

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KİTOSAN TEMELLİ KONTROLLÜ SALIM SİSTEMLERİNİN
SENTEZ VE KARAKTERİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ahmet KÜÇÜKÇALIK

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Cüneyt H. ÜNLÜ

MAYIS 2019

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KİTOSAN TEMELLİ KONTROLLÜ SALIM SİSTEMLERİNİN
SENTEZ VE KARAKTERİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Ahmet KÜÇÜKÇALIK
509141002**

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Cüneyt H. ÜNLÜ

MAYIS 2019

İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 509141002 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Ahmet KÜÇÜKÇALIK, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “KİTOSAN TEMELLİ KONTROLLÜ SALIM SİSTEMLERİNİN SENTEZ VE KARAKTERİZASYONU” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Doç. Dr. Cüneyt H. ÜNLÜ**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Doç. Dr. Cüneyt H. ÜNLÜ**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Bahire Filiz ŞENKAL
İstanbul Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Dolunay DAŞDAN

Teslim Tarihi : **3 Mayıs 2019**
Savunma Tarihi : **12 Haziran 2019**

Anneciğime, Babacığıma ve İnsanlığın Yararına Atfederim.

ÖNSÖZ

İstanbul Teknik Üniversitesi Kimya bölümüne giriş tarihim olan 2014'ten bu yana kimya ile iştigal etmekteydim. Beş yılın sonunda 2019 tarihinde kimya tezimi tamamlamak nasip oldu. Teze başlamadan önce 1 yıla yakın bir zaman boyunca hızlı yara iyileştiren, deri oluşumuna vesile olan muhtelif ilaçlar üzerinde okumalar ve araştırmalar yaptım. Bu araştırmaların odağında 'kitosan' bulunuyordu. Bu merakım ve araştırmacılığım sayesinde tezimi etkili bir şekilde yazdığımı düşünmekteyim. Kitosan üzerinde detaylı bilgi sahibi olan ve araştırma alanına giren tez danışmanım, değerli hocam Doç. Dr. Cüneyt H. Ünlü'ye yaptığı katkılardan ve desteklerini hiçbir zaman esirgememesinden dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Sağladıkları laboratuvar imkanlarından ötürü değerli hocalarım Prof. Dr. Bahire Filiz Şenkal ve Doç. Dr. Erdem Yavuz'a teşekkürü bir borç bilirim.

Son olarak okuyanlara faydalı olmasını temenni ederim.

Mayıs 2019

Ahmet KÜÇÜKÇALIK
Tekstil Mühendisi

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
KISALTMALAR.....	xi
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xv
ÖZET	xvii
SUMMARY.....	xix
1. GİRİŞ	1
2. TEORİK KISIM.....	3
2.1 Stereokimya ve Karbohidrat Kimyasına Giriş.....	3
2.2 Kitosan.....	7
2.3 Polimerler ve Polimerizasyon Yöntemleri.....	11
2.4 Kontrollü Salım Sistemleri.....	15
3. DENEYSEL KISIM.....	19
3.1 Malzemeler.....	19
3.2 Cihaz ve Yöntemler.....	20
3.3 Kitosan-Graft-Poliakrilamit (Ch-g-p(AAm)) Kopolimeri Eldesi.....	20
3.4 MBA Çapraz Bağlı Kopolimerin MBA/(Ch-g-p(AAm)) Eldesi.....	21
3.5 Kopolimerlere ASA Yükleme.....	21
3.6 Kontrollü Salım Denemeleri.....	22
4. SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME.....	23
4.1 Kopolimer Eldesi.....	23
4.1.1 Molekül ağırlığının incelenmesi.....	27
4.2 Kopolimerlerin Spektral Karakterizasyonu.....	28
4.3 Kopolimerlerin Termal Karakterizasyonu.....	32
4.4 Kontrollü Salım Denemeleri.....	33
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	43
KAYNAKLAR.....	45
ÖZGEÇMİŞ.....	49

KISALTMALAR

Ch	: Kitosan
AAm	: Akrilamit
p(AAm)	: Poliakrilamit
g	: Graft
CAN	: Seryum Amonyum Nitrat
KPS	: Potasyum Persülfat
APS	: Amonyum Persülfat
MBA	: Metilen Bisakrilamit
AcOH	: Asetik Asit
İPA	: İzopropilalkol
DDA	: Deasetilasyon Derecesi
ASA	: Asetil Salisilik Asit
KCl	: Potasyum Klorür
HCl	: Hidroklorik Asit
NaHPO₄.7H₂O	: Sodyum Mono Hidrojen Fosfat Hepta Hidrat
NaH₂PO₄.H₂O	: Sodyum Di Hidrojen Fosfat Mono Hidrat
BO₃H₃	: Borik Asit
PEG	: Polietilen Glikol
PAN	: Poliakrilonitril
PEC	: Polielektrolit kompleks
Da	: Dalton

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 3.1	: Kullanılan malzemelerin tablosu.....	19
Çizelge 4.1	: %1 AcOH içinde çözülmüş 0,1 g kitosan, 0,5 g akrilamit, 0,1 N HNO₃ içinde 0,05 M CAN kullanılarak yapılan deneylerin özet sonuçları.....	24

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1	:Gliseraldehit için Fischer projeksiyonu ile D-L gösterimleri.....	3
Şekil 2.2	:Konfigürasyon gösterimi.....	5
Şekil 2.3	:D-Aldohexozların stereoizomerleri ve özel isimleri.....	6
Şekil 2.4	:Glukozun α ve β anomerlerinin farklı projeksiyonlar ile gösterimi.....	6
Şekil 2.5	:Selüloz yapısı.....	7
Şekil 2.6	:Kitosan yapısının gösterimi.....	8
Şekil 2.7	:Kitosanın aminli ve kitinin asetilli kısımları.....	8
Şekil 2.8	:Graft polimer yapısı.....	11
Şekil 2.9	:Kitosanın indirgen yapısı ile bakırı yükseltgemesi.....	13
Şekil 2.10	:Redoks reaksiyonu ile persülfat iyonundan radikal oluşumu.....	13
Şekil 2.11	:Seryum(IV) iyonu ile polimerleşme reaksiyonun ilerleyişi.....	14
Şekil 2.12	:Seryum ile redoks PEG-PAN kopolimeri.....	14
Şekil 3.1	:Kitosan graft poliakrilamit kopolimeri.....	21
Şekil 4.1	:Anhidroglukoz ile seryum(IV) arasında şelat üzerinden radikal oluşumu.....	23
Şekil 4.2	:Seryumun kitosan radikali oluşturmaları.....	24
Şekil 4.3	:Çapraz bağlı kitosan-g-poliakrilamit kopolimeri.....	27
Şekil 4.4	:Moleküllü (intramoleküler) ve moleküllerarası (intermoleküler) hidrojen köprülerinin çözeltideki yapıya etkisi.....	27
Şekil 4.5	:Çapraz bağın amit I ve amit II bantlarına etkisi.....	30
Şekil 4.6	:ChAAM-5 ^1H NMR spektrumu.....	31
Şekil 4.7	:ChAAM-5, ChAAM-9, ChAAM-7 ve ChAAM-8 ^1H NMR spektrumları.....	32
Şekil 4.8	:Kitosan, graft kopolimer ve üç farklı orandaki çapraz bağlı kopolimerlerin TGA spektrumları.....	33
Şekil 4.9	:Asa yüklenmiş kopolimerlerde çapraz bağ karakteristiği 1053 cm^{-1} piki etkisi.....	34
Şekil 4.10	:Asidik-Nötral-Bazik ortamlarda graft kopolimerin (ChAAM-5) ASA salım spektrumu.....	35
Şekil 4.11	:Asidik-Nötral-Bazik ortamlarda 20:1 oranlı çapraz bağlı kopolimerin (ChAAM-7) ASA salım spektrumu.....	35
Şekil 4.12	:Asidik ortamda 15:1 oranlı çapraz bağlı kopolimerin (ChAAM-13) ASA salım spektrumu.....	36
Şekil 4.13	:Nötral ortamda 15:1 oranlı çapraz bağlı kopolimerin (ChAAM-13) ASA salım kinetiği.....	36
Şekil 4.14	:Bazik ortamda 15:1 oranlı çapraz bağlı kopolimerin (ChAAM-13) ASA salım spektrumu.....	37
Şekil 4.15	:Asidik-Nötral-Bazik ortamlarda 15:1 oranlı çapraz bağlı kopolimerin (ChAAM-13) ASA salım spektrumu.....	37

Şekil 4.16	:Asidik-Nötral-Bazik ortamlarda 30:1 oranlı çapraz bağlı kopolimerin (ChAAm-12) ASA salım spektrumu.....	37
Şekil 4.17	:Asidik ortamda graft, 15:1, 20:1 ve 30:1 oranlı çapraz bağlı kopolimerlerin salımları.....	38
Şekil 4.18	:Nötral ortamda graft, 15:1, 20:1 ve 30:1 oranlı çapraz bağlı kopolimerlerin salımları.....	38
Şekil 4.19	:Bazik ortamda graft, 15:1, 20:1 ve 30:1 oranlı çapraz bağlı kopolimerlerin salımları.....	39
Şekil 4.20	:Graft kopolimerin asidik, nötral ve bazik ortamlardaki salımı.....	40
Şekil 4.21	:Çağraz bağlı (30:1) kopolimerin (ChAAm-12) asidik, nötral ve bazik ortamlardaki salımı.....	40
Şekil 4.22	:Çapraz bağlı (20:1) kopolimerin (ChAAm-7) asidik, nötral ve bazik ortamlardaki salımı.....	41
Şekil 4.23	:Çapraz bağlı (15:1) kopolimerin (ChAAm-13) asidik, nötral ve bazik ortamdaki salımı.....	41

KİTOSAN TEMELLİ KONTROLLÜ SALIM SİSTEMLERİNİN SENTEZ VE KARAKTERİZASYONU

ÖZET

Kontrollü salınım sistemleri birçok araştırmacının ilgi alanına giren popüler bilim alanlarındandır. Kontrollü salım sistemleri arasında pH'a duyarlı sistemler en çok kullanılan kontrollü salım sistemleridir. Kitosanın asidik ortamda şişme yapması ve bazik ortamda büzülme davranışında bulunması ve büyük polimer yapısının hem insan vücuduna uyumlu hem de suda çözünebilir olması, hücre membranlarından geçebilmesi ve vücutta kalıntı yapmaması sayesinde kontrollü ilaç salım sistemlerinin odak noktasına oturmasına ve araştırmalarda aktif kullanılmasına sebep olmuştur.

Genelde vücuttaki proteinlere bağlanma için temel bir kriter olan katyonik olma gerekliliği bir de buna ek olarak doğal bir polisakkarit olma özelliği ile kitosan gelişmeye açık birçok alan için uygulanabilir bir kimyasal ortam oluşturmakta ve yeri doldurulamaz bir taşıyıcı olarak görülmektedir.

Kitosanın modifikasyona elverişli ve birçok molekülle konjugat oluşturabilen yapısı uygulama alanlarında çok geniş bir esneklik kazandırmaktadır. Ayrıca kitosanın biyofilm oluşturabilir özelliği ile insanda deri oluşumuna sebebiyet veren fibroblast, kolajen ve keratinosit gibi bir takım birimleri harekete geçirmesi sayesinde hızlı iyileşme ve yara kapatma sağlaması birçok in vivo çalışmada yara örtüsü olarak kullanılmasına yol açmıştır.

Bu çalışmada kapsam kitosanın türevleri olan mevcut modifikasyonlara bir yenisini eklemeye ve bu anlamda bir taşıyıcı koymaya ve bir adım daha atmaya yaramıştır.

Yapılan çalışmada kitosanın seryum amonyum nitrat ile radikal oluşumu sayesinde akrilamit ile graft polimerizasyonu gerçekleştirilmiş ve elde edilen polimer üzerinde çapraz bağlama ajanı olan metilen bisakrilamit kullanılarak polimerin mikro alemde kocaman bir yumak oluşturacak geniş bir matriks temin etmesi sağlanmıştır. Böylece özellikle negative yüklü ilaçlar olmak üzere envai çeşit ilacın istenen bölgede sevk

edilmesi ve bu sevkın zamana yayılı şekilde kontrollü olarak yapılmasında kitosanın önemi ziyadesiyle büyüktür.

Bu amaçla yapılan polimerleşme denemelerinde sıcaklık, monomer konsantrasyonu, başlatıcı konsantrasyonu gibi çeşitli parametreler kullanılarak başlatıcı olarak CAN kullanılmış ve kopolimerler sentezlenmiştir. Koşulların değiştirilmesi ele geçen kopolimer miktarı üzerinde etkili olmuştur. En uygun koşullar 0,1 g kitosan ve 0,5 g akrilamit kullanılarak 40 °C’de 3 saatlik reaksiyon sonunda 0,05 M CAN konsantrasyonunda elde edilmiştir.

Kitosan akrilamit graft kopolimerleri sentezlendikten sonra, kontrollü salım için daha uygun olan çapraz bağlı polimer sentezi yapılmıştır. Çapraz bağlama ajanı olarak metilen bisakrilamit (MBA) kullanılmıştır. Çapraz bağlı kopolimerlerin karakterizasyonları IR, NMR, TGA kullanılarak yapılmıştır.

Çapraz bağlı kopolimerler için üç farklı oranda AAm:MBA oranı 15:1, 20:1 ve 30:1 olarak kullanılarak sentez gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen çapraz bağlı kopolimerlere asetil salisilik asit (ASA) yüklenmiş, yükleme literatürde PEC metodu olarak da bilinen bir teknik kullanılarak yapılmıştır. Bu tekniğe göre asidik ortamda bulunan katyonik polimer üzerine bazik ortamda olan anyonik aktif molekül yani yüklenmek istenen molekül eşit hacimde yedirilir.

Taşıyıcı olarak görevlenen yüklenmiş polimerlerin, 2, 6 ve 8,5 olmak üzere üç farklı pH ortamında salımı UV ile dedekte edilmiş ve sonuçlar rapor edilmiştir.

Kontrollü salımda ortam asitliğinin salım davranışını değiştireceği bilindiğinden midenin düşük pH’ında (asit), cilt üzerinde (ılıman asidik, nötrale yakın) ve bağırsakların bazik pH’ında değişimler değerlendirilerek avantaj ve dezavantaj durumları değerlendirilmiştir.

Asidik ortamda kopolimerlerin salımları daha hızlı gerçekleşmiş, nötral ve bazik ortamlarda ise giderek azalan salım davranışı tespit edilmiştir. Bunda polimerin asidik ortamda şişerek üzerine adsorbe ettiği aktif molekülleri ortama bırakması, bazik ortamda ise büzülerek gözeneklerin küçülerek, daha önce yüklenen molekülleri bünyesinde tutması etkili olmuştur.

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF CHITOSAN BASED CONTROLLED RELEASE SYSTEMS

SUMMARY

Controlled release systems one of the most popular fields that take interest for many researchers. Among the controlled release systems, pH-sensitive systems are the most widely used controlled release systems. Thanks to chitosan behaviors of swelling in acidic environment and shrinking in basic environment and although having large polymer structure, being water soluble and biocompatible and could pass through the cell membrane that do not resist in the body which gave it the top position among other controlled drug release systems and cause to active use of it through the researches.

One of the general requisite to binding the proteins in the body is being cationic structure additionally being natural polysaccharide as chitosan properties which present the adjustable chemical medium for many development scopes. Also offer an irreplaceable carrier in the consider of researchers.

Chitosan's available structure for modification that can form conjugate with many active molecules make it wide open for stretchable application. Beside the biofilm forming property and activating the human derm friendly unites like fibroblast, collagen, keratinosites in the body which provides fast healing and wound closing, chitosan is used for in vivo wound dressing studies.

Even though this study is not progressed to test in vivo or in vitro mediums, but to make a new compound addition to current literature of chitosan derivatives and in the name of that works for taking one step beyond.

In this study the graft polymerization of chitosan with acrylamide is realized thanks to cerium ammonium nitrate being radicalic initiator and handled polymer is further crosslinked with methylene bisacrylamide that form a huge matrix in the micro level considering like a yarn ball diffused. So that especially negatively charged drug molecules, dozens of drug molecules could be transferred to the desired region and making this transfer splitting in controlled times chitosan's emerging importance is so big.

As a proof there are many studies that chitosan is used as multiple cancer drug carriers. On the other hand, nowadays top popular targets is brain related neural disease where chitosan could be used for active drug carriers according to my prediction.

That's why it is hard to bind the small drug molecules to big structured proteins however it is much easier to bind the big polymeric structures to the liked-size proteins and interactions of that drug carrier polymers with the proteins gets higher efficiency and higher drug effect than the small drug molecules does.

Although, protein interactions is not estimated in this study, controlled release of acetyl salicylic acid to the medium is determined and the increase or decrease in the release at different pH environment is observed. Related to that advantageous and disadvantageous situations at stomach and small intestines is evaluated. Thus modified chitosan offered opportunities are scientifically understood at drug molecules which pass through the cell membrane and later diffuse in the blood in case of that behavioral differences.

Even though many chitosan derivatives are known, additional of a new one recognition is acquired. Thus, the functionalities and characterization of this new drug carrier matrix alternative is noted.

In this thesis, graft polymerization of chitosan and acrylamide is done firstly, and then crosslinking of handled copolymer is spectrally approved and the way of crosslinking at the acrylamide edge of the same prolonged polymeric chain is proved by the spectral evidences.

There are four copolymers at total, one is only graft copolymer and the other three were different crosslinked ratio copolymers. As a crosslinking agent methylene bisacrylamide (MBA) is used. The decreasing order of AAm:MBA crosslinking ratios are 15:1, 20:1 and 30:1 consequently.

The loading procedure is realized through PEC method in which acetyl salicylic acid is negatively charged meaning of being in basic environment and the copolymers are positively charged meaning of being in acidic environment. So that the encapsulation could be made. The acetyl salicylic acid loaded copolymers is squeezed and pellet form is attained under high pressure.

Purpose of synthesizing copolymers is to form a carrier matrix for active drug molecules and in this case for acetyl salicylic acid. Three different pH environment is exposed to controlled release that are pH 2 (acidic), pH 6 (neutral) and pH 8.5 (basic) mediums.

Four different copolymers and three different medium meaning twelve different release measurements are obtained. The controlled release of copolymers are detected with UV spectrum and the spectral results are reported.

In the acidic medium copolymer release for loaded drug molecule occur fastly comparing to the neutral and basic mediums thanks to chitosans swelling behaviour in acidic medium. And the slowest release is realized through the basic medium where the chitosan is shrinking and copolymer pores get more smaller that not allow the drug molecules to move to the medium.

As the ratio of crosslinking agent gets higher, the copolymer controll on the release is much stronger meaning the highest crosslinked ratio copolymer (15:1) has very slow release compared to other crosslinked ratio copolymers (20:1 and 30:1) which indicates that copolymer release behaviour could be treated with the crosslinking agent amount.

After the results are given the possible progressive suggestions are made for in vitro and further in vivo studies as a forth seeing approach.

The loading procedure is realized through different three mechanism is argued. Those three mechanisms are absorption, encapsulation and adsorption. Effect of loaded active drug molecules via absorption road is contributed with the changing crosslinking agents. Which indicate a controll on physical molecular bond that can

not changed easily. For example utilizing epichlorohydrin instead of methylene bisacrylamide can change the drug loading capacity through absorption mechanism so forth.

Drug loading capacity through encapsulation mechanisms could be changed with utilizing different loading techniques instead of PEC method. Also different pH mediums could be applied before mixing the drug solution and the polymer solution. In this study polymer solution was in strong acidic environment and the drug solution meaning acetyl salicylic acid solution was in strong basic environment. As this could changed the drug loading capacity through encapsulation can be altered.

Lastly adsorption capacity on drug loading can be altered with utilizing different electronic effect active drug molecules. There are lots of active drug molecules that has been studied with chitosan, some of them are positively charged meaning of including $-NH$ and $-SH$ functional groups and some of them are negatively charged meaning of including negatively charged $-OH$ and $-COOH$ groups. In this study the utilized active drug molecule acetyl salicylic acid has negatively charged functional groups. But this could be altered with the mentioned active drug molecules in the thesis so the capacity of adsorption of loading molecules could be manipulated.

As a conclusion obtaining a new drug carrier chitosan derivative and characterization of four differently synthesized copolymers is successfully realized and the results are reported in a way of scientific evidences.

1. GİRİŞ

Kitosan, selülozdan sonra tabiatta en çok bulunan ikinci makromoleküldür. Kitosan biyoyouumlu, biyobozunur, hidrofilik, toksik olmayan, modifikasyona elverişli [1], suya karşı seçici geçirgenlikte, kimyasallara karşı dirençli ve film tabakası, jel, mikro/nano tanecik oluşturabilen yapısı ile bilimsel araştırmaların odağına oturmuştur.

