

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MEKANİK DAYANIMLARI İYİLEŞTİRİLMİŞ POLİMERİK HİDROJEL
SİSTEMLERİ**

DOKTORA TEZİ

Mahinur ALEMDAR

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Biyoteknoloji Doktora Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Deniz CEYLAN TUNCABOYLU

OCAK 2023

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MEKANİK DAYANIMLARI İYİLEŞTİRİLMİŞ POLİMERİK HİDROJEL
SİSTEMLERİ**

DOKTORA TEZİ

**Mahinur ALEMDAR
185314002**

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Biyoteknoloji Doktora Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Deniz CEYLAN TUNCABOYLU

OCAK 2023

Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün 185314002 numaralı Doktora Öğrencisi Mahinur ALEMDAR, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "MEKANİK DAYANIMLARI İYİLEŞTİRİLMİŞ POLİMERİK HİDROJEL SİSTEMLERİ" başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı: **Prof. Dr. Deniz CEYLAN TUNCABOYLU**
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Jüri Üyeleri: **Prof. Dr. Binnur TEMEL**
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Prof. Dr. Fahri AKBAŞ
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Prof. Dr. Nermin ORAKDÖĞEN
İstanbul Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Suzan ABDURRAHMANOĞLU.....
Marmara Üniversitesi

Teslim Tarihi : 24.03.2023

Savunma Tarihi : 26.01.2023



Eşime ve oğluma,

ÖNSÖZ

Öncelikle lisans eğitimimden beri her daim yanımda olan, beni her zaman destekleyen ve cesaretlendiren, özveriyle tüm bilgi birikimini aktaran, var olan tüm imkanları bana sunan ve sadece laboratuvarı ya da dersleri değil tam anlamıyla hayatı öğretmek için çabalayan çok değerli hocam Prof. Dr. Deniz CEYLAN TUNCABOYLU'ya;

Doktora çalışmalarım sırasında tez komitesi üyeliğini gerçekleştiren Prof. Dr. Binnur TEMEL ve Prof. Dr. Nermin ORAKDÖĞEN'e;

Çalışma ortamında bana eşlik eden ve desteklerini esirgemeyen tüm PolyDenGels ekibine;

Doktora tez sürecimde yürütülen 119Z518 numaralı proje kapsamında mali destekte bulunarak çalışmamı destekleyen TÜBİTAK'a;

Tez çalışmamın ikinci kısmında kullanılan ve 119Z518 numaralı TÜBİTAK projesi kapsamında Prof. Dr. Binnur TEMEL ve Hatice Kübra BATU tarafından gerçekleştirilen amfifilik kopolimerlerin sentezleri için kendilerine teşekkür ederim.

Yaşamımın her anında bana güvenen ve beni destekleyip bugüne gelmemi sağlayan ailem, annem Dr. Hatice TUNCEL'e, babam Dr. Zeynel Abidin TUNCEL'e ve kardeşim Ekrem TUNCEL'e;

Son olarak her an sevgisi, desteği, cesaretlendirmesi ve bana olan inancı ile yanımda duran sevgili eşim Muhammet Hasan ALEMDAR'a ve ona her baktığımda bana hala bu dünyada masumiyetin var olduğunu, gelecek için çalışmak gerektiğini hatırlatan kıymetli oğlum Ömer ALEMDAR'a teşekkür ederim.

Çalışmanın konuyla ilgilenen bilim insanlarına yarar sağlaması dileğiyle...

Ocak 2023

Mahinur ALEMDAR
(Eczacı)

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Mahinur ALEMDAR

İmza

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	iv
BEYAN.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR	viii
SEMBOLLER	ix
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
ÖZET.....	xviii
SUMMARY	xx
1. GİRİŞ.....	1
2. POLİMERİK HİDROJEL SİSTEMLER.....	5
2.1 Biyopolimer Temelli Hidrojeller	6
2.1.1 Nişasta	9
2.1.2 Nişasta jelleri.....	11
2.1.3 Nişasta jellerinin mekanik dayanımını artırma yöntemleri.....	14
2.2 Sentetik Polimer Temelli Hidrojeller	16
2.2.1 Uyarılara duyarlı hidrojeller	19
2.2.1.1 Işığa duyarlı hidrojeller	22
2.2.1.2 Isıya duyarlı hidrojeller	24
2.2.2 Pluronik	27
2.2.3 Pluronik jellerinin mekanik dayanımını artırma yöntemleri.....	30
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	37
3.1 Malzemeler.....	37
3.2 Kullanılan Cihazlar	37
3.3 Deneysel Kısım	38
3.3.1 Nişasta jellerinin hazırlanması	38
3.3.2 Amfifilik kopolimer - PF127 jellerinin hazırlanması	39
3.3.2.1 RAFT polimerizasyonu ile PEG- <i>b</i> -P(<i>t</i> BMA- <i>r</i> -CEMA) sentezi	39
3.3.2.2 RAFT polimerizasyonu ile PEG- <i>b</i> -P(<i>t</i> BMA- <i>r</i> -CMA) sentezi	40
3.3.2.3 PEG- <i>b</i> -P(<i>t</i> BMA- <i>r</i> -CEMA) veya PEG- <i>b</i> -P(<i>t</i> BMA- <i>r</i> -CMA)-PF127 jelleri	41
3.3.2.4 RAFT polimerizasyonu ile PEG- <i>b</i> -P(<i>t</i> BMA- <i>r</i> -FAFEMA) sentezi ve karakterizasyonu	42
3.3.2.5 RAFT polimerizasyonu ile PEG- <i>b</i> -P(<i>t</i> BMA- <i>r</i> -FMA) sentezi ve karakterizasyonu	43
3.3.2.6 PEG- <i>b</i> -P(<i>t</i> BMA- <i>r</i> -FAFEMA) veya PEG- <i>b</i> -P(<i>t</i> BMA- <i>r</i> -FMA)-PF127 jelleri	44
3.3.2.7 f-Kitosan varlığında amfifilik kopolimerler-PF127 jelleri.....	45
3.4 Hidrojellerin Karakterizasyonu	45
3.4.1 Şişme ölçümleri.....	45

3.4.2 Reolojik ölçümler.....	46
3.4.3 Sıkıştırma testleri	48
3.4.4 Enjekte edilebilirlik testi	49
3.4.5 Taramalı elektron mikroskobu	50
3.4.6 Fourier dönüşüm kızılötesi (FT-IR)	50
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	51
4.1 Nişasta Jelleri	51
4.1.1 ECH konsantrasyonu.....	55
4.1.2 NaOH konsantrasyonu	57
4.1.3 HA konsantrasyonu	59
4.2 Amfifilik Kopolimer - PF127 Jellerinin Hazırlanması ve Karakterizasyonu ..	65
4.2.1 Amfifilik kopolimerinin sentezi ve karakterizasyonu.....	65
4.2.1.1 RAFT polimerizasyonu ile PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -CEMA) sentezi ve karakterizasyonu	65
4.2.1.2 RAFT polimerizasyonu ile PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -CMA) sentezi ve karakterizasyonu	69
4.2.1.3 RAFT polimerizasyonu ile PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -FAFEMA) sentezi ve karakterizasyonu	73
4.2.1.4 RAFT polimerizasyonu ile PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -FMA) sentezi ve karakterizasyonu	76
4.2.2 <i>N,N,N</i> -trimetil kitosanın (f-kitosan) sentezi ve karakterizasyonu	80
4.2.3 PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -CEMA) veya PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -CMA) - PF127 jelleri	82
4.2.4 PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -FAFEMA) veya PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -FMA) – PF127 jelleri	100
4.2.5 f-Kitosan varlığında PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -CEMA)-PF127 jelleri	107
4.2.6 f-Kitosan varlığında PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -FMA) – PF127 jelleri.....	112
5. SONUÇLAR	116
KAYNAKLAR	120
ÖZGEÇMİŞ.....	134

KISALTMALAR

Amp	: Amilopektin
Amy	: Amiloz
Azo	: Azobenzen
CEMA	: 7-(2-metakriloksietoksi)-4-metilkumarin
CMA	: 7-metakriloiloksi-4-metilkumarin
DGF	: Dinamik kayma kuvveti
DLS	: Dinamik ışık saçılımı
ECH	: Epiklorohidrin
EGDE	: Etilen glikol diglisidil eter
FAFEMA	: 4-[4-[(4-Fenil)azo]fenoksi]etil metakrilat
FMA	: 4-[4-[(4-Fenil)azo]fenoksi] metakrilat
FTIR	: Fourier dönüşüm kızılötesi spektrometresi
HA	: Hyaluronik asit
KMK	: Kritik misel konsantrasyonu
KMS	: Kritik misel sıcaklığı
Kum	: Kumarin
LCST	: Alt kritik çözelti sıcaklığı
LVR	: Lineer viskoelastik bölge
NaOH	: Sodyum hidroksit
PEG	: Polietilen glikol
PEO	: Polietilen oksit
PF127	: Pluronic F127
PPO	: Polipropilen oksit
TEM	: Taramalı elektron mikroskobu
TMC	: Trimetil kitosan
UCST	: Üst kritik çözelti sıcaklığı

SEMBOLLER

G'	: Elastik modül (Depo modül)
G''	: Viskoz modül (Kayıp modül)
G_t	: Relaksasyon modülü
F_{max}	: Maksimum kuvvet
T_{trans}	: Geçiş sıcaklığı
m_t	: t zamanında şişmiş jel numunesinin kütlesi
m_0	: Jel hazırlandıktan sonraki kütle
m_{rel}	: Denge nispi ağırlık şişme oranı
σ	: Stres
$\tan \delta$: Kayıp faktör
γ_0	: Deformasyon
$^{\circ}\text{C}$: Santigrat derece
f	: Frekans

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 4.1 : Numune kodlarıyla birlikte nişasta hidrojellerinin bileşimleri	52
Tablo 4.2 : PEG-CTA makroRAFT ajanı kullanılarak sentezlenen polimerlerin teorik, ¹ H NMR ve GPC molekül ağırlıkları.	73
Tablo 4.3 : PEG-CTA makroRAFT ajanı kullanılarak sentezlenen polimerlerin teorik, ¹ H NMR ve GPC molekül ağırlıkları.	80
Tablo 4.4 : Reometrede gerçekleştirilen KumPx jellerinin sıcaklık profil testinin sonuçları	89
Tablo 4.5 : Reometrede gerçekleştirilen AzoPx jellerinin sıcaklık profili testinin sonuçları	101

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1 : Hidrojellerin şematik gösterimi.....	1
Şekil 2.1 : (a) glikoz birimleri, (b) amiloz ve (c) amilopektinin temel yapısı	10
Şekil 2.2 : Bir nişasta granülünün organizasyon şeması.....	11
Şekil 2.3 : Nişastanın ısıya bağlı jelatinleşmesi.....	12
Şekil 2.4 : Nişasta ve ECH çapraz bağlanmasının kimyasal mekanizmasının gösterimi	13
Şekil 2.5 : Nişasta jellerinin uygulama alanları.	14
Şekil 2.6 : Hyaluronik asitin kimyasal yapısı.	15
Şekil 2.7 : Polihidroksi etil metakrilat (PHEMA) kimyasal yapısı.	17
Şekil 2.8 : Polietilen glikol (PEG) ve türevleri.....	17
Şekil 2.9 : Polivinilpirolidonun (PVP) kimyasal yapısı.	18
Şekil 2.10 : Poliakrilamidin (PAAm) kimyasal yapısı.	19
Şekil 2.11 : Uyarana duyarlı hidrojellerin kullanım alanları	19
Şekil 2.12 : pH duyarlı hidrojellerin çalışma mekanizması.....	20
Şekil 2.13 : İyon varlığına duyarlı olarak tasarlanan hidrojelin Pb^{2+} algılama mekanizmasının gösterimi.	22
Şekil 2.14 : Fotokromik moleküllerin kimyasal yapısı. A. hidrofilik–hidrofobik denge değişimi B. foto-ayrılma reaksiyonu.....	23
Şekil 2.15 : UV-Vis kullanılarak $[2\pi + 2\pi]$ siklokatalizasyonunun nasıl izlendiğini gösteren kavramsal örnek: A. Aydınlatma öncesi, B. dimer üretmek için aydınlatma sonrası molekül ve C. dimerin fotokimyasal bölünmesi.	24
Şekil 2.16 : Isıya duyarlı hidrojellerin faz geçiş mekanizması.....	25
Şekil 2.17 : Sıcaklığa duyarlı polimerlerin UCST ve LCST değerleri	26
Şekil 2.18 : Poli(N-izopropilakrilamid) kimyasal yapısı.....	27
Şekil 2.19 : Pluronic jelleşme mekanizmasının şematik gösterimi.	28
Şekil 2.20 : PF127'nin konsantrasyona bağlı olarak geçiş sıcaklığı	28
Şekil 2.21 : A. Pluronic F127 molekülünün kimyasal yapısı. B. PF127 kopolimerinden misel oluşumunun şematik gösterimi	29
Şekil 2.22 : Doksorubisin'e dirençli meme kanseri hücrelerinde reseptör aracılı iletim için transferin-konjuge polimerik nanoparçacık hazırlanmasının şematik gösterimi.....	31

Şekil 2.23 : PTX ile PF127 ve P123 karışık polimerik misellerinin (PF-PTX) geliştirilmesinin şematik gösterimi.	32
Şekil 2.24 : Manyetik nanopartiül ile konjuge pluronin şematik gösterimi.	33
Şekil 2.25 : PTX-M-MG misel-termojel hibrit sisteminin şematik gösterimi.....	34
Şekil 2.26 : A. PF127 nano kompozit ALP jellerinin şematik gösterimi B. PF127 nano kompozit ALP jellerinin frekansa bağlı depo modül (G') ve kayıp modül (G'') değerlerinin değişimi.	35
Şekil 2.27 : A. PF127 jellerinin trimetilkitosan (TMC) varlığında hazırlanması. B. PF127-TMC/DTX ve C. PF127/DTX jelinin SEM görüntüleri.	36
Şekil 3.1 : PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -CEMA) sentezi.....	40
Şekil 3.2 : PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -CMA) sentezi.	41
Şekil 3.3 : PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -CEMA) ve PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -CMA) kopolimerleri varlığında PF127 jellerinin hazırlanması.	42
Şekil 3.4 : PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -FAFEMA) sentezi.	43
Şekil 3.5 : PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -FMA) sentezi.....	44
Şekil 3.6 : PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -FAFEMA) ve PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -FMA)-PF127 karışık misellerinin UV ışığı altında davranışları.	45
Şekil 3.7 : Reometre cihazında foto ünitesi kullanılarak ölçümlerin gerçekleştirilmesi.	47
Şekil 3.8 : Tekstür analiz cihazında A. Basma testi probu, B. Enjekte edilebilirlik testinin şırınga probu ile uygulanması.	50
Şekil 4.1 : A. Depo modülü, G' (dolu semboller) ve kayıp modül, G'' (boş semboller) değerlerine karşı nişasta konsantrasyon (% ağırlık/hac) grafiği B. Nişasta-x hidrojenlerinin frekans taraması. Jel bileşimi: 20 % ağırlık/hac NaOH (x= ■; %5, ●; %8, ▲; %10, ▼; %15, ◆; %20).....	52
Şekil 4.2 : Kayma deformasyonu değerlerine bağlı A. depo modül (G' , dolu semboller) ve B. kayıp modül (G'' , boş semboller) değerlerinin değişim grafiği.	53
Şekil 4.3 : A. Nişasta-x hidrojenlerinin zamana bağlı relatif şişme değerleri. Nişasta konsantrasyonu grafikte belirtilmiştir. B. Relatif şişme (m_{rel}) değerinin nişasta konsantrasyonuna karşı grafiği.....	54
Şekil 4.4 : A. Nişasta-x hidrojenlerinin hazırlandıktan sonraki gerilim-deformasyon grafiği. B. Sentez sonrası ve şişmiş haldeki nişasta hidrojenlerinin nişasta konsantrasyonuna karşı basma modül değerleri.	55
Şekil 4.5 : ECH-x hidrojenlerinin reolojik ölçümleri. Jel bileşimi: %10 ağırlık/hac nişasta ve %20 ağırlık/hac NaOH (x: ▼; %20, ▲; %15, ●; %10, ■; %5). A. Depo modülü, G' (dolu semboller) ve kayıp modül, G'' (boş semboller) değerlerine karşı ECH konsantrasyon (% ağırlık/hac) grafiği B. ve C. Deformasyon taraması.	56

- Şekil 4.6** : **A.** ECH-x hidrojel­leri hazırlandıktan sonra elde edilen gerilim-deformasyon grafiği **B.** Sentez sonrası ve şişmiş haldeki ECH-x hidrojellerinin ECH konsantrasyonuna karşı basma modülü bar grafiği. 57
- Şekil 4.7** : **A.** NaOH-x jellerinin reaksiyon süresi – depo modül (G') grafiği. Jel bileşimi: %10 ağ/hac nişasta ve %10 hac/hac ECH. ($x=$ ■; 5%, ●; 10%, ▲; 15%, ▼; 20%, ◆; 25%) **B.** NaOH konsantrasyonuna (% ağ/hac) karşı depo modül (G') ve kayıp modül (G'') grafiği. 57
- Şekil 4.8** : **A-B.** NaOH-x jellerinin ($x=$ ■; %5, ●; %10, ▲; %15, ▼; %20, ◆; %25) frekans ve **C-D.** kayma deformasyon testleri. G' dolu sembollerle ve kayıp G'' boş sembollerle gösterilmiştir. 58
- Şekil 4.9** : **A.** NaOH-x hidrojellerinin 10 gün sonra elde edilmiş bağıl şişme değerleri (m_{rel}). **B.** Sentez sonrası ve şişme sonrası elde edilen basma modül değerlerine karşı çizilen NaOH konsantrasyon grafiği. 59
- Şekil 4.10** : HA-0.0 ve HA-1.5 çapraz bağlarının liyofilizasyon sonrası FT-IR spektrumu. 60
- Şekil 4.11** : **A.** HA-x hidrojellerinin HA konsantrasyonuna bağlı reometrede elde edilen G' ve G'' (denge) değerleri. Jel bileşimi: %10 ağ/hac nişasta, %10 hac/hac ECH ve %20 ağ/hac NaOH. **B.** Frekansa bağlı G' , dolu semboller ve G'' , açık semboller değerlerinin değişimi (x : x: ■; %0,5, ●; %1,0, ▲; %1.5, ▼; %2.0). 60
- Şekil 4.12** : Nişasta hidrojellerinin devamlı basamak-deformasyon taraması. **A.** Çözünebilir nişasta (HA-0.0-Amy23), **B.** Hylon VII (HA-0.0) ve **C.** Hylon VII ile %1.5 ağ/hac HA (HA-1.5) ($\gamma_0=$ %1 ve %300 arasında değiştirilmiştir). 61
- Şekil 4.13** : Nişasta hidrojellerinin relaksasyon modül (G_t) grafikleri **A.** Farklı deformasyonlarda zaman grafiği ve **B-D.** Farklı zaman skalalarında deformasyon genlik (γ_0) grafikleri. Hidrojeller, **A – B.** çözünebilir nişasta (HA-0.0-Amy23), **C.** Hylon VII (HA-0.0) ve **D.** %1.5 ağ/hac HA (HA-1.5) ile hazırlanmıştır. 63
- Şekil 4.14** : HA-x hidrojellerinin SEM görüntüleri Kullanılan jeller; **A-B.** HA-0.0 ve **C-D.** HA-1.5. 64
- Şekil 4.15** : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA)-2'in CDCl₃ içerisinde çekilmiş ¹H NMR spektrumu. 65
- Şekil 4.16** : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA)-3'ün CDCl₃ içerisinde çekilmiş ¹H NMR spektrumu. 66
- Şekil 4.17** : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA)-3'ün DSC termogramı. 67
- Şekil 4.18** : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA)-4'ün CDCl₃ içerisinde çekilmiş ¹H NMR spektrumu. 68
- Şekil 4.19** : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA)-4'ün DSC termogramı. 68
- Şekil 4.20** : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA)-3 (siyah) ve PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA)-4 (kırmızı) polimerlerinin DMF GPC kromatogramları. 69
- Şekil 4.21** : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CMA)-2'nin CDCl₃ içerisinde çekilmiş ¹H NMR spektrumu. 70

Şekil 4.22 : PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -CMA)-2'nin DSC termogramı.	70
Şekil 4.23 : PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -CMA)-3'ün CDCl ₃ içerisinde çekilmiş ¹ H NMR spektrumu.	71
Şekil 4.24 : PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -CMA)-3'ün DSC termogramı.	72
Şekil 4.25 : PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -CMA)-2 (siyah) ve PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -CMA)-3 (kırmızı) polimerlerinin DMF GPC kromatogramları.	72
Şekil 4.26 : PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -FAFEMA)-1'in CDCl ₃ içerisinde çekilmiş olan ¹ H NMR spektrumu.	74
Şekil 4.27 : PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -FAFEMA)-1'in DSC termogramı.	74
Şekil 4.28 : PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -FAFEMA)-2'nin CDCl ₃ içerisinde çekilmiş olan ¹ H NMR spektrumu.	75
Şekil 4.29 : PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -FAFEMA)-2'nin DSC termogramı.	75
Şekil 4.30 : PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -FAFEMA)-1 (siyah) ve PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -FAFEMA)-2 (kırmızı) polimerlerinin DMF GPC kromatogramları.	76
Şekil 4.31 : PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -FMA)-1'in CDCl ₃ içerisinde çekilmiş olan ¹ H NMR spektrumu.	77
Şekil 4.32 : PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -FMA)-1'in DSC termogramı.	77
Şekil 4.33 : PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -FMA)-2'ün CDCl ₃ içerisinde çekilmiş olan ¹ H NMR spektrumu.	78
Şekil 4.34 : PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -FMA)-2'ün DSC termogramı.	78
Şekil 4.35 : PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -FMA)-1 (siyah) ve PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -FMA)-2 (kırmızı) polimerlerinin DMF GPC kromatogramları.	79
Şekil 4.36 : <i>N,N,N</i> -Trimetil kitosanın FT-IR spektrumu.	81
Şekil 4.37 : <i>N,N,N</i> -Trimetil kitosanın D ₂ O içerisinde çekilen ¹ H NMR spektrumu.	82
Şekil 4.38 : PF127 ve amfifilik polimer sistemlerinin sıcaklık profilleri A. ve C. Isıtma ve soğutmaya bağlı depo modül (<i>G'</i>) ve kayıp modül (<i>G''</i>) değerlerinin değişimi, B. 37°C'de <i>G'</i> ve <i>G''</i> nün zamana bağlı değişimi.	83
Şekil 4.39 : PF127-amfifilik polimer sisteminin A. Kayma hızına bağlı viskozite B. UV süresine bağlı viskozite (0.01 s ⁻¹ kayma hızında) değerlerinin değişimi.	84
Şekil 4.40 : PF127 ve amfifilik polimer (%1 ve %2) sistemlerinin zamana bağlı depo modül (<i>G'</i>) ve kayıp modül (<i>G''</i>) değerlerinin değişimi. Ölçümler 24 ve 37 °C'de 10 dk UV açık ve 10 dk kapalı şekilde gerçekleştirilmiştir.	85
Şekil 4.41 : A. PF127 (×10 seyreltilmiş, ölçek aralığı: 50 nm), B. KumM1 polimer miseli (ölçek aralığı: 500 nm), C. PF127-M1 hidrojel (×10 seyreltilmiş, %2 ağ/hac PF127, ölçek aralığı: 500 nm), D. PF127-P1 hidrojel (×50 seyreltilmiş, %0,4 ağ/hac PF127, ölçek aralığı: 200 nm) TEM görüntüleri ve E. Karşılık gelen numunelerin DLS ölçümleri 86	86
Şekil 4.42 : Karışık misel sistemlerinin (PF127-KumM _x) sıcaklık profilleri. A. ve C. Isıtma - soğutmaya bağlı depo modül değerlerinin değişimi ve B. 37°C'de depo modülün zamana bağlı değişimi. D. PF127-M3 hidrojelinin	

- sıcaklığa bağlı sol-jel geçiş davranışı. PF127-KumM1 (●), PF127-KumM2 (▲), PF127-KumM3 (▼) ve PF127-KumM4 (■)..... 88
- Şekil 4.43** : PF127-Mx (●) ve PF127-Px (●) hidrojelilerin sıcaklık profillerinin karşılaştırılması. G' dolu sembollerle, G'' açık sembollerle gösterilmiştir, 90
- Şekil 4.44** : PF127-polimer misel karışımlarının sisteminin (PF127-KumMx) UV süresine bağlı viskozite (0.01 s^{-1} kayma hızında) değerlerinin değişimi. PF127-KumM1 (●), PF127-KumM2 (▲), PF127-KumM3 (▼) ve PF127-KumM4 (■). 91
- Şekil 4.45** : Relatif viskozite değerlerinin UV aydınlatma sürelerine bağlı değişimi. PF127-KumM1 (●), PF127-KumM2 (▲), PF127-KumM3 (▼) ve PF127-KumM4 (■). 92
- Şekil 4.46** : Bağlı viskozite değerlerinin UV ışınlatma süresine bağlı olarak değişimi. PF127-P1 (●), PF127-P2 (▲), PF127-P3 (▼), PF127-P4 (■). 92
- Şekil 4.47** : PF127-KumM1 (●) ve PF127-KumM2 (▼) karışık misel sistemlerinin zamana bağlı depo modül (G') değerlerinin değişimi. Ölçümler **A.** 24°C 'de ve **B.** 37°C 'de 10 dk UV lambası kapalı (içi dolu semboller) ve 10 dk açık (içi boş semboller) şekilde gerçekleştirilmiştir. 93
- Şekil 4.48** : PF127-KumM3 (▲) ve PF127-KumM4 (■) karışık misel sistemlerinin zamana bağlı depo modül (G') değerlerinin değişimi. Ölçümler **A.** 24°C 'de ve **B.** 37°C 'de 10 dk UV lambası kapalı (içi dolu semboller) ve 10 dk açık (içi boş semboller) şekilde gerçekleştirilmiştir. 94
- Şekil 4.49** : PF127-KumM1 ve PF127-KumM2 karışık misel sistemlerinin % kayma deformasyonuna bağlı depo modül (G') ve kayıp modül (G'') değerlerinin UV aydınlatma öncesi (●) ve sonrası (●) değişimi. 94
- Şekil 4.50** : **A.** PF127-KumM3 ve **B.** PF127-KumM4 karışık misel sistemlerinin % kayma deformasyonuna bağlı depo modül (G') ve kayıp modül (G'') değerlerinin UV aydınlatma öncesi (●) ve sonrası (●) değişimi..... 95
- Şekil 4.51** : **A.** PF127-P1, **B.** PF127-M1, **C.** PF127-P2 and **D.** PF127-M3 hidrojel sistemlerinin % kayma deformasyonuna bağlı depo modül (G') ve kayıp modül (G'') değerlerinin UV aydınlatma öncesi (●) ve sonrası (●) değişimi. 96
- Şekil 4.52** : PF127 – amfifilik kopolimer karışık misel sistemlerinin kayma deformasyonuna bağlı depo modül (G'), kayıp modül (G'') ve $\tan\delta$ değerlerinin UV aydınlatma öncesi (siyah sembol) ve sonrası (kırmızı sembol) değişimi. **A.** PF127-KumM1, **B.** PF127-KumM2 **C.** PF127-KumM3 ve **D.** PF127-KumM4 97
- Şekil 4.53** : Hazırlanan hidrojelilerin kuvvet-yer değiştirme grafiği..... 98
- Şekil 4.54** : Enjekte edilebilirlik test sonuçları. **A.** Maksimum kuvvet (F_{max}), **B.** dinamik kayma kuvveti (DGF) ve **C.** tokluk değerlerinin formülasyon türüne göre değişimi..... 99
- Şekil 4.55** : PF127-Mx sistemlerinin sıcaklık profilleri. **A.** ve **C.** Isıtma - soğutmaya bağlı depo modül değerlerinin değişimi ve **B.** 37°C 'de depo modülün zamana bağlı değişimi PF127 (●), PF127-AzoM1 (●), PF127-AzoM3 (▲) ve PF127-AzoM4 (■)..... 101

- Şekil 4.56** : PF127-Px sistemlerinin sıcaklık profilleri. **A. ve C.** Isıtma - soğutmaya bağlı depo modül değerlerinin değişimi ve **B.** 37 °C’de depo modülün zamana bağlı değişimi. PF127 (●), PF127-AzoP1 (●), PF127-AzoP3 (▲) ve PF127-AzoP4 (■). 102
- Şekil 4.57** : PF127-polimer misel karışımlarının sisteminin UV süresine bağlı viskozite (0.01 s^{-1} kayma hızında) değerlerinin değişimi. PF127-AzoM1 (●), PF127-AzoM3 (▲) ve PF127-AzoM4 (■). 103
- Şekil 4.58** : PF127-polimer misel karışımlarının sisteminin UV süresine bağlı viskozite (0.01 s^{-1} kayma hızında) değerlerinin değişimi. PF127-AzoP1 (●), PF127-AzoP3 (▲) ve PF127-AzoP4 (■). 103
- Şekil 4.59** : PF127-AzoM1 (●), PF127-AzoM3 (▲) ve PF127-AzoM4 (■) karışık misel sistemlerinin zamana bağlı depo modül (G') değerlerinin değişimi. Ölçümler **A.** 24 °C’de ve **B.** 37 °C’de 10 dk UV lambası kapalı (içi dolu semboller) ve 10 dk açık (içi boş semboller) şekilde gerçekleştirilmiştir. 104
- Şekil 4.60** : PF127-AzoP1 (●), PF127-AzoP3 (▲) ve PF127-AzoP4 (■) sistemlerinin zamana bağlı depo modül (G') değerlerinin değişimi. Ölçümler **A.** 24 °C’de ve **B.** 37 °C’de 10 dk UV lambası kapalı (içi dolu semboller) ve 10 dk açık (içi boş semboller) şekilde gerçekleştirilmiştir. 105
- Şekil 4.61** : PF127 – AzoPx sistemlerinin frekansa bağlı depo modül (G'), kayıp modül (G'') ve $\tan\delta$ değerlerinin UV aydınlatma öncesi (siyah sembol) ve sonrası (kırmızı sembol) değişimi. **A.** PF127-AzoM1 **B.** PF127-AzoM3 **C.** PF127-AzoM4. 105
- Şekil 4.62** : PF127 – AzoPx sistemlerinin frekansa bağlı depo modül (G'), kayıp modül (G'') ve $\tan\delta$ değerlerinin UV aydınlatma öncesi (siyah sembol) ve sonrası (kırmızı sembol) değişimi. **A.** PF127-AzoP1 **B.** PF127-AzoP3 **C.** PF127-AzoP4. 106
- Şekil 4.63** : **A.** PF127-AzoM1 **B.** PF127-AzoM3 ve **C.** PF127-AzoM4 karışık misel sistemlerinin % kayma deformasyonuna bağlı depo modül (G') ve kayıp modül (G'') değerlerinin UV aydınlatma öncesi (●) ve sonrası (●) değişimi. 106
- Şekil 4.64** : **A.** PF127-AzoP1 **B.** PF127-AzoP3 **C.** PF127-AzoP4 misel sistemlerinin % kayma deformasyonuna bağlı depo modül (G') ve kayıp modül (G'') değerlerinin UV aydınlatma öncesi (●) ve sonrası (●) değişimi. 107
- Şekil 4.65** : Karışık misel sistemlerinin sıcaklık profilleri. **A. ve C.** Isıtma - soğutmaya bağlı depo modül değerlerinin değişimi ve **B.** 37°C’de depo modülün zamana bağlı değişimi. KumM3 (▲), KumM3+ %0.01 f-kitosan (■), KumM3+ %0.1 f-kitosan (●) ve KumM3+ %0.5 f-kitosan (▼). 107
- Şekil 4.66** : Karışık misel sistemlerinin sıcaklık profilleri. **A. ve C.** Isıtma – soğutmaya bağlı depo modül değerlerinin değişimi ve **B.** 37°C’de depo modülün zamana bağlı değişimi. KumM4 (▲), KumM4 + %0.01 f-kitosan (■), KumM4 + %0.1 f-kitosan (●) ve KumM4 + %0.5 f-kitosan (▼). 108
- Şekil 4.67** : PF127 eklenmiş f-kitosan-polimer misel karışımlarının UV süresine bağlı viskozite (0.01 s^{-1} kayma hızında) değerlerinin değişimi. PF127-KumM3

- (▲), PF127-KumM3 + %0.01 f-kitosan (■), PF127-KumM3 + %0.1 f-kitosan (●) ve PF127-KumM3 + %0.5 f-kitosan (▼)..... 109
- Şekil 4.68** : PF127 eklenmiş f-kitosan-polimer misel karışımlarının sisteminin UV süresine bağlı viskozite ($0,01 \text{ s}^{-1}$ kayma hızında) değerlerinin değişimi. PF127-KumM4 (▲), PF127-KumM4 + %0.01 f-kitosan (■), PF127-KumM4 + %0.1 f-kitosan (●) ve PF127-KumM4 + %0.5 f-kitosan (▼). 110
- Şekil 4.69** : PF127 eklenmiş f-kitosan-kopolimer karışık misel sistemlerinin frekansa bağlı depo modül (G'), kayıp modül (G'') ve $\tan\delta$ değerlerinin UV aydınlatma öncesi (siyah sembol) ve sonrası (kırmızı sembol) değişimi. **A** PF127-KumM3 **B.** PF127-KumM3 + %0.01 f-kitosan **C.** PF127-KumM3 + %0.1 f-kitosan ve **D.** PF127-KumM3 + %0.5 f-kitosan. 111
- Şekil 4.70** : PF127 eklenmiş f-kitosan-kopolimer karışık misel sistemlerinin frekansa bağlı depo modül (G'), kayıp modül (G'') ve $\tan\delta$ değerlerinin UV aydınlatma öncesi (siyah sembol) ve sonrası (kırmızı sembol) değişimi. **A** PF127-KumM4 **B.** PF127-KumM4 + %0.01 f-kitosan **C.** PF127-KumM4 + %0.1 f-kitosan ve **D.** PF127-KumM4 + %0.5 f-kitosan. 112
- Şekil 4.71** : PF127 eklenmiş f-kitosan-kopolimer karışık misel sistemlerinin sıcaklık profilleri. Depo modül (G' , dolu sembol) ve kayıp modül (G'' , boş sembol) değerlerinin **A.** ve **C.** ısıtma – soğutma ve **B.** $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de zamana bağlı değişimi. AzoM4 (■), AzoM4 + f-kitosan (% 0.01) (▲), AzoM4 + f-kitosan (% 0.1) (●), AzoM4 + f-kitosan (% 0.5) (▲)..... 113
- Şekil 4.72** : PF127 eklenmiş f-kitosan-kopolimer karışık misel sistemlerinin UV süresine bağlı viskozite ($0,01 \text{ s}^{-1}$ kayma hızında) değerlerinin değişimi. AzoM4 (■), AzoM4 + f-kitosan (%0.01) (▲), AzoM4 + f-kitosan (%0.1) (●), AzoM4 + f-kitosan (%0.5) (▲). 114
- Şekil 4.73** : PF127 eklenmiş f-kitosan-kopolimer karışık misel sistemlerinin frekansa bağlı depo modül (G' , dolu sembol), kayıp modül (G'' , boş sembol) ve $\tan\delta$ değerlerinin UV aydınlatma öncesi (siyah sembol) ve sonrası (kırmızı sembol) değişimi. **A.** AzoM4 (■), AzoM4 + f-kitosan (%0.01) (▲), **B.** AzoM4 + f-kitosan (%0.1) (●), **C.** AzoM4 + f-kitosan (%0.5) (▲)..... 115

MEKANİK DAYANIMLARI İYİLEŞTİRİLMİŞ POLİMERİK HİDROJEL SİSTEMLERİ

ÖZET

Yumuşak malzemelerin kullanıldığı pek çok alanda jellerin iyi mekanik özelliklere sahip olmaları kritik önem taşımaktadır. Doğal ya da sentetik polimerlerden elde edilen jeller birtakım avantajlara sahip olsalar da fizyolojik sıvılarda çok fazla şişerek genellikle çok kırılğan bir yapıya dönüşmektedirler. Bu tezin amacı, mekanik özellikleri kontrol edilebilir ve geliştirilebilir hidrojel elde edilebilmesi için, ağ yapıda moleküler seviyede bir enerji dağılım mekanizması oluşturmaktır. Bu amaç doğrultusunda hazırlanan bu tez iki bölüm şeklinde tasarlanmış olup ilk kısımda doğal bir polimer olan nişasta, ikinci kısımda ise sentetik Pluronik F127 (PF127) zincirleri kullanılarak hidrojeller hazırlanmış ve literatürde mevcut nişasta ve PF127 esaslı jellerin mekanik dayanımları artırılmıştır.

Tezin ilk bölümünde, sırasıyla lineer ve dallanmış şekilde bağlanan aynı tekrar birimlerine sahip iki homopolimer olan amiloz ve amilopektin zincirlerinden oluşan nişasta kullanılmıştır. Nişasta, yapısında bulunan hidroksil gruplarının varlığından dolayı, hidrojellerin oluşumunu içeren çeşitli uygulamalarda işlevselliğin değiştirilmesi ve geliştirilmesi amacıyla kolaylıkla modifiye edilebilir. Doğrudan çapraz bağlama durumunda, nişasta zincirlerindeki hidroksil gruplarının bir kısmı, iki veya çok işlevli bileşiklerle reaksiyona girmeye duyarlıdır. Nişastayı çapraz bağlamak amacıyla polisakkarit kimyasında en yaygın kullanılan çapraz bağlayıcı olan epiklorohidrin (ECH) kullanılmıştır. ECH üzerindeki epoksi ve halojenür grubu, nişasta yapısındaki hidroksit grubu ile reaksiyona girerek iki polimer zincirini çapraz bağlamaktadır. Bu tezde yüksek amiloz içeriğine sahip nişasta (Hylon VII) - ECH hidrojellerinin viskoelastik özellikleri araştırılmıştır. Reaksiyon bileşenlerinin konsantrasyonuna, nişastanın amiloz oranına ve yapıya başka bir polisakkarit olan Hyaluronik asit (HA) katılımına bağlı olarak jel özelliklerinin değişimi incelenmiştir. Elde edilen malzemeler şişme, viskoelastik ve morfolojik özellikleri açısından değerlendirilmiştir. Elastik ve viskoz modüller, nişasta ve ECH konsantrasyonlarına bağlı olarak artarken, NaOH'ın mol oranının, çapraz bağlama reaksiyonlarında anahtar bir parametre olduğu bulunmuştur. Devamlı basamak-deformasyon testi sırasında düşük amiloz oranı içeren ağ yapının, sol-jel geçişleri sonrası başlangıç mekanik dayanımının yaklaşık %92 ± 4'ünü kaybettiği görülmüştür. Amiloz oranı artırıldığında ise ağ yapı sol-jel geçişlerinden sonra tamamen orijinal hallerine dönmüştür. Yüksek amiloz oranlı jeller için zamana bağlı relaksasyon testleri gerçekleştirilmiş ve yapısal dinamiklerin, HA'nın daha küçük ve daha kararlı gözenek yapılarıyla birleştirilmesiyle bir miktar bastırıldığı gözlemlenmiştir.

Tezin ikinci kısmında, "Poloksamerler" olarak da bilinen ve FDA tarafından insan kullanımı için onaylanan Pluronikler kullanılmıştır. Bu moleküller hidrofilik polietilen oksit (PEO) ve hidrofobik polipropilen oksit (PPO) zincirlerinin PEO-PPO-PEO üçlü blok şeklinde birleştiği yapılardır. Pluroniklerin en önemli özelliği, konsantrasyona bağlı farklı geçiş sıcaklıklarında ısıya duyarlı misel oluşturmalarıdır. Yüksek konsantrasyonlarda, sol-jel geçişi oda sıcaklığının altında gerçekleşir. Bu nedenle, polimer oda sıcaklığında su içinde çözüldüğünde, PPO'nun hidrofobik doğası nedeniyle miseller kendiliğinden birleşir. Pluronik çözeltileri düşük sıcaklıklarda sıvı halde iken, belirli sıcaklık değerlerinin üzerine çıktıklarında jel formuna geçmekte ve soğutulduğunda tekrar sıvı hale gelmektedir. Pluronik ailesi içerisinde, medikal ve farmasötik uygulamalarda en çok tercih edilen üye, yüksek suda çözünürlüğü ve nispeten uzun hidrofobik birimleri sayesinde yüksek hidrofobik etkileşimlere sahip Pluronik® F127 (PF127)'dir. Pluronik kopolimerler, belli bir sıcaklıkta çok hızlı bir şekilde sıvı halden jel formuna geçseler de oluşan hidrojellerin mekanik dayanımlarının yetersiz olması nedeniyle fizyolojik koşullarda uzun süre dayanamazlar. Bu durum Pluronik temelli sistemlerin en önemli dezavantajlarından biridir.

Hem mekanik olarak güçlü hem de enjekte edilebilir jeller elde etmek için sıcaklığa duyarlı PF127 miselleri, ışığa duyarlı kumarin ve azobenzen gruplarını tekrar eden birimler olarak taşıyan amfifilik kopolimerlerle birleştirilmiştir. Böylece sıcaklığa duyarlı PF127 esaslı akıllı jellerin mekanik dayanımlarının iyileştirilmesinin yanı sıra ışık duyarlılığına sahip enjekte edilebilir yapıların elde edilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla toplamda dört monomer sentezlenmiş ve tersinir katılma-ayrılma zincir transfer (RAFT) polimerizasyonu yoluyla polimerize edilmiştir. Sentezlenmiş olan polietilen glikol (PEG) bazlı makroRAFT ajanı kullanılarak amfifilik diblok terpolimerler elde edilmiştir. Kopolimerlerin yapıları, karakterize edilmiş ve amfifilik diblok terpolimerler, suda miseller halinde bir araya getirilmişlerdir. UV ışık altında kromofor grupların varlığına bağlı misel çekirdeklerinin çapraz bağlanması UV spektroskopisi ile incelenmiştir. Jellerin reolojik özellikleri sıcaklık, bileşim, UV maruz kalma süresi, gerinim ve frekansın bir fonksiyonu olarak değerlendirilmiş enjekte edilebilirlikleri analiz edilmiştir. Hazırlanan formülasyonların hem ısıya hem de ışığa cevap verdiği, PF127 yapılarına kıyasla mekanik özelliklerinin iyileştiği ve enjekte edilebilir olduğu ortaya konmuştur. Son aşamada ise sisteme fonksiyonlandırılmış kitosan (f-kitosan) dahil edilmesiyle gözenekler artırılarak ilaç taşıma uygulamalarında kullanılmaya yönelik ilk adımlar atılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Nişasta, hidrojel, epiklorohidrin, hyaluronik asit, Pluronik, akıllı jel, enjekte edilebilir jel, amfifilik kopolimer, kumarin, reoloji.

MECHANICALLY ENHANCED POLYMERIC HYDROGEL SYSTEMS

SUMMARY

In many areas where soft materials are used, it is critical that hydrogels have good mechanical properties. Although gels obtained from natural or synthetic polymers have some advantages, they swell too much in the liquid under physiological conditions and generally turn into a very fragile structure. The aim of this thesis is to provide viscoelasticity in the entire gel by creating a mechanism that provides energy distribution in the network structure at the molecular level to obtain a hydrogel with controllable mechanical properties. This thesis is designed in two parts, in the first part, hydrogels were prepared using a natural polymer starch and in the second part, synthetic Pluronic F127 (PF127) chains were prepared, and various experiments were carried out to mechanically improve the starch and PF127-based gels available in the literature.

In the first part of the thesis, starch consisting of amylose and amylopectin, two homopolymers with the same repeating units connected in linear and branched manner, respectively, was used. The starch's abundant hydroxyl groups can be easily modified to modify and improve its functionality, including the formation of hydrogels to obtain products for a variety of applications. In the case of direct cross-linking, some of the hydroxyl groups in the starch chains are susceptible to reacting with di- or polyfunctional compounds. The use of epichlorohydrin to cross-link starch is most common in polysaccharide chemistry. The epoxy and halide groups on the ECH react with the hydroxide group in the starch structure and cross-link the two polymer chains. In this thesis, viscoelastic properties of high amylose starch (Hylon VII) - epichlorohydrin (ECH) hydrogels were investigated. The effect of the concentration amounts of the reaction components, the amylose ratio and the incorporation of hyaluronic acid, a naturally occurring linear polysaccharide, on the properties of the cross-networks were investigated. The obtained materials were examined in terms of swelling, viscoelastic and also morphological properties. The mole ratio of NaOH was found to be a key parameter in crosslinking reactions, while the elastic and viscous modules increased depending on starch and ECH concentrations. During the continuous step-deformation test, the low amylose cross mesh lost approximately $92 \pm 4\%$ of its initial mechanical strength, and the HA and non-HA high amylose gels completely returned to their original state after sol-gel transitions. Time-dependent relaxation tests were performed for high amylose gels, and it was observed that the structural dynamics were somewhat suppressed by combining HA with smaller and more stable pore structures.

In the second part of the thesis, Pluronic, also known as "poloxamers" and approved for human use by the FDA, were used. These molecules are structures where

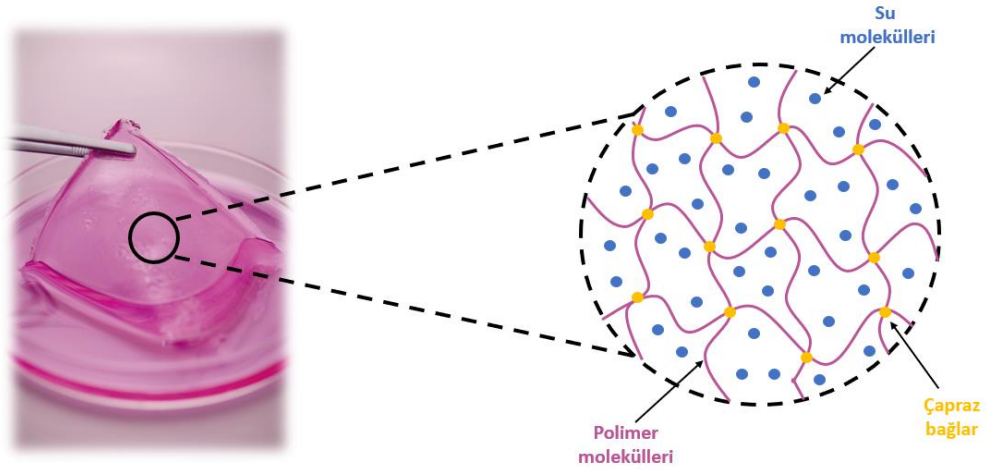
hydrophilic polyethylene oxide (PEO) and hydrophobic polypropylene oxide (PPO) chains combine in the form of PEO-PPO-PEO triblock. The most important feature of the Pluronics is their temperature-based micelles formation thanks to the heat-sensitive PPO units with a concentration-dependent transition temperature. At high concentrations, sol-gel transition occurs below room temperature. Therefore, when the polymer is dissolved in water at room temperature, the micelles self-assemble due to the hydrophobic nature of PPO. While Pluronic solutions are in liquid form at low temperatures, they turn into gel form when they rise above certain temperature values and become liquid again when cooled. Within the Pluronic family, the most preferred member in medical and pharmaceutical applications is Pluronic® F127 due to its high-water solubility and high hydrophobic interactions thanks to its relatively long hydrophobic units. Although Pluronic copolymers change from liquid state to gel form very quickly at a certain temperature, they cannot last for a long time in physiological conditions due to insufficient mechanical strength of the hydrogels formed. This is one of the most important disadvantages of Pluronic-based systems.

To obtain gels that are both mechanically strong and injectable, temperature sensitive Pluronic F127 micelles were combined with amphiphilic copolymers bearing photosensitive coumarin and azobenzene groups as repeating units. Thus, besides increasing the mechanical strength of temperature sensitive PF127 based smart gels, it is aimed to obtain injectable structures with light sensitivity. For this purpose, a total of four monomers were synthesized and polymerized by reversible addition-dissociation chain transfer (RAFT) polymerization. Amphiphilic diblock terpolymers were obtained by using macroRAFT material based on pre-synthesized polyethylene glycol (PEG). The structures of the copolymers were characterized and the amphiphilic diblock terpolymers were combined in water as micelles. Cross-linking of chromophore groups and micelle nuclei under UV light was investigated by UV spectroscopy. The rheological properties of the gels were evaluated as a function of temperature, composition, UV exposure time, strain and frequency, and their injectability was analyzed. It has been revealed that the prepared formulations respond to both heat and light, their mechanical properties are improved compared to PF127 structures, and they are injectable. At the last stage, the first steps were taken to be used in drug delivery applications by increasing the pores by adding f-chitosan to the system.

Keywords: Starch, hydrogel, epichlorohydrin, hyaluronic acid, Pluronic, smart gel, injectable gel, amphiphilic copolymer, coumarin, rheology.

1. GİRİŞ

Hidrojeller yüksek miktarlarda su veya biyolojik materyal yükleme kapasitesine sahip üç boyutlu polimerik ağ şeklinde yapılardır (Şekil 1.1) [1]. Doğal ve sentetik polimerler ve monomerler kullanılarak farklı çapraz bağlanma yöntemleri ile hidrojel sentezi yapılabilmektedir. Hidrojellerin şişme-büzülme, uyarılara cevap verme, sıvı-jel geçişleri gibi özellikleriyle birlikte proteinleri ve ilaçları dış çevreden korumaları, kozmetik, ilaç sektörü ve gıda endüstrisi gibi pek çok alanda geniş uygulama alanına sahip olmalarını sağlamıştır [2]. Ayrıca, büyük bir kısmı sudan oluşan (>%90) hidrojeller hem biyoyumlu olmaları hem de çok farklı şekilde kullanılabilir olmaları da uygulama alanlarını arttırmıştır [3, 4]. Yumuşak malzemelerin kullanıldığı pek çok alanda iyi mekanik özelliklere sahip olmaları kritik önem taşımaktadır. Ancak, sıvı içerisinde çok fazla şişen hidrojeller genellikle çok kırılğandır. Mekanik özellikleri kontrol edilebilir ve geliştirilebilir hidrojel elde edilebilmesi için, ağ yapıda enerji dağılımını moleküler seviyede sağlayan bir mekanizma oluşturarak, viskoelastikliğin jelin bütününde oluşturulması gerekmektedir.



Şekil 1.1 : Hidrojellerin şematik gösterimi.

Nişasta, dekstran, hyaluronik asit ve kitosan gibi polisakaritler, biyoyumluluk ve biyo-bozunurluk gibi özellikleri ile hidrojel sentezinde en çok tercih edilen doğal polimerlerdir [5, 6]. Nişasta, doğada çok miktarda bulunan karbonhidratlar arasında

selülozdan sonra ikinci sırada yer almaktadır [7]. Doğal bir polisakkarit olan nişasta, lineer amiloz üniteleri (Molekül ağırlığı 5×10^5) ve dendritik olarak dallanmış amilopektin ünitelerinden (Molekül ağırlığı $50-100 \times 10^6$) oluşmaktadır. Nişastadaki amiloz / amilopektin oranı ve polimerizasyon derecesi elde edildiği bitkisel kaynağa göre önemli ölçüde değişmektedir [8]. Ticari olarak satılan nişastaya bakıldığında genellikle %30 amiloz ve %70 amilopektin içermektedir. Amiloz / amilopektin oranı nişastanın çözünürlük, jelleşme sıcaklığı ve viskozite gibi özelliklerini doğrudan etkilemektedir. Amiloz ve amilopektinin oluşturduğu yarı kristalin nişasta granüllerinin şekli de bitkisel kaynağa göre çeşitlilik göstermektedir [9]. Bu düzenli granüler yapının reolojik özellikleri nişastanın aşırı miktarda su içinde ısıtılması ile değişmektedir. Granüler yapının bozunması jelleşme olarak adlandırılmaktadır. Sıcaklığın artırılması amorf bölgede (hidrojen bağlarının kırılması sonucu) su absorpsiyonu ile daha çok şişmeye, kristal bölgede ise erime ve kısmen şişmeye neden olmaktadır. Amiloz ve amilopektin dışında fosfolipit ve serbest yağ asitleri de nişastanın yapısında bulunan diğer bileşenlerdir. Mısır, patates ve pirinç gibi bitkisel kaynaklardan elde edilebilen nişasta, ucuz, doğal, biyoyoumlu ve biyobozunur özellikleri ile gıda endüstrisi, tıp ve çevre teknolojisi gibi alanlarda yaygın şekilde kullanılmaktadır [10, 11]. Nişastanın kullanım alanlarına bağlı olarak bazı özelliklerinin iyileştirilmesine yönelik modifikasyonlar, termal, fiziksel, kimyasal ve enzimatik yöntemlerle yapılabilmektedir [12, 13].

Hem amiloz oranı değiştirilerek hem de ağ yapıya doğal bir malzeme olan hyaluronik asit eklenerek mekanik olarak iyileştirilmiş nişasta jellerinin eldesi literatürde ilk kez bu tez kapsamında, gerçekleştirilmiştir. Hyaluronik asit (HA), β -1,4-D-glukuronik asit - β -1,3-N asetil-D-glukozaminin disakkarit tekrar birimlerinden oluşan doğal bir anyonik polielektrolittir [14]. HA, hücre dışı matrisin ana bileşenidir ve yara iyileşme süreçlerinde önemli bir rol oynar [15]. Nişasta çapraz bağ yapısına hyaluronik asit eklenerek etkili bir enerji dağılımının sağlanması ve kovalent bağlardan kaynaklanan kırılabilirliğin ortadan kaldırılarak yapısal direncin artırılması amaçlanmıştır. Aynı zamanda hyaluronik asitin sahip olduğu farklı biyolojik fonksiyonlar ve biyoyoumlu olması hazırlanacak hidrojelin kullanım alanlarını genişletmektedir [16].

Pluronicler ya da diğer adı ile “poloksamerler” hidrofilik polietilen oksit (PEO) ve hidrofobik polipropilen oksit (PPO) polimer zincirlerinin PEO-PPO-PEO üçlü blok şeklinde birleştiği yapılardır. Pluroniclerin PPO ve PEO birimlerinin sayılarının farklı

olmasına bağlı olarak 30'dan fazla çeşidi ticari olarak satılmaktadır. Düşük sıcaklıklarda sıvı halde olan Pluronik çözeltileri, belirli sıcaklık değerlerinin üzerine çıkıldığında jelleşmekte ve soğutulduğunda tekrar sıvı hale dönmektedir [17]. Zincirlerin su molekülleri ile oluşturduğu hidrojen bağları znmeyi sağlarken artan sıcaklık ile blokların hidrofobisitesi artarken miseller birbirlerine yaklaşmakta ve dehidratasyona uğramaktadır. Uçlardaki hidrofilik gruplar genişleme sonrası diğer misellerin u gruplarıyla etkileşime girmekte ve dolaşmalar (entanglementlar) oluşturarak bilindik sıvı halden jel haline geçişe neden olmaktadır [18, 19]. Zincirlerin hidrofobisitesi miselleşme prosesinde önemli bir rol oynarken, diğer iki dinamik ise kritik misel sıcaklığı (KMS) ve kritik misel konsantrasyonudur (KMK) [20]. Pluronik ailesi içerisinde, sudaki znrlğünün yüksek olması ve relatif olarak uzun hidrofobik üniteleri sayesinde yüksek hidrofobik etkileşimlere sahip olması gibi nedenlerden dolayı medikal ve farmasötik uygulamalarda en çok tercih edilen yesi Pluronik® F127 (PF127)'dir.

Hazırlanan tezin ikinci aşamasında Pluronik esaslı misel yapıları kromofor grup içeren polimerler ile bir araya getirilerek ışığa ve ısıya duyarlı jeller hazırlanmıştır. PF127 esaslı jel sistemlerinin ışığa duyarlı ünitelerle birlikte kullanımına dair literatürde az sayıda çalışma vardır. Wang ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği bir çalışmada ucuna sinamik asit takılan kitozan zincirleri kullanılarak PF127 ile karışık miseller oluşturulurken, bir diğerinde hem jelatin hem de PF127 zincirlerine sinamik asit bağlanmasıyla ışığa duyarlı mikropartiküller hazırlanmıştır [21, 22]. Lee ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği bir başka çalışmada yine sinamik asitin aljinat ünitelerine takılmasıyla PF127 varlığında nanojeller hazırlanırken aynı grup tarafından zincir uçlarına eklenen kumarin ünitelerinin dimerleşmesinin PF127 yapılarına etkisi incelenmiştir [23, 24]. Tüm bu çalışmalara bakıldığında, kromofor grupların polimer zincirlerinin veya PF127 nitelerinin sadece uçlarına takılmasıyla ışığa duyarlı yapılar oluşturulmuş olup önerilen tez kapsamında kromofor gruplar RAFT polimerizasyonu vasıtasıyla sentezlenen amfifilik kopolimerlerin hidrofobik bloklarında tekrarlayan birimler olarak yer alması amaçlanmıştır. Böylelikle, oluşturulan yapılarda ışık duyarlılığının daha belirgin olması ve bunun da beklendiği üzere PF127 miselleri içerisindeki etkileşimleri arttırarak PF127 jellerinin mekanik olarak daha sağlam olmasını sağlayacaktır. Belirtildiği üzere, kromofor grup içeren yapılarla birlikte

PF127'nin kullanımına dair çalışmalar mevcut olsa da önerilen şekliyle bir tasarım ilk defa bu tez kapsamında kullanılmıştır.



2. POLİMERİK HİDROJEL SİSTEMLER

Hidrojeller bir veya daha fazla monomerin reaksiyonu ile oluşturulan, kovalent bağlar ve/veya van der Waals etkileşimleri, hidrojen bağları, zincir dolaşmaları nedeniyle oluşan fiziksel çapraz bağlar içeren suyla şişmiş üç boyutlu polimerik yapılardır. Yüksek su absorpsiyon kapasitesine sahip hidrojeller, üç boyutlu polimer ağları olarak da tanımlanır. İlk uygulamaları 1960 yılında Wichterle ve Lim tarafından rapor edilen hidrojellerin, tarım, ilaç dağıtım, doku mühendisliği, su arıtma, kontakt lensler ve sensörler gibi çeşitli alanlarda geniş uygulamaları vardır [25, 26]. Çapraz bağlayıcı tipi ve konsantrasyonu, başlatıcı tipi ve konsantrasyonu, monomer(ler)in tipi ve konsantrasyonu, eklenen inorganik partiküllerin tipi ve miktarı, polimerizasyon yöntemi, reaksiyon sıcaklığı, kullanılan yüzey aktif maddenin tipi ve miktarı ve karıştırma hızı hidrojel özelliklerini etkileyen en önemli faktörlerdir [27]. Jeller, birçok şekilde sınıflandırılabilir. Bunlardan bazıları aşağıda belirtilmiştir:

Polimer çeşidine göre jeller; doğal, sentetik ve hibrid jeller olmak üzere üçe ayrılmaktadır. Doğal jeller, proteinler, polisakkaritler ve yiyeceklerin yapısında bulunurken; sentetik hidrojeller ise kontakt lenslerde, hibrid jeller ise medikal malzemelerde, yapay deri ve kornea olarak kullanılabilir.

Düzenleniş biçimlerine göre jeller; mikro ve makrojeller olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Mikro jeller, polimer zincirlerinin zincir içi; makrojeller ise zincirler arası çapraz bağlanması sonucunda meydana gelmektedirler.

Çözücü içeriklerine göre jeller; içerdikleri çözücü ortamı hava ise, aerogel veya kurujel; su ise, hidrojel ve organik çözücü ise, organojel olarak adlandırılmaktadır.

Çapraz bağ çeşitlerine göre jeller; fiziksel ve kimyasal çapraz bağlı jeller olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Kimyasal çapraz bağlı başka bir ifadeyle kimyasal jeller, kovalent bağlarla oluşan çapraz bağları içermektedir. Fiziksel jellerdeki çapraz bağlar ise; hidrojen bağları, koordinasyon bağları gibi ikincil kuvvetlerle oluşabilmektedir.

Hazırlama yöntemine göre; homopolimer ve kopolimer hidrojeller olarak ikiye ayrılabilir.

Yapı taşlarının toplam yüklerine göre; nötr, katyonik veya anyonik hidrojeller olarak sınıflandırılabilirler.

Fiziksel yapılarına göre ise; hidrojen bağlı, yarı kristalli, amorf, supramoleküler veya hidrokolloidal yapıları içeren hidrojeller olarak sınıflandırılabilirler [28].

Doğal polimerler tarafından oluşturulanlar ve sentetik polimerler tarafından oluşturulanlar olarak ikiye ayrılabilir. Sentetik polimerler, doğal polimerlere kıyasla kimyasal olarak daha güçlüdür. Mekanik mukavemetleri biyolojik bozunma hızını yavaşlatır ve yüksek dayanıklılığa neden olur. Bu iki zıt özelliğin optimal tasarımıyla dengelenmesi gerekir [29].

2.1 Biyopolimer Temelli Hidrojeller

Biyopolimerler, biyolojik bir materyalden kimyasal olarak sentezlenen veya tamamen bitkiler ve mikroorganizmalar gibi canlı organizmalar tarafından biyo-sentezlenen doğal kaynaklardan üretilen polimerlerdir. Farmasötik ve biyomedikal uygulamalar için farklı kaynaklardan biyopolimerlerin kullanımı uzun yıllardır araştırılmaktadır [30].

Biyopolimerleri oluşturan yapı birimleri, polimer yapısının büyümesine ve daha uzun olmasına izin verecek şekilde birbirine kovalent olarak bağlanır. Biyopolimerlerin bazı yaygın örnekleri arasında DNA ve RNA'yı oluşturan nükleik asitler, nükleik asitler tarafından kodlanan amino asitlerden oluşan polipeptitler veya proteinler ve karbonhidratlardan oluşan karmaşık moleküller olan polisakkaritler bulunur [31]. Polipeptitler, amid bağları yoluyla kovalent olarak bağlanan çok sayıda farklı aminoasitten oluşur. Polipeptitler, birden fazla polipeptit birbirine bağlandıktan veya tek bir polipeptit, fonksiyonel bir protein oluşturmak için gereken şekli aldıktan sonra fonksiyonel proteinler haline gelebilir. Polipeptitler, enzimlerin, dokuların, kasların oluşumuna yardımcı oldukları ve bağışıklık sistemi tarafından kolayca tanınıp kabul edildiklerinden dolayı organizmalar için önemlidir [32].

Polisakkaritler ise glikozidik bağlar yoluyla farklı karbonhidrat birimlerinin kovalent olarak bağlanmasıyla meydana gelmektedir. Hücre ve organlara yapısal destek sağlanması ve organizma içinde enerji depolaması açısından önem arz ederler. Polisakkaritler, düşük sitotoksisite ve yüksek stabilite nedeniyle hidrojel materyalleri olarak başarılı olabilirler, yüksek sıcaklıklarda denatüre olmadıkları için genellikle proteinlerden daha stabildirler [33]. Hem polipeptitler hem de

polisakkaritler, doku mühendisliği ve ilaç dağıtımını gibi biyomedikal uygulamalar için kullanılabilen biyopolimer malzemeleri oluşturmak için kullanılabilir [31].

