

**KONTROLLÜ FLORİD SALIMI İÇİN MOLEKÜLER
BASKILANMIŞ SÜPERMAKROGÖZENEKLİ
KRİYOJELLERİN HAZIRLANMASI**

**PREPARATION OF MOLECULARLY IMPRINTED
SUPERMACROPOROUS CRYOGELS FOR
CONTROLLED FLUORIDE RELEASE**

AYNUR DEĞER

PROF. DR. NİLAY BERELİ

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Biyomühendislik Anabilim Dalı için Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

ÖZET

KONTROLLÜ FLORİD SALIMI İÇİN MOLEKÜLER BASKILANMIŞ SÜPERMAKROGÖZENEKLİ KRİYOJELLERİN HAZIRLANMASI

Aynur DEĞER

Yüksek Lisans, Biyomühendislik Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nilay BERELİ

Ekim 2023, 67 Sayfa

Bu tez çalışması kapsamında florid baskılanmış kriyojel disklerden florid salınımı gerçekleştirilerek in vitro ortamda farklı parametreler incelenmiştir. Kriyojeller, monomerlerin/polimerlerin donma sıcaklığının altındaki bir çözücü içinde kriyojelasyonundan oluşan makro gözenekli polimerik yapılardır. Kriyojelasyon, biyomedikal amaçlar için polisakkarit malzemelerin üretimi için yeni geliştirilmiş yöntemlerden biridir. Doğal olarak birbirine bağlı makro gözeneklilik, hazırlama kolaylığı ve biyoyumlulukları nedeniyle, 3D biyobaskı, ilaç dağıtımı, yara iyileşmesi ve enjekte edilebilir terapötikler gibi biyomedikal uygulamalarda kullanım için giderek daha fazla araştırılmaktadır. Kriyojeller tipik olarak birbirine bağlı makro gözeneklere (veya süper makro gözeneklere) sahiptir, bu da hemen hemen her boyuttaki çözünen maddelerin engelsiz difüzyonunun yanı sıra nano ve hatta mikro partiküllerin kütle taşınmasına izin

verir. Bütün hücrelerin ve farklı biyolojik makromoleküllerin saflaştırılması, ayrılması ve immobilizasyonu için destek matrisleri olarak birbirine bağlı süper makro gözenekli kriyojellerin uygulanması literatürde iyi rapor edilmiştir.

Moleküler baskılanmış polimerlerin stereospesifik tanımaya sahip olmaları gibi üstün özellikleri, onların son zamanlarda ilaç salınımı gibi biyomedikal uygulamalarda da kullanılmasını gündeme getirmiştir. Belli başlı problemler ilaç salınımı sistemlerinin pratik uygulanmalarını kısıtlamıştır. Örnek olarak, depo edildiği yerde ve hedef bölgede terapötik seviyeyi koruyabilmeleri gerekir. Bu durum ilaç salınım sistemlerinin, spesifik moleküllerin varlığı ya da denge derişimlerine ulaşıldığında salınımın gerçekleştirilmesini sağlayacak moleküler tanımlama özelliklerine sahip olmalarını gerekli kılar. Bu yüzden, moleküler baskılanmış polimerlerin moleküler tanımlama özellikleri, onlara ilaç salınımı sistemlerinde önemli avantajlar kazandırmıştır.

Geçmişten bugüne bütün dünyada diş çürük prevalansı yüksek oranlarda etkileyen bir sorun olmaya devam etmektedir. Çürük oluşmasında beslenme ve oral hijyen alışkanlıklarının yanı sıra; tükürük akış hızı, dişlerin anatomisi, kalıtım, ağız florası ve floridin alımı gibi çeşitli etkenler rol alır. Florürün, çürüğün başlamasını önlemek ve yeni başlamış opak mine lezyonlarının remineralizasyonunu sağlamak amacıyla uygulanan koruyucu tedavilerde, en yaygın kullanılan ve özellikleri iyi bilinen bir eser elementtir. Florür, diş çürüğü insidansını azaltabilen etkili bir antikaryojenik ajandır. Florür remineralizasyonu artırırken pelikül oluşumunu, mikrobiyal büyümeyi ve metabolizmayı azaltarak antikaryojenik bir etki gösterir.

Anahtar Kelimeler: Kriyojel diskler, kontrollü salınım, sodium florür, florid salınımı

ABSTRACT

PREPARATION OF MOLECULARLY IMPRINTED SUPERMACROPOROUS CRYOGELS FOR CONTROLLED FLUORIDE RELEASE

Aynur DEĞER

Master Of Science, Department of Bioengineering

Supervisor: Prof. Dr. Nilay BERELİ

October 2023 , 67 Pages

In this thesis, fluoride release from fluoride imprinted cryogel discs was carried out and different parameters were investigated in vitro. Cryogels are macroporous polymeric structures formed by cryojelation of monomers/polymers in a solvent below freezing temperature. Cryogelation is one of the newly developed methods for the production of polysaccharide materials for biomedical purposes. Due to their naturally interconnected macroporosity, ease of preparation and biocompatibility, they are increasingly being investigated for use in biomedical applications such as 3D bioprinting, drug delivery, wound healing and injectable therapeutics. Cryogels typically have interconnected macropores (or super-macropores), which allows unhindered diffusion of solutes of almost any size as well as mass transport of nano- and even microparticles. The application of interconnected super macroporous cryogels as support matrices for the

purification, separation and immobilisation of whole cells and different biological macromolecules is well reported in the literature.

The superior properties of molecularly imprinted polymers, such as their stereospecific recognition, have recently led to their use in biomedical applications such as drug release. Certain problems have limited the practical application of drug delivery systems. For example, they must be able to maintain the therapeutic level at the site of deposition and at the target site. This makes it necessary for drug delivery systems to have molecular recognition properties that enable release to be realised in the presence of specific molecules or when equilibrium concentrations are reached. Therefore, the molecular recognition properties of molecularly imprinted polymers have given them important advantages in drug delivery systems.

Dental caries prevalence continues to be a problem affecting high rates all over the world from past to present. In addition to nutrition and oral hygiene habits, various factors such as saliva flow rate, tooth anatomy, heredity, oral flora and fluoridation intake play a role in caries formation. Fluoride is the most widely used trace element in preventive treatments applied to prevent the onset of caries and to provide remineralisation of newly started opaque enamel lesions, and its properties are well known. Fluoride is an effective anticariogenic agent that can reduce the incidence of dental caries. Fluoride shows an anticariogenic effect by reducing pellicle formation, microbial growth and metabolism while promoting remineralisation.

Keywords: Cryogel discs, controlled release, sodium fluoride, fluoride release

TEŞEKKÜR

Hayatım boyunca izinde yürüyebileceğim engin bilgileriyle, sevgisiyle, şefkatiyle ve bilimsel çalışmalarıyla hayatıma yön veren, deneyimlerinde her zaman yararlandığımı bildiğim, her yerde kendisini tanımaktan gurur duyduğumu dile getirdiğim, her zaman örnek alacağım değerli hocam **Prof. Dr. Adil Denizli**'ye,

Bilimsel katkılarıyla, çabasıyla, güler yüzüyle, hayatıma giren her yönüyle kendime örnek aldığım, tez çalışmamı gerçekleştirme fırsatı sunarak hayatıma yön veren, her zaman benimle olduğuna inandığım benim için çok değerli hocam **Prof. Dr. Nilay Bereli**'ye,

Akademik hayatım boyunca iyi ki tanıdım dediğimiz canımız, her zaman yanımda olduğunu bildiğim, hayatımdaki her anda paylaşımlarını eksik etmeyen, en zor günlerinde bile kol kanat geren, kalbi her canlı için sevgi dolu olan benim için çok kıymetli **Doç. Dr. Duygu Çimen**'e,

Çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerini çekinmeden paylaşan **Arş. Gör. Merve Çalışır**' a ve **Muhammed Erkek**' e,

Çalışmaktan gurur duyduğum her günümü onlarla geçirdiğim için mutlu olduğum, benim için her türlü desteği verdiklerini bildiğim Beştepe Devlet Hastanesi fizik tedavi ünitesindeki **iş arkadaşlarıma** ve **hastane yöneticilerime**,

Her zaman yanımda olan öncelikle canım kardeşim **Fatoş**' a, ve hayatım boyunca desteklerini benden esirgemeyen en büyük destekçilerim **canım aileme**,

Biyokimya Araştırma Grubundaki tüm hocalarıma ve arkadaşlarıma,

Sonsuz teşekkürler...

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Florür Nedir.....	4
2.1.1. Florürün Tıbbi Kullanım Alanları.....	4
2.1.1.1. Florürün Osteoporozaya Etkisi.....	5
2.1.1.2. Dental Tedavide Kullanım Alanı.....	7
2.1.2. Florürün Dışarıdan Tedarik Edilme Kaynakları.....	8
2.1.3. Florür Salınmasında Literatür Çalışmaları.....	8
2.1.4. Yavaş Florür Salımına Yaklaşımlar.....	10
2.2. Kriyojel.....	10
2.2.1. Kriyojel Genel Özellikleri.....	10
2.2.1.1. Yüksek Şişme Oranı.....	11
2.2.1.2. Esneklik.....	11
2.2.1.3. Hızlı Yanıt Verme Yeteneği.....	11
2.2.2. Kriyojel Hazırlama Yöntemi Olarak Kriyopolimerizasyon.....	12
2.3. Kontrollü İlaç Salım Sistemleri.....	14
2.3.1. İlaç Salım Mekanizmalarına Göre Kontrollü İlaç Salım Sistemleri.....	15
2.3.1.1. Difüzyon Kontrollü İlaç Salım Sistemleri.....	15
2.3.1.2. Kimyasal Kontrollü İlaç Salım Sistemleri.....	16

2.3.1.3. Şişme Kontrollü İlaç Salım Sistemleri	16
2.3.1.4. Ayarlanabilir İlaç Salım Sistemleri.....	17
2.4. Moleküler Baskılanmış Polimerler (MIP)	17
2.4.1. Hedef (Kalıp) Molekül.....	21
2.4.2. Fonksiyonel Monomerler	22
2.4.3. Çapraz Bağlayıcılar	22
2.4.4. Çözücüler.....	23
2.4.5. Başlatıcılar	24
2.4.6. Moleküler Baskılama : Yaklaşımlar ve Uygulamalar	24
2.4.6.1. Kovalent Baskılama.....	24
2.4.6.2. Kovalent Olmayan Baskılama	25
2.4.6.3 Yarı-Kovalent Baskılama	26
2.4.6.4. Metal Şelat Etkileşimlerden Baskılama.....	26
2.5. Salım Kinetiğinin Matematiksel Analizi	27
2.5.1. Sıfır Derece Modeli.....	28
2.5.2 Birinci Derece Modeli	29
2.5.3. Higuchi Modeli	29
2.5.4. Korsmayer-Peppas Modeli.....	30
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	31
3.1. Kimyasal Malzemeler	31
3.2. N-metakriloil-(L)- glutamik asit (MAGA) Monomeri Sentezlenmesi	32
3.3. MAGA:Ca ⁺² Önkompleksi Hazırlama	32
3.4. MAGA:Ca ⁺² – Sodyum Florür İle Kompleks Oluşturma	32
3.5. Sodyum Florür Baskılanmış (MIP) ve Baskılanmamış (NIP) poli(HEMA- MAGA) Kriyojellerin Hazırlanması	32
3.5.1. Kalıp Molekülün (Florür) Uzaklaştırılması.....	34
3.5.2. Sodyum Florür Baskılanmış Kriyojellerin Karakterizasyonu	34
3.5.2.1. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)	34
3.5.2.2. Taramalı Elektron Mikroskop Görüntüleme (SEM).....	35
3.5.2.3. Şişme Testi	35
3.6. Florür İyon Analizi.....	36
3.6.1. TISAB II Çözeltisi Hazırlama Yöntemi	37

3.7. In-vitro Florür Salım Çalışması	37
3.7.1. Florür Yükleme Oranının Salıma Etkisi	38
3.7.2. pH Değişiminin Florür Salıma Etkisi	38
3.7.3. Ortam Sıcaklığının Florür Salıma Etkisi	39
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	40
4.1. Florür Baskılanmış P(HEMA-MAGA) Kriyojellerin Sentezi ve Karakterizasyonu	40
4.1.1 Florür Baskılanmış P(HEMA-MAGA) Kriyojellerin Karakterizasyonu	40
4.1.1.1 FTIR ile Yapı Analizi.....	40
4.1.1.2. SEM Görüntüleme.....	41
4.1.1.3. Şişme Testi.....	42
4.2. İn-vitro Salım Çalışmaları ve Sonuçları	43
4.2.2. pH Değişiminin Salıma Etkisi.....	44
4.2.3. Florür Yükleme Oranının Salıma Etkisi	44
4.2.4. Ortam Sıcaklığının Florür Salıma Etkisi	45
4.3. Florür Salım Kinetiklerinin İncelenmesi	47
5. YORUM.....	54
KAYNAKLAR.....	56
ÖZGEÇMİŞ	66

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1.	Kriyojel üretim sürecini özetleyen bir şematik gösterimdir; bu süreç, başlangıç malzemesinin donması, polimerleşmesi ve çözülmesi aşamaları.....	12
Şekil 2. 2.	Kompozit taşıyıcı olarak kriyojel hazırlamanın şematik göstemi.....	14
Şekil 2. 3.	Moleküler baskılama polimerlerinin kullanım alanları.....	18
Şekil 2. 4.	Moleküler baskılama metodolojisinin şematize edilerek gösterilmesi [A: önpolimerizasyon, B: Polimerizasyon C: Kalıp molekülün uzaklaştırılması].....	21
Şekil 2. 5.	Kovalent Baskılama Uygulaması.....	25
Şekil 2. 6.	Kovalent olmayan baskılama yöntemi.....	26
Şekil 3. 1.	Florür baskılanmış kriyojel sentezinin kimyasal birleşimi gösterimi.....	33
Şekil 3. 2.	Florür baskılanmış kriyojel sentezinin dondurulma aşaması gösteri.....	34
Şekil 3. 3.	Dijital-analog iyon dönüştürücü.....	36
Şekil 3. 4.	İyon analizinde kullanılmış olan (A) florür iyon seçici elektrot (B) gümüş/gümüş klorür referans elektrot (C) iyon ölçümünde çözeltiliye daldırılan her iki elektrot.....	37
Şekil 4. 1.	A: Florür baskılanmış (poli(HEMA-MAGA) ve B: poli(HEMA) kriyojel disklerin FTIR spektrumları.....	40
Şekil 4. 2.	Florür baskılanmış poli(HEMA-MAGA) kriyojel disklerin SEM görüntüleri.....	41
Şekil 4. 3.	Poli(HEMA) ve florür baskılanmış poli(HEMA-MAGA) kriyojellerin şişme oranları.....	42
Şekil 4. 4.	Florürün mV cinsinden kalibrasyon grafiği.....	43
Şekil 4. 5.	Farklı pH'ların florür salma etkisi.....	44

Şekil 4. 6.	Farklı derişimlerde yüklenen florür miktarının florür salıma etkisi.....	45
Şekil 4. 7.	Farklı ortam sıcaklıklarının florür salıma etkisi.....	46
Şekil 4. 8.	Florür salım kinetik grafikleri (Derişim: 0.3 mg/mL).....	47
Şekil 4. 9.	Florür salım kinetik grafikleri (Derişim: 0.6 mg/mL).....	48
Şekil 4. 10.	Florür salım kinetik grafikleri (Derişim 1 mg/mL).....	49
Şekil 4. 11.	Florür salım kinetik grafikleri (Derişim: 2 mg/mL).....	50
Şekil 4. 12.	Florür salım kinetik grafikleri (Derişim 4 mg/mL).....	51

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4. 1.	Florür salım kinetikleri analiz sonuçları.....	52
Çizelge 4. 2.	Kriyojel diskler için Korsmayer-Peppas denkleminde bulunan n değerine göre salım mekanizmaları.....	52

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

F	Florür İyonu
NaF	Sodyum Florür

Kısaltmalar

HEMA	2-Hidroksietil Metakrilat
PHEMA	Polihidroksietil Metakrilat
MAGA	N-metakriloil-(L)-glutamik asit
MIT	Moleküler Baskılama Teknolojisi
MIP	Moleküler Baskılanmış Polimer
IIP	İyon Baskılanmış Polimer
NIP	Molekül Baskılanmamış Polimer
APS	Amonyum persülfat
TEMED	H ₂ O ₂ /N,N,N',N'-tetra-metiletilendiamin
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
TISAB	Toplam İyonik Kuvvet Ayarlama Tamponu
MBAAm	N,N'-Metilen Bisakrilamit

1. GİRİŞ

İlaç geliştirmeye yönelik araştırmalar sadece yeni moleküllerin keşfiyle sınırlı olmayıp aynı zamanda ilaçların uygulama yöntemleri üzerinde de önemli bir odaklanışa sahiptir. Son yıllarda, hastaların tedavi süreçlerini daha etkili ve rahat bir şekilde yönetmelerini sağlamak amacıyla ilaç dozlarını minimize etmek, dozlama periyotlarını uzatmak ve yan etkileri minimize etmek için çeşitli çalışmalar yürütölmektedir. Bu çalışmaların öncelikli odak noktası, kontrollü ilaç salım sistemleridir. Kontrollü ilaç salım sistemleri, ilaçları belirlenen dozlama aralıklarında hedef dokuya teslim etme yeteneği ile etkili bir tedavi yaklaşımını sunmaktadır [1].

Ağız içinde uzun süreli ve kontrollü florür salımı yapan sistemlerin etkileri göz önünde bulundurarak florürü ve florür bileşiklerinin oluşturduğu koruyucu etkilerine değinmek yerinde olacaktır. Florürün bakteri plağının önlenmesi ve tedavisinde önemli bir rol oynadığı bulunmuştur [2, 3]. Florürlerin kemik büyümesini teşvik ettiği de belirtilmiştir. Floroz genellikle florürlü bölgelerde yaşıyan ve çeşitli kaynaklardan ek florür alan çocuklarda rapor edilmiştir. Geleneksel topikal florür uygulamaları, çürükleri %30-40'a kadar önlemeye yardımcı olmuştur. Ancak daha fazla koruma sağlamak için mine florür alımını artırmaya yönelik çalışmalar devam etmektedir. Florür karyostatik özellikleri üzerine son çalışmalar, dişlerin etrafındaki sıvılarda florid önemine odaklanmaktadır [4].

Moleküler baskılama tekniği, özel olarak tasarlanmış polimerik sistemlerin üretilmesine yönelik bir yaklaşımı ifade eder. Bu sistemler, doğal veya sentetik kaynaklı bir temel molekül üzerinden inşa edilir ve belirli bir hedef molekülü tanıma yeteneği kazanır. Bu işlem, kalıp molekül ile polimeri oluşturan fonksiyonel monomerler arasında farklı kimyasal etkileşimlerin oluşmasını içerir. Bu etkileşimler, kovalent olmayan bağlar, kovalent bağlar veya kovalent ve kovalent olmayan bağaların bir kombinasyonunu içerebilir [5]. Moleküler baskılama ile elde edilen polimerler, özellikle kontrollü ilaç salım sistemleri gibi uygulamalarda büyük avantajlar sunar. Bu avantajlar, bu polimerlerin dayanıklılığını ve kimyasal stabilitesini korumalarından kaynaklanır. Ayrıca, geri besleme kontrol mekanizmaları aracılığıyla hedef molekülleri daha etkili bir şekilde yakalayabilirler. Özellikle, bu polimerler, kalıp molekülle benzer üç boyutlu yapıları içerdiklerinden, belirli bir hedef molekülü seçici bir şekilde tanıma ve bağlama yeteneğine sahiptirler. Bu özellikleri sayesinde, enantiyoselektif olarak belirli molekülleri

ayırt edebilirler. Moleküler baskılama teknolojisi, özgün tanıma yeteneklerine sahip akıllı polimerlerin geliştirilmesine olanak sağlayan bir yaklaşımdır ve bu özellikleri nedeniyle kontrollü ilaç salım sistemleri gibi birçok uygulama alanında büyük bir öneme sahiptir.

Tipik bir moleküler baskılama sistemi bir çözücü, hedef analit (veya şablon veya kalıp molekülü), başlatıcı, çapraz bağlayıcı monomer ve polimerize olabilen fonksiyonel monomer içerir. Bunlar, bir moleküler şablon varlığında fonksiyonel ve çapraz bağlayıcı monomerlerin kopolimerleştirilmesi ile sentezlenir, kalıp molekülün ortamdaki uzaklaştırılması ile doğal antikorlarla benzerlik gösteren afiniteler ve özgünlüklere sahip hem geometrik hem de kimyasal olarak tanıyıcı bağlanma sitelerinin oluşmasıyla sonuçlanır.

Hidrojeller, polimer ağlarından oluşan ve suyu büyük miktarlarda emebilen materyallerdir, bu emme işlemi hem fiziksel hem de kimyasal bağlar aracılığıyla gerçekleşir. Hidrojeller, hazırlama yöntemi, mekanik özellikleri ve yapısal karakteristikleri gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak farklı sınıflandırmalara tabi tutulabilirler. Biyoteknolojide büyük bir öneme sahip olan hidrojellerden biri kriyojellerdir [6]. Kriyojeller, özellikle düşük sıcaklıklarda kullanılabilen özel hidrojel türleridir. Bu jeller, biyolojik örneklerin depolanması ve taşınması gibi uygulamalarda sıkça kullanılırlar. Kriyojeller, düşük sıcaklıklarda bile mekanik dayanıklılıklarını koruyarak biyolojik materyallerin uzun süreli saklanması ve taşınmasına olanak sağlarlar. Bu nedenle, biyoteknoloji alanında büyük bir öneme sahiptirler ve biyolojik örneklerin güvenli bir şekilde muhafaza edilmesine katkıda bulunurlar [7].

Yunanca kökenli "kryos" kelimesi, donma veya buz oluşumu kavramlarını temsil eder. Kriyojelleşme (veya sıfırın altındaki sıcaklıklarda jelleşme), makro gözenekli kriyojellerin oluşumunu sağlayan bir süreçtir ve bu süreç sayesinde gözeneklilik derecesi kontrol edilebilir. Kriyojellerin süngerimsi dokusu ve makrogözenekleri, farklı kütle transferi işlemlerini hem difüzyon (moleküllerin rastgele hareketi) hem de taşınım (aktif taşıma) yoluyla etkili bir biçimde kolaylaştırarak gerçekleştirmelerine olanak tanır. Bu özellikler, benzerlik oranını azaltarak farklı transfer mekanizmalarının etkili bir şekilde bir araya gelmesine olanak tanır.

Kriyojellerin oluşumu, çözücünün donma noktasının altında meydana gelir. Bu süreçte, çözücü içinde bulunan çoğunluklu bir kısmı donar ve birbiri ile bağlantılı buz kristalleri oluştururken, donmayan sıvı içinde bulunan polimer öncülleri polimerleşir ve bu şekilde

buz kristallerinin çerveyen bir ağ yapısı meydana getirirler. Donmuş çözücü kristalleri, gözenek oluşturucu bir etken olarak faaliyet gösterirler. Polimerleşme tamamlanmanın ardından, soğutulan karışımın oda sıcaklığına getirilmesi, buz kristallerin erimesine yol açar ve bu süreç sonucunda makrogözeneklere sahip bir polimer ağı elde edilir [8].

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Florür Nedir

Florür iyonu (F^-), fizyolojik olarak halojen elementler grubundan biri olan ve doğada en çok bulunan elementlerden biri olan flor elementinin en iyonik halidir. Florür, mineralize dokulara olan afinitesi açısından halojen grubunda benzersizdir ve mineralize dokuların arayıcısı olarak adlandırılmıştır. Florür alımı, sağlık üzerinde çeşitli etkilere sahip bir konudur ve iyi dengelemesi gereken bir faktördür. Bu nedenle F^- alımı, hem olumlu hem de olumsuz sağlık etkilerine sahip karmaşık bir değişken olarak kabul edilir. Çünkü uygun miktarlarda alındığında bazı faydaları olabilir, ancak aşırı alımı zararlı olabilir [9].

Çözünmüş florür, gastrointestinal sistemde neredeyse tamamen emilir ve bu emilim süreci oldukça hızlıdır [10].

F^- konsantrasyonu, 0,5 ila 1 mg/L arasında olan suların tüketilmesi, diş çürüğü önleme ve dişlerin yeniden mineralizasyonunu artırma potansiyeline sahiptir. Bunun yanı sıra, F^- vücudun faydalı bir mineral dengesini korumasına yardımcı olabilir. Özellikle dişler ve kemiklerin sağlığı için terapötik etkilere sahip olabilir [11]. F^- ayrıca, doğurganlık korunmasında, belirli enzimlerin aktivasyonunda ve kan hücrelerinin üretiminde önemli bir rol oynayabilir. Örneğin, bazı enzimlerin düzgün çalışmasını destekleyebilir ve hematopoezis sürecini etkileyebilir [12].

Bir litre içme suyunda yaklaşık 1 mg florür konsantrasyonu olan toplumlarda, idrarda bildirilen florür konsantrasyonları yaklaşık 0,5 mg/L seviyesindedir. Vücuttaki florürün çoğu kanın plazmasında bulunurken, sadece yaklaşık %25'i eritrositlerde bulunur. Florür, vücuttaki tüm organlara hızla dağılır ve hızlı bir şekilde dolaşıma katılır. Bu durum, kan konsantrasyonlarının günlük alım değişimlerine bağlı olduğu gözlemini destekler. Florürün ilk dağılım aşamasında, en yüksek kan akışına sahip organlar, özellikle kalp, karaciğer ve böbrekler gibi organlar tarafından hızla alınır. Ancak aynı zamanda bu organlardan hızla atılır [13].

