mitomisin C/MAGA Kompleksinin Hazırlanması

Mitomisin C/MAGA kompleksinin hazırlanması için Mitomisin C, 5 mL saf suda çözülmüştür. Fonksiyonel monomer MAGA bu karışım içerisine belirli oranlarda eklenmiştir. Daha sonra karışım Mitomisin C/MAGA kompleksinin oluşması için +4°C sıcaklıkta 24 saat bekletilmiştir.

### 3.2.3. Membranların Hazırlanması

Mitomisin C baskılanmış, PHEMA kriyojel membranların hazırlanmasında takip edilen yöntem şu şekildedir. Çapraz bağlayıcı olarak kullanılan MBAAm 32 mL saf suda çözülmüştür. HEMA 7 mL saf suda çözülerek, MBAAm çözeltisinin içerisine eklenmiştir. Elde edilen homojen çözeltiliye hazırlanan Mitomisin C/MAGA kompleksi eklenmiştir. Polimerizasyonda başlatıcı olarak 0.08 g APS ve 100 µL TEMED redoks çifti kullanılmıştır. Polimerizasyon çözeltisi 2 mm kalınlığındaki ayırıcı ile ayrılmış iki cam tabaka arasına dökülmüş ve polimerizasyon -20°C'de 18 saat süreyle gerçekleştirilmiştir. Polimerizasyondan sonra elde edilen kriyojel membranlar bir perforatör yardımı ile kesilerek 2.2 cm çapında diskler elde edilmiştir. Belirtilen yöntem ile HEMA/MBAAm oranları 4, 6, 10 ve 18 olan, çapraz bağlayıcı miktarları farklı dört polimer sentezlenmiştir. Ayrıca, kalıp molekül miktarı 6 ve 12 µmol olan iki farklı tip kriyojel membran sentezlenmiştir. Çizelge 3.1' de sentezlenen polimerlerin bileşimleri verilmektedir.

**Çizelge 3.1.** Mitomisin C baskılanmış kriyojel membranların bileşimi.

Polimer Kodu	% Monomer Oranı	HEMA/MBAAm	Kalıp Miktarı (µmol)
PHEMA	13	6	-
M-0	13	4	12
M-I	13	6	6
M-II	13	6	12
M-III	13	10	12
M-IV	13	18	12

Sentezlenen Mitomisin C baskılanmış kriyojel membranlar polimerizasyon artıklarının uzaklaştırılması için saf su ile yıkanmıştır. Kalıp molekülün yapıdan uzaklaştırılması için 1.0 M NaCl çözeltisi ile yıkanmış ve yapıdan uzaklaştırılan Mitomisin C miktarı spektrofotometrik olarak 360 nm dalgaboyunda tayin edilmiştir.

### 3.3. Karakterizasyon Çalışmaları

#### 3.3.1. Kriyojel Membranların SEM Görüntüsü

PHEMA kriyojellerin yüzey ve yığın yapısı taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir. Bu amaçla polimer membran kesiti iletken bir yapıştırıcıyla SEM örnek plakası üzerine tutturulmuştur. Daha sonra örnek yüzeyleri vakum altında 200 Å kalınlığında metalik altın ile kaplanarak yüzey iletken hale getirilmiştir. Hazırlanan örnekler SEM örnek yuvasına yerleştirilerek çeşitli büyütme oranlarında fotoğrafları çekilmiştir (JEOL, JEM 1200 EX, Tokyo, Japonya).

#### 3.3.2. Şişme Özelliklerinin Belirlenmesi

Hazırlanan Mitomisin C baskılanmış PHEMA membranların şişme oranlarının belirlenmesi için öncelikle her bir kriyojel membran liyofilizatörde sabit tartıma getirilmiştir. Daha sonra oda sıcaklığında 25 mL saf su içerisine yerleştirilmiş ve belirli

zaman aralıklarında tartımları gerçekleştirilmiştir. Polimer membranların şişme oranları ve makrogözenekliliği sırasıyla Eşitlik 3.1 ve Eşitlik 3.2. kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Şişme oranı (\%)} = [(W_s - W_0) / W_0] \times 100 \quad (3.1)$$

$$\text{Makrogözeneklilik (\%)} = [(W_s - W_{\text{sıkılmış}}) / W_{\text{sıkılmış}}] \times 100 \quad (3.2)$$

Eşitlikte  $W_s$  şişmiş polimerin ağırlığı;  $W_0$  kuru polimerin ağırlığı ve  $W_{\text{sıkılmış}}$  sıkılmış polimerin ağırlığını ifade etmektedir.

### 3.3.3. Yüzey Alanı Ölçümleri

Mitomisin C baskılanmış kriyojellerin gözenek hacmi ve ortalama gözenek çapı civa porozimetresi ile belirlenmiştir (Carlo Erba Model 200, Italy). Spesifik yüzey alanları BET yöntemi ile belirlenmiştir.

### 3.3.4. FTIR Çalışmaları

Yapıdaki MAGA'nın varlığını göstermek üzere PHEMA kriyojel ve MAGA içeren Mitomisin C baskılanmış kriyojellerin FTIR spektrumları alınmıştır (Thermo Fisher Scientific, Nicolet iS10, Waltham, MA, ABD). Kriyojel membranlar analizden önce 24 saat süre ile  $-60^\circ\text{C}$ 'de liyofilize edilmiştir. Daha sonra kuru membranların FTIR-ATR spektrumları  $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$  dalga sayısı aralığında alınmıştır.

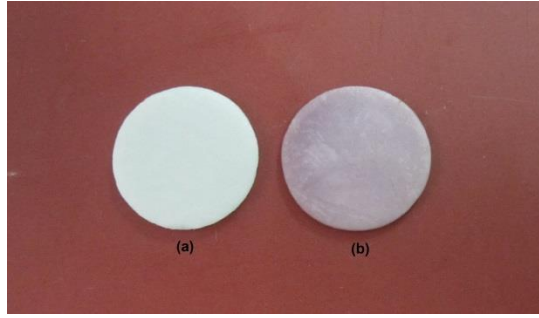
### 3.3.5. Kan Uyumluluğu Testleri

Kan ve Mitomisin C baskılanmış kriyojeller arasındaki etkileşim protrombin zamanı (PT), aktive kısmi tromboplastin zamanı (APTT), fibrinojen zamanı ve trombosit pıhtılaşma zamanı ölçülerek izlenmiştir. İn-vitro kan uyumluluğu testleri ilgili kitler kullanılarak STA4 Compact Blood Coagulation Analizör (Diagnostics Stago, Fransa) ile gerçekleştirilmiştir.



### 3.4. Mitomisin C Salım Çalışmaları

Farklı miktarlarda çapraz bağlayıcı ve Mitomisin C kalıp kullanılarak hazırlanan moleküler baskılanmış beş farklı PHEMA kriyojel membrana Mitomisin C yüklemesi şu şekilde yapılmıştır; Yıkamış ve kalıp molekül yapıdan uzaklaştırılmış, disk şeklinde kesilerek hazırlanan polimerik membranlar, liyofilizatörde kurutulup, sabit tartıma getirildikten sonra 5 mL hacimde ve farklı miktarlarda Mitomisin C içeren (0.4, 0.2 ve 0.1 mg/mL) çözeltilere daldırılmış ve 24 saat süreyle ilaç yüklemesi yapılmıştır. İlaç yüklemesi yapılmış ve yapılmamış kriyojel membranların optik fotoğrafı Şekil 3.1'de görülmektedir.



**Şekil 3.1.** Mitomisin C yüklemesi yapılmış (b) ve yapılmamış (a) kriyojel membranlar

Yükleme verimi aşağıdaki Eşitlik 3.3 yardımı ile hesaplanmıştır;

$$\% \text{ Mitomisin C yüklemesi} = \frac{(\text{ortama eklenen ilaç} - \text{yıkama ile uzaklaştırılan ilaç})}{\text{ortama eklenen ilaç}} \times 100 \quad (3.3)$$

İlaç salım kinetiğinin belirlenmesi için, Mitomisin C yüklü PHEMA kriyojel membranlar; 8 mL hacimde PBS çözeltisine konulmuş ve ilaç salımı 33 saat süreyle oda sıcaklığında incelenmiştir. Salınan ilaç miktarı çift ışık yollu UV/Vis spektrofotometre (Shimadzu, Model 1601, Tokyo, Japonya) ile 360 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Salınan Mitomisin C miktarları mg Mitomisin C/g kuru polimer olarak zamana karşı grafiğe geçirilmiştir.