Hem şeker bazlı polisakkarit biyopolimerleri hem de protein bazlı polipeptitler, biyolojik olarak parçalanabilen ve biyolojik olarak uyumlu hidrojel bileşiklerinin sentezinde önemli bir kullanıma sahiptir. Hidrojel yapımında kullanılan polisakkaritlere örnek olarak selüloz, aljinat ve kitosan verilebilir. Polipeptitler için de kolajen, jelatin ve elastin örnektir [34]. Bunlar biyopolimer temelli hidrojellerin ana bileşenleridir ve her birinin kendine özgü faydaları ve herhangi bir ihtiyaca göre ayarlanabilen çeşitli yapısal özellikleri vardır. Bu spesifik özelliklerden dolayı, biyopolimer esaslı hidrojeller, hücrelerin ve moleküllerin insan vücudunda istenen yerlere taşınmasına etkili bir şekilde yardımcı olabilir. Polipeptitlerden ve polisakkaritlerden oluşan hidrojeller, kanserin yayılmasını önlemek için kanser ilaçlarını istenen yerlere iletebilir, hastalık veya yaralanma nedeniyle hasar görmüş olabilecek dokuları ve diyabetik hastalar için insülin gibi molekülleri iletebilir [33]. Doğal polimerler kullanılarak hidrojellerin hazırlanmasına, güvenilirlikleri, biyoyumlulukları, hidrofilitikleri ve biyo-bozunabilirlikleri nedeniyle son zamanlarda özellikle önem verilmiştir.

Kolajen hem sert hem de yumuşak bağ dokularında hücre dışı matriste (ECM) bulunan ana bileşen proteini olup, yapısal ve biyolojik bütünlüğünü korumada baskın bir role sahiptir [35]. Kolajen, iç içe geçmiş üç polipeptit zincir sarmalından oluşan trimerik bir moleküldür. Mükemmel biyoyumluluk, zayıf immünojenite, gözeneklilik ve biyobozunabilirlik gibi olumlu özelliklerine ek olarak, kolajen hücre morfolojisinde, hücre farklılaşmasında, bağlanmada, hücre göçünün düzenlenmesinde de hayati bir role sahiptir [36, 37]. Kolajenden yapılan hidrojeller genellikle dondurarak kurutma tekniği ile hazırlanır. Suda dağılabilen kolajenin dondurarak kurutma koşulları altında kendi kendine toplanması, farmasötikler ve kozmetik kullanımları için kolajen hidrojelleri ve aerojelleri oluşturmak için uygundur [38]. Hidrojeller sadece saf kolajenden değil, kolajenin ve hidrofilitik sentetik polimerler ve/veya biyopolimerlerle karışımından da yapılabilir [39]. Kozłowska ve ekibi tarafından gerçekleştirilen çalışmada kolajen, yüksek şişme özellikleri ile karakterize edilen kolajen/jelatin/hidroksietil selülozdan yapılmış kompozitlerin hazırlanması için kullanılmıştır [40]. Başka bir çalışmada Lee ve ekibi tarafından kolajen hidrojeller kullanılarak kozmetik ürünlere ve ilaçlara karşı cilt reaksiyonlarını test etmek amacıyla

in vitro cilt modelinde uygulanan 3D çok hücreli mikroakışkan çip yapıları üretilmiştir [41]. Kolajen bazlı hidrojellerin 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) karbodiimid (EDC)/N-hidroksisüksinimid (NHS), nişasta dialdehit/tannik asit, skuarik asit, PEG-dialdehit gibi çok çeşitli çapraz bağlayıcılar ile sentezlendiği çalışmalar mevcuttur [42-46].

Jelatin bazlı hidrojel, çok işlevli harika biyomalzemeler olarak geliştirilmektedir. Jelatin, asit veya alkali kolajen işleme ile elde edilen denatüre bir kolajen formudur. Kolajenden sentezlenmiş jelatin kullanımı, ucuzluğu ve suda yüksek çözünme kabiliyeti nedeniyle her geçen gün artmaktadır. Jelatin, sıcaklık değerlerindeki değişime yanıt veren bir hidrojel oluşturan daha ucuz bir kolajen alternatifi olduğunu kanıtlamıştır. Jelatinden oluşturulan jeller doğal olarak biyolojik olarak parçalanabilir ve insan hücrelerine karşı sitotoksikite göstermez [47]. Başlıca ticari jelatin kaynakları sığır kemikleri, domuz derisi ve balıklardır. Jelatinin gerçek moleküler yapısı hala net değildir ve az sayıda peptid fraksiyonunun düzenlenmesi doğrulanmıştır. Yapısal olarak küçük aminoasit dallanmaları olan düz bir zincir olarak kabul edilmektedir [48]. Saf jelatin ve jelatin bazlı hidrojel, çeşitli biyomedikal ve farmasötik uygulamalar için kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Işığa duyarlı jelatin bazlı hidrojelilerin hazırlanması için ultraviyole stereolitografi ve iki fotonlu polimerizasyon gibi üretim teknolojileri kullanılmıştır [49].

Elastin, hücre dışı matriste bulunan en önemli proteinlerden biridir. Adından da anlaşılacağı gibi, elastinin en önemli özelliği bulunduğu yapıya elastik geri çekme yeteneği kazandırmasıdır. Bu nedenle özellikle vücutta aort, mesane, deri ve akciğer gibi bölgelerde bulunmaktadır. Geri çekme ve esnekliğine ek olarak, elastin kimyasal olarak inerttir, biyoyumluluğu artırır böylelikle hidrojel uygulamaları için aday bir malzemedir [50]. Elastin, çapraz bağlı ve oldukça gözenekli hidrojel geliştirme için kullanılmıştır. Elastinin esnekliği sayesinde yüksek gözenekliliğe sahip hidrojel başarıyla sentezlenmiştir bu da yüksek düzeyde hücre penetrasyonunu sağlayan bir yapı elde edilmesini sağlamıştır. Bu hidrojel özellikle elastinin doku rejenerasyonu uygulamaları için sahip olduğu büyük potansiyeli göstermiştir [51].

Kısmi olarak deasetillenmiş kitinden elde edilen **kitosan**, glikozidik bağ ile bağlanan glukozamin ve N-asetil glukozamin birimlerinden oluşan doğal bir amino homojen lineer polisakkarittir. Serbest amino gruplarına sahip bu materyal, kitinden daha güçlü reaktivite ve çözünürlüğe sahip olduğundan çevreyi kirletmez [52]. Günümüzde

kitosan akıllı hidrojelleri hücre kültürü, doku mühendisliği, enzim immobilizasyonu, ilaç kontrollü salım ve hedeflenen ilaç vb. alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır [53, 54].

Selüloz, dünya üzerinde en sık bulunan polisakkarittir. Bitkiler tarafından üretilen yapısal bir polimerdir. Selüloz, glikoz zincirlerinin β -(1-4) glikozidik bağlarla bağlanmasıyla oluşur ve biyoyoumluluğu sayesinde ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılabilir. Selüloz ve türevlerinin hidrojellere dahil edilmesi, karboksil grupları arasındaki itici kuvvetler nedeniyle gözenek boyutlarını artırır ve hidrojel sisteminde yapısal ve morfolojik değişikliklere yol açar. Böylelikle selüloz içerikli hidrojeller kontrollü ilaç salımı için uygun bir aday haline gelmektedir [33].

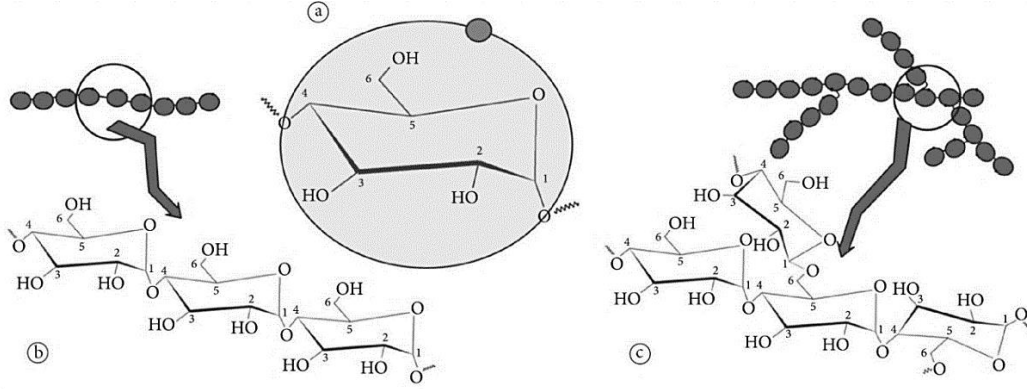
Hyaluronik asit (HA) (aynı zamanda hyaluronan veya hyaluronat olarak da bilinir), tekrar eden β -1,4-glukuronik asit β -1,3 N-asetilglukozamin disakkaritinden oluşan lineer, sülfatlanmamış bir glikozaminoglikandır. HA, hücre dışı matris içinde önemli bir moleküldür ve vitröz hümör, eklem kıkırdağı, eklem sıvısı, derinin dermisi dahil olmak üzere birçok hayvan dokusunda, özellikle yara iyileşmesinin çeşitli aşamalarında önemli bir molekül olarak görev almaktadır. Fiziksel olarak HA, vücut fonksiyonlarını yönlendiren çeşitli moleküler ağırlıklarda bulunur.

2.1.1 Nişasta

Nişasta, bolluğu, ucuzluğu, toksik olmaması nedeniyle çeşitli gıda ve gıda dışı endüstriler için çok yönlü bir biyomateryaldir. Gıda dışı endüstrilerde yenilenebilir bir malzeme olan nişastaya yönelik artan bir talep vardır. Nişasta, farmasötikler, tekstil, alkol bazlı yakıtlar, yapıştırıcılar, boyalar gibi birçok gıda dışı alanda da kullanılmaktadır. Nişastanın farmasötik uygulamalarda kopolimer veya ekspiyan olarak kontrollü ilaç sistemlerinde kullanımı popüler hale gelmiştir. Ayrıca doku iskelelerinin, hidrojellerin ve çözünürlük arttırıcıların imalatında da kullanılmaktadır [55].

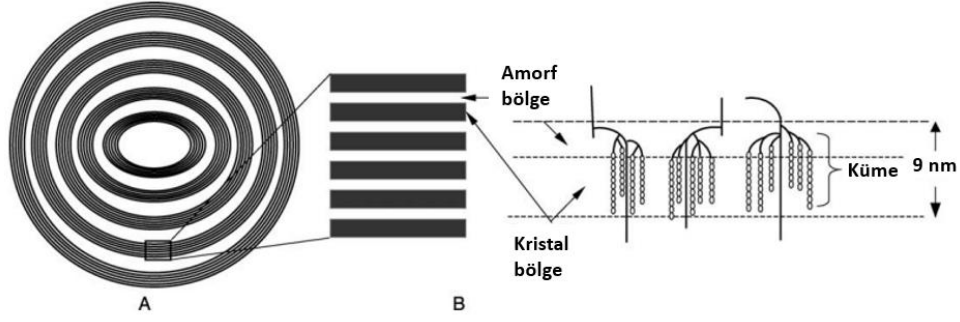
Nişasta, bitkilerde en bol bulunan depo polisakkaritidir ve yeşil yaprakların kloroplastında, tohumların, bakliyatların ve yumruların amiloplastında granüller halinde bulunur. Nişasta granüllerinin her bitki dokusundaki birikim modeli, şekli, boyutu, yapısı ve bileşimi o botanik türe özgüdür [26]. Kimyasal olarak bir polisakkarit olan nişasta amilopektin ve amiloz olarak isimlendirilen iki tip polimerden oluşur. Amiloz, α -1,4 glikozidik bağlarla bağlanan glukozun lineer zincirinden oluşur ve

yaygın nişastanın %15-30'unu oluşturur. Amilopektin ise α -1,4 glikoz birimlerinin oluşturduğu lineer zincirlerin, molekül eksenini boyunca 10 nm aralıklarla küçük glikoz zincirleri tarafından α -1,6 pozisyonlarında dallanmasıyla meydana gelir ve nişastanın %70 ila 85'ini oluşturur [56]. Nişastanın yapısal birimleri, amiloz ve amilopektin, Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1 : (a) glikoz birimleri, (b) amiloz ve (c) amilopektinin temel yapısı [57].

Amiloz ve amilopektin nişastada büyüme halkaları olarak bilinen, dönüşümlü amorf (amiloz) ve kristalin (amilopektin) kısımlardan oluşan yarı kristalin bir yapıda düzenlenmektedir. Nişastadaki amorf bölgenin ana bileşeni amilozdur. Amorf kısımda çok az miktarda amilopektin bulunmasına rağmen, kristal bölge esas olarak amilopektinden oluşur [26]. Farklı boyutlardaki α -glukan zincirlerinin polimodal dağılımı ve amilopektin molekülündeki dallanma noktalarının gruplandırılması, kristalin lamellerin oluşmasını sağlayan çift sarmal zincirlerini meydana getirir. Nişasta granüllerinde daha yüksek amilopektin oranı, daha fazla kristallik ile sonuçlanır [58]. A, B ve C olmak üzere üç tip kristal yapıya sahip nişasta vardır ve bu tipler amilopektin grubundaki dallanmaların polimerizasyon derecesine göre değişmektedir [59]. Kristalin lameller, zincir noktalarının meydana geldiği bölgelerden oluşan amorf lameller ile dönüşümlü olarak 9 nm'lik bir mesafede tekrarlanarak büyüme halkalarını oluşturmaktadır (Şekil 2.2).

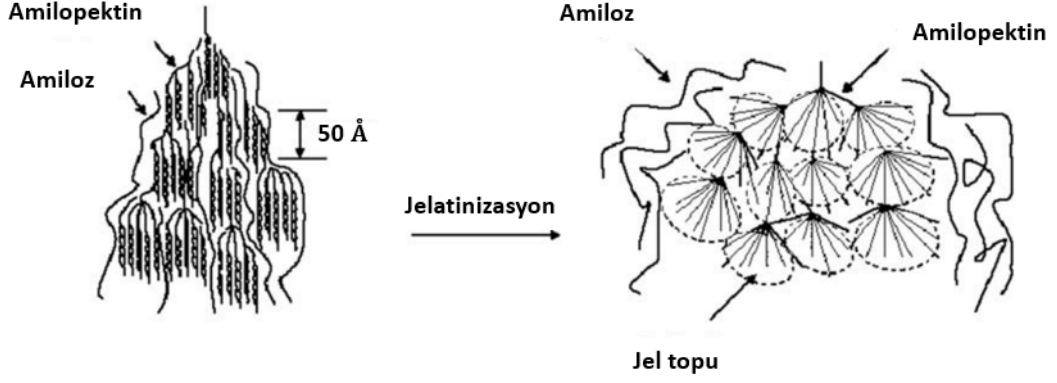


Şekil 2.2 : Bir nişasta granülünün organizasyon şeması [60].

2.1.2 Nişasta jelleri

Sentetik polimerler, daha üstün mekanik, fiziksel ve kimyasal özellikler gösterdikleri için mevcutta bulunan hidrojelleri üretmek için yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Fakat çevre dostu olmamaları, üretim maliyetlerinin yüksek olması, yenilenebilir olmamaları ve biyolojik olarak parçalanmalarının zor olması gibi dezavantajlara sahiptirler [61]. Bu nedenlerle, nişasta ve selüloz gibi doğal olarak üretilen polisakkaritlerden üretilen hidrojeller, araştırmacıların ilgisini çekmektedir. Nişastada, -OH gibi hidrofilik gruplar moleküler zincirlerde dağıtılır. Bu gruplar, elde edilen hidrojellerin hidrofilik karakterini ve biyolojik olarak parçalanabilirliğini artırır. Bu özellikler ve kolay bulunurluk nedeniyle, nişasta ile hidrojel oluşumu 1970'lerden itibaren popüler hale gelmiştir. Ek olarak, nişasta bazlı hidrojel ürünleri, çevre üzerindeki etkiyi azaltmak ve daha fazla potansiyel uygulanabilirlik için dikkat çekmiştir [62].

Nişastanın termal olarak jelleşmesi üç aşamalı hidrasyon-plastikleştirme prosesi ile jelatine dönüşür. İlk aşamada, hidrofilik nişasta granüllerinde suyun adsorpsiyonu ile şişme meydana gelir. İkinci aşamada, nişasta ısıtılarak çözüldükten sonra jelatinleşme gerçekleşir, bu da amiloz bileşeninde geri dönüşü olmayan fiziksel değişikliklere ve granül yapısının tahrip olmasına neden olur. Retrogradasyon adımı olarak adlandırılan üçüncü adımda soğutma sonrası nişasta jel ağı oluşur ve polisakkarit yapısının kısmi yeniden kristalleşmesi ve yeniden düzenlenmesi ile sonuçlanır (Şekil 2.3). Amiloz miktarı ve jelatinleşme sıcaklığı, jel oluşumunu etkileyen iki ana proses parametresidir [63].



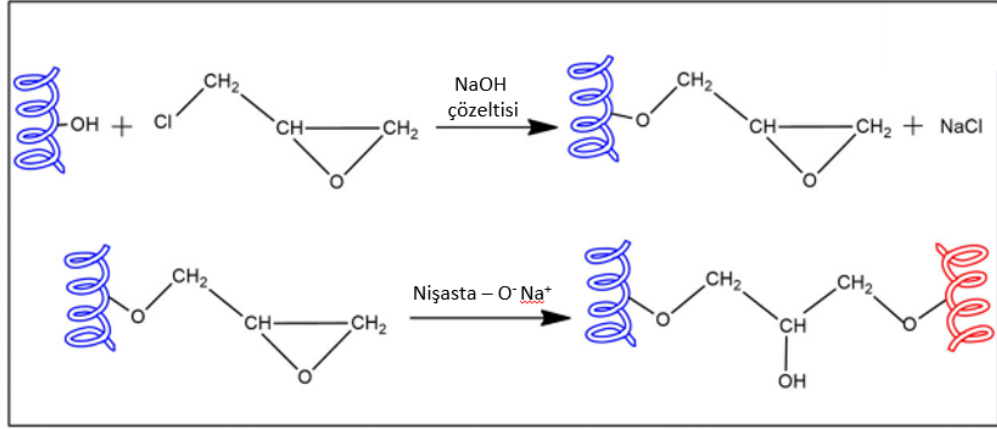
Şekil 2.3 : Nişastanın ısıya bağlı jelatinleşmesi [63].

Nişasta yüzeyinde bulunan hidroksil grupların oluşturduğu hidrojen bağları, nişasta granüllerinin hidrofilik özellik ve güçlü moleküller arası çekim göstermesinin ana nedenidir. Nişasta yapısında çok miktarda -OH grubu içerir. Nişastanın reaktivitesi büyük ölçüde bu -OH gruplarına bağlıdır. Nişasta oksitlenebilir veya indirgenebilir ve hidrojen bağları, esterler ve eterler oluşturabilir [64].

Günümüzde nişasta hidrojellerini hazırlamak için fiziksel ve kimyasal çapraz bağlama teknikleri kullanılmaktadır. Fiziksel çapraz bağlama, polimerlerden hidrojel oluşturmanın en kolay yollarından biridir ve ek çapraz bağlayıcı gerektirmez. Fiziksel hidrojeller ayrıca kendi kendine birleşen hidrojeller olarak da adlandırılmaktadır. Makromoleküller arasında hidrofobik, polielektrolit kompleks oluşturma, elektrostatik ve H-bağı gibi farklı tipte etkileşimler meydana gelmektedir [65]. Bu etkileşimler tersine çevrilebilir ve değişen fiziksel koşullar tarafından değiştirilebilir [66]. Bu yöntemde toksik çapraz bağlayıcılar yer almadığından, ilaç taşıyıcı sistemler gibi biyomedikal uygulamalarda daha çok kullanılabilir [67].

Biyomalzemelerin mekanik ve enzimatik direncini arttırmak, mekanik olarak kararlı hidrojeller üretmek için en yaygın kullanılan ve en etkili yöntem kimyasal çapraz bağlama yöntemidir. Bu yöntemde farklı tipte çapraz bağlayıcılar kullanılır. Çapraz bağlanma, monomerlerin fonksiyonel grupları (örn. -OH, -COOH ve -NH₂) ile çapraz bağlama ajanları (örn. glutaraldehit, epiklorohidrin, adipik asit dihidrazid) arasındaki reaksiyonla üretilir ve polimer zincirleri arasında kovalent bağlar geliştirilir [67]. Nişasta bazlı hidrojeller, nişastanın doğrudan çapraz bağlanması ve bir çapraz bağlayıcı varlığında vinil monomerlerin graft kopolimerizasyonu olmak üzere başlıca iki şekilde elde edilebilir [27]. Doğrudan çapraz bağlama durumunda, nişasta zincirlerindeki hidroksil gruplarının bir kısmı, iki veya çok işlevli bileşiklerle

reaksiyona girmeye duyarlıdır. Nişastayı çapraz bağlamak için epiklorohidrin (ECH) polisakkarit kimyasında en yaygın kullanılan çapraz bağlayıcıdır [68, 69]. ECH üzerindeki epoksi ve halojenür grubu, nişasta yapısındaki hidroksit grubu ile reaksiyona girerek iki polimer zincirinin çapraz bağlanmasını sağlar (Şekil 2.4) [10]. Örneğin, manyok nişastasının ECH ile çapraz bağlanmasıyla süper emici nişasta hidrojelü hazırlanmıştır [70]. Nişasta mikroküreleri çözünür nişastanın kararsız ters emülsiyon sisteminde ECH ile çapraz bağlanmasıyla elde edilmiştir [71]. Arista™ olarak bilinen nişasta türevi mikro gözenekli polisakkarit hemosferler (MPH) son zamanlarda cerrahi prosedürlerde çapraz bağlayıcı olarak ECH içeren yardımcı bir hemostatik cihaz olarak kullanılmaktadır [72]. Polisiklik aromatik hidrokarbonların uzaklaştırılması için yüksek sorpsiyon kapasitelerine sahip biyosorbent olarak ECH ve GA varlığında nişasta ağları da sentezlenmiştir [73].

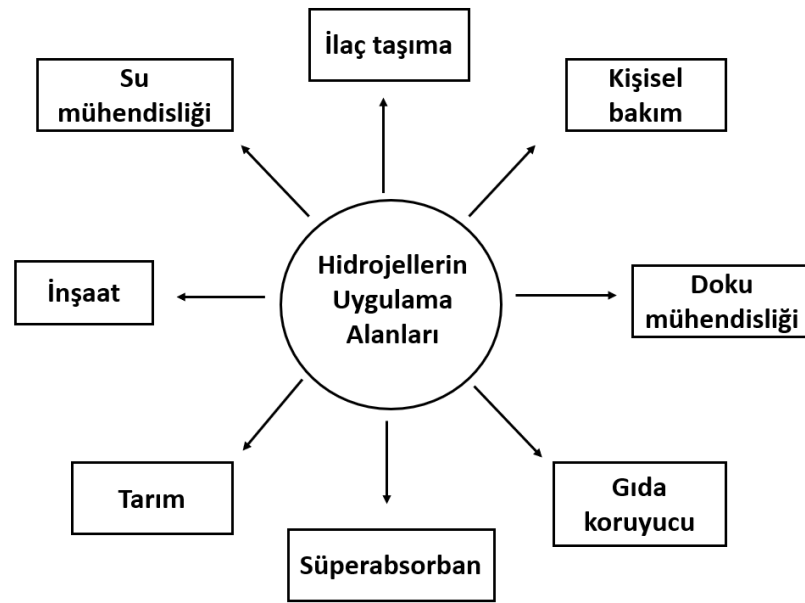


Şekil 2.4 : Nişasta ve ECH çapraz bağlanmasının kimyasal mekanizmasının gösterimi [74].

Kimyasal çapraz bağlama, çok yönlülüğü nedeniyle diğer mekanizmalardan daha avantajlı olmasına rağmen bazı dezavantajları da vardır. Bu işlemde kimyasal çapraz bağlama için kullanılan reaktifler genellikle toksiktir ve reaksiyon için biyoaktif malzemelere pek uygun olmayan yüksek sıcaklık gerekir [75]. Bu bağlamda, fiziksel çapraz bağlama işleminin yaşam bilimlerinde (örn. doku mühendisliği) ve biyo-medikal sektörlerde (örn. ilaç dağıtımı) kullanım avantajları vardır.

Biyobozunurluk ve dinamik mekanik davranışlar gibi özelliklerinden dolayı nişasta bazlı hidrojellerin (NBH) popülaritesi her geçen gün artmaktadır. NBH'lerin biyomedikal sektörlerde (ör. ilaç dağıtım sistemi, kontakt lensler), tarım sektörlerinde (ör. kontrollü pestisit salınımı, su depolama), gıda endüstrilerinde (ör. gıda paketleme),

kozmetik endüstrisinde, elektroforezde vb. farklı uygulamaları vardır [76-78] NBH'lere ait bazı uygulamalar Şekil 2.5'te gösterilmektedir. Biyomedikal sektörlerde, NBH'lerin biyoyumlu olmaları, biyobozunur olmaları, hidrofobiklik ve geçirgenlik gibi özelliklere sahip olması nedeniyle birçok avantajı vardır. Günümüzde hastalara hızlı yapısal destek sağlamak için yerleştirildiği yerden kademeli olarak ayrışan nişasta bazlı kemik çimentosu kullanılmaktadır [79]. NBH'ler su emme kapasitesinin yanı sıra, biyomedikal sektörlerde uygulanabilirliklerini artıran iyi mekanik özellikler göstermektedir. Hassan ve arkadaşları yara sargısı için PVA/nişasta bazlı antibakteriyel hidrojel membran geliştirmiştir [80]. Batool ve arkadaşları NBH'lerde zerdeçalı ilk kez antimikrobiyal ajan olarak kullanmışlardır. Yapıya gümüş nanoparçacıkları dahil edilerek yara sargısı için nişasta bazlı antimikrobiyal nanokompozit hidrojeller sentezlenmiştir [81]. Yapay deri, Pal ve arkadaşları tarafından mısır nişastası bazlı hidrojellerden elde edilmiştir [82].



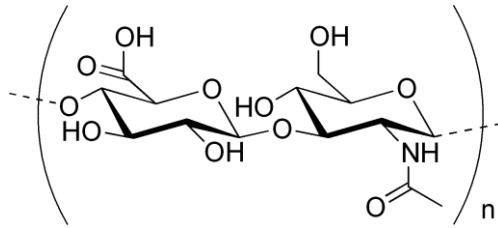
Şekil 2.5 : Nişasta jellerinin uygulama alanları.

2.1.3 Nişasta jellerinin mekanik dayanımını artırma yöntemleri

Nişasta biyolojik olarak uyumludur, toksik değildir, ucuzdur, kolayca elde edilebilir ve farklı ortamlarda tamamen biyolojik olarak parçalanabilir. Önemli özelliklerinden biri de doğada bol miktarda bulunmasıdır. Ancak, nişasta ile hazırlanan hidrojellerin stabilitesinin düşük olması, etkin enerji dağıtım mekanizmasının olmamasından kaynaklı zayıf mekanik özelliklere sahip olması, bu yapıların uygulama alanını kısıtlamaktadır. Jellerin mekanik dayanımlarını arttırmak amacıyla literatürde

uygulanan yöntemlerle elde edilen jel tiplerinden bazıları hidrofobik olarak bağlanmış hidrojel [83], nanokompozit hidrojel [84], çift ağ yapılı hidrojel [85, 86] şeklinde sıralanabilir. Bu yöntemler kullanılarak, nişasta jelleri de çeşitli potansiyel uygulamalar için daha uygun hale gelebilir [62].

Çift ağ yapılı hidrojel oluşturmak, dinamik etkileşimler içeren, güçlü ve sağlam hidrojel hazırlamak üzere kullanılan yöntemlerden biridir. Araştırmacılar, nişastaya HA ilavesiyle elektro-spinlenmeden kaynaklı yetersiz mekanik özelliklerinin ayarlanabildiğini göstermiştir [87]. Hyaluronik asit (HA) zincirleri, önemli miktarda su emebilen hücre dışı matrisin yüksek yüzdesini oluşturan doğal olarak oluşan lineer bir polisakkarittir (Şekil 2.6) [88]. Eşsiz reolojik özelliklerinin yanı sıra iyi biyouyumluluğu, biyolojik olarak parçalanabilirliği ve yüksek su bağlama kapasitesi nedeniyle, doku mühendisliği ve yara pansuman, cerrahi, ilaç verme, implantlar ve artrit tedavisi gibi tıbbi uygulamalar için kullanılabilir bir malzeme haline getirir [89]. HA, ayrıca yara onarım sürecini hızlandırmak, fibroblast proliferasyonunu ve göçünü arttırmak üzere mısır nişastasının yara pansuman yapısına dahil edilmiştir [90]. Sahip olduğu tüm bu özelliklerden dolayı nişasta hidrojeline HA içeren ikinci bir çapraz bağın katılması hem sentezlenen jelin uygulama alanlarını genişletecek hem de yapının daha dayanıklı olmasını sağlayacaktır.



Şekil 2.6 : Hyaluronik asitin kimyasal yapısı.

Amiloz / amilopektin oranının polisakkaritin moleküler düzeni ve kristalliliği üzerinde farklı etkiler göstererek nişasta bazlı malzemelerin özellikleri için anahtar bir parametre olduğu iyi bilinmektedir. Doğrusal amiloz zincirlerine göre, amilopektinin yüksek moleküler ağırlığı ve dallı yapısı, hidrojen bağlanma eğilimini önler ve bu durum fiziksel çapraz bağlantı birimlerinin miktarının azalmasına yol açarak polimer zincirlerinin hareketliliğini azaltır. Hylon® VII mısır nişastası, genetik olarak modifiye edilmiş, yüksek amiloz içeren mısırdan elde edilir. Hylon® VII yaklaşık %70 amiloz içermektedir. Çözünür nişasta yerine Hylon® VII kullanılması olası etkileşimler için daha esnek zincirlerin oluşmasını sağlamaktadır. Hylon® VII nişastası, mükemmel

jelleşme ve film oluşturma özelliklerine sahiptir ve bu özelliklerinden dolayı değişik uygulamalarda kullanılabilir. Bu doğrultuda amiloz oranı daha yüksek olan nişastalar kullanılarak mekanik olarak daha dayanıklı nişasta bazlı hidrojellerin elde edilmesi mümkündür.

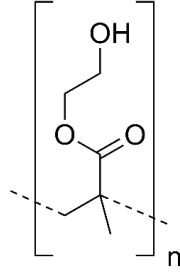
Modifikasyonlar, nişasta moleküllerine az miktarda iyonik veya hidrofobik grubun eklenmesiyle çözelti viskozitesini ve bağlanma davranışlarını değiştirmek üzere gerçekleştirilen kimyasal yöntemlerdir [91]. Kimyasal modifikasyon işleminin hızı ve verimliliği, reaktif tipine, nişastanın botanik kökenine ve granüllerinin boyutuna ve yapısına bağlıdır. Bu tür modifikasyonlarda genellikle nişastanın jelleşme ve yapıştırma özellikleri değişmektedir. Bunun sonucunda, amiloz ve amilopektin arasındaki ilişkiler bloke olur ve daha kararlı bir nişasta türevi elde edilir [92]. Nişastanın kimyasal modifikasyonu, nişasta molekülü üzerine yeni fonksiyonel grupların eklenmesiyle gerçekleştirilmektedir. Eklenen fonksiyonel gruplar, nişastayı kullanılacağı uygulama alanına daha uygun hale getiren özellikler kazandırmaktadır. Modifikasyonlar asit hidrolizi, oksidasyon, esterifikasyon ve eterifikasyon gibi çeşitli kimyasal yöntemlerle gerçekleştirilmektedir [93-96].

2.2 Sentetik Polimer Temelli Hidrojeller

Sentetik polimerler, kimyasal reaksiyonlarla üretilen insan yapımı polimerlerdir. Doğal polimerlerle karşılaştırıldığında kimyasal ve mekanik olarak daha dayanıklıdır. Bundan dolayı yavaş bozunurlar ve malzemeler için daha iyi dayanıklılık sağlarlar. Her sentetik polimer türü farklı özelliklere sahiptir. Bu özellikler kullanılarak belirli ihtiyaçlar için belirli işlevleri yerine getirebilecek farklı hidrojeller tasarlamak mümkün olmaktadır [97]. Polimerik sentetik hidrojeller, kovalent veya iyonik olarak çapraz bağlı hidrofilik homopolimerlerin veya kopolimer hidrojellerin üç boyutlu şişen ağlarıdır [98]. Hidrojeller sentezlenirken yaygın olarak kullanılan sentetik polimerlere örnek olarak polihidroksi etil metakrilat (PHEMA), polietilen glikol (PEG) ve türevleri, poliakrilamid (PAAm), polivinilpirolidon (PVP) verilebilir.

PHEMA, uzun yıllardır bilinen ve yaygın şekilde uygulanan hidrojel biyomateryallerinden biridir (Şekil 2.7). 1955 yılından bu yana birçok doğal ve sentetik madde ile çeşitli yöntemlerle modifiye edilerek kontakt lens, ilaç salımı ve doku

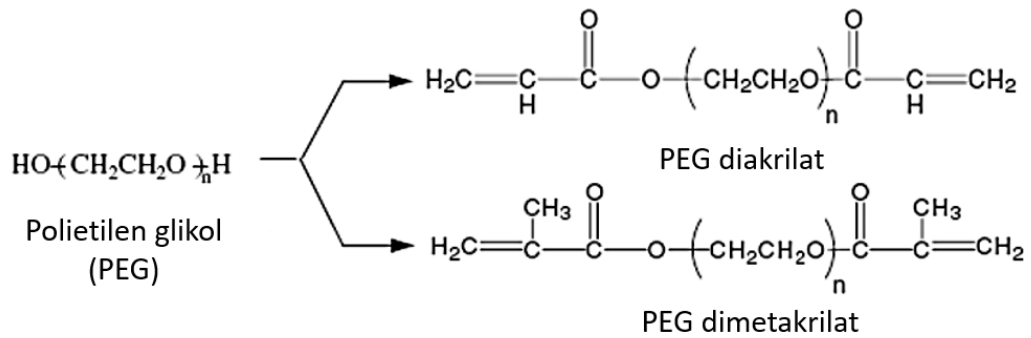
mühendisliğinde kullanılmaktadır. Ayrıca pansuman ürünleri üretiminde özellikle yanık pansumanlarında uygulanabilir ve iyi yara iyileşme koşulları sağlar.



Şekil 2.7 : Polihidroksi etil metakrilat (PHEMA) kimyasal yapısı.

PHEMA ile oluşturulan jellerin özellikleri, sentez yöntemine, polimer içeriğine, çapraz bağlanma derecesine, sıcaklığa ve uygulama ortamına bağlı olarak değişmektedir. PHEMA jelleri, ilaç salım sistemleri, ilik ve omurilik hücresi rejenerasyonu, hücre adezyonunu destekleyen yapı iskeleleri ve yapay kıkırdak üretiminde kullanılır [99]. Polietilen glikol dimetakrilat veya 1,1,1-trimetilol propan trimetakrilat çapraz bağlayıcıları kullanılarak PHEMA sentezi gerçekleştirilebilmektedir. Kullanılan çapraz bağlayıcıya göre oluşturulan hidrojelin içerdiği su oranı %30-40'a çıkararak kullanım alanları genişlemektedir.

Poli(oksietilen) veya **poli(etilen oksit) (PEO)** olarak da bilinen **PEG**, tıpta ve biyoteknolojide yaygın kullanılan polimerlerden biridir. **PEG** türevlerine dayalı hidrojellerde **polietilen glikol dimetakrilat (PEGDMA)** ve **polietilen glikol diakrilat (PEGDA)** aynı şekilde yaygın olarak kullanılmaktadır (Şekil 2.8).

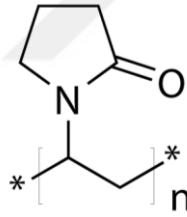


Şekil 2.8 : Polietilen glikol (PEG) ve türevleri.

PEG bazlı hidrojeller, yüksek biyouyumlulukları, doku üzerinde toksik etki oluşturmamaları ve suda çözünürlükleri ile karakterize edilirler. Bu da onları, ilaç

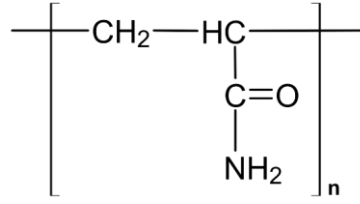
salım sistemi uygulamaları için iyi bir aday haline getirmektedir [100, 101]. PEG hidrojel ilaç salım sistemleri, uyanarlara duyarlıdır ve fiziksel veya kimyasal bir maddenin varlığında reaksiyona girmektedir. Kimyasal olarak çapraz bağı PEG hidrojelleri, biyolojik olarak aktif hidrojel yapı iskeletlerinin üretiminde kullanılır. PEG hidrojelleri kullanılarak ilaç, protein, biyomoleküllerin taşınması ve bunların kontrollü salımları gerçekleştirilmektedir.

Biyomedikal uygulamalarda, yaygın olarak kullanılan diğeri bir sentetik polimer grubu da **PVP** (Şekil 2.9) bazlı hidrojellerdir. Özellikle ilaç taşıyıcı sistemlerde ve yara örtülerinde kullanılırlar. Genellikle basit, verimli, temiz ve çevre dostu bir süreç olan radyasyon tekniği ile elde edilirler. Biyomedikal kullanım için hidrojellerin oluşumunda radyasyon uygulaması, bir ürünün oluşumunu ve sterilizasyonunu tek bir teknolojik adımda birleştirmek için eşsiz bir fırsat sunmaktadır. Bu nedenle PVP hidrojelleri, basit sentezlenebilmeleri, düşük üretim maliyetleri, yumuşaklıkları ve esneklikleri sayesinde avantaj sağlamaktadırlar. Mekanik özelliklerini iyileştirmek için PVP genellikle agar, selüloz veya PEG gibi polimerlerle kompleks oluşturularak kullanılmaktadır [102-104].



Şekil 2.9 : Polivinilpirolidonun (PVP) kimyasal yapısı.

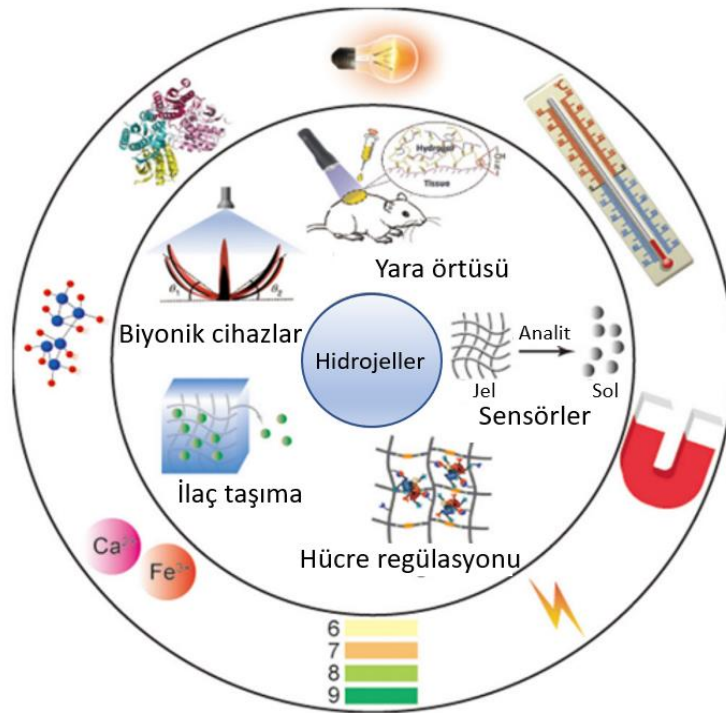
PAAm hidrojelleri akrilamid monomerinden yola çıkılarak sentezlenir (Şekil 2.10). Bu hidrojellerin özellikleri, uygulamaya bağılı olarak, sentez koşulları değiştirilerek diğeri monomerlerle kopolimerizasyon yoluyla veya sentezlenen hidrojellerin kimyasal modifikasyonu yoluyla değiştirilebilir [97]. PAAm jelleri genellikle yapılandırılmış bir çapraz ağa sahiptir ve moleküllerin boyutlarına göre ayrılmasında kullanılabilirler. Bu durum PAAm jellerinin, biyo-molekül ve biyo-makromolekül analizlerinde kullanılan elektroforez için uygun aday olmasını sağlamaktadır [105]. PAAm polimerleri genellikle uyarana duyarlı hidrojellerde, özellikle sıcaklık ve pH'a duyarlı hidrojellerin sentezinde kullanılmaktadır [106, 107].



Şekil 2.10 : Poliakrilamidin (PAAm) kimyasal yapısı.

2.2.1 Uyarılara duyarlı hidrojeller

Uyarılara duyarlı hidrojeller, çevresel uyarılara yanıt olarak yapısal veya mekanik değişiklikler gerçekleştirebilen akıllı malzemelerdir. Bu jeller hacim değişikliği, sol/jel faz geçişi, çözünürlük değişimi veya yapısal değişiklik gibi uyarı-tepki mekanizmaları tetiklenecek şekilde tasarlanmaktadır [108]. Akıllı jeller sayesinde farmakolojik maddenin salım kinetiğinin ayarlanması ve uygulama yerindeki jel oluşumunun aktif kontrolü sayesinde istenilen yerde, istenilen dozda etken madde salımı gerçekleştirilebilmektedir [109].

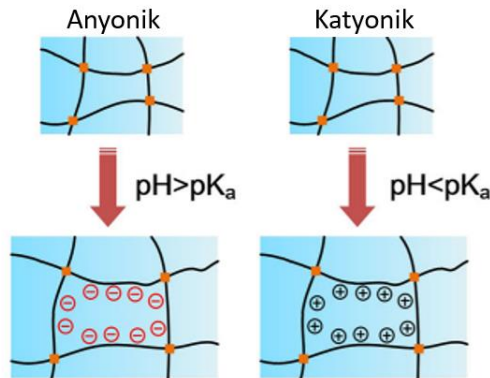


Şekil 2.11 : Uyarılara duyarlı hidrojellerin kullanım alanları [110].

Uyarılar; ışık, sıcaklık, pH, manyetik alan, elektrik alan gibi dış ortamda oluşan **eksojen (harici) uyarılar** ve organizma tarafından üretilen çeşitli pH değerleri, metal iyonları, enzimler, redoks ortamları, antijenler gibi **endojen (dahili) uyarılar** olmak üzere ikiye ayrılmaktadır [111]. Eksojen uyarılar invaziv olmayan ve uzaktan

çalışmayı uygun hale getiren bir ortam oluşturmaktadır. Tümör dokularında pH değerinin daha düşük olması [112] veya akciğer kanserine sahip hücrelerin spesifik antijenlere sahip olması gibi durumlar endojen uyaran olarak kullanılmakta [113] ve hedeflenen bölgede anormal olan sinyal algılanarak ilaç taşıyıcı sistemler, doku mühendisliği, biyosensörler gibi uygulamalarda kullanılmaktadır (Şekil 2.11).

En çok araştırılan akıllı materyallerden biri olan pH duyarlı hidrojeller ortamın pH değişimi ile birlikte ani hacim veya şekil değişikliğine uğrarlar [114]. pH duyarlı hidrojeller tipik olarak, polimer zincirine bağlı iyonlaşabilen asidik ve bazik gruplara sahip bir ağ içerir ve ortam pH'ındaki değişikliklere bağlı olarak proton alıp verebilir [115]. Yüksek pH değerlerinde anyonik hidrojel içindeki asidik gruplar proton kaybeder ve düşük pH değerlerinde bazik gruplar proton kazanır. Çözücünün pH'ı değiştirildiğinde, jelin içi ve dışı arasında bir iyon konsantrasyon farkı meydana gelmektedir. Bu fark, iyonların hidrojel içine ve dışına nüfuz etmesine ve hidrojel yüzeyinde ozmotik basınç oluşmasına neden olur. Ozmotik basınç ile hacim değişikliği meydana gelir. Absorbe edilen su miktarı arttıkça, sistem ilaç moleküllerine karşı daha geçirgen hale gelir. Anyonik ve katyonik hidrojeller sırasıyla yüksek ve düşük pH'ta şişer (Şekil 2.12) [116]. pH duyarlı hidrojel sentezinde genel olarak protonasyona duyarlı alkalın parça içeren poli(N,N'-dimetil aminoetil metakrilat) (PDMAEMA), poli(2-aminoetil metakrilat) (PMAA), poli(etilen imin) (PEI) gibi polikasyonlar veya sülfonamid temelli ya da karboksilik asit içeren deprotonasyona duyarlı poli(akrilik asit) PAAc, poli(metakrilik asit) (PMAAc), poli(2-etil akrilik asit) (PEAAc) gibi polianyonlar kullanılmaktadır [117].



Şekil 2.12 : pH duyarlı hidrojellerin çalışma mekanizması [118].

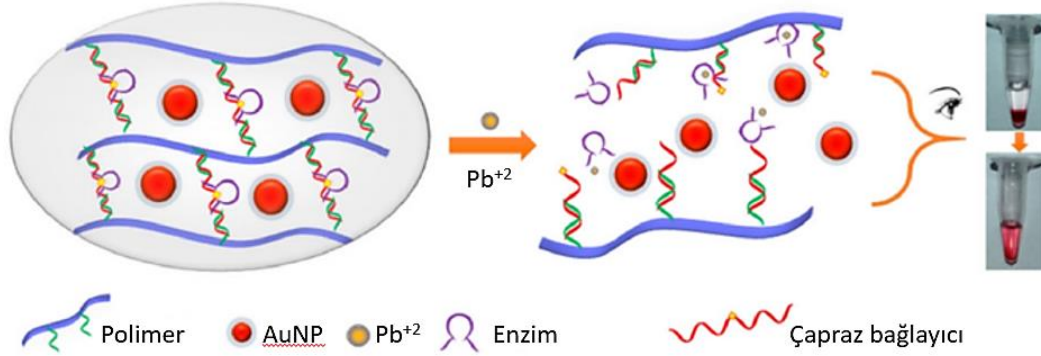
Doku mühendisliği, vücudun yeni fonksiyonel doku geliştirmesini veya yenilemesini sağlamak için hasarlı ya da hastalıklı dokuların değiştirilmesini amaçlamaktadır. Bu

genellikle canlı hücreler, üç boyutlu gözenekli bir matris ve biyoaktif moleküller içeren yapılar aracılığıyla elde edilmektedir. Üretilen yapılar hücre bağlanmasını, çoğalmasını ve farklılaşmasını desteklemektedir. Uygulanan malzeme, biyouyumluluk, biyobozunurluk, mekanik dayanıklılık, gözeneklilik, biyolojik olarak aktif biyomoleküllerin yakalanması ve salım potansiyeli gibi özelliklere sahip olmalıdır [119]. Hidrojeller içine kök hücreler kapsüllenerek veya hücre farklılaşmasının desteklenmesi için gerekli olan büyüme faktör proteinleri yüklenerek doku mühendisliğinde kullanılabilir malzemeler üretilmektedir.

Kitosan-PNIPAAm (N-izopropilakrilamid) kopolimer jelleri ısıya duyarlı enjekte edilebilir nanojeller olarak tasarlanmıştır. Kopolimer jeline gömülmüş mezenkimal kök hücrelerin in vitro olarak kondrositlere (yani kıkırdaklı matriste bulunan hücreler) farklılaşabildiği görülmüştür. Hücre-polimer karışımı tavşan mesanelerine enjekte edilmiş ve polimer matris üzerinde yeni kıkırdak oluşumu gözlenmiştir [120]. Sıcaklığa duyarlı yüzeyler en çok çalışılan malzemelerden olsa da ışık ve elektrik sinyalleri gibi başka uyaranlar da doku mühendisliği uygulamaları için araştırılmıştır. Yapılan bir çalışmada birinci çapraz ağ olarak karboksimetil kitosan (CMCS) hidrojel, ikinci çapraz ağ olarak modifiye edilmiş poli(3,4- etilendioksitofen) (PEDOT) katmanı kullanılarak, nöron benzeri olan PC12 tavşan hücrelerinin elektrik alana bağlı olarak proliferasyonunu arttıran hidrojeller sentezlenmiştir [121].

Biyosensörler, yüksek hassasiyet, özgünlük, uygun maliyetli üretim, taşınabilirlik ve kısa yanıt süresi gibi avantajlara sahip oldukça hassas analitik cihazlardır [122]. Biyosensör olarak kullanılan hidrojeller, sıcaklık [123, 124], ışık [125] ve iyonik güç ve pH [126, 127] gibi uyaranlara yanıt veren materyaller kullanılarak üretilirler. Son zamanlarda biyomimetik hidrojeller uyaranlara benzersiz yanıt verme yetenekleri sayesinde, biyokimyasal sensörler oluşturmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Akıllı hidrojellerin, faz değiştirme mekaniğinin denetlenebilirliği ve biyokimyasal göstergeleri yakalayıp salım yapabilmeleri sayesinde, proteinlerin tanınması [128, 129], kandaki glukoz düzeyinin ve [130] iyon varlığının tespit edilmesi gibi biyosensörlere ihtiyaç duyulan farklı uygulama alanlarında gerçekleştirilmiş çeşitli çalışmalar mevcuttur. Huang ve ekibi tarafından yapılan bir çalışmada kurşun iyonlarına (Pb^{+2}) duyarlı enzim ile çapraz bağlanmış PAAm jeli iyon varlığının tespiti için kullanılmıştır. Ortamdaki Pb^{+2} varlığında enzimatik aktivite başlamış ve yapı

içerisine gömülü haldeki altın nanopartiküller (AuNP) hidrojel matrisinden salımı gerçekleşerek kolorimetrik tespit için kullanılmıştır (Şekil 2.13) [131].



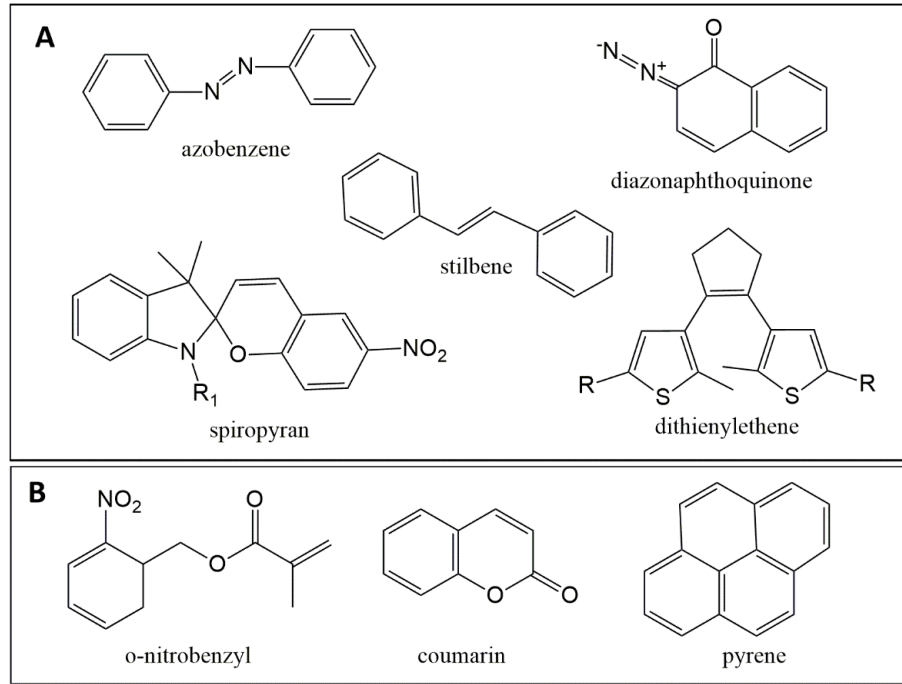
Şekil 2.13 : İyon varlığına duyarlı olarak tasarlanan hidrojinin Pb^{2+} algılama mekanizmasının gösterimi [131].

2.2.1.1 Işığa duyarlı hidrojel

Çevresel uyaranlar vasıtasıyla oluşturulan akıllı malzemeler arasında ışığa duyarlı olanlar son yıllarda oldukça dikkat çekmektedir [132-135]. Bu malzemeleri ilginç kılan özellikler; ışığın tahriş edici olmaması, uzak mesafeden lokalize edilen enerjinin aktivasyonunu ve bir sisteme gönderimini mümkün kılarak ışığa karşı bir tepki oluşturmalarıdır. Ayrıca, oda koşullarında ve çoğunlukla katı halde yapılan fotokimyasal reaksiyonlar artık bırakmadıklarından dolayı “yeşil sentetik yollar” olarak görülmektedir [135]. Bu durum, özellikle foto-dimerleşme gibi foto-tersinir reaksiyonları kullanarak ışığa duyarlı polimerik sistemlerin yapımını kolaylaştırmaktadır [136-138]. Son yıllarda, bu reaksiyonların kolaylığı ve tersinir özelliğinden dolayı çeşitli ışığa duyarlı polimerik mimarilerin geliştirilmesinde heyecan verici ilerlemeler gözlenmiş; fotorezistler, kendini iyileştirici malzemeler, nano taşıyıcılar ve geri dönüşümlü polimerler gibi çeşitli uygulama alanları bulmuştur [138-140].

Işığa duyarlı moleküller, Şekil 2.14’te gösterildiği üzere hidrofobik-hidrofilik dengeleri değişenler ve foto-ayırılma reaksiyonu verenler şeklinde iki ana grupta toplanabilir. Hidrofilik-hidrofobik dengenin optik olarak değişmesine dayanan ilk yaklaşım en sık kullanılanıdır. İlke olarak, çözeltinin ışığa maruz kalması üzerine, akıllı malzemelerin içinde bir fotokimyasal reaksiyon meydana gelmekte ve bu da hidrofobik bloğun polaritesinde bir artışa neden olmaktadır. Bu değişiklik, hidrofilik-hidrofobik dengeyi bozarak yapının sulu çözelti içinde dağılmasına sebep olur. Eğer

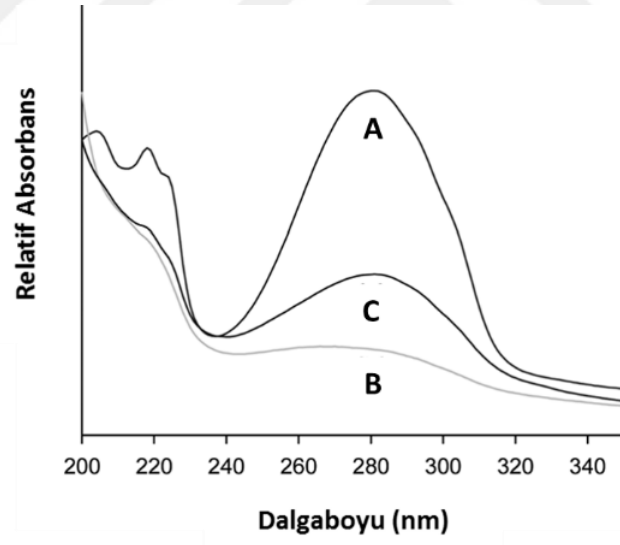
foto-tepkime tersinir ise, sistem farklı bir dalga boyunda ışığa maruz kaldığında ilk denge tekrar kurulabilir ve yapı çözelti içinde yeniden oluşturulabilir. Azobenzen (Azo), spiropiran (SP), ditioleniten, diazonaftokinon (DNQ) ve stilben gibi fotokromik moleküller hidrofilik-hidrofobik dengenin değişmesine bağlı olarak tepki vermektedirler (Şekil 2.14A). Her ne kadar bu moleküllerin foto uyaran ile değişimi, hidrofilik hidrofobik dengenin ayarlanmasına bağlı olsa da fotokimyasal mekanizmaları birbirinden tamamen farklıdır. Örneğin, Azo ve SP moleküllerinin, ultraviyole (UV) ve görünür ışık emilimi üzerine ters trans-cis foto-izomerizasyonu olmasına rağmen, SP molekülünün tetiklenmesi ile yapı kapalı bir halkadan, UV altında açık-yüklü merosiyanin halkasına geçer. DNQ ise foto-kaynaklı bir geri dönüşsüz Wolf-yeniden düzenleme reaksiyonu gösterir.



Şekil 2.14 : Fotokromik moleküllerin kimyasal yapısı. **A.** hidrofilik–hidrofobik denge değişimi **B.** foto-ayrılma reaksiyonu.

İkinci yaklaşımda bir foto reaksiyon, basitçe foto-kromik kısımları ayırır ve hidrofobik bloğu karboksilik asitler oluşturarak hidrofilik bir blok haline dönüştürür (Şekil 2.14B). Foto parçalanma reaksiyonunu gösteren en popüler foto-kromik yapılar, o-nitrobenzyl (NB) -, piren ve kumarin (Kum) türevi içeren yapılardır. NB'nin fotolizi, molekül içi bir yeniden düzenleme ve moleküllerin salınmasını sağlar. Bu işlem, bir foton UV ve/veya suya ihtiyaç duymayan iki fotonlu NIR uyarılması yoluyla gerçekleştirilebilir. Kumarin ailesinin binlerce farklı türevi vardır. NB'ye benzer şekilde

kumarin bir veya iki foton ışığına duyarlıdır. Kumarin içeren polimerler, kumarin dimerizasyon reaksiyonunun UV ışığı ile aktive edilebildiği, çekirdek veya kabuk çapraz bağlı miseller ve nanojellerin hazırlanması için yaygın olarak çalışılmıştır. Nükleer manyetik rezonans (NMR), FT-IR spektroskopisi ve kütle spektrometresi (MS) gibi klasik organik karakterizasyon tekniklerine ek olarak, dimerleşme reaksiyonları çoğunlukla ultraviyole görünür spektroskopisi (UV-Vis) ile izlenir. Fotoaktif moleküllerin elektronik konjugasyonu belirli dalga boylarında (tipik olarak 260-300 nm bölgelerinde) güçlü UV absorpsiyonu verir (Şekil 2.15A). Bununla birlikte, moleküllerin dimerleşme sırasında konjugasyonu yok olur ve ışınlanmış numunenin absorbansı belirtilen dalga boyu aralığında büyük ölçüde azalır (Şekil 2.15B). Retro $[2\pi + 2\pi]$ siklokatalması meydana geldiğinde, molekülün konjugasyonu eski halini alır ve 270-300 nm bölgesinde yeniden emilim artar (Şekil 2.15C). Bu nedenle, belirli absorpsiyon dallarındaki UV emilimindeki değişiklikleri (çalışma molekülüne özgü) izleyerek, aydınlatma sırasında oluşan dimerleşme/geri dönüşün boyutu rahatça tahmin edilebilmektedir [135].

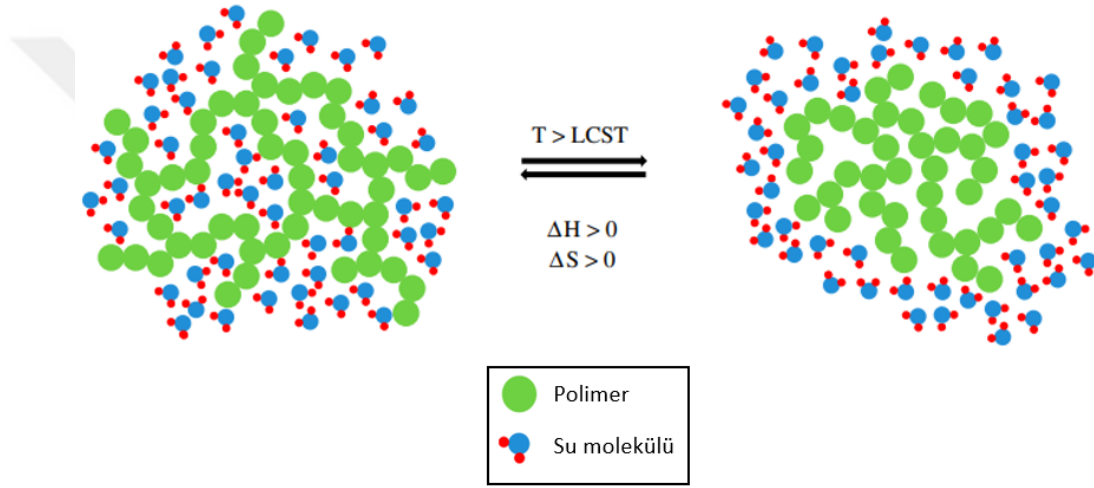


Şekil 2.15 : UV-Vis kullanılarak $[2\pi + 2\pi]$ siklokatalma reaksiyonunun nasıl izlendiğini gösteren kavramsal örnek: **A.** Aydınlatma öncesi, **B.** dimer üretmek için aydınlatma sonrası molekül ve **C.** dimerin fotokimyasal bölünmesi [135].

2.2.1.2 Isıya duyarlı hidrojeller

Isıya duyarlı hidrojeller ya da termo-jeller, içinde buldukları ortamın sıcaklık değişimine bağlı fiziksel etkileşimler yoluyla jelleşerek şişme ve büzülme yeteneğine sahip materyallerdir. Termo-jeller hem hidrofilik hem de hidrofobik kısımlara sahip amfilik polimerlerden oluştuğu için sol-jel faz geçişi göstermektedirler (Şekil

2.16). Bu jelleşme prosedürü, başka herhangi bir yardıma veya enzimler gibi diğer tetikleyicilere ihtiyaç duymaz; bu nedenle, iyi huylu bir faz dönüştürme prosedürü olarak kabul edilmektedir. Toksik çapraz bağlama ajanlarının olmaması, termo-jellerin enjekte edilebilir hidrojeller olarak biyouyumluluk göstermesini daha olası kılmaktadır [141, 142]. Biyomedikal uygulamalarda kullanılan polimerler göz önüne alındığında, poliakrilatları veya Pluronikleri içeren biyolojik olarak parçalanamayan termo-jeller ve poliesterler, polipeptitler ve polisakkaritleri içeren biyolojik olarak parçalanabilen termo-jeller olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır [143]. Genel olarak biyomedikal uygulamalarda oda sıcaklığından vücut sıcaklığına geçişte, yani 25–37°C aralığında faz geçişi yaparak jelleşebilen polimerler kullanılmıştır [144, 145]

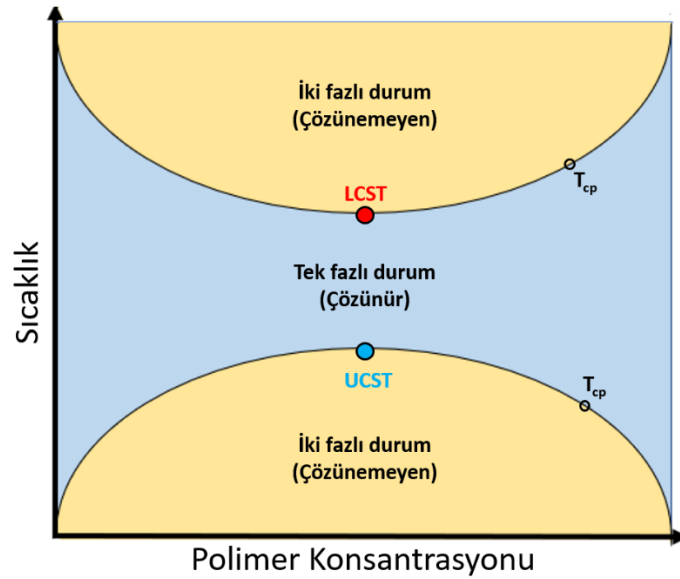


Şekil 2.16 : Isıya duyarlı hidrojellerin faz geçiş mekanizması.

Sıcaklığa duyarlı hidrojeller, pozitif veya negatif sıcaklığa duyarlı sistemler olarak sınıflandırılabilir [146].

