

**T.C.  
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**(E)-1-(2,2-DİKLORO-1-FENİLVİNİL)-2-FENİLDİAZEN YÜKLÜ KİTOSAN  
NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZİ VE KONTROLLÜ SALIMDA  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**SENA DİDEM ERKAL TUYJİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI  
BİYOMÜHENDİSLİK PROGRAMI**

**DANIŞMAN  
PROF. DR. SEVİL YÜCEL**

**İSTANBUL, 2018**

T.C.  
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**(E)-1-(2,2-DİKLORO-1-FENİLVİNİL)-2-FENİLDİAZEN YÜKLÜ KİTOSAN  
NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZİ VE KONTROLLÜ SALIMDA  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Sena Didem ERKAL TUYJİ tarafından hazırlanan tez çalışması 13.06.2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Tez Danışmanı**

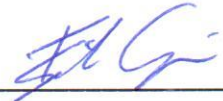
Prof. Dr. Sevil YÜCEL  
Yıldız Teknik Üniversitesi

**Jüri Üyeleri**

Prof. Dr. Sevil YÜCEL  
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. F. Seniha GÜNER  
İstanbul Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Serap DERMAN  
Yıldız Teknik Üniversitesi



## ÖNSÖZ

---

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca engin bilgi birikimini ve tecrübelerini benimle paylaşan, tez konumun belirlenmesini ve çalışmalarına başlayabilmemi sağlayan, hoşgörüsünü ve sevgisini hiçbir zaman esirgemeyen çok değerli tez hocam Prof.Dr. Sevil YÜCEL'e,

Tez çalışmamda kullandığım (e)-1-(2,2-dikloro-1-fenilvinil)-2-fenildiazen molekülünün teminini sağlayan Azerbaycan Bakü Devlet Üniversitesi'nden Sayın Namiq SHIXALIYEV hocama,

Tez çalışmam sürecinde yapmış olduğu değerlendirmeler ile çalışmalarımın şekillenmesinde büyük emeği olan, hem bilimsel hem manevi olarak her zaman bana destek olan çok değerli hocam Doç.Dr. Serap ACAR DERMAN'a,

Deneysel çalışmam süresince her daim yanımda olan, her yaşadığım zorlukta hiç düşünmeden yardımına koşan, bilgi birikiminden yararlandığım ve bana her daim yol gösteren çok sevdiğim çalışma arkadaşım Pelin PELİT ARAYICI'ya,

Lisans ve yüksek lisans hayatım boyunca yaşadığım tüm zorlukların üstesinden gelmemi sağlayan, çalışmalarına başlayabilmem için her defasında beni cesaretlendiren ve her zaman yanımda olan can dostum Cemre DEMİRKAN YAŞA'ya,

Bu süreçte yanımda olup bana destek olan İstanbul Medipol Üniversitesi'ndeki çalışma arkadaşlarıma,

Enerjisiyle her zaman bana motivasyon kaynağı olan, beni neşelendiren, kardeşlik sevgisini yaşamamı sağlayan, desteğini ve ilgisini her zaman yanımda hissettiğim biricik kardeşim Gizem ERKAL'a,

Hayatımın her döneminde yanımda olan, hiçbir konuda benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, varlıklarıyla bana güç veren ve koşulsuz sevgileriyle beni bugünlere getiren annem Suna ERKAL ve babam Mehmet Haluk ERKAL'a,

Hayatı paylaşmaktan mutluluk duyduğum, her zaman yanımda olup beni destekleyen, karşılaştığım zorlukların üstesinden gelmem için bana güç veren ve bu süreçte sonsuz sabır gösteren kıymetli eşim Volkan TUYJİ'ye ve

Bu süreçte emeği geçen herkese sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Haziran, 2018

Sena Didem ERKAL TUYJİ

## İÇİNDEKİLER

|                                                                         | Sayfa |
|-------------------------------------------------------------------------|-------|
| SİMGE LİSTESİ .....                                                     | vii   |
| KISALTMA LİSTESİ .....                                                  | viii  |
| ŞEKİL LİSTESİ.....                                                      | x     |
| ÇİZELGE LİSTESİ .....                                                   | xiii  |
| ÖZET .....                                                              | xiv   |
| ABSTRACT .....                                                          | xvi   |
| BÖLÜM 1                                                                 |       |
| GİRİŞ.....                                                              | 1     |
| 1.1    Literatür Özeti .....                                            | 1     |
| 1.2    Tezin Amacı .....                                                | 3     |
| 1.3    Hipotez .....                                                    | 3     |
| BÖLÜM 2                                                                 |       |
| NANOTEKNOLOJİ .....                                                     | 4     |
| 2.1    Nanopartiküller .....                                            | 8     |
| 2.1.1    Polimerik Nanopartiküller .....                                | 10    |
| 2.1.1.1    Polimerik Nanopartiküllerin Özellikleri ve Avantajları ..... | 11    |
| 2.1.2    Nanopartikül Üretiminde Kullanılan Polimerler .....            | 12    |
| 2.1.2.1    Kitin .....                                                  | 14    |
| 2.1.2.2    Kitosan.....                                                 | 15    |
| 2.2    Kitosan Nanopartikülleri .....                                   | 18    |
| 2.2.1    Kitosan Nanopartikül Üretim Yöntemleri.....                    | 18    |
| 2.2.1.1    Emülsifikasyon ve Çapraz Bağlanma .....                      | 19    |
| 2.2.1.2    Emülsiyon Çözücü Difüzyon Yöntemi.....                       | 20    |
| 2.2.1.3    Ters Misel Yöntemi.....                                      | 21    |
| 2.2.1.4    İyonik Jelasyon Yöntemi.....                                 | 22    |
| 2.2.1.5    Desolvasyon .....                                            | 24    |
| 2.2.1.6    Tekli Emülsiyon (o/w) - İyonik Jelasyon Yöntemi.....         | 25    |
| 2.2.2    Kitosanın Biyomedikal Uygulamaları .....                       | 26    |

## BÖLÜM 3

|                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------|----|
| KONTROLLÜ SALIM SİSTEMLERİ .....                                | 29 |
| 3.1 Kontrol Mekanizmalarına Göre Salım Sistemleri.....          | 30 |
| 3.1.1 Çözücü Kontrollü Sistemler .....                          | 30 |
| 3.1.2 Kimyasal Kontrollü Sistemler .....                        | 31 |
| 3.1.2.1 Biyobozunur ve Biyoaşınır Sistemler.....                | 31 |
| 3.1.3 Uyaran Kontrollü Sistemler .....                          | 32 |
| 3.1.4 Difüzyon Kontrollü Sistemler .....                        | 32 |
| 3.1.4.1 Rezervuar (Membran) Sistemler .....                     | 32 |
| 3.1.4.2 Matris Sistemler .....                                  | 32 |
| 3.2 Nanopartiküler İlaç Salım Sistemleri.....                   | 33 |
| 3.2.1 Nanopartiküler İlaç Salımını Etkileyen Faktörler .....    | 33 |
| 3.2.1.1 Partikül Boyutu.....                                    | 33 |
| 3.2.1.2 Partikül Yüzey Özelliği .....                           | 34 |
| 3.2.1.3 İlaç Yükleme .....                                      | 35 |
| 3.2.1.4 İlaç Salımı .....                                       | 35 |
| 3.3 (e)-1-(2,2-dikloro-1-fenilvinil)-2-fenildiazen (DIPHE)..... | 36 |

## BÖLÜM 4

|                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| DENEYSEL ÇALIŞMALAR .....                                                                   | 39 |
| 4.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler.....                                                       | 39 |
| 4.2 Kullanılan Cihazlar ve Ölçüm Yöntemleri.....                                            | 40 |
| 4.3 Deneysel Yöntem .....                                                                   | 47 |
| 4.3.1 Stok Çözelti Hazırlanması .....                                                       | 48 |
| 4.3.1.1 Kitosan Çözeltisi Hazırlama .....                                                   | 48 |
| 4.3.1.2 TPP Çözeltisi Hazırlama .....                                                       | 48 |
| 4.3.1.3 0,01 M'lık PBS Tamponu (pH=7,4) Hazırlama .....                                     | 48 |
| 4.3.2 DIPHE Kalibrasyon Eğrisinin Oluşturulması .....                                       | 48 |
| 4.3.3 İyonik Jelasyon Yöntemiyle Kitosan Nanopartikül Sentezi.....                          | 49 |
| 4.3.4 Tekli Emülsiyon (o/w) - İyonik Jelasyon İki Basamaklı Sentez Yöntemiyle Kitosan ..... | 50 |
| 4.3.4.1 Boş Kitosan Nanopartikül Sentezi .....                                              | 50 |
| 4.3.4.2 DIPHE Yüklü Kitosan Nanopartikül Sentezi .....                                      | 50 |
| 4.3.5 Boyut ve Zeta Potansiyel Ölçümleri.....                                               | 51 |
| 4.3.6 Reaksiyon Veriminin Hesaplanması .....                                                | 52 |
| 4.3.7 Enkapsülasyon Etkinliğinin Hesaplanması .....                                         | 52 |
| 4.3.8 Yükleme Kapasitesinin Hesaplanması .....                                              | 52 |
| 4.3.9 FT-IR Ölçümleri .....                                                                 | 52 |
| 4.3.10 SEM Görüntüleri.....                                                                 | 53 |
| 4.3.11 <i>in-vitro</i> Salım Çalışmaları.....                                               | 53 |

## BÖLÜM 5

|                                                                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| DENEY SONUÇLARI.....                                                                                                   | 54 |
| 5.1 İyonik Jelasyon Yöntemiyle Sentezlenen DIPHE Yüklü Kitosan Nanopartiküllerin Boyut ve Zeta Potansiyel Analizi..... | 54 |

|                         |                                                                                                                                        |    |
|-------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 5.1.1                   | DIPHE Yüklü Kitosan Nanopartikül Boyut ve Zeta Potansiyel Analizi (Chi:TPP; 5:1) .....                                                 | 54 |
| 5.1.2                   | DIPHE Yüklü Kitosan Nanopartikül Boyut ve Zeta Potansiyel Analizi (Chi:TPP; 2:1) .....                                                 | 57 |
| 5.2                     | Tekli Emülsiyon (o/w) - İyonik Jelasyon İki Basamaklı Sentez Yöntemiyle Sentezlenen Kitosan Nanopartiküllerinin Karakterizasyonu ..... | 60 |
| 5.2.1                   | Boş Kitosan Nanopartiküllerinin Karakterizasyonu .....                                                                                 | 60 |
| 5.2.1.1                 | Boş Kitosan Nanopartiküllerinin Boyut ve Zeta Potansiyel Analizi ..                                                                    | 60 |
| 5.2.1.2                 | Boş Kitosan Nanopartiküllerinin Reaksiyon Verimi Sonuçları.....                                                                        | 62 |
| 5.2.1.3                 | Boş Kitosan Nanopartiküllerinin FT-IR Analiz Sonuçları.....                                                                            | 63 |
| 5.2.1.4                 | Boş Kitosan Nanopartiküllerinin SEM Görüntüleri .....                                                                                  | 65 |
| 5.2.2                   | DIPHE Yüklü Kitosan Nanopartiküllerinin Karakterizasyonu .....                                                                         | 65 |
| 5.2.2.1                 | DIPHE Kalibrasyon Eğrisi Grafiği.....                                                                                                  | 66 |
| 5.2.2.2                 | DIPHE Yüklü Kitosan Nanopartiküllerinin Boyut ve Zeta Potansiyel Analizi .....                                                         | 66 |
| 5.2.2.3                 | DIPHE Yüklü Kitosan Nanopartiküllerinin Reaksiyon Verimi Sonuçları.....                                                                | 75 |
| 5.2.2.4                 | DIPHE Yüklü Kitosan Nanopartiküllerinin Enkapsülasyon Etkinliği Sonuçları.....                                                         | 76 |
| 5.2.2.5                 | DIPHE Yüklü Kitosan Nanopartiküllerin Yükleme Kapasitesi Sonuçları.....                                                                | 76 |
| 5.2.2.6                 | DIPHE Yüklü Kitosan Nanopartiküllerinin FT-IR Analiz Sonuçları ..                                                                      | 78 |
| 5.2.2.7                 | DIPHE Yüklü Kitosan Nanopartiküllerinin SEM Görüntüleri.....                                                                           | 83 |
| 5.2.2.8                 | DIPHE Yüklü Kitosan Nanopartiküllerinin <i>in-vitro</i> Salım Deney Sonuçları.....                                                     | 84 |
| <br>BÖLÜM 6             |                                                                                                                                        |    |
| SONUÇ VE ÖNERİLER ..... |                                                                                                                                        | 88 |
| KAYNAKLAR.....          |                                                                                                                                        | 92 |
| ÖZGEÇMİŞ .....          |                                                                                                                                        | 98 |

## SİMGE LİSTESİ

---

|                    |                    |
|--------------------|--------------------|
| $\alpha$           | Alfa               |
| $\beta$            | Beta               |
| $\delta$           | Delta              |
| $\epsilon$         | Epsilon            |
| $^{\circ}\text{C}$ | Derece santigrat   |
| Au                 | Altın              |
| cm                 | Santimetre         |
| dk                 | Dakika             |
| g                  | Gram               |
| $I_0$              | Giriş ışık şiddeti |
| $I$                | Çıkış ışık şiddeti |
| kDa                | KiloDalton         |
| kV                 | KiloVolt           |
| L                  | Litre              |
| M                  | Molar              |
| $M_w$              | Molekül ağırlığı   |
| m                  | Metre              |
| mg                 | Miligram           |
| mL                 | Mililitre          |
| mm                 | Milimetre          |
| mV                 | Milivolt           |
| $\mu\text{m}$      | Mikrometre         |
| nm                 | Nanometre          |
| pH                 | Hidrojen gücü      |
| W                  | Watt               |

## KISALTMA LİSTESİ

|                                                                   |                                                |
|-------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| A                                                                 | Absorbans / optik yoğunluk                     |
| AFM                                                               | Atomik Kuvvet Mikroskobu                       |
| Chi / CS                                                          | Kitosan                                        |
| Chi-NP                                                            | Kitosan Nanopartikül                           |
| COCH <sub>3</sub>                                                 | Asetil                                         |
| DCM                                                               | Diklorometan                                   |
| DIPHE                                                             | (e)-1-(2,2-dikloro-1-fenilvinil)-2-fenildiazen |
| DLS                                                               | Dinamik Işık Saçılması                         |
| EE                                                                | Enkapsülasyon Etkinliği                        |
| EtOH                                                              | Etanol / Etil Alkol                            |
| FT-IR                                                             | Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi    |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                                     | Hidrojen proksit                               |
| KMnO <sub>4</sub>                                                 | Potasyum permanganat                           |
| LDE                                                               | Lazer Doppler Elektroforez                     |
| MEC                                                               | Minimum Etkili Konsantrasyon                   |
| MIT                                                               | Massachusetts Teknoloji Enstitüsü              |
| MTC                                                               | Maksimum Toksik Konsantrasyon                  |
| NaCl                                                              | Sodyum klorür                                  |
| NaOCl                                                             | Sodyum hipoklorit                              |
| NaHSO <sub>3</sub>                                                | Sodyum bisülfid                                |
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O               | Disodyum hidrojen fosfat hepahidrate           |
| Na <sub>2</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O | Sodyum dihidrojen fosfat dihidrate             |
| Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>4</sub>                     | Sodyum ditiyonit                               |
| NaN <sub>3</sub>                                                  | Sodyum azid                                    |
| NP                                                                | Nanopartikül                                   |
| PACA                                                              | Poli(siyano-akrilat)                           |
| PBCA                                                              | Poli(bütil-siyano-akrilat)                     |
| PBS                                                               | Fosfat Tamponu(Phospate Buffered Saline)       |
| PCL                                                               | Poli(kaprolakton)                              |
| PdI                                                               | Polidispersite İndeksi                         |
| PECL                                                              | Poli(epsilon-kaprolakton)                      |
| PEG                                                               | Poli(etilen glikol)                            |
| PEO                                                               | Poli(etilen oksit)                             |
| PHDCA                                                             | Poli(heksadesilsiyanoakrilat)                  |
| PLA                                                               | Poli(laktik asit)                              |

|               |                                         |
|---------------|-----------------------------------------|
| PLGA          | Poli(laktik-ko-glikolik asit)           |
| PPO           | Poli(propilen oksit)                    |
| rpm           | Dakikadaki Dönüş Sayısı                 |
| RV            | Reaksiyon Verimi                        |
| SEM           | Taramalı Elektron Mikroskobu            |
| STM           | Taramalı Tünel Mikroskobu               |
| TPP           | Tripolifosfat                           |
| UV            | Ultraviyole                             |
| UV-VIS/UV-Vis | Ultraviyole Görünür Işık Spektroskopisi |
| YK            | Yükleme Kapasitesi                      |
| Z-ave         | Ortalama Parçacık Boyutu                |
| Z-pot         | Zeta Potansiyeli                        |



## ŞEKİL LİSTESİ

|            | Sayfa                                                                                                                                 |
|------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Şekil 2.1  | Değişik uzunluk ölçüleri ..... 4                                                                                                      |
| Şekil 2.2  | Tek duvarlı karbon nanotüp ..... 6                                                                                                    |
| Şekil 2.3  | Biyomedikal çalışmalarda ve ilaç salımında kullanılan nanopartiküller ..... 9                                                         |
| Şekil 2.4  | Nanoküre ve nanokapsül yapısının şematik gösterimi ..... 10                                                                           |
| Şekil 2.5  | Kitin ve kitosanın kimyasal yapıları ..... 16                                                                                         |
| Şekil 2.6  | Emülsifikasyon ve çapraz bağlanma yönteminin şematik gösterimi ..... 20                                                               |
| Şekil 2.7  | Emülsiyon çözücü difüzyon yönteminin şematik olarak gösterimi ..... 21                                                                |
| Şekil 2.8  | Ters misel yönteminin şematik gösterimi ..... 22                                                                                      |
| Şekil 2.9  | İyonik jelasyon yönteminin şematik gösterimi ..... 23                                                                                 |
| Şekil 2.10 | Sodyum sülfat kullanılarak gerçekleştirilen desolvasyon yönteminin şematik gösterimi ..... 25                                         |
| Şekil 2.11 | Tekli emülsiyon (o/w) - iyonik jelasyon yönteminin şematik gösterimi ..... 26                                                         |
| Şekil 3.1  | Kandaki ilaç konsantrasyonunun doz uygulamasına göre zamanla değişimi ..... 30                                                        |
| Şekil 3.2  | Kontrollü salım mekanizmaları ..... 33                                                                                                |
| Şekil 3.3  | DIPHE kimyasal yapısı ..... 36                                                                                                        |
| Şekil 3.4  | DIPHE sentez mekanizması ..... 37                                                                                                     |
| Şekil 4.1  | Vorteks cihazı ..... 40                                                                                                               |
| Şekil 4.2  | Hassas terazi ..... 41                                                                                                                |
| Şekil 4.3  | İnolab WTW pH-metre ..... 41                                                                                                          |
| Şekil 4.4  | Manyetik karıştırıcı ..... 42                                                                                                         |
| Şekil 4.5  | Ultrasonik homojenizatör ..... 42                                                                                                     |
| Şekil 4.6  | Hitachi santrifüj ..... 43                                                                                                            |
| Şekil 4.7  | Telstar liyofilizatör ..... 43                                                                                                        |
| Şekil 4.8  | UV-VIS Spektrofotometre ..... 44                                                                                                      |
| Şekil 4.9  | Malvern Zeta-Sizer Cihazı ..... 45                                                                                                    |
| Şekil 4.10 | Shimadzu FT-IR Cihazı ..... 45                                                                                                        |
| Şekil 4.11 | Zeiss Taramalı Elektron Mikroskobu ..... 46                                                                                           |
| Şekil 4.12 | Çalkalamalı su banyosu ..... 46                                                                                                       |
| Şekil 4.13 | Tekli emülsiyon (o/w) - iyonik jelasyon yöntemi deney akış şeması ..... 51                                                            |
| Şekil 5.1  | Yöntem 1 kullanılarak sentezlenen DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerin yoğunluk olarak boyut dağılımı ve korelasyon grafiği ..... 55 |
| Şekil 5.2  | Yöntem 1 kullanılarak sentezlenen DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerin zeta potansiyel dağılım grafiği ..... 55                      |

|            |                                                                                                                                                                                                |    |
|------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 5.3  | Yöntem 2 kullanılarak sentezlenen DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerin yoğunluk olarak boyut dağılımı ve korelasyon grafiği .....                                                             | 56 |
| Şekil 5.4  | Yöntem 2 kullanılarak sentezlenen DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerin zeta potansiyel dağılım grafiği .....                                                                                  | 56 |
| Şekil 5.5  | Boş Chi-NP yoğunluk olarak boyut dağılımı ve korelasyon grafiği.....                                                                                                                           | 58 |
| Şekil 5.6  | 1 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP yoğunluk olarak boyut dağılımı ve korelasyon grafiği .....                                                                                          | 58 |
| Şekil 5.7  | Boş Chi-NP ve 1 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP yoğunluk olarak boyut dağılımı birlikte (yeşil grafik : Boş Chi-NP; kırmızı grafik : 1mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP) ..... | 59 |
| Şekil 5.8  | Boş Chi-NP yoğunluğa göre boyut dağılımı ve korelasyon grafiği .....                                                                                                                           | 61 |
| Şekil 5.9  | Boş Chi-NP zeta potansiyel dağılım grafiği.....                                                                                                                                                | 61 |
| Şekil 5.10 | Kitosan polimerinin FT-IR grafiği.....                                                                                                                                                         | 63 |
| Şekil 5.11 | Boş kitosan nanopartiküllerin FT-IR grafiği .....                                                                                                                                              | 64 |
| Şekil 5.12 | Boş kitosan nanopartiküllerin SEM görüntüleri .....                                                                                                                                            | 65 |
| Şekil 5.13 | DIPHE kalibrasyon eğrisi grafiği.....                                                                                                                                                          | 66 |
| Şekil 5.14 | 1 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP yoğunluğa göre boyut dağılımı ve korelasyon grafiği .....                                                                                           | 67 |
| Şekil 5.15 | 1 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP zeta potansiyel dağılım grafiği .                                                                                                                   | 67 |
| Şekil 5.16 | 2 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP yoğunluğa göre boyut dağılımı ve korelasyon grafiği .....                                                                                           | 68 |
| Şekil 5.17 | 2 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP zeta potansiyel dağılım grafiği .                                                                                                                   | 69 |
| Şekil 5.18 | 4 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP yoğunluğa göre boyut dağılımı ve korelasyon grafiği .....                                                                                           | 70 |
| Şekil 5.19 | 4 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP zeta potansiyel dağılım grafiği .                                                                                                                   | 70 |
| Şekil 5.20 | 6 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP yoğunluğa göre boyut dağılımı ve korelasyon grafiği .....                                                                                           | 71 |
| Şekil 5.21 | 6 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP zeta potansiyel dağılım grafiği .                                                                                                                   | 71 |
| Şekil 5.22 | 10 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP yoğunluğa göre boyut dağılımı ve korelasyon grafiği .....                                                                                          | 72 |
| Şekil 5.23 | 10 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP zeta potansiyel dağılım grafiği .....                                                                                                              | 73 |
| Şekil 5.24 | DIPHE FT-IR grafiği .....                                                                                                                                                                      | 78 |
| Şekil 5.25 | 1 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin FT-IR grafiği.                                                                                                                   | 79 |
| Şekil 5.26 | 1 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin karşılaştırmalı FT-IR grafiği.....                                                                                               | 80 |
| Şekil 5.27 | 2 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin FT-IR grafiği.                                                                                                                   | 80 |
| Şekil 5.28 | 4 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin FT-IR grafiği.                                                                                                                   | 81 |
| Şekil 5.29 | 6 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin FT-IR grafiği.                                                                                                                   | 81 |

|            |                                                                                      |    |
|------------|--------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 5.30 | 10 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin FT-IR grafiği .....   | 82 |
| Şekil 5.31 | DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerin FT-IR grafiği .....                            | 83 |
| Şekil 5.32 | 6 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin SEM görüntüleri .....  | 83 |
| Şekil 5.33 | 10 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin SEM görüntüleri ..... | 84 |
| Şekil 5.34 | 6 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin salım grafiği .....    | 85 |
| Şekil 5.35 | 10 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin salım grafiği .....   | 86 |
| Şekil 5.36 | DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerin salım grafiği.....                             | 87 |



## ÇİZELGE LİSTESİ

|              | Sayfa                                                                                                               |
|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Çizelge 2.1  | Global pazardaki nanoteknoloji esaslı ticari ürünler ..... 7                                                        |
| Çizelge 2.2  | Nanosistem türleri ve boyutları ..... 9                                                                             |
| Çizelge 2.3  | Nanopartikül üretiminde yaygın olarak kullanılan polimerler ..... 13                                                |
| Çizelge 2.4  | Çeşitli kitin kaynakları ..... 14                                                                                   |
| Çizelge 2.5  | Kitosanın çeşitli organik asitler içerisinde çözünübilirlik durumu ..... 17                                         |
| Çizelge 2.6  | Kitosan üretim yöntemleri ve matriks bileşenleri ..... 19                                                           |
| Çizelge 2.7  | Kitosanın biyomedikal uygulamaları ve temel özellikleri ..... 27                                                    |
| Çizelge 2.8  | Kitin/kitosan esaslı ticari ürünler ..... 28                                                                        |
| Çizelge 3.1  | DIPHE molekülünün antimikrobiyal aktivitesi ..... 37                                                                |
| Çizelge 3.2  | Kontrol bileşiklerinin antimikrobiyal özellikleri ..... 38                                                          |
| Çizelge 4.1  | Kullanılan kimyasal malzemeler ..... 39                                                                             |
| Çizelge 4.2  | Deney akış şeması ..... 47                                                                                          |
| Çizelge 4.3  | DIPHE konsantrasyon - absorpsiyon verileri ..... 49                                                                 |
| Çizelge 5.1  | Yöntem 1 ve yöntem 2 kullanılarak sentezlenen DIPHE yüklü Chi-NP boyut ve zeta potansiyel analiz sonuçları ..... 57 |
| Çizelge 5.2  | Boş Chi-NP ve 1 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP boyut analizi sonuçları ..... 59                           |
| Çizelge 5.3  | Boş Chi-NP boyut ve zeta potansiyel analiz sonuçları ..... 62                                                       |
| Çizelge 5.4  | Boş Chi-NP reaksiyon verimi sonuçları ..... 62                                                                      |
| Çizelge 5.5  | 1 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP boyut ve zeta potansiyel analiz sonuçları ..... 68                       |
| Çizelge 5.6  | 2 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP boyut ve zeta potansiyel analiz sonuçları ..... 69                       |
| Çizelge 5.7  | 4 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP boyut ve zeta potansiyel analiz sonuçları ..... 71                       |
| Çizelge 5.8  | 6 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP boyut ve zeta potansiyel analiz sonuçları ..... 72                       |
| Çizelge 5.9  | 10 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP boyut ve zeta potansiyel analiz sonuçları ..... 73                      |
| Çizelge 5.10 | DIPHE yüklü Chi-NP boyut ve zeta potansiyel analiz sonuçları ..... 74                                               |
| Çizelge 5.11 | DIPHE yüklü Chi-NP reaksiyon verimi sonuçları ..... 75                                                              |
| Çizelge 5.12 | DIPHE yüklü Chi-NP enkapsülasyon etkinliği sonuçları ..... 76                                                       |
| Çizelge 5.13 | DIPHE yüklü Chi-NP yükleme kapasitesi sonuçları ..... 77                                                            |

**(E)-1-(2,2-DİKLORO-1-FENİLVİNİL)-2-FENİLDİAZEN YÜKLÜ KİTOSAN  
NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZİ VE KONTROLLÜ SALIMDA  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Sena Didem ERKAL TUYJİ

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sevil YÜCEL

Nanopartiküller çeşitli özgül özelliklerinden dolayı son yıllarda tıp ve nanoteknoloji alanlarında peptid ve protein taşınması, ilaç hedefleme ve kontrollü ilaç salım teknolojisi gibi çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadır. Nanopartikül sentezinde yaygın olarak kullanılan doğal polimerlerden biri kitosandır. İyi derecede biyoyumluluğu, biyobozunurluğu ve eşsiz katyonik özelliği sayesinde kitosan, nanopartiküler taşıyıcı sistemlerde sıklıkla tercih edilmektedir. (e)-1-(2,2-dikloro-1-fenilvinil)-2-fenildiazene katalitik olefinasyon reaksiyonu gerçekleştirilerek sentezlenen yüksek fizyolojik aktiviteye sahip yeni organik bir bileşiktir. Molekülün antimikrobiyal aktivitesi *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E.coli* ve *C. albicans* gibi mikroorganizmalar üzerinde araştırılmıştır. Buna ilave olarak furacilin ve nitofungin gibi yaygın olarak kullanılan ilaçlarla ve etil alkol ile antimikrobiyal aktivitesi kıyaslanmış olup güçlü antibakteriyel ve antifungal özellik gösterdiği kanıtlanmıştır.

Bu tez çalışmasında antibakteriyel ve antifungal özelliğe sahip yeni organik bir bileşik olan (e)-1-(2,2-dikloro-1-fenilvinil)-2-fenildiazene molekülünün biyoyumlu ve biyobozunur kitosan nanopartiküllerine yüklenerek biyoyumluluğunun, biyoyararlanımının artırılması ve sentezlenen nanopartiküler sistemden molekülün kontrollü salımının incelenmesi amaçlanmıştır.

Sentezlenen nanopartiküllerin zeta potansiyel ve partikül boyutları Zeta Sizer cihazı kullanılarak ölçülmüş, karakterizasyonu için FT-IR, UV-VIS ve SEM analizleri gerçekleştirilmiştir. Nanopartiküllerin enkapsülasyon etkinliği, yükleme kapasitesi ve

reaksiyon verimi hesaplamaları yapılmış, salım çalışmaları ise PBS tamponunda kümülatif salım tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Yapılan çalışmalar sonucunda istenilen özelliklerde optimum nanopartiküller elde edilerek, ilaç salım çalışmaları gerçekleştirilmiş ve 30 günün sonunda salım değerlerinin %38 – 58 aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Sentezlenen polimerik nanopartiküllerin ilaç taşıyıcısı olarak kullanımının kandaki etkin madde seviyesini kontrol ederek doz uygulamasını azaltacağı dolayısıyla hasta uyumluluğunu arttıracığı öngörülmektedir. Buna ilave olarak sentezlenen nanopartiküllerin benzer antimikrobiyal özellik gösteren moleküller için uzun süreli ve kontrollü salımda model olabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** nanopartikül, kitosan, (e)-1-(2,2-dikloro-1-fenilvinil)-2-fenildiazen, ilaç salımı



### **SYNTHESIS AND CONTROLLED RELEASE EVALUATION OF (E)-1-(2,2-DICHLORO-1-PHENYLVINYL)-2-PHENYLDIAZENE LOADED CHITOSAN NANOPARTICLES**

Sena Didem ERKAL TUYJİ

Department of Bioengineering

MSc. Thesis

Adviser: Prof. Dr. Sevil YÜCEL

Nanoparticles, due to their specific properties, have been used in a variety of applications in recent years, such as peptide and protein transport, drug targeting and controlled release in medicine and nanotechnology. One of the natural polymers widely used in the synthesis of nanoparticles is chitosan. Chitosan is often preferred in nanoparticle carrier systems because of its biocompatibility, biodegradability and unique cationic character. (e) -1- (2,2-dichloro-1-phenylvinyl) -2-phenyldiazene which synthesized by carrying out the catalytic olefination reaction is a novel organic compound with a high physiological activity. Antimicrobial activity of the molecule has been investigated by using microorganisms such as *St. aureus*, *Ps. aeruginosa*, *E.coli* ve *Cand. albicans*. In addition, antimicrobial activity has been compared with ethyl alcohol and widely used drugs such as, furacilin and nitofungin and it has been proved that has strong antibacterial and antifungal properties.

In this study, it is aimed to increase the biocompatibility and bioavailability of the molecule by loading (e)-1-(2,2-dichloro-1-phenylvinyl)-2-phenyldiazene into biocompatible and biodegradable chitosan nanoparticles and investigate controlled release of the molecule from synthesized nanoparticle system.

The zeta potential and particle size of the synthesized nanoparticles were measured using a Zeta Sizer, characterization of nanoparticles were performed by FT-IR, UV-Vis and SEM analysis. Encapsulation efficiency, loading capacity and reaction yield of

nanoparticles were calculated and release of (e)-1-(2,2-dichloro-1-phenylvinyl)-2-phenyldiazene loaded nanoparticles were performed in PBS buffer by using cumulative release technique.

In consequence of the study, optimum nanoparticles with the expected properties were obtained and it was determined that the rates of drug release varied between 38% - 58% at the end of the 30th day. It is anticipated that using polymeric nanoparticles as a drug carrier will decrease the frequency of drug dose by controlling the level of active agent in blood, thus will increase patient compliance. Furthermore, it is considered that the synthesized nanoparticles would be a model in long term and controlled release for similar antimicrobial molecules.

**Keywords:** nanoparticle, chitosan, (e)-1-(2,2-dichloro-1-phenylvinyl)-2-phenyldiazene, drug release



#### 1.1 Literatür Özeti

Nanoteknoloji malzemelerin nano boyutlarda üretilmesini ve bu malzemelerin mikroskobik ve makroskobik sistemlere entegrasyonunu ifade eder. Nanoteknoloji çok küçük parçacıkları kullanır ve nanoboyutta bu malzemelerin analiz edilmesini ve karakterizasyonunu sağlar. Nano boyutlu malzemelerin dolayısıyla nanoteknolojinin temelini boyutları nano ölçek aralığında değişen nanopartiküller oluşturmaktadır. Nanopartiküllerin kuantum boyut etkileri, benzersiz yüzey atom karakteri ve yüksek yüzey/hacim oranına sahip oluşu nanopartiküllerin eşsiz özellikleri arasındadır.

Nano boyutlu malzemeler bilim ve teknolojinin bir çok dalında yer almakla birlikte tıp, biyoteknoloji, biyomedikal ve eczacılık alanlarında son derece önemlidir. Son yıllarda eczacılık ve ilaç sektöründe kontrollü ve hedeflenmiş ilaç salım çalışmaları odak noktası haline gelmiştir.

Kontrollü salım sistemleri tedavi sırasında kullanılan ilaçların etkinliğini arttırmak amacıyla tasarlanmıştır. Böylelikle ilacın istenilen şekilde hedeflenen bölgeye verilmesi sağlanmakla kalmayıp aynı zamanda vücut içerisinde fizyolojik olarak bozunması da engellenmiş olur. Kontrollü salım sistemleriyle kandaki terapötik ilacın yan etkileri ortadan kaldırılır, vücut içerisinde daha kararlı yapıda olması sağlanır, kısa yarılanma ömrüne sahip ilaçların bozunmasının önüne geçilir ve aynı zamanda ilacın minimum dalgalanma ile sabit konsantrasyonda kalması hedeflenir. Bunlara ilave olarak uzun süreli tekrarlanabilir salım oranı sayesinde kontrollü salım sistemleri, ilaç uygulama sıklığını azaltarak hasta uyumluluğunun sağlanmasına yardımcı olur.

Kontrollü salım çalışmalarında sıklıkla boyutları 10-1000 nm arasında değişen ve hazırlama yöntemine göre nanoküre veya nanokapsül olarak isimlendirilen polimerik nanopartiküller kullanılmaktadır. Polimerik nanopartiküller hedeflenen bölge için affinitesi yüksek ligantlara bağlanabilir, eş zamanlı olarak birden fazla ilaç taşıyabilir, kendisi terapötik olacağı gibi daha büyük bir terapötik ajan taşıyabilir ve geleneksel ilaç direnç mekazimalarını atlayabilir. Bu eşsiz özellikleri sayesinde polimerik nanopartiküller kontrollü salım sistemlerinde tercih sebebidir.

Polimerik nanopartiküller üretiminde kullanılan polimerler doğal veya sentetik olmak üzere iki grup altında toplanmıştır. Sentetik polimer olarak en fazla tercih edilen polimerler poli(laktik asit)(PLA) ve poli(laktik-ko-glikolik asit)(PLGA)'dır. Doğal polimer olarak en çok tercih edilen polimer ise kitosandır. Kitosan iyi derecede biyouyumlu, biyobozunur ve suda çözünebilir eşsiz katyonik özellik gösteren bir polimerdir. Katyonik karakterde olması sayesinde negatif yüklü ilaçlar ve biyoaktif moleküllerle etkileşim sağlayabilme özelliğine sahiptir. Ayrıca tehlikeli organik solventlere ihtiyaç duyulmadan üretilebilen düşük toksisiteye sahip bir polimerdir. Yapısında bulunan serbest amin grupları sayesinde çapraz bağ kurabilme, mukoadhesiv ve in situ jelleşme özelliğine sahip kitosan, nanopartiküler kontrollü salım sistemlerinde sıklıkla tercih edilmektedir.

(e)-1-(2,2-dikloro-1-fenilvinil)-2-fenildiazen katalitik olefinasyon reaksiyonu gerçekleştirilerek sentezlenen yüksek fizyolojik aktiviteye sahip yeni organik bir bileşiktir. Yapılan çalışmalarda antimikrobiyal aktivitesi *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *C. albicans* gibi mikroorganizmalar üzerinde araştırılmıştır. Buna ilave olarak yaygın olarak kullanılan furacilin ve nitofungin gibi ilaçlarla ve etil alkol ile antimikrobiyal aktivitesi kıyaslanmış ve güçlü antibakteriyel ve antifungal özellik gösterdiği kanıtlanmıştır.

Literatürde nanopartiküler taşıyıcı sistemlerin kullanıldığı kontrollü salım sistemleri ile ilgili çok sayıda çalışma mevcuttur, ancak bu tez çalışmasında kullanılan (e)-1-(2,2-dikloro-1-fenilvinil)-2-fenildiazen molekülünün nanopartiküler sisteme yüklenmesi ve molekülün kontrollü salımıyla ilgili literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

## 1.2 Tezin Amacı

Bu çalışmada antibakteriyel ve antifungal özelliğe sahip yeni organik bir bileşik olan (e)-1-(2,2-dikloro-1-fenilvinil)-2-fenildiazen molekülünün biyouyumlu, biyobozunur, katyonik ve düşük toksisite gibi eşsiz özellikleriyle kontrollü salım çalışmalarında sıklıkla kullanılan kitosan nanopartiküllerine yüklenerek biyouyumluluğunun, biyoyararlanımının artırılması ve sentezlenen nanopartiküler sistemden molekülün kontrollü salımının incelenmesi amaçlanmıştır.

## 1.3 Hipotez

Bu yüksek lisans tez çalışmasında kitosan nanopartiküllerine etkin madde yüklemesi yapılması adına nanopartikül sentez yöntemi optimize edilmiş, belirlenen optimum koşullar altında etkin madde yüklü kitosan nanopartikülleri sentezlenerek karakterizasyon çalışmaları tamamlanmış ve seçilen nanopartiküller ile kontrollü salım çalışması gerçekleştirilmiştir. Optimize edilen sentez yönteminin ileride yapılacak çalışmalara yol göstereceği düşünülmektedir.

