

**BİYOMEDİKAL UYGULAMALARA YÖNELİK OLARAK
FONKSİYONEL POLİMERİK FİLMLEİN
GELİŞTİRİLMESİ**

**DEVELOPMENT OF FUNCTIONAL POLYMERIC FILMS
FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS**

CENGİZ KAYA

PROF. DR EDA AYŞE AKSOY

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Polimer Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalı için Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

Aileme

ÖZET

BİYOMEDİKAL UYGULAMALARA YÖNELİK OLARAK FONKSİYONEL POLİMERİK FİLMLEİN GELİŞTİRİLMESİ

Cengiz KAYA

Yüksek Lisans, Polimer Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Eda Ayşe AKSOY

Nisan 2023, 85 sayfa

Her gün çeşitli sebeplerden dolayı meydana gelen çok sayıdaki yaralanma olayları nedeniyle dünya genelinde çok sayıda insan etkilenmektedir. Yara bölgesinde kullanılan gazlı bez, pamuk gibi malzemeler iyileşme sürecinin uzamasına neden olmaktadır. Yara iyileşmesi esnasında gerçekleşen süreçlerin hızlandırılmasını sağlayan ayrıca bariyer etkisi göstererek biyoaktif özellik sergileyen yara örtüleri tedavi süreçlerinde üstünlük yaratmaktadır.

Bu tez çalışması kapsamında biyouyumlu ve biyoaktif özellik gösteren doğal malzemelerden oluşan film formunda uygulanabilen özgün biyomedikal örtü geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla biyouyumlu, biyobozunur, antibakteriyel etki gösteren kitosan, antioksidan özelliğe sahip kuersetin ve biyouyumlu, biyobozunur hyalüronik asit kullanılmıştır. Kuersetinin farklı ağırlık oranlarına sahip kitosan-kuersetin ve kitosan-kuersetin-hyalüronik asit formülasyonları hazırlanmıştır.

Geliştirilen biyomedikal filmlerin kimyasal karakterizasyonları Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometresi, termal karakterizasyonları Termogravimetrik Analiz ve Diferansiyel Taramalı Kalorimetre ile yapılmıştır. Reolojik çalışmalar kapsamında ise sabit sıcaklıkta viskoziteye karşı kayma hızı ölçülerek viskoelastik davranışları

ölçülmüştür. Biyomedikal filmlerin su temas açısı ve serbest yüzey enerjisi ölçümü gerçekleştirilmiş, ayrıca şişme davranışları ve biyobozunma özellikleri incelenmiştir.

Kimyasal karakterizasyon çalışmasının sonuçlarına göre kuersetin, hyalüronik asit içeren ve içermeyen formülasyonlarda kimyasal bağlanma yaratmıştır. Termal karakterizasyon çalışması bütün formülasyonların kullanım amacı doğrultusunda iyi bir termal kararlılığa sahip olduğunu göstermiştir. Temas açısı ve serbest yüzey enerjisi ölçümleri hyalüronik asit içeren formülasyonların hyalüronik asit içermeyenlere göre daha hidrofobik karakterde olduğunu ve yüzey enerjisi polar bileşenin daha düşük olduğunu göstermiştir. Reolojik çalışmalarda örnekler newton tipi olmayan akışkan özellikleri göstermiştir. Geliştirilen filmler sulu ortamda yüksek şişme kapasitesi göstermiş ve lizozim içeren enzimatik ortamda biyobozunmaya uğramıştır.

Sonuç olarak, bu tez kapsamında biyomedikal uygulamalarına yönelik özgün filmler başarılı bir şekilde geliştirilmiştir. Bileşenlerinin biyouyumlu, biyoaktif ve antioksidan özelliklerinden dolayı filmlerin yara ortamının iyileşmesini destekleyeceği ve yara örtüsü olarak umut verici bir seçenek olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: kitosan, kuersetin, hyalüronik asit, film, yara örtüsü, biyomedikal

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF FUNCTIONAL POLYMERIC FILMS FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS

Cengiz KAYA

Master of Science, Department of Polymer Science and Technology

Supervisor: Prof. Dr. Eda Ayşe AKSOY

April 2023, 85 pages

A large number of people around the world are affected by the number of injuries that occur every day for various reasons. Materials such as gauze and cotton used in the wound area cause prolongation of the healing process. Wound dressings, which accelerate the processes during wound healing and exhibit bioactive properties by showing a barrier effect, create superiority in the treatment processes.

Within the scope of this thesis, it is aimed to develop a unique biomedical cover that can be applied in the form of a film consisting of natural materials with biocompatible and bioactive properties. For this purpose, biocompatible, biodegradable antibacterial chitosan with effect, quercetin with antioxidant properties and biocompatible, biodegradable hyaluronic acid were used. Chitosan-quercetin and chitosan-quercetin-hyaluronic acid formulations with different weight ratios of quercetin were prepared.

Chemical characterizations of the developed biomedical films were made with Fourier Transform Infrared Spectrometer, thermal characterizations were made with Thermogravimetric Analysis and Differential Scanning Calorimetry. Within the scope of

rheological studies, viscoelastic behavior was measured by measuring the shear rate against viscosity at constant temperature. The water contact angle and free surface energy measurement of the biomedical films were performed, and their swelling behavior and biodegradation properties were investigated.

According to the results of the chemical characterizations, quercetin provided chemical bonding in hyaluronic acid containing and non containing formulations. The thermal characterization study showed that all formulations had good thermal stability for their intended use. Contact angle and surface free energy measurements showed that formulations containing hyaluronic acid were more hydrophobic than those without hyaluronic acid, and the polar component of surface free energy was lower. In rheological studies, samples showed non-newtonian fluid properties. The developed films showed high swelling capacity in aqueous media and biodegraded in lysozyme containing enzymatic media.

As a result, novel films for biomedical applications have been successfully developed within the scope of this thesis. Due to the biocompatible, bioactive and antioxidant properties of the components, It is thought that the films will support the healing of the wound environment and may be a promising option as a wound dressing.

Keywords: chitosan, quercetin, hyaluronic acid, film, wound dressing, biomedical

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam kapsamında sürekli yanımda olan, değerli bilgi ve deneyimini her fırsatta paylaştan, en zor anlarda bile bana ve çalışmaya olan güvenini hiç kaybetmeyen danışman hocam Prof. Dr. Eda Ayşe AKSOY' a,

Yüksek lisans eğitimim boyunca kendilerinden aldığım dersler ile çok şey öğrendiğim saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Murat ŞEN ve Prof. Dr. Murat BARSBAY' a,

Tez çalışmam kapsamında hem bilgi birikiminden hem de sosyal ilişkilerindeki deneyimlerinden çok şey öğrendiğim saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Kezban ULUBAYRAM ve Prof. Dr. İpek EROĞLU' na,

Tez çalışmam kapsamında değerli yorumları ile destek aldığım Prof. Dr. Pınar YILGÖR HURİ' ye,

Tez çalışmam boyunca, Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Eczacılık Temel Bilimleri Laboratuvarında beraber çalıştığım ve her ihtiyacım olduğu anda yardım elini uzatmaktan çekinmeyen Arş. Gör. Elif CÖNKER, Öğr. Gör. Dr. Şükrü ÖZTÜRK, Dr. Öğr. Üyesi Merve GÜLTEKİNOĞLU BAYRAM, Halime SERİNÇAY, Hadiye KESKİN, Embiya YUSUFOĞLU ve Şeyma KOÇ' a,

Yüksek lisans öğrenimim süreci içerisinde desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen arkadaşlarım Nurnisa ELÇİN ve Pelin TONKA' ya,

Tez çalışmam boyunca desteğini esirgemeyen Öğ. Gör. Dr. Tuğba ENDOĞAN TANIR' a,

Hayatım boyunca hep yanımda olan, ilgilerini ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen annem Gazal KAYA, babam Hasan KAYA, abim Yusuf Deniz KAYA ve ablam Filiz KAYA KOÇ' a,

Hayatın anlamını ve değerini onlara bakarken bulduğum yeğenlerim Eren KOÇ, Kadir KAYA, Salih KAYA, Mehmet Selim KOÇ' a

Gönülden teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Biyomedikal Yara Örtüleri	3
2.2. Kitosan	9
2.2.1. Giriş	9
2.2.2. Özellikler	9
2.2.3. Üretim Metodu.....	10
2.2.4. Yapı-Özellik İlişkisi.....	11
2.2.5. Kitosan Modifikasyonları	11
2.2.6. Kullanım Alanları	12
2.3. Kuersetin.....	13
2.4. Hyalüronik Asit.....	15
2.5. Literatür Taraması.....	17
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	24
3.1. Kimyasal Malzemeler	24
3.2. Kullanılan Cihazlar	24
3.3. Yöntem.....	24
3.3.1. Kitosan – Kuersetin Filmlerinin Hazırlanması	24
3.3.2. Kitosan – Kuersetin – Hyalüronik Asit Filmlerin Hazırlanması	27
3.3.3. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	27
3.3.3.1. Asetik Asit Çözeltisinin Hazırlanması.....	27
3.3.3.2. Kitosan Çözeltisinin Hazırlanması	28

3.3.3.3. 0.05 M NaOH Çözeltisinin Hazırlanması	28
3.3.3.4. Kuersetin Çözeltisinin Hazırlanması.....	28
3.3.3.5. Hyalüronik Asit Çözeltisinin Hazırlanması	28
3.3.3.6. 1 M NaOH Çözeltisinin Hazırlanması	28
3.4. Karakterizasyon Yöntemleri	28
3.4.1. Kimyasal Karakterizasyon	28
3.4.2. Termal Karakterizasyon	28
3.4.3. Temas Açısı ve Serbest Yüzey Enerjisi	29
3.4.4. Reolojik Analiz	30
3.4.5. Şişme Deneyi.....	30
3.4.6. Biyobozunma Deneyi	30
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	32
4.1. Kimyasal Karakterizasyon	32
4.2. Termogravimetrik Analiz.....	39
4.3. Diferansiyel Taramalı Kalorimetri	46
4.4. Temas Açısı ve Serbest Yüzey Enerjisi	50
4.5. Reolojik Analiz	52
4.6. Şişme Deneyi.....	53
4.7. Biyobozunma Sonuçları	55
5. YORUM.....	59
6. KAYNAKLAR.....	61
EKLER	66
EK 1 – Fourier Transform Kızıl Ötesi Spektrumları.....	66
EK 2 – Termogravimetrik Analiz ve Diferansiyel Taramalı Kalorimetre Termogramları	71
EK 3 – Su Temas Açısı Görüntüleri.....	78
EK 4 – Reoloji Grafikleri	82
EK 5 - Tez Çalışması Orjinallik Raporu	84
ÖZGEÇMİŞ	85

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1. Kitin, kitosan ve selüloza ait kimyasal yapılar	10
Şekil 2. 2. Kuersetinin molekül yapısı.....	13
Şekil 2. 3. Hyalüronik asidin kimyasal yapısı	16
Şekil 3. 1. %1.5 (m/v) oranında kitosan çözeltisi	25
Şekil 3. 2. 10mg/ml oranında kuersetin çözeltisi hazırlanması	25
Şekil 3. 3. CH-Q filmleri	26
Şekil 4. 1. CH filmine ait ATR-FTIR spektrumu	32
Şekil 4. 2. Q örneğine ait FTIR spektrumu.....	33
Şekil 4. 3. HA örneğine ait FTIR spektrumu.....	34
Şekil 4. 4. CH-Q ile hazırlanmış farklı formülasyonlara ait ATR-FTIR spektrumları ..	35
Şekil 4. 5. CH-Q-HA ile hazırlanmış farklı formülasyonlara ait ATR-FTIR spektrumları	37
Şekil 4. 6. CH filmine ait TGA-DTA termogramı	39
Şekil 4. 7. Q filmine ait TGA-DTA termogramı	40
Şekil 4. 8. HA filmine ait TGA-DTA termogramı	41
Şekil 4. 9. CH-Q10 filmine ait TGA-DTA termogramı	42
Şekil 4. 10. CH-Q20 filmine ait TGA-DTA termogramı	42
Şekil 4. 11. CH-Q30 filmine ait TGA-DTA termogramı	43
Şekil 4. 12. CH-Q10-HA filmine ait TGA-DTA termogramı	44
Şekil 4. 13. CH-Q20-HA filmine ait TGA-DTA termogramı	44
Şekil 4. 14. CH-Q30-HA filmine ait TGA-DTA termogramı	45
Şekil 4. 15. Toplu TGA termogramı.....	45
Şekil 4. 16. CH filmine ait DSC termogramı	46
Şekil 4. 17. Q örneğine ait DSC termogramı.....	47
Şekil 4. 18. HA örneğine ait DSC termogramı.....	48
Şekil 4. 19. CH-Q20 filmine ait DSC termogramı	49
Şekil 4. 20. CH-Q20-HA filmine ait DSC termogramı	49
Şekil 4. 21. CH (a), CH-Q10-HA (b), CH-Q20-HA (c) ve CH-Q30-HA (d) örneklerine ait su temas açısı görüntüleri	51
Şekil 4. 22. CH, CH-Q10 ve CH-Q10-HA filmlerine ait toplu viskozite grafikleri.....	53
Şekil 4. 23. CH-Q formülasyonlarına ait şişme grafiği	54

Şekil 4. 24. CH-Q-HA formülasyonlarına ait şişme grafiği	55
Şekil 4. 25. Enzimatik bozunmaya ait toplu sonuçlar	56
Şekil 4. 26. Oksidatif bozunmaya ait toplu sonuçlar	57
Şekil 4. 27. Hidrolitik bozunmaya ait toplu sonuçlar	58
Şekil 4. 28. CH filmine ait FTIR spektrumu	66
Şekil 4. 29. Q örneğine ait FTIR spektrumu	66
Şekil 4. 30. HA örneğine ait FTIR spektrumu	67
Şekil 4. 31. CH-Q10 filmine ait FTIR spektrumu.....	67
Şekil 4. 32. CH-Q20 filmine ait FTIR spektrumu.....	68
Şekil 4. 33. CH-Q30 filmine ait FTIR spektrumu.....	68
Şekil 4. 34. CH-Q10-HA filmine ait FTIR spektrumu	69
Şekil 4. 35. CH-Q20-HA filmine ait FTIR spektrumu	69
Şekil 4. 36. CH-Q30-HA filmine ait FTIR spektrumu	70
Şekil 4. 37. CH filmine ait TGA ve DSC termogramları.....	71
Şekil 4. 38. Q örneğine ait TGA ve DSC termogramı	71
Şekil 4. 39. HA örneğine ait TGA ve DSC termogramı	72
Şekil 4. 40. CH-Q10 filmine ait TGA termogramı	72
Şekil 4. 41. CH-Q20 filmine ait TGA ve DSC termogramları	73
Şekil 4. 42. CH-Q30 filmine ait TGA termogramı	73
Şekil 4. 43. CH-Q10-HA filmine ait TGA termogramı	74
Şekil 4. 44. CH-Q20-HA filmine ait TGA ve DSC termogramı.....	74
Şekil 4. 45. CH-Q30-HA filmine ait TGA termogramı	75
Şekil 4. 46. CH filmine ait DSC termogramı	75
Şekil 4. 47. Q örneğine ait DSC termogramı	76
Şekil 4. 48. HA örneğine ait DSC termogramı	76
Şekil 4. 49. CH-Q20 filmine ait DSC termogramı.....	76
Şekil 4. 50. CH-Q20-HA filmine ait DSC termogramı.....	77
Şekil 4. 51. CH örneğine ait su temas açısı görüntüleri.....	78
Şekil 4. 52. CH-Q10-HA örneğine ait su temas açısı görüntüleri.....	79
Şekil 4. 53. CH-Q20-HA örneğine ait su temas açısı görüntüleri.....	80
Şekil 4. 54. CH-Q30-HA örneğine ait su temas açısı görüntüleri.....	81
Şekil 4. 55. CH örneğine ait viskozite grafiği.....	82
Şekil 4. 56. CH-Q10 örneğine ait viskozite grafiği.....	82

Şekil 4. 57. CH-Q10-HA örneğine ait viskozite grafiği	83
--	----

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2. 1. Akut ve kronik yaralar için değişik tedavi türleri	8
Çizelge 2. 2. Kitinin doğada bulunduğu kaynaklar	10
Çizelge 2. 3. Flavonoidin ailesinin ana gruplarının bileşenleri ve kaynakları	14
Çizelge 2. 4. Bazı gıdalarda bulunan kuersetin miktarı	15
Çizelge 3. 1. Kullanılan kimyasallar	24
Çizelge 3. 2. CH-Q film formülasyonları	26
Çizelge 3. 3. CH-Q-HA film formülasyonları	27
Çizelge 4. 1. Tüm film formülasyonlarına ait toplu FTIR spektrum dalga sayıları	38
Çizelge 4. 2. Su temas açısı değerleri	50
Çizelge 4. 3. CH ve HA örnekleri ve CH-Q ve CH-Q-HA formülasyonlarına ait OWRK metodu ile hesaplanan serbest yüzey enerjileri	52

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

M_w	Molekül ağırlığı
M_k	Kuru film ağırlığı
M_s	Su içerisinde bekletilmiş film ağırlığı
M_d	Bozunmaya uğramış film ağırlığı
γ_{sl}	Katı / sıvı arayüzey serbest enerjisi
γ^P_{sl}	Polar etkileşimden kaynaklanan katı / sıvı arayüzey serbest enerjisi
γ^D_{sl}	Dispersif etkileşimden kaynaklanan katı / sıvı arayüzey serbest enerjisi
θ	Temas açısı

Kısaltmalar

ECM	Hücre Dışı Matris
CH	Kitosan
DD	Deasetilasyon Derecesi
Q	Kuersetin
HA	Hyalüronik Asit
GAG	Glikozaminoglikan
HAS	Hyaluronan Sentaz
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
TGA	Termogravimetrik Analiz
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
DTA	Diferansiyel Termal Analiz
SFE	Serbest Yüzey Enerjisi

ATR	Zayıflatılmış Toplam Yansıma Tekniği
A.A	Asetik Asit
PCL	Polikaprolakton
PBS	Fosfat Tampon Tuz Çözeltisi
Lz	Lizozim enzimi

1. GİRİŞ

Biyomalzemeler vücut sıvıları ile sürekli veya süreli olarak temas eden, hasarlı doku veya organın yapısını korumak, desteklemek ve iyileştirmek kullanılan malzemelerdir. Tedavi edici veya teşhis amaçlı kullanılabilirler. Metal, polimer, seramik, kompozit gibi malzemelerden üretilirler. Kullanım amacı ve kullanılacak yere göre kullanılacak malzeme seçimi önem kazanır. Ortopedik implantlar, stentler, sütürler, kemik çimentoları, yapay kalp kapakçıkları ve yara örtüleri klinikte yaygın olarak kullanılan biyomalzemelere örnek olarak gösterilebilir [1, 2].

Yara, derinin anatomik yapısının ve işlevinin hasar görmesi veya bozulmasıdır. Yara örtüleri yara yatağını desteklemek, yara iyileşmesini geciktirebilecek kontaminasyon, nem kaybı vb. etkenlerden yara bölgesini korumak, iyileşme sürecini hızlandırmak için kullanılan biyomalzemelerdir. İdeal bir yara örtüsünün biyouyumlu, yüksek absorpsiyon kapasitesine sahip, yeterli oranda nem geçirgenliği gösteren, mikroorganizmalara karşı güçlü bir bariyer oluşturması beklenmektedir. Yara örtüleri, temel olarak doğal ve sentetik polimerlerden veya bu iki türün kombinasyonundan film, hidrojel, köpük formlarında üretilirler [3].

Kitosan, $\beta(1-4)$ bağlı D-glukozamin ve N-asetil-D-glukozaminden oluşan, doğal, yarı kristalin özellikte doğrusal bir polisakkarittir. Kitinin deasetilasyonu sonucu elde edilir. Kitosanın biyouyumlu, biyoaktif, biyobozunur ve antimikrobiyal aktivite gibi özellikleri mevcuttur. Kitosan ve türevlerinden, tıp, eczacılık, gıda, tarım, tekstil, kâğıt endüstrisi, kozmetik gibi birçok alanda yararlanılmaktadır [4-6].

Kuersetin (3,3',4',5,7-pentahidroksiflavon) ise bitkilerde ve bitkisel besin kaynakları içerisinde yer alan bir flavonoiddir. Doğal olarak soğan, pırasa, brokoli gibi bitkilerde bulunur. Antioksidan, antibakteriyel, antiviral, antiinflamatuvar ve antitümör gibi özelliklere sahiptir [7, 8].

Hyalüronik asit $\beta(1,4) - \beta(1,3)$ glikozitler ile bağlanan D-glukuronik ve N-asetil-D-glukozamin disakkarit birimlerinin tekrarlanması ile oluşur. Hyalüronik asit doğal olarak göbek kordonunda, sinoviyal sıvıda, horoz ibiğinde, gözün vitröz sıvısı içerisinde, epitel ve bağ dokularında ve köpek balığı derisinde bulunur. Hyalüronik asit biyouyumlu, biyobozunur, yüksek nem tutma özelliğine sahip, viskoelastik özellikleri güçlü bir doğal polimeridir. Klinikte insan vücudunda dolgu malzemesi olarak ve eklemler için

kayganlaştırıcı olarak kullanımı mevcuttur. Ayrıca antiinflamatuvar özelliği sayesinde doku mühendisliğinde de kendine giderek artan bir uygulama alanı bulmaktadır [9-11].

Tez kapsamında, biyomedikal uygulamalar için biyouyumlu, biyoaktif, doğal polimerlerden oluşan filmlerin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda biyouyumlu, antimikrobiyal özelliklere sahip kitosan, antioksidan özelliğine sahip kuersetin ve biyouyumlu, biyobozunur özelliklere sahip hyalüronik asit malzemeleri kullanılarak özđün polimerik filmler geliştirilmiştir. Yapılar kapsamlı olarak karakterize edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Biyomedikal Yara Örtüleri

İnsan vücudunda cildin birincil işlevi, çevresel zarara karşı koruyucu bir bariyer görevi görmesidir. Cildin yapısal bütünlüğü bozulduğunda insanın bağışıklık sistemi etkilenir ve insan vücudu üzerinde önemli hasarlara neden olma ihtimali artar. Yara fiziksel, kimyasal veya termal etkilerin sebep olduğu her türlü cilt yaralanması veya doku bütünlüğünün bozulması olarak tanımlanabilir. Yaralar, geleneksel olarak akut ve kronik yara olarak iki ana sınıfa ayrılırlar. Akut yaralar genellikle cerrahi operasyon, yanma, küçük kesikler ve çizikler, ciddi travmatik darbeler kaynaklı yaralanmalardır. Kronik yaralar ise, yara iyileşmesini yavaşlatan veya engelleyen fizyolojik durumun olduğu ve yara iyileşme sürecinin evrelerinde sorun meydana gelen yara türleridir. Periferik venöz hastalığı, diabetes mellitus, bacak veya ayak ülseri gibi hastalıklar kronik yaralara yol açabilmektedir. Ayrıca yaş faktörü, obezite, sigara kullanımı, kötü beslenme ve bağışıklık sistemini baskılayan hastalıklar ve uzun süreli ilaç kullanımı yaraların kronikleşmesinde etkili olan diğer faktörlerdir. Yara iyileşmesi, temel olarak üç evrede gerçekleşen bir süreçtir. Bu evreler inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme olarak tanımlanır. İyileşme süreci yaranın tipine göre de değişiklik göstermektedir. Akut yaralar tüm evreleri izleyerek 8-12 hafta arasında iyileşme gösterir. Ancak kronik yaraların iyileşme süreci aylar hatta yıllar sürebilmektedir [12-14].

Yara iyileşmesinin ilk evresi olan inflamasyon, doku hasarından hemen sonra gerçekleşir ve yaklaşık 2 hafta boyunca sürer. Bu süreçte kademeli olarak pıhtılaşma gerçekleşir ve kan, sıvı kayıpları önlenir. İnflamasyon evresinde yara bölgesine nötrofil, makrofaj ve lenfosit göçü gerçekleşir. Bu sürecin aylar veya yıllar boyu sürmesini gerektiren yaralar kronik olarak sınıflandırılır [12, 15].

Proliferatif evre inflamasyon evresini takip eder. Bu evrede yeni doku oluşumu, granülasyon ve epitel doku oluşumu gerçekleşir. Proliferatif evrenin ilk aşamasında keratinositler hasarlı dermis tabakası üzerine göç eder ve bunu takiben kan damarları oluşumu başlar. Vasküler ağ yapısı yeniden onarılır. Keratinositler epidermal bariyerin yeniden onarılmasını gerçekleştirirken, fibroblastlar ve endotel hücreleri anjiyogenez ve hücre dışı matrisin (ECM) üretimini gerçekleştirirler [12, 15].

Yeniden şekillenme evresi ise yeni oluşan matrisin yeniden düzenlenmesini ve dokunun eski hale getirilmesini içerir ve bu aşama ise birkaç yıl sürebilir. Yeniden şekillenme

sürecinde önceki evrelerde başlayan süreçler yavaşlar ve durur. Önceki evrelerdeki endotel hücrelerin ve fibroblastların çoğu apoptoza uğrar. Kolajen ve hücre dışı matrislerden oluşan bir yapı kalır. Yara iyileşmesi sırasında gerçekleşen bu evrelerde herhangi bir sorun çıkar ise yara iyileşmesi durabilir [12, 15].

Yaranın korunması ve tedavisi oldukça eskilere dayanmaktadır. Bilinen en geleneksel yara korunması, yaranın yaprak veya bezler ile kapatılmasıdır. Ayrıca tarih içerisinde yara bakımı için daha çeşitli malzemelerde kullanılmıştır. M.Ö. 1600 lerde yağ dökülerek ıslatılan keten parçaları kullanılmıştır. Daha eski zamanlarda yaraların önce su veya süt ile temizlendiği ve sonrasında bal veya reçineler kullanılarak pansuman yapıldığı bilinmektedir. Zaman içinde bandajlar, gazlı bezler, pamuk pedler kullanılmaya başlanmıştır. Bu yara örtülerinin ekonomik açıdan uygun maliyette olması ve üretim kolaylığına sahip olması önemlidir. Fakat kronik yaralarda geleneksel örtülerinin yetersiz kaldığı bilinmektedir ve araştırmacılar değişik yöntemler geliştirmeye odaklanmışlardır [13, 16, 17].

Her yıl çok sayıda yaralanma meydana gelmekte ve birçok insan bu konudan etkilenmektedir. Yara tiplerinin ve özelliklerinin farklılığı göz önüne alındığında yaranın türüne ve özelliklerinin gerekliliklerine göre ilgilenmek önem arz etmektedir. Bu nedenle, işlevi sargıyı yerinde tutmak olan bandajlar yerine yaranın iyileşmesine yardımcı olan ve meydana gelebilecek komplikasyonları önlemeye yardımcı yara örtülerinin geliştirilmesi önemlidir. Bu kapsamda geleneksel pansumanlara nazaran yeni geliştirilen malzemeler, yaranın mikro çevresinin (sıcaklık, nem) korunmasını sağlarlar. Ayrıca hücre çoğalmasını teşvik ederek iyileşmeyi hızlandırırlar. Dışardan gelebilecek kontaminasyonlara karşıda bariyer görevi görürler [13, 16].

Bir yaranın iyileşmesi esnasında, hava geçirgenliğinin sağlanması, pansuman değiştirme sıklığının ideal olması, nemli bir yara ortamının sağlanması, yaranın bakteriyel enfeksiyondan korunması, fazla yara eksüdası ve nekrotik dokunun uzaklaştırılması gibi faktörler etkilidir. Kullanılacak yara örtüsü ise yaranın tipi, derinliği, eksüda miktarı, enfeksiyon gibi durumlar dikkate alınarak seçilir. Günümüzde birçok farklı malzeme türü ve üretim tekniği kullanılmasına rağmen ticarileşmiş hiçbir yara örtüsü mükemmel bir ECM replasmanını sağlayamamaktadır [13, 18].

Bir yarayı başarılı bir şekilde iyileştirmek için, eksüdayı en aza indirmek, vaskülarizasyonu iyileştirmek, enfeksiyonlardan korumak gereklidir. Travma, enfeksiyon oluşumu, immünsüpresyon, aşırı ödem, diyabet, yabancı cisimler gibi bazı faktörler yara iyileşmesini geciktirebilirler. İdeal bir yara örtüsünün özellikleri, nemli bir yara ortamı sağlama, eksüda emilimi, yaralı doku ile ortam arasında gaz alışverişini sağlama, antimikrobiyal etki yaratma, anjiyogenezi ve bağ dokusu sentezini destekleme, alerjik ve toksik etki göstermeme, kolay uygulama ve bakım, iyileştikten sonra kolayca çıkarılabilir olma ve maliyet etkinliği olarak sayılabilir [13, 18].

Gazlı bez, bandaj, pamuk gibi geleneksel malzemeler, orta düzeyde eksüda seviyelerine sahip temiz, kuru yaralar için kullanılır. Kontaminasyondan koruma ve kanamayı durdurma gibi özellikleri ile tedaviye yardımcı olurlar. Ayrıca maliyet etkinliği, kullanım kolaylığı ve erişilebilirlik gibi özellikleri kullanılmalarını kolaylaştırıcı etmenler olarak sayılabilir. Ancak bu malzemelerin bakteri korumaları zayıftır. Yara yatağının hızlı dehidrasyonuna neden olurlar. Pansuman değişim sıklığı fazladır. Yaraya yapıştıklarından dolayı değişim sırasında ağırlı çıkarma gibi dezavantajlara sahiptir. Bu dezavantajlar nedeniyle kullanım alanları kısıtlıdır. Ayrıca yara ortamının iyileşmesini hızlandırmazlar bu yüzden yara iyileşme sürecinde pasif olarak görev alırlar [13, 17].

Bütün bu kısıtlamalar göz önüne alındığında, sadece yarayı örtmekle kalmayıp aynı zamanda yara yüzeyi ile etkileşime girerek lezyonları koruyabilen ve harekete geçirebilen, hücre çoğalmasına olanak sağlamak maksadı ile yara eksüdalarını en aza indiren bu şekilde yara ortamının özelliklerini iyileştirebilen, yara bölgesindeki enfeksiyon ve iltihabı kontrol eden antibiyotik, antiinflamatuvar ajan ve diğer biyoaktif bileşikler dahil olmak üzere birçok aktif bileşimin yüklendiği yara örtülerinin geliştirilmesine odaklanılmıştır. Bu kapsamda, hidrojel, köpük ve film gibi üretim metotları ile doğal ve sentetik birçok polimer kullanılmıştır. Bu polimerler yara tipine bağlı olarak, tek başlarına veya birbirleri ile kombine bir şekilde kullanılabilen ve antimikrobiyal aktivite ve gelişmiş yara iyileşmesi elde etmek için bazen büyüme faktörleri ve diğer terapötik ajanlar ile birleştirilebilmektedir [13].

Farklı teknikler kullanılarak yara örtüsü üretilmektedir. Bu tekniklerle üretilen yara örtülerine hidrojeller, hidrokolloidler, köpükler, filmler, nano fiber temelli örtüler örnek olarak gösterilebilir [13].

Hidrojeller, içeriğinde yüksek oranda su bulunan, hidrofilik üç boyutlu bir polimer ağı olarak tanımlanabilir. Doğal, sentetik veya ikisinin kombini şeklinde üretilebilirler. Yapısı gereği su içeriği yüksek olduğundan, kuru ve nekrotik yaraların tedavisinde kullanılmaya elverişlidir. Hidrojeller, doğal ECM ye yapısal olarak benzediklerinden hücre çoğalmasını teşvik ederler. Ayrıca yaralardan eksüdalari absorbe edebilme özelliklerine sahiptir. Yara yatağını serinletici etkiye sahiptirler. Bu sayede ağrı etkisini azaltabilirler. Ancak özellikle şişmiş durumda zayıf mekanik özelliklere sahip oldukları için yardımcı bir pansumana ihtiyaç duyarlar. Biyolojik bileşenleri (protein, hücre vb.) absorbe etme yeteneği zayıf olduğu için bakterilere karşı yetersiz bir bariyer özelliği gösterirler. İçerdikleri yüksek su içeriğinden dolayı eksüda emme yetenekleri sınırlıdır [13, 18, 19].

Hidrokolloid yara örtüleri, iki katmandan oluşur. İç tabaka, jel oluşturucu ajanlara sahiptir. Bu sayede kendinden yapışkanlı bir özelliğe sahip olur. Bu örtüler, iç tabakaları sayesinde su buharına karşı geçirgen dış tabakaları sayesinde bakterilere karşı koruma sağlamaktadır. Yara ile temas ettiğinde şişerek yaranın üzerinde jel benzeri bir kütle meydana getirirler. Hem nemli hem de kuru bölgelerde bulunan yaralara yapışma özellikleri mevcuttur. Çıkarılırken ağrıya sebebiyet vermezler. Epitelyal göçü ve granülasyon dokusunun büyümesini teşvik etmektedirler. Eksüda emme özellikleri son derece iyidir ve yardımcı bir pansumana ihtiyaç duymadan kontaminasyonu engelleyebilirler. Ancak klinik olarak aşırı eksüda ile enfekte yaralarda kullanımından kaçınılması gerekmektedir. Çünkü oluşturdukları ortam bakteri üremesi için uygundur [13, 17].

Köpük örtüleri, yara üzerindeki eksüdalari emme kapasitesine sahip gözenekli bir yapıdan oluşan malzemelerdir. Çoğunlukla poliüretan veya silikon bazlı yapıya sahiptirler. Dayanıklılıkları yüksek ve esneklerdir. Orta ve yüksek eksüdalı ülserlerde kullanılmaları uygundur. Hidrofillik veya hidrofobik özellik gösterebilirler. Yüksek sıvı emme kapasitesine sahiptirler. Bundan dolayı yaraları kurutabildikleri için kuru veya eskar kaplı yaralar ve üçüncü derece yanık yaralarında kullanımları önerilmemektedir [13, 19].

Film yara örtüleri, genellikle yapışkan bir PU veya yapışkan membranla kaplanmış sentetik polimer tabakalardan meydana gelir. Yarı geçirgen özelliğe sahiptirler. Bakterilere karşı bariyer görevi görürler ve sıvılara karşı iyi bir geçirimsizlik özelliği gösterirler. Gaz geçirgenlikleri mevcuttur. Genellikle ince, esnek ve şeffaftırlar. Bu

sayede yara iyileşme süreci örtü kaldırılmadan izlenebilir ve kompleks yara şekil ve açılarına uygulanabilirler. Emici özelliğe sahip olmadığından dolayı eksüda birikimine neden olurlar. Bu yüzden enfekte yaralarda uygulanmamalıdır. Köpük veya hidrojel örtüler ile kombine olarak kullanılabilirler. Film örtüler, fiziksel ve mekanik özellikleri geliştirmek ve yara iyileştirici özellikler sunmak için iki veya daha fazla polimer ile kombine şekilde formüle edilir [13, 18, 19].

Nanofiber temelli örtüler, yüksek yüzey-hacim oranına sahip yüksek gözenekli yapıları nanofiberlerdir. İlaç yüklemesinin basitliği ve üretim esnasında ilaç salınım özelliklerinin değiştirilebilmesi sayesinde yara bakımı için iyi bir aday olduğu görülmektedir. Özel teknikler kullanılarak değişik özellikteki sentetik ve doğal polimer ve kopolimerler bir araya getirilebilir. Hemostatik ve bakteriyostatik etkilere sahiptirler ayrıca toksik ve alerjik etki göstermezler. Bu yara örtüleri, proliferasyonu, hücre yapışmasını ve farklılaşmayı iyileştirirken eksüda emebilir ve düzenleyebilir [13, 19].

