

Anti-kanser ilacı 5-Fluorourasil'in bentonit yüklü kitosan/hidroksipropil metilselüloz biyonanokompozit filmlerden kontrollü salımı

Controlled release of the anti-cancer drug 5-Fluorouracil from bentonite-loaded chitosan/hydroxypropyl methylcellulose bionanocomposite films

Mürüt AKAL^{1,a}, Muhammed Emre DEMİRDERE^{1,b}, Derya ÜNLÜ*^{1,c}

¹ Bursa Teknik Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, 16310, Bursa

• Geliş tarihi / Received: 06.10.2021

• Düzeltilerek geliş tarihi / Received in revised form: 17.12.2021

• Kabul tarihi / Accepted: 16.01.2022

Öz

Kontrollü salım, geleneksel tedavinin aksine, bir maddenin bir ortamdaki derişimini belirli bir süre boyunca korumak için kademeli olarak bir sistemden serbest bırakılması anlamına gelmektedir. İlaç salım sistemlerinde ilacın hastalıklı bölgeye kontrollü bir şekilde salımı, tedavi ve toksisite açısından önem arz etmektedir. Özellikle 5-Fluorourasil (5-FU) gibi toksik özelliği fazla olan ilaçlar kontrollü ilaç salım teknolojilerinde özel yere sahiptir. Tedavinin başarılı bir şekilde yapılabilmesi için 5-FU gibi antikanser ilaçlarının olası yan etkilerini ortadan kaldırmak ve tedavi edici etkisini arttırmak için kontrollü ilaç salım sistemlerinin geliştirilmesi önem kazanmaktadır. Bu çalışmanın amacı, 5-FU'ün kontrollü salımı için biyolojik olarak parçalanabilen ve biyoyumlu özgün bir biyonanokompozit film geliştirmektir. Bu amaçla bentonit yüklü kitosan hidroksipropil metilselüloz biyonanokompozit filmler çözeltiden döküm ve solvent buharlaştırma tekniği kullanılarak sentezlenmiştir. Biyonanokompozit filmlerin kimyasal bağ yapısı, bentonit ilavesinin yapıdaki amin ve hidroksil gruplarına etkisi Fourier dönüşümlü kızılötesi ile belirlenmiştir. Polimerlerin ve bentonitin morfolojik özellikleri ve uyumluluğu, taramalı elektron mikroskobu kullanılarak karakterize edilmiştir. Biyonanokompozit filmlerin sorpsiyon derecesi şişme testleri ile değerlendirilmiştir. Nanokompozit filmdeki bentonit içeriğinin %5'ten %25'e artması ile sorpsiyon derecesi %2.99'dan % 65.05'e artmıştır. Ayrıca sentezlenen biyonanokompozit filmlere bentonit ilavesinin ve pH'ın 5-FU'ün yüklenmesi ve enkapsülasyon verimliliği üzerindeki etkileri araştırılmıştır. 5-FU yüklenen nanokompozit filmlerden ilacın kontrollü salım çalışmaları yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar, nanokompozit ilaç taşıyıcı filmlerde bentonit kullanımının kapsülleme verimliliğini ve salım özelliklerini geliştirdiğini göstermiştir. %5 bentonit yüklü filmde dört günün sonunda pH=7.4'te %40.12 salım değeri elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Bentonit, Fluorourasil, Hidroksipropil metilselüloz, İlaç salımı, Kitosan, Nanokompozit film

Abstract

Controlled release, on the contrary traditional treatment, means the gradual release of a substance from a system in order to maintain its concentration in a medium over a period of time. In drug release systems, the controlled release of the drug to the diseased area has importance in terms of treatment and toxicity. Especially drugs with high toxic properties such as 5-Fluorouracil (5-FU) have an important place in controlled drug release technology. In order to complete the treatment successfully, it is important to develop controlled drug release systems to eliminate the possible side effects of anticancer drugs such as 5-FU and to increase the therapeutic effect. The aim of this study is to develop a unique biodegradable and biocompatible bionanocomposite film for the controlled release of 5-FU. For this purpose, bentonite loaded chitosan hydroxypropyl methylcellulose bionanocomposite films were synthesized using solution casting and solvent evaporation techniques. The chemical bond structure of the bionanocomposite films and the effect of bentonite addition on the amine and hydroxyl groups in the structure were determined by Fourier transform infrared. Morphological properties and compatibility of polymers and bentonite were characterized by using scanning electron microscopy. The degree of sorption of the bionanocomposite films was evaluated by swelling tests. As the bentonite content in the nanocomposite film increased from 5% to 25%, the sorption degree of film increased from 2.99% to 65.05%. In addition, the effects of bentonite addition of the synthesized bionanocomposite films and pH of medium on the 5-FU loading and encapsulation efficiency were investigated. Controlled release studies were carried out by using 5-FU loaded nanocomposite films. The obtained results showed that the usage of bentonite in nanocomposite drug carrier films were improved the release properties. After four days, a release value was obtained as 40.12% at pH=7.4 in the 5 wt. % bentonite loaded films.

Keywords: Bentonite, Fluorouracil, Hydroxypropyl methylcellulose, Drug release, Chitosan, Nanocomposite film

*a Derya ÜNLÜ; derya.unlu@btu.edu.tr, Tel: (0224) 3003828, orcid.org/0000-0001-5240-5876

^b orcid.org/0000-0002-2825-0226

^c orcid.org/0000-0002-1983-2697

1. Giriş

1. Introduction

İlaç alanında yapılan araştırmaların asıl amacı tedavi edici yeni ilaç molekülleri geliştirmektir. Ancak bu araştırmaların uzun süreli olması, sonuçlanmasının uzun zaman alması, yüksek maliyetli olması ve her zaman istenilen sonuca ulaşılmaması gibi sorunlar araştırmacıları farklı alanlara yönlendirmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalar çoğunlukla hastanın tedavisi sırasında yaşam kalitesini artırmak, kullanılan ilaç dozunu azaltmak, verilen ilacın doz aralığını arttırmak, hasta için yan ve zararlı etkileri ortadan kaldırmak ve ilacı hedef bölgeye göndermeye yönelik olmuştur. Bu beklentilere en iyi yanıt veren en yeni sistem "kontrollü salım sistemleri"dir.

