

Aloe Vera Yüklü Kitosan/Fibroin Filmlerin Hazırlanması, Karakterizasyonu ve İlaç Salım Özelliklerinin Araştırılması

Pınar DEMİR^{1*}, Hasan YETİK²

¹ Kimya ve Kimyasal İşleme Teknolojisi Bölümü, EOSB MYO, Fırat Üniversitesi, Elazığ, Türkiye

² Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fırat Üniversitesi, Elazığ, Türkiye

*¹ pdemir@firat.edu.tr, ² hasanyetiktr@gmail.com

(Geliş/Received: 27/02/2024;

Kabul/Accepted: 19/12/2024)

Öz: Bu çalışmada ilaç taşıyıcı özelliğe sahip, biyopolimer esaslı kitosan /ipek fibroin/aloe vera içeren filmler hazırlanmıştır. Bu amaçla öncelikle ham ipekten fibroin proteini saflaştırılarak ayrılmıştır. Daha sonra çözeltiden döküm yöntemiyle aloe vera katkılı fibroin/kitosan filmleri hazırlanmış ve SEM, FTIR ve TGA teknikleriyle hem yüzey, hem yapısal hem de ısıl davranışları karakterize edilmiştir. Ayrıca hazırlanan harman polimer filmlerine katılan antibiyotik salım şartları belirlenmiştir. Maksimum ilaç salımı %75 kitosan içeriğine sahip FK3 filmde gözlenmiştir. Ayrıca polimer filmlerinin pH 2 de en yüksek ilaç salımı sergilediği ve pH arttıkça salımın azaldığı belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Fibroin, Kitosan, Aloe vera, İlaç Salım.

Preparation, Characterization and Investigation of Drug Release Properties of Aloe Vera Loaded Chitosan/Fibroin Films

Abstract: In this study, biopolymer-based chitosan/silk fibroin/aloe vera-based films with drug carrier properties were prepared. For this purpose, firstly, fibroin protein from raw silk was purified and separated. Then, aloe vera-doped fibroin/chitosan films were prepared by solution casting method and their surface, structural and thermal behaviors were characterized using SEM, FTIR and TGA techniques. Additionally, the release conditions of the antibiotic added to the prepared blend polymer films were determined. Maximum drug release was observed in FK3 film with 75% chitosan content. It was also determined that polymer films exhibited the highest drug release at pH 2 and that the release decreased as pH increased.

Key words: Fibroin, Chitosan, Aloe vera, Drug Release

1. Giriş

Doğal polimerler genellikle hayvan ya da bitkilerden elde edilen, in vivo olarak herhangi bir toksik etki göstermeksizin hidroliz veya enzimatik sindirim yoluyla küçük biyolojik moleküllere parçalanarak makromoleküller olarak tanımlanır [1].

Binlerce yıl önce keşfedildiğinden beri ipekböceği ipeğinin çok çeşitli çekici özelliklere sahip bir biyopolimer olduğu bilinmektedir. İpekböceği ipeğinin ana proteini olan ipek fibroinin kullanımı tekstil endüstrisi ile sınırlı kalmamış, ilaç salım sistemleri ve doku mühendisliği için biyomalzemeler dâhil olmak üzere çeşitli yüksek teknoloji uygulama alanlarına da yayılmıştır. İpek fibroinin kolay işlenebilirliği, üstün biyoyumluluğu, kontrol edilebilir biyolojik bozunması ve çok yönlü işlevselleştirilmesi dâhil olmak üzere olağanüstü mekanik özellikleri, yenilikçi uygulamalar için kullanılmasına izin vermiştir [2]. Biyomalzemeler olarak ipek fibroin bazlı malzemelerin geçmişteki ve günümüzdeki kullanımını analiz edildiğinde, dermatolojik durumların tedavisi için ipek kumaşları ve plastik cerrahi uygulamaları fark edilmiştir. Ayrıca yapılan çalışmalarda yara iyileşmesi veya kulak zarı perforasyonu onarımları için ipek fibroin filmin insan klinik denemeleri de yapıldığı görülmüştür [3].

Kitosan, kısmi deasetilasyon ile elde edilebilen kitin türevidir bir bileşiktir [4]. Kitosan, mükemmel biyoyararlanım, biyolojik olarak parçalanabilirlik ve adsorpsiyon özelliklerinin yanı sıra toksik olmama özelliğine sahiptir. Bu özellikler, yara tedavisi, ilaç taşıyıcı, gıda paketlenme, diyet takviyesi, şelatlama maddesi, farmasötik ve biyomateryal amaçlar vb. gibi birçok alanda çeşitli uygulamalarda çok faydalı olmasını sağlamaktadır [5].

Aloe vera, binlerce yıldır çeşitli kültürlerde tıbbi amaçlar için kullanılmıştır [6]. Aloe vera, çok sayıda bileşeni nedeniyle antikanser, antimikrobiyal, antiviral ve yara iyileşmesi gibi biyomedikal uygulamalarda kullanılan bir bitki özüdür. Aloe veranın biyolojik aktiviteleri arasında analjezik, antibakteriyel, antioksidan, antifungal, antiviral, yara iyileşmesi, antienflamatuar, temizleme, antiseptik vb. özellikleri bulunmaktadır [7].