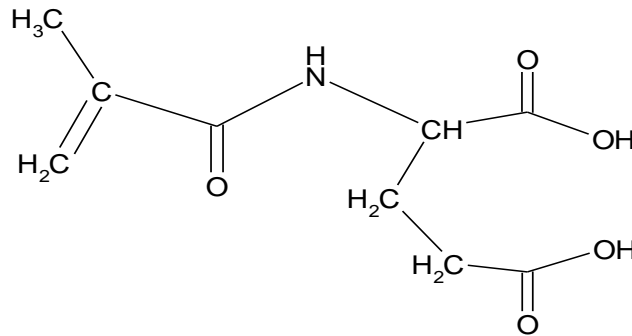
## 4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Literatürde MIP'lerin kullanıldığı farklı ilaç salım sistemleri rapor edilmiştir [51, 55, 56, 58,59,66,67]. Hiratani ve arkadaşları kalıp-fonksiyonel monomer oranının geciktirilmiş ilaç salımı için yüksek afiniteli nanooyuklara sahip moleküler baskılanmış hidrojellerin elde edilmesine etkisini incelemişlerdir [68]. Puoci ve arkadaşları sulfosalazinin kontrollü salımı için çöktürme polimerizasyonu ile moleküler baskılanmış polimerler hazırlamışlardır [69]. Liu ve arkadaşları fare modelde laminektominin ardından epidural yara yapışmalarını önlemek üzere Mitomisin C polietilen glikol kontrollü salım filmi tasarlamışlardır [70]. Puoci ve arkadaşları yığın polimerizasyonu ile kontrollü ilaç salımı için 5-florourasil baskılanmış düzensiz ve şişmeyen mikropartiküller sentezlemişlerdir [71].

Bu tez çalışmasında Mitomisin C kontrollü salımı için MAGA fonksiyonel monomer kullanarak Mitomisin C baskılanmış PHEMA temelli kriyojel membranlar hazırlanmıştır. Karakterizasyon ve salım çalışmalarına ait sonuçlar aşağıda verilmiştir.

### 4.1. Karakterizasyon Çalışmaları

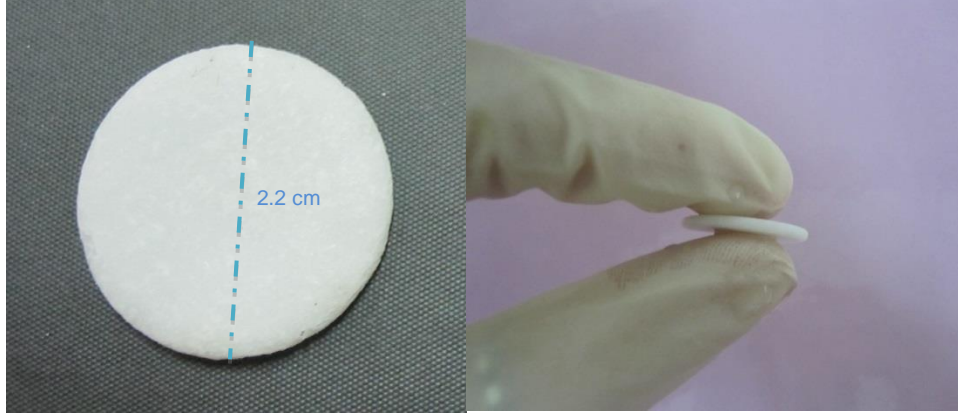
Mitomisin C baskılanmış kriyojel membranların üretilmesi için kullanılan fonksiyonel monomer MAGA'nın yapısı Şekil 4.1'de verilmiştir.



**Şekil 4.1.** N-Metakriloil-(L)-glutamik asitin (MAGA) kimyasal yapısı.

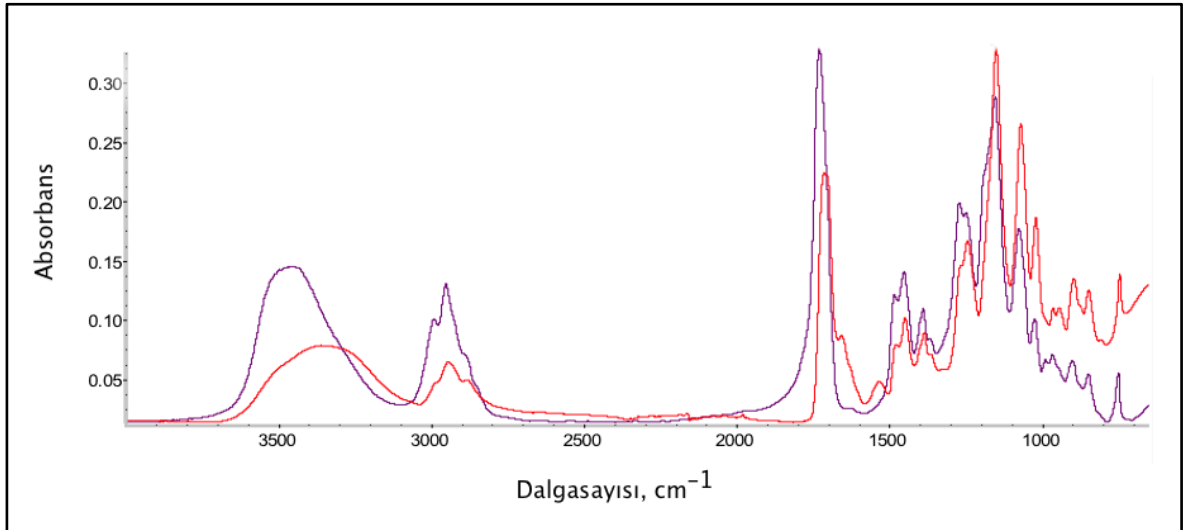
Mitomisin C baskılanmış kriyojeller opak, süngersi ve elastik bir yapıya sahiptir. Gözeneklerde bulunan su kriyojel elle sıkıştırıldığında kolaylıkla

uzaklaştırılabilmektedir. Sıkıştırılmış bir parça kriyojel tekrar suya atıldığında şişmekte ve orjinal boyutunu ve yapısını 1-2 saniye içerisinde tekrar kazanmaktadır. Hazırlanan membranların optik fotoğrafları şekil 4.2’de verilmiştir.



**şekil 4.2.** Mitomisin C baskılanmış kriyojel membranlar.

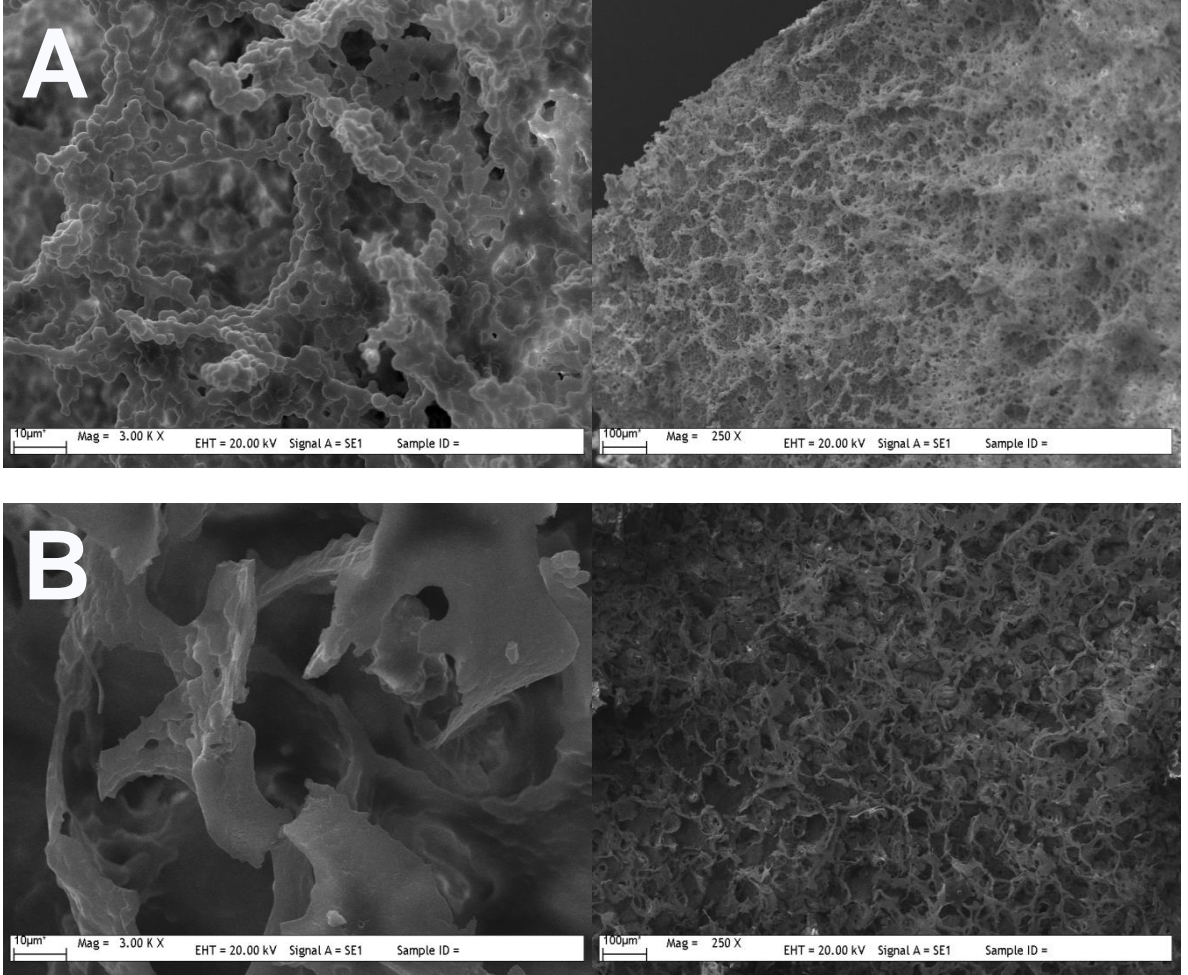
şekil 4.3’te PHEMA kriyojellerin (mor) ve MAGA içeren Mitomisin C baskılanmış kriyojellerin (kırmızı) FTIR spektrumları verilmiştir. 1652  $\text{cm}^{-1}$  civarında gözlenen bant MAGA’nın amit ve karbonil titreşim banına aittir. Ayrıca 3300  $\text{cm}^{-1}$  civarında gözlenen karakteristik -OH bantları yapıdaki hidroksil oranının artması nedeniyle genişlemiştir. Bu veriler yapıya MAGA’nın girdiğini onaylamaktadır.