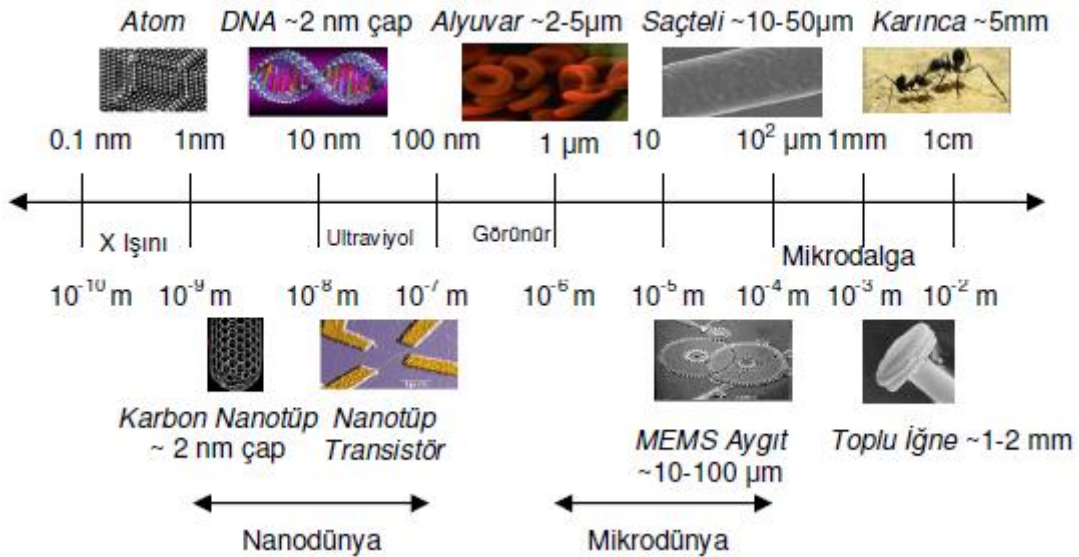
(e)-1-(2,2-dikloro-1-fenilvinil)-2-fenildiazen molekülü yüksek fizyolojik aktiviteye sahip antibakteriyel ve antifungal özellik gösteren yeni organik bir bileşiktir. Literatürde bu molekül ile yapılan nanopartikül çalışması olmaması, bu çalışmanın (e)-1-(2,2-dikloro-1-fenilvinil)-2-fenildiazen ve benzer antimikrobiyal özellik gösteren moleküller için model niteliği taşıyabileceğini düşündürmektedir.

## BÖLÜM 2

### NANOTEKNOLOJİ

Nanoteknoloji malzemelerin nano boyutlarda üretilmesini ve bu malzemelerin mikroskobik ve makroskobik sistemlere entegrasyonunu ifade eder. Nanoteknoloji çok küçük parçacıkları kullanır ve nanoboyutta bu malzemelerin analiz edilmesini ve karakterizasyonunu sağlar [1]. Nanometrenin büyüklüğünün daha iyi anlaşılması amacıyla Şekil 2.1’de değişik uzunluk ölçüleri gösterilmiştir [2].

Nanoteknoloji, multidisipliner bir alandır. Bu yeni teknoloji ile birlikte Malzeme Bilimi, Matematik, Fizik, Kimya, Biyoloji, Eczacılık ve Tıp, Bilgisayar, Elektronik Bilimleri gibi bilim dallarından araştırmacılar bir arada çalışır [3].



Şekil 2.1 Değişik uzunluk ölçüleri [2]

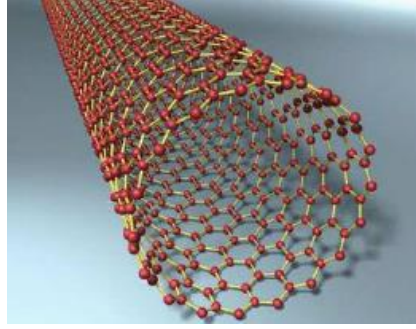
Nanoteknolojinin tarihsel gelişimi incelenecek olursa erken uygulamaları seramik antikalar için cam işçiliğinden başlayarak modern öncesi dönemlere kadar uzanmaktadır. Nanometre kavramı ise ilk kez 1925 yılı kimya alanında Nobel Ödülü

sahibi Richard Zsigmondy tarafından ortaya atılmıştır. Parçacık boyutunu karakterize etmek için nanometre terimini kullanmış ve mikroskop kullanarak altın kolloidlerinin parçacık boyutunu ölçmüştür [4].

Modern nanoteknoloji Richard Feynman'ın 1959'da Amerikan Fizik Derneği Toplantısı'nda yaptığı tarihi konuşmasıyla başlamıştır. Feynman bu konuşmasında maddelerin atomik seviyede kontrol edilebileceği kavramını ortaya atarak nanoteknolojinin muazzam kapasitesini ve potansiyelini vurgulamıştır. Bu konuşmadan yaklaşık 15 yıl sonra Japon bilim insanı Norio Taniguchi nanoteknoloji terimini nanometre boyutunda gerçekleşen yarı iletken prosesleri tanımlamak için kullanmıştır. Nanoteknolojinin altın ağı Kroto, Smalley ve Curl'in 1980'lerde fullerenleri keşfetmesiyle başlamıştır [4].

1981 yılında Heinrich Rohrer ve Gerd Karl Binnig tarafından atomik ölçekte çözünürlük sağlayan Taramalı Tünel Mikroskobu (STM) keşfedilmiştir. Bu sayede elektron mikroskobuyla görülemeyen atom parçacıkları 2000 kez büyütme özelliği olan bu mikroskop sayesinde gözlenebilmiştir. 1986 yılında ise G.Binnig, C.F.Quate ve Ch.Gerber Atomik Kuvvet Mikroskobu'nu (AFM) keşfetmişlerdir. Ayrıca aynı yıl nanoteknoloji ile ilgili ilk kitap olan olan "Engines of Creation: The Coming Era of Nanotechnology (Yaratılış Motorları: Nanoteknolojinin Gelen Dönemi)" Eric Drexler tarafından yayımlanmıştır. Drexler moleküler nanoteknoloji kavramını ortaya atmıştır ve nanoteknoloji teriminin yaygınlaşmasına öncülük etmiştir [4], [5].

Nanoteknolojinin ilerlemesi 1991 yılında Sumio Iijima isimli Japon bilim insanının karbon nanotüplerini geliştirmesiyle devam etmiştir. Tek duvarlı karbon nanotüp Şekil 2.2'de gösterilmiştir. Ayrıca 1986 yılında keşfedilen Atomik Kuvvet Mikroskopu (AFM) ilk kez canlı hücreler üzerinde kullanılmış, antikorların etkileri ve canlı alyuvarların tuzluluk değişimleri gözlemlenmiştir [5].



Şekil 2.2 Tek duvarlı karbon nanotüp [6]

21. yüzyılın başlarında ise nanoteknolojiye duyulan ilgi gittikçe artmıştır. Amerika Birleşik Devletleri'nde maddenin atomik seviyede kontrol edilebilmesi bilimsel çalışma önceliklerinin belirlenmesinde önemli rol oynamıştır. 21 Ocak 2000'de başkan Bill Clinton Caltech'de yaptığı konuşmasında nanoteknoloji konusundaki çalışmaların destekleneceğini bildirmiştir. Üç yıl sonra, başkan George W. Bush Nanoteknoloji Araştırma ve Geliştirme Kanunu'nu imzalamıştır. Bu yasayla birlikte nanoteknoloji araştırmaları ulusal bir öncelik haline gelmiş ve Ulusal Teknoloji Girişimi oluşturulmuştur [4].

2006 yılına gelindiğinde ise, kansere karşı vücudun belirli bölgelerine ilaç salımında kullanılmak üzere nanopartiküller geliştirilmiştir. Harvard Tıp Fakültesi, MIT, Harvard Kanser Nanoteknoloji Mükemmeliyet Merkezi ve Gwangju Bilim ve Teknoloji Enstitüsü'nden bilim insanları nanopartiküllerin kanser tedavisinde başarıyla kullanıldığını açıklamışlardır [5].

Günümüzde nanoteknoloji, neredeyse her alanda farklı uygulama ve ürün olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nanoteknolojik ürünlerin büyük çoğunluğu günlük yaşantımıza dahil olmuştur. Bunlardan bazıları leke tutmaz masa örtüleri, kir tutmaz bebek elbiseleri, su tutmaz, ıslanmaz, kirlenmez boyalar, güneş kremleri, traş losyonları gibi ürünlerdir. Çizelge 2.1'de global pazarda yer bulan nanoteknoloji esaslı ticari ürünler gösterilmiştir [7].

Çizelge 2.1 Global pazardaki nanoteknoloji esaslı ticari ürünler [7]

| Otomotiv                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Giyim ve Tekstil                                                                                                                                                                                                                                              | Kozmetik                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Hava ve yağ filtreleri</li> <li>➤ Cilalar, motor yağı</li> <li>➤ Çizilmez yüzey</li> <li>➤ Araba cilası</li> <li>➤ Hava temizleyicileri</li> <li>➤ Yakıt tüketimini iyileştirmek için katalizörler</li> <li>➤ Lastikler</li> </ul>                                                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Buruşmaz ve leke tutmaz giysiler</li> <li>➤ Antibakteriyel ve koku önleyici giysiler</li> <li>➤ Antibakteriyel kumaş</li> <li>➤ UV'ye dayanıklı ve koruyucu giysiler</li> <li>➤ Alev geciktirici kumaşlar</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Cilt kremleri ve nemlendiriciler</li> <li>➤ Cilt temizleyicileri</li> <li>➤ Güneş kremleri</li> <li>➤ Makyaj malzemeleri</li> <li>➤ Makyaj gidericiler</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                               |
| Elektronik                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Besin ve Besin Takviyeleri                                                                                                                                                                                                                                    | Ev                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Piller</li> <li>➤ Görüntüleyiciler-elektronik</li> <li>➤ Organik ışık yayan LED'ler</li> <li>➤ Anti bakteriyel ve statik önleyici kaplamalar(klavye,mouse,cep telefonları)</li> <li>➤ DVD kaplamaları</li> <li>➤ MP3 oynatıcıları</li> <li>➤ Bilgisayar işlemcileri ve çipler</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Enerji içecekleri</li> <li>➤ Besin takviyeleri</li> <li>➤ Gıda saklama kapları</li> <li>➤ Antibakteriyel mutfak eşyaları</li> <li>➤ Plastik ambalajlar</li> <li>➤ Nanoçay, kanola aktif yağı vb.</li> </ul>          | <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Antibakteriyel mobilya ve minderler</li> <li>➤ Antibakteriyel kaplamalı aletler</li> <li>➤ Filtreler</li> <li>➤ Hava temizleyicileri</li> <li>➤ Kendi kendini temizleyebilen cam</li> <li>➤ Antibakteriyel UV dayanıklı boyalar</li> <li>➤ Ütüler, elektrik süpürgeleri</li> <li>➤ Güneş pilleri</li> <li>➤ Temizlik ürünleri</li> <li>➤ Dezenfektan spreylere</li> <li>➤ Yumuşatıcı</li> </ul> |

Çizelge 2.1 Global pazardaki nanoteknoloji esaslı ticari ürünler (Devamı) [7]

| Kişisel Bakım/Sağlık                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Spor Ekipmanları                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Oyuncaklar ve Çocuk Eşyaları                                                                                                                                                                                               |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ İşitme cihazları</li> <li>➤ Kontak lensler</li> <li>➤ Vücut yıkama</li> <li>➤ Suni deri</li> <li>➤ Diş macunu</li> <li>➤ Şampuanlar, saç kremleri</li> <li>➤ Deodorantlar</li> <li>➤ Böcek kovucular</li> <li>➤ Antibakteriyel kremler</li> <li>➤ Bandaj vb.</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Golf sopaları ve topları</li> <li>➤ Tenis racketleri ve topları</li> <li>➤ Beyzbol sopaları</li> <li>➤ Hokey sopaları</li> <li>➤ Kayaklar ve snowboardlar</li> <li>➤ Kayak cılası</li> <li>➤ Bisiklet parçaları</li> <li>➤ Dalgıç kıyafetleri</li> <li>➤ Ayakkabı tabanlıkları</li> <li>➤ Antibuğu kaplamalar</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Leke dirençli peluş oyuncaklar</li> <li>➤ Antibakteriyel bebek emzikleri, kupalar ve şişeler</li> <li>➤ Oyun kutuları</li> <li>➤ Antibakteriyel doldurulmuş oyuncaklar</li> </ul> |

Nanoteknoloji sayesinde enerji kaynaklarında yapılan tasarruf ile enerji maliyetleri azalır bununla birlikte daha az maliyetli daha çok üretim avantajı sağlanır. Nanoteknolojiyle üretim süreçleri kısaltılarak maliyetten ve zamandan kazanılır, rekabet gücü artırılır. Bu teknolojiyle üretilen ürünlerin kalitesi yüksektir bu sayede insanların yaşam standartları ve kalitesi yükseltilerek insanlığa daha sağlıklı yaşam olanağı sağlanmış olur. Aynı zamanda nanoteknoloji ulusal gelir düzeyinin de yükselmesine neden olur [8].

## 2.1 Nanopartiküller

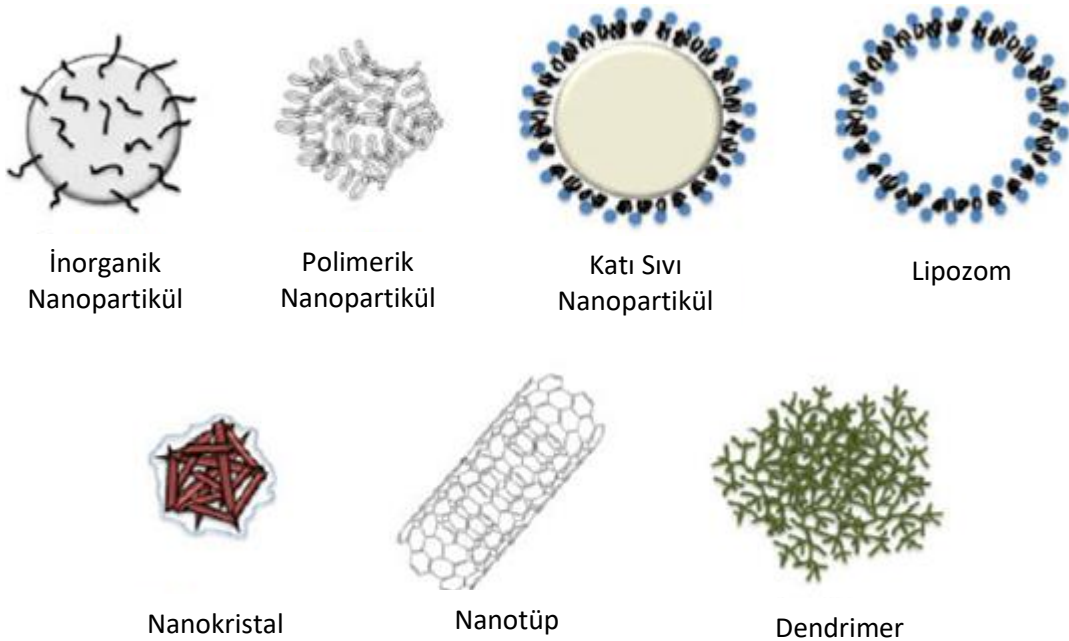
Nanopartiküller boyutları nano ölçek aralığında değişen nano boyutlu malzemelerin dolayısıyla nanoteknolojinin temelini oluşturmaktadır. Nanopartiküllerin kuantum boyut etkileri, elektronik yapısının boyut bağımlılığı, benzersiz yüzey atom karakterleri ve yüksek yüzey/hacim oranı nanopartiküllerin eşsiz özellikleri arasındadır [9].

Nanopartiküler sistemler inorganik nanopartiküller ve organik nanopartiküller olarak iki alt gruba ayrılmaktadır. Organik nanopartiküller dendrimerler, nanoküreler,

nanokapsüller, karbon nanotüpler, lipozomlar, polimerik nanopartiküller ve hidrojeller olarak sınıflandırılır. İnorganik nanopartiküller ise metalik nanopartiküller, kuantum noktaları ve silika nanopartiküllerini kapsamaktadır. Çizelge 2.2’de çeşitli nanosistem türleri ve boyutları gösterilmektedir [10]. Biyomedikal çalışmalarda ve ilaç salımında kullanılan nanopartikül çeşitleri Şekil 2.3’te gösterilmiştir [11].

Çizelge 2.2 Nanosistem türleri ve boyutları [10]

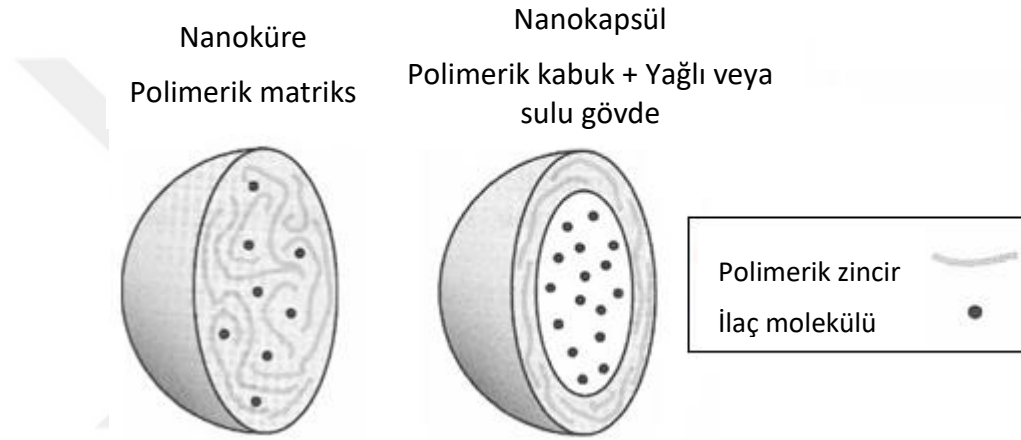
| Nanosistem türü            | Boyut(nm)                   |
|----------------------------|-----------------------------|
| Karbon nanotüp             | 0,5-3 çap / 20-1000 uzunluk |
| Dendrimer                  | <10                         |
| Lipozom                    | 50-100                      |
| Metalik nanopartikül       | <100                        |
| Nanokristal<br>Kuantum dot | 2-9,5                       |
| Polimerik misel            | 10-100                      |
| Polimerik nanopartikül     | 10-1000                     |



Şekil 2.3 Biyomedikal çalışmalarda ve ilaç salımında kullanılan nanopartiküller [11]

### 2.1.1 Polimerik Nanopartiküller

Polimerik nanopartiküller boyutları 10-1000 nm arasında değişen, hazırlama yöntemine göre nanoküre veya nanokapsül olarak isimlendirilen matriks sistemlerdir [12]. Nanoküreler etkin maddenin polimerik matriks içinde çözündüğü, hapsedildiği veya kısmen yüzeye adsorbe edildiği sistemlerdir. Nanokapsüller ise etkin maddenin polimerik bir membran tarafından çevrelendiği sulu veya yağlı bir çekirdek içinde bulunduğu veziküler sistemlerdir. Nanokapsüller bu nedenle rezervuar sistem olarak düşünülebilir [13]. Nanoküre ve nanokapsül yapısı şematik olarak Şekil 2.4'te gösterilmiştir.



Şekil 2.4 Nanoküre ve nanokapsül yapısının şematik gösterimi [14]

Polimerik nanopartiküller ilk defa aşı ve kanser tedavisinde kullanılan kemoterapötik ajanlar için taşıyıcı sistemler olarak geliştirilmiştir. Daha sonraki çalışmalarda istenilen bölgeye hedefleme mekanizmalarıyla kanser tedavisinde kullanılması amaçlanmıştır[13].

Nanopartiküler sistemlerin en önemli özelliği partikül büyüklüğü dağılımıdır. Bu özellik sayesinde sistemin *in vivo* dağılımı, biyolojik durumu, toksisitesi ve hedefleme mekanizması hakkında bilgi sahibi olunur. Partikül büyüklüğü, ilaç yükleme ve salım kapasitesini değiştirmekle birlikte nanopartikülün stabilitesi üzerinde de etkili olmaktadır. Küçük nanopartiküller büyük yüzey alanına sahip olmaları sayesinde daha hızlı salım gerçekleştirirler [15]. Nanopartiküller mikro boyuttaki sistemlerle karşılaştırıldığında hücre içine daha fazla girmektedirler. Desai ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, 100 nm boyutundaki nanopartiküllerin 1 µm boyutundaki mikropartiküllere

oranla iki buçuk kat daha fazla, 10 µm boyutundaki mikropartiküllere oranla ise altı kat daha fazla hücre içine alınabildiğini göstermişlerdir [16].

Nanopartiküller ilacı kontrollü olarak salmalı ve hedeflenen bölgede toplamalı, stabilite sorunları olmamalı, kolaylıkla sterilize edilebilmeli, taşıyıcı fizyolojik ortamda parçalanmalı ve partikülün parçalanma ürünleri toksik olmamalıdır [17].

#### **2.1.1.1 Polimerik Nanopartiküllerin Özellikleri ve Avantajları**

Polimerik nanopartiküller ilaçlar, proteinler, peptidler ve genlerin ilgili dokuya hedeflendirilmesini ve taşınmasını sağlayan sistemlerdir. Küçük partikül boyutuna sahip olması, küçük kapillerlerden geçerek hücrelere girebilmesi ve hedeflenen bölgede etkin madde salımını gerçekleştirebilmesi nanopartiküllerin en büyük avantajıdır. Buna ilave olarak biyobozunur malzemelerden üretilmesi sayesinde hedeflenen bölgede kontrollü etkin madde salımını gerçekleştirebilmektedir [12].

Polimerik nanopartiküller kontrollü salım sistemlerinde eş bulunmayan dört özellik göstermektedirler. Hedeflenen doku için affinitesi yüksek ligantlara bağlanabilir, eş zamanlı olarak birden fazla ilaç taşıyabilir, kendisi terapötik olacağı gibi daha büyük bir terapötik ajan taşımak için de kullanılabilir ve geleneksel ilaç direnç mekanizmalarını atlayabilirler [17].

Bunlara ilave olarak polimerik nanopartiküllerin etkin madde yükleme kapasitelerinin yüksek olması etkin maddenin hücre içi dağılımını artırır. Polimerik partiküler yapı sayesinde katı matriks içerisine hapsedilen etkin madde herhangi bir zarara uğramadan hedeflenen dokuya rahatlıkla ulaştırılır. Aynı zamanda polimerik yapıları etkin maddenin hedeflendirilmesini, salımının kontrolünü ve sürdürülmesini sağlar. Bu sayede hedeflenen dokuda uygulama yapıldıktan haftalar sonra bile süren etkin madde salımına imkân verir [18].

Polimerik nanopartikül boyutlarının küçük olması küçük kapillerlere kolayca penetre olmasını ve hücreler tarafında kolaylıkla tutulmasını sağlar. Bu sayede hedeflenen bölgede etkin madde salımı sağlanmış olur. Etkin maddenin vücuttaki dağılımını ve terapötik aktivitesini düzenlerler. Ayrıca sadece hedeflenen bölgede salım gerçekleştiğinden etkin maddenin diğer dokulardaki sistemik toksisitesi de

azalmaktadır. Nanoenkapsülasyon özelliği sayesinde de dokular ilaçların ilk bozunmalarına bağlı oluşan toksik etkiden korunmaktadır [18], [19].

Polimerik nanopartiküller diğer kolloidal taşıyıcı sistemlere kıyasla biyolojik sıvılarda daha fazla stabilite göstermektedir. Fizyolojik ortamda parçalanabilir ve parçalanma sonrası oluşan ürünler toksik özellik göstermezler [12].

Son olarak polimerik nanopartiküllerin farklı yöntemlerle kolaylıkla sterilizasyonu sağlanabilir ve üretim teknikleri çoğunlukla basittir [15].

### **2.1.2 Nanopartikül Üretiminde Kullanılan Polimerler**

Nanopartikül üretiminde kullanılan polimerin seçiminde nanopartikülün boyutu, yüzey özellikleri, kullanılacak olan ilacın tipi, fiziksel özelliği, dozu ve salım süresi gibi parametrelerin yanı sıra polimerin biyoparçalanabilirlik, biyouyumluluk ve toksisite dereceleri de dikkate alınmaktadır [20].

Nanopartikül üretiminde yaygın olarak kullanılan polimerler Çizelge 2.3'te gösterilmiştir.

Doğal ve sentetik olmak üzere iki grup altında toplanmıştır.

- Doğal Polimerler
  - Proteinler (albumin, jelatin)
  - Polisakkaritler (aljinat, kitosan, dekstran)
- Sentetik Polimerler
  - Önceden sentezlenenler [poli(anhidrit), poli(kaprolakton)(PCL), poli(laktik asit)(PLA), poli(laktik-ko-glikolik asit)(PLGA)]
  - Üretim sırasında sentezlenenler [poli(siyano-akrilat)(PACA), poli(bütül-siyano-akrilat)(PBCA)] şeklinde sınıflandırılmaktadır [21].

Nanopartiküller ilk defa doğal polimer olarak biyolojik ortamda parçalanmayan albümin kullanılarak üretilmiştir. Doğal polimerlerin en önemli avantajları temin edilmesinin kolay olması, diğer polimerlerden daha ucuz olması, bozunma ürünlerinin vücuttan rahat uzaklaştırılması ve nontoksik olması olarak sıralanabilir. Bu avantajları

sayesinde saflaştırma problemine rağmen hücre içi kullanımda tercih edilmektedirler. Bununla birlikte proteinler kullanılarak hazırlanan nanopartiküllerde proteinlere karşı gelişen antijenik reaksiyonlar sorun olmaktadır. Polisakkarit grubu içerisinde ise en yaygın kullanılan polimer kitosandır. Biyoparçalanır ve biyouyumlu olması, düşük antijenik özellik göstermesi ve toksik olmaması sayesinde kitosan sıklıkla tercih edilmektedir [18], [22].

Sentetik polimer olarak nanopartikül üretiminde kullanılan polimerler poli (akrilamit) ve poli (metil metakrilat)'tır. Üretim sırasında sentezlenen sentetik polimerler hidrofobik tipte olup vücutta parçalanabildikleri için toksik özellikteki monomerlerinin ortamda kalma ihtimali sebebiyle fazla tercih edilmezler. Önceden sentezlenen sentetik polimerler ise suda çözünmezler ancak biyolojik sıvılarla etkileşim gösterip hidroliz olurlar veya enzimlerle vücutta parçalanabilirler. Fazla miktarda ve yüksek saflıkta üretilebilmeleri, hazırlama ve saklama sürecinde dayanıklı olmalarından dolayı tercih edilmektedir. Bununla birlikte sentetik polimerler kullanılarak hazırlanan nanopartiküllerdeki en büyük problem toksisite riskidir [15], [18].

Çizelge 2.3 Nanopartikül üretiminde yaygın olarak kullanılan polimerler [15]

| <b>Polimer Tipleri</b>  | <b>Polimer İsimleri</b>                                                                                                                                                                                                          |
|-------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Sentetik Polimerler     | Poli (laktik asit)<br>Poli (laktik-ko-glikolik asit)<br>Poli ( $\epsilon$ -kaprolakton)<br>Poli (izobütillsiyanoakrilat)<br>Poli (izoheksilsiyanoakrilat)<br>Poli (n-bütillsiyanoakrilat)<br>Poli (akrilat)<br>Poli (metakrilat) |
| Doğal Polimerler        | Kitosan<br>Aljinat<br>Jelatin<br>Albumin                                                                                                                                                                                         |
| Blok kopolimerler       | Poli (laktik asit)-poli (etilen glikol) (PLA-PEG)<br>Poli (kaprolakton)-poli (etilen glikol) (PCL-PEG)<br>Poli (heksadesilsiyanoakrilat)-ko-poli (etilen glikol) (PHDCA-PEG)                                                     |
| Kolloidal stabilizanlar | Dekstran<br>Poli (vinil alkol)<br>Tween® 20 veya Tween® 80                                                                                                                                                                       |

Bu tez çalışmasındaki nanopartiküller kitosan polimeri kullanılarak üretildiğinden kitosan polimerine ait genel bilgiler aşağıda detaylı olarak verilmiştir.

### 2.1.2.1 Kitin

Kitin, poli( $\beta$ -(1-4) -N-asetil-D-glukozamin) büyük öneme sahip bir polisakkarittir ve ilk olarak 1884 yılında tanımlanmıştır. Selülozdan sonra doğada en sık bulunan biyopolimerdir. Selüloz ve kitin yapısal benzerliğe sahip polisakkaritler olup kitinde selülozdaki hidroksil grubunun yerine ikinci karbon atomuna bağlı asetamid grubu bulunmaktadır [23].

Çeşitli kitin kaynakları Çizelge 2.4'te verilmiştir. Esas olarak eklembacaklıların (böcekler, kabuklular, araknidler) ve yumuşakçaların dış iskeletinden elde edilmektedir. Yengeçlerin dış iskeletinde yaklaşık %17, karideste ise yaklaşık %32 oranında kitin bulunmaktadır. Bununla birlikte mantarların ve mayaların hücre duvarlarında, diatomların dikenlerinde kitin bulunmaktadır. Kitin canlı organizmalara sağlamlık ve güçlü bir yapı kazandırmaktadır. Ayrıca böceklerin ve kabuklu deniz canlılarının yapısında bulunması kitinin yenilenebilir bir kaynak olduğunu göstermektedir [23], [24].

Çizelge 2.4 Çeşitli kitin kaynakları [23]

| Alem            | Şube                                             | Sınıf                                                           |
|-----------------|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| Eklembacaklılar | Böcekler<br>Kabuklular<br>Araknidler             | Böcek, ipekböceği<br>Yengeç, karides, istakoz<br>Akrep, örümcek |
| Yumuşakçalar    | Karındanbacaklılar<br>Kafadanbacaklılar          | Opisthobranchia<br>Kalamar gagası, mürekkepbalığı kemiği        |
| Mantarlar       | Eurotimiçetler<br>Sakkaromiçetler                | <i>Aspergillus niger</i><br><i>Candida albicans</i>             |
| Algler          | Basilaryofiseler<br>Phayofiseler<br>Klorofiseler | Diyatom<br>Kahverengi alg<br>Yeşil alg                          |

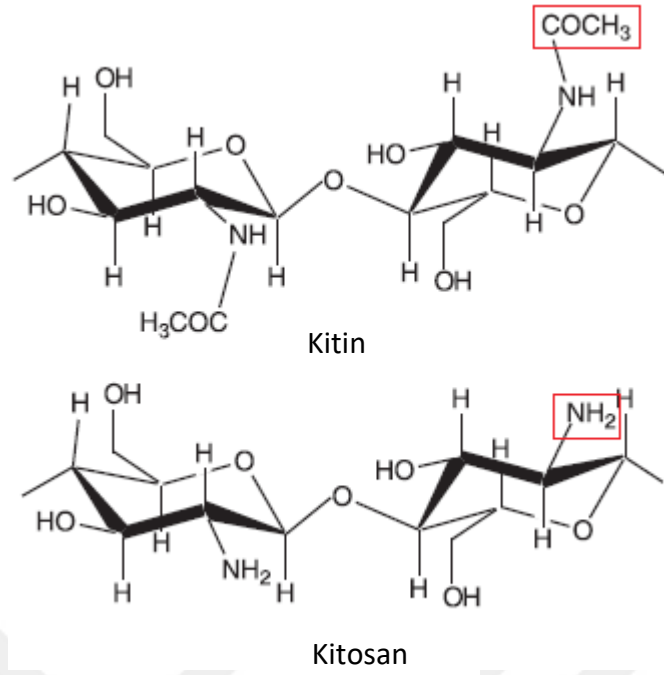
Kitin polimer yapısındaki dizilime göre  $\alpha$ -kitin,  $\beta$ -kitin ve  $\delta$ -kitin olmak üzere üç formda bulunmaktadır [25], [26].

- $\alpha$ -kitin: Doğada en fazla bulunan ve en stabil formudur, diğer kristal yapılara göre daha serttir.
- $\beta$ -kitin:  $\alpha$ -kitine göre daha az kararlıdır, çözülme ve şişme halinde  $\alpha$ -kitine dönüşür, esneklik ve yumuşaklık gereken bölgelerde bulunur, fungal hücre duvarlarının temel bileşenidir.
- $\delta$ -kitin: Diğer kitin formlarına göre nadir bulunur,  $\alpha$  ve  $\beta$ -kitinin ara formu olarak düşünülmektedir.

Kitin ilk defa 1811 yılında Profesör Henri Braconnot tarafından keşfedilmiştir. Polisakkarit yapısı mantardan izole edilerek fungi olarak isimlendirilmiştir. Daha sonra 1823 yılında Odier aynı maddeyi böceklerin dış iskeletinde bulmuştur ve kitin adını vermiştir. 1859 yılında Rougnet kimyasal modifikasyon sonrası kitinin suda çözünebilir bir forma dönüşebileceğini keşfetmiştir. 1870 yılında ise değiştirilmiş kitin kitosan olarak adlandırılmıştır [23].

#### **2.1.2.2 Kitosan**

Kitosan  $\beta(1-4)$  bağlı D-glukozamin ünitelerinden oluşan lineer bir polisakkarittir [27]. Kitosan ile kitin kimyasal olarak birbirlerine benzemekle beraber yalnızca genel karbonhidrat yapısındaki iki numaralı karbona bağlı gruplarında farklılık vardır. Kitin ve kitosanın kimyasal yapıları Şekil 2.5'te gösterilmektedir. Kitosanda bu karbona amin grubu bağlıyken kitinde ise N-asetil grubu bağlıdır. Kitosanın kitine göre avantajı seyreltik asetik asit içinde kolayca çözünebilmesi ve birçok kimyasal reaksiyon için aktif kısım olan serbest amin grubuna sahip olmasıdır [28].



Şekil 2.5 Kitin ve kitosanın kimyasal yapıları [29]

Kitosan alkalın veya enzimatik yöntemlerle kitinin kısmi deasetilasyonu ile elde edilir. Buradaki amaç asetil grubunu ( $\text{COCH}_3$ ) uzaklaştırmaktır. Kitosanın deasetilasyon derecesi, kitinin kaynağı ve izolasyon yöntemi gibi çeşitli etmenlere bağlı olarak değişir. Deasetilasyon derecesi genellikle glukozamin/N-asetil glukozamin olarak tanımlanır. N-asetil glukozamin yüzdesi glukozaminden yüksek ise biyopolimer kitin olarak adlandırılır, glukozamin yüzdesi N-asetil glukozamin yüzdesini aştığında ise biyopolimer kitosan olarak adlandırılır [23], [30].

Kitosanda bulunan amin grupları çözünme esnasında protonlanır ve kitosan pozitif yüklenmiş olur. Piyasada bulunan tek suda çözünür katyonik biyopolimerdir. Bu eşsiz özelliği sayesinde gıda, kozmetik ve eczacılık gibi geniş bir uygulama yelpazesine sahiptir [23]. Diğer polimerlerden farklı olarak zayıf bazik gruplarından dolayı hidrofilik özellik gösteren bir polimerdir ve bu sayede makromoleküllerle ve negatif yüklü polimerlerle etkileşebilme yeteneği bulunmaktadır [30], [31].

Kitosanın özelliklerine etki eden parametreler deasetilasyon derecesi, molekül ağırlığı, viskozite, çözünürlük ve renk şeklinde sıralanabilir. Kitosanın deasetilasyon derecesi başta çözünme özelliği olmak üzere kitosanın diğer özelliklerini etkilemektedir. Deasetilasyon derecesi ninhidrin testi, lineer potansiyometrik titrasyon, yakın-infrared spektroskopisi gibi çeşitli yöntemlerle belirlenmektedir [32].

Kitosanın molekül ağırlığı elde edildiği kaynağa ve deasetilasyon koşullarına bağlıdır. Ortamdaki oksijen varlığı, kitosanın parçalanmasına sebep olup molekül ağırlığını düşürür. Buna ilave olarak kitosanın molekül ağırlığını çok yüksek sıcaklıklar da olumsuz etkilemektedir. 280 °C'den daha yüksek sıcaklıklarda kitosanın polimer zinciri koparak kitosan parçalanır dolayısıyla molekül ağırlığında düşüş gözlenir. Jel geçirgenlik kromatografisi, ışık saçılma spektroskopisi ve viskozimetrik yöntemlerle kitosan molekül ağırlığı tespit edilmektedir [33]. Kitosanın molekül ağırlığı 50 - 2000 kiloDalton (kDa) arasında değişebilmektedir. Molekül ağırlığına göre yüksek, orta veya düşük molekül ağırlıklı kitosan olarak sınıflandırılır. Molekül ağırlığının yüksek olması ve dallanmamış düz yapısı sayesinde kitosan asidik ortamlarda viskozite arttırıcı madde özelliği gösterir. Kitosanın psödoplastik davranışı ve kayma hızının artmasıyla viskozite azalır. Kitosan konsantrasyonu arttıkça, ortam sıcaklığı azaldıkça ve kitosanın asetilasyon derecesi arttıkça kitosan çözeltisinin viskozitesi artar [30], [34].

Kitosan D-glukozaminden dolayı sulu çözelti içinde nötral ve alkali pH'larda çözünmez, ancak katyonik yapısı sebebiyle Çizelge 2.5'te de gösterilen (asetik asit gibi) seyreltik asitlerin (pH<6-6,5) varlığında suda çözünebilir. İnorganik asitler içerisinde ise çözünürlüğü oldukça düşüktür [23], [32].

Çizelge 2.5 Kitosanın çeşitli organik asitler içerisinde çözünebilirlik durumu [32]

| Asitler  | Kitosan Konsantrasyonu |    |     |     |      |
|----------|------------------------|----|-----|-----|------|
|          | %1                     | %5 | %10 | %50 | >%50 |
| Asetik   | +                      | +  | +   |     |      |
| Sitrik   | -                      | +  | +   |     |      |
| Formik   | +                      | +  | +   | +   | +    |
| Laktik   | +                      | +  | +   |     |      |
| Malik    | +                      | +  | +   |     |      |
| Malonik  | +                      | +  | +   |     |      |
| Tartarik | -                      | -  | +   |     |      |

(+): çözünebilir, (-): çözünemez

Kitosanın çözünürlüğü sıcaklık, çözücü konsantrasyonu ve partikül büyüklüğü gibi etmenlere bağlı olarak değişmektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda % 75 - 80 deasetilasyon derecesine sahip kitosanın optimum çözünürlüğe sahip olduğu tespit edilmiştir [35].

Toz halindeki kitosanın rengi açık sarıdan beyaza kadar olan tonlarda değişmektedir. Kitinden kitosan eldesi sırasında renk giderilmesi aseton ile ekstraksiyon ve devamında % 0,3 NaOCl ile oda sıcaklığında yapılan 5 dk'lık işlem sonunda gerçekleşmektedir. Renk giderme için alternatif olarak  $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{NaHSO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$  veya  $\text{H}_2\text{O}_2$  gibi kimyasallar da kullanılabilir [35].

İyi derecede biyouyumluluğu, biyobozunurluğu, katyonik karakterde ve çevre dostu olmasında dolayı kitosan, son yıllarda çeşitli sektörlerde oldukça önem kazanmıştır [36]. Kitosanın sahip olduğu bu özellikler araştırmacılar tarafından oldukça küçük kitosan partikülleri hazırlanarak incelenmiştir. Bu çalışmalar sonucunda mikro ve nanoboyutta kitosan partikülleri elde edilmiştir. Elde edilen parçacıkların parçacık boyutunun azalmasıyla özellikle antimikrobiyal, antifungal, antitümör ve antibakteriyel özelliklerinde artış gözlenmiştir [37].