2.1.1. Florürün Tıbbi Kullanım Alanları

Florür çevremizde çoğu yerde ve vücudumuzun kemik yapısında, dişin yapısında ve kireçlenmiş dokularda bulunur. Bundan dolayı son zamanlarda tartışma ve araştırmaların konusu olmuştur. Florür, aynı zamanda diş çürümesi, mikrobiyal enfeksiyon,

iltihaplanma, kanser, böbrek taşı oluşumunun önlenmesi ve tedavisi gibi yararlı etkileri açısından da incelenmiştir.

Florür, onu ilaç geliştirmede çok önemli kılan benzersiz fiziksel ve kimyasal özelliklere sahiptir. Elektronegatif karaktere sahip olan florür, farklı ilaçlarda güç ve stabilitede katkıda bulunur. Bir ilacın çeşitli biyolojik zarlar boyunca biyoyararlanımı ve geçirgenliği artırarak lipofilikliğini önemli derecede artırır [14]. Böylece ilacın hücresele reseptörler, proteinler ve enzimler gibi ilgili hedeflerle bağlanmasını kolaylaştırır.

Flor içeren ilaçlar; diş hastalıkları, nöropsikiyatrik bozukluklar, kanser, enfeksiyon ve kalp hastalıklarının tedavisi için kullanılabilir. Ayrıca protein-ligand etkileşimini artırır ve ilacın metabolik stabilitesini geliştirir. Yapılan çalışmalarda florlu bileşiklerin uygulanmasının, bakteriyel (*E. coli*) mantar (*Candida albicans*) zarına etkili bir şekilde nüfuz ederek antimikrobiyal aktiviteler sergilediğini çıkarılmıştır [15]. Belirgin antimikrobiyal özelliğinin yanında tüberküloza karşı etkili olduğu görülmüştür [16]. 3-hidroksi-3-etil-3-fenilpropionamidin antikonvülsan aktivitesi üzerine yakın zamanda yapılan bir araştırma, aromatik halkanın para konumunda florür olmasının biyolojik aktiviteyi önemli ölçüde artırdığını göstermiştir [17]. İlaç alanındaki etkilerine bakıldığında antikonvülsan grubunda farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklerini iyileştirdiği görülmüştür. Kolesterol düşürücü olarak kullanılan ezetimibin içindeki florürün varlığı, biyolojik aktivitesi için önemli etkidir [18]. Ayrıca hedefe yönelik gelişmiş özgüllük ve seçicilik nedeniyle hem daha iyi anti-tümör aktivite hem de yüksek kemosensitif aktivite gösterdiği bulunmuştur [19].

2.1.1.1. Florürün Osteoporoza Etkisi

Vücuttaki toplam florürünün yaklaşık %99'u kemiklerde tutulur. Florür, osteoblast adı verilen hücreler üzerinde mitojenik etkiler gösterir, bu hücrelerin büyümesini ve bölünmesini teşvik eder. Ayrıca DNA replikasyonunu uyararak kemik oluşum hızını artırır [20]. Florür, kemik dokusu içinde biriktiğinde, hidroksiapatit kristal yapısındaki hidroksil grupları ile yer değiştirir ve böylece kemik kristallerinin bileşimini değiştirir. Bu birikim sürecinin geriye dönüşebilir olduğu gözlemlenmektedir. Orta düzeyde maruziyet durumlarında, içme suyundaki florür konsantrasyonu ile kemiklerde biriken florür arasında doğrusal bir ilişki gözlenir. Bu tür maruziyetler sonucunda, daha önce aşırı florür maruziyeti yaşamamış bireylerde, emilen florürün yaklaşık %50'si kemik dokusuna

birikir. Geriye kalan kısmı böbrekler yoluyla idrarla atılır, çünkü böbrekler florür anyonunu vücuttan uzaklaştırmanın ana yoludur.

Kemiklerden florür atılım oranının, depoların büyüklüğü ve günlük tuz alımının devam etmesi gibi çeşitli faktörlere bağlı olduğu unutulmamalıdır. İnsan kemiğindeki florürün biyolojik yarılanma ömrü kabaca 80 hafta civarında hesaplanmıştır, ancak çeşitli derecelerdeki hastalarda tahminler böbrek yetmezliği daha da uzun süreli kemik retansiyonu ile sonuçlanır [21].

Son on yılda yapılan çalışmalar, özellikle yavaş florür salınımı sağlayan ilaçların kullanımıyla, sert ve yoğun kemik yapısı olan kompakt kemiklerin dayanıklılığını olumsuz etkilemeden, iç yapısı daha süngerimsi olan trabeküler kemiklerin yoğunluğunu artırabileceğini göstermiştir [22, 23]. Bu bağlamda, florür tedavisiyle ilgili temel sorunların, dar bir terapötik etkiye ve bu etkinin güvenilir bir şekilde tanımlanmasına yönelik zorluklar olduğu vurgulanmalıdır. Ancak, hedef organ olan kemiklere ulaşan toplam florür dozunun, düşük kırık riskini elde etmek için son derece önemli olduğu muhtemeldir. Florozis riskini önlemek amacıyla aşılması gereken kritik bir florür eşliğinin, kemik külünün yaklaşık % 0,6 olduğu tahmin edilmektedir [24, 25].

Kemik oluşumunu teşvik etmek amacıyla düşük dozlarda florür kullanımı, sadece florür kullanımına kıyasla daha büyük kemik kütlesi artışları elde etmek için antirezorptif ajanlarla birleştirilebilir [26]. Tek başına florürün 2 yıllık bir süre boyunca vertebral kemik mineral yoğunluğunda yılda %2,4' lük bir artış sağladığını göstermiştir. Östrojen ile tedavi yılda %4' lük bir artış sağlamıştır [27]. Bifosfonatlarla birlikte florür tedavisi uygulanmasının histolojik olarak daha üstün kemiklerin oluşumunu desteklediği gösterilmiş ve bu tedavi yaklaşımının vertebral kemik yoğunluğunda %20' lik bir artışa ve vertebral kırıklarda %80' lik bir azalmaya neden olduğu bulunmuştur. Ayrıca, bifosfonatların, florürün potansiyel olumsuz etkilerini kemik kalitesi üzerinde etkisiz hale getirdiği sonucuna varılmıştır [28].

Uzun süreli yüksek florür alımı, patolojik olarak artmış veya anormal mineralizasyon ile karakterize edilen iskelet florozisi ile sonuçlanacaktır. Anormal kemik yoğunluğu radyografilerde kolayca tespit edilebilir ve tipik olarak tendonların kalsifikasyonu ve eklemlerin etrafındaki osteofitlerle ilişkilidir [10, 21].

2.1.1.2. Dental Tedavide Kullanım Alanı

İnsan ağız içi boşluğunda geniş ve önemli bir alan kaplayan dişlerin, en yaygın sıkıntılı durumu olarak diş çürüğü veya çürükleri olarak nitelendirilebilir. Diş çürüğünün ilerlemesi, hastanın ağız hijyeni, diyeti, sosyoekonomik durumu, ağız mikrobiyal florası ve mikropların ağız peptitleriyle etkileşimi gibi çok sayıda faktörü içeren karmaşık bir süreçtir [29]. İnsan diş çürüklerinin önemli etiyolojik ajanı olan *Streptococcus Mutans* (*S. mutans*) diş plaklarının yüzeyinde oluşan başlıca mikroorganizma olarak kabul edilir ve florür iyonlarına duyarlıdır [30]. Ağız içinde salınan florür iyonları, bakterilerin büyüme ve üremelerini yavaşlatarak etki etmenin yanında bakterileri öldürme gibi terapötik ajanlar olarak işlev görebilir. Bununla birlikte, *Streptococcus Mutans* yok etmek için gereken terapötik dozu tahmin etmek, diş çürüğünün karmaşık çok faktörlü doğası ve dinamik ağız ortamı nedeniyle zor olabilir. Son zamanlarda kullanılan florürün artmasıyla (1400+ ppm florür) daha düşük miktarlarda florür kullanıma göre (*S. mutans*)'a karşı daha etkili olduğu ileri sürülmüştür [29].

Yapılmış olan birçok çalışmaya göre; diş çürüklerine karşı önlem amaçlı sodyum florür (NaF) oral bir dezenfeksiyon sağlamada vurgulamıştır [31]. Sodyum florür özellikle çocuklarda remineralizasyon yoluyla mine ve yumuşak dentin çürüklerini durdurmada etkili olduğu aynı zamanda aşırı duyarlılığı da tedavi ettiği ileri sürülmüştür [32].

Florür takviyeleri ile ilgili yapılan çalışmada ilginç bir şekilde, florür takviyeleri diş çürüklerini önler ve dişin çürük atağına karşı direncini arttığı tespit edilmiştir [33]. Sodyum florürün bambu tuzu ile yapılan kombinasyonun diş eti iltihaplanmalarında enflamasyona neden olan IL β , IL-8 ve tümör nekroz faktörünü azaltır. Böylece insan diş eti fibroblastlarına karşı anti-inflamatuar özelliğe sahip olduğu öne sürülmüştür [34]. Florür iyonu, antikariyojenik ve antimikrobiyal özellikleri nedeniyle diş çürüğünün tedavisinde kullanımını ile ilgili araştırmacılar tarafından toplulukların diş sağlığını sürdürmesini sağlamada kilit unsur olduğu birçok araştırmacı ve diş hekimliği uzmanı tarafından kabul edilmektedir [35]. Florür iyonlarının salınım yoluyla bakteriyel sitoplazmasının asitleştirilmesi ve proton salınım enolaz, trifosfataz ve adenosin gibi önemli bakteriyel enzimleri inhibe ederek antibakteriyel metabolizması florürün antibakteriyel etkisi ile ilişkilidir [36].

Florür iyonlarının önemli bir etkisi kemikler ve osteoblastlar üzerinedir. Biyolojik sistemdeki daha etkili bir rolü, osteoblast hücre proliferasyonunu ve kemik desteği sağlar [37].

-Bakteriyel metabolizma ve büyüme engellemesini sağlayarak demineralizasyonda azalma,

-Remineralizasyonun desteklenmesi ve hidroksiapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) kıyasla bakteriler tarafından asit üretimini takiben demineralizasyona ve asit çözünmesine karşı daha dirençli olan florapatit mineral faz ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$) 'ın oluşumu

-IgA proteaz sentezinin azaltılması gibi enzim inhibisyonu, ekstraselüler polisakkarit üretiminde azalmasını sağlayarak dişin sert dokularına bakteri yapışmasında azalma sağlar.

2.1.2. Florürün Dışarıdan Tedarik Edilme Kaynakları

Günlük yaşamda florürün alımı ve maruziyeti için birçok kaynak bu şekilde sınıflandırılabilir: (I) Sistemik/planlı: florürlü süt, su veya tuz, florür takviyeleri; (II) Sistemik/planlı olmayan: diş temizleme ürünleri, çevre kirliliği, tavalarda Teflon kaplamalarının yutulması; gıda/toprağa/pestisitlere, reçeteli ilaçlara, sigaraya maruz kalma; (III) Topikal/planlanmış: Profesyonel olarak uygulanan jeller ve vernikler, diş macunu veya ev kullanımı durulamaları ve jel. (IV) Topikal/planlı olmayan: aljinat baskı malzemeleri [38]. Florür alımının ana kaynakları yapılan çalışmalar sonucu küçük yaşlarda başlanan anne sütü ile beraber çeşitli süt ürünleri, su, balık, deniz ürünleri, tavuk ve oral temizleme ürünleri olarak belirlenmiştir [39].

2.1.3. Florür Salınmasında Literatür Çalışmaları

Tüm maruz kalma durumlarına ek olarak florür dağıtımını sağlayan mekanizmalar vardır. Bunlar, içerisinde florür bulunan dağıtma araçları: Florürün yavaş salınımını sağlayan, hem diş plağında hem tükürükte önemli ölçüde artan florür seviyesinin korunmasına yardımcı olur.

JEL YAPISINDA MUKOADEZİFLER: Biyoyapışkan araç gereçler, oral hastalıkların tedavisi için idealdir. Bu araç gereçler, ağız içi mukozasındaki dokulara yapışma özelliğine sahiptir, bu sayede florür gibi tedavi edici ajanlar, çürük korumasını önlemede daha uzun süre etki edebilir.

KİTOSAN MİKRO PARÇACIKLARI: Kitosan, kısmi deasetilasyon ile üretilen kitinin bir kopolimeridir. Br nesnenin mikro boyutta olması ve katyonik olması oral olarak tutulumu daha işlevsel hale getirir. Yapılan çalışmalarda sodyum florür yüklenmiş kitosan nanopartiküller geliştirilmiştir. Geliştirilen bu nanopartiküller, oral mukozal yüzeye gelişmiş bir biyo-yapışmaya sahip olan florürün sürekli salımı için bir rezervuar görevi görebilir [40].

ELASTOMERİK HALKALAR: Sıradan herhangi bir ortodontik tedavi esnasında, ağız hijyeni kötü olan hastaların yarısında fazlasında diş minelerinde beyaz nokta lezyonları oluşmaktadır.[41] Belirli mine bölgelerinde özellikle ortodonti tedavileri nedeniyle oluşan demineralizasyonu engellemek gargara ve diş macunu gibi florür içeren ürünler önerilir. Fakat uygulanan bu yöntemler düşük düzeyde florür salım hem hastaya düzenli kullanmak açısından hem de uyum sağlamada sorunları yaratır. Bu sorunların üstesinden gelmek için, daha önce yapılan bir çalışmada poli(etilen ko-vinil asetat)'a dahil edilen farklı yüzdelerde sodyum florür içeren florür salan biyouyumlu, enflamatuvar olmayan polietilen ko-vinil asetat(PEVA) halkaları geliştirilmiştir. Sodyum florür içeren ve saf polimerle kaplanmış PEVA, florürün ağız boşluğunda iyi kontrollü ve verimli salınımı amaçlanmıştır.

Florür, polietilen ko-vinil asetat polimerine (PEVA) değişken miktarlarda dahil edilmiştir. En güvenli miktar, 0,4 g'a kadar F salan numunelerde gözlemlendi. F salımının ilk patlama etkisini kontrol etmek için, PEVA polimer (Florür içermeyen) kontrol kaplamaları uygulaması yapılmış. Bu örneklerdeki florür salımı farklı parametrelerde kontrol edilmiştir: 10 gün boyunca 6,70 µg F/halka/gün (0,134 ppm) ve ardından 40 güne kadar sabit 1,43 µg F/halka/gün (0,028 ppm) [41].

POLİHİDROKSİSİ ETİLMETAKRİLAT (PHEMA): Yapılmış olan bu kapsamlı çalışma sonucunda, suni tükürükte florürün kontrollü salınımı için sodyum florür yüklü ve yüzeyi polihidroksibutirat ile kaplanmış fotopolimerize edilen PHEMA membranları yapılmıştı. Ardından florürün kontrollü bir şekilde salınması amaçlanmıştır. Yüklenen florür miktarı tespit etmek için farklı pH, sıcaklık, derişim parametleri karşılaştırmıştır. Bu parametreler ile soğrudan ilişkilendirilmiştir. Serbest bırakılan florür miktarı 0,02–1 mg F/gün olarak tespit edilmiştir [42].

2.1.4. Yavaş Florür Salımına Yaklaşımlar

Florür sağlamaya yönelik amaçla bugüne kadar kullanılan yaklaşımlar ağız içi cihazlar veya dental materyaller hedef göstermiştir. Sabitleyici protetik yaklaşımlar olarak kullanılan simanlar, akrilikler ve reçineler gibi dişçilik malzemesi, ağız içi cihazlar arasında biyoyapışkan tabletler, kopolimer zar boncukları ve cam topakları yer almıştır [43]. Çocukların süt dişleri için florür salan kompomer dolgu malzemesi, cam iyonomer simanlar ile florürün yavaş salınımı için en dental materyaller olarak kabul edilir. Fakat tekrar kullanılabilirlik açısından ve işlevsel konusunda, bu konu şimdi tartışmalıdır. Bu malzemelerin florür ile gerçek bir 'tekrar doldurulabilirlik' için, malzeme matrisi ile iyonik bir değişimin gerçekleşmesi gerekir ve bu henüz kanıtlanmamıştır. Son zamanlarda, florürün gerçek bir "tekrar doldurulmasından" ziyade adezyonun daha olası açıklama olduğunu ileri sürüyor [44]. Kompomerler ve cam simanlardan salınan florür miktarı tabletlere göre uzun ömürlü olduğu görülmüştür fakat biyoyapışkan malzemelerden elde edilen florür salma 8 saate kadar florür saldığı gösterilmiştir [45]. Sonuçlardan elde edilen verilere göre ulaşılmak istenen hedef; adezyonla beraber oluşan birden salınımların yanı sıra kontrollü bir salım tekniği elde etmektir.

2.2. Kriyojel

2.2.1. Kriyojel Genel Özellikleri

Kriyojeller sıfırın altındaki sıcaklıklarda elastik, birbirine bağlı bir ağ ile çevrili makro gözenekler oluşturan kontrollü polimerizasyon sonucu oluşan hidrojel sınıfı olarak tanımlanabilir [46]. Polimer sistemine dayalı kriyojeller, koloidal dağılım nesnelerin veya başlangıç çözeltilerin dondurulmasıyla başlayan ardından dondurulmuş halde depolanması ve çözülmesi sonucunda heterofaz kriyojeller elde edilir. Kriyojelasyon, kavramsal gelişim açısından Yunanca'da buz veya donma anlamına gelen krios (kryos) donma veya buz anlamına gelmektedir. Kriyojelasyon, donma sıcaklığı olarak sıfırın altındaki sıcaklıklarda jel kıvamına gelme, kontrol altına tutulabilen gözeneklilik özelliği sayesinde makro gözenekli kriyojellere imkan sağlar [47]. Aslında çözeltilerin veya polimer dağılımın dondurup çözerek bir jel elde edilmesi uzun zaman (1940'lar) öncesine dayanmasına rağmen kriyojellere asıl ilgi 1980'lerde başlamıştır [48]. O günlerden bugüne ışık tutmuş ve modern araştırmaları hala etkilemektedir.

2.2.1.1. Yüksek Şişme Oranı

Hidrojellerin polimer zincirlerinin yoğun olmasından dolayı su yavaş yavaş içerisine dolar ve dolayısıyla su içinde şişebilmeleri için uzun zaman gereklidir [49]. Bu özellik, birçok uygulama için yararlıdır, ancak kuru hidrojellerin hızla şişmesi gereken uygulamalar da vardır. Süper büyük gözenekli kriyojeller, uzun süreler yerine kısa sürelerde, hatta dakikalar içinde şişerler. Hızlı şişme özelliğinde bulunan kriyojellerin şişme oranları, şişmiş kriyojel ağırlığının kuru kriyojel ağırlığına oranla oldukça büyüktür [50].

2.2.1.2. Esneklik

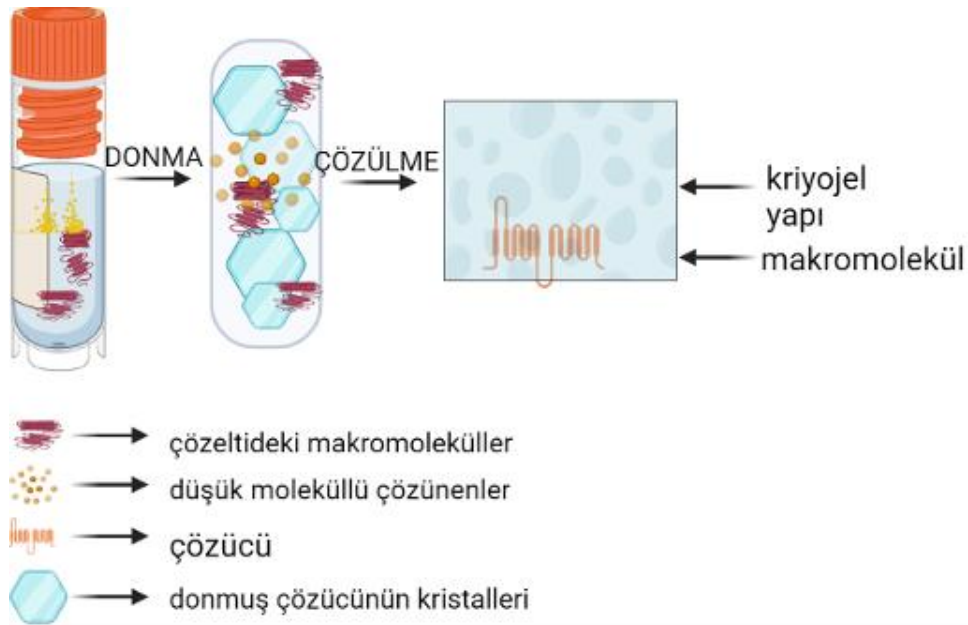
Kriyojel oluşumu esnasında, buz kristalleri, monomer çözeltisini başlangıç hacminden daha küçük bir hacme sıkıştırır, böylece gözenekler ince olmayan duvarlarla çevrelenir. Kriyojellerin mekanik dayanıklılığını sağlayan bu ince olmayan gözenek duvarları ve büyük ölçekli gözenekler, onlara elastik bir yapı kazandırır [51].

2.2.1.3. Hızlı Yanıt Verme Yeteneği

Çoğu jel türü, çevresel değişkenlere tepki verme konusunda oldukça sınırlıdır ve birçok uygulama için bu değişkenlere çok yavaş bir şekilde yanıt verirler. Kriyojeller diğer jellere kıyasla sıcaklık, iyonik kuvvet, çözücü ve pH gibi dış uyaranlara çok hızlı bir şekilde yanıt verebilme potansiyeline sahiptir [52]. Kriyojellerin geniş, birbirine bağlı gözenekleri, suyun hızlı emilimi ve desorpsiyonu için, aynı zamanda hızlı şişme yetenekleri gibi üstün özelliklerinden bazıları, onları geleneksel jellere göre daha ideal bir malzeme haline getirir [53]. İlk monomerik veya polimerik öncüller de çapraz bağlı jeller oluşturmak için çok önemli bir parametredir. Kriyojeller söz konusu olduğunda, geleneksel jellere kıyasla daha az başlangıç öncüsü gereklidir [54]. Kriyojellerin daha hızlı ve daha kolay bir şekilde üretilme yetenekleri, büyük gözeneklere sahip olmaları ve uygulama gereksinimlerine uyacak şekillerde özelleştirilebilme esnekliği, kriyojellere yönelik ilgiyi artırmaktadır. Kriyojeller benzersiz yeteneklerinden dolayı ilaç salım ve taşınım [55], kromatografik ayrımlar[56] ve biyosensörlerde gibi birçok alanda kullanılmaktadır.

2.2.2. Kriyojel Hazırlama Yöntemi Olarak Kriyopolimerizasyon

Kriyojel oluşumu, çözücü sıcaklığının donma noktasının altına düştüğü koşullarda gerçekleşir. Bu nedenle zaman içinde çözücünün büyük bir bölümü buz kristalleri formunda donar, bu süreçte, çözücünün çoğunluklu kısmı zaman içinde buz kristalleri haline gelir. Oluşan buz kristallerinin çevresindeki sıvı ortamda bulunan polimer öncüleri, bu kristallerin etrafında bir ağ yapısı oluşturmak üzere polimerizasyona uğrarlar. Donmuş çözücü kristalleri ise gözenek oluşturma amacıyla görev üstlenen bir ajan olarak hareket ederler. Polimerizasyon işlemi tamamlandıktan sonra, donmuş karışım oda sıcaklığına getirildiğinde, içinde bulunan buz kristalleri erir ve sonucunda makro gözeneklere sahip bir polimer ağı yapısı meydana gelir [8].

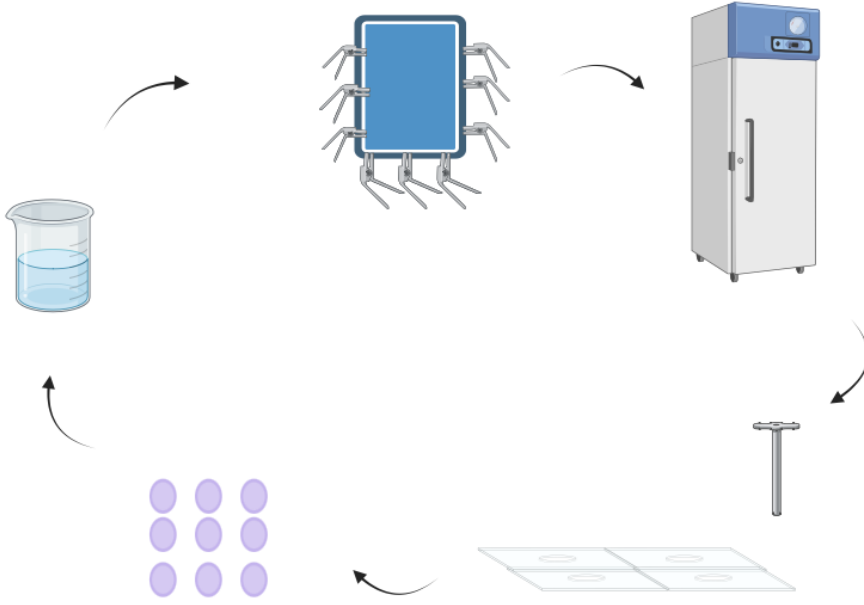


Şekil 2. 1. Kriyojel üretim sürecini özetleyen bir şematik gösterimdir; bu süreç, başlangıç malzemesinin donması, polimerleşmesi ve çözülmesi aşamaları

1. Donma (Freezing): İlk adım olarak, başlangıç malzemesi düşük sıcaklıklarda donar. Donma işlemi, malzemenin sıvıdan katıya geçişini temsil eder. Bu adımda, malzeme içinde kristal yapılar oluşur ve malzeme katı bir matrise dönüşür. Bu katı matris, sonraki adımlarda polimerleşme için bir çerçeve sağlar.
2. Polimerleşme (Polymerization): Polimerleşme adımı, donmuş matris içindeki bileşenlerin kimyasal reaksiyonlarla birleştiği ve polimer zincirlerinin oluşturulduğu aşamadır. Bu adım, kriyojelin son özelliklerini ve yapısını belirler. Polimerleşme, malzemenin istenen özelliklere sahip olmasını sağlar.
3. Çözülme (Thawing): Son adım olarak, oluşturulan kriyojel, yüksek sıcaklıklarda veya uygun bir çözücü içinde eritilir. Bu, kriyojelin katı formdan sıvı veya jel formuna geri dönüşmesini sağlar. Çözülme aşaması, kriyojelin uygulanabilirliğini artırır ve son ürünü kullanıma hazır hale getirir [57].