Kitosan biyobozunur özellikte olup, insan vücudunda amino şekerlerine kadar kırılabilmektedir ve hücre membranlarından kolaylıkla absorbe olabilmektedir.

Kitosan yapısındaki $-OH$ ve $-NH_2$ grupları sayesinde proteinlere, boyalara ve metallere karşı iyi afinite göstermekte olup, proteinlere bağlanabilmektedir. Yine bu özelliği sayesinde metal iyon tutucu, boya adsorban malzemelere ve su-yağ veya su-yabancı madde ayırımında kullanılmaktadır. Böylece bir proteine bağlanmanın koşulu olan elektrofilik olma özelliğini de bünyesinde mahfuz tutmaktadır.

Kitosan ve türevleri çeşitli farmasötik alanlarda, tıbbi uygulamalar ve ilaç salım sistemlerinde, yara örtüsü uygulamalarında, doku mühendisliği ve biyogörüntüleme, implant kontakt lens uygulamaları ile hücre kapsülleme uygulamalarında sıkça kullanılmaktadır.

En iyi biyobozunma gösteren kitosanlar %50 deasetilasyon derecesine (DDA) sahip olan kitosanlardır [2] ve sulu asidik ortamda çözünebilmektedir. Asidik ortamda amin grupları protone olarak katyonik yapıya evrilmektedir ve birçok moleküle karşı güçlü etkileşimler gösterip ev sahipliği yani uygun tutunma ortamı sağlayan bir matriks oluşturabilmektedir.

Pozitif yüklü olması kitosanın antimikrobiyel özellikte olmasını sağlamaktadır. Çünkü mikroorganizmaların negatif yüklü hücre membranları ile bu şekilde etkileşmektedirler. Bu anlamda antimikrobiyel gıda katkı maddesi, antimikrobiyel gıda paketlerinde ve antimikrobiyel tekstil uygulamalarında da kullanılmaktadır. Ayrıca kitosan küre formunda hidrojel oluşturarak kapsülasyon uygulamalarında kullanılmaktadır. [3]

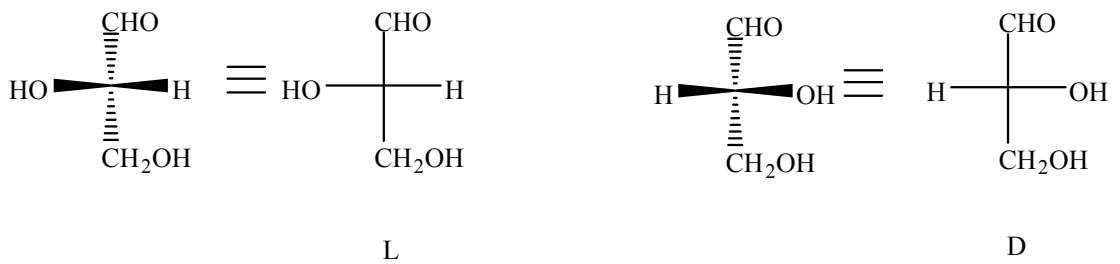
Bu tezde metilen bisakrilamit kullanılarak çapraz bağlı kitosan-graft-poliakrilamit polimerinin kontrollü ilaç salımında farklı pH aralığında kontrollü salımı incelenmiştir.

2. TEORİK KISIM

2.1 Stereokimya ve Karbohidrat Kimyasına Giriş

Asimetrik karbon; bir karbonun 4 farklı gruba bağlanması ile oluşan moleküle kiral molekül denir. Asimetrik karbonlar bir molekülde stereomerkez teşkil ederler. Stereomerkeze sahip olan moleküller düzlem polarize ışığın sağa veya sola çevrilmesine sebep olur. Stereojenik merkeze (genellikle asimetrik karbon) sahip olan bu moleküller üç boyutlu uzayda farklı yönelimlerde enantiyomerlerin oluşumuna sebebiyet verir. Enantiyomerler arasındaki tek fark düzlem polarize ışığı çevirme yönleridir. Molekülün optikçe aktivitesine göre için farklı tanımlar mevcuttur.

Bunlardan biri rölatif konfigürasyon olarak da bilinen DL tanımıdır. Buna göre uygun şekilde Fischer projeksiyonunda yazılan yapıda öncelikli gruplar D-gliseraldehitin yapısına benziyorsa D, benzemiyorsa L olarak isimlendirilir. **Şekil 2.1** Fischer gösteriminde yatay (x) ekseninde olan grupların önde yani sayfa düzleminden dışarı doğru yönlendiği, dikey (y) ekseninde olan grupların ise arkada yani sayfa düzleminden içe doğru baktığı düşünülür.



Şekil 2.1 : Gliseraldehit için Fischer projeksiyonu ile D-L gösterimleri. [4]

Bir başka yöntemde polarize ışığı çevirme yönü kullanılarak saat yönünde çeviren stereoizomere (+), saati yönünün tersine çeviren stereoizomere ise (-) tanımı yapılır.

Son olarak mutlak konfigürasyon olarak da bilinen Cahn-Ingold-Prelog tanımında öncelik sırasına konulan gruplar temel alınarak saat yönünde dönüşü sağlayan stereoizomere R diğerine ise S tanımı yapılır. Kiral bir molekülün

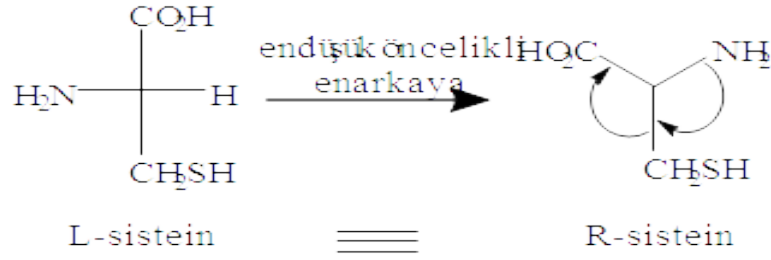
konfigürasyonunun belirlenmesinde asimetrik karbonun dallanmaları (sübstitüentleri) atom numarası büyüklüğüne göre öncelik sırasına göre dizilir. Atom numarasına en büyük olan en öncelikli olurken, azalarak diğer dallanmalar sıralanır ve en düşük öncelikli olan yani atom numarası en küçük olan atoma kadar dizilir.

En düşük öncelikli atomu üç boyutlu konfigürasyonda en arkaya alarak, veya bir başka deyişle, en düşük öncelikli atomun bağının zıttı yönünde tam karşısından moleküle bakarak öncelik sırasına göre dönme yönünün sağa (saat yönünde) mı yoksa sola (saat yönü tersine) mı olduğuna karar verilir.

Eğer asimetrik karbona bağlı olan dallanmalarda aynı atom mevcutsa bu sefer öncelik sırası bu aynı atomların dallanmalarını sıralamakta olur. Mesela metil (CH_3) ve etil (CH_2CH_3) sıralamasında C lar aynı iken, metilde dallanmalar H, H, H iken; etilde ise H, H, CH_3 gruplarıdır. Bu durumda öncelikli olan etil olacaktır çünkü atom numarası daha büyük gruplar tarafından dallanma yapmıştır.

Öncelik sıralamasında çift bağlı olan atomlar iki kere sayılır. Örneğin bir aldehitte bir alkol sıralanırken karbona bağlı aynı oksijenden söz edilirken, aldehitte dallanmalar O, O, H olarak oksijen atomu iki kere (çift bağ) sayılarak gösterilirken, alkolde ise O, H olmak üzere oksijen tek bağ olduğu için tek sefer sayılır. Bu durumda dallanan grupların toplam atom numarası büyüklüğü gereğince aldehit öncelikli grup olarak sayılacaktır.

Örneğin Şekil 2.2'deki gibi bir asimetrik karbona bağlı NH_2 , CH_2SH , CO_2H , H gruplarının olduğunu düşünürsek, sıralama atom numarası büyüklüğü sebebiyle $\text{N} > \text{C} > \text{H}$ olacağından amin en öncelikli, hidrojen ise en düşük öncelikli grup olacaktır. CH_2SH ve CO_2H önceliği sıralamasında ise gruplar sırasıyla (S, H, H) ve (O, O, H) olduğu ve kükürdün atom numarası oksijen atomun numarasından daha büyük olduğu için karboksil grubundan daha öncelikli olarak sıralanır. Bu durumda son sıralama $\text{NH}_2 > \text{CH}_2\text{SH} > \text{CO}_2\text{H} > \text{H}$ olarak bulunmuş olur ve aşağıdaki şekil üzere R (sağ) konfigürasyonunda olduğu görülür.

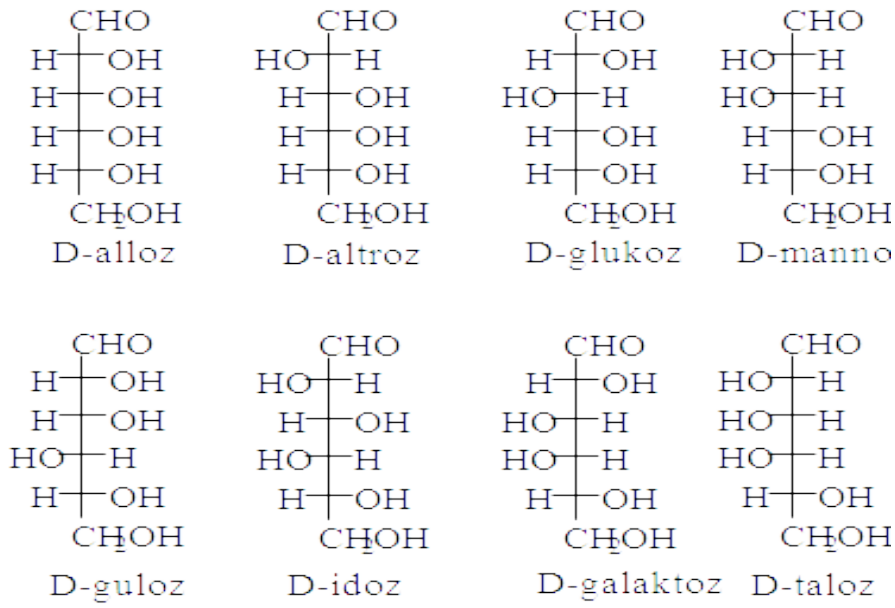


Şekil 2.2 : Konfigürasyon gösterimi. [4]

Burada üç boyutlu olarak molekül tanımlaması yapmak mümkündür. Eğer molekül birden fazla asimetrik karbon içeriyorsa 2^n tane optik izomere sahip olabilir. Örneğin dört asimetrik karbonu olan bir molekül $2^4 = 16$ tane farklı stereoizomer içerir. [5] Ancak bazı durumlarda (örneğin mezo bileşiklerinde) gözlenen izomer sayısı, hesaplanan sayıdan küçük olabilir.

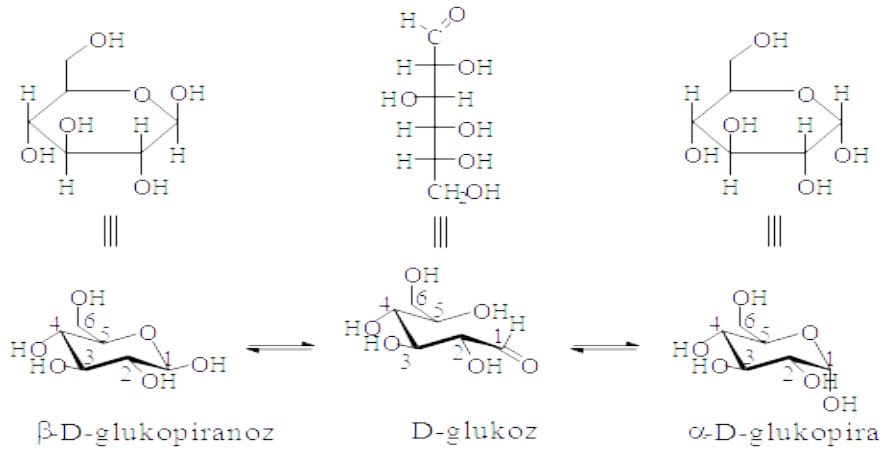
Optikçe aktivite gösteren, doğada en çok bulunan bileşiklerin bir sınıfı da karbohidratlardır. Yapılarına göre karbohidratlar dört temel sınıfa ayrılırlar. Bunlar monosakkaritler, disakkaritler, oligosakkaritler ve polisakkaritlerdir.

Monosakkaritler en küçük karbohidratlardır. $\text{C}_n(\text{H}_2\text{O})_n$ genel formül yapısındadırlar. Yapılarında aldehit veya keton grubunun bulunmasına göre aldoz veya ketoz olarak isimlendirilirler. Örneğin monosakkaritlerden 6 karbonlu aldehit fonksiyonallitesine sahip olan (aldoheksoz) şekerlerinden en çok bilineni glikozdur. Birden fazla optikçe aktif merkeze sahip olan aldoheksozlar OH gruplarının yönelimine göre isimlendirilirler. Gösterimlerinde genellikle Fischer projeksiyonu kullanılır. Buna göre fonksiyonel grup en üstte, primer hidroksi grubu en altta olacak şekilde hidroksi grupları Fisher projeksiyonuna yansıtıldığında OH gruplarının sağda veya solda olması farklı diastereomerler oluşturur (Şekil 2.3). En altta bulunan metilol grubunun bir üstünde yer alan (4 numaralı karbondaki) OH grubunun relatif konfigürasyonu monosakkaritin konfigürasyonu olarak belirtilir.



Şekil 2.3 : D-Aldoheksozların stereoizomerleri ve özel isimleri.

Çok sayıda monosakkaritlerin su çıkışı ile birleşmeleri sonucu polisakkaritler oluşur. Şekil 2.4'te kimyasal formülü gösterilen glikoz, bazı polisakkaritlerin monomeridir denilebilir. Monosakkaritler sulu ortamda halka oluşturarak yarı asetal oluşturacak şekilde bir tautomeri gösterirler. Bu tautomeri sonucu yarı asetal hidroksi grubu anomerik merkez olarak isimlendirilir. Oluşan altı üyeli halkada anomerik hidroksi grubunun ekvatoryal veya aksiyal pozisyonunuda bulunmasına göre sırasıyla α veya β anomer oluşur. Konformasyonel sebeplerden dolayı α anomer daha karardır. Sonuç olarak oluşan anomerler bir denge halindedir ve sulu çözelti içinde birbirlerine dönüşebilirler. Şekil 2.4'te bu denge hem konformasyonel projeksiyon hem de karbohidratlar için sıklıkla kullanılan Haworth projeksiyonu kullanılarak gösterilmiştir.



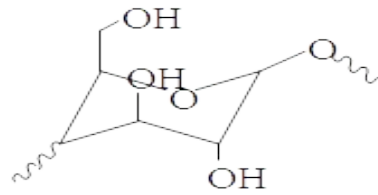
Şekil 2.4 : Glukozun α ve β anomerlerinin farklı projeksiyonlar ile gösterimi.

Monosakkaritlerin anomerik (1 numaralı) karbonu üzerindeki OH grubu yarı asetal özelliği gösterdiği için oldukça aktiftir. Fehling ve Tollens reaktifleri çözelti bu tipte yarı asetal grubu içeren karbohidratlarla reaksiyona sokulduğunda çözeltideki Cu(II)'yi Cu(I)'e indirgerler ve kiremit rengi bir çökelti oluşur. Bu nedenle bu tip karbohidratlara indirgen şeker denir. Eğer şeker yapısında yarı asetal yoksa (örneğin sukroz gibi) reaksiyon gözlenmez; bu tip şekerlere ise indirgen olmayan şekerler denir.

2.2 Kitosan

Yeryüzünde en çok bulunan doğal polimerler polisakkaritlerdir. Monosakkaritlerin doğada genellikle enzimatik kondenzasyonu sonucunda oluşan polisakkaritlerden en sık rastlananları glukozun polimerleri olan nişasta ve selülozdur. Bu iki doğal polimer arasındaki fark anomerik karbonun nişasta için α veya selüloz için β formunda olmasıdır. Selüloz, β -D-glukopiranoz birimlerinin bir mol su çıkışıyla 1 ve 4 pozisyonlarından birbirine bağlanmasıyla oluşan bir polisakkarittir. Genel olarak bitkilerin iskeletini oluşturan, suda çözünmeyen bir polimerdir.

Kitin (poli-(1 $\rightarrow$ 4)- β -N-asetil-D-glukozamin) selüloza benzer bir yapı gösteren, yeryüzünde ikinci olarak en sık rastlanan, genellikle kabuklu deniz canlıları ile böceklerin dış iskeletinin temel bileşeni olan, doğal bir polimerdir. Şekil 2.5'te gösterilen selüloz yapısında 2 numaralı OH grubunun NHCOCH_3 grubuyla yer değiştirmiş halidir.

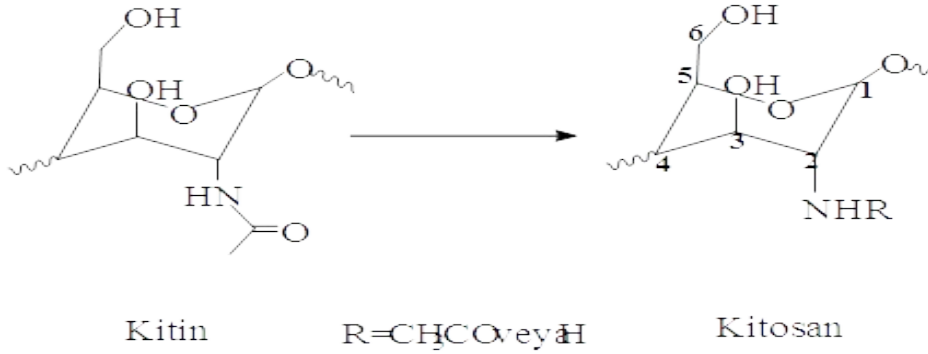


Selüloz

Şekil 2.5 : Selüloz yapısı.

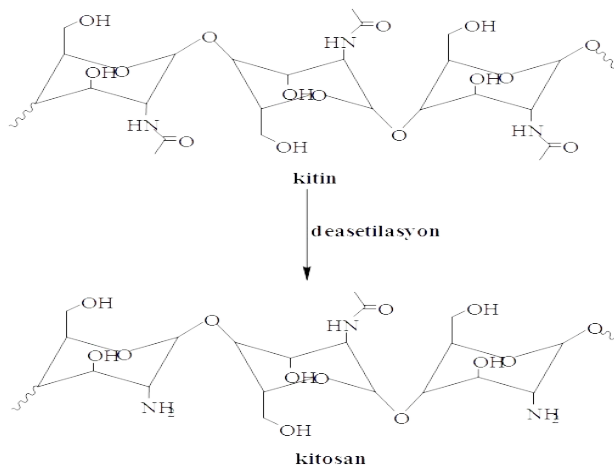
Asetil ($-\text{COCH}_3$) grubunun hidrolizi ile kitosan yapısı oluşur. Kitin ve kitosan arasındaki temel fark asetillenme derecesidir. Kitosan antimikrobiyel, antibakteriyel ve anti-mantar özellikte olması yanısıra biyoçözünür ve biyofilm oluşturabilir ve mukozaya tutunabilir yapısı [6] ile doku mühendisliği ve yara elbisesi uygulamalarında sıkça kullanılmaktadır. Kitosanın düşük, orta ve yüksek moleküler

ağırlıkta olmak üzere moleküler ağırlığı 100-1000 kDa [7] arasında değişen üç temel sınıfa ayrılmaktadır.



Şekil 2.6 : Kitosan yapısının gösterimi.

Kitin NaOH ile kaynatılırsa deasetilasyon gerçekleşir ve kitosan ele geçer (Şekil 2.6). Deasetilasyon derecesi polimerik yapının kitin veya kitosan olarak isimlendirilmesine sebep olur. Polimer zincirinin en az yarısı deasetile olursa kitosan olarak isimlendirilir. Genellikle çalışmalarda deasetilasyon derecesi (DDA) %50-99 arasında olan kitosanlar kullanılmaktadır. Örneğin %75 DDA kitosan için; %25'lik kısmının asetilli olarak kaldığı, %75'lik kısmının ise serbest amin yapısında bulunduğunu söyleyebiliriz (Şekil 2.7). Kitosan üzerinde aktivasyonu en yüksek olan gruplar 2 ve 6 numaralı karbonlarda bulunan NH_2 ve OH gruplarıdır. Nitekim modifikasyonlar da genellikle bu noktalardan gerçekleşmektedir. Bunun sebebi 2 numaralı karbonun anomerik karbonun α pozisyonunda olması, primer alkol özelliğine sahip olan 6 numaralı karbonun OH grubunun ise sterik olarak ulaşılabilir olmasıdır. Sterik olarak güç ulaşılabilir konumda olan 3 numaralı karbona bağlı OH grubu ise bu iki gruba göre daha az reaktiftir.