Kontrollü ilaç salım sistemlerinde kullanılacak olan polimerin doğru seçilmesi gerekir. Seçilen malzemenin belirli bir ilaç etken maddesi için istenen salım hızını sağlayacak özellikte olması, biyoyumlu ve biyobozunur polimerler kullanılıyorsa salım bitince cerrahi işlem görmeden vücuttan atılması gerekir. Önerilen bu projede de doğal polimerler kitosan ve hidrokspipril metil selüloz tercih edilmiştir.

Kitosan, (1-4) -2-asetamido-2-deoksi-b-D-glukan (Nasetil D-glukozamin) ve (1-4) -2-amino-2-deoksi-b-D-glukan (D- glukozamin) birimlerinin birleşmesi ile oluşan doğrusal bir polisakarittir. Doğal bir polimer olan kitinin deasetilasyonu ile elde edilir. Kitosan; doğal, toksik olmayan, biyoyumlu, biyobozunur, yüksek moleküler ağırlıklı, polikationik bir polimerdir. Çok fonksiyonlu bir polimer olarak bilinir. Mukozaya yapışması, yara iyileştirme yeteneği ve ilaç salımı yeteneği gibi çeşitli özelliklere sahiptir. İlaç endüstrisinde kapsamlı bir şekilde incelenmiştir (Justin & Chen, 2014; Reddy vd., 2016; Shu & Zhu, 2002).

Hidrokspipril metilselüloz (HPMC), kontrollü ilaç salım sistemlerinin hazırlanmasında kullanılan en önemli hidrofilik taşıyıcı malzemelerden biridir. En önemli özelliklerinden biri, bir ilacın salım kinetiği üzerinde önemli bir etkiye sahip olan yüksek şişebilirliktir. Su veya biyolojik sıvı ile temas ettiğinde, hacim genişlemesi, polimer zincirinin gevşemesi ile sonuçlanır. Daha sonra, yapıdaki ilaç sistemden yayılır. Ayrıca yüksek şişme derecesinin yanında yüksek yüzey aktiviteside ilaç yüklemeye özelliğini iyileştirmektedir (Siepmann & Peppas, 2012; Pingpong vd., 2018).

Ana bileşen olarak montmorillonit (MMT) içeren doğal bir silikat mineral olan bentonit, katmanlı yapısı ile karakterize edilir. Bentonit yüksek şişme oranına, yüksek adsorpsiyon ve katyonik değişim kapasitesine ve ilaç taşıma kabiliyetine sahip doğal bir kil mineralidir (Sakr vd., 2020). Farmakolojik olarak bentonit, sulu alümina silikat kimyasal bileşimli koloidal doğal bir malzemedir. Yüksek erişebilirlik, düşük maliyet, gelecek vaat eden reolojik özellikler, biyolojik uyumluluk, toksik olmayan yapısı, yüksek adsorpsiyon ve absorpsiyon kapasiteleri, yüksek yüzey alanı ve mükemmel reaktivite gibi yüksek teknik özelliklere sahiptir (Abukhadra vd., 2020). Birçok çalışma, bentonit kullanımı ile elde edilen nanokompozitlerin daha yüksek mekanik ve termal özelliklere sahip olduğunu ve ilaç taşıyıcıları olarak kullanıldığında ilaç enkapsülasyon verimliliğini ve sürekli salım özelliklerini geliştirdiğini ortaya koymuştur (Zhang vd., 2020).

Bu çalışmada kitosan/hidrokspipril metil selüloz/bentonit biyanokompozitleri ilaç salımı için ilk kez bir arada kullanılmıştır. Sentezlenen bu biyanokompozit filmler, 5-Fluorourasil kemoterapi ilacının salımında kullanılmıştır.

Son çalışmalar, biyolojik patojenlerin, bulaşıcı ve bulaşıcı olmayan hastalıkların tedavisinin büyük ölçüde iyileştirildiğini, ancak kanserin tedavisinin nispeten az gelişmiş durumda olduğunu göstermektedir. Dünya Sağlık Örgütü tarafından 2014 yılında yayınlanan Dünya Kanser Raporu, 2012 yılında dünya çapında on dört milyon kişiye kanser teşhisi konulduğunu ve bu sayının 2035 yılına kadar yirmi dört milyona çıkacağını belirtmektedir. Anti-kanser ilaçlarının araştırılması ve geliştirilmesi, kanser tedavisinde hayati bir rol oynamaktadır. Ancak kanser önleyici ilaçların doku ve hücreler üzerindeki yan etkileri nedeniyle antikanser ilaçların gelişimi son derece sınırlı kalmıştır. Pek çok ilaç, tümör bölgelerinde önemli ölçüde iyileştirici bir etkinlik göstermeyerek başarısız olmuştur. Tümör hücrelerini hedeflemek ve ilaçları tümör ortamına salmak için etkili ilaç yüklemesine sahip bir ilaç salım sistemi geliştirmek bu noktada önemlidir (Wang vd., 2018).

5-Fluorourasil, kolorektal kanser, mide kanseri, meme kanseri, beyin tümörü, karaciğer kanseri, pankreas kanserleri ve akciğer kanserinin tedavisi için kullanılabilen etkili bir kemoterapi ilacıdır. 5-Fluorourasil, DNA replikasyonunda deoksiribonükleotidler için gerekli olantimidilat sentaz aktivitesini kısıtlayarak timidinin tükenmesine, ardından deoksiüridin trifosfatın

DNA'ya dahil olarak hücre ölümüne neden olan bir pirimidin türevidir. Bununla birlikte, 5-Fluorourasilin hızlı metabolizmaya bağlı kısa biyolojik yarılanma ömrü, dihidropirimidin dehidrojenazın metabolizmasına bağlı olarak homojen olmayan ve eksik oral absorpsiyon, kemik iliği ve gastrointestinal sistem üzerindeki toksik yan etkileri ve sağlıklı hücrelere karşı seçici olmayan etki gibi dezavantajları vardır. Başarılı bir kanser tedavisi için, kemik iliği üzerindeki toksik yan etkilerin üstesinden gelmek oldukça önemlidir; bu da, ilacın biyopolimerik sistemlerde kontrollü salımı ile sağlanabilir.