Jel oluşturucu madde içeren reaksiyon karışımı, çözücü kristalleşme noktasının altındaki sıcaklıklarda dondurulur. Dondurulmuş olan karışım, tek bir katı blok gibi görünmesine karşın esasında heterojen kalıp donmuş çözücünün kristalleri ile beraber donmamış sıvı mikrofaz içerir. Dondurulmuş olan donmamış mikrofaz olan sıvı içerisinde jel oluşum derişimi artar. Bu yapılan olaya kriyoderişme denilir. Kriyoderişme ise yapılmak istenen jel oluşum hızını dondurarak arttırır. Aynı derişimde olan sıvı monomerler çözeltilerle kıyaslandığında süreci oldukça hızlı gerçekleştirir [58].

Çözücü kristalleri gözenek oluşumunu sağlar. Daha sonrasında çözücü eritildiğinde çözücü ile dolan boşluklar geriye makrogözenekler bırakmış olur. Bu makrogözeneklerin yuvarlaklaşması ve gözenek yapısının daha düzenli ve pürüzsüz olmasını jel faz ile çözücü arasında oluşan yüzey gerilimi sağlar. Donma işleminde çözücü kristalleri ile diğer kristallerin birleşmesi sonucunda eritilen jel içerisinde birbirine bağlı gözeneklerden bir ağ oluşur. Gözenekler şekil ve boyut monomerlerin derişimi ve kriyotropik ortam sıcaklığı gibi birçok faktöre bağlıdır. Kriyojellerin mikrogözenekleri polimerik fazında oluşması sonucunda kriyojeller hem heterofaz hem de heterogözenekli bir yapıya sahiptir [59].



Şekil 2. 2. Kompozit taşıyıcı olarak kriyojel hazırlamanın şematik göstemi

2.3. Kontrollü İlaç Salım Sistemleri

İlaçlarla ilgili araştırmalarda, yeni moleküller geliştirmenin yanı sıra bu ilaçların hastalara nasıl uygulandığı da önem taşımaktadır. Son yıllarda, ilaç dozunu minimize etme, dozlama aralığını uzatma ve hastaların yan etkilere maruz kalma riskini azaltma amacıyla farmasötik araştırmalarda önemli bir gelişme, kontrollü ilaç salım sistemleri tarafından temsil edilmektedir. Bu sistemler, ilaçların zaman içinde kontrollü ve ölçülü bir şekilde vücuda salınmasını sağlayarak tedavi etkinliğini artırırken yan etkileri minimize etme potansiyeline sahiptir. Bu nedenle, kontrollü ilaç salım sistemleri, ilaç endüstrisinde ve sağlık sektöründe ilaçların daha güvenli ve etkili bir şekilde kullanılmasına yönelik önemli bir adım olarak kabul edilmektedir [60]. Kontrollü ilaç salım sistemleri, ilaçların istenilen doz aralığında ve istenilen dokuya hassas bir şekilde teslim edilmesini sağlayarak etkili bir tedavi yöntemi sunar. Bu sistemler, ilaçların vücuda veriliş hızını ve zamanlamasını düzenler, böylece tedavi sonuçlarını optimize ederken yan etki riskini minimize eder. Bu nedenle, kontrollü ilaç salım sistemleri, modern ilaç tedavilerinin önemli bir bileşeni olarak kabul edilmektedir.

İlaçlar, kana karıştıktan sonra etken madde seviyelerinin tedavi edici doz aralığında kalması kritik bir öneme sahiptir. Geleneksel yöntemlerle ilaçlar, belirli aralıklarla oral tabletler veya kapsüller şeklinde alınır veya doğrudan enjeksiyon yoluyla vücuda verilir. Ancak bu geleneksel yaklaşımlarda, minimum etkili derişim (MED) ile minimum toksik derişim (MTD) arasındaki değişkenlikler ve dalgalanmalar görülebilir. Bu dalgalanmalar, her doz değişikliğinin ardından hastaların tekrar yüksek dozda ilaç almasını gerektirebilir. Oysa ki, kontrollü ilaç salım sistemleri, ilacın tedavi dozu aralığında uzun bir süre boyunca kontrollü bir şekilde salınmasını sağlar. Bu sistemler, ilaçların istikrarlı bir şekilde tedavi edici etkisini sürdürmesine ve yan etki riskini minimize etmesine katkıda bulunur [61].

2.3.1. İlaç Salım Mekanizmalarına Göre Kontrollü İlaç Salım Sistemleri

İlaçların polimer sistemleri üzerinden salınımını yönlendirmek amacıyla kullanılan dört temel strateji bulunmaktadır:

1. Difüzyon Kontrollü İlaç Salım Sistemleri
 - i) Rezervuar (Zarlı) Tabanlı İlaç Salım Sistemleri
 - ii) Matriks (Monolitik) Tabanlı İlaç Salım Sistemleri
2. Kimyasal Kontrollü İlaç Salım Sistemleri
 - i) Biyobozunur İlaç Salım Sistemleri
 - ii) Zincir Etkili İlaç Salım Sistemleri
3. Şişme Kontrollü İlaç Salım Sistemleri
4. Ayarlanabilir İlaç Salım Sistemleri

2.3.1.1. Difüzyon Kontrollü İlaç Salım Sistemleri

Difüzyon, ilaçların kontrollü bir şekilde salımını sağlama amacıyla farmasötik uygulamalarda en sık tercih edilen metottur. Bu yöntemle elde edilen salım kinetikleri, dozaj formunun boyutu ve geometrisine bağımlıdır. Sistemlerin boyutları ve geometrisi optimize edildiğinde, istenen ilaç salım profilleri başarılı bir şekilde ortaya çıkabilir [62].

Difüzyon kontrollü sistemler, iki ana türde bulunur: rezervuar (zarlı) ve matriks (monolitik) sistemler olmak üzere iki temel kategoriye ayrılabilir. Rezervuar sistemlerinde, ilaç, polimerik bir membranla sınırlandırılmış bölgede yer alır. Bu sistemlerde ilaç, zar üzerinden gerçekleşen difüzyon yoluyla kontrollü bir şekilde salınır. Dolayısıyla, ilacın difüzyon hızı, kullanılan zarmateryalinin cinsi ve zar kalınlığı gibi faktörler tarafından belirlenir [63]. İlaç moleküllerinin çevresindeki difüzyon mesafesi, salımın istikrarlı bir şekilde devam etmesini sağlar. Bu nedenle, rezervuar sistemlerinde ilaç salımı sıfırıncı derece salım kinetiği ile gerçekleşir.

Matriks (monolitik) sistemler, diğer bir difüzyon kontrollü sistem türüdür ve bu sistemlerde ilaç, polimer içinde çözünmüş veya dağılmış bir formda bulunur. Matriks sistemlerinin hazırlanması, rezervuar sistemlerine kıyasla daha basit bir süreç sunar; ancak en büyük dezavantajı, ilacın salım hızının zaman içinde azalma eğiliminde olmasıdır, bu durum birinci derece salım davranışı ile ilişkilidir. Bu azalma, ilacın salımının devam etmesiyle birlikte artan difüzyon mesafesiyle bağlantılıdır [64].

2.3.1.2. Kimyasal Kontrollü İlaç Salım Sistemleri

Kimyasal kontrollü ilaç salın sistemler, temel olarak zincire takılı sistemler ve biyobozunur sistemler olmak üzere iki ana kategoriye ayrılmaktadır. Biyobozunur sistemlerde, polimer zaman içinde asit veya baz hidrolizi, enzimatik etkiler veya oksidasyon gibi kimyasal reaksiyonlarla gradual olarak çözünür. Bu polimer çözünürken, ilaç salımı meydana gelir. Bu tür sistemler, polimerin zaman içinde çözünmesi nedeniyle cerrahi müdahale gerektirmez ve vücut tarafından doğal olarak atılabilirler, bu da önemli bir avantajdır. Ancak, parçalanma ürünlerinin toksik veya kanserojen bileşenler içermemesine özen gösterilmelidir [65].

2.3.1.3. Şişme Kontrollü İlaç Salım Sistemleri

Şişme kontrollü sistemler, ilaç salımını sağlamak için şişebilir polimerlerin kullanılmasına dayanır. Bu mekanizma, çözücünün polimer matrise nüfuz etmesi sonucu ortaya çıkar ve temelde polimerin camsı-elastik geçişine dayanır. Çözücü, polimer matrisine girdiğinde, polimer şişer ve bu sırada camsı geçiş sıcaklığı giderek düşer. Sonuç olarak, camsı halde bulunan polimerik yapı elastik bir hal alır ve bu süreç ilaç salımını başlatır.

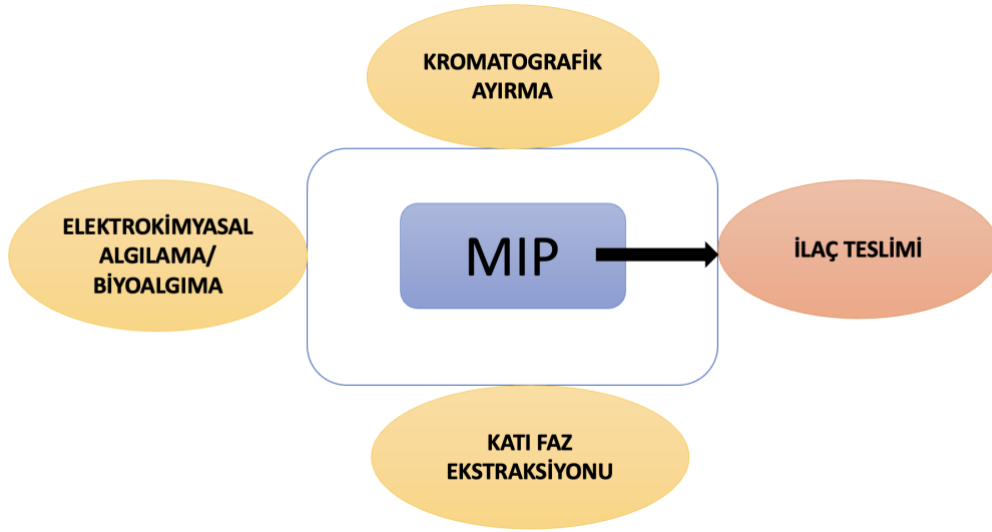
Bu süreç, ilacın kontrollü ve istenen hızda salınımını sağlamak için kullanılan önemli bir yöntemdir [66].

2.3.1.4. Ayarlanabilir İlaç Salım Sistemleri

Genellikle çevresel etmenlere (örneğin, elektrik alan, iyonik güç, pH, UV ışığı ve sıcaklık benzeri) duyarlı olan veya belirli bir substrat ile etkileşime tepki verebilen akıllı polimerik jeller kullanılarak tasarlanabilirler. Bu sistemler, çevresel koşullara göre ilaç salımını düzenlemek veya kontrol etmek amacıyla kullanılırlar [67].

2.4. Moleküler Baskılanmış Polimerler (MIP)

Tarihsel olarak, antikor benzeri hedef molekül tanıma yeteneği, yüksek hassasiyet ve seçicilik sağlama kapasitesine sahip polimerlerin geliştirilmesi, çeşitli zorlukların üstesinden gelebilmek amacıyla yoğun bir şekilde araştırılmıştır [68]. Moleküler baskılama, şablon molekülünün şekli, boyutu ve fonksiyonel gruplarına ait bilgileri içeren bir ayrıştırma ve saflaştırma metodolojisi olarak literatürde tanımlanır [69]. Moleküler baskılı polimerler (MIP'ler), şablon molekülü olarak metal iyonları, küçük moleküller ve hatta proteinler gibi çeşitli bileşenleri içeren şablonun işlevsel monomerler ve çapraz bağlayıcılarla kopolimerizasyon yoluyla üretilebilirler. Bu yöntemin temel iki önemli özelliği, özel hedef molekülleri tanıma ve bu hedef moleküllere bağlanma yeteneği sunmasıdır [70]. Moleküler baskılama teknolojisi kullanılarak polimerik matrisler ve ilgili şablon arasında bir etkileşim veya tepki oluşturmak amacıyla üretilen moleküler baskılanmış polimer (MIP) ve iyon baskılanmış polimerler (IIP) ile ilgili son yıllarda önemli derecede yol alındı [71]. Moleküler baskılama yöntemiyle biyomoleküler polimerik malzemeler hazırlanabilmektedir. Bu yöntem, makromolekülün içinde hem katalitik işlevlere sahip hem de yüzeyinde belirli tanıma bölgeleri bulunan bir yapı oluşturulmasını sağlar. Kısacası, bu yaklaşım, bir makromolekülün hem kimyasal reaksiyonları katalize edebilen hem de belirli molekülleri veya bileşenleri tanıyabilen bir yapıya sahip olmasını mümkün kılar [72-74].



Şekil 2. 3 Moleküler baskılama polimerlerinin kullanım alanları

Moleküler baskılama polimeri (MIP) ve iyon baskılanmış polimeri (IIP) ile makromoleküler matriste moleküler baskılama mekanizması, belirli bir hedef molekülü tanımak için bir fonksiyonel monomer ve çapraz bağlayıcı molekülün, bu hedef moleküle uyumlu bir şekil oluşturmak amacıyla bir kalıp olarak kullanıldığı bir süreçtir. Bu, hedef molekülün moleküler yapısının özgülüğünü ve tanınmasını sağlayan bir yöntemdir. MIP ile atılan ilk adımları Fischer, moleküler etkileşim kavramıyla ilgili düşüncelerini ilk kez 1894 yılında ortaya atmıştır, bu düşüncüyü "anahtar-kilit" modeli ile birlikte sunmuştur. Bu model, enzim-substrat etkileşiminin temelini oluşturur ve moleküler düzeydeki etkileşimleri anlamamıza katkı sağlar. Fischer'ın bu çalışması, moleküler kimyanın ve biyokimyanın temel taşlarından birini oluşturmuştur. [75]. Enzim-substrat etkileşimi, moleküler düzeyde enzim ve substrat molekülü arasında özel yapıların birbirini tamamladığı bir modeli içerir. Bu modelde, substrat molekülü, enzimin aktif bölgeleriyle etkileşime girerek bir anahtarın kilitlenmesi gibi çalışır. Moleküler etkileşim kavramı, bu etkileşimlerin doğasını ve önemini anlamamıza yardımcı olur. Moleküler baskılama yöntemi, bu kavramın önemli bir uygulama alanını temsil eder. MIP, çeşitli matrisler kullanılarak iyonlar, organik moleküller ve biyomoleküller gibi farklı bileşenlere karşı yüksek seçicilik sağlayabilen ve çeşitli uygulamalarda kullanılan yeni bir malzeme geliştirme yaklaşımıdır.

Monomerler, hedef molekül ile kovalent ve kovalent olmayan etkileşimler kurarak karmaşık yapılar oluştururlar. Moleküler baskılama amacıyla polimerlerin sentezlenmesinde, monomer ile kalıp molekül arasında kararlı bir ön polimerizasyon kompleksi oluşturmanın önemi büyüktür. Bu kompleksin istikrarlı olması, sonraki adımlarda kalıp molekülün seçiciliğini ve baskılama etkinliğini artırmak için kritik bir faktördür [76-78].

Baskılanan kalıp molekül ile fonksiyonel monomer polimerizasyon sürecinde belirli bir düzen içinde etkileşimde bulunur. Polimerizasyon işlemi sonrasında hedef molekül elimine edilir. Bunu takiben, polimer yüzeyinde hedef moleküle özgü seçici ve yeniden bağlanabilen bir moleküler hafıza oluşturulur [79]. Oluşan bu polimerlerin iki özelliği vardır; hem reseptör tanıma yeteneği kazanır hem de spesifik hedef molekülleri bağlar.

MIP'ler veya IIP'ler, moleküler baskılama teknolojisi (MIT) temel prensibine uyarlanmış (molekül veya iyon) sentez tarafından oluşturulan polimer ağındaki spesifik tanıma bölgelerinin varlığından kaynaklanan seçicilik ve özgüllük derecesi ile karakterize edilir. Bu sentetik süreç üç aşamadan oluşmaktadır.

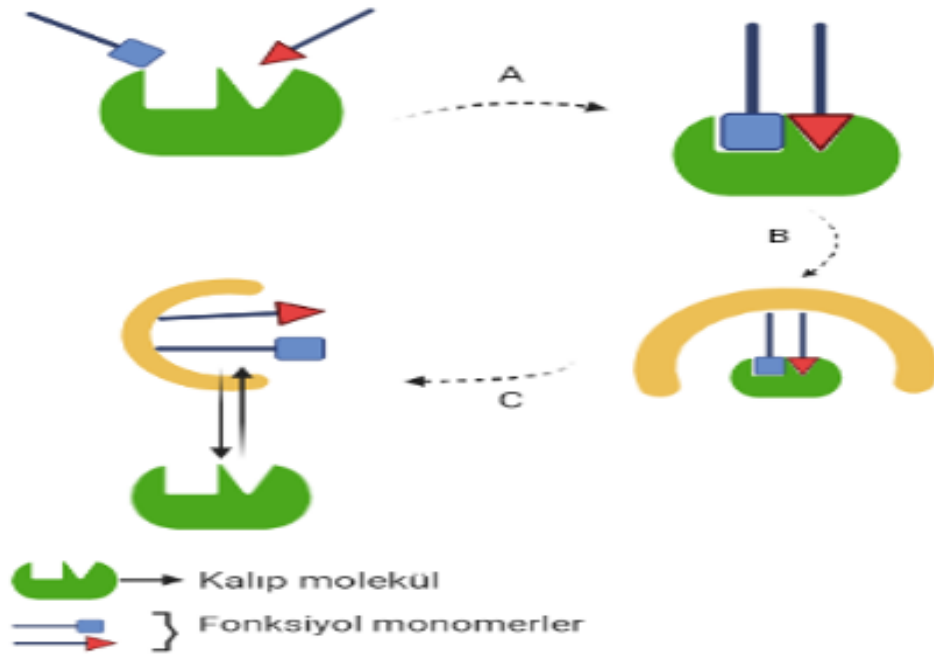
Birincisi, ön polimerizasyon; yapısı veya eklenti/kompleks, uygun bir çözücü varlığında fonksiyonel monomerlerden ve şablonlanmış molekül veya iyondan oluşur. Basılı malzemelerin seçiciliğinden sorumlu belirli tanıma bölgelerinin oluşumunu belirlediği için çok önemli bir aşamadır. MIP'ler söz konusu olduğunda, bu adım, şablon ve monomerler arasında oluşan etkileşimlerin türünde farklılık gösteren kovalent veya kovalent olmayan yaklaşımlarla tamamlanabilir. Kovalent yaklaşım, kimyasal bağların oluşumu yoluyla gerçekleştirilir ve sonuç olarak yeni bir ön polimerizasyon bileşiği elde edilir. Kovalent olmayan önceden oluşturulmuş önpolimerizasyon kompleksinde, hidrojen bağları, iyonik kuvvetler, π -tipi etkileşimler veya Van der Waals kuvvetleri gibi zayıf moleküler etkileşimler sistemin stabilitesinden sorumludur. IIP'ler durumunda, kovalent olmayan veya koordinasyon etkileşimleri, genellikle uygun bir ligand veya şelatörün desteğiyle, ön polimerizasyon kompleksinin oluşumunda rol oynar [80].

Baskı işleminin bir sonraki adımı, ön polimerizasyon yapısını sabitlemek ve spesifik tanıma bölgeleri ve bunların içine gömülü şablon veya iyon ile bir polimerik matris oluşturmak için genellikle bir çapraz bağlayıcı varlığında bir polimerizasyon reaksiyonundan oluşur.

Son aşamada, şablon veya iyon polimerden, örneğin hidroliz reaksiyonu (kovalent yaklaşımda) veya desorpsiyon (kovalent olmayan yaklaşımda) gibi fizikokimyasal işlemlerle çıkarılır ve moleküler hacim ve kimyasal işlevlerin geometrisi açısından damgalanmış varlığa tamamlayıcı üç boyutlu özgün tanımlanabilir alanlara sahip yüksek oranda çapraz bağlı bir polimerik matrise erişilir. Bu bölgeler şablon molekül/iyonu veya yapısal analoglarını adsorbe edebilir/desorbe edebilir. Baskı prosesinin etkililiğini tanımlayan ana parametre baskı faktörüdür (IF). IF yaygın olarak, MIP veya IIP üzerindeki şablon veya iyonun bağlanma kapasitesinin, referans baskısız polimer (NIP) üzerindeki şablon veya iyonun bağlanma kapasitesine oranı olarak tanımlanır. Bu tanımlı geçerli kılmak için, NIP sentezinin koşullarının, yalnızca şablon molekül veya iyon ilavesinin ihmal edilmesiyle MIP veya IIP üretimi ile aynı olması gerekir [81]. Şablona özel sentezden elde edilen avantajlara rağmen, baskılı malzemelerin uygulanabilirliğini güçlü bir şekilde etkileyen bir dizi kritik sorun tanımlanabilir. Baskılı malzeme yüzeyindeki belirli tanıma bölgelerinin popülasyonundaki heterojenlik burada ana zorluk olmaya devam ediyor. Heterojenliğin kökenleri, genellikle kovalent olmayan yaklaşım düşünüldüğünde, fonksiyonel monomer ve çapraz bağlayıcı etkileşimlerinin şablon veya iyon ile çeşitliliği ile ilgili olabilir [82, 83].

Moleküler baskılanmış polimer hazırlama süreci, üç aşamalı bir prosedürü takip etmektedir [84]:

1. Önpolimerizasyon: Hedef molekül fonksiyonel monomerlerle etkileşime girerek hem kovalent bağlar hem de kovalent olmayan etkileşimler yoluyla bir kompleks meydana getirir.
2. Polimerleşme: Monomer-hedef (kalıp) molekül kompleksi, fonksiyonel monomerin polimerleştirilmesi için uygun bir çapraz bağlayıcı ve başlatıcı kullanılarak oluşturulur. Bu aşamada, polimerin içinde yer alan monomerlerin fonksiyonel grupları, hedef molekülün varlığına bağlı olarak belirli bir düzen ve yönlendirme ile istikrarlı hale getirilir. Bu sayede, tanıma yeteneğine sahip olan üç boyutlu gözenekli bir polimer yapısı inşa edilir.
3. Kalıp Molekülünün Uzaklaştırılması: Hedef moleküller, özel çözücüler kullanılarak polimer matrisinden ayrıştırılır ve bu sürecin sonucunda hedef molekülün büyüklüğüne ve fonksiyonel gruplarına özgü bellekler veya tanıma özellikleri gelişir.



Şekil 2. 4 Moleküler baskılama metodolojisinin şematize edilerek gösterilmesi [A: önpolimerizasyon, B: Polimerizasyon C: Kalıp molekülün uzaklaştırılması]

Moleküler baskılama prosedüründe hedef molekülü (kalıp, baskı yapılacak molekül veya iyon), fonksiyonel monomerleri, çapraz bağlayıcıları, başlatıcıları ve çözücülerini içerir.

2.4.1. Hedef (Kalıp) Molekül

Moleküler baskılama tekniği uygulanırken, hedef molekül, küçük moleküllerin yapısıyla benzerlik gösteren çok çeşitli maddeler arasından seçilebilir. Bu maddeler, çok moleküllü hücreler, çeşitli iyonlar, aminoasitler ve bunların türevleri gibi özellikler taşıyabilirler. Hedef molekülün, moleküler baskılama süreci sırasında fonksiyonel monomerlerle etkileşime girebilen uygun fonksiyonel grupları içermesi, çünkü bu fonksiyonel gruplar moleküler baskılama işleminde monomerlerin fonksiyonel gruplarının düzenlenmesini kontrol etmek açısından kritik bir parametre olarak öne çıkar. Baskılanan molekül, polimerizasyon şartlarına karşı kimyasal olarak reaktif olmamalıdır. Bu, serbest radikal katalizli polimerizasyonunu etkilemeyecek veya yavaşlatmayacak gruplara sahip olmasını içerir. Ayrıca, polimerleşme sürecinin gerçekleştiği sıcaklık koşullarında kararlı bir yapıya sahip olmalıdır [85].

