

TEKNOFEST

HAVACILIK, UZAY VE TEKNOLOJİ FESTİVALİ

BİYOTEKNOLOJİ İNOVASYON YARIŞMASI PROJE DETAY RAPORU FİKİR KATEGORİSİ

PROJE ADI: İPEK KOZASI PROTEİNİ SERİSİN'İN SAĞLIK ALANINDAKİ UYGULAMALARI

TAKIM ADI: BOMBYX MORI

TAKIM ID: T3-16295-156

DANIŞMAN ADI: Yasemin KESKİN ÇİNKAYA

1. PROJE ÖZETİ (PROJE TANIMI)

İpek lifi incelendiğinde lifin iç kısmında fibroin tabakası, dış kısmında ise lifi kaplayan Serisin tabakası görülür. Ham ipek lifinin % 72-81'ni fibroin, geriye kalan % 19-28'ni ise Serisin proteini oluşturur. Serisin fibroinin çevresini saran koruyucu bir tabaka oluşturduğundan iplik yapımı, dokuma ve örme sırasında mekaniksel etkilere karşı lifi koruduğu için faydalıdır. Serisin'in zamksı özelliği fibroini sararak ipeğe dayanıklılık katsa da, etraftaki kirleticileri de yapıya bağladığından ipeğin parlaklığını azaltmaktadır. Bu sebeple Serisin, ipek üreticilerince ipektan uzaklaştırılmakta ve ipek kumaş fabrikalarının atık sularında bol miktarda bulunmaktadır. Serisin uzaklaştırma işlemine halk tarafından, zamk çıkarma işlemi de denir. Serisin miktarı azalan ipek daha yumuşak ve parlaktır ancak dayanıksızdır.

Projemizde, ipek fabrikalarının atık sularında da bol miktarda bulunan Serisin proteininin zamksı özelliğinin uygun formlarda "aparey üretimi" ve "kontrollü ilaç salınım sistemleri" olarak belirlediğimiz iki sağlık alanı uygulamasında kullanmak ve sonuçlarını değerlendirmek amaçlanmıştır. Çalışmamızın birinci aşamasında protez tamirinde (kırılma ve yamalarda) ve çocuklarda uygulanan yer tutucu apareylerin üretiminde kullanılan soğuk akriliğe, ipek kozasından izole ettiğimiz Serisin proteini belli oranlarda eklenerek aparey örnekleri hazırlanmıştır. Hazırladığımız Serisin katkılı aparey örneklerinde Mikroyapı İncelemeleri, Çizik Testi, Asit Dayanım Testi, Mikroorganizma Gelişimi Testleri oldukça başarılı sonuçlar vermiştir. Çalışmamızın ikinci aşamasında ise ilaç salınım sistemlerinde kullanılan biyouyumlu doğal polimer, belli oranlarda ve uygun formda Serisin ile kombinlenerek mikroküreler hazırlanmıştır. Serisin katkılı/katkısız mikrokürelere "Ventolin" (Ventolin: Astım hastalarının uzun süre ve düzenli olarak kullanması gereken ilaçtır) yüklenmiştir. Hazırladığımız tüm küreler birbirleriyle karşılaştırıldığında Serisinin, kürelerin dayanıklılığına, morfolojik yapısına, ilaç yükleme kapasitesine ve invitro ortam ilaç salım profiline olumlu katkı sağladığı bulgularına ulaşılmıştır. Özellikle çocuklar, yaşlılar ve alzheimer hastaları için uzun süreli kullanımı zorunlu "diyabet ilaçları, astım ilaçları, antibiyotikler" gibi ilaçları düzenli olarak günlük kullanmak ve takip etmek oldukça zordur. Önerdiğimiz sistem başka hastalıklar için de etkili ve verimli bir tedavi alternatifi oluşturarak hastanın sosyal yaşantısını da kısıtlamayacaktır şeklinde değerlendirilebilir.

