

# Kitosan temelli hidrojellerin hazırlanması ve 5-Florourasil salımı davranışlarının incelenmesi

Sema EKİCİ\*

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Hidrojel Araştırma Laboratuvarı, Terzioğlu Kampüsü, 17020, Çanakkale

Geliş Tarihi (Received Date): 02.02.2016  
Kabul Tarihi (Accepted Date): 25.03.2016

## Özet

Kitosan (CH), poli(2-akrilamido-2-metilpropanesülfonik asit) (pAMPS) ve poliakrilamid (pAAm) hidrojelleri içeren, üçlü, iç içe geçmiş ağ yapılı hidrojeller (IPNHs) ve sadece kitosan hidrojelleri sentezlendi ve model ilaç olarak seçilen 5-Florourasil (5-FLU) biyoetken moleküllerinin denetimli salımı için araştırıldı. IPNHs; çapraz bağlayıcı olarak seçilen glutaraldehit (GLU) ve N,N'-metilenbisakrilamid (MBA) varlığında monomerlerin radikalik polimerleşmesi ile hazırlandı. Hidrojellerin spektroskopik analizleri; Fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi ile yapıldı. IPNH'lerin kinetik ve dinamik şişme çalışmaları 37 °C'de; mide sıvısına (pH=1.1) ve ince bağırsak sıvısına (pH=7.4) benzetilmiş tampon çözeltilerde gastrointestinal ilaç salımı çalışmaları için *in vitro* olarak araştırıldı. Şişme ve ilaç salım deneysel verileri; şişme ve salım proseslerinin ikinci dereceden kinetiğe uyduğunu gösterdi. Tutuklanan biyoetken türlerin IPNH'lerden ve kitosan hidrojellerinden salımının; hidrojel bileşimi ve ortamın pH'sına bağlı olduğu anlaşıldı. Sonuç olarak; kitosan temelli IPNH'lerin; oral gastrointestinal salım sistemlerindeki formülasyonlar için ümit verici adaylar olabileceği söylenebilir.

**Anahtar Sözcükler:** Hidrojel, kitosan, akıllı jeller, denetimli salım, 5-Florourasil.

## Preparation of the hydrogels based chitosan and investigation of release behaviours of 5-Fluorouracil

### Abstract

Ternary interpenetrating polymeric networks hydrogels (IPNHs) containing chitosan (CH), poly(2-acrylamido-2-methylpropanesulfonic acid) (PAMPS) and polyacrylamide

\* Sema EKİCİ, sekici@comu.edu.tr, Tel: (286) 2810018.

(pAAm) polymers and bare chitosan hydrogels were synthesized and investigated for controlled release of bioactive molecules utilizing a model drug, 5-Fluorouracil (5-FLU). IPNHs were prepared by radical polymerization of monomers in presence of glutaraldehyde (GLU) and N,N'-methylenebisacrylamide (MBA) selected as crosslinkers. Spectroscopic analyses of these hydrogels were made with Fourier transform infrared spectroscopy. Kinetic and dynamic swelling studies of IPNHs were carried out in buffer solutions simulated gastric fluid (pH=1.1) and simulated intestinal fluid (pH=7.4) at 37 °C for studies of gastrointestinal drug delivery as in vitro. The experimental data of swelling and drug release studies suggest clearly that the swelling and release processes obey second-order kinetics. It was realized that the release of the entrapped bioactive species from IPNHs and chitosan hydrogels depends on the composition of the hydrogel and pH of the medium. As a result, it can be said that IPNHs based chitosan could be promising candidates for formulations in oral gastrointestinal delivery systems.

**Keywords:** Hydrogel, chitosan, intelligent gels, controlled release, 5-Fluorouracil.

## 1. Giriş

Hidrojel; yapılarında –OH, –COOH, –CONHR, –SO<sub>3</sub>H, –NH<sub>2</sub> gibi su molekülleri ile hidrojen bağı yapabilen gruplar içeren ve bu nedenle de kuru hacimlerinin birkaç bin katına kadar şişebilen polimerik yapılardır. Su ve su gibi polar çözücülerde şişme özelliği göstermeleri nedeniyle de doğal dokularla oldukça uyumludurlar. Buldukları ortamın sıcaklık, pH, elektrik alan, iyonik şiddet, manyetik etki, çözücü türü gibi özelliklerine bağlı olarak şişme-büzüşme, eğilme davranışı sergilerler ve bu özellikleri nedeniyle *akıllı jeller* olarak da bilinirler. Biyoteknoloji, tıp, eczacılık, tarım, çevre, uzay teknolojisi ve endüstriyel uygulamalar; başlıca kullanım alanlarıdır [1-3]. Bu tür uygulamalara örnek olarak; istenmeyen ya da toksik metallerin, tekstil boyalarının, fenol gibi kanserojen türlerin içme ve kullanım sularından uzaklaştırılması (atık su arıtımı), yumuşak-sert kontakt lensler, yara-yanık örtüleri, yapay damarlar, yapay organlar, enzim destek materyalleri, ilaç etken maddelerinin denetimli salımı, bebek bezleri, sensörler, valfler, tarım ilaçlarının denetimli salımı, iletken malzemeler sayılabilir [4-8].

Jelatin, aljinat, selüloz ve türevleri, dekstran, kitosan, hiyaluronik asit; doğal hidrojellere poliakrilamid, poli(akrilik asit), poli(N-vinil pirrolidon), poli(vinil alkol); sentetik hidrojellere örnek gösterilebilir. Doğal ve sentetik hidrojeller ve inorganik türler seçilerek hidrojelik kopolimerler [9] ve kompozitler [10], kimyasal çapraz bağlanmanın olmadığı enjekte edilebilen hidrojel sistemleri [11], ana zincir üzerinde modifikasyona gidilerek oluşturulan fonksiyonel hidrojel sistemleri [12-14], iç içe geçmiş ağ yapılı hidrojeller (IPNHs) [15-16] hazırlanabilmektedir. Bu hidrojel sistemleri içinde IPNH yapılar; hidrojeldeki gözenek büyüklüğü ve çapraz bağ yoğunluğunun denetlenebilmesi, her bir hidrojelik bileşenin üstünlüklerinden yararlanma gibi avantajları nedeniyle özellikle dikkat çekicidir. IPNH yapıların hazırlanmasında iki ya da üç farklı hidrojel türü seçilir ve hidrojel zincirlerinin tümünün (tam IPNH yapı) ya da bir kısmının (yarı IPNH yapı) çapraz bağlı olduğu formda IPNH yapılar sentezlenir [17-20]. IPN hidrojeller; farklı geometrik formlarda kolaylıkla hazırlanabilmeleri nedeniyle, özellikle denetimli ilaç salım sistemlerinde sıkça tercih edilmektedir. Denetimli ilaç salım sistemleri; ilaç etken maddelerinin polimerik bir matriks içerisinde hedeflenen bölgeye

