

**KİTOSAN ÜZERİNE TARAK TİPİ AŞILANMIŞ
POLİ(N,N- DİMETİLAKRİLAMİT) VE
POLİ(AKRİLAMİT) HİDROJELLERİNİN HAZIRLANMASI VE
DNA ADSORPSİYONUNDA KULLANIMI**

Burcu BAŞER

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**Şubat 2007
ANKARA**

Burcu BAŞER tarafından hazırlanan KİTOSAN ÜZERİNE TARAK TİPİ AŞILANMIŞ POLİ(N,N-DİMETİLAKERİLAMİT) VE POLİ(AKRİLAMİT) HİDROJELLERİNİN HAZIRLANMASI VE DNA ADSORPSİYONUNDA KULLANIMI adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Baki ERDOĞAN
Tez Yöneticisi

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Bekir SALİH

Üye : Prof. Dr. Baki ERDOĞAN

Üye : Prof. Dr. Leyla AÇIK

Üye : Doç. Dr. Nursel PEKEL

Üye :Doç. Dr. Tuncer ÇAYKARA

Tarih : 08/02/2007

Bu tez, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygundur.

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Burcu Başer

**KİTOSAN ÜZERİNE TARAK TİPİ AŞILANMIŞ
POLİ(N,N- DİMETİLAKRİLAMİT) VE
POLİ(AKRİLAMİT) HİDROJELLERİNİN HAZIRLANMASI VE
DNA ADSORPSİYONUNDA KULLANIMI
(Yüksek Lisans Tezi)**

Burcu BAŞER

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Şubat 2007**

ÖZET

Bu çalışmada, çapraz bağlı kitosan ağyapısı üzerine tarak tipi aşılanmış Poli(N,N- dimetil akrilamit) ve poli(akrilamit) hidrojelleri hazırlanmıştır. Karboksilik asit uç gruplu polimerler, merkaptasetik asit zincir transfer ajanı yardımıyla radikal polimerizasyonu ile sentezlenmiştir. PDMA ve PAAm ve aşılanmış hidrojellerin yapısı Attenuated Total Reflectance Fourier transform infrared spektroskopisi (ATR-FT-IR) ile doğrulanmış ve yüzey morfolojileri Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM) kullanılarak belirlenmiştir. Ayrıca aşılanmış hidrojellerin yüzey enerji bileşenleri; değme açısı ölçümleri kullanılarak hesaplanmıştır. Aşılanmış hidrojellerin yüzey enerjilerinin, çapraz bağlı kitosandan daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Hazırlanan hidrojellerin sıcaklık ve pH değişimine bağlı şişme davranışları incelenerek; jellerin düşük sıcaklık ve pH'larda yüksek şişme oranlarına sahip olduğu gözlenmiştir.

Tarak tipi aşılanmış hidrojeller DNA adsorpsiyonu için destek materyali olarak kullanılmıştır. Hidrojellerin 4 °C ve 37 °C' deki DNA adsorpsiyon kapasiteleri, aşılama miktarına, zamana ve DNA derişimine bağlı olarak incelenmiştir. DMA ve AAm aşılama miktarı fazla olan

hidrojellerin DNA adsorpsiyon kapasitesinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Çalışılan bütün şartlarda en yüksek DNA adsorpsiyon kapasitesi 37 °C’ de elde edilmiştir. Hazırlanan tarak tipi hidrojellerin biyomedikal uygulamalar için tekrar kullanılabilirliğinin belirlenmesi amacıyla adsorplanan DNA’nın salımı incelenmiştir.

Bilim Kodu	: 201.1.117
Anahtar Kelimeler	: DNA adsorpsiyon, kitosan, Tarak tipi aşılama, Poli(<i>N,N</i> -dimetilakril amit), poli(akrilamit)
Sayfa Adedi	: 97
Tez Yöneticisi	: Prof. Dr. Baki ERDOĞAN

**PREPERATION OF POLY (N, N- DIMETHLYACRYLAMIDE) AND
POLY (ACRYLAMIDE) GRAFTED CHITOSAN HYDROGELS
AND THEIR USE FOR DNA ADSORPTION
(M. Sc. Thesis)**

Burcu BAŞER

**GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
February 2007**

ABSTRACT

In this study, comb-type graft hydrogels composed of crosslinked chitosan network and grafted poly(N, N-dimethlyacrylamide) or poly(acrylamide) were prepared. Semitelechelic polymers with carboxylic acid end group were synthesized by free radical polymerization technique using mercaptoacetic acid as the chain transfer agent. The structure of the telechelic polymers and grafted hydrogels was confirmed by Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FT-IR). Surface morphplogy of the hydrogels was examined by Scanning Electron Microscopy (SEM). In additon, surface energy components of these hydrogels were also calculated by contact angle measurements. It was observed that the grafted hydrogels have higher surface energies than that of crosslinked chitosan networks. Swelling behaviors of the hydrogels were investigated as a function of pH and temperature. It was observed that all the hydrogels have highest swelling ratios at low temperature and pH's.

Comb-type grafted hydrogels were used as sorbents for DNA adsorption. DNA adsorption capacities of the hydrogels were

determined against the amount of grafting, time and DNA concentration at 4 °C and 37 °C. The hydrogels with higher amount of DMA and AAm exhibited higher equilibrium DNA adsorption capacity. The maximum adsorption capacities of these hydrogels were observed at 37 °C in all conditions. DNA release characteristics were studied to observe if the hydrogels could reuse for biomedical applications.

Science Code	: 201.1.117
Key Words	:DNA adsorption, chitosan, Comb type grafted, poly(acrylamide), poly(N,N-dimethylacrylamide)
Page Number	: 97
Adviser	: Prof. Dr. Baki ERDOĞAN

TEŞEKKÜR

Bütün yüksek lisans çalışmam boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım danışman hocam Prof. Dr. Baki ERDOĞAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma konumun belirlenmesinde yardımcı olan ve çalışmalarım boyunca yakın ilgi ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Tuncer ÇAYKARA'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımın devamlılığının sağlanmasında büyük katkısı bulunan, Gazi Üniversitesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Leyla AÇIK'a ve Arş. Gör. Fatma ÖZTÜRK'e teşekkürü bir borç bilirim.

Deneylerim sırasında bilgilerini benimle paylaşan ve bana her konuda yardımcı olan Arş. Gör. Gökçen BİRLİK 'e çok teşekkür ediyorum.

Çalışmalarım süresince yönlendiren fikirleri, neşeli sohbetleri, yardımları ve her zaman yanımda oldukları için, Eylem TURAN'a, Ayşe Gül UYSAL'a, Serkan DEMİRCİ'ye, Uzman Ferat ŞAHİN'e ve Rüya ARSLAN'a çok teşekkürler.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xiii
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xiv
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR	xviii
1. GİRİŞ	1
2. KİTOSAN	5
2.1. Kitosanın Kullanım Alanları	7
3. DNA	9
3.1. DNA'nın Yapısı	10
3.2. DNA İmmobilizasyonunda Kullanılan Taşıyıcılar	18
3.3. DNA'nın Biyomedikal Önemi	19
3.3.1. DNA ve genetik hastalıklar	19
3.3.2. DNA ve kanser	19
3.3.3. DNA ve adli tıp	20
4. DEĞME AÇISI TEORİ VE HESAPLAMALARI	21
4.1. Fowkes	23
4.2. OWRK	25
4.3. Van Oss & Good'a Göre Asit-Baz Yöntemi	26

Sayfa

5. DENEYSEL KISIM	30
5.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	30
5.2. Hidrojellerin Hazırlanması	33
5.2.1. PDMA aşılانmış kitosan hidrojellerinin hazırlanması	33
5.2.2. PAAm aşılانmış kitosan hidrojellerinin hazırlanması	33
5.3. Hidrojellerin Yapısal Karakterizasyonu	34
5.3.1. Hidrojellerin Fourier Transform İnfrared (FT-IR) spektroskopisi	34
5.3.2. PDMA ve PAAm aşılانmış kitosan hidrojellerin SEM görüntüleri	34
5.3.3. PDMA ve PAAm aşılانmış kitosan hidrojellerin yüzey enerjilerinin belirlenmesi	34
5.3.4. PDMA ve PAAm aşılانmış kitosan hidrojellerin denge şişme oranına pH etkisi	35
5.3.5. PDMA ve PAAm aşılانmış kitosan hidrojellerin denge şişme oranına sıcaklık etkisi	35
5.4. PDMA ve PAAm Aşılانmış Kitosan Hidrojellerinde DNA Adsorpsiyon Kapasitesinin Belirlenmesi	36
5.4.1. PDMA ve PAAm aşılانmış kitosan hidrojellerin aşılama miktarına bağlı DNA adsorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi	36
5.4.2. PDMA ve PAAm aşılانmış kitosan hidrojellerin zamana bağlı DNA adsorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi	36
5.4.3. PDMA ve PAAm aşılانmış kitosan hidrojellerin değişen DNA derişimine göre DNA adsorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi	37
5.4.4. PDMA ve PAAm aşılانmış kitosan hidrojellerin iki farklı pH'da DNA salımı	37

Sayfa

5.5. PDMA ve PAAm Aşılanmış Kitosan Hidrojellerin DNA Adsorpsiyon İçin Tekrar Kullanılabilirliği	37
6. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	38
6.1. Kitosan Üzerine Tarak Tipi Aşılanmış PDMA Hidrojellerinin Sentezi	38
6.2. PAAm Aşılanmış Kitosan Hidrojellerin Yapısal Karakterizasyonu	42
6.2.1. Fourier Transform Infrared (FT–IR) spektroskopisi	42
6.2.2. PAAm aşılanmış kitosan hidrojellerin SEM görüntüleri.....	46
6.2.3. PAAm aşılanmış kitosan hidrojellerin yüzey enerjilerinin belirlenmesi	47
6.2.4. PAAm aşılanmış kitosan hidrojellerin denge şişme oranına pH etkisi.....	50
6.2.5. Kitosan üzerine tarak tipi aşılanmış PAAm hidrojellerin denge şişme oranına sıcaklık etkisi.....	52
6.3. PAAm Aşılanmış Kitosan Hidrojellerin DNA Adsorpsiyon Kapasitesinin Belirlenmesi	54
6.3.1. PAAm aşılanmış kitosan hidrojellerin aşılama miktarına bağlı DNA adsorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi	54
6.3.2. PAAm aşılanmış kitosan hidrojellerin zamana bağlı DNA adsorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi.....	56
6.3.3. PAAm aşılanmış kitosan hidrojellerin DNA derişimine göre adsorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi	58
6.3.4. PAAm aşılanmış kitosan hidrojellerin farklı pH'lardaki DNA salımının belirlenmesi	59
6.3.5. PAAm aşılanmış kitosan hidrojellerin DNA adsorpsiyonu için tekrar kullanılabilirliği.....	63
6.4. PDMA Aşılanmış Kitosan Hidrojellerin Yapısal Karakterizasyonu	65
6.4.1. Fourier Transform Infrared (FT–IR) spektroskopisi	65

Sayfa

6.4.2. PDMA aşılانmış kitosan hidrojjelerin SEM görüntüleri	68
6.4.3. PAAm aşılانmış kitosan hidrojjelerin yüzey enerjilerinin belirlenmesi	69
6.4.4. PDMA aşılانmış kitosan hidrojjelerin denge şişme oranına pH etkisi.....	72
6.4.5. PDMA aşılانmış kitosan hidrojjelerin denge şişme oranına sıcaklık etkisi	73
6.5. PDMA Aşılانmış Kitosan Hidrojjelerin DNA Adsorpsiyon Kapasitesinin Belirlenmesi	75
6.5.1. PDMA aşılانmış kitosan hidrojjelerin aşılama miktarına bağı DNA adsorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi	75
6.5.2. PDMA aşılانmış kitosan hidrojjelerin zamana bağı DNA adsorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi.....	77
6.5.3. PDMA aşılانmış kitosan hidrojjelerin DNA derişimine bağı adsorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi.....	79
6.5.4. PDMA aşılانmış kitosan hidrojjelerin farklı pH'lardaki DNA salımının belirlenmesi	81
6.5.5. PDMA aşılانmış kitosan hidrojjelerin DNA adsorpsiyonu için tekrar kullanılabilirliğı.....	84
7. SONUÇLAR.....	86
KAYNAKLAR	89
ÖZGEÇMİŞ.....	97

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.1. Kullanılan sıvıların yüzey enerji bileşenleri.....	27
Çizelge 6.1. PAAm aşılınmış kitosan hidrojelleri üzerine damlatılan sıvıların değme açıları (θ).....	47
Çizelge 6.2. PAAm aşılınmış kitosan hidrojellerinin asit-baz teorisi, Fowkes ve OWRK yöntemleri kullanılarak hesaplanan yüzey enerjileri bileşenleri	48
Çizelge 6.3. Van Oss - Good yöntemiyle (metot II) hesaplanan yüzey enerji bileşenleri (mJ/m^2)	49
Çizelge 6.4. PDMA aşılınmış kitosan hidrojelleri üzerine damlatılan sıvıların değme açıları (θ).....	69
Çizelge 6.5. PDMA aşılınmış kitosan hidrojellerinin asit-baz teorisi, Fowkes ve OWRK yöntemleri kullanılarak hesaplanan yüzey enerjileri bileşenleri	70
Çizelge 6.6. Van Oss - Good yöntemiyle (metot II) hesaplanan yüzey enerji bileşenleri (mJ/m^2)	71

RESİMLERİN LİSTESİ**Resim****Sayfa**

- Resim 6.1. 500 büyütme ile a) çapraz bağlanmış kitosan; b) % 28,6 AAm aşılantmış hidrojel; c) % 60,0 AAm aşılantmış hidrojel; d) % 80,0 AAm aşılantmış hidrojel 46
- Resim 6.2. 500 büyütme ile a) çapraz bağlanmış kitosan; b) % 28,6 DMA aşılantmış hidrojel; c) % 60,0 DMA aşılantmış hidrojel; d)% 80,0 DMA aşılantmış hidrojel 68

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. a) Kitin, b) Kitosan ve c) Selülozun kimyasal yapıları	5
Şekil 2.2. Kitinin kitosana dönüşümü	6
Şekil 3.1. Watson ve Crick' in önerdiği DNA ikili sarmal yapısı	11
Şekil 3.2. a)RNA ve DNA'da azotlu bazların yapısını oluşturan pirimidinlerin ve pürinlerin kimyasal yapıları, b) RNA ve DNA'daki pentoz şekerlerinin kimyasal halka yapıları	12
Şekil 3.3. DNA bazları, pürinler ve pirimidinler arasındaki bağ yapıları	13
Şekil 3.4. Sarmalın antiparalel yapısı ve bazların yatay yerleşimi	13
Şekil 3.5. C-5' fosfat konfigürasyonu.....	14
Şekil 3.6. İki nükleotitin C-3'-C-5' (3'-5') fosfodiester bağı ile bağlanarak dinükleotit oluşturması.....	15
Şekil 3.7. A-DNA, B-DNA ve Z-DNA bilgisayarda yapılan uzaysal modelleri	17
Şekil 3.8. B-DNA'da bazlar sarmal eksenine dik iken A-DNA'da yatık ve sarmaldan geriye doğru çekili durumda.....	17
Şekil 6.1. APS ile TEMED reaksiyonu sonucu oluşan çiftleşmemiş tek elektron içeren aktif TEMED molekülü ile aktifleşmiş DMA monomeri	39
Şekil 6.2. N,N-dimetil akrilamit'in merkaptto asetik asit varlığında APS/TEMED başlatıcı sistemi ile polimerleştirilmesi	39
Şekil 6.3. EDC/HNS yardımı ile amit bağı oluşumu	40
Şekil 6.4. PDMA aşılınmış kitosanın kimyasal yapısı.....	41
Şekil 6.5. PDMA aşılınmış çapraz bağlı kitosan hidrojelinin kimyasal yapısı	42
Şekil 6.6. a) AAm, b) MAA, c) PAAm-COOH için FT-IR spektrumları	43

Şekil	Sayfa
Şekil 6.7. a) PAAm-COOH, b) Kitosan , c) PAAm aşılانmış kitosan hidrojjelerin ATR-FT-IR spektrumları.....	45
Şekil 6.8. Kitosan üzerine tarak tipi aşılانmış PAAm hidrojjelerinin denge şişme oranına pH etkisi.....	51
Şekil 6.9. PAAm aşılانmış kitosan hidrojjelerin denge şişme oranına sıcaklık etkisi.....	53
Şekil 6.10. PAAm aşılانmış hidrojjelerin 4 °C ve 37 °C' deki DNA adsorpsiyon miktarları	55
Şekil 6.11. PAAm aşılانmış hidrojjelerin 4 °C ve 37 °C' de zamana karşı DNA adsorpsiyon kapasitesi.....	57
Şekil 6.12. PAAm aşılانmış hidrojjelerin 4 °C' de derişime karşı DNA adsorpsiyonu	58
Şekil 6.13. PAAm aşılانmış hidrojjelerin 37 °C ' de derişime karşı DNA adsorpsiyonu	59
Şekil 6.14. pH=7,4 TE tamponunda 4 °C ve 37 °C'de hidrojjelerin DNA salımı	61
Şekil 6.15. pH=9,0 TE tamponunda 4 °C ve 37 °C'de hidrojjelerin DNA salımı	62
Şekil 6.16. PAAm aşılانmış hidrojjelerde (A) 4 °C ve (B) 37 °C'de DNA adsorpsiyonunun tekrarlanabilirliği	64
Şekil 6.17. a) DMA, b) MAAC, c) PDMA-COOH için FT-IR spektrumları	65
Şekil 6.18. a) PDMA-COOH, b) Kitosan, c) PDMA aşılانmış kitosan hidrojjeleri FT-IR spektrumu	67
Şekil 6.19. Kitosan üzerine tarak tipi aşılانmış PDMA hidrojjelerin denge şişme oranına pH etkisi.....	72
Şekil 6.20. Kitosan üzerine tarak tipi aşılانmış PDMA hidrojjelerin denge şişme oranına sıcaklık etkisi.....	74
Şekil 6.21. Aşılان DMA miktarının artışı ile 4 °C ve 37 °C' de DNA adsorpsiyonu.....	76

Şekil	Sayfa
Şekil 6.22. PDMA aşılانmış hidrojellerin a) 4 °C ve b) 37 °C'de zamana karşı DNA adsorpsiyon kapasiteleri.....	78
Şekil 6.23. PDMA aşılانmış hidrojellerin a) 4 °C ve b) 37 °C'de derişime karşı DNA adsorpsiyonu	80
Şekil 6.24. pH=7,4 TE tamponunda PDMA aşılانmış hidrojellerin a) 4 °C ve b) 37 °C'de DNA salımı	82
Şekil 6.25. pH=9,0 TE tamponunda PDMA aşılانmış hidrojellerin a) 4 °C ve b) 37 °C'de DNA salımı	83
Şekil 6.26. PDMA aşılانmış hidrojellerin a) 4 °C ve b) 37 °C ' de DNA adsorpsiyonunda tekrar kullanılabilirliğı	85

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
°C	Santigrat
µg	Mikrogram
Kısaltmalar	Açıklama
DMA	N,N Dimetil akrilamit
PDMA-COOH	Poli(dimetilakrilamit)-COOH
AAm	Akrilamit
PAAm-COOH	Poli(akrilamit)-COOH
MAA	Merkapto asetik asit
APS	Amonyumpersülfat
TEMED	N,N,N',N'-tetrametilen diamin
EDC	1-etil(3-3dimetilaminopropil)karbondiimit
NHS	N- Hidroksi süksinimit
DNA	Deoksiribo nükleik asit
SLE	Sistemik lupus eritematosus
TE	Tris-EDTA tampon

1. GİRİŞ

Nükleik asitler yaşamın anahtar molekülleridir. Genetik bilgiyi taşımaları ve protein biyosentezinde aktif rol oynamaları bu biyolojik molekülleri son derece önemli kılmaktadır. Genetik bilgiyi taşıyan DNA en çok çalışılan biyolojik moleküldür.

DNA'nın katı bir desteğe bağlanması, biyoteknoloji ve moleküler biyoloji çalışmaları açısından büyük önem taşır. Çeşitli destek materyalleri ile DNA immobilizasyonu genellikle adsorpsiyon ve kimyasal bağlanma yoluyla gerçekleştirilir.

DNA teknolojisinin uygulama alanları çok geniş bir yelpazeye sahiptir. Bu uygulama alanlarından başlıcaları; çevre, gıda, sağlık, adli tıp ve arkeometri olarak sayılabilir. DNA immobilizasyonunda kullanılan taşıyıcılar; naylon, nitroselüloz, selüloz asetat ve kitosan olabilir [1–3].

Tarak tipi jeller eşsiz yapıları sayesinde biyoteknoloji; ilaç salınım sistemleri, boyut seçici biyoayırma, enzim ve hücre immobilizasyonu gibi pek çok uygulama alanı bulmaktadır [4–6].

Polimer yüzeyine DNA adsorpsiyonu biyoteknoloji ve tıp gibi pek çok alanda kullanılabilir. Bu alanda son zamanlarda en çok gelişen uygulama, hastanın kan ya da plazmasındaki zehrin uzaklaştırılmasında protein adsorpsiyonunun kullanılması tekniğidir [7].

Sistemik Lupus Eritematozus (SLE), sebebi bilinmeyen cilt, eklem, böbrek, kalp zarı, akciğer zarı gibi birçok doku ve organ iltihabına bağlı çok sayıda bulgularla giden, değişik seyir gösteren ve çeşitli bağışıklık sistemi (immünolojik) anormalliklerle karakterize otoimmün, kronik sistemik bir hastalıktır [8-10]. SLE'da DNA' nın ss DNA, ds DNA ve z DNA olmak üzere en az 3 formu antijenik olarak bulunmuştur. Birçok Lupus benzeri hastalıkta

birden fazla DNA'ya karşı antikorlar bulunmaktadır. Buna rağmen SLE dışındaki hastalıklarda Anti-ds DNA çok daha nadiren bulunur. Anti ds-DNA'nın yüksek düzeyleri hastalık için spesifik kabul edilebilir. Anti-ds DNA antikorları SLE'li hastaların %75'inde tespit edilir, ancak yinede bunun kesin sıklığı, kullanılan yöntemle göre değişmektedir [11–14].

SLE tedavisinde neredeyse evrensel olarak kullanılan 4 grup ilaç vardır. NSAİİ'ler, anti-malaryal (sıtma ilaçları) ilaçlar, kortikosteroid hormonlar ve savunma sistemini baskılayıcı bir grup ilaç bu amaçla kullanılabilir. Doktorun seçtiği tedavi, hastanın bireysel semptomlarına ve ihtiyaçlarına dayanır [13].

Ayrıca kan plazmasındaki anti-DNA antikorlarının uzaklaştırılması için kan değiştirme işlemi de tedavi amaçlı uygulanabilir. Plazmaferez kan plazmasındaki kan hücrelerinin uzaklaştırılabilmesini sağlayan bir işlemdir. Bu işlem hastanın kanının değiştirilmesine dayanır. Hastalığa neden olan antikorları ve bağışıklığa neden olacak diğer aktif maddeleri içeren plazma atılarak diğer sıvılarla değiştirilir ve kan tekrar hastaya verilir. Plazmaferez rutin uygulamalara için pek elverişli olmasa da standart tedavilere cevap vermeyen ve ya özel durumları olan (hemolitik anemi taşıyan lupus hastaları gibi) hastalar için yararlı olabilir [14].

Sistemik Lupus Eritematoz (SLE) gibi bazı bağışıklık sistemi rahatsızlıklarının tedavisinde, hastanın plazmasında anti-DNA antikorlarının uzaklaştırılmasında, DNA bağlanmış polimerik materyaller kullanılabilir [15–18]. Plazmadaki anti-DNA antikorlarının azalması klinik bir gelişme sağlayabilir [16]. Yüzeye bağlanan DNA miktarının artışıyla, anti-DNA antikorlarının adsorpsiyonu da artar. Yani yüksek miktarda anti-DNA antikorunu uzaklaştırılması için çok miktarda DNA içeren bir destek gerekmektedir [16–19].

Bu konu ile ilgili yapılan çalışmalarda,

- Kato, Ikada ve arkadaşları PET mikrofiberleri üzerine DNA adsorpsiyonu üzerine çalışmıştır. Akrilamit, metakriloiloksietil fosfat, N,N-dimetil aminoetil metakrilat, N-vinil formamit ve glisidil metakrilat monomerlerinin ozon oksidasyonu sonunda aşı polimerleşmesi ile mikro fiberler elde edilmiştir. Poli(metakriloiloksietil fosfat) aşılınmış PET mikro fiberlerde, dengede en yüksek DNA adsorpsiyon kapasitesi yaklaşık olarak 5 mg/g polimer olarak bulunmuştur [18].
- A. Tuncel, E. Ünsal ve H. Çiçek, DMAPM monomeri kullanarak pH-duyarlı tekdüze küreler üzerine DNA adsorpsiyonu üzerine çalışmıştır. +4 °C' de pH=7,4 fosfat tamponunda jellerin denge adsorpsiyon kapasiteleri 50 mg/g kuru jel olarak bulunmuştur [19].
- A. Denizli ve E. Pişkin aktifleşmiş poli(2-hidroksietil metakrilat) mikro küreleri üzerine DNA adsorpsiyonu çalışmış, dengede DNA adsorpsiyonu 2,75 mg/g mikro küre olarak bulunmuştur [20].

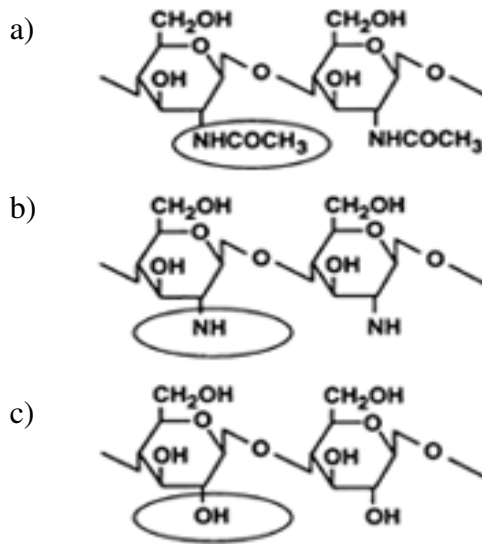
Bu çalışmada yüksek DNA adsorpsiyon kapasitesine sahip hidrojellerin sentezlenmesi amaçlanmıştır. Kitosanın yapısal kararlılığının sağlanması ve DNA adsorpsiyon kapasitesinin artırılması için N,N- dimetil akrilamit (DMA) ve akrilamit (AAM) monomerleri merkaptto asetikasit (MAA) varlığında APS/TEMED başlatıcı sistemi ile polimerleştirilerek kitosan üzerine tarak tipi konumda aşılınmıştır. Daha sonra, kitosan gluterik dialdehit (GDA) yardımıyla kendi zincirleri arasında çapraz bağlanmıştır.

Hazırlanan hidrojellerin yapısal değişimi ATR-FT-IR Spektroskopisi, taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve değme açısı analizi ile karakterize edilmiştir. Film şeklinde hazırlanan jellerin yüzeyine su, diiyodometan, formamit ve etilen glükol damlatılarak değme açıları ölçülmüş ve her bir jelin yüzey enerji bileşenleri hesaplanmıştır. Hidrojellerin farklı pH'larda ve pH=7,5 TE tamponunda 5-55 °C arasında denge şişme oranları belirlenmiştir.

PAAm-COOH ve PDMA-COOH aşılanmış kitosan hidrojellerin DNA adsorpsiyon kapasitelerinin belirlenmesi amacıyla hidrojellerin 4 °C ve 37 °C 'de sabit DNA derişiminde 24 saat sonunda DNA adsorpsiyon miktarları hesaplanmıştır. Ayrıca zamana ve değişen DNA derişimine karşı g jel başına adsorplanan DNA miktarları da hesaplanmıştır. Hidrojellerin biyomedikal uygulamalar için tekrar kullanılabilirliğinin belirlenmesi amacıyla pH 7,4 ve 9 TE tamponlarında jellerin adsorpladıkları DNA'yı bırakma miktarları belirlenmiş ve bu döngünün devamlılığı incelenmiştir.

2. KITOSAN

Kitosan, kitin türevidir doğal bir polisakkarittir [21,22]. Kitosanın ana maddesi olan kitin, doğada selülozdan sonra en çok bulunan bileşiktir ve β -1-4 bağları ile bağlı 2-asetamido-2-deoksi- β -D glukoz monomerlerinden oluşur. Doğada karides, yengeç, istakoz vb. deniz kabuklularının, böceklerin dış iskelet yapısında ve mantarların hücre duvarında bulunur. Molekül yapısı olarak selüloza benzeyen kitin suda çözünmeyen, sert, elastik olmayan ve azot bakımından zengin bir bileşiktir. Kitosan [β (1-4) 2-amino-2-deoksi D-glukoz] kitinin deasetilasyonu sonucu elde edilir. Bu yolla farklı oranlarda (% 40 - % 98) deasetillenmiş kitosan elde etmek mümkündür [23].

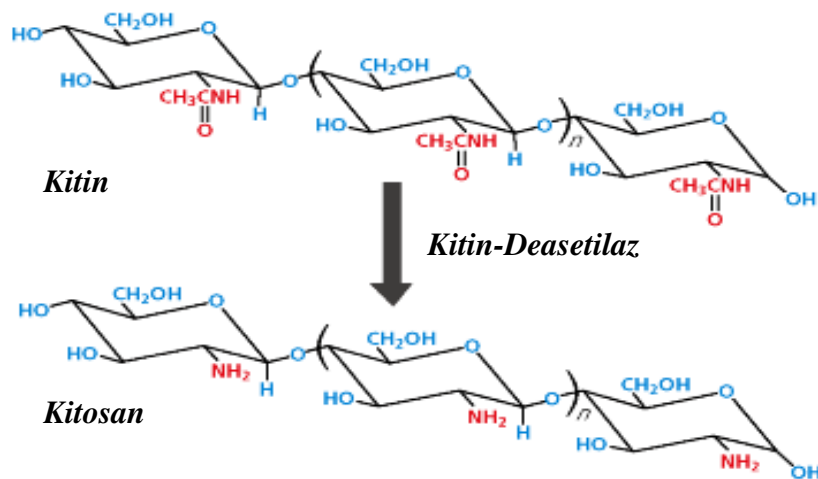


Şekil 2.1. a) Kitin, b) Kitosan ve c) Selülozun kimyasal yapıları [24]

Kitosan, bir çok organik reaksiyon (tosilleme, alkilleme, karboksilleme, sülfolama, schiff bazı, kuartarner tuz vs.) ile kolayca modifiye olabilen serbest amin gruplarını ve hidroksil gruplarını taşımasından dolayı, sentetik polimerlerden oldukça farklı fonksiyonel gruplu polimerlerin sentezlenmesinde oldukça büyük bir potansiyele sahiptir. Kopolimer formunda kolaylıkla fiberlere, filmlere ve mikro kürelere dönüştürülebilir. Yapısındaki amin grupları nedeniyle asidik ortamda çözünür özelliğe sahiptir.

Bu çözünürlük, zincir boyunca tekrarlanan grupların dağılımı ile de kontrol edilebilir. Ayrıca yapısındaki serbest amin grupları, kitosana katyonik bir polielektrolit olma özelliği de kazandırmaktadır [25].

Katyonik bir poliamin olan kitosanın moleküler ağırlığı, deasetilasyon derecesi ve viskozitesi önemli özellikleridir [26]. Molekül ağırlığı olarak 50 kDa ile 2000 kDa arasında değişen geniş bir dağılım gösterir [26,27]. Kitinin aksine, kitosan sulu asetik asitte çözünmektedir. Kitosan tuzları (kitosan glutamat, kitosan klorit) genellikle suda çözünebilir. Kitosanın çözünürlüğü deasetilasyon derecesine bağlıdır. Düşük deasetilasyon derecesine sahip kitosanın sadece pH 9'un üzerinde çözünebilir olduğu, buna karşın yüksek deasetilasyon derecesine sahip kitosanın pH 6,5 ve altında çözünür olduğu, nötral ve alkali pH'larda çözünmediği bilinmektedir [27]. Çözünürlük ortama çeşitli tuzların eklenmesi ile de değişir. İyonik kuvvetin artmasıyla çözünürlük azalır [26]. Kitosan çözeltisinin viskozitesi sıcaklığa, derişimine ve deasetilasyon derecesine bağlı olarak değişir [28].



Şekil 2.2. Kitinin kitosana dönüşümü [29]

Kitosanın elde edilmesinde kalsiyum karbonat ve kalsiyum fosfat gibi mineraller ve proteinler, alkali ve asit muamelesi ile uzaklaştırılmaktadır. Elde edilen kitinin yüksek sıcaklıkta ($120\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' da) % 40 NaOH ile etkileştirilmesi sonucu deasetillenmiş kitosan elde edilir [23,28]. Kitin ve kitosan türevleri

hem tek hücreli canlılarda hem de yüksek organizasyonlu ökaryot organizmalarda enzimatik olarak yıkıma uğrayabilmektedir [23,31]. Mikroorganizmalardaki kitinaz ve kitozinaz enzimleri ile yüksek organizasyonlu canlılarda lizozomal enzimler, kitin ve kitosanı parçalarlar. Bu enzimler kitin ve kitosanı oluşturan birimler arasındaki N-asetil- β -(1-4) glukozamin bağlarını koparır [32,33]. Kitosanın lizozomal enzimlerin etkisi ile parçalanabilmesi, bu polimerin farmasötik alanda kullanımı açısından büyük önem taşımaktadır [33].