Şekil 2.7 : Kitosanın aminli ve kitinin asetilli kısımları.

olması, yani asidik ortamdaki amonyum (NH_3^+) ucundan daha elverişli çözünme davranışı gösterdiği şeklinde izah edilebilir.

Selüloz ve kitinin çözünme davranışları birbirine benzerlik göstermektedir, her ikisinde de çözünmenin zincirleri bir arada tutan moleküller arası hidrojen köprülerinin kırılması sayesinde gerçekleşmektedir. Ancak kitosanda çözünme iyonik yapılar üzerinden yani serbest amin kısmının amonyum ($-\text{NH}_3^+$) katyonuna dönüşmesiyle gerçekleşir. Kitin, %5–10 (a/h) lityum klorür bulunduran N,N-dimetilasetamit çözeltisinde çözünürken, kitosan ise %1'lik asetik asidin sağladığı zayıf asidik ortamda çözünebilmektedir. Yine bu çözünmedeki farklılığın yukarıda bahsedilen kristalin-amorf yapılar ile DDA seviyesiyle doğrudan bağlantısı bulunmaktadır. Organik moleküller arasında en güçlü elektrostatik etkinin, imidazolyum iyonu ile asetat iyonu arasında [8] olduğu bilinmektedir. Dolayısıyla kitosanda da çözünmenin buna benzer amonyum grubu ile asetat anyonu arasındaki iyonik etkiler ile gerçekleştiği düşünülmektedir. Nitekim çeşitli imidazolyum içeren çözücü sistemlerinin selüloz, kitin ve kitosanı çözebildiği bilinmektedir. [6] Ayrıca bu çözünmenin polimer yapısındaki moleküller arası hidrojen köprülerinin kırılması ile etki olduğu bilinmektedir. Asetik asidin pKa değeri 4,76 iken, kitosanın protone amonyum NH_3^+ ucunun pKa değeri ise 6,5 civarındadır. [9] Bu da asetik asit içerisinde kitosanın çözünmesini sağlar. Ancak çözeltideki kitosan miktarının artışı viskozitede artışa neden olmaktadır. Genellikle kitosan miktarı %1 seviyesinden yüksek olunca viskozitedeki bu artış hızı da yükselmektedir. Aynı DDA seviyesinde kitin için moleküler ağırlığın artmasıyla kitin viskozitesinin arttığı [10] rapor edilmiştir. Bunun gibi kitosan için de moleküler ağırlığın artmasıyla viskozitenin artacağı tahmin edilmektedir.

Kitosanın biyobozunurluğuna etki eden parametreler DDA, moleküler ağırlık ve kristalinitedir. Bunlar birbirinden bağımsız ancak etkileşimde olan parametreler olarak tanımlanabilirler. [2] Kitosan %8 DDA seviyesinde daha yüksek biyoyumluluk göstermektedir [7]. Kitosanın DDA seviyesi %31 olduğunda vücutta iltihaplanma yaparken, %16 DDA seviyesindeki kitosanlar sadece tehlikeli olmayan, hafif deri kaşıntılarına ve reaksiyonlarına sebep olmaktadır. Yani biyoyumluluk açısından bakılırsa yüksek seviyede DDA vücutta daha olumsuz sonuçlar meydana getirir. Buna karşılık %4'ten %15'e kadar yükselen DDA seviyelerindeki kitosanlar, yara iyileştirme ve deri oluşumu anlamında fibroblast, kolajen, keratinosit, kondrosit,

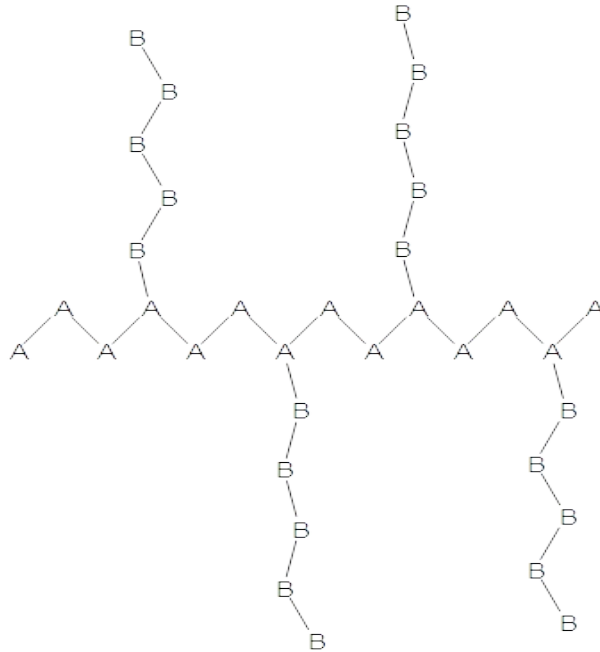
osteoblast, hepatosit oluşumunu arttırması ve lökosit oluşumunun azaltması şeklinde daha olumlu bir sonuç vermektedir. Nitekim kitosanın timol ile birlikte kullanıldığı bir çalışmada lökosit oluşumu azaltılması ve fibroblast tarafından kolajen oluşumunun artması sayesinde deri ve hücre oluşumunun hızlandığı [11] rapor edilmiştir.

2.3 Polimerler ve Polimerizasyon Yöntemleri

Monomer birimlerinin birbiri ardına eklenmeleri sonucu polimerler oluşmaktadır. Aynı monomerden oluşan polimerlere homopolimer, en az iki farklı monomerden oluşan polimere ise kopolimer denir. Eklenme şeklindeki düzenin belli bir sırayla olmasına göre polimerler tiplerine ayrılırlar.

Blok polimerler A-A-A-A-B-B-B-B-A-A-A-A şeklinde her bir monomerin kendi arasında blok oluşturduktan sonra diğeriyle birleştiği yapılar için kullanılırken, alternatif polimer kavramı A-B-A-B-A-B-A-B şeklinde devam eden polimerler için kullanılır.

Graft (aşı) kopolimerler ise Şekil 2.8'deki gibi ana polimer zinciri üzerinde farklı noktalardan dallanmış ikinci bir polimer grubunun eklendiği polimerlere denilmektedir.



Şekil 2.8 : Graft polimer yapısı.

Polimerleşme genel olarak kondenzasyon (basamaklı) ve katılma polimerleşmesi olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır. Basamaklı ilerleyen (step-growth) polimerleşme de denilen kondenzasyon polimerleşmesi genellikle su çıkışı ile monomerlerin birbirine bağlandığı polimerizasyon biçimidir. Burada her bir mol malzeme için bir mol su çıkışı beklenir. Su çıkışı oldukça monomerlerin bağlanması kademeli bir şekilde ilerleyerek polimerleşmenin gerçekleşmesini sağlar.

Katılma polimerleşmesi ise monomerlerin katılmasıyla uzayan ve polimer yapısının olduğu polimerleşme biçimidir. Polimerleşmenin başlaması için farklı yollar vardır. Temel olarak katılma polimerleşmesi gerçekleşme şekline göre iyonik polimerleşme ve radikalik polimerleşme olarak ikiye ayrılır.

İyonik polimerleşme de kendi içinde nükleofilik (katyonik) ve elektrofilik (anyonik) olarak iki sınıfa ayrılır. Nükleofilik polimerleşmede temel mantık monomerlerin, nükleofilik olarak eklenmeleridir. Elektrofilik polimerleşmede ise monomerlerin elektrofilik olarak birbiri üzerine eklenmeleridir.

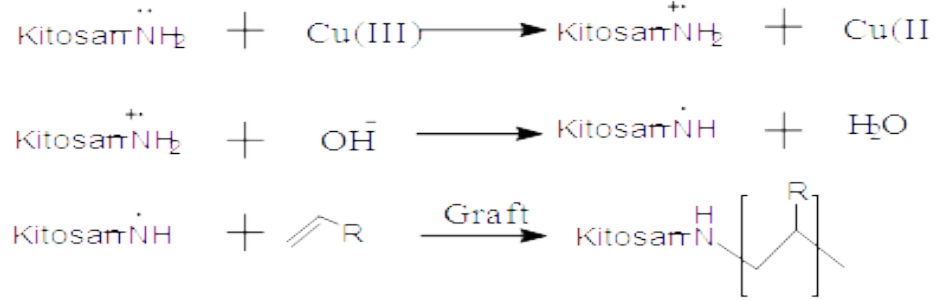
Radikalik polimerleşmede ise katılma polimerleşmesi radikaller üzerinden yürür. Başlama basamağında başlatıcı kullanılarak radikal elde edilir. Radikal oluşumu ısısal, fotokimyasal, radyasyon veya redoks reaksiyonları gibi yöntemler kullanılarak sağlanır. Başlatıcı olarak çeşitli peroksitler, diazo bileşikleri ve redoks çiftleri kullanılır. Polimerleşme oluşturulan radikallerin monomerlerle etkileşip birbirine eklenmesi ile oluşur.

Organik peroksitler olarak alkil hidroperoksitler, dialkilperoksitler, diaçil peroksitler ve eter peroksitleri radikal oluşumunu başlatan ajanlar olarak kullanılırlar. Bunlar patlayıcı olduğundan yüksek konsantrasyonlarda hava ile temaslarında tehlike arzedebilirler. [4]

Fotopolimerleşme, radikallerin UV gibi foto enerji paketleri olan fotonlarla oluşturulduğu, böylece radikallerin birbiri üzerine katıldığı polimerleşme şeklidir. Genelde fotobaşlatıcılar kullanılarak yapılır ve katalizörler kullanılarak reaksiyon hızlandırılabilir.

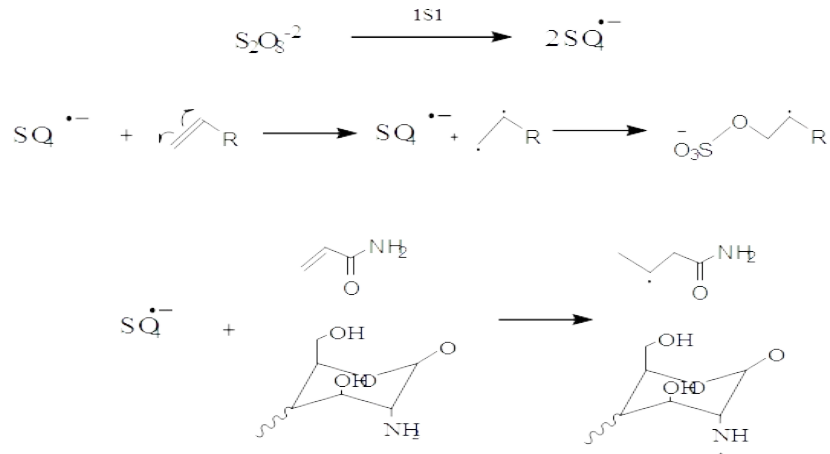
Redoks polimerleşmesi bu çalışmada kullandığımız polimerleşme şeklidir. Bu yöntemde radikaller redoks yöntemiyle oluşmaktadır. Amonyum persülfat, potasyum persülfat ve seryum amonyum nitrat genellikle kullanılan redoks başlatıcı ajanlardır. Bunlardan başka bakır kullanılarak da yapılan redoks polimerizasyonları vardır.

Örneğin Şekil 2.9'daki gibi kitosan Cu(III)'ü Cu(II)'ye indirgeyip kendisi ise yükseltgenerek bir radikal oluşturmakta ve bu radikal polimerleşme reaksiyonunu başlatmaktadır. [12] Kitosan ortamdaki Cu(III)'e bir adet bağlanmamış (non-bonding) elektron vererek katyonik radikal oluşturur. Ortamdaki suyun hidroksili ile etkileşen ve hidrojenini veren katyonik radikal, su oluşumuna sebebiyet vererek hidrojeni kopmuş amin radikalini meydana getirir. Ardından vinil uçlu monomer çift bağı açılarak, radikal amin ucu ile bir bağ oluşturur.



Şekil 2.9 : Kitosanın indirgen yapısı ile bakırı yükseltgemesi.

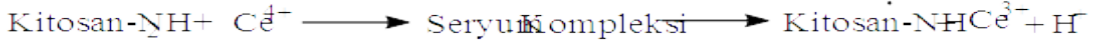
Redoks polimerizasyonu için kullanılan peroksitli bileşiklerden en güçlü sınıf olan persülfat yapıları hızlı yükseltgeme ajanları olarak kullanılırlar. Radikal başlatma ajanı olarak kullanılan peroksitler ise genelde amonyum peroksit (APS) ve potasyum peroksit (KPS)'tir. Şekil 2.10'da gösterildiği gibi persülfatların ısıtılmasıyla ortamda serbest sülfat radikalleri oluşur. Sülfat anyonik olduğu için buna radikal anyonu da denilebilir. Ortamda indirgen bir monomerin varlığında, ki bu monomer genellikle vinil uçlu monomer olur, radikal anyonları polimerizasyon başlatıcısı olarak davranarak radikalini hidrojen kopartmak suretiyle monomere aktararak polimer zincirleri oluşmasını sağlar.



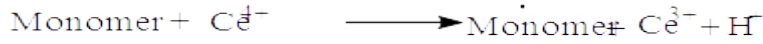
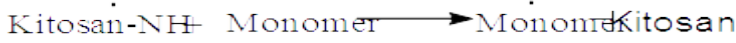
Şekil 2.10 : Redoks reaksiyonu ile persülfat iyonundan radikal oluşumu.

Graft polimerizasyon üzerindeki seryum mantığı da sülfata benzer şekilde yürümektedir. Burada seryumun indirgenmesi ile radikalın başlaması, ilerlemesi ve sonlanması ile graft kopolimerin oluşumu Şekil 2.11'deki gibi gösterilebilir.

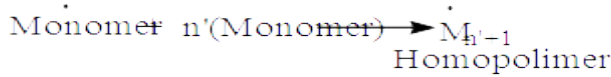
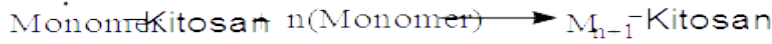
Radikal Oluşumu



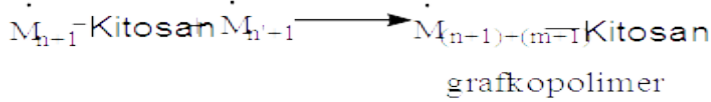
Zincir Başlaması



İlerleme

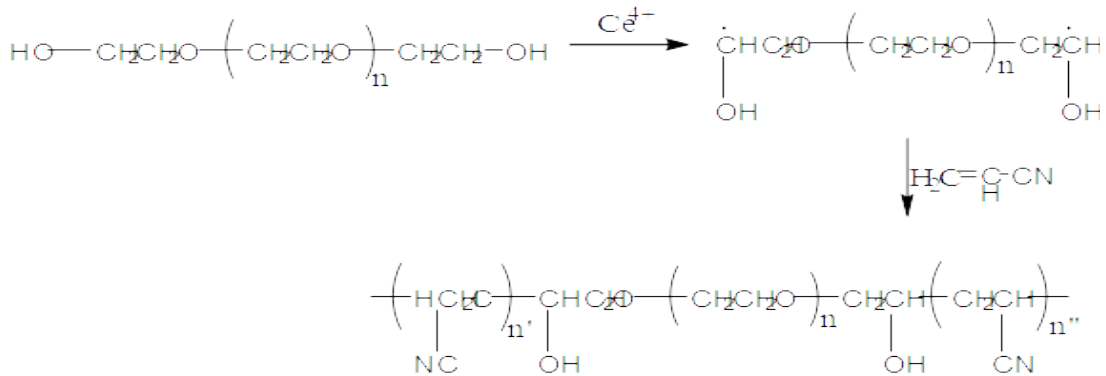


Sonlanma



Şekil 2.11 : Seryum(IV) iyonu ile polimerleşme reaksiyonun ilerleyişi.

Polietilenglikol (PEG) ve poliakrilonitril (PAN)'in kopolimer yapıldığı bir çalışmada [13] radikal başlatıcı olarak kullanılan seryum Şekil 2.12'deki gibi gösterilmiştir.



Şekil 2.12 : Seryum ile redoks PEG-PAN kopolimeri.

Burada PEG zinciri üzerinde muhtelif yerlerde oluşan radikal sayesinde akrilonitrilin bağlanması ile blok PEG-PAN kopolimeri elde edilmiştir. Yine başlatıcı olarak seryum kullanılarak poliakrilonitril ile metil etil keton/formaldehit reçinesi kopolimeri çalışması benzer mekanizma ile yürütülmüştür. [14] Bunun dışında seryum ile yürütülmüş polietilenglikol ve vinil monomerleri olan akrilonitril,

akrilamit, vinil asetat ve akrilik asit ile kopolimer yapılan çalışmalar da mevcuttur. [15]

2.4 Kontrollü Salım Sistemleri

Kontrollü salım genellikle polimerik malzemelerin pH, sıcaklık, su ve tuz miktarı gibi ortam değişikliklerine cevap vererek büzülme veya şişme yapması şeklinde yapısında değişiklik meydana getirmeleri prensibine dayanmaktadır. Polimer yapısında büzülme ve şişme davranışı bazen eğilme ve doğrulma olarak şekli değişiklik arz edebilecek şekilde olur. İstenen hareketlerdeki değişiklik, tüm yapının, çift ya da daha çok katmanlı olarak tasarlanmasına göre ayarlanabilir.

Bu davranış sekansları arasında kontrollü salım, belli şartların gerçekleşmesi ile daha önceden polimere yüklenen malzemelerin kademeli olarak yavaş yavaş ortama bırakılması ile gerçekleşir.

Kontrollü salım sistemlerinin üç temel yöntem eşliğinde gerçekleştiği söylenebilir. Bunlar mikroenkapsülasyon, adsorpsiyon ve elektrostatik çekim kuvvetleri sayesinde polimere tutundurulan (yüklenen) aktif moleküllerin ortama belli şartlar altında salımlarından ibarettir. Bunlara ilaveten çapraz bağlı, adeta bir yumağı andıran büyük polimerin arasına aktif molekül absorblama tekniğini dördüncü bir teknik olarak varsayabiliriz.

Nötral ve anyonik polimerler asidik ortamda pH'a duyarlı davranış göstermezlerken, kitosan gibi katyonik (pozitif yüklü) doğal polimerler düşük pH'larda [16] yapısında değişiklik gösterecek şekilde davranmaktadır.

Tüm bunlarla beraber, kontrollü salımda iyon kompleksi oluşturarak kuru olan kaplanmış tablet oluşturma tekniği de uzun süreli uygulamalar için bir alternatif olmaktadır. Bu teknikte laboratuvar ortamında (in vitro) 8 güne kadar aktif molekülün salım etkisi sürmektedir. Bu yöntemle kitosan, poliakrilik asit ve aljinatın enkapsüle edilerek adhezyon özelliği kazandırıldığı ve aktif molekül olarak bromotimol mavisi yüklenen ve in vitro salımın gözlendiği [17] çalışmada 8 gün boyunca bromotimol salımı devam etmiştir.

Kitosan asidik ortamda şişme (swelling) davranışında bulunarak yüklenen aktif molekülleri ortama daha fazla bırakacak halde bulunurken, pH'ın 7,4 civarına yükseldiği nötral ortamlara gelindiğinde aktif molekül salımının azaldığı ve bazik

ortamlara gelindiğinde kitosan tam büzülme (shrink) göstererek kontrollü salım seviyesinde d      olduğu ancak bu genel kitosan davranışının yanında çeşitli modifikasyonlar ile bu özelliğin tersine olarak da i letilebileceği bilinmektedir. [14] Nitekim kitosan-mitomisin ile yapılan çalışmada [18] nötrofil aktif molekülünün in vitro sal mı gözlenmiş olup, yükselen pH ile sal mın arttığı rapor edilmiştir. Buna benzer şekilde kitosan-graft-poliakrilamit pH duyarlı olarak kontrollü salım sistemlerinde kullanıldığı [19], bu tip pH duyarlı salım sistemlerine göre; örneğin amfisilin trihidrat yüklenen polimerde pH = 1,1 olan asidik ortamda kitosanın büzülmesi (shrink) ile sal mın yavaşlaması, pH = 7,4 olan nötr ortamda ise    erek (swelling) ilaç ya da yüklenen molekülün salımının hızlanması prensibi kullanılmıştır. [20] Bu  rnekler genel kitosan davranışına bir istisna olsa da farklı malzemelerle çalışmalarda kitosanın farklı davranabileceğini göstermektedir.