* Sorumlu yazar: pdemir@firat.edu.tr. Yazarların ORCID Numarası: ¹ 0000-0001-6074-3410, ² 0000-0002-8188-2206

İlaç dağıtım sistemleri, kontrollü ilaç salınımı, daha uzun temas süresi, daha fazla hedef özgüllüğü, azaltılmış doz ve ilaç uygulama düzenliliği sağlamayı amaçlamaktadır. Birçok çalışma kitosan/fibroin kompozitlerinin ilaç veya rekombinant büyüme faktörü dağıtımında geniş uygulamalarını bildirmiştir [8-10]. Bu çalışmada da kitosan/fibroin ve aloe vera yüklü kitosan/fibroin filmlerinin ilaç salım özellikleri incelenmiştir.

2. Materyal ve metot

2.1. Materyal

İpekten fibroin elde edilmesi amacıyla kullanılan ham ipek Diyarbakır Kulp Ziraat Kooperatifinden temin edildi. Polimer filmlerinin eldesi için saf fibroin çözeltisi formik asit (Merck), kitosan (BLDpharm) çözeltisi asetik asit (Merck) kullanılarak hazırlandı. Aloe vera jeli aloe vera yapraklarından elde edildi. İlaç salım çalışmaları için model ilaç olarak Amoksisilin trihidrat (Tokyo Chemical Industry Co. Ltd.) kullanıldı.

2.2. Metot

2.2.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Kimyasalların ve Malzemelerin Hazırlanması

Çalışmada saf fibroin eldesi için kullanılacak ham ipek Diyarbakır Kulp Ziraat Kooperatifinden temin edildi. İpek lifleri katı halde 5 gr tartıldı. Sodyum karbonat çözeltisi hazırlamak için 0,5 gr sodyum karbonat (Sigma-Aldrich) katısı 500 mL'lik balon jode çözüldü (çözelti saf su kullanılarak hazırlandı). 5 gr ipek lifi behere alınarak 300 mL sodyum karbonat çözeltisi ile 40°C sıcaklıkta 1 saat süreyle karıştırıldı. Daha sonra ipek lifi süzülerek ayrıldı ve 10 mL alkol içeren 200 mL sodyum karbonat çözeltisinde 40°C'de 30 dakika bekletildi. 5 gr yeşil sabun tartılarak 500 mL balon joje de saf su kullanılarak çözüldü. Süzülen katı ipek lifleri 5 mL alkol ve 500 mL yeşil sabun çözeltisi ile 90-95 derecede 1-1,5 saat karıştırıldı. Süzme işlemi gerçekleştirildikten sonra 1 saat liflerin soğuması beklendi. İpek lifleri kuruması için süzgeç kâğıdına alındı.

Serisini uzaklaştırılan fibroin lifleri bol saf su ile durulandı ve oda sıcaklığında 48 saat kurutuldu. Daha sonra 85 °C'de $\text{CaCl}_2 \cdot \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Ajisawa çözeltisi) (1:2:8 mol oranı) içinde 90 dakika süreyle %5 (ağırlık/hacim) konsantrasyona kadar çözüldü. Fibroin çözeltisi, çözücünün tuzlarını uzaklaştırma için 3 gün boyunca 8°C'de saf suya daldırılmış 3,5 kDa moleküler ağırlık kesimli (Serva) bir selüloz membran kullanılarak diyaliz edildi. Diyaliz suyu, fibroin solüsyonunun suya oranı 1:15 olacak şekilde tutularak her 24 saatte bir değiştirildi. Diyaliz sonrası Fibroinin %2 (ağırlık/hacim) sulu çözeltisi elde edildi ve filmlerin hazırlanmasında kullanıldı.

Aloe Vera (AV) jeli hazırlamak için tıbbi olarak kullanılan aloe vera yaprakları tek bir bahçe bitkisi setinden toplanarak yıkandı ve bıçakla uzunlamasına kesildi. Spatül kullanılarak jel kısım kabuk kısmından ayrıldı. Ayrılan aloe vera jeli damıtılmış suyla (40 °C) yıkanarak kurutuldu ve filmlerin hazırlanmasında kullanılabilecek kadar 4°C'de saklandı.

2.2.2. Polimer Filmlerinin Hazırlanması

Fibroin, Kitosan ve aloe vera kullanılarak aloe vera yüklü fibroin/kitosan filmlerini hazırlamak için %2 asetik asit çözeltisi kullanılarak kitosan çözeltisi hazırlandı. Ardından kütlece %25, %50 ve %75 fibroin (formik asitte çözüldü) içerecek şekilde kitosan/fibroin çözeltileri hazırlandı. Fibroin/Kitosan oranı ağırlıkça 1:3, 1:1, 3:1 olacak şekilde hazırlanan çözeltiler 30 dakika boyunca sonike edildi. Çözeltiler sırasıyla FK1, FK2 ve FK3 olarak kodlandı. Ayrıca hazırlanan bu çözeltilere %5 ve %10 oranında aloe vera jeli eklenerek ikinci bir seri çözelti hazırlandı. Hazırlanan çözeltiler FK1/AV(%), FK2/AV(%) ve FK3/AV(%) olarak kodlandı. Hazırlanan çözeltiler petri kaplarına dökülerek filmler hazırlandı.