istenilen sürede ve miktarda salınacak şekilde tasarlandığı sistemlerdir. Bu tür sistemler ile ilacın vücut dolaşımındaki ömrünü uzatma, emilimini hızlandırma ve etki yerine hedeflenebilirliğini sağlamanın yanında, aşuların koruyuculuğunu artırmada da başarı sağlanmaktadır [8]. Denetimli ilaç salım çalışmalarında kullanılmak üzere silindirik formda hazırlanan bir IPN hidrojele ilaç etken molekülleri kolaylıkla yüklenebilir ve tablet, kapsül gibi alışlagelmiş ilaç formülasyonlarında kullanımı kaçınılmaz olan bağlayıcı, renklendirici vb. türlerin kullanımına gerek duyulmaz. Bu şekilde, ilaç etken moleküllerinin destek materyali olarak kullanılan hidrojelik yapıdan salımını olumsuz etkileyen parametreler ortadan kaldırılmış olur. Bununla birlikte mide-bağırsak sisteminde önerilecek denetimli ilaç salım formülasyonları için önemli bir parametre olan mekanik dayanımın da artırılması sağlanmış olur.

IPNH yapıların hazırlanmasında toksisite içermemesi nedeniyle kitosan çok tercih edilen bir hidrojeldir. Aynı zamanda düşük yoğunluğa sahip olan kitosandan filmler ve kürecikler kolaylıkla hazırlanabilmektedir. Ancak diğer doğal hidrojellerde olduğu gibi kitosan hidrojellerinin de mekanik dayanımları oldukça zayıftır ve mekanik dayanımın önem kazandığı çalışmalarda tek başına kullanımı uygun değildir [1,3]. Bu çalışmada da sözü edilen avantajlarından yararlanmak amacı ile kitosan temelli IPN hidrojellerin hazırlanması amaçlanmıştır. Hedeflenen IPN hidrojellerin hazırlanmasında biyouyumluluk ve asidik ortama duyarlı davranışları nedeniyle kitosan, mekanik dayanımı artırıcı etkisi nedeniyle poliakrilamid (pAAm), nötral ve bazik ortamlara duyarlı davranışları nedeniyle de poli(2-akrilamido-2-metil-1-propansülfonik asit) (PAMPS) tercih edilmiştir. Seçilen üç farklı türdeki hidrojel zincirlerinin sentez aşamasında çapraz bağlanması amacı ile glutaraldehit (GLU) ve N,N'-metilenbisakrilamid (MBA) çapraz bağlayıcı olarak kullanılmıştır. IPN oluşumu; akrilamid ve 2-akrilamido-2-metil-1-propansülfonik asit monomerlerinin ve çift fonksiyonel bir çapraz bağlayıcı olan MBA'nin çözeltide radikalik polimerleşme tepkimesi üzerinden sağlanmıştır. Kitosan (CH) ve pAAm zincirlerinin GLU ile, pAAm ve pAMPS zincirlerinin de MBA ile çapraz bağlanarak oluşturduğu tam IPN yapıda ve silindirik formda hazırlanan hidrojeller; kanser tedavisinde kullanılan bir ilaç etken maddesi olan 5-Flourourasil (5-FLU) moleküllerinin mide-bağırsak sistemi denetimli salım çalışmaları için denenmiştir. Hazırlanan CH-pAMPS-pAAM IPN hidrojellerinin kitosana olan avantajlarını ifade edebilmek amacı ile GLU ile çapraz bağlı kitosan kürecikleri de (CH) sentezlenmiş ve sonuçlar karşılaştırmalı olarak sunulmuştur.

## 2. Deneysel çalışmalar

### 2.1. Materyal

Deneysel çalışmalar süresince deiyonize ultra saf su kullanılmıştır. Kitosan hidrojeli ( $M_r \sim 600.000$ ) ve ilaç etken maddesi olan 5-FLU; Fluka (Steinheim, Switzerland) firmasından, 2-akrilamido-2-metil-1-propansülfonik asit ve akrilamid monomerleri, glutaraldehit ve N,N'-metilenbisakrilamid çapraz bağlayıcıları, tampon çözelti bileşenleri olan hidroklorik asit, (HCl), potasyum klorür (KCl), potasyum dihidrojen fosfat ( $KH_2PO_4$ ), disodyum hidrojen fosfat ( $Na_2HPO_4$ ), sodyum hidroksit (NaOH), redoks başlatıcısı ve hızlandırıcıları olan potasyum persülfat (KPS) ve tetrametiletildiamin (TEMED), asetik asit ( $CH_3COOH$ ) Merck (Schuchardt, Germany) firmasından temin edilmiştir. Tüm kimyasallar analitik saflıkta olup alındığı şekliyle kullanılmıştır.

## 2.2. Hidrojellerin Hazırlanması

Çalışmada iki tip hidrojel hazırlanmıştır;

### i. CH-GLU hidrojelleri:

Kitosan çözeltisi; asetik asit çözeltisinde (%1 (h/h)) derişimi %1 (k/h) olacak şekilde manyetik karıştırıcıda 1 gün süreyle karıştırılarak 25 °C’de hazırlanmıştır. Hazırlanan kitosan çözeltisi bir enjektörden derişik NaOH çözeltisine (1.0 mol dm<sup>-3</sup>) damlatılarak CH küreciklerinin oluşması sağlanmıştır. CH kürecikleri 1 sa sonra NaOH çözeltisinden alınarak saf suda 3-4 kez yıkanmış ve ardından %1’lik (k/h) GLU çözeltisine alınmıştır. GLU çözeltisinde 15 dk bekletilen CH kürecikleri tekrar saf suda 3-4 kez yıkanmış ve kullanılıncaya dek saf suda bekletilmiştir (Şekil 1. a). Sonuç hidrojeller; CH-GLU olarak isimlendirilmiştir.

### ii. CH-pAMPS-pAAM IPN hidrojelleri:

Asetik asit çözeltisinde (%1 (h/h)) çözünerek hazırlanan kitosan çözeltisine (%1 (k/h)) AMPS ve AAm monomerleri kütlece bileşim ( $a_{CH}:a_{AMPS}:a_{AAm}$ ); 6:47:47 olacak şekilde eklenmiş ve manyetik karıştırıcıda çözünmeleri sağlanmıştır. Çapraz bağlayıcı olarak seçilen GLU ( $a_{GLU}:a_{CH} = 0.005$ ) ve MBA ( $a_{MBA}:a_{AMPS}+a_{AAm} = 0.02$ ); hazırlanan çözeltiye eklenerek karıştırma işlemine devam edilmiştir. Homojenlik sağlandıktan sonra çözeltiye; radikalik başlatıcı kaynağı olarak kullanılan KPS çözeltisinden (%1 (k/h))  $a_{KPS}:a_{AMPS}+a_{AAm} = 0.05$  olacak şekilde ve 50 µL TEMED eklenerek karıştırma işlemine devam edilmiştir. Homojen çözelti; çapı 4-5 mm olan plastik pipetlere enjekte edilerek doldurulmuş ve oda sıcaklığında polimerleşmenin tamamlanması beklenmiştir. 24 sa sonra pipetlerden çıkartılan silindirik jeller; 3-4 mm kalınlığında bisturi yardımıyla kesilmiş ve bir hafta boyunca sol kesrinin uzaklaştırılması amacı ile sürekli saf su ile yıkanmıştır. Hidrojellerin önce laboratuvar ortamında (22 °C), daha sonra da vakum etüvünde 25 °C’de kurumaları sağlanmış ve kullanılıncaya dek kapalı kaplarda saklanmıştır (Şekil 1.b). Hazırlanan hidrojeller; CH-pAMPS-pAAM olarak isimlendirilmiştir.

