



# PEG-DA/Conconavalin A Biyokompozit Hidrojel Sentezi ve Kanser Tedavisi İçin Araştırılması

Sabiha Demirci<sup>1</sup>, Fatma Ayhan<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Biyokimya Anabilimdalı, Biyokimya& Biyomalzemeler Araştırma Grubu (BIOMATREG), Muğla, Türkiye (ORCID: 0000-0001-7857-0001), [sabihademirci87@gmail.com](mailto:sabihademirci87@gmail.com)

<sup>2</sup>Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Biyokimya Anabilimdalı, Biyokimya& Biyomalzemeler Araştırma Grubu (BIOMATREG), Muğla, Türkiye (ORCID: 0000-0003-2220-4496), [fayhan@mu.edu.tr](mailto:fayhan@mu.edu.tr)

(İlk Geliş Tarihi 2 Haziran 2022 ve Kabul Tarihi 22 Temmuz 2022)

(DOI: 10.31590/ejosat.1125077)

**ATIF/REFERENCE:** Demirci S., Ayhan F., (2022). PEGDA/Conconavalin A Biyokompozit Hidrojel Sentezi ve Kanser Tedavisi İçin Araştırılması. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (38), 406-414.

## Öz

Kanser tedavisinde ilaç terapisi önemli bir araştırma alanını oluşturmaktadır. Conconavalin A(ConA) kanser hücreleri ile etkileşime girebildiği için anti-kanser ilaç çalışmalarında kullanılan bir lektindir. Bu çalışmada, ConA ve polietilen glikol diakrilat (PEGDA) kullanılarak hidrojel sentezi yapılmıştır. Sentezlenen hidrojellerin Fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi ( FTIR) ve Taramalı Elektron mikroskobu (SEM) ile karakterizasyonu yapılmıştır. Hidrojellerin karakterizasyonunu incelediğimizde, PEGDA/ConA'nın birbirine entegre olduğu, biyokompozitlerin sentezlendiği gözlenmiştir. Sentezlenen hidrojellerin pH=7,4 ve 1,2'de dinamik şişme davranışları incelenmiştir. Sentezlenen PEGDA/ConA biyokompozit hidrojellerin şişme davranışlarını incelediğimizde yaklaşık 60 dakikada maksimuma ulaştığı gözlenmiştir. PEGDA/ConA hidrojellere geniş spektrumlu bir antibiyotik olan gentamisin yüklenmiş ve gentamisin yüklü hidrojellerin pH=7,4 ve pH=1,2'de ilaç salım davranışları incelenerek, karşılaştırılmıştır. PEGDA/ConA biyokompozit hidrojellerin pH=1,2 ilaç salım davranışlarına bakıldığında 400 dakikada ilaç salımının %15-20 civarında olduğu, pH=7,4'te ise 400 dakikada ilaç salımının %60'larda görülmüştür. Uzun süreli salım çalışmalarında kullanılacak ilaç salım sistemi olarak tasarımının uygun olduğu görülmüştür. Böylece anti-kanser ilaç salımında PEGDA/ConA hidrojellerin kullanılacağı görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** PEGDA, Conconavalin A, Biyokompozit, Hidrojel, Kanser Tedavisi.

## PEG-DA/Concanavalin A Biocomposite Hydrogels Synthesis and Investigations for Cancer Therapy

### Abstract

Drug therapy is an important research area in cancer treatment. Conconavalin a (ConA) is a lectin used for anti-cancer drug research because it can interact with cancer cells. In this study, hydrogels was synthesized using ConA and polyethylene glycol diacrylate (PEGDA). Synthesized hydrogels were characterized by Fourier-Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and the Scanning Electron microscope (SEM). When we examined at the characterization of hydrogels, it was observed that PEGDA/ConA was integrated and that biocomposites were synthesized. Dynamic swelling behavior of synthesized hydrogels were studied at pH = 7.4 and 1.2. When we examined the swelling behavior of synthesized PEGDA/ConA hydrogels, it was observed that biocomposite hydrogels reached maximum in approximately 60 minutes. PEGDA/ConA hydrogels were loaded gentamicin, a broad spectrum antibiotic, and drug release behavior of gentamicin loaded hydrogels at pH=7.4 and pH=1.2 were investigated and compared. Considering the drug release behavior of PEGDA/ConA biocomposite hydrogels at pH=1,2, it was observed that the drug release was around 15-20% in 400 minutes, and that the drug release was around 60% in 400 minutes at pH=7,4. It has been found that its design is suitable as a drug delivery system that can be used in long-term release studies. Thus, it has been seen that PEGDA/ConA hydrogels can be used in anti-cancer drug release.

**Keywords:** PEGDA, Conconavalin A, Biocomposite, Hydrogels, Cancer Therapy.

\* Sorumlu Yazar: [fayhan@mu.edu.tr](mailto:fayhan@mu.edu.tr)

## 1. Giriş

Yaşayan sisteme yerleştirilerek organ ve dokuların işlevlerini kısmen veya tümünden üstlenmek üzere tasarılan malzemeler biyomalzemelerdir. Biyomalzemelerin; biyolojik yönden uyumlu olması, toksik ve karsinojenik olmaması, kimyasal açıdan inert ve stabil olması, yeterli mekanik kuvvete sahip olması, yoğun bir yaşama uyum sağlayabilmesi, uygun ağırlık ve yoğunlukta olması, büyük miktarlarda işlenebilme ve fabrikasyon kolaylığı göstermesi, ekonomik olması istenmektedir. Biyomalzeme endüstrisinde en çok polimer malzemelerin üretimi yapılmaktadır. Polimer malzemelerin yapısının dokulara benzerlik göstermesi, yüksek biyouyumluluk ve elastiklik kabiliyetine sahip olmaları araştırmacıları bu alanda çalışmaya sevk etmiştir. Bu amaçla özellikle doğal kaynaklardan elde edilen biyopolimerlerin kullanımı giderek artmaktadır. (Ramakrishna, 2001; Shoichet, 2010)

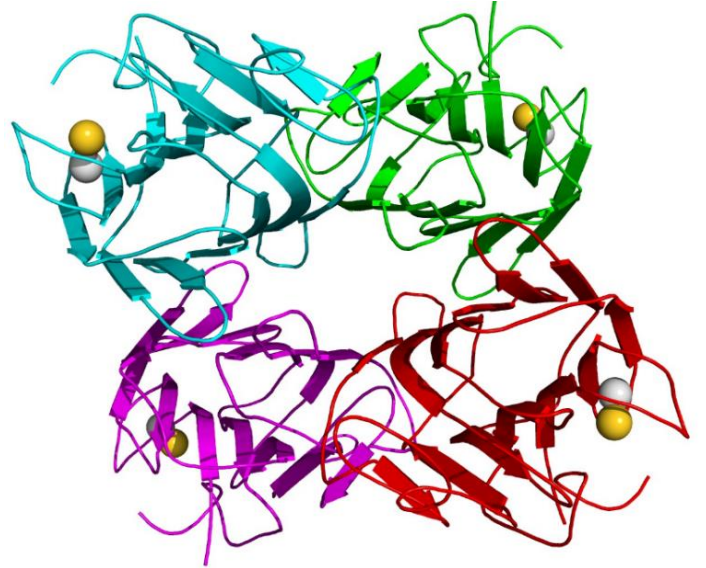
Hidrojeller, bir ya da daha fazla monomerin basit reaksiyonuyla ya da zincirler arasındaki güçlü Van der Waals etkileşimleri ve hidrojen bağlarının bir araya gelmesiyle oluşan, suda şişebilen, çapraz bağlı, üç boyutlu yapılardır. Polimer iskeleti ve su olmak üzere iki kısımdan oluşan hidrojellerde, monomerler arası aralık arttıkça hidrojin su içeriği artar. Hidrojeller, yapılarında çok fazla miktarda su bulundurmaları, yumuşak ve esnek olmaları gibi taşıdıkları birçok fiziksel özellikler açısından canlı dokularla karşılaştırıldıklarında çok büyük bir benzerlik göstermektedirler. Bu yüzden son 30 yıldır biyoyoumluluğu iyi olduğu için biyomedikal uygulamalarında kullanımı oldukça yaygınlaşmıştır (Narayanawamy & Torchilin 2019; Peppas vd.,2000). İlaç sektörü; -Genomik; -Proteomik ve hüresel tanıma araçları; -İlaç hazırlama; Tanı- Teşhis; - POC analizleri; -Laboratuvar analizleri; Ekoloji ve Tarım; -Su ve hava analizleri; -Proses kontrolü; Kimya; -Proseslerin geliştirilmesi ve optimizasyonu; -Mikro reaksiyon sistemleri; -Mikro mikserler, mikro ısı değiştiriciler; Medikal; -Doku mühendisliği; -İlaç, hormon, büyüme faktörü vb. Salınımı (Chung vd.,2012).