2.2.3. Polimer Filmlerine Model İlaç Yükleme

Kitosan ve fibroin kullanılarak farklı oranlarda hazırlanan harmanlara model ilaç olarak amoksisilin trihidrat, ağırlıkça %0,1'lik bir konsantrasyon elde etmek üzere ilave edildi. Model ilacı içeren harman çözeltisi, 12 saat boyunca yavaşça karıştırıldı ve oda sıcaklığında tozsuz bir atmosferde temiz kuru Petri kaplarına dökülmeden önce hava kabarcıklarından kurtulmak için gece boyunca bırakıldı. Filmler, ortam sıcaklığında 72 saat kurumaya bırakıldı ve daha sonra kullanılmadan önce bir desikatörde silika üzerinde saklandı. Filmlerin kalınlığı 25–30 µm arasında tutuldu.

Model ilacın filmlerden salım özelliklerini incelemek için ilaç yüklü harman filmleri, 37 °C’de pH 2,0, 5,5 ve 7,2’lik tampon çözeltilere daldırıldı. Belirli bir zaman aralığında, 1 mL’lik alikotlar çekildi ve salınan ilaç miktarı açısından test edildi. Solüsyonlarda salınan amoksisilin trihidrat miktarı, 272 nm’de UV spektrofotometre (Perkin Elmer, Lambda 10) kullanılarak belirlendi. Deneyler üç tekrar halinde yapıldı. Serbest bırakılan ilaçların yüzdeleri, ilacın kalibrasyon eğrilerinden hesaplandı.

2.2.4. Polimer Filmlerinin Karakterizasyonu

Hazırlanan Fibroin/kitosan ve aloe vera yüklü Fibroin/kitosan filmlerinin yapısal karakterizasyonu Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrometresi (Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FTIR, Perkin Elmer Spectrum One) ile 400-4000 cm⁻¹ dalga boyu aralığında gerçekleştirilmiştir. Polimer filmlerinin ısı davranışlarının belirlenmesi için TGA (Shimadzu TGA-50) analizleri yapılmıştır. TGA analizleri 25-500 °C sıcaklık aralığında 30 mL/dakika azot gazı akışında 10 °C/dakika ısıtma hızında gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan filmlerin yüzey morfolojileri Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscopy, JEOL JSM 6510) ile incelenmiştir. Analiz öncesi filmler vakumlu ortamda altın ile kaplanmıştır. Kaplama işlemi tamamlandıktan sonra, 20 kV hızlandırma gerilimi altında, 2500x, 5000x ve 10000x büyütme oranında filmlerin yapılarına ait görüntüler alınmıştır.

2.2.5. Polimer Filmlerinin Şişme Özellikleri

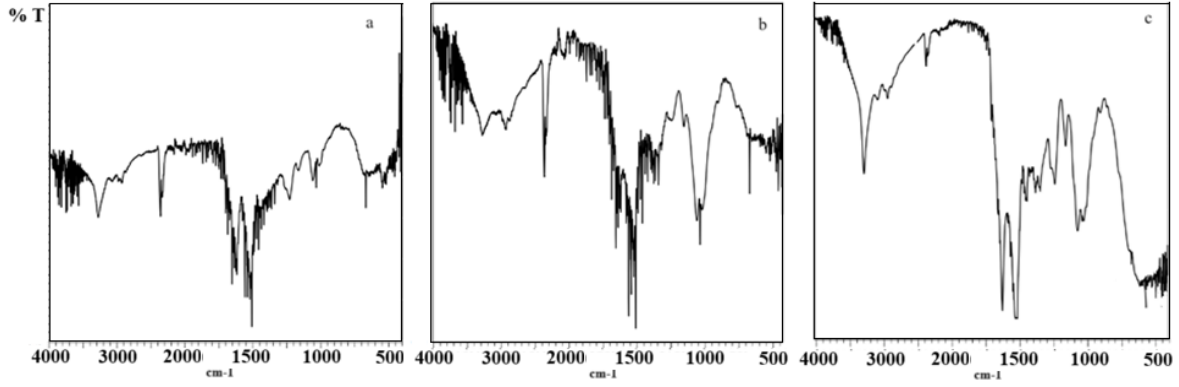
Fibroin/kitosan harman filmlerinin su emme özelliği, 24 saat boyunca 37°C’de PBS’ye (pH 7,4) daldırma ile belirlendi. Yaş ağırlık (*Ws*, şişmiş ağırlık) ve kuru ağırlık (*Wd*, 65°C’de gece boyunca kurutulmuş) ölçüldü. Daha sonra şişme indeksi Denklem 1’de gösterildiği gibi hesaplandı.

$$\text{Şişme İndeksi} = \left(\frac{(W_s - W_d)}{W_d} \times 100 \right) \quad (1)$$