2.1.Kitosanın Kullanım Alanları

Kitosan ve kitosan türevi polimerler suların toksik maddelerden arındırılmasından, tıpta yapay deri uygulamalarına kadar çok geniş bir yelpazede kullanım alanı bulmuştur [34-38]. Bu nedenle atık suların civa, kurşun ve krom gibi ağır metallerden arındırılmasında kullanılır [39,40]. Kitosanın antifungal özelliği nedeniyle çeşitli mikroorganizma enfeksiyonlarına ve parazitlere karşı tarımsal amaçlarla bitkilerin korunmasında önemli bir potansiyele sahiptir [36]. Zayıflatıcı ve kolesterol düşürücü olarak [37,41]; kozmetik endüstrisinde saç bakım ürünlerinde ve kontakt lens yapımında [28,35]; fotoğrafçılıkta [28]; tekstilde boya bağlama özelliğinden dolayı ağartıcı olarak [42], kağıt endüstrisinde selüloz gibi destek materyali olarak [28]; tıp alanında dermatit, pürülan hastalıkların, yara ve yanıkların tedavisinde [34,37,43] kitosan ve kitosan türevi bileşiklerinden yararlanılmaktadır. Kitosanın en önemli kullanım alanlarından biri ilaç endüstrisidir. İlaç taşıyıcı materyal olarak hidrojeller, tabletler, granüller ve mikropartiküler, sistemlerin hazırlanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır [44-48].

Kitosanın ilaç salım sistemlerinde kullanımının araştırıldığı birçok çalışma olmasına rağmen, kitosanın bu alanda kullanımında bazı dezavantajların olduğu da bilinmektedir. Bu dezavantajlar, kitosanın seyreltik asetik asit hariç

birçok organik çözücünde çözünmemesi, düşük mekanik özelliklere sahip olması ve ayrıca fiziksel özelliklerinin pH'a çok bağlı olmasıdır. Bu nedenle kitosanın, bir ilaç taşıyıcısı olarak kullanılması durumunda, özellikle ağızdan ilaç alınımında insan vücudunun iç organlarının belirlediği farklı pH değerleri altında ilaç salım davranışının kontrolü zor olmaktadır. Bunun sonucu olarak, ilacın aşırı salımı insan vücudunda hastalığa sebep olabilir. Diğer taraftan, kitosanın başka polimerlerle karıştırılmasıyla modifikasyonu pratik kullanımlarda fiziksel özelliklerinin iyileştirilmesi için uygun ve etkili bir metottur [49].

Vücutta ani ilaç serbestleşmesinin önüne geçmek amacıyla uygun taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesinde biyolojik yıkıma uğrayabilen ve toksik etkileri düşük polimerlerin kullanımı amaçlanmaktadır [50]. Kimyasal ve biyolojik özellikleri iyi bilinen kitosan polimerleri ile koaservasyon, emülsiyon-süspansiyon polimerleşmesi, iyonotropik jelleşme gibi yöntemlerle oluşturulan mikroküre, mikrokapsül ve boncuklar ilaç taşıyıcı olarak büyük bir potansiyele sahiptir. Kitosan ve kitosan türevi polimerlerin kullanımında, mevcut uygulamalar dışında ideal kontrollü serbestleşme sağlayacak formülasyonların gelişmesi yönünde çok sayıda araştırma yapılmaktadır [51–54].

Kitosan ve kitosan türevi polimerlerinin DNA taşıyıcısı olarak kullanılmaya başlanması da oldukça yenidir. In vivo koşullarda lizozomal enzimlerin etkisiyle kolayca yıkılabilmeleri nedeniyle [32,55] vücutta kontrollü olarak serbestleşmesi istenilen maddeler için taşıyıcı olarak geniş kullanım alanı bulmaktadır [44,56]. Sadece küçük molekül ağırlıklı aktif maddelerin değil, aynı zamanda peptid, protein ve oligonükleotitler gibi kompleks moleküllerin vücuda verilmesinde taşıyıcı sistem olarak önemli bir potansiyele sahiptir [57-59]. Bu nedenle gen tedavisinde özellikle doğrudan DNA moleküllerinin tedavi amaçlı kullanımını hedefleyen çalışmalarda viral olmayan taşıyıcı olarak kitosan ve kitosan türevli sistemler üzerinde yoğun çalışmalar yapılmaktadır [60,61].

3. DNA

Genlerde, bir sonraki kuşağa aktarıldığında soyun biçimini ve özelliklerini etkileyen bir çeşit bilgi bulunmalıdır. Buna genetik bilgi denir. 1944 'e kadar, kromozomlardaki hangi kimyasal bileşenin genleri ve genetik materyali oluşturduğu açık değildi. Kromozomların nükleik asit ve protein bileşenlerine sahip olduğu bilindiğinden, her ikisi de genetik materyal olabilirdi. DNA'nın genetik işlemlerdeki önemi kavrandıktan sonra, yalnız DNA'nın yapısı ile ilgili değil, aynı zamanda yapı ve fonksiyonu arasındaki ilişkiyi açığa çıkarmayı amaçlayan çalışmalar da yoğunluk kazanmıştır.

Bir molekülün genetik materyal olarak davranması için dört özelliği bulunmalıdır; kendini eşleme (replikasyon), bilgi depolama, bu bilgiyi ifade etme, mutasyonla çeşitlendirme (varyasyon).

- Genetik materyalin replikasyonu, bütün canlı organizmalarının temel bir özelliğidir ve hücre döngüsünün bir bölümünde yer alır. Genetik materyal replike olduktan sonra yavru hücrelere eşit olarak dağılmalıdır.
- Depolama özelliği, bir organizmanın tüm kalıtsal özelliklerinin toplandığı genetik bilgi olarak düşünülebilir. Ancak, depolanan bilginin tamamı ifade edilemeyebilir. Hücrelerin çoğu DNA'nın tamamına sahip olduğu halde, belirli bir noktada bu genetik potansiyelin bir bölümünü ifade ederler. Genetik materyalin depolanması kavramının içinde, gezegenimizdeki sayısız yaşam formunda bulunan, hemen hemen sonsuz çeşitteki gen ürünlerini şifreleme yeteneğindeki genetik materyale olan gereksinimin karşılanması da bulunur. Genetik materyalin kimyasal dili, bilgi depolarken, bilgiyi yavru hücrelere ve organizmalara aktarırken bu potansiyel görevi yerine getirebilecek yetenekte olmalıdır.
- Depolanan genetik bilginin 'ifadesi' karmaşık bir işlemdir ve hücrede

bilgi akışının temelini oluşturur.

- Genetik materyal aynı zamanda, mutasyonlar yoluyla organizmalar arasında ortaya çıkan yeni çeşitliliğin de kaynağıdır. Eğer bir mutasyon-DNA'nın kimyasal kompozisyonunda değişiklik meydana gelirse, değişiklik transkripsiyon ve translasyona yansır ve belirli bir proteini etkiler.

1940'la 1953 yılları arasında birçok araştırmacı, DNA'nın yapısını çözümlmeye çalışmıştır. Aralarında Erwin Chargaff, Maurice Wilkins, Rosalind Franklin, Linus Pauling, Francis Crick ve James Watson'ın bulunduğu araştırmacılar, biyoloji tarihinin en önemli ve merak uyandıran sorusu olan "DNA canlı sistemlerinin genetik temelini nasıl oluşturmaktadır?" sorusuna yanıt olabilecek bilgiyi araştırmışlardır. DNA'nın karmaşık ancak düzenli fonksiyonu göz önüne alındığında, yanıtın DNA molekülünün kimyasal yapısında ve organizasyonunda olduğu kanısı güçlenmiştir.

3.1. DNA'nın Yapısı

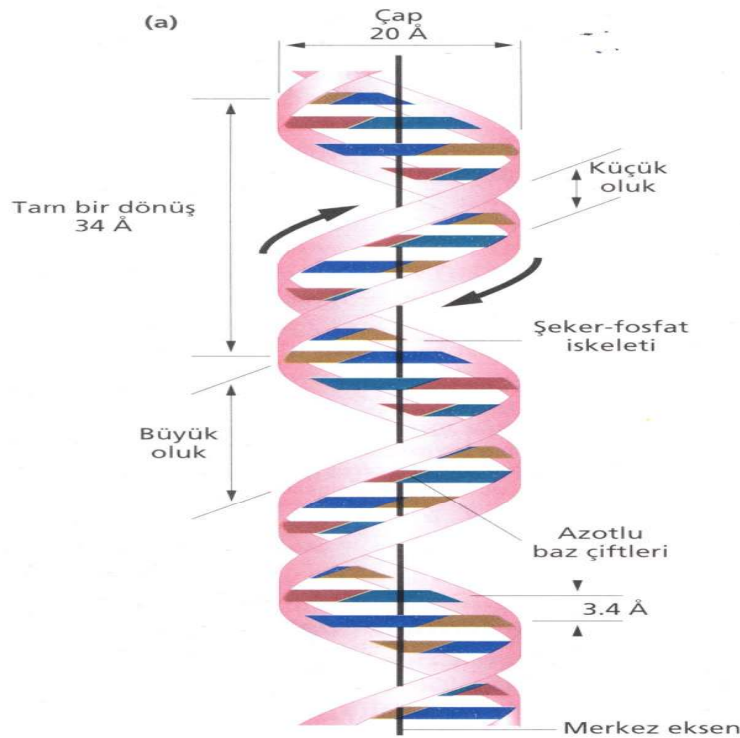
1953' de iki genç araştırmacı, James Watson ve Francis Crick, DNA'nın yapısının ikili sarmal (Şekil 3.1) şeklinde olduğunu önermiştir. Bu modelin özellikleri:

1. İki uzun polinükleotit zinciri, bir merkez eksen etrafında kıvrılarak, sağ el ikili sarmal yapısını oluşturur.
2. İki zincir birbirine antiparaleldir; yani, iki zincirin C-5' ucundan C-3' ucuna doğru olan yönleri birbirine göre terstir.
3. Her iki zincirin bazıları düzlemsel yapıdadır ve düzlemleri eksene diktir; bazıları arasında 3,4 Å (0,34 nm) mesafe olacak şekilde birbiri ardına 'istiflenir' ve sarmalın içinde yer alır.
4. Karşı zincirlerdeki azotlu bazıları, hidrojen bağları ile bağlanarak birbirleri ile eşleşirler; DNA'da sadece A=T ve G≡C eşleşmesi mümkündür.
5. Sarmalın her bir tam dönüşü 34 Å (3,4 nm)'dir; böylece her bir

dönüşte 10 baz yer alır.

6. Molekölün herhangi bir bölümünde, eksen üzerinde sıra ile daha geniş olan büyük (majör) oluklar ve daha dar olan küçük (minör) oluklar yer alır.

7. Sarmalın çapı 20 Å (2 nm)'dur.

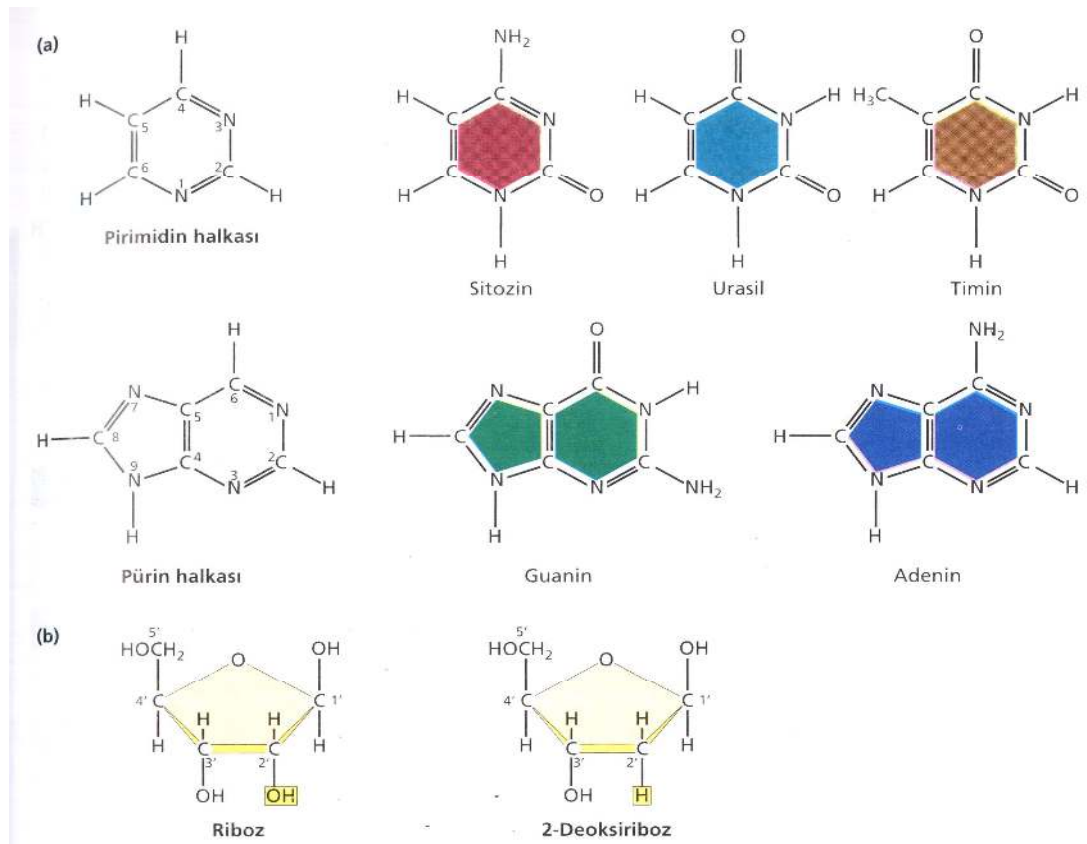


Şekil 3.1. Watson ve Crick'in önerdiği DNA ikili sarmal yapısı [62]

DNA ve RNA'nın yapısal bileşenleri birbirine çok benzer. Bu kimyasal benzerlik, gen ifadesi sırasında DNA ve RNA'nın birlikte gördükleri işlev açısından önemlidir. Nükleik asit kimyası, diğer başlıca organik biyomoleküller gibi (proteinler, karbonhidratlar ve lipitler), çeşitli uzunluklarda polimer zincirleri oluşturmak üzere polimerleşmiş, bir takım benzer yapı taşlarından oluşur.

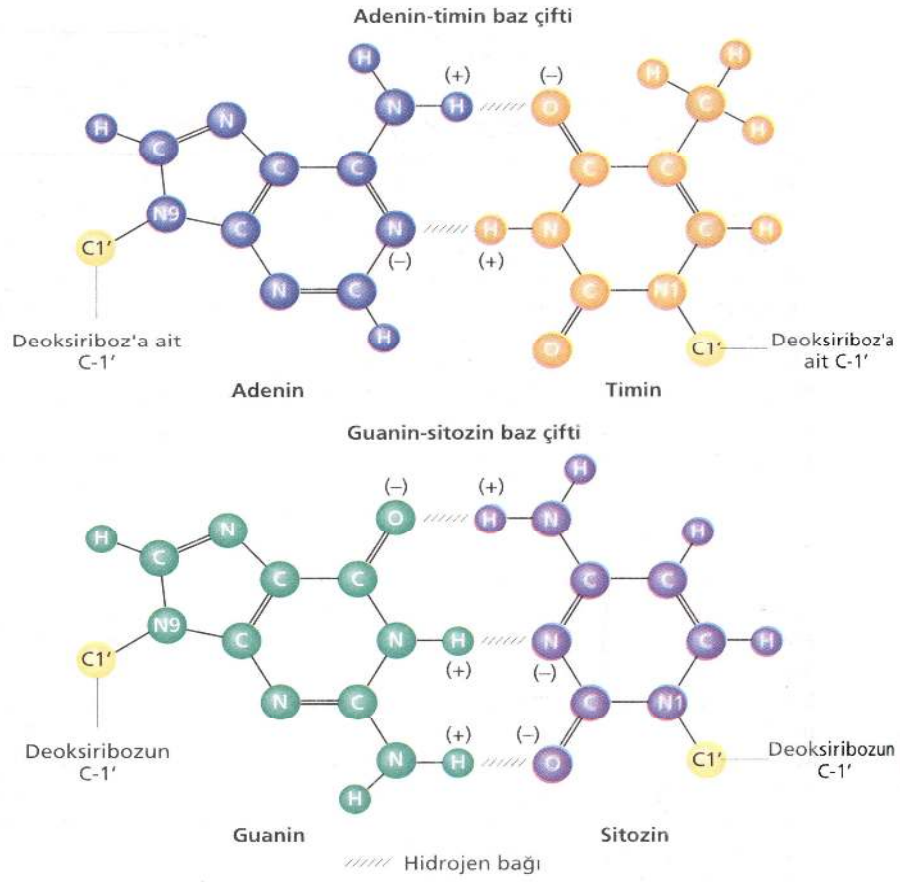
Nükleotitler, bütün nükleik asit moleküllerinin yapı taşlarıdır. Yapısal birimler, gerekli üç bileşeni içerir: bir *azotlu baz*, bir *pentoz şekeri*(5- karbonlu şeker)

ve bir *fosfat grubu*. Azotlu bazlar iki çeşittir: dokuz atomlu, iki halkalı *pürinler* ve altı atomlu tek halka içeren *pirimidinler*. Nükleik asitlerde yaygın olarak iki tip pürin ve üç tip pirimidin bulunur. Pürinler, adenin ve guanin ya da kısaca A ve G'lerdir. Pirimidinler ise sitozin, timin ve urasil olup, kısaltılmış şekilleriyle C,T ve U olarak adlandırılırlar. DNA ve RNA da ortak olarak A,C ve G bulunur; T bazı yalnız DNA'da, U bazı ise yalnız RNA'da vardır.

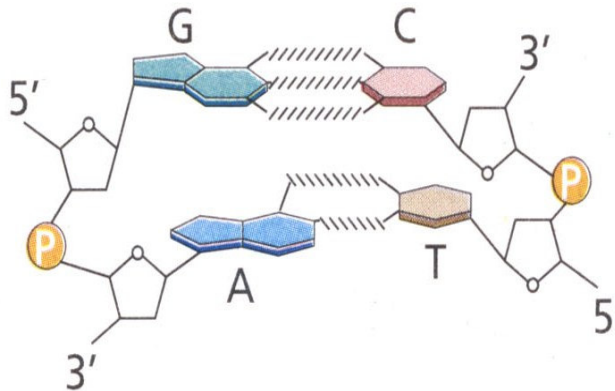


Şekil 3.2. a) RNA ve DNA'da azotlu bazların yapısını oluşturan pirimidinlerin ve pürinlerin kimyasal yapıları b) RNA ve DNA'daki pentoz şekerlerinin kimyasal halka yapıları [62]

Nükleik aside adını veren taşıdığı pentoz şekeridir. Ribonükleik asitlerde riboz, deoksiribonükleik asitlerde ise deoksiriboz bulunur. Bu pentoz şekerlerinin halkasal yapıları Şekil 3.2'de gösterilmiştir. Riboz ile karşılaştırıldığında deoksiribozda C-2' pozisyonunda hidroksil grubu yoktur.

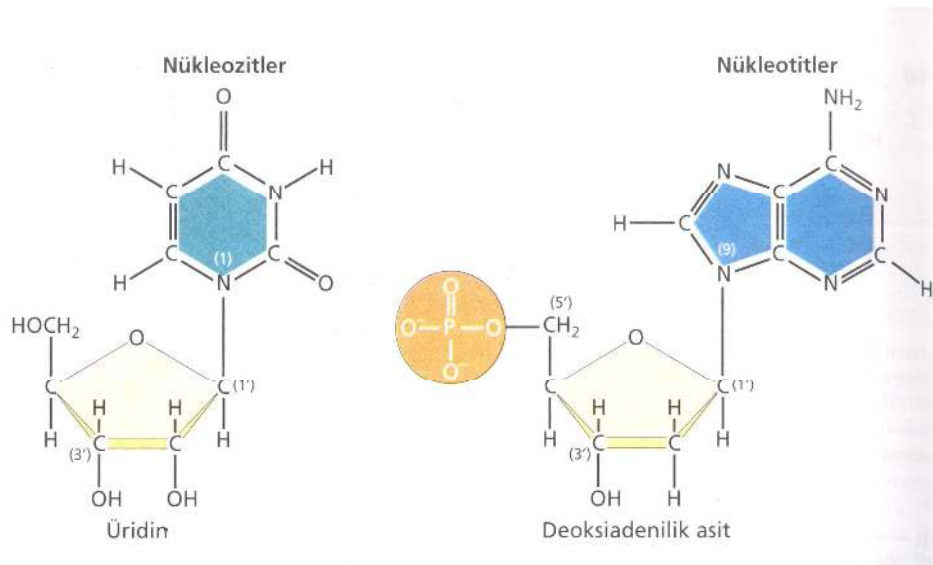


Şekil 3.3 . DNA bazları, pürinler ve pirimidinler arasındaki bağ yapıları [62]



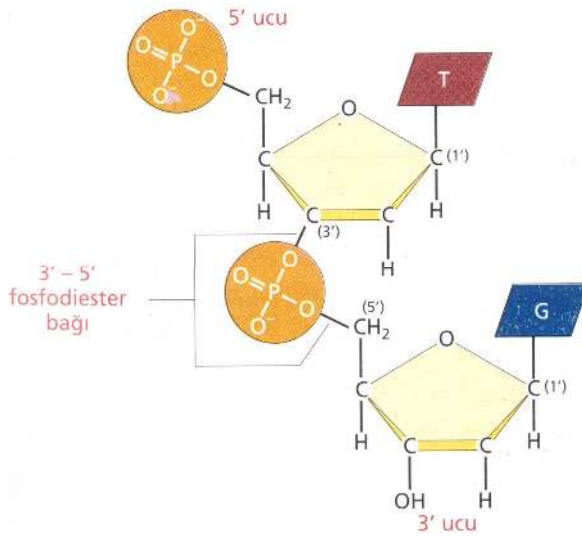
Şekil 3.4. Sarmalın antiparalel yapısı ve bazların yatay yerleşimi [62]

Bir molekül eğer pürin ya da pirimidin bazı ve riboz ya da deoksiriboz şekeri içeriyorsa, bu kimyasal birime nükleozit denir. Nükleozite fosfat grubu takılırsa, nükleotit olarak adlandırılan molekül oluşur. Nükleozit ve nükleotitler, yapı taşlarını oluşturan özel azotlu bazlarına göre adlandırılırlar. Nükleotitlerin yapısında yer alan bileşiklerin kurdukları bağlar son derece özgüdür. Şekerin C-1' atomu, azotlu bazla kimyasal bağ yapar. Eğer baz pürinse, N-9 atomu şekere kovalent olarak bağlanır. Eğer baz pirimidin ise, N-1' atomu şekerin C-1' atomu ile bağ yapar. Bir nükleotitte, fosfat grubu, şekerin C-2', C-3' ya da C-5' atomu ile bağ kurar. Şekil 3.5 de verilen fosfat konfigürasyonu biyolojik sistemlerde (DNA ve RNA) da en yaygın olarak bulunan yapıdır.



Şekil 3.5. C-5' fosfat konfigürasyonu [62]

İki mononükleotit arasında kurulan bağ yapısında, iki şekere bağlı fosfat grubu yer alır. Oluşan bağ fosfodiester bağıdır çünkü fosforik asit her iki taraftaki alkol grubu ile ester bağı yapmıştır. Şekil 3.6 de DNA'daki fosfodiester bağı gösterilmektedir. İki nükleotit birleştiğinde bir dinükleotit, üç nükleotit birleştiğinde bir trinükleotit oluşur. 20 ya da daha az sayıda nükleotit içeren zincire oligonükleotit, daha uzunlarına ise polinükleotit adı verilir.



Şekil 3.6 İki nükleotitin C-3'-C-5' (3'-5') fosfodiester bağı ile bağlanarak dinükleotit oluşturması [62]

DNA'nın yapısı ile ilgili daha yeni ve doğru analizler, Watson-Crick modelinde bazı ufak değişiklikler ortaya çıkarmıştır. Hassas bir ölçümle, bir dönüşte Watson ve Crick'in önerdiği gibi 10.0 değil 10.4 baz çifti bulunduğu gösterilmiştir. Klasik modelde, her bir baz çifti, sarmal eksen etrafında, yanındaki baz çiftine göre 36° dönüş yaparken, yeni ölçümler bu değer 34,6° olduğunu göstermiştir. Sonuçta, her 360° dönüşte 10 bazdan biraz daha fazla baz yer almaktadır.

Değişik izolasyon koşullarına göre, DNA'nın farklı konformasyonel formları tanımlanmıştır.

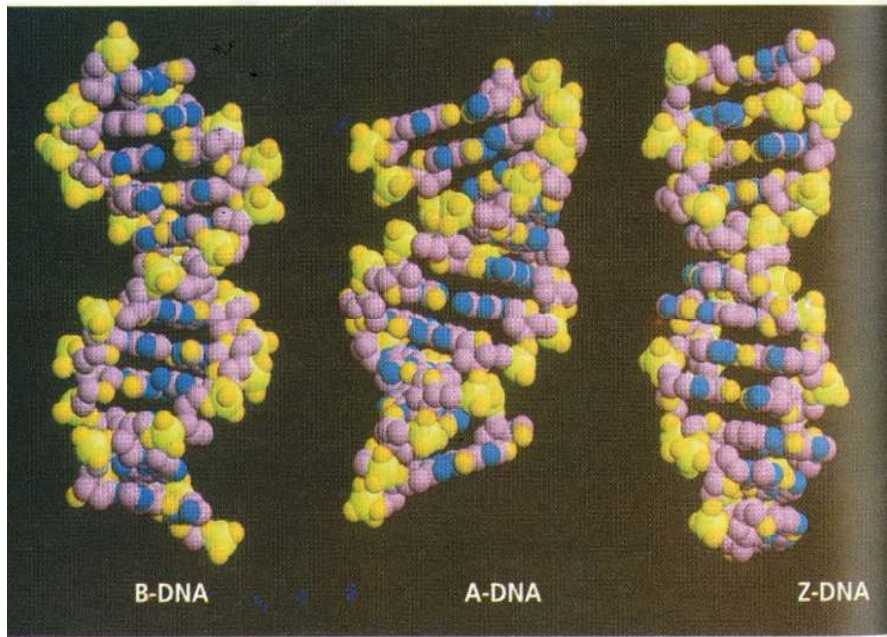
B-DNA formu, düşük tuz derişiminin olduğu sulu ortamlarda bulunur ve biyolojik olarak önemli olduğuna inanılan konformasyondur.

A-DNA yüksek tuz ya da dehidrasyon (suyun ortamdan uzaklaştırıldığı) koşullarında baskın olan yapıdır. B-DNA ile karşılaştırıldığında, A-DNA daha sıkı bir yapıdadır. Çapı 23 Å olan sarmalın tam bir dönüşünde 11 baz çifti yer alır. A-DNA'da sağ-el sarmalıdır ancak bazların yönelişleri farklıdır. Bazlar sarmalın eksenine göre eğik ve yatay olarak yer değiştirmiştir. Bu

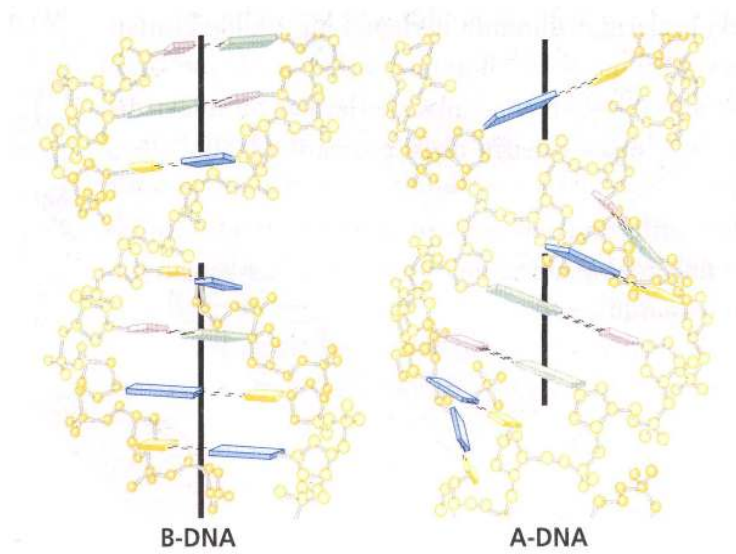
farklardan dolayı, büyük ve küçük oluğun görünümü B-DNA'dakine göre farklıdır. A-DNA'nın biyolojik koşullarda bulunabilmesi şüpheli görünmektedir. Laboratuvar koşullarında incelendiğinde, DNA sarmalının sağ- el sarmalı gösteren üç formu daha bulunmuştur. Bunlar, C-,D- ve E-DNA olarak adlandırılmıştır. C-DNA, A- ve B-DNA'nın izolasyon koşullarında gözlenenden daha da fazla dehidrasyon koşullarında izolasyon yapıldığında görülür. Sarmalın tam bir dönüşünde 9,3 baz yer alır, dolayısıyla daha az sıkıdır. Sarmalın çapı 19 Å 'dur. C-DNA'da da baz çiftleri düz değildir, sarmal eksenine göre eğik durumdadır.

Diğer iki form olan D- ve E- DNA, baz içeriğinde guanin bulunmayan DNA'ların aldığı formdur. Sarmalın tam bir dönüşünde daha da az baz çifti bulunmakta olup bunlar sırasıyla 8 ve 7,5'dir.

Z-DNA olarak adlandırılan DNA'nın bir başka formu da, sadece C-G baz çiftleri içeren sentetik DNA oligonükleotitlerin incelenmesi sırasında bulunmuştur. Z-DNA'nın ilgi çekici konfigürasyonu sol-el sarmalı şeklinde olmasıdır. Z-DNA'da da Watson-Crick baz eşleşmesi ile birbirine tutunan iki antiparalel zincir bulunur. Bu özelliklerin ötesinde, Z-DNA'da sol el sarmalının çapı 18 Å ($1,8 \text{ nm}$)'dur, her bir dönüşte 12 baz çifti yer alır ve zikzak konfigürasyonuna sahiptir. B-DNA'da bulunan büyük oluk Z-DNA'da neredeyse kaybolmuş durumdadır. Bu formların bazıları Şekil 3.7 ve Şekil 3.8' de gösterilmektedir [62].



Şekil 3.7. A-DNA, B-DNA ve Z-DNA bilgisayarda yapılan uzaysal modelleri



Şekil 3.8. B-DNA'da bazlar sarmal eksenine dik iken A-DNA'da yatık ve sarmaldan geriye doğru çekili durumda bulunmaktadır.

Mor ötesi ışık (UV), genetik materyalde mutasyonları uyaran çeşitli etkenlerden biridir. Bakteriler ve diğer mikroorganizmalar, çeşitli dalga boylarında mor ötesi ışık ile ışınlanır ve her bir dalga boyunun etkinliği,

meydana gelen mutasyon sayısı ile ölçülür. Genetik materyal olarak iş gören molekülün, UV ışığının mutajenik olduğu dalga boyunda emmesi beklenir. UV ışığının en mutajenik olduğu dalga boyu 260 nm'dir. Hem DNA hem de RNA, UV ışığını bu dalga boyunda emer; buna karşın proteinin ışığı en güçlü emdiği dalga boyu 280 nm'dir ve bu dalga boyunda mutajenik bir etki görülmez [62].

Nükleik asitler 260 nm dalga boyunda ışığı maksimum derecede absorbe ederler. Dolayısıyla, bu dalga boyunda elde edilen absorbans değerleri nükleik asitlerin miktarının bir ölçüsüdür. 260 nm dalga boyunda elde edilecek 1,00 absorbans değeri çift iplikli DNA için 50 µg/ml, tek iplikli DNA için 37 µg/ml ve tek iplikli RNA için 40 µg/ml' ye karşılık gelmektedir [63]. Buna karşın 260 nm dalga boyundaki absorbans ile RNA ve DNA ayırt edilemeyeceği gibi DNA'nın saflığı da saptanamaz. DNA'nın saflığını belirlemede A_{260}/A_{280} oranından yararlanılır. Bu oranın 1,8'den küçük olması DNA molekülünün oldukça saf olduğunu, 1,9–2,0 arasında olması ise RNA'nın saflığını gösterir [63]. Bu sayede DNA çözeltileri için 260 ve 280 nm ölçülen adsorbanslar yardımı ile DNA'nın derişimi ve saflığı hesaplanabilir.

3.2. DNA İmmobilizasyonunda Kullanılan Taşıyıcılar

DNA bağlanmasında kullanılan taşıyıcıların özellikleri destek materyali olarak kullanılacak yüzeyin cam membranlar, lateks boncuklar, karbon elektrotlar, altın elektrotlar, polistiren ya da silikon olmasına göre değişir. Son zamanlarda mikroelettronik aletlerin yüzeyinde oksitlenmemiş silikon kristalleri de DNA bağlanmasında kullanılabilir. Taşıyıcıların yüzeylerinde bulunan farklı fonksiyonel gruplara bağlı olarak taşıyıcılar farklı şekillerde aktive edilirler. DNA immobilizasyonunda kullanılacak taşıyıcıların yüzey özelliklerinin iyi bilinmesi, mümkün olduğunca düz ve homojen yapıya sahip olması, termal ve kimyasal olarak kararlı olması, DNA bağlanması için uygun olması ve tekrar kullanılabilir olması gerekmektedir [64,65].

Kullanılacak membranlar da doğal ve sentetik polimerler olmak üzere ikiye ayrılır. Doğal polimer olarak selüloz asetat ve kitosan, sentetik polimer olarak ise nitroselüloz ve naylon kullanılabilir.

3.3. DNA'nın Biyomedikal Önemi

DNA son yıllarda moleküler biyolojik ve biyoteknolojik çalışmaların vazgeçilmez konusudur. İnsan genom projesiyle virüs, bakteri ve insandaki DNA dizileri aydınlatılmaya başlanmasıyla bu verilerin insan için en önemli faktörlerinden olan sağlık alanında kullanılması da yaygınlaşmıştır.

DNA'nın sağlık alanındaki kullanımları belli başlıklar altında toplanabilir.