Polimerlerin ilaç salınımı kontrol etme aracı olarak kullanıldığı salım sistemlere kontrollü ilaç salım sistemleri denir. Sürekli etkili ilaç salım sistemlerinde, ilaç bir polimer yapıdan belli bir süre salınır. Kontrollü ilaç salımı yapılan sistemlerde ise, polimer taşıyıcı ilacın salım mekanizması ve hızı uzun bir süre kontrol edilir. Bu mekanizmada polimerin yapısı değiştirilerek salım mekanizması ve hızı ayarlanabilir. Kontrollü salım yapan sistemler, salım hızına göre değişik gruplar altında incelenebilir. Kontrollü salım sistemleri birçok alanda uygulanmaktadır. Örnek olarak tıp, tarım, besin ve temizlik malzeme alanları verilebilir.

Kontrollü salım sistemlerinin tıp uygulamalarında klinik açıdan önemli yanları şunlardır; İlacın plazma düzeyi, istenilen süre ve terapötik değerde sabit kalır. İlacın sistematik yolla verilmesinin neden olacağı zararlı yan etkiler polimer-ilaç sisteminin yerel uygulaması ile azaltılabilir veya ortadan kaldırılabilir. İn vivo yarılanma ömrü kısa olan ilaçların parçalanması önlenir. Büyük dozda ilacın parenteral yolla birçok kerede verilmesi yerine, kontrollü salım sistemleri ile sürekli, az miktarlarda verilmesi hastanın uygulamalardan doğacak sıkıntılarını azaltabilir. Hasta daha kolay uyum sağlayabilir. Bu yöntem ile ilaç verilmesi daha ucuz ve ilaç kaybını önleyici olabilir. İyi bir tıbbi kontrolün bulunmadığı az gelişmiş bölgelerde ilaç kullanımını düzeltilebilir ve kolaylaştırılabilir (Gholamali I.,2021; Sant vd.,2012).

Concanavalin A (ConA), orijinal olarak jack-bean'den (*Canavalia ensiformis*) ekstrakte edilen bir lektindir (karbonhidrat bağlayıcı protein) (Şekil 1). Baklagil lektin ailesinin bir üyesidir. Çeşitli şekerlerde, glikoproteinlerde ve glikolipidlerde bulunan, özellikle dahili ve indirgeyici olmayan terminal  $\alpha$ -D-mannosil ve  $\alpha$ -D-glukosil gruplarında bulunan belirli yapılara spesifik olarak bağlanır. ConA bir bitki mitojenidir ve düzenleyici T hücrelerinin öncülleri dahil olmak üzere dört işlevsel olarak farklı T hücresi popülasyonuna yol açan fare T hücresi alt kümelerini uyarma yeteneğiyle bilinir; insan baskılayıcı T hücrelerinin bir alt kümesi de ConA'ya duyarlıdır. ConA, ticari olarak mevcut olan ilk lektindir ve çeşitli hücrelerin yüzeyindeki glikoproteinleri ve diğer şeker içeren varlıkları karakterize etmek için biyoloji ve biyokimya yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, lektin afinite kromatografisinde glikosile edilmiş makromolekülleri saflaştırmak ve ayrıca çeşitli bağışıklık hücreleri tarafından bağışıklık düzenlemesini incelemek için kullanılır (Elshali vd., 2022; Yi vd., 2021)

Kanser, hücrelerin kontrolsüz büyümesi ve çoğalması ile oluşan bir hastalık sürecidir. Kanser ilaçları; kanser hücreleri ile etkileşime girerek onların büyümesini, çoğalmasını ve dağılmasını önleyen kimyasal maddelerdir. Hücre döngüsünü etkileyerek hücrelerin ölümünü gerçekleştirmektedir. Örneğin doxorubicin kanser hücrelerinin büyümesini yavaşlatan ya da durduran bir antikanser ajandır. Metatroksat, çeşitli kanser tiplerine etki eden bir kemoterapik ajan olarak kullanılmaktadır (Gomez vd., 2021).



Şekil 1. Jack Bean Concanavalin A Tetramerinin Kkristalografik Yapısı. (monomerler sırasıyla camgöbeği, yeşil, kırmızı ve macenta renklidir). Kalsiyum (altın) ve manganez (gri) katyonları küreler olarak tasvir edilmiştir.) (Figure 1.

Crystallographic Structure of the Jack Bean Concanavalin A tetramer. (monomers are colored cyan, green, red, and magenta, respectively). Calcium (gold) and manganese (grey) cations are depicted as spheres.)

Yapılan klinik çalışmalarında, ConA'nın melanoma hücreleri ile etkileşime girebildiği ve anti-kanser uygulamalarında kullanılmaktadır. Bu sebeple ConA anti-kanser ilaç terapisinde, sensör uygulamalarında ve daha birçok klinik uygulamada kullanılmaktadır. Sunulan bu çalışmada, polietilen glikol diakrilat (PEG-DA) ile farklı oranlarda farklı biyopolimerler konkanavalin A, içeren biyokompozit hidrojel sentezlenmiştir.

Sentezlenen biyokompozit hidrojenlerin farklı yapılarının karakterizasyonu, şişme davranışı ve ilaç yüklemesi yapılarak ilaç salım kinetiklerinin araştırılması amaçlanmıştır. Sentezlenen biyokompozit hidrojenlerin yapısı görsel, Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) ve Scanning Electron Microscope (Taramalı Elektron Mikroskobu, SEM) ile karakterize edilmiştir. Sentezlenen biyokompozit hidrojenlerin şişme davranışı incelenmiştir. İlaç yüklü biyokompozit hidrojenler sentezlenmiş ve ilaç salım kinetiği incelenmiştir.

## 2. Materyal ve Metot

### 2.1. Materyal

Yapılan çalışmada; hidrojel sentezinde makromer olarak polietilenglikol diakrikat (PEG-DA, Mn: 700), çapraz bağlayıcı olarak etilenglikoldimetakrilat (EGDMA 98%), fotobaşlatıcı olarak 2,2-dimetoksi-2-asetofenon (DMPA 99%), konkanavalin A from Canavalia ensiformis (Jack Bean) Type III (Sigma Aldrich Co.) kullanılmıştır. Model ilaç olarak Gentamisin (80mg/2ml) (İbrahim Ethem) kullanılmıştır. Diğer kimyasallar analitik saflıkta kullanılmıştır.

### 2.2. PEG-DA/ConA Biyokompozit Hidrojenlerin Sentezi

Hidrojel sentezinde makromer olarak polietilenglikol diakrilat (PEG-DA; Mw:700) ve fotobaşlatıcı olarak 2,2-dimetoksi-2-fenilasetofenon (DMPA) ağırlıkça oranı %0,5 olacak şekilde ilave edilerek manyetik karıştırıcıda 2 saat boyunca karanlık ve oda sıcaklığındaki bir ortamda karıştırılarak ön çözelti hazırlanmıştır.