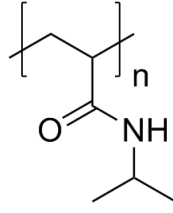
Pozitif sıcaklığa duyarlı hidrojeller, üst kritik çözelti sıcaklığına (UCST) duyarlı polimerler kullanılarak sentezlenirler. Bu polimerler, sıcaklık UCST'nin altına düştüğünde büzülürler ve içlerinde barındırdıkları çözücülerini serbest bırakırlar. UCST'den daha yüksek sıcaklıklarda şişme meydana gelmektedir. Yani UCST davranış gösteren bir polimer, UCST'nin altında faz ayrımı sergilerken UCST sıcaklığının üzerinde tek faza geri dönme eğilimindedir [147]. Bu polimerler yüksek sıcaklıklarda enjekte edilebilir haldedirler. Bu durum bazı ilaçlar, polipeptitler ve proteinler için uygun koşullar oluşmasına engel olmaktadır. Bundan dolayı UCST davranış gösteren polimerler kullanılarak hazırlanan hidrojellerin medikal alanlardaki kullanımını kısıtlanmaktadır [148].

Negatif sıcaklığa duyarlı hidrojeller, alt kritik çözelti sıcaklığına (LCST) duyarlı polimerler kullanılarak sentezlenirler. Isıya duyarlı polimerler, düşük sıcaklıkta sıvı olarak kalır ve daha yüksek sıcaklıklarda yarı katı jel oluşturur ve bu polimerler, jelleşme sırasında belirli bir sıcaklıkta bir sol-jel geçişine neden olan bir hacim faz geçişi sergilerler [149]. Jelleşme işlemi geri dönüşümlüdür ve uyaran olarak kullanılan ısı uzaklaştırıldıktan sonra jeller çözelti fazına geri döner [150, 151]. Şekil 2.17’de gösterildiği gibi, LCST polimerlerinin faz geçiş sıcaklığı polimer konsantrasyonu ile değişmektedir. Sıcaklığa duyarlı hidrojeller, etil, metil ve propil grupları [152] gibi hidrofobik kısımlar içermektedirler. Isıya duyarlı hidrojelleri sentezlemek için doğal (selüloz ve jelatin) ve sentetik (PNIPAAm ve Pluronik) polimerlerden yararlanılır [153]. LCST'ye sahip birçok polimer farklı biyomedikal uygulamalar için kullanılmaktadır. Enjekte edilebilir ısıya duyarlı hidrojellerin oluşumunda, polimerlerin vücut sıcaklığı koşullarında in-situ (yerinde) jel oluşturma kabiliyetinden yararlanır [154-156].



Şekil 2.17 : Sıcaklığa duyarlı polimerlerin UCST ve LCST değerleri [143].

Poli(N-izopropilakrilamid) (PNIPAAm) ve kopolimerleri ısıya duyarlı hidrojel sentezi için yaygın olarak kullanılmaktadır (Şekil 2.18). Bu polimer, vücut sıcaklığına çok yakın olan LCST değeri ve hızlı tepki göstermesi nedeniyle biyomedikal uygulamalar açısından en yoğun çalışılan polimerlerden biridir.



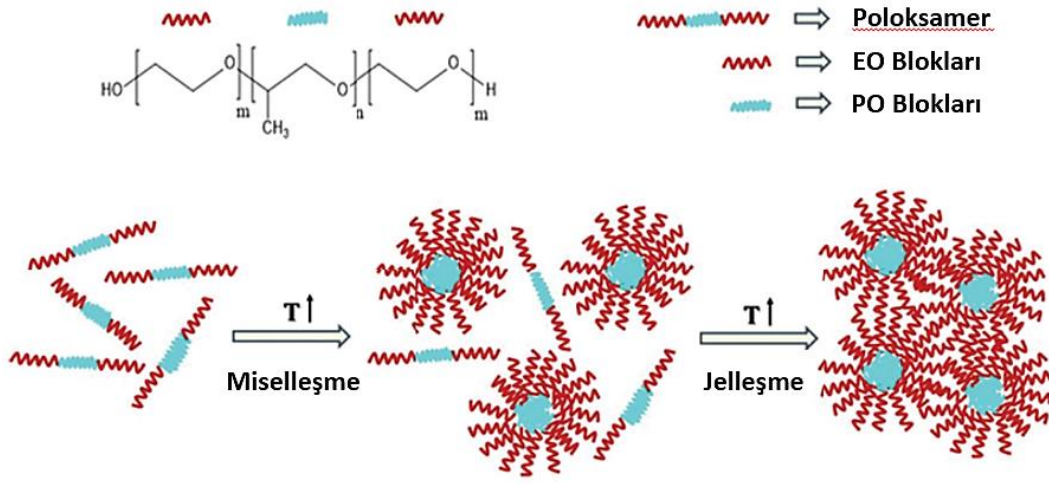
Şekil 2.18 : Poli(N-izopropilakrilamid) kimyasal yapısı.

32°C (LCST) civarında hidrofobik hale gelerek küresel yapılar oluşturur ve bir hacim faz geçişi gösterir. PNIPAAm'ın, daha hidrofobik bir monomer ile kopolimerizasyonu daha düşük bir LCST ile sonuçlanırken, daha hidrofilik bir monomer ile kopolimerizasyonu ise polimerin genel hidrofilikliğini artırır ve daha güçlü polimer-etkileşimleri sonucu LCST'de artışa yol açar [157]. PNIPAAm temelli hidrojeller, esas olarak ilaç salım uygulamalarında karşımıza çıkarken, sensörler ve aktüatörler gibi uygulama alanlarında da çalışmalar mevcuttur [158-162].

2.2.2 Pluronik

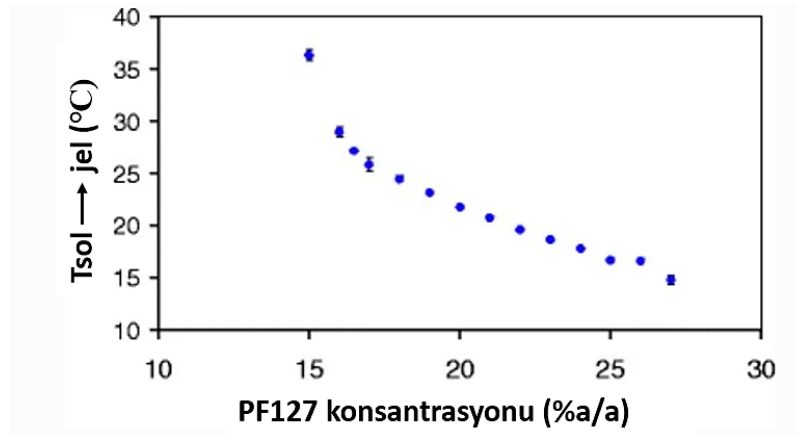
Pluronikler ya da diğer adı ile “poloksamerler” hidrofilik polietilen oksit (PEO) ve hidrofobik polipropilen oksit (PPO) zincirlerinin üçlü blok şeklinde (PEO-PPO-PEO) birleştiği yapılardır. Pluroniklerin PPO ve PEO birimlerinin sayılarının farklı olmasına bağlı olarak 30'dan fazla çeşidi ticari olarak satılmaktadır. Pluronik ailesi içerisinde, düşük toksisitesi, ters termal jelleşmesi, yüksek ilaç yükleme kapasitesi ve nispeten düşük konsantrasyonlarda fizyolojik koşullarda jelleşme yeteneği sayesinde medikal ve farmasötik uygulamalarda en çok tercih edilen üyesi Pluronik® F127 (PF127)'dir. PF127'nin moleküler ağırlığı, Şekil 2.21A'da gösterildiği üzere 100 tekrar ünitesinden oluşan iki PEO bloğu ve 65 tekrar ünitesinde oluşan bir PPO bloğu olacak şekilde yaklaşık 12.6 kDa'dır [163].

Amfifilik blok kopolimer molekülleri, sulu çözeltilerde kendiliğinden miseller halinde birleşebilmektedir. Zincirlerin su molekülleri ile oluşturduğu hidrojen bağları çözünmeyi sağlarken artan sıcaklık ile blokların hidrofobisitesi artarken miseller birbirlerine yaklaşmakta ve dehidrasyona uğramaktadır. Uçlardaki hidrofilik gruplar genişleme sonrası diğer misellerin uç gruplarıyla etkileşime girmekte ve dolaşmalar (entanglementlar) oluşturarak bilindik sıvı halden jel haline geçişe neden olmaktadır (Şekil 2.19) [18, 19].



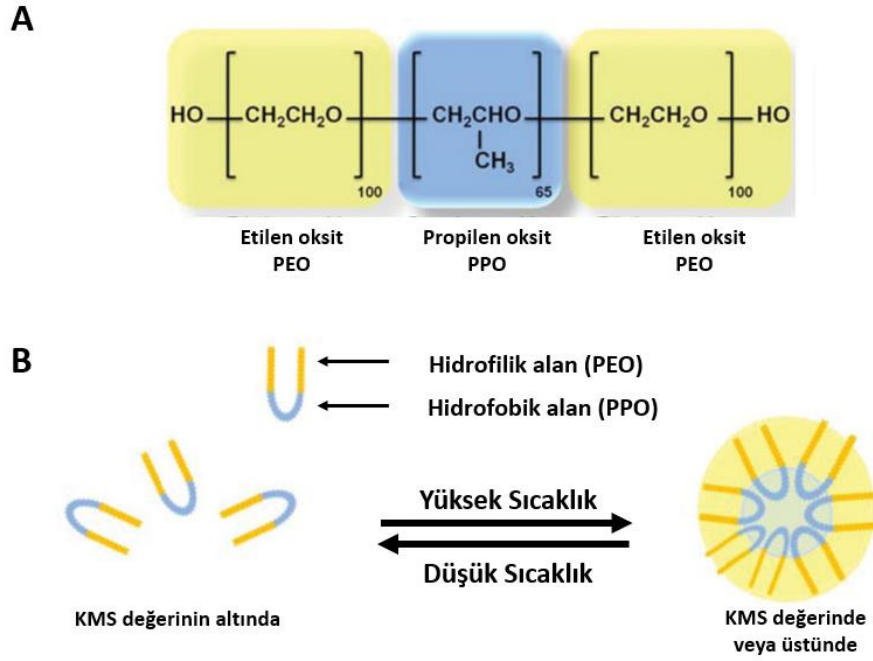
Şekil 2.19 : Pluronic jelleşme mekanizmasının şematik gösterimi [164].

Zincirlerin hidrofobisitesi miselleşme prosesinde önemli bir rol oynarken, diğer iki dinamik ise PPO'nun moleküler ağırlığına göre değişen, kritik misel sıcaklığı (KMS) ve kritik misel konsantrasyonudur (KMK) [20]. KMK olarak adlandırılan belirli bir konsantrasyonun üzerinde, daha önce çözelti halinde bulunan polimer molekülleri toplanır ve miseller oluşturur. İlaç dağıtımı için kullanılan Pluronic ailesinin üyeleri, 37°C'de 1 µM ila 1 mM'lık bir KMK'ya sahiptir. Ayrıca misel oluşumu, güçlü bir sıcaklık duyarlılığına sahiptir. PF127'nin konsantrasyona bağlı olarak sol-jel geçiş sıcaklığı Şekil 2.20'de gösterilmiştir.



Şekil 2.20 : PF127'nin konsantrasyona bağlı olarak geçiş sıcaklığı [165].

KMS değerinin altında, etilen ve propilen oksit blokları hidratlanır ve poli(propilen oksit) suda nispeten çözünür. Sıcaklık artışı ile PPO zincirleri daha az çözünür hale gelir ve misel oluşumu gerçekleşir (Şekil 2.21B). [166].



Şekil 2.21 : A. Pluronic F127 molekülünün kimyasal yapısı. **B.** PF127 kopolimerinden misel oluşumunun şematik gösterimi [167].

Düşük sıcaklıklarda sıvı halde olan Pluronic çözeltileri, belirli sıcaklık değerlerinin üzerine çıktığında jelleşmekte ve soğutulduğunda tekrar sıvı hale dönmektedir. PF127 jel sisteminin bu tersine çevrilebilir geçiş davranışı, çeşitli biyoaktif ajanların farklı ilaç salım sistemlerinde uygulanmıştır [17]. PF127, ilaç iletimi için iyi bir taşıyıcı olmasının yanı sıra, doğrudan hücre içinde yer değiştirebilir ve çeşitli hücre fonksiyonlarıyla etkileşime girerek mitokondriyal solunum, apoptotik sinyal iletimi ve gen ekspresyonu gibi süreçleri değiştirebilir [168]. %70 oranında PEO ve %30 oranında PPO üniteleri içeren PF127 ile hazırlanan jellerde ilaç salımının çözeltilere oranla daha uzun sürdüğü, termo-jelin sertliğinin ilaç salımını kontrol ettiği ve bunun PF127'nin konsantrasyonuyla bağlantılı olduğu görülmüştür. Sezgin ve ekibi tarafından yapılan bir çalışmada; suda çözünürlüğü oldukça az olan antikanser ajanların, Pluronic serisine ait bazı kopolimer yapıları kullanılarak (PF127, PF68, PF85) çözünürlüğünün arttığı belirlenmiştir [169].

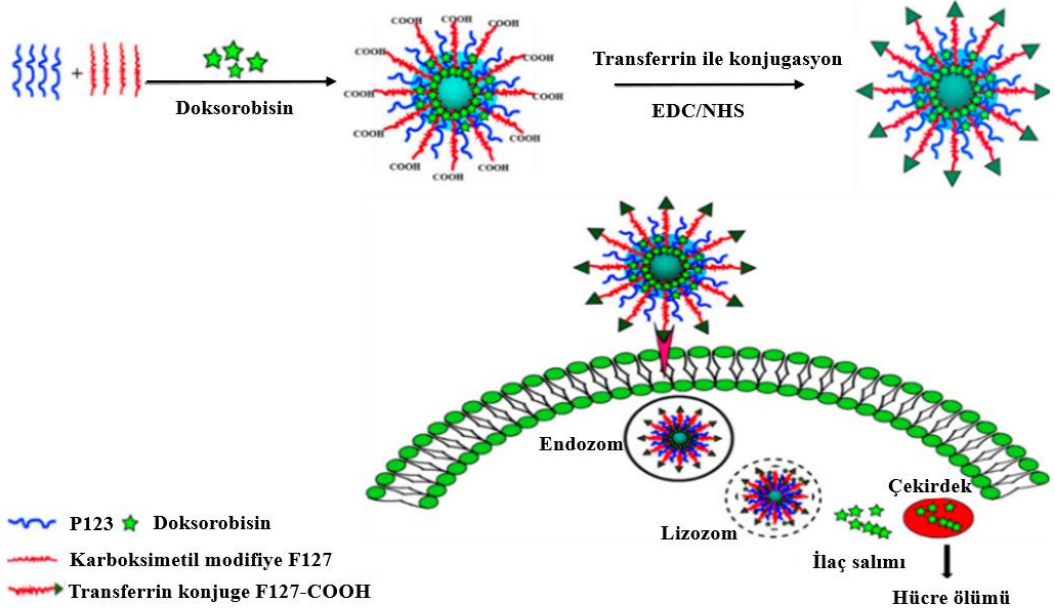
Suda zor çözünen etken maddeleri çözme yeteneğinin yanı sıra, fizyolojik koşullar altında ilaç salımı bu polimerlerin ilaç salım sistemleri olarak kullanılabilmesini sağlayan başka bir parametredir. Blok kopolimer misellerinden ilaç salım kinetiği miselden ilaç difüzyon hızına, misellerin stabilitesine ve biyolojik bozunabilirliğine bağlıdır [170]. Pluronic, biyo-uyumlu olmasına rağmen, biyolojik olarak parçalanmadığından salım kinetiği öncelikle Pluronic çekirdeği ile ilaç arasındaki

etkileşimlerin gücüne, ilacın moleküler hacmine, konsantrasyonuna ve misel içindeki konumuna bağlıdır. Güçlü ilaç etkileşimleri, ilaç yüklemesini artırır ve salım oranını azaltır. Bundan dolayı ilaç salımını optimize etmek için ikisi arasında ince bir denge gereklidir. Hidrofobik çekirdek içinde lokalize olan hidrofobik ilaçlar için salım yavaştır ve bu salım difüzyon hızı ile tanımlanır [171]. Aynı zamanda düşük sıcaklıkta sıvı halde olan ve salımı gerçekleşecek ilacı içeren PF127 solüsyonu, subkutan olarak enjekte edilebilir. Daha yüksek bir sıcaklığa ulaşıldığında (vücut sıcaklığındaki geçiş sıcaklığının üzerinde), formülasyon jel haline gelir. Bu durum ilaç salımını önemli ölçüde uzatabilmektedir [172].

Pluronikler yalnızca ilaç taşıyıcı sistemler açısından dikkat çekici değildir. Kemoterapötiklerin biyo-yararlanımını ve farmakokinetik özelliklerini değiştirmenin yanı sıra, hedeflenen tümör hücrelerinin ilaca tepkisini de değiştirmekte ve performansını artırmaktadır. Kemoterapi etkinliği için sınırlayıcı faktörlerden biri kazanılmış ilaç direncidir. Doksorubisinin (Dox), Pluronik misellerinde kapsüllenmesi, çok çeşitli Dox'a duyarlı ve dirençli insan tümörlerinde serbest Dox'a kıyasla üstün antitümör aktivite ile sonuçlanmıştır (Şekil 2.22) [173]. Transferin ile konjuge edilmiş PF127 ve P123 ile kaplanmış Dox yüklü silika nano-araçlar (P123/PF127-Tf), Dox'a dirençli meme kanseri hücrelerine geliştirilmiş *in vitro* ve *in vivo* iletim için de kullanılmıştır [174]. Bunun da ötesinde, Pluroniklerin antitümör aktivitelerini 2 ila 3 kat artırarak, çoklu ilaca dirençli (MDR) tümörleri antineoplastik ajanların aktivitesine karşı aşırı duyarlı hale getirme yeteneğine sahip olduğu keşfedilmiştir [175].

2.2.3 Pluronik jellerinin mekanik dayanımını artırma yöntemleri

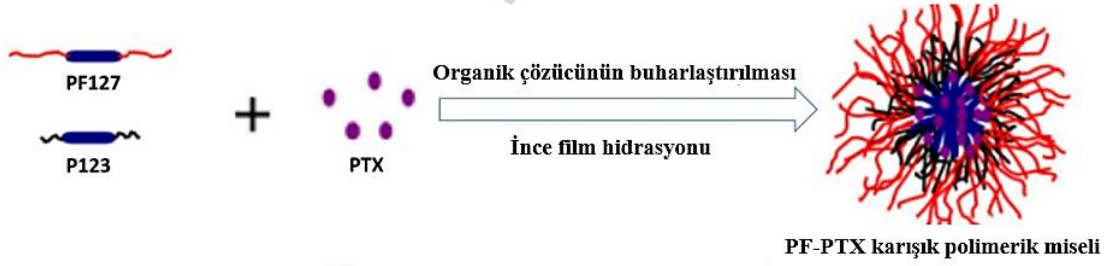
Pluronik kopolimerleri belirli bir sıcaklıkta çok hızlı bir şekilde çözelti formundan jel formuna geçse de, oluşan hidrojeller sulu ortam veya biyolojik sıvı ile temas halinde hızlı çözünmesi ile mekanik dayanımlarının yetersiz olmasından dolayı, fizyolojik koşullarda uzun süre dayanmamaktadır. Pluronik esaslı jellerin mekanik dayanımını arttırmak amacıyla literatürde çok sayıda yöntem kullanılmış olmakla birlikte tüm bu çalışmalar dört ana başlık altında toplanmıştır.



Şekil 2.22 : Dokсоробисин'e dirençli meme kanseri hücrelerinde reseptör aracılı iletim için transferin-konjuge polimerik nanoparçacık hazırlanmasının şematik gösterimi [174].

Karışık misel sistemleri; PF127 miselleri ile farklı Pluronik üniteleri veya amfifilik yapılarla oluşturulmuş misellerin bir arada kullanımıyla hazırlanmaktadır. Çeşitli çalışmalarda, Pluronik ve diğer polimerlerden oluşan karışık polimerik misellerin, tümör dokularında MDR'ye karşı anti-kanser biyoaktif ajanların etkisini artırma yeteneğine sahip olduğunu bildirilmiştir [176-178]. Bazı durumlarda PF127'nin tek başına hidrofobik ilaçlar için düşük çözünürlüğe sahip olması ve bölgede kısa kalma süresi nedeniyle optimal bir dağıtım aracı olarak kabul görmemiştir. PF127'nin formülasyonundaki basit bir değişiklik, PF127'nin hidrofobik ilaçlar için çözünürlüğünü büyük ölçüde artırabilmekte ve uygulama yerinde kalma süresini uzatabilmektedir. Karışık misel yapılarının oluşturulması ile termodinamik ve kinetik stabilitenin arttığı, ilaç yükleme kapasitesinin geliştiği, ilaç salım hızının daha iyi ayarlanabildiği ve modifikasyonlara karşı uyumun güçlendiği bilinmektedir [179]. Bu doğrultuda PF127 ile karışık miseller sentezlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, antikanser bir ilaç olan paklitakselin (PTX) kapsüllemesi için Pluronik P123/F127 (PF-PTX) karışık miselleri incelenmiştir. Şekil 2.23'te, karışık miselin çekirdeğinde PTX ilacının kapsüllemesi ile birlikte karışık misel oluşumu gösterilmektedir. Elde edilen yapı içindeki ilacın, standart ilaca göre daha uzun sürede salımının

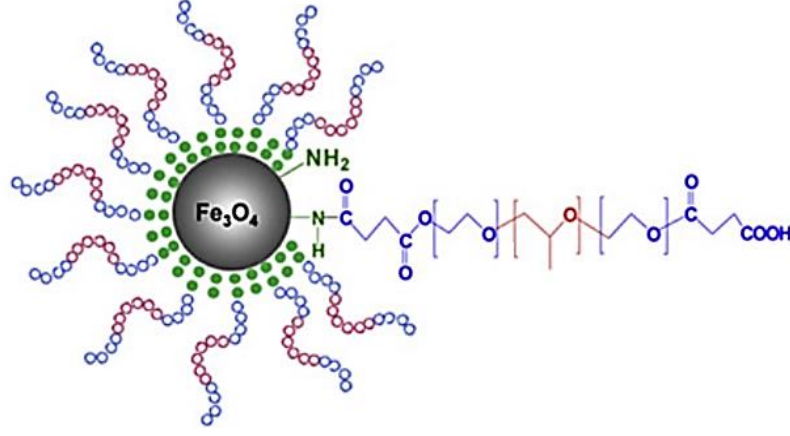
gerçekleştiği, PTX'in dolaşım süresini uzadığı ve plazma eliminasyon oranını azaldığı gözlemlenmiştir [178].



Şekil 2.23 : PTX ile PF127 ve P123 karışık polimerik misellerinin (PF-PTX) geliştirilmesinin şematik gösterimi [178].

Pluronik konjuge nanopartiküller; sistemin mekanik mukavemetini arttırarak, ilaçların sistemik sitotoksitesini azaltmak ve anti-kanser ilaçlarının terapötik etkinliğini arttırmak için araştırılan yöntemlerden bir diğeridir. Nanopartiküllerin (NP'ler), kapsüllenmiş ilaçların etki süresini ve çözünürlüğünü arttırması, hidrofobik ilaçların kapsülleme etkinliğini iyileştirmesi gibi özelliklerinden dolayı farmasötik biyoteknolojinin birçok alanında ilgi görmüştür [180]. NP'ler, ilacın lezyon üzerindeki etkisini sürdürme, sistemik yan etkileri azaltma, tümör içine ekstravazasyonu kolaylaştırma ve kapsüllenmiş ilacı hedeflenen tümör kitlesine ulaştırma gibi çeşitli fizyolojik engelleri aşma yeteneklerine sahip oldukları bilinmektedir [181]

NP'ler ve Pluronik, kan beyin bariyerini (KBB) geçme yeteneğine sahip moleküllerdir. Manyetik nanoparçacıkları (MNP'ler), biyoaktif ajanın hedef bölgeye teslimi için yaygın olarak kullanılmaktadır. Düşük toksisite ve iyi uyumluluk gibi özellikleri sayesinde büyük ilgi görmektedirler [182-184]. Faz transferi [185], hidrofobik etkileşim [186, 187], elektrostatik etkileşim [187] ve tiyolatlanmış Pluronik moleküllerin modifikasyonu [188] gibi farklı tekniklerle Pluronik ile MNP'leri geliştirmek için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Pluronik ile konjuge edilmiş MNP'ler, dahil edilen biyoaktif ajanın hedeflenen tümör hücrelerine iletimi için verimli bir şekilde kullanılmaktadır (Şekil 2.24) [151].



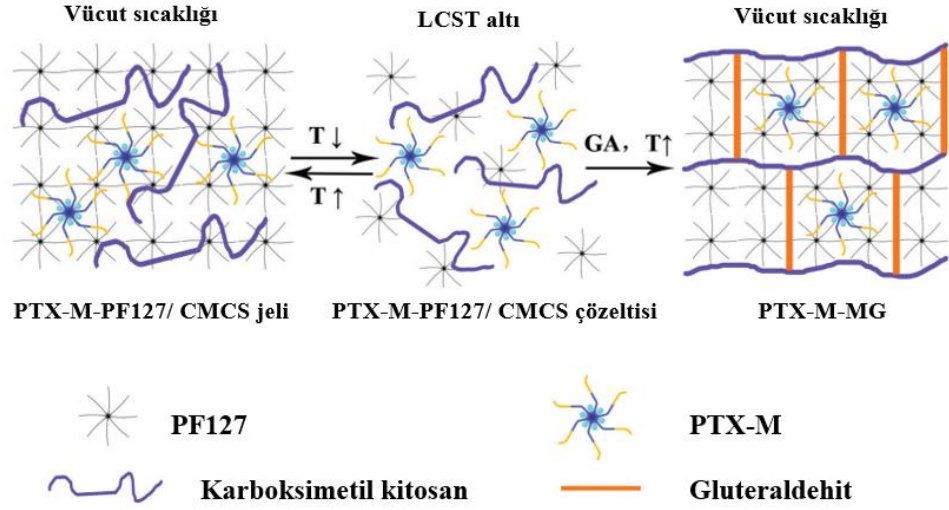
Şekil 2.24 : Manyetik nanopartiül ile konjuge Pluroniğin şematik gösterimi [189].

Yapı özelliklerini güçlendirmek amacıyla Pluronic konjuge nanopartiküller üzerine de çalışmalar yapılmıştır. Simon ve ekibi tarafından gerçekleştirilen çalışmada Pluronic-Nanogold hibrit nanopartiküller (Au-PF127), hem indirgeyici hem de stabilize edici ajan olarak Pluronic F127 blok kopolimeri kullanılarak sulu çözelti içinde tek aşamalı bir reaksiyonda başarılı bir şekilde hazırlanmıştır [190].

PF127 zincirlerinin fonksiyonlandırılması veya direk olarak farklı polimer yapıları ile kullanımıyla hidrofobik etkileşimlerin artmasıyla jel yapılarının sağlamaştırıldığı bir yöntemdir. Yapılan bir çalışmada, hızlı çözünmenin üstesinden gelmek, PF127 jellerinin mekanik mukavemetini geliştirmek, PTX'in yükleme kapasitesini artırmak ve salım süresini uzatmak amacıyla karboksimetil selüloz (CMCS) ile fonksiyonlandırılmış PF127 misel-hidrojel hibrit sistemleri (PTX-M-PF127) hazırlanmıştır. CMCS sahip olduğu amino gruplarıyla yapı içerisine eklenen gluteraldehit (GA) ile bağlanarak daha da dirençli jellerin (PTX-M-MG) oluşmasını sağlamıştır (Şekil 2.25) [191].

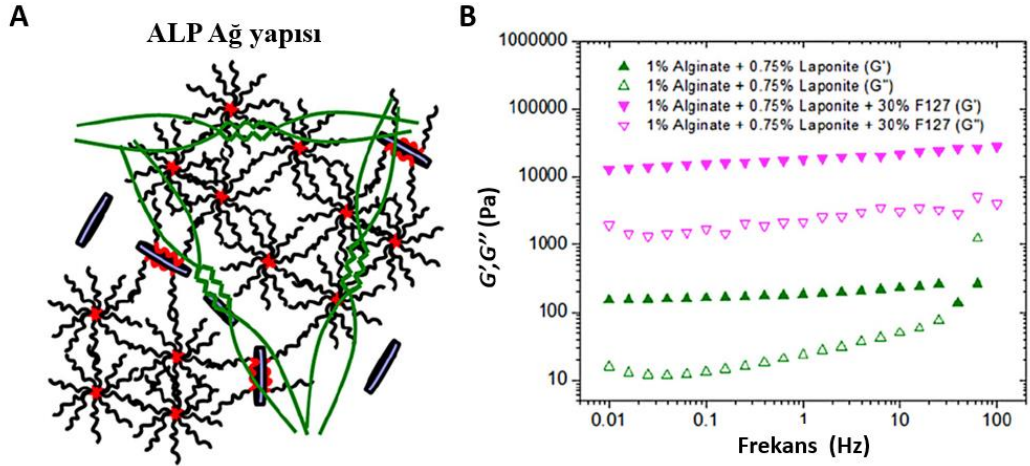
Missirlis tarafından gerçekleştirilen çalışmada, akrilat ile fonksiyonlandırılmış PF127 ve PEG kullanılarak kimyasal çapraz bağlı hidrojel nanopartikülleri hazırlanmıştır [192]. Oluşturulan PF127 jellerinin fizyolojik sıvılarda dağılma hızını düşürmek amacıyla, amin ile sonlandırılmış Pluronic üniteleri üzerinde lineer polisakkarit hyaluronik asit aşılansarak jeller oluşturulmuştur [193]. Metakrilatlanmış kitosan ve diakrilatlanmış PF127 yapıları kullanılarak hazırlanan kimyasal çapraz bağlı hidrojjellerin gen terapisi uygulamalarında lokal kullanım için uygun olduğu belirtilmiştir [194]. Fang ve ekibi tarafından gerçekleştirilen çalışmada diakrilatlanmış

PF127 miselleri çapraz bağlayıcı olarak kullanılarak mekanik mukavemeti yüksek, mekanik duyarlı yara örtüleri geliştirilmiştir. Misel çapraz bağlı hidrojelin, sırasıyla 112 kPa ve %1420'ye kadar nihai çekme mukavemeti ve çekme gerilimi ve 1,41 MPa'ya kadar basınç gerilimi ile mükemmel mekanik özelliklere sahip olduğu görülmüştür [195].



Şekil 2.25 : PTX-M-MG misel-termojel hibrit sisteminin şematik gösterimi [191].

Jellerin mekanik özelliklerini iyileştirmek amacıyla uygulanan ve son dönemlerde oldukça popüler olan yöntemlerden biri **çift/üçlü ağyapılı jellerin (double/triple network gels)** hazırlanmasıdır [196, 197]. Bu düşünceyle sentezlenen aljinat, sentetik kil (Laponite®) ve PF127 nano kompozit ALP jellerinin elastik ve viskoz modül değerlerinin tekli ağ yapılarına kıyasla çok daha iyi olduğu belirtilmiştir (Şekil 2.26) [198].



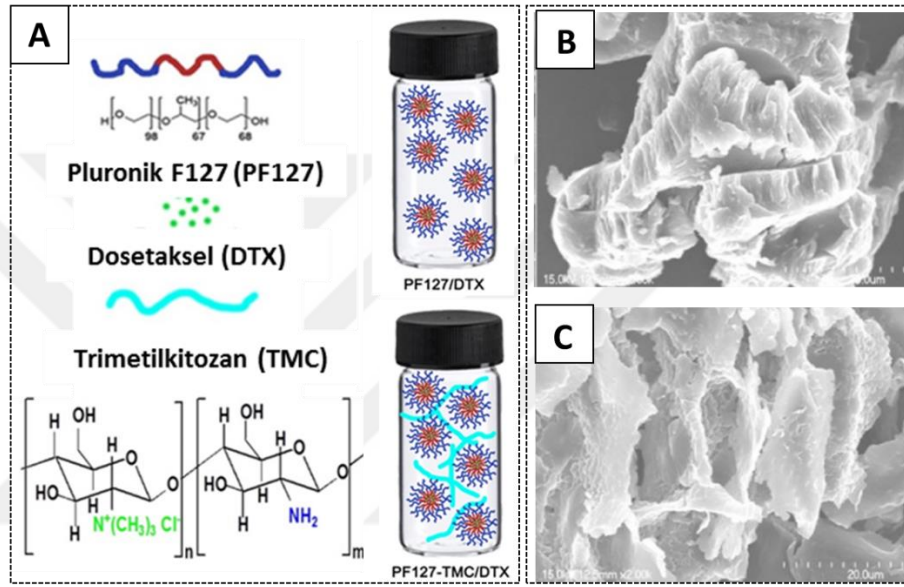
Şekil 2.26 : A. PF127 nano kompozit ALP jellerinin şematik gösterimi B. PF127 nano kompozit ALP jellerinin frekansa bağlı depo modül (G') ve kayıp modül (G'') değerlerinin değişimi [198].

PF127 varlığında poliakrilik asit çapraz bağlanmasıyla hazırlanan iç içe ağ yapılı jellerde de (interpenetrating polymer network, IPN) malzemenin daha tok olduğu gözlemlenmiş, %78 deformasyonda parçalanarak tekli ağ yapının, IPN olarak tasarlanmasıyla %98 deformasyonlara kadar dayandığı ortaya konmuştur [199]. PF127 zincirlerinin jelatin ile birlikte kullanımıyla elde edilen kompozit yapıların sertliğinin jelatin içeriğinin artırılmasıyla lineer bir şekilde arttığı gözlemlenmiştir [200]. Missrlis ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, akrilat ile fonksiyonlandırılmış PF127 ve PEG kullanılarak kimyasal çapraz bağlı hidrojel nanopartikülleri hazırlanmıştır [192]. Oluşturulan PF127 jellerinin fizyolojik sıvılarda dağılma hızını düşürmek amacıyla, amin ile sonlandırılmış Pluronik üniteleri üzerinde lineer polisakkarit hyaluronik asit aşılansarak jeller oluşturulmuştur [193]. An ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada menisküs tedavisinde kullanılmak üzere PF127 ile birlikte fibrin kullanılarak enjekte edilebilir bir hidrojel sistemi geliştirilmiştir. PF127 ile yarı iç içe geçmiş bir polimer (yarı-IPN) ağı oluşturularak hidrojel mekanik özellikleri güçlendirilmiştir. Ayrıca biyomedikal kompozit malzemelerin mekanik özelliklerini güçlendirebilen sentetik ve termoplastik bir biyomateryal olan poli(metil metakrilat) (PMMA) hidrojellerin mekanik özelliklerini daha da güçlendirmek için yapıya dahil edilmiştir [201].

Kitozan varlığında PF127 jelleri

N,N,N-Trimetil kitosan (TMC), geniş bir pH aralığında suda çözünürlük gösteren, ancak doğal kitosan ile karşılaştırıldığında vücut durumunda çözünmeyen, kitosanın bir pozitif kuaternize türevidir. Toksik olmayan ve muko yapışan olan TMC'nin,

çeşitli dokularla etkileşime girebildiği ve proteinlerin verilmesi için burun boşluğuna uygulandığında mukozal tabakayı geçebildiği için hedeflenen taşıyıcı olarak avantajlar sağlar. 2019 yılında yayınlanan bir çalışmada, TMC varlığında hazırlanan PF127 jellerinin morfoloji, fiziko-kimyasal ve biyolojik özellikler üzerindeki etkisi incelenmiştir [202]. Şekil 2.27’de verildiği üzere, jel sistemine TMC'nin eklenmesi, PF127 katmanlarının yakın paketlenmesini engellediğinden jel ağının gözenekliliğini arttırmıştır. Yüzeyde artan gözeneklilik ise jelden daha fazla dosetaksel (DTX) salınımına yol açmıştır.



Şekil 2.27 : A. PF127 jellerinin trimetilkitosan (TMC) varlığında hazırlanması. **B.** PF127-TMC/DTX ve **C.** PF127/DTX jelinin SEM görüntüleri. [202]

PF127 ve TMC'nin bir arada kullanıldığı bir başka çalışmada hem pH'a hem de ısıya karşı duyarlı olan çift duyarlı bir hidrojel geliştirilmiştir. Isıya duyarlılık PF127 tarafından sağlanırken, N,N,N-trimetil kitosan (TMC) ve polietilen glikolatlı hyaluronik asit kullanılarak pH'a duyarlılık sağlanmıştır. Yapılan çalışmada hidrojellerden ilaç salınımı ve taşıyıcıların ilaç hedeflemesi artırılmıştır [203]. Mevcut tez kapsamında benzer şekilde kitosan fonksiyonlandırıldıktan sonra (f-kitosan) elde edilen ışığa duyarlı karışık misel yapılarına eklenerek etkileşimlerin zayıflatılması planlanmıştır. Elde edilen yapıların ilaç taşıyıcı ajanlar olarak kullanılmasının jelleşme kinetikleri üzerine etkileri incelenmiştir. Özgün olan karışık misel yapılarına f-kitosan eklenmesiyle elde edilen formülasyonlar da yenidir. Hazırlanan akıllı jellerin ışık uyarımı altında verecekleri cevap foto ünitesi kullanılarak reometre cihazında detaylı bir şekilde izlenmiştir.

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1 Malzemeler

Nişasta hidrojellerinin sentezinde kullanılan çözümlü nişasta ve sodyum hidroksit (Sigma-Aldrich), epiklorohidrin (ECH, Fluka), yüksek amiloz içeren mısır nişastası (~%70 amiloz, Hylon VII) (Ingredion Germany GmbH), streptococcus equi'den elde edilmiştir. Viskozite ortalamalı moleküler ağırlığı 1.2×10^6 g·mol⁻¹ olan hyaluronik asit sodyum tuzu (HA) (Sigma-Aldrich) ve etilen glikol diglisidil eter (EGDE, Polyscience) alındığı gibi kullanıldı. Deiyonize su, Human Power I arıtma sistemi ile elde edilmiştir.

Pluronic hidrojellerinin sentezinde kullanılan 4-Siyano-4[(dodesilsülfaniltiyokarbonil)sülfanil]pentanoik asit (CDTP, min. % 97, Strem Chemicals), 7-hidroksi-4-metilkumarin (%98, Sigma), 2-bromoetanol (%95, Sigma-Aldrich), potasyum karbonat (K₂CO₃, ≥%99, Sigma-Aldrich), trietilamin (TEA, Sigma-Aldrich), metakriloil klorür (Aldrich), poli(etilen glikol) metil eter (PEG, $M_n=5000$ g/mol, Aldrich), 4-dimetilamino piridin (DMAP, Merck), *N,N'*-disikloheksilkarbodiimmit (DCC, %99, Sigma-Aldrich), sodyum sülfat (Na₂SO₄, Merck), Pluronic® F127 (PF127, Sigma-Aldrich), kitosan (50-190 kDa, Aldrich), sodyum iyodür (NaI, ACS reagent, ≥ 99.5%), sodyum hidroksit (NaOH, ACS reagent, ≥ 97.0%, pelet), metil iyodür (Sigma-Aldrich), hidroklorik asit (%36.5-38, Sigma-Aldrich), 1-metil-2-pirolidinon (Merck), hekzan (Merck), etanol (Merck) ve aseton (Merck) satın alındığı gibi kullanılmıştır. Diklorometan (DCM, Merck) ve *N,N*-dimetilformamit (DMF, %99.8, Alfa Aesar) 4 Å moleküler sieve ile kurutulmuş kullanılmıştır. 2,2'-Azobis(2-metilpropiyonitril) (AIBN, Aldrich) metanolden kristallendirildikten sonra kullanılmıştır. *ter*-Bütil metakrilat (tBMA, %97, Aldrich) monomeri bazik alümina kolonundan geçirilip inhibitörden uzaklaştırıldıktan sonra kullanılmıştır.

3.2 Kullanılan Cihazlar

Fourier dönüşümlü infrared (FT-IR) spektrumları platin-ATR aksesuarı ile (ZnSe kristali) ALPHA Bruker spektrometresinde kaydedilmiştir. ¹H NMR ölçümleri, 500 MHz'lik Bruker NMR cihazında DMSO-D₆ çözücüsü kullanılarak alınmıştır. UV-Vis

absorbsiyon spektrumları Hitachi marka U-2900 UV-Vis spektrofotometresi ile ölçülmüştür. Jel geçirgenlik kromatografisi (GPC) ölçümleri, harici bir Wyatt Technologies Dawn Heleos-II çok açılı ışık saçılım (MALS) dedektörüne ve bir Wyatt Technologies DynaPro NanoStar dinamik ışık saçılım (DLS) dedektörüne bağlı Tosoh EcoSEC ikili dedektör (RI ve UV) SEC sistemi kullanılarak yapılmıştır. Ölçümler 45°C'de 0.5 mL/dk akış hızında yapılmıştır ve çözücü olarak DMF kullanılmıştır. Seri olarak bağlanmış bir Tosoh TSKgel G5000HHR kolonu (7,8 x 300 mm), bir Tosoh TSKgel G3000HHR kolonu (7,8 x 300 mm), EcoSEC için bir Tosoh TSKgel SuperH-RC referans kolonu ve bir Tosoh TSKgel HHR-H guard kolonu (6 x 40 mm) kullanılmıştır. Mutlak moleküler ağırlıklar ve moleküler ağırlık dağılımları, Astra 7.1.2 yazılım paketi kullanılarak hesaplanmıştır. DSC ölçümleri, TA marka Discovery DSC 250 cihazında 25°C ile 250°C aralığında, 10°C/dk ısıtma hızında ve azot atmosferi altında yapılmıştır. DLS ölçümleri, Misellerin ortalama partikül boyutu ve partikül boyutu dağılımları, 633 nm dalga boyunda ve 25°C'de bir Malvern NanoZSP dinamik ışık saçılım (DLS) spektrometresi cihazı kullanılarak metanol içerisinde 173°'lik ölçüm açısı ile belirlenmiştir. Misellerin oluşturulması, enjeksiyonlar 19.23 mm çaplı şırıngalar kullanılarak Sujipuli Technology NE-1600 6 kanallı programlanabilir şırınga pompasında 1 mL/dk enjeksiyon hızıyla yapılmıştır. Reolojik ölçümler, Anton Paar marka MCR 102 Reometre cihazı ile takip edilmiştir. UV aydınlatma için projeden bütçesinden alınmış olan foto ünitesi ile 365 nm dalga boyunda aydınlatma ile sisteme ışık uyararı sağlanmıştır. Enjekte edilebilirlik testleri, Stable Micro System marka Tekstür Analiz cihazında 20°C'de gerçekleştirilmiştir. Formülasyonların ısı kontrolü için proje yine kapsamında alınan termal kabin kullanılmıştır.

3.3 Deneysel Kısım

3.3.1 Nişasta jellerinin hazırlanması

İlk kısımda nişasta, NaOH, ECH ve HA miktarları değiştirilerek dört set deney yapılmıştır. Temel olarak HA içeren ve içermeyen iki tip jel sentezi gerçekleştirilmiştir. HA içermeyen tipik bir jel sentezinde, nişasta tozu 50 ° C'de su içinde dağıtılmış / çözüldürülmüş ve 5 dakika karıştırılmıştır. ECH eklendikten sonra, sistem 30 dakika daha karıştırılmaya devam edilmiştir. Son aşamada, NaOH çözeltisi, plastik şırıngalara ve Reometrenin plakaları arasına aktarılmadan önce reaksiyon

çözeltilisine ilave edilmiş ve bu reaksiyon oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. HA içeren jellerin sentezinde, nişastanın suda çözülmesinden sonra benzer şekilde 30 dakika karıştırılarak ECH ve EGDE eklenmiştir. Diğer taraftan HA, NaOH içerisinde çözüldürülmüş ve ardından nişasta çözeltisi ile karıştırılmıştır. Hızlı bir kısa karıştırma adımından sonra, reaksiyon çözeltisi şırıngalara ve aynı zamanda Reometre plakaları arasına aktarılmıştır.

3.3.2 Amfifilik kopolimer - PF127 jellerinin hazırlanması

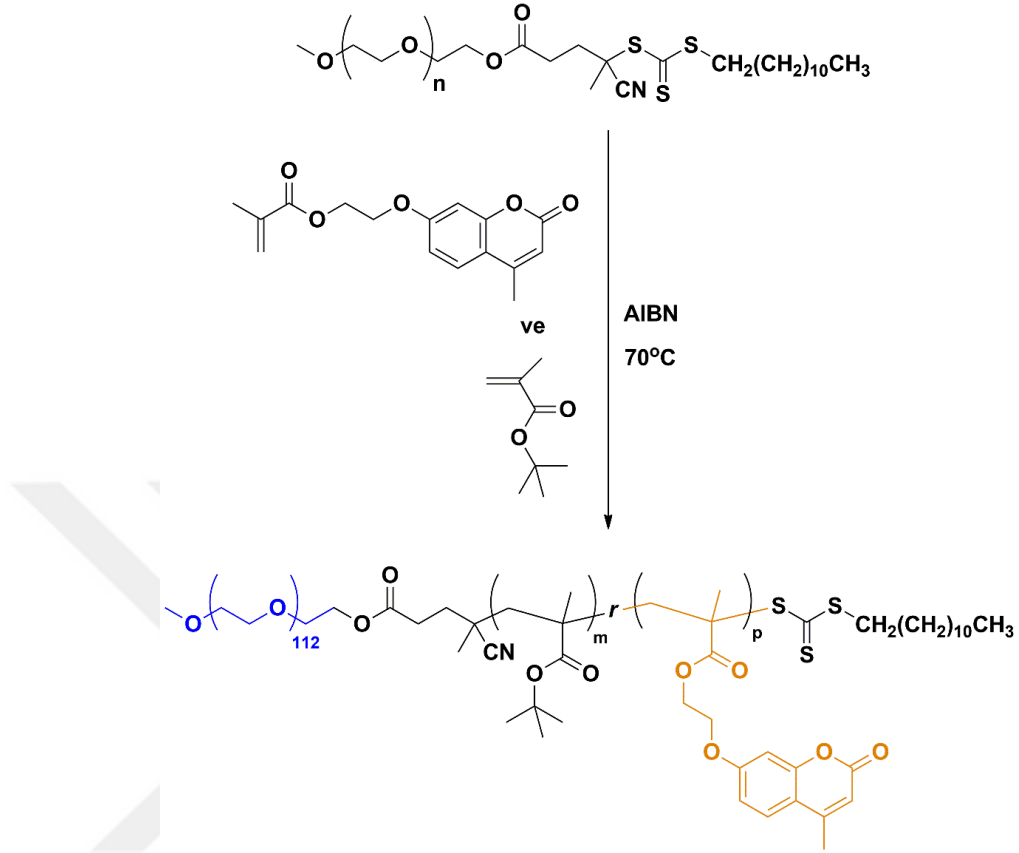
Bu kısımda yer alan amfifilik polimer sentezleri ve karakterizasyonları 119Z518 numaralı TÜBİTAK 1001 projesi kapsamında Prof. Dr. Binnur Temel ve Hatice Kübra Batu tarafından gerçekleştirilmiştir.

Hem mekanik olarak güçlü hem de enjekte edilebilir jeller elde etmek için sıcaklığa duyarlı Pluronic F127 miselleri, ışığa duyarlı kumarin ve azobenzen gruplarını taşıyan amfifilik kopolimerlerle birleştirilmiştir. Bu amaçla sentezlenen dört monomer; 7-(2-metakriloksietoksi)-4-metilkumarin (CEMA), 7-metakriloiloksi-4-metilkumarin (CMA), 4-[4-[(4-fenil)azo]fenoksi]etil metakrilat (FAFEMA), 4-[4-[(4-Fenil)azo]fenoksi] metakrilat (FMA) ve ter-bütül metakrilat (tBMA) ile tersinir katılma-ayrılma zincir transfer (RAFT) polimerizasyonu yoluyla polimerize edilmiştir. Polietilen glikol (PEG) makroRAFT ajanı kullanılarak amfifilik diblok terpolimerler elde edilmiştir. Bu polimerler, sulu çözelti içerisinde miseller oluşturmaktadır.

3.3.2.1 RAFT polimerizasyonu ile PEG-b-P(tBMA-r-CEMA) sentezi

İlk olarak CEMA monomerinin ter-bütül metakrilat (tBMA) monomeri ile rastgele kopolimerizasyonu gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1). Kullanılacak PEG-CTA ve CEMA miktarı düşünülerek $[M]/[makroRAFT]/[AIBN]$ oranı 200/1/0.33 olarak seçilmiştir. Monomer oranları için tBMA/CEMA 95/5 ve 90/10 oranlarının çalışılmasına karar verilmiştir. 95/5 monomer oranı ile ilk polimerizasyon DMF içerisinde 24 saatte gerçekleştirilmiştir (PEG-b-P(tBMA-r-CEMA)-1). Daha sonra 14 saatlik bir polimerizasyon gerçekleştirilmiş (PEG-b-P(tBMA-r-CEMA)-2), bu sürede de yüksek dönüşümde polimer elde edildiği belirlenmiştir. Polimerizasyon süresinin 14 saat olarak kullanılmasına karar verilmiştir. Ancak, polimerizasyon sonrasında DMF'in polimerden uzaklaşmadığı ve 1H NMR spektrumunda çıktığı görülmüş ve sonraki

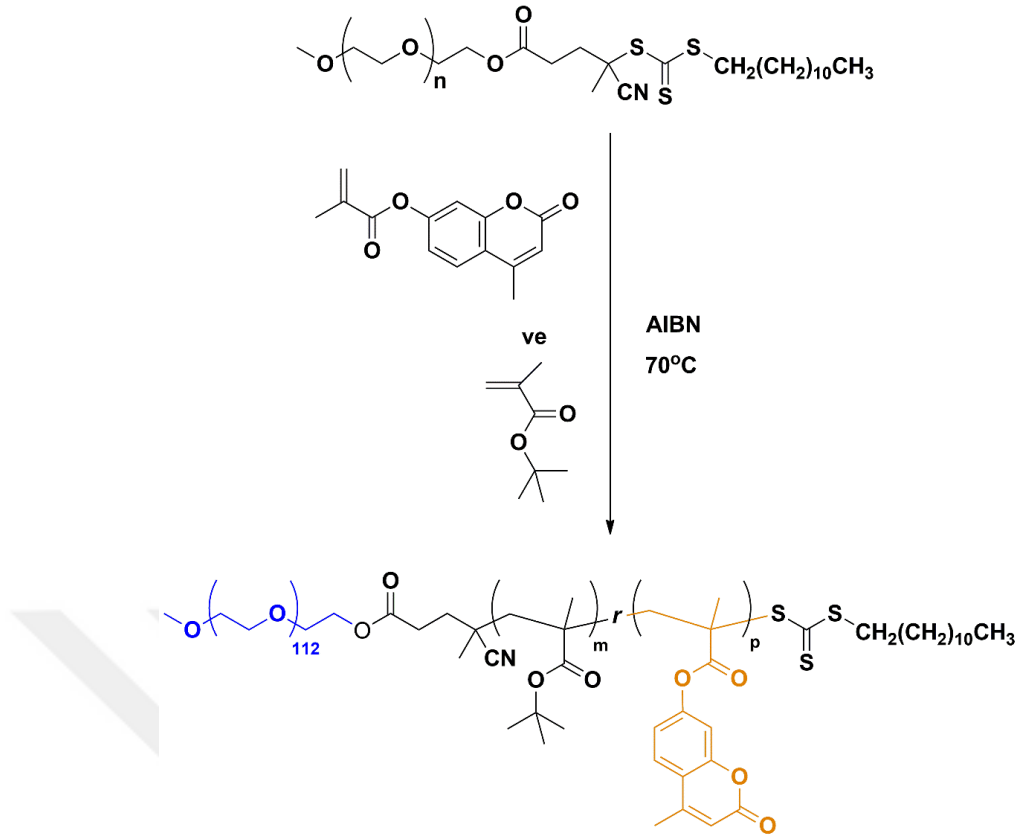
aşamalarda uzaklaştırılmamış olan DMF'nin istenmeyen problemlere yol açmaması için polimerizasyonun toluen içerisinde yapılmasına karar verilmiştir.



Şekil 3.1 : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA) sentezi.

3.3.2.2 RAFT polimerizasyonu ile PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CMA) sentezi

Bir önceki aşamada sentezlenen polimerlere benzer şekilde CMA monomeri kullanılarak amfifilik kopolimerler oluşturulmuştur (Şekil 3.2). [M]/[makroRAFT]/[AIBN] oranı yine 200/1/0.33 şeklinde kullanılmış, 95/5 ve 90/10 tBMA/CMA oranı ile polimerler sentezlenmiştir. 95/5 monomer oranı ile ilk olarak yine DMF içerisinde bir polimerizasyon gerçekleştirilmiş ve daha önce elde edilen sonuçlara benzer şekilde polimerizasyon sonrasında DMF polimerden uzaklaştırılmamıştır.



Şekil 3.2 : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CMA) sentezi.

3.3.2.3 PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA) veya PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CMA)-PF127 jelleri

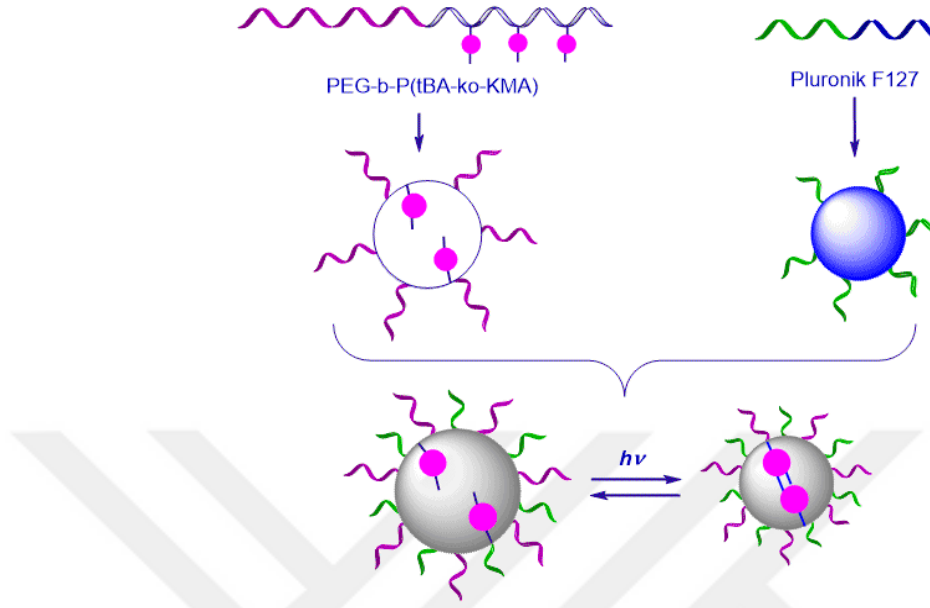
Hazırlanan ve tüm karakterizasyonları tamamlanan amfifilik PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA) ve PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CMA) kopolimerlerinin, PF127 sistemi üzerine etkilerini görmek amacıyla iki farklı yol izlenmiştir. Bunlar:

- i. Kopolimerlerin direkt olarak PF127 misel çözeltisi ile karıştırılması
- ii. PF127 ile amfifilik kopolimerlerin karışık misellerinin hazırlanması.

İlk olarak, PF127 çözeltisi 20 ağ/hac olacak şekilde buz banyosunda 5 saat karıştırıldıktan sonra bir gece boyunca 4°C sıcaklıkta bekletilmiştir. Daha sonra, PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA)-1 konsantrasyonu %1 ve %2 olacak şekilde %20 ağ/hac konsantrasyondaki sulu PF127 çözeltilerine eklenmiştir. 5 saatlik karıştırma sonunda elde edilen homojen çözeltilerin karakterizasyon aşamasına geçilmiştir.

Karışık misel çözeltileri hazırlamak üzere, sentezi gerçekleştirilmiş 4 farklı amfifilik polimer kullanılarak hazırlanan ve 4°C'de bekletilen misel çözeltilerine konsantrasyon %20 ağ/hac olacak şekilde PF127 katısı eklenmiştir. 5 saat boyunca buz banyosunda karıştırılan çözeltiler bir gece boyunca buzdolabında bekletilerek Şekil 3.3'te

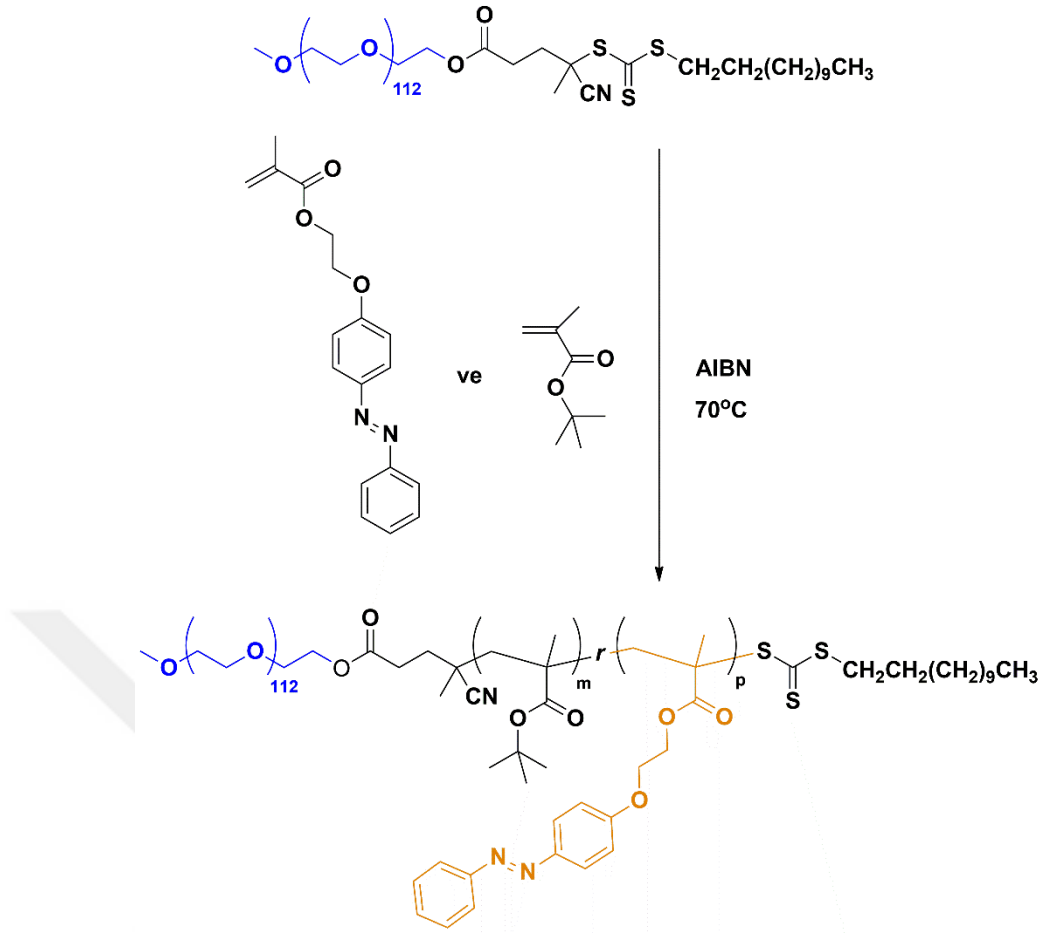
öngörüldüğü üzere karışık miseller oluşturulmuştur. Bu çözeltilerin sıcaklığa bağlı olarak tüm akış davranışları hem UV ışığı kapalıyken hem de 365 nm dalga boyundaki UV ışığı altında incelenmiştir.



Şekil 3.3 : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA) ve PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CMA) kopolimerleri varlığında PF127 jellerinin hazırlanması.

3.3.2.4 RAFT polimerizasyonu ile PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FAFEMA) sentezi ve karakterizasyonu

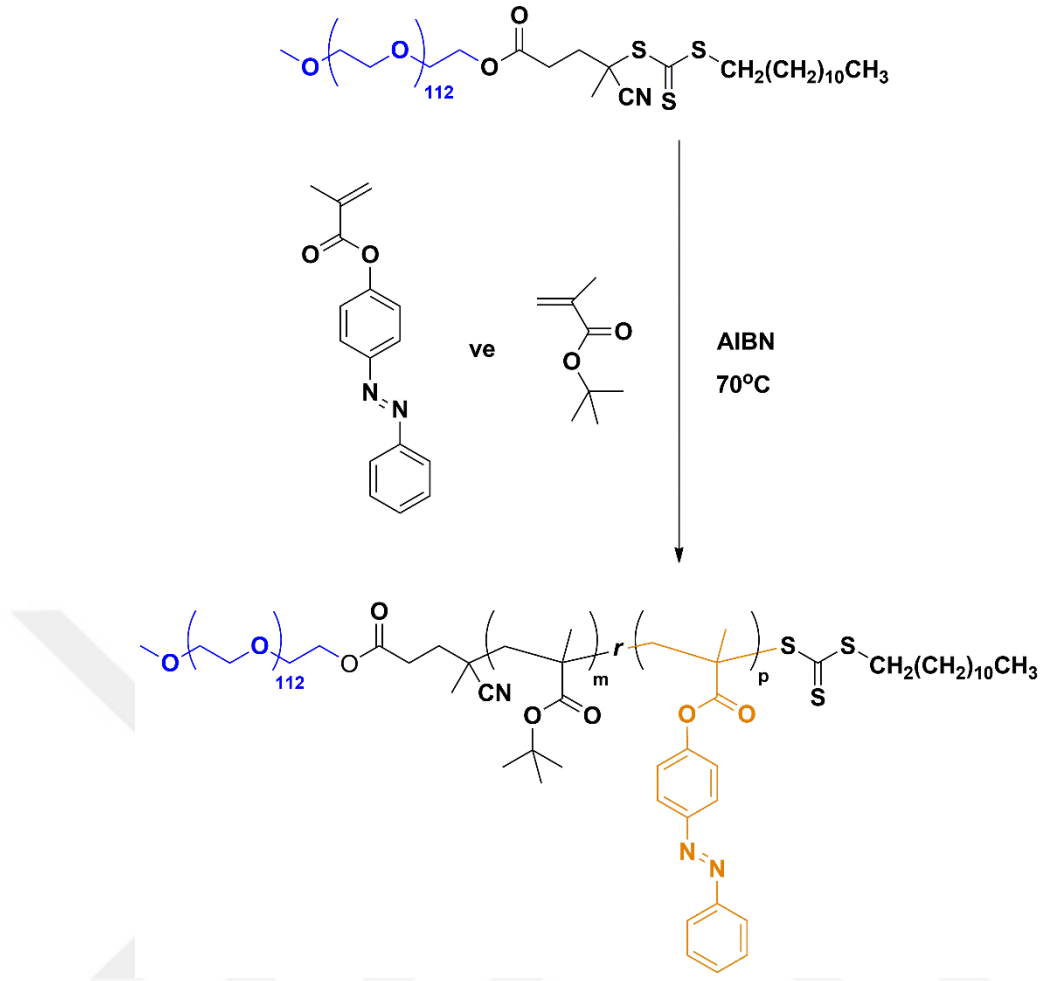
İlk olarak FAFEMA monomerinin ter-bütül metakrilat (tBMA) monomeri ile rastgele kopolimerizasyonu gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.4). Kullanılacak PEG-CTA ve FAFEMA miktarı düşünülerek $[M]/[\text{makroRAFT}]/[\text{AIBN}]$ oranı 200/1/0.33 olarak seçilmiştir. Monomer oranları için projenin ilk kısmında kullanılan oranlara uyularak tBMA/FAFEMA oranları 95/5 ve 90/10 olarak çalışılmış, sırasıyla PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FAFEMA)-1 ve PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FAFEMA)-2 polimerleri sentezlenmiştir.



Şekil 3.4 : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FAFEMA) sentezi.