Yara örtüsü geliştirilmesi maksadı ile doğal ve sentetik polimerler hem tek başlarına hem de birbirleri ile kombine oluşturularak kullanılmışlardır. Doğal polimerler, biyouyumlu olmaları, biyolojik olarak parçalanabilir olmaları ve kolay emilmeleri gibi avantajlara sahiptir. Ancak mekanik özellikleri düşüktür. Sentetik polimerler ise yüksek mekanik özelliklere sahiptir. Buna karşın biyouyumlulukları doğal polimerlere göre daha düşüktür. Bu sorunların üstesinden gelebilmek adına sentetik polimerler ile doğal polimerler kombine şekilde kullanılarak gaz geçirgenliği ve biyouyumluluğu korunurken mekanik özellikleri geliştirilmiş yara örtüleri oluşturulmuştur. Yara örtüsü geliştirilmesi için yararlanılan doğal polimerlere selüloz, kitin, kitosan, kolajen, hyalüronik asit, sodyum aljinat örnek gösterilebilir. Sentetik polimerlerde ise polivinil alkol, polietilen gliko, polivinil pirolidon, polilaktik asit, polikaprolakton, poliüretan örnek verilebilir [13, 14].

Çizelge 2. 1. Akut ve kronik yaralar için değişik tedavi türleri [13]

Tedavi Seçeneği	Avantajları	Dezavantajları
Debridman	Nekrotik dokuyu uzaklaştırır, bakteri yükünü azaltır, lokal ödemi azaltır, hücresel çoğalma ve göçü kolaylaştırır.	Cerrahi debridmanda anestezi ihtiyacı
Topikal Antibiyotik	Akut yarada, bakteriyel enfeksiyonun önlenmesi, kronik yarada bakteriyel enfeksiyonun inhibisyonunu sağlar.	Antibiyotiğe dirençli olma, kontakt dermatit
Gümüş Bileşikleri	Geniş spektrumda bakteriyel büyümenin inhibisyonunu sağlar.	Matris metalloproteinaz artışı
Deri İkamesi	Yaranın mikro çevresini iyileştirir, özellikle yanık yaraları için yüksek etkilidir.	Yüksek maliyet
Negatif Basıncılı Yara Tedavisi	Kan akışını optimize eder, eksüdalara uzaklaştırır, enfeksiyon oranını ve maliyeti azaltır.	Yanık tarzında ağır yaralar için kompleks makine ihtiyacı
Büyüme Faktörleri	Yara iyileşmesini hızlandırır.	Yüksek maliyet
Hiperbarik Oksijen	Fibroblast proliferasyonunu arttırmak, anjiyogenezi indüklemeyi sağlar.	Miyop, oksijen toksisitesi gibi advers etkiler
Hidrojel ve Hidrokolloid Yara Örtüleri	Yara çevresinin nemli tutmayı ve yara eksüdasının emilimini sağlar.	Yüksek eksüdatif yaralarda kullanışlı olmaması
Film Örtüsü	Yarayı mikrobiyal girişten korur ve yara bölgesine hava ve su buharı geçişine izin verir.	Eksüdayı ve bakteriyel enfeksiyon riskini arttırır.
Köpük Örtüsü	Adsorpsiyon kapasitesi, orta derecede eksüdatif yaralar için faydalıdır, pansuman değişiklikleri sırasında travmayı en aza indirir.	Kuru yaralar için uygun değildir.

2.2. Kitosan

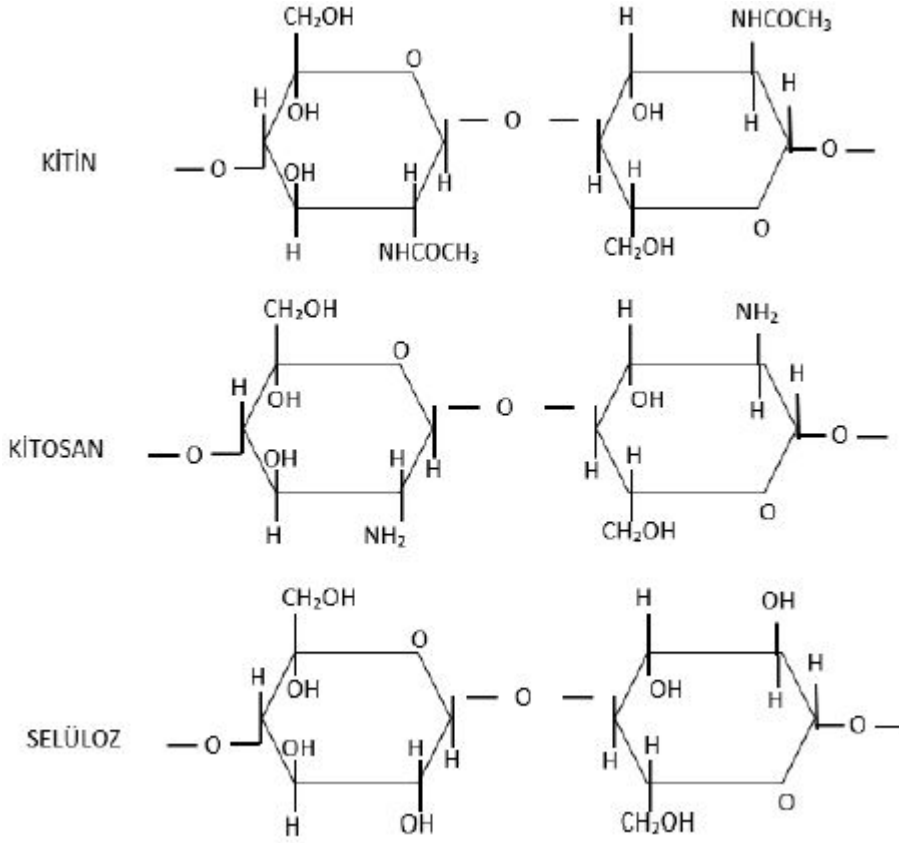
2.2.1. Giriş

Kitosan, $\beta(1-4)$ bağlı D-glukozamin ve N-asetil-D-glukozaminden oluşan, yarı kristal, biyoyumlu doğrusal bir polisakkarittir. Doğada doğrudan bulunmaz. Selülozdan sonra dünyada en çok bulunan ikinci polisakkarit olan kitinin N-asetil glukozamin gruplarının deasetilasyonu ile elde edilir. Asetilasyon derecesi %60 ın altına düştüğü zaman kitin kitosan olarak adlandırılır [4].

Kitin ve kitosanın doğada bulunduğu kaynaklar çoğunluk ile deniz canlılarıdır (Çizelge 2.2.). Literatürde kitosanın kimya, biyokimya ve sağlık bilimleri alanlarında ve ayrıca tarım ve ekoloji gibi disiplinlerde uygulamaları görölmektedir. Kitin yapısal olarak da selüloza benzemektedir. İki de monomerlerin konformasyonu ve glikosidik bağlantı gibi yapısal benzerliklere sahiptir (Şekil 2.1.). Ancak kitin bir amino polimerdir. Makromoleküler zincirlerin C-2 pozisyonlarında tekrar eden birimlerinde hidroksil grupları yerine asetamid grupları içerir. Ayrıca kitin çözünlüğü çok düşük olan bir polimerdir ve bu durum endüstriyel kullanımı kısıtlamaktadır. Daha kolay çözünebilmesi ve biyolojik olarak uyumluluğu sebebi ile kitosan kitine göre daha çok tercih edilir duruma gelmiştir [6].

2.2.2. Özellikler

Kitosan doğrusal bir aminopolisakkarittir. D-glukozamin yapısı sayesinde yüksek hidrofilik ve kristallik özelliklerine sahiptir. Moleküller arasında oluşan hidrojen bağları sebebi ile viskozitesi yüksektir. Sahip olduğu reaktif gruplar ise çapraz bağlanma ve kimyasal aktivasyonlar için elverişlidir. Suda ve organik çözücülerde çözünmeyen kitosan seyreltik sulu asit çözeltilerinde çözüner hale gelir. İyon şelatlama özeliğine sahiptir. Kitosan zayıf baz ve güçlü nükleofildir, asidik pH da ise polielektrolittir. Organik ve inorganik asitler ile tuz oluşturur. İyonik ise iletken özelliktedir. Kitosanın adsorpsiyon özelliği vardır. Negatif yüklü iyonlarla etkileşime girerek topaklaştırıcı özellik gösterebilir. Çözücü döküm yöntemleri ile film formu oluşturabilme yeteneği vardır. Biyoyumlu, biyoaktif, biyobozunur olmasının yanı sıra toksik değildir ve antimikrobiyal aktivite gösterir [5].



Şekil 2. 1. Kitin, kitosan ve selüloza ait kimyasal yapılar [20]

Çizelge 2. 2.Kitinin doğada bulunduğu kaynaklar [5, 21]

Deniz canlıları	Böcekler	Mikroorganizmalar
Kabuklular	Akrepler	Yeşil Alg
Annelida	Brakiyopodlar	Maya
Yumuşakçalar	Hamamböceği	Mantarlar
Istakoz	Örümcekler	Kahverengi Algler
Karides	Karıncalar	Sporlar
Kril	Böcekler	
Yengeç		

2.2.3. Üretim Metodu

Kitin, birçok organizmada bulunmasına rağmen (Çizelge 2.2.) kitinin en büyük ölçekli üretimi deniz endüstrisinden elde edilen karides, yengeç, kril ve istakozlardan gelen biyoatıklardır. Bu deniz canlılarının kabuklarında %15-40 arası kitin, %20-40 arası

protein ve %20-50 arası kalsiyum karbonat bulunmaktadır. Deniz canlılarından kitini elde etmek için, önce kabuklar uygun boyuta öğütülür ve bol su ile yıkanır. Bu sayede yüzeylerine yapışmış bulunan organik materyallerin uzaklaştırılması sağlanır. Kitinin, kabuklardan izole etmek için protein giderme (deproteinizasyon), mineral giderme (deminerilizasyon) ve renk giderme (deklorizasyon) olmak üzere üç adım gereklidir. İlk iki adımın sırası önemsiz kabul edilir. Kitin üretimi için kullanılan geleneksel yöntemlere göre protein ekstraksiyonu için 50-60 °C de inorganik güçlü alkali (1 M NaOH) kullanılır (Deproteinizasyon). Daha sonra inorganik bileşiklerin çıkarılması için asitler (1 M HCl) kullanılır (Deminerilizasyon). En son aşamada renk gidermek için oksidanlar (NaOCl / H₂O₂) kullanılarak işlem sonlanır. Bu aşamalardan geçerek deniz kabuklularından kitin elde edilir. Kitin, daha sonra deasetilasyon işlemine tabi tutularak kitosan eldesi sağlanır. %40-60 (v/v) NaOH çözeltisi kullanılarak asetamid gruplarının hidrolizi gerçekleştirilerek deasetilasyon gerçekleştirilir. Deasetilasyon işlemi ile N-asetil bağlarında deesterifikasyon gerçekleştirir. Genel olarak reaksiyon depolimerizasyonu ve zincir bozulmasını önlemek için ya N₂ atmosferinde ya da oksijen tutucu varlığında gerçekleştirilir [6].

2.2.4. Yapı-Özellik İlişkisi

Deasetilasyon derecesi (DD) değeri kitosan için oldukça kritik bir parametredir. Yüksek DD' li kitosanların sudaki çözünürlüğünün arttığı ve biyolojik etkilerinin arttığı araştırmalarda gösterilmiştir. Bu durumun temel sebebi ise yüksek DD' nin molekülde daha fazla sayıda amino grup varlığını işaret etmesidir. Ayrıca molekül ağırlığı da kitosanın özelliklerini ve biyoaktivitesini etkileyen önemli faktörlerden biridir. Düşük molekül ağırlıklı kitosan yüksek molekül ağırlıklı kitosana göre daha fazla biyoaktivite göstermektedir. Molekül ağırlığı ile sudaki çözünürlük arasındaki ilişki, molekül ağırlığı ile biyoaktivite arasında da benzer bir şekildedir. Kitosan yapısının molekül ağırlığı düştükçe, çözünürlüğü artmaktadır. 30 kDa altında molekül ağırlığına sahip olan kitosan serbest amin formunda suda çözünebilir. 30 kDa nın üstündeki molekül ağırlığına sahip kitosanın suda çözünmesi için amino grubunun bir asit ile protonlanması gereklidir. Bu durum için en yaygın kullanılan asit asetik asittir [22].

2.2.5. Kitosan Modifikasyonları

Kitosanın sahip olduğu fonksiyonel gruplar; C₃-OH, C₆-OH ve C₂-NH₂ gruplarıdır ve yapısı içerisinde asetil amino ve glikozit bağları bulunur. Asetil amino bağları kırılması

zor olan glikozit bağları kadar dayanıklıdır ve güçlüdür. C₃-OH grubu ikincil bir hidroksile aittir ve serbestçe rotasyon ile dönemez. Siterik engelin büyük olmasından sebep ile reaksiyona girmesi oldukça zordur. C₆-OH ve C₂-NH₂ grupları ise kitosanın kimyasal olarak aktif ve reaksiyona giren gruplarıdır [23].

2.2.6. Kullanım Alanları

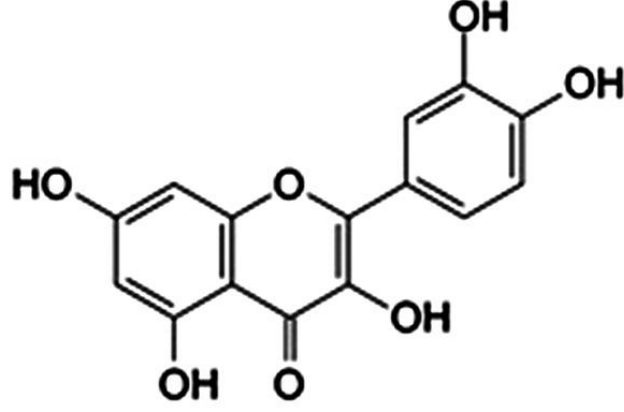
Kitosan çözelti, süspansiyon, nanopartikül, hidrojel, film ve köpükler gibi birçok fiziksel formda tıp, eczacılık, beslenme, tarım, tekstil, kağıt endüstrisi, kozmetik gibi farklı alanlarda kullanılmaktadır. Gıda, ilaç ve kozmetik endüstrileri kitosan için ana faaliyet alanları olarak kabul edilmektedir [6].

Kozmetik endüstrisinde, deri ve saç bakım ürünlerinde kullanılır. Gıda sektöründe meyve ve içeceklerin asitten arındırılmasında, doğal aroma artırıcı olarak, gıdalarda koruyucu ve antioksidan olarak, çiftlik hayvanları ve balıklar için yem katkı maddesi olarak kullanım olanağı bulur. Su mühendisliğinde atık suların arıtımında, sulardan metal iyonlarının pestisitlerin, boyaların, petrol ve petrol ürünlerinin uzaklaştırılmasında, tekstil fabrikası atık sularından renk giderilmesinde kullanılır. Tarım alanında gübre ve mantar ilacı olarak kullanım bulur [5].

Doku mühendisliğinde kırık ve kemik dokusu rejenerasyonunda 3 boyutlu iskele yapılarında kullanılır. Kitosan-kalsiyum fosfat kompozitleri, kitosan-kondroitin sülfat süngerleri kemik rejenerasyonu için geliştirilen yapılardır. Biyomedikal alanda yara örtüsü, yapay deri, cerrahi süturlar, kontak lensler, kan diyaliz membranlarında ve büyük yanıkların bakımında yara örtüsü olarak kullanılır. Farmasötik alanda, antitümör, antikoagülan ve antitrombojenik, antigastrit, hemostatik, hipoklesterolemik etkili olarak ilaç salım sistemlerinde kullanımı mevcuttur [5].

2.3. Kuersetin

Kuersetin (3,3',4',5,7-pentahidroksiflavon), bitkilerde ve bitkisel besin kaynakları içerisinde yer alan bir flavonoiddir (Şekil 2.2.) [7].



Şekil 2. 2. Kuersetinin molekül yapısı [24]

Flavonoidler değişik fenolik yapılara sahiptir. Meyve, sebze, çiçek, çay gibi doğal yapılarda bulunurlar. Literatürde 4000 den fazla flavonoid tanımlanmıştır. Flavonoidler aglikon, glikozit ve metillenmiş türevler şeklinde bulunurlar. Yapısal olarak oksijen içeren bir piran halkası ile bağlanan iki benzen birimi olarak tanımlanabilirler. Bu üç halka yapı da düzlemseldir. Molekül oldukça polarizedir. Flavonoid bileşikleri temel olarak altı alt sınıfa ayrılır. Bunlar, flavanoller, flavonoller, izoflavonlar, flavanonlar, flavonlar ve antosiyanidinler olarak isimlendirilir. Kuersetin bunlardan flavonoller alt sınıfına aittir (Çizelge 2.3.) [7, 25, 26].

Çizelge 2. 3. Flavonoidin ailesinin ana gruplarının bileşenleri ve kaynakları [8]

Grup	Bileşen	Yiyecek Kaynağı
Flavonoller	Kuersetin Kemferol Mirisetin İzorhamnetin	Sarı soğan, lahana, pırasa, brokoli, elma, yeşil ve siyah çay, siyah üzüm, yaban mersini
Flavonlar	Tangeretin Nobiletin Sinensetin Chrysin Apigenin Luteolin Tricetin	Maydanoz, kereviz, biber
Flavanonlar	Naringenin Eriodictyol Hesperetin Dihydroquercetin Dihydrofisetin Dihydrobinetin	Portakal suyu, greylift suyu, limon suyu
Flavanoller	Silibinin Silimarin Taksifolin Pinobanksin	Kakao, Çikolata
İzoflavonlar	Daidzein Genistein Glisitin	Soya
Antosiyaninler	Siyanidin Delphinidin Malvidin Pelargonidin Peonidin Petunidin	Siyah üzüm, kiraz, erik, çilek, kırmızı şarap, kırmızı lahana

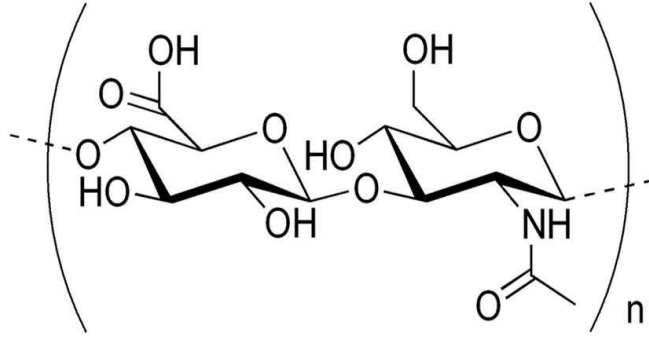
Kuersetin sarı renkli bir aglikondur. Elma, soğan, lahana, çay gibi bitkilerde bulunur (Çizelge 2.3.). Suda az çözünür ancak alkollerde ve lipidlerde oldukça iyi bir çözünürlüğe sahiptir. Suda çözünürlüğünün düşük olması nedeniyle biyoyararlanımı düşüktür. Serbest radikalleri temizleme, süpürme ve geçiş metali iyonlarını bağlama kabiliyeti gösterir ve bu sebeple güçlü bir antioksidandır. Ayrıca kardiyovasküler hastalık riskinden koruma özelliğine sahiptir. Antibakteriyel, antiviral, antiinflamatuvar, antitümör gibi özellikleri de bulunmaktadır. Lipid peroksidasyonunu inhibe etme özelliği mevcuttur. Lipid peroksidasyonu; doymamış yağ asitlerinin hidrojenin soyutlanması yolu ile serbest radikallere dönüştürülmesi işlemidir [7, 24-26].

Çizelge 2. 4. Bazı gıdalarda bulunan kuersetin miktarı [7]

Gıda Kaynağı	Kuersetin Miktarı (mg/100g)
Elma	4,42
Brokoli	3,21
Soğan	13,27
Siyah çay	204,66
Yeşil çay	255,55

2.4. Hyalüronik Asit

Hyalüronik asit, ilk olarak 1934 yılında Karl Meyer ve John Palmer tarafından sığırcı gözünden ekstrakte edilerek elde edilmiştir. Yüksek molekül ağırlıklı, doğal bir polisakkarit olan hyalüronik asit, β -(1,4) – β -(1,3) glikozitler ile bağlanan D-glukuronik ve N-asetil-D-glukozamin disakkarit birimlerinin tekrarlanması ile oluşur (Şekil 2.3.). Göbek kordonunda, sinoviyal sıvıda, horoz ibiğinde, gözün camsı vitröz sıvısı içerisinde, epitel ve bağ dokularında ayrıca köpek balığı derisinde bulunur. Hyalüronik asit, sülfat içermeyen negatif yüklü bir glikozaminoglikandır (GAG). Hyalüronik asidin viskoelastik özellikleri son derece iyidir. Yüksek oranda su ve nem tutma kapasitesine sahiptir. Son derece biyoyumluudur. ECM in temel bileşenlerinden biridir. Hyalüronik asit hücre çoğalması ve hidrasyon dengesinde etkili olup eklem içi uygulamalarda kayganlaştırıcı ve darbe emici bir dolgu maddesi işlevinde bulunur. Molekül ağırlığı 5×10^3 ila 2×10^7 Da arasında değişmektedir [9, 10, 27, 28].



Şekil 2. 3. Hyalüronik asidin kimyasal yapısı [10]

Hyalüronik asit kimyasal yapısında çok sayıda karboksil, hidroksil ve amino grubuna sahiptir. Bu nedenle yüksek oranlarda şişme ve iyon bağlama, depolama yeteneğine sahiptir. Diğer GAG aksine protein ve sülfat içermez. Bu nedenle hyalüronik asidin özellikleri molekül ağırlığına ve konstrasyonuna bağlıdır. Fizyolojik pH değerlerinde, hyalüronik asit negatif yüklü ve yüksek hidrofilitik özelliğe sahiptir. Hyalüronik asidin sahip olduğu fonksiyonel gruplar fizyolojik pH değerlerinde su ile hidrojen bağı kurarlar. Oluşan bu bağlar fonksiyonel grupların hareketini kısıtlar ve polar ve apolar bölümlerin katı bir konformasyon oluşturmasına sebep olurlar. Molekül ağırlığı arttıkça viskozite ve viskoelastiklik artar. Sıcaklığın ve elektrolit konsantrasyonlarının yükselmesi, viskozitenin azalmasına neden olur. Viskozitedeki azalma hyalüronik asidin kaydırıcı ve darbe emici özelliklerinde azalmaya sebep olur. Hyalüronik asit sentezi hyaluronan sentaz (HAS) tarafından gerçekleştirilir. Omurgalılarda üç farklı HAS izozimi bulunur ve bu izozimler HAS-1, HAS-2 ve HAS-3 tür. Bu üç farklı HAS izozimi değişik ağırlıklarda hyalüronik asit sentezini gerçekleştirir. Ayrıca hyalüronik asidin bazı bakteriler tarafından sentezi de mevcuttur [10, 11, 27, 29].

Hyalüronik asidin medikal ve kozmetik alanda birçok uygulaması bulunmaktadır. Medikal alanda kireçlenme (osteoartrit) için kullanımı yaygındır. Kornea yüzeyini kuruluktan korumak için hyalüronik asit sulu çözeltileri ilaç formülasyonu olarak kullanılmaktadır. Bu formülasyonlar gözdeki tahrişi azaltır ve gözü nemlendirir. Antiinflamatuar, reolojik, viskoelastik, higroskopik özellikleri sebebi ile de doku mühendisliği uygulamalarında da yaygın olarak kullanım bulmaktadır. Son yıllarda özellikle hidrojel ve nanofiber iskele yapıları üzerinde çalışmaların yoğun olduğu görülmektedir. Biyouyumlu ve biyobozunur özellikleri sebebiyle kanser tedavilerinde antikanser ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanılmasını inceleyen araştırmalar mevcuttur.

Kozmetik uygulamalarda da kırışıklık giderme ajanı ve dolgu maddesi olarak kullanılmaktadır. Dolgu malzemesi olarak derideki çökmüş bölümleri doldurur ve cilt yapısını düzeltici etkiye sahiptir [9, 11, 30].

2.5. Literatür Taraması

Vedakumari ve arkadaşları (2016) çalışmalarında, kitosan fibrin kompozit iskele yapılarına kuersetin emdirmişlerdir. Kitosan fibrin iskele yapıları, kitosanın asidik çözeltisi ile alkali fibrin çözeltisinin karıştırılması ile elde edilmiştir ve daha sonra liyofilize edilerek iskele yapıları oluşturulmuş ve kuersetin yapıya eklenmiştir. İskele yapılarının karakterizasyon işlemleri yapılmış kuersetin ve kitosan fibrin iskele yapıları arasındaki fonksiyonel grupların etkileşimlerinin varlığı belirlenmiştir. İskele yapılarının mekanik özellikleri, şişme testleri, in vitro degradasyon testleri, bakterisidal aktiviteleri, hücre canlılığı çalışılmıştır. Bakterisidal çalışmalar için *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* bakterileri kullanılmış ve bu bakterilere karşı etkili olumlu sonuçlar verdiği görülmüştür. Biyouyumluluk için MTT değerlendirmesi kullanılmış ve toksik etki göstermemesi nedeniyle kullanımın uygun olduğu tespit edilmiştir. In vivo yara iyileşmesi deneyleri için albino fareler kullanılmış ve yapılan deneylerde yara iyileşmesini hızlandırdığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak, kuersetin içeren kitosan fibrin kompozit iskelelerin yara örtüsü olarak kullanımında umut vadettiği görülmüştür [31].

Ferreira ve arkadaşları (2022) çalışmalarında, yara tedavilerinde kullanılmak üzere kitosan, chicha sakızı ve mauritia flexuosa yağı bazlı jel üretmişlerdir. Çalışmada, chicha sakızı, mauritia flexuosa yağı, kitosan-chicha sakızı-mauritia flexuosa yağ bazlı jel (CGCHO) ve kitosan bazlı jel karşılaştırılmıştır. CGCHO jeli, 25 ml asetik asit içerisine, 1 g chicha sakızı, 1,5 g kitosan ve 0,5 ml mauritia flexuosa yağı eklenerek elde edilmiştir. Mauritia flexuosa yağı içerisinde bulunan toplam fenolik ve flavonoid miktarları tayin edilmiş ve 81.811 ± 7.257 μmol gallik asit /g mauritia flexuosa yağı, 57.915 ± 0.305 μmol kuersetin/ g mauritia flexuosa yağı olarak bulunmuştur. Malzemeler, gram negatif (*Klebsiella pneumoniae*), gram pozitif (*Staphylococcus aureus*) ve bir mantar türüne (*Candida albicans*) karşı test edilmiştir. CGCHO jelinin gram pozitif bakterilere karşı daha iyi sonuç verdiği görülmüştür. Hücre çoğalması ve doku iyileşmesini destekleyebilecek iyi bir termal stabilite ve pürüzlülük olduğu gösterilmiştir. Ayrıca antimikrobiyal, antiinflamatuvar ve antioksidan aktivitelerde ve yara iyileşmesinde iyi sonuçlar göstermiştir [32].

Mansuroğlu ve arkadaşları (2020) çalışmalarında, kitosan ve dekstran sülfat sodyum (DSS) ile fiziksel etkileşim kullanılarak oluşturulan hidrojellere, askorbik asit (vitamin C) ve kuersetin yüklemişlerdir. FTIR ve SEM kullanılarak karakterizasyon yapılmış, kuersetin ve askorbik asit için in vitro salım çalışması, hücre canlılığı araştırılmıştır. L929 fibronlast hücreleri, sitotoksite değerlendirmeleri için kullanılmıştır. Hidrojel, 100 ml asetik asit çözeltisi içerisinde çözünen 1 mg kitosan ile, 100 ml distile su içinde çözünen 2 mg DSS çözeltisinin, 2/3 (v/v) oranında kullanılması ile sentezlenmiştir. Askorbik asit ve kuersetin molekülü yüklü hidrojel sistemlerinin iyileşmeyi hızlandırdığı tespit edilmiştir. Askorbik asit yüklü kitosan-DSS hidrojelinin hücre canlılığı açısından kuersetin yüklü hidrojele göre daha etkili olduğu görülmüştür. Bu malzemenin toksik etki göstermeden yara iyileştirmesini desteklemesi nedeniyle yara iyileştirme malzemeleri arasında yer alabileceği öngörülmüştür [33].

Zhou ve arkadaşları (2021) çalışmalarında, polikaprolakton (PCL), kitosan oligosakkarit (COS) ve kuersetin (Q) / rutin (Ru) içeren elektro eğirme nanofiber membran (ENM) hazırlamışlardır. Çalışmanın amacı yara iyileşmesinde kullanılmak üzere potansiyel biyoaktif örtüler geliştirmektir. PCL ile COS ve Q/Ru harmanlanarak antioksidan ve bakteriyostatik özelliklere sahip hidrofillik ENM ler hazırlamışlardır. Örnekler SEM ve FTIR kullanılarak karakterize edilmişlerdir. Yüzey ıslanabilirliği, su absorpsiyonu ve kütle kaybı araştırılmıştır. Antibakteriyel özellikler *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* bakterileri kullanılarak araştırılmıştır. Sitotoksisite ve antioksidan aktiviteleri 1,1'-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH•) süpürme ve CCK-8 testleri kullanılarak araştırılmıştır. COS un varlığının, PCL iskele yapısının kompozit fiberleri üzerinde yüzey alanını ve membranın hidrofillik yapısını geliştirdiği tespit edilmiştir. PCL-COS-Q membranı antioksidan ve antibakteriyel olarak bütün ENS ler içinde en iyi performansı sergileyen yapı olduğu görülmüştür. Bu ENS yapılarının antioksidan ve antibakteriyel özellikleri nedeniyle yara örtüsü için umut vadettiği öngörülmüştür [34].

Faraji ve arkadaşları (2020) çalışmalarında, kuersetinin (Q), polikaprolakton (PCL)/grafen oksit (GO) elektro eğirme iskele yapısına olabilecek antimikrobiyal aktivite ve hücre yaşanabilirliği üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bu maksatla %70 ethanol çözeltisi içindeki kuersetin, DMF/Kloroform çözeltisi içerisinde yer alan GO nanoparçacıkları içeren süspansiyon ile karıştırılmıştır. Daha sonra elektro eğirme yöntemi ile beş farklı oranda GO/Q nano kompozit yüklü PCL iskelesi hazırlanmıştır. Sadece PCL den oluşan iskele, PCL/GO yapısından oluşan iskele, %0,5 kuersetin yüklü

iskele, %1 kuersetin yüklü iskele, %1,5 kuersetin iskele yapıları hazırlamışlardır. Mekanik testlerde GO nanoparçacıklarının stres-gerilme davranışlarını geliştirdiği gözlemlenmiştir. Kuersetinin varlığının antibakteriyel özellikleri geliştirdiği ayrıca PCL/GO/Q iskele yapısının biyouyumluluğunun çok iyi olduğunu tespit etmişlerdir. GO miktarının % 1 i geçmesi durumunda bazı sitotoksik etkiler olduğu gözlemlenmiş olup bu yüzden PCL/GO iskele yapısı içine ikincil bir ajan gereksinimi gerektiği tespit edilmiş ve kuersetinin kullanımı ile bu toksik etkinin azaltıldığı ve antibakteriyel etkinin arttığını tespit etmişlerdir. Bu anlamda PCL/GO/Q yapısının yara örtüsü uygulamalarında iyi bir aday olabileceği düşünülmüştür[35].

Dias ve arkadaşları (2011) çalışmalarında, N-karboksibütilkitosan (CBC) ve agaroz (AGA) dan oluşan polimerik matrise iki biyoaktif bileşik olan kuersetin ve timol kullanarak, yükleme ve salım kapasitelerinin çalışılmasını amaçlamışlardır. Çalışma kapsamında CBC filmi, CBC ve AGA köpükleri hazırlamışlardır. Bunun için solvent dökme yöntemi kullanılmıştır. Biyoaktif malzemeleri (kuersetin ve timol) ise süperkritik solvent emdirme yöntemi ile yüklemişlerdir. Salınım kinetiği üzerine çalışmalar yapılmış ve kuersetinin yüksek moleküler hacmi, daha düşük suda çözünürlüğü ve CBC ile arasında kurduğu iyi etkileşimler nedeniyle daha uzun süreli salım profili sergilediğini tespit etmişlerdir. Süperkritik solvent emdirme işlemi ile yüklü kuersetin parçacıklarının boyutunun küçülmesi nedeniyle sulu çözeltilerdeki çözünürlüğünün iyileştiğini tespit etmişlerdir [36].

Huang ve arkadaşları (2020) çalışmalarında, hyalüronik asit (HA), karboksilatlı kitosan (CC) ve gentamisin (GS) kullanarak hidrojel film hazırlamışlardır. Hyalüronik asit, karboksilatlı kitosan ve gentamisin, karbodiimid kimyası ile çapraz bağlanarak antibakteriyel film hazırlamışlardır. Filmin yüzey morfolojisi için SEM kullanılmıştır. FTIR karakterizasyonu ile gentamisinin amid oluşumu yolu ile hyalüronik asit ve karboksilatlı kitosana bağlandığı belirlenmiştir. Filmin biyouyumluluğu CCK-8 tahlili ile test edilmiş ve sonuçların olumlu olduğu gözlenmiştir. In vitro antibakteriyel test yapılmış ve hidrojel filmin antibakteriyel özellik gösterdiği tespit edilmiştir. In vivo çalışmalarda ise yara iyileşmesini desteklediği tespit edilmiştir. Filmin iyi su emme kapasitesi, uygun su buharı geçirgenlik oranı, iyi mekanik özellikler ve enzimatik hidrolize karşı çok iyi direnç gösterdiği çalışmada tespit edilmiştir. Bu çalışma ile çapraz bağlanma yolu ile hazırlanan antimikrobiyal hidrojel filmlerin cilt/doku onarımında büyük potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir [37].

Wu ve arkadaşları (2020) çalışmalarında, kan uyumluluğuna sahip biyomalzeme araştırılması amacıyla hyalüronik asit-kuersetin yüklü kitosan-tripolifosfat kaplı TiOH substratı ile hyalüronik asit yüklü kitosan-tripolifosfat kaplı TiOH substratı hazırlamışlardır. Kitosan-tripolifosfat nano parçacıkları kitosan ve tripolifosfat anyonlarının iyonik jelleşmesi ile hazırlanmıştır. Daha sonra kuersetin, kitosan-tripolifosfat nanoparçacıklarının iyonik etkileşimleri temel alınarak eklenmiş ve kuersetin yüklü kitosan-tripolifosfat nano parçacıkları hazırlanmıştır. Hyalüronik asit elektrostatik katman biriktirme tekniği ile eklenmiştir. Hyalüronik asit, PEI çözeltisi içerisinde 20 dakika bekletilen TiOH a daldırılmıştır. Elde edilen substrat daha sonra kuersetin yüklü kitosan-tripolifosfat ve kitosan-tripolifosfat çözeltilerine daldırılmıştır. Bu şekilde çok katmanlı yapılar elde edilmiştir. UV spektrum ölçümleri ve su temas açısı ölçümleri ile çok katmanlı yapıların oluştuğu teyit edilmiştir. SEM ve TEM görüntülemeleri ile yüzey morfolojileri incelenmiştir. Çalışma kapsamında trombosit ile zenginleştirilmiş plazma kullanılarak trombosit yapışma deneyi yapılmıştır. Hyalüronik asit yüklü kitosan-tripolifosfat kaplı TiOH substratı ile karşılaştırıldığında hyalüronik asit-kuersetin yüklü kitosan-tripolifosfat kaplı TiOH substratı üzerinde trombosit yapışmasının belirgin olarak daha az olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma ile kan ile temas eden malzemelerin antikoagülan ve kan uyumluluğunu geliştirmek için potansiyel bir yöntem olduğu gösterilmiştir [38].