**şekil 4.3.** PHEMA kriyojel ve Mitomisin C baskılanmış kriyojellerin FTIR spektrumları.

Mitomisin C baskılanmış süpermakrogzenekli PHEMA temelli kriyojel membranların gözenek yapısını gösteren SEM görüntüleri şekil 4.4’de verilmiştir. şekilde görüldüğü

gibi PHEMA kriyojeller gözeneksiz ve ince polimer duvarlarına ve hareketli fazın akışına olanak sağlayan geniş ve sürekli birbiriyle bağlantılı gözenek ağına (10 -100 µm çapında) sahiptir. Hareketli fazın gözeneklerden konvektif akışının bir sonucu olarak kütle transfer direnci ihmal edilebilir düzeydedir.



**Şekil 4.4.** Kriyojel membranların SEM fotoğrafları.

A. M-II polimeri: HEMA/MBAAm: 6

B. M-IV polimeri: HEMA/MBAAm: 18

Çizelge 4.1’de hazırlanan kriyojellerin şişme oranı ve makrogözenekliliğinin HEMA ve çapraz bağlayıcı oranı ve kalıp miktarı ile değişimi verilmiştir.

**Çizelge 4.1.** Mitomisin C baskılanmış kriyojel membranların şişme ve makrogözeneklilik oranları.

<b>Polimer</b>	<b>Şişme oranı %</b>	<b>Makrogözeneklilik %</b>
<b>M-0</b>	602.2	46.8
<b>M-I</b>	604.6	55.3
<b>M -II</b>	613.2	54.8
<b>M-III</b>	629.6	59.1
<b>M-IV</b>	639.0	73.5

Çizelgede görüldüğü gibi polimerizasyon çözeltisinde çapraz bağlayıcı miktarının artması suyun difüzyonunu zorlaştırması nedeniyle elde edilen membranların şişme oranında ve makrogözenekliliğinde azalma ile sonuçlanmıştır. Ayrıca MBAAm oranının artması yapının hidrofobitesinin artmasına neden olduğundan kriyojel membranların şişme oranı azalmaktadır.

Mitomisin C baskılanmış kriyojel membranın (M-II) spesifik yüzey alanı çok noktalı BET yöntemi ile ortalama 25 m<sup>2</sup>/g olarak bulunmuştur. Gözenek boyutu BJH cihazı ile belirlenmiştir. Gözeneklerin çapı 20 – 245 Å aralığında değişmektedir ve ortalama çap 78.2 Å'dür. Bu da PHEMA kriyojellerdeki makrogözeneklerin varlığını onaylamaktadır.

#### **4.2. Kan Uyumluluğu Çalışmaları**

Mitomisin C baskılanmış kriyojel membranların kan uyuşabilirliğini belirlemek üzere, protrombin zamanı (PT), aktive edilmiş kısmi tromboplastin zamanı (APTT), fibrinojen zamanı ve trombosit pıhtılaşma zamanı (CT) belirlenmiştir. APTT testi, biyomalzeme yüzeyinde intrinsik pıhtılaşma faktörlerinin aktivasyonunu ve PT testi ekstrinsik pıhtılaşma faktörlerinin aktivasyonunu göstermektedir. CT testi in-vitro pıhtılaşma zamanını göstermektedir. Çizelge 4.2 bu testlerde elde edilen pıhtılaşma verilerini özetlemektedir.

**Çizelge 4.2.** Pıhtılaşma zamanları\*.

Malzeme	Test		
	APTT	PT	CT
Kontrol Plazma	44.6 ± 1.2	18.4 ± 0.8	193 ± 5.2
PHEMA	42.9 ± 1.3	17.9 ± 0.6	182 ± 4.8
Mitomisin C/PHEMA	41.8 ± 1.4	16.3 ± 1.2	178 ± 5.7

\* Herbir sonuç 3 paralel çalışmanın ortalamasıdır.

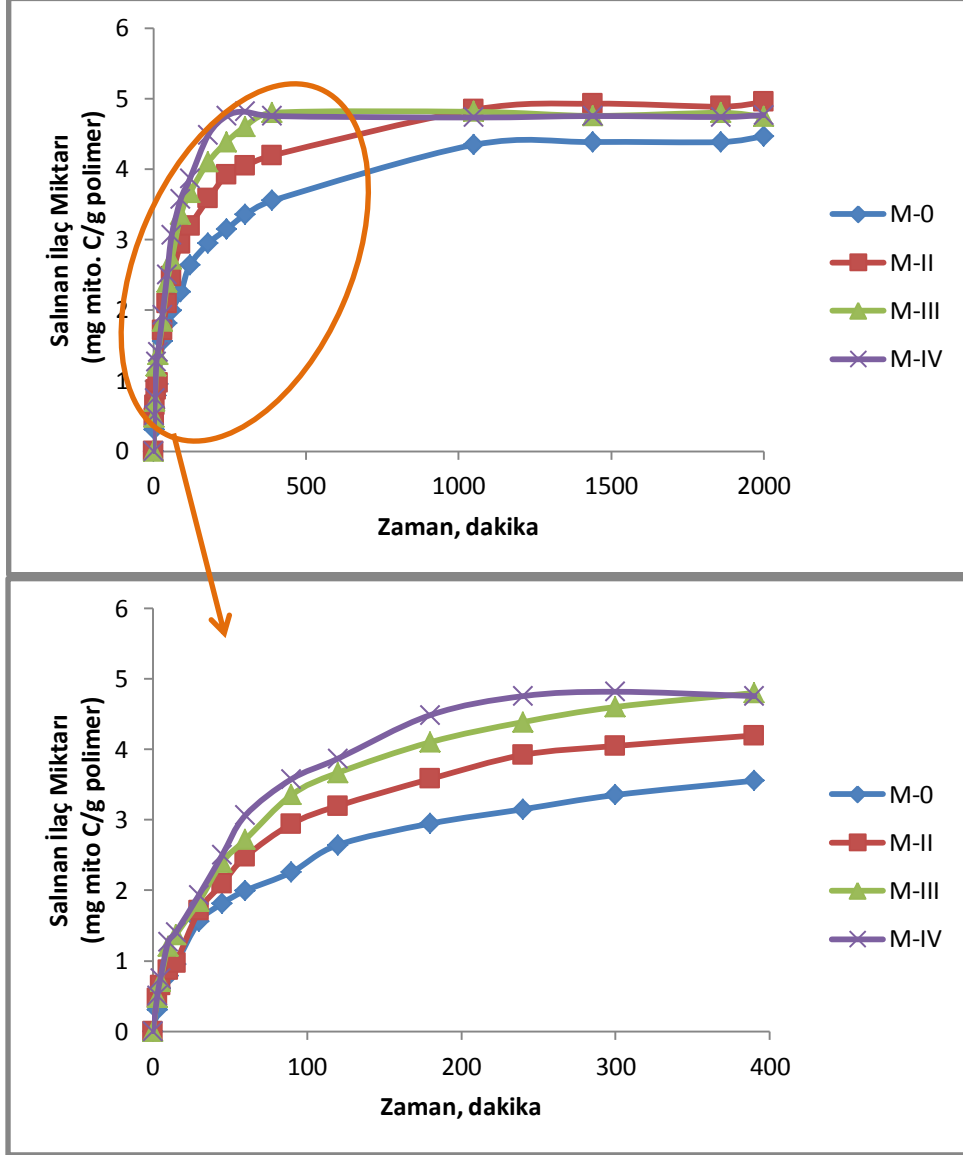
Çizelgeden görüleceği gibi PHEMA ve Mitomisin C baskılanmış PHEMA temelli kriyojel membranların pıhtılaşma süreleri kontrol plazma ile karşılaştırıldığında azalmıştır. Ancak bu azalma vücut tarafından tolere edilebilir orandadır. Bu nedenle Mitomisin C baskılanmış kriyojellerin kan uyumluluğunun iyi olduğu sonucuna varılmıştır.