3.3.2.5 RAFT polimerizasyonu ile PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FMA) sentezi ve karakterizasyonu

Bir önceki aşamada sentezlenen polimerlere benzer şekilde FMA monomeri kullanılarak amfililik kopolimerler oluşturulmuştur (Şekil 3.5).



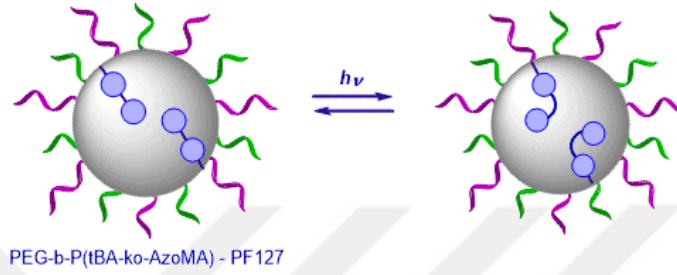
Şekil 3.5 : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FMA) sentezi.

[M]/[makroRAFT]/[AIBN] oranı yine 200/1/0.33 şeklinde kullanılmış, 95/5 ve 90/10 tBMA/FMA oranı ile toluen içinde 14 saatte sırasıyla PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FMA)-1 ve PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FMA)-2 polimerleri sentezlenmiştir.

3.3.2.6 PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FAFEMA) veya PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FMA)-PF127 jelleri

Kromofor grup olarak kumarin içeren polimer-PF127 sistemine benzer şekilde, amfifilik PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FAFEMA) (AzoP1) ile PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FMA) (AzoP3 ve AzoP4) kopolimerlerinin, PF127 sistemi üzerine etkilerini görmek amacıyla iki farklı yol izlenmiştir. Bunlar: i) kopolimerlerin doğrudan PF127 misel çözeltisi ile karıştırılması (PF127-AzoPx) ve ii) ve PF127 ile amfifilik kopolimerlerin karışık misellerinin hazırlanmasıdır (PF127-AzoMx). İlk olarak, PF127 çözeltisi % 20 ağırlık olacak şekilde buz banyosunda 5 saat karıştırıldıktan sonra bir gece boyunca 4°C sıcaklıkta bekletilmiştir. Daha sonra, polimer konsantrasyonu %2 olacak şekilde

PF127 çözeltilerine eklenmiştir. 5 saatlik karıştırma sonunda elde edilen homojen çözeltilerin karakterizasyon aşamasına geçilmiştir. PF127-AzoMx yapılarını hazırlamak üzere, sentezi gerçekleştirilmiş 3 farklı amfifilik polimer kullanılarak hazırlanan ve 4°C'ta bekletilen misel çözeltilerine konsantrasyon %20 ağırlık/hac olacak şekilde PF127 katısı eklenmiştir. 5 saat boyunca buz banyosunda karıştırılan çözeltiler bir gece boyunca buzdolabında bekletilerek karışık miseller oluşturulmuştur (Şekil 3.6).



Şekil 3.6 : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FAFEMA) ve PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FMA)-PF127 karışık misellerinin UV ışığı altında davranışları.

3.3.2.7 f-Kitosan varlığında amfifilik kopolimerler-PF127 jelleri

PF127 esaslı jelleri mekanik olarak iyileştirmek amacıyla amfifilik kopolimerler ile hazırlanmış ışığa duyarlı karışık misel yapılarına fonksiyonlandırılmış kitosan (f-kitosan) eklenmiştir. f-Kitosanın karışık misel yapısına etkisini belirlemek üzere üç farklı konsantrasyonda (%0.01, %0.1 ve %0.5) sisteme dahil edilmiştir. Bu doğrultuda, ilk olarak amfifilik polimerlerden misel çözeltileri hazırlanmış daha sonra belirtilen konsantrasyonlarda f-kitosan eklenmiştir. Son aşamada ise karışık misel çözeltilerini oluşturmak üzere %20 ağırlık/hac olacak şekilde PF127 polimeri sisteme dahil edilmiştir. 5 saat boyunca buz banyosunda karıştırılan çözeltiler bir gece boyunca buzdolabında bekletildikten sonra karakterizasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Kitosanın yapı üzerine etkisini daha iyi gözlemlemek amacıyla bu aşamada foto duyarlı ünite olan oranı yüksek (90:10) polimerler kullanılmıştır.

3.4 Hidrojellerin Karakterizasyonu

3.4.1 Şişme ölçümleri

Şırıngalardan çıkarılan nişasta hidrojelleri parçalar halinde kesilerek oda sıcaklığındaki su içine yerleştirilmiştir. Jelleri çevreleyen su, çözünür ve kullanılmayan reaksiyon bileşenlerini yıkamak için en az iki haftalık bir süre boyunca

her gün değiştirilmiştir. Şişme dengesi sağlanana kadar jel örnekleri oda sıcaklığında tartılarak şişme kinetiği test edilmiştir. Ağırlıkça relatif denge şişme oranı (m_{rel}), $m_{rel} = m_t / m_0$ olarak hesaplanmıştır. Burada m_t , t zamanında şişmiş jel numunesinin kütlesi ve m_0 jel hazırlandıktan sonraki kütlesidir. Şişme ölçümleri, ölçüm verilerinin standart sapmasını belirlemek için üç kez gerçekleştirilmiştir.

3.4.2 Reolojik ölçümler

Nişasta jelleri için gerçekleştirilen reolojik ölçümler aşağıda açıklanmıştır;

Paralel plakalarla osilasyon temelli ölçümler için Reometre cihazı (Physica MCR 302 Anton Paar, Almanya) kullanılmıştır. Reaksiyonların başlamasından önce, boşluk boyutu (plaka çapı 25 mm'dir) 1 mm'lik bir mesafeye ayarlanmış ve buharlaşmayı en aza indirmek için bir çözücü kapanı kullanılmıştır. Ağların temel reolojik karakterizasyonu zaman, frekans ve gerinim tarama testleri kullanılarak yapılmıştır.

Zaman taraması, salınımlı deformasyonun doğrusal rejim içinde olmasını sağlamak için 24 ° C'de $f = 1$ Hz frekansında ve $\gamma_0 = 0,01$ deformasyon genliğinde ölçülmüştür. Gerinim taraması, numunelerin doğrusal viskoelastik bölgesini (LVR) belirlemek için % 1-100 gerinim aralığında 1 Hz'lik sabit bir frekansta gerçekleştirilmiştir.

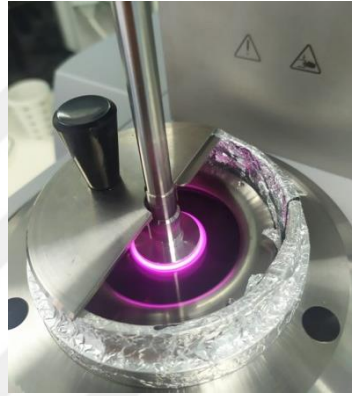
Frekans taraması, 0.1-100 Hz frekans aralığında LVR içinde % 1 gerilimde gerçekleştirilmiştir. Depolama modülü (G') ve kayıp modülü (G'') ve $\tan \delta$, nişasta numunelerinin reolojik özelliklerini değerlendirmek için kullanılmıştır. Sistemin tekrar edilebilirliğini kontrol etmek için her ölçüm en az iki kez tekrar edilmiştir.

Basamaklı deformasyon testleri, uygulanan kesme kuvvetlerine yanıt olarak numunelerin geri kazanım özelliklerini incelemek amacıyla uygulanmıştır. Buna göre, sabit frekansta (1.0 Hz) deformasyon %1'den %300'e değiştirilmiş ve tekrar %1'e geri getirilmiştir. Bu döngüsel işlem üç defadan fazla tekrarlanmıştır.

Gerilim relaksasyon testleri, reometre içinde oluşan jellere kademeli bir şekilde sabit bir kayma deformasyonu uygulanarak gerçekleştirilmiş ve ortaya çıkan gerilim σ (t, γ_0) zamanın bir fonksiyonu olarak izlenmiştir. Bu deneyler, gerilim oranı 0,01'den 300'e artan şekilde gerçekleştirilmiştir. Her jel için, $\sigma = 0.01$ 'de ölçülen modülden %10'dan daha az sapan gevşeme modülü değerinden başlayarak çeşitli γ_0 'da gerilim relaksasyon deneyleri gerçekleştirilmiştir.

Amfifilik kopolimer PF127 jelleri için gerçekleştirilen reolojik ölçümler aşağıda açıklanmıştır;

Hazırlanacak jellerin biyo-uygulamalarda kullanımı hedeflendiğinden, enjekte edilebilir olması, enjeksiyon yapılan bölgede stabil bir şekilde kalması ve farklı dalga boyunda ışık uyararı ile birlikte akış davranışlarının değişmesi beklenmektedir. Tüm bu gereksinimleri karşılamak adına hazırlanacak jellerin reolojik özelliklerinin izlenmesi ve modül değerlerinin belirlenmesi oldukça önemlidir. Bu amaç doğrultusunda, hazırlanan çözelti ve jellerin reolojik özellikleri Reometre cihazı ile izlenmiştir. Işık uyararı ile bu özelliklerin değişiminin takibi yani jellerin cevabının belirlenebilmesi için ise cihazın foto ünitesinin kullanılmıştır (Şekil 3.7).



Şekil 3.7 : Reometre cihazında foto ünitesi kullanılarak ölçümlerin gerçekleştirilmesi.

Hidrojellerin akış özelliklerini değerlendirmek amacıyla, reometre cihazında G' ve G'' değerlerinin zamana, frekansa ve deformasyona bağlı takibi hem oda sıcaklığında hem de $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de gerçekleştirilmiştir. Jellerin viskoziteleri, G' ve G'' değerleri, sırasıyla rotasyon testleri ile takip edilmiştir. Reometre ölçümlerini standardize etmek amacıyla oda sıcaklığında gerçekleştirilen tüm ölçümler için plakalara alınan örnekler öncelikle 5 dk boyunca $24\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de bekletilmiştir. Hazırlanan formülasyonların, sıcaklık profillerinin oluşturulması, viskozite ölçümleri, frekans ve deformasyon taramaları ve zamana bağlı modül değerlerinin takibi şeklinde 5 farklı test uygulanmıştır.

Sıcaklık Profilleri: Formülasyonların sıcaklığa duyarlılığın incelenmesi amacıyla ilk olarak sıcaklık profilleri oluşturulmuştur. Bu doğrultuda sistem ilk olarak $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'den $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye $0.5\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{dk}$ hızında ısıtılmış ve sonrasında $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 5 dk bekletilmiştir. Son aşamada ise aynı hızda $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'den $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye soğutulmuş olup sıcaklığa ve zamana bağlı

olarak G' ve G'' değerleri takip edilmiştir. 25 mm'lik paralel plaka kullanılan sistemde buharlaşmayı önlemek amacıyla tüm ölçümlerde çözücü kafes ünitesi kullanılmıştır.

Viskozite: UV altında akış davranışlarının değişimini gözlemek amacıyla reometre cihazında viskozite ölçümleri alınmıştır. Plakalar arası 0.5 mm olacak şekilde ayarlanarak oda sıcaklığında 25 mm çaplı paralel plaka ile çalışılmıştır. Her ölçümde örnek değiştirilerek bu örnekler üzerine 1, 5, 10, 20, 30 ve 60 dk boyunca 365nm'lik UV ışık uygulanmıştır. Kayma hızına (shear rate) bağlı olarak viskozite değerlerinin değişimi incelenmiştir. Viskozite testleri, kayma hızı 0,01'den 100'e kadar arttırılarak toplamda 50 veri alınacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

UV Altında Zamana Bağlı Modül Takibi: Bu testte deformasyon $\gamma_0 = \%0.1$ 'de ve frekans $f = 1$ Hz'de sabit tutularak 24 °C ve 37 °C 'de zamana bağlı G' ve G'' değerlerinin takibi gerçekleştirilmiştir. Plakalar arasına yerleştirilen formülasyonlar ilk olarak 10 dk boyunca UV ışık kapalı iken daha sonra 10 dk açık olacak şekilde ölçümler alınmıştır.

Frekans Taraması: Deformasyon $\gamma_0 = \%0.1$ 'de sabit tutularak $f = 0.1$ 'le 10 Hz arasında değiştirilerek toplamda 50 veri olacak şekilde frekans taraması gerçekleştirilmiştir. Aynı ölçüm 20 dk UV uygulanan numunelerde de tekrar edilmiştir.

Deformasyon Taraması: Frekans 1 Hz'de sabit tutularak deformasyon $\gamma_0 = \%0.01$ ile 50 arasında değiştirilerek toplamda 50 veri olacak şekilde deformasyon taraması gerçekleştirilmiştir. Frekans taramasında olduğu gibi deformasyon taramasında da aynı ölçüm 20 dk UV uygulan numunelerde de tekrar edilmiştir.

3.4.3 Sıkıştırma testleri

Silindirik nişasta numunelerinin tek eksenli sıkıştırma testleri, 5 N yük hücreesine sahip bir TA.XTplus Tekstür Analiz Cihazı (Stable Micro Systems, Surrey, İngiltere) kullanılarak gerçekleştirilmiştir (şekil 3.8A). Sıkıştırma testleri, numuneleri 1 mm.dak⁻¹ test hızında sıkıştıran 5 cm'lik silindirik bir prob aracılığıyla gerçekleştirilmiştir. Prob altındaki jel örneklerinin başlangıç uzunluğu ve çapı (ön hazırlık durumu) sırasıyla 9 ± 2 mm ve 4.6 mm olarak ölçülmüştür. Tekrarlanabilirlik için, her jelden en az yedi numune ölçülmüş ve sonuçların ortalaması alınmıştır. Tekstür analiz cihazı ile yapılan testlerin sonuçları kaydedilmiş ve Exponent yazılımı ile değerlendirilmiştir. Değişkenler ve parametreler aynı yazılımda yer alan makrolar

kullanılarak hesaplanmıştır. Sıkıştırma modülü, doğrusal bölgesine karşılık gelen % 5 ve % 15 deformasyon arasındaki gerilme-gerinim eğrilerinin eğiminden hesaplanmıştır.

3.4.4 Enjekte edilebilirlik testi

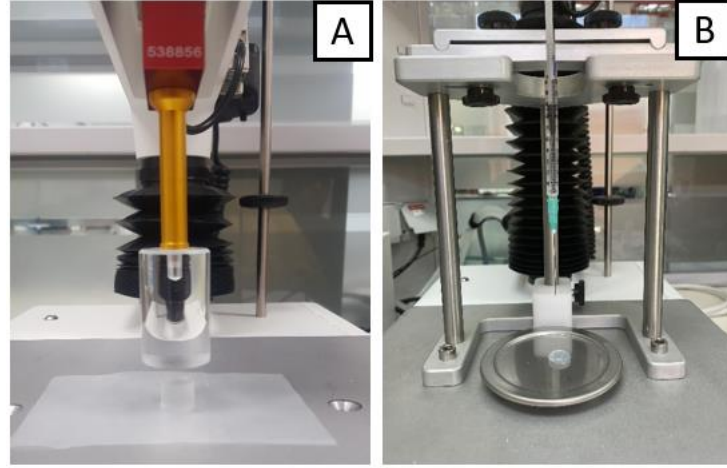
Enjekte edilebilirlik testleri yine Tekstür analiz cihazında 50N yük hücresi kullanılarak şırınga probu kullanılarak basma modunda gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.8B). Her bir formülasyon için en az 15 farklı ölçüm alınmış ve elde edilen kuvvet değerlerinin ortalaması kullanılmıştır. 4,4 mm çapa sahip 1 mL'lik şırıngalara 21G iğne takılarak 0,6 mL hidrojel çözeltisi aktarılmıştır. Formülasyonlar yüklendikten sonra şırıngalar cihazın dinamometre tutucusuna aşağı doğru bakacak şekilde takılmıştır. Üst sıkıştırma plakasının pistonla temas etmesinden sonra, 0.5 mL solüsyonu şırıngadan dışarı atmak için pistonun 1 mm/sn hızında 30 mm yer değiştirme uygulanmıştır. Testler, formülasyonların reometre cihazında elde edilen sıcaklık profilleri dikkate alınarak 20°C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Standart test metoduna göre 1 mm/sn'lik enjeksiyon hız değeri hastaya el ile şırınga salımına karşılık gelmektedir [204, 205].

Kuvvet-yer değiştirme grafiklerinden elde edilen parametreler şunlardır:

Maksimum kuvvet (F_{max}): Pistonun şırınganın ön ucundaki rotasını bitirmesinden önce ölçülen en yüksek kuvvet;

Dinamik kayma kuvveti (DGF): Şırınganın içeriğini dışarı atmak üzere pistonun hareketini sürdürmek için gereken kuvvet.

Tokluk: Eğrinin altında kalan alan.



Şekil 3.8 : Tekstür analiz cihazında **A.** Basma testi probe, **B.** Enjekte edilebilirlik testinin şırınga probe ile uygulanması.

3.4.5 Taramalı elektron mikroskobu

Nişasta numuneleri, morfolojileri 1 kV'luk bir hızlanma geriliminde yüksek çözünürlüklü bir alan emisyonu taramalı elektron mikroskobu (JEOL SEM-7100-EDX) altında incelemeye önce Au / Pd ile kaplanmıştır. Görüntüler 10, 50, 200, 250 ve 500x büyütme oranlarında elde edilmiştir.

3.4.6 Fourier dönüşüm kızılötesi (FT-IR)

Fourier dönüşüm kızılötesi (FT-IR) spektrumları, aktarım modunda bir Bruker Alpha FTIR kızılötesi spektrometre ile 4000-400 cm^{-1} aralığında kaydedilmiştir.

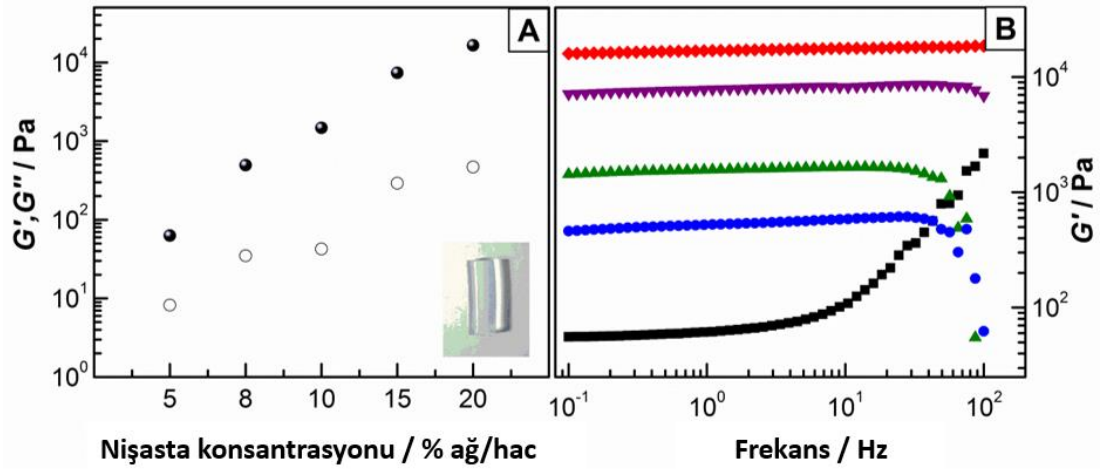
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

İki bölümden oluşan bu doktora tezinin ilk bölümünde doğal bir polimer olan nişasta kullanılarak hidrojeller hazırlanırken ikinci kısımda sentetik PF127 yapısına amfifilik polimerler dahil edilerek ısıya ve ışığa duyarlı hidrojeller üzerinde çalışılmıştır.

4.1 Nişasta Jelleri

Nişasta hidrojelleri hazırlamak üzere nişasta zincirleri bazık ortamda ECH varlığında çapraz bağlanmıştır. Reaksiyon bileşenlerinin jel özelliklerine etkisini görmek amacıyla Tablo 4.1’de verildiği üzere değişen Nişasta, ECH ve NaOH kullanılarak jeller sentezlenmiş ve bu yapılar sırasıyla Nişasta-x, ECH-x ve NaOH-x olarak adlandırılmıştır. Çift ağ yapılı jellerde mekanik dayanımın artması fikrinden yola çıkılarak nişasta jel sentezleri sırasında HA zincirleri de çapraz bağlanmıştır. HA içeren nişasta jellerinde de HA konsantrasyon taraması yapılarak HA-x jelleri elde edilmiştir.

Amiloz/amilopektin oranının, nişasta bazlı malzemelerin özellikleri için anahtar bir parametre olduğu iyi bilinmektedir. Doğrusal amiloz (Amy) zincirlerine karşı, amilopektinin (Amp) yüksek moleküler ağırlığı ve dallı yapısı, hidrojen bağı eğilimini önleyerek polimer zincirlerinin hareketliliğini azaltır ve böylece fiziksel çapraz bağ birimlerinin miktarını azaltır [206]. Bu nedenle, bu tezde farklı olarak, amiloz miktarı %23'ten %70'e çıkarılarak amilozun yapı üzerine etkisini gözlemlemek için amiloz oranı daha yüksek yeni bir nişasta türü olan Hylon VII kullanılmıştır [74].



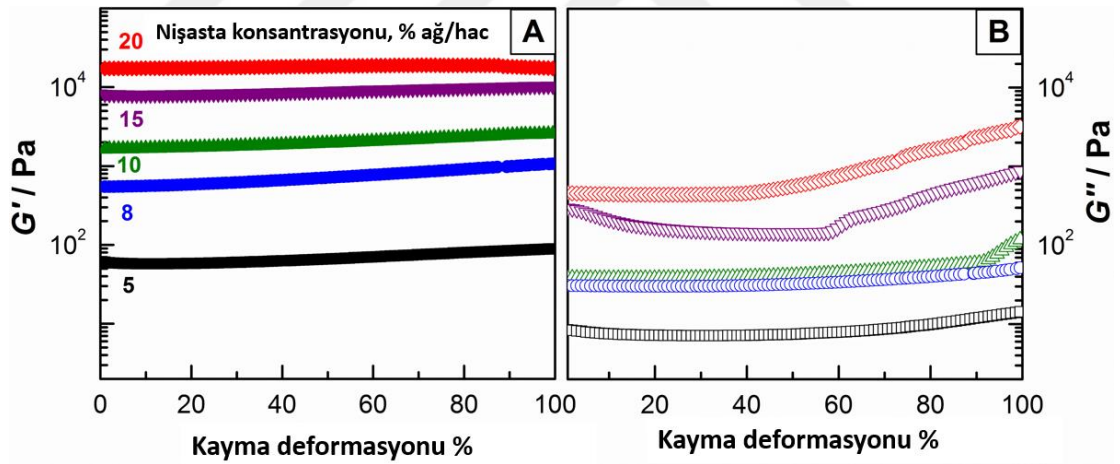
Şekil 4.1 : A. Depo modülü, G' (dolu semboller) ve kayıp modül, G'' (boş semboller) değerlerine karşı nişasta konsantrasyon (% ağı/hac) grafiği B. Nişasta-x hidrojellerinin frekans taraması. Jel bileşimi: 20 % ağı/hac NaOH (x= ■; %5, ●; %8, ▲; %10, ▼; %15, ◆; %20).

Tablo 4.1 : Numune kodlarıyla birlikte nişasta hidrojellerinin bileşimleri

Örnek kodu	Hylon VII (% ağı/hac)	ECH (% hac/hac)	NaOH (% ağı/hac)	HA (% ağı/hac)	EGDE (% hac/hac)
Nişasta-5	5				
Nişasta-8	8				
Nişasta-10	10	10	20	-	-
Nişasta-15	15				
Nişasta-20	20				
ECH-5		5			
ECH-10		10			
ECH-15	10	15	20	-	-
ECH-20		20			
NaOH-5			5		
NaOH-10			10		
NaOH-15	10	10	15	-	-
NaOH-20			20		
NaOH-25			25		
HA-0.0				0.0	-
HA-0.5				0.5	
HA-1.0	10	10	20	1.0	
HA-1.5				1.5	0.5
HA-2.0				2.0	
HA-0.0-Amy23	10*	10	20	0.0	

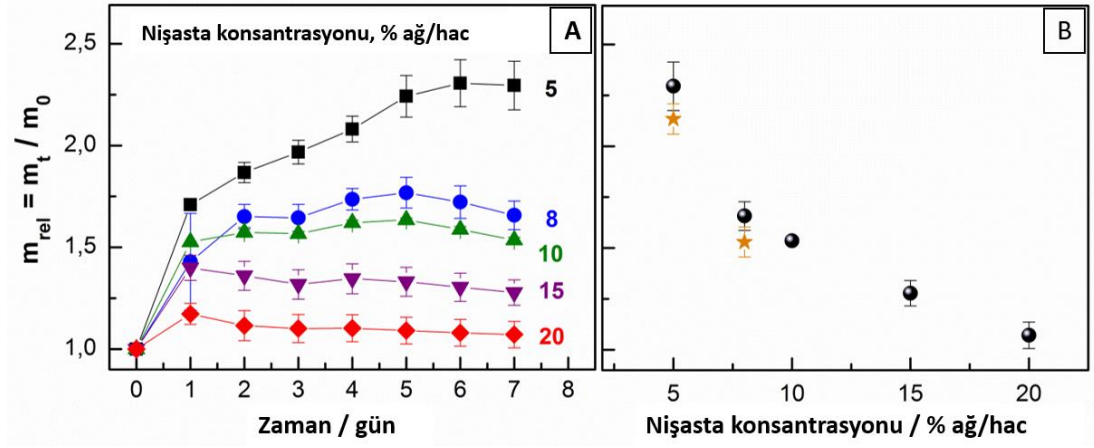
* Hylon VII yerine çözümlü nişasta kullanılmıştır.

Nişasta konsantrasyonunun ağların viskoelastik özellikleri üzerindeki etkisini incelemek için Reometrenin plakaları arasında Nişasta-x hidrojelleri hazırlanmıştır. Nişasta, ECH (%1 hac/hac) ve NaOH (%20 ağı/hac) çözeltisi varlığında çapraz bağlanma reaksiyonları, sabit frekans $f=1$ Hz ve genlik $\gamma=0,01$ değerinde osilasyonel deformasyon ölçümleri kullanılarak izlenmiştir. Üç boyutlu ağın aşamalı oluşumu izlenerek 2 saatlik reaksiyondan sonra, kaydedilen depo modül G' (dolu semboller) ve kayıp modül G'' (boş semboller) değerlerinin grafiği, Şekil 4.1A'da nişasta konsantrasyonuna karşı çizilmiştir. Her iki modül değeri de nişasta miktarına bağlı olarak artış göstermiştir. Şekil 4.1B, G' değerinin frekansa bağlı davranışını göstermektedir. Frekans değeri zamanın tersini ifade eder. Frekans değerlerinin düşük olması durumunda numunelerin gevşemeye (relaksasyon) ve baskın akış özellikleriyle yanıt vermeye zamanı vardır. Frekansın artmasıyla örnek daha esnek davranır ve dolayısıyla frekansın artmasıyla G' değeri artar. Sonuç olarak, jel gücü ne kadar zayıfsa, G' nin frekansa bağımlılığı o kadar büyük olur.



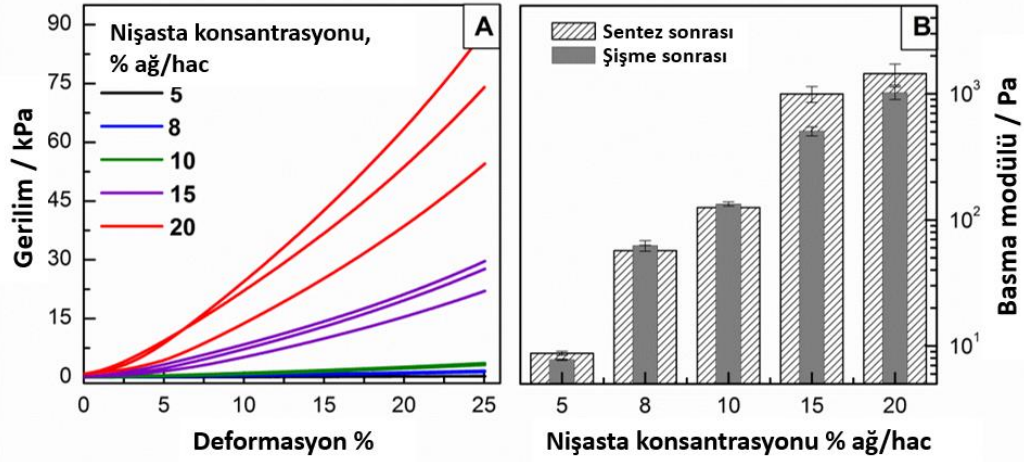
Şekil 4.2 : Kayma deformasyonu değerlerine bağlı A. depo modül (G' , dolu semboller) ve B. kayıp modül (G'' , boş semboller) değerlerinin değişim grafiği.

Tüm Nişasta-x hidrojelleri, ölçülen frekans aralığı boyunca belirgin bir plato sergilemiştir. Kararlı bir ağ içerisinde, G'' değerinin, G' değerinden 2 kat daha küçük kaldığı gözlemlenmiştir [199]. Deformasyon tarama testleri sırasında ağların LVR'si belirlenmiş (Şekil 4.2) ve sonuçlar, zaman tarama ve frekans tarama testlerinin yapıldığı %1'lik ($\gamma=0,01$) deformasyon değerinin lineer viskoelastik bölge içinde olduğunu göstermiştir. Ayrıca, tüm jellerin test edilen maksimum değer olan %100 deformasyona kadar dayanıklı olduğu görülmüştür.



Şekil 4.3 : **A.** Nişasta-x hidrojellerinin zamana bağlı relatif şişme değerleri. Nişasta konsantrasyonu grafikte belirtilmiştir. **B.** Relatif şişme (m_{rel}) değerinin nişasta konsantrasyonuna karşı grafiği.

Jellerin şişme kinetiği, ağın esnekliği, hidrofilik/hidrofobik grupların varlığı, çapraz bağ yoğunluğu ve şişme ortamının tipi gibi çeşitli parametrelere bağlıdır. Bileşimin, Nişasta-x hidrojellerinin şişme kinetiği üzerindeki etkisini belirlemek için su absorpsiyon ölçümleri yapılmıştır. Relatif jel kütlelerinin (m_{rel}), Şekil 4.3A'da şişme süresine karşı grafiği verilmiştir. Görüldüğü üzere nişasta konsantrasyonuna bağlı olarak dengeye ulaşma süresi değişmektedir. %10 konsantrasyonun üzerindeki jel örnekleri sadece bir gün içinde denge değerlerine ulaşırken, %8 ve %5 için sırasıyla yaklaşık 3 gün ve bir hafta gerekmektedir. Şekil 4.3B, bir hafta sonunda elde edilen m_{rel} değerlerini göstermektedir. Nişasta içeriği %5'ten %20'ye yükseldiğinde, jellerin m_{rel} değerleri kademeli olarak 2.3'ten 1.1'e düşmektedir. Yapılan benzer bir çalışmada sentezlenen nişasta jellerinin m_{rel} değerlerine [73] (yıldız sembolü) benzer sonuçlar elde edilmiştir.



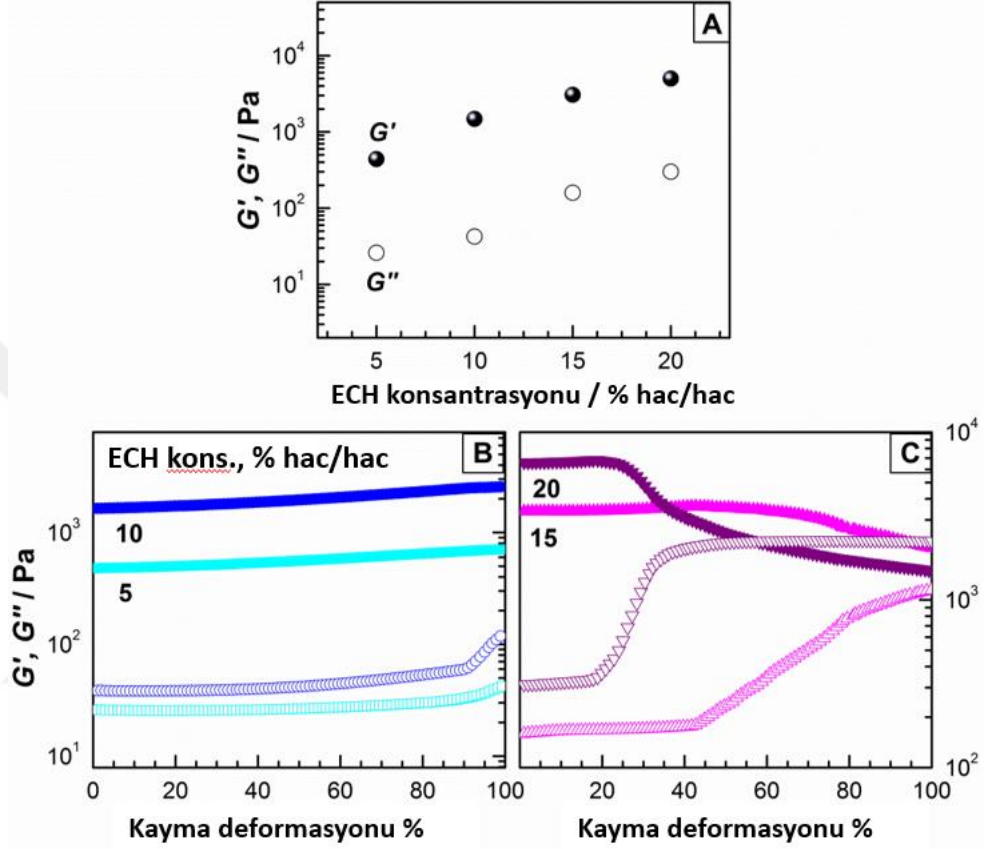
şekil 4.4 : **A.** Nişasta-x hidrojellerinin hazırlandıktan sonraki gerilim-deformasyon grafiği. **B.** Sentez sonrası ve şişmiş haldeki nişasta hidrojellerinin nişasta konsantrasyonuna karşı basma modül değerleri.

Nişasta-x jellerinin esnekliğini analiz etmek amacıyla tek eksenli sıkıştırma testleri gerçekleştirilmiş ve sonuçlar şekil 4.4A'da toplanmıştır. Jellerin basma modülünü değerlendirmek için, gerilim-deformasyon eğrilerinin doğrusal kısmı (%5-15) kullanılmış ve bu çizgilere karşılık gelen eğim belirlenmiştir. Nişasta-x hidrojellerinin hem sentez sonrası hem de suda şişmiş denge durumundan sonraki elastik modül değerleri şekil 4.4B'de sunulmuştur. Nişasta konsantrasyonu arttıca Nişasta-x hidrojellerinin sertliği artmıştır. Yapısında %5 nişasta içeren jeller için elastik modül 8.8 ± 0.3 Pa olarak bulunurken, %20 nişasta içeren hidrojeller için 1450 ± 280 Pa'a kadar çıkmıştır. Jellerin şişmiş durumdaki elastik modülü ile karşılaştırıldığında da taranan tüm konsantrasyon aralığında benzer sonuçların elde edildiği görülmüştür.

4.1.1 ECH konsantrasyonu

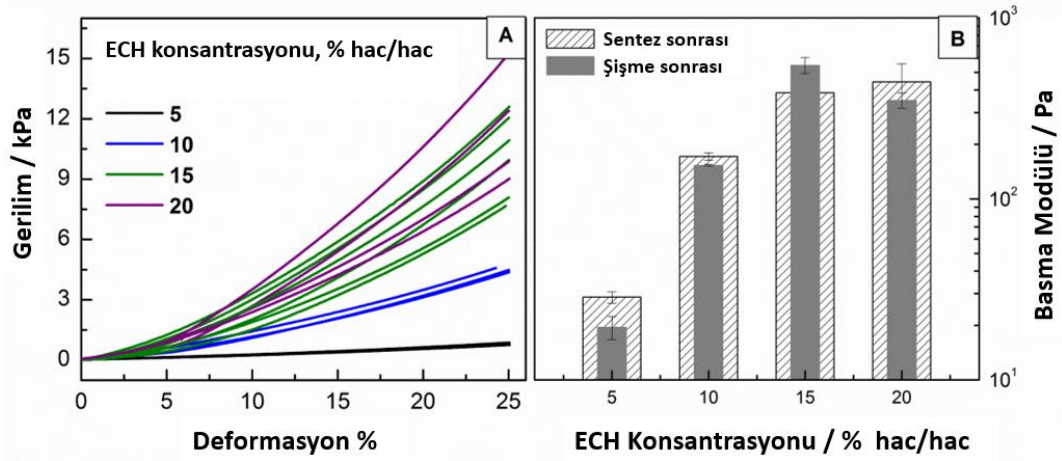
Çalışmanın ikinci adımında, Tablo 4.1'de gösterildiği gibi %10 nişasta ve %20 NaOH konsantrasyonunda, ECH miktarı %5 ila %20 hac/hac arasında değeritirilerek ECH-x jelleri hazırlandı. Nişasta-x hidrojellerinde, ECH konsantrasyonunun jelleşmenin başlangıcı üzerindeki etkileri ve ayrıca oluşan jellerin sertliği, reometre cihazında 2 saatlik zamana karşı modül taraması ve ardından frekans ve genlik tarama testleri gerçekleştirilerek incelenmiştir. Ölüm sırasında G' , G'' ve kayıp faktör ($\tan \delta$) lmleri kaydedilmiştir. Jelleşmenin başlangıcında $\tan \delta$ değerinde azalma ve nişasta jelinin G' değerinde artış saptanmıştır. şekil 4.5A, 2 saatlik reaksiyondan sonra ECH konsantrasyonu ile elastik ve viskoz modüller arasındaki doğrusal ilişkiyi göstermektedir. Jellerin ECH konsantrasyonu, %5'ten %20'ye çıkarıldığında, G' ve G''

değerleri sırasıyla on kat artarak 5000 ve 300 Pa'a çıkmıştır. Frekansa bağlı davranış değişmezken, ECH-x jellerinin deformasyon tarama testinde ilginç bir sonuç gözlemlendi. Şekil 4.5B'de gösterildiği gibi, ECH-5 ve ECH-10 ağlarının %100 deformasyona kadar dayanıklı olduğu görülürken, ECH-15 ve ECH-20 jelleri sırasıyla %54 ve %22 deformasyondan sonra deforme olmaya başlamıştır.



Şekil 4.5 : ECH-x hidrojellerinin reolojik ölçümleri. Jel bileşimi: %10 ağ/hac nişasta ve %20 ağ/hac NaOH (x: ▼; %20, ▲; %15, ●; %10, ■; %5). **A.** Depo modülü, G' (dolu semboller) ve kayıp modül, G'' (boş semboller) değerlerine karşı ECH konsantrasyon (% ağ/hac) grafiği **B.** ve **C.** Deformasyon taraması.

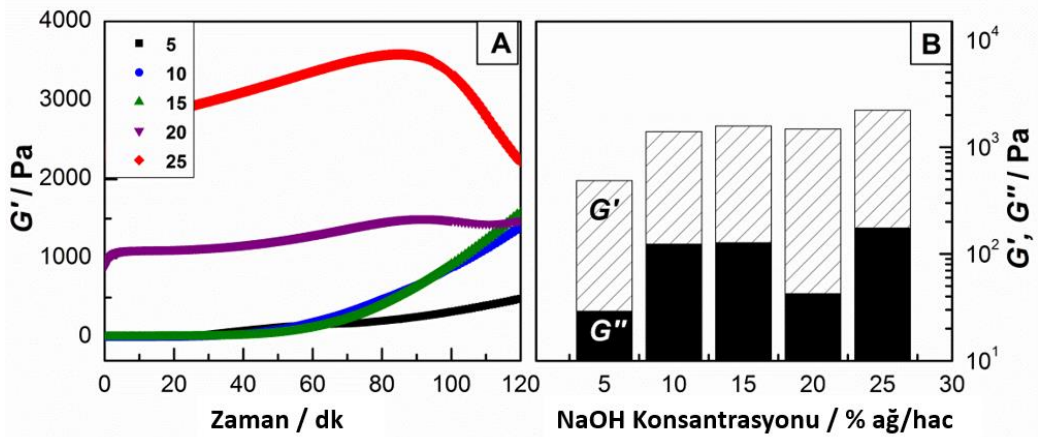
Çeşitli ECH konsantrasyonlarında hazırlanan yüksek amilozlu nişasta jelleri, reaksiyondan bir gün sonra suda şişme ve sıkıştırma ölçümlerine tabi tutulmuştur. ECH-x jeli için stres-deformasyon eğrileri, Şekil 4.6A'da gösterilmektedir. Eğrilerin ilk eğimleri, Şekil 4.6B'de ECH konsantrasyonu, basma modülüne karşı olacak şekilde bar grafiği verilmiştir. Reolojik ölçümlere paralel olarak, jellerin basma modül değerlerinin sentez sonrası ve şişme dengesine ulaştıktan sonra ECH miktarıyla orantılı olarak arttığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.6 : A. ECH-x hidrojelere hazırlandıktan sonra elde edilen gerilim-deformasyon grafiği B. Sentez sonrası ve şişmiş haldeki ECH-x hidrojellerinin ECH konsantrasyonuna karşı basma modülü bar grafiği.

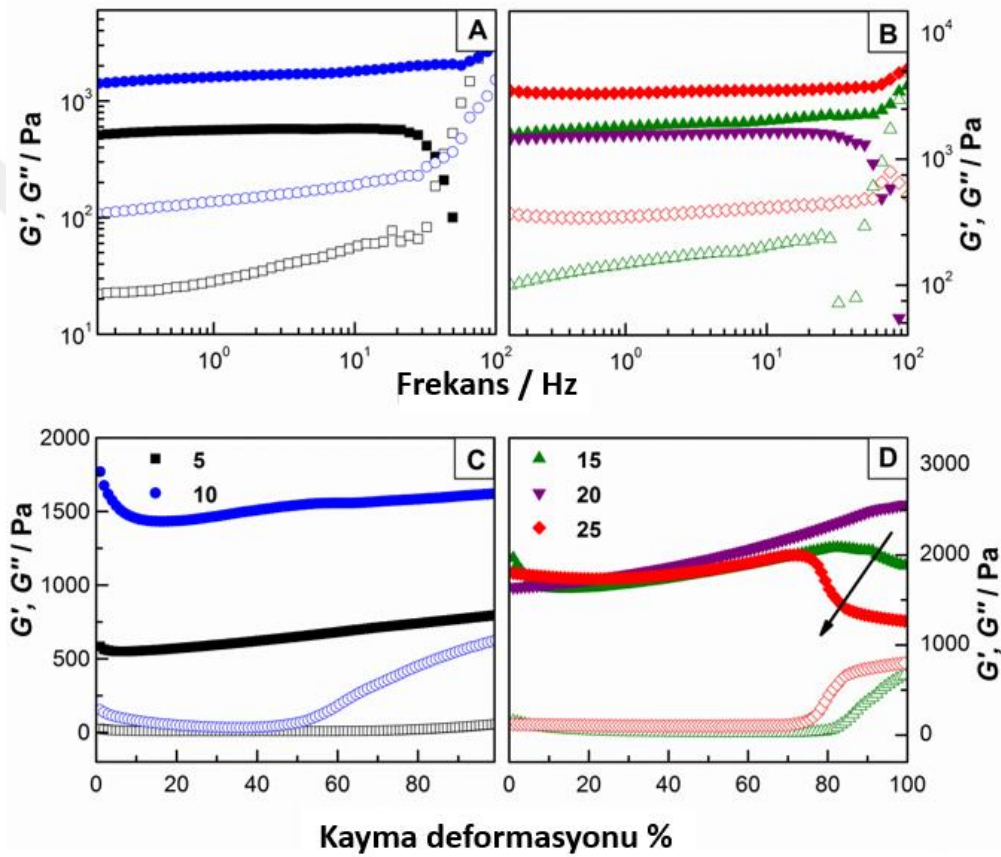
4.1.2 NaOH konsantrasyonu

NaOH-x jellerinin jelleşme kinetiği, Şekil 4.7'de %5 ila %25 % ağ/hac arasındaki çeşitli NaOH konsantrasyonlarında reaksiyon süresine karşı G' değerlerinin değişimi takip edilmiştir. Reometrede 2 saatlik reaksiyondan sonra, Şekil 4.7B'de NaOH konsantrasyonuna karşı G' ve G'' değerleri verilmiştir. Nişasta-x ve ECH-x jellerinden farklı olarak, modül değerleri ve NaOH konsantrasyonu arasında bir korelasyon gözlemlenmemiştir. Bu durum zaman grafiğinde görüldüğü gibi, NaOH-20 ve NaOH-25 ağ yapılarında 90 dakika sonra G' değerinin azalan davranışı ile ilişkilendirilmektedir. Bu nedenle modül değerlerinin 24 saat sonra karşılaştırılmasının daha güvenilir sonuçlar vereceğine karar verilmiştir.



Şekil 4.7 : A. NaOH-x jellerinin reaksiyon süresi – depo modül (G') grafiği. Jel bileşimi: %10 ağ/hac nişasta ve %10 hac/hac ECH. (x= ■; 5%, ●; 10%, ▲; 15%, ▼; 20%, ◆; 25%) B. NaOH konsantrasyonuna (% ağ/hac) karşı depo modül (G') ve kayıp modül (G'') grafiği.

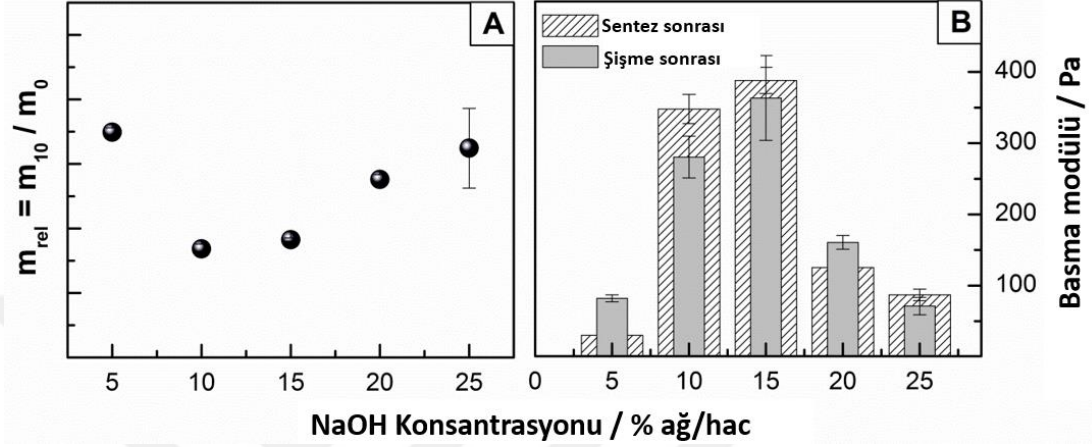
Zaman taramasından sonra LVR içinde gerçekleştirilen frekans tarama testleri, 0.1 ile 100 Hz aralığında malzemenin frekansa bağlı davranışları takip edilmiştir (Şekil 4.8A-B). NaOH-x jelleri katı benzeri bir davranış göstermektedir; NaOH konsantrasyonun bağımsız olarak tüm hidrojellerde $G'' > G'$ şeklindedir. Deformasyon tarama testlerine göre (Şekil 4.8C-D), NaOH konsantrasyonu %15'in üzerinde olan ağlar, deformasyona bağlı sertleşme davranışı gösterirken, en kararlı numunelerin en düşük NaOH konsantrasyonuna sahip olan ve %70 deformasyon değerine kadar dayanıklılık gösteren ağ yapıları olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.8 : A-B. NaOH-x jellerinin (x=■; %5, ●; %10, ▲; %15, ▼; %20, ◆; %25) frekans ve C-D. kayma deformasyon testleri. G' dolu sembollerle ve kayıp G'' boş sembollerle gösterilmiştir.

NaOH-x jellerinin 10 günlük şişme prosesi sonrası elde edilmiş m_{rel} değerleri NaOH konsantrasyonuna karşı çizilmiştir (Şekil 4.9). Konsantrasyon %5'ten %15'e çıktıkça jelin daha düşük bir denge ağırlığına sahip olduğu görülmüştür. NaOH miktarına bağlı basma modül değerlerinin verildiği bar grafiğine bakıldığında %15 konsantrasyonda jeller yaklaşık 400 Pa'lık bir modül ile daha güçlü bir yapıya kavuşmuştur. Kuniak tarafından açıklandığı gibi, NaOH ve nişastanın mol oranı, çapraz bağlama

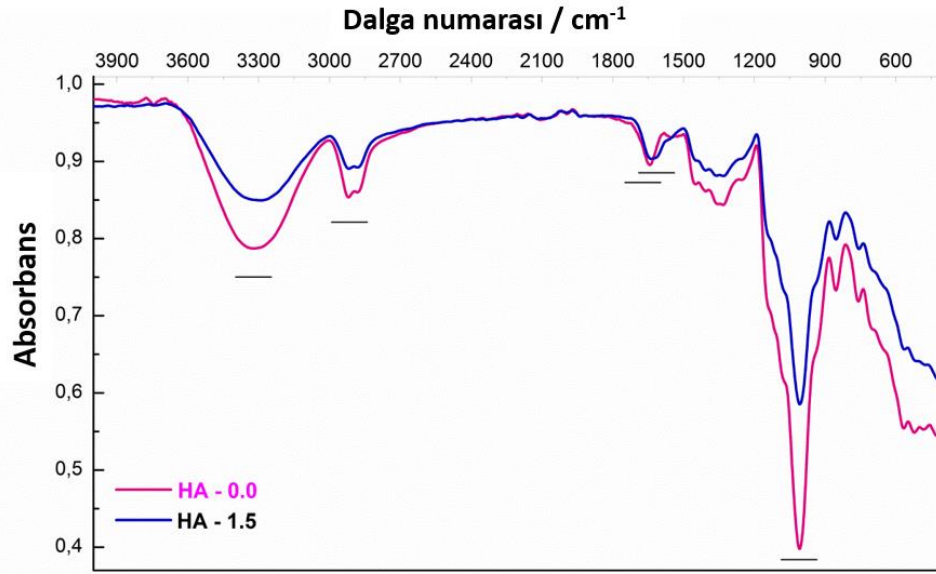
reaksiyonlarında verim için anahtar bir parametredir [68]. Dolayısıyla sonuçlar, mekanik olarak güçlü nişasta jelleri elde etmek için optimum konsantrasyonların %10 ve %15 olduğunu göstermektedir. Şekil 4.7B'de görülen değerlerin gittikçe artış göstermesi yerine basma modül seviyelerinin istikrarsız değişiminin nedeni de bu şekilde açıklığa kavuşturulmuştur.



Şekil 4.9 : A. NaOH-x hidrojellerinin 10 gün sonra elde edilmiş bağıl şişme değerleri (m_{rel}). B. Sentez sonrası ve şişme sonrası elde edilen basma modül değerlerine karşı çizilen NaOH konsantrasyon grafiği.

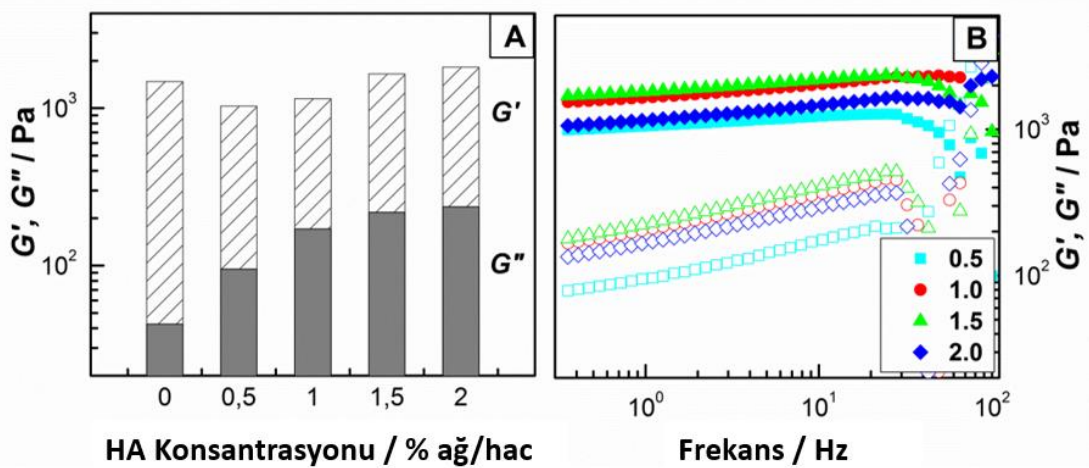
4.1.3 HA konsantrasyonu

Çalışmanın bu kısmına kadar nişasta, NaOH ve ECH konsantrasyonlarının ağların özellikleri üzerindeki etkisi adım adım gösterilmiştir. Bu noktadan sonra, nişasta ve ECH konsantrasyonlar %10 olacak şekilde optimize edilmiş jel ağ yapılarına Hyaluronik asit (HA), dahil edilmiştir. HA'nın yapı üzerindeki etkisini daha iyi gözlemleyebilmek için NaOH konsantrasyonu da %20 olarak seçilmiştir. Zaman, frekans ve kayma deformasyon ölçümlerinin yanı sıra, özellikle adım-gerinim ve gerilim-gevşeme ölçümleri kullanılarak ağların viskoelastik davranışı ayrıntılı olarak incelenmiştir. HA-x jellerinin morfolojisi de SEM görüntüleri aracılığıyla analiz edilmiştir.



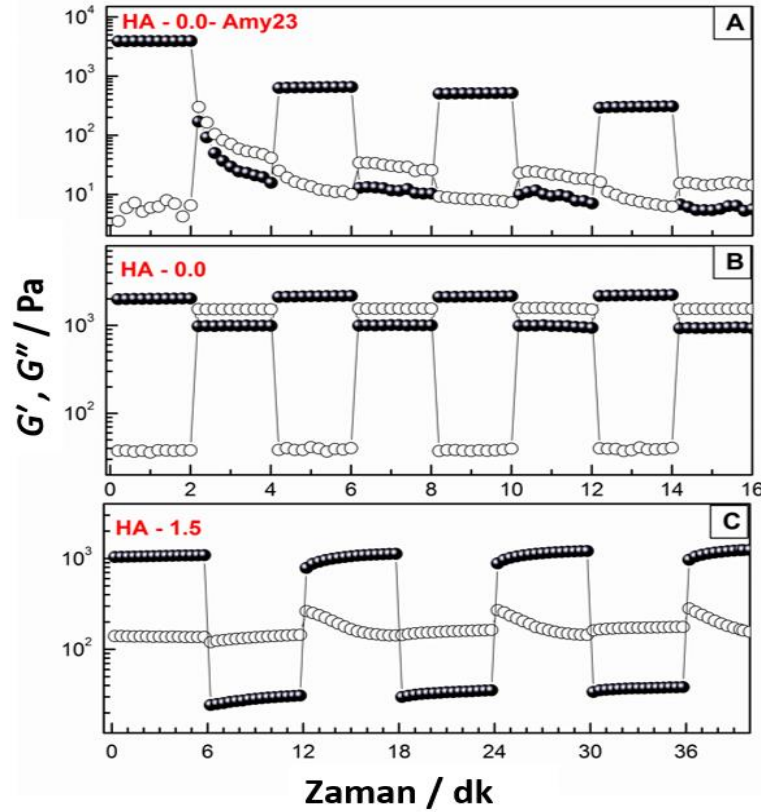
Şekil 4.10 : HA-0.0 ve HA-1.5 çapraz bağlarının liyofilizasyon sonrası FT-IR spektrumu.

İlk olarak, %1.5 ağ/hac HA içeren (HA-1.5) ve HA içermeyen (HA-0.0) jellerin kimyasal yapısını karakterize etmek için FT-IR spektroskopisi kullanıldı. Şekil 4.10'da görüldüğü üzere sırasıyla 3300 ve 2926 cm^{-1} 'de OH ve C-H gerilme titreşimi belirlenmiştir. 1646 cm^{-1} civarındaki bant, -OH bükülme titreşimini göstermektedir. HA zincirlerinin, karboksilat asimetrik gerilme titreşimine karşılık gelen 1630 cm^{-1} 'de bir tepe noktası sergilediği bilinmektedir [207]. Spektrumun son bölgesinde ise 1200-800 cm^{-1} arasında glukoz halkası titreşim bantları da gözlemlenmiştir. Böylelikle HA'nı jel ağ yapısına dahil olduğu kanıtlanmıştır.



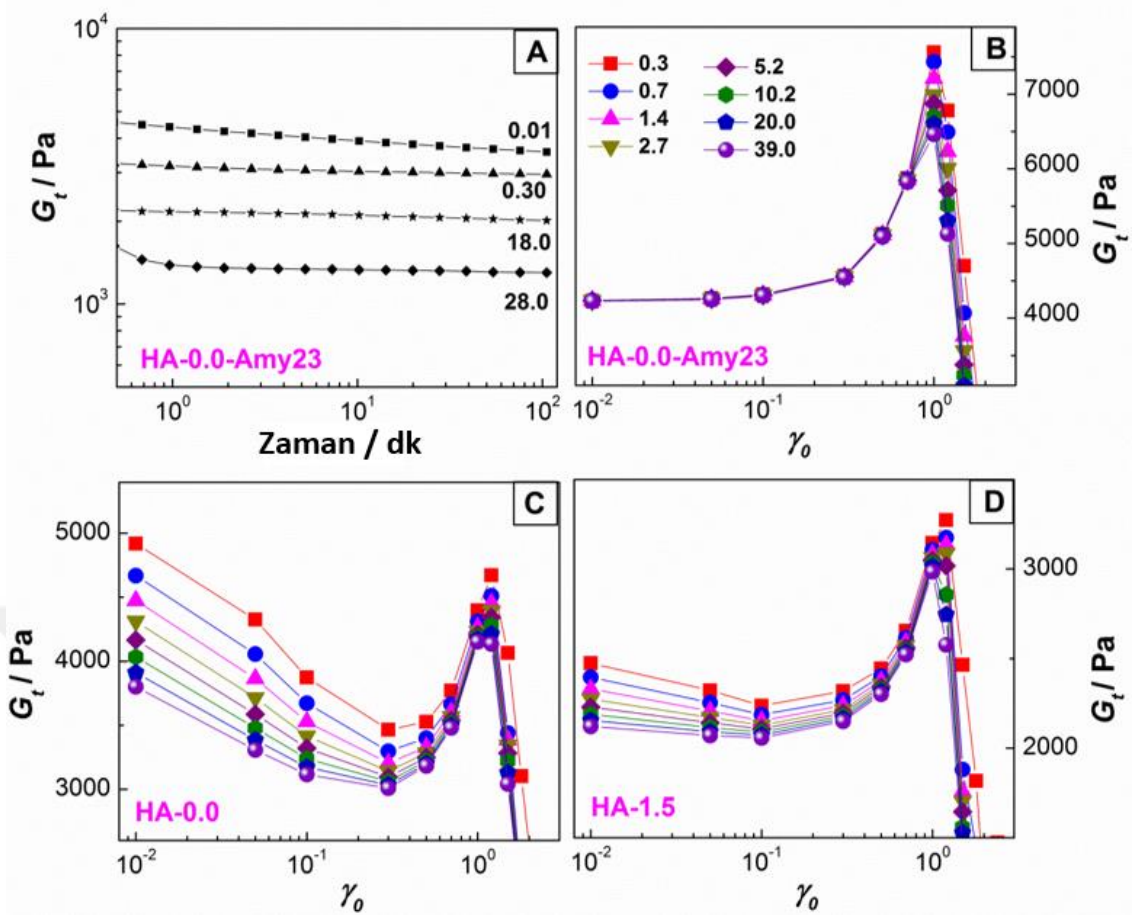
Şekil 4.11 : **A.** HA-x hidrojellerinin HA konsantrasyonuna bağlı reometrede elde edilen G' ve G'' (denge) değerleri. Jel bileşimi: % 10 ağ/hac nişasta, %10 hac/hac ECH ve %20 ağ/hac NaOH. **B.** Frekansa bağlı G' , dolu semboller ve G'' , açık semboller değerlerinin değişimi (x: x: \square ; %0,5, \bullet ; %1,0, \blacktriangle ; %1,5, \blacktriangledown ; %2,0).

HA-x hidrojenlerinin oluşumu, zamana bağlı reolojik ölçümlerle izlendi. Genel eğilim, reaksiyon süresinin ilk 100 dakikasında G' değerinde artış, dolayısıyla kayıp faktör $\tan\delta$ 'da düşüş ve ölçüm sonuna doğru G' değerinde görülen hafif düşüş sonrası bir plato şeklinde elde edilmiştir. Şekil 4.11A'da, 2 saat sonunda reaksiyon çözeltilerinin G' ve G'' değerlerinin HA konsantrasyonlarına karşı grafiği gösterilmektedir. HA-0.0 jel ağlarına, %0.5 ağ/hac oranında HA'nın dahil edilmesi, G' nü 1480 Pa'dan 1030 Pa'a düşürmüştür. Ancak, HA oranının %2.0'ye çıkarılması, G'' nü kademeli olarak 1820 Pa'a yükseltmiştir. Diğer bir nokta ise HA-0.0 ve HA-0.5 ağlarını karşılaştırırken G'' 'nin olağan dışı değişimidir. G' değerinin artması, kayıp faktör değerini 0.02'den, zayıf jeller kategorisine ait olan 0.1'in biraz üstüne kaydırır [208]. Bu durum, viskoz karakterleri gelişen HA zincirlerinin içerisinde ek hidrojen bağları nedeniyle dinamik çapraz bağların varlığını da ortaya koymaktadır. Şekil 4.11B, HA içeren ve içermeyen HA-x jellerinin, G' (dolu semboller) ve (açık semboller) değerlerine karşı frekans taraması sonuçlarını göstermektedir. Yapıya HA ilavesi ile jellerin G' değerinin frekans bağımlılığını, G'' den yaklaşık 1 kat daha büyük bir seviyede arttırmaktadır.



Şekil 4.12 : Nişasta hidrojenlerinin devamlı basamak-deformasyon taraması. **A.** Çözünebilir nişasta (HA-0.0-Amy23), **B.** Hylon VII (HA-0.0) ve **C.** Hylon VII ile %1.5 ağ/hac HA (HA-1.5) (γ_0 =%1 ve %300 arasında değiştirilmiştir).