Choudhary ve arkadaşları (2020), kitosan bazlı kuersetin yüklü nano parçacıkların yara iyileşmesini araştırmışlardır. Bu çalışma fareler üzerinde yapılmış, altı farklı grup için farklı ilaç formülasyonları kullanılmıştır. Farelerde oluşturulan 2x2 cm² alan üzerinde kare şeklindeki yaralarda bu formülasyonlar denenmiştir. Çalışma kapsamında kullanılan formülasyonlar; Pluronic F-127 jel (%20 w/v), kitosan nano parçacık (%0.16), kuersetin (%0.3), kuersetin yüklü kitosan nano parçacık (%0.03), kuersetin yüklü kitosan nano parçacık (%0.1), kuersetin yüklü kitosan nano parçacık (%0.3). Jel haricindeki diğer formülasyonlar %20 (w/v) oranında pluronic F-127 jel içinde sentezlenmiştir. Kuersetin yüklü kitosan nano parçacıklar iyonik jelyasyon yöntemi ile sentezlenmiştir. 7., 14. ve 21. günlerde dokulardan örnekler alınmıştır. Kimyasal karakterizasyon için FTIR yapılmıştır. Yüzey incelemesi kapsamında TEM ve SEM uygulanmıştır. Histolojik değişimler H&E skorlaması ile değerlendirilmiştir. Kuersetin yüklü nano parçacıkların, diğer gruplara göre daha uzun süre yara iyileşmesini sağladığı görülmüştür. Formülasyonlar içinde %0.03 olan kuersetin yüklü kitosan nano parçacık en iyi yara iyileşmesini göstermiştir.

Bunun nedeni olarak yüksek konsantrasyondaki kuersetinin güçlü antiinflamatuvar etkisi nedeni ile inflamasyon fazında inhibisyona neden olması ve sonraki iyileşme evrelerini geciktirmesi olarak yorumlanmıştır. Çalışma kapsamında %0.03 kuersetin yüklü nano parçacıkların yara iyileşmesi üzerinde gelecek vadeden bir formülasyon olduğu gösterilmiştir [39].

Diao ve arkadaşları (2020), kitosan ile kuersetini serbest radikal aşılama prosedürü yolu ile fonksiyonlandırmışlardır. Askorbik asit ile H₂O₂ başlatıcı sistem olarak kullanılmıştır. Kuersetini çözmek için etanol/su karışımı kullanılmıştır. Kimyasal karakterizasyon için FTIR ve UV-Vis absorpsiyon analizleri yapılmıştır. Kristal yapı tayini için XRD kullanılmıştır. Kuersetin-kitosan bileşimi kitosandan daha düşük kristalinite göstermiştir. Termal özellikler ise TGA, DTA ve DSC ile incelenmiştir. Antioksidan özelliklerinin incelenmesi ABTS, DPPH, süperoksit ve hidroksil radikalleri ile gerçekleştirilmiştir. Antibakteriyel özellikler incelenirken, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* bakterileri kullanılmıştır. Farklı mol oranlarında kuersetin kitosan konjugatları hazırlanmıştır (Q:CH; 0.01:1, 0.02:1, 0.03:1, 0.04:1, 0.05:1). Çalışma sonunda 0.02:1 oranında hazırlanan kuersetin kitosan konjugatının optimal değerleri sağladığı tespit edilmiştir. Antioksidan özellik olarak kuersetin kitosan konjugatı, kitosandan daha iyi bir aktivite göstermiştir. Buna karşılık kuersetin ile aşılama kitosanın amino gruplarını azalttığı için kitosana göre daha düşük antibakteriyel özelliklere sahip olduğu görülmüştür. Çalışma kapsamında kuersetin kitosan konjugatlarının gıda ve sağlık alanlarında gelecek vadettiği gösterilmiştir [40].

Wiggers ve arkadaşları (2022), kuersetin ile çapraz bağlanmış kitosan filmlerinin ilaç salım kapasitelerini araştırmışlardır. Bu kapsamda ağırlıkça farklı oranlarda (%10, %20, %30) kuersetin içeren kitosan-kuersetin filmleri hazırlanmıştır. Filmler döküm yöntemi kullanılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan filmlere trimethoprim (TMP) (w/w %10) eklenmiştir. Hazırlanan bu filmlerin FTIR, X ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) ve temas açıları ile karakterizasyonları gerçekleştirilmiştir. TMP nin salınım kinetiği araştırılmıştır. Kirby-Bauer disk difüzyonu ve mikro-dilüsyon sıvı tahlili yöntemleri ile *E. coli* ve *S. aureus* bakterileri kullanılarak hazırlanan filmlerin antibakteriyel özellikleri değerlendirilmiştir. Çalışma kapsamında en yüksek çapraz bağlanma %20 oranında kuersetin yüklenmiş filmde olduğu tespit edilmiştir. Filmlerin TMP ile yüklenmesi ile filmlerin hidrofilitliğinin arttığı gözlenmiştir. Filmlere kuersetin ilavesi ile TMP nin salınımının üç güne kadar etkili olduğu ve *S. aureus* bakterisinin büyümesini önlediği

gözlenmiştir. TMP yüklü kuersetin ile çapraz bağlanmış kitosan filmlerinin kısa süreli uygulamalar için kontrollü bakterisidal molekül salınımı için umut vadettiği tespit edilmiştir [41].

Xu ve arkadaşları (2007) çalışmalarında, kitosan ile hyalüronik asit içeren yara örtüsü filmleri geliştirmişlerdir. Bu kapsamda üç farklı ağırlık oranında (%0.1, %0.25, %0.5) kitosan hyalüronik asit filmi hazırlanmıştır. Filmlerin yüzey pürüzlülüğü atomik kuvvet mikroskobu (AFM) kullanılarak incelenmiştir. Temas açısı, su alıkoyma kapasitesi, hücre yapışma çalışması, su buharı geçirgenliği testi ve hayvan deneyi çalışma kapsamında uygulanmıştır. AFM ile yapılan ölçümlerde hyalüronik asit miktarı arttıkça yüzey pürüzlülüğünde artış meydana gelmektedir. Ayrıca hyalüronik asit miktarı arttıkça temas açısında azalma ve su alıkoyma kapasitesinde ise artış meydana gelmektedir. Bu filmlerin hidrofilitliğinin arttığının bir göstergesidir. Hücre yapışma çalışması kapsamında fibroblast kullanılmış olup hyalüronik asit miktarı arttıkça hücre yapışmasının azaldığı tespit edilmiştir. Bu da pansuman yenilerken daha az tahrişe sebep olmaktadır. Buna karşılık hyalüronik asit miktarı arttıkça su buharı geçirgenliği azalmaktadır. Hayvan deneylerine göre ise saf kitosan ve vazelinli gazlı beze göre hyalüronik asit içeren kitosanlı filmler ilk iyileşme aşamasında daha hızlı iyileşme oranı göstermiştir. Bu çalışmada hyalüronik asit içeren kitosan filmlerin yara örtüsü üretimi için gelecek vadettiği tespit edilmiştir [42].

Nalini ve arkadaşları (2022), çalışmalarında, kuersetin (Q) yüklü aljinat(ALG)/kitosan nanoparçacık (CSNP) jellerinin ağırlıkça % 0.01 ve % 0.075 oranlarında carbopol eklenmesi ile Q-ALG/CSNP-G1 ve Q-ALG/CSNP-G2 jelleri geliştirilmiştir. Geliştirilen bu jellerin pH değerleri, sürülebilirlik, ekstrüde edilebilirlik özellikleri ölçülmüş, in vitro ilaç salınım çalışması yapılmıştır. Hayvan deneyleri kapsamında akut dermal toksisite çalışması yapılmış ve yara iyileşmesi süreci incelenmiştir. Çalışma kapsamında pH, sürülebilirlik, ekstrüde edilebilirlik değerleri için Q-ALG/CSNP-G2 jelinin daha iyi sonuç verdiği tespit edilmiştir. Bu kapsamda hayvan deneyleri için kontrol (tedavi uygulanmayan), standart (povidon iyot merhem), kuersetin jel ve Q-ALG/CSNP-G2 jeli arasında karşılaştırma yapılmıştır. İn vitro ilaç salınımı çalışması kapsamında Q-ALG/CSNP-G2 jeli kuersetin jeline göre daha sürekli bir salım gerçekleştirdiği tespit edilmiştir. İn vivo olarak araştırılan akut dermal toksisite çalışmasında önemli bir toksik etkiye rastlanmamıştır. Hayvan çalışmalarında Q-ALG/CSNP-G2 jelinin yara üzerine düzenli bir şekilde salınım yapması nedeniyle yara iyileşmesini povidon iyoda göre

hızlandırdığı tespit edilmiştir. Granülasyon dokusunun içeriğinde yer alan hidrokspirolin ve heksosamin varlığı ve antioksidan enzimlerinin profili incelendiğinde de Q-ALG/CSNP-G2 jelinin iyileştirme potansiyelini destekleyen sonuçlar tespit edilmiştir. Sonuç olarak kuersetinin aljinat/kitosan nanoparçacıkları ile kapsüllenmesi ile yara iyileşmesini desteklediği tespit edilmiştir [43].

Yapılan literatür araştırması sonucunda, tez kapsamında geliştirilecek olan fonksiyonel filmlerin kitosan, kuersetin ve hyalüronik asitten oluşması planlanmıştır. Bu iki doğal polimerin kuersetin biyoaktif etken maddesi ile katkılanmasına ait çalışma, literatürde bulunmamaktadır. Bu çalışma kapsamında herhangi bir çapraz bağlayıcı ajan kullanılmadan kitosan, kuersetin ve hyalüronik asit fonksiyonel grupları arasındaki bağlanma ile biyoyumlu filmlerin geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu fonksiyonel filmlerin yapı özellik ilişkilerinin detaylı olarak açıklanması hedeflenmiştir.

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Kimyasal Malzemeler

Çizelge 3. 1. Kullanılan kimyasallar

Kimyasal Malzeme	Malzeme İçeriği	Tedarik Edilen Firma
Kitosan (CAS Numarası 9012-76-4)	$M_w \sim 190 - 310$ kDa, Deasetilasyon Derecesi %75-85	Sigma-Aldrich
Kuersetin	500 mg (kapsül içerisindeki miktar)	Vefa İlaç San. Ve Tic. A.Ş.
Hyalüronik Asit (CAS Numarası 9067-32-7)	$M_w \sim 1500 - 1800$ kDa	Sigma-Aldrich
Asetik Asit (CAS Numarası 64-19-7)	%100 saflık	Riedel-de Haen
NaOH (CAS Numarası 1310-73-2)	Molekül ağırlığı: 40 g/mol	Riedel-de Haen
Lizozim (CAS Numarası 10837059001)	$M_w \sim 14.4$ kDa, >23.000 U/mg	Roche
Fosfat Tamponlu Tuz (PBS)	pH 7.4, 1 litre deiyonize su içinde 0,01 M	Sigma-Aldrich
H ₂ O ₂ (CAS Numarası 7722-84-1)		Sihhat Pharma Kozmetik San. Tic. Ltd. Şti.

3.2. Kullanılan Cihazlar

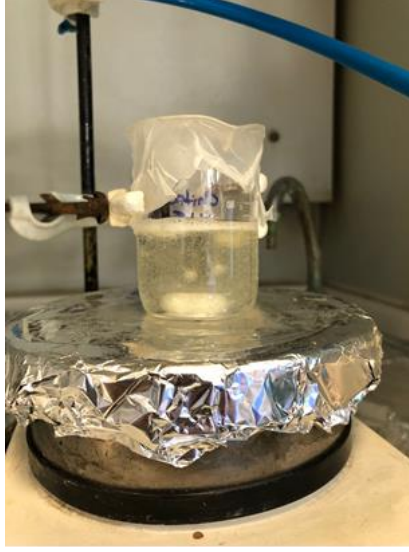
- Manyetik karıştırıcı (Heidolph MR 3003 control C, Almanya)
- Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektrometresi (Perkin Elmer 400, ABD)
- Termogravimetrik Analiz Cihazı (Perkin Elmer Pyris 1 TGA, ABD)
- Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (Perkin Elmer Diamond Diferansiyel Taramalı Kalorimetre DSC 8000, ABD)
- Eşzamanlı DSC/TGA (TA Instruments SDT 650 Simultane DSC/TGA, ABD)
- Gonyometre (KSV Attension Theta, Finlandiya)
- Reometre (TA Instruments ARES Rheometer, ABD)

3.3. Yöntem

3.3.1. Kitosan – Kuersetin Filmlerinin Hazırlanması

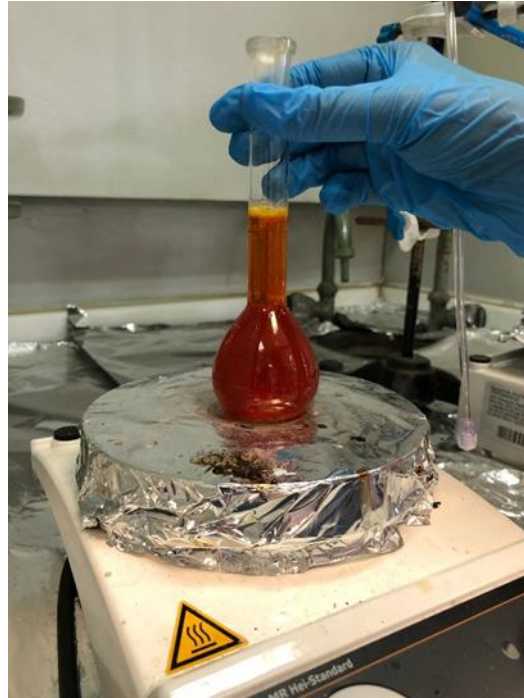
Çalışma kapsamında Kitosan - Kuersetin (CH-Q) filmlerinin hazırlanması amaçlanmıştır. % 1 (v/v) oranında asetik asit (A.A) çözeltisi kullanılarak %1,5 (m/v) oranında CH

çözeltisi hazırlanmıştır. Bu işlem için manyetik karıştırıcı (Heidolph MR 3003 control C, Almanya) kullanılmış ve 4 saat sürmüştür.



Şekil 3. 1. %1.5 (m/v) oranında kitosan çözeltisi

10 mg/ml oranında Q çözeltisi hazırlanmıştır. Bu kapsamda 0,05 M NaOH çözeltisi ile Q beher içine konulmuş ve manyetik karıştırıcı kullanılarak (Heidolph MR 3003 control C, Almanya) 30 dakika boyunca karıştırılmıştır.



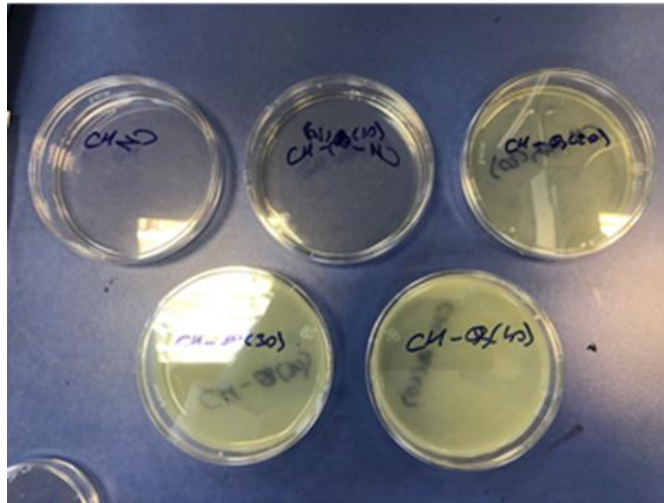
Şekil 3. 2. 10mg/ml oranında kuersetin çözeltisi hazırlanması

Çözeltiler hazırlandıktan sonra Çizelge 3.2. de belirtilen miktarlar kullanılarak dört farklı Q konsantrasyonunda (%0, %10, %20, %30) filmler hazırlanmıştır. CH çözeltisi mikro pipet kullanılarak beher içine alınmıştır. Daha sonra Q çözeltisi mikro pipet kullanılarak CH çözeltisi üzerine eklenmiştir. Hazırlanan çözeltiler manyetik karıştırıcı (Heidolph MR 3003 control C, Almanya) kullanılarak 10 dakika boyunca karıştırılmıştır.

Çizelge 3. 2. CH-Q film formülasyonları

Film Oranı	CH (ml)	Q (ml)
CH	6,67	-
CH-Q10	6,67	1
CH-Q20	6,67	2
CH-Q30	6,67	3

Hazırlanan çözeltiler plastik petrilere dökülmüş ve 24 saat boyunca oda koşullarında kurumaya bırakılmıştır. Filmler nötralleşme işlemi için 1 M NaOH içerisinde 10 dakika boyunca bekletilmiş daha sonra petrilere çıkartılarak oda sıcaklığında 48 saat bekletilmiştir.



Şekil 3. 3. CH-Q filmleri

3.3.2. Kitosan – Kuersetin – Hyalüronik Asit Filmlerin Hazırlanması

Hyalüronik asit (HA) içeren CH-Q-HA filmleri hazırlanmıştır. % 1 (v/v) oranında A.A çözeltisi kullanılarak %1,5 (m/v) oranında CH çözeltisi hazırlanmıştır. Bu işlem için manyetik karıştırıcı (Heidolph MR 3003 control C, Almanya) kullanılmış ve 4 saat sürmüştür. 10 mg/ml oranında Q çözeltisi hazırlanmıştır. Bu kapsamda 0,05 M NaOH çözeltisi ile Q beher içine konulmuş ve manyetik karıştırıcı (Heidolph MR 3003 control C, Almanya) kullanılarak 30 dakika boyunca karıştırılarak hazırlanmıştır. % 0,25 (m/v) oranında HA çözeltisi hazırlanmıştır. Çözeltiler hazırlandıktan sonra Çizelge 3.3. de belirtilen miktarlar kullanılarak ağırlıkça üç farklı Q konsantrasyonunda (%10, %20, %30) filmler hazırlanmıştır. Q çözeltisi mikro pipet kullanılarak beher içerisine alınmıştır. HA çözeltisi mikro pipet kullanılarak Q üzerine ilave edilmiştir. Daha sonra CH çözeltisi mikro pipet kullanılarak behere ilave edilmiştir. Hazırlanan çözeltiler manyetik karıştırıcı (Heidolph MR 3003 control C, Almanya) kullanılarak 10 dakika boyunca karıştırılmıştır.

Çizelge 3. 3. CH-Q-HA film formülasyonları

Film Oranı	CH (ml)	Q (ml)	HA (ml)
CH-Q10-HA	6,67	1	0,4
CH-Q20-HA	6,67	2	0,4
CH-Q30-HA	6,67	3	0,4

Hazırlanan çözeltiler plastik petrilere dökülmüş ve 24 saat boyunca oda koşullarında kurumaya bırakılmıştır. Filmler nötralleşme işlemi için 1 M NaOH içerisinde 10 dakika boyunca bekletilmiş daha sonra petrilere çıkartılarak oda sıcaklığında 48 saat bekletilmiştir.

3.3.3. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

3.3.3.1. Asetik Asit Çözeltisinin Hazırlanması

Susuz asetik asitten 0,5 ml alınmış daha sonra 50 ml ye deiyonize su ile tamamlanarak hazırlanmıştır (%1 v/v).

3.3.3.2. Kitosan Çözeltisinin Hazırlanması

Kitosandan (%75-85 deasetilasyon derecesine sahip M_w 190-310 kDa) 750 mg alınıp %1 (v/v) oranında hazırlanmış asetik asit çözeltisi ile manyetik karıştırıcıda (Heidolph MR 3003 control C, Almanya) 4 saat boyunca karıştırılarak hazırlanmıştır.

3.3.3.3. 0.05 M NaOH Çözeltisinin Hazırlanması

NaOH den (M_w 40 g/mol) 200 mg alınıp 100 ml ye deiyonize su ile tamamlanarak hazırlanmıştır.

3.3.3.4. Kuersetin Çözeltisinin Hazırlanması

Kuersetinden (10mg/ml) alınan 500 mg ile 0,05 M NaOH çözeltisinden alınan 50 ml, manyetik karıştırıcıda (Heidolph MR 3003 control C, Almanya) 30 dakika boyunca karıştırılarak hazırlanmıştır.

3.3.3.5. Hyalüronik Asit Çözeltisinin Hazırlanması

Hyalüronik asitten (%0,25 m/v) 10 mg alınıp üzeri 4 ml deiyonize su ile tamamlanarak hazırlanmıştır.

3.3.3.6. 1 M NaOH Çözeltisinin Hazırlanması

NaOH den (M_w 40 g/mol) 10 g alınıp 250 ml ye deiyonize su ile tamamlanarak hazırlanmıştır.

3.4. Karakterizasyon Yöntemleri

3.4.1. Kimyasal Karakterizasyon

Hazırlanan filmler için kimyasal analiz Fourier Transform Kızıl Ötesi Spektrometresi (FTIR, Perkin Elmer 400, ABD) kullanılarak Orta Doğu Teknik Üniversitesi Merkez Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Analiz $4000-400\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı aralığında gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda Zayıflatılmış toplam yansıma (ATR) tekniği kullanılmıştır. 4 cm^{-1} çözünürlüğünde, 16 tarama sayısı ile gerçekleştirilmiştir.

3.4.2. Termal Karakterizasyon

Hazırlanan filmlerin termal karakterizasyonları için termogravimetrik analiz (TGA, Perkin Elmer Pyris 1 TGA, ABD) ve diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC, Perkin Elmer Diamond Diferansiyel Taramalı Kalorimetre, ABD) analizleri Orta Doğu Teknik

Üniversitesi Merkez Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Termogravimetrik analiz 25-500 °C arasında, diferansiyel taramalı kalorimetri analizi 0-500 °C arasında 10 °C / dakika ısıtma hızında azot atmosferinde üç döngü olarak gerçekleştirilmiştir.

3.4.3. Temas Açısı ve Serbest Yüzey Enerjisi

Hazırlanan filmler için temas açısı ve serbest yüzey enerjisi ölçümü Orta Doğu Teknik Üniversitesi Merkez Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Temas açısı yöntemi, yüzey etkileşimini anlamak için etkili bir yöntemdir. Bu yöntemde düz, yatay bir yüzey üzerinde bulunan bir sıvı damlası temel alınır. Bu damlanın sıvı-buhar ve sıvı-katı ara yüzeylerinin keşişmesiyle oluşan açıya temas açısı (θ) denir. Temas açısı değeri ve serbest yüzey enerjisi (SFE) değerlerine göre malzemenin hidrofilik ya da hidrofobik özellik gösterdiği tespiti yapılabilir. Bu kapsamda temas açısı ve serbest yüzey enerjisi ölçümü için gonyometre (KSV Attension Theta, Finlandiya) cihazı kullanılmıştır. Temas açısı ve serbest yüzey enerjisi ölçümü için asılı damla yöntemi kullanılmıştır. Örnekler 5 saniye boyunca ıslatılmış ve örnek başına beş damla kullanılmıştır. Serbest yüzey enerjisi OWRK (Owens, Wendt, Rabel ve Kaelble) yöntemi ile hesaplanmıştır. OWRK yöntemi, iki bileşenli bir modeldir. Bu model arayüzey gerilimini moleküller arasındaki etkileşimlere göre ayırmak için geliştirilmiştir. Bu etkileşimler için kullanılan bileşenler polar ve dispersif etkileşimler olarak tanımlanır. Polar etkileşimler kalıcı dipol – dipol etkileşimleri gibi kuvvetler nedeniyle ortaya çıkar. Dispersif etkileşimlere göre daha güçlüdür ve sadece polar moleküllerde bulunurlar. Dispersif etkileşimler ise zayıftır. Katının toplam yüzey enerjisi bu iki etkileşimin toplamıdır. Bu yöntemde serbest yüzey enerjisini hesaplamak için polar ve dispersif etkileşimlerinin yüzey gerilimleri bilinen en az iki sıvı gereklidir. Bu model için belirlenen hesaplama formülü denklem (1) de verilmiştir. Analiz Orta Doğu Teknik Üniversitesi Merkez Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir [44, 45].

$$\gamma_{sl} = \gamma_{sl}^P + \gamma_{sl}^D \quad (1)$$

γ_{sl} : Katı / sıvı arayüzey serbest enerjisi

γ_{sl}^P : Polar etkileşimden kaynaklanan katı / sıvı arayüzey serbest enerjisi

γ_{sl}^D : Dispersif etkileşimden kaynaklanan katı / sıvı arayüzey serbest enerjisi

3.4.4. Reolojik Analiz

Hazırlanan örnekler için viskoz özelliklerinin ölçülmesi amacıyla reolojik analiz gerçekleştirilmiştir. Analiz Orta Doğu Teknik Üniversitesi Merkez Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. 25 °C sabit sıcaklıkta kayma gerilimine karşılık viskozite ölçümü reometre cihazı (TA Instruments ARES Rheometer, ABD) kullanılarak yapılmıştır. Reoloji; maddenin deformasyonu ve akışını inceleyen bilim dalıdır. Malzemenin deformasyona nasıl tepki verdiğini inceler. Viskozite; bir akışkanın akmaya karşı gösterdiği direnç olarak tanımlanabilir. Bir akışkan üzerine gerilme uygulandığında sürekli olarak şekil değiştirir. Deformasyon hızının, kayma gerilmesi ile doğru orantılı olduğu akışkanlara Newton tipi akışkanlar denir. Eğer akışkan bu orantıya sahip değilse Newton tipi olmayan akışkan denir. Akışkanın kayma hızı arttıkça viskozitesi artıyorsa kayma kalınlaşması özelliğine sahiptir. Akışkanın kayma hızı arttıkça viskozitesi azalıyorsa kayma incelmeye özelliğine sahiptir. Newton tipi olmayan akışkanların özelliklerini belirleyebilmek için birçok matematiksel model geliştirilmiştir [46, 47].

3.4.5. Şişme Deneyi

Hazırlanan filmlerin şişme karakteristiğinin belirlenmesi amacıyla şişme deneyi yapılmıştır. Bu deney kapsamında her formülasyon için 3 numune alınmış ve 25 °C de distile su kullanılarak deney gerçekleştirilmiştir. Filmlerin 3, 10, 15, 30. saniye ve 1, 5, 15, 30 ve 60. dakikalardaki yüzde şişme oranı denklem (2) de bulunan formül kullanılarak tespit edilmiştir. Şişme deneyi kapsamında her numune için üç tekrar ile çalışılmıştır.

$$\text{Şişme Oranı} = \frac{M_s - M_k}{M_k} \times 100 \quad (2)$$

M_s : Su içerisinde bekletilmiş film ağırlığı

M_k : Kuru film ağırlığı

3.4.6. Biyobozunma Deneyi

Hazırlanan filmlerin biyobozunma davranışlarını incelemek amacıyla, enzimatik, oksidatif ve hidrolitik ortamlarda biyobozunma davranışları incelenmiştir. Bu amaçla çalışma, 22 °C de 21 gün boyunca gerçekleştirilmiştir. Enzimatik çalışma, 1,5 mg/ml Lizozim enzimi konsantrasyonunda 3 ml PBS çözeltisi içerisinde gerçekleştirilmiştir. Oksidatif çalışma 3 ml H₂O₂ içerisinde gerçekleştirilmiştir. Hidrolitik çalışma 3 ml fosfat tampon çözeltisi (pH 7.4 0,01 M, PBS) içerisinde gerçekleştirilmiştir. Ağırlık ölçümleri, çalışmaya başlamadan önce alınan kuru tartım ve çalışma başladıktan sonraki 1., 2., 3.,

7., 14., ve 21. günde gerçekleştirilmiştir. Ağırlık ölçümü yapılırken, örnekler süzgeç kağıdının üzerine alınmış 2 saat boyunca kurumaları için bekletilmiş ve daha sonra tartım işlemi gerçekleştirilmiştir. Biyobozunma yüzdesi denklem (3) de bulunan formül kullanılarak tespit edilmiştir.

$$\text{Yüzde Bozunma Oranı} = \frac{M_d - M_k}{M_k} \times 100 \quad (3)$$

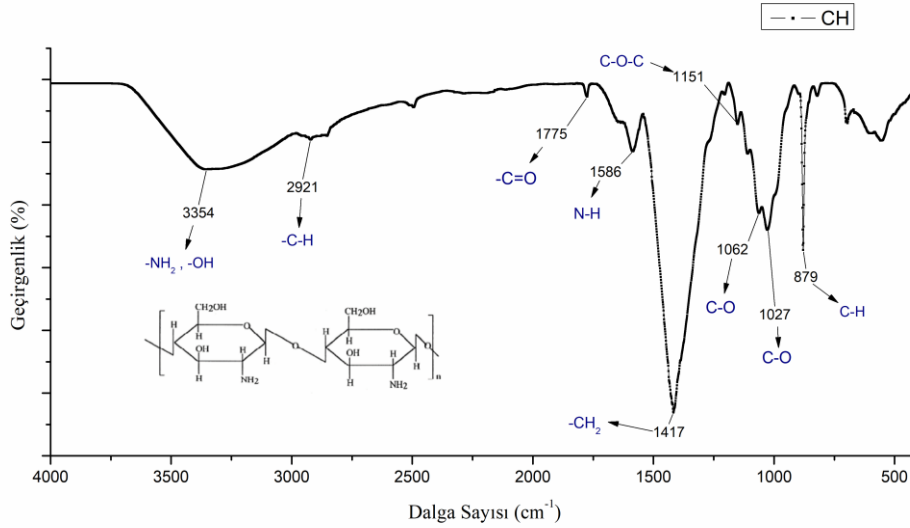
M_d : Bozunmaya uğramış film ağırlığı

M_k : Kuru film ağırlığı

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. Kimyasal Karakterizasyon

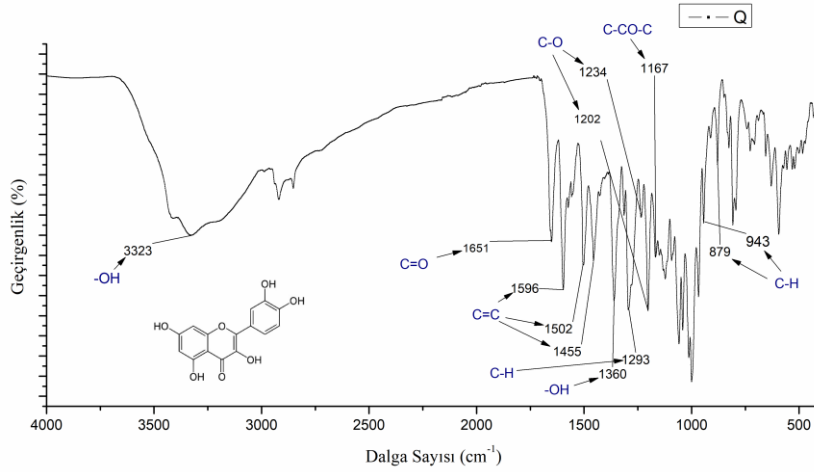
FTIR analizi ile kullanılan kimyasalların ve hazırlanan polimer filmlerin yapıları incelenmiştir. Bu kapsamda, CH filmine ait ATR-FTIR spektrumu Şekil 4.1. de verilmiştir. 3354 cm^{-1} bölgesindeki güçlü bant, molekül içi hidrojen bağlarının yanı sıra amin bağlarının ($-\text{NH}_2$) ve hidroksil gruplarının ($-\text{OH}$) gerilmesine karşılık gelmektedir. 2921 cm^{-1} bölgesinde meydana gelen bant, alifatik C-H bağının simetrik ve asimetrik germe titreşimlerinden meydana gelmektedir. 1775 cm^{-1} bölgesinde meydana gelen bant, kitosan içerisinde yer alan artık N-asetil gruplarının varlığı ($\text{C}=\text{O}$) nedeniyle meydana gelmektedir. 1586 cm^{-1} bölgesinde meydana gelen bant, amin bükülmesine ait N-H bükülmesine karşılık gelmektedir. 1417 cm^{-1} bölgesinde meydana gelen bant, $\text{CH}_2\text{-OH}$ gruplarındaki CH_2 deformasyon titreşimlerine aittir. 1151 cm^{-1} bölgesinde meydana gelen bant, C-O-C bağının simetrik ve asimetrik gerilmesi nedeniyle meydana gelmektedir. 1062 ve 1027 cm^{-1} bölgesinde meydana gelen bantlar, C-O gerilmesine karşılık gelmektedir. 879 cm^{-1} bölgesinde meydana gelen bant, C-H bükülmesi nedeniyle meydana gelmektedir [48-51].



Şekil 4. 1. CH filmine ait ATR-FTIR spektrumu

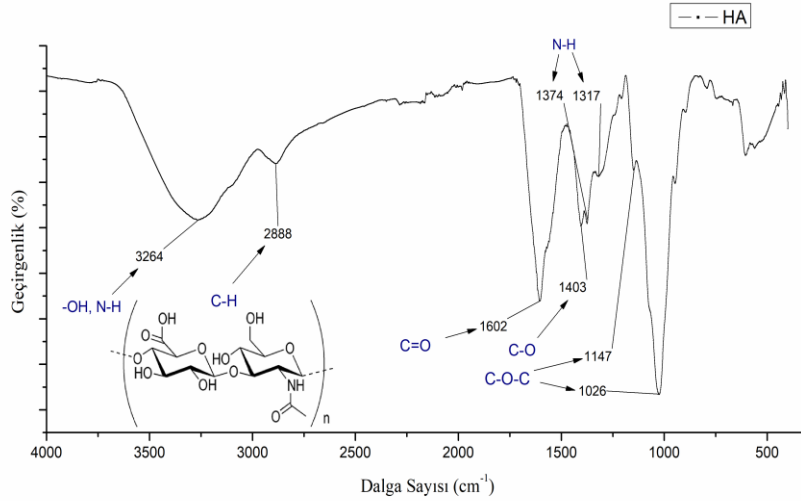
Q örneğine ait FTIR spektrumu Şekil 4.2 de verilmiştir. 3323 cm^{-1} bölgesinde bulunan bant hidroksil ($-\text{OH}$) gruplarının gerilmesi nedeniyle meydana gelmektedir. 1360 cm^{-1} bölgesinde meydana gelen bant ise fenol fonksiyonunun içerdiği hidroksil grubunun

bükülmesi nedeniyle meydana gelmektedir. 1651 cm^{-1} bölgesinde meydana gelen bant, $\text{C}=\text{O}$ bağının aril ketonik gerilimi nedeniyle meydana gelmektedir. $1596\text{-}1455\text{ cm}^{-1}$ bölgesinde meydana gelen bant, $\text{C}=\text{C}$ aromatik halka gerilmesi nedeniyle meydana gelmektedir. 1293 cm^{-1} bölgesinde meydana gelen bant, aromatik hidrokarbonlarda C-H bağının düzlem içi bükülmesi nedeniyle meydana gelmektedir. 1234 cm^{-1} bölgesinde meydana gelen bant, aril eter halkasındaki C-O gerilmesi nedeniyle meydana gelmektedir. 1202 cm^{-1} bölgesinde meydana gelen bant, fenol grubunda bulunan C-O gerilmesi nedeniyle, 1167 cm^{-1} bölgesinde meydana gelen bant, keton grubundaki C-CO-C gerilmesi ve bükülmesi nedeniyle meydana gelmektedir. $943\text{-}879\text{ cm}^{-1}$ bölgesinde meydana gelen bant, aromatik hidrokarbonlarda C-H bağının düzlem dışı (out of plane bending) bükülmesi nedeniyle meydana gelmektedir [52].



Şekil 4. 2. Q örneğine ait FTIR spektrumu

HA örneğine ait FTIR spektrumu Şekil 4.3 de verilmiştir. 3264 cm^{-1} bölgesinde meydana gelen bant, hidroksil ($-\text{OH}$) ve N-H gerilmesine karşılık gelir. 2888 cm^{-1} bölgesinde meydana gelen bant, C-H bağı titreşimleri nedeniyle meydana gelmektedir. 1602 cm^{-1} bölgesinde meydana gelen bant, asimetric $\text{C}=\text{O}$ gerilmesine karşılık gelmektedir. 1403 cm^{-1} bölgesinde meydana gelen bant, simetric C-O gerilmesine karşılık gelmektedir. $1374\text{ - }1317\text{ cm}^{-1}$ bölgesinde meydana gelen bant N-H gerilmesine karşılık gelmektedir. $1147\text{ - }1026\text{ cm}^{-1}$ bölgesinde meydana gelen bant, C-O-C bağına ait gerilmeye karşılık gelmektedir[53-57].