Yaptığımız araştırmalarda Serisinin "ameliyat ipliği üretimi, kozmetik malzeme üretimi, yara örtüsü hazırlama" gibi çeşitli sağlık alanı uygulamalarına rastlanmıştır. Bu durum serisin proteininin insan sağlığını tehdit etmeyen özelliğini ve çalışmamıza uygunluğunu ortaya koymaktadır. Ancak çalışmamızdakine benzer, Serisinin "aparey üretimi" ve "ilaç salınım" sistemlerinde kullanımına dair herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Ayrıca önerdiğimiz sağlık uygulamalarının, kullandığımız Serisinin ipek kozasından kolay ve ekonomik biçimde izole edilebilmesi, ipek fabrikalarının atık sularında bol miktarda bulunması; hem ilaç üretim maliyetinde, hem sağlık harcamalarında hem de ilaç israfını engellemede sağlayacağı katkı düşünüldüğünde ülke ekonomisi açısından önemli olduğunu düşünüyoruz.

2. PROBLEM/SORUN:

Kontrollü Salınım Sistemleri

Astım, Alzheimer, Tip 1 diyabet, kanser tedavisi veya antibiyotik kullanımı gerektiren rahatsızlıklar uzun bir süreç içinde düzenli ilaç kullanımı gerektiren hastalıklardır. İlaç kullanımlarının sürekli takibi ve tüketimi hastaların sosyal yaşantılarını kısıtlar. Özellikle çocuklar, yaşlılar ve alzheimer hastaları için uzun süreli kullanımı zorunlu “diyabet ilaçları, astım ilaçları, antibiyotikler” gibi ilaçları düzenli olarak günlük kullanmak ve takip etmek oldukça zordur. Ayrıca antibiyotik kullanımında başlanılan ilacın tamamen bitirilmeden kullanımın kesilmesinin antibiyotik direnci oluşmasına sebep olduğu bilinmektedir.

Aparey Üretimi

Ortodontik tedavilerde kullanılan standart hareketli apareylerin aktivitelerinin geliştirilebilir olduğunu düşündüğümüz alanlar vardı.

3. ÇÖZÜM

Kontrollü İlaç Salınımı

Bu çalışmada, yukarıda belirtilen hastalıklardan astım hastalığı örneği üzerine çalışacağız. Astım hastalarının günlük olarak ilaç kullanmaları, sürekli takip gerektirmekle birlikte sosyal aktivitelerini kısıtlamaktadır. Bu çalışma, astım ilaçlarının sürekli alınması yerine, ilacın bir dozunun vücutta daha uzun süre kullanılabilir hale getirilip bu kısıtlamaları minimal düzeye indirgenmek üzere Ventolin (Ventolin, astım hastaları tarafından yaygın olarak kullanılan ilaçtır) yüklü aljinat küreler hazırlamayı ve karakterize etmeyi planladık. Ardından bu kürelerle kontrollü ilaç salınım sistemleri tasarlayarak “Dayanıklılık, Morfolojik Yapı, İlaç Yükleme Kapasitesi ve İn vitro Ortam İlaç Salım Profilleri” açısından değerlendirmeyi amaçladık.

Aparey Üretimi

Çalışmanın diğer sağlık uygulamasında ise “Soğuk akrilik damaklık (aparey) üretimi” üzerine çalışarak; protez tamirinde (kırılma ve yamalarda) ve çocuklarda uygulanan yer tutucu apareylerin üretiminde kullanılan soğuk akriliğe, ipek kozasından izole edeceğimiz serisin proteinini belli oranlarda ekleyerek aparey örnekleri hazırlamayı planladık. Hazırladığımız serisin katkılı aparey örneklerinde Mikroyapı İncelemeleri, Çizik Testi, Asit Dayanım Testi ve Mikroorganizma Gelişimi Testleri’ni uygulamayı ve sonuçlarını değerlendirmeyi amaçladık.



4. YÖNTEM

Çalışmaya ipek kozalarından Serisin'i elde ederek başlanır. Bunun için öncelikle ipek kozalarını içlerindeki ipek böceklerinden arındırılarak alkali banyolarda serisin izole işlemi gerçekleştirilir. Ardından izole edilen süspansiyon halindeki Serisin etüvde kurutularak toz haline getirilir.