Literatürde 5-Fluorourasilin kontrollü salımı için çoğunlukla nanoparçacıklar, mikroküreler, miseller ve boncuklar sentezlenerek kullanılmıştır (Amini vd., 2019; Paul vd., 2000; He vd., 2020, Gu vd., 2014). Nanokompozit filmlerin kullanıldığı uygulamalar sınırlıdır (Reddy vd., 2016; Lei vd., 2010).

Bu çalışmada, 5-Fluorourasilin kontrollü salımı için biyolojik olarak parçalanabilen ve biyoyumlu özgün bir polimer kompozit geliştirmek hedeflenmiştir. Bu bağlamda hem tercih edilen biyonanokompozitlerin daha önce kullanılmamış olması hem de tercih edilen model ilacın bu filmlerden salımının incelenmemiş olması çalışmanın özgünlüğünü ortaya koymaktadır. Hazırlanan biyonanokompozit filmlerin yüzey ve kesit görüntüleri SEM analizi ile belirlenmiştir. Kitosan/Hidroksipropil Metilselüloz biyonanokompozit filmlere Bentonit ilavesinin filmlerin kimyasal bağ yapısında meydana getirdiği değişim FTIR ile karakterize edilmiştir. Bentonit Yüklü Kitosan/Hidroksipropil Metilselüloz Biyonanokompozit Filmlere ilk olarak 5-Fluorourasil yüklenmiş, ardından zamanla ilaç salımı performansı incelenmiştir.

2. Materyal ve metod

2. Material and method

2.1. Malzemeler

2.1. Materials

İlaç etken maddesi 5-Fluorourasil (98%) Abcr firmasından satın alınmıştır. Film hazırlama da kullanılan polimerlerden Kitosan Sigma Aldrich 'den, Hidroksipropilmetilselüloz Kimetsan Kimya firmalarından temin edilmiştir. Asetik asit ($\geq 99\%$) ve aseton ($\geq 99\%$) Merck'ten, çapraz bağ ajanı glutaraldehit (25%) ve pH=7.4'teki fosfat tampon çözeltisi (1.0 M) ise Sigma Aldrich 'den tedarik edilmiştir. Bentonit ise Dolsan Madencilik'ten sağlanmıştır.

2.2.

Kitosan/Hidroksipropilmetilselüloz/Bentonit nanokompozit film sentezi

2.2. Synthesis of Chitosan/Hydroxypropylmethyl cellulose/Bentonite nanocomposite film

Ağırlıkça %1 kitosan, hacimce %1 asetik asit içeren sulu çözeltide çözünmüştür. Ağırlıkça %1 Hidroksipropilmetilselüloz da bir başka kapta su içerisinde karıştırılarak bir gece çözünmeye bırakılmıştır. Hazırlanan kitosan çözeltisi hidroksipropilmetilselüloz çözeltisine 40°C'de damlatılarak eklenmiş ve karıştırılmıştır. Hazırlanan çözelti içerisine toplam polimer ağırlığının %5, %15 ve %25 oranında bentonit eklenerek homojen karışım elde edilinceye kadar karıştırılmıştır. Elde edilen film çözeltisi polimetilmetakrilat yüzeye dökülerek oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan filmin suda çözünmesini engellemek için çapraz bağlama işlemi gerçekleştirilmiştir. 2 mL çapraz bağ ajanı glutaraldehit, 2 mL katalizör görevi görecektir hidroklorik asit, hacimce %85 aseton ve %15 su içeren çapraz bağ banyosunda 3 saat bekletilerek çapraz bağlama işlemi yapılmıştır. 3 saat sonunda çapraz bağ banyosundan çıkarılan film saf su ile yıkanarak kullanıma hazır hale getirilmiştir (Calvo vd., 2018).

2.3. Karakterizasyon testleri

2.3. Characterization tests

Sentezlenen biyonanokompozit filmlerin morfolojileri Taramalı Elektron Mikroskopi ile analiz edilmiştir. Kimyasal bağ yapıları ise FTIR ile belirlenmiştir. FTIR analizi Bursa Teknik Üniversitesi Kimya Bölümü'ndeki Perkin Elmer-Spectrum Two marka cihaz ile yapılmıştır. Analiz 650-4000 cm^{-1} aralığında 4 tarama yapılarak gerçekleştirilmiştir. Filmlerin SEM analizleri Carl Zeiss / Gemini 300 model mikroskop ile Bursa Teknik Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı'nda hizmet alımı ile yapılmıştır. Örnekler sıvı azot ile kırılarak hazırlanmıştır. Numuneler SEM'de incelenmeden iletkenliği sağlamak amaçlı önce karbon bant üzerine konulmuş ve altın-paladyum ile kaplanmıştır.

2.4. Şişme testleri

2.4. Swelling tests

Kuru ağırlığı tartılmış filmler fosfat tamponu (pH 7.4) içinde oda sıcaklığında 24 saat boyunca dengeye ulaşması için bırakılmıştır. Ardından filmler su tutma kapasitelerini belirlemek için suyun içerisine bırakılarak her 30 dakikada ağırlıkları ölçülüp kaydedilmiştir. Filmlerin şişme

dereceleri Eşitlik 1 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$Q = \frac{W_s - W_d}{W_d} \times 100 \quad (1)$$

W_s şişmiş filmin ağırlığını, W_d kuru filmin ağırlığını, Q ise şişme oranını göstermektedir.

2.5. 5-Fluorourasil yükleme ve enkapsülasyon verimi

2.5. 5-Fluorouracil loading and encapsulation efficiency

5-Fluorourasil filmlere şişme yöntemi ile yüklenmiştir. Filmler 5 mg 5-Fu, 8 ml aseton ve 12 ml su distile su içeren ilaç çözeltisinde oda sıcaklığında 24 saat boyunca bırakılmıştır. 24 saat sonunda film ilaç çözeltisinden alınmış ve ilaçlı çözelti UV-VIS spektrofotometre (Agilent-Cary60) ile 266 nm'de analiz edilmiştir. Böylece film içindeki 5-Fu miktarı belirlenmiştir. İlaç yükleme yapılan filmlerin enkapsülasyon verimi Eşitlik 2 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Enkapsülasyon verimi (\%)} = \frac{\% \text{ Gerçek yükleme}}{\% \text{ Teorik yükleme}} \times 100 \quad (2)$$

2.6. 5-Fluorourasil salımı

2.6. Release of 5-Fluorouracil

5-Fluorourasil yüklü filmlerden 5-Fluorourasilin kontrollü salım çalışmalarında bilinen ağırlıklarda filmler fosfat tampon çözeltisine bırakılarak ilaç salım performansı incelenmiştir. Belirli zaman aralıklarında fosfat tampon çözeltisinden numune alınıp 266 nm'de UV ile analiz edilerek absorbans değerleri kaydedilmiştir. Kaydedilen absorbans değerleri kalibrasyon grafiği kullanılarak salınan 5-Fu miktarı ile ilişkilendirilmiştir. Böylece filmlerin ilaç salım performansları belirlenmiştir.

