



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ



DOKU MÜHENDİSLİĞİ UYGULAMALARI İÇİN DOĞAL

ANTİBAKTERİYEL İÇEREN BİYOPOLİMER İSKELE

SİSTEMLERİN HAZIRLANMASI

Elif KARACAN YELDİR

Kimya Anabilim Dalı

ÇANAKKALE

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOKTORA TEZİ

**DOKU MÜHENDİSLİĞİ UYGULAMALARI İÇİN DOĞAL
ANTİBAKTERİYEL İÇEREN BİYOPOLİMER İSKELE
SİSTEMLERİN HAZIRLANMASI**

Elif KARACAN YELDİR

Kimya Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 05/02/2018

Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Ayhan ORAL

ÇANAKKALE

Elif KARACAN YELDİR tarafından Doç. Dr. Ayhan ORAL yönetiminde hazırlanan ve **05/02/2018** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Doku Mühendisliği Uygulamaları için Doğal Antibakteriyel İçeren Biyopolimer İskele Sistemlerinin Hazırlanması**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Kimya Anabilim Dalı**’nda **DOKTORA TEZİ** olarak oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

Doç. Dr. Ayhan ORAL

Başkan

Prof. Dr. Metin AK

Üye

Doç. Dr. Sema EKİCİ

Üye

Doç. Dr. Yeliz YILDIRIM

Üye

Yrd. Doç. Dr. Yavuz Emre ARSLAN

Üye

Prof. Dr. Levent GENÇ

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Sıra No:.....

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince Desteklenmiştir. Proje Numarası: FDK-2015-539

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI



Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Elif KARACAN YELDİR

TEŞEKKÜR

Bilgi ve tecrübeleriyle bütün çalıőmalarımnda desteğini benden esirgemeyen, ilgi, özveri anlayıőla bu tez çalıőmasının tamamlanmasını sağlayan danıőmanım sayın Doç. Dr. Ayhan ORAL'a,

Laboratuvar çalıőmalarım sırasındaki yardımları için BİOPAM araştırma grubuna,

Hayatım boyunca her konuda destekleriyle bugünlere gelmemi sağlayan sevgili aileme ve sabrıyla zor zamanlarımı kolaylaőtıran hayat arkadaőım Soner YELDİR'e teşekkür ediyorum.

Elif KARACAN YELDİR

anakkale, Őubat 2018

SİMGELER VE KISALTMALAR

AA	Asetik Asit
ALA	Lipoik Asit
P(ALA)	Poli(lipoik asit)
CL	Kaprolakton
PLA	Poli(laktik asit)
PCL	Poli(kaprolakton)
PVA	Poli(vinil alkol)
PCL-Lip	Poli(kaprolakton)-Lipoik Asit Makromeri
PCL-Cit	Poli(kaprolakton)-Sitranellol Makromeri
FEA	Fenil etil alkol
CIN	Sinnamaldehit
TEA	Trietilamin
BPO	Benzoil peroksit
Sn(Oct) ₂	Kalay Oktaat
TTIP	Titanyum izopropoksit
ACN	Akrilonitril
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
GC/MS-MS	Gaz Kromatografisi/Kütle-Kütle Spektroskopisi
LC/MS-MS	Sıvı Kromatografisi/Kütle-Kütle Spektroskopisi
SEM	Taramalı Elektron Mikroskopisi
TEM	Geçirimli Elektron Mikroskopisi
DLS	Dinamik Işık Saçılımı
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
UV-Vis	Ultra Viyole- Görünür Bölge
FTIR	Fourier Dönüşümlü Infrared
DAM	Doğal Antibakteriyel Madde
ECM	Ekstraselüler Matriks
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit

ÖZET

DOKU MÜHENDİSLİĞİ UYGULAMALARI İÇİN DOĞAL ANTİBAKTERİYEL İÇEREN BİYOPOLİMER İSKELE SİSTEMLERİNİN HAZIRLANMASI

Elif KARACAN YELDİR

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı Doktora Tezi

Danışman : Doç. Dr. Ayhan ORAL

05/02/2018, 71

Bu tez çalışması kapsamında doku mühendisliği uygulamalarında kullanılmak üzere, doğal antibakteriyel maddeler içeren biyopolimer iskele sistemleri hazırlanmıştır. Doğal polimerlerden olan Kitosan'ın asidik ortamdaki çözünürlüğünden faydalanılarak Kitosan küreler hazırlanmış ve bu küreler içerisine ayrı ayrı doğal antibakteriyel maddeler olan Fenil etil alkol ve Sinnamealdehit ilave edilmiştir. Hazırlanan bu küreler 37 °C fosfat tamponu içerisinde karıştırılarak salınan fenil etil alkol ve sinnamealdehit miktarları UV-Vis Spektrofotometri, GC-MS/MS ve HPLC yöntemleriyle tayin edilmiştir. Devamında ise elektropüskürtme yöntemi kullanılarak Kitosan nanoküreler hazırlanmış ve hem çözelti hem de yöntem parametreleri değiştirilerek nanokürelerin morfolojileri incelenmiştir. Ayrıca elektropüskürtme yöntemi ile Kitosan nanoküreler doğal bir antibakteriyel madde varlığında da hazırlanarak bu maddenin morfoloji üzerine etkileri de araştırılmıştır. Elektroçirime yöntemi ile kitosan nanolif ve doğal antibakteriyel madde içeren kitosan lifler elde edilmiştir.

Doğal antibakteriyel maddelerden biri olan Linalool'un termal radikalik ve fotopolimerizasyon yöntemleri ile polimerizasyonu gerçekleştirmiş ve ¹H-NMR spektrumları incelenmiştir. Kaprolakton monomeri kullanılarak α -Lipoik asit ve Sitranellol varlığında ve başlatıcı olarak Kalay Oktanoat ile Poli(ϵ -kaprolakton) makromerleri elde edilmiş ve karakterizasyonu yapılmıştır.

Anahtar sözcükler: Biyopolimer, Esansiyel Yağlar, Doku Mühendisliği, Kitosan, Polikaprolakton, Elektroçirime.

ABSTRACT

PREPARATION OF NATURAL ANTIBACTERIAL CONTAINING SCAFFOLD SYSTEMS FOR TISSUE ENGINEERING APPLICATIONS

Elif KARACAN YELDİR

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Doctoral Dissertation in Chemistry

Advisor : Assoc. Prof. Dr. Ayhan ORAL

05/02/2018, 71

Within the scope of this dissertation, biopolymer scaffolds containing natural antibacterial substances were prepared to be used in tissue engineering practices. Making use of the solubility of chitosan in acidic environments, which is one of the natural polymers, chitosan spheres were prepared. Following this, phenyl ethyl alcohol and cinnamaldehyde, the antibacterial substances, were separately added into these spheres. Amounts of phenyl ethyl alcohol and cinnamaldehyde were determined by GC-MS/MS and HPLC methods. Afterwards, Chitosan nanospheres were prepared by the electrospray method, and morphologies of these nanospheres were analyzed by SEM. Additionally, Chitosan nanospheres were prepared within the presence of a natural antibacterial substance, so that the effects of this substance on the morphology could be analyzed. Chitosan nanofibers and natural antibacterials chitosan nanofibers were obtained by the electrospinning method, and analyzed by SEM.

Polymerization of linalool, one of the natural antibacterial substances, was polymerized by thermal-radical and photopolymerization methods and its ¹H-NMR spectra were analyzed. Lipoic acid was polymerized by thermal ring opening polymerization and analyzed by FTIR. By using caprolactone monomers, Poly(ϵ -caprolactone) macromers were obtained with tin octanoate as the inducer in the presence of citranellol and its characterization is performed.

Keywords: Biopolymer, Essential Oils, Tissue Engineering, Chitosan, Polycaprolactone, Electrospinning.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ SINAVI SONUÇ FORMU	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
BÖLÜM 1	
GİRİŞ.....	1
1.1. Doku Mühendisliği.....	1
1.2. İskele Sisteminde Olması Gereken Özellikler	3
1.2.1. Biyouyumluluk	3
1.2.2. Biyobozunurluk	4
1.2.3. Mekanik Özellikler ve İskele Sisteminin Yapısı	4
1.3. Polimer İskele Sistemleri	5
1.3.1. Kollajen	6
1.3.2. Fibrin ve Fibrinopektin.....	7
1.3.3. Jelatin.....	7
1.3.4. Elastin	7
1.3.5. Agaroz	8
1.3.6. Dekstran.....	8
1.3.7. Polipirol	8
1.3.8. Polifosfazenler	8
1.3.9. Polianhidritler	9
1.3.10. Poliortoester.....	9
1.3.11. Kitosan.....	9
1.3.12. Polilaktonlar	10
1.4. Elektroeğirme	13
1.4.1.Çözelti Parametreleri	15
1.4.2. Cihaz Parametreleri	16
1.5. Doğal Antibakteriyel Maddeler (DAM).....	17

BÖLÜM 2	
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	19
2.1. Kitosan Temelli Çalışmalar.....	19
2.2. Linalool Temelli Çalışmalar	21
2.3. Lipoik Asit Temelli Çalışmalar.....	22
2.4. Makromer Temelli Çalışmalar	25
BÖLÜM 3	
MATERYAL VE YÖNTEM.....	27
3.1. Materyal	27
3.2. Kullanılan Cihazlar	28
3.3. Yöntem.....	29
3.3.1 Kitosan Boncuklar	29
3.3.2. Kitosan Nanoküreler.....	30
3.3.3. Kitosan Nanolifler	32
3.3.4. Linalool Polimerizasyonu.....	32
3.3.5. α -Lipoik Asit Polimerizasyonu	35
3.3.6. Polikaprolakton Makromerler	36
BÖLÜM 4	
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	38
4.1. Kitosan Boncuklar.....	38
4.1.1. Kitosan/CIN Boncuklar	38
4.1.2. Kitosan/FEA Boncukları	40
4.2. Kitosan Nanoparçacıklar	43
4.2.1. FEA İçeren Kitosan Nanoküreler	46
4.3. Kitosan Nanolifler	49
4.3.1. FEA İçeren Kitosan Nanolifler.....	51
4.4. Linalool Polimerizasyonu	54
4.5. α -Lipoik Asit Polimerizasyonu	56
4.6. Makromerler.....	58
BÖLÜM 5	
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	63
5.1. Kitosan Boncuklar.....	63
5.2. Kitosan Nanoküreler	63
5.3. Kitosan Nanolifler	64
5.4. Linalool Polimerizasyonu	64

5.5. Lipoik Asit Polimerizasyonu.....	65
5.6. Makromerler.....	65
KAYNAKLAR	66
ÖZGEÇMİŞ	I



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.1. Doku mühendisliği yaklaşımı	1
Şekil 1.2. Doku mühendisliğinde iskele sistemi yaklaşımı	3
Şekil 1.3. İskele sistemlerinde gözenekliliğin mekanik kararlılık ve hücrenin iskele sistemine nüfuzu	5
Şekil 1. 4. İskele sistemi yapısının bağlanma ve yayılma üzerine etkisi	5
Şekil 1. 5. Kollajenin yapısı.....	6
Şekil 1.6. Kitin'in deasetilasyonu ile Kitosan elde edilmesi	10
Şekil 1.7. L- ve D-laktik asit; L-,D- ve Meso laktit yapıları.....	11
Şekil 1.8. PLA sentez reaksiyonlar	12
Şekil 1.9. PLA esaslı ortopedik medikal cihazlar (a,b) mini ve orta vidalar (c) heliks çivi (d) pin	12
Şekil 1.10. ε-kaprolaktonun polimerizasyonu	13
Şekil1.11. Elektroçirme cihazı ve bileşenleri	14
Şekil 1.12. Taylor Koni'si oluşumu	15
Şekil 2.1. Değişik elektrik alanlarda elde edilmiş liflerin SEM görüntüleri (a) 1, (b, c) 2, (d, e) 3, (f) 4, 5, (g, h) 5, (i) 9 kV/cm; %90 AA içerisinde %7 kitosan (106000 g/mol) çözeltisi (Geng, Kwon, ve Jang 2005)	21
Şekil 2.2. Linalool molekülü.....	21
Şekil 2.3. α-Lipoik Asit molekülü	22
Şekil 2.4. Polikatenan yapıda poli(ditiyan) polimeri	23
Şekil 2.5. Dallanmış PALA yapısı	24
Şekil 2.6. PALA yapısı için AFM görüntüleme stratejisi.....	24
Şekil 2.7. Faz transfer halka açılması reaksiyonu gösterimi.....	25
Şekil 2.8. Biyobozunur üç kollu makromerlerin sentez şeması (A) Laktit, (B) Kaprolakton	26
Şekil 2.9. Polimerizasyon/solid lipid tekniği ile iskele sistemi hazırlanması şematik gösterimi	26
Şekil 3.1. Kitosan boncukların elde edilmesi	29
Şekil 3.2. Linalool molekülü.....	33
Şekil 3.3. Poli(linalool) yapısı	33
Şekil 3.4. Benzoin molekülünün ışıkla etkileşmesi	33
Şekil 3.5. Benzoil peroksit molekülü ve polimerizasyonun başlaması.....	34
Şekil 3.6. α-Lipoik asit molekülü	35
Şekil 3.7. ε-Kaprolakton halka açılma polimerizasyonu	36
Şekil 3.8. A) α-Lipoik asit, B) Sitronellol molekülü	37
Şekil 3.9. A) Polikaprolakton-Lipoik asit makromer, B) Polikaprolakton-Sitronellol makromer	37
Şekil 4.1. a) Kitosan, b)Kitosan/FEA ve c)Kitosan/CIN boncukların elde edilmesi.....	38
Şekil 4.2. a) Kitosan, b) Kitosan/CIN boncukların IR spektrumları.....	39
Şekil 4.3. CIN'in GC spektrumu	40
Şekil 4.4. a) Kitosan, b) Kitosan/FEA boncukların IR spektrumları	41
Şekil 4.5. FEA kromatogram	42
Şekil 4.6. Kitosandan salınan FEA kromatogramı	42
Şekil 4.7. Kitosan nanokürelerin oluşumuna voltajın etkisi A) 18, B)20, C) 23 kV (0,2 ml/saat, 13 cm, %70 AA içerisinde %2 kitosan çözeltisi).....	44
Şekil 4.8. Kitosan nanokürelerin oluşumuna akış hızının etkisi A) 0,4 B) 0,3, C ve D) 0,2 ml/saat (20 kV, 13 cm, %70 AA içerisinde %2 kitosan çözeltisi).....	45

Şekil 4.9. Kitosan nanokürelerin oluşumuna elektrotlar arasındaki mesafenin etkisi A ve B) 10, C ve D) 13 cm (20 kV, 0,2 ml/saat, %70 AA içerisinde %2 kitosan çözeltisi).....	46
Şekil 4.10. Kitosan'ın kütlece %50 si kadar FEA içeren nanokürelerin SEM görüntüleri A1 ve 2)18, B1 ve 2) 20, C1 ve 2) 23 kV (0,2 ml/saat, 13 cm).....	47
Şekil 4.11. Kitosan'ın kütlece %100 si kadar FEA içeren nanokürelerin SEM görüntüleri A1 ve 2)18, B1 ve 2) 20, C1 ve 2) 23 kV (0,2 ml/saat, 13 cm).....	48
Şekil 4.12. Kitosan nanoliflerin SEM görüntüleri ECF1) 20 ECF2) 23 ECF3) 25 kV (0,2 ml/saat, 12 cm, AA:H ₂ O:HFIP (90:9:1) içerisinde %3 kitosan çözeltisi)	50
Şekil 4.13. Kitosan'ın kütlece %50 si kadar FEA içeren nanoliflerin SEM görüntüleri A) 15, B) 18, C) 20 D) 24 kV (0,2 ml/saat, 13 cm).....	52
Şekil 4.14. Kitosan'ın kütlece %100 ü kadar FEA içeren nanoliflerin SEM görüntüleri A) 15, B) 18, C) 20 D) 24 kV (0,2 ml/saat, 13 cm).....	54
Şekil 4.15. Linallol molekülü ve Poli(linalool) ün ¹ H-NMR spektrumları	55
Şekil 4.16. ALA ve polimerizasyon reaksiyonu sonucu elde edilen ürünün IR Spektrumları	57
Şekil 4.17. PCL, PCL-Lip ve PCL-Cit IR Spektrumları	58
Şekil 4.18. PCL ve PCL-Lip ¹ H-NMR spektrumları	59
Şekil 4.19. PCL ve PCL-Cit ¹ H-NMR spektrumları.....	60
Şekil 4.20. PCL ve PCL-Lip Raman Spektrumları.....	61
Şekil 4.21. PCL ve PCL-Cit Raman Spektrumları	62

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 3.1. Kullanılan kimyasallar.....	27
Çizelge 3.2. Kullanılan cihazlar.....	28
Çizelge 3.3. Kitosan nanokürelar üzerine uygulanan voltajın etkisi	31
Çizelge 3.4. Kitosan nanoküreların hazırlanmasında akış hızının etkisi	31
Çizelge 3.5. Kitosan nanoküreların hazırlanmasında elektrotlar arası uzaklığın etkisi	31
Çizelge 3.6. Linaloolün polimerleşme reaksiyonu parametreleri	34

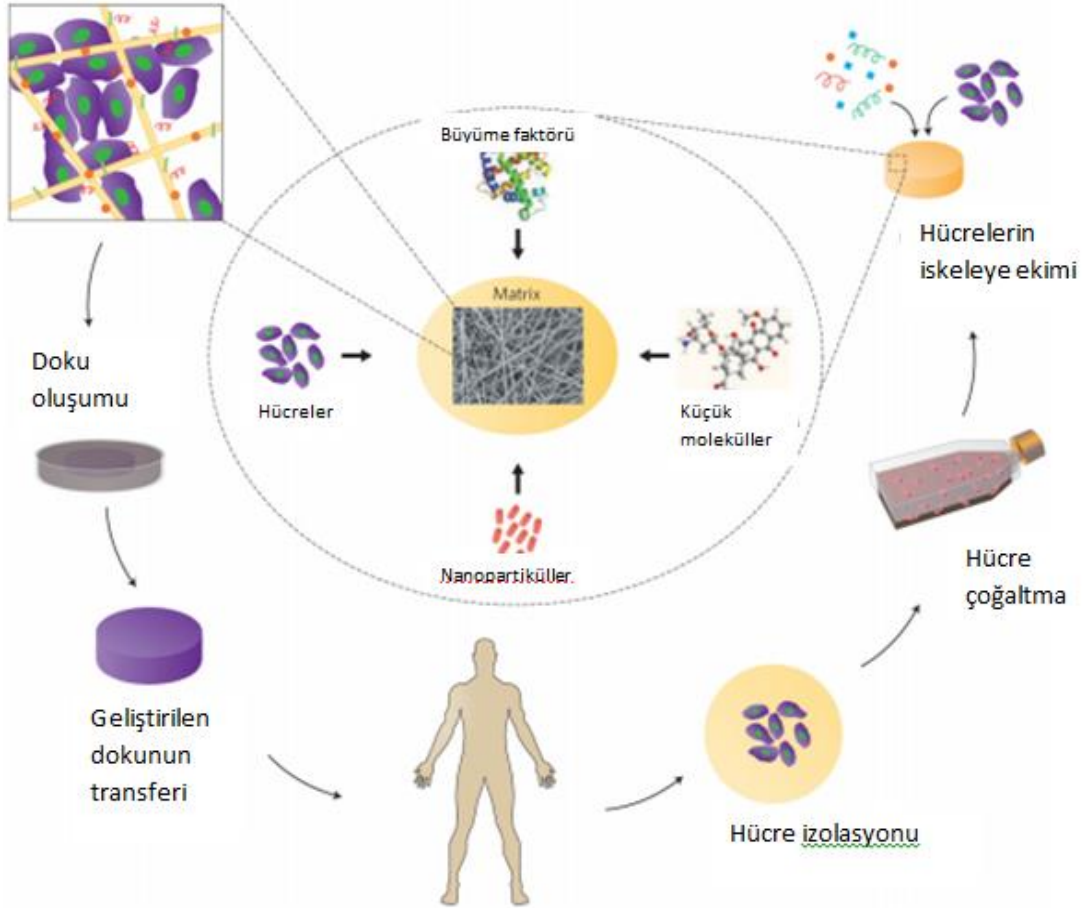


BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1. Doku Mühendisliği

Doku mühendisliği biyoloji ve mühendislik temellerini uygulayarak zarar görmüş ya da işlevi tamamen kaybetmiş dokuların yerine geçebilecek ürün geliştirmeyi hedefleyen yeni ve multidisipliner bir bilim dalıdır. Langer ve Vacanti'nin 1990 larda yaptığı bu tanımdan sonra özellikle üç boyutlu yapılar ve biyomalzeme esaslı iskele sistemleri hücrelerin tutunması ve çoğalmasında biyoaktif bir çevre sağlamak için kullanılmaya başlamıştır. Böylece doku rejenerasyonu için kullanılan bu iskele sistemleri yapısal kararlılık ve hücrelerin gelişimi için doğal (native) bir çevreyi taklit edebilmesi sağlanmıştır. Bu gelişmelerle birlikte, üç boyutlu iskele sistemleri kemik, sinir, kas gibi birçok dokunun yenilenmesi için değerlendirilmiştir (Langer ve Vacanti 1993; Stratton ve ark. 2016).



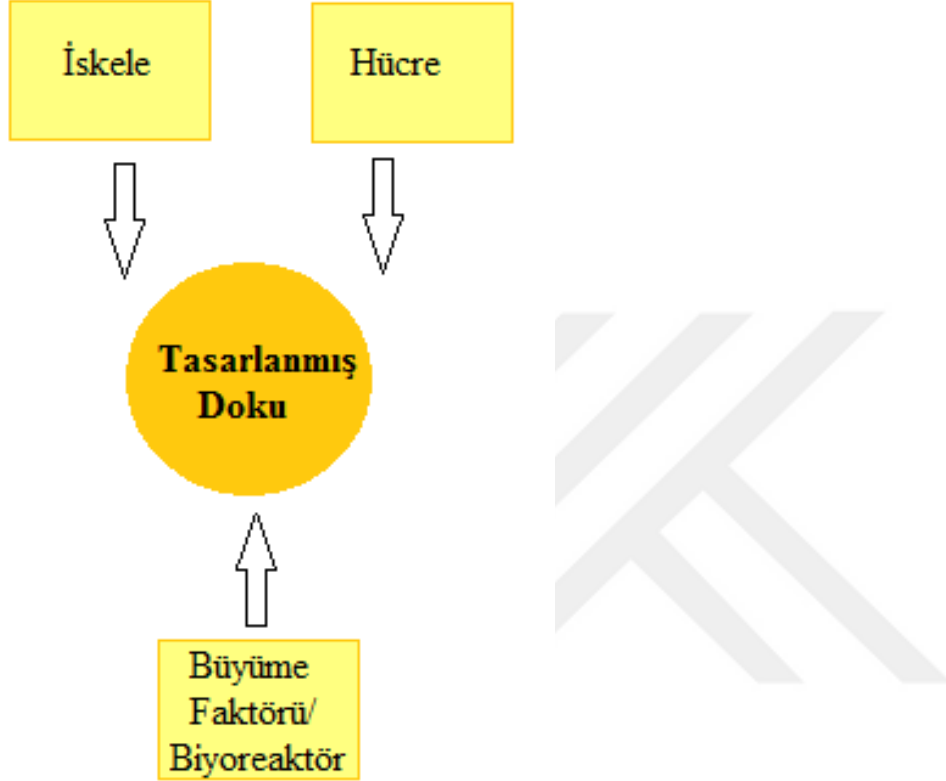
Şekil 1.1. Doku mühendisliği yaklaşımı (Dvir ve ark. 2011)

İskele sistemlerinin hazırlanmasında, çok geniş aralıktaki değişik özellikleri ve biyoaktiviteleri sayesinde sentetik ve doğal polimerler popüler biyomalzemeler olmaya başlamıştır. Doğal polimerler hücre çeşitleriyle etkileşimleri ve hücrelerin bu materyallere düşük immun cevap vermeleriyle klinik olarak kullanılan ilk biyobozunur biyomalzemeler arasındadır. Fakat immün cevap verme potansiyelleri ve toksik olabilmelerine karşın özellikle belirli polimer kombinasyonlarının kullanılmasıyla sentetik polimerlerin daha ucuz olması ve kolay işlenebilir olmaları farkedilmiştir (Dhandayuthapani ve ark. 2011). Bu sentetik polimerler arasında, Poli(L-laktik asit) (PLLA), Poli(glikolik asit) (PGA), Poly(kaprolakton) (PCL) ve Poli(laktik-co-glikolik asit) (PLGA) üç boyutlu iskele sistemleri yapımında son dönemde en çok kullanılanlardır (Müller ve ark. 2006; Stratton ve ark. 2016). Bu polimerlerin doğal polimerler ile beraber kullanılmaları sayesinde hidrofilitiklik, hücre tutunması ve biyobozunurluk gibi bazı durumlarında iskele sistemlerine kazandırılabilceği görülmüştür. Ayrıca bu şekilde hazırlanan sistemlerin yüzeyleride çeşitli modifikasyonlarla fonksiyonlandırılarak hücre cevaplarının artırılması sağlanmıştır.

Sentetik ve doğal biyomalzeme kullanımı doku mühendisliği alanında son yılların en popüler konuları arasındadır. Nanolif, hidrojel ya da mikropartiküllerin hazırlanan üç boyutlu bu iskele sistemlerinin gözenekli yüzeye sahip olmaları hücrelerin tutunup gelişeceği gerçeğe uygun bir çevre yaratmak açısından büyük öneme sahiptir, ki bu ikinci nesil doku mühendisliği çalışmalarının başlangıcı olmuştur (Narayanan, Gupta, ve Tonelli 2014). Hücre büyümesi ve tutunmasının büyük ölçüde iskele sistemindeki gözeneklerin büyüklüğü ve miktarına bağlı olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmaktadır ve ayrıca bu parametrenin kullanılan malzeme ve yapılacak olan uygulamaya göre ayarlanabilmesi mümkün olduğu da görülmektedir (O'Brien 2011; Nam, Watanabe, ve Ishihara 2002). Fakat gözenekliliğin fazla olması durumunda da iskele sisteminin mekanik kararlılığı azalacağından doku mühendisliği uygulamaları için kullanılacak üç boyutlu iskele sistemlerinde iki ana sabitten bahsedilebilir; mekanik kararlılık nedeniyle aşırı gözenekliliğin engellenmesi ve hücreler arasındaki etkileşimin devamlılığı, besin aktarımının gerçekleşebilmesi için gözenekli yapının kaybolmamasıdır (Murphy, Haugh, ve O'Brien 2010).

Doku mühendisliği uygulamalarında üç boyutlu iskele sistemlerinin kullanılmasının en büyük avantajları arasında mekanik dayanıklılığı, bozunma hızını ve hücre tutunmasını işlevsel hale getirilebilmesi sıralanabilir. Bunun için kullanılan malzemeye bağlı olarak çeşitli işlemler kullanılabilir. Yüzey modifikasyonları ile hücre büyümesi için

gerekli moleküllerin eklenmesinde çoğunlukla polimerik malzemeler faydalanılmaktadır. Örneğin, kopolimerizasyon ile kullanılacak ana polimerden kaynaklanan kısıtlamaların önüne geçilebilmektedir. İskele sistemini işlevsel hale getirmek için kullanılacak diğer avantaj ise üç boyutlu yazıcı ya da elektroğirme gibi üretim teknikleridir.



Şekil 1.2. Doku mühendisliğinde iskele sistemi yaklaşımı

1.2. İskele Sisteminde Olması Gereken Özellikler

1.2.1. Biyouyumluluk

Hücrelerin sisteme tutunabilmesi, normal fonksiyonlarını sürdürebilmeleri, yayılıp gelişebilmeleri için doku mühendisliği uygulamalarında kullanılacak iskele sistemlerinde olması gereken ilk özelliktir (Murphy, Haugh, ve O'Brien 2010). Geliştirilen dokunun implantasyonu sonrasında meydana gelen immün reaksiyonların dokunun vücut tarafından kabul edilmesi ve iyileşmenin gerçekleşebilmesi için kabul edilebilir düzeyde kalması zorunludur.

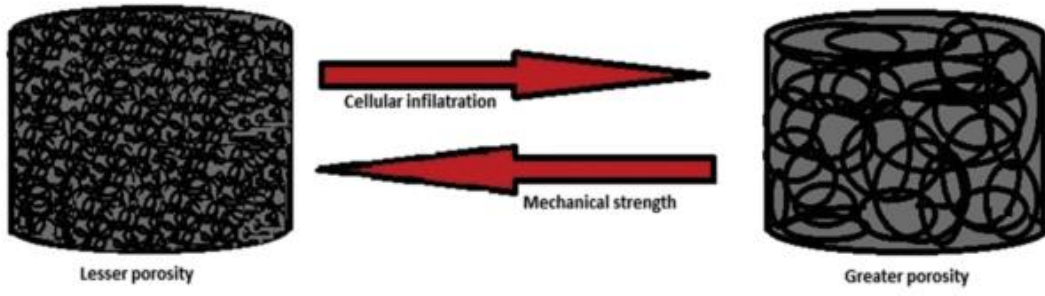
1.2.2. Biyobozunurluk

Doku mühendisliğinin amaçlarından biri vücuttan alınan hücrelerin dışarıda geliştirilmesi ve daha sonra tekrar transplante edilmesi ile iyileşmenin vücudun kendi hücreleriyle olmasıdır. Bu durumda da transplante edilen sistemde dokunun geliştiği iskele sisteminin vücutta devamlı kalması istenen bir durum değildir. İskele sistemi vücut içerisinde biyobozunur olması ve belli bir sürenin ardından geriye vücut için zararlı herhangi bir yan ürün bırakmadan ve başka organlar ya da dokulara herhangi bir girişim yapmadan ortamdaki yok olmalıdır.

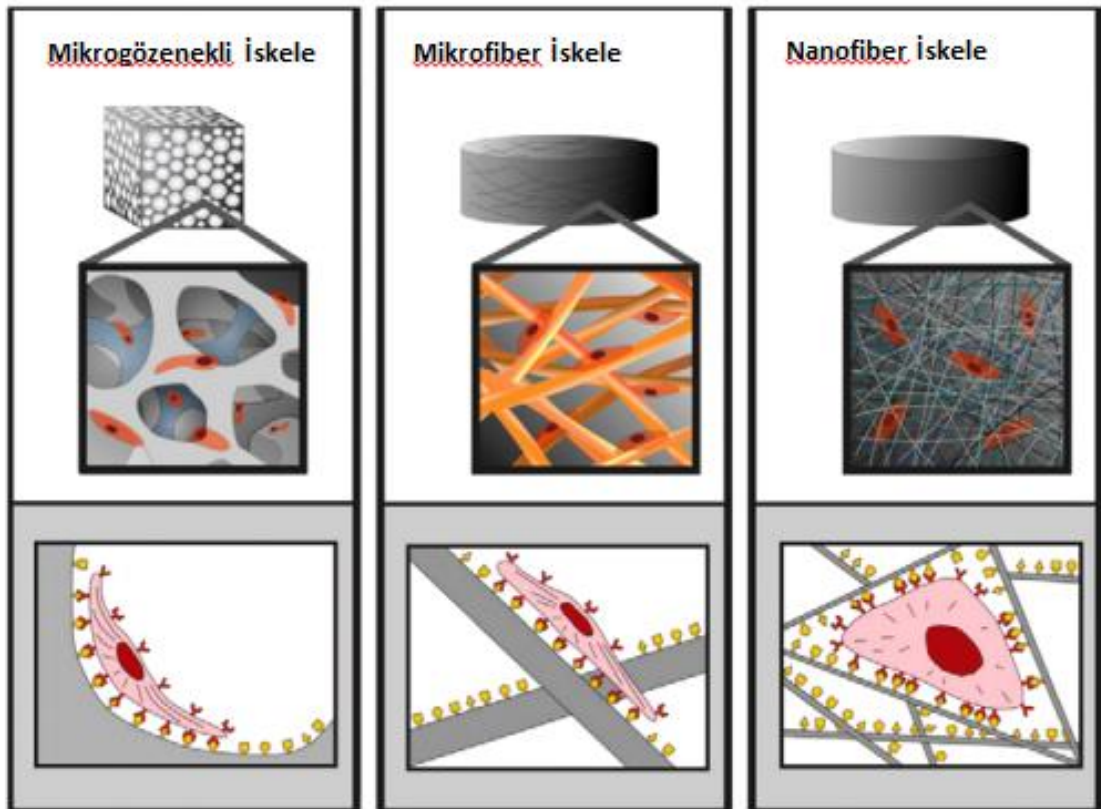
1.2.3. Mekanik Özellikler ve İskele Sisteminin Yapısı

İdeal bir iskele sisteminin anatomik olarak vücut içerisinde kullanılacağı yere uygun mekanik özellikler göstermesi beklenmektedir. Ayrıca implantasyon safhasında da gerekli mekanik kararlılığı sağlamalıdır. Bütün doku çeşitlerinde önemli olmakla birlikte kardiyovasküler ve ortopedik alanlardaki çalışmalarda kullanılan iskele sistemlerinin mekanik özelliklerini belirleyebilmek daha zordur (O'Brien 2011; Nam, Watanabe, ve Ishihara 2002).