İlaç Taşıma Sistemleri

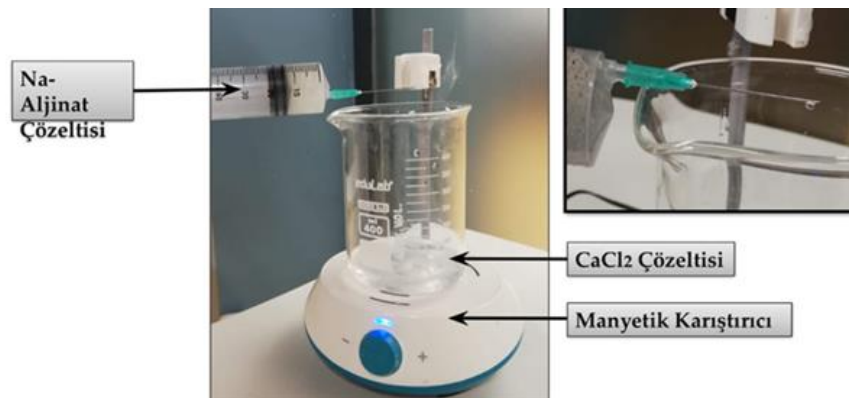
Mikrokürelere, çapları birkaç mikrondan birkaç yüz mikrona kadar değişebilen mikro taşıyıcılardır. Mikrokürelere ilaç sistemlerinde kullanılmasının nedeni etkin maddeyi kontrollü bir şekilde salması, etkin maddenin yapı ve aktivitesini bozmamasından kaynaklanmaktadır.

Çalışmamızda mikroküre hazırlanmasında kahverengi su yosunlarının hücre duvarlarında bulunan şeker türevi bir doğal polimer olan **Aljinat** kullanılmıştır.

Aljinat biyouyumlu, biyoparçalanabilir, emici özelliğinin yüksek olması, hidrofilik özelliği, karboksilik grup içermesi çevreci, ucuz olması ve toksik olmaması nedeniyle mikroküre yapımında sıklıkla kullanılan doğal polimerlerdendir.

İki molekül Aljinat tek bir Ca^{+2} iyonu ile birleştiğinde Ca-Aljinat tuzu oluşur. Aljinat iyon transferi özelliğine sahiptir. Ca-Aljinat doku ile temas ettiğinde Ca iyonu Na iyonu ile yer değiştirir. Böylece dokuya Ca iyonu, Aljinat liflerine de Na iyonu taşınmış olur. Na iyonu ile birleşen lifler jel oluşturur.