3. Bulgular ve tartışma

3. Results and discussion

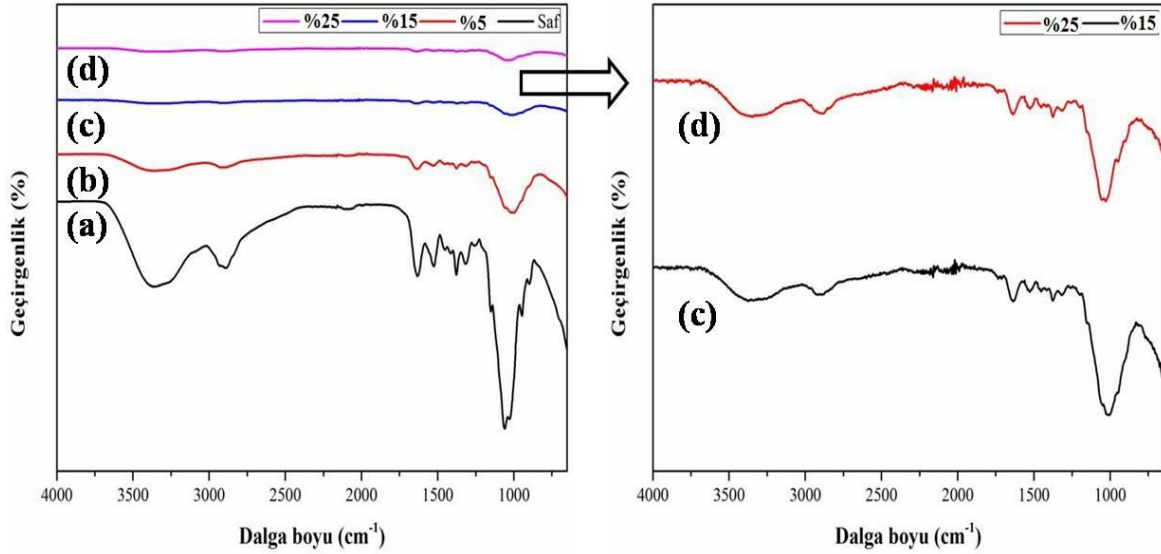
3.1. Karakterizasyon sonuçları

3.1. Characterization results

3.1.1. FTIR analizi

3.1.1. FTIR analysis

Saf kitosan/hidroksipropilmetilselüloz film ve bentonit yüklü kitosan/hidroksipropilmetilselüloz biyanokompozit filmlerin FTIR spektrası Şekil 1'de gösterilmektedir.



Şekil 1. FTIR analizi (a) Saf kitosan/hidroksipropilmetilselüloz film (b) %5 Bentonit yüklü kitosan/hidroksipropilmetilselüloz biyanokompozit film (c) %15 Bentonit yüklü kitosan/hidroksipropilmetilselüloz biyanokompozit film (d) %25 Bentonit yüklü kitosan/hidroksipropilmetilselüloz biyanokompozit film

Figure 1. FTIR analysis (a) Pristine chitosan/hydroxypropylmethylcellulose film (b) 5% Bentonite loaded chitosan/hydroxypropylmethylcellulose bionanocomposite film (c) 15% Bentonite loaded chitosan/hydroxypropylmethylcellulose bionanocomposite film (d) 25% Bentonite loaded chitosan/hydroxypropylmethylcellulose bionanocomposite film

