

**TRİMETAZİDİNİN KONTROLLÜ SALIMI İÇİN KRİYOJEL
MEMBRANLARIN SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU**

**SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF CRYOGEL
MEMBRANES FOR CONTROLLED RELEASE OF
TRIMETAZIDINE**

SEDA DEDEOĞLU

DOÇ. DR. MURAT TORUN

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Kimya Anabilim Dalı için Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2022

ÖZET

TRİMETAZİDİNİN KONTROLLÜ SALIMI İÇİN KRİYOJEL MEMBRANLARIN SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU

SEDA DEDEOĞLU

Yüksek Lisans, Kimya Bölümü

Tez Danışmanı: Doç. Dr. MURAT TORUN

Ocak 2022, 72 sayfa

Bu tez çalışmasında, trimetazidin dihidroklorür baskılı poli(2-hidroksietil metakrilat/akrilamid) [(poli(HEMA/AAm))] kriyojel membranların tablet şeklinde sentezi düşük sıcaklıklarda yapılarak etken maddenin salımı değerlendirilmiştir. Trimetazidin dihidroklorür baskılı poli(HEMA/AAm) kriyojel membranlarından etken maddenin salımı, polimerdeki çapraz bağlayıcı oranı değiştirilerek takip edilmiştir. Bu bağlamda, polimerizasyon çözeltisinde mol cinsinden %7,4, %11,1 ve %14,8 oranında N,N-metilenbis(akrilamid) [(MBAAm)] bulunan monomer karışımları hazırlanmış ve düşük sıcaklıklarda kriyojel formuna dönüşmesi beklenmiştir. Karakterizasyon çalışmaları için yine aynı koşullarda baskılanmamış poli(2-hidroksietil metakrilat) [poli(HEMA)] ve poli(HEMA/AAm) sentezlenmiştir. Sentezlenen kriyojel membranların fiziksel özellikleri takip edilerek oluşumu gözlenmiştir. Elde edilen kriyojel membranlar Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektroskopisi (FTIR) ile karakterize edilmiştir. Poli(HEMA/AAm) kriyojeline ait FTIR spektrumunda, akrilamidden kaynaklı amin gruplarının 2-hidroksietil metakrilat kaynaklı hidroksi grubuyla hidrojen bağı değerlendirilmiştir. Trimetazidin dihidroklorür baskılı poli(HEMA/AAm) kriyojelin infared spektroskopisi incelendiğinde, yine trimetazidin dihidroklorür kaynaklı hidrojen bağı etkisi

gözlenmiştir. Sentezlenen kriyojel membranlar, termogravimetrik analiz yöntemi ile de karakterize edilmiştir. Termogravimetrik sonuçlara göre, poli(HEMA/AAm) kriyojelinin ısı olarak en kararlı yapı olduğu gözlenmiştir. Trimetazidin dihidroklorür ise, ısı olarak en hızlı bozunmuştur ve kriyojel membranlara trimetazidin dihidroklorür baskılanması, kriyojel membranların ısı kararlılıklarını düşürmüştür. Yüzey karakterizasyonu için trimetazidin dihidroklorür baskılanmış poli(HEMA/AAm) kriyojelinin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile görüntüleri alınmış, buna ek olarak trimetazidin dihidroklorür baskılanmamış poli(HEMA) ve poli(HEMA/AAm) ile değişik oranlarda çapraz bağlayıcı içeren trimetazidin dihidroklorür baskılanmış poli(HEMA/AAm), trimetazidin dihidroklorür salmış poli(HEMA/AAm) kriyojel membranları için Brauner Emmett ve Teller (BET) yüzey gözenekliliği analizi ve şişme testleri sonuçlarından elde edilen makrogözeneklilik analizi yapılmıştır. Trimetazidin dihidroklorür baskılanmamış poli(HEMA/AAm) için makrogözeneklilik %48,4 iken, baskılanmış kriyojelde bu değer %58,8, trimetazidin dihidroklorür uzaklaştırılmış kriyojelde ise %54,3 olarak bulunmuştur. Çapraz bağlayıcı oranının trimetazidin dihidroklorür baskılı kriyojellerin yüzey alanında belirgin bir değişime neden olmadığı gözlenmiştir. Sentezlenen poli(HEMA), poli(HEMA/AAm) ve trimetazidin dihidroklorür baskılı poli(HEMA/AAm) kriyojel membranlar için biyoyumluluk testleri kan uyumluluğu takip edilerek yapılmıştır. Bu kapsamda, protrombin zamanı, aktive edilmiş kısmi protrombin zamanı ve in-vitro pıhtılaşma zamanları belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, poli(HEMA), poli(HEMA/AAm) ve trimetazidin dihidroklorür baskılı poli(HEMA/AAm) kriyojel membranların biyoyumlu olduğu gözlenmiştir. Trimetazidin dihidroklorürün kriyojel membranlardan salımı için ilk olarak maksimum yüklemenin yapılacağı bir pH değeri saptanmıştır. Poli(HEMA) kriyojel membranın bütün pH değerlerinde adsorpsiyon kapasitesinin değişmediği, poli(HEMA/AAm) ve trimetazidin dihidroklorür baskılanmış poli(HEMA/AAm) kriyojel membranların pH 7.0'da maksimum adsorpsiyon kapasitesine ulaştığı gözlenmiştir. pH 7,0 değerinde maksimum adsorpsiyon kapasiteleri poli(HEMA/AAm), %7,4 %11,1 ve %14,8 çapraz bağlayıcı içeren trimetazidin dihidroklorür baskılı poli(HEMA/AAm) kriyojel membranlar için sırayla 22,5 mg/g, 18,5 mg/g ve 16,3 mg/g olarak gözlenmiştir. Trimetazidin dihidroklorür baskılanmış kriyojel membranlar için maksimum desorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi için de bir pH taraması yapılmış, sulu NaCl çözeltisinde %7,4 %11,1 ve %14,8 çapraz bağlayıcı içeren trimetazidin dihidroklorür baskılı

poli(HEMA/AAm) kriyojel membranlar için sırayla bu değerler pH 8,0'da 21,3 mg/g, 17,8 mg/g ve 15,8 mg/g olarak bulunmuştur. Desorpsiyon kapasitesinin bütün kriyojel membranlar için pH değerinden etkilenmediği ve çok az değişim olan pH 8.0'da desorpsiyon kapasitesinin zamana karşı değişimi incelenmiş, dengeye ulaşma süreleri çapraz bağlayıcı oranı en düşük trimetazidin dihidroklorür baskılı poli(HEMA/AAm) kriyojel membranlar için bu değer 110 dakika olarak gözlenirken, en yüksek çapraz bağlayıcı oranına sahip olan kriyojel membranda ise 80 dakika olarak gözlenmiştir. Trimetazidin dihidroklorürün şişme kontrollü salımının difüzyon analizi de yapılmış olup, değişik oranda çapraz bağlayıcı içeren her üç kriyojel membran içinde difüzyon türünün Yalancı Fickian Difüzyonuna uyduğu belirlenmiştir. Değişik oranlarda çapraz bağlayıcı içeren trimetazidin dihidroklorür baskılı kriyojel membranlar için kinetik çalışmalar yapılmış, her üç kriyojelden de trimetazidin dihidroklorür salımının yalancı ikinci dereceden kinetik modellemeye uygun olduğu gözlenmiştir. Sıcaklık artışı ile trimetazidin dihidroklorür baskılı kriyojel membranlardan salınan trimetazidin dihidroklorürün desorpsiyon kapasitesi artmakta olup, vücut sıcaklığı olan 37°C'de bu değer 22,5 mg/g olarak gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Trimetazidin dihidroklorür, moleküler baskılama, kontrollü ilaç salımı, 2-hidroksietil metakrilat, akrilamid, kriyojel.

ABSTRACT

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF CRYOGEL MEMBRANES FOR CONTROLLED RELEASE OF TRIMETAZIDINE

SEDA DEDEOĞLU

Master of Science, Department of Chemistry

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Murat TORUN

January 2022, 72 pages

In this thesis, tablet synthesis of trimetazidine dihydrochloride imprinted poly(2-hydroxyethyl methacrylate/acrylamide) [poly(HEMA/AAm)] cryogel membranes was performed at low temperatures and the release of the active substance was evaluated. The release of the active substance from the trimetazidine dihydrochloride -imprinted poly(HEMA/AAm) cryogel membranes was monitored by varying the crosslinking ratio in the polymer. In this context, monomer mixtures containing 7.4%, 11.1% and 14.8% moles ratios of N,N-methylenebis(acrylamide) [(MBAAm)] in the polymerization solution were prepared and expected to transform into cryogel form at low temperatures. For characterization studies, non-imprinted poly(2-hydroxyethyl methacrylate) [poly(HEMA)] and poly(HEMA/AAm) were synthesized under the same conditions. The physical properties of the synthesized cryogel membranes were followed and their formation was observed. The resulting cryogel membranes were characterized by Fourier

Transform Infrared Spectroscopy (FTIR). In infrared spectroscopy of poly(HEMA/AAm) cryogel, hydrogen bonding of amine groups originating from acrylamide with hydroxy group originating from 2-hydroxyethyl methacrylate was evaluated. When the infrared spectroscopy of the trimetazidine dihydrochloride imprinted poly(HEMA/AAm) cryogel was examined, hydrogen bonding effect caused by trimetazidine dihydrochloride was also observed. The synthesized cryogel membranes were also characterized by the thermogravimetric analysis method. According to the thermogravimetric results, it was observed that the poly(HEMA/AAm) cryogel was the most thermally stable structure. Trimetazidine dihydrochloride, on the other hand, degraded the fastest thermally, and suppression of trimetazidine dihydrochloride to the cryogel membranes decreased the thermal stability of the cryogel membranes. For surface characterization, images of trimetazidine dihydrochloride imprinted poly(HEMA/AAm) cryogel were taken with Scanning Electron Microscopy (SEM), in addition, trimetazidine dihydrochloride unimprinted poly(HEMA) and trimetazidine dihydrochloride imprinted poly(HEMA/AAm) containing different crosslinking ratios as well as trimetazidine dihydrochloride released poly(HEMA/AAm) containing different crosslinking ratios were analyzed for surface characterization with Brauner Emmett and Teller (BET) surface porosity analysis and macroporosity analysis obtained from swelling test results of the same cryogel membranes. While the macroporosity of trimetazidine dihydrochloride unimprinted poly(HEMA/AAm) was 48.4%, this value was found to be 58.8% in the imprinted cryogel and 54.3% in the trimetazidine dihydrochloride-removed cryogel. It was observed that the crosslinking ratio did not cause a significant change in the surface area of the trimetazidine dihydrochloride imprinted cryogels. Biocompatibility tests were performed for the synthesized poly(HEMA), poly(HEMA/AAm) and trimetazidine dihydrochloride imprinted poly(HEMA/AAm) cryogel membranes by following blood compatibility. In this context, prothrombin time, activated partial prothrombin time and in-vitro coagulation times were determined. According to the results obtained, it was observed that poly(HEMA), poly(HEMA/AAm) and trimetazidine dihydrochloride imprinted poly(HEMA/AAm) cryogel membranes were biocompatible. For the release of trimetazidine dihydrochloride from the cryogel membranes, a pH value at which maximum loading was first determined. It was observed that the adsorption capacity of the poly(HEMA) cryogel membrane did not change at all pH values, and the poly(HEMA/AAm) and trimetazidine dihydrochloride imprinted

poly(HEMA/AAm) cryogel membranes reached the maximum adsorption capacity at pH 7.0. Maximum adsorption capacities at pH 7.0 are 22.5 mg/g, 18.5 mg/g and 16.3mg/g for poly(HEMA/AAm), trimetazidine dihydrochloride-imprinted poly(HEMA/AAm) cryogel membranes containing 7.4%, 11.1% and 14.8% crosslinking, respectively. A pH scan was also performed to determine the maximum desorption capacity for trimetazidine dihydrochloride-imprinted cryogel membranes, for trimetazidine dihydrochloride-imprinted poly(HEMA/AAm) cryogel membranes containing 7.4%, 11.1% and 14.8% crosslinking in aqueous NaCl solution that the values were found as 21.3 mg/g, 17.8 mg/g and 15.8 mg/g at pH 8.0, respectively. It has been evaluated that the desorption capacity is not affected by the pH value for all cryogel membranes and the variation of the desorption capacity against time at pH 8.0, a low increase, was investigated. Trimetazidine dihydrochloride-imprinted poly(HEMA/AAm) cryogel membranes with the lowest crosslinking ratio had the equilibrium desorption time, 110 minutes, and the same was 80 minutes in the one with the highest crosslinking rate. Diffusion analysis of the swelling-controlled release of trimetazidine dihydrochloride was also performed, and it was determined that the diffusion type in all three cryogel membranes containing varying amounts of crosslinkers conformed to the Pseudo-Fickian Diffusion. Kinetic studies were performed for trimetazidine dihydrochloride-imprinted cryogel membranes containing varying proportions of crosslinking, and it was observed that trimetazidine dihydrochloride release from all three cryogels was suitable for pseudo-second-order kinetic modeling. With the increase in temperature, the desorption capacity of trimetazidine dihydrochloride released from the trimetazidine dihydrochloride-imprinted cryogel membranes increases, and this value was observed as 22.5 mg/g at 37°C, which is body temperature.

Keywords: Trimetazidine dihydrochloride, molecular imprinting, controlled drug release, 2-hydroxyethyl methacrylate, acrylamide, cryogel.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Moleküler Baskılı Polimer	3
2.2. Moleküler Baskılama Metodları	4
2.2.1. Kovalent Baskılama Yöntemi	4
2.2.2. Kovalent Baskılamanın Avantajları.....	5
2.2.3. Kovalent Baskılamanın Dezavantajları.....	5
2.2.4. Kovalent Olmayan Baskılama Yöntemi	6
2.2.5. Kovalent Olmayan Baskılamanın Avantajları	6
2.2.6. Kovalent Olmayan Baskılamanın Dezavantajları	6
2.3 Moleküler Baskılı Polimer Bileşenleri ve Polimerleşmeyi Etkileyen Faktörler	6
2.3.1. Kalıp Molekül	7
2.3.2. Fonksiyonel Monomer.....	7
2.3.3. Çapraz Bağlayıcı.....	8
2.3.4. Çözücü.....	9
2.3.5. Başlatıcılar	9
2.4. Moleküler Baskılı Polimer Karakterizasyon Yöntemleri	10
2.5. Moleküler Baskılama Yönteminin Kullanıldığı Uygulama Alanları.....	10
2.6. Moleküler Baskılanmış İlaç Salım Sistemleri	11
2.7. Kontrollü İlaç Salım Sistemleri	11
2.8. İlaçların Salım Mekanizmaları.....	13

2.8.1. Difüzyon Kontrollü Sistemler	14
2.8.2. Şişme Kontrollü Sistemler	15
2.8.3. Erozyon Kontrollü Sistemler	15
2.8.4. Dışsal Uyarı ile Kontrollü Sistemler	15
2.8.5. Kontrollü Salım Sistemlerinin Avantajları ve Dezavantajları	15
2.9. İlaç Salım Kinetiğinin Matematiksel Analizi	17
2.10. Kriyojel	17
2.11. Kriyojellerin Özellikleri ve Yapısının Kontrolü	18
2.12. Kriyojellerin Kullanım Alanları	19
2.13. Kriyojellerin Diğer Jellerden Farkı	20
2.14. Trimetazidin Dihidroklorür	20
2.15. Trimetazidin Dihidroklorürün Farmakolojik Özellikleri.....	21
2.15.1. Farmakodinamik Özellikler	21
2.15.2. Farmakokinetik Özellikler	22
2.15.3. Farmakodinamik Etkiler	22
2.16. Terapötik Endikasyonlar.....	22
2.17. Trimetazidin Dihidroklorür ile Yapılmış Çalışmalar.....	22
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	27
3.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler	27
3.2. Trimetazidin Dihidroklorür Baskılanmış Kriyojel Membranların Hazırlanması	27
3.3. Karakterizasyon Çalışmaları	30
3.3.1. Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi (FTIR) Analizleri.....	30
3.3.2. Termogravimetrik Analizler (TGA)	30
3.3.3. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizleri	30
3.3.4. Braunauer Emmett Teller (BET) Analizleri.....	31
3.3.5. Çapraz Bağlayıcı Miktarının Belirlenmesi	31
3.3.6. Makrogözeneklilik ve Şişme Davranışlarının İncelenmesi	31
3.3.7. Kan Uyumluluğu Testleri	32
3.3. Trimetazidin Dihidroklorür Salım Çalışmaları	32
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	34
4.1. Karakterizasyon Çalışmaları	34

4.1.1. Fourier Dönüşümlü Infrared (FTIR) Spektroskopisi Analizleri	35
4.1.2. Termogravimetrik Analizler (TGA).....	36
4.1.3. Yüzey Görüntüleri, Yüzey Alanı Analizleri ve Makrogözeneklilik.....	42
4.1.4. Biyouyumluluk Testleri	45
4.2. Trimetazidin Dihidroklorür Salım Çalışmaları.....	47
4.3. Kinetik Çalışmalar.....	52
4.4. Sıcaklığın Trimetazidin Dihidroklorür Salımına Etkisi.....	56
5. YORUM	58
6. KAYNAKLAR.....	62
EK	

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Hedef molekülün uzaklaşma aşamaları	4
Şekil 2.2. Kovalent baskılamanın şematik gösterimi (Çorman, 2010).	5
Şekil 2.3. Kovalent olmayan baskılama yönteminin şematik gösterimi (Çorman, 2010) 6	
Şekil 2.4. Yaygın olarak kullanılan fonksiyonel monomerler	8
Şekil 2.5. Organik çözücülerde yaygın olarak kullanılan çapraz bağlayıcıların kimyasal formülleri.....	9
Şekil 2.6. Plazmadaki ilaç derişiminin zamanla değişimi (a) Oral kullanım (Klasik Salım); (b) Kontrollü salım (Shaik, Korsapati ve Panati, 2012).	12
Şekil 2.7. Kriyojelelasyon basamaklarının şematik gösterimi.....	18
Şekil 2.8. Trimetazidin dihidroklorür kimyasal yapısı	21
Şekil 3.1. Tablet formunda sentezlenen baskılı kriyojel membranlar; (a) NaCl ile trimetazidin dihidroklorür uzaklaştırılmış (b) Trimetazidin dihidroklorür yüklenmiş	29
Şekil 3.2. Trimetazidin Dihidroklörür çözeltisi için UV-GB spektrumu (400 ppm, deiyonize suda, $\lambda_{max} = 269$ nm).....	32
Şekil 4.1. Trimetazidin dihidroklorür, HEMA ve AAm bileşiklerinin kimyasal formülleri	35
Şekil 4.2. Trimetazidin dihidroklorür ve kriyojel membranların FTIR spektrumları.....	36
Şekil 4.3. Poli(HEMA) kriyojeline ait termogram.....	38
Şekil 4.4. Poli(HEMA/AAm) kriyojeline ait termogram.....	38
Şekil 4.5. Trimetazidin dihidroklorüre ait termogram.	39
Şekil 4.6. Trimetazidin dihidroklorür baskılanmış Poli(HEMA/AAm) kriyojel membranlarına ait termogram.	40
Şekil 4.7. Trimetazidin dihidroklorür ve kriyojel membranlara ait termogram.....	40
Şekil 4.8. Trimetazidin dihidroklorür baskılanmış Poli(HEMA/AAm) kriyojel membranların değişik büyütme oranlarındaki SEM görüntüleri.....	42
Şekil 4.9. Poli(HEMA), Poli(HEMA/AAm) ve değişik çapraz bağlayıcı oranlarında trimetazidin dihidroklorür baskılanmış Poli(HEMA/AAm) kriyojel membranlarının adsorpsiyon kapasitesinin pH ile değişimi (25 mL, 400 ppm trimetazidin dihidroklorür, 0,15 gram kriyojel, fosfat tamponu, 180 dakika, 25°C).	48
Şekil 4.10. Değişik çapraz bağlayıcı oranlarında trimetazidin dihidroklorür baskılanmış Poli(HEMA/AAm) kriyojel membranlarının desorpsiyon kapasitesinin pH ile	

değişimi (10 mL, 0,5 M NaCl, 0,15 gram kriyojel, 25°C, fosfat tamponu, 180 dakika, pH 7,0'da trimetazidin dihidroklorür yüklenmiş).....	49
Şekil 4.11. Değişik çapraz bağlayıcı oranlarında trimetazidin dihidroklorür baskılanmış Poli(HEMA/AAm) kriyojel membranlarının desorpsiyon kapasitesinin zaman ile değişimi (10 mL, 0,5 M NaCl, 0,15 gram kriyojel, fosfat tamponu pH=8,0, 25°C, pH 7,0'da trimetazidin dihidroklorür yüklenmiş).....	50
Şekil 4.12. Değişik çapraz bağlayıcı oranlarında trimetazidin dihidroklorür baskılanmış Poli(HEMA/AAm) kriyojel membranlarının salım difüzyonunun analizi (10 mL, 0,5 M NaCl, 0,15 gram kriyojel, fosfat tamponu pH=8,0, 25°C, pH 7,0'da trimetazidin dihidroklorür yüklenmiş).	51
Şekil 4.13. Poli(HEMA/AAm)T1 kriyojel membranlarının trimetazidin dihidroklorür salımının kinetik analizi (10 mL, 0,5 M NaCl, 0,15 gram kriyojel, fosfat tamponu pH=8,0, 25°C, pH 7,0'da trimetazidin dihidroklorür yüklenmiş).	53
Şekil 4.14. Poli(HEMA/AAm)T2 kriyojel membranlarının trimetazidin dihidroklorür salımının kinetik analizi (10 mL, 0,5 M NaCl, 0,15 gram kriyojel, fosfat tamponu pH=8,0, 25°C, pH 7,0'da trimetazidin dihidroklorür yüklenmiş).	54
Şekil 4.15. Poli(HEMA/AAm)T3 kriyojel membranlarının trimetazidin dihidroklorür salımının kinetik analizi (10 mL, 0,5 M NaCl, 0,15 gram kriyojel, fosfat tamponu pH=8,0, 25°C, pH 7,0'da trimetazidin dihidroklorür yüklenmiş).	55
Şekil 4.16. Poli(HEMA/AAm)T1 kriyojel membranlarının trimetazidin dihidroklorür salımına sıcaklığın etkisi (10 mL, 0,5 M NaCl, 0,15 gram kriyojel, fosfat tamponu pH=8,0 desorpsiyon, trimetazidin dihidroklorür yüklenmesi pH 7,0'da).....	56

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. İlaç salım mekanizmasına dayalı dört geleneksel ilaç dağıtım sistemi kategorisinin özeti – 1. Difüzyon kontrollü, 2. Şişme kontrollü, 3. Erozyon kontrollü ve 4. Uyarıcı kontrollü sistemler (Wang ve Recum, 2011).....	13
Çizelge 3.1. Sentezlenen kriyojel membranların bileşimine göre oluşma durumu.	28
Çizelge 4.1. Trimetazidin dihidroklorür ve kriyojel membranlar için termogram verileri	41
Çizelge 4.2. Poli(HEMA/AAm) kriyojel membranlarına ait gözeneklilik ve şişme özellikleri.....	44
Çizelge 4.3. Sentezlenen kriyojel membranların pıhtılaşma zamanları.	46
Çizelge 4.4. Poli(HEMA/AAm) kriyojelleri için difüzyon katsayıları.	52
Çizelge 4.5. Trimetazidin dihidroklorür salımı için desorpsiyon kapasiteleri ve hız sabitleri.....	55
Çizelge 4.6. Trimetazidin dihidroklorür salımı için değişik sıcaklıklarda desorpsiyon kapasitesi.	57

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

Å	Angström
Ω	Omega
q _e	Dengedeki adsorpsiyon kapasitesi
μ	Mikro
λ	Dalga boyu
M	Molarite
μM	Mikromolar
μm	Mikromol
mm	Milimol
mL	Mililitre
°C	Derece santigrat
%	Yüzde
ppm	Milyonda bir birim
nm	Nanometre
M ₀	Kuru tabletin kütlesi
M _s	Şişmiş tabletin kütlesi
M _{sık}	Sıkılan tabletin kütlesi

Kısaltmalar

MIP	Moleküler baskılı polimer
TH	Trimetazidin dihidroklorür
APS	Amonyum persülfat

HEMA	2-hidroksietil metakrilat
Poli(HEMA)	Poli(2-hidroksietil metakrilat)
AAm	Akrilamid
Poli(HEMA/AAm)	Poli(2-hidroksietil metakrilat/ Akrilamid)
MBAAm	N,N'-metilenbisakrilamid
EDMA	Etilenglikol dimetakrilat
DVB	Divinil benzen
AIBN	2,2'-azobis (izobütironitril)
PEVAC	Poli(etilen vinil asetat)
PLGA	Poli(laktik-ko-glikolik asit)
PCL	Polikaprolakton
PNIPAM	Poli(N-İzopropilakrilamid)
CS	Kitosan
CG	Karajenan
SRP	Serbest radikal polimerizasyonu
HPMC	Hidroksipropil metilselüloz
SGF	İn vitro mide suyu ortamı
SIF	İn vitro bağırsak suyu ortamı
TEMED	N,N,N',N'-Tetrametil etilendiamin
MAA	Metakrilik asit
PAAm	Poli(akrilamid)
PVA	Poli(vinil alkol)
HPLC	Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi
SPE	Katı faz ekstraksiyonu
SERS	Yüzeyde geliştirilmiş raman saçılması
TGA	Termogravimetrik Analiz

FTIR	Fourier dönüşümlü infrared spektrometresi
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
BET	Braunauer Emmett Teller analizi
UV-GB	Ultraviyole ve görünür ışık absorpsiyon spektroskopisi
PT	Protrombin zamanı
APTT	Aktive kısmi tromboplastin zamanı
FT	Fibrinojen zamanı
TCT	Trombosit pıhtılaşma zamanı

1. GİRİŞ

Moleküler baskılama tekniği, bir kalıp molekül etrafında fonksiyonel monomerlerin kovalent veya kovalent olmayan etkileşimlerle kompleks oluşturması ve sonrasında uygun bir işlem süreci ile kimyasal fonksiyona sahip baskılanmış polimerlerin oluşturulmasını amaçlar. İşlem sonrasında baskılanmış molekülün uzaklaştırılması ile polimerik yapıda baskılanan moleküle özgü bir kalıp oluşmaktadır.

Moleküler olarak baskılanmış polimerler (MIP), hedeflenen bir molekül için sentetik reseptörlerdir. Sentez sırasında kalıp haline getirildikleri molekülü seçici olarak bağlamak için bir "anahtar-kilit" mekanizmasıyla çalışırlar (Belbruno, 2019). Moleküler baskılama yöntemi ilk defa 1972'de Günter Wulff ve çalışma grubu tarafından tanımlanmış ve sentetik polimerlerde fonksiyonel grupların üç boyutlu yapılarının düzenlenmesiyle oldukça seçici bağlanma bölgeleri elde etmek amacıyla kullanılmıştır (Wulff vd., 1987). MIP'lerin kontrollü salımda kullanımını ilk defa farmakolojik alanda olmuştur. Vtakis ve arkadaşları ilk kez teofilin ve diapezam için kovalent olmayan MIP bazlı sistemler geliştirmiştir fakat bunu kontrollü ilaç sisteminde kullanmamıştır (Vlatakis vd.,1993).