Üç boyutlu iskele sistemleri elektroçirme yöntemiyle nanolif formunda yapılabilmektedir. Yapılan araştırmalara göre nanolifler yüksek yüzey-hacim oranı, gözenekli yapısı ve mekanik özellikleri sayesinde hücre dışı matriks (ekstraselüler matriks (ECM)) çevreyi çok iyi taklit edebildikleri için en çok kullanılan iskele sistemleri arasında yer almaktadır. Ayrıca nanolif yarıçapı ve yönlenmeleri değiştirilebilmekte ve böylece yapılacak uygulamaya göre farklı hücre cevapları alınabilmektedir (Langer ve Vacanti 1993). Hidrojel esaslı üç boyutlu iskele sistemleri nanolifler kadar sık kullanılan sistemlerdir. Özellikle bu sistemlere eklenen büyüme faktörü gibi aktif ajanların kontrollü salımları ve bu bioaktif maddelerin enkapsülasyonu gibi avantajlara sahiptirler.



Şekil 1.3. İskele sistemlerinde gözenekliliğin mekanik kararlılık ve hücrenin iskele sistemine nüfuzu (Stratton ve ark. 2016)



Şekil 1.4. İskele sistemi yapısının bağlanma ve yayılma üzerine etkisi (Agarwal, Wendorff, ve Greiner 2008)

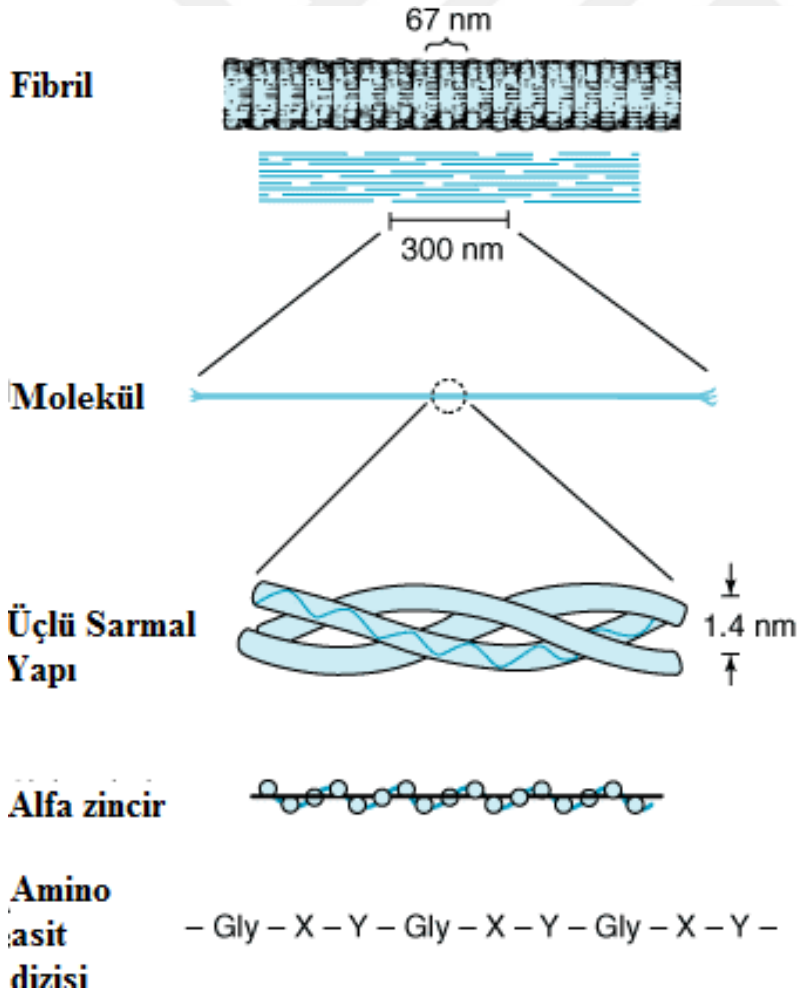
1.3. Polimer İskele Sistemleri

Metal malzemeler çok iyi mekanik özelliklere sahip olmakla birlikte iskele sistemi uygulamalarında dezavantajlara sahiptirler ki bunların başında biyolojik çevrede bozunmaması gelmektedir.

Hidroksiapatit veya kalsiyum fosfat gibi inorganik ya da seramik malzemeler osteokondaktif olarak çok iyi olmalarına ve doku mühendisliği uygulamaları için sıklıkla çalışılmasına rağmen, işlenebilirliğinin düşük olması, fazlaca gözenekli yapısı nedeniyle kırılğan olmaları bu alandaki kullanımlarını zorlaştırmaktadır.

1.3.1. Kollajen

Kollajen hayvanlarda en bol bulunan yapısal protein olup, insanlarda ise toplam proteinin üçte birini oluşturmaktadır (McCance ve ark. 2010). İnsan derisinin kuru ağırlığının dörtte üçüdür ve en yaygın olarak kullanılan ECM materyalidir. Farklı polipeptit zincirlerinden yirmi sekiz farklı kollajen çeşidi bulunmakla birlikte, bunların büyük bir kısmını TipI ve TipII kollajen oluşturmaktadır. Kollajenin en belirgin özelliği fibrillerden oluşmuş heliks şeklindeki yapısıdır. Bu yapı sayesinde iskele sistemlerine uygun mekanik kararlılık, gözenekli yapı ve biyomimetrik yüzey sağlamaktadır.



Şekil 1. 5. Kollajenin yapısı

Kollajen, hayvanlardan izole edilebildiği gibi rekombinant teknoloji sayesinde de üretilmektedir. Mekanik özellikleri, biyouyumluluğu, çapraz bağlanabilme özelliği, biyobozunabilmesi gibi sayısız avantajının yanında; işlenmesindeki ve sterilizasyonundaki güçlükler, ayrıca bozunma hızının kontrolündeki zorluklar gibi dezavantajlara da sahiptir. Buna rağmen ECM olarak en çok kullanılan polimerlerdendir ve ticari olarak piyasada yer almaktadır (Patel, Bonde, ve Srinivasan 2011).

1.3.2. Fibrin ve Fibrinopektin

Fibrin yaralanma sonrasında oluşan doğal bir iyileştirici matriks görevi görmektedir ve fibrinojen toplanan plazmadan elde edilebilir. Kollajene benzer olarak fibrin iskele sistemleri de hücre tutunması için gerekli bölgeler içerir ve bu iskele sistemleri kullanılan fibrin konsantrasyonu ile ayarlanabilir. Belirli bir şekle sahip iskele sistemlerinde en çok karşılaşılan dezavantajı ise hızlı bozunmasıdır. Ayrıca fibrinin özellikleri kovalent bağlı modifikasyonlar ile değiştirilebilmektedir. Fibrin tek başına ya da başka materyaller ile birleştirilerek iskele sistemi olarak kullanılabilen ve kök hücrelerin adipoz, kemik, kardiyak, deri, vb. dokulara farklılaşması sağlamaktadır (Dhandayuthapani ve ark. 2011).

Fibrinopektin ise insan ya da sığır plazmasından elde edilebilen kollajen, heparin ve fibrine bağlanabilen yüksek molekül ağırlıklı bir glikoproteindir. Çözünebilen formu kanda bulunmaktadır ve yaraların iyileşme prosesinde görev alır. Birbirleriyle birleşen fibrinopektin molekülleri bir film oluşturabilmektedir ki bu film özellikle nöral dokuların tamiri için iskele sistemi olarak kullanılmaktadır.

1.3.3. Jelatin

Jelatin kollajenin denatürasyonu ile elde edilmiş doğal bir polimerdir. Sıcaklık, çözücü , pH gibi spesifik koşullar altında jelatin makromolekülleri konformasyon çeşitliliğini sağlamak için yeterli esneklik göstermektedir. Böylece tüm jelatin özellikleri de moleküler yapılarına bağlı olarak çeşitlendirilebilir. Jelatin makromoleküllerindeki gruplardaki hem asidik hem bazik fonksiyonların bulunması nedeniyle, diğer sentetik polimerlere göre daha fazla yapısal farklılık gösterir (Dhandayuthapani ve ark. 2011).

1.3.4. Elastin

Elastin bilinen en doğrusal biyokütledir. Şekil ve enerji geri kazanımının önemli parametreler olduğu organlarda vücudun yüksek oranlarda kullandığı yüksek oranda çözünmeyen, hidrofobik bir proteindir.

1.3.5. Agaroz

Agar, deniz yosunundan elde edilen jelatin benzeri bir maddedir. Agar kimyasal olarak galaktozun alt birimlerinden oluşan bir polimerdir. Agaroz hidrojel iskele yapıları, laboratuvar ortamında sinirsel proses geliştirmeyi canlandırmak ve yönetmek için tasarlanmıştır.

Kıkırdak fonotipini desteklemesi nedeniyle agaroz jel, kıkırdak onarımı için doku mühendisliği yaklaşımlarının uygulanmasında yaygın olarak kullanılır. Shinji Sakai, jelatinin kovalent çapraz bağ ile agarozla bağlandığı, vücut sıcaklığında sol-gel değişimini gösteren bir konjuge sentezlemiştir. Bu çalışmada kullanılan konjuge, modifiye edilmemiş agaroz jelin konjugasyonu ile karşılaştırıldığında mekanik kararsızlıkla sonuçlanmadığı için agaroz-jelatin konjugasyonu doku mühendisliği için uygun bir adaydır.

1.3.6. Dekstran

Bakterilerden elde edilen kompleks bir polisakkarit olan dekstran glikoz alt birimleri içerir ve antitrombotik özelliklere sahiptir. Dekstrandan oluşturulan iskele sistemleri, protein ve hücre tutunmasına karşı dayanıklıdır ve nöral implantlarda kaplama olarak kullanılması için incelenmiştir. Dekstran, seçilmiş hücre tutulma bölgeleri ve büyüme faktörleri eklemek için kimyasal olarak değiştirilmiştir. Güncel üretim teknikleri ile hücresel filtrasyona olanak sağlayan makropor dekstran iskele sistemleri oluşturmak mümkün hale gelmiştir.

1.3.7. Polipirol

Polipirol'un en büyük avantajı, sinir hücrelerinde sinyal iletimini sağlayan iletkenliği ve kolayca yüklenebilme özelliğidir, böylece ıslanabilirlik ve yük yoğunluğu gibi özellikler sinir yapısını en iyi şekilde taklit etmek için çeşitlilik gösterir. Yapılan bir çalışmada bu iskele sistemlerinin felç ya da Parkinson hastalığı gibi sinirsel değişimin gerekli olduğu hastalık durumlarında yararlı olabileceği belirtilmiştir.

1.3.8. Polifosfazenler

Polifosfazenlerin esnek temeli sayesinde, araştırmacılar hem sert hem de yumuşak doku mühendisliği açısından bu polimerin kapsamını değerlendirmiştir. Sentetik esneklikleri, geniş fizikokimyasal özellikleri, toksik olmayan ve nötr parçalanma ürünleri ve mükemmel biyouyumluluğu sayesinde polifosfazenler biyomedikal uygulamalar için oldukça uygun bulunmuşlardır. Bu polimerlerin özellikleri, fosfor atomlarının yerine çeşitli

maddeler konularak kontrol edilebilir. Yan ürün olarak fosfat ve amonyum tuzları oluşturacak şekilde yüzeysel olarak hidrolitik bozunmaya uğrarlar, ancak bozunma hızı yavaştır.

1.3.9. Polianhidritler

Polianhidritler, suya yüksek oranda tepkili anhidrit bağlar içeren bir hidrofobik polimer sınıfıdır ve öngörülebilir yüzeysel bozunma mekanizmaları ile bozunur. Aromatik polianhidritlerin bozunma süresi daha uzundur ve aromatik olmayanlara göre çözünemeyen bozunma ürünleri ortaya çıkarırlar. Sebasik asit gibi bir hidrofil monomerin eklenmesine benzer olarak diasit yapı yaşlarının hidrofobikliğindeki değişikliklere bağlı olarak bozunma süresi değişebilir.

Anhidritler, yumuşak doku yerine geçebilen işlevlerinin kullanımı için polimer iskele sistemi olarak kullanışlıdır. Polianhidritler ortopedik uygulamalar için elverişli olabilir ancak karmaşık anhidrit ağı için Modest Young Modülü, ağırlık taşıma ortamlarında sınırlı uygulamalara sahiptir. Kortikal ve trabeküler insan kemiğinin orta aralığında bulunan basınç direnci gibi önemli mekanik özelliklere sahip olan birleşik imidler ile çapraz bağlı ağlar oluşturulmasıyla bu sınırlama geliştirilebilir. Bozunma ürünleri anti-trombojenik özellikler gösterdiği için, terapötik olarak kullanışlı olabilir.

1.3.10. Poliortoester

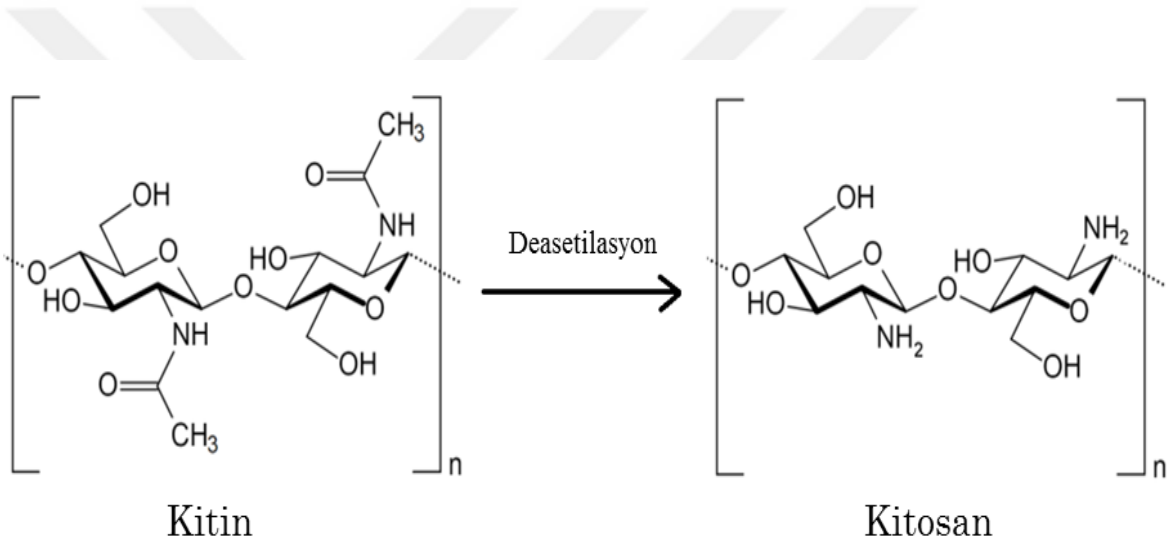
Poliortoester (POE), keten asetallerin diollerle reaksiyona sokulmasıyla oluşturulabilir. Poliortoester yüzeyinin hidrofobik yapısı bu polimerin yüzeyden bozunmaya uğramasını sağlar ve yığın materyal yapısal olarak bütün şeklinde kalır. Böylece, çevresindeki dokular için sürekli mekanik destek olarak işlev gösterir. Bozunma hızı, glikolik asit veya laktik asit gibi kısa asit grupları dahil edilerek kontrol edilebilir. Poliortoesterdeki poliester bağlarının hidrolizi asitlere daha duyarlıdır. Hücre yayılması için ve aynı zamanda kemik yeniden oluşumu için iskele sistemi olarak denenmiştir.

1.3.11. Kitosan

Kitin, özellikle deniz hayvanları ve böceklerin kabuklarında ve mantarların hücre duvarında olmak üzere doğada en sık bulunan polisakarittir. Kitinin yüksek sıcaklık ve alkali ortamda hidrolizi sonucunda N-asetil glukosamin birimleri deasetile olarak kitosan oluşur (Jayakumar ve ark. 2010). Kitosan molekülü, yüksek kimyasal değişkenlik gösterecek şekilde modifiye edilebilir amino ve hidroksil gruplara sahiptir ve belirli insan

enzimleri ile metabolize edilir. Kıkırdak geliştirme göz önüne alındığında kitosan, artiküler kıkırdağa özgü olan glikosainoglikanlara (GAGs) benzerdir ve kondirosit morfolojisini, değişimini ve fonksiyonunu ayarlama da önemli bir rol oynar. Artı yüklü film oluşturma kapasitesi göstermesi, hafif katılma özelliği ve kan pıhtılaşmasını artırmasıyla birlikte yüksek doku yapıştırma özelliği göstermesi sebebiyle uygun bir yara örtüsü olarak kullanılabilir. Polimorf nükleer lökositler, makrofajlar ve fibroblastlar gibi inflamatuvar hücrelerin fonksiyonlarını arttırarak yaranın iyileşmesini hızlandırır.

Kitosan zinciri üzerinde bulunan amin grupları sayesinde hafif asidik ortamlarda pozitif yüklenmektedir ki bu kitosana hem antibakteriyel özelliği hem de mukoadhesiv özelliği kazandırır. Bu nedenle, farmasötik ve biyomedikal uygulamalarda tercih edilmektedir (Wang ve ark. 2016; Elsabee, Naguib, ve Morsi 2012; Jung ve Theato 2012).



Şekil 1.6. Kitin'in deasetilasyonu ile Kitosan elde edilmesi

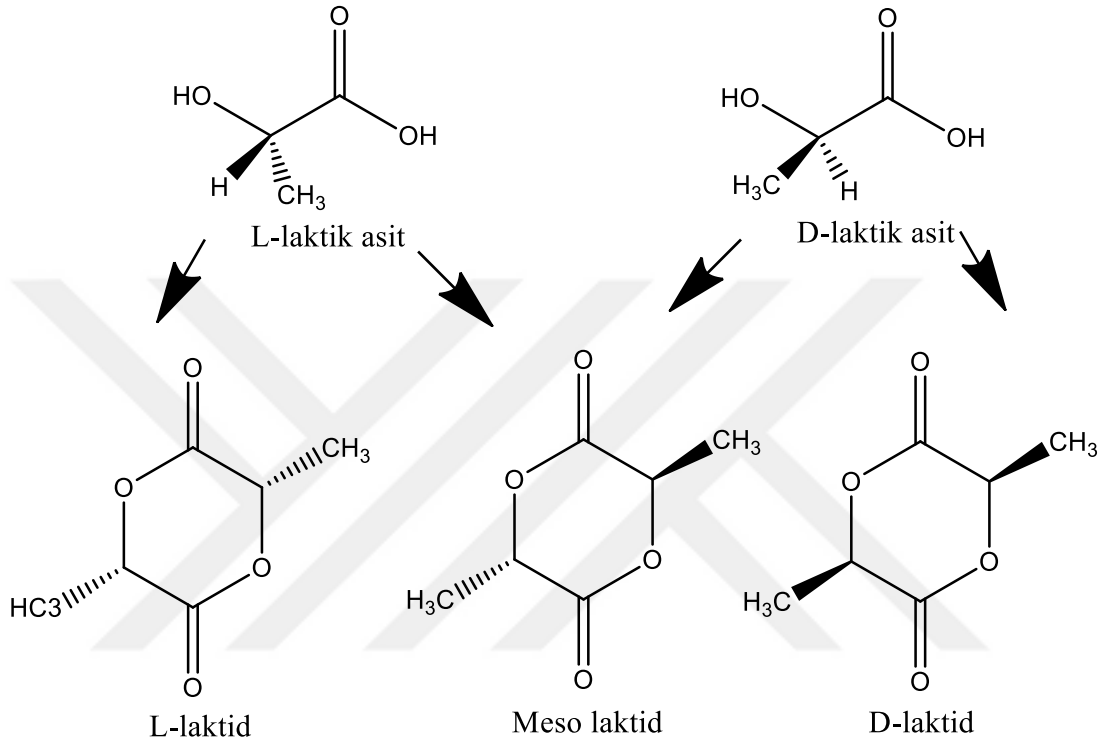
Kitosan zinciri kimyasal modifikasyon için iki hidroksil ve bir quarternize olabilen amin olmak üzere üç reaktif bölüm içermektedir. Bu sayede kitosan zinciri üzerine küçük moleküller ya da başka polimer zincirleri aşılabilir.

1.3.12. Polilaktonlar

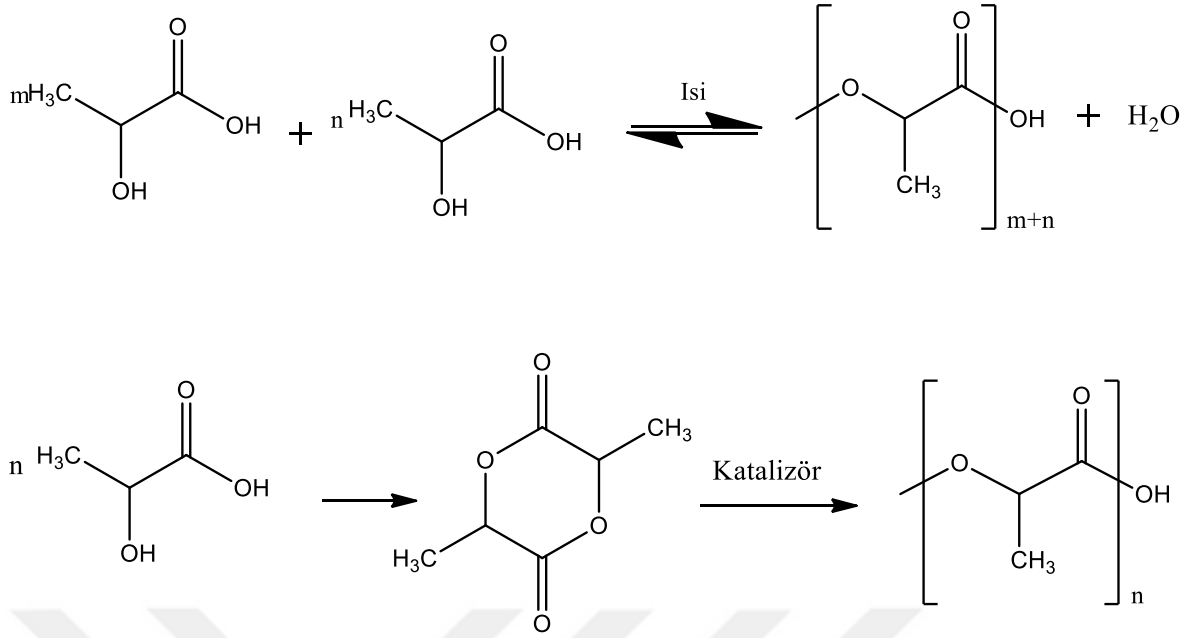
Sentetik biyobozunur polimerler olan polilaktonlar biyoyumlulukları sayesinde doku mühendisliği uygulamalarında tercih edilen polimerlerdir. PLA, PGA, PCL yalnız kullanılabilirler gibi bu polimerlerin kopolimerleri veya karışımlarına da biyomedikal alan uygulamalarında rastlanmaktadır.

Poli(L-laktik asit): Biyomedikal alanda en fazla kullanılan sentetik polimerlerden biri olan

PLA laktik asidin polikondenzasyon reaksiyonu ile ya da siklik dimer laktidin halka açılması polimerizasyonu ile üretilmektedir. Diğer polyesterler gibi PLA'de non-enzimatik hidroliz yoluyla bozunur ve geriye kalan yan ürünler ise hücre metabolizmasına katılarak elimine edilirler. Biyobozunurluğu ve hücre uyumluluğu sayesinde PLA implante edilebilen araçlar için güçlü bir aday olmaktadır (Santoro ve ark. 2016).

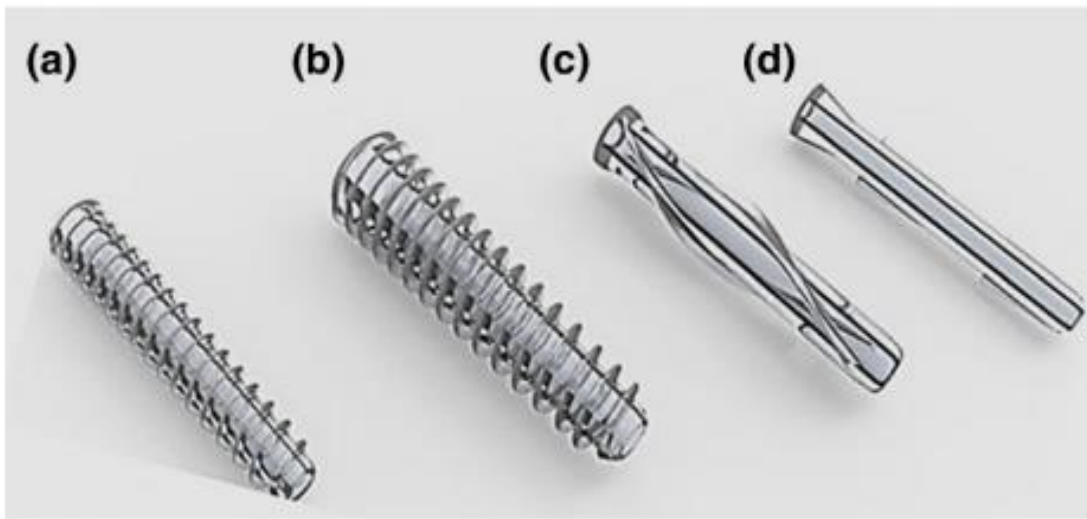


Şekil 1.7. L- ve D-laktik asit; L-,D- ve Meso laktit yapıları



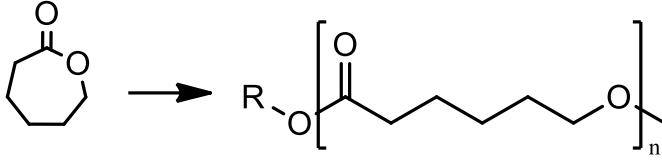
Şekil 1.8. PLA sentez reaksiyonlar

İşlenebilirliği, güçlü mekanik özellikleri, bozunma hızı ve doku uyumluluğunun yanında PLA başka monomerlerle kopolimer oluşturarak uygulama alanına göre istenilen özelliklerin kazandırılabilmesine fırsat sağlar. Biyobozunur bir polimer olduğu için yerleştirildiği yerden çıkarılmaya ihtiyaç duyulmaz dolayısıyla implantlarda kullanılabilir. Ayrıca PLA esaslı biyomalzemeler ekstrüzyon, çözeltiden film dökme, elektroegirme gibi birçok yöntemle kolaylıkla işlenebilmektedir. Bu sayede, hem sert hem yumuşak dokularda kullanılabilir.



Şekil 1.9. PLA esaslı ortopedik medikal cihazlar (a,b) mini ve orta vidalar (c) heliks çivi (d) pin (Narayanan ve ark. 2016)

PCL: PCL organik çözücülerde çözünürlüğü çok iyi olan yarı kristal bir polyesterdir. Food and Drug Administration (FDA) tarafından onaylı polimerden biri olan PCL vücut içerisindeki bozunma hızının yavaş olması ve ilaç tutabilme özelliği sayesinde özellikle uzun süreli implantlarda kullanılmaktadır.

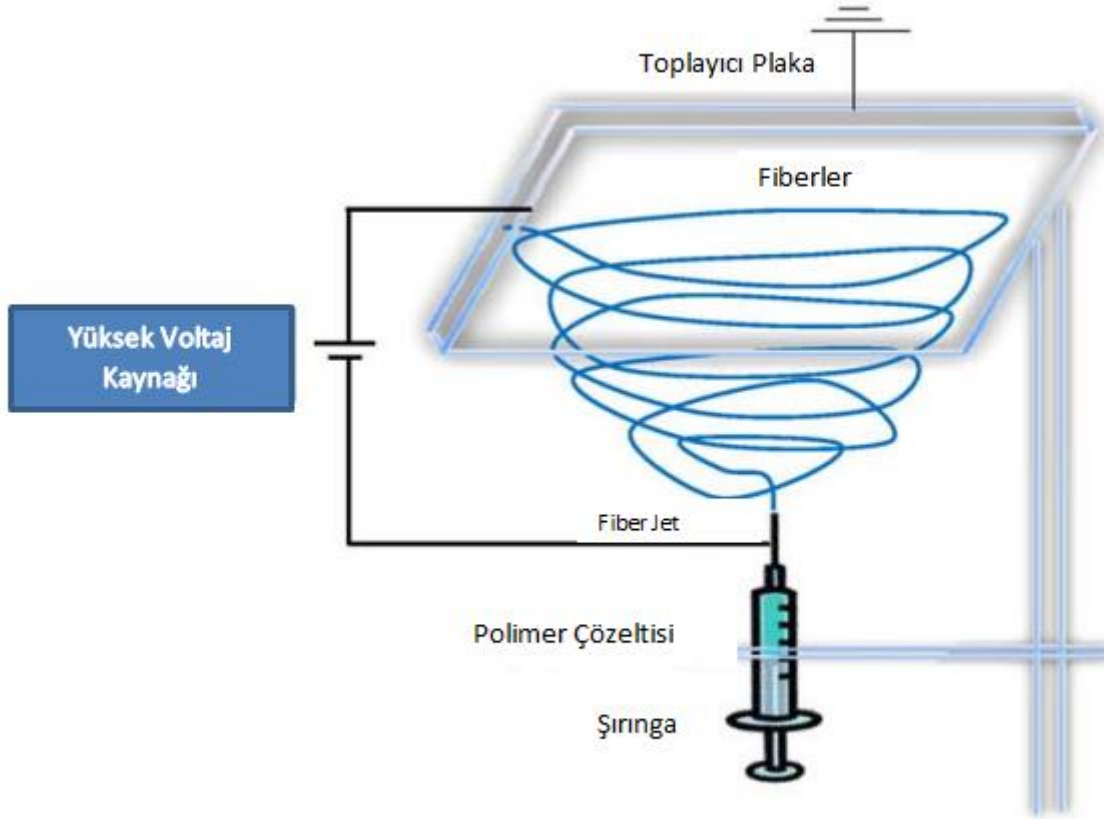


Şekil 1.10. ε-kaprolaktonun polimerizasyonu

Düşük çekme mukavemetine sahip olan PCL'un yüksek kopma uzaması sayesinde biyomalzemeler için çok iyi elastik özellikler sağlamaktadır. Doku mühendisliği uygulamalarında tek başına kullanılabildiği gibi, kopolimeri ve başka polimerlerle karışımları şeklinde kullanılabilmektedir (Kweon ve ark. 2003).