3.3.1. DNA ve genetik hastalıklar

Genelde DNA dizisindeki farklılık ve bozukluklardan kaynaklanan birçok kalıtsal hastalık vardır. Bu hastalıklar içerisinde insan hayatını olumsuz etkileyen hemofili A, B, talasemi ve sistik fibrozis sayılabilir. Bu hastalıklar DNA dizisindeki polimorfizmler DNA teknolojisinden faydalanarak bulunabilir [66].

3.3.2. DNA ve kanser

Kanser son yüzyılın hastalığıdır. Bilinen bütün kanser olgularının ortak bir yanı ya da ortak bir nedeni vardır: İnsan bedenini oluşturan sayısız hücrenin her birinin çekirdeğinde değerli bir hazine gibi saklanan DNA zincirinin kimyasal yapısının değişmesi, daha bilimsel bir deyimle DNA'nın mutasyona uğramasıdır. Bazı kişilerde bu, kalıtım yolu ile geçen bir hastalık olarak kendini göstermektedir. Aynı genlerin yapısının bozulmasına yol açan kimyasal maddeler kanser hücrelerinin oluşumuna sebep olur. Yaşlanma ile hücrelerde biriken toksik maddeler de zamanla aynı genleri tahrip edip hücreleri tümör hücrelerine dönüştürebilmektedir.

3.3.3. DNA ve adli tıp

Adli tıp da doğrudan insanı ilgilendiren bir alandır. Suçluların ve suçsuzların ayrımında 20 yy. başında parmak izi analizleri teknikleri kullanılırken son yıllarda DNA analiz teknikleri kullanılmaya başlanmıştır. DNA molekülü kanıt için güçlü bir araçtır. Temelde insan DNA'sı benzerlik gösterse de tek bir farklılık bile kişisel ayrımı sağlar. Çünkü tek yumurta ikizleri dışında tüm insanların DNA' sı birbirlerinden farklıdır. Bu özellik kriminal tanı koymada temel faktördür. Bir diğer önemli özellik ise bir insanın DNA'sının her hücrede birebir aynı olmasıdır. Örneğin, bir insanın kan hücrelerinden alınan DNA örneği, saç hücresinde, kemik hücresinde ya da sperm hücresindeki DNA ile aynıdır.

Suç mahalinden toplanan DNA örnekleri, parmak izinde olduğu gibi kıyaslama yöntemi ile kişiyi şüpheli olmaktan çıkarabilir ya da kanıt oluşturarak bir şüpheli ile bağlantı kurabilir. Aynı zamanda farklı suç mahalleri ile bağlantı kurulmasını sağlayabilir [66].

4. DEĞME AÇISI TEORİ VE HESAPLAMALARI

Değme açısı, bir sıvı ile bir katının ilk tabakası arasındaki etkileşim kuvvetlerinin bir ölçüsüdür. Bu fazlar arasındaki etkileşimlerin güçlü olması durumunda sıvı damlası katı yüzeyi üzerinde yayılır ve onu ıslatır. Değme açıları, aynı zamanda sıvı-katı sistemlerine ait karakteristik sabitlerin ve katıların yüzey enerjilerinin elde edilmesinde önemli bilgiler sağlar [67].

Yüzey gerilim verilerini kullanarak ara yüzey geriliminin hesaplanması ilk kez Fowkes tarafından yapılmıştır. Fowkes fazlar arasında yalnızca aynı tür etkileşimler olduğu varsayarak katı ve sıvı arasındaki etkileşimleri açıklamıştır. Örneğin, polar olmayan yani apolar maddeler çevredeki ikinci fazın yalnızca apolar kısmı ile etkileşirler.

$$\gamma_{12} = \gamma_1 + \gamma_2 - 2\sqrt{\gamma_1^D \cdot \gamma_2^D} \quad (4.1)$$

Etkileşimlerin apolar karakterini gösteren dispersiyon kuvvetleri D (ve ya LW Lifshitz- van der Waals) ile gösterilmiştir. Burada γ_1 sıvı fazı, γ_2 katı fazı, γ_{12} ise katı-sıvı ara yüzey gerilimlerini belirtmektedir.

Dispersiyon kuvvetleri tüm atom ve moleküllerde bulunurken, polar kuvvetler yalnızca belirli moleküllerde bulunur. Polar kuvvetler, moleküldeki farklı atomların etrafında oluşan elektronegatiflik farkıyla oluşurlar. Polar sıvılar için Owens, Wendt, Rabel ve Kaelble (1969) yüzey geriliminin polar kısmı olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu modele göre, yüzey gerilimi apolar (γ^D) ve polar (γ^P) kısımların toplamından oluşmaktadır.

$$\gamma = \gamma^D + \gamma^P \quad (4.2)$$

Polar kısımları olan iki faz arasındaki ara yüzey gerilimi için Eş. 4.1' in genişletilmesiyle aşağıdaki eşitlik elde edilmiştir.

$$\gamma_{12} = \gamma_1 + \gamma_2 - 2\left(\sqrt{\gamma_1^D \cdot \gamma_2^D} + \sqrt{\gamma_1^P \cdot \gamma_2^P}\right) \quad (4.3)$$

Oss ve Good' un yönteminde iki faz arasındaki yüzey gerilimi, yüzey gerilimi bileşenlerinin geometrik ortalaması baz alınarak hesaplanır. Polar kısmın hesaplanmasında ise Lewis' in asit-baz modelinden yararlanılır. Polar kısmın asidik (γ^+) ve bazik (γ^-) kısımlara ayrılmasıyla aşağıdaki eşitlik elde edilir:

$$\gamma_{ks} = \gamma_k + \gamma_s - 2\left(\sqrt{\gamma_k^D \cdot \gamma_s^D} + \sqrt{\gamma_k^+ \cdot \gamma_s^-} + \sqrt{\gamma_k^- \cdot \gamma_s^+}\right) \quad (4.4)$$

Bu yöntemlerle, yüzey gerilimleri, apolar ve polar bileşenleri bilinen sıvılarla, yüzey arasındaki ara yüzey gerilimlerinin hesaplanması mümkündür. Buna ek olarak katıların yüzey enerjileri de hesaplanabilir. Bunun içinde katı yüzeyi ile temas halinde olan sıvıların değme açılarının bilinmesi gerekmektedir.

Young 1852'de ara yüzey gerilimi ile üç fazın birbirine değdiği noktalar arasındaki ilişkiyi belirlemiştir. Burada k ve s, katı ve sıvı fazları γ_k ve γ_s sembolleri iki fazın yüzey gerilim bileşenlerini ; γ_{ks} iki faz arasındaki ara yüzey gerilimini ve θ sıvının yüzeyle yaptığı değme açısını göstermek üzere aşağıdaki şekilde formüle edilmiştir:

$$\gamma_k = \gamma_{ks} + \gamma_s \cdot \cos \theta \quad (4.5)$$

DSA1 (drop shape analyzer) programındaki tüm yöntemlerde katının yüzey enerjisi (γ_k), değme açısı verileri kullanılarak hesaplanmıştır. Tüm

yöntemlerde katı ile gaz faz arasındaki etkileşimlerin ihmal edilebilir düzeyde olduğu varsayılmıştır [68].

Bu çalışma için kullanılan yöntemler aşağıda kısaca açıklanmıştır:

4.1. Fowkes

Bu yöntemin kullanılmasıyla katının yüzey enerjisinin polar ve apolar kısımları bulunabilir. Aslında bu yöntem bir yandan OWRK bir yandan da Fowkes'un bilgilerinin birleştirilmesine dayanarak geliştirilmiştir. Fowkes ilk olarak yüzey enerjisi bileşenlerinden apolar kısmı belirlemiş ve sonrasında diğer kısımlar da belirlenmiştir. KRÜSS'de kullanılan Fowkes ve OWRK yöntemleri arasındaki fark; Fowkes yönteminde apolar ve polar kısımların belirlenmesi iki basamaktan oluşurken OWRK' da tek bir lineer regrasyon kullanılarak her iki bileşenin de hesaplanabilmesidir.

İlk basamakta en az bir tane tamamen apolar sıvı ile olan değme açısı kullanılarak katının yüzey enerjisinin apolar kısmı hesaplanır. Etkileşimlerin apolar kısmı için Fowkes' un yüzey gerilimi eşitliğinin Young eşitliği ile birleştirilmesiyle aşağıdaki eşitlik elde edilir.

$$\gamma_{ks} = \gamma_k + \gamma_s - 2\sqrt{\gamma_s^D \cdot \gamma_k^D} \quad (4.6)$$

$$\cos \theta = 2\sqrt{\gamma_k^D} \cdot 1 / \sqrt{\gamma_s^D} - 1 \quad (4.7)$$

Bu eşitlik ve doğru denklemi kullanılarak çizilen doğrunun eğiminden katının apolar yüzey enerji bileşeni hesaplanır.

İkinci basamakta ise polar bileşen hesaplanması için Eş. 4.6 genişletilir.

$$\gamma_{sl} = \gamma_k + \gamma_s - 2\left(\sqrt{\gamma_k^D \cdot \gamma_s^D} + \sqrt{\gamma_k^P \cdot \gamma_s^P}\right) \quad (4.8)$$

Ayrıca adezyon kuvvet tarafından yapılan işin polar ve apolar kısımları toplamından elde edildiği kabul edilirse;

$$W_{ks} = W_{ks}^D + W_{ks}^P \quad (4.9)$$

Ve Young eşitliğine Dupre eşitliği eklenirse adezyon tarafından yapılan işin eşitliği ortaya çıkar.

$$W_{ks} = \gamma_s (\cos \theta + 1) \quad (4.10)$$

Bu eşitliklerin birleştirilmesi ile yüzey enerjisinin polar kısmının hesaplanabilmesi için gerekli eşitlik elde edilir:

$$W_{ks}^P = \gamma_s (\cos \theta + 1) - 2\sqrt{\gamma_k^D \cdot \gamma_s^D} \quad (4.11)$$

Bu eşitliğe göre polar ve apolar kısımları bilinen sıvıların değme açıları ile her sıvı için W_{ks}^P değerleri hesaplanabilir.

Adezyon işi, yüzey geriliminin polar kısımlarının geometrik ortalaması olarak tanımlanır.

$$W_{ks}^P = 2\sqrt{\gamma_k^P} \cdot \sqrt{\gamma_s^P} \quad (4.12)$$

Bu eşitliğe göre W_{ks}^P e karşı $2\sqrt{\gamma_s^P}$ grafiğe alınması ile doğrunun eğiminden katının yüzey enerjisinin polar bileşeni hesaplanabilir.

4.2. OWRK

OWRK' ya göre her fazın yüzey gerilimi polar ve apolar kısımlara ayrılabilir:

$$\begin{aligned}\gamma_k &= \gamma_k^P + \gamma_k^D \\ \gamma_s &= \gamma_s^P + \gamma_s^D\end{aligned}\tag{4.13}$$

Fowkes yöntemi de yüzey gerilimi hesaplanmasında bu ilişkiyi geliştirmiştir. Fowkes'un tersine OWRK'da katının yüzey enerjisi tek basamakta hesaplanır.

Owens ve Wendt yüzey gerilimi eşitliğini temel alarak bunu Young eşitliği ile birleştirmişlerdir.

$$\gamma_{ks} = \gamma_k + \gamma_s - 2\left(\sqrt{\gamma_k^D \cdot \gamma_s^D} + \sqrt{\gamma_k^P \cdot \gamma_s^P}\right)\tag{4.14}$$

$$\gamma_k = \gamma_{ks} + \gamma_s \cdot \cos \theta\tag{4.15}$$

Eş. 4.14 ve 4.15'in birleştirilip doğru denkleme uyarlanması ile aşağıdaki eşitlik elde edilmiştir.

$$\frac{(1 + \cos \theta) \cdot \gamma_s}{2\sqrt{\gamma_s^D}} = \sqrt{\gamma_k^P} \sqrt{\frac{\gamma_s^P}{\gamma_s^D}} + \sqrt{\gamma_k^D}\tag{4.16}$$

Bu iki araştırmacı, eşitlik sistemini çözmek için yüzey gerilimlerinin polar ve apolar kısımları bilinen iki sıvının değme açısını kullanmışlardır. Kaelble bu eşitliği yüzey enerjileri için sonuç değerlerinin ortalamasının hesaplanması ve iki sıvının birleştirilmesi ile çözmüştür. Rabel farklı sıvıların değme açılarını kullanarak oluşturduğu tek bir lineer regrasyon yardımıyla yüzey enerjisinin polar ve apolar kısımlarının hesaplanmasını mümkün kılmıştır.

4.3. Van Oss & Good'a Göre Asit-Baz Yöntemi

Oss ve Good 'da yüzey enerjisinin polar ve apolar kısımlarını ayırmıştır. Ancak, diğerlerinin tersine polar etkileşimleri Lewis'in asit-baz modeli yardımıyla açıklamışlardır. Bu modele göre; katının yüzey enerjisinin polar kısmı ve sıvı damlasının etrafı; Lewis asidi ve bazında olduğu gibi elektron alıcı ve verici kısımlara bölünürler. Farklı yüklerin çekimine bağlı olarak katı ve sıvının polar bileşenlerindeki kısmi kutuplar arasında etkileşmeler oluşur.

Fowkes ve OWRK'nın kullandığı yüzey gerilimi eşitliği düzenlendiğinde:

$$\gamma_{sl} = \gamma_k + \gamma_s - 2\left(\sqrt{\gamma_k^D \cdot \gamma_s^D} + \sqrt{\gamma_k^+ \cdot \gamma_s^-} + \sqrt{\gamma_k^- \cdot \gamma_s^+}\right) \quad (4.17)$$

elde edilir. Katının yüzey enerjisinin 3 bileşeninin değme açısı verileri kullanılarak hesaplanabilmesi için bu eşitlik Young eşitliği ile birleştirildiğinde:

$$\gamma_k = \gamma_{sl} + \gamma_s \cdot \cos \theta$$

$$(1 + \cos \theta)\gamma_s = 2\left(\sqrt{\gamma_k^D \cdot \gamma_s^D} + \sqrt{\gamma_k^+ \cdot \gamma_s^-} + \sqrt{\gamma_k^- \cdot \gamma_s^+}\right) \quad (4.18)$$

elde edilir. Bu eşitliğin çözülmesi için en az 3 sıvı ile değme açısı ölçümü yapılması gerekmektedir ve bunlardan en az ikisinin asit ve baz kısımlarının değerleri 0'dan büyük olmalıdır. Dahası, en az bir sıvının bazik ve polar değerleri birbirine eşit olmalıdır. Bu amaçla da genellikle Lewis skalasına göre nötral noktada bulunan su kullanılır [68].

Van Oss ve arkadaşları katı ve sıvı bileşenlerin yüzey serbest enerjilerinin hesaplanmasında kullanılan iki metot önermiştir [67].

Metot I

Katı üzerinde üç farklı polar sıvının değme açısının ölçülmesiyle Eş. 4.17 kullanılarak katının γ^{LW} , γ^+ ve γ^- değerleri hesaplanabilir. Ancak bu sıvıların önceden γ^{LW} , γ^+ ve γ^- değerlerinin bilinmesi zorunludur (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Değme açısı belirlemede kullanılan sıvıların 20 °C'da yüzey enerji bileşenlerinin değerleri (mJ/m²)

SIVI	γ_s	γ_s^{LW}	γ_s^{AB}	γ_s^+	γ_s^-
APOLAR					
Parafin	28,9	28,9	0,0	0,0	0,0
Cis-Dekalin	32,2	32,2	0,0	0,0	0,0
α -Bromonaftalin	44,4	44,4	0,0	0,0	0,0
Diiodometan	50,8	50,0	0,0	0,0	0,0
POLAR					
Su	72,8	21,8	51,0	25,5	25,5
Gliserin	64,0	34,0	30,0	3,92	57,4
Formamit	58,0	39,0	19,0	2,28	39,6
Etilen Glikol	48,0	29,0	19,0	1,92	47,0

Eş. 4.17 aşağıdaki şekilde yazılabilir.

$$A=B\sqrt{\gamma_K^{LW}}+C\sqrt{\gamma_K^+}+D\sqrt{\gamma_K^-}$$

(4.19)

Burada;

$$A = \gamma_s (1 + \cos\theta)$$

$$\begin{aligned}
B &= 2\sqrt{\gamma^{LW}} \\
C &= 2\sqrt{\gamma^-} \\
D &= 2\sqrt{\gamma^+}
\end{aligned} \tag{4.20}$$

Farklı sıvıların değme açılarının ölçülmesiyle elde edilen Eş. 4.20'nin çözülmesiyle katı için bilinmeyen üç ayrı γ^{LW} , γ^+ ve γ^- değerleri bulunur.

Metot II

Bu metotta, önce bir apolar sıvı ile ölçülen değme açısının kullanılmasıyla katının γ_K^{LW} yüzey enerji bileşeni hesaplanır. Daha sonra diğer iki polar sıvı ile ölçülen değme açılarının kullanılmasıyla da katının diğer yüzey enerji bileşenleri hesaplanır. Apolar sıvı için $\gamma_s^+ = \gamma_s^- = 0$ ve $\gamma_s = \gamma_s^{LW}$ olduğundan Eş. 4.18 aşağıdaki biçimde yazılır.

$$\gamma_s(1 + \cos\theta) = 2\sqrt{\gamma_K^{LW} \gamma_s^{LW}} \tag{4.21}$$

Buradan γ_K^{LW} belirlenir ve daha sonraki eşitliklerde kullanılır. Daha sonra Eş. 4.18'in su ve diğer bir sıvı ile ölçülen değme açıları için iki defa yazılmasıyla γ_K^- ve γ_K^+ yüzey enerji bileşenleri belirlenir. γ_K^- ve γ_K^+ değerleri Eş. 4.21'de kullanılarak Lewis asit-baz bileşeni γ_K^{AB} hesaplanır.

$$\gamma_K^{AB} = 2\sqrt{\gamma_K^+ \gamma_s^-} \tag{4.22}$$

Katıların toplam yüzey enerjisi γ_K^{TOP}

$$\gamma_K^{TOP} = \gamma_K^{LW} + \gamma_K^{AB} \quad (4.23)$$

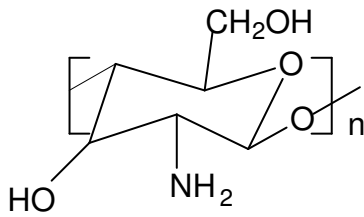
4.23 eşitliği ile belirlenir. Elde edilen γ_K^{LW} , γ_K^- , γ_K^+ , γ_K^{AB} ve γ_K^{TOP} değerleri ortalama olarak verilir [67].

5. DENEYSEL KISIM

5.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

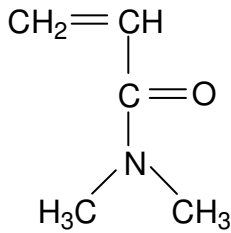
Bu çalışmada kullanılan kitosan polimeri, akrilamit (AAm) ve N-N dimetil akrilamit (DMA) monomerleri, polimerizasyon başlatıcısı amonyum persülfat (APS), N,N,N',N'-tetrametilendiamin (TEMED) hızlandırıcısı, glutarik dialdehit (GDA) çapraz bağlayıcısı, zincir transfer ajanı merkaptto asetik asit (MAA) , amit bağı oluşturucu N-hidroksi süksinimit (NHS) ve 1-etil(3-3 dimetilaminopropil) karbondiimit (EDC) Aldrich firmasından temin edilmiştir. Adsorpsiyon deneylerinde kullanılan DNA, Gazi Üniversitesi Biyoloji Bölümü laboratuvarlarında saksı bitkilerinden izole edilmiştir.

Kullanılan maddelerin kimyasal yapıları aşağıda verilmiştir.



Kitosan

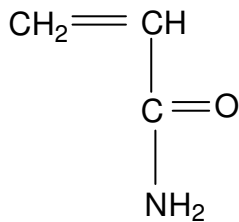
Mol Kütlesi: 600000 g/mol



N,N- dimetilakrilamit (DMA)

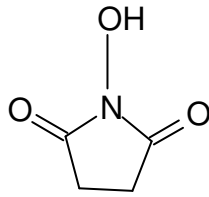
Mol kütlesi : 99.13 g/mol

Yoğunluk : 0,962 g/mL



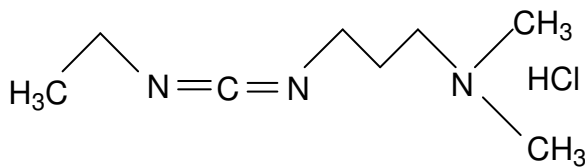
Akrilamit (AAm)

Mol kütlesi : 71.08 g/mol



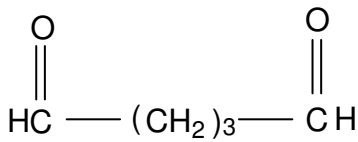
N- Hidroksi Süksinimit
(NHS)

Mol Kütlesi : 115,1 g/mol



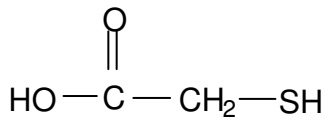
1-etil(3-3 dimetilaminopropil)
karbondiimit hidroklorür
(EDC)

Mol Kütlesi : 191,7 g/mol



Gluterik dialdehit
(GDA)

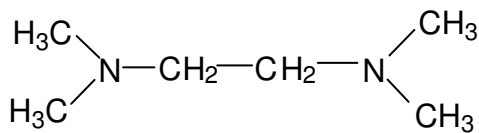
Mol Kütlesi: 100,1 g/mol



Merkapto asetik asit
(MAA)

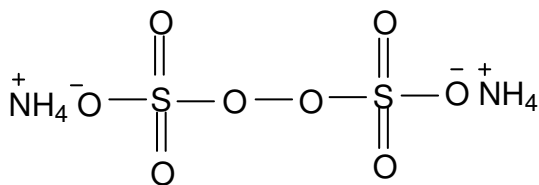
Mol Kütlesi: 92,12 g/mol

Yoğunluğu: 1,325 g/ml



N,N,N',N'-tetrametilendiamin
(TEMED)

Mol Kütlesi: 116,2 g / mol



Amonyum persülfat
(APS)

Mol Kütlesi: 228 g / mol

Yoğunluğu: 1,98 g / mL

Hidrojellerin sentezinde kullanılan stok çözeltiler aşağıda belirtilen şekilde hazırlanmıştır:

- *APS stok çözeltisi:* 1,28 g APS saf suda çözüldükten sonra hacmi saf su ile 100 mL 'ye tamamlanmıştır.
- *TEMED stok çözeltisi:* 9,6 mL TEMED saf suda çözüldükten sonra hacmi saf su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.
- *EDC stok çözeltisi:* 0,1g EDC saf suda çözüldükten sonra hacmi saf su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.
- *NHS stok çözeltisi:* 0,1g NHS saf suda çözüldükten sonra hacmi saf su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.
- *GDA çözeltisi:* 2 ml %25'lik gluterik dialdehit çözeltisi saf suda çözüldükten sonra hacmi 25 ml'ye tamamlanmıştır.
- *500 mM EDTA stok çözeltisi:* 18,6 g EDTA disodyum tuzu 70 ml suda ısıtılarak ya da bir miktar NaOH ile çözüldükten sonra hacmi saf su ile 100 mL' ye tamamlanmıştır.
- *500 mM TRIS stok çözeltisi:* 7,9 g tris 80 ml suda çözülerek pH seyreltik HCl ile 7,4'e ayarlandıktan sonra çözelti hacmi saf su ile 100 mL' ye tamamlanmıştır.
- *Tris-EDTA (TE) tampon çözeltisi:* 2 ml tris çözeltisi ve 0,2 ml EDTA çözeltisi karıştırılarak çözelti hacmi 100 ml'ye tamamlanır.
- *PDMA hazırlanışı:* 1 ml DMA için 11 µl MAA, 2 ml su, 1 ml APS çözeltisi, 2 ml TEMED çözeltisi karıştırılarak polimerleşmenin tamamlanması için 24 saat bekletilmiştir.
- *PAAm hazırlanışı:* 1g AAm için 11 µl MAA, 2 ml su, 1 ml APS çözeltisi, 2 ml TEMED çözeltisi karıştırılarak polimerleşmenin tamamlanması için 24 saat bekletilmiştir.
- *Kitosan çözeltisinin hazırlanışı:* 2 g kitosan ($M_w: 6,0 \times 10^6$ g/mol) %3 'lük 130 ml asetik asitte 24 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılarak çözülmüştür.

5.2. Hidrojellerin Hazırlanması

5.2.1. PDMA aşılınmış kitosan hidrojellerinin hazırlanması

Kitosan ve PDMA-COOH çözeltileri kütlece DMA oranları % 28,6; 37,5; 44,4; 50,0; 60,0; 66,7, 75,0 ve 80,0 olacak şekilde karıştırılmıştır. Kitosanın $-NH_2$ grubu ile PDMA'nın $-COOH$ grubu arasında amit bağı oluşturmak üzere (kitosan: EDC: NHS mol oranları 2:2:1 olacak şekilde) EDC ve NHS eklenip 24 saat beklenmiştir. Daha sonra kitosanda açık kalan $-NH_2$ uçlarının çapraz bağlanması için GDA eklendikten sonra çözelti petri kabına dökülerek jelleşmenin tamamlanması için 3 gün bekletilmiştir. Tepkimeye girmeyen bileşenlerin uzaklaştırılması için saf su ile yıkanan jeller önce oda sıcaklığında 3 gün, ardından da vakum etüvünde $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de kurutularak yapılarında bulunan serbest su uzaklaştırılmıştır.

5.2.2. PAAm aşılınmış kitosan hidrojellerinin hazırlanması

Kitosan ve PAAm-COOH çözeltileri kütlece AAm oranları % 28,6; 37,5; 44,4; 50,0; 60,0; 66,7, 75,0 ve 80,0 olacak şekilde karıştırılmıştır. Kitosanın $-NH_2$ grubu ile PAAm' in $-COOH$ grubu arasında amit bağı oluşturmak üzere (kitosan: EDC: NHS mol oranları 2:2:1 olacak şekilde) EDC ve NHS eklenip 24 saat beklenmiştir. Ardından kitosanda açık kalan amin uçlarının çapraz bağlanması için GDA eklendikten sonra çözelti petri kabına dökülerek jelleşmenin tamamlanması için 3 gün bekletilmiştir. Tepkimeye girmeyen bileşenlerin uzaklaştırılması için saf su ile yıkanan jeller önce oda sıcaklığında 3 gün, ardından da vakum etüvünde $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de kurutularak yapılarında bulunan serbest su uzaklaştırılmıştır.

5.3. Hidrojellerin Yapısal Karakterizasyonu

5.3.1. Hidrojellerin Fourier Transform İnfrared (FT–IR) spektroskopisi

Hidrojellerin yapısal karakterizasyonu için, ATR-FTIR ölçümleri elmas kristali ile donanmış Nicolet 6700 model FT–IR spektrofotometresi kullanılmıştır. Bunun için monomerlerin, PDMA ve PAAm polimerlerinin ve kitosan üzerine aşıl原因 olarak hazırlanan jellerin spektrumları, Attenuated total reflectance (ATR) başlığı ile alınmıştır.

5.3.2. PDMA ve PAAm aşıl原因mış kitosan hidrojellerin SEM görüntüleri

Hidrojellerin morfolojileri taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak incelendi. Bu amaçla hidrojeller saf su içerisinde oda sıcaklığında denge şişme oranına getirildi. Gözeneklerin yapısını korumak amacıyla -50 °C' de düşük basınç altında Labconco marka freeze-dryer cihazında 24 saat süre ile dondurup kurutularak yapılarındaki çözücü uzaklaştırıldı. Hidrojeller kırılarak SEM görüntüleri alınmadan önce yüzeyleri 3 dakika süreyle altın kaplandı. Daha sonra, JEOL JSM–6360 LV SEM taramalı elektron mikroskobu yardımı ile fotoğrafları çekildi.

5.3.3. PDMA ve PAAm aşıl原因mış kitosan hidrojellerin yüzey enerjilerinin belirlenmesi

Çapraz bağlanmış kitosan ve kitosan üzerine tarak tipi aşıl原因mış PDMA ve PAAm hidrojellerinin yüzey enerjileri KRÜSS marka değme açısı (contact angle) DSA100 cihazı kullanılarak hesaplanmıştır. Hidrojeller üzerine polar sıvılar olan su, etilen glikol ve formamit ve apolar sıvı olan diiyodometan damlatılarak sıvıların yüzeyle oluşturduğu değme açıları ölçülmüştür. Değme açıları, sıvı damlatıldıktan hemen sonra ve her sıvı için en az üç ölçüm alınarak belirlenmiştir.

5.3.4. PDMA ve PAAm aşılınmış kitosan hidrojellerin denge şişme oranına pH etkisi

Hazırlanan TE tampon çözeltisi (pH=7,8) 250mL'lik hacimlere bölünerek 1M NaOH ve HCl çözeltileri ile sekiz farklı pH 'da (2,0 – 9,0) ayarlanmıştır. Kuru tartımları alınan hidrojellerin her bir kompozisyonu 10 mL tampon çözelti içerisine atılarak 5 gün bekletilmiştir. 5 gün sonunda denge şişme değerine ulaşan hidrojeller çözeltilerden çıkarılarak tartımları alınmış ve her pH 'daki şişmiş kütleleri belirlenmiştir.

Elde edilen verilerle aşağıdaki eşitlik kullanılarak hidrojellerin denge şişme oranları Eş. 5.1 yardımıyla hesaplanmıştır.

$$\text{ŞO} = \frac{m_t - m_k}{m_k} \quad (5.1)$$

m_t : Hidrojin t süre sonunda şişmiş kütlesi

m_k : Hidrojin kuru kütlesi

ŞO : Denge şişme oranı

5.3.5. PDMA ve PAAm aşılınmış kitosan hidrojellerin denge şişme oranına sıcaklık etkisi

Hazırlanan hidrojellerin denge şişme oranlarının sıcaklığa bağlı değişimi incelenmiştir. Bunun için, hidrojeller, içinde TE tamponu bulunan 50 mL'lik cam şişeler içerisine konulmuş ve denge şişme değerlerine ulaşmaları için 2 gün oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra jeller, sıcaklığı $\pm 0,1$ °C duyarlıkta ayarlanabilen Thermo Haake marka termostatlı su banyosunda, sıcaklık 5 °C' ye sabit olacak şekilde ayarlanarak, 24 saat bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda 5 °C' de denge şişme değerine ulaşmış olan hidrojeller cam şişelerden bir spatül yardımıyla çıkarılmış, yüzeyleri kurulandıktan sonra tartılmıştır. Bunun için hidrojellerin kuru örnekleri $\pm 0,0001$ g duyarlıkta tartım

yapan METTLER TOLEDO marka bir elektronik teraziden yararlanılmıştır. Bu deney, her bir jel kompozisyonu için üç jel ile 5-55 °C sıcaklık aralığında 5 °C'lik sıcaklık artışlarıyla ayrı ayrı tekrarlanmıştır. Hidrojellerin denge şişme oranları Eş. 5.1 yardımıyla hesaplanmıştır.

5.4. PDMA ve PAAm Aşılanmış Kitosan Hidrojellerinde DNA Adsorpsiyon Kapasitesinin Belirlenmesi

Adsorpsiyon ortamının hazırlanması için belli miktarda DNA, 4 °C' de TE tamponunda (pH= 7,4) çözülmüştür. Kitosan üzerine aşılanmış PDMA ve PAAm hidrojellerinin TE tamponunda dengeye gelmesi sağlandıktan sonra hidrojeller 10 ml DNA çözeltisi içine alınarak adsorpsiyon kapasiteleri incelenmiştir.

5.4.1. PDMA ve PAAm aşılanmış kitosan hidrojellerin aşılama miktarına bağlı DNA adsorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi

AAm ve DMA aşılama ile hazırlanan tüm jeller için belirli DNA derişiminde 4 °C ve 37 °C' de 24 saat sonundaki adsorpsiyon miktarları ölçülmüştür. Jellerin adsorpladığı DNA miktarı ATI UNICAM marka UV-VISIBLE spektrofotometresi kullanılarak 260 ve 280 nm dalga boylarında yapılan ölçümler yardımıyla bulunmuştur. Çözeltide kalan DNA miktarı ölçülerek; DNA çözeltisi ile jellerin bulunduğu çözeltiler için ölçülen değer arasındaki fark yardımıyla jelin adsorpladığı DNA miktarı hesaplanmıştır.

5.4.2. PDMA ve PAAm aşılanmış kitosan hidrojellerin zamana bağlı DNA adsorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi

Hazırlanan jeller DNA çözeltisine alındıktan sonra 4 °C ve 37 °C' de 3, 24, 48, 72 ve 96 saat sonunda çözeltide kalan DNA miktarı UV-VISIBLE spektrofotometresi kullanılarak ölçülmüştür. İlk DNA çözeltisi ile ölçülen

değer arasındaki fark kullanılarak g kuru jel başına adsorplanan DNA miktarı hesaplanmıştır.

5.4.3. PDMA ve PAAm aşılınmış kitosan hidrojellerin değişen DNA derişimine göre DNA adsorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi

Hazırlanan jellerin DNA adsorpsiyon kapasitelerinin belirlenmesi için 5 farklı derişimde hazırlanan DNA çözeltisi içerisinde 24 saat 4 °C ve 37 °C' de bekletilmiş ve daha sonra UV-VISIBLE spektrofotometresi kullanılarak 260 ve 280 nm dalga boylarında yapılan ölçümle çözeltide kalan DNA miktarı ölçülmüş ve buradan adsorplanan DNA miktarı hesaplanmıştır.

5.4.4. PDMA ve PAAm aşılınmış kitosan hidrojellerin iki farklı pH'da DNA salımı

DNA adsorpsiyonu çalışılan jeller DNA çözeltisinden çıkarılıp tamponla yıkandıktan sonra pH= 7,4 ve 9,0 tamponlarına alınarak bağladıkları DNA'nın salımı incelenmiştir. Bunun için jellerin atıldığı tampon çözeltilerdeki DNA derişimi 3, 24, 48, 72 ve 120 saat sonunda UV-VISIBLE spektrofotometresi kullanılarak ölçülmüştür ve g jel başına DNA salınımları hesaplanmıştır.