## **2.2 Kitosan Nanopartikülleri**

Kitosan polimeri kullanılarak hazırlanan nanopartiküller ilk defa 1994 yılında Ohya ve arkadaşları tarafından emülsifikasyon ve çapraz bağlanma yöntemi kullanılarak üretilmiştir ve bir antikanser ilacı olan 5-fluorourasil'i taşıyan nanopartiküllerin vücuda gönderilmesi düşünülmüştür [38]. O zamandan beri bu sistemlerin ilaç taşıyıcı özellikleri kapsamlı bir şekilde araştırılmış ve etkin maddenin yüklenebilmesi için başta emülsifikasyon yöntemi olmak üzere çeşitli modifikasyonlarla ikincil matriks bileşenini de içeren farklı hazırlama yöntemleri geliştirilmiştir [39].

### **2.2.1 Kitosan Nanopartikül Üretim Yöntemleri**

Nanopartiküllerin daha önce de belirtildiği gibi çok çeşitli üretim yöntemleri bulunmaktadır. Üretim yöntemine; kullanılan etkin maddenin çözünürlüğüne ve polimerin yapısına göre karar verilmektedir. Formülasyon koşulları nanopartikülün

iç yapısını belirlemektedir ve bunun sonucunda da farklı karakterdeki nanopartiküller farklı *in vitro* salım davranışları göstermektedirler [40].

İlk zamanlar monomerlerin polimerizasyonuna dayanan yöntemler kullanılmıştır. Günümüze doğru gelindikçe karakterizasyonu tam olarak sağlanmış, önceden sentezlenmiş polimer veya doğal makromoleküllerin dispersiyonuna dayalı yöntemler geliştirilmiştir [21].

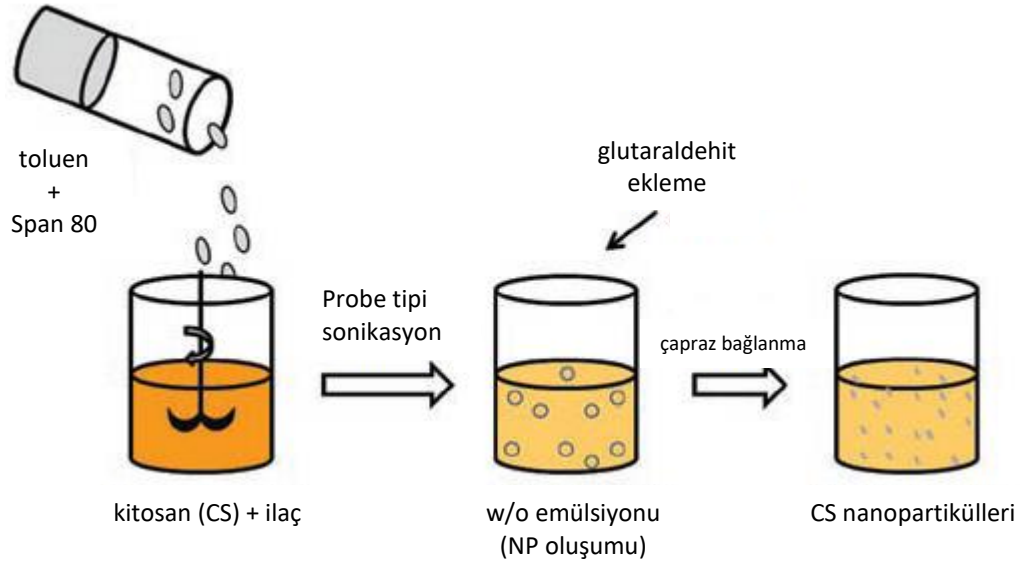
Kitosan üretim yöntemleri ve matriks bileşenleri Çizelge 2.8’de özetlenmiştir. Bu yöntemler aşağıdan yukarıya üretim grubuna dahildir ve çözeltideki moleküllerin birleşerek nanopartiküler sistemi oluşturma prensibine dayanır [39].

Çizelge 2.6 Kitosan üretim yöntemleri ve matriks bileşenleri [39]

| Üretim Yöntemi                    | Matriks Bileşenleri          |
|-----------------------------------|------------------------------|
| Emülsifikasyon ve Çapraz Bağlanma | Kitosan, glutaraldehit       |
| Emülsiyon Çözücü Difüzyon         | Kitosan                      |
| Ters Misel                        | Kitosan, glutaraldehit       |
| İyonik Jelasyon                   | Kitosan, tripolifosfat (TPP) |
| Desolvasyon                       | Kitosan                      |

#### 2.2.1.1 Emülsifikasyon ve Çapraz Bağlanma

Emülsifikasyon ve çapraz bağlanma yöntemi kitosan nanopartikülleri oluşturmak için kullanılan ilk yöntemdir. Bu yöntem w/o (su fazı/organik faz) emülsiyonun hazırlanmasını ve oluşan damlaları sabitleştirici ve bağlayıcı görevi gören bir çapraz bağlayıcı ajanın ilave edilmesini içerir. Emülsifikasyon ve çapraz bağlanma yöntemi Şekil 2.6’da şematik olarak gösterilmiştir. Ohya ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, emülsiyon oluşumu sonrasında çapraz bağlayıcı olarak eklenen glutaraldehitin aldehit gruplarıyla kitosanın reaktif gruplarının kovalent çapraz bağ oluşturarak nanopartiküllerin sentezlendiğini göstermişlerdir [38].

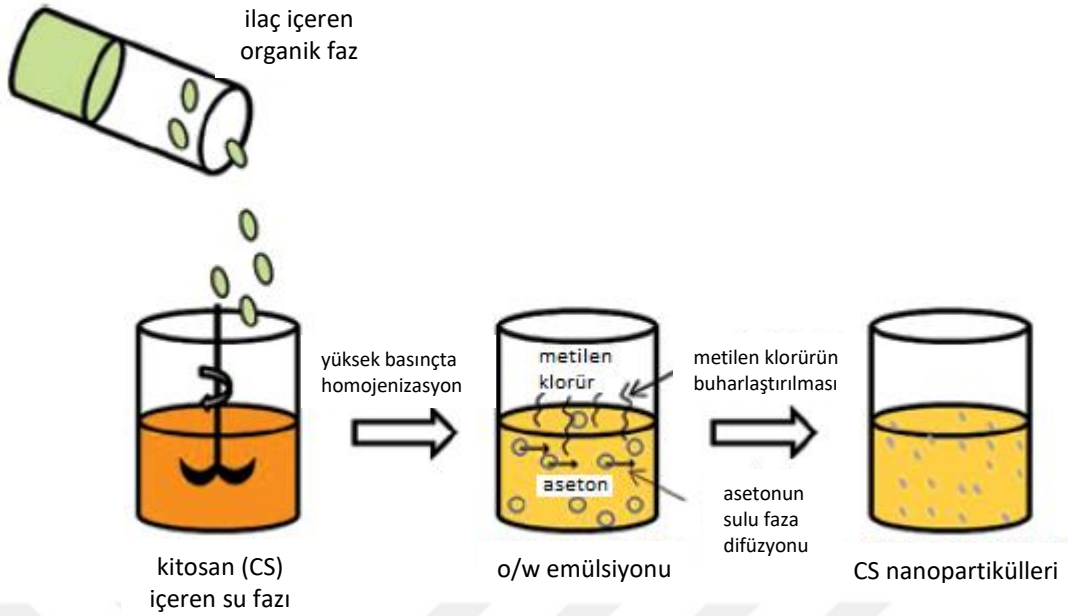


Şekil 2.6 Emülsifikasyon ve çapraz bağlanma yönteminin şematik gösterimi [39]

Bu yöntem kullanılarak elde edilen nanopartiküllerin boyutları karıştırıcı hızına ve çapraz bağlayıcı ajanın konsantrasyonuna bağlıdır. Yöntemin dezavantajı glutaraldehit gibi yüksek toksisiteye sahip çapraz bağlayıcı ajanların kullanılması ve bu nedenle etkin madde bütünlüğünün sağlanamamasıdır. Dezavantajından dolayı bu yöntemle kitosan nanopartikül üretimi birkaç çalışmayla sınırlı kalmıştır [39].

### 2.2.1.2 Emülsiyon Çözücü Difüzyon Yöntemi

Kitosan nanopartiküllerinin hazırlanması için kullanılan bu yöntem, bir organik çözücünün su ile kısmi karışabilirliği üzerine temellendirilen poli (laktik-ko-glikolik asit) esaslı nanopartiküllerin üretilmesi için geliştirilen yöntemin modifiye edilmiş halidir. Bu yöntemde hidrofobik etkin maddeyi içeren organik faz (ör: metilen klorür ve aseton), kitosan ve stabilize edici (poloksamer ve lesitin gibi) ajan içeren sulu faza karıştırma altında eklenir [41]. Yüksek hızda homojenizasyon sonrası o/w (organik faz/su faz) emülsiyonu elde edilir. Metilen klorür indirgenmiş basınç altında oda sıcaklığında uzaklaştırılırken aseton sulu faza difüze olur. Böylece kitosanın çözünürlüğü azalarak çökmeye başlar ve nanopartikül oluşumu gözlenir. Oluşan nanopartikül süspansiyonu santrifüjlenir ve yüzey aktif maddeler gibi katkı maddelerinin uzaklaştırılması için su ile yıkama yapılır. Santrifüj sonrası çöken nanopartiküller ultra saf su ile süspanse edilerek dondurulduktan sonra liyofilize edilir ve dondurucuda muhafaza edilir [42]. Emülsiyon çözücü difüzyon yöntemi şematik olarak Şekil 2.7’de gösterilmiştir.



Şekil 2.7 Emülsiyon çözücü difüzyon yönteminin şematik olarak gösterimi [39]

Bu yöntem siklosporin-A gibi hidrofobik ilaçların enkapsülasyonunda kullanılmış ve bu yöntemle yüksek verim elde edilmiştir. Kitosanın molekül ağırlığı, homojenizasyon, buharlaştırma ve difüzyon süresi gibi parametreler oluşan nanopartikülün özelliklerini etkilemektedir. Asetonun varlığı da önemli bir parametre olarak rapor edilmiştir [41]. Asetonun hızlı difüzyonu organik/sulu faz arayüzünü bozar böylece daha küçük partikül boyutuna sahip nanopartiküller elde edilir. Aseton kullanılmadan üretilen partikül boyutlarının  $1,2 \mu\text{m}$ 'nin üstünde olduğu gözlenmiştir. Bu yöntemle istenilen özelliklerde nanopartiküller üretilmesine karşın yöntemin organik çözücü kullanılması gibi zorlu hazırlık koşulları bulunmaktadır [39].

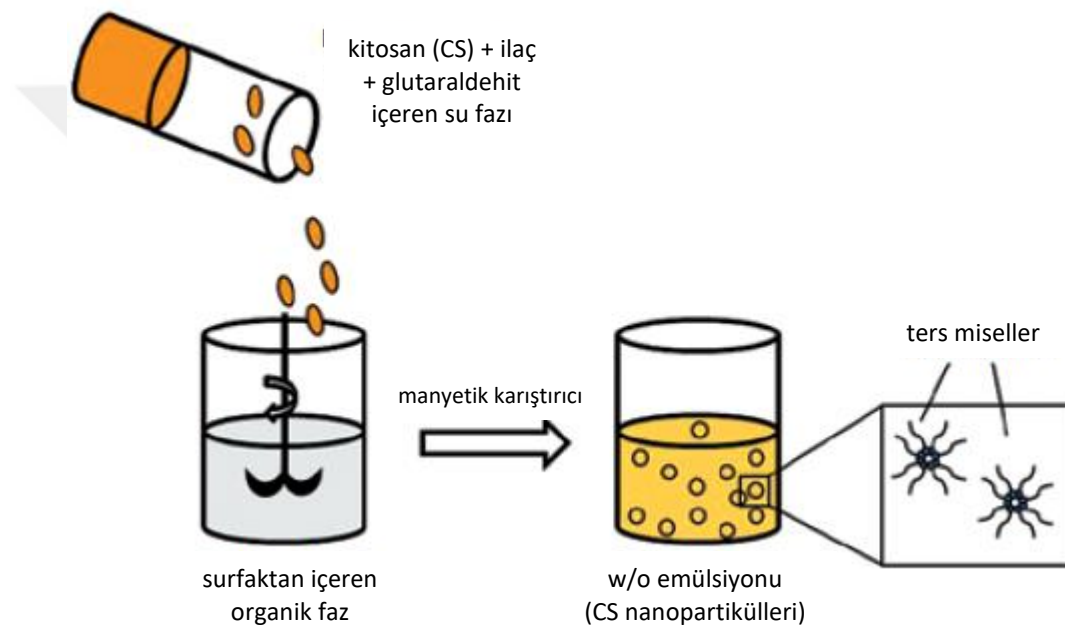
### 2.2.1.3 Ters Misel Yöntemi

Bu yöntem ilk defa Mitra ve arkadaşları tarafından 2001 yılında tümör hedefli ilaç salımında kullanılmak üzere kitosan nanopartiküllerinin üretiminde kullanılmıştır [43]. Ters miseller organik faz/su fazı (o/w) ortamında oluşturulan konvansiyonel misellerin aksine su fazı/organik faz (w/o) damlacıklarıdır. Bu yöntemde öncelikle n-hekzan gibi organik bir çözücü içerisinde çözündürülen lipofilik surfaktan ajan kullanılarak su fazı/organik faz emülsiyonu oluşturulur. Surfaktan olarak sodyum bis (etilhekzil) sulfosuksinat veya setil trimetilamonyum bromür kullanılır. Daha sonra polimer, etkin madde ve glutaraldehit içeren sulu faz, organik fazın üzerine sürekli karıştırma altında

eklenerek ters misel oluşumu sağlanır. Çözücünün buharlaştırılmasıyla nanopartiküller elde edilir. Ters misel yöntemi şematik olarak Şekil 2.8’de gösterilmiştir [44].

Ters Misel yönteminde emülsifikasyona dayanan diğer yöntemlerle elde edilen nanopartiküllere (>200nm) kıyasla daha dar boyut aralığına sahip yaklaşık 100 nm civarında nanopartiküllerin üretimi sağlanmaktadır. Bununla birlikte yüksek oranda çözücüye ihtiyaç duyulması gibi dezavantajları bulunmaktadır [45].

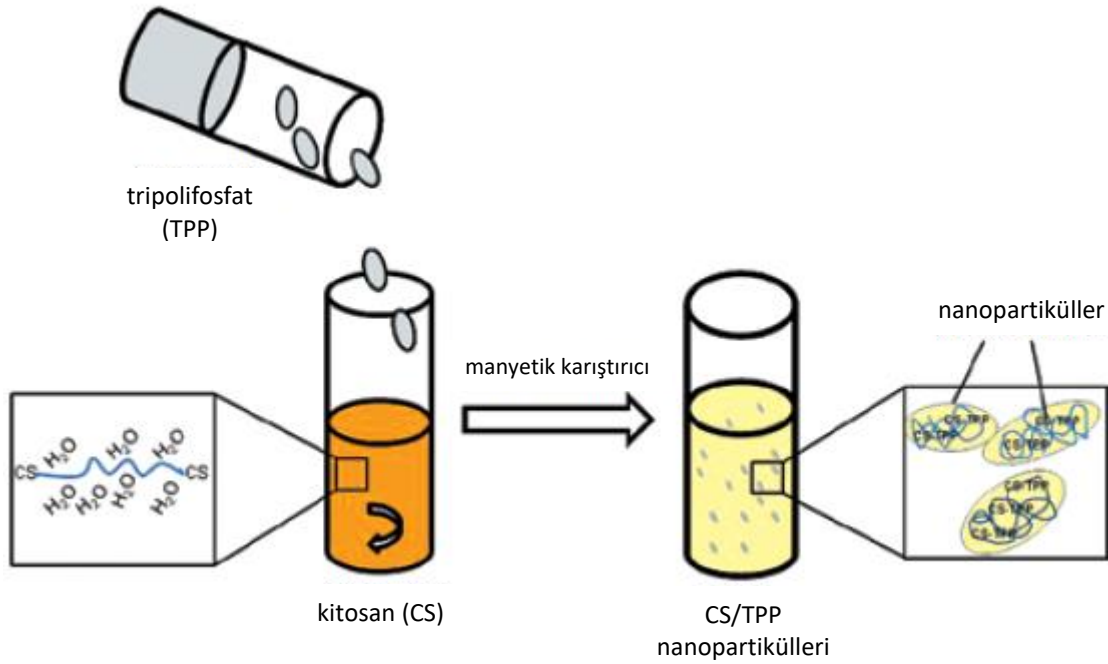
Bu yöntem antikanser çalışmaları dışında enzim immobilizasyonu ve oligonükleik asitlerin enkapsülasyonunda da kullanılmıştır [39].



#### 2.2.1.4 İyonik Jelasyon Yöntemi

Bu yöntem kitosan, jelatin ve sodyum aljinat gibi biyolojik olarak parçalanabilir hidrofilik polimerlerin kullanıldığı nanopartiküllerinin üretiminde kullanılır ve anyonik moleküllerin oluşturduğu molekül içi ve moleküller arası çapraz bağlarla oluşturulur [46]. İlk defa Calvo ve arkadaşları tarafından hidrofilik kitosan nanopartikülleri hazırlamak için geliştirilmiştir [31]. Amir Dustgani ve arkadaşları ise deksametason sodyum fosfat yüklü kitosan nanopartiküllerini iyonik jelasyon yöntemi ile sentezlemişlerdir [47]. Bu yöntem biri kitosan polimerinden diğeri ise polianyon sodyum tripolifosfattan olmak üzere iki sulu çözelti içerir [42]. Kitosanda bulunan pozitif yüklü amino gruplarıyla çapraz bağlayıcı olarak kullanılan tripolifosfatta (TPP)

bulunan negatif yüklü fosfat gruplarının iyonik etkileşime girme prensibine dayanır. Etkin madde ve polimer çözeltisi homojen olarak karıştırıldıktan sonra çapraz bağlayıcı olarak kullanılan TPP oda sıcaklığında ve karıştırıcı altında şırınga yardımıyla damlacıklar halinde çözeltiye eklenerek nanopartiküller oluşturulur. Karıştırma işlemi partiküllerin stabilizasyonunu sağlamak için yaklaşık 10 dakika boyunca sürdürülmelidir. Elde edilen süspansiyon son olarak reaksiyona girmeyen polimer ve TPP'den ayrılması için santrifüjlenir ve su ile yıkama işlemi gerçekleştirilir [39], [48]. İyonik jelasyon yöntemi şematik olarak Şekil 2.9'da gösterilmiştir.



Şekil 2.9 İyonik jelasyon yönteminin şematik gösterimi [39]

İyonik jelasyon yöntemiyle hazırlanan kitosan nanopartiküllerinin özellikleri üretim yönteminin çeşitli parametrelerine bağlıdır. Nanopartikülleri oluşturan malzemelerden bağımsız olarak karıştırıcı düzeneği (karıştırıcı hızı, çeşidi) ve santrifüj koşulları (hız ve süre) partikül özelliklerinin belirlenmesinde son derece önemlidir [48]. Malzeme konsantrasyonu, kütle oranları, reaksiyona giren çözeltilerin sıcaklığı ve oluşan süspansiyonun hacmi gibi değişkenlerin optimize edilmesi de oldukça önemlidir [31]. Kullanılan çapraz bağlayıcı miktarının arttırılmasıyla daha küçük boyutlara sahip nanopartiküller elde edilmiştir [39].

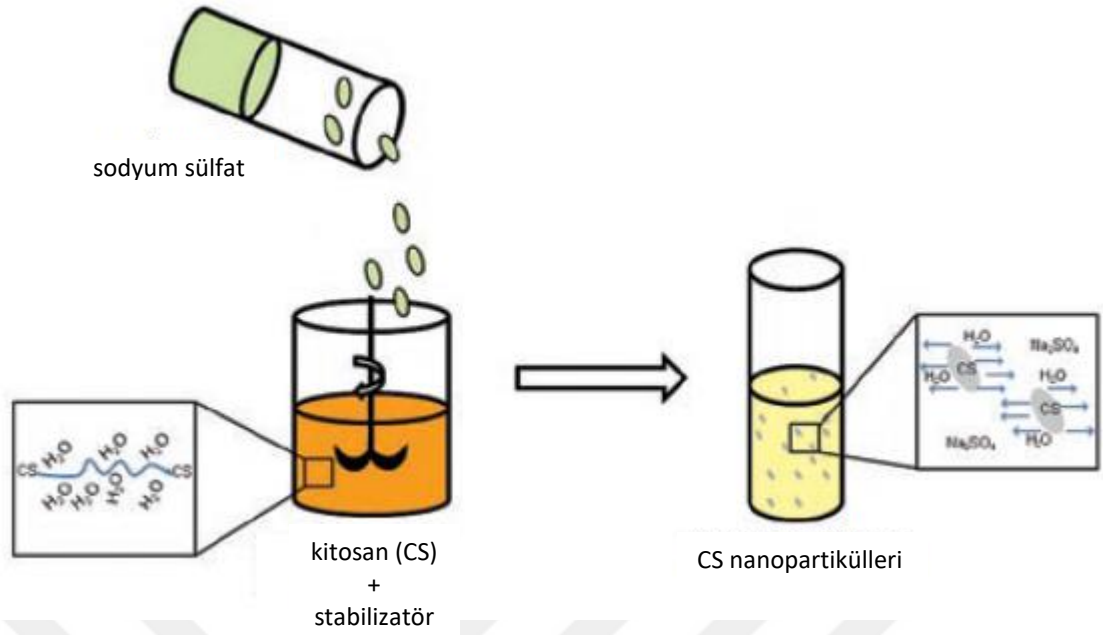
Kitosan/TPP nanopartikülleri üzerine yapılan bir çalışmada kitosanı çözmek için kullanılan asetik asit çözeltisinin konsantrasyonu ve çapraz bağlayıcı etkisinin

oluşturulan nanopartiküllerin polidispersitesini oldukça etkilediği görülmüştür. Yapılan çalışmalarda reaksiyonun 4°C'nin altında gerçekleşmesiyle birlikte polidispersite indeksinin 0,05'in altında olduğu kanıtlanmıştır. Buna ilave olarak dar bir partikül boyut dağılımı elde etmek için optimum asetik asit konsantrasyonunun 0,2 mg/ml olduğu tespit edilmiştir[49].

İyonik jelasyon yönteminin en büyük avantajı partiküllerin tamamen hidrofilik ortamda oluşturulması ve hazırlama koşullarının kolay olmasıdır. Aslında organik çözücü kullanılmaması dayanıksız ve kararsız yapıdaki ilaçların enkapsülasyonunu kolaylaştırmaktadır [50]. Bu nedenle kitosan nanopartikül üretiminde iyonik jelasyon yöntemi sıklıkla kullanılmaktadır. Yöntemin diğer bir avantajı da glutaraldehit gibi kimyasal çapraz bağlayıcıların aksine elektrostatik etkileşimin aracılık ettiği TPP gibi fiziksel çapraz bağlayıcı ajanın kullanılabilmesidir. Bu sayede kimyasal çapraz bağlayıcıların toksik etkilerinden kaçınılmış olup, hücre canlılığı ve ilaç bütünlüğü sağlanmaktadır [39], [46].

#### **2.2.1.5 Desolvasyon**

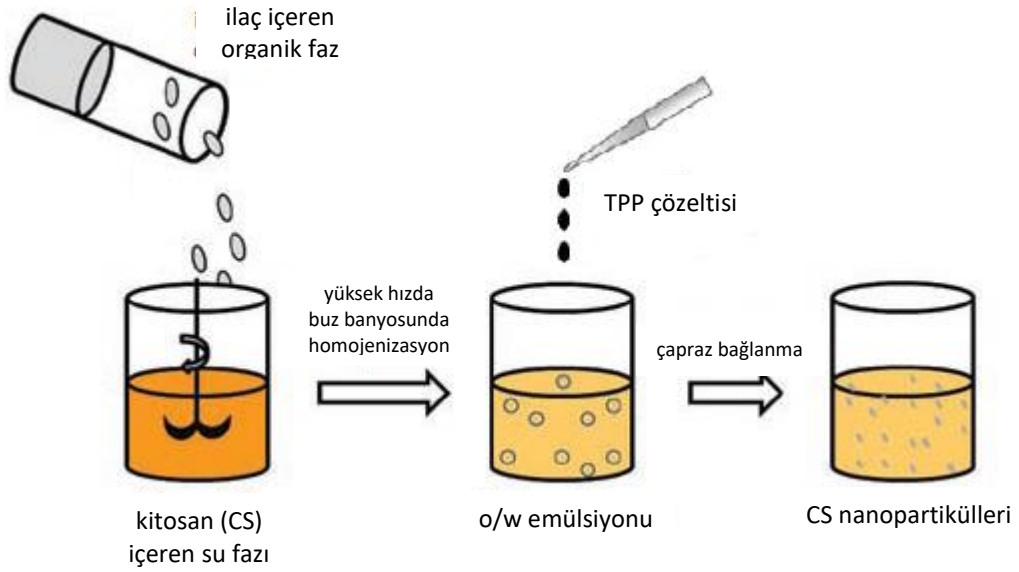
Bu yöntem sıklıkla basit koaservasyon veya faz ayrımı olarak adlandırılır ve tamamen çözünmüş moleküllerin kısmen desolvasyonu ile ortaya çıkan makromoleküler bir agregasyon içermektedir. İlk defa mikro boyutta kitosan partikülleri üretmek için kullanılmıştır fakat günümüzde bu yöntem kitosan nanopartikül üretiminde sıklıkla kullanılmaktadır [51]. Bu yöntemde sodyum sülfat gibi polimer çözeltisiyle rekabet eden hidrofilik bir ajan kitosan çözeltisine damlatılarak eklenir (Şekil 2.10). Sodyum sülfat kitosan çözeltisine eklendiğinde, tuzun suya karşı yüksek affinitesinin bir sonucu olarak kitosanın etrafını saran solvasyon suyu aşamalı olarak yok olur. Bunun sonucunda polimer çözünemez ve çökme meydana gelir. Bu etki su-tuz etkileşiminin su ve polimer arasında oluşan etkileşimden daha güçlü olduğunu gösterir ve kitosan polimerinin desolvasyonu tetiklenir [46]. Nanopartikül süspansiyonunun stabilizasyonu için sıklıkla Polisorbate 80 stabilizatör olarak kullanılır. Kitosan molekül ağırlığı, kitosan konsantrasyonu, desolvasyon ajanı ve karıştırma oranı gibi parametreler üretilen nanopartiküllerin özelliklerini etkilediği için bu parametrelerin optimizasyonu sağlanmalıdır [39].



Şekil 2.10 Sodyum sülfat kullanılarak gerçekleştirilen desolvasyon yönteminin şematik gösterimi [39]

#### 2.2.1.6 Tekli Emülsiyon (o/w) - İyonik Jelasyon Yöntemi

Bu yöntemde ilk olarak organik faz/su fazı (o/w) tekli emülsiyonu oluşturulduktan sonra iyonik jelasyon yöntemi uygulanmaktadır. Öncelikle kitosan polimerini içeren sulu faz çözeltisi ve etkin maddeyi içeren organik faz çözeltisi optimum koşullarda hazırlanır. Organik faz sulu faz çözeltisine buz banyosu koşullarında ultrasonikasyon cihazı altında şırınga yardımıyla damlatılarak homojenizasyon sağlanır ve bu sayede tekli emülsiyon oluşturulur (Şekil 2.11). Daha sonra çapraz bağlayıcı olarak kullanılan TPP manyetik karıştırıcı altında yavaşça eklenir ve yaklaşık 35 dk karıştırılarak nanopartikül oluşumu sağlanır. Elde edilen süspansiyon yüksek hızda santrifüjlenip ultra saf su ile yıkama işlemleri gerçekleştirilerek dondurulur. Daha sonra liyofilize edilen nanopartiküller dondurucuda saklanır [52],[53].



Şekil 2.11 Tekli emülsiyon(o/w) - iyonik jelasyon yönteminin şematik gösterimi

Yoksan ve arkadaşları 2010 yılında bu yöntemi kullanarak askorbil palmitat yüklü kitosan nanopartikülleri üretmişlerdir [52]. Çok küçük boyutta partikül üretimi sağlanmakla kalmayıp aynı zamanda yüksek sıcaklık kullanımını da önlediği için bu yöntemin eşsiz olduğu düşünülmektedir. Hosseini ve arkadaşları ise 2013 yılında bu yöntemle kekik özü yağı yüklü kitosan nanopartikülleri üretmişlerdir [53].

### 2.2.2 Kitosanın Biyomedikal Uygulamaları

Kitosan beyaz renkli, tatsız, kokusuz, saydam partikül veya toz formunda bulunur. Sindirim enzimleri tarafında hidroliz edilemeyen bir malzemedir ve nem tutma, film oluşturma, çöktürme gibi özellikleri bulunmaktadır. Biyouyumlu, biyoadeziv, biyobozunur özellik göstermesi, toksik olmayan ve inflamatuvar özelliklere yol açmayan parçalanma ürünleri oluşturması gibi özellikleri sayesinde kitosan biyomedikal uygulamalarda tercih edilen bir polimerdir. Ayrıca eşsiz polikasyonik özelliği, iritan ve alerjik olmaması, antimikrobiyal ve biyolojik olarak çözünebilen yapısı sayesinde kitosan, kontrollü ilaç salımı, yara örtüsü, doku mühendisliği, antimikrobiyal ajan, kemik rejenerasyon biyomalzemesi gibi tıbbi alanlarda geniş bir uygulama alanına sahiptir [54].

Bariyer oluşturma kabiliyetinden ötürü antimikrobiyal özellikte film ve kaplamalar için ideal bir malzemedir [55], [56]. Lipitler, proteinler ve birçok biyoaktif madde ile

bağlanabilir [46]. Bunlara ilave olarak asit giderici, antiülser, antitümör, antimikrobiyal, antioksidant ve antifungal biyoetkileri bulunmaktadır [57].

Kitosanın biyomedikal uygulamaları ve uygulamaya ait temel özellikleri Çizelge 2.6’da, kitin/kitosan bazlı ticari ürünler ise Çizelge 2.7’de gösterilmiştir. Farmasötik ve biyomedikal alanlarında ilaç taşıyıcı sistemleri, yapay deri, cerrahi iplik, kontakt lens, gen tedavisi için ligand, lipit ve kolesterol tutucu araç, yapay böbrek membranı, enzim ve canlı hücre immobilizasyonu, hücre kapsüllenmesi ve kemik hasarlarının tamiri gibi kullanım alanları bulunmaktadır [58].

Çizelge 2.7 Kitosanın biyomedikal uygulamaları ve temel özellikleri [59]

| <b>Biyomedikal Uygulamaları</b>  | <b>Temel Özellikleri</b>                                                                               |
|----------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Cerrahi iplikler                 | Biyouyumlu                                                                                             |
| Diş implantları                  | Biyobozunur                                                                                            |
| Yapay deri                       | Yenilenebilir                                                                                          |
| Kemiğin yeniden yapımı           | Film oluşturma                                                                                         |
| Kornea kontakt lensleri          | Nemlendirici ajan                                                                                      |
| İnsan ve hayvanlarda ilaç salımı | Toksik olmayan, biyolojik tolerans                                                                     |
| Enkapsülasyon malzemesi          | Lizozim ile hidrolize olması<br>Yara iyileşme özellikleri<br>Bakteri, virüs ve mantarlara karşı etkili |

Kitosanın yara iyileştirici özelliği sargı bezlerinde ve yara bantlarında da kullanılmasının önünü açmıştır. Negatif yüklü heparin ile kararlı bir bileşik oluşturması sayesinde kitosan-heparin içeriğine sahip yara bantları ve sargı bezleri piyasada kullanılmaktadır. Bu bandajlar ve sargı bezleri kanamanın durdurulmasını sağlayarak yaraların daha hızlı iyileşmesini sağlamaktadır. Kanamayı yaklaşık 60 ml/dk gibi bir sürede durdurduğu ve deniz canlılarına alerjisi olan kişilerde bile alerjik reaksiyon göstermediği belirtilmiştir[60].

Kozmetik alanda ise saç, deri ve diş bakım ürünlerinde kullanılmaktadır. Ayrıca antimikrobiyal madde olarak bakteri ve küf gelişimini önleyici, tarımsal

hammadelerde küf kontaminasyonunun ölçümü; gıda endüstrisinde katkı maddesi olarak içeceklerin ve meyvelerin asitlendirilmesi, doğal tatlandırıcıları arttırma, gıda taklitçisi, renk sabitleştirici, emülsiyeye edici madde, stabilize edici madde gibi kullanım alanları bulunmakla beraber gıda işleme artıklarından katı materyallerin yeniden kazanımında ve suyun saflaştırılmasında kullanılmaktadır [60].

Çizelge 2.8 Kitin/kitosan esaslı ticari ürünler [61]

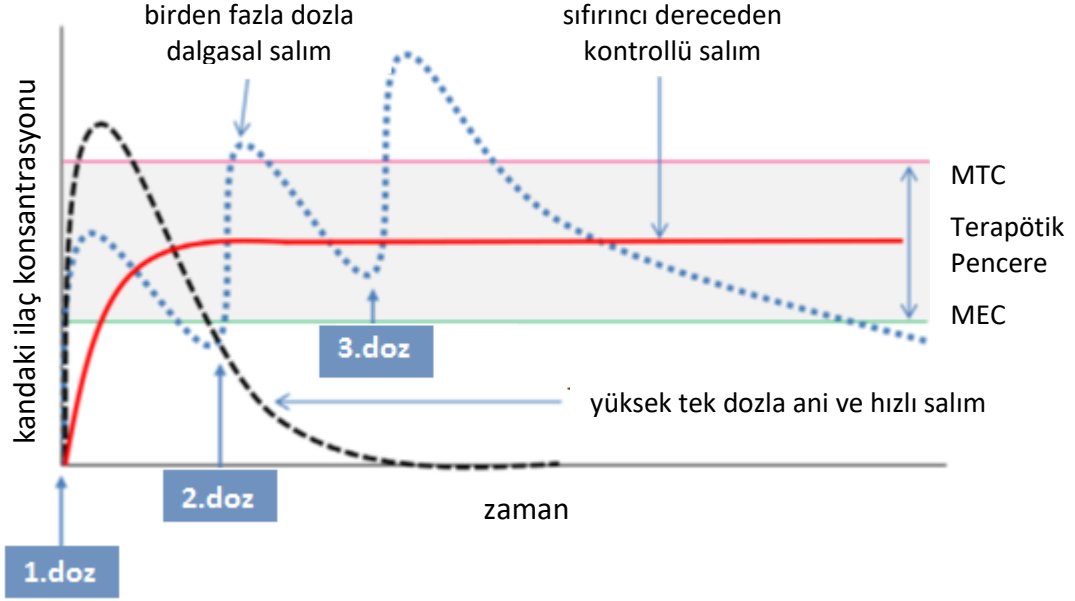
| Ürün                      | Uygulama                                 | Üretici Firma                           |
|---------------------------|------------------------------------------|-----------------------------------------|
| Evalson R                 | Kişisel bakım                            | Chito-Boss, Ancona, İtalya              |
| Depolimerize kitosan      | Saç bakımı                               | Wella, Almanya                          |
| Kitosan içeren makarna    | Diyet ürünlerinde (hipokolesterol ajanı) | NihonKayaku, Inc., Tokyo, Japonya       |
| Kitosan sıvı (CM-kitin)   | Cilt bakımı                              | Ichimarn, Farukosu, Gifu, Japonya       |
| Nonwoven kitin kumaş      | Yanık tedavisinde                        | Yunichika, Inc., Kyoto, Japonya         |
| Kitin lifi                | Biyoparçalanabilir ameliyat ipliği       | Yunichika, Inc., Kyoto, Japonya         |
| Kitosan-kollajen kompozit | Yapay deri                               | Katakurachikkarin, Inc., Tokyo, Japonya |

Kitosan in situ jelleşme, mukoadhesiv, hidrofilik ve geçirgenlik arttırıcı özellikleriyle ilaç salım sistemleri için ideal benzersiz özelliklere sahiptir [54]. Kitosanın ilaç salım uygulamaları oral, nazal, parenteral, transdermal uygulama, implantlar ve gen terapisini içermektedir. Biyolojik açıdan uyumlu olması ilaç salım sistemlerinde matris olarak kullanılabilmesini sağlamıştır. Çeşitli ilaçlar kitosan matrisi içerisine (film, mikrokapsül, kaplanmış tablet vb.) yerleştirilmektedir. Sahip olduğu amin grubunun katyonik özellik göstermesiyle negatif yüklü ilaçlar ve biyoaktif moleküllerle etkileşim sağlar, özellikle nötral pH'larda ilaçların adsorpsiyonunu arttırdığı kanıtlanmıştır. Bununla birlikte kitosanın jel oluşturabilme özelliği ve kopolimer formu ilaç salım sistemlerinde büyük avantaj sağlamaktadır [62].

### KONTROLLÜ SALIM SİSTEMLERİ

Kontrollü salım sistemleri tedavi sırasında kullanılan ilaçların etkinliğini arttırmak amacıyla tasarlanmıştır ve ilacın istenilen şekilde hedeflenen bölgeye verilmesini sağlayıp vücut içerisinde fizyolojik olarak bozunmasını engelleyen sistemlerdir. Kontrollü salım sistemleriyle kandaki terapötik ilacın minimum dalgalanma ile sabit konsantrasyonu sağlanır, çok kısa yarılanma ömrüne sahip ilaçların bozunmasının önüne geçilir, ilaçların yan etkileri ortadan kaldırılır ve ilaçların vücut içerisinde daha kararlı olması sağlanır. Aynı zamanda uzun süreli tekrarlanabilir salım oranı sayesinde kontrollü salım sistemleri, ilaç uygulama sıklığını azaltarak hasta uyumluluğunun sağlanmasına yardımcı olur [63], [64].

Kontrollü salım sistemlerinde salım kinetiği oldukça önemlidir. Salım kinetiği kontrolünün ana hedefi kandaki ilaç seviyesini terapötik pencere denilen minimum etkili konsantrasyon (MEC) ile maksimum toksik konsantrasyon (MTC) arasında tutmaktır [63]. Bir ilaç tek seferlik yüksek doz olarak uygulandığında, ilaç seviyesi MTC'nin üzerine yükselir bunun sonucunda toksik yan etkilere neden olur ve ardından hızla MEC'in altına düşer (Şekil 3.1). Belirli aralıklarla yapılan çok sayıda doz uygulaması ise, kandaki ilaç seviyesinde dalgalanmayı azaltsa da hasta uyumluluğu sorunlarına sebep olabilir. Bu amaçla, sabit bir ilaç salım hızına sahip sıfırıncı dereceden ilaç salım profili sıklıkla tercih edilmektedir [65].



Şekil 3.1 Kandaki ilaç konsantrasyonunun doz uygulamasına göre zamanla değişimi [65]

Bu salım profili kandaki ilaç konsantrasyon değişimlerini minimuma indirir. İlacın dokudaki absorpsiyonu, lokal kan akışı ve ilaç çözünürlüğünden hesaplanır. Kandaki ilacın konsantrasyonu ise sistemden salınan ilaç miktarına bağlıdır. Bununla birlikte kandaki ilaç konsantrasyonu sabit düzeyde kalsa bile fiziksel aktivite, duygusal durum, yeme, içme, uyuma gibi faktörlerden dolayı küçük kısa süreli dalgalanmalar her zaman görülmektedir [64].

ilaç taşıyıcı sistemi oluşturan bileşenlerin (ilaç, polimer, diğer katkı maddeleri) oranları, bu bileşenlerin kendi aralarındaki fiziksel ve/veya kimyasal etkileşimleri ve hazırlama yöntemi ilaç salımını etkileyen faktörler olarak sıralanabilir [65].