Bu yapıya ilave edilecek olan konkanavalin A ağırlıkça %1, %0,5 ve %0,1 oranlarında ultra saf su ile ön çözelti olarak hazırlanmıştır. 2 Saat sonra hazırlanan bu ön çözeltilerden son hacime oranı %30 olacak şekilde PEG-DA/DMPA karışımından petrilere aktarılır. Yapıya katılacak olan hazırlanan biyopolimer çözeltilerinden son hacmi tamamlayacak şekilde petrilere aktarılır. Petrilerde hazırlanan bu çözelti karışımının içerisine çapraz bağlayıcı oranı % 3 olacak şekilde etilenglikoldimetakrilat (EGDMA) ilavesi yapılarak ortamdan azot geçirilir. Azot geçirilerek hazırlanan petriler UV ışık altında 365 nm dalga boyunda yaklaşık olarak 10-15 dakika polimerize edilir. UV lamba ile polimerizasyon sırasında ortamdan azot gazı geçirilir.

### 2.3. Sentezlenen hidrojenlerin karakterizasyonu

#### 2.3.1. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) ile karakterizasyon

Sentezlenen hidrojenlerin yapısal olarak karakterizasyonunda Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi(FTIR) kullanılmıştır. FTIR ile karakterizasyon için sentezlenen hidrojenler vakum etüvünde kurutulmuştur. Kurutulan hidrojenler KBr ile karıştırılarak pellet haline getirilmiştir. Hazırlanan pelletlerden ölçüm alınarak yapısal karakterizasyon yapılmıştır.

#### 2.3.2. Scanning Electron Microscope (SEM) (Taramalı Elektron Mikroskobu) ile karakterizasyon

Sentezlenen hidrojenlerin yapısal karakterizasyonunda Scanning Electron Microscope (Taramalı Elektron Mikroskobu, SEM) ile görüntüleri alınmıştır. SEM ile karakterizasyonda görüntü almak için öncelikle hidrojenlerin iletkenliğini

arttırmada hidrojenlerin yüzeyine ince film halinde altın kaplama yapılmıştır. Altın ile kaplanan hidrojenler SEM cihazı ile görüntülenmiştir. Örneklerin farklı büyütmelerde yüzey ve kesit görüntüleri alınmıştır. Alınan görüntüler incelenerek yapısal karakterizasyon yapılmıştır.

### 2.4. PEG-DA/ConA Biyokompozit Hidrojenlerin Dinamik Şişme Davranışları

Sentezlenen PEGDA/Konkanavalin A hidrojenler tartım sonuçları sabitlenene kadar vakum etüvünde kurutulmuştur. Kurutulmuş farklı oranlarda konkanavalin A içeren hidrojenlerin dinamik şişme davranışları pH=1,2 (sitrat tamponu - sodyum sitrat/sitrik asit) ve pH=7,4 (fosfat tamponu - Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O/ NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O ) olmak üzere 2 farklı pH ortamında incelenmiştir. Farklı pH'larda hazırlanan tampon ortamlarına kurumuş olan hidrojenler konularak, 37°C sabit sıcaklık ve 100 vuru/dk sabit çalkalama hızında su banyosunda şişmeleri gözlenmiştir. Şişme denemelerinde belirli aralıklarda ölçüm sabitlenene kadar ölçüm yapılmıştır. Yapılan ölçümler sonucundaki değerlere göre % şişme hesaplanarak, % şişme-zaman grafiği çizilmiştir.

### 2.5. İlaç yüklü PEG-DA/ConA Biyokompozit Hidrojenlerin Sentezi

Model ilaç olarak geniş spektrumlu bir antibiyotik olan gentamisin ile çalışılmıştır. Öncelikle gentamisin için çalışma aralığı taraması yapılmış ve kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. İlaç yüklü hidrojel sentezlerken, hidrojel sentezlemedeki basamaklar takip edilerek aynı işlemler uygulanır. Son basamakta hidrojel sentezinde biyopolimer çözeltisi ilave edilirken ağırlıkça %5 olacak şekilde gentamisin ilave edilerek ilaç yüklü hidrojenlerin sentezi gerçekleştirilmiştir.

### 2.6. İlaç yüklü PEG-DA/ConA Biyokompozit Hidrojenlerden İlaç Salımı

İlaç yüklü PEGDA/ konkanavalin A hidrojenler, ilaç yüklü hidrojenlerin sentezlenmesine uygun olarak sentezlenmiştir. Sentez sonrası taze hidrojenler hemen pH=1,2 (sitrat tamponu - sodyum sitrat/sitrik asit) ve pH=7,4 (fosfat tamponu - Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O/NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O) tampon ortamlarına konulmuş ve 37°C sabit sıcaklıkta ve 100 vuru/dk sabit hızda sıcak su banyosunda ilaç salım çalışmaları yapılmıştır. İlaç salım çalışmaları için belirli aralıklarda 3 ml tampon alınmıştır. Alınan 3 ml tamponun yerine 3 ml tampon konularak yenileme yapılmıştır. Alınan 3 ml'lik örneklerin UV-Visible Spektrofotometrede 255 nm'de ölçümleri yapılmıştır. Alınan absorbanlara bağlı olarak absorban-zaman grafiği çizilerek, % ilaç salımı hesaplanmıştır.

### 3. Araştırma Sonuçları ve Tartışma

#### 3.1. PEG-DA/ConA Biyokompozit Hidrojellerin FTIR Karakterizasyonu

Sentezlenen biyokompozit hidrojellerin yapısal olarak karakterizasyonunda Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) kullanılmıştır. Hidrojellerin FTIR ile karakterizasyonunda; sentezlediğimiz sadece PEG-DA hidrojel ve yapısında biyopolimer olan hidrojeller vakum etüvünde kurulmuştur. Kurutulan hidrojellerden birer örnek alınarak KBr ile pellet basılarak yığın FTIR spektrumları alınmıştır.

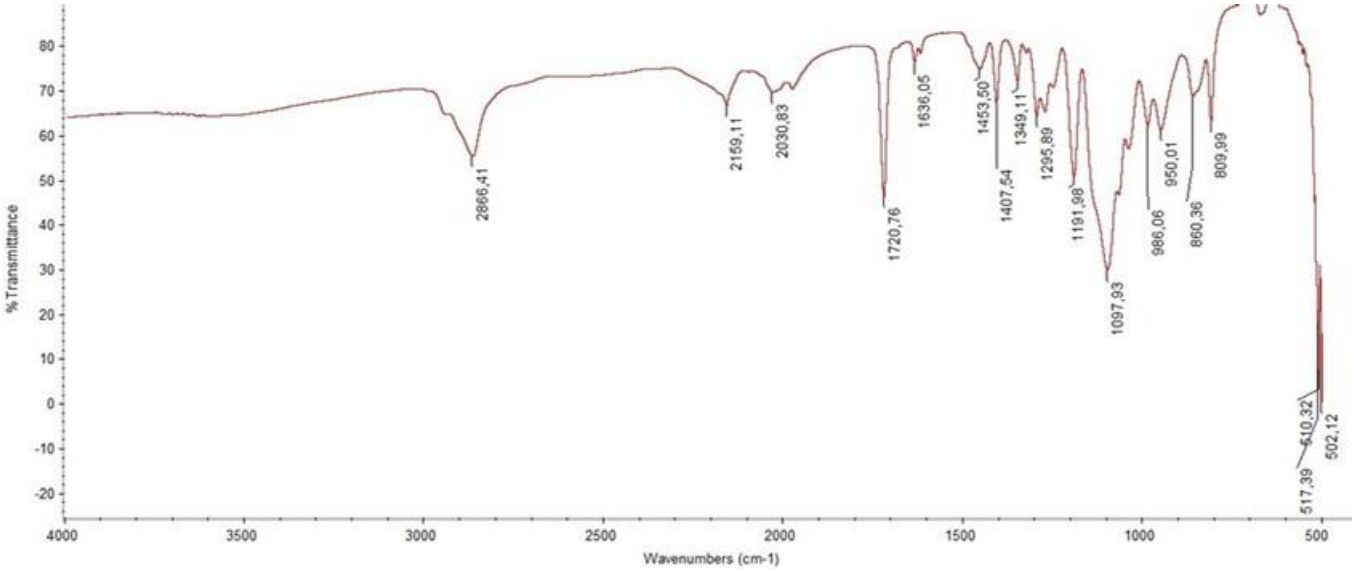
Şekil 2'de sentezlenen sadece PEG-DA içeren hidrojinin FTIR spektrumunu yer almaktadır. PEGDA hidrojinin yapısında yer alan  $2800\text{ cm}^{-1}$ 'lerde  $\text{C-H}$  gerilme titreşim piki ve  $1700\text{ cm}^{-1}$ 'lerde gözlenen esterlerden kaynaklanan  $\text{C=O}$  gerilme titreşimi piki görülmektedir.