Vücut için gerekli olan ilaç etken maddesini salım hızını kontrol ederek hedefe ulaştıran sistemlere "Kontrollü Salım Sistemi" denir. Kontrollü salım sistemlerinde salınacak olan ilaç salımı yapacak olan polimer yapıdan belli bir süre salınır. Kontrollü ilaç salımı yapılmak istenmesinin nedeni; hastayı ilacın yan etkilerinden korumak, ilacın minimum dozda alınmasını sağlamak, ilaç alım aralığını uzatmaktır.

Kriyojeller ilk olarak 1960 yıllarında literatüre girmiş ve biyoteknoloji alanındaki potansiyelleri ise yeni keşfedilmiştir (Lozinsky vd., 2003). Kriyojel tanımı Yunanca da krios yani donma ya da buz anlamına gelmektedir ve kriyojeller jel matriksler olarak tanımlanırlar (Denizli vd., 2010; Lozinsky vd., 2003). Kriyojeller uygun monomer ya da polimer öncü malzemeleri kullanılarak kısmi donmuş sıvı faz içerisinde sentezlenir ve buz kristalleri gözenek oluşumunda görev alır, polimerleşme sonunda buz kristallerin erimesiyle birbirine bağlı gözenekli yapılar elde edilir (Denizli vd., 2010; Ertürk vd., 2014). Kriyojeller disk, küre ve silindir şeklinde sentezlenebilmektedir.

Bu çalışmada etken madde olarak kullanılan trimetazidin dihidroklorür (TH) piperazin grubu bir ilaçtır. Ticari adı Vastarel olan bu ilaç, göğüs ağrısı (anjina pectoris) krizlerinin önlenmesinde, baş dönmesi (vertigo) ve kulak çınlaması, vızıltı ve ıslık sesi gibi çevre ile ilgili olmayan seslerin duyulması (tinnitus) gibi semptomların yardımcı tedavisinde kullanılmaktadır.

Trimetazidin dihidroklorür'ün kontrollü salımı için trimetazidin dihidroklorür baskılanmış poli(HEMA/AAm) temelli kriyojel membranlar sentezlenmiş ve laboratuvar ortamında ilaç salım performansı belirlenerek ilaç salımının matematiksel analizi gerçekleştirilmiştir. Poli(HEMA-AAm) kriyojel membranların sentezi, -18°C sıcaklıkta, 24 saat süreyle gerçekleştirilmiştir. MIP poli(HEMA-AAm) kriyojel membranlar monomer çapraz bağlayıcı oranları değiştirilerek üç farklı içerikte hazırlanmıştır. En uygun çapraz bağlayıcı oranı ve salım için en uygun pH değeri belirlendikten sonra karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır, farklı sıcaklıklarda salım çalışmaları yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Moleküler Baskılı Polimer

MIP'ler, hedeflenen bir molekül için sentetik reseptörlerdir. MIP'ler en iyi, doğal, biyolojik antikör-antijen sistemlerine sentetik analoglar olarak tanımlanır. Bu nedenle, sentez sırasında kalıp haline getirildikleri molekülü seçici olarak bağlamak için bir "anahtar-kilit" mekanizmasıyla çalışırlar (Belbruno, 2019). Bu nedenle, immünoanalizler, afinite ayrımı, biyosensörler ve yönlendirilmiş sentez ve kataliz gibi seçici bağlanma olaylarının önemli olduğu uygulamalarda kullanılabilirler.

MIP ler sentezlendikten sonra özel bir saklama koşulu gerektirmez ve düşük maliyetli olmaları, moleküler tanımaya uygun olmaları büyük bir avantajdır. Moleküler baskılı polimerler geniş bir sıcaklık, basınç ve pH aralığında çalışma için uygundur, fiziksel ve kimyasal faktörlere karşı oldukça dayanıklıdır. Ayrıca MIP'lerin uzun yıllar boyunca saklanabilir ve tekrar tekrar kullanılabilir olması da sağlamış olduğu diğer bir avantajdır.

Moleküler baskılama yöntemi ilk defa 1972'de Günter Wulff ve çalışma grubu tarafından tanımlanmış ve sentetik polimerlerde fonksiyonel grupların üç boyutlu yapılarının düzenlenmesiyle oldukça seçici bağlanma bölgeleri elde etmek amacıyla kullanılmıştır (Wulff vd., 1987).

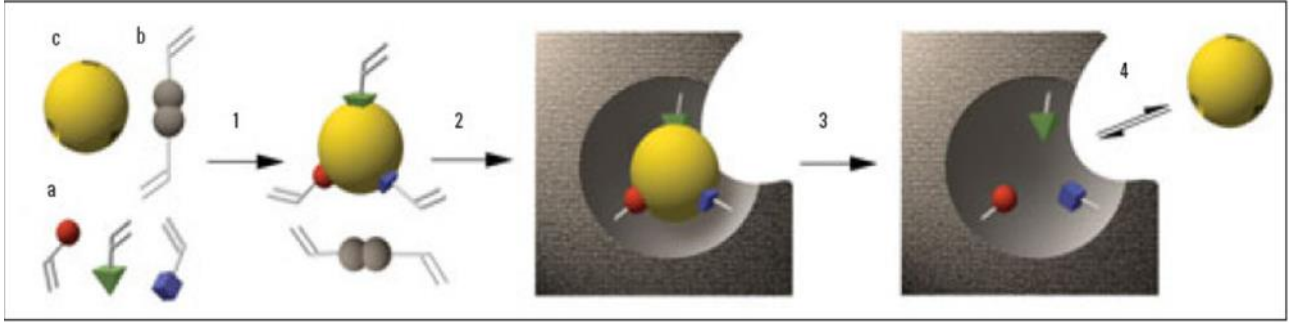
Moleküler baskılama yöntemi aşağıda açıklandığı gibi 3 adımda gerçekleşir:

Ön kompleksleşme: Uygun fonksiyonel gruba sahip monomer, ilgilenilen hedef molekül ile kovalent veya kovalent olmayan etkileşimlerle kompleks oluşturur. Bu etkileşimde hedef molekülün üç boyutlu yapısı ve kimyasal özellikleri önemlidir.

Polimerleşme: Polimerleşme adımı, monomer-kalıp kompleksi, uygun bir çapraz bağlayıcının da kullanılmasıyla fonksiyonel monomer üzerinden polimerleştirilir.

Hedef Molekülün Uzaklaştırılması: Yapıda hedef molekülün kalıbını oluşturacak gözeneklerin oluşturulması amacıyla, hedef molekül polimerden uzaklaştırılır. Uygun koşullar altında, bu boşluklar hedef molekülün boyutunu, yapısını ve fizikokimyasal özelliklerini tanıyarak; seçici ve etkin olarak kalıp molekülü bağlar (Ye ve Mosbach, 2001;

Komiyama vd., 2003; Sellergren ve Allender, 2005). Şekil 2.1 de hedef molekülün uzaklaşma aşamaları gösterilmiştir (Haupt, 2003).



Şekil 2.1. Hedef molekülün uzaklaşma aşamaları

(a) fonksiyonel monomerler

(b) çapraz bağlayıcı

(c) kalıp molekül karıştırılır

(1) Fonksiyonel monomerler kalıp molekül ile kompleks oluştururlar

(2) Fonksiyonel monomerler çapraz bağlayıcı ile kopolimerize olurlar

(3) Polimerizasyon ilerlerken kalıp etrafında çözünmez, çapraz bağlı polimer ağ oluşur.

(4) Kalıbın uzaklaştırılmasıyla kalıba uygun, oldukça seçici, tamamlayıcı bağlanma bölgeleri içeren polimer elde edilir.

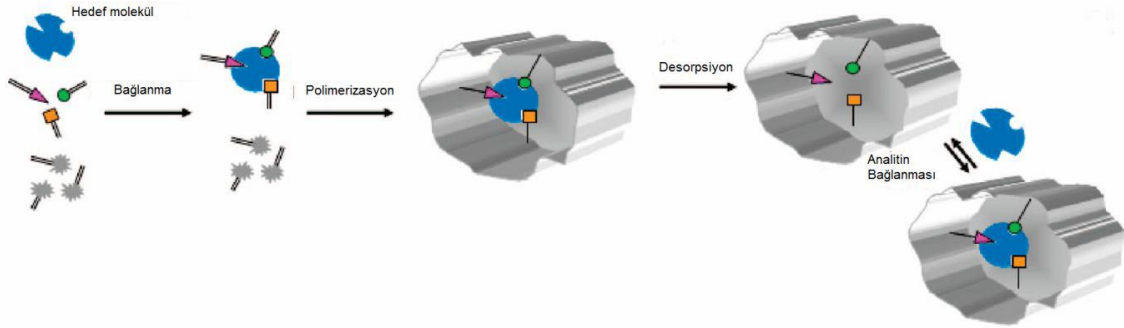
2.2. Moleküler Baskılama Metodları

Moleküler baskılama metodu hedef molekül ile monomer arasındaki etkileşim çeşidine göre kovalent ve kovalent olmayan baskılama yöntemi olmak üzere iki ana gruba ayrılır. 1972'de Wulff ve Klotz, organik polimerlere moleküler baskılamayı geliştirdi. Moleküler baskılamanın, polimerlerin baskılanmış olan boşluğuna kovalent olarak işlevsel grupların yerleştirilmesiyle mümkün olduğunu açıklamışlardır. (Wulff, vd., 1972; Takagishi vd., 1972). Mosbach grubu daha sonra fonksiyonel grupları kovalent olmayan etkileşimler yoluyla baskılanma ile yerleştirmenin mümkün olduğunu ve böylece kovalent olmayan baskılamanın gelişimine yol açtığını kanıtladılar (Sellergren, 1997; Shah, 2012).

2.2.1. Kovalent Baskılama Yöntemi

Kovalent baskılamada, hedef molekül, polimerleşme ortamında fonksiyonel monomerlere kovalent olarak bağlanır. Polimerizasyondan sonra, polimer matris hedef molekülden ayrılır ve kalıp molekül şeklinde boşluk bırakılır. Orijinal molekül ile

yeniden bağlandıktan sonra, bağlanma yerleri hedef molekül ile etkileşime girerek kovalent bağları yeniden oluşturur. (Wulff vd., 1982; Wulf, 1982). Moleküler baskılamadaki kovalent etkileşimlerin örnekleri arasında, polimer sentezinden (Wulff ve Sarhan, 1972) önce Schiff baz bağlarının (Wulff, Best, Akelah, 1984; Wulff ve Vietmeier, 1989), boronik ester bağlarını (Wulff ve Schauhoff, 1991) ketallerin (Shea ve Dougherty, 1986; Shea ve Sasaki, 1991) veya asetal bağların (Wulff ve Wolf, 1876) oluşumu yer alır. Bağ oluşumu sırasında, bağ oluşumu ve bağ kopmasıyla ilişkili kinetikler çalışmalar değerlendirilir. Baskılanmış molekül daha sonra kalıptan salınır ve burada hedef molekülle yeniden bağlanarak polimerizasyondan önce oluşan kovalent bağları oluşturur (Nasrullah, 2012).



Şekil 2.2. Kovalent baskılamanın şematik gösterimi (Çorman, 2010).

2.2.2. Kovalent Baskılamanın Avantajları

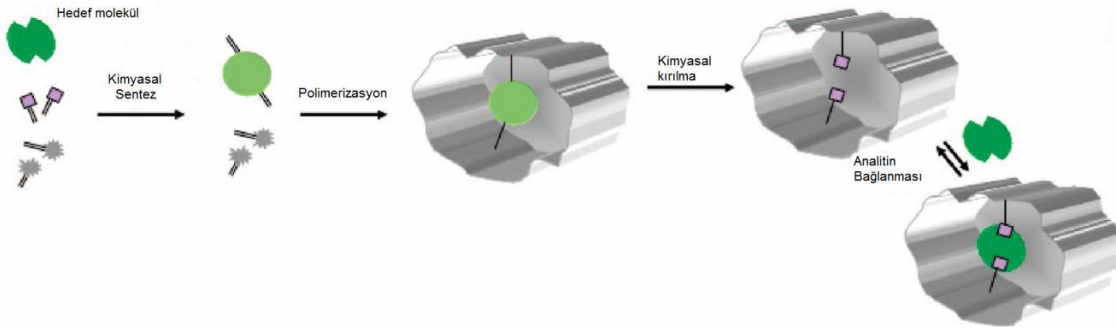
1. Kararlı kalıp-monomer kompleksi oluştuğundan bağlanma bölgelerinin homojen dağılımı gerçekleşir.
2. Konjugatlar kovalent bağlarla oluşturulduğu için polimerizasyon koşulları (yüksek sıcaklık, yüksek veya düşük pH gibi) istenildiği gibi uygulanabilir (Çorman, 2010).

2.2.3. Kovalent Baskılamanın Dezavantajları

1. Monomer-kalıp molekül konjugatının sentez işlemi ekonomik değildir.
2. Hedef molekülün polimere tersinir olarak bağlanma oranı sınırlıdır.
3. Kovalent bağ oluşumu nedeniyle bağlanma kinetiği oldukça yavaştır (Steinke, Sherrington, Dunkin, 1995).

2.2.4. Kovalent Olmayan Baskılama Yöntemi

Kovalent olmayan baskılama yönteminde, kalıp molekül ve fonksiyonel monomer arasındaki etkileşim kuvvetleri, polimer matris ve analit arasındaki etkileşim kuvvetleriyle aynıdır. Bu prosedürde yer alan kuvvetler, hidrojen bağları, dipol-dipol etkileşimlerini ve indüklenmiş dipol gibi zayıf etkileşimleri içerebilir (Alexander vd., 2006). Bu yöntem, kolay hazırlık ve şablon moleküle bağlanabilen çok çeşitli fonksiyonel monomerler nedeniyle MIP'ler oluşturmak için en yaygın kullanılan yaklaşımdır.



Şekil 2.3. Kovalent olmayan baskılama yönteminin şematik gösterimi (Çorman, 2010)

2.2.5. Kovalent Olmayan Baskılamanın Avantajları

1. Monomer-kalıp molekülün sentezine gerek olmadığı için uygun fiyatlı bir işlemdir.
2. Polimerizasyondan sonra hedef molekül polimerden kolay uzaklaştırılır, çünkü kovalent olmayan etkileşimler zayıftır.
3. Hedef molekülün bağlanma kinetiği hızlıdır (Selligren, 1988).

2.2.6. Kovalent Olmayan Baskılamanın Dezavantajları

1. Polimerizasyon koşulları oldukça sınırlıdır (hedef molekül ve monomer yaklaşması değişkendir ve kesinlikle sitokiyometrik oranlarda birleşmezler).
2. Fonksiyonel monomerler bağ oluşum dengesini arttırmak amacıyla çok fazla kullanılır ve özgün olmayan bağlanma bölgelerinin oluşumuna neden olabilir (Katz ve Davis, 1999; Dong vd., 2002).

2.3 Moleküler Baskılı Polimer Bileşenleri ve Polimerleşmeyi Etkileyen Faktörler

Moleküler baskılı polimerin sentezi için gerekli temel bileşenler, kalıp molekül, bir veya daha fazla fonksiyonel monomer, çapraz bağlayıcı, başlatıcı ve çözücüdür.

2.3.1. Kalıp Molekül

Kalıp molekül, baskılanacak olan materyalde seçici kalıpların oluşumuna yol açacak olan fonksiyonel monomer ya da monomerler ile etkileşimlerden sorumlu olduğu için molekül baskılamada önemli bir rol oynar. Genellikle hedef molekül, polimerizasyon için kalıp olarak seçilir.

Seçilen kalıp, radikal polimerizasyon koşullarında kararlı olmalıdır, yani polimerize edilebilir grupları veya polimerizasyon kinetiğini etkileyen fonksiyonel grupları içermemelidir; ultraviyole (UV) ışınlama altında polimerizasyonlar için fotokararlı veya ısıya duyarlı polimerizasyonlar için ortam sıcaklıklarında kararlı olmalı ve polimerizasyondan önce bir yüzey üzerinde hareketsiz hale getirilmediği sürece ön polimerizasyon işleminde çözeltide çözünmüş olmalıdır (Linares vd., 2009; Kirat vd., 2009). Prensip olarak, MIP'ler her türlü kalıp malzeme için hazırlanabilir, ancak en iyi sonuçlar mol kütlesi 200–1200 g aralığında değişen kalıp malzemeler için elde edilmiştir (Whitcombe vd., 2011).

2.3.2. Fonksiyonel Monomer

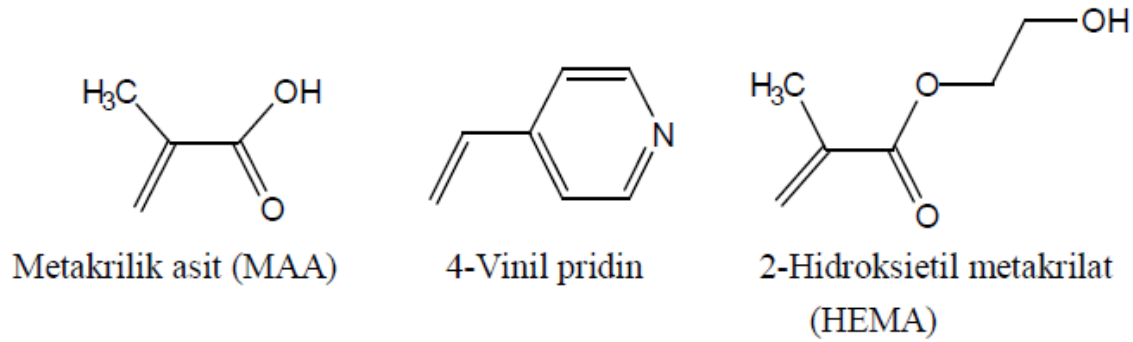
Fonksiyonel monomer, baskılı boşluklarda hedef molekül ile bağlanma etkileşimlerinden sorumlu olan fonksiyonel grupları içerir. Böylelikle, baskılama sırasında kalıp ve fonksiyonel monomer arasındaki daha güçlü etkileşimler, daha yüksek bağlanma kapasitesi ve seçiciliği olan MIP ile sonuçlanır (Selligren, 1999). Bazı durumlarda, monomer reaktivitesi kalıp molekül ile kompleks oluşumdan etkilenebilir (Urraca vd., 2008; Venkatesh ve Sizemore 2007). Kalıp molekül ile fonksiyonel monomer oranı çok az olursa yeterli bağlanma bölgeleri oluşmaz veya çok yüksek olursa seçici olmayan adsorpsiyon bölgeleri meydana gelir (Cormack ve Mosbach, 1999). Kalıp molekül ile fonksiyonel monomer arasındaki karmaşık yapı Le Chatelier prensibine dayanır. Le Chatelier prensibine göre ön-polimerizasyon sırasında kompleks yapı şekil alır, bileşenlerin konsantrasyonu artar veya kompleks yapının bağlanma seçiciliği artar. Baskılanmış polimerlerin bağlanma bölgeleri sayısındaki artış, polimerin her gramında seçicilik veya bağlanma faktörü sağlar (Spivak, 2005).

Kompleks oluşumu ve baskılama etkisini arttırmak için fonksiyonel monomerlerin ve baskılanacak molekül veya iyonun fonksiyonel gruplarının uyumu önem taşımaktadır. Asidik, bazik ve nötral özelliklere sahip bazı fonksiyonel monomerlerin adları aşağıda verilmiştir.

Asidik Fonsiyonel Monomerler: Metakrilik Asit (MAA), Akrilik Asit (AAc), İtakonik Asit, p-Vinil Benzoik Asit

Bazik Fonsiyonel Monomerler: 2-Vinilpiridin, 4-Vinilpiridin, Allilamin, N-(3-aminopropil) metakrilamid

Nötral Fonsiyonel Monomerler: Akrilamid, Metil Metakrilat, Stiren, 2-Hidroksi Metakrilat

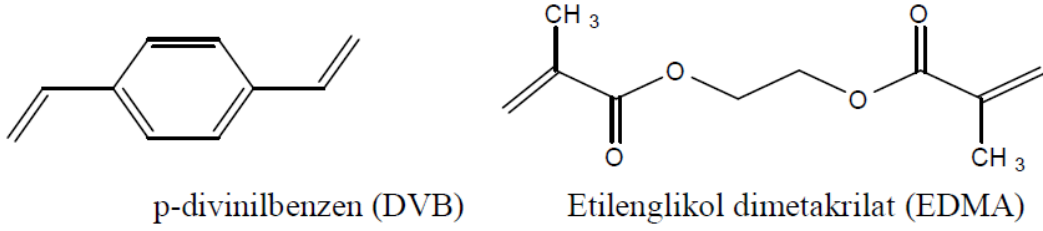


Şekil 2.4. Yaygın olarak kullanılan fonksiyonel monomerler

2.3.3. Çapraz Bağlayıcı

Etkin bir baskılama işlemi için, çapraz bağlayıcı ile fonksiyonel monomerin uyum içinde olması önemlidir. Çapraz bağlayıcının ve fonksiyonel monomerin stokiyometrik olarak denge halinde olması gerekir. Eğer stokiyometrik olarak dengede olmazsa kopolimerizasyon gerçekleşmez. Ayrıca çapraz bağlayıcının türü ve kullanım miktarı, polimerik ağın morfolojisini ve mekanik kararlılığını da etkilemektedir. Kalıcı gözenekli bir yapıya ve yüksek yüzey alanına sahip, mekanik olarak sağlam bir MIP sentezi için çapraz bağlayıcı oranı % (10-80) aralığında olmalıdır (Cormack ve Elorza, 2004).

Çapraz bağlayıcılar daha az miktarlarda kullanıldığında ise, kalıp moleküllerin bağlanma bölgeleri birbirlerine çok yaklaşır. Hedef molekülün bağlanma bölgeleri komşu bölgeler tarafından kapatılır ve yine etkin bir sonuç elde edilemez (Chapuis, Pichon, Hennion, 2004). Organik çözücülerde moleküler baskılama için etilen glikol dimetakrilat (EDMA) ve divinil benzen (DVB) en sık kullanılan çapraz bağlayıcılardır.



Şekil 2.5. Organik çözücülerde yaygın olarak kullanılan çapraz bağlayıcıların kimyasal formülleri

2.3.4. Çözücü

Baskılama yönteminin çeşidine bağlı olarak uygun çözücüler seçilir. Seçilen çözücünün miktarı, büyüyen baskılı parçacıkların boyutunu ayarlamak için değiştirilebilir. Büyüyen polimerin polimerizasyon ortamında çözünürlüğü, polimerin çökeliş çökelmeyeceğini veya çözülmüş halde kalacağını belirler. Bu özellik MIP'in, mikro yapısını makroskopik görünümünü belirler.

Apolar çözücüler, hidrojen bağı oluşumu olasılığını artırmak için kullanılır; hidrofobik kuvvetlerle kompleksleşmeye neden olmak için su veya diğer polar çözücüler tercih edilir (Cormack ve Elorza, 2004). Son zamanlarda çözücü olarak su kullanılan MIP yöntemi giderek daha fazla ilgi çekmektedir (Janiak ve Kofinas, 2007; Stringer, Gangopadhyay ve Grant, 2011).

Organik çözücülerin kullanımı, peptidler, oligonükleotidler veya şekerler gibi belirli şablonlarla uyumluluk sorunları nedeniyle sınırlanabilir (Yang vd., 2012). İlaç salım uygulamalarında ise organik çözücülerden kaçınılmalıdır (Alvarez-Lorenzo ve Concheiro, 2004).

2.3.5. Başlatıcılar

Çoğu MIP, serbest radikal polimerizasyonu (SRP) kullanılarak sentezlenir. Süreç üç temel adımdan oluşur: Başlama, büyüme ve sonlanma. İlk adımda, radikal oluşturma genellikle bir başlatıcının ayrıştırılmasıyla gerçekleştirilir. Başlatıcı konsantrasyonunun artırılması, daha yüksek polimerizasyon hızları, ancak daha düşük mol kütlesine sahip polimerik yapılar ile sonuçlanır. SRP'de kullanılan en önemli başlatıcılar, azo bileşikleri, perokso bileşikleri, redoks sistemleri ve foto başlatıcılardır.

Azo başlatıcılardan serbest radikallerin oluşumu, UV ile ışınlanması veya ısıtma ile gerçekleştirilebilir. Azo grubunun her iki tarafta nitril veya ester grupları taşıyan üçüncül karbon atomlarına bağlandığı azo başlatıcılar, alkil gruplarına ek olarak özellikle radikal polimerizasyon için uygundur. MIP'nin hazırlanmasında en yaygın olarak kullanılan azo başlatıcı 2,2'-azobis (izobütironitril) (AIBN) 'dir. Diğer ticari olarak temin edilebilen azo bileşikleri, örneğin 2,2 p-azobis- (2,4-dimetilvaleronitril) ise daha düşük polimerizasyon sıcaklıklarında kullanılabilir.

Polimerizasyon koşullarında, polimerleşmenin UV ışınlarına duyarlı başlatıcılarla başlatılması tercih edilmektedir. Kalıp molekül ile fonksiyonel monomer arasındaki etkileşimin hidrojen bağı ile sağlandığı durumlarda düşük polimerizasyon sıcaklığı tercih edileceğinden düşük sıcaklıklarda kullanılacak fotokimyasal başlatıcılar seçilmelidir (Yu ve Mosbach, 1997).

2.4. Moleküler Baskılı Polimer Karakterizasyon Yöntemleri

Genel olarak, MIP'lerin morfolojileri taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ile belirlenir. Atomik kuvvet mikroskobu (AFM) ve çeşitli floresan teknikleri de film halinde bulunan ince MIP'lerin karakterizasyonunda önemli rol oynamaktadır. Monomer-kalıp etkileşimlerini karakterize etmek için nükleer manyetik rezonans (NMR), kızılötesi (IR) ve UV-Görünür Bölge (UV-GB) spektroskopileri kullanılmaktadır. Polimerlerin spesifik yüzey alanları ve gözenek boyutları azot adsorpsiyon deneyleri aracılığıyla Brunauer-Emmett-Teller (BET) analizi ile ölçülebilir. Isıl kararlılık termogravimetrik analiz (TGA) ile incelenir. Fe₃O₄ gibi manyetik malzemeler için manyetik özellikler, titreşimli örnek manyetometresi (VSM) kullanılarak analiz edilir (Ersoy, 2018).

2.5. Moleküler Baskılama Yönteminin Kullanıldığı Uygulama Alanları

- Moleküler olarak baskılanmış hidrojellerin kontrollü ilaç salımında,
- Ayırma işlemlerinde,
- Zor ayırmalar için (enantiyomerler, oligonükleotidler gibi) kromatografik destek malzemesi olarak,
- Katalitik aktiviteye sahip polimerler veya yapay enzim olarak,

- Biyolojik reseptörleri taklit eden yapılar olarak,
- Tanıma elemanı olarak biyosensörlerde,
- Seçimli difüzyonu sağlamak üzere tasarlanmış membranların yapımında,

kullanılmaktadır (Haginaka ve Kagawa, 2004).