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. FT-IR Analizi

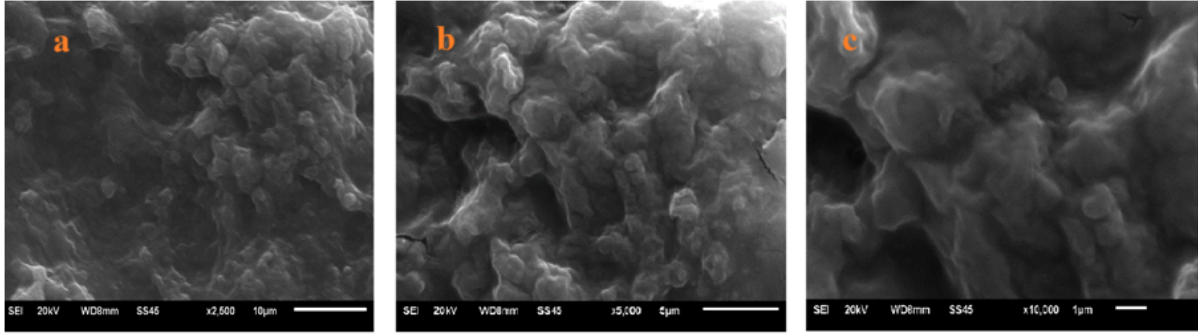
Serisini ayrıştırılmış ipek fibroinin FTIR spektrumu, Şekil 1a’da gösterilmiştir. İpek proteininde bulunan amid gruplarının varlığı 1620 cm⁻¹ etrafındaki amid I’in (C=O bağı) peptid bağının absorpsiyonuna ait karakteristik titreşim bantları, 1513 cm⁻¹ etrafındaki amid II (N-H bağı) ve 1230-1444 cm⁻¹ etrafındaki amid III (C-N bağı) bantları ile karakterize edilir. Yine ipek fibroininin moleküler yapısında bulunan β-tabaka (1630, 1530 ve 1250 cm⁻¹ civarındaki pikler), düzensiz halka yapısı (1645, 1550 ve 1230 cm⁻¹ civarındaki pikler) ve α-sarmal (1655 cm⁻¹ deki pik) yapısı ilgili piklerle karakterize edilmektedir [11]. Yaptığımız çalışmada da FTIR sonuçları incelendiğinde, serisini ayrıştırılmış ipek fibroini β-tabaka yapısını oluşturan 1623cm⁻¹ (amid I), 1509 cm⁻¹ (amid II), 1228-1444 cm⁻¹ (amid III) absorpsiyon piklerini görülmektedir (Şekil 1a). FK1 filminin FTIR spektrumu, Şekil 1b’de gösterilmektedir. 3283 cm⁻¹ OH ve amin N-H simetrik gerilme titreşimlerini, 2930 cm⁻¹ piranoz halkasına bağlı simetrik CH₂ gerilme titreşimini, 1621 cm⁻¹ amid I’in peptid omurgasını (C –O germe), 1520 cm⁻¹ amid II (N-H bükme) karakteristik tepe noktaları ve 1021 cm⁻¹’de C-O germe titreşimine aittir. FK1 filmi, hem fibroinin hem de kitosanın karakteristik piklerini göstermiştir ve bu da kompozitin başarılı bir şekilde oluşumunu doğrulamıştır. Bununla birlikte, amid I ve amid II’nin piklerindeki bazı kaymalar, fibroin ve kitosan arasındaki moleküller arası etkileşime bağlanabilir [12]. Bazı çalışmalar, amid I ve amid II bantlarındaki (Şekil 1c) piklerin kaymasını gözlemleyerek fibroin ve kitosan arasında moleküller arası etkileşimin oluştuğunu bildirmiştir [13].



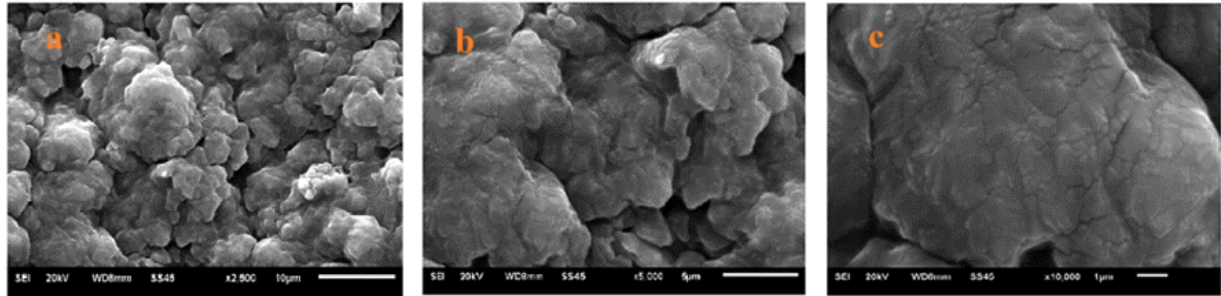
Şekil 1. a)Fibroin b)FK1 c)FK1/AV (%5) filmlerine ait FT-IR Spektrumları.