Bu pikler Zang ve arkadaşları (2008) ile Hwang ve arkadaşlarının (2013) yaptığı çalışmalarda FTIR spektrumları ile aynı olduğunu göstermektedir. PEGDA'nın yapısında  $\text{-OH}$  grubunun olmaması hidrofobik bir yapıya sahip olduğunu

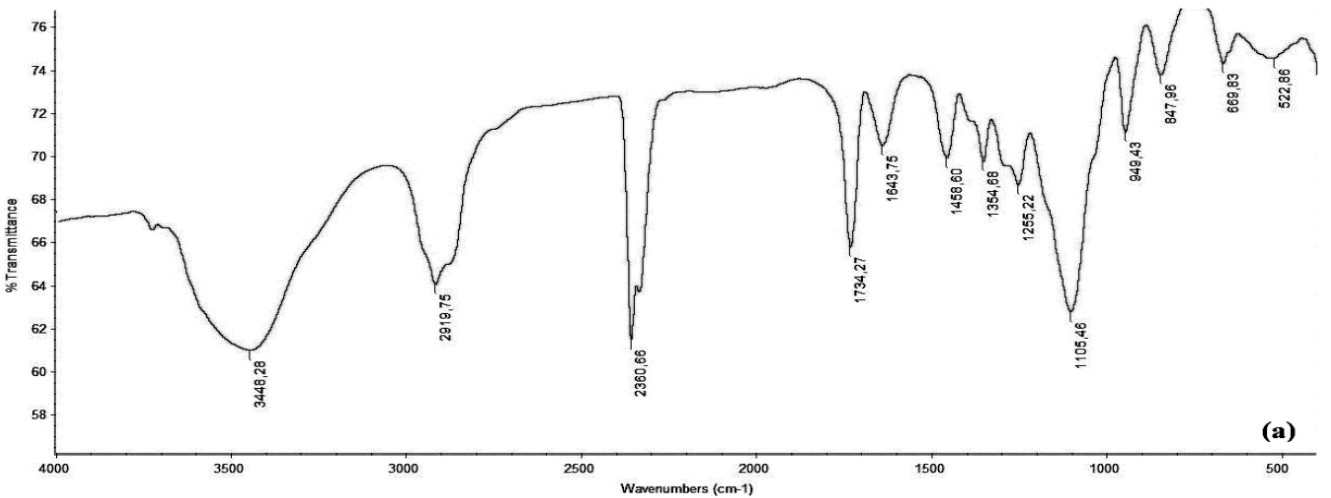
göstermiştir. PEGDA'nın yapısında diğer fonksiyonel grupların olmadığı gözlenmiştir.

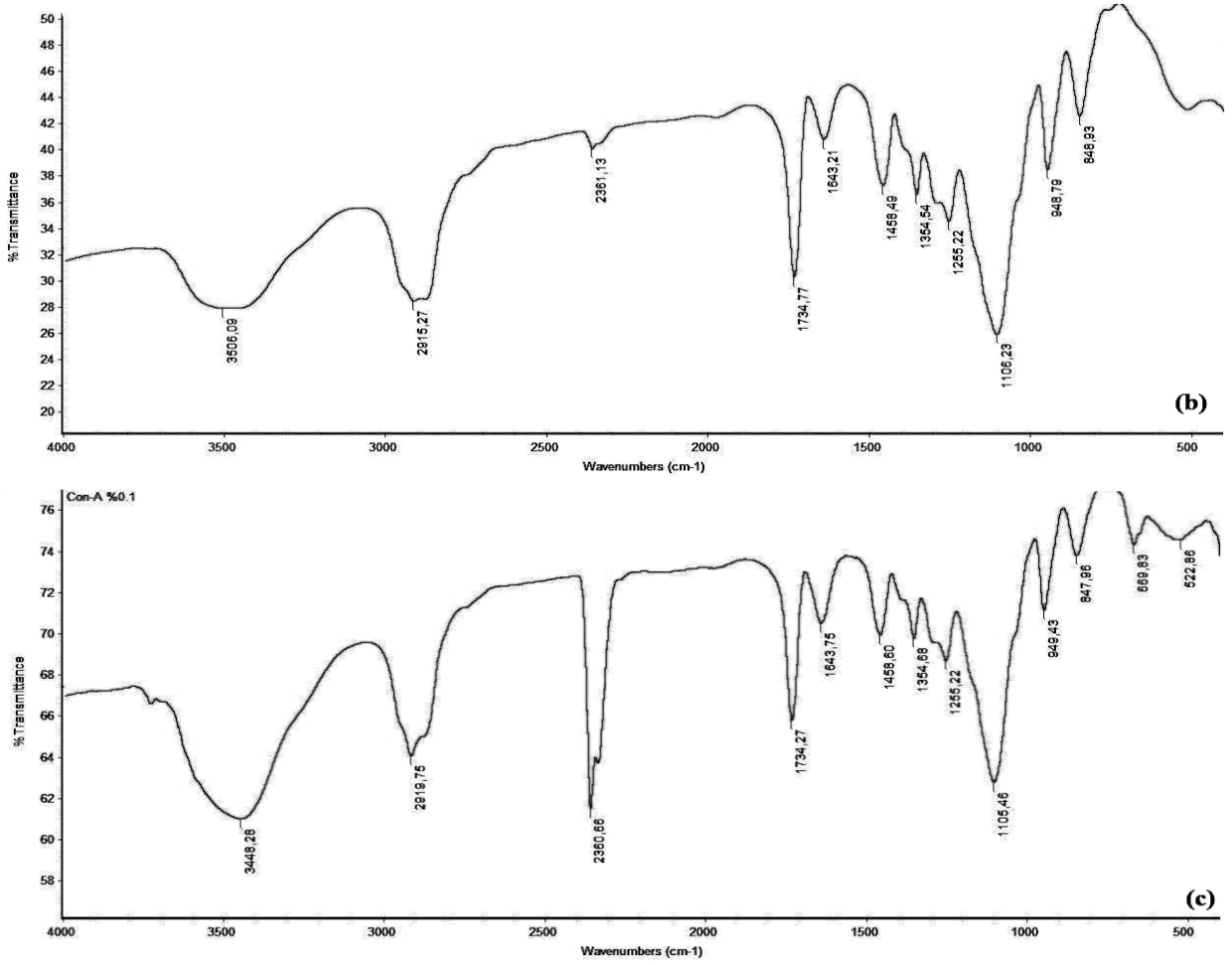
PEG-DA/ConA biyokompozit hidrojellerin FTIR spektrumları Şekil 3'de verilmiştir. PEG-DA/Con A biyokompozit hidrojellerinin FTIR spektrumlarını incelediğimizde, yaklaşık  $3506\text{ cm}^{-1}$ 'de görülen spektrumun  $\text{-CH}_2\text{-NH}_2$  sekonder amid gerilme titreşim piki olarak düşünülmüştür. Ayrıca  $2900\text{ cm}^{-1}$ 'de  $\text{-C-H}$  gerilme pikinin varlığı gözlenmiştir. Bu pikler Con A'nın protein yapısından kaynaklanan pikler olarak düşünülmektedir. Ayrıca  $1730\text{ cm}^{-1}$ 'lerde görülen esterleşmeden kaynaklanan  $\text{C=O}$  pikinin şiddetinin arttığı gözlenmiştir. Novak ve Grdadolnik (2017)'in yaptığı araştırma ile elde ettiğimiz biyokompozit hidrojellerin yapısını karşılaştırdığımızda sonuçların benzerlik gösterdiği görülmüştür

Elde edilen bulguları incelediğimizde, protein yapısında olan Con A'nın jelatine olduğu gibi amid piklerinin spektrumları görülmüştür. Bu sebeple PEG-DA hidrojinin yapısına Con A'nın entegre olduğu düşünülmüştür. PEG-DA/Con A biyokompozit hidrojelleri sentezlediğimizi söyleyebiliriz.