2.4.2. Fonksiyonel Monomerler

Fonksiyonel monomerler, moleküler baskılama sürecinde kritik bir görev üstlenirler. Bu monomerler, baskılanmış bağlantı bölgelerindeki etkileşimlerin temelini oluştururlar. Bu nedenle, moleküler baskılama süreci sırasında hedef molekül ile istikrarlı bir kompleks oluşturabilmesi için, uygun fonksiyonel grupları içeren monomerlerin seçilmesi büyük bir öneme sahiptir. Kovalent moleküler baskılama yöntemini kullanırken, baskılanan molekülün fonksiyonel monomere oranını değiştirmenin sonuçlarını ayrıntılı olarak incelemek genellikle gereksizdir, çünkü baskılanan molekül, kovalent olarak kaç fonksiyonel gruba bağlanabileceğini belirleyen bir faktördür. Yani fonksiyonel monomerler, hedef moleküle stokiyometrik bir şekilde bağlanır. Kovalent olmayan moleküler baskılama yöntemi kullanılırken, hedef molekül ile fonksiyonel monomerlerin dengeli oranı, deneysel olarak belirlenir. Bu oran, etkili bir baskılama etkisinin elde edilmesi için dikkatlice ayarlanmalıdır. [86]. Kovalent olmayan moleküler baskılama yönteminde, baskılama işleminin etkili bir şekilde gerçekleşebilmesi için genellikle daha büyük bir miktar baskılanacak molekül kullanılması gerekebilir [87].

2.4.3. Çapraz Bağlayıcılar

Moleküler baskılanmış polimerlerin (MIP'lerin) sentezinde önemli bir rol oynarlar ve bu polimerlerin özelliklerini belirleyen faktörlerden biridir. Çapraz bağlayıcıların bu rolünü üç farklı açıdan inceleyebiliriz:

(a) Morfoloji Kontrolü: Çapraz bağlayıcılar, MIP'lerin morfolojisini kontrol etmede kritik bir rol oynarlar. Bu bağlayıcılar, polimer zincirlerinin birbirine bağlanmasını sağlar, böylece bir polimer ağı oluşturur. Bu ağ, MIP'nin yapısını ve dokusunu belirler. Çapraz bağlayıcıların türü, miktarı ve düzenlemesi, MIP'nin istenilen morfolojisini elde etmek için ayarlanabilir. Bu, MIP'nin hedef analitleri tanıma ve tutma yeteneğini etkileyebilir.

(b) Baskılanmış Tanımlama Bölgelerinin Kararlılığı: MIP'ler, özel olarak tasarlanmış tanımlama bölgeleri içerir. Bu bölgeler, hedef analiti ile spesifik etkileşimlere girecek şekilde şekillendirilir. Çapraz bağlayıcılar, bu tanımlama bölgelerinin kararlılığını ve yapısal bütünlüğünü sağlar. Bu sayede MIP, hedef analitiyi özgün olarak yakalayabilir ve seçebilir.

(c) Mekanik Kararlılık: Çapraz bağlayıcılar, MIP'nin mekanik dayanıklılığını etkiler. Polimer zincirlerinin çapraz bağlarla bağlanması, MIP'nin fiziksel dayanıklılığını artırır. Bu, MIP'nin kullanıldığı uygulamalarda uzun süreli ve tekrarlanabilir performansın sağlanmasına yardımcı olur.

Fonksiyonel monomer/çapraz bağlayıcı oranı, MIP'nin özellikleri üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Bu oran, MIP'nin tanıma kapasitesi, seçiciliği, mekanik dayanıklılığı ve diğer özellikleri üzerinde önemli bir dengeyi temsil eder. Optimal oran, belirli bir uygulama veya analit için optimize edilmelidir. Bu, MIP sentezi sırasında dikkatle kontrol edilmesi gereken bir parametredir.

Sonuç olarak, çapraz bağlayıcılar MIP'lerin sentezi ve performansı üzerinde kritik bir etkiye sahiptir. Bu bağlayıcılar, MIP'nin morfolojisini, tanımlama bölgelerinin kararlılığını ve mekanik dayanıklılığını şekillendirmek için kullanılır ve MIP'nin hedef analitleri tanıma yeteneğini etkiler. Bu nedenle, MIP tasarımında çapraz bağlayıcıların seçimi ve oranı büyük bir öneme sahiptir [88].

2.4.4. Çözücüler

Çözücüler, baskılanmış polimerlerin gözenekli bir yapı oluşturmaya olanak tanır. Bu gözenekler, çözücü molekülleri tarafından doldurulur ve daha sonra çözücünün yıkama aşamasında uzaklaştırılmasıyla gözenekler oluşur. Ancak, çözücü miktarının yetersiz olması durumunda, oluşan polimer yapısı aşırı yoğun olur ve bu da hedef molekülün bağlanma ve serbest bırakılma aşamalarında difüzyonunu zorlaştırabilir. Bu nedenle, doğru çözücü seçimi kritik bir öneme sahiptir. İdeal bir çözücü, yalnızca yüksek çözünürlüğe sahip olmakla kalmaz, aynı zamanda fonksiyonel monomerle hedef molekül arasındaki etkileşimleri kolaylaştırmalıdır. Genellikle, polar olmayan çözücüler tercih edilir, çünkü polar çözücüler, hidrojen bağlarının oluşmasını engelleyerek monomer kompleks ile hedef molekül oluşumunu olumsuz etkileyebilirler. Bu nedenle, düşük dielektrik sabitlerine sahip olan kloroform, ksilen, toluen, kloroform ve metilen klorür gibi çözücüler sıklıkla kullanılmaktadır. [89].

2.4.5. Başlatıcılar

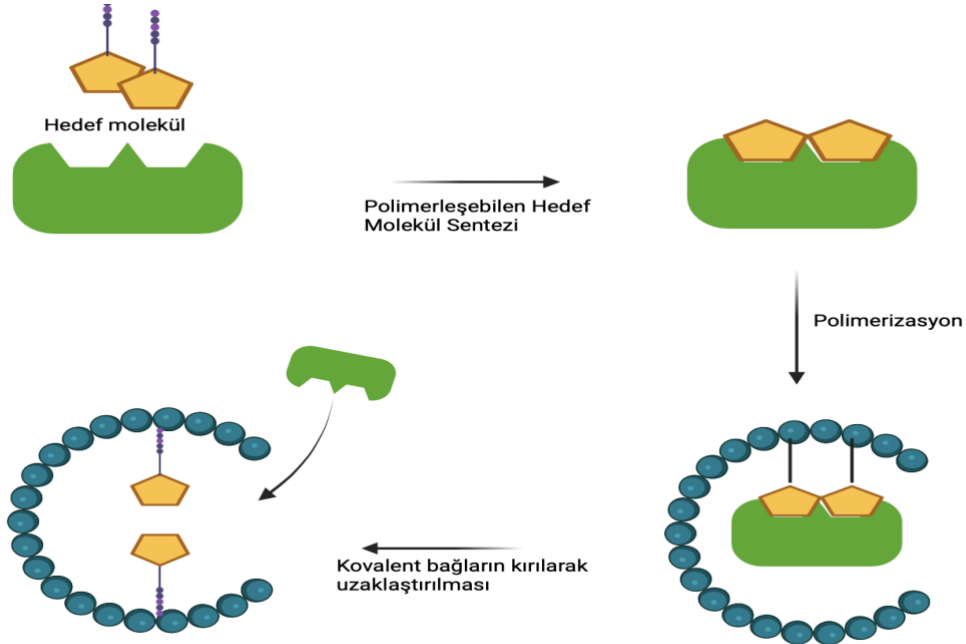
Moleküler baskılanmış polimerlerin hazırlanmasında kullanılan farklı başlatma yöntemlerine ayrılabilir. Bu yöntemler arasında radikal polimerizasyonu, radyasyon polimerizasyonu ve elektrokimyasal polimerizasyon yer almaktadır. Başlatıcılar, genellikle monomerlere bağlı olarak, bu çözücüler genellikle oldukça düşük konsantrasyonlarda (yaklaşık %1) kullanılır. Başlatıcıların seçimi yaparken hedeflenen molekül, fonksiyonel polimerlerin elde edilmesi ve polimerizasyon türü gibi faktörler dikkate alınmalıdır. Örneğin, hedef molekülün fotokimyasal veya termal açıdan kararlı olmadığı durumlarda, fotokimyasal veya termal yollarla tetiklenen başlatıcıların kullanılması mantıksız olabilir [90].

2.4.6. Moleküler Baskılama : Yaklaşımlar ve Uygulamalar

Moleküler baskılama yöntemi, fonksiyonel monomer ile kalıp molekül arasında oluşan etkileşimi ele alırken, temelde kovalent, kovalent olmayan, yarı-kovalent baskılama ve metal-şelat etkileşimlerden oluşan moleküler baskılama olmak üzere dört farklı yaklaşımı içermektedir.

2.4.6.1. Kovalent Baskılama

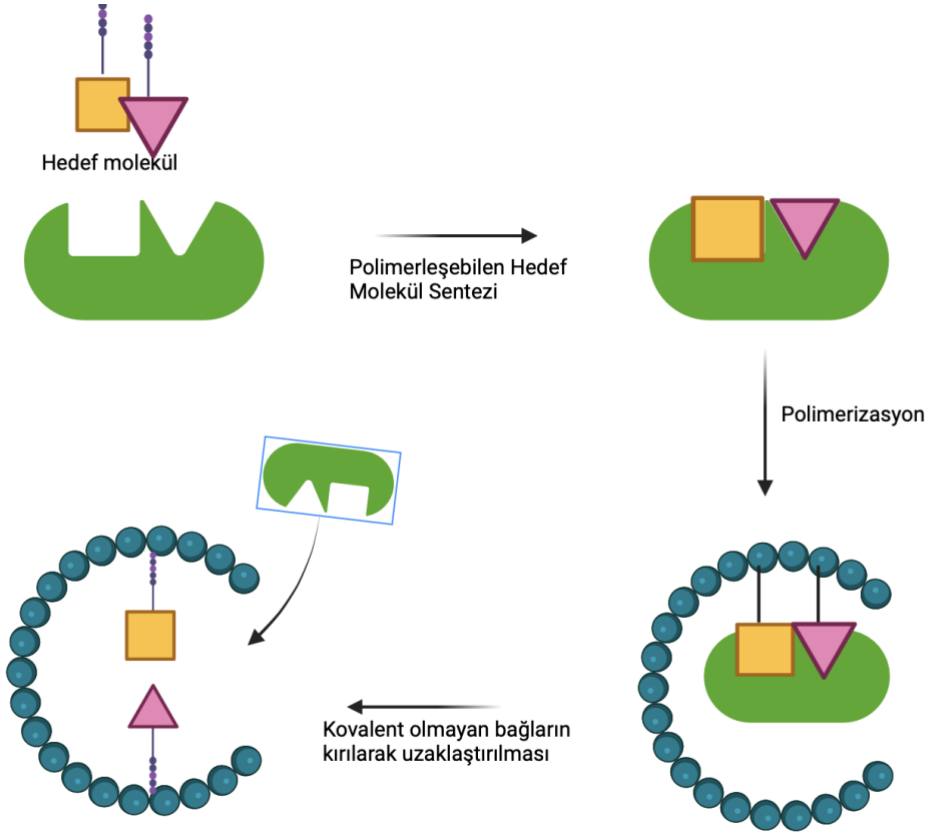
İlk kez 1972 yılında Günter Wulff ve meslektaşları tarafından geliştirilen kovalent yaklaşım, fonksiyonel monomer ile kalıp molekül arasında kovalent bağların (disülfid, ester bağları; Schiff bazları gibi) oluşturulduğu bir süreçle karakterizedir ve bu süreç sonucunda polimerizasyon meydana gelir [91, 92]. Polimerleşme işlemi sonrasında, hedef molekül polimer matrisine bağlanmıştır. Bu bağlar, özel bir çözücü (eluent) varlığında geri dönüşümlü olarak kırılabilir, böylece hedef molekül matristen ayrılabilir. Hedef molekül matrise bağlandığında, aynı kovalent bağlar tekrar oluşturulur. Bu yaklaşım, belirli ve tutarlı bağlanma noktaları oluşturmak için kullanılabilir. Ancak, bu yöntemin ana dezavantajı, yeniden bağlanmanın yavaş bir hızda gerçekleşmesidir. Bu strateji, moleküler tanımlama, ayırma ve analiz gibi uygulamalarda kullanılır. Hedef molekülün seçici olarak matristen çıkarılmasına ve daha sonra yeniden bağlanmasına izin verir, ancak bu işlem bazen yavaş olabilir, bu da bazı uygulamalarda sınırlayıcı bir faktör olabilir [93].



Şekil 2. 5 Kovalent Baskılama Uygulaması

2.4.6.2. Kovalent Olmayan Baskılama

Kovalent olmayan baskılama yaklaşımı, 1981 yılında Mosbach ve Arshady tarafından önerilen bir yöntemdir [94]. Kovalent olmayan baskılama, biyomoleküler dünyasındaki enzim-substrat ve antijen-antikor etkileşimlerini taklit etmeye yönelik bir yaklaşımdır. Bu strateji, hidrojen bağları, iyonik etkileşimler, hidrofobik etkileşimler, π - π etkileşimleri, indükleme, dispersiyon kuvvetleri ve Van der Waals kuvvetleri gibi kovalent olmayan etkileşimlerin kullanımına dayanır [95, 96]. Zayıf kovalent olmayan etkileşimler, seçilen monomerler ile hedef molekül arasında bir önkomplesin oluşmasına olanak tanır. Sonrasında polimerleşme süreci sayesinde bu önkomplesin yapısal düzeni korunur. Polimerleşme tamamlandıktan sonra, uygun çözücüler kullanılarak hedef molekül polimer matrisinden ayrıştırılır. Hedef molekülün yeniden uygun boşluklara bağlanması, aynı tür zayıf kovalent olmayan etkileşimlere dayanır. Kovalent olmayan baskılama yaklaşımı, basitliği ve kullanım kolaylığı nedeniyle tanımlanmış polimerlerin hazırlanmasında etkinliği ve yaygınlığı bakımından en tercih edilen ve en yaygın olarak benimsenen bir yaklaşımı temsil eder [97].



Şekil 2. 6 Kovalent olmayan baskılama yöntemi

2.4.6.3 Yarı-Kovalent Baskılama

1990'larında, Whitcombe ve ekibi tarafından geliştirilen bir yarı-kovalent baskılama sistemi, kovalent ve kovalent olmayan baskılama yöntemlerinin avantajlarını bir araya getirme fırsatı sunan bir strateji olarak ortaya çıktı. Bu özel yöntemde, hedef molekül ile bir monomer arasında kovalent bağlar oluşturan bir moleküler kompleks oluşturulur. Hedef molekül daha sonra çevresel etkileşimler yerine kovalent bağlar aracılığıyla uzaklaştırılır. Hedef molekülün yeniden bağlanması, artık kovalent bağlara dayanmayan kovalent olmayan etkileşimler tarafından gerçekleştirilir [98, 99].

2.4.6.4. Metal Şelat Etkileşimlerden Baskılama

Bu moleküler baskılama tekniği, metal-şelat etkileşimlerine dayalıdır ve kovalent olmayan baskılama ile kovalent baskılama yöntemlerine alternatif olarak geliştirilmiştir. Benzer şekilde kovalent baskılama ve kovalent olmayan baskılama yöntemlerinde

olduğu gibi, bu yöntem de fonksiyonel monomerleri kullanarak kalıp molekülün etrafındaki düzenlemeyi hedefler. Ancak metal-şelat etkileşimleri, özel bağlanma bölgeleri oluşturmak amacıyla bu moleküler baskılama yaklaşımında kullanılır. Bu yöntem, bağlanma bölgelerinin mukavemeti ve seçiciliği açısından kovalent etkileşimlere yakınlık gösteren metal-şelat etkileşimlerine dayanır [100-102]. Bu yöntem, kullanılan çözücü ortamdan etkilenmeyen metal-şelat etkileşimlerini temel alır. Bu etkileşimlerin belirli bir bağın kararlılığı oldukça sağlamdır ve ligand değişim kinetiği, kovalent baskılama yöntemine kıyasla belirgin bir hız avantajı sunar. Bu özellikler, metal-şelat etkileşimlerinin oldukça özgül moleküler baskılama polimerlerinin hazırlanmasını mümkün kılan ümit verici bir strateji haline getirir [103].

2.5. Salım Kinetiğinin Matematiksel Analizi

İlaç salım kinetiği, bir terapötik ajandan kaynaklanan belirli bir dozun organizmaya uygulandıktan sonraki dağılımını ve kalıcılığını inceleyen bir disiplindir. Bu alandaki çalışmalar, ilacın vücutta nasıl yayıldığını, etki başlama hızını ve bu etkinin ne kadar süreceğini analiz ederek, ilaç tedavisi için optimal dozaj rejimlerinin ve uygulama stratejilerinin geliştirilmesine katkıda bulunur. Bu bilgi, ilaçların etkilerini değerlendirmek ve olası yan etkileri kontrol altında tutmak için son derece kritiktir.

İlaç salım kinetiği, bir dizi faktör tarafından etkilenen ilaçların salım hızını ve derişimini inceler. Bu faktörler arasında ilacın dozu, kimyasal özellikleri, şekli, uygulama yöntemi, ilacın emilim lokasyonu, metabolizması ve vücut içindeki dağılımı gibi unsurlar bulunur. Bu bilim dalı, ilaçların organizmada nasıl davrandığını ve bu faktörlerin bir araya geldiği karmaşık etkileşimleri analiz ederek, etkili ve güvenli tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlar. İlaç salım kinetiği, genellikle üç temel aşamadan meydana gelir. İlk aşama, ilacın organizmaya uygulanmasını takiben ilacın absorpsiyonu ve dağılımını içerir. Bu aşamada, ilaç, vücutta kan dolaşımından gerekli hücrelere veya dokulara taşınarak etki göstermeye başlar. İkinci aşama ise, ilacın organizmada istikrarlı bir derişime ulaştığı aşamadır, bu aşama ilacın terapötik etkisinin istenilen düzeye ulaştığı noktayı işaret eder. Bu aşamada, ilaç kandaki maksimum dozuna ulaşır ve ilacın organizma üzerinde en etkili şekilde hissedildiği ve en yoğun etkisini gösterdiği aşama olmasıdır. Son aşama, ilacın eliminasyonu ve organizmadan uzaklaştırılmasıdır. Bu aşamada, ilaç dozu azalmaya başlar ve yoğunluğu zamanla kaybolur.

Bu süreç, ilaçların optimal etki sağlaması ve potansiyel riskleri minimize etmek için anlaşılması gereken önemli bir farmasötik kavramdır [104].

İlaç salım modelleri, terapötik ajanların in vitro ve in vivo koşullarda nasıl davrandığını ve dağıldığını incelemek için kullanılan matematiksel modellerdir.

İlaç salım modelleri, önemli değişkenlerin ölçülmesine ve ilaçların salım kinetiğiyle ilgili çeşitli yönleri hesaba katarak ilaç salım mekanizmasının anlaşılmasına yardımcı olan matematiksel modellerdir. Ancak, bu modellerin uygulanabilirlik alanları, matematiksel denklemleri ve hesaplama yöntemleri farklıdır, bu yüzden doğruluk ve uygulanabilirlikleri de değişiklik gösterir [105].

Farklı ilaç salım durumları için geçerli olabilen çeşitli modelleri içermektedir. Bu modeller arasında sıfır derece, birinci derece, Higuchi ve Korsmeyer-Peppas gibi ana ilaç salım kinetik modelleri bulunmaktadır.

2.5.1. Sıfır Derece Modeli

Sıfırıncı veya sıfır derece modeli, terapötik bir ajanın bir organizmaya uygulandıktan sonraki belli bir zaman dilimindeki kandaki ilaç konsantrasyonunun matematiksel olarak açıklandığı bir modeldir. Bu model, ilacın organizma içindeki davranışını ve etkisini incelemek için kullanılır ve ilacın belirli bir süre içinde nasıl dağıldığını ve ortadan kalktığını anlamamıza yardımcı olur. Bu sayede, ilaç tedavisi ve dozaj yönetimi üzerinde daha iyi bir kavrayış elde edilir. Bu model, ilaç salımını sürekli ve sabit bir hızda gerçekleşen bir süreç olarak kabul eder. Sıfır derece modelinin denklemi, ilacın zaman içindeki derişim değişimini ifade eder. Bu denklemde, Q_0 , ilacın başlangıçta sisteme verilen miktarını temsil ederken, Q_t , t anındaki ilaç miktarını belirtir ve k_0 , sıfır derece salım hız sabitini ifade eder.

$$Q_t = Q_0 + k_0 t$$

Denkleme göre, zaman (t) karşısında ilaç miktarının (Q_t) grafiği, sıfırıncı derece salım hız sabiti (k_0) ile karakterize edilen bir doğru elde edilir. Sıfırıncı derece modeli, ilaç dozunun belirlenmesi ve ilaç etkilerinin düzenlenmesinde kritik bir işlevi yerine getirmektedir. Buna ek olarak, ilaçların yan etkilerini minimize etme ve ilaç etkilerini uzun süre koruma hedefleriyle de başvurulmaktadır. Ancak, sıfır derece modeli sadece

ilaçların salım kinetiğinin ilk aşamasını belirler ve ilacın absorpsiyon aşamasını ihmal eder. Bu nedenle, ilaçların salım hızını daha ayrıntılı bir şekilde anlamak için diğer kinetik modellere de başvurulmalıdır [106].

2.5.2 Birinci Derece Modeli

Birinci derece kinetik modeli, ilaç miktarının ilaç derişimine bağılı olduğu bir modeldir ve bu modelde ilaç miktarı zamanla üssel bir şekilde azalır. Bu yaklaşım, ilaç yoğunluğu azaldıkça, zaman içerisinde ilacın salım hızının da azalacağını öngörür.

$$\ln Q_t = \ln Q_0 + k_1 t$$

Bu denkleme göre Q_t , belirli bir zaman (t) anındaki ilaç salım miktarını, Q_0 ise başlangıçta verilen ilaç salım miktarını temsil eder. k_1 ise ilacın birinci derece salım hız sabitini ifade eder. $\ln(Q_t)$ değerleri zaman karşısında grafiğe çizildiğinde, bu grafiğin eğimi, birinci derece salım hız sabitini (k_1) elde eder. Bu sebeple, geleneksel ilaç dozajları için tipik olarak birinci derece salım modeli tercih edilir [107].

2.5.3 Higuchi Modeli

Higuchi Modeli, 1961 yılında Higuchi tarafından geliştirilen ve ilaçların belirli bir matris veya yapı içinde sabit bir şekilde salındığı durumlar için kullanılan bir matematiksel modeldir. Bu model, özellikle ilaçların polimerik matrisler gibi belirli bir yapı içerisinde nasıl salındığını incelemek için uygun bulunur.

$$Q_t = A\sqrt{D(2C - C_s)Cst}$$

Higuchi Modeli, ilaçların belirli bir matris içinde nasıl salındığını matematiksel olarak açıklayan bir modeldir. Bu modelde, Q_t birim yüzey alanından açığa çıkan ilaç miktarını, A ilaç taşıyıcısının ait yüzey alanını, C matristeki başlangıç ilaç derişimini, C_s matristeki ilacın çözünürlüğünü ve D matris içerisindeki ilacın difüzyon katsayısını temsil eder. Higuchi Modeli, ilacın matris içinde çözünmesi ve matris içindeki difüzyon sürecini temel alır. İlaç, polimer matrise çözünürlük özelliği gösterdiğinde, ilaç molekülleri polimer matris içinde difüzyon yoluyla yayılır. Bu difüzyon süreci, zamanın karekökü ile

doğru orantılı olarak artan bir şekilde ilaç miktarının matristen salınmasına neden olur. Bu fenomen, ilacın polimer matris içindeki hareketinin ve ilacın organizma içindeki salınım hızının belirli bir matematiksel modelini ifade eder. Bu tür bilgi, uzun süreli ilaç salım sistemlerinin tasarımı ve etkin bir ilaç dağıtımı için önemlidir. Bu model, ilacın başlangıçta hızlı bir şekilde salındığını ve zamanla salım hızının azaldığını düşündürür. Bu yüzden, ilaç salınım hızı zaman içinde azalır ve sonunda istikrarlı bir düzeye ulaşır [108]. Higuchi modelinin uygulanabilmesi için gerekli bazı durumlar bulunur. Öncelikle, matrisin şişmesi ve çözünmesi önemli ölçüde dikkate alınmamalı ve salım difüzyonu tek yönlü olmalıdır. Ayrıca, ilaç salım süreci sırasında, çevresel koşulların istikrarlı tutulması ve özellikle çevresel hacmin sabit tutulması, ideal çanak koşullarının sağlanmasını gerektirir. Bu, ilaçların belirli bir sistemin içinde düzenli ve kontrol edilebilir bir şekilde salınmasını ve dağıtılmasını sağlayarak ilaç salımının verimli ve güvenilir bir şekilde gerçekleşmesini destekler. Bu tür stabilite ve kontrol, ilaç dozajının doğru ve etkili bir şekilde ayarlanmasına yardımcı olur ve matris içindeki başlangıç ilaç konsantrasyonu, ilacın matriste çözünme kapasitesinden daha yüksek olmalıdır [109].