### 4.3. Mitomisin C Salım Çalışmaları

#### 4.3.1. Çapraz Bağlayıcı Oranının Mitomisin C Salımına Etkisi

Polimerin çapraz bağlanma oranı ilaç salımını etkileyen önemli parametrelerden birisidir. Bu çalışmada çapraz bağlayıcı oranının etkisinin incelemek üzere toplam monomer oranının %13, baskılanan Mitomisin C miktarının 12 µmol olarak sabit tutulduğu M-0, M-II, M-III ve M-IV polimerlerinde, HEMA/çapraz bağlayıcı oranı sırasıyla 4, 6, 10 ve 18 olarak değiştirilmiş ve Mitomisin C salımı incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.5'te karşılaştırmalı olarak görülmektedir. Grafiklerden görüldüğü gibi çapraz bağlayıcı oranı en düşük olan M-IV polimerinin birim zamanda saldığı ilaç miktarı daha yüksektir. Bu durum polimerlerin şişme davranışlarıyla da uyumlu bir sonuçtur. Tüm polimerlerde ilk bir saat içerisinde hızlı bir ilaç salımı gerçekleşmekte ve 400 dakika sonrasında salım hızı sabit kalmaktadır. Salım işleminin başında Mitomisin C salımı şişme kontrollü difüzyon mekanizması ile gerçekleşmektedir. Mitomisin C baskılanmış kriyojeller su absorpladıkça şişmektedir. Daha sonra şişme ve gözenek boyutunun değişmesiyle polimerik yapının Mitomisin C salım oranı da değişmektedir. Çapraz bağlayıcı MBAAm oranının artması Çizelge

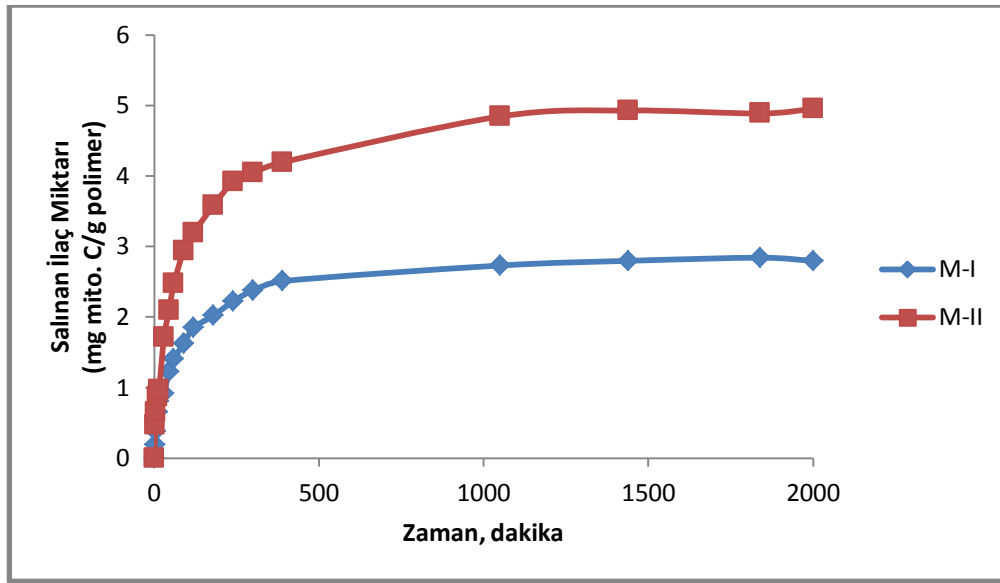
4.1'de gösterildiği gibi şişme ve makrogözeneklilik oranının azalması ile sonuçlanmıştır. Dolayısı ile Mitomisin C salımı 400 dakikanın ardından çapraz bağlayıcı oranı en yüksek olan M-0 polimerinde 3.6 mg/g olarak gerçekleşirken, M-II polimerinde 4.2 mg/g, M-III polimerinden 4.7 ve M-IV polimerinde 4.8 mg/g Mitomisin C olarak gerçekleşmiştir.



**Şekil 4.5.** Farklı oranlarda çapraz bağlayıcı oranına sahip Mitomisin C baskılanmış kriyojel membranlardan ilaç salımı. (HEMA/MBAAm oranı: M-0: 4, M-II:6, M-III: 10, M-IV: 18)

#### 4.3.2. Kalıp Molekül Miktarının Salıma Etkisi

Polimerizasyon karışımına eklenen kalıp molekül miktarı da salım çalışmalarında önemli bir parametredir. Eklenebilecek en yüksek kalıp miktarının aşılması durumunda kalıp moleküller polimer zincirlerinin büyümesini ve dolayısıyla polimerik yapının oluşmasını engelleyebilir. Bu çalışmada kalıp Mitomisin C miktarının salıma etkisini incelemek üzere toplam monomer oranı %13 ve monomer çapraz bağlayıcı oranı 6 (mol/mol) olarak sabit tutulan; M-I ve M-II polimerlerinde, baskılanan kalıp molekül miktarı sırasıyla; 6 ve 12  $\mu\text{mol}$  olarak değiştirilmiştir. Şekil 4.6'da kalıp molekül miktarının ilaç salımı üzerindeki etkisi gösterilmektedir.



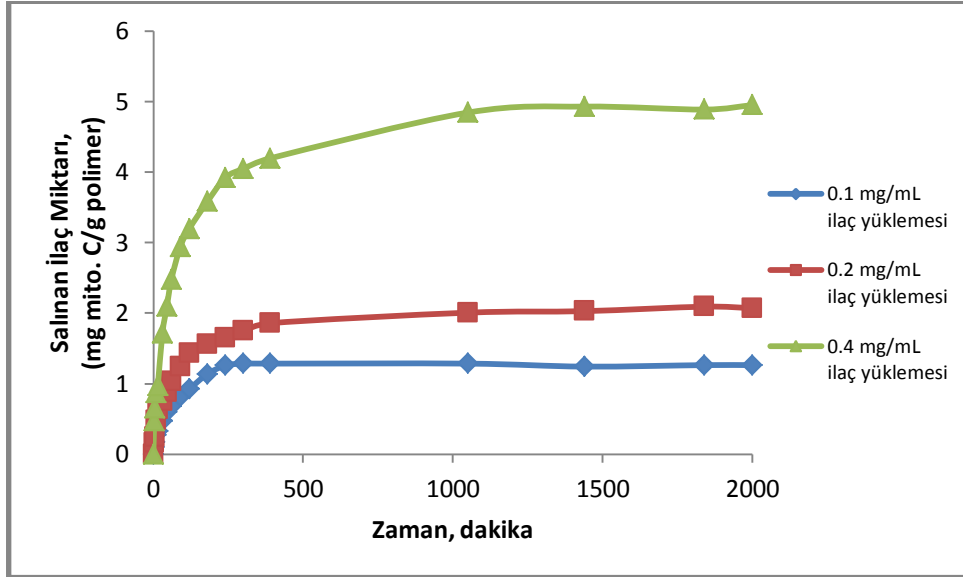
**Şekil 4.6.** Baskılanan kalıp molekül Mitomisin C miktarının Mitomisin C salımına etkisi. (Mitomisin C miktarı; M-I: 6  $\mu\text{mol}$  ve M-II: 12  $\mu\text{mol}$ )

Şekilden de görüldüğü gibi kalıp Mitomisin C miktarının artması, kriyojel membranlardan salınan Mitomisin C miktarını artırmıştır. Polimerizasyon karışımında kalıp miktarının artması yapıda kalıp molekül Mitomisin C'ye uygun kavitelelerin sayısının artması demektir. Dolayısıyla daha fazla Mitomisin C molekülü yapıya girmekte ve salım daha yüksek miktarda gerçekleşmektedir. Burada 6  $\mu\text{mol}$  Mitomisin C yüklenen M-I polimerinde yaklaşık 30 saat sonunda Mitomisin C salımı 2.8 mg/g, 12  $\mu\text{mol}$  Mitomisin C yüklenen M-II polimerinde aynı sürede salım 4.9 mg/g'dır. Kalıp molekül miktarı daha fazla artırıldığında kriyojel membranların elde edilmesinde sorunlar yaşanmıştır.



### 4.3.3. Yüklenen İlaç Miktarının Salıma Etkisi

İlaç salımında diğer bir önemli etken polimerik sisteme başlangıçta yüklenen ilaç miktarıdır. Bu çalışmada yüklenen ilaç miktarının Mitomisin C salımına etkisini incelemek üzere monomer çapraz bağlayıcı mol oranı 6 ve kalıp molekül miktarı 12  $\mu\text{mol}$  olarak sentezlenen M-II polimeri kullanılmıştır. M-II polimerine üç farklı derişimde ilaç yüklemesi yapılmıştır. Yükleme 0.4 mg/mL stok Mitomisin C çözeltisinden seyreltilerek hazırlanan 0.1, 0.2 ve 0.4 mg/mL derişimlerindeki Mitomisin C çözeltilerinde yapılmıştır. Şekil 4.7'de farklı ilaç derişimlerinde yapılan yüklemenin Mitomisin C salımına etkisi gösterilmektedir.



**Şekil 4.7.** Mitomisin C yükleme miktarının Mitomisin C salımına etkisi. Çalışılan polimer; M-II.

Dikkat edileceği gibi ilaç yükleme miktarının artması ile birlikte salım hızı da artmaktadır. Bu sonuç polimerik sisteme yüklenen ilaç miktarının artması ile derişim gradyentinin oluşması ve böylece Mitomisin C'nin kriyojel disklerden difüzyonu için sürücü kuvvetin artması ile açıklanabilir. Yaklaşık 30 saatlik salım süresi boyunca 0.4 mg/mL Mitomisin C yüklenen kriyojel membranlardan 4.9 mg/g (yüklenenin 88 % kaçı), 0.2 mg/mL Mitomisin C yüklenen membranlardan 2.1 mg/g (yüklenenin 75 % kaçı), 0.1 mg/mL Mitomisin C yüklenen membranlardan 1.3 mg/g (yüklenenin 64 % kaçı) Mitomisin C salımı gerçekleşmiştir.