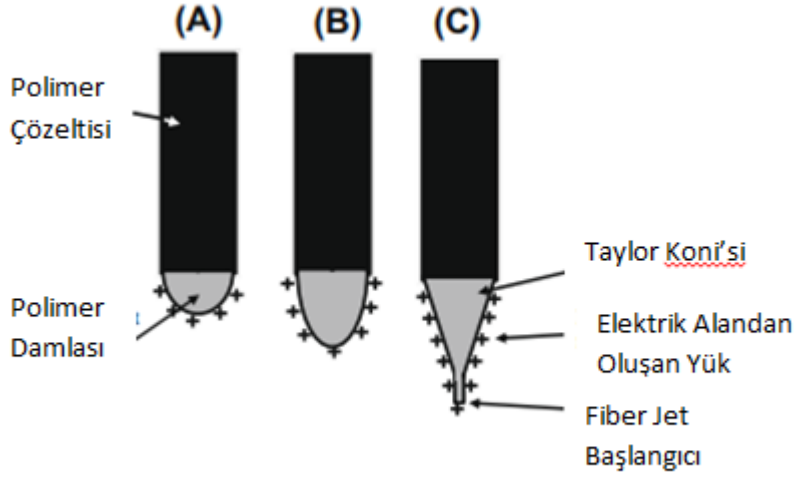
1.4. Elektroğirme

Elektrostatik kuvvetler kullanılarak lif eldesi yüz yıldan fazladır bilinen bir tekniktir. Elektroğirme son yıllarda nanolif üretimi için en çok kullanılan yöntemlerin başında gelmektedir. Bu proses, belli bir polariteye sahip polimer çözeltisi veya eriyiğine yüksek voltaj uygulayan bir kaynaktan akım uygulanarak karşıt elektrota doğru hızlandırılması esasına dayanır (Bhardwaj ve Kundu 2010; Baji ve ark. 2010). Zıt yüklü çözelti ve toplayıcı plaka arasındaki elektrostatik çekim, sıvıda bulunan benzer yüklerin birbirlerini itmesinden daha güçlü hale gelmeye başladığında çözeltinin ucunda bulunan menisküs bir koni halini alır, buna Taylor Koni'si denir. Uygulanan elektrik alanın gücü çözeltinin yüzey gerilimini geçtiği andan itibaren ise lif jeti Taylor Koni'sinden hızla toplayıcı plakaya doğru hareket eder. Bu lif jet toplayıcı plakaya hareket ederken çözeltideki çözücü hızla buharlaşır ve yalnızca çözelti içerisindeki katı yani polimer toplayıcı plakada birikir. Bu yöntem ile elde edilen liflerin yarıçapları mikrometre ile nanometre arasında değişebilmektedir.



Şekil1.11. Elektroğirme cihazı ve bileşenleri (Bhardwaj ve Kundu 2010)

Yüksek elektrik alan etkisi altında çözelti içerisindeki yükler tetiklenmekte ve yüklü polimer çözeltisi metal toplayıcı plakaya doğru hızlanmaktadır. Düşük elektrostatik alanda ise elektrik alan çözücünün yüzey gerilimini aşmadığından polimer pipet ucunda damlacık halinde kalır. Uygulanan elektrik alan arttırıldığında çözelti yüzeyindeki yükler birbirini itmeye başlar ve bir kesme stresi oluşur. Bu itme kuvvetleri yüzey geriliminin tersine doğrudur ve bu damlacığın koni şeklini almasını sağlar (Reneker ve Chun 1996; Shin ve ark. 2001; Baji ve ark. 2010) (Şekil 1.11). Kritik voltaja ulaşıldığında kuvvetler arasındaki denge bozulur ve konik damlacığın ucundan yüklü jet çıkar. Bu çıkan yüklü jetin yarıçapı toplayıcı plaka yolu arttırıldıkça ve yardımcı maddeler azaldıkça azalır.



Şekil 1.12. Taylor Koni'si oluşumu (Baji ve ark. 2010)

1.4.1.Çözelti Parametreleri

Derişim: Elektroğirme tekniğinde lif oluşumu için minimum çözelti derişimi gereklidir. Düşük çözelti derişiminde nanoparçacık ve nanolif oluşumu gözlenirken derişim arttığında nanoparçacıkların şekillerinin küresel yapıdan saptığı ve liflerinde yüksek viskoziteden kaynaklı yarıçaplarında artış meydana geldiği görülmüştür (Deitzel ve ark. 2001). Buna göre düşük derişimlerde çözelti ile çalışıldığında nanoküre oluşumu daha fazla iken derişim arttıkça lif oluşumu gerçekleşir fakat derişim çok fazla olduğunda lif oluşumu gözlenirken bu oluşum sürekli değildir.

Molekül ağırlığı: Polimerin molekül ağırlığı reolojik ve elektriksel özellikleri (viskozite, yüzey gerilimi, iletkenliği ve dielektrik sabiti) üzerinde önemli rol oynamaktadır (Haghi ve Akbari 2007). Ayrıca oluşan lifin morfolojisinde büyük ölçüde polimerin molekül ağırlığına bağlıdır. Yüksek molekül ağırlığına sahip polimerler çözeltilerinin elektroğirme yöntemiyle liflerinin üretimi çözeltiliye gerekli viskoziteyi sağladığı için daha fazla kullanılırken, düşük molekül ağırlıklı polimerlerin çözeltileri ile lifden ziyade nanoparçacık oluşumu gözlemlenmektedir. Polimerin molekül ağırlığı polimerin karışık zincirlerinin miktarını, dolayısıyla çözelti viskozitesini yansıtır. Yani zincirlerin karmaşıklığı elektroğirme tekniği için önemli bir parametredir (Reneker ve Chun 1996).

Viskozite: Polimerik liflerin elektroğirme tekniği ile oluşumunda çözelti viskozitesi liflerin boyutu ve morfolojisi üzerine önemli rol oynamaktadır. Çok düşük viskoziteye sahip çözeltilerde sürekli lif oluşumu sağlanamazken, çok yüksek viskoziteye sahip

çözeltilerde ise jet oluşumu zorlaşmakta olduğunu yapılan çalışmalar göstermektedir. Dolayısıyla elektroegirme uygulamaları için optimal viskozite belirlenmelidir. Yalnızca polimer çözeltisi ile yapılan elektroegirme uygulamalarında değil, polimer eriyiğinden lif oluşumunda da viskozite optimizasyonu önemlidir. Yüksek viskozite polimer çözeltileri genellikle daha uzun gerilme gevşemesi gösterdiklerinden elektroegirme sırasında Taylor Koni'sinden çıkan jetin kırılması engellenmiş olur. Çözeltinin viskozitesinde ya da derişimindeki artış daha geniş ve daha düzenli lif yarıçapına neden olmaktadır (Deitzel ve ark. 2001).

Yüzey Gerilimi: Temel olarak çözeltinin çözücü bileşeninin bir fonksiyonu olan yüzey gerilimini elektroegirme tekniğinde kritik bir öneme sahiptir. Polimer çözeltisinin yüzey geriliminin düşürülmesi ile lifler yanında nanoküre oluşumunun da önüne geçilmiş olmaktadır. Dolayısıyla çözücü sisteminin değiştirilmesiyle çözeltinin yüzey gerilimi de değişecektir. Genellikle yüksek yüzey gerilimi oluşan jetin kararlı olmaması sebebiyle çözeltilerden lif oluşumunun engellenmesine ve damlacıklar şeklinde çözeltinin püskürtülmesine neden olur (Hohman ve ark. 2001). Damlacıkların, nanoküreların ve liflerin oluşumu çözeltinin yüzey gerilimine birebir bağlıdır ve daha düşük yüzey gerilimi olan polimer çözeltisine düşük bir elektrik alan uygulanması elektroegirme tekniğinin uygulanmasına yardımcı olur. Temel olarak, diğer bütün parametreler sabit tutulduğunda yüzey gerilimi elektroegirmenin alt ve üst sınırlarını belirlemektedir.

Çözeltinin İletkenliği ve Yüzeydeki Yük Yoğunluğu: Birkaç istisna dışında polimerlerin çoğu iletken ve polimer çözeltisindeki iyonlar jet oluşumunda etkilidir. Çözeltinin iletkenliği polimerin cinsi, kullanılan çözücü ve çözelti içerisindeki iyonize olabilen tuzlara bağlı olarak tanımlanmaktadır. Yapılan çalışmalar ışığında, çözeltinin elektrik iletkenliği oluşan lif yarıçaplarında önemli derecede bir düşüş gözlemlenmektedir. Bunun nedeni ise, yüksek iletkenliğe sahip çözeltilere yüksek elektrik alan altında son derece kararsızdırlar. Doğal polimerler gibi polielektrolitik yapıda olan polimerlerde ise oluşan jetin yük taşıma kapasitesini artırır ve elektrik alan uygulandığında daha yüksek bir gerilime maruz kalırlar.

1.4.2. Cihaz Parametreleri

Uygulanan Voltaj: Elektroegirme tekniğinde çözeltilere uygulanan voltaj yöntemin en temel elementidir. Lif oluşumunun sağlanabilmesi için eşik değerindeki voltajın uygulanması gerekmektedir. Şırınga ucunda oluşan polimer çözeltisi damlacığından bir jet oluşması için öncelikle Taylor Koni'sinin oluşması yani en az çözeltinin yüzey gerilimini

yenecek kadar elektrik alan uygulanması gerekmektedir. Uygulanan voltaj arttıkça çözelti üzerindeki elektrostatik itme kuvvetleride artacağından oluşan liflerin yarıçapları azalacaktır (Demir ve ark. 2002). Yüksek voltaj çoğunlukla daha güçlü bir elektrik alan ve kolombik kuvvetlere neden olacağından çözelti daha fazla gerilir ve bu durumda da çözücü polimer çözeltisinden daha hızlı uzaklaşırken lif yarıçapı azalır (Bhardwaj ve Kundu 2010).

Akış Hızı: Polimer çözeltisinin şırıngadan akış hızı oluşan jetin ve malzemenin aktarım hızını etkilemektedir. Akış hızının düşük olması çözücünün polimer çözeltisinden uzaklaşması için gerekli zamanı sağlayacağından tercih edilen bir durumdur. Polimerin akış hızı arttırıldığında buna bağlı olarak lif yarıçapında ve gözenek büyüklüğünde de artış gözlemlenmektedir.

Toplayıcı Plaka Çeşitleri: Elektroegirme yönteminde toplayıcı plaka esas olarak polimer lifin toplandığı karşıt elektrottur ve bu nedenle iletken olmak durumundadır. Genellikle alüminyum folyo kullanılmakta olup bunun haricinde iletken kağıt veya kumaş, tel örgü gibi planlanan uygulamaya göre çeşitli toplayıcı türler kullanılmaktadır.

Şırınga Toplayıcı Plaka Uzaklığı: Şırınga ile toplayıcı arasındaki uzaklık lif yarıçapı ve morfolojisi üzerine etkisi olan diğer bir parametredir. Minimum mesafe lifin toplayıcı plakaya ulaşana kadar çözücüsünün buharlaşmasına yetecek kadar süre geçebileceği kadar olmalıdır, çok yakın veya çok uzak olması durumunda ise lifler yanında nanokürelar gözlemlenmektedir.

1.5. Doğal Antibakteriyel Maddeler (DAM)

Bitkiler enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde ilk çağlardan beri kullanılmaktadır ve şimdiye kadar yapılmış olan çalışmalarda bitkilerin terapötik etkilerini göstermektedir. Günümüzde, dünyanın değişik yerlerinde birçok hastalığın tedavisinde hala bitkilerden faydalanılmaktadır. Her ne kadar mikroorganizmaların neden olduğu hastalıkların önlenmesi kontrol altına alınması ve mikrobiyolojik araştırmalarda önemli gelişmeler kaydedilmiş olsada, ortaya çıkan yeni patojenler ve ilaçlara karşı direnç kazanan bakterilerin neden olduğu tekrarlayan salgın hastalıklar nedeniyle yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi gerekmektedir. Özellikle patojenlere karşı geliştirilen yeni ilaçlar için, medikal alanda kullanılan bitkiler üzerine yapılan araştırmalar öncü olabilmekte ve yeni biyoaktif ajanların üretilmesinde rol oynayabilmektedir (Sharma ve ark. 2017).

Geniş kullanım alanı bulunan DAM'lerin kullanımları sırasında ışıktan, ısıdan ya da havadaki maddelerden etkilenip bozunmamaları ve ayrıca uçucu bileşikler olduklarından

kullanılacakları ortamdan uzaklaşmamaları için kullanılan tekniklerden biri enkapsülasyondur. Bunun için genellikle lipozomlar ve polimerik partiküller kullanılmaktadır (Asbahani ve ark. 2015). Kitosan, PCL, PVA, nişasta, jelatin ve aljinat DAM enkapsülasyonu için en çok kullanılan polimerlerdir (Li ve ark. 2018; Feyzioglu and Tornuk 2016; Mohammadi, Hashemi, ve Hosseini 2015; Pérez-Recalde, Ruiz Arias, ve Hermida 2018).

DAM'lerin enkapsülasyonları için kullanılan yöntemlerden bazıları çöktürme, koaservasyon ve püskürtme-kurutmadır. Kolay ve tekrar edilebilir bir yöntem olan çöktürme çözücü değiştirme yöntemi olarakta bilinmektedir ve ilk kez Fessi ve ark. (1989) tarafından geliştirilmiştir ve genellikle nano boyutta parçacıklar elde etmek için kullanılmaktadır. Koaservasyon yönteminde ise basitçe iki sıvı fazın karıştırılarak koloidal çözelti oluşturulup enkapsülasyon gerçekleştirilir. Püskürtme-kurutmada ise, sıvı faz küçük damlacıklara ayrıştırılırken sıcak bir gaz yardımıyla kurutulur ve oluşan partiküller toplanır.

BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Kitosan Temelli Çalışmalar

Kitosan insan vücudundaki biyobozunurluğu, immünolojik, antibakteriyel ve yara iyileştirici olması gibi sahip olduğu biyolojik özellikler sayesinde son yıllarda medikal alanda en çok çalışan polisakkaritlerden biri olmuştur. Ayrıca sahip olduğu bu özellikler sayesinde gen aktarımı çalışmalarında destek materyali olarak, hücre kültüründe ve doku mühendisliğinde iskele sistemi olarak iyi bir adaydır (Sashiwa ve Aiba 2004). Doğrusal ve kısmen asetil grupları bulunan kitosan, nanoküre, nanolif gibi çeşitli formlarda ilaç salım sistemlerinde kullanılmaktadır (Bernkop-Schnürch ve Dünnhaupt 2012; Zhang ve ark. 2008).

Doğal antibakteriyel maddelerden olan esansiyel yağlarında enkapsülasyonu kitosan kullanılarak yapılmaktadır. Antifungal ve antibakteriyel özelliğe sahip olan lime yağı (limonen) kitosan nanokürelar içerisine hapsedilerek esansiyel yağın nanokürelar üzerine etkisi araştırılmıştır (Sotelo-Boyas ve ark. 2017). Bu çalışmada, kitosan Asetik Asit (AA) çözeltisi içerisinde çözülerek üzerine metanol içerisinde çözülmüş lime yağı ilave edilerek karıştırılmış ve döner buharlaştırıcıda çözücüsünden kurtarılarak lime içeren kitosan nanoküreları elde edilmiştir. Ayrıca diğer bir yöntem olan nanoenkapsülasyon ile emülsiyon ajanı olarak lesitin yardımıyla lime-kitosan nanokapsülleri elde edilmiştir. TEM, FTIR ve DLS yöntemleriyle karakterize edilmiş ve nanokapsül yöntemiyle hazırlanan nanoküreların boyutunun hafif arttığı fakat antibakteriyel etkisinin daha az olduğu bulunmuştur.

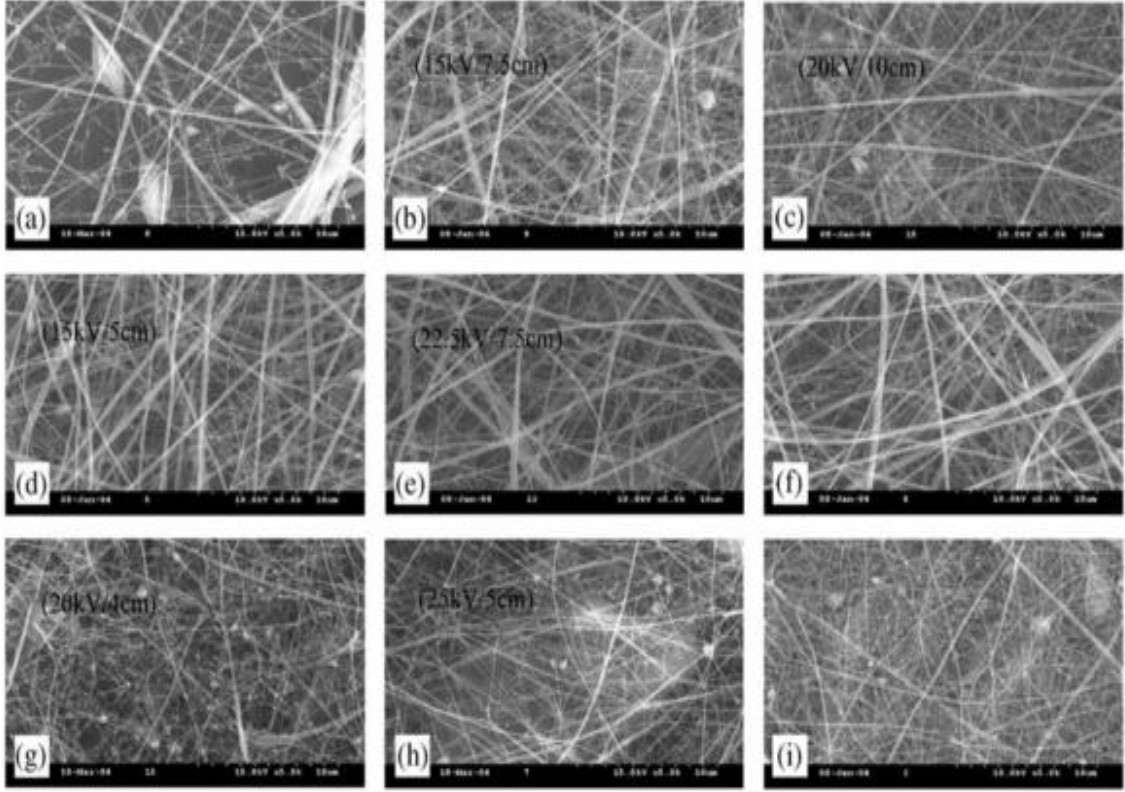
Feyzioglu ve Tornuk (2016) yaptıkları bir çalışmada, zater bitkisinden (summer savory) su buharı destilasyonu ile elde etikleri yağı değişik derişimlerde kitosan nanokürelar içerisine iyon jelleşme yöntemi ile hapsetmişler, FTIR, SEM ve DSC ile karakterize ettikten sonra antibakteriyel ve antioksidan özelliklerini incelemişlerdir. Buna göre antioksidan aktivitenin yağ oranına bağlı olarak arttığı, aynı zamanda yağın nanoküreların termal kararlılığı ve su tutma kapasitesini arttırdığı da gözlenmiştir.

Cinnamomum zeylanicum esansiyel yağı kitosan nanoküreları iyon jelasyon yöntemiyle tripolifosfat (TPP) kullanılarak elde edilmiş ve sonrasında bu partiküllerin karakterizasyonları UV-Vis Spektrofotometre ve DLS yöntemleri kullanılarak yapılmıştır. Çalışma sonunda elde edilen kitosan nanoküreları ve kitosan/esansiyel yağ nanoküreları ile salatalıklar kaplanmış ve esansiyel yağ içeren nanoküreların antibakteriyel ve antifungal

özellikler gösterdikleri kanıtlanmıştır(Mohammadi, Hashemi, ve Hosseini 2015).

Yapılan başka bir çalışmada ise Tween 20, Tween 40, Tween 60, Span 80 gibi değişik emülsiyon yapıcı ajanlar kullanılarak emülsiyon-iyonik jelleşme yöntemiyle mikroboncuklar elde edilmiş ve FTIR, DSC, XRD ve SEM kullanılarak karakterize edilmiştir. Enkapsüle edilen Citrus esansiyel yağının Tween 60 kullanıldığında kitosan içerisine daha fazla hapsedildiğini ve daha küçük parçacıklar elde edildiği görülmüştür (Li ve ark. 2018).

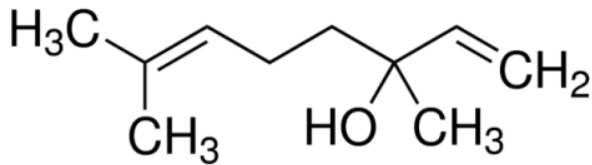
Kitosanın nanokürelarının yanında elektroegirme tekniği ile nanolifleride elde edilmiştir. Kitosan asidik sulu çözeltilerde çözülmesi ve kırılğan yapıda olmasından dolayı tek başına film haline getirilememesi gibi dezavantajları sebebiyle genellikle başka polimerlerle (PEO, PEG) birlikte nanolifleri elde edilmektedir (Nguyen, Chung, ve Park 2011; Jing ve ark. 2015; K. A. Rieger, Birch, ve Schiffman 2016; K. a Rieger ve Schiffman 2014). Fakat (Geng, Kwon, ve Jang 2005) yaptıkları bir çalışmada derişik AA içerisinde çözünmüş elektroegirme yöntemiyle nanoliflerini elde etmişlerdir. Değişik moleköl ağırlıklarında kitosanın derişik AA içerisindeki çözeltilerini kullanmışlardır. Buna göre, 106000 g/mol kitosanın %90 AA içerisinde %7 derişiminde hazırladıkları çözeltiden nanoküre olmayan nanolifler elde etmeyi başarmışlardır.



Şekil 2.1. Değişik elektrik alanlarda elde edilmiş liflerin SEM görüntüleri (a) 1, (b, c) 2, (d, e) 3, (f) 4, 5, (g, h) 5, (i) 9 kV/cm; %90 AA içerisinde %7 kitosan (106000 g/mol) çözeltisi (Geng, Kwon, ve Jang 2005)

2.2. Linalool Temelli Çalışmalar

Linalool asiklik bir monoterpenoid olup optikçe aktif tersiyer bir alkoldür. Renksiz hoş kokulu bir sıvıdır. Yapısındaki iki adet çift bağ sayesinde polimerleşebilmektedir. Yapılan çalışmalara göre, linaloolün metilmetakrilat, stiren, vinilasetat ve bütilmetakrilat ile kopolimerleri yapılmış ve ko-monomer olarak kullanıldığı kanıtlanmıştır. 2012 yılında yapılmış bir çalışmada vinil monomerleriyle kopolimerleşebilen linaloolün sterik engeli nedeniyle homopolimerinin yapılamadığı da belirtilmiştir.



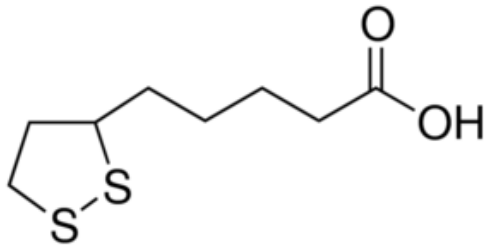
Şekil 2.2. Linalool molekülü

Linaloolün, yapılan bir çalışmada stiren akrilonitril ile birlikte kullanılarak terpolimerizasyonu gerçekleştirilmiş ve karakterize edilmiştir (Srivastava ve ark. 2002). Yapılan başka bir çalışmada ise butilmetakrilat ile serbest radikalik kopolimerizasyon reaksiyonu ile linalool-butilmetakrilat kopolimeri yapılmış ve FTIR ve ¹H-NMR spektrumlarıyla karakterize edilmiştir (Pathak ve Srivastava 2005).

Plasma polimerizasyon tekniği kullanılarak Poli(linalool) ince film halinde elde edilebilmiş ve FTIR ve AFM yöntemleriyle karakterize edilmiştir. Optik, yüzeysel ve mekanik özellikleri araştırılıp elektronik uygulamalara uygun olduğu tespit edilmiştir (Jacob ve ark. 2013).

2.3. Lipoik Asit Temelli Çalışmalar

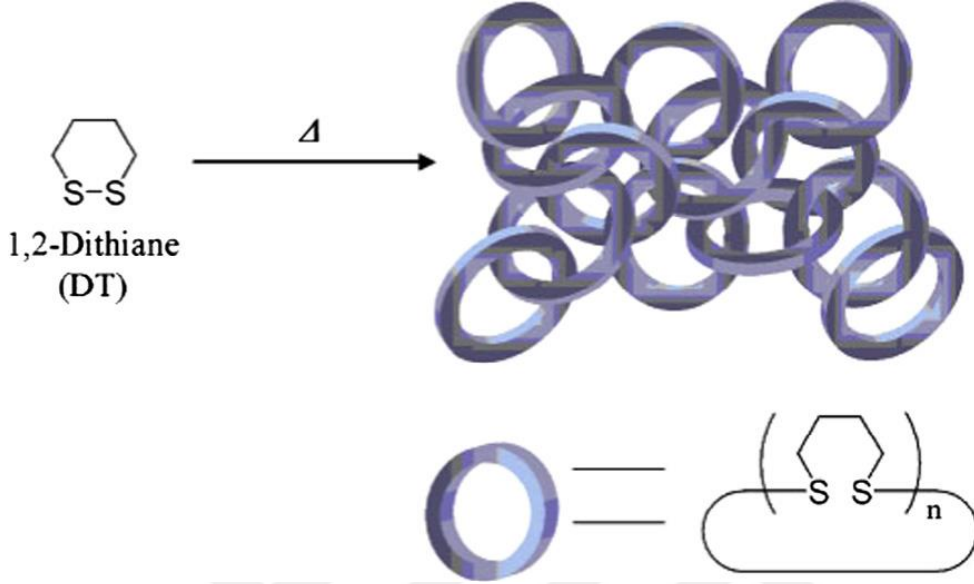
α -Lipoik asit (1,2-ditiolen-3-pentanoik asit veya 6,8-tiyoktik asit) (ALA) ditiolan halkasında disülfid bağı içeren sekiz karbonlu bir bileşiktir. Hücre içerisinde enerji üretiminde görev alan mitokondriyal multienzim kompleksi için çok önemli bir koenzimdir. Ayrıca kuvvetli bir antioksidan ve antitümör özelliği taşıyan bir maddedir ve gıda takviyesi olarak da kullanılmaktadır. Yapılan son çalışmalarda Lipoik asidin reaktif oksijen türlerinin formasyonunu ve siklooksijenaz aktivitesini inhibe ettiği ve böylece trombositlerin hiper agregasyonundan kaynaklanan hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği saptanmıştır. Yapılan deneysel ve klinik çalışmalar ışığında lipoik asitin diyabet, iskemi-reperfüzyonu, ağır metal zehirlenmesi, sinir hasarı ve HIV enfeksiyonu için de potansiyel tedavi ajanı olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür (Kofuji ve ark. 2008; Weerakody, Fagan, ve Kosaraju 2008; Wagner ve ark. 1956; Azimi ve Khalili 2016).



Şekil 2.3. α -Lipoik Asit molekülü

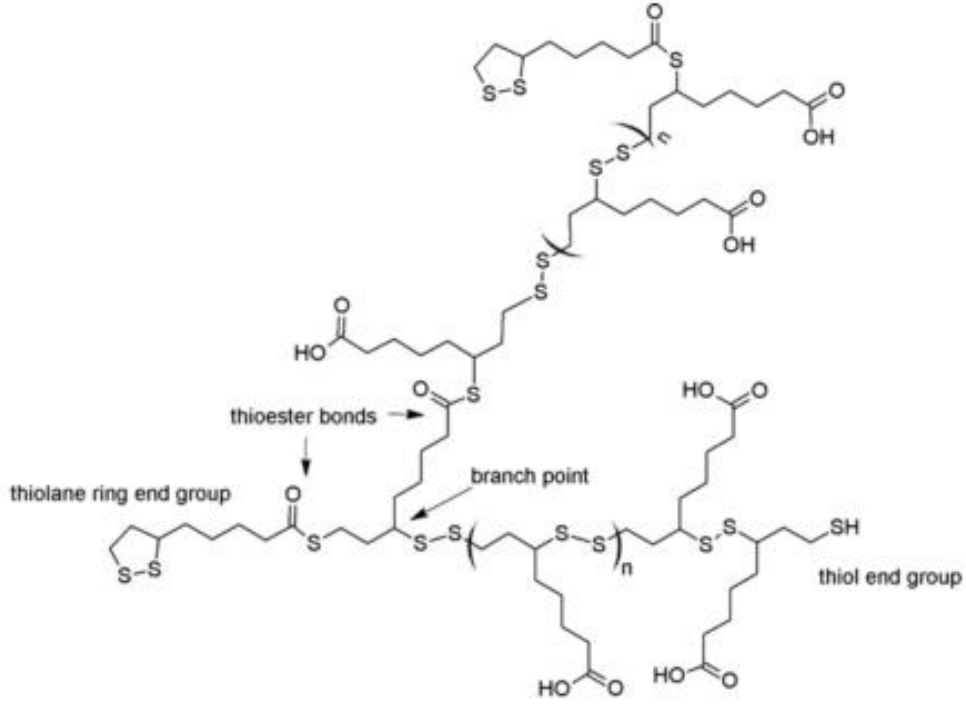
Erime sıcaklığının üzerinde ALA'nın halkalı yapıdaki sülfür bağlarının kırılarak polimerleştiği ve polikatenan adı verilen yapıların oluştuğu yapılan literatür görülmektedir (Wagner ve ark. 1956; Moyano, Broussalis, ve Segall 2010). (Kisanuki ve ark. 2010)

yaptıkları bir çalışmada, ALA’i hem termal olarak hem de dibenzo-30-crown-10 varlığında polimerleştirmişlerdir. Elde edilen polimerler GPC ve ¹H-NMR teknikleriyle karakterize edilmiştir.

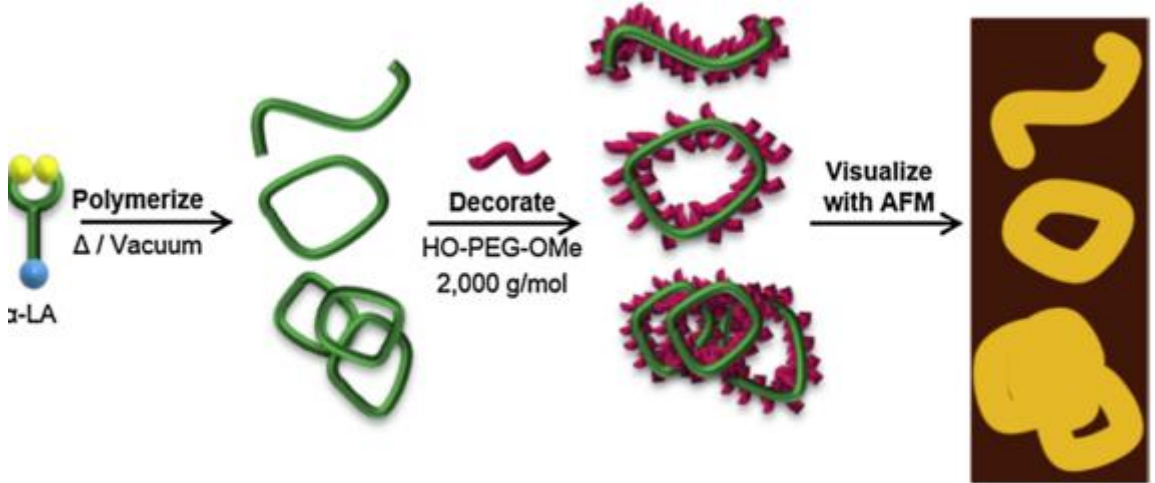


Şekil 2.4. Polikatenan yapıda poli(ditiyan) polimeri (E. Q. Rosenthal-Kim, Agapov, ve Puskas 2015)

Bunun devamında enzim katalizi ile ALA’dan polikatenan yapı dışında dallanmış P(ALA) sentezlenmiş ve AFM görüntüleri incelenmiştir (E. Q. Rosenthal-Kim, Agapov, ve Puskas 2015). Vakum altında LA termal olarak polimerize edilmiş ve HO-PEG-OMe ile enzim katalizli esterifikasyon ile dallandırılmıştır. Oluşan bu dallanmış polimerlerin yapıları AFM ile görüntülenmişlerdir.