2.6. Moleküler Baskılanmış İlaç Salım Sistemleri

MIP'ler gibi sentetik moleküler olarak seçici reseptörler, birçok alanda geniş bir uygulama alanına sahiptir, ancak belki de en büyük potansiyele sahip olan ve muhtemelen zorluk alanı en büyük olan, terapötik ve tıbbi tedavidir. MIP'lerin kontrollü salımda kullanımı ilk farmakolojik alanda olmuştur. Vtakis ve arkadaşları ilk kez teofilin ve diapezam için kovalent olmayan MIP bazlı sistemler geliştirmiştir fakat bunu kontrollü ilaç sisteminde kullanmamıştır (Vlatakis vd., 1993). Farklı gruplar basit sentezlerle ilaç salımında MIP'leri kullanmıştır. Bu gruplar fonksiyonel monomer olarak MAA, çapraz bağlayıcı olarak etilen glikol dimetakrilat (EDMA) ile MIP sentezini gerçekleştirmiştir. MAA seçiminin nedeni iyonik etkileşimlerde ön plana çıkmaktadır. Çözücü seçimi de optimal bağlama ve seçicilik özelliklerine dayalı olmuştur. Bu özellikler sayesinde MIP'ler farmakolojik alanda dikkati çekmiştir (Wang ve Recum, 2011).

MIP'lerin ilaç salımında sağladığı avantajlar:

1. MIP'ler ilaç salımının terapötik doz çerçevesinde ve yavaş salımını sağlar.
2. MIP'lerin yükleme kapasitesini güçlendirir.
3. Çapraz bağlayıcı miktarı değiştirilebildiği için avantaj sağlar. Yani çapraz bağlayıcı miktarı azaltılarak ya da artırılarak ilaç salımının yavaş ya da hızlı olması sağlanabilir.
4. MIP'ler çevresel değişimlerden çok etkilenmediği için kullanım aralığı geniştir.
5. Kalıp molekülün fonksiyonel monomere seçiciliği sayesinde uzun süre salım gerçekleştirilebilir (David ve Peppas, 2009).

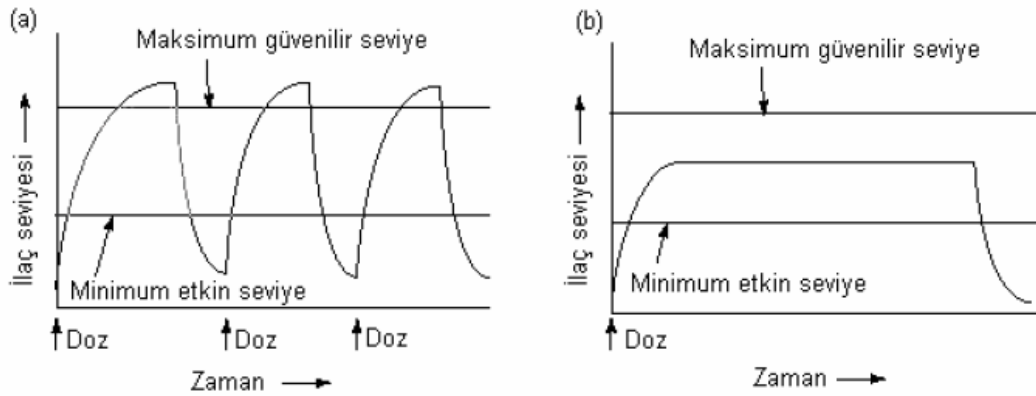
2.7. Kontrollü İlaç Salım Sistemleri

Vücut için gerekli olan ilaç etken maddesini salım hızını kontrol ederek hedefe ulaştıran sistemlere ‘‘Kontrollü Salım Sistemi’’ denir. Kontrollü salım sistemlerinde salınacak

olan ilaç salımı yapacak olan polimer yapıdan belli bir süre boyunca salınır. Son yıllarda, ilaç etken maddesini vücudun belirli bölgesine bırakan veya uzun zamanlı ilaç salım hızını kontrol eden kontrollü ilaç salım sistemleri geliştirilmiş olup bu sistemler tıp, eczacılık, gen mühendisliği gibi bilim dallarında kullanılmasıyla büyük önem kazanmıştır.

İlaç alanındaki çalışmaların amacı; ilaç dozunu minimuma indirmek ve ilaç alma aralığını uzatmak, hastayı ilacın yan ve zararlı etkilerden korunmasını sağlayarak yaşam kalitesini arttırmaktır. Bu amaca en uygun sistemler kontrollü salım sistemleridir. Kontrollü salım sistemleri enzimler, biyolojik ajanlar, antijenler gibi aktif ajanları istenilen hız ve zamanlarda belirlenen bölgelere salabilen sistemlerdir.

İlaç alımında sıklıkla kullanılan klasik yöntemler, tablet/kapsüllerin ağızdan alımı ya da enjeksiyon şeklindedir. Kullanılan klasik yöntemlerde vücuda alınan ilacın derişimi oldukça dalgalı bir profil göstermektedir. Bu tip alışılmış dozaj şekillerinde ilacın plazma düzeyini etkili dozda tutabilmek için ilacın sık ve tekrarlanan dozlarda alınması gerekmektedir. Kandaki ilaç düzeyinin zamana karşı değişimi Şekil 2.6’da gösterilmiştir.



Şekil 2.6. Plazmadaki ilaç derişiminin zamanla değişimi (a) Oral kullanım (Klasik Salım); (b) Kontrollü salım (Shaik, Korsapati ve Panati, 2012).

Şekilde 2.6 (a) da görüldüğü gibi oral kullanımda (klasik salım sistemi) ilaç seviyesi maksimum ve minimum değerler arasında ani dalgalanmalar gösterir. Klasik ilaç uygulanmasındaki en önemli nokta, ilacın zehir etkisi gösterebileceği bir maksimum düzey üzerine çıkması ile minimum düzey altına inildiğinde etki göstermeyeceği bir seviye arasında tutulmasıdır. Bu etki değerlerinin altında ilaç, uzun süre etkili değildir.

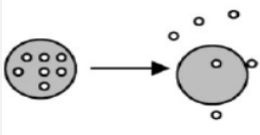
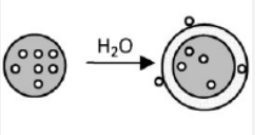
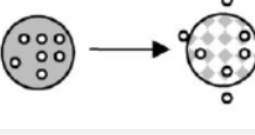
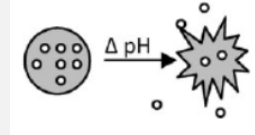
Şekil 2.6 (b) de verilen kontrollü ilaç salımında ise yüksek ya da düşük doz ayrımı olmaksızın ilacın uygun değerde kararlı bir şekilde uzun bir periyot boyunca salınması amaçlanır (Shaik, Korsapati ve Panati, 2012).

2.8. İlaçların Salım Mekanizmaları

Kontrollü ilaç salım mekanizmaları şu şekilde karakterize edilir:

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

Çizelge 2.1. İlaç salım mekanizmasına dayalı dört geleneksel ilaç dağıtım sistemi kategorisinin özeti – 1. Difüzyon kontrollü, 2. Şişme kontrollü, 3. Erozyon kontrollü ve 4. Uyarıcı kontrollü sistemler (Wang ve Recum, 2011).

Difüzyon Kontrollü	Şişme Kontrollü	Erozyon Kontrollü	Uyarıcı Kontrollü
Salım, difüzyon derişim gradyanı ile gerçekleşir.	Salım şişme derecesi ile gerçekleşir.	Salım fiziksel ve kimyasal yollarla gerçekleşir.	Salım dışardan bir uyarı ile gerçekleşir.
Fickian Modelleri	Suyun polimere difüzyonu ilacın salımına izin verir.	Yüzeysel veya yığın olabilir.	Fiziksel ve kimyasal olabilir.
Matriks bazlı veya rezervuar bazlı olabilir	Kısa periyotlarla doğrusal olabilir.		
Örnek; Polietilen vinil asetat (PEVAC)	Örnek; Poli(HEMA) Poli vinil alkol (PVA)	Örnek; Poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA), Polikaprolakton (PCL)	Örnek; Poli(N-İzopropilakrilamid) (PNIPAM)
			

2.8.1. Difüzyon Kontrollü Sistemler

Bu sistemlerde etkin maddenin salım hızı, etkin maddenin suda çözünmeyen bir polimerden veya kontrollü ilaç salım sisteminden difüzyonu ile kontrol edilir. İlaç, ince bir polimerik zar ile çevrelenen bir çekirdek görünümündedir. İlaç salımı zardan difüzyonla gerçekleşir. Etkin maddenin salımı Fick'in birinci yasasına göre gerçekleşir.

$$J = -D \frac{dC_m}{dx} \quad (2.1)$$

Eşitlikte J, etkin maddenin azalan konsantrasyon yönünde membrandan akımını g/(cm²s) (miktar/alan.zaman); D, membrandan etkin maddenin difüzyon katsayısını cm²/s (alan/zaman) ve dC_m/dx ise membran içindeki ilaç konsantrasyonunun x uzaklığındaki değişimini göstermektedir. Membranın her iki yanında etkin maddenin dengede olduğu varsayıldığında; dağılma katsayısı (K) ile membranın iç yüzeyindeki ve x mesafesindeki etkin madde konsantrasyonları arasındaki ilişkiler şu şekilde ifade edilir:

$$x = 0 \text{ için } K = C_{m0} / C_0$$

$$x = 1 \text{ için } K = C_{m1} / C_1$$

Difüzyon kontrollü sistemlerin (zar-kontrollü veya rezervuar-kontrollü) çok sayıda ticari ürünü piyasada mevcuttur. Ocusert adıyla bilinen ürün, glokom hastalığının (körlüğe neden olan bir göz hastalığı) tedavisinde kullanılmak üzere pilokarpin isimli bir ilacı salan rezervuar sistemden ibarettir. Gözün alt boşluğuna yerleştirilerek kullanılan Ocusert, uzun süreli olarak sabit hızda pilokarpin (etkin madde) salar (Basan, 2001).

2.8.2. Şişme Kontrollü Sistemler

Şişme kontrollü sistemlerde, polimerin içerisine su alarak şişmesine bağlı olarak kontrollü salım gerçekleşir. Şişme polimerin esnekliğini artırır ve büyük gözenek oluşumunu sağlar. Sonuç olarak kısa periyotlarla salım yalancı-doğrusal olarak gerçekleşir (Colombo, 1993).

2.8.3. Erozyon Kontrollü Sistemler

Biyobozunur polimerlerin gelişimiyle bu sistem oldukça yaygınlaşmıştır. Salım oldukça karmaşıktır. Salım fiziksel veya kimyasal yollarla gerçekleşir. Bu erozyon madde taşınımı, ilacın çözülmesi, polimer bozunması, pH değişimleri, polimer matrisinde difüzyon veya gözenek yapımı ile gerçekleşebilir (Freichel ve Lippold, 2000).

2.8.4. Dışsal Uyarı ile Kontrollü Sistemler

Salım dışardan bir uyarı ile gerçekleşir. Fiziksel (sıcaklık, pH, kimyasal bileşim) veya kimyasal bir uyaran gerekmektedir (Li ve Mooney, 2016).

2.8.5. Kontrollü Salım Sistemlerinin Avantajları ve Dezavantajları

Kontrollü salım sistemleri bugün birçok hastalığın tedavisinde başarılı olarak kullanılmaktadır.

Kontrollü ilaç salım sistemlerinin avantajları şunlardır:

- Kontrollü salım sistemlerinde belirli bir doz alındıktan sonra tedavi edici oranda ilacın plazma düzeyi, istenilen süre (10-12 saat, bir gün, bir hafta veya bir yıl) sabit kalır ve böylece hasta sık sık ilaç almaktan kurtulur ve tedavi oldukça düşük dozlarla sağlanabilir.
- Düşük dozlarla tedavi sağlanabildiği için ilacın yan ve toksik etkileri azalır veya tamamen ortadan kalkar. Antikanser ilaçlarda bu durum çok belirgindir.

- Kontrollü salım sistemleri hedef bölgeye yönlendirilebilir. Bu sistemlerle etkin madde, tedavisi istenen bölgeye, organa, dokuya veya hücreye ulaştırılabilir ve böylece zararlı etkiler azaltılabilir.
- Hastaların yaşam kalitesi artar ve hasta bakımı kolaylaşır. Tedavi sırasında ilacın yan ve toksik etkilerinin görülmemesi, sık sık ilaç alınmaması hastaya rahatlık ve hasta bakımı yapan kişilere kolaylık sağlar.
- Hastaya uygulanacak ilaç rejimine hastanın uyumunu sağlayacak şekilde gerekli dozaj miktarı ayarlanabilir.
- Kontrollü salım sistemi ile uygulanmakta olan etkin madde kapalı bir sistemde bulunduğu için ortam koşullarından etkilenmez (Gürsoy, 2002)..

Ancak bu sistemlerin bazı dezavantajları da vardır:

- Kontrollü salım sistemlerinden birçoğunun yapı taşı polimerlerdir ve ilaç salım hız ve süreleri polimerlerle ayarlanır, amacına ve ilacın özelliklerine göre bir veya birkaç polimer kullanarak sistem hazırlanır. Bazen polimerlerin sorun çıkarma olasılığı vardır.
- Üretim sırasında veya sonrasında oluşabilecek polimerin yapısındaki çatlaklar nedeniyle; ilaç vücuda verildikten sonra istenilenin aksine salımın kontrolü zorlaşabilir.
- Her ilacın kontrollü salım sistemi ile hazırlanamayacağı gibi, her ilaca uygun tek bir hazırlama yöntemi de yoktur. Kullanılan etken maddenin yapısına ve özelliklerine göre hazırlama yöntemi belirlenir.
- Yarılanma ömrü çok kısa olan ilaçlar için uygun bir sistem değildir. Yarılanma ömrü çok uzun olan ilaçların da zaten kontrollü salım şeklini hazırlamaya gerek yoktur. Yarılanma ömrü 4 saat civarında olan ilaçlar bu sistem için en uygun ilaçlardır (Gürsoy, 2002).

Ancak, yine de bu tür sistemler geliştirilirken ilacı taşıyan malzemelerin ya da bozunma ürünlerinin toksisitesi, hızlı ilaç salımı gibi diğer güvenlik hususları, sistemin kendisinden ya da vücuda yerleşiminden kaynaklanan rahatsızlık, ilaç taşıyıcı malzemeler ya da üretim süreci nedeniyle sistem maliyetinin artışı gibi noktalar göz önünde bulundurulmalıdır (Patel vd., 2007).

2.9. İlaç Salım Kinetiğinin Matematiksel Analizi

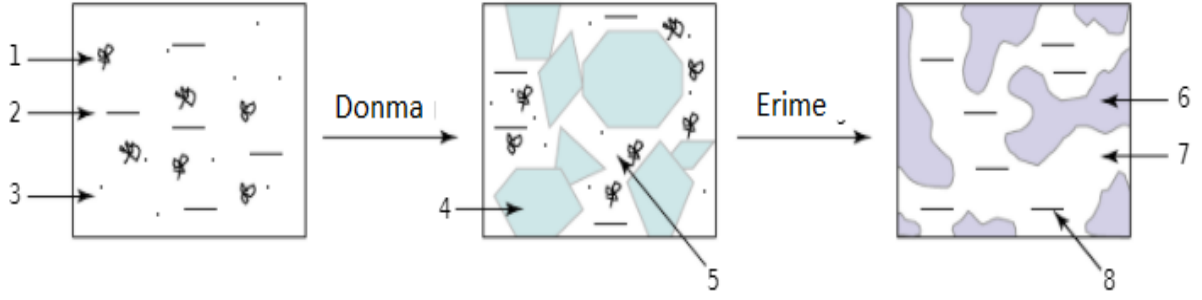
Farklı tipteki MIP'lerden vankomisin salım mekanizmasını incelemek için, deneysel verilere uyan beş farklı kinetik model düşünülmüştür. Bu modeller zero-order, first-order, Higuchi, Korysmeyer-Peppas, Hixson-Crowell modelleridir. Bu tezde kullanılan model, Ritger-Peppas tarafından verilen denklemdir (Ritger ve Peppas, 1987).

$$M_t/M_{eq}=kt^n \quad (2.2)$$

Bu eşitliğe göre, M_t , belli bir zamanda salımı gerçekleşen ilaç miktarını, M_{eq} ise sistem dengeye ulaştığında salınmış olan ilaç miktarını vermektedir. Eşitlikteki k ve n değerleri ise sırasıyla, difüzyon katsayısını ve ilaç salım mekanizmasını belirten salım üstelini göstermektedir. $\ln(M_t/M_{eq})$ ve $\ln t$ 'ye göre çizilen bir grafiğin eğimi n değerini, kesim noktası ise k değerini vermektedir. Bu eşitlik toplam salınan ilacın %60'lık kısmına kadar uygulanabilmektedir. Denklemden elde edilen n değerinin iki özel durumda iki ayrı anlamı vardır. $n=0,5$ değeri Normal Fickian Difüzyonu ifade eder ve ilaç salımının difüzyon kontrollü olduğunu ve $n=1$ değeri ise Case II difüzyonunu tanımlar ve ilaç salımının şişme kontrollü gerçekleştiğini belirtir. Salım üsteli olan n değeri 0 ve 1 arasında bir değer aldığı anda Fickian ve Case II difüzyonun bir karışımını ifade eder ve Non-Fickian Difüzyonu olarak adlandırılır.

2.10. Kriyojel

Kriyojeller ilk olarak 1960 yıllarında literatüre girmiş ve biyoteknolojik olarak potansiyelleri ise yeni keşfedilmiştir (Lozinsky vd., 2003). Kriyojel tanımı Yunanca da krios yani donma ya da buz anlamına gelmektedir ve kriyojeller jel matriksler olarak tanımlanırlar (Denizli ve Küfrevioğlu, 2010; Lozinsky vd., 2003). Kriyojel uygun monomer ya da polimer öncü malzemeleri kullanılarak kısmi donmuş sıvı faz içerisinde sentezlenir (Şekil 2.7) ve buz kristalleri gözenek yapıcı olarak görev alır, polimerleşme sonunda buz kristallerin erimesiyle birbirine bağlı gözenekli yapılar elde edilir (Denizli ve Küfrevioğlu, 2010; Ertürk ve Mattiason, 2014).



Şekil 2.7. Kriyojelleşme basamaklarının şematik gösterimi

1. çözeltideki makromoleküller;
2. çözücü;
3. düşük-molekül kütleli maddeler;
4. donmuş çözücünün polikristalleri;
5. donmamış sıvı mikrofaz;
6. kriyojelin polimer duvarı;
7. makrogözenekler;
8. çözücü (Denizli ve Küfrevioğlu, 2010).

Kriyojeller (kriyotopik jelleşme) kovalent, kovalent olmayan ya da iyonik bağlardan oluşabilir ve dondurma sistemi kullanılmadan elde edilen jellerle kıyaslandıkları zaman önemli morfolojik farklılıklara sahiptir (Lozinsky vd., 2003). Kriyojeller, kullanım amaçlarına göre silindirik, granüller veya disk şeklinde üretilebilirler.

2.11. Kriyojellerin Özellikleri ve Yapısının Kontrolü

Kriyojeller normal jellerle kıyaslandıkları zaman heterofaz sistemlerden oluşurlar ve elastik yapıları, birbirlerine bağlantılı geniş gözenekleri ($1 < X < 300 \mu\text{m}$) temel özelliklerinin başında gelmektedir (Lozinsky vd., 2003; Gun'ko vd., 2013; Plieva, Galaev ve Mattiasson, 2007).

Kriyojellerin yapısal özelliklerinin belirlenmesinde sıcaklık önemli bir faktördür. Kriyojeller sulu çözeltiler kullanılarak -10°C ile -20°C arasında sentezlenmektedirler (Doretta vd., 1998). Sentez sırasında buz kristalleri hem çözücü görevini üstlenirler hem de eritme işleminin ardından birbirlerine bağlantılı gözenek oluşumundan sorumludurlar (Plieva vd., 2007). Örneğin oda sıcaklığında hazırlanmış olan jel form ile -20°C 'de hazırlanmış olan kriyojelin gözenek yapıları incelendiği zaman, oda sıcaklığında hazırlanmış olan jelin homojen, mikrogözenekli yapıda olduğu saptanmış, kriyojelin gözenek çapının $100 \mu\text{m}$ 'den büyük olduğu ve gözeneksiz duvarlara sahip olduğu gözlemlenmiştir (Plieva vd., 2007). Sentez sırasında buz kristalleri tarafından kriyojelin

gözeneklerine yapılan basınçtan dolayı, makrogözenek duvarları ince-nano ya da makrogözenekli olmaktadır (Gun'ko vd., 2013). Yapılan sentez türüne göre gözenek boyutlarını da kontrol etmek mümkündür. Plieva ve arkadaşları (Plieva vd., 2007; Plieva vd., 2005) tarafından poliakrilamid poli(AAm) kriyojeller üzerinde yapılmış olan çalışmada, tercih edilen polimerizasyon yöntemi üzerinde çapraz bağlayıcı ile farklı monomer oranlarının etkileri araştırılmıştır. Kullanılan çapraz bağlayıcının türüne göre sentezlenmiş olan kriyojellerin daha elastik ve süngerimsi yapıya yöneldiği kaydedilmiştir. Ayrıca artmış olan monomer miktarıyla birlikte kriyojellerin gözenek çaplarında değişimler belirlenmiştir. Diğer bir çalışmada P(AAm) kriyojellerin yapısını incelemek amacıyla başlatıcı stabilizör, monomer miktarları ile çözücünün özellikleri incelenmiştir (Plieva vd., 2005). Elde edilen verilere göre, artmış olan stabilizör-başlatıcı ve monomer miktarlarıyla birlikte poliakrilamid kriyojellerin daha sert bir yapıya büründüğü ve özellikle artan monomer miktarına bağlı olarak kriyojellerin elastik yapılarını kaybettikleri ve çözücülerin değişmesiyle gözenekli yapılarının değiştiği saptanmıştır (Plieva vd., 2006). Sonuç olarak polimerizasyon aşamasında kullanılan maddeler uygun koşullar altında optimize edilerek, kriyojellerin yapıları değiştirilebilmektedir.

2.12. Kriyojellerin Kullanım Alanları

Kriyojeller gözenekli yapıları, hızlı şişme kinetikleri (hidrofilik karakterden dolayı), elastik ve kararlı yapılarıyla, akış hızlarına karşı hassasiyet göstermeleri nedeniyle avantajlı malzemelerdir (Plieva vd., 2007; Kumar vd., 2006).

Kriyojellerin uygulama alanları;

Destek Malzemesi: Kriyojeller sahip oldukları avantajlar nedeniyle ayırma işlemlerinde kromatografik destek malzemesi olarak kullanım alanı bulmuşlardır. Ayırma işlemlerinde kullanılan kriyojellere örnek olarak; insan periferel kan lenfositlerini ayırma (Kumar vd., 2003) ile L-glutamik asitin ayrılması (Aydoğan, 2012) verilebilir.

Hücre ve Enzim Tutuklanması: Mekanik kararlılığı ve bazı önemli fizikokimyasal karakterleri de barındıran kriyojeller, hücre taşınmasında da kullanım alanı bulmuştur (Plieva vd., 2007). Örneğin Efremenko ve ark., (Efremenko vd., 2006) tarafından yapılmış olan çalışmada PVA kriyojellere hücre tutuklanmış (*Rhizopus oryzae*) ve laktik asit biyokatalizini hedeflemişlerdir. Diğer bir çalışmada; PVA kriyojellere enzim (glukoz 23oksidaz) immobilize edilmiştir (Doretto vd, 1998).

Destek malzemesi olarak kullanılan kriyojel membranların aynı zamanda sensör uygulamasında kullanılabilirliği araştırılmıştır (Doretta vd., 1998).

Doku Mühendisliği: Doku iskeletleri (scaffold) doku mühendisliğinde kullanılan sentetik ya da doğal polimerlerden sentezlenen, 3 boyutlu ve gözenekli yapıya sahip malzemelerdir (Sharma vd., 2013). Sharma ve ark., doğal polimerler (jelatin ve karajenan (CG)) kullanarak uygun koşullar altında kriyojel doku iskeleti hazırlamış ve doku mühendisliğinde kullanılabilirliğini araştırmışlardır (Sharma vd., 2013).

Diğer doku mühendisliği çalışmasında doğal (dekstran) ve sentetik kaynaklı HEMA sentezlenen, biyobozunur özellikteki kriyojelin doku mühendisliği için uygunluğu araştırılmıştır (Bölgen vd., 2009).

2.13. Kriyojellerin Diğer Jellerden Farkı

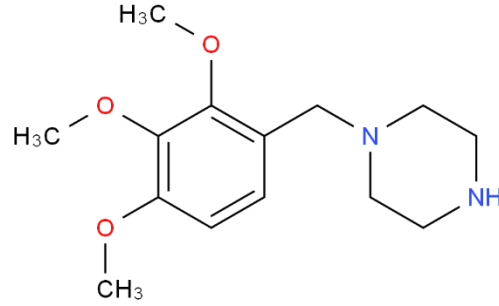
Son zamanlarda MIP'lerin kriyojel şeklinde sentezlenmeleri tercih edilmektedir. Kriyojellerin diğer jellerden farkı aşağıda özetlenmiştir;

1. Kriyojeller kimyasal-kovalent, iyonik veya kovalent olmayan bağlarla oluşabilirler.
2. İstenilen şekilde örneğin blok, silindir, tüp ve disk şeklinde üretilebilirler.
3. Birbiriyle bağlantılı üç boyutlu gözenekli yapıların elde edilmesine olanak sağlar.
4. Üretimi oldukça ucuz ve uzun süreler boyunca tekrar kullanılabilirler.
5. Yapıları heterofaz ve süngerimsi morfolojiye sahip olması avantaj sağlar.

2.14. Trimetazidin Dihidroklorür

Trimetazidin Dihidroklorür (TH) IUPAC tarafından 1-(2,3,4-Trimetoksibenzil) piperazin dihidroklorür olarak adlandırılır. Açık formülü Şekil 2.8'de gösterilmektedir. Ticari olarak Vastarel adı kullanılmaktadır.

HCl



HCl

Şekil 2.8. Trimetazidin dihidroklorür kimyasal yapısı

Trimetazidin dihidroklorürün mol kütlesi 339,26 g/mol dür. Molekül formülü ise $C_{14}H_{22}N_2O_3$. Görünümü beyaz kristaller halindedir. 235 °C'nin üzerinde erir. Suda çözünürlüğü 0,754 mg/mL dir. Suda kolay çözünür, organik maddelerde ise daha zor çözünür.

2.15. Trimetazidin Dihidroklörürün Farmakolojik Özellikleri

2.15.1. Farmakodinamik Özellikler

Farmasötik grubu:

Antianjinal ilaç.