#### 4.4. Mitomisin C Baskılanmış Kriyojel Membranlardan Mitomisin C Salımının Matematiksel Analizi

Şişme kontrollü sistemlerde, ilaç salımının incelenmesinde güç kanunu eşitliği (Eşitlik 4.1) kullanılmıştır. Deneysel verilerin ( $M_t/M_\infty \leq 0.6$  durumunda veya çok kısa bir süre için) güç kanunu eşitliğine uydurulmasıyla, makromoleküler gevşemenin ilaç salım mekanizması üzerindeki etkisi incelenebilir [67].

$$F = M_t/M_\infty = k \cdot t^n \quad (4.1)$$

$M_t$ : herhangi bir t anında absorplanan veya desorplanan kütle

$M_\infty$ : dengede ( $t=\infty$ ) absorplanan veya desorplanan kütle

k : sistemin yapı ve geometrik özelliklerine bağlı deneysel hız sabiti

n : difüzyon üsteli

Bu eşitlik, çözücünün polimerdeki genel (sadece Fickian difüzyon değil) transport davranışını tanımlamak için kullanılır ve n değerine bağlı olarak difüzyon mekanizmasının türünü açıklar.

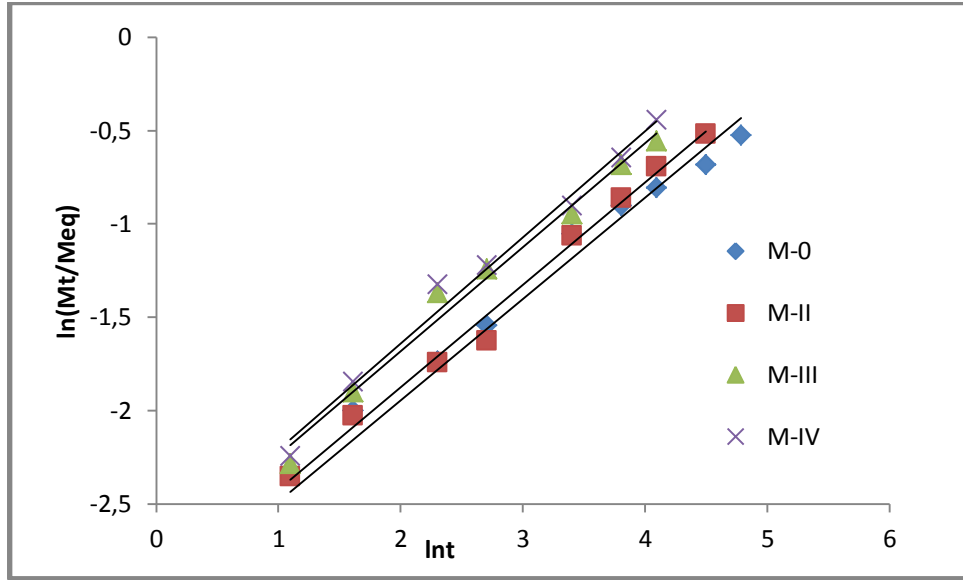
**Çizelge 4.3.** Güç yasasının difüzyon üsteli ve farklı geometrideki polimerik salım sistemlerindeki ilaç salım mekanizmaları [68].

Difüzyon Üsteli, n			İlaç Salım Mekanizması
İnce Film	Silindir	Küre	
0.5	0.45	0.43	Fickian Difüzyonu
$0.5 < n < 1.0$	$0.45 < n < 0.89$	$0.43 < n < 0.85$	Non-Fickian (Anomalous Taşınım)
1.0	0.89	0.85	Case-II Taşınım

Buna göre Mitomisin C baskılanmış PHEMA temelli kriyojel membranların salım kinetiğinin analizi yapılmış ve farklı miktarlarda çapraz bağlayıcı, kalıp ve ilaç yüklemesi yapılan membranlara ait sonuçlar aşağıda verilmiştir.

#### 4.4.1. Farklı Çapraz Bağlayıcı Oranına Sahip Kriyojellerin Matematiksel Analizi

Yüzde monomer oranı aynı olan ve baskılanan Mitomisin C miktarı 12  $\mu\text{mol}$  olarak sabit tutulan dört kriyojel membranının (M-0, M-II, M-III, M-IV) monomer/çapraz bağlayıcı oranları değiştirilerek salım kinetiğinin matematiksel analizi yapılmıştır. Çizelge 4.4'te bu dört polimere ait difüzyon üsteli ve k bağıl deneysel hız sabiti görülmektedir. Şekil 4.9'a göre hesaplanan n değerlerine göre dört polimerin de salım mekanizmasının non-fickian difüzyonuna uyduğu görülmektedir. Polimerik yapıdaki azalan çapraz bağlayıcı miktarıyla k değerlerinin artışı görülmektedir. k değerinin artışı, çapraz bağlayıcı miktarı düşük daha gevşek yapılarda, ilaç salımın daha hızlı gerçekleştiğini göstermektedir.



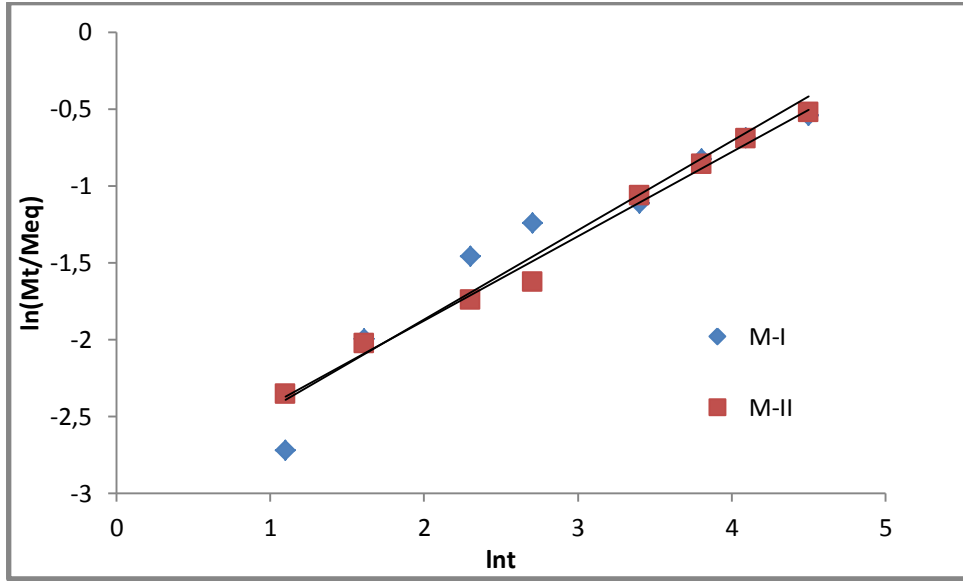
Şekil 4.9. Farklı çapraz bağlayıcı oranına sahip kriyojellerin matematiksel analizi.

Çizelge 4.4. Farklı HEMA/MBAAm oranlarına sahip MIP kriyojellerin n ve k değerleri

Polimerin Adı	HEMA/MBAAm	n	k	R <sup>2</sup>
M-0	4	0.5233	0.0481	0.9698
M-II	6	0.5477	0.0512	0.9909
M-III	10	0.5583	0.0608	0.9845
M-IV	18	0.5687	0.0622	0.9864

#### 4.4.2. Farklı Kalıp Molekül Miktarına Sahip Kriyojellerin Matematiksel Analizi

Yüzde monomer oranı ve yapıdaki monomer/çapraz bağlayıcı oranı sabit tutularak baskılanan ilaç miktarı M-I ve M-II polimeri için sırasıyla 6 ve 12 µmol Mitomisin C olarak değiştirilmiştir. M-I ve M-II polimerleri için Şekil 4.10'a göre hesaplanan n ve k değerleri Çizelge 4.5'te görülmektedir. Hesaplanan değerlere göre her iki polimer de non-fickian difüzyonuna uymakta ve baskılanan ilaç miktarının artışıyla k değerinin arttığı görülmektedir.



Şekil 4.10. Farklı kalıp miktarına sahip kriyojellerin matematiksel analizi.

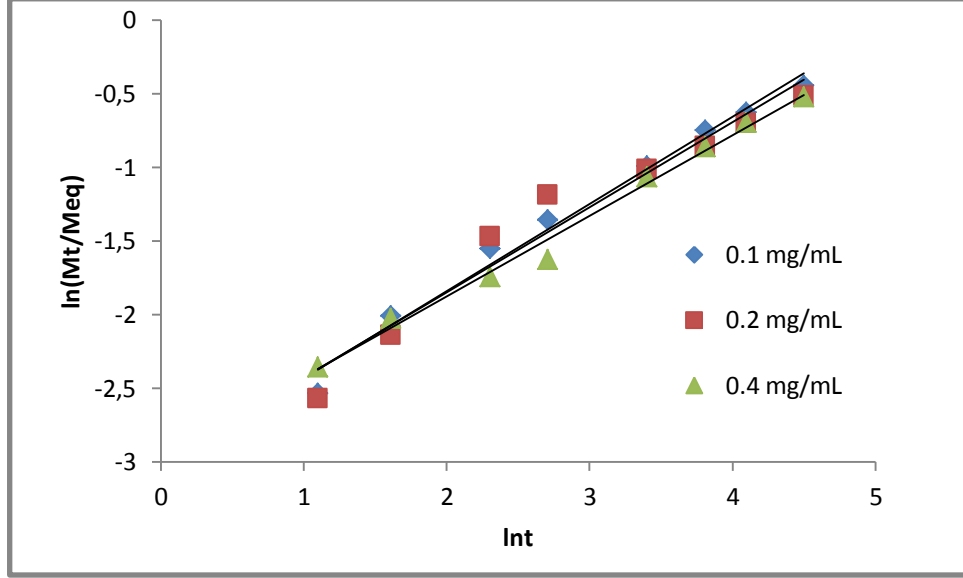
Çizelge 4.5. Farklı kalıp miktarlarına sahip polimerlerin n ve k değerleri.