### 3.1 Kontrol Mekanizmalarına Göre Salım Sistemleri

ilaç salımı, kontrol mekanizmalarına göre dört gruba ayrılır. Şekil 3.2’de kontrol mekanizmalarına göre salım sistemleri şematik olarak gösterilmiştir [65].

#### 3.1.1 Çözücü Kontrollü Sistemler

Çözücü kontrollü salım sistemlerinde ilaç taşıyıcısına çözücü transferi sağlanarak ilaç salımı kontrol edilir. Şişme kontrollü sistem ve ozmotik kontrollü sistem olarak iki grupta incelenir. Ozmotik kontrollü sistem yarı geçirgen polimerik membran ile

kaplanmış ilaç taşıyıcısından oluşur. Bu sistemde su, ilaç taşıyıcısının dışından (düşük ilaç konsantrasyonu) ilaç bulunan çekirdeğe (yüksek ilaç konsantrasyonu) doğru polimerik membrandan akar. Membran boyunca sabit konsantrasyon oranı sağlandığı sürece sıfırıncı derecen salım profili gözlenir. Şişme kontrollü sistemde ise hidrofilik polimerden oluşan ilaç taşıyıcısı vücut sıvısı içerisine alındığında, taşıyıcının içerisine su nüfuz eder ve taşıyıcı şişme davranışı gösterir. Bu sayede ilacın dış ortama difüzyonu gerçekleşir. İlaç salım hızı, suyun difüzyon hızı ve polimerik zincirin gevşeme oranıyla belirlenir. Şişme kontrollü sistemler hidrojeller gibi üç boyutlu çapraz bağ ağına sahip polimerik malzemelerden oluşturulur ve çapraz bağ ağının boyutu ilaç salım davranışında önemli rol oynar [65].

### **3.1.2 Kimyasal Kontrollü Sistemler**

Kimyasal kontrollü salım sistemlerinde ilaç salımı genellikle sulu ortamda meydana gelir. İlaç salımı, ilacı taşıyan polimerin kademeli biyobozunması veya ilacın polimer sisteme bağlandığı kararsız bağların biyobozunması ile gerçekleşir [64].

#### **3.1.2.1 Biyobozunur ve Biyoaşınır Sistemler**

Bu sistemde polimerin yapısında bulunan ester, amid gibi kararsız bağlar hidrolitik ve/veya enzimatik olarak aşınır ve polimerin aşınmasıyla birlikte ilaç salımı gerçekleşir. Genellikle poliester, poliamid, poli(aminoasit) ve polisakkaritler gibi biyolojik olarak parçalanabilir polimerler kullanılır. Aşınma yüzey veya yığın olarak gerçekleşebilir. Bu sistemin başlıca avantajı cerrahi operasyona gerek kalmaksızın polimerin vücuttan uzaklaştırılabilmesidir. Buna ilave olarak düşük maliyetli ve küçük boyutlara sahiptir. Bununla birlikte biyolojik bozunma ürünleri toksik ve kanserojen olmamalıdır. İstenilen bu özellikler her zaman kolaylıkla karşılanmadığı gibi dikkatle takip edilmesi gerekmektedir [64].

Bu sistemde ilaç salım kinetiği polimerin bozunma oranıyla belirlenir. Polimerin bozunma oranı ise polimerin molekül ağırlığına, monomer bileşimine, fonksiyonel gruplarına ve kristal yapısına bağlıdır [65]. Eğer hedeflenen dokuda enzim bulunuyorsa, enzimatik olarak bozulan ilaç polimer konjugatları hedeflenmiş ilaç salımında kullanılabilir [66].

### **3.1.3 Uyarı Kontrol Sistemleri**

Uyarı kontrol sistemlerinde ilaç salımı sıcaklık, pH, iyonik güç, ses, elektrik veya manyetik alanlar gibi iç ve dış uyarılar tarafından kontrol edilir. Uyarıları lokalize etmek mümkün olduğu için bu sistemler hedeflenmiş ilaç salımı için araştırılmaktadır. Örneğin, birçok solid tümörün zayıf asidik pH'larından yararlanılarak, pH'a duyarlı nanotransportörler tümöre hedefli ilaç salımı için geliştirilmiştir. Ayrıca hücre içi ve hücre dışı arasındaki ilaç salımını arttırmak amacıyla pH'a duyarlı taşıyıcılar araştırılmaktadır. Sıcaklığa duyarlı salım sistemlerinde ise ilaç salımı polimerin sıcaklığa bağlı faz geçişlerinden kaynaklıdır [65].

### **3.1.4 Difüzyon Kontrol Sistemleri**

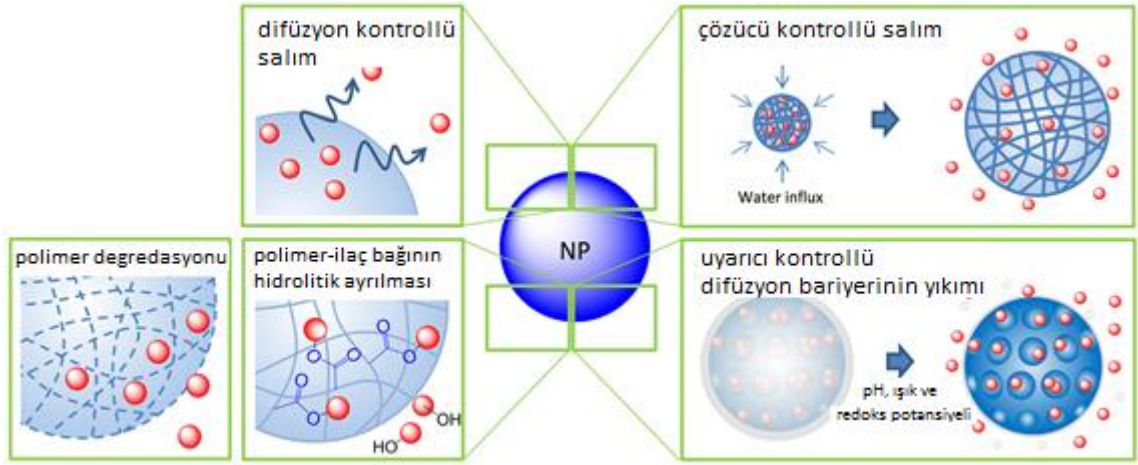
Difüzyon kontrol sistemleri dış ortam ile ilacın bulunduğu ortam arasındaki konsantrasyon farkından dolayı ilacın dış ortama difüze olması prensibine dayanır ve rezervuar sistemler ve matris sistemler olmak üzere iki grupta sınıflandırılır [64].

#### **3.1.4.1 Rezervuar (Membran) Sistemleri**

Rezervuar sistemler, ilacın bulunduğu çekirdek ve bu çekirdeğin enkapsüle edildiği polimerik membrandan oluşan sistemlerdir. Polimerik membran ilacın difüzyon hızını ve salım oranını kontrol eder. Membran boyunca sabit konsantrasyonu sağlamak için rezervuar içindeki ilaç doymuş konsantrasyonda olmalıdır. İlaç salımı ilk olarak çekirdek içerisindeki ilacın çözünmesiyle başlar, ardından membran boyunca difüze olur ve membranın diğer tarafından ilaç salımı gerçekleşir [64].

#### **3.1.4.2 Matris Sistemleri**

Matris sistemlerde, membran sistemdeki gibi difüzyon hızını kontrol eden bir membran yoktur ve oluşturmak kolaydır. İlaç polimer matrisi boyunca eşit bir şekilde çözülür veya dağıtılır. Bu nedenle membran sistemlere göre yüksek oranda başlangıç salımı yapar, ardından difüzyon yolunun uzaması sebebiyle ilaç salımı azalan bir salım profili gösterir [65].



Şekil 3.2 Kontrollü salım mekanizmaları [65]

### 3.2 Nanopartiküler İlaç Salım Sistemleri

Nanopartiküler ilaç salım sistemlerinde ilaç polimer matrisi içerisine dahil edilir ve ilaç salımı polimer bozunması ve/veya ilaç difüzyonu ile kontrol edilir. İlaç salım kinetiğini polimerik taşıyıcının yapısı belirler. Nanoküreler yüksek oranda başlangıç salımı gösterirken, polimerik membran içeren nanokapsül yapısında başlangıç salımı düşüktür. Nanoküre ve nanokapsül yapısının her ikisinin de kullanıldığı kombinasyonlar da ilaç salım sistemi olarak kullanılmaktadır. Buna ilave olarak nanopartiküllerden ilaç salım süresi, nanopartiküllerin hidrojel matrisine yerleştirilmesiyle uzatılabilir [65].

#### 3.2.1 Nanopartiküler İlaç Salımını Etkileyen Faktörler

Nanopartiküler ilaç salımını etkileyen faktörler partikül boyutu, partikül yüzey özelliği, ilaç yükleme ve ilaç salımı olmak üzere dört grupta incelenir.

##### 3.2.1.1 Partikül Boyutu

Nanopartikülün biyolojik özelliği, toksisitesi, canlı organizma içerisindeki dağılımı ve hedefleme yeteneği; partikül boyutuna ve nanopartiküler sistem içerisindeki boyut dağılımına bağlıdır. Nanopartiküller kan beyin bariyerini aşabilme özellikleri sayesinde tedavisi zor olan hastalıklar için ilaç salımında kullanılabilirler. Nanopartiküller ile sadece hedefe ilaç gönderilmesi değil aynı zamanda kontrollü bir şekilde ilaç salımı da sağlanmaktadır [67].

Nanopartiküllerin partikül boyutu küçüldükçe, yüzey alanı/hacim oranı artmaktadır. Bu durum ilacın daha büyük bir moleküle kıyasla nanopartiküler sistemde yüzeye daha yakın olduğuna işaret eder ve bu sayede daha hızlı ilaç salımı gerçekleşir. Büyük yüzey alanı/hacim oranına sahip nanopartikül sentezlenirken toksisite unutulmamalı ve daima izlenmelidir [67].

Lenfatik sistem dolaşıma giren yabancı maddeleri ve kimyasalları temizlemekten sorumludur. Bu durumda nanopartikülden lenfatik sistemi olabildiğince aktive etmemesi beklenmektedir. Yapılan çalışmalar 200 nm ve daha büyük partiküllerin lenfatik sistemi aktive etme eğiliminde olduğunu ve nanopartiküllerin dolaşımdan daha çabuk uzaklaştırıldığını göstermektedir. Literatüre göre nanopartiküller için optimum boyut yaklaşık 100 nm civarındır. Bu boyuttaki bir nanopartikül; kan beyin bariyerini geçebilir, yüksek yüzey alanı/hacim oranı sayesinde yeterli miktarda ilaç salımı gerçekleştirebilir ve dolaşımda daha uzun süre kalabilir. Sonuç olarak nanopartiküller kılcal damarların içine giremeyecek kadar büyük, lenfatik sistem tarafından algılanmayacak kadar küçük olmalıdır [67].

### **3.2.1.2 Partikül Yüzey Özelliği**

Nanopartiküller lenfatik sistem tarafından tanınabildiğinden, vücudun yabancı maddeye karşı doğal bağışıklık sistemini aktive ederler. Nanopartikülün hidrofobikliği arttıkça, kan bileşenlerine yüksek affinitesinden dolayı yok edilme ve dolaşımdan temizlenme olasılığı da artmaktadır. Nanopartikülün dolaşımda kalma süresinin arttırılması için partikül yüzeyinin hidrofilik polimer/yüzey aktif maddeler ile kaplanması veya polietilen glikol (PEG), poli(etilen oksit), polioksamer, poloksamin ve polisorbata 80 (Tween 80) gibi hidrofilik biyobozunur polimerlerin kullanıldığı kopolimerlerden oluşan nanopartiküllerin kullanılması gibi stratejiler kullanılmaktadır [68]. PEG plazma proteinlerinin bağlanmasını engelleyen hidrofilik inert bir polimerdir ve bu sayede verilen dozun önemli ölçüde kaybolması engellenir. PEG'lenmiş nanopartiküller plazma proteinleri bağlanmadığı için retikuloendotel sistem tarafından algılanmazlar ve bu nedenle genellikle gizli nanopartiküller olarak adlandırılırlar [67].

Polimer kompleksleri oluşturularak partikülün dolaşımda kalma süresi arttırılmıştır. Ancak özellikle dendrimer, kuantum dot ve misel gibi küçük nanopartiküller büyük

yüzey alanları sebebiyle bir araya gelerek agregat oluşturma eğilimindedir. Agregasyonu engellemek için yüzeyin kaplama ajanlarıyla kaplanması veya partikülün elektriksel potansiyelini gösteren zeta potansiyelin değiştirilmesi gibi stratejiler kullanılmıştır [67].

Zeta potansiyeli partikülün yüzey yük özelliklerini karakterize etmek için kullanılmaktadır ve partikülün çözünmüş olduğu ortam, partikül bileşimi gibi parametrelerden etkilenmektedir. Ayrıca yüklü bir aktif maddenin yüzeye asorbe edilip edilmediğini incelemek için de kullanılabilir. Yapılan çalışmalar ( $\pm$ ) 30 mV üzerinde zeta potansiyeline sahip bir nanopartikülün daha kararlı bir yapıya sahip olduğunu göstermektedir. Nanopartiküllerin yüzeyindeki elektriksel yük partiküllerin bir araya gelerek agregat oluşturmalarını engellemektedir [68].

#### **3.2.1.3 İlaç Yükleme**

Başarılı bir nanopartikül süspansiyonu, ilaç uygulaması için yüksek ilaç yükleme kapasitesine sahip olmalı ve matris materyal miktarı düşük olmalıdır. İlaç yüklemesi nanopartiküllerin sentez anında ilaç entegrasyonu (birleştirme yöntemi) ve nanopartiküllerin sentezi sonrası ilaç adsorbsiyonu (adsorbsiyon yöntemi) olarak iki şekilde gerçekleştirilebilir. İlaç yükleme verimi ilacın matris materyalindeki veya polimerdeki katı hal çözünürlüğüne bağlıdır. Bu da polimerin bileşimi ve molekül ağırlığıyla, ilaç-polimer etkileşimiyle ve polimerin fonksiyonel gruplarıyla (ester veya karboksil) doğrudan ilişkilidir [68].

#### **3.2.1.4 İlaç Salımı**

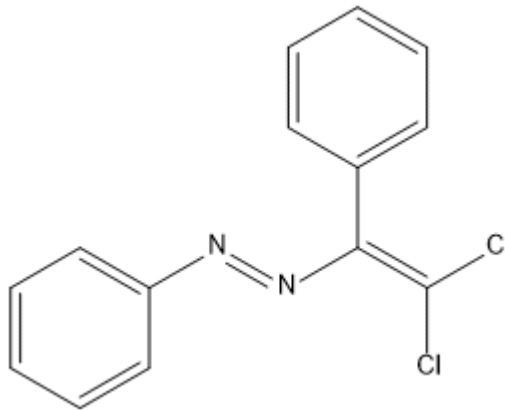
Nanopartiküllerin boyut ve yüzey özellikleri biyoyararlanımı optimize etmek, dolaşımda kalma süresini ve kararlılıklarını arttırmak için araştırılmıştır. Bu özellikler kontrol edilerek ilacın daha önce erişilememiş vücut dokularına ulaştırılması mümkündür. Ancak ilacın nanopartiküler sistemden salımı gerçekleştirilemezse bu uygulamaların hiçbir önemi kalmaz. İlacın nanopartiküler sistemden salımı; pH, sıcaklık, ilacın çözünürlüğü, yüzeye bağlı veya adsorbe edilen ilacın bırakılması, nanopartikül matrisi boyunca gerçekleşen ilaç difüzyonu, nanopartikül şişmesi ve erozyonu gibi etmenlere bağlıdır [67].

Kullanılan nanopartikül türüne göre ilaç salımı farklılık göstermektedir. İlacın homojen olarak dağıtıldığı nanokürelerde ilaç matrisin bozunmasıyla veya difüzyonla açığa çıkar. İlaç difüzyonu matris bozunmasından daha hızlı ise ilaç salımı difüzyon ile kontrol edilir. Nanopartikülün geniş yüzey alanına zayıf bağlarla tutunmuş veya adsorbe olmuş ilaç, hızlı başlangıç salım profili gösterir. İlacın yükleme yöntemi de salım profili üzerinde etkilidir. Sentez anında ilaç entegrasyonu yönteminde yavaş ve daha uzun süreli salım profili gözlenmektedir. Nanopartikül yüzeyinin polimer ile kaplandığı nanokapsül formunda ise, ilaç polimerik membran boyunca difüzyon ile kontrol edilir. Polimerik membran ilaç salımı için bariyer görevi görür bu nedenle ilacın polimerik membrandaki çözünürlüğü ve difüzyonu ilaç salım profilini etkiler [68].

İlaç salım oranı yardımcı bileşenler ve ilaç arasındaki iyonik etkileşimlerden de etkilenebilir. İlaç bu bileşenlerle etkileşime girdiğinde, suda daha az çözünebilir bir kompleks oluşturur. Sonrasında ise hızlı başlangıç salımı göstermeksizin yavaş bir şekilde bırakılır. Örnek olarak kitosana poli etilen oksit-propilen oksit blok kopolimeri (PEO-PPO) ilave edilmiş ve model ilaç olan bovin serum albümin (BSA) ile kitosan arasındaki etkileşim PEO-PPO'nun kitosan ile elektrostatik etkileşimi sebebiyle azalmış ve ilaç salımında artış gözlenmiştir [69].

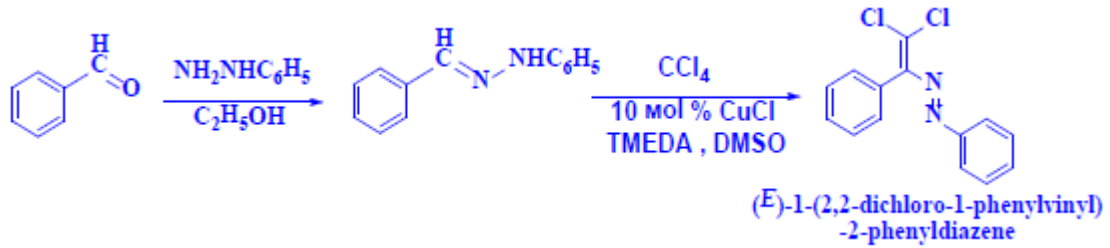
### 3.3 (e)-1-(2,2-dikloro-1-fenilvinil)-2-fenildiazen (DIPHE)

(e)-1-(2,2-dikloro-1-fenilvinil)-2-fenildiazen (DIPHE) molekülü yüksek fizyolojik aktiviteye sahip yeni organik bir bileşiktir. Molekülün kimyasal yapısı Şekil 3.3'te gösterilmektedir.



Şekil 3.3 DIPHE kimyasal yapısı

Maharramov ve arkadaşları tarafından 2017 yılında katalitik olefinasyon reaksiyonu (Şekil 3.4) gerçekleştirilerek sentezlenmiştir [70].



Şekil 3.4 DIPHE sentez mekanizması [70]

Yapılan çalışmada etil alkol içerisinde hazırlanan %1'lik DIPHE çözeltisi 1:100, 1:200, 1:400, 1:600 ve 1:800 oranlarında ultra saf su ile seyreltilerek antimikrobiyal aktivitesi *S. aureus*, *P. aeruginoza*, *E.coli* ve *C.albicans* gibi mikroorganizmalar üzerinde araştırılmıştır. Buna ilave olarak antimikrobiyal etkisi furacilin ve nitrofungin gibi yaygın olarak kullanılan ilaçlarla ve etil alkol ile karşılaştırılmıştır [70]. Çizelge 3.1'de DIPHE molekülünün antimikrobiyal aktivitesi gösterilmektedir.

Çizelge 3.1 DIPHE molekülünün antimikrobiyal aktivitesi [70]

| Test kültürü         | Uygulama süresi (dk) | DIPHE |   |   |   |
|----------------------|----------------------|-------|---|---|---|
|                      |                      | 1     | 2 | 3 | 4 |
| <i>S. aureus</i>     | 10                   | -     | - | - | + |
|                      | 20                   | -     | - | - | - |
|                      | 40                   | -     | - | - | - |
|                      | 60                   | -     | - | - | - |
| <i>P. aeruginoza</i> | 10                   | -     | - | - | + |
|                      | 20                   | -     | - | - | - |
|                      | 40                   | -     | - | - | - |
|                      | 60                   | -     | - | - | - |
| <i>E. coli</i>       | 10                   | -     | - | - | + |
|                      | 20                   | -     | - | - | - |
|                      | 40                   | -     | - | - | - |
|                      | 60                   | -     | - | - | - |
| <i>C. albicans</i>   | 10                   | -     | - | + | + |
|                      | 20                   | -     | - | - | + |
|                      | 40                   | -     | - | - | + |
|                      | 60                   | -     | - | - | + |

Not: 1 (1:100), 2 (1:200), 3 (1:400), 4 (1:800) seyreltme oranları  
 “+” canlılık var, “-” canlılık yok

Çizelge 3.2 Kontrol bileşiklerinin antimikrobiyal özellikleri [70]

| Test kültürleri      | Uygulama süresi (dk) | Kontrol bileşikleri |   |   |   |           |   |   |   |             |   |   |   |
|----------------------|----------------------|---------------------|---|---|---|-----------|---|---|---|-------------|---|---|---|
|                      |                      | etanol(etil alkol)  |   |   |   | furacilin |   |   |   | nitrofungin |   |   |   |
|                      |                      | 1                   | 2 | 3 | 4 | 1         | 2 | 3 | 4 | 1           | 2 | 3 | 4 |
| <i>S. aureus</i>     | 10                   | -                   | + | + | + | -         | + | + | + |             |   |   |   |
|                      | 20                   | -                   | + | + | + | -         | + | + | + |             |   |   |   |
|                      | 40                   | -                   | + | + | + | -         | + | + | + |             |   |   |   |
|                      | 60                   | -                   | + | + | + | -         | + | + | + |             |   |   |   |
| <i>P. aeruginosa</i> | 10                   | +                   | + | + | + | +         | + | + | + |             |   |   |   |
|                      | 20                   | -                   | + | + | + | +         | + | + | + |             |   |   |   |
|                      | 40                   | -                   | + | + | + | +         | + | + | + |             |   |   |   |
|                      | 60                   | -                   | + | + | + | +         | + | + | + |             |   |   |   |
| <i>E.coli</i>        | 10                   | +                   | + | + | + | -         | + | + | + |             |   |   |   |
|                      | 20                   | -                   | + | + | + | -         | + | + | + |             |   |   |   |
|                      | 40                   | -                   | + | + | + | -         | + | + | + |             |   |   |   |
|                      | 60                   | -                   | + | + | + | -         | + | + | + |             |   |   |   |
| <i>C. albicans</i>   | 10                   | +                   | + | + | + | +         | + | + | + | +           | + | + | + |
|                      | 20                   | +                   | + | + | + | +         | + | + | + | +           | + | + | + |
|                      | 40                   | -                   | + | + | + | +         | + | + | + | -           | + | + | + |
|                      | 60                   | -                   | + | + | + | +         | + | + | + | -           | + | + | + |

Not : 1 (1:100), 2 (1:200), 3 (1:400), 4 (1:800) seyreltme oranları  
 “+” canlılık var, “-” canlılık yok

Çizelge 3.1 ’deki verilerin analizine göre, DIPHE molekülü araştırılan mikroorganizmalar üzerinde güçlü antimikrobiyal etkiye sahiptir. 1:800’lük seyreltme oranında bile 20 dakika sonra *S. aureus* ve *E. coli*’yi tamamen yok ettiği gözlenmiştir. Çizelge 3.2’de verilen kontrol bileşiklerinin antimikrobiyal aktivitesiyle karşılaştırıldığında da DIPHE molekülünün yüksek oranda antibakteriyel ve antifungal özellik gösterdiği görülmüştür. Yeni sentezlenen organik bir bileşik olmasından dolayı literatürde molekül ile ilgili herhangi bir nanopartikül çalışmasına rastlanmamıştır.

## BÖLÜM 4

### DENEYSEL ÇALIŞMALAR

#### 4.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasal maddeler ve markaları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Kullanılan kimyasal malzemeler

| Kimyasalın Adı                                 | Alındığı Firma                     | Katalog No   |
|------------------------------------------------|------------------------------------|--------------|
| Kitosan (LMWC)                                 | Sigma                              | 448869       |
| Sodyum tripolifosfat (TPP)                     | Balmumcu Kimya                     | BM.6999.1000 |
| Etanol (EtOH)                                  | Merck                              | 100983       |
| Diklorometan (DCM)                             | Aldrich                            | 270997       |
| Asetik asit (%100)                             | Merck                              | 100063       |
| Tween®80                                       | Sigma-Aldrich                      | 9005-65-6    |
| (e)-1-(2,2-dikloro-1-fenilvinil)-2-fenildiazen | Bakü Devlet Üniveritesi-Azerbaycan |              |

Çizelge 4.1 Kullanılan kimyasal malzemeler (Devamı)

|                                                                                               |                |       |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|-------|
| Disodyum hidrojen fosfat heptahidrate ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) | Fluka          | 71647 |
| Sodyum dihidrojen fosfat dihidrate ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )    | Riedel-de Haën | 04361 |
| Sodyum klorür ( $\text{NaCl}$ )                                                               | Fluka          | 71376 |
| Sodyum azid ( $\text{NaN}_3$ )                                                                | Applichem      | A1430 |
| Hidroklorik asit ( $\text{HCl}$ )                                                             | Riedel-de Haën | 07102 |

#### 4.2 Kullanılan Cihazlar ve Ölçüm Yöntemleri

##### Vorteks

Heidolph marka Reax Control model vorteks cihazı çözeltilerin homojenizasyonu için kullanıldı.



Şekil 4.1 Vorteks cihazı

### **Hassas Terazi**

Deneysel çalışmalarda kullanılan katı formdaki malzemelerin ağırlıklarını ölçmek için Sartorius marka CP225D model hassas terazi kullanıldı.



Şekil 4.2 Hassas terazi

### **pH-metre**

Çözeltilerin pH ölçümleri Inolab WTW marka Ph3110 (ph315i) model pH-metre ve Si-Analytics pH elektrodu kullanılarak yapıldı.



Şekil 4.3 Inolab WTW pH-metre

### **Manyetik Karıştırıcı**

Karıştırma işlemleri için Heidolph marka ısıtıcılı manyetik karıştırıcı kullanıldı.



Şekil 4.4 Manyetik karıştırıcı

### **Ultrasonik Homojenizatör**

Homojenizasyon ve ultrasonikasyon işlemleri için Bandelin Sonopuls marka HD2200 model ultrasonik homojenizatör kullanıldı.



Şekil 4.5 Ultrasonik homojenizatör

### **Santrifüj**

Nanopartiküllerin santrifüj işlemleri için Hitachi marka CF16RN model hızlı soğutmalı santrifüj kullanıldı.



Şekil 4.6 Hitachi santrifüj

### **Liyofilizatör**

Üretilen nanopartiküllerin liyofilizasyonu için Telstar marka Cryodos model liyofilizatör kullanıldı.



Şekil 4.7 Telstar liyofilizatör

### Ultraviyole Görünür Işık Spektrofotometre Cihazı (UV-VIS)

Kitosan nanopartiküllerine yüklenen ve nanopartiküler sistemden salınan ilaç miktarlarının belirlenebilmesi amacıyla Shimadzu markas PharmaSpec UV-1700 model çift ışık yollu UV-VIS spektrofotometre kullanıldı. DIPHE'nin absorbens değeri 345 nm dalga boyunda okundu.



Şekil 4.8 UV-Vis Spektrofotometre

UV-VIS spektroskopisinin temel prensibi ışık demetinin absorplanması üzerinedir. Tek renkli ve  $I_0$  şiddetindeki ışık demeti, kalınlığı 1 cm olan küvetin içerisinde çözeltideki moleküller tarafından absorplandığında şiddeti azalarak  $I$  şiddetinde küveti terk eder. Bu şiddetin azalması Lambert-Beer eşitliği ile ifade edilmektedir.

$$\log (I_0/I) = \epsilon bc = A \quad (4.1)$$

$C$ ; mol/L cinsinden derişimi,  $\epsilon$ ; L/mol.cm cinsinden molar absorpsiyon katsayısını  $b$ ; cm cinsinden küvetin kalınlığını ,  $A$  ise absorbensı temsil etmektedir.

Geçirgenlik;

$$T = I/I_0 \quad (4.2)$$

Absorbans;

$$A = \log (I_0/I) \quad (4.3)$$

eşitlikleriyle hesaplanır ve absorbens ile derişim arasındaki ilişkiden yararlanılır [71].

### **Zeta-Sizer**

Üretilen nanopartiküllerin boyut analizleri ve yüzey yük dağılımını gösteren zeta potansiyel ölçümleri Malvern marka zeta-sizer cihazı kullanılarak yapıldı.



Şekil 4.9 Malvern Zeta-Sizer cihazı

Zeta sizer cihazı foton korelasyon spektroskopisi olarak da bilinen dinamik ışık saçılması tekniği (DLS) ile boyut analizi yapmaktadır. Lazer ışığı tarafından indüklenen Brown hareketi ve Doppler kayması sonucunda boyut, boyut dağılımı ve süspansiyon içerisindeki partiküllerin şeklini tespit etmekte kullanılan etkili bir ölçüm yöntemidir. Zeta potansiyel analizlerinde ise Lazer Doppler Elektroforez (LDE) tekniği kullanılmaktadır [72].

### **Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrofotometre Cihazı (FT-IR)**

Nanopartiküllerin karakterizasyonu için Shimadzu Corp, IRPrestige21 marka FT-IR cihazı kullanıldı ve  $650-4000\text{ cm}^{-1}$  dalga boyları arasında ölçümler alındı.



Şekil 4.10 Shimadzu FT-IR cihazı

FT-IR spektroskopisi fonksiyonel grupların bağlanma tiplerinin ve moleküler konformasyonlarının hassas bir şekilde ölçülmesine imkan veren titreşimsel spektroskopik bir ölçüm yöntemidir. Titreşim spektrumlarındaki bantlar moleküllere özgüdür ve moleküllerin fonksiyonel grupları hakkında doğrudan bilgi sağlamaktadır [73].

#### **Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)**

Üretilen kitosan nanopartiküllerin partikül boyutu ve morfolojisinin incelenmesi için Zeiss marka EVO® Ls 10T model taramalı elektron mikroskobu kullanıldı.



Şekil 4.11 Zeiss Taramalı Elektron Mikroskobu

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) numunenin yapısal karakteristiğini analiz eden ve bu sayede yüzey kontrolüne imkan veren bir ölçüm yöntemidir. Bu cihaz sayesinde kompleks numunelerde dahi 10 nm'ye kadar küçük alanların yüksek çözünürlüklü görüntüleri alınmakta ve istenilen bölgeden yüksek netlik ile üç boyutlu görüntüleme yapılabilmektedir [74].

#### **Çalkalamalı Su Banyosu**

*in-vitro* salım çalışmaları için Thermolab marka GFL1086 model hassas ayarlı çalkalamalı su banyosu kullanıldı.



Şekil 4.12 Çalkalamalı su banyosu

### 4.3 Deneysel Yöntem

Çizelge 4.2 Deney akış şeması

|                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|---------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Nanopartikül Sentezi            | <p><b>Stok çözelti hazırlama (Chi ve TPP)</b></p> <p>DIPHE yükleme<br/>TPP ilavesi</p> <p>↓</p> <p>ultrasonikasyon (3 dk / 50 W)<br/>ultrasonikasyon (5 dk / 50 W)</p> <p><b>NP sentezi</b></p> <p>supernatant uzaklaştırma</p> <p>↓</p> <p>10000 rpm + 4 °C<br/>30 dk (x3)</p> <p><b>Santrifüj</b></p> <p>↓</p> <p>kurutma</p> <p>24 sa</p> <p><b>Liyofilizatör</b></p> <p>↓</p> <p>dondurma</p> <p><b>-20 °C muhafaza</b></p> |
| Nanopartikül Karakterizasyonu   | <p><b>Boyut ve zeta potansiyel analizi</b></p> <p>↓</p> <p><b>Reaksiyon verimi hesabı</b><br/><b>Enkapsülasyon etkinliği hesabı</b><br/><b>Yükleme kapasitesi hesabı</b></p> <p>↓</p> <p><b>FT-IR Analizi</b></p> <p>↓</p> <p><b>SEM Görüntüleri</b></p>                                                                                                                                                                        |
| <i>in-vitro</i> Salım Çalışması | <p><b>DIPHE yüklü Chi-NP</b></p> <p>PBS-% 0,01 NaN<sub>3</sub><br/>diyaliz membran</p> <p>↓</p> <p>37 °C 100 rpm<br/>çalkalamalı su banyosu</p> <p><b><i>in-vitro</i> salım çalışması</b></p>                                                                                                                                                                                                                                   |

#### **4.3.1 Stok Çözelti Hazırlanması**

Stok çözeltisi olarak kitosan çözeltisi, TPP çözeltisi ve salım çalışmasında kullanılmak üzere 0,01 M'lık PBS tamponu hazırlandı.

##### **4.3.1.1 Kitosan Çözeltisi Hazırlama**

% 1 asetik asit içeren % 0,2'lik kitosan çözeltisi için 200 mg kitosan tartıldı, üzerine 1 ml asetik asit ve 99 ml ultra saf su azar azar eklenerek ezerek karıştırıldı. Homojen karışım elde etmek için manyetik karıştırıcıda sıcaklık 60°C'yi geçmeyecek şekilde 5 saat boyunca karıştırıldı. Daha sonra çözelti 0,45 µm'lik filtreden geçirildi.

##### **4.3.1.2 TPP Çözeltisi Hazırlama**

% 0,04'lük TPP çözeltisi için 20 mg TPP tartıldı, üzerine 50 ml ultra saf su eklendi ve homojen karışım elde etmek için yaklaşık 30 dk boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Daha sonra çözelti 0,45 µm'lik filtreden geçirildi.

##### **4.3.1.3 0,01 M'lık PBS Tamponu (pH=7,4) Hazırlama**

2,6807 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ( $M_w=268,07$  g/mol) tartılarak 1 L'lik balon joje içerisindeki 450 ml ultra saf suda çözüldü. Aynı zamanda 1,56 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ( $M_w=156,01$  g/mol) tartılarak 450 ml ultra saf suda çözüldü. Hazırlanan  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  çözeltisi balon jojedeki  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  çözeltisinin üzerine eklendi ve tekrar karıştırıldı. Bu karışıma son olarak 8,766 g NaCl eklendi ve tekrar karıştırıldı. Karışımın pH'ı ölçüldü ve 1 M NaOH veya 1 M HCl ile pH 7,4 'e ayarlandı. Ultra saf su eklenerek çözeltinin son hacmi 1 L'ye tamamlandı. Daha sonra çözelti 0,45 µm'lik filtreden geçirildi.

#### **4.3.2 DIPHE Kalibrasyon Eğrisinin Oluşturulması**

Kalibrasyon eğrisi oluşturmak için 0,1 mg DIPHE suda çözülerek 0,1 mg/ml konsantrasyonlu stok çözelti hazırlandı. Çizelge 4.3'te verilen konsantrasyonlarda stok çözeltiden aşamalı olarak seyreltilerek örnekler hazırlandı. Her bir örneğin UV-Vis Spektroskopisi kullanılarak 345 nm'de absorbans değerleri ölçüldü ve konsantrasyon-absorbans kalibrasyon eğrisi oluşturuldu.

Çizelge 4.3 DIPHE konsantrasyon - absorbands verileri

| Konsantrasyon (mg/ml) | absorbans (345nm) | Konsantrasyon (mg/ml) | absorbans (345nm) |
|-----------------------|-------------------|-----------------------|-------------------|
| 0,1                   | 0,238             | 0,04                  | 0,083             |
| 0,09                  | 0,215             | 0,03                  | 0,059             |
| 0,08                  | 0,193             | 0,02                  | 0,037             |
| 0,07                  | 0,161             | 0,01                  | 0,020             |
| 0,06                  | 0,133             | 0,005                 | 0,014             |
| 0,05                  | 0,108             | 0                     | 0                 |

#### 4.3.3 İyonik Jelasyon Yöntemiyle Kitosan Nanopartikül Sentezi

Kitosan nanopartikülleri literatürde tanımlanan iyonik jelasyon yöntemi modifiye edilerek sentezlendi [31].

İlk örnek için; hazırlanan kitosan stok çözeltisinden 10 ml alınarak üzerine 3 µl Tween®80 eklendi ve çözeltinin pH'ı 4,8-5 olacak şekilde ayarlandı. İlk olarak 1 ml etanolde çözdürülerek hazırlanan DIPHE çözeltisi buz banyosunda ultrasonikasyon cihazı altında 50 W güçte 3 dk boyunca kitosan çözeltisine enjektör yardımıyla damlatılarak eklendi. Daha sonra çapraz bağlayıcı olarak kullanılan TPP stok çözeltisinden alınan 10 ml yine buz banyosunda ultrasonikasyon cihazı altında 50 W güçte 5 dk boyunca enjektör yardımıyla çözeltiye damlatılarak eklendi. Sonrasında çözücünün buharlaştırılması için yaklaşık 30 dk boyunca oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Elde edilen süspansiyon 10000 rpm'de +4°C'de 30 dk boyunca 3 defa santrifüj edildi. Her santrifüj sonrası supernatant uzaklaştırılarak ultra saf su ile yıkama işlemi gerçekleştirildi.

İkinci örnek için; aynı şekilde hazırlanan kitosan stok çözeltisinden 10 ml alınarak üzerine 3 µl Tween®80 eklendi ve çözeltinin pH'ı 4,8-5 olacak şekilde ayarlandı. 1 ml etanolde çözdürülen DIPHE çözeltisi ilk örnekten farklı olarak kitosan çözeltisine manyetik karıştırıcı altında enjektör yardımıyla damlatılarak eklendi ve 30 dk manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Daha sonra 10 ml TPP çözeltisi buz banyosunda ultrasonikasyon

cihazı altında 50 W güçte 5 dk boyunca enjektör yardımıyla damlatılarak çözeltiye eklendi. Bundan sonraki aşamalar ilk örneğin hazırlanmasında kullanılan yöntemler aynen tekrarlanarak gerçekleştirildi.

#### **4.3.4 Tekli Emülsiyon (o/w) - İyonik Jelasyon İki Basamaklı Sentez Yöntemiyle Kitosan Nanopartikül Sentezi**

Kitosan nanopartikülleri literatürde tanımlanan tekli emülsiyon (o/w) - iyonik jelasyon iki basamaklı sentez yönteminden modifiye edilerek sentezlendi [52], [53].