5.5. PDMA ve PAAm Aşılınmış Kitosan Hidrojellerin DNA Adsorpsiyon İçin Tekrar Kullanılabilirliği

Adsorpsiyon deneyinde kullanılan jeller pH= 9,0 tamponuna alınarak bağlanan DNA'nın bırakılması sağlandıktan sonra jeller tekrar DNA çözeltisine konulup adsorpsiyon miktarı belirlenmiş ve bu işlem tekrarlanarak her seferinde jelin DNA adsorpsiyon miktarları hesaplanmıştır.

6. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

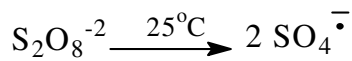
6.1. Kitosan Üzerine Tarak Tipi Aşılanmış PDMA Hidrojellerinin Sentezi

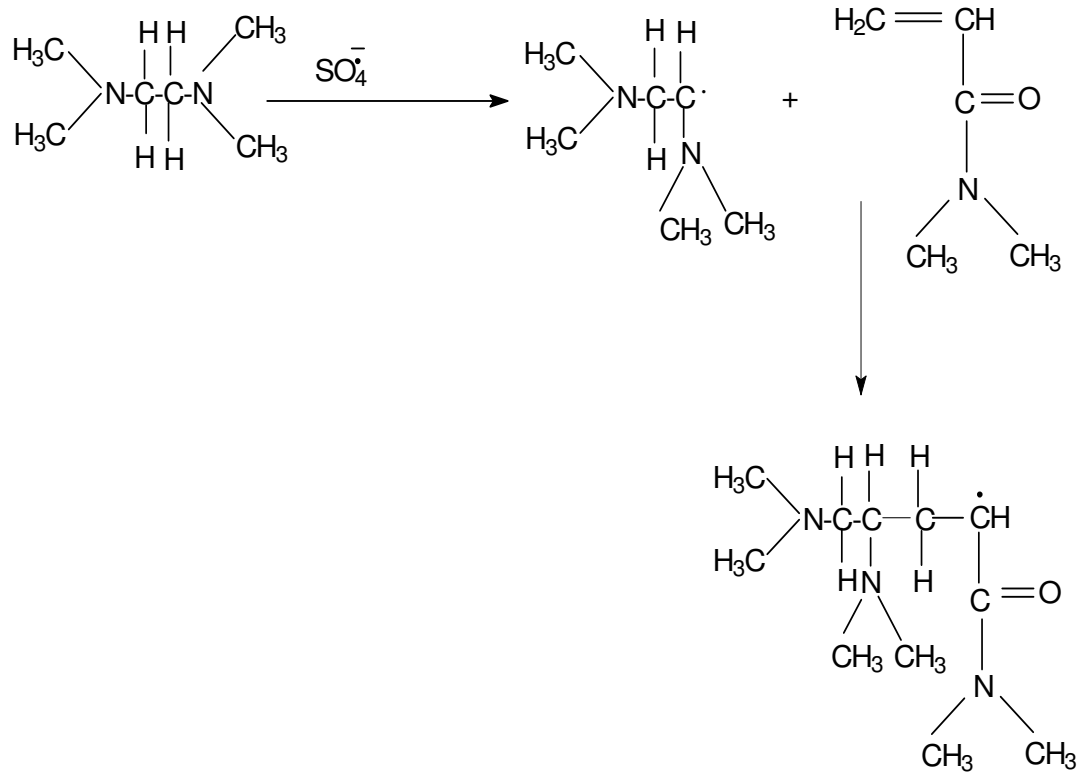
Kitosan üzerine tarak tipi aşılanmış PDMA ve PAAm hidrojelleri; kitosan çözeltisi üzerine değişen miktarlarda PDMA-COOH ve PAAm-COOH ilave edilmesiyle sentezlenmiştir. Sentezin ilk aşamasında DMA monomeri APS/TEMED başlatıcı sistemi kullanılarak serbest radikal kopolimerizasyonu ile polimerleştirilmiş ve MAA zincir transfer ajanı yardımıyla karboksilik asit grubu eklenmiştir.

Kimyasal yöntemle sentezlenen aşılanmış hidrojel sentezinde ilk önce Şekil 6.1 ' de olası reaksiyon mekanizması verilen APS ile TEMED reaksiyonunda $S_2O_8^{-2}$ anyonu 25 °C de anyonik $SO_4^{\cdot-}$ radikalini oluşturmasıyla ortaya çıkan bu anyonik radikal ortamdaki TEMED molekülü ile etkileşerek ortaklanmamış bir elektron çifti içeren aktif TEMED molekülünü oluşturulabilir.

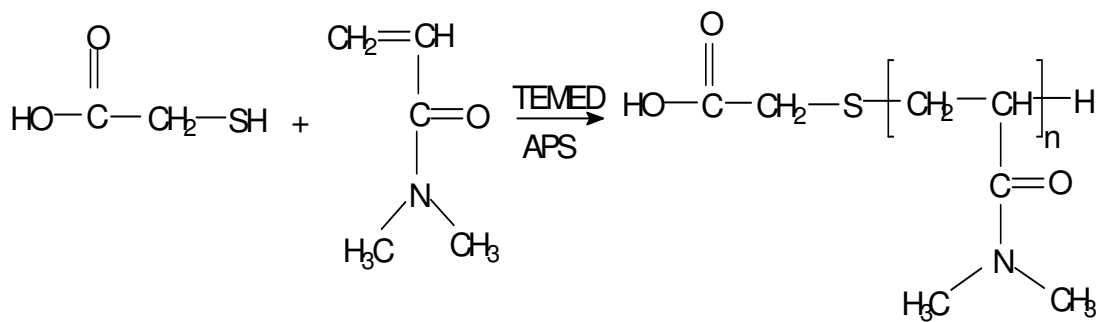
Oluşan aktif TEMED molekülünün DMA ve AAm monomeriyle MAA varlığında reaksiyonu sonucunda PDMA-COOH (PAAm-COOH) polimeri oluşmaktadır.

Olası reaksiyon mekanizması:



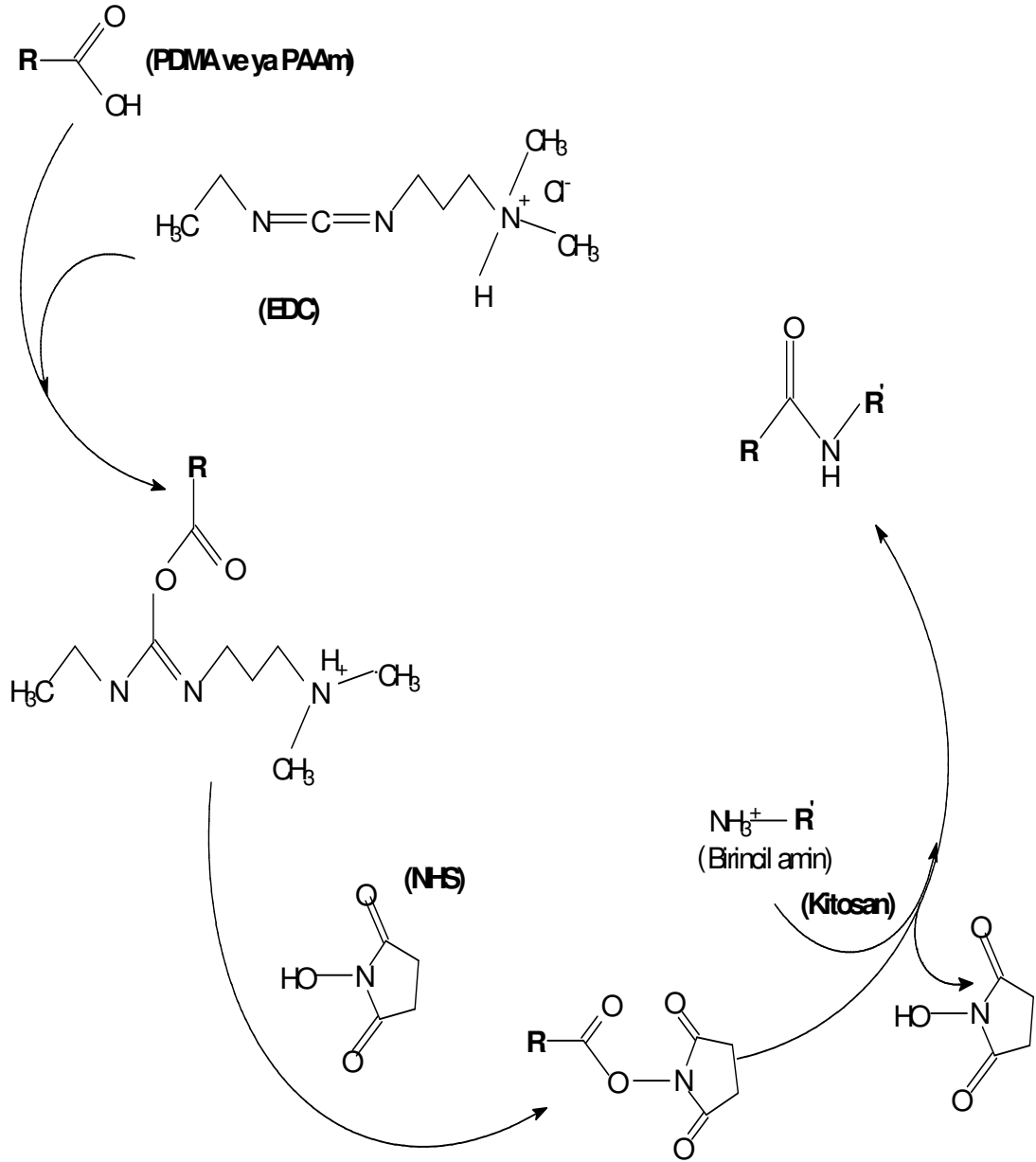


Şekil 6.1. APS ile TEMED reaksiyonu sonucu oluşan çiftleşmemiş tek elektron içeren aktif TEMED molekülü ile aktifleşmiş DMA monomeri

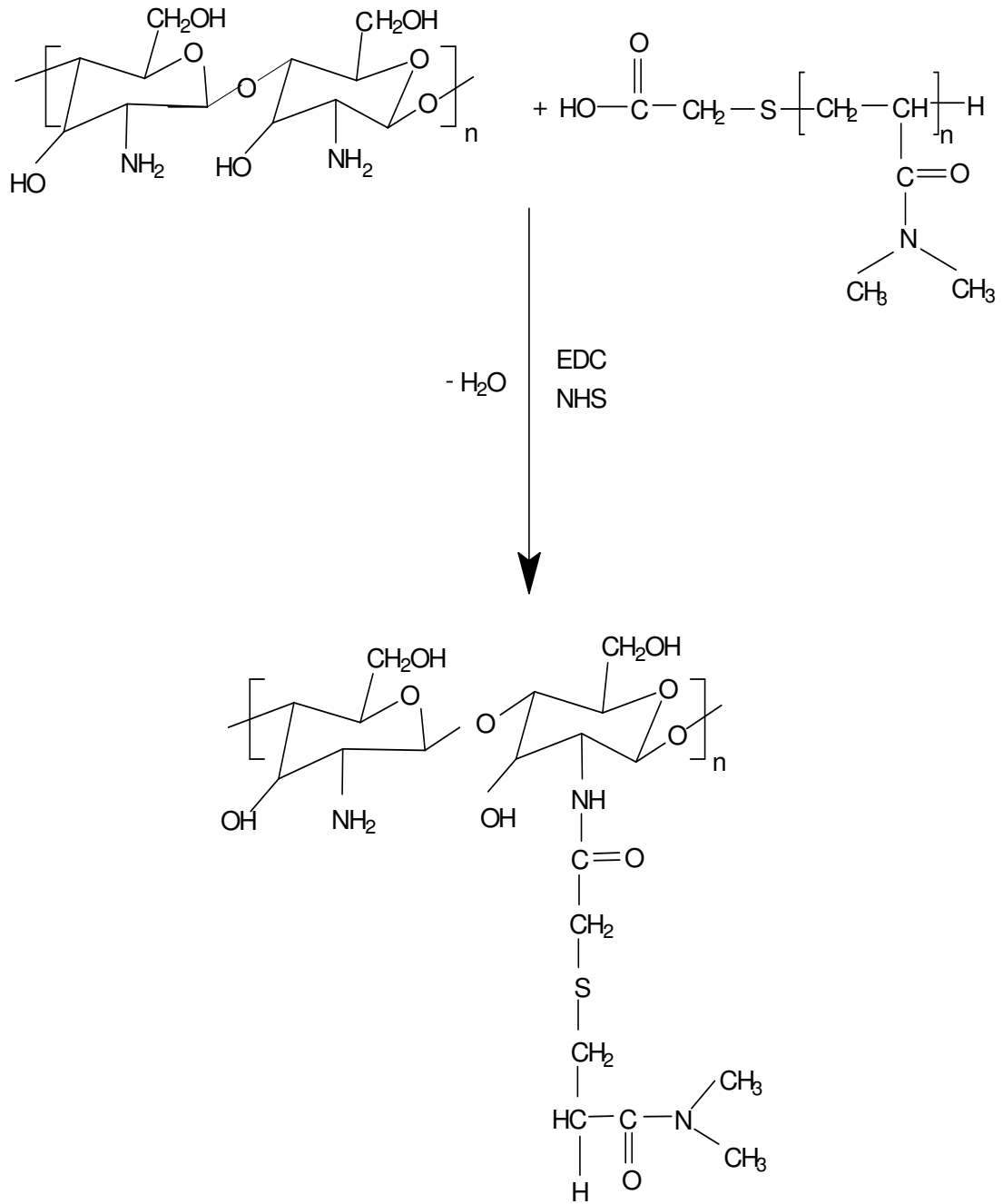


Şekil 6.2. N,N-dimetil akrilamit'in merkaptto asetik asit varlığında APS/TEMED başlatıcı sistemi ile polimerleştirilmesi

PDMA-COOH polimerinin karboksillik asit grubu ile kitosanın amin grupları arasında, EDC/HNS varlığında, amit bağı oluşur. Bu şekilde PDMA veya PAAm kitosan üzerine aşılanabilir.

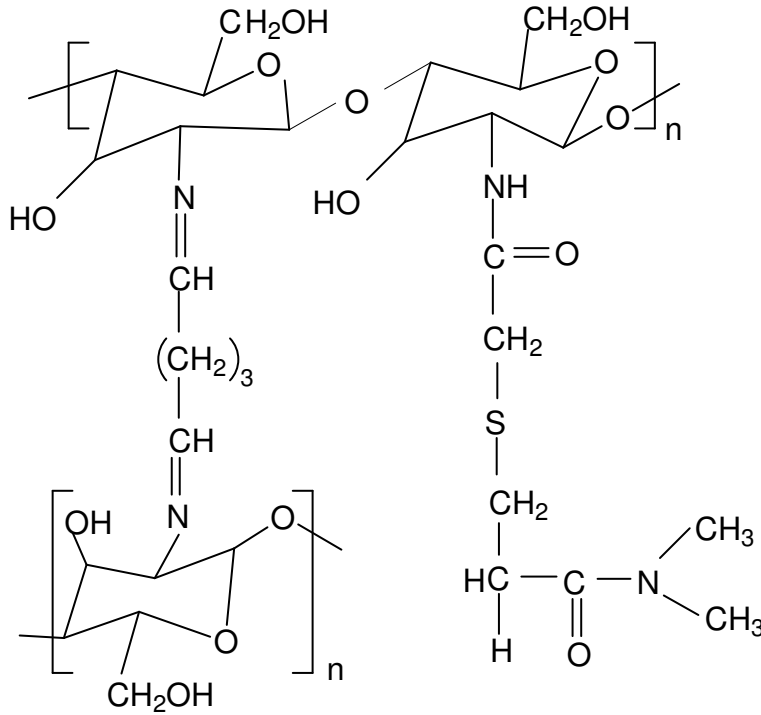


Şekil 6.3. EDC/HNS yardımı ile amit bağı oluşumu [69]



Şekil 6.4. PDMA aşılantısı kitosanının kimyasal yapısı

Kitosan üzerinde açık kalan $-\text{NH}_2$ uçlarının glutaraldehit ile çapraz bağlanmasıyla Şekil 6.5'te gösterilen tarak tipi aşılantısı hidrojel elde edilmiştir.



Şekil 6.5. PDMA aşılantı çapraz bağlı kitosan hidrojelinin kimyasal yapısı

6.2. PAAm Aşılantı Kitosan Hidrojellerin Yapısal Karakterizasyonu

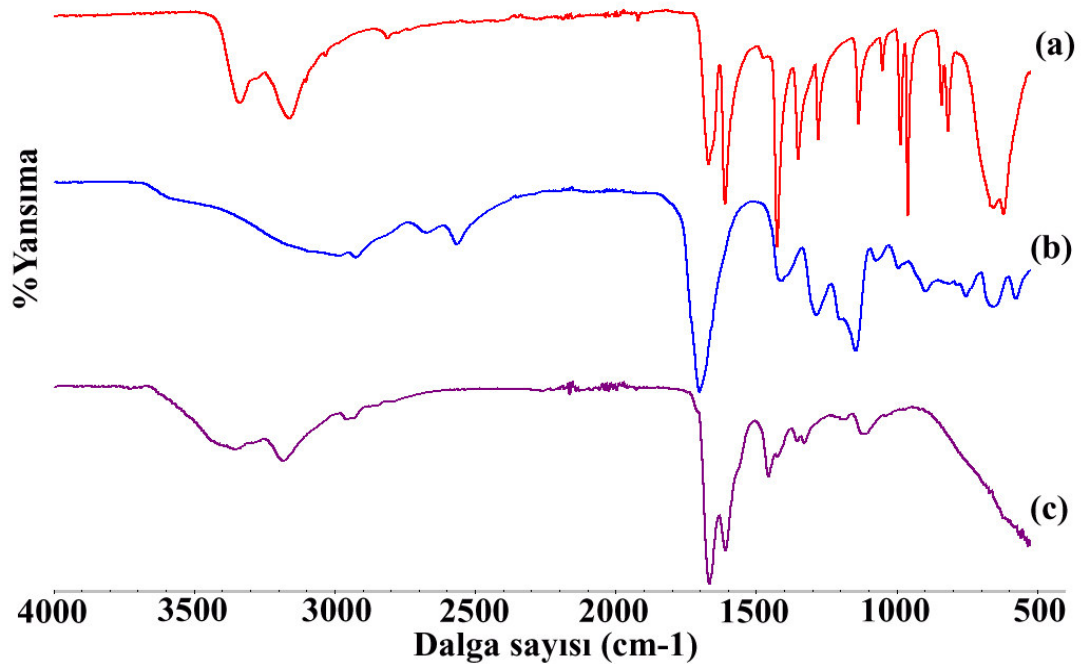
6.2.1. Fourier Transform İnfrared (FT-IR) spektroskopisi

Hazırlanan hidrojellerin yapısal karakterizasyonu için FT-IR spektroskopisinden yararlanılmıştır. Öncelikle AAm monomeri merkaptotasetik asit zincir transfer ajanı yardımıyla polimerleştirilmiş, daha sonra ise polimerin kitosan üzerine aşılantı sağlanması sağlanmıştır. Her basamak ATR-FTIR spektrumları ile incelenmiştir. PAAm aşılantı kitosan hidrojellerinin FT-IR spektrumları Şekil 6.6 ve Şekil 6.7’de verilmiştir.

—NH₂ bandı ikiye ayrılmış gibi çatallı bir şekilde görülür. Yapıda —OH gruplarının bulunması bandın genişlemesine hatta —NH₂ gruplarının tamamen görünmemesine neden olabilir. —OH bandındaki simetrisinin bozulması, yapıda —NH₂ varlığı göstermektedir. Yapıda su veya —OH gruplarının bulunması durumunda —NH bandı gözlenmeyebilir [70-72].

Saf AAm monomerinin ATR-FTIR spektrumu incelendiğinde, 3180 cm^{-1} ve 3390 cm^{-1} dalga sayısında gözlenen bantlar yapıda bulunan $-\text{NH}_2$ grubundan kaynaklanan simetrik ve asimetrik gerilme bantlarıdır. 1640 cm^{-1} 'de gözlenen band yapıdaki $\text{C}=\text{O}$ gruplarının gerilmesine aittir. Bu dalga sayısında $-\text{NH}$ bandı da gözlenmelidir. Bu durumda bu iki band çakışmış olabilir. 1590 cm^{-1} 'de gözlenen band ise, aynı şekilde, $-\text{NH}_2$ eğilme ve $\text{C}=\text{C}$ gerilmelerine aittir.

MAA' in ATR-FTIR spektrumunda $3400\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı aralığında gözlenen geniş band yapıdaki $-\text{OH}$ gerilmelerine aittir. 1300 cm^{-1} 'de gözlenen orta şiddetli band $\text{C}-\text{O}$ gerilmesine, 1700 cm^{-1} 'de gözlenen band ise $\text{C}=\text{O}$ gerilmelerinden kaynaklanır. 2569 cm^{-1} dalga sayısında gözlenen band tiyol gruplarındaki $\text{S}-\text{H}$ gerilmelerine aittir.

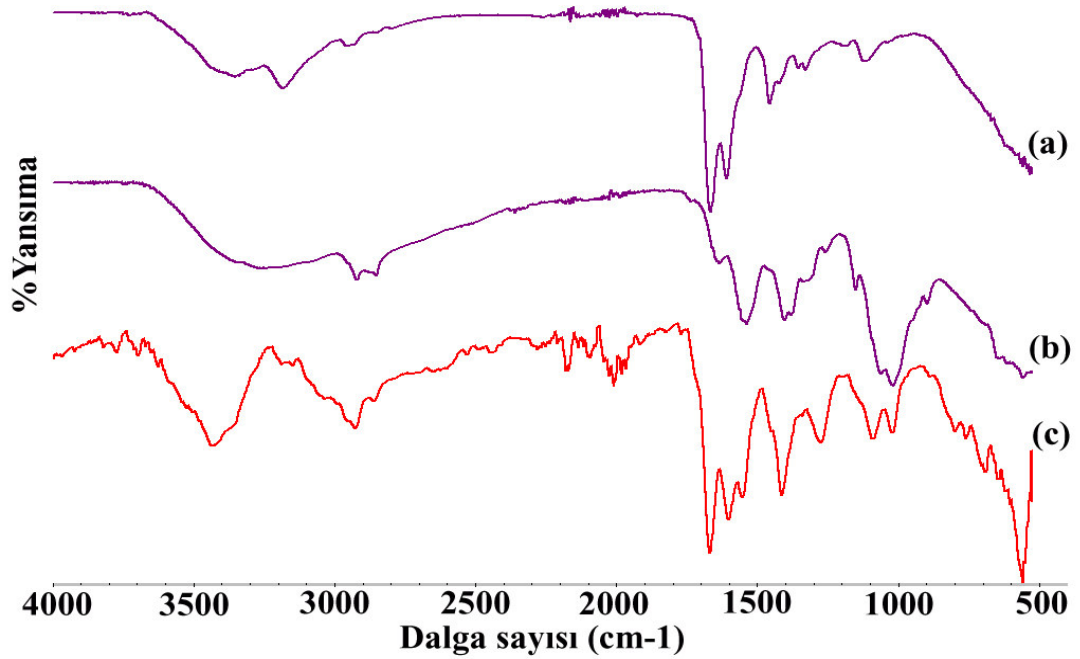


Şekil 6.6. (a) AAm, (b) MAA, (c) PAAm-COOH için FT-IR spektrumları

MAA zincir transfer ajanı yardımıyla polimerleştirilen PAAm-COOH polimerinin ATR-FTIR spektrumları incelendiğinde, $-\text{NH}_2$ 'den kaynaklanan gerilmeler $3400\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısında gözlenmiştir. Bandın

yayvanlaşması yapıda bulunan sudan kaynaklanmaktadır [72]. MAA spektrumunda bulunan S-H bandı polimerin spektrumunda gözlenmemiştir, bu durum bağlanmanın –SH üzerinden gerçekleştiğini gösterebilir. Aynı zamanda MAA yapısında bulunan C=O yaklaşık 1700 cm^{-1} ' de omuz şeklinde, AAm yapısındaki C=O ise 1670 cm^{-1} 'de gözlenmiştir. 1610 cm^{-1} civarında gözlenen band ise –NH₂ eğilmelerine aittir. Yaklaşık 1560 cm^{-1} omuz şeklinde gözlenen band C=C gerilmelerinden kaynaklanmış olabilir. AAm yapısında C=C bağına ait bandın şiddetinin azalması monomerin büyük kısmının polimerleştiğini göstermektedir.

Saf kitosanın ATR-FTIR spektrumları incelendiğinde, $3400\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı aralığında yapısındaki –OH gruplarından kaynaklanan gerilme bandları bulunmaktadır. Yapıdaki –NH₂ grubu nedeniyle bu yayvan band üzerinde köşelenmeler olduğu gözlenmiştir. $2850\text{--}2950\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenen band asimetric ve simetric –CH₂ gerilmelerinden kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte $1050\text{--}1180\text{ cm}^{-1}$ 'de C-O-C asimetric gerilme bantları görülmektedir.

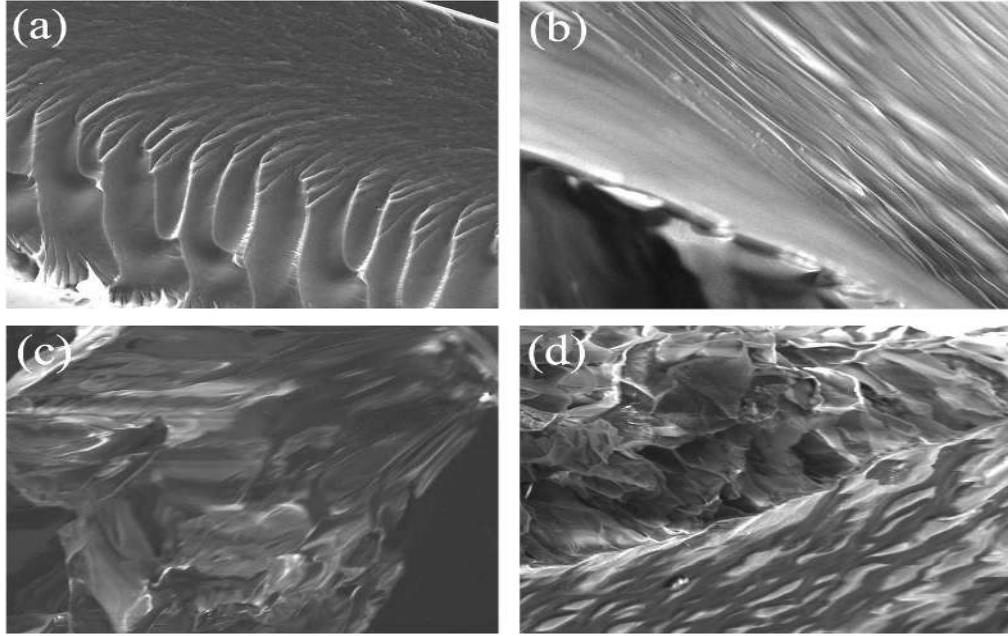


Şekil 6.7. (a) PAAm-COOH, (b) Kitosan , (c) PAAm aşılانmış kitosan hidrojelilerin ATR-FT-IR spektrumları

PAAm aşılانmış kitosan hidrojellerin ATR-FT-IR spektrumlarına bakıldığında, PAAm'den gelen -NH_2 'ler $3200\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$ aralığında köşeli band olarak gözlenmiştir. Kitosanın yapısındaki -NH_2 grupları aşılama sonucu -NH gruplarına dönüşmüştür. Bu nedenle yaklaşık 3400 cm^{-1} 'de band keskinleşmiştir. $2800\text{--}2950\text{ cm}^{-1}$ 'de C-H gerilmelerine ait bandın şiddeti artmıştır. PAAm aşılانmasıyla yapıda -CH_2 gruplarının artması, PAAm aşılانmış kitosan hidrojellerinin sentezlendiğini göstermektedir.

Sonuç olarak, AAm monomerinin Şekil 6.2' de öngörüldüğü gibi polimerleştirildiği ve Şekil 6.4'de gösterildiği şekilde aşılانıldığı ATR-FTIR spektrumları ile de belirlenmiştir.

6.2.2. PAAm aşılانmış kitosan hidrojellerin SEM görüntüleri



Resim 6.1. 500 Büyütme ile (a) çapraz bağlanmış kitosan; (b) % 28,6 AAm aşılانmış hidrojel; (c) % 60,0 AAm aşılانmış hidrojel ; (d) % 80,0 AAm aşılانmış hidrojel

PAAm aşılانmış hidrojeller için çekilen taramalı elektron mikroskobu görüntüleri incelendiğinde; çapraz bağlanmış saf kitosanın yüzeyinin oldukça düz bir yapıda olduğu ve AAm aşılانması ile hidrojel yapılarında gözeneklerin oluştuğu belirlenmiştir. Aşılama öncesi kitosan hidrojelinin yüzeyi oldukça homojen bir yapıda iken aşılama ile yüzeyin heterojen bir hale geldiği gözlenmiştir. Aşılama miktarının %28,6'dan 80,0'e artışı ile yapıdaki gözeneklerinve pürüzlülüğün arttığı gözlenmiştir.

Aşılamanın artışı taramalı elektron mikroskobu görüntülerinden de anlaşıldığı gibi hidrojellerin saf sudaki şişme oranlarının yüksek olmasıyla da belirlenebilir. Bu durum aşılانmış zincirlerdeki serbest uçlu grupların çapraz bağlı ağ yapısına oranla yüksek hareketlilik göstermesi sonucu aşılانmış zincirlerinin hızlı ve kuvvetli hidrasyonundan kaynaklanmış olabilir [74]. Bu değişimler, hazırlanan hidrojellerde aşılamanın gerçekleşmiş olduğunu gösterebilir.

6.2.3. PAAm aşılammış kitosan hidrojjelerin yüzey enerjilerinin belirlenmesi

Polimerlerin çevre ile etkileşimleri yüzeyde gerçekleşir. Bu nedenle, polimerlerin yüzey özellikleri ıslanabilme, yapışma, biyolojik uyumu ve baskı gibi birçok uygulama alanında önem taşır. Bu özellikler yüzeydeki moleküller tarafından kontrol edilir. Değme açısı ölçümleri ile polimerin en dış yüzey yapısındaki yüzey gerilim bileşenleri dolayısıyla yüzey enerjileri hesaplanabilir. Değme açısı, bir sıvı ve bir katının ilk tabakası arasındaki kovalent olmayan kuvvetlerin bir ölçüsüdür. Bu fazlar arasındaki etkileşimlerin güçlü olması durumunda sıvı damlası katı yüzeyi üzerinde yayılır ve onu ıslatır [67].

Aşılammamış kitosan ve PAAm aşılammış hidrojjeller üzerine 10 µl sıvının damlatılması ile ölçülen değme açıları ve 4 farklı yöntemle hesaplanan yüzey enerjileri aşağıdaki tablolarda verilmektedir.

Aşılama sonunda elde edilen hidrojjellerin su değme açılarına bakıldığında değerlerde belirli bir düzenle karşılaşılmmıştır. Bu durum aşılamanın yüzeyde ve/veya jel içinde olmasından kaynaklanmış olabilir.

Çizelge 6.1. PAAm aşılammış kitosan hidrojjelleri üzerine damlatılan sıvıların değme açıları (θ)

% AAm (m/m)	SIVI			
	Su	Etilen Glikol	Formamit	Diiyodo metan
0,0	76,9 ± 2,7	71,1 ± 1,3	69,8 ± 4,9	44,7 ± 1,2
28,6	91,3 ± 1,5	41,5 ± 0,5	58,7 ± 2,1	39,9 ± 0,7
37,5	104,8 ± 3,4	50,0 ± 0,3	67,6 ± 3,1	63,4 ± 1,6
44,4	49,9 ± 2,0	39,0 ± 2,1	34,4 ± 2,7	44,0 ± 0,4
50,0	60,4 ± 5,8	68,9 ± 1,2	69,1 ± 3,1	45,1 ± 1,2
60,0	63,7 ± 1,6	34,2 ± 0,0	60,4 ± 5,0	33,7 ± 1,0
66,7	70,0 ± 2,3	47,8 ± 3,1	43,0 ± 0,9	41,1 ± 0,2
75,0	72,2 ± 1,4	37,9 ± 4,1	47,8 ± 4,6	100,7 ± 4,0
80,0	71,6 ± 3,6	42,0 ± 1,6	48,3 ± 2,3	38,5 ± 1,2

Çizelge 6.2. PAAm aşılانmış kitosan hidrojjellerinin Asit-baz teorisi, Fowkes ve OWRK yöntemleri kullanılarak hesaplanan yüzey enerjileri bileşenleri

% AAm (m/m)	Asit baz teorisi (mN/m)		FOWKES (mN/m)			OWRK (mN/m)		
	γ^D	γ^T	γ^T	γ^D	γ^P	γ^T	γ^D	γ^P
0,0	46,0	46,0	27,7	13,1	13,9	37,2	31,4	5,8
28,6	58,9	58,9	32,9	23,2	9,7	59,1	58,0	1,1
37,5	52,4	52,4	24,7	20,9	3,8	55,4	55,3	0,1
44,4	74,7	74,7	49,2	23,7	25,5	67,4	56,9	10,5
50,0	55,3	55,3	32,7	13,5	19,2	41,6	30,3	11,3
60,0	67,4	67,4	39,1	24,8	13,3	62,0	58,2	3,8
66,7	65,1	65,1	39,4	21,3	18,1	58,5	53,4	5,1
75,0	72,4	72,4	38,6	24,3	14,3	63,4	60,5	2,9
80,0	65,2	65,2	38,2	23,1	15,1	60,8	57,3	3,5

Saf kitosan hidrojjeli ile karşılaştırıldığında PAAm aşılانmış hidrojjellerin toplam yüzey enerjilerinde artış olduğu gözlenmiştir. Yüzeydeki moleküllerle sıvı molekülleri arasında etkileşimin artması sıvının katıyı daha fazla ıslatması ve değme açısının küçülmesiyle kendini gösterir. Bu durum, katının yüzey enerjisinin artmasının bir sonucudur [67].