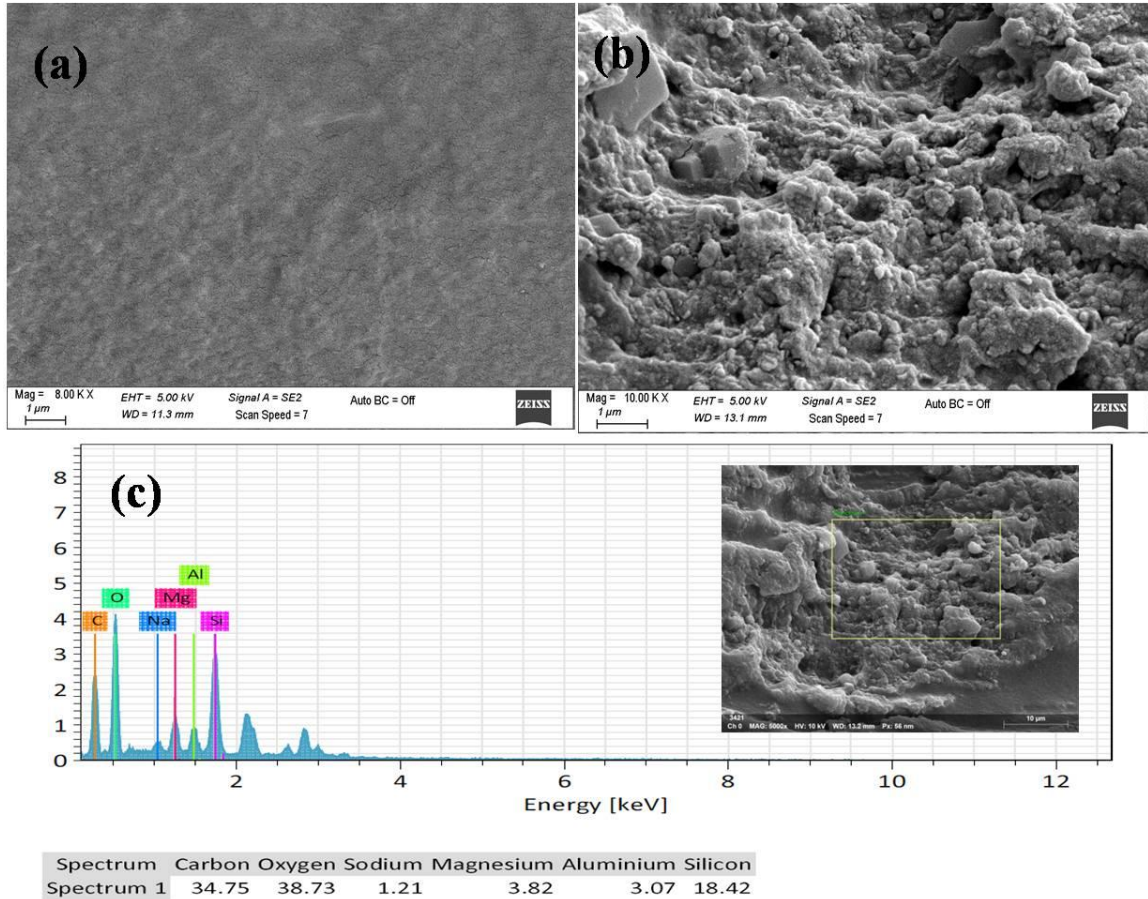
Şekil 1(a)'da 3400 cm^{-1} 'de görünen güçlü ve geniş pik, kitosan/hidroksipropilmetilselülozun O-H gruplarına karşılık gelmektedir. Kitosan/hidroksipropilmetilselülozun blend filmin sakkarit yapısının karakteristik pikleri 1650 cm^{-1} ile 1400 cm^{-1} arasında gözlenmektedir (Venkatesulu vd., 2016). 1400 cm^{-1} 'deki absorpsiyon pikleri -NH gruplarının titreşimleri ile açıklanabilir. Bentonit yüklü kitosan/hidroksipropilmetilselüloz biyanokompozit filmlerde 1700 , 990 ve 550 cm^{-1} 'de görülen pikler Si-O ve OH bağlarına atfedilir. Bentonit oranı arttıkça -OH grubu pikleri daha

düşük bir frekansa kaymıştır, bu da kil ile kitosan/hidroksipropilmetilselüloz arasında meydana gelen hidrojen bağımlı desteklemektir (Reddy vd., 2016).

3.1.2. SEM analizi

3.1.2. SEM analysis

Saf kitosan/hidroksipropilmetilselüloz film ve bentonit yüklü kitosan/hidroksipropilmetilselüloz biyanokompozit filmlerin kesit görüntüleri Şekil 2'de gösterilmektedir.



Şekil 2. (a) Saf kitosan/hidroksipropilmetilselüloz film (b) Bentonit yüklü kitosan/hidroksipropilmetilselüloz biyanokompozit film (c) Bentonit yüklü kitosan/hidroksipropilmetilselüloz biyanokompozit filmin EDS analizi

Figure 2. (a) Pristine chitosan/hydroxypropylmethylcellulose film (b) Bentonite loaded chitosan/hydroxypropylmethylcellulose bionanocomposite film (c) EDS analysis of bentonite loaded chitosan/hydroxypropylmethylcellulose bionanocomposite film

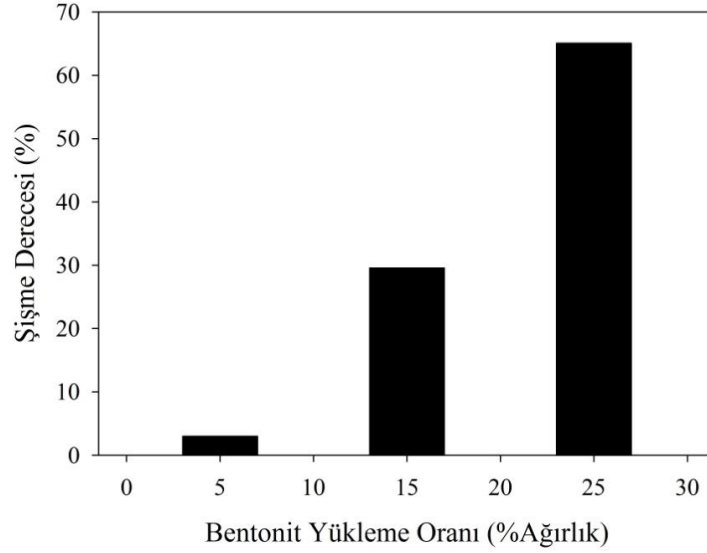
Saf kitosan/hidroksipropilmetilselüloz filmlerin kesit görüntüsüne bakıldığında iki polimerinde çok iyi karıştığını, faz ayırımı gözlenmediğini ve homojen bir yapı sergilediği görülmüştür (Şekil 2a). Bentonit yüklü kitosan/hidroksipropilmetilselüloz biyanokompozit filmlerin kesit görüntüsüne bakıldığında ise iki polimer karışımı arasında bentonitlerin varlığı açıkça görülmektedir (Şekil

2b). İki farklı polimer yapısı arasında bentonitler yerleşmiştir. Ayrıca polimerik film içerisindeki bentonitin varlığı SEM-EDS analizi ile doğrulanmıştır. Bentonitin yapısındaki elementler Al, Mg, Na ve Si, SEM-EDS analizinde görülmüştür (Şekil 2c).

3.2. Şişme derecesi sonuçları

3.2. Swelling degree results

Farklı oranlarda bentonit içeren kitosan/hidroksipropilmetilselüloz filmlerin sudaki şişme dereceleri Şekil 3'te verilmiştir.



Şekil 3. Şişme testi sonuçları

Figure 3. Swelling test results

Şekil 3'te bu çalışmada geliştirilen biyanokompozit filmlerin bentonit yükleme oranının bir fonksiyonu olarak şişme kapasitesini göstermektedir. Ağırlıkça %25 bentonit yüklü kitosan/hidroksipropilmetilselüloz biyanokompozit film, diğer filmlere göre en yüksek şişme kapasitesini gösterir. Bunun nedeni, kil koridorlarındaki su molekülleri ile kitosan-hidroksipropilmetilselüloz zincirlerinde bulunan –NH₂ ve –OH gruplarının elektron çifti arasındaki moleküller arası etkileşimi ile ilgili olduğu şeklinde yorumlanabilir. Bentonit miktar arttıkça hidrofilite artmış, buna bağlı olarak da sudaki şişme derecesi artış göstermiştir (Reddy vd., 2016).