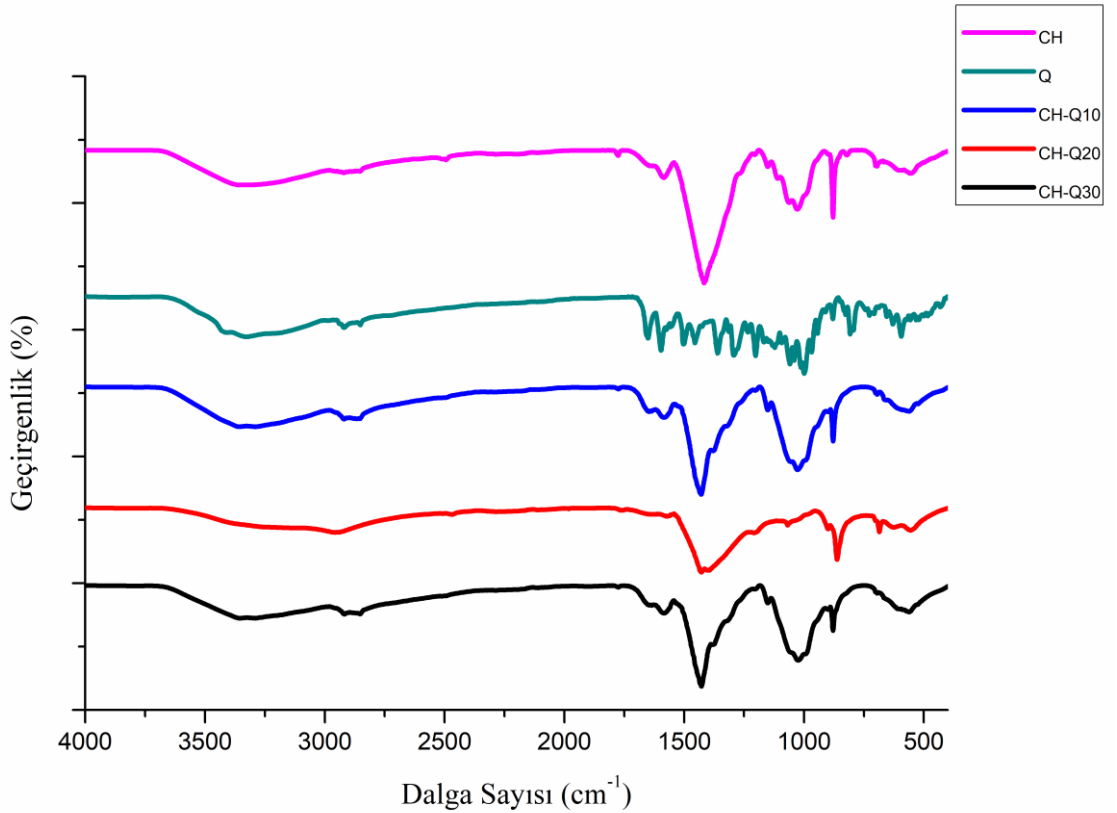


Şekil 4. 3. HA örneğine ait FTIR spektrumu

CH ve Q numunelerinin farklı konsantrasyonları ile hazırlanan filmlere ait ATR-FTIR spektrumu Şekil 4.4. de verilmiştir. Üç farklı Q konstrasyonu (w:w 100:10, 100:20, 100:30) için spektrum elde edilmiştir. Formülasyonlar için bantların görüldüğü dalga sayıları Çizelge 4.1. de verilmiştir.

CH-Q10, CH-Q20 ve CH-Q30 formülasyonlarına ait spektrumlar incelendiğinde, birbirine yakın bantların meydana geldiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte bazı farklarda mevcuttur. CH-Q10 ve CH-Q30 formülasyonlarında $3400-3200\text{ cm}^{-1}$ bölgesinde bant tespit edilmiştir. Bu bantlar hidroksil ve amin gruplarının gerilmesinden meydana gelmektedir. Söz konusu bütün formülasyonlarda $3000-2800\text{ cm}^{-1}$ bölgesinde bantlar tespit edilmiştir. Bu bantların alifatik C-H bağı simetrik ve asimetrik germe titreşimlerine ait olduğu düşünülmektedir. 1770 cm^{-1} bölgesinde her üç formülasyonda bant meydana gelmiştir. Oluşan bu bant kitosana ait artık N asetil grupların (C=O) varlığından meydana gelmektedir. CH-Q10 formülasyonunda, 1646 cm^{-1} bölgesinde bir bant gözlenmiştir. Bu bandın C=O bağının aril ketonik gerilimi nedeniyle oluştuğu düşünülmektedir. 1580 cm^{-1} bölgesinde her üç formülasyon için bantlar görülmüştür. Bu bantlar C=C aromatik halka gerilmesi ve amin bükülmesi nedeniyle oluştuğu düşünülmektedir. $1430-1400\text{ cm}^{-1}$ bölgesinde her üç formülasyon için bant tespit edilmiştir. Bu bantların $\text{CH}_2\text{-OH}$ gruplarında bulunan CH_2 deformasyon titreşimlerine ait olduğu düşünülmektedir. CH-Q10 ve CH-Q30 formülasyonlarında 1151 cm^{-1} bölgesinde bant tespit edilmiştir. Bu bantların C-O-C bağının simetrik ve asimetrik gerilmesi nedeniyle oluştuğu düşünülmektedir. $1100-1000\text{ cm}^{-1}$ bölgesinde her üç formülasyon için bantlar

gözlenmiştir. Bu bantların C-O bağının gerilmesi nedeniyle oluştuğu düşünülmektedir. Q örneğine ait spektrumda görülen aromatik halka yapısına ait yoğun bantların söz konusu formülasyonlarda o yoğunlukta görülmemesi, CH ye ait alifatik C-H bağlarına ait gerilmelerin, CH₂-OH gruplarında bulunan CH₂ deformasyon titreşimlerinin ve N asetil gruplarının her üç spektrumda görülmesi, Q örneğinin CH ile çapraz bağ yaptığını ve CH filminin ana yapısını koruduğu şeklinde düşünülebilir. Literatürde bulunan verilerde bunu desteklemektedir [41].

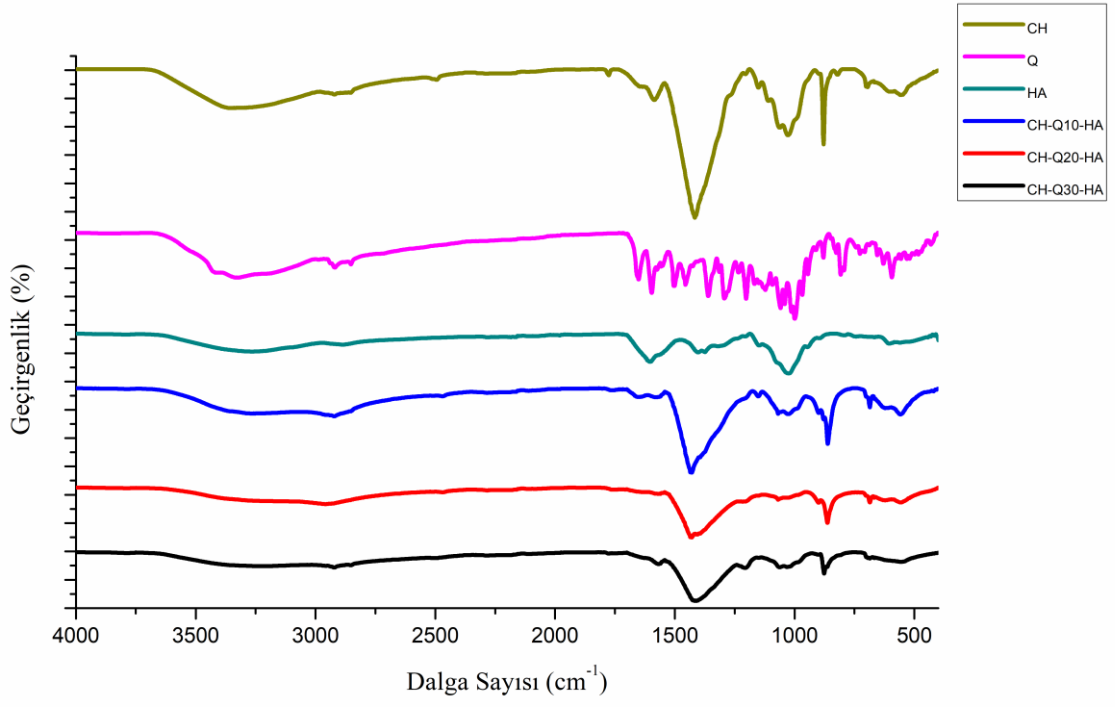


Şekil 4. 4. CH-Q ile hazırlanmış farklı formülasyonlara ait ATR-FTIR spektrumları

CH, Q ve HA örneklerinin farklı konsantrasyonları ile hazırlanan filmlere ait FTIR spektrumu Şekil 4.5. de verilmiştir. Üç farklı Q konstrasyonu (w:w:w 100:10:1, 100:20:1, 100:30:1) için spektrum elde edilmiştir. Formülasyonlar için bantların görüldüğü dalga sayıları Çizelge 4.1. de verilmiştir.

CH-Q10-HA, CH-Q20-HA ve CH-Q30-HA formülasyonlarına ait spektrumlar incelendiğinde, bazı dalga sayılarında ortak bantların meydana geldiği görülmüştür. 3300-3200 cm⁻¹ bölgesinde CH-Q10-HA ve CH-Q30-HA formülasyonlarında bant meydana geldiği tespit edilmiştir. Bu bantların hidroksil ve amin gruplarının

gerilmesinden meydana geldiği düşünülmektedir. Her üç formülasyonda da 3000-2900 cm^{-1} bölgesinde bant meydana gelmiştir. Bu bantların alifatik C-H bağı simetrik ve asimetrik germe titreşimleri olduğu düşünülmektedir. CH-Q10-HA ve CH-Q30-HA formülasyonlarında 1775-1767 cm^{-1} bölgesinde bantlar meydana gelmiştir. Bu bantlar kitosana ait artık N asetil grupların (C=O) varlığından gelmektedir. CH-Q10-HA formülasyonunda 1646 cm^{-1} bölgesinde bant görülmüştür. Bu bandın C=O bağının aril ketonik gerilimi nedeniyle oluştuğu düşünülmektedir. Her üç formülasyonda da 1575-1568 cm^{-1} bölgesinde bant tespit edilmiştir. Bu bantların C=C aromatik halka gerilmesi ve amin bükülmesi nedeniyle oluştuğu düşünülmektedir. Her üç formülasyonda 1429-1408 cm^{-1} bölgelerinde bantlar görülmüştür. Bu bantlar CH_2 -OH gruplarında bulunan CH_2 deformasyon titreşimlerine ait olduğu düşünülmektedir. CH-Q30-HA formülasyonunda 1206 cm^{-1} bölgesinde bant meydana gelmiştir. Bu bandın fenol grubuna ait C-O gerilmesine karşılık geldiği düşünülmektedir. CH-Q10-HA formülasyonunda, 1151 cm^{-1} bölgesinde bir bant meydana gelmiştir. Bu bandın C-O-C bağının simetrik ve asimetrik gerilmesi nedeniyle oluştuğu düşünülmektedir. Her üç formülasyon için 1068-1025 cm^{-1} bölgelerinde bantlar görülmüştür. Bu bantların C-O bağının gerilmesi nedeniyle oluştuğu düşünülmektedir. Söz konusu üç formülasyon için spektrumlar incelendiğinde Q örneğine ait spektrumda görülen aromatik halka yapısına ait yoğun bantların söz konusu formülasyonlarda o yoğunlukta görülmemesi, CH ve HA numunelerine ait alifatik C-H bağlarına ait gerilmelerin, CH_2 -OH gruplarında bulunan CH_2 deformasyon titreşimlerinin görülmesi, HA numunesine ait 1400-1300 cm^{-1} bölgesinde meydana gelen N-H gerilmesinin görülmemesi HA ve Q örneklerinin CH örneği ile çapraz bağ yaptığını ve CH örneğinin ana yapısını koruduğu şeklinde düşünülebilir.



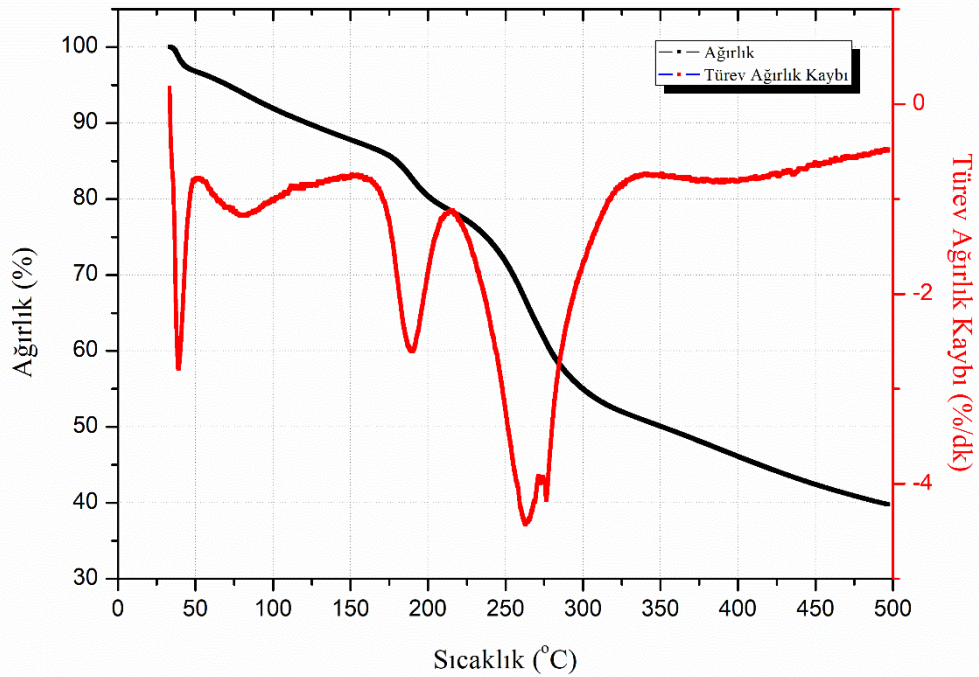
Şekil 4. 5. CH-Q-HA ile hazırlanmış farklı formülasyonlara ait ATR-FTIR spektrumları

Çizelge 4. 1. Tüm film formülasyonlarına ait toplu FTIR spektrum dalga sayıları

Dalga Sayısı (cm ⁻¹)	3500-3000	2999-2500	2499-2000	1999-1500	1499-1000	<1000
Numuneler						
CH	3354	2921	2494	1775, 1586	1417, 1151, 1062, 1027	879, 821, 694, 558
Q	3323	2919, 2852		1651, 1596, 1574, 1557, 1502	1455, 1360, 1314, 1293, 1234, 1202, 1167, 1149, 1122, 1092, 1058, 1041, 1012	999, 967, 943, 911, 879, 826, 807, 793, 742, 727, 707, 688, 655, 629, 594, 556, 531, 520, 499, 483, 431
HA	3264	2888		1602	1403, 1374, 1317, 1147, 1026	946, 792, 667
CH-Q10	3289	2919		1774, 1646, 1583	1428, 1151, 1027	878, 694, 562
CH-Q20		2958	2468	1767, 1574	1428, 1403, 1068	899, 685, 622, 554
CH-Q30	3354	2918, 2852		1774, 1583	1428, 1151, 1023	879, 562
CH-Q10-HA	3264	2921		1767, 1646, 1575	1429, 1151, 1068, 1025	899, 878, 861, 686, 558
CH-Q20-HA		2958		1568	1429, 1408, 1068	899, 863, 686, 667, 622, 558
CH-Q30-HA	3225	2922		1775, 1568	1417, 1206, 1062, 1032	899, 876, 685, 588

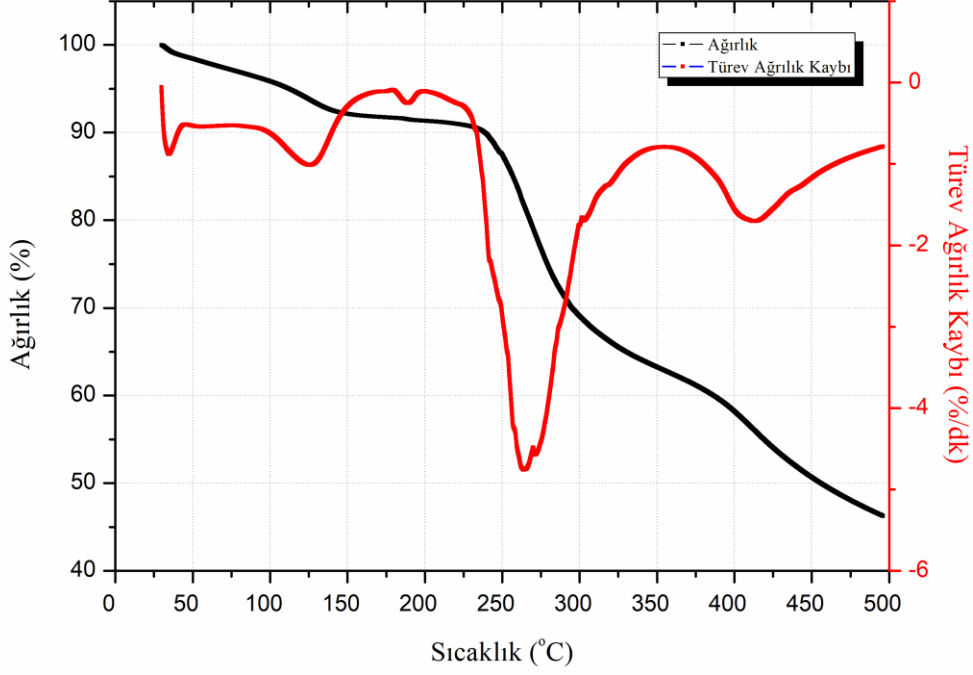
4.2. Termogravimetrik Analiz

Termogravimetrik analiz metodu (TGA) ile çalışma kapsamında kullanılan malzemeler ile hazırlanan filmler incelenmiştir. Bu kapsamda CH filmine ait TGA termogramı Şekil 4.6 da verilmiştir. Bozunmanın ilk basamağı 30 – 125 °C arasında gerçekleşmiştir. Bu sıcaklık aralığında CH filmi içerisindeki suyun buharlaşması gerçekleşmiştir. Yaklaşık %10 luk bir ağırlık kaybı meydana gelmiştir. İkinci basamak ise 175 – 225 °C arasında gerçekleşmiştir. Bu basamakta yaklaşık % 8 lik bir ağırlık kaybı gerçekleşmiştir. Üçüncü basamak, 225 – 350 °C arasında gerçekleşmiştir. Bu basamakta ise CH filminin deasetilasyonu ve termal degradasyonu gerçekleşmektedir. Yaklaşık %28 lik bir ağırlık kaybı gerçekleşmiştir [48, 58-60].



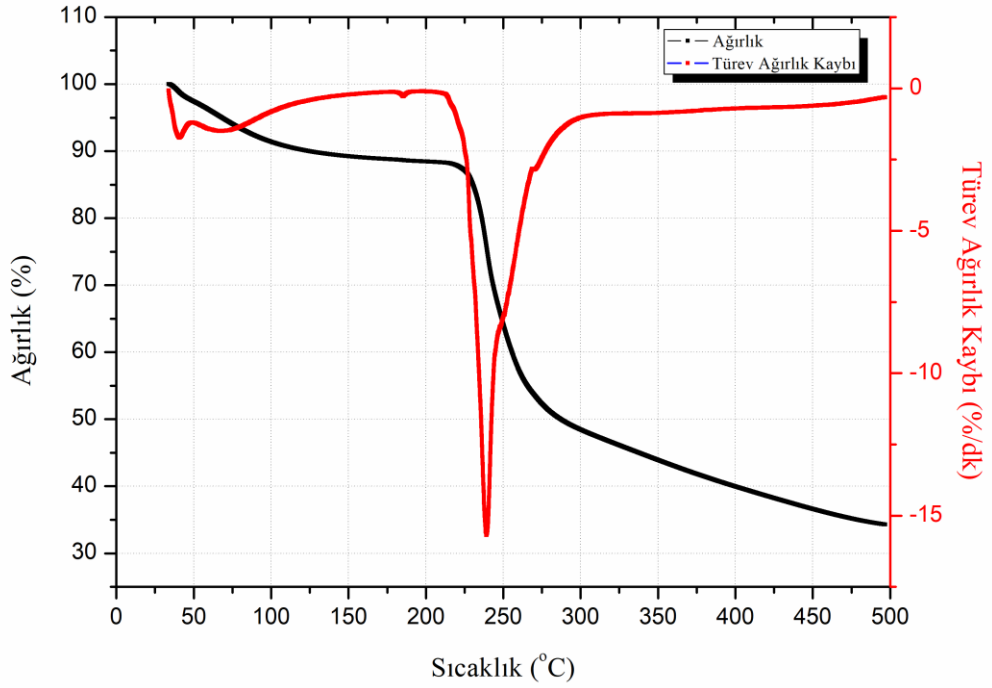
Şekil 4. 6. CH filmine ait TGA-DTA termogramı

Q örneğine ait termogram Şekil 4.7 de verilmiştir. Bu termogramda 40 – 150 °C arası birinci basamak bozunma gerçekleşmiştir. Bu basamakta Q örneği içeriğinde yer alan su buharlaşmıştır. Yaklaşık % 8 lik bir ağırlık kaybı meydana gelmiştir. İkinci bozunma basamağı ise 240 – 375 °C arasında gerçekleşmiştir. Bu aşamada yaklaşık %30 luk bir ağırlık kaybı meydana gelmiştir [61-63].



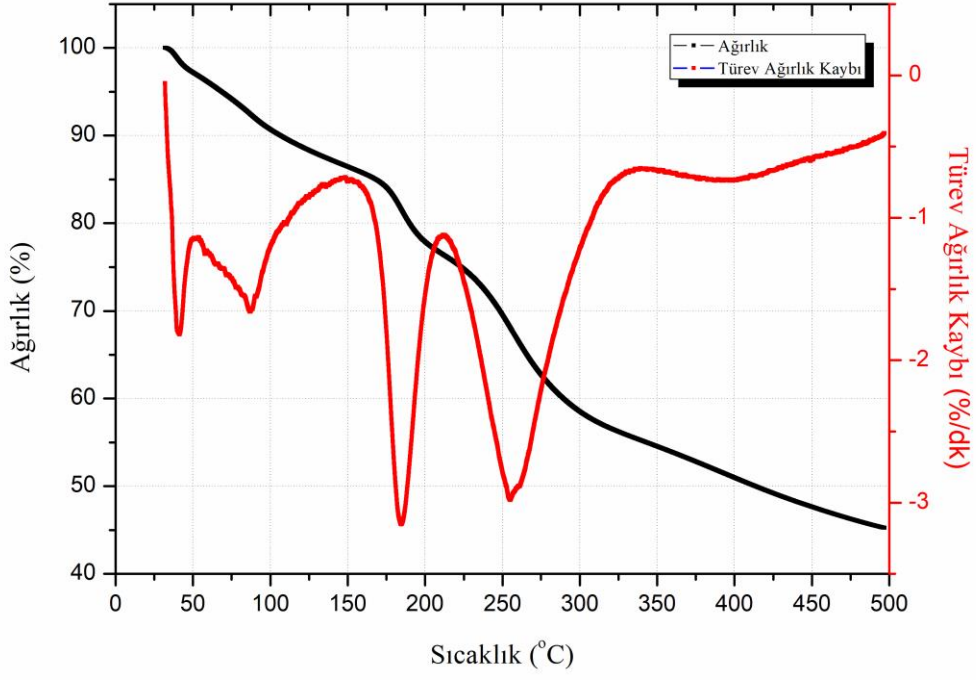
Şekil 4. 7. Q filmine ait TGA-DTA termogramı

HA örneğine ait termogram Şekil 4.8 de verilmiştir. Bu termogramda 150 °C ye kadar %10 luk bir ağırlık kaybı görülmektedir. Bu kayıp HA örneğinin içerisinde absorblanmış suyun buharlaşmasından meydana gelmiştir. 230 – 300 °C arası meydana gelen bozunmada HA örneğinin termal degradasyonu gerçekleşmiştir. Bu basamakta yaklaşık %40 lık bir ağırlık kaybı gözlenmiştir. 300 °C den sonra gerçekleşen bozunma basamağında ise yaklaşık % 23 lük bir ağırlık kaybı gerçekleşmiştir [64, 65].

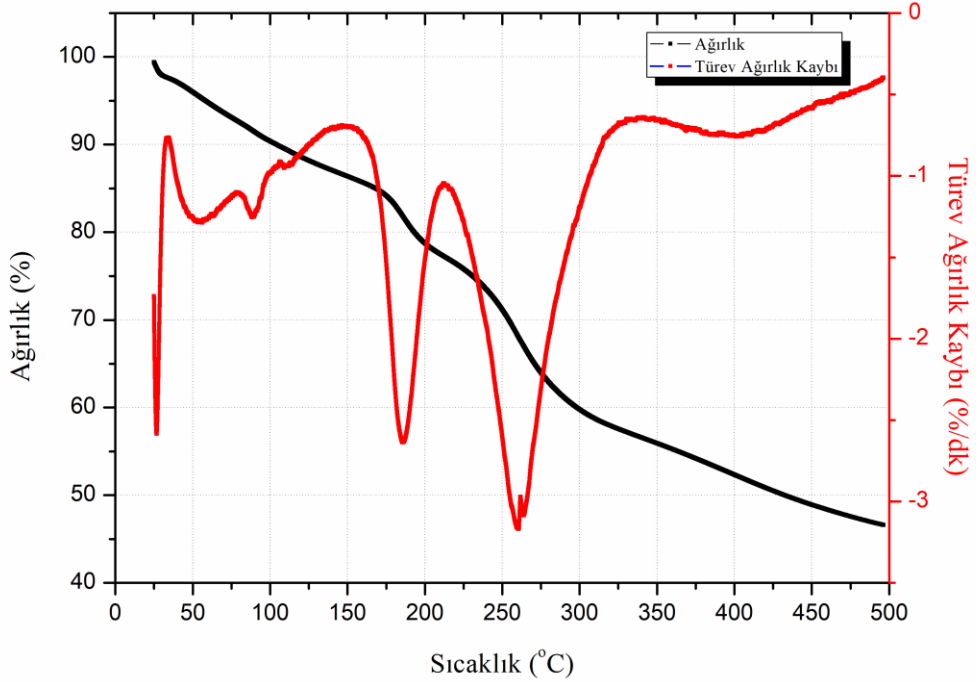


Şekil 4. 8. HA filmine ait TGA-DTA termogramı

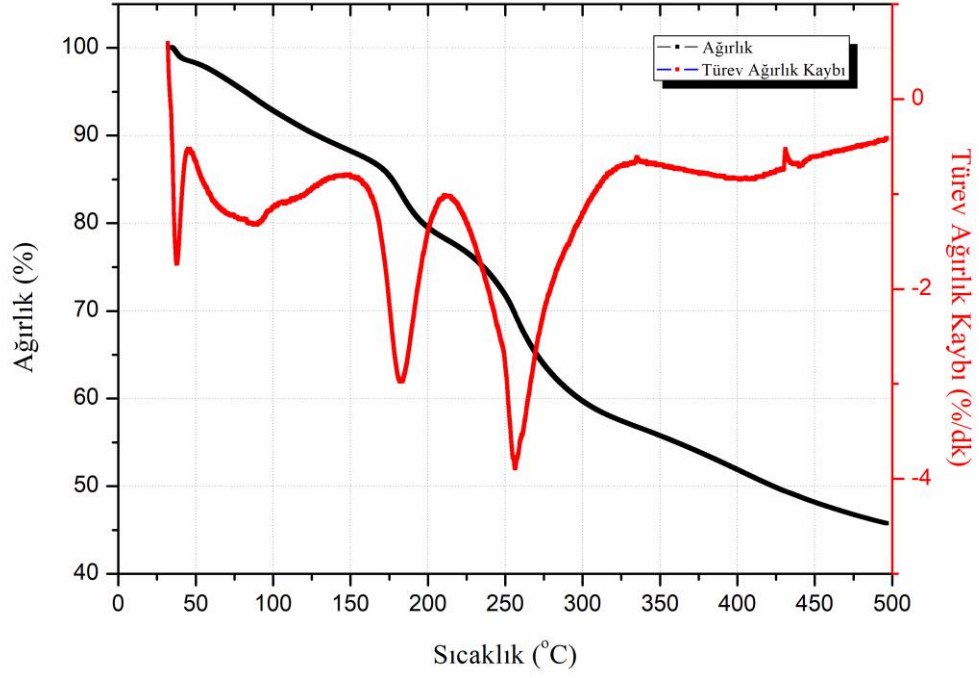
Şekil 4.9 ile Şekil 4.11 arasında CH-Q içeren formülasyonlardan oluşan filmlerin TGA ve DTA termogramları verilmiştir. Bu örneklerin termogramları incelendiğinde benzer sonuçlar görülmüştür. Üç formülasyon içinde üç basamaklı bir bozunma gözlenmiştir. İlk basamak 30 – 150 °C arasında gerçekleşmiştir. Bu aşamada filmlerin içinde absorblanmış halde bulunan suyun buharlaşması meydana gelmiştir. CH-Q30 için %12, CH-Q10 ve CH-Q20 için %14 lük bir ağırlık kaybı gözlenmiştir. 150 – 210 °C ve 225 – 300 °C arasında iki basamak olarak termal degradasyon gerçekleşmiştir. Bu basamaklarda toplam olarak CH-Q30 için yaklaşık % 28, CH-Q10 ve CH-Q20 için ise %26 lık bir ağırlık kaybı gözlenmiştir. Filmlerin, 500 °C sonunda toplam ağırlıklarının yaklaşık % 35 i bozunmadan kalmıştır [40].



Şekil 4. 9. CH-Q10 filmine ait TGA-DTA termogramı

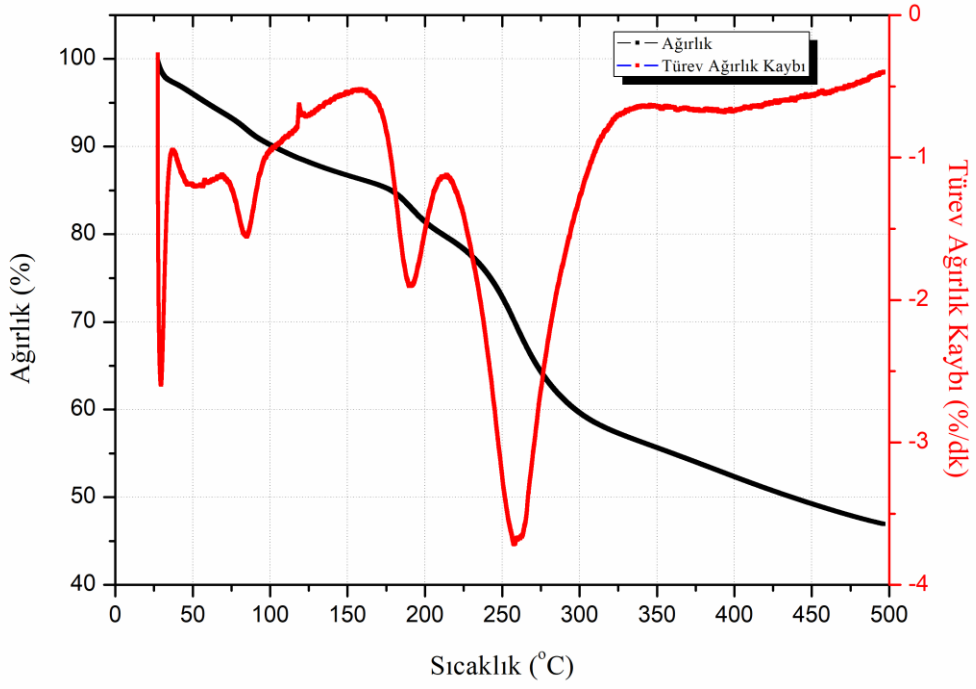


Şekil 4. 10. CH-Q20 filmine ait TGA-DTA termogramı

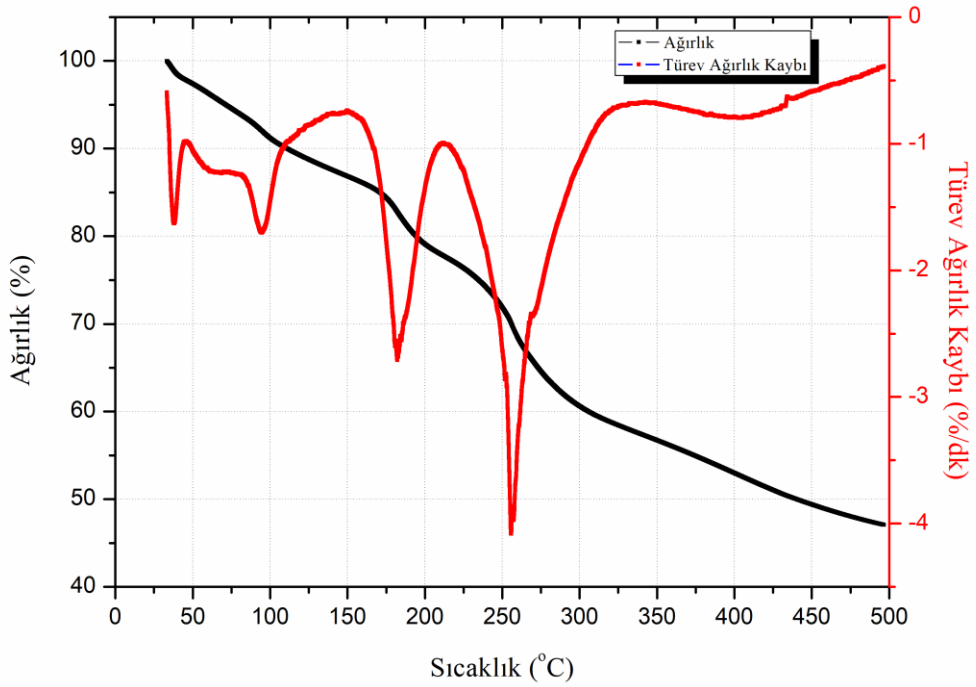


Şekil 4. 11. CH-Q30 filmine ait TGA-DTA termogramı

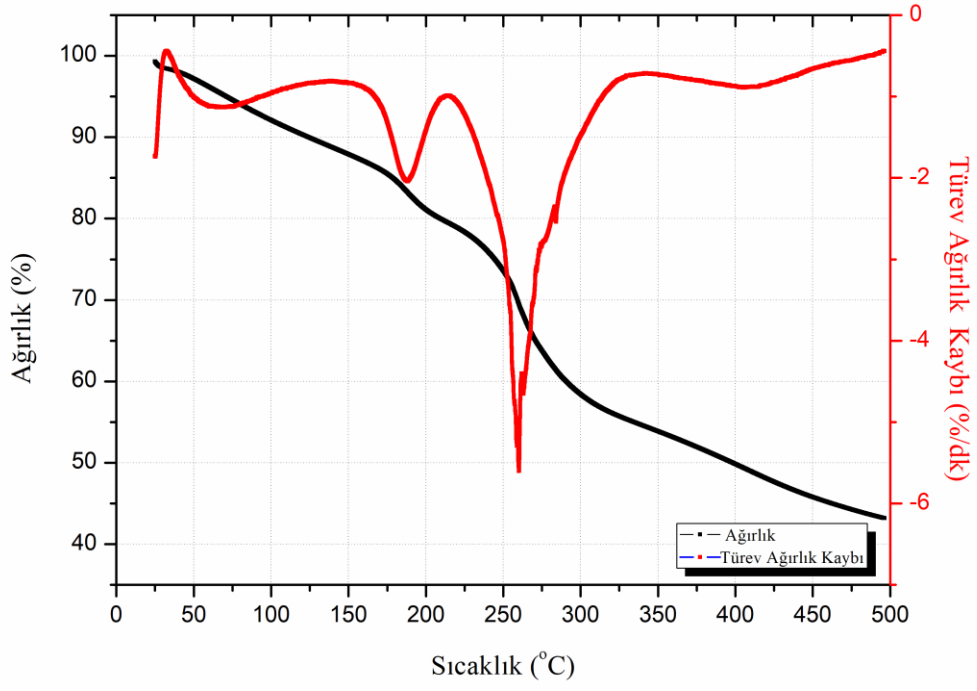
Şekil 4.12 ile Şekil 4.14 arasında CH-Q-HA örneklerini içeren formülasyonlara ait TGA ve DTA termogramları verilmiştir. CH-Q10-HA, CH-Q20-HA, CH-Q30-HA formülasyonlarında birbirlerine oldukça benzer bozunma profilleri gözlenmiştir. 30 – 150 °C arasında filmlerin içeriğinde absorblanmış olarak bulunan suyun buharlaşması gözlenmiştir. Yaklaşık %13 lük bir ağırlık kaybı gerçekleşmiştir. 170 – 220 °C arasında ikinci basamak bozunması gerçekleşmiştir. Bu bozunma basamağı filmlerin içeriğinde bulunan CH varlığının depolimerizasyonunun başlangıç evresi olarak kabul edilebilir. Yaklaşık %5 lik bir ağırlık kaybı meydana gelmiştir. 225 – 300 °C arasında üçüncü basamak bozunma meydana gelmiştir. Yaklaşık %28 lik bir ağırlık kaybı gözlenmiştir. Bu basamakta filmlerin içeriğinde bulunan HA ve Q varlıkları da termal degradasyona başlamıştır. Filmlerin, 500 °C sonunda toplam ağırlıklarının yaklaşık % 35 i bozunmadan kalmıştır [66].