3.2. SEM Analizi

Şekil 2 ve Şekil 3'te FK1 ve FK2 kompozitlerine ait SEM görüntüleri verilmiştir. FK1 ve FK2 filmlerini gözenek yapısı düzensiz bir yapıdadır. Kitosan içeriğinin düşük olduğu FK1 filminde gözenek boyutu daha büyük görülmektedir. Film oluşumu sırasında kitosan ilavesi ile karışık çözelti saf fibroin çözeltisinden daha yüksek viskoziteye sahip olmuştur ve molekül zincirlerinin esnekliği zayıflamıştır. Hidrojen bağının kaybı ve hidrofobik kuvvetin artması, molekül zincirlerinin daha küçük gözenek boyutuna sahip filmler oluşturmak üzere bir araya toplanmasını daha mümkün kılmıştır. Şekil 2 ve Şekil 3'te görüldüğü gibi filmlerin yüzeyi gözenekli yapıya sahiptir, bu da filmlerin ilaç yükleme ve salım için potansiyel bir uygulamaya sahip olduğunu gösterir [14].



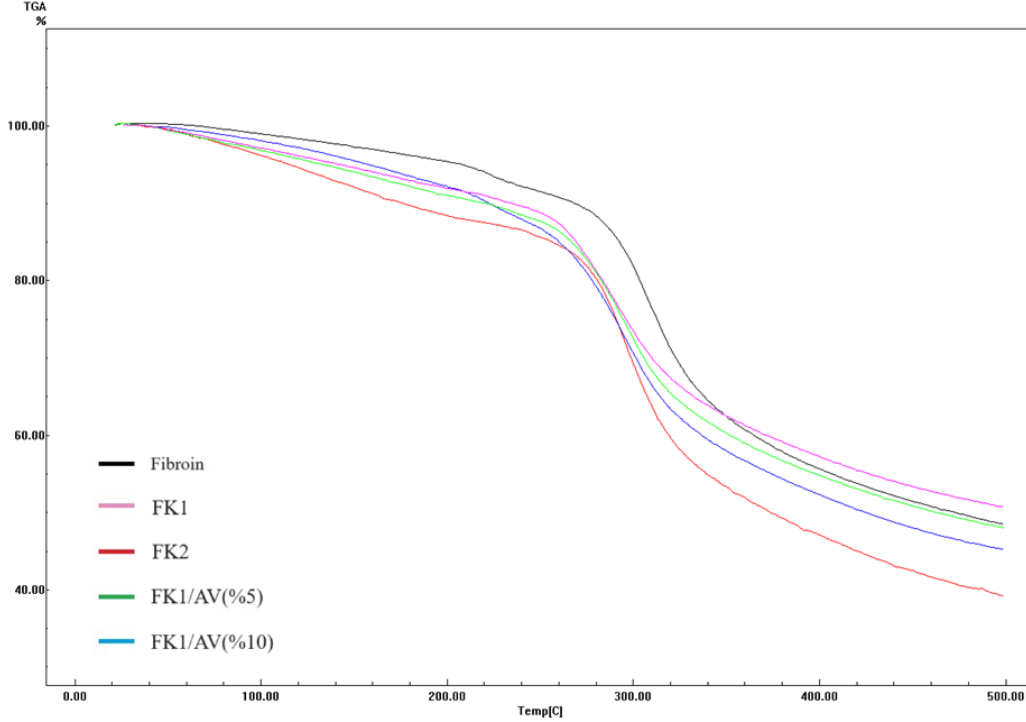
Şekil 2. FK1 filminin a) 2500x, b) 5000x, c)10000x büyütme oranlarındaki SEM görüntüleri.



Şekil 3. FK2 filminin a) 2500x, b)5000x, c)10000x büyütme oranlarındaki SEM görüntüleri.

3.3. Termal Karakterizasyon

Hazırlanan kompozitlerin TGA eğrileri Şekil 4'te verilmiştir. Her bir ölçüm için numune miktarı yaklaşık 2 mg olup, ölçümlerin tamamı azot atmosferi altında gaz akışıyla ve 10 °C/dk ısıtma hızında 500 °C'ye kadar ısıtılarak yapılmıştır. Toplanan veriler ağırlık kaybı (%) ve sıcaklık (25–500 °C) olarak ifade edilir. 120 °C'nin altındaki tüm termogramlardaki ilk ağırlık kayıpları, adsorbe edilmiş ve bağlı suyun buharlaşmasına bağlanabilir. TGA eğrilerinde 240–500 °C aralığındaki ağırlık kaybı, organik makromoleküllerin termal ayrışmasına atfedilebilir. Tüm numuneler için eğriler iki bölgeye ayrılmıştır. 1. bölgede gözlenen su kaybı 100 °C civarında meydana gelmiştir. İkinci kütle kaybı büyük oranda 270–370 °C'de gerçekleşmiştir. Bu fibroindeki peptit bağlarının parçalanması ile ilişkilidir [15]. Termal ayrışma, moleküller arası etkileşimin parçalanmasından ve moleküler yapının kısmen kırılmasından kaynaklanmıştır. İpek fibroin 330 °C'de maksimum bozunma sıcaklığına sahiptir. Harmanların TGA eğrilerinde maksimum bozunma sıcaklığının saf fibroinden daha düşük olduğu görülmüştür. Bu durum kitosanı çözmek için kullanılan asetik asidin harman filminde dağıldığını ve fibroin zincirlerinin bir ön kristalleşmesini indüklediğini göstermektedir. Harman filmlerin TGA eğrileri incelendiğinde kitosan oranının daha yüksek olduğu FK2 filminin daha az artık bıraktığı gözlenmiştir. Yine FK2 filmi 300 °C civarında maksimum bozunma göstermiştir. Bu bozunma, sakarit halkalarının dehidrasyonu, asetillenmiş ve deasetillenmiş polimer birimlerinin depolimerizasyonu ve ayrışmasını içeren karmaşık bir sürece atfedilebilir [16]. Hazırlanan TGA verilerine ilişkin bilgiler Tablo 1'de verilmiştir. Aloe vera katkısının filmlerin başlangıç bozunma sıcaklığını arttırdığı ve artık yüzdesini azalttığı görülmüştür. Aloe vera katkısının kitosan oranının fazla olduğu polimer filmlerinin termal kararlılığına katkı sağladığı söylenebilir [17].