## 2.3. Spektroskopik karakterizasyon

Sentezlenen CH ve CH-pAMPS-pAAM hidrojellerindeki suyun uzaklaştırılması amacıyla hidrojeller önce laboratuvar ortamında (22 °C), daha sonra da vakum etüvünde 25 °C’de kurutulmuştur. Hidrojellerin IR spektrumları; Perkin Elmer Spectrum 100 marka cihaz ile 650-4000 cm<sup>-1</sup> dalga sayısı aralığında, 4 cm<sup>-1</sup> çözünürlükle alınmıştır.

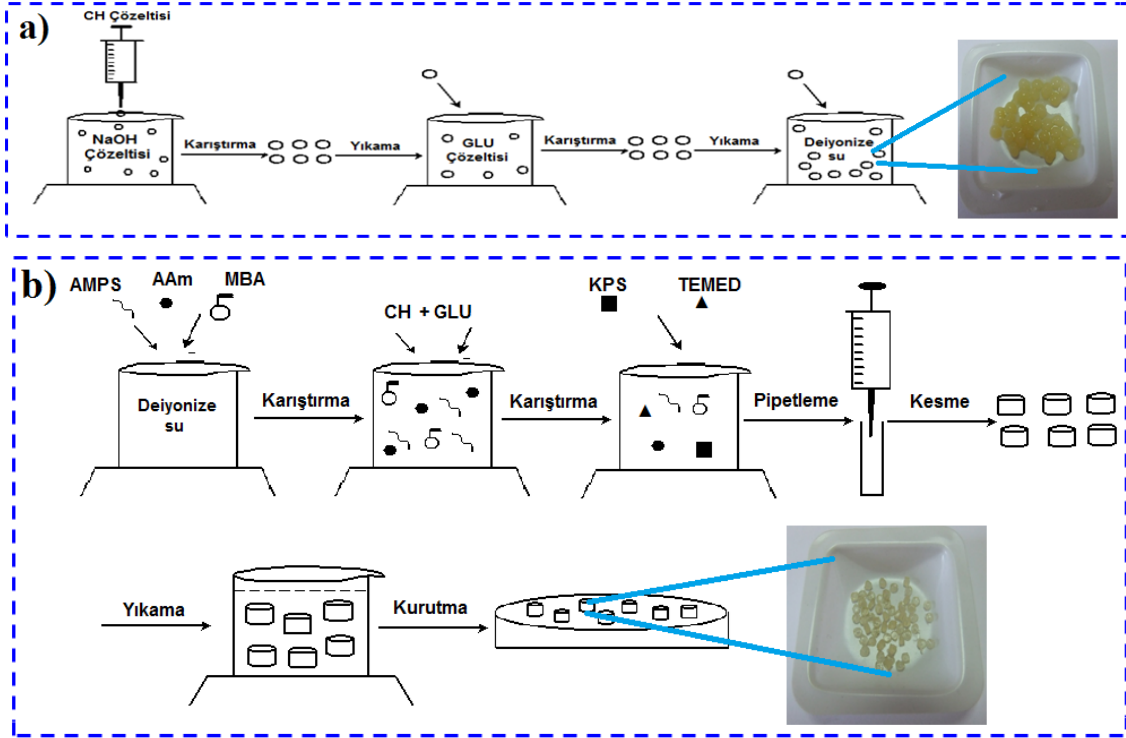
## 2.4. Kinetik şişme çalışmaları

Kuru kütleleri tartılan CH-pAMPS-pAAM jelleri; saf su ortamında önceden belirlenen zaman aralıklarında ( $t$ ) 37 °C’de bekletilmiştir. Saf sudan alınan hidrojellerin yüzey suyu bir süzgeç kağıdı yardımıyla alınmış, analitik terazide hidrojinin kütlesi ölçülmüş ve hidrojel tekrar saf suya bırakılmıştır. Kütle ölçümlerine; hidrojel kütlesi sabit kalıncaya dek devam edilmiş ve ardından hidrojinin çapı dijital bir kumpas yardımıyla ölçülmüştür. Aynı kinetik şişme çalışmaları; pH=1.1 (HCl-KCl) ve pH=7.4 (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) ortamları için tekrarlanmıştır.

## 2.5. pH-duyarlı denge şişme çalışmaları

Kuru kütleleri tartılan CH-pAMPS-pAAM jelleri pH=1.1 olan tampon çözeltide 24 sa bekletilmiş ve yüzey suyu alınarak kütlesi tartılmıştır. Kütlesi tartılan hidrojeller bu sefer pH’sı 7.4 olan tampon çözeltiye atılmış ve 24 sa bekletilerek kütlesi tartılmış ve ardından tekrar pH=1.1 olan tampon çözeltiye atılmıştır. İşlemlere 37 °C’de 9 gün

süresince devam edilmiş ve bu süre sonunda hidrojellerin mekanik dayanımlarının iyi olduğu gözlenmiştir.



Şekil 1. GLU ile çapraz bağlı kitosan küreciklerinin (CH-GLU) (a) ve silindirik şekildeki CH-pAMPS-pAAM IPN hidrojellerinin (b) sentez şemaları ve fotoğrafları.

## 2.6. İyonik şiddet duyarlı denge şişme çalışmaları

Bölüm 2.5'te anlatılan denge şişme çalışmaları; pH=1.1 ve pH=7.4 çözeltilerinin çözücü olarak kullanıldığı ve derişimleri 0.1-1.0 mol dm<sup>-3</sup> aralığında değişen KCl çözeltilerinde ayrı ayrı yapılmıştır (37 °C).