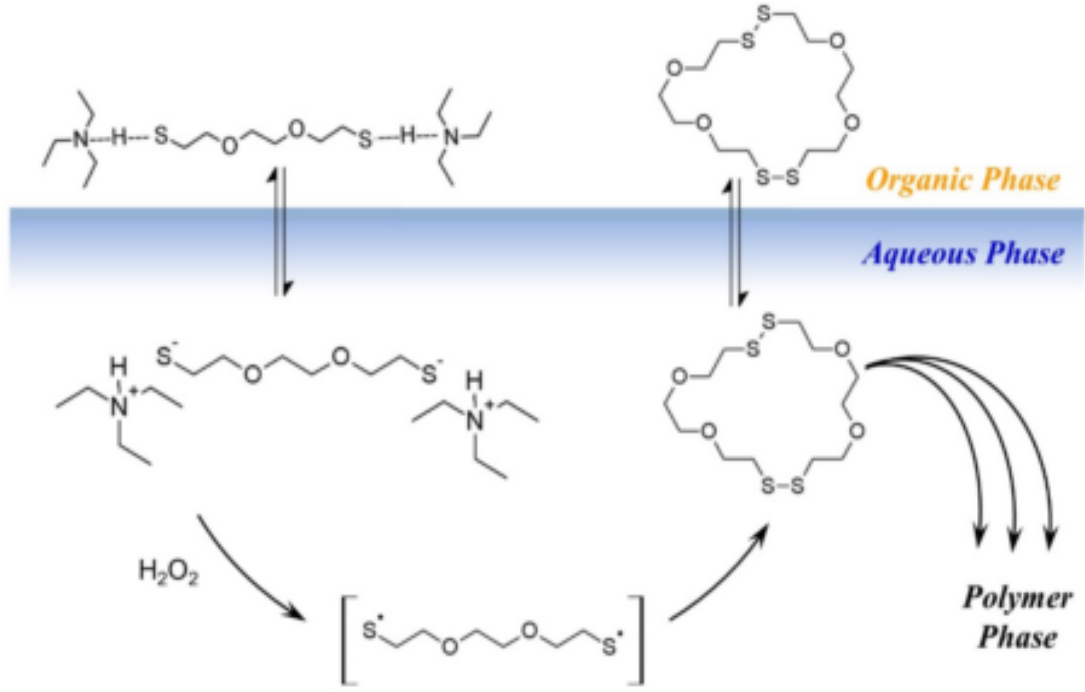


Şekil 2.5. Dallanmış PALA yapısı (E. Q. Rosenthal-Kim, Agapov, ve Puskas 2015)



Şekil 2.6. PALA yapısı için AFM görüntüleme stratejisi (E. Q. Rosenthal-Kim, Agapov, ve Puskas 2015)

Aynı grubun yaptığı bir diğer çalışmada ise, 3,6-dioksa-1,8-oktanditiol (DODT)'ın trietilamin (TEA) ve seyreltik H_2O_2 varlığında radikal halka açılma redoks polimerizasyonu gerçekleştirilmiştir. Su ve organik faz arasında yürüyen bu tepkime sonunda karalı bir emülsiyon sistemi oluşmuş ve siklik oligomerler elde edilmiştir (E. Rosenthal-Kim ve Puskas 2015).



Şekil 2.7. Faz transfer halka açılması reaksiyonu gösterimi (E. Rosenthal-Kim ve Puskas 2015)

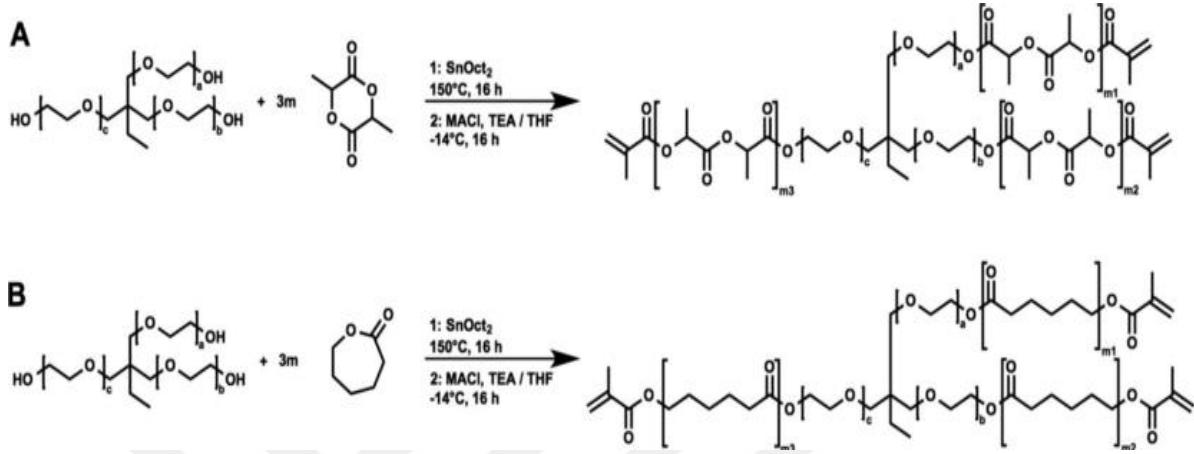
LA ile yapılmış bir diğer çalışmada ise Ditiyan (DT) ile termal yöntemle kopolimeri elde edilmiş ve karakterize edilmiştir (Endo ve Yamanaka 2006). Buna göre her ikiside ayrı ayrı polimerleştiğinde polikatenan yapılar oluşturan LA ve DT'ın kopolimeri polikatenan yapı içermekte olup tamamı içiçe geçmiş bu yapı şeklinde değildir.

2.4. Makromer Temelli Çalışmalar

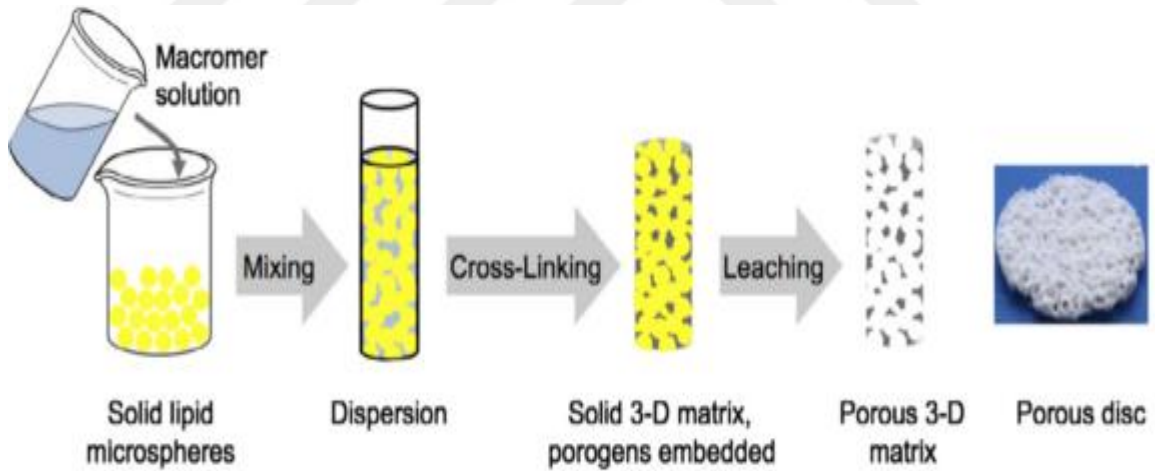
Makromer ya da makromonomer zincir uçlarında polimerize olabilen fonksiyonel gruplara sahip olan düz zincirli polimerler veya oligomerlerdir. Zincir sonundaki fonksiyonel gruplar sayesinde radikalik ya da iyonik olarak polimerleşebilmektedirler. Sondaki fonksiyonlu gruba bağlı olarak makromerlerin polimerizasyonu sonucunda aşı kopolimerleri ve ağ yapılar elde edilmektedir. Bu nedenle, makromerler genellikle aşı kopolimerizasyonu ve iç içe geçmiş polimerik sistemlerin eldesi için kullanılan bir basamaktır (Vert 2007; Fernandes ve ark. 2013; Lopes, Jardini, ve Filho 2012). Ayrıca, bu metot ile hidrofilik ve hidrofobik komponentler birleştirilerek yeni özellikte malzemelerin eldesinde kullanıldığı yapılmış çalışmalarda görülmektedir.

Günümüzde yapılan çalışmalar göstermektedir ki kimyasal ve fiziksel olarak esnekliğe sahip biyomalzemelerin yapımı elde edildikten sonra kullanılacağı alana göre

çapraz bağlanabilen yada kopolimerize olabilen makromerlere dayanmaktadır (Loth ve ark. 2015). Doku mühendisliği uygulamalarında iskele sistemi olarak kullanılmak üzere oligolaktit ve oligokaprolakton blokları içeren üç-kollu biyobozunur bir malzeme geliştirilmiş ve karakterize edilmiştir.



Şekil 2.8. Biyobozunur üç kollu makromerlerin sentez şeması (A) Laktit, (B) Kaprolakton (Loth ve ark. 2015)



Şekil 2.9. Polimerizasyon/solid lipid tekniği ile iskele sistemi hazırlanması şematik gösterimi (Loth ve ark. 2015)

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Tez çalışması kapsamında kullanılan kimyasalların listesi ve kaynakları Çizelge 3.1 'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Kullanılan kimyasallar

Kimyasal	Özellikler
Kitosan	Acros Organics (Molekül ağırlığı 100000-300000)
Sinnamaldehit	Merck
Fenil etil alkol	Sigma-Aldrich
Asetik asit	Merck (Glacial)
NaOH	İron Kimya (Boncuk %97-98)
HFIP	Acros Organics (%99,5+)
Linalool	Alfa Aesar (%97)
Benzoin	Merck (%99)
Benzoil peroksit	Merck
Kalay Oktaat	Sigma-Aldrich (%92.5-100)
Titanyum izopropoksit	Sigma-Aldrich (%97)
α -Lipoik asit	Tokyo Chemical Industry
Sitranelol	Sigma-Aldrich (%95)
ϵ -kaprolakton	ABCR (%99)
Trietil amin	Merck
Alimünyum oksit	Merck (for coloumn chromatography)
Benzofenon	Merck
Dietil eter	Panreac (6 ppm of BHT)
Metanol	İron Kimya (teknik) Merck (for analysis)
Aseton	İron Kimya (teknik)
Hidrojen Peroksit	Merck (%30)

Çizelge 3.1'in devamı

Tetrahidrofuran	Labkim (teknik) Merck (for analysis)
Diklorometan	Tekkim (teknik) Merck (for analysis)
Toluen	Merck (for analysis)
Hekzan	Merck (for analysis)
Molecular Sieve	Acros Organics

3.2. Kullanılan Cihazlar

Tez çalışması kapsamında kullanılan cihazlar ve özellikleri Çizelge 3.2 'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Kullanılan cihazlar

Cihaz	Özellikler
Hassas Terazi	Radwag As 220/C/2
Isıticılı karıştırıcı	IKA RCT classic DAIHAN Scientific Co. Ltd. WiseStir MSH-20A
Karıştırıcı	IKA big-squid
Vakum etüvü	Nüve EV 018 (Pompa: Vacuubrand RC 6)
Elektroegirme	Inevenso NE100 (Şırınga Pompası: New Era Pump Systems NE300)
Uv-Vis Spektrofotometre	Perkin Elmer Lambda25
FTIR	PerkinElmer
HPLC	Shimadzu (Kontrol :SCL 10AVP, Pompa: LC- 10ADVP, Dedektör: Diode Array, Kolon Fırını: CTO-10ACVP, degasser: DGU-14A)
GC/MS-MS	Thermo Finnigan Trace Ultra GC

Çizelge 3.2'nin devamı

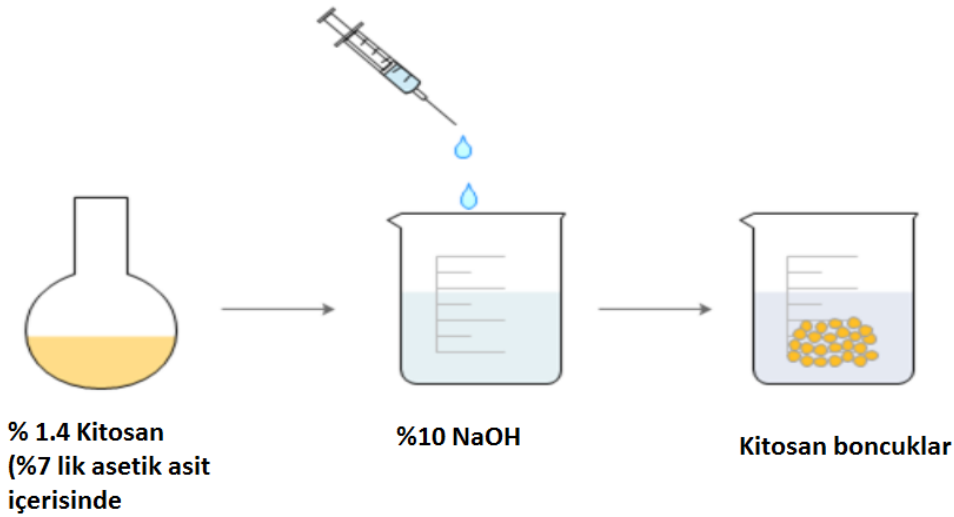
SEM	JEOL SEM-7100-EDX
AFM-Raman Spektroskopisi	WITEC ALPHA 3100R
¹ H-NMR	JEOL NMR-400 MHz

3.3. Yöntem

3.3.1 Kitosan Boncuklar

3.3.1.1 Kitosan Boncukların Hazırlanması

Hazırlanan % 7 lik AA çözeltisinden 50 ml alınarak içerisine 0,7 g Kitosan ilave edilmiş ve tamamen çözünmesi için bir gece karıştırılmıştır. Kitosan çözeltisi içerisinde oluşan hava kabarcıklarını yok etmek amacıyla yaklaşık 1 dakika ultrasonik banyoda tutulmuştur. Kitosan çözeltisi insülin enjektörü yardımıyla hazırlanmış ve 300 rpm hızında karışmakta olan %10 luk NaOH çözeltisi içerisine yavaş yavaş damlatılarak Kitosan boncuklar elde edilmiştir. Bu boncuklar distile su ile yıkanarak yüzeyde kalmış olan NaOH'den arındırılmıştır.



Şekil 3.1. Kitosan boncukların elde edilmesi

3.3.1.2. Doğal Antibakteriyel Madde İçeren Kitosan Boncukların Hazırlanması

Doğal antibakteriyel maddeler organik bileşikler olduğundan su ile karışmamaktadırlar. Bu nedenle öncelikli olarak hem kitosanın çözünebileceği hem de doğal antibakteriyel maddelerin karışabileceği bir çözelti sistemi bulunmuştur. Metanol hem su ile hem de doğal antibakteriyel maddelerle kolaylıkla karışabildiğinden, ayrıca

ortamdan kolaylıkla uzaklaştırılabildiğinden çözücü sisteminde tercih edilen maddelerden biridir.

Kullanılan kitosanın %100 olacak kadar Fenil Etil Alkol (FEA) metanol ile karıştırıldıktan sonra üzerine %7 lik AA çözeltisi ilave edilmiş ve 0,7 g kitosan eklenerek homojen bir karışım oluşana kadar karıştırılıp, sonrasında degaze edilmiştir. %10 luk NaOH çözeltisi içerisine damlatılarak Kitosan/FEA boncukları elde edilmiş, distile su ile yıkanmıştır.

Kullanılan kitosanın %50 si kadar Sinamaldehyt (CIN) metanol ile karıştırıldıktan sonra üzerine %7 lik AA çözeltisi ilave edilmiş ve 0,7 g kitosan eklenerek homojen bir karışım oluşana kadar karıştırılıp, sonrasında degaze edilmiştir. %10 luk NaOH çözeltisi içerisine damlatılarak Kitosan/FEA boncukları elde edilmiş, distile su ile yıkanmıştır.

3.3.2. Kitosan Nanoküreler

Literatürde elektropüskürtme yöntemi kullanılarak elde edilen kitosan nanopartikülleri için çözücü sistemi olarak genellikle asidik sulu karışımlar kullanılmıştır. Hatta elektroçirime çalışmalarında genellikle kitosanın film olarak eldesini zorlaştıran sert yapısından kaynaklı olarak ortama başka polimerlerde ilave edildiği görülmektedir. Bu çalışmada sadece kitosandan oluşan nanoparçacıklar elde edilmeye çalışılmıştır.

3.3.2.1 Kitosan Nanoparçacıkların Hazırlanması

%70 AA çözeltisinde değişik konsantrasyonlarda kitosan çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan %7 lik kitosan çözeltisi elektroçirime cihazı ile akış hızı 0.1-0.5 ml/saat, uygulanan voltaj 15-30 kV arasında ve elektrotlar arasındaki uzaklık 10-15 cm olarak değiştirilerek nanoküre elde edilmeye çalışılmıştır. Fakat uygulanan voltaj kitosan çözeltisinin viskozitesinin büyük olması nedeniyle Tylor Koni'si oluşmamış dolayısıyla polimer çözeltisi toplayıcı plakaya ulaşamamıştır. %70 lik AA içerisinde hazırlanan kitosan çözeltisinin konsantrasyonu %5- %2 olacak aralıkta değiştirilerek elektroçirime parametreleri sabit tutulduğunda %2 kitosan konsantrasyonuna sahip çözeltilere 18 kV ve üzerinde voltaj uygulandığında Tylor Koni'si oluşmuş ve polimer çözeltisi toplayıcı plaka üzerinde toplanmıştır.

%70'lik AA çözeltisi içerisinde hazırlanan %2'lik kitosan çözeltilisine elektroçirime cihazı ile 20 kV voltaj uygulanıp, akış hızı ve elektrotlar arasındaki uzaklık parametreleri değiştirildiğinde nanokürelar üzerine etkisi SEM ile incelenmiştir.

Çizelge 3.3. Kitosan nanokürelar üzerine uygulanan voltajın etkisi

% Kitosan	Akış hızı (ml/saat)	Voltaj (kV)	h (cm)	Sonuç
7,0	0,1 – 0,5	15 – 30	10 – 15	-
5,0	0,1 – 0,5	15 – 30	10 – 15	-
3,0	0,1 – 0,5	15 – 30	10 – 15	-
2,5	0,1 – 0,5	15 – 30	10 – 15	-
2,0	0,2	15 – 23	10 – 15	+
2,0	0,2	18	13	I
2,0	0,2	20	13	II
2,0	0,2	23	13	III

Çizelge 3.4. Kitosan nanoküreların hazırlanmasında akış hızının etkisi

% Kitosan	Akış hızı (ml/saat)	Voltaj (kV)	H (cm)	Sonuç
2,0	0,4	20	13	A1
2,0	0,3	20	13	A2
2,0	0,2	20	13	A3

Çizelge 3.5. Kitosan nanoküreların hazırlanmasında elektrotlar arası uzaklığın etkisi

% Kitosan	Akış hızı (ml/saat)	Voltaj (kV)	H (cm)	Sonuç
2,0	0,2	20	10	B1
2,0	0,2	20	13	B2

3.3.2.2. Doğal Antibakteriyel Madde İçeren Kitosan Nanoküreların Hazırlanması

Doğal antibakteriyel madde içeren kitosan boncukların hazırlanmasında olduğu gibi uygun çözücü sistemi için metanol kullanılmıştır. Bunun için metanol içerisine kitosanın kütlece %50'si ve %100'ü kadar olacak miktarda FEA ilave edilerek, %70'lik AA çözeltisi ile karıştırılmıştır. Bu çözelti üzerine kitosan ilave edilerek homojen bir çözelti elde edilene kadar karıştırılmıştır.

Kitosan nanoparçacıkları hazırlamak için kullanılan elektroğirme parametreleri uygulanarak FEA içeren kitosan nanoparçacıkları hazırlanmış ve SEM görüntüleri alınarak

morfolojileri incelenmiştir.

3.3.3. Kitosan Nanolifler

Kitosan nanoparçacıkların elde edilmesi için kullanılan %70'lik AA çözücü sistemi Asetik Asit:H₂O:Hekzafloroizopropanol (AA:H₂O:HFIP) (90:9:1) olarak değiştirilmiştir.

3.3.3.1. Kitosan Nanoliflerin Hazırlanması

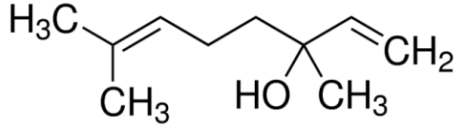
Kitosanın bu çözücü sistemi içerisinde hazırlanan %3 derişimindeki çözeltisi akış hızı 0.2 ml/saat, uygulanan voltaj 20-27 kV arasında ve elektrotlar arasındaki uzaklık 12 cm olarak düzenlenerek bir seri çalışma yapılmıştır ve SEM görüntüleri alınmıştır. Buna göre ECF1, ECF2 ve ECF3'de lif oluşumu gözlenmektedir. Fakat ECF4 numunesinde voltajın büyük olması nedeniyle kitosan çözeltisi toplayıcı plakada düzgün bir film oluşturmadığından SEM görüntüsü elde edilememiştir.

3.3.3.2. Doğal Antibakteriyel İçeren Kitosan Nanoliflerin Hazırlanması

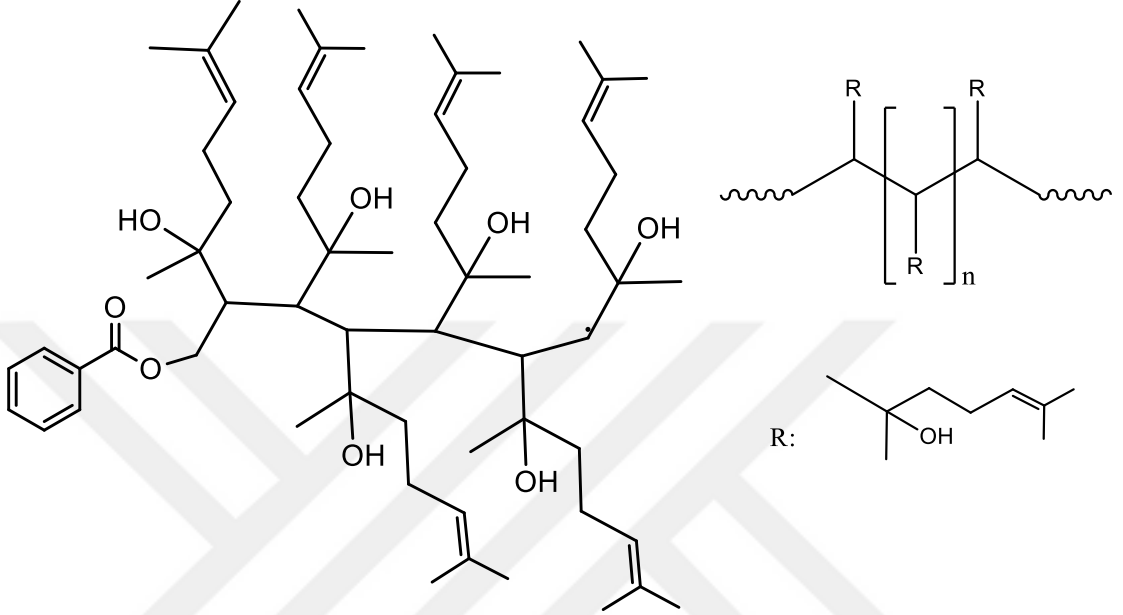
Kitosanın AA:H₂O:HFIP (90:9:1) çözücü sistemi içerisinde %3 derişimindeki çözeltisine sırayla kitosanın %50'si ve %100 olacak miktarda FEA ilave edilmiştir. Akış hızı 0.2 ml/saat, uygulanan voltaj 15-24 kV arasında ve elektrotlar arasındaki uzaklık 12 cm olarak düzenlenerek bir seri çalışma yapılmıştır ve SEM görüntüleri alınmıştır.

3.3.4. Linalool Polimerizasyonu

Linalool asiklik bir monoterpenoid olup optikçe aktif tersiyer bir alkoldür. Renksiz hoş kokulu bir sıvıdır. Yapısındaki iki adet çift bağ sayesinde polimerleşebilmektedir. Yapılan çalışmalara göre, linaloolün metilmetakrilat, stiren, vinilasetat ve bütülmetakrilat ile kopolimerleri yapılmış ve komonomer olarak kullanıldığı kanıtlanmıştır^{3,4}. 2012 yılında yapılmış bir çalışmada vinil monomerleriyle kopolimerleşebilen linaloolün sterik engeli nedeniyle homopolimerinin yapılamadığı da belirtilmiştir. Fakat linalool maddesini hem termal olarak hem de fotopolimerizasyon yöntemiyle radikalik polimerizasyonunun gerçekleştiği gözlenmiştir.



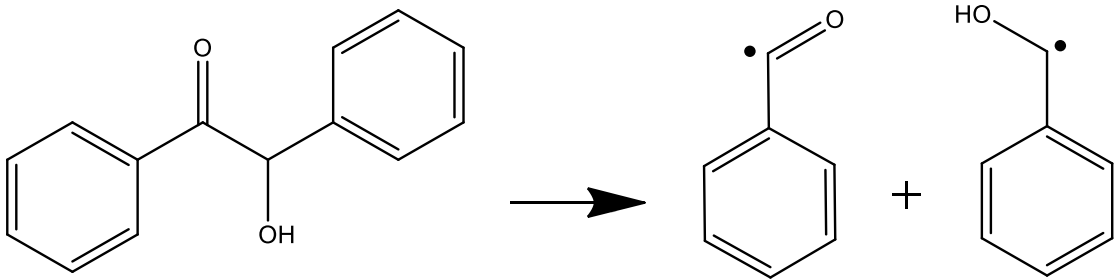
Şekil 3.2. Linalool molekülü



Şekil 3.3. Poli(linalool) yapısı

3.3.4.1. Radikalik Fotopolimerizasyon

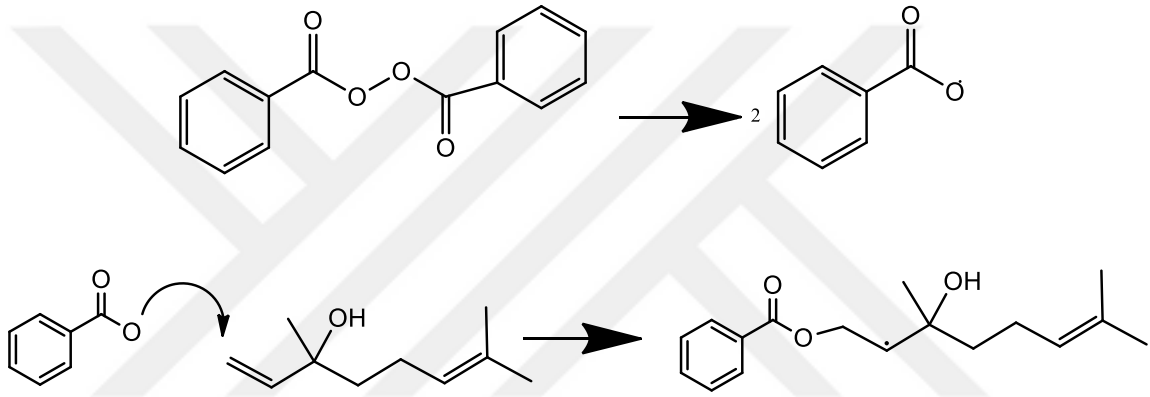
Fotopolimerizasyon yönteminde ise diklorometan içerisinde başlatıcı olarak benzoin kullanılarak 310 nm de 48 saatde yaklaşık %10 dönüşüm ile polimerizasyon gerçekleşmiştir. Benzoin 310 nm de ışıqla etkileştiğinde 2 adet radikal oluşturur ve bu radikallerin vinilik bağına saldırması ve bağıın açılması ile polimerizasyon reaksiyonu başlamış olur (Şekil 3.4). Linalool molekülünde radikaller 1. ve 2. karbon arasındaki vinilik bağına saldıracağından oluşan polimerik yapıdaki sterik engel nedeniyle yapının çok fazla büyüyemeyeceği ve % dönüşümün düşük olacağı anlaşılmaktadır (Şekil 3.5).



Şekil 3.4. Benzoin molekülünün ışıqla etkileşmesi

3.3.4.2. Termal Radikalik Polimerizasyon

Toluen içerisinde başlatıcı olarak benzoilperoksit kullanılarak 80 °C de 48 saat bırakılmış ve metanol içerisinde çöktürülmüştür. Dönüşüm ise yaklaşık %10 bulunmuştur. Sonrasında monomer miktarı, başlatıcı (benzoin peroksit) miktarı, reaksiyon sıcaklığı ve reaksiyon süresi değiştirilerek polimerleşme reaksiyonu üzerine etkileri araştırılmıştır. Başlatıcı miktarını %1- 5 arasında, başlatıcı miktarı monomerin %1 - 5 olacak şekilde değişik oranlarda değiştirilerek reaksiyondaki değişiklikler gözlenmiştir. Son olarak reaksiyonun gerçekleştirildiği sıcaklık ve reaksiyon süresinin polimerizasyon üzerine etkileri incelenmiştir.



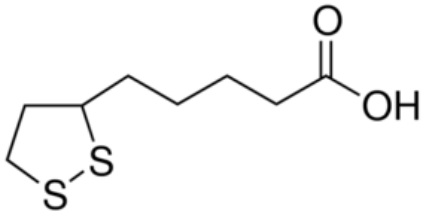
Şekil 3.5. Benzoil peroksit molekülü ve polimerizasyonun başlaması

Çizelge 3.6. Linaloolün polimerleşme reaksiyonu parametreleri

Linalool (mL)	Başlatıcı	Sıcaklık (°C)	Süre (saat)	Sonuç
0.2	%1	25	96	Polimerleşme gözlenmedi
0.2	%1	75	8	Polimerleşme gözlenmedi
0.2	%1	75	24	Kolloidal çözelti
0.2	%1	75	48	Beyaz renkli katı parçacıklar
0.2	%1	75	72	Beyaz renkli katı parçacıklar
0.2	%2	75	24	Kolloidal çözelti
0.2	%2	75	48	Beyaz renkli katı parçacıklar
0.2	%5	75	48	Beyaz renkli katı parçacıklar

3.3.5. α -Lipoik Asit Polimerizasyonu

α -Lipoik asit (1,2-ditiolen-3-pentanoik asit veya 6,8-tiyoktik asit) (ALA) hücre içerisinde enerji üretiminde görev alan mitokondriyal multienzim kompleksi için çok önemli bir kofaktördür. Ayrıca kuvvetli bir antioksidan ve antikanser özelliği taşıyan bir maddedir ve gıda takviyesi olarak da kullanılmaktadır. Yapılan son çalışmalarda Lipoik asidin reaktif oksijen türlerinin formasyonunu ve siklooksijenaz aktivitesini inhibe ettiği ve böylece trombositlerin hiper agregasyonundan kaynaklanan hastalıkların tedavavisinde kullanılabileceği saptanmıştır. Yapılan deneysel ve klinik çalışmalar ışığında lipoik asitin diyabet, iskemi-reperfüzyonu, ağır metal zehirlenmesi, sinir hasarı ve HIV enfeksiyonu için de potansiyel tedavi ajanı olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür.