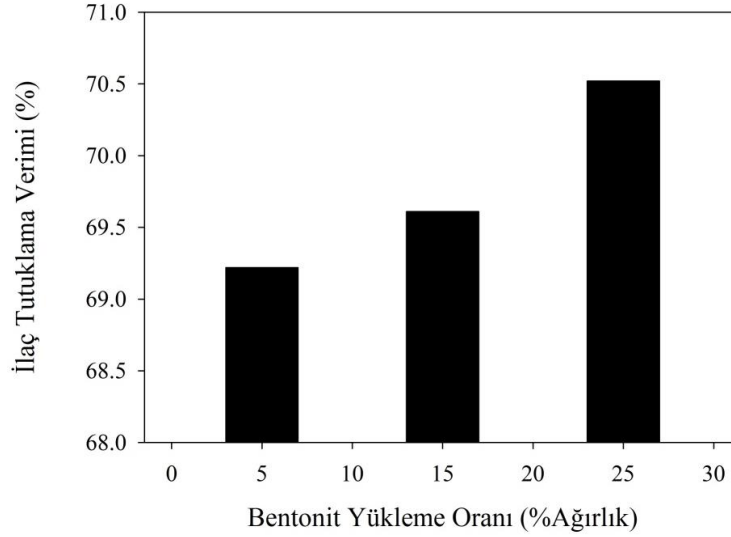
3.3. Bentonit yükleme oranının etkisi

3.3. Effect of bentonite loading ratio

3.3.1. 5-Fluorourasil yükleme ve enkapsülasyon verimi sonuçları

3.3.1. 5-Fluorouracil loading and encapsulation efficiency results

Şekil 4'te 5-Fluorourasil içeren farklı oranlarda bentonit yüklü kitosan/hidroksipropilmetilselüloz biyanokompozit filmlerin ilaç utuklama (enkapsülasyon) verimleri görülmektedir.



Şekil 4. Bentonit yüklü kitosan/hidroksipropilmetilselüloz biyanokompozit filmlerde 5-Fluorourasil yükleme verimi

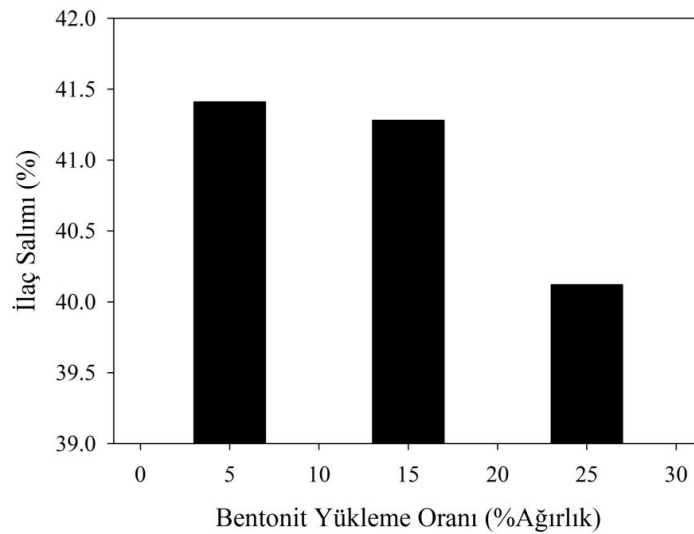
Figure 4. 5-Fluorouracil loading efficiency in bentonite loaded chitosan/hydroxypropylmethylcellulose bionanocomposite films

Bentonit içeriği ağırlıkça %5' den %25'e arttıkça ilaç tutuklama veriminin az da olsa arttığı gözlemlenmiştir. Enkapsülasyondaki bu küçük artış, 5-Fluorourasilin katyonik doğasının, (suda çözülürken $-NH$ grubu $-NH^+$ 'ya dönüşür) negatif yüklü bentonit ve kitosan-hidroksipropilmetilselüloz polimer matrisleri ile etkileşimini artırarak kapsülleme verimliliğini arttırması ile açıklanabilir (Reddy vd., 2016). Ancak ilaç yükleme oranlarındaki çok küçük farklara bakarak, filmlere yüklenen ilaç miktarının, film içerisindeki bentonit oranından bağımsız olduğu sonucuna varılabilir.

3.3.2. 5-Fluorourasil salımı

3.3.2. Release of 5-Fluorouracil

Kitosan/hidroksipropilmetilselüloz filmlerde bentonit oranının ilaç salımı üzerine etkisi incelemek için 5-Fluorourasil yüklü filmlerin ilaç salımları incelenmiştir. 5-Fluorourasil yüklü filmler pH=7.4'teki fosfat tampon çözeltisinde 4 gün boyunca karıştırılarak ilaç salım performansları 4 günün sonunda UV analizi ile belirlenmiştir. Şekil 5'te filmlerdeki bentonit içeriğine bağlı olarak ilaç salım yüzdeleri görülmektedir.



Şekil 5. Bentonit yüklü kitosan/hidroksipropilmetilselüloz biyanokompozit filmlerde 5-Fluorourasil ilaç salım performansı

Figure 5. 5-Fluorouracil drug release performance in bentonite loaded chitosan/hydroxypropylmethylcellulose bionanocomposite films

Bentonit içeriği arttıkça ilaç tutma veriminin artması, ilaç salımını da etkilemektedir. Çünkü 5-Fluorourasilin katyonik yapısı, negatif yüklü bentonit ve kitosan-hidroksipropilmetilselüloz polimer matrisleri ile etkileşimini artırarak yüksek tutma verimi sergileyerek, ilacı matris içerisinde güçlü bir şekilde tutmaktadır. Dolayısıyla ilaç salımı kil içeriğinin artmasıyla azalır. Daha yavaş bir şekilde desorbe olarak kontrollü bir salım yapmak mümkün olmaktadır. Bu da bentonit yüklü kitosan/hidroksipropilmetilselüloz filmlerin 5-Fluorourasilin kontrollü salımda kullanılabilceğini göstermektedir (Reddy vd., 2016).