Polimer Adı	Kalıp molekül Miktarı (µmol)	n	k	R <sup>2</sup>
M-I	6	0.5811	0.0482	0.9358
M-II	12	0.5477	0.0512	0.9909

#### 4.4.3. Farklı Miktarlarda Mitomisin C Yüklenmesinin Matematiksel Analizi

Monomer/çapraz bağlayıcı oranı 6, baskılanan ilaç miktarı 12 µmol olan M-II polimerine 0.1, 0.2 ve 0.4 mg/mL olmak üzere üç farklı derişimde ilaç yüklemesi

yapılmıştır. Şekil 4.11'e göre hesaplanan n ve k değerleri Çizelge 4.6'da görülmektedir. Bu değerlere göre her üç durum da non-fickian difüzyona uygundur.



**Şekil 4.11.** Farklı miktarlarda Mitomisin C yüklenmesinin matematiksel analizi.

**Çizelge 4.6.** Farklı derişimde ilaç yüklenen M-II kriyojelinin n ve k değerleri

Yüklenen İlaç Miktarı (mg/mL)	n	k	R <sup>2</sup>
0.1	0.5917	0.0487	0.9851
0.2	0.5768	0.0498	0.9533
0.4	0.5477	0.0512	0.9909

## 5. YORUM

Sunulan çalışmada, kontrollü ilaç salımı için moleküler baskılanmış PHEMA temelli kriyojel membranlar sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Hazırlanan PHEMA kriyojel membranlara, çalışılan hedef molekül olan Mitomisin C ilacı yüklemesi yapılmıştır. Salım çalışmaları, vücut sıvısına yakın bir ortam olan PBS (pH: 7.4) çözeltisinde gerçekleştirilmiştir. Literatürdeki çalışmalar göz önüne alınarak, ilaç yüklemesi yapılan matriks özellikleri değiştirilerek, yüklenen ilacın, salım profilindeki farklılar incelenmiştir. Çalışma kapsamında elde edilen deneysel sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

- ❖ Mitomisin C ile etkileşecek fonksiyonel monomer olarak N-Metakriloil-(L)-glutamik asit (MAGA) seçilmiştir. MAGA, L-glutamik asit metil ester ve metakroil klorürün tepkimesini sonucu sentezlenmiştir.
- ❖ Mitomisin C baskılanmış (MIP) PHEMA kriyojel membranların sentezi, -20 °C sıcaklıkta, 18 saat süreyle gerçekleştirilmiştir.
- ❖ Moleküler olarak baskılanmış PHEMA kriyojel membranlar monomer çapraz bağlayıcı oranları değiştirilerek dört farklı içerikte hazırlanmıştır. M-0, M-I, M-III ve M-IV kriyojellerinin HEMA/MBAAm oranı sırasıyla 4, 6, 10, 18 olarak belirlenmiştir.
- ❖ Farklı çapraz bağlayıcı oranlarına sahip PHEMA kriyojel membranların şişme özellikleri ve % makrogözenekliliği incelenmiştir. Çapraz bağlayıcı miktarı en yüksek M-0 polimeri için şişme oranı % 602.2, makrogözeneklilik oranı % 46.8 iken çapraz bağlayıcı miktarı en düşük olan M-IV polimerinde ise şişme oranı % 639, makrogözeneklilik oranı % 73.5 olarak bulunmuştur. Elde edilen veriler sonucunda, artan çapraz bağlayıcı miktarının kriyojel membranlarda % şişme oranını ve % makrogözenekliliği etkilediği belirlenmiştir.

- ❖ Salım çalışmalarında kullanılan M-II kriyojelinin spesifik yüzey alanın belirlenmesi için çok noktalı BET yöntemi kullanılmış ve elde edilen yüzey alanı ortalama  $25 \text{ m}^2/\text{g}$  olarak bulunmuştur. Gözeneklerin çapı  $20 - 245 \text{ \AA}$  aralığında değişmekte ve ortalama çap  $78.2 \text{ \AA}$  olarak elde edilmiştir. Bu da PHEMA kriyojellerdeki makrogözeneklerin varlığını onaylamaktadır.
- ❖ PHEMA kriyojel membranların yüzey ve yığın yapısı, taramalı elektron mikroskopuyla incelenmiştir. SEM fotoğraflarından, sentezlenen kriyojellerin birbiriyle bağlantılı,  $10-100 \text{ \mu m}$  çapında makro gözeneklere sahip olduğu görülmektedir. Elde edilen sonuçlar, kriyojellerin sahip olduğu hızlı şişme özelliğinin ve makrogözenekli yapısının açıklanmasında yardımcı olmaktadır.
- ❖ İlaç salımı için tasarlanan, Mitomisin C baskılanmış PHEMA kriyojel membranların kan uyumluluğu çalışmaları in-vitro olarak yapılmıştır. Kan ve Mitomisin C baskılanmış kriyojeller arasındaki etkileşimde protrombin zamanı (PT);  $16.3 \pm 1.2$ , aktive kısmi tromboplastin zamanı (APTT);  $41.8 \pm 1.4$ , fibrinojen zamanı ve trombosit pıhtılaşma zamanı (CT);  $178 \pm 5.7$  olarak ölçülmüştür. Mitomisin C baskılanmış PHEMA temelli kriyojel membranların pıhtılaşma süreleri kontrol plazma (PT:  $18.4 \pm 0.8$ , APTT:  $44.6 \pm 1.2$ , CT:  $193 \pm 5.2$ ) ile karşılaştırıldığında azalmıştır. Ancak bu azalmanın vücut tarafından tolere edilebilir oranda olması, Mitomisin C baskılanmış kriyojellerin kan uyumluluğunun iyi olduğu sonucunu vermektedir.
- ❖ İlaç salımını karakterize etmek için; sentezlenen PHEMA kriyojellerdeki çapraz bağlayıcı, baskılanan Mitomisin C ve kriyojellere yüklenen ilaç miktarları değiştirilerek salım profilindeki etkileri incelenmiştir.
- ❖ Çapraz bağlayıcı oranının etkisinin incelemek üzere toplam monomer oranının %13, baskılanan Mitomisin C miktarının  $12 \text{ \mu mol}$  olarak sabit

tutulduğu M-0, M-II, M-III ve M-IV polimerlerinde, HEMA/çapraz bağlayıcı oranı sırasıyla 4, 6, 10 ve 18 olarak değiştirilmiş ve Mitomisin C salımı 33 saat süreyle incelenmiştir. Mitomisin C salımı 400 dakikanın ardından çapraz bağlayıcı oranı en yüksek olan M-0 polimerinde 3.6 mg/g olarak gerçekleşirken, M-II polimerinde 4.2 mg/g, M-III polimerinden 4.7 mg/g ve M-IV polimerinde 4.8 mg/g Mitomisin C olarak gerçekleşmiştir. Çapraz bağlayıcı miktarının artmasıyla salım hızının ve miktarının azaldığı gözlenmiştir.

- ❖ Kalıp molekül miktarının salıma etkisini incelemek üzere toplam monomer oranı %13 ve monomer çapraz bağlayıcı oranı 6 (mol/mol) olarak sabit tutulan; M-I ve M-II polimerlerinde, baskılanan kalıp molekül miktarı sırasıyla; 6 ve 12 µmol olarak değiştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, 6 µmol Mitomisin C yüklenen M-I polimerinde yaklaşık 30 saat sonunda Mitomisin C salımı 2.8 mg/g, 12 µmol Mitomisin C yüklenen M-II polimerinde aynı sürede salım 4.9 mg/g'dır. Baskılanan kalıp molekülün artması, kriyojeller membranlarda Mitomisin C'ye özgü kavitelelerin sayısını arttırmıştır, buna bağlı olarak polimere daha fazla Mitomisin C molekülü girmiş ve salım miktarının da arttığı gözlenmiştir.
- ❖ Yüklenen ilaç miktarının Mitomisin C salımına etkisini incelemek üzere monomer çapraz bağlayıcı mol oranı 6 ve kalıp molekül miktarı 12 µmol olarak sentezlenen M-II polimeri kullanılmıştır. M-II polimerine, 0.1, 0.2 ve 0.4 mg/mL derişimde ilaç yüklemesi yapılmıştır. İlaç yükleme miktarının artması ile birlikte salım hızın da arttığı gözlenmiştir. Yaklaşık 30 saatlik salım süresi boyunca 0.4 mg/mL Mitomisin C yüklenen kriyojel membranlardan 4.9 mg/g (yüklenenin %88'i), 0.2 mg/mL Mitomisin C yüklenen membranlardan 2.1 mg/g (yüklenenin %75'i), 0.1 mg/mL Mitomisin C yüklenen membranlardan 1.3 mg/g (yüklenenin %64'ü) Mitomisin C salımı gerçekleşmiştir. Bu sonuç, polimerik sisteme yüklenen ilaç miktarının artması ile derişim gradyentinin oluşması ve böylece



Mitomisin C'nin kriyojel disklerden difüzyonu için sürücü kuvvetin artması ile açıklanabilir.