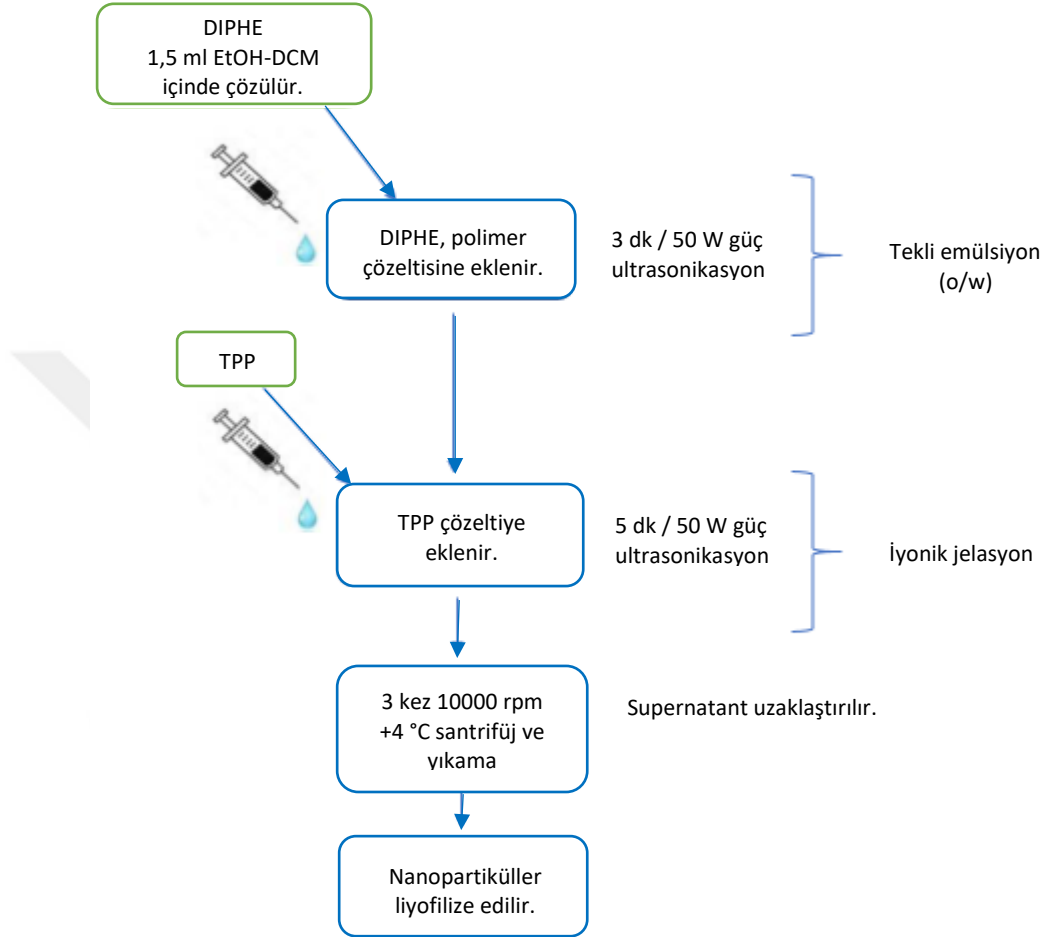
##### **4.3.4.1 Boş Kitosan Nanopartikül Sentezi**

Hazırlanan kitosan stok çözeltisinden 10 ml alınarak üzerine 3 µl Tween®80 eklendi ve çözeltinin pH'ı 4,8-5 olacak şekilde ayarlandı. 0,5 ml EtOH ve 1 ml DCM karıştırılarak organik faz çözeltisi hazırlandı. İlk olarak EtOH-DCM çözeltisi buz banyosunda ultrasonikasyon cihazı altında 50 W güçte 3 dk boyunca kitosan çözeltisine enjektör yardımıyla damlatılarak eklendi ve tekli emülsiyon elde edildi. Sonrasında çapraz bağlayıcı olarak kullanılan 10 ml TPP çözeltisi yine buz banyosunda ultrasonikasyon cihazı altında 50 W güçte 5 dk boyunca enjektör yardımıyla çözeltiye damlatılarak iyonik jelasyon basamağı gerçekleştirildi. Daha sonra çözücünün buharlaştırılması için yaklaşık 30 dakika boyunca oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Elde edilen süspansiyon 10000 rpm'de +4 °C'de 30 dk boyunca 3 defa santrifüj edildi. Her santrifüj sonrası supernatant uzaklaştırılarak ultra saf su ile yıkama işlemi gerçekleştirildi. Santrifüj sonrası çöken nanopartiküller ultra saf su ile süspanse edilerek donduruldu ve 24 saat boyunca liyofilize edildi. Liyofilize edilen nanopartiküller kullanılmak üzere dondurucuda saklandı.

##### **4.3.4.2 DIPHE Yüklü Kitosan Nanopartikül Sentezi**

Hazırlanan stok kitosan çözeltisinden 10 ml alınarak üzerine 3 µl Tween®80 eklendi ve pH'ı 4,8-5 olacak şekilde ayarlandı. 0,5 ml EtOH'da çözdürülerek farklı konsantrasyonlarda hazırlanan DIPHE çözeltilerinin (1 mg/ml, 2 mg/ml, 4 mg/ml, 6 mg/ml, 10 mg/ml) üzerine 1 ml DCM ilave edildi ve karıştırıldı. İlk olarak DIPHE içeren EtOH-DCM çözeltisi buz banyosunda ultrasonikasyon cihazı altında 50 W güçte 3 dk

boyunca enjektör yardımıyla kitosan çözeltisine damlatıldı ve tekli emülsiyon oluşturuldu. Tekli emülsiyon basamağından sonraki aşamalar 4.3.3.1’de anlatılan yöntemin aynen tekrarlanmasıyla gerçekleştirildi. Şekil 4.13’te tekli emülsiyon (o/w) – iyonik jelasyon sentez yönteminin deney akış şeması gösterilmiştir.



Şekil 4.13 Tekli emülsiyon (o/w) - iyonik jelasyon sentez yöntemi deney akış şeması

#### 4.3.5 Boyut ve Zeta Potansiyel Ölçümleri

Sentezlenen tüm nanopartiküllerin boyut ve zeta potansiyel ölçümleri Malvern ZetaSizer Nano ZS cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Boyut ölçümü için homojenizasyon sonrası elde edilen nanopartikül süspansiyonundan 770 µl alındı ve cihaza özgü kuvvet içerisine eklenerek Dinamik Işık Saçılması yöntemi yardımı ile ölçüm yapıldı. Zeta potansiyel ölçümü için de aynı kuvvet kullanılarak Lazer Doppler Elektroforez yöntemi yardımı ile ölçüm gerçekleştirildi. Ölçümler 3 kez tekrarlanarak ortalamaları alındı.

#### 4.3.6 Reaksiyon Veriminin Hesaplanması

Hassas terazi yardımıyla ölçülen nanopartikül ağırlığı ve nanopartiküler sistemi oluşturan maddelerin toplam miktarı (4.2) eşitliğinde yerine koyularak her bir örnek için reaksiyon verimi (RV) hesaplandı.

$$RV(\%) = \frac{\text{Nanopartikül Ağırlığı (mg)}}{\text{Toplam Madde Miktarı (mg)}} \times 100 \quad (4.2)$$

#### 4.3.7 Enkapsülasyon Etkinliğinin Hesaplanması

Sentezlenen tüm nanopartiküllerin santrifüj aşaması sırasında uzaklaştırılan supernatantları ayrı beherlerde toplanarak nanopartiküler sisteme yüklenmeyen serbest DIPHE konsantrasyon tayininde kullanıldı. Supernatanttan alınan örneklerin 345 nm’de UV-VIS spektroskopisi kullanılarak absorbans değerleri bulundu. Hazırlanan kalibrasyon eğrisi denkleminde okunan absorbans değerleri yerine koyularak her bir nanopartiküler sistem için serbest DIPHE konsantrasyonu tayin edildi ve (4.3) eşitliğinde yerine koyularak her bir örnek için enkapsülasyon etkinliği (EE) hesaplandı.

$$EE(\%) = \frac{\text{Toplam DIPHE miktarı (mg)} - \text{Serbest DIPHE miktarı (mg)}}{\text{Toplam DIPHE miktarı (mg)}} \times 100 \quad (4.3)$$

#### 4.3.8 Yükleme Kapasitesinin Hesaplanması

Liyofilizatörde kurutulup dondurucuda muhafaza edilen nanopartiküllerin ağırlıkları hassas terazi kullanılarak ölçüldü. Nanopartikül ağırlığı ve bölüm 4.3.7’de anlatıldığı gibi hesaplanan serbest DIPHE miktarı (4.4) eşitliğinde yerine koyularak her bir örnek için yükleme kapasitesi (YK) hesaplandı.

$$YK(\%) = \frac{\text{Toplam DIPHE miktarı (mg)} - \text{Serbest DIPHE miktarı (mg)}}{\text{Nanopartikül Ağırlığı (mg)}} \times 100 \quad (4.4)$$

#### 4.3.9 FT-IR Ölçümleri

Boş kitosan nanopartiküllerinin, DIPHE’nin ve farklı miktarlarda DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerinin karakterizasyonu için FT-IR spektroskopisi kullanıldı. Liyofilize edilen kuru örneklerin FT-IR spektrumu ATR aparatı kullanılarak 600-4000 cm<sup>-1</sup> frekans aralığında alındı.

#### 4.3.10 SEM Görüntüleri

Boş ve DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerin morfolojik analizi için taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanıldı. Sentezlenen nanopartiküllerden alınan örnekler numune yerine damlatılarak kurutuldu. Kuruyan nanopartiküllerin yüzeyi altın ile kaplanarak farklı enerji ve farklı büyütme oranlarında görüntüleme yapıldı.

#### 4.3.11 *in-vitro* Salım Çalışmaları

Salım çalışmalarında boş kitosan nanopartiküllerinin, 6 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerinin ve 10 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerinin salım davranışları ayrı ayrı incelendi. Nanopartiküller üzerlerine PBS-% 0,01 sodyum azid( $\text{NaN}_3$ ) içeren 5 ml tampon çözelti ilave edilerek diyaliz membran içerisine yerleştirildi ve PBS-% 0,01  $\text{NaN}_3$  içeren salım ortamına (45 ml) koyuldu. Salım ortamını içeren erlenler 37 °C'de 100 rpm'de çalkalamalı su banyosuna yerleştirilerek çalkalama işlemi başlatıldı ve nanopartiküllerden salınan ilaç miktarı takip edildi. İlk gün birinci, ikinci ve dördüncü saatlerde salım ortamından 3'er ml örnek alındı ve yerine 3'er ml stok çözeltiden PBS-% 0,01  $\text{NaN}_3$  ilave edildi. İlk üç gün günde bir defa, devam eden 30 gün boyunca ise aralıklı olarak salım ortamından 3'er ml örnek alınmaya ve ortama 3'er ml PBS-% 0,01  $\text{NaN}_3$  ilave edilmeye devam edildi. Alınan örneklerin UV-VIS spektroskopisi kullanılarak 345 nm'de absorbans okuması gerçekleştirildi. Salınan DIPHE konsantrasyonu absorbans değerlerinin kalibrasyon eğrisi denkleminde yerine koyulmasıyla tespit edildi. Salım değerleri kümülatif olarak (4.5)'teki zamana bağlı kütle hesabı eşitliği kullanılarak hesaplandı.

$$M_t = C_t \times V + \sum C_{t-1} \times V_s \quad (4.5)$$

$M_t$ , t zamanındaki ilaç miktarı (mg);  $C_t$ , t zamanındaki ilaç konsantrasyonu (mg/L); V, salım ortamı hacmi (L);  $V_s$ , belirli zamanlarda ölçüm için alınan salım ortamı hacmi (L)

Salım miktarının yüzde olarak hesaplanması için ise aşağıda gösterilen (4.6) eşitliği kullanıldı.

$$\% M = \frac{M_t}{M_0} \times 100 \quad (4.6)$$

$M_t$ , t zamanındaki ilaç miktarı (mg);  $M_0$ , başlangıçta nanopartiküllere yüklenen ilaç miktarı(mg)

### DENEY SONUÇLARI

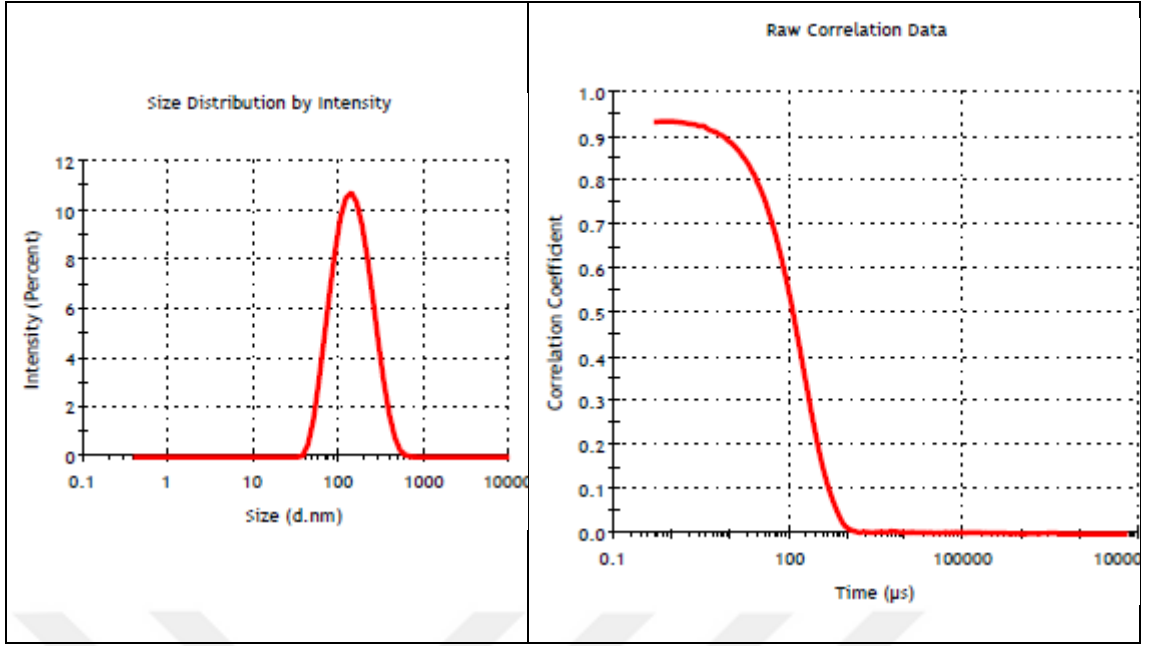
#### 5.1 İyonik Jelasyon Yöntemiyle Sentezlenen DIPHE Yüklü Kitosan Nanopartiküllerin Boyut ve Zeta Potansiyel Analizi

Bu çalışmada DIPHE yükleme yönteminin ve kitosan:TPP (Chi:TPP) oranının sentezlenen kitosan nanopartiküllerine (Chi-NP) etkisi incelendi.

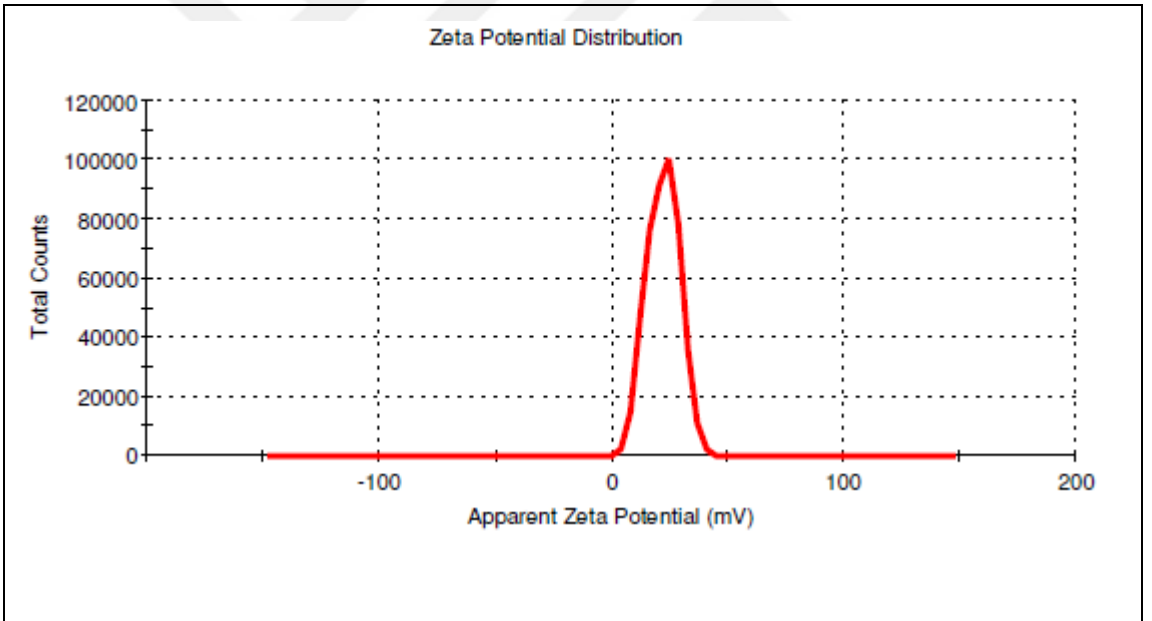
##### 5.1.1 DIPHE Yüklü Kitosan Nanopartikül Boyut ve Zeta Potansiyel Analizi (Chi:TPP ; 5:1)

Çalışmada kullanılan kütlece kitosan Chi:TPP oranı 5:1'dir. Sentezlenen nanopartiküllerin oda sıcaklığında Zeta Sizer cihazı ile boyut analizleri, partikül büyüklüğü dağılımını ifade eden polidispersite indeksleri ve yüzey yükünü ifade eden zeta potansiyelleri tespit edildi.

*İlk örnek için;* 1 mg/ml etanolde hazırlanan DIPHE çözeltisi buz banyosu koşullarında ultrasonikatör altında (yöntem 1) 50 W güçte 3 dk boyunca enjektör yardımıyla kitosan çözeltisine damlatıldı. Yöntem 1 kullanılarak sentezlenen DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerin (Chi-NP) boyut dağılımı ve korelasyon grafiği Şekil 5.1'de, zeta potansiyel dağılım grafiği ise Şekil 5.2'de verilmiştir.

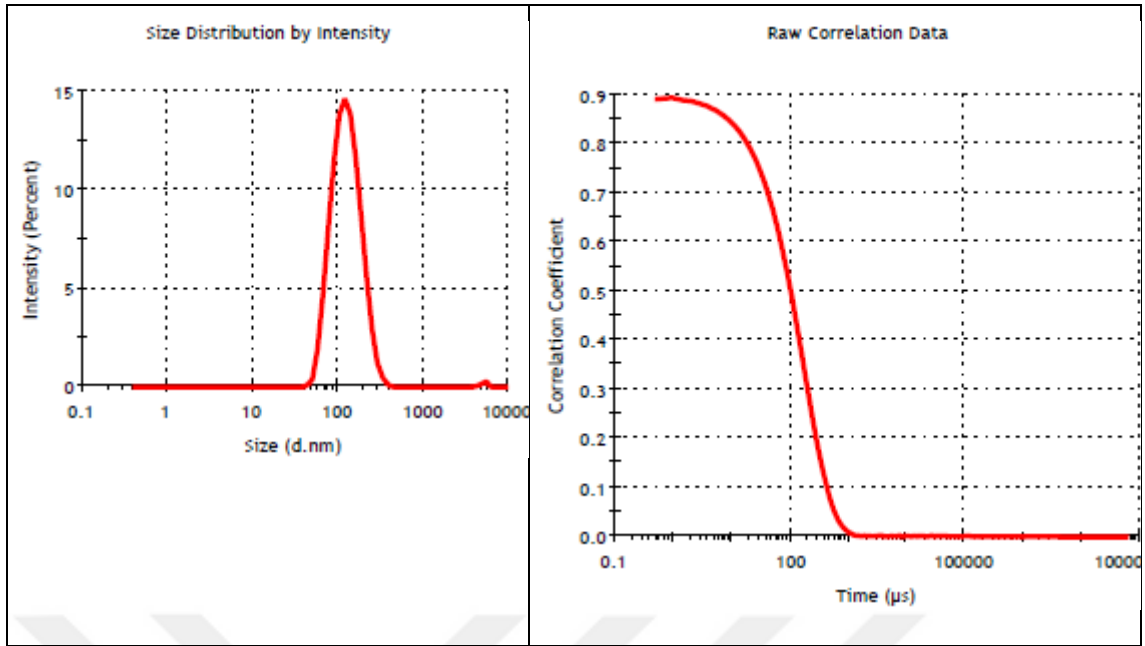


Şekil 5.1 Yöntem 1 kullanılarak sentezlenen DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerin yoğunluk olarak boyut dağılımı ve korelasyon grafiği

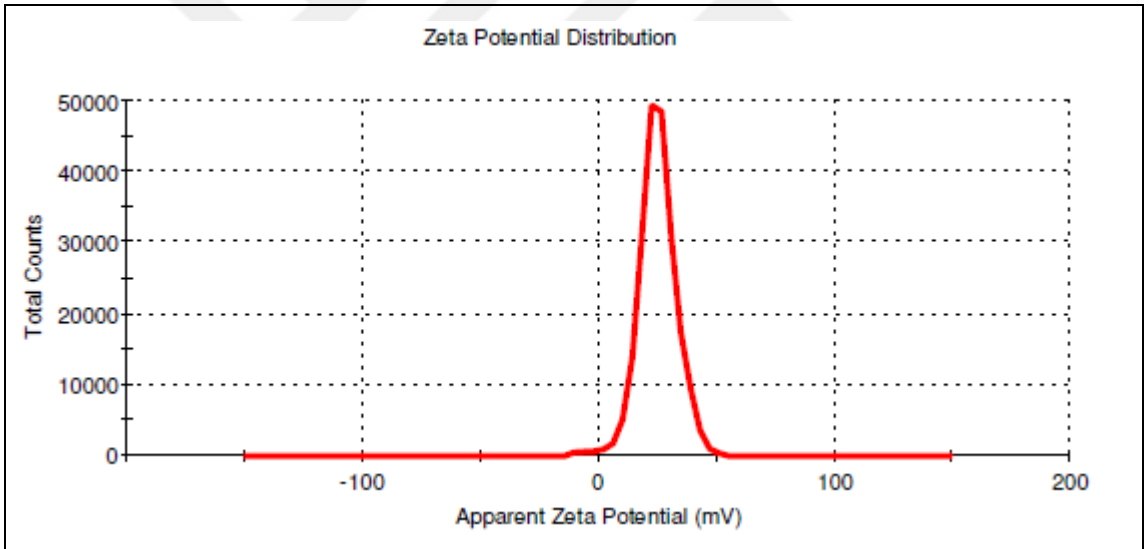


Şekil 5.2 Yöntem 1 kullanılarak sentezlenen DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerin zeta potansiyel dağılım grafiği

*İkinci örnek için;* ise aynı şekilde hazırlanan 1 mg/ml DIPHE çözeltisi manyetik karıştırıcı altında (yöntem 2) 30 dk boyunca enjeksiyon yardımıyla kitosan çözeltisine damlatılarak eklendi. Yöntem 2 kullanılarak sentezlenen DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerin boyut dağılımı ve korelasyon grafiği Şekil 5.3'te, zeta potansiyel dağılım grafiği ise Şekil 5.4'de verilmiştir.



Şekil 5.3 Yöntem 2 kullanılarak sentezlenen DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerin yoğunluk olarak boyut dağılımı ve korelasyon grafiği



Şekil 5.4 Yöntem 2 kullanılarak sentezlenen DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerin zeta potansiyel dağılım grafiği

Yöntem 1 ve yöntem 2 ile sentezlenen DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerin boyut ve zeta potansiyel analiz sonuçları Çizelge 5.1’de verilmiştir.

Çizelge 5.1 Yöntem 1 ve yöntem 2 kullanılarak sentezlenen DIPHE yüklü Chi-NP boyut ve zeta potansiyel analiz sonuçları

|                                                           | Z-ave (d.nm)  | Pdl   | intensity (d.nm) | Z-pot(mV)    |
|-----------------------------------------------------------|---------------|-------|------------------|--------------|
| <b>DIPHE yüklü Chi-NP (ultrasonikasyon/yöntem 1)</b>      | 126,1 ± 1,106 | 0,229 | 161,9            | 22,1 ± 0,987 |
| <b>DIPHE yüklü Chi-NP (manyetik karıştırıcı/yöntem 2)</b> | 119 ± 1,007   | 0,206 | 135              | 24,8 ± 1,39  |

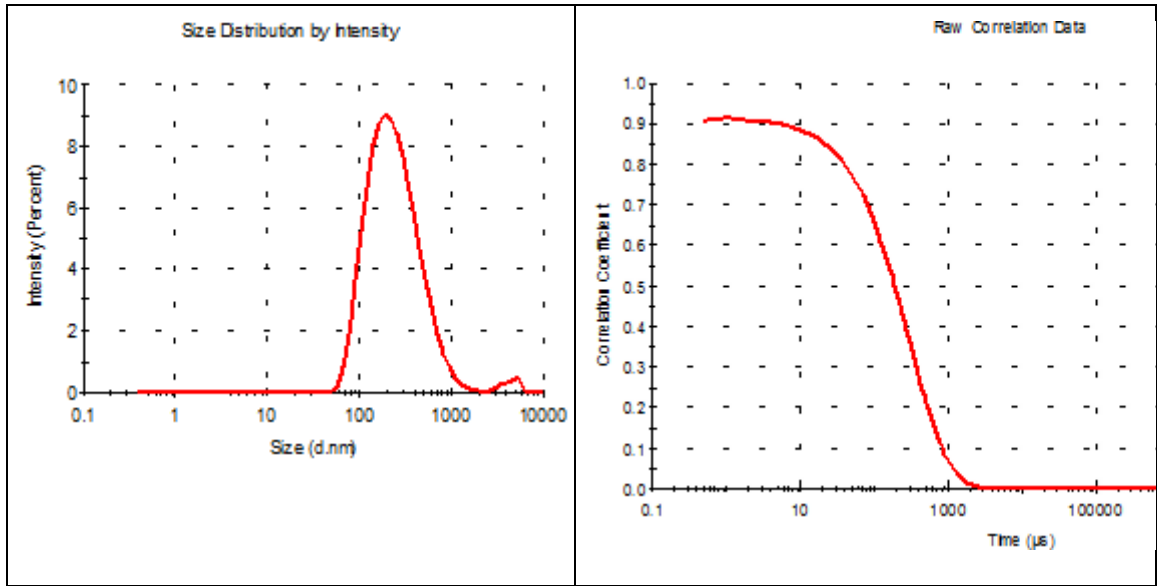
Literatüre göre nanopartiküller arasındaki elektriksel itmeye bağlı olarak oluşan zeta potansiyelin mutlak değeri 30 mV'un üzerinde olduğunda nanopartiküller stabil olarak kabul edilmektedir. Wu ve arkadaşları iyonik jelasyon yöntemiyle sentezledikleri resveratrol yüklü kitosan nanopartikülleri için ortalama partikül boyutlarının 172 ile 217 nm, Pdl değerlerinin ortalama 0,25 ve ortalama zeta potansiyellerinin 38 mV ile 58 mV aralığında değişen değerlerde olduğunu göstermişlerdir [75]. Literatür ile karşılaştırıldığında bu çalışmada sentezlenen kitosan nanopartiküllerinin zeta potansiyelleri daha düşüktür. Buna ilave olarak deney aşamasında santrifüj sonrası nanopartiküllerde herhangi bir çökme sağlanamamıştır. Bu sorunun üstesinden gelebilmek için çalışmada kullanılan TPP miktarı arttırılarak (Chi:TPP oranı 2:1) tekrar bir deneme yapılmıştır.

### 5.1.2 DIPHE Yüklü Kitosan Nanopartikül Boyut ve Zeta Potansiyel Analizi (Chi:TPP ; 2:1)

Bu çalışmada Chi:TPP kütlece oranı 2:1 olacak şekilde boş kitosan nanopartikülleri ve 1 mg DIPHE kullanılarak hazırlanan yüklü kitosan nanopartikülleri sentezledi. DIPHE yüklemesi manyetik karıştırıcı altında 30 dk boyunca enjeksiyon yardımıyla damlatılarak gerçekleştirildi.

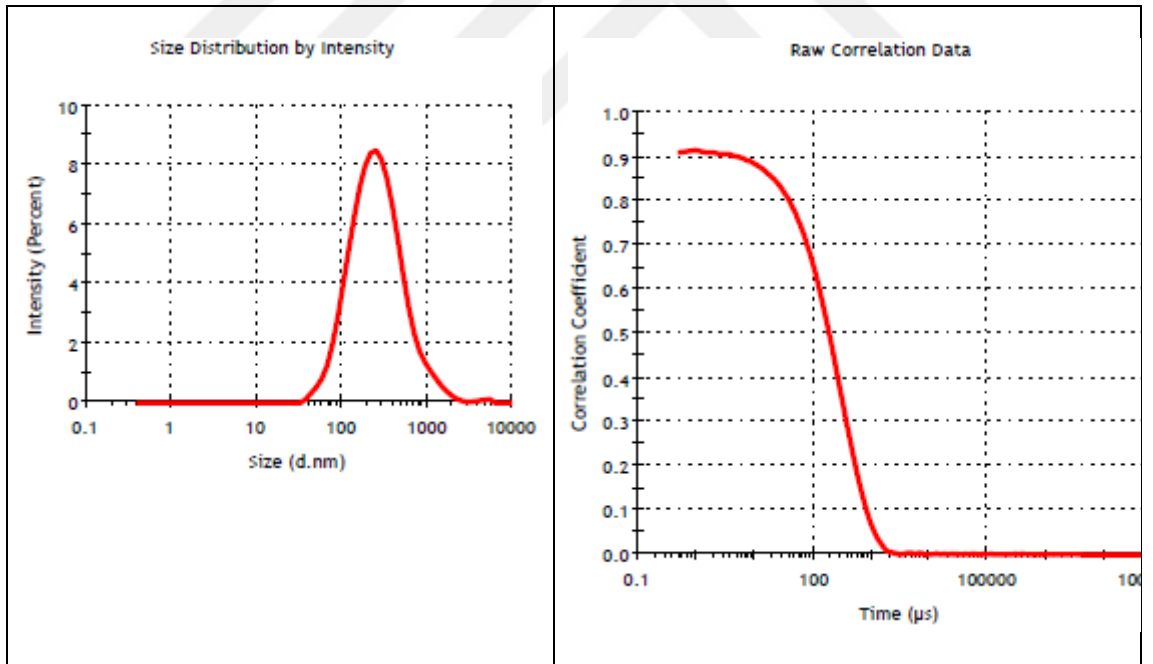
Sentezlenen nanopartiküllerin oda sıcaklığında Zeta Sizer cihazı ile boyut analizleri, partikül büyüklüğü dağılımını ifade eden polidispersite indeksleri ve yüzey yükünü ifade eden zeta potansiyelleri tespit edildi.

Chi:TPP oranı 2:1 olacak şekilde sentezlenen boş kitosan nanopartiküllerin (Chi-NP) boyut dağılımı ve korelasyon grafiği Şekil 5.5'te verilmiştir.



Şekil 5.5 Boş Chi-NP yoğunluk olarak boyut dağılımı ve korelasyon grafiği

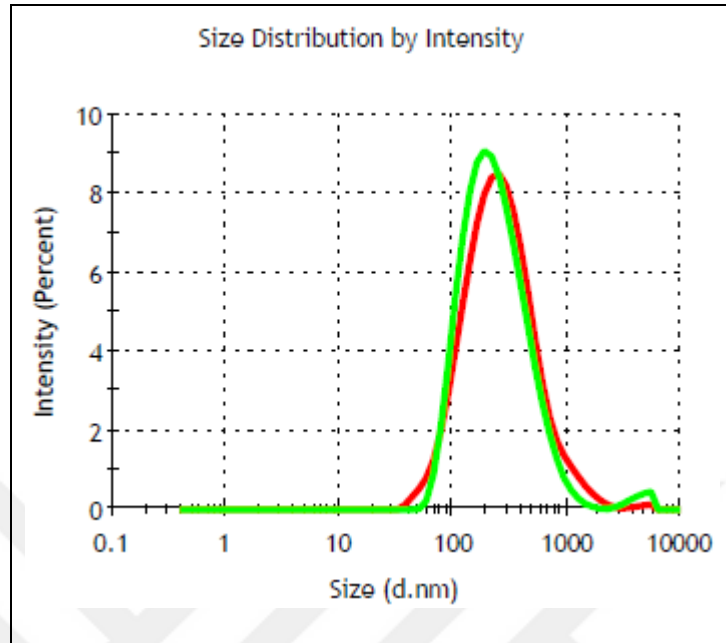
Chi:TPP oranı 2:1 olacak şekilde manyetik karıştırıcı altında etkin madde yüklemesi yapılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin boyut dağılımı ve korelasyon grafiği Şekil 5.6’da verilmiştir.



Şekil 5.6 1 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP yoğunluk olarak boyut dağılımı ve korelasyon grafiği

Şekil 5.7’de boş kitosan nanopartiküllerin ve 1 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin boyut dağılımı aynı grafik üzerinde gösterilmiştir. Grafikten de anlaşılacağı gibi etkin madde yüklü kitosan nanopartiküllerin gösterildiği kırmızı

grafik yeşil grafiğe göre sağa doğru kayma göstermiştir. Bu da bize nanopartikül boyutunun etkin madde yüklemesiyle birlikte büyüdüğünü göstermektedir.



Şekil 5.7 Boş Chi-NP ve 1 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP yoğunluk olarak boyut dağılımı (yeşil grafik: Boş Chi-NP; kırmızı grafik: 1 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP)

Sentezlenen tüm nanopartiküllerin boyut analizi sonuçları Çizelge 5.2’de verilmiştir.

Çizelge 5.2 Boş Chi-NP ve 1 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP boyut analizi sonuçları

|                                                   | Chi:TPP | Z-ave (d.nm)  | PdI   | intensity (d.nm) |
|---------------------------------------------------|---------|---------------|-------|------------------|
| <b>Boş Chi-NP</b>                                 | 2:1     | 201,2 ± 4,782 | 0,265 | 278,8            |
| <b>1 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP</b> | 2:1     | 209,7 ± 2,316 | 0,299 | 330,7            |
| <b>1 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP</b> | 5:1     | 119 ± 1,007   | 0,206 | 135              |

Etkin madde yüklemesiyle birlikte nanopartikül boyutlarının 201,2 nm’den 209,7 nm’ye arttığı görülmektedir. Bu da bize etkin madde yüklemesinin gerçekleştiğini göstermektedir. Ayrıca Chi:TPP oranı 5:1 olacak şekilde sentezlenen kitosan nanopartikülleriyle karşılaştırıldığında Chi:TPP 2:1 oranında sentezlenen kitosan nanopartiküllerinin boyutu artmış olup 119 nm’den 209,7 nm’ye yükselmiştir. Ancak

boyutlarda artış görülmesine rağmen santrifüj sırasında Chi:TPP; 5:1 oranında olduğu gibi yine çökme gözlenememiştir. Bu nedenle çalışmaya literatürde bulunan tekli emülsiyon (o/w) - iyonik jelasyon iki basamaklı sentez yöntemiyle devam edilmiştir.

## **5.2 Tekli Emülsiyon (o/w) - İyonik Jelasyon İki Basamaklı Sentez Yöntemiyle Sentezlenen Kitosan Nanopartiküllerinin Karakterizasyonu**

Bu yöntem ile sentezlenen boş ve DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerin karakterizasyonu gerçekleştirildi.

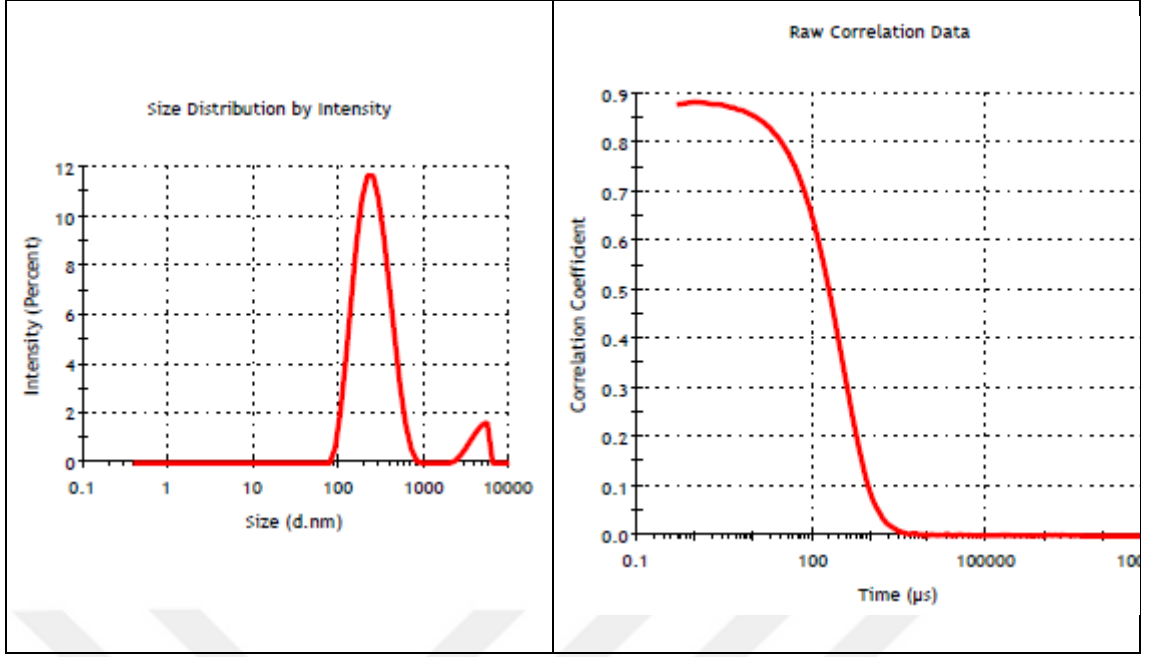
### **5.2.1 Boş Kitosan Nanopartiküllerinin Karakterizasyonu**

Nanopartiküllerin boyut ve zeta potansiyel analizleri Zeta-Sizer cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. FT-IR analizleri ve SEM görüntüleri incelenerek nanopartiküller karakterize edildi.

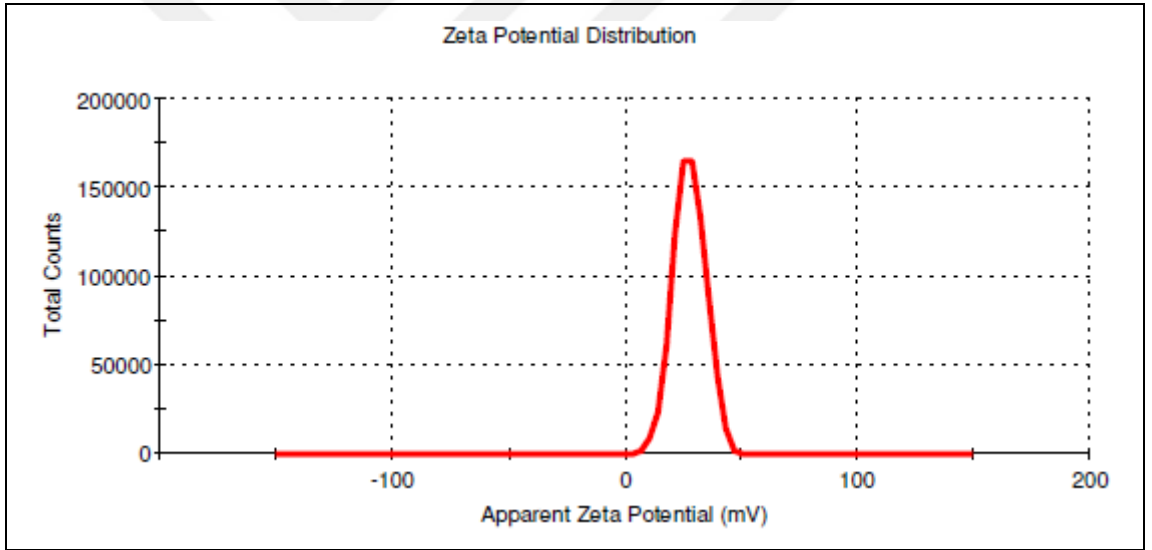
#### **5.2.1.1 Boş Kitosan Nanopartiküllerinin Boyut ve Zeta Potansiyel Analizi**

Optimum koşullarda sentezlenen boş kitosan nanopartiküllerinin ZetaSizer cihazı ile boyut analizi yapıldı, partikül büyüklüğü dağılımını ifade eden polidispersite indeksi ve yüzey yükünü ifade eden zeta potansiyelleri ölçüldü.