N-lisinal-N'-süksinil-kitosan ile yapılan bir çalışmada [21] pH=4,5 olan asidik ortamda kitosan    erek (swell) gözenek boyutu 2  m çapına ula mı  olup, önceden yüklenmiş olan Doxorubisin sal mı artmış, pH=7,5 olan nötral ortamda ise gözenek boyutu 0,2  m çapında büzülme (shrink) yapmış olup, salınan Doxorubisin miktarında azalma gözlemlenmiştir. Bizim  alı mamızda da kullanacağımız prensip olan kitosanın asidik ortamda    erek aktif molekül salımını arttırması prensibidir.

Kitosanın akrilamit graft polimerizasyonu çalışmasında [22] polimerin yüksek su absorbe etme kapasitesine sahip olduğu belirtilmektedir. Nitekim yara elbisesi uygulamalarında, yara c ruhatının ve ortamdaki suyun emilmesi iyileşme sürecini desteklediğinden istenen bir özelliktir. Bununla beraber amaca yönelik olarak sentezlenen polimerin nem geçişine izin vermesi, bir diğer deyişle, yarayı su buharı ve nem açısından geçişe izin verir bir yapıda olması gerekmektedir. Bu anlamda ortamdaki suyu alması açısından Kitosan-g-akrilamit polimerinin yara  rt   uygulamalarında kullanıma elverişli olduğu söylenebilir.

Graft yapılmış olan polimerin çapraz bağlanması, ağımsı yapı oluşumunu sağlamaya yönelik olarak uygulanır. Çapraz bağlanmış polimer artık soğurucu bir matriks olu urmaya elverişli hale gelmiş sayılır.

Bunun ardından çeşitli aktif moleküller polimere yüklenmeye hazır hale gelmiş olur. Burada dikkat edilmesi gereken katyonik bir polimere kar   anyonik ve (-) gruplar içeren yapıların daha kolay tutundurulacağı öngörülebilir. Örneğin karboksilat

(COO⁻) içeren, bol OH grubu içeren grupların, polimere daha iyi adsorbe olması düşünülmektedir. Burada adsorbe demekten amaç aktif molekülün polimer yüzeyine elektrostatik çekimlerle tutunmasını tanımlamaktır. Literatürde kitosan ile yapılan çalışmalarda yüklenen grup genellikle negatif yüklü veya elektronca zengin olarak kullanılmıştır. Bu aktif moleküller; diklofenak, amfisilin, tiyofilin (theophylline), tinidazol, amoksisilin (amoxicillin), naproksen, epiklorohidrin, timol ve kuersatin (quercetin) gibi yapılardır. Negatif yüklü insülin aktif molekülünün, pozitif yüklü tiyollenmiş trietil kitosan polimerine kafeslendiği bir çalışmada [23], bu kafeslemenin iyonik etkileşimlerle olduğu belirtilmiştir. Bununla birlikte kitosan içine kapsüle edilen yani absorbe edilen moleküller için bir anyonik-katyonik ayrımı gözetmeye gerek olmayacağı düşünülmektedir. Çünkü asidik ortamda kitosan şişerek çözündükten sonra, ortam bazik hale getirildiğinde büzülecek ve ortamdaki aktif moleküllerin elektronik yapılarına bakmaksızın içinde hapsedecektir. Böylece kontrollü salımı yapılacak olan malzemenin ortama geçişini engelleyecek, bünyesinde tutacak ve salımı azaltacaktır. Kitosan tarafından tutulan kontrollü salım malzemesi miktarının maksimum yapılması istenen durumlarda absorbe olmayla (kapsülleme) birlikte bir miktar da adsorbe olması (kafesleme) prensibini birlikte çalıştıracak şekilde malzeme seçimi yapmak gerekir.

Burada şunu belirtmek gerekir ki, aktif molekülün entrap edildiği miktar, çapraz bağlama ajanları miktarının artmasıyla artış gösterdiği bildirilmiş. Buna karşılık olarak ise kontrollü salımda yüklenen ilaç miktarının çapraz bağlama ajanı miktarının artmasıyla azaldığı rapor edilmiştir. [24]

Kitosanın, p(AAm) matriks içerisinde entrap edildiği bir çalışmada, pH 5'ten 6'ya arttırıldığında daha fazla miktarda kitosanın hidrojel içerisine yerleştirilebildiği [25] belirtilmiştir. Bu durumda ortamın pH'ı 6'ya çekilmesiyle, ortamın pKa'sı kitosanın amin ucunun pKa'sına yaklaştığı için kitosanın çözünmesinin azaldığı rapor edilmiştir. Ayrıca kitosanın çözünmesinin artan moleküler ağırlıkla birlikte azaldığı rapor edilmiştir. Bu etkinin daha bazik ortama geçişte kitosanın büzülme yaptığı ve matriks içine daha iyi yerleştiği ve tutunduğu düşünülebilir. Böylece kitosanın katyonik olması sayesinde farklı ortam ve pH'larda, farklı davranışlar sergilemesi ile birçok açıdan işe yarar bir malzeme olduğunu tekrar görmüş oluruz.

Kitosanın pH'a duyarlı yapısından yararlanarak p(Ch-AAm) ve p(N-izopropilakrilamit) [p(NIPAM)]'ın ısıya duyarlı yapısının birlikte kullanıldığı bir çift

katmanlı hidrojel çalışmasında [26] malzemenin iki farklı ortam parametresine cevap vererek şekilsel yapısında eğilme veya doğrulma yapması ile şekilsel hafıza kazandırılarak kontrollü salımda kullanılmıştır. Bu anlamda kitosanın muhtelif malzemelerle birlikte kontrollü salım uygulamalarında sıkça kullanıldığını görmekteyiz.

Kitosan ile p(AAm)'den elektrik alan duyarlı hidrojel oluşturulan bir çalışmada yüksek bazik pH değerlerinde AAm'in hidroliz olduğu bildirilmiştir. [27] Çapraz bağlama ajanı olarak kullanılan epiklorohidrinin etkisi ile OH^- ve COO^- içeren gruplara sahip yapılarda hidrofilliğini arttırmasıyla hidroliz olmanın bazik ortamlarda arttığı ve bu hidroliz olma ile de kontrollü salımın arttığı ima edilmektedir.

Bu çalışmada yukarıda bahsedilen prensipler ve yapılan çalışmalar gereğince elde edilen bilgiler doğrultusunda MBA çapraz bağlı Ch-g-p(AAm) polimeri sentezi ve karakterizasyonu ile, bu polimere yüklenen aktif molekül ASA'nın kontrollü salımın gözlemlenmesi tamamlanmaya çalışılmıştır.

3. DENEYSEL KISIM

3.1 Malzemeler

Çizelge 3.1 : Kullanılan malzemelerin tablosu

Kitosan	Sigma Aldrich, %99 DDA, önişlem yapmadan kullanıldı.
Nitrik asit, HNO ₃	Merck, %67, d=1,41 g/mL stok çözeltisinden kullanılarak 0,1 N olarak hazırlandı
Akrilamit (AAm)	Merck.
Seryum Amonyum Nitrat (CAN)	Sigma Aldrich. 0,05 M derişimde olacak şekilde 0,1 N nitrik asit içinde hazırlanarak, önişlem yapmadan kullanıldı.
Metilen Bisakrilamit (MBA)	Fluka, önişlem yapmadan kullanıldı.
Sodyum Hidroksit (NaOH)	Merck. 1 M sulu çözelti olarak kullanıldı.
İzopropil alkol (İPA)	Teknik.
Asetil Salisilik Asit (ASA).	Sigma Aldrich, önişlem yapmadan kullanıldı.
Asetik Asit (AcOH)	Merck, %99 glasiyal asetik asit kullanılarak hazırlanan %1 (a/h) sulu çözeltisi kullanıldı.
Aseton	Teknik.
pH 2 tamponu	7,45 g. KCl ve %37'lik HCl'den 1,75 mL (770 mg) kullanıldı ve çözelti 1 L saf su içerisinde hazırlandı.
pH 6 tamponu	1,307 g. Na ₂ HPO ₄ ·7H ₂ O ve 13,127 g. NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O kullanıldı ve çözelti 1 L saf su içerisinde hazırlandı.
pH 8,5 tamponu	61,83 g. H ₃ BO ₃ ve 10 g. NaOH kullanıldı ve çözelti 1 L saf su içerisinde hazırlandı.

3.2 Cihaz ve Yöntemler

FTIR analizleri Thermo Scientific marka, GladiATR Nicolet 380 FT-IR model cihazda, elmas kristal içeren ATR modülü kullanılarak, 4000-400 cm^{-1} aralığında, yüzde geçirgenlik olarak ölçüldü. ^1H NMR analizleri Agilent marka VNMRS model (^1H rezonans frekansı 500 MHz) cihazda çözücü olarak $\text{D}_2\text{O}/\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ kullanılarak -10 ile 18 ppm aralığında alındı.

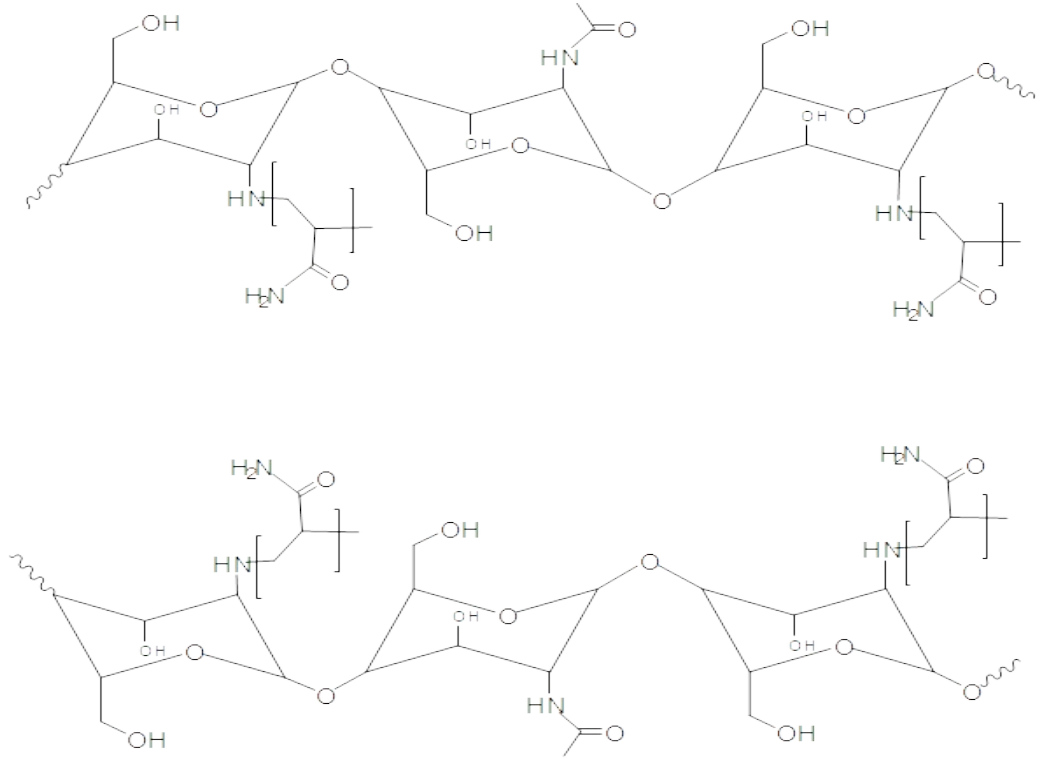
UV analizleri Perkin Elmer marka, Lambda 25 model, UV/Vis spektrometre cihazı kullanılarak yapıldı. Ölçümler 200-800 cm^{-1} dalgaboyu aralığında alındı.

Elde edilen kopolimerlerin çöktürülmesi için Centurion marka santrifüj cihazı kullanıldı. Kopolimerler 3400 devir/dakika hızda (200 G ile) 5 dakika döndürülerek çöktürüldü.

Viskozite ölçümleri Ubbelohde Type I cam viskozimetre ile 30 $^{\circ}\text{C}$ 'de çözücü olarak su kullanılarak ölçüldü. Kopolimer derişimi $1,0 \times 10^{-3}$ g/mL olarak ayarlandı. Poliakrilamit için K ve α değerleri sırasıyla $6,5 \times 10^{-3}$ mL/g ve 0,82 olarak kullanıldı. [28]

3.3 Kitosan-Graft-Poliakrilamit (Ch-g-p(AAm)) Kopolimeri Eldesi

0,1 g kitosan, 10 mL %1'lik asetik asit (AcOH) içinde 15 dk içinde 40 $^{\circ}\text{C}$ 'de çözüldü. Ardından kitosan:akrilamit oranı kütlege 1:5 olacak şekilde 0,5 g akrilamit 7,5 mL %1'lik asetik asit içinde çözülerek eklendi. 15 dakika sonra polimerleşmenin başlaması için 6 mL 0,1 N HNO_3 içindeki 0,05 M CAN şırınga ile 15 dk içinde, üç kısımda 5'er dakika aralıklarla yavaşça reaksiyon ortamına ilave edildi ve 3 saat aynı sıcaklıkta karıştırıldı. Süre tamamlandığında ürün reaksiyon hacminin 5 katı kadar IPA içine dökülerek kopolimerin çökmesi sağlandı. Ardından karışım 1 M NaOH ilavesi ile pH'ı 8-9 arasında ayarlanarak bitirildi. Küçük zincirlerin de çökmesi için 1 gece derin dondurucuda bekletildi. Ertesi gün santrifüj ile ayrılan kopolimer saat camına alınarak önce açık havada, sonra vakum etüvünde kurutuldu. Reaksiyonun yürüyüşü aşağıdaki reaksiyon denkleminde gösterilmiştir.



Şekil 3.1 : Kitosan graft poliakrilamit kopolimeri.

3.4 MBA Çapraz Bağlı Kopolimerin MBA/(Ch-g-p(AAm)) Eldesi

Çapraz bağlı kopolimer eldesi için yukarıda anlatılan yöntemden farklı olarak AAm:MBA oranı ağırlıkça 30:1, 20:1 ve 15:1 olacak şekilde değişen miktarlarda metilen bisakrilamit (MBA), son kısım seryum eklendikten 15 dakika sonra, polimerleşme ortamına eklendi. Süre tamamlandığında ürün reaksiyon hacminin 5 katı kadar IPA içine dökülerek kopolimerin çökmesi sağlandı. Ardından karışım 1 M NaOH ilavesi ile pH'ı 8-9 arasında ayarlanarak bitirildi. Küçük zincirlerin de çökmesi için 1 gece derin dondurucuda bekletildi. Ertesi gün santrifüj ile ayrılan kopolimer saat camına alınarak önce açık havada, sonra vakum etüvünde kurutuldu.

3.5 Kopolimerlere ASA Yükleme

Kopolimerlere ASA yükleme PEC (polielektrolit kompleks) metoduna göre yapılmış olup kopolimer:ASA oranı kütlece 3:1 olarak kullanıldı. Bu yöntemle göre 108 mg. kopolimer 10 mL AcOH içinde, ayrı bir kapta 36 mg. ASA saf su içerisinde çözüldü ve 1 M NaOH kullanılarak bazik hale getirildi. Ardından bazik ASA çözeltisi damlatma pipeti kullanılarak yavaşça yaklaşık 10 dk boyunca karışmakta olan asidik polimer çözeltisi üzerine damla damla eklendi. Elde edilen ASA yüklü

polimer karışımı bir beherde karışmakta olan aseton içerisine yavaşça eklenir. Elde edilen çözelti soğutucuda soğutulduktan sonra santrifüj uygulanarak tüm polimerin çökmesi sağlandı. Vakum etüvinde kurutulan ASA yüklü kopolimer pelet haline getirilerek ASA salımı farklı pH ortamlarında incelendi.

3.6 Kontrollü Salım Denemeleri

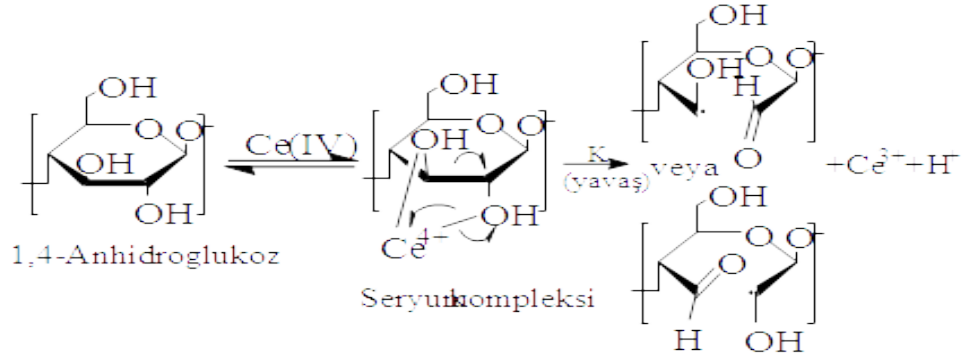
Üç farklı pH değeri (pH 2, pH 5, pH 9) için hazırlanan tamponlarda UV spektroskopisi ile oluşturulan kalibrasyon doğruları kullanılarak ASA salımı tespit edildi. 10 mL tampon içerisine eşit kütlelere bölünmüş olan peletler atıldı ve bir manyetik karıştırıcı ile ölçüm numuneleri belirli zaman aralıklarında quartz UV hücreler ile ölçüm gerçekleştirildi.

4. SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME

4.1 Kopolimer Eldesi

Çalışmamızda graft kopolimerizasyonun redoks yöntemiyle radikal oluşumu üzerinden yürütülmesi tercih edildi. Redoks yöntemiyle radikal oluşturmak için indirgen bileşik olarak kitosan, redoks başlatıcısı olarak ise seryum amonyum nitrat (CAN) kullanıldı.

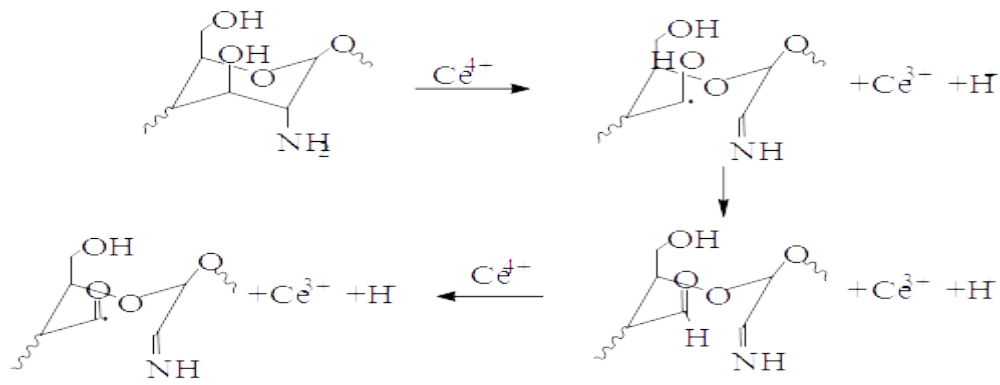
Seryum (IV) ile yapılan reaksiyonlarında hidroksil grubu gibi fonksiyonel gruplar taşıyan bileşikler indirgen olarak davranıp radikal mekanizma üzerinden yükseltgenmektedir. Selüloz, polietilen glikol gibi bol miktarda hidroksi grubu içeren bileşiklerde bu yükseltgenme reaksiyonunda radikal oluştuğu sırada ortamda vinil monomerlerinin bulunması bir katılma polimerizasyonuna neden olur. Yapılan çalışmalara göre polisakkaritler ve seryum(IV) arasında gerçekleşen Şekil 4.1’de gösterilen reaksiyon bir kompleksin oluşumu ile yürümektedir. [29]



Şekil 4.1 : Anhidroglukoz ile seryum(IV) arasında şelat üzerinden radikal oluşumu.

Benzer şekilde ksilan ile grubumuz tarafından yapılmış bir başka çalışmada da reaksiyonun benzer bir kompleks üzerinden yürüdüğü düşünülmüştür. [30]

Dolayısıyla benzer bir yapıya sahip olan kitosanın da reaktif olan 2 ve 3 numaralı karbonları üzerinden seryum(IV) ile benzer bir kompleks oluşumu sonucu radikal mekanizmasının Şekil 4.2’de gösterildiği gibi olduğu düşünülmektedir. [6]



Şekil 4.2 : Seryumun kitosan radikali oluşturması.