PAAm aşılانmış hidrojjeller için Asit-baz teorisi, Fowkes ve OWRK yöntemleri kullanılarak hesaplanan toplam yüzey enerjileri, aşılانmamış kitosan hidrojjelinden daha yüksek bulunmuştur. Kitosan hidrojjelinin yüzeyi, hidrofilik bir grup olan $-NH_2$ ile kaplıdır. Kitosan üzerine aşılانan PAAm polimeri de hidrofilik karakterlidir. Bu durum aşılamanın gerçekleştirilmesiyle hidrojjelin sıvı absorblama kapasitesinin ve ıslanabilirliğin artmış olduğunu gösterir. Bu da filmlerin yüzey enerjilerinin yükselmesine sebep olmuştur.

Çizelge 6.3. Van Oss - Good yöntemiyle (metot II) hesaplanan yüzey enerji bileşenleri (mJ/m²)

PAAm (m/m)	γ^+	γ^-	γ^{LW}	γ^{AB}	γ^T
0,0	0,0	10,24	37,2	0,0	37,2
28,6	0,4	0,4	39,7	0,1	39,7
37,5	3,9	0,0	26,6	0,0	26,6
44,4	1,2	25,9	37,5	11,3	48,9
50,0	0,0	0,8	36,9	0,0	36,9
60,0	0,2	15,2	42,6	3,8	46,1
66,7	1,2	7,8	39,1	6,2	45,2
75,0	10,8	11,9	8,4	22,6	31,1
80,0	0,4	8,7	40,4	3,9	44,3

Katının Lifshitz - van der Waals (γ_K^{LW}) yüzey enerji bileşeni, toplam yüzey enerjisi içindeki apolar etkileşimlerin katkısını gösterir. Ayrıca bu bileşen, maddenin toplam yüzey enerjisi içinde büyük bir kısmı kapsar.

Çizelge 6.3' de çapraz bağlanmış saf kitosan hidrojel için hesaplanan $\gamma^+ = 0,0$ ve $\gamma^- = 10,24$ mJ/m² değerleri karşılaştırıldığında hidrojellerin bazik karakter gösterdiği söylenebilir. Kitosan için γ^{LW} değeri ise 37,2 mJ/m² olarak hesaplanmıştır. PAAm aşılansmış hidrojeller için hesaplanan apolar yüzey enerji değerleri genel olarak saf kitosandan daha büyük bulunmuş, aşılama miktarının artışıyla γ^{LW} değerlerinin belirli bir düzende değişmediği gözlenmemiştir. PAAm aşılansmış hidrojellere ait elektron verici yüzey enerji bileşenleri (γ_K^-) ile elektron alıcı yüzey enerji bileşenleri (γ_K^+) karşılaştırıldığında PAAm aşılansmış hidrojellerin de genel olarak bazik karakter gösterdiği görülmektedir. Hidrojellerde PAAm oranının artmasıyla toplam yüzey enerjilerinin değişiminde belirli bir düzenle karşılaşılmamıştır. Bunun nedeni aşılamanın hem yüzeyde hem de hidrojel içinde gerçekleşmiş olması olabilir.

6.2.4. PAAm aşılانmış kitosan hidrojjellerin denge şişme oranına pH etkisi

pH duyarlı hidrojjeller iyonik gruplar içeren yüklü ağ yapısındadırlar. Negatif ya da pozitif yüklü hidrojjeller molekül yapı ya da yapıya katılan iyonik monomerin miktarına bağılı olarak farklı pH 'ya sahip çözeltiler içerisinde farklı şişme eğilimleri gösterirler [73].

PAAm aşılانan kitosan jellerin pH duyarlılığının incelenmesi amacıyla pH değerleri 2 ile 9 arasında değişen TE tamponunda hidrojjellerin denge şişme oranları Eş. 5.1 kullanılarak hesaplanmıştır.

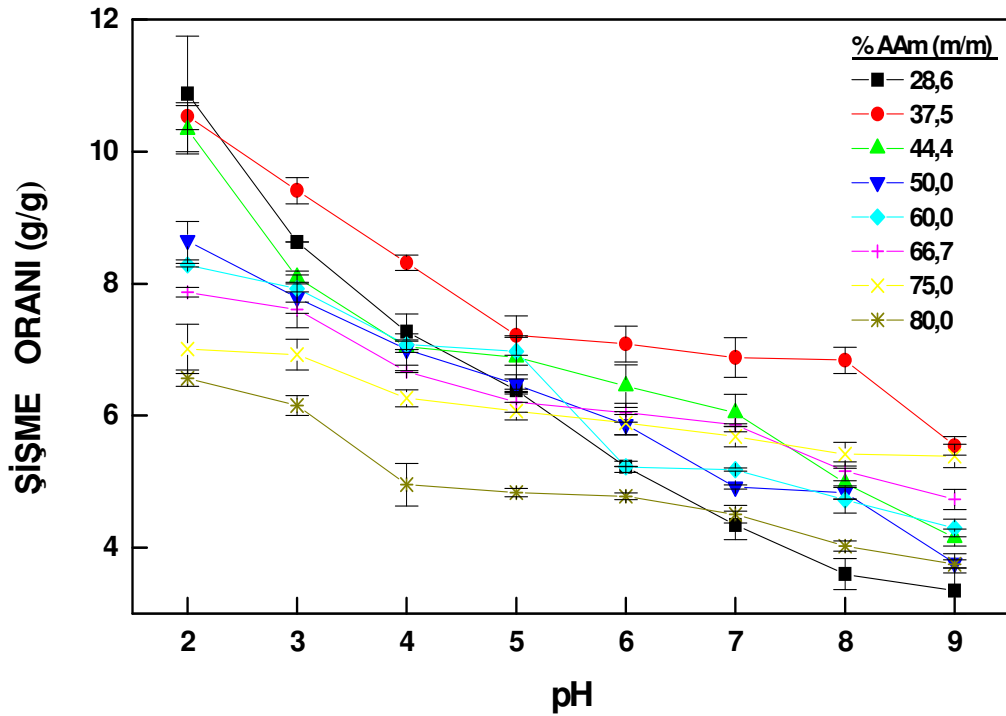
Kitosan hidrojjelleri düşük pH' larda protonlanmış amin gruplarının iyonik etkileşimlerinden dolayı şişme davranışı, yüksek pH' larda ise protonlanmamış amin gruplarının etkisiyle büzülme davranışı gösterir. Tampon çözeltinin pH değeri arttıkça iyonlaşmış $-NH_3^+$ grupları $-NH_2$ gruplarına dönüşmekte, iyonik grupların nötralleşmesi sonucunda ise hidrojjeller büzülme davranışı göstermektedir [74].

TE tamponun pH değerlerinin 2'den 9'a artmasıyla PAAm aşılانmış hidrojjellerin denge şişme oranlarında belirgin bir düşüş gözlenmiştir

Aşılانan PAAm miktarı arttıkça hidrojjellerin pH duyarlılığında azalma gözlenmiştir. pH' nın artışıyla en belirgin düşüş % 28,6 PAAm aşılانmış hidrojelde gözlenmiştir. PAAm'in % 50,0 'ye kadar olan aşılamalarında da belirgin düşüşler gözlenmiştir. Ancak daha yüksek kompozisyonlarda pH değişimi ile şişme oranları arasındaki fark giderek azalmıştır. Bu durum pH değişimine en duyarlı olan kompozisyonun aşılamanın en az olduğu hidrojel olduğunu göstermektedir.

Aşılama miktarının artışıyla pH değişimine karşı şişme oranları arasındaki farklar da azalma göstermiştir. Bunun nedeni aşılama miktarının artışı ile

kitosan üzerinde pH değişimine duyarlı olan $-NH_2$ gruplarının PAAm grupları ile yer değiştirmiş olmasından kaynaklanabilir.



Şekil 6.8. Kitosan üzerine tarak tipi aşılantı PAAm hidrojelinin denge şişme oranına pH etkisi

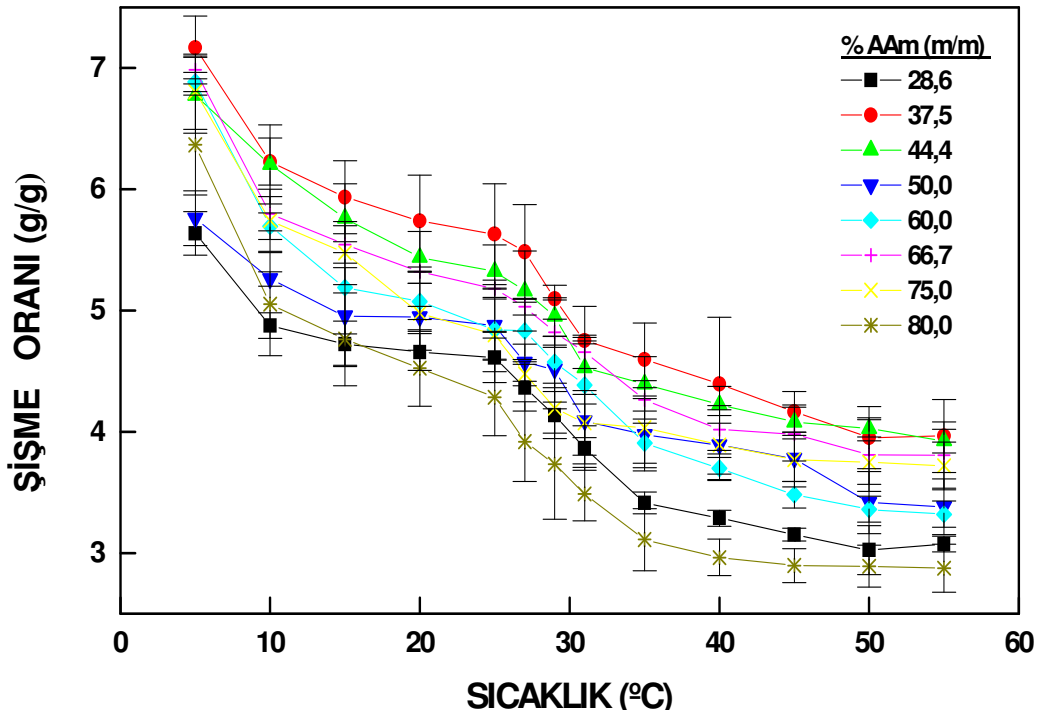
Yapılan bir çalışmada, kitosan üzerine yüzeyde ve kütle içinde PNIPA aşılantı hidrojellerin pH ve sıcaklık duyarlılığı incelenmiştir. Çapraz bağlanmanın gerçekleştirilmediği durumlarda, kütleye aşılantı ve aşılama yapılmayan hidrojellerde pH 6'dan düşük pH'larda hidrojellerin denge şişme değerine ulaşmadan çözülmüş olduğu belirlenmiştir. Ancak yüzeyde yapılan aşılama sonucunda PNIPA'nın hidrojel üzerinde kaplama etkisi yaptığı ve hidrojinin pH artışı ile büzülmesine neden olduğu belirtilmiştir [74].

6.2.5. Kitosan üzerine tarak tipi aşılınmış PAAm hidrojellerin denge şişme oranına sıcaklık etkisi

Sıcaklık duyarlı hidrojeller, sıcaklığa bağlı bir hacim faz geçişi göstermektedirler. Hacim faz geçişi, hidrofobik etkileşimlerin ve hidrojen bağlarının arasındaki dengenin değişmesi sonucu ortaya çıkar [6].

Düşük sıcaklıklarda su ve polimerin hidrofilik grupları ($-NH_2$) arasındaki hidrojen bağları oluşturmakta ve su ile polimerin etkileşimi artmaktadır. Buna bağlı olarak jel şişme davranışı göstermektedir. Sıcaklık artışıyla yan gruplar arasındaki hidrofobik etkileşimler güçlenirken, hidrojen bağları zayıflamaktadır. Hacim faz geçiş sıcaklığının üzerindeki sıcaklıklarda hidrofobik etkileşimler baskın hale gelmekte ve polimer büzülme davranışı göstermektedir.[73] Sıcaklık duyarlı hidrojeller hacim faz geçiş sıcaklığı civarında çok küçük sıcaklık değişimlerine hızlı ve tersinir hidrasyon-dehidrasyon değişimleriyle cevap verir. Bu sıcaklığın altında hidrojel şişmiş, hidratlaşmış ve hidrofiliktir. Oysa bu sıcaklığın üstündeki sıcaklıklarda hidrojel dehidratize olmuş, büzülmüş ve ağ yapısındaki hidrofilik/hidrofobik etkileşimleri arasındaki dengenin bozulması nedeniyle hidrofobik yapıdadır [75-77].

PAAm aşılınmış hidrojellerin denge şişme oranlarını incelemek amacıyla 5-55 °C sıcaklık aralığında çalışma yapılmıştır. Hidrojeller 24 saat bekletilmiş ve denge şişme oranları Eş. 5.1 kullanılarak belirlenmiştir.



Şekil 6.9. Kitosan Üzerine Tarak Tipi Aşılanmış PAAm hidrojellerin denge şişme oranına sıcaklık etkisi

Şekil 6.9’ da görüldüğü gibi sıcaklığın artışıyla tüm jellerin şişme oranlarında düzenli bir düşüş gözlenmiştir. PAAm aşılanmış hidrojellere ait sıcaklık eğrileri incelendiğinde, 5–10 °C ‘de ve yaklaşık 29°C civarında iki faz geçişi olduğu görülmektedir. Bu faz geçişleri hidrojinin yapısında çapraz bağlayıcı olarak bulunan gluteraldehit ve aşılanmış olan PAAm’ den kaynaklanmaktadır. İlk faz geçiş sıcaklığının altındaki sıcaklıklarda jeller, yapılarındaki hidrofilik gruplar ile su arasındaki hidrojen bağlarından dolayı şişme davranışı gösterirler. Sıcaklık ilk faz geçiş sıcaklığının üstüne çıktığında, hidrojeller bir miktar dehidratize olarak büzülmüşlerdir. İlk faz geçiş sıcaklığından sonra ikinci faz geçiş sıcaklığından önce hidrojellerin hidrofiliği bir miktar artar. İkinci faz geçiş sıcaklığının üstündeki sıcaklıklarda ise hidrojeller artık tamamen çökmüş duruma geçerler [78]. 5–55 °C sıcaklık aralığında en yüksek şişme 5 °C’de gözlenmiştir.

Aşılama miktarının değişimi ile hidrojellerin sıcaklık duyarlılıklarında belirgin bir değişim gözlenmemiştir. Şişme oranları arasındaki fark, hidrojellerin ortam

pH' sındaki şişme davranışlarından kaynaklanmaktadır. Bu durumda PAAm hidrojelinin sıcaklık duyarlı olmadığı söylenebilir.

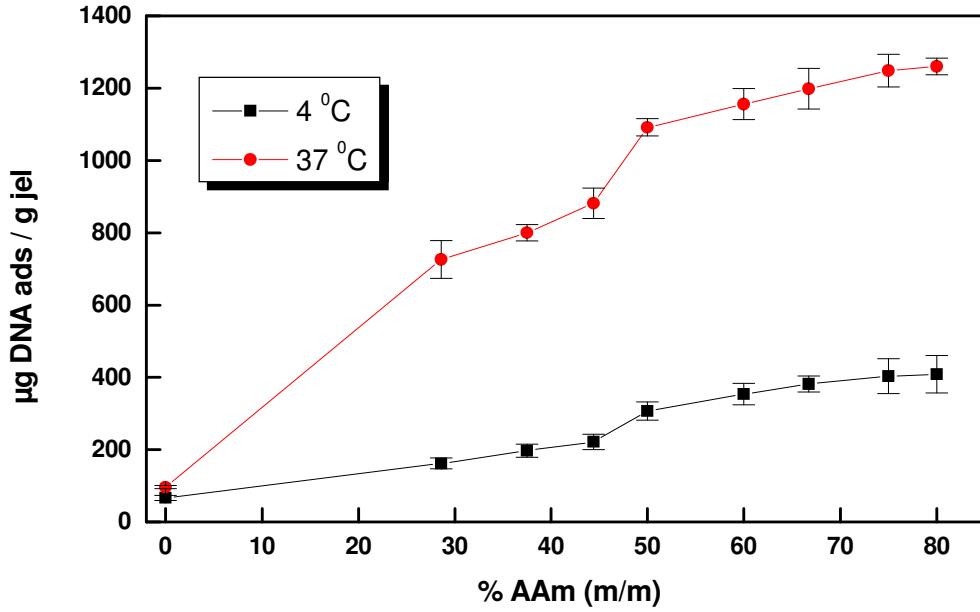
6.3. PAAm Aşılanmış Kitosan Hidrojellerin DNA Adsorpsiyon Kapasitesinin Belirlenmesi

6.3.1. PAAm aşılanmış kitosan hidrojellerin aşılama miktarına bağlı DNA adsorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi

4 °C; biyolojik birimlerin canlılığını kaybetmediği, üremenin önlenemediği ve biyolojik hareketliliğin durduğu sıcaklıktır. 37 °C'de (vücut sıcaklığı) ise biyolojik sistemlerin aktivitesi maksimum düzeydedir.

Şekil 6.10 incelendiğinde AAm aşılmasının artışı ile DNA adsorpsiyon kapasitelerinin belirgin bir şekilde artış gösterdiği belirlenmiştir. PAAm aşılanmış hidrojellerde asılı zincirler üzerindeki azot atomunda oluşan kısmi pozitif yük ile DNA'daki fosfat atomu üzerindeki negatif yük arasında elektrostatik etkileşimler oluşmaktadır. Bu durum, AAm aşılmasının artışı ile DNA ile etkileşime girebilecek kısmi pozitif yüklü azot ($-NH_3^+$) atomlarının artmış olmasından kaynaklanabilir.

Kitosan üzerine tarak tipi aşılanmış PAAm hidrojellerin aşılama miktarına bağlı DNA adsorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi çalışmasında kullanılan DNA çözeltisinin derişimi 5,8 µg/ml, saflığı 1,51 olarak hesaplanmıştır. 4 °C' de % 28,6 AAm aşılanmış kompozisyon için DNA adsorpsiyon miktarı 160 µg/g kuru jel iken, 37 °C' de bu miktar 600 µg/g civarındadır. Bu durum hazırlanan jellerin vücut sıcaklığında DNA adsorpsiyon kapasitesinin daha fazla olduğunu göstermektedir. Bu sonuç DNA'nın bu sıcaklıktaki aktifliğinin daha fazla olmasından kaynaklanmış olabilir.



Şekil 6.10. AAm aşılانmış hidrojelilerin 4 °C ve 37 °C' deki DNA adsorpsiyon miktarları

4 °C' de aşılamanın artışı ile adsorpsiyon miktarı düzenli bir artış gösterirken; 37 °C' de % 50,0 AAm aşılانmış hidrojelden daha yüksek aşılamlar için adsorpsiyon miktarları birbirine yakın bulunmuştur. Bu durumda, aşılama miktarının artışı ile jel üzerine bağlanan DNA miktarı artmış ve DNA zincirleri arasında sterik bir engel oluşarak bağlanmayı engellemiş olabilir.

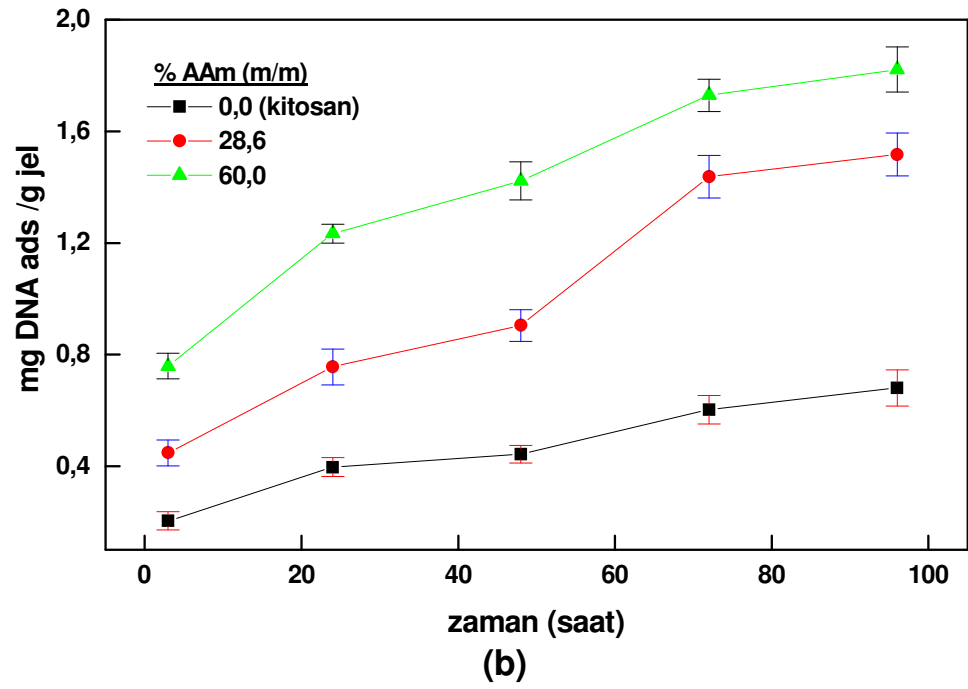
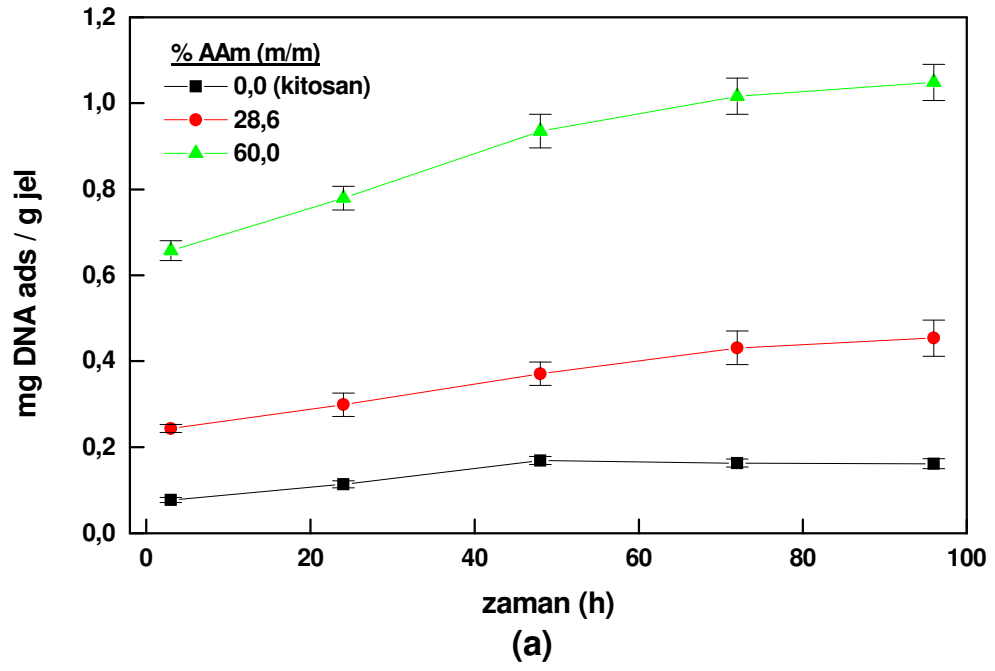
Ayrıca aşılama jelin hem yüzeyinde hem de iç kısmında bulunmaktadır. Yani aşılama miktarının artışı ile yüzey üzerindeki aşılama miktarı doğru orantılı olarak artmamış olabilir. Ancak DNA, jele yalnızca yüzey üzerinde bağlanabilir. Bu nedenle aşılamanın artması ile DNA adsorpsiyon miktarının sürekli artışı mümkün olmamış olabilir.

6.3.2. PAAm aşılانmış kitosan hidrojjellerin zamana bağı DNA adsorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi

Jellerin zamana karşı DNA adsorpsiyonu çalışmasında 4 °C' de adsorpsiyon için kullanılan DNA'nın derişimi 13,7 µg/ml, saflığı 1,26; 37 °C 'de DNA derişimi 5,8 µg/ml, saflığı 1,51 olarak hesaplanmıştır.

Şekil 6.11 incelendiğinde; hidrojjellerin 4 °C ve 37 °C' deki DNA çözeltileri içinde bekletilme süresi arttıkça adsorplanan DNA miktarının arttığı belirlenmiştir. PAAm zincirinin uç grubunda bulunan elektron çekici özelliğe sahip olan hidrojen atomları, bağı oldukları azot atomunu kısmi pozitif hale getirmiş bu sayede negatif yüklü DNA ile etkileşim olasılığı arttırılmıştır. Bu nedenle aşılانan hidrojjeller aşılانmamış kitosana oranla daha fazla miktarda DNA adsorplamış olabilir.

4 °C ' de elde edilen en yüksek adsorpsiyon değeri 1,1 mg DNA/ g jel iken 37 °C 'de 1,9 mg DNA/ g jel olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlardan da görüldüğü gibi DNA derişimi daha düşük olmasına rağmen, vücut sıcaklığındaki adsorpsiyon miktarının 4 °C' ye göre daha fazladır. Bunun nedeni DNA'nın 4 °C' deki aktivitesinin minimum; vücut sıcaklığındaki aktivitesinin ise maksimum düzeyde olması olabilir.



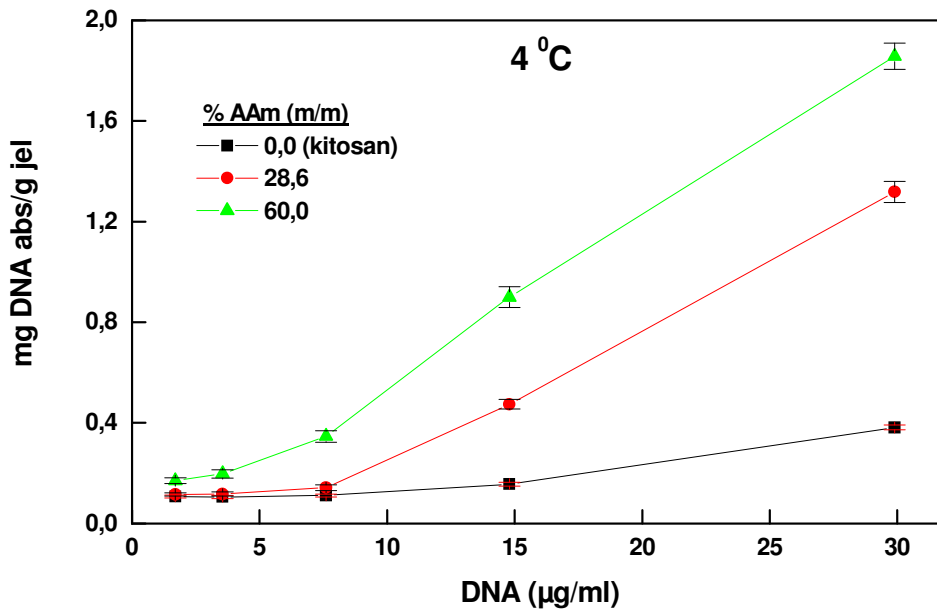
Şekil 6.11. PAAm aşılantılmış hidrojellerin 4 °C ve 37 °C' de zamana karşı DNA adsorpsiyon kapasitesi

6.3.3. PAAm aşılınmış kitosan hidrojenlerin DNA derişimine göre adsorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi

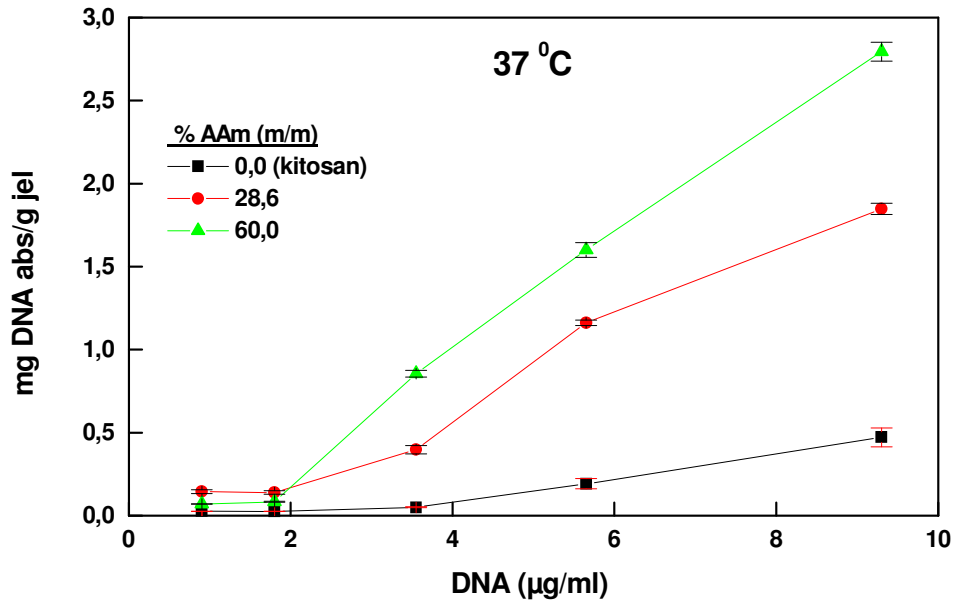
Şekil 6.12 ve Şekil 6.13 incelendiğinde DNA derişiminin artışıyla hidrojenlerin DNA adsorpsiyon kapasiteleri belirgin bir artış gösterdiği belirlenmiştir. Çözeltideki DNA derişiminin artışı ile jel üzerine adsorplanabilecek olan madde miktarını arttırdığı için bu beklenen bir sonuçtur.

Düşük DNA derişimlerinde, aşılınmış ve aşılınmamış hidrojenler için bulunan adsorpsiyon miktarı çok fark göstermemiştir. Ancak derişimin artması ile aşılınmış olan hidrojenlerde saf kitosanın adsorpsiyonuna oranla daha belirgin artış gözlenmiştir.

37 °C' de yapılan adsorpsiyon çalışmalarında; daha düşük derişimlerde bile adsorplanan DNA miktarında oldukça belirgin artışlar gözlenmiştir. Hidrojenleri için aynı derişimlerde 37 °C' de adsorplanan DNA miktarı 4 °C' ye göre daha fazla bulunmuştur. Bunun nedeni, DNA 'nın bu sıcaklıktaki aktifliğinin daha fazla olması olabilir.



Şekil 6.12. PAAm aşılınmış hidrojenlerin 4 °C' de derişime karşı DNA adsorpsiyonu



Şekil 6.13. PAAm aşılantılmış hidrojelilerin 37 °C' de derişime karşı DNA Adsorpsiyonu

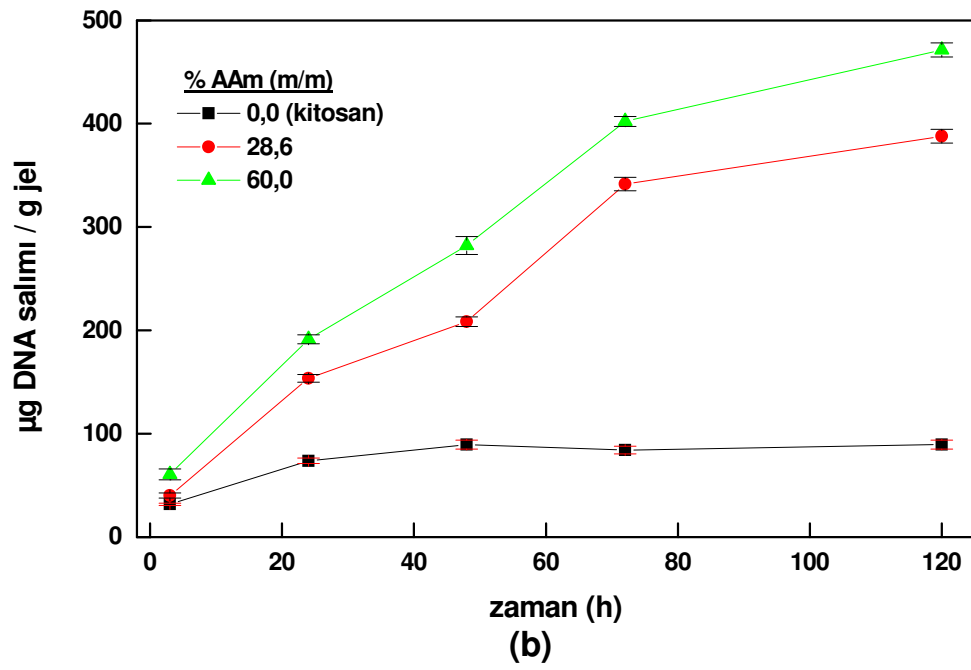
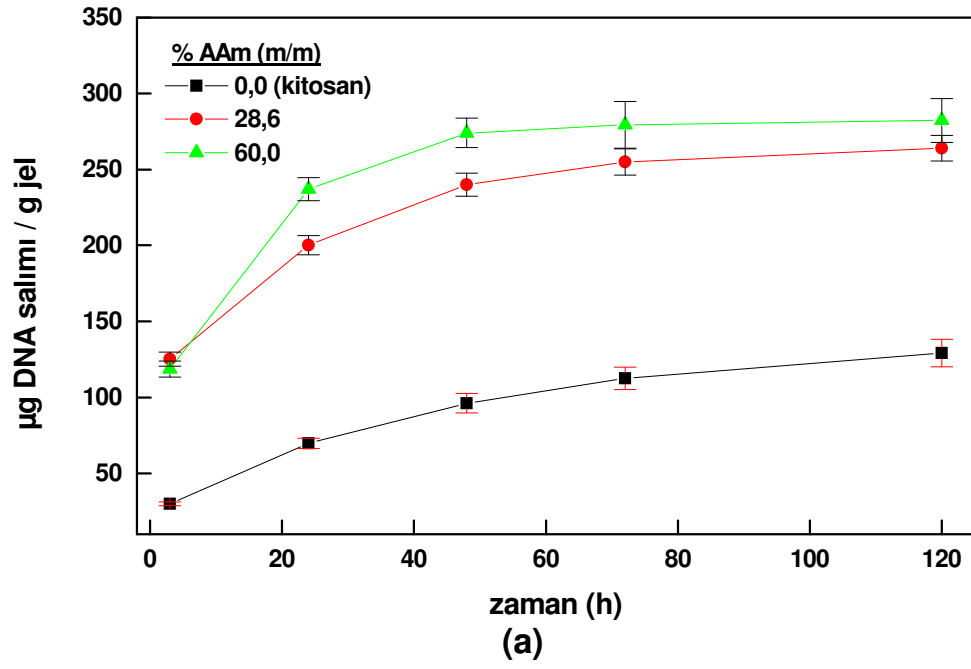
6.3.4. PAAm aşılantılmış kitosan hidrojelilerin farklı pH'lardaki DNA salımının belirlenmesi

Kitosan üzerine tarak tipi aşılantılmış PAAm hidrojelilerin farklı pH'lardaki DNA salımının belirlenmesi çalışmasında; adsorpsiyon çalışmaları kullanılan %0,0, 28,6 ve 60,0 AAm aşılantılmış hidrojelilerin tuttukları DNA'yı pH= 7,4 ve 9,0 'da bırakma miktarları ve süreleri incelenmiştir.