## 2.7. Hidrojellere 5-FLU yüklenmesi ve salımının izlenmesi:

Kuru kütleleri tartılan CH-GLU ve CH-pAMPS-pAAM hidrojelleri; saf suda hazırlanan 250 mg dm<sup>-3</sup> derişimindeki 5-FLU çözeltilerinde 20 °C sıcaklıkta 5 sa bekletilmiştir. Çözeltilerin soğurumlarındaki değişim; spektrofotometrik olarak  $\lambda_{\text{mak}} = 265 \text{ nm}$ 'de izlenmiş ve çözeltilerin denge derişim değerleri; bir çalışma grafiği yardımı ile hesaplanmıştır. Hidrojellerden salınan 5-FLU miktarını bulmak için; 5-FLU çözeltilerinde bekletilen hidrojeller içinde bulunduğu beherden çıkarılarak deiyonize su ile hızlı bir şekilde 1-2 kez yıkanmış ve içinde pH=1.1 ve pH=7.4 tampon çözeltileri bulunan beherlere alınmıştır. Çözeltilerin derişimlerindeki değişim; yine spektrofotometrik olarak belirlenmiştir (37 °C).

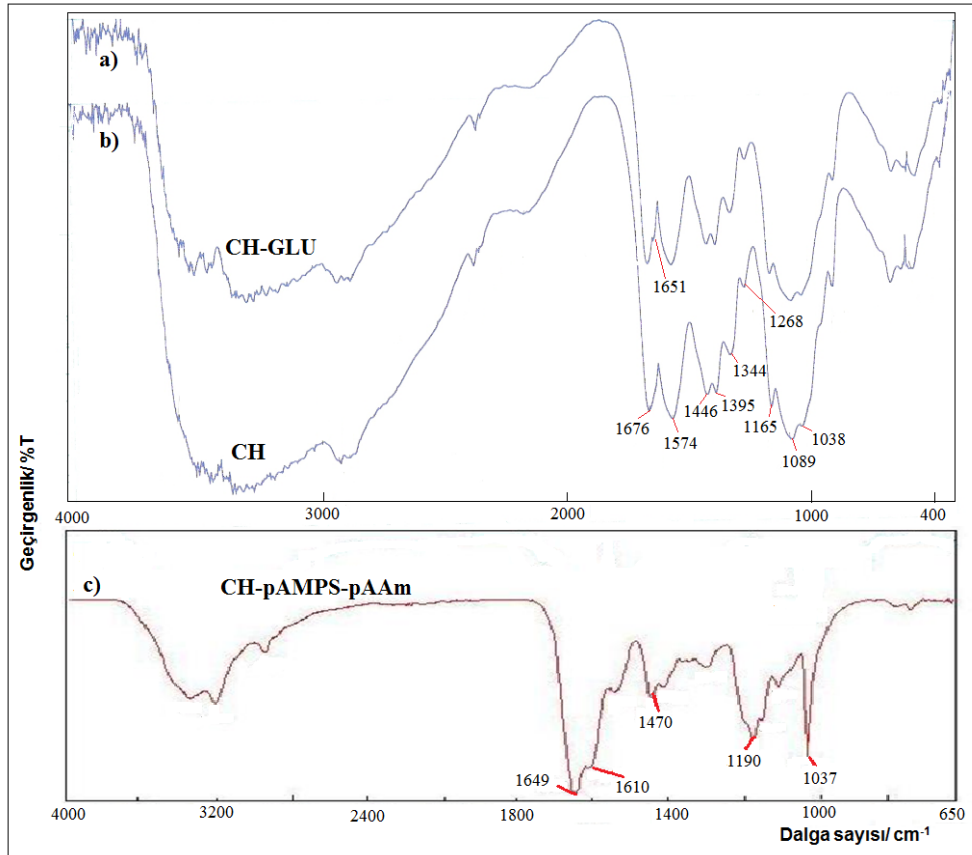
## 3. Sonuçlar ve tartışma

### 3.1. Spektroskopik değerlendirme

CH, CH-GLU ve CH-pAMPS-pAAM hidrojellerinin yapılarının aydınlatılabilmesi amacı ile ATR bağlantılı FT-IR spektrofotometresi ile infrared (IR) spektrumları

alınmış ve Şekil 2’de karşılaştırmalı olarak sunulmuştur. Kitosan (CH) spektrumunda (Şekil 2-b); 1038 ve 1089  $\text{cm}^{-1}$  pikleri; sakkarit yapısındaki C-O gerilim titreşimini, 1165  $\text{cm}^{-1}$  piki; C-O-C antisimetrik gerilim titreşimini, 1268  $\text{cm}^{-1}$  ve 1364  $\text{cm}^{-1}$  pikleri; C-N gerilim titreşimini, 1395  $\text{cm}^{-1}$  ve 1446  $\text{cm}^{-1}$  pikleri; C-H bükülme titreşimini, 1574  $\text{cm}^{-1}$  piki; N-H düzlem içi bükülmesini, 1676  $\text{cm}^{-1}$  piki; C=O ve -NH<sub>2</sub> gruplarına ilişkin titreşimleri belirtmektedir. 2800-3800  $\text{cm}^{-1}$  aralığındaki geniş band ise; kitosandaki -OH gruplarını, -OH ve -NH<sub>2</sub> gruplarının su molekülleri ile yaptığı hidrojen bağlarını sinyallelemektedir. CH-GLU spektrumundaki (Şekil 2-a) 1651  $\text{cm}^{-1}$  piki ise; kitosanın amin grupları ile aldehit grupları arasındaki iminleşme tepkimesi sonucu oluşan çapraz bağlanma (C=N) ile açıklanmaktadır. CH-pAMPS-pAAM hidrojelinin IR spektrumunda ise; 1037  $\text{cm}^{-1}$ , 1190  $\text{cm}^{-1}$  ve 1470  $\text{cm}^{-1}$ ’deki belirgin pikler; pAMPS polimerine ilişkin -S=O bağı titreşimlerini, 1649  $\text{cm}^{-1}$  ve 1610  $\text{cm}^{-1}$  pikleri; pAMPS, pAAM ve MBA yapılarındaki amid I (-C=O) ve amid II (N-H) gerilim titreşimlerini göstermektedir. Yine, 2800-3800  $\text{cm}^{-1}$  aralığındaki geniş band; CH, pAMPS, pAAM hidrojelleri ve MBA molekülündeki -NH<sub>2</sub>, -SO<sub>3</sub><sup>-</sup> gruplarının su molekülleri ile hidrojen bağı yapması sonucu oluşmuştur.

Bu veriler ışığında; CH zincirlerindeki amin gruplarının GLU ile iminleşme tepkimesine girerek çapraz bağlandığı ve çapraz bağlı CH-GLU hidrojellerini oluşturduğu, pAAm ve pAMPS zincirlerinin; AMPS ve AAm monomerlerinin radikalik polimerleşmesi sırasında MBA ile çapraz bağlanarak CH-pAMPS-pAAM IPN hidrojellerini oluşturduğu söylenebilir.



Şekil 2. CH-GLU (a), CH (b) ve CH-pAMPS-pAAM (c) hidrojellerinin IR spektrumları.