Tekli emülsiyon (o/w) - iyonik jelasyon iki basamaklı sentez yöntemi kullanılarak sentezlenen boş kitosan nanopartiküllerin (Chi-NP) boyut dağılımı ve korelasyon grafiği Şekil 5.8’de, zeta potansiyel dağılım grafiği ise Şekil 5.9’da verilmiştir.



Şekil 5.8 Boş Chi-NP yoğunluğa göre boyut dağılımı ve korelasyon grafiği



Şekil 5.9 Boş Chi-NP zeta potansiyel dağılım grafiği

Sentezlenen boş kitosan nanopartiküllerinin ortalama boyutu 229,2 nm, zeta potansiyeli ise 27,5 mV olarak ölçülmüştür. Diğer analiz sonuçları Çizelge 5.3'te verilmiştir.

Çizelge 5.3 Boş Chi-NP boyut ve zeta potansiyel analizi sonuçları

|                   | <b>Z-ave (d.nm)</b> | <b>Pdl</b> | <b>intensity (d.nm)</b> | <b>Z-pot (mV)</b> |
|-------------------|---------------------|------------|-------------------------|-------------------|
| <b>Boş Chi-NP</b> | 229,2 ± 1,36        | 0,334      | 269,7                   | 27,5 ± 0,75       |

Literatürde bu yöntem kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerinin ortalama boyutları 281,5 nm olarak bulunmuştur [53]. Elde edilen sonuçlar literatür ile uyum göstermektedir.

#### 5.2.1.2 Boş Kitosan Nanopartiküllerinin Reaksiyon Verimi Sonuçları

Boş kitosan nanopartiküllerinin reaksiyon verimi (RV) bölüm 4.3.6’da verilen (4.2) eşitliği kullanılarak hesaplanmıştır ve sonuçlar Çizelge 5.4’te verilmiştir. Toplam madde miktarı nanopartiküler sistem üretiminde kullanılan başlangıçtaki toplam madde miktarını, nanopartikül ağırlığı ise sentezlenen nanopartikülün liyofilizatör aşamasından sonra hassas terazi ile tartılan katı kütlesini temsil etmektedir.

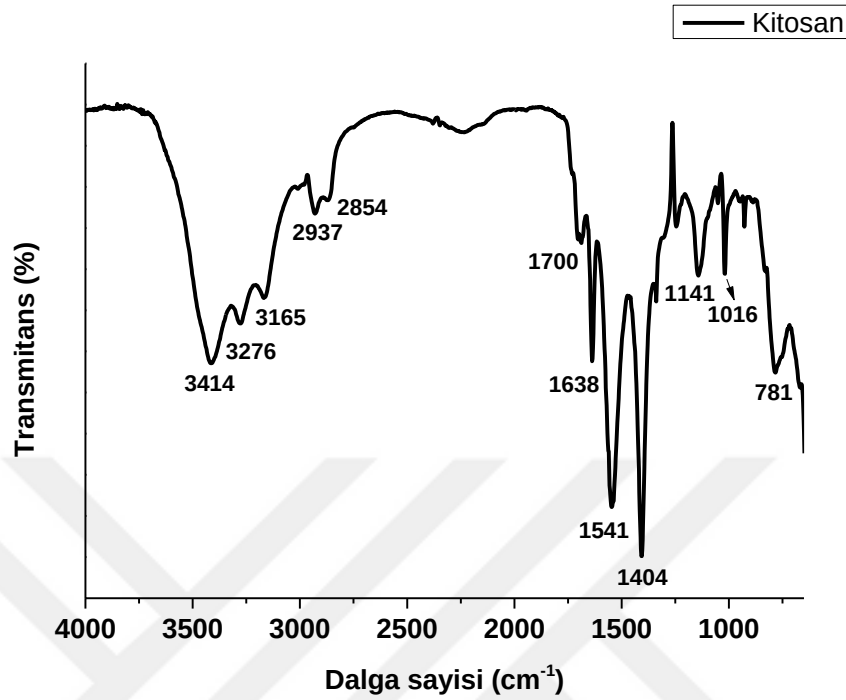
Çizelge 5.4 Boş Chi-NP reaksiyon verimi sonuçları

|                   | <b>Toplam madde miktarı (mg)</b> | <b>Nanopartikül ağırlığı (mg)</b> | <b>Reaksiyon verimi (%)</b> |
|-------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|
| <b>Boş Chi-NP</b> | 24                               | 2                                 | 8,3                         |

Boş kitosan nanopartiküllerin reaksiyon verimi % 8,3 olarak hesaplanmıştır.

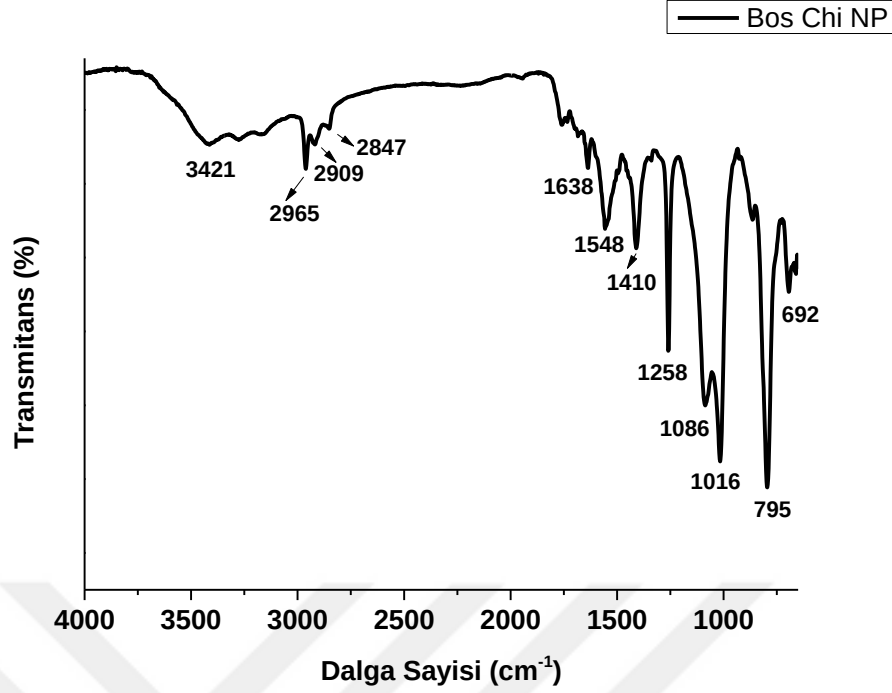
### 5.2.1.3 Boş Kitosan Nanopartiküllerinin FT-IR Analiz Sonuçları

Boş kitosan nanopartiküllerinin moleküler analizinde FT-IR spektroskopisi kullanılmıştır.



Şekil 5.10 Kitosan polimerinin FT-IR grafiği

Şekil 5.10'da kitosan polimerinin FT-IR grafiği verilmiştir. Kitosan için karakteristik FT-IR pikleri 3414 ve 3276  $\text{cm}^{-1}$  pikleridir. Bu pikler kitosandaki  $-\text{NH}_2$  ve  $-\text{OH}$  gerilmelerinden kaynaklı oluşmaktadır. 2937  $\text{cm}^{-1}$  piki  $-\text{CH}$  simetrik gerilme, 2854  $\text{cm}^{-1}$  piki ise  $-\text{CH}$  asimetrik gerilme kaynaklıdır. Bu pikler polisakkaritler için karakteristik piklerdir ve diğer polisakkaritlerin FT-IR analizinde de gözlenmektedir. 1638  $\text{cm}^{-1}$  piki amid I  $\text{C}=\text{O}$  gerilmesinden ve 1541  $\text{cm}^{-1}$  piki amid II  $-\text{NH}$  gerilmesi kaynaklı oluşmaktadır ve kitosanın yapısındaki N-asetil gruplarından kaynaklıdır. 1404  $\text{cm}^{-1}$  piki ise  $\text{CH}_2$  eğilmesi, 1141  $\text{cm}^{-1}$  piki  $\text{C}-\text{O}-\text{C}$  asimetrik gerilmesi ve 1016  $\text{cm}^{-1}$  civarında gözlenen pik ise  $\text{C}-\text{O}$  gerilmesinden kaynaklıdır. Kitosan için elde edilen pikler literatürdeki diğer çalışmalarla uyumludur [76].

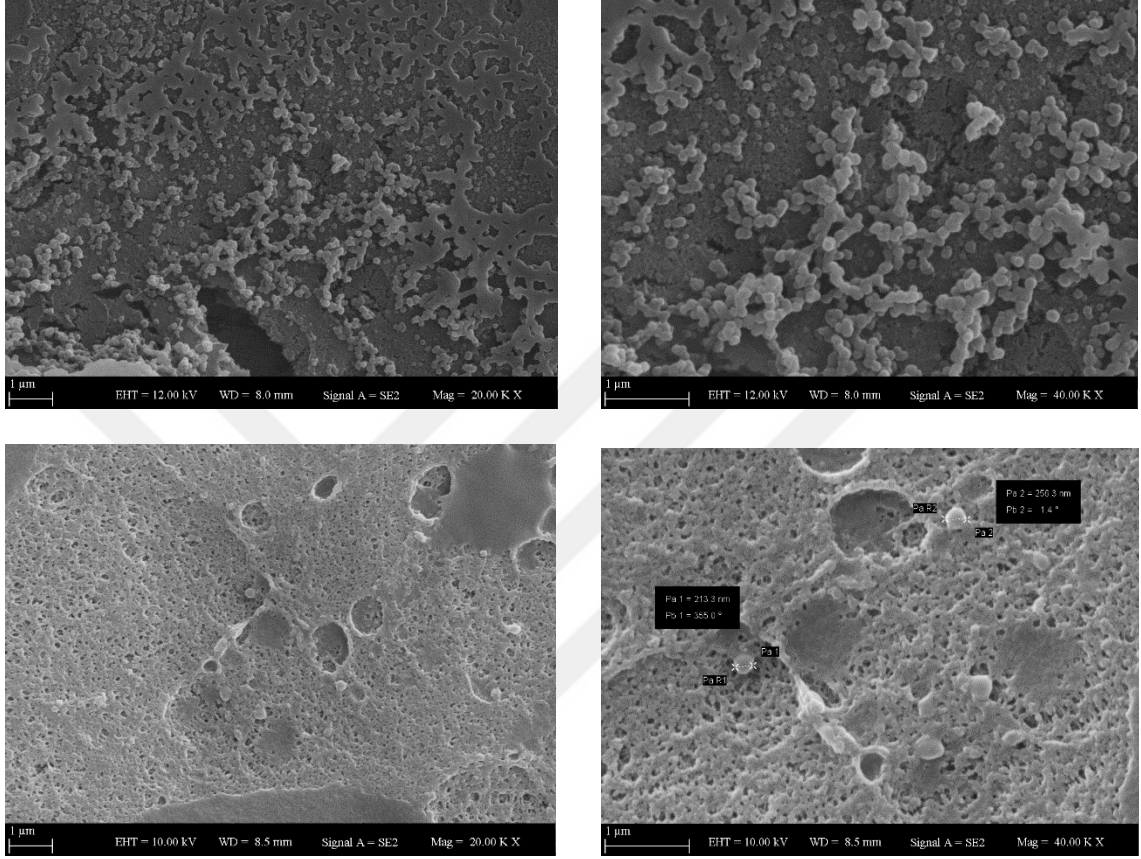


Şekil 5.11 Boş kitosan nanopartiküllerin FT-IR grafiği

Şekil 5.11’de boş kitosan nanopartiküllerin FT-IR grafiği verilmiştir. Kitosanda bulunan –NH<sub>2</sub> ve –OH gerilmelerinin oluşturduğu 3414 cm<sup>-1</sup> ve 3276 cm<sup>-1</sup> piklerinin boş kitosan nanopartiküllerinde 3421 cm<sup>-1</sup> civarında oluştuğu ve hidrojen bağlarının gelişmesinden kaynaklı pikin genişlediği görülmüştür. Kitosanda bulunan 1638 cm<sup>-1</sup> ve 1016 cm<sup>-1</sup> piklerinin kitosan nanopartikülünde aynı şekilde korunduğu görülmüştür. 1404 cm<sup>-1</sup> ve 781 cm<sup>-1</sup>’ de kitosanda gözlenen piklerin sırasıyla 1410 cm<sup>-1</sup> ve 795 cm<sup>-1</sup> bandına kaydığı görülmüştür. Bu kaymaların yeni hidrojen bağlarının oluşmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Kitosanda bulunan amid II –NH gerilmesi kaynaklı oluşan 1541 cm<sup>-1</sup> piki kitosan nanopartiküllerinde 1548 cm<sup>-1</sup> bandına kaymıştır. Bu durumun kitosanda bulunan –NH bağlarının TPP ile çapraz bağ kurmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca 1258 cm<sup>-1</sup>’de P=O bağından kaynaklanan yeni pik oluşumu gözlenmiştir. Bu sonuçlar TPP’de bulunan fosfat gruplarıyla kitosanda bulunan amin gruplarının çapraz bağ yaptığını göstermektedir. Elde edilen sonuçlar literatürdeki kitosan nanopartikülleriyle yapılan çalışmalarla uyumludur [77], [78].

#### 5.2.1.4 Boş Kitosan Nanopartiküllerinin SEM Görüntüleri

Boş kitosan nanopartiküllerinin morfolojik analizi 10 kV enerji değerinde SEM ile gerçekleştirilmiştir. Farklı büyütme oranlarında görüntülenen boş kitosan nanopartiküllerinin SEM görüntüleri Şekil 5.12’de gösterilmiştir.



Şekil 5.12 Boş kitosan nanopartiküllerin SEM görüntüleri

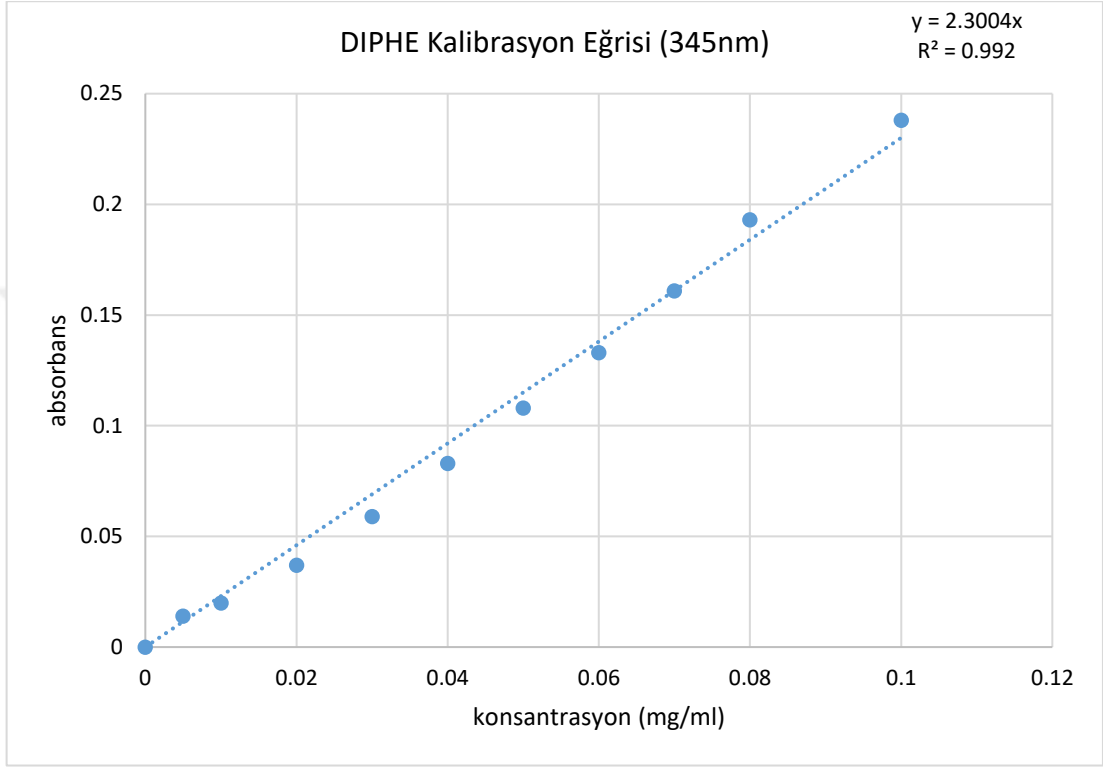
Boş kitosan nanopartiküllerinin genel olarak küresel yapıda oldukları gözlenmekle beraber nanopartikül büyüklüklerinin yaklaşık olarak boyut analizi sonucu ile örtüştüğü tespit edilmiştir.

#### 5.2.2 DIPHE Yüklü Kitosan Nanopartiküllerinin Karakterizasyonu

DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerin boyut ve zeta potansiyel analizleri Zeta-Sizer cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. FT-IR analizleri ve SEM görüntüleri incelenerek nanopartiküller karakterize edildi.

### 5.2.2.1 DIPHE Kalibrasyon Eğrisi Grafiği

Bölüm 4.3.2’de anlatıldığı gibi hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki (Çizelge 4.1) DIPHE çözeltilerinin 345 nm dalga boyunda UV-Vis spektrofotometre cihazı kullanılarak okunan absorbans değerleri ile oluşturulan kalibrasyon eğrisi grafiği Şekil 5.13’te verilmiştir.



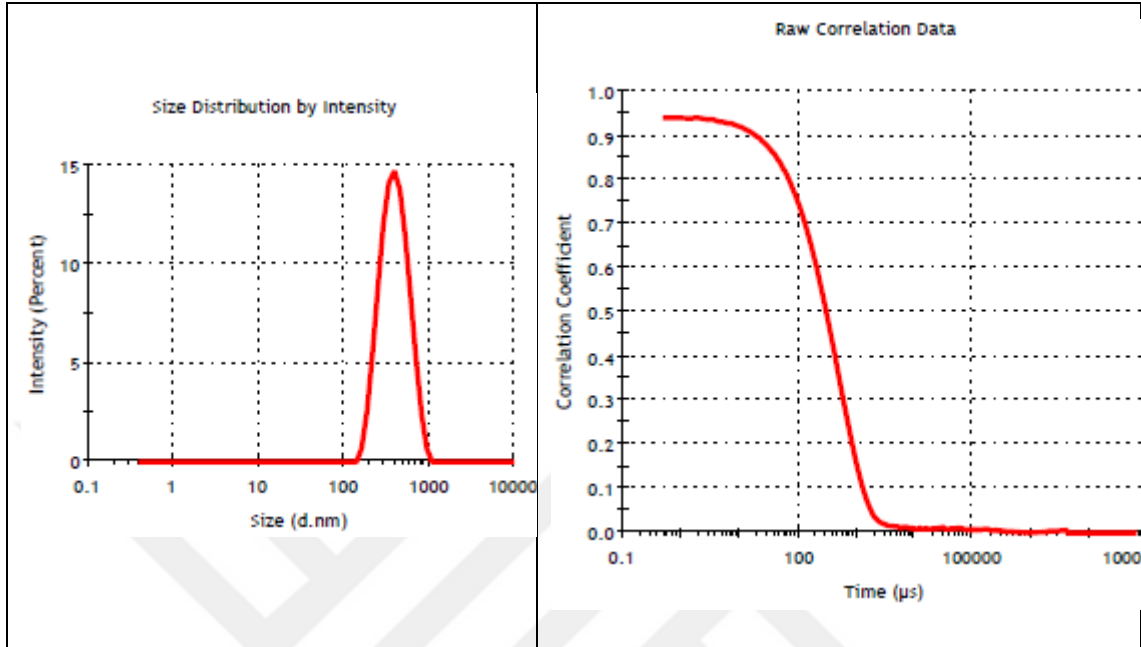
Şekil 5.13 DIPHE kalibrasyon eğrisi grafiği

Çizilen kalibrasyon eğrisine göre molar absorpsiyon katsayısı 2,3004 ml/mg.cm, regresyon katsayısı ise 0,992 olarak bulunmuştur. Enkapsülasyon etkinliği ve yükleme kapasitesi hesaplamalarında nanopartiküler sisteme yüklenmeyen serbest DIPHE miktarının tayininde oluşturulan kalibrasyon eğrisi denklemleri kullanılmıştır.

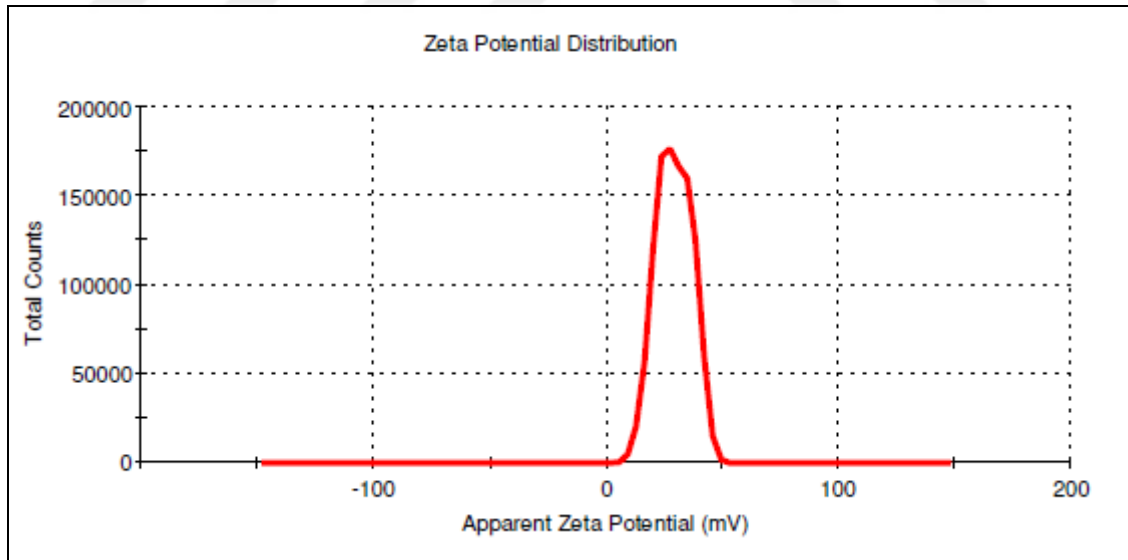
### 5.2.2.2 DIPHE Yüklü Kitosan Nanopartiküllerinin Boyut ve Zeta Potansiyel Analizi

Optimum koşullarda sentezlenen farklı konsantrasyonlarda (1 mg/ml, 2 mg/ml, 4 mg/ml, 6 mg/ml, 10 mg/ml) DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerinin boyut dağılımı ve zeta potansiyel analizleri Zeta Sizer cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir örnek için ölçümler üçer kere tekrarlanmış olup ortalama değerler hesaplanmıştır.

1 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerinin boyut dağılımı ve korelasyon grafiği Şekil 5.14'te, zeta potansiyel dağılım grafiği ise Şekil 5.15'te verilmiştir.



Şekil 5.14 1 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP yoğunluğa göre boyut dağılımı ve korelasyon grafiği



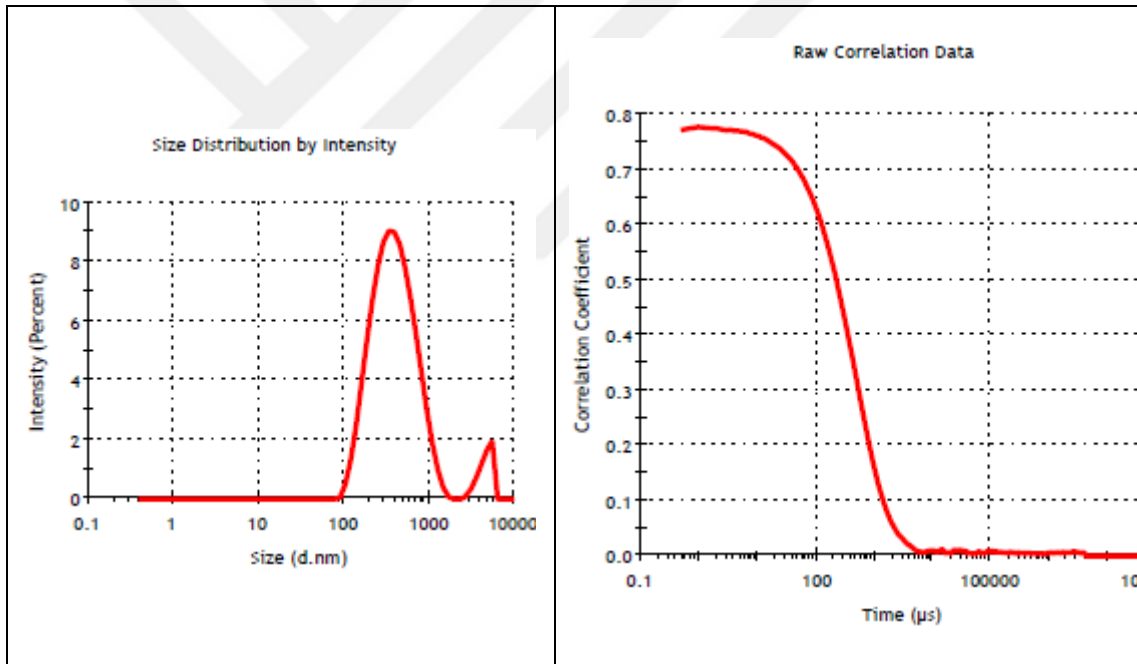
Şekil 5.15 1 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP zeta potansiyel dağılım grafiği

1 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerinin ortalama boyutu 321,1 nm, zeta potansiyeli ise 25 mV ölçülmüştür. Diğer analiz sonuçları Çizelge 5.5'te verilmiştir.

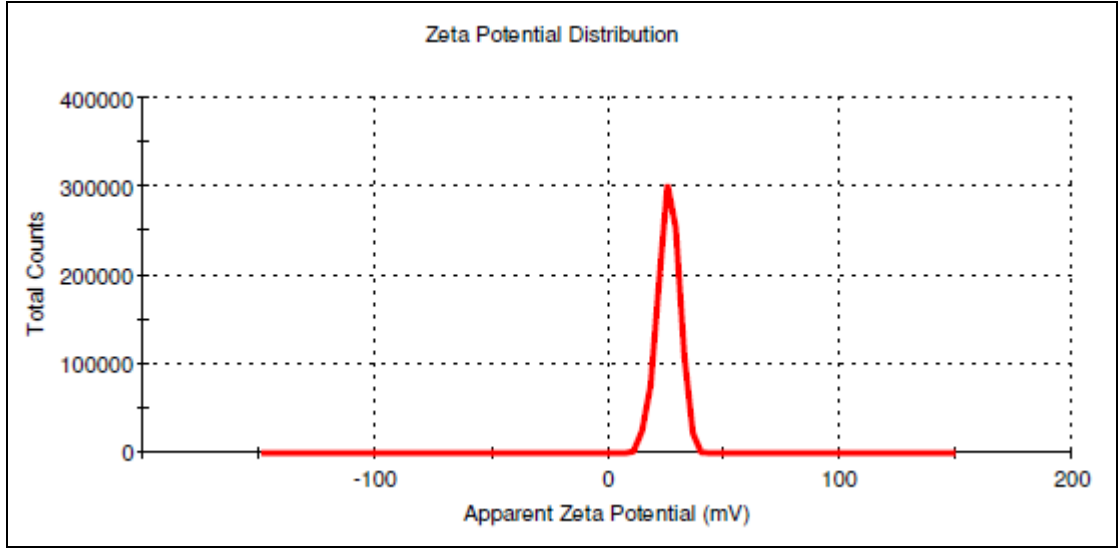
Çizelge 5.5 1 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP boyut ve zeta potansiyel analiz sonuçları

|                                                   | Z-ave (d.nm)  | PdI   | intensity (d.nm) | Z-pot (mV) |
|---------------------------------------------------|---------------|-------|------------------|------------|
| <b>1 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP</b> | 321,1 ± 17,88 | 0,254 | 419,4            | 25,0 ± 0,4 |

2 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerinin boyut dağılımı ve korelasyon grafiği Şekil 5.16'da, zeta potansiyel dağılım grafiği ise Şekil 5.17'de verilmiştir.



Şekil 5.16 2 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP yoğunluğa göre boyut dağılımı ve korelasyon grafiği



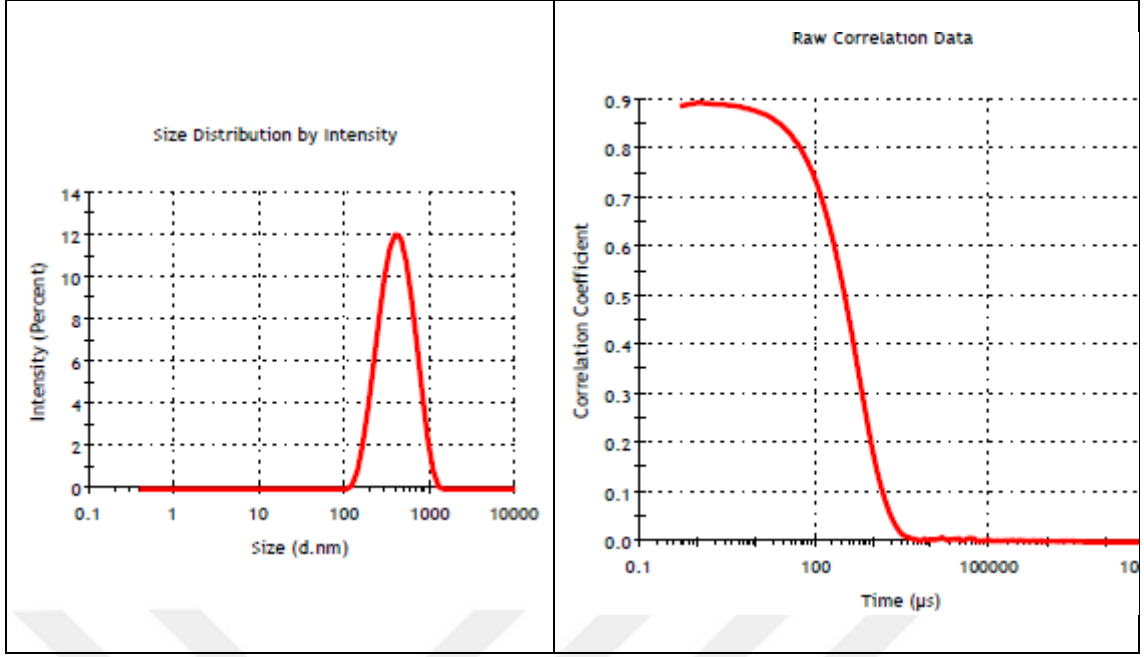
Şekil 5.17 2 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP zeta potansiyel dağılım grafiği

2 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerinin ortalama boyutu 340,1 nm, zeta potansiyeli ise 26,1 mV ölçülmüştür. Diğer analiz sonuçları Çizelge 5.6'da verilmiştir.

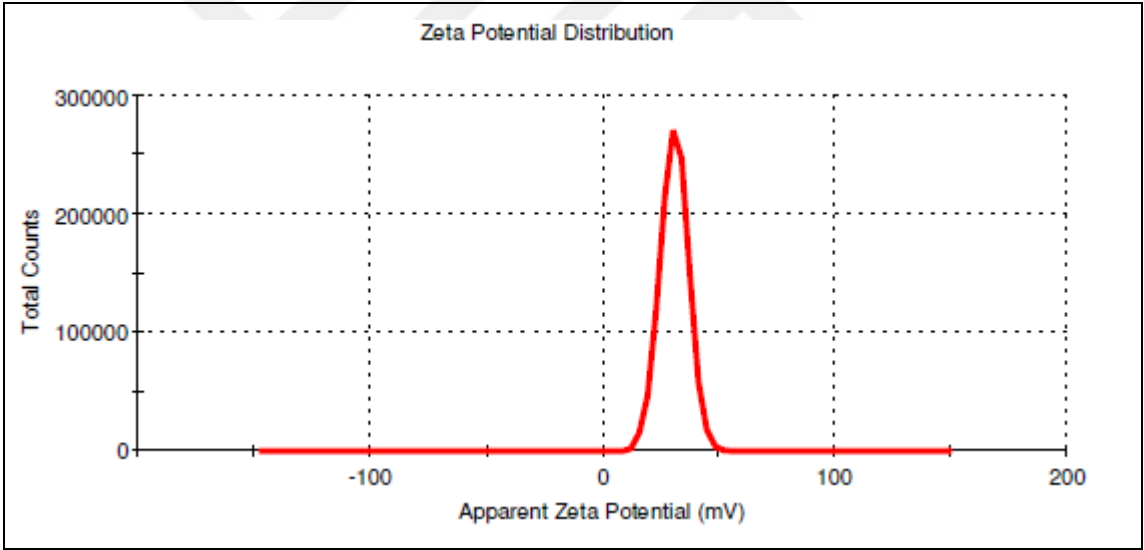
Çizelge 5.6 2 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP boyut ve zeta potansiyel analiz sonuçları

|                                                   | Z-ave (d.nm) | PdI   | intensity (d.nm) | Z-pot (mV) |
|---------------------------------------------------|--------------|-------|------------------|------------|
| <b>2 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP</b> | 340,1 ± 13,5 | 0,383 | 440,0            | 26,1 ± 0,6 |

4 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerinin boyut dağılımı ve korelasyon grafiği Şekil 5.18'de, zeta potansiyel dağılımı ise Şekil 5.19'da verilmiştir.



Şekil 5.18 4 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP yoğunluğa göre boyut dağılımı ve korelasyon grafiği



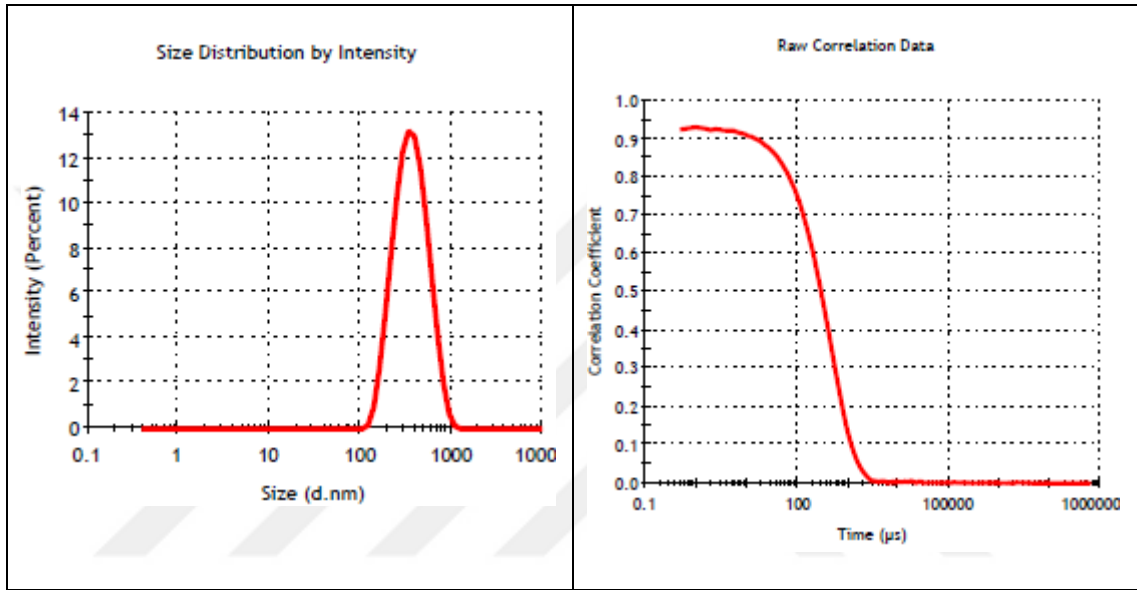
Şekil 5.19 4 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP zeta potansiyel dağılım grafiği

4 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerinin ortalama boyutu 375,1 nm, zeta potansiyeli ise 30,7 mV ölçülmüştür. Diğer analiz sonuçları Çizelge 5.7’de verilmiştir.

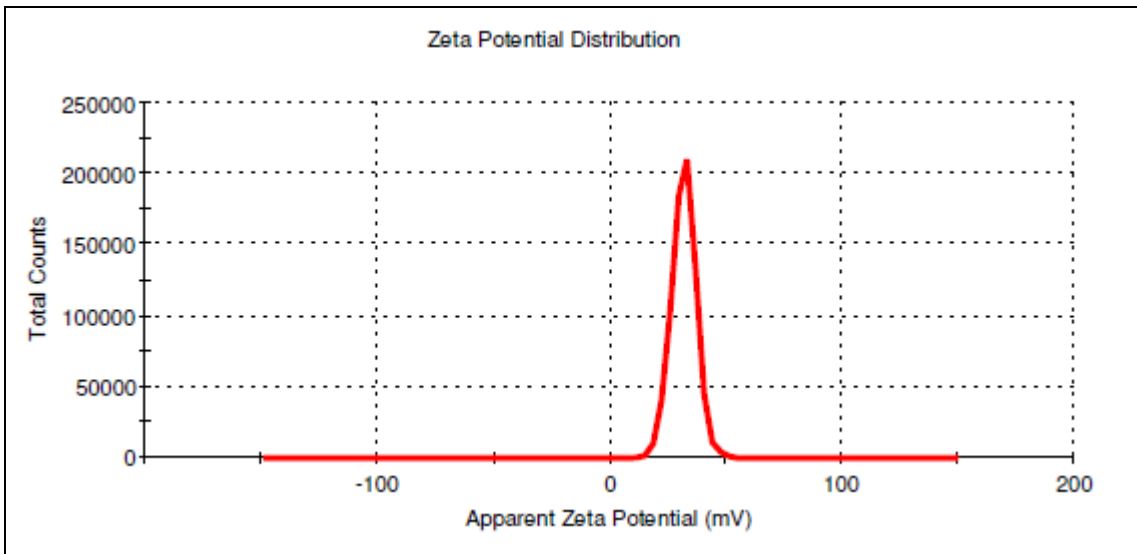
Çizelge 5.7 4 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP boyut ve zeta potansiyel analiz sonuçları

|                                                   | Z-ave (d.nm) | Pdl   | intensity (d.nm) | Z-pot (mV)  |
|---------------------------------------------------|--------------|-------|------------------|-------------|
| <b>4 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP</b> | 375,1 ± 8,15 | 0,249 | 443,8            | 30,7 ± 0,66 |

6 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerinin boyut dağılımı ve korelasyon grafiği Şekil 5.20’de, zeta potansiyel dağılımı ise Şekil 5.21’de verilmiştir.