Şekil 3.6. α -Lipoik asit molekülü

Erime sıcaklığının üzerinde ALA'nın halkalı yapıdaki sülfür bağlarının kırılarak polimerleştiği ve polikatenan adı verilen yapıların oluştuğu yapılan literatür araştırması sonucunda görülmüştür. Bunun devamında enzim katalizi ile ALA'den polikatenan yapı dışında dallanmış P(ALA) sentezlenmiş ve AFM görüntüleri incelenmiştir.

ALA'nın polimerleşmesi için ilk yöntem olarak termal olarak halka açılması polimerleşmesi denenmiştir. Literatüre göre, ALA'nın erime sıcaklığının üzerine çıkıldığında polimerleşmenin gerçekleştiği belirtilmiştir. Bu nedenle ALA 90 °C de N₂ atmosferinde 3 saat boyunca ısıtılıp elde edilen viskoz sıvının üzerine soğuk metanol dökülerek beyaz jel kıvamında %12 dönüşüm ile P(ALA) elde edilmiştir. Polimerin aseton içerisinde 30-36 saatte çözündüğü gözlenmiştir. DCM, su, metanol içerisinde ise yine jel kıvamında P(ALA) oluşmuştur. Fakat polimerik maddenin çözünürlük problemi nedeniyle ¹H-NMR spektrumları alınamamıştır.

Literatür araştırmalarında disülfid polimeri elde etmek için kullanılan diğer bir yöntem ise radikal halka açılması redoks polimerizasyonudur ve su-organik faz arasında gerçekleşen faz transfer polimerizasyonudur¹⁰. ALA toluen içerisinde çözülerek üzerine ALA'nın molce 1, 2 ve 3 katı olacak şekilde trietilamin ilave edilmiş ve karıştırılarak

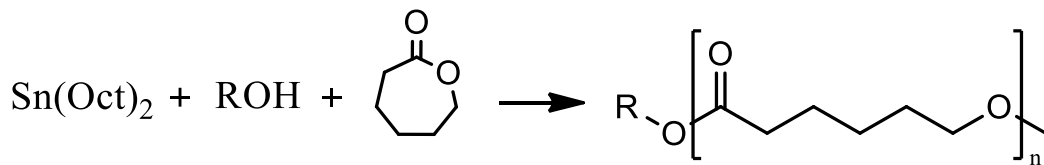
seyreltik H₂O₂ ilave edilmiştir. Reaksiyon ortamına ilk trietilamin ilavesiyle fazı ilavesiyle viskoz sarı renkli bir sıvı oluşmuştur. H₂O₂ ilavesi ile oluşan bu sarı renkli viskoz madde beyaz renkli viskoz bir madde gözlenmiş fakat kısa sürede homojen bir çözelti olacak şekilde çözünmüştür.

P(ALA) sentezi için denenen diğer yöntemde ise ALA ve ALA'nın %1 i olacak miktarda p-toluensulfonik asit N₂ atmosferi altında sırasıyla 6, 12 ve 18 saat 105 °C de karıştırılmıştır. 6 ve 12 saat sonunda polimerleşme gözlenmemişken, 18 saat sonunda ise çözelti içerisinde siyah partikül oluşumu gözlenmiş fakat metanol ve su ilavesi ile herhangi bir katı partikülün kalmadığı gözlenmiştir.

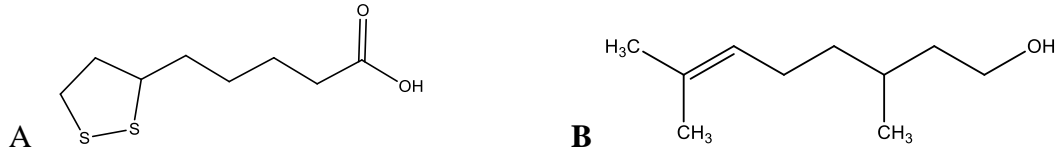
3.3.6. Polikaprolakton Makromerler

Makromer ya da makromonomer zincir uçlarında polimerize olabilen fonksiyonel gruplara sahip olan düz zincirli polimerler veya oligomerlerdir. Zincir sonundaki fonksiyonel gruplar sayesinde radikalik ya da iyonik olarak polimerleşebilmektedirler. Sondaki fonksiyonlu gruba bağlı olarak makromerlerin polimerizasyonu sonucunda aşı kopolimerleri ve network yapılar elde edilmektedir. Bu nedenle, makromerler genellikle aşı kopolimerizasyonu ve iç içe geçmiş polimerik sistemlerin eldesi için kullanılan bir basamaktır. Ayrıca, bu method ile hidrofilik ve hidrofobik komponentler birleştirilerek yeni özellikle malzemelerin eldesinde kullanıldığı literatürde görülmektedir.

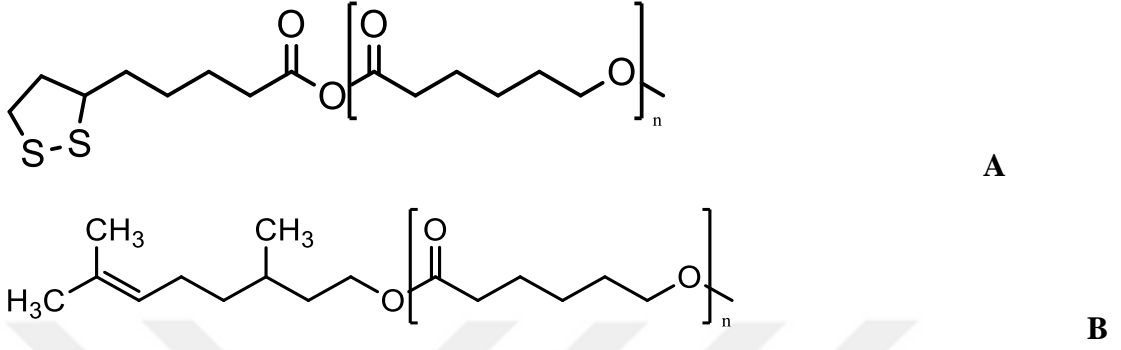
Tez çalışması kapsamında doku mühendisliği uygulamalarında kullanılmak üzere polikaprolaktonun lipoik asit ve sitronellol ile makromerleri hazırlanması hedeflenmiştir. Bunun için ε-Kaprolakton'un halka açılması polimerizasyonunda sıklıkla kullanılan Kalay oktaat başlatıcı olarak seçilmiştir. Kullanılan monomerin %1' i kadar başlatıcı ve %1'i kadar lipoik asit yada sitronellol kullanılmıştır. Öncelikle lipoik asit yada sitronellolün başlatıcı ile etkinleşmesi için toluene içerisinde N₂ atmosferi altında 30 dakika boyunca 100 °C karıştırılmış, sonrasında yine N₂ atmosferinde monomer ilave edilmiştir. Reaksiyon süresi sonunda oluşan polimer metanol içerisinde çöktürülmüş ve metanol ile yıkanmıştır.



Şekil 3.7. ε-Kaprolakton halka açılma polimerizasyonu



Şekil 3.8. A) α -Lipoik asit, B) Sitronellol molekülü



Şekil 3.9. A) Polikaprolakton-Lipoik asit makromer, B) Polikaprolakton-Sitronellol makromer

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

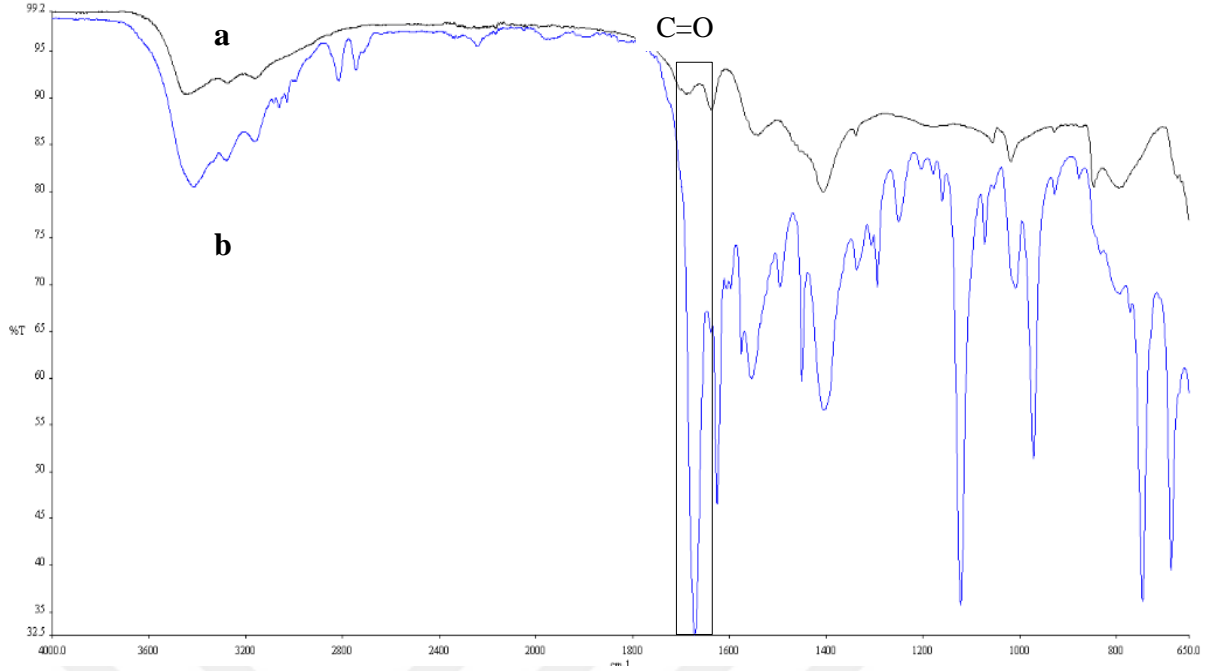
4.1. Kitosan Boncuklar

4.1.1. Kitosan/CIN Boncuklar

AA içerisinde hazırlanan kitosan çözeltisinin ve kitosan/DAM çözeltilerinin ayrı ayrı insülin şırıngası yardımıyla NaOH çözeltisine damlatılması ile elde edilen kitosan boncuklar Şekil 4.1. de gösterilmektedir. Şekil 4.1.c'de görüldüğü üzere, CIN içeren boncukların rengi sarıya dönmüştür. Bu da CIN'in kitosan boncuklar içerisine hapsedildiğinin görsel olarak kanıtıdır. Ayrıca kitosan ve kitosan/CIN boncukların IR spektrumları incelendiğinde özellikle kitosanda bulunmayıp CIN'in yapısında bulunan aldehit grubundan C=O bağının gerilim piki 1700 cm^{-1} civarında gözlemlenmektedir (Şekil 4.2).



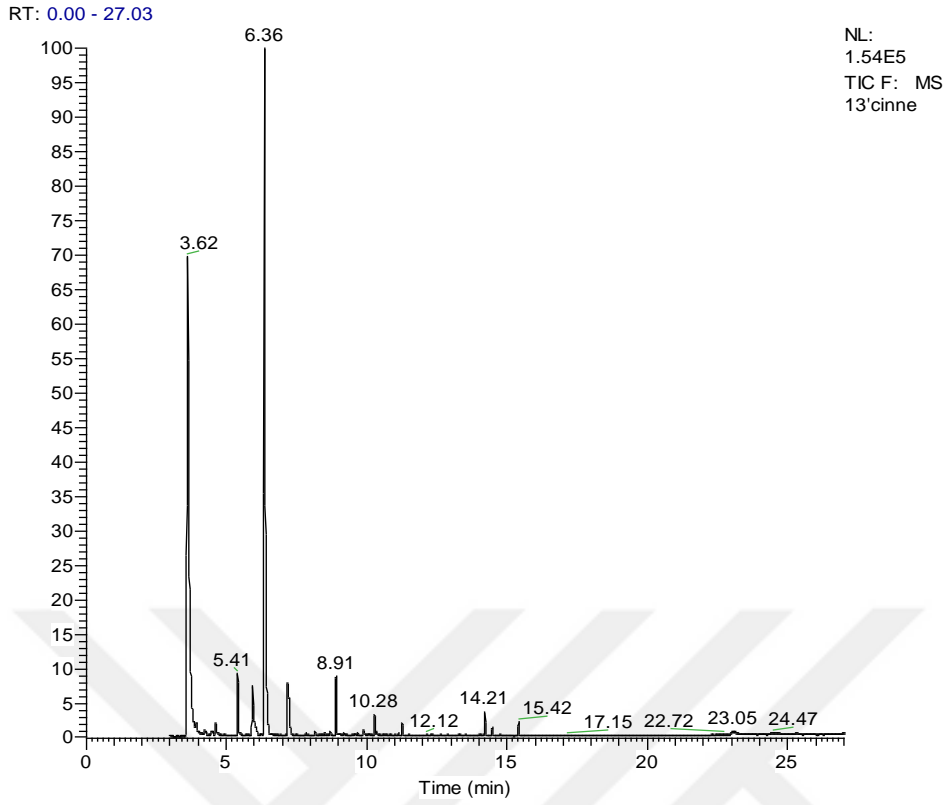
Şekil 4.1. a) Kitosan, b) Kitosan/FEA ve c) Kitosan/CIN boncuklarının elde edilmesi



Şekil 4.2. a) Kitosan, b) Kitosan/CIN boncukların IR spektrumları

Doğal antibakteriyel maddelerden CIN içeren kitosan boncuklar hazırlandıktan sonra pH 7,4 0,1 M PBS tamponu içerisinde muhafaza edilmiştir. Hazırlanan küreler içerisindeki CIN miktarı GC/MS-MS yöntemi ile belirlenmiştir.

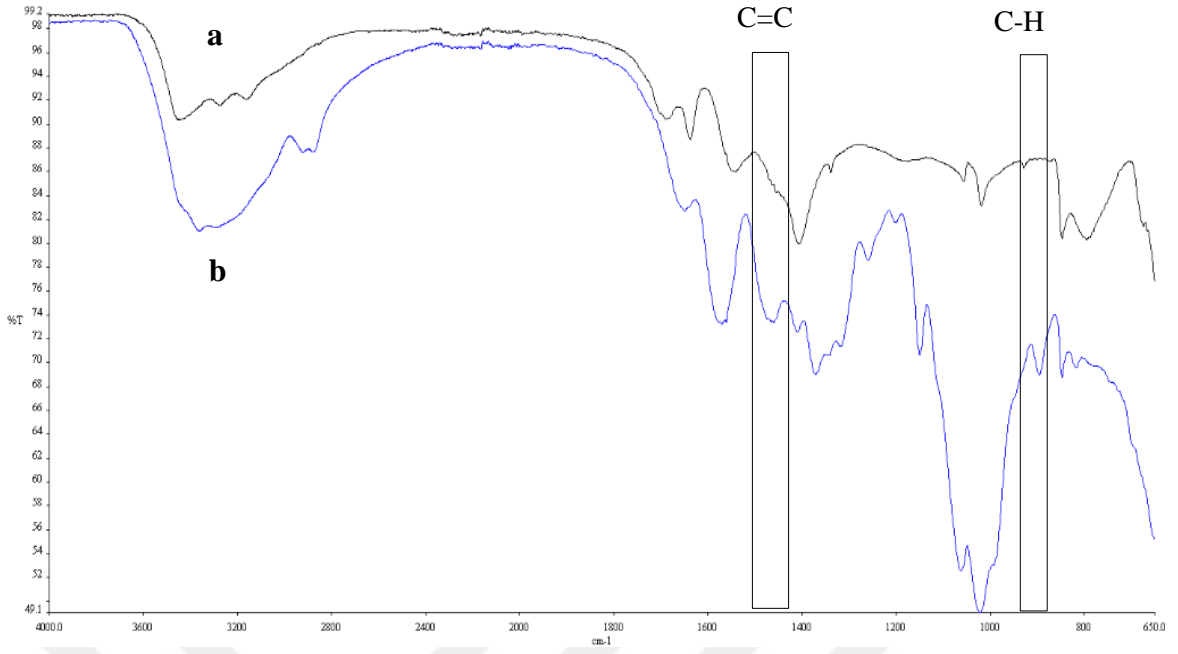
GC/MS-MS ile Yapılan Analizler: GC/MS-MS cihazında kullanılan çözücülerin kolayca gaz fazına geçmesi istendiğinden, bu yöntemde CIN'in kalibrasyon çözeltileri hekzan içerisinde hazırlanmıştır. Hazırlanan bu kalibrasyon serisi GC/MS ile dakikada 2 µL örnek 5MS-GC fused silica kapiler kolona (30 m, 0.25 mm i.d., film kalınlığı 0.25 µm) enjekte edilerek analiz edilmiştir. Hareketli faz olarak helyum ve azot gazları kullanılmıştır. Kitosan/CIN boncuklarının içerisindeki CIN miktarının hesaplanabilmesi için kitosan/CIN boncuklar hazırlanıp yıkandıktan sonra mekanik olarak parçalanarak 10 ml hekzan ile 3 defa ekstrakte edilmiş ve bu örnekler GC/MS-MS ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda yapılan hesaplamalara göre, 1 g kitosan boncuğun 350 mg CIN hapsettiği bulunmuştur.



Şekil 4.3. CIN'in GC spektrumu

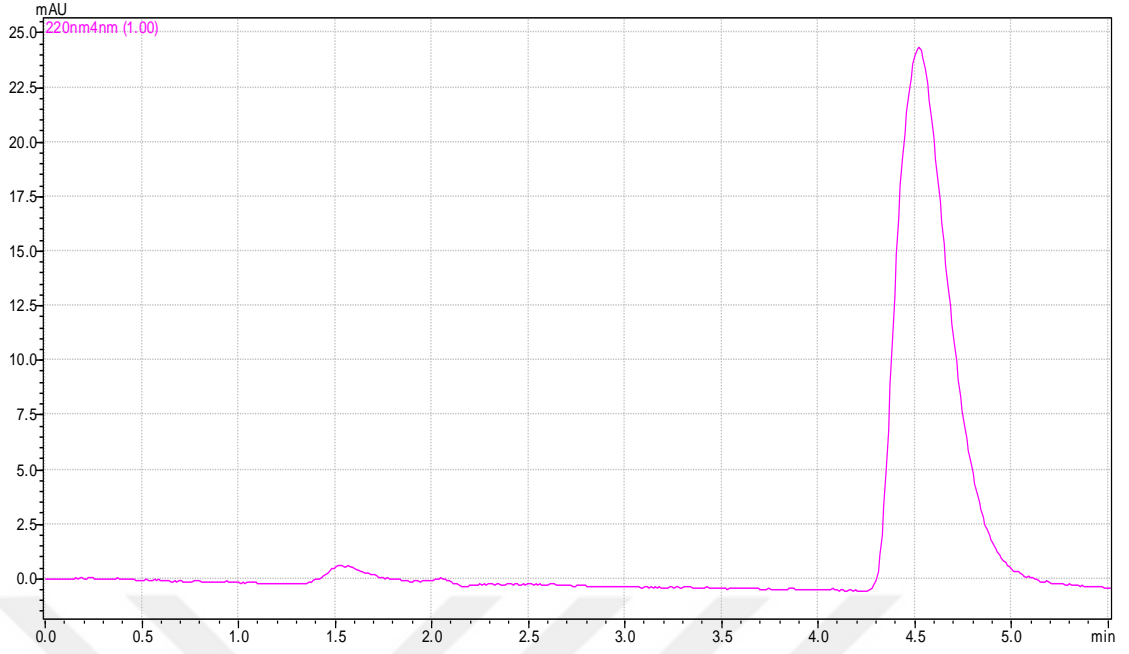
4.1.2. Kitosan/FEA Boncukları

Kitosan ve kitosan/FEA boncuklarının IR spektrumları incelendiğinde özellikle kitosanda bulunmayıp FEA'ün yapısında bulunan fenil grubundan kaynaklanan aromatik C=C bağının gerilim piki 1500 cm^{-1} ve aromatic C-H esneme piki 900 cm^{-1} civarında gözlemlenmektedir (Şekil 4.8).

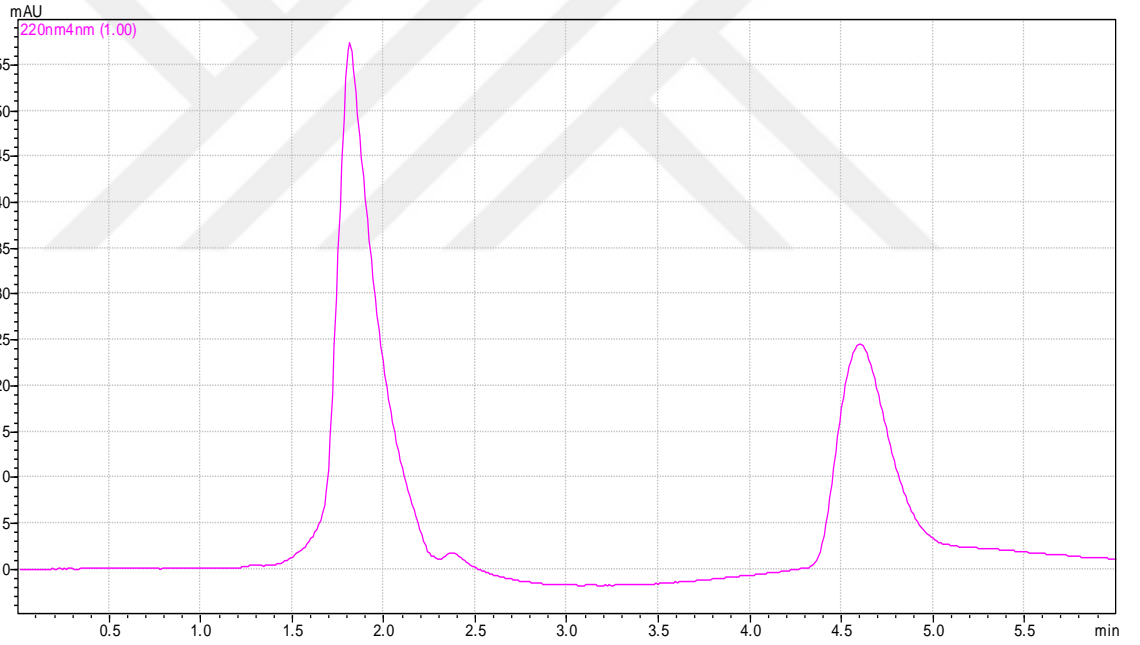


Şekil 4.4. a) Kitosan, b) Kitosan/FEA boncukların IR spektrumları

HPLC ile Yapılan Analizler: HPLC sistemi, sistem kontrol ünitesi (SCL 10AVP), pompa (LC-10ADV), Diode Array dedektör (SPD-M10AVP), manuel enjektör, kolon fırını (CTO-10ACVP) ve degasser (DGU-14A) oluşmaktadır. Çalışmada Luna Phenomenex C18 (4.6 mm ID× 250 mm) kolon ve (65:35 v/v) H₂O:ACN karışımından oluşan hareketli faz kullanılmıştır. Enjeksiyon hacmi 20 µL, akış 0.8ml/dakika ve kolon fırını sıcaklığı 40°C, FEA analizi için dalga boyu 220 nm olarak ayarlanmıştır ve bu şartlarda FEA piki 4,5. dakikada gözlemlenmiştir.



Şekil 4.5. FEA kromatogram



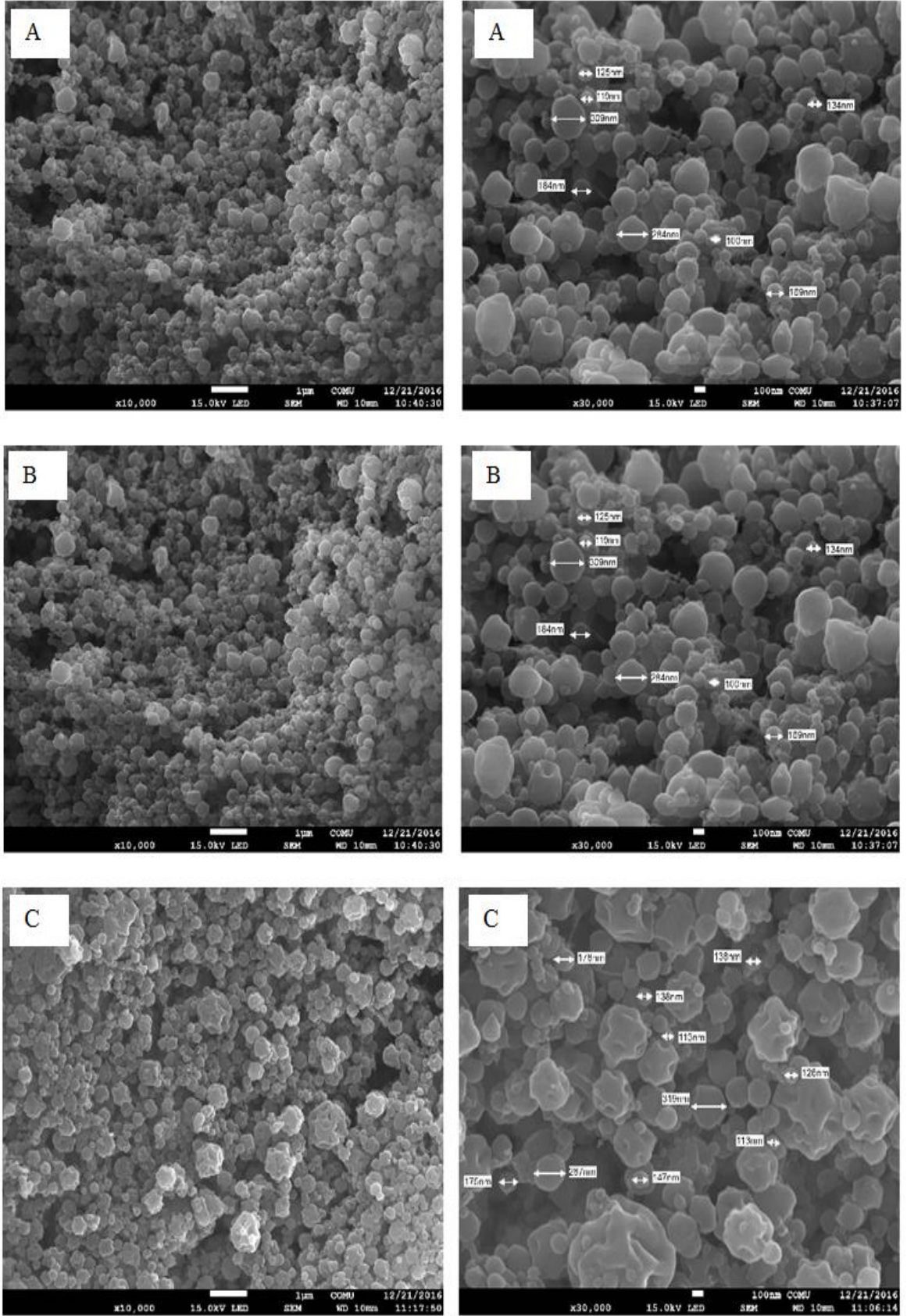
Şekil 4.6. Kitosandan salınan FEA kromatogramı

Kitosan/CIN boncuklarında olduğu gibi kitosan/FEA boncukları içerisindeki FEA miktarının hesaplanabilmesi için kitosan/FEA boncuklar hazırlanıp yıkandıktan sonra mekanik olarak parçalanarak 10 ml hekzan ile 3 defa ekstrakte edilmiş ve bu örnekler HPLC ile analiz edilmiştir. HPLC analizleri sonucunda elde edilen sonuçlar ve hesaplamalara göre her bir gram kitosan boncuğunun 1612 mg FEA hapsediği yapılan HPLC analizleri sonucu bulunmuştur.

4.2. Kitosan Nanoparçacıklar

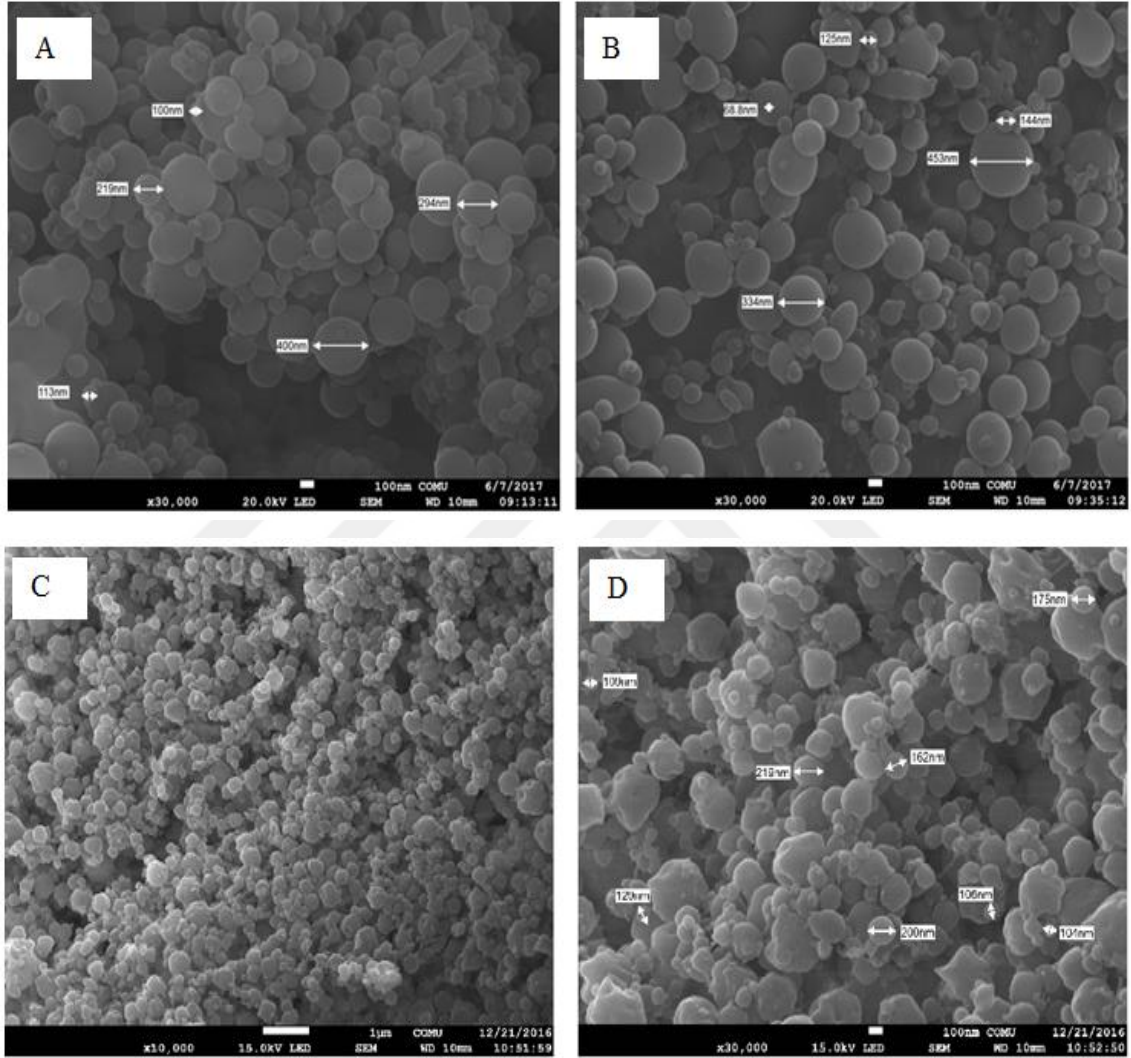
%70 AA çözeltisinde çözülerek değişik konsantrasyonlarda kitosan çözeltisi hazırlanmıştır. %70 lik AA çözeltisi içerisinde %7 lik kitosan çözeltisi hazırlanmış ve elektroğirme cihazı ile akış hızı 0.1-0.5 ml/saat, uygulanan voltaj 15-30 kV arasında ve elektrotlar arası uzaklık 10-15 cm olarak parametreler değiştirilmiştir. Uygulanan yüksek voltaja rağmen kitosan çözeltisi plakaya ulaşamamıştır. Kitosan çözeltisi %5 - %2 aralığında değiştirilerek aynı işlemler uygulandığında, %2 kitosan konsantrasyonuna sahip çözeltiye 18 kV ve üzerinde voltaj uygulandığında plaka üzerinde kitosan toplandığı gözlenmiştir. Alüminyum folyo toplayıcı plaka üzerine biriken kitosan SEM ile analiz edilmiştir.