### 3.2. Kinetik şişme çalışmaları

Hidrojellerin karakterize edilmesinde polar ortamlarda gerçekleştirilen şişme çalışmaları yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Gerek kinetik gerekse dinamik şişme çalışmaları; çözücüsünde bekletilen çapraz bağlı bir jelin kütledeki ya da hacmindeki artışın belirlenmesine dayanır [21-22].

Denetimli salım çalışmalarında kullanılacak hidrojellerin fizyolojik ortamlardaki şişme davranışının bilinmesi önemlidir. İnsan vücudunda mide pH'sı 1.0-1.2 ve ince bağırsak pH'sı 7.4 değerlerindedir. Bu nedenle çalışmada hazırlanan hidrojellerin kinetik şişme çalışmaları vücut sıvılarına benzetilmiş  $K_2HPO_4-KH_2PO_4$  (pH=7.4) ve  $HCl-KCl$  (pH=1.1) tampon çözeltilerinde ve karşılaştırma amacıyla saf suda in vitro olarak 37 °C'de çalışılmıştır.

Hidrojellerin kütlece yüzde şişme değeri (%S);

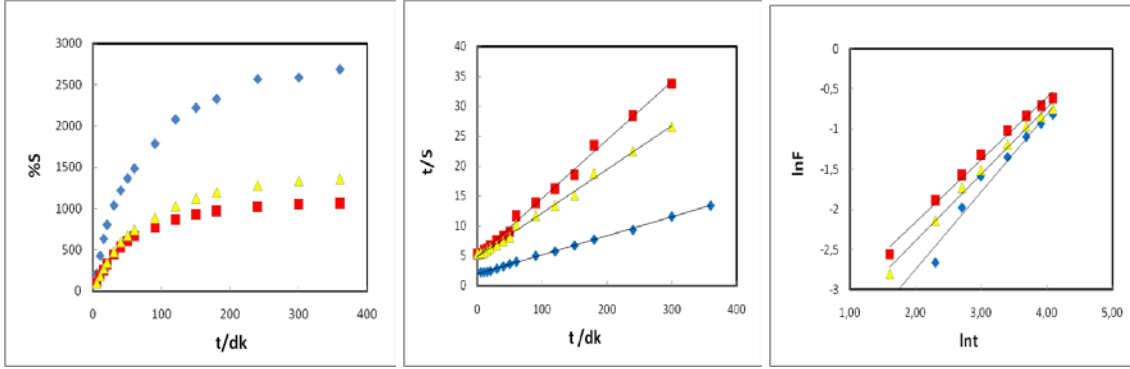
$$\%S = \frac{M_t - M_o}{M_o} \times 100 \quad (1)$$

eşitliğinden hesaplanmıştır. Eşitlikte  $M_o$ ; t=0 anındaki kuru jel kütlelerini (kuru jel),  $M_t$  ise; t=t anındaki şişmiş jel kütlelerini göstermektedir.  $\%S_d$  değeri ise; şişme sürecinde dengeye ulaşıldığı andaki maksimum şişme değerini göstermektedir. Deiyonize su, pH=1.1 ve pH=7.4 ortamlarına ilişkin oluşturulan  $\%S-t$  grafikleri Şekil 3'te sunulmuştur. Şekil 3'teki parabolik eğrilerden hidrojellerin ikinci dereceden şişme kinetiğine uyduğu anlaşılmaktadır. Her üç ortamda da CH-pAMPS-pAAM hidrojellerinin şişme davranışı gösterdiği ve denge şişme değerlerine ( $\%S_d$ ) 6-6.5 sa sonra ulaşıldığı Şekil 3'teki  $\%S-t$  grafiklerinden anlaşılmaktadır. CH-pAMPS-pAAM hidrojelleri deiyonize su ortamında kuru kütlelerinin yaklaşık 3100 katına kadar şişmiştir (Tablo 1) ve bu değer; pH=1.1 ve pH=7.4 ortamlarındaki  $\%S_d$  değerlerinin yaklaşık 2 katıdır. Bu durum; kitosandaki amin grupları ( $-NH_2$ ), pAMPS'deki amid ( $-CONH_2$ ) ve sülfö grupları ( $-SO_3^-$ ) ve pAAM bileşenindeki amid grupları ile ilişkilidir ve bu gruplar; su molekülleri ile hidrojen bağı yapmaya çok yatkındır. Sözü edilen grupların su molekülleri ile hidrojen bağı yapması sonucu hidrojel yapısına daha çok su molekülü girer ve bu durumun bir sonucu olarak da hidrojel daha çok şişer. Öte yandan asidik ortamdaki şişme davranışı; amin gruplarının ( $-NH_2$ ) protonlanması ile ilgilidir. Jel içinde oluşan  $-NH_3^+$  grupları birbirini iter ve hidrojel gözeneklerinin büyümesine neden olur. Bu ise; büyüyen gözeneklere daha çok çözücü moleküllerinin girmesine ve jelin şişmesine neden olur [1]. Benzer davranış; pH=7.4 ortamında pAMPS hidrojelindeki sülfö grupları ile ortamda bulunan  $-OH^-$  iyonları arasında gerçekleşir.

Hidrojellerin şişme kinetiği parametrelerinin hesaplanabilmesi amacıyla;

$$\frac{t}{S} = A + Bt \quad (2)$$

eşitliğine göre oluşturulan  $t/S-t$  grafikleri Şekil 3'te sunulmuştur. Eşitlikte S; hidrojinin t anındaki şişme derecesini,  $B=1/S_{mak}$ ; maksimum şişme derecesinin ( $S_{mak}$ ) tersini,  $A=1/(dS/dt)_0 = 1/S_{max}^2 k_s$  ise başlangıç şişme hızının ( $r_0$ ) tersini göstermektedir.  $t/S-t$  grafiklerinin sırasıyla kesim ve eğimlerinden hesaplanan şişme hız sabiti ( $k_s$ ) ve  $S_{mak}$  değerleri Tablo 1'de verilmiştir.



Şekil 3. CH-pAMPS-pAAM IPN hidrojjellerinin ikinci dereceden şişme kinetiğine ilişkin grafikleri;  $\blacklozenge$ ; deiyonize su,  $\blacksquare$ ; pH 1.1,  $\blacktriangle$ ; pH 7.4.

Hidrojjellere çözücü/çözünen moleküllerinin difüzyonunun açıklanmasında kullanılan temel yasalar; Fick yasaları [23] olup, silindirik geometrideki hidrojjeller için basitleştirilmiş bir eşitlik olan;

$$F = \frac{M_t}{M_d} = kt^n \quad (3)$$

eşitliği yardımıyla difüzyon üsteli ( $n$ ) ve ağ yapı parametresi ( $k$ ) hesaplanabilmektedir [24]. Eşitlikte  $M_d$ ; dengedeki jelin kütleini,  $F$ ; çözücü kesrini göstermektedir.