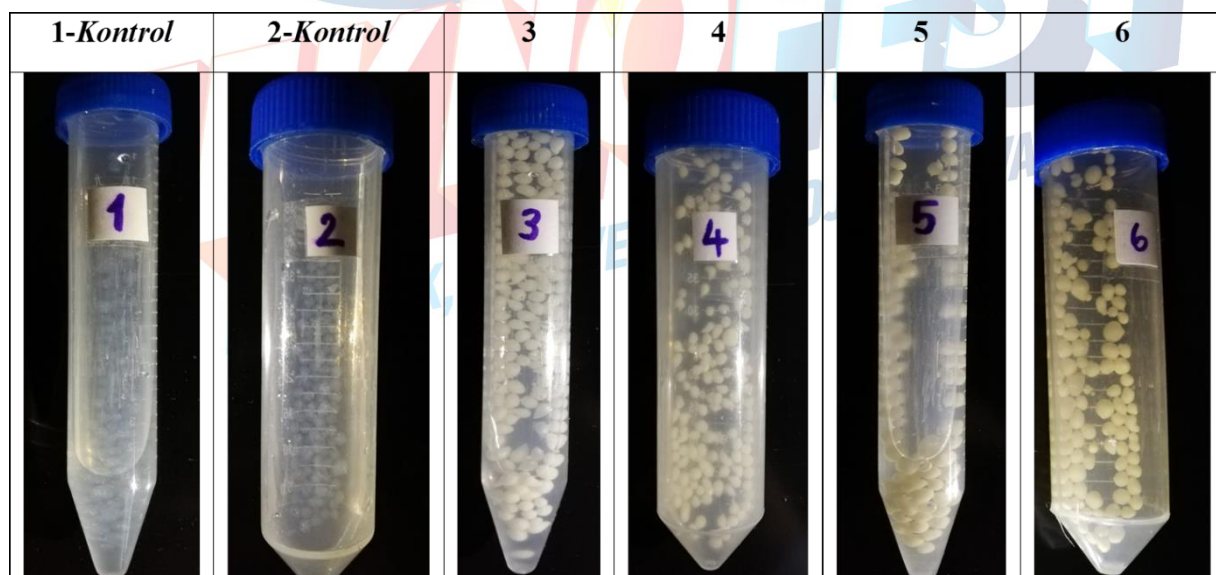
Küreler hazırlamak amacıyla 2,5g Sodyum Aljinat 100 mL deiyonize su içerisinde çözüldükten sonra elde edilen jelimsi yapı oda sıcaklığında 2000 rpm'de manyetik karıştırıcıda yaklaşık 20 dk. karıştırılır. Daha sonra karıştırıcı vaziyetteki 100'er ml %1'lik ve %2'lik (a/h) $CaCl_2$ çözeltilerine bir mikropipet (1000 μ l) ya da şırınga vasıtasıyla Sodyum Aljinat karışımı damla damla eklenir ve küreler sentezlenmeye başlanır. Oluşan küreler 3 kez saf su ile yıkanarak karışımdan ayrılır ve karakterize edilir.



ÖRNEK	Na-Aljinat JEL YAPININ HAZIRLANMASI	Çapraz Bağlayıcı CaCl ₂ Çözeltisinin Hazırlanması
1 Kontrol	2,5 g toz Na-Aljinat, 100ml saf su kullanılarak jel yapı hazırlanır	% 1'lik CaCl ₂ çözeltisi
2 Kontrol	2,5 g toz Na-Aljinat, 100ml saf su kullanılarak jel yapı hazırlanır	% 2'lik CaCl ₂ çözeltisi
3	2,5 g toz Na-Aljinat, 50ml Serisin çözeltisi + 50ml saf su kullanılarak jel yapı hazırlanır	% 1'lik CaCl ₂ çözeltisi
4	2,5 g toz Na-Aljinat 50ml Serisin çözeltisi + 50ml saf su kullanılarak jel yapı hazırlanır	% 2'lik CaCl ₂ çözeltisi
5	2,5 g toz Na-Aljinat 100ml Serisin çözeltisi kullanılarak jel yapı hazırlanır	% 1'lik CaCl ₂ çözeltisi
6	2,5 g toz Na-Aljinat 100ml Serisin çözeltisi kullanılarak jel yapı hazırlanır	% 2'lik CaCl ₂ çözeltisi

Tablo.1 Çalışmamızda farklı derişimlerde Serisin içeren ve farklı derişimlerde CaCl₂ kullanılarak hazırlanan Aljinat küreler

Aljinat küreler jelasyon, süspansiyon çapraz bağlama yöntemi ile hazırlanır. Tablo.1'de yer alan, farklı derişimlerde Serisin ve CaCl₂ kullanılarak Aljinat küreler hazırlanır.



%2,5'lik Aljinat çözeltisi kullanılarak hazırlanan kürelerin yapısı, boyutu, ve dayanıklılığı incelendiğinde 2. ve 4. örneklerde en başarılı sonuçlar alınmıştır. Bu örneklerin hazırlanma sürecinde zorluk yaşanmamıştır, kürelerin boyutu ve şekli oldukça düzgündür. 5. ve 6. örneklerde ise Serisin miktarı arttıkça şırıngadan damlatma sürecinin zorlaşması sebebiyle kürelerin yapısının bozulduğu görülmüştür. Bu nedenle bir sonraki aşama olan ilaç yükleme ve ilaç salım işlemlerinde 2.ve 4.örneklerle çalışmalara devam edilecektir.