En yüksek graft kopolimer miktarını elde edebilmek için süre, indirgen bileşik miktarı, CAN miktarı, sıcaklık gibi değişkenler kullanılarak denemeler yapıldı. Yapılan deneylerde reaksiyon verimi, elde edilen kopolimer gramının, başlangıçta kullanılan kitosan (Ch) ve akrilamit (AAm) monomerinin toplam kütlesine oranı olarak hesaplandı. Seçilen sonuçlar Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1 : %1 AcOH içinde çözülmüş 0,1 g kitosan, 0,5 g akrilamit, 0,1 N HNO₃ içinde 0,05 M CAN kullanılarak yapılan deneylerin özet sonuçları

No	Sıcaklık °C	Süre Saat	AAm:MBA mol:mol	Verim %
ChAAm-1 ^{a,e,f}	60	1,5	-	15
ChAAm-2 ^e	25	24	-	29
ChAAm-3	40	3	-	94
ChAAm-4 ^b	40	3	-	32
ChAAm-5	40	3	-	73
ChAAm-7	40	3	43	79
ChAAm-8	40	3	33	24
ChAAm-9	40	3	65	29
ChAAm-10 ^c	40	3	-	8
ChAAm-11 ^d	40	3	43	49
ChAAm-12 ^d	40	3	65	42
ChAAm-13 ^d	40	3	33	66

^a %2 AcOH çözeltisi kullanıldı, ^b azot atmosferinde yapıldı, ^c kitosan kullanılmadı (blank deney), ^d 0,3 g kitosan, 1,5 g AAm, 17,5 mL %1 AcOH, 2,5 mL su kullanıldı, ^e 0,10 M HNO₃ içinde 0,10 M CAN kullanıldı, ^f 0,7 g AAm kullanıldı,

Kitosan yapısı incelendiğinde 1 gram kitosan başına yaklaşık olarak 6 mmol serbest amin grubu taşıdığı görülür. Kitosanın AAm ile modifikasyonu sonucunda ele geçmesi beklenen ürün olan kitosan-graft-poliakrilamit (ChAAm) kopolimerinin

reaksiyonunun özellikle amin ucundan gerçekleştiği düşünülmektedir. [9] Dolayısıyla 0,1 g kitosanda 0,6 mmol serbest NH_2 bulunmaktadır.

ChAAM-1 deneyi, geçmiş dönemlerde grubumuz tarafından yapılan benzer çalışmalardan ve literatürden yararlanılarak tespit edildi. İndirgen bileşik miktarı 0,3 g kitosan/100 mL çözelti olacak şekilde kullanıldı. Bu denemede AAm miktarı da kitosanın kütleye 7 katı olacak şekilde kullanıldı. Denemelerde homojen bir ortam elde etmek için çıkış maddeleri olarak kullanılan kitosan ve AAm çözelti halinde kullanıldı. Bu amaçla kitosan %2 konsantrasyonda asetik asit (AcOH) içinde çözüldü. Asit konsantrasyonunun değişmemesi için AAm monomeri de %2 AcOH içinde çözülerek ortama eklendi. Son olarak 6 mL 0,1 M HNO_3 içindeki 0,1 M CAN (son derişim 19,4 mM) ilavesiyle başlatılan reaksiyon 60 °C’de 1,5 saat sonunda sonlandırıldı. Ele geçen kopolimerin miktarının kitosan ve akrilamit miktarlarının toplamı olması beklendiğinden ele geçen kopolimer miktarı ile bu toplam karşılaştırılarak verim hesaplandı. Bu koşullarda %15 verimle graft kopolimer ele geçti.

Sonraki denemelerde Ch:AAM oranı kütleye 1:5 olarak belirlendi; bu miktarlar hesaplandığında kitosan üzerinde bulunan toplam 0,6 mmol NH_2 ve 7 mmol AAm olduğu görüldü. Yani ortamdaki kitosan üzerinde bulunan her bir NH_2 fonksiyonlitesine karşılık yaklaşık 12 kat fazla AAm vardı.

Düşük verimin yükseltilmesi için yapılan ChAAM-2 numaralı deneyde CAN derişimi 33 mM olarak kullanıldı, sıcaklık 60 °C’den 25 °C’ye düşürüldü ve reaksiyon süresi 24 saate çıkarıldı. Ayrıca kitosani çözmek için kullanılan AcOH derişimi de azaltılarak %2 yerine %1 olarak kullanıldı. Bu değişiklikler sonunda ele geçen miktar beklenen miktarın %29’u kadar oldu. Sıcaklığın düşürülmesi verimi olumlu yönde etkilese de istenen sonucu vermedi. Ayrıca yükselen CAN derişiminin istenildiği gibi verimi yükseltmediği görüldü. Bilindiği gibi CAN ile indirgen bileşik üzerinde oluşan radikaller yarışan reaksiyonlar olan yükseltgenme ile polimerleşme arasında bir seçim yapmak durumundadır. Dolayısıyla yüksek CAN miktarı oluşan radikallerin, polimerleşme yerine yükseltgenme reaksiyonu verdiği ve polimer veriminin düşmesine sebep olduğu düşünüldü.

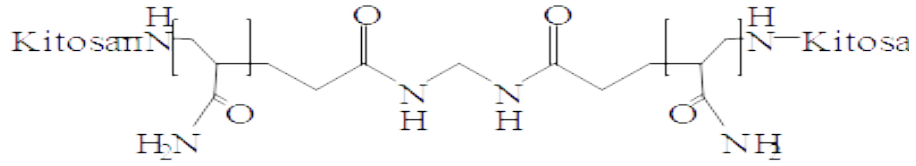
ChAAM-3 denemesinde CAN derişimi 11,5 mM olarak kullanıldı, sıcaklık 40 °C’ye çıkarıldı ve reaksiyon süresi 3 saat olarak belirlendi. ChAAM-2 ile ChAAM-3

reaksiyonları karşılaştırıldığında verimde çok yüksek bir artış elde edildi. (%94) Havadaki oksijenin reaksiyona olumsuz etkisini belirlemek için aynı koşullarda azot atmosferde yapılan ChAAM-4 denemesi %32 gibi göreceli olarak düşük bir verim gösterdi. Havadaki oksijenin radikallerin oluşumuna olumsuz etkisinin olmadığı tespit edildi ve deneylerin hava atmosferinde devam edilmesine karar verildi.

ChAAM-3 koşullarının tekrarlanabilirliğini göstermek için yapılan ChAAM-5 denemesinde ise teknik hatadan dolayı CAN ilavesi sırasında sıcaklık 70 °C'ye yükseldi ve ardından reaksiyon sıcaklığı olan 40 °C'ye düştü. Bu sıcaklık değişimi ele geçen ürün miktarında azalmaya sebep olup %73 civarında bir verime sebep oldu. Bu veriler kopolimer reaksiyonunda optimum sıcaklığın 40 °C olduğunu gösterdi ve sonraki reaksiyonların hepsinde aynı sıcaklık kullanıldı.

İndirgen bileşik kitosan kullanılmadan ChAAM-10 numaralı kör denemede %8 verimle polimerleşme gerçekleşti. Bu sonuç polimerleşmenin aslında kitosan üzerinden graft kopolimer oluşumunun gerçekleştiğini ispatladı.

Çapraz bağlı kopolimerlerin eldesi için yapılan denemelerde (ChAAM-7, ChAAM-8, ChAAM-9, ChAAM-11, ChAAM-12, ChAAM-13) değişen oranlarda metilenbisakrilamit (MBA) ilavesi yapıldı. MBA ile yapılan denemelerde elde edilmesi beklenen yapı Şekil 4.3'te gösterilmiştir. Çapraz bağlı kopolimerler ile kontrollü salım için gerekli porozitenin oluşturulması hedeflendi. AAM ile MBA mol oranı 43:1, 33:1, 65:1 olacak şekilde değiştirildi. Mol oranının 33:1 olduğu ChAAM-8 denemesinde kopolimer verimi %24 olarak gerçekleşti. Molar oranın artışı ele geçen kopolimer miktarında da farklılıklar gözlemlendi. Mol oranı 43:1 olduğunda verim %79 (ChAAM-7), 65:1 olduğunda ise %29 olarak gözlemlendi. Bu sonucun olası nedeni olarak MBA oranı arttıkça kopolimerin konformasyonel olarak daha çok katlanması nedeniyle monomerlerin yapıya katılmasındaki güçlük olduğu düşünüldü. Ancak kitosan ve akrilamit miktarı 3 kat fazla, çözücü olarak kullanılan asetik asit konsantrasyonu da %0,9 olarak kullanılan denemelerde (ChAAM-11, ChAAM-12, ChAAM-13) kopolimer veriminde genel bir artış gözlemlendi. Bu dizi içinde en yüksek verim mol oranı 33:1 olan ChAAM-13 için %66 olarak gözlemlendi. Mol oranı 43:1 (ChAAM-11) ve 65:1 (ChAAM-12) olan denemeler içinse %49 ve %42 kopolimer ele geçti. Aynı mol oranına sahip olan denemeleri karşılaştırdığımızda kitosan ve AAM konsantrasyonunun artması ve ortam asitliğinin hafifçe azalması verimi olumlu olarak etkilerken MBA oranının artması genel olarak olumsuz etki yaptı.

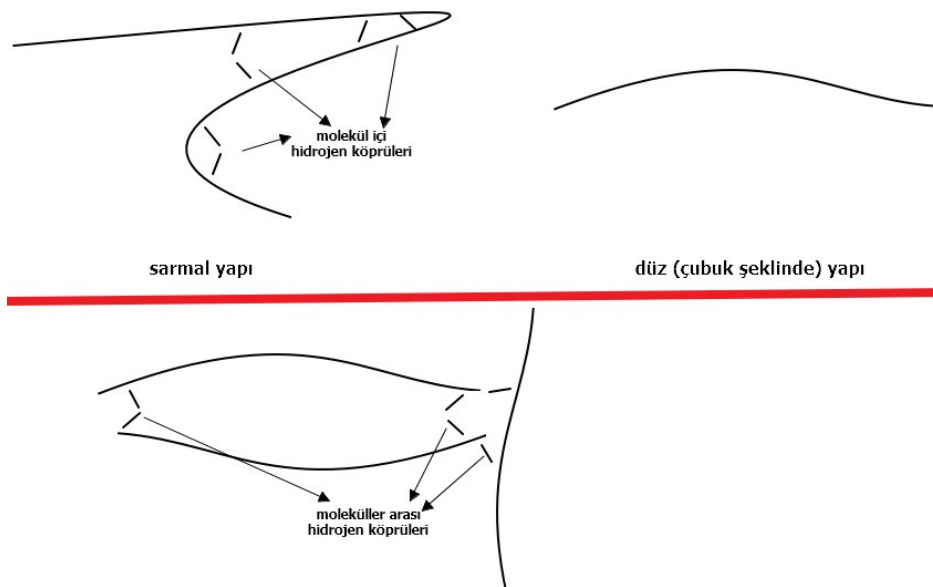


Şekil 4.3 : Çapraz bağlı kitosan-g-poliakrilamit kopolimeri.

Sonuç olarak sıcaklık, ortam asitliği, bileşenlerin konsantrasyonu, sıcaklık ve AAm:MBA oranı ele geçen kopolimer miktarı üzerinde önemli etkiye sahip olduğu; kopolimer eldesinin 40 °C sıcaklıkta en uygun olduğu; AAm:MBA oranının artışının kopolimer eldesine olumsuz yansıdığı gözlemlendi.

4.1.1 Molekül ağırlığının incelenmesi

Elde edilen kopolimerlerin molekül ağırlığının tayini için seyreltme viskozitesi ile Mark-Houwink-Sakurada (MHS) denklemi kullanıldı. Poliakrilamit için rapor edilen intrinsik viskozite parametreleri olan k ve α değerleri sırasıyla $6,5 \times 10^{-3}$ mL/g ve 0,82 olarak rapor edilmiştir. Polimer için α değeri molekülün yönelmesine etki etmekte ve çubuk gibi düz bir yapıda mı yoksa sarmal bir yapıda mı olacağını belirtmektedir. α değeri 0,5'ten 1'e doğru değiştikçe moleküliçi (intramoleküler) hidrojen bağları gibi etkileşimlerden dolayı sarmal olan yapı, düz yapıya doğru açılmaktadır. Molekül içi yani aynı zincir üzerindeki hidrojen köprülerinin artması yapıya sarmallık kazandırırken, molekül içi hidrojen köprülerinin azalması düz zincir yapıya dönmeye sebep olmaktadır.



Şekil 4.4 : Moleküliçi (intramoleküler) ve moleküllerarası (intermoleküler) hidrojen köprülerinin çözeltideki yapıya etkisi.

İntrinsik viskozitenin hesaplanması için Solomon-Ciuta eşitliği ($[\eta] = \sqrt{2 \cdot \frac{[\eta]^2}{M_w}}$) kullanılabilir. [31,32] Bilindiği gibi Mark-Houwink-Sakurada denklemi polimerin belli bir sıcaklıkta belli bir çözücündeki konformasyonu ve buna bağlı olarak hidrodinamik hacmiyle ilgilidir. Dolayısıyla polimerin yapısında meydana gelen değişiklikler polimerin çözeltideki davranışının değişimine neden olur. Bu nedenle kopolimerlerin ağırlıklı bileşeni poliakrilamit olduğu için onun çözelti davranışına yakın bir sonuç gözlenmesi beklenir. Böylece yapılan ölçümler mutlak molekül ağırlığını vermese bile bir yaklaşım ve karşılaştırma yapılabilir.

Kopolimerler için yapılan ölçümler sonucu intrinsik viskozite Kopolimerlerin molekül ağırlığının hesabı için intrinsik viskozite tek noktadan hesaplanarak kullanıldı. ChAAm-5 için 55 bin kDa molekül ağırlığı hesaplandı. MBA ilavesi sonucu oluşan çapraz bağlı kopolimerler beklendiği gibi daha küçük molekül ağırlığı gösterdi; ChAAm-7 için 12 bin kDa, ChAAm-8 için ise 17 bin kDa molekül ağırlığı belirlendi.

4.2 Kopolimerlerin Spektral Karakterizasyonu

Sentezlenen kopolimerlerin yapısının belirlenmesi için FTIR ve NMR spektroskopileri kullanıldı.

Yapılan spektrumlar arası değerlendirmelerde kitosan miktarı aynı olduğu için 900-1100 cm⁻¹ bölgesindeki bantların şiddetleri aynı boyuta getirildi.

FTIR spektrumları incelendiğinde kitosanın karakteristik sinyalleri 3348 ve 3286 cm⁻¹'de geniş bir bant olarak OH ve NH gerilmeleri bir arada, 2863 cm⁻¹'de çeşitli C-H gerilmeleri, 1643 cm⁻¹'de amit I ve/veya adsorbe olmuş suya ait titreşim bandı, 1561 cm⁻¹'de amit II titreşim bandı, 1800-1500 arasında çeşitli C-C-H, C-O-C, C-C-O eğilme ve C-C, C-O gerilme titreşimleri, 893 cm⁻¹'de anomerik (C₁) grubun β konformasyonu ile ilgili olan sinyal olarak belirlendi. [9]

Poliakrilamit için 1664 cm⁻¹'da çıkan pikler amit I, 1537 cm⁻¹ amit II bandlarına ait sinyallerdir [33,34]. C-N deformasyon ve çeşitli CH₂ gruplarına ait sinyaller 1000-1400 cm⁻¹ aralığında gözlemlenmektedir.

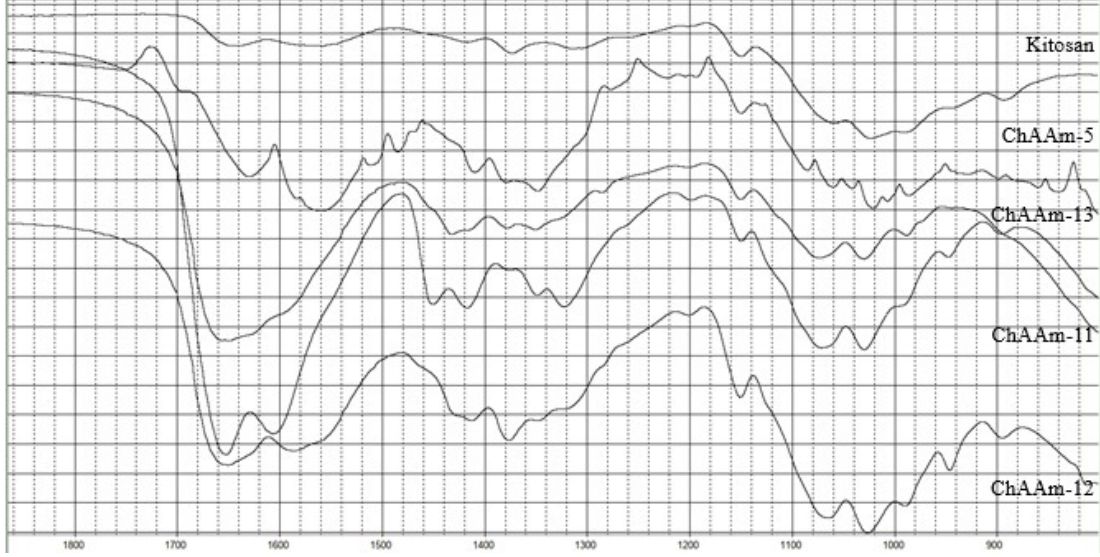
Graft kopolimerizasyonun 2870 cm⁻¹'de gözlenen sinyallerin şiddetinde artışa sebep olması beklenir. Graft kopolimerizasyon öncesi ve sonrası 3400 cm⁻¹ bölgesinde büyük bir değişiklik gözlenmedi. Yapıya eklenen poliakrilamit grubundan gelen NH₂

ve kitosan üzerindeki NH_2 ve OH grupları bu bölgede üst üste gelecek şekilde sinyal verdi. Bu yayvan sinyalin tepe noktası 3324 cm^{-1} 'de gözlemlendi.

Kitosanda amit I bandı 1643 cm^{-1} 'de, akrilamitte 1649 cm^{-1} 'de çıkarken, kitosan-graft-poliakrilamit kopolimerlerinde 1630 cm^{-1} civarında çıktı. Bu kaymanın nedeni kitosan yapısına poliakrilamitin graft olması olarak gözlemlendi. Ayrıca polisakkaritler için karakteristik olan C-O-C gerilme piklerinin gözlemlendiği $1200\text{-}900 \text{ cm}^{-1}$ bölgesinde graft kopolimerizasyon sonucu değişiklikler oldu. Kitosan için 1023 cm^{-1} 'de maksimum veren sinyal paterninde tepe noktası azalarak 1021 cm^{-1} 'de gözlemlendi. Bu bölgede gözlenen bir başka değişiklik ise poliakrilamitin yapıya girmesiyle oluşan ekstra pikler ($1130, 1086, 1041, 1007 \text{ cm}^{-1}$) oldu. Bu pikler yapı üzerine poliakrilamitin graft olduğunu gösterdi. Kitosandaki 1 numaralı karbona ait 895 cm^{-1} 'de gözlenen sinyal ise 899 cm^{-1} 'e kaydı; bu da kitosan zincirinin konformasyonunda küçük de olsa bir değişiklik olduğunu gösterdi.

Çapraz bağlı kopolimerlerde ise 1630 cm^{-1} 'de çıkan amit I bandı ile 1562 cm^{-1} 'de çıkan amit II bandı farklılaştı. Amit I bandı graft kopolimere göre daha güçlü ve yüksek frekansta (1652 cm^{-1}) gözlemlendi. Ayrıca MBA kısmına ait olan ikinci bir amit I bandının 1600 cm^{-1} bölgesinde belirmeye başladığı gözlemlendi. Bu bant artan MBA miktarı ile daha belirgin olarak ve daha düşük frekansta gözlemlendi. 15:1 MBA (ChAAm-13) için 1625 cm^{-1} 'de amit I bandına bitişik olarak gözlenen bu yeni bant, 20:1 MBA katkısında (ChAAm-11) tamamen ayrı bir sinyal olarak 1606 cm^{-1} 'de gözlemlendi. 30:1 MBA katkısında (ChAAm-12) ise amit II bandına bitişik olarak 1586 cm^{-1} 'e kaydı.

Şekil 4.5'te gösterildiği gibi amit II bandı ise AAm:MBA oranı 15:1 olan kopolimerde belli belirsiz küçük bir omuz olarak gözlenirken, 20:1'de daha belirginleşmiş, 30:1'de ise kendini belli edecek şekilde ortaya çıktı.