Çözücünün difüzyon hızı ve polimer-çözücü sisteminin durulma hızı; hidrojjelerde şişmeyi denetleyen iki önemli parametredir. Şişme kinetiğinin incelenmesinde önemli olan parametrelerden birisi de difüzyon katsayısıdır. Silindirik geometrideki yapılar için difüzyon katsayısı  $D$ ;

$$k=4(D/\pi a^2)^n \quad (4)$$

eşitliği yardımıyla hesaplanmaktadır [25].  $a$ ; jelin yarıçapını göstermektedir.

Şekil 4'teki  $\ln F - \ln t$  grafiklerinin kesim ve eğim değerlerinden bulunan  $k$  ve  $n$  parametreleri, eşitlik (4)'ten hesaplanan difüzyon katsayısı ( $D$ ,  $\text{cm}^2 \text{dk}^{-1}$ ) değerleri Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. CH-pAMPS-pAAM IPN hidrojjellerinin farklı ortamlardaki şişme kinetiği ve difüzyonu parametreleri (37 °C).

Ortam	$\%S_d$	$S_{mak}$	$k_s \times 10^4$	$n$	$k \times 10^2$	$D \times 10^4$
Deiyonize su	3100	32.60	4.5	0.80	1.9	4.2
pH=7.4	1560	16.60	8.0	0.78	2.4	3.7
pH=1.1	1225	12.80	13.0	0.69	2.6	3.5

Her üç ortam için de difüzyon üsteli değerlerinin  $0.5 < n < 1$  aralığında olduğu Tablo 1'den görülmektedir. Bu ise; şişme üzerinde difüzlenme ve durulma olaylarının aynı anda etkin olduğu difüzyon türünün (Fick Tipi olmayan ya da anormal tip difüzyon) [26]; CH-pAMPS-pAAM hidrojjelleri için deiyonize su, pH=7.4 ve pH=1.1 ortamlarında söz konusu olduğu anlamına gelmektedir.

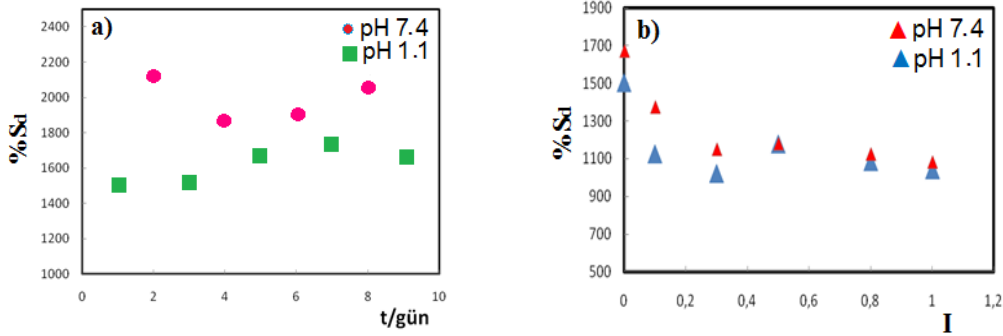
Şişme çalışmaları CH-GLU hidrojjelleri için de yapılmış ancak CH-GLU şişme başlangıç değerlerinin CH-pAMPS-pAAM hidrojjellerine göre çok küçük olduğu



belirlenmiştir. Bununla birlikte GLU ile çapraz formda hazırlanan kitosan küreciklerinin; şişme çalışmaları süresinde parçalanmaya uğradığı gözlenmiş ve bu nedenle de şişme kinetiği ve difüzyonu parametreleri hesaplanamamıştır.

### 3.3. Hidrojellerin ortam duyarlı şişme davranışlarının incelenmesi

Hazırlanan CH-pAMPS-pAAM hidrojellerinin şişme davranışlarının ortam pH'sı ve iyonik şiddeti (I) ile değişiminin incelenebilmesi amacı ile pH=1.1, pH=7.4 tampon çözeltileri ve farklı derişimlerdeki tuz çözeltilerinde (KCl) denge şişme çalışmaları 37 °C'de yapılmış ve oluşturulan % $S_d$  - t ve % $S_d$  - I grafikleri Şekil 4'te sunulmuştur.



Şekil 4. CH-pAMPS-pAAM hidrojellerinin pH (a) ve iyonik şiddet duyarlı (b) davranışlarının gösterimi.

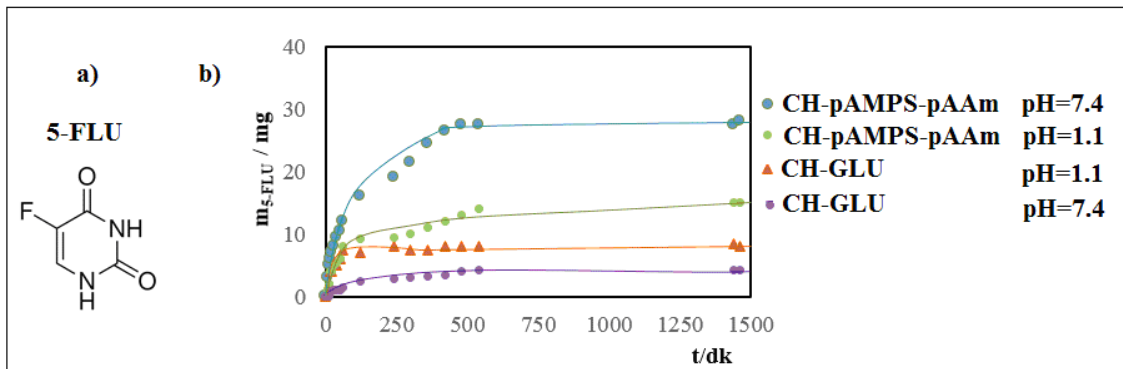
Şekil 4 a)'daki dönüşümlü denge şişme grafiklerinden CH-pAMPS-pAAM hidrojellerinin şişme davranışlarının pH-duyarlı oldukları anlaşılmaktadır. Bu davranış; özellikle gastrointestinal sistemde kullanılacak denetimli ilaç salım hidrojelleri için önemli bir özelliktir. pH=7.4 (ince bağırsak pH'sı) ortamında pH=1.1 (mide pH'sı) ortamına göre daha fazla şişmesi; bağırsak ortamında hidrojelin şişmesine bağlı olarak ilaç etken moleküllerinin hidrojelden salımının istendiği denetimli salım çalışmalarında bir avantajdır.