Şekil 2. PEGDA FTIR Spektrum. (Figure 2. FTIR Spectra of PEGDA)





Şekil 3. PEGDA/Con A Biyokompozit Hidrojellerin FTIR Spektrumları. (a) % 0,1; (b) % 0,5; (c) % 1.  
(Figure 3. FTIR Spectra of PEGDA/Con A Biocomposite Hydrogels. (a) 0,1%; (b) 0,5%; (c) 1%)

### 3.2. PEG-DA/ConA Biyokompozit Hidrojellerin SEM ile karakterizasyonu

PEG-DA/ConA biyokompozit hidrojellerin SEM görüntüleri Şekil 4'de incelenmiştir. SEM fotoğraflarını incelediğimizde; PEG-DA'nın yapısına ConA'nın içiçe geçtiği görülmüştür. Sentezlenen biyokompozit hidrojellerin, jelatin biyokompozit hidrojellerin yapısına benzediği ve yüzey fotoğrafları karşılaştırıldığında benzer yapıda olduğu gözlenmiştir. Yüzey fotoğrafları incelendiğinde, yapının ağısı bir şekilde ve katmanlar halinde olduğu görülmüştür. Yapıya bakıldığında, şişme değerlerinin yapıda fazla boşluk içermediğinden dolayı kısa sürede yüksek değerlere ulaşabileceği söylenebilir. İlaç salımında yapının sıkı olmasından dolayı, ilacın daha yavaş ve uzun süreli salınabileceği söylenebilir.

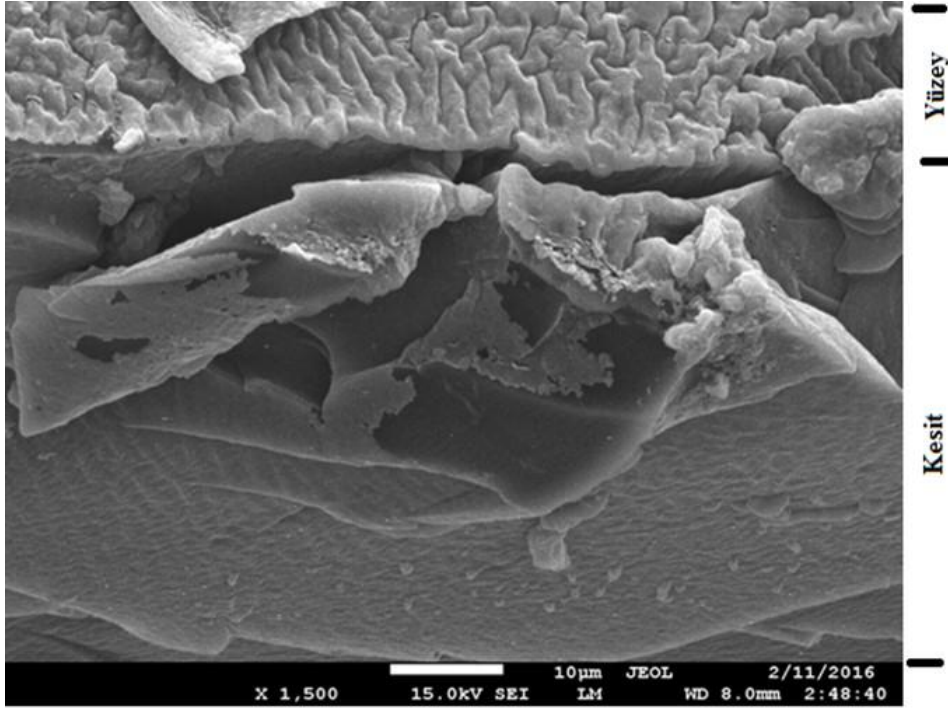
### 3.3. PEG-DA/ConA Biyokompozit Hidrojellerin Şişme Davranışları

ConA içeren biyokompozit hidrojellerin pH=1,2 ve pH=7,4 ortamlarında şişme davranışları Şekil 5 ve 6'da incelenmiştir. Farklı oranlarda ConA içeren biyokompozit hidrojellerin pH=7,4'te şişme davranışlarını incelediğimizde; % 1 oranında ConA içeren biyokompozit hidrojellerin maksimum şişmeye 60. dakikada ulaştığı görülmüştür. 60. dakikada % 131'lere ulaşarak maksimuma çıkan sonrasında ufak dalgalanmalar meydana gelse de %110'larda dengeye gelmiştir. % 0,5 oranında ConA içeren biyokompozit hidrojeller 90. dakikada maksimuma ulaşmıştır. Maksimum % 86'ya şiştiği gözlenmiş, sonrasında diğerlerinde

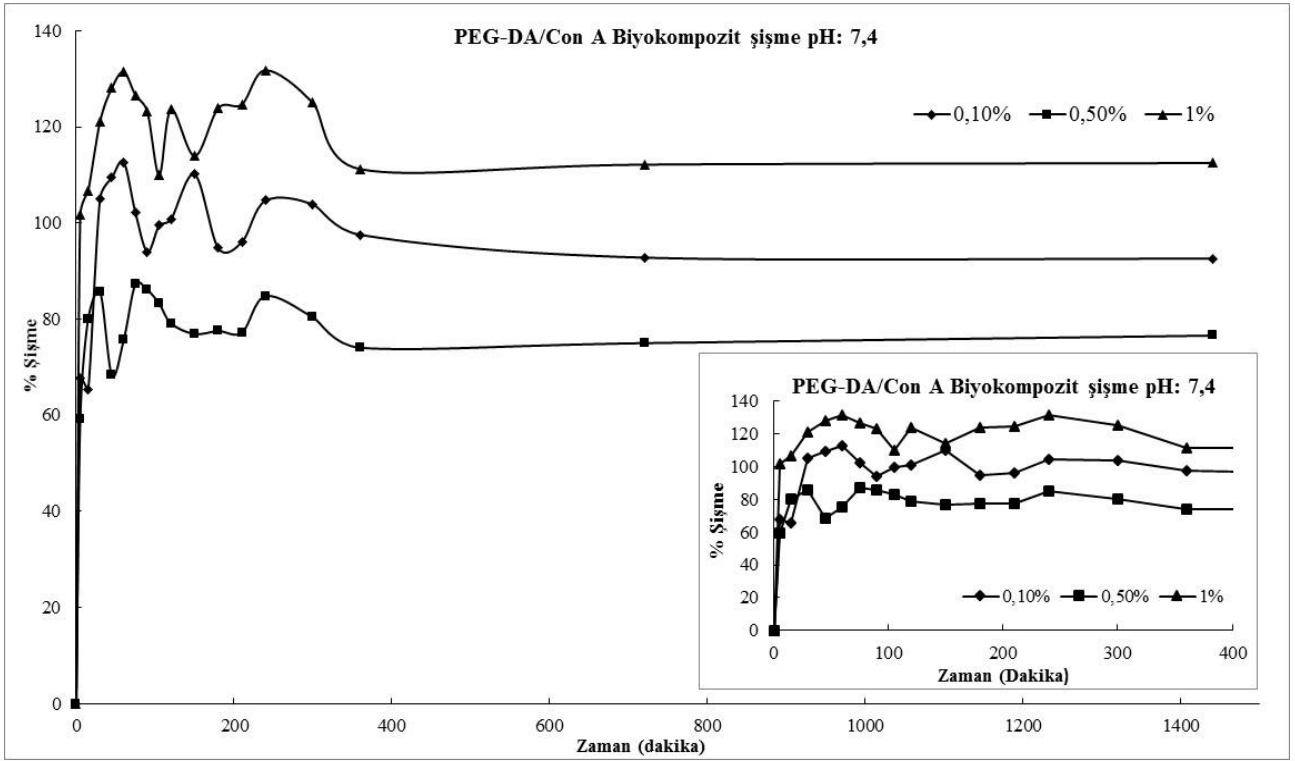
olduğu gibi dalgalanma meydana gelmiş ve şişme yaklaşık olarak %75 civarında dengeye geldiği gözlenmiştir. % 0,1 oranında ConA içeren biyokompozit hidrojellerin şişmede hızlı bir artış davranışı gösterdiği görülmüştür. 60. dakikada yaklaşık % 112 şişerek maksimum şişmeye ulaştığı görülmüştür. Maksimum şişmeden sonra % 90'larda 300. dakikadan sonra dengeye geldiği gözlenmiştir. pH=7,4'te ConA içeren biyokompozit hidrojellerin şişme değerlerinin içerdikleri ConA miktarı ile bağlantılı olmadığı gözlenmiştir.