ATC kodu: C01 EB15 (C: kardiyovasküler sistem)

Etki Mekanizması:

Trimetazidin dihidroklorür, hipoksik ya da iskemiye maruz kalan hücrelerde enerji metabolizmasını koruyarak hücre içi adenosin trifosfat (ATP)'deki azalmayı önler. Bu şekilde iyon pompalarının vetrans membranal sodyum-potasyum akışının uygun bir şekilde fonksiyon göstermesini sağlar. Trimetazidin dihidroklorür, uzun zincir 3-ketoasil-KoA tiolazı bloke edip yağ asitlerinin β -oksidasyonunu inhibe ederek glukoz oksidasyonunu arttırır. İskemik bir hücrede, glukoz oksidasyonu sırasında elde edilen enerji, β -oksidasyon işleminden daha az oksijen tüketimine gereksinim duyar. Glukoz oksidasyonunun güçlenmesi hücresel enerji işlemlerini optimize eder ve böylelikle iskemi sırasında uygun enerji metabolizmasının idamesini sağlar.

2.15.2. Farmakokinetik Özellikler

Emilim:

Oral uygulamadan sonra, trimetazidin dihidroklorür emilimi hızlıdır ve doruk plazmaya 2 saatten az sürede ulaşılır.

Dağılım:

Oral uygulanan tek doz 20 mg Trimetazidin dihidroklorürün doruk plazma konsantrasyonu yaklaşık 55 ng/ml olarak bulunmuştur. Belirgin dağılım hacmi 4,8 L/kg'dır, bu da dokulara dağılımının iyi olduğuna işaret eder.

Proteinlere bağlanması zayıftır; in vitro ölçümlerde %16 değeri saptanmıştır. Tekrarlanan uygulamadan sonra, kararlı-durum konsantrasyonuna 24 ile 36 saat arasında ulaşılır ve tedavi boyunca sabit kalır.

Eliminasyon:

Trimetazidin dihidroklorür başlıca idrarla, çoğu değişmemiş formda atılır. Atılım yarılanma ömrü yaklaşık 6 saattir.

2.15.3. Farmakodinamik Etkiler

İskemik kalp hastalığı olanlarda trimetazidin dihidroklorür bir metabolik ajan olarak görev yapar ve miyokardiyal intraselüler yüksek enerji fosfat seviyelerini korur. Anti-iskemik etkiler eş zamanlı hemodinamik etkiler olmaksızın elde edilir.

2.16. Terapötik Endikasyonlar

Birinci basamak antianjinal tedavilerle yeterli şekilde kontrol altına alınamayan veya bu tedavilere intolerans gösteren stabil anjina pektorisli erişkin hastaların semptomatik tedavisi için ekleme tedavisi olarak endikedir (servier.com).

2.17. Trimetazidin Dihidroklörür ile Yapılmış Çalışmalar

Trimetazidin dihidroklorür ilaç etken maddesinin salımı ile ilgili olarak literatür çalışmaları incelendiğinde trimetazidin dihidroklorür'ün yüksek oranda çözünür olması salım çalışmalarında ilaç etken maddesi olarak tercih edilmesini sağlamıştır. Literatür çalışmaları incelendiğinde trimetazidin dihidroklor ile guar-gum bazlı ve kitosan bazlı salım çalışmaları yapıldığı görülmektedir. Kriyojel bazlı bir salım çalışmasına literatürde rastlanmamıştır.

Krishnaiah ve arkadaşları tarafından trimetazidin dihidroklorür etken maddesinin doğrudan salımlı tabletler ve guar-gum tabanlı 3 katmanlı tabletler kullanıldığında insan vücudunda salımı karşılaştırılmıştır. 3 katmanlı matris tabletin alt ve üst katmanında etken madde kullanılmamıştır ve bu katmanlar salınım geciktirme katmanları olarak tasarlanmıştır. Orta katmanda ise etken madde ve guar-gum birlikte kullanılmıştır. Bu şekilde 50 mg trimetazidin dihidroklorür içeren 200 mg'lık matris tabletler hazırlanmıştır. 20 mg trimetazidin dihidroklorür içeren doğrudan salımlı ticari tabletler ise karşılaştırma için kullanılmıştır. 25-30 yaş aralığında 60-70 kg ağırlığında sağlıklı, sigara ve alkol tüketmeyen 6 erkek gönüllü 2 gruba ayrılarak önce Grup-1'e matris tablet, Grup-2'ye doğrudan salımlı tablet verilmiştir. Her bir doz sonrası 2 saat yiyecek ve içecek tüketimi yasaklanmıştır. 0, 0,5, 1, 2, 3, 5, 8, 12, 18, 24, 36 ve 48. saatlerin sonunda kan örnekleri alınmıştır. 10 gün sonra Grup-2'ye matris tablet, Grup-1'e doğrudan salımlı tablet verilmiştir ve kan alınmıştır. Kan örnekleri yüksek performanslı sıvı kromatografisinde (HPLC) incelenerek doğrudan salımlı tablet kullanıldığında tüm dozun 2 saat içerisinde salındığı ancak matris tablet kullanıldığında 12 saatte dozun %80'ninin salındığı görülmüştür. Kan plazmasında etken maddenin kalış süresi incelendiğinde ise doğrudan salımlı tablet kullanıldığında 2 saat içerisinde en yüksek seviyeye ulaşıldığı 25 saat içerisinde ise etken maddenin plazmada görülmediği anlaşılmıştır. Fakat matris tablet kullanıldığında 5 saat içerisinde en yüksek seviyeye çıktığı ve 35. saatte etken maddenin kan plazmasında bulunmaya devam ettiği görülmüştür. Bu çalışmaya göre matris tabletler kullanılarak ilaçların hem daha uzun süreli salınımlarının sağlandığı hem de yan etkiye sebep olabilecek seviyede yüksek dozajlı bir salımın oluşmadığı gözlemlenmiştir (Krishnaiah vd., 2002).

Mao ve arkadaşları kitosan–aljinat matrislerinin farklı etken maddeleri varlığında salma karakteristiklerini incelenmişlerdir. Matrisler bulunduğu ortamda film ile kaplanmışlardır. Bu film polimer şişmesini kısıtlamakta ve tabletlerin erozyonunu azaltmaktadır. Teofilin, parasetamol, metformin hidroklorür ve trimetazidin dihidroklorür etken maddeleri kullanılmıştır. Oluşturulan tabletleri in-vitro sindirim sistemi (SGF) ortamında test edilmiştir. Yapılan gözlemler ve diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizleri sonucunda farklı etken maddelerden oluşturulan tabletlerinin şişme ve erozyon karakteristiklerinde önemli bir etkisinin olmadığı belirtilmiştir. Fakat etken maddelerin salım karakteristiklerinin, maddelerin özelliklerine ve polimer miktarına bağlı olduğu gözlenmiştir (Mao vd., 2013).

Krishnaiah ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, üç katmanlı matris tabletler şeklinde bir taşıyıcı olarak guar gum kullanan, suda yüksek oranda çözünürlüğe sahip ilaçlar için ağızdan kontrollü ilaç dağılım sistemleri tasarlamışlardır. Trimetazidin dihidroklorür, suda yüksek çözünürlüğü nedeniyle model ilaç olarak seçilmiştir. %30 (M1), %40 (M2) veya %50 (M3) guar zankı içeren matris tablet granülleri, bağlayıcı olarak nişasta macunu kullanılarak ıslak granülasyon tekniğiyle hazırlanmıştır. Trimetazidin dihidroklorürün üç katmanlı matris tabletleri, trimetazidin dihidroklorür M1, M2 veya guar zankı matris tablet granüllerinin her iki tarafına sıkıştırılarak hazırlanmıştır (Krishnaiah vd., 2002).

%65 guar zankı (T1M1, T1M2 veya T1M3), %75 guar zankı (T2M1, T2M2 veya T2M3) veya %85 guar zankı (T3M1, T3M2 veya T3M3) içeren 200 mg guar zankı granüllü M3 geciktirici üç katmanlı matris tabletler sertlik, kalınlık, ilaç içeriği tekdüzeliği açısından değerlendirilmiştir ve in vitro ilaç salım çalışmalarına tabi tutulmuştur.

Farklı zaman aralıklarında matris ve üç katmanlı matris tabletlerden salınan trimetazidin dihidroklorür miktarı, bir HPLC yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Üç katmanlı guar zankı matrisi tableti (T3M3), günde iki kez uygulama amaçlı guar zankı formülasyonları için teorik salma oranı ile eşit düzeyde gerekli salma oranını sağlamıştır. Üç katmanlı guar zankı matrisi tableti (T3M3), 6 ay boyunca 40 °C/RH saklanmış, ardından yapılan analizlerde fiziksel görünüm, ilaç içeriğinde veya çözünme modelinde hiçbir değişikliğin olmadığı gözlenmiştir. Yapılan analizlerde, trimetazidin dihidroklorür, guar zankı çalışmada kullanılan diğer formülasyon yardımcı maddeleri arasında herhangi bir etkileşim olmadığını göstermiştir. Sonuçlar, üç katmanlı matris tabletler formundaki guar zankının, trimetazidin dihidroklorür gibi suda çözünürlüğü yüksek ilaçlar için oral kontrollü ilaç dağılım sistemlerinin tasarımında potansiyel bir taşıyıcı olduğunu göstermiştir (Krishnaiah vd., 2002).

Li ve arkadaşları tarafından trimetazidine hidroklorür etken maddesinin kitosan (CS) ve karajenan türevlerinin [κ (kappa)-CG, ι (iota)-CG, and λ (lambda)-CG] birlikte kullanılarak oluşturulan matris formülü tabletlerinden salım karakteristikleri incelenmiştir. Çalışmalar in vitro mide suyu ortamında (SGF) ve in vitrobağırsak suyu ortamında (SIF) gerçekleştirilmiştir. TH etken maddesi CS, κ -CG, ι -CG, λ -CG, CS- κ -CG, CS- ι -CG, CS- λ -CG tabletleri içerisinde 35 mg olacak şekilde kullanılmıştır. Hazırlanan CS-CG matrislerinde oran 1:1 olarak seçilmiştir. Hazırlanan tabletler üzerinde erozyon-şişme testleri, Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) analizleri, FTIR testleri yapılmıştır. Tek

polimerli tabletler kullanılarak yapılan testlerde ilk iki saat içerisinde en az salınım ι -CG ve λ -CG polimer yapılarında çıkmıştır. 12 saat sonunda ise λ -CG polimerinde salım oranı %100'e yakın çıkarken ι -CG polimerinde salım oranı %83 çıkmıştır. İkili polimer sistemlerinde tabletlerin hızlıca şişmeye başladığı ve SGF ile temas ettiğinde viskoz jel kütlesi oluşturduğu gözlenmiştir. Ayrıca 12 saat sonrasında tabletlerin etrafında film benzeri oluşum gözlenmiştir. CS- λ -CG sisteminin jelleşmediği, CS- κ -CG sisteminin ise zayıf bir jelleşme gösterdiği gözlenmiştir. CS- ι -CG sistemi ise elastik jel oluşturmuştur. Bu nedenle ilk 4 saat içerisindeki jellerin erime oranlarına bakıldığında CS- ι -CG sisteminin en az erozyona uğradığı görülmüştür. Ayrıca şişme karakteristikleri incelendiğinde ilk 4 saat içerisinde en çok şişen polimer sisteminin CS- ι -CG olduğu görülmüştür. 3 sistemin pH değişimlerine olan tepkisi ölçüldüğünde ise CS- λ -CG sisteminin pH değişimlerinden en az oranda etkilendiği görülmüştür. Sonuç olarak pH değişimlerinden en az etkilenmesi, ilacı 12 saat sonunda %100'e yakın salması ve kısa sürede yüksek salıma yol açmaması nedeniyle CS- λ -CG sisteminin kontrollü ilaç salımı için uygun bir taşıyıcı sistem olduğu belirtilmiştir (Li vd., 2013).

Salım ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Kollidon SR'ın salım kontrol maddesi olarak kullanıldığı tabletlerden trimetazidin hidroklorür (TH) etken maddesinin salım karakteristikleri incelenmiştir. Tabletler, her biri 35 mg TH içerecek şekilde doğrudan sıkıştırma yöntemiyle hazırlanmıştır. F-1, F-2 ve F-3 olmak üzere 3 farklı grup hazırlanmıştır. 3 grup tabletin her biri toplam 200 mg ağırlıkta hazırlanmıştır. Tabletlerin içerdiği Kollidon SR oranları sırasıyla 150 mg, 135 mg ve 120 mg'dır. Tabletlerin içerdiği Laktoz oranları sırasıyla 12 mg, 27 mg ve 42 mg'dır. 3 grubun hepsi 3 mg stearat içermektedir. Hazırlanan tabletlerin duruş açısı, kütle yoğunluğu, sıkıştırılmış yoğunluk, sıkışırılık indeksi ve Hausner's oran ölçümleri alınmıştır. Hazırlanan tabletlerin 8 saat içerisindeki çözünme verileri alınarak farklı matematiksel modellere uygunluğu incelenmiştir. İncelenen matematiksel modeller; sıfırıncı derece, birinci derece, Higuchi, Korysmeyer-Peppas, Hixson-Crowell modelleridir. Bu modeller arasında en çok uyum Higuchi modeline sağlanmıştır. Salım testlerinde 8 saat sonunda %75 salım yapan F-1 tabletlerinin en iyi salımı yaptığı belirtilmiştir. Tabletlerin içeriğinde Kollidon SR oranı ile salım yüzdesinin ters orantılı olduğu belirtilmiştir. Viskozitenin salıma etkisinin incelenmesi için %1, %2, %3'lük hidroksipropil metilselüloz (HPMC) çözeltileri hazırlanmıştır. Viskozite arttıkça salımın azaldığı görülmüştür. HPMC'nin Kollidon SR matrislerinin hidrasyonunu azalttığı ve bu sayede erozyonu yavaşlattığı belirtilmiştir.

Yavaşlayan erozyon ise salımı düşürmektedir. Sonuç olarak Kollidon SR'ın güçlü bir salım azaltıcı olduğu görülmüştür. Ancak uygun modelin geliştirilmesi için in-vivo, in-vitro çalışmaların yapılması gerektiği belirtilmiştir (Salim vd., 2012).

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Tez çalışmasında kullanılan kimyasal reaktiflerin tümü analitik saflıkta olup ekstra bir saflaştırma işlemine tabi tutulmadan kullanılmışlardır. Kalıp molekül olarak kullanılan trimetazidin dihidroklorür (1-(2,3,4-Trimethoxybenzyl)piperazine dihydrochloride, $C_{14}H_{22}N_2O_3 \cdot 2HCl$, %97 saflıkta) Sigma Aldrich firmasından, polimerin bileşenleri olan monomerler 2-hidroksietil metakrilat (HEMA, $C_6H_{10}O_3$, % 97 saflıkta) Sigma Aldrich firmasından ve akrilamid (AAm, C_3H_5ON , %99 saflıkta) Merck firmasından, çapraz bağlayıcı olarak kullanılan N,N'-metilenbisakrilamid (MBAAm, $C_7H_{10}O_2N_2$, %99 saflıkta) Sigma Aldrich firmasından, başlatıcı olarak kullanılan Amonyum persülfat (APS) - N,N,N',N'-tetrametil etilendiamin (TEMED) redoks başlatıcı çifti (APS, $[(NH_4)_2S_2O_8]$, %98 saflıkta) Merck Firmasından, (TEMED, $C_6H_{16}N_2$, %99,5 saflıkta) Sigma Aldrich firmasından, konuk molekülü kriyojelden ayırmak için kullanılan sodyum klorür ($NaCl$, %99) Merck firmasından (Darmstadt, Almanya) tedarik edilmiştir. pH tampon çözeltilerini hazırlamak için kullanılan fosfat tampon çözeltilerinde fosforik asit (H_3PO_4 , %85 sulu çözeltisi), sodyum dihidrojen fosfat monohidrat ($NaH_2PO_4 \cdot H_2O$, %98 saflıkta), sodyum hidrojen fosfat heptahidrat ($Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$, %98 saflıkta) ve sodyum fosfat (Na_3PO_4 , %98 saflıkta) Alfa Aesar (Massachusetts, Amerika Birleşik Devletleri) firmasından temin edilmiştir. Asetat tamponlarında kullanılan sodyum hidroksit ($NaOH$, %99 saflıkta) Merck firmasından, asetik asit (CH_3COOH , %99 saflıkta) Sigma Aldrich firmasından tedarik edilmiştir. Hazırlanan tüm çözeltilerde kullanılan deiyonize su Smart2Pure ultra safsu sisteminden elde edilmiştir. Elde edilen deiyonize suyun iletkenliği 18-21 $M\Omega/cm$ olarak ölçülmüştür. Deneylerde kullanılan bütün cam malzemeler kullanılmadan önce en az bir gün boyunca kromik asit çözeltisinde bekletilerek kalıntıların uzaklaştırılması sağlanmıştır.

3.2. Trimetazidin Dihidroklörür Baskılanmış Kriyojel Membranların Hazırlanması

Yapılan bu tez çalışmasında, poli(HEMA/AAm) kriyojeline trimetazidin dihidroklorür baskılanmış olup, membran formunda sentezlenen kriyojellere trimetazidin dihidroklorür için kontrollü salım amaçlı desorpsiyon çalışmaları yapılmıştır. HEMA/AAm mol oranı ile çapraz bağlayıcı bileşenlerine bağlı olarak elde edilen sonuçlar çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Sentezlenen kriyojel membranların bileşimine göre oluşma durumu.

Örnek	HEMA (mmol)	AAM (mmol)	Trimetazidin (µmol)	MBAAM (mmol)	Su (mL)	Sonuç
1	26	0,15	13,9	2,59	25	Oluşmadı
2	30	0,15	13,9	2,59	25	Oluşmadı
3	34	0,15	13,9	2,59	25	Süngerimsi yapı
4	38	0,15	13,9	2,59	25	Sert Yapı
5	26	0,15	13,9	3,89	25	Oluşmadı
6	30	0,15	13,9	3,89	25	Oluşmadı
7	34	0,15	13,9	3,89	25	Süngerimsi yapı
8	38	0,15	13,9	3,89	25	Sert Yapı
9	26	0,15	13,9	5,18	25	Oluşmadı
10	30	0,15	13,9	5,18	25	Oluşmadı
11	34	0,15	13,9	5,18	25	Süngerimsi yapı
12	38	0,15	13,9	5,18	25	Sert Yapı

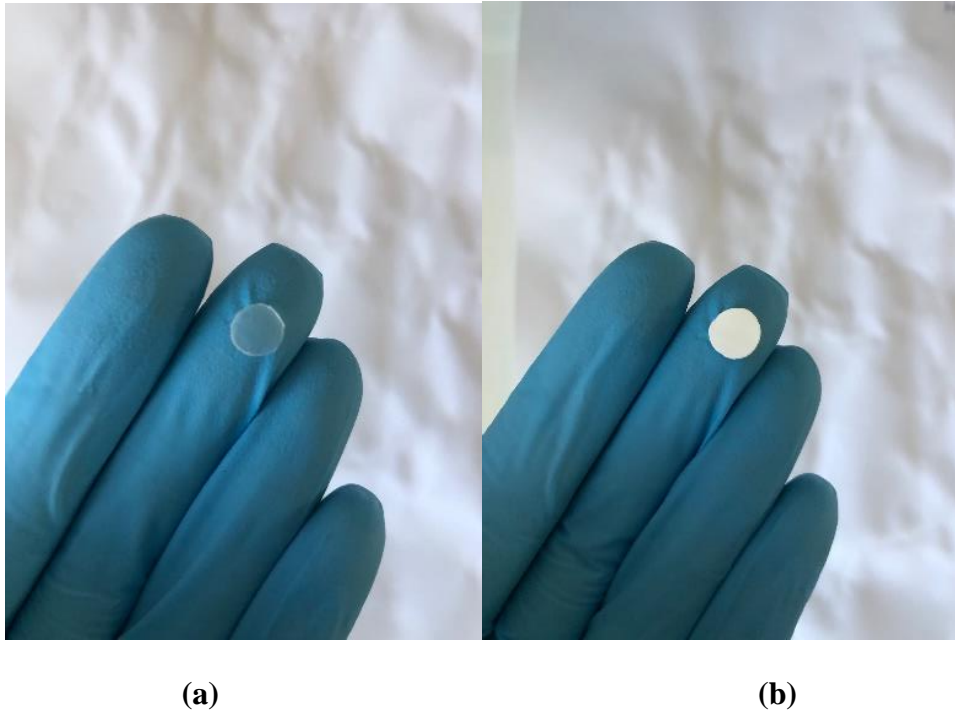
Çizelge 3.1’den görüldüğü üzere, seçilen bileşenlerin derişim aralığında, sadece HEMA derişiminin değişmesi yapının oluşmasını etkilemektedir (Lozinsky, 2014). Çapraz bağlayıcı oranının kontrollü salıma etkisini incelemek için 3,7 ve 11 numaralı bileşime sahip örnekler kullanılmıştır.

Sentez için ilk olarak (3,6-4,7) mL HEMA 1 mL deiyonize su ile birlikte bir behere alınmıştır. Başka bir beherde, 450 mg AAM ve 2,3 mg trimetazidin dihidroklorür karışımı 3 mL deiyonize su içerisinde çözümlenerek etkileşimleri sağlanmıştır. Üçüncü bir beherde çapraz bağlayıcı olan MBAAM değişik miktarlarda tartıldıktan sonra deiyonize su içerisinde çözünmesi sağlanmıştır. Bütün beherler buz banyosunda bekletilmiştir. Daha

sonra, üç beher buz banyosunda başka bir behere aktarılıp karıştırıldıktan sonra karışıma başlatıcı olarak kullanılan 60 mg APS ve hemen arkasından 50 µL TEMED eklenerek hızlıca karıştırılıp -18°C de cam plakalar arasında bir gün süre ile bekletilmiştir.

Kriyojel membranlar için optimum sentez koşulları belirlendikten sonra elde edilen tablet formundaki kriyojel membranlar deiyonize su ile yıkandıktan sonra, trimetazidin dihidroklorür uzaklaştırılması için 1 M NaCl çözeltisi içerisinde 24 saat bekletilmiştir. Trimetazidin yüklemesi yapmak için uygun pH değeri belirlendikten sonra yeniden trimetazidin dihidroklorür yüklemesi yapılmış sonra, NaCl/fosfat tamponu çözeltisi ile yüklenen trimetazidin dihidroklorür alınmış ve desorpsiyon/salım verimi incelenmiştir. Trimetazidin dihidroklorürün miktarı, sulu çözelti içinde, 269 nm dalga boyunda UV spektrometresi ile takip edilmiştir.

Şekil 3.1’de (a) tablet formunda sentezlenen ve 1 M NaCl çözeltisi içerisinde 24 saat bekletildikten sonra kurutulmuş, (b) trimetazidin dihidroklorür çözeltisinde 4 saat süre ile bekletilen ve kurutulan kriyojel membranların fotoğraf görüntüleri verilmiştir.



Şekil 3.1. Tablet formunda sentezlenen baskılı kriyojel membranlar; (a) NaCl ile trimetazidin dihidroklorür uzaklaştırılmış (b) Trimetazidin dihidroklorür yüklenmiş

3.3. Karakterizasyon Çalışmaları

Sentezlenen kriyojel membranların oluşumu spektrofotometrik, termogravimetrik ve yüzey alanı analizleri yapılarak takip edilmiştir.

3.3.1. Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi (FTIR) Analizleri

Sentezlenen Poli(HEMA), trimetazidin baskılanmış ve baskılanmamış Poli(HEMA/AAm) kriyojellerindeki fonksiyonel grupları gözlemlemek için FTIR spektrumları alınmıştır. FTIR spektrumları Nicolet is50 (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, Amerika Birleşik Devletleri) model spektrometre ile (4000-400) cm^{-1} dalgasayısı aralığında alınmıştır. Spektrum alınmadan önce kurutulan kriyojeller toz haline getirilmiştir.

3.3.2. Termogravimetrik Analizler (TGA)

Sentezlenen kriyojellerin ısıl karakterizasyonu Q600 SDT (TA Instruments, New Castle, Amerika Birleşik Devletleri) model cihaz ile yapılmıştır. Bileşenlerin ısıl kararlılıkları değerlendirilmiştir. Kurutulan ve toz haline getirilen kriyojeller (25-800) $^{\circ}\text{C}$ sıcaklık aralığında azot atmosferi altında 10 $^{\circ}\text{C}/\text{dakika}$ ısıtma hızı ile ısıl bozunmaya maruz bırakılmıştır. Numuneler analizlerden önce cihazın ısıtma haznesinde 100 $^{\circ}\text{C}$ 'ye ısıtılıp soğutulmuştur.

3.3.3. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizleri

Sentezlenen kriyojellerin morfolojik özellikleri GAIA 3 (Tescan, Brno, Çekya) taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile aydınlatılmıştır. Kurutulduktan sonra toz haline getirilen kriyojel membranlar, vakum altında metalik altın ile kaplanarak iletkenlikleri artırılmış ve SEM örnek yuvasında değişen büyütme oranlarında görüntüleri alınmıştır.

3.3.4. Braunauer Emmett Teller (BET) Analizleri

Sentezlenen kriyojellerin yüzey alanı ve gözenekliliği ile ilgili analizler Tristar II model BET (Micrometrics, Ottawa, Kanada) cihazı ile değerlendirilmiştir. Baskılanmış/ baskılanmamış kriyojel membranların gözenekliliği, konuk molekül kriyojelde varken ve NaCl çözeltisi ile desorpsiyonu yapıldıktan sonraki gözeneklilik değerlendirmeleri yapılmıştır. Analizlerden önce sentezlenen kriyojeller kurutulup toz haline getirilmiştir. Numuneler 40 noktalı -198°C'deki sıvı azot akışı altında 110°C'de azot gazının adsorpsiyon ölçüm verileri ile yapılmıştır.

3.3.5. Çapraz Bağlayıcı Miktarının Belirlenmesi

Çapraz bağlayıcı olarak kullanılan MBAAm üç değişik bileşim (2,59, 3,89 ve 5,18 mmol) olacak şekilde kriyojel membranlar sentezlenmiştir. Belirlenen pH değerinde salım çalışmaları yapılmış ve UV-GB spektrofotometresi kullanılarak elde edilen sonuçlara göre en uygun çapraz bağlayıcı miktarı belirlenmiştir.