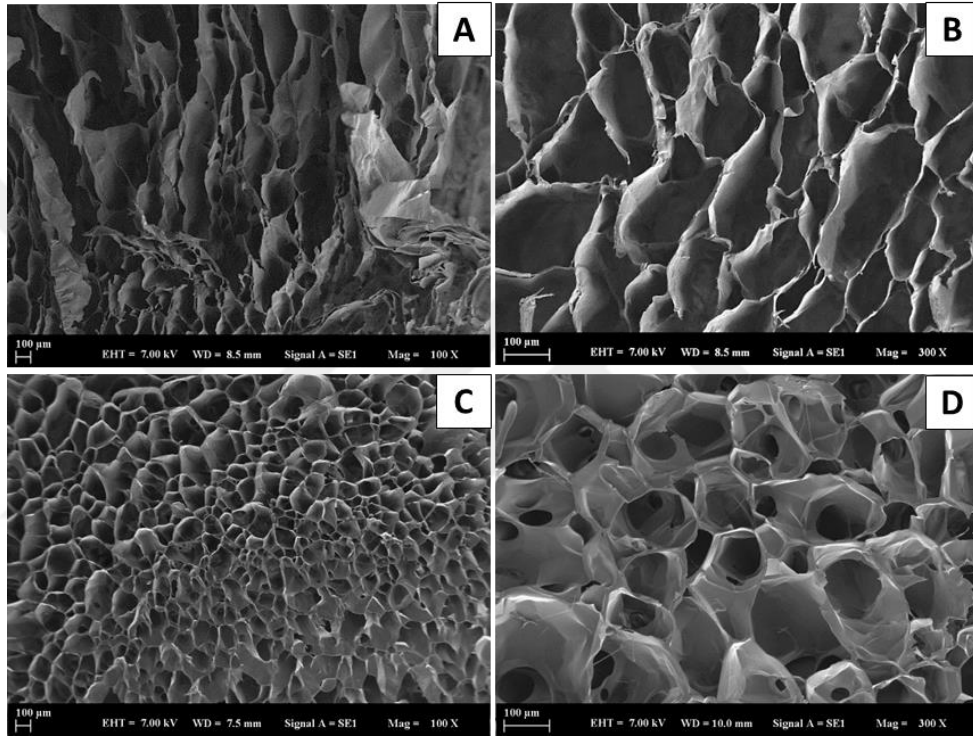
Hazırlanan jellerin HA katkısına bağılı olarak viskoelastik davranış değişimlerini daha detaylı incelemek amacıyla sürekli basamak-deformasyon ölçümleri uygulanmıştır. Ayrıca, Hylon VII ile amiloz oranı %70'e çıkarılarak oluşturulan çapraz ağlar içindeki değişen dinamikleri daha net ortaya koyma adına, %23 amiloz oranına sahip çözünür nişasta ile hazırlanan jellerin de kıyaslamalı ölçümleri yapılmıştır. Çözünür nişasta içeren jeller, Tablo 4.1'de gösterildiği gibi HA-0.0-Amy23 olarak adlandırılmıştır. Basamak-deformasyon testlerinde, jeller sürekli bir şekilde, %1 ila %300 arasında alternatif olarak değişen deformasyonlara tabi tutulmuştur. Zaman taramasına karşı oluşturulan döngü, %1 deformasyonla başlayıp, jel-sol geçişinin gerçekleştiği %300 deformasyona kadar devam ederek tekrarlanmaktadır. Şekil 4.12A'da gösterildiği gibi HA-0.0-Amy23 ağı, %1 deformasyonda viskoelastik özellikler sergilemektedir. İkinci adımda jel, modül değerlerinden anlaşıldığı üzere %300 gerinim uygulandığında, yarı sıvı bir duruma (sol formu: $G' < G''$) geçerek tamamen yapısı değişmektedir. 2 dakikalık sürekli stresin ardından gerinim tekrar %1'e geri getirildiğinde, bu hidrojeller orijinal özelliklerini tam olarak geri kazanamamıştır. Üç döngüden sonra, G' değeri 4200 Pa'dan 334 Pa'a kadar düşmüştür. Bu durum ağıın başlangıçtaki mekanik dayanımının yaklaşık 92 ± 4 'ünü kaybettiği anlamına gelmektedir. Daha yüksek amiloz oranına sahip HA-0.0 jellerinin basamak-deformasyon ölçümleri sırasında, G' değeri, yüksek genlikli kuvvet altında (deformasyon = %300, frekans = 1.0 Hz), 2100 Pa'dan 1030 Pa'a düşerek jel formunda sol formuna ($\tan \delta = G'' / G'$ 0.02'den 1.55'e) geçişi görülmektedir. Bununla birlikte, genlik aynı frekansta %1 deformasyona düşürüldüğünde, G' değerinin hızlı bir şekilde başlangıç değerine geri döndüğü ve hidrojelin 0.02'lik bir $\tan \delta$ değeri ile tamamen orijinal durumuna (2180 Pa) geri döndüğü gözlemlenmiştir. Son olarak, HA zincirlerine sahip olan nişasta ağı, sürekli basamak-deformasyon testine tabi tutulmuştur (Şekil 4.12C). HA içermeyen ağlardan farklı olarak, HA-1.5 jellerinin orijinal özelliklerini geri kazanması için daha fazla zamana ihtiyacı olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle her bir adım 2 dakika yerine 6 dakikaya uzatılmıştır. HA-1.5 jellerinin, %1-300 deformasyon döngüsü sonrası mekanik gücünü tamamen geri kazandığı görülmüştür. Grafikte dikkat çeken nokta, HA içeren jellerde, her döngüden sonra G' değerinin hafifçe artması olmuştur. Bu durum, HA-1.5 jelinin biyolojik makromoleküllerin karakteristik bir özelliği olan deformasyona bağılı sertleşme davranışına sahip olduğunu göstermektedir [209]. Jellerin birinci adımda ölçülen $\tan \delta$ değerleri HA-0.0-Amy23, HA-0.0 ve HA-1.5 jelleri için sırasıyla 0.001, 0.02 ve 0,12 olarak ölçülmüştür.



Şekil 4.13 : Nişasta hidrojellerinin relaksasyon modül (G_t) grafikleri **A.** Farklı deformasyonlarda zaman grafiği ve **B-D.** Farklı zaman skalalarında deformasyon genlik (γ_0) grafikleri. Hidrojeller, **A – B.** çözünebilir nişasta (HA-0.0-Amy23), **C.** Hylon VII (HA-0.0) ve **D.** %1.5 ağ/hac HA (HA-1.5) ile hazırlanmıştır.

Stres relaksasyon ölçümleri, viskoelastik malzemelerin zaman içinde sabit bir deformasyon altında davranışını karakterize ederek hidrojellerin dinamik özelliklerini incelemenin alternatif bir yoludur. Şekil 4.13A'da, HA-0.0-Amy23 jelinin relaksasyon modülleri (G_t), farklı deformasyonlarda (γ_0) test edilerek zamana (t) karşı grafiği çizilmiştir. HA-0.0-Amy23 jeli, neredeyse zamandan bağımsız dinamik modüller sergilemiştir. Sonuçları daha iyi yorumlamak için elde edilen verilerin grafikleri, sabit zaman noktalarında artan deformasyona karşı jellerin gevşeme modülünün değişimi görülecek şekilde yeniden çizilmiştir (Şekil 4.13B). %10'un altındaki deformasyonlarda HA-0.0-Amy23 hidrojelini lineer rejimdedir, yani G_t modülü deformasyondan (γ_0) bağımsız karakterdedir. Jeller %100'den yüksek deformasyonlarda yumuşamadan önce, γ_0 değeri %10 ile %100 arasında iken deformasyona bağlı olarak malzemede sertleşme gerçekleşmektedir. Bu sertleşme, daha kısa zaman aralıklarında daha büyük derecede deformasyona bağlı olarak

gözlemlenmiştir. (HA-0.0) içermeyen ve %15 ağ/hac HA (HA-1.5) içeren Hylon VII jellerinin G_t - $\gamma\theta$ çizimleri de stres-relaksasyon ölçümlerinden sonra yeniden çizilmiştir (Şekil 13C ve 13D). HA-0.0-Amy23 ağına benzer şekilde, %70 amiloz ile hazırlanan jeller de deformasyonla sertleşme davranışına sahiptir. Bununla birlikte, artan amiloz oranı, ağ içindeki dinamikleri değiştirmiş ve zamana bağlı olarak değişen G_t değerleri gözlemlenmiştir (Şekil 13C). HA-1.5 jeli de zamana bağlı olarak relaksasyon modülü gösterirken, HA'nın yapı içerisine dahil edilmesi, nişasta hidrojellerinde oluşan ikinci ağ yapıdan dolayı dinamikleri hafifçe bastırmıştır.



Şekil 4.14 : HA-x hidrojellerinin SEM görüntüleri Kullanılan jeller; **A-B.** HA-0.0 ve **C-D.** HA-1.5.

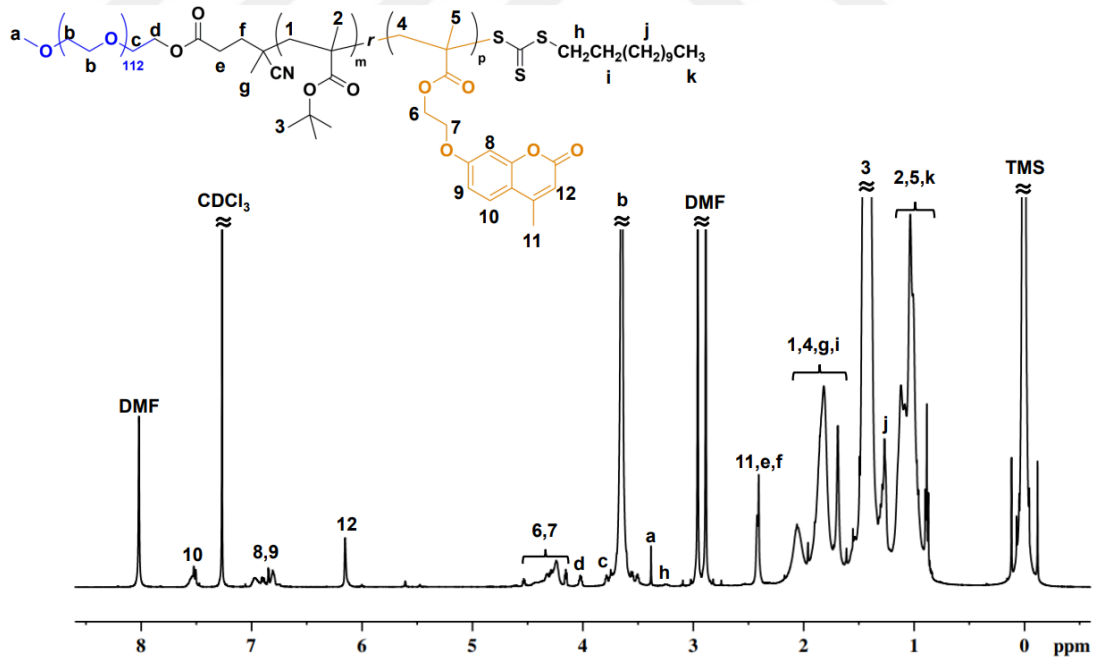
Kurutulmuş HA-0.0 ve HA-1.5 hidrojellerinin morfolojileri, sırasıyla Şekil 4.14A-B ve C-D'de gösterildiği gibi taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile gözlemlenmiştir. SEM analizine göre, her iki ağ yapıda da makrogözenekli çift süreklili, gözenekli morfolojilerin varlığı ortaya çıkmıştır. HA-0.0 ağ yapıları ile karşılaştırıldığında, HA-1.5 jelinin daha küçük gözenek boyutu ve kalın gözenek duvarları sayesinde daha kararlı gözenek yapılarına sahip olduğu görülmüştür. Nispeten daha yüksek konsantrasyonda HA'nın yapıya dahil edilmesiyle, bu kararlı gözenek yapısına sahip morfolojinin oluştuğu düşünülmektedir.

4.2 Amfifilik Kopolimer - PF127 Jellerinin Hazırlanması ve Karakterizasyonu

4.2.1 Amfifilik kopolimerinin sentezi ve karakterizasyonu

Hem mekanik olarak güçlü hem de enjekte edilebilir jeller elde etmek için sıcaklığa duyarlı Pluronic F127 miselleri, ışığa duyarlı kumarin ve azobenzen gruplarını taşıyan amfifilik kopolimerlerle birleştirilmiştir. Bu amaçla sentezlenen dört monomer; 7-(2-metakriloksietoksi)-4-metilkumarin (CEMA), 7-metakriloiloksi-4-metilkumarin (CMA), 4-[4-[(4-fenil)azo]fenoksi]etil metakrilat (FAFEMA), 4-[4-[(4-Fenil)azo]fenoksi] metakrilat (FMA) ve ter-bütül metakrilat (tBMA) ile tersinir katılma-ayırılma zincir transfer (RAFT) polimerizasyonu yoluyla polimerize edilmiştir. Polietilen glikol (PEG) makroRAFT ajanı kullanılarak amfifilik diblok terpolimerler elde edilmiştir. Bu polimerler, sulu çözelti içerisinde miseller oluşturmaktadır. Sentezlenen polimerlerin karakterizasyonları NMR ve GPC ölçümleri alınarak gerçekleştirilmiştir (Tablo 4.2 ve Tablo 4.3).

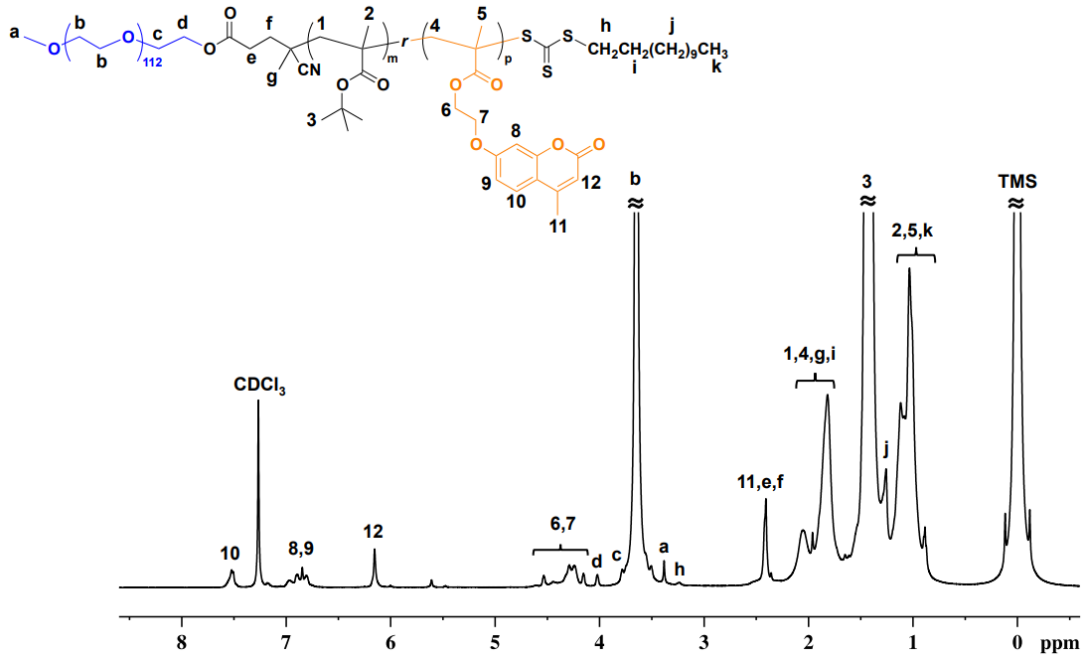
4.2.1.1 RAFT polimerizasyonu ile PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA) sentezi ve karakterizasyonu



Şekil 4.15 : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA)-2'in CDCl₃ içerisinde çekilmiş ¹H NMR spektrumu.

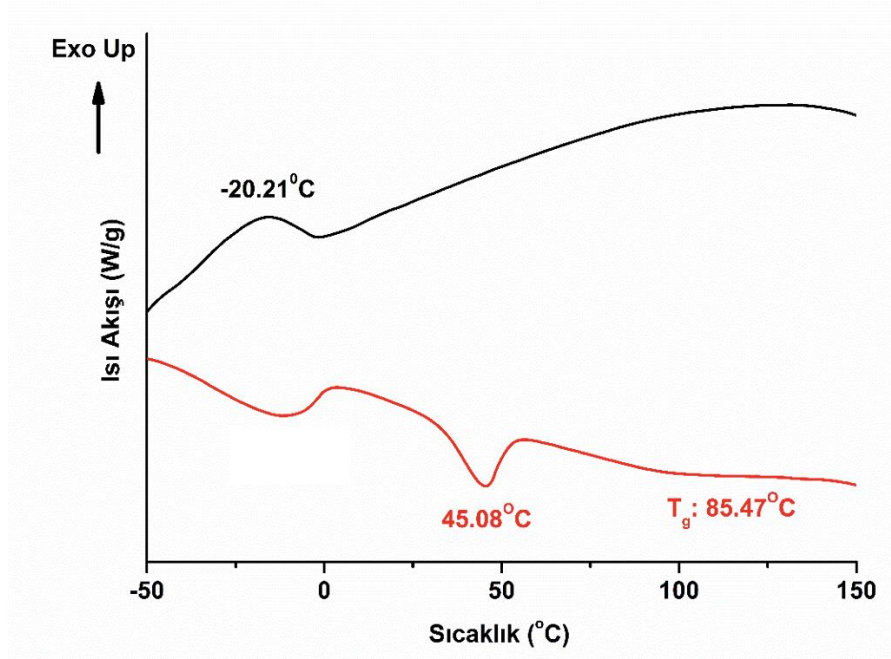
Toluen içerisinde gerçekleştirilen polimerizasyon sonucunda PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA)-2 polimeri elde edilmiştir. Polimerin ¹H NMR spektrumu incelendiğinde hem

PEG-CTA hem tBMA hem de CEMA yapı bloklarının tüm karakteristik protonları açıkça görülmektedir (Şekil 4.15).



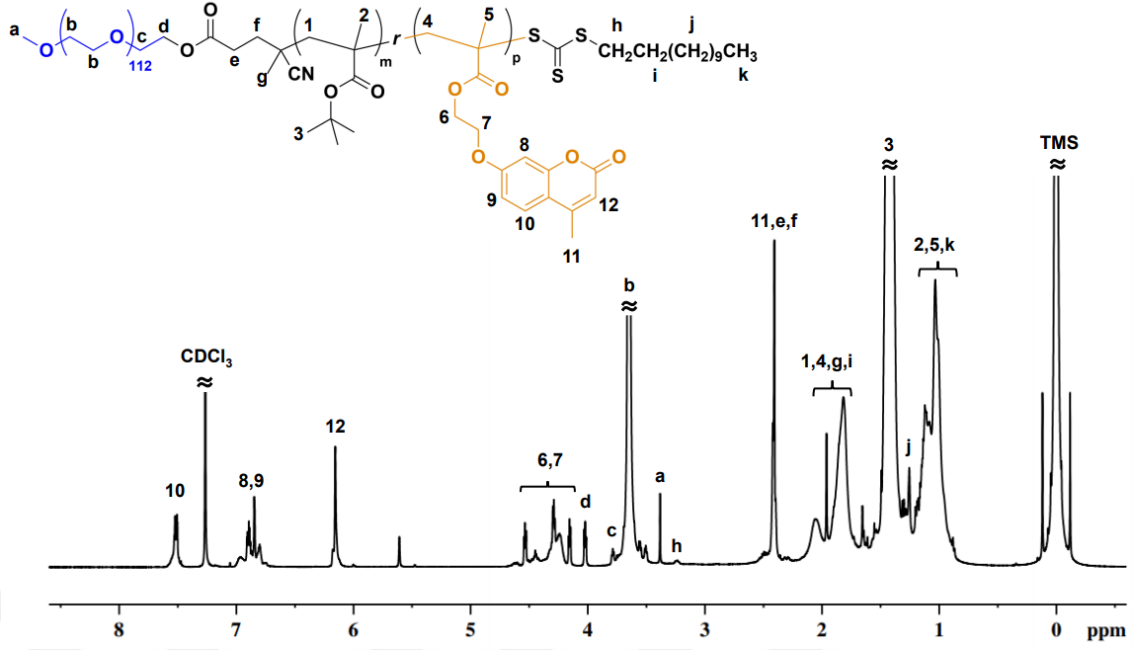
Şekil 4.16 : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA)-3'ün CDCl₃ içerisinde çekilmiş ¹H NMR spektrumu.

PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA)-3'ün termal özelliğini incelemek amacıyla çekilen DSC termogramı Şekil 4.17'de verilmiştir. -20.21 °C'de gözlenen T_c 'nin ve 45.08 °C'de gözlenen T_m 'in PEG bloğundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca 85.47°C'de bir T_g gözlenmiştir. Birbiriyle karışmayan polimerler ile oluşturulan blok kopolimer yapılarında bu tarz farklı termal davranışların gözlenmesi mümkündür.

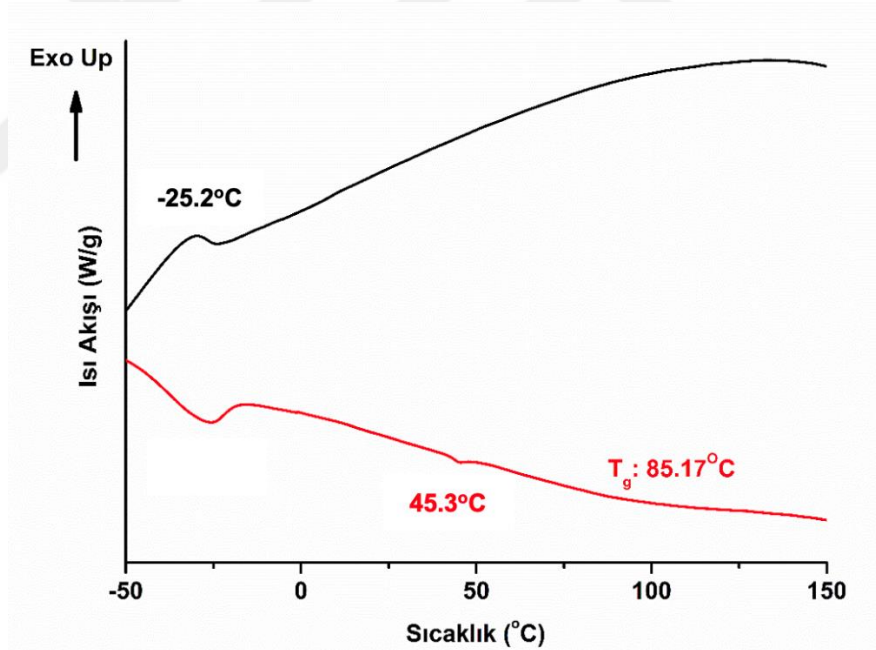


Şekil 4.17 : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA)-3'ün DSC termogramı.

Aynı koşullar kullanılarak tBMA/CEMA oranı 90/10 olacak şekilde PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA)-4 polimeri sentezlenmiş ve ¹H NMR ve DSC ile karakterize edilmiştir. PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA)-3'e benzer şekilde ¹H NMR spektrumunda PEG-CTA, tBMA ve CEMA yapı bloklarının tüm karakteristik protonları belirlenmiştir (Şekil 4.18). Polimerin DSC termogramı da PEG bloğuna özgü kristallenme ve erime sıcaklıkları ile P(tBMA-*r*-CEMA) bloğu ile ilgili camsı geçiş sıcaklığını içermektedir (Şekil 4.19).



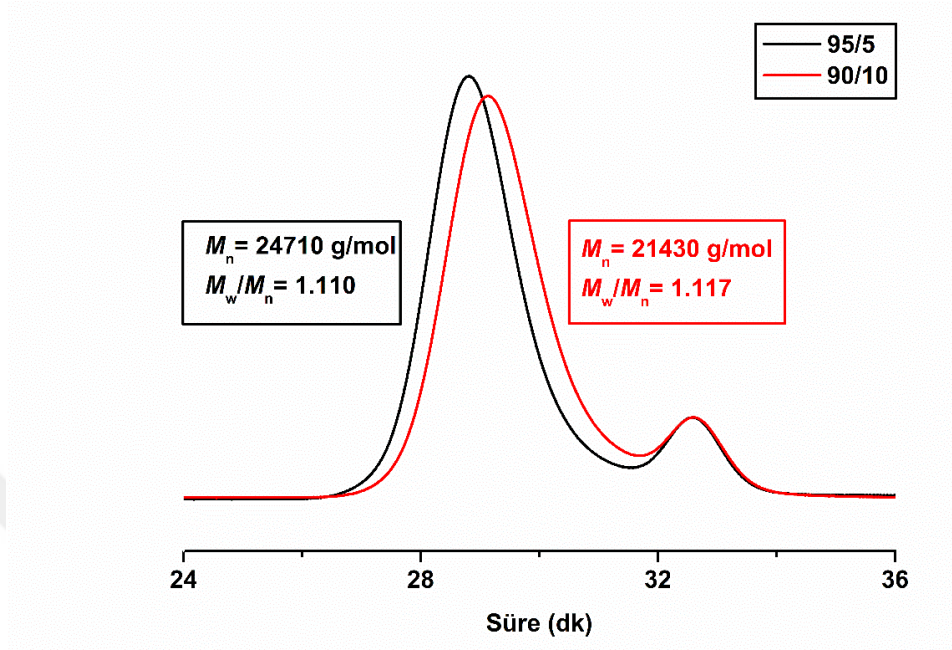
Şekil 4.18 : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA)-4'ün CDCl₃ içerisinde çekilmiş ¹H NMR spektrumu.



Şekil 4.19 : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA)-4'ün DSC termogramı.

PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA)-3 ve 4 polimerlerinin molekül ağırlıkları DMF GPC ile ölçülmüştür (Şekil 4.20). Her iki polimerin polidispersitesinin de 1'e çok yakın olduğu için kontrollü bir şekilde oluşturuldukları söylenebilir. CEMA oranı arttıkça molekül ağırlığının biraz azaldığı görülmüş, polidispersitede büyük bir değişiklik gözlenmemiştir. Düşük molekül ağırlığı bölgesinde küçük bir omuz gözlenmiş, bunun

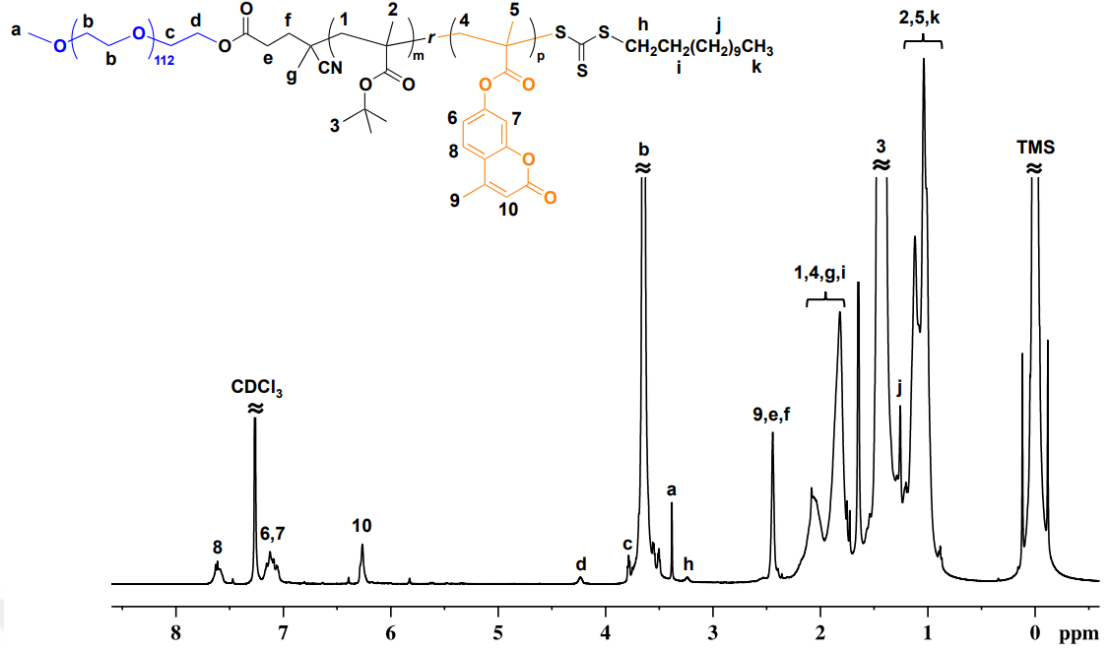
çok az miktarda bile olsa CDTP ile reaksiyona girmemiş olan PEG olabileceği sonucunda varılmıştır. PEG misel oluşumu sırasında diyaliz membrandan çıkabileceği için sistemimizi etkilemeyeceği düşünülmüştür.



Şekil 4.20 : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA)-3 (siyah) ve PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA)-4 (kırmızı) polimerlerinin DMF GPC kromatogramları.

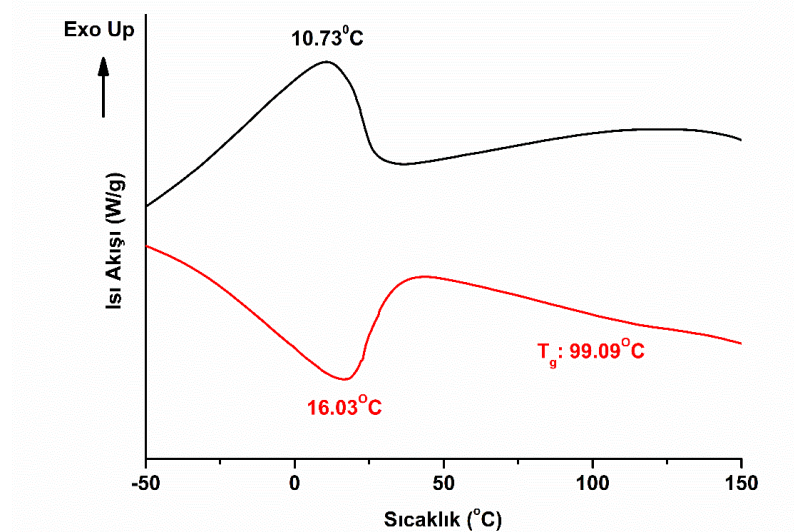
4.2.1.2 RAFT polimerizasyonu ile PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CMA) sentezi ve karakterizasyonu

Bir önceki aşamada sentezlenen polimerlere benzer şekilde CMA monomeri kullanılarak amfifilik kopolimerler oluşturulmuştur. 95/5 tBMA/CMA oranı ile toluen içerisinde sentezlenen PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CMA)-2'nin ¹H NMR spektrumunda PEG-CTA, tBMA ve CMA yapı bloklarının tüm karakteristik protonları Şekil 4.21'de görüldüğü gibidir.



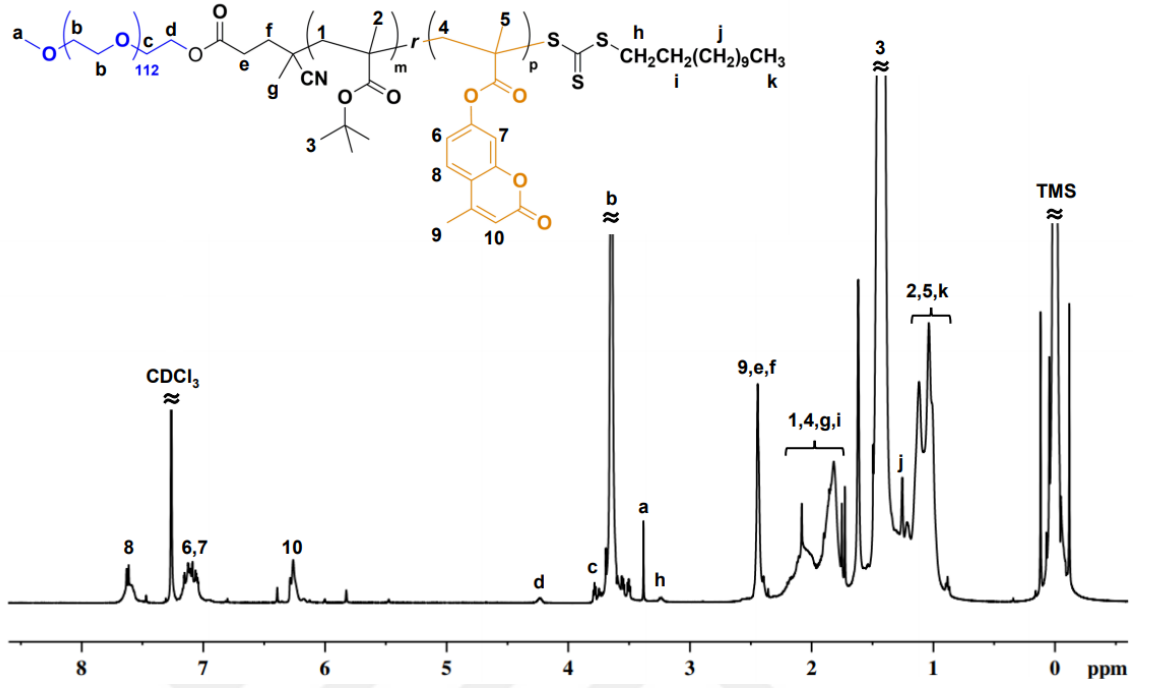
Şekil 4.21 : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CMA)-2'nin CDCl₃ içerisinde çekilmiş ¹H NMR spektrumu.

Polimerin DSC termogramında PEG bloğuna özgü kristallenme sıcaklığının CEMA monomeri ile elde edilen polimerlerdekine göre yükseldiği (10.73°C) ve erime sıcaklığının ise düştüğü (16.03°C) gözlenmiştir (Şekil 4.22). CEMA monomeri kumarin ve metakril arasındaki etilen grubu nedeniyle CMA monomerine göre daha esnek bir yapıya sahiptir. Bu durum PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CMA)-2'nin termal davranışında da açıkça görülmüştür. Camlı geçiş sıcaklığının 99.09°C'ye çıkması CMA monomerinin daha sert bir yapıya sahip olması ile açıklanabilir.



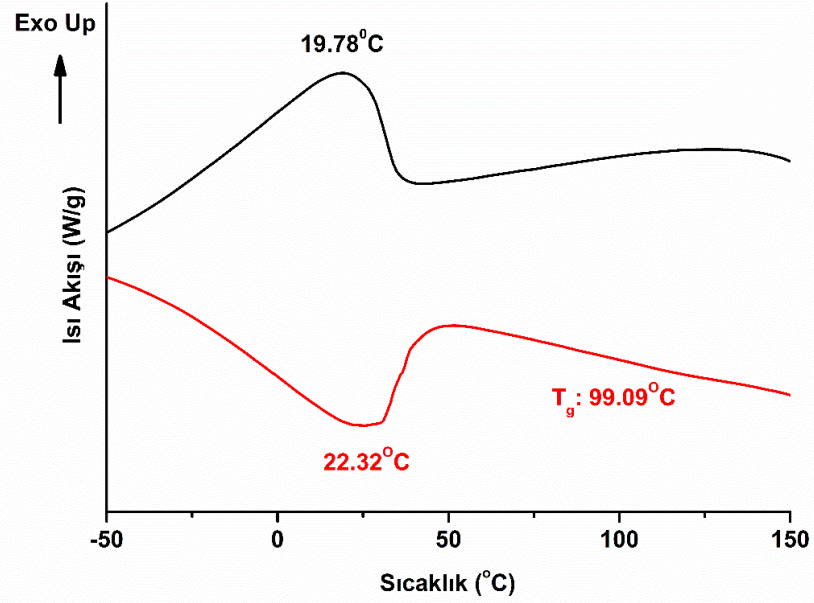
Şekil 4.22 : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CMA)-2'nin DSC termogramı.

90/10 tBMA/CMA oranı ile toluen içerisinde sentezlenen PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CMA)-3'ün ¹H NMR spektrumunda da tüm karakteristik protonlar belirlenmiştir (Şekil 4.23).



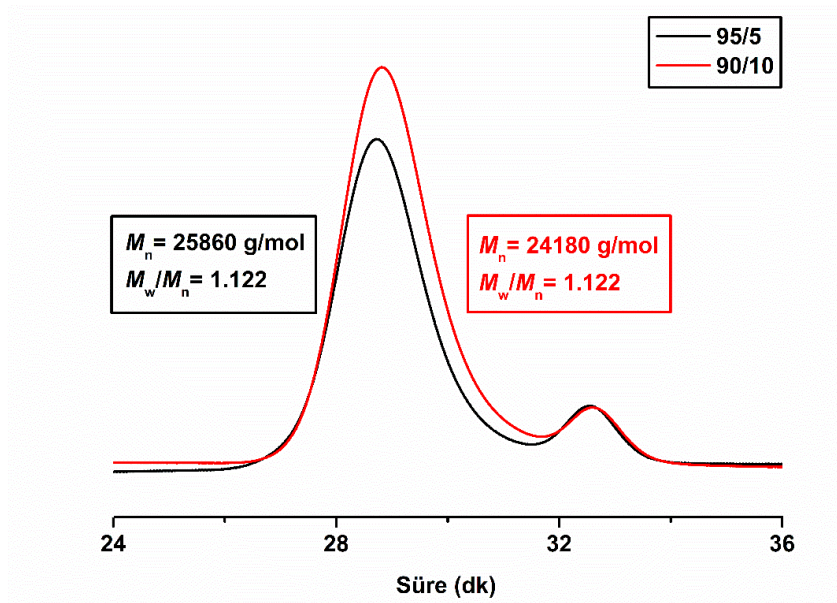
Şekil 4.23 : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CMA)-3'ün CDCl₃ içerisinde çekilmiş ¹H NMR spektrumu.

Polimerin DSC termogramında PEG bloğuna özgü kristallenme sıcaklığının yine CEMA monomeri ile elde edilen polimerlerden daha yüksek (19.78 °C) ve erime sıcaklığı daha düşük (22.32 °C) çıkmıştır (Şekil 4.24). Camı geçiş sıcaklığı ise 99.09°C olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.24 : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CMA)-3'ün DSC termogramı.

Şekil 4.25, PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CMA)-2 ve 3 polimerlerinin DMF GPC ile ölçülen molekül ağırlıklarını göstermektedir. Bu polimerlerin de polidispersiteleri 1'e çok yakın çıktığı için kontrollü bir şekilde oluşturuldukları söylenebilir. CMA oranı arttıkça molekül ağırlığı yine azalmış, polidispersitede bir değişiklik gözlenmemiştir. Düşük molekül ağırlığı bölgesinde CDTP ile reaksiyona girmemiş olan PEG'den kaynaklanan küçük bir omuz görülmektedir. PEG misel oluşumu sırasında diyaliz membrandan çıkabileceği için sistemimizi etkilemeyeceği düşünülmüştür.



Şekil 4.25 : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CMA)-2 (siyah) ve PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CMA)-3 (kırmızı) polimerlerinin DMF GPC kromatogramları.

Toluen içerisinde gerçekleştirilen polimerizasyonlar sonucunda elde edilen polimerlerin teorik olarak hesaplanan molekül ağırlıkları GPC ile ölçülen ve ¹H NMR'dan hesaplanan molekül ağırlıkları ile Tablo 4.2'de karşılaştırılmıştır. GPC ile ölçülen molekül ağırlıklarının teorik ve NMR molekül ağırlıkları ile uyumlu oldukları görülmektedir.

Tablo 4.2 : PEG-CTA makroRAFT ajanı kullanılarak sentezlenen polimerlerin teorik, ¹H NMR ve GPC molekül ağırlıkları.^a

Kodu	[tBMA]/[CEMA] veya [tBMA]/[CMA]	$M_{n,th}^b$ (g/mol)	$M_{n,GPC}$ (g/mol)	$M_{n,NMR}^c$ (g/mol)	M_w/M_n
KumP1: PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -CEMA)-3	95/5	23017	24710	21500	1.110
KumP2: PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -CMA)-2	95/5	22168	25860	20805	1.122
KumP3: PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -CEMA)-4	90/10	23785	21430	21666	1.117
KumP4: PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> -CMA)-3	90/10	23908	24180	21409	1.122

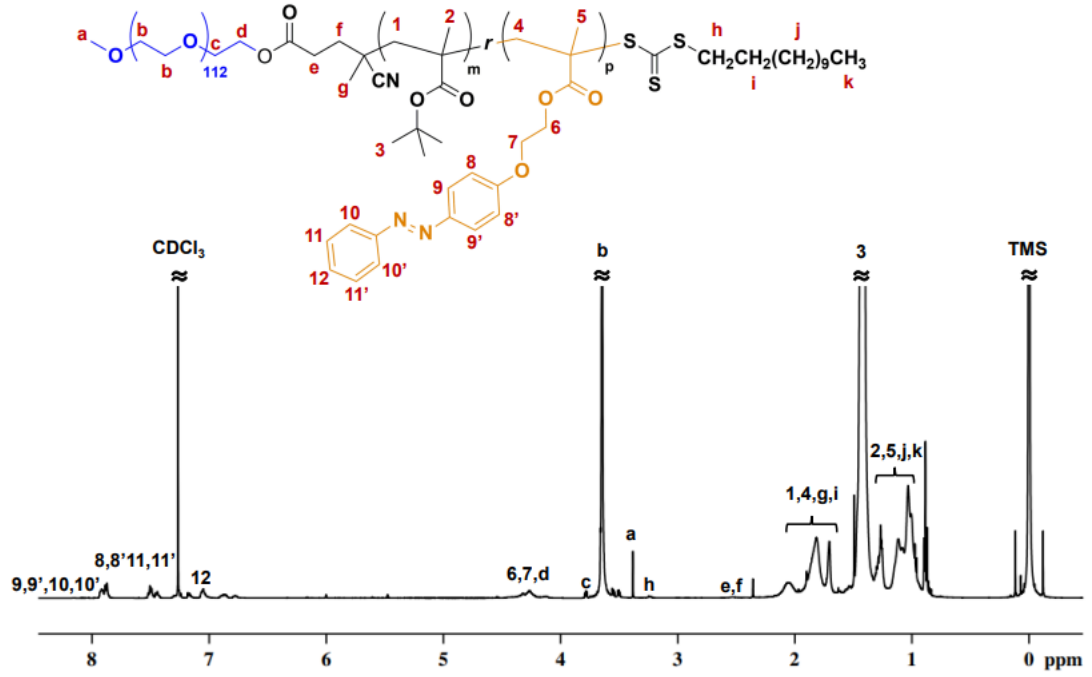
^a[M]/[makroRAFT]/[AIBN]= 200/1/0.33, polimerizasyon süresi= 14 saat, polimerizasyon sıcaklığı= 70°C

^bGravimetrik olarak hesaplanmıştır.

^c¹H NMR spektrumlarından hesaplanmıştır.

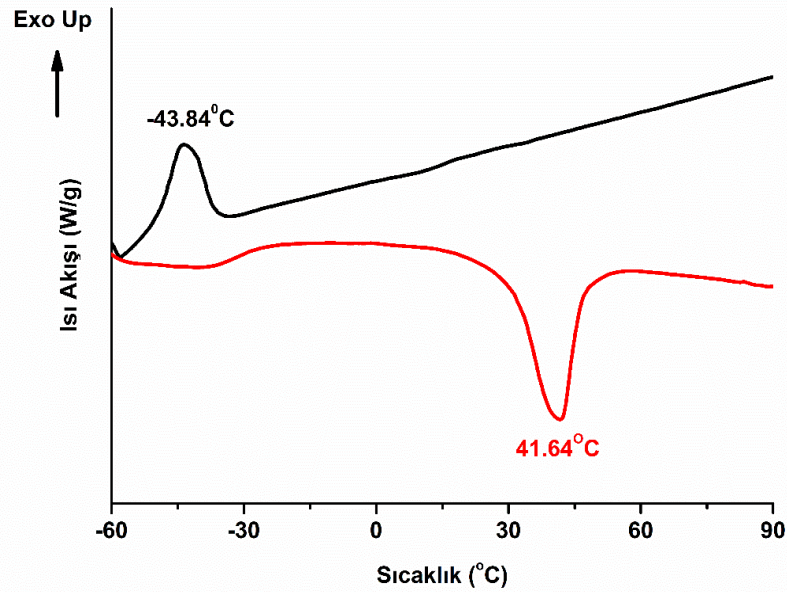
4.2.1.3 RAFT polimerizasyonu ile PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FAFEMA) sentezi ve karakterizasyonu

İlk olarak FAFEMA monomerinin ter-bütül metakrilat (tBMA) monomeri ile rastgele kopolimerizasyonu gerçekleştirilmiştir. Monomer oranları için projenin ilk kısmında kullanılan oranlara uyularak tBMA/FAFEMA oranları 95/5 ve 90/10 olarak çalışılmış, sırasıyla PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FAFEMA)-1 ve PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FAFEMA)-2 polimerleri sentezlenmiştir. Her iki polimer ¹H NMR, GPC ve DSC ile karakterize edilmiştir. PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FAFEMA)-1 polimerinin ¹H NMR spektrumu incelendiğinde hem PEG-CTA hem tBMA hem de FAFEMA yapı bloklarının tüm karakteristik protonları açıkça görülmektedir (Şekil 4.26).



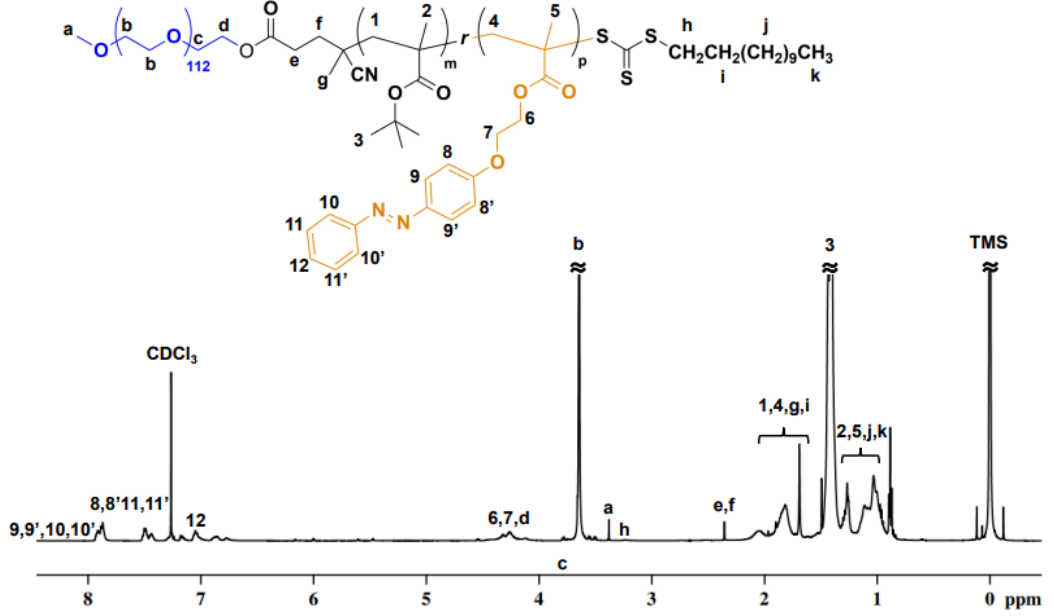
Şekil 4.26 : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FAFEMA)-1'in CDCl₃ içerisinde çekilmiş olan ¹H NMR spektrumu.

PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FAFEMA)-1'in termal özelliğini incelemek amacıyla çekilen DSC termogramı Şekil 4.27'de verilmiştir. -43.84 °C'de gözlenen T_c 'nin ve 41.64 °C'de gözlenen T_m 'nin PEG bloğundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu polimer için herhangi bir T_g gözlenememiştir.



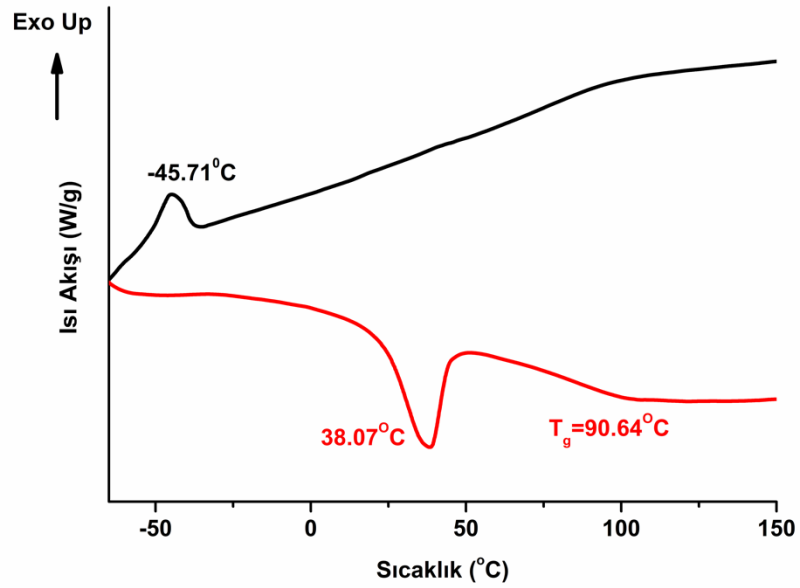
Şekil 4.27 : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FAFEMA)-1'in DSC termogramı.

PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FAFEMA)-2 polimerinin ¹H NMR spektrumunda PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FAFEMA)-1'e benzer şekilde PEG-CTA, tBMA ve FAFEMA yapı bloklarının tüm karakteristik protonları belirlenmiştir (Şekil 4.28).



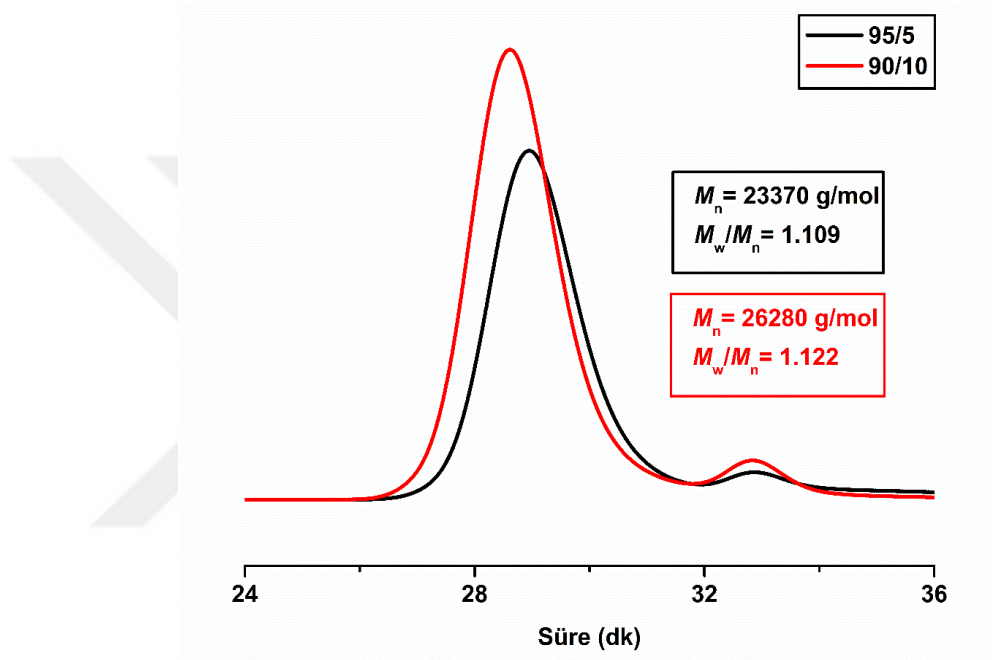
Şekil 4.28 : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FAFEMA)-2'nin CDCl₃ içerisinde çekilmiş olan ¹H NMR spektrumu.

PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FAFEMA)-2'in DSC termogramı incelendiğinde (Şekil 4.29) -45.71 °C'de T_c , 38.07 °C'de T_m ve 90.64 °C'de ise T_g gözlemlendiği görülmektedir.



Şekil 4.29 : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FAFEMA)-2'nin DSC termogramı.

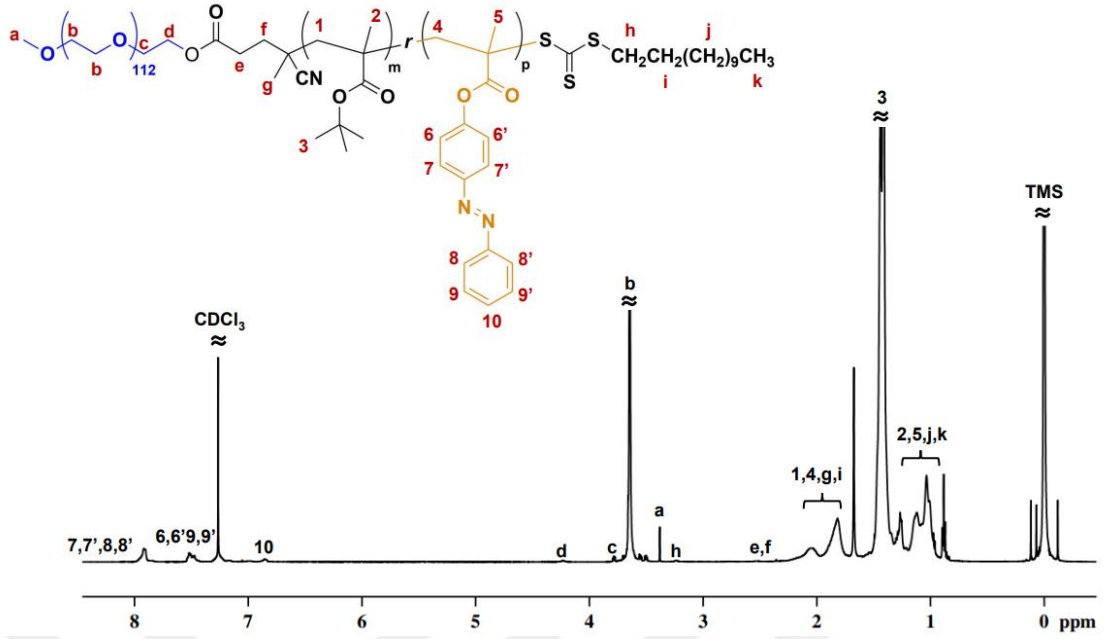
PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FAFEMA)-1 ve 2 polimerinin molekül ağırlıkları DMF GPC ile ölçülmüştür (Şekil 4.30). Polimerlerin polidispersitelerinin 1'e çok yakın olması nedeniyle kontrollü bir şekilde oluşturuldukları söylenebilir. FAFEMA oranı arttıkça molekül ağırlığı artmış ve polidispersitede az miktarda bir artış gözlemlenmiştir. Düşük molekül ağırlığı bölgesinde küçük bir omuz gözlenmiş, bunun çok az miktarda bile olsa CDTP ile reaksiyona girmemiş olan PEG olabileceği sonucunda varılmıştır. PEG misel oluşumu sırasında diyaliz membrandan çıkabileceği için sistemimizi etkilemeyeceği düşünülmüştür.



Şekil 4.30 : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FAFEMA)-1 (siyah) ve PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FAFEMA)-2 (kırmızı) polimerlerinin DMF GPC kromatogramları.

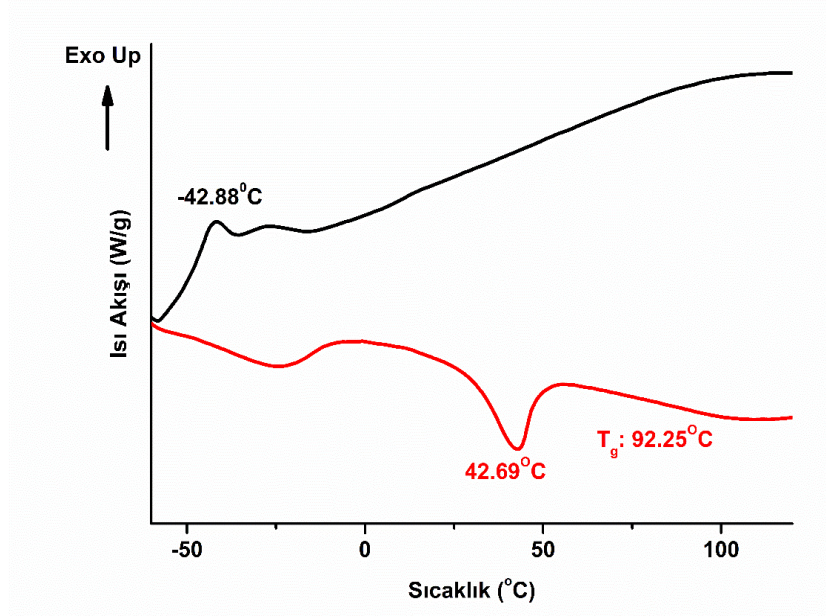
4.2.1.4 RAFT polimerizasyonu ile PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FMA) sentezi ve karakterizasyonu

Bir önceki aşamada sentezlenen polimerlere benzer şekilde FMA monomeri kullanılarak 95/5 ve 90/10 tBMA/FMA oranı ile sırasıyla PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FMA)-1 ve PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FMA)-2 polimerleri sentezlenmiştir. PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FMA)-1'in ^1H NMR spektrumunda PEG-CTA, tBMA ve FMA yapı bloklarının tüm karakteristik protonları Şekil 4.31'de görüldüğü gibidir.



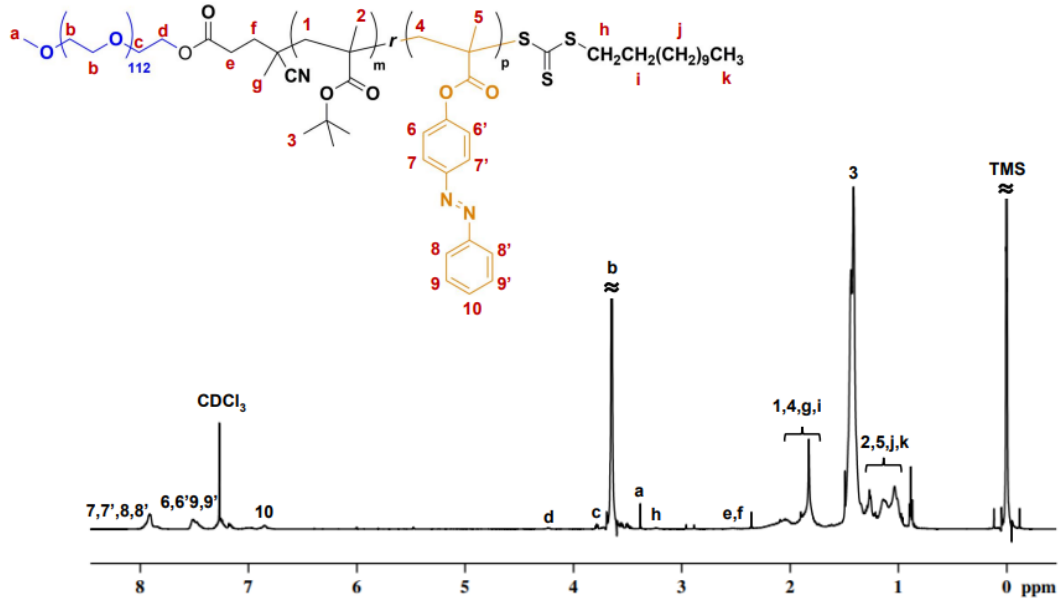
Şekil 4.31 : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FMA)-1'in CDCl₃ içerisinde çekilmiş olan ¹H NMR spektrumu.

Polimerin DSC termogramında (Şekil 4.32)-42.88 °C'de gözlenen T_c 'nin ve 42.69 °C'de gözlenen T_m 'in PEG bloğundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca, 92.25 °C'de bir T_g gözlenmiştir.



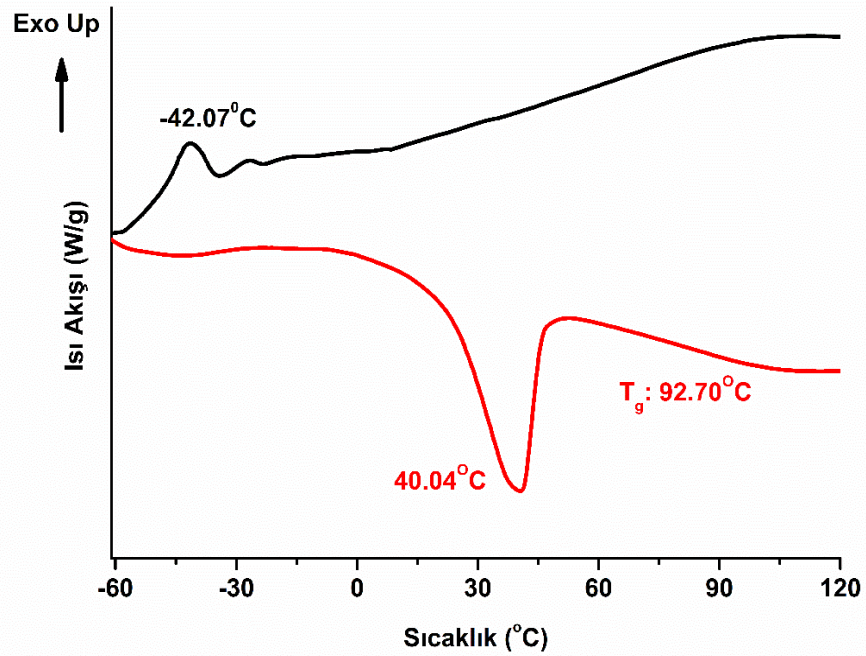
Şekil 4.32 : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FMA)-1'in DSC termogramı.

PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FMA)-2'nin ¹H NMR spektrumunda da tüm karakteristik protonlar belirlenmiştir (Şekil 4.33).



Şekil 4.33 : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FMA)-2'ün CDCl₃ içerisinde çekilmiş olan ¹H NMR spektrumu.

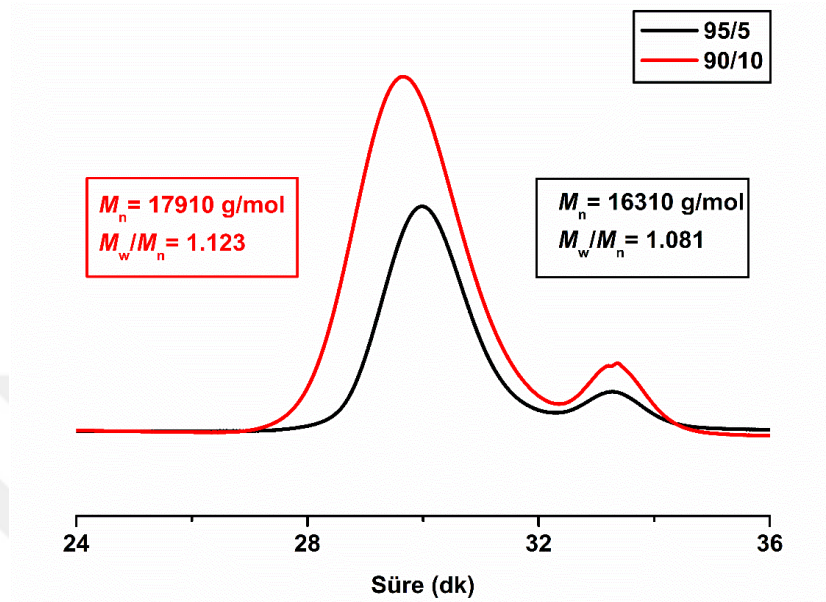
Polimerin DSC termogramında -42.07°C'de gözlenen T_c 'nin ve 40.04 °C'de gözlenen T_m 'in PEG bloğundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca, 92.70 °C'de bir T_g gözlenmiştir (Şekil 4.34).



Şekil 4.34 : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FMA)-2'ün DSC termogramı.

Şekil 4.35 PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FMA)-1 ve 2 polimerlerinin DMF GPC ile ölçülen molekül ağırlıklarını göstermektedir. Bu polimerlerin de polidispersiteleri 1'e yakın çıktığı için kontrollü bir şekilde oluşturuldukları söylenebilir. FMA oranı arttıkça

molekül ağırlığı artmış ve polidispersitede az bir miktarda artış gözlemlenmiştir. Düşük molekül ağırlığı bölgesinde CDTP ile reaksiyona girmemiş olan PEG'den kaynaklanan küçük bir omuz görülmektedir. PEG misel oluşumu sırasında diyaliz membrandan çıkabileceği için sistemimizi etkilemeyeceği düşünülmüştür.



Şekil 4.35 : PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FMA)-1 (siyah) ve PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FMA)-2 (kırmızı) polimerlerinin DMF GPC kromatogramları.

Toluen içerisinde gerçekleştirilen polimerizasyonlar sonucunda elde edilen polimerlerin teorik olarak hesaplanan molekül ağırlıkları GPC ile ölçülen ve ^1H NMR'dan hesaplanan molekül ağırlıkları ile Tablo 4.3'te karşılaştırılmıştır. GPC ile ölçülen molekül ağırlıklarının teorik ve NMR molekül ağırlıkları ile uyumlu oldukları görülmektedir.