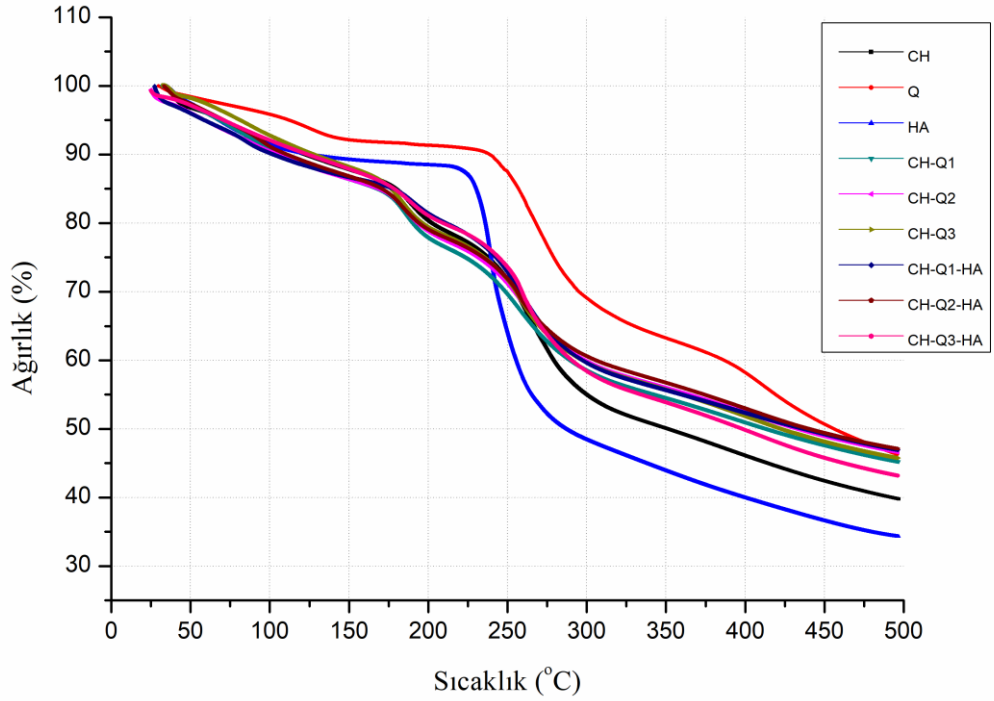
Şekil 4. 12. CH-Q10-HA filmine ait TGA-DTA termogramı



Şekil 4. 13. CH-Q20-HA filmine ait TGA-DTA termogramı



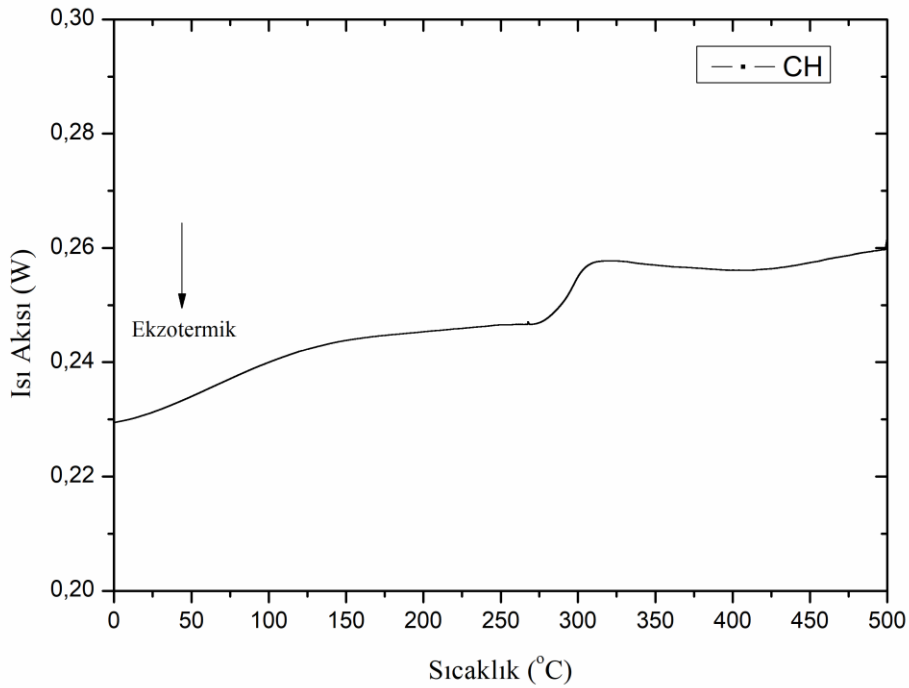
Şekil 4. 14. CH-Q30-HA filmine ait TGA-DTA termogramı



Şekil 4. 15. Toplu TGA termogramı

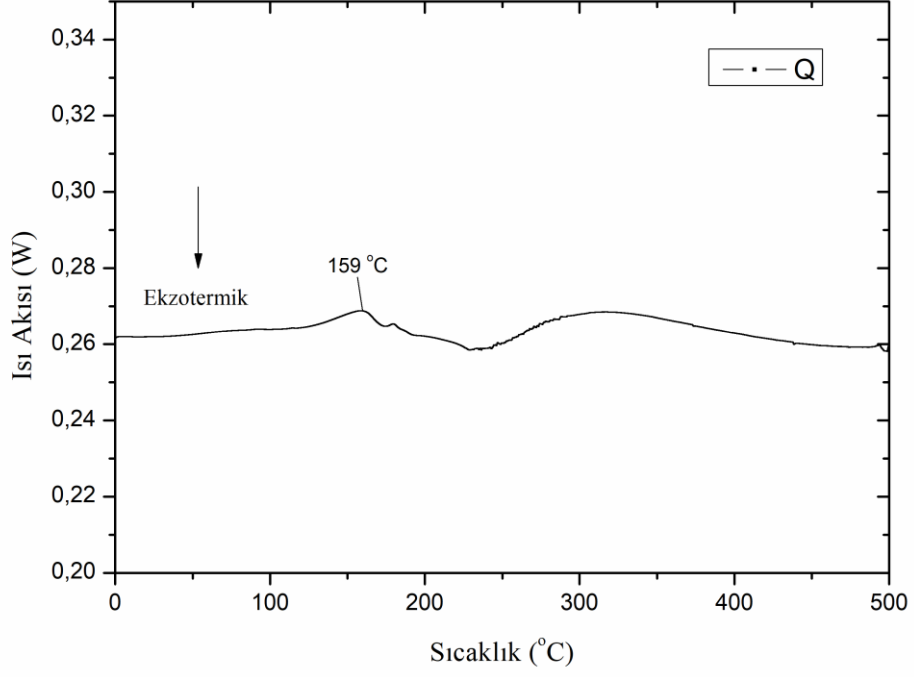
4.3. Diferansiyel Taramalı Kalorimetri

CH, Q, HA, CH-Q20 ve CH-Q20-HA örneklerine ait diferansiyel taramalı kalorimetri analizleri gerçekleştirilmiştir. Analiz 0 - 500 °C arasında 3 döngü olarak gerçekleştirilerek yapılmıştır. İlk olarak birincil ısıtma gerçekleştirilmiştir. İkinci aşamada soğutma uygulanmıştır. Son döngüde ise ikinci ısıtma gerçekleştirilmiştir. EK-3 de yer alan termogramlar incelendiğinde ikinci ve üçüncü döngülerde bulunan aşamalarda bir pik e rastlanmamıştır. Birincil aşamada gerçekleştirilen birincil ısıtma döngüsüne ait termogramlar Şekil 4.16 - 4.20 arasında verilmiştir. CH filmine ait termogram (Şekil 4.16) incelendiğinde herhangi bir pik tespit edilememiştir.



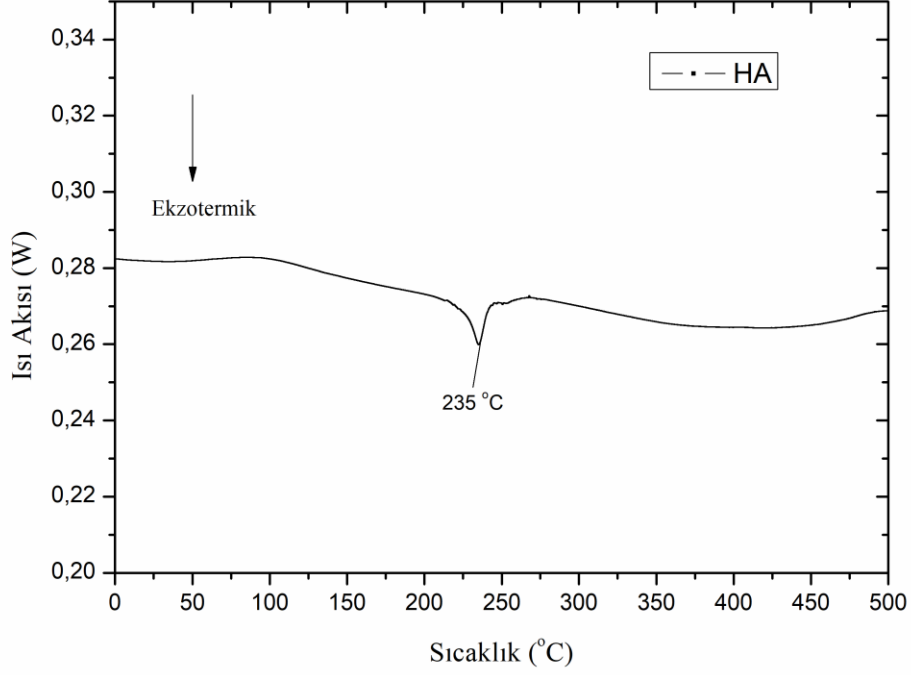
Şekil 4. 16. CH filmine ait DSC termogramı

Q örneğine ait termogram (Şekil 4.17) incelendiğinde 159 °C de bir endotermik pik görülmüştür. Bu pikin TGA termogramında gözlenen ve içeriğinde yer alan su sebebiyle meydana getirdiği pik olduğu düşünülmektedir.



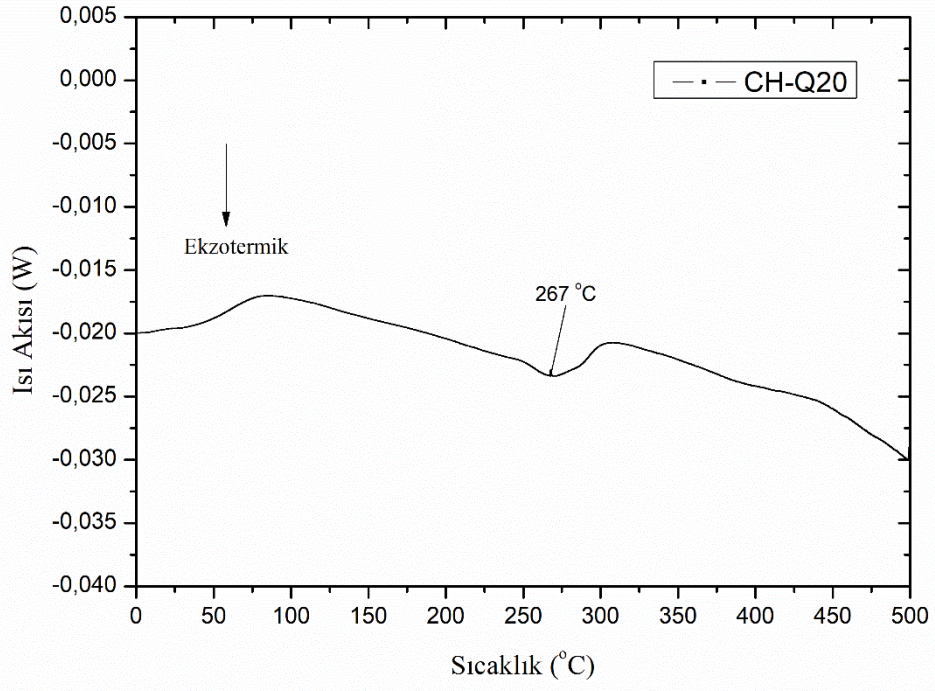
Şekil 4. 17. Q örneğine ait DSC termogramı

HA örneğine ait termogram (Şekil 4.18) incelendiğinde, 235 °C de ekzotermik bir pik görülmüştür. Bu pik TGA termogramında da bulunan ve HA örneğinin termal bozunmasının olduğu sıcaklık olduğu düşünülmektedir.

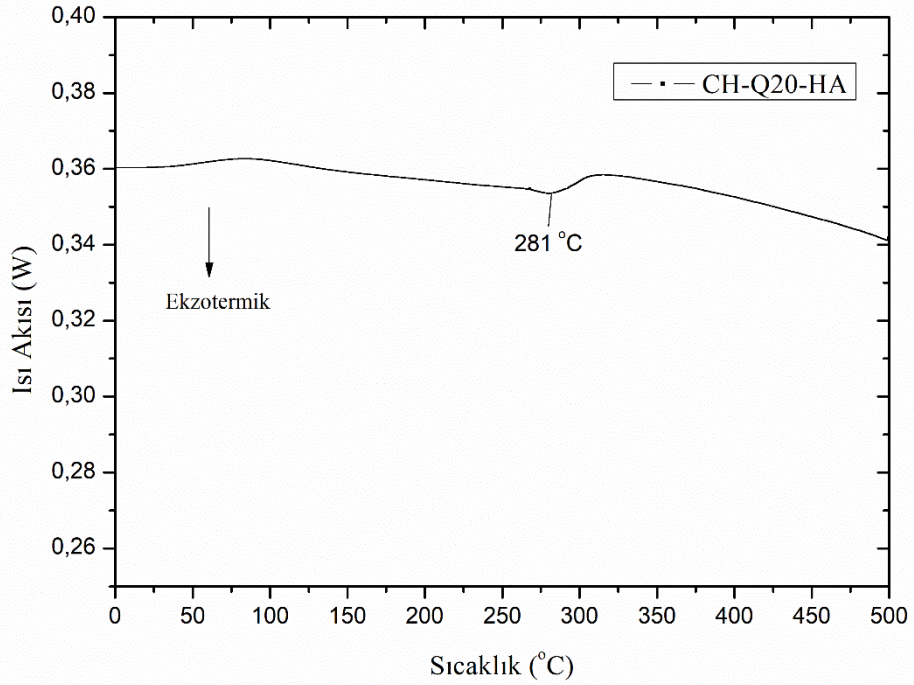


Şekil 4. 18. HA örneğine ait DSC termogramı

CH-Q20 ve CH-Q20-HA filmlerine ait termogramlar (Şekil 4.19 – 4.20) incelendiğinde, sırasıyla 267 ve 281 °C de ekzotermik pikler görünmüştür. HA içeren örneğin daha yüksek sıcaklıkta pik vermesinin nedeninin, HA in CH-Q formülasyonu ile kimyasal bağ yapmış olması düşünülmektedir. Bu nedenle, HA içermeyen formülasyona göre termal kararlılığı artış göstermiştir.



Şekil 4. 19. CH-Q20 filmine ait DSC termogramı



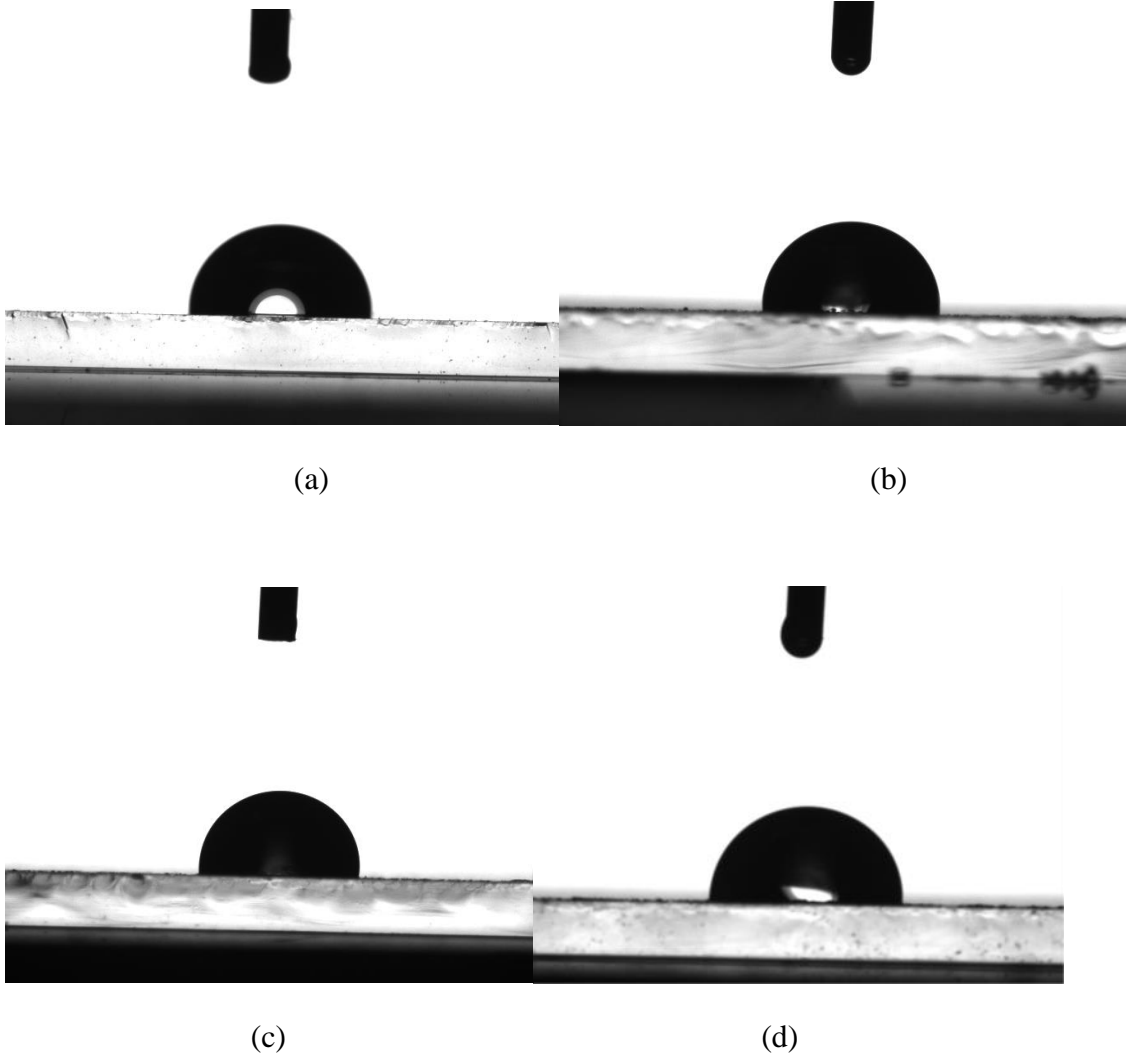
Şekil 4. 20. CH-Q20-HA filmine ait DSC termogramı

4.4. Temas Açısı ve Serbest Yüzey Enerjisi

Çalışma kapsamında CH, HA, CH-Q ve CH-Q-HA film formülasyonlara ait su temas açıları asılı damla yöntemiyle ölçülmüştür. Çizelge 4.2 de çalışma kapsamında ölçülen su temas açıları verilmiştir. Su temas açısı değerlerine göre, CH filmi hidrofobik bir karakter göstermektedir. HA örneği ise hidrofillik bir karaktere sahiptir. Literatürden elde edilen bilgilere göre Q örneğinin de hidrofobik bir malzeme olduğu bilinmektedir. Bu kapsamda ölçülen su temas açılarına göre CH-Q içeren film numunelerinin su temas açısı değerleri 90° nin altında olduğu ve bu nedenle hidrofillik yüzey özelliklerine sahip olduğu görülmüştür. CH-Q-HA film numuneleri için ise su temas açıları HA içermeyen film numunelerine göre daha yüksek ve 90° nin üzerindedir. CH-Q-HA filmleri hidrofobik yüzey özelliği göstermektedirler. Bunun nedeni HA örneği ile Q ve CH örneklerine ait polar fonksiyonel grupları arasında kimyasal bağlanma olması ve su ile hidrojen bağı yapabilecek bu fonksiyonel grupların serbest olmamasıdır. Ayrıca standart sapma değerinin düşük olması da film örneklerinin daha homojen bir yapıya sahip olduğu olarak yorumlanabilir [67].

Çizelge 4. 2. Su temas açısı değerleri

Numune	Açı Değeri
CH	95±1
HA	63±4
CH-Q10	84±8
CH-Q20	73±5
CH-Q30	62±5
CH-Q10-HA	96±2
CH-Q20-HA	98±1
CH-Q30-HA	92±2



Şekil 4. 21. CH (a), CH-Q10-HA (b), CH-Q20-HA (c) ve CH-Q30-HA (d) örneklerine ait su temas açısı görüntüleri

Serbest yüzey enerjileri Çizelge 4.3 de verilmiştir. CH-Q film numuneleri ile CH-Q-HA içeren film numunelerinin serbest yüzey enerjileri 3.4.3 bölümünde belirtilen OWRK yöntemi kullanılarak hesaplanmış ve sonuçların birbirlerine yakın olduğu görülmüştür. CH-Q içeren film numunelerinin OWRK yöntemine göre serbest yüzey enerjisi değerleri sırasıyla 36,68, 33,35, 37,38 mN/m olarak hesaplanmıştır. CH-Q-HA içeren film numunelerinin OWRK yöntemine göre serbest yüzey enerjisi değerleri sırasıyla 41,49, 34,51, 33,42 mN/m olarak hesaplanmıştır. CH-Q filmlerde polar bileşen etkisi CH-Q-HA li filmlere göre daha yüksektir. Bunun nedeni polar grupların hyalüronik asidin kuersetin ve kitosan ile kimyasal bağ oluşumuna girmesi olarak açıklanabilir. CH-Q ve CH-Q-HA filmlerinin içeriğindeki kuersetin miktarı arttıkça polar bileşenin katkısı artmaktadır.

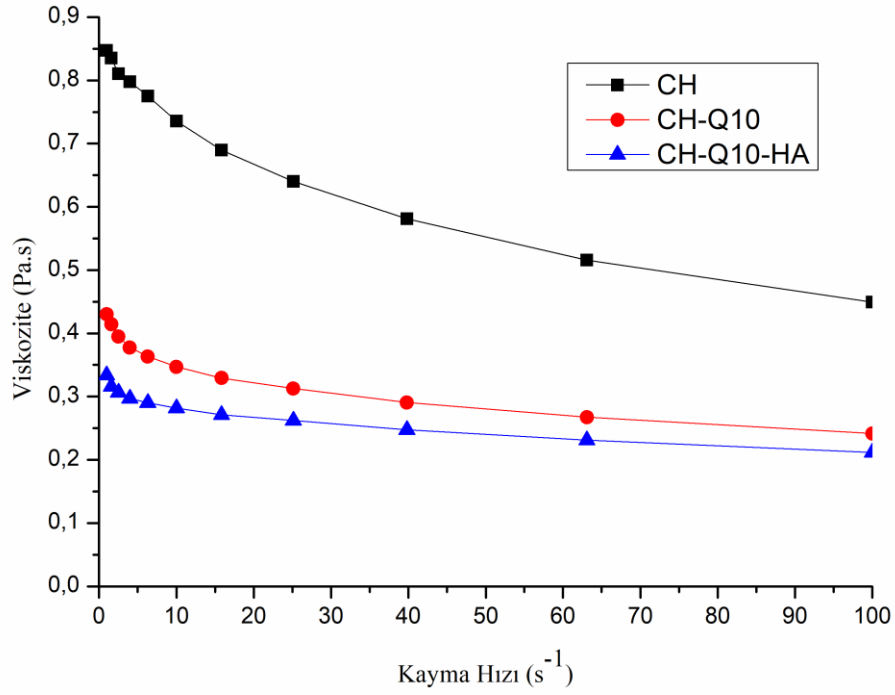
Temas açıları ile birlikte bakıldığında CH-Q formülasyonlarına ait filmlerin daha hidrofillik özellik gösterdiği görülmüştür.

Çizelge 4. 3. CH ve HA örnekleri ve CH-Q ve CH-Q-HA formülasyonlarına ait OWRK metodu ile hesaplanan serbest yüzey enerjileri

Numune	OWRK Toplam SFE γ_{tot} (mN/m)	OWRK Apolar Bileşen SFE γ_d (mN/m)	OWRK Polar Bileşen SFE γ_p (mN/m)
CH	54,80	54,80	0,00
HA	44,95	30,17	14,78
CH-Q10	36,68	33,23	3,45
CH-Q20	33,35	20,37	12,97
CH-Q30	37,38	17,27	20,10
CH-Q10-HA	41,49	41,37	0,12
CH-Q20-HA	34,51	34,21	0,30
CH-Q30-HA	33,42	32,07	1,35

4.5. Reolojik Analiz

CH, CH-Q10 ve CH-Q10-HA örneklerine ait reolojik analizlere ilişkin grafik Şekil 4.22 de görülmektedir. Bu kapsamda, 25 °C sabit sıcaklıkta, viskoziteye karşı kayma hızı grafikleri oluşturulmuştur. Grafikler incelendiğinde örneklerin, newton tipi olmayan akışkan özellikleri gösterdikleri tespit edilmiştir. CH örneğinin akış davranışı incelendiği zaman literatür ile uyumlu olduğu ve kayma incelenmesi davranışı gösterdiği gözlenmiştir. CH-Q10 ve CH-Q10-HA içeren örneklerde de aynı akış davranışı gözlenmiştir. Örneklerle ait viskozite değerleri incelendiğinde, en yüksek viskozite değerinin CH numunesine ait olduğu görülmüştür. Onu sırasıyla CH-Q10 ve CH-Q10-HA takip etmektedir. FTIR bulguları göz önüne alındığında CH-Q10 ve CH-Q10-HA örneklerin kimyasal bağlanma gerçekleştirdiği görülmektedir. Buna karşın CH-Q10 ve CH-Q10-HA örneklerinin viskozite değerinin CH örneğine göre daha düşük olduğu görülmüştür. HA örneğinin viskozite değerinin CH örneğine göre daha düşük olduğu literatürden tespit edilmiştir. Bu nedenle HA örneğinin formülasyonu daha akışkan hale getirdiği düşünülebilir. Örneklerin kayma incelenmesi davranışı göstermesi enjekte edilebilmesi adına önemli bir özellik göstermektedir [46, 68, 69].

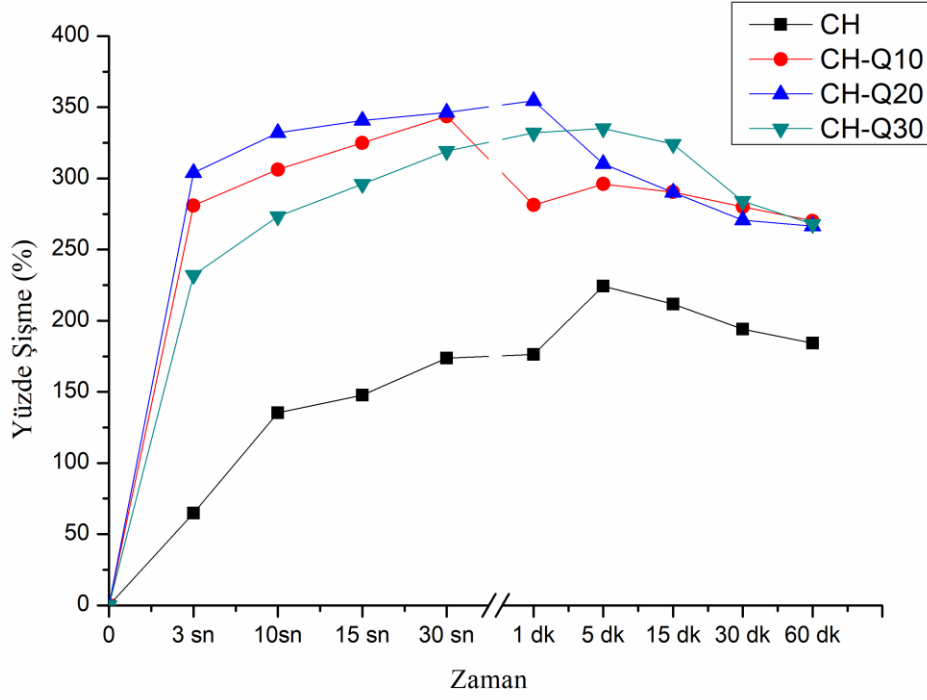


Şekil 4. 22. CH, CH-Q10 ve CH-Q10-HA filmlerine ait toplu viskozite grafikleri

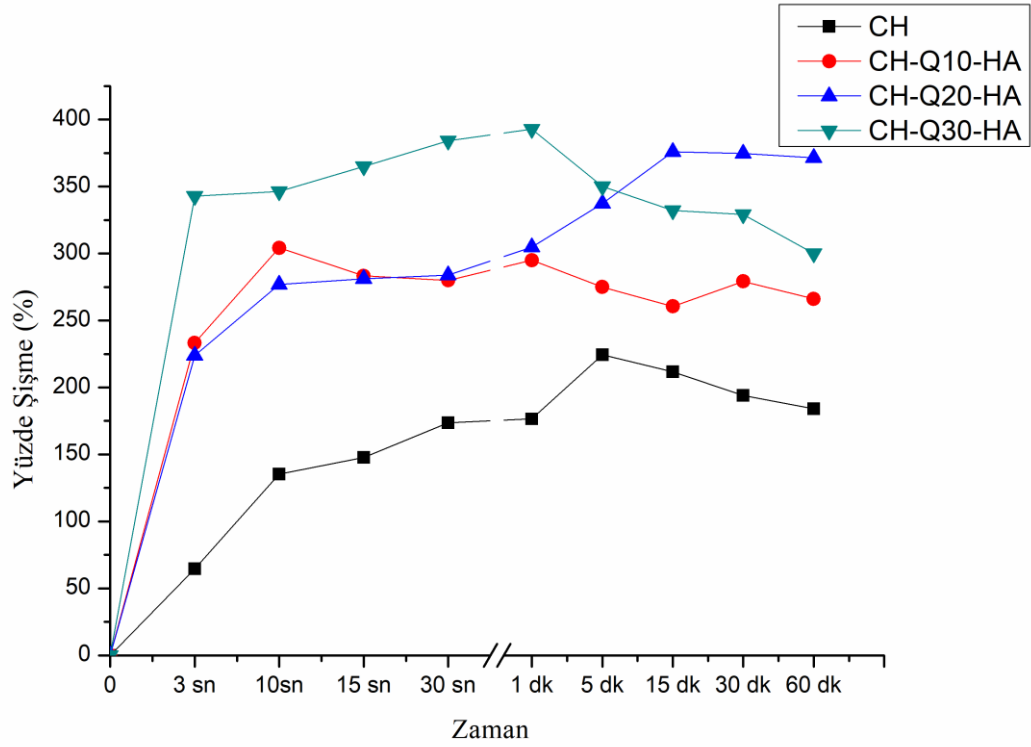
4.6. Şişme Deneyi

Hazırlanan filmlerin şişme davranışları 25 °C de distile su kullanılarak 1 saat süresince incelenmiştir. Bu kapsamda filmlerin, ağırlıkça yüzde şişme oranları gravimetrik yöntem kullanılarak hesaplanmıştır. Filmlerin 3, 10, 15 ve 30. saniyelerdeki ve 1, 5, 15, 30 ve 60. dakikalardaki yüzde şişme oranları üç tekrar (n=3) kullanılarak hesaplanmıştır. Hazırlanan numunelere ait ağırlıkça yüzde şişme grafikleri Şekil 4.23 - 4.24 da verilmiştir. Numuneler arasındaki en düşük şişme oranının kitosan filmine ait olduğu görülmüştür. Temas açısı değeri ile birlikte bakıldığı zaman kitosan filmin hidrofobik karakterde olduğu görülmüştür. Şişme deneyinin 5. dakikasında elde edilen verilere göre CH, CH-Q10, CH-Q20, CH-Q30 filmleri sırasıyla % 224, %296, %310, %324 şişme göstermiştir (Şekil 4. 25). CH, CH-Q10, CH-Q20, CH-Q30 filmleri için su temas açısı değerleri sırasıyla 95°, 84°, 73°, 62° dir (Çizelge 4. 2). 5. dakika sonunda CH-Q10-HA, CH-Q20-HA, CH-Q30-HA filmleri için sırasıyla %275, %337,5, %350 şişme göstermiştir (Şekil 4. 26). Bir saat sonunda en çok şişme oranına sahip örneğin CH-Q20-HA olduğu tespit edilmiştir. CH-Q20-HA örneği haricindeki diğer örnekler 60 dakika içerisinde maksimum ağırlıkça yüzde şişme oranına ulaşmış ve daha sonra oran düşüşe geçmiştir. CH-Q20-HA ve CH-Q30-HA örneklerinin 60 dakika sonunda su tutma

kapasitelerinin diğer örneklere göre daha fazla olduğu görülmüştür. HA varlığının CH-Q formülasyonunun su tutma kapasitesini arttırdığı söylenebilir.