3.3.6. Makrogözeneklilik ve Şişme Davranışlarının İncelenmesi

Trimetazidin dihidroklorür baskılanmış ve baskılanmamış kriyojellerin makrogözeneklilik ve şişme davranışlarının incelenmesi için sentezlenen kriyojeller kurutulduktan sonra sabit tartıma getirilmişlerdir. Tartımı alınan her bir tablet oda sıcaklığında 20 mL deiyonize su içerisine atılmıştır ve sabit tartıma gelene kadar belirli zaman aralıklarında kütleleri kaydedilmiştir. Kriyojel tabletler için şişme oranı ve makrogözeneklilik yüzdesi aşağıdaki eşitliklere göre belirlenmiştir.

$$\text{Şişme Yüzdesi} = [(M_s - M_0) / M_0] \times 100 \quad (3.1)$$

$$\text{Makrogözeneklilik Yüzdesi} = [(M_s - M_{sık}) / M_{sık}] \times 100 \quad (3.2)$$

M_s ; Şişmiş tabletlerin kütlesini

M_0 ; Sabit tartıma getirilmiş kuru tabletin kütlesini

$M_{sık}$; Sıkılarak suyu salınan tabletin kütlesini

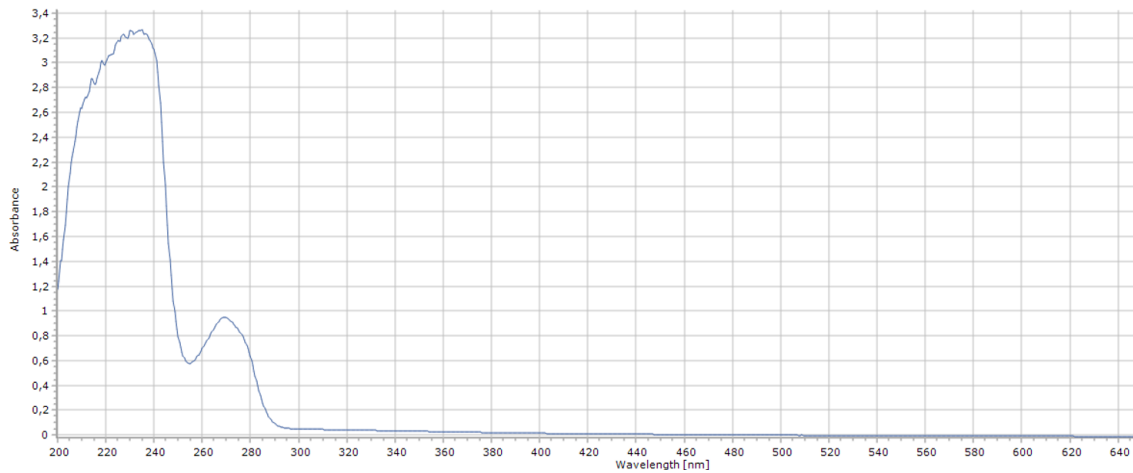
ifade etmektedir.

3.3.7. Kan Uyumluluğu Testleri

Sentezlenen kriyojel membranların biyouyumluluk açısından uygunluğu için kan ve trimetazidin baskılanmış kriyojel membranlar arasındaki etkileşim incelenmiştir. Hemolitik etkinin etkileşim parametreleri olarak protrombin zamanı (PT), aktive kısmi tromboplastin zamanı (APTT), fibrinojen zamanı (FT) ve trombosit pıhtılaşma zamanı (TCT) ölçülerek değerlendirilmiştir. Kan uyumluluğu testleri Sistasat MD4 Semi Automatic Coagulation Analyzer (Sistasat, Türkiye) ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmalarda Sistasat kit seti ilgili analizler için kullanılmıştır.

3.3. Trimetazidin Dihidroklorür Salım Çalışmaları

Sentezlenen kriyojel membranlar için ilk olarak trimetazidin maksimum adsorpsiyon kapasitesinin pH değerine bağlılığı araştırılmıştır. Belirlenen pH değerinde trimetazidin yüklemesi yapılarak, desorpsiyon için de yine maksimum salım gözlenen pH değeri saptanmıştır. Salım çalışmaları tuzlu fosfat tamponu içinde gerçekleştirilmiştir. Belirlenen pH değerinde çapraz bağlayıcının kriyojel membranlardan trimetazidin salımı için bazı difüzyon parametreleri, kinetik ve sıcaklığın salıma etkisi ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Çözeltiye desorbe olan trimetazidin miktarı Shimadzu (Tokyo, Japonya) marka Ultraviyole ve görünür ışık absorpsiyon spektrofotometresi (UV-GB) ile 269 nm dalga boyunda belirlenmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Trimetazidin Dihidroklorür çözeltisi için UV-GB spektrumu (400 ppm, deiyonize suda, $\lambda_{\max} = 269$ nm)

Trimetazidin yükleme verimi eşlik 3.3 formülasyonu ile hesaplanmıştır;

$$\% \text{ Trimetazidin yüklemesi} = \frac{M_i - M_y}{M_i} \quad (3.3)$$

Burada M_i çözeltideki başlangıç trimetazidin derişimi,

M_y trimetazidin ve kriyojel membranların etkileşimi sonucu çözeltide kalan ilaç derişimini ifade etmektedirler.

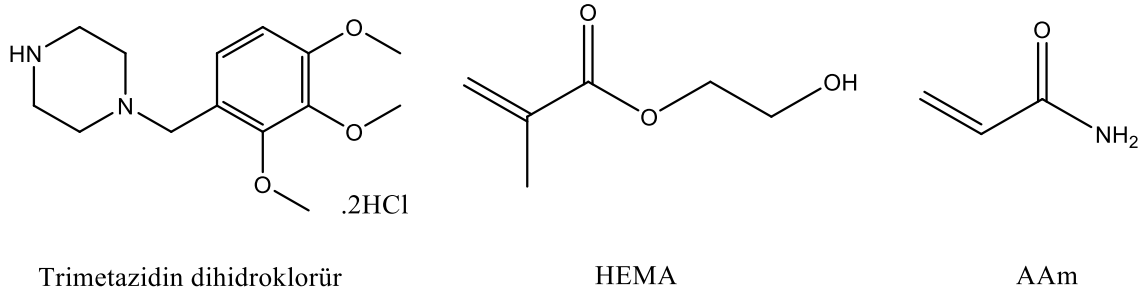
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Literatürde MIP'lerin kullanıldığı çeşitli salım sistemleri için çalışmalar mevcuttur (Norell, Andersson ve Nicholls, 1998; Suedee, Srichana, Chotivatesin vd., 2002; Suedee, Srichana ve Martin, 2000; Allender, Richardson, Woodhouse vd., 2000; Hiratani ve Alvarez-Lorenzo, 2002; Zhang, Ye ve Mosbach, 2006; Carmen Alvarez, Yanez, Barrerio-Iglesias vd. 2006). Trimetazidin dihidroklorürün kontrollü salımı için doğrudan salım yapan tabletler ve guar-gum tabanlı 3 katmanlı tabletler kullanılmıştır (Krishnaiah, Karthikeyan, Bhaskar vd., 2002). Li ve arkadaşları, kitosan-aljinat matrislerinin trimetazidin dihidroklorür ve başka etken maddelerin salma karakteristiklerine kaplanan filmin etkisini incelemiştir (Li, Wang, Shao vd., 2013). Krishnaiah ve arkadaşları, kontrollü olarak ağızdan trimetazidin dihidroklorürün salımını sağlayan üç katmanlı guar-gum taşıyıcı sistemler geliştirmişlerdir (Krishnaiah, Karthikeyan, Sankar vd., 2002). Li ve arkadaşları, trimetazidin dihidroklorürü kitosan ve karajenan türevlerinden oluşturduğu matristen salımını incelemiştir (Li, Wang, Shao vd., 2013). Hossain ve arkadaşları, Kollidon SR'yi salım kontrol malzemesi olarak kullandıkları tabletlerden trimetazidin dihidroklorürün salım karakteristiklerini incelemiştir (Hossain, Banik ve Islam, 2012).

Bu tez çalışmasında, Poli(HEMA/AAm) kriyojel membranlarına moleküler baskılama tekniği ile yerleştirilen trimetazidin dihidroklorür için karakterizasyon ve salım çalışmaları yapılmıştır. Kontrollü salım çalışmasının parametresi olarak çapraz bağlayıcı oranı değişimi değerlendirilmiştir.

4.1. Karakterizasyon Çalışmaları

Kriyojel membranlardan kontrollü salımı yapılan trimetazidin dihidroklorür etken maddesinin ve polimeri oluşturan diğer bileşenlerin yapısı şekil 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Trimetazidin dihidroklorür, HEMA ve AAm bileşiklerinin kimyasal formülleri

Trimetazidin dihidroklorür baskılanmış ve baskılanmamış kriyojel membranlar, opak ve süngerimsi yapıda olup, suda oldukça hızlı şişmektedir. Şişen kriyojeller belli bir esnekliğe sahip olup, sıkıştırılabilmektedir.

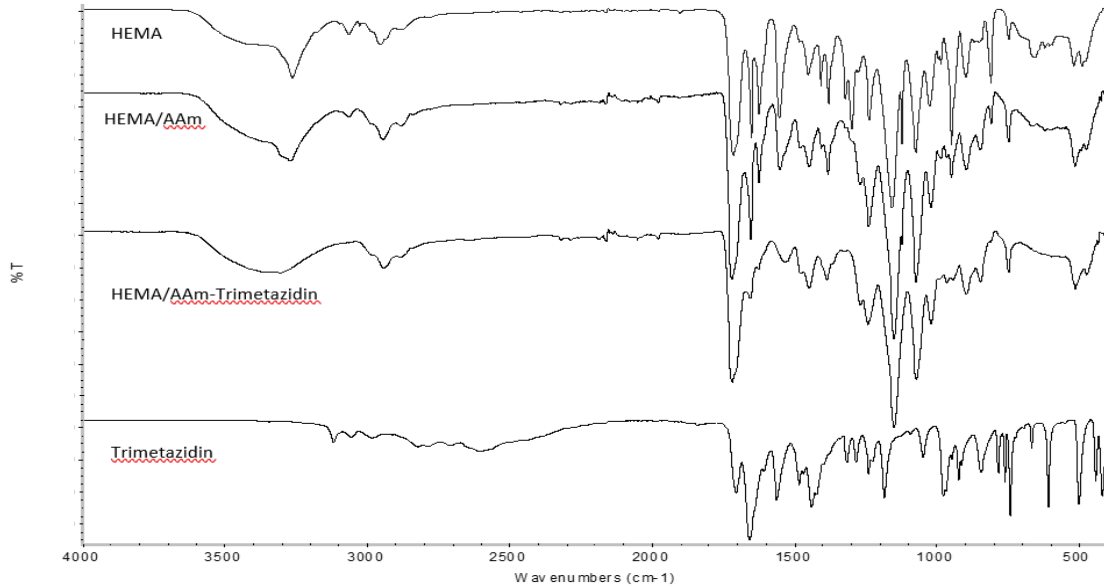
4.1.1. Fourier Dönüşümlü Infrared (FTIR) Spektroskopisi Analizleri

Şekil 4.2’de sentezlenen kriyojel mebranların FTIR spektrumları verilmiştir. Poli(HEMA) için 3300 cm^{-1} dalgasayısı civarında gözlenen geniş pik, polimerde bulunan $-OH$ fonksiyonel gruplarına ait olmakla birlikte, yayvan pik gözlenmesi ise hidrojen bağlarını ifade etmektedir. Alifatik $-CH$, konjüge ester $-C=O$, alifatik $-C-O-C-$ fonksiyonel grubuna ait pikler sırasıyla 2945 cm^{-1} , 1722 cm^{-1} ve $(1270-1180)\text{ cm}^{-1}$ aralığında gözlenmektedir (Vargün vd., 2010).

Poli(HEMA/AAm) kriyojelinin FTIR spektrumunda, AAm’dan gelen $-NH$ gruplarının $(3400-3200)\text{ cm}^{-1}$ dalgasayısındaki gerilme pikleri ve $-NH_2$ grubunun hem kendi içindeki hem de HEMA kaynaklı $-OH$ grubu ile oluşturduğu hidrojen bağları, $(3500-3000)\text{ cm}^{-1}$ dalgasayısı aralığında gözlenen piklerin şiddetini ve genişliğini arttırmıştır. Akrilamide özgü gözlenen diğer pikler ise sırasıyla $-C=O$ eğilme piki (amid, 1665 cm^{-1}) ve $-NH_2$ eğilme piki (amid, 1525 cm^{-1}), yapıdaki akrilamid varlığını göstermektedir (Chauhan vd., 2009).

Trimetazidin dihidroklorür için verilen FTIR spektrumunda 3100 cm^{-1} dalgasayısında gözlenen keskin ve zayıf pik, $-NH$ grubunun gerilmesine aittir. $-NH$ grubuna ait düzlem içi eğilme piklerine ait dalgasayısı 1546 cm^{-1} ve düzlem dışı eğilme piklerine ait

dalgasayısı ise 894 cm^{-1} ve 794 cm^{-1} olarak gözlenmiştir. 1456 cm^{-1} de gözlenen pik düzlem dışı $-\text{CH}$ eğilmesini, 1214 cm^{-1} ve 1071 cm^{-1} dalgasayısındaki pikler ise düzlem içi $-\text{CH}$ eğilmesini ifade etmektedir. 1239 cm^{-1} dalgasayısındaki pik C-C gerilmesini, 1171 cm^{-1} dalgasayısındaki pik C-O gerilmesini, 1040 cm^{-1} dalgasayısındaki pik O-CH₃ gerilmesini, 671 cm^{-1} , 584 cm^{-1} ve 544 cm^{-1} dalgasayısındaki pikler ise C-C-N, C-N-C ve C-C-O piklerine ait gerilmeleri ifade etmektedir (Meenakshi vd., 2010). Trimetazidin dihidroklorür baskılanmış Poli(HEMA/AAm) kriyojel membranlarına ait FTIR spektrumunda ($3500\text{-}3000$) cm^{-1} dalgasayısı aralığındaki pikin genişlemesi, yapıya giren trimetazidin dihidroklorürdeki $-\text{NH}$ gruplarının yaptığı hidrojen bağlarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Buna göre, kriyojel membranlar ile trimetazidin dihidroklorür hidrojen bağı yaparak kararlılıklarını korumaktadırlar. 671 cm^{-1} , 584 cm^{-1} ve 544 cm^{-1} dalgasayısındaki piklerin trimetazidin dihidroklorür baskılanmış kriyojel membranlarda da gözlenmesi, trimetazidin dihidroklorür kriyojel membranlara tutunduğunu göstermektedir.



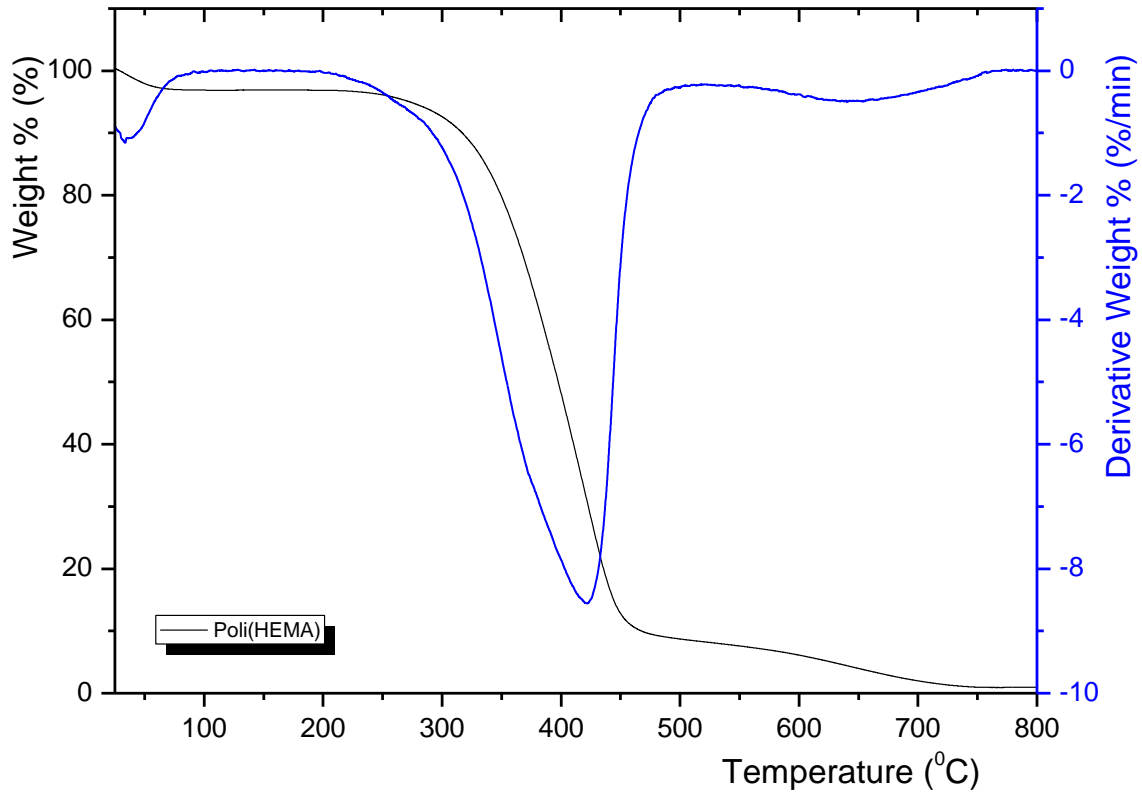
Şekil 4.2. Trimetazidin dihidroklorür ve kriyojel membranların FTIR spektrumları.

4.1.2. Termogravimetrik Analizler (TGA)

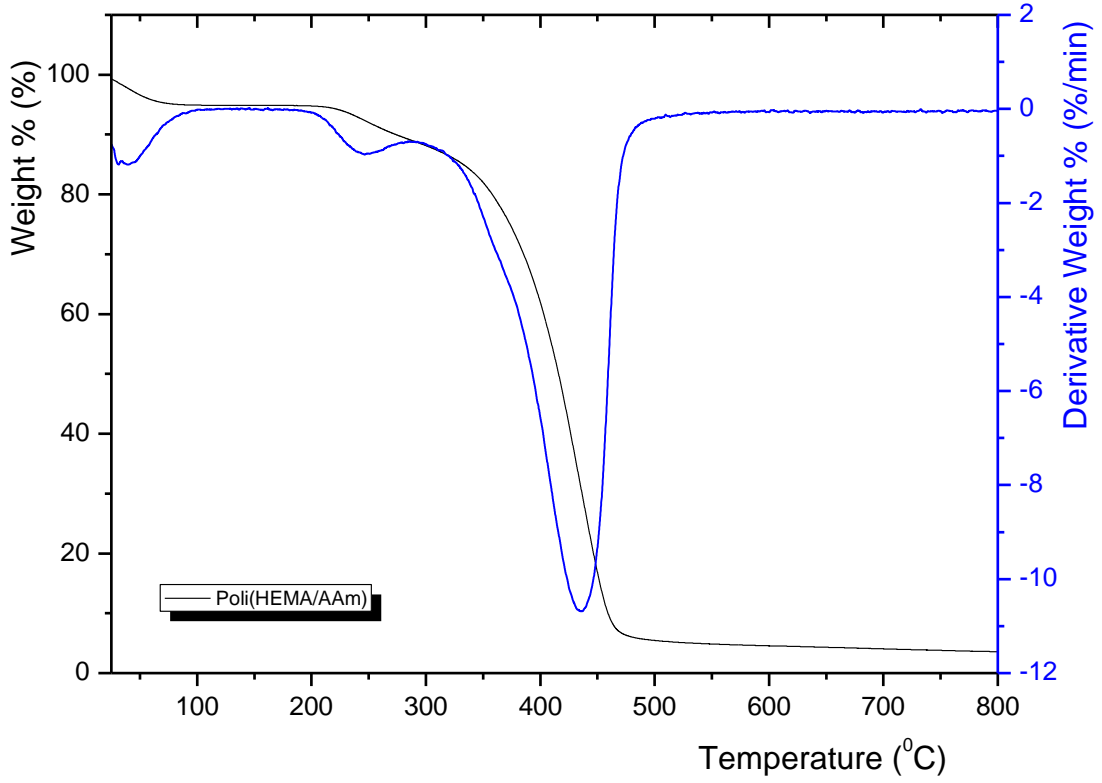
Termogramı alınan bütün örnekler, analizlerden önce ölçüm alınan cihazın kefesinde 100°C 'ye ısıtılarak üzerindeki bağlı suyun uzaklaştırılması sağlanmıştır. Şekil 4.3'te Poli(HEMA) kriyojel membranına ait termogram verilmiştir. Poli(HEMA) kriyojeli, iki

ana basamakta ısıl bozunmaya uğramaktadır. İlk basamaktaki bozunma, 280°C'den başlayıp 474°C'ye kadar sürmektedir. Poli(HEMA) kriyojeli için ısıl bozunmanın olduğu bu basamakta, örneğin yaklaşık %87'si bozunmaktadır. Ana zincir yapısının bozduğu bu sıcaklıkta, maksimum bozunma hızı 411°C'de gözlenmiştir. İkinci ısıl bozunma basamağı ise, 474°C ile 752°C'arasında gözlenmiştir. Örneğin %7,2'si bu sıcaklık aralığında bozunmuşken, bu basamak için maksimum bozunma hızı 622°C olarak gözlenmiştir. 800°C'ye kadar herhangi bir bozunma gözlenmezken, sıcaklığa karşı kararlılık gösteren örnek miktarı %2,1'dir. Literatürde Poli(HEMA) ile ilgili yapılan çalışmalarda, Poli(HEMA) hidrojel için bozunmanın yaklaşık 200°C'de (Bat, 2016), Poli(HEMA) kriyojeli için ise 300°C'de (Ali vd., 2018) başladığı gözlenmiştir. Bu çalışmada sentezlenen Poli(HEMA) kriyojel membranın ısıl bozunma sıcaklığı, çapraz bağlayıcı türü ve oranı ile sentez yöntemine bağlı olarak literatürle örtüşmektedir. Şekil 4.4'te Poli(HEMA/AAm) kriyojel membranların ısıl bozunması yine iki basamakta olmaktadır. İlk basamaktaki bozunma sıcaklığı aralığı 221°C ile 334°C aralığında olmaktadır. Maksimum bozunma hızı 241°C'de gözlenirken, örneğin %17'si bu basamakta bozunmuştur. Poli(HEMA/AAm) kriyojeli için asıl zincir bozunması ikinci basamakta gözlenmiştir. Bu basamaktaki ısıl bozunma aralığı 334°C ile 472°C aralığında gözlenmiştir. Bu basamakta maksimum bozunma hızı 443°C'de gözlenirken, %78 oranında örnek ısıl bozunmaya maruz kalmıştır. Yüksek sıcaklıklara kadar %4 oranında bir örnek bozunmadan yapıda kalmıştır. Poli(HEMA) kriyojel membranlarına ve Poli(HEMA/AAm) kriyojel membranlarına ait termogramlar kıyaslandığında, Poli(HEMA) kriyojeline AAm katılması ile yine iki bozunma basamağı gerçekleşmektedir. İlk bozunma basamağı daha düşük sıcaklıklarda oluşurken, ikinci bozunma basamağı daha yüksek sıcaklıklarda oluşmaktadır (Mohammed and Jubair, 2020), ancak çokta keskin bir fark oluşmadığı gözlenmiştir. Poli(HEMA/AAm) kriyojel membranların termogramında, birinci bozunma basamağında yapıda bulunan AAm'nin etkinliği gözlenirken, ikinci bozunma basamağına ise HEMA'nın etkinliği gözlenmektedir. Şekil 4.5'te trimetazidin dihidroklorür ait termogram verilmiştir. Trimetazidin dihidroklorür ise iki tane ana bozunma basamağı gözlenmektedir. İlk bozunma basamağı 224°C'de başlayıp 298°C'ye kadar sürmektedir. Örneğin %40'ı bu bozunma basamağında bozunurken, maksimum bozunma hızı 272°C'de gözlenmiştir. İkinci bozunma basamağı ise 298°C'de başlayıp, 400°C'ye kadar devam etmektedir. Bu basamak için de maksimum bozunma hızı 326°C'de gözlenirken, örneğin %58,3'ü bu basamakta bozunmuştur. Kalan %1,7 örnek ise yüksek sıcaklıklara kadar ısıl kararlılığını

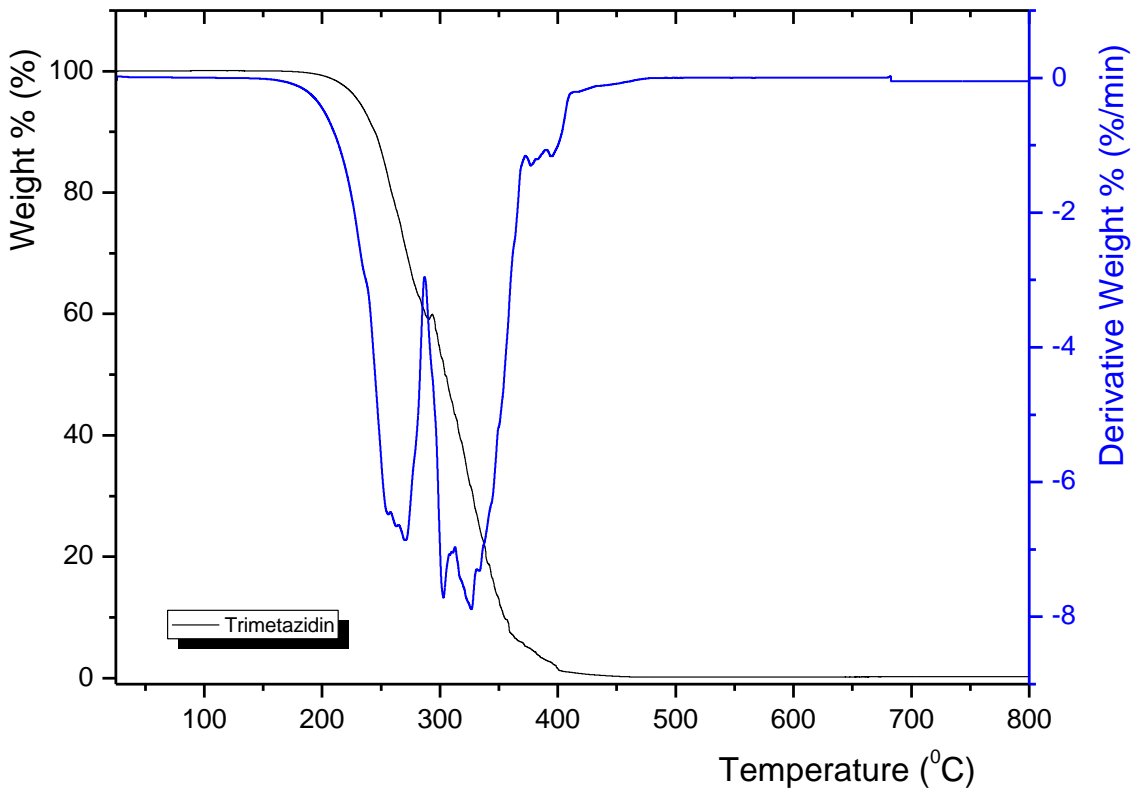
korumuştur. Trimetazidin dihidroklorürün ısıl bozunması, her iki basamakta da çok hızlı olmaktadır ve örneğin neredeyse tamamı çok küçük bir sıcaklık aralığında bozunmaktadır. Şekil 4.6'da ise trimetazidin dihidroklorür baskılanmış Poli(HEMA/AAM) kriyojel membranlar için termogramlar verilmiştir. Yapıdaki bileşenlerin çok olması ve etkileşimlerin fazla olması nedeniyle dört tane ısıl bozunma basamağı bu kriyojel membranda gözlenmiştir. İlk bozunma basamağı 180°C'de başlayıp, 251°C'de sona ermektedir. Örneğin %9,3'ü bu bozunma basamağında bozunurken, maksimum bozunma hızı ise 192°C'de gözlenmiştir. İkinci bozunma basamağı ise 251°C'de başlayıp, 270°C'de sona ermektedir. Maksimum bozunma hızı 261°C'de gözlenirken, bu aralıkta örneğin %27'si bozunmuştur. Üçüncü bozunma basamağı, 270°C'de başlayıp, 403°C'de son bulmaktadır. Bu ısıl bozunma mekanizmasında ise, maksimum bozunma hızı 370°C'de gözlenirken, bu aralıkta örneğin %59'u bozunmuştur. Son basamakta ise, 670°C'ye kadar bozunma olmakta ve örneğin %2'si bu basamakta ısıl bozunmaya uğramaktadır. Kalan örnek ise %2'dir. İlk üç basamaktaki bozunma hızları ve bozunan madde miktarları, örneğin neredeyse tamamını kapsamaktadır. 160°C ile 400°C arasında neredeyse yapının %96'sı bozunmaktadır. Trimetazidin dihidroklorürün yapıya getirdiği ısıl kararsızlık, termogramda gözlenmiştir.