2.5.4. Korsmayer-Peppas Modeli

Korsmayer-Peppas Modeli, ilaç salımını açıklamak için kullanılan, özellikle hidrojel gibi şişme eğilimindeki polimerik matrislerin bulunduğu ilaç salım sistemleri için daha kapsamlı bir modeldir. Bu model, polimerik matris içinde ilacın salımını daha ayrıntılı bir şekilde analiz etmek ve anlamak için geliştirilmiştir.

$$M_t/M_\infty = k_m t^n$$

Korsmayer-Peppas Modeli, ilaç salımını analiz etmek için kullanılan bir matematiksel modeldir. Bu model, t anındaki salınan ilaç miktarını (M_t), sonsuz zaman (∞) da salınacak toplam ilaç miktarını (M_∞), t anındaki salınan ilaç fraksiyonunu (M_t/M_∞) ve salım hız sabitini (k) içerir. Korsmayer-Peppas modeli, özellikle ilaç salım mekanizmasının belirsiz olduğu veya birden fazla salım mekanizmasının aynı anda rol oynadığı durumlarda kullanılır [110]. Denklemin içerdiği n değeri, ilacın salım mekanizmasını belirlemede önemli bir rol oynar ve farklı geometrilerdeki polimerik matrisler için farklı salım davranışlarına işaret edebilir. Bu n değeri, polimerik matris sistemlerinden elde edilen verilere dayanarak ilaç salım mekanizmalarını sınıflandırmak için kullanılabilir [111].

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Hazırlanan , tez kapsamında gerçekleştirilen deneysel çalışmaları aşağıdaki başlıklar altında incelenebilir:

- Fonksiyonel monomerin N-metakriloil-(L)- glutamik asit (MAGA) sentezi
- MAGA:Ca⁺² önkomplesinin hazırlanması
- MAGA:Ca⁺² – sodyum florür ile kompleks oluşturma
- Sodyum florür baskılanmış (MIP) ve baskılanmamış (NIP) poli(HEMA-MAGA) kriyojellerin hazırlanması ve karakterizasyonu
- Florür iyon analizi
- İn-vitro salım çalışmaları

3.1. Kimyasal Malzemeler

2-Hidroksietil metakrilat (HEMA) ve N,N-metilen bisakrilamid (MBAAm) Sigma Aldrich (Sigma Chemical Co., ABD) firmasından temin edilmiştir. Reaktifler kullanılabildiği kadar 4 °C’da muhafaza edilmiştir. H₂O₂/N,N,N’,N’-tetra-metiletildiamin (TEMED) ve amonyum persülfat (APS) gibi bileşenler, Sigma (Sigma Chemical Co., ABD) firmasından sağlanmıştır. Kalıp molekül (iyon) olarak kullanılacak sodyum florür, tıbbi tedavi amaçları için gereken yüksek saflıkta Sigma Aldrich (Sigma Chemical Co., ABD) firmasından temin edilmiştir. Kalsiyumnitrat Riedel-De Haenag Seelze firmasından temin edilmiştir. Deneysel çalışmalarda kullanılan tüm malzemeler plastik malzemeden kullanılmıştır. Deneysel çalışmaları için kullanılan su, yüksek akış hızına sahip selüloz asetat membranlar (Barnstead D2731) kullanılarak ters ozmoz işlemine tabi tutulmuş ve ardından Barnstead (Dubuque, IA) ROPure LP® ünitesi ve Barnstead D3804 NANOpure® organik/kolloid giderme ünitesi ile iyon değiştirici dolgulu kolon sistemini geçirilerek saflaştırılmıştır. Sonuç olarak elde edilen saf su, deiyonize su olarak adlandırılan ve 18 MΩ/cm dirence sahip bir su türüdür.

3.2. N-metakriloil-(L)- glutamik asit (MAGA) Monomeri Sentezlenmesi

MAGA monomerinin sentezi için kullanılan prosedür şu şekilde uygulanmıştır [112]: İlk aşamada, 5,0 gram (L)-glutamik asit 5-metil ester ve 0,2 gram hidrokinon, diklorometan içinde çözündürüldü. Bu çözelti daha sonra 0 °C'e soğutuldu ve trietilamin eklenerek inert bir azot atmosferi altında korundu. Daha sonra, 4,0 mL metakriloil klorür, azot atmosferi altında yavaşça bu çözeltiliye eklenerek reaksiyon başlatıldı ve bu reaksiyon, azot atmosferi altında oda sıcaklığında bir gece boyunca karıştırılarak devam etti. Reaksiyon tamamlandıktan sonra, MAGA monomeri etil asetat kullanılarak ekstrakte edildi. Daha sonra, elde edilen MAGA monomeri etanol içinde çözüldü.

3.3. MAGA:Ca⁺² Önkompleski Hazırlama

MAGA:Ca⁺² önkompleski hazırlamak için, aşağıda anlatılan prosedür ile sentezlenmiştir. Sentezlenmiş fonksiyonel monomer, MAGA (215 g, 1 mol) ile kullanmış olduğumuz florürün iyonik kuvvetinden dolayı Ca⁺² kaynağı olarak Ca(NO₃)₂ (236.15 g, 1 mol) kullanılmıştır. MAGA monomerinden 211.6 µL alındı. MAGA monomeri ile Ca⁺² mol oranı (2:1) olacak şekilde Ca(NO₃)₂.4H₂O' dan 23.6 mg alındı. Oda sıcaklığında çözeltiliye eklendi. Kompleks oluşturulduktan sonra 2 saat 15 rpmde karıştırıldı.

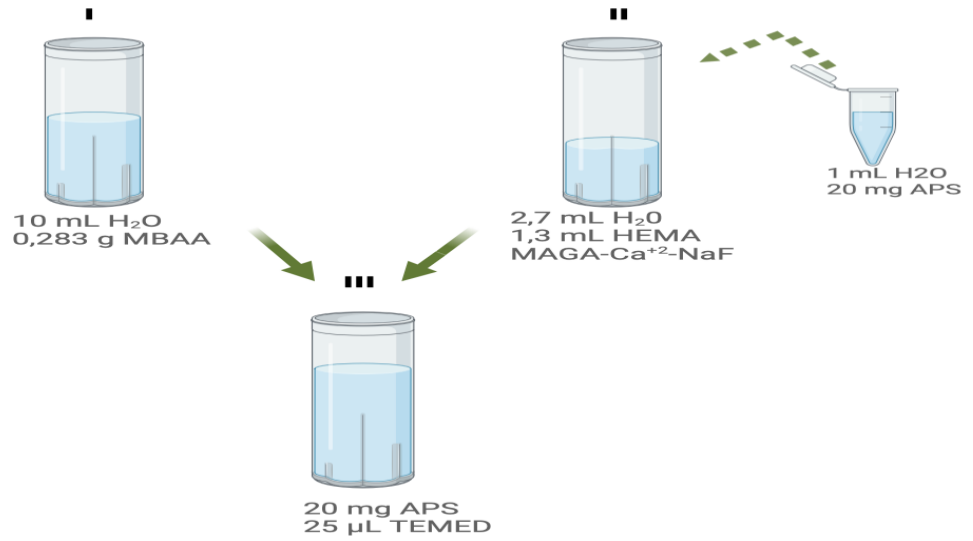
3.4. MAGA:Ca⁺² – Sodyum Florür İle Kompleks Oluşturma

Elimizde bulunan MAGA monomeri ile Ca⁺² önceden hazırlandı. Kalıp molekül olarak kullanılan Sodyum florür (NaF) monomer olarak MAGA ile MAGA:Ca⁺²:NAF ön kompleksini oluştururken stokiyometrik olarak birleşme oranlarını tayin etmek için farklı mol oranlarındaki MAGA:Ca⁺²:NaF (1:1, 2:1, 4:1) kompleksleri oluşturulmuştur. Uygun polimerizasyon karışımının belirlenmesi için MAGA:Ca⁺²:NaF oranı (1:1) şeklinde değiştirilerek NaF çözeltiliye ilave edildi. 1 saat 15 rpm de karıştırıldı.

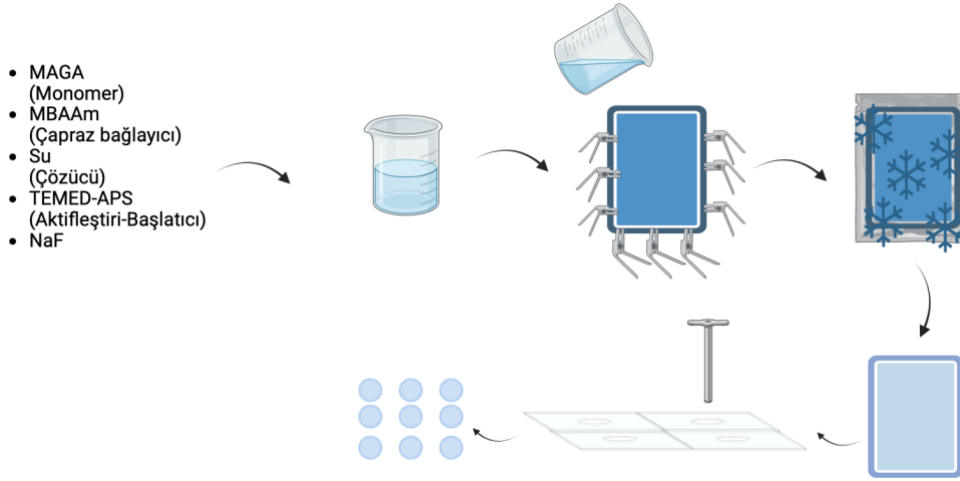
3.5. Sodyum Florür Baskılanmış (MIP) ve Baskılanmamış (NIP) poli(HEMA-MAGA) Kriyojellerin Hazırlanması

Sodyum florür baskılanmış süpermakro kriyojeller, Şekil 3.1.'de gösterildiği gibi molce farklı nHEMA/nMBAA oranlarına sahip poli(HEMA-MAGA) kriyojellerinin

hazırlanmada aşağıdaki aşamalar takip edilmiştir: Öncelikle ilk aşama olarak (I olarak numaralandırılan) 0,283 g. N,N-Metilen bisakrilamid (MBAAm) 10.0 mL suda çözülmüştür. Aynı zamanda (II) 1.3 mL HEMA, MAGA:Ca²⁺:NaF manyetik bir karıştırıcı ile karıştırılmış ve bu karışım 2.7 mL suda çözülürken ayrı bir eppendorfta 1 mL su ile 20 mg amonyum persülfat (APS) ayrıca daha hızlı çözünmek amacıyla karıştırıldı. APS çözeltisi çözüldükten sonra II numaralı karışıma eklendi ve homojenize edildi. Her iki karışım birleşerek MBAAm çözeltisine eklenmiştir. Başlatıcı olarak kullanılan 25 µL H₂O₂/N,N,N',N'-tetra-metiletildiamin (TEMED) eklendikten sonra ivedi bir şekilde iki plastik levha arasına dikkatli bir şekilde aktarıldı(Şekil 3.2.). Polimerizasyon işlemi sıcaklık -16°C'da 24 saatte boyunca gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.2.). Bu süre tamamlandıktan sonra iki plastik levha arasında oluşan kriyojel oda sıcaklığına getirildikten sonra (Şekil 3.2.) plastik levhadan ayrıldıktan sonra ucu yuvarlak olan bir aletle disk şeklinde kesildi. (Şekil 3.2.). Tepkimeye katılmamış monomerler ve diğer kalıntılar polimer yapıdan uzaklaştırılması amacıyla kriyojeller saf su ile yıkanmıştır (Şekil 3.2.).



Şekil 3. 1 Florür baskılanmış kriyojel sentezinin kimyasal birleşimi gösterimi



Şekil 3. 2 Florür baskılanmış kriyojel sentezinin dondurulma aşaması gösterimi

3.5.1. Kalıp Molekülün (Florür) Uzaklaştırılması

Kriyojel matris içinde bulunan florür moleküllerinin uzaklaştırılması için 1 M NaCl çözeltisi kullanılmıştır. Sodyum florür bu çözeltiye reaksiyona girerek kriyojel matristen çözülür ve uzaklaştırılır. Sodyum florürün tamamen uzaklaştırılabilmesi için, bu işlem oda sıcaklığında 24 saat boyunca 15 rpm’de tekrarlanmıştır. 24 saatin sonunda saf su ile tekrar yıkama yapılmıştır. Bu ölçümler, florürün kriyojel disklerden tamamen uzaklaştırıldığını gösterene kadar tekrarlanmıştır. Bu işlem, kriyojel disklerin içinde istenmeyen florürün uzaklaştırılmasında etkili bir yöntem olarak kullanılmıştır.

3.5.2. Sodyum Florür Baskılanmış Kriyojellerin Karakterizasyonu

Sodyum florür (NaF) ile baskılanmış ve baskılanmamış kriyojel disklerin özelliklerini ayırtmak amacıyla, çeşitli karakterizasyon deneyleri gerçekleştirilmiştir. Bu deneyler, malzemelerin benzerlik oranını azaltmak için önemli bilgiler sağlamıştır.

3.5.2.1. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)

Her iki kriyojel diskin kimyasal bileşimini belirlemek için FTIR spektroskopisi kullanılmıştır. Bu analiz, moleküler yapıdaki farklılıkları tespit etmek için kriyojel disklerin infraruj ışınlarını emme ve yayma özelliklerini incelemiştir. Baskılanmış ve

baskılanmamış diskler arasındaki kimyasal farklar, benzerlik oranını azaltmada önemli bir gösterge olmuştur. Baskılanmış poli(HEMA-MAGA), baskılanmamış poli(HEMA-MAGA) ve poli(HEMA) kriyojellerinin yığın yapısı, FTIR (FTIR 8000 Seri, Shimadzu, Japonya) spektrometresi kullanılarak incelenmiştir. Analiz öncesinde kriyojel diskler, -60°C sıcaklıkta 24 saat boyunca lyofilize edilerek kurutulmuştur. Daha sonra, 2.0 mg polimer örneği ile 98 mg KBr karıştırılmış ve bu karışım havanda öğütülmüş, ardından hidrolik pres kullanılarak 600 kg/cm² basınç altında ince bir pelet haline getirilmiştir. Hazırlanan peletin spektrumu, dalga sayısı aralığı 4600-400 cm⁻¹ olan bir FTIR cihazı kullanılarak alınmıştır.

3.5.2.2. Taramalı Elektron Mikroskop Görüntüleme (SEM)

Yüzey morfolojisinin incelenmesi için SEM görüntüleme kullanılmıştır. Bu analiz, kriyojel disklerin yüzeyindeki mikro yapıların, pürüzlülüklerin ve porozite derecelerinin karşılaştırılmasına olanak sağlamıştır.

3.5.2.3. Şişme Testi

Kriyojel disklerin yapısının incelenmesi için şişme testi gerçekleştirilmiştir. Bu test, kriyojel disklerin suyla temas ettiklerinde şişme davranışını belirlemiştir. Baskılanmış ve baskılanmamış kriyojel disklerin şişme kapasiteleri arasındaki farklar, benzerlik oranının azalmasına katkı sağlamıştır.

Salım kinetiğini etkileyen faktörlerden biri, polimer yapının su emme ve şişme özellikleridir. Bu nedenle, farklı miktarlarda çapraz bağlayıcı içeren poli(HEMA-MAGA) kriyojel disklerin şişme özellikleri incelenmiştir. Poli(HEMA-MAGA) kriyojel sisteminin denge şişme oranı belirlemek için aşağıdaki adımlar izlenmiştir:

Kriyojel diskler, bir hassasiyet derecesi ± 0.0001 ile tartılmıştır ve ardından oda sıcaklığın 48 saat boyunca kurutulmuştur. Kurutulan kriyojel diskler, 50 mL saf su içeren bir behere yerleştirilmiş ve sabit bir sıcaklık olan 25 ± 0.5 °C'de 2 saat boyunca bekletilmiştir. Daha sonra kriyojel diskler, sulu ortamdan çıkarılmış ve yüzeylerindeki suyun uzaklaştırılması için süzgeç kağıdı kullanılarak tartılmıştır. Poli(HEMA-MAGA-Ca⁺²) kriyojel disklerin su içeriği, bu adımların sonucunda belirlenmiştir.

$$\text{Şişme oranı (\%)} = \frac{\omega S - \omega 0}{\omega 0} \times 100$$

Bu denklemde, w_0 , kriyojel diskin şişmeden önceki ağırlığını, w_s ise şişmeden sonraki ağırlığını ifade eder. Ağırlıklar gram cinsinden belirtilmiştir.

3.6. Florür İyon Analizi

Örneklerden salınan florür miktarının iyon aktivitesini belirlemek için çözeltiler, toplam iyonik kuvvet ayarlama tamponu (TISAB II) ile 1:1 oranında eklenerek ölçüm alındı. Florüre özgü iyonmetre(Lyon, Fransa) tarafından üretilen bir florür iyon seçici elektrot (ISE) ile Fisher Scientific tarafından sağlanan gümüş/gümüş klorür referans elektrot kullanılmıştır. Bu elektrotlar, bir dijital-analog dönüştürücü (Mettler Toledo SevenMulti, ye bağlandı. Tüm örnekler ve kalibratörler, pH 5-5.5 arasında olan bir iyonik kuvvet ayarlama tamponunda (TISAB II) ölçüldü. Elektrot sistemi kullanılmadan önce üreticinin önerdiği şekilde koşullandırılmış ve ardından sodyum florür iyon konsantrasyonunu belirlemek için uygulanan çoklu standart sapma yöntemi ile 0,1 ile 2×10^{-6} M aralığında bir kalibrasyon eğrisi ile kalibre edildi. Bu yöntem, florür iyon aktivitesinin hassas bir şekilde ölçülmesi için kullanılan bir analitik yöntemi temsil etmektedir.



Şekil 3. 3 Dijital-analog iyon dönüştürücü



A



B



C

Şekil 3. 4. İyon analizinde kullanılmış olan (A) florür iyon seçici elektrot (B) gümüş/gümüş klorür referans elektrot (C) iyon ölçümünde çözeltiye daldırılan her iki elektrot

3.6.1. TISAB II Çözeltisi Hazırlama Yöntemi

TISAB II, 0,4 ppm (2×10^{-5} M) florür içeren ve demir veya alüminyum gibi florür kompleksleyici maddeler içermeyen örneklerin ölçümü yapılırken kullanılır.

TISAB II çözeltisi hazırlamak için İyon Seçici Elektrot kullanım kılavuzuna göre şu adımlar izlendi: 1 litrelik bir beher içine 500 mL saf su alındı. Behere 57 mL glasyal asetik asit ve 58 g reaktif dereceli sodyum klorür eklendi. Beherin soğuması için bir buzlu su banyosuna yerleştirildi. Kalibre edilmiş bir pH elektrodunu çözeltiye daldırıldı ve pH değeri 5.0 ile 5.5 arasında olacak şekilde yavaşça 5 M NaOH eklendi. Elde edilen çözelti oda sıcaklığına gelene kadar soğutuldu.

Çözelti 1 litrelik plastik balon jøjeye aktarıldı ve jöjenin işaretine kadar saf su ile seyreltildi.

TISAB II için belirtildiği gibi her ölçümden önce elde edilen çözelti ile eşit hacimde birleştirildi.

3.7. In-vitro Florür Salım Çalışması

Polimerik yapılardan salım hızını etkileyen en önemli parametreler; salım mekanizması türüne, ortamına ve kriyojel disklere yüklenen madde miktarıdır, diyebiliriz.

3.7.1. Florür Yükleme Oranının Salma Etkisi

Salınım hızını etkileyen faktörler arasında, polimerik yapıya yüklenen aktif madde miktarı son derece kritik bir öneme sahiptir. Polimerik yapı içine yerleştirilen aktif madde miktarının artması, difüzyon işlemi için gereken konsantrasyon farkını artırır ve bu nedenle aktif madde salınım hızını hızlandırır.

Araştırmamızda, elde edilen kriyojeller saf su ile yıkama yapıldıktan sonra, pH 6.5 PBS çözeltisi hazırlandı. Florür yükleme miktarının florür iyonu salınımına etkisini incelediğimiz deneylerde tamamen plastik kaplarda 40 ml olacak şekilde pH 6.5 çözeltisinde NaF ile farklı derişimlerde 0,3 mg/ml, 0,6mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml, 4mg/ml NaF olmak üzere çözeltiler hazırlandı. Böylece florür yükleme oranını 0,3 – 4 mg/ml NaF aralığında değiştirdik. Yükleme yapılmadan önce, öncesini ve sonrasını kıyaslayabilmek ve yüklediğimiz NaF miktarını görebilmek amacıyla, 1:1 TISAB II çözeltisi eklendikten sonra iyonmetrede başlangıç ölçümü alındı. Elde edilen 40 ml farklı derişimdeki çözeltilere her birine kesilmiş olan kriyojellerden 10 adet eklendi. 40 ml farklı derişimlerdeki beş farklı NaF çözelti plastik kaplarda kriyojellere yükleme yapılması amacıyla, 37 °C, 60 rpm, 3 saat boyunca süreç devam ettirildi. 3 saatin sonunda alınan kriyojeller yüklenmiş olarak kabul edildi. Yükleme oranını belirlemek amacıyla yükleme sonunda her derişimden 5 ml alındı. 1:1 TISAB II çözeltisi eklenerek iyonmetrede yüklenmiş florür oranını belirlemek amacıyla final sonucu alındı.

Daha sonra yüklenmiş bu farklı derişimlerdeki kriyojeller farklı kaplarda tüm derişimler her birine 40 mL pH 6.5 PBS eklenerek 37 °C'de ortam koşullarında 150 dakikaya kadar farklı sürelerde 4 mL alınarak 1:1 TISAB II eklendi. İyonmetrede mV olarak ölçümler alındı.

150 dakikanın sonunda salınan florür miktarı ölçüldükten sonra kriyojel 24 saat boyunca 40 mL 1 M NaCl çözeltisi ile desorbsiyon işlemine bırakıldı.

3.7.2. pH Değişiminin Florür Salma Etkisi

Kontrollü salım sistemlerinde, aktif madde salınım hızını etkileyen önemli bir parametre, salım sistemi içinde bulunan polimerin yapısal özellikleridir. Bu özellikler, polimerin moleköl ağırlığı, gözenek dağılımı ve boyutunu içerir. Ancak, aktif madde salınımını belirleyen bir diğer kritik faktör de salınımın gerçekteştiği mikro çevrenin koşullarıdır.

Bu bağlamda, ortam pH seviyesi, kontrollü salım sistemlerinin aktif madde salınımına etki eden önemli bir değişken olarak gözlemlenmektedir. Bu nedenle, bu çalışmada, düşük konsantrasyonda (0,3 mg/ml) sodyum florür (NaF) içeren kriyojel matrislerin beş farklı pH seviyesinde pH 4.0 ve pH 5.0 asetat tamponunda pH 6.5, pH 7.0 ve pH 7.4 fosfat tamponunda olmak üzere (4.0, 5.0, 6.5, 7.0, 7.4) florür salınım miktarları incelenmiştir.

Bu deneylerin temel amacı, ortamın pH seviyesinin sodyum florürün salınım hızına olan etkisini gözlemlemektir. Her bir pH seviyesinde yapılan ölçümler, sodyum florürün çevresel pH değişikliklerine nasıl tepki verdiğini ve bu salımın hangi koşullarda arttığını veya azaldığını belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir.

3.7.3. Ortam Sıcaklığının Florür Salma Etkisi

İlaç salım hızını etkileyen önemli parametrelerden biri de sıcaklıktır. Bu nedenle, sıcaklığın kriyojel membranlardan florür salımına olan etkisini belirlemek amacıyla, üç farklı sıcaklıkta (25 °C, 37 °C, 45 °C) bir dizi deney gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, bu deneyler sırasında iki farklı florür yükleme oranı 2 mg/ml ve 4 mg/ml olan kriyojeller kullanılmıştır. Deneylerin tamamı sabit bir ortam pH'sı (6.5) altında gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmanın temel amacı, farklı sıcaklık koşullarında ve farklı yükleme oranlarıyla kriyojel membranlardan florür iyonlarının salınım hızını belirlemektir. Sıcaklık, kimyasal reaksiyonların hızını etkileyebileceği için ilaç salım hızı üzerinde önemli bir parametre olarak kabul edilmiştir. Ayrıca, farklı yükleme oranları da ilacın miktarını etkileyerek salım hızını değiştirebilir.