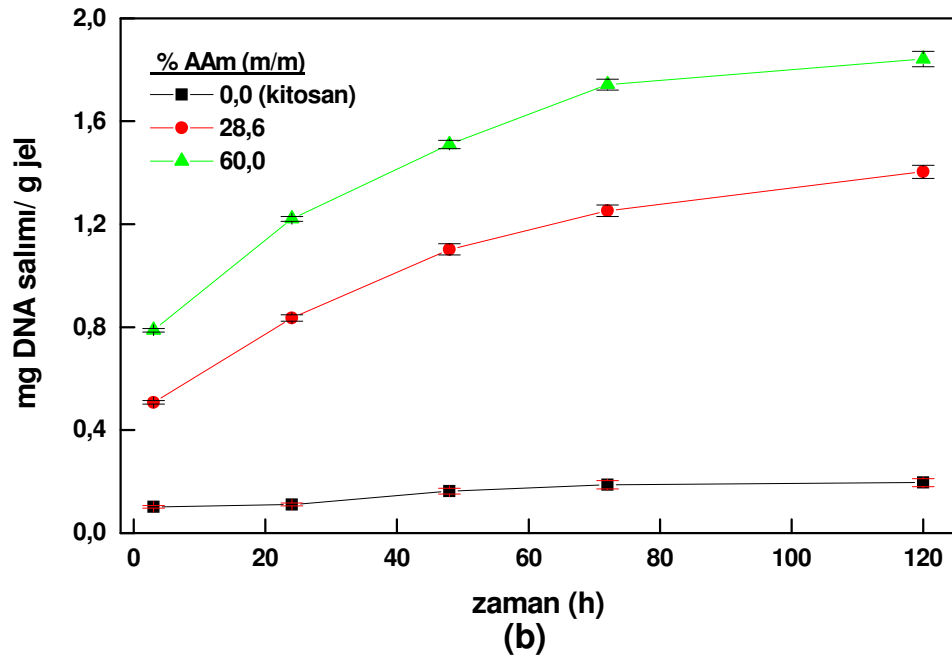
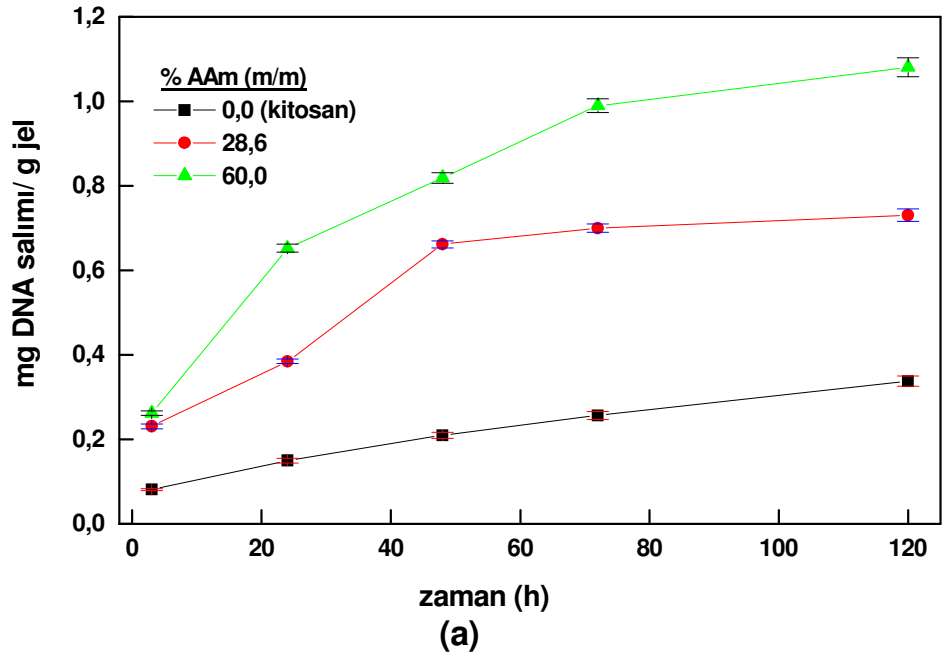
pH=7,4' de sterik engeller nedeniyle zayıf bir şekilde bağlanmış veya azot ile elektrostatik olarak bağ yapmadan; yalnızca bağlanmış DNA'lar arasına takılmış olan DNA'lar bırakılmıştır. pH=9,0 'da ise $-NH_3^+$ üzerindeki kısmi pozitif yük nötrallenerek jelin DNA tutmasına imkân vermemektedir. Bu nedenle pH=9,0 'da bekletilen jeller üzerinden salınan DNA miktarının çok daha fazla olduğu gözlenmiştir. Hidrojelilerin adsorpsiyon değerleri, pH=9'da hesaplanan salım değerleri ile karşılaştırıldığında, adsorplanan DNA'nın neredeyse tamamının bırakıldığı belirlenmiştir.

4 °C ve 37 °C'de yapılan çalışmalarda pH=7,4 ve 9,0 'da salımlar aynı doğrultuda değişim göstermiştir. Ancak 37 °C 'de, bırakılan DNA miktarlarının 4 °C 'ye göre daha fazla olduğu bulunmuştur.

Aşılama miktarının artışı ile tutulan DNA miktarı arttığından, bırakılan DNA miktarının da artış göstermiş olması beklenen bir sonuçtur.



Şekil 6.14. pH=7,4 TE tamponunda a) 4 °C ve b) 37 °C'de hidrojelilerin DNA salımı

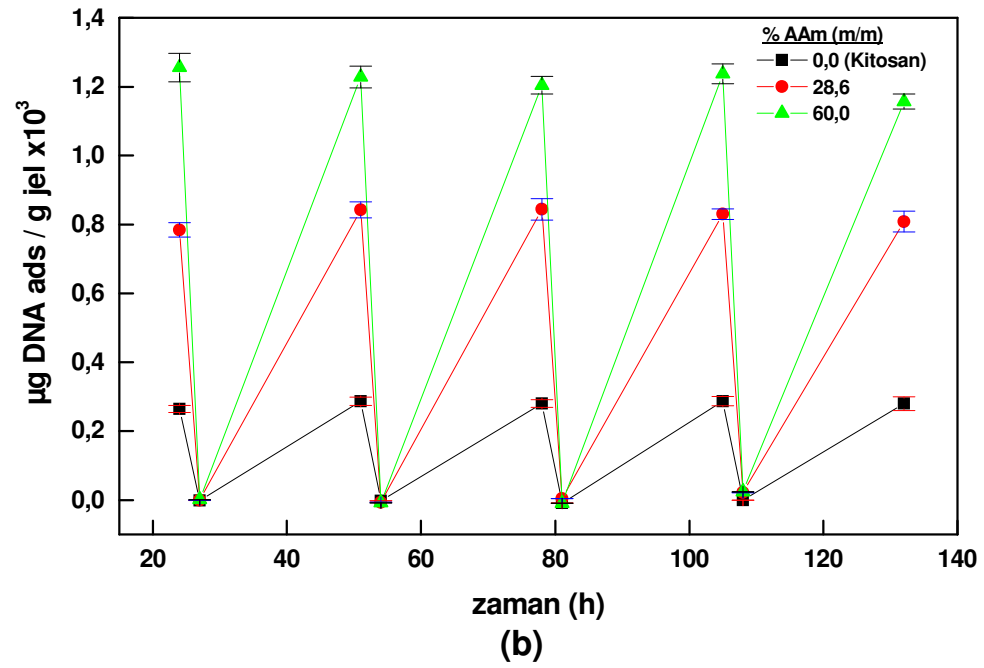
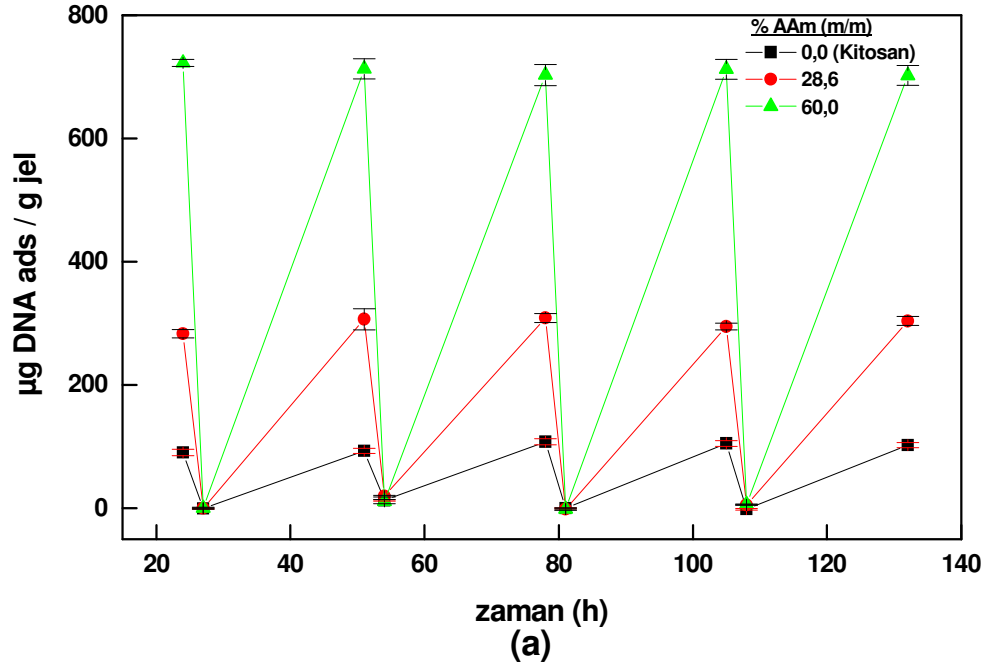


Şekil 6.15. pH=9,0 TE tamponunda a) 4 °C ve b) 37 °C'de hidrojellerin DNA salımı

6.3.5. PAAm aşılantmış kitosan hidrojelilerin DNA adsorpsiyonu için tekrar kullanılabilirliğı

Kitosan üzerine PAAm aşılantmış hidrojelilerin biyomedikal uygulamalar için tekrar kullanılabilirliğinin incelenmesi, hidrojelilerin 24 saatlik zaman aralıklarında adsorpsiyon-desorpsiyon miktarlarının belirlenmesi ve bu döngünün tekrarlanmasıyla gerçekleştirilmiştir. DNA adsorpsiyon çalışmalarında kullanılan hidrojel pH=9,0 TE tamponunda bekletilerek jelle bağı olan DNA'nın salımı incelenmiş, ardından jel tekrar DNA çözeltisine aktarıldığında adsorpsiyon yapmıştır. Jeller tekrar pH=9,0 tampon çözeltisine aktarıldıklarında ise adsorplanan DNA'nın tekrar bırakılması sağlanmıştır. Bu işlem birçok defa tekrarlanmıştır.

Sonuçta; PAAm aşılantmış hidrojelilerin denge şişme durumundaki desorpsiyonunun adsorpsiyondan çok daha hızlı olduğı gözlenmiştir. Bunun pH=9,0 tamponunda; azot ($-NH_3^+$) üzerindeki kısmi pozitif yükün çok hızlı bir şekilde nötrallenmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu şekilde 24 saatte adsorplanan DNA, 3 saat içinde neredeyse tamamen bırakılmaktadır.

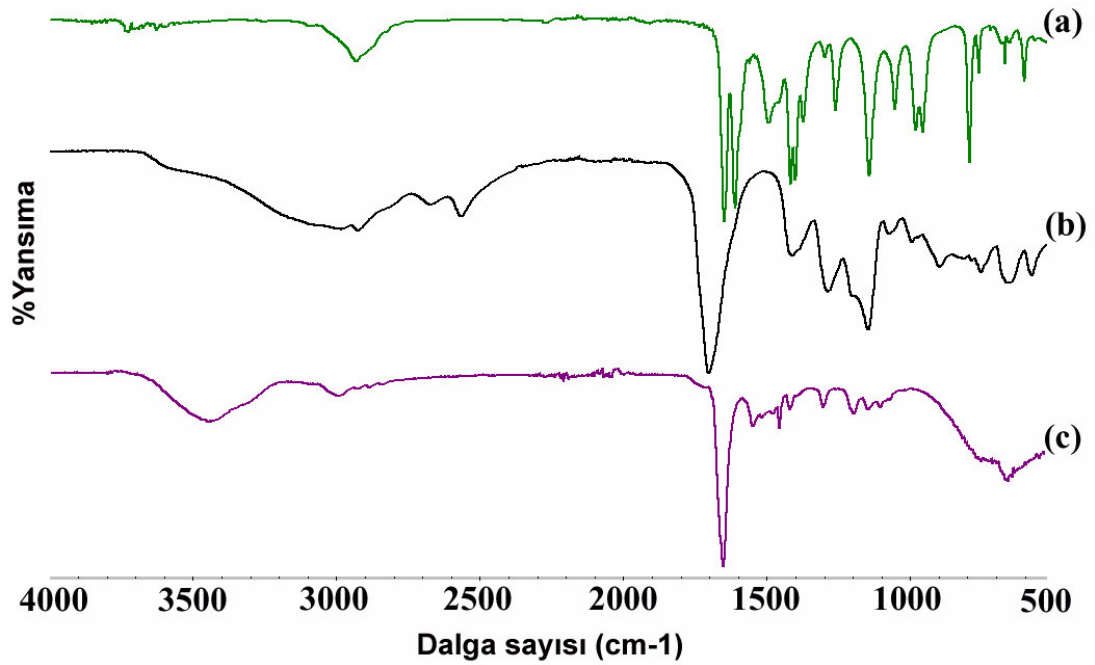


Şekil 6.16. PAAm aşılantı hidrojelinde a) 4 °C ve b) 37 °C'de DNA adsorpsiyonunun tekrarlanabilirliği

6.4. PDMA Aşılanmış Kitosan Hidrojellerin Yapısal Karakterizasyonu

6.4.1. Fourier Transform İnfrared (FT-IR) spektroskopisi

PDMA aşılanmış hidrojellerin yapısal karakterizasyonunun belirlenmesi amacıyla önce DMA monomerinin merkaptto asetik asit zincir transfer ajanı yardımıyla polimerleştirilmesi, daha sonra ise polimerin kitosan üzerine aşılmasını içeren ATR-FTIR spektrumları şekil 6.17 ve 6.18’de verilmiştir.



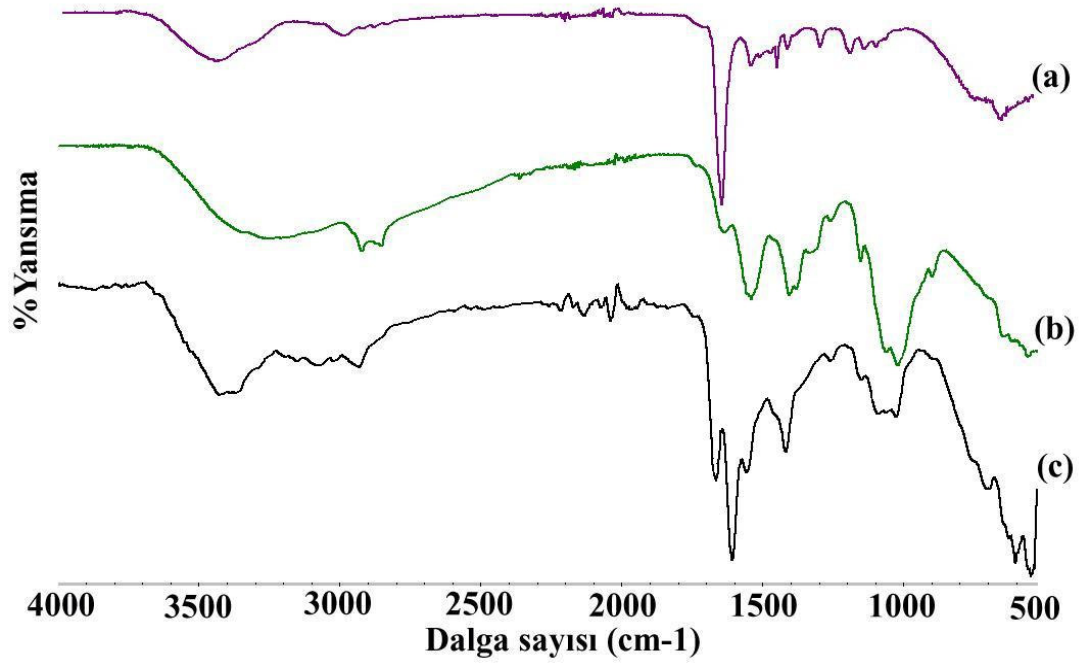
Şekil 6.17. a) DMA, b) MAAC, c) PDMA-COOH için FT-IR spektrumları

DMA’ya ait spektrum incelendiğinde 2900 cm^{-1} civarında simetrik ve asimetrik C-H gerilmelerine, 1646 cm^{-1} ’de ise C=O gerilmelerine ait bandlar gözlenmektedir. $1390\text{--}1380$ ve $1370\text{--}1365\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısında gözlenen ikili bandlar $\text{--N(CH}_3)_2$ gerilmesine, 1610 cm^{-1} civarı gözlenen band ise C=C gerilmelerine aittir.

MAAc' in ATR-FTIR spekturumunda $3400\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı aralığında gözlenen geniş band yapıdaki --OH gerilmelerine aittir. 1300 cm^{-1} ' de gözlenen orta şiddetli band C-O gerilmesine, 1700 cm^{-1} 'de gözlenen band ise C=O gerilmelerinden kaynaklanır. 2569 cm^{-1} dalga sayısında gözlenen band tiyol gruplarındaki S-H gerilmelerine aittir.

MAA zincir transfer ajanı yardımıyla polimerleştirilen PDMA-COOH poilmerinin ATR-FTIR spektrumlarına bakıldığında, MAA ve DMA' ya ait bandlar görülmektedir. --OH 'dan kaynaklanan gerilmeler $3400\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısında gözlenmiştir. MAAc spektrumunda bulunan S-H bandı polimerin spektrumunda gözlenmemiştir, bu durum bağlanmanın --SH üzerinden gerçekleştiğini gösterebilir. Aynı zamanda MAA yapısında bulunan C=O yaklaşık 1700 cm^{-1} ' de omuz şeklinde, PDMA'da bulunan C=O ise yaklaşık 1660 cm^{-1} 'de gözlenmiştir. $1350\text{--}1400\text{ cm}^{-1}$ aralığında görülen band ise DMA'da bulunan --N-CH_3 'ün N-C gerilmesinden kaynaklanmaktadır. DMA'da bulunan C=C bandının kaybolmuş olması polimerleşmenin gerçekleştiğini ve COOH uç gruplu PDMA'nın sentezlendiğini göstermektedir.

Saf kitosanın ATR-FTIR spektrumları incelendiğinde, $3400\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı aralığında yapısındaki --OH gruplarından kaynaklanan gerilme bandları bulunmaktadır. Yapıdaki --NH_2 grubu nedeniyle bu yayvan band üzerinde köşelenmeler olduğu gözlenmiştir. $2850\text{--}2950\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenen band asimetric ve simetric --CH_2 gerilmelerinden, 850 cm^{-1} gözlenen band ise --CH eğilmesinden kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte $1050\text{--}1180\text{ cm}^{-1}$ aralığında C-O-C asimetric gerilme bantları görülmektedir.

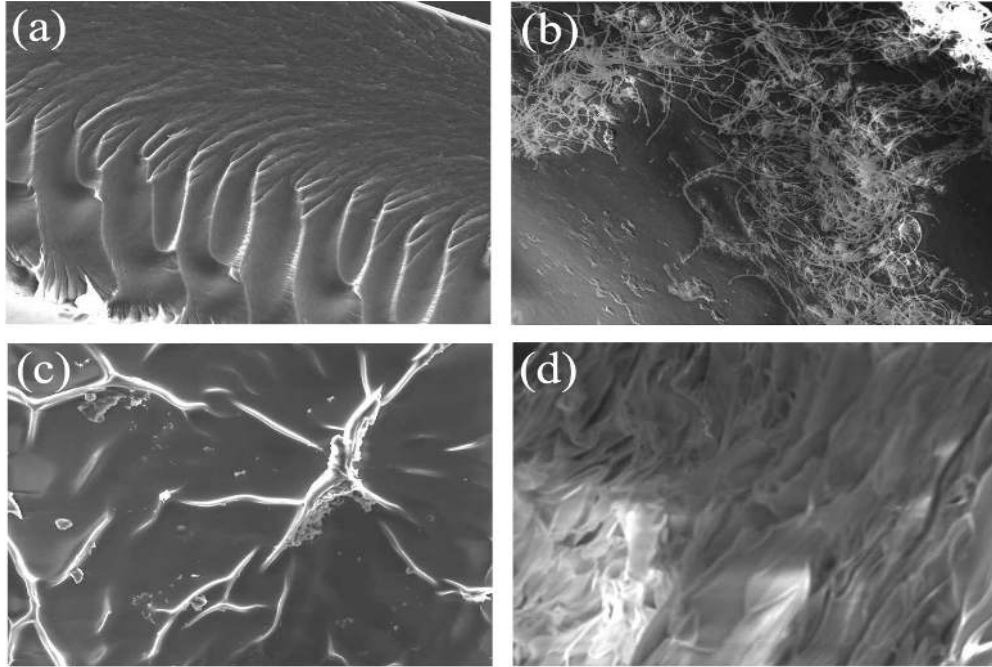


Şekil 6.18. a) PDMA-COOH, b) Kitosan, c) PDMA aşılانmış kitosan hidrojelleri FT-IR spektrumu

PDMA aşılانmış kitosan hidrojellerin ATR-FT-IR spektrumları Şekil 6.18 'de verilmiştir. Aşılama sonucu kitosanın yapısındaki $-NH_2$ grupları $-NH$ gruplarına dönüşmüştür. Bu nedenle yaklaşık 3370 cm^{-1} 'de bulunan band keskinleşmiştir. MAA ait $C=O$ bandı ise 1700 cm^{-1} civarında omuz şeklinde ve PDMA-COOH 'a ait $C=O\ 1680\text{ cm}^{-1}$ 'de görülmektedir.

Sonuç olarak, DMA monomerinin Şekil 6.2' de öngörüldüğü gibi polimerleştirildiği ve Şekil 6.4'de gösterildiği şekilde aşılانıldığı ATR-FTIR spektrumları ile de belirlenmiştir.

6.4.2. PDMA aşılantısı kitosan hidrojellerin SEM görüntüleri



Resim 6.2. 500 büyütme ile (a) çapraz bağlanmış kitosan; (b) % 28,6 DMA aşılantısı hidrojel; (c) % 60,0 DMA aşılantısı hidrojel ;(d) % 80,0 DMA aşılantısı hidrojel

PDMA aşılantısı hidrojeller için çekilen kesit görüntüleri incelendiğinde; çapraz bağlanmış saf kitosanın yüzeyinin oldukça homojen bir yapıda olduğu ancak DMA aşılantısı ile hidrojel yapısında gözenekler oluştuğu gözlenmiştir. Çapraz bağlanmış kitosan ve % 28,6 DMA aşılantısı hidrojin görüntüleri karşılaştırıldığında aşılama ile jel yüzeyinde lifsi bir yapının oluştuğu görülmektedir. Aşılamanın %28,6 'dan %80,0 'e artışı ile yüzeydeki gözenekli yapının daha belirgin hale geldiği gözlenmiştir. Hidrojellerin kesit görüntülerinde gerçekleşen bu değişimler aşılamanın yalnızca jel yüzeyinde değil aynı zamanda jelin içinde de olduğunu gösterebilir. Aynı zamanda aşılama öncesi kitosan hidrojinin yüzeyi oldukça homojen ve tekdüze bir yapıda iken aşılama ile yüzeyin heterojen bir hale geldiği gözlenmiştir. Hidrojel yüzeyinde oluşan bu değişimler aşılamanın gerçekleşmiş olmasının bir sonucu olabilir.

6.4.3. PDMA aşılammış kitosan hidrojjellerin hidrojjellerin yüzey enerjilerinin belirlenmesi

Aşılammamış kitosan ve PDMA aşılammış hidrojjeller üzerine 10 µl sıvının damlatılması ile ölçülen değme açıları ve 3 farklı yöntemle hesaplanan yüzey enerjileri aşğıdaki tablolarda verilmektedir.

Aşılama sonunda elde edilen hidrojjellerin su değme açılarına bakıldığında belirli bir düzenle karşılaşılmmamıştır. Bu duruma aşılaman grupların yüzeyde ve jel içerisinde rasgele yerleşimi ve yüzeyin pürüzlülüğü neden olmuş olabilir.

Çizelge 6.4. PDMA aşılammış kitosan hidrojjelleri üzerine damlatılan sıvıların değme açıları (θ)

% DMA (m/m)	SIVI			
	Su	Etilen Glikol	Formamit	Diyyodo metan
0,0	76,9 ± 2,7	71,1 ± 1,3	69,8 ± 4,9	44,7 ± 1,2
28,6	42,8 ± 1,0	61,0 ± 1,2	76,2 ± 4,1	42,5 ± 0,4
37,5	53,5 ± 0,4	41,1 ± 0,4	48,4 ± 1,6	77,7 ± 1,5
44,4	39,2 ± 5,6	76,3 ± 1,0	48,0 ± 2,4	41,1 ± 1,8
50,0	99,9 ± 5,8	53,4 ± 3,5	44,5 ± 0,8	27,1 ± 3,4
60,0	82,3 ± 1,6	44,8 ± 4,0	76,4 ± 3,7	44,3 ± 2,6
66,7	100,5 ± 4,1	35,5 ± 1,6	51,9 ± 0,9	36,3 ± 1,6
75,0	84,5 ± 3,1	46,3 ± 1,8	61,1 ± 1,5	43,2 ± 0,5
80,0	84,6 ± 1,6	54,5 ± 0,9	54,2 ± 1,2	29,3 ± 2,7

Saf kitosan hidrojjeli ile karşılaştırıldığında PDMA aşılammış hidrojjellerin yüzey enerjilerinde artış olduğu gözlenmiştir. Yüzeydeki moleküllerle sıvı molekülleri arasında etkileşimin artması sıvının katıyı daha fazla ıslatması ve değme açısının küçölmesiyle kendini gösterir. Bu olaylar katının yüzey enerjisinin artmasının bir sonucudur [67].

Kitosan hidrojjelinin yüzeyi, hidrofilik bir grup olan $-NH_2$ ile kaplıdır. Kitosan üzerine aşılaman PDMA polimeri de hidrofilik karakterlidir. Aşılamanın gerçekleştirilmesiyle hidrojjelin sıvı absorblama kapasitesi ve ıslanabilirliği

artmıştır. Bu durum filmlerin yüzey hidrofiliğinin artışıyla birlikte yüzey enerjilerinin yükselmesine sebep olmuştur [67].

Aşılama miktarının artışıyla, hidrojenlerin yüzey enerjilerinin değişiminde belirli bir düzen gözlenmemiştir. Bunun nedeni, yapılan aşılamalarda PDMA polimerinin kitosan yüzeyinde ve/veya hidrojel içerisinde rasgele yerleşmiş durumda bulunmasından kaynaklanabilir.

Çizelge 6.5. PDMA aşılınmış kitosan hidrojenlerinin Asit-baz teorisi, Fowkes ve OWRK yöntemlerine göre hesaplanan yüzey enerjileri bileşenleri

% DMA (m/m)	Asit baz teorisi (mN/m)		FOWKES (mN/m)			OWRK (mN/m)		
	γ^D	γ^T	γ^T	γ^D	γ^P	γ^T	γ^D	γ^P
0,0	46,0	46,0	27,7	13,1	13,9	37,2	31,4	5,8
28,6	60,8	60,8	57,3	18,7	38,6	59,0	34,2	24,8
37,5	58,4	58,4	43,9	22,9	21,0	65,2	53,9	8,6
44,4	65,6	65,6	48,3	11,2	37,1	51,6	25,2	26,4
50,0	55,9	55,9	29,4	20,2	9,2	56,1	55,9	0,2
60,0	52,0	52,0	27,9	21,8	6,1	62,0	51,7	0,6
66,7	55,8	55,8	31,1	25,7	5,5	69,0	68,9	0,1
75,0	54,6	54,6	30,0	21,7	8,3	54,8	54	0,9
80,0	58,4	58,4	31,1	19,2	11,9	51,4	49,4	1,9

Bu çalışmada PDMA aşılınmış hidrojenler ile PAAm aşılınmış hidrojenler karşılaştırmalı olarak çalışılmıştır. Bu iki hidrojel arasındaki tek fark PDMA hidrojelindeki metil ($-\text{CH}_3$) gruplarıdır.

PAAm ve PDMA aşılınmış hidrojenlerin yüzey enerjileri karşılaştırıldığında hesaplanan değerler arasında belirgin bir fark olmadığı gözlenmiştir. Ancak PAAm aşılınmış hidrojenlerin PDMA aşılınmış hidrojenlere oranla daha fazla

su absorpladıkları belirlenmiştir. Bu durum, PAAm hidrojelinin daha hidrofilik bir grup olan $-NH_2$ ile sonlanmasından kaynaklanabilir.

Çizelge 6. 6. Van Oss - Good yöntemiyle (metot 2) hesaplanan ortalama yüzey enerji bileşenleri (mJ/m²)

% DMA (m/m)	γ^+	γ^-	γ^{LW}	γ^{AB}	γ^T
0,0	0,0	10,2	37,2	0,0	37,2
28,6	0,0	2,7	38,3	0,0	38,3
37,5	4,3	29,4	18,7	22,5	41,2
44,4	0,0	38,6	39,1	0,0	39,1
50,0	2,3	0,0	45,4	0,0	45,4
60,0	0,7	2,8	37,4	2,8	40,2
66,7	2,7	0,0	41,3	0,0	41,3
75,0	0,6	2,0	37,9	2,2	40,2
80,0	0,1	1,9	44,5	0,9	45,5

Çapraz bağlanmış saf kitosan hidrojelini için hesaplanan $\gamma^+ = 0,0$ ve $\gamma^- = 10,24$ mJ/m² değerleri karşılaştırıldığında hidrojellerin bazik karakter gösterdiği söylenebilir. Saf kitosan hidrojelini için γ^{LW} değeri ise 37,2 mJ/ m² olarak hesaplanmıştır. PDMA aşılınmış hidrojeller için hesaplanan γ^{LW} değerleri genel olarak saf kitosandan daha büyük bulunmuş, aşılama miktarının artışıyla γ^{LW} değerlerinin değişiminde belirli bir düzen gözlenmemiştir. Hazırlanan hidrojellere ait elektron verici yüzey enerji bileşeni (γ_K^-) ile elektron alıcı yüzey enerji bileşeni (γ_K^+) karşılaştırıldığında aşılınmış hidrojellerin de bazik karakter gösterdiği görülmektedir.

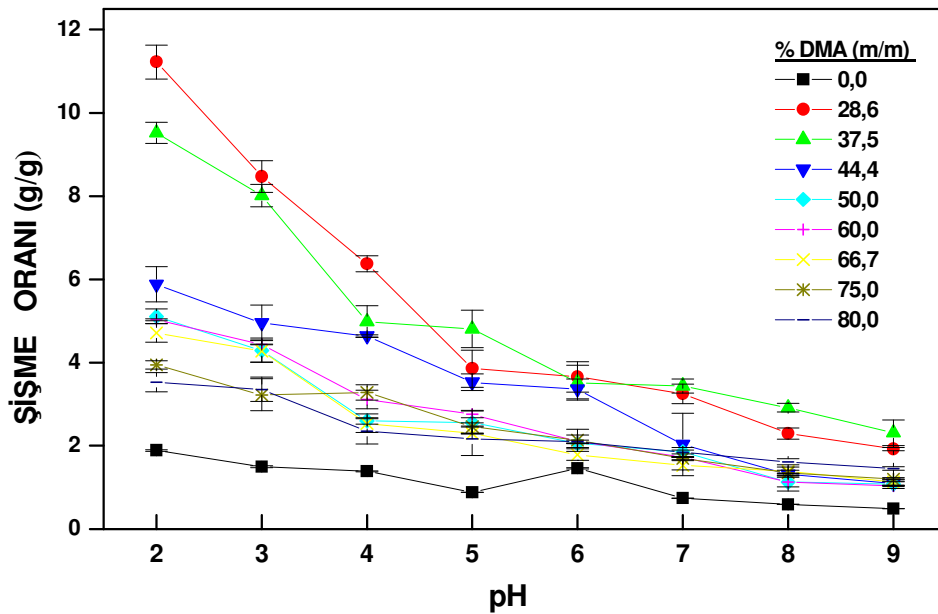
Hidrojellerde PDMA miktarının artmasıyla toplam yüzey enerjilerinin değişiminde belirli bir düzen gözlenmemiştir. Bu durum yüzeyde ve/veya

hidrojel içinde aşılamanın rasgele gerçekleşmiş olmasından kaynaklanmış olabilir.