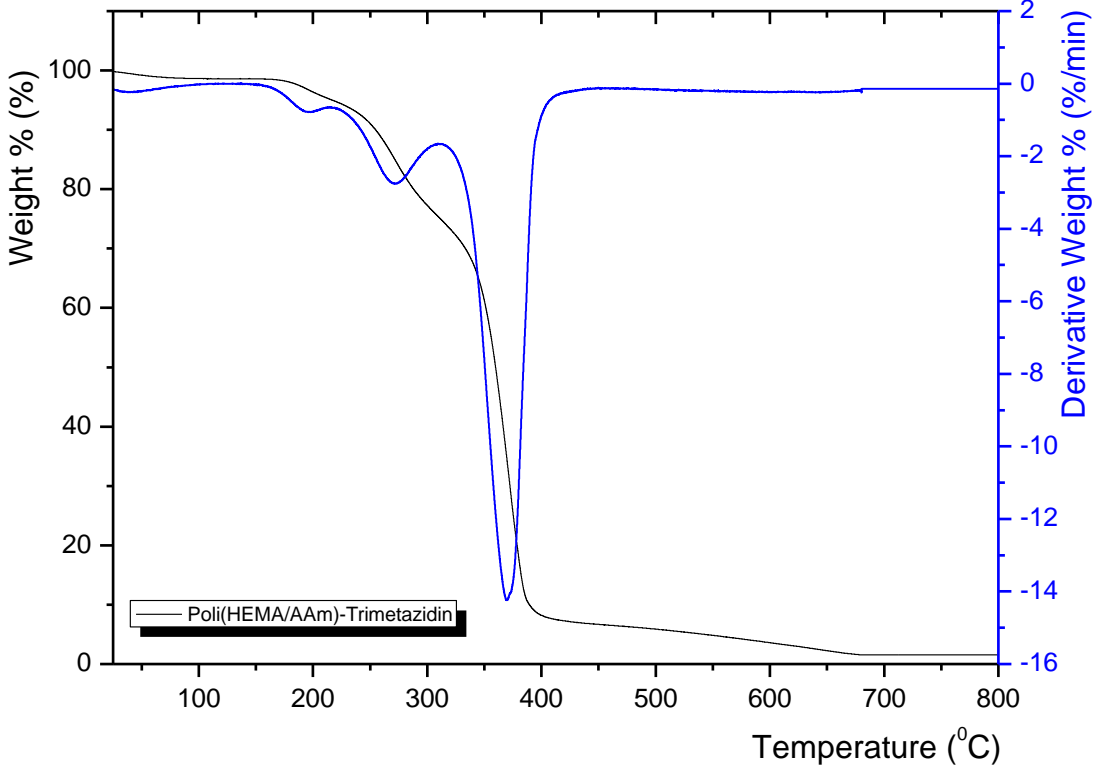
Şekil 4.3. Poli(HEMA) kriyojeline ait termogram.



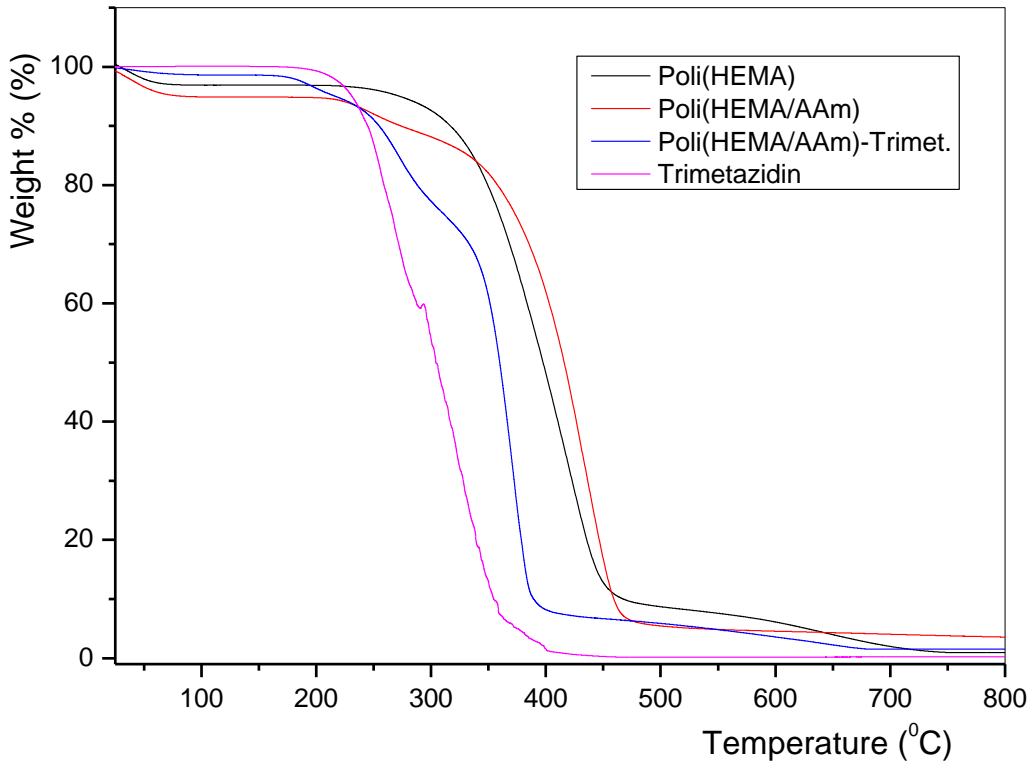
Şekil 4.4. Poli(HEMA/AAm) kriyojeline ait termogram.



Şekil 4.4. Trimetazidin dihidroklorüre ait termogram.



Şekil 4.5. Trimetazidin dihidroklorür baskılanmış Poli(HEMA/AAm) kriyojel membranlarına ait termogram.



Şekil 4.6. Trimetazidin dihidroklorür ve kriyojel membranlara ait termogram.

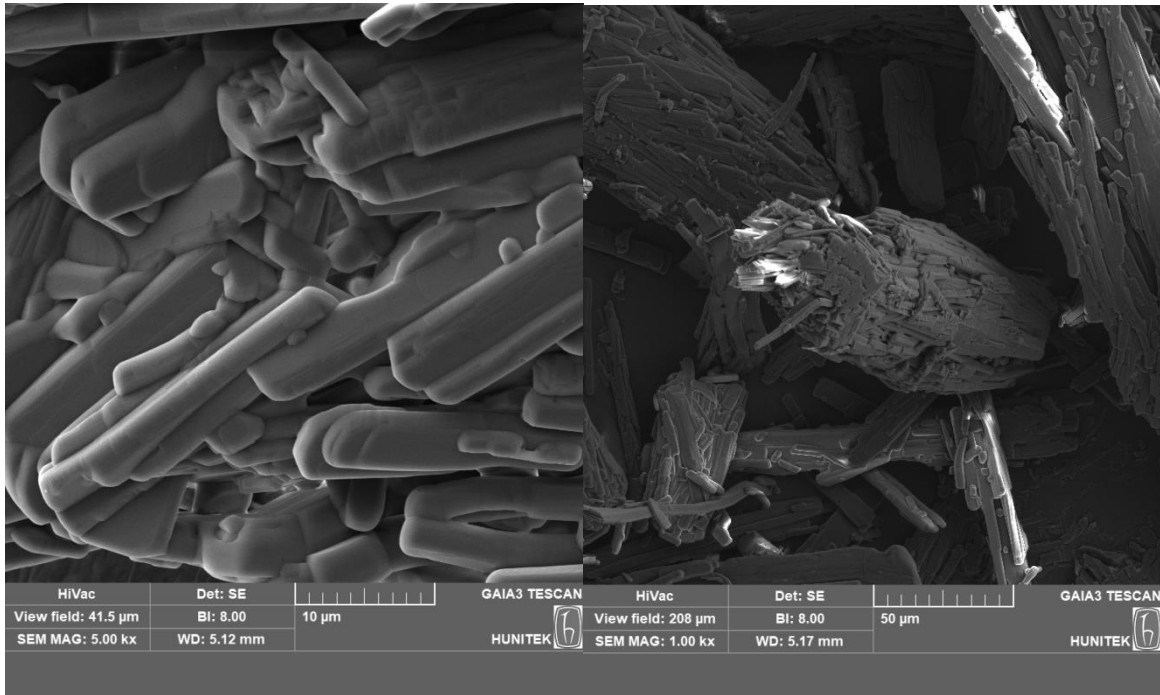
Çizelge 4.1. Trimetazidin dihidroklorür ve kriyojel membranlar için termogram verileri

Kriyojel	Bozunma Basamakları			Kalan Örnek
	1	2	3	
	(280-474)°C	(474-752)°C		
Poli(HEMA)	R _{max} =411°C %87	R _{max} =622°C %7,2		%2,1
Poli(HEMA/AAm)	(221-334)°C R _{max} =241°C %17	(334-472)°C R _{max} =443°C %78		%4

Poli(HEMA/AAm)	(180-251) ^{°C}	(251-270) ^{°C}	(270-403) ^{°C}	
Trimetazidin dihidroklorür yüklenmiş	R _{max} =192 ^{°C} %9,3	R _{max} =261 ^{°C} %27	R _{max} =370 ^{°C} %59	%2
	(224-298) ^{°C}	(298-400) ^{°C}		
Trimetazidin dihidroklorür	R _{max} =272 ^{°C} %40	R _{max} =326 ^{°C} %53		%1,7

4.1.3. Yüzey Görüntüleri, Yüzey Alanı Analizleri ve Makrogözeneklilik

Şekil 4.8’de trimetazidin dihidroklorür baskılanmış Poli(HEMA/AAm) kriyojel membranlar için SEM görüntüleri verilmiştir.



Şekil 4.7. Trimetazidin dihidroklorür baskılanmış Poli(HEMA/AAm) kriyojel membranların değişik büyütme oranlarındaki SEM görüntüleri.

Kriyojel membranların sahip olduğu makrogözenekler, onlara bazı üstünlükler getirmektedir. Kriyojel membranların kullanılma amacına bağlı olarak gözenek boyutları belli bir aralıkta sabit tutulabilir (Lozinsky, 2008; Lozinsky, 2014). Bu çalışmada, üç

değişik bileşimde sentezlenen Poli(HEMA/AAm) kriyojelleri için çapraz bağlayıcı oranının trimetazidin dihidroklorür salımına etkisi incelenmiştir. Çapraz bağlayıcı oranları %7,4 [Poli(HEMA/AAm)T1], %11,1 [Poli(HEMA/AAm)T2] ve %14,8 [Poli(HEMA/AAm)T3] olan üç değişik kriyojel membran için Çizelge 4.2'de yüzey analiz verileri ve şişme testlerine ait veriler verilmiştir.

Çizelge 4.2. Poli(HEMA/AAm) kriyojel membranlarına ait gözeneklilik ve şişme özellikleri.

Kriyojel	Yüzey Alanı (m²/g)	Gözenek Hacmi (cm³/g)	Gözenek Boyutu (Å)	% Şişme Oranı	% Makrogözeneklilik
Poli(HEMA)	0,44	0,0015	(45-97)	202,5	57,1
Poli(HEMA/AAm)	0,50	0,0010	(51-79)	171,4	48,4
Trimetazidin dihidroklorür baskılanmış Poli(HEMA/AAm)T1	1,21	0,0039	(45-50)	304,5	58,8
Trimetazidin dihidroklorür baskılanmış Poli(HEMA/AAm)T2	1,10	0,0031	(40-45)	227,7	51,2
Trimetazidin dihidroklorür baskılanmış Poli(HEMA/AAm)T3	1,09	0,0022	(35-42)	208,5	46,3
Trimetazidin dihidroklorür salmış P(HEMA/AAm)T1	4,52	0,0071	(40-48)	343,5	54,3
Trimetazidin dihidroklorür salmış P(HEMA/AAm)T2	3,9	0,0060	(37-42)	257,3	47,3
Trimetazidin dihidroklorür salmış P(HEMA/AAm)T3	3,1	0,0048	(29-36)	229,2	43,1

Çizelge 4.2'den görüldüğü üzere yüzey alanları en düşük olan kriyojel membran yapıları, trimetazidin dihidroklorür baskılanmamış olanlarıdır. Trimetazidin dihidroklorürün kriyojel membranlara baskılanması, yüzey alanını arttırmaktadır. Trimetazidin dihidroklorürün kriyojel membranlara baskılanması sonucu, trimetazidin dihidroklorür polimer zincirleri arasına yerleşerek kriyojel membranların gözenek hacminin ve yüzey alanının artmasına neden olmaktadır. Buna ek olarak, gözenek boyutu azalmaktadır. Trimetazidin dihidroklorürün sudaki çözünürlüğünün yüksek olması su ile kriyojel etkileşimini arttırmakta ve kriyojel membranların daha fazla şişmesine neden olmaktadır. Kriyojel membranların polimerizasyonu esnasında ortamdaki çapraz bağlayıcı miktarının artması, suyun difüzyonunu zorlaştıracığı için şişme yüzdesini de azaltmıştır. Buna ek olarak, bu durumda beklenen bir oluşum olan polimer zincirlerinin çapraz bağlayıcı yoğunluğunun artması, gözenek boyutunu, makrogözeneklilik yüzdesini ve toplam gözenek hacmini düşürmektedir. Çapraz bağlayıcı etkisi ile trimetazidin dihidroklorür baskılanmış kriyojel membranların yüzey alanlarında önemli bir değişim olmadığı gözlenmiştir. Bunun nedeninin azalan makrogözeneklere karşın artan mikro ve mezogözeneklerin kriyojel membranların yüzey alanını genişletmesidir. Trimetazidin dihidroklorür salmış ve trimetazidin dihidroklorür baskılanmış kriyojel membranların yüzde makrogözenekliliği birbirlerine yakın gözlenmiştir. Trimetazidin dihidroklorür salmış kriyojel membranların yüzde makrogözenekliliğinde gözlenen bir miktar düşüş, yapıdan ayrılan trimetazidin dihidroklorürün oluşturduğu boşluklar sayesinde polimer zincirleri arasındaki etkileşimin artmasının sonucunda olduğu düşünülmektedir. Trimetazidin dihidroklorürün kriyojel membranlardan salınması sonucunda, kriyojel membranların gözenek hacminin ve yüzey alanının arttığı, buna ek olarak, boşalan gözeneklere suyun daha kolay difüzlenmesi nedeniyle yüzde şişme oranlarında bir artış gözlenmiştir.

4.1.4. Biyouyumluluk Testleri

Trimetazidin dihidroklorür baskılı kriyojel membranlar için biyouyumluluk çalışmaları kan uyumluluğu testleri değerlendirilerek yapılmıştır. Kriyojel membranların kan ile uyumluluğunu belirleyebilmek için protrombin zamanı (PT), aktive edilmiş kısmi tromboplastin zamanı (APTT) ve in-vitro pıhtılaşma zamanları (CT) belirlenmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Sentezlenen kriyojel membranların pıhtılaşma zamanları*.

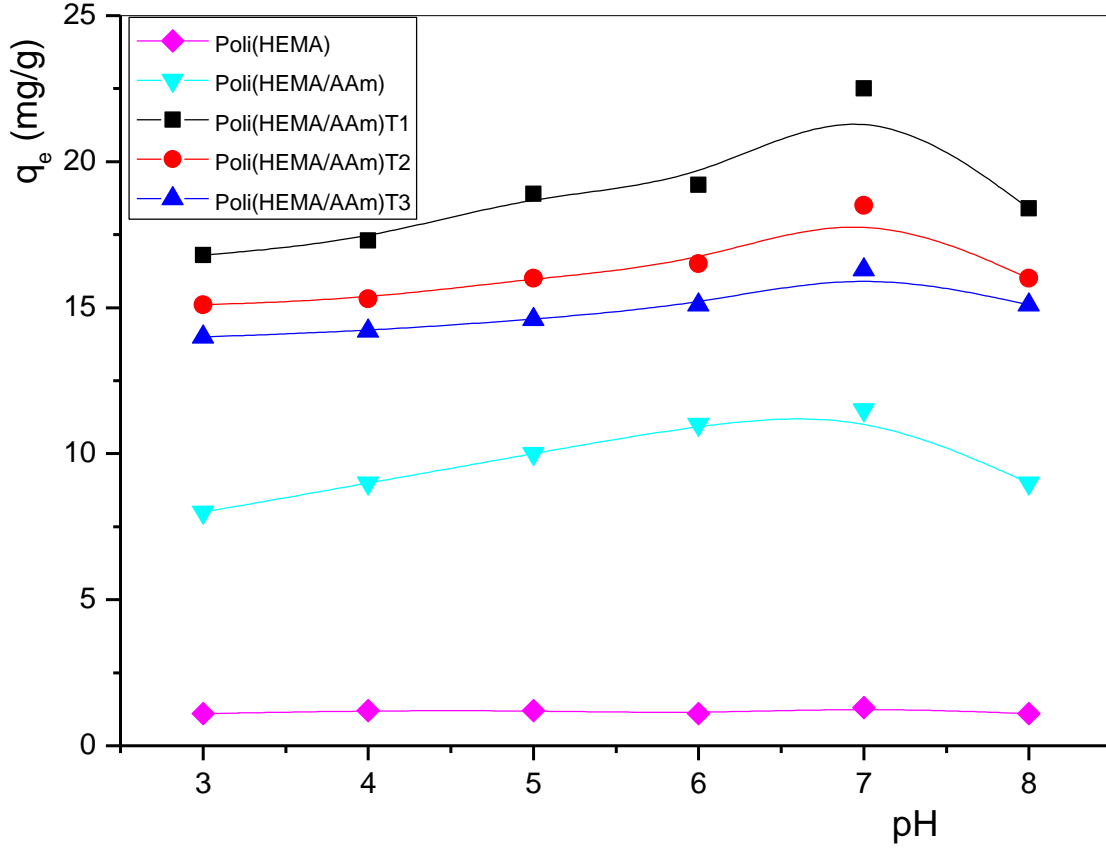
Örnek	APTT (saniye)	PT (saniye)	CT (saniye)
Kontrol Plazma	39,2 ± 1,4	16,3 ± 0,9	184 ± 5,9
Poli(HEMA)	37,3 ± 1,3	15,6 ± 0,9	175 ± 5,8
Poli(HEMA/AAm)	36,7 ± 1,4	15,0 ± 0,9	171 ± 5,5
Trimetazidin dihidroklörür baskılanmış Poli(HEMA/AAm)T1	37,9 ± 1,3	15,9 ± 0,9	178 ± 5,7

*3 paralel çalışma sonucunda elde edilen veriler.

APTT süresi sağlıklı bir bireyde (26-35) saniye aralığında olması gerekirken, PT süresi (10-14) saniye aralığında olmalıdır. Kontrol plazmaya karşı kriyojel membranlardan elde edilen kan uyumluluk testlerinde yüksek bir sapma gözlenmemektedir. Çizelge 4.3'teki verilere göre, Poli(HEMA) biyouyumlu bir kriyojel olarak değerlendirilmektedir. Poli(HEMA/AAm) kriyojelinin değerleri, kontrol plazmaya göre biraz daha uzaktır, yapıdaki AAm'nin biyouyumluluğu düşürdüğü değerlendirilmektedir. Trimetazidin dihidroklörür baskılanmış Poli(HEMA/AAm) için kontrol plazma değerlerine bir yaklaşma gözlenmiştir, buna göre trimetazidin dihidroklörürün biyouyumluluğu arttırdığı değerlendirilmiştir. Sentezlenen kriyojel membranların, kan uyumluluğu açısından biyouyumlu oldukları değerlendirilmektedir.

4.2. Trimetazidin Dihidroklorür Salım Çalışmaları

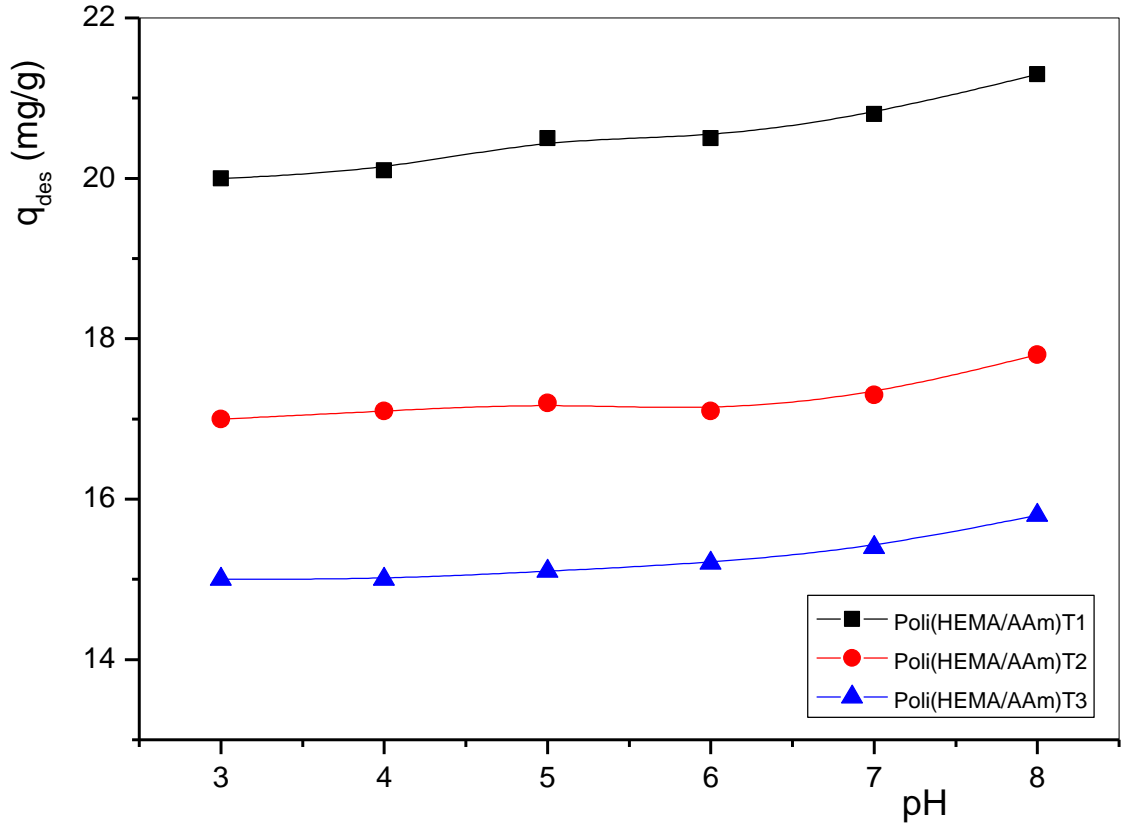
Çapraz bağ oranı, polimerlerin adsorpsiyon ve desorpsiyon verimini etkileyen başlıca parametrelerden birisidir. Bu çalışmada çapraz bağlayıcı oranının trimetazidin dihidroklorür salımına etkisini incelemek amacıyla, diğer değişkenler sabit tutulup polimerizasyon çözeltisindeki çapraz bağlayıcı oranları değiştirilmiştir. Çapraz bağlayıcı oranları %7,4 [Poli(HEMA/AAm)T1], %11,1 [Poli(HEMA/AAm)T2] ve %14,8 [Poli(HEMA/AAm)T3] olan üç değişik kriyojel membran sentezlenmiştir. Kriyojel membranlar sentezlendikten sonra, sulu derişik NaCl çözeltisinde bekletilerek trimetazidin dihidroklorürün ayrılması sağlanmış, daha sonra deiyonize suyla yıkanmıştır. Kurutulan kriyojellere maksimum trimetazidin yüklemesi dihidroklorür yapmak için bir pH değeri saptanmış (Şekil 4.9), daha sonra da NaCl çözeltisinde maksimum salım yapması için bir pH değeri belirlenmiştir (Şekil 4.10). Poli(HEMA) kriyojel membrablarının adsorpsiyon kapasitesinin pH ile değişmediği, buna karşın Poli(HEMA/AAm) kriyojelinde adsorpsiyon kapasitesinin pH ile artarak maksimum değere pH 7.0'da ulaştığı (11,5 mg/g), bazık bölgelerde ise adsorpsiyon kapasitesinde azalma olduğu gözlenmiştir. Trimetazidin dihidroklorür baskılanmış kriyojel membranlarda, adsorpsiyon kapasitesinin baskılanmamışlara göre daha fazla olduğu bütün pH değerlerinde gözlenmiştir. Poli(HEMA/AAm)T1, Poli(HEMA/AAm)T2 ve Poli(HEMA/AAm)T3 kriyojel membranları için pH 7,0 değerinde adsorpsiyon kapasitesi sırayla, 22,5 mg/g, 18,5 mg/g ve 16,3 mg/g olarak gözlenmiştir. Çapraz bağlayıcı oranının azalması, trimetazidin dihidroklorürün kriyojel membranlara difüzyonunu kolaylaştırmakta ve adsorpsiyon kapasitesini arttırmaktadır. Daha sonraki çalışmalar için Poli(HEMA/AAm) kriyojel membranlarına trimetazidin dihidroklorür yüklemesi pH 7,0'da yapılmıştır.



Şekil 4.8. Poli(HEMA), Poli(HEMA/AAm) ve değişik çapraz bağlayıcı oranlarında trimetazidin dihidroklorür baskılanmış Poli(HEMA/AAm) kriyojel membranlarının adsorpsiyon kapasitesinin pH ile değişimi (25 mL, 400 ppm trimetazidin dihidroklorür, 0,15 gram kriyojel, fosfat tamponu, 180 dakika, 25°C).