3.4. pH'in etkisi

3.4. Effect of pH

Bentonit yüklü kitosan/hidroksipropilmetilselüloz biyanokompozit filmlerde en iyi salım performansı gösteren %5 bentonit yüklü film kullanılarak farklı pH değerlerinde 5-Fluorourasil yükleme ve salım deneyleri gerçekleştirilmiştir. Çalışılan pH değerleri mide sıvısına benzer pH 1.2, duodenum sıvısına benzer pH 5.5 ve son olarak bağırsak sıvısına benzer pH 7,4 fosfat tamponu ortamlarında çalışılarak ilaç salım performansları incelenmiştir.

3.4.1. 5-Fluorourasil yükleme ve enkapsülasyon verimi sonuçları

3.4.1. 5-Fluorouracil loading and encapsulation efficiency results

%5 bentonit yüklü filmlere Bölüm 2.5'te belirtildiği gibi 5-Fluorourasil yükleme işlemi gerçekleştirilmiştir. 5 mg %5 bentonit yüklü üç filme ilaç yüklemesi sonucu ilaç tutuklama verimi sonuçları Tablo 1'de verilmiştir. Filmlere sırasıyla numune-1, numune 2 ve numune 3 isimleri verilmiştir.

Tablo 1. Filmlerin enkapsülasyon verimi değerleri
Table 1. Encapsulation efficiency values of films

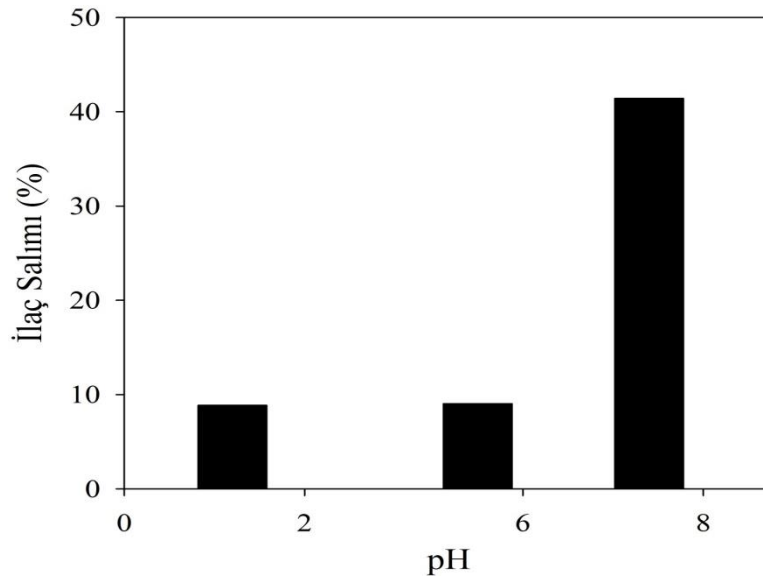
Film	Enkapsülasyon verimi (%)
Numune-1	69.61
Numune-2	70.10
Numune-3	70.64

Aynı konsantrasyondaki ilaç çözeltisi ile aynı miktarda bentonit içeren filmler temasa bırakıldığı için ilaç yükleme değerlerinin birbirine oldukça yakın olduğu görülmüştür. Bu deneysel koşulların aynı olması sebebi ile beklenen bir sonuçtur.

3.4.2. 5-Fluorourasil salımı

3.4.2. Release of 5-Fluorouracil

%5 bentonit katkılı kitosan/hidroksipropilmetilselüloz filmlerde pH'ın ilaç salımı üzerine etkisini incelemek için 5-Fluorourasil yüklenmiş filmlerin ilaç salımları incelenmiştir. 5-Fluorourasil yüklü filmler pH=1.2, pH=5.5 ve pH=7.4'teki fosfat tampon çözeltisinde 4 gün boyunca karıştırılarak ilaç salım performansları 4 günün sonunda UV analizi ile belirlenmiştir. Şekil 6'da pH'ın ilaç salımına etkisi verilmiştir.



Şekil 6. Farklı pH değerlerinde ilaç salım performansı

Figure 6. Drug release performance at different pH values

Elde edilen salım grafiklerine bakıldığında pH 1.2'de 5-fluorourasil salımın az olduğu, pH 5.5'te

salımın arttığı en yüksek salımın pH 7.4'de gerçekleştiği görülmüştür. Bunun nedeni bentonit

yüklü kitosan/hidroksipropil metil selüloz filmlerin düşük pH'larda daha az şişmesi olarak açıklanabilir. Yapıdaki bentonit ve hidroksipropil metil selüloz filmin şişmesine yüksek oranda katkı sağlar (Kulkarni vd., 2000). Ayrıca ilacın düşük pH'larda salım yüzdesinin, pH 7.4'e kıyasla önemli ölçüde azalması 5-Fu'nun asidik bir ilaç olması ile açıklanabilir. Alkali koşullar altında iyonizasyon çözünürlüğü arttırmaktadır. Ayrıca, bu durum asidik koşullar altında filmin yüzeyinde hidrasyon tabakası oluşturan kitosanın protonlanmış amino grupları ile de ilgili olabilir. Bu hidrasyon tabakasının koruyucu etkisi, ilacın filmlerden daha az salınmasına neden olduğu düşünülmektedir (Sun vd., 2017).

4. Tartışma ve sonuçlar

4. Discussion and conclusions

Bentonit yüklü kitosan/hidroksipropilmetilselüloz filmler çözültiden döküm tekniği ile hazırlanmıştır. Hazırlanan filmlerin karakterizasyon testleri sonucunda bentonitin kitosan/hidroksipropilmetilselüloz filmlere başarılı bir şekilde eklendiği sonucuna ulaşılmıştır. Bentonit yüklü kitosan/hidroksipropilmetilselüloz filmlerin ilaç yükleme verimliliği, artan kil içeriği ile artış göstermiştir. Yüksek kil içeriği, daha düşük ilaç salım hızı sergilemiştir. Ayrıca bağırsak sıvısına benzer pH 7.4 fosfat tamponu ortamlarında çalışıldığında en yüksek ilaç salım performansları elde edildiği görülmüştür. Asidik pH'larda zayıf ilaç salım özelliği sergilemiştir. Bu çalışma 5-Fluorourasil gibi biyolojik yarılanma ömrü oldukça kısa ve salımı çok hızlı olan ilaçlar için biyonompozit film geliştirmeyi amaçlamıştır. Sentezlenen bentonit yüklü kitosan/hidroksipropilmetilselüloz filmlerin 4 günün sonunda %41 oranında salım göstermesi, bu filmlerin kontrollü ilaç salımı için önemli bir alternatif olduğunu göstermiştir.