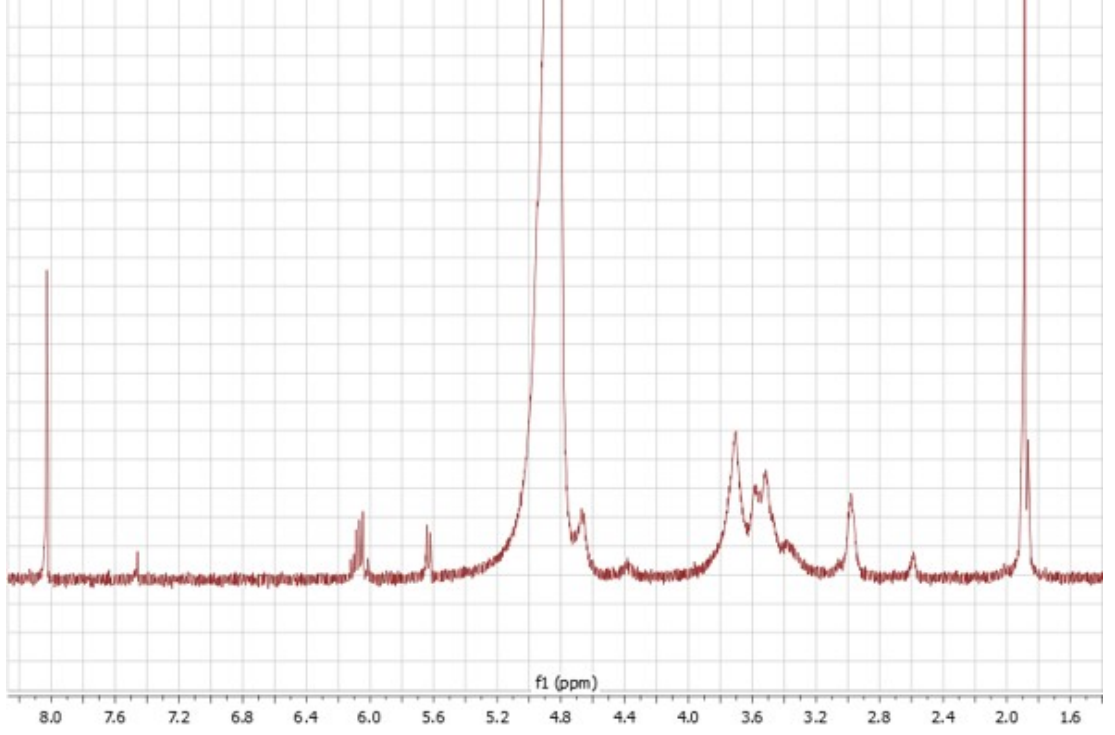
Şekil 4.5 : Çapraz bağın amit I ve amit II bantlarına etkisi.

Kitosanın konformasyonu ile ilgili olan $1200-900\text{ cm}^{-1}$ bölgesinde ise çapraz bağ miktarının artmasıyla beraber kitosanın konformasyonunda bir rahatlama gözlemlendi. Graft kopolimerde 4 cm^{-1} kadar yukarı kaymış olan C1 grubunun frekansı eski yerine doğru 895 cm^{-1} 'de gözlemlendi.

Karakterizasyon için alınan NMR spektrumları D_2O ve $\text{F}_3\text{CCO}_2\text{H}$ çözeltisinde hazırlandı. Çözücü piklerinden $4,82\text{ ppm}$ 'de DHO ve 8 ppm 'de CF_3COOH çıktığı gözlemlendi.

Kitosanın NMR spektrumu İki numaralı karbona bağlı olan hidrojen $3,2\text{ ppm}$ 'de, bir numaralı karbona bağlı hidrojen $4,9\text{ ppm}$ 'de 3-4-5 ve 6 numaralı hidrojenlerse $3,75-3,90\text{ ppm}$ 'de olarak rapor edilmiştir. [35]

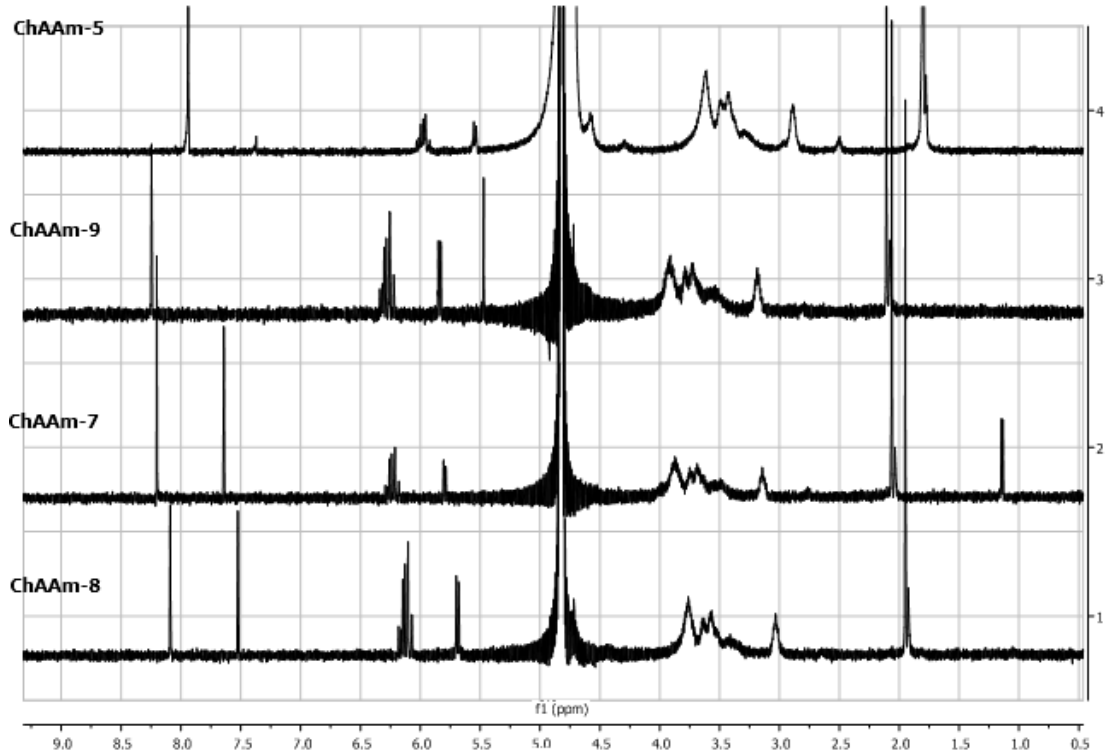
Şekil 4.6'da kitosan graft poliakrilamid, ChAAm5 spektrumu verilmiştir. Burada 3-4-5 ve 6 numaralı karbonlara bağlı hidrojenlerde $3,61-3,9$ arasında kaymalar olmuştur. Bu kaymalar yapıya poliakrilamid graft edildiğini göstermektedir. Yine 2 numaralı karbona bağlı hidrojen $3,2\text{ ppm}$ 'de çıkması gerekirken $2,9\text{ ppm}$ 'de çıkmıştır. Her iki durumda da yapıda yukarı bölgeye kayma gözlemlenmiştir.



Şekil 4.6 : ChAAm5 ^1H NMR spektrumu.

ChAAm-5 ürününde hala polimerleşmemiş akrilamid olduğu 5,6 ve 6,07 ppm’de çıkan piklerden belirlendi ve reaksiyon veriminin düşük olmasının sebebi olarak görüldü. Spektrumda poliakrilamid pikleri ise 7,5-2,59 ve 1,87 ppm’lerde çıktığı gözlemlendi.

Şekil 4.7’de gösterilen graft kopolimer (ChAAm-5) ve AAm:MBA oranları sırasıyla 30:1 20:1 ve 15:1 olan çapraz bağlı kopolimerlerin (ChAAm-9 ChAAm-7 ve ChAAm-8) NMR sonuçlarına rapor edilmiştir.



Şekil 4.7 : ChAAm-5, ChAAm-9, ChAAm-7 ve ChAAm-8 ¹H NMR spektrumları.

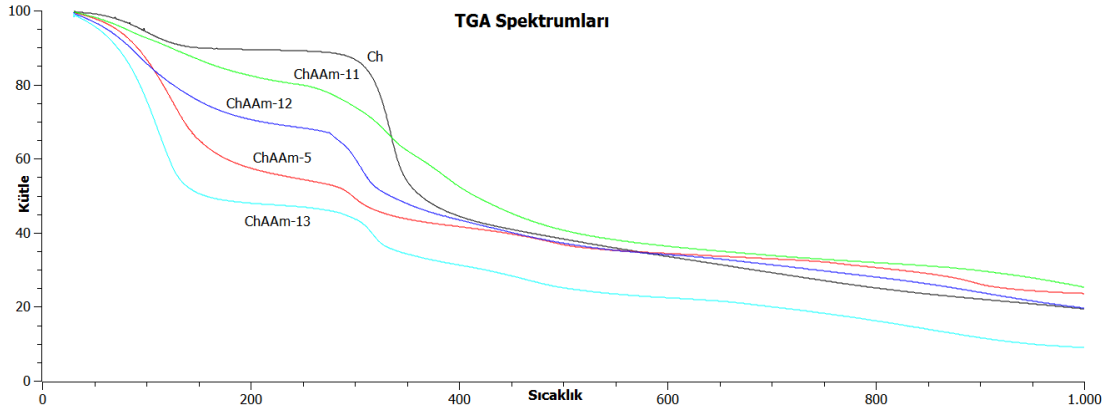
¹H NMR spektrumuna göre graft kopolimerde 2,9 ppm’de çıkan kitosanın 2 numaralı karbonuna bağlı hidrojene ait pik, çapraz bağlı kopolimerlerde aşağı alana yani elektron yoğunluğu az olan bölgeye kaydı. Bu kayma çapraz bağlama ajanı MBA oranının artmasıyla azaldığı gözlemlendi.

4.3 Kopolimerlerin Termal Karakterizasyonu

Kitosan ve sentezlenen kopolimerlerden ChAAm-5, ChAAm-11, ChAAm-12 ve ChAAm-13 örnekleri termal karakterizasyon yapıldı. Ölçümler 0-1000 °C arasında 20°C/dk ısıtma hızında yapıldı. Ele geçen termogramlarda kitosanın üzerinde adsorplanan nemin 160 °C’ye kadar uzaklaştığı %10’luk bir kütle kaybı olarak gözlemlendi. Bunun ardından 265 °C’den itibaren 460 °C’ye kadar %47’lik bir kütle kaybı kitosanın termal dekompozisyonu olarak kaydedildi.

Benzer şekilde ChAAm-5 kodlu graft kopolimer için 200°C’ye kadar %43’lük bir kütle kaybı gözlemlendi. Kopolimerler için 150 °C’nin altında kütle kayıpları ChAAm-5 için %36, ChAAm-11 için %13, ChAAm-12 için %25, ChAAm-13 için ise %50 olarak gözlemlendi. Bu kaybın polimer üzerine adsorbe olan nemden kaynaklandığı düşünüldü.

Çapraz bağlanma içeriğine göre graft kopolimerlerde 260 °C’lerde başlayıp, 380 °C’de sona eren ikinci bir dekompozisyon gözlemlendi. Çapraz bağlanma miktarı arttıkça molekül ağırlığı dağılımının değişiminden dolayı özellikle ChAAm-11 için oldukça yaygın bir biçimde dekompozisyonu gerçekleştiği gözlemlendi.



Şekil 4.8 : Kitosan, graft kopolimer ve üç farklı orandaki çapraz bağlı kopolimerlerin TGA spektrumları.

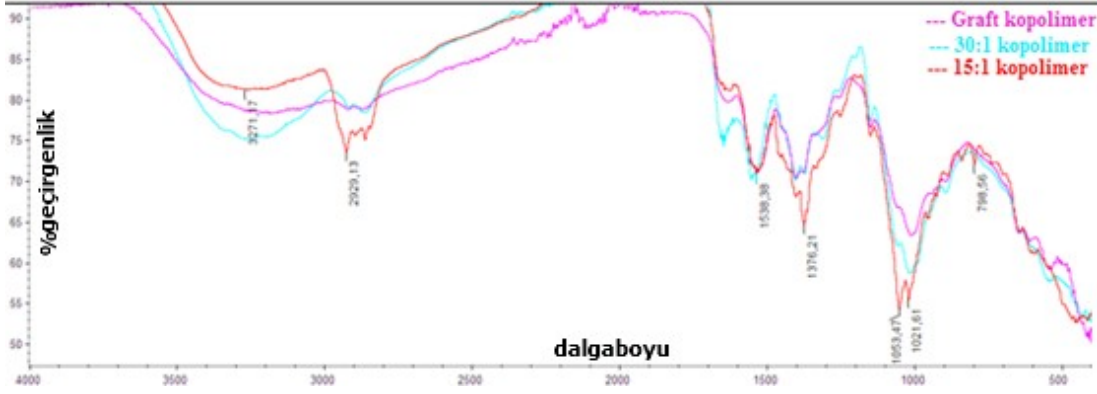
Türev spektrumlarında pik maksimumları kitosan için 333 °C’de, ChAAm-5 için 300 °C’de gözlemlendi. Çapraz bağlı kopolimerler içinse AAm:MBA oranı sırasıyla 15:1, 20:1 ve 30:1 olan kopolimerler; ChAAm-13 için 322 °C’de, ChAAm-11 için 340°C’de, ChAAm-12 için 310°C’de gözlemlendi.

4.4 Kontrollü Salım Denemeleri

Kontrollü salım denemelerinin yapılması için elde edilmiş olan kopolimerlere asetil salisilik asit (ASA) adsorbe edildi. Bununla birlikte yükleme metodu gereğince enkapsülasyon ile de kopolimere ASA yüklemesi yapıldığı değerlendirildi. Nitekim PEC metoduna göre yapılan yüklemelerin kapsülleme (encapsulation) olduğu farklı kaynaklarda [36] defaatle belirtilmiştir. Bu yükleme metodunun temel mantığı pozitif yüklenmiş polimere, negatif yüklenmiş olan aktif ilaç molekülünün uygulanmasıdır. (+) yükler, (-) yüklere göre ziyadesiyle büyük olduğunda bir kapsülleme yani kaplama ve çevreleme oluşturmaktadır. Çalışmada seçilen 3:1 oranı ise yine mevcut bir çalışmada [37] belirtilen optimizasyon çalışması değerlendirilerek alınmıştır.

Çapraz bağlı olan kopolimerlerde adsorpsiyonun daha yüksek olması beklendiği için farklı oranlardaki çapraz bağlı polimerlere yükleme yapıldı. Yüklemin gerçekleşip gerçekleşmediğini gözlemek için FT-IR kullanılarak infrared spektrumu alındı. Çapraz bağlama ajanı olan MBA miktarındaki artış, çapraz kopolimere yüklenen

ASA miktarında artış sağladığı gözlemlendi. Sırasıyla 15:1 - 30:1 AAm:MBA oranlı ve graft kopolimerlerde (ChAAm-13, ChAAm-11, ChAAm-12) MBA miktarının artması, 1053 cm^{-1} 'de çıkan ASA'dan kaynaklanan bant şiddetinin artmasına sebep oldu. Bu da çapraz bağlı kopolimerlerin, beklendiği gibi, daha fazla ASA yüklendiğini gösterdi.



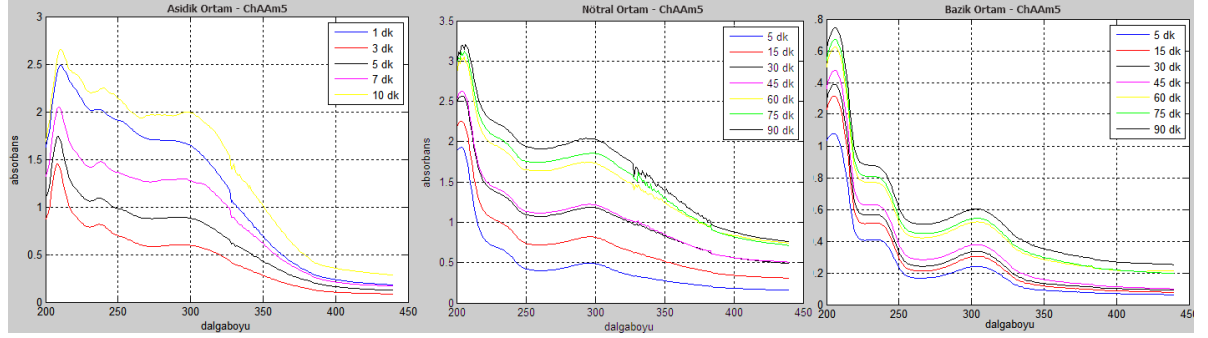
Şekil 4.9 : Asa yüklenmiş kopolimerlerde çapraz bağ karakteristiği 1053 cm^{-1} piki etkisi.

ASA yüklenmiş olan graft ve çapraz bağlı kopolimerler pelet haline getirildikten sonra üç farklı pH (2, 6 ve 8,5) ortamında kontrollü salımları UV-görünür bölge spektroskopisi kullanılarak belirli sürelerle gözlemlendi. Bu pH'ların seçiminin nedeni kontrollü salımın midenin düşük pH'ında (asit), cilt üzerinde (ılıman asidik, nötrale yakın) veya bağırsakların bazik pH'ında nasıl gerçekleşeceğini gözlemektir.

Elde edilen spektrumlarda ASA 200-210 nm arasındaki dalga boylarında tepe noktaları verdi. Zamana göre salım hızlarında ortam pH'ına bağlı olarak değişimler oldu. Genel olarak graft ve farklı miktarlardaki çapraz bağlı kopolimerler asidik ortamda daha hızlı salım yaparken, nötrale ve bazik ortama gelindiğinde salım giderek azaldı. Bunda polimerlerin bazik ortama doğru girdiğinde büzülme davranışı gösterdiği etki etti.

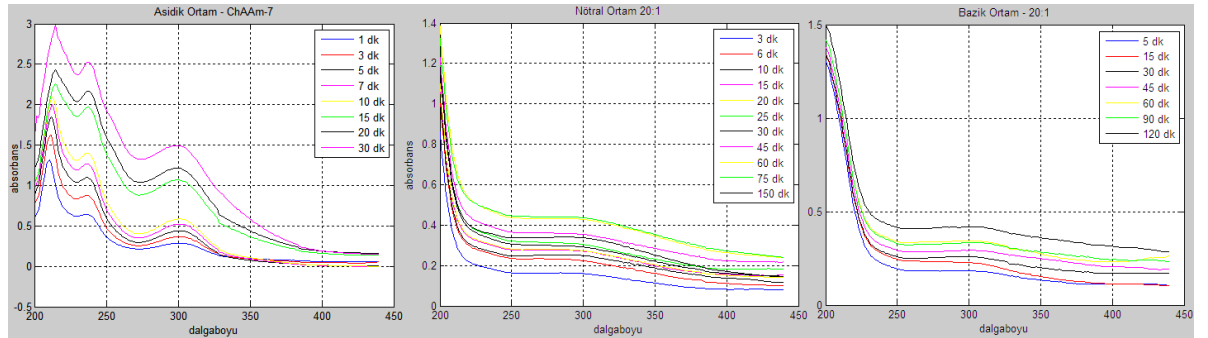
Şekil 4.10'da kitosan graft poliakrilamit kopolimerinin asidik, nötral ve bazik ortamlarda salımları gözlemlenmiştir. Kopolimerin bazik ortamda salımını minimum yaptığı, nötral ortamda ise bazik ortama göre daha fazla miktar salım yaptığı gözlemlenmiştir. Salım 1,5 saat süre ile kontrol edilmiştir. Asidik ortamda ise 10 dk içerisinde 5 adet ara ölçüm alınmış olup, sonuçlar oldukça dikkati celb edicidir. Zira kopolimer yükleme tekniğinin bazik olarak kapsülde bırakılması dolayısıyla, asidik ortama atıldığında, öncelikle şişerek bir miktar ASA ortama saldıktan sonra yüksek

bazıklığın etkisiyle saldığı ASA nın bir kısmını tampon dengeye gelip asitlik etkisini gösterinceye kadarki kısa süre içerisinde ortamdan bir miktar ASA kafeslemiştir. Dakikalar içerisinde, artan asitliğin etkisiyle şişme davranışı göstererek ortama ASA salımı yapmış ve 10 dakika içerisinde ASA konsantrasyonunda artış gözlemlenmiştir.

