

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÜÇ BOYUTLU YAZICI İLE BİYOMEDİKAL UYGULAMALAR İÇİN
ÇOK FONKSİYONLU POLİMER KOMPOZİT FİLAMANT
GELİŞTİRİLMESİ

İlknur KÖKCÜ

DOKTORA TEZİ

Makine Mühendisliği Anabilim Dalı

İmal Usulleri Programı

Danışman

Prof. Dr. Mihrişül EKŞİ ALTAN

Mart, 2023

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÜÇ BOYUTLU YAZICI İLE BİYOMEDİKAL UYGULAMALAR İÇİN ÇOK
FONKSİYONLU POLİMER KOMPOZİT FİLAMANT GELİŞTİRİLMESİ

İlknur KÖKCÜ tarafından hazırlanan tez çalışması 10.03.2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Makine Mühendisliği Anabilim Dalı, İmal Usulleri Programı **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mihriğül EKŞİ ALTAN
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Mihriğül EKŞİ ALTAN, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Alper UYSAL, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Bora ŞENER, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Meltem ERYILDIZ, Üye
Beykent Üniversitesi

Prof. Dr. Adnan DİKİCİOĞLU, Üye
İstanbul Teknik Üniversitesi

Danışmanım Prof. Dr. Mihriğöl EKŞİ ALTAN sorumluluğunda tarafımca hazırlanan Üç Boyutlu Yazıcı ile Biyomedikal Uygulamalar için Çok Fonksiyonlu Polimer Kompozit Filament Geliştirilmesi başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

İlknur KÖKCÜ

İmza



Bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü'nün FBA-2020-3895 numaralı projesi ile desteklenmiştir.



Canım Aileme,

TEŞEKKÜR

Doktora sürecinde engin teknik bilgilerini benden esirgemeyen, kendi tecrübesini bana içtenlikle aktaran, doktor olma yolculuğumda ve araştırmalarımda bana sonuna kadar destek veren saygı değer danışman hocam Prof. Dr. Mihriğül EKŞİ ALTAN'a teşekkür ederim. Doktora boyunca açık iletişimi, sürekli temasta olması, zaman planındaki disiplini sayesinde bu süreci kolaylaştırmada verdiği değerli desteklerin yanı sıra daha farkındalığı olan bir insan olmamı sağladığı için ve hayatıma yeni bir bakış açısı kattığı için kendisine teşekkürlerimi sunarım.

Doktoradaki tez izleme döneminde araştırmalarım ve çalışmalarımın daha iyi olması yönündeki geri bildirimlerinden ve değerli bilgi paylaşımlarından dolayı saygıdeğer Prof. Dr. Adnan DİKİCİOĞLU ve saygıdeğer Prof. Dr. Alper UYSAL'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Doktorada deneysel çalışmalarımda bana aktarmış olduğu deneyimi, akademik bilgi paylaşımı ve bu süreçteki yardımları için saygıdeğer Dr. Öğr. Üyesi Meltem ERYILDIZ'a teşekkür ederim. Biyolojik deneylerdeki destekleri için Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi, Kimya-Biyokimya Bölümü öğretim üyesi saygıdeğer Doç. Dr. Sedat ODABAŞ'a minnetlerimi sunarım. Saygıdeğer Dr. Öğr. Üyesi Bora ŞENER'e doktora sürecimdeki destekleri için teşekkür ederim. Ayrıca doktora çalışmalarımındaki emeği geçen diğer tüm hocalarıma çok teşekkür ederim.

Doktora gibi uzun ve zorlu bir süreçte motivasyonumu sürekli yüksek tutan, başaracağım konusunda bana sonsuz güvenen, bunun yanında çalışmalarımı maddi ve manevi olarak her zaman destek veren aileme teşekkür ederim. Bu süreci benden çok merak edip yakından takip eden aile fertlerimin çalışmalarına bağlılığını destekledikleri için onlara minnettarım.

Çalışmalarım boyunca stresli olduğum anlarda bana iyi gelen, sakinleştiren ve içimi sevgi ile dolduran, bu süreçte yanımdan hiç ayrılmayıp yoğun geçen uykusuz zamanlarımda bana arkadaşlık eden, hep yanı başımda olan biricik kedim Cedric'e teşekkür ederim.

İlknur KÖKCÜ

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ	ix
KISALTMA LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
TABLO LİSTESİ	xiii
ÖZET	xiv
ABSTRACT	xvi
1 GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti.....	1
1.2 Tezin Amacı	6
1.3 Hipotez	6
2 BİYOMEDİKAL UYGULAMALARDAKİ POLİMER NANOKOMPOZİTLER, İLAÇ YÜKLEME TEKNİKLERİ	7
2.1 Biyopolimerler	7
2.2 Polilaktik Asit (PLA).....	9
2.2.1 PLA' nın Mekanik, Kimyasal, Termal Özellikleri.....	10
2.2.2 PLA' nın Sentezi.....	10
2.2.3 PLA' nın Bozunması.....	12
2.2.4 PLA' nın Genel Kullanım Alanları.....	13
2.2.5 PLA' nın Doku Mühendisliğindeki Uygulamaları.....	13
2.3 Biyonano Takviyeler.....	15
2.3.1 Halloysit Nanotüp (HNT)	18
2.4 Biyopolimer Nano Kompozitler	20
2.5 İlaç Yükleme Teknikleri.....	22
3 BİYOMEDİKAL UYGULAMALAR İÇİN ÜÇ BOYUTLU YAZICI ÜRETİM YÖNTEMLERİ	24
3.1 Seçici Lazer Sinterleme (SLS)	24
3.2 Dijital Işık İşleme (DLP)	25
3.3 Bağlayıcı Püskürtme Yöntemi (BJP)	26
3.4 Katmanlı Parça Üretimi (LOM).....	28
3.5 Ergiyik Yığarak Modelleme (EYM)	29
4 DENEYSEL ÇALIŞMA	32
4.1 Malzeme	32

4.2	Halosite Nanotübün İlaç Yüklenmesi	33
4.3	Ergiyik Karıştırma Yöntemi ile Kompozit Filament Üretimi	33
4.4	Kompozit Doku İskelesi Numunelerinin Üretimi.....	34
4.5	Kompozitlerin Karakterizasyonu	36
4.5.1	Fouirer Transform Infrared Spektrofotometre (FTIR)	36
4.5.2	X-Işını Fotoelektron Spektroskopi (XPS)	37
4.5.3	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC)	37
4.5.4	Termogravimetrik Analiz (TGA)	37
4.6	Kompozit Doku İskelelerinin Morfolojik Testleri	37
4.6.1	Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	37
4.7	Kompozit Doku İskelelerinin Mekanik Testleri	38
4.7.1	Çekme Testi.....	38
4.7.2	Basma Testi	38
4.7.3	Üç Nokta Eğme Testi	39
4.8	Kompozit Doku İskelelerinin Biyolojik Testleri	40
4.8.1	In-vitro İlaç Salınım Testi	40
4.8.2	Hücre- Malzeme Etkileşimi Testleri	41
5	BULGULAR VE TARTIŞMA	43
5.1	Kompozitlerin Karakterizasyonu	43
5.1.1	FTIR Sonuçları.....	43
5.1.2	XPS Sonuçları	46
5.1.3	DSC Sonuçları	47
5.1.4	TGA Sonuçları	49
5.2	Kompozit Doku İskelelerinin Morfolojik Özellikleri	50
5.2.1	SEM Sonuçları	50
5.3	Kompozit Doku İskelelerinin Mekanik Özellikleri.....	52
5.3.1	Kompozit Doku İskelelerinin Çekme Mukavemeti.....	52
5.3.2	Kompozit Doku İskelelerinin Basma Mukavemeti	54
5.3.3	Kompozit Doku İskelelerinin Üç Nokta Eğme Mukavemeti	55
5.4	Kompozit Doku İskelelerinin Biyolojik Özellikleri.....	57
5.4.1	Kompozit Doku İskelelerinin In-Vitro İlaç Salınım Özellikleri	57
5.4.2	Kompozit Doku İskelelerinin Hücre Etkileşim Özellikleri	58
6	SONUÇ VE ÖNERİLER	61
	KAYNAKÇA	64



SİMGE LİSTESİ

Al_2O_3	Alümina
T_g	Camsı Geçiş Sıcaklığı
ΔH_m	Ergime Entalpisi
T_m	Ergime Sıcaklığı
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Kalsiyum Hidroksiapatit
$\text{Al}_4\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_8$	Kaolinit
$\text{C}_4\text{H}_{12}\text{ClN}_5$	Metformin
ΔH_m^0	PLA (%100 kristalli) için ergime entalpisi
w_{PLA}	PLA'nın nanokompozit içindeki ağırlık fraksiyonu
SiO_2	Silika
ΔH_{cc}	Soğuk Kristalleşme Entalpisi
T_{cc}	Soğuk Kristalleşme Sıcaklığı
ZrO_2	Zirkonya

KISALTMA LİSTESİ

ABS	Akrilonitril bütadien stiren
AM	Eklemeli İmalat
ATR	Azaltılmış Toplam Yansıma Spektroskopi
BG	Biyoaktif Cam
BJP	Püskürtmeli Jet Prosesi
BP	Bisfosfonat
CS	Kitosan
DLP	Dijital Işık İşleme
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
EYM	Ergiyik Yığarak Modelleme
FDM	Fused Deposition Modelling
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopi
Hap	Hidroksiapatit
HNT	Haloysit Nanotüp
İYE	İlaç Yüklenme Etkinliği
MET	Metformin
MIT	Massachusetts Institute of Technology
MTT	3-[4,5-dimetiltiazol-2yl]-2,5-difeniltetrazolium
PA	Poliamid
PC	Polikarbonat
PLA	Polilaktik Asit
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
SLS	Seçici Lazer Sinterleme
TCP	Trikalsiyum Fosfat
TGA	Termogravimetrik Analiz
XPS	X-Işını Fotoelektron Spektroskopi

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 Polilaktik asit kimyasal yapısı.....	9
Şekil 2.2 Laktitlerin stereoformları [63]	11
Şekil 2.3 PLA'nın biyomedikal uygulamalarda kullanım alanı.....	14
Şekil 2.4 HNT'nin kimyasal yapısı.....	19
Şekil 2.5 HNT'nin biyomedikal uygulamaları.....	20
Şekil 3.1 SLS prosesi.....	24
Şekil 3.2 DLP prosesi	26
Şekil 3.3 BJP prosesi.....	27
Şekil 3.4 LOM prosesi	28
Şekil 3.5 EYM prosesi [155]	30
Şekil 3.6 EYM ile üretilmiş ilaçlı doku iskelesinin hasarlı kemiğe implantasyonu ve kemiğin iyileşme süreci.....	31
Şekil 4.1 Halloysit Nanotüp için SEM görüntüsü [162].....	32
Şekil 4.2 Metformin kimyasal yapısı	32
Şekil 4.3 EYM makinesi ile doku iskelesi numunesinin üretimi.....	34
Şekil 4.4 Çift vidalı ekstrüder ve üretilmiş filament	35
Şekil 4.5 Deneysel çalışma proses döngüsü.....	38
Şekil 4.6 Çekme cihazı (a), çekme testi sonucu çekme numunesi (b)	38
Şekil 4.7 Basma cihazı (a), basma testi sonucu basma numunesi (b).....	39
Şekil 4.8 Üç nokta eğme cihazı (a), üç nokta eğme testi sonucu eğme numunesi (b)	39
Şekil 4.9 % 50 doluluk oranında biyolojik test numunesinin Simplify 3D programında görüntüsü (a), EYM ile üretilmiş üç boyutlu doku iskelesi olan biyolojik test numuneleri (b).....	40
Şekil 5.1 FTIR spektrumları	44
Şekil 5.2 2900-3080 cm ⁻¹ dalga sayısı aralığındaki FTIR spektrumları	45
Şekil 5.3 3500-3740 cm ⁻¹ dalga sayısı aralığındaki FTIR spektrumları	45
Şekil 5.4 XPS spektrumları.....	46
Şekil 5.5 DSC ısıtma eğrileri	47
Şekil 5.6 DSC soğutma eğrileri	49
Şekil 5.7 TGA eğrileri	49
Şekil 5.8 Kırılan yüzeylerin SEM görüntüleri A. Saf PLA B. PLA-% 1HNT, C. PLA(%1HNT-MET), D. PLA-%2HNT, E. PLA-%3HNT, F. PLA-%4HNT, G. PLA-%5HNT, 1) 100x, 2)500x, 3)10000x	51

Şekil 5.9	Doku iskeleleri çekme mukavemeti ve çekme uzaması (%) grafiği.....	53
Şekil 5.10	Doku iskeleleri basma mukavemeti ve basma uzaması (%) grafiği....	54
Şekil 5.11	Doku iskeleleri eğme mukavemeti ve eğme uzaması (%) grafiği	55
Şekil 5.12	Doku iskelesi uygulamaları için insan kemiklerinden bazıları	56
Şekil 5.13	3B basılan doku iskelelerinin biyouyumluluğu- 24 saat MTT analiz sonucu	59
Şekil 5.14	SaOs-2 hücrelerinin 7 güne kadar çoğalma rejimi	59
Şekil 5.15	Numunelerde zaman bağlı kantitatif alizarin kırmızısı boyaması	60



TABLO LİSTESİ

Tablo 4.1 EYM işlem parametreleri.....	35
Tablo 4.2 Çekme, basma, üç nokta eğme testi numuneleri, standard ve ölçüleri	35
Tablo 5.1 Saf PLA ve PLA-HNT nanokompozitlere ait termal özellikler	48
Tablo 5.2 Üretilen Saf PLA ve PLA-HNT nanokompozitlere ait TGA değerleri....	50
Tablo 5.3 Üretilen doku iskelelerinin çekme mukavemeti ve uzaması değerleri.	53
Tablo 5.4 Üretilen doku iskelelerinin basma mukavemeti ve uzaması değerleri.	55
Tablo 5.5 Üretilen doku iskelelerinin üç nokta eğme mukavemeti, uzaması ve tokluk değerleri	56



Üç Boyutlu Yazıcı ile Biyomedikal Uygulamalar için Çok Fonksiyonlu Polimer Kompozit Filament Geliştirilmesi

İlknur KÖKCÜ

Makine Mühendisliği Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Mihrişül EKŞİ ALTAN

Üç boyutlu (3B) yazıcıların biyomedikal uygulamalardaki önemi her geçen gün artmaktadır. Ergiyik yığarak modelleme (EYM), kemik veya kıkırdak gibi sert dokuları üretmek için kullanılan üç boyutlu yazıcı ile üretim yöntemlerinden biridir. Bu çalışmada, medikal uygulamalar için çok fonksiyonlu polimer esaslı nanokompozit doku iskelelerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır. %1'den %5'e kadar halloysit nanotüp (HNT), polilaktik asite (PLA), ergiyik karıştırma yöntemi ile katılarak kompozit filamentler üretilmiştir. Geliştirilen doku iskelesine ilaç taşıma özelliğini kazandırmak amacıyla metformin (MET) kullanılmıştır. MET, elektrostatik etkileşimler kullanılarak HNT partiküllere yüklenmiştir. İlaç yüklenmiş HNT takviyeli PLA filamentlerden, EYM yöntemi ile kompozit doku iskelesi test numuneleri üretilmiştir. Bu doku iskelelerin karakterizasyonu fourier transform infrared spektroskopisi (FTIR), X-ray fotoelektron spektroskopisi (XPS), diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC), termogravimetrik analiz (TGA) ve elektron taramalı mikroskopu (SEM) ile yapılmıştır. Mekanik özelliklerinin incelenmesi çekme, basma, üç nokta eğme testleri ile gerçekleştirilmiştir. Biyolojik

test olarak, in vitro ilaç salınımı ve hücre canlılığı analizleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre ağırlıkça %3 HNT yüklemesinin iskelelerin çekme, basma ve üç nokta eğme mukavemetlerinde sırasıyla %124, %145 ve %41 artış gösterdiği görülmüştür. Geliştirilen malzemenin biyo uyumlu olduğu ve kontrol seti ile karşılaştırıldığında hücreler üzerinde herhangi bir sitotoksik etkiye neden olmadığı görülmüştür. HNT yüzdesine bakılmaksızın, tüm HNT içeren gruplarda PLA doku iskelesinden daha iyi bir hücre çoğalma rejimi elde edilmiştir. İlaç salınım sonuçlarına göre, 120 saat sonunda üç boyutlu yazıcıyla üretilen doku iskelesindeki ilacın yaklaşık %50'si salınmıştır. Yapılan bu tez çalışmasında, geliştirilen doku iskelelerinin, hem mekanik özellikleri iyileştirilmiş hem de ilaç taşıma özelliği kazandırılmıştır. Bu çok amaçlı doku iskelesinin, kemik rejenerasyonunu desteklediği ve özellikle kemik dokusu kayıplarında ana kemiğe destek olup, ilaç taşıma kabiliyeti ile tedaviye yardımcı olabileceği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Doku iskelesi, filament, polilaktik asit, metformin, haloisit nanotüp.

Development of Multifunctional Polymer Composite Filament for 3D Printer for Biomedical Applications

İlknur KÖKCÜ

Department of Mechanical Engineering

Doctor of Philosophy Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Mihrigül EKŞİ ALTAN

The importance of three-dimensional (3D) printers in biomedical applications is increasing day by day. Fused deposition modelling (FDM) is one of the three-dimensional printing methods which is used to produce hard tissues such as bone or cartilage. In this study, it is aimed to develop multifunctional polymer-based nanocomposite scaffolds for medical applications. Composite filaments were produced by adding 1% to 5% halloysite nanotube (HNT), and polylactic acid (PLA) by melt mixing method. Metformin (MET) was used to give the developed scaffold the ability to transport the drug. MET was loaded into HNT particles by using electrostatic interactions. Composite scaffold test specimens were produced from drug-loaded HNT-doped PLA filaments by the FDM method. The characterization of these scaffolds was performed by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), differential scanning calorimetry (DSC), thermogravimetric analysis (TGA) and electron scanning microscopy (SEM). The mechanical properties were investigated by tensile, compression and three point flexural tests. In vitro drug release and cell viability analyses were performed as biological tests. According to the results

obtained, it was observed that 3% wt HNT loading to scaffolds increased the tensile, compression and three-point flexural strength of the scaffolds by 124%, 145% and 41%, respectively. It was observed that the developed material was biocompatible and did not cause any cytotoxic effect on cells when compared to the control set. Regardless of the percentage of HNT, a better cell proliferation regimen was obtained than the PLA scaffold in all HNT-containing groups. According to the drug release results, approximately 50% of the drug in the scaffold produced by the 3D printer was released by the end of 120 hours. In this thesis study, both the mechanical properties of the developed scaffolds were improved and they gained drug delivery properties. It has been seen that this multifunctional scaffold contributes to bone regeneration, supports the main bone, especially in bone tissue losses, and can help treat with its drug delivery ability.

Keywords: Scaffold, filament, polylactic acid, metformin, halloysite nanotube.

1.1 Literatür Özeti

Üç boyutlu yazıcı ile üretim yöntemi, 3B model verilerinden çok çeşitli yapıları ve karmaşık geometrileri imal etmek için bir eklemeli imalat (Eİ) tekniğidir. Geliştirildiğinden beri, 3B yazıcı ile üretim teknikleri, gözenekli doku iskelelerinin hem makro hem de mikro mimarisi üzerinde etkin bir rol alması nedeniyle büyük ilgi görmüştür. Bunların arasında Ergiyik yığarak modelleme (EYM) tıp ve biyomedikal çalışmalar için yaygın olarak kullanılan bir teknolojidir. Hastaların iyileşmesi, hücrelerin yenilenmesi ve hasarlı kemiğin yerine geçebilmesi için seçilen malzemelerin mekanik dayanım ve biyolojik açıdan istenilen özelliklere sahip olması önemlidir. Öncelikle, polieter eter keton (PEEK), politetrafloroetilen (PTFE), polietilen glikol diakrilat (PEG-DA), polikaprolakton (PCL), yüksek yoğunluklu polietilen (HDPE), polimetilmetakrilat (PMMA), polilaktik asit (PLA) implant için kullanılan biyopolimerler arasında yer almaktadır [1].

EYM yönteminde çoğunlukla tercih edilen malzemelerden biri olan PLA, biyomedikal uygulamalar için çok sayıda fayda sağlayan düşük maliyetli ve biyouyumluluk, biyobozunurluk, biyolojik olarak emilebilir özellikleri nedeniyle en umut verici biyopolimerlerden biridir [2]. Buna rağmen, PLA'nın düşük osteokondüktivitesi, düşük darbe dayanımı, yüzeyinde yetersiz hücresel adezyon gibi özelliklerinden dolayı kemik iyileşmesi için bir destek malzemesi olarak etkinliğini sınırlamaktadır [3]. Bununla birlikte, PLA'nın bozunma metabolitlerinin doku enflamatuar reaksiyonlarına ve klinik başarısızlığa yol açabilen asidik yan ürünler ürettiği görülmüştür [4], [5]. Araştırmalar, hidrofilik doku iskelelerinin, doku mühendisliğinde hücre bağlanması veya çoğalması üzerinde önemli bir gelişme sağlayabildiğini veya hidrofilik ilaçlar/biyofaktörler için bir taşıyıcı görevi görebildiğini ortaya koymasına rağmen, PLA'nın hidrofobik olması dezavantajdır [6], [7]. Bunların haricinde, PLA'nın ergime sıcaklığının üzerinde reolojik davranışı (zincir hidrolizi ve piroliz yoluyla yapı kararsızlığı

sebebi ile birlikte gerinim sertleştirme uzama davranışı) ve kırılabilirlik gibi olumsuz yanları da bulunmaktadır [8]. Öte yandan, bu dezavantajlar, özel takviye malzemelerinin eklenmesiyle azaltılabilir veya tamamen ortadan kaldırılabilir. PLA matrisine eklenen takviye malzemeleri ile üretilen kompozit haldeki doku iskeleleri; saf PLA'ya oranla biyomedikal uygulamalarda gereksinimi daha iyi karşılayan biyolojik ve mekanik özelliklerin yanı sıra bozunabilirliği, ilaç taşıyabilmesi ve ilaç salınımını gerçekleştirmesi imkanı sağlamaktadır. Polimer esaslı filamentin mekanik özellikleri, biyoaktivite özelliklerinin daha iyi olması ve bakteriyel aktiviteye karşı korunması için HAp (hidroksiapatit), halloysit nanotüpler (HNT), magnezyum, çinko ve gümüş gibi takviye malzemeleri eklenebilmektedir [9]. Ayrıca, takviyeler arasında, biyoseramikler, β TCP, CaP bileşikler vs. yer almaktadır. PLA matrisine bu tür takviye malzemelerinin dahil edilmesinin, 3B yapıların mekanik özelliklerini, hidrofiliğini, osteokondüktivitesini, implantasyon üzerine mineralizasyonu gibi özelliklerini iyileştirdiği gözlemlenmiştir [10].

PLA'nın özelliklerini iyileştirmek için takviye malzemeleri ilave edilerek 3B yazıcı ile üretilen PLA esaslı kompozit doku iskelelerine literatürde oldukça rastlanmaktadır. Gremare ve ark. (2018) [11], doku rejenerasyonunda kullanılmak üzere farklı gözenek boyutlarına sahip EYM tekniği ile PLA doku iskeleleri imal etmiş ve bunların kimyasal, fiziksel ve biyolojik özelliklerini incelediğinde gözenek boyutunun mekanik özellikler üzerinde önemli bir rol oynamadığını tespit etmiştir. Öte yandan, hücre değerlendirmeleri insan kemik iliği stromal hücrelerine karşı herhangi bir toksisite göstermediği raporlanmıştır. Jiang ve ark. (2021) [12], PLA/demir ve 316L ağırlıkça % 10 takviye malzemeleriyle doku iskelelerini EYM kullanarak üretmiştir. Saf PLA'ya göre takviyeli doku iskelesinin daha yüksek in vitro bozunma direncine, üstün hidrofilik ıslatma davranışına ve daha iyi sito-uyumluluğa sahip olduğu tespit edilmiştir. Najera ve ark. (2018) [13], yaptığı çalışmada PLA/PCL/TiO₂ kompozit doku iskelelerini EYM ile üretmiştir ve termal, mekanik ve biyolojik özelliklerini incelemiştir ve TiO₂ takviyesinin polimeri stabilize ettiği görülmüştür. TiO₂ takviyeli olan bu malzemede hücre çoğalmasında artış görülmekle birlikte sitotoksisiteye rastlanmamıştır. Singh ve ark. (2020) [14], yaptıkları çalışmada

ağırlıkça % 1, 1.5 ve 2 oranında kitosan takviyesi ile PLA/kitosan 3B olarak üretmiştir ve çekme, eğme ve basma özelliklerini incelemiştir. Takviye malzemesinin çekme ve eğme mukavemeti üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı, takviye oranına göre basma mukavemetinin arttığı tespit edilmiştir. Shuai ve ark. (2018) [15], yaptığı çalışmada 3B üretilmiş PLA-Mg doku iskelelerinin saf PLA ile karşılaştırıldığında daha iyi mekanik özellikler ve bozunma davranışı gösterdiği tespit edilmiştir. Mohammadizadeh ve ark. (2020) [16] PLA matrisine aliminyum, bronz, paslanmaz çelik, yüksek karbon içeren çelik partiküllerini ekleyerek filamentler ekstrüderde üretilmiştir. Bakır takviyesinin sinterleme işlemi sonrasında mukavemetinin arttığı görülmüştür. Aliminyum takviyesi en düşük termal dayanıma sahip olmasına karşın Cu iyi bir termal direnç sergilemiştir. Katman kalınlığı artınca Young modülü düştüğü gözlemlenmiştir ayrıca sinterleme sıcaklığının çekme mukavemetine doğru orantılı olduğu bulunmuştur. Chen ve ark. (2015) [17], kemik rejenerasyonu için PLA/PEG/NaCl gözenekli doku iskelesi hazırlamıştır. Bileşime PEG eklenmesiyle, hidrofiliklik ve birbirine bağlı gözenekler artmıştır ve fibroblast hücre kültürü, hazırlanan doku iskeleleri daha iyi biyouyumluluk göstermiştir. Prasad ve ark (2017) [18] , kemik onarım malzemelerinde uygulamaya yönelik biyo-film geliştirmek için %95 PLA ile güçlendirilmiş %5 HAp kullanmışlardır. Zhang ve ark. Tarafından (2021) [19], yüksek oranda takviyelendirilmiş HAp ile PLA esaslı doku iskeleleri, EYM kullanılarak üretilmiş ve mekanik, termal ve yüzey morfolojisi açısından karakterize edilmiştir. Mikroküre HAp'ın ilavesi, PLA asidik özelliğini nötrleyerek termal stabiliteyi olumlu yönde etkilemiş, basma mukavemetini geliştirmenin yanısıra biyoaktif bir yapıyı sağlamıştır. Başka bir çalışmada, Plymill ve ark. (2016) [20], grafen ve çok duvarlı karbon nano tüpleri (MWCNT) çift vidalı ekstruderde nanokompozitler üretmiştir. Ağırlıkça %0,2 grafen ve ağırlıkça %0,1 MWCNT takviyelendirilmesiyle EYM ile üretilmiş 3B doku iskelelerinin çekme mukavemetinde artış gözlemlenmiştir. Caminero ve ark. (2019) [21], PLA-grafen filamentini kullanılarak EYM ile doku iskeleleri üretmiştir. Grafen nanoplatelet ilavesinin çekme ve eğme mukavemetini arttırdığını ancak darbe mukavemetini azalttığını gözlemlemiştir. 3B üretilmiş numunelerin anizotropisi, numuneler düz, kenar üstü ve dik konumlarda yazdırılarak incelenmiştir. Dik bir pozisyon için

çekme, eğme ve darbe mukavemeti neredeyse %30 oranında azalmıştır. Literatür çalışmalarına göre, EYM ile yapılan PLA esaslı çalışmalarda MWCNT, HAP, metaller, kitosan, grafen, TiO₂, biyoaktif cam gibi takviyelerinin kullanıldığı görülmektedir.

HNT, doğal alüminosilikat kili olup, çubuk benzeri geometrisi ile mekanik özellikleri yüksek bir kil ailesi üyesidir. HNT; karbon nanotüp, organo-modifiye katmanlı montmorillonit (o-MMT) ve silis gibi nanopartiküllerle karşılaştırıldığında partiküller arası zayıf etkileşimler nedeniyle çeşitli polimer matrislerde dağılması daha etkindir [22]. HNT'ler poli(etilen-ko-vinil asetat) (EVA), poli(propilen), poli(amid) 11, yüksek etkili poli(stiren) (HIPS), N,N'-etilenbis(stearamid) (EBS), PLA gibi polimerlerle kullanılmaktadır [23]. Halloysit dış yüzeyinde bulunan Si-O-Si yapısı PLA'daki fonksiyonel grupla hidrojen bağlarının oluşumunu tetiklediğini son çalışmalar göstermiştir [22].

Biyomedikal alanında yaygın olarak kullanılan PLA'nın mekanik ve biyolojik açıdan zayıf özelliklerini geliştirmek adına EYM yöntemiyle HNT kullanımı literatürde oldukça az sayıdadır. Bu çalışmalar arasında, Venkadesh ve ark.[24] (2019) EYM yöntemiyle 3B olarak HNT nanokil yüzdeleri değiştirerek (%3, %5) PLA/HNT nanokompozitinin 3B yazdırılabilme potansiyelini araştırmıştır. Bununla birlikte, soğuk kristalleşme sıcaklığındaki (T_{cc}) azalma ile HNT'nin PLA matrisi üzerindeki çekirdekleştirici etkisini gösterdiğini ve bunun da mekanik özellikleri geliştirdiğini ortaya koymuştur. Cobos ve ark.[25] (2019) farklı oranlarda takviye malzemesi katılmış PLA/MWCNT, PLA/HNT filamentlerden EYM ile 3B basılmış doku iskelelerini incelemiştir. Halloysitin nemi emen bir malzeme olduğu dikkate alındığında, ekstrüzyon işleminde PLA/HNT'lerin viskozitesinin, HNT'lerin dahil edilmesiyle önemli ölçüde arttığı gözlemlenmiştir.

İç ve dış yüzeylerinin farklı olmasından dolayı ilaç salınımının kontrollü bir şekilde gerçekleşmesinde büyük katkı sağlayan boru formundaki HNT'ler diğer nano takviye malzemelerine oranla önemli bir avantaja sahiptir. Ayrıca HNT'lerin toksik özellik barındırmaması ilaç salınım sistemlerinde kullanımını ön plana çıkarmıştır [26]. Qi ve ark. (2013)[27], tetrasiklin hidroklorür (TCH) ilacı yüklenmiş HNT/poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) kompozit nanolifleri doku iskelesi

üretimi için hazırlamışlardır. TCH yüklü HNT'lerin PLGA nano elyaflarına dahil edilmesi, çekme mukavemetini geliştirmiştir ve nano elyaflı kompozitlerin üç boyutlu ağ yapısını koruyabilmiştir. Fibröz doku iskeleleri üzerinde kültürlenene fare fibroblast hücrelerinin in vitro canlılık analizi, geliştirilen TCH/HNT/PLGA kompozit nanoliflerin hücre uyumlu olduğunu göstermiştir. Luo ve ark. (2020)[28] EYM ile PLA ve çinko yüklü HNT doku iskelesi üretmiştir. Panjwani ve ark. (2020) [29] biyomedikal uygulamalar için EYM ile PLA-HNT nanokompozit doku iskeleleri üretmiştir. Weisman ve ark. (2017) [30], EYM ile üretilen ilaç yüklü HNT-PLA doku iskelelerini incelemiştir. Gentamisin (GS) ilaç olarak vakum yöntemiyle HNT'ye yüklenmiştir, akabinde PLA peletleri GS-HNT ile kaplanma işlemi gerçekleştirilmiştir. GS-HNT ile 3B üretilen PLA'nın bakteri üremesinin gerilediği gözlemlenmiştir. Yapılan bu tez çalışmasıyla karşılaştırıldığında Weisman ve ark. GS ilacını HNT'ye vakum yöntemiyle yüklerken, bu tezde fiziksel tutunma yöntemiyle MET, HNT'ye yüklenmiştir. GS yüklü doku iskelesinde bakteri çoğalmasını önlemeyi hedeflerken, bu tezde MET yüklü doku iskelesi için kemiğin gelişimini destekleyen kemik mineralizasyonu, hücre çoğalması ve sitotoksosite hedef alınmıştır. Weisman ve ark. ilaç salınımını sadece 3B üretilmiş GS/HNT için incelemiş olup ve %10 doluluk oranıyla üretilmiş 3B doku iskelelerinin herhangi mekanik dayanımıyla ilgili inceleme yapmamıştır, bu tezde MET yüklü HNT partikülleri ve 3B doku iskeleleri ilaç salınımı yönünden karşılaştırılarak 3B doku iskelelerinin daha yavaş, kontrollü bir şekilde ilaç salındığı tespit edilmiştir. Ayrıca %50 doluluk oranında, 3B üretilmiş PLA esaslı kompozit doku iskeleleri, farklı HNT takviye oranları için mekanik dayanımları karşılaştırılıp en iyi dayanımı sağlayan HNT oranı tespit edilmiştir.

3B üretilmiş PLA doku iskelelerinin oluşturulmasında takviye malzemesi olarak doğal, maliyeti düşük, yüksek mukavemetli ve biyouyumlu haloysit nanotüplerin kullanılması umut verici bir alternatif olarak görülmektedir. HNT'nin polimer esaslı kompozitlerde takviye olarak kullanılması biyomedikal uygulamalardaki ilaç taşıma, biyo sensor aynı zamanda gen transferi için önemli bir yer etmiştir. Bu nedenle, HNT içerikli polimer kompozitlerden çok fonksiyonlu malzemelerin geliştirilmesi üzerine çalışmaların devam ettiği görülmektedir.

1.2 Tezin Amacı

Tez çalışmasında, 3B yazıcılar ile üretilmek üzere PLA doku iskelelerinin hem mekanik hem de biyolojik özelliklerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır. 3B yazıcı ile üretim yöntemlerinden eriyik yığarak modelleme için PLA filament geliştirilerek, ticari PLA filamentlerin yetersiz olduğu uygulamalar için alternatif malzeme geliştirilmesi hedeflenmiştir. Geliştirilen malzemenin mekanik özelliklerin iyileştirilmesi HNT takviyesiyle, ilaç taşıma özelliğinin sağlanması ise HNT partiküllere metformin yüklenmesi ile amaçlanmıştır.

1.3 Hipotez

Literatür çalışmaları incelendiğinde, 3B yazıcılar için filament üretiminde ilaç yüklenmesi ile farklı uygulamalar görülmektedir ancak nano partiküle ilaç yükleyerek doku iskelesi geliştirilmesi üzerine çalışmalar çok az sayıdadır ve geliştirilmeye açık bir konudur. Bu tez çalışmasında, halloysit nanotüplerin ilaç yüklenmesi ve sonrasında polimer ile eriyik karıştırılması ile filament geliştirilmiştir. Böylelikle, geliştirilen biyobozunur doku iskelesi, uzun süreçte ve düşük hızda ilaç salınımı beklendiği biyomedikal uygulamaları için kullanılabilecektir. Bu çalışmada, geliştirilen doku iskelelerinin mekanik dayanımı, morfolojik, ısı ve biyolojik özelliklerinin iyileştirilmesine yönelik deneysel çalışmalar ve analizler gerçekleştirilmiş olup sonuçların doku mühendisliğindeki uygulamalar için umut verici olduğu görülmüştür.

BİYOMEDİKAL UYGULAMALARDAKİ POLİMER NANOKOMPOZİTLER, İLAÇ YÜKLEME TEKNİKLERİ

2.1 Biyopolimerler

Son yıllarda, biyolojik olarak bozunabilen polimer malzemelerin kullanımında ve geliştirilmesinde önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Bozunabilir polimer esaslı biyomalzemeler, bu malzemelerin kendine özgü fiziksel, kimyasal, biyolojik, biyomekanik ve bozunma özelliklerine sahip olması nedeniyle tercih edilmektedir. Hidrolitik veya enzimatik olarak bozunmaya uğrayabilen çok çeşitli doğal veya sentetik biyopolimerler birçok uygulama için araştırılmaktadır [31]. Biyopolimerler sürdürülebilir, karbon nötr, yenilenebilir ve bitki materyallerinden yapılmıştır. Ayrıca biyopolimerler, karbon emisyonlarını kesme ve atmosferdeki CO₂ miktarını azaltma potansiyeline sahiptir. Bakteriler, mantarlar, algler vb. gibi doğal biyoorganizmalar, aerobik veya anaerobik süreçler yoluyla küçük moleküllere ayrışma veya bazı organik yan ürünleri geride bırakarak CO₂ ve suya ayrıştırıp bozunmayı teşvik etmeye yardımcı olur [32].

Yenilenebilir kaynakları kullanarak biyobazlı polimerler üretmenin üç ana yolu vardır:

- Gereksinimleri karşılamak için kısmi modifikasyonla doğal biyo-bazlı polimerlerin kullanılması (ör. nişasta)
- Fermantasyon/geleneksel kimya ve ardından polimerizasyon yoluyla biyo-esaslı monomerlerin üretilmesi (ör. polilaktik asit, polibütlen süksinat ve polietilen)
- Doğrudan bakteriler tarafından biyo-bazlı polimerlerin üretilmesi (örneğin, polihidroksialkanoatlar) [33].

Bu biyobozunur biyopolimerlerin bazıları kompostlanabilir, endüstriyel kompostlaştırma sürecinde kullanılır ve altı ay içinde %90'a kadar bozunur. Doğal

polimerler, biyolojik olarak bozunabilirlikleri, kolay bulunabilmeleri ve düşük maliyetleri nedeniyle sentetik polimerlere göre avantajlara sahiptir.

Son zamanlarda, nişasta, selüloz, protein, kitin, pektin, kitosan, jelatin ve aljinatlar gibi doğal polimerik malzemeler, düşük maliyetli ve yenilenebilir olmaları nedeniyle kompozitlerin hazırlanmasında kullanılmaktadır [34]. Biyopolimerler, tıbbi malzemeler, paketleme, kozmetik, gıda katkı maddeleri, giysi kumaşları, su arıtma kimyasalları, endüstriyel plastikler, emiciler, biyosensörler ve hatta veri depolama elemanları olarak kullanılmak üzere geliştirilmiştir [35].

Doğal ve sentetik polimerler, özellikle zayıf emilen terapötik ilaçların oral uygulamasında, nano ölçekli ilaç taşıyıcı sistemler için umut verici araçlar olarak kullanılmıştır. Kararlılıkları ve yüzey değiştirme kolaylığı nedeniyle, polimerik nanoparçacıklar birçok araştırmacının dikkatini çekmiştir. Nanokompozitlerin hazırlanmasında kullanılan polimerik malzemelerin biyouyumlu ve biyolojik olarak bozunabilir olması gerektiği genel bir kanıdır [36].

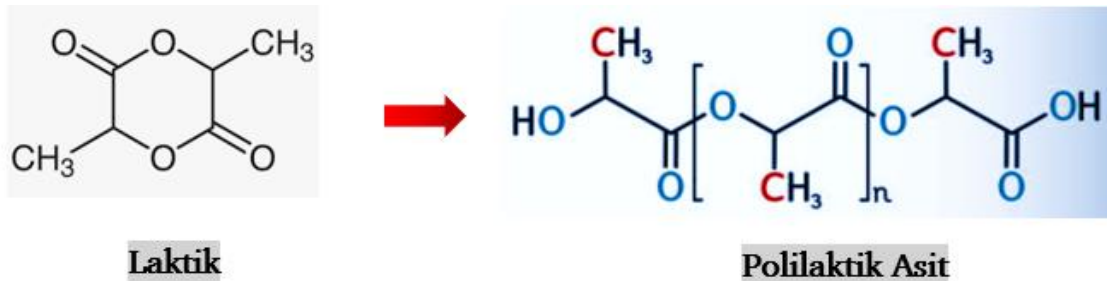
Biyopolimer bazlı doku iskeleleri, konakçı vücuttaki hasarlı doku ve organları yeniden üretebilir ve iyileşen doku rejenerasyon sürecini destekleyebilir. Bu doku iskeleleri, dokuların, hücrelerin ve organların etkili bir şekilde iyileşmesi ve çoğalması için uygun koşullar sundukları için deri, kıkırdak, damar, kemik vb. yerine kullanılabilir [37], [38]. Doku iskelesi, biyomedikal uygulama için umut verici bir aday olmak adına biyouyumluluk, biyolojik olarak bozunabilirlik, toksik olmama, enflamatuar olmama, immünojenik olmama, yapısal bütünlük, optimal gözeneklilik, sağlam mekanik ve fizyolojik özellikler gibi bazı temel kriterleri karşılamalıdır [39], [40]. Rejenerasyon işlemi sırasında doku iskeleleri, hücre dışı matrisin alternatif bir üç boyutlu yapısı olarak hizmet eder ve doku rejenerasyonu için uygun bir ortam sağlar. Biyopolimer bazlı doku iskelelerinin uygulanması, biyouyumlu olmayan polimerlerin implantlarının vücuttaki kronik iltihaplanma, immünolojik aktivite ve toksisite gibi bazı kaçınılmaz yan etkilerini en aza indirmeye yardımcı olacaktır [32].

Biyopolimerler arasında bağlayıcı materyaller olarak poli(1,4-dioksan-2-on), poli(α -hidroksi asitler), poliglikonat, kollajen ve poli(a-siyanoakrilat) gibi

biyopolimerler tercih edilmektedir. Poli-L-laktid (PLLA), poliglaktin ve hidroksiapatit gibi biyopolimerler kemik yapıcı materyaller olarak yer almaktadır. Jelatin gibi biyopolimerler, doku kültürü materyalleri için yapışma önleyici ve matris olarak aktif rol alır. PLLA ve poliglaktin gibi biyopolimerler yapay kan damarında suni tendon ve bağda lifler ve gözenekli malzeme görevi görür. Kolajen, kitin, poliglaktin ve poli-L-lösin gibi biyopolimerler, yara bandı gibi kullanılır. Kollajen gibi biyopolimerler, sentetik cilt yapmak için tercih edilmektedir. Tüm bozunabilir polimerlerin ayrıca ilaç taşıyıcı sistemde mikrokapsül, mikroküre, iğne, içi boş elyaf vb. uygulamaları bulunmaktadır [41].

2.2 Polilaktik Asit (PLA)

Polilaktik asit (PLA) α -hidroksi asitler arasındaki reaksiyonun bir ürünü olan alifatik polyester olarak en önde gelen biyopolimerlerden biridir. Polisakkaritler veya şeker gibi yenilenebilir kaynaklardan türetilen ve kimyasal sentez veya mikrobiyal fermentasyon işlemleriyle üretilen bir monomer olarak laktik asit içerir. Temel olarak laktik asit biyolojik olarak üretilirken, polimerizasyon ise kimyasal olarak gerçekleşir [42], [43]. Şekil 2.1'de PLA'nın kimyasal yapısı gösterilmiştir.



Şekil 2.1 Polilaktik asit kimyasal yapısı

PLA'nın, parlak ve şeffaf görünüm, yüksek sertlik ve çeşitli işleme koşullarını tolere etme yeteneği, esneklik, termoplastik davranış, biyouyumluluk ve iyi kalıplama kapasitesi gibi özellikleri bulunmaktadır [44], [45]. PLA, yenilenebilirliği, geri dönüştürülebilirliği, biyolojik olarak bozunabilirliği ve kompostlanabilirliği nedeniyle geleneksel petrol bazlı polimerlerin yerini alabilen, en çok araştırılan ve umut verici biyopolimerdir [46]. Çevresel sürdürülebilirlik konusunda artan farkındalık ve yeni yasa ve politikalar, şirketleri çevre dostu PLA gibi biyo bazlı ürünleri üretmeye teşvik etmiştir [47].

2.2.1 PLA' nın Mekanik, Kimyasal, Termal Özellikleri

PLA oda sıcaklığında sarımsı camsı bir halde bulunmakla birlikte kristalize olabilen bir termoplastik polimerdir ve sentetik lineer alifatik polyester olarak kategorize edilmektedir. Yoğunluğu 1,2–1,3 g/cm³, kristalleşme sıcaklığı (T_c) 125 °C, cam geçiş sıcaklığı (T_g) 45–60 °C ve ergime noktası (T_m) 150–162 °C olarak tanımlanmıştır [48], [49].

Yarı kristal PLA yaklaşık 3 GPa çekme modülüne, 50-70 MPa çekme mukavemetine, 5 GPa eğme modülüne, 100 MPa eğme mukavemetine ve yaklaşık %4 kopma uzamasına sahiptir [50]. PLA'nın ana atom zinciri metan bazlı bir yapıdadır ve moleküler zinciri spiral bir yapıya sahiptir. PLA, T_g civarında yüksek hareketliliğe sahiptir ve bu nedenle çok düşük ısı direnci sergilemektedir [51]. PLA'nın ana atom zincirinde esnek bir metilen segmenti yoktur, bu da moleküler zincirin zayıf hareketliliğine neden olur. Ayrıca PLA, yavaş kristalleşme hızına ve yüksek T_g'ye sahiptir. Bu nedenle, PLA zayıf tokluk sergilemektedir. PLA'nın tokluğu sadece kristalliliğine değil aynı zamanda moleküler ağırlığına da bağlıdır [52].

PLA' nın EYM 3B baskısında karşılaşılan bazı problemler kaçınılmazdır: İlk olarak, PLA, boyutsal hassasiyetini etkileyebilecek olan kristalliliğin neden olduğu hacim değişikliğine ve artık gerilime sahiptir. ABS ve PC gibi amorf polimerler için kristalleşme olmaz, ancak kendilerinin daha büyük bir çekme yüzdesi vardır. Ayrıca, PLA'dan daha yüksek ergime ve baskı sıcaklıkları ile EYM baskı sırasında daha büyük sıcaklık gradyanına ve gerilime sahiptirler. Bu nedenle, boyutsal hassasiyetleri daha kontrol edilemez ve hatta çarpılma meydana gelebilir; bir diğeri, PLA'nın mekanik mukavemeti, ABS, PC ve PA gibi polimerlere kıyasla sınırlıdır. Bunun nedeni, PLA'nın moleküler zincirinin mikroskobik olarak çok basit bir lineer moleküler zincir yapısı olmasına karşın ABS, PC ve PA'nın daha karmaşık moleküler zincir yapıları içermesidir [53].

2.2.2 PLA' nın Sentezi

PLA üretmek için yoğunlaştırma-polimerizasyon, halka açma polimerizasyonu, azeotropik dehidrasyon ve enzimatik polimerizasyon yöntemleri yer almaktadır. Dünyanın en büyük PLA üreticisi olan Cargill Dow LLC, laktik asit bazlı

polimerlerin üretimi için patentli, düşük maliyetli sürekli bir süreç geliştirmiştir. Bu süreçte PLA'nın sentezi çözelti yerine ergiyik halde gerçekleşir ve böylece önemli çevresel ve ekonomik faydalar sağlamaktadır. Başlangıçta mısır, şeker pancarı, patates gibi doğal veya yenilenebilir kaynaklar dekstroza dönüştürülür. Dekstroz, laktik asit elde etmek için bir fermantasyon sürecinden geçer. Laktik asit, bir katalizör varlığında laktide dönüştürülür. Erimiş laktit, vakum damıtma yardımıyla daha da saflaştırılır. Daha sonra polimerizasyon reaksiyonu ile PLA'ya dönüştürülür [54].

Yoğuşurma-polimerizasyon yönteminin maliyeti düşük olmasına rağmen polimer PLA'yı doğrudan sentezleyemez. Sentez adımı iki adıma ayrılır. İlk adım, düşük moleküler ağırlıklı polilaktik asit üretmek için eş molar konsantrasyonlarda hidroksil ve karboksil gruplarının dehidrasyon yoğunlaşmasıdır. Daha sonra, bağlama ajanları ve esterleştirme adjuvanlarının eklenmesi gerekir. Bunların eklenmesi PLA'yı değiştirebilir ve zinciri güçlendirmeye yardımcı olabilir. Ancak reaksiyon sürecindeki safsızlıklar vücutta bozunmadığı için tıbbi uygulamalarda ciddi komplikasyonlara neden olabilmektedir [55].



Şekil 2.2 Laktitlerin stereoformları [56]

Yüksek moleküler ağırlıklı PLA üretimi için halka açma polimerizasyon yöntemi uygulanmaktadır. Laktid, Şekil 2.2'de gösterildiği gibi üç stereo konfigürasyona sahiptir: L-laktid, mezo-laktid ve D-laktid. Laktit elde etmek ve saflaştırmak için ticari olarak uygulanabilir yöntemler, yüksek molekül ağırlıklı saf L- veya D, L-laktid elde etmek için laktik asidin 115-179°C'de yoğunlaştırılması, yoğunlaştırılmış suyun uzaklaştırılması ve yeniden kristalleştirme yoluyla

mezolaktik asit ve düşük moleküler polimerin ortamdan uzaklaştırılması gibi adımları içerir [57], [58].

2.2.3 PLA' nın Bozunması

PLA çok sayıda ester bağı içerir ve moleküler zincirinin iki özelliği vardır, zincir rijitliği ve bir metil grubu içeren bir yan zincire sahiptir. PLA, doğal bakteriler gibi enzimler tarafından kolayca bozunamaz. Böylece PLA ve ürünleri doğal koşullar altında kararlıdır. PLA ürünleri, yüksek sıcaklık ve yüksek nemli doğal ortamlara yerleştirildiğinde, PLA kademeli olarak CO₂ ve H₂O oluşturmak üzere hidrolize olur veya biyolojik olarak bozunur. PLA'nın bozunma mekanizması, basit hidroliz bozunması ve katalitik hidroliz bozunması olarak ikiye ayrılabilir [59]–[62].

PLA'nın doğal olarak bozunması iki adımda gerçekleşir:

1- Yüksek moleküler ağırlıklı ($M_n > 4000$) zincirler düşük moleküler ağırlıklı oligomerlere hidrolize edilir. Asit veya alkali ilavesi ve sıcaklık ve nemin etkisiyle reaksiyon hızlanarak devam eder.

2- $M_n < 4000$ olduğunda ortamdaki mikroorganizmalar karbondioksit, su gibi daha küçük molekül ağırlıklı bileşikleri serbest bırakarak bozunmaya devam ederler [63].

İnsan vücudunda PLA, hidrolitik bir bozunma sürecinden geçer. Kısaca, PLA moleküllerindeki ester bağı su molekülleri tarafından rastgele saldırıya uğrar ve PLA daha küçük zincirlere bölünür. Hidroliz geliştikçe, PLA suda çözünen monomerlere ve oligomerlere bozunur ve bunlar sonunda su ve karbondioksit ayrıştırılır ve vücuttan atılır. Bu süreç esas olarak PLA'nın özelliklerinden (kristallik, moleküler ağırlık vb.) ve hidroliz ortamından (pH, sıcaklık vb.) etkilenir [64].

Kemik defektlerinin onarımı, kemik doku iskelesinin bozunma hızının yeni kemiğin büyüme hızıyla tutarlı olmasını gerektiren yapay kemik bozunması ve yeni kemik oluşumu süreciyle sağlanır [65], [66]. Bozunma çok hızlı olursa yeni kemik gelişmemiştir ve bozulma çok yavaşsa yeni kemik oluşumu engellenecektir. PLA doku iskelelerinin fizyolojik ortamdaki bozunma hızı, kemik dokusunun yenilenme hızına yetişemeyecek kadar yavaştır. Son zamanlarda, PLA'nın

bozunmasını hızlandırmak için harmanlama, birleştirme, kopolimerizasyon ve yüzey modifikasyon yöntemleri üzerinde çalışılmaktadır [64].

2.2.4 PLA' nın Genel Kullanım Alanları

PLA, lifler halinde bükülebilen, sert filmler olarak gerilebilen, ısıyla şekillendirilmiş ambalaj için katmanlar halinde ekstrüde edilebilen ve kalıplara enjekte edilebilen termoplastik bir polyesterdir [67]. Esas olarak salata kapları, bardaklar, şeker ambalajları, şişeler gibi gıda ambalajlarında; hijyen ürünlerinde; plastik enjeksiyon ile üretilen kupalar, oyuncaklarda PLA hammadde olarak kullanılmaktadır [68].

Terlemeyi önleme kapasitesi ve ısı yalıtımı gibi özellikleri PLA'nın spor kıyafetlerinde kullanılmasını sağlamıştır. PLA lifleri, düşük özgül ağırlık ve yüksek esneklik özellikleri nedeniyle etkili bir takviyeli katman vermek için kayak ceketleri gibi giysilerde kullanılmaktadır [69]. PLA içeren kumaşlar iyi tutunma ve kıvrılma özelliklerinden dolayı battaniye, yastık, halı, perde vb. olarak kullanılmaktadır [70].

Ford Motor Company gibi şirketler, PLA'yı otomotiv halıları, yer matları, koltuk kumaşları gibi araç içi seçenekler olarak değerlendirmektedir. PLA liflerinden bozunabilir sigara filtreleri de ayrıca yapılmıştır [54].

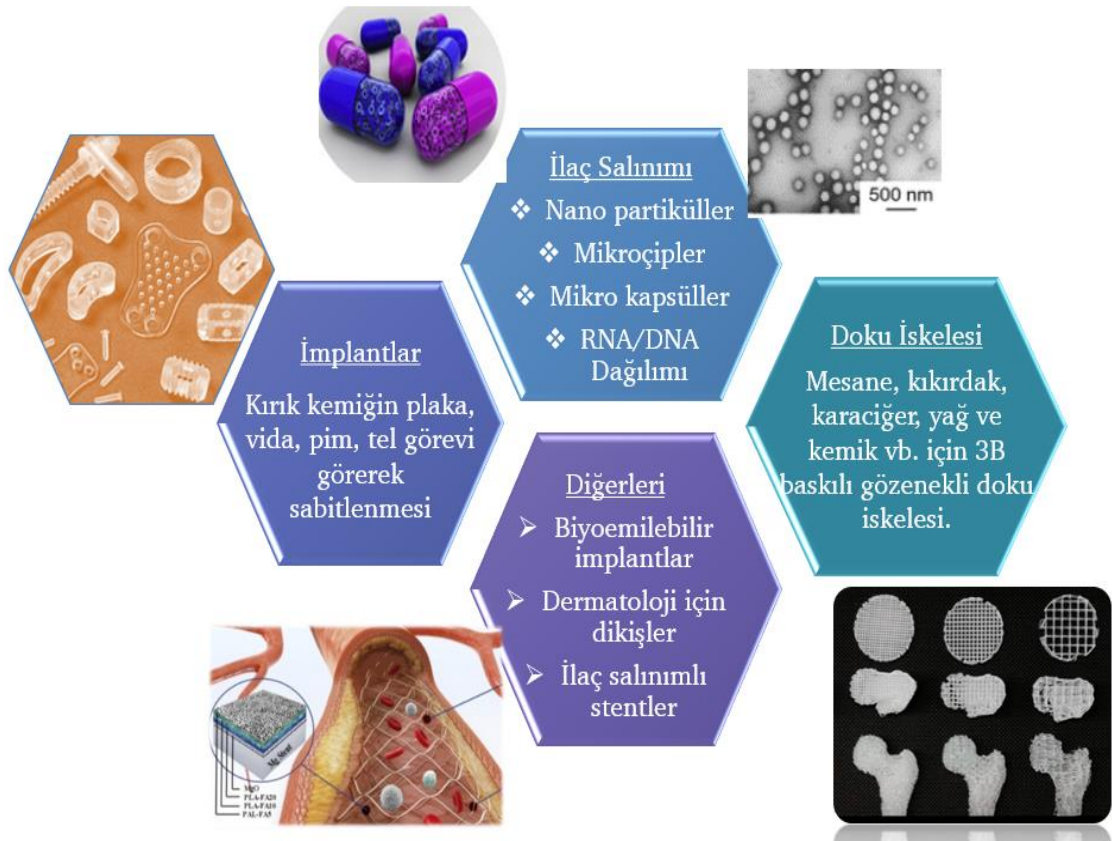
2.2.5 PLA' nın Doku Mühendisliğindeki Uygulamaları

Tıp sektöründe PLA uygulaması, insan vücudu ile biyouyumlu olmasından dolayı, tıbbi implantlarda, cerrahi sütürlerde ve tıbbi ekipmanlarda kullanılmasıyla büyük önem kazanmıştır [71]. PLA'nın biyomedikal uygulamalarından örnekler Şekil 2.3'de gösterilmiştir. PLA'nın, düşük toksisite, in vivo biyo-emilebilirlik özellikleriyle birlikte, biyolojik olarak bozunabilen polyesterlerden biri olduğu kanıtlanmıştır; bu özellikleri sayesinde sürekli ilaç salınım sistemleri, ortopedik cihazlar için implantlar ve emilebilir lifler gibi biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır [72]. PLA'nın fizyolojik ortamda kendiliğinden bozunması ve implantların ikinci cerrahi ile çıkarılmasının olumsuz etkilerinin ortadan kaldırılması veya implantların kalıcı olması gibi avantajlarından dolayı biyokompozitlerin üretilmesinde ortopedi alanında PLA önemli bir yere sahiptir [73]. Bunun yanı sıra, ilaçlar biyolojik ortama maruz kaldıklarında enzimatik

bozunmalarını önlemek için uygun ilaç taşıyıcıları gereklidir ve ilaç endüstrisinin bu alanında PLA büyük bir potansiyel göstermiştir [74].

Tümör olduğunda terapötik etkileri iyileştirmek için, ilaçları belirli organlara veya dokulara taşıyabilen ilaç dağıtımını hedeflemek, geleneksel kemoterapiye kıyasla daha güvenlidir, PLA bazlı nanokompozitler de bu yüzden ilaç salınımı için tercih edilmektedir [75].

Geleneksel antibiyotikler, kronik yara enfeksiyonlarını azaltmada nadiren etkilidir çünkü zayıf kan akışı ve ölü doku, antibiyotiklerin yaraya nüfuz etmesini engeller [76]. Bu nedenle, bakteriyel enfeksiyonu önleyebilen, doku yenilenmesini destekleyen ve mekanik travmaya karşı bir bariyer görevi görebilen sargı bezi geliştirmek önemlidir. Yaraların iyileşmesinde kullanılan kompozit doku iskeleleri için PLA' nın ideal matrislerden biri olduğu kanıtlanmıştır [77], [78].



Şekil 2.3 PLA'nın biyomedikal uygulamalarda kullanım alanı

Kemik rejenerasyonu ile birlikte PLA, koroner stentler, diş implantları, akut karaciğer yetmezliği, hastalıklar gibi kan damarlarının ve organlarının tedavisinde de kullanılmaktadır [79].

2.3 Biyonano Takviyeler

- Karbon Nanomalzemeler

Yaygın olarak kullanılan karbon nanomalzemeler arasında en güçlü esnek bileşenlerden biri olan grafen; doğal olarak oluşan en sert malzemelerden biri olan nanoelmas; ve en gözenekli malzemelerden biri olan aktif amorf karbon parçacıklarıdır. Bunlar arasında grafit yapıya sahip 1B ve 2B esnek karbon tek tabaka bazlı nanomalzemeler (karbon nanotüpler (CNT), grafenler ve grafen oksitler (GO)) mükemmel mekanik özellikleri, elektriksel ve termal iletkenlikleri ve geniş özgül yüzeyleri nedeniyle en çok ilgiyi çekmektedir [80], [81].

Silindirik bir tüpe sorunsuz bir şekilde sarılmış tek bir grafit levhaya sahip tek duvarlı nanotüpler (SWNT) ve bir ağaç gövdesinin halkalarına benzer şekilde eş merkezli olarak sağlanmış bir dizi nanotüp içeren çok duvarlı nanotüpler (MWNT) olarak adlandırılır [82], [83]. CNT polimer matrislerin termal, elektrik ve mekanik faktörlerini iyileştirir. Farklı olarak, CNT'nin mekanik özellikleri, özellikle yüksek çekme mukavemeti ve sertliği, polimer nanokompozitlerin üretiminde daha fazla ön plana çıkmıştır. Ayrıca, yüksek en-boy oranları, bir eksen boyunca hizalanmalarını ve gerekli elektrik özelliklerini elde etmek için iletken polimerlerin imalatında uygulanabilir olmalarını sağlar [83]. İyi hizalanmış ve oldukça düzenli yapılar olan CNT'ler, yüksek kristal yönelimi ve düşük arayüz termal direnci gibi gelişmiş özellikleri gösterir. Bununla birlikte, kırılabilirlikleri, hava boşlukları ve diğer kusurları termal olarak iletme yeteneklerini engelleyebilir [84].

- Metalik Nanomalzemeler

Biyopolimer matrise metalik nanopartiküllerin eklenmesi, sadece yaygın mekanik güçlendirmenin ötesinde işlevsellikler ekler. İşlevsellikler açısından, metalik nanoparçacıklar, biyopolimerlere ilave elektrik iletkenliği, katalitik aktivite ve plazmonik özellikler sağlayabilir.

Metalik nanopartiküller, aynı anda iyi metal iyonu indirgeyicileri ve stabilizatörleri olan seçilmiş biyopolimerlerin kullanılması nedeniyle yerinde büyüme yoluyla biyopolimer matrisine düzgün bir şekilde dahil edilebilir [85],

[86]. Bugüne kadar, çeşitli proteinler, DNA, kitosan ve nanoselüloz malzemeler, sensor, fototermal terapi ve antibakteriyel ajanlar kataliz [87] uygulamalarında kapalı nanoparçacıklarla çok işlevli biyonanokompozitlerin üretimi için biyoşablonlar ve verimli indirgeyiciler olarak kullanılmıştır. Ayrıca, metal oksit nanoparçacıkları, daha yüksek sulu işlenebilirlikleri ve biyopolimer matrisleri içinde dağılılabirlikleri nedeniyle bazen metal nanoparçacıkların yerine kullanılabilir [88].

Altın nanopartiküller son zamanlarda, ileri malzeme uygulamaları için polimer modifiye için birçok potansiyel gösterilmiştir [89]. Altın nanopartiküllerin bazı uygulamaları, yüzeyi geliştirilmiş Raman spektroskopisi, biyoalgılama ve görüntüleme, ilaç dağıtımı, kanser tedavisinde fototermal terapi ve optoelektroniktir [90], [91]. Polimer/altın nanokompozitlerin ayarlanabilir kararlılığı, düşük doğal toksisitesi, biyoyumluluğu ve plazmon rezonans etkileri nedeniyle, ışık saçılımını azaltma, renk değişimi ve şeffaflık gibi çeşitli spesifik özellikleri gösterirler.

Gümüş nanopartiküller (AgNP), metal tuzları, PEGDA oligomeri ve fotobaşlatıcı ile gömüldükten sonra eş zamanlı olarak geliştirilmiştir, ardından radyasyona maruz bırakma, termal işlem ve kompozitin 3B baskısı yapılmıştır. AgNP, nanokompozitlerin temel özelliklerini, yapısını ve elektriksel özelliklerini olumlu yönde etkilemiştir [91]. Bir insan kulağının anatomik özelliklerine dayalı olarak tohumlanmış hidrojel matrisi ile 3B baskı yoluyla bir biyonik kulak üretilmiştir. Malzeme, kulak anteninin elektrotlardan endüktif olarak birleştirilmiş sinyaller aldığı in vitro kıkırdak dokusu gelişimine tabi tutulmuştur. 3B üretilen yapının, radyo frekansı sinyallerinin işitsel algılamasını stereofonik yetenekle sunduğu gösterilmiştir. Böylece, biyonik kulağın, 3B üretilmiş AgNP kompozitinin entegrasyonuna dayalı olarak hem biyolojik hem de nanoelektronik işlevselliklere sahip olduğu gösterilmiştir [92].

- Seramik Nanomalzemeler

Silika (SiO_2), biyoaktif cam (BG), hidroksiapatit (HAp), zirkonya (ZrO_2), trikalsiyum fosfat (TCP) ve alümina (Al_2O_3) gibi nano ölçekli seramikler, öncelikle gelişmiş mekanik dayanıklılık için doku mühendisliğinde giderek artan

uygulamalar bulunmaktadır ve biyoaktiviteleri diğerlerine oranla yüksektir [93]. Kompozit sert dokuları simüle etmek için, polimer matrislere nanoseramik malzemelerin eklenmesi, PLA gibi polimerik doku iskelelerin ve hidroksiapatit gibi alkalın seramiklerin bozunmuş asidik son ürünlerini nötralize ederek mekanik özellikleri, bozunma profillerini ve biyokimyasal işlevi geliştirir [94]. Hiyerarşik olarak yapılandırılmış doku iskeleleri için polimerik matrislerde nanoseramiklerin geliştirilmiş dağılımı, son zamanlarda 3B baskı ile sağlanmıştır ve nanohidroksiapatit (nHAp) bir takviye malzemesi olarak kabul görmektedir. İnsan vücudundaki sert dokuların yaklaşık %70'i kalsiyum hidroksiapatitten ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) yapılıdır ve klinik olarak ortopedik ve diş onarımlarında kullanılmaktadır [95].

- Mineral Nanomalzemeler

Biyopolimerlerin ve mineral bileşenlerin kombinasyonları çok doğal mineral bazlı benzer dişler, kemiklerden ilham alan nanokompozit malzemelerin tasarlanmasında yaygın olarak kullanılır. 0B nanopartiküller, 1B nano yapılar ve 2B nanoplateletler gibi farklı şekillerdeki mineral nanopartiküllerin iyi takviye yapılarının kolayca üretilebildiği kanıtlanmıştır. Bunlar arasında, 1 nm kalınlığa sahip sert nanoplateletler, yüksek en-boy oranı, istisnai güçlendirme, yüksek optik şeffaflık, ayarlanabilir gaz bariyeri özellikleri ve iyi sulu dağılabilirlik nedeniyle incelenmiştir. Bu nanoplakaların elastik modülünün 270 GPa'ya yakındır, GO nanotabakalarıyla karşılaştırılabilir. Ayrıca, yüksek en boy oranı, 2B şekli, ultra ince kitin-protein biyopolimer katmanlardır. Bu tür iyi düzenlenmiş çok katmanlı organizasyon, sert aragonitin güç sağladığı ve yumuşak biyopolimer katmanların deformasyon enerjisini dağıttığı gelişmiş güç ve tokluk elde etmek için kritik öneme sahiptir [96].

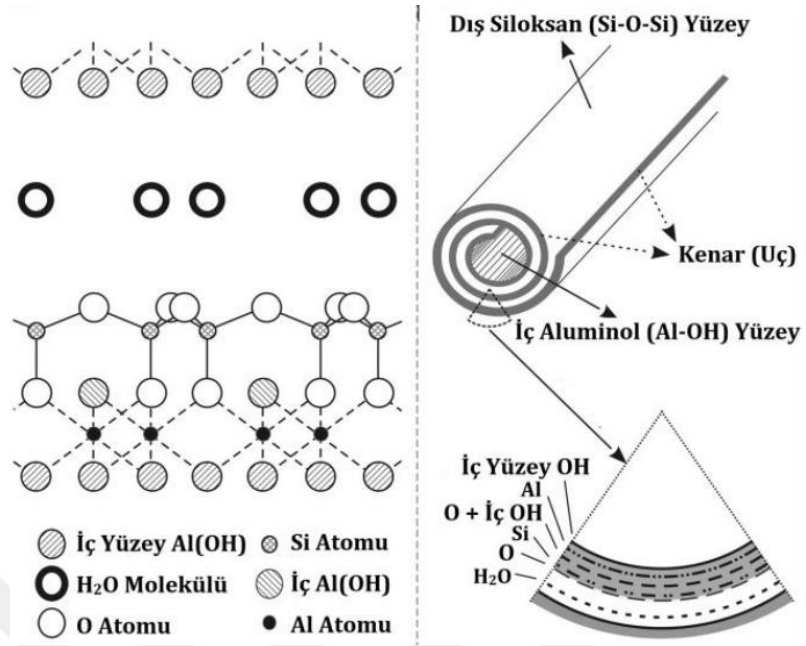
- Kaolin Mineralleri

Kaolinit, dikit, nakrit ve halloysit minerallerini içeren temel kaolin mineral yapısı, tek bir dört yüzlü levha ve tek bir oktahedral levha tabakasıdır. Kaolinitin yapısal formülü $\text{Al}_4\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_8$ 'dir ve teorik kimyasal bileşimi SiO_2 'dir, %46.54; Al_2O_3 , %39.50; ve H_2O , %13.96 oranında bulunur. Kaolin grubu mineralleri, kaolinit, dikit, nakrit ve halloysit, sürekli olan ve birbirinin üzerinde istiflenmiş 1:1 birleşik

oktahedral ve tetrahedral tabakalardan oluşur. Kaolin minerallerindeki farklılıklar, birim tabakaların üst üste istiflenme şeklindedir. Birim tabakanın kalınlığı 7.13Å'dir [97].

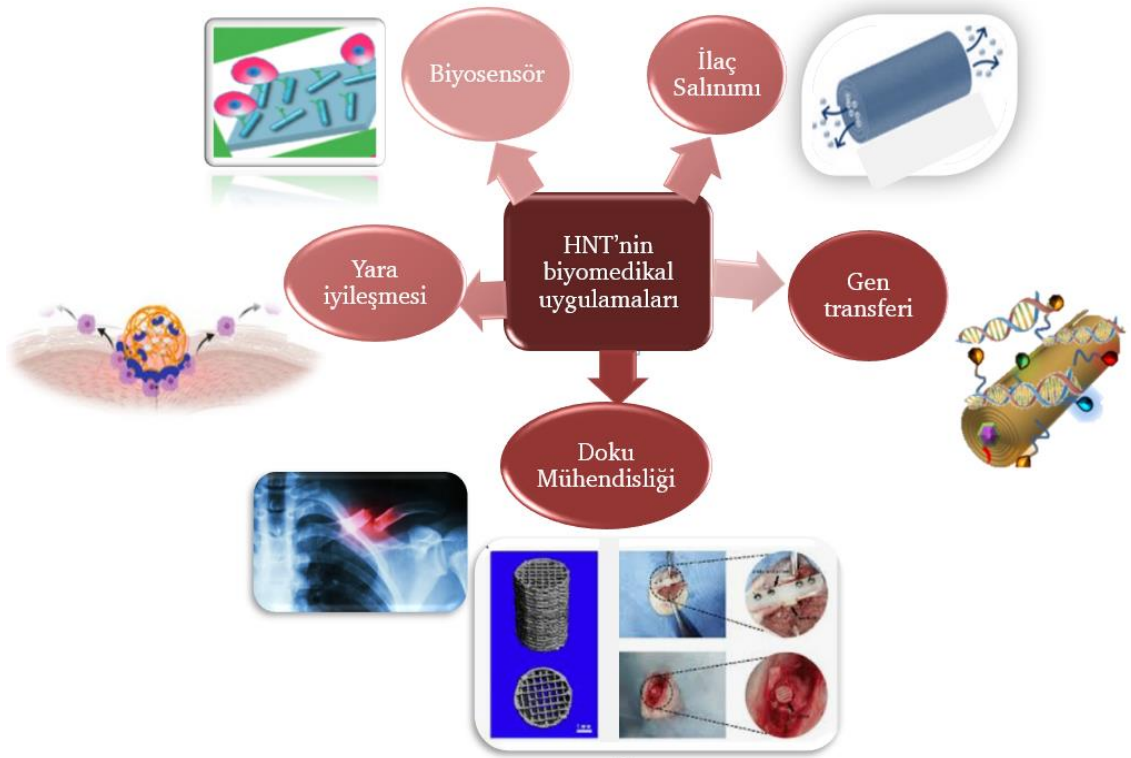
2.3.1 Halloysit Nanotüp (HNT)

HNT, kaolinin kimyasal bileşimine benzer bir tür doğal olarak çökelmiş alüminosilikattır ($\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4 \cdot n\text{H}_2\text{O}$). HNT'lerin komşu alümina ve silika katmanları su hidrasyonu ile bükülüp yuvarlandığından, içi boş boru şeklinde bir yapıya sahiptir. İçi boş silindirik bir nanoyapı için önemli bir işlev olarak, iç lümenindeki bir dizi malzemeyi kontrollü salınımlarla hapsederek iyi bir taşıyıcı görevi edinmektedir [98]. Tipik olarak, HNT'nin uzunluğu 300-1500 nm arasında değişir, dış çapı 40-120 nm ve iç çapı 15-100 nm'dir. HNT, yüzey enerjisini düşürür ve dolayısıyla diğer nanopartiküller ile karşılaştırıldığında matriste takviye agregasyonunu azaltmak gibi benzersiz özelliklere sahiptir [99]. HNT'nin kimyasal yapısı Şekil 2.4'de verilmiştir. Sınırlı yüksek en boy oranına sahip olan HNT'ler, Japonya, Çin, Amerika, Güney Kore, Brezilya, Fransa ve Türkiye gibi dünyanın birçok ülkesinden doğal olarak çıkarılmaktadır [101]. Polimer özelliklerinin geliştirilmesi, nanotüplerin polimer matrisi içindeki üniform dağılımına atfedilmiştir, bu da kompozit sistemlerde geliştirilmiş ara yüzey etkileşimleri ile sonuçlanır. Son zamanlarda, biyomalzeme uygulamaları için geçerli ve biyouyumlu bir aday olarak HNT'lerin rolü doğrulanmıştır [102]. Nanokompozitlerde takviye elemanı olarak HNT kullanılan polimer malzemeler arasında polipropilen, epoksi reçine, naylon, polietilen, PBT, polivinil alkol, polivinil klorür, doğal kauçuk ve farklı sentetik kauçuklar bulunmaktadır [99]. HNT'nin dış yüzeyi negatif yüklüken iç lümeni pH ayarlarının çoğunda pozitif yüklüdür, dolayısıyla çok sayıda modifikasyona izin verir [103].



Şekil 2.4 HNT'nin kimyasal yapısı [100]

Artan biyoyumluluk ve düşük sitotoksite ile birleşen bu yapı, doku mühendisliği için doku iskelesi olarak, yara pansumanlarında, tümör hücrelerinin izolasyonu için ve gelişmiş insan hücresi adhezyonu için yeni ilaç ve gen taşıyıcı ajanların üretimi ile ilgili son uygulamaların ilerlemesinde önemli bir rol almaktadır [104]. HNT'nin biyomedikal uygulamalarından örnekler Şekil 2.5'te gösterilmiştir. HNT'lerin biyoyumluluğu, amilazın yüzeye sarılmasıyla geliştirilmiştir. Temel olarak, amilaz-HNT'lerin metal iyonlarını veya boyaları absorbe etme uygulamaları için kullanımı, biyomedikal açıdan emiciler ve ayrıca biyopolimer matriste biyolojik nanoreaktörler ve nano takviye malzemeleri olarak kabul edilmektedir. Ayrıca, hidrokarbon prosesi ve katalitik dönüşümlerde moleküler hidrojeni depolamak için HNT'ler kullanılır. Çevre sektöründe HNT'lerin, tehlikeli türleri uzaklaştırmak için idrar söktürücü ilaç taşınması gibi kullanımları mevcuttur [105].



Şekil 2.5 HNT'nin biyomedikal uygulamaları

2.4 Biyopolimer Nano Kompozitler

Nanokompozitler, boyutları nanometre aralığında olan fazlardan birine sahip kompozit malzemelerdir. Monolitik ve mikrokompozitlerin sınırlamalarına karşılık nanokompozitlerin, daha iyi özelliklerinden kaynaklı gelecekte yaygınlaşma potansiyeli yüksektir. Nanokompozitler, elde edilen malzemelerin özelliklerini iyileştirmek için nano boyutlu takviye bileşenlerinin eklendiği malzemelerdir [106]. Nanokompozitler, farklı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip iki veya daha fazla farklı bileşen veya fazdan oluşur ve belirgin bir arayüzle ayrılır. Nanokompozitlerin mekanik ve diğer özelliklerini iyileştirmek için matris malzemesine gömülen bileşene takviye (veya nanomalzemeler) denir. Takviye genellikle nano boyutlu takviye malzemeleri şeklindedir. Genel olarak, nanokompozitler, bileşenlerin farklı özelliklerinden ve takviyenin homojen olmayan dağılımından dolayı anizotropi (özellikler yöne bağlıdır) gösterir. Nanokompozitler genellikle birçok açıdan geleneksel kompozitlerden daha avantajlıdır. Nanokompozitlerdeki matris malzemesinin özelliklerindeki iyileşme,

özellikleri iyileştirmek için yüksek konsantrasyonda mikro parçacık gerektiren geleneksel kompozitlere kıyasla, az miktarda nano takviye malzemesinin eklenmesiyle elde edilebilir, bu yüzden çok daha hafif olurlar. Boyuta bağlı özelliklere sahip nanomalzemeler, geleneksel kompozitlere göre termal, kimyasal, mekanik, optik, manyetik ve elektriksel özellikleri çok daha fazla geliştirir [107].

Polimer nanokompozitler, doku mühendisliği ve paketlenme malzemelerine olan talepte önemli bir artış göstermektedir. Son zamanlarda, yeşil ve çevre dostu çevre göz önüne alındığında, bir dizi biyopolimer, nanokompozit tasarımı için alternatif bir matris olarak kabul edilmiştir. Biyopolimerlerin klasik örnekleri arasında polivinil alkol gibi sentetik biyopolimerler ve proteinler, selüloz ve türevleri, kitosan, nişasta içeren doğal biyopolimerler yer alır. Çeşitli biyopolimer nanokompozitlerin mekanik özelliklerinin iyileştirilmesi konusunda çok ilerleme kaydedilmiştir [108].

Katmanlı silikatlar, yüksek en/boy oranına ve yüksek yüzey alanına sahip düzenli alüminosilikat katman yığınlarından oluşan doğal veya sentetik mineral malzemelerdir. Kil, partikül boyutu yaklaşık 2 mikrometre olan ve nano aralıkta genellikle 1 nm civarında kalınlığa sahip bir toprak fraksiyonudur. Formülleri, özellikleri ve yapılarında farklılıklar olan birçok kil türü vardır [107].

Nanokompozitlerin gelişmiş özelliklerini elde etmek için, nano boyutlu parçacıkların matris malzemesi içinde düzgün bir şekilde dağıtılması gerekir, aksi takdirde parçacıklar topaklanır ve nanokompozitlerin özellikleri bozulur. Bu agregalar kusur görevi görecek ve nanokompozitin özellik geliştirilmesini sınırlandıracaktır, bu nedenle maksimum özellik geliştirme elde etmek için nanopartiküller matris içinde homojen bir şekilde dağılmalıdır [109].

Nanokompozit özellik geliştirmeyi etkileyen diğer önemli faktör, matris ve dolgu malzemesi arasındaki arayüzün doğasıdır. Polimer matris nanokompozitlerin en yaygın özelliği, matris ile takviye malzemesi arasında faz sınırının varlığı ve ikisi arasında arayüz tabakasının gelişmesidir. Arayüzdeki özellikler, bileşim ve mikro yapı, arayüz bölgesi boyunca değişir ve hem matris hem de takvise malzemesinden farklıdır. Arayüz bölgesi, matris ve takviye malzemesi arasında iyi bir bağa sahipse, nanokompozitin genel özellikleri çok daha iyi olacaktır. Fazlar arası

özelliklerin çoğu bağlı yüzeye bağlıdır ve bu nedenle nanokompozit özellikleri, nano takviye ve polimer matris arasındaki ara yüzey bağını optimize ederek uygun hale getirilebilir. Birbirine bağlanan fazlar arasındaki etkileşim, takviye malzemesinin ve matrisin yüzey enerjisinin oranına bağlıdır. Nano boyutlu parçacıklar yüksek yüzey alanına sahiptir ve bir nanoparçacığın toplam yüzey alanı, nanokompozitlerin özelliklerine katkıda bulunan arayüz fenomeninin kapsamını belirler [110].

2.5 İlaç Yükleme Teknikleri

İlaç yükleme yöntemlerinden biri polimer malzemeyle üretilmiş olan filamentin ilaç çözeltisine, ilaç difüzyonunu kolaylaştırabilen bir çözücüyle dahil edilmesini içermektedir.

İkinci yöntem 3B yazıcı ile üretilmiş olan doku iskelelerini ilaç solüsyonuna batırılmasıyla doku iskelelerinin ilaç yüklenmesidir. İlaç yükleme yöntemlerine göre ilaç salınımlarının hızı değişmektedir. Bu yöntemler karşılaştırıldığında birinci yöntemin ilaç salınımını daha yavaş hızda olduğu tespit edilmiştir [111].

Olumsuz ilaç-polimer etkileşimine başka bir alternatif, doku iskelelerine gömülmeden önce ilacı nano/mikropartiküllere önceden yüklemektir [112].

Günümüzde ilaçların 3B baskılı implantlara yüklenmesi için birçok farklı mekanizma uygulanmaktadır. Tüm yöntemler, bütün haldeki ilaçların etkili terapötik dozlarda implanta tekrarlanabilir bir şekilde yüklenmesini sağlamayı amaçlar. Yükleme mekanizmaları, ilacın baskı işlemi öncesinde veya sırasında baskı matrisine dahil edildiği ve implantların önce 3 boyutlu olarak basıldığı ve daha sonra ilaç yüklemesinin yapıldığı mekanizmalara ayrılmaktadır. İmplantların ilaç yüklemesinin kontrol edilebilir olması için ilacın filament içinde homojen bir şekilde dağılması gerekir çünkü baskı işlemi sırasında karıştırma etkisi oluşmaz. Kullanılan ekstrüder ekipmanına bağlı olarak, tek veya çift vidalı bir ekstrüder kullanıldığında, ekstrüzyon işlemi sırasında az ya da çok yoğun karıştırma meydana gelir [113]. HME'nin yanı sıra ilaçlar, ilaçsız filamentlerin yüksek konsantrasyonlu ilaç çözeltilerine daldırılmasıyla filament matrisine dahil edilebilir. Kullanılan solventlerin, birleşmeyi sağlamak için yeterli miktarda ilacı çözmesi ve aynı zamanda filament yapısını korumak için polimer malzemeyi

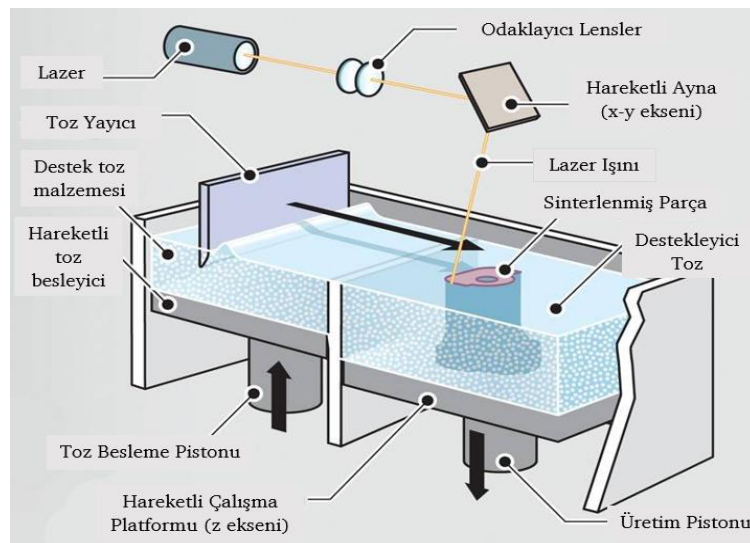
Baskı sonrası bir prosedür olarak, bitmiş, ilaçsız 3B baskılı implantlar, bir kaplama prosedürü ile ilaçlarla yüklenebilir. Ayrıca, ilaç solüsyonları basılı ürün üzerine damla damla uygulanabilir veya ilacı absorbe etmek için tüm implant, genellikle vakum altında bir ilaç solüsyonuna daldırılabilir. Bu yöntemler genellikle çok zaman alıcı ve yalnızca gözenekli yapılar, iç kısımlarda uygun ilaç konsantrasyonlarının mümkün olmasını sağlar [114].

BİYOMEDİKAL UYGULAMALAR İÇİN ÜÇ BOYUTLU YAZICI ÜRETİM YÖNTEMLERİ

Çözücü döküm, ergiyik kalıplama, dondurarak kurutma, gaz köpürtme, elektrospinning ve eklemeli imalat veya bu tekniklerin bir karışımı dahil olmak üzere doku iskelelerinin imalatı için çok çeşitli teknikler şu anda kullanılmaktadır [115]. Bunlardan üç boyutlu yazıcı ile üretim yöntemleri hakkında detaylar aşağıda verilmiştir:

3.1 Seçici Lazer Sinterleme (SLS)

SLS (Şekil 3.1), bir platformun üzerinde toz halindeki malzemeleri katı bir parça halinde birleştirmek amacıyla polimer/kompozit katmanlarını kademeli olarak sinterlemek için bir lazer veya başka bir yüksek enerji ışını kullanılan üç boyutlu yazıcı üretim yöntemlerinden biridir. Üretim döngüsü, kullanılan toz malzemenin ergiyik oluşumuna yakın bir sıcaklığa kadar ön ısıtılmasıyla başlamaktadır. Lazer, geometrinin bir yatay dilimini taradıktan sonra tek bir katı katman oluşturmak için partikülleri sinterler. Daha sonra platform, bir katmanın kalınlığı kadar olacak şekilde dikey yönde alçalınca toz malzeme eklenerek proses tekrarlanır [116]. SLS işleminin SLM işlemine göre temel farkı, toz malzemenin tam ergime yerine sinterlenmesidir [117].



Şekil 3.1 SLS prosesi [118]

Lazer enerjisi yoğunluğu, lazer tarama hızı, tarama stratejisi, ardışık iki tarama yolu ile katman kalınlığı arasındaki mesafe olan tarama aralığı, yatak sıcaklığı, ve malzeme kalitesi üretilen ürünün mekanik dayanımı üzerinde etkilidir [119], [120]. Toz partikül boyutu ve partikül dağılımı, basılı parçanın yoğunluğunu belirler. Normalde, 10–100 µm aralığında çaplara sahip toz partiküller, yayılmayı kolaylaştırmak için kullanılır ve ergitilmemiş toz, baskı sırasında parçayı destekler ve böylece özellikle karmaşık yapıların üretimini kolaylaştırır [121]. Malzemenin ergime/sinterleme sıcaklığının düşük olması lazerin kullanımını kolaylaştırır [116]. İmplantasyon veya in vitro çalışmalar için büyük baskılar bu yöntemle alınabilmektedir [122]. SLS, kullanılmayan tozların geri dönüştürülebildiği çok çeşitli malzemelerin tam olarak üretilmesini sağlamakla birlikte en büyük dezavantajı sınırlı üretim hızıdır ayrıca hafif pürüzlü bir yüzey sergilediğinden dolayı bu nedenle genellikle son işleme prosesine ihtiyaç duyulabilmektedir [123], [124].

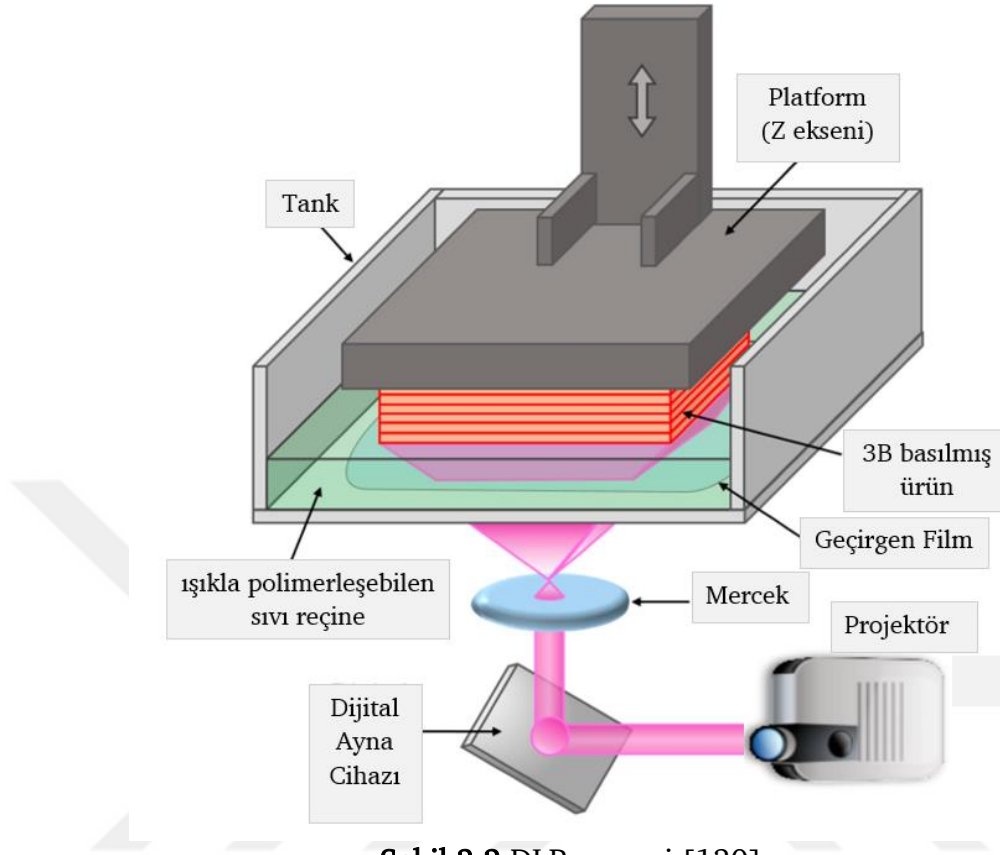
3.2 Dijital Işık İşleme (DLP)

İlk olarak, UV ışını bir dijital mikro ayna cihazından geçer ve elde edilen görüntü reçine tankına yansıtılır. Bununla birlikte, diğer teknik olarak galvanometre adı verilen sallanan bir ayna üzerine yansıtılan ve her katmanın görüntüsüne dayalı olarak fotopolimer reçineyi kürlemek için reçine tankına yansıtılan bir lazer ışını kullanılır [125].

Tek bir odak noktası yerine milyonlarca piksellik bir dijital mikro ayna cihazı tarafından yansıtılan hassas projeksiyon ışığı, bu teknolojiye hem baskı doğruluğunu hem de baskı hızını sağlar [126]. Bu avantajlar nedeniyle, DLP 3B baskı son yıllarda hızlı bir gelişme göstermiştir ve diş hekimliği teknolojisinde, mücevher imalatında, meta-malzemelerde, şekil değiştiren yapılarda yaygın olarak kullanılmaktadır [127].

Genel olarak, diğer yöntemlerdeki nozülün neden olduğu yüksek sıcaklık, basınç ve kayma gerilimi olmayan DLP baskı işlemi, hücre hasarı az olan canlı doku veya organlar için 3B baskı almaya uygundur. Lazer destekli 3B baskı gibi bir noktayla sınırlı olmak yerine, DLP teknolojisi kullanılarak reçine üzerine ışık

yansıtıldığında, tüm katman anında yazdırılır. Dolayısıyla, bu teknoloji hızlı baskıya izin verir [128], [129].

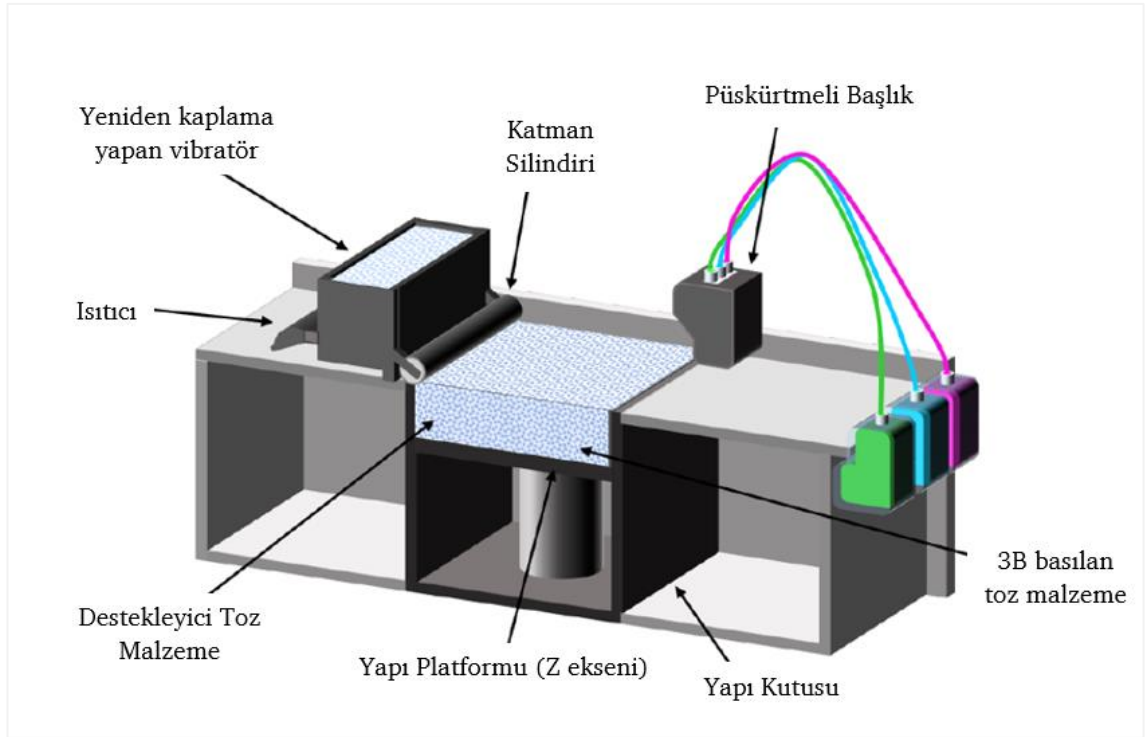


Şekil 3.2 DLP prosesi [130]

Şekil 3.2’de DLP üretim prosesi yer almaktadır.

3.3 Bağlayıcı Püskürtme Yöntemi (BJP)

Bağlayıcı püskürtme yöntemi (BJP), ilk olarak 1990’ların başında MIT’de geliştirilen çok adımlı eklemeli imalat (Eİ) süreçlerinden biridir [131]. Bağlayıcı püskürtme yönteminde, bir parçanın enine kesitini oluşturmak için bir toz yatağı üzerine bir bağlayıcı malzeme uygulanır, bu nedenle esas malzemesinin ana kısmı yatak tozundan oluşturulur (Şekil 3.3). Bir katman basıldıktan sonra, toz yatağı aşağı iner ve bir sonraki toz katmanı basılı yüzeye doğru itilir. Bağlayıcı ve tozu itme işlemleri, bir parçanın 3B baskısı bitene kadar devam eder. Kalıntı polimerin (kahverengi oluşumu) havada veya inert atmosferde ısıl işlemle uzaklaştırılması için ayırma işlemi gerçekleşir. Proses sonrası seramiklerde yüksek veya tam yoğunluğa ulaşmak için yüksek sıcaklıkta gerçekleştirilen sinterleme işlemi yapılır [132], [133].



Şekil 3.3 BJP prosesi [134]

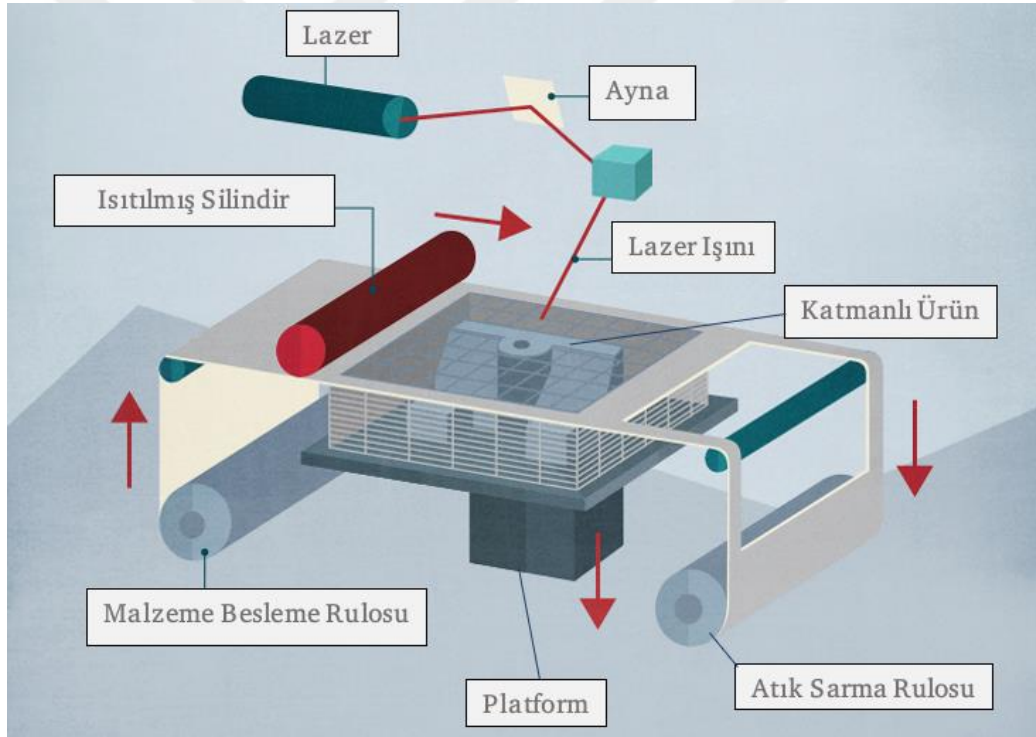
Bu teknoloji, metalleri/alaşımları (Al, Cu, Fe, Ni, Co bazlı alaşımlar) ve seramikleri (cam, kum, grafit vb.) işleme kapasitesine sahiptir. Metal ve plastik malzemelerin çoğu herhangi bir son işlem gerektirmez ve baskı sistemlerinden çıkar çıkmaz kullanıma hazırdır [135], [136].

Küçük gözenek, destek kalınlığı gibi tasarım özellikleri, malzemenin akma kabiliyeti ve ıslanma davranışı, bağlayıcının viskozitesi ve uçuculuğu, makinenin kapasitesi olarak baskının çözünürlüğü, 3B üretilmiş katmanın kalınlığı ve işlem parametreleri olan 3B basılan katmanın kalınlığı, temizleme sıklığı, kütleme ve sinterleme süresi ve sıcaklığı yöntemi etkileyen faktörler olarak ifade edilmektedir [137].

Isıtmayı içermediğinden, SLM işleminin aksine parçalarda herhangi bir artık gerilim oluşmaz ve BJP, en uygun maliyetli ve hızlı yöntemlerden biridir. Biyomedikal alanda, biyomoleküllerin veya ilaçların dahil edilmesiyle hücreleri ve hidrojel işlemek mümkündür. Bu yöntemde kullanılan biyomalzemeler olarak karbonhidratlar (örn. sükröz), poliviniller, silika yer almaktadır [138], [139].

3.4 Katmanlı Parça Üretimi (LOM)

LOM ilk olarak 1984 'te Kunieda tarafından icat edilmiştir, daha sonra 1986'da Helysis Corporation tarafından daha da geliştirilmiştir [140]. Şekil 3.4'de LOM üretim prosesi yer almaktadır. Bilgisayar kontrollü bir lazerle, CAD tasarımına göre birinci malzeme katmanı enine kesit halinde kesilir, ardından fazla malzeme uzaklaştırılır ve bir öncekinin üzerine ikinci bir malzeme tabakası yerleştirilir. İkinci katman bir öncekinin üstüne yapıştırılır veya kaynaklanır ve bununla birlikte üretim sırasında kontrollü bir ısıtma adımıyla homojenlikler garanti altına alınmaktadır. Bitişik katmanlar arasındaki yapıştırma ve laminasyon, gerçek zamanlı ısıtma ve mekanik sıkıştırma ile gerçekleştirilebilir. Kağıt, plastik, metal malzemelerde LOM yöntemi kullanılmaktadır [141].



Şekil 3.4 LOM prosesi [142]

İmalat sürecinde indüklenen düşük termal gerilimlerin bir sonucu olarak bozulma ve deformasyonun ortadan kaldırılması yönünden LOM prosesi avantajlıdır [143]. Delaminasyon, arayüzey yapı yönü açısından katmanlar arasındaki zayıf arayüzey bağlanma davranışlarıyla ilişkili olarak problem görülebilmektedir [144], [145]. SLA veya SLS'den daha hızlı olsa da LOM 3B yazıcılar pahalıdır. Yuvarlak şekilli

yüzeyler söz konusu olduğunda, düşük yüzey kalitesi LOM için bir başka önemli dezavantajdır [146].

Biyomedikal uygulamalarda; anatomik modeller, yumuşak doku modelleri LOM tekniğiyle üretilmiştir [147].

3.5 Ergiyik Yığarak Modelleme (EYM)

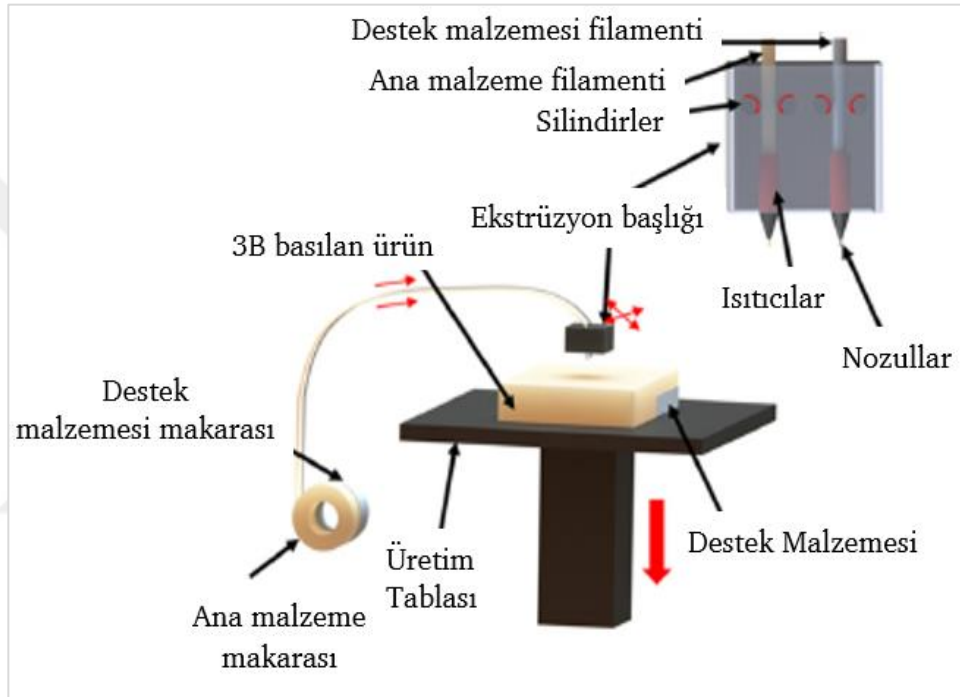
3B baskı yöntemi olan ergiyik yığarak modelleme (EYM), 1988'de Crump tarafından icat edilmiştir. Crump daha sonra, EYM'yi ticari olarak kullanılabilir hale getiren Stratasys Inc. firmasını kurmuştur [148], [149].

Tasarımın dilimlenmesi ve dosyanın STL formatına dönüştürülmesi ile baskı işlemi başlatılır. Nozulun sıcaklığı, polimer akışı, katman kalınlığı, yönlendirme, tarama genişliği ve tarama açısı gibi 3B yazıcının işlem parametrelerini ve polimerik filamentlerin tipini (özelliklerini) değiştirerek EYM ile basılmış parçaların mekanik mukavemetini ve yüzey kalitesini belirlemek mümkündür [150]. Çok malzemeli baskı, yapışma gücünü ve mekanik kilitlemeyi artırır. Malzeme birleştirmede kullanılan dilimleme deseninin türü ve birleşim yüzeyinin altındaki katmanların dolgu yoğunluğu, EYM teknolojisindeki yapışma mukavemetini oluşturmaktadır [151].

Şekil 3.5'de EYM ile üretim prosesi görülmektedir. Kademeli motorlar, filament makarasındaki yaklaşık olarak 1.75-3 mm çapı aralığında ana filament malzemeyi katı şekilde itmeye başlar. Ekstrüder başlığının içindeki dişliler filamenti iter, ekstrüder malzemeyi ergime noktası sıcaklığında ertir ve ergimiş malzemeyi ekstrüder başlığı X-Y eksenleri yönünde hareket ederek tabla üzerinde biriktirir. Tabla da Z eksenini yönündeki hareketi sağlamaktadır. Malzeme katılaşmaya ve birbirine bağlanmaya başlar. Bu prosedür numune tamamlanana kadar her katman için tekrarlanır. Karmaşık bir geometri olduğunda, destek malzemesi normalde sarkan parçaları desteklemek için kullanılmaktadır [149], [152]–[154].

Arayüzlerin sıcaklık geçmişi, biriktirilen katmanlar arasındaki yapışma kalitesinin belirlenmesinde önemli bir rol oynar. Aslında, filamentler arasındaki yapışma, polimer zincirlerinin filamentlerin arayüzleri boyunca moleküler difüzyonuna ve rasgele dağılımına bağlıdır [155], [156].

EYM teknolojinin en büyük avantajı, kompozitler gibi geniş bir polimerik malzeme grubu ile uyumlu olmasıdır. Polikarbonat (PC), akrilonitril bütadien stiren (ABS), polifenilsülfon, PC-ABS karışımları, poliamid (PA), PC-medikal sınıfı, polikaprolakton (PCL), yüksek etkili polistiren (HIPS), polietilen (PE), Polimetil Metilakrilat (PMMA) malzemeleri EYM teknolojisiyle kullanılabilen yaygın polimer çeşitleridir [157]–[159].



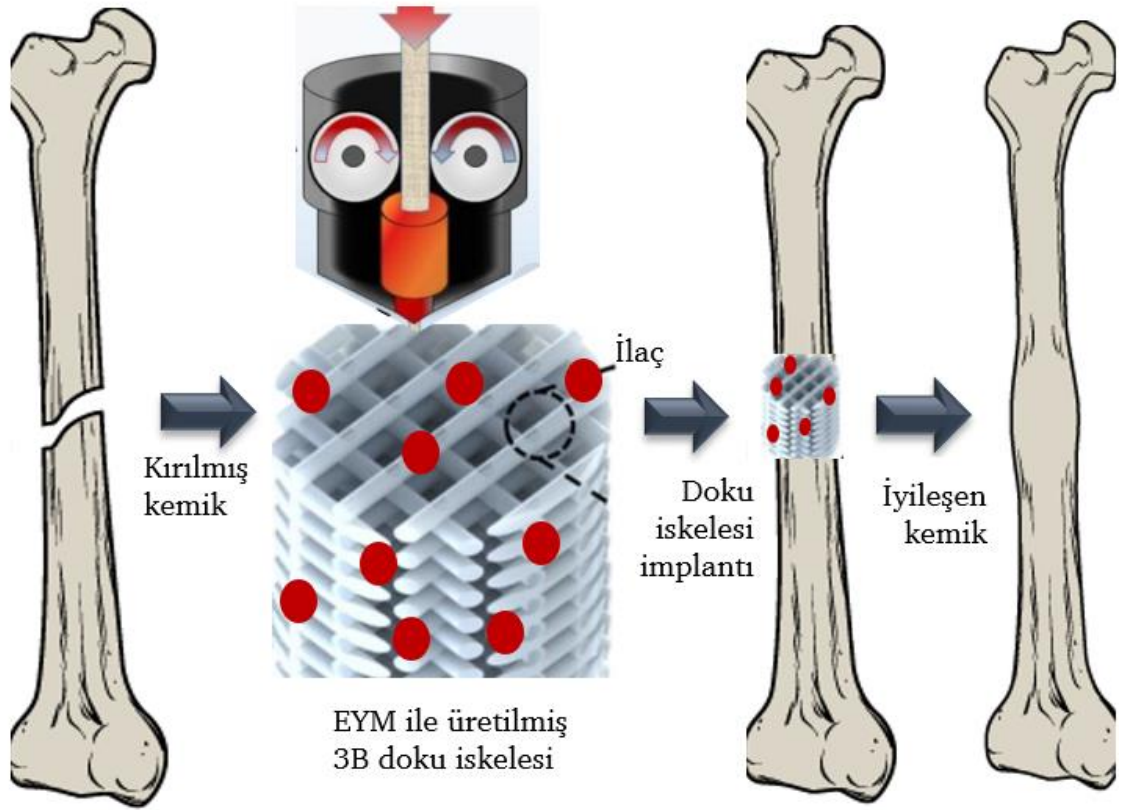
Şekil 3.5 EYM prosesi [149]

EYM ile üretilmiş numuneler, biyomedikal uygulamalardan (doku iskelesi ve stentler), otomotiv mühendisliğine ve havacılık mühendisliğine kadar geniş bir yelpazede dikkat çekmektedir. Katman üzerine ekleme ile EYM, iyi bir mekanik mukavemete ve biyouyumluluğa sahip 3B ile üretilmiş ürünler oluşturmada rekabetçi olsa da, yüksek sıcaklık ortamı, doku iskelelerinde biyomoleküllerin veya hücrelerin kapsüllenmesinin tasarlanmasındaki uygulamalarını sınırlamaktadır [154].

Canlı hücrelerle üretilen 3B doku iskeleleri, hücre canlılığını kaybetmeden EYM kullanılarak başarılı bir şekilde yazdırılabilir [160]. EYM ile üretilmiş ilaçlı doku

iskelesinin hasarlı kemiğe implantasyonu ve kemiğin iyileşme süreci Şekil 3.6’da gösterilmiştir.

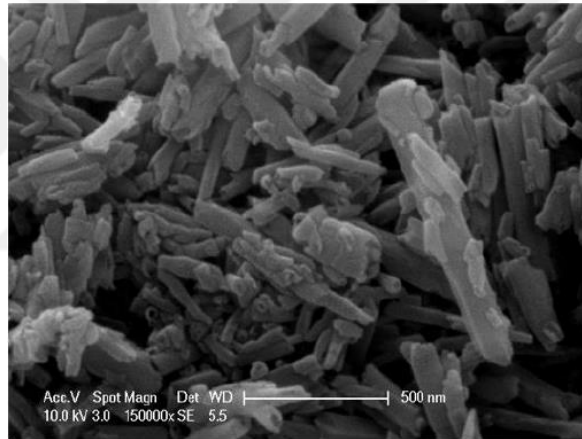
Baskı malzemesi uygun şekilde ayarlanmamışsa, üretilmiş üründe şekil bütünlüğü eksikliği görülür. Nihai ürünü elde etmek için genellikle yüzey bitirme işlemi gerekir [161].



Şekil 3.6 EYM ile üretilmiş ilaçlı doku iskelesinin hasarlı kemiğe implantasyonu ve kemiğin iyileşme süreci

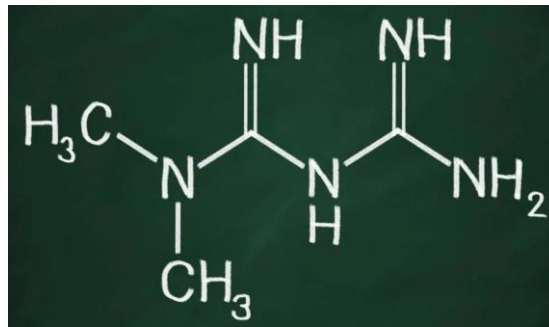
4.1 Malzeme

Özgöl ağırlığı 1.24 g/cm^3 , ergiyik akış indeksi (MFR) 22 g/10 dak (210°C , 2.16 kg), Tg yaklaşık 55°C , Tm yaklaşık 200°C olan ticari polilaktik asit (PLA 3001D), Resinex, Türkiye firmasından satın alınmıştır. Haloysit nanotüp (HNT) Sigma-Aldrich, Türkiye tarafından tedarik edilmiştir. HNT, 30-70 nanometre (nm) çapında 1-3 mikrometre (μm) uzunluğa sahiptir ve kimyasal içeriği % 28 SiO_2 ve % 26,6 Al_2O_3 'ten oluşmaktadır. Şekil 4.1'de HNT'nin SEM görüntüsü gösterilmiştir.



Şekil 4.1 Haloysit Nanotüp için SEM görüntüsü [162]

MET, ($\text{C}_4\text{H}_{12}\text{ClN}_5$), Tip 2 diyabet tedavisinde yaygın olarak kullanılan küçük ve oldukça hidrofilik bir moleküldür [163]. Metformin ile ilgili çoğu çalışma, oral ve enjekte edilebilir kullanımla ilişkilendirilmiştir. Şekil 4.2'de metformin'in kimyasal yapısı gösterilmiştir.



Şekil 4.2 Metformin kimyasal yapısı

MET beyaz renkte, kristal yapıda toz formunda olup, ergime sıcaklığı 223–226°C arasındadır, yüksek termal kararlılığa sahip olmasından dolayı EYM için uygun bir ilaçtır. Metformin suda serbestçe çözünebilir, alkol gibi organik çözücülerde az çözünür [164].

Gao ve ark. [165] ve Molinuevo ve ark. [166], osteojenik koşullarda kültürlenmiş ve Metformin ile tedavi edilen kemik iliği mezenkimal kök hücrelerinde, gelişmiş hücre çoğalması, kemik oluşumu, büyümesi ve kemik onarımı gözlemlemişlerdir. Son zamanlarda, metforminin (MET) kemik onarımı ve metabolizması üzerindeki etkileri büyük ilgi görmüş ve glikoz ile kemik metabolizması arasında yakın bir ilişki olduğu gösterilmiştir [167]. Son araştırmalar ayrıca MET'in diyabet olan hastalarda kırık riskini azaltabileceğini göstermiştir [168].

MET'in cilt dokusuna topikal uygulaması yapılmıştır, bunların çoğu diyabetik hastalarda kan glukoz seviyesini düşürmeyi, cilde ilaç geçirgenliğini arttırmayı ve diyabetik hastalarda yara iyileşmeyi MET'in sağladığını ortaya koymuştur [169].

4.2 Halosite Nanotübün İlaç Yüklenmesi

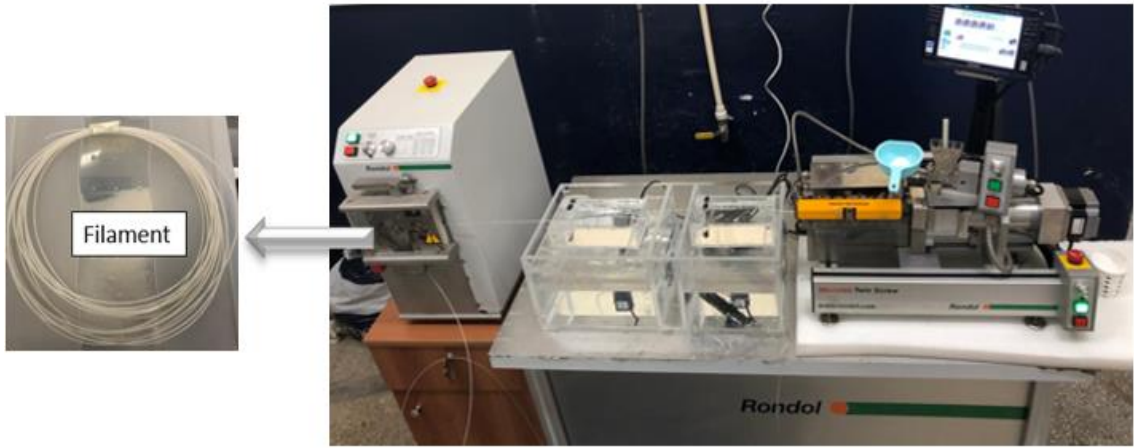
HNT'nin ilaç yüklemesinde metformin kullanılmıştır. 500 µg / ml metformin önce distile suda 24 saatte, pH değeri 7.5 ortamında çözündürülmüştür. HNT, 4 mg/ml metformin çözeltisine ilave edilmiştir ve ultrasonik banyo ile dağıtılmıştır. Elde edilen çözelti, 10 dakika boyunca 5000 rpm'de santrifüje tabi tutulmuştur ve etkinlik deneyinde süpernatant kullanılmıştır; pelet, 45°C'de 16 saat boyunca bir fırında kurutulmuştur. MET'in ilaç yüklenme etkinliği (İYE) aşağıdaki (4.1) eşitliğine göre hesaplanmıştır.

$$\text{İYE (\%)} = \frac{\text{Başlangıçtaki MET miktarı} - \text{Süpernatant MET miktarı}}{\text{Başlangıçtaki MET miktarı}} \quad (4.1)$$

4.3 Ergiyik Karıştırma Yöntemi ile Kompozit Filament Üretimi

Ekstrüzyon işleminden önce HNT ve PLA partikülleri fırında 80°C'de 12 saat kurutularak nem alma işlemi uygulanmıştır. PLA ve HNT'nin birleştirilmesi, 100 rpm'lik vida hızını ayarlayan bir Rondol çift vidalı ekstruder (L/D=10) ile gerçekleştirilmiştir. Ekstruder sıcaklık parametreleri, literatürdeki çalışmalar

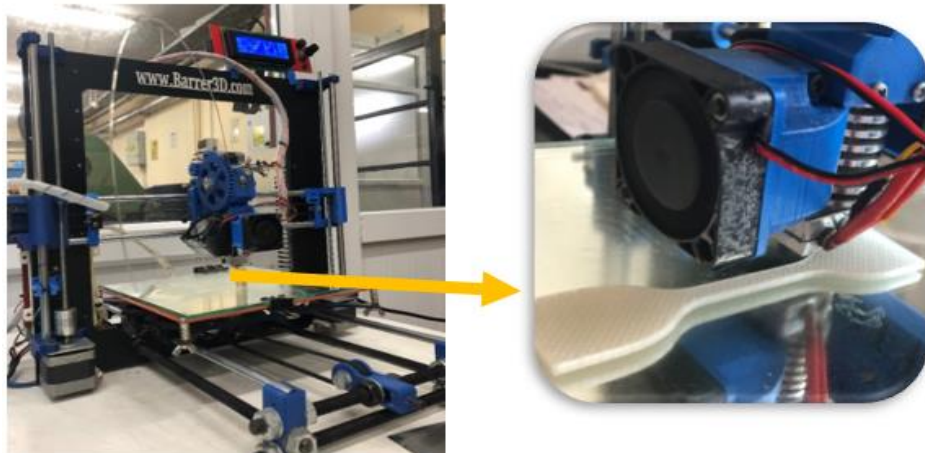
incelenerek [170] yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda belirlenen değerlere göre hazneden kalıba kadar değişen bölgelerin sıcaklıkları sırasıyla 155-175-170-160°C'dir. Üretilen filamentler su ile soğutulmuştur. Filamentin çapı Φ 1.75 ± 0.05 mm'de sabit tutulmuştur. Saf PLA ve HNT yüklü (ağırlıkça % 1-5) PLA bazlı nanokompozit filamentler elde edilmiştir. MET yüklü filamentler de aynı prosedürle elde edilmiştir. Şekil 4.3'de çift vidalı ekstrüder ve üretilmiş filament gösterilmektedir.



Şekil 4.3 Çift vidalı ekstrüder ve üretilmiş filament

4.4 Kompozit Doku İskelesi Numunelerinin Üretimi

Doku iskeleleri 3B tasarım programında tasarlanmıştır ve ardından dilimleyici programı kullanılmıştır. Hazırlanan tüm filamentlerden, Prusa i3 EYM yazıcı ile doku iskelesi numuneleri üretilmiştir (Şekil 4.4). 3B yazıcı parametreleri Tablo 4.1'de tanımlanmıştır. Her test için aynı setten dört numune üretilmiştir.

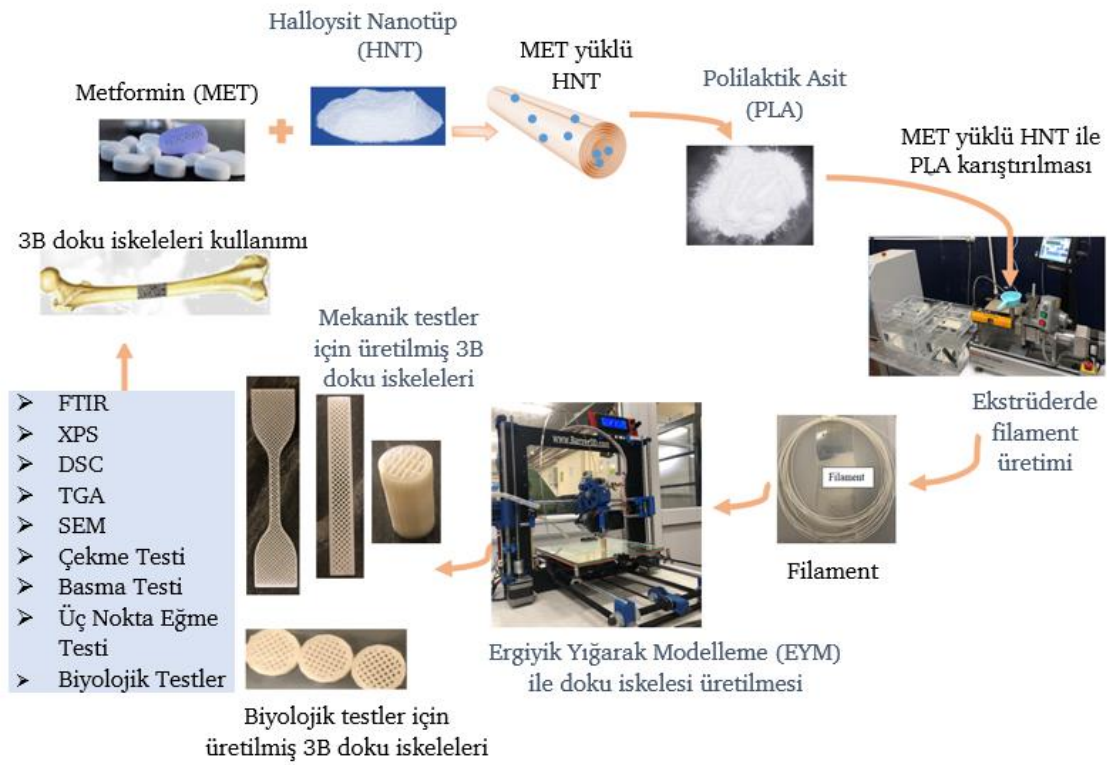


Şekil 4.4 EYM makinesi ile doku iskelesi numunesinin üretimi

Tablo 4.1 EYM işlem parametreleri

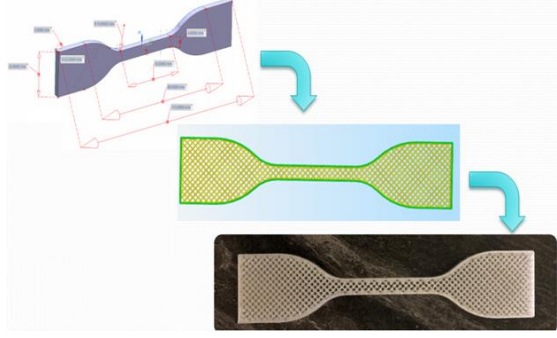
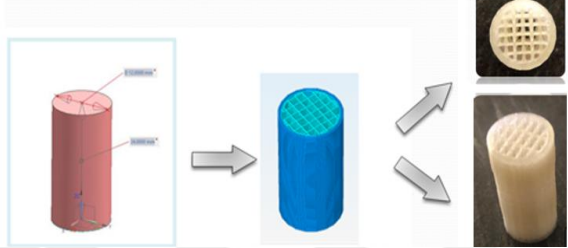
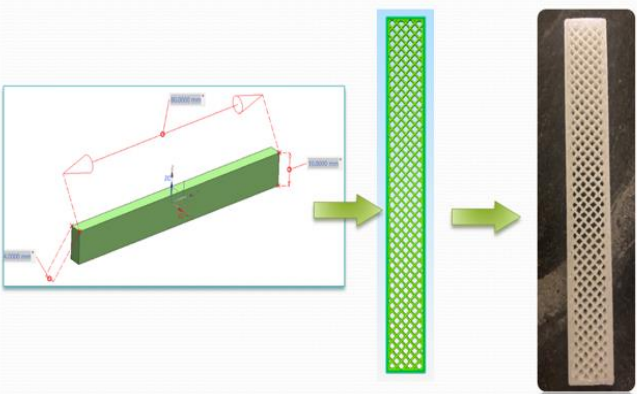
Özellik	Değer
Nozül çapı (mm)	0.4
Duvar kalınlığı (mm)	0.8
Katman kalınlığı (mm)	0.1
Doluluk oranı (%)	50
Baskı sıcaklığı (°C)	200
Yatak sıcaklığı (°C)	50
Baskı hızı (mm/s)	60
Üst/Alt katmanlar	Yok

Şekil 4.5’de tezde yapılan deneysel çalışmaların akış şeması verilmiştir.

**Şekil 4.5** Deneysel çalışma proses döngüsü

Çekme, basma, üç nokta eğme testi için doku iskeleleri ilk olarak 3B tasarım programında modellenmiş Tablo 4.2’de, Simplify 3D dilimleme programında %50 doluluk oranında ayarlanarak oluşturulmuş, EYM 3B yazıcıda üretilmiştir.

Tablo 4.2 Çekme, basma, üç nokta eğme testi numuneleri, standard ve ölçüleri

Çekme testi numunesi		ASTM D412
Basma testi numunesi		ASTM 695 24 mm uzunluk, 12 mm çap
Üç nokta eğme testi numunesi		ISO 178 80x10x4 mm

Numune ölçüleri ve referans alınan standartlar Tablo 4.2’de belirtilmiştir.

4.5 Kompozitlerin Karakterizasyonu

4.5.1 Fourier Transform Infrared Spektrofotometre (FTIR)

Perkin Elmer Spectrum 100 FTIR Spektrometresi, PLA, HNT ve MET arasındaki etkileşimi belirlemek için FTIR analizi için universal zayıflatılmış toplam yansıma (ATR) örnekleme aksesuarı ile birlikte kullanılmıştır. FTIR, ATR tekniğine dayanarak 650 ila 4000 cm^{-1} dalga sayısı aralığında 4 cm^{-1} çözünürlükte gerçekleştirilmiştir.

4.5.2 X-Işını Fotoelektron Spektroskopisi (XPS)

X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS), üretilmiş olan doku iskelelerinin yüzeyindeki kimyasal bileşimini araştırmak için bir mono Al-K α X-ışını kaynağı kullanılarak PHI 5000 Versaprobe ile gerçekleştirilmiştir. Numunelerin ölçülen sinyal derinliği yaklaşık 4-6 nm, take-off açısı 45 °'dir.

4.5.3 Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC)

PLA bazlı nanokompozitlerin soğuk kristalleşme sıcaklığını (T_{cc}), camsı geçiş sıcaklığını (T_g), soğuk kristalleşme entalpisini (ΔH_{cc}), ergime sıcaklığını (T_m) ve ergime entalpisini (ΔH_m), ayrıca HNT ve MET'in PLA üzerindeki termal etkisini araştırmak amacıyla DSC analizi DSC8000, Perkin Elmer Diamond ile gerçekleştirilmiştir. Numuneler, azot gazı varlığında 10°C/dk ısıtma hızında 20°C'den 200° C'ye ısıtılmıştır. Kristallik derecesinin (X_c) hesaplanması (4.2) eşitliğinde belirtilmiştir [171].

$$X_c = \frac{\Delta H_m}{\Delta H_m^0 \times w_{PLA}} \times 100\% \quad (4.2)$$

Denklem (4.2)'de, % 100 kristalli PLA için ergime entalpisini (ΔH_m^0) 93 J/g olarak alınmıştır [172], w_{PLA} terimi [173], PLA'nın nanokompozit içindeki ağırlık fraksiyonudur.

4.5.4 Termogravimetrik Analiz (TGA)

SII6000 Exstar TG/DTA 6300 aygıtı ile, kullanılan malzemelerin termal stabilitesini yorumlamak için 10°C/dk ısıtma hızına sahip, azot gazı akışı altında TGA analizi gerçekleştirilmiştir. Testler, artan sıcaklığa bağlı olarak kilo kaybı kaydedilerek 25°C ila 550°C arasında uygulanmıştır.

4.6 Kompozit Doku İskelelerinin Morfolojik Testleri

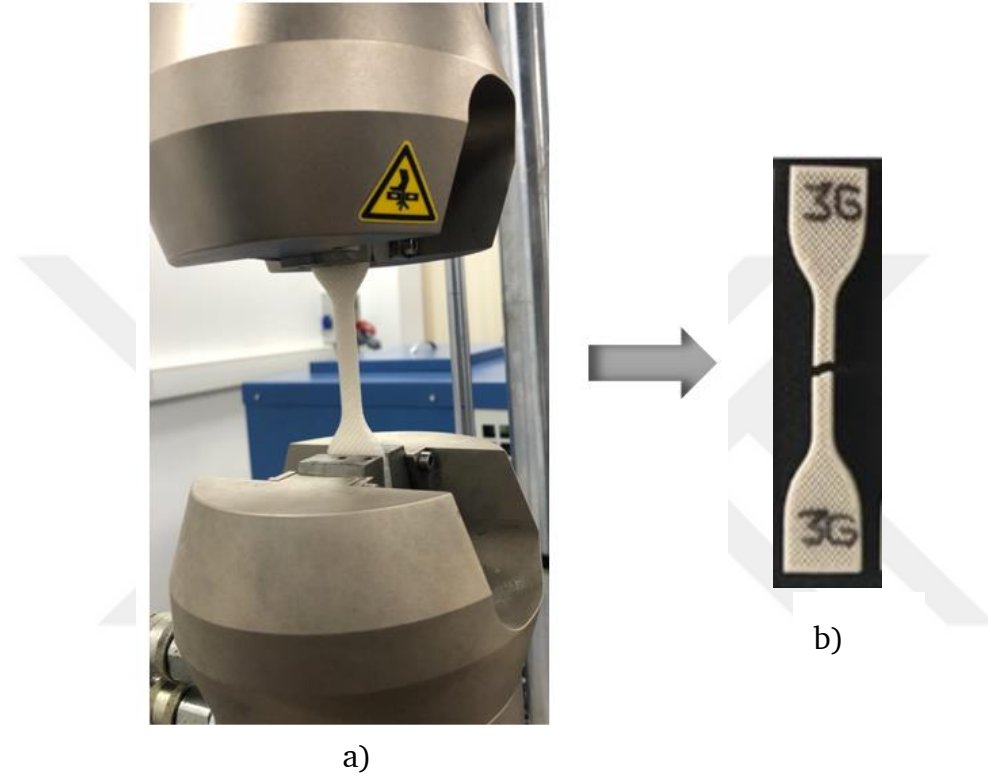
4.6.1 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Numunelerin kırılma yüzeylerinin morfolojik incelenmesi için Philips FEI XL30 ESEM cihazıyla 5 kV hızlandırıcı gerilimi seçilerek SEM analizi gerçekleştirilmiştir. SEM analizinden önce, test sırasında elektrostatik yükten kaçınmak için kırılmış olan yüzeylere ince bir altın tabaka olarak kaplama yapılmıştır.

4.7 Kompozit Doku İskelelerinin Mekanik Testleri

4.7.1 Çekme Testi

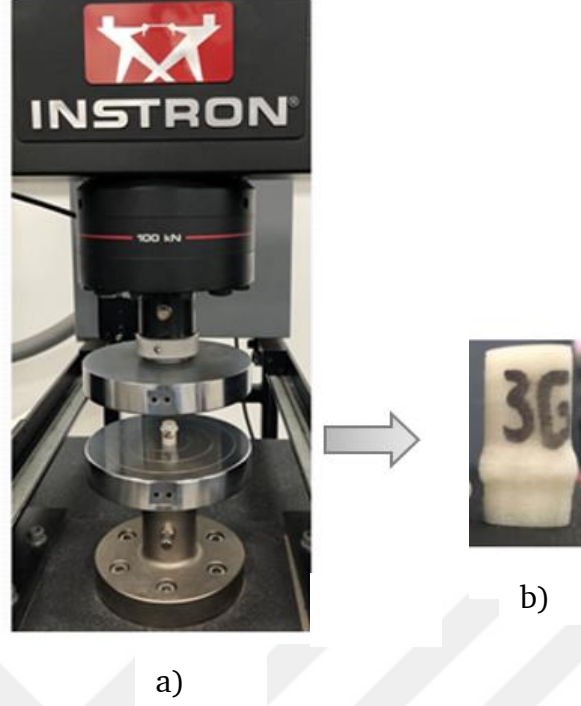
Çekme testleri INSTRON 5982 cihaz ile 25 °C'de 1 mm /dk hızda uygulanmıştır. Çekme testi örnekleri ASTM D412'ye uygun olarak hazırlanmış olup çekme testi cihazı ve test sonrası çekme numunesindeki görseller Şekil 4.6'da yer almaktadır.



Şekil 4.6 Çekme cihazı (a), çekme testi sonucu çekme numunesi (b).

4.7.2 Basma Testi

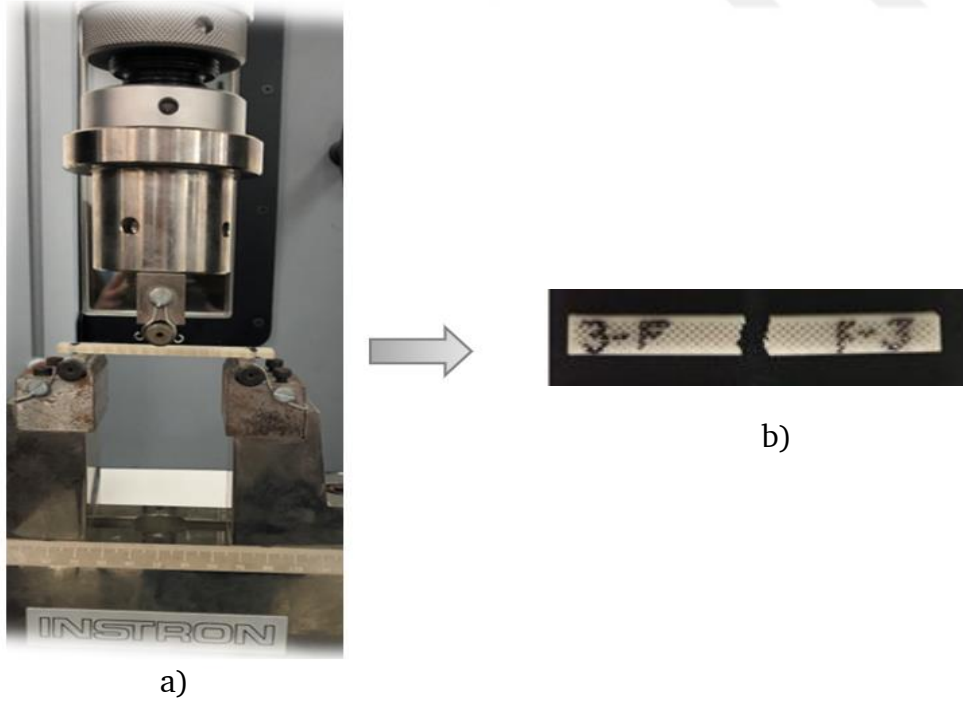
INSTRON 5982 cihazı ile ASTM 695 standard test yöntemine göre 25 ° C' de 1 mm/dk test hızında basma testi yapılmıştır. Basma testi cihazı ve test sonrasındaki basma numunesi Şekil 4.7'de yer almaktadır.



Şekil 4.7 Basma cihazı (a), basma testi sonucu basma numunesi (b).

4.7.3 Üç Nokta Eğme Testi

Şekil 4.8’de üç nokta eğme cihazı ve test sonrası eğme numunesi gösterilmektedir.



Şekil 4.8 Üç nokta eğme cihazı (a), üç nokta eğme testi sonucu eğme numunesi (b).

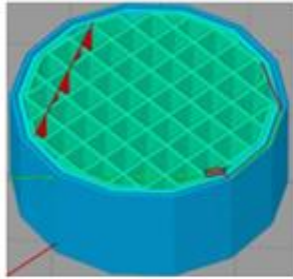
ISO 178'e uygun olarak hazırlanan numuneler ile oda sıcaklığında 1 mm/dk test hızında INSTRON 5982 cihazıyla üç nokta eğme testleri yapılmıştır.

Tüm mekanik testler her setten dörder numune ile gerçekleştirilmiş, daha sonra aynı sete ait dört numunenin ortalaması alınarak standart sapmaları belirlenmiştir.

4.8 Kompozit Doku İskelelerinin Biyolojik Testleri

4.8.1 In-vitro İlaç Salınım Testi

HNT ve 3B üretilmiş numuneler üzerinde ilaç salınım testleri yapılmıştır. Nanopartiküllerden ilaç salınımını test etmek için önce metformin / HNT (4 mg) tartılmıştır ve 1 mL fosfat tampon (PBS, pH: 7.4) çözeltisine konulmuştur. Daha sonra çözelti, 30 gün boyunca 37 ° C'de sabit karıştırma altında 20 mL PBS tampon ortamında diyalize edilmiştir. İlaç salınım testleri için 3B üretilmiş numunelerin boyutları Φ 15,6 mm çapında ve 0,5 cm yüksekliğindedir (Şekil 4.9) ve bu numuneler 30 gün boyunca 37 ° C' de sürekli karıştırma altında olan bir hazneye (çap (alt) = 15,6 mm) konulmuştur.



a)



b)

Şekil 4.9 % 50 doluluk oranında biyolojik test numunesinin Simplify 3D programında görüntüsü (a), EYM ile üretilmiş üç boyutlu doku iskelesi olan biyolojik test numuneleri (b).

Doku iskelelerinin ideal gözenek yoğunluğu belirlenmesi için elde edilen %30-40-50 doluluk oranlarındaki doku iskeleleri üretilmiştir. Elde edilen hücre etkinlik sonuçlarına göre ideal doluluk oranı % 50 olarak belirlenmiştir ve bu aşamadan sonra doku iskelelerinin tamamı üretilirken bu oran kullanılmıştır.

Gözenek yoğunluğu fazla olan doku iskelelerinde hücrelerin tutunabileceği daha fazla yüzey alanının olmasından dolayı hücre tutunması artması beklenmektedir.

Ayrıca yüksek gözeneklilik yüzey alanını arttırmakta ve hücre canlılığını çoğaltmaktadır [174]. Ancak çok fazla gözenekli yapı mekanik dayanımı düşürmektedir [175].

Deney aynı setten üçer adet halinde yapılmıştır. Seçilen zaman aralıklarında, haznelerden 2 ml'lik bir çözelti çıkarılmıştır ve eşit hacimde taze PBS tamponu doldurulmuştur. MET'in salınım kinetiği, kalibrasyon eğrisine dayalı olarak 235 nm' de bir UV-vis spektrofotometresi (Thermo Scientific™ μ Drop™ Spektrofotometresi) kullanılarak değerlendirilmiştir. Kümülatif ilaç salınımı aşağıdaki denklem (4.3)'e göre hesaplanmıştır.

$$\text{Kümülatif MET Salınımı (\%)} = (M_t / M_0) \times 100 \quad (4.3)$$

Burada M_t , belirli bir zamanda numunelerden salınan MET miktarları ve M_0 , yüklenen MET miktarıdır.

4.8.2 Hücre- Malzeme Etkileşimi Testleri

Hücre-malzeme etkileşimini değerlendirmek için, zamana bağlı sitotoksitesite değerlendirmesi, proliferasyon ve kalsiyum biriktirme çalışmaları yapılmıştır. Bu tahliller için SaOs-2 hücreleri kullanılmıştır ve hücreler, %10 FBS ve %1 Penisilin/Streptomisin ile desteklenmiş DMEM/F12'de 37°C %5 CO₂'de kültürlenmiştir.

Malzemelerin sitotoksitesitesini belirlemek için MTT testi yapılmıştır. Numuneler önce 30 dakika sterilize edilmiştir. UV ve daha sonra 24 saat boyunca bir elüsyon ortamına konulmuştur. Daha sonra, elüsyon ortamı hücreler içinde (1×10^4 hücre/hazne) 24 saat etkileşime girmiştir. Optik yoğunluklar, bir mikro plaka okuyucu (Thermo Scientific™ uDrop™ Spektrofotometre) kullanılarak 570 nm'de ölçülmüştür ve kontrol (doku kültürü plakası) ile ilgili canlılıklar hesaplanmıştır.

Hücre proliferasyonu, üreticinin talimatlarına göre alamarBlue® hücre proliferasyon testi (Invitrogen, ABD) kullanılarak değerlendirilmiştir. 2.5×10^4 hücre, 3B üretilmiş numuneler üzerine eklenmiştir ve kültürlenmiştir. Belirlenen her zaman için canlı hücre sayıları elde etmek için alamarBlue solüsyonu ve hücre kültür ortamı 10:1 oranında birleştirilmiştir ve her bir hazneye 500 μ L kombine

solüsyon eklenmiştir. Absorbanslar, 570 nm (eksitasyon) ve 600 nm'de (emisyon) 4 saatlik inkübasyonun ardından 7 güne kadar ölçülmüştür.

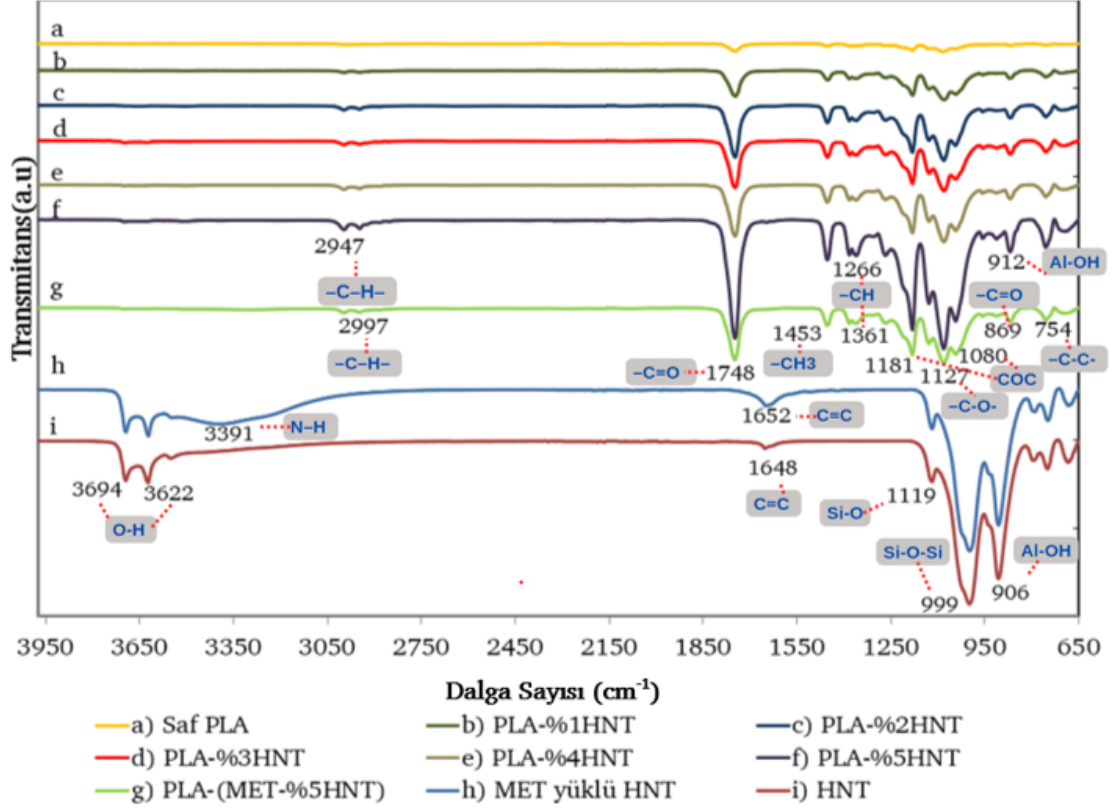
Kemiğe özgü kalsiyum mineralizasyonu, daha önce bildirildiği gibi 21 güne kadar Alizarin Red boyaması kullanılarak değerlendirilmiştir [176]. Numuneler üzerine 5×10^4 hücre eklenmiştir ve kültürlenmiştir. Boyama için önce hücreler % 4' lük formaldehit solüsyonu ile oda sıcaklığında 15 dakika bekletilmiştir. Daha sonra hücreler iki kez kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkanmıştır ve 40 ml Alizarin Red ile oda sıcaklığında hafifçe çalkalanarak 30 dakika boyanmıştır. Boyamadan sonra, fazla boyayı çıkarmak için hücreler beş kez dH_2O ile yıkanmıştır. Son olarak, boya, setilpiridyum kullanılarak çözündürülmüştür ve absorbanslar, 562 nm'de kantitatif olarak ölçülmüştür.

5.1 Kompozitlerin Karakterizasyonu

5.1.1 FTIR Sonuçları

Saf PLA, saf HNT, MET yüklü HNT ve PLA/HNT nanokompozitlerinin FTIR spektrumları Şekil 5.1'de gösterilmektedir. 2997 cm^{-1} ve 2947 cm^{-1} dalga sayısındaki pikler saf PLA'ya ait -C-H- gerilme titreşimlerinden ötürü oluşmuştur. 1748 cm^{-1} dalga sayısındaki pik -C=O karbonil gerilmesine karşılık gelirken, 1453 cm^{-1} 'e ait pik -CH_3 bükülmesini ifade etmektedir. 1361 cm^{-1} 'de oluşan pik -CH- deformasyonlarına kaynaklanmaktadır ve 1266 cm^{-1} dalga sayısındaki pik CH, COC'ye atfedilmiştir. 1080 ve 1181 cm^{-1} 'de yer alan pikler COC'ye karşılık gelmektedir. 1127 cm^{-1} 'deki pik -C-O- gerilmesini göstermektedir, ayrıca 869 cm^{-1} 'deki pik -C=O grubuyla ilişkilidir ve 754 cm^{-1} 'deki pik -C-C- gerilmesine karşılık gelmektedir [177]. PLA matrisine sadece %1 ağırlıkça oranında HNT takviyesi eklenmiştir, bunun yanısıra HNT partiküllerine MET ilacı 1:10 oranında yüklenmiştir. Şekil 5.1'e göre, 3391 cm^{-1} 'deki ortaya çıkan pik, amino grubunun N-H gerilmesi ile ilgilidir [178]. Bu pik noktası HNT bünyesinde MET ilacının varlığını gösterdiğinin kanıtıdır. MET yüklü HNT partiküllerinde (Şekil 5.1-h) ilaç bozunmadan kalabildiği görülmüştür.

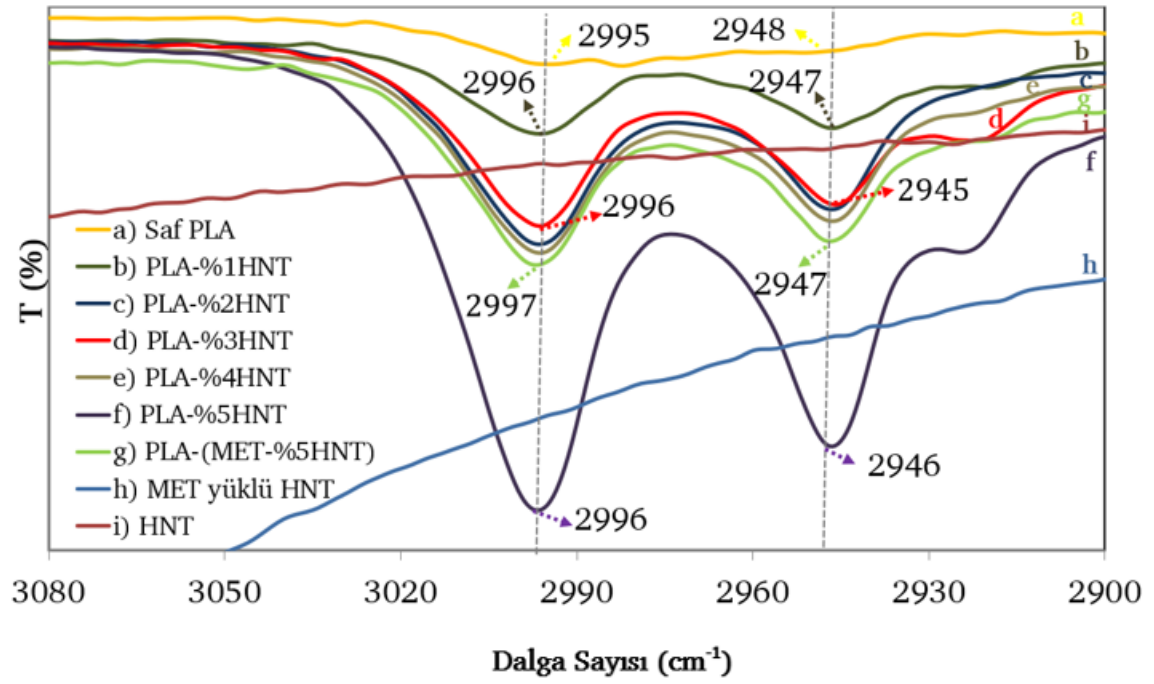
HNT bünyesinde olan iç hidroksil grubundaki O-H grubu titreşimiyle ilgili 3622 ve 3694 cm^{-1} dalga boylarında yeni iki pik oluşmuştur. HNT'de bulunan alüminaya ait OH, 906 cm^{-1} dalga sayısında görünen piki, ayrıca 999 cm^{-1} dalga sayısında görünen pik HNT içindeki silikayı ifade etmektedir (Şekil 5.1) [179].



Şekil 5.1 FTIR spektrumları

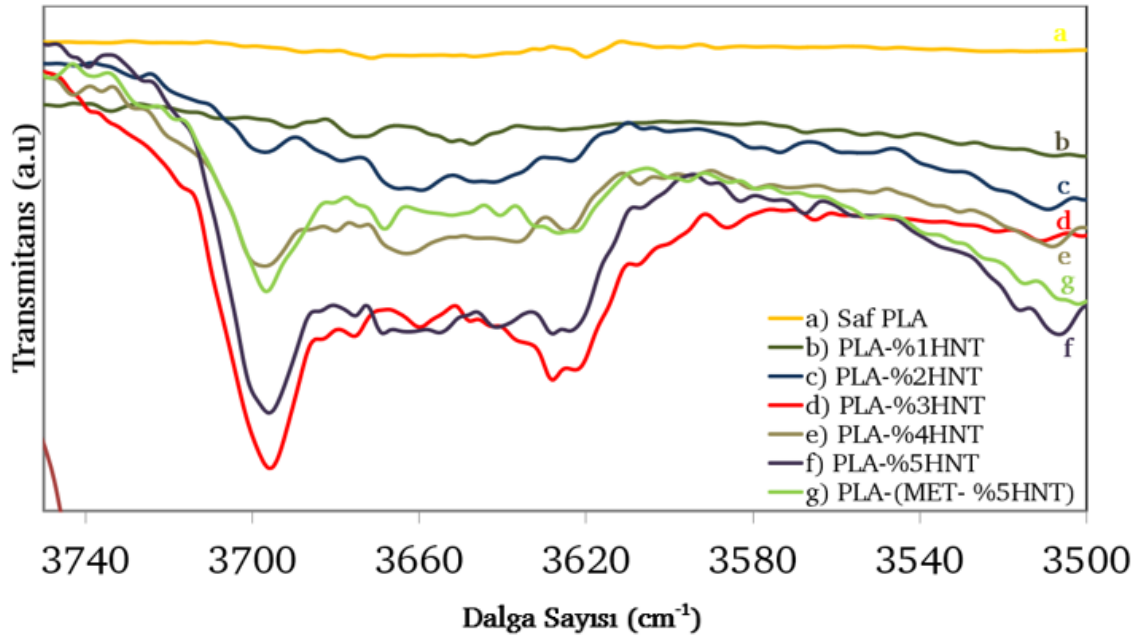
Sırasıyla saf HNT ve PLA-%5HNT'ye ait 906 cm^{-1} 'den 912 cm^{-1} 'e doğru değişen dalga sayısı, HNT nano takviyesinin artmasıyla artmıştır. HNT iç yapısındaki alüminanın absorbans değerinin 906 'dan 912 cm^{-1} 'e yükselmesiyle birlikte HNT'nin polimer matrisindeki dağılımı, HNT'nin kendi bünyesindeki molekül içi bağın azalmasına yol açmıştır [180].

HNT içeriği arttıkça, HNT ve C=O karbonil grubuna ait hidrojen bağları nedeniyle Şekil 5.1' de gösterilen 1748 cm^{-1} dalga sayısında pik şiddetinin arttığı görülmüştür [181]. $2900\text{-}3080 \text{ cm}^{-1}$ arasındaki dalga boyları Şekil 5.2'de daha detaylı olarak incelendiğinde yine PLA matrisindeki HNT takviyesi artmasıyla birlikte, yaklaşık olarak 2997 cm^{-1} ve 2947 cm^{-1} dalga boyları civarında pik artışıyla benzer durum ortaya çıkmıştır. Bununla birlikte, PLA ile HNT arasındaki oluşan hidrojen bağından polilaktik asit absorbans pikindeki pozisyonun neredeyse hiç etkilenmediği gözlemlenmiştir (Şekil 5.2).



Şekil 5.2 2900-3080 cm^{-1} dalga sayısı aralığındaki FTIR spektrumları

3500-3740 cm^{-1} dalga sayısı aralığındaki FTIR spektrumları Şekil 5.3'te daha yakından mercek altına alınmıştır.



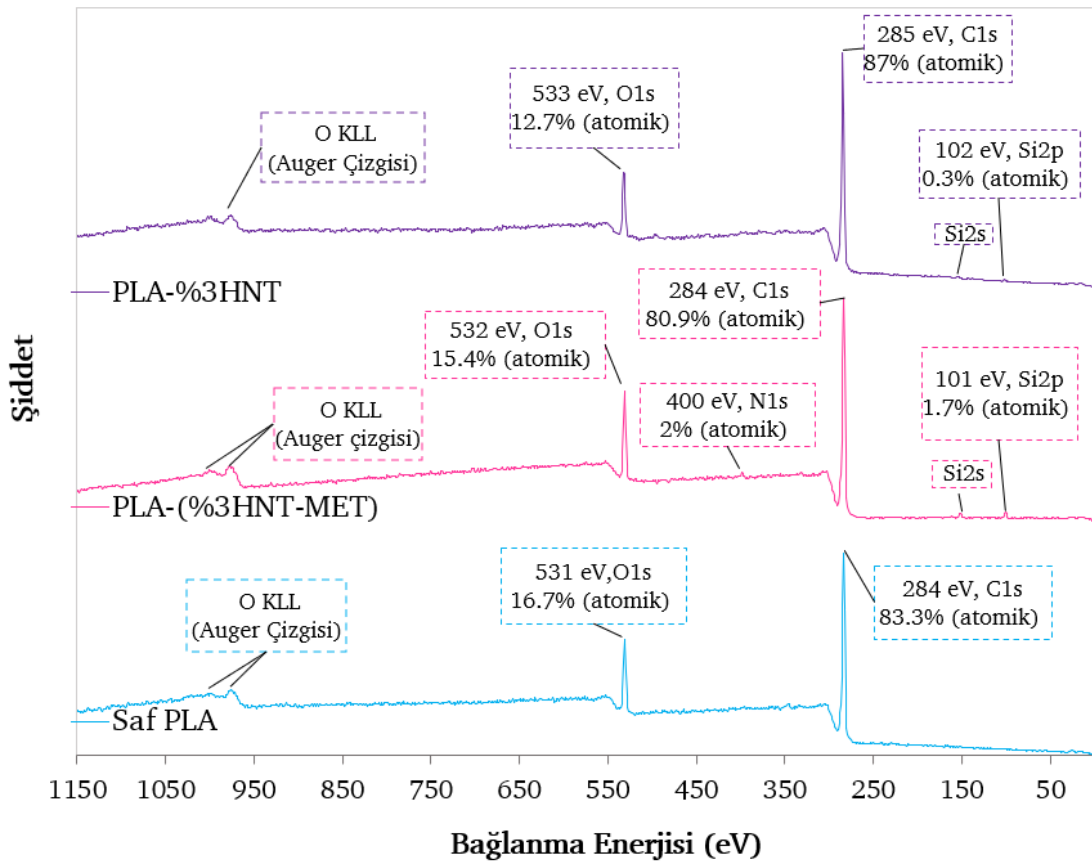
Şekil 5.3 3500-3740 cm^{-1} dalga sayısı aralığındaki FTIR spektrumları

PLA bazlı %3 ağırlıkça HNT takviyeli numunede, pik şiddetinin artmasıyla ilişkili olarak bağlanma enerjisi de arttığından dolayı, Şekil 5.3’de görüldüğü üzere, HNT’nin diğer takviye oranlarıyla karşılaştırıldığında en yüksek pik noktasını sergilemiştir [182].

Sonuç olarak HNT takviye oranı yükseldikçe, piklerin şiddetide buna bağlı olarak arttığı gözlemlenmiştir. Ayrıca, MET varlığını HNT partiküllerinde göstermiştir.

5.1.2 XPS Sonuçları

Şekil 5.4’te saf PLA, %3 HNT takviyeli PLA ve MET yüklenmiş %3 HNT- PLA için XPS analizi yapılmıştır. İlacın doku iskelesinde ilk olarak yüzeye yakın bölgelerden salınması gerektiğinden, doku iskeleleri yüzeylerinde MET ilacının karakterizasyonu için XPS analizi gerçekleştirilmiştir.



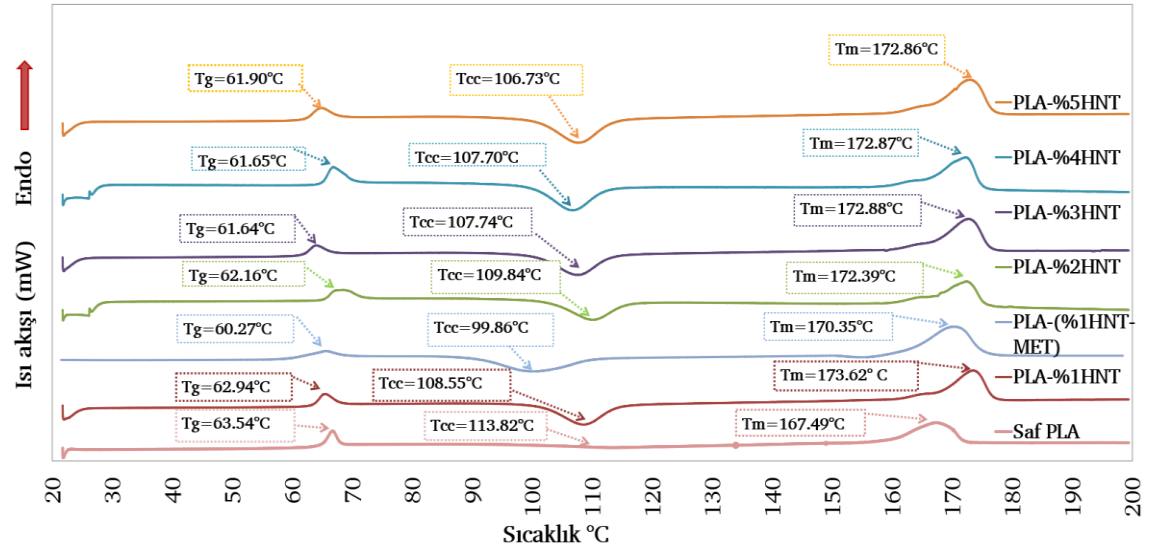
Şekil 5.4 XPS spektrumları

XPS spektrumları, ana kimyasal bileşim olarak karbon ve oksijeni içeren saf PLA için sırasıyla C1s ve O1s tepe noktalarını, % 83.3, % 16.7 atom oranını, 284 eV ve 531 eV bağlanma enerjisini gösterir [183]. PLA-% 3HNT ve PLA- (% 3HNT-MET)

spektrumları için O1s tepe noktası, PLA'nın varlığının yanı sıra HNT' nin dış yüzeyindeki Si-O-Si gruplarını göstermiştir [184]. Bunun yanında, HNT'nin kanıtı olarak silikona karşılık gelen Si2p ve Si2s spektrumları tespit edilmiştir. Nitrojene karşılık gelen N1s yalnızca PLA-(%3HNT-MET) spektrumunda görülmüştür, bu durum, MET'in bir ilaç olarak doku iskelesi yüzeyinde olduğunu ispatlamaktadır [185]. Yaklaşık 400 eV'deki tepe noktası, MET'in C = N bağınyı temsil etmektedir [186].

5.1.3 DSC Sonuçları

Şekil 5.5 ve Şekil 5.6, sırasıyla DSC ısıtma ve soğutma eğrilerini göstermektedir. PLA-HNT nanokompozitleri ve saf PLA için Tg, Tc, Tm değerleri Tablo 5.1'de belirtilmiştir.



Şekil 5.5 DSC ısıtma eğrileri

Tablo 5.1'de gösterildiği gibi, matriste HNT varlığı ve artan miktarda halloysit nanotüp, camısı geçiş sıcaklığının (Tg) değişmesinde önemli bir rol oynamamıştır. Çekirdeklenme bölgelerinin sayısını artıran, geniş bir boru şeklindeki yüzeye sahip olan HNT'nin eklenmesiyle birlikte soğuk kristalleşme sıcaklığının (Tcc) azaldığı görülmüştür. Çünkü HNT, kristal bölgelerde iyi düzenlenmiş yapıları azaltarak daha az tamamlanan ve daha ince kristal lamel oluşturan heterojen çekirdeklenmeyi tetiklemiştir [187]–[190]. Bununla beraber, HNT, esnekliği sağlayabilmek için moleküler zincirler arasında serbest hacimli bir form oluşmasını sağlamıştır, böylece kristalleşme sürecini hızlandırmış ve daha az

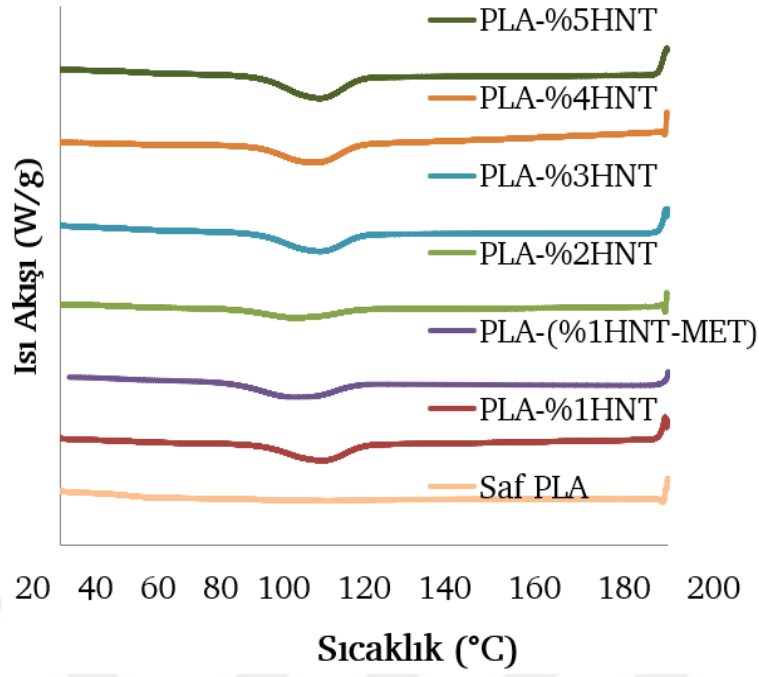
kristalleşme enerjisi gereksinimi nedeniyle daha düşük Tcc görülmüştür [23], [191].

Tablo 5.1 Saf PLA ve PLA-HNT nanokompozitlere ait termal özellikler

Malzeme	T _g (°C)	T _{cc} (°C)	T _m (°C)	ΔH_{cc} (J/g)	ΔH_m (J/g)	X _c (%)
Saf PLA	63.54	113.82	167.49	12.31	32.70	35.16
PLA-%1HNT	62.94	108.55	173.62	29.01	36.03	39.13
PLA-(%1HNT-MET)	60.27	99.86	170.35	29.07	36.80	39.97
PLA-%2HNT	62.16	109.84	172.39	28.97	35.96	39.46
PLA-%3HNT	61.64	107.74	172.88	27.12	35.77	39.65
PLA-%4HNT	61.65	107.70	172.87	27.83	34.32	38.44
PLA-%5HNT	61.90	106.73	172.86	28.13	33.80	38.26

HNT ilavesinin etkisiyle ergime sıcaklığı (T_m) saf PLA'ya oranla çok fazla değişmediği gözlemlenmiştir. HNT takviye oranı arttıkça ergime entalpisinin (ΔH_m) bir miktar azaldığı görülmüştür. Bu durum, PLA ve HNT' nin aralarındaki etkileşimler nedeniyle daha güçlü bir arayüz elde etmesinden kaynaklanmaktadır, HNT, yüzey temasını artırarak moleküler zincirlerin kristalin yapısını bozmuştur, böylece X_c değeri hafif bir oranda düşmüştür [192]. Bunun yanı sıra, X_c'nin azalması, HNT'nin PLA-%4HNT ve PLA-%5HNT için PLA matrisinde aglomerasyonundan dolayıdır [193]. Bunların yanısıra, MET'in varlığı, DSC analizinde herhangi bir önemli değişikliğe sebep olmamıştır.

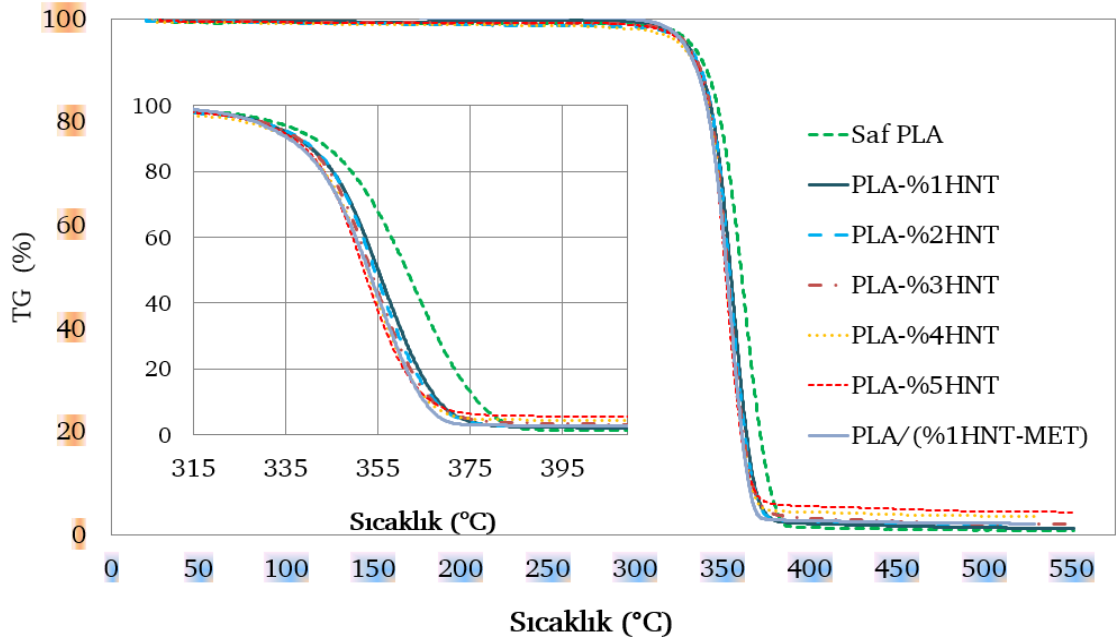
Soğutma eğrilerine bakıldığında kristalin tepe noktaları belirli bir şekilde görülmemiştir (Şekil 5.6).



Şekil 5.6 DSC soğutma eğrileri

5.1.4 TGA Sonuçları

TGA eğrileri Şekil 5.7’de gösterilmektedir ve Tablo 5.2’de saf PLA ve PLA/HNT nanokompozitleri için %10- %50- %90 ağırlık kaybında bozunma sıcaklıklarını (°C) özetlemektedir.



Şekil 5.7 TGA eğrileri

Tablo 5.2 Üretilen saf PLA ve PLA-HNT nanokompozitlere ait TGA değerleri

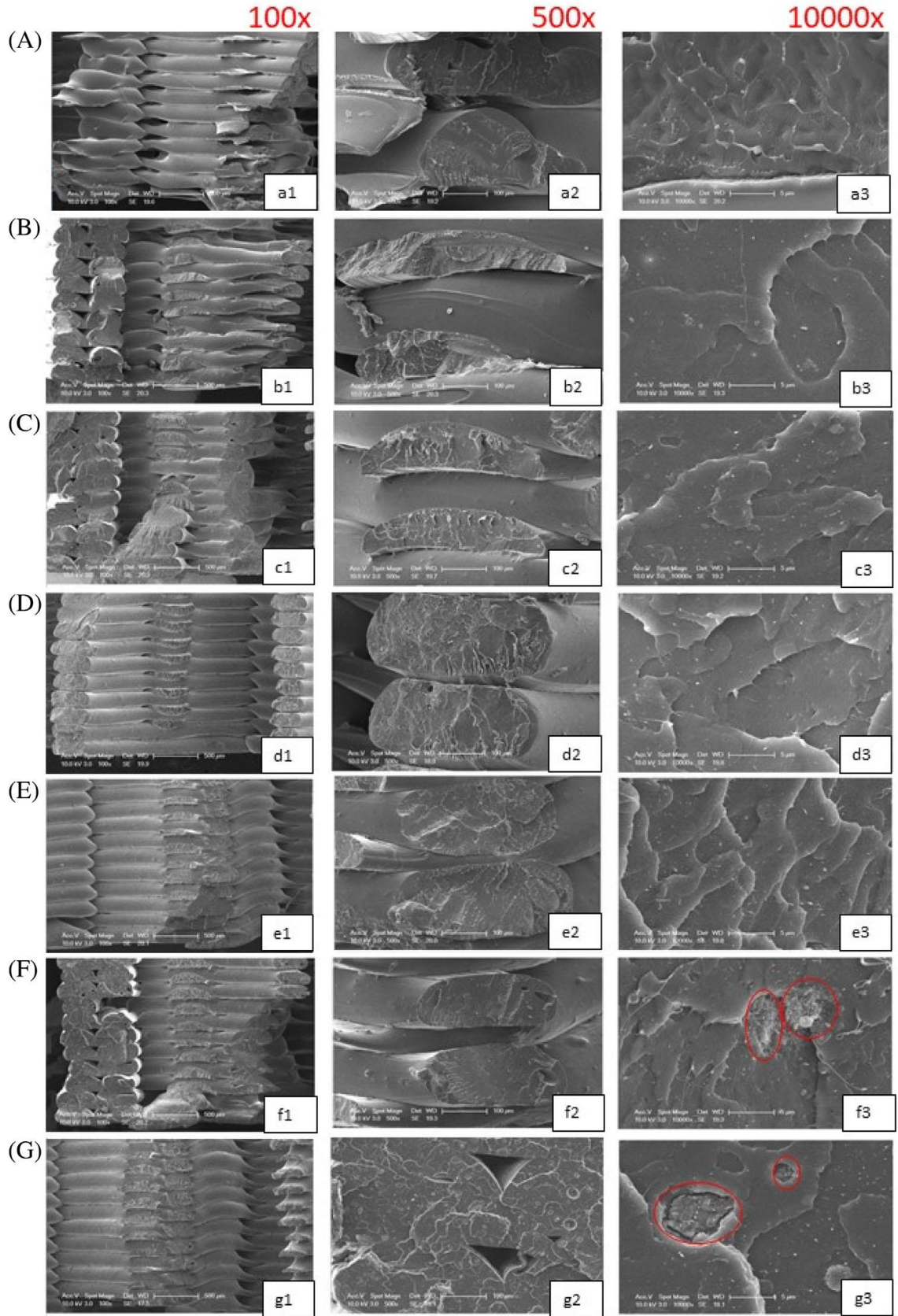
Malzeme	% 10 ağırlık kaybına ait bozunma sıcaklığı (°C)	% 50 ağırlık kaybına ait bozunma sıcaklığı (°C)	% 90 ağırlık kaybına ait bozunma sıcaklığı (°C)
Saf PLA	340.70	360.86	376.20
PLA-%1HNT	337.08	354.70	367.67
PLA-(%1HNT-MET)	335.44	352.71	364.88
PLA-%2HNT	337.69	353.94	366.90
PLA-%3HNT	337.21	352.97	366.33
PLA-%4HNT	335.39	352.28	365.36
PLA-%5HNT	336.11	351.62	365.93

Hidrojen bağları, kovalent bağlara kıyasla daha az termal stabiliteye sahiptir. Ağırlık kaybı, HNT'nin hidrojen bağlarının ayrışmasıyla hızlanır [194]. Öte yandan, PLA ve HNT arasındaki boşluk, pirolize PLA ürünlerinin oluşumuna yol açarak bozulmanın artmasına neden olmuştur [190]. Buna ilave olarak, emilen suyun HNT'nin iç ve dış yüzeylerindeki salınımı, ester bağlarının bağlanmasını hızlandırmaktadır [192]. MET'in varlığı ile ağırlık kaybında hafif bir azalma olmuştur, bu durum termal stabiliteyi etkilemeyecek ölçüdedir.

5.2 Kompozit Doku İskelelerinin Morfolojik Özellikleri

5.2.1 SEM Sonuçları

Şekil 5.8, numunelerin kırılma yüzeylerinin 100x, 500x, 10000x büyütme ile SEM mikroskopik görüntülerini göstermektedir.



Şekil 5.8 Kırılma yüzeylerinin SEM görüntüleri A. Saf PLA B. PLA-% 1HNT, C. PLA-(%1HNT-MET), D. PLA-%2HNT, E. PLA-%3HNT, F. PLA-%4HNT, G. PLA-%5HNT, 1) 100x, 2) 500x, 3) 10000x

Şekil 5.8 (a3), kırılma özelliğine sahip saf PLA'nın pürüzsüz yüzeyini göstermektedir. Şekil 5.8 (b3-g3) 'de PLA matrisinde HNT yüklenmesinin artmasıyla birlikte artan beyaz parçacıklar HNT'nin varlığının ispatıdır. Şekil 5.8 (b3-e3)'de gösterildiği gibi, ağırlıkça % 1'den % 3wt'ye HNT ilavesiyle homojen ve iyi bir dağılım sergilenmiştir.

EYM yönteminde nozulun hareketi sırasında, HNT'nin ergimiş PLA'dan daha sert bir özelliğe sahip olması nedeniyle polimerin kısmen sürüklendiği gözlemlenmiştir. Öte yandan, EYM işlemi sırasında nozulda daha yüksek bir HNT konsantrasyonunun etkisi ile HNT birikmesi sonucu EYM ile üretilen doku iskelesinin yüzeyi daha kaba bir hal almıştır [195]. Bu nedenle, doku iskelesinin daha kaba yüzeyi Şekil 5.8 (f1-g1)'de ortaya çıktığı görülmüştür.

Ağırlıkça % 4-5 içeriğine sahip HNT, HNT kalıntılarının varlığı nedeniyle PLA matrisinde heterojen olarak dağılmıştır (Şekil 5.8 (f3-g3)) Hidrojen bağlarının kopması [179] ve HNT nano takviye malzemesi ile PLA matrisi arasındaki zayıf arayüz [196] aglomerasyona neden olmuştur. Ayrıca, HNT'nin topaklaşmaya olan eğilimi, TGA ile kanıtlanan termal kararlılığın azalmasına sebep olabilir [190]. Şekil 5.8 (c3)'de gösterildiği gibi MET varlığının matris içindeki partiküllerin dağılımını etkilemediği görülmüş ve %1 HNT konsantrasyonlarında MET'in yüklü (Şekil 5.8 (c3)) ve yüksüz (Şekil 5.8 (b3)) halleri için benzer yapıların gözlemlendiği görülmüştür.

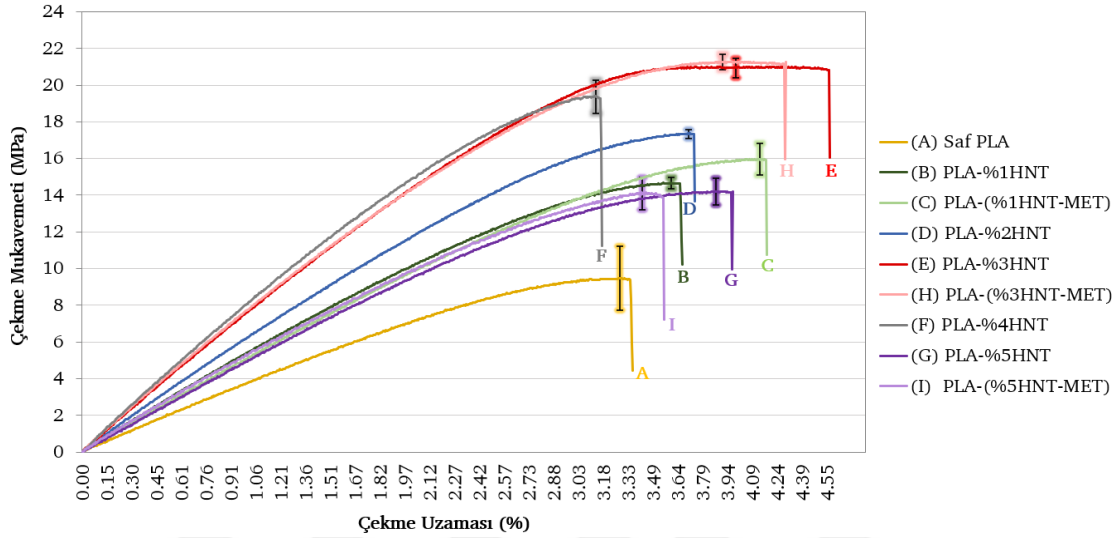
5.3 Kompozit Doku İskelelerinin Mekanik Özellikleri

5.3.1 Kompozit Doku İskelelerinin Çekme Mukavemeti

Şekil 5.9 ve Tablo 5.3, EYM ile üretilen PLA / HNT (MET yüklü ve yüksüz) nanokompozit doku iskelelerinin çekme mukavemetini ve yüzde uzamasını göstermektedir. MET içeren kompozitler için MET konsantrasyonu, HNT takviye oranının artmasından bağımsız olarak HNT'ye sabit oranda yüklenmiştir.

Şekil 5.9 ve Tablo 5.3'te, saf PLA'ya kıyasla çeşitli oranlarda yüklenen daha sert yapıdaki HNT'nin etkisiyle nanokompozitin çekme mukavemetinin genel olarak arttığı gözlemlenmiştir. HNT yüklenmesinin ağırlıkça % 3'e kadar artmasıyla, çekme mukavemeti buna bağlı olarak yükselmiştir. Ağırlıkça % 3 HNT içeriği için, PLA

matrisi ile HNT arasındaki daha iyi bir ara yüzeye sahip olması ve SEM görüntülerinde desteklendiği gibi polimer matrisin içinde HNT'nin iyi bir şekilde dağılımı sayesinde maksimum çekme mukavemeti ve maksimum uzama elde edilmiştir [197]. SEM görüntülerinde görüldüğü üzere PLA matrisinde topaklanan HNT gerinim yoğunlaştırıcı gibi davranıp, nanokompozitlerin daha düşük mukavemetine neden olmuştur [194].



Şekil 5.9 Doku iskeleleri çekme mukavemeti ve çekme uzaması (%) grafiği

Tablo 5.3 Üretilen doku iskelelerinin çekme mukavemeti ve uzaması değerleri

Malzeme	Maks. Çekme Mukavemeti (MPa)	Maks. Çekme Uzaması (%)
Saf PLA	9.48 ±1.75	3.36 ±0.17
PLA-%1HNT	14.67 ±0.31	3.66 ±0.40
PLA-(%1HNT-MET)	15.97 ±0.87	4.18 ±0.07
PLA-%2HNT	17.37 ±0.25	3.73 ± 0.69
PLA-%3HNT	21.01 ±0.53	4.57 ±0.10
PLA-(%3HNT-MET)	21.28 ±0.43	4.29 ±0.28
PLA-%4HNT	19.40 ±0.90	3.17 ±0.31
PLA-%5HNT	14.22 ±0.73	3.96 ±0.22
PLA-(%5HNT-MET)	14.13 ±0.89	3.55 ±0.17
Maks. Artış (%)	124	36

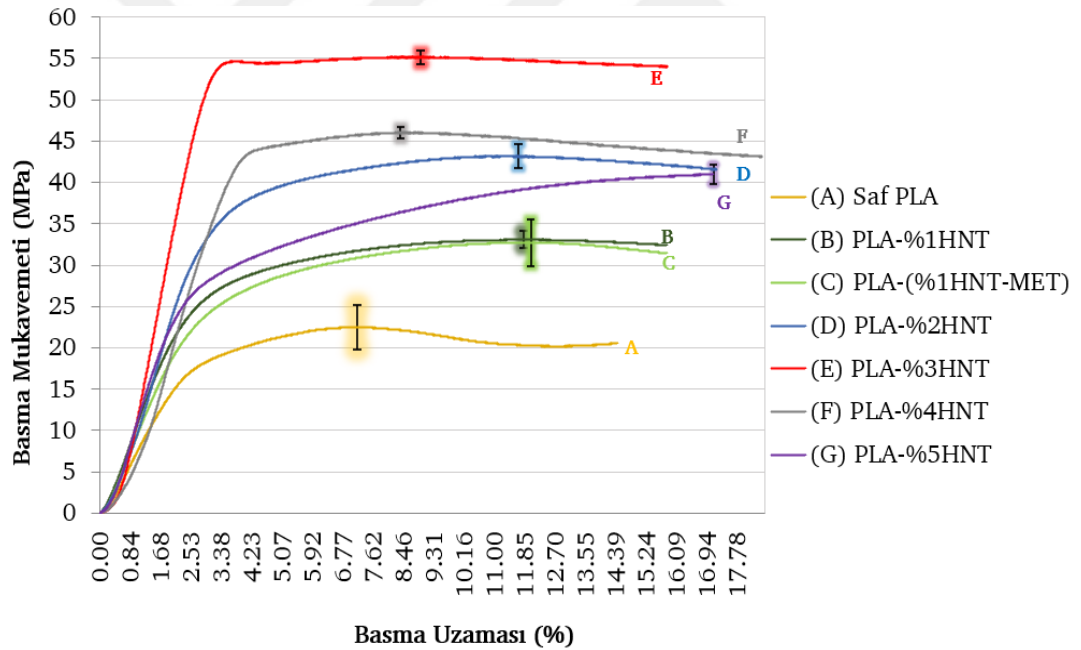
PLA matrisine ağırlıkça % 1, 3, 5 MET yüklü HNT ilavesi, MET yükü olmadan aynı HNT takviye içeriğine kıyasla neredeyse aynı çekme mukavemeti ve uzama sonuçlarını vermiştir.

HNT ilavesinin önemli etkisiyle, PLA matrisinden nano takviye malzemesine iyi yük iletimi nedeniyle nanokompozitin çekme mukavemeti artmıştır [195]. Bu yük

iletiminin optimizasyonu, HNT nanotüplerinin yüksek en boy oranı karakteristiği sayesinde elde edilmiştir [189]. HNT'nin kristal kenarı ve yüzeyindeki silika, hidroksil ve alümina, PLA'nın karbonil ve karboksil grupları ile etkileşime sahip olduğu için, kompozitin çekme mukavemetini artıran yoğun hidrojen bantlarının oluşumunu tetiklemiştir [196], [198]. Ayrıca, FTIR sonuçlarında, PLA-% 3 HNT, pik şiddetine bağlı olarak bağlanma enerjisi arttığından, Şekil 5.3'te diğer setlere oranla en yüksek pik noktasını sergilemiştir. Bu sonuç çekme testi sonuçlarıyla uyumludur. HNT, nano kompozitlerinin uzamasını da geliştirmiştir çünkü deformasyonun başlangıcını tetiklemek için, nanokompozitin kritik çatlak boyutuyla karşılaştırıldığında HNT partikül boyutu daha küçüktür [180].

5.3.2 Kompozit Doku İskelelerinin Basma Mukavemeti

Şekil 5.10 ve Tablo 5.4, saf PLA ve PLA / HNT nanokompozitlerinin %1 ile %5 HNT yükleri arasındaki basma testi sonuçlarını göstermektedir.



Şekil 5.10 Doku iskeleleri basma mukavemeti ve basma uzaması (%) grafiği

HNT ilavesi, PLA bazlı nanokompozitin basma mukavemetini ve uzamasını iyileştirmiştir. En yüksek basma mukavemeti değeri 55.16 MPa değeriyle PLA-%3HNT için elde edilmiştir. Polimer matrisine ağırlıkça % 3'ün üzerinde HNT içeriği yüklendiğinde, basma mukavemetinde azalmaya neden olmuştur.

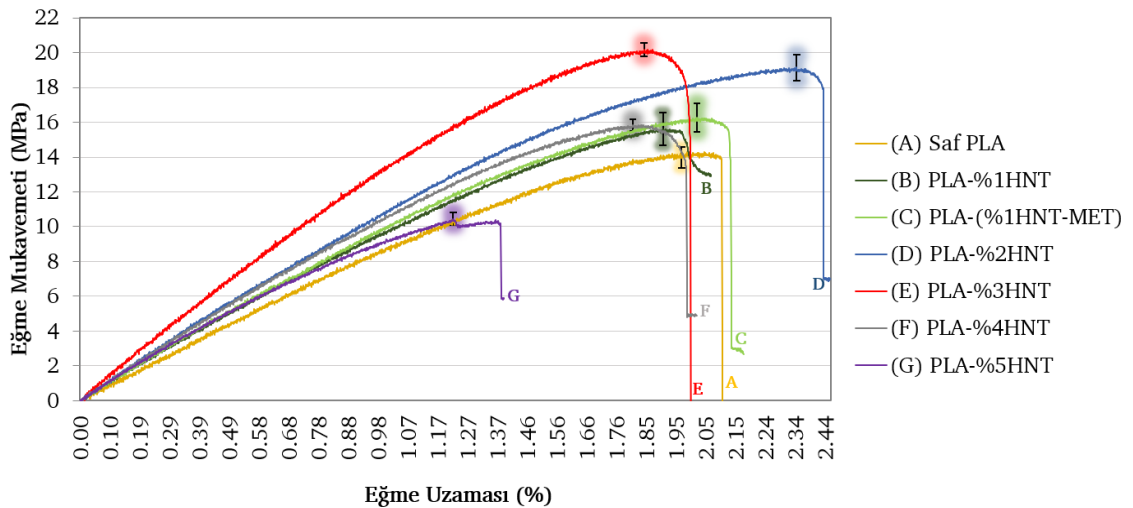
Tablo 5.4 Üretilen doku iskelelerinin basma mukavemeti ve uzaması değerleri

Malzeme	Maks. Basma Mukavemeti (MPa)	Maks. Basma Uzaması (%)
Saf PLA	22.50 $\pm$ 2.68	14.47 $\pm$ 1.33
PLA-%1HNT	33.08 $\pm$ 1.06	15.82 $\pm$ 1.12
PLA-(%1HNT-MET)	32.72 $\pm$ 2.79	15.83 $\pm$ 1.87
PLA-%2HNT	43.18 $\pm$ 1.50	17.22 $\pm$ 1.17
PLA-%3HNT	55.16 $\pm$ 0.83	15.83 $\pm$ 0.58
PLA-%4HNT	46.05 $\pm$ 0.72	18.48 $\pm$ 0.95
PLA-%5HNT	41.00 $\pm$ 1.21	17.13 $\pm$ 0.05
Maks. Artış (%)	145	27

Basma testi sonuçlarına göre, HNT aglomerasyonunun matris ve takviye malzemesi arasında gerilme transferini engellediği söz konusudur [199]. Bununla birlikte, yüksek oranda HNT içeriğine sahip nanokompozitin basma mukavemeti, Tablo 5.4'de gösterildiği gibi saf PLA'dan daha büyük bir değere sahiptir. MET yüklü PLA-(%1HNT-MET), ilaç içermeyen PLA-%1HNT'ye göre basma mukavemeti ve uzama üzerinde ihmal edilebilir bir etkiye sahiptir. Bu sonuç çekme testi sonuçlarıyla uyumludur.

5.3.3 Kompozit Doku İskelelerinin Üç Nokta Eğme Mukavemeti

PLA/HNT nanokompozitine ait eğme mukavemeti ve uzaması, Şekil 5.11 ve Tablo 5.5'te belirtilmiştir.

**Şekil 5.11** Doku iskeleleri eğme mukavemeti ve eğme uzaması (%) grafiği

Üç nokta eğme testi sonuçlarına göre, HNT konsantrasyonu ağırlıkça % 1'den ağırlıkça %3'e kadar arttıkça eğme mukavemeti artmıştır. Saf PLA ile

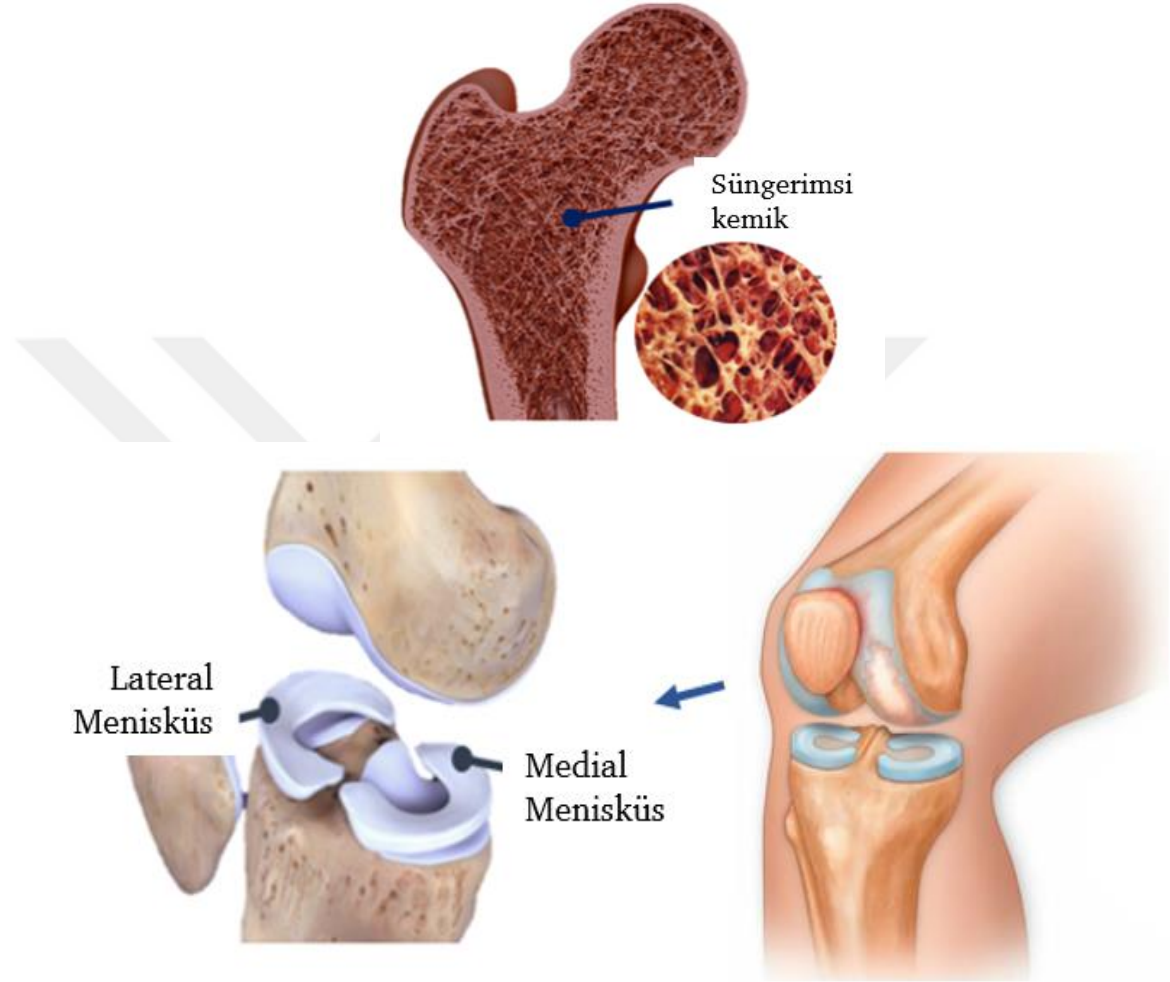
karşılaştırıldığında üç nokta eğme mukavemeti ve uzama için sırasıyla % 41 ve % 15 oranıyla maksimum artış, PLA-% 3HNT ile elde edilmiştir. Bunun nedeni, HNT'nin iyi bir şekilde dispersiyonundan ve HNT'nin polimer matrisi ile iyi bağlanmasından kaynaklanmaktadır [200]. Ağırlıkça HNT oranı %3'ten daha yüksek olduğunda, HNT ve PLA matrisi arasındaki zayıf ara yüzey yapışması, homojen olmayan dağılım ve HNT agregasyonu nedeniyle eğme mukavemeti önemli ölçüde düşmektedir. Ayrıca, üç nokta eğme testi sonuçlarına göre tokluk değerleri hesaplandığında en yüksek tokluk 49.3 MPa·mm değeri ile PLA-%2HNT'de ve sonra 41.9 MPa·mm ile PLA-%3 HNT'de görülmüştür. PLA-%5HNT ise 8 MPa·mm gibi oldukça düşük tokluk elde edilmiş, artan HNT oranı ve aglomelar yapı, malzemeyi gevrekletmiştir. MET, Şekil 5.11 ve Tablo 5.5'te belirtildiği gibi eğme mukavemetinde herhangi bir değişikliğe neden olmamıştır. Bu sonuç çekme ve basma testi sonuçlarıyla uyumludur.

Tablo 5.5 Üretilen doku iskelelerinin üç nokta eğme mukavemeti, uzaması ve tokluk değerleri

Malzeme	Maks. Üç Nokta Eğme Mukavemeti (MPa)	Maks. Üç Nokta Eğme Uzaması (%)	Tokluk Değerleri (MPa·mm)
Saf PLA	14.31 ±0.60	2.14 ±0.08	30.1
PLA-%1HNT	15.62 ±0.94	2.07 ±0.12	32.7
PLA-(%1HNT-MET)	16.27 ±0.80	2.17 ±0.11	35.7
PLA-%2HNT	19.15 ±0.75	2.46 ±0.12	49.3
PLA-%3HNT	20.18 ±0.39	2.00 ±0.14	41.9
PLA-%4HNT	15.83 ±0.33	2.02 ±0.11	33.1
PLA-%5HNT	10.45 ±0.37	1.39 ±0.30	8.1
Maks. Artış (%)	41	15	64

EYM ile üretilen PLA / HNT nanokompozit doku iskelelerinin, sert doku rejenerasyonu sırasında bazı insan kemiklerinin işlevini taklit etmek için yeterli mukavemete sahip olduğu gözlenmiştir. Üretilen doku iskelelerinin ilgili mukavemet değerleriyle karşılaştırıldığında, önceki çalışmalar, insan süngerimsi (trabeküler) kemiğinin 0,1-16 MPa basma mukavemetine [201], 1-5 MPa çekme mukavemetine [202] ve 10-20 MPa eğme mukavemetine [203] sahip olduğunu göstermiştir. Ortalama maksimum çekme mukavemetinin 18.8 MPa lateral menisküs dokusu, 17.6 MPa medial menisküs dokusu ve 4 MPa radyal menisküs dokusu olduğu bildirilmiştir [204]. Belirtilen insan kemikleri, Tablo (5.3-5.5)'de

3B üretilmiş PLA / HNT nanokompozit doku iskeleler için mukavemet değerleriyle eşleşmektedir. Mekanik dayanımdaki bu gelişme, doku iskelesini çeşitli insan dokusu uygulaması için umut verici hale getirmiştir. Doku iskeleleri uygulamaları için bazı insan kemikleri Şekil 5.12’de verilmiştir.



Şekil 5.12 Doku iskelesi uygulamaları için insan kemiklerinden bazıları [205]

5.4 Kompozit Doku İskelelerinin Biyolojik Özellikleri

5.4.1 Kompozit Doku İskelelerinin In-Vitro İlaç Salınım Özellikleri

MET, pH 7.4'te katyonik bir yüke sahiptir ve HNT, bu pH seviyesinde de nispeten anyoniktir, ancak bünyesinde çok kutuplu grup taşır. Elektrostatik etkileşimin yardımıyla MET, fiziksel tutunma ile HNT'ye bağlanmıştır. Bununla birlikte, pH, vücut pH'ı olarak 7.4 olarak ayarlanmıştır; fakat etkileşim yüzünden ortamın pH'ı ile değişir. Diğer pH'ı değiştirme olasılığı olan faktörler MET, HNT konsantrasyonu ve kuluçka süresidir. Burada, HNT'ye MET 1: 10 ağırlıkça oranı ile yüklenmiştir.

MET ile %70 oranında en yüksek ilaç yükleme etkinliğine (4.1) eşitliği kullanılarak ulaşılmıştır. Hem HNT partiküllerinden hem de 3B üretilmiş numunelerden MET salınımı test edilmiştir. HNT partikülü numunelerinden salınan MET, 120 saat sonunda toplamın % 60'ına ulaşılmıştır ve partiküllerin serbest formundan dolayı 3B doku iskelelerine oranla daha hızlıdır. 3B üretilen doku iskeleleri, 120 saatin sonunda % 50'ye varan daha yavaş bir salınım sergilemiştir. MET'in 3B doku iskelelerinde daha yavaş bozunma rejimi, üretimin yapısı ile ilişkilidir. MET, 3B üretilmiş PVA tabletlerden 180 dakika sonunda çok hızlı bir şekilde salınabilmektedir. Ayrıca, 3B baskıda doluluk oranı ve 3B baskı tasarımının ilaç salınım kinetiğini de etkileyebileceği belirtilmektedir [206], [207].

Fizyolojik olarak HNT, pozitif yüklü bir iç lumen ile negatif yüklü bir dış yüzeye sahiptir. MET, ortam ve HNT'nin dış yüzeyi ile çeşitli kimyasal etkileşimler oluşturabilmesine rağmen, iç yüzeyin varlığı MET'in uzun süreli salınımını sağlamaktadır [208].

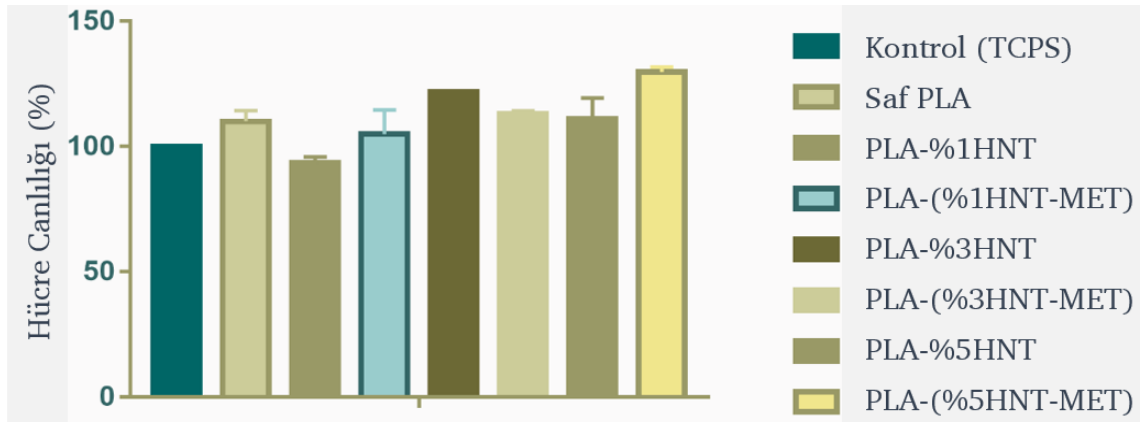
İlaç tabletlerinin EYM yöntemiyle hazırlanması yaygın bir uygulama haline gelmiştir [209]. Proses sıcaklığı, kullanılacak olan filamentin hammaddesinin ergime noktasına bağlıdır. Önceki çalışmalardan birinde, prednizolon ve deksametazon polilaktik asit filamentlerine yüklenmiştir ve ilaç yüklü filamentler 220°C'de basılmıştır [210]. Ayrıca Asetaminofenin farklı formülasyonlarda yaklaşık 200°C'de 3B olarak da basılabileceği raporlanmıştır [211]. Her iki çalışmada da ilaç bozulması gibi bir durum ortaya çıkmamıştır. Kombinasyondaki MET miktarı ve MET'in ergime noktası (yaklaşık 225°C) göz önüne alındığında, proses sırasında yüksek sıcaklığın MET yapısı üzerinde olumsuz bir etkisinin olmayacağı öngörülmektedir.

5.4.2 Kompozit Doku İskelelerinin Hücre Etkileşim Özellikleri

PLA ile HNT kompoziti harmanlanmasından sonra veya filament yapısından gelebilecek olası kalıntı toksisiteyi ortaya çıkarmak için MTT tahlili ile sitotoksosite değerlendirmesi yapılmıştır [212].

Şekil 5.13'de gösterilen sonuçlara göre, konsantrasyona ve ilacın yüklü olup olmamasına bağlı olmaksızın tüm gruplarda hücre canlılığı % 90'ın üzerindedir.

Tüm numune setleri biyoyumludur ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hücreler üzerinde herhangi bir sitotoksik etkiye neden olmamıştır.

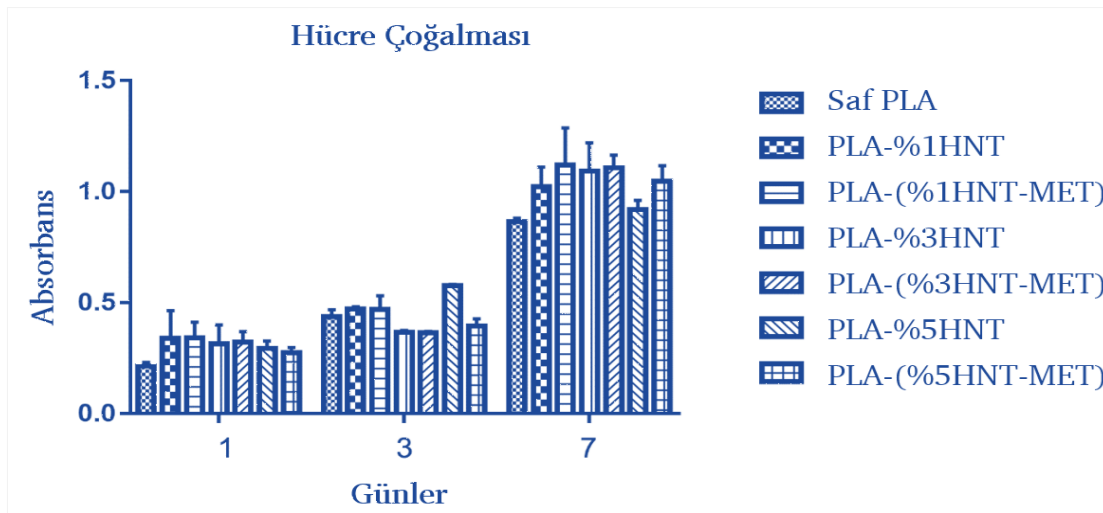


Şekil 5.13 3B basılan doku iskelelerinin biyoyumluluğu- 24 saat MTT analiz sonucu

3B üretilmiş doku iskeleleri üzerindeki hücrelerin çoğalması 7 güne kadar Alamar Blue proliferasyon tahlili ile kantitatif olarak değerlendirilmiştir.

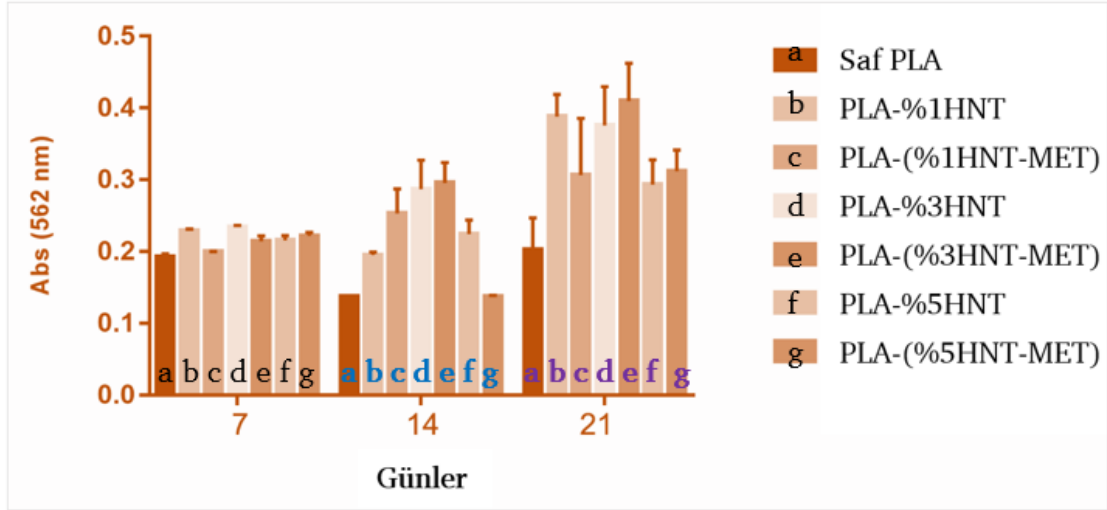
Şekil 5.14'de gösterildiği gibi, her grup için absorbans zamanla artmıştır. Proliferasyon hızı, 7 günün sonunda belirgin bir şekilde hızlanır ve bu, mevcut hücrelerin iki katına çoğalmasıyla ilişkilidir.

Saf PLA dışındaki tüm numune gruplarında proliferasyon değerlerinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Öte yandan, ilaç yüklü numuneler hücrelerin proliferasyon davranışı üzerinde daha iyi sonuç vermesine rağmen, ilaç yüklü ve yüksüz HNT numuneleri arasında gözle görülebilir bir fark yoktur.



Şekil 5.14 SaOs-2 hücrelerinin 7 güne kadar çoğalma rejimi

Literatürde bildirildiği gibi HNT ve hatta MET osteogenezi destekleyebilmektedir [213], [214]. Şekil 5.15'te, 21 güne kadar 3B üretilmiş numunelerde kalsiyum mineralizasyonunun nicel sonuçlarını göstermektedir. Burada hücreler, HNT ve MET yerine ek indüksiyonu önlemek için başka takviyeler eklenmeden yalnızca indüksiyonsuz ortamla kültürlenmiştir.



Şekil 5.15 Numunelerde zaman bağlı kantitatif alizarin kırmızısı boyaması

21 günün sonunda tüm gruplarda saf PLA'ya göre net bir artış olmuştur. Tedavi gruplarında HNT'nin etkisi görülebilir, ancak metforminin bu kadar önemli bir etkisi olmadığı gözlemlenmiştir. Özellikle, kültür ortamının in vitro koşullar altında sürekli değiştirilmesinin, hücrelerin salınan metformini yeterince metabolize etmesine izin vermediği tahmin edilmektedir. Doza bağımlı MET'in serbest formu veya in vitro insan osteoblastik hücre aktivitesi üzerinde yaygın olarak kullanılan diğer ilaçlarla benzer bulgular bildirilmiştir [215].

Yapılan çalışmada biyomedikal uygulamalarda kullanılmak üzere kemiğin iyileşmesinde destek görevi gören, çok fonksiyonlu, ilaç salınımı yapabilen ve bozunabilen, aynı zamanda mekanik ve biyolojik olarak özellikleri geliştirilmiş MET yüklü %1-5 HNT takviyesinle güçlendirilmiş PLA esaslı nanokompozit doku iskelesi geliştirilmiştir. Geliştirilen nanokompozitin mekanik, morfolojik, termal ve biyolojik özellikleri incelenmiştir.

Elde edilen sonuçlar:

- Polimer matriste MET ve HNT'nin varlığı FTIR analizi ile kanıtlanmıştır. MET'in yüklenmesi, HNT ile polimer matrisi arasındaki arayüzü artırarak zayıf hidrojen bağlarına neden olduğu için pikleri azaltmıştır.
- XPS analizinde nitrojene karşılık gelen N1s spektrumu MET'in kimyasal yapısındaki C=N bağından kaynaklanmaktadır. Bu durum, MET'in bir ilaç olarak doku iskelesi yüzeyinde olduğunu ispatlamaktadır.
- DSC sonuçları, saf PLA'ya kıyasla matriste HNT yükleme oranlarına bağlı olarak Tg'nin çok fazla değişmediğini, Tcc'nin azaldığını ve Tm'nin az oranda arttığını göstermiştir. Bunun yanında, Xc, aglomerasyon nedeniyle daha yüksek HNT oranlarıyla daha düşük hale gelmiştir, ancak HNT yüklü nanokompozitler için Xc, saf PLA'dan daha yüksek olduğu görülmüştür.
- TGA analizine göre, saf PLA ile karşılaştırıldığında bozunma sıcaklığını düşürerek HNT'nin yüklenmesi nanokompozit ayrışmasını hızlandırılmıştır. Bunun sebebi, HNT'nin hidroksil grubunun dehidroksilasyonu, ester bağlarının emilen suyunun salınımı, HNT'nin iç ve dış yüzeyindeki Al-OH ve Si-OH asidik bölgelerine bağlanabilir. MET'in yüklenmesi, bozulma üzerinde önemli rol oynamamıştır. HNT ve MET termal stabiliteyi düşürmesine rağmen, bu yapı PLA için çok az fark göstermiştir.
- SEM analizine göre, %1 ila %3 HNT yükleme, HNT'nin boru şeklindeki geometrisi ve HNT nanotüplerinin kendi içindeki zayıf ara katmanı nedeniyle iyi dağılım sergilemiştir. Ağırlıkça %3 HNT'den sonra, çeşitli partikül boyutları

morfolojilerinin oluşumu, HNT'nin hidrojen bağlarının kopması, FDM sırasında 3B yazıcı nozulunda daha sert HNT birikmesi nedeniyle aglomerasyon belirgin bir şekilde görünmeye başlanmıştır. MET varlığı, ilaçsız kompozit ile karşılaştırıldığında benzer dağılım göstermiştir.

- PLA'ya oranla daha sert olan HNT oranının ağırlıkça % 3'e kadar artmasıyla mukavemetin artması, PLA matrisi ile HNT arasındaki daha iyi arayüz olduğunu göstermiştir. HNT'nin kristal kenarı ve yüzeyindeki silika, hidroksil ve alümina, PLA'nın karbonil ve karboksil grupları ile etkileşiminden dolayı, yoğun hidrojen bağları oluşumu, PLA matrisin içinde HNT'nin iyi bir şekilde dağılımı ve HNT en-boy oranı sayesinde HNT takviyesi iyi yük iletimi mukavemeti arttırmaktadır. %3 HNT takviyesinin, çekme, basma ve üç nokta eğme mukavemetleri sırasıyla %124, %145 ve %41 arttığı görülmüştür. Ağırlıkça %4-5 HNT içeriği, matristeki zayıf dağılım nedeniyle mekanik mukavemeti düşürmüştür ve SEM sonuçlarında belirtildiği gibi stres konsantrasyon noktalarına yol açmıştır.
- 3B üretilmiş doku iskeleleri biyouyumludur. Hücreler, saf PLA ile karşılaştırıldığında, HNT varlığında daha iyi proliferasyon ve osteo benzeri davranış göstermektedir. Proliferasyon hızı, 7 günün sonunda belirgin bir şekilde hızlanıp mevcut hücrelerin yaklaşık iki katına çoğalmıştır. Kemik mineralizasyonunda ise 21 günün sonunda tüm gruplarda saf PLA'ya göre net bir artış olmuştur. İlaç salınımında, HNT partikülü numunelerinden salınan MET, 120 saat sonunda toplamın % 60'ına ulaşmıştır ve partiküllerin serbest formundan dolayı 3B doku iskelelerine oranla daha hızlıdır. 3B üretilen doku iskeleleri, 120 saatin sonunda % 50'ye varan daha yavaş bir salınım sergilemiştir.

Bu tez çalışmasında, insan vücudundaki süngerimsi (cancellous-spongy) kemik, bağlar ve tendonlar gibi kemiklerin mekanik özelliklerine karşılık gelen, ilaç taşıma ve kontrollü ilaç salımı yapabilen çok fonksiyonlu doku iskelesi geliştirilmiştir. Geliştirilen doku iskelesinin hem mekanik özelliklerinin hem de biyolojik özelliklerinin iyileştirilmiş olması malzemeyi mevcut 3B yazıcı filamentleri ile üretilen doku iskelerinden üstün kılmaktadır. Gelecekteki çalışmalarda, hastaya özgü ihtiyaçları karşılamak için farklı ilaç uygulamaları

gerçekleştirilebilir. Farklı doku iskelesi tasarımları ile mekanik özelliklerde iyileştirmeler yapılabilir.



- [1] S. Sharma, V. Gupta, and D. Mudgal, "Current trends, applications, and challenges of coatings on additive manufacturing based biopolymers: A state of art review," *Polym Compos*, vol. 43, no. 10, pp. 6749–6781, Oct. 2022.
- [2] R. Rebelo, M. Fernandes, and R. Figueiro, "Biopolymers in Medical Implants: A Brief Review," *Procedia Eng*, vol. 200, pp. 236–243, 2017.
- [3] R. Donate, M. Monzón, M. E. Alemán-Domínguez, and Z. Ortega, "Enzymatic degradation study of PLA-based composite scaffolds," *Reviews On Advanced Materials Science*, vol. 59, no. 1, pp. 170–175, Jan. 2020.
- [4] M. Culenova et al., "In Vitro Characterization of Poly(Lactic Acid)/Poly(Hydroxybutyrate)/ Thermoplastic Starch Blends for Tissue Engineering Application," *Cell Transplant*, vol. 30, p. 096368972110210, Jan. 2021.
- [5] X. Hu et al., "Biodegradable poly (lactic acid-co-trimethylene carbonate)/chitosan microsphere scaffold with shape-memory effect for bone tissue engineering," *Colloids Surf B Biointerfaces*, vol. 195, p. 111218, Nov. 2020.
- [6] X. Zhu, T. Zhong, R. Huang, and A. Wan, "Preparation of hydrophilic poly(lactic acid) tissue engineering scaffold via (PLA)-(PLA-b-PEG)-(PEG) solution casting and thermal-induced surface structural transformation," *J Biomater Sci Polym Ed*, vol. 26, no. 17, pp. 1286–1296, Nov. 2015.
- [7] S. Amini, H. Salehi, M. Setayeshmehr, and M. Ghorbani, "Natural and synthetic polymeric scaffolds used in peripheral nerve tissue engineering: Advantages and disadvantages," *Polym Adv Technol*, vol. 32, no. 6, pp. 2267–2289, Jun. 2021.
- [8] R. Baptista and M. Guedes, "Morphological and mechanical characterization of 3D printed PLA scaffolds with controlled porosity for trabecular bone tissue replacement," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 118, p. 111528, Jan. 2021.
- [9] A. Dehghanghadikolaei and B. Fotovvati, "Coating Techniques for Functional Enhancement of Metal Implants for Bone Replacement: A Review," *Materials*, vol. 12, no. 11, p. 1795, Jun. 2019.
- [10] R. Donate, M. Monzón, and M. E. Alemán-Domínguez, "Additive manufacturing of PLA-based scaffolds intended for bone regeneration and strategies to improve their biological properties," *e-Polymers*, vol. 20, no. 1, pp. 571–599, Oct. 2020.
- [11] A. Grémare et al., "Characterization of printed PLA scaffolds for bone tissue engineering," *J Biomed Mater Res A*, vol. 106, no. 4, pp. 887–894, Apr. 2018.

- [12] D. Jiang, F. Ning, and Y. Wang, "Additive manufacturing of biodegradable iron-based particle reinforced polylactic acid composite scaffolds for tissue engineering," *J Mater Process Technol*, vol. 289, p. 116952, Mar. 2021.
- [13] S. E. Nájera, M. Michel, and N.-S. Kim, "3D Printed PLA/PCL/TiO₂ Composite for Bone Replacement and Grafting," *MRS Adv*, vol. 3, no. 40, pp. 2373–2378, Aug. 2018.
- [14] S. Singh, G. Singh, C. Prakash, S. Ramakrishna, L. Lamberti, and C. I. Pruncu, "3D printed biodegradable composites: An insight into mechanical properties of PLA/chitosan scaffold," *Polym Test*, vol. 89, p. 106722, Sep. 2020.
- [15] C. Shuai, Y. Li, P. Feng, W. Guo, W. Yang, and S. Peng, "Positive feedback effects of Mg on the hydrolysis of poly-l-lactic acid (PLLA): Promoted degradation of PLLA scaffolds," *Polym Test*, vol. 68, pp. 27–33, Jul. 2018.
- [16] M. Mohammadizadeh et al., "Mechanical and Thermal Analyses of Metal-PLA Components Fabricated by Metal Material Extrusion," *Inventions*, vol. 5, no. 3, p. 44, Aug. 2020.
- [17] B.-Y. Chen et al., "Fabrication of polylactic acid/polyethylene glycol (PLA/PEG) porous scaffold by supercritical CO₂ foaming and particle leaching," *Polym Eng Sci*, vol. 55, no. 6, pp. 1339–1348, Jun. 2015.
- [18] A. Prasad, S. Mohan Bhasney, M. R. Sankar, and V. Katiyar, "Fish Scale Derived Hydroxyapatite reinforced Poly (Lactic acid) Polymeric Bio-films: Possibilities for Sealing/locking the Internal Fixation Devices," *Mater Today Proc*, vol. 4, no. 2, pp. 1340–1349, 2017.
- [19] B. Zhang et al., "3D printed bone tissue regenerative PLA/HA scaffolds with comprehensive performance optimizations," *Mater Des*, vol. 201, p. 109490, Mar. 2021.
- [20] A. Plymill, R. Minneci, D. A. Greeley, and J. Gritton, "Graphene and carbon nanotube PLA composite feedstock development for fused deposition modeling," 2016.
- [21] M. Caminero, J. Chacón, E. García-Plaza, P. Núñez, J. Reverte, and J. Becar, "Additive Manufacturing of PLA-Based Composites Using Fused Filament Fabrication: Effect of Graphene Nanoplatelet Reinforcement on Mechanical Properties, Dimensional Accuracy and Texture," *Polymers (Basel)*, vol. 11, no. 5, p. 799, May 2019.
- [22] M. Pluta et al., "Significant modification of the surface morphology of polylactide (PLA) and PLA-halloysite nanocomposites in the presence of N,N'-ethylenebis(stearamide) upon thermal treatment," *Express Polym Lett*, vol. 14, no. 12, pp. 1155–1168, 2020.
- [23] S. Montava-Jorda, V. Chacon, D. Lascano, L. Sanchez-Nacher, and N. Montanes, "Manufacturing and Characterization of Functionalized Aliphatic Polyester from Poly(lactic acid) with Halloysite Nanotubes," *Polymers (Basel)*, vol. 11, no. 8, p. 1314, Aug. 2019.

- [24] C. Venkatesh, E. Fuenmayor, P. Doran, I. Major, J. G. Lyons, and D. M. Devine, "Additive manufacturing of PLA/HNT nanocomposites for biomedical applications," *Procedia Manuf*, vol. 38, pp. 17–24, 2019.
- [25] C. M. Cobos, L. Garzón, J. López Martinez, O. Fenollar, and S. Ferrandiz, "Study of thermal and rheological properties of PLA loaded with carbon and halloysite nanotubes for additive manufacturing," *Rapid Prototyp J*, vol. 25, no. 4, pp. 738–743, May 2019.
- [26] M. Mrówka, M. Szymiczek, T. Machoczek, and M. Pawlyta, "Influence of the Halloysite Nanotube (HNT) Addition on Selected Mechanical and Biological Properties of Thermoplastic Polyurethane," *Materials*, vol. 14, no. 13, p. 3625, Jun. 2021.
- [27] R. Qi, R. Guo, F. Zheng, H. Liu, J. Yu, and X. Shi, "Controlled release and antibacterial activity of antibiotic-loaded electrospun halloysite/poly(lactic-co-glycolic acid) composite nanofibers," *Colloids Surf B Biointerfaces*, vol. 110, pp. 148–155, Oct. 2013.
- [28] Y. Luo, A. Humayun, and D. K. Mills, "Surface Modification of 3D Printed PLA/Halloysite Composite Scaffolds with Antibacterial and Osteogenic Capabilities," *Applied Sciences*, vol. 10, no. 11, p. 3971, Jun. 2020.
- [29] M. B. Panjwani, M. Pillai, R. T. de Silva, K. L. Goh, and P. Pasbakhsh, "Performance of 3D printed poly(lactic acid)/halloysite nanocomposites," in *Interfaces in Particle and Fibre Reinforced Composites*, Elsevier, pp. 251–267, 2020.
- [30] J. Weisman, U. Jammalamadaka, K. Tappa, and D. Mills, "Doped Halloysite Nanotubes for Use in the 3D Printing of Medical Devices," *Bioengineering*, vol. 4, no. 4, p. 96, Dec. 2017.
- [31] M. Hassan, jun Bai, and D.-Q. Dou, "Biopolymers; Definition, Classification and Applications," *Egypt J Chem*, vol. 0, no. 0, pp. 0–0, Apr. 2019.
- [32] M. C. Biswas et al., "Recent Advancement of Biopolymers and Their Potential Biomedical Applications," *J Polym Environ*, vol. 30, no. 1, pp. 51–74, Jan. 2022.
- [33] R. P. Babu, K. O'Connor, and R. Seeram, "Current progress on bio-based polymers and their future trends," *Prog Biomater*, vol. 2, no. 1, p. 8, 2013, doi: 10.1186/2194-0517-2-8.
- [34] T. Heinze and T. Liebert, "Unconventional methods in cellulose functionalization," *Prog Polym Sci*, vol. 26, no. 9, pp. 1689–1762, Nov. 2001, doi: 10.1016/S0079-6700(01)00022-3.
- [35] R. Rebelo, M. Fernandes, and R. Figueiro, "Biopolymers in Medical Implants: A Brief Review," *Procedia Eng*, vol. 200, pp. 236–243, 2017.
- [36] D. Pathania and S. Kumari, "Nanocomposites Based on Biopolymer for Biomedical and Antibacterial Applications," 2020, pp. 375–391.
- [37] H. J. Chung and T. G. Park, "Surface engineered and drug releasing pre-fabricated scaffolds for tissue engineering," *Adv Drug Deliv Rev*, vol. 59, no. 4–5, pp. 249–262, May 2007.

- [38] B. Dhandayuthapani, Y. Yoshida, T. Maekawa, and D. S. Kumar, "Polymeric Scaffolds in Tissue Engineering Application: A Review," *Int J Polym Sci*, vol. 2011, pp. 1–19, 2011.
- [39] H. Kenar, C. Y. Ozdogan, C. Dumlu, E. Doger, G. T. Kose, and V. Hasirci, "Microfibrous scaffolds from poly(l-lactide-co- ϵ -caprolactone) blended with xeno-free collagen/hyaluronic acid for improvement of vascularization in tissue engineering applications," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 97, pp. 31–44, Apr. 2019.
- [40] P. Kakkar, S. Verma, I. Manjubala, and B. Madhan, "Development of keratin–chitosan–gelatin composite scaffold for soft tissue engineering," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 45, pp. 343–347, Dec. 2014.
- [41] V. Wankhade, "Animal-derived biopolymers in food and biomedical technology," in *Biopolymer-Based Formulations*, Elsevier, pp. 139–152, 2020.
- [42] J. V. Ecker, I. Burzic, A. Haider, S. Hild, and H. Rennhofer, "Improving the impact strength of PLA and its blends with PHA in fused layer modelling" *Polym Test*, vol. 78, p. 105929, Sep. 2019.
- [43] T. R. de Castro, D. C. de Macedo, D. M. de Genaro Chiroli, R. C. da Silva, and S. M. Tebcherani, "The Potential of Cleaner Fermentation Processes for Bioplastic Production: A Narrative Review of Polyhydroxyalkanoates (PHA) and Polylactic Acid (PLA)," *J Polym Environ*, vol. 30, no. 3, pp. 810–832, Mar. 2022.
- [44] M. Bussa, A. Eisen, C. Zollfrank, and H. Röder, "Life cycle assessment of microalgae products: State of the art and their potential for the production of polylactid acid," *J Clean Prod*, vol. 213, pp. 1299–1312, Mar. 2019.
- [45] R. P. Babu, K. O'Connor, and R. Seeram, "Current progress on bio-based polymers and their future trends," *Prog Biomater*, vol. 2, no. 1, p. 8, 2013.
- [46] R. A. Ilyas et al., "Polylactic Acid (PLA) Biocomposite: Processing, Additive Manufacturing and Advanced Applications," *Polymers (Basel)*, vol. 13, no. 8, p. 1326, Apr. 2021.
- [47] S. S. S. Ali, M. R. Razman, and A. Awang, "The Nexus of Population, GDP Growth, Electricity Generation, Electricity Consumption and Carbon Emissions Output In Malaysia," *International Journal of Energy Economics and Policy*, vol. 10, no. 3, pp. 84–89, Mar. 2020.
- [48] N. Peelman, P. Ragaert, K. Ragaert, B. de Meulenaer, F. Devlieghere, and L. Cardon, "Heat resistance of new biobased polymeric materials, focusing on starch, cellulose, PLA, and PHA," *J Appl Polym Sci*, vol. 132, no. 48, p. n/a-n/a, Dec. 2015.
- [49] F. Salak, S. Uemura, and K. Sugimoto, "Thermal pretreatment of kudzu biomass (*pueraria lobata*) as filler in cost-effective pla biocomposite fabrication process," *Polym Eng Sci*, vol. 55, no. 2, pp. 340–348, Feb. 2015.

- [50] S. Farah, D. G. Anderson, and R. Langer, "Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications — A comprehensive review," *Adv Drug Deliv Rev*, vol. 107, pp. 367–392, Dec. 2016.
- [51] V. Nagarajan, A. K. Mohanty, and M. Misra, "Perspective on Polylactic Acid (PLA) based Sustainable Materials for Durable Applications: Focus on Toughness and Heat Resistance," *ACS Sustain Chem Eng*, vol. 4, no. 6, pp. 2899–2916, Jun. 2016.
- [52] F.-L. Jin, R.-R. Hu, and S.-J. Park, "Improvement of thermal behaviors of biodegradable poly(lactic acid) polymer: A review," *Compos B Eng*, vol. 164, pp. 287–296, May 2019.
- [53] Z. Liu, Y. Wang, B. Wu, C. Cui, Y. Guo, and C. Yan, "A critical review of fused deposition modeling 3D printing technology in manufacturing polylactic acid parts," *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, vol. 102, no. 9–12, pp. 2877–2889, Jun. 2019.
- [54] G. Rajeshkumar et al., "Environment friendly, renewable and sustainable poly lactic acid (PLA) based natural fiber reinforced composites – A comprehensive review," *J Clean Prod*, vol. 310, p. 127483, Aug. 2021.
- [55] A. J. R. Lasprilla, G. A. R. Martinez, B. H. Lunelli, A. L. Jardini, and R. M. Filho, "Poly-lactic acid synthesis for application in biomedical devices — A review," *Biotechnol Adv*, vol. 30, no. 1, pp. 321–328, Jan. 2012.
- [56] H. Tsuji and F. Kondoh, "Synthesis of meso-lactide by thermal configurational inversion and depolymerization of poly(l -lactide) and thermal configurational inversion of lactides," *Polym Degrad Stab*, vol. 141, pp. 77–83, Jul. 2017.
- [57] B. Bax and J. Müssig, "Impact and tensile properties of PLA/Cordenka and PLA/flax composites," *Compos Sci Technol*, vol. 68, no. 7–8, pp. 1601–1607, Jun. 2008.
- [58] S. Inkinen, M. Hakkarainen, A.-C. Albertsson, and A. Södergård, "From Lactic Acid to Poly(lactic acid) (PLA): Characterization and Analysis of PLA and Its Precursors," *Biomacromolecules*, vol. 12, no. 3, pp. 523–532, Mar. 2011.
- [59] S. Lv, Y. Zhang, J. Gu, and H. Tan, "Biodegradation behavior and modelling of soil burial effect on degradation rate of PLA blended with starch and wood flour," *Colloids Surf B Biointerfaces*, vol. 159, pp. 800–808, Nov. 2017.
- [60] P. Stloukal, A. Kalendova, H. Mattausch, S. Laske, C. Holzer, and M. Koutny, "The influence of a hydrolysis-inhibiting additive on the degradation and biodegradation of PLA and its nanocomposites," *Polym Test*, vol. 41, pp. 124–132, Feb. 2015.
- [61] M. Musioł et al., "Forensic engineering of advanced polymeric materials. Part III - Biodegradation of thermoformed rigid PLA packaging under industrial composting conditions," *Waste Management*, vol. 52, pp. 69–76, Jun. 2016.

- [62] P. Stloukal et al., "Kinetics and mechanism of the biodegradation of PLA/clay nanocomposites during thermophilic phase of composting process," *Waste Management*, vol. 42, pp. 31–40, Aug. 2015.
- [63] D. Duran, H. Aktekel Yilmaz, "Investigation of The Physical Properties of Polylactic Acid (Pla) Based Meltblown Nonwovens For Agricultural Applications," *Mugla Journal of Science and Technology*, Dec. 2019.
- [64] P. Feng, J. Jia, M. Liu, S. Peng, Z. Zhao, and C. Shuai, "Degradation mechanisms and acceleration strategies of poly (lactic acid) scaffold for bone regeneration," *Mater Des*, vol. 210, p. 110066, Nov. 2021.
- [65] B. G. Beutel et al., "Evaluation of bone response to synthetic bone grafting material treated with argon-based atmospheric pressure plasma," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 45, pp. 484–490, Dec. 2014.
- [66] L. Ren, K. Yu, and Y. Tan, "Monitoring and Assessing the Degradation Rate of Magnesium-Based Artificial Bone In Vitro Using a Wireless Magnetoelastic Sensor," *Sensors*, vol. 18, no. 9, p. 3066, Sep. 2018.
- [67] L.-T. Lim, R. Auras, and M. Rubino, "Processing technologies for poly(lactic acid)," *Prog Polym Sci*, vol. 33, no. 8, pp. 820–852, Aug. 2008.
- [68] K. J. Jem and B. Tan, "The development and challenges of poly (lactic acid) and poly (glycolic acid)," *Advanced Industrial and Engineering Polymer Research*, vol. 3, no. 2, pp. 60–70, Apr. 2020.
- [69] D. W. Farrington, J. Lunt, S. Davies, and R. S. Blackburn, "Poly(lactic acid) fibers," in *Biodegradable and Sustainable Fibres*, Elsevier, 2005, pp. 191–220.
- [70] E. Castro-Aguirre, F. Iñiguez-Franco, H. Samsudin, X. Fang, and R. Auras, "Poly(lactic acid)—Mass production, processing, industrial applications, and end of life," *Adv Drug Deliv Rev*, vol. 107, pp. 333–366, Dec. 2016.
- [71] B. Li et al., "Biodegradable polymeric occluder for closure of atrial septal defect with interventional treatment of cardiovascular disease," *Biomaterials*, vol. 274, p. 120851, Jul. 2021.
- [72] S. C. Cifuentes et al., "Novel PLLA/magnesium composite for orthopedic applications: A proof of concept," *Mater Lett*, vol. 74, pp. 239–242, May 2012.
- [73] T. L. de Albuquerque, J. E. Marques Júnior, L. P. de Queiroz, A. D. S. Ricardo, and M. V. P. Rocha, "Polylactic acid production from biotechnological routes: A review," *Int J Biol Macromol*, vol. 186, pp. 933–951, Sep. 2021.
- [74] C. He, L. Yin, C. Tang, and C. Yin, "Size-dependent absorption mechanism of polymeric nanoparticles for oral delivery of protein drugs," *Biomaterials*, vol. 33, no. 33, pp. 8569–8578, Nov. 2012.
- [75] D. Zhu et al., "Docetaxel (DTX)-loaded polydopamine-modified TPGS-PLA nanoparticles as a targeted drug delivery system for the treatment of liver cancer," *Acta Biomater*, vol. 30, pp. 144–154, Jan. 2016.

- [76] S. Zhang et al., "Electrospun fibrous mat based on silver (I) metal-organic frameworks-poly(lactic acid) for bacterial killing and antibiotic-free wound dressing," *Chemical Engineering Journal*, vol. 390, p. 124523, Jun. 2020.
- [77] A. Lalloz et al., "Subtle and unexpected role of PEG in tuning the penetration mechanisms of PLA-based nano-formulations into intact and impaired skin," *Int J Pharm*, vol. 563, pp. 79–90, May 2019.
- [78] S. F. Gomaa, T. M. Madkour, S. Moghannem, and I. M. El-Sherbiny, "New poly(lactic acid)/ cellulose acetate-based antimicrobial interactive single dose nanofibrous wound dressing mats," *Int J Biol Macromol*, vol. 105, pp. 1148–1160, Dec. 2017.
- [79] S. Liu, S. Qin, M. He, D. Zhou, Q. Qin, and H. Wang, "Current applications of poly(lactic acid) composites in tissue engineering and drug delivery," *Compos B Eng*, vol. 199, p. 108238, Oct. 2020.
- [80] M. J. Allen, V. C. Tung, and R. B. Kaner, "Honeycomb Carbon: A Review of Graphene," *Chem Rev*, vol. 110, no. 1, pp. 132–145, Jan. 2010.
- [81] S. Gong, H. Ni, L. Jiang, and Q. Cheng, "Learning from nature: constructing high performance graphene-based nanocomposites," *Materials Today*, vol. 20, no. 4, pp. 210–219, May 2017.
- [82] R. Khare and S. Bose, "Carbon Nanotube Based Composites-A Review," 2005.
- [83] S. Bal and S. S. Samal, "Carbon nanotube reinforced polymer composites—A state of the art," *Bulletin of Materials Science*, vol. 30, no. 4, pp. 379–386, Aug. 2007.
- [84] T. Ji, Y. Feng, M. Qin, and W. Feng, "Thermal conducting properties of aligned carbon nanotubes and their polymer composites," *Compos Part A Appl Sci Manuf*, vol. 91, pp. 351–369, Dec. 2016.
- [85] C. Li, S. Bolisetty, and R. Mezzenga, "Hybrid Nanocomposites of Gold Single-Crystal Platelets and Amyloid Fibrils with Tunable Fluorescence, Conductivity, and Sensing Properties," *Advanced Materials*, vol. 25, no. 27, pp. 3694–3700, Jul. 2013.
- [86] E. Kharlampieva et al., "Redox-Active Ultrathin Template of Silk Fibroin: Effect of Secondary Structure on Gold Nanoparticle Reduction," *Chemistry of Materials*, vol. 21, no. 13, pp. 2696–2704, Jul. 2009.
- [87] R. Xiong, C. Lu, Y. Wang, Z. Zhou, and X. Zhang, "Nanofibrillated cellulose as the support and reductant for the facile synthesis of Fe₃O₄/Ag nanocomposites with catalytic and antibacterial activity," *J Mater Chem A Mater*, vol. 1, no. 47, p. 14910, 2013.
- [88] Y. Wang, X. Zhang, X. Zhang, J. Zhao, W. Zhang, and C. Lu, "Water repellent Ag/Ag₂O@bamboo cellulose fiber membrane as bioinspired cargo carriers," *Carbohydr Polym*, vol. 133, pp. 493–496, Nov. 2015.
- [89] D. Li, Q. He, and J. Li, "Smart core/shell nanocomposites: Intelligent polymers modified gold nanoparticles," *Adv Colloid Interface Sci*, vol. 149, no. 1–2, pp. 28–38, Jul. 2009.

- [90] J. T. O'Neal, M. J. Bolen, E. Y. Dai, and J. L. Lutkenhaus, "Hydrogen-bonded polymer nanocomposites containing discrete layers of gold nanoparticles," *J Colloid Interface Sci*, vol. 485, pp. 260–268, Jan. 2017.
- [91] E. Fantino, A. Chiappone, F. Calignano, M. Fontana, F. Pirri, and I. Roppolo, "In Situ Thermal Generation of Silver Nanoparticles in 3D Printed Polymeric Structures," *Materials*, vol. 9, no. 7, p. 589, Jul. 2016.
- [92] M. S. Mannoer et al., "3D Printed Bionic Ears," *Nano Lett*, vol. 13, no. 6, pp. 2634–2639, Jun. 2013.
- [93] S.-I. Roohani-Esfahani and H. Zreiqat, "Nanoparticles: a promising new therapeutic platform for bone regeneration," *Nanomedicine*, vol. 12, no. 5, pp. 419–422, Mar. 2017.
- [94] M. P. Ferraz, F. J. Monteiro, and C. M. Manuel, "Hydroxyapatite nanoparticles: A review of preparation methodologies," *J Appl Biomater Biomech*, vol. 2, no. 2, pp. 74–80, 2004.
- [95] B. Holmes, K. Bulusu, M. Plesniak, and L. G. Zhang, "A synergistic approach to the design, fabrication and evaluation of 3D printed micro and nano featured scaffolds for vascularized bone tissue repair," *Nanotechnology*, vol. 27, no. 6, p. 064001, Feb. 2016.
- [96] R. Xiong, A. M. Grant, R. Ma, S. Zhang, and V. v. Tsukruk, "Naturally-derived biopolymer nanocomposites: Interfacial design, properties and emerging applications," *Materials Science and Engineering: R: Reports*, vol. 125, pp. 1–41, Mar. 2018.
- [97] H. H. Murray, "Chapter 2 Structure and Composition of the Clay Minerals and their Physical and Chemical Properties," pp. 7–31, 2006.
- [98] H. Liu et al., "Intracellular pathway of halloysite nanotubes: potential application for antitumor drug delivery," *J Mater Sci*, vol. 54, no. 1, pp. 693–704, Jan. 2019.
- [99] R. Berahman, M. Raiati, M. Mehrabi Mazidi, and S. M. R. Paran, "Preparation and characterization of vulcanized silicone rubber/halloysite nanotube nanocomposites: Effect of matrix hardness and HNT content," *Mater Des*, vol. 104, pp. 333–345, Aug. 2016.
- [100] P. Yuan et al., "Functionalization of Halloysite Clay Nanotubes by Grafting with γ -Aminopropyltriethoxysilane," *The Journal of Physical Chemistry C*, vol. 112, no. 40, pp. 15742–15751, Oct. 2008.
- [101] M. I. Baker, S. P. Walsh, Z. Schwartz, and B. D. Boyan, "A review of polyvinyl alcohol and its uses in cartilage and orthopedic applications," *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, vol. 100B, no. 5, pp. 1451–1457, Jul. 2012.
- [102] V. Vergaro et al., "Cytocompatibility and Uptake of Halloysite Clay Nanotubes," *Biomacromolecules*, vol. 11, no. 3, pp. 820–826, Mar. 2010.
- [103] M. Hanif, F. Jabbar, S. Sharif, G. Abbas, A. Farooq, and M. Aziz, "Halloysite nanotubes as a new drug-delivery system: a review," *Clay Miner*, vol. 51, no. 3, pp. 469–477, Jun. 2016.

- [104] S. Satish, M. Tharmavaram, and D. Rawtani, "Halloysite nanotubes as a nature's boon for biomedical applications," *Nanobiomedicine (Rij)*, vol. 6, p. 184954351986362, Jan. 2019.
- [105] P. R. Chang, Y. Xie, D. Wu, and X. Ma, "Amylose wrapped halloysite nanotubes," *Carbohydr Polym*, vol. 84, no. 4, pp. 1426–1429, Apr. 2011.
- [106] R. Asmatulu, W. S. Khan, R. J. Reddy, and M. Ceylan, "Synthesis and analysis of injection-molded nanocomposites of recycled high-density polyethylene incorporated with graphene nanoflakes," *Polym Compos*, vol. 36, no. 9, pp. 1565–1573, Sep. 2015.
- [107] W. S. Khan, N. N. Hamadneh, and W. A. Khan, "Science and applications of Tailored Nanostructures Polymer nanocomposites-synthesis techniques, classification and properties." Vol.50, no.4, 2016.
- [108] H. Bai et al., "Biopolymer nanocomposites with customized mechanical property and exceptionally antibacterial performance," *Compos Sci Technol*, vol. 199, p. 108338, Oct. 2020.
- [109] P. M. Ajayan, L. S. Schadler, and P. v Braun, *Nanocomposite science and technology*. John Wiley & Sons, 2006.
- [110] D. Ciprari, K. Jacob, and R. Tannenbaum, "Characterization of Polymer Nanocomposite Interphase and Its Impact on Mechanical Properties," *Macromolecules*, vol. 39, no. 19, pp. 6565–6573, Sep. 2006.
- [111] X. Farto-Vaamonde, G. Auriemma, R. P. Aquino, A. Concheiro, and C. Alvarez-Lorenzo, "Post-manufacture loading of filaments and 3D printed PLA scaffolds with prednisolone and dexamethasone for tissue regeneration applications," *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 141, pp. 100–110, Aug. 2019.
- [112] I. R. Calori, G. Braga, P. da C. C. de Jesus, H. Bi, and A. C. Tedesco, "Polymer scaffolds as drug delivery systems," *Eur Polym J*, vol. 129, p. 109621, Apr. 2020.
- [113] D. Tan, M. Maniruzzaman, and A. Nokhodchi, "Advanced Pharmaceutical Applications of Hot-Melt Extrusion Coupled with Fused Deposition Modelling (FDM) 3D Printing for Personalised Drug Delivery," *Pharmaceutics*, vol. 10, no. 4, p. 203, Oct. 2018.
- [114] V. Domsta and A. Seidlitz, "3D-Printing of Drug-Eluting Implants: An Overview of the Current Developments Described in the Literature," *Molecules*, vol. 26, no. 13, p. 4066, Jul. 2021.
- [115] I. M. Adel, M. F. ElMeligy, and N. A. Elkasabgy, "Conventional and Recent Trends of Scaffolds Fabrication: A Superior Mode for Tissue Engineering," *Pharmaceutics*, vol. 14, no. 2, p. 306, Jan. 2022.
- [116] M. Silva, I. S. Pinho, J. A. Covas, N. M. Alves, and M. C. Paiva, "3D printing of graphene-based polymeric nanocomposites for biomedical applications," *Functional Composite Materials*, vol. 2, no. 1, p. 8, Dec. 2021.

- [117] Y. Bozkurt and E. Karayel, "3D printing technology; methods, biomedical applications, future opportunities and trends," *Journal of Materials Research and Technology*, vol. 14, pp. 1430–1450, Sep. 2021.
- [118] Hi-Tech., https://hi-tech.mail.ru/review/nazad_iz_virtualnosti/, 19.03.2023.
- [119] J. W. Stansbury and M. J. Idacavage, "3D printing with polymers: Challenges among expanding options and opportunities," *Dental Materials*, vol. 32, no. 1, pp. 54–64, Jan. 2016.
- [120] K. C. R. Kolan, M. C. Leu, G. E. Hilmas, and M. Velez, "Effect of material, process parameters, and simulated body fluids on mechanical properties of 13-93 bioactive glass porous constructs made by selective laser sintering," *J Mech Behav Biomed Mater*, vol. 13, pp. 14–24, Sep. 2012.
- [121] J. Z. Gul et al., "3D printing for soft robotics – a review," *Sci Technol Adv Mater*, vol. 19, no. 1, pp. 243–262, Dec. 2018.
- [122] J. K. Placone and A. J. Engler, "Recent Advances in Extrusion-Based 3D Printing for Biomedical Applications," *Adv Healthc Mater*, vol. 7, no. 8, p. 1701161, Apr. 2018.
- [123] M. M. Hatamleh, G. Bhamrah, F. Ryba, G. Mack, and C. Huppa, "Simultaneous Computer-Aided Design/Computer-Aided Manufacture Bimaxillary Orthognathic Surgery and Mandibular Reconstruction Using Selective-Laser Sintered Titanium Implant," *Journal of Craniofacial Surgery*, vol. 27, no. 7, pp. 1810–1814, Oct. 2016.
- [124] A. Lamikiz, J. A. Sánchez, L. N. López de Lacalle, and J. L. Arana, "Laser polishing of parts built up by selective laser sintering," *Int J Mach Tools Manuf*, vol. 47, no. 12–13, pp. 2040–2050, Oct. 2007.
- [125] A. Bagheri Saed, A. H. Behraves, S. Hasannia, S. A. Alavinasab Ardebili, B. Akhoundi, and M. Pourghayoumi, "Functionalized poly l-lactic acid synthesis and optimization of process parameters for 3D printing of porous scaffolds via digital light processing (DLP) method," *J Manuf Process*, vol. 56, pp. 550–561, Aug. 2020.
- [126] J. Zhang, Q. Hu, S. Wang, J. Tao, and M. Gou, "Digital Light Processing Based Three-dimensional Printing for Medical Applications," *Int J Bioprint*, vol. 6, no. 1, p. 1, Nov. 2019.
- [127] D. Wu, Z. Zhao, Q. Zhang, H. J. Qi, and D. Fang, "Mechanics of shape distortion of DLP 3D printed structures during UV post-curing," *Soft Matter*, vol. 15, no. 30, pp. 6151–6159, 2019.
- [128] Y. Lu, G. Mapili, G. Suhali, S. Chen, and K. Roy, "A digital micro-mirror device-based system for the microfabrication of complex, spatially patterned tissue engineering scaffolds," *J Biomed Mater Res A*, vol. 77A, no. 2, pp. 396–405, May 2006.
- [129] T. D. Ngo, A. Kashani, G. Imbalzano, K. T. Q. Nguyen, and D. Hui, "Additive manufacturing (3D printing): A review of materials, methods, applications and challenges," *Compos B Eng*, vol. 143, pp. 172–196, Jun. 2018.

- [130] S.-U. Bae and B.-J. Kim, "Effects of Cellulose Nanocrystal and Inorganic Nanofillers on the Morphological and Mechanical Properties of Digital Light Processing (DLP) 3D-Printed Photopolymer Composites," *Applied Sciences*, vol. 11, no. 15, p. 6835, Jul. 2021.
- [131] S. Meteyer, X. Xu, N. Perry, and Y. F. Zhao, "Energy and Material Flow Analysis of Binder-jetting Additive Manufacturing Processes," *Procedia CIRP*, vol. 15, pp. 19–25, 2014.
- [132] I. Gibson, D. Rosen, and B. Stucker, *Additive Manufacturing Technologies*. New York, NY: Springer New York, 2015.
- [133] M. Mariani, R. Beltrami, P. Brusa, C. Galassi, R. Ardito, and N. Lecis, "3D printing of fine alumina powders by binder jetting," *J Eur Ceram Soc*, vol. 41, no. 10, pp. 5307–5315, Aug. 2021.
- [134] A. Selema, M. N. Ibrahim, and P. Sergeant, "Metal Additive Manufacturing for Electrical Machines: Technology Review and Latest Advancements," *Energies (Basel)*, vol. 15, no. 3, p. 1076, Jan. 2022.
- [135] H. Chen and Y. F. Zhao, "Process parameters optimization for improving surface quality and manufacturing accuracy of binder jetting additive manufacturing process," *Rapid Prototyp J*, vol. 22, no. 3, pp. 527–538.
- [136] P. K. Gokuldoss, S. Kolla, and J. Eckert, "Additive Manufacturing Processes: Selective Laser Melting, Electron Beam Melting and Binder Jetting—Selection Guidelines," *Materials*, vol. 10, no. 6, p. 672, Jun. 2017.
- [137] F. Dini, S. A. Ghaffari, J. Jafar, R. Hamidreza, and S. Marjan, "A review of binder jet process parameters; powder, binder, printing and sintering condition," *Metal Powder Report*, vol. 75, no. 2, pp. 95–100, Mar. 2020.
- [138] B. K. Gu, D. J. Choi, S. J. Park, M. S. Kim, C. M. Kang, and C.-H. Kim, "3-dimensional bioprinting for tissue engineering applications," *Biomater Res*, vol. 20, no. 1, p. 12, Dec. 2016.
- [139] S. Bose, D. Ke, H. Sahasrabudhe, and A. Bandyopadhyay, "Additive manufacturing of biomaterials," *Prog Mater Sci*, vol. 93, pp. 45–111, Apr. 2018.
- [140] Z. Chen et al., "3D printing of ceramics: A review," *J Eur Ceram Soc*, vol. 39, no. 4, pp. 661–687, Apr. 2019.
- [141] S. Rossi, A. Puglisi, and M. Benaglia, "Additive Manufacturing Technologies: 3D Printing in Organic Synthesis," *ChemCatChem*, vol. 10, no. 7, pp. 1512–1525, Apr. 2018.
- [142] S. K. Parupelli and S. Desai, "A Comprehensive Review of Additive Manufacturing (3D Printing): Processes, Applications and Future Potential," *Am J Appl Sci*, vol. 16, no. 8, pp. 244–272, Aug. 2019.
- [143] N. Travitzky et al., "Additive Manufacturing of Ceramic-Based Materials," *Adv Eng Mater*, vol. 16, no. 6, pp. 729–754, Jun. 2014.
- [144] C. Gomes et al., "Laminated object manufacturing of LZSA glass-ceramics," *Rapid Prototyp J*, vol. 17, no. 6, pp. 424–428, Oct. 2011.

- [145] A. Zocca, P. Colombo, C. M. Gomes, and J. Günster, “Additive Manufacturing of Ceramics: Issues, Potentialities, and Opportunities,” *Journal of the American Ceramic Society*, vol. 98, no. 7, pp. 1983–2001, Jul. 2015.
- [146] K. Schindler and A. Roosen, “Manufacture of 3D structures by cold low pressure lamination of ceramic green tapes,” *J Eur Ceram Soc*, vol. 29, no. 5, pp. 899–904, Mar. 2009.
- [147] P. Szymczyk-Ziółkowska, M. B. Łabowska, J. Detyna, I. Michalak, and P. Gruber, “A review of fabrication polymer scaffolds for biomedical applications using additive manufacturing techniques,” *Biocybern Biomed Eng*, vol. 40, no. 2, pp. 624–638, Apr. 2020.
- [148] H. Tetsuka and S. R. Shin, “Materials and technical innovations in 3D printing in biomedical applications,” *J Mater Chem B*, vol. 8, no. 15, pp. 2930–2950, 2020.
- [149] J. Lai, C. Wang, and M. Wang, “3D printing in biomedical engineering: Processes, materials, and applications,” *Appl Phys Rev*, vol. 8, no. 2, p. 021322, Jun. 2021.
- [150] M. R. Khosravani and T. Reinicke, “Effects of raster layup and printing speed on strength of 3D-printed structural components,” *Procedia Structural Integrity*, vol. 28, pp. 720–725, 2020.
- [151] F. Tamburrino, S. Graziosi, and M. Bordegoni, “The influence of slicing parameters on the multi-material adhesion mechanisms of FDM printed parts: an exploratory study,” *Virtual Phys Prototyp*, vol. 14, no. 4, pp. 316–332, Oct. 2019.
- [152] M. Lalegani Dezaki and M. K. A. Mohd Ariffin, “The Effects of Combined Infill Patterns on Mechanical Properties in FDM Process,” *Polymers (Basel)*, vol. 12, no. 12, p. 2792, Nov. 2020.
- [153] I. Zein, D. W. Hutmacher, K. C. Tan, and S. H. Teoh, “Fused deposition modeling of novel scaffold architectures for tissue engineering applications,” *Biomaterials*, vol. 23, no. 4, pp. 1169–1185, Feb. 2002.
- [154] M. V. Varma, B. Kandasubramanian, and S. M. Ibrahim, “3D printed scaffolds for biomedical applications,” *Mater Chem Phys*, vol. 255, p. 123642, Nov. 2020.
- [155] J. Liu, L. Sun, W. Xu, Q. Wang, S. Yu, and J. Sun, “Current advances and future perspectives of 3D printing natural-derived biopolymers,” *Carbohydr Polym*, vol. 207, pp. 297–316, Mar. 2019.
- [156] V. Mazzanti, L. Malagutti, and F. Mollica, “FDM 3D Printing of Polymers Containing Natural Fillers: A Review of their Mechanical Properties,” *Polymers (Basel)*, vol. 11, no. 7, p. 1094, Jun. 2019.
- [157] S. Singh, C. Prakash, and S. Ramakrishna, “3D printing of polyether-etherketone for biomedical applications,” *Eur Polym J*, vol. 114, pp. 234–248, May 2019.

- [158] E. H. Tümer and H. Y. Erbil, "Extrusion-Based 3D Printing Applications of PLA Composites: A Review," *Coatings*, vol. 11, no. 4, p. 390, Mar. 2021.
- [159] A. Joseph Arockiam, Karthikeyan Subramanian, R. G. Padmanabhan, Rajeshkumar Selvaraj, Dilip Kumar Bagal, and S. Rajesh, "A review on PLA with different fillers used as a filament in 3D printing," *Mater Today Proc*, vol. 50, pp. 2057–2064, 2022.
- [160] S. Khalil, J. Nam, and W. Sun, "Multi-nozzle deposition for construction of 3D biopolymer tissue scaffolds," *Rapid Prototyp J*, vol. 11, no. 1, pp. 9–17, Feb. 2005.
- [161] T. Han, S. Kundu, A. Nag, and Y. Xu, "3D Printed Sensors for Biomedical Applications: A Review," *Sensors*, vol. 19, no. 7, p. 1706, Apr. 2019.
- [162] M. Eryildiz, "Köpük Enjeksiyon Kalıplama Yöntemi ile Üretilen Polilaktik Asit/Halloysit Nanotüp Doku İskelelerinin Özelliklerinin Geliştirilmesi," *Doktora Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul*, 2019.
- [163] T. S. Silva, D. A. K. Silva, and A. L. Nogueira, "Metformin hydrochloride sustained release biopolymeric system composed by <scp>PLLA-CMC</scp> microparticles," *J Appl Polym Sci*, vol. 138, no. 33, p. 50806, Sep. 2021.
- [164] M. Ibrahim et al., "3D Printing of Metformin HCl PVA Tablets by Fused Deposition Modeling: Drug Loading, Tablet Design, and Dissolution Studies," *AAPS PharmSciTech*, vol. 20, no. 5, p. 195, Jul. 2019.
- [165] Y. Gao, J. Xue, X. Li, Y. Jia, and J. Hu, "Metformin regulates osteoblast and adipocyte differentiation of rat mesenchymal stem cells," *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 60, no. 12, pp. 1695–1700.
- [166] M. S. Molinuevo et al., "Effect of metformin on bone marrow progenitor cell differentiation: In vivo and in vitro studies," *Journal of Bone and Mineral Research*, vol. 25, no. 2, pp. 211–221, Feb. 2010.
- [167] N. Thomas and T. Paul, "Impact of oral antidiabetic agents on bone metabolism," *Indian Journal of Medical Research*, vol. 141, no. 4, p. 385, 2015.
- [168] G. T. Russo et al., "Fracture Risk in Type 2 Diabetes: Current Perspectives and Gender Differences," *Int J Endocrinol*, vol. 2016, pp. 1–11, 2016.
- [169] F. Chogan et al., "Design, fabrication, and optimization of a dual function three-layer scaffold for controlled release of metformin hydrochloride to alleviate fibrosis and accelerate wound healing," *Acta Biomater*, vol. 113, pp. 144–163, Sep. 2020.
- [170] M. Eryildiz and M. Altan, "Fabrication of polylactic acid/halloysite nanotube scaffolds by foam injection molding for tissue engineering," *Polym Compos*, vol. 41, no. 2, pp. 757–767, Feb. 2020.

- [171] W. S. Chow, W. L. Tham, B. T. Poh, and Z. A. Mohd Ishak, "Mechanical and Thermal Oxidation Behavior of Poly(Lactic Acid)/Halloysite Nanotube Nanocomposites Containing N,N'-Ethylenebis(Stearamide) and SEBS-g-MA," *J Polym Environ*, vol. 26, no. 7, pp. 2973–2982, Jul. 2018.
- [172] Y. Kang, P. Chen, X. Shi, G. Zhang, and C. Wang, "Preparation of open-porous stereocomplex PLA/PBAT scaffolds and correlation between their morphology, mechanical behavior, and cell compatibility," *RSC Adv*, vol. 8, no. 23, pp. 12933–12943, 2018.
- [173] Y. Li, K. Venkateshan, and X. S. Sun, "Mechanical and thermal properties, morphology and relaxation characteristics of poly(lactic acid) and soy flour/wood flour blends," *Polym Int*, p. n/a-n/a, 2010.
- [174] M. Altan, M. Temiz, and M. Eryildiz, "Effect of Scaffold Design on Mechanical and Biological Behavior of PLA Fabricated by Fused Deposition Modeling," Mar. 2017.
- [175] S. Therias, M. Murariu, and P. Dubois, "Bionanocomposites based on PLA and halloysite nanotubes: From key properties to photooxidative degradation," *Polym Degrad Stab*, vol. 145, pp. 60–69, Nov. 2017.
- [176] A. Tevlek, S. Odabas, E. Çelik, and H. M. Aydin, "Preparation of MC3T3-E1 cell sheets through short-term osteogenic medium application," *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, vol. 46, no. sup2, pp. 1145–1153, Nov. 2018.
- [177] K. P. Rajan, A. Gopanna, E. A. M. Abdelghani, and S. P. Thomas, "Halloysite nanotubes (HNT) as reinforcement for compatibilized blends of polypropylene (PP) and polylactic acid (PLA)," *Journal of Polymer Research*, vol. 28, no. 10, p. 374, Oct. 2021.
- [178] T. Bitzer, T. Alkunshalie, and N. V. Richardson, "An HREELS investigation of the adsorption of benzoic acid and aniline on Si(100)-2 × 1," *Surf Sci*, vol. 368, no. 1–3, pp. 202–207, Dec. 1996.
- [179] J. Guo, J. Qiao, and X. Zhang, "Effect of an alkalized-modified halloysite on PLA crystallization, morphology, mechanical, and thermal properties of PLA/halloysite nanocomposites," *J Appl Polym Sci*, vol. 133, no. 48, Dec. 2016.
- [180] Y. Chen, L. M. Geever, J. A. Killion, J. G. Lyons, C. L. Higginbotham, and D. M. Devine, "Halloysite nanotube reinforced polylactic acid composite," *Polym Compos*, vol. 38, no. 10, pp. 2166–2173, Oct. 2017.
- [181] Y. Dong et al., "Polylactic acid (PLA)/halloysite nanotube (HNT) composite mats: Influence of HNT content and modification," *Compos Part A Appl Sci Manuf*, vol. 76, pp. 28–36, Sep. 2015.
- [182] R. de Silva, P. Pasbakhsh, K. Goh, S.-P. Chai, and J. Chen, "Synthesis and characterisation of poly (lactic acid)/halloysite bionanocomposite films," *J Compos Mater*, vol. 48, no. 30, pp. 3705–3717, Dec. 2014.

- [183] D. J. W. Soo, M. H. B. Osni, P. Pasbakhsh, R. de Silva, P. Cumpson, and K. L. Goh, "Micromechanical Characterization of Poly(Lactic Acid)/Halloysite Bionanocomposite Membrane," in *Nanostructured Polymer Composites for Biomedical Applications*, Elsevier, pp. 53–67, 2019.
- [184] E. Z. Tüzün, "Surface Modified Halloysite Nanotubes Incorporated Polylactide Nanocomposites For Food Packaging Applications, 2019.
- [185] L. Chengnan et al., "Near-infrared light activatable hydrogels for metformin delivery," *Nanoscale*, vol. 11, no. 34, pp. 15810–15820, 2019.
- [186] M. Bonilla-Hernández et al., "Synthesis and characterization of metformin-pluronic based polyurethanes for controlled drug delivery," *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, vol. 70, no. 9, pp. 656–667, Jun. 2021.
- [187] C. Ng and W. Chow, "Multifunctional halloysite nanotube–reinforced polypropylene/polyamide binary nanocomposites," *Polymers and Polymer Composites*, vol. 28, no. 8–9, pp. 623–630, Oct. 2020.
- [188] M. Liu, Y. Zhang, and C. Zhou, "Nanocomposites of halloysite and polylactide," *Appl Clay Sci*, vol. 75–76, pp. 52–59, May 2013.
- [189] Y. Chen, A. Murphy, D. Scholz, L. M. Geever, J. G. Lyons, and D. M. Devine, "Surface-modified halloysite nanotubes reinforced poly(lactic acid) for use in biodegradable coronary stents," *J Appl Polym Sci*, vol. 135, no. 30, p. 46521, Aug. 2018.
- [190] Y. Chen, L. M. Geever, J. A. Killion, J. G. Lyons, C. L. Higginbotham, and D. M. Devine, "Halloysite nanotube reinforced polylactic acid composite," *Polym Compos*, vol. 38, no. 10, pp. 2166–2173, Oct. 2017.
- [191] C. M. Cobos, O. Fenollar, J. López Martinez, S. Ferrandiz, and L. Garzón, "Effect of Maleinized Linseed Oil (MLO) on thermal and rheological properties of PLA/MWCNT and PLA/HNT nanocomposites for additive manufacturing," *Rapid Prototyp J*, vol. 26, no. 6, pp. 1027–1033, Mar. 2020.
- [192] M. Ertas, E. Altuntas, and A. Donmez Cavdar, "Effects of halloysite nanotube on the performance of natural fiber filled poly(lactic acid) composites," *Polym Compos*, vol. 40, no. 11, pp. 4238–4247, Nov. 2019.
- [193] K. P. Rajan, A. Gopanna, E. A. M. Abdelghani, and S. P. Thomas, "Halloysite nanotubes (HNT) as reinforcement for compatibilized blends of polypropylene (PP) and polylactic acid (PLA)," *Journal of Polymer Research*, vol. 28, no. 10, p. 374, Oct. 2021.
- [194] P. Krishnaiah, C. T. Ratnam, and S. Manickam, "Development of silane grafted halloysite nanotube reinforced polylactide nanocomposites for the enhancement of mechanical, thermal and dynamic-mechanical properties," *Appl Clay Sci*, vol. 135, pp. 583–595, Jan. 2017.
- [195] F. Alam, P. Verma, W. Mohammad, J. Teo, K. M. Varadarajan, and S. Kumar, "Architected poly(lactic acid)/poly(ϵ -caprolactone)/halloysite nanotube composite scaffolds enabled by 3D printing for biomedical applications," *J Mater Sci*, vol. 56, no. 25, pp. 14070–14083, Sep. 2021.

- [196] Z. X. Teo and W. S. Chow, "Impact, Thermal, and Morphological Properties of Poly(Lactic Acid)/Poly(Methyl Methacrylate)/Halloysite Nanotube Nanocomposites," *Polym Plast Technol Eng*, vol. 55, no. 14, pp. 1474–1480, Sep. 2016.
- [197] S. Sharma, A. A. Singh, A. Majumdar, and B. S. Butola, "Tailoring the mechanical and thermal properties of polylactic acid-based bionanocomposite films using halloysite nanotubes and polyethylene glycol by solvent casting process," *J Mater Sci*, vol. 54, no. 12, pp. 8971–8983, Jun. 2019.
- [198] E. Oliaei and B. Kaffashi, "Investigation on the properties of poly(l-lactide)/thermoplastic poly(ester urethane)/halloysite nanotube composites prepared based on prediction of halloysite nanotube location by measuring free surface energies," *Polymer (Guildf)*, vol. 104, pp. 104–114, Nov. 2016.
- [199] K. C. Nagaraja, S. Rajanna, G. S. Prakash, and G. Rajeshkumar, "Improvement of mechanical and thermal properties of hybrid composites through addition of halloysite nanoclay for light weight structural applications," *Journal of Industrial Textiles*, vol. 51, no. 3_suppl, pp. 4880S–4898S, Jun. 2022.
- [200] A. Riza Erdogan, I. Kaygusuz, and C. Kaynak, "Influences of aminosilanization of halloysite nanotubes on the mechanical properties of polyamide-6 nanocomposites," *Polym Compos*, vol. 35, no. 7, pp. 1350–1361, Jul. 2014.
- [201] L.-C. Gerhardt and A. R. Boccaccini, "Bioactive Glass and Glass-Ceramic Scaffolds for Bone Tissue Engineering," *Materials*, vol. 3, no. 7, pp. 3867–3910, Jul. 2010.
- [202] Q. Fu, E. Saiz, M. N. Rahaman, and A. P. Tomsia, "Bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering: state of the art and future perspectives," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 31, no. 7, pp. 1245–1256, Oct. 2011.
- [203] S. Mohamed and B. H. Shamaz, "Bone Tissue Engineering and Bony Scaffolds," *Int J Dent Oral Health*, vol. 1, no. 1, pp. 01–06, 2015.
- [204] A. O. Inyang and C. L. Vaughan, "Functional Characteristics and Mechanical Performance of PCU Composites for Knee Meniscus Replacement," *Materials*, vol. 13, no. 8, p. 1886, Apr. 2020.
- [205] Kenmed.ru.,
https://kenmed.ru/osobennosti_stroeniya_kolennogo_sustava/
19.03.2023.
- [206] M. Ibrahim et al., "3D Printing of Metformin HCl PVA Tablets by Fused Deposition Modeling: Drug Loading, Tablet Design, and Dissolution Studies," *AAPS PharmSciTech*, vol. 20, no. 5, p. 195, Jul. 2019.

- [207] M. Sadia, B. Arafat, W. Ahmed, R. T. Forbes, and M. A. Alhnan, "Channelled tablets: An innovative approach to accelerating drug release from 3D printed tablets," *Journal of Controlled Release*, vol. 269, pp. 355–363, Jan. 2018.
- [208] D. Ganapathy et al., "Potential Applications of Halloysite Nanotubes as Drug Carriers: A Review," *J Nanomater*, vol. 2022, pp. 1–7, Apr. 2022.
- [209] B. Shaqour, A. Samaro, B. Verleije, K. Beyers, C. Vervaet, and P. Cos, "Production of Drug Delivery Systems Using Fused Filament Fabrication: A Systematic Review," *Pharmaceutics*, vol. 12, no. 6, p. 517, Jun. 2020.
- [210] X. Farto-Vaamonde, G. Auriemma, R. P. Aquino, A. Concheiro, and C. Alvarez-Lorenzo, "Post-manufacture loading of filaments and 3D printed PLA scaffolds with prednisolone and dexamethasone for tissue regeneration applications," *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 141, pp. 100–110, Aug. 2019.
- [211] J. Zhang, X. Feng, H. Patil, R. v. Tiwari, and M. A. Repka, "Coupling 3D printing with hot-melt extrusion to produce controlled-release tablets," *Int J Pharm*, vol. 519, no. 1–2, pp. 186–197, Mar. 2017.
- [212] M. S. Singhvi, S. S. Zinjarde, and D. V. Gokhale, "Polylactic acid: synthesis and biomedical applications," *J Appl Microbiol*, vol. 127, no. 6, pp. 1612–1626, Dec. 2019.
- [213] Y. Chen, X. Shan, C. Luo, and Z. He, "Emerging nanoparticulate drug delivery systems of metformin," *J Pharm Investig*, vol. 50, no. 3, pp. 219–230, May 2020.
- [214] K. Huang et al., "Halloysite Nanotube Based Scaffold for Enhanced Bone Regeneration," *ACS Biomater Sci Eng*, vol. 5, no. 8, pp. 4037–4047, Aug. 2019.
- [215] M. Salai, D. Somjen, R. Gigi, O. Yakobson, S. Katzburg, and O. Dolkart, "Effects of commonly used medications on bone tissue mineralisation in SaOS-2 human bone cell line," *Bone Joint J*, vol. 95-B, no. 11, pp. 1575–1580, Nov. 2013.

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Konferans Bildirileri

1. Kökcü İ., Eryıldız M., Odabaş S., Altan M. "Development of Multifunctional Polymer Nanocomposite Scaffolds by 3D Printing for Biomedical Applications," *World Congress on Applied NanoTechnology*, vol.1, no.1, Erzurum, Turkey, pp.94-97, 2021
2. Kökcü İ., Eryıldız M., Altan M., Odabaş S. "Development of Multifunctional 3D Printed Scaffold for Biomedical Applications," *Additive Manufacturing Conference*, vol.1, no.1, İzmir, Turkey, pp 61-62. ,2022

Makaleler

1. Kökcü, İ., Eryıldız, M., Altan, M., Odabaş, S., Ertuğrul M.İ., "Scaffold Fabrication from Drug Loaded HNT Reinforced Polylactic Acid by FDM for Biomedical Applications," *Polymer Composites*, 44, 1, 2023. Doi: 10.1002/pc.27231

Projeler

1. "Üç Boyutlu Yazıcıda Doku İskelesi Üretimi için Çok Fonksiyonlu Biyobozunur Polimer Kompozit Filament Geliştirilmesi", NAP Projesi, Yürütücü: Prof. Dr. Mirigül ALTAN, Görevi: Araştırmacı, Başlangıç Tarihi: 2019 Bitiş Tarihi: 01.01.2022 Proje no: FBA-2020-3895