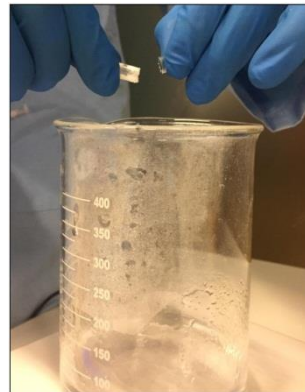
Ventolin'in ilaç etken maddesi Salbutamol'dür. Salbutamol solunum yollarındaki kasları gevşeterek çalışır. Selektif bir beta-2-agonisti olan Salbutamol astım krizlerinin tedavisi ve önlenmesi için kullanılır. Salbutamol'ün çoğu hastalarda etki süresi 4-6 saattir. Yetişkinlerde genel etkili doz günde üç veya dört kez 4mg'dır. Etki süresi kısa olduğundan kontrollü salım sistemleri geliştirilmesi düşünülmüştür.

Havan içerisinde iyice dövülüp toz haline getirilen 2 mg Ventolin, Aljinat tozuna eklenerek 2.ve 4.örnekler aynı prosedürle küre formunda hazırlanmıştır.

Kürelerde safsızlıkları uzaklaştırmak için küreler 3 kez saf su ile yıkanır, süzülür ve kurutulur. Ventolin yüklü mikroküreler alınıp beher içerisine 15 ml fosfat tamponu ile yerleştirilir. Fosfat Tamponu in-vitro salımın sağlanabilmesi için pH'yı ayarlar, vücutta salımın kanda gerçekleşeceği düşünüldüğünde in-vitro ortamın pH'sı kaninkine yakın değilse etkin salım gerçekleşmeyecek ve salım sonuçları anlamlı olmayacaktır. İlaç derişimlerini belirlemek üzere UV spektrofotometre(311 nm) kullanılarak absorbanlar okunmuştur.

Kürelerin dayanıklı, boyutunun küçük, sayısının ise fazla olması istenen bir durumdur. Böylece yapısına daha çok ilacı hapsedecek, dayanıklı olduğundan vücutta biyobozunum süreci uzayacak ve kullanım ömrünün artacağı düşünülebilir. Bu özellikteki kürelere ilaç yüklemesi yapıldığında uzun süreli kullanımı gerekli ilaçlar için uygunluğu da artacaktır şeklinde değerlendirilebilir.

Hazırlanan Aljinat mikrotasıyıcılara etken madde yükleme oranı 2mg'dır. Yaklaşık olarak 1 hafta zarfında başlangıçta ortama konulan etken maddenin % 25'i kadarının salımının ideal olduğu varsayılmaktadır. İn-vitro ortam salım çalışmasında ilaç derişimlerini belirlemek üzere UV spektrofotometre(311 nm) kullanılarak absorbanlar okunmuştur. Grafik.1 incelendiğinde Serisin katkılı 4.örnekte ilacın difüzyon kontrollü olarak ortamdan yavaş yavaş salındığı gözlenmekte ve istenilen kontrollü salım sisteminin oluşturulduğu gözlenmektedir.






Aparey Üretimi

Öncelikle 21g Polimetilmetakrilat (akrilik) ve 10g Metilmetakrilat (likit) karıştırılır. (Serisinli örneklerde 0.1g ve 0.2g Serisin eklenir). Karışım hazır olduğunda kalıplara dökülür ve yaklaşık 10 dakika oda sıcaklığında kuruması ve polimerize işleminin son bulması beklenir.



Çalışmamızda Tablo.2’de bileşimleri ve görselleri verilen 3 çeşit damaklık (Aparey) üretilmiştir. Aparey örneklerine uygulanacak testler için her örnekten altışar adet hazırlanmıştır. Kontrol grubunda yer alan örnekler, literatürde yer alan standartlara göre hazırlanmıştır.