Şekil 5.20 6 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP yoğunluğa göre boyut dağılımı ve korelasyon grafiği



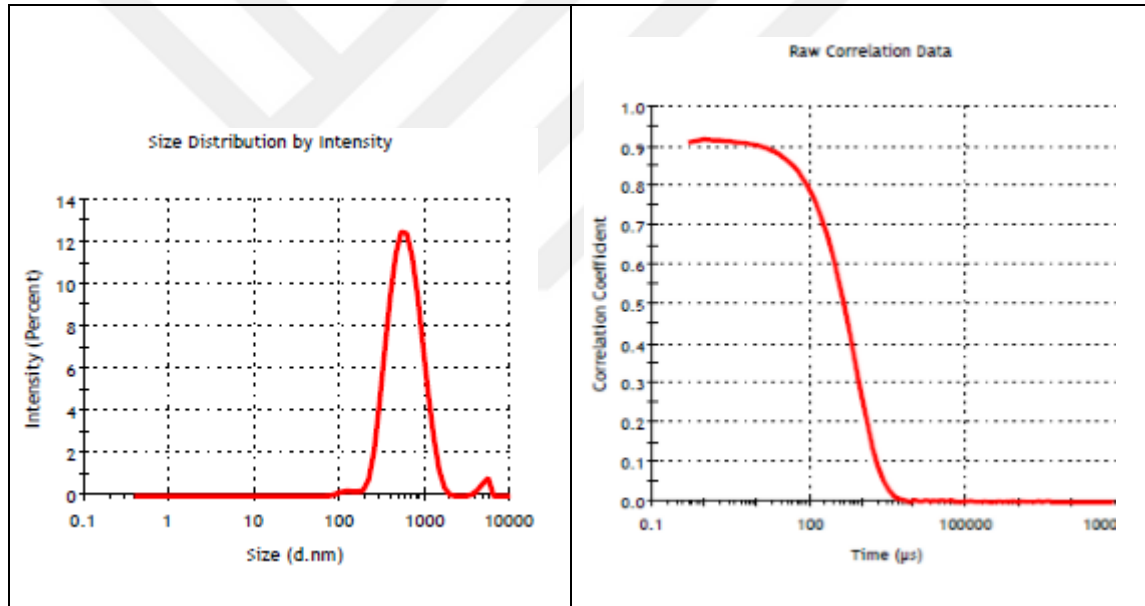
Şekil 5.21 6 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP zeta potansiyel dağılım grafiği

6 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerinin ortalama boyutu 331,2 nm, zeta potansiyeli ise 32,6 mV ölçülmüştür. Diğer analiz sonuçları Çizelge 5.8’de verilmiştir.

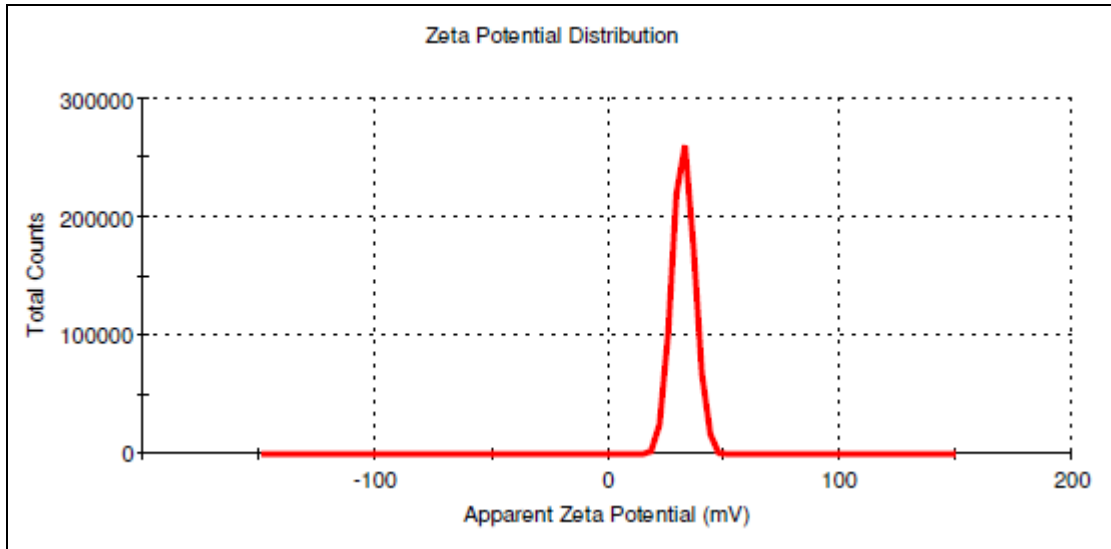
Çizelge 5.8 6 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP boyut ve zeta potansiyel analiz sonuçları

|                                                  | Z-ave (d.nm) | PdI   | intensity (d.nm) | Z-pot (mV) |
|--------------------------------------------------|--------------|-------|------------------|------------|
| <b>6 mg DIPHE kullanılarak setezlenen Chi-NP</b> | 331,2 ± 5,6  | 0,168 | 389,6            | 32,6 ± 1,0 |

10 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerinin boyut dağılımı ve korelasyon grafiği Şekil 5.22’de, zeta potansiyel dağılım grafiği ise tekil 5.23’de verilmiştir.



Şekil 5.22 10 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP yoğunluğa göre boyut dağılımı ve korelasyon grafiği



Şekil 5.23 10 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP zeta potansiyel dağılım grafiği

10 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerinin ortalama boyutu 510,8 nm, zeta potansiyeli ise 31,5 mV ölçülmüştür. Diğer analiz sonuçları Çizelge 5.9’da verilmiştir.

Çizelge 5.9 10 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP boyut ve zeta potansiyel analiz sonuçları

|                                                    | Z-ave (d.nm)  | Pdl   | intensity (d.nm) | Z-pot (mV)  |
|----------------------------------------------------|---------------|-------|------------------|-------------|
| <b>10 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP</b> | 510,8 ± 12,41 | 0,254 | 633,0            | 31,5 ± 0,86 |

Etkin madde yüklü kitosan nanopartikülleri 1 mg, 2 mg, 4 mg, 6 mg ve 10 mg olmak üzere beş farklı DIPHE miktarı kullanarak sentezlenmiştir. Boş kitosan nanopartiküllerin ortalama boyutu 229,2 nm ve ortalama zeta potansiyeli 27,5 mV’tur. 1 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin ortalama boyutu 321,1 nm ve ortalama zeta potansiyel değeri 25 mV ölçülmüştür. 2 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin ortalama boyutu 340,1 nm ve ortalama zeta potansiyel değeri 26,1 mV ölçülmüştür. 4 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin ortalama boyutu 375,1 nm ve ortalama zeta potansiyel değeri 30,7 mV ölçülmüştür. 6 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin ortalama boyutu 331,2 nm ve ortalama zeta potansiyel değeri 32,6 mV ölçülmüştür. 10 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin ortalama boyutu 510,8 nm ve ortalama zeta potansiyel değeri 31,5 mV ölçülmüştür.

DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerinin ortalama boyut ve zeta potansiyel sonuçları toplu bir şekilde Çizelge 5.10'da gösterilmektedir. Etkin madde yüklü kitosan nanopartiküllerinin ortalama boyutu 321,1 nm – 510,8 nm aralığında değişmektedir. Boş kitosan nanopartiküllerin boyutu ile etkin madde yüklü kitosan nanopartiküllerinin boyutları karşılaştırılmış ve etkin madde yüklü kitosan nanopartiküllerinin boyutlarında boş kitosan nanopartiküllerine göre artış tespit edilmiştir. Boş kitosan nanopartiküllerine göre yüklü nanopartiküllerde gerçekleşen boyut artışı nanopartiküler sisteme etkin madde yüklemesinin gerçekleştiğini düşündürmektedir. Ayrıca yüklenen etkin madde miktarı arttıkça beklendiği gibi nanopartikül boyutlarında genel olarak artış saptanmıştır. Elde edilen sonuçlar literatür ile uyum göstermektedir [79].

Çizelge 5.10 DIPHE yüklü Chi-NP boyut ve zeta potansiyel analiz sonuçları

|                                                        | <b>Z-ave<br/>(d.nm)</b> | <b>PdI</b> | <b>intensity<br/>(d.nm)</b> | <b>Z-pot (mV)</b> |
|--------------------------------------------------------|-------------------------|------------|-----------------------------|-------------------|
| <b>Boş Chi-NP</b>                                      | 229,2 ± 1,36            | 0,334      | 269,7                       | 27,5 ± 0,75       |
| <b>1 mg DIPHE kullanılarak<br/>sentezlenen Chi-NP</b>  | 321,1 ± 17,8            | 0,254      | 419,4                       | 25,0 ± 0,4        |
| <b>2 mg DIPHE kullanılarak<br/>sentezlenen Chi-NP</b>  | 340,1 ± 13,5            | 0,383      | 440,0                       | 26,1 ± 0,6        |
| <b>4 mg DIPHE kullanılarak<br/>sentezlenen Chi-NP</b>  | 375,1 ± 8,15            | 0,249      | 443,8                       | 30,7 ± 0,66       |
| <b>6 mg DIPHE kullanılarak<br/>sentezlenen Chi-NP</b>  | 331,2 ± 5,6             | 0,168      | 406,0                       | 32,6 ± 1,0        |
| <b>10 mg DIPHE kullanılarak<br/>sentezlenen Chi-NP</b> | 510,8 ± 12,41           | 0,254      | 633,0                       | 31,5 ± 0,86       |

Etkin madde yüklü kitosan nanopartiküllerin Z-pot değerleri ise 25 mV – 32 mV aralığında değişmektedir. 25 mV – 30 mV arasında zeta potansiyel değerine sahip kitosan nanopartiküllerinin kararlı olduğu ve zeta potansiyel değeri arttıkça daha kararlı bir yapı elde edildiği bilinmektedir. Ayrıca polidispersite indeksi 0,1 – 0,25 arasında olan nanopartiküllerin dar boyut dağılımı göstererek eş boy dağılımına sahip olduğu, 0,5'in üstünde olan nanopartiküllerin ise geniş boyut dağılımı gösterdiği bilinmektedir

[80]. Sentezlenen nanopartiküller için yüklenen etkin madde miktarı arttıkça zeta potansiyeli artmış ve daha kararlı nanopartiküller elde edilmiştir. Sentezlenen nanopartiküllerin polidispersite indeksleri istenilen değerlerde olup nanopartiküller dar bir boyut dağılımı göstermektedirler. Bu bulgular ışığında istenilen boyutlarda optimum nanopartiküller elde edildiği ve sonuçların literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür [80].

### 5.2.2.3 DIPHE Yüklü Kitosan Nanopartiküllerinin Reaksiyon Verimi Sonuçları

DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerinin reaksiyon verimleri bölüm 4.3.6'da verilen (4.2) eşitliği kullanılarak hesaplanmış ve sonuçlar Çizelge 5.11'de verilmiştir. Toplam madde miktarı nanopartiküler sistem üretiminde kullanılan başlangıçtaki toplam madde miktarını, nanopartikül ağırlığı ise sentezlenen nanopartiküllerin liyofilizatör aşamasından sonra hassas terazi ile tartılan katı kütlesini temsil etmektedir.

Çizelge 5.11 DIPHE yüklü Chi-NP reaksiyon verimi sonuçları

|                                                    | Toplam madde miktarı (mg) | Nanopartikül ağırlığı (mg) | Reaksiyon Verimi (%) |
|----------------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------|
| <b>1 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP</b>  | 25                        | 2,98                       | 11,9                 |
| <b>2 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP</b>  | 26                        | 4,21                       | 16,2                 |
| <b>4 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP</b>  | 28                        | 6,20                       | 22,1                 |
| <b>6 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP</b>  | 30                        | 5,48                       | 18,3                 |
| <b>10 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen Chi-NP</b> | 34                        | 13,72                      | 40,4                 |

Farklı miktarlarda DIPHE kullanılarak sentezlenen yüklü kitosan nanopartiküllerinin reaksiyon verimi % 11 – 41 aralığında değişmektedir. Reaksiyon veriminin genel olarak etkin madde miktarı arttıkça arttığı tespit edilmiştir.

#### 5.2.2.4 DIPHE Yüklü Kitosan Nanopartiküllerinin Enkapsülasyon Etkinliği Sonuçları

DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerinin enkapsülasyon etkinliği bölüm 4.3.7’de verilen (4.3) eşitliği kullanılarak hesaplanmış ve sonuçlar Çizelge 5.12’de verilmiştir. Toplam DIPHE miktarı nanopartiküler sistem üretilirken yüklenen DIPHE miktarını, serbest DIPHE miktarı ise santrifüj işleminden sonra supernatantta kalan yüklenemeyen serbest etkin madde miktarını temsil etmektedir.

Çizelge 5.12 DIPHE yüklü Chi-NP enkapsülasyon etkinliği sonuçları

|                                                        | <b>Toplam<br/>DIPHE<br/>miktarı (mg)</b> | <b>Serbest<br/>DIPHE miktarı<br/>(mg)</b> | <b>Enkapsülasyon<br/>Etkinliği (%)</b> |
|--------------------------------------------------------|------------------------------------------|-------------------------------------------|----------------------------------------|
| <b>1 mg DIPHE kullanılarak<br/>sentezlenen Chi-NP</b>  | 1                                        | 0,575                                     | 42,5                                   |
| <b>2 mg DIPHE kullanılarak<br/>sentezlenen Chi-NP</b>  | 2                                        | 0,923                                     | 53,9                                   |
| <b>4 mg DIPHE kullanılarak<br/>sentezlenen Chi-NP</b>  | 4                                        | 0,647                                     | 83,8                                   |
| <b>6 mg DIPHE kullanılarak<br/>sentezlenen Chi-NP</b>  | 6                                        | 2,159                                     | 64,0                                   |
| <b>10 mg DIPHE kullanılarak<br/>sentezlenen Chi-NP</b> | 10                                       | 2,557                                     | 74,4                                   |

Farklı miktarlarda DIPHE kullanılarak sentezlenen yüklü kitosan nanopartiküllerinin enkapsülasyon etkinliği % 42 – 84 aralığında değişmektedir. Enkapsülasyon etkinliğinin genel olarak etkin madde miktarı artmasıyla arttığı tespit edilmiştir.

#### 5.2.2.5 DIPHE Yüklü Kitosan Nanopartiküllerin Yükleme Kapasitesi Sonuçları

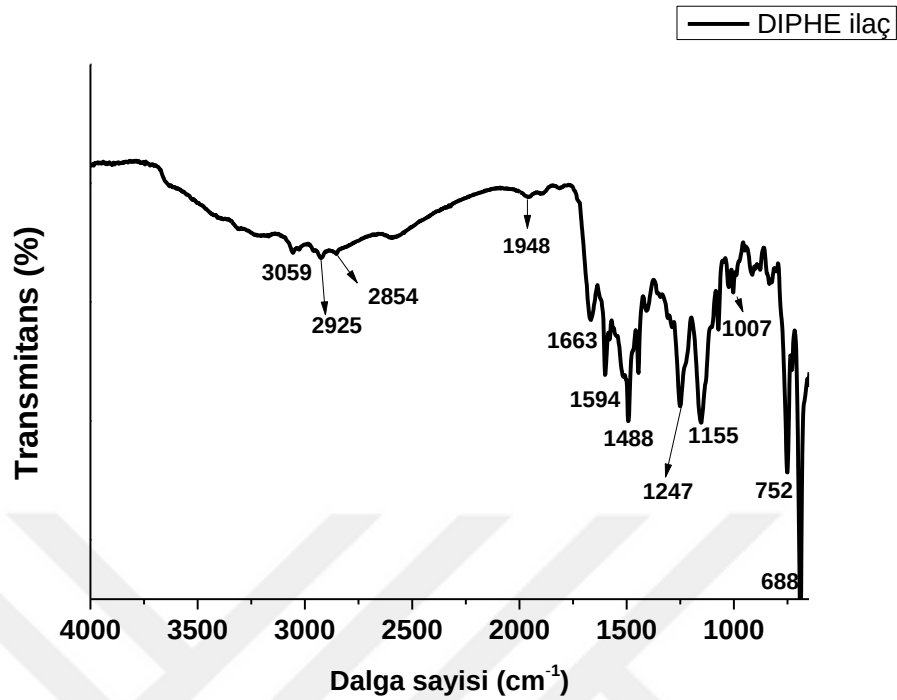
DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerinin yükleme kapasitesi bölüm 4.3.8’de verilen (4.4) eşitliği kullanılarak hesaplanmış ve sonuçlar Çizelge 5.13’te verilmiştir. Toplam DIPHE miktarı nanopartiküler sistem üretilirken yüklenen DIPHE miktarını, serbest DIPHE miktarı santrifüj işleminden sonra supernatantta kalan yüklenemeyen serbest etkin madde miktarını, nanopartikül ağırlığı ise liyofilizatör aşamasından sonra kuru katı nanopartikül miktarını temsil etmektedir.

Çizelge 5.13 DIPHE yüklü Chi-NP yükleme kapasitesi sonuçları

|                                                        | <b>Toplam<br/>DIPHE<br/>miktarı (mg)</b> | <b>Serbest<br/>DIPHE<br/>miktarı (mg)</b> | <b>NP ağırlığı<br/>(mg)</b> | <b>Yükleme<br/>kapasitesi<br/>(%)</b> |
|--------------------------------------------------------|------------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------|---------------------------------------|
| <b>1 mg DIPHE kullanılarak<br/>sentezlenen Chi-NP</b>  | 1                                        | 0,575                                     | 2,98                        | 14,3                                  |
| <b>2 mg DIPHE kullanılarak<br/>sentezlenen Chi-NP</b>  | 2                                        | 0,923                                     | 4,21                        | 25,6                                  |
| <b>4 mg DIPHE kullanılarak<br/>sentezlenen Chi-NP</b>  | 4                                        | 0,647                                     | 6,20                        | 54,1                                  |
| <b>6 mg DIPHE kullanılarak<br/>sentezlenen Chi-NP</b>  | 6                                        | 2,159                                     | 5,48                        | 70,1                                  |
| <b>10 mg DIPHE kullanılarak<br/>sentezlenen Chi-NP</b> | 10                                       | 2,557                                     | 13,72                       | 54,2                                  |

Farklı miktarlarda DIPHE kullanılarak sentezlenen yüklü kitosan nanopartiküllerinin yükleme kapasitesi % 14 – 71 aralığında değişmektedir. Etkin madde miktarının artmasıyla yükleme kapasitesinde artış tespit edilmiştir. 10 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerinde ise yükleme kapasitesinde azalma gözlenmiştir. Yükleme kapasitesindeki bu azalma kitosan nanopartiküllerinin yeterli doygunluğa ulaşması ve bu nedenle nanopartikül içerisine daha fazla etkin madde yüklenememesi ile açıklanabilir.

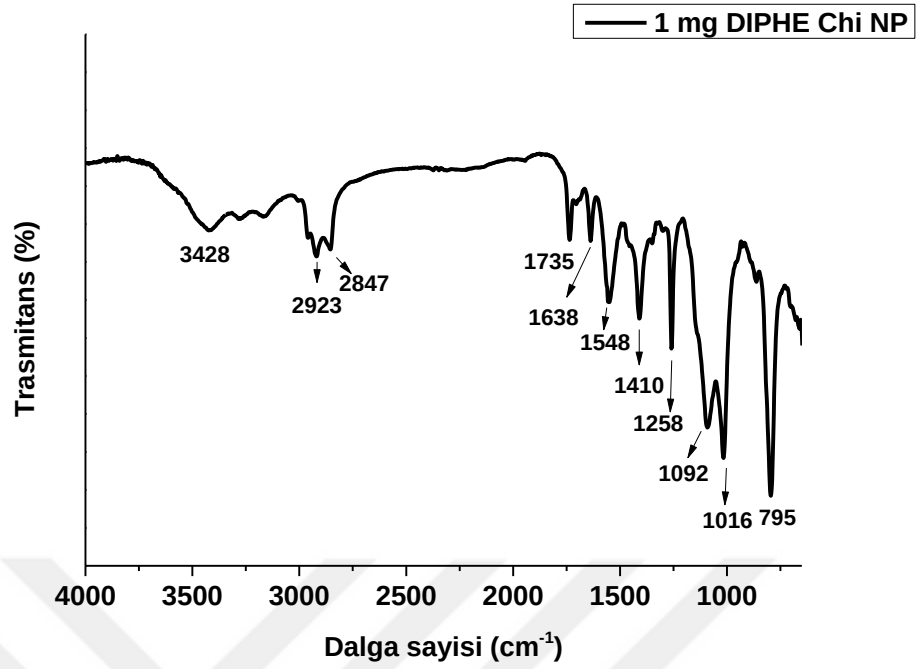
#### 5.2.2.6 DIPHE Yüklü Kitosan Nanopartiküllerinin FT-IR Analiz Sonuçları



Şekil 5.24 DIPHE FT-IR grafiği

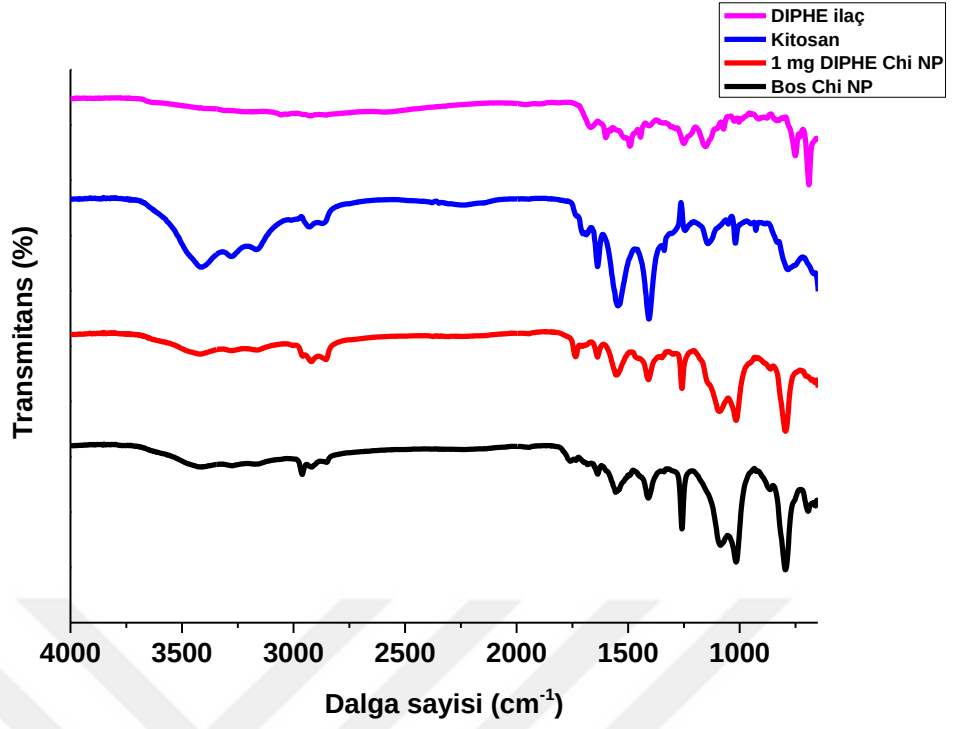
DIPHE'nin FT-IR grafiği Şekil 5.24'te verilmiştir. DIPHE için karakteristik FT-IR pikleri 3059 cm<sup>-1</sup>, 2925 cm<sup>-1</sup> (aromatik C-H gerilmesinden kaynaklı), 1663 cm<sup>-1</sup> (C=C gerilmesinden kaynaklı), 1488 cm<sup>-1</sup> (N=N gerilmesinden kaynaklı), 1247 cm<sup>-1</sup>, 1155 cm<sup>-1</sup> (C-N gerilmesinden kaynaklı) ve 752 cm<sup>-1</sup> (C-Cl gerilmesinden kaynaklı) şeklindedir.

1 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin FT-IR grafiği Şekil 5.25'te gösterilmiştir. Grafik incelendiğinde yüklü nanopartiküllere ait karakteristik piklerin boş kitosan nanopartiküllerine ait karakteristik piklerle aynı olduğu görülmüştür. 3428 cm<sup>-1</sup> –NH<sub>2</sub> ve –OH gerilmesinden kaynaklı oluşmaktadır. Boş kitosan nanopartikülünde bulunan 1638 cm<sup>-1</sup>, 1016 cm<sup>-1</sup>, 1410 cm<sup>-1</sup> ve 795 cm<sup>-1</sup> piklerinin yüklü nanopartiküllerde de korunduğu görülmüştür. Aynı şekilde amid II –NH gerilmesinden kaynaklı 1548 cm<sup>-1</sup> bandı ve boş kitosanda yeni oluşan P=O bağından kaynaklı 1258 cm<sup>-1</sup> bandı yüklü kitosan nanopartiküllerinde de gözlenmektedir.

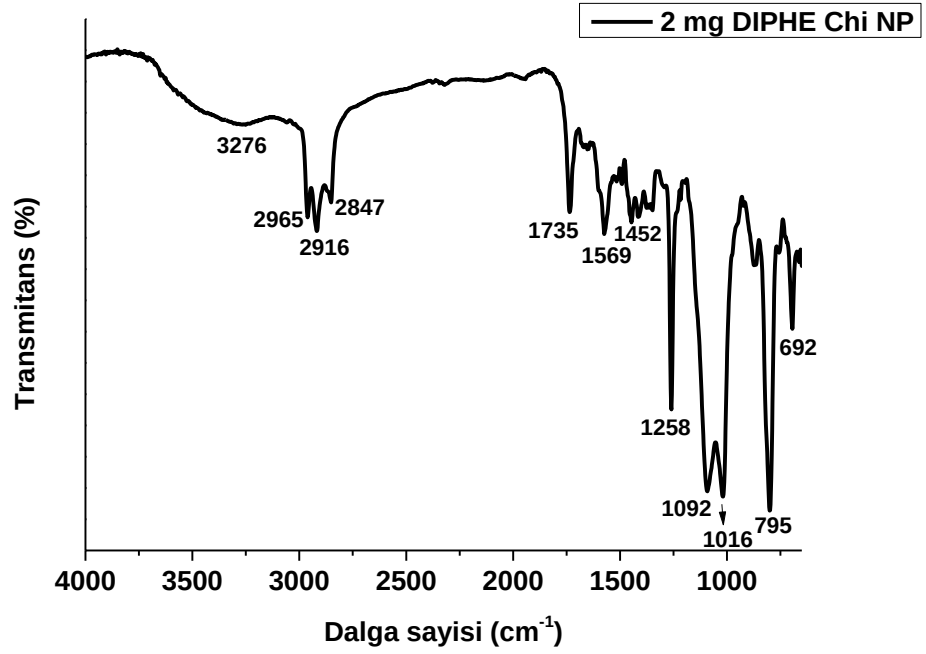


Şekil 5.25 1 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin FT-IR grafiği

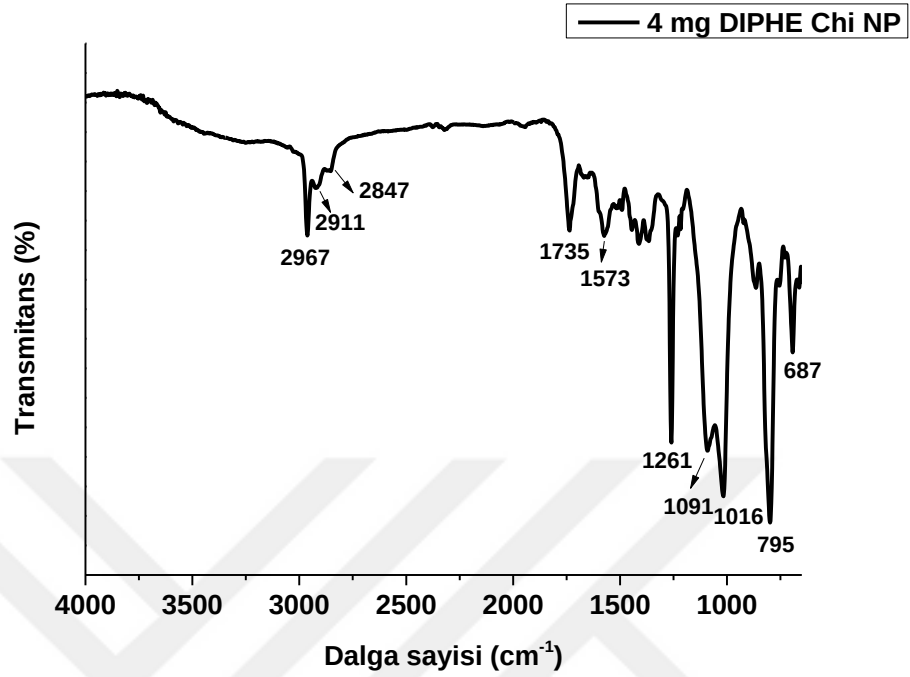
Bu durum boş kitosan nanopartiküllerinde olduğu gibi yüklü nanopartiküllerde de TPP ile kitosan arasındaki çapraz bağ oluşumundan kaynaklıdır. 1 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin, boş kitosan nanopartiküllerin, etkin maddenin ve kitosan polimerinin FT-IR grafikleri karşılaştırmalı olarak Şekil 5.26'da gösterilmiştir. Grafik incelendiğinde DIPHE yüklü nanopartiküllerde etkin maddeye ait karakteristik piklere rastlanmamıştır. Bu durum etkin maddenin nanopartiküle enkapsüle edildiğini göstermektedir. Literatürdeki çalışmalarda nanopartikül sentezi sonrası etkin maddeye ait karakteristik piklerin kaybolması elde edilen sonucu desteklemektedir.



2 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin FT-IR grafiği Şekil 5.27’de gösterilmiştir.

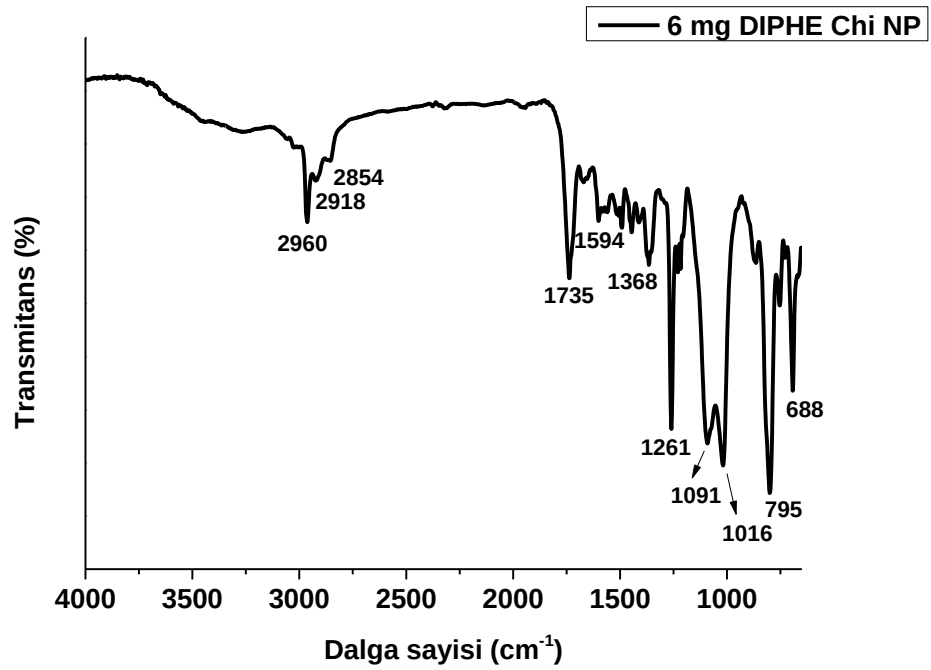


4 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin FT-IR grafiği Şekil 5.28'de gösterilmiştir.



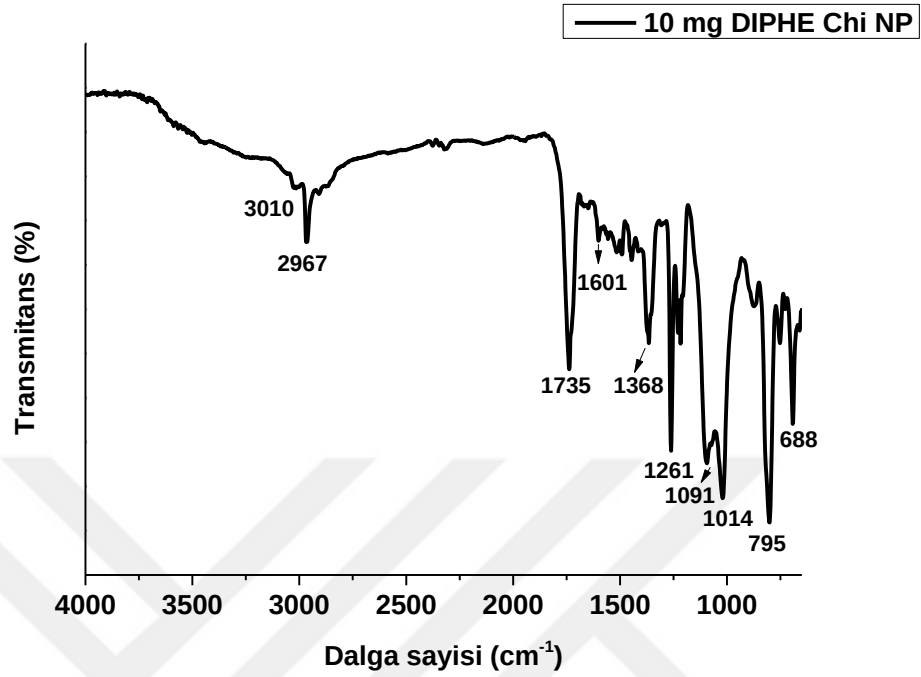
Şekil 5.28 4 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin FT-IR grafiği

6 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin FT-IR grafiği Şekil 5.29'da gösterilmiştir.



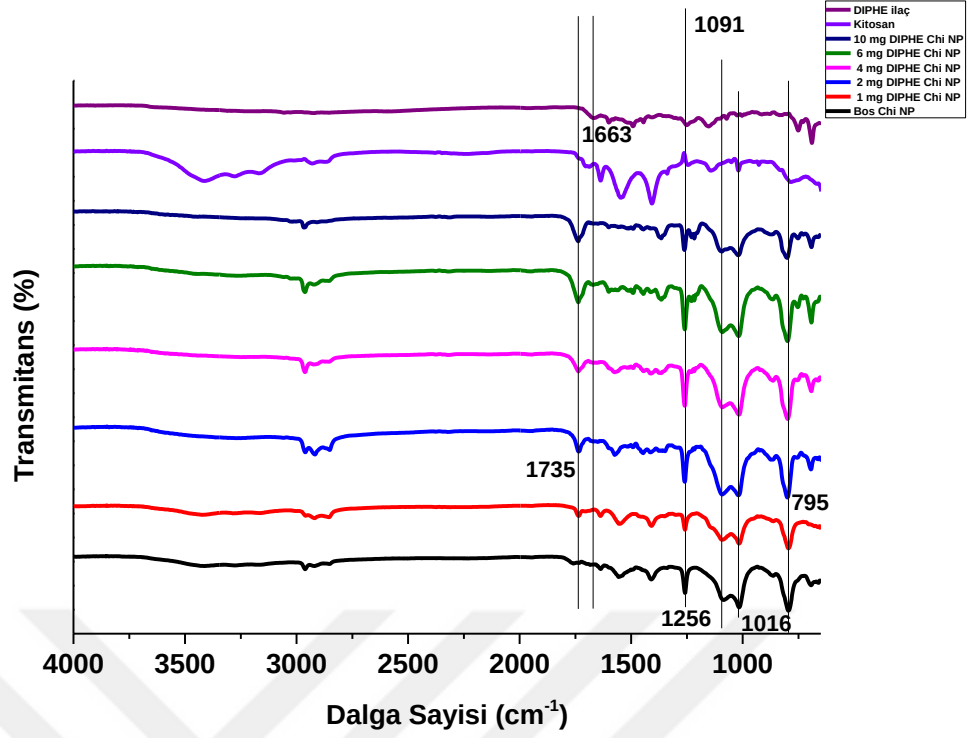
Şekil 5.29 6 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin FT-IR grafiği

10 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin FT-IR grafiği Şekil 5.30'da gösterilmiştir.



Şekil 5.30 10 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin FT-IR grafiği

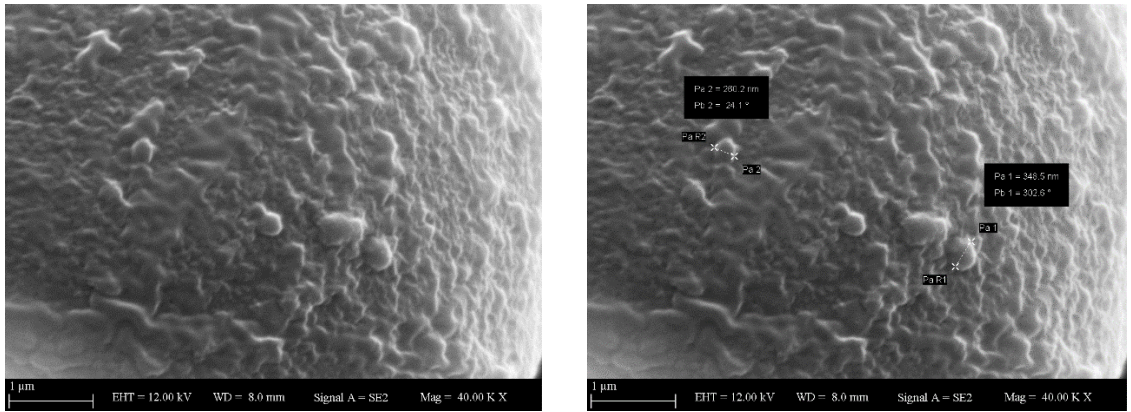
Farklı miktarlarda DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerin FT-IR grafiği karşılaştırmalı olarak Şekil 5.31'de gösterilmiştir. Grafik incelendiğinde DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerinin boş kitosan nanopartikülleri ile aynı karakteristik piklere sahip olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte etkin madde yüklü kitosan nanopartiküllerinde DIPHE'nin karakteristik piklerine rastlanılmamıştır. Bu durum etkin maddenin nanopartiküler sisteme başarılı bir şekilde enkapsüle edildiğini göstermektedir.