Şekil 4. Fibroin, FK1, FK2 and FK1/AV(%5) filmlerine ait TGA eğrileri.

Tablo 1. Filmlerin termal özelliklerine ilişkin veriler.

Polimer	Başlangıç Bozunma Sıcaklığı (°C)	Maksimum Bozunma Sıcaklığı (°C)	% artık
Fibroin	242	317	48,3
FK1	235	332	50,8
FK2	240	343	40
FK1/AV%5	240	329	49
FK1/AV%10	242	330	47

2.4. İlaç Salım Çalışmaları

2.4.1. Harman Bileşiminin İlaç Salımına Etkisi

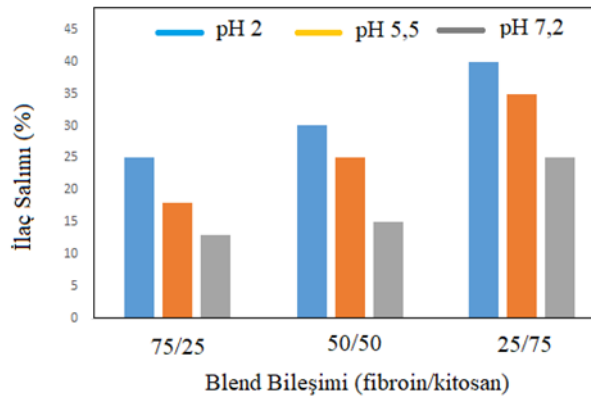
Karışım bileşiminin farklı pH'larda (pH 2,0, 5,5 ve 7,2) ilaç salımı üzerindeki etkisi Şekil 5'te gösterilmektedir. Bu çalışmada ilaç yüklü harman filmlerde %25, % 50 ve % 75 (FK1, FK2 ve FK3) ipek fibroin içerikleri kullanılmıştır. Model ilaç için maksimum ilaç salımının %75 kitosan içeriğine sahip FK3 filmde gözlemlendiği bulunmuştur. Bu, harman filmlerin şişme davranışı terimi ile açıklanabilir. Sistemlerden salınan ilaçların en yüksek miktarı model ilaç için pH 2,0'de gözlemlendiği görülmüştür. Şişme derecelerinin en yüksek değerlerinin pH 2,0'de elde edildiği ve filmlerin şişme derecelerinin, filmin pH'ı arttıkça düşme eğiliminde olduğu görülmüştür. Bu, asidik bir ortamda kitosanın amino gruplarının protonlanması, bunun sonucunda kitosan ve ipek lifi arasındaki hidrojen bağlarının kırılması ve ağır ayrışması ile açıklanabilir [18].

Tablo 2, farklı harman bileşimlerinin ilaç yüklü harman filmlerinin Denklem 1'de gösterilen formülle hesaplanan şişme derecelerini göstermektedir. Hidrojel dağıtım sistemleri için ilacın salımının hidrojelinde şişme davranışı tarafından kontrol edildiği bilinmektedir. Taşıyıcının şişmesi, polimer matris içindeki sulu çözücü içeriğini artırarak ilacın şişmiş ağıdan dış ortama yayılmasını sağlar. İlaç dağıtım cihazları olarak potansiyel bir uygulama için birkaç kitosan bazlı hidrojel araştırılmıştır, havada kurutulmuş ve dondurularak kurutulmuş kitosan/poli(vinil piroldon) hidrojellerinden amoksisilin salımlarının, hidrojellerin şişme derecesi ile ilişkili olduğunu belirtilmiştir [19]. Başka bir çalışmada bir kitosan/polieter yarı-iç içe geçen hidrojelden klorheksidin diasetat ve simetidin salımını incelemiş ve şişme dereceleri ne kadar yüksekse, salınan ilaç miktarlarının da o kadar yüksek olduğu bulunmuştur [20]. Bu çalışmada, kitosan/ipek fibroin harman filmlerin şişmesi, kitosan ve ipek fibroin zincirleri arasındaki kitosanın amino gruplarının protonlanmasının neden olduğu ayrışma nedeniyle meydana gelebilir. Tüm harman filmlerinde şişme derecesinin en yüksek olduğu pH 2'de ilaç salımının da en yüksek oranda gerçekleştiği gözlemlenmiştir.