6.4.4. PDMA aşılınmış kitosan hidrojellerin denge şişme oranına pH etkisi

PDMA' nın artan miktarlarında kitosan üzerine aşılamanın jellerin pH duyarlılığının incelenmesi çalışmasında pH değerleri 2 ile 9 arasında değişen TE tamponunda hidrojellerin şişme oranları Eş. 5.1 kullanılarak hesaplanmıştır.

Hidrojellerin denge şişme oranına pH etkisi çalışmasında, pH duyarlı grup olan kitosan miktarı sabit tutulup PDMA miktarı artırılarak aşılama yapılmıştır. Hidrojin pH duyarlılığı kitosan üzerindeki amin gruplarından kaynaklanmaktadır [74].



Şekil 6.19. Kitosan üzerine tarak tipi aşılınmış PDMA hidrojellerin denge şişme oranına pH etkisi

Şekil 6.19'da gösterildiği gibi pH değerlerinin artışıyla hidrojellerin şişme oranları düzenli olarak azalmaktadır.

Kitosan üzerinde PDMA aşılama amin uçlarının bağlanmasına ve pH duyarlı grupların azalmasına neden olmaktadır. Buna bağlı olarak aşılama miktarı arttıkça jelin pH duyarlılığında azalma gözlenmiştir. PDMA' nın % 50 ve üzerindeki aşılama miktarlarında jellerin pH duyarlılıklarının birbirine oldukça yakın olduğu görülmektedir. Bununla birlikte aşılama miktarındaki artış, jellerin pH duyarlılıklarında değişim oluşmasına sebep olmuştur.

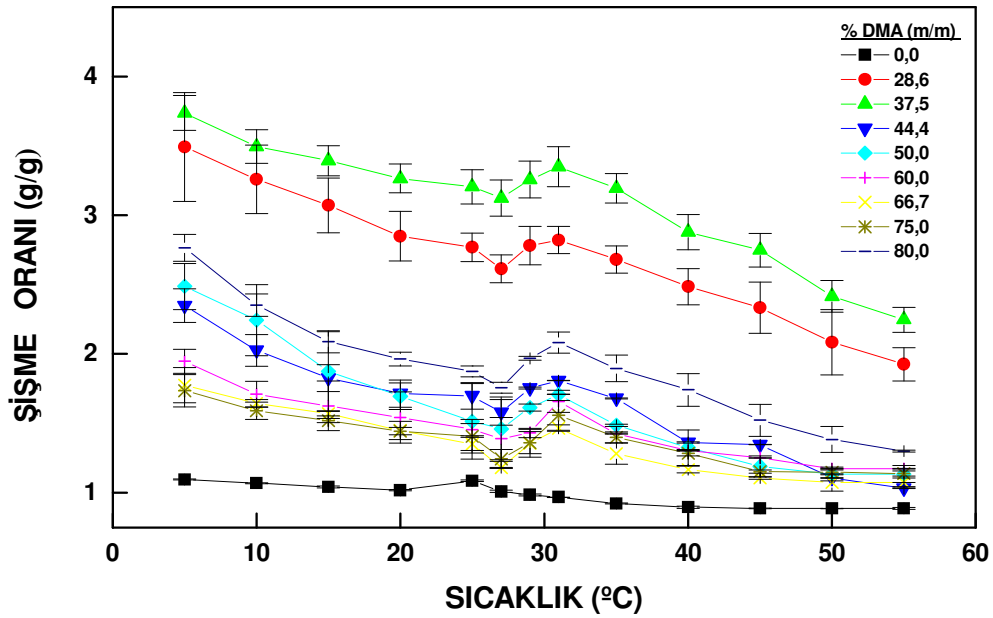
PAAm polimerinin uç grubu $-NH_2$; PDMA polimerinin uç gruplarında ise $-N(CH_3)_2$ bulunmaktadır. pH 'nın artışıyla PAAm aşılama hidrojel PDMA aşılama hidrojelere oranla daha yüksek şişme davranışı göstermişlerdir. Bu durum, PAAm polimerinin uç grubunun PDMA polimerinin uç grubundan daha hidrofilik olmasından kaynaklanmış olabilir. PAAm aşılama hidrojellerin PDMA aşılama olanlara oranla pH değişimine daha duyarlı olması da bu durumun bir sonucu olabilir.

6.4.5. PDMA aşılama kitosan hidrojellerin denge şişme oranına sıcaklık etkisi

Poli(N-vinil-2-pirolidon) ve Poli(N,N-dimetil akrilamit) biyolojik sistemlerde ve tıpta en çok kullanılan homopolimerlerdir. PVP ve PDMA' nın farmakolojik formülasyonlarda başarı ile uygulanmasının nedeni yaşayan dokularla mükemmel biyouyumları ve oldukça düşük zehirlilik oranlarıdır [78–81]. Hidrofilik karakterli DMA monomeri ile oluşturulan kopolimerler kazandıkları hidrofilik yapı sayesinde sistemin şişme davranışında artışa sebep olmaktadır [82] .

Düşük sıcaklıklarda, su ve polimerin hidrofilik grupları (amit grupları) arasındaki hidrojen bağları polimerin suda şişmesine sebep olur. Sıcaklık artışıyla yan gruplar arasındaki hidrofobik etkileşimler güçlenirken, hidrojen bağları zayıflar [76]. En iyi bilinen sıcaklık duyarlı polimer poli(N-izopropilakrilamit) (PNIPA)' tir. PNIPA hidrojel yaklaşık $32\ ^\circ C$ ' de bir faz geçişi gösterir [83]. PNIPA hidrojel bu sıcaklık duyarlılığı nedeniyle, ilaç

salımı, enzimlerin immobilizasyonu gibi çok çeşitli uygulama alanları bulabilmektedir [84].



Şekil 6.20. Kitosan üzerine tarak tipi aşılantı PDMA hidrojellerinin denge şişme oranına sıcaklık etkisi

Şekil 6.20’de görüldüğü gibi, TE tamponunda yapılan sıcaklık çalışmasında aşılantı PDMA hidrojellerinin 27 °C ‘ye kadar büzülme, daha sonra hafif bir artışla 31 °C’ ye kadar şişme ve ardından yeniden büzülme davranışı gösterdiği belirlenmiştir. Bu durumda jellerin dönüşümlü (reentrant) faz geçişi gösterdikleri söylenebilir. Bu hidrojel dönüşümlü faz geçiş sıcaklığının altındaki sıcaklıklarda polimer zincirindeki hidrofilik segmentler ile su molekülleri arasında oluşan hidrojen bağları, PDMA aşılantı PDMA hidrojellerinin şişmesine sebep olur [85]. Dönüşümlü faz geçiş sıcaklığı yaklaşık 35 °C civarındadır. Bu sıcaklığın üstündeki sıcaklıklarda jeller çökmüş durumdadır. DMA ‘nın kütleye % 28,6’dan 80,0 ‘e artışıyla faz geçişi sırasında jellerin şişme oranlarında az miktarda artış gözlemlenmiştir. Bu durum PDMA miktarındaki artışla jellerin sıcaklık duyarlılığının bir miktar arttığını ancak PDMA’ın sıcaklığa pek de duyarlı bir polimer olmadığını şeklinde açıklanabilir.

O. Okay bir çalışmasında, poli(dimetil akrilamit) hidrojellerinin bazı organik çözücülerde, su ile organik çözücü karışımlarında geri dönüşümlü faz geçişi yaptığını belirtmişlerdir [85].

Başka bir çalışmada ise, P(DEAEMA-ko-DMA) hidrojellerinin 37–38 °C ‘ de benzer bir şekilde dönüşümlü faz geçişi gösterdiği belirtilmiştir [86].

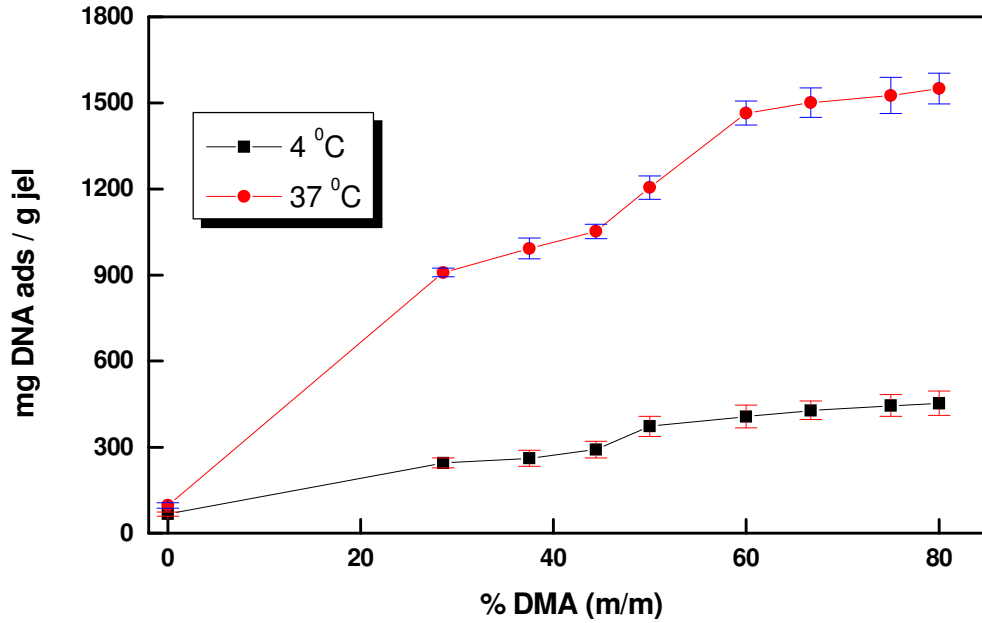
6.5. PDMA Aşılanmış Kitosan Hidrojellerin DNA Adsorpsiyon Kapasitesinin Belirlenmesi

6.5.1. PDMA aşılanmış kitosan hidrojellerin aşılama miktarına bağlı DNA adsorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi

Destek maddesindeki dimetil amino grupları ile DNA molekülünün fosfor içeren grupları arasındaki kompleks oluşturma yeteneği, DNA’nın katı desteğe bağlanmasında kullanılmaktadır [19,87].

PDMA ve PAAm aşılanmış hidrojellerde asılı zincirler üzerindeki azot atomunda oluşan kısmi pozitif yük ile DNA’daki fosfat atomu üzerindeki negatif yük arasında elektrostatik etkileşimler oluşmaktadır.

Şekil 6.21 incelendiğinde, DMA aşılama ile hidrojelin DNA adsorpsiyon kapasitesinin belirgin bir şekilde arttığı gözlenmiştir. PDMA zincirinin uç grubunda bulunan elektron çekici özelliğe sahip olan –CH₃ grupları bağlı oldukları azot atomunu kısmi pozitif hale getirmiş bu sayede negatif yüklü DNA ile etkileşim olasılığı arttırılmıştır. Bu nedenle aşılama hidrojelleri aşılama kitosana oranla daha fazla miktarda DNA adsorplamış olabilir.



Şekil 6.21. Aşılama DMA miktarının artışı ile 4 °C ve 37 °C’ de DNA adsorpsiyonu

Kitosan üzerine tarak tipi aşılama PDMA hidrojelere aşılama miktarına bağlı DNA adsorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi çalışmasında kullanılan DNA çözeltisinin derişimi 5,8 µg/ml, saflığı 1,51 olarak hesaplanmıştır.

Hidrojellerin 4 °C ve 37 °C’deki adsorpsiyon miktarları incelendiğinde, 4 °C de % 28,6 aşılama oranı için adsorpsiyon 250 µg/g jel, % 80,0 için ise 450 µg/g jel olarak bulunmuştur. 37 °C’de yapılan adsorpsiyon çalışmasında bu oranlardaki aşılama için bu değerler yaklaşık 900 µg/g ve 1550 µg/g kuru jel olarak belirlenmiştir. Bu durum hazırlanan jellerin vücut sıcaklığında DNA adsorpsiyon kapasitesinin daha fazla olduğunu göstermektedir. Bu sonuç DNA’nın bu sıcaklıktaki aktifliğinin daha fazla olmasından kaynaklanmış olabilir.

Aşılama miktarının artışı ile adsorpsiyon miktarının arttığı, % 66,7 ve üstündeki aşılama oranları için ise adsorpsiyon miktarlarının birbirine yakın olduğu belirlenmiştir. Bu durum, aşılama miktarının artışı ile hidrojele

bağlanabilecek DNA miktarının artışı sonucu DNA zincirleri arasında sterik bir engel oluşmasından kaynaklanmış olabilir.

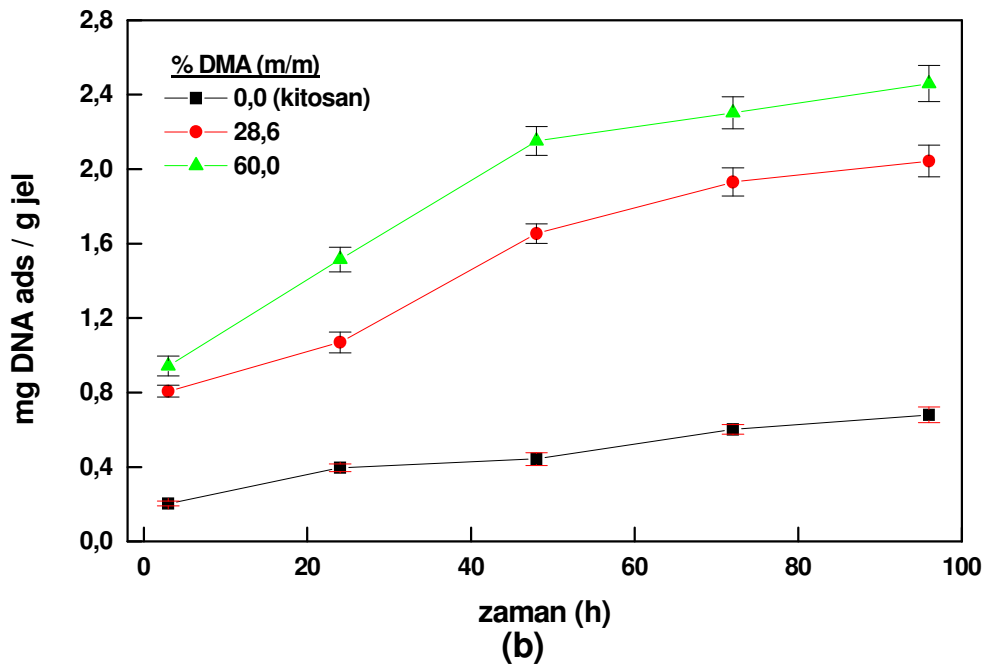
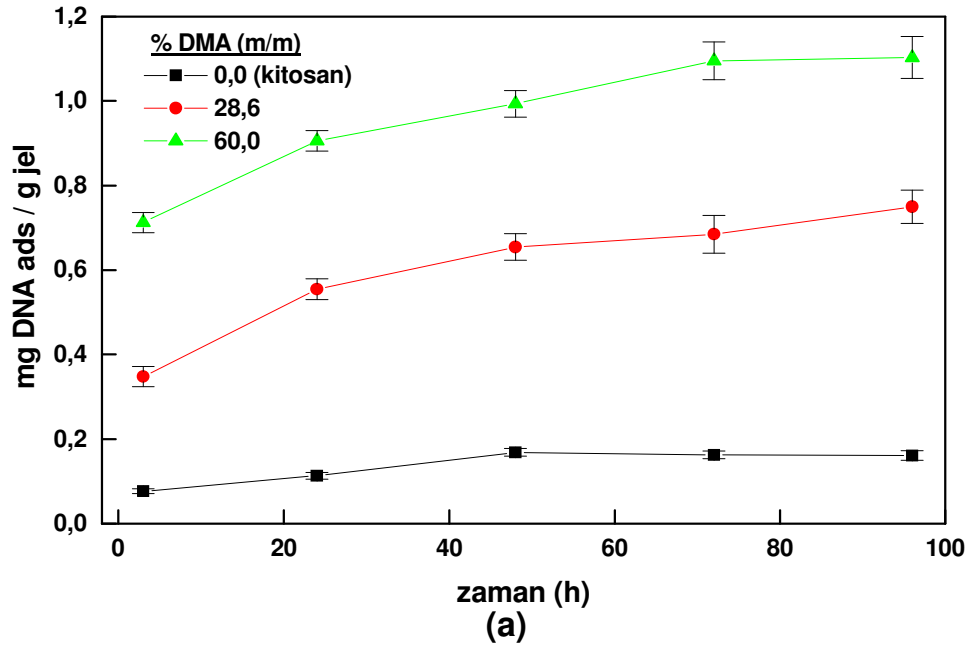
PDMA hidrojellerinin, aynı kompozisyonlardaki PAAm hidrojellerine oranla daha yüksek DNA adsorpsiyon kapasitesine sahip olduğu gözlenmiştir. PDMA hidrojellerinde bulunan $-CH_3$ uç grupları PAAm’ de bulunana $-H$ atomlarına göre daha elektron çekicidir. Bu nedenle PDMA aşılınmış hidrojellerde bulunan azot atomları PAAm ‘deki azot atomlarına göre daha elektropozitiftir. Bu durum PDMA aşılınmış hidrojellerin DNA ile daha fazla elektrostatik etkileşime girmesine neden olmuş olabilir.

37 °C ‘de ise % 50,0 aşılama oranına kadar, PAAm’ e oranla daha fazla miktarda adsorpsiyon gözlenmiştir. Bu oranın üzerinde DNA adsorpsiyon miktarları yaklaşık aynı kalmıştır.

6.5.2. PDMA aşılınmış kitosan hidrojellerin zamana bağlı DNA adsorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi

Jellerin zamana karşı DNA adsorpsiyonu çalışmasında 4 °C’ de kullanılan DNA’nın derişimi 13,7 µg/ml, saflığı 1,26; 37 °C’de kullanılan DNA’nın derişimi 5,8 µg/ml, saflığı 1,51 olarak hesaplanmıştır.

Şekil 6.22 incelendiğinde; kitosan hidrojelinin zamanla DNA adsorpsiyon miktarında pek bir değişiklik olmadığı ancak aşılana hidrojellerin DNA çözeltisi içinde bekletilme süresi arttıkça adsorplanan DNA miktarının da arttığı belirlenmiştir. PDMA zincirinin uç grubunda bulunan elektron çekici özelliğe sahip olan $-CH_3$ grupları bağlı oldukları azot atomunu kısmi pozitif hale getirmiş bu sayede negatif yüklü DNA ile etkileşim olasılığı arttırılmıştır. Bu nedenle aşılana hidrojeller aşılınmamış kitosana oranla daha fazla miktarda DNA adsorplamış olabilir. Ayrıca aşılana PDMA miktarının artması ile hidrojin DNA adsorplama miktarı da artış göstermiştir.



Şekil 6.22. PDMA aşılantı hidrojellerinin a) 4 °C ve b) 37 °C'de zamana karşı DNA adsorpsiyon kapasiteleri

4 °C 'de %(m/m) 28,6 ve 60,0 PDMA için 96 saat sonunda maksimum DNA adsorpsiyon kapasiteleri 750 µg/g ve 1100 µg/g kuru jel olarak bulunmuştur. PAAm için ise bu değerler 450 µg/g ve 1048 µg/g kuru jel olarak

belirlenmiştir. Saf kitosan hidrojeli için ise maksimum DNA adsorpsiyon kapasitesi 160 µg/g jel civarındadır.

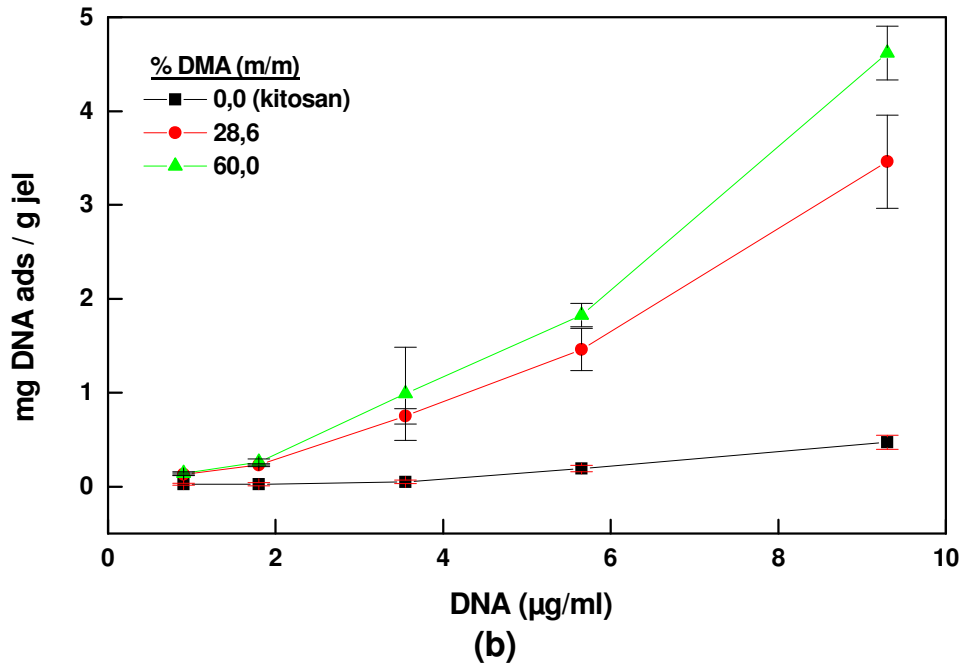
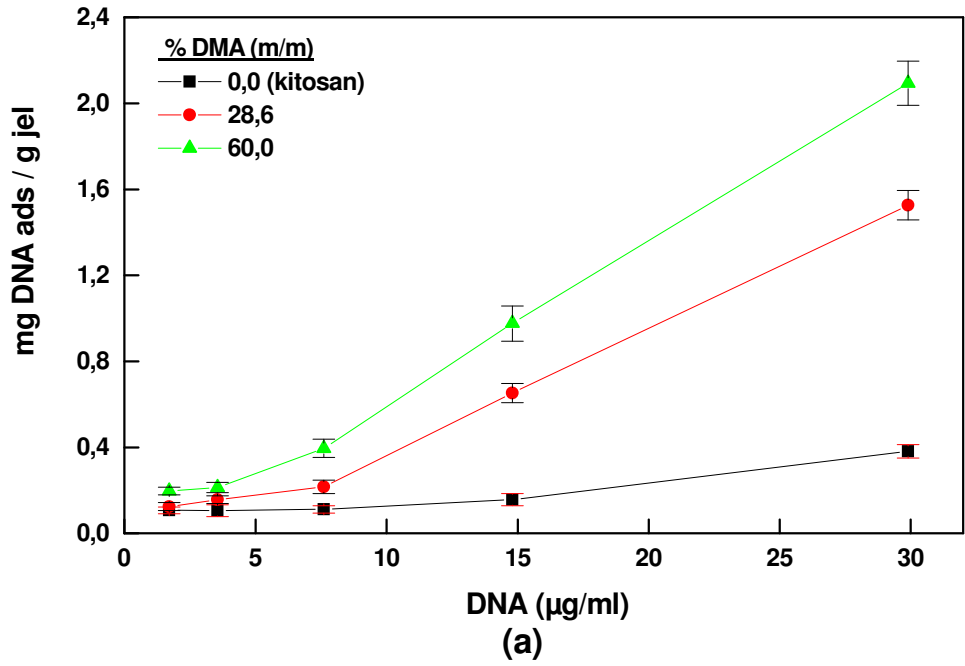
% 28,6 'lık aşılama da PDMA ile PAAm hidrojelleri arasındaki DNA adsorpsiyonu farkı oldukça belirgin iken % 60,0 'lık kompozisyonlarda bu fark daha azdır. Bunun nedeni aşılama miktarının artması ile yüzeyde $-N(CH_3)_2$ uç gruplarının artması ve metil gruplarının DNA adsorpsiyonu sırasında sterik bir engel teşkil etmesi olabilir.

PDMA aşılınmış hidrojellerin 37 °C 'de zamana bağlı DNA adsorpsiyon eğiliminin de PAAm aşılınmış hidrojellerle benzerlik gösterdiği ancak adsorpsiyon miktarlarının daha fazla olduğu belirlenmiştir.

6.5.3. PDMA aşılınmış kitosan hidrojellerin DNA derişimine bağlı adsorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi

DNA adsorpsiyon kapasitelerinin derişime göre değışiminin belirlenmesi için 5 farklı derişimde DNA çözeltisi hazırlanarak hidrojellerin adsorpsiyon miktarları hesaplanmıştır. Değişen DNA derişimine karşı adsorplanan DNA miktarları grafiğe alınmıştır.

Şekil 6.23 incelendiğinde, DNA derişiminin artışıyla hidrojellerin DNA adsorpsiyon kapasiteleri belirgin bir artış gösterdiği belirlenmiştir. Çözeltideki DNA derişiminin artışı, tüm hidrojeller için, jel üzerine adsorplanabilecek olan madde miktarını arttırdığı için bu beklenen bir sonuçtur.



Şekil 6.23. PDMA aşılantılmış hidrojelilerin a) 4 °C ve b) 37 °C’de derişime karşı DNA adsorpsiyonu

Çapraz bağlanmış saf kitosan için hesaplanan DNA adsorpsiyon kapasitesinin aşılantılmış hidrojellere oranla oldukça düşük olduğu gözlenmiştir. Bu sonuç, kitosan üzerine PDMA veya PAAm aşılantmasının DNA adsorpsiyon kapasitesini arttırdığı göstermektedir. PDMA aşılantması,

PAAm aşılmasına oranla adsorpsiyon kapasitesini daha fazla arttırmıştır. Bu durum PDMA üzerinde azota bağlı $-\text{CH}_3$ grubunun PAAm üzerinde bulunan $-\text{H}$ 'den daha elektron çekici olmasının bir sonucu olabilir.

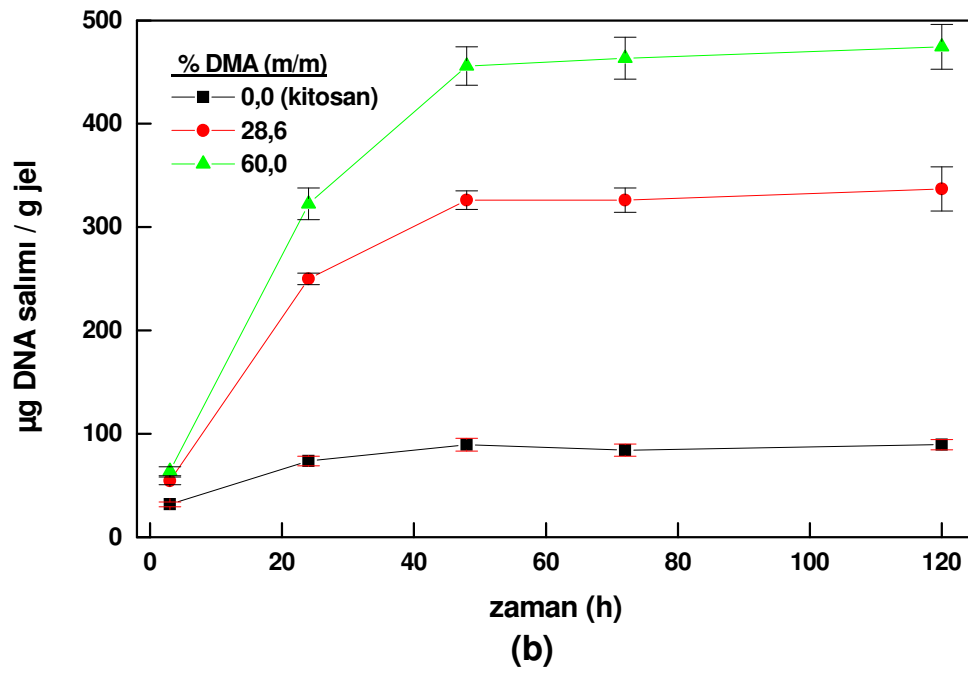
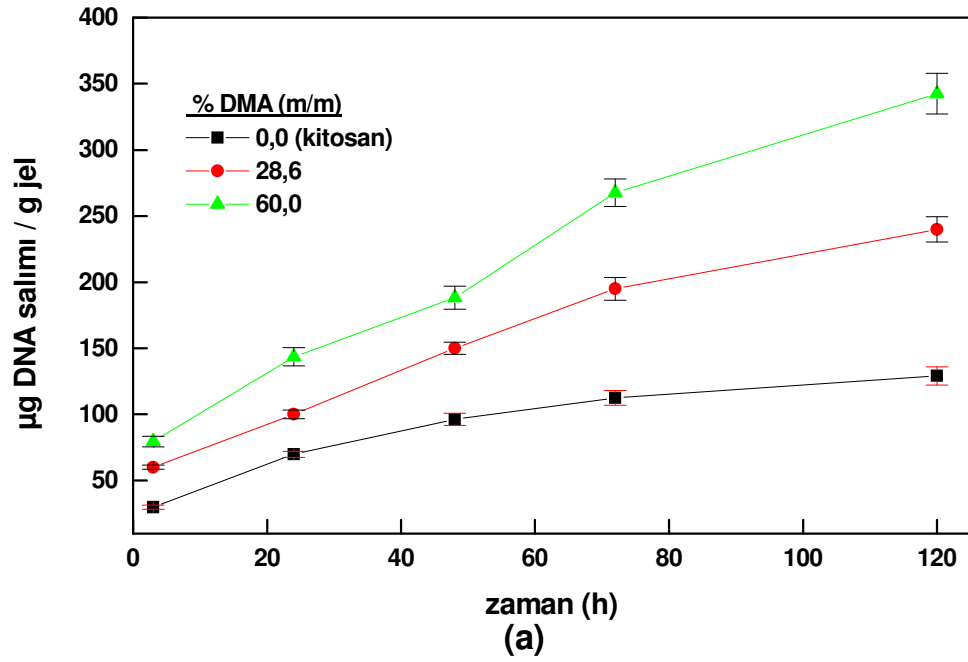
4 °C 'de yapılan adsorpsiyon çalışmasında, en yüksek DNA derişimi (29,9 µg DNA/ml) kullanıldığında hidrojellerdeki maksimum DNA adsorpsiyon kapasiteleri; kitosan için 380 µg/g jel; % 28,6 ve 60,0 PDMA için 1,5 mg DNA/g jel ve 2,1 mg DNA/g jel; % 28,6 ve 60,0 PAAm için ise 1,3 mg DNA/g jel ve 1,8 mg DNA/g jel olarak belirlenmiştir.

37 °C 'de yapılan adsorpsiyon çalışmasında ise, en yüksek DNA derişimi (9,6 µg DNA/ml) kullanıldığında hidrojellerdeki maksimum DNA adsorpsiyon kapasiteleri; kitosan için 470 µg/g jel; % 28,6 ve 60,0 PDMA için 3,4 mg DNA/g jel ve 4,6 mg DNA/g jel; % 28,6 ve 60,0 PAAm için ise 1,8 mg DNA/g jel ve 2,8 mg DNA/g kuru jel olarak bulunmuştur.

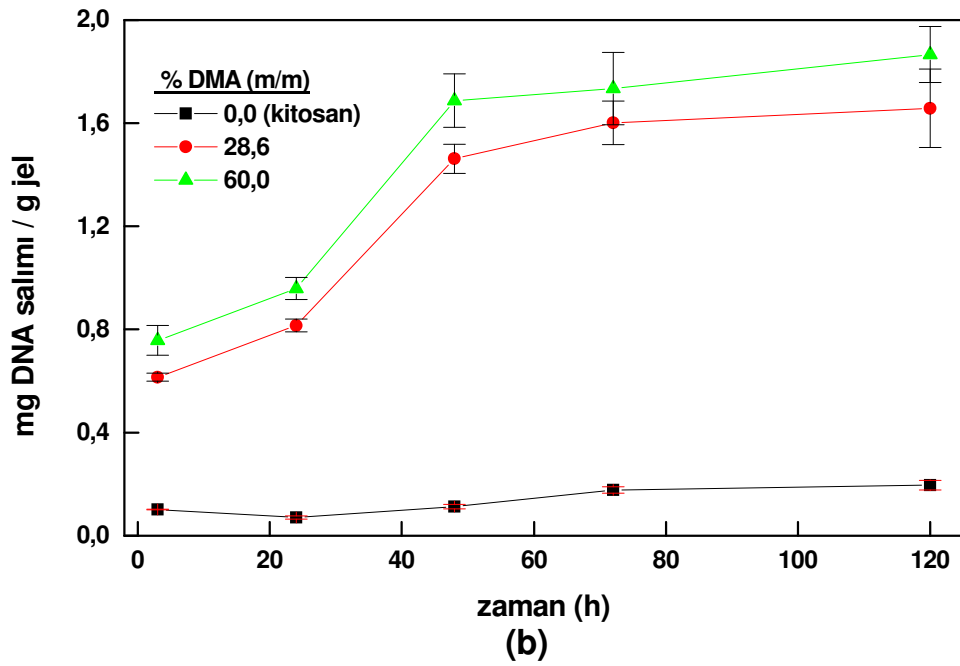
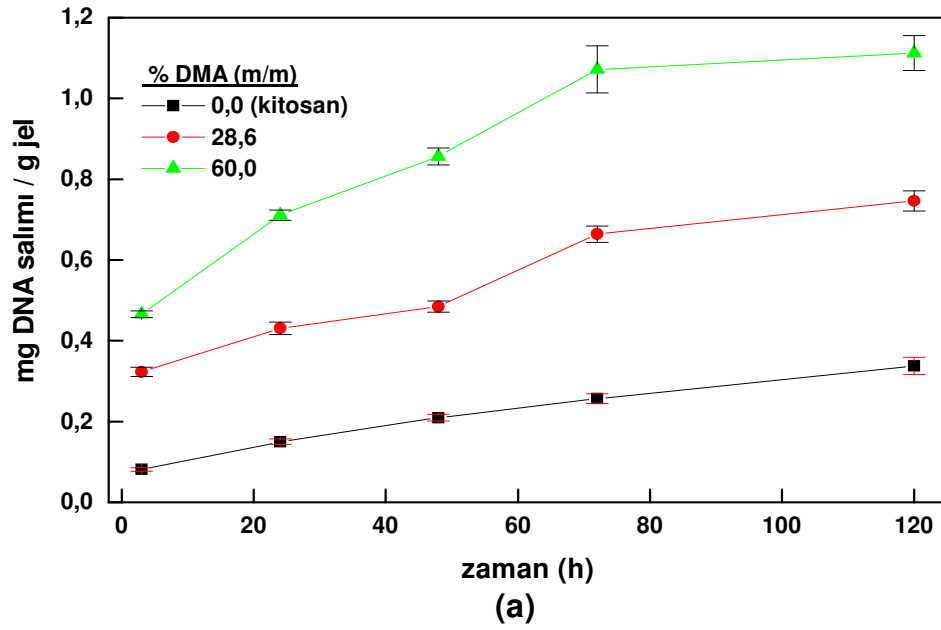
6.5.4. PDMA aşılınmış kitosan hidrojellerin farklı pH'lardaki DNA salımının belirlenmesi

Kitosan üzerine tarak tipi aşılınmış PDMA hidrojellerin farklı pH'lardaki DNA salımının belirlenmesi çalışmasında; adsorpsiyon çalışmalarında kullanılan %0,0; 28,6 ve 60,0 AAm aşılınmış hidrojellerin tuttukları DNA'yı pH= 7,4 ve 9,0 'da bırakma miktarları ve süreleri incelenmiştir.