Tablo 4.3 : PEG-CTA makroRAFT ajanı kullanılarak sentezlenen polimerlerin teorik, ¹H NMR ve GPC molekül ağırlıkları.^a

Kodu	[tBMA]/[FAFEMA] veya [tBMA]/[FMA]	Dönüşüm ^b (%)	$M_{n,th}$ ^b (g/mol)	$M_{n,GPC}$ ^c (g/mol)	$M_{n,NMR}$ ^d (g/mol)	M_w/M_n ^c
AzoP1: PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> - FAFEMA)-1	95/5	64	24652	23370	21380	1.109
AzoP2: PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> - FAFEMA)-2	90/10	69	27638	26280	22363	1.122
AzoP3: PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> - FMA)-1	95/5	60	23017	16310	20092	1.081
AzoP4: PEG- <i>b</i> -P(tBMA- <i>r</i> - FMA)-2	90/10	49	20527	17910	16501	1.123

^a[M]/[makroRAFT]/[AIBN]= 200/1/0.33, polimerizasyon süresi= 14 saat, polimerizasyon sıcaklığı= 70°C

^bGravimetrik olarak hesaplanmıştır.

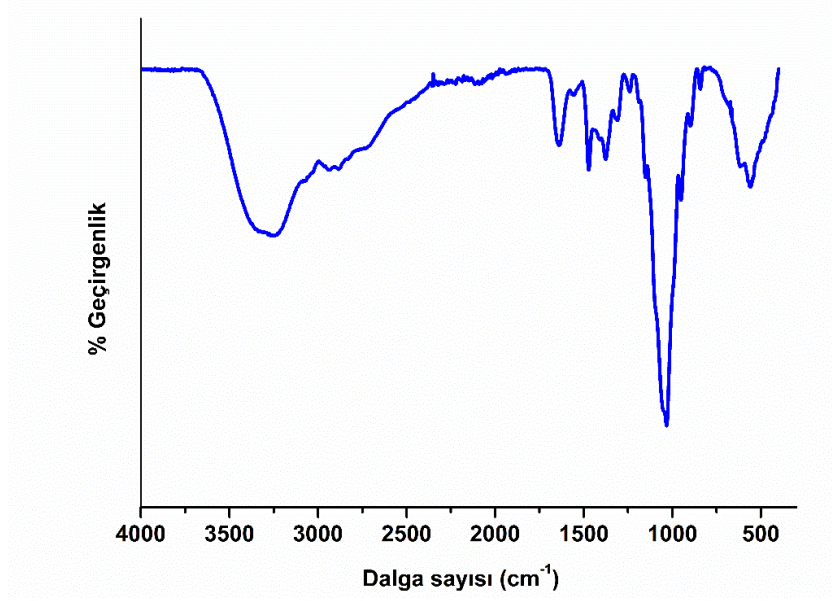
^cJel Geçirgenlik Kromatografisi (GPC) ile DMF içerisinde 40°C'de ölçülmüştür.

^d¹H NMR spektrumlarından hesaplanmıştır.

4.2.2 *N,N,N*-trimetil kitosanın (f-kitosan) sentezi ve karakterizasyonu

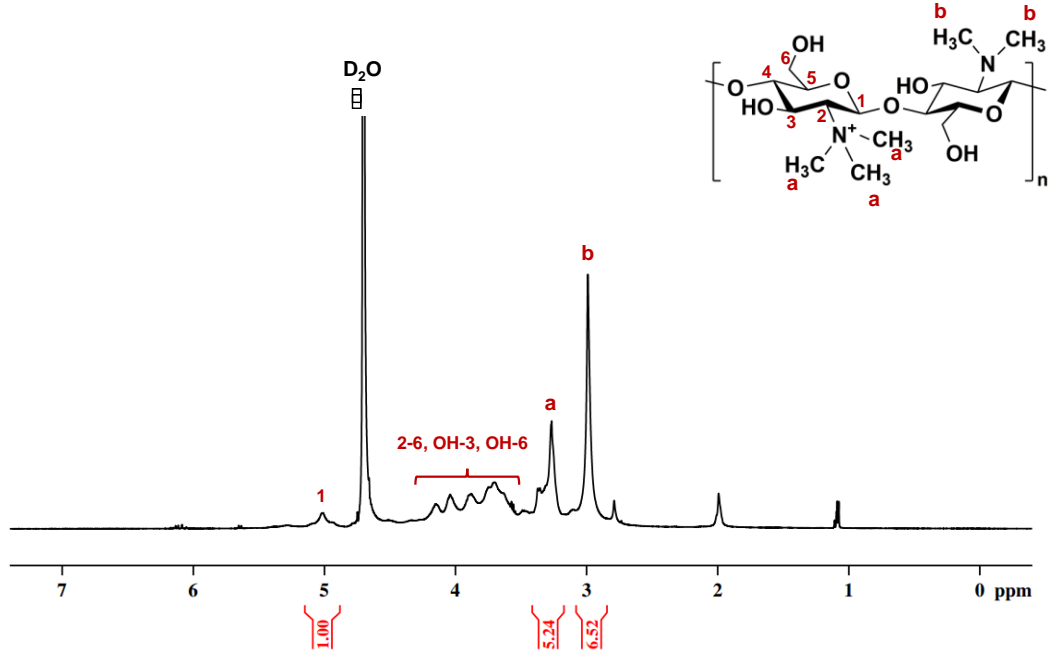
Literatürdekine benzer şekilde sentezlenmiştir [210]. Buna göre, kitosan (2.0 g, 1.05 x 10⁻⁵ mol) ve sodyum iyodür (NaI) (4.8 g, 0.032 mol), 80 mL 1-metil-2-pirolidinon içerisinde 60°C yağ banyosunda çözünene kadar karıştırılmıştır. Kitosan çözündükten sonra, 11 mL %15'lik sulu sodyum hidroksit ve 11.5 mL (0.185 mol) metil iyodür eklenerek 1 saat karışıma bırakılmıştır. Reaksiyon karışımı etanolde çöktürüldükten sonra madde santrifüj ile izole edilmiş ve tekrar etanol ile yıkanarak santrifüj sonrasında izole edilmiştir. Elde edilen madde 50 mL distile suda çözdürüldükten sonra içerisine 250 mL etanol içerisindeki 1 M HCl damla damla ilave edilmiştir. Karışım santrifüjle izole edilmiş ve önce etanol sonra dietil eter ile yıkanıp tekrar santrifüj edilerek vakum etüvünde kurutulmuştur.

Sentezi tamamlanan fonksiyonlandırılmış kitosan yapısının dönüşümlü infrared (FT-IR) spektrumları platin-ATR aksesuarı ile (ZnSe kristali) ALPHA Bruker spektrometresinde kaydedilmiştir. Şekil 4.36'da *N,N,N*-trimetil kitosanın FT-IR spektrumu verilmiştir. f-kitosan bileşiğinin kuarternar amonyum üzerindeki metil gruplarındaki C-H grubunun asimetric gerilme piki 1450 cm⁻¹'de gözlenmiştir.



Şekil 4.36 : *N,N,N*-Trimetil kitosanın FT-IR spektrumu.

¹H NMR ölçümleri, 500 MHz'lik Bruker NMR cihazında DMSO-D₆ çözücüsü kullanılarak alınmıştır. UV-Vis absorpsiyon spektrumları Hitachi marka U-2900 UV-Vis spektrofotometresi ile ölçülmüştür. Şekil 4.37'de verilen ¹H NMR spektrumunda glikozit halkasında bulunan **1** protonu 5.02 ppm'de, halkadaki diğer protonlar (**2-6**) ve halkaya bağlı -OH gruplarındaki protonlar (**OH-3** ve **OH-6**) 3.52 ile 4.32 ppm arasında görülmektedir. Fonksiyonlandırmanın %100 oranında gerçekleştirildiğini gösteren kuaternize metil grubu protonları (**a**) 3.26 ppm'de ve *N,N*-dimetillenmiş kısımdaki metil grubu protonları (**b**) 2.99 ppm'de görülmektedir. **1** ile gösterilen protonların integrallerinin **a** ve **b** protonlarının integralleri ile oranlanması sonucunda %45 oranında kuaternizasyon ve %55 oranında dimetilasyon gerçekleştirildiği tespit edilmiştir.



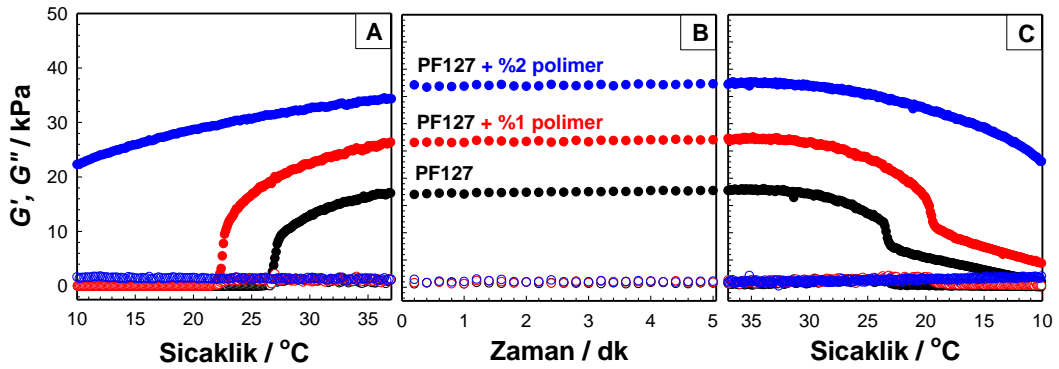
Şekil 4.37 : *N,N,N*-Trimetil kitosanın D_2O içerisinde çekilen 1H NMR spektrumu.

Tezin ilk bölümünde doğal bir polimer olan nişasta kullanılarak iyileştirilmiş özelliklere sahip jeller hazırlanırken ikinci kısmında, sentetik bir polimerden yola çıkılmıştır. Bu doğrultuda, Pluronik ailesi içerisinde medikal ve farmasötik uygulamalarda en çok tercih edilen üyesi PF127 kullanılmıştır. Pluronik çözeltileri düşük sıcaklıklarda sıvı halde iken, belirli sıcaklık değerlerinin üzerine çıktıklarında jel formuna geçmekte ve soğutulduğunda tekrar sıvı hale gelmektedir. Çözeltiler, çok hızlı bir şekilde sıvı halden jel formuna geçseler de oluşan hidrojellerin mekanik dayanımlarının yetersiz olması nedeniyle fizyolojik koşullarda uzun süre dayanamazlar. Bu durum Pluronik temelli sistemlerin en önemli dezavantajlarından biridir. Bu tez kapsamında, ısıya duyarlı ancak mekanik olarak zayıf PF127 sistemlerinin mekanik dayanımlarını iyileştirmek ve de jelleri ışığa duyarlı hale getirmek amacıyla PF127 yapıları ışığa duyarlı kromofor gruplar içeren amfifilik kopolimerlerle birleştirilmiştir. Kromofor grup olarak kumarin (CMA veya CEMA) ve azobenzen (FMA veya FAFEMA) kullanılmıştır.

4.2.3 PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA) veya PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CMA) - PF127 jelleri

Şekil 4.38-4.40'ı içeren bu kısım PF127-amfifilik polimer çözeltileri (PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA)-1) içeren jeller için öncü çalışmalar niteliğinde olup polimer için kısa kodlandırmalar yapılmamıştır.

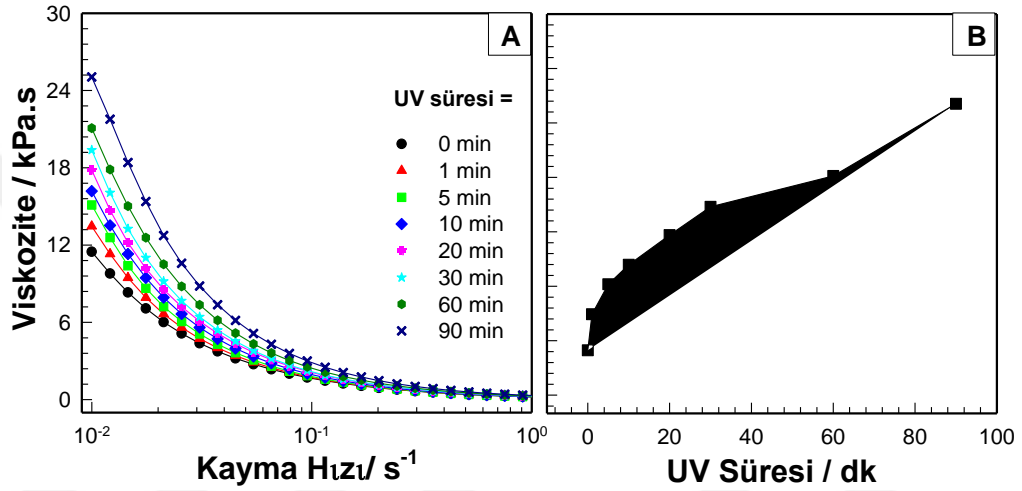
Amfifilik PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA)-1 kopolimerlerinin PF127 misel çözeltisi ile karıştırılmasıyla hazırlanan sistemin ilk olarak sıcaklık duyarlılıkları belirlenmiştir. Bu doğrultuda, değişen sıcaklıklarda modül değerleri Reometre cihazında takip edilmiştir. Şekil 4.38’de PF127 ve 2 farklı konsantrasyonda hazırlanan PF127/ amfifilik polimer sistemlerinin sıcaklığa bağlı G' ve G'' değerlerindeki değişim verilmektedir. PF127 sisteminde beklendiği üzere 27°C civarında modül değerleri hızla artarken sistem çözelti halinden jel haline geçmektedir. Modül değerlerinin artmaya başladığı sıcaklıklarda $G' > G''$ sol-jel geçişleri gözlemlenmiştir. 37°C’de 17.4 kPa gibi sabit bir modül değerine sahip PF127 jellerinin G' değeri sıcaklığın azaltılmasıyla tekrar azalmış ve jel-sol geçişi gözlemlenmiştir [199]. Sisteme %1’lik amfifilik polimer ilavesiyle geçiş sıcaklığının 22 °C’ye kaydığı ve 37°C’de elde edilen jellerin depo modül değerlerinin arttığı görülmüştür. Amfifilik kopolimer konsantrasyonu %2’ye çıkarıldığında ise sol-jel geçiş sıcaklığı ölçüm sınırlarının dışında bir noktaya kayarken G' değeri 37 kPa olarak belirlenmiştir. Sıcaklık profillerine bakılarak polimer ilavesinin jel geçiş sıcaklıklarında ve elde edilen jellerin denge modül değerlerinde oldukça etkili olduğu ortaya konmuştur.



Şekil 4.38 : PF127 ve amfifilik polimer sistemlerinin sıcaklık profilleri **A.** ve **C.** Isıtma ve soğutmaya bağlı depo modül (G') ve kayıp modül (G'') değerlerinin değişimi, **B.** 37°C’de G' ve G'' nün zamana bağlı değişimi.

Sıcaklık değişimine bağlı cevabı izlenen sistemlerin UV altında akış davranışlarının değişimini gözlemek amacıyla reometre cihazında viskozite ölçümleri alınmıştır. Plakalar arası 0.5 mm olacak şekilde ayarlanarak oda sıcaklığında çalışılmıştır. Kayma hızına bağlı olarak viskozite değerlerinin değişimi farklı UV aydınlatması altında ölçülmüş olup değerler Şekil 4.39A’da verilmektedir. Beklendiği üzere, kayma hızına bağlı olarak viskozite değerleri azalmaktadır. Kayma hızı 0.01 s^{-1} olduğu nokta “sıfır kayma viskozite değeri” olarak alınıp Şekil 4.39B’de UV süresine bağlı viskozitelerin

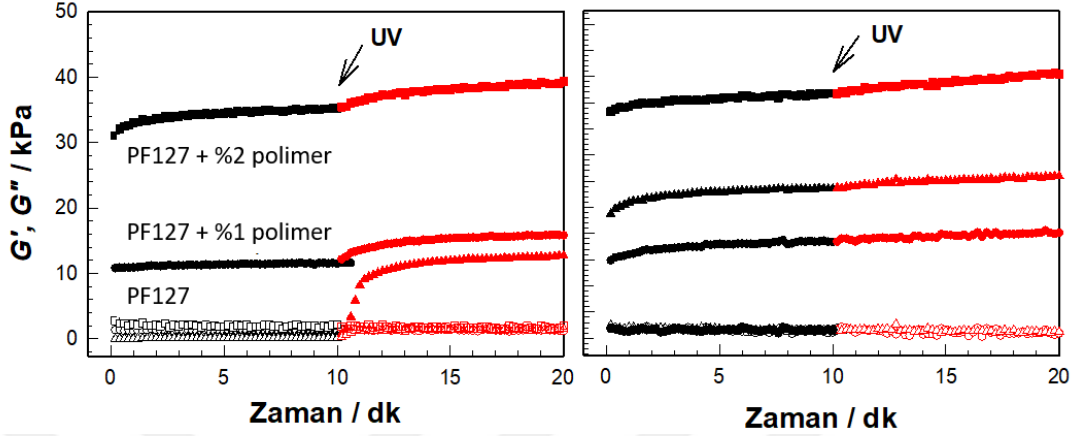
değişimleri çizilmiştir. Görüldüğü üzere aydınlatma yapılmadan önce yaklaşık 11.5 kPa.s olarak belirlenen viskozite değeri UV aydınlatmasına bağlı olarak artmaktadır. 90 dakikalık bir aydınlatma sonunda ise viskozite değeri 25 kPa.s olarak ölçülmüştür. 90 dk sonunda viskozite bir plato değerine ulaşmasa da örneğin özellikle 60 dk sonrası plakalar arasında kurumaya başlama ihtimalini de göz önünde bulundurarak bu sürenin üzerinde bir aydınlatma yapılmamıştır. Özetle, PF127 sistemine kromofor grup içeren amfifilik kopolimerleri eklendiğinde, 365 nm dalga boyundaki UV ışığına verdiği cevap viskozite değerlerinin artmasıyla gözlemlenmiştir.



Şekil 4.39 : PF127-amfifilik polimer sisteminin **A.** Kayma hızına bağlı viskozite **B.** UV süresine bağlı viskozite (0.01 s^{-1} kayma hızında) değerlerinin değişimi.

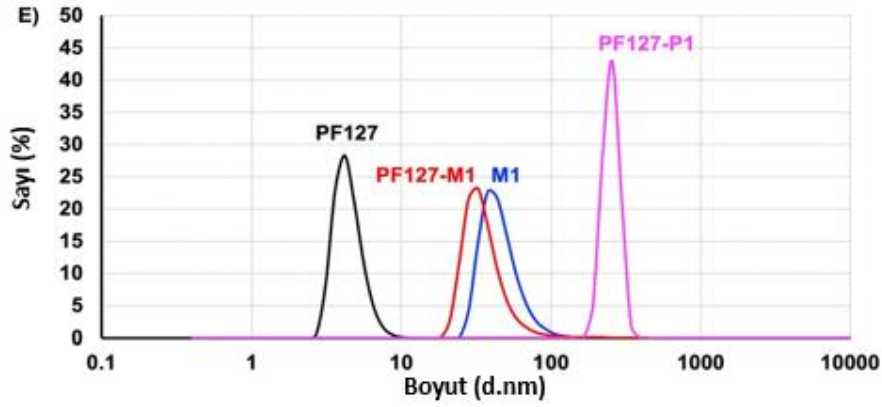
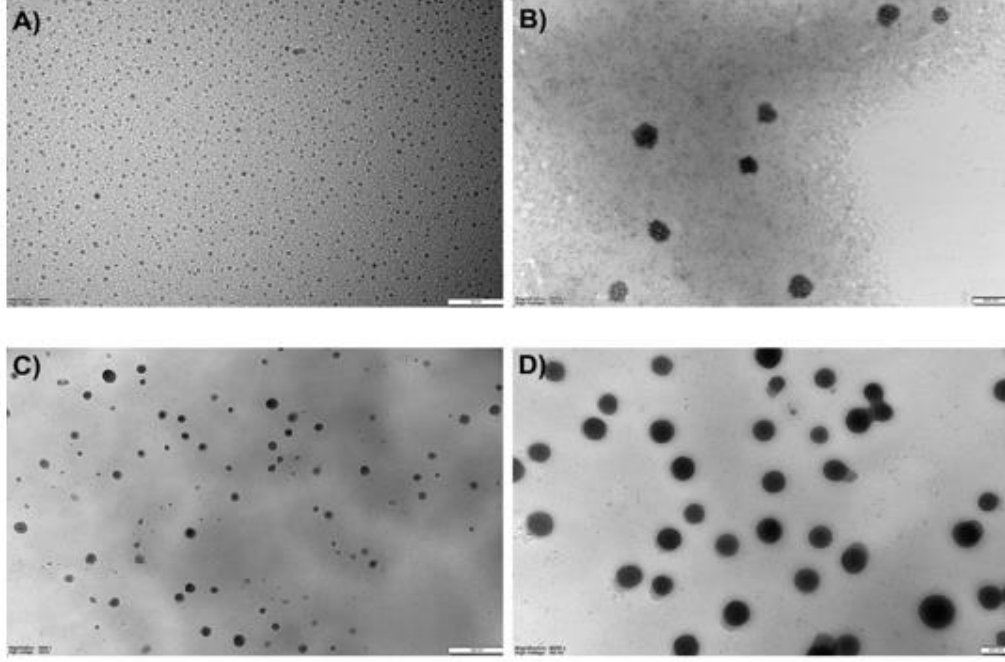
Hazırlanan formülasyonlar üzerinde uygulanan bir başka test ise zamana bağlı G' ve G'' değerlerinin iki farklı sıcaklıkta takibidir. Bu testte, UV aydınlatma kapalı ve açık olacak şekilde 10'ar dk boyunca modüller takip edilmiş olup sonuçlar Şekil 4.40'ta verilmiştir. 24 °C'de alınan verilere göre, UV kapalıyken PF127 sistemi çözelti halinde olmasına rağmen iki farklı konsantrasyonda hazırlanan PF127/amfifilik polimer sistemlerinde $G' > G''$ şeklinde olup bu formülasyonlar jel formundadır. Bu durum sıcaklık profillerinde açıklandığı üzere polimer ilavesiyle sistemin sol-jel geçiş sıcaklığının daha düşük değerlere kaymasından kaynaklanmaktadır. 10 dk sonunda UV aydınlatma ile birlikte modül değerlerinde bir artış gözlemlenmektedir. Bu artış özellikle PF127 sisteminde daha belirgin olup sistemin sol-jel geçişine neden olmuştur. Kromofor grup içermeyen bu yapıda UV aydınlatma ile gerçekleşen modül artışının cihaz plakalarının ışık ile ısınmasına bağlı olarak sistem sıcaklığının artışından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ölçüm sırasında sıcaklık ne kadar kontrol altında olsa da aydınlatma yapılan quartz plakasının 2-3 °C'lik ısınması, PF127

çözeltilerinin geçiş sıcaklığına ulaşıldığı bilinmektedir. Aynı ölçümler 37°C'de gerçekleştirildiğinde ise UV'ye bağlı olarak modül değerlerindeki değişim oda sıcaklıklarında olduğu gibi belirgin değildir.



Şekil 4.40 : PF127 ve amfifilik polimer (%1 ve %2) sistemlerinin zamana bağlı depo modül (G') ve kayıp modül (G'') değerlerinin değişimi. Ölçümler 24 ve 37 °C'de 10 dk UV açık ve 10 dk kapalı şekilde gerçekleştirilmiştir.

Bölüm 3.3.2'de verildiği üzere kopolimerlerinin, PF127 sistemi üzerine etkilerini görmek amacıyla iki farklı yol izlenmiş olup bunlar; yukarıda bahsedilen kopolimerlerin direkt olarak PF127 misel çözeltisi ile karıştırılması ve bir diğeri ise PF127 ile amfifilik kopolimerlerin karışık misellerinin hazırlanmasıdır. Çalışmanın bir sonraki aşamasında, PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA)-3, PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CMA)-2, PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA)-4 ve PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CMA)-3 kopolimerlerinin, PF127 sistemi üzerine etkilerini görmek amacıyla PF127 ile amfifilik kopolimerlerin karışık miselleri hazırlanarak sırasıyla PF127-KumM1, PF127-KumM2, PF127-KumM3 ve PF127-KumM4 olarak adlandırılmıştır. Direkt polimerler kullanılarak hazırlanan hidrojeller ise yine sırasıyla P1, P2, P3 ve P4 olarak adlandırılmıştır.



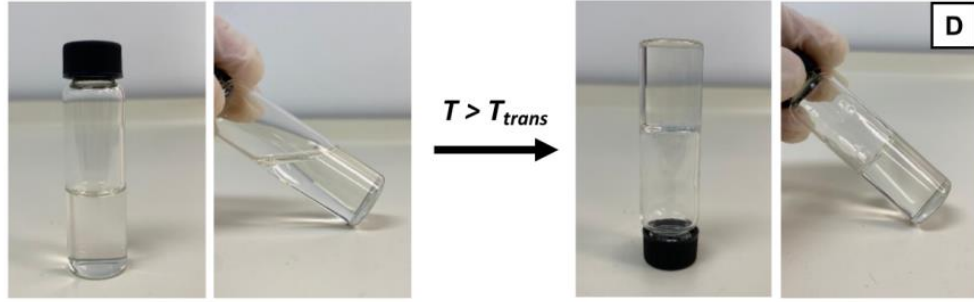
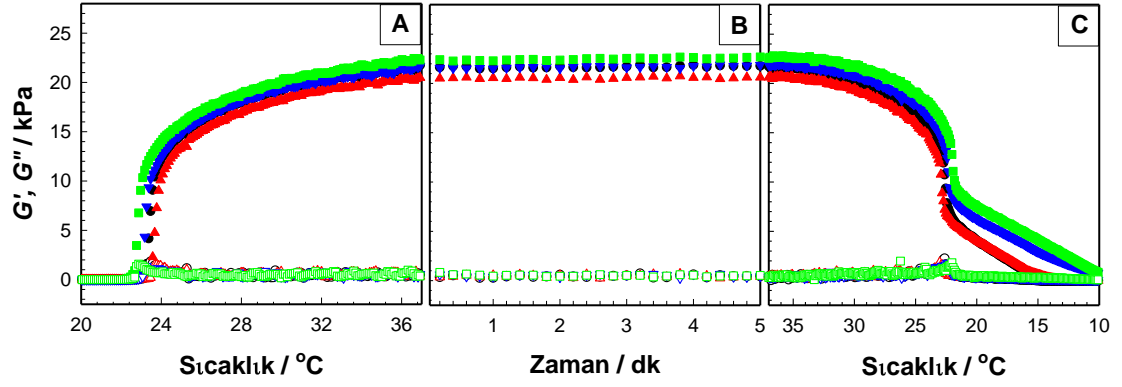
Şekil 4.41 : **A.** PF127 ($\times 10$ seyreltilmiş, ölçek aralığı: 50 nm), **B.** KumM1 polimer miseli (ölçek aralığı: 500 nm), **C.** PF127-M1 hidrojel ($\times 10$ seyreltilmiş, %2 ağırlık PF127, ölçek aralığı: 500 nm), **D.** PF127-P1 hidrojel ($\times 50$ seyreltilmiş, %0.4 ağırlık PF127, ölçek aralığı: 200 nm) TEM görüntüleri ve **E.** Karşılık gelen numunelerin DLS ölçümleri

Jellerin morfolojik karakterizasyonu, transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ile değerlendirilmiştir. Şekil 4.41A-D'de, PF127 çözeltisi ($\times 10$ seyreltilmiş), KumM1 polimer miseli, PF127-M1 ($\times 10$ seyreltilmiş), ve PF127-P1 ($\times 50$ seyreltilmiş) hidrojellerinin TEM görüntüleri verilmiştir. Misellerin ve jellerin iyice dağıldığı ve birbirinden ayrıldığı açıkça görülmektedir. TEM görüntülerinden elde edilen parçacık boyutlarının, DLS ile ölçülen sonuçlarla uyum içinde olduğu tespit edilmiştir. Şekil 4.41E'de gösterildiği gibi, PF127, M1, PF127-M1 ve PF127-P1'in parçacık büyüklükleri sırasıyla 4, 47, 35 ve 259 nm olarak bulunmuştur. Sistemin türünden bağımsız olarak, her iki durumda da sadece bir pik elde edilmiştir. Literatürdeki karışık

misel sistemlerini içeren çalışmalar göz önüne alındığında, PF127 ve amfifilik polimer zincirlerinden oluşan misellerin tek bir karışık misel yapısında toplanması nedeniyle tek bir tepe noktasının oluşması beklenmektedir [211, 212]. PF127 çözeltilerine direkt polimer yapılarının eklendiği PF127-P1 sisteminde, amfifilik polimer zincirlerinin PF127 misellerini çevrelediği bir yapı öngörülmektedir. Pluronik - kitosan zincirlerini içeren çalışma göz önüne alındığında, jel sisteminde polimer ilavesi ile PF127 katmanlarının yakın paketlenmesini engellenmesinden dolayı boyutta bir artış olduğu düşünülmektedir [202]. Misel boyutlarındaki artışın bir diğer nedeni de PF127-P1 sisteminde kullanılan polimer konsantrasyonunun PF127-M1 yapılarına göre daha yüksek olmasıdır.

Hazırlanan jellerin biyo-uygulamalarda kullanılması amaçlandığından enjekte edilebilir olması, enjeksiyon bölgesinde stabil olması ve ışık uyarısı varlığında akış davranışını değiştirmesi beklenmektedir. Tüm bu gereklilikleri karşılamak ve modül değerlerini belirlemek için jellerin reolojik özelliklerinin izlenmesi özellikle önemlidir.

Bilindiği gibi PF127 solüsyonları sıcaklığa duyarlıdır ve artan sıcaklıkla sıvı halden jel haline geçerler. Bu nedenle, öncelikle amfifilik diblok terpolimerlerin, PF127'nin sıcaklık profili üzerindeki etkisi incelenmiştir. Jeller, 10 ile 37 °C arasındaki sıcaklığa ve 37 °C'deki süreye bağlı olarak dinamik modüllerinin izlendiği ısıtma-tutma-soğutma adımlarını içeren bir teste tabi tutulmuştur. Şekil 4.42, PF127 ve PF127-Mx sistemlerinin sıcaklık profillerini göstermektedir. Beklendiği gibi, PF127 sistemi için artan sıcaklıkla birlikte bir sol-jel geçişi ile G' değerinde hızlı bir artış gözlemlenmiştir.



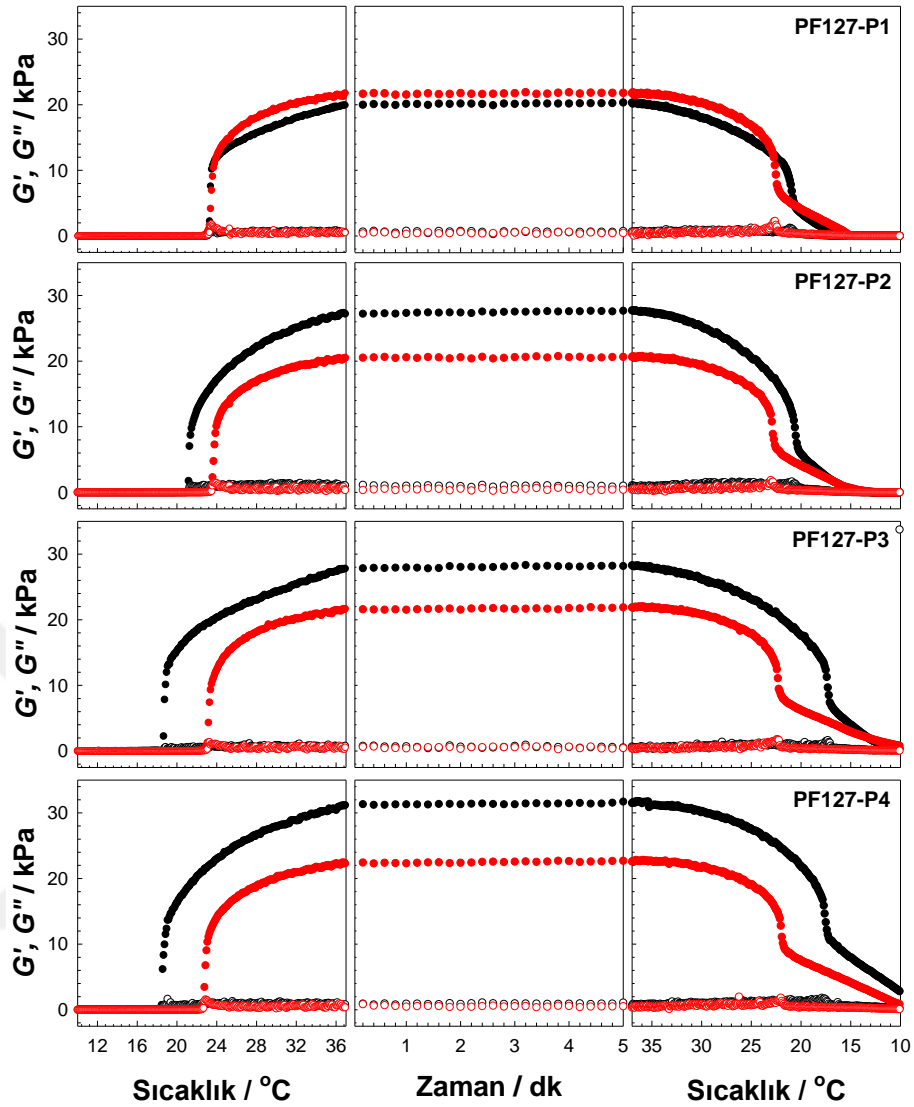
Şekil 4.42 : Karışık misel sistemlerinin (PF127-KumM_x) sıcaklık profilleri. **A.** ve **C.** Isıtma - soğutmaya bağlı depo modül değerlerinin değişimi ve **B.** 37°C’de depo modülün zamana bağlı değişimi. **D.** PF127-M3 hidrojellerinin sıcaklığa bağlı sol-jel geçiş davranışı. PF127-KumM1 (●), PF127-KumM2 (▲), PF127-KumM3 (▼) ve PF127-KumM4 (■).

Su molekülleri ile zincirlerin oluşturduğu hidrojen bağları çözünmeyi sağlarken, artan sıcaklıkla birlikte blokların hidrofobikliği arttıkça miseller birbirine yaklaşır SANS ölçümlerine göre, daha yüksek sıcaklıklarda, saçılma fonksiyonlarına giderek artan şekilde bir tepe noktası hakimdir ve bu da komşu miseller arasındaki önemli uzamsal korelasyonu ortaya çıkarır. %20 kopolimer konsantrasyonunda, misellerin kristal bir kafes üzerinde sıralanması PF127 jelleşmesine yol açar [18, 213, 214]. PF127 için sol-jel geçiş sıcaklığı 26 °C olarak belirlenen (T_{trans}) ($G' > G''$), aynı konsantrasyonda hazırlanan PF127-M_x hidrojellerde 22 °C civarında daha düşük derecelere kaymıştır (Tablo 4.4).

Tablo 4.4 : Reometrede gerçekleştirilen KumPx jellerinin sıcaklık profil testinin sonuçları

Örnek Kodu	T_{trans} (°C)	37°C' de G' (kPa)	Örnek Kodu	T_{trans} (°C)	37°C' de G' (kPa)
PF127	26.1	17.5	PF127	26.1	17.5
PF127-KumM1	22.7	21.8	PF127-KumP1	23.2	20.2
PF127-KumM2	22.4	20.6	PF127-KumP2	21.1	27.6
PF127-KumM3	22.1	21.9	PF127-KumP3	18.6	28.1
PF127-KumM4	22.0	22.7	PF127-KumP4	18.4	31.4

Düşük sıcaklık, yapıda artan polimer konsantrasyonundan ve dolayısıyla, PF127-M1 ve PF127-M4 hidrojel için T_{trans} değerinin 22.7'den 22.0°C'ye kademeli olarak kaymasıyla desteklenen artan etkileşimlerden kaynaklanmaktadır. Aynı nedenle sistemlerin 37 °C'deki denge modülü 17.5 kPa'dan 22.0 kPa'nın üzerine çıkmıştır. Soğutma adımında, karışık misel hidrojel için tipik bir PF127 grafiği görülebilir (Şekil 4.42C). Isıtma profilinin aynı davranışı, esas olarak çözeltinin yüksek viskozitesinden dolayı miseller arası dolanmaların (entanglements) yavaş gevşemesinden kaynaklanarak soğutma adımında gözlenirse de tüm sistem çözelti durumuna geri dönmektedir [215]. Jelleşme ayrıca görsel olarak, vialin ters çevrilmesi üzerine numune akışının tespit edilmediği sıcaklık olarak belirlendi (Şekil 4.42D).

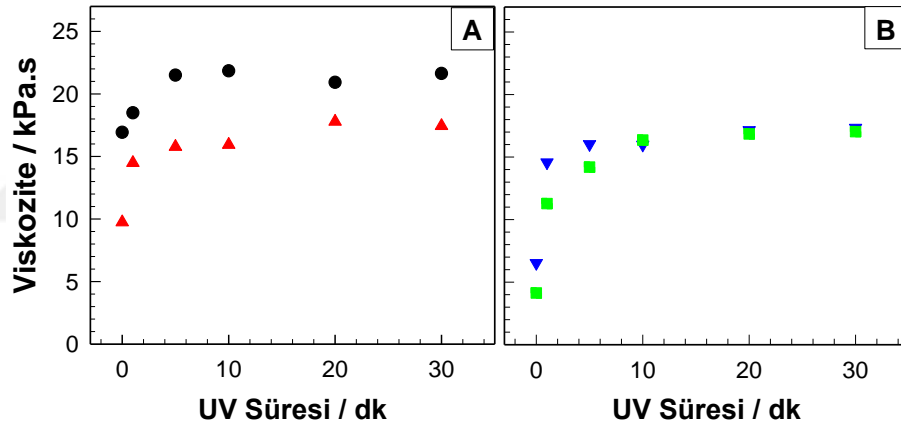


Şekil 4.43 : PF127-Mx (●) ve PF127-Px (●) hidrojelilerin sıcaklık profillerinin karşılaştırılması. G' dolu sembollerle, G'' açık sembollerle gösterilmiştir,

PF127-Px ağları, polimerlerin misel oluşturma aşaması olmadan doğrudan PF127 miselleri ile karıştırılmasıyla hazırlanmıştır. PF127-Mx jellerine benzer şekilde, %2 ağ/hac terpolimer amfifilik polimer içeren PF127-Px sistemlerinin sıcaklık profilleri incelenmiştir. Şekil 43'te görüldüğü üzere, PF127-P1 jeli hariç, PF127-Px jellerinin modül değerleri, PF127-Mx hidrojellerinden daha yüksek çıkmıştır. CMA içeren sistemlerin (PF127-P2 ve PF127-P4), CEMA içeren jellere (PF127-P1 ve PF127-P3) göre biraz daha düşük sol-jel geçiş sıcaklıkları sergilediği gözlemlenmiştir. Ayrıca kromofor oranı yüksek olan sistemlerin (90/10) T_{trans} değerleri kromofor oranı 95/5 olan jellere kıyasla daha düşüktür. PF127-P4 jelleri ortalama 18.4 °C sıcaklıkla en düşük sol-jel geçişini göstermiştir. T_{trans}

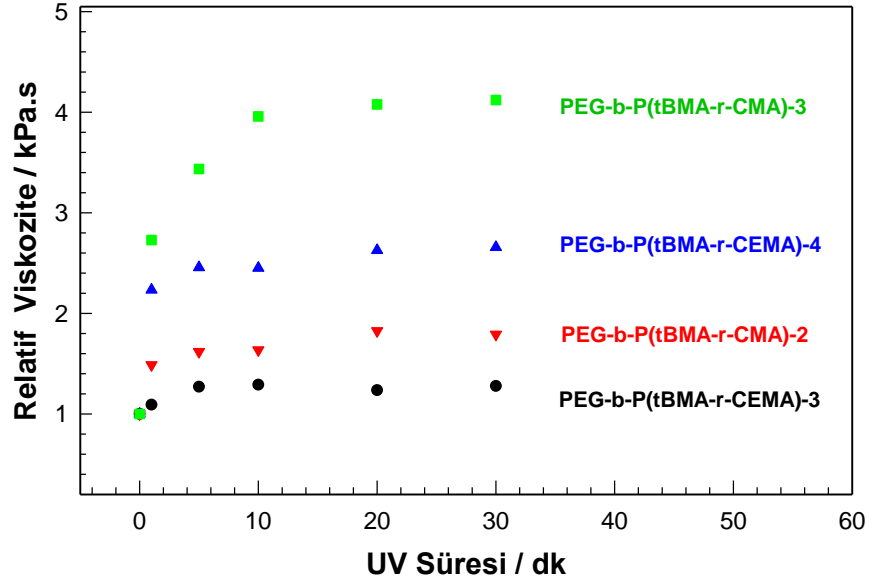
değerindeki azalmayla orantılı olarak jellerin modül değerlerinde artış gözlemlenmiştir. Bu durum, kumarin miktarındaki artışa bağlı olarak F127 miselleri arasındaki hidrofobik etkileşimlerin güçlenmesinden kaynaklanmaktadır.

Şekil 4.44'te UV aydınlatma süresine bağlı olarak viskozite değerlerinin değişimi verilmektedir. Kumarin miktarından ve monomerin türünden bağımsız olarak tüm sistemlerde UV ile viskozite değerlerinin arttığı ve yaklaşık 20 dk'lık bir aydınlatma sonrası denge değerlerine ulaşıldığı görülmektedir. UV aydınlatma öncesi viskoziteler göz önünde bulundurulursa, kromofor grubun daha az olduğu PF127-KumM1 ve PF127-KumM2 polimerlerini içeren sistemlerde viskozitelerin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durum, kumarin oranı arttıkça molekül ağırlığının azalması ve buna bağlı olarak viskozite değerlerinin düşmesi ile açıklanmaktadır. Denge viskozite değerlerine bakıldığında ise 95/5 oranında hazırlanan polimerleri içeren sistemlerin daha yüksek viskozite değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir.



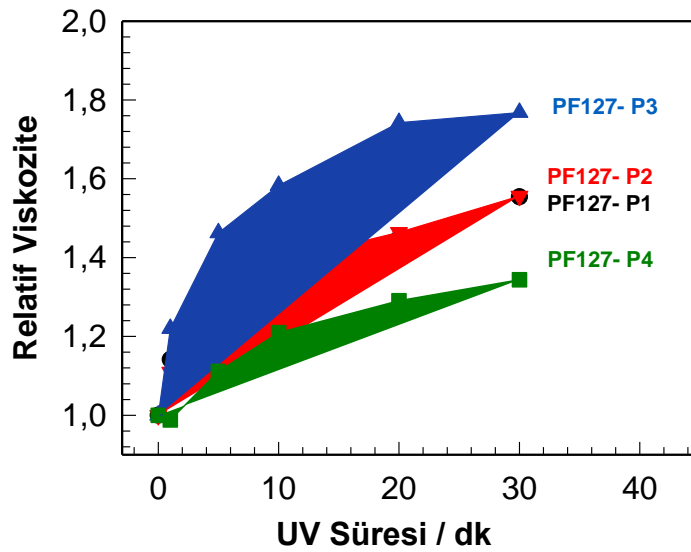
Şekil 4.44 : PF127-polimer misel karışımlarının sisteminin (PF127-KumMx) UV süresine bağlı viskozite (0.01 s^{-1} kayma hızında) değerlerinin değişimi. PF127-KumM1 (●), PF127-KumM2 (▲), PF127-KumM3 (▼) ve PF127-KumM4 (■).

Aydınlatma ile viskozitelerdeki değişimi daha iyi yorumlamak adına t anındaki değerler başlangıç viskozitelerine göre oranlanarak Şekil 4.45'te verildiği üzere relatif viskozite değerleri elde edilmiştir. Buradan açık bir şekilde görülmektedir ki kromofor grubun artmasına bağlı olarak viskozite değerlerindeki artış belirgindir. Aynı oranda kumarin grubu içeren sistemleri polimerin fazladan bir etil grubu içerip içermemesine (CEMA ve CMA) bağlı karşılaştırıldığında ise CMA'lı misel karışımlarındaki viskozite artışının daha fazla olduğu görülmektedir.



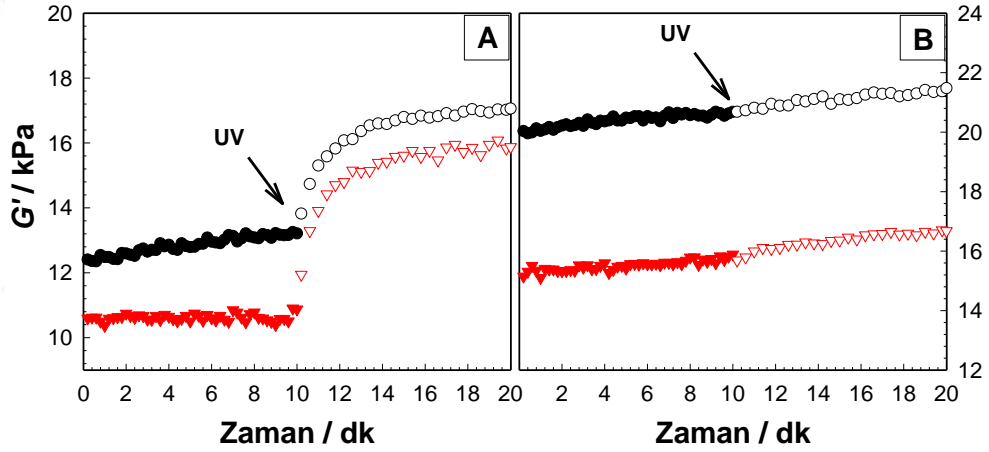
Şekil 4.45 : Relatif viskozite değerlerinin UV aydınlatma sürelerine bağlı değişimi. PF127-KumM1 (●), PF127-KumM2 (▲), PF127-KumM3 (▼) ve PF127-KumM4 (■).

UV ışınlatma süresine bağlı olarak PF127-Px sistemlerinin viskozitesindeki değişiklikler de araştırılmış ve hesaplanan bağıl değerler Şekil 46’da çizilmiştir. Uygulanan maksimum 30 dakikalık UV ışınlatma süresinin viskozite üzerinde denge sağlamak için yetersiz kaldığı gözlemlenmiştir. PF127-Mx sistemleriyle karşılaştırıldığında, daha fazla UV ışığa duyulan ihtiyaç artan konsantrasyona bağlı enerji gereksiniminden kaynaklanmaktadır. Tam denge değerlerine ulaşamadığından polimer tipine bağlı olarak herhangi bir korelasyon gözlenmemiştir.



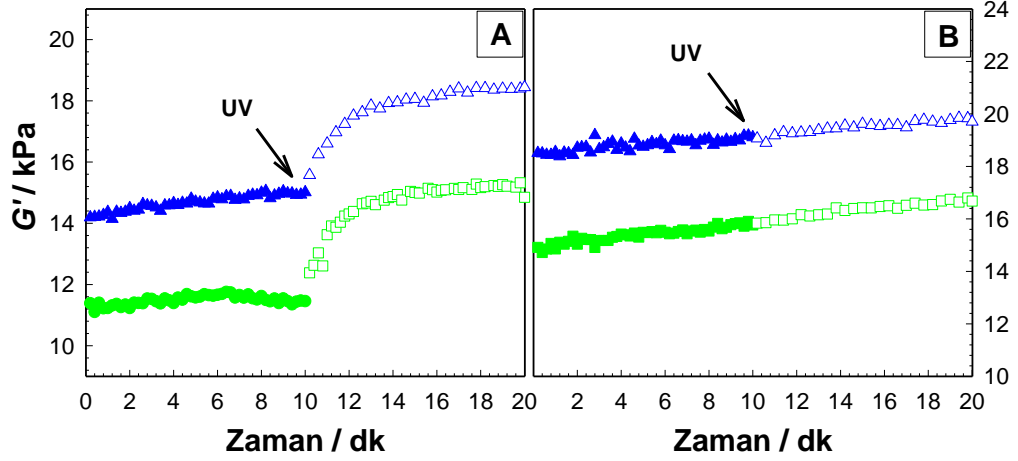
Şekil 4.46 : Bağıl viskozite değerlerinin UV ışınlatma süresine bağlı olarak değişimi. PF127-P1 (●), PF127-P2 (▲), PF127-P3 (▼), PF127-P4 (■).

Şekil 4.47’de verildiği üzere, PF127-KumM1 ve PF127-KumM2 polimerleri ile hazırlanan karışık misellerin G' değerlerinin zamana bağlı değişimleri hem UV hem de sıcaklık uyarancı varlığında ayrı ayrı takip edilmiştir. CEMA içeren sistemin UV aydınlatma öncesi depo modül değerlerinin CMA’lı yapılara kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür. CEMA’lı monomerlerin sahip olduğu etil grubu, mevcut yapının daha esnek olmasını sağlarken beraberinde fiziksel etkileşimlerin artmasına neden olmaktadır. Karışık misel çözeltilerinde G' değerinin fiziksel etkileşimlerin miktarına bağlı olduğu düşünülürse bu sonuç olasıdır. UV aydınlatma ile her iki sistemde de G' değerleri hızlı bir şekilde artmaktadır. Sistem sıcaklığı 37 °C’ye çıkarıldığında ise genel olarak modüller artsa da PF127-KumM1 ile PF127-KumM2 içeren sistemler arasındaki ilişki değişmemektedir (Şekil 4.47B). Bu sıcaklıkta UV aydınlatma ile modül artışları ise daha önceki sistemlerde de görüldüğü üzere belirgin değildir.



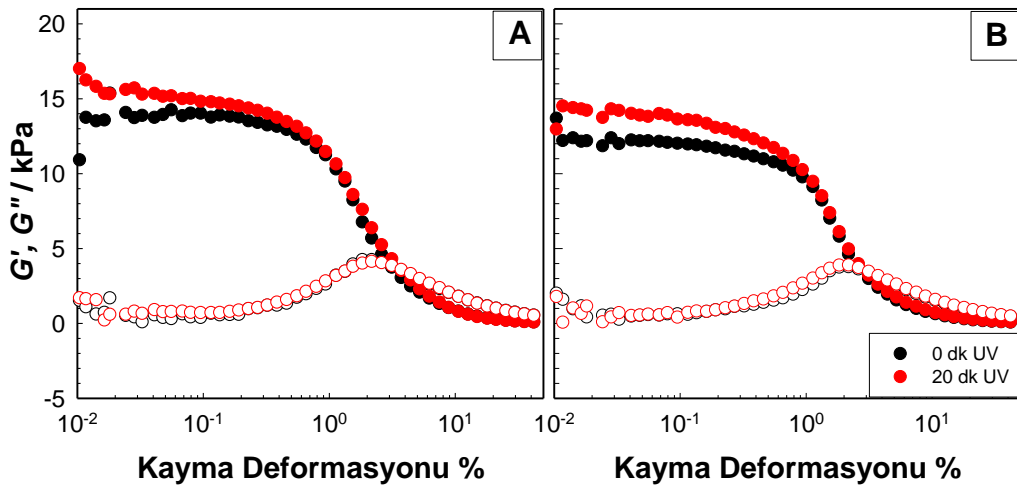
Şekil 4.47 : PF127-KumM1 (●) ve PF127-KumM2 (▼) karışık misel sistemlerinin zamana bağlı depo modül (G') değerlerinin değişimi. Ölçümler **A.** 24 °C’de ve **B.** 37°C’de 10 dk UV lambası kapalı (içi dolu semboller) ve 10 dk açık (içi boş semboller) şekilde gerçekleştirilmiştir.

90/10 oranında hazırlanmış PF127-KumM3 ve PF127-KumM4 kopolimerleri ile oluşturulmuş karışık misel sistemlerinde yapılan G' değerlerinin zamanla UV ve sıcaklık ile değişiminde de benzer davranış görülmüştür (Şekil 4.18).



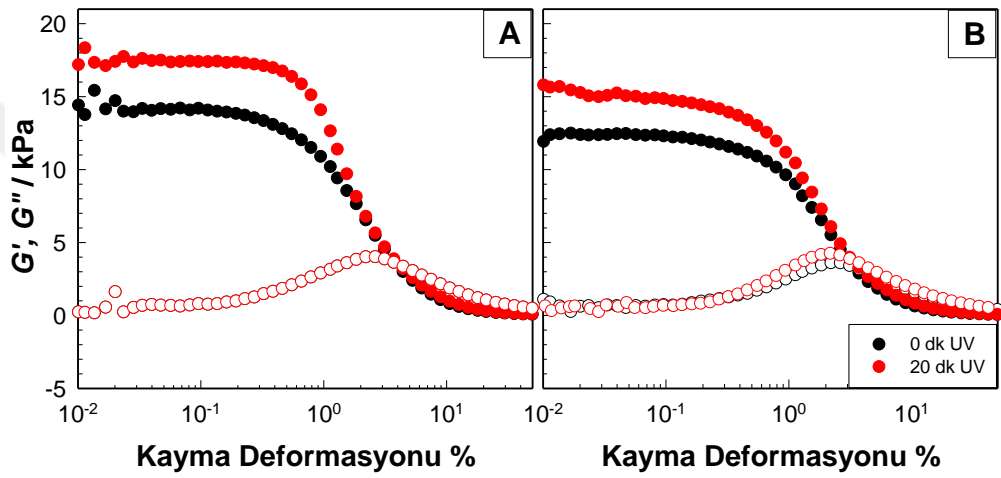
Şekil 4.48 : PF127-KumM3 (▲) ve PF127-KumM4 (■) karışık misel sistemlerinin zamana bağlı depo modül (G') değerlerinin değişimi. Ölçümler **A.** 24 °C'de ve **B.** 37 °C'de 10 dk UV lambası kapalı (içi dolu semboller) ve 10 dk açık (içi boş semboller) şekilde gerçekleştirilmiştir.

Bir sonraki aşamada karışık misel sistemlerinin deformasyona bağlı viskoelastik davranışlarındaki değişim takip edilmiştir. Şekil 4.49'da PF127-KumM1 ve PF127-KumM2 içeren formülasyonların kayma deformasyonuna bağlı G' ve G'' değerlerinin UV aydınlatma öncesi ve sonrası değişimi verilmiştir. Her iki sistem için de UV öncesi jel-sol geçişinin görüldüğü deformasyon oranı yaklaşık %3 civarında iken UV aydınlatma sonrası bu değer neredeyse değişmemiştir. Malzemeyi tahrip etmeyen deformasyon aralığı olarak ifade edilen LVR'nin boyutu için de benzer bir durum söz konusu olmasının yanı sıra UV ile sistemin G' değerlerinde çok az bir artış görülmüştür.



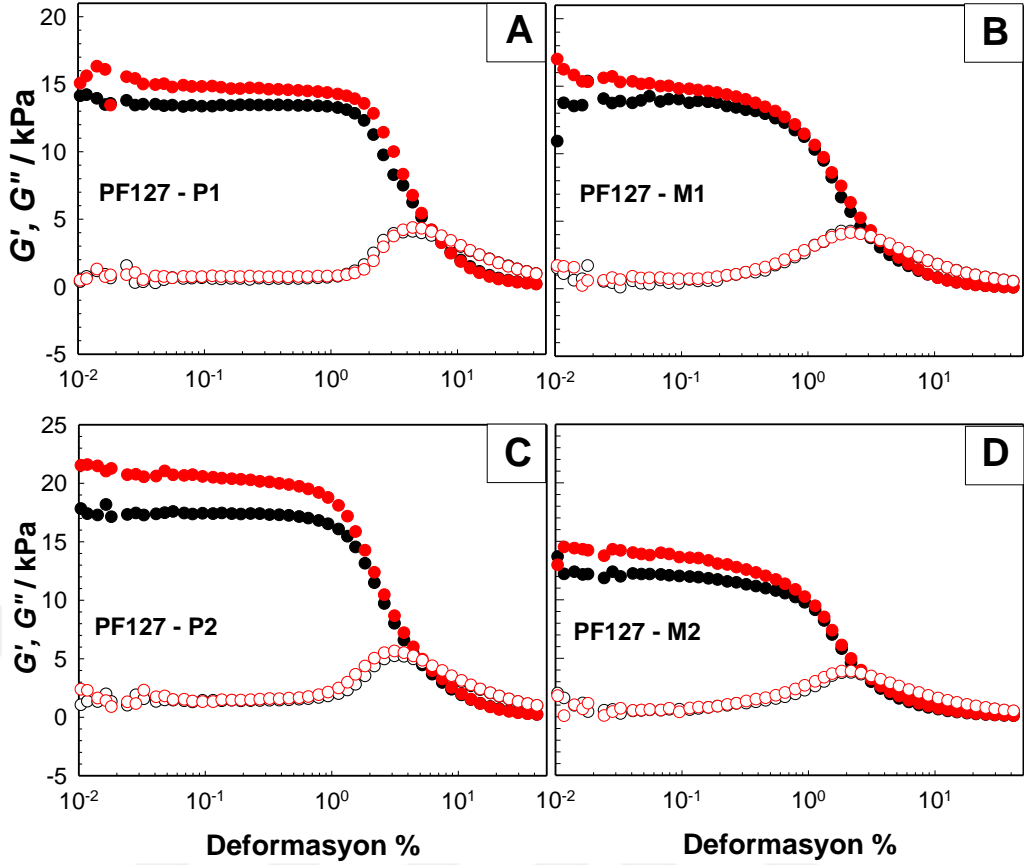
Şekil 4.49 : PF127-KumM1 ve PF127-KumM2 karışık misel sistemlerinin % kayma deformasyonuna bağlı depo modül (G') ve kayıp modül (G'') değerlerinin UV aydınlatma öncesi (●) ve sonrası (●) değişimi.

90/10 oranında çalışılan PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA)-4 ve PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CMA)-3 kopolimerleri ile hazırlanan misel sistemlerinin deformasyon taramalarına bakıldığında ise UV ile modülün daha belirgin olarak arttığı hatta PF127-Kum3 sisteminin LVR'sinin genişlediği görülmüştür (Şekil 4.50). Amfifilik kopolimer yapısını oluşturan hidrofobik bloktaki hacimli ter-bütül üniteleri, kumarin gruplarının birbirine yaklaşmasını engellerken CEMA monomerlerinde etil gruplarının varlığı ile bu etkileşim nispeten daha kolay olmaktadır. Bu da UV aydınlatma ile LVR'nin artması başka bir deyişle jel yapısının daha geniş bir deformasyon aralığında stabil olması anlamına gelmektedir.



Şekil 4.50 : A. PF127-KumM3 ve B. PF127-KumM4 karışık misel sistemlerinin % kayma deformasyonuna bağlı depo modül (G') ve kayıp modül (G'') değerlerinin UV aydınlatma öncesi (●) ve sonrası (●) değişimi.

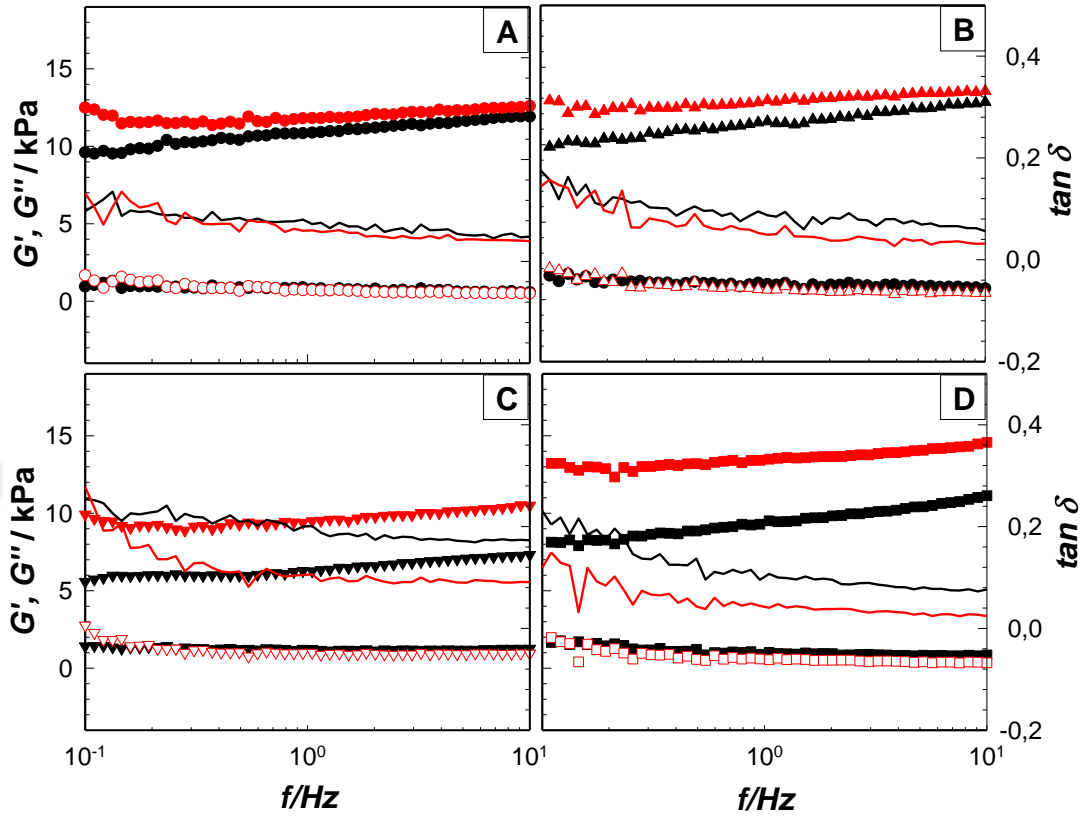
PF127-Mx ve PF127-Px hidrojellerini karşılaştırdığımızda ilk göze çarpan nokta, -Px ağlarının UV uygulamasından önce daha büyük bir LVR'ye sahip olmasıdır (Şekil 4.51). Modül değerleri UV ile artarken, LVR'de de hafif bir artış gözlenmiştir.



Şekil 4.51 : A. PF127-P1, B. PF127-M1, C. PF127-P2 and D. PF127-M3 hidrojel sistemlerinin % kayma deformasyonuna bağlı depo modül (G') ve kayıp modül (G'') değerlerinin UV aydınlatma öncesi (●) ve sonrası (●) değişimi.