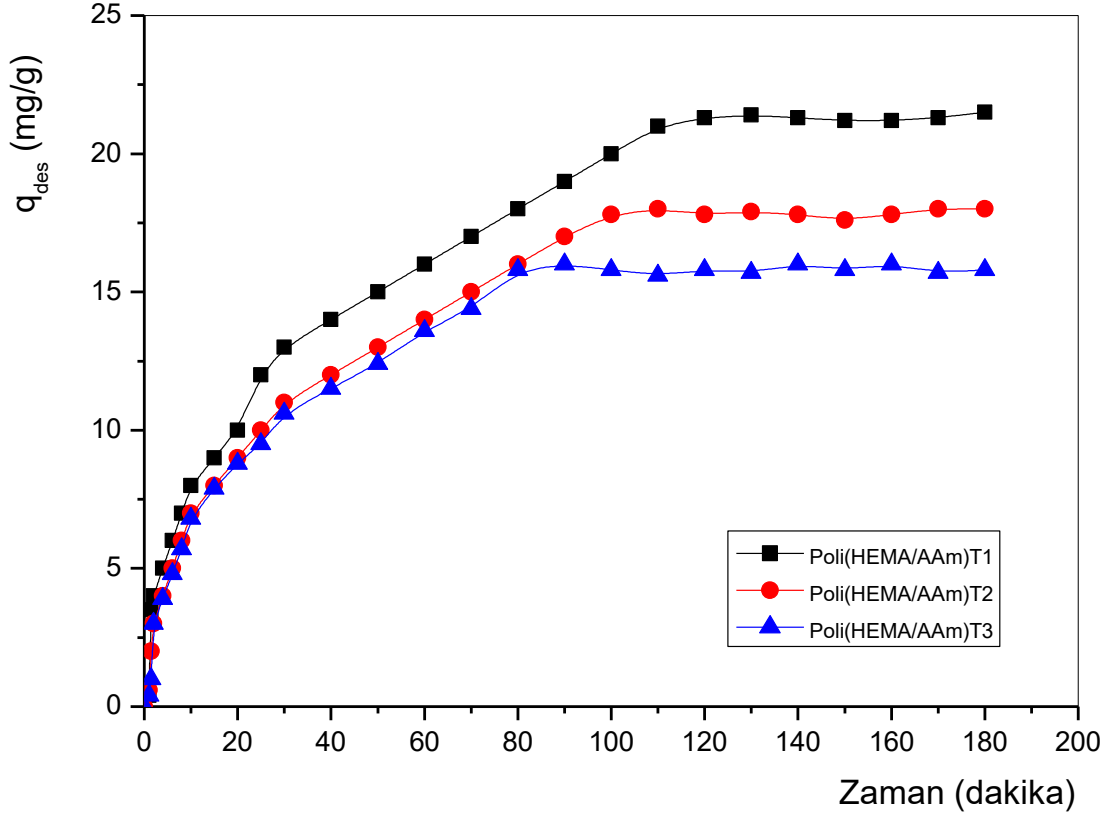
Şekil 4.10’da Poli(HEMA/AAm)T1, Poli(HEMA/AAm)T2 ve Poli(HEMA/AAm)T3 kriyojel membranlarından trimetazidin dihidroklorürün salımına pH’ın etkisi değerlendirilmiştir. pH 7,0’a kadar trimetazidin dihidroklorür yüklenmiş kriyojel membranlardan trimetazidin dihidroklorürün salımı pH ile fazla bir değişim göstermemekte, sadece pH 8,0 değerinde ufak bir artış gözlenmektedir.

Bu çalışmada bundan sonraki değerlendirmeler için trimetazidin dihidroklorür salımı pH 8,0 da yapılmıştır.



Şekil 4.9. Değişik çapraz bağlayıcı oranlarında trimetazidin dihidroklorür baskılanmış Poli(HEMA/AAm) kriyojel membranlarının desorpsiyon kapasitesinin pH ile değişimi (10 mL, 0,5 M NaCl, 0,15 gram kriyojel, 25°C, fosfat tamponu, 180 dakika, pH 7,0'da trimetazidin dihidroklorür yüklenmiş).

Şekil 4.11'de değişik çapraz bağlayıcı oranlarında hazırlanan kriyojel membranlar için desorpsiyon kapasitesinin zamana karşı değişimi verilmiştir. Çapraz bağlayıcı oranı düşük olan Poli(HEMA/AAm)T1 kriyojelinin gram başına saldığı trimetazidin dihidroklorür daha fazladır. Salım deneylerinin başında desorpsiyon kapasitesi her üç kriyojel için çok hızlı ve birbirlerine yakın olsada, dengeye yaklaştıkça değişim göze çarpmaktadır. Poli(HEMA/AAm)T1 kriyojeli 110 dakikada dengeye ulaşırken dengeki desorpsiyon kapasitesi 21,3 mg/g olarak gözlenmiştir. Poli(HEMA/AAm)T2 kriyojeli için aynı değerler 100 dakika ve 17,8 mg/g, Poli(HEMA/AAm)T3 kriyojeli için ise 80 dakika ve 15,8 mg/g olarak gözlenmiştir. Trimetazidin kriyojel membranlardan salım mekanizması şişme kontrollü gerçekleşmektedir. Bünyesine su alan kriyojel şişmekte ve trimetazidin dihidroklorürünü suya salmaktadır.



Şekil 4.10. Değişik çapraz bağlayıcı oranlarında trimetazidin dihidroklorür baskılanmış Poli(HEMA/AAm) kriyojel membranlarının desorpsiyon kapasitesinin zaman ile değişimi (10 mL, 0,5 M NaCl, 0,15 gram kriyojel, fosfat tamponu pH=8,0, 25°C, pH 7,0'da trimetazidin dihidroklorür yüklenmiş).

Trimetazidin dihidroklorürün şişme kontrollü salımının difüzyon analizi için eşitlik 4.1 kullanılmıştır,

$$F = M_t / M_\infty = kt^n \quad (4.1)$$

M_t : t anındaki salınan kütle

M_∞ : denge anında salınan kütle

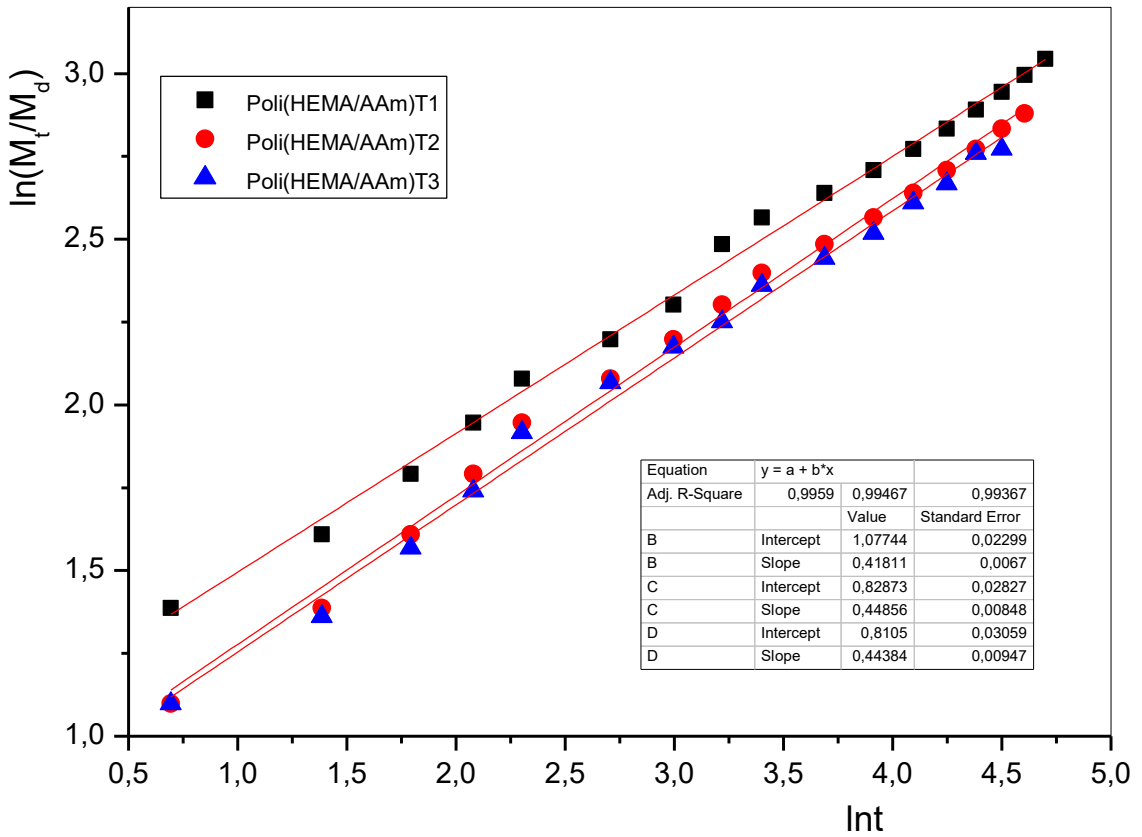
k: sistemin geometrik özelliklerine göre değişen hız sabiti

n: difüzyon üstel katsayısı

Bu eşitlik doğrusal hale getirilirse,

$\ln(M_t / M_\infty) = \ln k + n \ln t$ eşitliği elde edilir.

Int'ye karşı $\ln(M_t/M_\infty)$ grafiğe geçirilirse, eğimden n değeri, kesimden ise lnk değeri bulunur. Şekil 4.12'de Poli(HEMA/AAm)T1, Poli(HEMA/AAm)T2 ve Poli(HEMA/AAm)T3 kriyojellerinin difüzyon parametrelerini hesaplamak için Int'ye karşı $\ln(M_t/M_\infty)$ grafiğe geçirilmiştir. Elde edilen veriler Çizelge 4.4'te verilmiştir. Poli(HEMA/AAm)T1, Poli(HEMA/AAm)T2 ve Poli(HEMA/AAm)T3 kriyojel membranları için difüzyon üsteli n sırasıyla 0,42 0,45 ve 0,44 olarak bulunmuştur. Bu veriler değerlendirildiğinde, her üç kriyojelinde desorpsiyon prosesinin Yalancı Fickian Difüzyonuna uyduğu gözlenmektedir. Bu verilere göre, difüzyon hızı polimerlerin şişme hızından düşüktür, ama bu fark çok değildir (Ritger ve Peppas, 1987). Buna ek olarak, çapraz bağlayıcı miktarının az olduğu kriyojel membranlarda k değerinin daha fazla olduğu gözlenmiştir, k değerinin artması ilaç salımının daha hızlı olduğunu ifade etmektedir.



Şekil 4.11. Değişik çapraz bağlayıcı oranlarında trimetazidin dihidroklorür baskılanmış Poli(HEMA/AAm) kriyojel membranlarının salım difüzyonunun analizi (10 mL, 0,5 M NaCl, 0,15 gram kriyojel, fosfat tamponu pH=8,0, 25°C, pH 7,0'da trimetazidin dihidroklorür yüklenmiş).

Çizelge 4.4. Poli(HEMA/AAm) kriyojelleri için difüzyon katsayıları.

Kriyojel	n	k	R²
Poli(HEMA/AAm)T1	0,42	2,93	0,9959
Poli(HEMA/AAm)T2	0,45	2,27	0,99467
Poli(HEMA/AAm)T3	0,44	2,24	0,99367

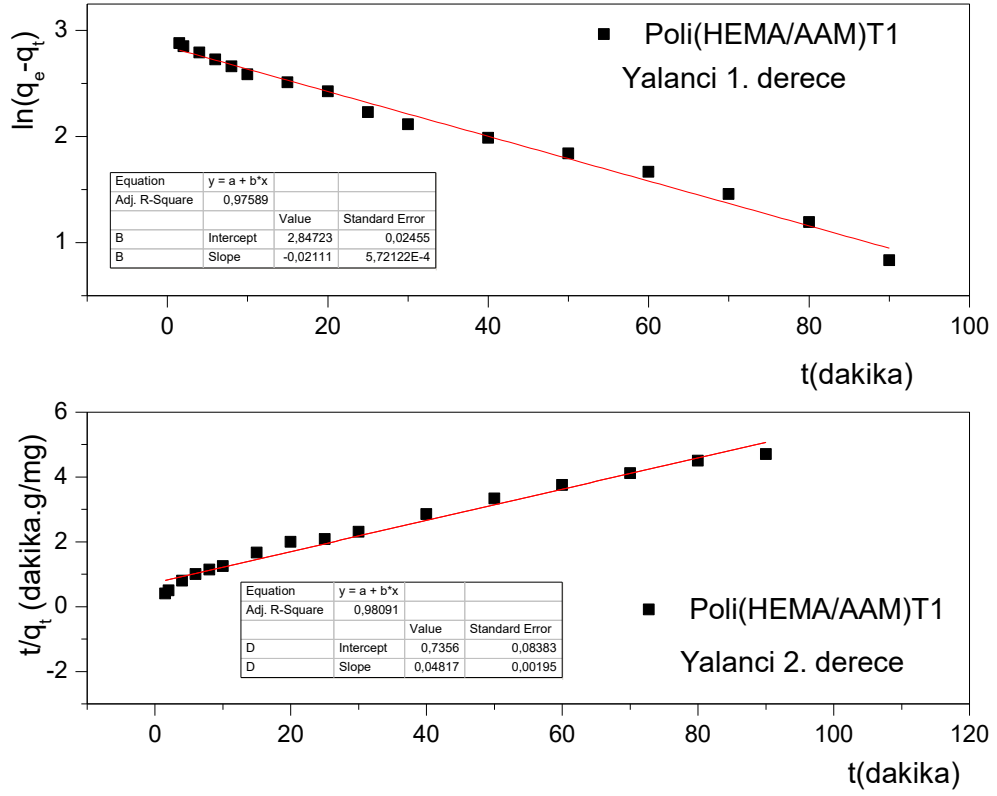
4.3. Kinetik Çalışmalar

Poli(HEMA/AAm)T1, Poli(HEMA/AAm)T2 ve Poli(HEMA/AAm)T3 için trimetazidin dihidroklorür salım kinetiği çalışmaları da yapılmıştır. Salım kinetiği için eşitlik 4.2’de verilen yalancı birinci dereceden modelleme (Lagergren, 1898) ve eşitlik 4.3’te verilen yalancı ikinci dereceden modelleme (Ho ve McKay,1995) eşitlikleri kullanılmıştır.

$$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - kt \quad (4.2)$$

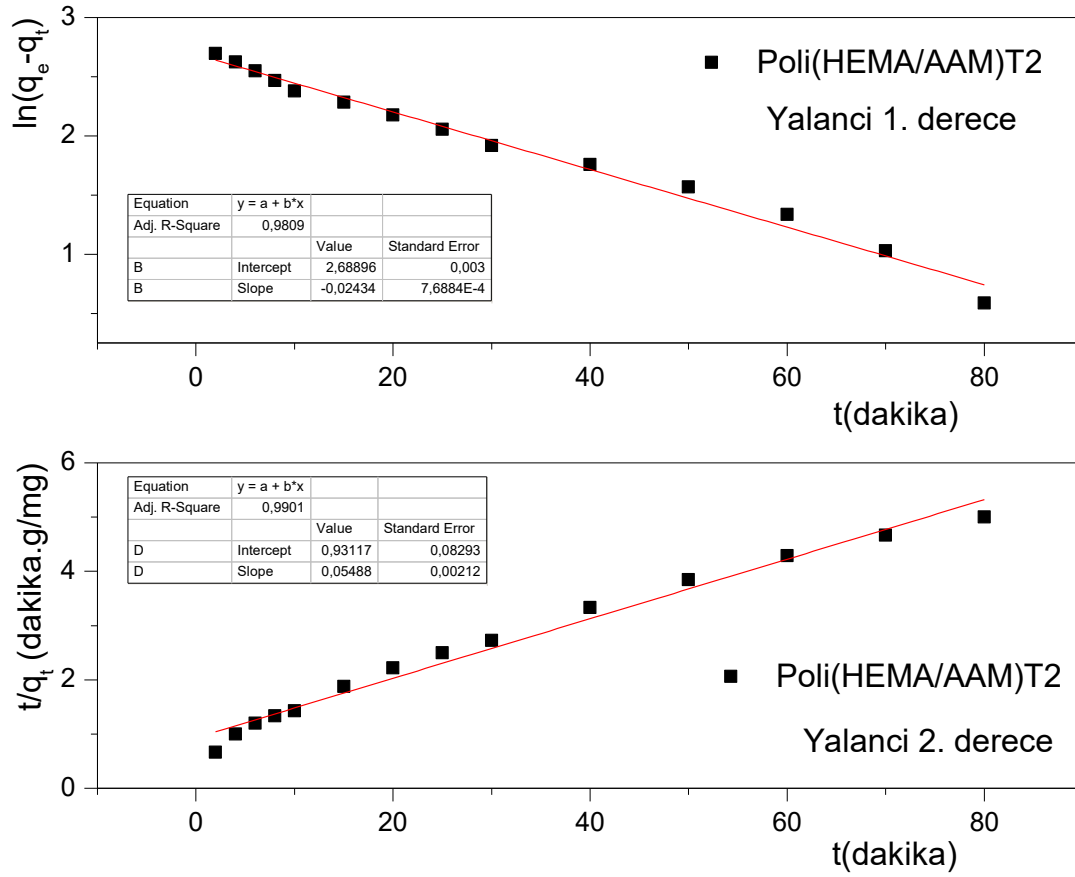
$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{kq_e^2} + \frac{t}{q_e} \quad (4.3)$$

Eşitliklerde q_e (mg/g) denge anındaki desorpsiyon kapasitesini, q_t (mg/g), herhangi bir andaki desorpsiyon kapasitesini, k desorpsiyon hız sabitini, t (dakika) ise desorpsiyon süresince geçen zamanı belirtmektedir. Şekil (4.13-4.15) değişik oranlarda çapraz bağlayıcı içeren trimetazidin dihidroklorür baskılı Poli(HEMA/AAm) kriyojel membranlar için salım kinetik modellemelerin grafiklerle gösterimini içermektedir. Bütün kriyojel membranların yalancı ikinci dereceden kinetik modellemeye daha uygun olduğu değerlendirilmiştir (R^2 değerleri grafiklerin üzerinde verilmiştir). Yalancı ikinci dereceden kinetik modellemenin tanımına göre, hız belirleyen basamak trimetazidin dihidroklorür ile kriyojel arasındaki etkileşimin bir fonksiyonudur. Yalancı ikinci dereceden modelleme grafiklerinin eğimden teorik desorpsiyon kapasite değeri (q_{des}) kesim noktasından ise desorpsiyon hız sabiti (k) bulunabilir.

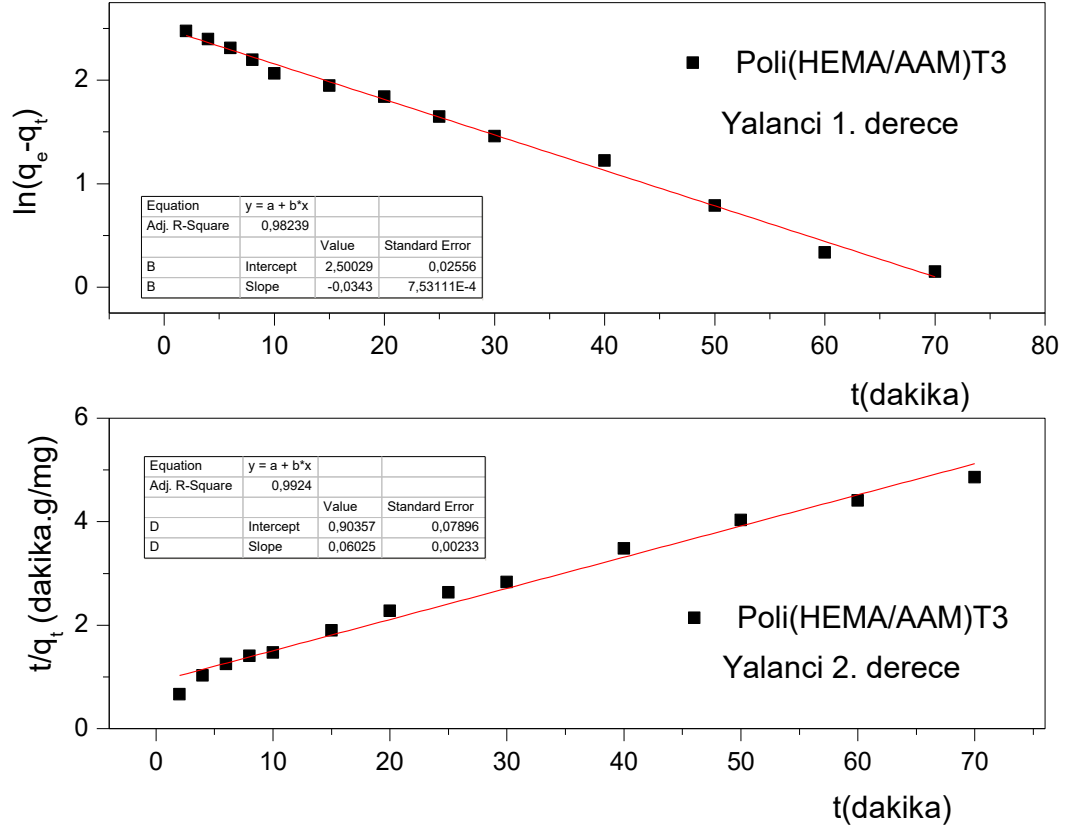


Şekil 4.12. Poli(HEMA/AAM)T1 kriyojel membranlarının trimetazidin dihidroklorür salımının kinetik analizi (10 mL, 0,5 M NaCl, 0,15 gram kriyojel, fosfat tamponu pH=8,0, 25°C, pH 7,0'da trimetazidin dihidroklorür yüklenmiş).

Çizelge 4.5'te elde edilen veriler özet halinde verilmiştir. Trimetazidin dihidroklorürün kriyojel membranlardan desorpsiyon kapasitesi için yalancı ikinci dereceden yapılan modelleme ile bulunan teorik değer, deneysel verilerle uyuşmaktadır. Bu sonuçlar, desorpsiyon prosesinin yalancı ikinci dereceden kinetik modellemeyle uyuştüğünü göstermektedir. Çapraz bağlayıcı oranının artması ile desorpsiyon hız sabitinde ihmal edilebilecek düzeyde bir artma olmaktadır. Trimetazidin dihidroklorür salımının çapraz bağ oranına kinetik açıdan bağlı olmadığı değerlendirilmiştir.



Şekil 4.13. Poli(HEMA/AAM)T2 kriyojel membranlarının trimetazidin dihidroklorür salımının kinetik analizi (10 mL, 0,5 M NaCl, 0,15 gram kriyojel, fosfat tamponu pH=8,0, 25°C, pH 7,0'da trimetazidin dihidroklorür yüklenmiş).



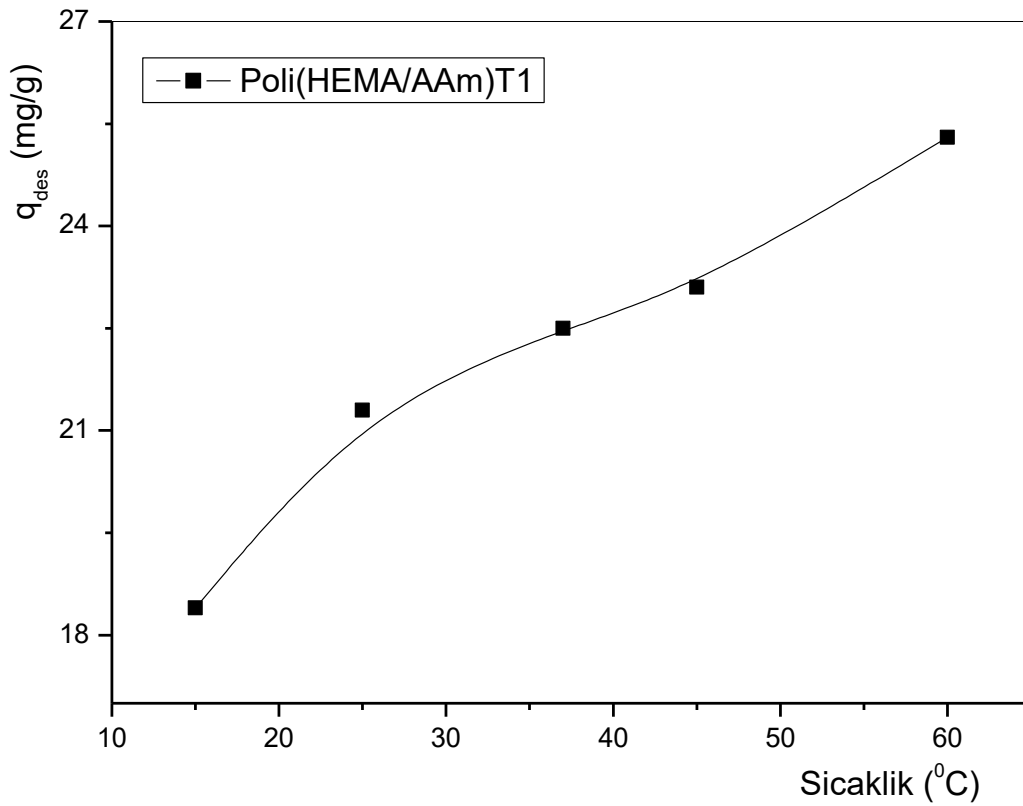
Şekil 4.14. Poli(HEMA/AAM)T3 kriyojel membranlarının trimetazidin dihidroklorür salımının kinetik analizi (10 mL, 0,5 M NaCl, 0,15 gram kriyojel, fosfat tamponu pH=8,0, 25°C, pH 7,0'da trimetazidin dihidroklorür yüklenmiş).

Çizelge 4.5. Trimetazidin dihidroklorür salımı için desorpsiyon kapasiteleri ve hız sabitleri

Kriyojel	q (deneysel) (mg/g)	q(teorik) (mg/g)	K [mg/(Ldakika)]
Poli(HEMA/AAM)T1	21,3	20,8	3,14 x 10 ⁻³
Poli(HEMA/AAM)T2	17,8	18,2	3,24 x 10 ⁻³
Poli(HEMA/AAM)T3	15,8	16,6	4,02 x 10 ⁻³

4.4. Sıcaklığın Trimetazidin Dihidroklörür Salımına Etkisi

Adsorbatların bir adsorbenden desorpsiyonu sıcaklığa bağlı olarak artabilir veya azalabilir. Poli(HEMA/AAm)T1 kriyojeli için desorpsiyon kapasitesinin sıcaklıkla değişimi bu çalışmada incelenmiştir. Şekil 4.16'da görüldüğü üzere sıcaklığın artması ile desorpsiyon kapasitesi de bir miktar artmaktadır. Vücut sıcaklığı olan 37°C de desorpsiyon kapasitesi 22,5 mg/g olarak bulunmuştur. Polimer zincirlerinin sıcaklık ile daha esnek hale gelmeleri ve polimer-polimer etkileşiminin azalması, desorpsiyon kapasitesini arttırmaktadır.



Şekil 4.15. Poli(HEMA/AAm)T1 kriyojel membranlarının trimetazidin dihidroklörür salımına sıcaklığın etkisi (10 mL, 0,5 M NaCl, 0,15 gram kriyojel, fosfat tamponu pH=8,0 desorpsiyon, trimetazidin dihidroklörür yüklenmesi pH 7,0'da).

Çizelge 4.6. Trimetazidin dihidroklorür salımı için değişik sıcaklıklarda desorpsiyon kapasitesi.

t (°C)	T(K)	q_{des} (mg/g)
15	288,15	18,4
25	298,15	21,3
37	310,15	22,5
45	318,15	23,1
60	333,15	25,3

5. YORUM

Sunulan tez çalışmasında, kontrollü ilaç salımı için trimetazidin dihidroklorür baskılanmış Poli(HEMA/AAm) kriyojelleri sentezlenerek karakterize edilmiştir. Trimetazidin dihidroklorür yüklenen kriyojel membranların salımı tuzlu fosfat tamponunda (pH 8,0) takip edilmiştir.