Elde edilen sonuçlar, florür salımının sıcaklık ve yükleme oranına bağlı olarak nasıl değiştiğini göstermektedir.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

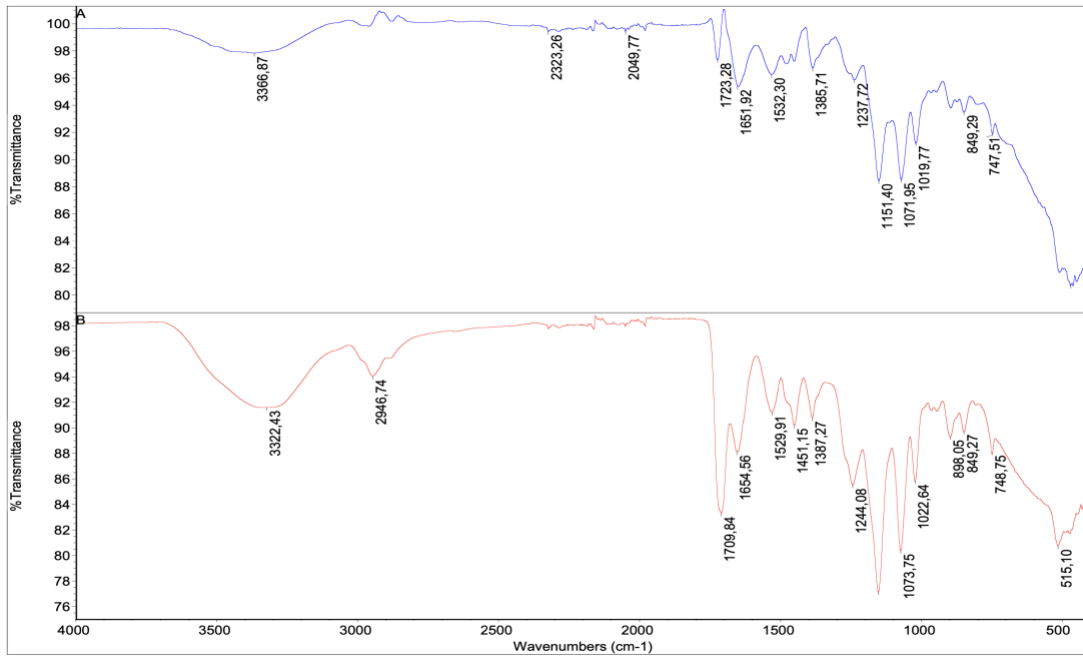
4.1. Florür Baskılanmış P(HEMA-MAGA) Kriyojellerin Sentezi ve Karakterizasyonu

4.1.1 Florür Baskılanmış P(HEMA-MAGA) Kriyojellerin Karakterizasyonu

Florür baskılanmış poli(HEMA-MAGA) kriyojellerin HEMA, MAGA-Florür yüklü ve MAGA-Florür desorbe edilmiş kriyojellerin SEM, FTIR yöntemleri ile karakterize edilmiştir.

4.1.1.1 FTIR ile Yapı Analizi

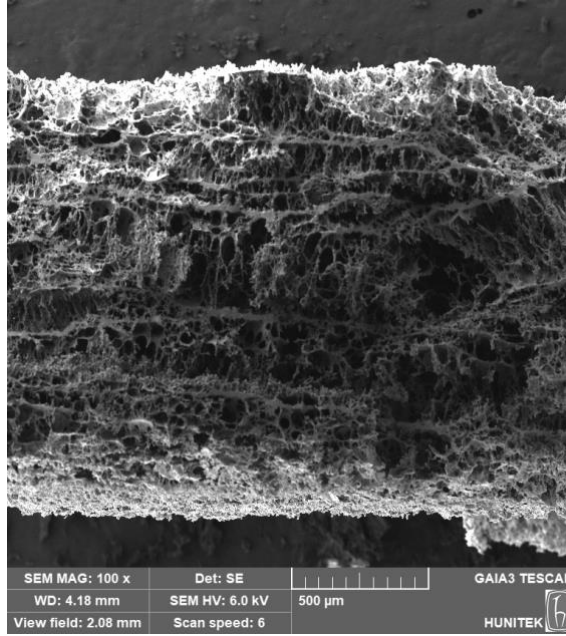
MAGA'nın FTIR spektrumu, Şekil 4.1'de gösterildiği gibi 1631 cm^{-1} ve 1524 cm^{-1} 'de karakteristik germe titreşimi amid I ve amid II absorpsiyon bantlarına ve 1712 cm^{-1} 'de bir karbonil bandına sahiptir. Yaklaşık 2323 cm^{-1} ve 2049 cm^{-1} 'deki iki pik de C-H grupları için karakteristik grup frekanslarıdır ve moleküldeki eğilme titreşimlerinden kaynaklanır. Florür baskılanmış poli(HEMA-MAGA) kriyojel disklerin FTIR spektrumu, sırasıyla 3353 cm^{-1} civarında O-H karakteristik germe titreşim bandı, 1735 cm^{-1} 'de karbonil, 1530 cm^{-1} amid II absorpsiyon bantlarının karakteristik germe titreşim bandına sahiptir.



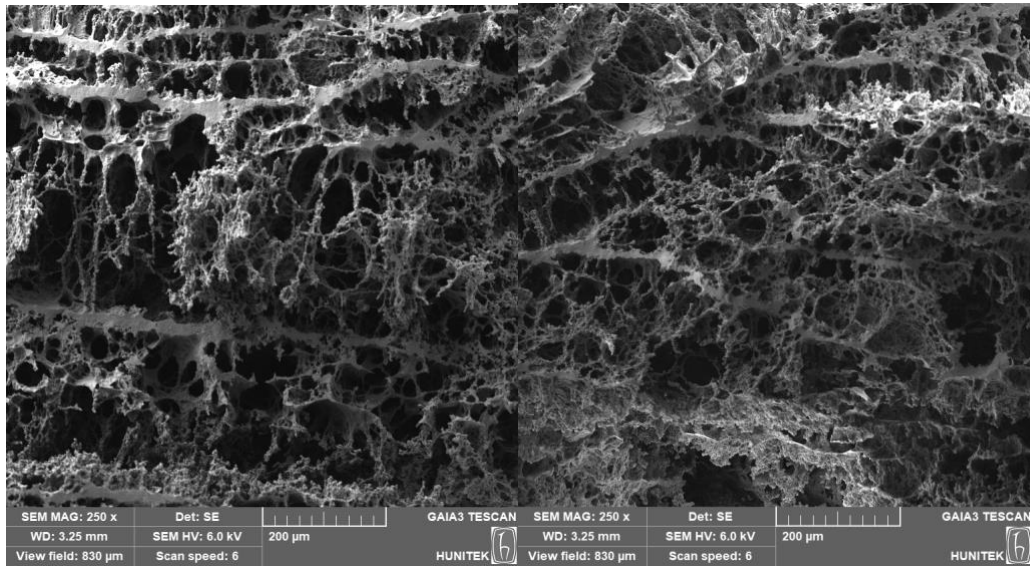
Şekil 4. 1. A: Florür baskılanmış poli(HEMA-MAGA) ve B: poli(HEMA) kriyojel disklerin FTIR spektrumları

4.1.1.2. SEM Görüntüleme

Şekil 4.2’de görüldüğü üzere poli(HEMA-MAGA) kriyojel disklerin SEM görüntüleri aşağıda verilmiştir. Kriyoller arasındaki bağlantı süpermakrogözenekli bir yapıya sahip olup florür salımı gerçekleştirilebilmektedir. Elde SEM görüntülerine göre kriyojel disklerin yeterli ölçekte gözeneklere sahip ve florür salımı için engel teşkil etmediğini göstermektedir.



A



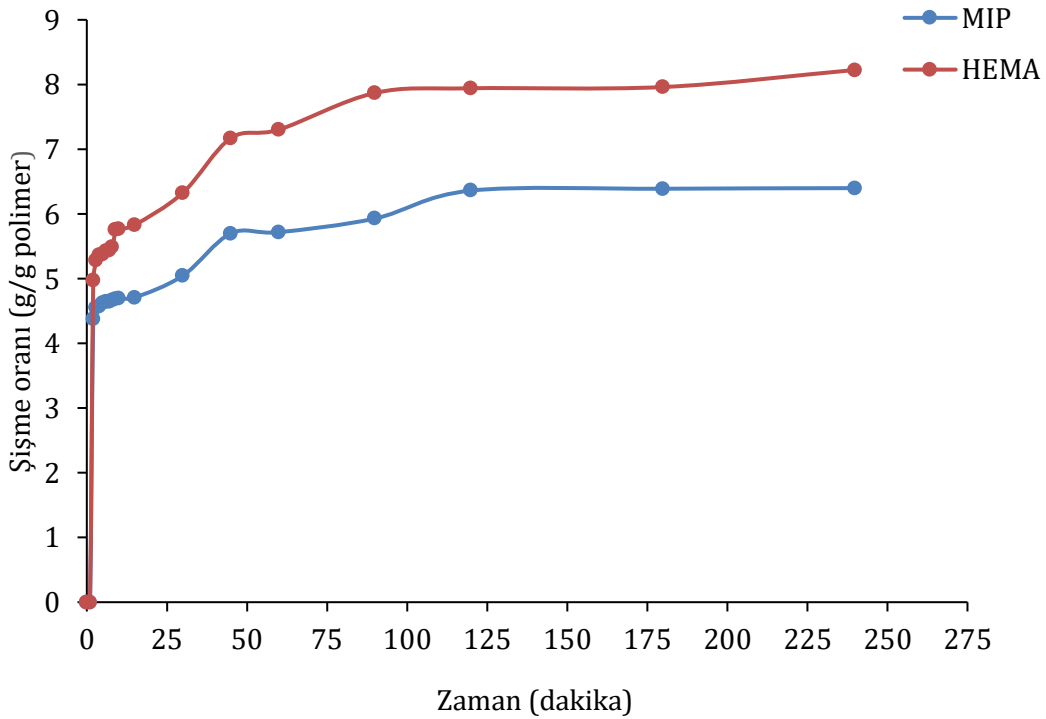
B

C

Şekil 4. 2. Florür baskılanmış poli(HEMA-MAGA) kriyojel disklerin SEM görüntüleri.

4.1.1.3. Şişme Testi

Bu tez çalışmasında, hazırlanan poli(HEMA) ve florür baskılanmış poli(HEMA-MAGA) kriyojellerin denge şişme oranları sırasıyla % 81 ve % 60 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.3). Ayrıca, makrogözenek oranları sırasıyla % 80 ve % 81 olarak ölçülmüştür. Poli(HEMA) kriyojellerle karşılaştırıldığında, MAGA'nın yapısına dahil edilmesiyle her iki senaryoda da, denge şişme oranının azaldığı gözlemlenmiştir. Kriyojeller karşılaştırıldığında, baskılama işleminin kriyojellerin şişme oranını artırdığı gözlemlenmiştir.

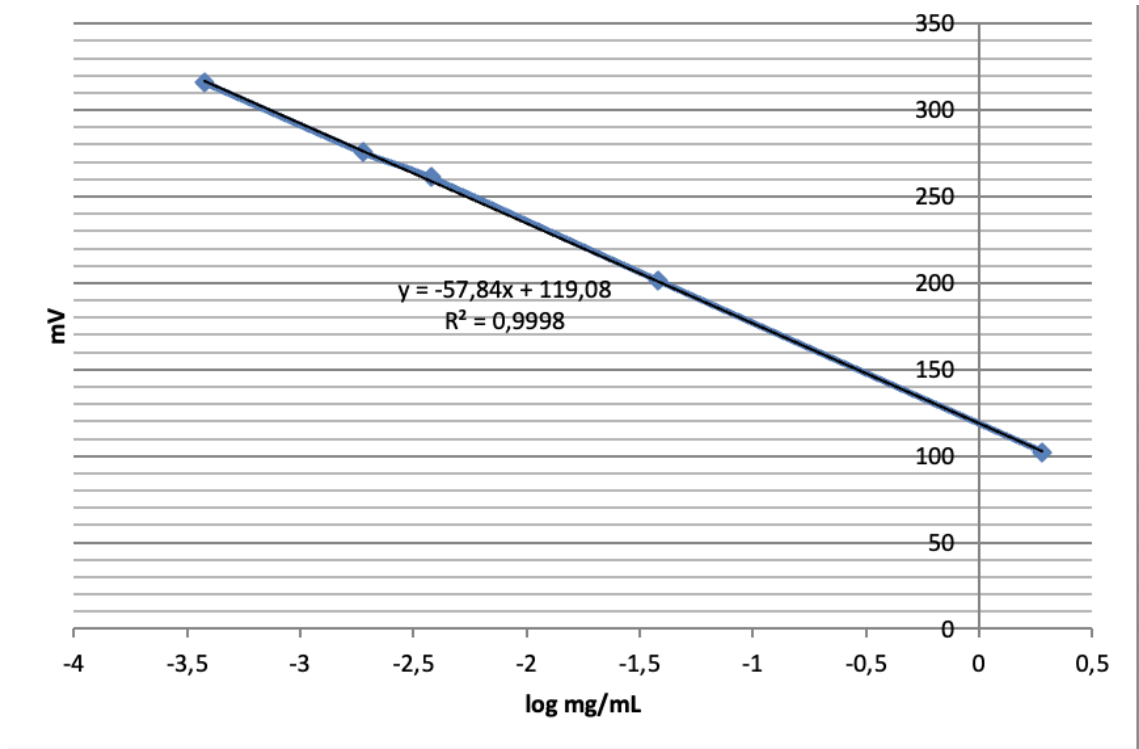


Şekil 4. 3. Poli(HEMA) ve florür baskılanmış poli(HEMA-MAGA) kriyojellerin şişme oranları

4.2. İn-vitro Salım Çalışmaları ve Sonuçları

Florür salınımını incelemek amacıyla farklı parametrelerle florür baskılanmış kriyojeller için farklı yükleme oranı, pH ve sıcaklıklarda florür salımı incelenmiştir. Florürü incelemek amacıyla 10^{-1} - 2×10^{-6} M altı farklı NaF çözeltisi ile her ölçümde (1:1) TISAB II çözeltisi kullanılarak elimizde bulunan iyonmetrenin kalibrasyonu yapılmıştır. Florüre özgü elektrot, iyonmetre ve gümüş klorür referans elektrotu kullanılarak elde edilen değerlere göre polimerik standart kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur.

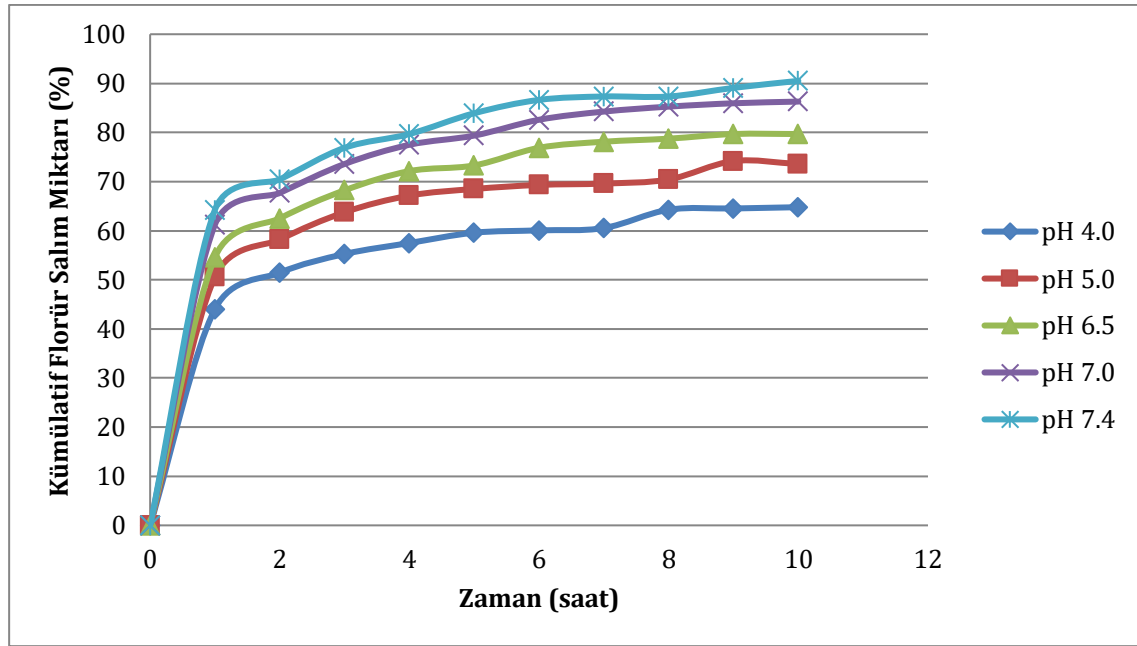
Her ölçüm için altı tekrar yapıldı ve mV-ppm cinsinden kalibrasyon eğrisi elde edildi.



Şekil 4. 4. Florürün mV cinsinden kalibrasyon grafiği

4.2.2. pH Değişiminin Salıma Etkisi

Bu etki gözlemek amacıyla, salınan ilaç miktarı ve salım hızı üzerindeki etkisini değerlendirebilmek amacıyla, florür baskılanmış poli(HEMA-MAGA) kriyojellerin florür salımı üzerine pH seviyesinin etkisi incelenmiştir. Florür yükleme ve salımı için dört farklı pH aralığında değerlendirilmiştir (pH 4.0, 5.0, 6.5, 7.0, 7.4). MIP kriyojellerle maksimum florür salımı pH 6.5 fosfat tamponunda elde edilmiş ve bu pH değeri, maksimum salımın gözlendiği polimerik ortam olarak tespit edilmiştir. Bu durum, moleküler baskılama işlemi için kalıp molekül olan florür ile komonomer olan MAGA:Ca²⁺ arasında nötral pH'da gerçekleşen önceden kompleksleşmenin sonucudur. Florür molekülleri, bu belirli pH seviyesindeki moleküler konformasyonları sayesinde florür baskılanmış poli(HEMA-MAGA) kriyojeller tarafından daha iyi tanınmakta ve daha iyi bir salım sergilemektedir. Bu veriler temelinde, çalışma ortamı olarak pH 6.5 fosfat tamponunun seçilmesine karar verilmiştir.



Şekil 4. 5. Farklı pH'ların florür salıma etkisi

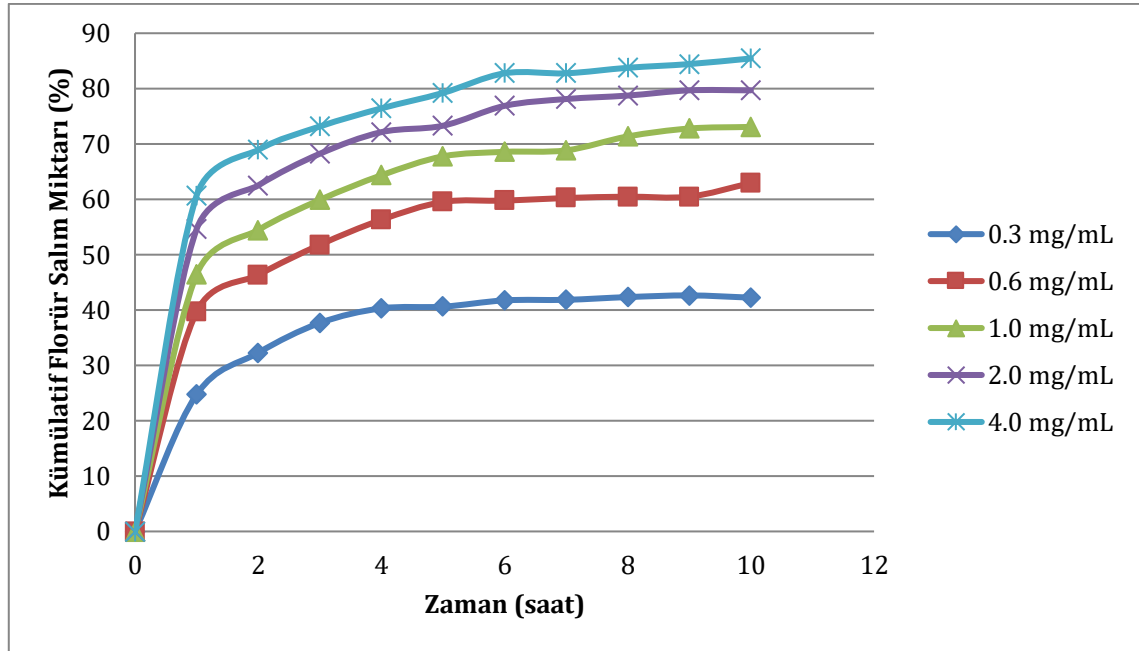
4.2.3. Florür Yükleme Oranının Salıma Etkisi

İlaç salım hızını etkileyen kritik faktörlerden biri, kriyojel matrislere başlangıçta yüklenen florür miktarıdır. Kriyojellerden florürün salım hızı incelendi ve ilacın başlangıçta sisteme yüklenen miktarının bu salım hızını nasıl etkilendiği araştırıldı. Florür derişimi incelemek amacıyla kriyojellere beş farklı derişimde (0,3 mg/mL, 0,6 mg/mL, 1,0 mg/mL,

2,0 mg/mL, 4,0 mg/mL) yükleme yapılmıştır. Salımın pH'ı (pH 6.5 PBS) ve ortam sıcaklığı (T=37 °C) sabit tutulmuştur.

Bu incelemeler neticesinde, kriyojellerden florür salım hızının, başlangıçta sisteme yüklenen ilaç miktarı tarafından nasıl etkilendiğini incelenmiş ve sonuçlar, florürün kriyojellerden salım hızının arttığını göstermiştir, bu da florür yükleme miktarının artmasıyla ilişkilendirilmiştir. Polimer sistemindeki ilaç miktarının artışı, florürün kriyojellerden difüzyon hızının artmasına katkıda bulunur. Başka bir deyişle, daha fazla florür yüklendiğinde, ilaç molekülleri polimer matris içindeki hareketliliklerini artırır ve bu da florürün daha hızlı bir şekilde kriyojellerden salınmasına neden olur.

Bu sonuçlar, ilaç taşıyıcı sistemlerin tasarımında ve ilaç salım hızının kontrolünde ilaç yükleme miktarının kritik bir faktör olduğunu vurgular. Ayrıca, ilaç yükleme miktarının salım kinetiği üzerindeki etkisi, ilaç taşıyıcı sistemlerin optimize edilmesi ve ilaç salımının istenilen şekilde düzenlenmesi için önemli bir parametre olarak düşünülmelidir.



Şekil 4. 6. Farklı derişimlerde yüklenen florür miktarının florür salıma etkisi

4.2.4. Ortam Sıcaklığının Florür Salıma Etkisi

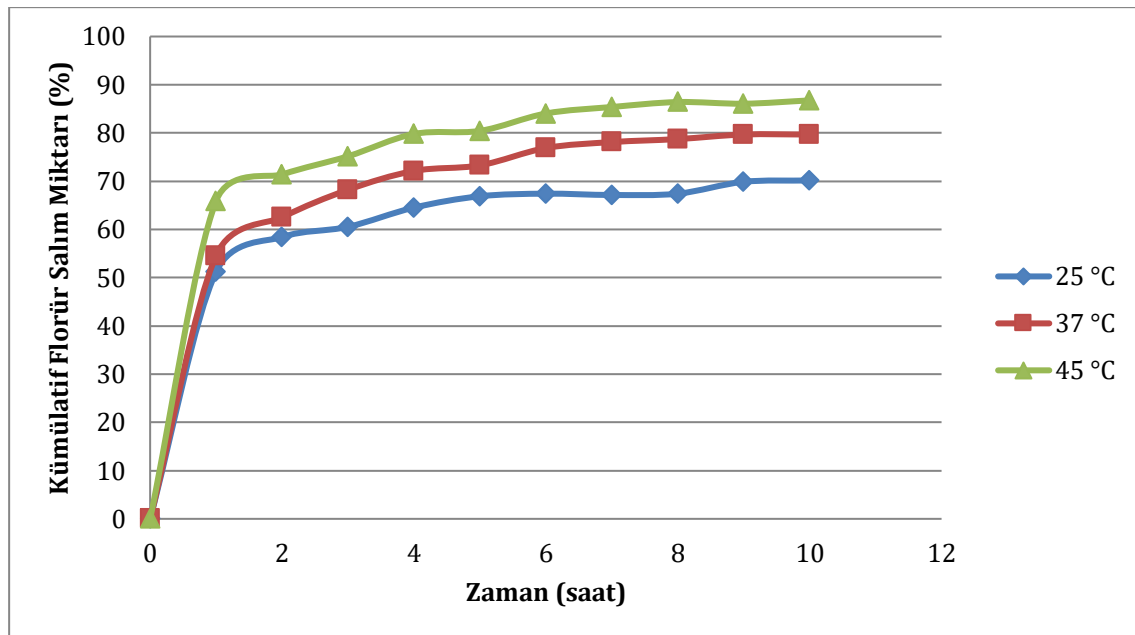
Bu inceleme bağlamında, salım kinetiğinin incelenmesi sırasında dikkate alınan bir diğer önemli parametre, florür salımının sıcaklıkla ilişkisidir. Bu çalışma, sıcaklık etisi hakkında daha fazla yorum yapabilmek için iki farklı (1,0 mg/mL ve 4,0 mg/mL)

konsantrasyonda yüklenmiş NaF ve poli(HEMA-MAGA) kriyojellerden üç farklı (25 °C, 37 °C ve 45 °C) sıcaklıkta salınım davranışlarına tabi tutulmuştur.

İncelemeler yapıldığında, her iki derişim için de gerçerli olmak üzere dört farklı sıcaklıktaki florür salımı arasındaki belirgin farklılığın özellikle ilk dakikalarda ortaya çıktığı gözlemlenmektedir. Bu fark, başlangıçta florür yüklenmiş polimer matris içinde iki farklı mekanizma tarafından etkilenmektedir. Birincisi, polimerizasyon sırasında moleküler baskılama sürecine katılmayan, dolayısıyla daha serbest olan belirli bir orandaki florür molekülleridir. Bu moleküller, daha yüksek sıcaklıklarda daha hızlı bir şekilde difüzyon yapabilirler, bu nedenle ilk dakikalarda sıcaklıkla ilişkili salım hızı farkı daha belirgin olabilir.

Ancak, ilerleyen dakikalarda sıcaklık farkının azalmasının nedeni olarak, metal-şelat etkileşiminin daha düşük sıcaklıkta daha az etkilenmiş olma olasılığı gösterilebilir. Metal-şelat etkileşimi, florür moleküllerinin polimer matristen serbest bırakılma hızını düzenleyen önemli bir faktördür. İlk dakikalarda bu etkileşim, daha fazla serbest bırakılan florür molekülleri tarafından daha belirgin bir şekilde deneyimlenirken, zamanla bu etki azalır ve sıcaklığın etkisi daha az belirgin hale gelir.