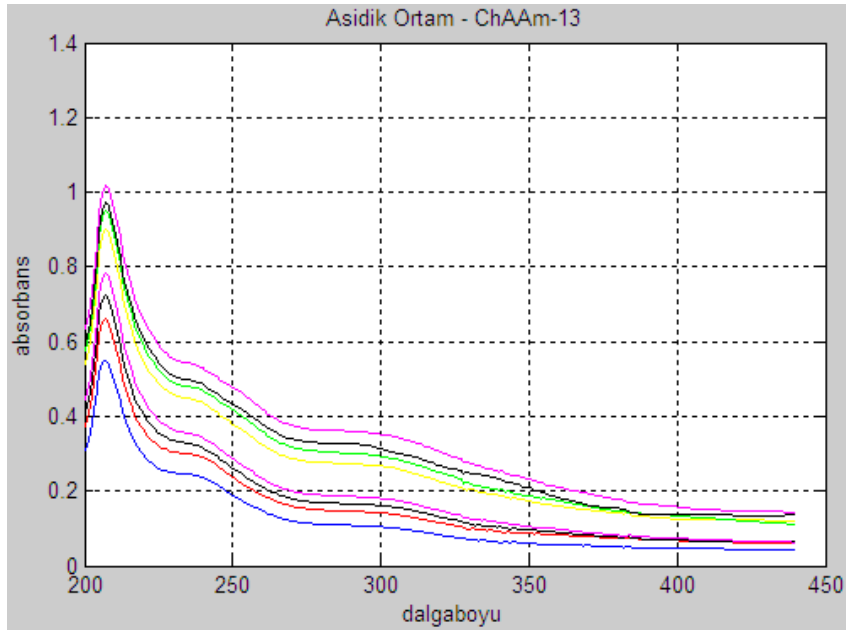


şekil 4.10 : Asidik-Nötral-Bazik ortamlarda graft kopolimerin (ChAAm-5) ASA salım spektrumu.

Bu değişimlerin ortalaması salım hızı olarak rapor edildi. Buna göre 20:1 çapraz bağlı kopolimerin salım hızı şekil 4.11’de gösterildiği gibi nötral ortamda 0,0298 Abs/dk iken, bazık ortamda bu değer olarak 0,0016 Abs/dk olarak tespit edildi. Bazık ortamda azalan, asidik ortamda ise artan salım gözlemlendi.

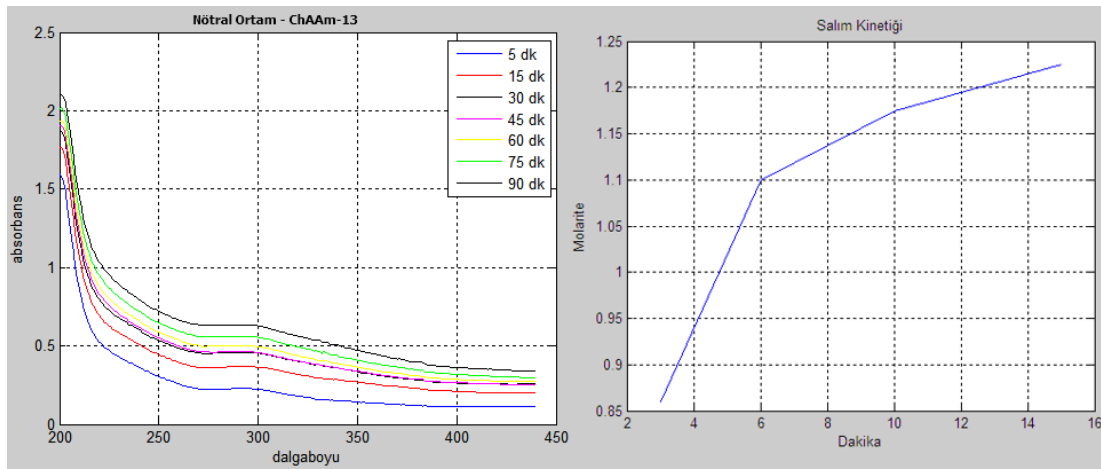


şekil 4.11 : Asidik-Nötral-Bazik ortamlarda 20:1 oranlı çapraz bağlı kopolimerin (ChAAm-7) ASA salım spektrumu.



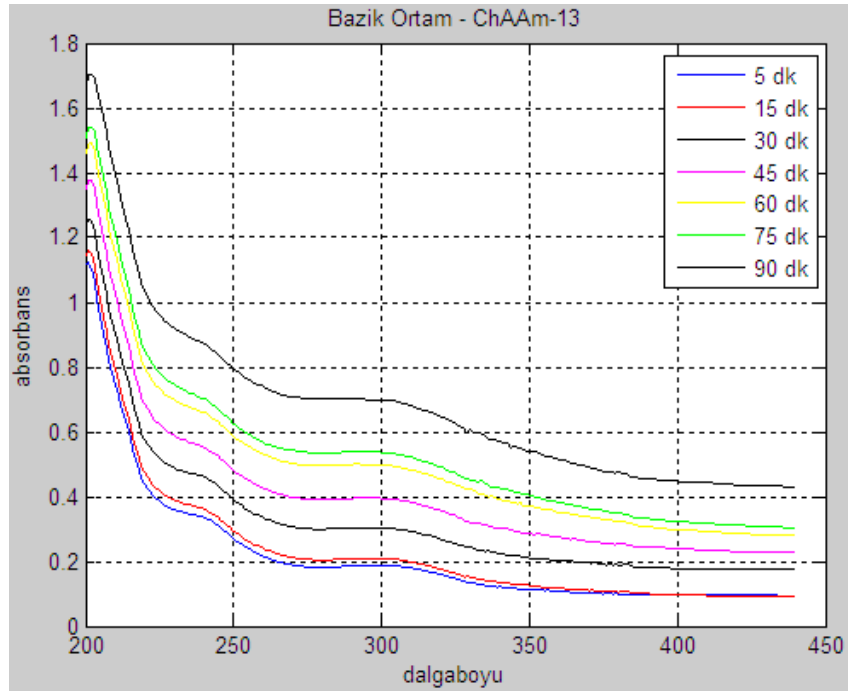
Şekil 4.12 : Asidik ortamda 15:1 oranlı çapraz bağlı kopolimerin (ChAAm-13) ASA salım spektrumu.

ChAAm-13 kopolimerinin asidik ortamda salım kinetiği 0,02143 Abs/dk olarak bulunmuştur.

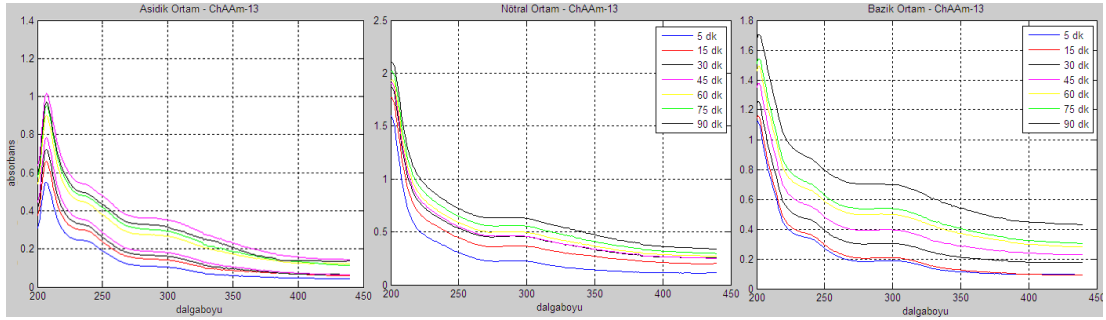


Şekil 4.13 : Nötral ortamda 15:1 oranlı çapraz bağlı kopolimerin (ChAAm-13) ASA salım kinetiği.

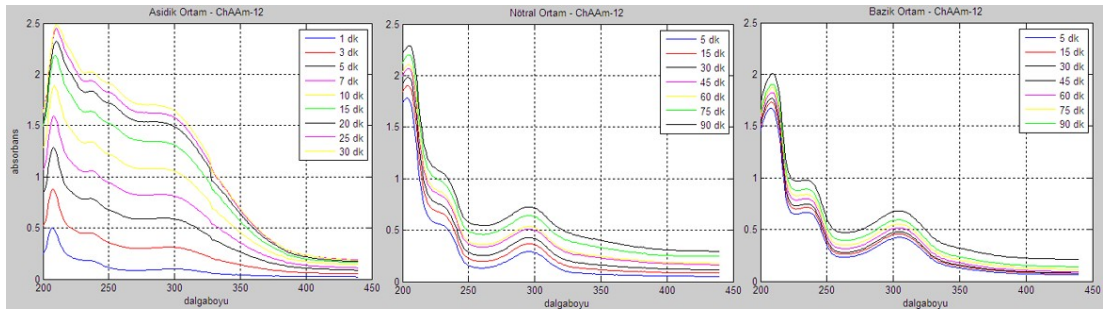
ChAAm-13 kopolimerinin nötral ortamda ASA salımı zaman içerisinde azalan ivmeli bir artış gösterdiği görüldü.



Şekil 4.14 : Bazik ortamda 15:1 oranlı çapraz bağlı kopolimerin (ChAAm-13) ASA salım spektrumu.

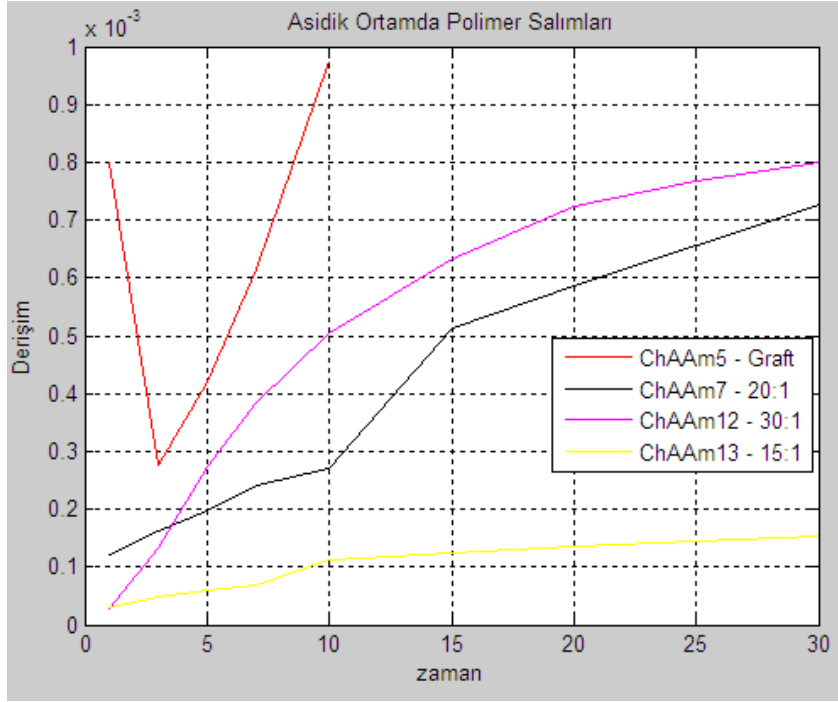


Şekil 4.15 : Asidik-Nötral-Bazik ortamlarda 15:1 oranlı çapraz bağlı kopolimerin (ChAAm-13) ASA salım spektrumu.

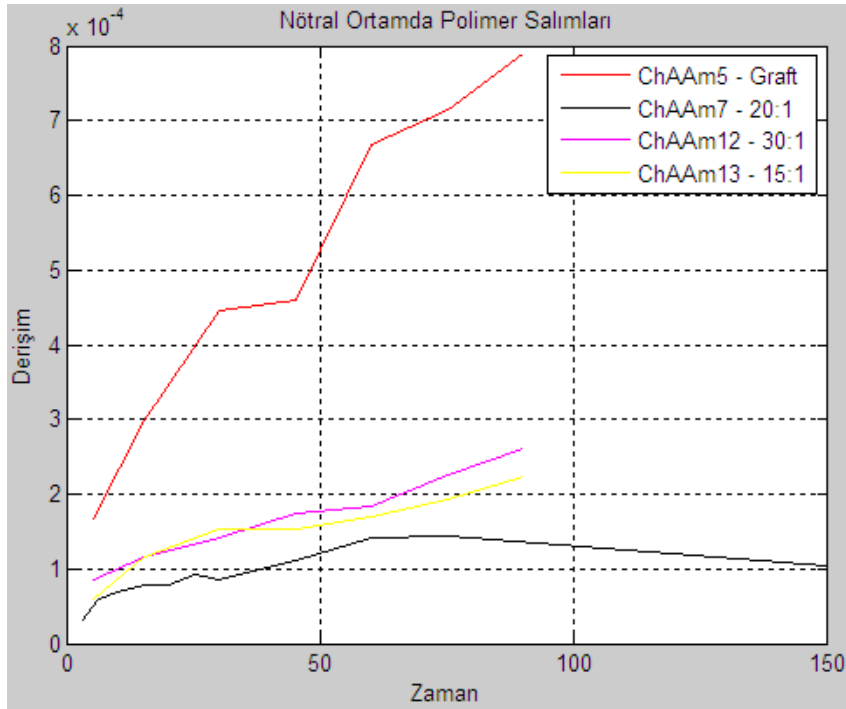


Şekil 4.16 : Asidik-Nötral-Bazik ortamlarda 30:1 oranlı çapraz bağlı kopolimerin (ChAAm-12) ASA salım spektrumu.

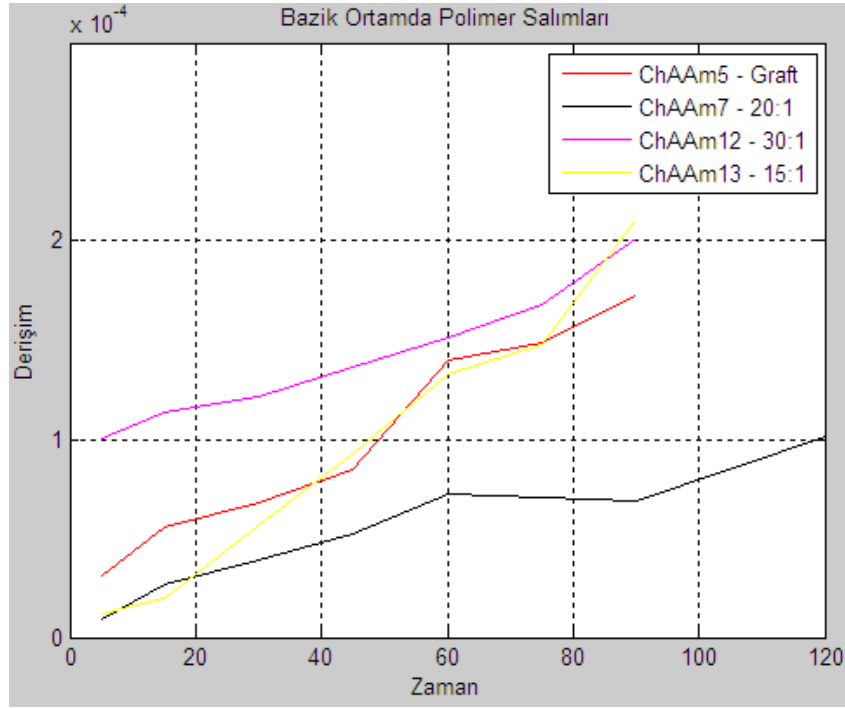
Tüm polimerlerin asidik, nötral ve bazik ortamlardaki salım davranışlarının birlikte değerlendirilmeleri için grafikler öncelikle pH ortamı kategorisine alınarak aşağıdaki şekilde rapor edilmiştir.



Şekil 4.17 : Asidik ortamda graft, 15:1, 20:1 ve 30:1 oranlı çapraz bağlı kopolimerlerin salımları.



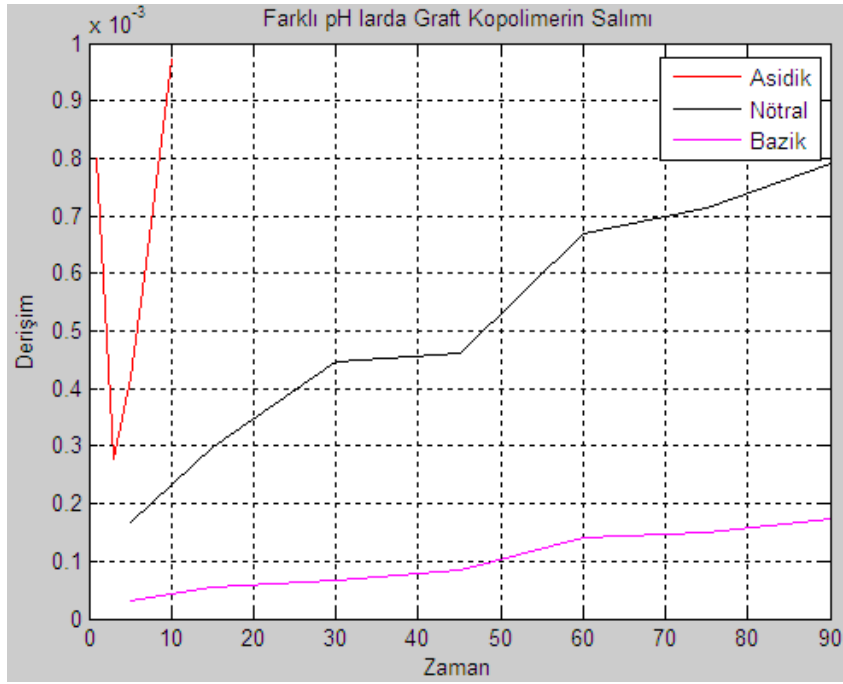
Şekil 4.18 : Nötral ortamda graft, 15:1, 20:1 ve 30:1 oranlı çapraz bağlı kopolimerlerin salımları.



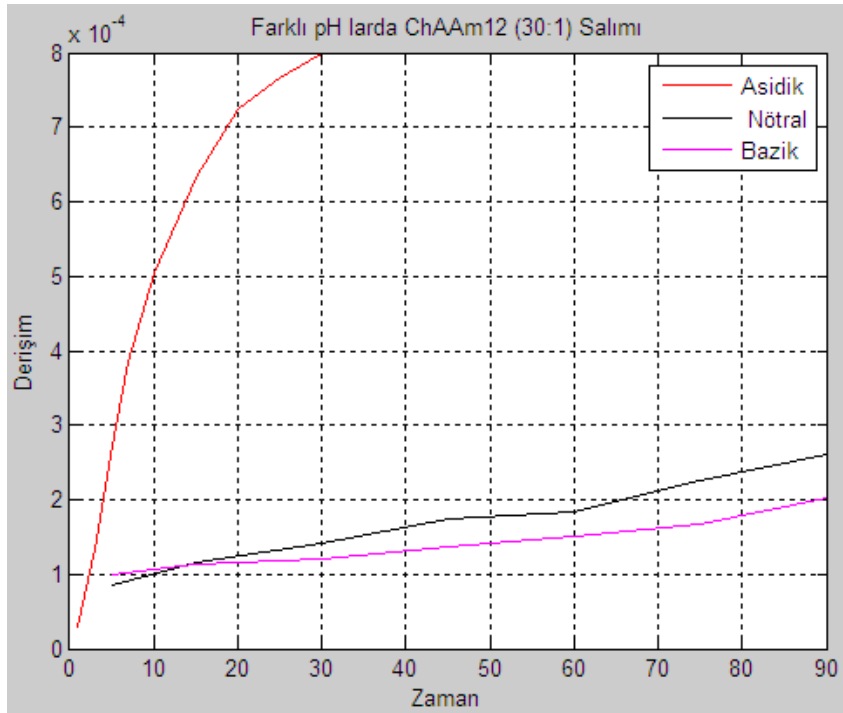
Şekil 4.19 : Bazik ortamda graft, 15:1, 20:1 ve 30:1 oranlı çapraz bağlı kopolimerlerin salımları.

Bu sonuçlar gösteriyor ki: nötral ve bazik ortamlarda, yavaş salım yapılması açısından, kontrollü salıma en uygun kopolimer 20:1 oranlı çapraz bağlı olan kopolimerdir. Asidik ortamda ise 15:1 oranlı çapraz bağlı kopolimer, yüklenen ASA salımını daha uzun sürede ve yavaşça bıraktığı için kontrollü salıma daha uygun olarak gözlemlenmiştir.

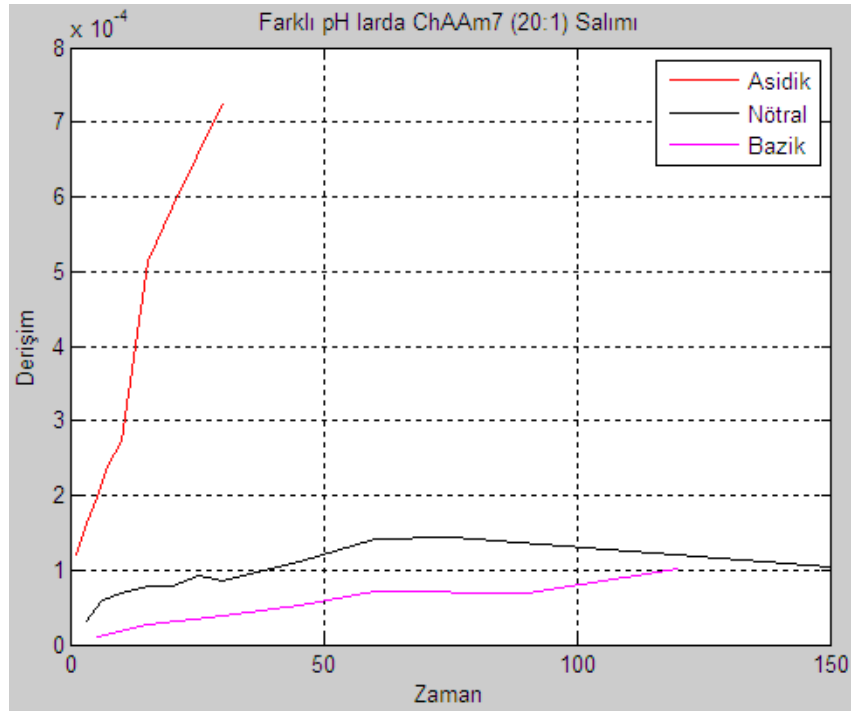
Herbir polimerin ise kendi içerisinde kategorilenmiş asidik, nötral ve bazik ortamlardaki salım davranışı ise ayrıca aşağıdaki şekilde rapor edilmiştir.