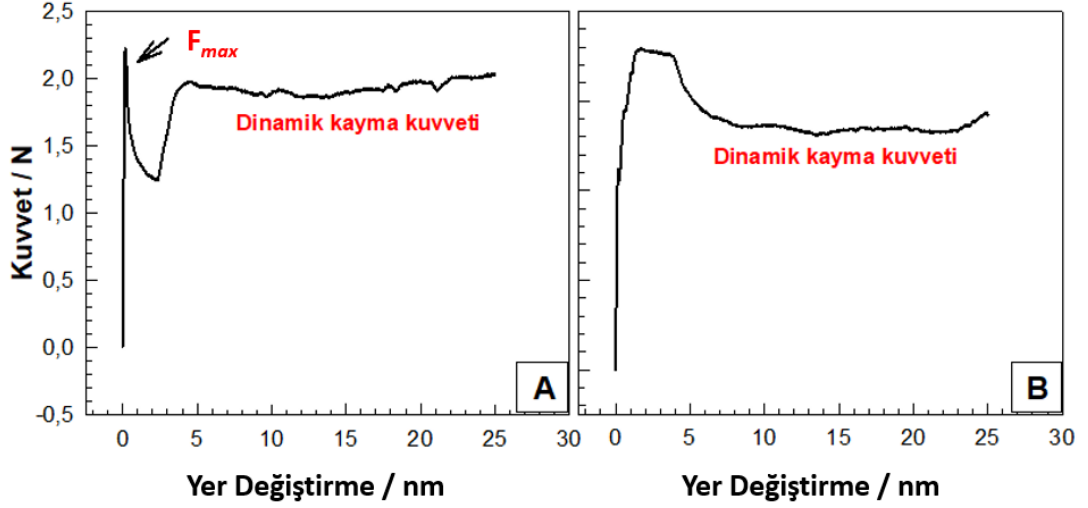
Karışık misel sistemlerinin akış davranışları incelemek üzere son olarak frekans taramaları gerçekleştirilmiştir. Zamanın tersi olarak bilinen frekans değerlerinin düşük olması durumunda numunelerin gevşemeye (relaksasyon) ve baskın akış özellikleriyle yanıt vermeye zamanı vardır. Frekansın artmasıyla örnek daha esnek davranır ve dolayısıyla frekansın artmasıyla G' artar. Sonuç olarak, jel gücü ne kadar zayıfsa, G' nin frekansa bağımlılığı o kadar büyük olur. G' ve G'' değerlerinin UV aydınlatma öncesi ve 20 dk aydınlatma yapıldıktan sonra frekansa bağlı değişimi Şekil 4.52'de verilmiştir. Tüm sistemlerde aydınlatma öncesi frekansa çok az bağlı bir davranış gözlemlenirken ölçüm gerçekleştirilen frekans aralığında $G' > G''$ yani sistem jel halindedir. Aydınlatma ile deformasyon taramasında olduğu gibi G' değerleri artarken frekansa daha az bağımlı bir davranış gözlemlenmiştir. Jel gücü ile modül - frekans ilişkisi dikkate alındığında UV ile jellerin sağlamlıkları artmaktadır. Dağıtılmış enerjinin depolanmış enerjiye oranı olan $\tan\delta$ 'nın sifıra yaklaşması kompleks modülün elastik bileşeninin viskoz kısmından daha fazla arttığını dolayısıyla daha elastik yapıların elde edildiği gösterir. UV ile $\tan\delta$ değerlerinin özellikle kromofor grup oranı

yüksek olan PF127-KumM3 ve PF127-KumM4 sistemlerinde de daha düşük değerlere kaydığı gözlemlenmiştir.



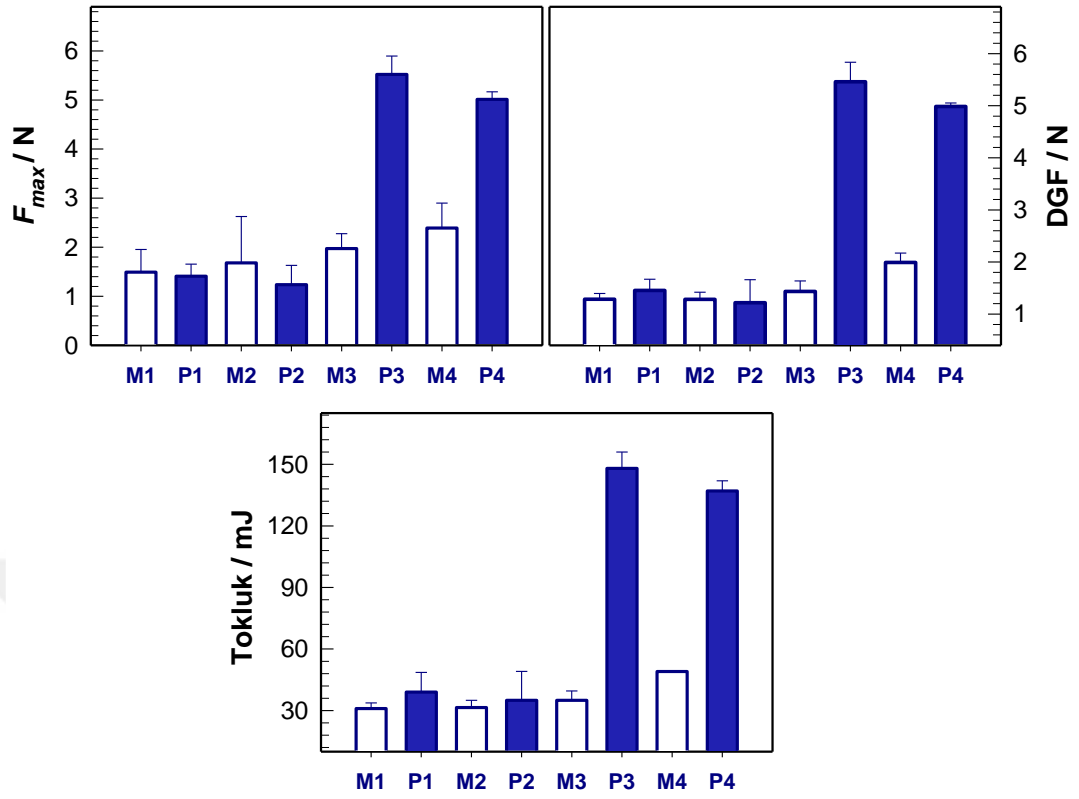
Şekil 4.52 : PF127 – amfifilik kopolimer karışık misel sistemlerinin kayma deformasyonuna bağlı depo modül (G'), kayıp modül (G'') ve $\tan\delta$ değerlerinin UV aydınlatma öncesi (siyah sembol) ve sonrası (kırmızı sembol) değişimi. **A.** PF127-KumM1, **B.** PF127-KumM2 **C.** PF127-KumM3 ve **D.** PF127-KumM4

Bir çözeltinin enjekte edilebilirliği gerekli olan basınç veya kuvvette bağlıdır. Şırınga pistonuna uygulanan bu kuvvet, pistonun direnç kuvvetine karşı gelirken şırınga içine kinetik enerji olarak dağılmakta ve çözeltinin iğneden geçmesi sırasında kullanılmaktadır. Bu dağılım kuvvet-piston yer değiştirme grafiğinin profilini belirler. Kuvvet-yer değiştirme eğrilerinde önemli üç parametre tanımlanabilir. İlki, pistonun hareketini başlatmak için gereken kuvvet, yani başlangıç kayma kuvveti (Initial Glide Force-IGF) dir. Bu değeri akış çizgisinin sabit bir kuvvetle gerçekleştiğini gösteren bir plato (ikinci kısım) izler. Bu bölümde, pistonun şırınganın içeriğini dışarı atmak ve hareketini sürdürmek için gereken ortalama yük hesaplanırken bu değer dinamik kayma kuvveti (Dynamic Glide Force-DGF) olarak isimlendirilir. Üçüncü olarak, pistonun şırınganın ön ucundaki rotasını bitirmeden önce ölçülen en yüksek kuvvet yani maksimum kuvvet (F_{max}) elde edilir [205].



Şekil 4.53 : Hazırlanan hidrojellerin kuvvet-yer değiştirme grafiği.

Şekil 4.53'teki kuvvet-yer değiştirme eğrilerinde belirtildiği üzere F_{max} ve DGF değerlerinin yanı sıra bu eğrilerin altında kalan alanın ifadesi olan tokluk verileri de bu çalışma kapsamında analiz edilmiştir. Şekil 4.53A'da şırınga iğnesi takıldıktan sonra içerisindeki havanın dışarı çıkarılmaması ve 4.53B'de ise çıkarılması durumunda elde edilen tipik eğriler görülmektedir. Şekil 4.53A'da F_{max} sonrası görülen çukur kısım şırınga ucundan havanın boşalması sırasında ortaya çıkmış olup bu çukurun havası boşaltılmış sistemlerde oluşmadığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.53B).



Şekil 4.54 : Enjekte edilebilirlik test sonuçları. **A.** Maksimum kuvvet (F_{max}), **B.** dinamik kayma kuvveti (DGF) ve **C.** tokluk değerlerinin formülasyon türüne göre değişimi

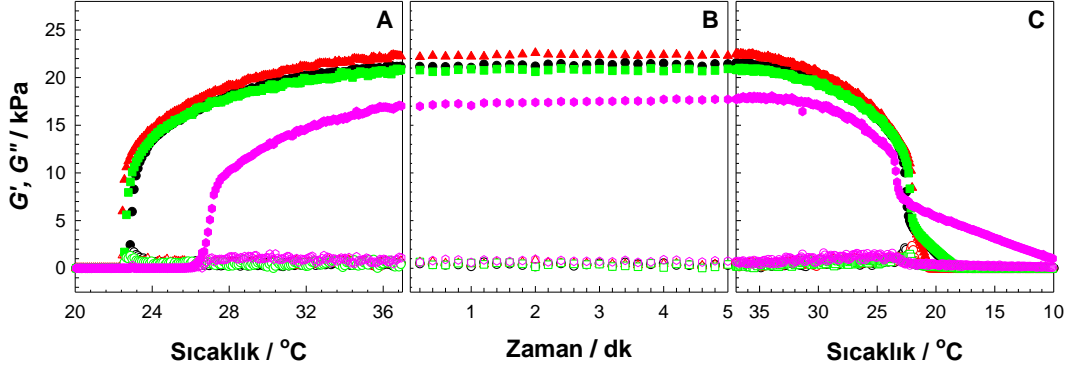
4 farklı formülasyon ile farklı günlerde gerçekleştirilen ölçüm sonuçları Şekil 4.54'te bir araya getirilmiştir. Buna göre F_{max} , hareketi sürdürmek için gerekli olan kuvvet DGF ve tokluk değerlerinin PF127-KumM1, PF127-KumM2, PF127-KumM3 ve PF127-KumM4 içermesine bağlı olarak sırayla çok az bir oranda da olsa artmaktadır. Kromofor grubun fazla olduğu sistemlerde ölçülen parametrelerin 95/5'e kıyasla daha yüksek değerlerde çıktığı gözlemlenmiş olup bu durum sıcaklık profilleriyle örtüşmektedir. 90/10 sisteminin sol-jel geçiş sıcaklıkları çok az da olsa daha düşük değerlerde olup ölçüm sırasında başlayan jelleşme ile modül değerleri ve beraberinde enjeksiyon için gerekli kuvvetler ve tokluk artmaktadır. Daha detaylı incelendiğinde, CMA içeren yapıların enjeksiyonu için uygulanacak basıncın CEMA'lı sistemlere göre özellikle 90/10 sisteminde daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu fark, yüksek polimer konsantrasyonuna sahip PF127-Px hidrojelinde daha net görülmektedir. Hazırlanan akıllı hidrojel sistemlerinin enjeksiyonu için gerekli kuvvetlerin literatürde görüldüğü üzere enjekte edilebilir aralıkta olduğu belirlenmiştir [216]. Kumarin

oranına bağlı bir kıyaslama yapıldığında da artan kromofor grupların enjeksiyon için gerekli kuvvet ve tokluk değerlerini arttırdığı gözlemlenmiştir.

4.2.4 PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FAFEMA) veya PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FMA) – PF127 jelleri

Kumarin grupları içeren yapılarda olduğu gibi azobenzenle oluşturulan kopolimerlerinin, PF127 sistemi üzerine etkilerini görmek amacıyla iki farklı yol izlenmiştir. Bunlar: PF127 ile amfifilik kopolimerlerin karışık misel sistemleri ve kopolimerlerin direkt olarak PF127 misel çözeltisi ile karıştırıldığı sistemler olup sırasıyla PF127-AzoM_x ve PF127-AzoP_x olarak kodlandırılmıştır.

Azobenzen içeren amfifilik kopolimerle hazırlanan PF127-M_x yapılarının ilk olarak sıcaklık duyarlılıklarını belirlemek üzere değişen sıcaklıklarda modül değerleri Reometre cihazında takip edilmiştir. Sıcaklığa bağlı modül değerlerindeki değişimin izlendiği Şekil 4.55A'ya bakıldığında, G' değerlerindeki hızlı artış ve beraberinde gerçekleşen sol-jel geçişleri ($G' > G''$), çalışılan üç farklı sistem için de benzer sıcaklıklardadır (T_{trans}). Aynı konsantrasyonda hazırlanan PF127 sistemi için T_{trans} 27°C iken, amfifilik polimer içeren sistemlerde yaklaşık 22.5 °C'ye kaymıştır. Kumarinli sistemlerde olduğu gibi, artan net polimer konsantrasyonuna bağlı olarak beraberindeki etkileşimlerin artmasıyla daha düşük sıcaklıklarda sol-jel geçişi mümkün olmaktadır. Sıcaklığın, çok düşük sıcaklıklara kaymamış olması da malzemenin enjekte edilebilmesi ve böylelikle kolay uygulanabilir olması açısından oldukça önemlidir. Sıcaklık profillerinde dikkat çeken başka bir nokta artan denge modül değerleridir. Tablo 4.5'te verildiği üzere, PF127 jellerinin modülü 17.4 kPa iken yapıya miseller dahil edildiğinde 21 kPa'ın üzerine çıkmıştır. Şekil 55C'de jellerin soğuma eğrilerine bakıldığında, PF127 sistemine ait tipik bir grafik elde edilmiştir. Misellerin re-organizasyonundan dolayı tam olarak geri dönüşümlü olmasa da sistem tekrar çözelti haline dönmektedir.

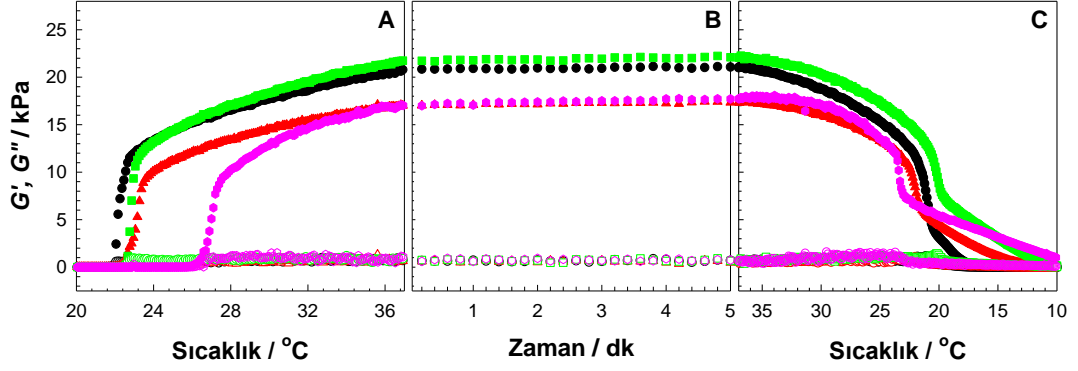


Şekil 4.55 : PF127-Mx sistemlerinin sıcaklık profilleri. **A. ve C.** Isıtma - soğutmaya bağlı depo modül değerlerinin değişimi ve **B.** 37°C’de depo modülün zamana bağlı değişimi PF127 (●), PF127-AzoM1 (●), PF127-AzoM3 (▲) ve PF127-AzoM4 (■).

Tablo 4.5 : Reometrede gerçekleştirilen AzoPx jellerinin sıcaklık profili testinin sonuçları

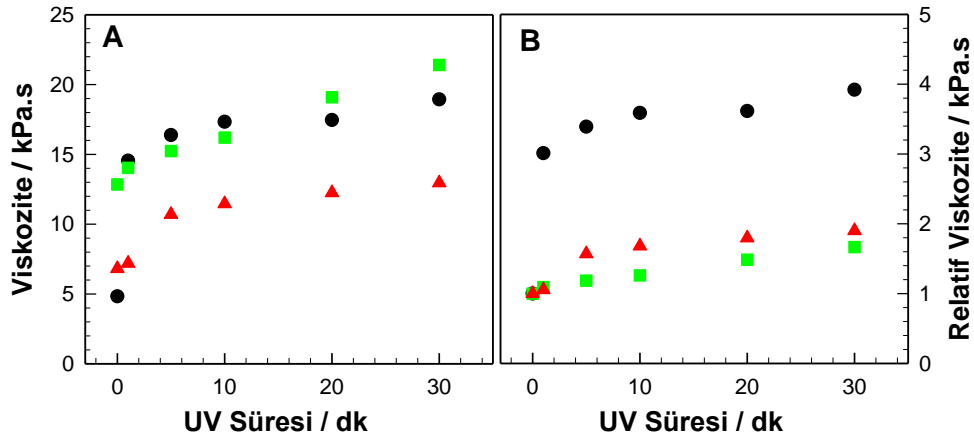
Örnek Kodu	T_{trans} (°C)	37°C’de G' (kPa)	Örnek Kodu	T_{trans} (°C)	37°C’de G' (kPa)
PF127	26.1	17.5	PF127	26.1	17.5
PF127-AzoM1	22.8	21.5	PF127-AzoP1	20.5	21.0
PF127-AzoM3	22.4	22.4	PF127-AzoP3	21.5	17.3
PF127-AzoM4	22.6	20.9	PF127-AzoP4	21.4	22.0

PF127-AzoPx ağları, polimerlerin bir misel oluşturma aşaması olmadan doğrudan PF127 miselleriyle karıştırılmasıyla hazırlanmış ve PF127-AzoMx jellerine benzer şekilde sıcaklık profilleri incelenmiştir (Şekil 4.56). Amfifilik polimer yapılarının misel oluşturmada doğrudan PF127 çözeltilerine dahil edilmesiyle elde edilen yapıların kıyasla daha düşük T_{trans} değerine sahip olduğu görülmüştür. Polimerin doğrudan ilave edildiği yapılarda daha yüksek konsantrasyon kullanılması bu davranışın temel nedeni olarak gösterilebilir.



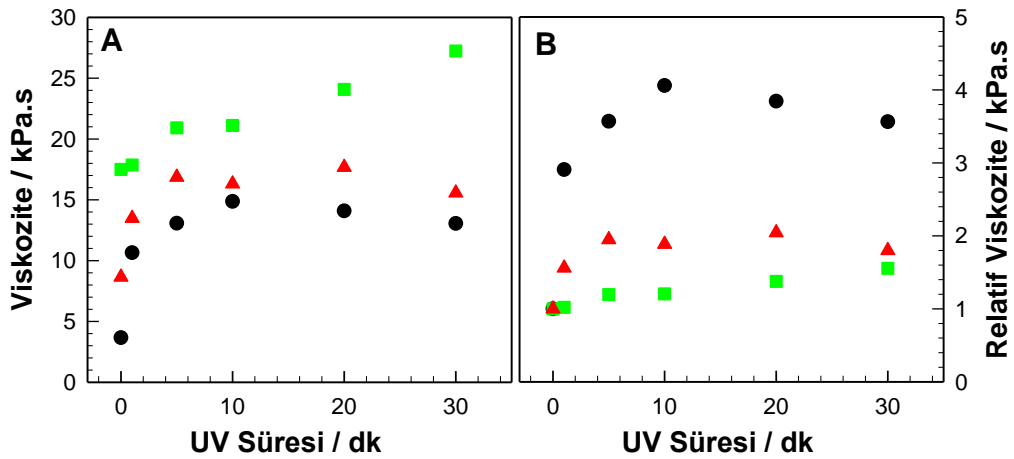
Şekil 4.56 : PF127-Px sistemlerinin sıcaklık profilleri. **A. ve C.** Isıtma - soğutmaya bağlı depo modül değerlerinin değişimi ve **B.** 37 °C’de depo modülün zamana bağlı değişimi. PF127 (●), PF127-AzoP1 (●), PF127-AzoP3 (▲) ve PF127-AzoP4 (■).

Şekil 4.57A’da UV aydınlatma süresine bağlı olarak viskozite değerlerinin değişimi verilmektedir. Azobenzen miktarından ve monomerin türünden bağımsız olarak tüm sistemlerde UV ile viskozite değerlerinin arttığı ve yaklaşık 20 dk’lık bir aydınlatma sonrası denge değerlerine ulaşıldığı görülmektedir. UV aydınlatma öncesi viskoziteler göz önünde bulundurulursa, kromofor grubun daha fazla olduğu PF127-AzoP4 polimerini içeren sistemlerde viskozitenin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durum, azobenzen oranı arttıkça zincir üzerindeki dallanmış yapıyla birlikte viskozite değerlerinin yükselmesi ile açıklanmaktadır. Aydınlatma ile viskozitelerdeki değişimi daha iyi yorumlamak adına t anındaki değerler başlangıç viskozitelerine göre oranlanarak Şekil 4.57B’de verildiği üzere relatif viskozite değerleri elde edilmiştir. Viskozite değerlerindeki artışın benzer olduğu görülmüştür. Fazladan etoksi grubu içeren sistemin relatif viskozite değerinin daha yüksek değerde çıktığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.57 : PF127-polimer misel karışımlarının sisteminin UV süresine bağlı viskozite (0.01 s^{-1} kayma hızında) değerlerinin değişimi. PF127-AzoM1 (●), PF127-AzoM3 (▲) ve PF127-AzoM4 (■).

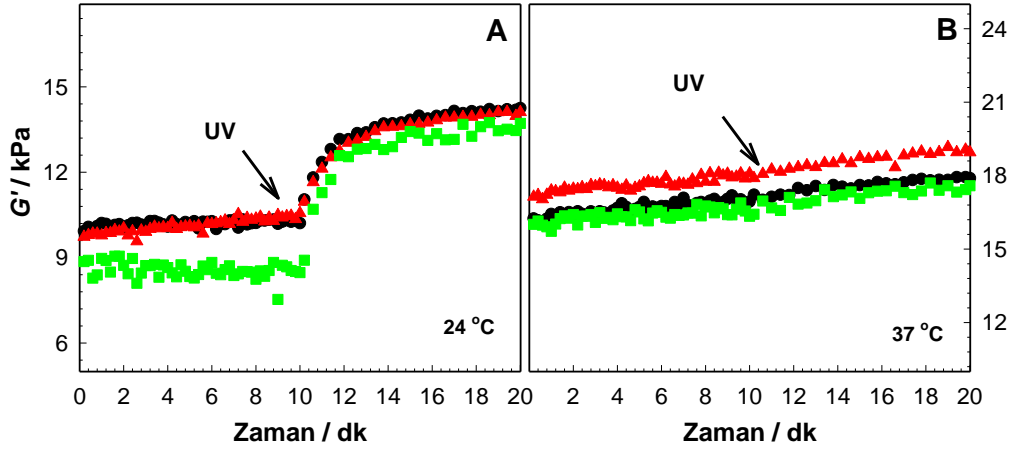
PF127-AzoPx sistemlerinin viskozite ölçümleri de benzer şekilde alınmıştır. Şekil 4.58A'da görüldüğü üzere azobenzen oranı düşük olan sistemlerde 20 dk UV ışık uygulaması sonrası çok az bir azalma meydana gelirken, azobenzen oranı yüksek olan PF127-AzoP4 sisteminde viskozite artışı devam etmiştir. AzoMx sistemine göre polimer konsantrasyonunun daha yüksek olması, diğer polimerlere kıyasla ise kromofor grup oranının (90/10) fazla olmasından dolayı 30 dk'lık UV aydınlatma denge değerlerine ulaşma noktasında yetersiz gelmiştir. Relatif viskozite grafiğine bakıldığında ise AzoMx yapılarına benzer şekilde UV ile viskozite artışı en fazla etoksi içeren PF127-AzoP1 sisteminde görülmüştür (Şekil 4.58B).



Şekil 4.58 : PF127-polimer misel karışımlarının sisteminin UV süresine bağlı viskozite (0.01 s^{-1} kayma hızında) değerlerinin değişimi. PF127-AzoP1 (●), PF127-AzoP3 (▲) ve PF127-AzoP4 (■).

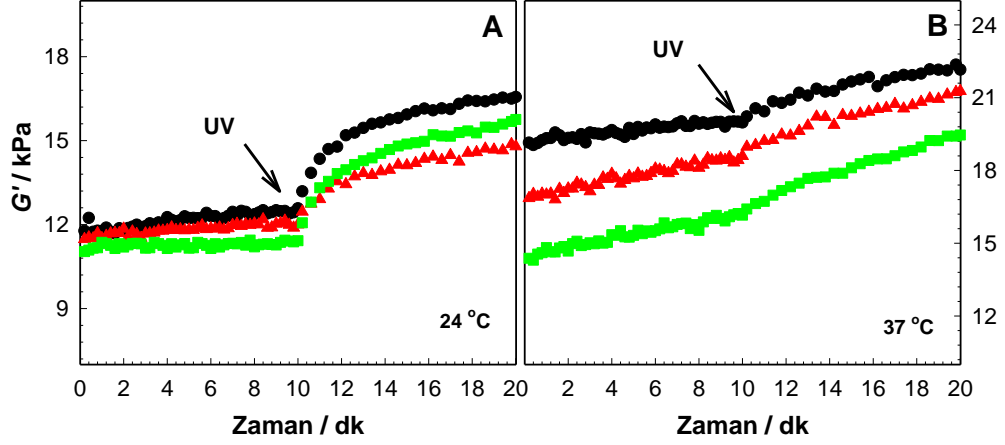
Şekil 4.59A'da verildiği üzere, amfifilik AzoM1, AzoM3 ve AzoM4 miselleriyle hazırlanan karışık misellerin G' değerlerinin zamana bağlı değişimleri hem UV hem

de sıcaklık uyarıları varlığında ayrı ayrı takip edilmiştir. Başlangıç modül değerleri 95/5 oranında azobenzen içeren sistemlerde (AzoM1 ve AzoM3) daha yüksek çıkarken, 90/10 oranında azobenzen içeren sistem (AzoM4) daha düşük çıkmış, fakat UV ışığın etkisiyle birlikte modül değeri diğerlerine oranla daha hızlı yükselmiştir. Şekil 4.59B’de ölçümler 37°C’de gerçekleştirilmiştir. Sistem sıcaklığı 37°C’ye çıkarıldığında ise genel olarak modül değerleri artsa da aralarındaki ilişki değişmemektedir.



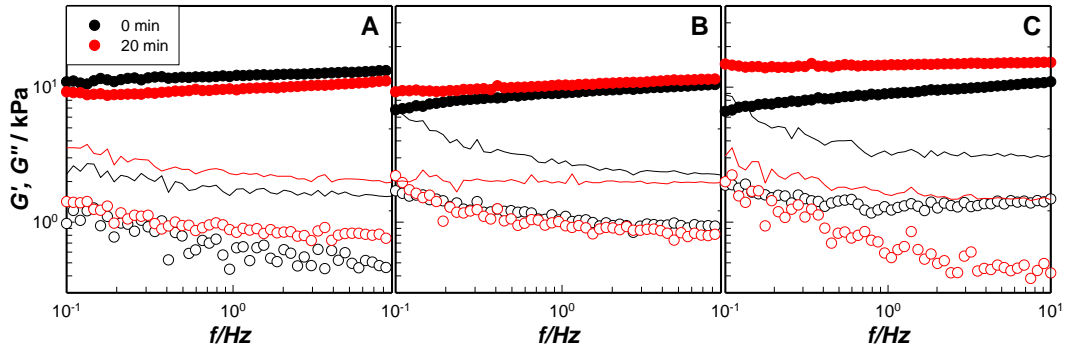
Şekil 4.59 : PF127-AzoM1 (●), PF127-AzoM3 (▲) ve PF127-AzoM4 (■) karışık misel sistemlerinin zamana bağlı depo modül (G') değerlerinin değişimi. Ölçümler **A.** 24°C’de ve **B.** 37°C’de 10 dk UV lambası kapalı (içi dolu semboller) ve 10 dk açık (içi boş semboller) şekilde gerçekleştirilmiştir.

Polimer-misel sistemleriyle hazırlanmış örneklerde Şekil 4.60’da görüldüğü üzere 24°C’de alınan ölçümlerde genel bir modül artışı meydana gelmiştir. UV ışık sonrası modül artışı ise oransal olarak PF127-AzoMx sistemlerine göre daha az olduğu gözlemlenmiştir. 37°C’de alınan ölçümlerde ise karışık misel sistemlerinden farklı olarak, değerler arasında açılma meydana gelmiştir. En yüksek değer uzun zincir içeren 95/5 oranındaki AzoP1 ve AzoP3 polimer jellerinde görülürken, en düşük değer 90/10 oranında AzoP4 polimer içeren kısa zincir polimer jellerinde görülmüştür.



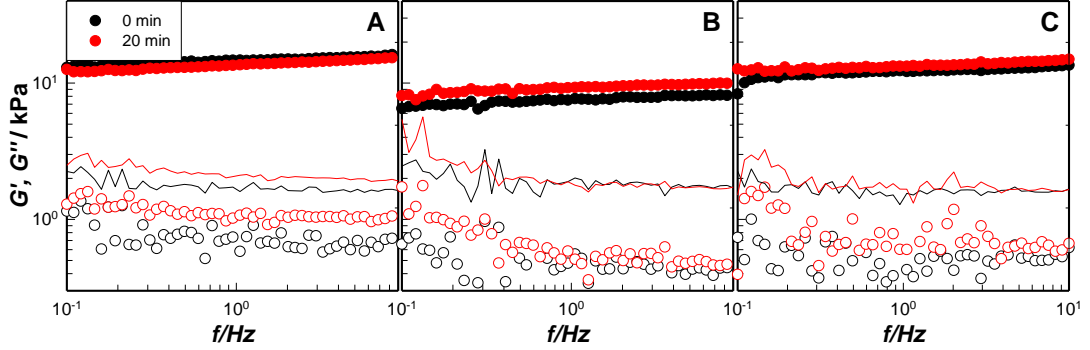
Şekil 4.60 : PF127-AzoP1 (●), PF127-AzoP3 (▲) ve PF127-AzoP4 (■) sistemlerinin zamana bağlı depo modül (G') değerlerinin değişimi. Ölçümler **A.** 24°C'de ve **B.** 37°C'de 10 dk UV lambası kapalı (içi dolu semboller) ve 10 dk açık (içi boş semboller) şekilde gerçekleştirilmiştir.

Karışık misel sistemlerinin akış davranışlarını incelemek üzere son olarak frekans taramaları gerçekleştirilmiştir. G' ve G'' değerlerinin UV aydınlatma öncesi ve 20 dk aydınlatma yapıldıktan sonra frekansa bağlı değişimi Şekil 4.61'de verilmiştir. Tüm sistemlerde aydınlatma öncesi frekansa çok az bağlı bir davranış gözlemlenirken ölçüm gerçekleştirilen frekans aralığında $G' > G''$ yani sistem jel halindedir. PF127-AzoM1 sistemi dışında, aydınlatma ile deformasyon taramasında olduğu gibi G' değerleri artarken frekansa daha az bağımlı bir davranış gözlemlenmiştir. Dağıtılmış enerjinin depolanmış enerjiye oranı olan $\tan\delta$ 'nın sifıra yaklaşması kompleks modülün elastik bileşenin viskoz kısmından daha fazla arttığını dolayısıyla daha elastik yapıların elde edildiğini göstermektedir.



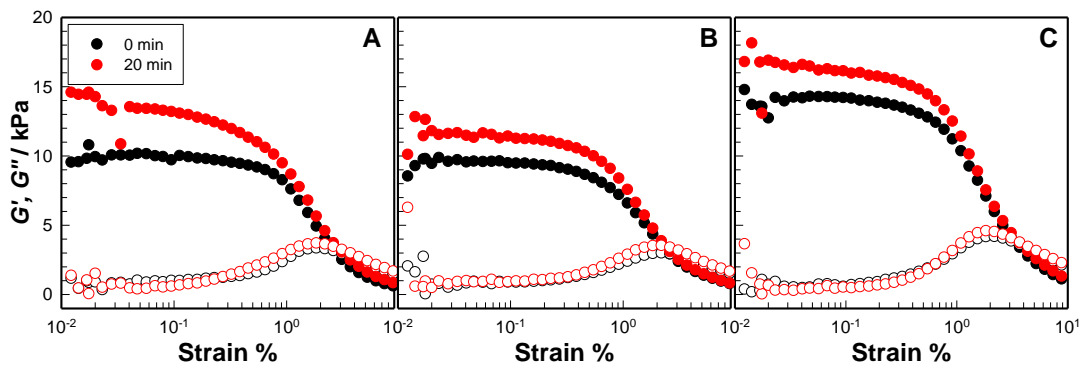
Şekil 4.61 : PF127 – AzoPx sistemlerinin frekansa bağlı depo modül (G'), kayıp modül (G'') ve $\tan\delta$ değerlerinin UV aydınlatma öncesi (siyah sembol) ve sonrası (kırmızı sembol) değişimi. **A.** PF127-AzoM1 **B.** PF127-AzoM3 **C.** PF127-AzoM4.

Şekil 4.62’de görüldüğü üzere polimer-misel sistemlerinde frekansa bağlı belirgin bir davranış görülmemiştir. Ayrıca, PF127-AzoP3 sisteminin modül değerleri diğerlerine kıyasla daha düşük ölçülmüştür.



Şekil 4.62 : PF127 – AzoPx sistemlerinin frekansa bağlı depo modül (G'), kayıp modül (G'') ve $\tan\delta$ değerlerinin UV aydınlatma öncesi (siyah sembol) ve sonrası (kırmızı sembol) değişimi. **A.** PF127-AzoP1 **B.** PF127-AzoP3 **C.** PF127-AzoP4.

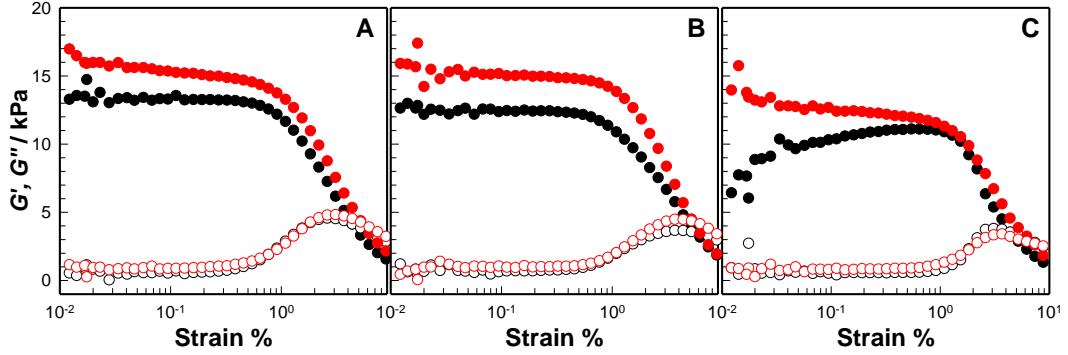
Bir sonraki aşamada karışık misel sistemlerinin deformasyona bağlı viskoelastik davranışlarındaki değişim takip edilmiştir. Şekil 4.63’te Azo-M1, Azo-M3 ve Azo-M4, içeren formülasyonların kayma deformasyonuna bağlı G' ve G'' değerlerinin UV aydınlatma öncesi ve sonrası değişimi verilmiştir. Her iki sistem için de UV öncesi jel-sol geçişinin görüldüğü deformasyon oranı yaklaşık %3 civarında iken UV aydınlatma sonrası bu değer neredeyse değişmemiştir. LVR’nin boyutu ise UV ışık sonrası artış göstermiş ve G' değeri tüm sistemlerde artmıştır. En geniş LVR aralığına sahip sistemin PF127-AzoM4 olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.63 : **A.** PF127-AzoM1 **B.** PF127-AzoM3 ve **C.** PF127-AzoM4 karışık misel sistemlerinin % kayma deformasyonuna bağlı depo modül (G') ve kayıp modül (G'') değerlerinin UV aydınlatma öncesi (●) ve sonrası (●) değişimi.

Şekil 4.64’te PF127 ve AzoP1, AzoP3 ve AzoP4 amfifilik kopolimerleri ile hazırlanmış PF127-AzoPx sistemlerinin kayma deformasyon grafikleri verilmiştir.

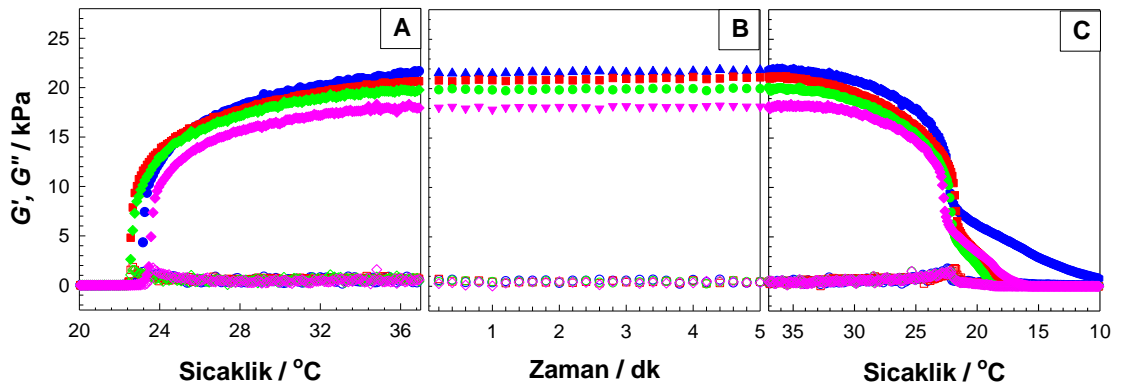
Karışık misel sistemlerine kıyasla, UV sonrası jel-sol geçişinin görüldüğü deformasyon oranının değişikliğe uğradığı görülmüştür. LVR'nin boyutu ise karışık misel sistemlerinde olduğu gibi artmıştır.



Şekil 4.64 : A. PF127-AzoP1 B. PF127-AzoP3 C. PF127-AzoP4 misel sistemlerinin % kayma deformasyonuna bağlı depo modül (G') ve kayıp modül (G'') değerlerinin UV aydınlatma öncesi (●) ve sonrası (●) değişimi.

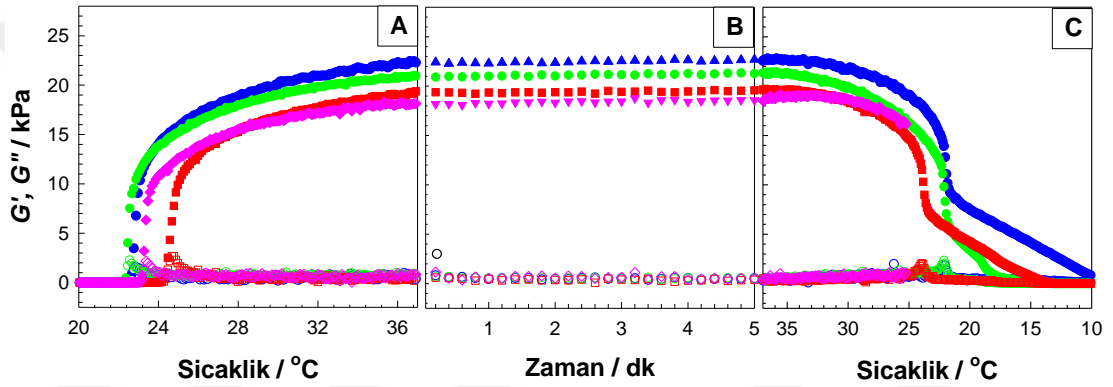
4.2.5 f-Kitosan varlığında PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA)-PF127 jelleri

Tezin ikinci kısmının bu son aşamasında ise sisteme fonksiyonlandırılmış kitosan (f-kitosan) dahil edilmesiyle miseller arasındaki gözenekler arttırılmasına bağlı özelliklerin değişimi izlenmiştir. Bu doğrultuda, amfifilik KumP3 ve KumP4 kopolimerlerinin misel çözeltileri içerisinde değişen konsantrasyonlarda f-kitosan çözüldürülmüş, ardından PF127 katısı eklenerek buz banyosunda karıştırılmasıyla hazırlanan sistemlerin sıcaklık duyarlılıkları belirlenmiştir. Bu doğrultuda, değişen sıcaklıklarda modül değerleri Reometre cihazında takip edilmiştir.



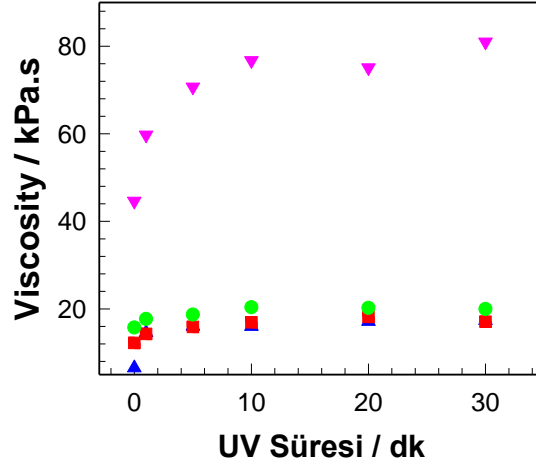
Şekil 4.65 : Karışık misel sistemlerinin sıcaklık profilleri. A. ve C. Isıtma - soğutmaya bağlı depo modül değerlerinin değişimi ve B. 37°C'de depo modülün zamana bağlı değişimi. KumM3 (▲), KumM3+ %0.01 f-kitosan (■), KumM3+ %0.1 f-kitosan (●) ve KumM3+ %0.5 f-kitosan (▼).

Şekil 4.65'te KumM3 ve %0.01, %0.1 ve %0.5 f-kitosan konsantrasyonlarında hazırlanan sistemlerin sıcaklığa bağlı G' ve G'' değerlerindeki değişim verilmektedir. Şekil 4.65A'ya bakıldığında, G' değerlerindeki hızlı artış ve beraberinde elde edilen sol-jel geçişleri ($G' > G''$), çalışılan dört farklı sistem için de benzer sıcaklıklardadır. f-Kitosan oranı arttıkça geçiş sıcaklığının bir miktar arttığı görülmektedir. Bu ölçümlerde dikkat çeken nokta, yapıya eklenen f-kitosan oranının artmasıyla 37°C 'de elde edilen denge modül değerlerinde orantılı bir düşüş gözlemlenmiştir. Bu durum, f-kitosan ilavesinin yüzeyde daha fazla gözenek bırakarak jel sisteminde PF127 katmanlarının yakın paketlenmesini engellemesine bağlıdır [202]. FP127 zincirleri arasındaki etkileşimlerin azalmasıyla modül değerleri azalmaktadır.



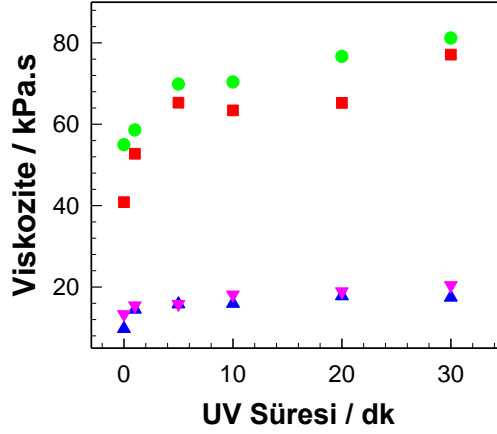
Şekil 4.66 : Karışık misel sistemlerinin sıcaklık profilleri. **A.** ve **C.** Isıtma – soğutmaya bağlı depo modül değerlerinin değişimi ve **B.** 37°C 'de depo modülün zamana bağlı değişimi. KumM4 (\blacktriangle), KumM4 + %0.01 f-kitosan (\blacksquare), KumM4 + %0.1 f-kitosan (\bullet) ve KumM4 + %0.5 f-kitosan (\blacktriangledown).

Şekil 4.66'da KumM4 ve farklı konsantrasyonlarda f-kitosan içeren sistemlere ait sıcaklık profilleri verilmiştir. KumM3 sistemine benzer şekilde, yapıya kitosan eklenmesiyle modül değerlerinde düşüş gözlemlenmiştir. f-Kitosan içermeyen sistem için 24 kPa olarak ölçülen modül değerinin 18 kPa'a kadar düştüğü görülmüştür. En yüksek geçiş sıcaklığı 25°C ile %0.01 kitosan ile hazırlanmış jellerde ölçülmüştür.



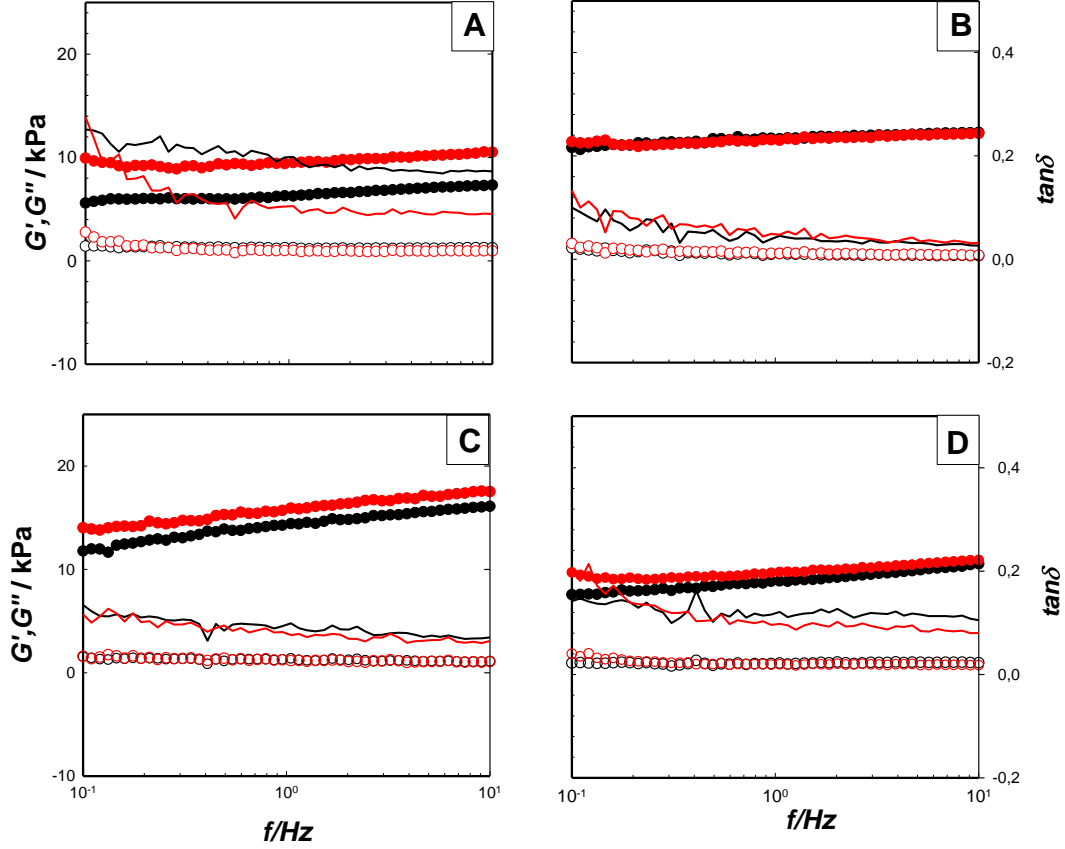
Şekil 4.67 : PF127 eklenmiş f-kitosan-polimer misel karışımlarının UV süresine bağlı viskozite (0.01 s^{-1} kayma hızında) değerlerinin değişimi. PF127-KumM3 (▲), PF127-KumM3 + %0.01 f-kitosan (■), PF127-KumM3 + %0.1 f-kitosan (●) ve PF127-KumM3 + %0.5 f-kitosan (▼).

Şekil 4.67’de KumM3 ile üç farklı konsantrasyonda f-kitosan eklenmiş sistemlerin 0.01 s^{-1} kayma hızındaki viskozite ölçümleri verilmiştir. Bu grafiğe göre, en yüksek konsantrasyon olan %0.5 f-kitosan içeren jellerin UV uygulanmadan önceki viskozite değerlerinin diğer jellere oranla neredeyse 3 kat büyük olduğu diğer sistemlerin ise yaklaşık aynı viskozite değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Uygulanan UV ile viskozite değerleri kademeli olarak artarken tüm jellerin ortalama 10 dk UV ışığa maruz bırakıldıktan sonra denge modül değerine ulaştığı görülmüştür. Literatürde elde edilen veriler ile kıyaslandığında, en fazla %0,1 f-kitosan konsantrasyonunda çalışılmış ve artan kitosan konsantrasyonunun oda sıcaklığında ölçülen viskozite değerlerini belirgin bir şekilde arttırdığı gösterilmiştir [202].



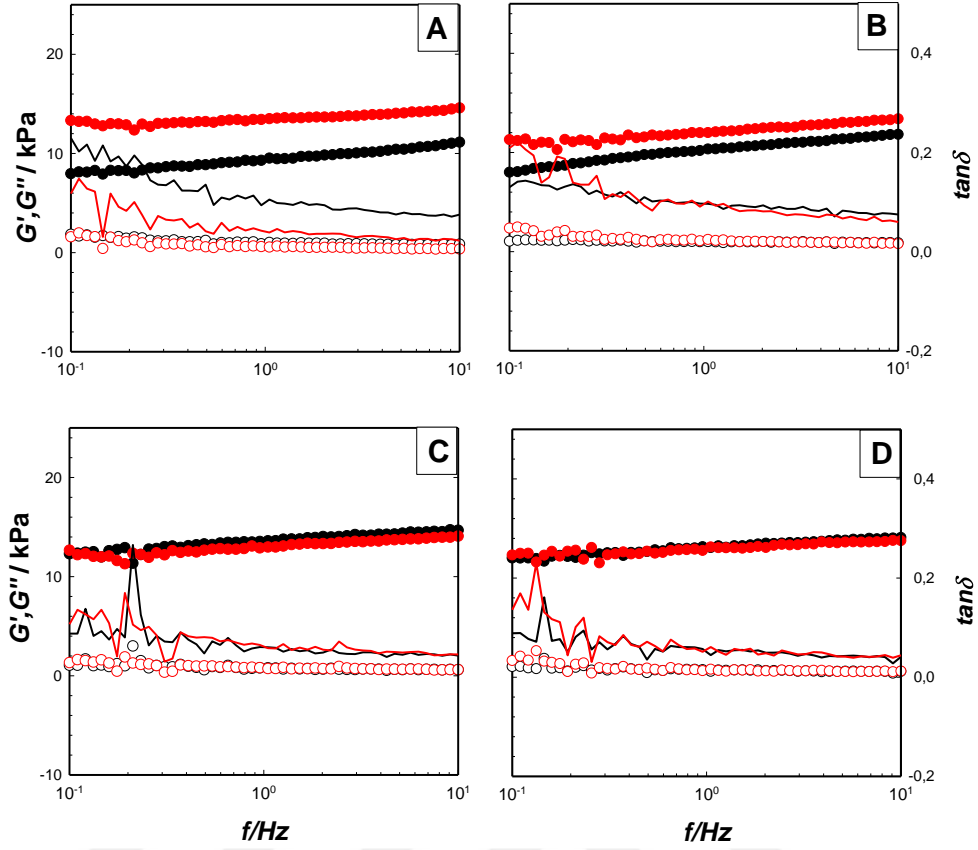
Şekil 4.68 : PF127 eklenmiş f-kitosan-polimer misel karışımlarının sisteminin UV süresine bağlı viskozite ($0,01 \text{ s}^{-1}$ kayma hızında) değerlerinin değişimi. PF127-KumM4 (▲), PF127-KumM4 + %0.01 f-kitosan (■), PF127-KumM4 + %0.1 f-kitosan (●) ve PF127-KumM4 + %0.5 f-kitosan (▼).

PF127-KumM4 kopolimerlerinin miselleri ile hazırlanmış f-kitosan içeren jellere de aynı prosedür uygulanarak viskozite ölçümleri alınmış ve sonuçlar Şekil 4.68'de sunulmuştur. Aynı oranda kumarin grubu içerip polimeri bir etil grubu içerip içermemesine (CEMA ve CMA) bağlı karşılaştırıldığında ise CMA'lı sistemlerin viskozite ölçümlerinde tam tersi sonuçlar elde edilmiştir. %0.5 f-kitosan içeren jellerin viskozite değerleri f-kitosan içermeyen jellerle neredeyse aynı değerleri verirken %0.01 ve %0.1 içeren sistemlerin ortalama 3.5 kat daha yüksek viskoziteye sahip olduğu gözlemlenmiştir. Farklı olan bu sonucun, CMA içeren yapıların daha yüksek molekül ağırlığına bağlı olarak viskozite artışlarını daha düşük konsantrasyonlarda gösterirken yüksek f-kitosan içeriğinde negatif bir etkiye neden olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.69 : PF127 eklenmiş f-kitosan-kopolimer karışık misel sistemlerinin frekansa bağlı depo modül (G'), kayıp modül (G'') ve $\tan\delta$ değerlerinin UV aydınlatma öncesi (siyah sembol) ve sonrası (kırmızı sembol) değişimi. **A** PF127-KumM3 **B.** PF127-KumM3 + %0.01 f-kitosan **C.** PF127-KumM3 + %0.1 f-kitosan ve **D.** PF127-KumM3 + %0.5 f-kitosan.

PF127-KumM3 hidrojellerine ait frekans taramaları Şekil 4.69'da gösterilmiştir. Kitosan içermeyen yapıda UV aydınlatma ile modül değerlerinde artış görülürken yapıya kitosan eklendikten sonra modül değerlerinde dikkate değer bir değişim görülmemiştir. %0.01 f-kitosan içeren yapıda frekansa veya aydınlatmaya bağlı herhangi bir değişiklik görülmemiştir. %0.1 f-kitosan içeren yapıda aydınlatma sonrası modül değerlerinde çok az bir artış görülürken frekansa bağlı davranış yine aynı oranda ilerlemiştir. %0.5 f-kitosan içeren sistemde ise UV aydınlatma ile frekansa bağlı davranış azalmıştır. $\tan\delta$ değerleri incelendiğinde ise en düşük değeri gösteren yani kıyasla daha elastik özellik kazandığı görülen sistemin %0.01'lik f-kitosan içerdiği belirlenmiştir.



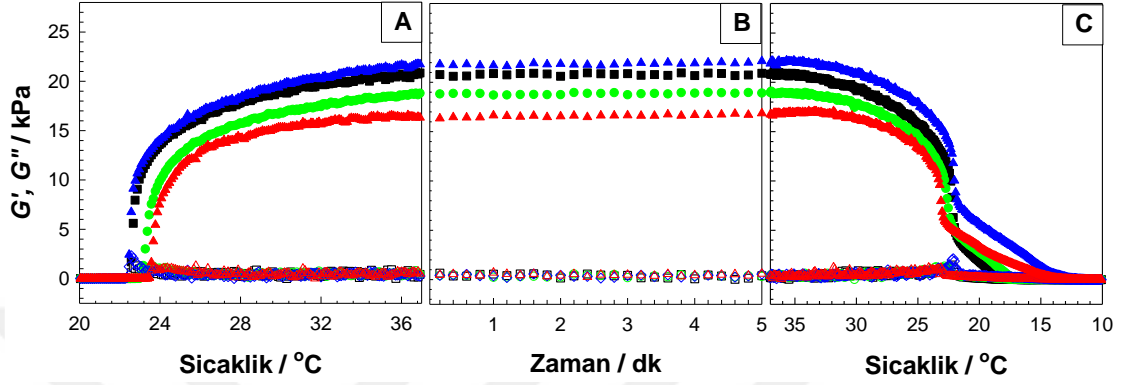
Şekil 4.70 : PF127 eklenmiş f-kitosan-kopolimer karışık misel sistemlerinin frekansa bağlı depo modül (G'), kayıp modül (G'') ve $\tan\delta$ değerlerinin UV aydınlatma öncesi (siyah sembol) ve sonrası (kırmızı sembol) değişimi. **A** PF127-KumM4 **B.** PF127-KumM4 + %0.01 f-kitosan **C.** PF127-KumM4 + %0.1 f-kitosan ve **D.** PF127-KumM4 + %0.5 f-kitosan.

PF127-KumM4 hidrojellerine ait frekans taramaları Şekil 4.70'te gösterilmiştir. PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA)-4 hidrojellerinde olduğu gibi burada da yapıya kitosan eklendikten sonra aydınlatma sonrası modül değerlerindeki değişim azalmıştır. %0,01 kitosan içeren jellerde aydınlatma ile frekansa bağımlılık azalırken diğer yapılarda bir değişim görülmemiştir. $\tan\delta$ değerinin kitosan oranının artmasıyla daha düşük değerlere kaydığı gözlemlenmiştir.

4.2.6 f-Kitosan varlığında PEG-*b*-P(tBMA-*r*-FMA) – PF127 jelleri

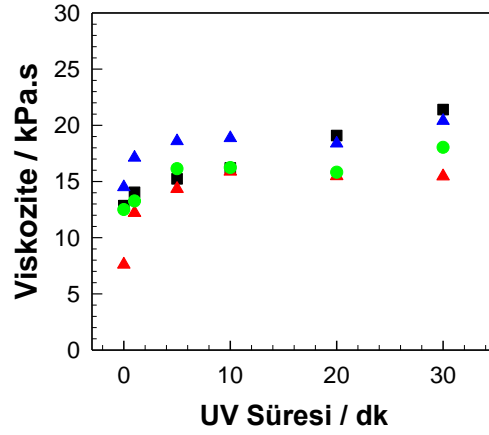
Şekil 4.71'de AzoM4 ve %0.01, %0.1 ve %0.5 f-kitosan konsantrasyonlarında hazırlanan sistemlerin sıcaklığa bağlı G' ve G'' değerlerindeki değişim verilmektedir. G' değerlerindeki hızlı artış ve beraberinde elde edilen sol-jel geçişleri ($G' > G''$), çalışılan dört farklı sistem için de benzer sıcaklıklardadır. f-Kitosan oranı arttıkça geçiş sıcaklığının bir miktar arttığı görülmektedir. Yapıya eklenen f-kitosan oranının

artmasıyla 37°C’de elde edilen denge modül değerlerinde ilk olarak çok az bir artış görüldükten sonra orantılı bir düşüş gözlemlenmiştir. Bu durum, f-kitosan ilavesinin yüzeyde daha fazla gözenek bırakarak jel sisteminde PF127 katmanlarının yakın paketlenmesini engellemesine bağlıdır. FP127 zincirleri arasındaki etkileşimlerin azalmasıyla modül değerleri azalmaktadır.



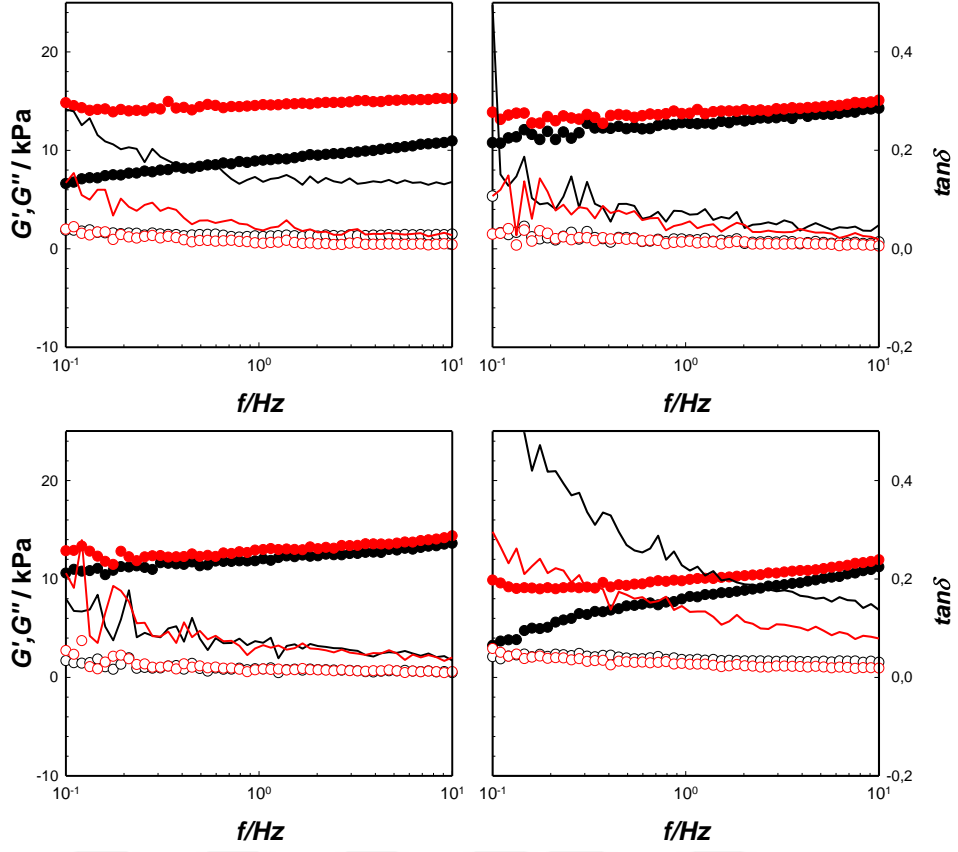
Şekil 4.71 : PF127 eklenmiş f-kitosan-kopolimer karışık misel sistemlerinin sıcaklık profilleri. Depo modül (G' , dolu sembol) ve kayıp modül (G'' , boş sembol) değerlerinin **A.** ve **C.** ısıtma – soğutma ve **B.** 37 °C’de zamana bağlı değişimi. AzoM4 (■), AzoM4 + f-kitosan (% 0.01) (▲), AzoM4 + f-kitosan (% 0.1) (●), AzoM4 + f-kitosan (% 0.5) (▲).

Şekil 4.72’de AzoM4 ile üç farklı konsantrasyonda f-kitosan eklenmiş sistemlerin 0.01 s⁻¹ kayma hızındaki viskozite ölçümleri verilmiştir. Bu grafiğe göre, viskozite değerlerinde en fazla artış %0.5 kitosan içeren sistemde görülmüştür. Genel olarak yapıya kitosan eklenmesiyle birlikte çok büyük bir viskozite değişimi olmadığı gözlemlenmiştir. Sıcaklık profil değerlerindeki sıralamaya benzer bir sıralama olduğu, en yüksek viskozite değerinin %0.01 kitosan içeren sistemde gözlemlendiği görülmektedir.



Şekil 4.72 : PF127 eklenmiş f-kitosan-kopolimer karışık misel sistemlerinin UV süresine bağlı viskozite ($0,01 \text{ s}^{-1}$ kayma hızında) değerlerinin değişimi. AzoM4 (■), AzoM4 + f-kitosan (%0.01) (▲), AzoM4 + f-kitosan (%0.1) (●), AzoM4 + f-kitosan (%0.5) (▲).

Akış davranışlarını incelemek üzere son olarak frekans taramaları gerçekleştirilmiştir. PF127-AzoM4 ve kitosan sistemlerine ait frekans taramaları Şekil 4.73'te gösterilmiştir. Kitosan içermeyen yapıda UV aydınlatma ile modül değerlerinde artış görülürken yapıya kitosan eklendikten sonra modül değerlerinde dikkate değer bir değişim görülmemiştir. Kromofor grupların UV ile değişimini baskılamıştır.



Şekil 4.73 : PF127 eklenmiş f-kitosan-kopolimer karışık misel sistemlerinin frekansa bağlı depo modül (G' , dolu sembol), kayıp modül (G'' , boş sembol) ve $\tan\delta$ değerlerinin UV aydınlatma öncesi (siyah sembol) ve sonrası (kırmızı sembol) değişimi. **A.** AzoM4 (■), AzoM4 + f-kitosan (%0.01) (▲), **B.** AzoM4 + f-kitosan (%0.1) (●), **C.** AzoM4 + f-kitosan (%0.5) (▲).