Bu tür analizler, ilaç salım mekanizmalarını anlamak ve ilaç taşıyıcı sistemlerin tasarımını iyileştirmek için önemlidir. Sonuçlar, ilaç taşıyıcı sistemlerin optimize edilmesine ve ilaçların kontrol edilmiş bir şekilde salınmasına katkı sağlayabilir.



Şekil 4. 7. Farklı ortam sıcaklıklarının florür salıma etkisi

4.3. Florür Salım Kinetiklerinin İncelenmesi

0.3, 0.6, 1.0, 2.0, 4.0 mg/ml derişim seviyelerinde gerçekleşen in vitro ilaç salım kinetiği, sıfırcı derece, birinci derece ve Higuchi modelleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Bu analizler, ilacın salım davranışının incelenmesi ve karakterize edilmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu analiz verileri ile ilgili olarak salım kinetiklerine ait grafikler elde edilmiştir (Şekil 4.8-4.12). İlgili ilaç salım kinetik modellerinin matematiksel denklemleri aşağıda sunulmuştur. Bu eşitlikler, ilaçların farklı salım kinetiği davranışlarını tanımlamak ve analiz etmek için kullanılan temel matematiksel ifadelerdir.

$$Q^t = Q^0 + k_0t$$

Sıfırcı Derece Salım Kinetik Modeli,

$$Q = A\sqrt{D(2C - C_s)}C_s t$$

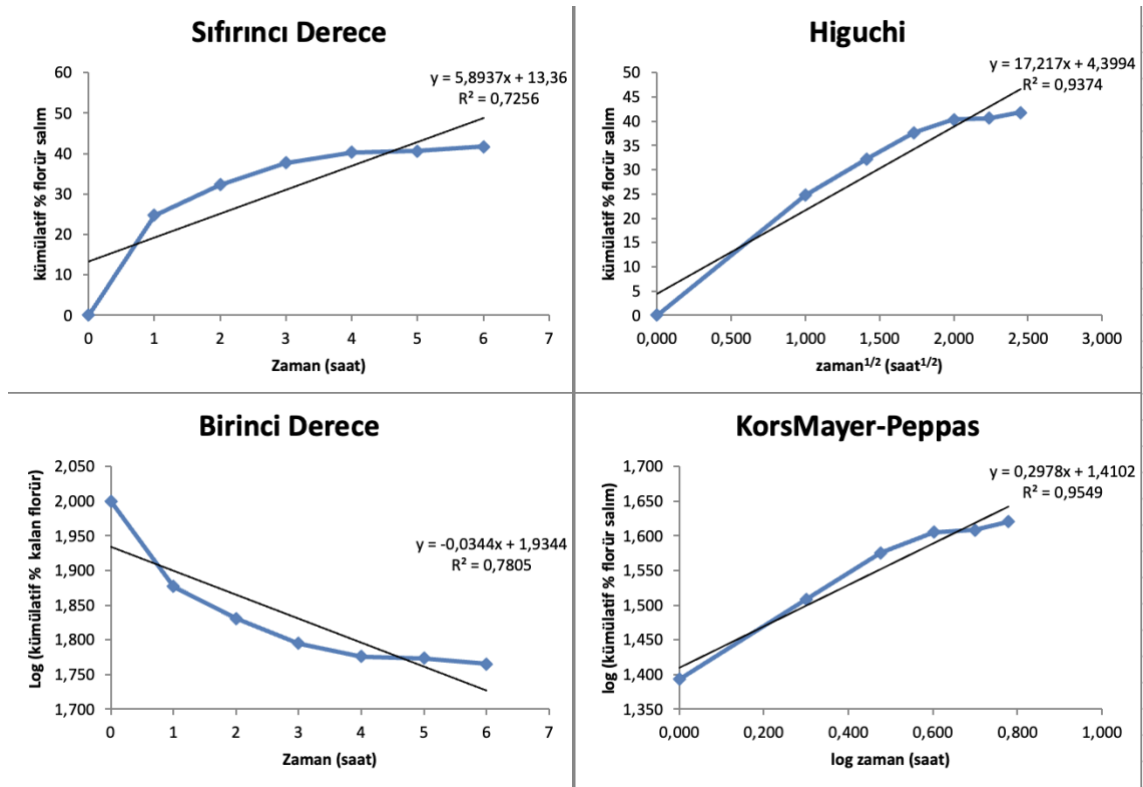
Higuchi Salım Kinetik Modeli,

$$\ln Q_t = \ln Q_t + k_1t$$

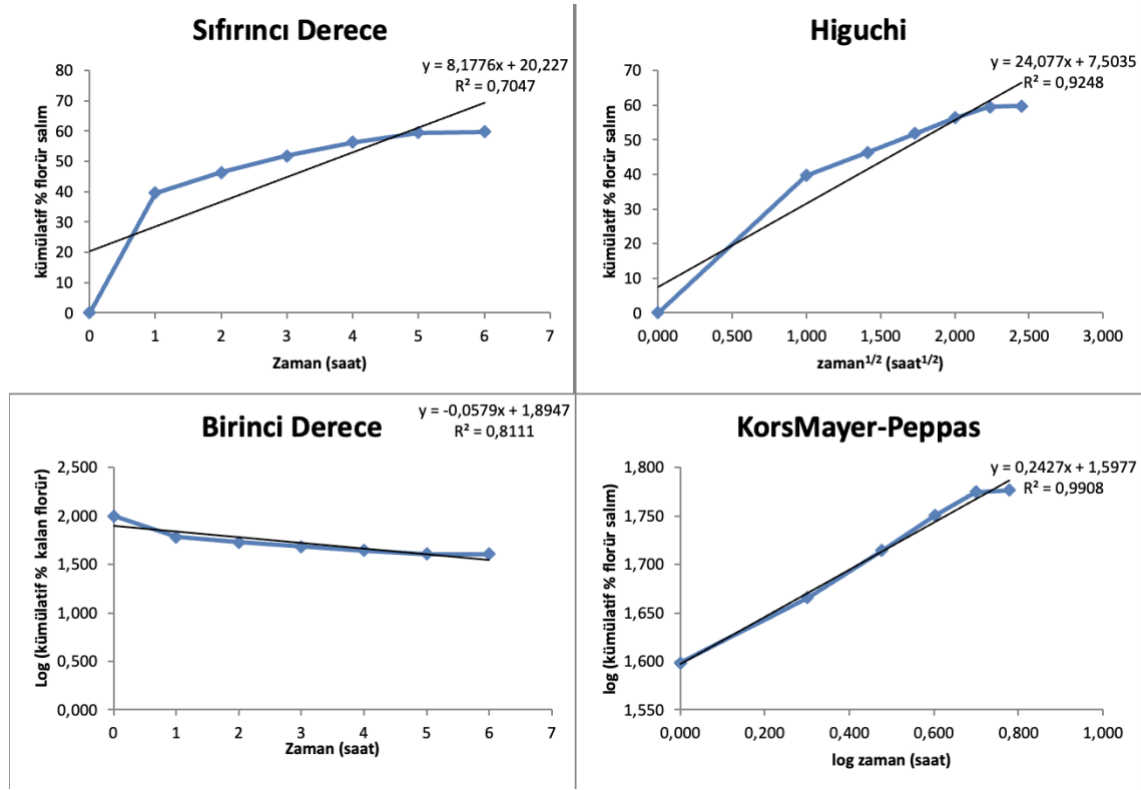
Birinci Derece Salım Kinetik Modeli,

$$M_t/M_\infty = k_m t^n$$

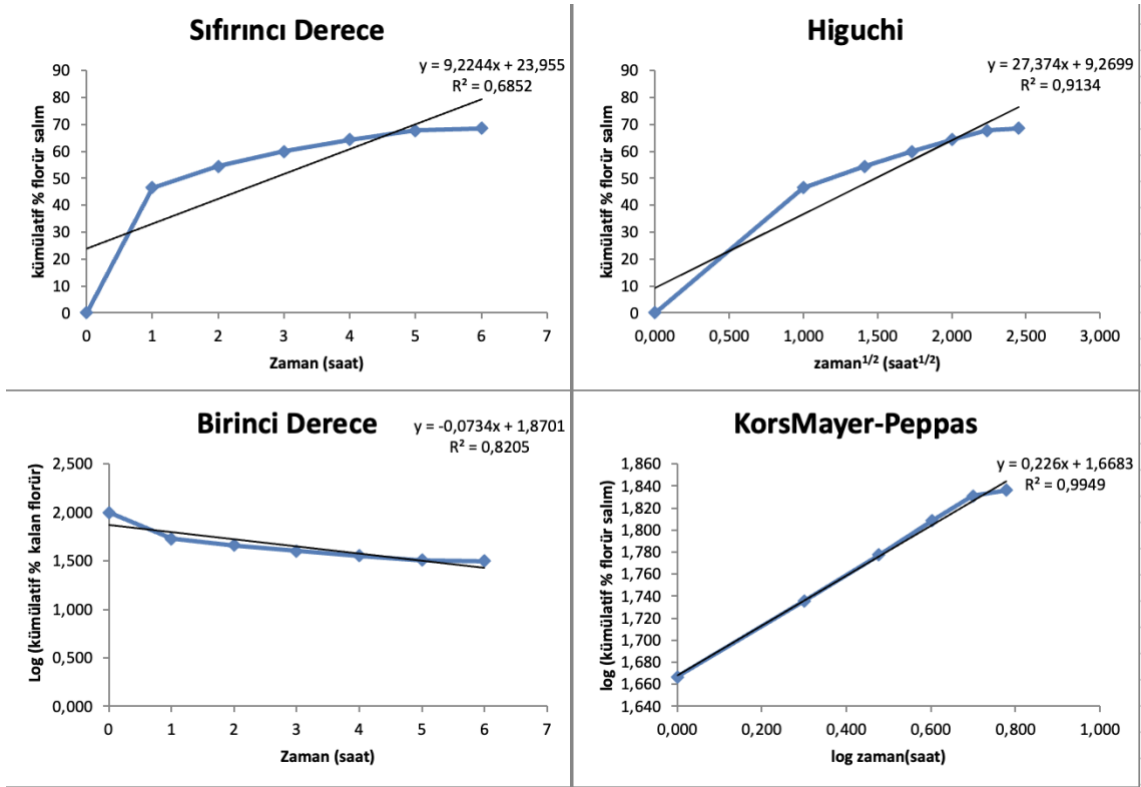
Korsmayer-Peppas Salım Kinetik Modeli



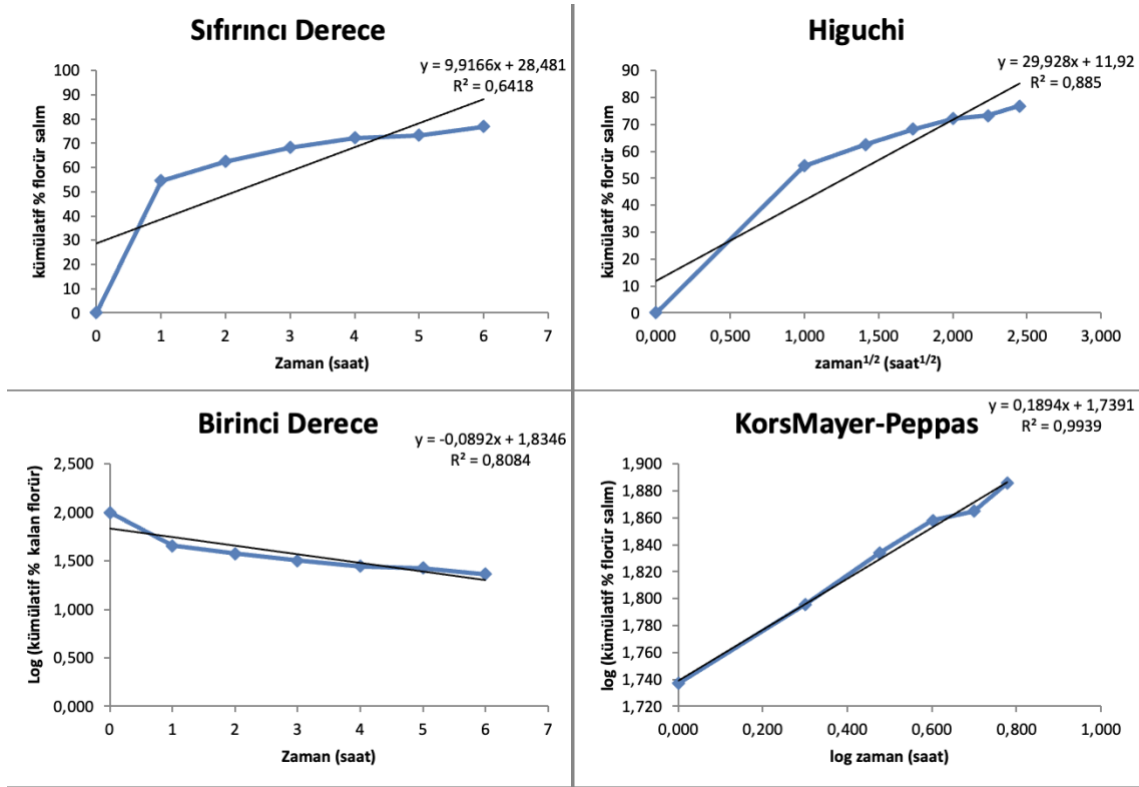
Şekil 4. 8. Florür salım kinetik grafikleri (Derişim: 0.3 mg/mL)



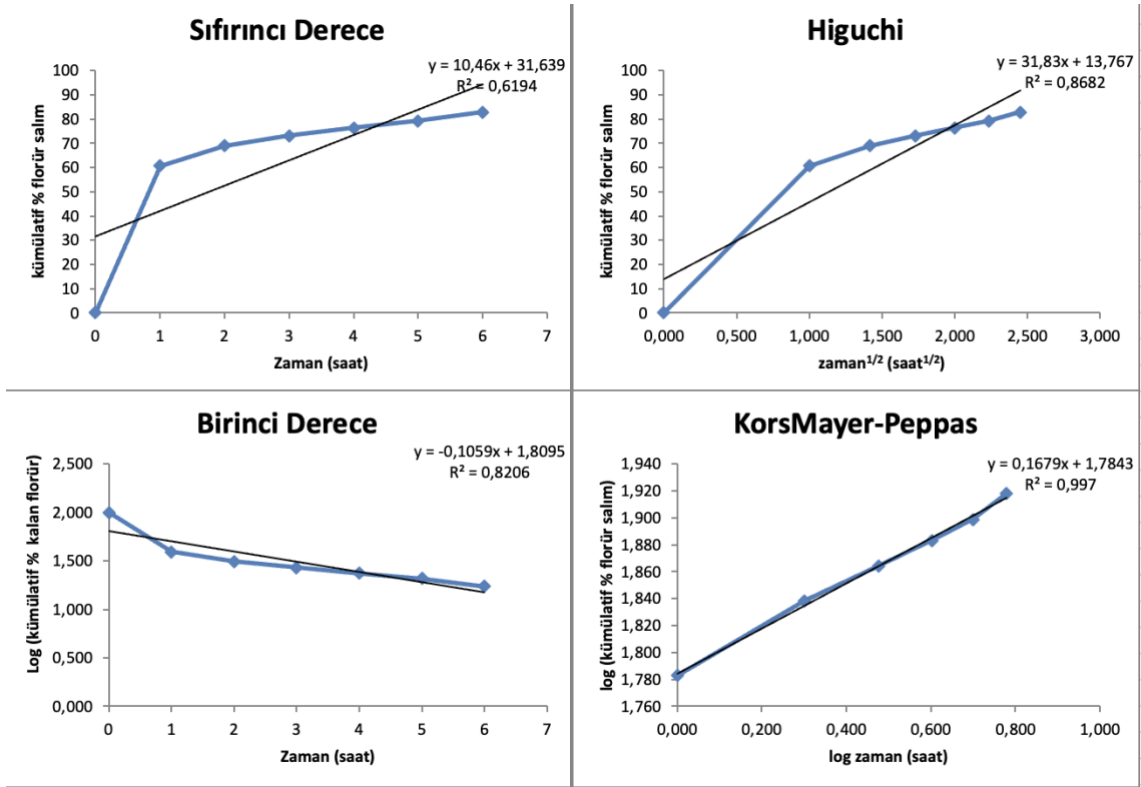
Şekil 4. 9. Florür salım kinetik grafikleri (Derişim: 0.6 mg/mL)



Şekil 4. 10. Florür salım kinetik grafikleri (Derişim 1.0 mg/mL)



Şekil 4. 11. Florür salım kinetik grafikleri (Derişim: 2.0 mg/mL)



Şekil 4. 12. Florür salım kinetik grafikleri (Derişim 4.0 mg/mL)

Beş farklı derişim seviyesi için gerçekteştirilen araştımların sonuçları , her bir kinetik model için hesaplanan R² değerleri Çizelge 4.1’ de sunulmaktadır.

Çizelge 4. 1. Florür salım kinetikleri analiz sonuçları.

Derişim	KorsMayer		Higuchi R ²	Sıfıncı Derece R ²	Birinci Derece R ²
	n	R ²			
0.3 mg/mL	0.298	0.955	0.937	0.726	0.781
0.6 mg/mL	0.243	0.990	0.925	0.705	0.811
1.0 mg/mL	0.226	0.995	0.913	0.685	0.821
2.0 mg/mL	0.189	0.994	0.885	0.642	0.808
4.0 mg/mL	0.168	0.997	0.868	0.619	0.821

Çizelge 4. 2.’de kriyojel diskler için Korsmayer-Peppas denkleminde bulunan “n” değerlerine dayalı hangi salım mekanizmalarına uygun olduğu belirtilmiştir.

Çizelge 4. 2. Kriyojel diskler için Korsmayer-Peppas denkleminde bulunan n değerine göre salım mekanizmaları

İlaç Salım Mekanizması	Cisim Geometrisi	Salım Kuvveti (n)	n’ in zamana karşı fonksiyonu
Fickian Difüzyonu	Disk	$n \leq 0.5$	$t^{0.5}$
Fickian Olmayan Difüzyon	Disk	$0.43 < n < 0.85$	$t^{0.43 < n < 0.85}$
Durum I	Disk	0.85	$t^{0.85}$
Süper Durum II	Disk	$n > 0.85$	$t^{n > 0.85}$

Çizelge 4.1.' de üretilen kriyojel diskler için florür salım katsayılarına (n) ait sayısal veriler elde edilmiştir. Bu çizelgeye göre, yüklenen florür miktarı (0.3, 0.6, 1.0, 2.0, 4.0 mg/mL) için n değerleri sırası ile 0.298, 0.243, 0.226, 0.189, 0.168 olarak verilmiştir. Çizelge 4.2 incelendiğinde, florürün yüklenen derişim aralığı durumunda, salınım mekanizmasının "Fickian difüzyon" salınım davranışı sergilediği anlaşılmaktadır. Salım kinetik modellerine ait Çizelge 4.1' de verilen regresyon katsayıları (R^2) karşılaştırıldığında, yüklenmiş olan florür salım kinetiğinin daha fazla Korsmayer-Peppas salım kinetik modeline uygulanabilir olduğu sonucuna varılabilir. Yüklenen florür derişimi arttıkça R^2 değerlerindeki Korsmayer-Peppas modelinde yükselme gözlenmektedir. Böylece yüklenen florür miktarının artması ile ilaç miktarının salınımının artacağını ifade eden bir matematiksel ifade ile bu durum desteklenmiştir.

Korsmayer-Peppas modelinin diğer modellere göre destekleyici olmasının nedeni kriyojel disklerden her yönden difüzyon olduğunu göstermektedir. Tüm bunlara ek olarak disklerin şişme özelliği gösterdiği kanıtlanmıştır. Sonuç olarak, tüm kinetik modellere uygun davranış sergilemesi, üretilen kriyojel disklerin kontrollü florür salımının başarılı bir şekilde gerçekleştirildiğini gösteren bir kanıt sunmaktadır.

5. YORUM

Sunulmuş olan bu tez çalışmasında, florürün salımı için kullanılmak üzere sodyum florür yüklü kriyojel diskler üretilmiştir. Bu hedefi başarmak amacıyla; tez çalışmasının sonuçları, aşağıda özetlenen şekilde tespit edilmiştir.

- MAGA'nın monomeri sentezinin ardından sodyum florür ile sentezlenmiştir. Elde edilen kompleksin FTIR spektrumu, 1631 cm^{-1} ve 1524 cm^{-1} 'de karakteristik germe titreşimi amid I ve amid II absorpsiyon bantlarına ve 1712 cm^{-1} 'de bir karbonil bandına sahiptir. Yaklaşık 2323 cm^{-1} ve 2049 cm^{-1} 'deki iki pik de C-H grupları için karakteristik grup frekanslarıdır ve moleküldeki eğilme titreşimlerinden kaynaklanır. Florür baskılanmış poli(HEMA-MAGA) kriyojel disklerin FTIR spektrumu, sırasıyla 3353 cm^{-1} civarında O-H karakteristik germe titreşim bandı, 1735 cm^{-1} 'de karbonil, 1530 cm^{-1} amid II absorpsiyon bantlarının karakteristik germe titreşim bandına sahiptir. monomeri sentezlenmiş ve Ca^{+2} aracılığıyla kompleks oluşturulmuştur. Elde edilen spektrum sonuçlarına göre monomerin kompleks ile başarıyla sentezlendiği göstermektedir.
- Poli(HEMA) ve florür baskılanmış poli(HEMA-MAGA) sistemlerinin oluşturulması için, düşük sıcaklıklarda polimerizasyon işlemi (kriyopolimerizasyon) uygulanmıştır. Bu yöntem sayesinde, çeşitli kriyojel diskler başarıyla hazırlanmıştır.
- Hazırlanan kriyojel disklerin suda hızla şişerek son hallerine ulaştığını gözlemlemiştir. Monomer kompleksinin eklenmesiyle disklerin daha sert bir dokuya sahip olduğu sonucunu doğurmaktadır. Ayrıca, kopolimerlerin şişme oranlarının poli(HEMA) kriyojellerine göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir.
- Poli(HEMA) ve florür baskılanmış poli(HEMA-MAGA) kriyojel disklerin iç yapısal özellikleri ve yüzey morfolojisi, karakterizasyon amacıyla taramalı elektron mikroskopu (SEM) kullanılarak analiz edilmiştir. SEM görüntülerinin analizi sonucunda, florürün polimer matris içinde homojen bir biçimde yayıldığı ve yeterince büyük gözeneklere sahip olan kriyojel disklerin florür salımının engellenmeden gerçekleşebileceği gözlenmiştir.
- Kriyojel diskler üzerinde yapılan araştırmada, ilaçların ortama salınma hızı, çeşitli faktörlerin etkisi altında olduğu gözlemlenmiştir. Bu faktörler arasında ortamın pH değeri, sıcaklık, ilacın disk içine yüklenen miktarı ve ilaç ile polimer

arasındaki etkileşimler bulunmaktadır. Ortamın pH değerinin, florürün salınım hızı ile açığa çıkan florür miktarı üzerindeki etkileri incelemek üzere yapılan analiz, bu parametrelerin etkilerini anlama amacıyla, florür içeren poli(HEMA-MAGA) kriyojel diskler kullanılarak farklı pH değerlerinde (4.0, 5.0, 6.5, 7.0 ve 7.4) ilaç salınımı incelenmiştir. Bu sonuçlar, ortamdaki proton miktarına bağlı olarak metal-ligand etkileşimlerinin değiştiği, bir Lewis asit-baz etkileşimi olduğunu göstermektedir.