- ❖ Mitomisin C baskılanmış membranların ilaç salımı, güç yasası olarak da ifade edilen, Fickian eşitliği kullanılarak matematiksel olarak analizi edilmiştir. Elde edilen ilaç salım mekanizmasını belirleyen 'n' salım üsteli, tüm salım çalışmalarında 0.5 ile 1 arasında bulunmuştur. Bu değerler arasında kalan 'n' değeri güç yasasına göre, salımın non-fickian kanuna uyduğunu göstermektedir. Salımın bu kanuna uyması, PHEMA kriyojel membranlardan Mitomisin C salımını kontrol eden sistemin, şişme ve difüzyon kontrollü salımın bir karışımı olduğunu belirtir. Güç yasasından elde edilen ve difüzyon üsteli olarak ifade edilen 'k' değeri, kriyojel yapısındaki monomer çapraz bağlayıcı oranın ve kalıp molekül miktarlarının artmasıyla artmıştır. Bu sonuç, salım çalışmalarından elde edilen deneysel verilerle uyumaktadır. .

## 6. KAYNAKLAR

- [1] Langer, R., Folkman, J., Controlled release of bioactive agents, *Trends in Biotechnology*, 2, 47-51, **1976**.
- [2] Langer, R., Drug delivery and targeting, *Nature*, 392(6679), 5-10, **1998**.
- [3] Spivak, A.S., Optimization, evaluation and characterization of molecularly imprinted polymers, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1780,1779-1794, **2005**.
- [4] Wulff, G., Sarhan, A., Use of polymers with enzyme-analogous structures for the resolution of racemates, *Angewandte Chemie International Edition in English*, 11, 341-344, **1972**.
- [5] Oral, E., Peppas, N.A., Hydrophilic molecularly imprinted poly(hydroxyethyl-methacrylate) polymers, *Journal of Biomedical Material Research*, 78A, 205-210, **2006**.
- [6] Lozinsky, V.I., Fatima, Y. G., Plieva, M., Savina, I.N, Jungvid, H., Mattiasson, B., Polymeric cryogels as promising materials of biotechnological interest, *Trends in Biotechnology*, 21(10), 445-451, **2003**.
- [7] Ardivissov, P., Plieva, F., Lozinsky, V.I., Galaev, I.Y., Mattiasson, B., Direct chromatographic capture of enzyme from crude homogenate using immobilized metal affinity chromatography on a continuous supermacroporous adsorbent, *Journal of Chromatography A*, 986, 275–290, **2003**.
- [8] Chase, H.A., Purification of proteins by adsorption chromatography in expanded beds, *Trends Biotechnology*, 12, 296–303, **1994**.
- [9] Tennikova, T.B., Freitag, R., An introduction to monolithic disks as stationary phases for high performance biochromatography, *Journal of High Resolution Chromotography and Chromotography Communication*, 23, 27–38, **2000**.

- [10] Njyou, M., Quash, G., Purification of measles virus by affinity chromatography and by ultracentrifugation: a comparative study, *Journal of Virological Methods*, 32, 67–77, **1991**.
- [11] Kokufuta, E., Jinbo, E., Hydrogel capable of facilitating polymer diffusion through the gel porosity and its application in enzyme immobilization, *Macromolecules*, 25, 3549–3552, **1992**.
- [12] Kumakura, M., Preparation of immobilized cellulase beads and their application to hydrolysis of cellulosic materials, *Process Biochemistry*, 32, 555–559. **1997**.
- [13] Galaev, I.Y., Mattiasson, B., Smart polymers and what they could do in biotechnology and medicine, *Trends in Biotechnology*, 17, 335–340, **1999**.
- [14] Chen, J.P., Enzymes immobilized in smart hydrogels, *In Smart Polymers for Bioseparation and Bioprocessing*, 230, **2002**.
- [15] Kumakura, M., Preparation method of porous polymer materials by radiation technique and its application, *Polymers for Advanced Technologies*, 12, 415–421. **2001**.
- [16] Scardi, V., Immobilization of enzymes and microbial cells in gelatine, *Methods in Enzymology*, 135B, 293–299, **1987**.
- [17] Lozinsky, V., Plieva, F.M., Poly(vinyl alcohol) cryogels employed as matrices for cell immobilization. 3. Overview of recent research and developments, *Enzyme and Microbial Technology*, 23, 227–242., **1998**.
- [18] Plieva, F.M., Karlsson, M., Aguilar, M.R., Gomez, D., Mikhalovsky, S., Galaev, Y.U., Pore structure in supermacroporous polyacrylamide based cryogels, *Soft Matter*, 1, 303-309, **2005**.

- [19] Çırak,T., *Oftalmolojik Uygulamalarda Kullanılmak Üzere Etken Madde İçeren Polimerik Süngerimsi Yapıların Hazırlanması ve Karakterizasyonu*,YüksekLisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2008**.
- [20] Gürsoy, Z. A., *Kontrollü İlaç Salım sistemleri*, Kontrollü Salım Sistemleri Derneği, 1. Baskı, **2002**.
- [21] Waitz, J.A., Olszewski, B.J., Thompson, P.E., Dialysis Studies in Rats on the Long-Acting Antimalarial CI-501, *Science*,141, 723-724, **1963**.
- [22] Fokman, J., Long, D.M., The use of silicone rubber as a carrier for prolonged drug therapy, *Journal of Surgical Research*, 4, 139-142, **1964**.
- [23] Desai, J., Simonelli, A.P., Higuchi, W.I., Investigation of factors influencing release of solid drug dispersed in inert matrices I, *Journal Pharmacy Science*, 54(10), 1469-1474, **1965**.
- [24] Wang, X.N., Recum. H.A., Affinity-Based Drug Delivery, *Macromolecular Bioscience*, 11, 321-332, **2011**.
- [25] Siepmann, J., Peppas N. A., Mathematical modeling of controlled drug delivery, *Advanced Drug Deliv Review.*, 48(2-3):137-8, **2001**.
- [26] Ritger, P.L., Peppas, N.A., A simple equation for description of solute release I.Fickian and anomalous release from swellable devices, *Journal controlled Release*, 5, 37-42, **1987**.
- [27] Byrne, M.E., Salián,V., Molecular imprinting within hydrogels II: progress and analysis of the field, *International Journal of Pharmaceutics*, 364, 188–212, **2008**.
- [28] Mosbach, K., Kriz, D., Ramström O., Molecular imprinting-based biomimetic sensors could provide an alternative to often unstable biosensors for industry, medicine, and environmental analysis, *Analytical Chemistry*, 69 (11), 345A–349A, **1997**.

- [29] Xiantao, S., Lihua, Z., Nan,W., Lei ,Y., Heqing, T., Molecular imprinting for removing highly toxic organic pollutants, *Chemical Communications*, 48, 788-798, **2012**.
- [30] Cormack, P.A.G., Mosbach, K., Molecular imprinting: recent developments and the road ahead , *Reactive and Functional Polymers*, 115-124, **1999**.
- [31] David, R.K., Peppas, N.A., Mimicking biological delivery through feedback-controlled drug release systems based on molecular imprinting, *AIChE Journal*, 55, 1311–1324, **2009**.
- [32] Dinçer, A., *Glutatiyonun Seçimi Ayırım ve Tayinine Yönelik Moleküler Damgalı Polimerlerin Hazırlanması ve Kromotografik Karakterizasyonu*, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, **2007**.
- [33] Cormack, P.A.G., Elorza, A.Z., Molecularly imprinted polymers: Synthesis and characterization, *Journal of Chromatography B*, 804, 173-182, **2004**.
- [34] Yan, H., Row, K.H., Characteristic and Synthetic Approach of Molecularly Imprinted Polymer, *International Journal of Molecular Science*, 7(5), 155-178, **2006**.
- [35] Komiyama M., Takeuchi T., Mukawa T., Asanuma H., Molecular Imprinting: From Fundamentals to Applications, *Wiley-VCH Verlag GmbH&Co. KGaA, Weinheim*, **2003**.
- [36] Dickert, F. L., Hayden O., Molecular imprinting in chemical sensing, *Trends in Analytical Chemistry* 18 (3): 192–199, **1999**.
- [37] Yu, C., Mosbach, K., Molecular Imprinting Utilizing an Amide Functional Group for Hydrogen Bonding Leading to Highly Efficient Polymers, *The Journal of Organic Chemistry*, 4057–4064, **1997**.
- [38] Okutucu, B., *Serotonin'e Spesifik Moleküler Damgalı Polimerlerin Hazırlanması ve Karakterizasyonu*, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, **2007**.