Elde edilen SEM görüntülerine göre, %2 derişimde hazırlanan çözücüsü %70 AA olan kitosan çözeltisine 18 kV voltaj uygulandığında küresel kitosan nanokürelar gözlemlenmektedir. Diğer bütün parametreler sabit tutulup uygulanan voltaj değiştirildiğinde oluşan kitosan parçacıkların morfolojilerinde farklılıklar gözlemlenmektedir. Artan elektriksel alan ile kitosan nanoküreların küresel yapıdan saptıkları tespit edilmiştir (Şekil 4.14).



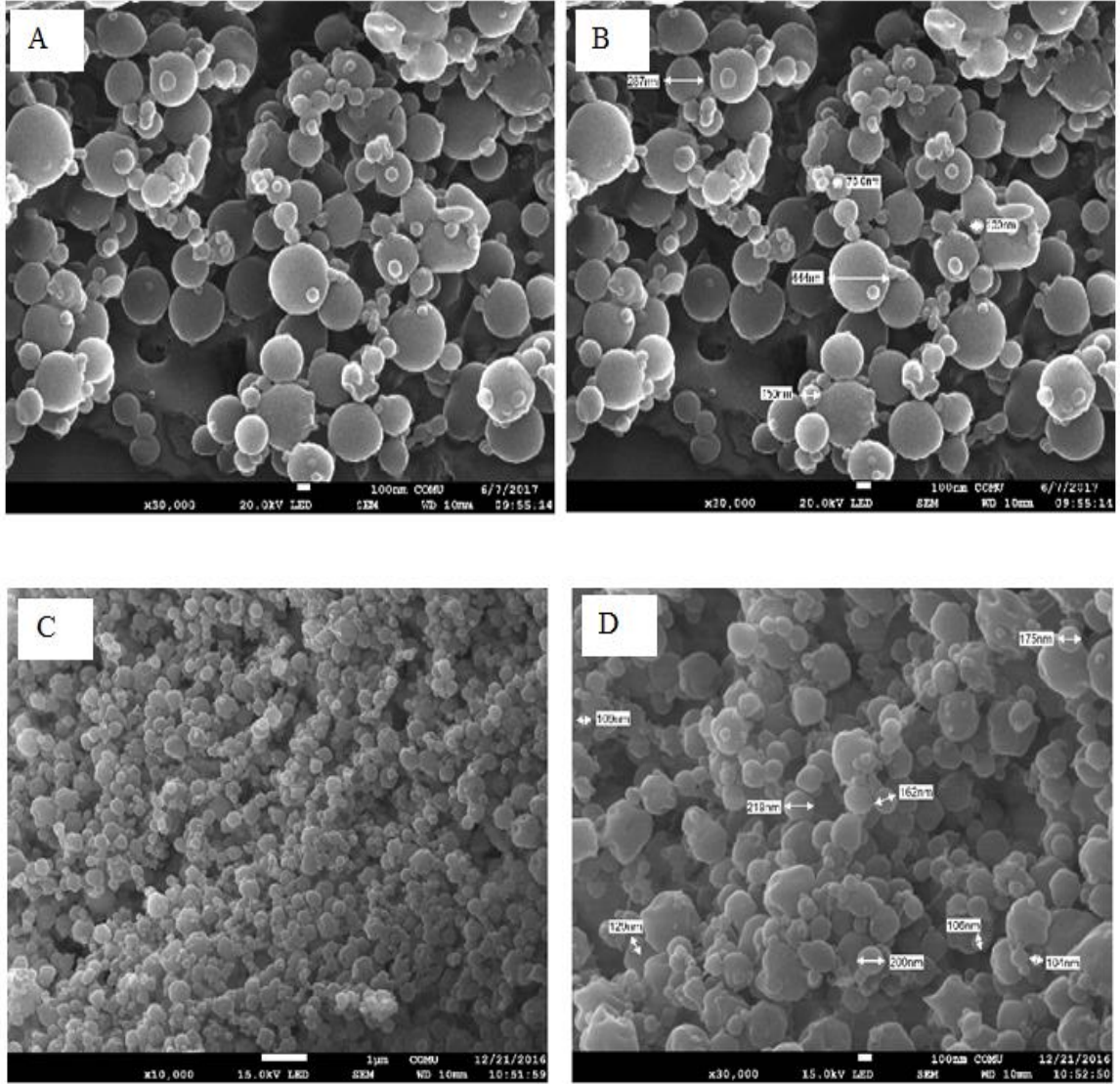
Şekil 4.7. Kitosan nanokürelerin oluşumuna voltajın etkisi A) 18, B)20, C) 23 kV (0,2 ml/saat, 13 cm, %70 AA içerisinde %2,0 kitosan çözeltisi)

%2 derişimde hazırlanan çözücüsü %70 AA olan kitosan çözeltilisine 20 kV voltaj uygulanıp, elektrotlar arasındaki uzaklık 13 cm olarak sabit tutulup akış hızı 0,4 – 0,2 ml/saat aralığında değiştirildiğinde oluşan kitosan parçacıklarının SEM görüntüleri alınmıştır. Buna göre, akış hızı artırıldığında kitosan nanokürelerin daha pürüzsüz küresel yapıda oldukları görülmektedir.



Şekil 4.8. Kitosan nanokürelerin oluşumuna akış hızının etkisi A) 0,4 B) 0,3, C ve D) 0,2 ml/saat (20 kV, 13 cm, %70 AA içerisinde %2 kitosan çözeltilisi)

%2 derişimde hazırlanan çözücüsü %70 AA olan kitosan çözeltilisine 20 kV voltaj uygulanarak akış hızı 0,2 ml/saat olarak sabit tutulup elektrotlar arasındaki uzaklık değiştirildiğinde oluşan kitosan parçacıklarının SEM görüntüleri alınmıştır. SEM görüntülerine göre akış hızı arttırıldıkça daha düzgün küreler elde edilebileceği gözlemlenirken, elektrotlar arasındaki mesafenin kitosan nanoparçacıklarının morfolojisi üzerinde etkisi olmadığı görülmektedir.

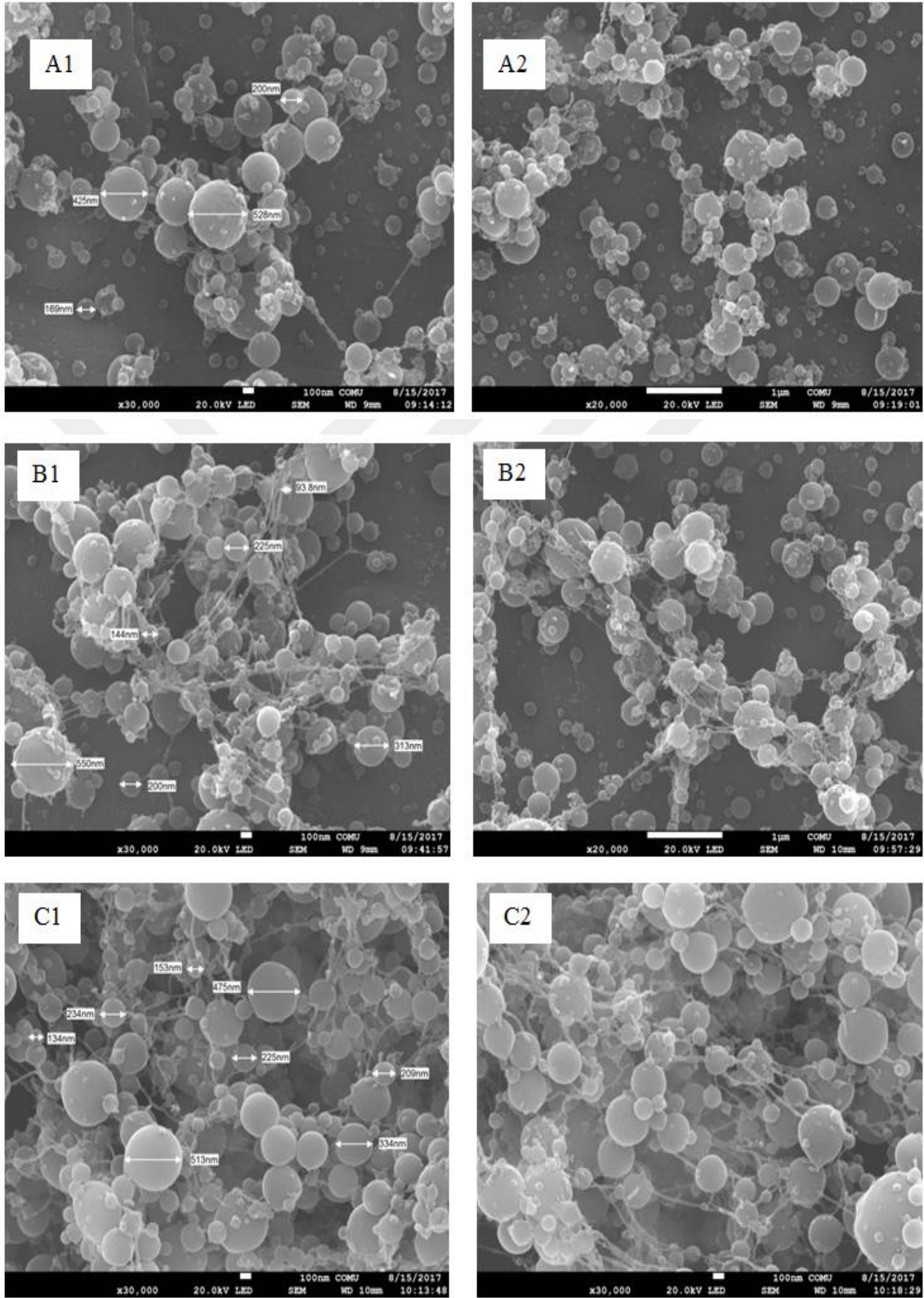


Şekil 4.9. Kitosan nanokürelerin oluşumuna elektrotlar arasındaki mesafenin etkisi A ve B) 10, C ve D) 13 cm (20 kV, 0,2 ml/saat, %70 AA içerisinde %2 kitosan çözeltisi)

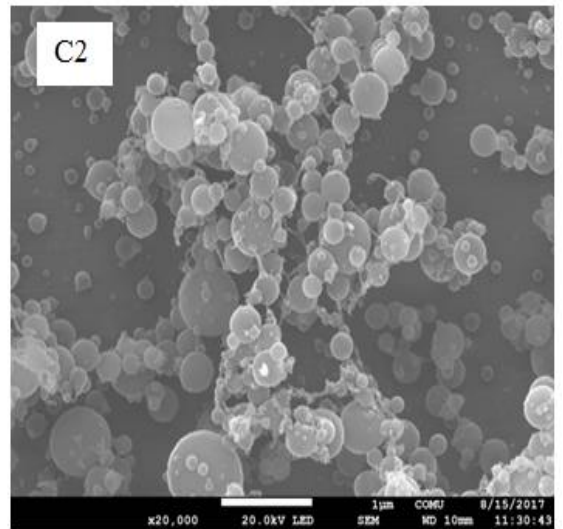
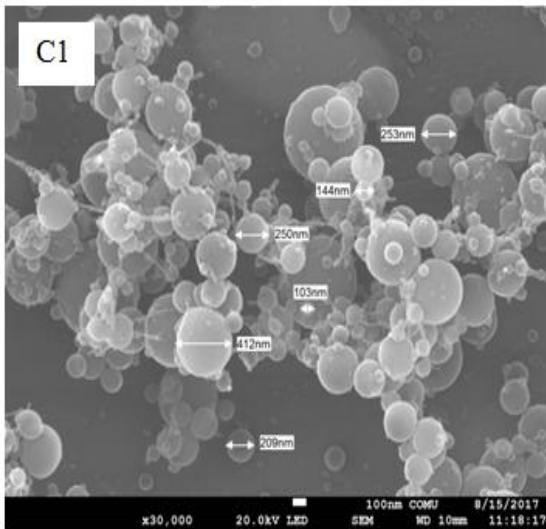
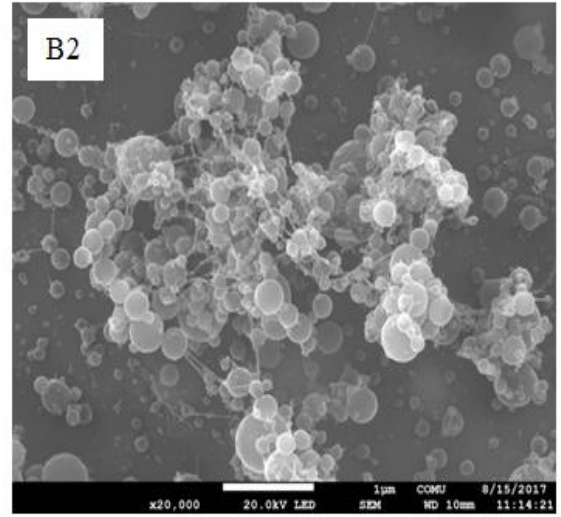
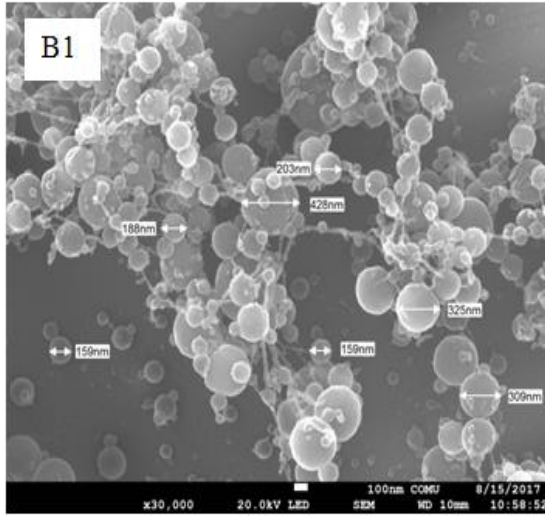
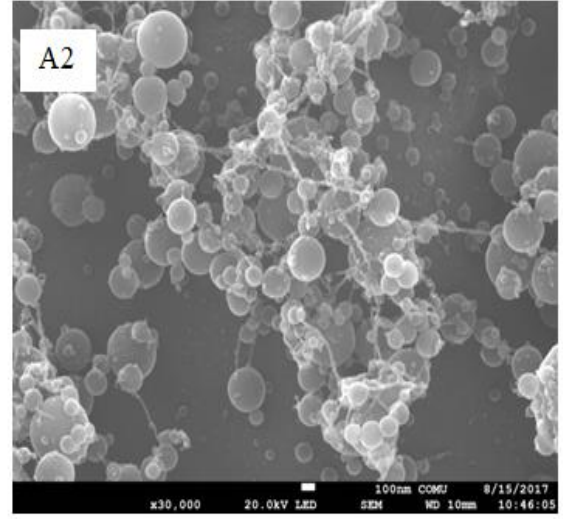
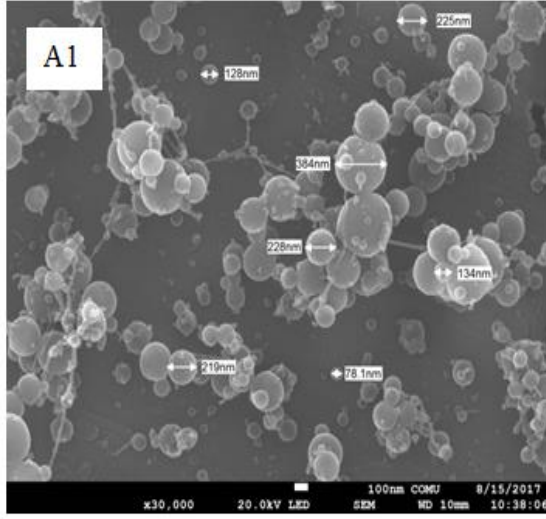
4.2.1. FEA İçeren Kitosan Nanoküreler

Doğal antibakteriyel madde içeren kitosan boncukların hazırlanmasında olduğu gibi uygun çözücü sistemi için metanol kullanılmıştır. Bunun için metanol içerisine kitosanın kütlece %50'si ve %100'ü kadar olacak miktarda FEA ilave edilerek, %70'lik AA çözeltisi ile karıştırılmıştır. Bu çözelti üzerine kitosan ilave edilerek homojen bir çözelti elde edilene kadar karıştırılmıştır. Elde edilen bu çözeltiliye elektroğirme cihazı ile yüksek voltaj uygulanmıştır. Uygulanan voltaj 18 – 23 kV arasında değiştirilmiş ve akış hızı 0,2 ml/saat elektrotlar arası uzaklık 13 cm olarak sabit tutulmuştur. Alüminyum plaka üzerine toplanan FEA içeren kitosan nanoparçacıklarının SEM görüntüleri elde edilmiştir. Buna göre kitosan miktarının hem %50'si hem de %100'ü olacak miktarda FEA ilavesiyle nanokürelerin yanında lif oluşumu da gözlenmiştir. Voltaj arttıkça lif oluşumu da artmıştır.

Ayrıca oluşan kitosan nanoküreların morfolojilerinin artan voltajla değişmediği, nanoküreların düzgün küresel yapıda oldukları görülmüştür.



Şekil 4.10. Kitosan'ın kütlece %50 si kadar FEA içeren nanoküreların SEM görüntüleri A1 ve 2)18, B1 ve 2) 20, C1 ve 2) 23 kV (0,2 ml/saat, 13 cm)

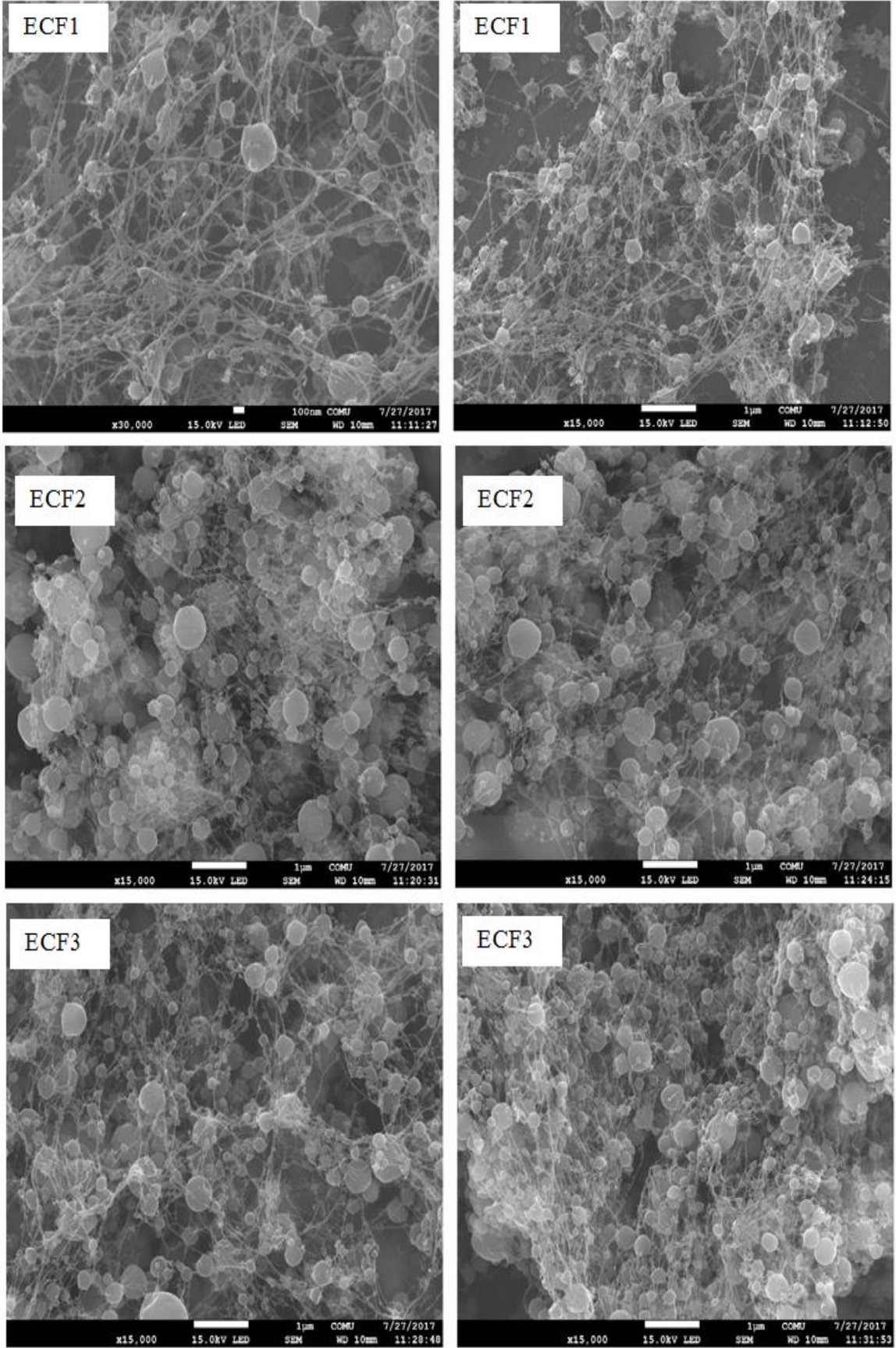


Şekil 4.11. Kitosan'ın kütlece %100 si kadar FEA içeren nanokürelerin SEM görüntüleri A1 ve 2)18, B1 ve 2) 20, C1 ve 2) 23 kV (0,2 ml/saat, 13 cm)

4.3. Kitosan Nanolifler

Kitosan nanoparaıkların elde edilmesi için kullanılan %70'lik AA özücü sistemi AA:H₂O:Hekzafloroizopropanol (AA:H₂O:HFIP) (90:9:1) olarak değiştirilmiştir. Kitosanın bu çözücü sistemi içerisinde hazırlanan %3 derişimindeki özteltisi akış hızı 0,2 ml/saat, uygulanan voltaj 20-27 kV arasında ve elektrotlar arasındaki uzaklık 12 cm olarak düzenlenerek bir seri çalışma yapılmıştır ve SEM görüntüleri alınmıştır. Buna göre ECF1, ECF2 ve ECF3'de lif oluşumu gözlenmektedir. Fakat ECF4 numunesinde voltajın büyük olması nedeniyle kitosan özteltisi toplayıcı plakada düzgün bir film oluşturmadığından SEM görüntüsü elde edilememiştir.

Elde edilen SEM görüntülerine bakıldığında çözücü sistemi değiştirildiğinde ve kitosan derişimi arttırıldığında kitosan liflerin oluşumu gözlemlenmektedir. Uygulanan voltajın artması ile lifler arasında oluşmuş olan nanoküreların sayısında da artış olduğu tespit edilmiştir.

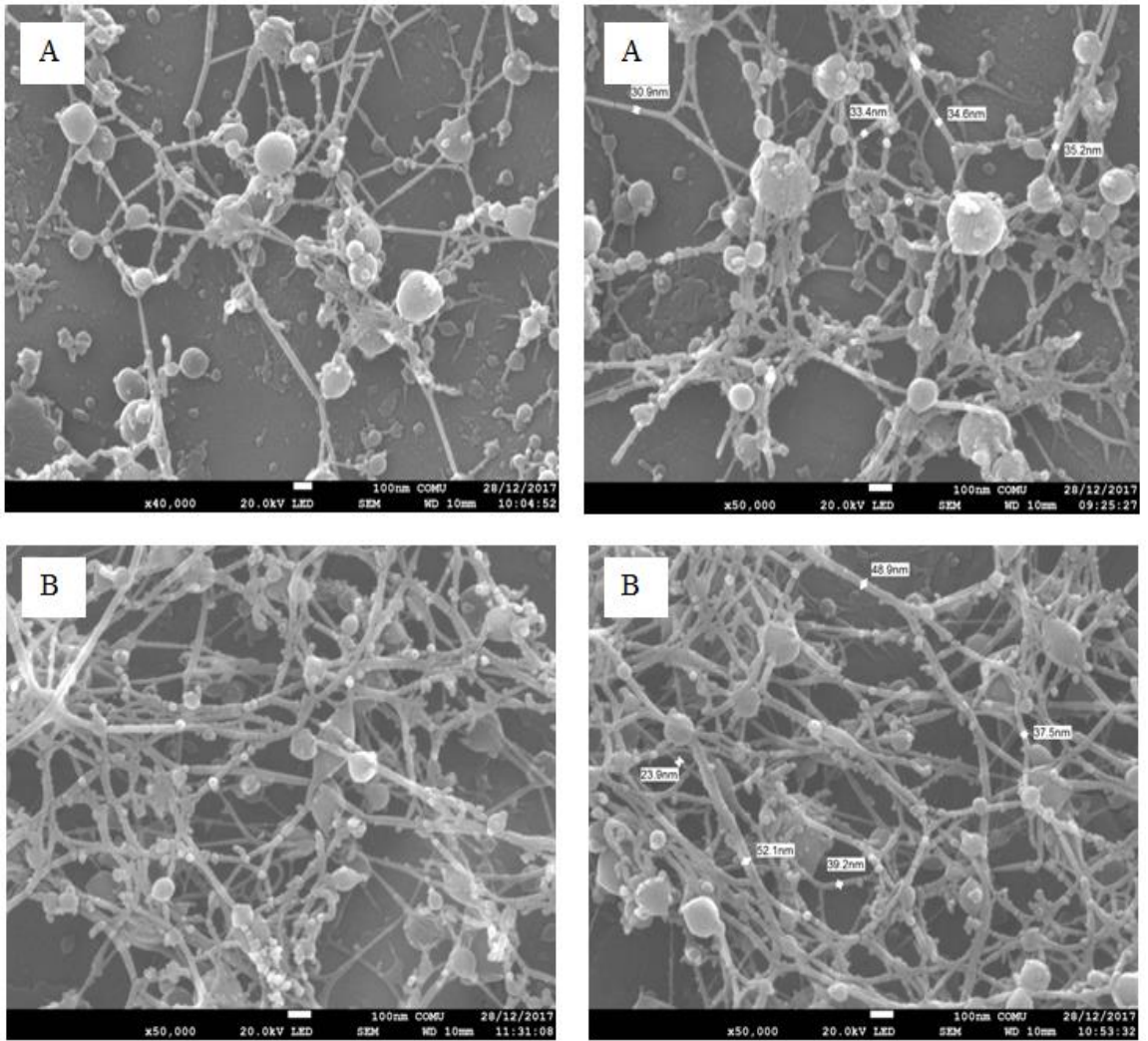


Şekil 4.12. Kitosan nanoliflerin SEM görüntüleri ECF1) 20 ECF2) 23 ECF3) 25 kV (0,2 ml/saat, 12 cm, AA:H₂O:HFIP (90:9:1) içerisinde %3 kitosan çözeltisi)

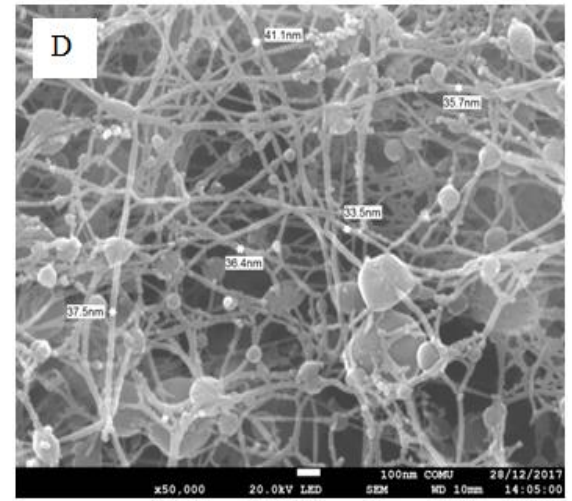
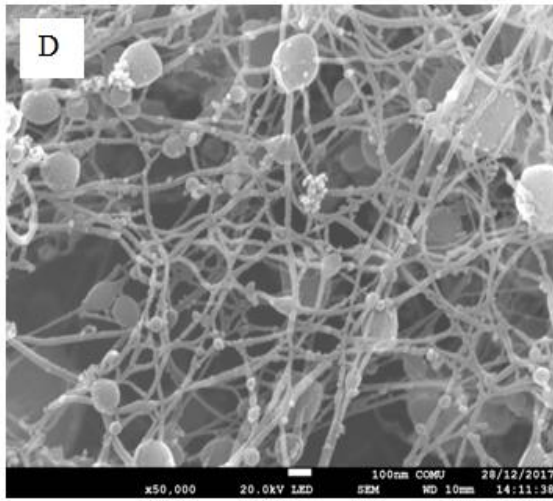
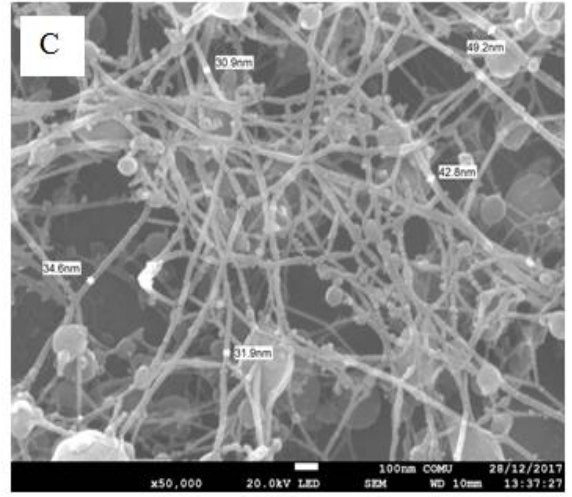
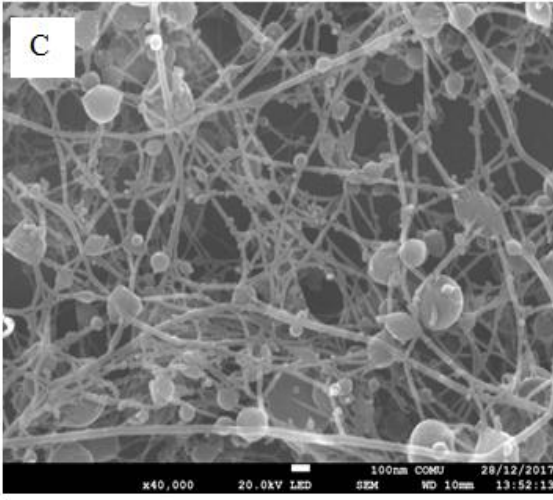
4.3.1. FEA İçeren Kitosan Nanolifler

Kitosanın AA:H₂O:HFIP (90:9:1) ozucu sistemi içerisinde %3 derişimindeki ozeltisine sırayla kitosanın kütlece %50'si ve %100 olacak miktarda FEA ilave edilmiştir. Akış hızı 0.2 ml/saat, uygulanan voltaj 15-24 kV arasında ve elektrotlar arasındaki uzaklık 12 cm olarak düzenlenerek bir seri çalışma yapılmıştır ve SEM görüntüleri alınmıştır. Buna göre, kitosanın kütlece hem %50 hem de %100 'si kadar FEA içeren ozeltilere diğer parametreler sabit tutulup uygulanan elektrik alan arttırıldığında lif oluşumunda artış gözlemlenmektedir. 15 kV akım uygulanan her iki ozeltide de sürekli bir lif oluşumu sağlanamadığı grlrken, oluşan az sayıdaki lif yanında nanoküre oluşumu da dikkat çekmektedir.