CH-pAMPS-pAAM hidrojelleri aynı zamanda içerdikleri CH ve pAMPS hidrojelleri nedeniyle poliamfolit özelliğe de sahiptir. Poliamfolit hidrojeller; yapılarında iyonlaşabilen gruplar ya da ortam değişimlerine bağlı olarak iyon duruma geçebilen yan gruplar içerirler [27-29]. Bu tip hidrojeller; ortamın iyonik şiddetinin değişimine bağlı olarak fiziksel değişim sergileyebilirler. Bu amaçla; CH-pAMPS-pAAM hidrojellerine ilişkin oluşturulan % $S_d$  - I grafikleri Şekil 4 b)'de gösterilmiştir. Grafiklerden görüldüğü gibi her iki ortamda da (pH=7.4 ve pH=1.1) tuz derişiminin artırılması ile denge şişme değerlerinin azaldığı görülmektedir. Ortamda bulunan  $K^+$  ve  $Cl^-$  iyonları CH-pAMPS-pAAM hidrojellerindeki iyonlaşmış durumda bulunan, karşı yükteki yan grupları perdeleyerek etkinliklerini yitirmelerine neden olmuştur [30-31]. Başka bir deyişle;  $K^+$  iyonları;  $-SO_3^-$  gruplarını,  $Cl^-$  iyonları ise;  $-NH_3^+$  grupları ile elektrostatik etkileşime girerek bu grupların hidrojelin şişme davranışı üzerine olan etkilerini azaltmalarına neden olmuştur.

### 3.4. CH ve CH-pAMPS-pAAM hidrojellerinden 5-FLU salımının izlenmesi:

Hazırlanan CH-GLU ve CH-pAMPS-pAAM hidrojellerinin denetimli ilaç salım sistemlerinde kullanılabilirliğini araştırmak amacı ile kanser tedavisinde kullanılan bir ilaç etken maddesi olan 5-FLU (Şekil 5 a)); hidrojellere yüklenmiş ve salımları 37 °C'de tampon çözeltilerde gerçekleştirilmiştir. Hidrojellerden pH=1.1 ve pH=7.4 ortamlarına salınan 5-FLU miktarları ( $m_{5-FLU}$ ) zamana karşı (t) grafiğe geçirildiğinde pH-duyarlı bir

ilaç salım davranışı sergiledikleri Şekil 5 b'deki salım profillerinden görülmektedir. En fazla ilaç etken maddesinin pH=7.4 ortamında CH-pAMPS-pAAM hidrojellerinden salınması; salım mekanizmasının şişme denetimli [32-33] olduğunun da bir göstergesidir. İlaç yüklü CH-pAMPS-pAAM hidrojel pH=7.4 ortamına alındığında; hidrojel gözenekleri, ortamdaki hidroksil iyonları varlığında genişlemiştir. Bu sırada gözenek boşluklarını doldurmuş ya da hidrojen bağı ve van der Waals etkileşimleri gibi ikincil etkileşimlerle [34] hidrojelle etkileşime girmiş 5-FLU molekülleri tampon çözeltiye salınmıştır. Öte yandan, CH-GLU hidrojelinin asidik ortamda daha fazla 5-FLU salımını yapması; salım davranışının CH-GLU hidrojel için de şişme denetimli olduğunu açıklamaktadır. Yaklaşık 1500 dk sonunda hidrojellerden salınan kümülatif etken madde miktarı; CH hidrojelleri için %85 (pH=7.4) ve %90 (pH=1.1), CH-pAMPS-pAAM hidrojelleri için de %73 (pH=1.1) ve %78 (pH=7.4) olarak hesaplanmıştır.



Şekil 5. a) 5-FLU kimyasal yapısı, b) CH-GLU ve CH-pAMPS-pAAM hidrojellerinden 5-FLU salım grafikleri.

#### 4. Değerlendirme

Çalışmada ulaşılan sonuçlar şu şekilde özetlenebilir:

- Tek başına kullanıldığında mekanik dayanımı yetersiz ancak biyouyumluluğu yüksek olan kitosan doğal hidrojel yanına diğer sentetik hidrojeller getirilerek mekanik dayanımı iyileştirilmiş, çapraz bağlı, ağ yapıda CH-pAMPS-pAAM hidrojelleri hazırlanmıştır.
- CH-pAMPS-pAAM hidrojellerinin oluşturulmasında fonksiyonel hidrojellerden (CH ve pAMPS) yararlanılmış, yapıya pAAM'in dahil edilmesi ile de mekanik dayanımın iyileştirilmesine katkı sağlanmıştır.
- CH-pAMPS-pAAM hidrojelleri; özellikle silindirik geometri formunda hazırlanmış ve bu şekilde mide-bağırsak sisteminde ilaç salımı yapabilecek, daha kullanışlı bir ilaç-hidrojel sistemi geliştirilmiştir.
- Vücut sıvılarına benzetilmiş fizyolojik çözeltilerde (pH= 1.1 ve pH= 7.4) yapılan kinetik ve denge şişme çalışmaları sonucu sentezlenen ağ yapıli hidrojellerin, mide-bağırsak ilaç sistemleri için bir avantaj anlamına da gelen, *pH-duyarlı hidrojeller* olduğu anlaşılmıştır.
- CH-pAMPS-pAAM ve CH-GLU hidrojellerine kanser tedavisinde çok sık kullanılan bir ilaç etken maddesi olan 5-FLU yüklenerek ilaç etken moleküllerinin hidrojellerden salımları; pH= 1.1 ve pH= 7.4 ortamları için incelenmiş ve 5-FLU salım davranışlarının da *pH-duyarlı* olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte; kitosan

yanına getirilen pAAm ve pAMPS hidrojenlerinin, hedeflenen CH-pAMPS-pAAM hidrojenlerinin ilaç salım davranışlarına katkıda buldukları; kümülatif ilaç salım değerlerinden anlaşılmıştır.

Sonuç olarak; bu çalışma kapsamında hazırlanan CH-pAMPS-pAAM hidrojenlerinin 5-FLU ve buna benzer etken madde moleküllerinin denetimli salımında kullanılabilir *ilaç destek materyalleri* olabileceği önerilebilir.