Şekil 4. 23. CH-Q formülasyonlarına ait şişme grafiği



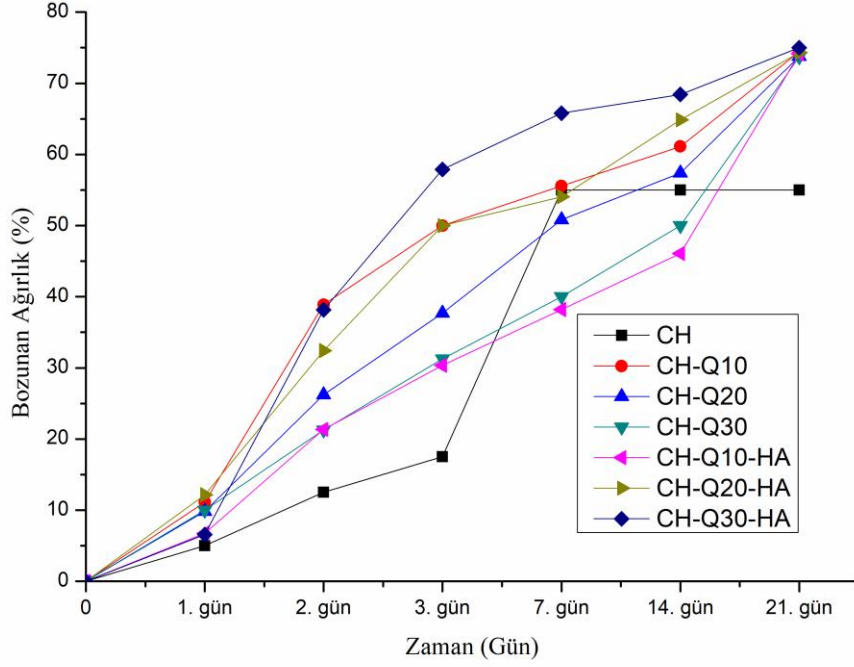
Şekil 4. 24. CH-Q-HA formülasyonlarına ait şişme grafiği

4.7. Biyobozunma Sonuçları

Hazırlanan örneklerin 22 °C de enzimatik, oksidatif ve hidrolitik ortamlarda biyobozunma davranışları incelenmiştir. Örneklerin biyobozunma davranışlarının incelenmesi 21 gün sürmüştür. 1., 2., 3., 7., 14. ve 21. günlerde tartım alınmıştır. Örnekler biyobozunma davranışlarının incelenmesinden önce 1 gün boyunca şişmeye bırakılmıştır. Bu kapsamda hazırlanan grafikler Şekil 4.25 – 4.27 da verilmiştir. Enzimatik bozunma için CH örneği ile etkileşime girebilen Lizozim enzimi (Lz) kullanılmıştır. Lz çözeltisi, 1.5 mg/ml oranı ile fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS) kullanılarak hazırlanmıştır. Oksidatif bozunma için H₂O₂ kullanılmıştır. Hidrolitik bozunma için ise fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS) kullanılmıştır.

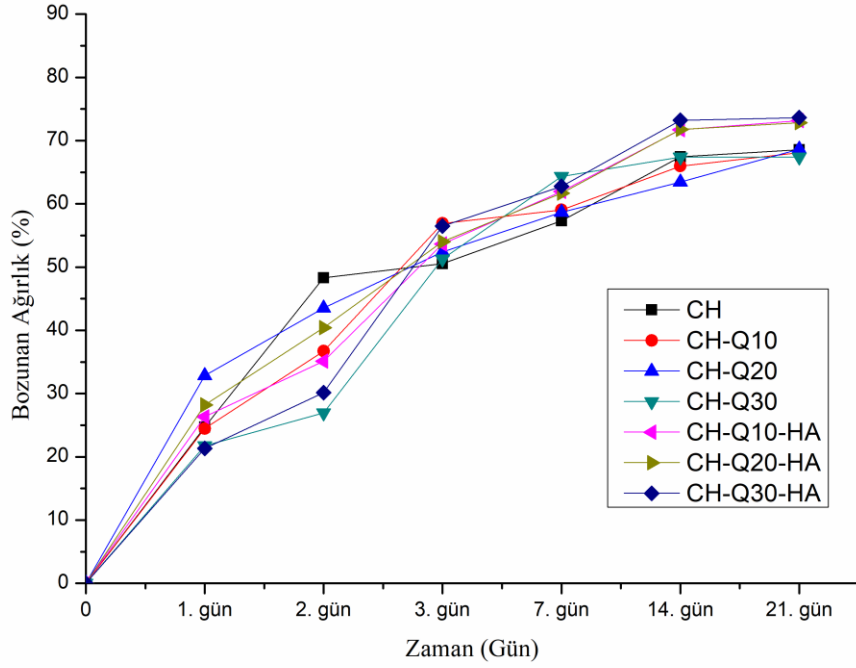
Şekil 4.25 de enzimatik bozunma sonucu gerçekleşen biyobozunma davranışları görülmektedir. 7. günde CH filmde %55, CH-Q10 filmde %55,5, CH-Q20 filmde %50,8, CH-Q30 filmde %40, CH-Q10-HA filmde %38,2, CH-Q20-HA filmde %54, CH-Q30-HA filmde %65,8 ağırlık kaybı gerçekleşmiştir. 21. gün sonunda CH

örneğinin ağırlık kaybı %55 olarak gerçekleşmiştir. Diğer örneklerin ağırlık kaybı yaklaşık %74 olarak gerçekleşmiştir.



Şekil 4. 25. Enzimatik bozunmaya ait toplu sonuçlar

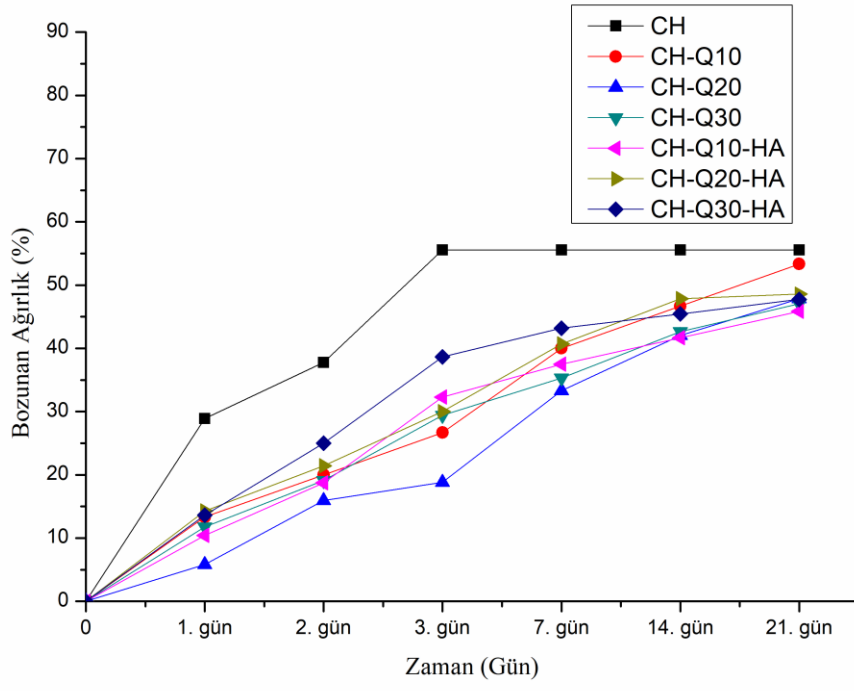
Şekil 4.26 da oksidatif ortam koşullarında gerçekleşen biyobozunma davranışları görülmektedir. CH ve CH-Q içeren örnekler için yaklaşık olarak % 68 lik bir ağırlık kaybı meydana gelmiştir. CH-Q-HA içeren örnekler için % 73 lük bir ağırlık kaybı meydana gelmiştir.



Şekil 4. 26. Oksidatif bozunmaya ait toplu sonuçlar

Şekil 4.27 de hidrolitik ortam koşullarında gerçekleşen biyobozunma davranışları görülmektedir. CH örneğinin yaklaşık %55 inde bozunma gerçekleşmiştir. CH-Q10 örneğinde ise %53 lük bir ağırlık kaybı meydana gelmiştir. CH-Q20-HA örneğinde %48.5 luk bir ağırlık kaybı meydana gelmiştir. CH-Q20, CH-Q30 ve CH-Q30-HA örneklerinde %47 lik bir ağırlık kaybı meydana gelmiştir. CH-Q10-HA örneğinde %46 lık bir ağırlık kaybı gerçekleşmiştir.

Biyobozunma deneyi kapsamında deneyin gerçekleştirildiği her üç ortam içerisinde yer alan film örneklerinin fiziksel bütünlüklerini korudukları gözlenmiştir. Bu kapsamda söz konusu örneklerin yüzey erozyonuna uğradıkları düşünülebilir.



Şekil 4. 27. Hidrolik bozunmaya ait toplu sonuçlar

5. YORUM

Bu tez çalışması kapsamında, biyomedikal uygulamalara yönelik fonksiyonel polimerik filmler başarı ile geliştirilmiştir. Biyoyumlu, biyobozunur ve antimikrobiyal özellikleri doğrultusunda kitosan ile doğal kaynaklı antioksidan özelliğe sahip kuersetin ve yine biyoyumlu ve biyobozunur özelliklere sahip hyalüronik asit kullanılmıştır. Çalışma kapsamında kitosan-kuersetin ve kitosan-kuersetin-hyalüronik asit içerikli film formülasyonları fiziksel bütünlük içerisinde elde edilmiştir. Bu kapsamda kuersetinin hyalüronik asitli ve hyalüronik asitsiz farklı ağırlık oranlarını (w:w:w 100:10:1, 100:20:1, 100:30:1 ve w:w 100:10, 100:20, 100:30) içeren formülasyonları hazırlanmış ve yapı özellik ilişkileri başarıyla analiz edilmiştir.

Hazırlanan film formülasyonlarının kimyasal karakterizasyonları FTIR ile incelenmiş kuersetinin hyalüronik asitli ve hyalüronik asitsiz formülasyonlarında kimyasal bağlanma oluşturduğu saptanmıştır. Kuersetinin sahip olduğu hidroksil gruplarının kitosanın amin ve hidroksil grupları ile kimyasal bağlanma gerçekleştirdiği ve buna ek olarak hyalüronik aside ait fonksiyonel gruplarında bu bağlanmaya katıldığı düşünülmektedir.

Termal karakterizasyonlar kapsamında TGA sonuçlarına göre formülasyonların benzer bozunma termogramlarına sahip olduğu gözlenmiştir. İçeriğinde bulunan bileşimlerin termogramları ile karşılaştırıldığında bozunma eğrilerinin bu bileşenlerin eğrileri arasında meydana geldiği tespit edilmiştir. Söz konusu örneklerin yara örtüsü amacıyla kullanılacak termal kararlılığa sahip olduğu görülmüştür. DSC sonuçlarına göre hyalüronik asidin biyomedikal filmlerin termal kararlılığını artırdığı görülmüştür.

Hazırlanan fonksiyonel filmlerin temas açısı ve serbest yüzey enerjileri ölçülmüştür. Kitosan-kuersetin içerikli formülasyonların kitosan-kuersetin-hyalüronik asit içeren formülasyonlara göre daha hidrofillik bir yapı gösterdiği tespit edilmiştir. Bu kimyasal karakterizasyondan elde edilen bilgiler ışığında hyalüronik asit kitosan-kuersetin bileşiminde bağ yapmayan fonksiyonel gruplar ile kimyasal bağ oluşturarak yapının hidrofobikliğini artırmıştır.

Hazırlanan formülasyonlar için reolojik analiz yapılmıştır. Bu kapsamda, hyalüronik asit içeren ve hyalüronik asit içermeyen, %10 kuersetin bileşimine sahip formülasyonlar ile kitosan için analiz gerçekleştirilmiştir. Örneklerin literatür ile uyumlu olarak newton tipi olmayan akışkan özellikleri gösterdiği tespit edilmiştir. Örneklerin kayma incelenmesi

davranışı gösterdikleri tespit edilmiştir. Bu da söz konusu örneklerin enjekte edilebilir formda olduğu göstermektedir.

Çalışma kapsamında şişme testi uygulanmış, hyalüronik asit içerikli formülasyonların daha fazla su tutma kapasitesine sahip olduğu görülmüştür.

Hazırlanan fonksiyonel filmlere biyobozunma testi uygulanmış ve örneklerin 21 gün boyunca enzimatik, oksidatif ve hidrolitik ortamlarda bozunma davranışları incelenmiştir. Bu kapsamda bütün ortamlarda örneklere ait ağırlık kaybı meydana gelmiştir. En büyük ağırlık kaybının enzimatik ortamda gerçekleştiği görülmüştür. Hidrolitik ortamda ise en az ağırlık kaybı gerçekleşmiştir.

Sonuç olarak hazırlanan filmlerin, biyouyumlu ve biyoaktif etki gösteren doğal bileşenler ile oluşturulması, film formu sayesinde uygulandığı bölgenin şeklini alabilmesi, termal kararlılığa sahip olması, enjekte edilebilir özellikte olması nedeniyle yara örtüsü olarak iyi bir seçenek olduğu ve gelecek adına umut vadettiği düşünülmektedir.

Gelecek dönemlerde çalışma kapsamındaki formülasyonlar için yapılacak *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar ile yara üzerindeki iyileşme, hemostatik ve antibakteriyel etkiler incelenebilir.

6. KAYNAKLAR

- [1] M.E.P. Goad, D.L. Goad, Biomedical materials and devices, Haschek and Rousseaux's handbook of toxicologic pathology, Elsevier2013, pp. 783-806.
- [2] A. Hudecki, G. Kiryczyński, M.J. Łos, Biomaterials, definition, overview, Stem cells and biomaterials for regenerative medicine, Elsevier2019, pp. 85-98.
- [3] M. Naseri-Nosar, Z.M. Ziora, Wound dressings from naturally-occurring polymers: A review on homopolysaccharide-based composites, Carbohydrate polymers, 189 (2018) 379-398.
- [4] R. Riva, H. Ragelle, A.d. Rieux, N. Duhem, C. Jérôme, V. Prétat, Chitosan and chitosan derivatives in drug delivery and tissue engineering, Chitosan for biomaterials II, (2011) 19-44.
- [5] V. Zargar, M. Asghari, A. Dashti, A review on chitin and chitosan polymers: structure, chemistry, solubility, derivatives, and applications, ChemBioEng reviews, 2 (2015) 204-226.
- [6] N. Morin-Crini, E. Lichtfouse, G. Torri, G. Crini, Fundamentals and applications of chitosan, Sustainable Agriculture Reviews 35, Springer2019, pp. 49-123.
- [7] S.S. Baghel, N. Shrivastava, R.S. Baghel, P. Agrawal, S. Rajput, A review of quercetin: antioxidant and anticancer properties, World J Pharm Pharmaceutical Sci, 1 (2012) 146-160.
- [8] P. Lakhanpal, D.K. Rai, Quercetin: a versatile flavonoid, Internet Journal of Medical Update, 2 (2007) 22-37.
- [9] N.M. Salwowska, K.A. Bebenek, D.A. Żądło, D.L. Wcisło-Dziadecka, Physicochemical properties and application of hyaluronic acid: a systematic review, Journal of cosmetic dermatology, 15 (2016) 520-526.
- [10] R.C. Gupta, R. Lall, A. Srivastava, A. Sinha, Hyaluronic acid: molecular mechanisms and therapeutic trajectory, Frontiers in veterinary science, (2019) 192.
- [11] A. Huynh, R. Priefer, Hyaluronic acid applications in ophthalmology, rheumatology, and dermatology, Carbohydrate research, 489 (2020) 107950.
- [12] M.B. Dreifke, A.A. Jayasuriya, A.C. Jayasuriya, Current wound healing procedures and potential care, Materials Science and Engineering: C, 48 (2015) 651-662.
- [13] Z. Ahmadian, H. Adiban, M. Rashidipour, M.R. Eskandari, Bioactive Natural and Synthetic Polymers for Wound Repair, Macromolecular Research, (2022) 1-32.
- [14] I. Savencu, S. Iurian, A. Porfire, C. Bogdan, I. Tomuța, Review of advances in polymeric wound dressing films, Reactive and Functional Polymers, 168 (2021) 105059.
- [15] G.C. Gurtner, S. Werner, Y. Barrandon, M.T. Longaker, Wound repair and regeneration, Nature, 453 (2008) 314-321.
- [16] C. Shi, C. Wang, H. Liu, Q. Li, R. Li, Y. Zhang, Y. Liu, Y. Shao, J. Wang, Selection of appropriate wound dressing for various wounds, Frontiers in bioengineering and biotechnology, 8 (2020) 182.
- [17] S. Dhivya, V.V. Padma, E. Santhini, Wound dressings—a review, BioMedicine, 5 (2015) 1-5.
- [18] K.C. Broussard, J.G. Powers, Wound dressings: selecting the most appropriate type, American journal of clinical dermatology, 14 (2013) 449-459.
- [19] A.H. KURTOĞLU, A. KARATAŞ, Yara tedavisinde güncel yaklaşımlar: modern yara örtüleri, (2009).

- [20] G. KURTULUŞ, F. VARDAR, Kitosanın Özellikleri, Uygulama Alanları, Bitki Sistemlerine Etkileri, *International Journal of Advances in Engineering and Pure Sciences*, 32 (2020) 258-269.
- [21] H. Nagahama, N. Nwe, R. Jayakumar, S. Koiwa, T. Furuike, H. Tamura, Novel biodegradable chitin membranes for tissue engineering applications, *Carbohydrate Polymers*, 73 (2008) 295-302.
- [22] S.G. Kou, L.M. Peters, M.R. Mucalo, Chitosan: A review of sources and preparation methods, *International Journal of Biological Macromolecules*, 169 (2021) 85-94.
- [23] W. Wang, Q. Meng, Q. Li, J. Liu, M. Zhou, Z. Jin, K. Zhao, Chitosan derivatives and their application in biomedicine, *International journal of molecular sciences*, 21 (2020) 487.
- [24] A.V.A. David, R. Arulmoli, S. Parasuraman, Overviews of biological importance of quercetin: A bioactive flavonoid, *Pharmacognosy reviews*, 10 (2016) 84.
- [25] Y. Li, J. Yao, C. Han, J. Yang, M.T. Chaudhry, S. Wang, H. Liu, Y. Yin, Quercetin, inflammation and immunity, *Nutrients*, 8 (2016) 167.
- [26] S.R. Alizadeh, M.A. Ebrahimzadeh, Quercetin derivatives: Drug design, development, and biological activities, a review, *European Journal of Medicinal Chemistry*, (2021) 114068.
- [27] H. Cortes, I.H. Caballero-Florán, N. Mendoza-Muñoz, E.N. Córdova-Villanueva, L. Escutia-Guadarrama, G. Figueroa-González, O.D. Reyes-Hernández, M. González-Del Carmen, M. Varela-Cardoso, J.J. Magaña, Hyaluronic acid in wound dressings, *Cellular and Molecular Biology*, 66 (2020) 191-198.
- [28] H. Pereira, D.A. Sousa, A. Cunha, R. Andrade, J. Espregueira-Mendes, J.M. Oliveira, R.L. Reis, Hyaluronic acid, *Osteochondral Tissue Engineering*, (2018) 137-153.
- [29] Z.-H. Chen, X.-L. Ren, H.-H. Zhou, X.-D. Li, The role of hyaluronic acid in biomineralization, *Frontiers of Materials Science*, 6 (2012) 283-296.
- [30] G. Abatangelo, V. Vindigni, G. Avruscio, L. Pandis, P. Brun, Hyaluronic acid: redefining its role, *Cells*, 9 (2020) 1743.
- [31] W.S. Vedakumari, N. Ayaz, A.S. Karthick, R. Senthil, T.P. Sastry, Quercetin impregnated chitosan–fibrin composite scaffolds as potential wound dressing materials—Fabrication, characterization and in vivo analysis, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97 (2017) 106-112.
- [32] M.O.G. Ferreira, A.B. Ribeiro, M.S. Rizzo, A.C. de Jesus Oliveira, J.A. Osajima, L.M. Estevinho, E.C. Silva-Filho, Potential wound healing effect of gel based on chicha gum, chitosan, and mauritia flexuosa oil, *Biomedicines*, 10 (2022) 899.
- [33] B. Mansuroğlu, K. Kızılbey, F. Şayan Poyraz, Z. Yurttaş, S.N. Fuerkaiti, İ.Y. Abaoğlu, H.N. Başat, Chitosan/dextran sulphate sodium hydrogels for wound healing material: preparation, characterisation and in vitro evaluation, *Materials Technology*, 36 (2021) 843-850.
- [34] L. Zhou, L. Cai, H. Ruan, L. Zhang, J. Wang, H. Jiang, Y. Wu, S. Feng, J. Chen, Electrospun chitosan oligosaccharide/polycaprolactone nanofibers loaded with wound-healing compounds of Rutin and Quercetin as antibacterial dressings, *International journal of biological macromolecules*, 183 (2021) 1145-1154.
- [35] S. Faraji, N. Nowroozi, A. Nouralishahi, J.S. Shayeh, Electrospun polycaprolactone/graphene oxide/quercetin nanofibrous scaffold for wound dressing: Evaluation of biological and structural properties, *Life Sciences*, 257 (2020) 118062.

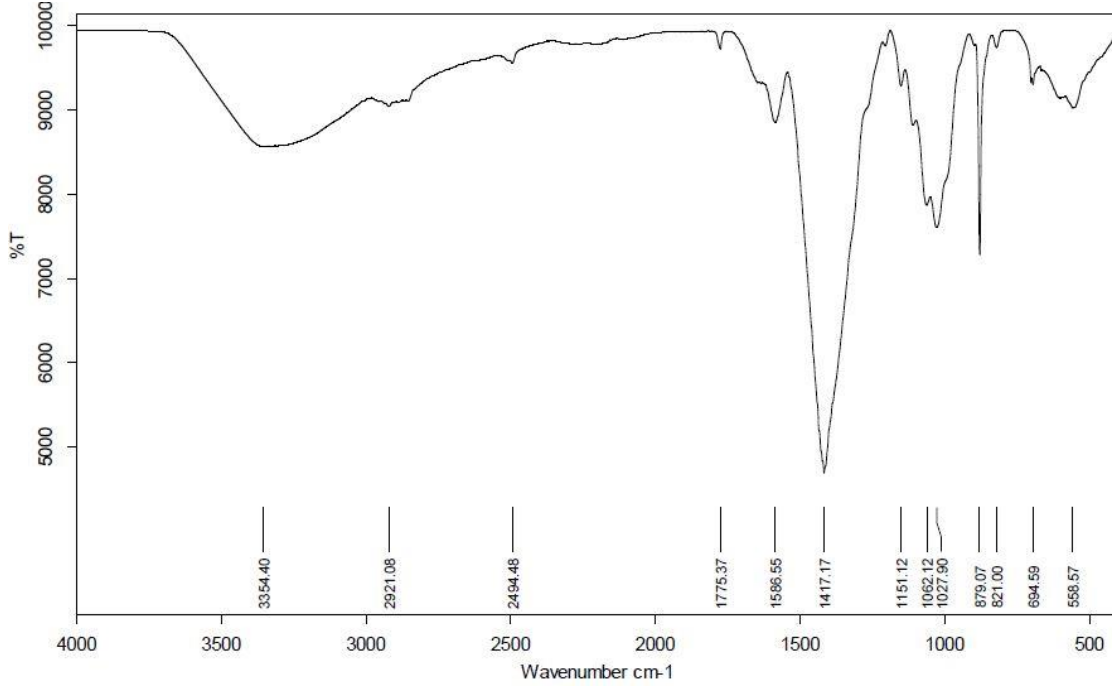
- [36] A. Dias, M. Braga, I. Seabra, P. Ferreira, M. Gil, H. De Sousa, Development of natural-based wound dressings impregnated with bioactive compounds and using supercritical carbon dioxide, *International journal of pharmaceutics*, 408 (2011) 9-19.
- [37] S. Huang, H.-J. Chen, Y.-P. Deng, X.-h. You, Q.-h. Fang, M. Lin, Preparation of novel stable microbicidal hydrogel films as potential wound dressing, *Polymer Degradation and Stability*, 181 (2020) 109349.
- [38] X. Wu, C. Liu, H. Chen, Y. Zhang, L. Li, N. Tang, Layer-by-layer deposition of hyaluronan and quercetin-loaded chitosan nanoparticles onto titanium for improving blood compatibility, *Coatings*, 10 (2020) 256.
- [39] A. Choudhary, V. Kant, B.L. Jangir, V. Joshi, Quercetin loaded chitosan tripolyphosphate nanoparticles accelerated cutaneous wound healing in Wistar rats, *European journal of pharmacology*, 880 (2020) 173172.
- [40] Y. Diao, X. Yu, C. Zhang, Y. Jing, Quercetin-grafted chitosan prepared by free radical grafting: characterization and evaluation of antioxidant and antibacterial properties, *Journal of food science and technology*, 57 (2020) 2259-2268.
- [41] H.J. Wiggers, P. Chevallier, F. Copes, F.H. Simch, F. da Silva Veloso, G.M. Genevro, D. Mantovani, Quercetin-Crosslinked Chitosan Films for Controlled Release of Antimicrobial Drugs, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10 (2022).
- [42] H. Xu, L. Ma, H. Shi, C. Gao, C. Han, Chitosan–hyaluronic acid hybrid film as a novel wound dressing: in vitro and in vivo studies, *Polymers for advanced technologies*, 18 (2007) 869-875.
- [43] T. Nalini, S. Khaleel Basha, A. Mohamed Sadiq, V. Sugantha Kumari, Fabrication and evaluation of nanoencapsulated quercetin for wound healing application, *Polymer Bulletin*, (2022) 1-26.
- [44] R. Hebbar, A. Isloor, A. Ismail, Contact angle measurements, *Membrane characterization*, Elsevier 2017, pp. 219-255.
- [45] M. Annamalai, K. Gopinadhan, S.A. Han, S. Saha, H.J. Park, E.B. Cho, B. Kumar, A. Patra, S.-W. Kim, T. Venkatesan, Surface energy and wettability of van der Waals structures, *Nanoscale*, 8 (2016) 5764-5770.
- [46] E.A. El-hefian, A.H. Yahaya, Rheological study of chitosan and its blends: An overview, *Maejo Int. J. Sci. Technol*, 4 (2010) 210-220.
- [47] P. Taşkın, Kitosanın Radyasyonla Bozunmasına Deasetilasyon Derecesinin Etkisi, (2015).
- [48] S. Kumar, J. Koh, Physicochemical, optical and biological activity of chitosan-chromone derivative for biomedical applications, *International Journal of Molecular Sciences*, 13 (2012) 6102-6116.
- [49] M.F. Queiroz, K.R. Teodosio Melo, D.A. Sabry, G.L. Sasaki, H.A.O. Rocha, Does the use of chitosan contribute to oxalate kidney stone formation?, *Marine drugs*, 13 (2014) 141-158.
- [50] S. Acosta-Ferreira, O.S. Castillo, J.T. Madera-Santana, D.A. Mendoza-García, C.A. Núñez-Colín, C. Grijalva-Verdugo, A.G. Villa-Lerma, A.T. Morales-Vargas, J.R. Rodríguez-Núñez, Production and physicochemical characterization of chitosan for the harvesting of wild microalgae consortia, *Biotechnology Reports*, 28 (2020) e00554.
- [51] R.Ş. Gürsoy, U. Olgun, Bazı Karbonil Bileşikleri ile Kitosan Aşı Kopolimerlerinin Sentezi ve Karakterizasyonu, *Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 34 1-10.

- [52] M. Catauro, F. Papale, F. Bollino, S. Piccolella, S. Marciano, P. Nocera, S. Pacifico, Silica/quercetin sol–gel hybrids as antioxidant dental implant materials, *Science and technology of advanced materials*, (2015).
- [53] H. Chen, J. Qin, Y. Hu, Efficient degradation of high-molecular-weight hyaluronic acid by a combination of ultrasound, hydrogen peroxide, and copper ion, *Molecules*, 24 (2019) 617.
- [54] N.C. Pan, H.C.B. Pereira, M.d.L.C. da Silva, A.F.D. Vasconcelos, M.A.P.C. Celligoi, Improvement production of hyaluronic acid by *Streptococcus zooepidemicus* in sugarcane molasses, *Applied biochemistry and biotechnology*, 182 (2017) 276-293.
- [55] B. Demirdögen, Kıkırdak Doku Onarımı İçin Hiyalüronik Asit Temelli Yapı İskelelerinin Geliştirilmesi Ve Hücre Kültürlerinde Kullanımı, *Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi*, Ankara: Ankara Üniversitesi, (2012).
- [56] K. Lewandowska, S. Alina, S. Grabska, M. Michalska, Characterisation of chitosan/hyaluronic acid blend films modified by collagen, *Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives*, 22 (2017) 125-134.
- [57] K.A. Kh, Extracting Of Hyaluronic Acid from Different Sources, *Eurasian Journal of Physics, Chemistry and Mathematics*, 3 (2022) 50-54.
- [58] S.C. Dey, M. Al-Amin, T.U. Rashid, M.Z. Sultan, M. Ashaduzzaman, M. Sarker, S.M. Shamsuddin, Preparation, characterization and performance evaluation of chitosan as an adsorbent for remazol red, *International Journal of Latest Research in Engineering and Technology*, 2 (2016) 52-62.
- [59] E. Szymańska, K. Winnicka, Stability of chitosan—a challenge for pharmaceutical and biomedical applications, *Marine drugs*, 13 (2015) 1819-1846.
- [60] S. Nanaki, M. Tseklina, E. Christodoulou, K. Triantafyllidis, M. Kostoglou, D.N. Bikiaris, Thiolated chitosan masked polymeric microspheres with incorporated mesocellular silica foam (MCF) for intranasal delivery of paliperidone, *Polymers*, 9 (2017) 617.
- [61] G.R. Vaz, A. Clementino, J. Bidone, M.A. Villetti, M. Falkembach, M. Batista, P. Barros, F. Sonvico, C. Dora, Curcumin and quercetin-loaded nanoemulsions: Physicochemical compatibility study and validation of a simultaneous quantification method, *Nanomaterials*, 10 (2020) 1650.
- [62] Z. Rui, J. Wang, J. Li, Y. Yao, Y. Huo, J. Liu, Z. Zou, A highly durable quercetin-based proton exchange membrane for fuel cells, *Journal of The Electrochemical Society*, 166 (2019) F3052.
- [63] Z. Aytac, S. Ipek, E. Durgun, T. Uyar, Antioxidant electrospun zein nanofibrous web encapsulating quercetin/cyclodextrin inclusion complex, *Journal of Materials Science*, 53 (2018) 1527-1539.
- [64] M.H.A. Elella, R.R. Mohamed, M.W. Sabaa, Synthesis of novel grafted hyaluronic acid with antitumor activity, *Carbohydrate polymers*, 189 (2018) 107-114.
- [65] K. Lewandowska, A. Sionkowska, S. Grabska, B. Kaczmarek, Surface and thermal properties of collagen/hyaluronic acid blends containing chitosan, *International journal of biological macromolecules*, 92 (2016) 371-376.
- [66] M.A. Hassan, T.M. Tamer, K. Valachová, A.M. Omer, M. El-Shafeey, M.S.M. Eldin, L. Šoltés, Antioxidant and antibacterial polyelectrolyte wound dressing based on chitosan/hyaluronan/phosphatidylcholine dihydroquercetin, *International Journal of Biological Macromolecules*, 166 (2021) 18-31.

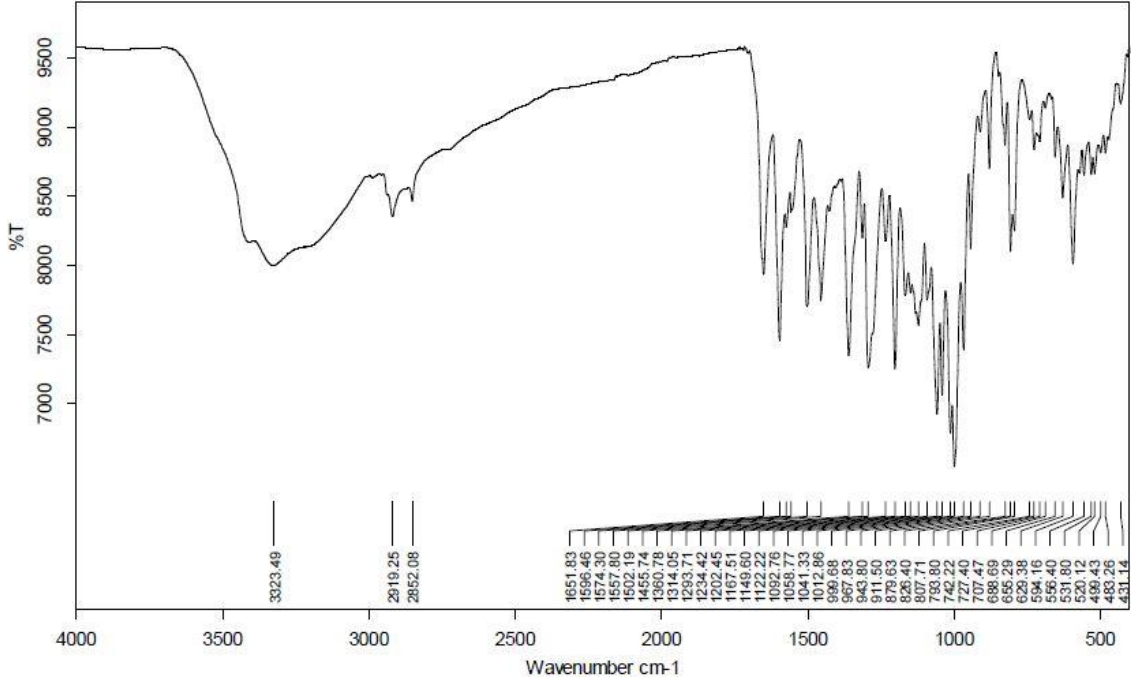
- [67] S. Ghosh, S.R. Dumdung, S.T. Chowdhury, A.K. Mandal, S. Sarkar, D. Ghosh, N. Das, Encapsulation of the flavonoid quercetin with an arsenic chelator into nanocapsules enables the simultaneous delivery of hydrophobic and hydrophilic drugs with a synergistic effect against chronic arsenic accumulation and oxidative stress, *Free Radical Biology and Medicine*, 51 (2011) 1893-1902.
- [68] K. Mazeau, M. Rinaudo, Comparative properties of hyaluronan and chitosan in aqueous environment, *Polymer Science Series C*, 54 (2012) 96-107.
- [69] S. Uspenskii, N. Kil'deeva, M. Maslova, T. Demina, G. Vikhoreva, A study of the viscosity of hyaluronic acid solutions for the preparation of polyelectrolyte complexes with chitosan, *Russian Chemical Bulletin*, 65 (2016) 273-276.