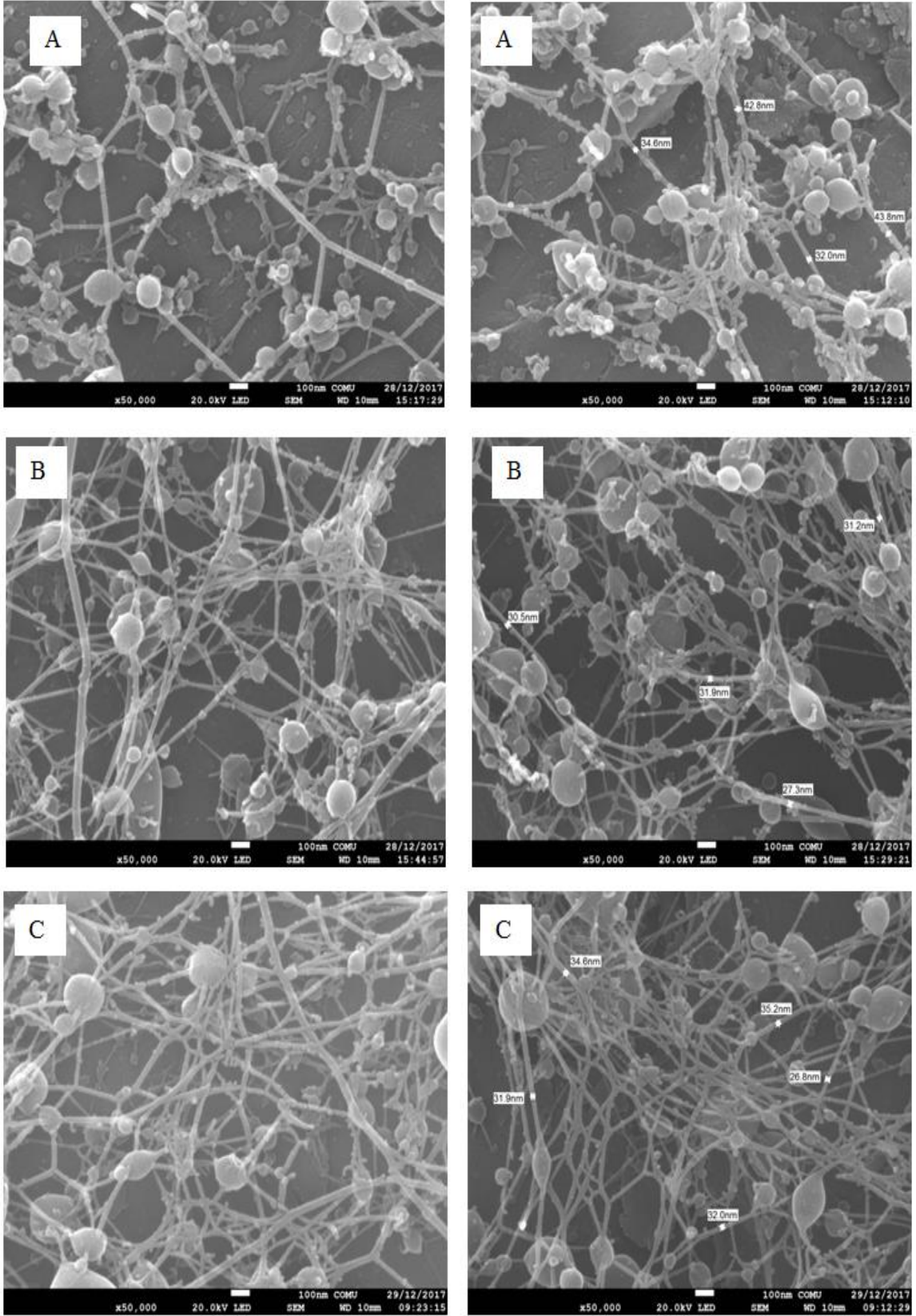
Kitosanın kütlece %100' olacak miktarda FEA içeren ozeltiye 24 kV voltaj uygulandığında lif yönlenmelerinin oluştuğu gözlenmiştir.



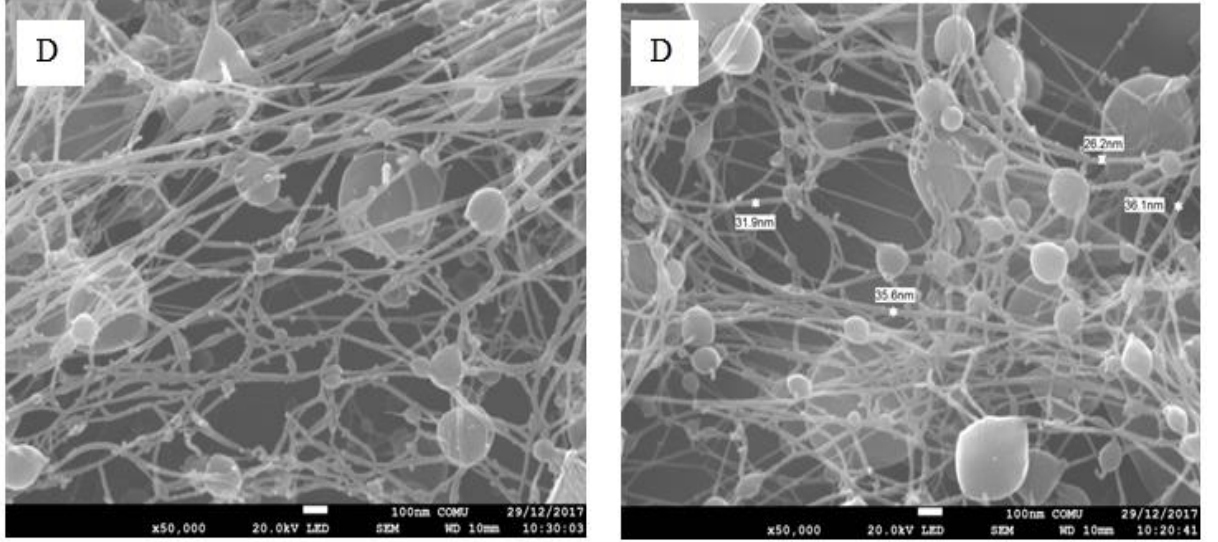
şekil 4.13. Kitosan'ın kütlece %50 si kadar FEA içeren nanoliflerin SEM görüntüleri A) 15, B) 18, C) 20 D) 24 kV (0,2 ml/saat, 13 cm)



Şekil 4.13.'ün devamı



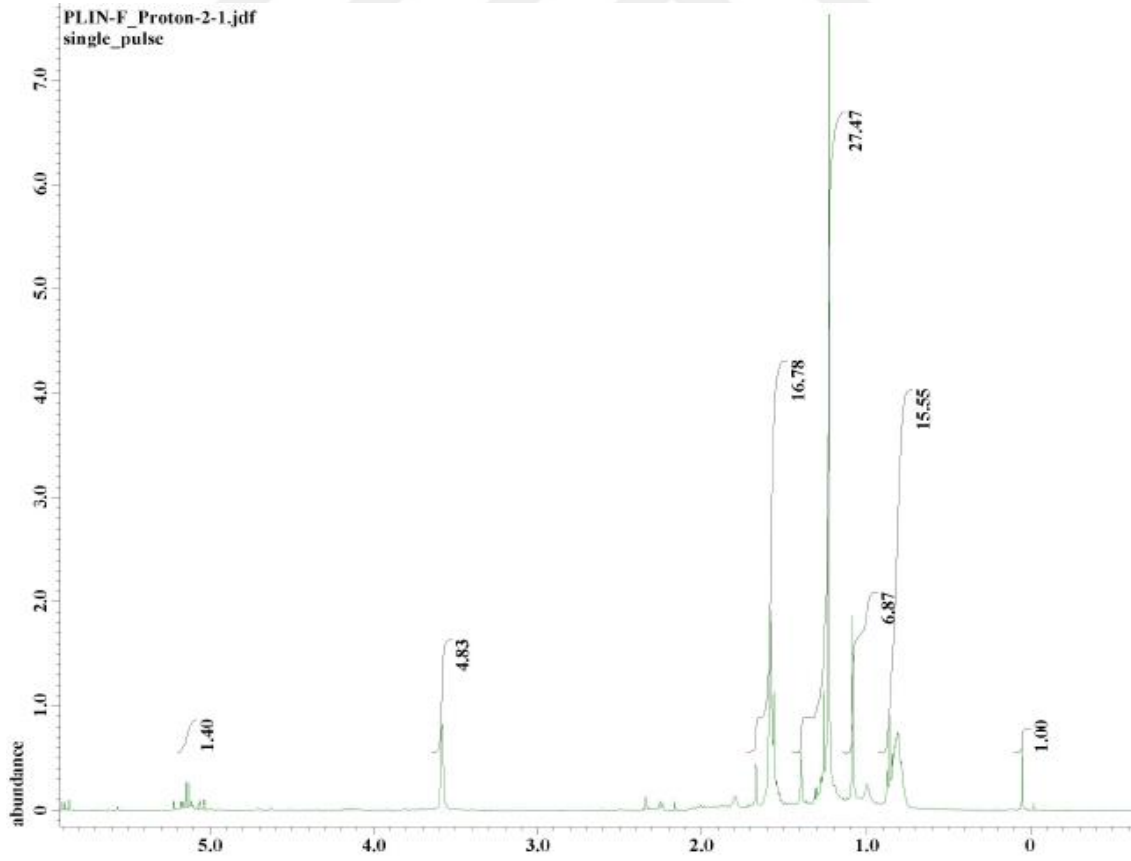
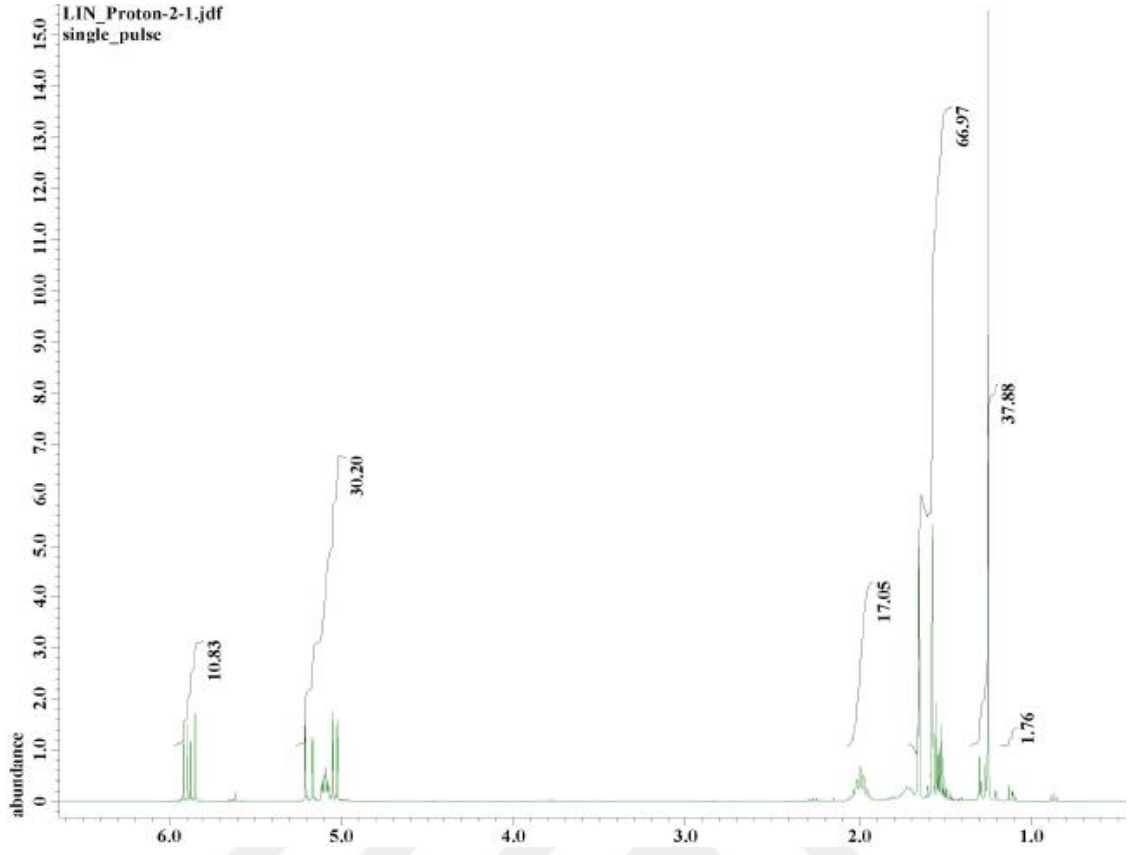
Şekil 4.14. Kitosan'ın kütlece %100 ü kadar FEA içeren nanoliflerin SEM görüntüleri A) 15, B) 18, C) 20 D) 24 kV (0,2 ml/saat, 13 cm)



Şekil 4.14'ün devamı

4.4. Linalool Polimerizasyonu

Doğal antibakteriyel maddelerden olan linalool maddesi hem termal olarak hem de fotopolimerizasyon yöntemiyle radikalik polimerizasyonu gerçekleştirilmiştir. Toluen içerisinde başlatıcı olarak benzoilperoksit kullanılarak 80 °C de 48 saat bırakılmış ve metanol içerisinde çöktürülmüştür. Dönüşüm ise yaklaşık %6 bulunmuştur. Fotopolimerizasyon yönteminde ise diklorometan içerisinde başlatıcı olarak benzoin kullanılarak 310 nm de 48 saatde yaklaşık %6 dönüşüm ile polimerizasyon gerçekleşmiştir ve ¹H-NMR spektrumu alınmıştır. Buna göre, linalool ve polimerinin spektrumları arasında büyük farklar olduğu görülmektedir. Özellikle 6. karbona bağlı H'in polimer yapıda kaydığı gözlemlenmektedir (Şekil 4.22).



Şekil 4.15. Linallol molekülü ve Poli(linalool) ün ^1H -NMR spektrumları

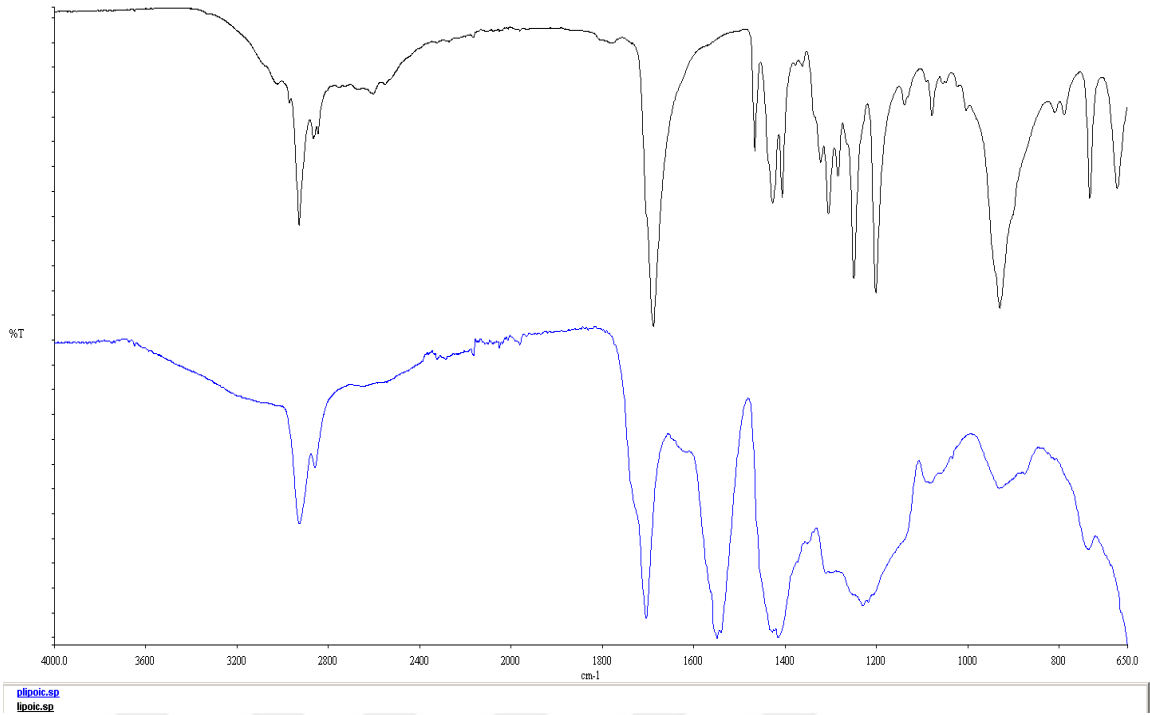
Monomer miktarı, başlatıcı (benzoin peroksit) miktarı, reaksiyon sıcaklığı ve reaksiyon süresi değiştirilerek polimerleşme reaksiyonu üzerine etkileri incelendi. Başlatıcı miktarını %1- 5 arasında değiştirdiğimizde başlatıcı miktarı monomerin %1 ve %2'si kadar olduğunda %dönüşümün birbirinden farklı olmadığı, fakat %5 yapıldığında oluşan polimerlerin çökmesi zorlaştığından % dönüşüm hesaplanamamıştır. Reaksiyon oda sıcaklığında yapıldığında 96 saat sonunda herhangi bir değişiklik gözlenmemiş olup, polimerleşme gerçekleşmemiştir.

Reaksiyon parametreleri; kullanılan başlatıcıların oranları, reaksiyon süreleri ve sıcaklıkları değiştirilerek polimerizasyon üzerine etkileri incelenmiş fakat dönüşüm oranında herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Bunun üzerine termal ve fotopolimerizasyon yöntemlerinde kullanılan radikalik başlatıcılar yerine daha etkin olan metal alkoksitlerden olan titanyum izopropoksit (TTIP) kullanılmıştır. N₂ atmosferi altında monomer ve TTIP reaksiyon ortamına aktarılmış ve oda sıcaklığında 400 rpm de karıştırılmıştır. TTIP miktarları ve reaksiyon süreleri değiştirilerek reaksiyon üzerine etkilerine bakılmıştır. Fakat yapılan denemeler sonucunda reaksiyon süresi sonunda ortamda herhangi bir değişiklik gözlenmemiş olup, reaksiyon sonunda polimer oluşup oluşmadığının anlaşılması için çözelti metanol içerisine damlatılmıştır. Çözelti damlatılmaya başladıktan kısa bir süre sonra beyaz katı partiküller çökmeye başlamış fakat çöken bu beyaz katının TTIP'in su ile reaksiyonu sonucunda oluşan TiO₂ katısı olduğu anlaşılmıştır.

Poli(linalool) yapısında, ana zincir üzerindeki her bir karbona bağlı bir grup bulunduğundan ayrıca bu grubun büyüklüğü ve birbirleriyle olan etkileşimleri gözönüne alındığında polimerik yapıdaki sterik engel nedeniyle polimerleşme reaksiyonunun verimi arttırılamamaktadır.

4.5. α -Lipoik Asit Polimerizasyonu

ALA'nın polimerleşmesi için ilk yöntem olarak termal olarak halka açılması polimerleşmesi denenmiştir. Literatüre göre, ALA'nın erime sıcaklığının üzerine çıktığında polimerleşmenin gerçekleştiği belirtilmiştir. Bu nedenle ALA 90 °C de N₂ atmosferinde 3 saat boyunca ısıtılıp elde edilen viskoz sıvı, soğuk dietil eter içerisinde çöktürülmüştür. Fakat oluşan az miktardaki partiküller koloidal olarak çözeltide kalmış, katının sıvı fazdan ayrılması güçleşmiştir. Elde edilen katının IR ve H-NMR spektrumları alınmıştır.



Şekil 4.16. ALA ve polimerizasyon reaksiyonu sonucu elde edilen ürünün IR Spektrumları

Literatür araştırmalarında disülfid polimeri elde etmek için kullanılan diğer bir yöntem ise radikal halka açılması redoks polimerizasyonudur ve su-organik faz arasında gerçekleşen faz transfer polimerizasyonudur. ALA toluen içerisinde çözülerek üzerine ALA'nın molce 1, 2 ve 3 katı olacak şekilde trietilamin ilave edilmiş ve karıştırılarak seyreltik H₂O₂ ilave edilmiştir. Reaksiyon ortamına ilk trietilamin ilavesiyle fazı ilavesiyle viskoz sarı renkli bir sıvı oluşmuştur. H₂O₂ ilavesi ile oluşan bu sarı renkli viskoz madde beyaz renkli viskoz bir madde gözlenmiş fakat kısa sürede homojen bir çözelti olacak şekilde çözülmüştür.

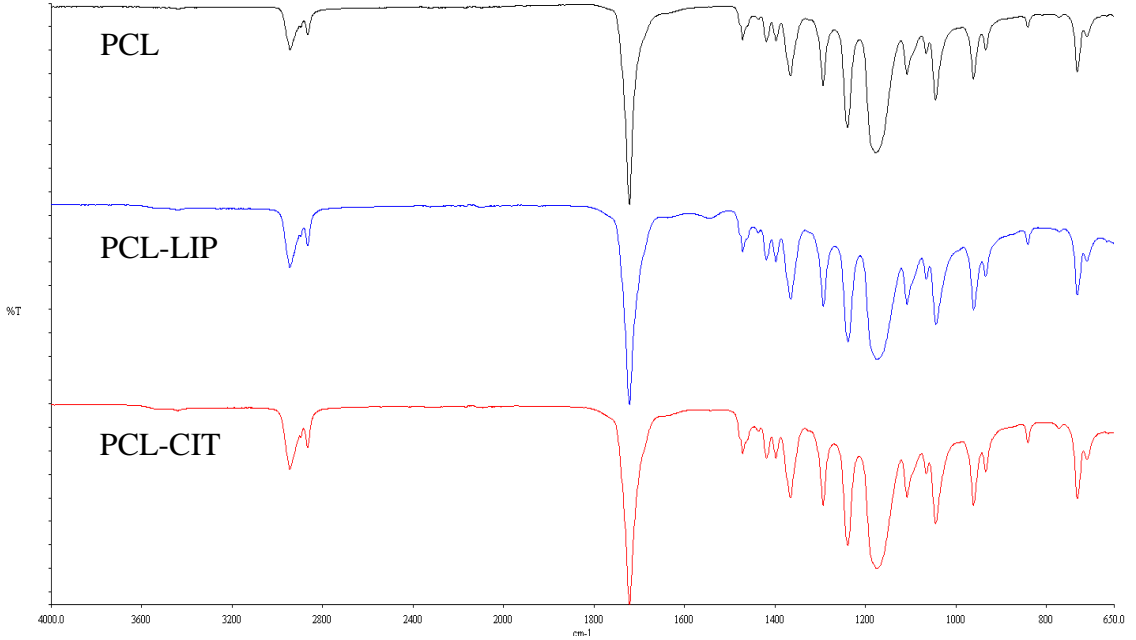
P(ALA) sentezi için denenen diğer yöntemde ise ALA ve ALA'nın %1 i olacak miktarda p-toluensulfonik asit N₂ atmosferi altında sırasıyla 6, 12 ve 18 saat 105 °C de karıştırılmıştır. 6 ve 12 saat sonunda polimerleşme gözlenmemişken, 18 saat sonunda ise çözelti içerisinde siyah partikül oluşumu gözlenmiş fakat metanol ve su ilavesi ile herhangi bir katı partikülün kalmadığı gözlenmiştir.

pALA sentezi için termal olarak halka açılması haricinde denenen yöntemlerden bir diğeride TTIP varlığında halka açılma reaksiyonu gerçekleştirmektir. Metal alkoksitler halka açılma polimerizasyonunda etkili birer başlatıcı olduklarından sıklıkla kullanılmaktadır³. Bunun için, ALA toluen içerisinde çözülerek N₂ atmosferi altında oda sıcaklığında %1- %5 aralığında TTIP kullanılarak 24 saat boyunca 400 rpm de

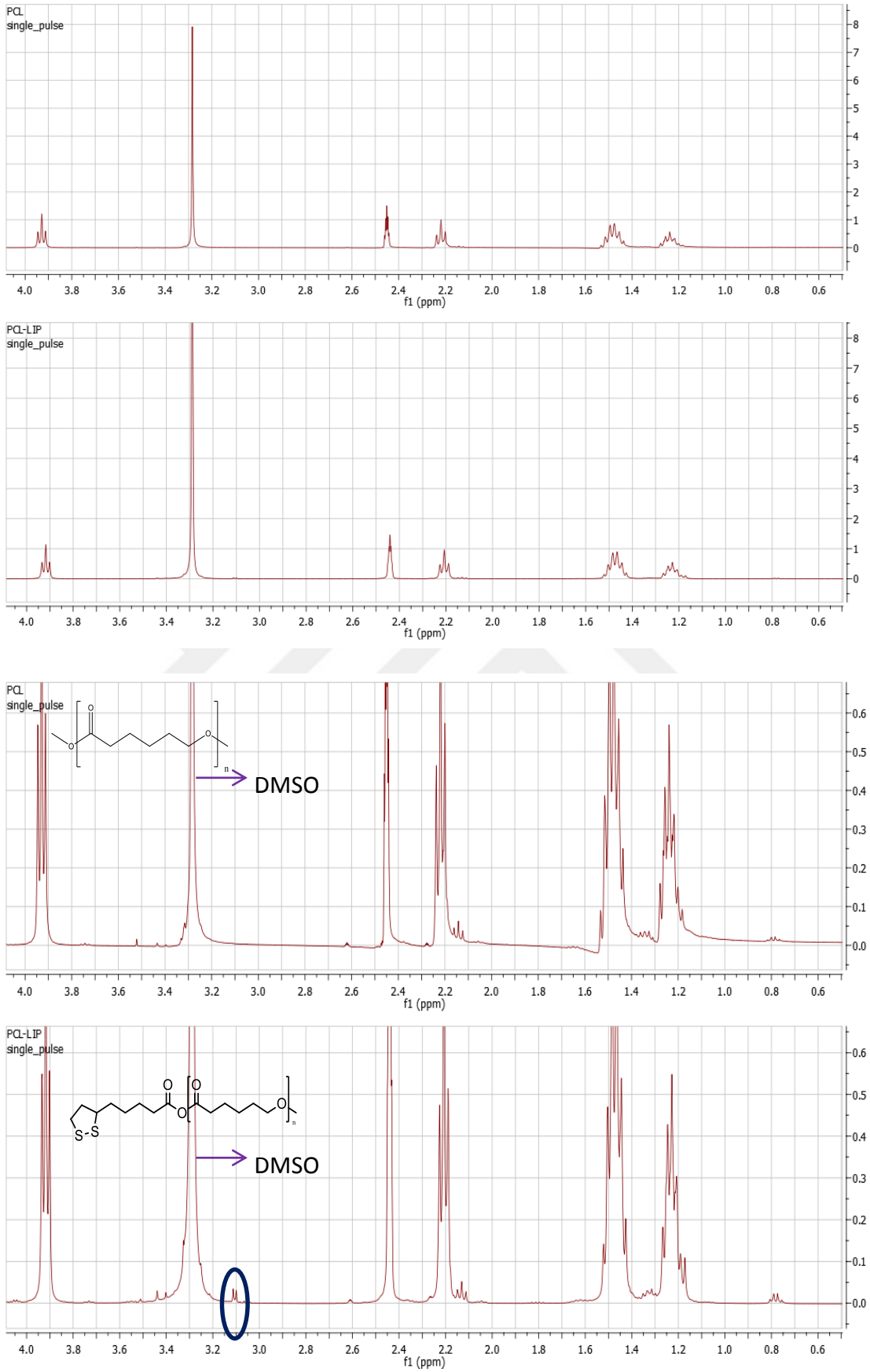
karıştırılmıştır. Karıştırma süresi sonunda dietileter içerisinde damlatılan çözelti içerisinde birkaç dakika sonunda beyaz katı parçacıklar gözlenmiştir. Fakat oluşan bu katının TTIP nin su ile reaksiyonu sonucu oluşan TiO_2 olduğu etanol ve THF içerisinde maddenin çözünmemesinden anlaşılmaktadır.

4.6. Makromerler

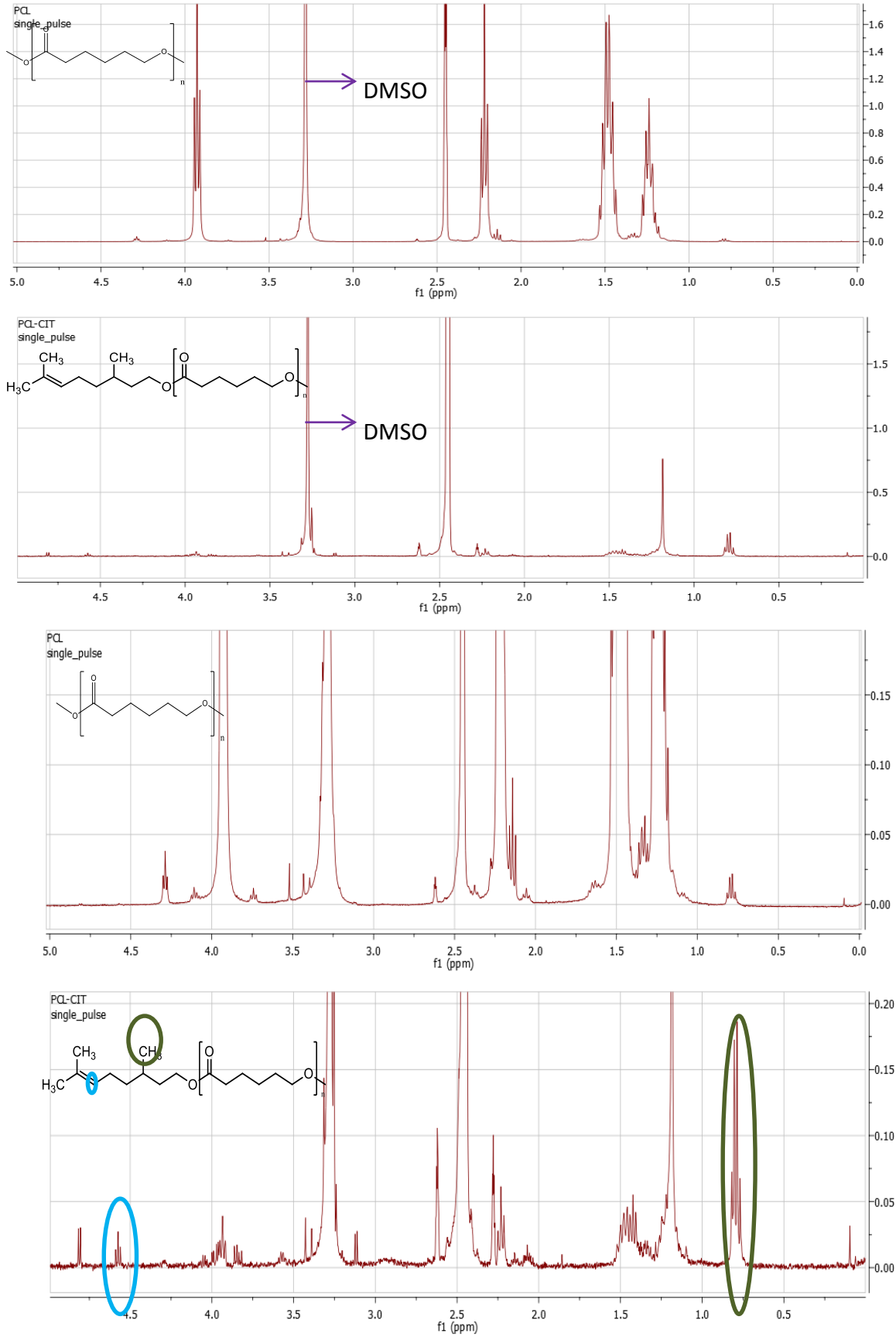
ϵ -Kaprolakton'un %1' i kadar başlatıcı ($SnOct_2$) ve %1'i kadar lipoik asit yada sitronellol kullanılmıştır. Öncelikle lipoik asit ya da sitronellolün başlatıcı ile etkinleşmesi için toluen içerisinde N_2 atmosferi altında 30 dakika boyunca $100\text{ }^\circ C$ karıştırılmış, sonrasında yine N_2 atmosferinde monomer ilave edilmiştir. Reaksiyon süresi sonunda oluşan polimer metanol içerisinde çöktürülmüş ve metanol ile yıkanmıştır. Oluşan polimerlerin IR ve 1H -NMR spektrumları alınmıştır. PCL, THF ve DCM de çok iyi çözünürken oluşan polimerlerin çözünürlükleri bu çözücülerde düşüktür.