	KONTROL	1.ÖRNEK	2.ÖRNEK
Açıklama	Standart Aparey	0,1g Serisin katkılı Aparey	0,2g Serisin katkılı Aparey
Bileşimi & Hazırlanması	-21g Akrilik -10g Likit	-21g Akrilik -10g Likit -0.1g Serisin	-21g Akrilik -10g Likit -0.2g Serisin
Görseli			

Tablo.2 Çalışmamızda hazırlanan aparey örnekleri

Çalışmamızda hazırladığımız Serisin katkılı ve katkısız soğuk akrilik damaklık örneklerine Tablo.2’de açıklamaları yer alan “*Mikroyapı İncelemeleri, Çizik Testi, Asit Dayanım Testi, Mikroorganizma Gelişimi*” testler uygulanmıştır.

Asit Dayanım Testi: Karbonik asit, karbondioksitin sulu çözeltisi olan zayıf asittir. Gazlı içeceklerin içerisinde bulunan asitlerden biridir (fosforik asit, sitrik asidi gibi). Bu asitlerin dişlere, diş minelerine, diş protezlerine ve dolgularına çok büyük zarar verdiği bilinmektedir. Aparey örnekleri 1 hafta boyunca eşit



derişimli karbonik asit çözeltilerinde bekletilmiş ve yüzeylerinde gerçekleşen değişimler ve bozulmalar kaydedilmiştir. **Serisin katkılı örneklerde asitle etkileştiğinde, yüzeysel bozulmasının/yıpranmasının oldukça az olduğu gözlenmiştir. Bunun sebebi serisinin standart diş malzemelerine kıyasla daha az bazik özellikte olması ve asit çözeltisinden daha az etkilenmesidir şeklinde değerlendirilebilir.**

Çizik Testi: Bu testle hazırladığımız örneklerin fiziksel dayanımı test edilip, bulgular değerlendirilmiştir. Hazırlanan apareylerde çizilme, mikroorganizma oluşumuna sebep vereceğinden istenmeyen bir durumdur. Bu testte de serisin katkılı örnekler daha başarılı sonuçlar vermiştir. **Bu durum serisin katkılı örneklerin, ağızda kullanımı esnasından çizik oluşumunun minimum düzeyde olacağı ve bunun sonucu mikroorganizma oluşumunun minimum düzeyde gerçekleşeceği şeklinde değerlendirme yapılabilir.**



Mikroorganizma Gelişimi: Hazırladığımız 3 çeşit aparey örneğinde mikroorganizma üreme miktarlarını gözlemek amacıyla 'Nutrient Agarlı besiyeri' ve 'Stafilokok Epidermis' bakterisi kullanılmıştır. **Serisin miktarının artmasıyla örneklerimizde mikroorganizma oluşumunun azaldığını gözlemledik. Bunun sebebinin de serisinin tıp alanında ameliyat ipliği üretimi ve yara örtüsü yapımında kullanımı olmasına bağlayabiliriz.**



Mikrovapı İncelemeleri: Optik mikroskop görüntüleri incelendiğinde Serisin katkılı aparey örneklerinin yüzeylerinin oldukça pürüzsüz ve mikro gözenekli olduğu görülmüştür.

Önerdiğimiz Serisin katkılı aparey örnekleri mikroyapısal özellikleri bakımından ağız içi uygulamaları için oldukça uygun ve sağlıklıdır şeklinde değerlendirme yapılabilir.

5. YENİLİKÇİ (İNOVATİF) YÖNÜ

Yaptığımız araştırmalarda serisinin “ameliyat ipliği üretimi, kozmetik malzeme üretimi, yara örtüsü hazırlama” gibi çeşitli sağlık alanı uygulamalarına rastlanmıştır. Bu durum serisin proteinin insan sağlığını tehdit etmeyen özelliğini ve çalışmamıza uygunluğunu ortaya koymaktadır. Ancak literatür taramamızda çalışmamızdakine benzer, serisinin “Aparey Üretimi” ve “Kontrollü İlaç Salınım Sistemlerinde kullanımına dair herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Önerdiğimiz sağlık uygulamalarının, kullandığımız serisinin ipek kozasından kolay bir biçimde izole edilebilmesi, hatta ipek fabrikalarının atık sularında bol miktarda serisinin bulunması; hem ilaç üretim maliyetinde, hem sağlık harcamalarında hem de ilaç israfını engellemede sağlayacağı katkı düşünüldüğünde ülke ekonomisi açısından da önemli olduğunu düşünüyoruz.