Harman filmler, nötr ortamda daha düşük bir şişme derecesi sergilemiştir. Bu, bu pH'ta kitosanın protonlanmış amino gruplarının sayısındaki azalmaya karşılık gelebilir. Kitosanın pKa'sı 6,3-6,5'tir, bu kitosanın asidik çözeltide protonlanma eğiliminde olduğunu gösterir. Bu nedenle pH 7,2'de filmlerin şişme dereceleri asidik çözeltideki filmlere göre daha düşük olmuştur.

Tablo 2. İlaç yüklü fibroin/ kitosan harman filmlerin şişme derecesi ve ağırlık kaybı yüzdesi.

Fibroin/kitosan oranı	Şişme Derecesi (%)			Ağırlık Kaybı (%)		
	pH 2	pH 5,5	pH 7,2	pH 2	pH 5,5	pH 7,2
25/75	714	563	171	27,22	26,23	17,6
50/50	538	427	138	18,73	17,50	18,10
75/25	493	391	117	17,08	16,43	16,83



Şekil 5. Harman bileşiminin model ilaç salımına etkisini gösteren grafik.

4. Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada doğal birer polimer olan ipek fibroin ve kitosan ile aloe vera kullanılarak çözeltiden döküm yöntemiyle hazırlanan filmlerin karakterizasyonu ve ilaç salım özelliklerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla ham ipek uygun yöntemlerle saflaştırılarak fibroin elde edilmiştir. Elde edilen saf fibroin kitosan polimeri ile farklı oranlarda karıştırılarak bir seri kompozit hazırlanmıştır. Bu kompozitlere farklı % oranlarında aloe vera katkılanarak hazırlanan filmlerin ilaç salım özellikleri pH ve kompozit bileşimine bağlı olarak incelenmiştir. Hazırlanan malzemelerin yapısal, ısı ve yüzey özellikleri karakterize edilmiştir.

Hazırlanan malzemelerin FTIR ile yapısal karakterizasyonu yapılmıştır. İpek fibroinin IR spektrumu incelendiğinde 1620 cm^{-1} deki amid I e ait karbonil bandı, 1510 cm^{-1} civarında ki amid II (N-H bağı) ve $1230\text{--}1440\text{ cm}^{-1}$ civarındaki amit III (C-N bağı) yapıyı karakterize etmektedir. FK1 filminin FTIR spektrumunda gözlenen sinyaller hem fibroin hemde kitosanı karakterize etmektedir. Hazırlanan filmlerin SEM görüntüleri incelendiğinde düzensiz bir gözenek yapısına sahip oldukları görülmektedir. Kitosan oranının düşük olduğu FK1 filminde gözeneklerin daha büyük olduğu görülmüştür. Filmlerin yüzeyi birbirine bağlı gözenek yapısına sahiptir (Şekil 4 ve Şekil 5), bu da filmlerin ilaç yükleme ve salım için potansiyel bir uygulamaya sahip olduğunu gösterir.

Hazırlanan filmlerin TGA ile termogravimetrik analizi yapılmış ve tüm filmlerde $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'nin altında adsorbe edilmiş ve bağlı suyun buharlaşmasına ait bir kütle kaybı gözlenmiştir. Saf ipek fibroinin $330\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de maksimum bozunma gösterdiği belirlenmiştir. Filmlerin TGA eğrileri incelendiğinde maksimum bozunma sıcaklıklarının ipek fibroinden düşük olduğu görülmüştür. Bu, kitosanı çözmek için kullanılan asetik asidin harman filminde dağıldığını ve fibroin zincirlerinin bir ön kristalleşmesini indüklediğini göstermektedir. Harman filmlerin TGA eğrileri incelendiğinde kitosan oranının daha yüksek olduğu FK2 filminin daha az artık bıraktığı gözlenmiştir. Yine FK2 filmi $300\text{ }^{\circ}\text{C}$ civarında maksimum bozunma göstermiştir. Bu bozunma, sakarit halkalarının dehidrasyonu, asetillenmiş ve deasetillenmiş polimer birimlerinin depolimerizasyonu ve ayrışmasını içeren karmaşık bir sürece atfedilebilir.

Çalışmada ilaç salımına harman bileşimi ve pH'ın etkisi incelenmiştir. İlaç yüklü harman filmlerde %25, 50 ve % 75 (FK1, FK2 ve FK3) ipek fibroin içerikleri kullanılmıştır. Model ilaç için maksimum ilaç salımının %75 kitosan içeriğine sahip FK3 filmde gözlemlendiği bulunmuştur. Bu, harman filmlerin şişme davranışı terimi ile açıklanabilir. Şişme dereceleri ne kadar yüksekse, salınan ilaç miktarlarının da o kadar yüksek olduğunu belirlenmiştir.