pH=1,2'de ConA içeren biyokompozit hidrojellerin şişme davranışlarını incelediğimizde; %0,1 ConA içeren biyokompozit hidrojellerin 60. dakikada % 122 şişerek maksimum seviyeye geldiği gözlenmiştir. Sonrasında ufak dalgalanmalar gözlenirse de şişmenin %120 civarında dengelendiği görülmüştür. % 0,5 ConA içeren biyokompozit hidrojellerde şişme 60. dakikada % 120'lerde maksimum şişmeye ulaştığı gözlenmiştir. Sonrasında şişmede dalgalanmalar meydana gelse de şişmenin % 120'lerde dengelendiği görülmüştür. % 1 ConA içeren biyokompozit hidrojellerin 90. dakikada % 107 şiştiği, maksimum şişmeye geldiği görülmüştür. Sonrasında şişme oranının % 100'lerde dengelendiği görülmüştür.

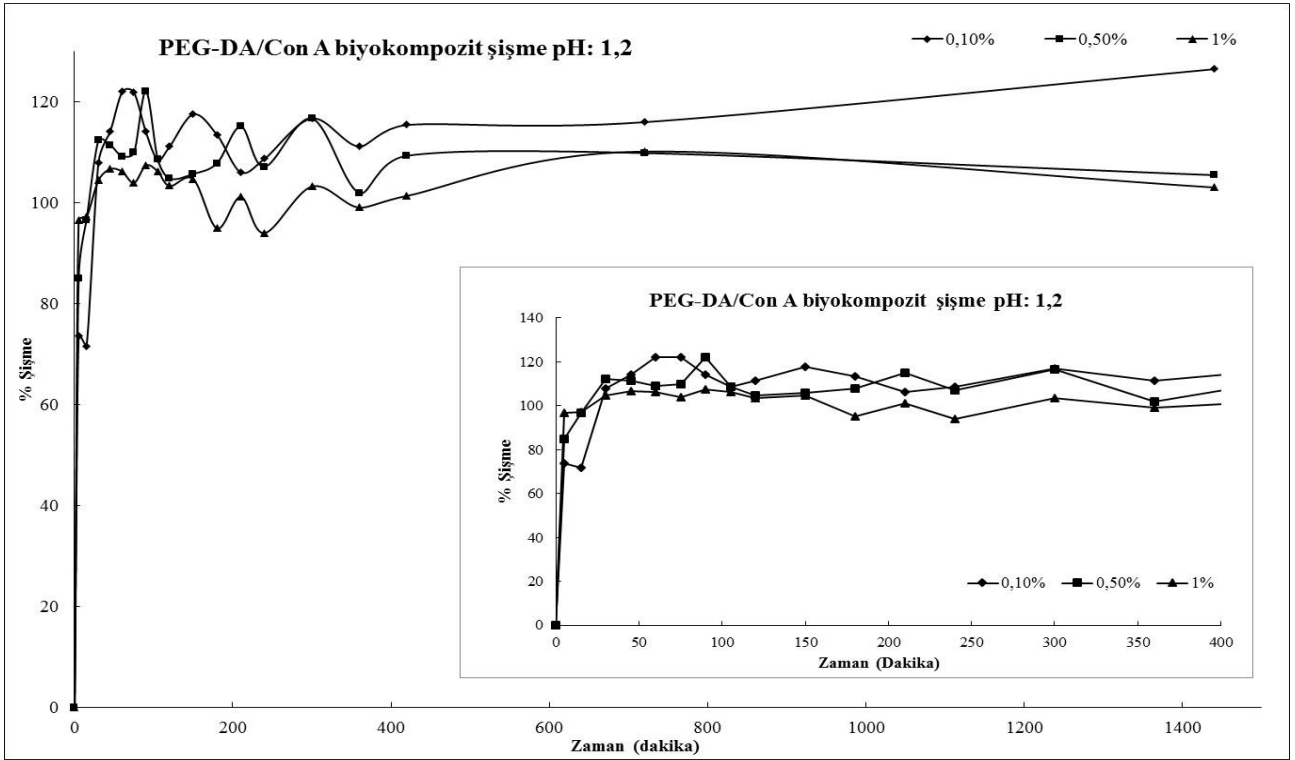
pH=1,2 tamponunda ConA içeren biyokompozit hidrojellerin şişme davranışının içerdikleri ConA miktarı ile orantılı olduğu görülmüştür. % 0,1 oranında ConA içeren biyokompozit hidrojellerin en yüksek şişmeye sahip olduğu, % 1 oranında ConA içeren biyokompozit hidrojellerin ise en düşük şişme oranına sahip olduğu gözlenmiştir.



Şekil 4. PEG-DA/ConA Biyokompozit Hidrojellerin Yüzey+Kesit 1500x SEM görüntüsü.  
(Figure 4. Surface+Section 1500x SEM image of PEG-DA/ConA Biocomposite Hydrogels)



Şekil 5. PEG-DA/ConA Biyokompozit Hidrojellerin pH=7,4 Şişme Grafiği.  
(Figure 5. pH=7.4 Swelling Graphic of PEG-DA/ConA Biocomposite Hydrogels.)



Şekil 6. PEG-DA/ConA Biyokompozit Hidrojellerin pH: 1,2 Şişme Grafiği  
(Figure 6. pH: 1.2 Swelling Graphic of PEG-DA/ConA Biocomposite Hydrogels.)

### 3.4. İlaç yüklü PEG-DA/ConA Biyokompozit Hidrojellerin ilaç salım davranışları

İlaç yüklü biyokompozit hidrojeller, ilaç yüklü biyokompozit hidrojellerin sentezlenmesine uygun olarak sentezlenmiştir. Sentez sonrası taze hidrojeller hemen pH=1,2 (sitrat tamponu - sodyum sitrat/sitrik asit) ve pH=7,4 (fosfat tamponu -  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}/\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) tampon ortamlarına konulmuş ve 37°C sabit sıcaklıkta ve 100 vuru/dk sabit hızda sıcak su banyosunda ilaç salım çalışmaları yapılmıştır. İlaç salım çalışmaları için belirli aralıklarda 3 ml tampon alınmıştır. Alınan 3 ml tamponun yerine 3 ml tampon konularak yenileme yapılmıştır. Alınan 3 ml'lik örneklerin UV-Visible Spektrofotometrede 255 nm'de ölçümleri yapılmıştır. Alınan absorbanslara bağlı olarak absorbans-zaman grafiği çizilerek, % ilaç salımı hesaplanmıştır.

İlaç yüklü ConA içeren biyokompozit hidrojeller sentezlendikten sonra ilaç salım kinetiği çalışmaları yapılmıştır. ConA içeren biyokompozit hidrojellerin ilaç salım kinetiği şekil 7 ve Şekil 8'de incelenmiştir.