EKLER

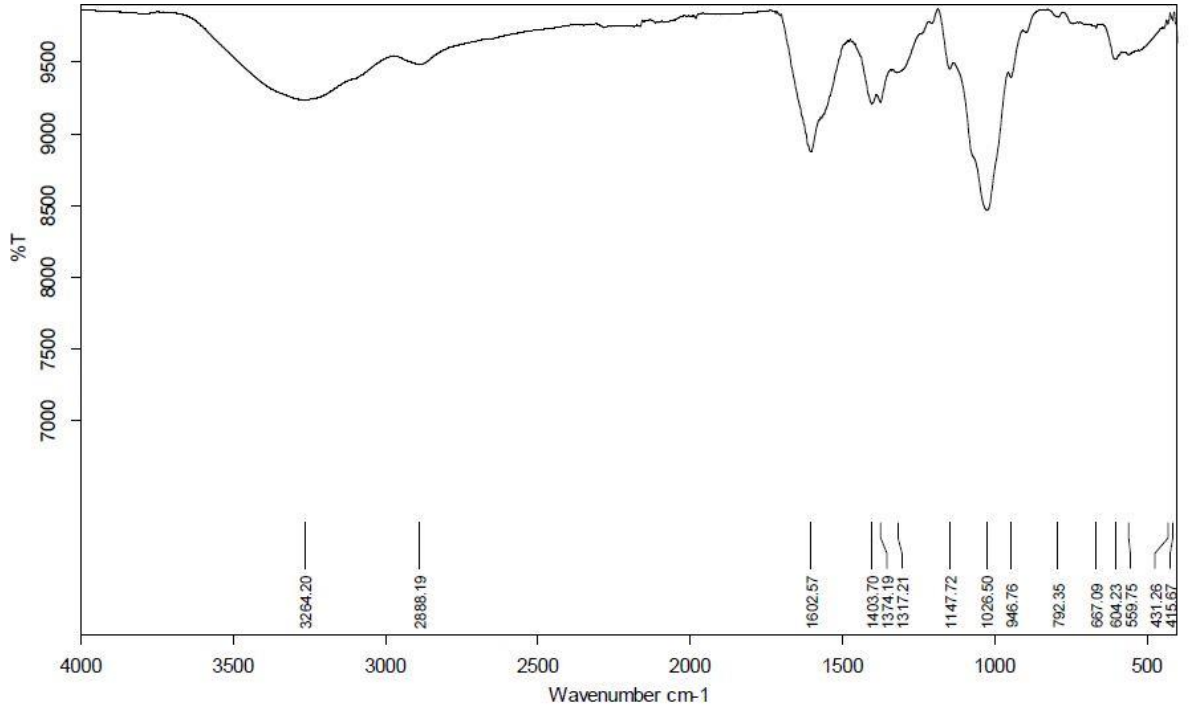
EK 1 – Fourier Transform Kızıl Ötesi Spektrumları



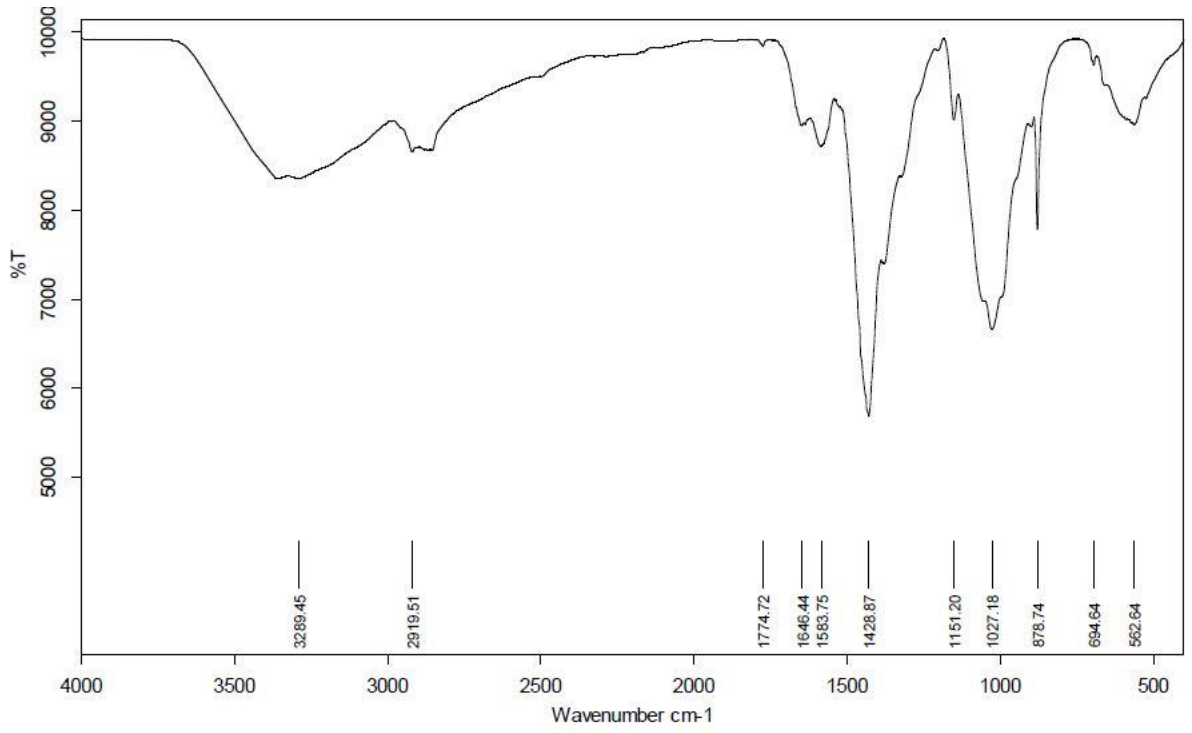
Şekil 4. 28. CH filmine ait FTIR spektrumu



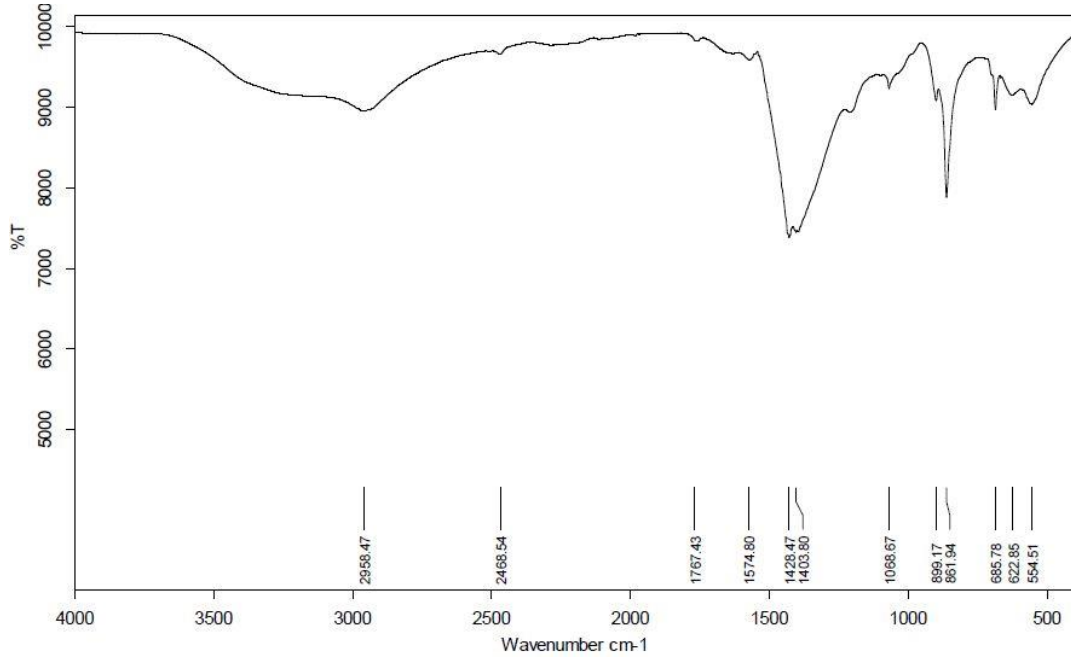
Şekil 4. 29. Q örneğine ait FTIR spektrumu



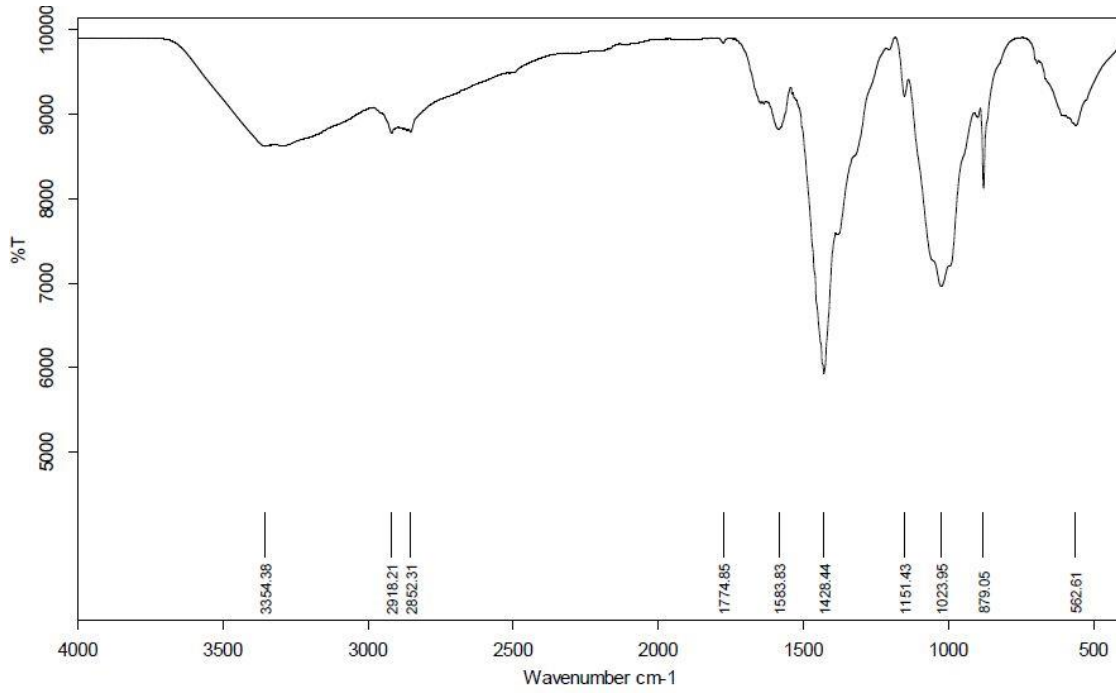
Şekil 4. 30. HA örneğine ait FTIR spektrumu



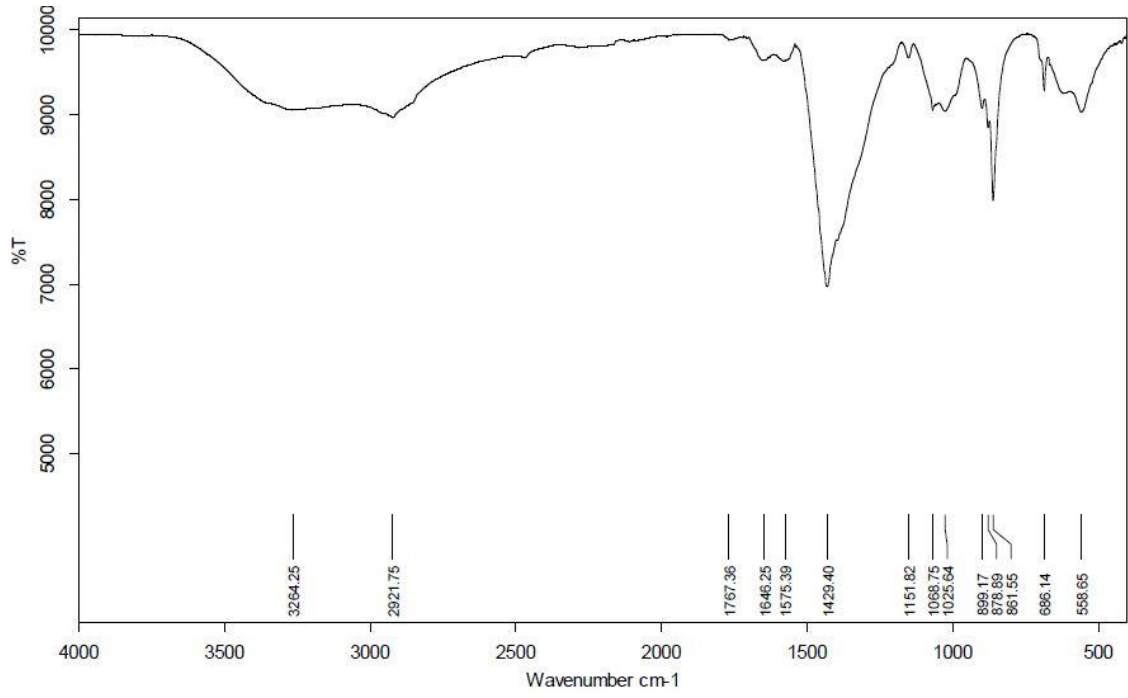
Şekil 4. 31. CH-Q10 filmine ait FTIR spektrumu



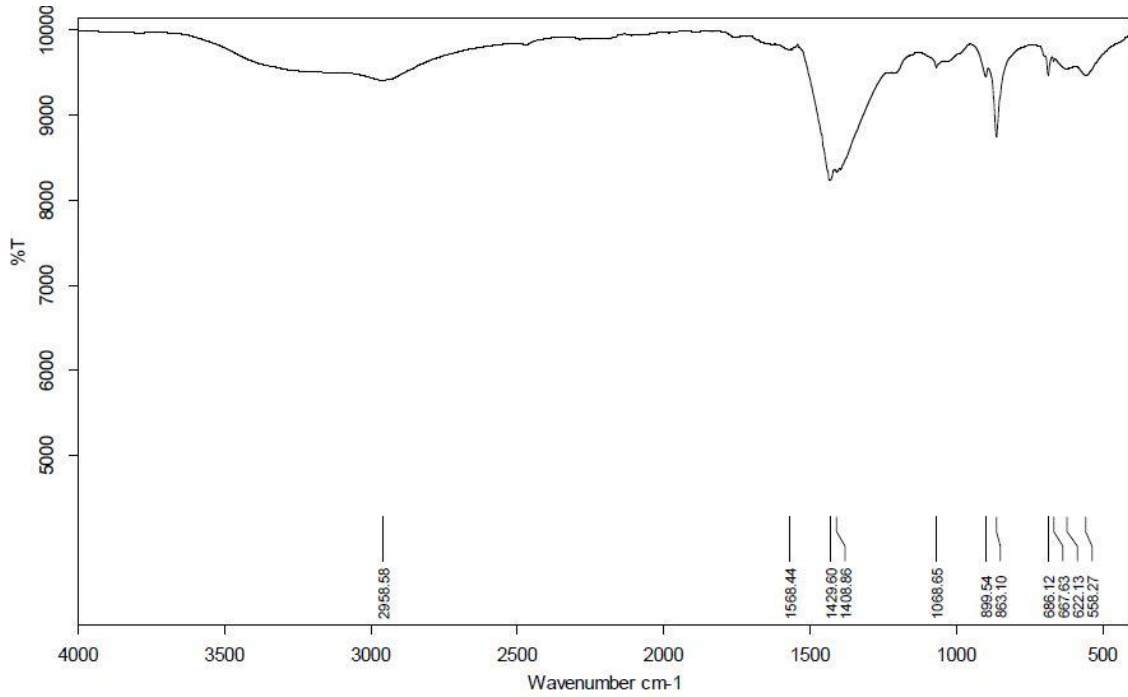
Şekil 4. 32. CH-Q20 filmine ait FTIR spektrumu



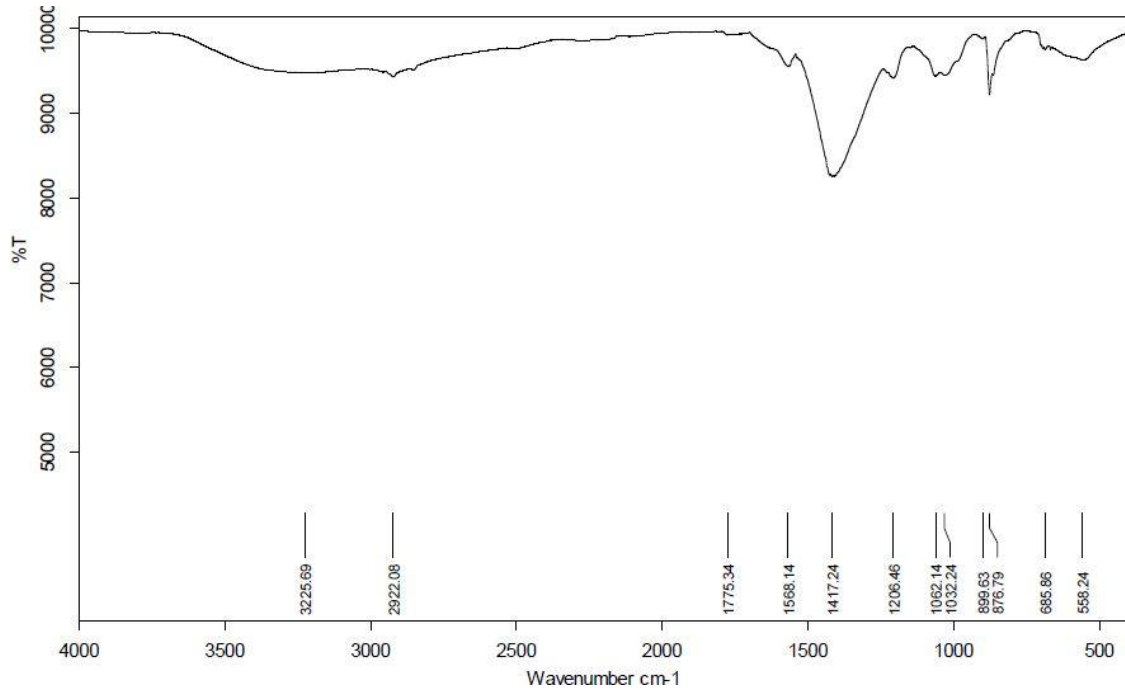
Şekil 4. 33. CH-Q30 filmine ait FTIR spektrumu



Şekil 4. 34. CH-Q10-HA filmine ait FTIR spektrumu

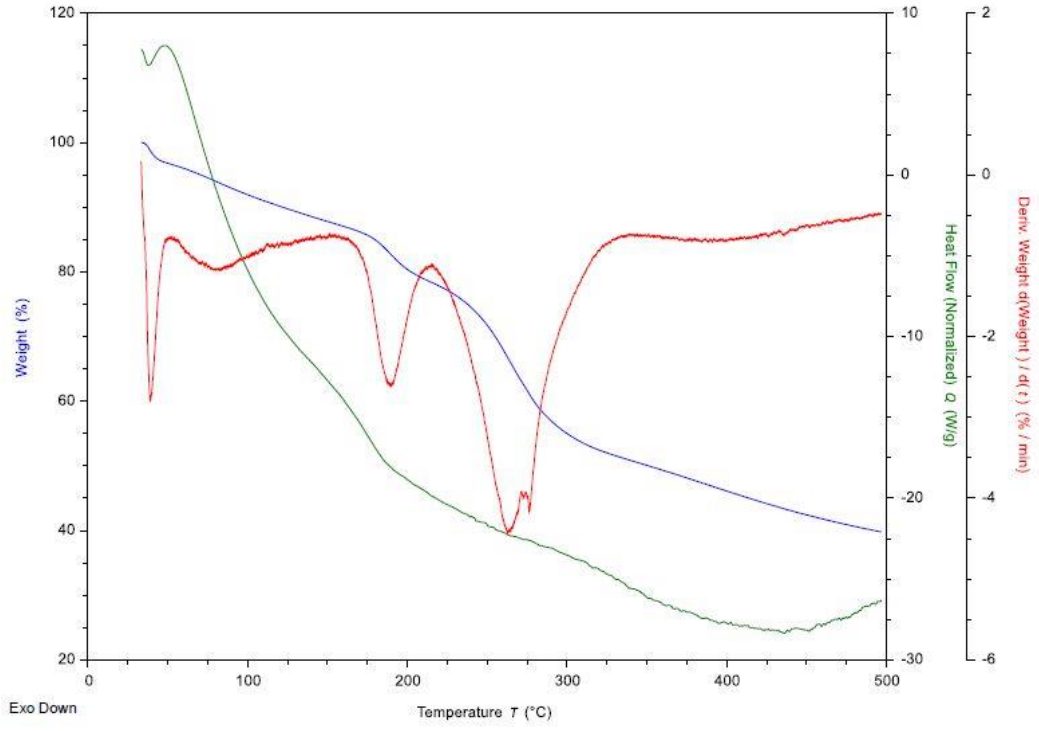


Şekil 4. 35. CH-Q20-HA filmine ait FTIR spektrumu

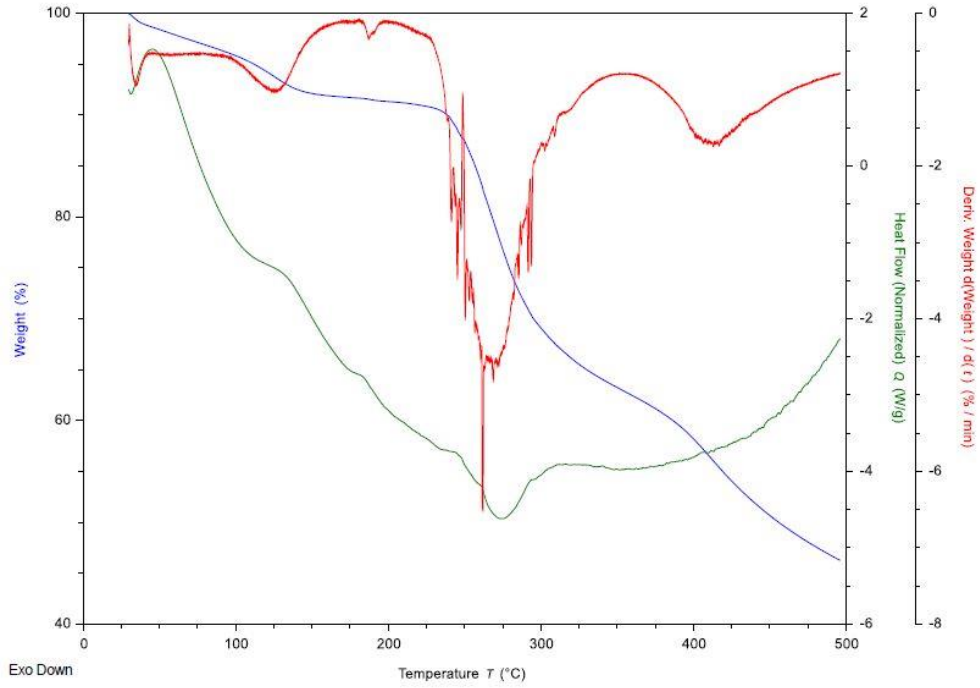


Şekil 4. 36. CH-Q30-HA filmine ait FTIR spektrumu

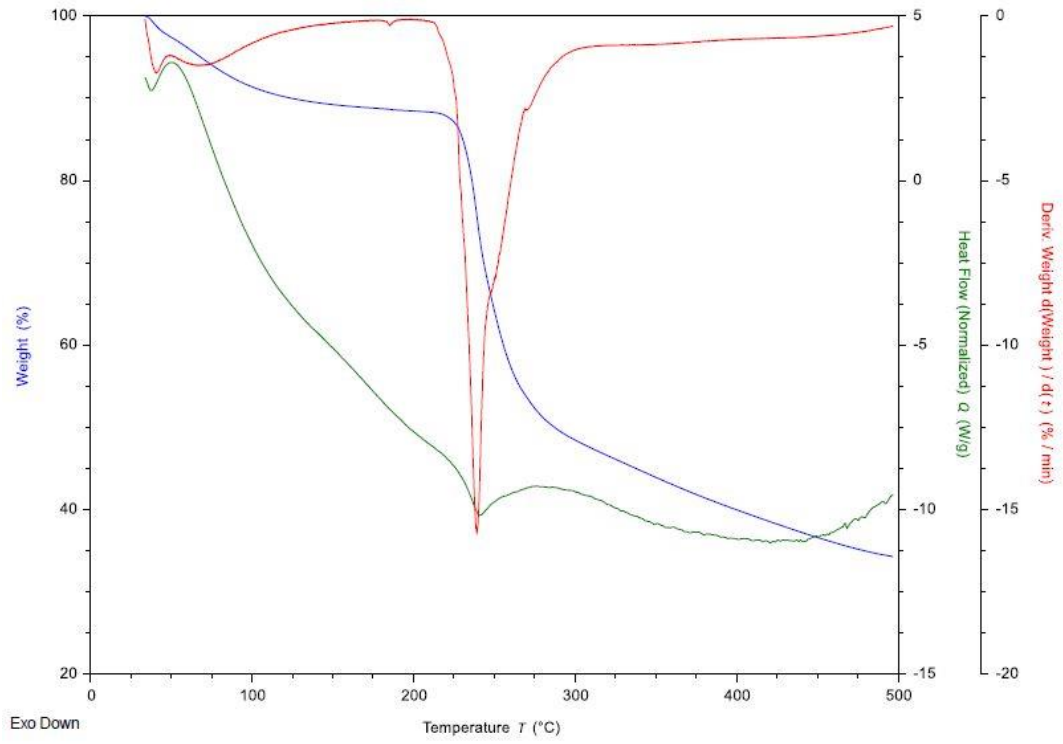
EK 2 – Termogravimetrik Analiz ve Diferansiyel Taramalı Kalorimetre Termogramları



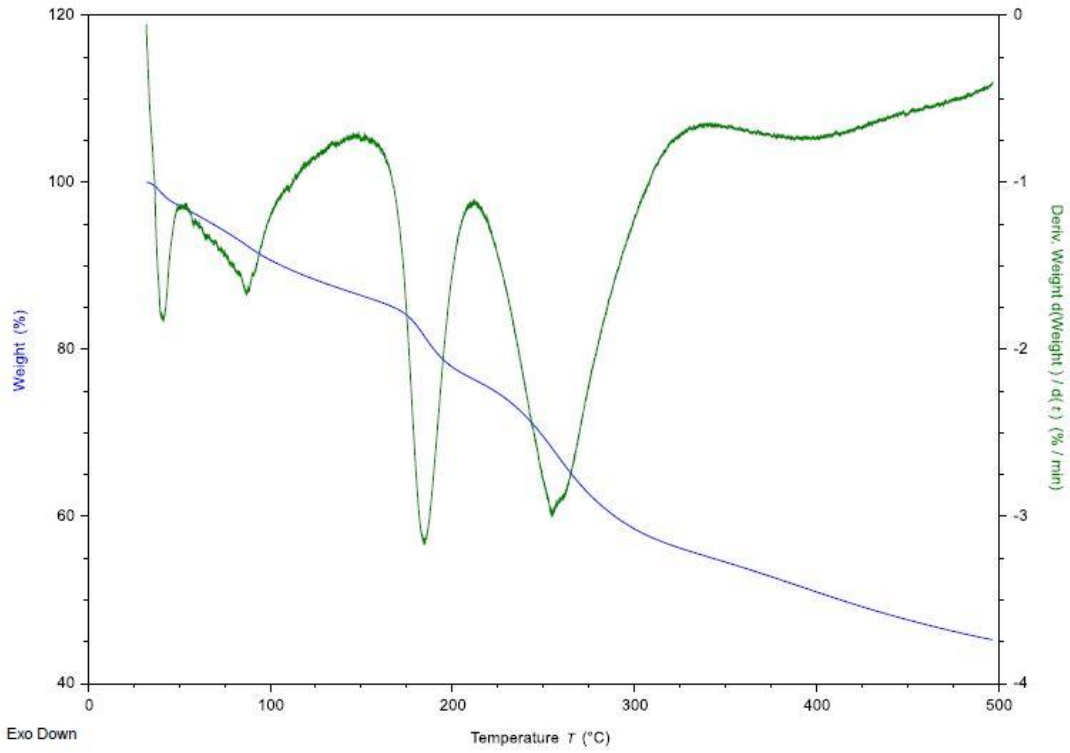
Şekil 4. 37. CH filmine ait TGA ve DSC termogramları



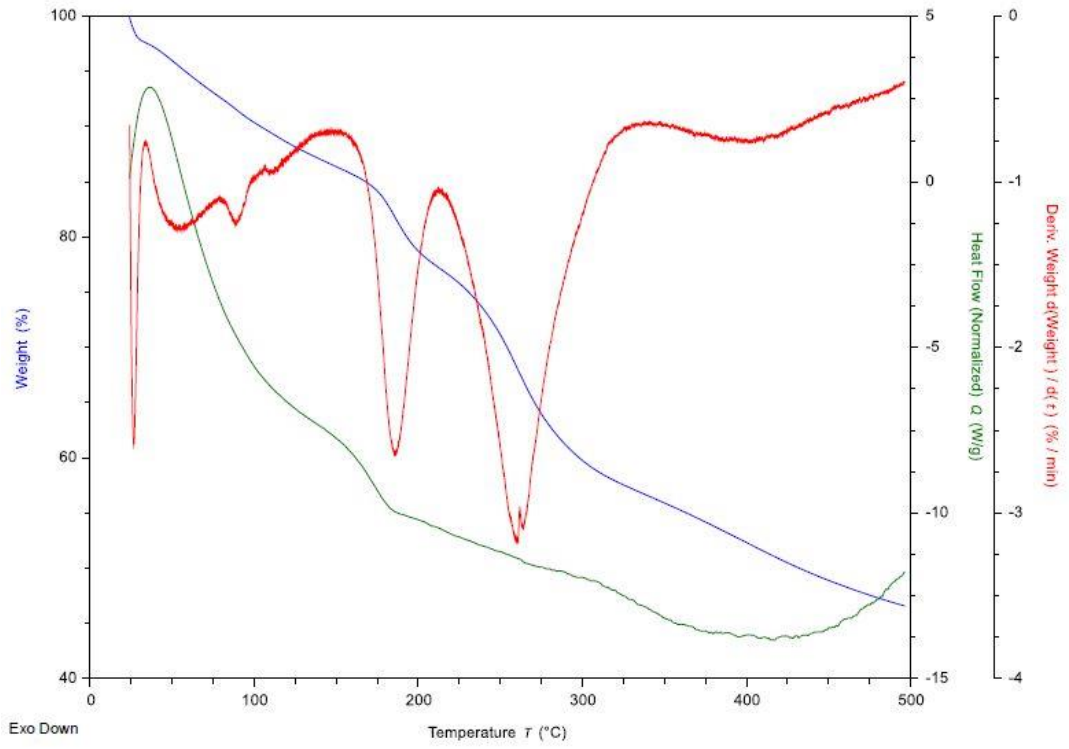
Şekil 4. 38. Q örneğine ait TGA ve DSC termogramı



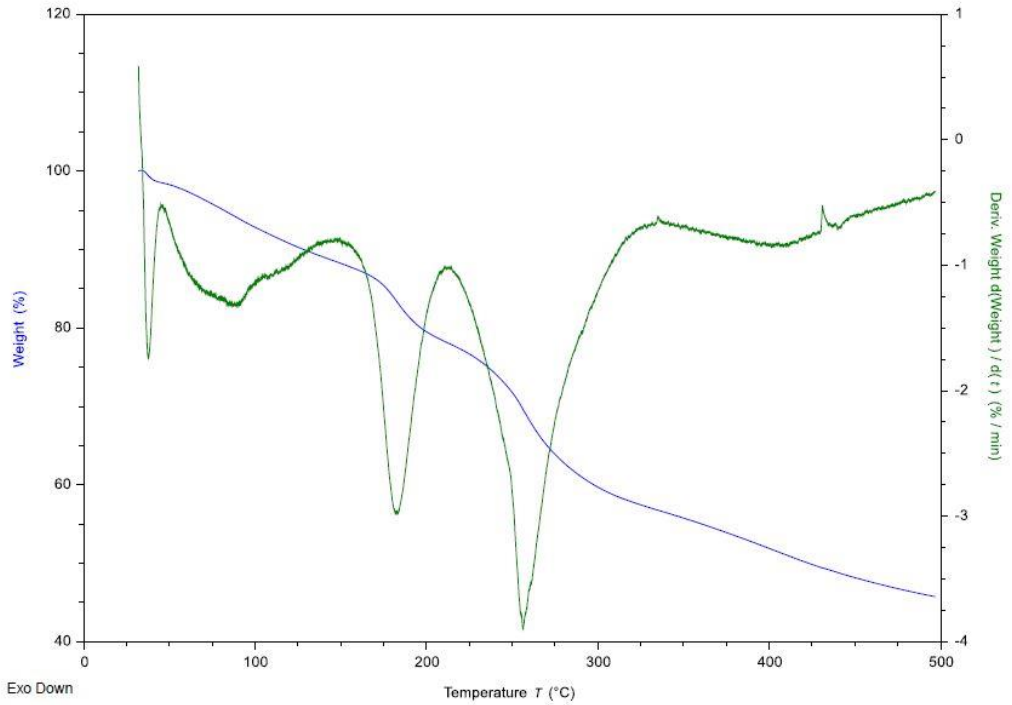
Şekil 4. 39. HA örneğine ait TGA ve DSC termogramı



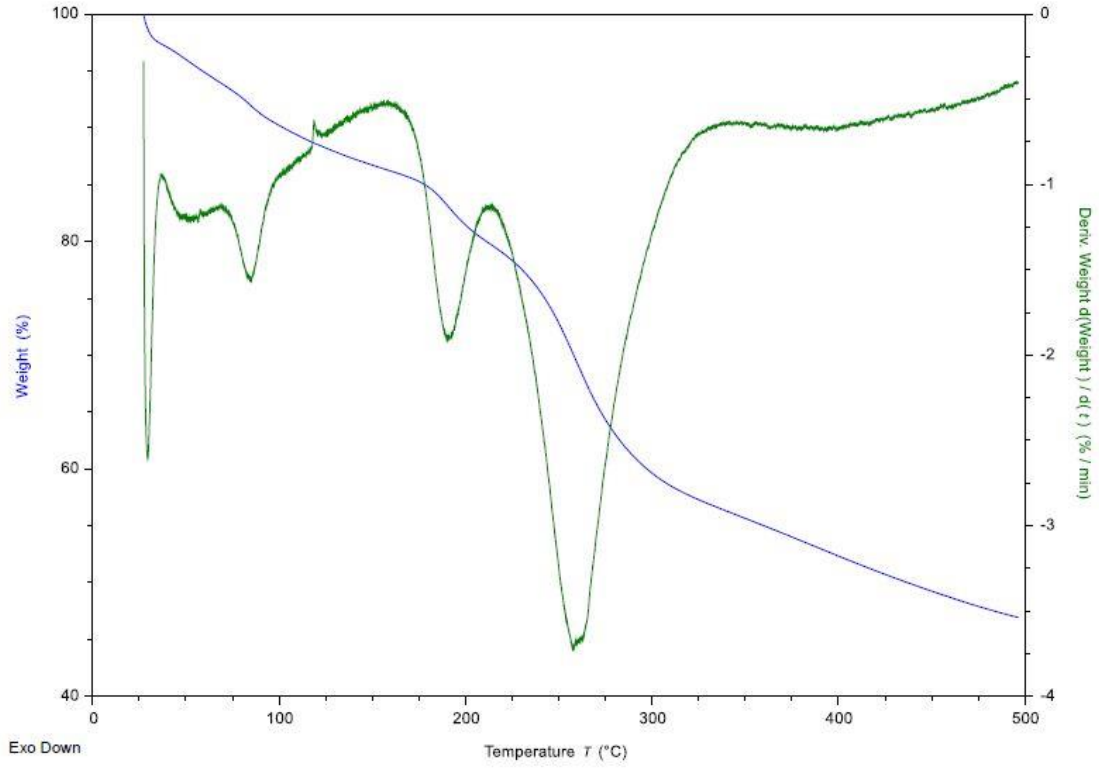
Şekil 4. 40. CH-Q10 filmine ait TGA termogramı



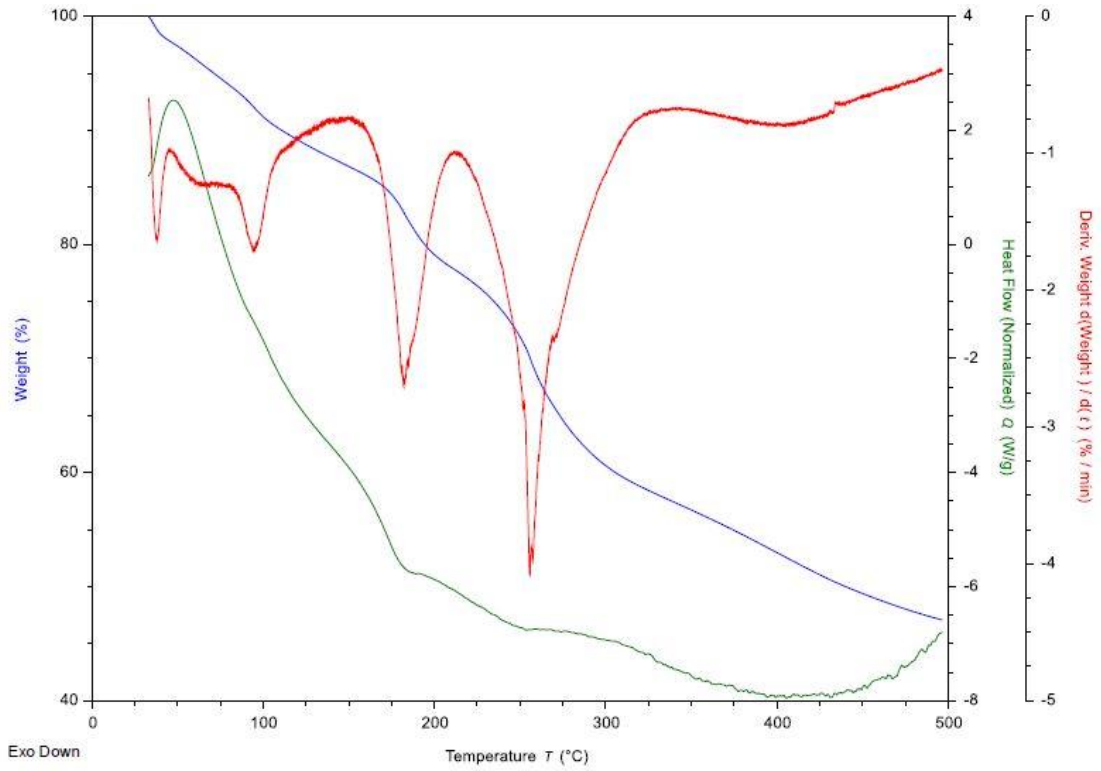
Şekil 4. 41. CH-Q20 filmine ait TGA ve DSC termogramları