İlaç salımına pH etkisini incelemek için yapılan çalışmada en yüksek ilaç salımının pH 2 de gerçekleştiği belirlenmiştir. Şişme derecelerinin en yüksek değerlerinin pH 2,0'da elde edildiği ve filmlerin şişme derecelerinin, filmin pH'ı arttıkça düşme eğiliminde olduğu görülmüştür. Bu, asidik bir ortamda kitosanın amino gruplarının protonlanması, bunun sonucunda kitosan ve fibroin lifi arasındaki hidrojen bağlarının kırılması ve ağır ayrışması ile açıklanabilir. Harman filmler, nötr ortamda daha düşük bir şişme derecesi sergilemesi kitosanın protonlanmış amino gruplarının sayısındaki azalmaya karşılık gelebilir. Kitosanın pKa'sı 6,3-6,5'tir, bu kitosanın asidik çözeltide protonlanma eğiliminde olduğunu gösterir. Bu nedenle pH 7,2'de filmlerin şişme dereceleri asidik çözeltideki filmlere göre daha düşük olmuştur. Elde edilen malzemelerin ilaç salımı için uygun olduğu belirlenmiştir.

Teşekkür

Bu çalışmaya MMY.22.01 kodlu projeye destek veren Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederiz. Bu çalışmada P.D. fikir sahibidir, deneysel çalışmaları gerçekleştirdi ve makaleyi yazdı. H.Y. deneysel çalışmalara katkı sağladı.

Kaynaklar

- [1] Xing X, Han Y, Cheng H. Biomedical applications of chitosan/silk fibroin composites: A review. *Int J Biol Macromol* 2023; 240:124407.
- [2] Kaplan DL, Adams WW, Farmer B, et al. *Silk Polymers*. Mater Sci and Biotech, ACS Publications 1994; 544:2–16.
- [3] Shao Z, Vollrath F. Surprising strength of silkworm silk. *Nature* 2002; 418:741.
- [4] Rinaudo M. Chitin and chitosan: properties and applications. *Prog Polym Sci* 2006; 31(7):603-32.
- [5] Gallo M, Naviglio D, Caruso AA, Ferrara L. Applications of chitosan as a functional food. In *Novel approaches of nanotechnology in food*. Academic Press, 2016; 425-464.
- [6] Marshall JM. Aloe vera gel: What is the evidence? *Pharma Jr*. 1990; 24:360–2.
- [7] Iarc Monographs. Aloe vera In: *Some Drugs and Herbal Products*, International Agency for research on Cancer, Lyon, France, 2016.

- [8] Jeenchan R, Suthewattananonda M, Rungchang S. Novel daily disposable therapeutic contact lenses based on chitosan and regenerated silk fibroin for the ophthalmic delivery of diclofenac sodium. *Drug Deliv* 2020; 27 (1) :782-790.
- [9] Zhou Y, Liang K, Zhao S. Photopolymerized maleilated chitosan/methacrylated silk fibroin micro/nanocomposite hydrogels as potential scaffolds for cartilage tissue engineering. *Int J Biol Macromol* 2018; 108:383-390.
- [10] Shao J, Ding Z, Li L. Improved accumulation of TGF- β by photopolymerized chitosan/silk protein bio-hydrogel matrix to improve differentiation of mesenchymal stem cells in articular cartilage tissue regeneration. *J Photochem Photobiol B* 2020; 203:111744.
- [11] Zhang H, Li LL, Dai FY, Zhang HH, Ni B, Zhou W, Yang X, Wu YZ. Preparation and characterization of silk fibroin as a biomaterial with potential for drug delivery. *J Transl Med* 2012; 10:117.
- [12] Mosselhy DA, Ge Y, Gasik M, Nordstrom K. Silica Gentamicin nanohybrids: synthesis and antimicrobial action. *Materials* 2016; 9(3):170.
- [13] Huang J, Qin J, Zhang P, Chen X, You X, Zhang F, Zuo B, Yao M. Facile preparation of a strong chitosan-silk biocomposite film. *Carbohydr Polym* 2020; 229: 115515.
- [14] Huang B, Liu M, Zhou C. Chitosan composite hydrogels reinforced with natural clay nanotubes. *Carbohydr Polym* 2017; 175: 689–698.
- [15] Çalamak S, Erdoğan C, Özalp M, Ulubayram K. Silk fibroin based antibacterial bionanotextiles as wound dressing materials. *Mater Sci Eng C*, 2014; 43: 11-20.
- [16] Kweon HY, Um IC, Park YH. Structural and thermal characteristics of *Antheraea pernyi* silk fibroin/chitosan sa film. *Polymer* 2001; 42: 6651–6656.
- [17] Iqbal DN, Munir A, Abbas M and et all. Polymeric Membranes of Chitosan/Aloe Vera Gel Fabrication With Enhanced Swelling and Antimicrobial Properties for Biomedical Applications. *Dose-Response* 2023; 21: 2.
- [18] 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. *J Chem Eng* 2015; 279(1): 250-259.
- [19] Chu HC, Chen KM. Reuse of activated sludge biomass: I. The rate processes for the adsorption of basic dye. *Process Biochem* 2002; 37: 595-600.
- [20] Koetting MC, Peters JT, Steichen SD and Peppas N A. Stimulusresponsive hydrogels: Theory, modern advances, and applications. *Mater Sci Eng: R: Reports* 2015; 93: 1-49.