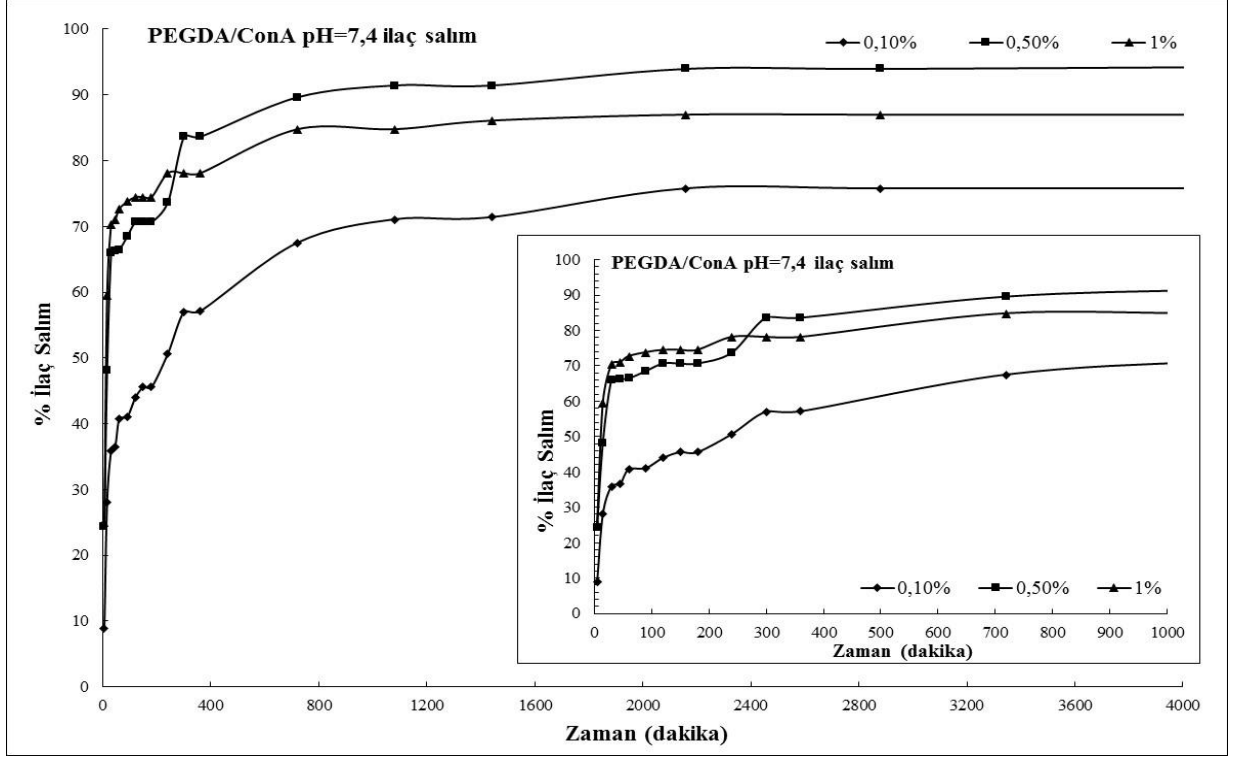
ConA içeren biyokompozit hidrojellerin pH=7,4'te salım davranışını incelediğimizde; salımın yavaş yavaş arttığı gözlenmiştir. Salımın yavaş olduğu, yaklaşık 700. dakikadan sonra salımın yavaşladığı ve salımın %75 - 90 aralığında içerdiği jelatin oranına bağlı olarak dengelendiği gözlenmiştir. % 0,1 oranında ConA içeren biyokompozit hidrojellerin ilaç salımında 400. dakika civarında % 60'lara ulaştığı sonrasında ilaç salımının yavaşladığı görülmüştür. Sonrasında salımın % 75'lere ulaştığı ve yavaşladığı gözlenmiştir. %0,5 oranında ConA içeren biyokompozit hidrojellerin ilaç salımına baktığımızda yaklaşık 400. dakikada %85'lere ulaştığı sonrasında % 95'lerde dengeye geldiği görülmüştür. % 1 oranında ConA içeren biyokompozit hidrojellerden ilaç salımına baktığımızda 400. dakikada salımın

% 80'lere ulaştığı gözlenmiştir. Sonrasında salımın yavaşladığı ve % 85'lerde dengelendiği görülmüştür. pH=7,4'te ConA içeren biyokompozit hidrojellerin ilaç salımını karşılaştırdığımızda en yüksek değerlere % 0,5 oranında ConA içeren biyokompozit hidrojellerin ulaştığı görülmüştür. İlaç salımında içerdikleri ConA oranı ile bir bağlantı gözlenmemiştir.

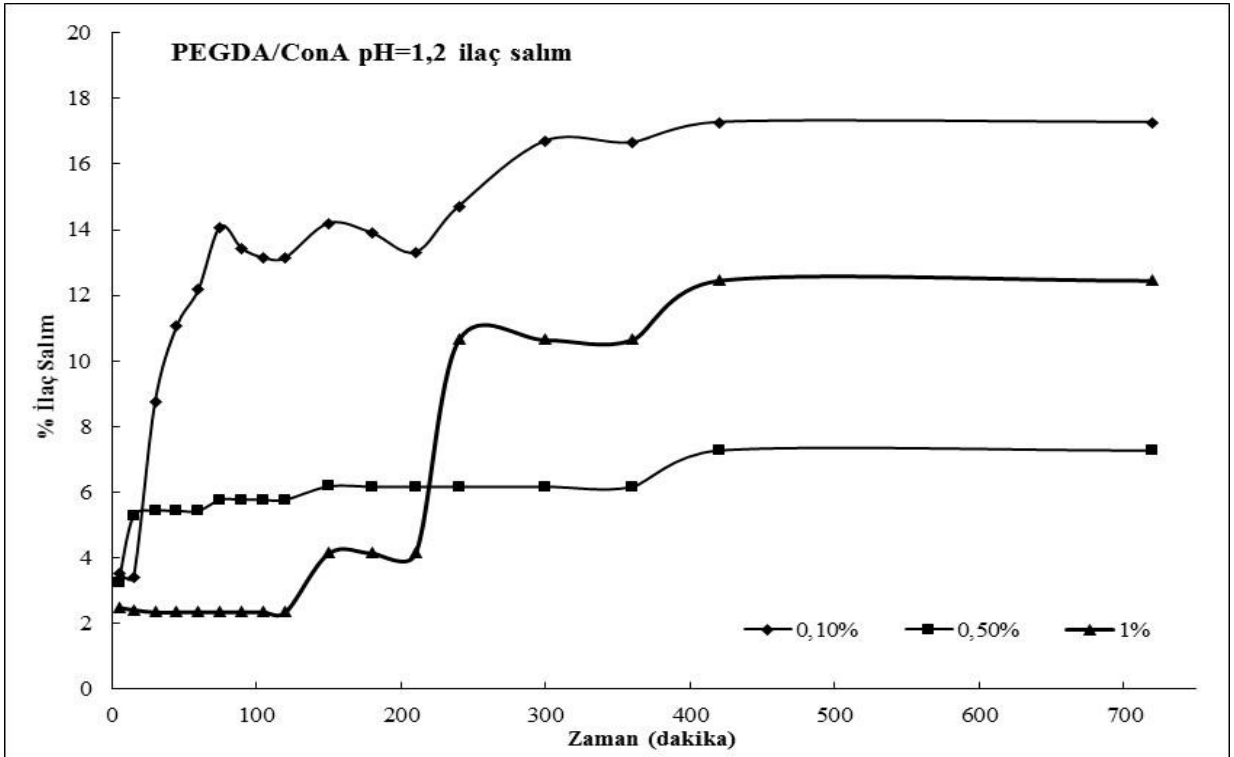
ConA içeren biyokompozit hidrojellerin pH=1,2'de ilaç salım grafiğini incelediğimizde; salımın yavaş gerçekleştiği görülmüştür. % 0,1 oranında ConA içeren biyokompozit hidrojelin ilaç salımına baktığımızda salımın 90. dakikaya kadar arttığı, sonrasında yavaş yavaş gerçekleştiği ve salımın 400. dakikada % 20 civarında dengeye geldiği gözlenmiştir. % 0,5 oranında ConA içeren biyokompozit hidrojellerden salımına baktığımızda, ilaç salımının çok yavaş olduğu, 400. dakikada yaklaşık % 8 civarında dengelendiği görülmüştür. % 1 oranında ConA içeren biyokompozit hidrojellerden ilaç salımını incelendiğinde 400. dakikaya kadar kademeli bir şekilde arttığı sonrasında % 13 civarında ilaç salımının dengelendiği gözlenmiştir.

pH=1,2'de ConA içeren biyokompozit ilaç salım çalışmalarına baktığımızda salımın çok yavaş gerçekleştiği gözlenmiştir. Ayrıca içerdikleri ilaç salımında içerdikleri ConA miktarının etkili olmadığı görülmüştür.