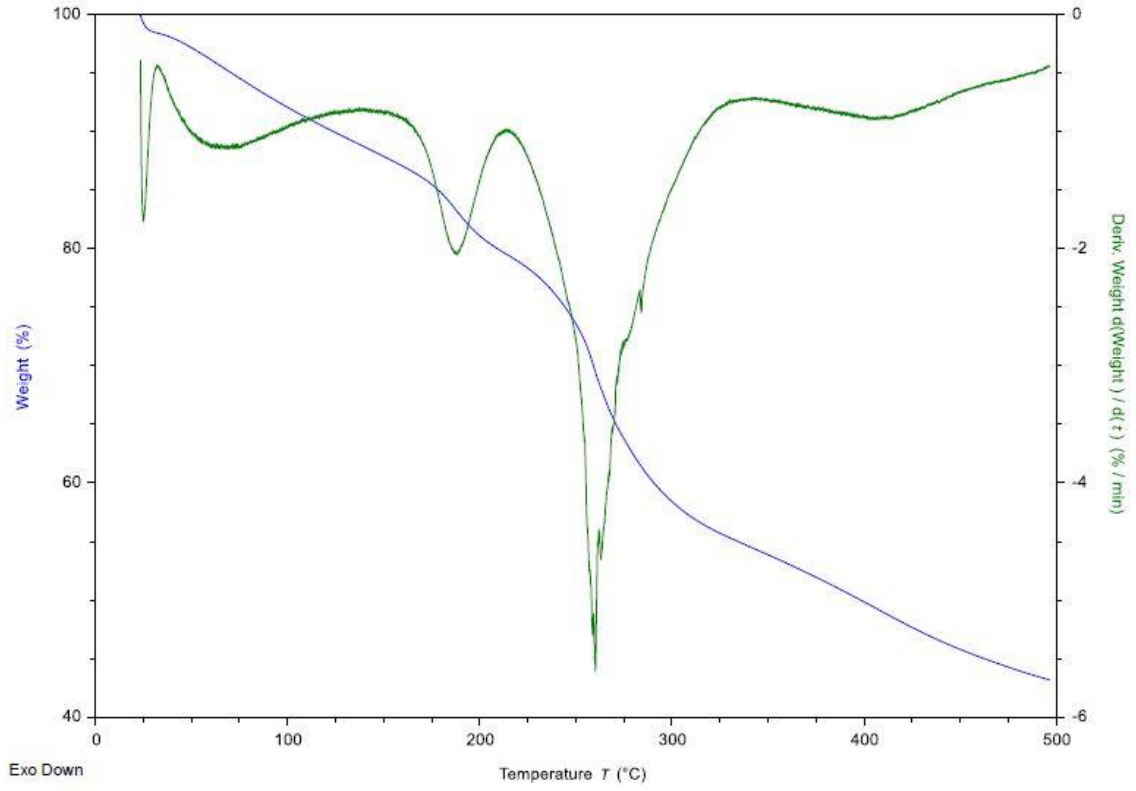
Şekil 4. 42. CH-Q30 filmine ait TGA termogramı



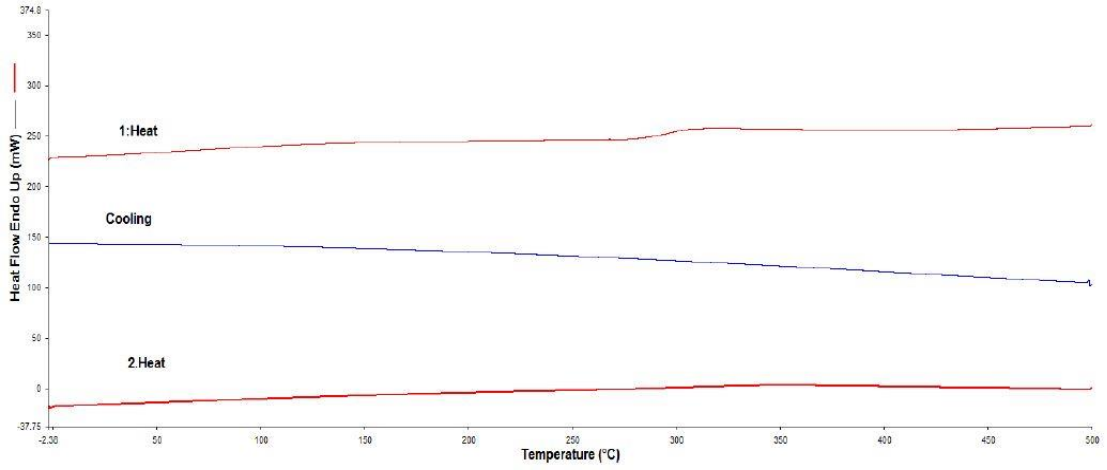
Şekil 4. 43. CH-Q10-HA filmine ait TGA termogramı



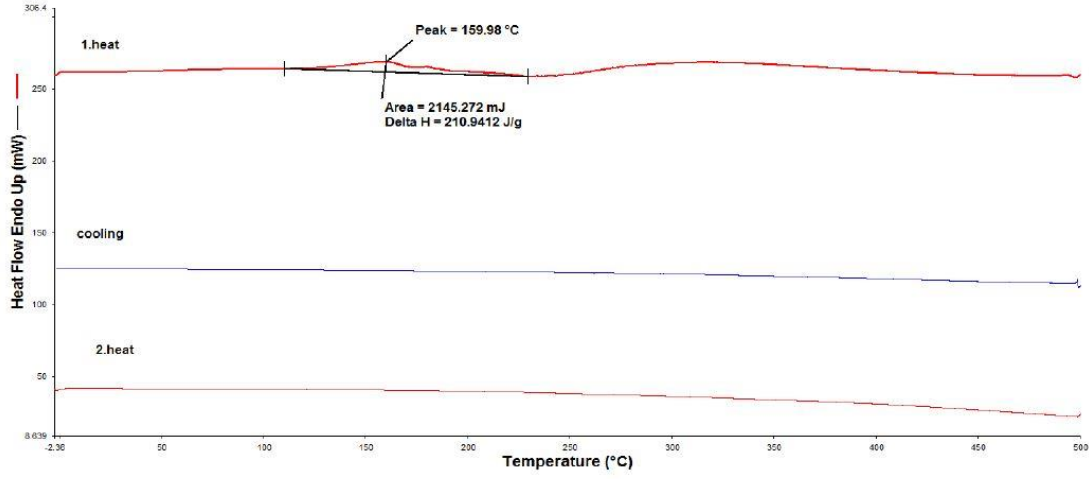
Şekil 4. 44. CH-Q20-HA filmine ait TGA ve DSC termogramı



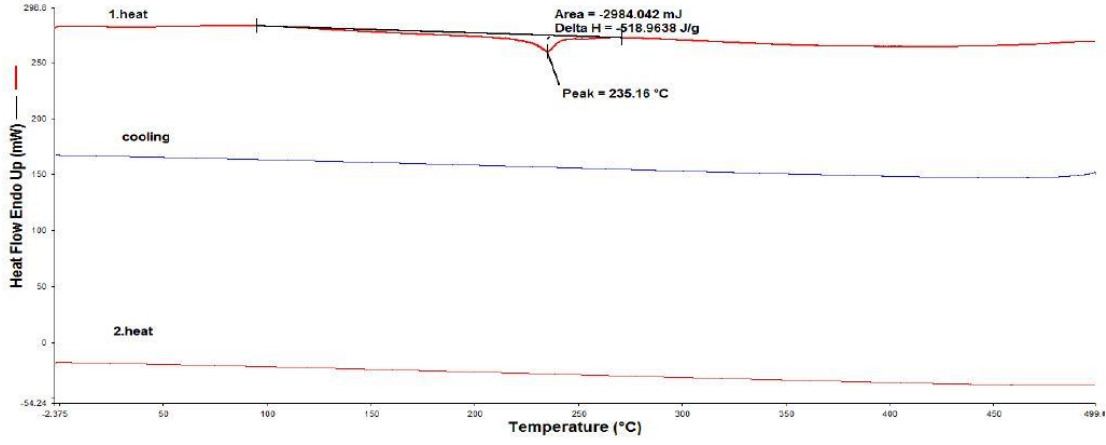
Şekil 4. 45. CH-Q30-HA filmine ait TGA termogramı



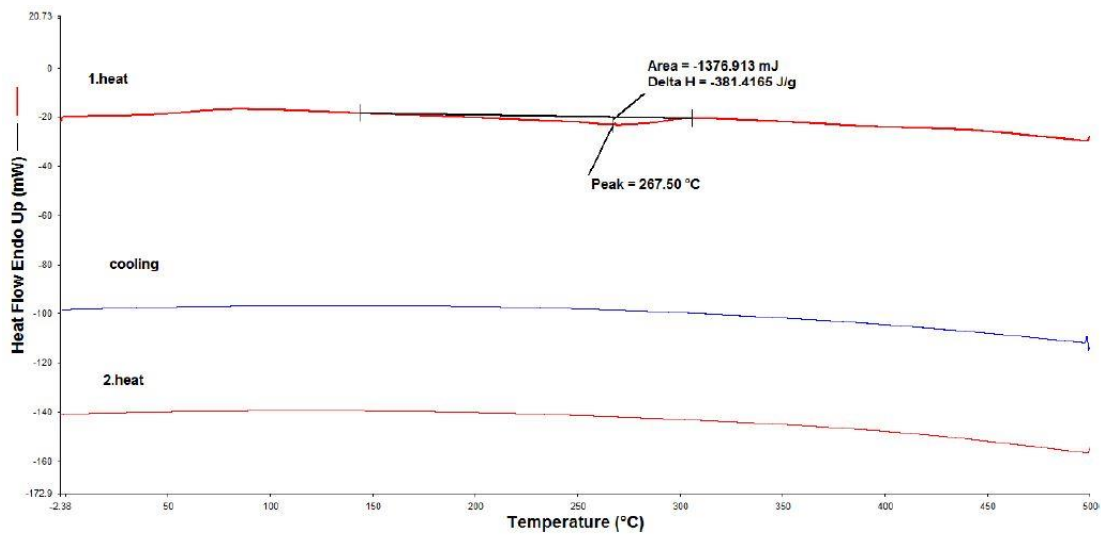
Şekil 4. 46. CH filmine ait DSC termogramı



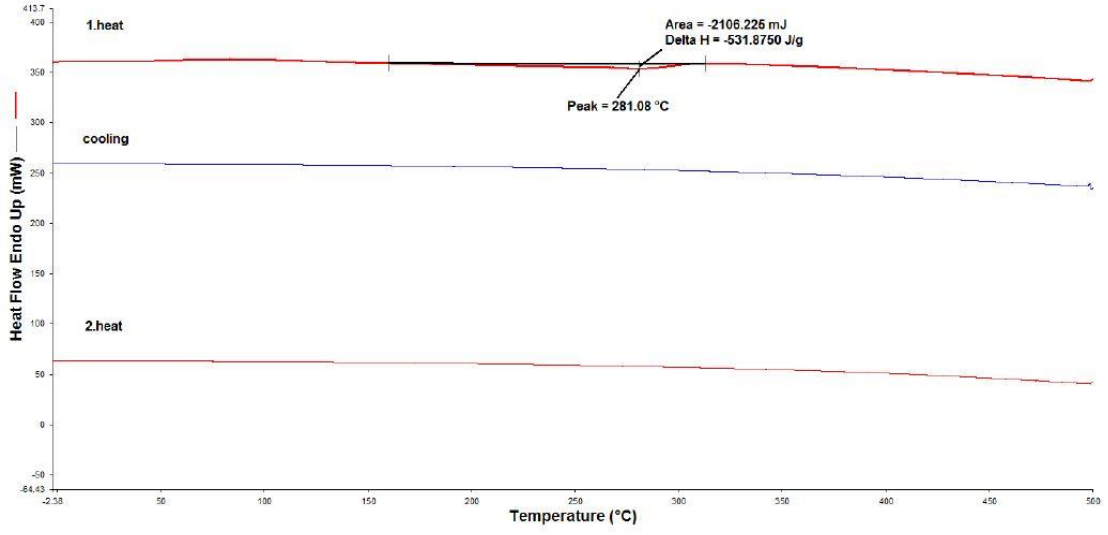
Şekil 4. 47. Q örneğine ait DSC termogramı



Şekil 4. 48. HA örneğine ait DSC termogramı

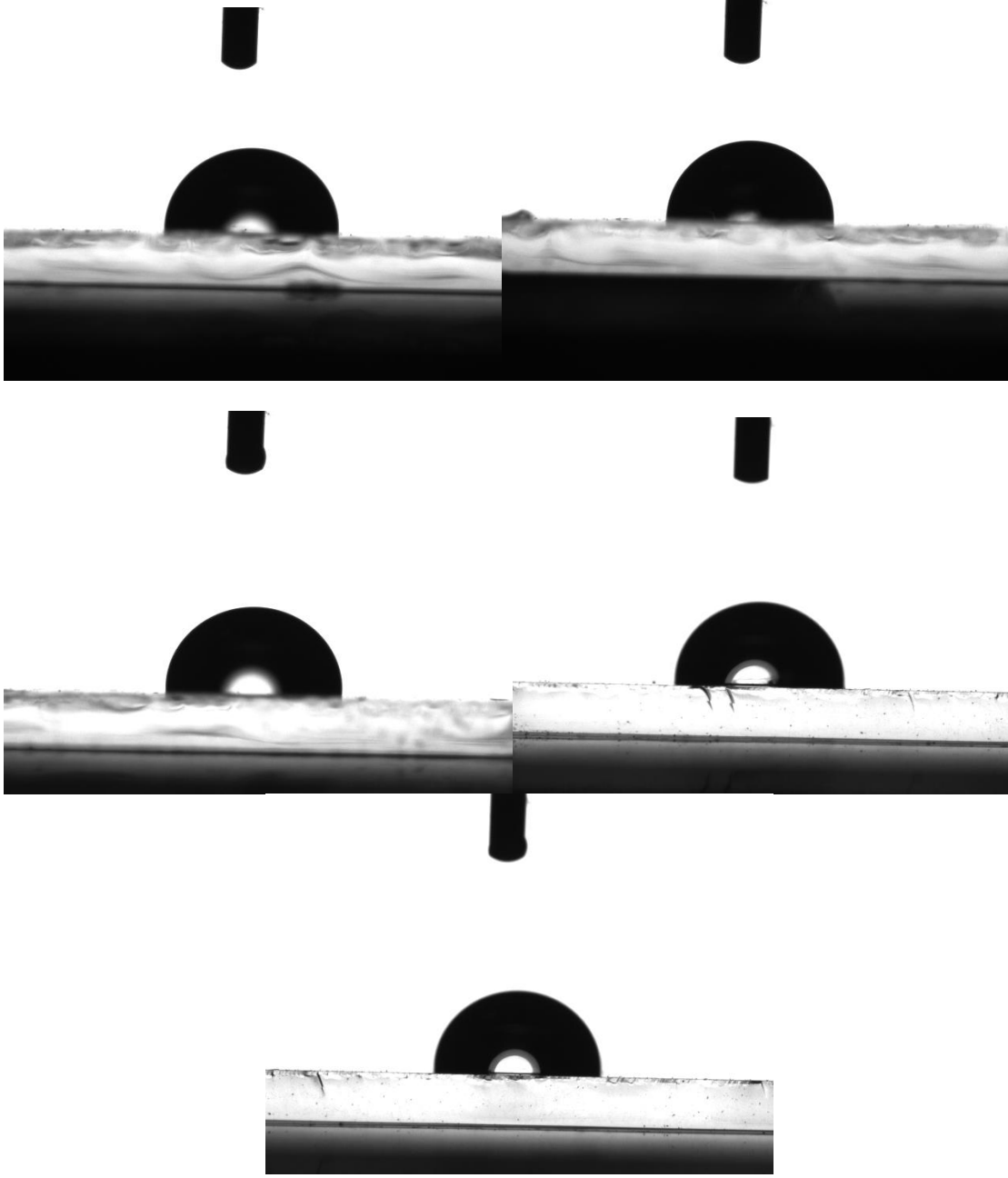


Şekil 4. 49. CH-Q20 filmine ait DSC termogramı

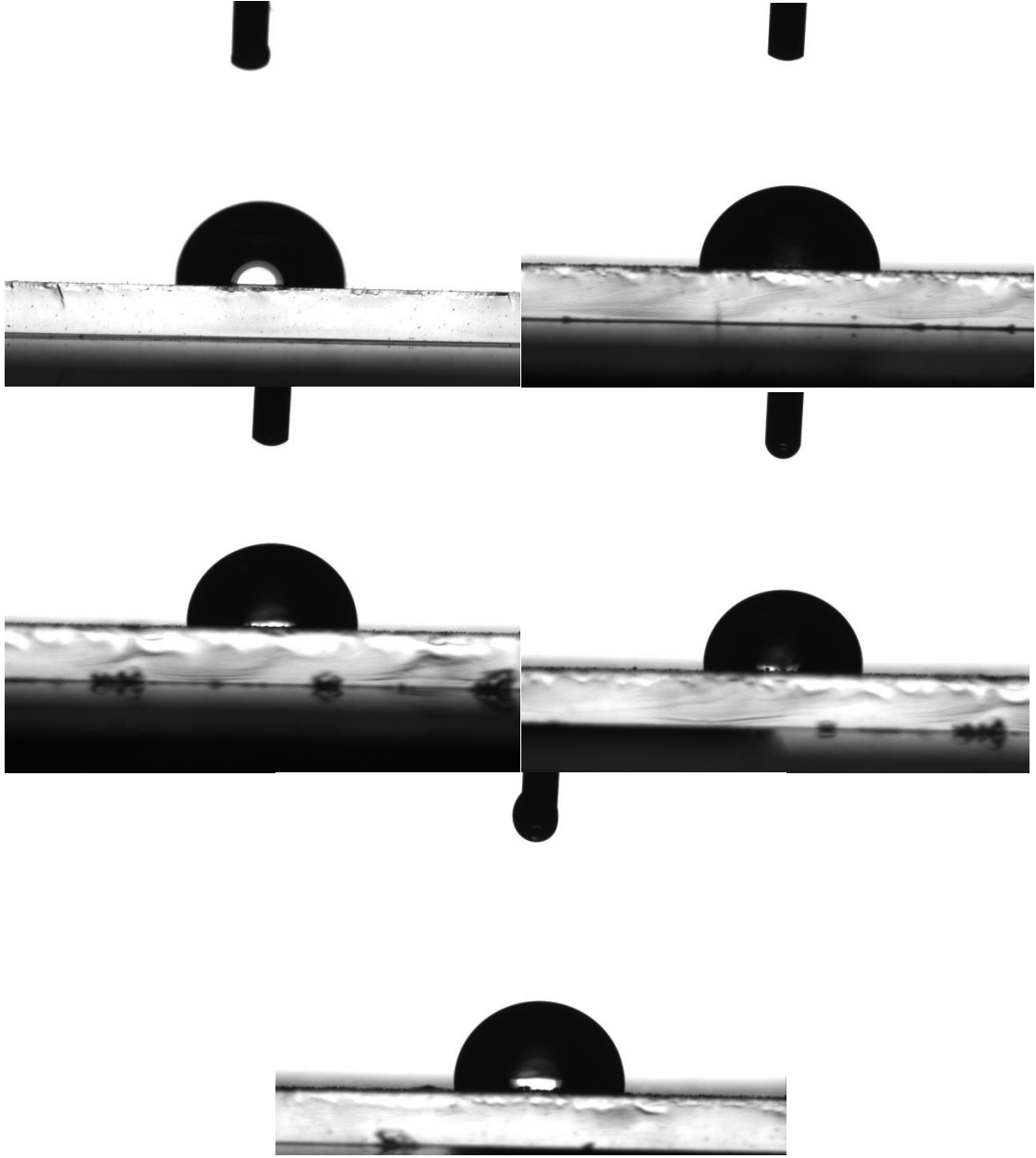


Şekil 4. 50. CH-Q20-HA filmine ait DSC termogramı

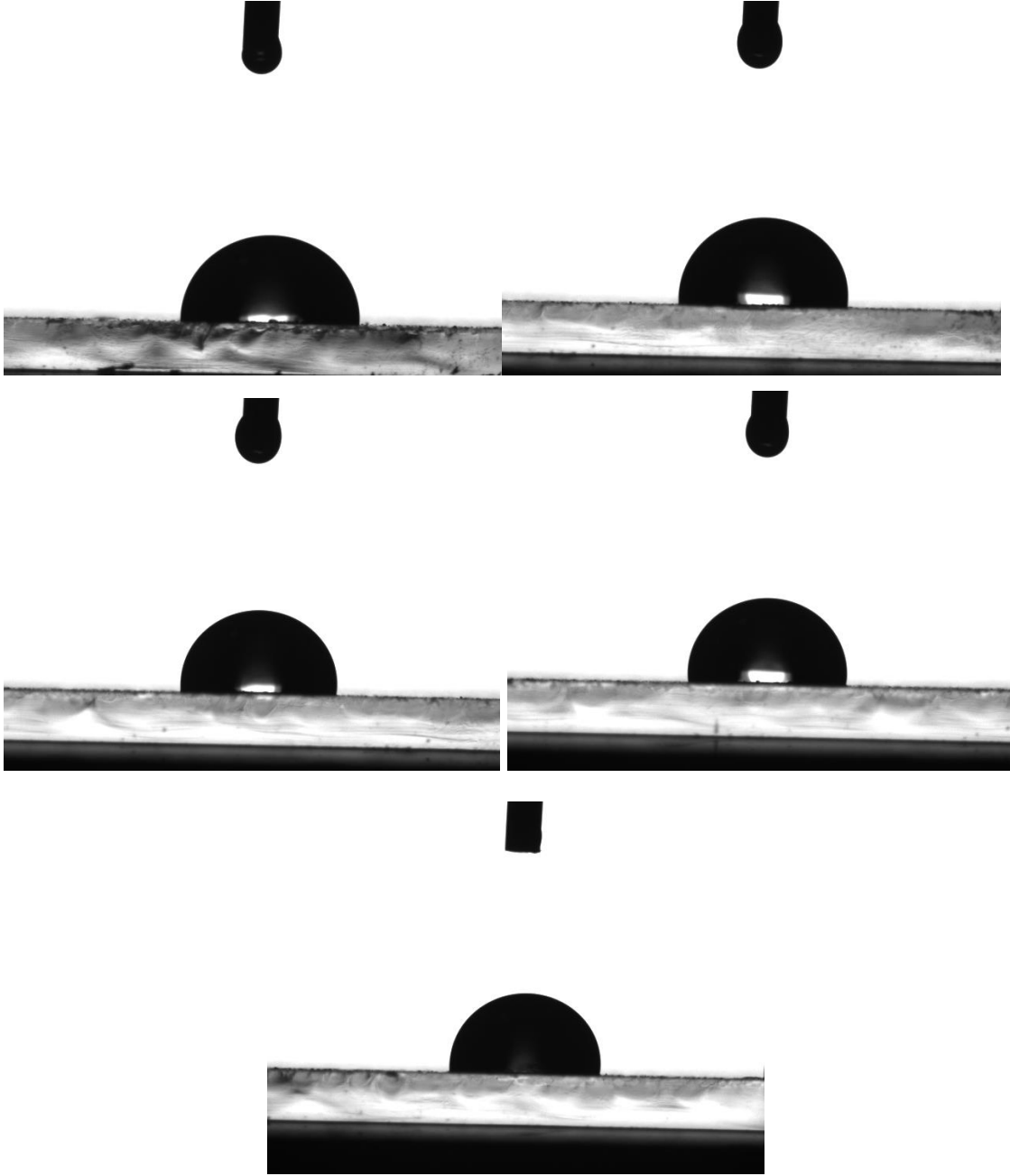
EK 3 – Su Temas Açısı Görüntüleri



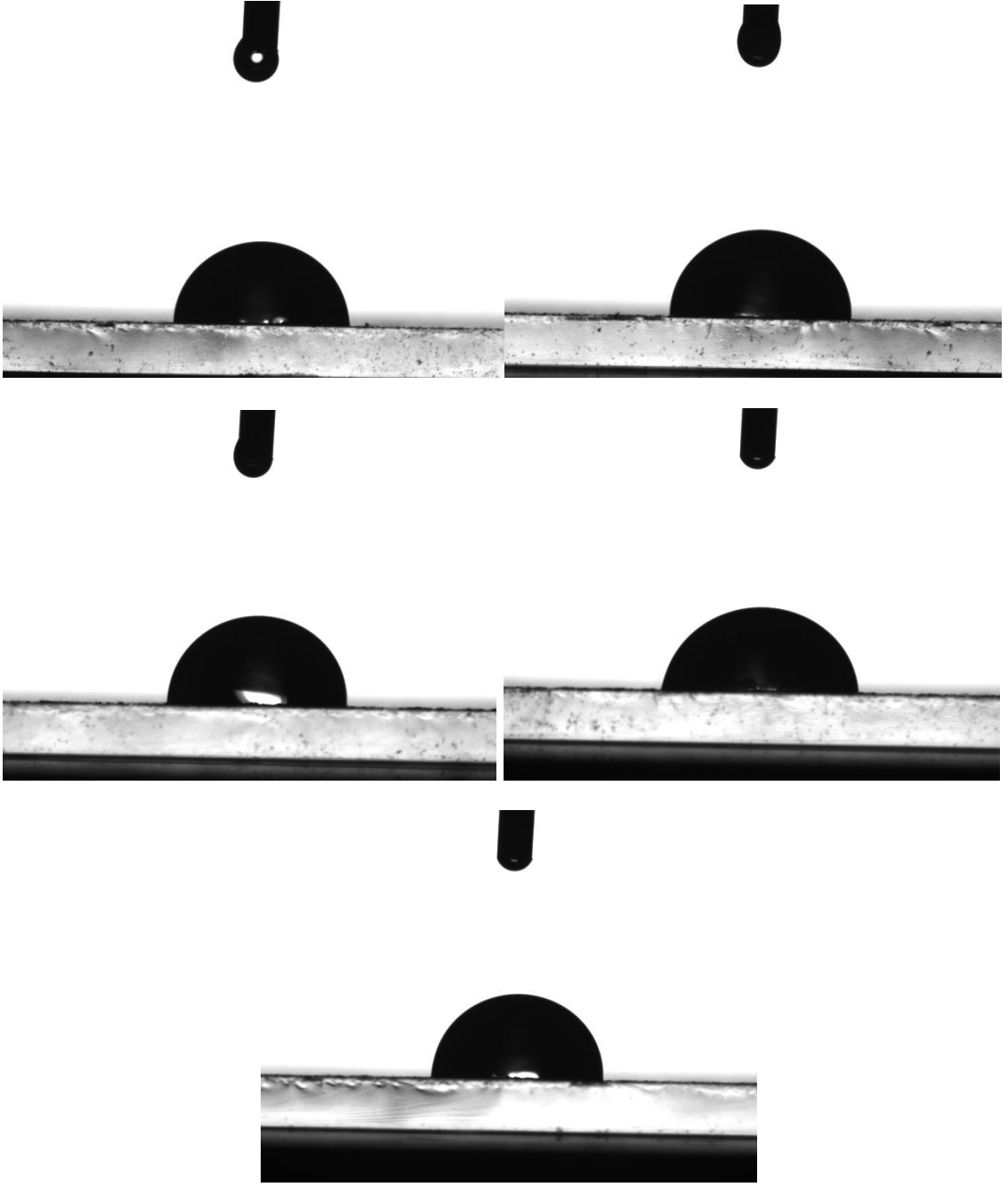
Şekil 4. 51. CH örneğine ait su temas açısı görüntüleri



Şekil 4. 52. CH-Q10-HA örneğine ait su temas açısı görüntüleri

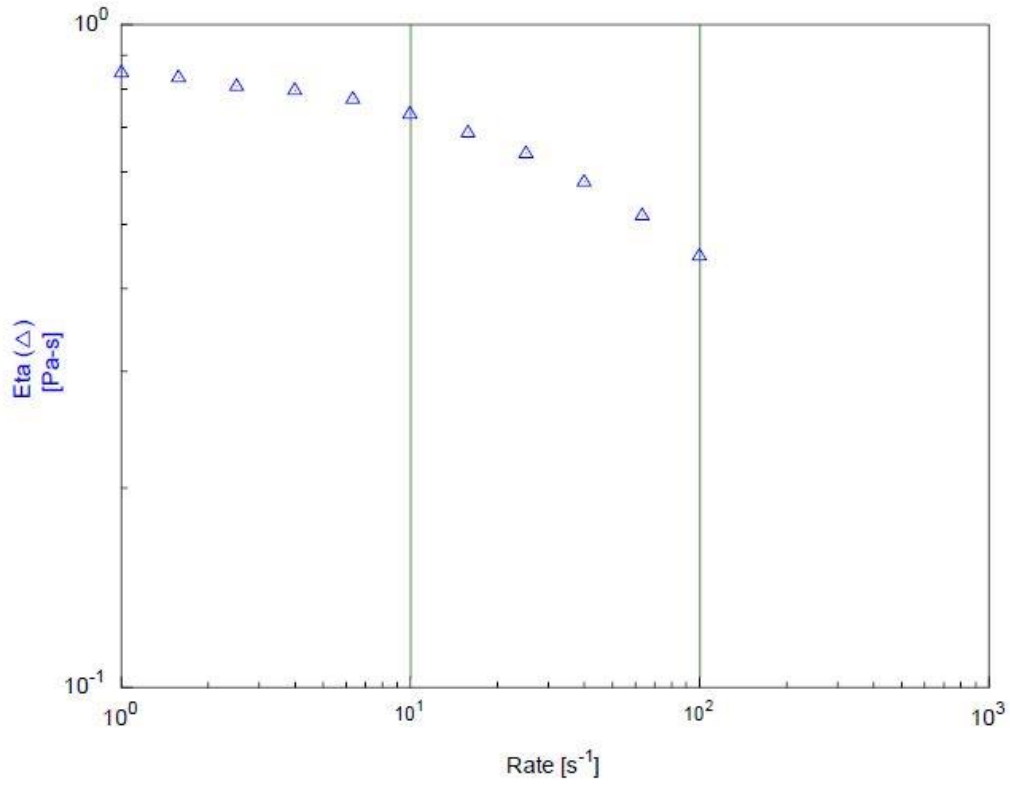


Şekil 4. 53. CH-Q20-HA örneğine ait su temas açısı görüntüleri

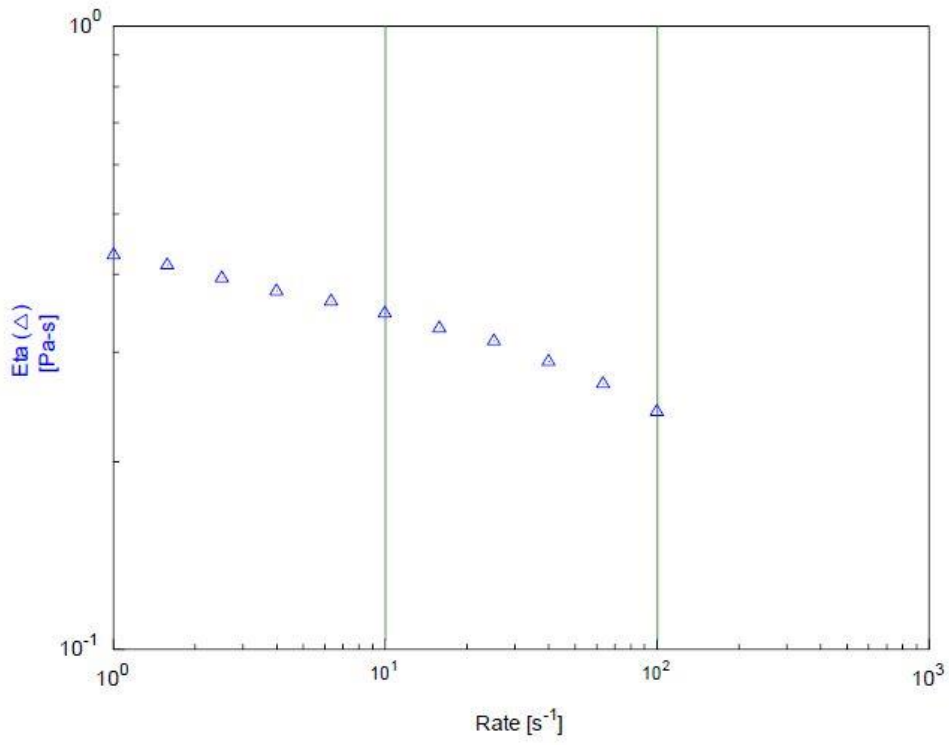


Şekil 4. 54. CH-Q30-HA örneğine ait su temas açısı görüntüleri

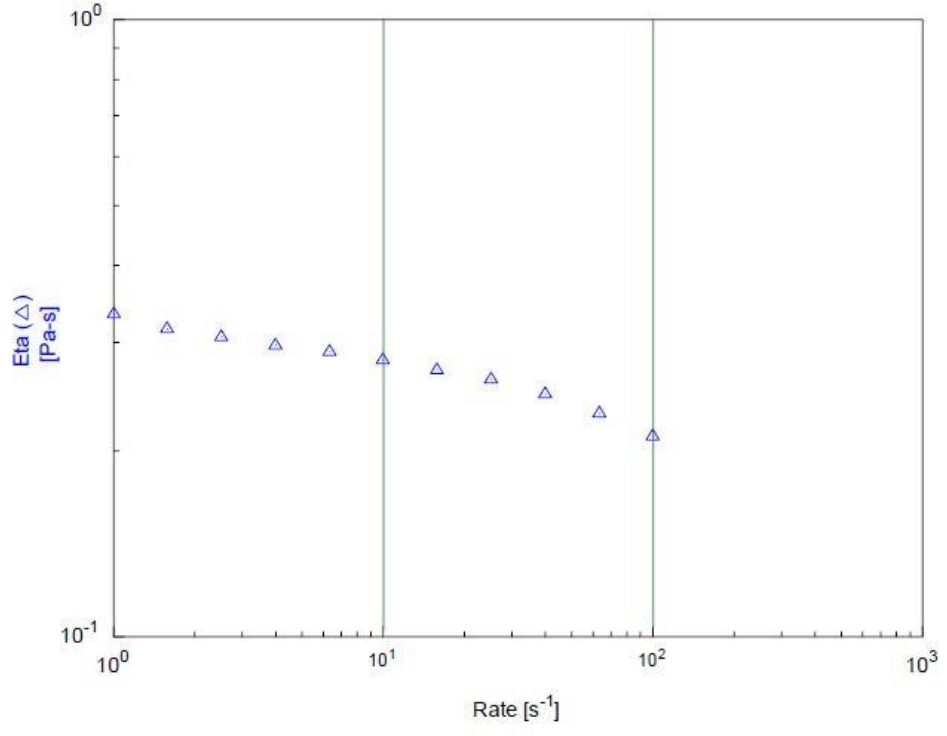
EK 4 – Reoloji Grafikleri



Şekil 4. 55. CH örneğine ait viskozite grafiği



Şekil 4. 56. CH-Q10 örneğine ait viskozite grafiği



Şekil 4. 57. CH-Q10-HA örneğine ait viskozite grafiği