- Araştırmamızda, ortamın florür salınımına etkisini değerlendirmek için sıcaklık da incelenmiştir. Bu amaçla, 37 °C ve farklı sıcaklıklarda florür salınım davranışları gözlemlenmiştir. Florür salınımının başlangıcında sıcaklığın etkisi gözlenirken, ilerleyen sürede bu etki minimuma inmiştir. Polimer içindeki florür yüklemesi miktarı arttıkça salınım hızı da artmıştır. Polimer matristeki florür miktarının artışı, florürün kriyojel diskten difüzyon işlemi için gereken sürücü gücünün, yani derişim farkının artmasına yol açmıştır. Derişim farkının yükselmesi, salınım hızında bir yükselmesine yol açmıştır. Poli(HEMA) ve poli(HEMA-MAGA) kriyojel disklerindeki salınım hızını karşılaştırdığımızda, poli(HEMA) disklerinden florür salınımının çok daha hızlı olduğunu görmekteyiz. Bu durum, florür ile destek malzemesi arasındaki tercih edilen etkileşimlere dayanmaktadır. Poli(HEMA-MAGA) kriyojel disklerine florür yüklendiğinde, florür metal şelat kompleksi olarak yüklenirken, poli(HEMA) kriyojel disklerine florür yüklendiğinde, florür doğrudan polimer oluşum sürecinden hemen önce, monomer karışımına eklenir.
- Güç yasasına göre, "n" üssünün 0.5'ten daha küçük olduğu bulunmuştur. Bu sonuç, hazırlanan kriyojel disklerin florür salınım mekanizmasının Fickian Difüzyonu olduğunu göstermektedir. Bu, florürün sadece basit bir difüzyon süreciyle değil, daha karmaşık bir şekilde salındığını işaret eder. Kriyojel diskler rezervuara yerleştirildiğinde, başlangıçta yüksek bir hızda florür salınımı görülmüş, bu hız burst etkisi olarak adlandırılmıştır. Ardından, zamanla bu hız azalmış ve daha düşük hızlarda florür salınımı gerçekleşmiştir. Takip eden saatlerde, disklerden salınan florür miktarı sabit kalmış, yani florür salınımı tamamlanmıştır. Bu sonuçlar, florürün kriyojel disklerden tamamen salındığını ve dengelendiğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- [1] K. Çetin, F. Denizli, H. Yavuz, D. TÜRKMEN, T. QURESHİ, A. Denizli, Magnetic nanoparticles and their biomedical applications, *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry* 47(2) (2019) 143-152.
- [2] P. Kosior, M. Dobrzyński, M. Korczyński, K. Herman, A. Czajczyńska-Waszkiewicz, M. Kowalczyk-Zajac, D. Piesiak-Pańczyszyn, K. Fita, M. Janeczek, Long-term release of fluoride from fissure sealants—In vitro study, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 41 (2017) 107-110.
- [3] H. Margolis, E. Moreno, Physicochemical perspectives on the cariostatic mechanisms of systemic and topical fluorides, *Journal of dental research* 69(2_suppl) (1990) 606-613.
- [4] J. Ten Cate, C. Van Loveren, Fluoride mechanisms, *Dental Clinics of North America* 43(4) (1999) 713-742.
- [5] G. Ertürk, N. Bereli, P.W. Ramteke, A. Denizli, Molecularly imprinted supermacroporous cryogels for myoglobin recognition, *Applied biochemistry and biotechnology* 173 (2014) 1250-1262.
- [6] K. İlker, N. Bereli, G. Baydemir, I.Y. GALAEV, A. Denizli, Synthesis and Characterization of Macroporous Poly Acrylamide-Methacrylamido Histidine Cryogels and Their Use in Antibody Purification, *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry* 36(1) (2008) 61-76.
- [7] V.I. Lozinsky, I.Y. Galaev, F.M. Plieva, I.N. Savina, H. Jungvid, B. Mattiasson, Polymeric cryogels as promising materials of biotechnological interest, *TRENDS in Biotechnology* 21(10) (2003) 445-451.
- [8] N. Bereli, M. Andaç, G. Baydemir, R. Say, I.Y. Galaev, A. Denizli, Protein recognition via ion-coordinated molecularly imprinted supermacroporous cryogels, *Journal of Chromatography A* 1190(1-2) (2008) 18-26.
- [9] S.J. Kashyap, R. Sankannavar, G. Madhu, Fluoride sources, toxicity and fluorosis management techniques—A brief review, *Journal of Hazardous Materials Letters* 2 (2021) 100033.
- [10] H.G. Seiler, H. Sigel, A. Sigel, *Handbook on toxicity of inorganic compounds*, (1988).
- [11] J. Zhang, D. Sardana, K. Li, K. Leung, E. Lo, Topical fluoride to prevent root caries: systematic review with network meta-analysis, *Journal of dental research* 99(5) (2020) 506-513.
- [12] M. Skórka-Majewicz, M. Goschorska, W. Żwieręto, I. Baranowska-Bosiacka, D. Styburski, P. Kapczuk, I. Gutowska, Effect of fluoride on endocrine tissues and their secretory functions--review, *Chemosphere* 260 (2020) 127565.
- [13] J. Caverzasio, G. Palmer, J.-P. Bonjour, Fluoride: mode of action, *Bone* 22(6) (1998) 585-589.
- [14] D. Sharma, A. Singh, K. Verma, S. Paliwal, S. Sharma, J. Dwivedi, Fluoride: A review of pre-clinical and clinical studies, *Environ Toxicol Pharmacol* 56 (2017) 297-313.

- [15] S.S. Li, R.R. Breaker, Fluoride enhances the activity of fungicides that destabilize cell membranes, *Bioorg Med Chem Lett* 22(9) (2012) 3317-3322.
- [16] S. Burmaoglu, O. Algul, A. Gobek, D. Aktas Anil, M. Ulger, B.G. Erturk, E. Kaplan, A. Dogen, G. Aslan, Design of potent fluoro-substituted chalcones as antimicrobial agents, *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry* 32(1) (2017) 490-495.
- [17] O. Garrido-Acosta, S.E. Meza-Toledo, L. Anguiano-Robledo, M.A. Soriano-Ursua, J. Correa-Basurto, A. Davood, G. Chamorro-Cevallos, Anticonvulsant and Toxicological Evaluation of Parafluorinated/Chlorinated Derivatives of 3-Hydroxy-3-ethyl-3-phenylpropionamide, *Biomed Res Int* 2016 (2016) 3978010.
- [18] S. Dugar, N. Yumibe, J.W. Clader, M. Vizziano, K. Huie, M. Van Heek, D.S. Compton, H.R. Davis Jr, Metabolism and structure activity data based drug design: discovery of (-) SCH 53079 an analog of the potent cholesterol absorption inhibitor (-) SCH 48461, *Bioorg Med Chem Lett* 6(11) (1996) 1271-1274.
- [19] B.K. Park, N.R. Kitteringham, P.M. O'Neill, Metabolism of fluorine-containing drugs, *Annual review of pharmacology and toxicology* 41(1) (2001) 443-470.
- [20] J. Aaseth, M. Shimshi, J.L. Gabilove, G.S. Birketvedt, Fluoride: a toxic or therapeutic agent in the treatment of osteoporosis?, *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine: The Official Publication of the International Society for Trace Element Research in Humans* 17(2) (2004) 83-92.
- [21] D. Hunter, The diseases of occupations, *Occupational Medicine* 56(8) (2006) 520-520.
- [22] S. Duursma, J. Raymakers, Fluoride treatment: a good choice in osteoporosis, *Nederlands tijdschrift voor geneeskunde* 142(34) (1998) 1915-1919.
- [23] C.Y. Pak, K. Sakhaee, C.D. Rubin, J.E. Zerwekh, Sustained-release sodium fluoride in the management of established postmenopausal osteoporosis, *The American journal of the medical sciences* 313(1) (1997) 23-32.
- [24] J. Ringe, P. Meunier, What is the future for fluoride in the treatment of osteoporosis?, Springer, 1995, pp. 71-74.
- [25] C.Y. Pak, J.E. Zerwekh, P. Antich, Anabolic effects of fluoride on bone, *Trends in Endocrinology & Metabolism* 6(7) (1995) 229-234.
- [26] W.F. Lems, J.W. Jacobs, J.W. Bijlsma, G.J. van Veen, H.H. Houben, H.C. Haanen, M.I. Gerrits, H.J. van Rijn, Is addition of sodium fluoride to cyclical etidronate beneficial in the treatment of corticosteroid induced osteoporosis?, *Annals of the rheumatic diseases* 56(6) (1997) 357-363.
- [27] P. Alexandersen, B.J. Riis, C. Christiansen, Monofluorophosphate combined with hormone replacement therapy induces a synergistic effect on bone mass by dissociating bone formation and resorption in postmenopausal women: a randomized study, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 84(9) (1999) 3013-3020.
- [28] C. Schnitzler, J. Wing, F. Raal, V. Merwe, J. Mesquita, K. Geara, R. Shires, Addition of bisphosphonate to fluoride therapy reduces adverse fluoride effects on bone quality and improves efficacy, *JBMR* 14(Suppl 1) (1999) S276.

- [29] Z. Khurshid, M. Naseem, Z. Sheikh, S. Najeeb, S. Shahab, M.S. Zafar, Oral antimicrobial peptides: Types and role in the oral cavity, *Saudi Pharmaceutical Journal* 24(5) (2016) 515-524.
- [30] A. Evans, S.J. Leishman, L.J. Walsh, W.K. Seow, Inhibitory effects of children's toothpastes on *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis* and *Lactobacillus acidophilus*, *European Archives of Paediatric Dentistry* 16 (2015) 219-226.
- [31] P. Jagan, N. Fareed, H. Battur, S. Khanagar, M. Bhat, R. Basapathy, Effectiveness of sodium fluoride mouthrinses on the prevention of dental caries: A systematic review, *Journal of Indian Association of Public Health Dentistry* 13(2) (2015) 110.
- [32] C. Chu, E. Lo, Uses of sodium fluoride varnish in dental practice, *Annals of the Royal Australasian College of Dental Surgeons* 19 (2008) 58-61.
- [33] R. Gary Rozier, S. Adair, F. Graham, T. Iafolla, A. Kingman, W. Kohn, D. Krol, S. Levy, H. Pollick, G. Whitford, S. Strock, J.F. Hawley, K. Aravamudhan, D.M. Meyer, Evidence-based clinical recommendations on the prescription of dietary fluoride supplements for caries prevention A report of the American Dental Association Council on Scientific Affairs, *J Am Dent Assoc* 141(12) (2010) 1480-1489.
- [34] H.J. Lee, C.H. Choi, Anti-inflammatory effects of bamboo salt and sodium fluoride in human gingival fibroblasts-An in vitro study, *Kaohsiung J Med Sci* 31(6) (2015) 303-308.
- [35] R. Ullah, M.S. Zafar, Oral and Dental Delivery of Fluoride: A Review, *Fluoride* 48(3) (2015) 195-204.
- [36] A. Tressaud, G. Haufe, Fluorine and health: molecular imaging, biomedical materials and pharmaceuticals, Elsevier 2008.
- [37] D. Dionysopoulos, The effect of fluoride-releasing restorative materials on inhibition of secondary caries formation, *Fluoride* 47(3) (2014) 258-65.
- [38] E.A. Martinez-Mier, Fluoride: Its Metabolism, Toxicity, and Role in Dental Health, *J Evid-Based Integr* 17(1) (2012) 28-32.
- [39] S.M. Levy, M.C. Kiritsy, J.J. Warren, Sources of fluoride intake in children, *Journal of Public Health Dentistry* 55(1) (1995) 39-52.
- [40] G.M. Keegan, J.D. Smart, M.J. Ingram, L.-M. Barnes, G.R. Burnett, G.D. Rees, Chitosan microparticles for the controlled delivery of fluoride, *Journal of dentistry* 40(3) (2012) 229-240.
- [41] O. Baturina, E. Tufekci, O. Guney-Altay, S.M. Khan, G.E. Wnek, S.J. Lindauer, Development of a sustained fluoride delivery system, *The Angle Orthodontist* 80(6) (2010) 1129-1135.
- [42] G. Yildirmaz, S. Akgol, M.Y. Arica, H. Sonmez, A. Denizli, Polyhydroxyethylmethacrylate/polyhydroxybutyrate composite membranes for fluoride release, *J Appl Polym Sci* 87(6) (2003) 976-981.
- [43] X. Xu, J.O. Burgess, Compressive strength, fluoride release and recharge of fluoride-releasing materials, *Biomaterials* 24(14) (2003) 2451-2461.
- [44] K. Toumba, Slow-release devices for fluoride delivery to high-risk individuals, *Caries Research* 35(Suppl. 1) (2001) 10-13.

- [45] P. Bottenberg, C. Bultmann, H.-G. Gräber, Distribution of fluoride in the oral cavity after application of a bioadhesive fluoride-releasing tablet, *Journal of dental research* 77(1) (1998) 68-72.
- [46] A. Memic, T. Colombani, L.J. Eggermont, M. Rezaeeyazdi, J. Steingold, Z.J. Rogers, K.J. Navare, H.S. Mohammed, S.A. Bencherif, Latest advances in cryogel technology for biomedical applications, *Advanced Therapeutics* 2(4) (2019) 1800114.
- [47] F.M. Plieva, I.Y. Galaev, W. Noppe, B. Mattiasson, Cryogel applications in microbiology, *Trends in microbiology* 16(11) (2008) 543-551.
- [48] O. Okay, Polymeric Cryogels Macroporous Gels with Remarkable Properties Preface, *Adv Polym Sci* 263 (2014) V-Vi.
- [49] F. Ganji, F.S. Vasheghani, F.E. Vasheghani, Theoretical description of hydrogel swelling: a review, (2010).
- [50] M. Uygun, D.A. Uygun, E. Özçalışkan, S. Akgöl, A. Denizli, Concanavalin A immobilized poly (ethylene glycol dimethacrylate) based affinity cryogel matrix and usability of invertase immobilization, *Journal of Chromatography B* 887 (2012) 73-78.
- [51] A. Srivastava, E. Jain, A. Kumar, The physical characterization of supermacroporous poly (N-isopropylacrylamide) cryogel: mechanical strength and swelling/de-swelling kinetics, *Materials Science and Engineering: A* 464(1-2) (2007) 93-100.
- [52] E. Velickova, E. Winkelhausen, S. Kuzmanova, M. Cvetkovska, C. Tsvetanov, Hydroxyethylcellulose cryogels used for entrapment of *Saccharomyces cerevisiae* cells, *Reactive and Functional Polymers* 69(9) (2009) 688-693.
- [53] E.S. Dragan, M.M. Lazar, M.V. Dinu, F. Doroftei, Macroporous composite IPN hydrogels based on poly (acrylamide) and chitosan with tuned swelling and sorption of cationic dyes, *Chemical engineering journal* 204 (2012) 198-209.
- [54] V. Lozinsky, E. Vainerman, S. Rogozhin, Study of cryostructurization of polymer systems: II. The influence of freezing of a reacting mass on the properties of products in the preparation of covalently cross-linked gels, *Colloid and Polymer Science* 260 (1982) 776-780.
- [55] S.A. Bencherif, R.W. Sands, D. Bhatta, P. Arany, C.S. Verbeke, D.A. Edwards, D.J. Mooney, Injectable preformed scaffolds with shape-memory properties, *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109(48) (2012) 19590-19595.
- [56] M. Andac, I.Y. Galaev, A. Denizli, Molecularly imprinted poly (hydroxyethyl methacrylate) based cryogel for albumin depletion from human serum, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 109 (2013) 259-265.
- [57] T.M. Henderson, K. Ladewig, D.N. Haylock, K.M. McLean, A.J. O'Connor, Cryogels for biomedical applications, *Journal of Materials Chemistry B* 1(21) (2013) 2682-2695.
- [58] A. Haleem, J.-M. Pan, A. Shah, H. Hussain, W.-d. He, A systematic review on new advancement and assessment of emerging polymeric cryogels for environmental sustainability and energy production, *Separation and Purification Technology* (2023) 123678.

- [59] V.I. Lozinsky, Cryogels on the basis of natural and synthetic polymers: preparation, properties and application, *Russian Chemical Reviews* 71(6) (2002) 489-511.
- [60] B.N. Singh, K.H. Kim, Floating drug delivery systems: an approach to oral controlled drug delivery via gastric retention, *Journal of Controlled release* 63(3) (2000) 235-259.
- [61] A. Forbes, S. Pitt, D. Baggott, S. Rehbein, D. Barth, A. Bridi, L. Carvalho, D. O'Brien, A review of the use of a controlled-release formulation of ivermectin in the treatment and prophylaxis of *Psoroptes ovis* infestations in sheep, *Veterinary parasitology* 83(3-4) (1999) 319-326.
- [62] J. Siepmann, R.A. Siegel, F. Siepmann, Diffusion controlled drug delivery systems, *Fundamentals and applications of controlled release drug delivery*, Springer 2011, pp. 127-152.
- [63] A. Tunon, J. Grasjo, G. Alderborn, Effect of intragranular porosity on compression behaviour of and drug release from reservoir pellets, *Eur J Pharm Sci* 19(5) (2003) 333-344.
- [64] L.H.K. Alfheid, Recent advance in functionalized mesoporous silica nanoparticles with stimuli-responsive polymer brush for controlled drug delivery, *Soft Mater* 20(3) (2022) 364-378.
- [65] J. Choubey, R. Gupta, J. Bajpai, A.K. Bajpai, Magnetically Responsive Nanostructured Polymers in Controlled and Targeted Drug Delivery, *Mater Sci Technol* (2010) 231-276.
- [66] M.G. Simoes, P. Alves, M. Carvalheiro, P.N. Simoes, Stability effect of cholesterol-poly(acrylic acid) in a stimuli-responsive polymer-liposome complex obtained from soybean lecithin for controlled drug delivery, *Colloid Surface B* 152 (2017) 103-113.
- [67] A.K. Bajpai, S.K. Shukla, S. Bhanu, S. Kankane, Responsive polymers in controlled drug delivery, *Prog Polym Sci* 33(11) (2008) 1088-1118.
- [68] R. Liu, A. Poma, Advances in molecularly imprinted polymers as drug delivery systems, *Molecules* 26(12) (2021) 3589.
- [69] L. Chen, S. Xu, J. Li, Recent advances in molecular imprinting technology: current status, challenges and highlighted applications, *Chemical Society Reviews* 40(5) (2011) 2922-2942.
- [70] D. Çimen, N. Bereli, M. Andaç, A. Denizli, Molecularly imprinted cryogel columns for Concanavalin A purification from jack bean extract, *Separation Science Plus* 1(6) (2018) 454-463.
- [71] C. Yang, Y. Zhang, W.-Q. Cao, X.-F. Ji, J. Wang, Y.-N. Yan, T.-L. Zhong, Y. Wang, Synthesis of molecularly imprinted cryogels to deplete abundant proteins from bovine serum, *Polymers* 10(1) (2018) 97.
- [72] K. Haupt, Peer reviewed: molecularly imprinted polymers: the next generation, *Analytical Chemistry* 75(17) (2003) 376 A-383 A.
- [73] C. Alexander, L. Davidson, W. Hayes, Imprinted polymers: artificial molecular recognition materials with applications in synthesis and catalysis, *Tetrahedron* 59(12) (2003) 2025-2057.

- [74] J. Haginaka, Molecularly imprinted polymers for solid-phase extraction, *Analytical and bioanalytical chemistry* 379(3) (2004) 332-334.
- [75] D.R. Kryscio, N.A. Peppas, Critical review and perspective of macromolecularly imprinted polymers, *Acta biomaterialia* 8(2) (2012) 461-473.
- [76] O. Ramström, K. Mosbach, Synthesis and catalysis by molecularly imprinted materials, *Current Opinion in Chemical Biology* 3(6) (1999) 759-764.
- [77] B. Sellergren, Noncovalent molecular imprinting: antibody-like molecular recognition in polymeric network materials, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 16(6) (1997) 310-320.
- [78] A.G. Mayes, K. Mosbach, Molecularly imprinted polymers: useful materials for analytical chemistry?, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 16(6) (1997) 321-332.
- [79] O. Ramström, L. Ye, K. Mosbach, Artificial antibodies to corticosteroids prepared by molecular imprinting, *Chemistry & biology* 3(6) (1996) 471-477.
- [80] F. Shakerian, K.-H. Kim, E. Kwon, J.E. Szulejko, P. Kumar, S. Dadfarnia, A.M.H. Shabani, Advanced polymeric materials: Synthesis and analytical application of ion imprinted polymers as selective sorbents for solid phase extraction of metal ions, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 83 (2016) 55-69.
- [81] B. Guo, F. Deng, Y. Zhao, X. Luo, S. Luo, C. Au, Magnetic ion-imprinted and-SH functionalized polymer for selective removal of Pb (II) from aqueous samples, *Applied surface science* 292 (2014) 438-446.
- [82] B.C. Karlsson, J. O'Mahony, J.G. Karlsson, H. Bengtsson, L.A. Eriksson, I.A. Nicholls, Structure and dynamics of monomer-template complexation: an explanation for molecularly imprinted polymer recognition site heterogeneity, *Journal of the American Chemical Society* 131(37) (2009) 13297-13304.
- [83] G.D. Olsson, B.C. Karlsson, S. Shoravi, J.G. Wiklander, I.A. Nicholls, Mechanisms underlying molecularly imprinted polymer molecular memory and the role of crosslinker: Resolving debate on the nature of template recognition in phenylalanine anilide imprinted polymers, *Journal of Molecular Recognition* 25(2) (2012) 69-73.
- [84] G. Vasapollo, R.D. Sole, L. Mergola, M.R. Lazzoi, A. Scardino, S. Scorrano, G. Mele, Molecularly imprinted polymers: present and future prospective, *International journal of molecular sciences* 12(9) (2011) 5908-5945.
- [85] H. Yan, K.H. Row, Characteristic and synthetic approach of molecularly imprinted polymer, *International journal of molecular Sciences* 7(5) (2006) 155-178.
- [86] H. Kim, D.A. Spivak, New insight into modeling non-covalently imprinted polymers, *Journal of the American Chemical Society* 125(37) (2003) 11269-11275.
- [87] B. Sellergren, Imprinted polymers with memory for small molecules, proteins, or crystals, *Angewandte Chemie International Edition* 39(6) (2000) 1031-1037.
- [88] Q.-Z. Zhu, K. Haupt, D. Knopp, R. Niessner, Molecularly imprinted polymer for metsulfuron-methyl and its binding characteristics for sulfonylurea herbicides, *Analytica Chimica Acta* 468(2) (2002) 217-227.

- [89] N. Masque, R. Marce, F. Borrull, Molecularly imprinted polymers: new tailor-made materials for selective solid-phase extraction, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 20(9) (2001) 477-486.
- [90] P.A. Cormack, A.Z. Elorza, Molecularly imprinted polymers: synthesis and characterisation, *Journal of chromatography B* 804(1) (2004) 173-182.
- [91] G. Wulff, J. Vietmeier, Enzyme-analogue built polymers, 25. Synthesis of macroporous copolymers from α -amino acid based vinyl compounds, *Die Makromolekulare Chemie: Macromolecular Chemistry and Physics* 190(7) (1989) 1717-1726.
- [92] T. Takeuchi, T. Mukawa, J. Matsui, M. Higashi, K.D. Shimizu, Molecularly imprinted polymers with metalloporphyrin-based molecular recognition sites coassembled with methacrylic acid, *Analytical chemistry* 73(16) (2001) 3869-3874.
- [93] G. Wulff, Molecular imprinting in cross-linked materials with the aid of molecular templates—a way towards artificial antibodies, *Angewandte chemie international edition in English* 34(17) (1995) 1812-1832.
- [94] R. Arshady, K. Mosbach, Synthesis of substrate-selective polymers by host-guest polymerization, *Die Makromolekulare Chemie: Macromolecular Chemistry and Physics* 182(2) (1981) 687-692.
- [95] J.E. Lofgreen, G.A. Ozin, Controlling morphology and porosity to improve performance of molecularly imprinted sol-gel silica, *Chemical Society Reviews* 43(3) (2014) 911-933.
- [96] M. Arifuzzaman, Y. Zhao, Water-soluble molecularly imprinted nanoparticle receptors with hydrogen-bond-assisted hydrophobic binding, *The Journal of organic chemistry* 81(17) (2016) 7518-7526.
- [97] M. Kempe, K. Mosbach, Direct resolution of naproxen on a non-covalently molecularly imprinted chiral stationary phase, *Journal of Chromatography A* 664(2) (1994) 276-279.
- [98] M.J. Whitcombe, M.E. Rodriguez, P. Villar, E.N. Vulfson, A new method for the introduction of recognition site functionality into polymers prepared by molecular imprinting: synthesis and characterization of polymeric receptors for cholesterol, *Journal of the American Chemical Society* 117(27) (1995) 7105-7111.
- [99] M.J. Whitcombe, E.N. Vulfson, Imprinted polymers, *Advanced Materials* 13(7) (2001) 467-478.
- [100] A. Ersöz, A. Denizli, A. Özcan, R. Say, Molecularly imprinted ligand-exchange recognition assay of glucose by quartz crystal microbalance, *Biosensors and Bioelectronics* 20(11) (2005) 2197-2202.
- [101] R. Say, A. Ersöz, H. Türk, A. Denizli, Selective separation and preconcentration of cyanide by a column packed with cyanide-imprinted polymeric microbeads, *Separation and purification technology* 40(1) (2004) 9-14.
- [102] P.K. Dhal, F.H. Arnold, Metal-coordination interactions in the template-mediated synthesis of substrate-selective polymers: recognition of bis (imidazole) substrates by copper (II) iminodiacetate containing polymers, *Macromolecules* 25(25) (1992) 7051-7059.

- [103] T. Takeuchi, J. Haginaka, Separation and sensing based on molecular recognition using molecularly imprinted polymers, *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 728(1) (1999) 1-20.
- [104] S. Dash, P.N. Murthy, L. Nath, P. Chowdhury, Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems, *Acta Pol Pharm* 67(3) (2010) 217-223.
- [105] N.A. Peppas, B. Narasimhan, Mathematical models in drug delivery: How modeling has shaped the way we design new drug delivery systems, *Journal of Controlled Release* 190 (2014) 75-81.
- [106] M.-L. Laracuenta, H.Y. Marina, K.J. McHugh, Zero-order drug delivery: State of the art and future prospects, *Journal of Controlled Release* 327 (2020) 834-856.
- [107] A.A. Noyes, W.R. Whitney, The rate of solution of solid substances in their own solutions, *Journal of the American Chemical Society* 19(12) (1897) 930-934.
- [108] T. Higuchi, Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspension, *Journal of pharmaceutical sciences* 50(10) (1961) 874-875.
- [109] H. Omidian, K. Park, Introduction to hydrogels, *Biomedical applications of hydrogels handbook* (2010) 1-16.
- [110] P.L. Ritger, N.A. Peppas, A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices, *Journal of controlled release* 5(1) (1987) 37-42.
- [111] R.W. Korsmeyer, R. Gurny, E. Doelker, P. Buri, N.A. Peppas, Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers, *International journal of pharmaceutics* 15(1) (1983) 25-35.
- [112] D. Çimen, N. Bereli, S. Günaydın, A. Denizli, Preparation of magnetic poly (ethylene glycol dimethacrylate-N-Methacryloyl-(L)-glutamic acid) particles for thrombin purification, *Journal of Chromatography B* 1219 (2023) 123653.