Teşekkür

Acknowledgement

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından 2209-A Üniversite Öğrencileri Araştırma Projeleri Destekleme Programı kapsamında 1919B012003589 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Yazar katkısı

Author contribution

Yazarlar çalışmaya eşit oranda katkı sağlamıştır.

Etik beyanı

Declaration of ethical code

Bu makalenin yazarları, bu çalışmada kullanılan materyal ve yöntemlerin etik kurul izni ve / veya yasal-özel izin gerektirmediğini beyan etmektedir.

Çıkar çatışması beyanı

Conflicts of interest

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

Kaynaklar

References

- Abukhadra, M.R., Mohamed, A. S., El-Sherbeeney, A. M., Nadeem, A., & Ahmad, S. F. (2020). Synthesis of exfoliate bentonite/cellulose nanocomposite as a delivery system for Oxaliplatin drug with enhanced loading and release properties; cytotoxicity and pharmacokinetic studies. *Chemical Physics Letters*, 755, 137818. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2020.137818>
- Amini-Fazl, M. S., Mohammadi, R., & Kheiri, K. (2019). 5-Fluorouracil loaded chitosan/polyacrylic acid/Fe₃O₄ magnetic nanocomposite hydrogel as a potential anticancer drug delivery system. *International Journal of Biological Macromolecules*, 132, 506–513. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.04.005>
- Calvo, N. L., Svetaz, L. A., Alvarez, V. A., Quiroga, A. D., Lamas, M. C., & Leonardi, D. (2018). Chitosan-hydroxypropyl methylcellulose tioconazole films: A promising alternative dosage form for the treatment of vaginal candidiasis. *International Journal of Pharmaceutics*, 556, 181-191. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.12.011>
- Gu, C., Le, V., Lang, M., & Liu, J. (2014). Preparation of polysaccharide derivatives chitosan-graft-poly(ϵ -caprolactone) amphiphilic copolymer micelles for 5-fluorouracil drug delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 116, 745–750. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.01.026>
- He, T., Wang, W., Chen, B., Wang, J., Liang, Q., & Chen, B. (2020). 5-Fluorouracil monodispersed chitosan microspheres: microfluidic chip fabrication with crosslinking, characterization, drug release and anticancer activity. *Carbohydrate Polymers*, 236, 116094. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116094>
- Justin, R., & Chen, B. (2014). Characterisation and drug release performance of biodegradable chitosan-graphene oxide nanocomposites. *Carbohydrate*

- Polymers*, 103, 70–80.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.12.012>
- Kulkarni, A.R., Soppimath, K.S., Aminabhavi, T., Dave, A.M., & Mehta, H.M. (2000). Glutaraldehyde crosslinked sodium alginate beads containing liquid pesticide for soil application. *Journal of Controlled Release*, 63, 97-105. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(99\)00176-5](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(99)00176-5)
- Lei, L., Liu, X., Guo, S., Tang, M., Cheng, L., & Tian, L. (2010). 5-Fluorouracil-loaded multilayered films for drug controlled releasing stent application: Drug release, microstructure, and ex vivo permeation behaviors. *Journal of Controlled Release*, 146(1), 45–53. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2010.05.017>
- McCarron, P. A., Woolfson, A. D., & Keating, S. M. (2000). Sustained Release of 5-Fluorouracil from Polymeric Nanoparticles. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 52(12), 1451–1459. <https://doi.org/10.1211/0022357001777658>
- Pingping, S., Yuying, W., Xueming, Z., Zhongya, Y., Meng, W., & Feng, Xu. (2018). Preparation of Covalently Crosslinked Sodium Alginate/Hydroxypropyl Methylcellulose pH-Sensitive Microspheres for Controlled Drug Release, *BioResources*, 13(4), 8614-8628.
- Reddy, A. B., Manjula, B., Jayaramudu, T., Sadiku, E. R., Anand Babu, P., & Periyar Selvam, S. (2016). 5-Fluorouracil Loaded Chitosan–PVA/Na+MMT Nanocomposite Films for Drug Release and Antimicrobial Activity. *Nano-Micro Letters*, 8(3), 260–269. <https://doi.org/10.1007/s40820-016-0086-4>
- Sakr, M. A., Mohamed, M.G.A., Wu, R., Shin, S.R., Kim, D., Kim, K., & Siddiqua, S. (2020). Development of bentonite-gelatin nanocomposite hybrid hydrogels for tissue engineering. *Applied Clay Science*, 199, 105860. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2020.105860>
- Shu, X.Z., & Zhu K.J. (2002). The influence of multivalent phosphate structure on the properties of ionically cross-linked chitosan films for controlled drug release. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 54(2), 0–243. [https://doi.org/10.1016/S0939-6411\(02\)00052-8](https://doi.org/10.1016/S0939-6411(02)00052-8)
- Siepmann, J., & Peppas, N.A. (2012). Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64, 163–174. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(01\)00112-0](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(01)00112-0)
- Sun, L., Chen, Y. Zhou, Y. et al. (2017). Preparation of 5-fluorouracil-loaded chitosan nanoparticles and study the sustained release in vitro and in vivo. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 12(5), 418-423. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2017.04.002>
- Wang, C., Zhang, Z., Chen, B., Gu, L., Li, Y., & Yu, S. (2018). Design and evaluation of galactosylated chitosan/graphene oxide nanoparticles as a drug delivery system. *Journal of Colloid and Interface Science*, 516, 332–341. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.01.073>
- Zhang, H., Shi, Y., Xu, X., Zhang, M., & Ma, L. (2020). Structure Regulation of Bentonite-Alginate Nanocomposites for Controlled Release of Imidacloprid. *ACS Omega*. 5(17), 10068–10076. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c00610>