ConA içeren biyokompozit hidrojellerin pH=1,2 ve pH=7,4'teki ilaç salımlarını karşılaştırdığımızda pH=7,4'teki salımın daha kısa sürede tamamlandığı görülmüştür. Yaklaşık 800. dakikaya salımın arttığı ve sonrasında ise salımın dengeye gelerek yavaşladığı gözlenmiştir. pH=7,4'te ConA biyokompozit hidrojellerin orta süreli salımda kullanılabilceğini, pH=1,2'de ise ConA içeren biyokompozit hidrojellerin uzun süreli kontrollü ilaç salım sistemlerinde kullanılabilceği gözlenmiştir.



Şekil 7. PEG-DA/ConA pH: 7,4 İlaç Salım Grafiği.  
(Figure 7. PEG-DA/ConA Hydrogels pH: 7.4 Drug Release Graph.)



Şekil 8. PEG-DA/ConA Hidrojel pH: 1,2 İlaç Salım Grafiği.  
(Figure 8. PEG-DA/ConA Hydrogels pH: 7.4 Drug Release Graph.)



## 4. Sonuç

Yapılan bu çalışmada; PEGDA/ConA biyokompozit hidrojellerin 10-15 dakikada UV polimerizasyon metodu ile sentezlediği gözlenmiştir. PEGDA/ConA biyokompozit hidrojellerin yapılan FTIR analizlerinde ve SEM görüntülerine bakıldığında iki molekülün yapısının birbirine uyumlandığı, birbiri ile entegre olarak tek bir yapı meydana getirdiği gözlenmiştir.

PEGDA/ConA hidrojellerin şişme davranışlarını incelediğimizde pH=1,2'de şişmenin %120'de dengelendiği gözlenirken, pH=7,4'te şişmenin %90'larda dengelendiği görülmüştür. pH=1,2'de şişme hidrojelin içerdiği ConA miktarına bağımlıyken, pH=7,4'te hidrojellerin şişmesinin içerdiği ConA miktarından bağımsız olduğu görülmüştür.

Biyokompozit hidrojellerden ilaç salım kinetiklerini incelediğimizde, pH=7,4'te salımın 12 saatte %90 ulaştığı ve orta süreli ilaç salımında kullanılabileceği gözlenmiştir. pH=1,2'de ilaç salım kinetiğini incelediğimizde ise; salımın 12 saatte %13 olduğu ve uzun süreli ilaç salımlarında kullanılabileceği görülmüştür.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre; kemoterapi ilaç salım sistemlerinde PEGDA/ConA biyokompozit hidrojelleri hem kanser hücreleri ile etkileşime girebildiği ve hemde pH=1,2'de uzun süreli ilaç salım çalışmalarında kullanılabileceğimiz gözlenmiştir.

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde; kullanılan model ilaç gentamisin molekül ağırlığı 477,59 g/mol'dür. Gentamisin molekül ağırlığına yakın olan Mitomycin C (MW:334,33 g/mol), Doxorubicin (Mw: 543,52 g/mol) ve Methotrexate (Mw:454,44 g/mol) gibi anti kanser çalışmalarında kullanılan ilaçların salımında gentamisin salımına benzer özellikte olacağı düşünülmektedir. Gentamisin ile yakın molekül ağırlıklarına sahip kanser tedavisinde kullanılan ilaçların salımı amacıyla sentezlediğimiz PEGDA/ConA biyokompozit hidrojelleri hem yapısındaki Con A hem de ilaçlar sayesinde kanser tedavisinde kullanılabileceği düşünülmektedir.

## 5. Teşekkür

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, BAP (13/168 BAP Projesi) Birimine desteklerinden dolayı teşekkür ederiz.

## Kaynakça

- Chung, B.G., Lee, K.-H., Khademhosseini A., Lee S.-H. (2012). Microfluidic fabrication of microengineered hydrogels and their application in tissue engineering. *Lab Chip*, 12, 45-59. DOI: 10.1039/C1LC20859D
- Elshal M.F., Eid N.M., El-Sayed I., El-Sayed W., Al-Karmalawy A.A. (2022). Concanavalin-A Shows Synergistic Cytotoxicity with Tamoxifen via Inducing Apoptosis in Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer: In Vitro and Molecular Docking Studies. *Pharmaceutical Sciences*, 2022, 28(1), 76-85. doi:10.34172/PS.2021.22
- Gholamali I. (2021) Stimuli-Responsive Polysaccharide Hydrogels for Biomedical Applications: a Review *Regenerative Engineering and Translational Medicine*, 7:91-114. <https://doi.org/10.1007/s40883-019-00134-1>

- Gomez H.I.O., Martins C.S.M., Prior J. A. V (2021) Silver Nanoparticles as Carriers of Anticancer Drugs for Efficient Target Treatment of Cancer , *Nanomaterials*, 11,964. <https://doi.org/10.3390/nano11040964>
- Hwang C.W, Kwak N.S, Hwang, T.S. (2013). Preparation of poly(GMA-co-PEGDA) microbeads modified with iminodiacetic acid and their indium adsorption properties, *Chemical Engineering Journal*, 226,79-86. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.04.041>
- Narayanaswamy, R. ve Torchilin V.P. (2019). Hydrogels and Their Applications in Targeted Drug Delivery. *Molecules*, 24(3),603; <https://doi.org/10.3390/molecules24030603>
- Novak U. ve Grdadolnik J. (2017).The Hydration of Concanavalin A studied by infrared spectroscopy. *Journal of Molecular Structure*, 1135, 138-143. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.01.052>
- Peppas, N.A., Bures, P., Leobandung, W., Ichikawa, H. (2000). Hydrogels in pharmaceutical formulation. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*,50: 27-46. Doi: 10.1016/S0939-6411(00)00090-4.
- Ramakrishna, S., Mayer, J., Wintermantel, E., Leong, K. W. (2001). Biomedical Applications of Polymer-Composite Materials: A Review. *Composite Science and Technology*, 61, 1189-1224. [https://doi.org/10.1016/S0266-3538\(00\)00241-4](https://doi.org/10.1016/S0266-3538(00)00241-4)
- Sant, S., Tao S.L., Fisher O.Z., Xu Q., Peppas N.A., Khademhosseini A. (2012). Microfabrication Technologies for drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64,496-507. DOI: 10.1016/j.addr.2011.11.013
- Shoichet, M.S. (2010). Polymer Scaffolds for Biomaterials Applications. *Macromolecules*, 201, 43, 581-591. <https://doi.org/10.1021/ma901530r>
- Yi, J.Z., Lin K., Wu H. Mao X., Zhang L.M., Yang L. (2021). Smart controlled release of acarbose from glucose-sensitive hydrogels comprising covalently modified carboxylated pullulan and concanavalin A. *Journal of Applied Polymer Science*, 138:e51553. <https://doi.org/10.1002/app.51553>
- Zhang, X., Yang, D., Nie J. (2008). Chitosan/Polyethylene Glycol Diacrylate Films as Potential Wound Dressing Material. *International Journal of Biological Macromolecules*, 43, 456-462. doi:10.1016/j.ijbiomac.2008.08.010.