Şekil 5.31 DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerin FT-IR grafiği

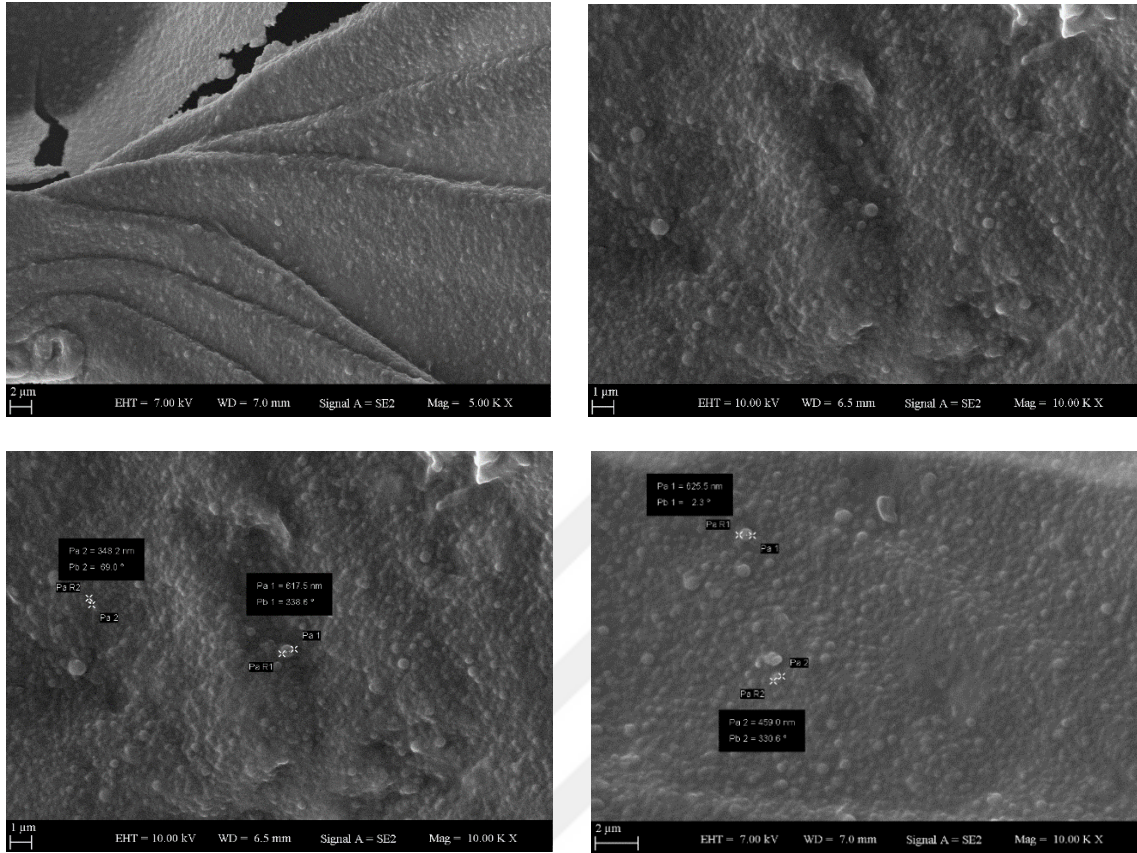
#### 5.2.2.7 DIPHE Yüklü Kitosan Nanopartiküllerinin SEM Görüntüleri

DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerinin morfolojik analizi farklı enerji değerlerinde SEM ile gerçekleştirilmiştir. Farklı büyütme oranlarında görüntülenen 6 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin SEM görüntüleri Şekil 5.32’de gösterilmiştir.



Şekil 5.32 6 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerinin SEM görüntüleri

Farklı büyütme oranlarında görüntülenen 10 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin SEM görüntüleri Şekil 5.33'te gösterilmiştir.

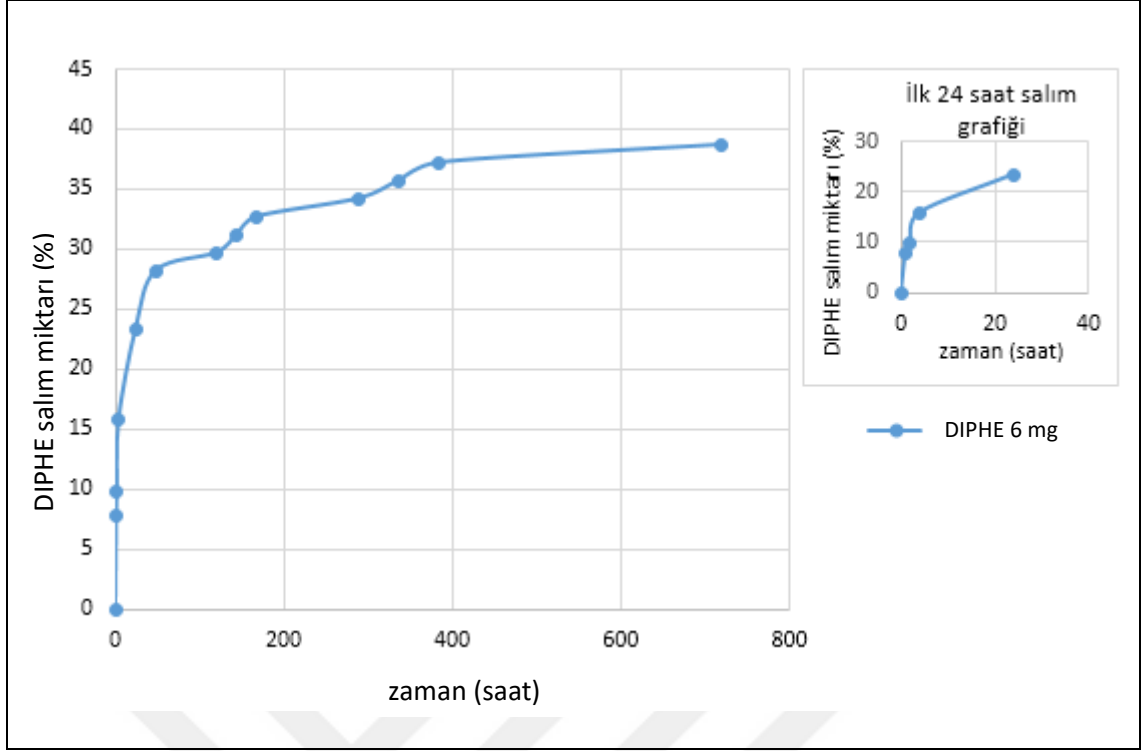


Şekil 5.33 10 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin SEM görüntüleri

Nanopartiküllerin genel olarak küresel yapıda oldukları ve nanopartikül büyüklüklerinin boyut analizi sonucu ile yaklaşık olarak benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

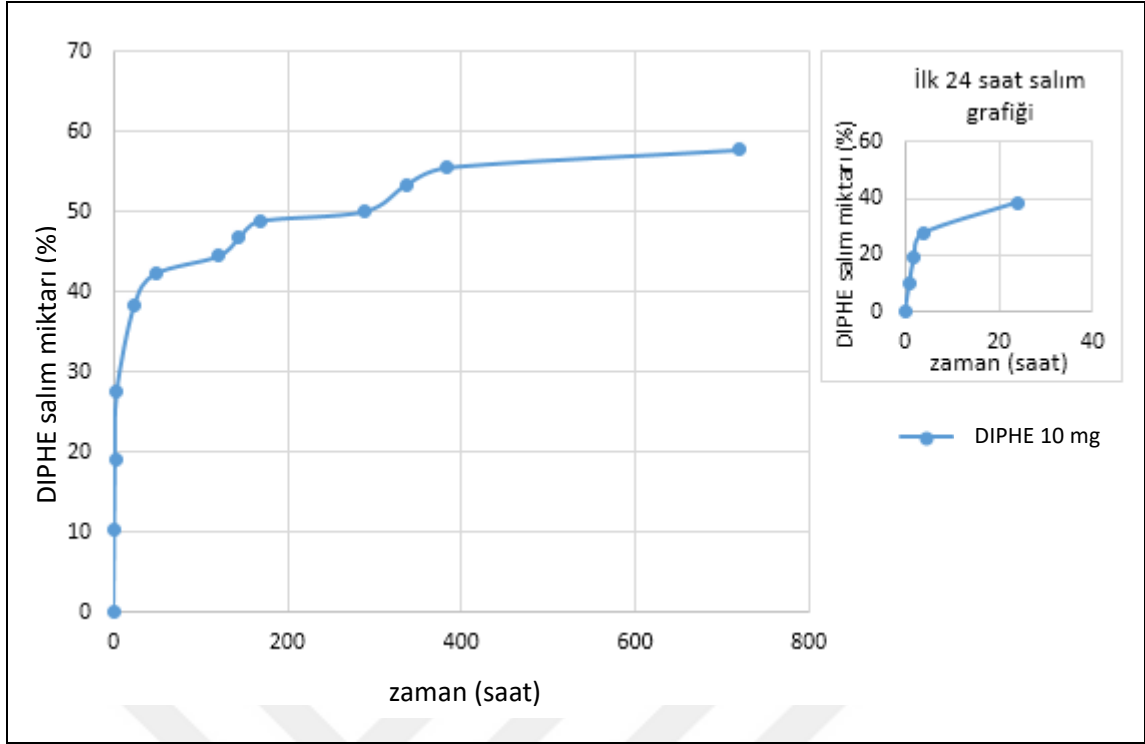
#### 5.2.2.8 DIPHE Yüklü Kitosan Nanopartiküllerinin *in-vitro* Salım Deney Sonuçları

DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerinden salım çalışması PBS tamponunda ısıtmalı ve çalkalamalı su banyosunda gerçekleştirilmiştir. 6 mg DIPHE ve 10 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin salım çalışması 30 gün boyunca yürütülmüş ve salım profilleri incelenmiştir. Belirlenen zaman aralıklarında eş zamanlı olarak alınan UV ölçümleri sonucunda salım ortamında bulunan DIPHE konsantrasyonu kalibrasyon eğrisi denklemi kullanılarak hesaplanmıştır. Daha sonra (4.5)'te verilen zamana bağlı kütle hesabı eşitliği kullanılarak mg cinsinden DIPHE miktarı ve (4.6)'da verilen eşitlik kullanılarak salım miktarının yüzdesi hesaplanmıştır.



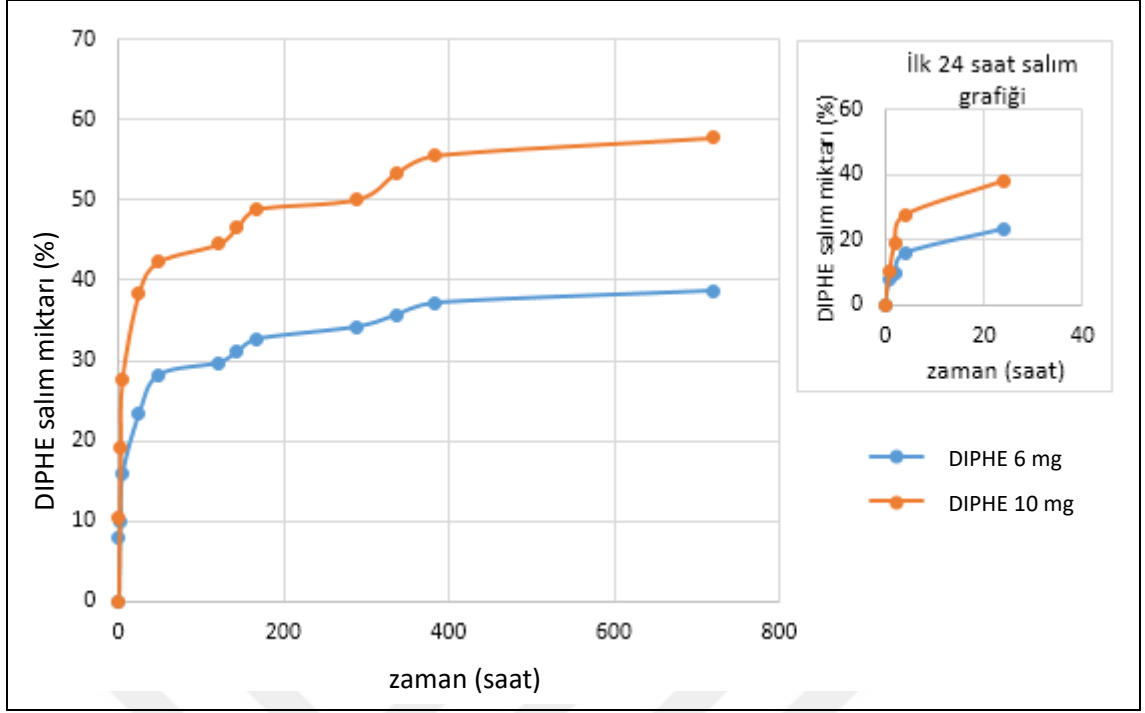
Şekil 5.34 6 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin salım grafiği

6 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin salım grafiği Şekil 5.34'te verilmiştir. Grafik incelendiğinde 24 saatin sonunda yüklü etkin maddenin % 23,3'ünün, 48 saatin sonunda ise % 28,2'sinin salındığı saptanmıştır. Sonrasında ilaç salımının yavaşlayarak devam ettiği ve 30.günün sonunda yüklü etkin maddenin % 38,7'sinin salındığı tespit edilmiştir.



Şekil 5.35 10 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin salım grafiği

10 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin salım grafiği Şekil 5.35'te gösterilmiştir. Deney sonuçları incelendiğinde 24 saatin sonunda yüklü etkin maddenin % 38,3'ünün, 48 saatin sonunda ise % 42,3'ünün salındığı saptanmıştır. Sonrasında ilaç salımının yavaşlayarak devam ettiği ve 30.günün sonunda yüklü etkin maddenin % 57,8'inin salındığı tespit edilmiştir.



Şekil 5.36 DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerin salım grafiği

Farklı miktarlarda DIPHE yüklü kitosan nanopartikülleri için salım grafikleri karşılaştırmalı (Şekil 5.36) olarak incelendiğinde 10 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin 6 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerine kıyasla daha yüksek salım yüzdesi gösterdiği görülmektedir. Etkin madde miktarı artışıyla birlikte salım miktarının arttığı tespit edilmiştir. Literatürdeki iki basamaklı sentez yöntemi ile kitosan nanopartiküllerinin ilaç salım çalışmaları incelendiğinde ilaç salım yüzdelерinin % 23 – 53 arasında değiştiği görülmüştür [79]. Bu doğrultuda elde edilen sonuçlar literatür ile uyumludur.

### SONUÇ VE ÖNERİLER

DIPHE molekülü katalitik olefinasyon reaksiyonu gerçekleştirilerek sentezlenen yüksek fizyolojik aktiviteye sahip yeni organik bir bileşiktir. Antimikrobiyal aktivitesi furacilin ve nitrofungin gibi ilaçlarla kıyaslandığında güçlü antibakteriyel ve antifungal özellik gösterdiği kanıtlanmıştır.

Bu tez çalışmasında, DIPHE molekülünün eşsiz özelliklere sahip kitosan nanopartiküllerine enkapsüle edilmesi ve sentezlenen nanopartiküler sistemden molekülün kontrollü salımının incelenmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda yürütülen tez çalışmasının genel sonuçları aşağıdaki gibidir:

- İyonik jelasyon yöntemiyle sentezlenen kitosan nanopartikülleri için sentez yönteminin nanopartikül özelliklerine etkisi karşılaştırılmış olup ultrasonikasyon altında sentezlenen nanopartikül ortalama boyutlarının (126,1 nm) manyetik karıştırıcı altında sentezlenen nanopartiküllerden (119 nm) daha büyük olduğu tespit edilmiştir.
- İyonik jelasyon yöntemiyle sentezlenen zeta potansiyel değerlerinin ise manyetik karıştırıcı altında sentezlenen nanopartiküllerde 24,8 mV ultasonikasyon altında sentezlenen nanopartiküllerde ise 22,1 mV olduğu saptanmıştır. Literatürdeki çalışmalarla karşılaştırıldığında bu yöntemle sentezlenen nanopartiküllerin hem ortalama boyutlarının hem de zeta potansiyel değerlerinin daha düşük çıktığı tespit edilmiştir.
- İyonik jelasyon yöntemiyle manyetik karıştırıcı altında sentezlenen kitosan nanopartikülleri için çapraz bağlayıcı olarak kullanılan TPP konsantrasyonunun nanopartiküller üzerine etkisi incelenmiş olup Chi:TPP oranı 2:1 olan

nanopartiküllerin ortalama boyutlarının (209,7 nm) Chi:TPP oranı 5:1 olan nanopartiküllerden (119 nm) daha büyük olduğu tespit edilmiştir.

- İyonik jelasyon yöntemiyle sentezlenen boş kitosan nanopartiküllerin ortalama boyutlarının 201,2 nm, DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerin ortalama boyutlarının ise 209,7 nm olduğu tespit edilmiştir. Beklendiği gibi etkin madde yüklemesiyle birlikte gözlenen boyut artışı, etkin maddenin nanopartiküler sisteme yüklendiğini düşündürmektedir.
- İyonik jelasyon yöntemiyle sentezlenen nanopartiküllerde santrifüj aşamasında çöktürme sağlanamadığından nanopartiküller katı olarak elde edilememiştir. Bu nedenle çalışmaya literatürde bulunan tekli emülsiyon (o/w) - iyonik jelasyon iki basamaklı sentez yöntemi ile devam edilmiştir.
- Tekli emülsiyon (o/w) - iyonik jelasyon iki basamaklı sentez yöntemiyle sentezlenen boş kitosan nanopartiküllerin ortalama boyutları 229,2 nm, polidispersite indeksi 0,334 ve Z-potansiyel değerleri ortalama 27,5 mV olarak tespit edilmiştir.
- İki basamaklı yöntem ile farklı miktarlarda (1 mg, 2 mg, 4 mg, 6 mg, 10 mg) DIPHE kullanılarak sentezlenen yüklü kitosan nanopartiküllerinin ortalama boyutları 229,2 nm – 510,8 nm aralığında değişmektedir. Yüklenen etkin madde miktarının artmasıyla birlikte beklendiği gibi nanopartikül boyutlarında genel olarak artış gözlenmiştir. Bu durum etkin maddenin nanopartiküler sisteme yüklendiğini göstermektedir.
- İki basamaklı yöntem ile sentezlenen yüklü kitosan nanopartiküllerin zeta potansiyel değerlerinin 25 mV – 32 mV aralığında değiştiği saptanmıştır. Kitosan için zeta potansiyel değerinin 25 mV üzerinde olması nanopartiküllerin kararlı bir yapıya sahip olduğunu göstermektedir. Yüklenen etkin madde miktarının artmasıyla zeta potansiyel değerleri artmakta olup nanopartiküller daha kararlı bir yapı göstermektedir. Elde edilen sonuçlar literatürde bulunan daha önceki çalışmalar ile örtüşmektedir.
- Boş kitosan nanopartiküllerinin reaksiyon verimi % 8,3 olarak hesaplanmıştır. DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerinin reaksiyon verimlerinin ise % 11 – 41

arasında değiştiği tespit edilmiştir. Boş kitosan nanopartiküllerin reaksiyon veriminin yüklü nanopartiküllere göre daha düşük olduğu ve yüklenen etkin madde miktarının artmasıyla genel olarak reaksiyon veriminin arttığı tespit edilmiştir.

- DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerinin enkapsülasyon etkinliği değerlerinin % 42 – 84 aralığında değiştiği saptanmıştır. Yüklenen etkin madde miktarı artışıyla birlikte genel olarak enkapsülasyon etkinliğinde artış tespit edilmiştir.
- DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerinin yükleme kapasitesi değerlerinin % 14 – 71 aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Yüklenen etkin madde miktarı artışıyla birlikte yükleme kapasitesinde artış görölmüştür. Ancak 10 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerinde yükleme kapasitesi % 54,2'ye düşerek tekrar azalış göstermiştir. Bu durum kitosan nanopartiküllerinin yeterli doygunluğa ulaştığını ve optimum değerin üzerinde eklenen etkin maddenin nanopartikül içerisine daha fazla yüklenemediğini göstermektedir.
- Kitosan nanopartiküllerinin moleküler karakterizasyonu FT-IR spektroskopisiyle gerçekleştirilmiştir. Kitosan nanopartiküllerin FT-IR analizinde beklendiği gibi kitosan polimeri ile TPP arasında kurulan çapraz bağ kaynaklı yeni pik oluşumu ve kitosanın karakteristik piklerinde kaymalar tespit edilmiştir. Yüklü kitosan nanopartiküllerinde DIPHE'nin karakteristik piklerine rastlanmamıştır. Bu durum etkin maddenin nanopartiküler sisteme başarılı bir şekilde enkapsüle edildiğini göstermektedir. Elde edilen sonuçlar literatür ile uyumludur.
- Kitosan nanopartiküllerinin morfolojik analizi SEM ile gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçlarına göre partiküllerin genel olarak küresel yapıda oldukları ve partikül büyüklüklerinin zeta sizer ile ölçülen ortalama partikül boyutları ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir.
- DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerinin salım miktarının % 38 – 58 aralığında değiştiği saptanmıştır. 10 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerin salım yüzdesinin (% 57,8), 6 mg DIPHE kullanılarak sentezlenen kitosan nanopartiküllerine göre (% 38,7) daha yüksek olduğu saptanmıştır. Etkin madde miktarının artmasıyla salım yüzdesinin arttığı tespit edilmiştir. Etkin madde miktarının artışıyla birlikte nanopartiküler sisteme enkapsüle edilen etkin

maddenin arttığı dolayısıyla bu durumun da salım yüzdesini arttırdığı düşünülmektedir.

- Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde iki basamaklı yöntem ile sentezlenen kitosan nanopartiküllerinin salım yüzdelerinin % 23 – 53 arasında değiştiği görülmüştür. Bu doğrultuda elde edilen sonuçlar literatür ile uyumludur.

Tüm bu bulgular ışığında antimikrobiyal etkiye sahip DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerinin kontrollü salım sistemi olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. Literatürde DIPHE molekülü ile yapılan herhangi bir nanopartikül çalışması olmaması bu çalışmanın DIPHE ve benzer antimikrobiyal özellik gösteren moleküller için model niteliği taşıyabileceğini düşündürmektedir.

Bu tez çalışmasıyla sentezlenen DIPHE yüklü kitosan nanopartiküllerinin etkisinin detaylı incelenmesi adına salım çalışmalarının farklı salım ortamlarında gerçekleştirilmesi düşünülebilir. Ayrıca sentezlenen nanopartiküllerin antimikrobiyal etkisinin incelenmesi ve nanopartiküllere toksisite testlerinin uygulanması önerilebilir.

## KAYNAKLAR

- 
- [1] Sullivan, M., McHale, K., Parvizi, J. ve Mehta, S., (2014). "Nanotechnology", Bone Joint J, 96: 569-573.
  - [2] Roco, M.,C., (2005). "International perspective on government nanotechnology funding in 2005", Journal of Nanoparticle Research, 7: 707-712.
  - [3] Özer, Y., (2008). Nanobilim ve nanoteknoloji: Ülke güvenliği /etkinliği açısından doğru modelin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Kara Harp Okulu Savunma Bilimleri Enstitüsü.
  - [4] Hulla, J., Sahu, S. ve Hayes, A., (2015). "Nanotechnology: History and future", Human & experimental toxicology, 34: 1318-1321.
  - [5] Goddard III, W.,A., Brenner, D., Lyshevski, S.,E. ve Iafrate, G.,J., (2007). Handbook of nanoscience, engineering, and technology: CRC press.
  - [6] Gökdere, B., (2016). Hidrojen peroksit duyarlı titanyum dioksit nanoparçacık esaslı yeni bir sensör geliştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
  - [7] Nielsen, E., (2008). Nanotechnology and its impact on consumers: Consumers Council of Canada.
  - [8] Usta, M., (2012). Biokütle destekli nanopartiküllerin sentezi ve karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
  - [9] Gürmen, S. , Ebin, B. ve İtö, M., (2008). "Nanopartiküller ve üretim yöntemleri-1", Metalurji Dergisi, 150: 31-38.
  - [10] Bhatia, S., (2016). "Nanoparticles types, classification, characterization, fabrication methods and drug delivery applications",Natural Polymer Drug Delivery Systems. Springer, 33-93.
  - [11] Faraji, A.,H. ve Wipf, P., (2009). "Nanoparticles in cellular drug delivery", Bioorganic & medicinal chemistry, 17: 2950-2962.
  - [12] Derman, A., S., (2012). Canine parvovirus'e ait antijenik özellikli sentetik peptidlerin sentezi ve biyokonjugatlarının geliştirilmesi, Doktora Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
  - [13] Brigger, I., Dubernet, C. ve Couvreur, P., (2002). "Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis", Advanced Drug Delivery Reviews, 54: 631-651.

- [14] Derman, S., Kızılbey, K. ve Akdeste, Z.,M., (2013). "Polymeric nanoparticles", Sigma, 31: 107-120.
- [15] Çırpanlı, Y., (2009). Kamptotesin İçeren Polimerik Ve Oligosakkarit Bazlı Nanopartiküler Formülasyonların Geliştirilmesi Ve İn Vitro-İN Vivo Değerlendirilmesi, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [16] Desai, M.,P., Labhasetwar, V. , Walter, E. , Levy, R.,J. ve Amidon, G.,L., (1997). "The mechanism of uptake of biodegradable microparticles in Caco-2 cells is size dependent", Pharmaceutical research, 14: 1568-1573.
- [17] Grobmyer, S.,R., Iwakuma, N., Sharma, P. ve Moudgil, B., M., (2010). "Cancer Nanotechnology Methods and Protocols", Methods in Molecular Biology, Florida: Humana Press, 393.
- [18] Şengel-Türk, C.,T. , Hasçıçek, C. ve Gönül, N., (2007). "Nanoparticulate Drug Delivery Systems For Targeting The Drugs To The Brain", Journal of Neurological Sciences (Turkish), 24.
- [19] Alexis, F. , Pridgen, E. , Molnar, L.,K., ve Farokhzad, O.,C., (2008). "Factors affecting the clearance and biodistribution of polymeric nanoparticles", Molecular pharmaceutics, 5: 505-515.
- [20] Mohanraj, V. ve Chen, Y., (2006). "Nanoparticles-a review", Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 5: 561-573.
- [21] Özcan, İ., (2008). Kemiğe hedeflemek için sentezlenen biyolojik parçalanabilen polimerler kullanılarak hazırlanan nanopartiküler ilaç taşıyıcı sistemlerin tasarımı ve *in vitro-in vivo* değerlendirilmesi, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- [22] Cui, Z. ve Mumper, R.,J., (2001). "Chitosan-based nanoparticles for topical genetic immunization", Journal of Controlled Release, 75: 409-419.
- [23] Hamed, I., Ozogul, F. ve Regenstien, J.,M., (2016). "Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review", Trends in Food Science & Technology, 48: 40-50.
- [24] Kurita, K., (2006). "Chitin and chitosan: functional biopolymers from marine crustaceans", Marine Biotechnology, 8: 203.
- [25] Saito, Y., Putaux, J.,L., Okano, T., Gaill, F. ve Chanzy, H., (1997). "Structural Aspects of the Swelling of  $\beta$  Chitin in HCl and its Conversion into  $\alpha$  Chitin", Macromolecules, 30: 3867-3873.
- [26] Aranaz, I., Mengíbar, M., Harris, R., Paños, I., Miralles, B., Acosta, N., Galed, G. ve Heras, Á., (2009). "Functional characterization of chitin and chitosan", Current chemical biology, 3: 203-230.
- [27] Wu, Y.-g.E., (2003). The effect of chitosan and its derivatives on the dyeability of silk, The Hong Kong Polytechnic University, Hong Kong.
- [28] Krishna Rao, K.,S.,V., Vijaya Kumar Naidu, B., Subha, M.,C.,S., Sairam, M. ve Aminabhavi, T.,M., (2006). "Novel chitosan-based pH-sensitive

interpenetrating network microgels for the controlled release of cefadroxil", *Carbohydrate Polymers*, 66: 333-344.

- [29] Jayakumar, R., Prabakaran, M., Sudheesh Kumar, P.,T., Nair, S.,V. ve Tamura, H., (2011). "Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications", *Biotechnology Advances*, 29: 322-337.
- [30] Singla, A.,K. ve Chawla, M., (2001). "Chitosan: some pharmaceutical and biological aspects-an update", *J Pharm Pharmacol*, 53: 1047-1067.
- [31] Calvo, P., Remuñán-López, C., Vila-Jato, J.,L. ve Alonso, M., (1997). "Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers", *Journal of Applied Polymer Science*, 63: 125-132.
- [32] Demir, A. ve Seventekin, N., (2009). "Kitin, kitosan ve genel kullanım alanları", *Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 3: 92-103.
- [33] Agboh, O. ve Qin, Y., (1997). "Chitin and chitosan fibers", *Polymers for Advanced Technologies*, 8: 355-365.
- [34] Yavuz, G., (2008). *Kitosan Nanoparçacıklarının Sentezi*, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [35] Knittel, D. ve Schollmeyer, E., (1998). "Chitosan und seine derivate fur die textilveredlung. Teil 1: Ausgangsposition", *Textilveredlung*, 33: 67-71.
- [36] Synowiecki, J. ve Al-Khateeb, N.,A., (2003). "Production, Properties, and Some New Applications of Chitin and Its Derivatives", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43: 145-171.
- [37] Qi, L., Xu, Z., Jiang, X., Hu, C. ve Zou, X., (2004). "Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles", *Carbohydrate Research*, 339: 2693-2700.
- [38] Ohya, Y., Takei, T., Kobayashi, H. ve Ouchi, T., (1993). "Release behaviour of 5-fluorouracil from chitosan-gel microspheres immobilizing 5-fluorouracil derivative coated with polysaccharides and their cell specific recognition", *Journal of microencapsulation*, 10: 1-9.
- [39] Grenha, A., (2012). "Chitosan nanoparticles: a survey of preparation methods", *Journal of Drug Targeting*, 20: 291-300.
- [40] Kreuter, J., (1983). "Evaluation of nanoparticles as drug-delivery systems. 1. Preparation methods", *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, 58: 196-209.
- [41] El-Shabouri, M., (2002). "Positively charged nanoparticles for improving the oral bioavailability of cyclosporin-A", *International journal of pharmaceutics*, 249: 101-108.
- [42] Nagavarma, B., Yadav, H.,K., Ayaz, A. , Vasudha, L. ve Shivakumar, H., (2012). "Different techniques for preparation of polymeric nanoparticles-a review", *Asian J. Pharm. Clin. Res*, 5: 16-23.
- [43] Mitra, S., Gaur, U., Ghosh, P.,C. ve Maitra, A.,N., (2001). "Tumour targeted delivery of encapsulated dextran–doxorubicin conjugate using chitosan nanoparticles as carrier", *Journal of Controlled Release*, 74: 317-323.

- [44] Banerjee, T., Mitra, S., Singh, A.,K., Sharma, R.,K. ve Maitra, A., (2002). "Preparation, characterization and biodistribution of ultrafine chitosan nanoparticles", *International journal of pharmaceutics*, 243: 93-105.
- [45] Tang, Z.,-X. Qian, J.,-Q. ve Shi, L.,-E., (2007). "Preparation of chitosan nanoparticles as carrier for immobilized enzyme", *Applied biochemistry and biotechnology*, 136: 77-96.
- [46] Janes, K.,A. , Calvo, P. ve Alonso, M.,J., (2001). "Polysaccharide colloidal particles as delivery systems for macromolecules", *Advanced Drug Delivery Reviews*, 47: 83-97.
- [47] Dustgania, A., Vasheghani Farahani, E. ve Imani, M., (2008). "Preparation of chitosan nanoparticles loaded by dexamethasone sodium phosphate", *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4: 111-114.
- [48] Carvalho, E.,L., Grenha, A., Remuñán-López, C., Alonso, M.,J. ve Seijo, B., (2009). "Mucosal delivery of liposome–chitosan nanoparticle complexes", *Methods in enzymology*, 465: 289-312.
- [49] Fan, W., Yan, W., Xu, Z. ve Ni, H., (2012). "Formation mechanism of monodisperse, low molecular weight chitosan nanoparticles by ionic gelation technique", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 90: 21-27.
- [50] Tiyafoonchai, W., (2003). "Chitosan nanoparticles: a promising system for drug delivery", *Naresuan University Journal: Science and Technolog*, 11: 51-66.
- [51] Berthold, A., Cremer, K. ve Kreuter, J., (1996). "Preparation and characterization of chitosan microspheres as drug carrier for prednisolone sodium phosphate as model for anti-inflammatory drugs", *Journal of Controlled Release*, 39: 17-25.
- [52] Yoksan, R., Jirawutthiwongchai, J. ve Arpo, K., (2010). "Encapsulation of ascorbyl palmitate in chitosan nanoparticles by oil-in-water emulsion and ionic gelation processes", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 76: 292-297.
- [53] Hosseini, S.,F. , Zandi, M., Rezaei, M. ve Farahmandghavi, F., (2013). "Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and in vitro release study", *Carbohydrate Polymers*, 95: 50-56.
- [54] Muxika, A., Etxabide, A., Uranga, J., Guerrero, P. ve de la Caba, K., (2017). "Chitosan as a bioactive polymer: Processing, properties and applications", *International Journal of Biological Macromolecules*, 105: 1358-1368.
- [55] No, H.,K., Kim, S.,H., Lee, S.,H., Park, N.,Y. ve Prinyawiwatkul, W., (2006). "Stability and antibacterial activity of chitosan solutions affected by storage temperature and time", *Carbohydrate Polymers*, 65: 174-178.
- [56] Lehtimäki, T., Wuolijoki, E., Hirvelä, T., Lehtinen, S., Ylitalo, R., Nousiainen, P. ve Ylitalo, P., (1999). "Decrease in serum LDL cholesterol with microcrystalline chitosan in healthy subjects", *Atherosclerosis*, 144: 189.

- [57] Lee, D.,-W. Powers, K. ve Baney, R., (2004). "Physicochemical properties and blood compatibility of acylated chitosan nanoparticles", *Carbohydrate Polymers*, 58: 371-377.
- [58] Çaklı, Ş. ve Kılınç, B., (2004). "Kabuklu su ürünleri işleme artıklarının endüstriyel alanda değerlendirilmesi", *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 21: 145-152.
- [59] Rinaudo, M., (2006). "Chitin and chitosan: Properties and applications", *Progress in Polymer Science*, 31: 603-632.
- [60] Shahidi, F., Arachchi, J.,K.,V. ve Jeon, Y.,-J., (1999). "Food applications of chitin and chitosans", *Trends in Food Science & Technology*, 10: 37-51.
- [61] Singh, D.,K. ve Ray, A.,R., (2000). "Biomedical applications of chitin, chitosan, and their derivatives", *Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews*, 40: 69-83.
- [62] Queen, H., (2006). *Electrospinning chitosan-based nanofibers for biomedical applications*, Master Thesis, North Carolina State University, Raleigh.
- [63] Siegel, R.,A. ve Rathbone, M.,J., (2012). "Overview of controlled release mechanisms, Fundamentals and applications of controlled release drug delivery", *Springer*, 19-43.
- [64] Bajpai, A.,K., Shukla, S.,K., Bhanu, S. ve Kankane, S., (2008). "Responsive polymers in controlled drug delivery", *Progress in Polymer Science*, 33: 1088-1118.
- [65] Lee, J.,H. ve Yeo, Y., (2015). "Controlled drug release from pharmaceutical nanocarriers", *Chemical engineering science*, 125: 75-84.
- [66] Medina, S.,H., Chevliakov, M.,V., Tiruchinapally, G., Durmaz, Y.,Y., Kuruvilla, S.,P. ve ElSayed, M.,E., (2013). "Enzyme-activated nanoconjugates for tunable release of doxorubicin in hepatic cancer cells", *Biomaterials*, 34: 4655-4666.
- [67] Rizvi, S.,A.,A. ve Saleh, A.,M., (2018). "Applications of nanoparticle systems in drug delivery technology", *Saudi Pharmaceutical Journal*, 26: 64-70.
- [68] Kumar, B., Jalodia, K., Kumar, P. ve Gautam, H.,K., (2017). "Recent advances in nanoparticle-mediated drug delivery", *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 41: 260-268.
- [69] Calvo, P., Remuñan-López, C., Vila-Jato, J.,L. ve Alonso, M.,J., (1997). "Chitosan and chitosan/ethylene oxide-propylene oxide block copolymer nanoparticles as novel carriers for proteins and vaccines", *Pharmaceutical research*, 14: 1431-1436.
- [70] Maharramov, A., Askerova, U., Akhmedova, N., Mukhtarova, S.,K., Garazadeh, K.,A. ve Shikhaliev, N., (2017). "Synthesis and study of the antimicrobial activity of (e)-1-(2,2-dichloro-1-phenylvinyl)-2-phenyldiazene", *Dimensional Systems*, 1: 1.
- [71] Britton, G., (1995). "UV/visible spectroscopy", *ChemInform*, 26:32.

- [72] Sakho, E.,H.,M., Allahyari, E., Oluwafemi, O., Thomas, S. ve Kalarikkal, N., (2017). "Dynamic Light Scattering (DLS)", Thermal and Rheological Measurement Techniques for Nanomaterials Characterization, pp.37-49.
- [73] Hofman, M., Pasieczna, S., Wachowski, L. ve Ryczkowski, J., (2006). "Speciation of functional groups formed on the surface of carbonaceous materials modified by NO", J. Phys. IV France, 137: 287-290.
- [74] Goldstein, J., (2012). "Practical scanning electron microscopy: electron and ion microprobe analysis", Springer Science & Business Media.
- [75] Wu, J., Wang, Y., Yang, H. ,Liu, X. ve Lu, Z., (2017). "Preparation and biological activity studies of resveratrol loaded ionically cross-linked chitosan-TPP nanoparticles", Carbohydrate Polymers, 175: 170-177.
- [76] Fernandes Queiroz, M., Melo, K., Sabry, D., Sassaki, G. ve Rocha, H., (2014). "Does the Use of Chitosan Contribute to Oxalate Kidney Stone Formation?",Marine Drugs, 13, 141-158.
- [77] Xu, Y. ve Du, Y., (2003). "Effect of molecular structure of chitosan on protein delivery properties of chitosan nanoparticles", International journal of pharmaceutics, 250: 215-226.
- [78] Mohammadpour Dounighi, N., Eskandari, R., Avadi, M.,R., Zolfagharian, H., Mir Mohammad Sadeghi, A. ve Rezayat, M., (2012). "Preparation and in vitro characterization of chitosan nanoparticles containing Mesobuthus eupeus scorpion venom as an antigen delivery system", Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases, 18: 44-52.
- [79] Keawchaoon, L. ve Yoksan, R., (2011). "Preparation, characterization and in vitro release study of carvacrol-loaded chitosan nanoparticles", Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 84: 163-171.
- [80] Kavaz, D., (2011). "Nanopartiküller", Nanobülten, 13: 12-19.

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

**Adı Soyadı** : Sena Didem ERKAL TUYJİ  
**Doğum Tarihi ve Yeri** : 06.06.1989 / Beyoğlu  
**Yabancı Dili** : İngilizce  
**E-posta** : senadidemerkal@gmail.com, sderkal@medipol.edu.tr

### ÖĞRENİM DURUMU

| Derece | Alan            | Okul/Üniversite            | Mezuniyet Yılı |
|--------|-----------------|----------------------------|----------------|
| Lisans | Biyomühendislik | Yıldız Teknik Üniversitesi | 2011           |
| Lise   | Fen Bilimleri   | Hüseyin Avni Sözen A.L.    | 2007           |

### İŞ TECRÜBESİ

| Yıl         | Firma/Kurum                   | Görevi                                 |
|-------------|-------------------------------|----------------------------------------|
| 2015 -      | İstanbul Medipol Üniversitesi | Meslek Yüksekokulu<br>Müdür Yardımcısı |
| 2015 -      | İstanbul Medipol Üniversitesi | Öğretim Görevlisi                      |
| 2014 - 2015 | Novo Nordisk A/S              | Klinik Araştırma Koordinatörü          |

## **YAYINLARI**

### **Bildiri**

1. Erkal Tuyji S.D., Yücel S., Derman S., Pelit Arayıcı P., Akdeste Z., (2018). “(e)-1-(2,2-dikloro-1-fenilvinil)-2-fenildiazen Yüklü Kitosan Nanopartiküllerinin Sentezi ve Karakterizasyon”, 6.Ulusal Biyomühendislik Öğrenci Kongresi, 05-06 Nisan 2018, İstanbul.

### **ÖDÜLLERİ**

Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölüm İkinciliği, 2011.