## Kaynaklar

- [1] Koetting, M. C., Peters, J. T., Steichen, S. D. and Peppas, N. A., Stimulus-responsive hydrogels: Theory, modern advances, and applications, **Materials Science and Engineering: R: Reports**, 93, 1-49, (2015).
- [2] Ullah, F., Othman, M. B. H., Javed, F., Ahmad, Z. and Akil, H. M., Classification, processing and application of hydrogels: A review, **Materials Science and Engineering: C**, 57, 1, 414-433, (2015).
- [3] Caló, E. and Khutoryanskiy, V.V., Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products, **European Polymer Journal**, 65, 252-267, (2015).
- [4] Ozay, H. and Ozay, O., Rhodamine based reusable and colorimetric naked-eye hydrogel sensors for Fe<sup>3+</sup> ion, **Chemical Engineering Journal**, 232, 364-371, (2013).
- [5] El-Aassar, M. R., El Fawal, G. F., Kamoun, E. A. and Fouda, M. M. G., Controlled drug release from cross-linked  $\kappa$ -carrageenan/hyaluronic acid membranes, **International Journal of Biological Macromolecules**, 77, 322-329, (2015).
- [6] Lee, J. H. and Yeo, Y., Controlled drug release from pharmaceutical nanocarriers, **Chemical Engineering Science**, 125, 24, 75-84, (2015).
- [7] Weiser, J. R. and Saltzman, W. M., Controlled release for local delivery of drugs: barriers and models, **Journal of Controlled Release**, 190, 28, 664-673, (2014).
- [8] Kyddonius, A.F., **Fundamental concepts of controlled release**, CRC Press, vol I., Florida, US., (1980).
- [9] Hu, X., Wei, W. and Qi, X., Preparation and characterization of a novel pH-sensitive Salecan-g-poly(acrylic acid) hydrogel for controlled release of doxorubicin, **Journal of Materials Chemistry B**, 3, 13, 2685-2697, (2015).
- [10] Zhu, Q. and Li, Z., Hydrogel-supported nano sized hydrous manganese dioxide: Synthesis, characterization, and adsorption behavior study for Pb<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> and Ni<sup>2+</sup> removal from water, **Chemical Engineering Journal**, 281, 69-80, (2015).
- [11] Utkarsh, B., Anindita, L., Kishalay, M. and Saptarshi, M., Sodium alginate and gelatin hydrogels: Viscosity effect on hydrophobic drug release, **Materials Letters**, 164, 76-79, (2016).
- [12] Kim, M. K., Sundaram, K. S., Iyengar, G. A. and Lee, K., A novel chitosan functional gel included with multiwall carbon nano tube and substituted polyaniline as adsorbent for efficient removal of chromium ion, **Chemical Engineering Journal**, 267, 51-64, (2015).

- [13] Kandile, N. G., Mohamed, H .M. and Mohamed, M. I., New heterocycle modified chitosan adsorbent for metal ions (II) removal from aqueous systems, **International Journal of Biological Macromolecules**, 72, 110-116, (2015).
- [14] Gerola, A.P., Silva, D.C., and Jesus, S., Synthesis and controlled curcumin supramolecular complex release from pH-sensitive modified gum-arabic-based hydrogels, **RSC Advances**, 5, 115, 94519-94533, (2015).
- [15] Wang, J., and Li, J., One-pot synthesis of IPN hydrogels with enhanced mechanical strength for synergistic adsorption of basic dyes, **Soft Materials** ,13, 3, 160-166, (2015).
- [16] Ozbas, Z., and Gurdag, G., Swelling kinetics, mechanical properties, and release characteristics of chitosan-based semi-IPN hydrogels, **Journal of Applied Polymer Science**, 132, 16, 41886, (2015).
- [17] Lohani, A., Singh, G., Bhattacharya, S. S., Hegde, R. R. and Verma, A., Tailored-interpenetrating polymer network beads of  $\kappa$ -carrageenan and sodium carboxymethyl cellulose for controlled drug delivery, **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, 31, 53-64, (2016).
- [18] Wang, J. and He, R., Formation and evaluation of interpenetrating networks of anion exchange membranes based on quaternized chitosan and copolymer poly(acrylamide)/polystyrene, **Solid State Ionics**, 78, 1, 49-57, (2015).
- [19] Munoz-Pinto, D. J., Jimenez-Vergara, A. C., Gharat, T. P. and Hahn, M. S., Characterization of sequential collagen-poly(ethylene glycol) diacrylate interpenetrating networks and initial assessment of their potential for vascular tissue engineering, **Biomaterials**, 40, 32-42, (2015).
- [20] Fu, Z., He, C., Li, H., Yan, C., Chen, L., Huang, J. and Liu, Y., A novel hydrophilic–hydrophobic magnetic interpenetrating polymer networks (IPNs) and its adsorption towards salicylic acid from aqueous solution, **Chemical Engineering Journal**, 279, 1, 250-259, (2015).
- [21] Peppas, N. A., Zach, H. J., Khademhosseini, A. and Langer, R., Hydrogels in biology and medicine: from molecular principles to bionanotechnology, **Advanced Materials**, 18, 1345–1360, (2006).
- [22] Pairatwachapun, S., Paradee, N. and Sirivat, A., Controlled release of acetylsalicylic acid from polythiophene/carrageenan hydrogel via electrical stimulation, **Carbohydrate Polymers**, 137, 214–221, (2016).
- [23] Peppas, N. A. and Ritger, P. L., A simple equation for description of solute release I. Fickian and Non-Fickian from non-swellable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs, **Journal of Controlled Release**, 5, 23-26, (1987).
- [24] Bajpai, A. K., Bajpai, J. and Shukla, S., Water sorption through a semi-interpenetrating polymer network (IPN) with hydrophilic and hydrophobic chains, **Reactive and Functional Polymers**, 50, 9-21, (2001).
- [25] Frish, H.L., Sorption and transport in glassy polymers, **Polymer Engineering and Science**, 20, 2-13, (1980).
- [26] Peppas, N. A. and Franson, N. M., The swelling interface number as a criterion for prediction of diffusional solute release mechanisms in swellable polymers, **Journal of Polymer Science**, 21, 983–997, (1983).
- [27] Koizhaiganova, R. B., Kudaibergenov, S. E. and Geckeler, K. E., A novel class of betaine-type polyampholytes with stimuli-responsive and complexing properties, **Macromolecular Rapid Communications**, 23, 1041-1044, (2002).

- [28] Mohan, Y. M. and Geckeler, K. E., Polyampholytic hydrogels: Poly(N-isopropylacrylamide)-based stimuli-responsive networks with poly(ethyleneimine), **Reactive and Functional Polymers**, 67, 144–155, (2007).
- [29] Ekici, S., Intelligent poly(N-isopropylacrylamide)-carboxymethyl cellulose full interpenetrating polymeric networks for protein adsorption studies, **Journal of Materials Science**, 46, 2843–2850, (2011).
- [30] Lorenzo, C. A. and Concheiro, A., Reversible adsorption by a pH- and temperature-sensitive acrylic hydrogel, **Journal of Controlled Release**, 80, 247-257, (2002).
- [31] Shamim, N., Hong, L., Hidajat, K. and Udin, M. S., Thermosensitive-polymer-coated magnetic nanoparticles: Adsorption and desorption of bovine serum albumin, **Journal of Colloid and Interface Science**, 304, 1-6, (2006).
- [32] Brazel, C. S. and Peppas, N. A., Mechanism of solute and drug transport in relaxing, swellable, hydrophilic glassy polymers, **Polymer**, 40, 3383–3398, (1999).
- [33] Khan, H., Shukla, R. N. and Bajpai, A. K., Genipin-modified gelatin nanocarriers as swelling controlled drug delivery system for in vitro release of cytarabine, **Materials Science and Engineering: C**, 61, 1, 457-465, (2016).
- [34] Zhang, X. and Cresswell, M., **Inorganic controlled release technology**, 30, Butterworth-Heinemann Press, Elsevier Ltd., (2016).