5. SONUÇLAR

Üstün özellikleri nedeniyle ileri teknoloji malzemesi olarak yaşantımızda geniş bir yer tutmakta olan doğal polimerlerden elde edilen jellerin veya sentetik polimerler kullanılarak fiziksel etkileşimlerle bir arada duran jellerinin mekanik dayanımlarının yetersiz olması nedeniyle uygulama alanları kısıtlanmaktadır. Kaynağı bakımından doğal olan nişasta jelleri hem biyouyumlu hem de çeşitli enzimler varlığında yüksek biyo-bozunurluğa sahiptir. Vücut içi uygulamalarda özellikle aranan bu üstün özelliklere sahip nişasta jel yapısının güçlenmesi için jelleşmede temel faktör olan amiloz oranının artması ve yapı içerisine ikinci bir ağın katılması bu doğal jellerin mekanik olarak daha güçlü hale gelmesini sağlamaktadır. FDA onaylı Pluronic çözeltileri yapısında bulunan misellerin fiziksel etkileşimlerle bir araya gelmesiyle çözelti formundan jel formuna geçse de bu jeller kısa süre içinde dağılmaktadır. Özellikle biyo-uygulamalar için kullanımı planlanan bu jellerin vücut sıvılarında daha sağlam hale gelmesi ve dahası ısı uyarana ek olarak belirli dalga boyunda ışığa da cevap verebilir hale gelmesi amacıyla çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Bu doğrultuda **tezin ilk kısmında** nişasta hidrojelleri sentezlenmiş ve mekanik dayanımlarını arttırmak için çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmiştir. ECH ile HA varlığında ve yokluğunda çapraz bağlanan yüksek amilozlu nişasta hidrojellerinin viskoelastik özellikleri araştırılmıştır. Nişasta ve ECH'nın konsantrasyon miktarlarına bağlı olarak G' ve G'' değerleri artış gösterirken, bağlı şişme değerleri giderek azalmıştır. Jellerin ECH miktarı %5'ten %20 hac/hac'e yükseltildiğinde, G' ve G'' değerleri sırasıyla on kat artırılarak 5000 ve 300 Pa'a çıkmıştır. Genlik tarama testlerine göre, %100 deformasyona kadar stabil jeller elde etmek için en yüksek ECH konsantrasyonunun %10 hac/hac olduğu bulunmuştur. Ağ yapıya sadece %0,5 ağ/hac HA eklenmesi jellerin frekans bağımlılığını arttırmış ve kayıp faktörünü 0,02'den, zayıf jeller kategorisine ait olan 0,1 değerinin biraz üstüne kaydırmıştır. Basamak-deformasyon testleri sırasında, HA-0.0-Amy23 ağları başlangıç mekanik dayanımının yaklaşık %92 ± 4'ünü kaybetmiştir. Ancak, yüksek oranlı Amy jelleri tamamen orijinal hallerine geri dönmüştür. HA içermeyen ağlardan farklı olarak, HA-1.5 jellerini orijinal özelliklerini geri kazanmak için daha fazla zamana ihtiyaç duyduğu belirlenmiştir. Artan amiloz oranı, ağ içindeki dinamikleri değiştirmiş, yani zamana bağlı G_r değerleri gözlemlenmiştir. Nispeten daha yüksek miktarda konsantrasyon

bileşeni nedeniyle HA-1.5 jellerinin, HA-0.0 jellerine kıyasla daha küçük gözenek boyutu ve kalın gözenek duvarları sayesinde daha kararlı gözenek yapılarını içerdiği tespit edilmiştir.

Tezin ikinci aşamasında yaygın olarak kullanılan Pluronic F127 (PF127) zincirleri, tekrarlayan ünitelerinde kromofor gruplar içeren amfifilik polimerlerle bir araya getirilmiştir. Bu kapsamda tasarlanan özgün polimer yapılarının sentez ve karakterizasyonları gerçekleştirilmiştir. Kromofor grup olarak kumarin (KumMx ve KumPx) ve azobenzen (AzoMx ve AzoPx) yapıları kullanılmış olup yapılan deneysel çalışmalardan elde edilen sonuçlar iki grup halinde aşağıda sıralanmıştır. Son grupta ise PF127 – amfifilik polimer sistemlerine kitosan zincirlerinin eklenmesiyle ısı ve ışık duyarlılıklarının analiz sonuçları yer almaktadır.

Pluronic – Kumarin İçeren Amfifilik Polimerler:

PF127'nin kumarin fonksiyonel kopolimerleri (KumPx) veya bu kopolimerlerden oluşturulan miseller (KumMx) ile birleştirilmesiyle akıllı ve enjekte edilebilir hidrojeller üretilmiştir. Amfifilik kopolimerler ilk olarak RAFT polimerizasyonu yoluyla sentezlenmiş ve GPC, ¹H NMR ve FT-IR kullanılarak karakterize edilmiştir. Amfifilik doğası nedeniyle, bu kopolimerler, DLS ve TEM ölçümleriyle teyit edilen küresel miseller oluşturmak üzere kendi kendine birleştirilmiştir. Kumarin kısımlarının foto-dimerizasyonunu incelemek için misel çözeltileri 350 nm'de aydınlatılmıştır. PEG-*b*-P(tBMA-*r*-CEMA) polimerlerinden (KumP1 ve KumP3) oluşturulan misellerde, etoksi uzatılmış kumarin gruplarının serbest hareketlerinin artması nedeniyle absorpsiyon azalmasının daha belirgin olduğu bulunmuştur. PF127-Mx ve PF127-Px hidrojelleri, sırasıyla polimer misel çözeltilerinin PF127 katısı ve katı polimerlerin PF127 çözeltileri ile karıştırılmasıyla oluşturulmuştur. PF127'nin sol-jel geçiş sıcaklığı (T_{trans}), PF127-Mx hidrojellerinde daha düşük derecelere kayarken, yapıdaki artan polimer konsantrasyonu ve dolayısıyla artan etkileşimler nedeniyle sistemlerin denge modülü 22 kPa'nın üzerine çıkmıştır. Benzer şekilde, PF127-Px sistemleri için T_{trans} 'ta bir düşüş ve modülde bir artış gözlemlenmiştir. CMA içeren jeller (PF127-P2 ve PF127-P4) ve daha yüksek oranda kumarin içeren polimerler (PF127-P3 ve PF127-P4) ile oluşturulan sistemler için biraz daha düşük sol-jel geçiş sıcaklıkları gözlemlenmiştir. PF127-Mx ve PF127-Px sistemlerinin UV ışınlama süresine bağlı olarak viskozite değişimleri araştırılmıştır. Kumarin miktarı ve monomer tipi ne olursa olsun, tüm sistemlerde UV ışınması ile viskozite değerleri

artmıştır. PF127-Px sistemlerinin artan konsantrasyonla ilgili enerji gereksinimi nedeniyle dengeyi elde etmesi için daha yüksek ışınlama sürelerine ihtiyaç olduğu belirlenmiştir. UV öncesi ve sonrası ışımanın kayma deformasyonu, G' ve G'' değerlerindeki değişimi değerlendirmek için kullanılmıştır. G' artışının, daha yüksek kumarin içeriği için UV ile daha belirgin olduğu görülmüştür. Enjekte edilebilirlik testlerinde F_{max} , DGF ve tokluk değerlerinin -M1 jellerinde -M4 jellerine kıyasla biraz arttığı tespit edilmiştir. CMA içeren formülasyonların enjeksiyonu için uygulanacak basınç CEMA içerenlere göre daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca, enjeksiyon için daha yüksek kuvvetler ve tokluk değerlerinin gerekli olduğu gözlemlenmiştir. 90/10 sistemleri, daha düşük sol-jel geçiş sıcaklıkları nedeniyle PF127-Px formülasyonlarında yüksek polimer konsantrasyonları nedeniyle fark daha net görülmüştür.

Pluronik – Azobenzen İçeren Amfifilik Polimerler:

PF127'nin azobenzen fonksiyonel kopolimerleri (AzoPx) veya bu kopolimerlerden oluşturulan miseller (AzoMx) ile birleştirilmesiyle akıllı ve enjekte edilebilir hidrojel üretilmiştir. Amfifilik kopolimerler ilk olarak RAFT polimerizasyonu yoluyla sentezlenmiş ve GPC ve ^1H NMR kullanılarak karakterize edilmiştir. Amfifilik doğası nedeniyle, bu kopolimerler, DLS ve TEM ölçümleriyle teyit edilen küresel miseller oluşturmak üzere kendi kendine birleştirilmiştir. Kumarinli sistemlerde olduğu gibi, PF127 sistemine kıyasla amfifilik yapılar içeren sistemlerde (PF127- AzoMx) artan net polimer konsantrasyonuna bağlı olarak etkileşimlerin artmasıyla daha düşük sıcaklıklarda sol-jel geçişi mümkün olmaktadır. Sıcaklığın, çok düşük sıcaklıklara kaymamış olması da malzemenin enjekte edilebilmesi ve böylelikle kolay uygulanabilir olması açısından oldukça önemlidir. Ayrıca, PF127 jellerinin 37°C 'de kaydedilen modül değerleri 17.4 kPa iken yapıya miseller dahil edildiğinde 21 kPa'ın üzerine çıkmıştır. PF127- AzoPx yapıların kıyasla daha düşük T_{trans} değerine sahip olduğu görülmüştür. Polimerin doğrudan ilave edildiği yapılarda daha yüksek konsantrasyon kullanılması bu davranışın temel nedeni olarak gösterilebilir. Azobenzen miktarından ve monomerin türünden bağımsız olarak tüm sistemlerde UV ile birlikte viskozite değerlerinin arttığı ve yaklaşık 20 dk'lık bir aydınlatma sonrası denge değerlerine ulaşıldığı görülmektedir. UV aydınlatma öncesi viskoziteler göz önünde bulundurulursa, kromofor grubun daha fazla olduğu PF127-AzoP4 polimerini içeren sistemlerde azobenzen oranı arttıkça zincir üzerindeki dallanmış yapıdan dolayı

viskozitenin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Fazladan etoksi grubu içeren sistemin UV aydınlatma sonrası relatif viskozite değerlerinin daha yüksek değerde çıktığı gözlemlenmiştir. Tüm sistemlerde aydınlatma öncesi frekansa çok az bağlı bir davranış gözlemlenirken ölçüm gerçekleştirilen frekans aralığında $G' > G''$ yani sistem jel halindedir. Malzemeyi tahrip etmeyen deformasyon aralığı olarak ifade edilen lineer viskoelastik bölgenin (LVR)'nin boyutu UV aydınlatma sonrası artış göstermiş ve G' değeri tüm sistemlerde artmıştır. En geniş LVR aralığına sahip sistemin PF127-AzoM4 olduğu belirlenmiştir.

Kitosan - Pluronik – Amfifilik Polimer İçeren Sistemler:

PF127-KumPx veya PF127-AzoPx yapılarına üç farklı konsantrasyonda (%0.01, %0.1 ve %0.5) f-kitosan ilavesinin oluşturulan sistemlerin sıcaklığa bağlı G' ve G'' değerlerindeki değişimine bakıldığında, G' değerlerindeki hızlı artış ve beraberinde elde edilen sol-jel geçişlerinin ($G' > G''$) çalışılan dört farklı sistem için de benzer sıcaklıklarda olduğu görülmüştür. f-Kitosan oranı arttıkça geçiş sıcaklığının bir miktar arttığı görülmektedir. Yapıya eklenen f-kitosan oranının artmasıyla 37°C'de elde edilen denge modül değerlerinde orantılı bir düşüş gözlemlenmiştir. Bu durum, f-kitosan ilavesinin yüzeyde daha fazla gözenek bırakarak jel sisteminde PF127 katmanlarının yakın paketlenmesini engellemesine bağlıdır. FP127 zincirleri arasındaki etkileşimlerin azalmasıyla modül değerleri azalmaktadır. Bu da tasarlanan sistemlerin potansiyel projelerde ilaç taşıyıcı olarak kullanıldığında salım kinetiklerini istenen yönde etkileyeceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] **Brannon-Peppas, L.** (1990). Preparation and Characterization of Crosslinked Hydrophilic Networks. İçinde L. Brannon-Peppas, R.S. Harland, (Ed.), *Studies in Polymer Science Cilt 8*, ss. 45-66): Elsevier.
- [2] **Wu, C.-J., Gaharwar, A. K., Chan, B. K. ve Schmidt, G.** (2011). Mechanically Tough Pluronic F127/Laponite Nanocomposite Hydrogels from Covalently and Physically Cross-Linked Networks. *Macromolecules*, *44*(20), 8215-8224.
- [3] **Pawan, P., Mayur, P. K. ve Ashwin, S.**, Year editör^editörler. ROLE OF NATURAL POLYMERS IN SUSTAINED RELEASE DRUG DELIVERY SYSTEM: APPLICATIONS AND RECENT APPROACHES 2011 Published.
- [4] **Hoffman, A. S.** (2002). Hydrogels for biomedical applications. *Adv Drug Deliv Rev*, *54*(1), 3-12.
- [5] **Chang, C. ve Zhang, L.** (2011). Cellulose-based hydrogels: Present status and application prospects. *Carbohyd Polym*, *84*(1), 40-53.
- [6] **Mittal, H., Ray, S. S. ve Okamoto, M.** (2016). Recent Progress on the Design and Applications of Polysaccharide-Based Graft Copolymer Hydrogels as Adsorbents for Wastewater Purification. *301*(5), 496-522.
- [7] **Chen, P., Yu, L., Kealy, T., Chen, L. ve Li, L.** (2007). Phase transition of starch granules observed by microscope under shearless and shear conditions. *Carbohydrate Polymers - CARBOHYD POLYM*, *68*, 495-501.
- [8] **Zou, W., Yu, L., Liu, X. X., Chen, L., Zhang, X. Q., Qiao, D. L., ve ark.** (2012). Effects of amylose/amylopectin ratio on starch-based superabsorbent polymers. *Carbohyd Polym*, *87*(2), 1583-1588.
- [9] **Jacobs, H. ve Delcour, J. A.** (1998). Hydrothermal modifications of granular starch, with retention of the granular structure: A review. *J Agr Food Chem*, *46*(8), 2895-2905.
- [10] **Zhang, X. ve Li, W. L.** (2003). Synthesis and properties of graft oxidation starch sizing agent. *88*(6), 1563-1566.
- [11] **Casas, M., Ferrero, C., De Paz, M. V. ve Jiménez-Castellanos, M.** (2009). Synthesis and characterization of new copolymers of ethyl methacrylate grafted on tapioca starch as novel excipients for direct compression matrix tablets. *Eur Polym J*, *45*, 1765-1776.
- [12] **Anderson, A. K. ve Guraya, H. S.** (2006). Effects of microwave heat-moisture treatment on properties of waxy and non-waxy rice starches. *Food Chem*, *97*(2), 318-323.
- [13] **Rajan, A. ve Abraham, T.** (2006). Enzymatic modification of cassava starch by bacterial lipase. *Bioproc Biosyst Eng*, *29*, 65-71.
- [14] **Fraser, J. R., Laurent, T. C. ve Laurent, U. B.** (1997). Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. *Journal of internal medicine*, *242*(1), 27-33.
- [15] **Chen, W. Y. ve Abatangelo, G.** (1999). Functions of hyaluronan in wound repair. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, *7*(2), 79-89.
- [16] **Kogan, G., Soltés, L., Stern, R. ve Gemeiner, P.** (2007). Hyaluronic acid: a natural biopolymer with a broad range of biomedical and industrial applications. *Biotechnology letters*, *29*(1), 17-25.

- [17] **Schmolka, I. R.** (1991). A comparison of block copolymer surfactant gels. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 68(3), 206-209.
- [18] **Hernández, R., López, D. ve Mijangos, C.** (2006). Preparation and characterization of polyacrylic acid-poly(vinyl alcohol)-based interpenetrating hydrogels. *Journal of Applied Polymer Science*, 102(6), 5789-5794.
- [19] **Rassing, J. ve Attwood, D.** (1982). Ultrasonic velocity and light-scattering studies on the polyoxyethylene—polyoxypropylene copolymer Pluronic F127 in aqueous solution. *International journal of pharmaceutics*, 13(1), 47-55.
- [20] **Fusco, S., Borzacchiello, A. ve Netti, P. A.** (2006). Perspectives on: PEO-PPO-PEO Triblock Copolymers and their Biomedical Applications. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 21(2), 149-164.
- [21] **Wang, M. ve Kim, J.-C.** (2015). Physicochemical properties of mixed micelles composed of chitosan–cinnamic acid conjugate and Pluronic F127-cinnamic acid conjugate. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 23, 206-212.
- [22] **Zhang, H. ve Kim, J.-C.** (2017). Doxorubicin-containing microparticles comprising cinnamoyl gelatin-folic acid conjugate, cinnamoyl Pluronic F127, and cinnamoyl poly(β -cyclodextrin). *Journal of Macromolecular Science, Part A*, 54(6), 394-401.
- [23] **Lee, J. H. ve Kim, J.-C.** (2015). Human growth hormone-loaded nanogels composed of cinnamoyl alginate, cinnamoyl Pluronic F127, and cinnamoyl poly(ethylene glycol). *Journal of Applied Polymer Science*, 132(34).
- [24] **Yoon, D. Y. ve Kim, J.-C.** (2017). Hydrogel composed of acrylic coumarin and acrylic Pluronic F-127 and its photo- and thermo-responsive release property. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 22(4), 481-488.
- [25] **Wichterle, O. ve LIM, D.** (1960). Hydrophilic Gels for Biological Use. *Nature*, 185(4706), 117-118.
- [26] **Sajilata, M. G., Singhal, R. S. ve Kulkarni, P. R.** (2006). Resistant Starch-A Review. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 5(1), 1-17.
- [27] **Zohuriaan, J. ve Kabiri, K.** (2008). Superabsorbent Polymer Materials: A Review. *Iranian Polymer Journal (English Edition)*, 17.
- [28] **Van Vlierberghe, S., Dubruel, P. ve Schacht, E.** (2011). Biopolymer-Based Hydrogels As Scaffolds for Tissue Engineering Applications: A Review. *Biomacromolecules*, 12(5), 1387-1408.
- [29] **Tabata, Y.** (2009). Biomaterial technology for tissue engineering applications. *J R Soc Interface*, 6 Suppl 3(Suppl 3), S311-324.
- [30] **Smith, A. M., Moxon, S. ve Morris, G. A.** (2016). 13 - Biopolymers as wound healing materials. İçinde M.S. Ågren, (Ed.). *Wound Healing Biomaterials* ss. 261-287): Woodhead Publishing.
- [31] **Gough, C. R., Rivera-Galletti, A., Cowan, D. A., Salas-de la Cruz, D. ve Hu, X.** (2020). Protein and Polysaccharide-Based Fiber Materials Generated from Ionic Liquids: A Review. *Molecules*, 25(15).
- [32] **Xue, Y., Lofland, S. ve Hu, X.** (2019). Thermal Conductivity of Protein-Based Materials: A Review. *Polymers*, 11(3), 456.
- [33] **Mahmood, A., Patel, D., Hickson, B., DesRochers, J. ve Hu, X.** (2022). Recent Progress in Biopolymer-Based Hydrogel Materials for Biomedical Applications. *Int J Mol Sci*, 23(3).
- [34] **DeFrates, K. G., Moore, R., Borgesi, J., Lin, G., Mulderig, T., Beachley, V., ve ark.** (2018). Protein-Based Fiber Materials in Medicine: A Review. *Nanomaterials*, 8(7), 457.

- [35] DeFrates, K., Markiewicz, T., Gallo, P., Rack, A., Weyhmiller, A., Jarmusik, B., ve ark. (2018). Protein Polymer-Based Nanoparticles: Fabrication and Medical Applications. *Int J Mol Sci*, 19(6).
- [36] Chevally, B. ve Herbage, D. (2000). Collagen-based biomaterials as 3D scaffold for cell cultures: applications for tissue engineering and gene therapy. *Medical and Biological Engineering and Computing*, 38(2), 211-218.
- [37] Wolf, K., Alexander, S., Schacht, V., Coussens, L. M., von Andrian, U. H., van Rheenen, J., ve ark. (2009). Collagen-based cell migration models in vitro and in vivo. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 20(8), 931-941.
- [38] Van Duong, H., Chau, T. T. L., Dang, N. T. T., Nguyen, D. V., Le, S. L., Ho, T. S., ve ark. (2018). Self-aggregation of water-dispersible nanocollagen helices. *Biomaterials Science*, 6(3), 651-660.
- [39] Sionkowska, A. (2011). Current research on the blends of natural and synthetic polymers as new biomaterials: Review. *Progress in Polymer Science*, 36(9), 1254-1276.
- [40] Kozłowska, J., Stachowiak, N. ve Sionkowska, A. (2018). Collagen/Gelatin/Hydroxyethyl Cellulose Composites Containing Microspheres Based on Collagen and Gelatin: Design and Evaluation. *Polymers*, 10(4), 456.
- [41] Lee, S., Jin, S. P., Kim, Y. K., Sung, G. Y., Chung, J. H. ve Sung, J. H. (2017). Construction of 3D multicellular microfluidic chip for an in vitro skin model. *Biomed Microdevices*, 19(2), 22.
- [42] Goodarzi, H., Jadidi, K., Pourmotabed, S., Sharifi, E. ve Aghamollaei, H. (2019). Preparation and in vitro characterization of cross-linked collagen-gelatin hydrogel using EDC/NHS for corneal tissue engineering applications. *Int J Biol Macromol*, 126, 620-632.
- [43] Kaczmarek, B., Owczarek, A., Nadolna, K. ve Sionkowska, A. (2019). The film-forming properties of chitosan with tannic acid addition. *Materials Letters*, 245, 22-24.
- [44] Skopinska-Wisniewska, J., Kuderko, J., Bajek, A., Maj, M., Sionkowska, A. ve Ziegler-Borowska, M. (2016). Collagen/elastin hydrogels cross-linked by squaric acid. *Materials Science and Engineering: C*, 60, 100-108.
- [45] Kaczmarek, B., Sionkowska, A. ve Osyczka, A. M. (2017). The comparison of physic-chemical properties of chitosan/collagen/hyaluronic acid composites with nano-hydroxyapatite cross-linked by dialdehyde starch and tannic acid. *Polymer Testing*, 62, 171-176.
- [46] Skopinska-Wisniewska, J., Bajek, A., Maj, M. ve Sionkowska, A. (2016). PEG-dialdehyde—the new cross-linking agent for collagen/elastin hydrogels. *Polymers for Advanced Technologies*, 28.
- [47] Das, N. (2013). Preparation methods and properties of hydrogel: A review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5, 112-117.
- [48] Djagny, V. B., Wang, Z. ve Xu, S. (2001). Gelatin: a valuable protein for food and pharmaceutical industries: review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 41(6), 481-492.
- [49] Jaipan, P., Nguyen, A. ve Narayan, R. J. (2017). Gelatin-based hydrogels for biomedical applications. *MRS Communications*, 7(3), 416-426.
- [50] Rodgers, U. R. ve Weiss, A. S. (2005). Cellular interactions with elastin. *Pathologie Biologie*, 53(7), 390-398.
- [51] Annabi, N., Mithieux, S. M., Boughton, E. A., Ruys, A. J., Weiss, A. S. ve Dehghani, F. (2009). Synthesis of highly porous crosslinked elastin hydrogels and their interaction with fibroblasts in vitro. *Biomaterials*, 30(27), 4550-4557.

- [52] **Wysocki, M., Motylenko, M., Walter, J., Lota, G., Wojciechowski, J., Stöcker, H., ve ark.** (2014). Synthesis of nanostructured chitin-hematite composites under extreme biomimetic conditions. *RSC Adv*, 4.
- [53] **Tan, H., Chu, C. R., Payne, K. A. ve Marra, K. G.** (2009). Injectable in situ forming biodegradable chitosan-hyaluronic acid based hydrogels for cartilage tissue engineering. *Biomaterials*, 30(13), 2499-2506.
- [54] **Guo, B. L. ve Gao, Q. Y.** (2007). Preparation and properties of a pH/temperature-responsive carboxymethyl chitosan/poly(N-isopropylacrylamide)semi-IPN hydrogel for oral delivery of drugs. *Carbohydr Res*, 342(16), 2416-2422.
- [55] **Apriyanto, A., Compart, J. ve Fettke, J.** (2022). A review of starch, a unique biopolymer – Structure, metabolism and in planta modifications. *Plant Science*, 318, 111223.
- [56] **Durrani, C. M. ve Donald, A. M.** (1995). Physical characterisation of amylopectin gels. *Polymer Gels and Networks*, 3(1), 1-27.
- [57] **Alcázar Alay, S. C. ve Meireles, M. A.** (2015). Physicochemical properties, modifications and applications of starches from different botanical sources. *Food Science and Technology (Campinas)*, 35, 215-236.
- [58] **Jenkins, P. J., Cameron, R. E. ve Donald, A. M.** (1993). A Universal Feature in the Structure of Starch Granules from Different Botanical Sources. *Starch - Stärke*, 45(12), 417-420.
- [59] **Cheetham, N. W. H. ve Tao, L.** (1998). Variation in crystalline type with amylose content in maize starch granules: an X-ray powder diffraction study. *Carbohydrate Polymers*, 36(4), 277-284.
- [60] **Tester, R. F., Karkalas, J. ve Qi, X.** (2004). Starch—composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, 39(2), 151-165.
- [61] **Qiu, Y. ve Park, K.** (2001). Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev*, 53(3), 321-339.
- [62] **Qamruzzaman, M., Mondal, M. ve Ahmed, F.** (2022). An Overview on Starch-Based Sustainable Hydrogels: Potential Applications and Aspects. *Journal of Polymers and the Environment*, 29.
- [63] **Xie, F., Yu, L., Su, B., Liu, P., Wang, J., Liu, H., ve ark.** (2009). Rheological properties of starches with different amylose/amylopectin ratios. *Journal of Cereal Science*, 49(3), 371-377.
- [64] **Tomasik, P. ve Schilling, C. H.** (2004). Chemical modification of starch. *Adv Carbohydr Chem Biochem*, 59, 175-403.
- [65] **Hennink, W. E. ve van Nostrum, C. F.** (2002). Novel crosslinking methods to design hydrogels. *Adv Drug Deliv Rev*, 54(1), 13-36.
- [66] **Rosiak, J. M. ve Yoshii, F.** (1999). Hydrogels and their medical applications. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 151(1), 56-64.
- [67] **Ranganathan, N., Bensingh, R., Kader, M. ve Nayak, S.** (2018). Synthesis and Properties of Hydrogels Prepared by Various Polymerization Reaction Systems. ss. 1-25):
- [68] **Kuniak, L. ve Marchessault, R. H.** (1972). Study of the Crosslinking Reaction between Epichlorohydrin and Starch. *Starch-starke*, 24, 110-116.
- [69] **Sarmah, D. ve Karak, N.** (2020). Double network hydrophobic starch based amphoteric hydrogel as an effective adsorbent for both cationic and anionic dyes. *Carbohydr Polym*, 242, 116320.

- [70] **Muharam, S., Mukmilah Yuningsih, L. ve Sumitra, M.** (2017). *Characterization of superabsorbent hydrogel based on epichlorohydrin crosslink and carboxymethyl functionalization of cassava starch*. 030083 s.
- [71] **Hamdi, G., Ponchel, G. ve Duchêne, D.** (2001). Formulation of epichlorohydrin cross-linked starch microspheres. *J Microencapsul*, 18(3), 373-383.
- [72] **Ereth, M. H., Schaff, M., Ericson, E. F., Wetjen, N. M., Nuttall, G. A. ve Oliver, W. C., Jr.** (2008). Comparative safety and efficacy of topical hemostatic agents in a rat neurosurgical model. *Neurosurgery*, 63(4 Suppl 2), 369-372; discussion 372.
- [73] **Ceylan Tuncaboğlu, D., Abdurrahmanoglu, S. ve Gazioglu, I.** (2019). Rheological characterization of starch gels: A biomass based sorbent for removal of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *J Hazard Mater*, 371, 406-414.
- [74] **Ceylan Tuncaboğlu, D., Abdurrahmanoglu, S. ve Gazioglu, I.** (2019). Rheological characterization of starch gels: A biomass based sorbent for removal of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Journal of Hazardous Materials*, 371, 406-414.
- [75] **Reddy, N. ve Yang, Y.** (2011). Potential of plant proteins for medical applications. *Trends Biotechnol*, 29(10), 490-498.
- [76] **Bhatia, J., Kaith, B. S. ve Kalia, S.** (2013). Polysaccharide Hydrogels: Synthesis, Characterization, and Applications. ss. 271-290:
- [77] **Kaith, B. S. ve Kumar, K.** (2007). In Vacuum Preparation of Poly-cl-poly(AAm) Superabsorbent and its Applications in Oil - Industry. *e-Polymers*, 7(1).
- [78] **Kaith, B. S. ve Kumar, K.** (2008). In vacuum synthesis of psyllium and acrylic acid based hydrogels for selective water absorption from different oil-water emulsions. *Desalination*, 229, 331-341.
- [79] **Boesel, L. F., Mano, J. F. ve Reis, R. L.** (2004). Optimization of the formulation and mechanical properties of starch based partially degradable bone cements. *J Mater Sci Mater Med*, 15(1), 73-83.
- [80] **Hassan, A., Niazi, M., Hussain, A., Farrukh, S. ve Ahmad, T.** (2018). Development of Anti-bacterial PVA/Starch Based Hydrogel Membrane for Wound Dressing. *Journal of Polymers and the Environment*, 26.
- [81] **Batool, S., Hussain, Z., Niazi, M. B. K., Liaqat, U. ve Afzal, M.** (2019). Biogenic synthesis of silver nanoparticles and evaluation of physical and antimicrobial properties of Ag/PVA/starch nanocomposites hydrogel membranes for wound dressing application. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 52, 403-414.
- [82] **Pal, K., Banthia, A. ve Majumdar, D. K.** (2009). Starch based hydrogel with potential biomedical application as artificial skin. *African Journal of Biomedical Research*, 9.
- [83] **Sarmah, D. ve Karak, N.** (2022). Physically cross-linked starch/hydrophobically-associated poly(acrylamide) self-healing mechanically strong hydrogel. *Carbohydrate Polymers*, 289, 119428.
- [84] **Ounkaew, A., Kasemsiri, P., Jetsrisuparb, K., Uyama, H., Hsu, Y.-I., Boonmars, T., ve ark.** (2020). Synthesis of nanocomposite hydrogel based carboxymethyl starch/polyvinyl alcohol/nanosilver for biomedical materials. *Carbohydrate Polymers*, 248, 116767.

- [85] **Zeng, S., Zhang, J., Zu, G. ve Huang, J.** (2021). Transparent, flexible, and multifunctional starch-based double-network hydrogels as high-performance wearable electronics. *Carbohydrate Polymers*, 267, 118198.
- [86] **Sarmah, D. ve Karak, N.** (2022). Starch based mechanically tough hydrogel for effective removal of toxic metal ions from wastewater. *Journal of Cleaner Production*, 344, 131074.
- [87] **Liu, G., Gu, Z., Hong, Y., Cheng, L. ve Li, C.** (2017). Electrospun starch nanofibers: Recent advances, challenges, and strategies for potential pharmaceutical applications. *J Control Release*, 252, 95-107.
- [88] **Weissmann, B. ve Meyer, K.** (1954). The Structure of Hyalobiuronic Acid and of Hyaluronic Acid from Umbilical Cord1,2. *Journal of the American Chemical Society*, 76(7), 1753-1757.
- [89] **Um, I. C., Fang, D., Hsiao, B. S., Okamoto, A. ve Chu, B.** (2004). Electrospinning and electro-blowing of hyaluronic acid. *Biomacromolecules*, 5(4), 1428-1436.
- [90] **Eskandarinia, A., Kefayat, A., Rafienia, M., Agheb, M., Navid, S. ve Ebrahimpour, K.** (2019). Cornstarch-based wound dressing incorporated with hyaluronic acid and propolis: In vitro and in vivo studies. *Carbohydr Polym*, 216, 25-35.
- [91] **Ismail, H., Irani, M. ve Ahmad, Z.** (2013). Starch-Based Hydrogels: Present Status and Applications. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 62(7), 411-420.
- [92] **Masina, N., Choonara, Y., Kumar, P., Toit, L., Govender, M., Indermun, S., ve ark.** (2017). A review of the chemical modification techniques of starch. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1226–1236.
- [93] **Robyt, J.** (2008). Starch: Structure, Properties, Chemistry, and Enzymology. ss. 1437-1472):
- [94] **Amaraweera, S. M., Gunathilake, C., Gunawardene, O. H. P., Fernando, N. M. L., Wanninayaka, D. B., Dassanayake, R. S., ve ark.** (2021). Development of Starch-Based Materials Using Current Modification Techniques and Their Applications: A Review. *Molecules*, 26(22).
- [95] **Masina, N., Choonara, Y. E., Kumar, P., du Toit, L. C., Govender, M., Indermun, S., ve ark.** (2017). A review of the chemical modification techniques of starch. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1226-1236.
- [96] **Betancur, A. D., Chel, G. L. ve Cañizares, H. E.** (1997). Acetylation and Characterization of *Canavalia ensiformis* Starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(2), 378-382.
- [97] **Gyles, D. A., Castro, L. D., Silva, J. O. C. ve Ribeiro-Costa, R. M.** (2017). A review of the designs and prominent biomedical advances of natural and synthetic hydrogel formulations. *European Polymer Journal*, 88, 373-392.
- [98] **Ullah, F., Othman, M. B. H., Javed, F., Ahmad, Z. ve Akil, H. M.** (2015). Classification, processing and application of hydrogels: A review. *Materials Science and Engineering: C*, 57, 414-433.
- [99] **Gibas, I. ve Janik, H.** (2010). Review: Synthetic Polymer Hydrogels for Biomedical Applications. *Chem Chem Technol*, 4, 297-304.
- [100] **Zhao, Z.-b., An, S.-s., Xie, H.-j. ve Jiang, Y.** (2015). Copolymerization and properties of multicomponent crosslinked hydrogels. *Chinese Journal of Polymer Science*, 33(1), 173-183.

- [101] Underhill, G. H., Chen, A. A., Albrecht, D. R. ve Bhatia, S. N. (2007). Assessment of hepatocellular function within PEG hydrogels. *Biomaterials*, 28(2), 256-270.
- [102] Benamer, S., Mahlous, M., Boukrif, A., Mansouri, B. ve Youcef, S. L. (2006). Synthesis and characterisation of hydrogels based on poly(vinyl pyrrolidone). *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 248(2), 284-290.
- [103] Aji, Z., Othman, I. ve Rosiak, J. M. (2005). Production of hydrogel wound dressings using gamma radiation. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 229(3), 375-380.
- [104] Wang, M., Xu, L., Hu, H., Zhai, M., Peng, J., Nho, Y., ve ark. (2007). Radiation synthesis of PVP/CMC hydrogels as wound dressing. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 265(1), 385-389.
- [105] Monteiro, M. J., Hall, G., Gee, S. ve Xie, L. (2004). Protein transfer through polyacrylamide hydrogel membranes polymerized in lyotropic phases. *Biomacromolecules*, 5(5), 1637-1641.
- [106] Pafiti, K., Cui, Z., Carney, L., Freemont, A. J. ve Saunders, B. R. (2016). Composite hydrogels of polyacrylamide and crosslinked pH-responsive micrometer-sized hollow particles. *Soft Matter*, 12(4), 1116-1126.
- [107] Yıldız, B., Işık, B. ve Kış, M. (2002). Synthesis and characterization of thermoresponsive isopropylacrylamide-acrylamide hydrogels. *European Polymer Journal*, 38(7), 1343-1347.
- [108] Shi, Q., Liu, H., Tang, D., Li, Y., Li, X. ve Xu, F. (2019). Bioactuators based on stimulus-responsive hydrogels and their emerging biomedical applications. *NPG Asia Materials*, 11(1), 64.
- [109] Mahinroosta, M., Jomeh Farsangi, Z., Allahverdi, A. ve Shakoori, Z. (2018). Hydrogels as intelligent materials: A brief review of synthesis, properties and applications. *Materials Today Chemistry*, 8, 42-55.
- [110] Li, Z., Zhou, Y., Li, T., Zhang, J. ve Tian, H. (2021). Stimuli-responsive hydrogels: Fabrication and biomedical applications. *VIEW*, 3, 20200112.
- [111] Peng, Z., Peng, Z. ve Shen, Y. (2011). Fabrication and Properties of Gelatin/Chitosan Composite Hydrogel. *Polymer-plastics Technology and Engineering - POLYM-PLAST TECHNOL ENG*, 50, 1160-1164.
- [112] Shaibani, P. M., Etayash, H., Naicker, S., Kaur, K. ve Thundat, T. (2017). Metabolic Study of Cancer Cells Using a pH Sensitive Hydrogel Nanofiber Light Addressable Potentiometric Sensor. *ACS Sens*, 2(1), 151-156.
- [113] Liu, Q., Yuan, Z., Guo, X. ve van Esch, J. H. (2020). Dual-Functionalized Crescent Microgels for Selectively Capturing and Killing Cancer Cells. *Angew Chem Int Ed Engl*, 59(33), 14076-14080.
- [114] Tanaka, T., Fillmore, D., Sun, S.-T., Nishio, I., Swislow, G. ve Shah, A. (1980). Phase Transitions in Ionic Gels. *Physical Review Letters*, 45(20), 1636-1639.
- [115] Firestone, B. ve Siegel, R. (1991). Kinetics and mechanisms of water sorption in hydrophobic, ionizable copolymer gels. *Journal of Applied Polymer Science*, 43, 901-914.
- [116] Zhang, J. ve Peppas, N. A. (2000). Synthesis and Characterization of pH- and Temperature-Sensitive Poly(methacrylic acid)/Poly(N-isopropylacrylamide) Interpenetrating Polymeric Networks. *Macromolecules*, 33(1), 102-107.

- [117] Kasiński, A., Zielińska-Pisklak, M., Oledzka, E. ve Sobczak, M. (2020). Smart Hydrogels - Synthetic Stimuli-Responsive Antitumor Drug Release Systems. *Int J Nanomedicine*, 15, 4541-4572.
- [118] Shim, T. S., Kim, S. H., Heo, C. J., Jeon, H. C. ve Yang, S. M. (2012). Controlled origami folding of hydrogel bilayers with sustained reversibility for robust microcarriers. *Angew Chem Int Ed Engl*, 51(6), 1420-1423.
- [119] Samal, S. K., Dash, M., Dubruel, P. ve Van Vlierberghe, S. (2014). 8 - Smart polymer hydrogels: properties, synthesis and applications. İçinde M.R. Aguilar, J. San Román, (Ed.), *Smart Polymers and their Applications* ss. 237-270): Woodhead Publishing.
- [120] Cho, J. H., Kim, S. H., Park, K. D., Jung, M. C., Yang, W. I., Han, S. W., ve ark. (2004). Chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells using a thermosensitive poly(N-isopropylacrylamide) and water-soluble chitosan copolymer. *Biomaterials*, 25(26), 5743-5751.
- [121] Xu, C., Guan, S., Wang, S., Gong, W., Liu, T., Ma, X., ve ark. (2018). Biodegradable and electroconductive poly(3,4-ethylenedioxythiophene)/carboxymethyl chitosan hydrogels for neural tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C*, 84, 32-43.
- [122] Gawel, K., Barriet, D., Sletmoen, M. ve Stokke, B. T. (2010). Responsive Hydrogels for Label-Free Signal Transduction within Biosensors. *Sensors*, 10(5), 4381-4409.
- [123] Hebeish, A., Farag, S., Sharaf, S. ve Shaheen, T. I. (2014). Thermal responsive hydrogels based on semi interpenetrating network of poly(NIPAm) and cellulose nanowhiskers. *Carbohydrate Polymers*, 102, 159-166.
- [124] Xia, M., Cheng, Y., Meng, Z., Jiang, X., Chen, Z., Theato, P., ve ark. (2015). A novel nanocomposite hydrogel with precisely tunable UCST and LCST. *Macromol Rapid Commun*, 36(5), 477-482.
- [125] Wallmersperger, T., Attaran, A., Keller, K., Brummund, J., Guenther, M. ve Gerlach, G., Year editör^editörler. Modeling and Simulation of Hydrogels for the Application as Bending Actuators. *Intelligent Hydrogels; 2013 2013//*; Cham: Springer International Publishing; Published.
- [126] Liu, J., Huang, Y., Kumar, A., Tan, A., Jin, S., Mozhi, A., ve ark. (2014). pH-Sensitive nano-systems for drug delivery in cancer therapy. *Biotechnology Advances*, 32(4), 693-710.
- [127] Nucara, L., Piazza, V., Greco, F., Robbiano, V., Cappello, V., Gemmi, M., ve ark. (2017). Ionic Strength Responsive Sulfonated Polystyrene Opals. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 9(5), 4818-4827.
- [128] Zhou, J., Zeng, Y., Wang, X., Wu, C., Cai, Z., Gao, B. Z., ve ark. (2020). The capture of antibodies by antibody-binding proteins for ABO blood typing using SPR imaging-based sensing technology. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 304, 127391.
- [129] Pan, G., Guo, Q., Cao, C., Yangab, H. ve Li, B. (2013). Thermo-responsive molecularly imprinted nanogels for specific recognition and controlled release of proteins. *Soft Matter*, 9, 3840-3850.
- [130] Zhai, D., Liu, B., Shi, Y., Pan, L., Wang, Y., Li, W., ve ark. (2013). Highly Sensitive Glucose Sensor Based on Pt Nanoparticle/Polyaniline Hydrogel Heterostructures. *ACS Nano*, 7(4), 3540-3546.
- [131] Huang, Y., Ma, Y., Chen, Y., Wu, X., Fang, L., Zhu, Z., ve ark. (2014). Target-responsive DNzyme cross-linked hydrogel for visual quantitative detection of lead. *Anal Chem*, 86(22), 11434-11439.

- [132] **Dai, S., Ravi, P. ve Tam, K. C.** (2009). Thermo- and photo-responsive polymeric systems. *Soft Matter*, 5(13), 2513-2533.
- [133] **Ercole, F., Davis, T. P. ve Evans, R. A.** (2010). Photo-responsive systems and biomaterials: photochromic polymers, light-triggered self-assembly, surface modification, fluorescence modulation and beyond. *Polymer Chemistry*, 1(1), 37-54.
- [134] **Wells, L. A., Lasowski, F., Fitzpatrick, S. D. ve Sheardown, H.** (2010). Responding to Change: Thermo- and Photoresponsive Polymers as Unique Biomaterials. 38(6), 487-509.
- [135] **Kaur, G., Johnston, P. ve Saito, K.** (2014). Photo-reversible dimerisation reactions and their applications in polymeric systems. *Polymer Chemistry*, 5(7), 2171-2186.
- [136] **Riess, G.** (2003). Micellization of block copolymers. *Progress in Polymer Science*, 28(7), 1107-1170.
- [137] **Nagata, M. ve Yamamoto, Y.** (2009). Synthesis and characterization of photocrosslinked poly(ϵ -caprolactone)s showing shape-memory properties. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 47(9), 2422-2433.
- [138] **Trenor, S. R., Long, T. E. ve Love, B. J.** (2004). Photoreversible Chain Extension of Poly(ethylene glycol). *Macromolecular Chemistry and Physics*, 205(6), 715-723.
- [139] **Kim, W. G.** (2008). Photocure properties of high-heat-resistant photoreactive polymers with cinnamate groups. *Journal of Applied Polymer Science*, 107(6), 3615-3624.
- [140] **Ling, J., Rong, M. Z. ve Zhang, M. Q.** (2011). Coumarin imparts repeated photochemical remendability to polyurethane. *Journal of Materials Chemistry*, 21(45), 18373-18380.
- [141] **Liow, S. S., Dou, Q., Kai, D., Karim, A. A., Zhang, K., Xu, F., ve ark.** (2016). Thermogels: In Situ Gelling Biomaterial. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2(3), 295-316.
- [142] **Moon, H. J., Ko, D. Y., Park, M. H., Joo, M. K. ve Jeong, B.** (2012). Temperature-responsive compounds as in situ gelling biomedical materials. *Chemical Society Reviews*, 41(14), 4860-4883.
- [143] **Zhang, K., Xue, K. ve Loh, X. J.** (2021). Thermo-Responsive Hydrogels: From Recent Progress to Biomedical Applications. *Gels*, 7(3).
- [144] **Patel, M., Lee, H. J., Park, S., Kim, Y. ve Jeong, B.** (2018). Injectable thermogel for 3D culture of stem cells. *Biomaterials*, 159, 91-107.
- [145] **Ko, D. Y., Shinde, U. P., Yeon, B. ve Jeong, B.** (2013). Recent progress of in situ formed gels for biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, 38(3), 672-701.
- [146] **Laftah, W. A., Hashim, S. ve Ibrahim, A. N.** (2011). Polymer Hydrogels: A Review. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, 50(14), 1475-1486.
- [147] **Peppas, N. A., Bures, P., Leobandung, W. ve Ichikawa, H.** (2000). Hydrogels in pharmaceutical formulations. *Eur J Pharm Biopharm*, 50(1), 27-46.
- [148] **Chee, P. L., Young, D. J. ve Loh, X. J.** (2019). Chapter 7 Degradation Behaviour of Biodegradable Thermogels. *Biodegradable Thermogels* ss. 113-132): The Royal Society of Chemistry.
- [149] **Klouda, L. ve Mikos, A. G.** (2008). Thermoresponsive hydrogels in biomedical applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 68(1), 34-45.

- [150] **Alexander, A., Ajazuddin, Khan, J., Saraf, S. ve Saraf, S.** (2013). Poly(ethylene glycol)-poly(lactic-co-glycolic acid) based thermosensitive injectable hydrogels for biomedical applications. *J Control Release*, 172(3), 715-729.
- [151] **Akash, M. S. ve Rehman, K.** (2015). Recent progress in biomedical applications of Pluronic (PF127): Pharmaceutical perspectives. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*, 209, 120-138.
- [152] **Qiu, Y. ve Park, K.** (2001). Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 53(3), 321-339.
- [153] **Chatterjee, S., Hui, P. C.-I. ve Kan, C.-w.** (2018). Thermoresponsive Hydrogels and Their Biomedical Applications: Special Insight into Their Applications in Textile Based Transdermal Therapy. *Polymers*, 10(5), 480.
- [154] **Bromberg, L. E. ve Ron, E. S.** (1998). Temperature-responsive gels and thermogelling polymer matrices for protein and peptide delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 31(3), 197-221.
- [155] **Privalov, P. L. ve Potekhin, S. A.** (1986). Scanning microcalorimetry in studying temperature-induced changes in proteins. *Methods Enzymol*, 131, 4-51.
- [156] **Hwang, M. J., Joo, M. K., Choi, B. G., Park, M. H., Hamley, I. W. ve Jeong, B.** (2010). Multiple Sol-Gel Transitions of PEG-PCL-PEG Triblock Copolymer Aqueous Solution. *Macromol Rapid Commun*, 31(23), 2064-2069.
- [157] **Feil, H., Bae, Y. H., Feijen, J. ve Kim, S. W.** (1993). Effect of comonomer hydrophilicity and ionization on the lower critical solution temperature of N-isopropylacrylamide copolymers. *Macromolecules*, 26(10), 2496-2500.
- [158] **Gulyuz, U. ve Okay, O.** (2015). Self-healing poly(N-isopropylacrylamide) hydrogels. *European Polymer Journal*, 72, 12-22.
- [159] **Coughlan, D. C. ve Corrigan, O. I.** (2006). Drug-polymer interactions and their effect on thermoresponsive poly(N-isopropylacrylamide) drug delivery systems. *Int J Pharm*, 313(1-2), 163-174.
- [160] **Fu, G. ve Soboyejo, W. O.** (2011). Investigation of swellable poly (N-isopropylacrylamide) based hydrogels for drug delivery. *Materials Science and Engineering: C*, 31(5), 1084-1090.
- [161] **Moghadam, S. ve Larson, R. G.** (2017). Assessing the Efficacy of Poly(N-isopropylacrylamide) for Drug Delivery Applications Using Molecular Dynamics Simulations. *Mol Pharm*, 14(2), 478-491.
- [162] **Burek, M., Kowalczyk, M., Czuba, Z. P., Krol, W., Pilawka, R. ve Waskiewicz, S.** (2016). Poly(N-isopropylacrylamide) hydrogels cross-linked by α,α -trehalose diacetals as thermo-responsive and acid-degradable carriers for drug delivery. *Polymer Degradation and Stability*, 129, 296-305.
- [163] **Fakhari, A., Corcoran, M. ve Schwarz, A.** (2017). Thermogelling properties of purified poloxamer 407. *Heliyon*, 3(8), e00390.
- [164] **Zarrintaj, P., Ramsey, J. D., Samadi, A., Atoufi, Z., Yazdi, M. K., Ganjali, M. R., ve ark.** (2020). Poloxamer: A versatile tri-block copolymer for biomedical applications. *Acta Biomaterialia*, 110, 37-67.
- [165] **Dumortier, G., El Kateb, N., Sahli, M., Kedjar, S., Boulliat, A. ve Chaumeil, J. C.** (2006). Development of a thermogelling ophthalmic formulation of cysteine. *Drug Dev Ind Pharm*, 32(1), 63-72.

- [166] **Kabanov, A. V., Batrakova, E. V. ve Alakhov, V. Y.** (2002). Pluronic block copolymers as novel polymer therapeutics for drug and gene delivery. *J Control Release*, 82(2-3), 189-212.
- [167] **Akash, M. S. H., Rehman, K. ve shuqing, c.** (2014). Pluronic F127-Based Thermosensitive Gels for Delivery of Therapeutic Proteins and Peptides. *Polymer Reviews*, 54.
- [168] **Batrakova, E. V. ve Kabanov, A. V.** (2008). Pluronic block copolymers: evolution of drug delivery concept from inert nanocarriers to biological response modifiers. *J Control Release*, 130(2), 98-106.
- [169] **Sezgin, Z., Yüksel, N. ve Baykara, T.** (2006). Preparation and characterization of polymeric micelles for solubilization of poorly soluble anticancer drugs. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 64(3), 261-268.
- [170] **Allen, C., Maysinger, D. ve Eisenberg, A.** (1999). Nano-engineering block copolymer aggregates for drug delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 16(1), 3-27.
- [171] **Jarak, I., Varela, C. L., Tavares da Silva, E., Roleira, F. F. M., Veiga, F. ve Figueiras, A.** (2020). Pluronic-based nanovehicles: Recent advances in anticancer therapeutic applications. *Eur J Med Chem*, 206, 112526.
- [172] **Anderson, B. C., Pandit, N. K. ve Mallapragada, S. K.** (2001). Understanding drug release from poly(ethylene oxide)-b-poly(propylene oxide)-b-poly(ethylene oxide) gels. *J Control Release*, 70(1-2), 157-167.
- [173] **Batrakova, E. V., Dorodnych, T. Y., Klinskii, E. Y., Kliushnenkova, E. N., Shemchukova, O. B., Goncharova, O. N., ve ark.** (1996). Anthracycline antibiotics non-covalently incorporated into the block copolymer micelles: in vivo evaluation of anti-cancer activity. *Br J Cancer*, 74(10), 1545-1552.
- [174] **Soe, Z. C., Kwon, J. B., Thapa, R. K., Ou, W., Nguyen, H. T., Gautam, M., ve ark.** (2019). Transferrin-Conjugated Polymeric Nanoparticle for Receptor-Mediated Delivery of Doxorubicin in Doxorubicin-Resistant Breast Cancer Cells. *Pharmaceutics*, 11(2), 63.
- [175] **Batrakova, E., Lee, S., Li, S., Venne, A., Alakhov, V. ve Kabanov, A.** (1999). Fundamental relationships between the composition of pluronic block copolymers and their hypersensitization effect in MDR cancer cells. *Pharm Res*, 16(9), 1373-1379.
- [176] **Wang, Y., Yu, L., Han, L., Sha, X. ve Fang, X.** (2007). Difunctional Pluronic copolymer micelles for paclitaxel delivery: synergistic effect of folate-mediated targeting and Pluronic-mediated overcoming multidrug resistance in tumor cell lines. *Int J Pharm*, 337(1-2), 63-73.
- [177] **Zhang, W., Shi, Y., Chen, Y., Ye, J., Sha, X. ve Fang, X.** (2011). Multifunctional Pluronic P123/F127 mixed polymeric micelles loaded with paclitaxel for the treatment of multidrug resistant tumors. *Biomaterials*, 32(11), 2894-2906.
- [178] **Zhang, W., Shi, Y., Chen, Y., Yu, S., Hao, J., Luo, J., ve ark.** (2010). Enhanced antitumor efficacy by paclitaxel-loaded pluronic P123/F127 mixed micelles against non-small cell lung cancer based on passive tumor targeting and modulation of drug resistance. *Eur J Pharm Biopharm*, 75(3), 341-353.
- [179] **Cagel, M., Tesan, F. C., Bernabeu, E., Salgueiro, M. J., Zubillaga, M. B., Moretton, M. A., ve ark.** (2017). Polymeric mixed micelles as nanomedicines: Achievements and perspectives. *Eur J Pharm Biopharm*, 113, 211-228.

- [180] Kamaly, N., Xiao, Z., Valencia, P. M., Radovic-Moreno, A. F. ve Farokhzad, O. C. (2012). Targeted polymeric therapeutic nanoparticles: design, development and clinical translation. *Chem Soc Rev*, 41(7), 2971-3010.
- [181] Brigger, I., Dubernet, C. ve Couvreur, P. (2002). Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis. *Adv Drug Deliv Rev*, 54(5), 631-651.
- [182] Gupta, A. K. ve Gupta, M. (2005). Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Biomaterials*, 26(18), 3995-4021.
- [183] Pankhurst, Q. A., Thanh, N. T. K., Jones, S. K. ve Dobson, J. (2009). Progress in applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 42(22), 224001.
- [184] Pedro, T., María del Puerto, M., Sabino, V.-V., Teresita, G.-C. ve Carlos, J. S. (2003). The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 36(13), R182.
- [185] Qin, J., Laurent, S., Jo, Y. S., Roch, A., Mikhaylova, M., Bhujwala, Z. M., ve ark. (2007). A high-performance magnetic resonance imaging T2 contrast agent. *Advanced Materials*, 19(14), 1874-1878.
- [186] Jain, T. K., Foy, S. P., Erokwu, B., Dimitrijevic, S., Flask, C. A. ve Labhasetwar, V. (2009). Magnetic resonance imaging of multifunctional pluronic stabilized iron-oxide nanoparticles in tumor-bearing mice. *Biomaterials*, 30(35), 6748-6756.
- [187] Jain, T. K., Richey, J., Strand, M., Leslie-Pelecky, D. L., Flask, C. A. ve Labhasetwar, V. (2008). Magnetic nanoparticles with dual functional properties: drug delivery and magnetic resonance imaging. *Biomaterials*, 29(29), 4012-4021.
- [188] Park, S., Kim, H. S., Kim, W. J. ve Yoo, H. S. (2012). Pluronic@Fe₃O₄ nanoparticles with robust incorporation of doxorubicin by thermo-responsiveness. *International Journal of Pharmaceutics*, 424(1), 107-114.
- [189] Wang, N., Guan, Y., Yang, L., Jia, L., Wei, X., Liu, H., ve ark. (2013). Magnetic nanoparticles (MNPs) covalently coated by PEO-PPO-PEO block copolymer for drug delivery. *Journal of Colloid and Interface Science*, 395, 50-57.
- [190] Simon, T., Boca, S. C. ve Astilean, S. (2012). Pluronic-Nanogold hybrids: synthesis and tagging with photosensitizing molecules. *Colloids and surfaces B, Biointerfaces*, 97, 77-83.
- [191] Ju, C., Sun, J., Zi, P., Jin, X. ve Zhang, C. (2013). Thermosensitive micelles-hydrogel hybrid system based on poloxamer 407 for localized delivery of paclitaxel. *J Pharm Sci*, 102(8), 2707-2717.
- [192] Missirlis, D., Hubbell, J. A. ve Tirelli, N. (2006). Thermally-induced glass formation from hydrogel nanoparticles. *Soft Matter*, 2(12), 1067-1075.
- [193] Cho, K. Y., Chung, T. W., Kim, B. C., Kim, M. K., Lee, J. H., Wee, W. R., ve ark. (2003). Release of ciprofloxacin from poloxamer-graft-hyaluronic acid hydrogels in vitro. *International journal of pharmaceutics*, 260(1), 83-91.
- [194] Lee, J. I., Kim, H. S. ve Yoo, H. S. (2009). DNA nanogels composed of chitosan and Pluronic with thermo-sensitive and photo-crosslinking properties. *International journal of pharmaceutics*, 373(1-2), 93-99.
- [195] Fang, K., Wang, R., Zhang, H., Zhou, L., Xu, T., Xiao, Y., ve ark. (2020). Mechano-Responsive, Tough, and Antibacterial Zwitterionic Hydrogels with Controllable Drug Release for Wound Healing Applications. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 12(47), 52307-52318.

- [196] **Gong, J. P., Katsuyama, Y., Kurokawa, T. ve Osada, Y.** (2003). Double-Network Hydrogels with Extremely High Mechanical Strength. *Advanced Materials*, 15(14), 1155-1158.
- [197] **Argun, A., Can, V., Altun, U. ve Okay, O.** (2014). Nonionic Double and Triple Network Hydrogels of High Mechanical Strength. *Macromolecules*, 47(18), 6430-6440.
- [198] **Hom, W. L. ve Bhatia, S. R.** (2017). Significant enhancement of elasticity in alginate-clay nanocomposite hydrogels with PEO-PPO-PEO copolymers. *Polymer*, 109, 170-175.
- [199] **Baskan, T., Tuncaboylu, D. C. ve Okay, O.** (2013). Tough interpenetrating Pluronic F127/polyacrylic acid hydrogels. *Polymer*, 54(12), 2979-2987.
- [200] **Yeh, M.-Y., Zhao, J.-Y., Hsieh, Y.-R., Lin, J.-H., Chen, F.-Y., Chakravarthy, R. D., ve ark.** (2017). Reverse thermo-responsive hydrogels prepared from Pluronic F127 and gelatin composite materials. *RSC Advances*, 7(34), 21252-21257.
- [201] **An, Y.-H., Kim, J.-A., Yim, H.-G., Han, W.-J., Park, Y.-B., Jin Park, H., ve ark.** (2021). Meniscus regeneration with injectable Pluronic/PMMA-reinforced fibrin hydrogels in a rabbit segmental meniscectomy model. *12*, 20417314211050141.
- [202] **Turabee, M. H., Jeong, T. H., Ramalingam, P., Kang, J. H. ve Ko, Y. T.** (2019). N,N,N-trimethyl chitosan embedded in situ Pluronic F127 hydrogel for the treatment of brain tumor. *Carbohydrate Polymers*, 203, 302-309.
- [203] **Chatterjee, S., Hui, P. C.-I., Kan, C.-w. ve Wang, W.** (2019). Dual-responsive (pH/temperature) Pluronic F-127 hydrogel drug delivery system for textile-based transdermal therapy. *Scientific Reports*, 9(1), 11658.
- [204] **Rungsevijitprapa, W. ve Bodmeier, R.** (2009). Injectability of biodegradable in situ forming microparticle systems (ISM). *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 36(4), 524-531.
- [205] **Cilurzo, F., Selmin, F., Minghetti, P., Adami, M., Bertoni, E., Lauria, S., ve ark.** (2011). Injectability evaluation: an open issue. *AAPS PharmSciTech*, 12(2), 604-609.
- [206] **Li, M., Liu, P., Zou, W., Yu, L., Xie, F., Pu, H., ve ark.** (2011). Extrusion processing and characterization of edible starch films with different amylose contents. *Journal of Food Engineering*, 106, 95-101.
- [207] **Jiang, B.-P., Zhang, L., Zhu, Y., Shen, X.-C., Ji, S., Tan, X.-Y., ve ark.** (2015). Water-Soluble Hyaluronic Acid-Hybridized Polyaniline Nanoparticles for Effectively Targeted Photothermal Therapy. *J Mater Chem B*, 3.
- [208] **Tuncaboylu, D. C., Sahin, M., Argun, A., Oppermann, W. ve Okay, O.** (2012). Dynamics and Large Strain Behavior of Self-Healing Hydrogels with and without Surfactants. *Macromolecules*, 45, 1991-2000.
- [209] **Orakdogan, N., Erman, B. ve Okay, O.** (2010). Evidence of Strain Hardening in DNA Gels. *Macromolecules*, 43(3), 1530-1538.
- [210] **Sieval, A. B., Thanou, M., Kotze', A. F., Verhoef, J. C., Brussee, J. ve Junginger, H. E.** (1998). Preparation and NMR characterization of highly substituted N-trimethyl chitosan chloride. *Carbohydrate Polymers*, 36(2), 157-165.
- [211] **Chen, L., Sha, X., Jiang, X., Chen, Y., Ren, Q. ve Fang, X.** (2013). Pluronic P105/F127 mixed micelles for the delivery of docetaxel against Taxol-resistant non-small cell lung cancer: Optimization and in vitro, in vivo evaluation. *International Journal of Nanomedicine*, 8, 73-84.

- [212] **Bhattacharjee, J., Verma, G., Aswal, V. K., Patravale, V. ve Hassan, P. A.** (2013). Microstructure, drug binding and cytotoxicity of Pluronic P123–aerosol OT mixed micelles. *RSC Advances*, 3(45), 23080-23089.
- [213] **Rassing, J. ve Attwood, D.** (1982). Ultrasonic velocity and light-scattering studies on the polyoxyethylene-polyoxypropylene copolymer Pluronic F127 in aqueous solution. *International Journal of Pharmaceutics*, 13(1), 47-55.
- [214] **Mortensen, K. ve Talmon, Y.** (1995). Cryo-TEM and SANS Microstructural Study of Pluronic Polymer Solutions. *Macromolecules*, 28(26), 8829-8834.
- [215] **Lau, B. K., Wang, Q., Sun, W. ve Li, L.** (2004). Micellization to gelation of a triblock copolymer in water: Thermoreversibility and scaling. *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics*, 42(10), 2014-2025.
- [216] **Rungsevijitprapa, W. ve Bodmeier, R.** (2009). Injectability of biodegradable in situ forming microparticle systems (ISM). *Eur J Pharm Sci*, 36(4-5), 524-531.



ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Mahinur ALEMDAR

Doğum Tarihi ve Yeri :

E-posta :

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2018, Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Eczacılık

DOKTORA TEZİNDEN TÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

- **Alemdar M., Tuncaboğlu D. C., Kurt H. K., Temel B.** (2021). Kumarin Fonksiyonlu Amfifilik Kopolimerler ile Pluronic Esaslı Enjektelerde Edilebilir Akıllı Jellerin Tasarlanması *33.Ulusal Kimya Kongresi*, Tekirdağ, Türkiye, 7-9 Ekim, ss.105
- **Alemdar M., Tuncaboğlu D.C., Kirmic Cosgun S.N., Kurt H.K., Temel B.** Light and Temperature Responsive Injectable Smart Gels with Pluronic and Amphiphilic Copolymers Polymer Networks Group 2022, Roma, İtalya, 12 Haziran 2022 (sözlü)
- **Alemdar, M., & Ceylan Tuncaboğlu, D.** (2021). Rheological Analysis of Polysaccharide Hydrogels. *Starch-Stärke*, 73(3-4), 2000198.
- **Alemdar, M., Tuncaboğlu, D. C., Batu, H. K., & Temel B.** (2022). Pluronic based injectable smart gels with coumarin functional amphiphilic copolymers. *European Polymer Journal*, 177, 111378.
- *T. C. Patent, Başvuru No:2022/014847, Alemdar M., Tuncaboğlu D.C., Kirmic Cosgun S.N., Kurt H.K., Temel B.* "Isıya ve ışığa duyarlı, mekanik mukavemeti arttırılmış, enjektelerde edilebilir akıllı hidrojeller ve bu hidrojellerin üretim yöntemleri" (Başvurusu yapılmıştır.)