Şekil 4.17. PCL, PCL-Lip ve PCL-Cit IR Spektrumları



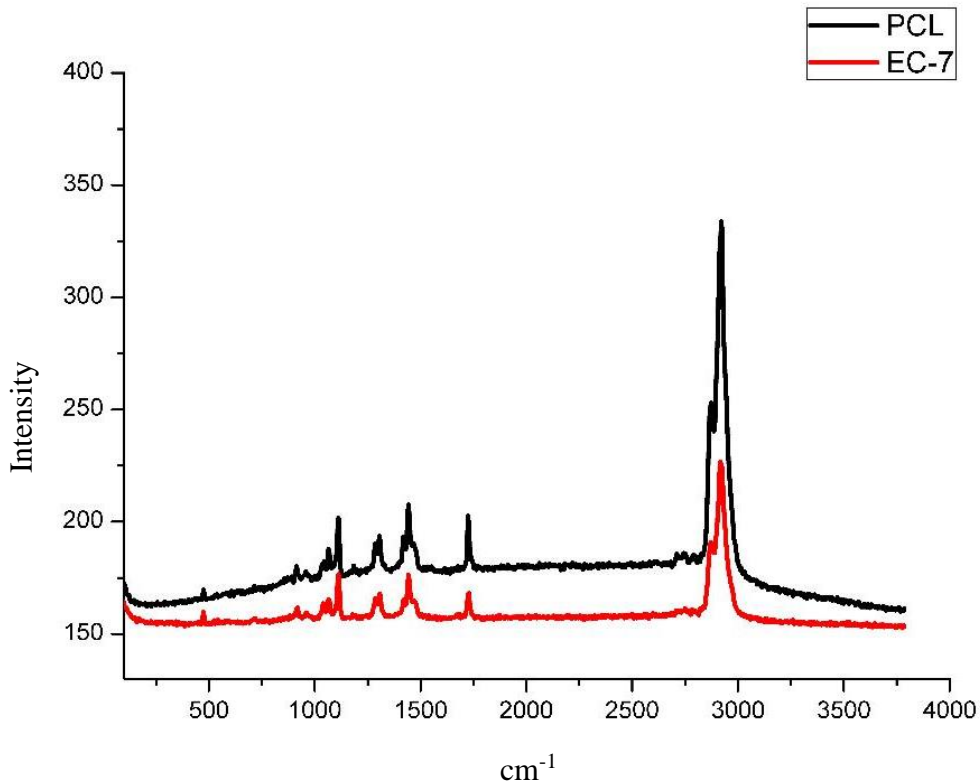
Şekil 4.18. PCL ve PCL-Lip $^1\text{H-NMR}$ spektrumları



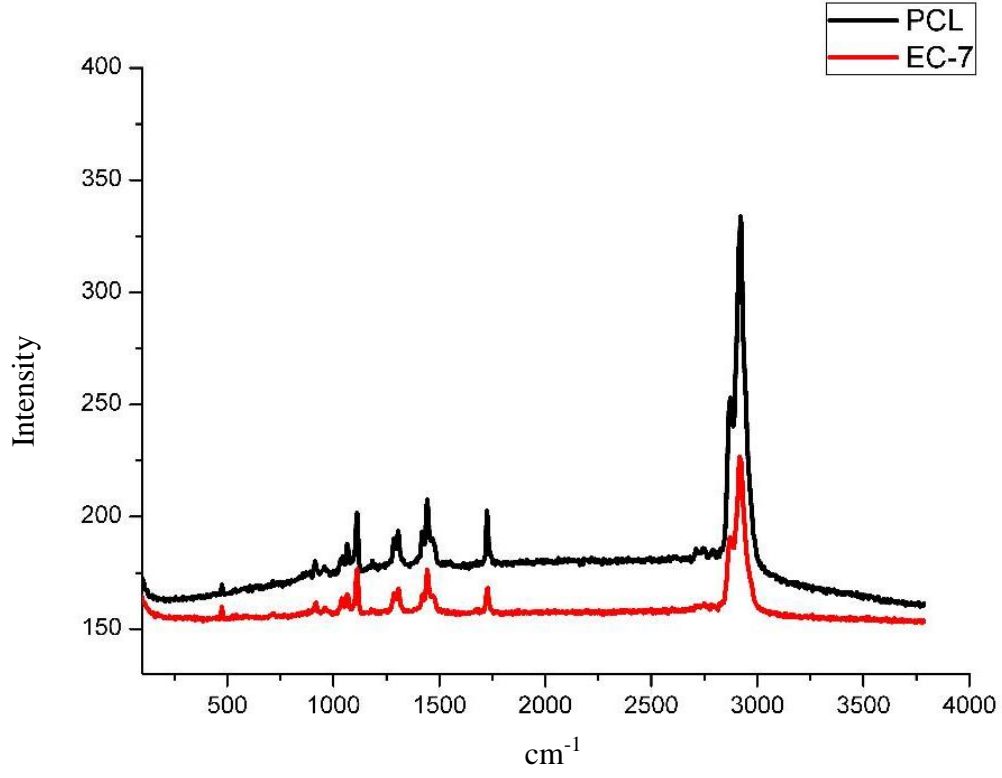
Şekil 4.19. PCL ve PCL-Cit $^1\text{H-NMR}$ spektrumları

Polimer zinciri sonundaki lipoik asite veya sitranellele ait pikleri görebilmek için model çalışma gerçekleştirilmiştir. Bunun için, Lipoik asit yada Sitranelolün başlatıcı ile etkinleşmesi için toluene içerisinde N_2 atmosferi altında 60 dakika boyunca $100\text{ }^\circ\text{C}$ karıştırılmış, sonrasında yine N_2 atmosferinde monomer (Cl) ilave edilmiştir. Reaksiyon süresi PCL-Lip için 15 dakika, PCL-Cit için 30 dakika olarak belirlenmiştir. Reaksiyon sonunda oluşan polimerler metanol içerisinde çöktürülmüş ve yıkanmıştır. Oluşan polimerlerin Raman spektrumları alınmıştır.

Raman spektrumlarına göre PCL-Lip makromerinin spektrumunda $350\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ de gözlenen pik polimer zincirinin sonunda yer alan lipoik asit üzerindeki S-S bağına ait olduğu görülmektedir. PCL-Cit makromerinin Raman spektrumunda ise herhangi bir farklılık gözlenmemiş olup, buna sebep olarak 30 dakikalık reaksiyon sonunda elde edilen polimerin molekül ağırlığının polimer zinciri sonundaki C=C bağının görülemeyecek kadar büyük olmasıdır.



Şekil 4.20. PCL ve PCL-Lip Raman Spektrumları



Şekil 4.21. PCL ve PCL-Cit Raman Spektrumları

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

5.1. Kitosan Boncuklar

%7 AA çözeltisi içerisinde çözünen kitosan karışmakta olan %10'luk NaOH içerisine insulin şırıngası yardımıyla damlatılarak kitosan boncuklar elde edildi. Elde edilen boncuklar distile su ile yıkanarak yüzeydeki NaOH'den arındırıldı.

Metanol içerisinde çözünen CIN ve FEA %7 lik AA çözeltisi içerisinde kitosanın homojen çözeltisi elde edildikten sonra %10'luk NaOH çözeltisine insulin şırıngası ile damlatılarak kitosan/FEA boncukları elde edildi ve distile su le yıkandı. Her bir gram kitosanın 350 mg CIN hapsettiği GC/MS-MS yöntemi ile, 1612 mg FEA hapsettiği ise HPLC yöntemi ile bulunmuştur.

Bodmeier ve ark. (1989) geliştirdiği yöntem ve bu yöntemdeki küçük değişiklikler ile elde edilen kitosan kürelerin çapraz bağlayıcı bir ajan yardımıyla çapraz bağlandığı yapılan literatür araştırması sonucunda görülmüştür (Barreiro-Iglesias ve ark. 2005). Bu çalışma sırasında Bedmeier yöntemi modifiye edilmiş ve kitosan boncukların elde edilmesi sırasında doku mühendisliği uygulamaları çalışmalarında herhangi bir sorun teşkil etmemesi açısından hiçbir çapraz bağlayıcı madde ve yöntem kullanılmamıştır.

5.2. Kitosan Nanoküreler

%70 AA içerisinde hazırlanan kitosan çözeltiden değişik parametrelerde elektroçirme cihazı ile elde edilen kitosan nanokürelerin SEM görüntülerine bakıldığında uygulanan voltaj arttığında yapıların küreselden saptığı görülmektedir. Akış hızı arttırıldıkça daha düzgün küreler elde edilebileceği gözlemlenirken, iç ve toplayıcı plaka arasındaki mesafenin kitosan nanoparçacıklarının morfolojisi üzerinde etkisi olmadığı gözlenmiştir. Bunun nedeninin uygulanan voltajın artmasıyla oluşan polimer jetin hızının artması olduğu düşünülmektedir.

Elde edilen SEM görüntülerine göre, kitosanın %50'si ve %100'ü olacak miktarda FEA ilave edilmesiyle nanokürelerin düzgün küresel yapıda olduğu fakat nanokürelerin yanında lif oluşumunda başladığı da gözlenmiştir. Her iki FEA derişiminde de 18 kV voltaj uygulandığında lif oluşumu çok az iken voltajın 20 ve 23 kV'a yükseltilmesiyle oluşan lif miktarı da artmıştır. Bunun nedeni FEA ilavesi ile elektroçirme yöntemindeki çözelti parametrelerinin (çözeltinin viskozitesi, yüzey gerilimi ve iletkenliği) değişmiş olmasıdır.

Literatür araştırması sırasında elektropüskürtme yöntemi ile AA içerisinde hazırlanan kitosan çözeltisinden nanoküreler elde edildiği görülmektedir (Zhang ve Kavakami 2010). Fakat elektropüskürtme yöntemi kullanılarak FEA içeren kitosan nanoküreler ilk kez bu çalışmada yapılmış ve FEA'ün kitosan nanokürelerin morfolojisi üzerine etkileri incelenmiştir.

5.3. Kitosan Nanolifler

Kitosanın %3 derişiminde çözeltisi AA:H₂O:HFIP (90:9:1) çözücü sistemi içerisinde hazırlanmış ve akış hızı 0,2 ml/saat, uygulanan voltaj 18-27 kV arasında ve elektrotlar arasındaki uzaklık 12 cm olarak düzenlenerek elde edilen kitosan nanoliflerin SEM görüntüleri kaydedilmiştir. Buna göre, uygulanan voltajın artmasıyla beraber nanoliflerin yanında nanoküre oluşumunda gözlemlenmektedir ki bunun nedeni artan elektrik alanla beraber oluşan jetin hızının fazla artmasıdır. 18 kV elektrik akımı uygulandığında daha düzgün lifler oluşurken akım 23 kV'a çıktığında nanoküre oluşumu lifden fazladır.

Kitosan çözeltisi içerisine değişik oranlarda doğal antibakteriyel maddelerden FEA ilave edildiğinde ise uygulanan elektrik alanının artması ile lif oluşumu artmaktadır. Bunun sebebi çözeltinin düşen voltajı ve yüzey gerilimi olduğu düşünülmektedir.

5.4. Linalool Polimerizasyonu

Doğal bir antibakteriyel madde olan linaloolün termal ve fotopolimerizasyon yöntemleriyle radikalik olarak polimerleştirilmiş fakat oluşan yapının sterik engeli nedeniyle dönüşümleri %6 üzerine çıkmamıştır. Elde edilen polimerden ¹H-NMR spektrumu elde edilmiş ve reaksiyonun gerçekleştiği gözlenmiştir. Fakat, reaksiyon parametreleri; kullanılan başlatıcıların oranları, reaksiyon süreleri ve sıcaklıkları değiştirilerek polimerizasyon üzerine etkileri incelenmiş fakat dönüşüm oranında herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Bunun üzerine termal ve fotopolimerizasyon yöntemlerinde kullanılan radikalik başlatıcılar yerine daha etkin olan metal alkoksitlerden olan titanyum izopropoksit (TTIP) kullanılmıştır. TTIP başlatıcı varlığında herhangi bir polimerizasyon gerçekleşmemiştir.

Literatür araştırmalarında Pathak ve Srivastava'nın (2012) yaptığı çalışmalara göre butilmetakrilat, stiren gibi vinilik bağa sahip çeşitli maddelerle kopolimeri yapılan linaloolün, bu çalışmada ilk defa homopolimeri yapılmıştır. Poli(linalool) yapısında ana zincir üzerindeki herbir karbona bir grup bağlanacağı ayrıca bu grupların büyüklüğü ve

birbirleriyle olan etkileşimleri gözönünde bulundurulduğunda yapıdaki sterik engelin varlığı ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle reaksiyonun verimi arttırılamamaktadır.

5.5. Lipoik Asit Polimerizasyonu

ALA'nın polimerleşme reaksiyonu için termal halka açılması polimerizasyonu, radikal halka açılması redoks polimerizasyonu ve metal alkoksit başlatıcılar varlığında polimerizasyonu gibi reaksiyonlar denenmiş olup yalnızca termal yöntemle polimerizasyon gerçekleştirilmiş fakat oluşan yapıların muhtemel düşük molekül ağırlıkları nedeniyle polimer çözücünden ayırlanamamıştır.

Rosenthal-Kim ve Puskas (2015) tarafından yapılan çalışmalar esas alınarak ALA'nın polimerizasyonu termal olarak halkadaki disülfür bağlarının açılmasıyla gerçekleştirilmiştir. Fakat elde edilen polimerin veriminin düşük olması ve fiziksel özellikleri nedeniyle planlanan p(ALA) lifleri elde edilememiştir.

5.6. Makromerler

Elde edilen makromerlerin ¹H NMR spektrumlarına bakıldığında Polikaprolakton (PCL) ve Polikaprolakton-Lipoik asit (PCL-Lip) spektrumları aynı gibi gözüksede, PCL-Lip spektrumunda 3.3 ppm civarında Lipoik asitin disülfür bağının bulunduğu halkadaki -CH₂ lerin yarılmaları gözlenmektedir. PCL ile Polikaprolakton-Sitronellool (PCL-Cit) spektrumlarına bakıldığında aralarındaki farklar gözlemlenmektedir. Ayrıca PCL THF de kolaylıkla çözülürken, PCL-Lip ve PCL-Cit makromerlerin çözünürlükleri azalmıştır.

Raman spektrumlarına göre PCL-Lip makromerinin spektrumunda 350- 400 cm⁻¹ de gözlenen pik polimer zincirinin sonunda yer alan lipoik asit üzerindeki S-S bağına ait olduğu görülmektedir. PCL-Cit makromerinin Raman spektrumunda ise herhangi bir farklılık gözlenmemiş olup, buna sebep olarak 30 dakikalık reaksiyon sonunda elde edilen polimerin molekül ağırlığının polimer zinciri sonundaki C=C bağının görülemeyecek kadar büyük olmasıdır.

Polimerizasyon reaksiyonu süresi sonunda reaksiyon ortamına LIP ve CIT ilave edilmediğinde polimerleşme gerçekleşmezken, bu maddelerin ilavesi ile polimerizasyonun kısa sürede gerçekleştiği de gözlemlenmiştir.

Elde edilen bu makromerlerin, uçlarında bağlı olan fonksiyonel grupları sayesinde başka moleküllerle birleştirilebilir, polimerleştirilebilir yapıda olmaları sayesinde doku mühendisliği uygulamalarında kullanılabilmesi öngörülmüştür.

KAYNAKLAR

- Agarwal S., Wendorff J., and Greiner A., 2008. Use of Electrospinning Technique for Biomedical Applications. *Polymer* 49 (26): 5603–5621.
- Asbahani A., Miladi K., Badri W., Sala M., Ait Addi E. H., Casabianca H., El Mousadik A., Hartman D., Jilale A., Renaus F.N.R., Eleissari A. 2015. Essential Oils: From Extraction to Encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics* 483 (1–2): 220–243.
- Azimi A., Khalili M. 2016. Lipoic Acid Function and Its Safety in Multiple Sclerosis. *Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics*. 683-690.
- Baji A., Mai Y.W., Wong S.C., Abtahi M., Chen P. 2010. Electrospinning of Polymer Nanofibers: Effects on Oriented Morphology, Structures and Tensile Properties. *Composites Science and Technology* 70 (5): 703–718.
- Barreiro-Iglesias R., Coronilla R., Concheiro A., Alvarez-Lorenzo C. 2005. Preparation of Chitosan Beads by Simultaneous Cross-Linking/Insolubilisation in Basic pH Rheological Optimisation and Drug Loading/Release Behaviour. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 24: 77-84.
- Bernkop-Schnürch A., Dünnhaupt S. 2012. Chitosan-Based Drug Delivery Systems. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 81 (3): 463–469.
- Bhardwaj N., Kundu S.C. 2010. Electrospinning: A Fascinating Fiber Fabrication Technique. *Biotechnology Advances* 28 (3): 325–347.
- Bodmeier R., Oh K.H., Pramar Y. 1989. Preparation and Evaluation of Drug-Containing Chitosan Beads. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 15 (9): 1475-1494
- Deitzel J.M., Kleinmeyer J., Harris D., Beck Tan N.C. 2001. The Effect of Processing Variables on the Morphology of Electrospun Nanofibers and Textiles. *Polymer* 42 (1): 261–272.
- Demir M.M., Yilgor I., Yilgor E., Erman B. 2002. Electrospinning of Polyurethane Fibers. *Polymer* 43 (11): 3303–3309.
- Dhandayuthapani B., Yoshida Y., Maekawa T., Kumar S.D. 2011. Polymeric Scaffolds in

- Tissue Engineering Application: A Review. *International Journal of Polymer Science* 2011 (ii): 1-19.
- Dvir T., Timko B.P., Kohane D.S., Langer R. 2011. Nanotechnological Strategies for Engineering Complex Tissues. *Nature Nanotechnology* 6 (1): 13–22.
- Elsabee M.Z., Naguib H.F., and Morsi R.E. 2012. Chitosan Based Nanofibers, Review. *Materials Science and Engineering C* 32: 1711-1726.
- Endo K., Yamanaka T. 2006. Copolymerization of Lipoic Acid with 1,2-Dithiane and Characterization of the Copolymer as an Interlocked Cyclic Polymer. *Macromolecules* 39 (12): 4038–4043.
- Fernandes E.M., Pires R., Mano J.F., Reis R.L. 2013. Bionanocomposites from Lignocellulosic Resources: Properties, Applications and Future Trends for Their Use in the Biomedical Field. *Progress in Polymer Science* 38 (10–11): 1415–1441.
- Feyzioglu G.C., Tornuk F. 2016. Development of Chitosan Nanoparticles Loaded with Summer Savory (*Satureja Hortensis L.*) Essential Oil for Antimicrobial and Antioxidant Delivery Applications. *LWT - Food Science and Technology* 70: 104–110.
- Geng X., Kwon O.H., Jang J. 2005. Electrospinning of Chitosan Dissolved in Concentrated Acetic Acid Solution. *Biomaterials* 26 (27): 5427–5432.
- Haghi A.K., Akbari M. 2007. Trends in Electrospinning of Natural Nanofibers. *Physica Status Solidi (A) Applications and Materials Science* 204 (6): 1830–1834.
- Hohman M.M., Shin M., Rutledge G., Brenner M.P. 2001. Electrospinning and Electrically Forced Jets. II. Applications. *Physics of Fluids* 13 (8): 2221–2236.
- Jacob M.V., Olsen N.S., Anderson L.J., Bazaka K., Shanks R.A. 2013. Plasma Polymerised Thin Films for Flexible Electronic Applications. *Thin Solid Films* 546: 167–170.
- Jayakumar R., Prabakaran M., Nair S.V., Tamura H. 2010. Novel Chitin and Chitosan Nanofibers in Biomedical Applications. *Biotechnology Advances* 28: 142-150
- Jing X., Mi H.Y., Peng j., Peng X., Turng L. 2015. Electrospun Aligned Poly(propylene Carbonate) Nanofibers with Chitosan Nanofibers as Tissue Engineering Scaffolds.

- Carbohydrate Polymers 117 (March): 941–949.
- Jung B., Theato P. 2012. Chitosan and Chitosan Derivatives in Drug Delivery and Tissue Engineering. *Advances in Polymer Science* 244: 1–34.
- Kisanuki A., Kimpara Y., Oikado Y., Kado N., Matsumoto M., Endo K. 2010. Ring-Opening Polymerization of Lipoic Acid and Characterization of Polymer. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* 48: 5247–53.
- Kofuji K., Nakamura M., Isobe T., Murata Y., Kawashima S. 2008. Stabilization of α -Lipoic Acid by Complex Formation with Chitosan. *Food Chemistry* 109 (1): 167–171.
- Kweon H.Y., Yoo M.K., Park I.K., Kim T.H., Lee H.C., Lee H.S., Oh J.S., Akaike T., Cho C.S. 2003. A Novel Degradable Polycaprolactone Networks for Tissue Engineering. *Biomaterials* 24 (5): 801–808.
- Langer R., Vacanti J.P.. 1993. Tissue Engineering. *Science* 260 (5110): 920–926.
- Li Y., Wu C., Wu T., Wang L., Chen S., Ding T., Hu Y. 2018. Preparation and Characterization of Citrus Essential Oils Loaded in Chitosan Microcapsules by Using Different Emulsifiers. *Journal of Food Engineering* 217: 108–114.
- Lopes M.S., Jardini A.L., Filho R.M. 2012. Poly (Lactic Acid) Production for Tissue Engineering Applications. *Procedia Engineering* 42 (August): 1402–1413.
- Loth R., Loth T., Schwabe K., Bernhardt R., Schulz-Siegmund M., Hacker M.C. 2015. Highly Adjustable Biomaterial Networks from Three-Armed Biodegradable Macromers *Acta Biomaterialia* 26: 82–96.
- McCance K.L., Huether S.E., Geneser F., Shoulders M.D., Raines R.T., Genovese F., Manresa A. 2010. Collagen Structure and Stability. *PLoS ONE* 78 (3): 929–958.
- Mohammadi A., Hashemi M., Hosseini S.M. 2015. Chitosan Nanoparticles Loaded with Cinnamomum Zeylanicum Essential Oil Enhance the Shelf Life of Cucumber during Cold Storage. *Postharvest Biology and Technology* 110: 203–213.
- Moyano M.A., Broussalis A.M., Segall A.I. 2010. Thermal Analysis of Lipoic Acid and Evaluation of the Compatibility with Excipients. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 99 (2): 631–637.

- Müller F.A., Müller L., Hofmann I., Greil P., Wenzel M.M., Staudenmaier R. 2006. Cellulose-Based Scaffold Materials for Cartilage Tissue Engineering. *Biomaterials* 27 (21): 3955–3963.
- Murphy C.M., Haugh M.G., O'Brien F.J. 2010. The Effect of Mean Pore Size on Cell Attachment, Proliferation and Migration in Collagen-Glycosaminoglycan Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Biomaterials* 31 (3): 461–466.
- Nam K.W., Watanabe J., Ishihara K. 2002. Characterization of the Spontaneously Forming Hydrogels Composed of Water-Soluble Phospholipid Polymers. *Biomacromolecules* 3 (1): 100–105.
- Narayanan G., Gupta B.S., Tonelli A.E. 2014. Poly(ϵ -Caprolactone) Nanowebs Functionalized with α - And γ -Cyclodextrins. *Biomacromolecules* 15 (11): 4122–4133.
- Narayanan G., Vernekar V.N., Kuyinu E.L., Laurencin C.T. 2016. Poly (Lactic Acid)-Based Biomaterials for Orthopaedic Regenerative Engineering. *Advanced Drug Delivery Reviews* 107: 247–276.
- Nguyen T., Chung O.H., Park J.S. 2011. Coaxial Electrospun Poly(lactic Acid)/chitosan (Core/shell) Composite Nanofibers and Their Antibacterial Activity. *Carbohydrate Polymers* 86 (4): 1799–1806.
- O'Brien F.J. 2011. Biomaterials & Scaffolds for Tissue Engineering. *Materials Today* 14 (3): 88–95.
- Patel H., Bonde M., Srinivasan G. 2011. Biodegradable Polymer Scaffold for Tissue Engineering. *Trends Biomater. Artif. Organs* 25 (1): 20–29.
- Pathak S., Srivastava AK. 2005. Free Radical Co-Polymerization of Butylmethacrylate and Linalool with a Functional Group as a Pendant. *Designed Monomers and Polymers* 8 (5): 409–422.
- Pérez-Recalde M., Ruiz Arias I.E., Hermida E.B. 2018. Could Essential Oils Enhance Biopolymers Performance for Wound Healing? A Systematic Review. *Phytomedicine* 38 (August): 57–65.
- Reneker D.H., Chun I. 1996. Nanometer Diameter Fibers of Polymer, Produced by

- Electrospinning.” *Nanotechnology* 7: 216–223.
- Rieger K.A., Birch N.P., Schiffman J.D. 2016. Electrospinning Chitosan/poly(ethylene Oxide) Solutions with Essential Oils: Correlating Solution Rheology to Nanofiber Formation. *Carbohydrate Polymers* 139: 131–38.
- Rieger K., Schiffman J.D. 2014. Electrospinning an Essential Oil: Cinnamaldehyde Enhances the Antimicrobial Efficacy of Chitosan/poly(ethylene Oxide) Nanofibers. *Carbohydrate Polymers* 113 (November): 561–68.
- Rosenthal-Kim E., Puskas J. 2015. Green Polymer Chemistry: Investigating the Mechanism of Radical Ring-Opening Redox Polymerization (R3P) of 3,6-Dioxa-1,8-Octanedithiol (DODT). *Molecules* 20 (4): 6504–6519.
- Rosenthal-Kim E., Agapov R.L., Puskas J. 2015. Visualization of the Architecture of Poly(α -Lipoic Acid) Using Atomic Force Microscopy. *European Polymer Journal* 65: 232–37.
- Santoro M., Shah S.R., Walker J.L., Mikos A.G. 2016. Poly(lactic Acid) Nanofibrous Scaffolds for Tissue Engineering. *Advanced Drug Delivery Reviews* 107: 206–212.
- Sashiw H., Aiba S.I. 2004. Chemically Modified Chitin and Chitosan as Biomaterials. *Progress in Polymer Science* 29 (9): 887–908.
- Sharma A., Flores-Vallejo R., Cardoso-Taketa A., Villarreal M.L. 2017. Antibacterial Activities of Medicinal Plants Used in Mexican Traditional Medicine. *Journal of Ethnopharmacology* 208: 264–329.
- Shin Y. M., Hohman M. M., Brenner M. P., Rutledge G. C. 2001. Electrospinning: A Whipping Fluid Jet Generates Submicron Polymer Fibers. *Applied Physics Letters* 78 (8): 1149–51.
- Sotelo-Boyas M.E., Correa-Pacheco Z.N., Bautista-Banos S., Corona-Rangel M.L. 2017. Physicochemical Characterization of Chitosan Nanoparticles and Nanocapsules Incorporated with Lime Essential Oil and Their Antibacterial Activity against Food-Borne Pathogens. *LWT - Food Science and Technology* 77: 15–20.
- Srivastava A.K., Kamal M., Kaur M., Pandey S., Daniel N., Chaurasia A.K., Pandey P. 2002. Terpolymerization: A Review. *Journal of Polymer Research* 9 (3): 213–220.

- Stratton S., Shelke N.B., Hoshino K., Rudraiah S., Kumbar S.G. 2016. Bioactive Polymeric Scaffolds for Tissue Engineering. *Bioactive Materials* 1 (2): 93–108.
- Vert M. 2007. Polymeric Biomaterials: Strategies of the Past vs. Strategies of the Future. *Progress in Polymer Science* 32 (8–9): 755–761.
- Wagner A.F., Walton E, Boxer G.E., Pruss M.P., Holly F.W., Folkers K. 1956. Properties and Derivatives of α -Lipoic Acid. *J. Am. Chem. Soc.* 78 (19): 5079–5081.
- Wang J., Wang L., Yu H., Zain-ul-Abdin, Chen Y., Chen Q., Zhou W, Zhang H., Chen X. 2016. Recent Progress on Synthesis, Property and Application of Modified Chitosan: An Overview. *International Journal of Biological Macromolecules* 88: 333–344.
- Weerakody R., Fagan P., Kosaraju S.L. 2008. Chitosan Microspheres for Encapsulation of α -Lipoic Acid. *International Journal of Pharmaceutics* 357 (1–2): 213–218.
- Zhang S., Kawakami K. 2010. One-step preparation of chitosan solid nanoparticles by electrospray deposition. *International Journal of Pharmaceutics* 397: 211-217.
- Zhang Y., Venugopal J.R., El-Turki A., Ramakrishna S., Su B., Lim C.T. 2008. Electrospun Biomimetic Nanocomposite Nanofibers of Hydroxyapatite/chitosan for Bone Tissue Engineering. *Biomaterials* 29 (32): 4314–4322.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Elif KARACAN YELDİR

Doğum Yeri :Çankaya

Doğum Tarihi : 30.09.1983

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü

Yüksek Lisans Öğrenimi : Ankara Üniversitesi Sağlık bilimleri Enstitüsü

Analitik Kimya Anabilim Dalı (Eczacılık Fakültesi)

Indiana University Material Chemistry

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Yayınlar -SCI -Diğer

Karacan E., Caglayan M.G., Palabiyik I.M., Onur F., "Liquid Chromatographic And Spectrophotometric Determination Of Diflucortolone Valerate And Isoconazole Nitrate In Creams", JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL, vol.94, pp.128-135, 2011

Kozan I., Palabiyik I.M., Karacan E., Onur F. , "Spectrophotometric And High Performance Liquid Chromatographic Determination Of Fexofenadine Hydrochloride In Pharmaceutical Formulations", Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences, cilt.5, ss.175-189, 2008.

Ünal K., Palabiyik I.M., Karacan E., Onur F., "Spectrophotometric Determination Of Amoxicillin In Pharmaceutical Formulations", Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences, cilt.5, ss.1-17, 2008.

b) Bildiriler -Uluslararası -Ulusal

Yeldir Karacan, E., Oral, A. "Photopolymerization of 2-Vinylpyridine with type I photoinitiators" Ancon-International Congress on Chemistry and Materials Science, October, 2017, Ankara

Yeldir Karacan, E., Oral, A. "Morphological Study of Chitosan Nanobeads" Joint Science Congress of Materials and Polymers (ISCMP), August, 2017, Ohrid

Yeldir Karacan, E., Oral, A., Yılmaz, M. "Photopolymerization of Novel Piperazine Derivatives" Joint Science Congress of Materials and Polymers (ISCMP), August, 2017, OHRID

Karacan, E., Oral, A. "Preparing of chitosan beads with natural antibacterial essential oils" Chemistry Conference for Young Scientists (ChemCYS'2016), March, 2016

Karacan, E., Sahiner, N., Ozturk, O.F. 245th American Chemical Society National Meeting&Exposition, Chemistry of Energy&Food, New Orleans, Nisan 2013

4. Ulusal Polimer Bilim ve Teknolojisi Kongresi, Canakkale, Eylül 2012
XXI. Ulusal Kimya Kongresi, Malatya, Ağustos 2007

c) Katıldığı Projeler

Doku Mühendisliği Uygulamaları İçin Doğal Antibakteriyel İçeren Biyopolimer İskele Sistemlerin Hazırlanması", BAP Doktora, FDK-2015-539, Araştırmacı, Devam Ediyor

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl : ÇOMÜ- FEF 2012-devam ediyor

İLETİŞİM

E-posta Adresi :elifkaracan@comu.edu.tr

karacan_elif@yahoo.com