- Trimetazidin dihidroklorür ile etkileşerek kompleks oluşturacak fonksiyonel monomer AAm seçilmiştir. P(AAm)'nin polimer ortamında bulunması, trimetazidin dihidroklorürün yüklenmesi açısından olumlu olmuştur.

- Trimetazidin dihidroklorür baskılanmış kriyojel membranlar -18°C sıcaklıkta 24 saat bekletilerek gerçekleştirilmiştir.

- Trimetazidin dihidroklorür baskılanmış Poli(HEMA/AAm) kriyojel membranlar, polimerizasyon ortamındaki çapraz bağlayıcı oranı değiştirilerek üç farklı içerikte sentezlenmiştir. Bunlar, çapraz bağlayıcının monomere mol oranı cinsinden bileşimleri %7,4, %11,1 ve %14,8 olarak belirlenmiştir.

- Sentezlenen kriyojel membranlar için FTIR ile karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. Trimetazidin dihidroklorür baskılanmış Poli(HEMA/AAm) kriyojel membranlarına ait FTIR spektrumunda $(3500-3000)\text{ cm}^{-1}$ dalgasayısı aralığındaki pikin genişlediği gözlenmiş, bunun yapıya giren trimetazidin dihidroklorürdeki $-\text{NH}$ gruplarının yaptığı hidrojen bağlarından kaynaklandığı değerlendirilmiştir. Buna göre, kriyojel membranlar ile trimetazidin dihidroklorür hidrojen bağı yaparak kararlılıklarını korumaktadırlar. 671 cm^{-1} , 584 cm^{-1} ve 544 cm^{-1} dalgasayısındaki piklerin trimetazidin dihidroklorür baskılanmış kriyojel membranlarda da gözlenmesi, trimetazidin dihidroklorürün kriyojel membranlara tutunduğunu göstermektedir.

- Sentezlenen kriyojel membranlar için termogravimetrik analizler de yapılmıştır. Termogramlar değerlendirildiğinde, Poli(HEMA) kriyojel membranlarının ısı bozunmasının iki ana basamakta olduğu gözlenmiştir. Poli(HEMA)'nın %87'sinin ilk

basamakta 474°C'ye kadar bozunduğu gözlenmiştir. Trimetazidin dihidroklorür baskılanmamış (Poli(HEMA/AAm) kriyojel membranlarının da iki ana basamakta bozunduğu gözlenmiştir, asıl bozunma ikinci basamakta %78 oranında olmuştur. Kriyojelin Poli(HEMA/AAm) ve Poli(HEMA) için termogramlar kıyaslandığında, AAm'nin polimer zincirine katılmasının ısıl kararlılığı az da olsa arttırdığı gözlenmiştir. Trimetazidin dihidroklorürün termogramı incelendiğinde, yine iki tane ana bozunma basamağı olduğu görülmektedir. Trimetazidin dihidroklorür birbirini takip eden iki basamak ile 400°C'ye kadar %98 oranında bozunmaktadır. Trimetazidin dihidroklorür baskılanmış Poli(HEMA/AAm) termogramında ise, trimetazidin dihidroklorür kriyojeli ısıl olarak kararsız hale getirdiği ve bozunma sıcaklığını düşürdüğü gözlenmiştir.

- Moleküler baskılanmış ve baskılanmamış kriyojel membranlar için makrogözeneklilik yüzdesi çalışılmıştır. Çapraz bağlayıcı oranı en yüksek (%14) olan trimetazidin dihidroklorür baskılı kriyojel membran [Poli(HEMA/AAm)T3] için şişme oranı %208,5 ve makrogözeneklilik oranı %46,3 olarak bulunmuşken, çapraz bağlayıcı oranı en düşük olan trimetazidin dihidroklorür baskılı kriyojel membran için [Poli(HEMA/AAm)T1] şişme oranı %304,5 ve makrogözeneklilik oranı ise %58,8 olarak bulunmuştur. Polimerik yapıya trimetazidin dihidroklorürün girmesi, şişme yüzdesi %171,4 olan baskılanmamış Poli(HEMA/AAm) kriyojelinin yüzde şişmesi üzerine etkili olmuştur. Veriler değerlendirildiğinde, çapraz bağlayıcı oranının artmasının hem yüzde şişmeyi hem de yüzde makrogözenekliliği düşürdüğü belirlenmiştir.

- Kriyojel membranların yüzey spesifik alanlarının belirlenmesi için çok noktalı BET yöntemi kullanılmıştır. Yapıya trimetazidin dihidroklorürün katılmasının gözenek boyutunu düşürdüğü gözlenmiştir. Poli(HEMA) için gözenek boyutu (45-97)Å° olarak bulunmuşken, trimetazidin dihidroklorür baskılanmamış Poli(HEMA/AAm) için (51-79)Å° olarak bulunmuştur. Poli(HEMA/AAm)T1, Poli(HEMA/AAm)T2 ve Poli(HEMA/AAm)T3 için gözenek boyutları sırasıyla (45-50)Å°, (40-45)Å° ve (35-42)Å° olarak bulunmuştur. Yapıdaki çapraz bağlayıcı oranının artmasının gözenek boyutunu düşürdüğü gözlenmiştir. Yapıda makrogözeneklerin yanında, mikro ve mezogözeneklerin varlığı da değerlendirilmiştir.

- Trimetazidin dihidroklorür baskılanmış kriyojel membranlar için biyouyumluluk testleri kan uyumluluk testleri ile yapılmıştır. Kontrol amaçlı olarak aynı analizler, Poli(HEMA) ve trimetazidin dihidroklorür baskılanmamış Poli(HEMA/AAm) kriyojel membranları için de yapılmıştır. Poli(HEMA) biyoyumlu bir kriyojel olarak değerlendirilmektedir. Poli(HEMA/AAm) kriyojelinin değerleri, kontrol plazmaya göre biraz daha uzaktır, yapıdaki AAm'nin biyouyumluluğu düşürdüğü değerlendirilmektedir. Trimetazidin dihidroklorür baskılanmış Poli(HEMA/AAm) için kontrol plazma değerlerine bir yaklaşma gözlenmiştir, buna göre trimetazidin dihidroklorürün biyouyumluluğu arttırdığı değerlendirilmiştir. Sentezlenen kriyojel membranların, kan uyumluluğu açısından biyoyumlu oldukları değerlendirilmektedir.

- Trimetazidin dihidroklorür salımını değerlendirmek için, kriyojel membranların maksimum adsorpsiyon kapasitesi pH 7,0 değerinde, Poli(HEMA/AAm)T1 22,5 mg/g olarak bulunmuştur. Bu değer Poli(HEMA/AAm)T2 ve Poli(HEMA/AAm)T3 kriyojel membranları için sırasıyla 18,5 mg/g ve 16,3 mg/g olarak bulunmuştur. Trimetazidin ise, tuzlu suda kriyojel membrandan salımında pH 8,0 değeri kullanılmıştır. Poli(HEMA/AAm)T1, Poli(HEMA/AAm)T2 ve Poli(HEMA/AAm)T3 kriyojelleri için desorpsiyon kapasitesi sırayla 21,3mg/g, 17,8 mg/g ve 15,8 mg/g olarak bulunmuştur. Salımın düşük çapraz bağlayıcı oranı içeren çözeltilerde daha iyi olduğu değerlendirilmiştir.

- Kriyojel membranlarda çapraz bağlayıcı oranının artması ile salım kütesinin dengeye ulaşmasının ters orantılı olduğu gözlenmiştir. Poli(HEMA/AAm)T1, Poli(HEMA/AAm)T2 ve Poli(HEMA/AAm)T3 kriyojelleri için çözeltide desorpsiyon kapasitesi dengesine ulaşmak için geçen süre sırayla 110 dakika (21,3 mg/g), 100 dakika (17,8 mg/g) ve 80 dakika (15,8 mg/g) olarak belirlenmiştir.

- Çapraz bağlayıcı oranının etkisini incelemek için, bazı difüzyon parametreleri hesaplanmıştır. Poli(HEMA/AAm)T1, Poli(HEMA/AAm)T2 ve Poli(HEMA/AAm)T3 kriyojelleri için difüzyon üstel katsayısı (n) sırayla 0,42, 0,45, ve 0,44 olarak bulunmuştur. Her üç kriyojel membran için de difüzyon prosesinin Yalancı Fickian Difüzyonuna uyduğu gözlenmiştir.

- Poli(HEMA/AAm)T1, Poli(HEMA/AAm)T2 ve Poli(HEMA/AAm)T3 kriyojel membranlar için kinetik çalışmalar da yapılmıştır. Her üç kriyojel membrandan trimetazidin dihidroklorür salımının yalancı ikinci dereceden modellemeye uyduğu belirlenmiştir. Yapılan grafiksel hesaplamalardan, poli(HEMA/AAm)T1 kriyojel membran için teorik ve deneysel desorpsiyon kapasiteleri sırayla 20,8 mg/g ve 21,3 mg/g, poli(HEMA/AAm)T2 kriyojel membran için teorik ve deneysel desorpsiyon kapasiteleri sırayla 18,2 mg/g ve 17,8 mg/g, poli(HEMA/AAm)T3 kriyojel membran için teorik ve deneysel desorpsiyon kapasiteleri sırayla 16,6 mg/g ve 15,8 mg/g olarak bulunmuştur. Deneysel ve teorik verilerin uyumlu olması, desorpsiyon prosesinin ikinci dereceden olduğunu onaylamaktadır.

- Elde edilen kriyojel membranlarda sıcaklığın salıma etkisi incelenmiştir. Sıcaklık artması ile salımın da arttığı, Poli(HEMA/AAm)T1 kriyojel membran için 25°C’de 21,3 mg/g olan desorpsiyon kapasitesini 15°C’de 18,4 mg/g değerine düştüğünü, 60°C’de ise 25,3 mg/g değerine arttığı gözlenmiştir. Vücut sıcaklığı olan 37°C’de desorpsiyon kapasitesi 22,5 mg/g olarak gözlenirken, oda sıcaklığındaki değerinden çok farklı olmadığı gözlenmiştir.

6. KAYNAKLAR

- Alexander, C., Andersson, H., S.; Andersson, Lars I.; Ansell, Richard J.; Kirsch, Nicole; Nicholls, Ian A.; O'Mahony, John; Whitcombe, Michael J., Molecular imprinting science and technology, *Journal of Molecular Recognition*. 19 (2), **(2003)**, 106–180
- Ali, S., Shehzad, F.K., Maiylo, L., Valiev, S., Muhyodin, G., Nie, J., Binary-phase solid-state photopolymerization behaviour of acrylate cryogels under diferent light sources, *Journal of Applied Polymer Science*, 135, **(2018)**, 46686
- Allender, C.J., Richardson, C., Woodhouse, B.C., Heard, M., Brain, K. R., Pharmaceutical applications for molecularly imprinted polymers, *International Journal of Pharmaceutics*, 195, **(2000)**, 39-43
- Alvarez-Lorenzo, C. and Concheiro, A., *Journal of Chromatography B*, **(2004)**, 804, 1, 231
- Aydoğan, C., Andaç, M., Bayram, E., Say, R., Denizli, A., Molecularly imprinting cryogel for L-glutamic acid separation. *Biotechnol. Prog.* 18, **(2012)**, 459- 466
- Bat, E., Hydroxyethyl metacrylate based nanocomposite hydrogels with tunable pore architecture, *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*, 3, **(2016)**, 607-622
- Belbruno, J.J., Molecularly Imprinted Polymers, *Chem. Rev.*, vol. 119, no. 1, **(2019)**, 94–119

- Bölgen, N., Vargel, I., Korkusuz, P., Güzel, E., Plieva, F., Galaev, I.Y., Mattiason, B., Pişkin, E., Tissue responses to novel tissue engineering biodegradable cryogel scaffolds: An animal model. *Biomed Mater. Res.* 91A. **(2009)**, 60-68
- Carmen Alvarez C., Yanez F., Barreiro-Iglesias, F., Concherio, A., Imprinted contact soft lenses as norfloxacin delivery systems, *Journal of Controlled Release*, 113, **(2006)**, 236-244
- Chapus, F., Pichon, V., Hennion, M.C. Molecularly Imprinted polymers: Developments and applications of New selective Solid-Phase Extraction Materials. *LC-GC Europe*, 17 (7), **(2004)**, 408-417
- Chauhan, G.S., Chauhan, S., Sen, U., Garg, D., Synthesis and characterization of acrylamide and 2-hydroxyethyl methacrylate hydrogels for use in metal uptake studies, *Desalination*, 243, **(2009)**, 95-108
- Colombo, P., Swelling controlled release in hydrogel matrices for oral route, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 11, **(1993)**, 37-57.
- Cormack, P.A.G. and Zurutuza Elorza, A., *Journal of Chromatography B*, **(2004)**, 804, 173
- Cormack, P.A.G., Mosbach, K., Molecular imprinting: recent developments and the road ahead, *Reactive and Functional Polymers*, **(1999)**, 115-124
- Çorman, M.E., Moleküler Baskılanmış Nanopartiküllerin Hazırlanması, Karakterizasyonu ve Lizozim Saflaştırılmasında Kullanılması, **(2010)**

David, R.K., Peppas, N.A., Mimicking biological delivery through feedback-controlled drug release systems based on molecular imprinting, *AIChE Journal*, **(2009)**, 55, 1311–1324

Denizli, A., Küfrevioğlu, Ö.İ., Protein kromatografisi ve yeni nesil polimerik sistemler. **(2010)**, 1-297

Dong, X.C., Sun, H., Lu, X.Y., Wang, H.B., Liu, S.X., Wang, N., Separation of ephedrine stereoisomers by molecularly imprinted polymers influence of synthetic conditions and mobile phase compositions on the chromatographic performance, *Analyst*, **(2002)**, 127, 1427–1432

Doretto, L., Ferrara, D., Gattolin, P., Lora, S., Schiavon, F., Veronese, F.M., PEG modified glucose oxidase immobilized on a PVA cryogel membrane for amperometric biosensor applications. *Talanta*, **(1998)**, 45, 891-898

Efremenko, E.N., Spiricheva, O.V., Veremenko, D.V., Baibak, A.V. and Lozinsky, V.I., L(+)-lactic acid production using poly(vinyl alcohol)-cryogelentapped *Rhizopus oryzae* fungal cells, *Chem. Technol. Biotechnol*, **(2006)**, 81, 519- 522

Ertürk, G., Mattiason, B., Cryogels-versatile tools in bioseparation. *Journal of Chromatography A.*, 1357, **(2014)**, 24-35

Freichel, O.L., Lippold, B.C., A new oral erosion controlled drug delivery system with a late burst in the release profile, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50, **(2000)**, 345-351.

Gun'ko, Y.M., Savina, I.N., Mikhalovsky, S.V., Cryogels: Morphological, structural and adsorption characterization. *Advances in Colloid and Interface Science*, **(2013)**, 187-188, 1-46

Gürsoy A., Kontrollü Salım Sistemleri, (2002)

H. Basan Et Al., pH-sensitive hydrogels and applications in controlled drug delivery
Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences, (2001), 81-92

Haginaka, J., Kagawa, C., Chiral Resolution of Derivatized Amino Acids Using
Uniformly Sized Molecularly imprinted Polymers in Hydro-Organic Mobile
Phases. Analytical and Bioanalytical Chemistry, (2004), 378, 1907–1912

Haupt K, Analytical Chemistry 1, (2003), 377

Hiratani, H., Alvarez-Lorenzo, C. Timolol uptake and release by imprinted soft contact
lenses made of N,N-dimethylacrylamide and methacrylic acid, Journal of
Controlled Release, 83, (2002), 223-230

Ho, Y.S., McKay, G., Pseudo-second order model for sorption processes, Process
Biochemistry, 34, (1999), 451-465

Hossain, S., Banik, S. and Safiqul, M.I., Formulation Design and Characterization of
Kollidon SR Based Trimetazidine Dihydrochloride Matrix Tablets June Indian
Journal of Pharmaceutical Education 46(2), (2012), 137-44

Janiak, D.S. and Kofinas, P., Analytical and Bioanalytical Chemistry, (2007), 389,2, 399

Kartal Ersoy, F., Gıdalardan Kolesterolün Uzaklaştırılması İçin Moleküler Baskılanmış
Kriyojel Mikroküreler, 24, (2018)

- Katz, A., Davis, M.E., Investigations into the Mechanisms of Molecular Recognition with Imprinted Polymers, *Macromolecules*, **(1999)**, 32, 4113-412
- Kirat K. El, Bartkowsky, M. and Haupt, K., *Biosensors and Bioelectronics*, **(2009)**, 24, 8, 2618
- Krishnaiah, Y.S.R., Karthikeyan, R.S., Bhaskar, Satyanarayana, P. V., Bioavailability studies on guar gum-based three-layer matrixtablets of trimetazidine dihydrochloride in human volunteers **(2002)**
- Krishnaiah, Y.S.R., Karthikeyan, R.S., Gouri Sankar, V., Satyanarayana, V., Three-layer guar gum matrix tablet formulations for oral controlled delivery of highly soluble trimetazidine dihydrochloride **(2001)**
- Kumar, A., Bansal, V., Andersson, J., Roychoudhury, P.K., Mattiason, B., Supermacroporous cryogel matrix for integrated isolation immobilized metal affinity chromatographic purification of urokinase from cell culture broth of human kidney cell line. *Journal of Chromatography A*. 1103, **(2006)**, 35-42
- Kumar, A., Plieva, F.M., Galaev, I.Y., Mattiason, B., Affinity fractionation of lymphocytes using a monolithic cryogel. *Journal of Immunological Methods*. 283, **(2003)**, 185-194
- Lagergren S., About the Theory of so Called Adsorption of Soluble Substances, *Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar*, 24, **(1898)**, 1-39
- Li, J., Mooney, D.J., Designing hydrogels for controlled drug delivery, *Nature Review Materials*, 16071, **(2016)**.

- Liang, L., Linlin, W., Yang, S., Ye, T., Conghao, L., Ying, L., Shirui, M., Elucidation of Release Characteristics of Highly Soluble Drug Trimetazidine Hydrochloride from Chitosan–Carrageenan Matrix Tablets, **(2012)**
- Linares, A.V., Vandavelde ,F., Pantigny ,J., Falcimaigne-Cordin, A. and K. Haupt, Advanced Functional Materials, **(2009)**, 19, 8, 1299
- Lozinsky, V.I., A Brief History of Polymeric Cryogels. In: Polymeric Cryogels, Advances in Polymer Science; Okay, O., Ed. Springer, Cham., **(2014)**, 263
- Lozinsky, V.I., Fatima, Y. G., Plieva, M., Savina, I.N, Jungvid, H., Mattiasson, B., Polymeric cryogels as promising materials of biotechnological interest, Trends in Biotechnology, 21(10), **(2003)**, 445-451
- Lozinsky, V.I., Polymeric cryogels as a new family of macroporous and supermacroporous materials for biotechnological purposes, Russian Chemical Bulletin, International Edition, 57, **(2008)**, 1015-1032
- Makoto, K., Toshifumi, T., Takashi, M., Hiroyuki, A. Molecular Imprinting: From Fundamentals to Applications, **(2003)**, 159
- Meenakshi, R., Jagannathan, L., Gunasekaran, S., Srinivasan, S., FT-IR, FT-Raman and UV-vis spectra and quantum chemical investigation of trimetazidine, Molecular Simulation, 36, **(2010)**, 969-977
- Mohammed, A.H., Jubair, S.R. Study of copolymerization acrylamide with methyl methacrylate, International Journal of Biology and Medicine,2, **(2020)**, 1-9

Norell, M.C., Andersson, H.S., Nicholls, I.A., Theophylline molecularly imprinted polymer dissociation kinetics: a novel sustained release drug dosage mechanism, *Journal of Molecular Recognition*, 11, **(1998)**, 98-104

Patel, S., Kurpinski, K., Quigley R., Gao H., Hsiao B.S., Poo, M.M., Li, S., Bioactive Nanofibers: Synergistic Effects of Nanotopography and Chemical Signaling on Cell Guidance, *Nano Letters*, **(2007)**, 7, 2122-2128

Plieva, F., Huiting, X., Galaev, I.Y., Bergenståhl, B. and Mattiason, B., Macroporous elastic polyacrylamide gels prepared at subzero temperatures: control of porous structure. *J. Mater. Chem.* **(2006)**, 16, 4065-4073

Plieva, F.M., Galaev, I.Y., Mattiasson, B., Macroporous gels prepared at subzero temperatures as novel materials for chromatography of particulate containing fluids and cell culture applications **(2007)**, 1657-1671

Plieva, F.M., Karlsson, M., Aguliar, M-R., Gomez, D., Mikhalovsky, S. and Galaev, I.Y., Pore structure in supermacroporous polyacrylamide based cryogels. *Soft Matter* 1, **(2005)**, 303-309

Ritger, P. L., Peppas, N.A., A simple equation for description of solute release I. Fickian and non-fickian release from non-swellable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs, *Journal of Controlled Release*, 5, **(1987)**, 23-36

Sellergren B. and Allender C.J., Molecularly imprinted polymers: a bridge to advanced drug delivery *Advanced Drug Delivery Reviews* Volume 57, **(2005)**, 1733-1741

Sellergren, B., Highly enantioselective and substrate-selective polymers obtained by molecular imprinting utilizing noncovalent interactions – NMR and chromatographic studies on the nature of recognition, *Journal of the American Chemical*, **(1988)**, 110, 5853–5860

Sellergren, B., Noncovalent molecular imprinting: antibody-like molecular recognition in polymeric network materials., *Trends in Analytical Chemistry*. 16 (6) **(1997)**, 310–320

Sellergren, B., *Trends in Analytical Chemistry*, **(1999)**, 18, 3, 164

Shah, N. A Brief Overview of Molecularly Imprinted Polymers: From Basics to Applications. *Journal of Pharmacy Research*. 5, **(2012)**, 3309

Shaik, M., Korsapati, M., Panati, D., Polymers in controlled drug delivery systems. *International Journal of Pharma Sciences*, 2, **(2012)**, 112-116

Sharma, A., Bhat, S., Vishoi, T., Nayok, V. and Kumar, A., Three dimensional carreegeenan-gelatin cryogel matrix for tissue engineering applications. *BioMed Research International*, **(2013)**, 1-15

Shea, K.J. and Dougherty, T.K., *Journal of the American Chemical Society*, **(1986)**, 108, 5, 1091

Shea, K.J. and Sasaki, D.Y., *Journal of the American Chemical Society*, **(1991)**, 113, 11, 4109

Shirui Mao Liang Li, Linlin Wang, Yang Shao, Rui Ni, Tingting Zhang, ,Drug release characteristics from chitosan–alginate matrix tablets based on the theory of self-assembled film **(2013)**

Spivak, A.S., Optimization, evaluation and characterization of molecularly imprinted polymers, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **(2005)**, 1780,1779-1794

Steinke, J., Sherrington, D.C., Dunkin, I.R., Imprinting of synthetic polymers using molecular templates, *Advances in Polymer science*. 123, **(1995)**, 81-125

Stringer, R.C., Gangopadhyay, S. and Grant, S.A., *Analytica Chimica Acta*, **(2011)**, 703, 2, 239

Suedee, R., Srichana, T., Chotivatesin, R., Martin, G. P., Stereoselective release behaviours of imprinted bead matrices, *Drug Development Industry Pharmacy*, 28, **(2002)**, 545-554

Suedee, R., Srichana, T., Martin, G. P., Evaluation of matrices containing molecularly imprinted polymers in the enantioselective-controlled delivery of blockers, *Journal of Controlled Release*, 66, **(2000)**, 135-147

Takagishi, Toru; Klotz, Irving *Macromolecule-small molecule interactions; Introduction of additional binding sites in polyethyleneimine by disulfide cross-linkages*, *Biopolymers*. 11 (2): **(1972)**, 483–491-383

Urraca, J.L., Carbajo, M.C., Torralvo, M.J., Gonzalez-Vazquez, J., Orellana, G. and Moreno-Bondi, M.C., *Biosensors and Bioelectronics*, **(2008)**, 24, 1, 155

- Vargün, E., Sankir, M., Aran, B., Sankir, N.D., Usanmaz, A., Synthesis and characterization of 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) and methyl methacrylate (MMA) copolymer used as biomaterial, *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, 47, (2010), 235-240
- Venkatesh, S., Sizemore, S.P. and Byrne, M.E., *Biomaterials*, (2007), 28, 4, 717
- Vlatakis, G., Andersson, L. I., Muller, R., Mosbach, K., Drug assay using antibody mimics made by molecular imprinting, *Nature*, (1993), 361, 645-647
- Wang, X.N., Recum. H.A., Affinity-Based Drug Delivery, *Macromolecular Bioscience*, (2011), 11, 321-332
- Whitcombe, M.J., Chianella, I., Larcombe, L., Piletsky, S.A., Noble, J., Porter, R. and A. Horgan, *Chemical Society Reviews*, (2011), 40, 3, 1547
- Wulff G.; Dederichs, R.; Grotstollen, R.; Jupe, C., Affinity Chromatography and Related Techniques -Theoretical Aspects/Industrial and Biomedical Applications. Proceedings of the 4th International Symposium. 4, (1982), 22–26
- Wulff, G. and Sarhan, A., *Angewandte Chemie-International*, (1972), 11, 4, 341
- Wulff, G. and Schauhoff, S., *Journal of Organic Chemistry*, (1991), 56, 1, 395
- Wulff, G. and Vietmeier, J., *Makromolekulare Chemie*, (1989), 190, 7, 1727
- Wulff, G. and Wolf, G., *Chemische Berichte*, (1986), 119, 1876

Wulff, G., and Sarhan, A. The Use of Polymers with Enzyme-Analogous Structures for the Resolution of Racemates. *Angewandte Chemie International Edition*, 11, (1972), 341-344

Wulff, G., Best W. and Akelah, A., *Reactive Polymers, Ion Exchangers, Sorbents*, (1984), 2, 3, 167

Wulff, G., Selective binding to polymers via covalent bonds. The construction of chiral cavities as specific receptor sites. *Pure and Applied Chemistry*. 54 (11), (1982), 2093–2102

www.servier.com.tr/sites/default/files/spc-pil/vastarel_20_mg_kub-20.12.2019.pdf

Yang, K., Zhang, L., Liang, Z., and Zhang, Y., *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, (2012), 403, 8, 2173

Ye, L., Mosbach, K., *Molecularly imprinted microspheres as antibody binding mimics, Reactive and Functional Polymers*, (2001), 149-157

Yu, C., Mosbach, K., *Molecular Imprinting Utilizing an Amide Functional Group for Hydrogen Bonding Leading to Highly Efficient Polymers, The Journal of Organic Chemistry*, (1997), 4057–4064

Zhang, H., Ye, L., Mosbach, K., *Non-covalent molecular imprinting with emphasis on its application in separation and drug development, Journal of Molecular Recognition*, 19, (2006), 248-259