- [39] Wulff, G., Vesper, W., Preparation of chromatographic sorbents with chiral cavities for racemic resolution, *Journal of Chromatography A*, 167, 171-186, **1977**.
- [40] Shea, K.J., Sasaki, D.Y., An analysis of small-molecule binding to functionalized synthetic polymers by C-13 CP/MAS NMR and FTIR spectroscopy, *Journal of American Chemical Society*, 113, 4109-4120, **1991**.
- [41] Molinelli A., Molecularly Imprinted Polymers: Towards a Rational Understanding of Biomimetic Materials”, PhD Thesis, *Georgia Institute of Technology, School of Chemistry and Biochemistry*, **2004**.
- [42] Archady, R., Mosbach, K., Synthesis of substrate-selective polymers by host-guest polymerization, *Macromolecular Chemistry*, 182, 687-692, **1981**.
- [43] Ersöz, A., Denizli, A., Özcan, A., Say, R., Molecularly imprinted ligand-exchange recognition assay of glucose by quartz crystal microbalance, *Biosensors and Bioelectronics*, 20, 2197-2202, **2005**.
- [44] Sellergren, B., Highly enantioselective and substrate-selective polymers obtained by molecular imprinting utilizing noncovalent interactions – NMR and chromatographic studies on the nature of recognition, *Journal of the American Chemical Society*, 110, 5853–5860, **1988**.
- [45] Katz, A., Davis, M.E., Investigations into the Mechanisms of Molecular Recognition with Imprinted Polymers, *Macromolecules*, 32, 4113-412, **1999**.
- [46] Dong, X.C., Sun, H., Lu, X.Y., Wang, H.B., Liu, S.X., Wang, N., Separation of ephedrine stereoisomers by molecularly imprinted polymers influence of synthetic conditions and mobile phase compositions on the chromatographic performance, *Analytist*, 127, 1427–1432, **2002**.
- [47] Ikegami T., Mukawa T., Nariai H., Takeuchi T., Bisphenol A recognition polymers prepared by covalent molecular imprinting, *Analytical Chemistry Acta*, 504, 131–135, **2004**.

- [48] Steinke, J., Sherrington, D.C., Dunkin, I.R., Imprinting of synthetic polymers using molecular templates, *Advances in Polymer science*, 123, 81-125, **1995**.
- [49] Vlatakis, G., Andersson, L. I., Muller, R., Mosbach, K., Drug assay using antibody mimics made by molecular imprinting, *Nature*, 361, 645-647, **1993**.
- [50] Nostrum, C.F., Molecular imprinting: A New Tool for Drug Innovation, *Drug Discovery Today*, Vol. 2, No: 1, **2005**.
- [51] Norell, M.C., Andersson, H.S., Nicholls I. A., Theophylline molecularly imprinted polymer dissociation kinetics: a novel sustained release drug dosage mechanism, *Journal of Molecular Recognition*, 11, 98, **1998**.
- [52] Alvarez-Lorenzo, C., Concheiro, A., Molecularly Imprinted for Drug Delivery, *Journal Chromatography B*, 804, 231-245, **2004**.
- [53] Wulf, G., Molecular Imprinting in Cross-linked Materials with the Aid of Molecular Templates –A Way towards Artificial Antibodies. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 34, 1812-1232, **1995**.
- [54] Suedee, R., Srichana T., Chuchome T., Kongmark U., Use of molecularly imprinted polymers from a mixture of tetracycline and its degradation products to produce affinity membranes for the removal of tetracycline from water, *Journal of Chromatography. B*, 811, 191-200, **2004**.
- [55] Suedee, R., Srichana, T., Chotivatesin, R., Martin, G. P, Stereoselective Release Behaviors of Imprinted Bead Matrices, *Drug Development Industry Pharmacy*, 28, 545-554, **2002**.
- [56] Suedee, R., Srichana, T., Martin, G.P, Evaluation of matrices containing molecularly imprinted polymers in the enantioselective-controlled delivery of  $\beta$ -blockers, *Journal of Controlled Release*, 66, 135-147, **2000**.

- [57] Turner, N. W., Jeans, C. W., Brain K.R., Allender, C. J., Hlady, V. D., Britt W., From 3D to 2D: A Review of the Molecular Imprinting of Proteins, *Biotechnology Progress*, 22, 1474-1489, **2006**.
- [58] Allender, C. J., Richardson, C., Woodhouse, B. C., Heard, M., Brain, K. R., Pharmaceutical applications for molecularly imprinted polymers, *International Journal of Pharmaceutics*, 195, 39-43, **2000**.
- [59] Hiratani, H., Alvarez-Lorenzo, C., Timolol uptake and release by imprinted soft contact lenses made of N,N-Diethylacrylamide and methacrylic acid, *Journal of Controlled Release*, 83, 223-230, **2002**.
- [60] Singh, B., Chauhan, N., Preliminary evaluation of molecular imprinting of 5-fluorouracil within hydrogels for use as drug delivery systems, *Acta Biomaterialia*, 4(5), 1244-1254, **2008**.
- [61] Braga, E. M. M., Yanez, F., Alvarez Lorenzo, C., Concheiro, A., Duarte, C. M. M., Gil, M. H., Sousa, H. C., Improved drug loading/release capacities of commercial contact lenses obtained by supercritical fluid assisted molecular imprinting methods, *The Journal of Controlled Release*, 148, e102–e104, **2010**.
- [62] Puoci, F., Lemma, F., Cirillo, G., Picci, N., Matricardi, P., Alhaique, F., Molecularly Imprinted Polymers for 5-fluorouracil Release in Biological Fluids, *Molecules*, 12, 805-814, **2007**.
- [63] Denizli, A., Küfrevioğlu, Ö. F., *Protein Kromatografisi ve Yeni Nesil Polimerik Sistemler*, Pozitif Matbacılık 1. Baskı, **2010**.
- [64] Dal, G. A., *Mitomisin C'nin Sürekli Akış Enjeksiyon Analizi ile Miktar Tayini, Validasyonu ve Flakonlarına Uygulanması*, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, **2002**.
- [65] Denizli, A., Şanlı, N., Garipcan, B., Patır, S., Alsancak, G., Methacryloylamidoglutamic Acid Incorporated Porous Poly(methyl methacrylate) Beads for Heavy-Metal Removal, *Industrial Engineering Chemical Research*, 43, 6095-6101, **2004**



- [66] Zhang, H., Ye, L., Mosbach, K., Non-covalent molecular imprinting with emphasis on its application in separation and drug development, *Journal of Molecular Recognition*,19, 248-259, **2006**.
- [67] Carmen Alvarez, C., Yanez, F., Barreiro-Iglesias, F.,Concheiro, A., Imprinted soft contact lenses as norfloxacin delivery systems, *Journal of Controlled Release*,113, 236-244, **2006**.
- [68] Hiratani, H., Fujiwara, A., Tamiya, Y., Mizutani, Y., Alvarez-Lorenzo, C. H., Ocular release of timolol from molecularly imprinted soft *contact lenses*, *Biomaterials*, 26, 1293–1298, **2005**.
- [69] Puoci, F., Lemma, F., Muzzalupo, R., Spizzirri, U.G., Trombino, S., Cassano, R., Picci, N., Spherical molecularly imprinted polymers (smips) via a novel precipitation polymerization in the controlled delivery of sulfasalazine, *Macromolecular Bioscience*, 4, 22–26, **2004**.
- [70] Hao, L., Yanchun, L., Xiao Z. S., Steven D. G ., Glenn D. P., Synthesis and Biological Evaluation of a Cross-Linked Hyaluronan-Mitomycin C Hydrogel, *Biomacromolecules*, 895-902, **2004**.
- [71] Puoci, F., Lemma, F., Cirillo, G., Picci, N., Matricardi, P., Alhaique, F., Molecularly Imprinted Polymers for 5-fluorouracil Release in Biological Fluids, *Molecules*, 12, 805-814, **2007**.
- [72] Peppas, N.A., Bures, P., Leobandung, W., Ichikawa, H., Hydrogels in pharmaceutical formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50(1), 27-46, **2000**.
- [73] Peppas, N.A., Analysis of Fickian and Non-Fickian drug release from polymers. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, 60(4), 110-1, **1985**.

# ÖZGEÇMİŞ

## Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı : Pınar ÖNCEL  
Doğum Yeri : Ankara  
Medeni Hali : Bekar  
E-posta : [pinar\\_ancel2000@yahoo.com](mailto:pinar_ancel2000@yahoo.com)  
Adresi : İstanbul

## Eğitim

Lise : 1997-2002 Kalaba Anadolu Lisesi, Ankara  
Lisans : 2002-2008 Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Ankara  
Yüksek Lisans: 2009-2013 Hacettepe Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü, Ankara

## Yabancı Dil ve Düzeyi

İngilizce : İleri düzeyde

## İş Deneyimi

Klinik Araştırmalar Koordinatörü: CRO CRO Limited Şirketi, Ankara, 2009-2011  
Klinik Araştırmalar Koordinatörü: Mene Research Limited Şirketi, Ankara, 2011-2013  
Klinik Araştırma Asistanı: GlaxoSmithKline: İstanbul, 2013-devam

## Deneyim Alanları

### Tezden Üretilmiş Projeleri ve Bütçesi

### Tezden Üretilmiş Yayınlar

### Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar