

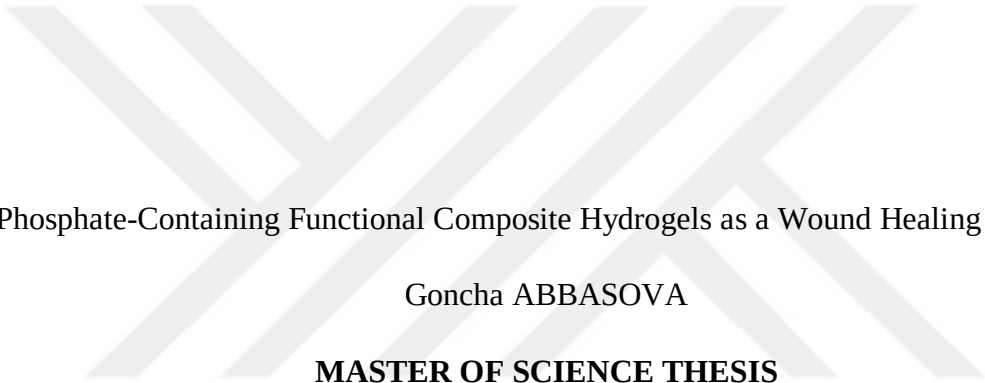
Yara İyileştirici Bir Malzeme Olarak Fosfat İçerikli Fonksiyonel Kompozit Hidrojeller

Goncha ABBASOVA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Polimer Bilim ve Teknolojisi Anabilim Dalı

Ağustos 2024



Phosphate-Containing Functional Composite Hydrogels as a Wound Healing Material

Goncha ABBASOVA

MASTER OF SCIENCE THESIS

Department of Polymer Science and Technology

August 2024

Yara İyileştirici Bir Malzeme Olarak Fosfat İçerikli Fonksiyonel Kompozit Hidrojeller

Goncha ABBASOVA

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Lisansüstü Eēitim ve ēretim Ynetmeliēi Uyarınca

Polimer Bilim ve Teknolojisi Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman: Prof. Dr. Vural BÜTÜN

“ESOGÜ-BAP tarafından FYL-3038 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.”

Aēustos 2024

ONAY

Polimer Bilim ve Teknolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi **Goncha ABBASOVA**'nın YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı “Yara İyileştirici Bir Malzeme Olarak Fosfat İçerikli Fonksiyonel Kompozit Hidrojeller” başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek oybirliği ile kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Vural BÜTÜN

İkinci Danışman : -

Yüksek Lisans Tez Savunma Jürisi:

Üye: Prof. Dr. Vural BÜTÜN

Üye: Doç. Dr. Cansel TUNCER

Üye: Doç. Dr. Gamze GÖGER

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fatma TÜMSEK

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Prof. Dr. Vural BÜTÜN danışmanlığında hazırlamış olduğum “Yara İyileştirici Bir Malzeme Olarak Fosfat İçerikli Fonksiyonel Kompozit Hidrojeller” başlıklı Yüksek Lisans tezimin özgün bir çalışma olduğunu; tez çalışmamın tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallarına uygun davrandığımı; tezimde verdiğim bilgileri, verileri akademik ve bilimsel ilke ve kurallara uygun olarak elde ettiğimi; tez çalışmamda yararlandığım eserlerin tümüne atıf yaptığımı ve kaynak gösterdiğimi ve bilgi, belge ve sonuçları bilimsel etik ilke ve kurallara göre sunduğumu beyan ederim. 23/08/2024

Goncha ABBASOVA

İmza

ÖZET

Deri veya doku bütünlüğünün dış etkenler nedeniyle bozulmasına yara denir. Yara iyileşmesi vücudun yaralanma sürecine verdiği doğal tepkidir. İdeal bir yara örtüsünün görevi yara çevresinde nemli bir ortam sağlamak, yara ortamını enfeksiyondan korumak ve bağ dokusu sentezini teşvik etmektir. Geleneksel yara örtüleri yapışkan, uygulanması zor ve yara için gerekli nemli ortamı sağlayamazlar. Biyoaktif yara pansumanları iyileşmede önemli rol oynayan biyomateriyallerden yapılır. Yüksek düzeyde biyolojik uyumluluğa sahiptirler ve bozulmazlar veya toksik etkiler göstermezler. Bu özellikler biyoaktif yara örtülerini diğer yara örtülerine göre üstün kılmaktadır.

Bu tez çalışmasında, (I) heterojen polimerleşme sistemleri ile fosfat bazlı nano/mikro boyutta polimerik jeller, (II) serbest radikal ve kondenzasyon polimerizasyonları ile homopolimerik/kopolimerik ve iç içe geçmiş ağ (IPN) yapıda hidrojel filmler, (III) nano/mikrojel katkılanmış hidrojel filmler ve (IV) bu filmlere yerinde metal nano partikül hazırlanması ile **yara iyileştirici bir malzeme olarak fosfat içerikli fonksiyonel kompozit hidrojeller** hazırlanmıştır. Bu yapıların karakterizasyonunda Termal Gravimetrik Analiz (TGA), Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FT-IR) Spektroskopisi, Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM), Geçirimli Elektron Mikroskopu (TEM), Zeta Potansiyel (ZP) ölçümü gibi teknikler kullanılmıştır.

Ayrıca tez çalışmasında elde edilen yapıların antimikrobiyal aktivite, sitotoksiste, ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanımı test edilerek biyomedikal alanda uygulama potansiyelleri ortaya konulmuştur. Hazırlanan hidrojel/kompozit filmlerin özellikle sağlık sektöründe yanık yaraları, trofik ülser ve diyabetik yaralar, yatak yaraları, cilt üzerinde tahriş edici yaralar vb. uygulamalar için uygun olacağı kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Kompozit hidrojel, Yara iyileştirici malzeme, Fosfat içerikli hidrojel, Biyomedikal uygulamalar

SUMMARY

A wound is defined as a disruption of the integrity of the skin or tissue resulting from external factors. Wound healing represents the body's intrinsic response to the injury process. An ideal wound dressing should facilitate the maintenance of a moist environment around the wound, protect the wound environment from infection, and promote connective tissue synthesis. Conventional wound dressings are adhesive, difficult to apply, and do not provide the necessary moist environment for the wound. In contrast, bioactive wound dressings are made from biomaterials that play an important role in healing. They have a high level of biocompatibility and do not degrade or show toxic effects. These properties render bioactive wound dressings superior to other wound dressings.

This thesis presents the preparation of four types of hydrogel wound dressings: (I) phosphate-based nano/micro-sized polymeric gels with heterogeneous polymerization systems, (II) homopolymeric/copolymeric and interpenetrating network (IPN) hydrogel films with free radical and condensation polymerization, (III) nano/microgel doped hydrogel films, and (IV) phosphate-containing functional composite hydrogels. These were prepared by in situ metal nanoparticle preparation. The characterization of these structures was conducted using a range of techniques, including thermal gravimetric analysis (TGA), Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy, scanning electron microscopy (SEM), transmission electron microscopy (TEM), and zeta potential (ZP) measurement.

Moreover, the structures obtained in this thesis were tested for antimicrobial activity, cytotoxicity, and use as drug carrier systems, thereby revealing their potential for application in the biomedical field. It is our belief that the prepared hydrogel/composite films will be suitable for applications such as burn wounds, trophic ulcers and diabetic wounds, bedsores, irritating wounds on the skin, and so forth, particularly in the health sector.

Keywords: Composite hydrogel, Wound healing material, Phosphate-containing hydrogel, Biomedical applications

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda yol gösteren ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Vural BÜTÜN'e, yüksek lisans eğitimi boyunca bilgileriyle bana ışık tutan, akademik yolda başarılı olmam için beni destekleyen değerli hocam Doç. Dr. Sultan BÜTÜN ŞENGEL'e, çalışmalarım boyunca bana destek olan laboratuvar arkadaşlarıma ve özellikle çalışma arkadaşım olan Hatice DEVECİ 'ye, hayatım boyunca her başarımda yanımda olan annem İhame ABBASOVA'ya ve babam Mehman ABBASOV'a, beni her zaman destekleyen değerli nişanlım İbo İBRAHİMLİ'ye sonsuz teşekkür ederim.

Bu yüksek lisans tez çalışması ESOGÜ Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından FYL-3038 numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	vi
SUMMARY	vii
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. TEORİK BİLGİ.....	3
2.1. Polimerizasyon Prosesleri.....	3
2.2. Hidrojel Nedir?	9
2.2.1. Hidrojellerin sınıflandırılması	10
2.2.2. Hidrojellerin uygulama alanları	13
2.2.3. Hidrojellerin biyomedikal uygulamaları	16
2.3. Yara Nedir? Yaraların Sınıflandırılması	20
2.3.1. Yara pansumanları	21
3. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	25
4. MATERYAL VE YÖNTEM	32
4.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	32
4.2. Karakterizasyonda Kullanılan Cihazlar	34
4.3. Fosfat Bazlı Mikrojel Sentezi	36
4.4. Hidrojel Filmlerin Sentezlenmesi	37
4.4.1. PHEMA hidrojel film sentezi	38
4.4.2. JEF hidrojel film sentezi.....	38
4.4.3. PHEMA-JEF hidrojel film sentezi	40
4.4.4. Mikrojel katkılı PHEMA-JEF hidrojel film sentezi	41
4.5. Hidrojel Filmlerin Modifikasyonu	42
4.6. Kompozit Hidrojel Hazırlanması.....	44
4.7. Biyomedikal Uygulamalar.....	45

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
4.7.1. İlaç yükleme ve <i>in-vitro</i> salım çalışmaları	46
4.7.2. Biyouyumluk testi.....	47
4.7.3. Antibakteriyel aktivite testi	47
4.7.4. <i>In-vitro</i> degradasyon testi	48
5. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	49
5.1. Fosfat Bazlı Mikrojel Karakterizasyonu.....	49
5.2. Hidrojel Filmlerin Karakterizasyonu	52
5.2.1. PHEMA hidrojel filmler	53
5.2.2. JEF hidrojel filmin karakterizasyonu.....	57
5.2.3. PHEMA-JEF hidrojel filmin karakterizasyonu	60
5.2.4 Mikrojel katkılı PHEMA-JEF hidrojel film karakterizasyonu	63
5.3. Modifiye Edilmiş Filmlerin Karakterizasyonu	67
5.4. Hazırlanan Kompozit Yapıların Karakterizasyonu	68
5.5. Biyomedikal Uygulamalar.....	70
5.5.1. İlaç yükleme ve <i>in-vitro</i> salım çalışmaları.....	71
5.5.2. Biyouyumluluk testi.....	79
5.5.3. Antibakteriyel aktivite testi.....	80
5.5.4. <i>In-vitro</i> degradasyon testi	83
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	85
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	87

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Polimerizasyon sistemlerinin şematik görünümü	4
2.2. Dispersiyon polimerizasyonunun şematik gösterimi.....	8
2.3. Fiziksel özelliklerine göre hidrojel.....	10
2.4. Hidrojellerin uygulama alanları.....	13
2.5. Su dezenfeksiyonu ve saflaştırılması için anti-bakteriyel hidrojel şemaları.....	15
2.6. Hidrojellerin tarım sektöründeki çeşitli uygulamaları.....	15
2.7. Hidrojellerin biyomedikal uygulamaları.	16
2.8. Kıkırdak ve kemik dokusu mühendisliği uygulamaları için enjekte edilebilir hidrojel yapımına yönelik yaklaşımların şematik gösterimi.....	17
2.9. Kanser tedavisinde uyaranlara duyarlı hidrojel uygulaması	19
2.10. Hidrojel yara iyileşmesinde uygulanması	20
2.11. Akut ve kronik yaraların sınıflandırılması.....	21
2.12. Yara pansumanlarının sınıflandırması.....	22
2.13. Hidrojel yara örtüsünün yaraya uygulanmasının şematik çizimi	24
4.1. PHMP mikrojel sentezinin şematik gösterimi	36
4.2. PHEMA hidrojel film sentezinin sentez şeması	38
4.3. JEF hidrojel film sentezinin sentez şeması.....	39
4.4. PHEMA-JEF hidrojel filmin sentez şeması.....	40
4.5. PHEM-JEF/P-mikrojel filmin sentez şeması.....	41
4.6. JEF hidrojel filminin betainlenmesi	42
4.7. PHEMA-JEF/P-mikrojel filminin betainlenmesi	43
4.8. M-PHMP kompozit mikrojel sentez şeması.....	44
4.9. PHEMA-JEF/P-mikrojel kompozit filmin sentez şeması.....	45
5.1. PHMP mikrojelinin SEM görüntüleri (HMP ester/su oranı; (a) 0,01 (b) 0,02 (c) 0,03)	49
5.2. PHMP mikrojelinin farklı büyütmelerde SEM görüntüsü	50
5.3. PHMP mikrojelinin FTIR spektrumu	51
5.4. PHMP mikrojelinin TGA eğrisi.	51
5.5. PHMP mikrojelinin zeta potansiyeli ölçüm sonucu	52
5.6. PHEMA hidrojel sentez şeması	53
5.7. MBA ve BMEP ile çapraz bağlı PHEMA hidrojelinin SEM görüntüleri.....	54
5.8. (a) MBA ile çapraz bağlı PHEMA, (b) BMEP ile çapraz bağlı PHEMA hidrojellerinin % şişme grafiği	56
5.9. PHEMA hidrojel filmlerin TGA eğrileri.....	57
5.10. JEF hidrojel sentez şeması	58
5.11. JEF hidrojel filmin SEM görüntüsü (JEF-02)	58
5.12. JEF hidrojelinin % şişme&zaman grafiği ((Δ-JEF1, □-JEF2, O-JF3))	59
5.13. JEF hidrojel filmlerin TGA eğrileri.....	60
5.14. PHEMA-JEF hidrojel filmin SEM görüntüleri	61

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
5.15. PHEMA-JEF hidrojelinin % şişme&zaman grafiği	62
5.16. PHEMA, JEF ve PHEMA-JEF hidrojel filmlerin TGA eğrileri.	62
5.17. PHEMA-JEF/P-mikrojel filminin sentez şeması.....	63
5.18. PHEMA-JEF/P-mikrojel filmin deri yüzeyine tutunmasının dijital fotoğrafları.....	64
5.19. PHEMA-JEF/P-mikrojel filmin SEM görüntüleri.....	65
5.20. PHEMA-JEF/P-mikrojel filmin % şişme&zaman grafiği	66
5.21. PHEMA, JEF, PHEMA-JEF ve PHEMA-JEF/P-mikrojel filmlerin ve PHMP mikrojel TGA eğrileri.	66
5.22. JEF filmi ve PS modifikasyonunun TGA eğrileri	67
5.23. PHEMA-JEF/P-mikrojel filmi ve PS modifikasyonunun TGA eğrileri.....	68
5.24. PHEMA-JEF/P-mikrojel içerisinde <i>in situ</i> metal nanopartikül hazırlanması ve dijital kamera fotoğrafları	69
5.25. Ag ve Cu içeren mikrojel ve mikrojel katkılı filmle TEM görüntüleri	70
5.26. (a)TMP ve (b) SDF ilaçlarının suda hazırlanan kalibrasyon grafikleri	72
5.27. (a)TMP ve (b) SDF ilaçlarının PBS’de hazırlanan kalibrasyon grafiği	73
5.28. PHEMA, JEF, PHEMA-JEF, PHEMA-JEF/P-mikrojel filmlerinin TMP salım profili.....	74
5.29. P-mikrojel, PHEMA, JEF, PHEMA-JEF, PHEMA-JEF/P-mikrojel filmlerinin TMP salım profili.....	75
5.30. PHEMA, JEF, PHEMA-JEF, PHEMA-JEF/P-mikrojel filmlerinin SDF salım profili.....	76
5.31. P-mikrojel, PHEMA, JEF, PHEMA-JEF, PHEMA-JEF/P-mikrojel filmlerinin SDF salım profili.....	77
5.32. P-mikrojel TGA ve SDF salım profili	78
5.33. Filmlerin Staphylococcus aureus bakterisine karşı antibakteriyal aktivite testi	81
5.34. PHEMA-JEF/P-mikrojel filminin zamana bağlı degradasyon yüzdesi.	84

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge

Sayfa

2.1. Hidrojellerin avantajları ve dezavantajları	9
4.1. Deneyde kullanılan kimyasal maddeler ve moleköl formülleri.....	33
4.2. Deneyde kullanılan malzeme miktarları (1g Jeffamin, 1 mL0,5 M NaOH).....	39
5.1. Mikrojel ve filmlere yüklenen ilaç miktarları (mg/g).....	71
5.2. 48 saat sonra salınan ilacın miktarı (mg/g) ve % değerleri	79
5.3. 24 saatlik çalışma sonrası ortalama % hücre canlılığı	79
5.4. Antibakteriyel aktivite sonuçları	82
5.5. PHEMA-JEF/P-mikrojel filmine uygulanan inkübasyon süresi, gerçek zamana karşılık gelen süre ve degradasyon verileri.	83

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
ABS	Akrilonitril-butadien-stiren
AgNP	Gümüş nanopartikül
AIBN	2,2'-Azobis(2-metilpropiyonitril)
APS	Ammonyum persülfat
BMEP	Bis[2-(metakriloiloksi)etil] fosfat
CMC	Karboksimetil selüloz
CS	Kitosan
CTAB	(1-Heksadesil) trimetilamonyum bromür
DLS	Dinamik ışık saçılması
DMA	2-(dimetilamino) etil metakrilat
DSC	Diferansiyel tarama kalorimetrisi
DTG	Diferansiyel termogravimetrik analiz
FTIR	Fourier dönüşümlü kızıl ötesi spektroskopisi
GDE	Gliserol diglisidil eter
HEMA	2-Hidroksietil metakrilat
HMP	Fosforik asit 2-hidroksietil metakrilat ester
IPN	İç içe geçmiş ağ/Interpenetrating network
MBA	N,N'-Metilenbis(akrilamit)
MHA	Mueller-hinton agar
MHB	Mueller-hinton broth
MTT	3'-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide
NHS	N-hidroksisülfosüksinimid
NMR	Nükleer manyetik rezonans
NVP	N-vinilpirolidon
PAAm	Poli(akril amid)
PBS	Fosfat tampon çözeltisi
PEG	Poli(etilen glikol)
PEGDA	Poli(etilen glikol diakrilat)

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
PHMP	Poli(hidroksietil metakrilat ester)
PLA	Poli(laktik asit)
PMMA	Poli(metil metakrilat)
PVA	Poli(vinil alkol)
SDF	Sodyum diklofenak
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
SEP	Süper emici polimer
SF	Serum fizyolojik
SRP	Serbest radikal polimerizasyonu
TEM	Geçirimli elektron mikroskobu
TEMED	N,N,N',N'-Tetrametiletilediamin
TGA	Termal gravimetrik analiz
TMP	Trimetoprim
UV	Ultraviyole
ZP	Zeta potansiyel

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yara, dokularda ve ciltte hasara neden olan bir yaralanma türüdür. İyileşme süresine göre yaralar, akut ve kronik yaralar olmak üzere iki sınıfa ayrılır. Akut yaralara cilt yaraları veya cerrahi yaralar dahildir. Kronik yaralar ise bacak ülseri, bası ülseri, ciddi yanık ve diyabet ülseridir. Akut yaralar genel olarak dört hafta içinde tamamen iyileşir. Kronik yaraların yara durumunun kontrol altına alması daha zordur. Hem kronik hem de akut yaraların dünyadaki sağlık sistemleri üzerinde ciddi derecede zararlı etkileri vardır (Nguyen vd., 2023).

Yara iyileşmesi derinin fizyolojik fonksiyonlarını devam ettirmek için hayati öneme sahiptir. En yaygın tedavi yöntemi, yarayı kapatmak ve enfeksiyon riskini ve ikincil yaralanma oranını azaltmak için pansumanın kullanılmasıdır (Nguyen vd., 2023). Yara pansumanları doku mühendisliği alanında uygulanabilmesi için bazı özelliklere sahip olması gerekmektedir. Bu özellikler; biyouyumluluk, biyobozunurluk, uygun parçalanma hızı, doku ile uyumlu mekanik özelliklere sahip olma, yapısal özellikler ve sterilize edilebilirliktir (Ersoy vd., 2015).

Hidrojeller, sentetik ve doğal makromoleküllerden fiziksel ve/veya kimyasal çapraz bağlanma yoluyla üç boyutlu (3B) düzeyde hidratlanmış ve yüksek oranda çapraz bağlanmış, yüksek elastikiyete ve yapılarının hidrasyon düzeyine bağlı olarak şişme ve çökme özelliğine sahip polimerik malzemelerdir (Butun ve Sahiner, 2011; Thomas, S., 2023; Stanciu, L.,2021). Hidrojeller, son yirmi yılda çeşitli uygulamalara yönelik hidrojel malzemeleri konusunda, araştırma ve geliştirmeler yapılmaktadır (Dong vd., 2022). Hidrojeller hem insan derisine yapışıp kolayca soyulabilir hem de alüminyum, bakır, demir, plastik, polietilen ve kauçuk gibi katı yüzeylere de sıkı bir şekilde yapışabilir. Yara iyileşme sürecini, kuruma, enfeksiyon veya bakteri varlığı, travma, nekroz, basınç ve ödem gibi çeşitli faktörler engelleyebilir. ‘İdeal’ yara tedavi ürünü, toksinleri emmeli, yara ve pansuman arasında iyi nem tutmalı, yarayı dış enfeksiyonlara karşı korumalı, yaradaki aşırı ısınmayı önlemeli, gazlar için iyi geçirgenliğe sahip olmalı, sterilizasyonu sağlamalı ve yarada başka bir travmaya sebebiyet vermeden kolayca çıkartılabilmelidir. Hidrojeller ölü dokuyu atan ajanlar, nemli sargılar ve yara bakımı için yapıştırma bileşenleri olarak yaygın şekilde

kullanılmaktadırlar. Bununla beraber, jel haline gelmek için başka yara sıvılarına ihtiyaç duymadıklarından kuru yaralara uygundur (Ulusoy ve Dikmen, 2020).

Tüm bu bilgiler ışığında bu tez çalışması kapsamında yara iyileştirici bir malzeme olarak fosfor içeren fonksiyonel kompozit hidrojel sentezlenmesine karar verilmiştir. Bu amaç doğrultusunda öncelikle heterojen polimerleşme sistemleri ile fosfat bazlı nano-mikrojeller sentezlenmiştir. Sonrasında ayrı ayrı homopolimerik filmler farklı polimerizasyon tekniği ile hazırlanmıştır. Filmlerin birlikte hazırlanması ile IPN filmler, bu yapılara nano-mikrojellerin katılanması ile de semi-IPN yapıda hidrojel filmler hazırlanmıştır. Bu yapılara uygulama performansını arttırmak için sentez sonrası çeşitli modifikasyonlar uygulanmıştır. Ayrıca bu filmlerin kalıp olarak kullanımı ile yerinde metal nano partikül hazırlanması sağlanmış ve yara iyileştirici bir malzeme olarak polifosfat bazlı fonksiyonel kompozit hidrojel hazırlanmıştır. Hazırlanan yara örtü malzemesinin biyobozunur, biyouyumlu ve esnek olması sağlanmıştır. Bu yapıların karakterizasyonunda termal gravimetrik analiz (TGA), fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), taramalı elektron mikroskopu (SEM), geçirimli elektron mikroskopu (TEM), zeta potansiyel (ZP) ölçümü gibi teknikler kullanılmıştır. Ayrıca hazırlanan yapıların antimikrobiyal aktivite ve biyouyumlulukları test edilmiştir. Antibakteriyel ve anti-enflamatuar ilaçlar model ilaç seçilip sentez ürünlerinin ilaç yükleme kapasiteleri belirlenmiş ve salım profili incelenmiştir.

1. TEORİK BİLGİ

Bu tez çalışmasında heterojen polimerleşme prosesi ile fosfat içeren nono-mikrojel yapıların sentezi, serbest radikal ve kondenzasyon polimerizasyon prosesleri ile homopolimerik hidrojel filmlerin sentezi, iç içe geçmiş ağlar (IPN) şeklinde hidrojel filmler ve mikrojel katkılı semi-IPN yapıda hidrojel filmlerin hazırlanması çalışmaları yapılmıştır. Mikrojel ve hidrojel filmler içerisinde *in situ* Ag ve Cu metal nanopartikül (NP) hazırlanması ile elde edilen fosfat içerikli polimerik kompozit filmler biyomedikal uygulamalarda kullanılmıştır.

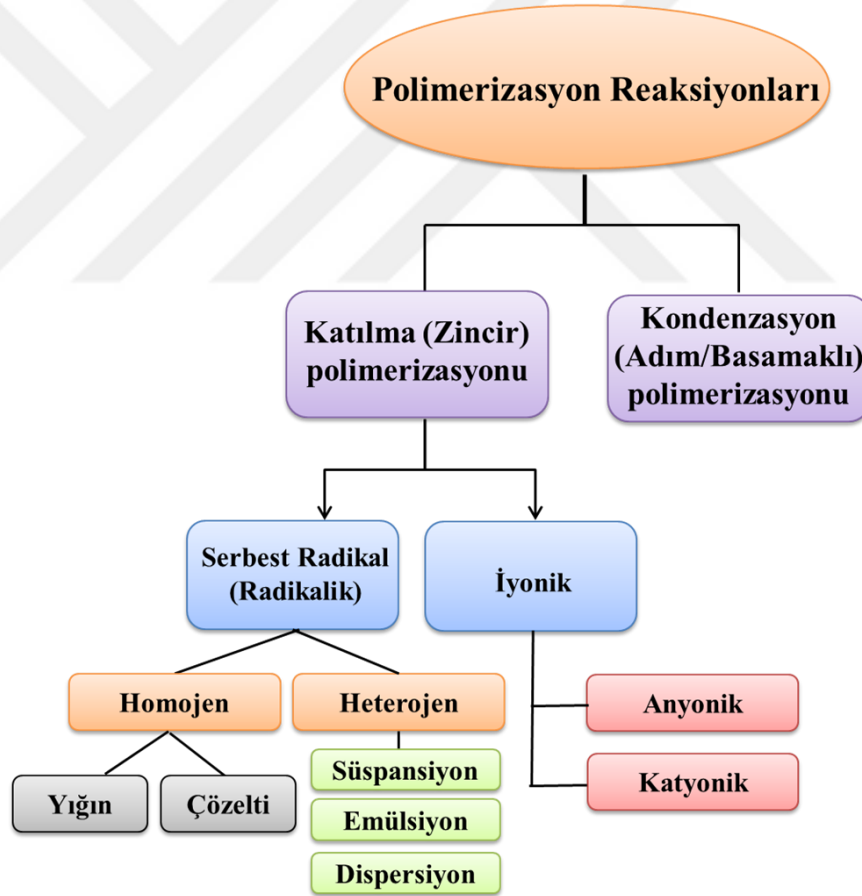
2.1. Polimerizasyon Prosesleri

Polimer, çok sayıda küçük molekülün (monomer) kovalent bağlarla birbirlerine bağlanarak oluşturduğu makro yapıda moleküllerdir. Polimerizasyon ise polimer oluşturma işlemidir. Polimerizasyon sırasında, monomerler önce küçük moleküller, sonra büyük moleküller veya bir makromolekül oluşturmak için kimyasal olarak birleştirilir. Bu tür makromoleküllerin yüzlercesi bir polimer oluşturur. Çeşitli uygulamalara uygun, benzersiz özelliklere sahip polimerler elde etmek için farklı polimerizasyon teknikleri uygulanır. (Shrivastava, 2018). Polimerlerin sentezinde kullanılan yöntemlerin mekanizmaları göz önüne alınarak temelde (i) katılma (zincir) polimerizasyonu, (ii) Kondenzasyon (adım/basamaklı) polimerizasyon olarak ikiye ayrılır (Şekil 2.1)(Shrivastava, 2018).

Katılma (zincir) polimerizasyonu: Katılma reaksiyonları, monomerlerin doğrudan birbirine eklenmesi yoluyla gerçekleşir ve bu yöntemle kontrol edilen radikal polimerizasyonları zincir (katılma) polimer türleri arasında yer alır. 1989'un sonlarında Otsu tarafından tanımlanan ve "başlatıcı-transfer reaktifi-sonlandırıcı" veya "iniferter" olarak adlandırılan bileşiklerin kullanımı, radikal polimerizasyonlarına yeni bir yaklaşım getirmiş ve bu polimerizasyonların kontrolünü kısmen sağlamıştır. Kontrollü radikal polimerizasyonlarının avantajları arasında, molekül ağırlığının polimer dönüşümüyle doğrusal bir ilişki içinde olması, yani istenen molekül ağırlığının elde edilebilmesi, dar bir molekül ağırlığı dağılımına sahip ve zincir sonunda fonksiyonel gruplar içeren (telekelik)

polimerler elde edilmesi ve polimer moleküler yapısının (blok kopolimerler gibi) kontrol edilebilmesi sayılabilir (Allushi, 2017).

Kondenzasyon (adım/basamaklı) polimerizasyonu: Kondenzasyon polimerizasyonu, poli(etilen tereftalat) veya poli(eter-eter-keton) gibi yüksek performanslı polimerlerin üretiminden sorumludur (Dickhudt vd., 2024). Kondenzasyon polimerizasyonu -OH, -COOH, -NH₂ gibi fonksiyonel grup taşıyan moleküllerin arasında gözlenir. Reaksiyona giren moleküller kendi aralarında -HCl, -H₂O vb. küçük bir molekül ayırır ve daha sonra birleşirler. Ayrılan küçük molekül çoğu zaman su olur. Kondenzasyon tepkimeleri için iki farklı yerden kondenzasyona girecek kimyasal maddeler gereklidir. Bu iki farklı noktalardan kondenzasyon reaksiyonları ilerleyerek polimer oluşur (Lale, 2019).



Şekil 2.1. Polimerizasyon sistemlerinin şematik görünümü

Serbest radikal polimerizasyonu: Serbest radikal polimerizasyonu (SRP), polimerlerin sentezlenmesi için olgun ve köklü bir işlemdir ve serbest radikal polimerizasyonu yoluyla yılda 100 milyon ton polimer sentezlenmektedir (Kinoshita vd., 2017). SRP, monomer birimlerinin ard arda eklenmesiyle oluşan polimer oluşum süreçlerinden biridir (Mishra ve Kumar, 2012). SRP, endüstriyel açıdan önemli vinil polimerlerin sentezlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Şu anda plastik malzemelerin yaklaşık %45'i ve sentetik kauçuğun %40'ı SRP ile elde edilmektedir (Liu, 2024). Pek çok faydasına ve yaygın kullanımına rağmen hızlı zincir büyüme ve hızlı, geri dönüşü olmayan sonlanmanın varlığı, bazı sınırlamalar getirmektedir (Mishra ve Kumar, 2012).

İyonik polimerizasyon: Katılma polimerizasyonu, ya serbest radikal mekanizmasıyla ya da iyonik bir mekanizma ile gerçekleşebilir. Serbest radikal polimerizasyonunda, büyüyen polimer zincirinin monomer ekleme ucu radikaldir; iyonik polimerizasyonunda ise bu uç iyonik özellik gösterir. Eğer bu iyonik uç negatif yük taşıyorsa, polimerizasyon "anyonik polimerizasyon" olarak adlandırılır; pozitif yük taşıyorsa, "katyonik polimerizasyon" olarak bilinir (Pulat, E., 1975).

Heterojen ve Homojen Polimerizasyon Sistemleri: Homojen ve heterojen olmak üzere iki ana polimerizasyon türü bulunmaktadır (Şekil 2.1). Homojen polimerizasyon, polimerizasyon reaksiyonunun aynı fazda gerçekleştiği bir süreçtir. Bu genellikle bir çözeltide gerçekleşir, yani monomerler, katalizörler ve başlatıcılar aynı fazda bulunur. Bu süreçte, monomerler bir araya gelerek polimer zincirlerini oluştururlar.

Yığın polimerizasyon: Yığın polimerizasyon poli(etilen tereftalat) ve naylon-6,6 gibi polimerlerin üretiminden sorumludur. Yığın polimerizasyonlarda ilk reaksiyon karışımı esas olarak monomerden oluşur. Proses bir zincirleme büyüme reaksiyonu ise karışım, gerekirse başlatıcı ve zincir transfer maddesini de içerecektir. Polimer ve monomer karışabilirse, polimerizasyon reaksiyonu sırasında sistem homojen kalır. Toplu reaksiyonlar adım adım büyüyen polimerizasyonlar için uygundur. Isının uzaklaştırılması ciddi bir sorun değildir çünkü bu tür polimerizasyonlar yüksek düzeyde ekzotermik değildir. Ürünün moleküler ağırlığı ve karışımın viskozitesi, yüksek dönüşümlere ulaşıncaya kadar nispeten düşük kaldığından, reaksiyonu son aşamalarına kadar karıştırma zor değildir. Homojen yığın

aşamalı büyüme reaksiyonları, yüksek moleküler ağırlıklara ulaşmak için yüksek dönüşümlere yönlendirilir, ancak karşılık gelen zincir büyüme polimerizasyonları, reaksiyon sıcaklığının kontrol altında tutulmasındaki problemler nedeniyle sıklıkla daha düşük dönüşümlerle sınırlıdır (Rudin ve Choi, 2013).

Çözelti polimerizasyonu: Çözelti polimerizasyonunda ısı transferini kolaylaştıran ve ortamın viskozitesini azaltan bir çözücü kullanılır. Monomer, başlatıcı ve çözücü içerir. Heksan, heptan, toluen, sikloheksan ve diğer hidrokarbonlar, hidrokarbonların ve türevlerinin polimerizasyonunda çözücü olarak kullanılır. Çözücü, başlatıcı ile kimyasal olarak reaksiyona girmemelidir. Çözelti polimerizasyonu, bir polimerin moleküler ağırlığını ve moleküler ağırlık dağılımını kontrol etmeyi ve dokuda homojen ürünler elde etmeyi mümkün kılar. Oluşan polimer, çözücüde çözünür veya çözünmez olabilir. Polimer çözünmezse, çöker ve ayrılmasını önemli ölçüde basitleştirir. Çözelti polimerizasyonu polipropilen, polietilen, polistiren ve poli(metil metakrilat) türlerini üretmek için kullanılır. Ayrıca polivinil asetat, poliakrilik asit, poliakrilamid ve kopolimerlerin sentezinde sıklıkla kullanılır (Umoren vd., 2022).

Süspansiyon polimerizasyonu: Süspansiyon polimerizasyonu heterojen bir polimerizasyon işlemidir ve reaksiyon karışımı genellikle bir sıvı matris ve monomer damlacıklarından oluşur. Monomer ve başlatıcı sıvı fazında çözünür değildir ve monomer damlacıkları sıvı matris içinde üretilebilir ve sürekli mekanik karıştırma altında viskozite arttıkça askıya alınabilir. Polimerizasyon, küçük boyutlu reaktörler olarak kullanılan dağınık fazın damlacıklarında meydana gelir ve bu da polimer boncuklara neden olur.

Genel olarak süspansiyon polimerizasyon reaksiyonu aşağıdaki aşamalardan oluşur;

- ❖ Fonksiyonel bir monomer, çapraz bağlayıcı ve başlatıcı, organik bir faz olarak organik bir çözücü içinde çözülür;
- ❖ Yüzey aktif madde su fazı olarak su içinde çözülür;
- ❖ Su fazı ve organik faz bir süspansiyon oluşturmak için karıştırılır;
- ❖ Son olarak, polimerizasyon reaksiyonu monomer damlacıkları içerisinde gerçekleşir ve büyük düzgün polimerik boncuklar/mikro yapılar elde edilir.

Süspansiyon polimerizasyonunda, damlacıklar içindeki ısı transferi, geniş yüzey alanı ve hacim oranı nedeniyle nispeten hızlıdır, bu nedenle ısı transferinin engellenmesi aşılabilir. Monomer damlacıkları karıştırma altında bağımsız olduğundan, daha düzgün bir süspansiyon oluşur ve nispeten dar bir boncuk dağılımı kolayca elde edilebilir (Deng vd., 2019).

Emülsiyon polimerizasyonu: Emülsiyon polimerizasyonu heterojen polimerizasyon tekniklerinden biridir. Emülsiyon polimerizasyon ortamındaki ana bileşenler arasında monomerler, bir emülgatör, dağılım ortamı ve suda çözünür bir başlatıcı bulunur. Bir emülsiyon ortamı, hidrofobik monomerlerinin yüzey aktif maddeler tarafından emülsifiye edildiği sulu bir çözelti olarak tanımlanır. Yüzey aktif madde derişimi kritik misel konsantrasyonunu aştığında küresel miseller olarak birikir. Böylece miseller yüzeydeki yüzey gerilimini azaltır ve miselin çevresine hidrofobik monomerler girer. Polimerleşme reaksiyonu tüm monomer damlacıkları tükenene kadar devam eder. Yukarıda belirtildiği gibi, monomer içeren misellerin boyutu artar. Sonunda polimerleşme reaksiyonu, başlatıcının misel çekirdeğine girmesi ve serbest radikallerin oluşumu ile gerçekleşir (Zulkifli Ahmad vd., 2023)

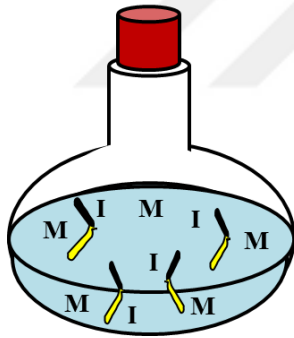
Emülsiyon ve süspansiyon polimerizasyon yöntemi işlemleri arasındaki fark, emülsiyon polimerizasyonunda, çözünür bir başlatıcının sürekli bir faz olarak kullanılmasıdır. Bu nedenle, bu yöntemdeki reaksiyon mekanizması tamamen farklıdır. Emülsiyon polimerizasyonu, çekirdeklenme (başlangıçta reaksiyonu başlatmak için), büyüme ve daha sonra polimer partiküllerinin stabilizasyonu gibi birkaç adım nedeniyle karmaşık bir işlemdir. Ayrıca, bu yöntemde, diğer polimerizasyon tekniklerine kıyasla, oluşan lateksin moleküler ağırlığı, polimerizasyon oranını azaltarak ve ayrıca başlatıcının konsantrasyonunu veya reaksiyon sıcaklığını azaltarak artar (Mahsa Baghban Salehi ve Asefe Mousavi Moghadam, 2023).

Emülsiyon polimerizasyonu, etkili ısı transferi, kolay viskozite kontrolü, %100 dönüşüm gibi avantajlar sağlar ve çözelti polimerizasyonu ile karşılaştırıldığında daha yüksek ortalama moleküler ağırlıklı polimer sentezlenebilir.

Emülsiyon polimerizasyonu, vinil klorür, kloropren, metakrilat, vinil asetat, akrilamid ve akrilatların monomerlerini polimerleştirmek için etkili bir yaklaşımdır ve ayrıca akrilonitril-butadien-stiren (ABS) gibi çeşitli kopolimerler de sentezlenebilir (Zulkifli Ahmad vd., 2023).

Dispersiyon polimerizasyonu: Dispersiyon polimerizasyonu başka bir heterojen polimerizasyon türüdür ve emülsiyon polimerizasyonunun aksine, monomer çözücü ortamında çözünür. Çözücü genellikle su ve alkolden (metanol veya etanol) oluşur. Başlatıcının aktif olmasından sonra polimerizasyon çözücü ortamında başlar ve oluşan oligomerler çöktürülür ve genellikle bir polivinil piroolidon gibi iyonik olmayan bir yüzey aktif madde tarafından disperse edilen parçacıklar oluşturulacak şekilde toplanır. Kısa çekirdeklenme nedeniyle, 1-5 µm boyut aralığındaki monodispers parçacıkları oluşur (Şekil 2.2).

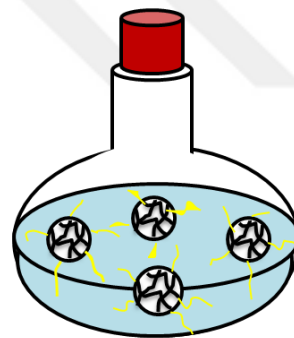
Polimerizasyondan önce



Homojen çözelti

Polimerizasyondan sonra

**Dispersiyon
polimerizasyonu**



Sterik olarak stabilize olunmuş parçacıklar

Şekil 2.2. Dispersiyon polimerizasyonunun şematik gösterimi

Parçacık boyutu, yüzey aktif maddenin tipi ve konsantrasyonu, katı içeriği, başlatıcı konsantrasyonu ve kullanılan çözücü gibi çeşitli parametreler tarafından kontrol edilebilir (Seth Beck ve Ravin Narain, 2020).

2.2. Hidrojel Nedir?

Hidrojeller, doğal veya sentetik polimerlerden veya her ikisinin birleşiminden sentezlenebilen, üç boyutlu, çapraz bağlı, hidrofilik yapılardır (Goh vd., 2024). 1960 yılında Wichterle ve Lim tarafından keşfedilmiştir (Barhoum vd., 2023). Çevrelerindeki basınç, sıcaklık, ışık, pH, iyonik kuvvet, manyetik ve elektrik alanlardaki değişikliklere yanıt olarak ayarlanabilir şişme derecelerine sahiptirler (Butun ve Sahiner, 2011). Hidrojeller, kuru ağırlıklarının %10-20'sinden binlerce katına kadar su absorplayabilen hidrofilik polimer ağlarıdır. Kimyasal olarak bozunabilir veya sonunda parçalanıp çözülebilir ve stabil olabilirler (Hoffman, 2002). Çok yönlü üretim yöntemleri nedeniyle hidrojel malzemeler, biyomedikal ve mühendislik uygulamalarında sıklıkla kullanılmıştır. İlaç dağıtımı, yara iyileşmesi, doku mühendisliği, giyilebilir biyosensörler dahil olmak üzere çok çeşitli biyomedikal uygulamalarda hidrojellerin kullanımı yaygındır (Wang vd., 2020).

Herhangi bir hidrojel yapısının en büyük özelliklerinden biri, şişme davranışı ve dış uyaranlara tepki verebilme yetenekleridir (Pinelli vd., 2020).

Hidrojeller, birçok uygulamada geniş bir kullanım alanına sahipken, bu özelliklerinin yanı sıra dezavantajlar da taşımaktadır; bu avantajlar ve dezavantajlar ise aşağıdaki Çizelge 2.1'de ayrıntılı bir şekilde verilmiştir.

Çizelge 2.1. Hidrojellerin avantajları ve dezavantajları (Singh vd., 2017).

Hidrojellerin avantajları	Hidrojellerin dezavantajları
Esnek olup doğal dokuya çok benzemesi	Yüksek maliyetli olması
Biyouyumlu olması	Kullanımı zor olması
Modifikasyonun kolay olması	Düşük mekanik dayanımda olması
pH değişikliklerini algılama yeteneğine sahip olması	Yapışkan değildir ve güvenlik altına alınmaları gerekebilir

2.2.1. Hidrojellerin sınıflandırılması

Hidrojeller, fiziksel durumuna, mevcut çapraz bağlanma türüne, sentez yöntemlerine, köken kaynaklarına ve bağlı gruplardaki iyon yüklerine göre sınıflandırılır (Mehta vd., 2023). Fiziksel durumundaki farklılıklar nedeniyle ise hidrojeller, Şekil 2.3'te gösterildiği gibi üç sınıfa ayrılırlar. Bunlar katı, yarı katı ve sıvı hidrojellerdir (Varaprasad vd., 2017).

Katı hidrojeller: İyonik veya kovalent çapraz bağlayıcılarla güçlü çapraz bağlı ağ yapısına sahiptirler ve oda sıcaklığında doğada katıdırlar. Ancak su, tampon çözeltileri ve biyolojik sıvılarda şişebilirler.

Yarı katı hidrojeller: Arayüzey kuvvetler ve yumuşak doku ağları ile güçlü yapışma etkileşimlerine sahiptir. Bu özellik, oküler, rektal, vajinal, nazal ve dilaltı yollar gibi biyomedikal alanda uzun süreli ilaç dağıtımı ve etkili dozaj uygulamaları için oldukça faydalıdır. Biyo-yapışkan özelliklerinden dolayı, biyo-yapışkan veya muko-yapışkan hidrojeller olarak adlandırılabilir.

Sıvı hidrojeller: Oda sıcaklığında sıvıdır, ancak belirli bir sıcaklıkta iyi işlevselliğe sahip yumuşak doku benzeri elastik bir yapıya sahiptirler. Sıvı hidrojellerin başlıca avantajları şunlardır: Organik, inorganik, ilaç, protein ve hücrelerin hidrojellere kolayca dahil edilebilmesi ve herhangi bir cerrahi prosedüre gerek kalmadan canlılara enjekte edilebilmesidir (Varaprasad vd., 2017).



Şekil 2.3. Fiziksel özelliklere göre hidrojeller

Çapraz bağlanmaya dayalı olarak hidrojel, fiziksel çapraz bağlı ve kimyasal çapraz bağlı hidrojel olarak ikiye ayrılabilir.

Fiziksel çapraz bağlı hidrojel: “Geri dönüşümlü hidrojel” olarak da adlandırılır. Çünkü pH, iyonik kuvvet ve sıcaklık gibi çevresel değişkenler değiştiğinde çözünürler. Fiziksel olarak çapraz bağlı hidrojel, tersinir fiziksel etkileşimleri ve bunun sonucunda ortaya çıkan mekanik özellikleri nedeniyle kimyasal olarak çapraz bağlı hidrojellerden daha az stabildir. *In-vivo* olarak tutarsız bir şekilde çalışırlar çünkü jelleşme süresi, jel gözenek boyutu, kimyasal işlevselleştirme ve bozunma veya çözünme ile değiştirilemezler (Barhoum vd., 2023).

Kimyasal olarak çapraz bağlı hidrojel: "Kalıcı hidrojel" olarak adlandırılır. Fiziksel olarak çapraz bağlı hidrojel ile karşılaştırıldığında, yüksek çapraz bağ yoğunluğuna sahip alanlara sahiptir ve bozunmaya karşı çok stabildirler. Bu nedenle, fiziksel çapraz bağlı hidrojelere belirli bir derecede kimyasalın dahil edilmesi, mukavemetini arttırmak için yararlı bir teknik olabilir (Barhoum vd., 2023).

Sentez türüne göre hidrojel homopolimerler, kopolimerler, yarı-geçişli ağlar ve iç içe geçmiş ağlar olarak sınıflandırılırlar.

Homo-polimer hidrojel: Tek tür hidrofilik monomer ünitesinin çapraz bağlı ağlarıdır. Homopolimerler, monomerin doğasına ve polimerizasyon tekniğine bağlı olarak çapraz bağlı bir iskelet yapısına sahiptirler.

Kopolimer hidrojel: En az birinin şişebilir hale getirilmesi için hidrofilik olması gereken iki ko-monomerin çapraz bağlanmasıyla üretilir.

İç içe geçen polimerik hidrojel: Daha sonra bir monomer içinde şişirilecek olan biri birinci ağ hazırlanarak üretilir. İkincisi, ikinci bir birbirine geçen ağ yapısı oluşturmak için tepki verir (Ullah vd., 2015).

Kökenine göre hidrojeller üç sınıfa ayrılır. Bunlar doğal, sentetik veya yarı sentetik (hibrit) hidrojeller olarak adlandırılırlar.

Doğal kökenli hidrojeller: Kolajen, jelatin, fibrin, proteinler, hiyalüronik asit, kitosan, dekstran gibi polisakkaritler ve doğal polimerler kullanılarak sentezlenir. Doğal hidrojeller biyolojik olarak parçalanabilirler. Ayrıca yüksek biyouyumluluk ve düşük toksisiteli yan ürünler gibi avantajlar da sunarlar. Doku mühendisliği, kırıkta rejenerasyonu, yara pansuman malzemesi ve kontrollü ilaç salımı gibi uygulama alanlarında kullanılırlar.

Sentetik hidrojeller: İnsan yapımı monomerlerin kimyasal polimerizasyonu ile hazırlanır. Bunlar toplu polimerizasyon, çözelti polimerizasyonu veya ters süspansiyon polimerizasyonu tekniği kullanılarak sentezlenir. PEG-PLA-PEG bazlı hidrojeller sentetik hidrojellerin örnekleridir. Bu hidrojellerin ana avantajları, seri üretim sırasında hassas kontrol sunmaları ve çok çeşitli özellikler sağlayacak şekilde uyarlanabilmeleridir. Düşük immünojenite nedeniyle, sentetik hidrojeller biyolojik patojen veya kirletici madde riskini en aza indirir.

Doğal ve sentetik hidrojellerle ilgili sınırlamalar, spesifik olarak kimyasal, fiziksel ve biyolojik özellikleri özetlenen bu tür yarı sentetik(hibrit) hidrojellerin geliştirilmesi ihtiyacını başlattı. Doğal polimerlerin sentetik polimerlerle birleştirilmesiyle yarı sentetik hidrojeller oluşturuldu (Singhal ve Gupta, 2016).

İyonik yüklerin varlığı ve yokluğuna göre hidrojeller nötr, iyonik ve amfoterik olmak üzere üç kategoriye ayrılır.

İyonik hidrojeller: Katyonik ve anyonik hidrojeller olarak ikiye ayrılır. İyonik hidrojeller doğası gereği pH'a duyarlıdır. Pozitif yük taşıyan katyonik hidrojeller düşük pH değerlerinde şişer. Negatif yük içeren anyonik hidrojeller, yüksek pH değerlerinde maksimum ayrışır ve bazik ortamda maksimum şişme gösterir.

Amfoterik hidrojeller: Polimerik yapı birimlerinde hem pozitif hem de negatif yüklere sahiptir. Asidik ve bazik grupları izoelektrik noktada dengelenir. Bunlar pH

değişimine karşı çok hassastır ve pH değerindeki küçük bir değişiklik bu hidrojellerin genel yapısını değiştirebilir.

Nötr hidrojeller: Ana polimer zincirinde veya yan gruplarında herhangi bir yük bulunmayan hidrojellerdir. Bu tür hidrojellerde şişmeden yalnızca su-polimer etkileşimleri sorumludur. Nötr hidrojellere çeşitli örnekleri bunlardır: PAAm, PVA, PEG ve poli(hidroksietil metakrilat) (PHEMA) (Mehta vd., 2023).

2.2.2. Hidrojellerin uygulama alanları

Hidrojellerin çevre, enerji, sağlık gibi birçok alanda çeşitli uygulamaları vardır (Şekil 2.4). Biyomedikal uygulamalarda, kozmetik, gıda endüstrisi, bebek bezleri, atıksu arıtmalarında vb. kullanılmaktadır (Mehta vd., 2023).



Şekil 2.4. Hidrojellerin uygulama alanları

Bebek bezi ve kişisel ürünlerde hidrojellerin kullanımı: Hidrojeller, yüksek emilimlerinden dolayı kişisel bakım ürünleri alanında yaygın olarak kullanılmaktadır. Hidrojeller, kişisel bakım ürünleri için yüksek oranda emici ve çevre dostu malzemelerin geliştirilmesi için mükemmel alternatiflerdir. Bebek bezleri ve hijyenik pedlerde

uygulanabilecek, önemli antimikrobiyal aktiviteye sahip, yüksek düzeyde emici hidrojel üretilmiştir. Hijyen ürünü uygulamalarında cilt tahrişini önlemek için antimikrobiyal aktiviteye sahip yüksek emici malzemeler olduğu kanıtlanmıştır (Cao vd., 2022).

Kontakt lens kullanımında hidrojel: Kontakt lens malzemelerindeki gelişmeler, oksijen geçirgenliği ve biyouyumluluk gibi geleneksel sorunları ele alarak genel konforu ve kullanım süresini iyileştirmiştir. Örneğin, kullanım süresini uzatmak için yüksek oksijen geçirgenliğine sahip silikon hidrojel kontakt lensler geliştirilmiştir. Ayrıca, yüzey polimer modifikasyonu yoluyla kornea dokusuyla doğrudan temas halindeki kontakt lenslerin yüzey özelliklerini kontrol etmek, kontakt lensin temel özelliklerini korurken kornea dokusunun yüzey morfolojisini taklit eder; bu, kontakt lenslerin uzun süreli kullanımı ve yeniden kullanımı için önemli bir gelişmedir. Esnek hidrojel yapılarına sahip yumuşak kontakt lensler, sert kontakt lenslere kıyasla daha rahat takılabilir ve oksijen geçirgenliğine sahip oldukları için daha çok tercih edilmektedir. Günümüzde, yumuşak hidrojel kontakt lens malzemelerinin çoğu, çapraz bağlayıcı maddelerle HEMA ve hidrofilik monomerlerin kombinasyonları kullanılarak hazırlanmaktadır (Ishihara vd., 2023).

Gıda endüstrisinde hidrojel: Gıda alanında hidrojel, gıda paketlenme sistemlerinde kullanıma konusunda büyük potansiyele sahiptir. Gıda ambalajlama uygulamalarında hidrojel, yüksek su içeriğine sahip gıda ürünlerinin ürettiği nem kontrol etmek için bir paketlenme sistemin bir parçası olarak kullanılmalarına konformasyon sunabilir. Nanopartiküllerin hidrojelere katkılanması ile antimikrobiyal aktivite gösteren hidrojel hazırlanabilmektedir. Son olarak, bu alandaki araştırmalar hala sınırlı olmasına rağmen, şu ana kadar elde edilen sonuçlar, gıda alanında yenilikçi ve potansiyel uygulamalar için umut vericidir (Batista vd., 2019).

Atık su arıtımında hidrojel: Atıksu arıtımında hidrojellerin kullanımı ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır. Hidrojel su ve biyolojik sıvılarda şişen üç boyutlu, esnek ve gözenekli ağlardır. Son zamanlarda ortaya çıkan kirleticilerin uzaklaştırılmasında hidrojel kullanılmaktadır (Şekil 2.5). Kirleticilerin önde gelen sınıfları pestisitler, ahşap koruma ve endüstriyel kimyasallardır. Atık sularda çoğunlukla bulunan bu kirleticiler, insan sağlığı ve ekosistemler için tehlikeli olabilmektedir. Günümüzde kitosan bazlı hidrojel, ortaya çıkan kirleticilerin uzaklaştırılmasında yüksek bir potansiyel göstermektedir (Pakdel vd., 2018).

2.2.3. Hidrojellerin biyomedikal uygulamaları

Hidrojeller geniş bir uygulama alanına sahiptir. Hidrojeller, su içeriklerinden dolayı çok çeşitli endüstriyel ve biyolojik uygulamalarda kullanılabilecek kadar esnektir. Hidrojellerin biyomedikal uygulamalarından bazıları Şekil 2.7'de gösterilmektedir (Ahmad vd., 2022).



Şekil 2.7. Hidrojellerin biyomedikal uygulamaları

İlaç salımı için hidrojel: Hidrojeller özellikle en iyi ilaç salım sistemi türülerindendir ve kardiyoji, onkoloji, yara iyileşmesi vb. olmak üzere tıbbın birçok dalında kullanılmaktadır. Hidrojeller büyük miktarda su ve çapraz bağlı bir polimer ağından oluşur. Yüksek su içeriği dokulara benzerlik sağlar ve hidrojellere mükemmel biyoyumluluk ve hidrofilik ilaçları kolayca kapsülleme yeteneği kazandırabilir. Ayrıca, tipik olarak sulu çözeltilerde oluşturuldukları için, organik çözücülere maruz kalma sonucu ilacın denatürasyonu ve agregasyonu riski en aza indirilir. Çapraz bağlı polimer ağı, hidrojelleri katıya benzer hale getirir ve çok çeşitli mekanik özelliklere sahip olmasını sağlar

Hidrojeller, implantasyon veya enjeksiyon için istenen şekilde uyarlanabilir ve bozunma hızı, gözeneklilik veya salım profili, çapraz bağlama yöntemi değiştirilerek kolayca kontrol edilebilir (Bai vd., 2018).

Hidrojellerin antibakteriyel uygulamaları: Hidrojeller, antibakteriyel uygulamalar için alternatif bir malzeme olarak incelenmiştir. Monomerlerin ve çapraz bağlayıcıların doğru şekilde seçilmesiyle hidrojellerin hidrofilitik ve gözeneklilik gibi istenen özellikleri antibakteriyel uygulamalar için geliştirilebilir. Ayrıca bazı hidrojel türleri doğal olarak antibakteriyel özelliğe sahiptir. Antibakteriyel hidrojeller üç tipe ayrılır:

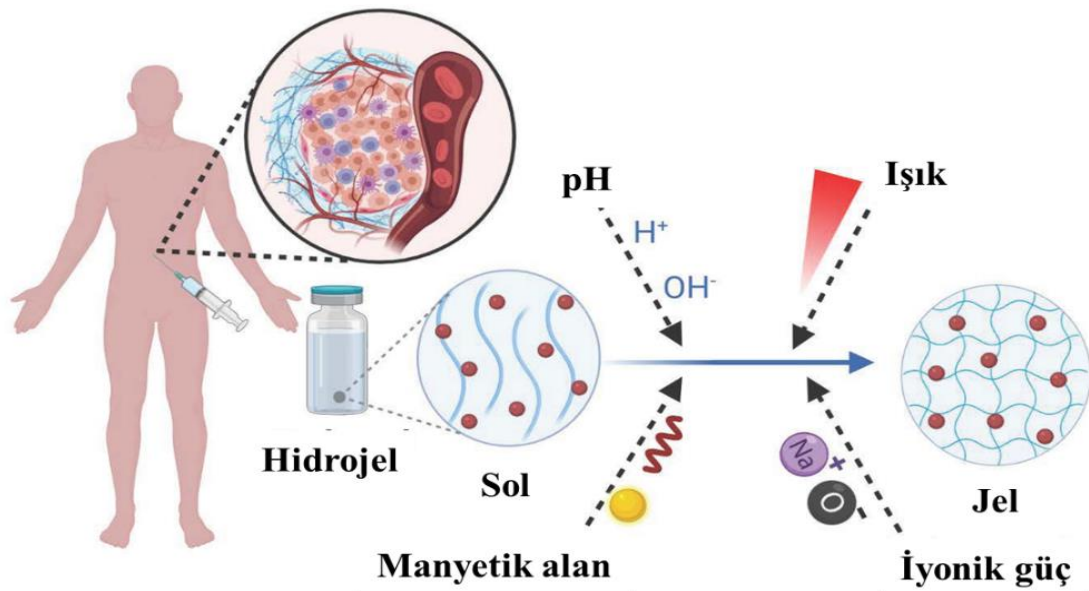
- ❖ İnorganik nanopartikül içeren hidrojeller
- ❖ Antibakteriyel madde içeren hidrojeller
- ❖ Doğal antibakteriyel özelliklere sahip hidrojeller

İnorganik antibakteriyel malzemeler metal iyonlarını ve metalik oksit NP'lerini içerir. Yaygın olarak kullanılan metal/metal iyonları arasında, bunlarla sınırlı olmamak üzere, gümüş (Ag), altın (Au) ve bakır (Cu) bulunur. En yaygın kullanılan inorganik antibakteriyel malzemeler gümüş nanopartikülleri (AgNP)'dir (Li vd., 2018).

Temizlik ürünleri: Hidrojeller, özellikle akrilat bazlı olanlar, sıvıları tutmak için temizlik ürünlerinde yaygın olarak kullanılırlar. Nemi ciltten uzak tutabilir, cilt sağlığını iyileştirebilir, bebek bezi döküntülerini önleyebilir ve kullanımı daha rahat hale getirebilirler. Süper emici polimer (SEP) içeren tek kullanımlık çocuk bezleri, tüm gelişmiş ülkelerdeki ebeveynler tarafından ve dünya çapındaki hastanelerde kullanılmaktadır. Bu malzemelerin kullanımının eşofman ve yetişkin inkontinans ürünleri endüstrilerinde daha da artması bekleniyor. SEP'ler mikrop kolonizasyonunu sınırlamaya yardımcı olabilir, dışkı kontaminasyonu tehlikesini ve gastrointestinal hastalıkların yayılmasını azaltabilir. Suya veya organik sıvılara maruz kaldığında bu malzeme kurutularak hidrojel oluşturabilen polimer yapılar üretilir (Ahmad vd., 2022).

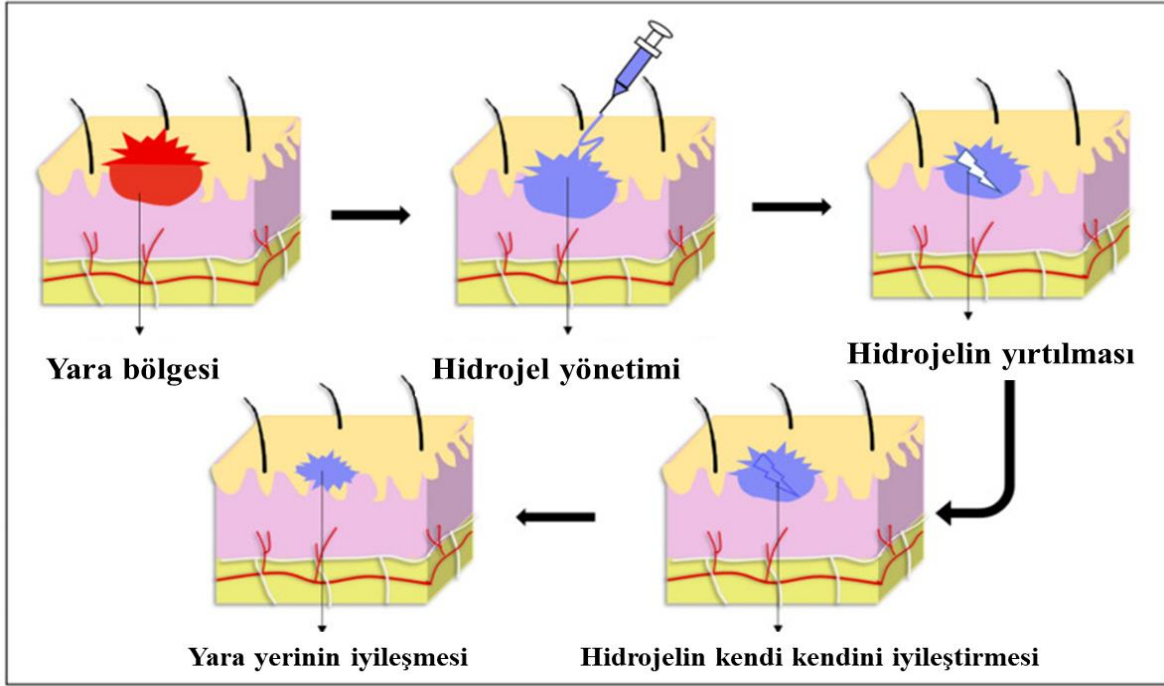
Kanser tedavisinde uygulamalar: Kanser dünya çapında morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerinden biridir. 2012 yılında dünyada 14,1 milyon yeni kanser vakası ve 8,2 milyon kansere bağlı ölüm bildirildi. Hidrojeller, yerinde jel oluşturabilen enjekte

edilebilir ve hücre/ilâç dağıtımı ve doku mühendisliği gibi biyomedikal uygulamalar için yaygın olarak kullanılmaktadır (Şekil 2.9). Enjekte edilebilir biyolojik olarak parçalanabilir hidrojeller ile tümör içi ilâç dağıtımı, ilaca sistemik maruz kalmanın olumsuz etkilerini en aza indirirken, hedef tümör bölgesinde sürekli ve kontrollü bir ilâç dağıtımı sağlayabilmeleri nedeniyle büyük ilgi görmüştür. Ek olarak, enjekte edilebilir hidrojellerle lokalize tedavi, birçok kemoterapötikte gözlemlenen düşük çözünürlük engelinin üstesinden gelebilir, gerekli ilâç miktarını azaltabilir ve tümör bölgesine ulaşan miktarı artırabilirler (Norouzi vd., 2016).



Şekil 2.9. Kanser tedavisinde uyarılara duyarlı hidrojellerin uygulanması (Andrade vd., 2021)

Yara iyileşmesinde uygulamalar: Günümüzde yaraları korumak ve kapatmak için hidrojel yara örtüleri kullanılmaktadır. Bunların çoğu, enfeksiyonu önlemek ve yara iyileşme sürecini hızlandırmak için ilâçları veya bileşikleri kontrol edilebilir bir şekilde salacak şekilde tasarlanmıştır (Tavakoli ve Klar, 2020). Hidrojeller, modern yara pansumanlarına yönelik kriterlerin çoğunu karşılamaktadır: nemli bir ortamın korunması, ısı yalıtımı, antibakteriyel özelliklerin varlığı, yara yüzeyinden çıkarılma kolaylığı, hasta için pansuman değiştirmenin ağrısızlığı, ameliyatı yapan cerrah için kullanım kolaylığı, yara yüzeyine dikiş atmak veya yaraya uygulamak için yeterli biyomekanik özellikleri (Şekil 2.10) (Brumberg vd., 2021).

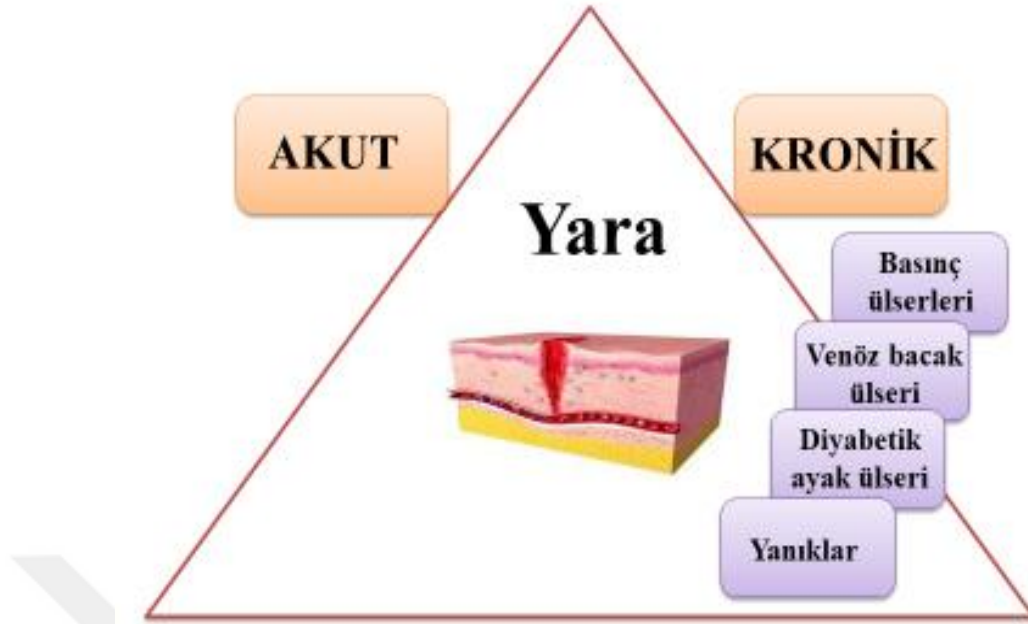


Şekil 2.10. Hidrojelin yara iyileşmesinde uygulanması (Devi vd., 2021)

Biyosensörler: Biyosensörler fiziksel ve sentetik sensörlerin birleştirilmesiyle yapılır. Hidrojeller, hidrofilik özellikleri nedeniyle doğası gereği biyouyumludur. Sonuç olarak, biyosensörlerde hidrojellerin açık bir kullanımı, sensör bileşenlerinin doğal atomlar veya hücrelerle istenmeyen temastan uzak tutulması için sigortalanması ve kaplanmasıdır. Hidrojeller, biyolojik tespit edici bileşen immobilizasyon kafesleri olarak kullanılabilir ve proteinlere ve diğer biyomoleküllere dinamik ve pratik yapılarına ayak uydurmaları için ideal koşulları sağlar (Ahmad vd., 2022).

2.3. Yara Nedir? Yaraların Sınıflandırılması

Yara, fiziksel veya termal hasar nedeniyle deri veya mukozanın devamlılığının bozulması olarak tanımlanır. İyileşme süresine ve niteliğine bağlı olarak yaralar akut ve kronik yaralar olarak sınıflandırılır (Şekil 2.11).



Şekil 2.11. Akut ve kronik yaraların sınıflandırılması

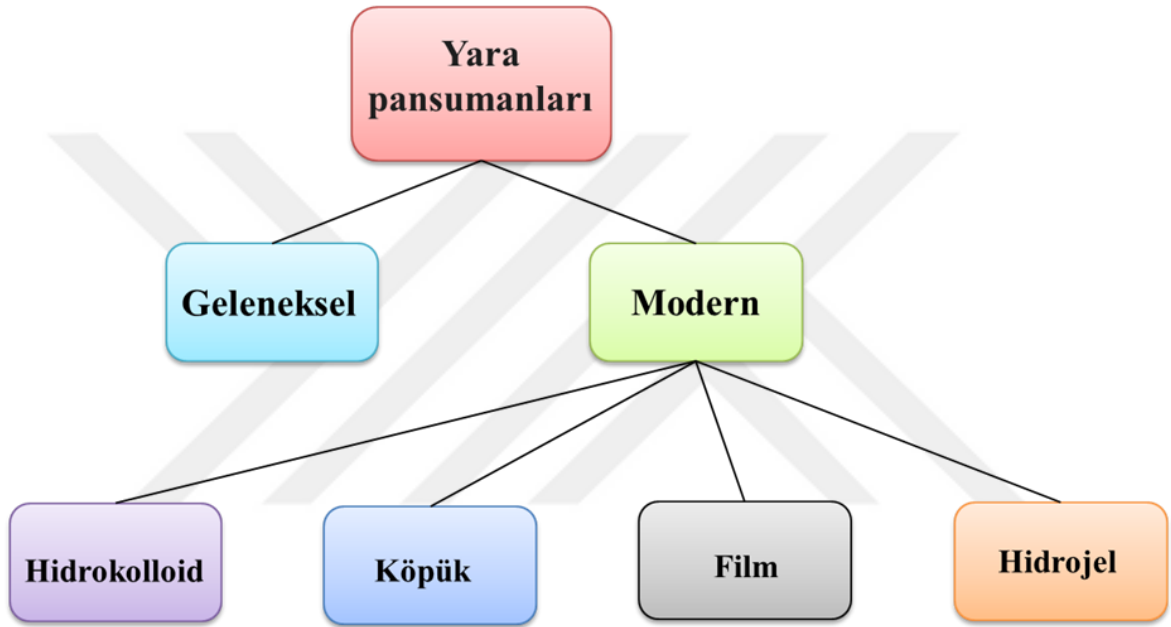
Akut yara, yaranın derinliğine ve hasarın büyüklüğüne bağlı olarak belirli bir zaman aralığında tamamen iyileşen cilt hasarıdır. Cilt yaralanmaları zamanında iyileşmediğinde ve tekrarlama riski altında olduğunda kronik bir yara ortaya çıkar. Kronik yaraların çeşitli nedenleri mevcuttur; en yaygın olanları yanıklar, basınç ülserleri ve diyabetik ayak ülserleridir. Yara iyileşmesi karmaşık ve çok adımlı bir süreçtir. Her ne kadar cilt normalde bozulmadan sonra onarılsa da iyileşme süreci diyabet, enfeksiyonlar, venöz/arteriyel yetmezlik gibi farklı durumlarda etkilenebilir. İyileşmeyi hızlandırmak için çok çeşitli yara pansuman malzemeleri mevcuttur; ancak uygun pansumanı seçmek için kapsamlı bir yara değerlendirmesi gereklidir. Yeni pansumanların ortaya çıkışı, yara iyileşmesine yeni bir bakış açısı getirmiştir (Borda vd., 2016).

2.3.1. Yara pansumanları

1962'nin ortalarına kadar önem verilmeyen yara iyileştirme araştırmaları, Winter'ın (1962) tasarladığı yara filminin ya da "örtüsü"nün, domuz derisinde geliştirilmiş yara modelinde epitelizasyon hızını, açık kalan yaraya göre iki kat artırdığını ortaya koyduğu çalışmasının ardından hız kazanmıştır (Gözelle ve Süloğlu, 2022). Yara iyileşmesi derinin fizyolojik fonksiyonlarını sürdürmek için hayati öneme sahiptir. En yaygın tedavi, yarayı

kapatmak ve enfeksiyon riskini ve ikincil yaralanma oranını azaltmak için bir pansumanın kullanılmasıdır (Nguyen vd., 2023).

Yara pansumanları doku mühendisliği alanında uygulanabilmesi için bazı özelliklere sahip olması gerekmektedir. Bu özellikler; biyouyumluluk, biyobozunurluk, doku ile uyumlu mekanik özelliklere sahip olma, sterilize edilebilirliktir (Ersoy vd., 2015). Yara pansumanları geleneksel ve modern olarak sınıflandırılır (Şekil 2.12).



Şekil 2.12. Yara pansumanlarının sınıflandırması

Geleneksel yara pansumanları: Geleneksel yara pansumanları, kolay uygulanabilmeleri, düşük maliyetleri ve basit imalatları nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Gazlı bez, bandajlar, alçılar ve tüylerin tümü bu pansuman kategorisine girer. Yarayı dış enfeksiyonlardan korusalar da, yaranın kontrol edilebilir nem emiliminden yoksundurlar ve yarayı zamanında iyileşemeyecek kadar kuru bırakırlar. Ayrıca yaraya yapışarak pansumanın karmaşık ve ağırlı bir şekilde çıkarılmasına neden olabilirler. Bu nedenle geleneksel pansumanlar genellikle hafif yaralarda veya ikincil pansuman olarak kullanılır (Rezvani Ghomi vd., 2023).

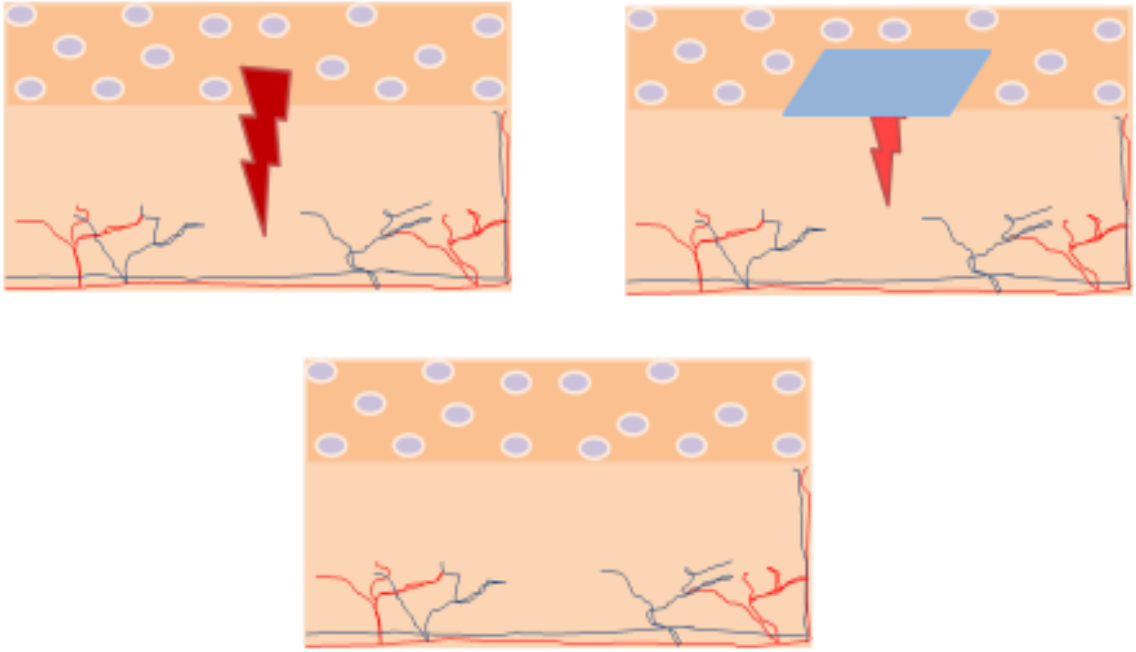
Modern yara pansumanları: Modern yara pansumanları yarayı kapatmaktan ziyade yaranın işlevini kolaylaştırmak için geliştirilmiştir. Bu pansumanlar yara iyileşmesini hızlandırmaya odaklanmıştır. Modern yara örtüleri genellikle sentetik polimerlere dayalıdır. Gazlı bez ve tül pansumanlar gibi tıkayıcı olmayan pasif ürünler, yarayı kapatmak ve alttaki işlevini geri kazandırmak amacıyla kullanılır. İnteraktif pansumanlar yarı tıkayıcı veya tıkayıcıdır; film, köpük, hidrojel ve hidrokolloid formlarında mevcuttur. Bu pansumanlar bakterilerin yara ortamına nüfuz etmesine karşı bir bariyer görevi görür (Dhivya vd., 2015).

Hidrokolloid pansumanlar: Başlangıçta küçük kare parçalar halinde üretilen, 1985 yılında belirli anatomik bölgeler için tasarlanmış pansuman piyasaya sürüldü. 1989 yılında, film pansumanlarında daha yaygın olarak kullanılan akrilik bazlı yapıştırıcılara alternatif olarak, ince bir hidrokolloid yapıştırıcı tabakası ile kaplanmış, yarı geçirgen bir membrandan oluşan 'ince' bir versiyon geliştirildi. Bu pansumanların sıvı tutma özelliği çok azdır veya hiç yoktur ve standart filmlere göre daha az geçirgen olma eğilimindedir. Bu nedenle postoperatif pansuman olarak veya yarı geçirgen poliüretan filmlere alternatif olarak aljinatlar veya hidrojel gibi birincil pansumanlara göre ikincil tutma ürünleri olarak kullanılırlar (Thomas, 2008).

Köpük pansumanlar: Kılcal harekete dayalı olarak sıvıları havayla dolu boşluklara absorbe etme yeteneğine sahip gözenekli bir yapıdır. En yaygın köpük pansumanlar poliüretandan yapılır. Hidrojinin özelliklerine benzer şekilde, köpük pansuman yaraların çevresinde nemli bir ortam sağlayabilir, ısı yalıtımı sağlar ve doku, kalınlık ve gözenek boyutları gibi köpük özellikleriyle kontrol edilen oldukça emicidir. Ancak bu pansumanlar epitelyal kuru yaralar, nekrotik yaralar ve sık bakım gerektiren yaralar için pek tercih edilmez (Nguyen vd., 2023).

Film pansumanları: İlk modern yara pansuman ürünlerinden biridir. Son derece esnek, şeffaf ve yapışkandırlar. Sıvıyı emme kapasiteleri yoktur ancak nem buharı terlemesi olarak bilinen bir işlemle küçük miktarlardaki sıvıyı nefesle dışarı atabilirler (Fletcher, 2003). Ancak ele alınması gereken bir konu da filmlerin altında sıvı birikmesinin önlenmesidir. Fazla sızıntılar yapıştırıcıyı etkisiz hale getirebilir, maserasyona yol açabilir ve dış ortama olan mührü kırabilir, böylece bakterilerin çoğalmasını kolaylaştırır.

Hidrojel yara pansumanları: Benzersiz ve esnek fizikokimyasal özellikleri nedeniyle ideal yara pansumanlarının gerekli özelliklerine sahip yeni bir tür üst düzey malzemedir. Bu çok yönlü çok işlevli hidrojinin, yüksek enfeksiyon riski ve dış mekanik uyarılara karşı esnek tepkisi nedeniyle özellikle diyabetik cilt yaralarında ve açık yaralarda rejenerasyonda potansiyel bir malzeme olduğunu ortaya çıkardı. Ayrıca hidrojel pansumanların çeşitli yara türlerinin tedavisinde etkinliğini değerlendirmek için yapılmış birçok başka deneme ve çalışma da bulunmuştur (Şekil 2.13).



Şekil 2.13. Hidrojel yara örtüsünün yaraya uygulanmasının şematik çizimi

Piyasada hidrojel ile ilgili çok çeşitli yara bakım ürünleri mevcuttur. Yara durumlarını ortaya çıkarabilme özelliğine sahip sensörler içeren yeni nesil akıllı hidrojel yara örtüleri de hızla geliştirilmiştir (Nguyen vd., 2023). Polimerizasyon yöntemlerindeki gelişmeler, yaraya doğrudan uygulanabilen ve derin ya da anormal şekilli yaraları tam kapatabilen enjekte edilebilir hidrojellerin üretilmesine olanak sağlamaktadır (Gözelle ve Süloğlu, 2022).

3. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

Bu tez çalışmasında, yara örtü malzemesi olarak kullanılmak üzere doğal ve sentetik materyallerden hazırlanmış polimerik materyaller üzerine mevcut bilgi ve araştırmalar sistematik bir şekilde incelenmiş ve özetlenmiştir.

Hidrojel bazlı pansumanlar antibakteriyel, anti-enflamatuar ve preanjiyojenik biyoaktiviteler gibi çoklu işlevler sağlayarak yaraları etkili bir şekilde iyileştirebilir. Pansumanın püskürtülebilmesi, yara yüzeyinin hızlı ve etkili bir şekilde kaplanması için önemlidir. Altunbek vd. (2024) hyaluronik asit ve jelatin gibi doğal olarak elde edilen malzemeler kullanılarak püskürtülebilir hidrojel bazlı bir yara örtüsü geliştirmişlerdir. Çapraz bağlanmayı kontrol edebilmek ve yara yüzeyinde kararlı bir hidrojel elde edebilmek için giriş materyallerini metakrilat ile modifiye etmişlerdir. Püskürtülebilir bir jelatin metakrilat derişimi %5-15 (w/v) aralığında olduğu belirlenmiştir. Bu derişime ilave olarak %1 metakrillenmiş hyaluronik asit ve kendi kendine oksijenasyon ve antibakteriyel özellikler sağlamak için 12 mg/mL' ye kadar kalsiyum peroksit eklemişlerdir. Sonuçlar kompozit hidrojellerin püskürtülebilir olduğunu, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı etki gösterdiği ve iki haftaya kadar oksijen sağlayabilen bir yapı elde edildiğini göstermiştir. Salınan oksijen fibroblastlardaki metabolik stresi azalttığı ve *in-vitro* kültürde hipoksi altında hücre ölümünü azalttığı belirlenmiştir.

Doku mühendisliği şu anda mühendisliğin en hızlı büyüyen alanlarından biridir ve doku rejenerasyonu için iskele veya sargı bezi olarak kullanılabilecek gelişmiş ve çok işlevli malzemelerin üretilmesini gerektirmektedir. Khan vd. (2024) dondurarak kurutma ve elektro eğirme tekniklerini birleştirerek iki katmanlı hibrit bir hidrojel hazırlamışlardır. Üst katman dondurarak kurutma ile hazırlanan üç boyutlu gözenekli jelatin-PVA hidrojelinden alt katman elektro eğirme ile PVA ve bakteriyel selülozdan oluşmuştur. Karakterizasyon sonucu yapıların çapraz bağlı, gözenekli, hidrofilik bir yüzeye sahip olduğu gösterilmiştir. Yüksek şişme kapasitesine sahip, termal dayanımı iyi olduğu gösterilmiştir. İki katmanlı malzeme ile Ag-sülfadiazin salımı çalışılmış sürekli ve kontrollü bir şekilde salımın gerçekleştiği ve ciddi hastalıklara neden olan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakteri suşlarına karşı iyi antibakteriyel aktiviteler gösterdiği raporlanmıştır.

Hazırlanan çift katmanlı membran *in-vitro* biyolojik çalışmalar fibroblastlar insan embriyonik böbrekleri üzerinde gerçekleştirmişlerdir. Sonuçlar hücre canlılığının oldukça yüksek olduğunu ve çift tabakaya yapışma gösterdiği görülmüştür. Bu iki metodun birleşimi ile hazırlanan yapıların sinerjik etkisi ile yara iyileşmesi ve yumuşak doku mühendisliği için potansiyel bir yara örtüsü malzemesi hazırlamışlardır.

Acil yanık yarası bakımı, yanık tedavisinin sonuçlarını etkileyen kritik bir faktördür. Choi vd. (2024) yara iyileşmesini destekleyen, ağrıyı azaltan ve yanık tedavisinde acil durumlarda kullanım kolaylığını artıran sprej tipi bir aljinat hidrojel sargı hazırlamışlardır. Hazırlanan sargı *in-vivo* çalışmalarda dört grup sıçan ile farklı sargılar ile çalışılmıştır. Grup A, gazlı bez (kontrol); grup B, Mepilex™ (kontrol); grup C, %2,25 aljinat hidrojel; ve grup D, %2,5 aljinat hidrojel. Yanık yaralarında, %2,25 ve % 2,50 aljinat hidrojel (C ve D) grupları önemli ölçüde daha yüksek kasılma, epitelizasyon ve iyileşme oranları gösterdiği rapor edilmiştir. Histolojik olarak da aynı gruplar ilk yara oluşumundan 14 gün sonra gelişmiş bir kolajen lifleri düzeni ve kalın bir epitel tabakası göstermiştir. Hazırlanan aljinat hidrojellerin sprej tipi aljinat hidrojel sargının ilk yanık yarası bakımı için etkili bir malzeme olduğu gösterilmiştir.

Sezaryen ameliyatı sonrası yara enfeksiyonları ve gecikmiş komplikasyonlar, annelerde doğum sonrası dönemde rahatsızlık, stres ve memnuniyetsizlik prevalansına neden olmaktadır. Wang vd. (2024) ameliyat sonrası yara pansuman malzemesi olarak kitosan bazlı hidrojel hazırlamışlardır. Bu hidrojele bakır nanopartikülü ve ZnO katkılarını hazırlamışlardır. Hazırlanan bu kompozit hidrojinin antibakteriyel etkisi disk difüzyon ile test edilmiştir. Hazırlanan yapının bakteriyel patojenlere karşı mükemmel bakterisidal etki sağladığı bulunmuştur. Kompozit hidrojinin biyouyumluluğu MTT ve yara çizik testi yöntemleri ile incelenmiştir. MTT deneyi ve hücre göçü deneyi sonuçları hidrojel malzemesinin hücre uyumluluğunu ve etkili hücre çoğalma yeteneğini indüklediğini göstermiştir. Ayrıca Cu varlığının hidrojinin yara iyileşmesi açısından daha iyi performans göstermesine neden olmuş ve sezaryen yara tedavisinde yara kapatma malzemesi olarak kitosan-Cu/ZnO hidrojinin kullanılabileceği belirtilmiştir.

Son yıllarda, polisakkarit bazlı hidrojeller, doğaları gereği biyolojik olarak parçalanabilirlikleri, biyouyumlulukları ve toksik olmamaları nedeniyle artan bir ilgi

görmüştür. Hidrojellerin sentezi için polisakkaritlerin kullanılmasının fizibilitesi, özellikle biyomedikal kullanımlar için pratik uygulamalar için gerekli olan kayda değer mekanik mukavemetlerine ve hücre uyumluluklarına bağlıdır. Sarmah vd. (2023) nişasta ve agar gibi polisakkaritleri epiklorohidrin ile çapraz bağlayarak mekanik olarak sert, biyouyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilir bir hidrojeller hazırlamışlardır. Hidrojeller siprofloksasin hidroklorür hidrat gibi antibakteriyel ilaçlar için enkapsülasyon ile iyi bir kontrollü salım profili göstermiştir. Enkapsüle edilen ilacın antibakteriyel aktivitesi *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilis* bakteri suşlarına karşı gözlenmiştir. İlaç yüklü nişasta/agar hidrojel, yara örtüsü uygulamalarında umut verici bir aday olduğu belirtilmiştir.

Cilt travması meydana geldiğinde, mikrobiyal istilayı önlemek, yara izi oluşumunu engellemek ve yara iyileşmesini desteklemek için yara sonrası kapanmanın hızlı bir şekilde gerçekleştirilmesi gerekir. Zhao vd. (2023) yara sonrası kapanmayı ve yara iyileşmesini hızlandırmak için termo uyarılmış kendiliğinden kasılma ve doku yapışkanlığına sahip çift çapraz bağlı biyomimetik poli(N-izopropilakrilamit) ve hiyalüronik asit içeren hidrojeller sentezlemişlerdir. Çift çapraz bağlı ağ sistemlerine sahip bu jeller, ısıya duyarlı ve dokuya yapışkan bir hidrojel olup, serbest radikal polimerizasyonu ve nükleofilik ekleme reaksiyonu yoluyla üretilmiştir. İç içe geçmiş ağ yapıda hidrojel, yalnızca yapı stabilitesini geliştirmek için molekül dolaşmasına sahip olmakla kalmayıp, aynı zamanda hidrojelin dokuya yapışma gücünü artıran ve dikişsiz bir şekilde yara kapanmasını hızlandıran ısıyla uyarılmış otomatik büzülme de sergilemiştir. *İn-vivo* olarak tam kat cilt kusurunu tedavi etmek için yara kapatıcı olarak uygulandıktan sonra poli(N-izopropilakrilamit)/ hiyalüronik asit hidrojelinin inflamatuvar yanıtı inhibe ederek anjiyogenezi ve granülasyon dokusu oluşumunu teşvik ederek yara iyileşmesini hızlandırdığı gösterilmiştir. Geliştirilen ısıya duyarlı ve dokuya yapışkan hidrojel pansumanın, dikişsiz yara sonrası kapatma ve yara iyileşmesi için bir doku sızdırmazlık maddesi olarak kullanılabileceği gösterilmiştir.

Travma, yanık ve kronik hastalıklar nedeniyle oluşan yaralar milyonlarca hastanın rahatsızlık ve acı çekmesine, birçok vakada da sakatlık ve ölüme yol açarak küresel çapta muazzam sağlık, sosyal ve mali etkilere neden olmaktadır. Mansur vd. (2023) ilk kez tamamen biyouyumlu ve yeşil bir süreç kullanılarak sitrik asit ile çapraz bağlanmış karboksimetil selüloz (CMC) ve PVA'dan oluşan kimyasal olarak biyofonksiyonelleştirilmiş hibrit hidrojellerin tasarladıklarını belirtmişlerdir. Hazırladıkları hibritler, deri dokusu

mühendisliği için akıllı yara örtüsü olarak uygulanmak üzere uygun fizikokimyasal özellikler, sitouyumluluk ve hemouyumluluk göstermiştir. Translasyonel tıp stratejisi göz önüne alındığında, elde ettikleri sonuçlar hazırlanan CMC/PVA/sitrik asit hidrojelinin kronik yara tedavisi uygulamaları ve cilt doku mühendisliği için umut verici, uygulanabilir ve uygun maliyetli bir malzeme olduğunu göstermiştir.

Modern sağlık hizmetleri mühendisliği, yüksek biyolojik uyumluluk, güçlü mekanik mukavemet ve etkili antibakteriyel özelliklere sahip daha yüksek şeffaflık gibi olağanüstü özelliklere sahip malzemelerle desteklenen bir yara örtüsü çözümü gerektirmektedir. Kuddushi vd. (2023) negatif yüklü iki biyopolimer ve pozitif yüklü bir sentetik polimerden oluşan PVA/CMC/sodyum aljinattan oluşan bir hidrojel hazırlamışlardır. Şeffaf hidrojel film sargıları mükemmel gerilebilirlik, daha yüksek su şişme oranı (%60) ve kendi kendini iyileştirme yetenekleriyle (%85-90) güçlü mekanik mukavemet (~100 MPa) göstermiştir. Ürettikleri hidrojel film *E. coli* ve *S. aureus* bakteri suşlarına karşı etkili olmuştur. Ayrıca, elde edilen hidrojel film fare fibroblast hücreleri üzerinde mükemmel hücre canlılığı da göstermiştir.

Yara iyileştirici malzemelerdeki büyük ilerlemeye rağmen, nem geçirgenliği, gerilebilirlik özelliği ve yapışkan performansı olan pansumanların geliştirilmesi büyük bir zorluk olmaya devam etmektedir. Liu vd. (2021) jelatin-dopamin nanofiber membran hazırlamışlardır. Jelatine dopamin katkılanması sonrasında elektroegirme ile filmlerin hazırlanması ve sonrasında yerinde reaksiyonun devam etmesi ile hazırlanmıştır. Değişkenlerin etkisi sistematik olarak incelenmiştir. Elde edilen nanofiberler entegre stres mukavemeti, su emilimi ve su buharı iletimi yönünden ticari referanslarına göre daha iyi özelliklere sahip olduğu görülmüştür. Deri yüzeyine tutunması oldukça iyi olup hazırlanan nanofibröz hidrojin yara örtü malzemesi olarak travma sonrası doku iyileşmesinde etkili olabileceği söylenmiştir.

Yara enfeksiyonunu önlemenin yanı sıra, yeni yara sargı malzemelerinin olağanüstü yara onarımı ve cilt rejenerasyonu avantajı sergilemesi beklenmektedir. Qu vd. (2019) biyoyumlu polimer N-karboksietil kitosan ve oksitlenmiş hyaluronik asit-graft-anilin tetramer polimerinin kullanımı ile çok fonksiyonlu enjekte edilebilir hidrojel sargı hazırlamışlardır. Hazırlanan hidrojeller kararlı reolojik özellik, yüksek şişme oranı, uygun jelleşme süresi, iyi

in-vitro biyolojik bozunma özelliği, elektroaktif özellik ve serbest radikal süpürme kapasitesi sergilemişlerdir. Hidrojele antibiyotik (amoksisilin) ilavesiyle iyi antibakteriyel özellik göstermiştir. *In-vivo* deneyler, anilin tetramerin yapıya entegrasyonu ile hidrojinin tam kalınlıkta bir deri defekti modelinde daha yüksek granülasyon dokusu kalınlığı, kolajen yerleşimi ve daha fazla anjiyogenez ile yara iyileşme oranını önemli ölçüde hızlandırdığı görülmüştür.

Bialik-Was vd. (2021) farklı miktarlarda (%5, 10, 15, 20 ve 25, v/v) *Aloe vera* çözeltisinin sodyum aljinat/PVA hidrojel filmleri hazırlamışlardır. Bu filmleri çapraz bağlama ajanı olarak poli(etilen glikol) diakrilat (PEGDA, $M_n = 700$ g/mol) kullanılarak kimyasal çapraz bağlama yöntemiyle hazırlamışlardır. *Aloe vera* içeren sodyum aljinat/PVA hidrojellerinin modifiye edilmemiş hidrojellerden biraz daha yüksek termal stabilite sergilediğini doğrulamıştır ve sert ve termal olarak stabil üç boyutlu bir yapının elde edildiği düşünülmüştür. Hidrojeller bir taşıyıcı ortam gibi değerlendirilmiş ve sonuçlar aktif maddenin bir hafta boyunca kademeli ve uzun süreli bir şekilde salındığını göstermiştir. Çapraz bağlı polimerik ağı içinde *Aloe vera* bulunmasının hidrojel filmlerin aktif madde iletim özelliklerini geliştirdiği bulunmuştur. *Aloe vera* miktarı artırıldığında hidrojel yüzeyinde düzensiz bir yapı görülmüştür. Malzeme ayrıca iyi yapışma göstermiş ve sitotoksikite sonuçlarına göre toksik görülmemiştir. Normal insan dermal fibroblastları üzerinde yapılan *in-vitro* deneyler, *Aloe vera* hidrojel diskleri üzerinde mükemmel hücre tutunması olduğunu kanıtlamış, bu da hücrelerin yayılmasını ve çoğalmasını desteklediği anlamına gelmiştir.

İdeal bir pansuman malzemesinin nemli bir ortam sağlaması ve daha hızlı yara iyileşmesi için ilacı parçalayıp salması beklenir. Kumar vd. (2017) *in-vitro* sitotoksik etkisi olmayan nemli ortamı sağlamak için pamuktan elde edilen bıyık selülozu ile güçlendirilmiş aljinat-kolajen hidrojel bazlı biyolojik olarak parçalanabilir bir pansuman malzemesi tasarlamışlardır. Hidrojel EDC/NHS aracılığı ile amidleşme yoluyla hazırlanmış, ardından aljinatın iyonik jelasyonu ve selüloz ile hidrojen bağlanması sonucu elde edilmiştir. Hidrojinin yüksek su tutma kabiliyeti, yaralı bölgede nemli bir ortamın korunmasını sağlar. Hidrojinin bileşenleri, hidrojel çevresinde hücre çoğalması için uygun bir mikro ortam sağladığı ancak üzerine hücre bağlanmasını engellediği görülmüştür. MTT testi

sonuçlarından hidrojel varlığında daha yüksek fibroblast proliferasyonu ve canlılığı olduğunu gösterilmiştir.

Nesovic vd. (2019), yara örtü malzemesi olarak AgNP içeren biyouyumlu kitosan ve PVA hidrojelleri hazırlamışlardır. Hidrojeller dondurma-çözdürme yöntemiyle, AgNP'ler *in-situ* elektrokimyasal yolla sentezlenmiştir. Yaklaşık 10 nm boyutunda AgNP'lerin oluşturulduğu, dinamik ışık saçılımı ve transmisyon elektron mikroskobu ile doğrulanmıştır. Hidrojellerin MTT testi kullanılarak biyouyumlu olduğu ve süspansiyon testiyle belirlendiği üzere *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı güçlü antibakteriyel aktivite gösterdiği kanıtlanmış olup hazırlanan kompozit hidrojin yara örtü malzemesi olarak kullanılabileceği doğrulanmıştır.

Singh vd. (2017) polivinilpirolidon/karbopol hidrojel yara örtü malzemesi hazırlamış ve karakterize etmişlerdir. Polisakkarit sakızlarının yara bakımı için önemi göz önünde bulundurularak yara iyileşme potansiyelini artırmak için polivinilpirolidon/karbopol hidrojele akasya sakızını eklemişlerdir. Yara örtülerinin yara sıvısı emilimi, hemo-uyumluluk, biyoaktif değerlendirme, gaz/su/mikrobiyal geçirgenlik, mekanik özellikler, biyo-adezyon, ilaç salınımı ve yara iyileşmesinin histolojisi gibi bazı önemli biyomateryal özellikleri araştırmışlardır. Hidrojel yara örtüleri hemolitik olmayan, antioksidan ve mukoadhezif yapıda bulunmuştur.

Solomevich vd. (2019), biyolojik olarak parçalanabilir pH duyarlı dekstran fosfat (DF) bazlı hidrojeller hazırlamışlardır. Bu hidrojellere prospidin (Pr) yükleyip lokal tümör tedavisi için kullanmışlardır. DF hidrojelleri, fosfat gruplarının varlığı nedeniyle pH'a duyarlıdır. Düşük pH'lı ortamlarda, hidrojellerin şişmesi, nötral bir ortama göre daha düşük olmuştur. Bozunma çalışması sonuçları, dekstran fosfat-Pr hidrojellerinin simüle edilen fizyolojik koşullar tarafından bozunmaya duyarlı olduğu gösterilmiştir. Salım çalışmaları, serbest kalan Pr miktarının dış ortamın pH'ına bağlı olduğunu ve sorpsiyonun iyon değişim bileşeninin artması nedeniyle DF hidrojellerindeki fosforik grup içeriğinin artmasıyla azaldığını göstermiştir. Elde edilen deneysel veriler, DF hidrojellerinin kontrollü ilaç salım sistemi için taşıyıcı olarak tümörlerinin radikal tedavisinden sonra yayılmış abdominal lezyonların tedavisinde DF-Pr hidrojellerinin intraperitoneal uygulaması için kullanılma potansiyelinin büyük olduğunu kanıtlamışlardır.

Literatürde genel olarak yara örtü/yara iyileştirme malzemesi olarak doğal polimerlerden yola çıkılıp hazırlanan polimerik malzemeler bulunmaktadır. Yaygın olarak kullanılanlar hyaluronik asit, jelatin, bakteriyel selüloz, aljinat, kitosan, nişasta, agar, N-karboksietil kitosan, kolajendir. Bir yara örtü malzemesinde aranan özellikleri karşılaması için çeşitli katkı maddeleri ile (dopamin, polisakkarit sakızı, *Aloe vera* vb) güçlendirme yapılmış jeller bulunmaktadır. Sentetik polimerlerden ise PVA, polietilen glikol, poli(metakrilik asit), polikaprolakton, poli(laktik asit), poliüretan, poli(N-izopropilakrilamit) vb. karşımıza çıkmaktadır. Bu yara örtü malzemelerinin avantajları olduğu gibi mekanik mukavemet, biyouyumluluk vb alanda dezavantajı olabilmektedir.

İdeal bir yara pansumanının görevi yara çevresinde nemli bir ortam sağlamak, yara ortamını bakteriyel enfeksiyondan korumak, bağ dokusu sentezini teşvik etmek, yaralı dokuyu ve dış ortamı korumak, mevcut dokunun sıcaklığını korumak yaralar arasında gaz alışverişini sağlamak ve uygulama kolaylığıdır. Geleneksel yara örtüleri oldukça yapışkan olmaları, uygulanması zor olmaları ve yara için gerekli nemli ortamı sağlayamadıkları için ideal özellikleri karşılamamaktadır. Biyoaktif yara pansumanları modern yara pansumanlarının en gelişmiş türüdür ve iyileşmede önemli rol oynayan biyomateryallerden yapılır. Yüksek düzeyde biyolojik uyumluluğa sahiptirler ve bozulmazlar veya toksik etkiler göstermezler. Bu özellikler biyoaktif yara örtülerini diğer yara örtülerine göre üstün kılmaktadır.

Bu tez çalışmasında doğal polimerlerin aksine sentetik polimerlere yönelip modifiye edilebilir, makro gözenekli, biyouyumlu, antibakteriyel etki gösteren, ayarlanabilir degradasyon süresi ile nano/mikro polimerik partikül katkılı IPN yapıda kompozit filmler hazırlanmıştır. PHEMA sentetik bir polimer olmasına rağmen biyouyumlu ve esnek/gerilebilir, deri yüzeyine tutunma gösteren 3B formlarının hazırlanma kolaylığı ve kontrol edilebilirliği nedeniyle tercih edilmiştir. Fosfat içerikli nano/mikrojeller kontrollü salım sağlaması, filmde kompozit hazırlanmasında etkili olması için filme entegre edilmiştir. Yara iyileşmesi için gerekli olan nemi sağlayabilecek, modifikasyona imkan tanıyacak bileşenlerden oluşmuş filmler üretilmiştir. Bir materyale farklı teknikler ile eksik olduğu düşünülen veya daha fonksiyonel hale ulaşması için gerekli özelliklerin kimyasal yada fiziksel etkileşimler ile yapıya kazandırılabilceği hazırlanan polimerik materyaller ile gösterilmiştir.

4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Fosfat bazlı mikrojelin sentezinde giriş maddesi olarak fosforik asit 2-hidroksietil metakrilat ester (HMP, %90, Sigma-Aldrich) kullanılmıştır. Başlatıcı olarak ise 2,2'-azobis (2-metilpropionitril) (AIBN, %100, Acros), yüzey aktif madde olarak poli(vinil alkol) (PVA, %99, Aldrich) kullanılmıştır.

Hidrojel filmlerin sentezinde monomer/giriş maddesi olarak 2-hidroksietil metakrilat (HEMA, %97, Sigma-Aldrich) ve Jeffamin T-403 (Sigma-Aldrich) kullanılmıştır. Çapraz bağlayıcı olarak N,N'-metilenbis(akrilamit) (MBA, %99, Sigma-Aldrich) ve gliserol diglisidil eter (GDE, %95, Sigma-Aldrich) kullanılmıştır. Hidrojel filmler için başlatıcı olarak amonyum persülfat (APS, %99, Sigma-Aldrich,) katalizör olarak N,N,N',N'-tetrametiletilen diamin (TEMED, %99, Sigma-Aldrich) kullanılmıştır. Film modifikasyonunda 1,3-propan sulton (PS, %99, Alfa Aesar) kullanılmıştır. Mikrojel ve filmlerin sentezinde kullanılan kimyasallar ve molekül formülleri Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Kompozit yapıların hazırlanmasında gerekli olan metal kaynağı olarak gümüş nitrat (AgNO_3 , %99,5, Carlo Erba) ve bakır (II) klorür dihidrat ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, %98, Carlo Erba) kullanılmıştır. *İn-situ* metal nanopartikül hazırlanmasında indirgeyici ajan olarak sodyum bor hidrür (NaBH_4 , %98, Sigma-Aldrich) kullanılmıştır.

İlaç yükleme ve salım çalışmalarında sodyum diklofenat (SDF, %98, TCI) ve trimethoprim (TMP, %99, Glentham life sciences) model ilaç olarak kullanılmıştır. Kontrollü ilaç salım çalışmalarında pH 7,4 fosfat tampon çözeltisi (PBS) kullanılmıştır. Çözelti hazırlanmasında sodyum klorür (NaCl , %99, Carlo Erba), potasyum klorür (KCl , %99, Merck), potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4 , %98, Riedel-de-haen), sodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4 , %99, Merck) kullanılmıştır.

İlaç salım çalışmaları selüloz membran diyaliz tüp (genişlik 43mm, moleküler ağırlığı cut-off = 12000 Da, Sigma-Aldrich) kullanılmıştır

Çizelge 4.1. Deneyde kullanılan kimyasal maddeler ve molekül formülleri

Kimyasal adı	Molekül formülü
Fosforik asit 2-hidroksietil metakrilat ester (HMP)	
2-Hidroksietil metakrilat (HEMA)	
Jeffamin (JEF)	
N,N'-metilenbis(akrilamit) (MBA)	
Gliserol diglisidil eter (GDE)	
2,2'-Azobis(2-metilpropiyonitril) (AIBN)	
Amonyum persülfat (APS)	
N,N,N',N'-Tetrametiletilendiamin (TEMED)	
Poli(vinil alkol) (PVA)	
1,3-Propan sulton (PS)	

Mikropartikül ve filmler için sitotoksosite testleri 3T3 hücreleri kullanılarak yapılmıştır. Test üç tekrarlı yapılmıştır. 24 saat sonraki hücre canlılıkları kontrol ile karşılaştırmalı olarak standart sapma ile birlikte verilmiştir.

Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında, Mueller-hinton broth (MHB, Merck) ve Mueller-hinton agar (MHA, Merck) besiyeri olarak kullanılmıştır. *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 suşuna karşı etkinlik test edilmiştir.

4.2. Karakterizasyonda Kullanılan Cihazlar

Sentezlenen mikrojel, hidrojeller, mikrojel katkılı hidrojel ve hidrojel kompozitlerin karakterizasyonu için farklı teknikler kullanılmıştır. Bunlar;

Taramalı elektron mikroskopu (SEM): Sentezlenen yapıların boyutunu ve yüzey morfolojisini belirlemek için kullanılmıştır. Liyafilizatörde kurutulmuş numuneler görüntüleme öncesi alüminyum stab üzerine yapıştırılan karbon bantın üzerine konulmuş ve sonrasında birkaç nm kalınlıkta Au-Pd ile kaplanmıştır. Kaplama sonrası numuneler SEM cihazının (JEOL JSM 5600) örnek haznesine yerleştirilip 10,0 kV hızlandırılmış voltaj ile farklı büyütme ölçeklerinde görüntülenmiştir.

Geçirimli elektron mikroskopu (TEM): Mikrojel ve hidrojel filmlerin kalıp olarak kullanılması ile Ag ve Cu metal nanopartikül içeren polimerik kompozitler hazırlanmıştır. Kompozit numuneler öğütülmüş ve alkol içinde süspansiyon edilmiştir. Bu süspansiyondan bir damla formvar kaplı bakır grid üzerine damlatılmıştır. Etüvde kurutulan numune içeren grid metal nanopartiküllerin şekli ve boyutu TEM (Hitachi HT7800) ile görüntülenmiştir.

Termal gravimetrik analiz (TGA): Fosfat bazlı mikrojel, hidrojel film, mikrojel katkılı hidrojel filmlerin termal karakterizasyonu ve kalıntı miktarlarının belirlenmesi için sıcaklık değişimine karşı kütle kayıplarının belirlenmesinde (SII)/Exstar 6000 model Termal gravimetrik analiz cihazı kullanılmıştır. Hazırlanan Ag ve Cu içeren polimerik kompozitlerinin içerdiği metal miktarı TGA ile belirlenmiştir. Ölçümler 15 °C/dk sıcaklık artışı ile 50 °C-600 °C, 50 °C-1000 °C aralığında ve 200 mL/dk N₂ gaz akışı ile gerçekleştirilmiştir.

Fourier dönüşümü kızıl ötesi spektrometresi (FTIR): Sentezlenen polimerik yapıların fonksiyonel grup analizi ve yapısal karakterizasyonu KBr pellet ile 4000-400 cm^{-1} spektral aralığında Bruker Tensor FTIR spektrofotometresi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Spektrumlar OPUS yazılımı kullanılarak kaydedilmiştir.

Zeta potansiyel ölçümü (ZP): Mikrojinin yüzey yük yoğunluğunun belirlenmesinde ZP kullanılmıştır. Numune 25 °C sıcaklıkta, 1,0 mM KCl sulu çözeltisinde dağıtılmıştır. Hazırlanan ölçüm numunesi sonikatör yardımı ile dispers edilmiş ve degaz işlemi gördükten sonra ölçüm hücresine aktarılmıştır. Malvern Zetasizer NanoZ cihazı ile 10 döngülü alınan ölçümler üç tekrarlı olup standart sapma ile birlikte verilmiştir.

Ultraviyole görünür ışık spektrometresi (UV-Vis): Sentezlenen/hazırlanan polimerik yapıların (mikrojel, hidrojel film, IPN filn vb) ilaç yükleme ve salım çalışmalarında yüklenen ve salınan ilaç miktarlarının belirlenmesinde UV-Vis (Perkin Elmer Lambada 35) spektrometresi kullanılmıştır.

Santrifüj: Mikrojel ve kompozit mikrojel saflaştırma basamağı olarak Beckman coulter Avanti J-25I ve HERMLE Z-326K model santifrüjler kullanılmıştır.

Ultrasonik banyo (sonikatör): Polimer öncü karışımlarının çözünmesinde/dağıtılmasında sonikatör kullanılmıştır. Ölçüm öncesi numune hazırlık aşamasında dispers karışım hazırlama ve degaz için Bandelin Sonerex digital 10P model sonikatör kullanılmıştır.

Dondurarak kurutucu (Freeze dryer): Sentezlenen mikrojel, hidrojel filmler temizlenme sonrası Christ Alpha 2-4 LSC marka dondurarak kurutucu kullanılarak 24-48 saat kurutulmuştur. Polimerler kurutucuya konulmadan önce -20 °C veya sıvı azot yardımı ile dondurulma sonrasında cihaza yerleştirilmiştir.

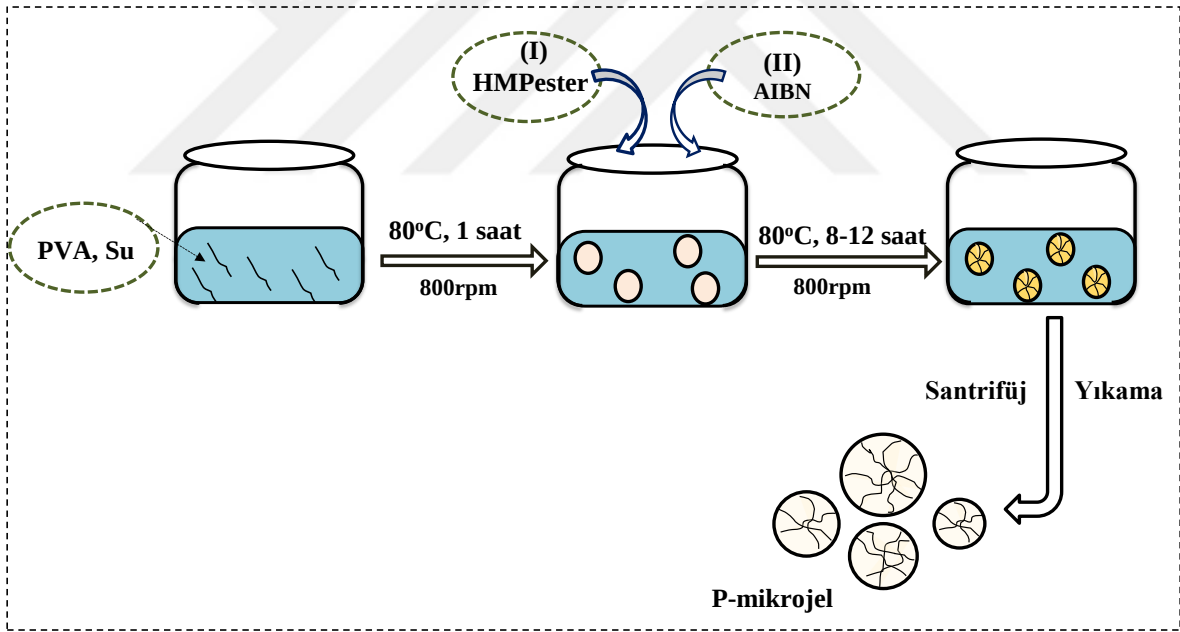
Etüv: Cam malzemelerin kurutulması, bazı jellerde polimerizasyonun tamamlanması, degradasyon testi ve analiz numunelerinin kurutulmasında Ecocell marka etüv farklı sıcaklıklara ayarlanarak kullanılmıştır.

Terazi: Çalışma boyunca tartımların yapılmasında 0,1 mg hassasiyette (Ohaus PR) terazi kullanılmıştır.

Isıtıcı kontrollü manyetik karıştırıcı: Fosfat bazlı mikrojel sentezinde (Heidolph MR 3001) manyetik karıştırıcı kullanılmıştır.

4.3. Fosfat Bazlı Mikrojel Sentezi

Fosfat bazlı mikrojel sentezinde fosfat esteri giriş maddesi olarak kullanılmıştır. Mikrojel sÜspansiyon polimerizasyonu ile sentezlenmiştir, sentez şeması Şekil 4.1 de verilmiştir. Fosforik asit 2-hidroksietilmetakrilat ester (HMP) monomer olarak, 2,2'-azobis(2-metilpropiyonitril) (AIBN) başlatıcı olarak kullanılmıştır. Yüzey aktif madde olarak poli(vinil alkol) (PVA) kullanımı ile sÜspansiyon sistemi oluşturulmuştur.



Şekil 4.1. PHMP mikrojel sentezinin şematik gösterimi

Reaksiyon 40 mL cam viallerde gerçekleştirilmiştir. Farklı miktarlarda HMP ester kullanılarak 3 deney kurulmuştur. 20 mL saf su vial e aktarılıp üzerine 0,2 g PVA ilave edilmiştir çözünmesi için 80 °C 800 rpm ayarlanabilir yağ banyosuna yerleştirilmiştir. 30 dakika geçtikden sonra 0,2 mL, 0,4 mL, 0,6 mL HMP esteri reaksiyon ortamına sırası ile eklenmiştir. AIBN konsantrasyonu 40 mg/mL olacak şekilde kullanım öncesi toluende

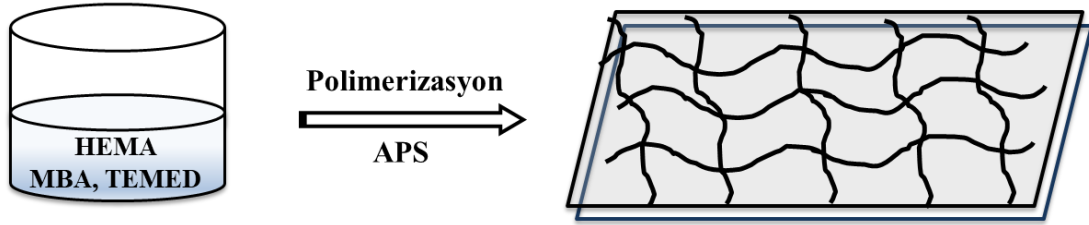
hazırlanmıştır. Bu çözeltiden sırası ile 0,4 mL, 0,8 mL ve 1,2 mL dengeye gelen süspansiyon ortamına sırası ile eklenmiş ve polimerizasyonun tamamlanması için 8-12 saat reaksiyon devam ettirilmiştir. Reaksiyon süresinin sonunda, polimerik mikrojeller 40 °C'de 4500 rpm 15 dk santrifüjlenmiş, ardından süpernatant dekantasyon ile uzaklaştırılmıştır. Kalan katı kısım saf su ile vorteks yardımı ile yeniden dağıtılıp aynı şartlarda santrifüjlenerek mikrojel ayrılmıştır. İşlem beş defa yapılarak reaksiyona girmeyen türler ve yüzeyaktif madde uzaklaştırılmıştır. Temizlenen mikrojeller derin dondurucuda (-20 °C) bir gün boyunca bekletilmiştir. Bir gün sonra freeze dryer cihazında 48 saat boyunca kurutulmuştur. Sentezlenen mikrojeller TGA, FTIR, SEM ile karakterize edilmiştir. Hazırlanan mikrojelin sitotoksosite ve ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanımı test edilmiştir. Mikrojel katkılı polimerik filmlerin hazırlanmasında ve kompozit mikrojel hazırlanmasında kullanılmak üzere ağzı kapalı bir şişede muhafaza edilmiştir.

4.4. Hidrojel Filmlerin Sentezlenmesi

Farklı çıkış maddesi kullanılarak çapraz bağlı homopolimerik hidrojel filmler, IPN filmler, mikrojel katkılı semi-IPN filmler farklı polimerizasyon teknikleri ile hazırlanmıştır. HEMA ve JEF monomerleri kullanılarak çapraz bağlı PHEMA polimerik filmler serbest radikal polimerizasyonu ile çapraz bağlı JEF polimerik filmler ise kondenzasyon polimerizasyonu ile istenilen kalınlık ve şekilde sentezlenmiştir. Bu filmlerin birlikte hazırlandığı IPN yapıları (PHEMA-JEF) yanında mikrojel katkılı filmler (PHEMA-JEF/P-mikrojel) de benzer polimerizasyon teknikleri ile sentezlenmiştir. Ayrıca Ag ve Cu katkılı kompozit filmler hazırlanmıştır. Hazırlanan yapılar şişme testi, TGA, FTIR, SEM ile karakterize edilmiştir. Kompozit yapılar için ayrıca TEM analizi yapılmıştır. Hazırlanan yapıların biyobozunurlukları, biyouyumlulukları ve antibakteriyal etkinlikleri test edilmiştir. Hazırlanan filmlerin ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanımı test etmek için salım profili incelenmiştir. Filmlerin yara örtü materyali olarak kullanımı üzerine değerlendirmeler yapılmıştır.

4.4.1. PHEMA hidrojel film sentezi

PHEMA hidrojel filmi MBA ve BMEP olmak üzere iki farklı çapraz bağlayıcı kullanılarak serbest radikal polimerizasyonu ile sentezlenmiştir. Sentez şeması Şekil 4.2' de verilmiştir.

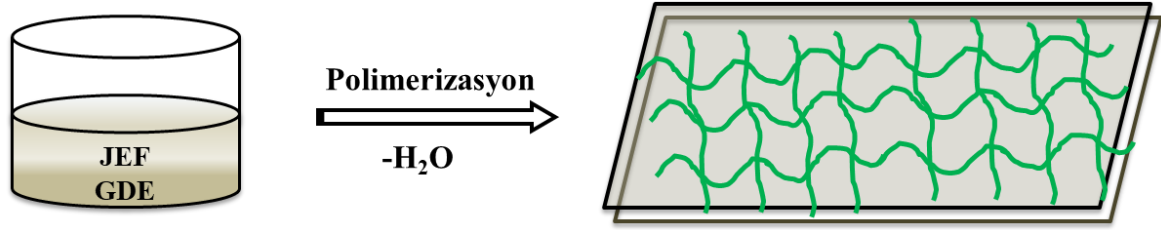


Şekil 4.2. PHEMA hidrojel film sentezinin sentez şeması

Bir cam şişeye 2 mL (16 mmol) HEMA monomeri ve 1,8 mL su eklenerek monomerin vorteks yardımı ile çözünmesi sağlanmıştır. Aynı şişeye HEMA monomerinin molüne göre %0,05 mol olacak şekilde MBA (veya BMEP) çapraz bağlayıcısı eklenmiş ve çözünmesi sağlanmıştır. Ortama 30 µL TEMED katalizör olarak eklenmiş ve kısa süre karıştırılmıştır. Hemen ardından kullanılan monomerin molüne göre %0,5 mol APS (0,2 mL su içinde) reaksiyon şişesine eklenmiştir ve karışım vorteks yardımı ile karıştırılmıştır. Polimerizasyonun tamamlanması için bu karışım belirli kalınlıklarda petri kaplarına, 96 ve 24 kuyucuklu plastik kaplara aktarılmış ve ağzı kapatılarak 2 saat ortam sıcaklığında bekletilmiştir. Bu süre sonunda petriden çıkarılan hidrojel filmler uygun boyutlarda kesildikten sonra reaksiyona girmeyen türlerin (HEMA, MBA, BMEP, APS, TEMED) uzaklaştırılması için bol miktarda saf su ile yıkama suyu 4-5 defa değiştirilerek temizlenmesi sağlanmıştır. Temizlenen hidrojel filmler bir gün boyunca derin dondurucuda (-20 °C) bekletildikten sonra freeze dryer'da 48 saat boyunca kurutulmuş ve daha sonraki kullanımlar için paketlenmiştir.

4.4.2. JEF hidrojel film sentezi

Jeffamin polieteramin sınıfında üç fonksiyonlu poli(propilen glikol) omurgalarına dayanan fonksiyonel triamindir. Bu amin gruplarının epoksi bazlı bir çapraz bağlayıcı olan GDE ile kondenzasyon polimerizasyonu sonucu bir seri JEF hidrojel filmi sentezlenmiştir. Sentez Şekil 4.3'te şematize edilmiştir.



Şekil 4.3. JEF hidrojel film sentezinin sentez şeması

JEF hidrojel filmi GDE'nin farklı oranda kullanımı ile üç farklı çapraz bağlı JEF hidrojel filmi hazırlanmıştır. Sentezde kullanılan bileşenlerin miktarları Çizelge 4.1'de verilmiştir. Sentez kısaca; bir cam şişeye 1,0 g jeffamin monomeri eklenmiş ve üzerine 1,0 mL 0,5 mol NaOH sulu çözeltisi ilave edilip vorteks yardımı ile karıştırılmıştır. Aynı karışıma çapraz bağlayıcı olarak 0,25 mL GDE (0,35 mL, 0,45 mL) ilave edip tekrar karıştırılmıştır. Polimerizasyonun tamamlanması için bu karışım belirli kalınlıklarda petri kaplarına aktarılmış ve ağzı kapatılarak 3-4 saat 50 °C'ye ayarlı etüvde bekletilmiştir.

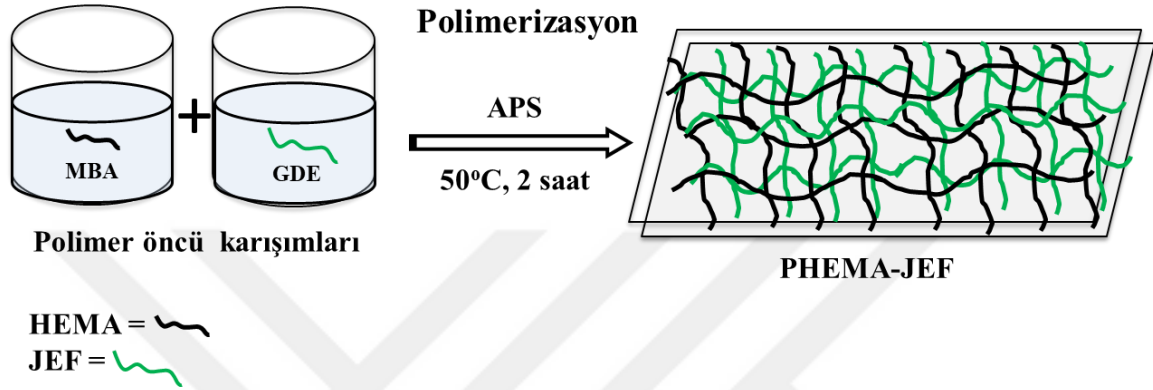
Çizelge 4.2. Deneyde kullanılan malzeme miktarları (1g Jeffamin, 1 mL 0,5 M NaOH)

Örnek kodu	GDE (mL)
JEF-1	0,25
JEF-2	0,35
JEF-3	0,45

Hidrojel filmler petrilere çıkarılarak uygun boyutlarda kesilmiştir. Kesilen JEF filmler reaksiyona girmeyen türlerin (JEF, GDE, NaOH) uzaklaştırılması için bol miktarda saf su ile yıkanmış ve yıkama suyu 4-5 defa değiştirilerek temizlenmesi sağlanmıştır. Temizlenen hidrojel filmler bir gün boyunca derin dondurucuda (-20 °C) bekletildikten sonra freeze dryer'da 48 saat boyunca kurutulmuş ve daha sonraki kullanımlar için paketlenmiştir.

4.4.3. PHEMA-JEF hidrojel film sentezi

Serbest radikal polimerizasyonu (PHEMA için) ve kondenzasyon polimerizasyonu (JEF hidrojel için) aynı anda/ortamda gerçekleştirilerek PHEMA-JEF IPN hidrojel filmi hazırlanmıştır. IPN filmin sentez şeması Şekil 4.4'te verilmiştir.



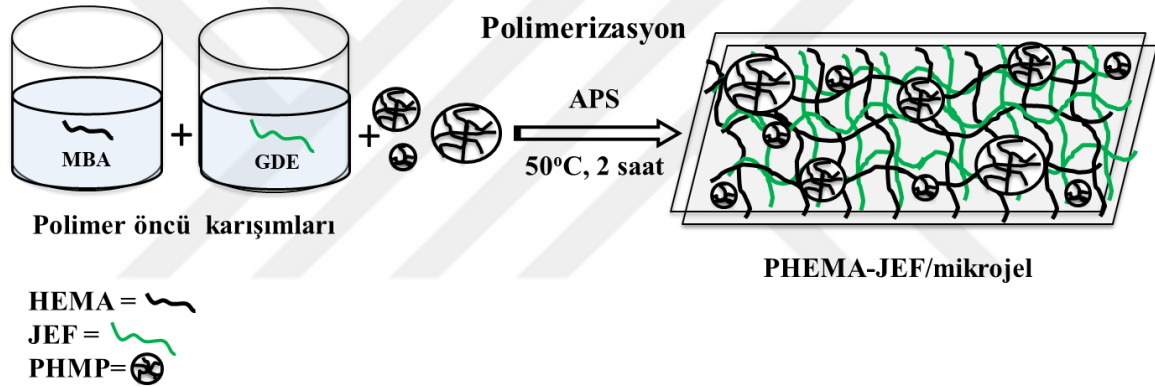
Şekil 4.4. PHEMA-JEF hidrojel filmin sentez şeması

Sentez için iki ayrı cam şişe alınmıştır. Birinci şişeye 2 mL (16 mmol) HEMA monomeri, 1,7 mL su ve %0,05 mol MBA çapraz bağlayıcısı eklenmiştir. İkinci şişeye ise 1,0 g Jeffamin, 0,5 M 1,0 mL NaOH çözeltisi ve 0,35 mL GDE eklenmiştir. Sonra ikinci şişe tamamen birinci şişeye aktarılmıştır. Karıştırmaya 80 dk devam edilmiştir. Bu süre sonunda ortama 50 µL TEMED ve HEMA monomerinin molüne göre %0,5 APS (300 µL su ile) eklenerek radikalik polimerizasyonun başlaması sağlanmıştır. Tüm ilave sonrası 3 dk karıştırılan karışım belirli kalınlıklarda petri kaplarına aktarılmış ve ağzı kapatılarak 2 saat 50 °C'ye ayarlı etüvde polimerik filmlerin oluşması beklenmiştir.

Etüvden alınan hidrojel filmler uygun boyutlara kesildikten sonra reaksiyona girmeyen türleri uzaklaştırabilmek için saf suyla 4-5 defa yıkanmıştır. Temizlenen IPN hidrojel filmler bir gün boyunca derin dondurucuda (-20 °C) bekletildikten sonra freeze dryer'da 48 saat boyunca kurutulmuş ve daha sonraki kullanımlar için paketlenmiştir.

4.4.4. Mikrojel katkılı PHEMA-JEF hidrojel film sentezi

Katkılanacak mikrojel (PHMP) bölüm 4.3 başlığı altında belirtildiği gibi süspansiyon polimerizasyonu ile fosfat esterinden sentezlenmiştir. PHEMA-JEF hidrojel film ise bölüm 4.4.3'te belirtildiği şekilde HEMA ile MBA çapraz bağlanması/JEF ile GDE'nin çapraz bağlanması ile hazırlanmıştır. Mikrojel katkılı hidrojel filmler bu iki sentez ürününün birleşimininden oluşmaktadır. Boş hidrojel film (mikrojel içermeyen film) hazırlarken katalizöre ihtiyaç duyulmaz iken mikrojel katkılı hidrojel filmleri hazırlarken katalizör kullanımı önem arz etmektedir. Katalizör reaksiyonu hızlandırarak mikrojin polimerizasyon süresince çökmesini engellemektedir. PHEMA-JEF/P-mikrojel için sentez şeması Şekil 4.5'te verilmiştir.



Şekil 4.5. PHEMA-JEF/P-mikrojel filmin sentez şeması

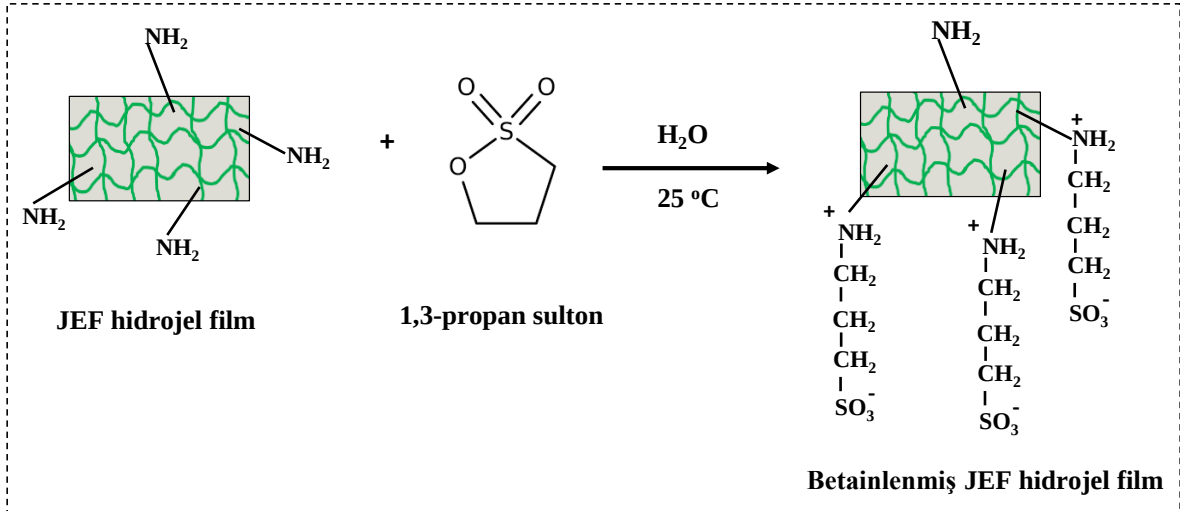
Sentez için iki ayrı cam şişe alınmıştır. Birinci şişeye 16 mmol HEMA monomeri, 1,7 mL su ve %0,05 mol MBA çapraz bağlayıcısı eklenmiştir. Birinci şişedeki maddelerin çözünmesinin ardından ortama 100 mg PHMP mikrojel eklenmiştir. PHMP mikrojel, polimer öncü karışımına katalizör ve başlatıcı ilavesinden önce eklenmiş ve iyi bir dispersiyonun sağlanması için vorteks, sonikatör ve manyetik karıştırıcı yardımıyla yeterli süre karıştırılmıştır. İkinci şişeye ise 1,0 g Jeffamin, 0,5 M 1,0 mL NaOH çözeltisi ve 0,35 mL GDE eklenmiştir. Sonra ikinci şişe tamamen birinci şişeye aktarılmıştır. Karıştırmaya 80 dk devam edilmiştir. Bu süre sonunda ortama 50 µL TEMED ve HEMA monomerinin molüne göre %0,5 APS (300 µL su ile) eklenerek radikalik polimerizasyonun başlaması sağlanmıştır. Tüm ilave sonrası 3 dk karıştırılan karışım belirli kalınlıklarda petri kaplarına aktarılmış ve ağzı kapatılarak 2 saat 50 °C'ye ayarlı etüvde polimerik filmlerin oluşması

beklenmiştir. Etüvden alınan hidrojel filmler uygun boyutlara kesildikten sonra daha önce hazırlanan filmler gibi temizlenip kurutulmuş ve paketlenmiştir.

4.5. Hidrojel Filmlerin Modifikasyonu

JEF ve PHEMA-JEF/P-mikrojel filmlerinin biyouyumluluklarının artırılması amacı ile yapıya yeni grupların eklenmesi ile fonksiyonelleştirilmiştir. Bu işlem için betainizasyon kimyası tercih edilmiştir. Modifiye ajanı olarak 1,3-propan sulton kullanılmıştır. Bu süreçte, filmler doğrudan sulu ortamda 1,3-propan sulton ile reaksiyona sokulmuştur.

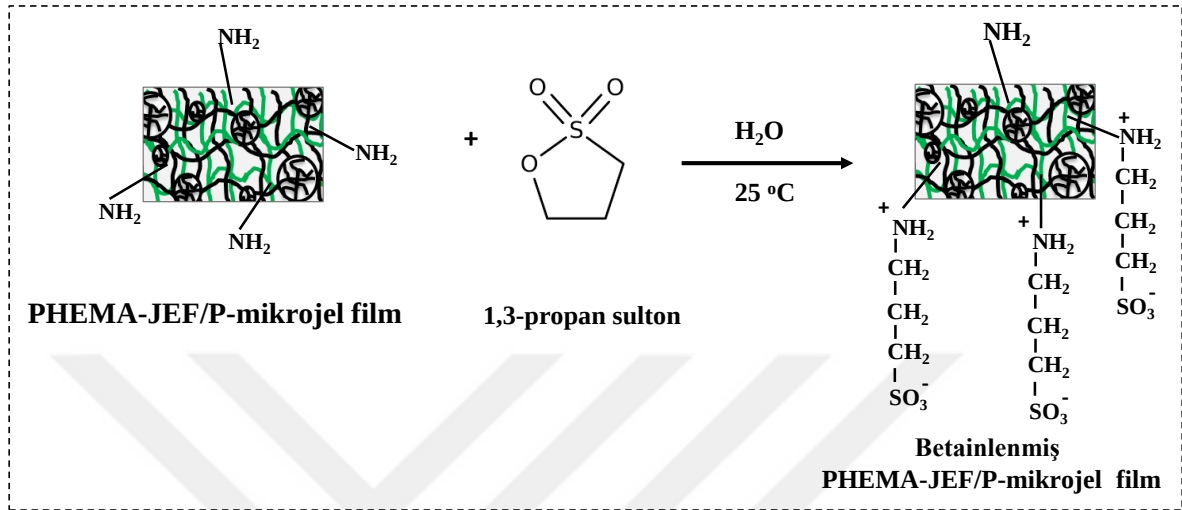
JEF filminin betainizasyonu: Santrifüj tüpüne 20 mL su, 80 mg 1,3-propan sulton eklenmiş ve vorteks ile karıştırılmıştır. Hazırlanan bu çözeltinin içine tartılan JEF hidrojel filmi (180 mg) aktarılmıştır. Tüp oda sıcaklığında bir gece boyunca roller ile karıştırılmaya bırakılmıştır. Betainizasyon işlemi tamamlandıktan sonra, filmler saf su ile iyice yıkanmış ve ardından 70 °C'deki bir etüvde kurutulmuştur. Kurutulan filmler karakterizasyon ve biyouyumluluk testleri için kapalı bir kaptaki muhafaza edilmiştir. JEF hidrojel filmin modifikasyon şeması Şekil 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.6. JEF hidrojel filminin betainlenmesi

PHEMA-JEF/P-mikrojel filminin betainizasyonu: Santrifüj tüpüne 20 mL su, 50 mg 1,3-propan sulton eklenmiş ve vorteks ile karıştırılmıştır. Hazırlanan bu çözeltinin içine tartılan PHEMA-JEF/P-mikrojel filmi (160 mg) aktarılmıştır. Tüp oda sıcaklığında bir gece boyunca roller ile karıştırılmaya bırakılmıştır. Betainizasyon işlemi tamamlandıktan sonra,

filmler saf su ile iyice yıkanmış ve ardından 70 °C’deki bir etüvde kurutulmuştur. Kurutulan filmler karakterizasyon ve biyouyumluluk testleri için kapalı bir kaptaki muhafaza edilmiştir. PHEMA-JEF/P-mikrojel filmin modifikasyon şeması Şekil 4.7’de verilmiştir.



Şekil 4.7. PHEMA-JEF/P-mikrojel filminin betainlenmesi

Hidrojel filmlerin antibakteriyel etkinliğini arttırmak için çeşitli işlemler uygulanmıştır. Bunlar hidrojel filmlerin protonlanması, antibakteriyel bir ilacın filme adsorbe edilmesi, filmlerin içerisinde metal nanopartikülleri hazırlayıp kompozit hidrojel film formunun oluşturulması şeklinde sayabiliriz.

Hazırlanan hidrojel filmlere, hidrojen klorür ile protonasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu protonasyon işlemi, hidrojin yapısındaki fonksiyonel grupların protonlanmasını sağlayarak, mikroorganizmaların hücre duvarlarına etki etme ve çoğalmalarını engelleme kapasitesini artırır. Bu nedenle, protonlanmış hidrojeller antibakteriyel aktivite testlerinde kullanılmıştır. Protonlanan yapının mikroorganizmalar üzerindeki etkisini değerlendirmek için yapılan testler, hidrojellerin potansiyel antibakteriyel özelliklerini ortaya koymayı amaçlamaktadır.

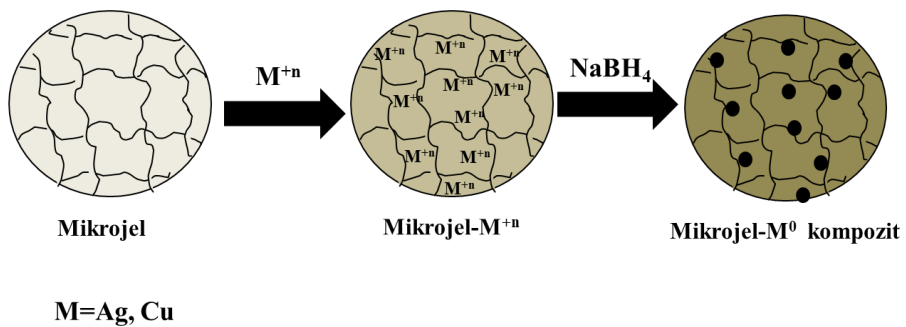
Antibakteriyel aktivite testlerinde kullanılmak üzere, hidrojellere 250 ppm ampisilin sodyum çözeltisi ile gece boyunca yüklenme işlemi uygulanmıştır. Yüklenme işleminin ardından, ilaç ile yüklenmiş hidrojeller ilaç çözeltisinden uzaklaştırılmış ve yıkanmıştır. Kurutulduktan sonra antibakteriyel testlerde kullanılmak üzere kapalı bir kaptaki muhafaza

edilmiştir. Ampisilin ile yüklenmiş hidrojellerin, enfekte olmuş yaraların tedavisinde potansiyel bir uygulama olarak değerlendirildiği ve antibiyotikğin doğrudan yara bölgesine verilmesini sağlayarak enfeksiyon riskini azaltabileceği düşünülmüştür.

4.6. Kompozit Hidrojel Hazırlanması

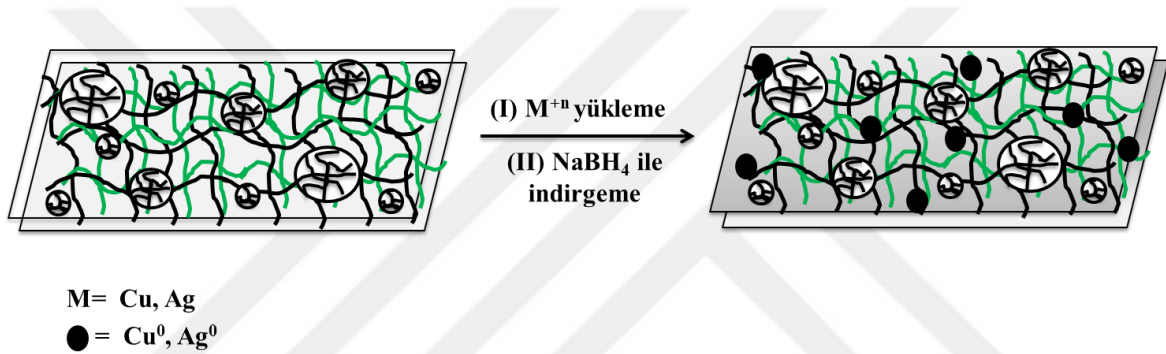
Sentezlenen mikrojel ve filmler metal nano partikül hazırlanmasında kalıp rolü görmüşlerdir. Sentezlenen hidrojellerin uygulama performansını artırmak için yapıya metal nanopartikülleri kazandırılarak kompozit hidrojeller hazırlanmıştır. Literatür araştırmalarından Ag ve Cu metal nanopartiküllerinin antibakteriyal etkisinin olduğu bilinmektedir. Bu tez çalışmasında optimize ettiğimiz polimerik mikrojel gömülü hidrojel filmleri ve mikrojelleri kalıp gibi kullanıp yerinde (*in situ*) Ag ve Cu içeren kompozit yapılar hazırlanmıştır.

M-PHMP kompozit mikrojel sentezi: PHMP mikrojeli belirli konsantrasyon (250 ppm, 30 mL) hazırlanmış sulu Ag^+ ve Cu^{+2} metal iyon çözeltileri ile etkileştirilerek kapalı bir kapta gece boyu karıştırılmaya bırakılmıştır. Metal iyon adsorplamış mikrojeller santrifüj edilerek dekantasyon ile katı kısım/metal yüklü mikrojel ayrılmıştır. Birkaç defa su ile yıkanıp santrifüj edilerek fazlalık metal iyonları uzaklaştırılmıştır. Sonra metal (Ag^+ , Cu^{+2}) yüklü PHMP mikrojel (M-PHMP) indirgeyici ajan $NaBH_4$ içeren sulu çözelti ile muamele edilmiştir. Bu aşamada mikrojelin adsorpladığı Ag^+ ve Cu^{+2} metal iyonlarının Ag^0 ve Cu^0 formuna dönüşümünü sağlanmıştır. PHMP mikrojelin içinde metal nanopartikül sentezinin şematik gösterimi Şekil 4.8’de verilmiştir.



Şekil 4.8. M-PHMP kompozit mikrojelin sentez şeması

PHEMA-JEF/P-mikrojel kompozit hidrojel film sentezi: Mikrojel gömülü hidrojel filmi belirli derişimde (250 ppm, 30 mL) hazırlanmış sulu Ag^+ ve Cu^{+2} metal iyon çözeltileri ile etkileştirilerek kapalı bir kapta gece boyu rollerda karıştırılmaya bırakılmıştır. Yükleme sonrası metal iyon adsorplamış PHEMA-JEF/P-mikrojel film adi süzgeç kağıdı ile süzülerek metal çözeltisinden ayrılmıştır. Ayılan bu metal yüklü filmler saf su ile yıkanmıştır. Sonra indirgeyici ajan NaBH_4 içeren sulu çözeltisinin içine daldırılmıştır. Ag^+ ve Cu^{+2} metal iyonlarının Ag^0 ve Cu^0 formuna dönüşümünü sağlanmıştır. Böylece adsorbe oldukları yerde metal nanopartiküllerin oluşumu ile M-PHMP-JEF/P-mikrojel kompozit film hazırlanmıştır. PHMP-JEF/P-mikrojel hidrojel film içinde metal nanopartikül sentezinin şematik gösterimi Şekil 4.9’da verilmiştir.



Şekil 4.9. PHEMA-JEF/P-mikrojel kompozit filmin sentez şeması

Her iki kompozit yapı freeze dryer’da 48 saat boyunca kurutulmuş TEM analizi ve antibakteriyel aktivite testinde kullanmak için kapalı bir kapta saklanmıştır.

4.7. Biyomedikal Uygulamalar

Yara örtü malzemeleri, biyomedikal uygulamalarda yara iyileşmesini ve hastaların iyileşme süreçlerini desteklemek için önemli rol oynamaktadır. İdeal yara örtü malzemelerinden biri olan hidrojeller, yaraların nemli bir ortamda kalmasını sağlar. Antibakteriyel özellikler yara üzerinde bakterilerin büyümesini engeller. Bu, özellikler yaralar için büyük öneme sahiptir. Biyouyumluluk testleri, hidrojellerin toksik olup olmadığını ve istenmeyen bir reaksiyon yaratıp yaratmadığını belirlemek amacıyla gerçekleştirilir. İlaç salımı, biyomedikal uygulamalarda hastalıkları tedavi etme, amacıyla kullanılan bir tekniktir. Yara örtü malzemesi olan bu tez çalışmasında hazırlanan hidrojel

filmler ve PHMP mikrojel *in-vitro* ilaç salımı, biyouyumluluk, antimikrobiyal etki, biyobozunurluk gibi biyomedikal uygulamalarda kullanımları araştırılmıştır.

4.7.1. İlaç yükleme ve *in-vitro* salım çalışmaları

Kontrollü ilaç salım çalışması için sodyum diklofenak (SDF, $\lambda_{\max}=276$ nm) ve trimetoprim (TMP, $\lambda_{\max}=280$ nm) model ilaçları kullanılmıştır. Her iki ilacında su ortamında 300 ppm stok çözeltisi hazırlanmıştır. Belirli ağırlıktaki hidrojel filmler ve PHMP mikrojel 40 mL ilaç çözeltisi içinde 200 rpm'de gece boyu yüklenmeye bırakılmıştır. Yükleme yapılan stok ilaç çözeltisinden referans okuması için örnek alınmıştır. Yüklenen ilaç miktarının mg ilaç/g hidrojel şeklinde hesaplanması için yükleme ortamı olan suda çözünmüş ilaçlardan ayrı ayrı kalibrasyon hazırlanmıştır. Yükleme süresinin sonunda hidrojel filmleri içeren ilaç çözeltisinden numuneler alınmıştır. Sonra ilaç yüklü hidrojel filmler ortamdan ayrılarak 2 defa saf su ile yıkanmıştır. İlaç yüklü mikrojel için ise önce santrifüj yapılmış ve süpernatanttan numune alınmıştır, kalan kısım dekantasyon ile ayrılarak mikrojel yıkanıp tekrar santrifüj yapılmıştır. İlaç yüklü makro-mikro hidrojeller salım çalışması için etüvde kurutulmuştur. Yüklenen ilaç miktarları kalibrasyon grafiği yardımı ile hesaplanmış değerler sonuç kısmında tablo şeklinde verilmiştir.

Kuruyan ilaç yüklü hidrojeller ve PHMP mikrojel üç tekrarlı olacak şekilde tartılmıştır ve önceden aktive ettiğimiz diyaliz membranın içine yerleştirilmiştir. Her bir membrana 2 mL pH 7,4 olan PBS ilave edilmiş ve membranların ağzı klips ile kapatılmıştır. Daha sonra membran 98 mL PBS bulunan kapalı bir kap içine yerleştirilmiştir ($V_T=100$ mL). Salım çalışması oda sıcaklığında 150-200 rpm karıştırma hızında gerçekleştirilmiştir. Belirli zaman aralıklarında salım ortamından alınan numuneler ilgili dalga boyunda ölçülerek absorbanslar kaydedilmiştir. Salım miktarının hesaplanması için pH 7,4 PBS ortamında her iki ilaç için kalibrasyon grafiği çizilmiş ve denklemler not edilmiştir. Bu denklemlerden yararlanılarak salım ortamının konsantrasyonu buradan da salınan miktarlar hesaplanmıştır. En son elde edilen değerler mg ilaç/g hidrojel olarak zamana karşı grafiğe geçirilmiştir.

4.7.2. Biyouyumluk testi

Hazırlanan PHMP mikrojel, JEF, PHEMA hidrojel filmler, mikrojel katkılı PHEMA-JEF/P-mikrojel filmler ve betainlenmiş filmler için sitotoksosite çalışmaları 3T3 hücre serisi kullanarak yapılmıştır. Tüm hücre hatları %70-80 konfluensiye ulaştıktan sonra zeminden tripsin ile uzaklaştırıldı. Sonrasında %10 FBS içeren tam besiyeri ile tripsin inaktifleştirildi ve hücreler 10^4 hücre/kuyucuk konsantrasyonunda kuyulara ekilmiştir. Kuyularda hücreler 24 saat inkübe edildikten sonra test materyalleri ile aynı kuyucukta analiz edilmiştir.

Yara örtü materyallerinin analizi konusunda ISO 10993:12 standartının önerdiği şekilde materyallerden ekstraksiyon yapılmıştır. Ekstraksiyon için kullanılacak materyalin yüzey alanına 0,33 mL besiyeri olacak şekilde besiyeri ile muamale edilmiştir. Kullanılan besiyeri içeriğinde DMEM-HG +%10 FBS+ %1 L-Glutamine + %1 penicillin-streptomycin bulunmaktadır. Örnek ile besiyeri birleştirildikten sonra 37 °C sıcaklık ve %95 nem içeren CO₂ inkübatöründe 24 saat ekstraksiyon yapılmıştır. Elde edilen ekstraksiyon materyal kalıntılarından uzaklaştırılmak için 300 xg'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Tüpün üstünde kalan sıvı kullanılarak hücre kültür kaplarına ekstraksiyon sıvısı %100, %50, %25, %12,5 ve % 6,25 olacak şekilde eklenerek 37 °C sıcaklık ve %95 nem içeren CO₂ inkübatöründe 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda %10 WST-1 solusyonu besiyerine eklenerek 2 saat daha inkübe edilmiş ve elde edilen sonuçlar aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{Hücre Canlılığı (\%)} = \frac{Abs_{450(test)} - Abs_{450(blank)}}{Abs_{450(neg)} - Abs_{450(blank)}} * 100$$

4.7.3. Antibakteriyel aktivite testi

PHEMA, JEF, JEF-HCl, PHEMA-JEF/P-mikrojel, Ag ve Cu içeren filmler ve ilaç yüklü IPN film için antimikrobiyal aktivite testleri Gram pozitif *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) mikroorganizmalarına karşı disk difüzyon tekniği ile yapılmıştır.

200 ml besiyeri hazırlamak için 3,0 g MHA ve 4,2 g MHB toz kullanılmıştır. Düşük sıcaklıkta tozun sıvının içinde tamamen çözülmesini sağlanmıştır. Hazırlanan karışım steril

petrilere dökölüp otoklavda 121 °C'de 15 dk sterilize edilmiştir. Petri kaplarını oda sıcaklığında bırakıp besiyerinin katılaşması beklenmiştir. Kontaminasyon riskini en aza indirmek için katılaştıran besiyerine mikroorganizmaların inokülasyonu bir gün sonra gerçekleştirilmiştir. 0,5 McF ayarlanan besiyerinden 100 µL alıp yayma plak yöntemi ile petrilere ekilmiştir. Uv kabin ile steril edilen hidrojel filmler serum fizyolojik (SF, %0,9 NaCl) içinde ıslatılarak besiyeri üzerine ekilmiştir. Ortam 37 °C'de, 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucu oluşan disk etrafındaki zone çapı ölçülmüş ve sonuçlar "mm" olarak verilmiştir. Ampisilin antibiyotiği pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Bütün deneyler iki tekrarlı olarak yapılmıştır.

4.7.4. *In-vitro* degradesyon testi

PHEMA-JEF/P-mikrojel filmi için hızlandırılmış biyobozunurluk testi yapılmıştır. Test ATSM F-1635 ve TS EN ISO 10993-13 standartına göre olup sabit 70 mg'lık bir kütle alınarak deney yapılmıştır. Hidrojel film numunesi 50 mL hacimli santrifüj tüpü içerisine konulmuştur. Üzerine pH 7,4 ayarlanmış 30 mL PBS eklenmiştir. Numuneler 70 °C'de 1.gün, 5.gün, 6.gün, 7.gün ve 12.gün olmak üzere kalan kütleler ölçülmek üzere inkübe edilmiştir. 1, 5, 6, 7, 12. gün sonunda PBS içinden filmler süzme yöntemi ile çıkarılarak 24 saat boyunca 70 °C etüvde kurutulmuştur. Kuru örnekler 0,1 mg hassasiyette terazi ile tartılarak hesaplamalar yapılmıştır. Hidrojel filmin degradesyon yüzdeleri aşağıdaki denklemden hesaplanmıştır.

$$W_L\% = (W_0 - W_r) / W_0 \times 100$$

W_L : Degredasyon miktarı

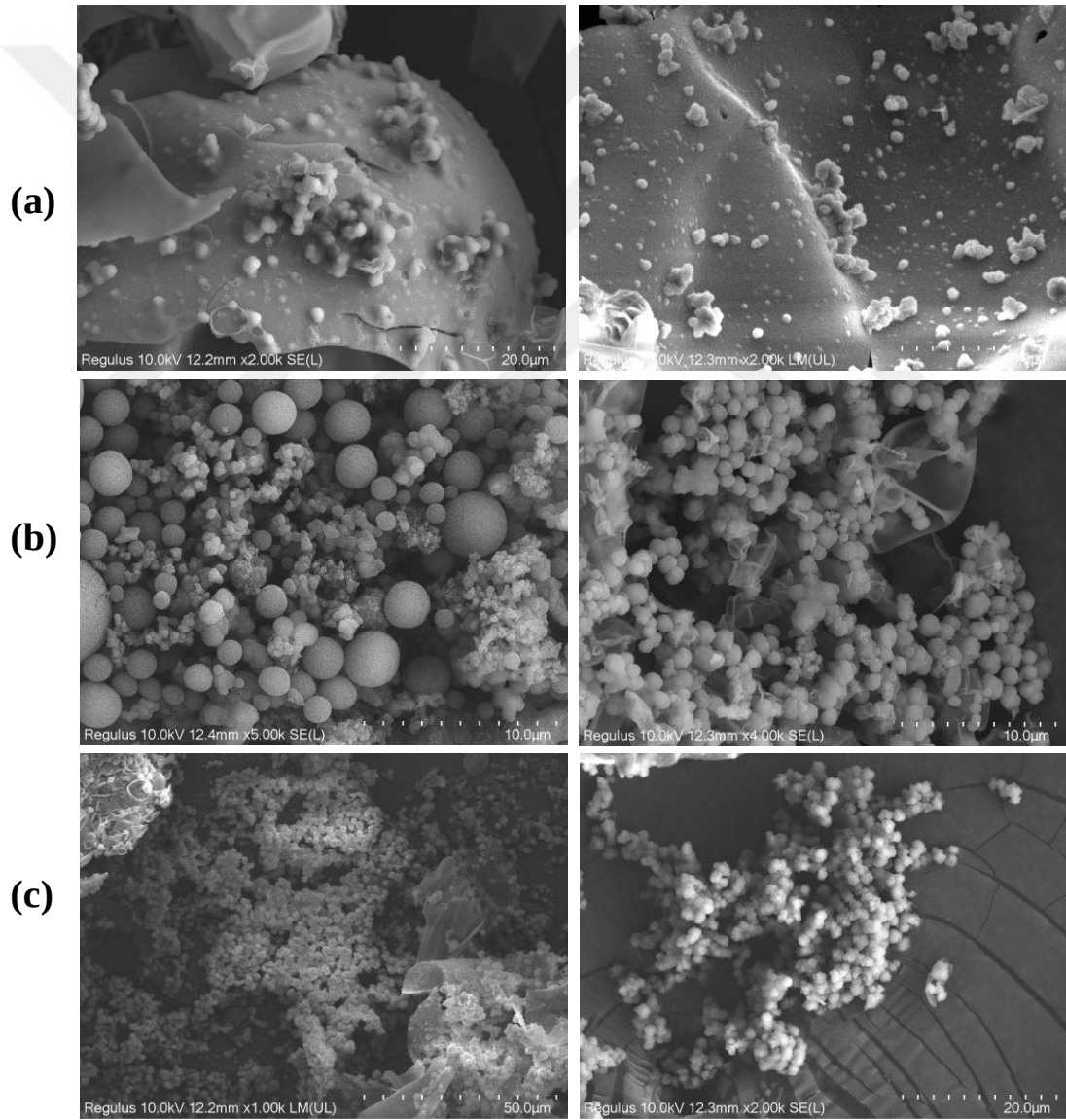
W_0 : İlk ağırlık

W_r : Kuru ağırlık

5. BULGULAR VE TARTIŞMA

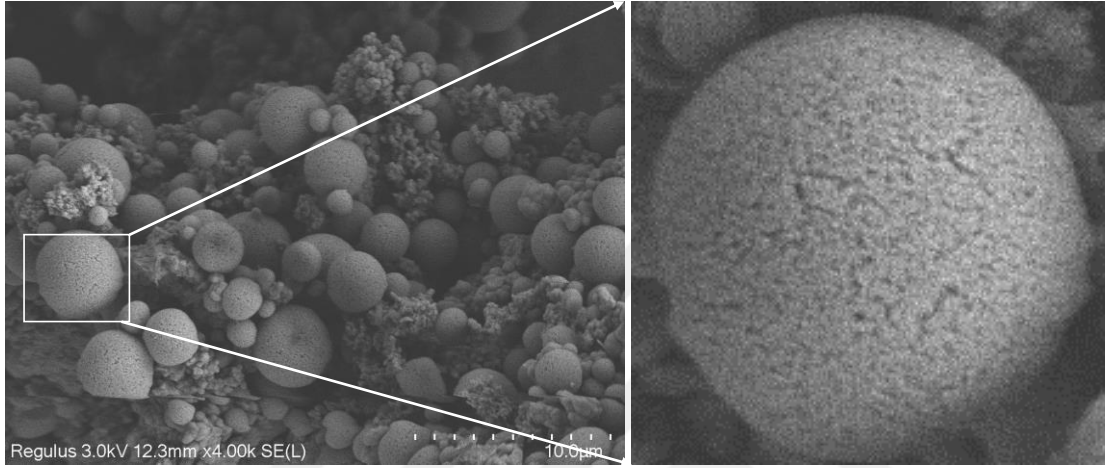
5.1. Fosfat Bazlı Mikrojel Karakterizasyonu

Bu tez çalışmasında süspansiyon polimerizasyonu ile HMP ester kullanılarak PHMP mikrojel başarılı bir şekilde sentezlenmiştir. Sentez için üç farklı HMP oranı kullanılmıştır. HMP ester/su oranı 0,01-0,02-0,03 kullanılarak mikrojel sentezi yapılmış ve SEM görüntüleri Şekil 5.1’de gösterilmiştir.



Şekil 5.1. PHMP mikrojellerinin SEM görüntüleri (HMP ester/su oranı; (a) 0,01 (b) 0,02 (c) 0,03)

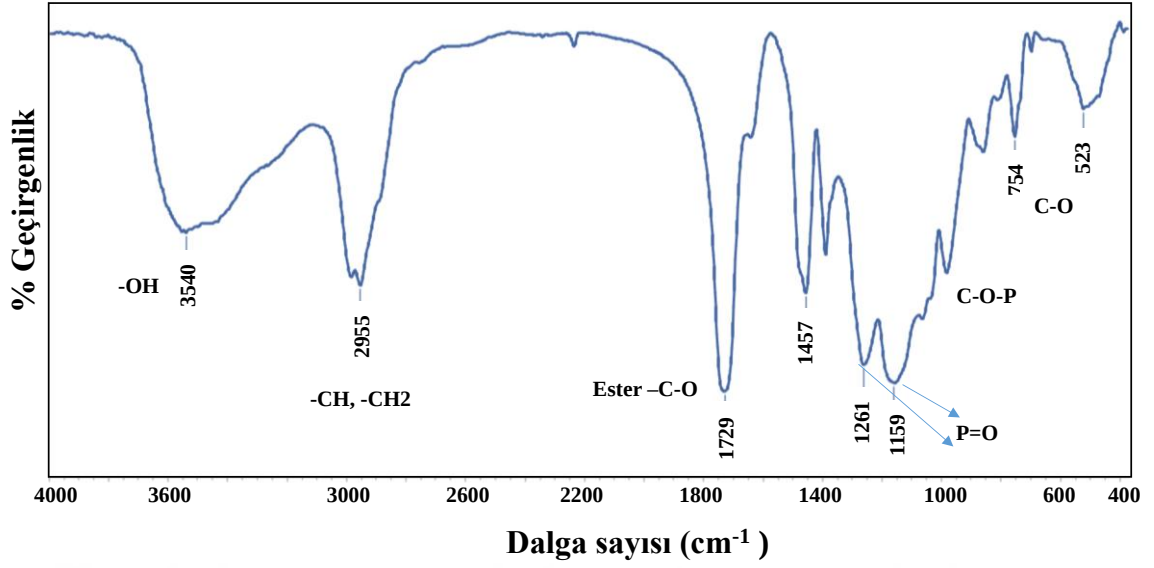
SEM analizlerinden mikrojellerde yüzeyaktif madde kalıntısı olduğu görülmüş ve mikrojeller tekrar sıcak su ile yıkanmıştır. Her üç reaksiyonda por ajanı olarak toluen kullanılmıştır ve bu sayede yüzey alanının artması sağlanmıştır. Mikrojel yapılarının SEM görüntülerine bakıldığında küresel şekilde oldukları ve yüzeye yaklaşıldığında gözenekli yapıda oldukları görülmüştür (Şekil 5.2).



Şekil 5.2. PHMP mikrojelinin farklı büyütmelerde SEM görüntüsü

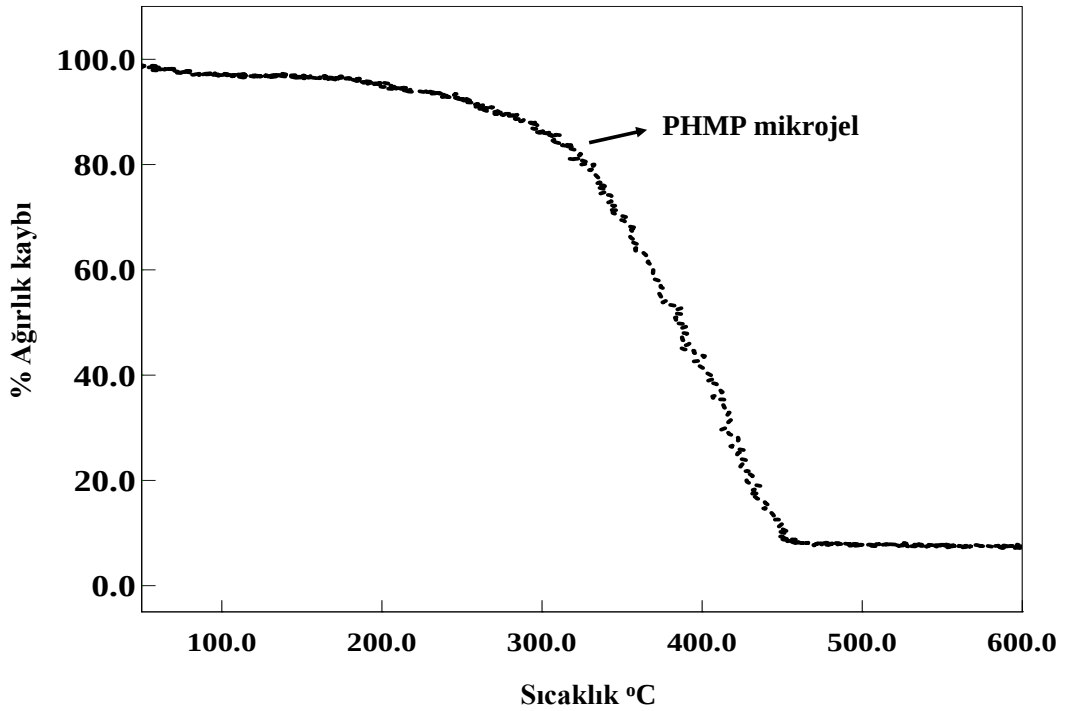
Ortamdaki monomer miktarının artması ile mikrojel boyutunun arttığı görülmüştür. HMP ester/su oranı 0,02 olan reaksiyon veriminin sentezlenen diğer mikrojellere göre yüksek olması ve SEM görüntülerinden görüldüğü üzere boyut dağılımı daha iyi olduğundan seri üretim için tercih edilmiştir.

PHMP mikrojelinin FTIR analizi yapılarak polimerizasyon ve çapraz bağlanma kontrol edilmiştir. Şekil 5.3'te verilen FTIR spektrumunda, fosfat estere ait karakteristik pikler görülmektedir. Genel olarak, P = O bağının piki 1261 cm^{-1} ve 1159 cm^{-1} de ortaya çıkmıştır. 1065 cm^{-1} ve 983 cm^{-1} 'deki pikler C-O-P'ye aittir. 3540 cm^{-1} 'de hidrojen bağları (O-H) gerilmesine işaret eden pik olarak söyleyebiliriz. $2985\text{-}2955\text{ cm}^{-1}$ piki -CH, -CH₂, 1729 cm^{-1} de gelen belirgin pik ester C=O'ya aittir. Fosfat esterde, fosforik asite 2-3 kollu HEMA dallanması vardır. Monomerde olan C=C çift bağı 1600 cm^{-1} dolaylarında olduğu ve mikrojel spektrumunda çift bağ şiddetinin çok az olduğu görülmektedir.



Şekil 5.3. PHMP mikrojelinin FTIR spektrumu

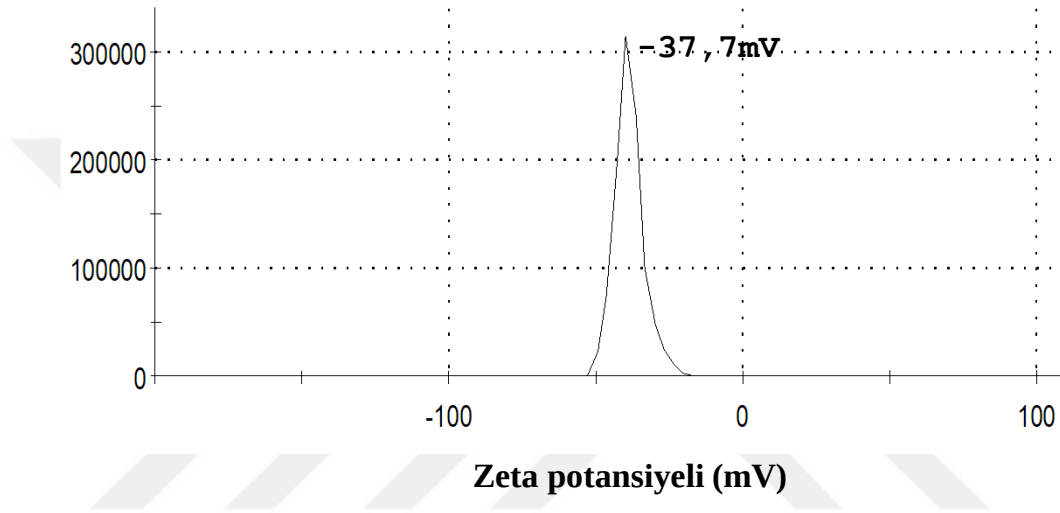
Seri üretimi yapılan PHMP mikrojelinin termal bozunması, azot atmosferi altında 50-600 °C sıcaklık aralığında incelenmiştir. Bu analiz sonucunda, Şekil 5.4' te gösterilen termogram elde edilmiştir. Termograma göre PHMP mikrojelinin iki bozunma noktası gösterdiğini ve ana bozunmanın 300-450 °C aralığında olduğunu söyleyebiliriz.



Şekil 5.4. PHMP mikrojelinin TGA eğrisi.

İlk bozunma noktası, yaklaşık 290 °C'de meydana gelmiş olup, bu sıcaklıkta %12'lik bir ağırlık kaybı hesaplanmıştır. İkinci bozunma noktası ise 300-450 °C civarında gerçekleşmiş ve bu aşamada yaklaşık %80' e yakın bir kütle kaybı kaydedilmiştir. Kalıntı miktarı ise 600 °C'de %1,7 olarak tespit edilmiştir.

PHMP mikrojelinin 25 °C'de 1,0 mM KCl sulu çözeltisinde ZP değeri -37,7 mV ölçülmüştür (Şekil 5.5).



Şekil 5.5. PHMP mikrojelinin zeta potansiyeli ölçüm sonucu

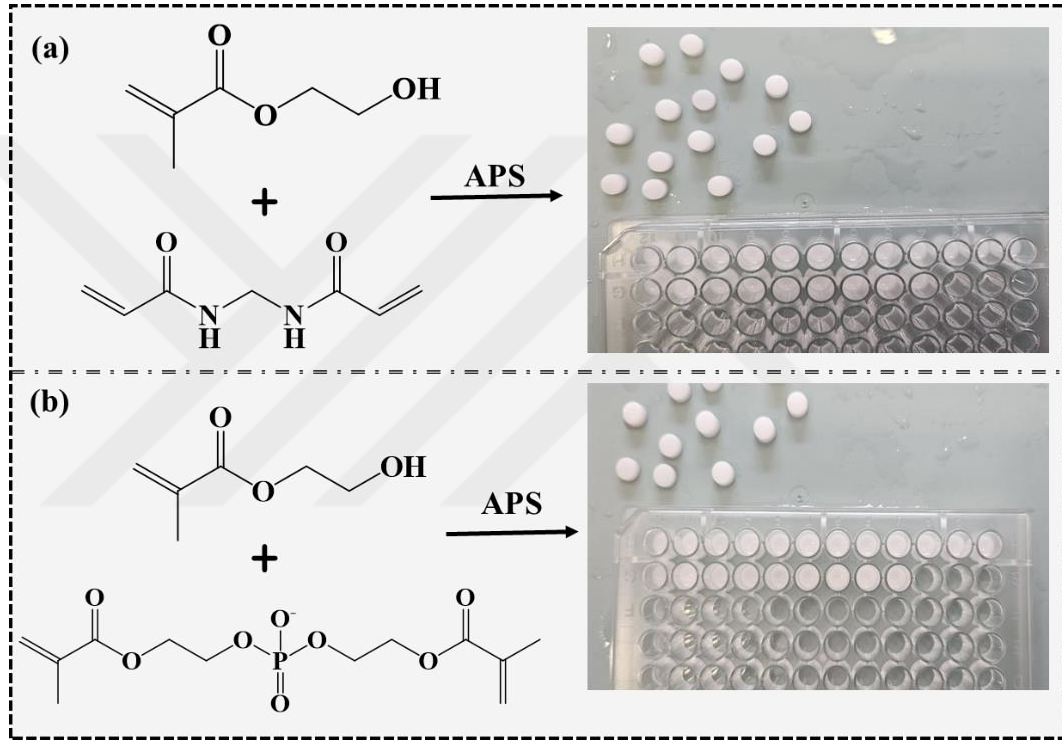
Zeta potansiyeli bize yüzey yük yoğunluğu ile ilgili bilgi verir. Bu çalışmada mikrojeli katkılatacağımız ortam ile etkileşimi ve uygulamalarda performansı konusunda yorum yapabiliriz.

5.2. Hidrojel Filmlerin Karakterizasyonu

Serbest radikal polimerizasyonu ve kondenzason polimerizasyonu teknikleri kullanılarak PHEMA, JEF, PHEMA-JEF, PHEMA-JEF/P-mikrojel filmler sentezlenmiş ve sentezlenen filmlere farklı teknikler kullanılarak karakterize edilmiştir.

5.2.1. PHEMA hidrojel filmler

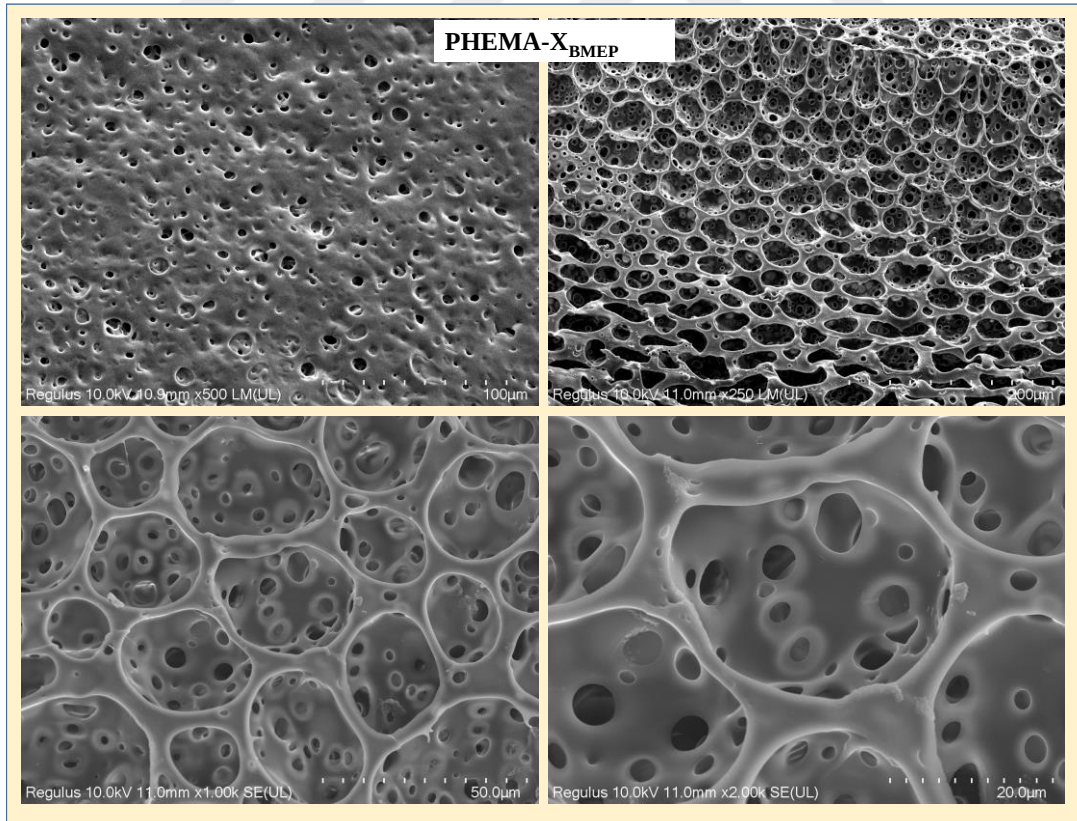
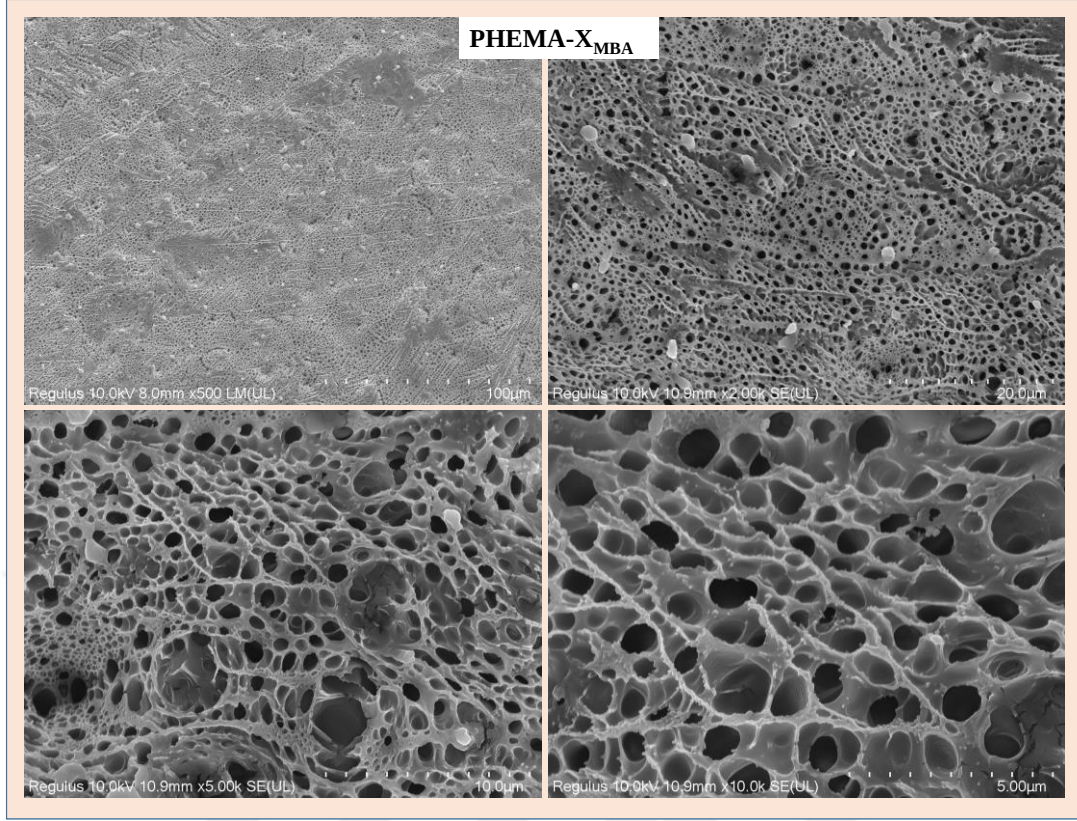
PHEMA hidrojel filmleri, serbest radikal polimerizasyon yöntemi kullanılarak MBA ve BMEP gibi iki farklı çapraz bağlayıcı kullanılarak sentezlenmiştir. Polimerizasyon işlemi, 96 kuyulu bir plastik kap içinde gerçekleştirilmiş olup, filmler bu ortamda polimerleşmeye bırakılmıştır. Şekil 5.6' da sentez şeması polimerik filmlerin dijital fotoğrafları ile birlikte verilmiştir.



Şekil 5.6. PHEMA hidrojellerinin sentez şeması

Polimerizasyon sonrası PHEMA hidrojeller kuyucuklu plastik kaptan kolaylıkla çıkmıştır. Bu hidrojellerin farklı kalınlıkta filmleri de hazırlanmıştır. Hazırlanan her iki hidrojel elastik ve yüzey tutunması oldukça iyi olduğu gözlemlenmiştir. Yıkama sonrası hidrojeller freeze dryer'da kurutulmuştur.

PHEMA hidrojel filmlerin yüzey morfolojisi, gözenekleri, homojenitesi vb için SEM analizi yapılmıştır. MBA ile ve BMEP ile çapraz bağlı PHEMA filmlerin farklı büyütme ölçeklerinde çekilen SEM görüntüleri Şekil 5.7 'de verilmiştir.



Şekil 5.7. MBA ve BMEP ile çapraz bağlı PHEMA hidrojellerinin SEM görüntüleri

Her iki numuneye ait SEM görüntüsü de hidrojenlerin yüzeyinde makro ölçekli gözeneklerin mevcut olduğu ve bu gözeneklerin homojen dağıldığı görülmektedir. Çapraz bağlayıcı farkına bakacak olursak; MBA ile çapraz bağlı PHEMA filmin gözenek boyutu BMPEP ile çapraz bağlıya göre daha küçük olduğu ve BMPEP ile çapraz bağlı olanın yüzeyinin yakın çekimden anlaşılacağı üzere daha pürüzsüz olduğunu söyleyebiliriz.

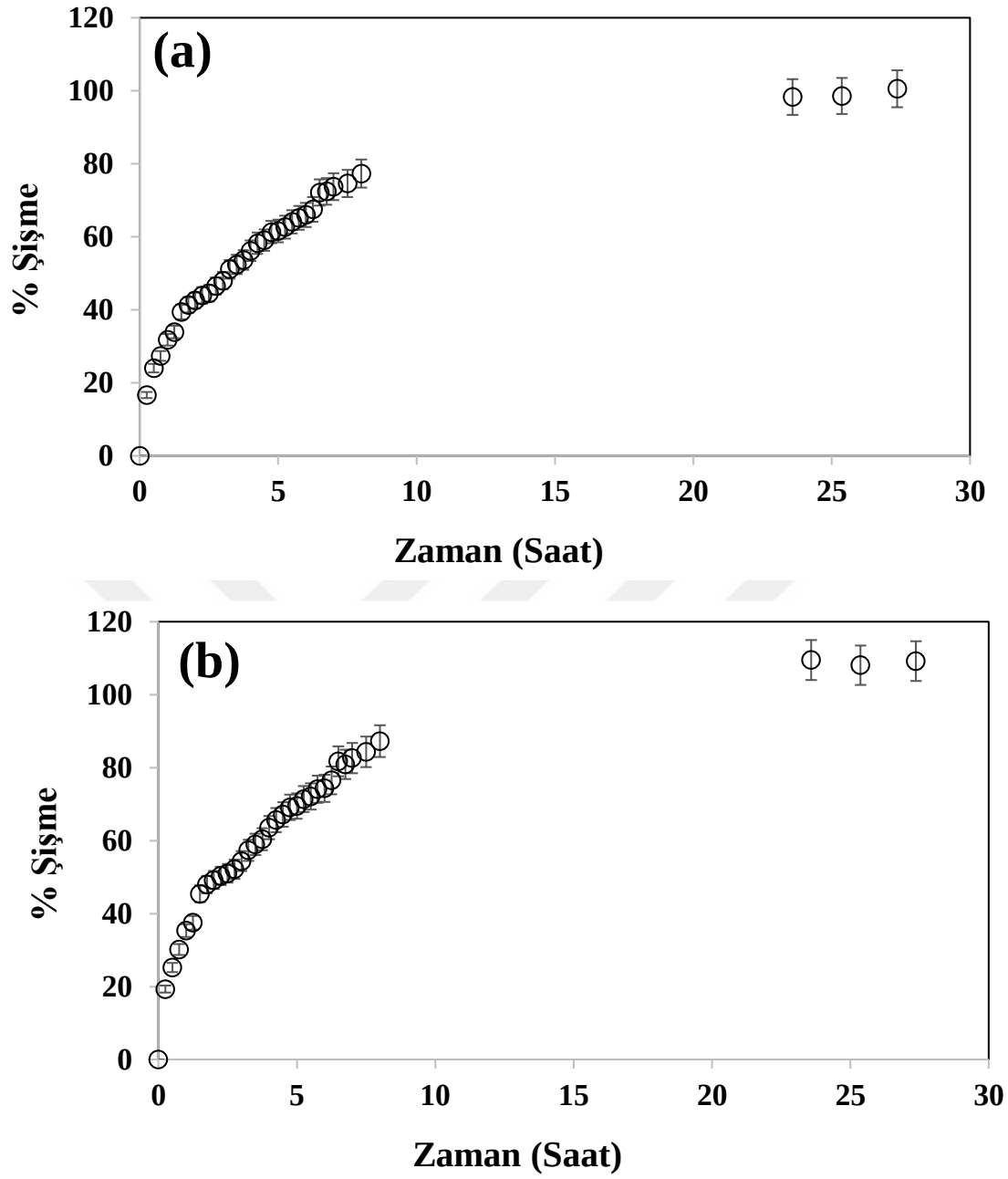
Hidrojenlerin su alma kapasitelerinin tespiti için zamana bağlı % şişme değerleri belirlenmiştir. Şişme testinde etüvde kurutulan filmler kullanılmıştır. Şişme testi üç tekrarlı olup sonuçlar ortalama değer ile verilmiştir. Kurutulan hidrojenlerin ilk tartımları alındıktan sonra, 50 mL saf su ile doldurulmuş beherlere yerleştirilmiştir. Belirli zaman aralıklarında ortamdan alınan hidrojenler tartılmış ve tekrar şişme ortamına bırakılmıştır. Şişme testi hidrojenler denge şişme değerine ulaşmaya kadar devam etmiştir. Hidrojenlerin yüzde şişme değeri Denklem 1 ile hesaplanmış ve excel’de grafiği çizilmiştir.

$$\% \text{ Şişme} = (m_s - m_k) / m_k * 100$$

m_k - hidrojenin kuru ağırlığı

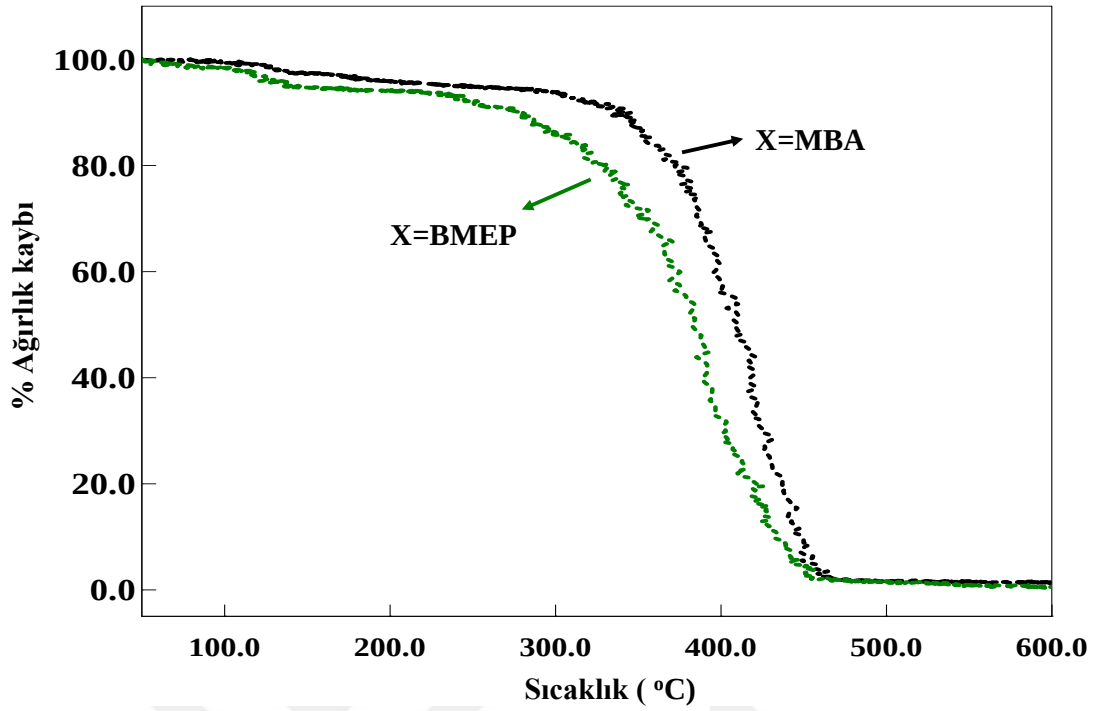
m_s – hidrojenin t anında şişmiş ağırlığı

MBA (a) ve BMPEP (b) kullanılarak sentezlenen PHEMA hidrojel filmlerin zamana bağlı % şişme grafikleri hazırlanmıştır (Şekil 5.8). Hidrojenin şişme oranı, ilaçların difüzyonunu büyük ölçüde etkileyen salım kinetiğiyle yakından ilişkilidir. Hidrojenler hedef bölgelere yoğun miktarda ilaç taşımaya ve ilaçları difüzyon, şişme, kimyasal kontrol veya uyarılar yoluyla salmasına olanak tanır. Her iki hidrojel film yaklaşık 8 saat su alma kapasitesi düzenli artarken MBA ile bağlı olan hidrojenin şişme yüzdesi %77, BMPEP ile bağlı olanın ise %87 olduğu görülmüştür. 24 saat sonra ise dengeye gelmiş olan hidrojel filmlerin maksimum şişme değerleri MBA ve BMPEP bağlı için sırasıyla %98 ve %108 dir. Burada her iki filmde monomerimiz aynı (HEMA) olduğundan ve çapraz bağlayıcı molları da aynı olduğundan şişme kapasiteleri arası ciddi fark görünmemektedir. Çapraz bağlayıcı miktarları değiştirilerek şişme değerleri kontrol edilebilmektedir.



Şekil 5.8. (a) MBA ile çapraz bağlı PHEMA, (b) BMEP ile çapraz bağlı PHEMA hidrojenlerinin % şişme grafiği

İki farklı çapraz bağlayıcı ile sentezlenmiş PHEMA hidrojeninin termal bozunması, N_2 atmosferi altında 50-600 °C sıcaklık aralığında incelenmiştir. Bu analiz sonucunda elde edilen termogramlar birlikte Şekil 5.9' da verilmiştir.

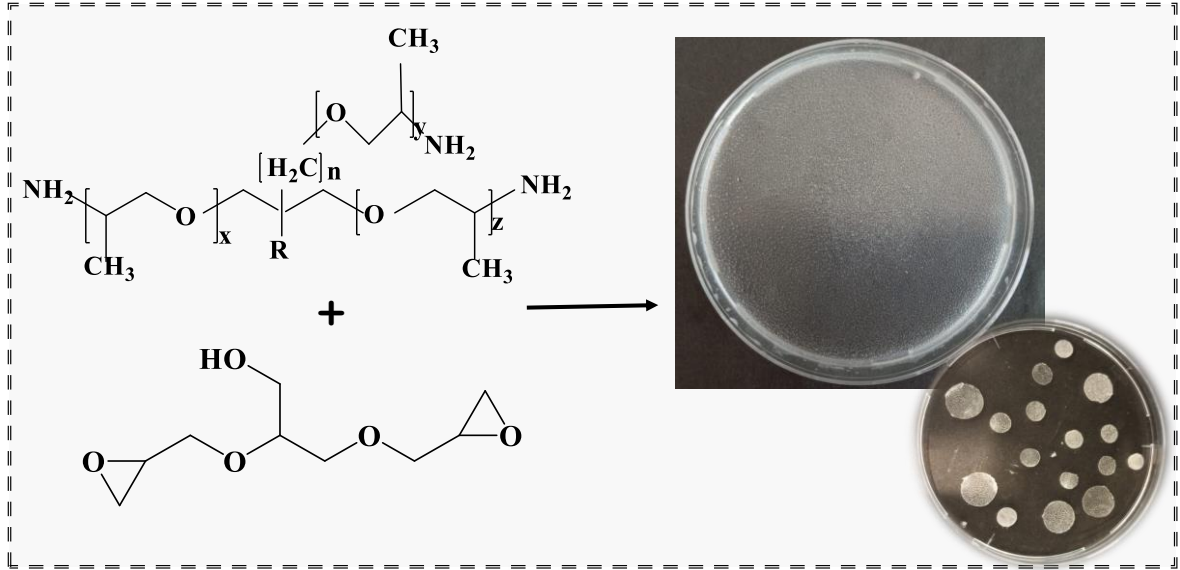


Şekil 5.9. PHEMA hidrojel filmlerin TGA eğrileri

Termograma bakıldığında her ikisi için de 280-470 °C'de bir ana bozunma görünmektedir. MBA ile bağlı PHEMA hidroجلي için 300-470 °C'de % 85 kütle kaybı hesaplanmış ve 600 °C'de kalıntı miktarı %1,8 olarak ölçülmüştür. BMEP ile bağlı PHEMA hidroجلي için ise 280-460 °C'de gözlemlenmiş ve %75 oranında kütle kaybı tespit edilmiştir. Bu durumda, 600 °C'de kalıntı miktarı %1,5 olarak ölçülmüştür. Bu durumda MBA ile çapraz bağlı PHEMA hidrojel filmin termal dayanımının daha iyi olduğunu söyleyebiliriz.

5.2.2. JEF hidrojel filmin karakterizasyonu

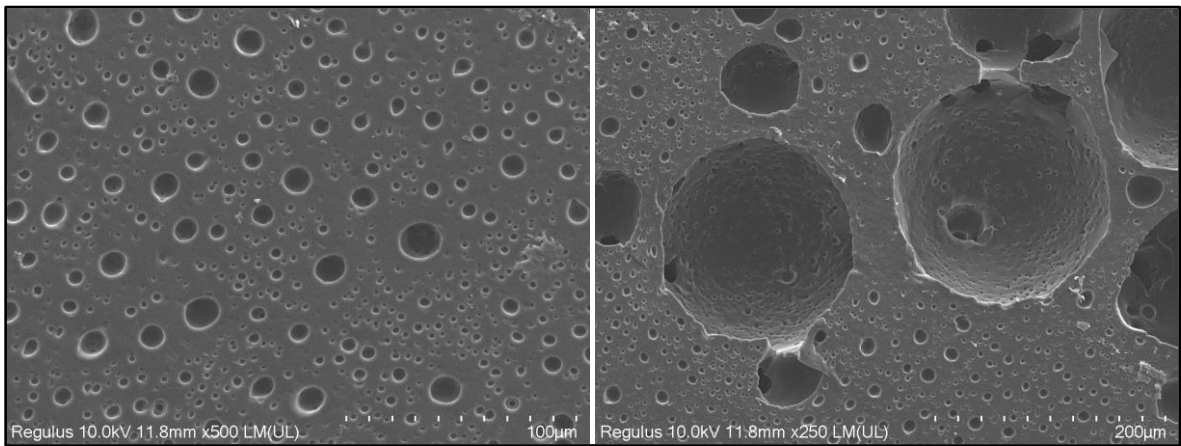
Kondenzasyon polimerizasyon tekniği kullanılarak jeffamin epoksi bir çapraz bağlayıcı olan GDE ile bağlanması sonucu JEF hidrojel filmi hazırlanmıştır. GDE üç farklı oranda kullanılmıştır. Polimerizasyon işlemi, petrilerde ve 50 °C'de etüvde gerçekleştirilmiştir. Polimerizasyonu hızlandırmak ve faz ayrımını engellemek için petriye aktarılan polimer öncü karışım etüve alınmıştır. Şekil 5.10' da sentez şeması polimerik filmin dijital fotoğrafı ile birlikte verilmiştir.



Şekil 5.10. JEF hidrojjellerinin sentez şeması

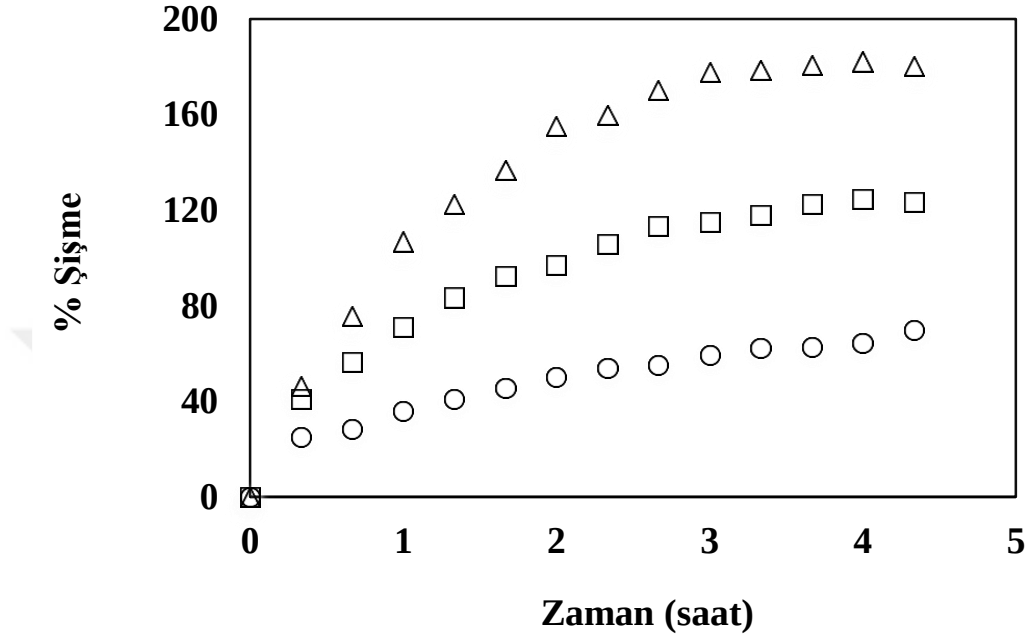
Polimerizasyon sonrası filmler küçük daireler şeklinde kesilmiştir. JEF filminin PHEMA filmine göre daha yapışkan ve daha elastik bir yapıda olduğu görülmüştür. Yara örtü malzemesi için deri yüzeyine tutunma istenen bir durumdur.

JEF hidrojel filmlerin yüzey morfolojilerini incelemek için SEM analizi yapılmıştır. Farklı büyütmelerde çekilen SEM görüntüleri Şekil 5.11 'de verilmiştir. JEF hidrojel filminde makro/mikro gözenekler ile düzenli porlar görülmüştür.



Şekil 5.11. JEF hidrojel filmin SEM görüntüsü (JEF-02)

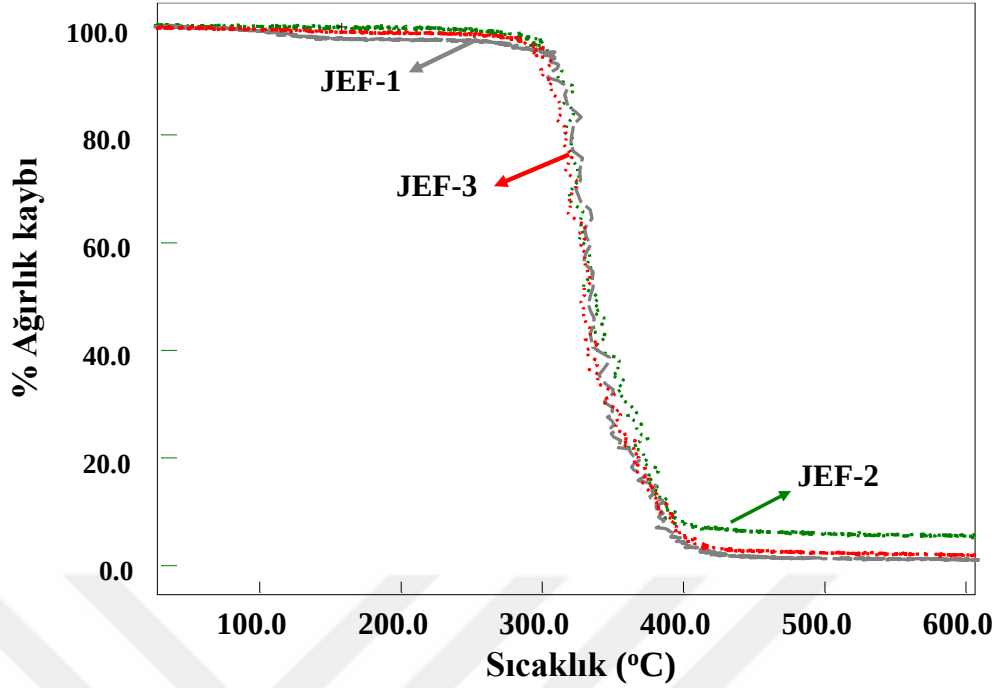
Bölüm 5.2.2. de detayları verilen JEF-1, JEF-2 ve JEF-3 kodlu hidrojel filmlerin zamana bağlı % şişme değerleri kaydedilmiştir. Hidrojelin su alma/tutma kapasitesi % şişme değerleri olarak karşılaştırılmıştır (Şekil 5.12).



Şekil 5.12. JEF hidrojellerinin % şişme&zaman grafiği ((Δ-JEF1, □-JEF2, O-JF3))

JEF hidrojel filmin hazırlanmasında kullanılan GDE miktarı $JEF-1 < JEF-2 < JEF-3$ şeklindedir. Grafik bize çapraz bağlayıcının miktarının artması ile % şişme değeri arasında ters orantı olduğunu göstermektedir. Yaklaşık 5 saatliş verilere göre % şişme değerleri JEF-1, JEF-2 ve JEF-3 için sırası ile %180, %123 ve %70 olarak hesaplanmıştır. Bu filmler PHEMA kadar mekanik dayanıma sahip değildir. Özellikle maksimum suyu bünyesine aldığı anda kopmalar gözlenmektedir. Jeffamin yapısında $-NH_2$ içerdiğinden pH duyarlı bir film elde edilmiştir. JEF filmi asidik ortamda protonlanarak çok kısa sürede ciddi bir hacimsel artış gösterip parçalanmaya başlarken bazik ortamda küçülme gözlenmiştir.

JEF hidrojel filmin termal davranışını incelemek için numune 15 derecelik artış ile N_2 atmosferinde 50-600 °C aralığında kütle değişimi incelenmiştir. Sıcaklık artışı hidrojel filmin parçalanma sürecini başlatır ve bu süreçte kütle kaybı meydana gelir. Hidrojellerin TGA analizleri yapılmış ve Şekil 5.13'te gösterilmiştir. Tüm numuneler 300-400 °C arasında bir ana bozunma noktasına sahip olduğu görülmüştür.

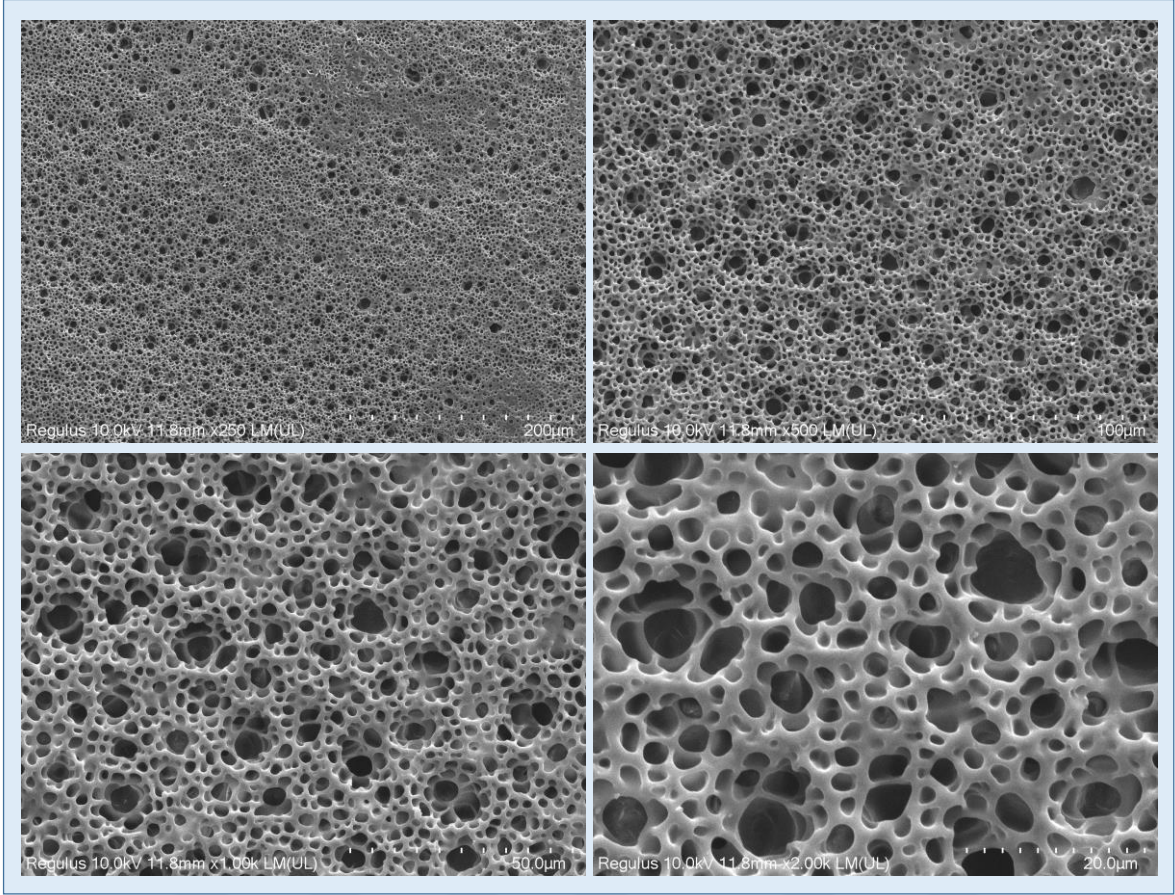


Şekil 5.13. JEF hidrojel filmlerin TGA eğrileri.

Bu üç farklı miktarda çapraz bağlayıcı kullanımı JEF filminin termal dayanımında çok fark yaratmamıştır. Ana bozunma noktasında (300-400 °C) yaklaşık %80 kütle kaybı hesaplanmıştır. Kalıntı miktarı en fazla %3,5 ile JEF-2'ye aittir. JEF-2 için seri üretim yapılmış ve çalışma JEF-2 reçetesi ile devam etmiştir.

5.2.3. PHEMA-JEF hidrojel filmin karakterizasyonu

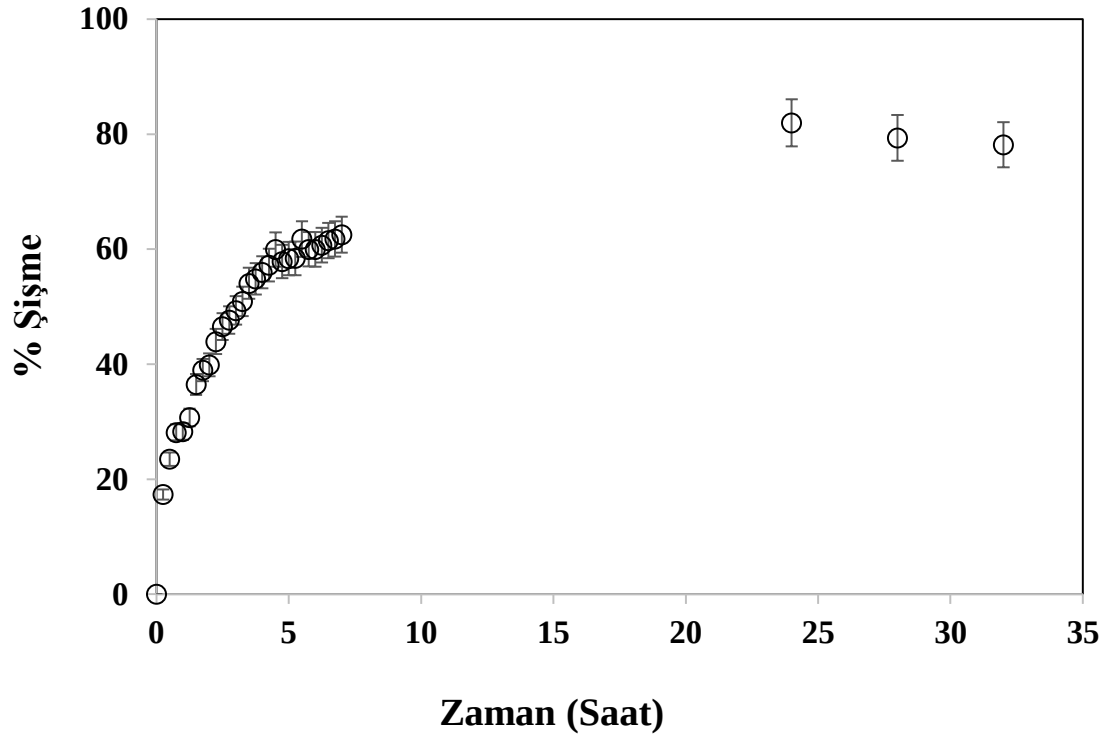
İki farklı monomer ve çapraz bağlayıcı kullanılarak PHEMA-JEF IPN filmlerin sentezi gerçekleştirilmiştir. Serbest radikal polimerizasyonu ile PHEMA, kondenzasyon polimerizasyonu ile JEF polimeri aynı ortamda birlikte iç içe geçmiş ağlar şeklinde (PHEMA-JEF IPN) kontrollü bir şekilde polimerleştirilmiştir. Katalizör ve sıcaklık etkisi ile polimerizasyon süresi kısaltılıp düzgün dağılımlı bir IPN hidrojel film sentezlenmiştir. Sentezlenen PHEMA-JEF hidrojel filminin SEM görüntüleri Şekil 5.15'te farklı büyütme oranlarında verilmiştir. PHEMA-JEF IPN filmin SEM görüntülerine bakıldığında görüntünün PHEMA ve JEF filmlerin SEM görüntüsünden çok farklı olduğu görülmektedir. PHEMA-JEF polimerik filmi düzenli katmanlar ve eş boyutta homojen dağılmış gözeneklerden ve pürüzsüz görünmektedir.



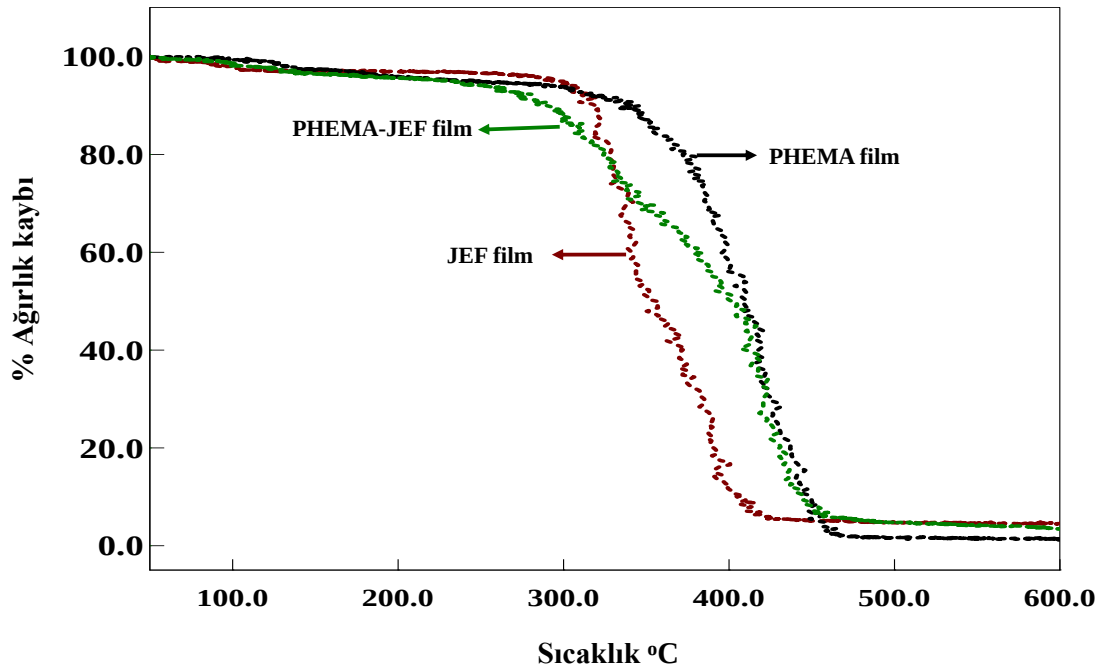
Şekil 5.14. PHEMA-JEF hidrojel filmin SEM görüntüleri

PHEMA-JEF IPN filmin zamana karşı % şişme/su alma değerleri kaydedilerek dengeye geldiği değer (maksimum % şişme veya absorpsiyon kapasitesi) belirlenmiştir (Şekil 5.15). IPN hidrojel filmin yaklaşık bir gün boyunca belirli zaman aralıklarında su absorplamış halleri tartılmıştır. Yaklaşık 5 saate kadar % şişme düzenli artış gösterirken % 60'lara ulaşmış sonrasında % şişmede hızında azalış olmuş ve bir günün sonunda %80'lere ulaşip dengeye gelmiştir. Hesaplanan denge şişme değeri PHEMA ve JEF film ile kıyaslandığında IPN filmin su absorplama kapasitesinin bir miktar düştüğü görülmektedir.

PHEMA-JEF IPN filmin TG analizi sonucu elde edilen termogram PHEMA ve JEF hidrojel film ile karşılaştırmalı olarak Şekil 5.16'da verilmiştir. IPN filmin iki ana bozunma noktası görünmektedir. Bunun nedeni iç içe ağısı yapının çapraz bağlanma gibi molekülleri bir arada tutup moleküller arası etkileşimin kuvvetlenmesi olabilir.



Şekil 5.15. PHEMA-JEF hidrojelinin % şişme&zaman grafiği



Şekil 5.16. PHEMA, JEF ve PHEMA-JEF hidrojel filmlerin TGA eğrileri.

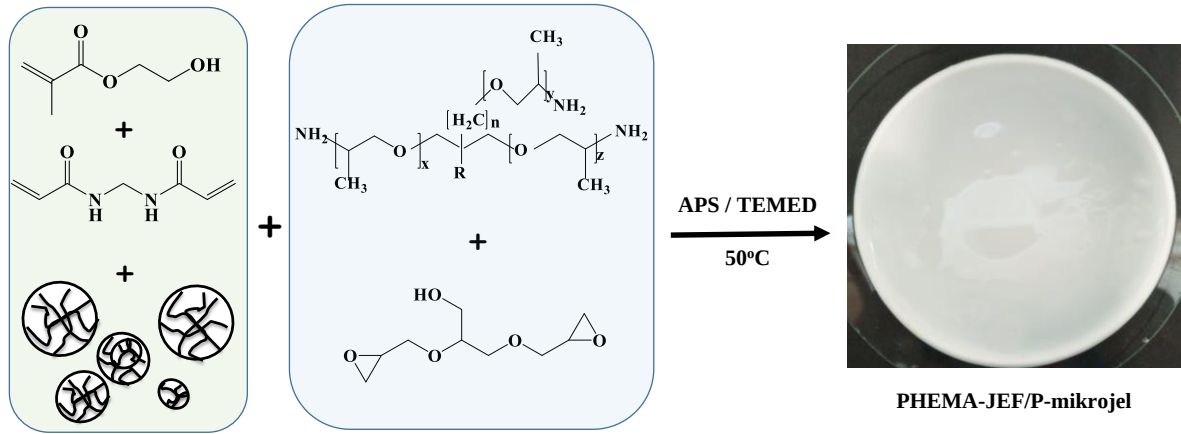
PHEMA-JEF IPN filmin termal dayanımının JEF filmin termal dayanımından daha yüksek ancak PHEMA filmin termal dayanımından daha düşük olduğu termogramdan

açıkça anlaşılmaktadır. Termal dayanımı en yüksek PHEMA olmasına rağmen en az kalıntı yine PHEMA'ya aittir. JEF film ve IPN kalıntısının nispeten daha fazla olması reaksiyonlarda 0,5 M NaOH kullanılmış olması olabilir.

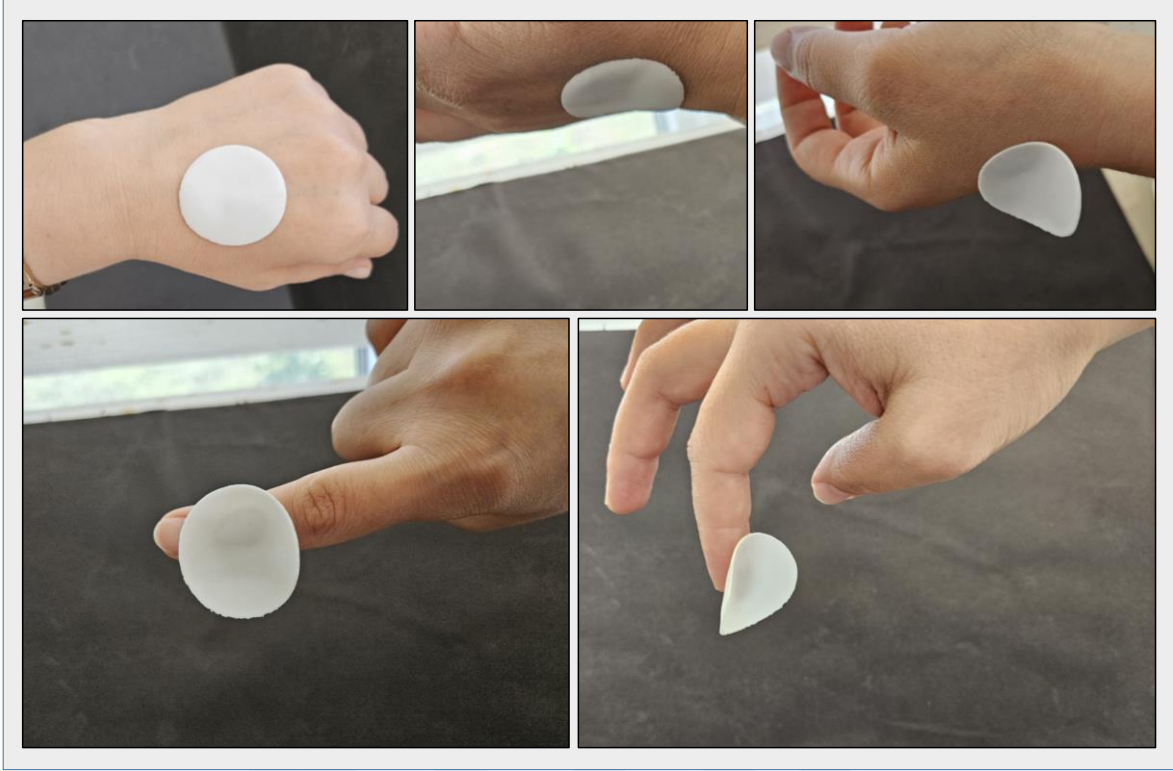
5.2.4. Mikrojel katkı PHEMA-JEF hidrojel film karakterizasyonu

PHEMA, JEF ve PHMP mikrojel bir araya getirilerek PHEMA-JEF/P-mikrojel filmi hazırlanmıştır. Şekil 5.17' de PHEMA-JEF/P-mikrojel filmin sentez şeması ve sentezlenen filmin dijital fotoğrafı verilmiştir.

Süspansiyon polimerizasyonu ile hazırlanan PHMP mikrojel PHEMA-JEF hidrojel filmine katılanmak istenmiştir. Bu katılama işlemi polimerizasyon öncesi polimer öncü maddelerinin bulunduğu ortama mikrojellerin eklenip çok iyi dispers edilmesini gerektirmektedir. Şekil 5.17'de görüldüğü gibi mikrojel PHEMA öncü karışıma eklenmiştir. Diğer yanda jeffamin-GDE bulunmaktadır. Sıcaklık ve katalizör desteği ile mikrojel çökmeden polimerizasyonun tamamlanması başarılı bir şekilde sağlanmıştır. Elde edilen film yıkananın ardından belirli büyüklüklerde kesilmiş ve karakterizasyon ve uygulamalar için kurutulmuştur.



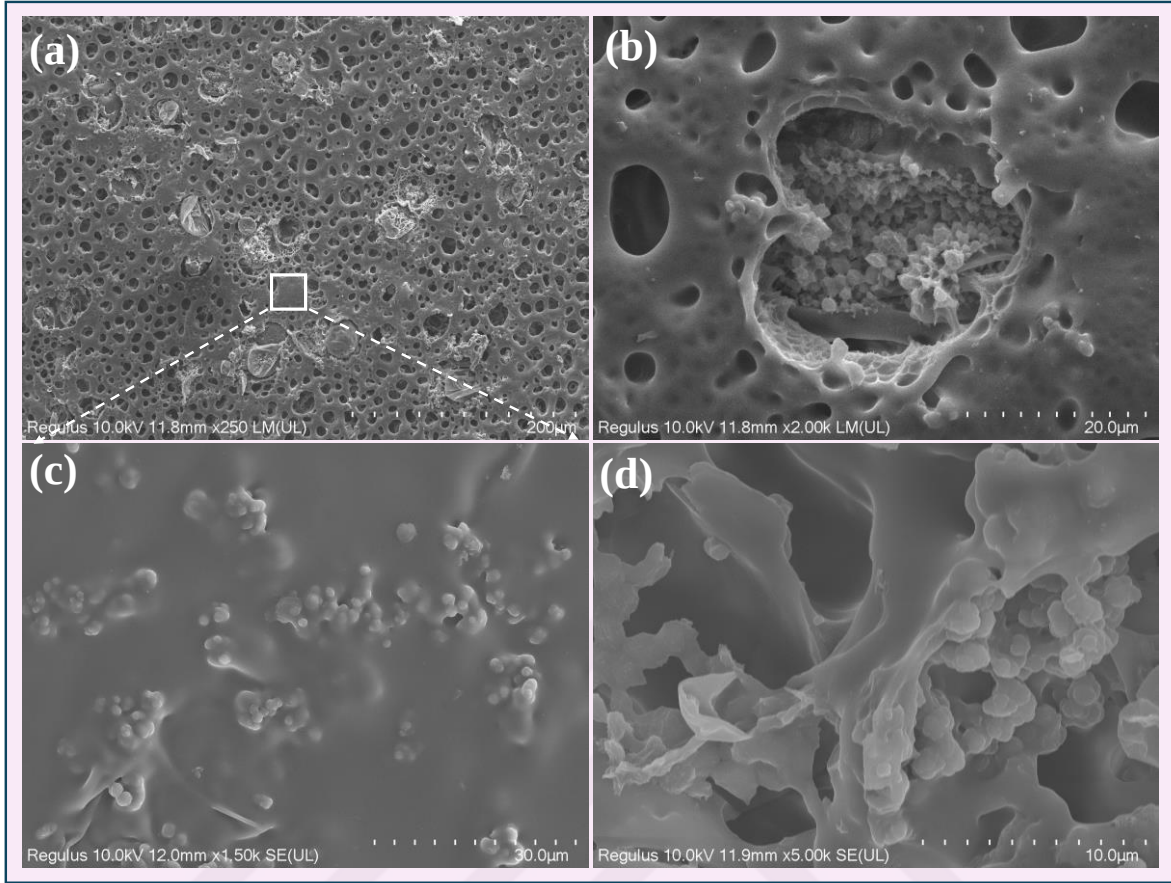
Şekil 5.17. PHEMA-JEF/P-mikrojel filminin sentez şeması



Şekil 5.18. PHEMA-JEF/P-mikrojel filmin deri yüzeyine tutunmasının dijital fotoğrafları

Filmin deri yüzeyine tutunması düşey konumda tutulan filmin Şekil 5.18’ de görülen fotoğraflarından da anlaşılacağı üzere oldukça iyi görünmekte, küçük bir noktadan tutunması bile düşmeden kalmasını sağlamaktadır. Bu durum yara örtü malzemesi için istenilen bir durumdur.

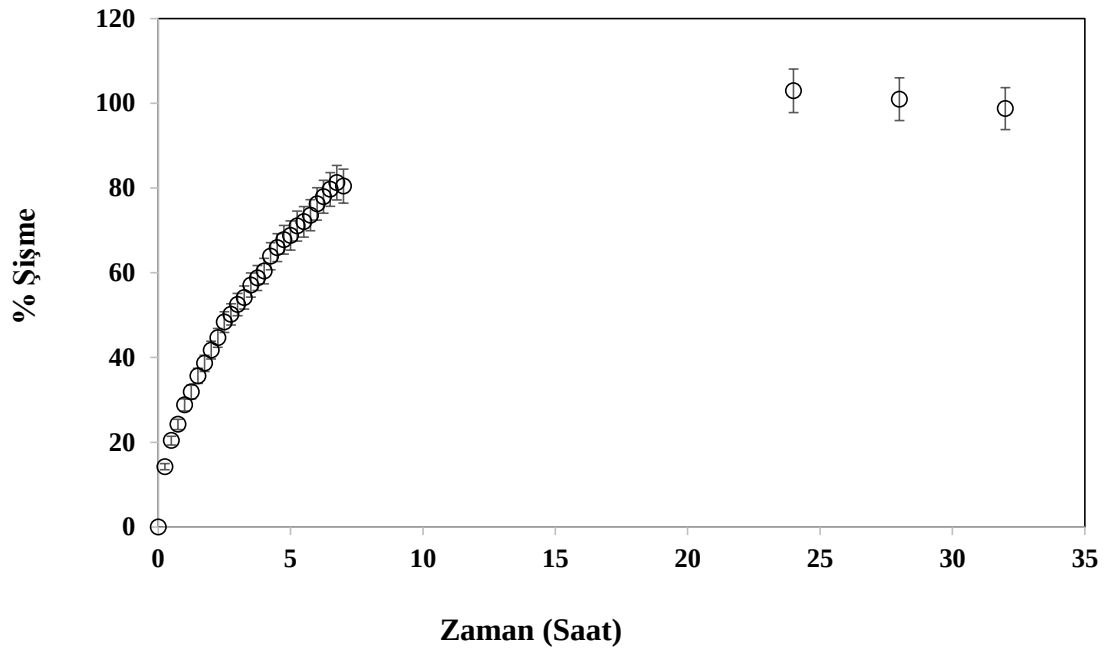
Sentezlenen PHEMA-JEF/P-mikrojel filminin SEM görüntüleri Şekil 5.19’da farklı büyütmelerde verilmiştir. Mikrojel katkılı PHEMA-JEF filminin SEM görüntüleri ile mikrojel içermeyen karşılaştırılmıştır. Mikrojel içermeyen filmde gözlenen düzenli katmanlar ve eş boyutta homojen dağılmış olan gözenekler, mikrojel katkılanması ile gözenek boyutu değişmiş, homojen dağılımlı gözeneklerin boyut dağılımı değişmiş, bazı boşluklarının tamamen mikrojel ile dolmuş olduğu Şekil 5.19 (a,b)’den görülmektedir. Yakın çekimler ile gözenek yan yüzey ve en üst kısım incelendiğinde mikrojel içermeyen filmde pürüzsüz olan bu kısımların mikrojelin gömülü bir şekilde yer aldığı Şekil 5.19 (c,d)’den görülmektedir.



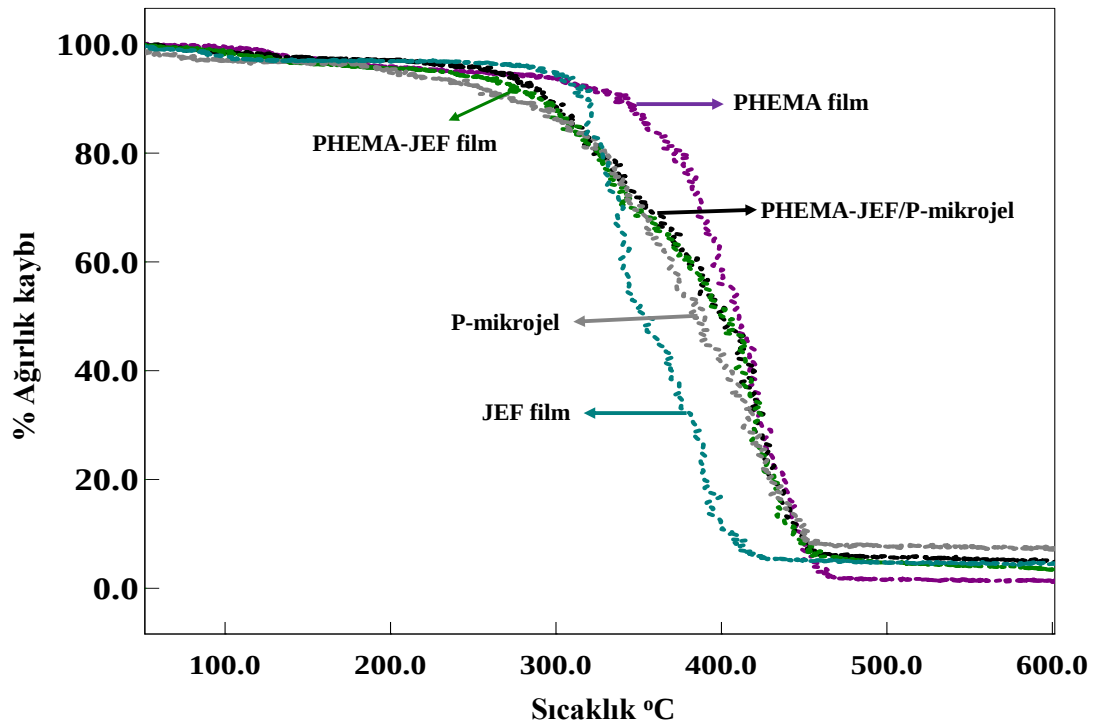
Şekil 5.19. PHEMA-JEF/P-mikrojel filmin SEM görüntüleri

Mikrojel katkılı PHEMA-JEF IPN filmin zamana % şişme&zaman grafiği Şekil 5.20’de verilmiştir. Kaydedilen verilere göre bir gün içinde dengeye ulaştığı görülmektedir. Yaklaşık 7 saate kadar % şişme incelenerek artmış ve 7. saatte %80 değerine ulaşmıştır. Bir günün sonunda yaklaşık %100’lere ulaşp dengeye gelmiştir. Hesaplanan denge şişme değeri ayrı ayrı PHEMA, JEF, PHEMA-JEF, PHEMA-JEF/P-mikrojel filmlerinin dengeye geldiklerinde % şişme değerleri sırası ile %98, %123, %80 ve %102 olarak hesaplanmıştır. Mikrojinin filme gömülmesi filmin su alma kapasitesini arttırmıştır.

PHEMA –JEF/P-mikrojel filmin TG eğrisi PHEMA, JEF, PHEMA-JEF hidrojelileri ve PHMP mikrojinin TG eğrileri ile birlikte Şekil 5.21’de verilmiştir. Termal dayanımı en düşük JEF filmi, en yüksek dayanım PHEMA filmi olup diğerleri bu iki filmin arasında yer almaktadır. PHEMA-JEF filmine mikrojel katılanması filmler arası termal farklılık oluşturmamıştır. Bunun nedeni PHMP mikrojel ile PHEMA-JEF filminin yakın bölgelerde benzer kütle kayıplarına uğramalarıdır.



Şekil 5.20. PHEMA-JEF/P-mikrojel filmin % şişme&zaman grafiği

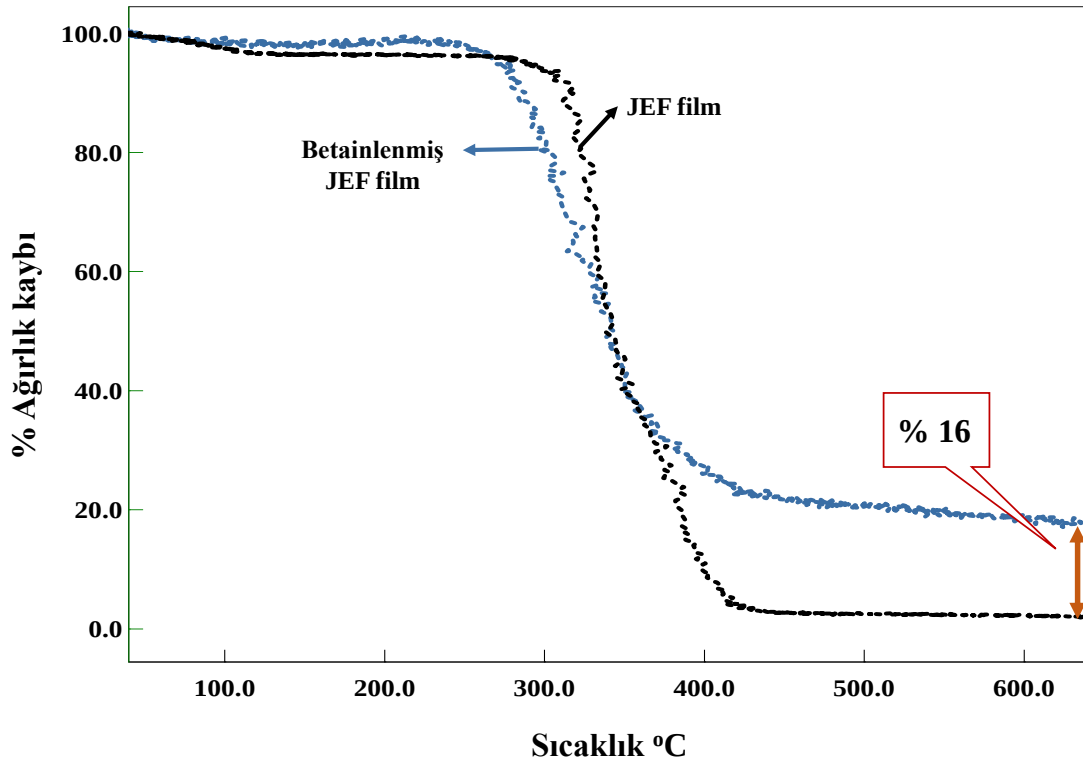


Şekil 5.21. PHEMA, JEF, PHEMA-JEF ve PHEMA-JEF/P-mikrojel filmlerin ve PHMP mikrojel TGA eğrileri.

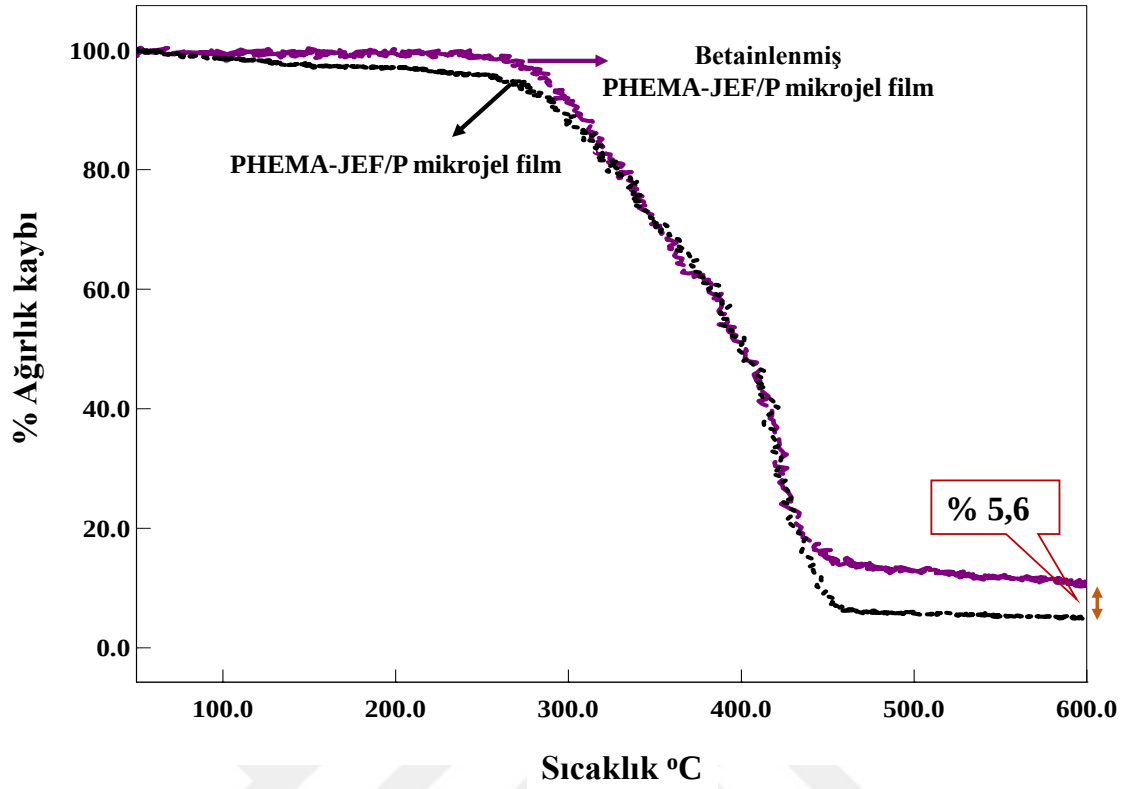
5.3. Modifiye Edilmiş Filmlerin Karakterizasyonu

Hidrojel filmlerin çeşitli uygulamalardaki etkinliğini arttırmak için çeşitli modifikasyonlar yapılmıştır. Bu modifikasyonlardan bazıları; PHEMA-JEF/P-mikrojel filmi ve JEF filminin biyouyumluluklarını artırmak amacıyla 1,3-propan sulton ile reaksiyona sokularak sülfobetain formu elde edilmiştir. Bu yapıların TGA eğrileri Şekil 5.22 ve Şekil 5.23'te verilmiştir. Antibakteriyel etkinliğini artırmak için hidrojel filmler protonlanmıştır, antibakteriyel bir ilaç olan ampisilin sodyum filme adsorbe edilmiştir, filmlerin içerisinde Ag, Cu metal nanopartiküller hazırlanıp kompozit hidrojel film (bakınız 5.4) formları oluşturulması sağlanmıştır.

JEF hidrojel film ile PS modifiye JEF karşılaştırıldığında her ikisinde bir ana bozunma olduğu ve modifiye formun bozunmasının daha erken başladığı görülmektedir. Kalıntı miktarları arasında fark oluşmuştur. JEF filmi ile betainlenmiş film arası kalıntı farkı oldukça fazla olup %16'dır.



Şekil 5.22. JEF filmi ve PS modifikasyonunun TGA eğrileri



Şekil 5.23. PHEMA-JEF/P-mikrojel filmi ve PS modifikasyonunun TGA eğrileri.

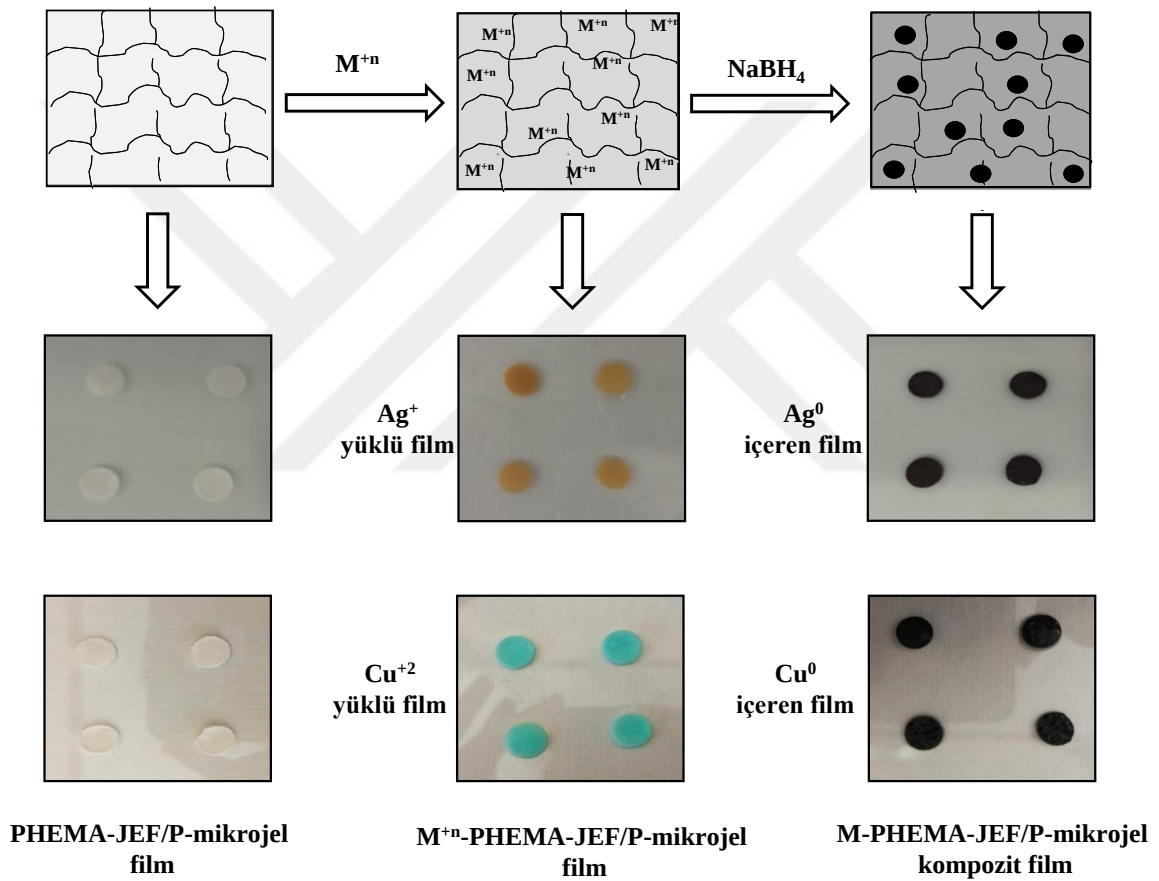
PHEMA-JEF/P-mikrojel filmi ile modifiye fomonun termal kararlılıkları arasında bir fark görülmemekle birlikte kalıntı miktarları arasında fark oluşmuştur. PHEMA-JEF/P-mikrojel filmi ve betainlenmiş arası kalıntı farkı %5,6'dır.

5.4. Hazırlanan Kompozit Yapıların Karakterizasyonu

Tez çalışmasında hazırlanan fosfat bazlı mikrojel ve mikrojel katkılı PHEMA-JEF IPN filmlerin kompozit formları hazırlanmıştır. Burada hazırlanan polimerik yapılar metal nanopartikül hazırlanmasına kalıp olarak kullanılmıştır. Yerinde metal nanopartikül hazırlanması PHEMA-JEF/P-mikrojel filmi üzerinden şematize edilmiş Şekil 5.24'te dijital kamera fotoğrafları ile birlikte verilmiştir.

Kompozit hazırlanmasında önce mikrojel yada hidrojel film metal iyonu içeren sulu çözeltiye eklenerek metal iyonlarının polimere adsorplanması/yüklenmesi sağanmıştır. Metal iyonu yüklü polimerler adsorpsiyon sonrası çözeltiden ayrılıp su ile yıkanmıştır. Fazla iyonlardan arındırılmış metal yüklü polimerik yapılar indirgeyici bir ajan olan (H^- kaynağı)

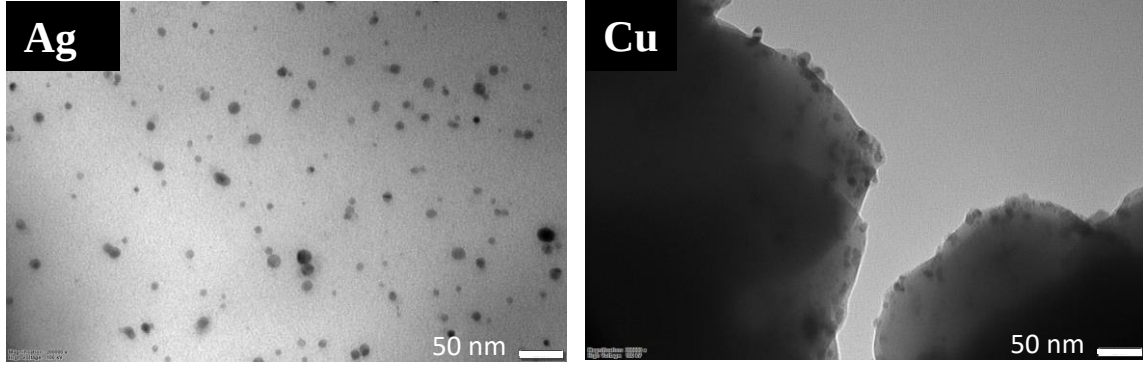
NaBH_4 sulu çözeltisi ile etkileştirilmiştir. Bu etkileşim ile iyonik formdaki metallerin indirgenerek metalik forma dönüşümü gerçekleşmiştir. Şekil 5.24'te PHEMA-JEF/P-mikrojel filmin adım adım fotoğrafları görülmektedir. Yükleme öncesi beyaz olan filmler Ag^+ iyonu yüklendiğinde sarı-kahve renkli, Cu^{+2} iyonu yüklendiğinde mavi görünmektedir. İndirgendiklerinde ise her iki metal yüklü film siyah görünmektedir. Rengin siyaha dönmesi polimerik ağlarda hapsolan metal iyonlarının Ag^0 ve Cu^0 formuna dönüşümünü göstermektedir. Böylelikle Ag ve Cu metal nanopartikül içeren kompozit hidrojel filmler hazırlanmıştır.



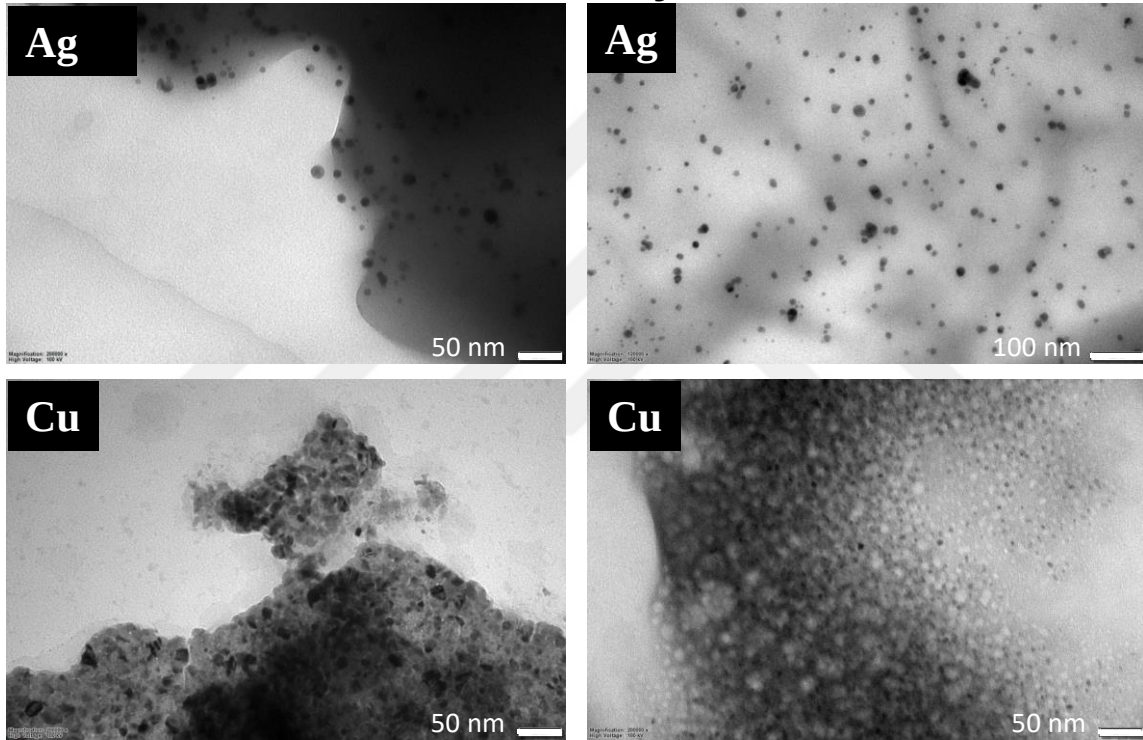
Şekil 5.24. PHEMA-JEF/P-mikrojel içerisinde *in situ* metal nanopartikül hazırlanması ve dijital kamera fotoğrafları

PHMP mikrojel ile PHEMA-JEF/P-mikrojel IPN filmlerde hazırlanan kompozitlerin TEM görüntüleri Şekil 5.25'de verilmiştir. TEM görüntülerinden nano boyutta metal nanopartiküllerin sentezlendiği, mikrojeldeki metal boyutlarının filmdekilerden daha küçük olduğu görülmektedir. Ag nanopartikülleri küresel ve bakır nanopartiküllerinden büyük boyutta görünmektedir.

P-mikrojel



PHEMA-JEF/P-mikrojel film



Şekil 5.25. Ag ve Cu içeren mikrojel ve mikrojel katkılı filmleinin TEM görüntüleri

Hazırlanan bu kompozit yapıların antibakteriyel etkileri test edilmiştir. Sonuçlar uygulamalar altında 5.5.3 altbaşlığında verilmiştir.

5.5. Biyomedikal Uygulamalar

Hazırlanan mikrojeller ve hidrojellerin biyomedikal uygulamalarda kullanılabilirliğinin araştırılması için ilaç yükleme ve *in-vitro* salım çalışmaları, biyoyumumluluk testi, antibakteriyel aktivite testi ve *in-vitro* degradasyon testi yapılmıştır.

5.5.1. İlaç yükleme ve *in-vitro* salım çalışmaları

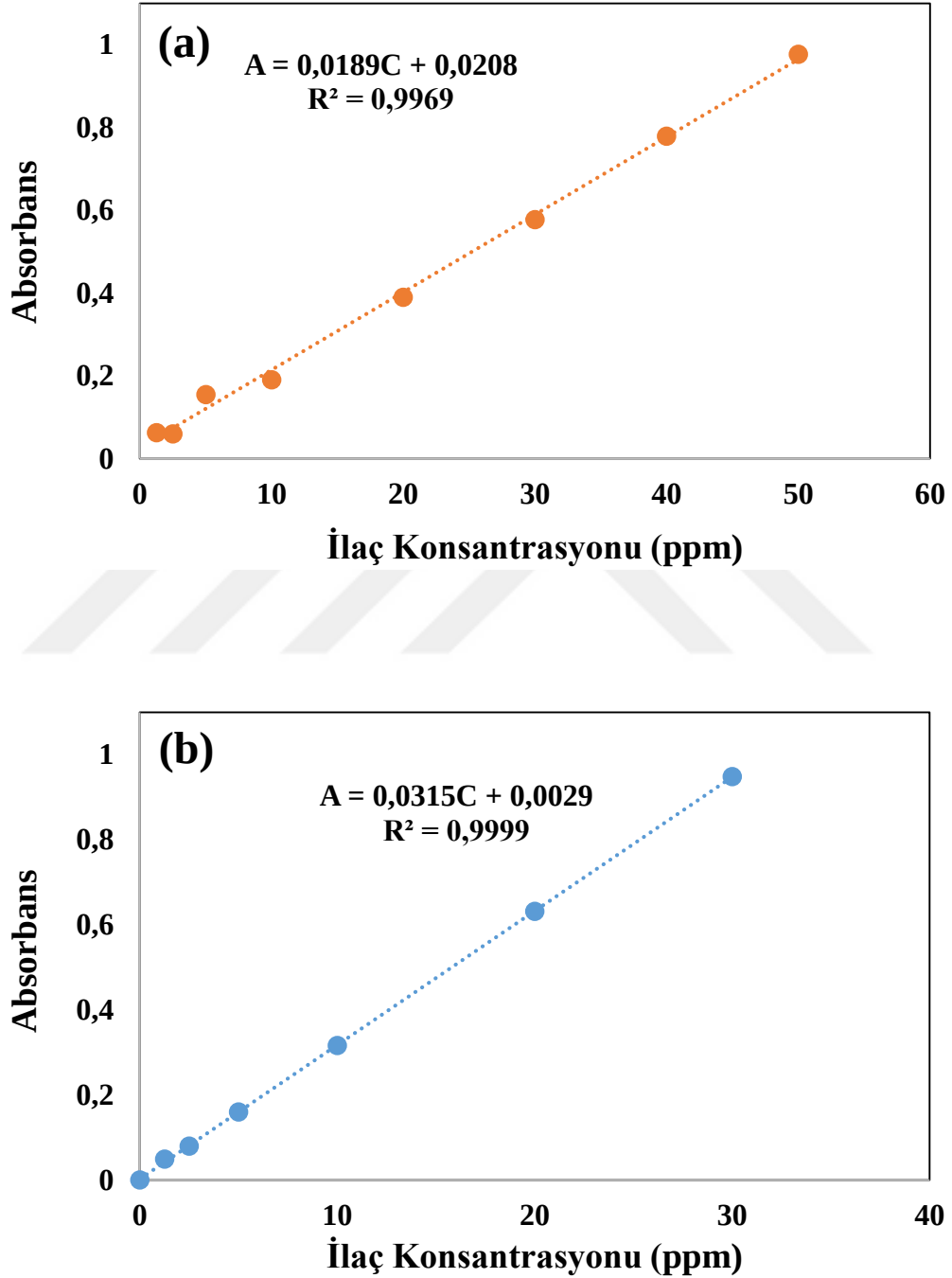
Sentezlenen PHMP mikrojelinin ve hidrojellerin biyomedikal alanda kullanım potansiyelinin araştırılması amacıyla, polimerik yapıların ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılma potansiyelleri araştırılmıştır. İlaç salımı çalışması için sodyum diklofenak (SDF) ve trimetoprim (TMP) model ilaç olarak seçilmiştir. Sodyum diklofenak anti-inflamatuar, analjezik ve antipiretik özelliklere sahip iyi bilinen bir nonsteroidal anti-inflamatuar ilaçtır (Chuasuwana vd., 2009). TMP *in-vitro* olarak çoğu aerobik Gram negatif ve Gram pozitif bakteriye karşı dirençlidir. Bilinen bakteriyel patojenler TMP'ye karşı özünde dirençli olanlar, duyarlı olanlara göre daha azdır. Bu özelliklerinden dolayı SDF ve TMP model ilaçları seçilmiştir.

Polimerik malzemelerimize yüklenen ilaç miktarlarını belirlemek için ilaç yüklenen ortam şartlarında kalibrasyon doğrusu çizilmiştir. Her iki ilaç sulu çözeltisinde yüklendiğinden kalibrasyon sulu ilaç çözeltisinden TMP için 1,25-50 ppm aralığında SDF için 1,25-30 ppm aralığında hazırlanmıştır. Kalibrasyonlar Şekil 5.26'da verilmiştir. Bu kalibrasyon doğrularının denklemi yardımı ile bir gram polimere yüklenen ilaç mg olarak hesaplanmıştır. Veriler Çizelge 5.1'de verilmiştir.

Çizelge 5.1. Mikrojel ve filmlere yüklenen ilaç miktarları (mg/g)

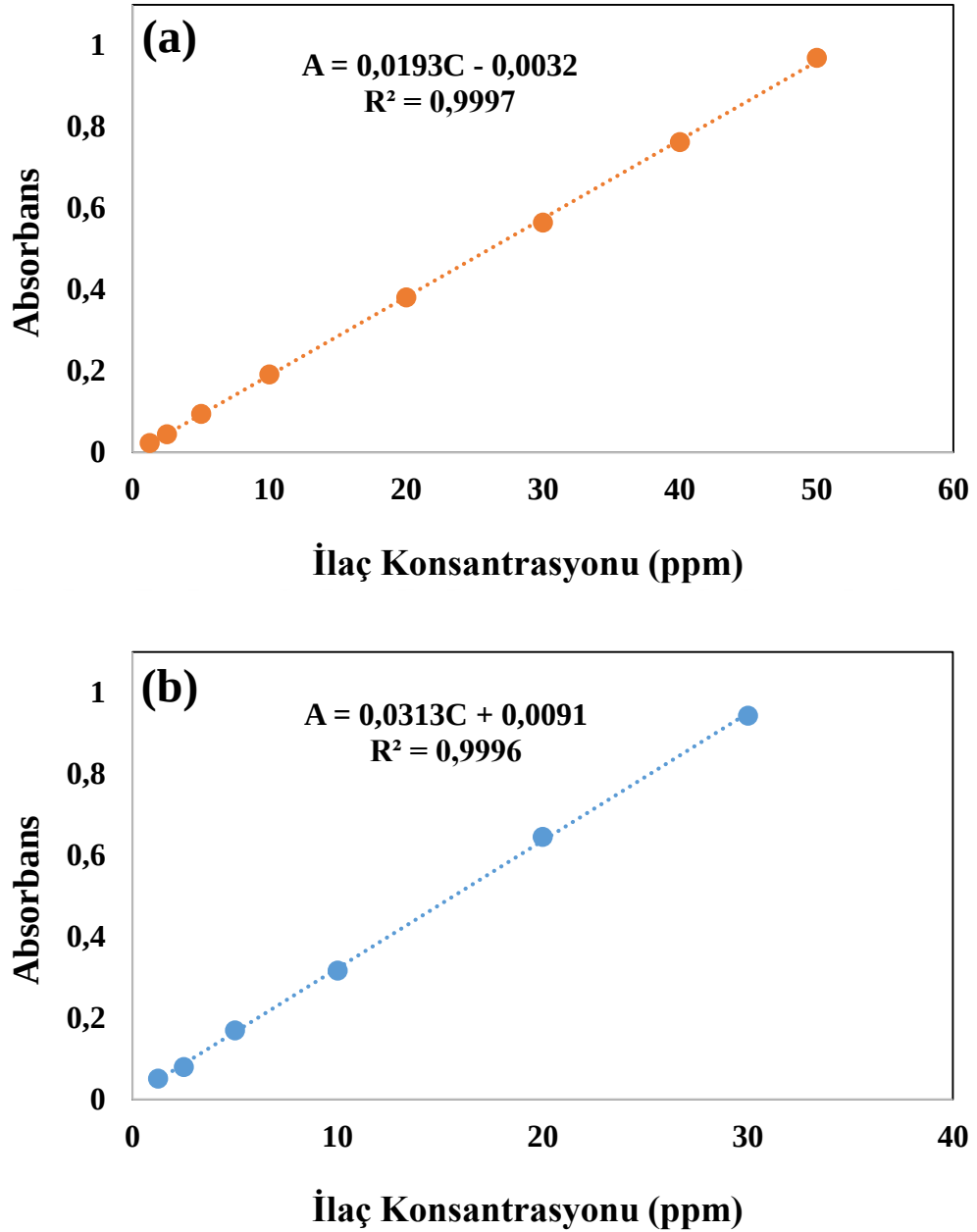
Ürün kodu	Yüklenen TMP (mg/g)	Yüklenen SDF (mg/g)
PHEMA film	28	6
JEF film	22	59
PHEMA-JEF film	20	37
P-mikrojel	75	122
PHEMA-JEF/P-mikrojel film	13	15

PHEMA, JEF, PHEMA-JEF, P-mikrojel ve PHEMA-JEF/P-mikrojel için sırası ile yüklenen TMP miktarları 28, 22, 20, 75 ve 13 mg/g olarak SDF için ise sırası ile 6, 59, 37, 122 ve 15 mg/g olarak hesaplanmıştır.



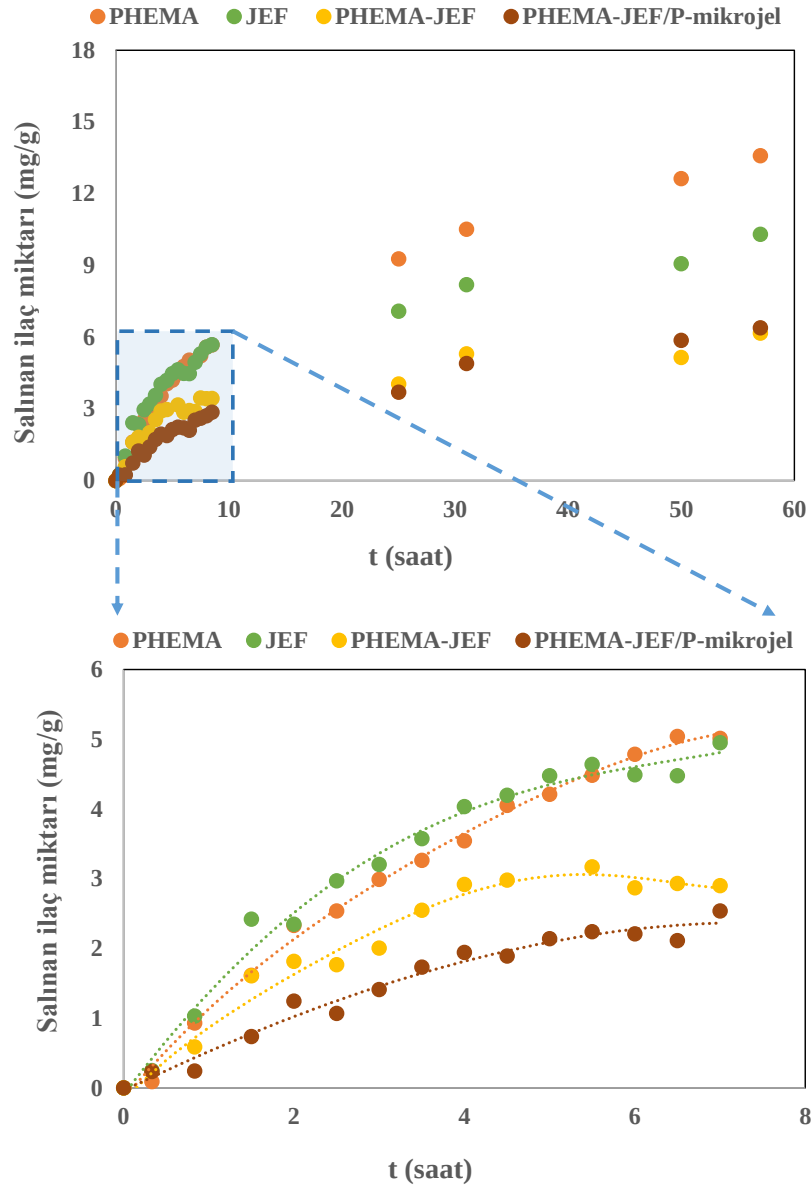
Şekil 5.26. (a)TMP ve (b) SDF ilaçlarının suda hazırlanan kalibrasyon grafikleri

Polimerik malzemelere yüklenen ilaçların salım profilinin incelenmesi için salım ortam şartlarında kalibrasyon doğrusu çizilmiştir. Her iki ilaç bu defa pH 7,4 PBS’ de çözülerek TMP için 1,25-50 ppm aralığında SDF için 1,25-30 ppm aralığında kalibrasyon hazırlanmıştır. Kalibrasyonlar Şekil 5.27’de verilmiştir. Bu kalibrasyon doğrularının denklemi yardımı ile bir gram polimerin saldığı ilaç mg olarak hesaplanmıştır.



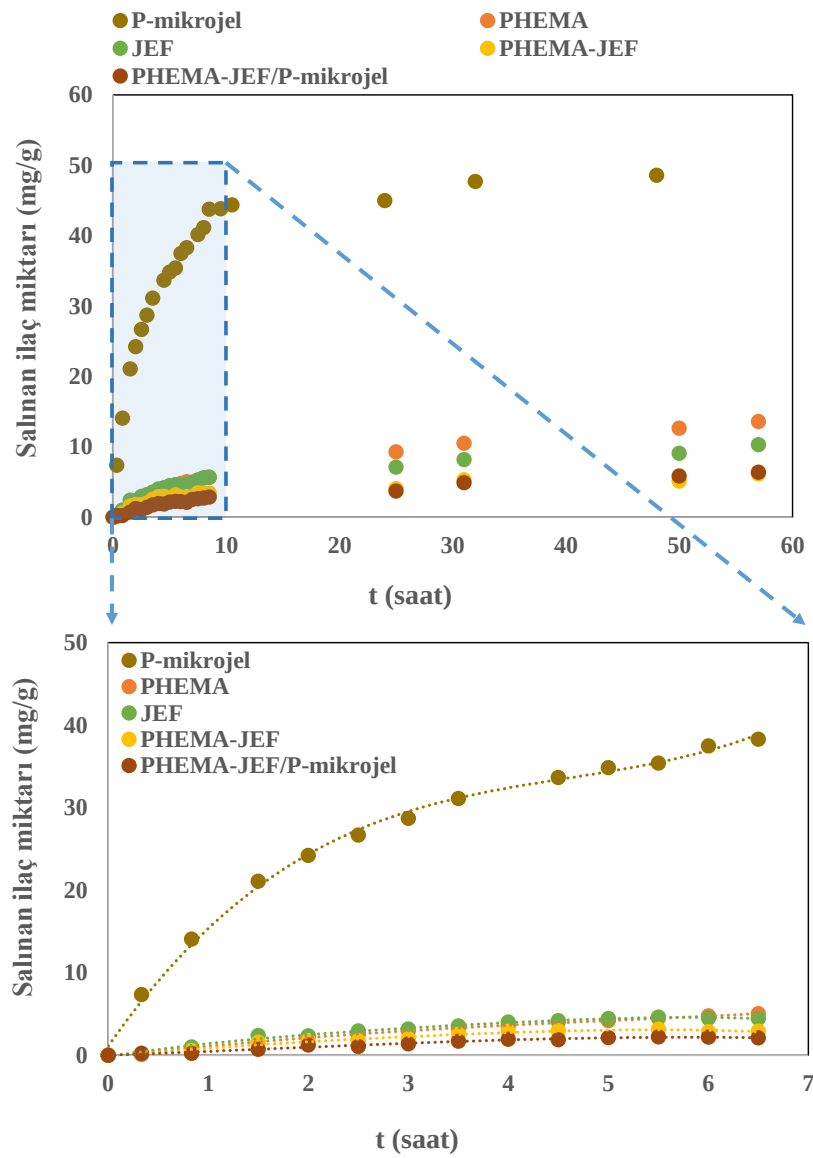
Şekil 5.27. (a)TMP ve (b) SDF ilaçlarının PBS’de hazırlanan kalibrasyon grafiği

Şekil 5.28’de verilen TMP salım grafiğine göre 6 saatlik zaman diliminde PHEMA, JEF, PHEMA-JEF, PHEMA-JEF/P-mikrojel filmleri sırası ile 4,8 mg/g, 4,5 mg/g, 2,9 mg/g, 2,2 mg/g TMP salmışlardır. Yine aynı sıra ile filmler 24 saatlik zaman dilimi sonunda ise 9,0 mg/g, 7,1 mg/g, 4,0 mg/g, 3,7 mg/g TMP ilacı salmıştır. İlaç salım süreçleri kontrollü bir şekilde devam etmiş olup, ilacın salım değerleri sonraki günlerde de düzenli olarak izlenmiş ve ölçülmüştür.



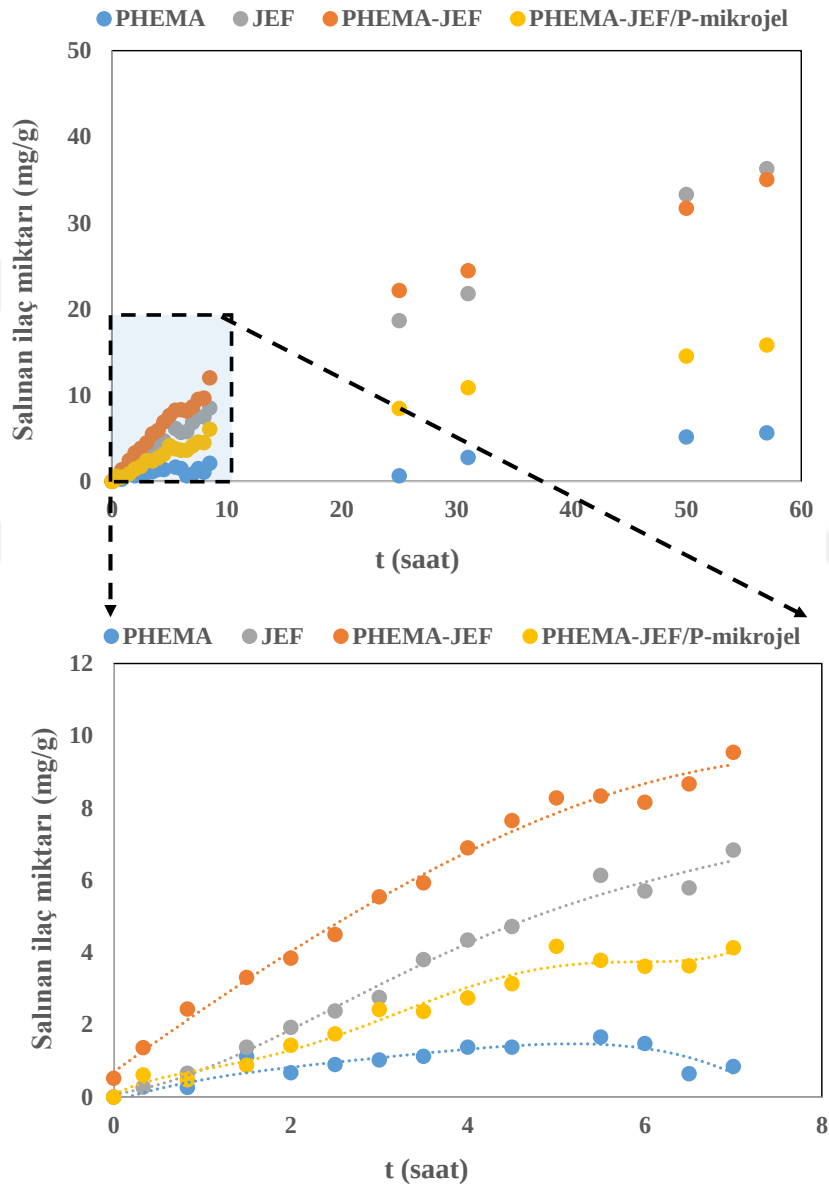
Şekil 5.28. PHEMA, JEF, PHEMA-JEF, PHEMA-JEF/P-mikrojel filmlerinin TMP salım profili

Şekil 5.29’da verilen TMP salım grafiği ise fosfat bazlı mikrojel (PHMP, P-mikrojel) salım profili filmler ile karşılaştırılmıştır. Altı saatin sonunda P-mikrojel 35 mg/g, 24 saatlik süre sonunda 45 mg/g TMP salmıştır. Filmlerde en yüksek salım altı saat için 4,8 mg/g, 24 saat için 9,0 mg/g ile PHEMA da görülüp ilk altı saatte mikrojel filminden en az 7 kat fazla ilaç salmıştır. En az salan film ise mikrojel katkıli IPN film olup mikrojel bu filmin 16 kat fazla TMP salmıştır. 48 saat sonra salınan ilacın miktarı (mg/g) ve % değerleri Çizelge 5.2’de verilmiştir.



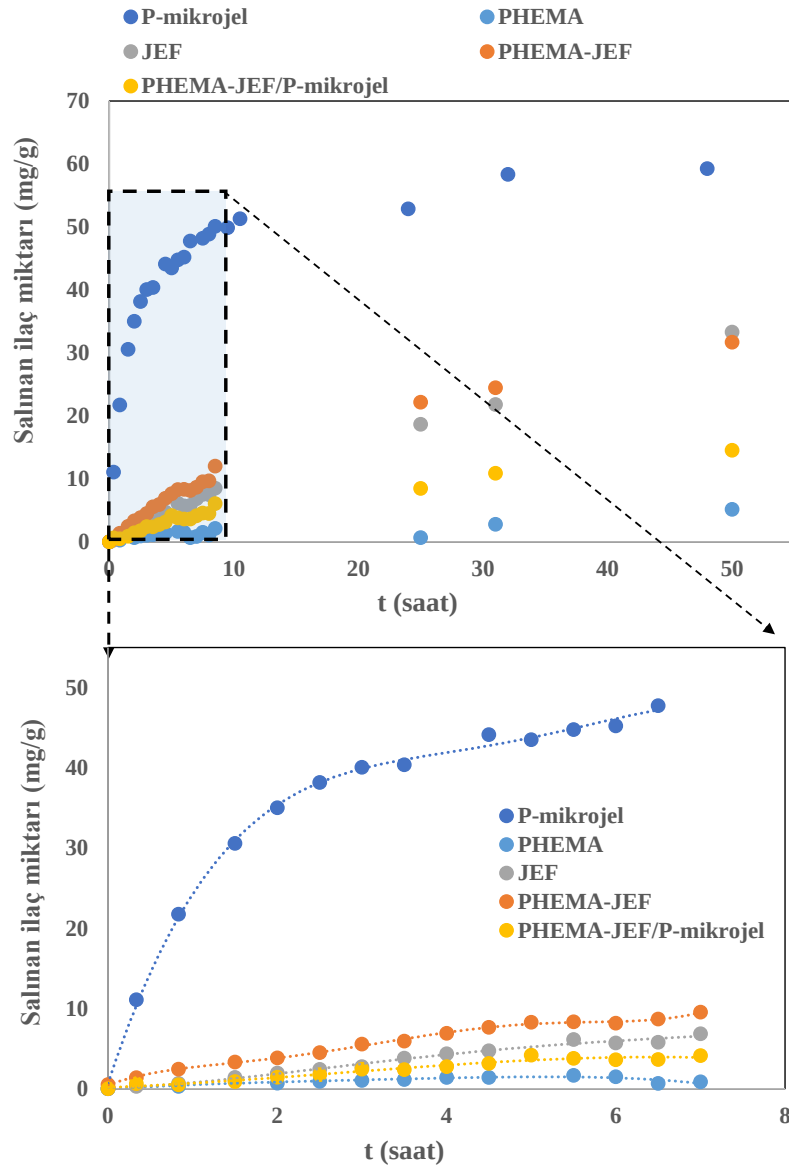
Şekil 5.29. P-mikrojel, PHEMA, JEF, PHEMA-JEF, PHEMA-JEF/P-mikrojel filmlerinin TMP salım profili

Şekil 5.30'de verilen SDF salım grafiğine göre 6 saatlik zaman diliminde PHEMA, JEF, PHEMA-JEF, PHEMA-JEF/P-mikrojel filmleri sırası ile 1,5 mg/g, 5,7 mg/g, 8,3 mg/g, 3,6 mg/g SDF salmışlardır. Yine aynı sıra ile filmler 24 saatlik zaman dilimi sonunda ise 3,0 mg/g, 19 mg/g, 22 mg/g, 8,5 mg/g SDF ilacı salmıştır. En fazla salım PHEMA-JEF IPN filminde görülmüştür. Bu ilaçta ise en az PHEMA salmıştır.



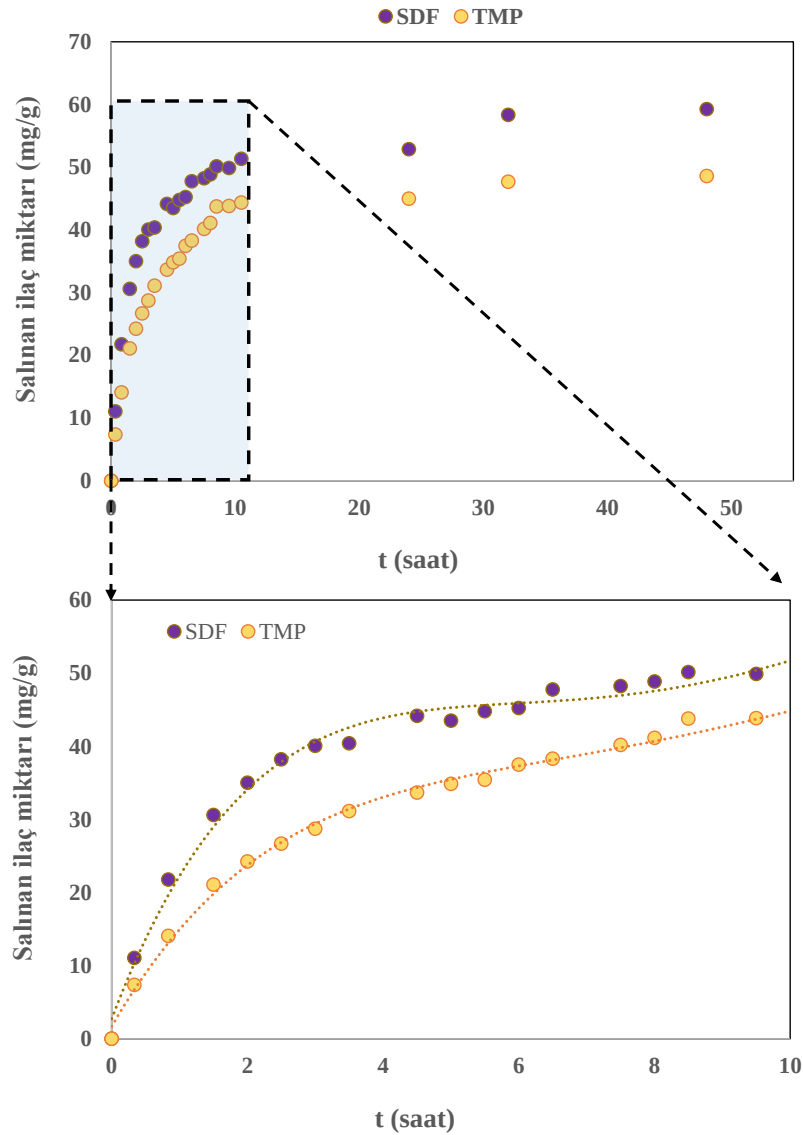
Şekil 5.30. PHEMA, JEF, PHEMA-JEF, PHEMA-JEF/P-mikrojel filmlerinin SDF salım profili

Şekil 5.31’de verilen SDF salım grafiği ise P-mikrojel salım profili filmler ile karşılaştırılmıştır. Altı saatin sonunda P-mikrojel 45 mg/g, 24 saatlik süre sonunda 52 mg/g SDF salmıştır. Filmlerde en yüksek salım altı saat için 8,3 mg/g, 24 saat için 22 mg/g ile PHEMA-JEF IPN filminde görülüp ilk altı saatte P-mikrojel IPN filminden yaklaşık 6 kat fazla SDF salmıştır. En az salan film ise PHEMA film olup P-mikrojel bu filmin 30 kat fazla SDF salmıştır. 48 saat sonra salınan ilacın miktarı (mg/g) ve % değerleri Çizelge 5.2’de verilmiştir.