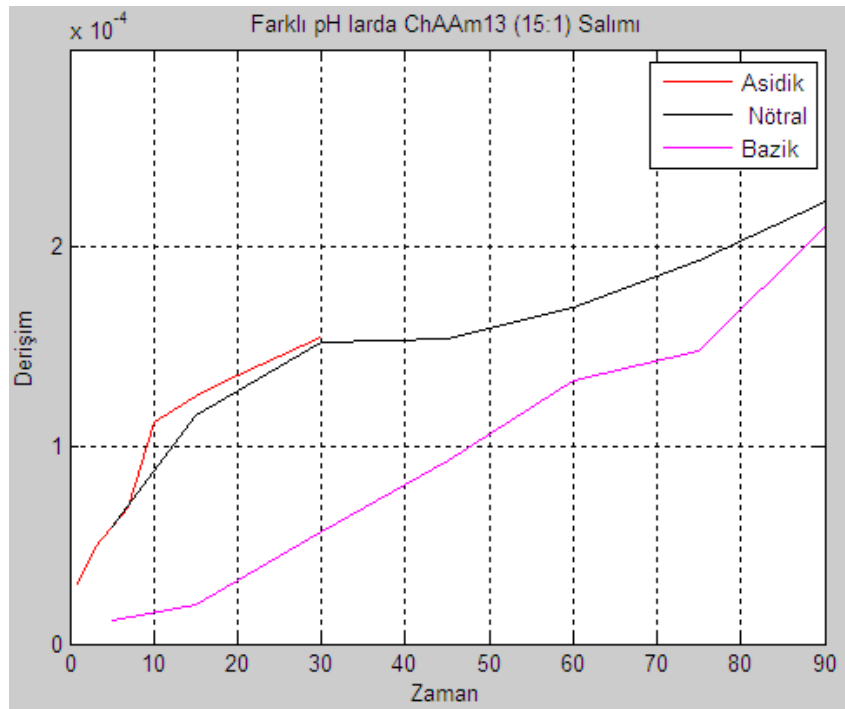
Şekil 4.20 : Graft kopolimerin asidik, nötral ve bazik ortamlardaki salımı.



Şekil 4.21 : Çağraz bağlı (30:1) kopolimerin (ChAAm-12) asidik, nötral ve bazik ortamlardaki salımı.



Şekil 4.22 : Çapraz bağlı (20:1) kopolimerin (ChAAm-7) asidik, nötral ve bazik ortamlardaki salımı.



Şekil 4.23 : Çapraz bağlı (15:1) kopolimerin (ChAAm-13) asidik, nötral ve bazik ortamdaki salımı.

Tüm polimerler sırasıyla asidik nötral bazik olmak üzere azalan bir salım göstermişlerdir. Yani bazik ortamda salımı minimumda tutmuş, asidik ortamda ise

salımı en hızlı olarak gerçekleştirmişlerdir. Nötral ortamda ise salım açısından bu ikisi arasında bir davranış sergilemişlerdir.

Çapraz bağ oranı 15:1 olan kopolimerin asidik ortamdaki davranışı 30:1 ve 20:1 kopolimerlerine göre oldukça yavaş gerçekleşmiştir. Bu durumda çapraz bağ oranının artması ile yüklenen ASA salımını yavaşlattığı anlaşılmıştır.

Çapraz bağ oranının artmasıyla özellikle 15:1 oranlı kopolimerde pH ortamı farklılıklarının diğerlerine göre oldukça azaldığı gözlemlendi. Bu da aktif molekül salımında kontrolün çapraz bağ sayesinde arttığını gösterdi.

Bu verilerde göstermektedir ki kitosan üzerindeki modifikasyonların farklılaşmasıyla geniş bir tabanda davranış farklılığı gösteren kontrollü salım uygulamaları elde edilebilmektedir. Bu da kontrollü salım için kitosanın önemini göstermektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan çalışma sonunda kitosan graft poliakrilamit kopolimerleri sentezlendi. Sıcaklık, monomer konsantrasyonu, indirgen bileşik konsantrasyonu, CAN çözeltisinin asitliği ve CAN miktarı ele geçen kopolimerlerin veriminde önemli roller oynamışlardır. Optimum koşullar olarak belirlenen şartlarda sıcaklık 40 °C, reaksiyon süresi 3 saat, kitosan konsantrasyonu 0,3 g/100 mL, akrilamit konsantrasyonu 0,27 M olarak kullanıldı. Tüm bileşenler %1 asetik asitte çözülerek yapılan reaksiyonda 6 mL 0,1 M HNO₃ içinde 0,05 M CAN kullanıldı. Bu şartlarda ele geçen ürün miktarı %94 olarak gözlemlendi. MBA kullanılarak sentezlenen çapraz bağlı polimerler aynı şartlarda sadece belirli miktarda MBA ilavesiyle yapıldı. AAm:MBA oranı 30:1, 20:1 ve 15:1 olacak şekilde değiştirildi. Ele geçen çapraz bağlı kopolimer miktarı sırasıyla %28, %79, %24 olarak gerçekleşti.

Kontrollü salım denemeleri için asetil salisilik asit (ASA) kullanılarak salım davranışı 3 farklı pH değerinde belirlenen sürelerde incelendi. Ortam pH'ı bazik değerlere doğru arttıkça salım hızı yavaşladı. Asidik ortamda 30 dakika civarında salım gerçekleşirken, pH 6 ve pH 8,5 için 90-120 dakika civarında gerçekleşti.

Çalışma sonucunda öneriler şu şekilde belirlendi;

- Kopolimerlerin asidik, nötral ve bazik ortamlarda salım kinetiği belirlenebilir ve kinetiğin sıfırıncı, birinci veya ikinci mertebe kinetiğe uyduğu hakkında bir model oluşturulabilir.
- Elektronik yapısı farklı olan çeşitli aktif moleküller yüklemesi yapılarak, salıma etkisi değerlendirilebilir. Bu anlamda ASA gibi negatif yüklü COO⁻ ve OH⁻ grupları içeren moleküller kullanılabileceği gibi, pozitif yüklü NH₃⁺ grupları içeren aktif moleküller de yüklenerek izleme yapılabilir.
- Çalışmanın önce cansız ortamda (in vitro) denenmesi amacıyla, hücre kültürleri uygulanarak, membran geçişleri ve yüklenen molekülün proteinlere bağlanması aktivitesi izlenebilir.

- Cansız ortam denemeleri sonrası, vücuda en uygun olduğu bilinen %50 DDA kitosan üzerinden yeni modifikasyonlara gidilerek canlı ortam (in vivo) çalışmaları yapılabilir.
- Salım süresinin uzatılmasını sağlamak amacıyla daha ılıman pH geçişleri tasarlanan ortamlarda salım izlenebilir.
- Yine salım sürelerinin uzatılması amacıyla, asidik ortamda en hızlı salım gerçekleştiği bilindiğinden, sentezlenen kopolimerlere aside dayanıklı bir şelat kaplama yapılarak uygulama denenebilir. Böylece asidik ortamda kopolimer çözünmeyecek ve salım daha yavaş gerçekleşebilecektir.
- Kopolimerlerin yükleme sırasında ve pelet haline getirilirken yüksek pH'larda bırakılarak tamponlara konulduğu uygulamamızın aksine olarak yükleme sırasında ve pelet haline getirilirken de pH'ın daha asidik ve nötr olacağı şekilde yükleme yapılarak salıma etkisi değerlendirilebilir.
- Kopolimerlerin aktif molekülü tutma şekillerinden absorpsiyon, adsorpsiyon veya enkapsülasyon mekanizmalarının hangisi üzerinden yürüdüğünün kesinlik kazanması amacıyla; farklı kitosan modifikasyonlarında, elektronik etkisi farklı aktif moleküller, farklı pH'lardaki farklı yükleme metodları uygulanarak gözlemlenebilir. Zira sentezlenen yapıda kullanılan çapraz bağlama ajanı değiştirilerek yüklemedeki absorpsiyon ile yüklenen aktif molekül kapasitesi değiştirilebilir. Yine elektronik etkileri farklı –OH veya –COOH grupları içeren negatif yüklü aktif ilaç molekülleri ve –NH veya –SH grupları içeren pozitif yüklü aktif ilaç molekülleri denenerek adsorpsiyon ile yüklenen aktif molekül kapasitesi değiştirilebilir. Ve son olarak PEC metodu yerine farklı yükleme metodları uygulanarak enkapsülasyon ile yüklenen aktif ilaç molekülü kapasitesi değiştirilebilir.

KAYNAKLAR

- [1] **Shariatnia, Z.** (2019). Pharmaceutical applications of chitosan. *Advances in Colloid and Interface Science*. 263, 131-194. doi:10.1016/j.cis.2018.11.008
- [2] **TaoJiang, RoshanJames, Sangamesh G.Kumbar, ve Cato T.Laurencin** (2014). Chapter 5 - Chitosan as a Biomaterial: Structure, Properties, and Applications in Tissue Engineering and Drug Delivery. *Natural and Synthetic Biomedical Polymers*. , 91-113.
- [3] **Xuelian Huang, D.Z. ve Changsheng Zhao** (2019). A green approach towards functional hydrogel particles from synthetic polymers via spherical capsule mini-reactors. *Chemical Engineering Journal*. 359, 1360–1371.
- [4] **Carey, F.A. ve Sundberg, R.J.** (2007). Advanced Organic Chemistry. [electronic resource] : Part A: Structure and Mechanisms. Boston, MA : Springer US, 2007.,
- [5] **Uysal, H., Fidancı, Reha U., ve v.d.** (2015). Hücre Kimyası. Eskişehir, Anadolu Üniversitesi Yayınları.,
- [6] **Sarmiento, B. ve Neves, J. das** (2012). Chitosan-Based Systems for Biopharmaceuticals: Delivery, Targeting and Polymer Therapeutics. John Wiley & Sons,
- [7] **Barbosa, M.A., Gonçalves, I.C., Moreno, P.M.D., Gonçalves, R.M., Santos, S.G., Pêgo, A.P., vd.** (2017). 2.13 Chitosan☆. içinde: P. Ducheyne (Ed.), Comprehensive Biomaterials II, Elsevier, Oxfordss. 279-305
- [8] **Stevens, E.** (2013). Medicinal Chemistry: The Modern Drug Discovery Process. 1 edition Pearson, Boston
- [9] **Ünlü, C.H., Pollet, E., ve Avérous, L.** (2018). Original Macromolecular Architectures Based on poly(ϵ -caprolactone) and poly(ϵ -thiocaprolactone) Grafted onto Chitosan Backbone. *International Journal of Molecular Sciences*. 19 (12), 3799. doi:10.3390/ijms19123799
- [10] **Rinaudo, M.** (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*. 31 (7), 603-632. doi:10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001
- [11] **(Ana Luiza R.Pires), Lianade Azevedo Motta, Ana M.A.Dias, Hermínio C.de Sousa, Ângela M.Moraes, ve Mara E.M.Braga** (2018). Towards wound dressings with improved properties: Effects of poly(dimethylsiloxane) on chitosan-alginate films loaded with thymol and beta-carotene. *Materials Science and Engineering: C*. 93, 595-605. doi:10.1016/j.msec.2018.08.005
- [12] **M. Jalal Zohuriaan-Mehr** (2005). Advances in chitin and chitosan modification through graft copolymerization: A comprehensive review. *Iranian Polymer Journal*. 14 (3), 235-265.
- [13] **Galioglu, O., Soydan, A.B., Akar, A., ve Sara, A.S.** (t.y.). Block/graft copolymer synthesis via ceric salt., 10.
- [14] **Akar, A., Galioglu, O., Göçmen, A., ve Sarac, A.S.** (1990). Copolymer of ketonic resin–polyacrylonitrile. *Journal of Applied Polymer Science*. 39 (8), 1657-1663. doi:10.1002/app.1990.070390804

- [15] **Galioglu Atici, O., Akar, A., Ayar, Y., ve Mecit, O.** (1999). Synthesis of block copolymers via redox polymerization. *Journal of Applied Polymer Science*. 71, 1385-1395.
- [16] **Bhattarai, N., Gunn, J., ve Zhang, M.** (2010). Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 62 (1), 83-99. doi:10.1016/j.addr.2009.07.019
- [17] **Sahoo, D., Sahoo, S., Mohanty, P., Sasmal, S., ve Nayak, P.L.** (2009). Chitosan: a New Versatile Bio-polymer for Various Applications. *Designed Monomers and Polymers*. 12 (5), 377-404. doi:10.1163/138577209X12486896623418
- [18] **Prabaharan, M.** (2008). Review Paper: Chitosan Derivatives as Promising Materials for Controlled Drug Delivery. *Journal of Biomaterials Applications*. 23 (1), 5-36. doi:10.1177/0885328208091562
- [19] **Xu, C., Li, Q., Hu, X.-T., Wang, C.-F., ve Chen, S.** (2017). Dually crosslinked self-healing hydrogels originating from cell-enhanced effect. *Journal of Materials Chemistry B*. 5 (21), 3816-3822. doi:10.1039/C7TB00824D
- [20] **Sutapa Ghosh, S.K.Y.** (2014). The Effect of Composition of Poly (Acryl Amide & Acrylic Acid) – Chitosan Based Hydrogel on pH Sensitive Drug Release: In-Vitro. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 25 (1), 219-223.
- [21] **Caoyun Ju, R.M.** (2014). Sequential Intra-Intercellular Nanoparticle Delivery System for Deep Tumor Penetration. *Angewandte Chemie International Edition*. 53, 6253 –6258. doi:10.1002/anie.201311227
- [22] **Ali Al-Mokaram** (2010). Control Released of Vitamin (C)From Acrylamide Grafted Chitosan Hydrogel. *Al-Mustansiriyah Journal of Science*. 21 (5), 123-133.
- [23] **Rahbarian, M., Mortazavian, E., Dorkoosh, F.A., ve Rafiee Tehrani, M.** (2018). Preparation, evaluation and optimization of nanoparticles composed of thiolated triethyl chitosan: A potential approach for buccal delivery of insulin. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 44, 254-263. doi:10.1016/j.jddst.2017.12.016
- [24] **Emine Bulut** (2016). Ibuprofen microencapsulation within acrylamide-grafted chitosan and methylcellulose interpenetrating polymer network microspheres: Synthesis, characterization, and release studies. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology An International Journal*. 44, 1098-1108.
- [25] **Ecaterina Stela Dragan, M.M.P.** (2012). Preparation and characterization of IPN composite hydrogels based on polyacrylamide and chitosan and their interaction with ionic dyes. *Carbohydrate Polymers*. 88, 270–281.
- [26] **Wang, L., Jian, Y., Le, X., Lu, W., Ma, C., Zhang, J., vd.** (2018). Actuating and memorizing bilayer hydrogels for a self-deformed shape memory function. *Chemical Communications*. 54 (10), 1229-1232. doi:10.1039/C7CC09456F
- [27] **Dragan Ecaterina Stela, D.M.V.** (2013). Design, synthesis and interaction with Cu²⁺ ions of ice templated composite hydrogels. *Research Journal of Chemistry and Environment*. 17 (10), 4-10.
- [28] **Du, Y., Xue, Y., ve Frisch H. L.** (1996). Physical Properties of Polymers Handbook | SpringerLink. AIP Press, Woodbury, N.Y

- [29] **Pottenger, C.R. ve Johnson, D.C.** (1970). Mechanism of cerium (IV) oxidation of glucose and cellulose. *Journal of Polymer Science Part A-1: Polymer Chemistry*. 8 (2), 301-318. doi:10.1002/pol.1970.150080203
- [30] **Ünlü, C.H., Öztekin, N.S., ve Atıcı, O.G.** (2012). Synthesis and thermal characterization of xylan-graft-polyacrylonitrile. *Carbohydrate Polymers*. 90 (2), 1120-1126. doi:10.1016/j.carbpol.2012.06.053
- [31] **Pamies, R., Hernández Cifre, J.G., del Carmen López Martínez, M., ve García de la Torre, J.** (2008). Determination of intrinsic viscosities of macromolecules and nanoparticles. Comparison of single-point and dilution procedures. *Colloid and Polymer Science*. 286 (11), 1223-1231. doi:10.1007/s00396-008-1902-2
- [32] **Solomon, O. F. ve Ciută, I. Z.** (1962). Détermination de la viscosité intrinsèque de solutions de polymères par une simple détermination de la viscosité. *Journal of Applied Polymer Science*. 6 (24), 683-686. doi:10.1002/app.1962.070062414
- [33] **Said, M., Atassi, Y., Tally, M., Kattan, M., ve Kouba, L.** (2018). Antimicrobial Chitosan-G-poly(AMPS-Co-AA-Co-AM)/Ground Basalt Composite Hydrogel: Synthesis and Characterization. doi:10.26434/chemrxiv.6233393
- [34] **Dumitrescu, A.M., Lisa, G., Iordan, A.R., Tudorache, F., Petrila, I., Borhan, A.I., vd.** (2015). Ni ferrite highly organized as humidity sensors. *Materials Chemistry and Physics*. 156, 170-179. doi:10.1016/j.matchemphys.2015.02.044
- [35] **Pereira, A.G.B., Muniz, E.C., ve Hsieh, Y.-L.** (2015). ¹H NMR and ¹H–¹³C HSQC surface characterization of chitosan–chitin sheath-core nanowhiskers. *Carbohydrate Polymers*. 123, 46-52. doi:10.1016/j.carbpol.2015.01.017
- [36] **Kalantarian, G., Ziamajidi, N., Mahjub, R., Goodarzi, M.T., Saidijam, M., Soleimani Asl, S., vd.** (2018). Effect of insulin–coated trimethyl chitosan nanoparticles on IGF-1, IGF-2, and apoptosis in the hippocampus of diabetic male rats. *Restorative Neurology and Neuroscience*. 36 (4), 571-581. doi:10.3233/RNN-170807
- [37] **AL-Kahtani, A.A. ve Sherigara, B.S.** (2014). Controlled release of diclofenac sodium through acrylamide grafted hydroxyethyl cellulose and sodium alginate. *Carbohydrate Polymers*. 104, 151-157. doi:10.1016/j.carbpol.2014.01.018

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Ahmet KÜÇÜKÇALIK
Doğum Tarihi ve Yeri : 27/10/1990 - Kadıköy
E-posta : kucukcalik@itu.edu.tr
Researchgate profil : Ahmet_Kuecuekcalik

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2012, Anadolu Üniversitesi, İşletme Fakültesi, İşletme.
- **Lisans** : 2013, İstanbul Teknik Üniversitesi, Tekstil Teknolojileri ve Tasarımı Fakültesi, Tekstil Mühendisliği.
- **Yükseklisans** : 2019, İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalı, Organik Kimya.

SERTİFİKALAR:

- “Uygulamalı Girişimcilik”. KOSGEB. 2017.
- “Computer Networks”. Coursera Online Eğitimleri. 2013.
- “Bilgisayar İşletmenliği”. Özel Kurs. 2007.

YÜKSEK LİSANS TEZİNDEN TÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

- Küçükçalık, Ahmet. Ünlü, Cüneyt Hüseyin. (2019) “Synthesis And Characterization Of Chitosan Based Controlled Release Systems” Express Polymer Letters. (Yayına gönderildi)

DİĞER YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

- Küçükçalık, Ahmet. (2017). İlaçların Vücutta Parçalanması Üzerine. İnovatif Kimya Dergisi, 5(48), 60-61.
- Küçükçalık, Ahmet. (2017). Büyük Sır: Kanser Tedavisindeki Gizemli Molekül. İnovatif Kimya Dergisi, 5(47), 14-16.
- Küçükçalık, Ahmet. (2017). İlaçların Kimyasal Yapı Değişimi İle Faz 1 Metaboliti Oluşumu. İnovatif Kimya Dergisi, 5(46), 13-18.