Son olarak atık bir maddenin kullanılması sonucu ekonomik ve çevreci olması özellikleriyle değerli bir alternatif olacağı söylenebilir.

6. UYGULANABİLİRLİK

Proje fikrinizin hayata nasıl geçirileceği hakkında bilgi veriniz. Mevcut şartlar altında projenizin ticari bir ürüne dönüştürülebilir olup olmadığı hakkında bilgi verilmelidir. Uygulanabilirliğinde mevcut riskler nelerdir belirtiniz.

7.PROJE FİKRİNİN HEDEF KİTLESİ (KULLANICILAR):

Çocuklar, yaşlılar ve alzheimer hastaları gibi uzun süreli ve günlük takip gerektiren ilaçları kullanmakta zorluk yaşayan insanlar ile ortodontik problemi olup aparey(damaklık) kullanan kişiler için.

8. PROJE EKİBİ

Proje Yöneticisi: **Yasemin KESKİN ÇİNKAYA**

Takım Lideri: **Dila ÇELİK**

Ekip Üyeleri: **Dila ÇELİK & Irmak GENÇ**

OKUL: **Ankara Özel Çankaya Bahçeşehir Koleji 50. Yıl Kampüsü Anadolu Lisesi (10. Sınıf**

9. KAYNAKLAR

- [1]. Namırtı O. ve Atav R.; İpek Liflerinin Dünü ve Bugünü Namık Kemal Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Tekstil Mühendisliği Bölümü, Çorlu, Tekirdağ, Türkiye.
- [2]. <http://www.kozabirlik.com.tr/component/k2/item/137-tirtildan-kelebege.html>
- [3]. Duran K., Özdemir D. ve Namlıgöz E.S.; İpek Liflerindeki Serisinin Enzimatik Olarak Uzaklaştırılması. Ege Ü. Tekstil Mühendisliği Bölümü ve Tübitak Tekstil Araştırma Merkezi.
- [4]. <http://www.febsbiyoteknoloji.com/ipek-proteini.php>
- [5]. Ömer Aktürk, Zehra Gün Gök, Taylan Memik Daş, Özge Erdemli, Serisin Kaplı Altın Nanoparçacık Sentezlenmesi Ve Karakterizasyonu ,Gazi Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi, (2018)
- [6]. Namırtı O. Ve Atav R.; İpek Liflerinin Dünü ve Bugünü, Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi Journal of Engineering Science and Design Cilt:1 Sayı:3 s.112-119, 2011 Vol:1 No:3 pp.112-119, 2011.
- [7]. Şebnem Girgin, Kontrollü İlaç Salınımı, Lundbeck İlaç Genel Müdürü ile röportaj metni, İNOVATİF Kimya Dergisi, YIL:2 SAYI:9 EYLÜL 2014
- [8]. Jackson L. S., Lee K., 1991, Microencapsulation and the food industry. Lebensmittel Wissenschaft Technologie ,24 (4), 289-297
- [9]. Dziezak, J. D., 1988, Microencapsulation and encapsulated ingredients, Food Technology,42, 136-151
- [10]. A. Rawat, Q.H. Majumder, F.Ahsan, Inhalable large porous microparticles of low molecular weight heparin: in vitro and in vivo evaluation, J.Control.Release 128(2008)224–232.
- [11]. F. Ungaro, R.D.D.V. Bianca, C. Giovino, A. Miro, R. Sorrentino, F. Quaglia, M.I.L. Rotonda, Insulin-loaded PLGA/cyclodextrin large porous particles with improved aerosolization properties: in vitro deposition and hypoglycaemic activity after delivery to rat lungs, J. Control. Release 135 (2009) 25–34.