Şekil 5.31. P-mikrojel, PHEMA, JEF, PHEMA-JEF, PHEMA-JEF/P-mikrojel filmlerinin SDF salım profili

P-mikrojeli salım profili iki ilaç ile karşılaştırıldığında salınan TMP ilacı 6 ve 24 saat için 35 mg/g ve 45 mg/g iken SDF için 45mg/g, 52 mg/g olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.32). En az 48 saat süre boyunca salınan TMP ve SDF ilaçlarının miktarları mg/g olarak kaydedilmiştir. Yüklenen ilaç miktarlarına baktığımızda mikrojelin filmlerden çok daha fazla ilaç yüklediği açıktır. Bir gram mikrojel 75 mg TMP ve 122 mg SDF yüklemiştir. 48 saat sonra yüklenen TMP nin %64'ü, SDF'nin ise %48'i salmıştır (Çizelge 5.2). Mikrojel filmler nazaran daha yükdek yüzey alanına sahip olduğundan yükleme ve salım miktarları filmlerden çok daha yüksektir.



Şekil 5.32. P-mikrojelin TMP ve SDF salım profili

Çizelge 5.2. 48 saat sonra salınan ilacın miktarı (mg/g) ve % değerleri

Ürün kodu	Salınan TMP (mg/g)	Salınan TMP (%)	Salınan SDF (mg/g)	Salınan SDF (%)
PHEMA	14	50	5,6	93
PHEMA-JEF	6,2	31	35	94
JEF	10	45	36	61
P-mikrojel	48	64	59	48
PHEMA-JEF/P-mikrojel	6,4	49	14	93

5.5.2. Biyoyumluluk testi

Biyoyumluluk testi, bir materyalin veya biyomalzemelerin biyolojik sistemlerle uyumlu olup olmadığını öğrenmek için yapılan testlerdir. Elde edilen test sonuçları, malzemenin biyolojik sistemlerle uyumlu olup olmadığını belirlemeye yardımcı olur. Uluslararası standartlar çerçevesinde yara örtü materyalleri olarak kullanılacak materyaller ISO 10993 standardına göre analiz edilmektedir. Bu standart çerçevesinde kullanılacak olan materyallerin analizi konusunda, 10993:12 standardı ve 10993:5 standardı göz önüne alınarak yara örtü materyallerinin biyoyumluluk analizi yapılmıştır. PHEMA, JEF, PHMP mikrojel, PHEMA-JEF, PHEMA-JEF/P-mikrojel, Betainli JEF, Betainli PHEMA-JEF/P-mikrojel numunelerinin biyoyumluluk testleri gerçekleştirilmiştir (Çizelge 5.3).

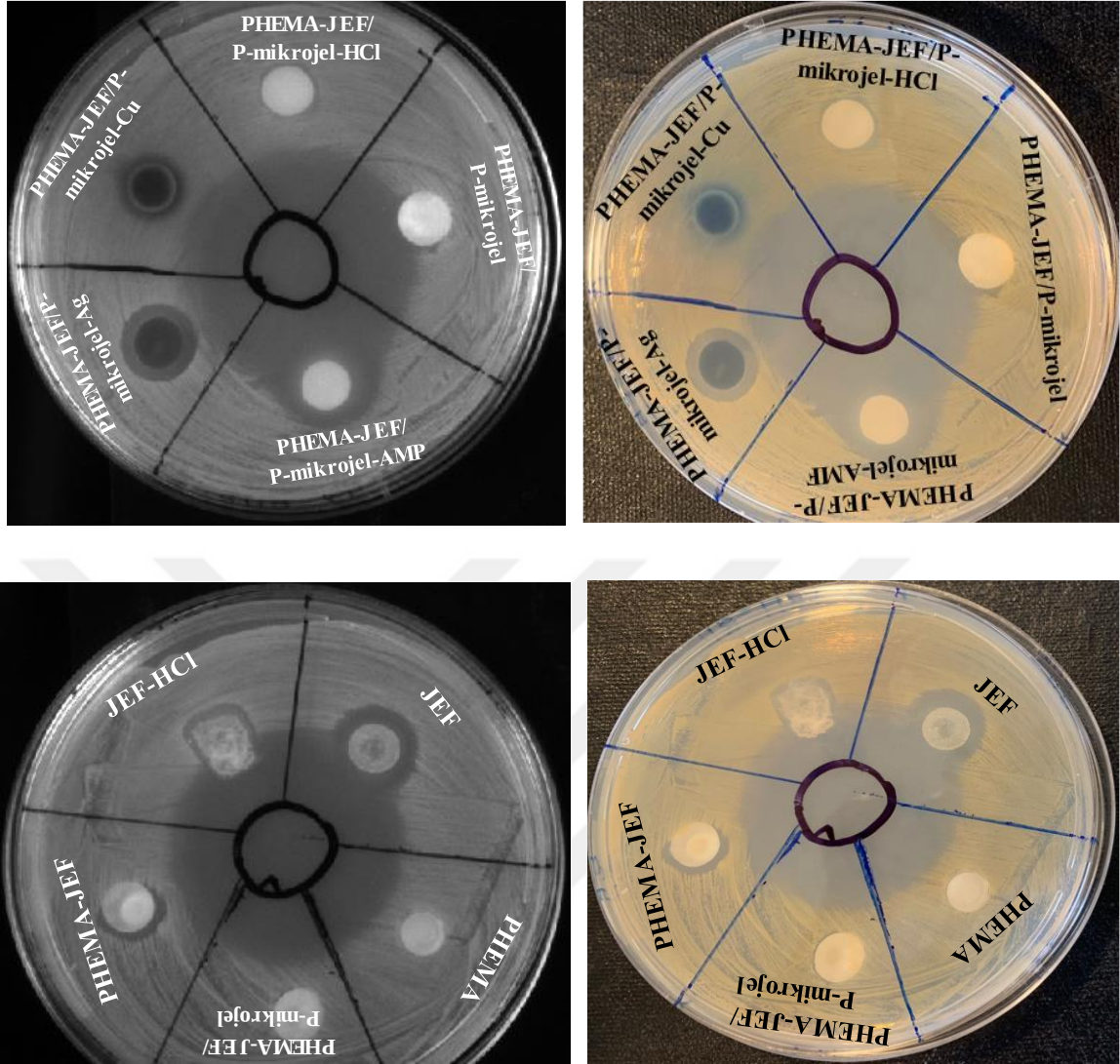
Çizelge 5.3. 24 saatlik çalışma sonrası ortalama % hücre canlılığı

Ürün kodu	Hücre Canlılığı (%)
PHEMA	99,41
JEF	13,92
PHMP mikrojel (30µg/ml)	95,31
PHEMA-JEF	136,2
PHEMA-JEF/P-mikrojel	74,36
Betainli JEF	80,05
Betainli PHEMA-JEF/P-mikrojel	89,09

5.5.3. Antibakteriyel aktivite testi

Antibakteriyel aktivite testi disk difüzyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem daha önce test bakterisi ile aşılınmış agar üzerine yerleştirilen antibiyotik emdirilmiş diskin nemi alması ve antibiyotiğin agar ortamından dışarıya doğru radyal olarak difüze olması ve bir antibiyotik konsantrasyon gradyanı oluşturması ilkesine dayanır. Diskin kenarındaki antibiyotiğin konsantrasyonu yüksektir ve diskten uzaklaştıkça organizma için artık engelleyici olmadığı bir noktaya kadar kademeli olarak azalır ve ardından organizma serbestçe büyür. Eğer ajan bakteriyel büyümeyi engellerse, inkübasyondan sonra antibiyotik diskinin etrafında berrak bir bölge veya halka oluşur. Bu bölge zone çapı olarak adlandırılıyor (Ruangpan ve Tendencia, 2004). Antibakteriyel aktivite testinde Gram pozitif bakteri olan *Staphylococcus aureus* kullanılmıştır. *Staphylococcus aureus*'un insanlardaki doğal yaşam alanı deri ve nazofarenkstir. Deri ve yumuşak dokular, endovasküler bölgeler ve iç organları içeren çok çeşitli enfeksiyonlara neden olabilir. *S. aureus* toplumda ve hastanelerde önemli bir patojen olmaya devam etmekte olup yüksek morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır. Organizma, yüzeysel bir bölgeden kan dolaşımı yoluyla iç organlara yayılabilir ve burada metastatik bir enfeksiyon odağı oluşturabilir (Foster, 2002). Hidrojel yara örtü malzemesi olan bu tez çalışmasında *S. aureus* bakterisini bu sebeplerden dolayı kullanılmıştır.

Antibakteriyel test filmlere ve modifikasyonlarına iki farklı karşılaştırma ile ve ikişer tekrarlı yapılmıştır. İlk seri PHEMA-JEF/P-mikrojel filmi, bu filmin protonlanmış hali, ampisilin yüklü hali ve metal (Ag, Cu) içeren kompozit formu arasında yapılmıştır. İkinci seri ise PHEMA-JEF/P-mikrojel filmi, PHEMA filmi, JEF filmi, protonlanmış JEF filmi, PHEMA-JEF IPN film arasında yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak ampisilin orta noktaya doğrudan uygulanmıştır. Uygulamadan 24 saat sonra çekilen fotoğraflar Şekil 5.33'te verilmiştir. Test iki tekrarlı yapılmış olup bu fotoğraflardan ölçülen zone çapı (mm) değerleri Çizelge 5.3'te verilmiştir. 24 saatlik testin sonunda, hidrojelin antibakteriyel etkinliğini gösteren inhibisyon alanlarına bakıldığında; ilk seride kompozit formlar (≥ 10 mm) ve antibakteriyel bir ilaç adsorbe film (20 mm) için inhibisyon sözkonusudur. PHEMA-JEF/P-mikrojel filmin doğrudan inhibisyon etkisi yoktur ancak modifikasyonlar ile antibakteriyel etki kazandırılabilmiştir. Literatürde Ag ve Cu nanopartiküllerinin antibakteriyel etkisi olduğunu doğrulayan çok sayıda çalışma bulunmaktadır.



Şekil 5.33. Filmlerin *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı antibakteriyal aktivite testi

İkinci seride ise filmler ayrı ayrı değerlendirilmiş ve PHEMA filmi bakteriye karşı bir etkiye sahip değilken JEF filmi inhibisyon sağlamıştır (10-15 mm). Film uygulandıktan sonra filmin kaydığı, zeminden ayrıldığı durumlardan dolayı tabloda bazı veriler yoktur ve tek tekrar fotosu bu nedenle konulmuştur.

Filmlerin uzun vadede antibakteriyel özelliğini koruması için sisteme yeni fonksiyonel gruplar eklenebileceği gibi antibakteriyel ilaçların konjugasyonu da mümkündür.

Çizelge 5.4. Antibakteriyel aktivite sonuçları

Örnek kodu	Zone çapı (mm)	Zone çapı (mm)
	1	2
PHEMA-JEF/P-mikrojel	15	-
PHEMA-JEF/P-mikrojel-HCl	-	5
PHEMA-JEF/P-mikrojel-AMP	-	20
PHEMA-JEF/P-mikrojel-Ag	0,5	15
PHEMA-JEF/P-mikrojel-Cu	10	10
(+) Kontrol (amp.)*	30	30
PHEMA-JEF/P-mikrojel	-	15
PHEMA	-	-
JEF	15	10
JEF-HCl	12	12
PHEMA-JEF	10	12
(+) Kontrol (amp.)*	25	25

* 5,1mg/mL stok çözeltiden 5 µL uygulanmıştır.

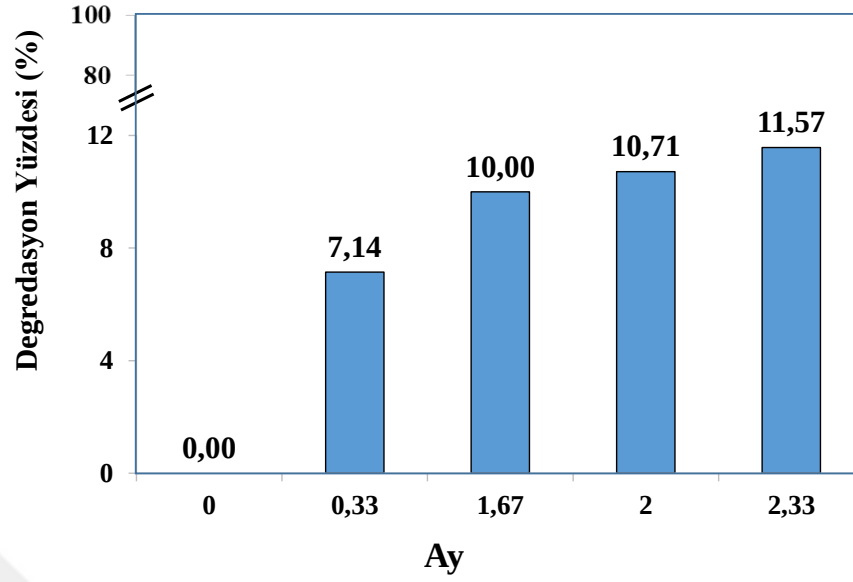
Uygulama alanına göre mikrobiyal türler belirlenip modifikasyonların şekillendirilmesi mümkündür. Burada yara örtü malzemesi olarak kullanımı üzerine odaklanıldığından yalnızca *Staphylococcus aureus*'a karşı etkinlik test edilmiştir.

5.5.4. *In-vitro* degradasyon testi

Biyomalzeme olarak kullanılacak malzemenin biyouyumlu olması ve biyobozunur olması istenmektedir. Malzeme için biyobozunma kontrol edilebilir ve ayarlanabilir bir durumdur. Uygulamanın türü, uygulanacak bölge, malzemenin tedaviyi tamamlaması için gereken süre bilinmesi gerekir. Hidrojellerin çeşitli uygulamalardaki kullanımlarından bölüm 2’de kapsamlı bir şekilde bahsedilmiştir. Kısa sürede bozunması istendiği durumlar olduğu gibi aylarca bozunmadan kalması istendiği durumlarda vardır. Örneğin şeker hastalığı yada yatağa bağlı tedavi gören hastaların vücudunda oluşan bası yaraları, ikinci ve üçüncü derece yanıkların tedavisinde yara örtü malzemesinin uzun sürede (aylar) bozunması istenirken ameliyat sonrası yaraların tedavisinde kullanılacak yara örtü malzemesinin ise kısa sürede yaraları tedavi ederek bozunması istenmektedir. PHEMA-JEF/P-mikrojel için hesaplanan degradasyon yüzdeleri Çizelge 5.3’te verilmiş aynı zamanda Şekil 5.34’te % degradasyon&ay grafiği verilmiştir.

Çizelge 5.5. PHEMA-JEF/P-mikrojel filmine uygulanan inkübasyon süresi, gerçek zamana karşılık gelen süre ve degradasyon verileri.

Deney inkübasyon süresi (Gün)	Karşılık geldiği süre (Ay)	Degradasyon yüzdesi (%)	Kalan kütle miktarı (mg)
0	0	0	70,00 (m_{kuru})
1	0,33	6,57	65,40
5	1,67	10,00	63,00
6	2,00	10,71	62,50
7	2,33	11,57	61,90
12	4,00	12,92	60,95



Şekil 5.34. PHEMA-JEF/P-mikrojel filminin zamana bağlı degradasyon yüzdesi.

Tez kapsamında hazırlanan PHEMA-JEF/P-mikrojel film hızlandırılmış degradasyon testi sonucuna göre 4 ayda yaklaşık %13 bozunabileceğini söyleyebiliriz. Hazırlanan film uzun vadeli tedaviler için uygulama bulabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez çalışmasında farklı polimerizasyon teknikleri kullanılarak mikro ve makro boyutta polimerik yapılar sentezlenmiştir. Çalışma yara örtü malzemesi olarak kullanılabilecek polimerik kompozit hidrojel filmi hazırlamak amacıyla gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, fosfat içerikli monomerlerden yola çıkılarak serbest radikal polimerizasyonu/kondenzasyon polimerizasyonu kimyası ile kompozit hidrojellerin sentezlenmesi, mikrojellerin hazırlanması, mikrojel katkılı filmlerin hazırlanması ve karakterizasyonu başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen polimerik yapıların biyomedikal uygulamalardaki kullanım potansiyelleri ortaya konulmuştur. Çalışmada elde edilen sonuçlar basamaklar halinde özetlenecek olursa;

- Fosfat içerikli küresel polimerik mikrojeller süspansiyon polimerizasyonu ile başarılı bir şekilde sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir.
- Biyomateryal olarak yaygın kullanılan HEMA monomerinden farklı çapraz bağlayıcı kullanımı ile PHEMA hidrojel filmler farklı kalınlıklarda ve şekillerde sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir.
- Bir amin kaynağı olan modifiye edilebilir pH duyarlı trieteramin grubunda olan jeffamin ile epoksi bazlı GDE'nin kondenzasyon polimerizasyonu ile bir seri hidrojel film farklı kalınlık ve şekilde sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir.
- İki farklı polimerizasyon türü aynı anda aynı ortamda kullanılarak PHEMA-JEF IPN filmleri başarılı bir şekilde sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir.
- Sentezlenen fosfat bazlı mikrojelin IPN filmlere entegrasyonu sağlanmış ve fonksiyonel film elde edilmiştir.
- Hazırlanan filmler uygulama performansını ve duyarlılığını arttırmak için çeşitli modifikasyonlar başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir.
- Sentezlenen mikro ve makro yapıların metal nanopartikül hazırlanmasında kalıp görevinde kullanılması ile Ag ve Cu metal nanopartikül içeren kompozit yapılar başarılı bir şekilde sentezlenmiştir.

- Hazırlanan tüm yapılar kapsamlı bir karakterizasyon sonrası biyomedikal uygulamalarda kullanılmıştır. Bu uygulamalarda;
 - Mikrojel ve tüm filmler ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılmış ve 48 saatlik salım profilleri incelenmiştir. TMP salım grafiğine göre 48 saatlik zaman diliminde PHEMA, JEF, PHEMA-JEF, PHEMA-JEF/P-mikrojel filmleri ve PHMP mikrojel sırası ile 14 mg/g, 10mg/g, 6,2 mg/g, 6,4mg/g, 48 mg/g TMP salmışlardır. SDF salım grafiğine göre 48 saatlik zaman diliminde PHEMA, JEF, PHEMA-JEF, PHEMA-JEF/P-mikrojel filmleri ve PHMP mikrojel sırası ile 5,6 mg/g, 36 mg/g, 35 mg/g, 14 mg/g, 59 mg/g SDF salmışlardır. Yüklenen ve salınan ilaç miktarının kontrol altına alınabileceği görülmüştür.
 - Filmlerin sitotoksiteleri test edilmiş ve modifikasyon ile uyumluluğun kontrol altına alınabileceği görülmüştür. PHEMA, JEF, PHMP, PHEMA-JEF, PHEMA-JEF/P-mikrojel, Betainli JEF, Betainli PHEMA-JEF/P-mikrojel sırası ile 99,41, 13,92, 95,31, 136,2, 74,36, 80,05, 89,09 % hücre canlılığı göstermiştir.
 - Modifiye ve kompozit yapıların antibakteriye aktiviteleri test edilmiş ve modifikasyon ile antibakteriyel etkinin artırılabilceği görülmüştür.
 - Hazırlanan IPN filmin hızlandırılmış degradasyon testi uygulanmıştır. Hızlandırılmış test sonucu 4. ay sonunda numunenin % 13'ünün bozunduğunu hesaplanmıştır. Hazırlanan filmin yavaş bozunduğu ve bozunma süresinin uygulanacak yaraya göre ayarlanabileceği görülmüştür.

Sonuç olarak iyi tanımlanmış bir seri hidrojel film ve modifiye formları elde edilmiştir. Elde edilen veriler ışığında ek geliştirmeler ile tedaviye spesifik film hazırlanabilir ve kontrol mekanizması detaylı çalışılabilir. İlerleyen çalışmalarda ilgili ilaç, hormon, biyomolekül vb sisteme konjugasyonu ile hidrojel filmin fonksiyonelliği artırılabilir. Çalışmanın devamı niteliğinde yara ve yanık tedavisi kullanımı için *in-vivo* hayvan deneyleri ile desteklenebilecektir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Aderibigbe, B. A., & Buyana, B. (2018). Alginate in wound dressings. *Pharmaceutics*, 10(2), 42. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10020042>
- Ahmad, Z., Salman, S., Khan, S. A., Amin, A., Rahman, Z. U., Al-Ghamdi, Y. O., ... & Khan, S. B. (2022). Versatility of hydrogels: from synthetic strategies, classification, and properties to biomedical applications. *Gels*, 8(3), 167. <https://doi.org/10.3390/gels8030167>
- Allushi, A. (2017). *Polinükleer Aromatik Bileşikler Kullanarak Işıkla Başlatılmış Metal İçermeyen Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu*. (Doctoral dissertation, Fen Bilimleri Enstitüsü). <http://hdl.handle.net/11527/15869>
- Altunbek, M., Gezek, M., Gouveia, M. E. T., & Camci-Unal, G. . (2024). Development of a Sprayable Hydrogel-Based Wound Dressing: An In Vitro Model. . *Gels*, 10(3), 176. <https://doi.org/10.3390/gels10030176>
- Andrade, F., Roca-Melendres, M. M., Durán-Lara, E. F., Rafael, D., & Schwartz Jr, S. . (2021). Stimuli-responsive hydrogels for cancer treatment: The role of pH, light, ionic strength and magnetic field. *Cancers*, 13(5), 1164. <https://doi.org/10.3390/cancers13051164>
- Bai, X., Gao, M., Syed, S., Zhuang, J., Xu, X., & Zhang, X. Q. (2018). Bioactive hydrogels for bone regeneration. *Bioactive materials*, 3(4), 401-417. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2018.05.006>
- Barhoum, A., Sadak, O., Ramirez, I. A., & Iverson, N. (2023). Stimuli-bioresponsive hydrogels as new generation materials for implantable, wearable, and disposable biosensors for medical diagnostics: Principles, opportunities, and challenges. . *Advances in Colloid and Interface science*, 317, 102920. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2023.102920>
- Batista, R. A., Espitia, P. J. P., Quintans, J. D. S. S., Freitas, M. M., Cerqueira, M. Â., Teixeira, J. A., & Cardoso, J. C. . (2019). Batista, R. A., Espitia, P. J. P., Quintans, J. D. S. S., Freitas, M. M., CerqHydrogel as an alternative structure for food packaging systems. *Carbohydrate polymers*, 205, 106-116. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.10.006>
- Bauli, C. R., Lima, G. F., de Souza, A. G., Ferreira, R. R., & Rosa, D. S. . (2021). Eco-friendly carboxymethyl cellulose hydrogels filled with nanocellulose or nanoclays for agriculture applications as soil conditioning and nutrient carrier and their impact on cucumber growing. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 623, 126771. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2021.126771>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Bialik-Wąs, K., Pluta, K., Malina, D., Barczewski, M., Malarz, K., & Mrozek-Wilczkiewicz, A. (2021). Advanced SA/PVA-based hydrogel matrices with prolonged release of Aloe vera as promising wound dressings. *Materials Science and Engineering: C*, 120, 11166. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111667>
- Borda, L. J., Macquhae, F. E., & Kirsner, R. S. . (2016). Wound dressings: a comprehensive review. *Current Dermatology Reports*, 5, 287-297. <https://doi.org/10.1007/s13671-016-0162-5>
- Brumberg, V., Astrelina, T., Malivanova, T., & Samoilov, A. . (2021). Modern wound dressings: Hydrogel dressings. *Biomedicines*, 9(9), 1235. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9091235>
- Butun, S., Sahiner, N. (2011). A versatile hydrogel template for metal nano particle preparation and their use in catalysis. *Polymer*, 52(21), 4834-4840. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2011.08.021>
- Cao, X., Li, F., Zheng, T., Li, G., Wang, W., Li, Y., ... & Lu, Y. (2022). Cellulose-based functional hydrogels derived from bamboo for product design. *Frontiers in Plant Science*, 13, 958066. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.958066>
- Choi, J. Y., Joo, Y. J., Kang, R. J., Jeon, H. K., & Hong, G. S. (2024). Effect of Spray-Type Alginate Hydrogel Dressing on Burn Wounds. *Gels*, 10(2), 152. <https://doi.org/10.3390/gels10020152>
- Chuasuwana, B., Binjesoh, V., Polli, J. E., Zhang, H., Amidon, G. L., Junginger, H. E., ... & Barends, D. M. . (2009). Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: Diclofenac sodium and diclofenac potassium. *Journal of pharmaceutical sciences*, 98(4), 1206-1219. <https://doi.org/10.1002/jps.21525>
- Deng, F., Zou, J. P., Zhao, L. N., Zhou, G., Luo, X. B., & Luo, S. L. (2019). 3 - Nanomaterial-Based Photocatalytic Hydrogen Production. *Micro and Nano Technologies*, 59-82. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814837-2.00003-2>
- Devi VK, A., Shyam, R., Palaniappan, A., Jaiswal, A. K., Oh, T. H., & Nathanael, A. J. (2021). Self-healing hydrogels: Preparation, mechanism and advancement in biomedical applications. *Polymers*, 13(21), 3782. <https://doi.org/10.3390/polym13213782>
- Dhivya, S., Padma, V. V., & Santhini, E. . (2015). Wound dressings—a review. *BioMedicine*, 5(4), 22. <https://doi.org/10.7603/s40681-015-0022-9>
- Dickhudt, R. J., Devineni, G., Kostal, J., & Boyes, S. G. (2024). Synthesis of well-defined aromatic poly (amide-ether) s via chain-growth condensation polymerization. *Journal of Polymer Science.*, 62(7), 1446-1459. <https://doi.org/10.1002/pol.20230663>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Dong, M., Jiao, D., Zheng, Q., Wu, Z, L. (2022). Recent progress in fabrications and applications of functional hydrogel films. *Journal of Polymer Science*, 6 (11), 1026-1039. <https://doi.org/10.1002/pol.20220451>
- El Sayed, Marwa M. . (2023). Production of polymer hydrogel composites and their applications. *Journal of Polymers and the Environment*, 31(7), 2855-2879. <https://doi.org/10.1007/s10924-023-02796-z>
- Ersoy, Y., Duran, M., Tayyar, A. E. (2015). Medical Textiles and Wound Dressing. *Duzce University Journal of Science and Technology*, 3 (2), 451-458. <https://doi.org/10.1007/s10924-023-02796-z>
- Fletcher, J. (2003). Using film dressings. *Nursing times*, 99(25), 57-57. /10.1007/s10924-023-02796-z
- Foster, T. J. (2002). Staphylococcus aureus. *Molecular medical microbiology*, 839-888. <https://doi.org/10.1016/B978-012677530-3/50258-0>
- Goh, M., Du, M., Peng, W. R., Saw, P. E., & Chen, Z. . (2024). Advancing burn wound treatment: exploring hydrogel as a transdermal drug delivery system. *Drug Delivery*, 31(1), 2300945. <https://doi.org/10.1080/10717544.2023.2300945>
- Gözelle, M., & Süloğlu, A. K. (2022). Synthesis of 2-Substitutedbenzimidazolium Tetrachloroplatinate (II) Compounds and Their Cytotoxic Activities on Different Cell Lines. *Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences*, 47(3), 281-292. Doi: 10.55262/fabadeczacilik.1134520
- Guo, Y., Dundas, C. M., Zhou, X., Johnston, K. P., & Yu, G. (2021). Molecular engineering of hydrogels for rapid water disinfection and sustainable solar vapor generation. *Advanced Materials*, 33(35), 2102994. <https://doi.org/10.1002/adma.202102994>
- Hoffman, A. S. (2002). Hydrogels for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54 (1). <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.010>
- Huovinen, P. (1987). Trimethoprim resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 31(10), 1451-1456. doi/pdf/10.1128/aac.31.10.1451
- Ishihara, K., Shi, X., Fukazawa, K., Yamaoka, T., Yao, G., & Wu, J. Y. . (2023). Biomimetic-engineered silicone hydrogel contact lens materials. . *ACS Applied Bio Materials*, , 6(9), 3600-3616.
- Kaur, P., Agrawal, R., Pfeffer, F. M., Williams, R., & Bohidar, H. B. (2023). Hydrogels in agriculture: Prospects and challenges. *Journal of Polymers and the Environment*, 31(9), 3701-3718. Doi:10.1007/s10924-023-02859-1

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Khan, R., Aslam Khan, M. U., Stojanović, G. M., Javed, A., Haider, S., & Abd Razak, S. I. (2024). Fabrication of bilayer nanofibrous-hydrogel scaffold from bacterial cellulose, PVA, and gelatin as advanced dressing for wound healing and soft tissue engineering. *ACS omega*, 9(6), 6527-6536. doi/full/10.1021/acsomega.3c06613
- Khan, S., Vega-Chacón, J., Ruiz-Córdova, G. A., Pizan-Aquino, C., Jara-Cornejo, E. E., Torres, S. E., ... & Villa, J. E. (2023). Precipitation polymerization. In *Smart Polymer Nanocomposites*, 121-139. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91611-0.00022-0>
- Kinoshita, K., Takano, Y., Ohkouchi, N., & Deguchi, S. . (2017). Free-radical polymerization of acrylic acid under extreme reaction conditions mimicking deep-sea hydrothermal vents. *ACS omega*, 2(6), 2765-2769. doi/full/10.1021/acsomega.7b00293
- Kuddushi, M., Deng, X., Nayak, J., Zhu, S., Xu, B. B., & Zhang, X. . (2023). A Transparent, Tough and Self-Healable Biopolymeric Composites Hydrogel for Open Wound Management. *ACS Applied Bio Materials*, 6(9), 3810-3822. doi/full/10.1021/acsabm.3c00455
- Kumar, A., Wang, X., Nune, K. C., & Misra, R. D. K. (2017). Biodegradable hydrogel-based biomaterials with high absorbent properties for non-adherent wound dressing. *International wound journal*, 14(6), 1076-1087. <https://doi.org/10.1111/iwj.12762>
- Lale, A. (2019). İyi tanımlanmış zincir uç fonksiyonlu poli (l-laktid) makrofotobaşlatıcısının sentezi ve karakterizasyonu. (*Doctoral Tezi, Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*). <http://acikerisim.harran.edu.tr>
- Li, J., & Mooney, D. J. . (2016). Designing hydrogels for controlled drug delivery. *Nature Reviews Materials*, 1(12), 1-17. <https://www.nature.com/articles/natrevmats201671>
- Li, S., Dong, S., Xu, W., Tu, S., Yan, L., Zhao, C., ... & Chen, X. (2018). Antibacterial hydrogels. *Advanced science*, 5(5), 1700527. <https://doi.org/10.1002/advs.201700527>
- Liu, M., Zeng, X., Ma, C., Yi, H., Ali, Z., Mou, X., ... & He, N. . (2017). Injectable hydrogels for cartilage and bone tissue engineering. *Bone research*, 5(1), 1-20. <https://www.nature.com/articles/boneres201714>.
- Liu, S. (2024). The Future of Free Radical Polymerizations. *Chemistry of Materials*, 36(4), 1779-1780. doi/full/10.1021/acs.chemmater.4c00312
- Liu, X., Liu, Y., Du, J., Li, X., Yu, J., & Ding, B. . (2021). Breathable, stretchable and adhesive nanofibrous hydrogels as wound dressing materials. *Engineered Regeneration*, 2, 63-69. <https://doi.org/10.1016/j.engreg.2021.05.001>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Mahsa Baghban Salehi, Asefe Mousavi Moghadam. (2023). Chapter 2- Sustainable production of hydrogels. *Sustainable Hydrogels*,, 23-46. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91753-7.00006-5>
- Malpure, P. S., Patil, S. S., More, Y. M., & Nikam, P. P. . (2018). A review on-hydrogel. *Am J PharmTech Res*, 8(3), 42-60. <http://www.ajptr.com>
- Mansur, A. A. P., Rodrigues, M. A., Capanema, N. S. V., Carvalho, S. M., Gomes, D. A., & Mansur, H. S. . (2023). Functionalized bioadhesion-enhanced carboxymethyl cellulose/polyvinyl alcohol hybrid hydrogels for chronic wound dressing applications. *RSC advances*, 13(19), 13156-13168. DOI: 10.1039/D3RA01519J
- Mehta, P., Sharma, M., & Devi, M. . (2023). Hydrogels: An overview of its classifications, properties, and applications. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 106145. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2023.106145>
- Mishra, V., & Kumar, R. . (2012). Living radical polymerization: A review. *J. Sci.* , 56, 141-176. DOI 10.1002/app. 35480
- Nešović, K., Janković, A., Radetić, T., Vukašinović-Sekulić, M., Kojić, V., Živković, L., ... & Mišković-Stanković, V. . (2019). Chitosan-based hydrogel wound dressings with electrochemically incorporated silver nanoparticles–In vitro study. *European Polymer Journal*, 121, 109257. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2019.109257>
- Nguyen, H. M., Le, T. T. N., Nguyen, A. T., Le, H. N. T., & Pham, T. T. . (2023). Biomedical materials for wound dressing: Recent advances and applications. *RSC advances*, 13(8), 5509-5528. DOI: 10.1039/D2RA07673J
- Norouzi, M., Nazari, B. and Miller, D.W. . (2016). Injectable hydrogel-based drug delivery systems for local cancer treatment. *Drug discovery today*, 21 (11), 1835-1849. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2016.07.006>
- Pakdel, P. M., & Peighambaroust, S. J. (2018). Review on recent progress in chitosan-based hydrogels for wastewater treatment application. . *Carbohydrate polymers*, 201, 264-279. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.08.070>
- Pinelli, F., Magagnin, L., & Rossi, F. . (2020). Progress in hydrogels for sensing applications: A review. *Materials Today Chemistry*, 17, 100317. <https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2020.100317>
- Pulat, E. (1975). *İyonik Polimerizasyon*. Türkiye: Millî Kütüphane Basımevi.
- Qu, J., Zhao, X., Liang, Y., Xu, Y., Ma, P. X., & Guo, B. . (2019). Degradable conductive injectable hydrogels as novel antibacterial, anti-oxidant wound dressings for wound healing. *Chemical Engineering Journal*, 362, 548-560. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.01.028>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Rezvani Ghomi, E., Niazi, M., & Ramakrishna, S. . (2023). The evolution of wound dressings: From traditional to smart dressings. *Polymers for Advanced Technologies*, 34(2), 520-530, 34(2), 520-530.
- Ruangpan, L., & Tendencia, E. . (2004). Laboratory manual of standardized methods for antimicrobial sensitivity tests for bacteria isolated from aquatic animals and environment. *Aquaculture Department, Southeast Asian Fisheries Development Center.*, 10. <https://doi.org/10.1002/pat.5929>
- Rudin, A., & Choi, P. (2013). Polymer reaction engineering. . *The elements of polymer science & engineering*, 495-520. DOI 10.1016/b978-0-12-382178-2.00012-2
- Sarmah, D., Borah, M., Mandal, M., & Karak, N. (2023). Swelling induced mechanically tough starch–agar based hydrogel as a control release drug vehicle for wound dressing applications. *Journal of Materials Chemistry B*, 11(13), 2927-2936. DOI: 10.1039/D2TB02775E
- Seth Beck, Ravin Narain. (2020). Chapter 3 - Polymer synthesis. *Polymer Science and Nanotechnology*, 21-85. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816806-6.00003-0>
- Shrivastava, A. (2018). Polymerization. *Introduction to Plastics Engineering* (s. 17-48). içinde William Andrew.
- Singh, B., Sharma, S., & Dhiman, A. (2017). Acacia gum polysaccharide based hydrogel wound dressings: Synthesis, characterization, drug delivery and biomedical properties. *Carbohydrate Polymers*, 165, 294-303. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.02.039>
- Singh, S. K., Dhyani, A., & Juyal, D. (2017). Hydrogel: Preparation, characterization and applications. *The Pharma Innovation*, 6(6, Part A), 25.
- Singhal, R., & Gupta, K. . (2016). A review: Tailor-made hydrogel structures (classifications and synthesis parameters). *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, 55(1), 54-70. <https://doi.org/10.1080/03602559.2015.1050520>
- Stanciu, L. &-A. (2021). *Introductory Biomaterials: An Overview of Key Concepts*. Elsevier.
- Solomevich, S. O. (2019). Biodegradable pH-sensitive prospidine-loaded dextran phosphate based hydrogels for local tumor therapy. *Carbohydrate polymers*. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115308>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Sun, Z., Song, C., Wang, C., Hu, Y., & Wu, J. (2019). Hydrogel-based controlled drug delivery for cancer treatment: a review. *Molecular pharmaceutics*, 17(2), 373-391. doi/full/10.1021/acs.molpharmaceut.9b01020
- Tavakoli, S., & Klar, A. S. (2020). Advanced hydrogels as wound dressings. . *Biomolecules*, 10(8), 1169. <https://doi.org/10.3390/biom10081169>
- Thomas, S., Sharma, B., Jain, P., & Shekhar, S. (Eds.). (2023). Synthesis, Properties, and Applications. Elsevier. *Sustainable Hydrogels*.
- Ullah, F., Othman, M. B. H., Javed, F., Ahmad, Z., & Akil, H. M. . (2015). Classification, processing and application of hydrogels: A review. . *Materials Science and Engineering: C*, 57, 414-433. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.07.053>
- Ulusoy, A., & Dikmen, N. . (2020). Hidrojellerin Tıpta Uygulamaları. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 29(2), 129-137. <https://doi.org/10.17827/aktd.603432>
- Umoren, S. A., Solomon, M. M., & Saji, V. S. . (2022). Polymeric materials in corrosion inhibition: fundamentals and applications. *Elsevier*.
- Varaprasad, K., Raghavendra, G. M., Jayaramudu, T., Yallapu, M. M., & Sadiku, R. (2017). A mini review on hydrogels classification and recent developments in miscellaneous applications. *Materials Science and Engineering: C*, 79, 958-971. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.05.096>
- Wang, Q., Li, Q., Zhu, L., Lin, C., Chen, Q., & Chen, H. (2024). Fabrication of Cu/ZnO-loaded chitosan hydrogel for an effective wound dressing material to advanced wound care and healing efficiency after caesarean section surgery. *International Wound Journal*, 21(1), e14366. <https://doi.org/10.1111/iwj.14366>
- Wang, W., Narain, R., Zeng, H. (2020). Hydrogels. *Polymer Science and Nanotechnology*, 203-244. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816806-6.00010-8>
- Zhao, Y., Yi, B., Hu, J., Zhang, D., Li, G., Lu, Y., & Zhou, Q. . (2023). Double cross-linked biomimetic hyaluronic acid-based hydrogels with thermo-stimulated self-contraction and tissue adhesiveness for accelerating post-wound closure and wound healing. *Advanced Functional Materials*, 33(26), 2300710. <https://doi.org/10.1002/adfm.202300710>
- Zulkifli Ahmad, M. Khalil Abdullah, Muhammad Zeshan Ali, Mohamad Adzhar Md Zawawi. (2023). Chapter 1- Introduction to polymers,. *Polymers in Electronics*, 3-31.