4 °C 'de, pH=7,4'de $-\text{NH}_3^+$ üzerine sterik engeller nedeniyle zayıf bir şekilde tutulmuş ya da elektrostatik olarak bağ yapmadan, tutulan DNA'lar arasına takılmış olan DNA'lar bırakılmıştır. pH=9,0 'da ise $-\text{NH}_3^+$ üzerindeki kısmi pozitif yük nötrallenerek jelin DNA tutmasına imkân vermemektedir. Bu nedenle pH=9,0 'da bekletilen jeller üzerinden bırakılan DNA miktarının oldukça fazla olduğu gözlenmiştir.



Şekil 6.24. pH=7,4 TE tamponunda PDMA aşılantılmış hidrojellerin a) 4 °C ve b) 37 °C'de DNA salımı



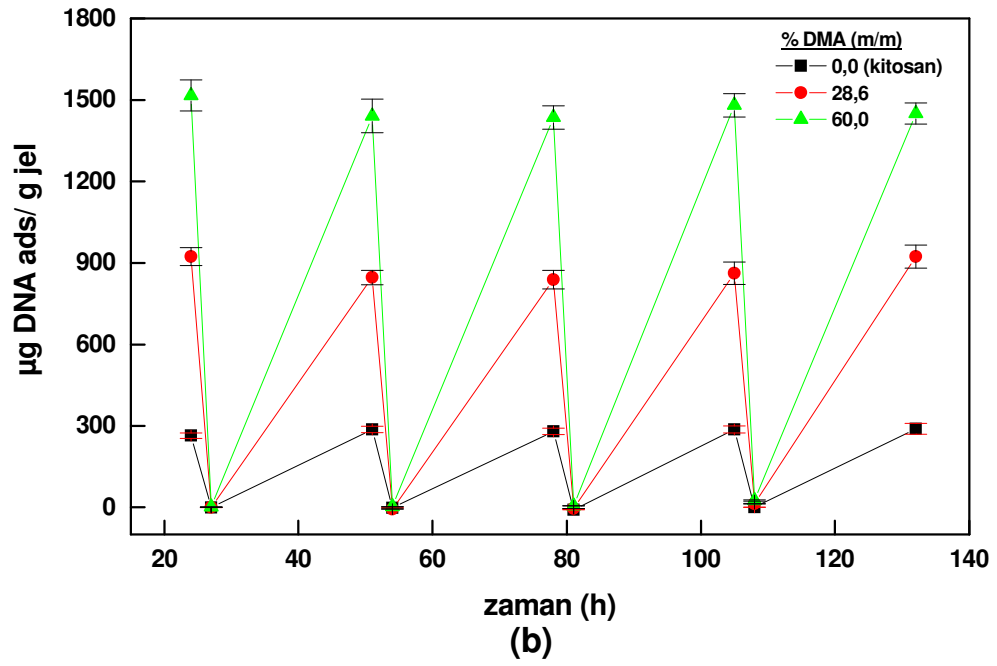
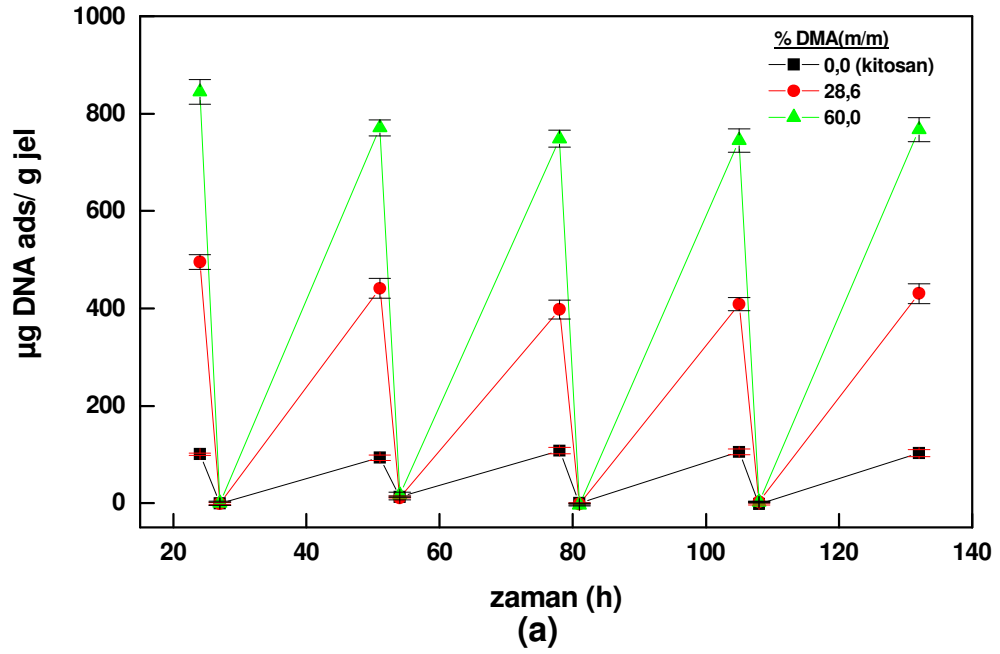
Şekil 6.25. pH=9,0 TE tamponunda PDMA aşılannmış hidrojellem a) 4 °C ve b) 37 °C'de DNA salımı

Aşılama miktarının artışı ile tutulan DNA miktarı arttığından, bırakılan DNA miktarı da artış göstermiştir.

6.5.5. PDMA aşılantmış kitosan hidrojelilerin DNA adsorpsiyonu için tekrar kullanılabilirliği

Kitosan üzerine PDMA aşılantmış hidrojelilerin biyomedikal uygulamalar için tekrar kullanılabilirliğinin belirlenmesi amacıyla hidrojelilerin 24 saatlik zaman aralıklarında adsorpsiyon-desorpsiyon miktarları belirlenmiş ve bu döngünün tekrarlanabilirliği incelenmiştir. DNA adsorpsiyon çalışmalarında kullanılan hidrojeller pH= 9,0 TE tamponunda bekletilerek jele bağlı olan DNA'nın salımı incelenmiş, ardından jel tekrar DNA çözeltisine aktarıldığında adsorpsiyon yapmıştır. Jeller tekrar tampon çözeltilere aktarıldıklarında ise adsorplanan DNA'nın tekrar bırakılması sağlanmıştır. Bu adsorpsiyon-desorpsiyon çalışması birçok defa tekrarlanmıştır.

Sonuçta; PDMA aşılantmış hidrojelilerin denge şişme durumundaki desorpsiyonunun adsorpsiyondan çok daha hızlı olduğu gözlenmiştir. Bunun pH= 9,0 tamponunda; azot üzerindeki kısmi pozitif yükün çok hızlı bir şekilde nötrallenmesinden kaynaklandığı düşünölmektedir. Bu şekilde 24 saatte adsorplanan DNA, 3 saat içinde neredeyse tamamen bırakılmaktadır.



Şekil 6.26. PDMA aşılanmış hidrojenlerin (A) 4 °C ve (B) 37 °C ' de DNA adsorpsiyonunda tekrar kullanılabilirliği

7. SONUÇLAR

- Kitosan üzerine tarak tipi aşılانmış PDMA (PAAm) hidrojelleyi; artan miktarlarda (% DMA veya AAm; 28,6; 37,5; 44,4; 50,0; 60,0; 75,0 ve 80,0) karboksilli uç eklenmiş PDMA-COOH (PAAm-COOH) polimerinin EDC/HNS varlığında, kitosan çözeltisiyle reaksiyonu sonucunda sentezlenmiştir.
- ATR-FTIR spektrpskopisi sonucunda monomerlerin MAA yardımı ile polimerleştirildiğı ve kitosan üzerine aşılانdığı doğrulanmıştır.
- PAAm ve PDMA aşılانmış hidrojellerin taramalı elektron mikroskobu ile alınan görüntüleri incelendiğinde aşılama ile hidrojel yapısındaki gözeneklerin oluştuğı gözlenmiştir. Ayrıca aşılamanın artışı ile gözeneklerin de artış gösterdiği belirlenmiştir.
- Çapraz bağlanmış kitosan hidrojeli ile karşılaştırıldığında PAAm ve PDMA aşılانmış hidrojeller için hesaplanan yüzey enerjilerinde artış olduğı ancak bu artışın düzensiz olduğı gözlenmiştir. Bu durum aşılانan grubun yüzeyde ve hidrojel içinde rasgele bir şekilde yerleştiğini gösterebilir.
- PAAm ve PDMA aşılانmış hidrojeller için, pH değerlerinin 2'den 9'a artmasıyla hidrojellerin büzölme davranışı gösterdiği belirlenmiştir. Aşılama miktarı arttıkça jellerin pH değişimine karşı şişme oranlarında azalma gözlenmiştir. PDMA' nın % 50,0 ve üzerindeki aşılamalarında jellerin pH duyarlılıklarının birbirine oldukça yakın olduğı görölmüştür.
- TE tamponunda yapılan sıcaklık çalışmasında PAAm aşılانmış hidrojellere ait sıcaklık eğrileri incelendiğinde, yaklaşık 5-10 °C ve 29 °C civarında iki faz geçişi görölmektedir. Ancak hidrojellerin şişme oranlarına sıcaklık değişiminin belirgin bir etkisi olmadığı belirlenmiştir.

- PDMA aşıl原因 hidrojellerin sıcaklıkla şişme oranları incelendiğinde, hidrojellerin geri dönüşümlü faz geçişi gösterdiği, PDMA miktarındaki artışla jellerin sıcaklık duyarlılığının bir miktar arttığı ancak PDMA'nın sıcaklığa pek duyarlı bir polimer olmadığını belirlenmiştir.
- Hidrojellerin aşıl原因 miktarının artışına bağlı DNA adsorpsiyon kapasiteleri incelendiğinde aşıl原因 miktarının artışı ile DNA adsorpsiyon miktarlarını artış gösterdiği belirlenmiştir. PDMA aşıl原因 hidrojellerin PAAm aşıl原因 olanlara oranla daha fazla miktarda DNA adsorpladığı belirlenmiştir. Ayrıca DNA'nın vücut sıcaklığındaki adsorpsiyon miktarı 4 °C ' deki adsorpsiyona oranla oldukça fazla bulunmuştur.
- Hidrojellerin zamana bağlı DNA adsorpsiyon kapasiteleri incelendiğinde, PDMA aşıl原因 hidrojellerin PAAm aşıl原因 olanlara oranla daha fazla DNA adsorpladığı belirlenmiştir. Adsorpsiyon için beklenen zaman arttıkça adsorplanan DNA miktarının da arttığı gözlenmiştir. 96 saat sonunda PAAm aşıl原因 hidrojeller için maksimum adsorpsiyon kapasitesi 4 °C' de 1,1 mg/g jel, 37 °C' de 1,9 mg/ g kuru jel; kütlece % 60,0 PDMA aşıl原因 hidrojeller için ise 1,1 mg/g jel, 2,5 mg/ g jel olarak belirlenmiştir.
- 4 °C' de DNA derişiminin 1,7 µg DNA/mL' den 29,9 µg DNA/mL' ye artışıyla hidrojellerin DNA adsorpsiyon kapasitelerinde belirgin bir artış gözlenmiştir. Düşük DNA derişimlerinde tüm hidrojeller yaklaşık aynı miktarda DNA adsorpsiyonu göstermişken derişimin artışı ile adsorpsiyon kapasitelerinin belirgin bir şekilde arttığı gözlenmiştir. PDMA aşıl原因masının PAAm aşıl原因masına oranla adsorpsiyon kapasitesini daha fazla arttırdığı belirlenmiştir. 24 saat sonunda hidrojellerdeki maksimum DNA adsorpsiyon kapasiteleri; kitosan için 380 µg DNA/g jel; % 28,6 ve 60,0 PDMA için 1,5 mg DNA/g ve 2,1 mg DNA/g; % 28,6 ve 60,0 PAAm için ise 1,3 mg DNA/g ve 1,8 mg DNA/g jel olarak bulunmuştur.

- 37°C' de DNA derişiminin 0,9 µg DNA/mL' den 9,8 µg DNA/mL' ye artışıyla hidrojellerin DNA adsorpsiyon kapasitelerinde belirgin bir artış gözlenmiştir. PDMA aşılmasının PAAM aşılmasına oranla adsorpsiyon kapasitesini daha fazla arttırdığı belirlenmiştir. 24 saat sonunda hidrojellerdeki maksimum DNA adsorpsiyon kapasiteleri; kitosan için 470 µg DNA / g jel; % 28,6 ve 60,0 PDMA için 3,5 mg DNA/g ve 4,6 mg DNA/g; % 28,6 ve 60,0 PAAM için ise 1,8 mg DNA/g ve 2,8 mg DNA/ g jel olarak belirlenmiştir.
- Hidrojellerin adsorpladıkları DNA'yı pH=7,4 ve 9,0 TE tamponlarında bırakma miktarları incelendiğinde, DNA'nın pH=9,0 'da neredeyse tamamen bırakılabildiği gözlenmiştir.
- Hidrojellerin denge şişme durumundaki desorpsiyonunun adsorpsiyondan çok daha hızlı olduğu gözlenmiştir. Bunun pH=9 tamponunda; azot üzerindeki kısmi pozitif yükün çok hızlı bir şekilde nötrallenmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu şekilde 24 saatte adsorplanan DNA, 3 saat içinde neredeyse tamamen bırakılmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Mazeini M., Palchetti I. , Maraza G., "DNA electrochemical biosensors", ***Fresenius Journal of Analytical Chemistry***, 369:15-22 (2001).
2. Mao H.Q., Roy K., Troung-le V., Janes K., Lin K.Y., Wang Y., August T. J. ve Leng K. W., , "Chitosan, DNA nanaoparticles as gene carriers: synthesis, characterization and transfection efficiency", ***Journal of Controlled Release***, 70: 399-421 (2001).
3. Wang J., Cai X., Rivas G., Shiraishi H. Ve Dontha N., "Nucleic acid immobilization, recognition and detection at Chronopotentiometric DNA chips", ***Biosensors and Bioelectronics***, 12 (8):587-599 (1997B).
4. Kobato, N., Matsubara, T., Eguchi, Y., "Synthesis and swelling behavior of comb-type grafted hydrogels by reversible addition-fragmentation chain transfer polymerization"; ***Journal of Applied Polymer Science*** , 70: 1027-1034 (1998).
5. Annaka, M., Matsuura, T., Kasai, M.,Nakahira, T., Hara, Y., Okano, T., "Preparation of comb-type N-isopropylacrylamide hydrogel beads and their application for size-selective separation media" ***Biomacromolecules*** , 4: 395-403 (2003).
6. Kayaman, N., Kazan, D., Erarslan, A., Okay, O., Baysal, B. M.," Swelling and diffusion studies of poly(*N*-isopropylacrylamide/itaconic acid) copolymeric hydrogels in water and aqueous solutions of drugs"; ***Journal of Applied Polymer Science***, 67:805-814(1998).
7. Behm, E., Ivanovich, P., Klinkmann, H., "Selective and specific adsorbents for medical therapy", ***International journal of Artificial Organs***, 12: 1-10 (1989).
8. Stollar, B. D., " Anti-DNA antibodies" , ***Clinical Immunolgy and Allergy*** ,1(2) : 243-260 (1981) .
9. Pisetsky D. S. , "Systemic Lupus Erythematosus" , ***Medical Clinics of North America***, 70(2) : 837-853 (1986).
10. Schwartz R. S. , Stollar B. D. , " Origins of anti- DNA autoantibodies" , ***Journal of Clinical Investigations***, 75: 321-327 (1985).
11. Ruddy S, Haris ED, Sledge CB. "Kelly's Textbook of Rheumatology"; 6.th ed. , ***Saunders WB Company***, London, 101-124, (2001).
12. Foster Mh, Kelley VR. "Lupus nephritis: Update on pathogenesis and disease mechanisms", ***Seminars in Nephrology***, 19(2): 173-81 (1999).

13. Ruiz-Irastorza G, Khamashta MA, Castellino G, Hughes GR. "Systemic lupus erythematosus"; **Lancet**, 357: 1027–32 (2001).
14. Salmon M, Gordon C. "The role of apoptosis in systemic lupus erythematosus", **Rheumatology**, 38: 1177–83 (1999).
15. Terman D. S. , Harbeck R., Hoffman A. , Steward I. , Robinetto J. , Carr R. , "Specific removal of DNA antibody with an immnoadsorbent" **Experientia**, 30(12): 1493-4, (1974).
16. Terman D. S. , Harbeck R., Hoffman A. , Steward I. , Robinetto J. , Carr R. , "Specific removal of DNA antibodies in vivo with an extracorporeal immuno- adsorbent" , **Clinical and Experimental Immunology** , 24 : 231 (1976).
17. Nicolaev V. G., Sarnatskaya V. V. , Eretskaya E. V. , Snezhkova E. A. , Belitzer N. V. , **Clinic Materials** , 11: 125 (1992).
18. Kato K. , Ikada Y. , "Immobilization of DNA onto a polymer support and its potentiality as immunoabsorbent", **Biotechnology and Bioengineering** 51: 581–590 (1996).
19. Tuncel A., Unsal, E. , Çiçek, H. , "pH- sensitive uniform gel beads for DNA adsorption" , **Journal Applied Polymer Science**, 77: 3154-3167 (2000).
20. Denizli A. , Pişkin E. , " DNA-immobilized polyhydroxyethylmethacrylate microbeads for affinity sorption of human immunoglobulin G and anti-DNA antibodies.", **Journal Chromatography B Biomedical Applications**, 666: 215–22 (1995).
21. Akbuğa, J. , " A biopolymer: chitosan" , **International Journal of Pharmacy Advances**, 1: 3–18 (1995).
22. Kaş; H. S. , "Chitosan properties, preparations and application to mikroparticulate systems", **Journal of Microencapsule**, 14: 689–711 (1997).
23. Kurita, K. , " Controlled functionalization of polysaccharide chitin" , **Progress in Polymer Science**, 26: 1921–1971 (2001).
24. Lefler, M. , "Spotlight on research: treasure from trash is there profit in crab waste? ", **Maryland Marine Notes**, 15(2): 1521–1527 (1997).
25. Wan, Y., Creber, K.A.M., Peppley, B., Bui, V.T., "Ionic conductivity of chitosan membranes", **Polymer**, 44: 1057-1065 (2003).

26. Illum, L. , “ Chitosan and its use as a Pharmaceutical excipient” ***Pharmaceutical Research***, 15: 1326–1331 (1998).
27. Singla, A. K. , Chawla, M. , “ Chitosan: some pharmaceutical and biological aspects- an update” , ***Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences***, 53: 1047–1067 (2001).
28. Chen, R. H. ; Tsaih, M. L., “ Effect of temperature on the intrinsic viscosity and conformation of chitosan in dilute HCl solution”, ***International Journal of Biological Macromolecules*** , 23:135-141 (1998).
29. Vorbeck, C. , “Novel chitin deacetylase for high-quality chitosan” , The Fraunhofer Institute for Interfacial Engineering and Biotechnology IGB, <http://www.igb.fraunhofer.de>, ***Fraunhofer IGB*** (2002).
30. Kumar, M. N. V. R. , “ A review of chitin and chitosan applications”, ***Reactive & Functional Polymers***, 46: 1–27 (2000).
31. Hirano, S. , Tsushida, H. ; Nagoao, N. , “ N- acetylated in chitosan and the rate of its enzymic hydrolysis” , ***Biomaterials***, 10: 574–576 (1989).
32. Varum, K. M. , Myhr, M. M. , Hjerde, R. J. N. , Smidrod, O. ; “In vitro degradation rates of N-acetylated chitosans in human serum” ***Carbohydrate Research*** , 299: 99-101 (1997).
33. Kurita, K. , “ Chemistry and application of chitin and chitosan”, ***Polymer Degredation and Stability*** , 59: 117-120 (1998).
34. Shigemasa, Y. , Minami, S. , “ Applications of chitin and chitosan for biomaterials” ; ***Biotechnology & Genetic Engineering Reviews***, 13: 383–420 (1998).
35. Hirano, S. , “ Some ecologically friendly applications of chitin and chitosan in biotechnology” ; Ed: Gebelein, C.E., Carraher Jr., Industrial Biotechnological Polymers, ***Technomic Publications co. Inc***, 189-203 (1995) .
36. Skaugrud Q. , “ Chitosan makes the grade” ***Manufecture in Chemistry***, 1: 31–35 (1989).
37. Suh. J.K.F. ; Matthew H.W.T. ; “Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: a review” ; ***Biomaterials***, 21: 2589–2598 (2000).

38. Bokura, H. ; Kobayashi, S. ; “ Chitosan decreases total cholesterol in women: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial” ***European Journal Of Clinical Nutrition*** , 57:721-725 (2003).
39. Lusia C. M. , Carmen A. M. , De La Guardia M. ; “ Removal of heavy metals by using adsorption on alumina or chitosan” ***Anaitical and Bioanalitical Chemistry*** , 375: 820-825 (2003).
40. Oshita, K. ; Oshima, M. , Gao, Y. M. ; Lee, K. H. ; Motomizu, S. ; “Adsorption behaviour of mercury and precious metals on cross-linked chitosan and the removal of ultratrace amounts of mercury in concentrated HCl by column treatment with cross-linked chitosan” ; ***Analitical Science*** , 18:1121-1125 (2002).
41. Austin, P.R. ; Brine, C.J. ; Castle, J.E. ; Zikasis, J.F. ; “ Chitin new facets of research “ ; ***Science*** , 212:749-753 (1981).
42. Chiou, M.S. ; Li, H.Y. ; “Adsorption behaviour of reactive dye in aqueous solution on chemical cross-linked chitosan beads” , ***Chemosphere*** , 50:1095-1105 (2003) .
43. Ueno, H. ; Yamada, H. ; Tanaka, I. ; Kaba, N. ; “Accelerating effects of chitosan for healing at early phase of experimental open wound in dogs; ***Biomaterials***, 20:1407-1414 (1999).
44. Kumar, M.N.V.R. ; “ Nano and microparticles as controlled drug delivery devices”, ***Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*** , 3:234-258 (2000).
45. Miyazaki, S. , Ishii, K. ; Nadai, T. ; “The use of chitin and chitosan as drug carriers”, ***Chemical and Pharmacol Bulletin***, 29:3067-3069 (1981).
46. Martin, L. , Wilson, C. G. , Koosha, F. , Tetley, L. , Gray, A.I., Senel, S., Uchebgu, I.F. ,” The release of model macromolecules may be controlled by the hydrophobicity of palmitoyl glycol chitosan hydrogels” , ***Journal of Controlled Release*** , 80: 87-100 (2002).
47. Knapczyk, J., “ Excipient ability of chitosan for direct tableting” ***International Journal of Pharmacy***; 89:1–7 (1993).
48. Ofori-Kwakye, K. ; Fell, J.T. ; “ Biphasic drug release from film- coated tablets”, ***International Journal of Pharmacy***, 250: 431–440 (2003) .
49. Kweon, D.K., Kang, D.W., “Drug-release behavior of chitosan-g-poly(vinyl alcohol) copolymer matrix”, ***Journal of Applied Polymer Science***, 74: 458-464 (1999).

50. Langer, R. ; “ New methods of drug delivery” ; **Science** , 249:1527-1533 (1990) .
51. Thanou, M. ; Verhoe, J.C. ; Junginger, H:E. ; “ Chitosan and its derivatives as internal absorption enhancers” **Advanced Drug Delivery Reviews** , 50: 91-101 (2001).
52. Kubota, N. ; Kikuchi, Y. ; ” Macromolecular complexes of chitosan” Ed: Dumitru, S. ; Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility ; by **Markel Dekker, Inc.** , New York, 595-628 ,(1998).
53. Ramanathan, S. ; Block, L.H. ; “ The use of chitosan gels as matrices for electrically modulated drug delivery” **Journal of Controlled Release**, 70: 109–123 (2001).
54. Illum, L. , Jabbal-Gill, I. , Hinchcliffe, M. , Fisher, A.N. ; Davis, S. S., “Chitosan as a novel delivery system for vaccines” , **Advanced Drug Delivery Reviews** , 51: 81–96 (2001).
55. Varum, K.V. , Holme, M.M. , Izume, M. , “Determination of enzymatic hydrolysis specificity of partially N-acetylated chitosans”, **Biochimica Et Biophysica Acta**, 1291: 5–15 (1996).
56. Dodane, V. ; Vilivalam, V.D.; “ Pharmaceutical applications of chitosan” ; **PSST**, 1: 246-253 (1998).
57. Xu, Y. ; Du, Y. ; “Effect of molecular structure of chitosan on protein delivery properties of chitosan nanoparticles” ; **International Journal of Pharmacy**, 250: 215–226 (2003).
58. Lee, J.Y.; Nam, S.H.; Im, S:Y.; Park, Y.J.; Lee, Y.M.; Seol, Y.J.; Chung, C.P.; “ Enhanced bone formation by controlled growth factor delivery from chitosan-based biomaterials” ; **Journal of Controlled Release** , 78: 187-197 (2002) .
59. Janes, K.A.; Calvo, P. ;Alonso, M.J.; “Polysaccharide colloidal particles as delivery systems for macromolecules”, **Advanced Drug Delivery Reviews** , 47: 83-97 (2001).
60. Park, I.K; Kim, T.H.; Kim, S.I; Akaike, T. ;Cho, C.S.; “Chemical modification of chitosan for gene delivery” , **Journal of Disp. Sci. Technology** , 24:489-498 (2003).
61. Borchard, G. ;”Chitosan for gene delivery”, **Advanced Drug Delivery Reviews** , 52:145-150 (2001).

62. Klug, W. S. ; Cummings, M.R. ;"DNA Yapısı ve analizi", Genetik Kavramlar 6. baskı", Prof. Dr. Cihan Öner; **Palme Yayıncılık**, Ankara, 283–306; (2002).
63. Ausubel, F.M.; Brent, R. ; Kingston, R.E. ; Moore, D.D.; "Short protocols in molecular biology, Appendices " , **John Wiley & Sons Inc.** , NewYork, A3-10 (1999).
64. Mao, H.Q. ; Roy, K. ; Truong-Le, V. ; Janes, K. ; Lin, K.Y. ; " Chitosan-DNA nanoparticles as gene carriers: synthesis, characterization and transfection efficiency"; **Journal of Controlled Release**, 70;399-412 (2001).
65. Strother, T. ; Hamers, R.J. ; Smith, L.M. ; "Covalent attachment of oligonucleotides to amino-modified Si (001) surfaces; **Nucleic Acids Research** , 18: 3535-3541 (2000).
66. Okutucu, B., " Polimerik taşıyıcılarda DNA immobilizasyonu" ; yüksek lisans tezi , **Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü** , İzmir, 9 (2001).
67. Çaykara, T., "Taş eserlerinin korunmasında poli(trietoksi vinil silan-kometilmetakrilat) kopolimerlerinin kullanımı", Doktora tezi, **H.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, 28-33 (1996).
68. Krüss DSA1 Drop Shape Analyzer , "Theory" , **Krüss GmbH**, Hamburg, 71-92 (2004).
69. Hermanson, G.T., "Zero-length Cross-linkers", Bioconjugate Techniques, **Pierce Chem. Comp.**, Rocford, Illinois ,169-174 (2000).
70. Erdik, E., "Organik Kimyada Spektroskopik Yöntemler", **Gazi Kitabevi**, 2. baskı, Ankara, 82-182, (1998).
71. Günzler, H., Gremlinch, H-U., " IR Spectroscopy" , **Wiley-VCH**, Germany, 108-109, 206-208, (2002).
72. Yıldız, A., Genç, Ö., Bektaş, B., "Enstrümental Analiz Yöntemleri", **Hacettepe Üniversitesi Yayınları**, Ankara, 184, 437-440 (1997).
73. Çaykara, T., Akçakaya, I., "Sythesis and network structure of ionic poly(N,N –dimethylacrylamide-co-acrylamide hydrogels:Comparison of swelling degree with theory", **European Polymer Journal**, 41:1656 (2005).

74. Lee, S.B. ;Ha, D.I. ;Cho, S.K. ; Kim, S.J. ; Lee, Y. M. ; “Temperature/pH-sensitive comb-type graft hydrogels composed of chitosan and poly(N-isopropylacrylamide)” ;**Journal of Applied Polymer Science** , 92: 2612-2620 (2004) .
75. Kakufuta, E., Tonaka Y.Q., Mamada A., “Effects of surfactants on the phase transition of poly(N-isopropylacrylamide) gels”, **Macromolecules**, 28:1704-1708, (1995).
76. Liu, H., Y., Zhu, X., X., “Lower critical solution solution temperatures of N-substituted acrylamide copolymers in aqueous solutions”, **Polymer**, 40:6985-6990 (1990).
77. Xue, W., Champ, S., Huglin, M., B., Jones, T., G., J., “Rapid swelling and deswelling in cryogels of crosslinked poly(N-isopropylacrylamide-co-acrylic acid)”, **European Polymer Journal**, 40: 467-476 (2004).
78. Save, N., S., Jassal, M., Agrawal, A., K., ”Stimuli Sensitive Copolymer Poly(N-tert-butylacrylamide-ran-acrylamide): Synthesis and Characterization”, **Journal of Applied Polymer Science**, 95:672-680 (2005).
79. De Quiroz, A.A.A. ; Franca, E.J. ;Abraham, G.A. ; Roman, J.S. ; “Drug complexation and physicochemical properties of vinylpyrrolidone-N,N'-dimethylacrylamide copolymers” ; **Journal of Applied Polymer**, 93: 1337–1347 (2004).
80. Inoue, H. ; Fujimoto, K. ; Uyama, Y. ; Ikada, Y. ;” Ex vivo and in vivo evaluation of the blood compability of surface modified poly-urethane catheters” ; **Journal of Biomedical Material Research**, 35:255-264 (1997).
81. Tomita, N. ; Tamai, S. ; Okijama, E. ; Hiao, Y. ; Ikeuchi, K. ; Ikada, Y. ; “Biomaterials lubricated for minimum frictional resistance” **Journal of Applied Biomaterials**, 5: 175–181 (1994).
82. Rodrigez, G., Gallardo, A. ; Fernandez, M. ; “ Hydrophilic polymer drug from a derivative of salicylic acid: synthesis, controlled release studies and biological behaviour” ; **Macromolecular Bioscience** , 4:579-586 (2004).
83. Melekaslan, D. and Okay, O., “Temperature dependent swelling behavior of ionic poly(N-isopropylacrylamide) gels in PEG solutions”, **Polymer Bulletin**, 49:181-188 (2002).

84. Zhang Zheng, X., Zhuo Xi, R., "Preparation of fast responsive, temperature-sensitive poly(N-isopropylacrylamide) hydrogel", **Macromolecules Chemical Physics**, 200:2602-2605 (1999).
85. Okay O., Orakdöğen N., "Reentrant conformation transition in poly(N,N-dimethylacrylamide) hydrogels in water-organic solvent mixtures", **Polymer** 47: 561-568 (2006).
86. Çaykara, T. ; Küçüktepe, S. ; Turan, E. ; "Thermosensitive poly [(2-(diethylamino)ethyl methacrylate)-co-(N,N-dimethylacrylamide)] cryogels prepared by a two-step polymerization method" ; **Macromolecular Materials And Engineering**, 291(10): 1278-1286 (2006).
87. Hirosue, S. ; Müller, B. G., Langer, R. ; "Plasmid DNA encapsulation and release from solvent diffusion nanospheres " ; **Journal of Controlled Release**, 70:231-242 (2001) .

ÖZGEÇMİŞ**Kişisel Bilgiler**

Soyadı adı : BAŞER, Burcu
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 27.07.1982- Ankara
Telefon : 0533 540 95 83
E-mail : burcubaser82@yahoo.com

Eğitim Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi Kimya Bölümü	2007
Lisans	Hacettepe Üniversitesi Kimya Bölümü	2004
Lise	Mimar Kemal Lisesi (İng ağırlıklı)	2000

Yabancı Dil

İngilizce